UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS

CENTRO DE INVESTIGACIONES QUÍMICAS

Reacción de hidrólisis de ésteres metílicos empleando un proceso sustentable

TESIS PROFESIONAL PARA OBTENER EL GRADO

DE:

MAESTRÍA EN CIENCIAS

PRESENTA:

RODRIGO JAVIER GARCÍA SÁNCHEZ

DIRECTOR:

Dr. JAIME ESCALANTE GARCÍA

Instituto de Investigación en Ciencias Básicas y Aplicadas

MORELOS

SEPTIEMBRE, 2026



El presente trabajo se desarrolló en el Laboratorio 219 de *Síntesis Asimétrica* del Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (CIQ-UAEM), bajo la dirección del Dr. Jaime Escalante García, con el apoyo económico de una beca de la SECIHTI (No. 4017057).

El Comité revisor de tesis asignado por la comisión interna del posgrado está conformado por:

Director de tesis: Dr. Jaime Escalante García, (CIQ-UAEM)

Presidente: Dra. Laura Patricia Álvarez Berber (CIQ-UAEM)

Secretario: Dra. Angelica Berenice Aguilar Guadarrama, (CIQ-UAEM)

Vocal: Dr. José Domingo Rivera Ramírez (CUCEI-UDG)

Suplente: Dra. Carolina Godoy Alcántar (CIQ-UAEM)

Suplente: Dra. Mayra Yaneth Antúnez Mojica, Investigador por México (CIQ-UAEM)

DEDICATORIA

A Dios, por bendecirme y guiarme a lo largo de la vida, por darme sabiduría y fortaleza en aquellos periodos de enfermedad y también de alegría.

A mis padres, por siempre apoyarme en cumplir mis sueños, por quererme tanto, además de su enorme motivación en los momentos más complicados de mis estudios.

Agradecimientos

Primeramente, agradezco a Dios, por darme la vida, a mis padres por siempre apoyarme económicamente y emocionalmente en todas mis metas.

También agradezco a mis amigos del Laboratorio 219 y en especial al apoyo que me dió la M.C. Alexa Arroyo Colin en esta tesis, siendo una guía y consejera cuando las cosas no salían como yo quería, siendo siempre positiva y paciente conmigo.

Así mismo, quiero expresar mi agradecimiento al Dr. Edmundo Castillo del IBT-UNAM, por su invaluable apoyo en los cálculos computacionales presentados en el presente proyecto de tesis.

A los miembros del Comité Tutoral, por dedicarme su tiempo para que este proyecto, por sus aportaciones las cuales fueron indispensables para mejorarlo y creciera extraordinariamente:

Dr. Jaime Escalante García CIQ-UAEM

Dra. Angelica Berenice Aguilar Guadarrama, CIQ-UAEM

Dra. Mayra Yaneth Antúnez Mojica, CIQ-UAEM

Al SECIHTI por la beca otorgada para la realización de este proyecto ya que sin esta ayuda no hubiera sido posible.

Se agradece al Proyecto SECIHTI CBF-2026-1215.

RESUMEN

La hidrólisis de ésteres es importante en la industria química, ya que es una reacción que se utiliza en la producción de jabones, saborizantes y fibras sintéticas entre otros. Además, en la literatura hay muchos ejemplos que muestran que esta reacción se puede llevar a cabo tanto en condiciones ácidas o alcalinas, pero estas condiciones producen desechos nocivos y corrosivos al medio ambiente como lo son el HCl o NaOH.

Por otro lado, la química sustentable busca mejorar los métodos de síntesis para hacerlos más eficientes en términos económicos y también ecológicos.

En el presente trabajo, se logró desarrollar una metodología para la hidrólisis de ésteres bajo condiciones neutras de α-amino-metil ésteres *N*-Boc, *N*-Fmoc y *N*-Bn protegidos, en un medio hidroalcohólico 75:25 (H_2O:MeOH) a reflujo.

Por otro lado, en la estrategia para sintetizar péptidos en solución, para la elongación de una cadena peptídica se requiere de una etapa donde se realiza una reacción de hidrólisis, por lo que también en este proyecto se formó el dipéptido Fmoc-L-Ala-L-Phe-OMe, seguido de la hidrólisis del éster en el mismo sistema de 75:25 (H_2O:MeOH) para probar dicha metodología.

Finalmente, se utilizó el programa COSMO-RS para hacer cálculos teóricos sobre actividad y solubilidad del reactivo de partida (Fmoc-L-Phe-OMe), intermediario (L-PheOMe) y del producto (L-Phe) de reacción de la hidrólisis del Fmoc-L-PheOMe en sistemas 75:25, 20:80 y 10:90 (H_2O:MeOH). En el sistema donde no hay reacción 75:25 (H_2O:MeOH), los resultados fueron una solubilidad baja y actividad alta para la materia prima (debido a esto, no reaccionó en el sistema 75:25 H_2O:MeOH), pero al aumentar la proporción del metanol, por ejemplo; en 20:80 y 10:90 (H_2O:MeOH) disminuyó la actividad y aumentó la solubilidad, lo cual fué favorable para la hidrólisis del Fmoc-L-PheOMe.

ABREVIATURAS

α Alfa

β Beta

γ Gamma

γ Coeficiente de actividad

δ Delta

δ(ppm) Desplazamiento químico

ε Constante dieléctrica

χ Fracción mol

μ_s Potencial químico

µL Microlitros

ρ Densidad

σ Densidad de carga

AA Aminoácidos

Ala Alanina

Bn Bencilo

Boc Di-tert-butil dicarbonato

°C Grado Celsius

D Dextrógiro

Da Dalton

Cbz Benciloxicarbonilo

CCF Cromatografía en capa fina

COSMO-RS Modelo de apantallamiento tipo conductor para una solvatación realista

DES Disolventes eutécticos profundos

DFT Teoría del funcional de la densidad

E Factor ambiental

$E_{mis\ fit}$ Energía de deformación resultante

EPA Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos

Fmoc 9-fluorenilmetiloxicarbonilo

g/g gramos por gramo

HPLC Cromatografía líquida de alta resolución

hr Horas

IL Los líquidos iónicos

Kw Constante del Producto de iónico del agua

L Litro

L Levógiro

Me Metilo

MeOH Metanol

MHz MegaHertz

mL Mililitros

MPa Megapascal

NADES Solventes eutécticos profundos naturales

NEPA Ley Nacional de Política Ambiental

PG Grupo protector

pH Potencial de hidrógeno

Phe Fenilalanina

ppm Partes por millón

PTX Palitoxina

R Grupo alquilo

TLC Cromatografía en capa fina

UNESCO Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura

Val Valina

WET Hidrólisis en agua a temperaturas elevadas

RESUMEN

ABREVIATURAS

ÍNDICE DE COMPUESTOS

1. INTRODUCCIÓN 1

2. ANTECEDENTES……4

2.1. α-Aminoácidos y clasificación……..……4

2.2.1 Métodos para la preparación de α-Aminoácidos……6

2.2 Química verde ….....11

2.3 Disolventes y la industria…..…….....13

2.4 Disolventes neotéricos….....16

2.5 Hidrólisis de ésteres..…….....19

2.6 Hidrólisis ésteres en catálisis ácidas sin disolvente orgánico……...22

2.7 Hidrólisis neutra de ésteres sin disolvente orgánico.....23

2.8 Hidrólisis neutra de ésteres con disolvente orgánico y H_2O.....24

2.9 Otras metodologías verdes de hidrólisis de aminoésteres**.**.....25

2.10 Péptidos……25

2.11 Grupos protectores……...28
2.12 Actividad química y potencial químico……32
2.13 Programas de Cálculos Computacionales……..…33
2.13.1 SPARTAN.....33
2.13.2 Turbomol.....33
2.13.3 COSMO-RS……..33
2.13.4 Teoría de COSMO-RS…….…...34

3. HIPÓTESIS……36

4. JUSTIFICACIÓN……...37

5. OBJETIVOS ……38
5.1 Objetivo general……...…..38
5.2 Objetivos específicos…..……38

6. METODOLOGÍA GENERAL DE SÍNTESIS ……39

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 45

8. MÉTODO TEÓRICO ……...56
8.1 Estudio teórico de la reacción de Hidrólisis de Fmoc-Phe-OMe en una mezcla 10:90 H2O:MeOH ……..……..…57

9. CONCLUSIONES……..60

10. PARTE EXPERIMENTAL……61
10.1 Esterificación de L-alanina (**4a**). ……...61
10.2 Esterificación de L-valina (**5a**)……61

10.3 Síntesis de L-fenilalaninato de metilo (**6a**)……..…....62
10.4 Síntesis de (((9*H*-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-*L*-alaninato de metilo (**7b**)……...…63
10.5 Síntesis de (((9*H*-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-*L*-valinato de metilo (**8b**)……64
10.6 Síntesis de (((9*H*-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-*L*-alanina de metilo (**16e**)……..65
10.7 Síntesis de (((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-*L*-Fenilalaninato de metilo (**9b**)……..……66
10.8 Síntesis de *N*-bencil-*L*-valinato de metilo (**11c**)…….....67
10.9 Síntesis de N-bencil-L-fenilalaninato de metilo (**12c**)……...68
10.10 Síntesis de (tert-butoxicarbonil)-*L*-alaninato de metilo (**13d**)…....69
10.11 Síntesis del (tert-butoxicarbonil)-L-valinato de metilo (**14d**)……..70
10.12 Síntesis de (*terc*-butoxicarbonil)-*L*-fenilalaninato de metilo (**15d**)……..70
10.13 Hidrólisis de (((9*H*-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-*L*-alaninato de metilo (**7b**)……71
10.14 Hidrólisis de (((9*H*-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-*L*-valinato de metilo (**8b**)……72
10.15 Hidrólisis de (((9*H*-fluoren-9-il) metoxi)carbonil)-*L*-fenilalaninato de metilo (**9b**)……..……..……...73
10.16 Hidrólisis de *N*-bencil-*L*-valinato de metilo (**11c**)……..……73
10.17 Hidrólisis de *N*-bencil-*L*-fenilalaninato de metilo (**12c**)……..…74
10.18 Hidrólisis de (*terc*-butoxicarbonil)-*L*-alaninato de metilo (**13d**)….75
10.19 Hidrólisis de (*terc*-butoxicarbonil)-*L*-valinato de metilo (**14d**)…...76
10.20 Hidrólisis de (*terc*-butoxicarbonil)-*L*-fenilalaninato de metilo (**15d**)……..76

10.21 Hidrólisis de *L*-alaninato de metilo (**4a**)……..……..77

10.22 Hidrólisis de *L*-valinato de metilo (**5a**)…….78

10.23 Hidrólisis de *L*-fenilalaninato de metilo(**6a**)…….……...78

10.24 Síntesis de péptido Fmoc-*L*-Ala-*L*-Phe-OMe(**16e**)……....79

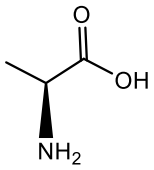
10.25 Hidrólisis del péptido Fmoc-*L*-Ala-*L*-Phe-OMe **(PE)**……..80

11. PERSPECTIVAS…… 81

12. ANEXOS……..…82

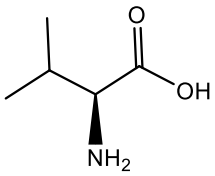
13. BIBLIOGRAFÍA……102

ÍNDICE DE COMPUESTOS



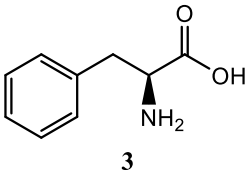
1

L-alanina



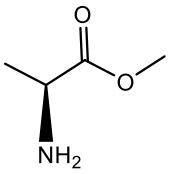
2

L-valina



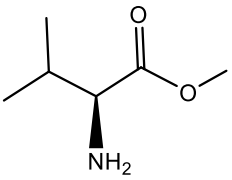
3

L-fenilalanina



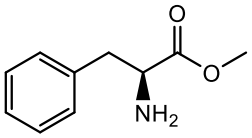
4a

L-alaninato de metilo



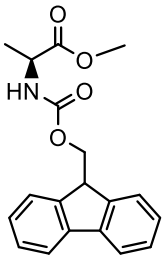
5a

L-valinato de metilo



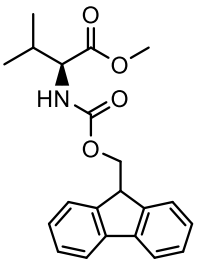
6a

L-fenilalaninato de metilo



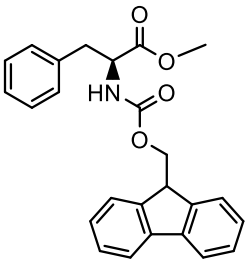
7b

((9*H*-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-L-alaninato de metilo



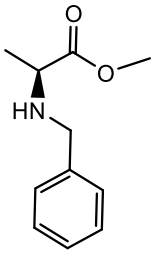
8b

(((9*H*-fluoren-9-il)metoxi) carbonil)-L-valinato de metilo



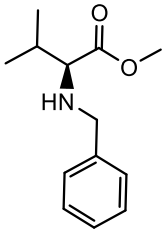
9b

(((9*H*-fluoren-9-il)metoxi) carbonil)-L-fenilalaninato de metilo



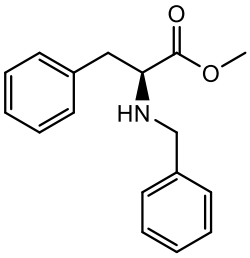
10c

N-bencil-L-alaninato de metilo



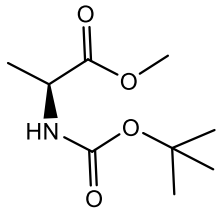
11c

N-bencil-L-valinato de metilo



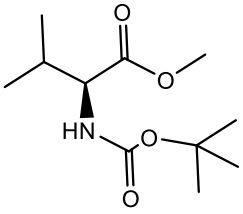
12c

N-bencil-L-fenilalaninato de metilo



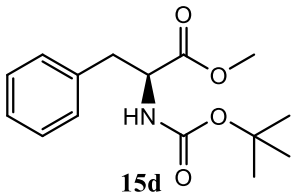
13d

(*tert*-butoxicarbonil)
-L-alaninato de metilo



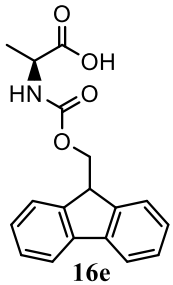
14d

(*tert*-butoxicarbonil)-
L-valinato de metilo



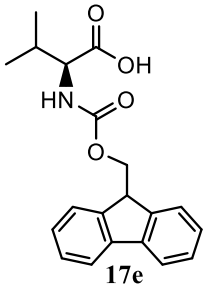
15d

(*tert*-butoxicarbonil)
-L-fenilalaninato de metilo



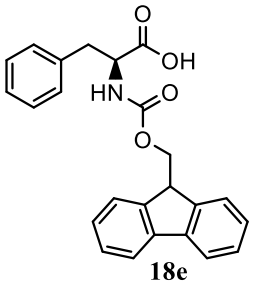
16e

((9*H*-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)
-L-alanina



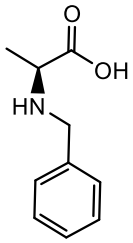
17e

(((9*H*-fluoren-9-il)methoxi)
carbonil)-L-valina



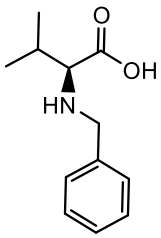
18e

(((9*H*-fluoren-9-il)methoxi)
carbonil)-L-fenilalanina



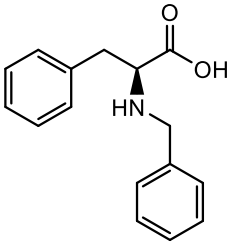
19e

N-bencil-L-alanina



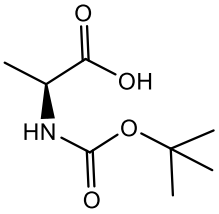
20e

N-bencil-L-valina



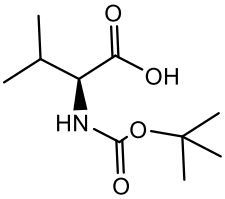
21e

N-bencil-L-fenilalanina



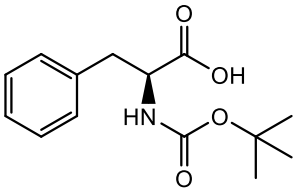
22e

(tert-butoxicarbonil)-L-alanina



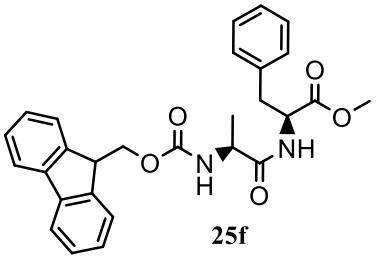
23e

(*tert*-butoxicarbonil)-
L-valina



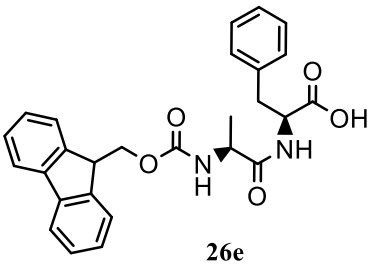
24e

(*tert*-butoxicarbonil)-L-fenilalanina



25f

(((9*H*-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-L-alanil
-L-fenilalaninato de metilo



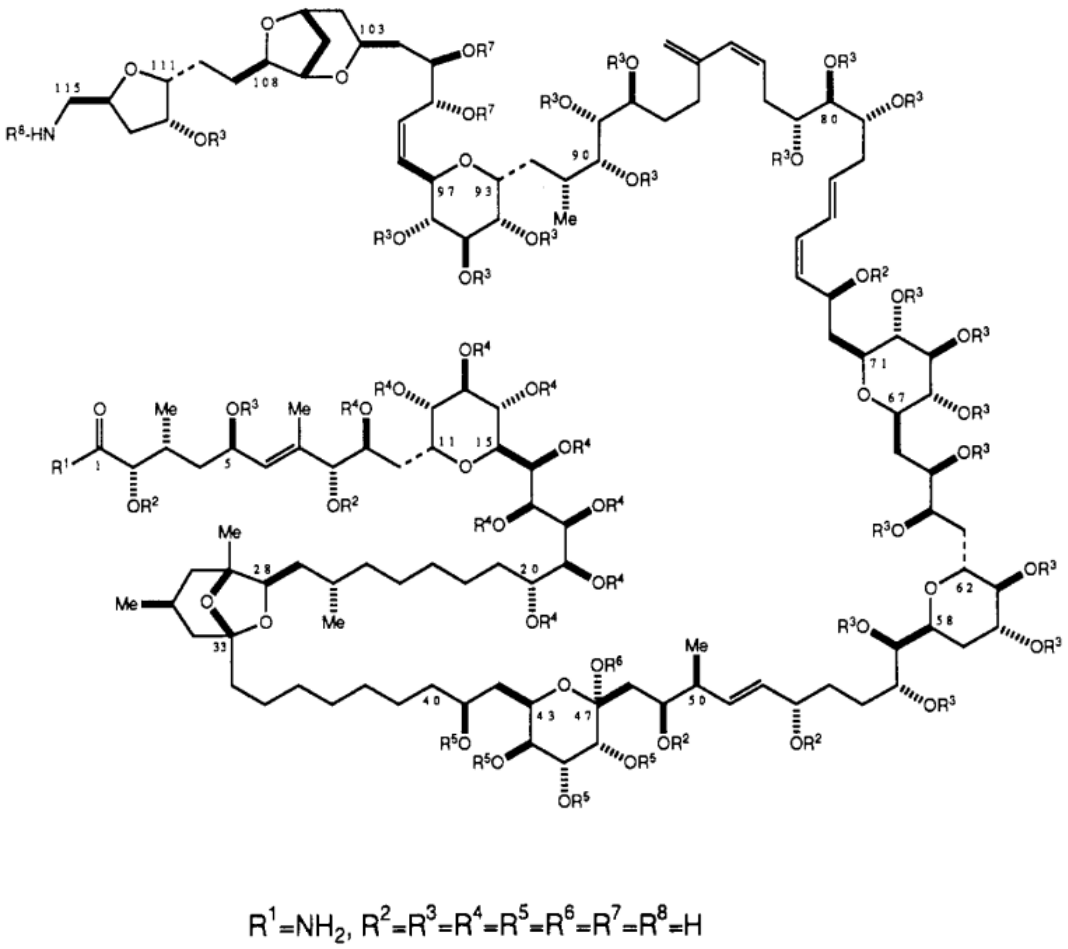
26e

(((9*H*-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)
-L-alanil-L-fenilalanina

1. INTRODUCCIÓN

Los métodos convencionales de hidrólisis de ésteres suelen implicar condiciones drásticas como ácidos y bases fuertes, además de otros reactivos tóxicos (cloruro de hidrógeno (HCl) gas, residuos básicos (NaOH, KOH) y dióxido de azufre residual en caso de usar H_2SO_4, etc.) lo que genera problemas ambientales y de seguridad. La integración de la química verde en el proceso de hidrólisis busca abordar estos desafíos, promoviendo la eficiencia y minimizando el impacto ambiental.[1] Los investigadores están estudiando catalizadores ácidos menos dañinos y disolventes seguros para el medio ambiente (por ejemplo el agua, etanol, etilenglicol, etc.) para realizar la hidrólisis de ésteres, buscando así crear un procedimiento más limpio y seguro.

La reacción de hidrólisis, es de gran importancia cuando se sintetizan fármacos de gran tamaño, ya que generalmente están protegidos por un grupo ester. Por ejemplo, la palitoxina (PTX, **Figura 1**) una molécula de gran tamaño y de complejidad notable, caracterizada por una extensa cadena alifática principal rica en grupos hidroxilo y con áreas de insaturación. Esta molécula es resistente al calor y se mantiene estable en soluciones acuosas neutras por mucho tiempo; no obstante, se descompone con rapidez en ambientes ácidos o básicos, lo que provoca que pierda su toxicidad (de provocar la muerte celular al impedir el funcionamiento de la bomba de sodio-potasio en las células). Destaca la presencia de **64** centros estereogénicos, esta característica sumada a ocho dobles enlaces que facilitan la isomería *cis/trans*, sugiere que la PTX podría existir en más de **1021** formas estereoisoméricas distintas.[2] El aislamiento primario de la PTX se llevó a cabo en Hawái, extrayéndola del coral blando tropical *Palythoa sp*., un miembro del grupo de los zoántidos.[3] En 1981, dos grupos de investigación revelaron de forma separada su singular arquitectura química, y en 1994 se concretó su síntesis total por primera vez.[4]



$R^1=NH_2$, $R^2=R^3=R^4=R^5=R^6=R^7=R^8=H$

Figura 1. Estructura química de Palitoxina

1.1 Hidrólisis de esteres en la industria

Actualmente, en los laboratorios se han desarrollado metodologías amigables al medio ambiente (condiciones no drásticas), donde la reacción de hidrólisis de esteres se lleva a cabo a temperatura del ambiente (por ejemplo, entre 20 °C y 37 °C), presión atmosférica de 1 atm, pH neutro, y el uso de ácidos y bases débiles, lo cual protege la integridad del reactivo o del producto.

Sin embargo, en la industria química la reacción de hidrólisis de esteres requiere altas temperaturas y catalizadores inorgánicos, lo que da como resultados pasos adicionales no deseados para purificar el producto final. Asimismo, un alto consumo de energía debido a los residuos químicos de ácidos o bases fuertes (condiciones drásticas) que requieren neutralización, también hay limitaciones en

cuanto al equilibrio; lo cual resulta en bajos rendimientos y requiere un esfuerzo adicional para impulsar la reacción, debido a esto la reacción es notoriamente lenta, y suele requerir de 1 a 4 horas para alcanzar el equilibrio. Dado que se trata de una reacción reversible, se obtiene una mezcla compleja de agua, alcohol sin reaccionar, ácido y éster.

Aun así, con todo esto, la producción de ésteres a nivel industrial suele ser rentable, económico; debido al costo del catalizador, entre ellos ácidos fuertes como HCl (H_2SO_4, $HClO_4$,etc.) o bases fuertes convencionales como NaOH o KOH.

Los costos que a veces no se consideran, pero son relevantes, provienen de los ácidos corrosivos que deterioran las tuberías de la planta; esto requiere reparar o reemplazar equipos especializados (acero inoxidable o aleaciones de níquel y titanio). De igual manera, la separación del éster final de las aguas residuales contaminadas exige que consuma demasiada energía, por lo cual aumentan los costos. Finalmente, el uso de grandes reactores de flujo continuo reduce drásticamente el costo por la cantidad que genera de producto,

2. ANTECEDENTES

2.1. α-Aminoácidos y clasificación

Los α-aminoácidos son los monómeros que conforman a las proteínas. También, son moléculas quirales y existen en dos configuraciones espaciales: el enantiómero L (del latín *levus*: izquierdo) y el enantiómero D (del latín *dexter*, derecho). Estos son imágenes especulares entre sí, no superponibles y tienen propiedades físicas y químicas idénticas, excepto la interacción con la luz polarizada en un plano.[5] Así, un isómero desviará el plano de polarización hacia la derecha, mientras el otro lo hará en dirección contraria. No obstante, el prefijo D o L que se usa para indicar la configuración absoluta no está directamente relacionado con el prefijo (+) o (-), que se usa para indicar la rotación óptica en la misma molécula (**Figura 2**).

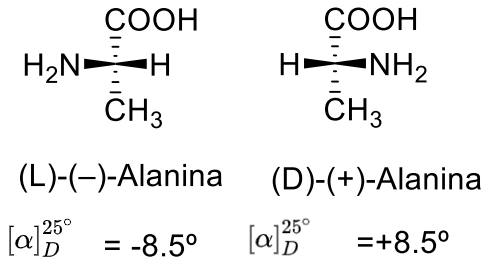


Figura 2. Enantiómeros de L- y D- Alanina.

Los seres vivos utilizan los α-aminoácidos L-(AA) (en su mayoría (*S*)-(AA)), donde el grupo amino está unido al carbono contiguo al grupo carboxilo, para construir proteínas que cumplen diversas funciones biológicas. Hay cientos de cadenas laterales (R) diferentes, pero solo 20 son las que conforman a las proteínas.[6]
Por el contrario, los D-AA se han considerado como no naturales, debido a que no se encuentran en cantidades considerables en la naturaleza.

Los aminoácidos pueden clasificarse en: **a) aminoácidos esenciales** son aquellos que el organismo requiere y que se obtienen a través de la alimentación. Por otro lado, los aminoácidos **b) no esenciales** son aquellos que el cuerpo puede sintetizar y, por lo tanto, no es necesario obtenerlos mediante la ingesta de alimentos, **Figura 3**.[7]



Figura 3. Clasificación de aminoácidos en esenciales y no esenciales.

2.1.1 Métodos para la preparación de α-Aminoácidos

Existen diversas metodologías para la síntesis de α-aminoácidos, debido a que la obtención de estos compuestos puede requerir estrategias sintéticas específicas en función de su estructura molecular y de los grupos funcionales presentes. Así mismo, es importante señalar que, a menudo la síntesis resulta ser una opción más práctica para conseguir un aminoácido que su extracción de fuentes naturales.[8]

Método A) α-Aminoácidos mediante la aminación de ácidos α-halogenados.

Un α-cloro o α-bromo ácido, al reaccionar con amoníaco en alta concentración, se transforma en un α-aminoácido. El ácido α-halogenado se puede obtener a través de la reacción de Hell-Volhard-Zelinsky que implica una modificación química que transforma un ácido carboxílico de cadena alquílica en un compuesto alfa halogenado. [9]

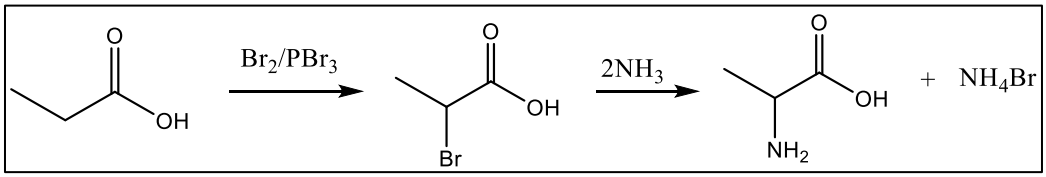


Figura 4. Síntesis de alanina por aminación de ácidos α-halogenados

Este procedimiento resulta adecuado para la síntesis de glicina, alanina, serina, treonina, valina y leucina (**ver Figura 4**).

Método B) Síntesis de Strecker

Cuando un aldehído se trata con amoníaco concentrado y cianuro de hidrógeno, el resultado es un α-aminonitrilo. Subsecuentemente, se realiza la hidrólisis del grupo nitrilo del α-aminonitrilo y este se transforma en un α-aminoácido.[10] (**ver Figura 5**).

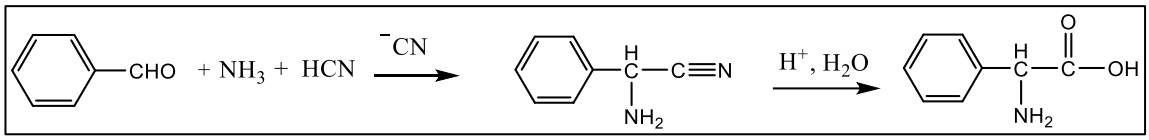


Figura 5. Síntesis de la L-Fenilalanina a partir del benzaldehído.

Método C) Síntesis a partir de ésteres malónicos

Este método proporciona una manera de producir α-aminoácidos. Se parte del dietil-malonato y se hace reaccionar con el etanoato de sodio y un haluro de alquilo. Subsecuentemente, se hidrolizan los esteres etílicos con NaOH y HCl, y el diácido resultante reacciona con Br_2 en la posición alfa dando como resultado un bromo-diácido.[11] Este último se descarboxila y reacciona con amoniaco para producir el α-aminoácido correspondiente, los aminoácidos que se pueden producir son: alanina metionina, isoleucina, leucina, prolina y fenilalanina como se indica en la **Figura 6.**

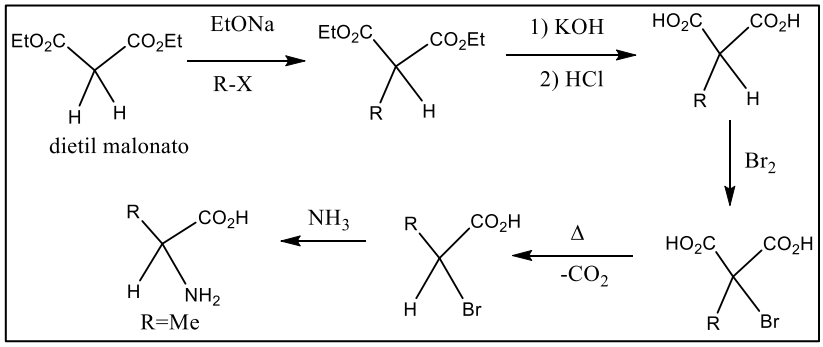


Figura 6. Síntesis de α-aminoácidos a partir de ésteres malónicos.

Método D) α-Aminoácidos a través de la técnica de Gabriel

La síntesis de Gabriel produce α-aminoácidos empleando un haluro de alquilo y un éster de N-ftalimidomalonato, considerando que la estructura del éster de N-ftalimidomalonato se asemeja a la de un aminoácido sustituido con grupos protectores, con el propósito de garantizar que el grupo amino y el ácido carboxílico no participen en reacciones ácido-base innecesarias, **Figura 7.**

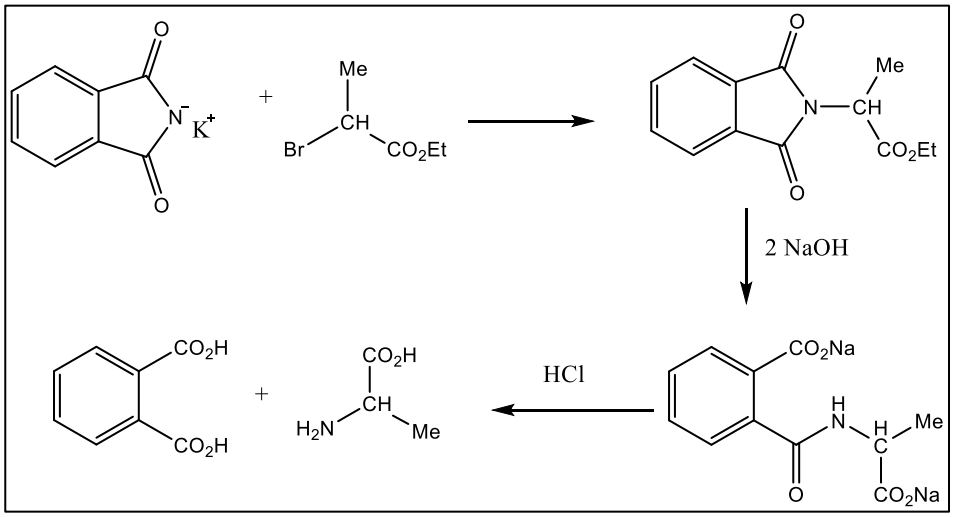


Figura 7 .Síntesis Gabriel para α-Aminoácidos

Método E) Aminación reductiva de α-cetoácidos.

La aminación reductiva de un α-cetoácido con amoníaco y un agente reductor, es un procedimiento para sintetizar α-aminoácidos.[11] La alanina, a modo de ejemplo, se elabora al tratar amoníaco con ácido pirúvico en presencia de $NaBH_4$. La reacción ocurre a través de la creación inicial de una imina intermediaria, que después se reduce, **Figura 8**.

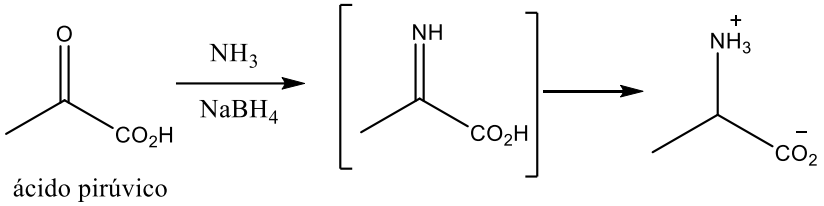


Figura 8. Ejemplo de Aminación reductiva de α-cetoácidos

Método F) Biosíntesis de α-aminoácidos

Para producir aminoácidos, se utilizan varias rutas metabólicas que permiten a las células generar aminoácidos a partir de sustancias simples (por ejemplo, NH_4^+) y también se obtienen de intermediarios de rutas metabólicas clave, como el ciclo del ácido cítrico, la glucólisis y la vía de las pentosas fosfato.[12]

Por ejemplo, la serina se genera a partir del 3-fosfoglicerato a través de la siguiente ruta metabólica:

3-fosfoglicerato → fosfohidroxipiruvato → fosfoserina → serina.

Los aminoácidos que provienen del α-cetoglutarato (un intermediario en el ciclo del ácido cítrico) incluyen el glutamato, glutamina, prolina y arginina. Para la fabricación de asparagina, metionina, treonina y lisina se usa la ruta del aspartato que utiliza el ácido L-aspártico como el punto de partida.[13] El piruvato que es un producto de la glucólisis y parte del ciclo de Krebs, lleva a la creación de alanina, valina y leucina. También a partir de eritrosa-4-fosfato y fosfoenol-piruvato se produce la fenilalanina, la tirosina y el triptófano,[12] como se observa en el **Diagrama 1.**

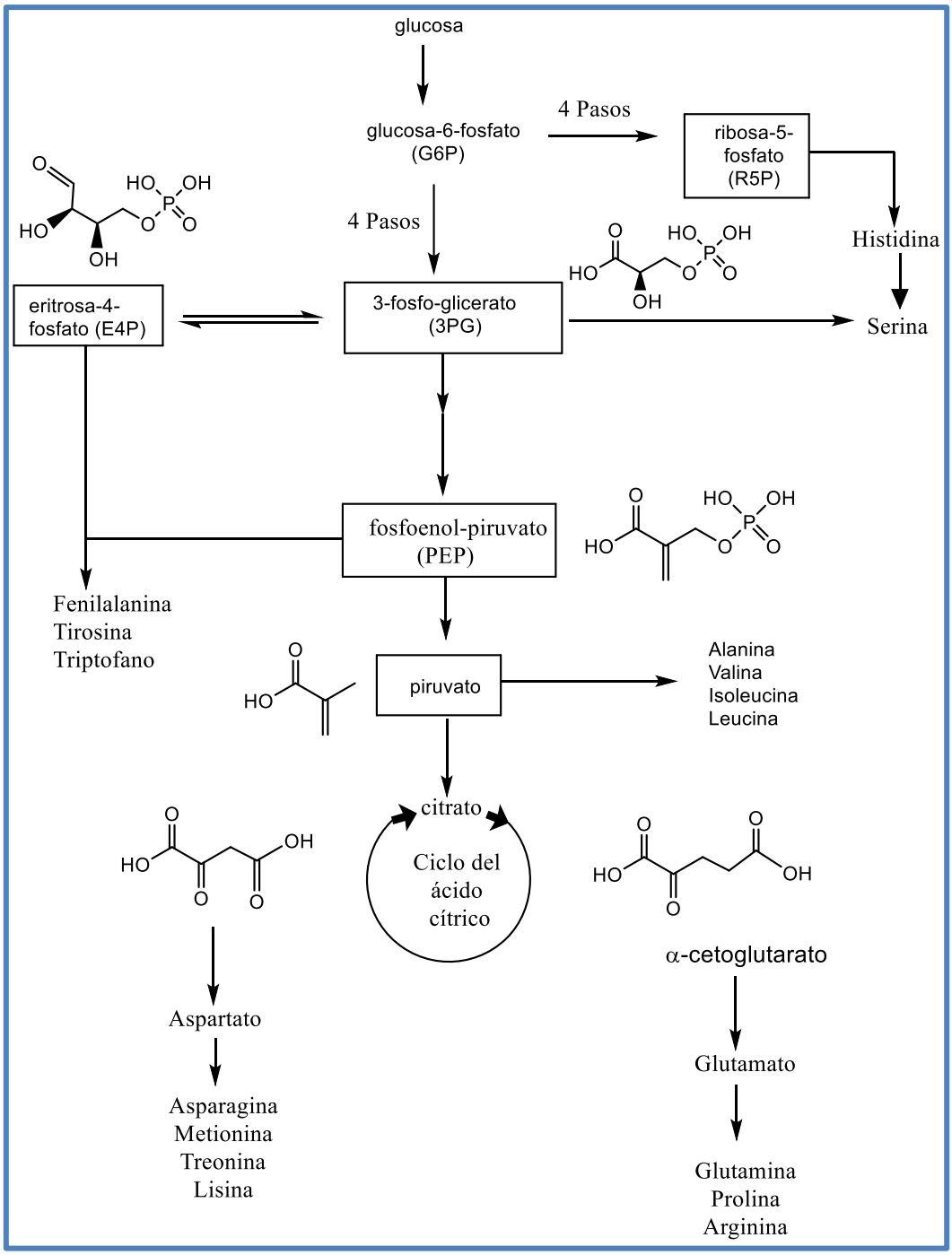


Diagrama 1. Metabolismo general de α-aminoácidos .

2.2 Química verde

Actualmente la sociedad se ocupa en reducir los efectos de la contaminación ambiental relacionada con los productos químicos y sus procesos. Como alternativas ambientales, los procesos de química verde eliminan gran parte de la producción de sustancias peligrosas y al mismo tiempo disminuyen la toxicidad a la salud humana.

Así, Anastas y Warner en 1988 definieron 12 principios de la química verde para el desarrollo de procesos sustentables los cuales se han perfeccionado con la finalidad de minimizar la generación de desechos, prevenir la contaminación del medio ambiente y los riesgos a la salud.

A continuación, se menciona cuáles son estos 12 principios.[14]

1. Prevención

Es mejor prevenir la formación de residuos que tratar de limpiar tras su formación.

2. Economía atómica

Los métodos sintéticos deben ser diseñados para conseguir la máxima incorporación en el producto final de todas las materias usadas en el proceso.

3. Síntesis menos peligrosa

Siempre que sea posible, se deben diseñar metodologías sintéticas para el uso y la generación de sustancias con escasa toxicidad humana y ambiental.

4. Generar productos eficaces, pero no tóxicos

Los productos químicos deberán ser diseñados de manera que mantengan la eficacia y a la vez que reduzcan su toxicidad.

5. Reducir el uso de sustancias auxiliares

Las sustancias auxiliares (disolventes, agentes de separación, etc.) deben resultar innecesarias en lo posible, o al menos deben ser inocuas.

6. Disminuir el consumo energético

Las necesidades energéticas deben ser consideradas en relación con sus impactos ambientales, económicos, y minimizados. Los métodos sintéticos deben ser llevados a temperatura y presión ambiente.

7. Utilizar materias primas renovables

Los reactivos utilizados deben proceder de fuentes renovables, en la medida en que sea económica y técnicamente factible.

8. Evitar derivados químicos

La formación innecesaria de derivados (bloqueo de grupos, protección-desprotección, modificación temporal de procesos físicos-químicos) debe ser evitada en cuanto sea posible.

9. Potenciación de los catalizadores

Debe emplearse catalizadores lo más selectivos y reutilizables posibles.

10. Generar productos biodegradables

Los productos químicos han de ser diseñados de manera que, al final de su función, no persistan en el ambiente, sino que se fragmenten en productos de degradación inertes.

11. Desarrollar metodologías analíticas para la monitorización en tiempo real

Se deben desarrollar las metodologías analíticas que permitan el monitoreo en tiempo real durante el proceso y el control previo a la formación de sustancias peligrosas.

12. Prevenir accidentes

Diseñar los procesos químicos, utilizando métodos y sustancias que reduzcan los accidentes (emisiones, explosiones, incendios, entre otros)**.**

Debido a la importancia del cuidado del medio ambiente, en los últimos años diferentes organizaciones y países han convocado a múltiples conferencias, reuniones y eventos centrados en la química verde (**Figura 9**). En particular la UNESCO (2013), lanzó el Programa de Desarrollo Sostenible “Life Proyect”, cuyo objetivo es promover la investigación mediante el financiamiento de jóvenes investigadores y proyectos innovadores que respeten los 12 principios básicos de la química verde.[15]

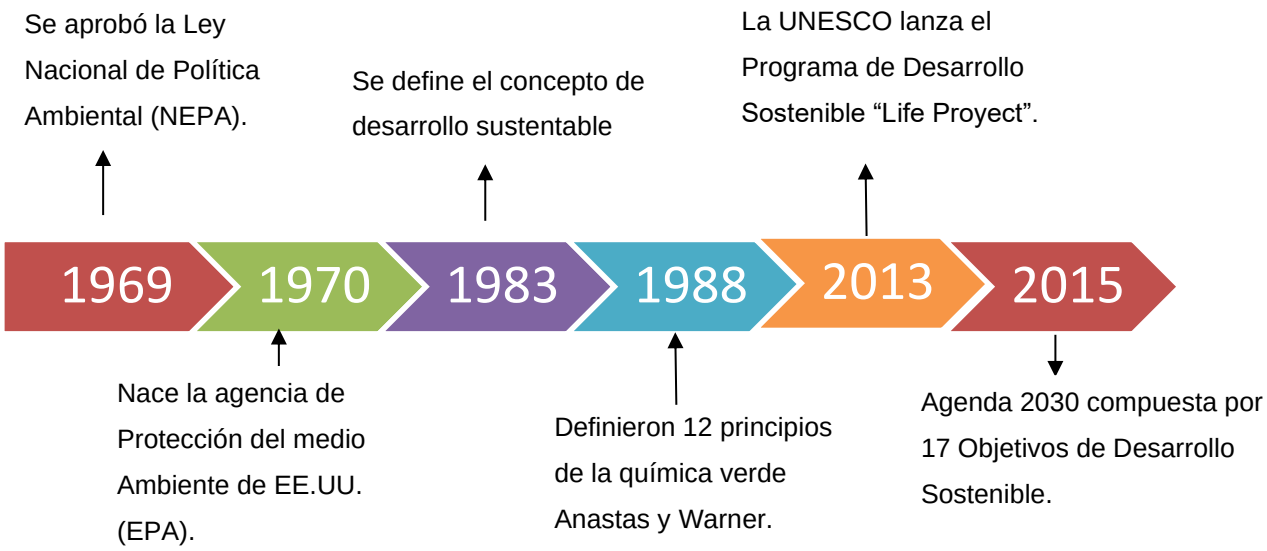


Figura 9. Fechas importantes del desarrollo de la química verde.

2.3 Disolventes y la industria

Casi siempre el disolvente es el componente en mayor proporción de una reacción y suele ser líquido en las condiciones en que se somete el proceso, los otros constituyentes presentes en menor cantidad en una solución son los solutos o reactivos. El disolvente tiene funciones variadas, como la de ayudar a la solubilidad de los reactivos y en ocasiones como reactivo de un proceso químico. Cuando se evita su uso, a este proceso se le conoce como "sin disolventes" o “solvent free”. Sin embargo, el término no es preciso ya que en tales situaciones no se requiere la adición de otro líquido que actúe como disolvente.

El factor ambiental **E** (relación entre la masa de residuo y la masa de producto) se ha implementado en distintos sectores de la industria y hay evidencia que la cantidad de residuos generados en productos farmacéuticos es superior, en comparación a los residuos generados de productos químicos finos o a gran escala. Asimismo, la empresa GSK (GlaxoSmithKline) ha calculado que más del 70% de los desechos vinculados con la fabricación de medicamentos son disolventes.[16]

Esto se debe a que hay varios pasos en la fabricación de un medicamento que requieren disolventes, lo que ha despertado interés en los métodos sintéticos de tipo One-Pot, mecanoquímicos, sonoquímicos, por irradiación de microondas, etc.

También, la revista “Organic Process Research & Development” recomienda los reemplazos de disolventes, para los disolventes indeseables de la guía de selección de disolventes de Pfizer (**Tabla 1**). Por ejemplo, el diclorometano se propone como un posible sustituto de disolventes clorados aún menos deseables que el cloroformo.[17]

Si se disminuyera el uso de disolventes en el gasto de producción de productos químicos, se lograría un precio económico en fármacos, y con esto el progreso sostenible en la industria. Sin embargo, el costo de incorporar nuevos procesos todavía es un obstáculo para su adopción por parte de las industrias comerciales.[18]

Tabla 1. Clasificación de disolventes según su impacto al medio ambiente por Pfizer.

Preferido	**Utilizable**	**Indeseable**
Agua	Ciclohexano	Pentano
Acetona	Heptano	Hexano
Metanol	Tolueno	Dietiléter
Etanol	Acetonitrilo	Diclorometano
2-propanol	THF	Cloroformo
1-propanol	Iso-octano	Piridina
Acetato de etilo	Dimetilsulfóxido	Dioxano
1-Butanol	Ácido acético	Benceno

2.4 Disolventes neotéricos

Los disolventes alternativos o verdes, también llamados disolventes neotéricos, son imprescindibles en la química verde. Algunos ejemplos de disolventes alternativos son los líquidos iónicos (IL), siendo el agua también llamada "el disolvente universal", los disolventes eutécticos profundos (DES), los polímeros líquidos, el dióxido de carbono supercrítico ($scCO_2$), fluidos expandidos por gases (GXL) y los disolventes intercambiables ("switchable solvents").[19] Estos disolventes presentan características de relevancia en la protección medioambiental, la posibilidad de reutilización, reciclado, baja o nula toxicidad.

A) Los líquidos iónicos (IL)

Están compuestos por un catión orgánico que contiene un heteroátomo (N o P) y un anión inorgánico poliatómico, con una temperatura de fusión por debajo del punto de ebullición del agua (100 °C al nivel del mar), tienen entalpías altas de vaporización (ΔH_{vap}) lo que los hace no volátiles, así como, una alta estabilidad química, térmica y conductividad.[20]

El inconveniente de los (**IL**) es su producción, donde se requiere el uso de fuentes no renovables como gas natural y petróleo crudo. Además, de producir intermedios tóxicos y nocivos al ambiente.

Sin embargo, usando alternativas a los procesos convencionales de síntesis de los (**ILs**), se han preparado líquidos iónicos usando otros disolventes neotéricos, por ejemplo, Zhou y colaboradores sintetizaron $[C_4C_1Im]$ $[BF_4]$ a partir del cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio en CO_2 supercrítico, (**Figura 10**).[21]

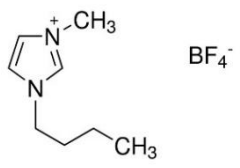


Figura 10. Estructura del tetrafluoroborato de 1-butil-3-metilimidazolio.

B) Los disolventes eutécticos profundos (DES)

Son compuestos que generalmente contienen aceptores de enlaces de hidrógeno (HBA) y donantes de enlaces de hidrógeno (HBD), ejemplo el cloruro de colina y urea (**Figura 11**).[22] Paiva *et al*. los llama como "disolventes de próxima generación ya que son excelentes disolventes para procesos químicos, como extracciones, catálisis, síntesis orgánica y electrodeposición. [23] A los que se extraen de fuentes renovables y son menos tóxicos que los DES, se les nombra disolventes eutécticos profundos naturales (NADES).

Los DES son disolventes verdes superiores a los líquidos iónicos, que requieren preparaciones prolongadas, sensibles al aire y en comparación de los (NADES) estos requieren purificación adicional.

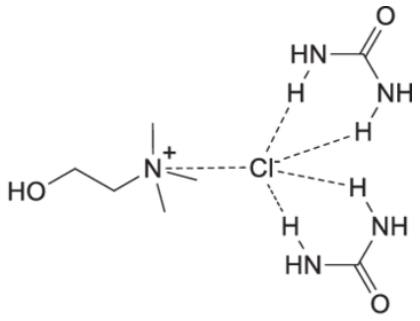


Figura 11. Estructura del disolvente eutéctico profundo ChCl/urea.

C) Polímeros líquidos (LP)

Los polímeros líquidos (**LP**) representan una categoría de disolventes no volátiles; no obstante, a diferencia de los líquidos iónicos (**LI**) ofrecen la ventaja de no contener metales ni halógenos, ser biodegradables (en algunos casos), exigir procesos de síntesis menos complicados y ser menos dañinos para el medio ambiente.

Algunos ejemplos son: el poli(dimetilsiloxano) (PDMS) y el poli(tetrahidrofurano) (PTHF), estos tienen la ventaja de poseer volatilidad insignificante, con aplicaciones comerciales como aditivos alimentarios y cuidado personal (**Figura 12**).

Los polímeros líquidos se han usado en la síntesis multicomponente de

tiazoloquinolinas, donde se obtuvieron altos rendimientos (92 %) y tiempos de reacción cortos (2h) en un sistema compuesto por PEG-400 y agua al 10 % en volumen, a diferencia de otros disolventes polares tanto próticos como apróticos que produjeron rendimientos muy inferiores.[24]

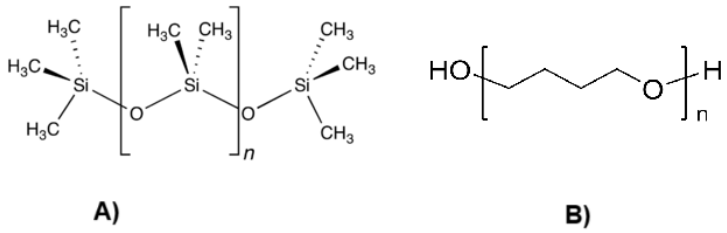


Figura 12. Estructuras de **A)** poli (dimetilsiloxano) (PDMS) **B)** poli(tetrahidrofurano) (PTHF).

D) Agua y mezclas bifásicas

El empleo de agua en síntesis orgánica se fundamenta en consideraciones económicas, ambientales y de seguridad, destacándose por su particular reactividad y selectividad que difieren de las observadas en reacciones realizadas en entornos orgánicos**.**

Esto conlleva a la investigación del mecanismo de reacción que permite el uso del agua en reacciones orgánicas. Por ejemplo, las reacciones en agua se clasifican en “in water” y “on water” según Butler y Coyle (**Figura 13**), esta se basa en la solubilidad del sustrato y en qué fase se produce el estado de transición “en el agua”; es cuando la solubilidad de los sustratos supera a 0.01 mol L^{-1}.[25] Las condiciones “sobre agua” se aplican a los sustratos con una solubilidad menor a 10^{-5} mol L^{-1}, se caracterizaron por “la aceleración sustancial de la velocidad” cuando los reactivos insolubles se agitan en suspensión acuosa, **Sharpless (2005)**. Por el contrario, Rideout y Breslow concluyeron que la rápida velocidad de la reacción de Diels-Alder entre el ciclopentadieno y la butenona en agua, se debía al efecto hidrofóbico, ya que la velocidad de reacción en agua era 700 veces mayor que en metanol y aún mayor en otros disolventes hidrofóbicos.[25] Por lo que

descartaron que la polaridad del medio no era la razón principal.

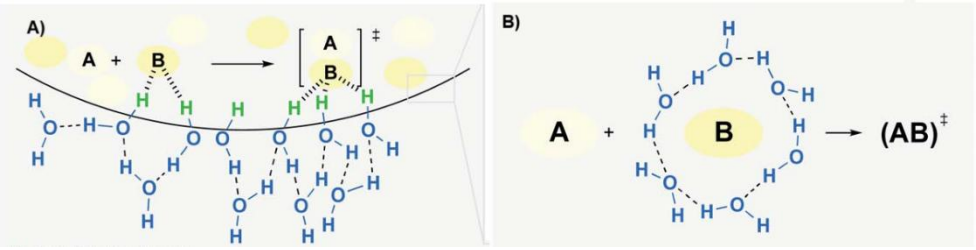


Figura 13. Modelos posibles de reacción (A) homogéneo (in water) o (B) heterogéneo (on water).

2.5 Hidrólisis de ésteres

La química verde trata de modificar y mejorar las metodologías de síntesis existentes para que sean tanto económicas como ecológicas.

En la literatura se puede encontrar numerosos casos donde la hidrólisis de ésteres tiene lugar solo en presencia de condiciones ácidas o básicas (**Figura 14**), pero esta metodología conlleva a residuos corrosivos y peligrosos.

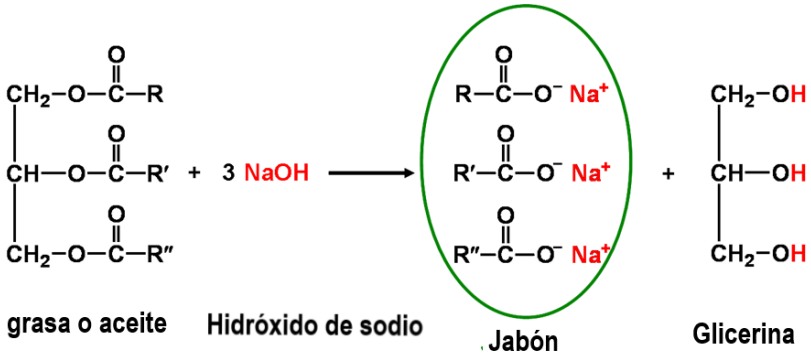


Figura 14. Reacción general de saponificación

Por ejemplo, en 1966 Charles A. Kingsbury y colaboradores utilizaron dimetilsulfóxido (DMSO) como disolvente en un proceso de saponificación, donde se empleó 0.5 mL de hidróxido de potasio (10 M) disuelto en agua como base. Se

dieron cuenta de que algunos éteres se saponificaron a temperatura ambiente, mientras que otros necesitaron calor, como un baño de vapor a 100°C. Los ésteres que tienen impedimento estérico, como el ftalato de dietilo y el sebacato de di-2-etilhexilo, se hidrolizan en un baño de vapor a 100°C en tan solo 5 y 15 minutos, respectivamente (entradas 3 y 5) **Tabla 2.** La desventaja de la metodología es el uso de una cantidad de excesiva de NaOH.[26]

Tabla 2. Hidrólisis de esteres dimetilsulfóxido (DMSO) como disolvente.

Entrada	**Éster**	**Temperatura °C**	**Tiempo (min)**	**% Rend.**
1	*p*-Hidroxibenzoato de etilo	100	5	Cuantitativo
2	Benzoato de fenilo	25	5	Cuantitativo
3	Ftalato de dietilo	100	5	Cuantitativo
4	Acetato de *n*-butilo	25	5	Cuantitativo
5	Sebacato de di-2-etilhexilo	100	15	Cuantitativo

Actualmente se han desarrollado otras metodologías para la reacción hidrolisis de esteres, como se muestra a continuación:

E) Hidrólisis de ésteres en condiciones supercríticas

La utilización del agua como un medio de reacción en estado subcrítico y supercrítico ofrece numerosas ventajas. El agua es asequible, segura para la salud, no inflamable, no peligrosa, actúa como disolvente y agente de reacción; además es amigable con el entorno.[27]

La descomposición del formiato de metilo y el formiato de etilo en condiciones supercríticas, en el intervalo de 373 a 473 K y entre 15-35 MPa, resultó en una conversión de éster superior al 90% para generar ácido fórmico y alcohol. A temperaturas elevadas, el ácido fórmico se degradó a CO_2, H_2 y H_2O,

(**Figura 15**).[28] Los hallazgos mostraron que la descomposición hidrotérmica de los formiatos de alquilo se vio favorecida por el uso de ácidos como el ácido fórmico, el ácido oxálico, el ácido clorhídrico y el bicarbonato de sodio, mientras que en presencia de bases el proceso se ralentizó de una forma distinta a la que ocurre con agua normal. Finalmente, se llevaron a cabo análisis de las muestras gaseosas generadas tras la reacción utilizando cromatografía de gases, y se verificó que unos de productos fueron CO_2 y H_2.

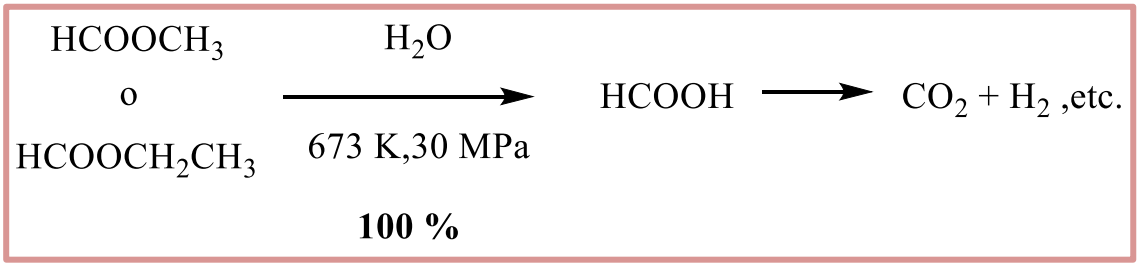


Figura 15. Reacción de hidrólisis en condiciones supercríticas de formiatos de alquilo.

2.6 Hidrólisis de ésteres en catálisis ácidas sin disolvente orgánico

Okahata y colaboradores usaron el pirosulfato de *N*,*N*-diarilamonio como catalizador para favorecer la hidrólisis de los ésteres, sin necesidad de utilizar disolvente orgánico, la hipótesis fue que una pequeña cantidad de agua migra a la fase orgánica para ser utilizada como sustrato y después el metanol como producto generado se trasladaría a la fase acuosa, lo que desplazaría el equilibrio hacia la descomposición de los ésteres (**Figura 16**).[29]

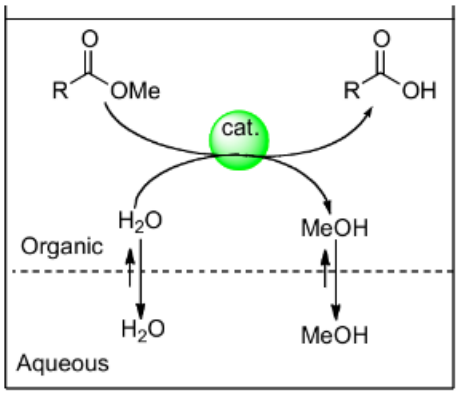
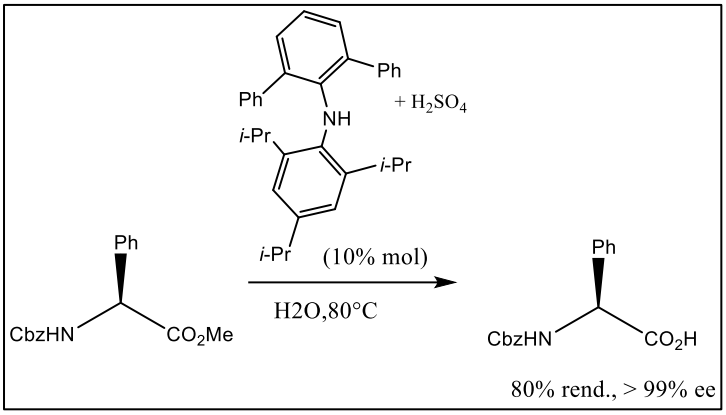


Figura 16. Esquema hipotético de la hidrólisis de ésteres metílicos en condiciones acuosas catalizada por pirosulfato de *N,N*-diarilamonio.

Por lo tanto, con estas observaciones el grupo de investigación Okahata llevó a cabo la hidrólisis del éster metílico de *N*-Cbz-L-fenilglicina con un 80% de rendimiento y un ee >99%, **Esquema 2**.Tambien se comparó con la hidrólisis clásica alcalina que da una epimerización del producto con un rendimiento del 93% y 15% de *ee*.[30]



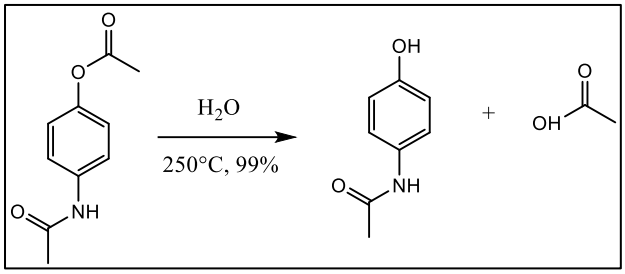
Esquema 2. Hidrólisis del éster metílico de *N*-Cbz-L-fenilglicina

2.7 Hidrólisis neutra de ésteres sin disolvente orgánico

El agua es considerada por muchos como un disolvente verde para llevar a cabo los procesos de reacción, a temperaturas elevadas tiene propiedades fisicoquímicas diferentes, por ejemplo, al aumentar la solubilidad de los compuestos orgánicos, el agua adquiere un carácter de disolvente orgánico. En especial a medida que el agua se calienta desde 25°C hasta 275 °C, la constante dieléctrica (ε) disminuye de 78 a 20, la constante de autoionización (Kw) aumenta de 10^{-14} a 10^{-11} y la densidad (ρ) del agua disminuye de 1 g cm^{-3} a 0,75 g cm^{-3}.[31]

Debido a que la constante K_w aumenta a temperaturas elevadas, también aumentan los procesos catalíticos ácido-base. Lo útil de las condiciones neutras es que evita las sales de desecho generadas por la neutralización del ácido o la base antes del aislamiento del producto.

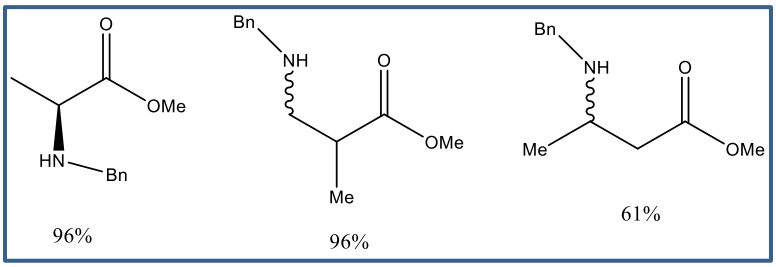
Charles L. Liotta *et al*. reportaron la hidrólisis selectiva del ester de acetato de 4-acetamidofenilo en agua, con un rendimiento de 99% en 30 minutos a 250 °C, (**Esquema 3**).[32]



Esquema 3. Hidrólisis en agua a temperaturas elevadas (WET) del grupo éster del acetato de 4-acetamidofenilo.

2.8 Hidrólisis neutra de ésteres con disolvente orgánico-H_2O

En nuestro grupo de investigación se llevaron a cabo reacciones de hidrólisis de α, β^2- y β^3- aminoésteres en medio hidroalcohólico en ausencia de catálisis ácida o básica empleando una solución de H_2O:MeOH (75:25), a reflujo durante 24 horas, con excelentes rendimientos de 96%, 96% y 61% para (±)-2-metil-3-(*N*-bencil)-propanoato de metilo, *N*-bencil-L-alaninato de metilo y (±)-3-metil-3-(N-bencil)-propanoato de metilo, respectivamente (**Esquema 4**), y se concluyó que la hidrólisis de α- y β^2-aminoésteres fue más eficiente que la de los β^3-aminoésteres.[33]



Esquema 4. Rendimiento de reacciones de hidrólisis de α-, β^2- y β^3-aminometilésteres.

2.9 Otras metodologías verdes de hidrólisis de aminoésteres

El uso de biocatalizadores como las enzimas son una gran alternativa para la síntesis verde, debido a que las reacciones ocurren a temperatura y presión ambiente. Asimismo, las enzimas se extraen de recursos renovables, son biodegradables, no tóxicas y estereoselectivas.

En el 2018 se estudió por primera vez la hidrólisis del éster metílico de aspirina (AME) con la lipasa CALB inmovilizada en presencia de diferentes disolventes como trioleína, cloroformo ($CHCl_3$) y diclorometano (DCM), así como el papel del agua, además se comparó su efecto con el método convencional mediante un baño de agitación con temperatura controlada. Las tasas de conversión aumentaron en un 11 %, 18 % y 23 % en trioleína, cloroformo ($CHCl_3$) y diclorometano (DCM), respectivamente. (**Figura 17**).[26]

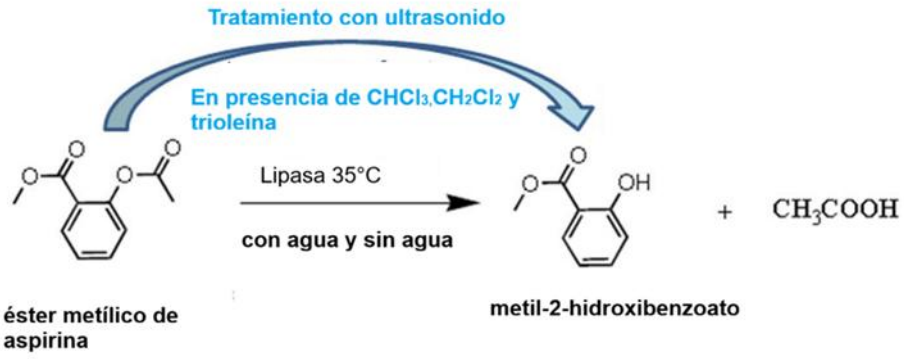


Figura 17. Lipasa CALB, usada para la hidrólisis del éster metílico de aspirina.

2.10 Péptidos

Un péptido es un copolímero de aminoácidos que están unidos covalentemente por medio de un enlace amida secundario (llamado enlace peptídico).[34] En general, una molécula compuesta por dos a veinte aminoácidos se llama oligopéptido y una cadena lineal única de más de 20 aminoácidos es un

polipéptido. Las proteínas son polipéptidos naturales y sintéticos que tienen pesos moleculares superiores a 10,000 Da de masa.[35]

Un método simple para sintetizar un dipéptido A–B sería unir el aminoácido A activado con carboxilo a otro aminoácido B. Sin embargo, esta reacción generará no solo el dipéptido A–B deseado, sino probablemente también un A–A (por autoconjugación) debido al grupo amino de A que compite. Los dipéptidos creados podrían reaccionar adicionalmente con A, ya que tienen grupos amino libres, formando oligopéptidos A–A–B, A–A–A o A–A–A–A. La reacción progresaría de forma descontrolada, produciendo una mezcla de productos de autocondensación (homopolímeros) y oligopéptidos del tipo A_nB.[36]

La estrategia para realizar la síntesis de péptidos de forma quimoselectiva consiste en ocultar la reactividad de los grupos en los aminoácidos que no van a formar parte del enlace peptídico antes de la etapa de unión de péptidos. Este proceso se logra transformando el grupo funcional involucrado en una forma que no reacciona (o que reacciona menos) al añadir un nuevo fragmento, conocido como **grupo protector**. Las reacciones químicas utilizadas para este propósito se conocen como reacciones de protección. Es importante notar que el uso de grupos protectores en una ruta de síntesis reduce su eficacia, ya que incrementa la cantidad de etapas, un paso para su protección y otro para su eliminación.

Por ejemplo, el procedimiento general para la formación de un tripéptido consiste en la **protección** de los grupos funcionales en los aminoácidos que no se pretenden incorporar en el enlace peptídico (paso 1).[37] Es vital que la protección sea reversible. En el paso 2, el enlace peptídico se lleva a cabo mediante la abstracción (**acoplamiento**) de una molécula de agua entre los grupos amino y carboxilo libres en los dos derivados de aminoácidos (**Figura 18**). El siguiente paso es la **desprotección** del grupo protector Pg^5 y la formación del segundo enlace peptídico. Esta eliminación específica de la protección de un grupo funcional, sin que se vea afectada la protección de los demás grupos, es lo más importante en la síntesis.[37]

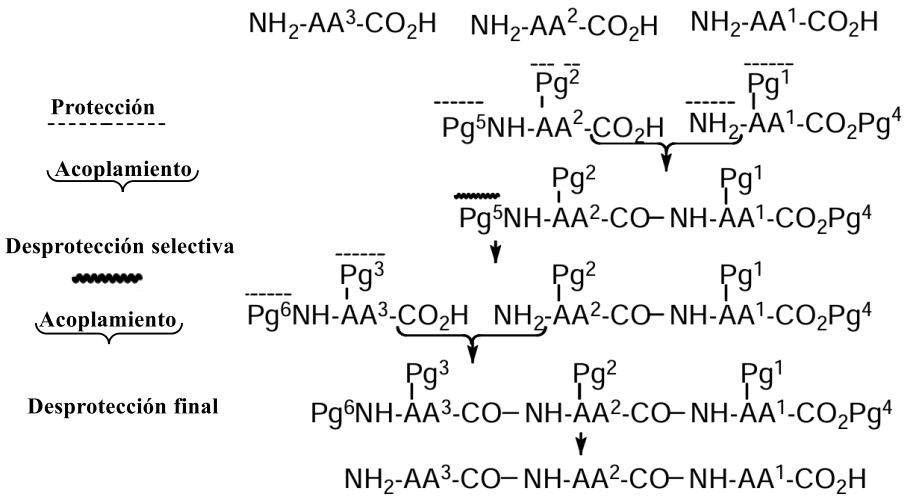


Figura 18. Enfoque general para la protección y la formación de enlaces amida en péptidos.

El grupo protector R-amino debe proporcionar solubilidad en los disolventes más habituales y también prevenir o reducir la epimerización durante el proceso de acoplamiento; su eliminación tiene que ser rápida, efectiva y sin reacciones indeseadas (**Figura 19**).

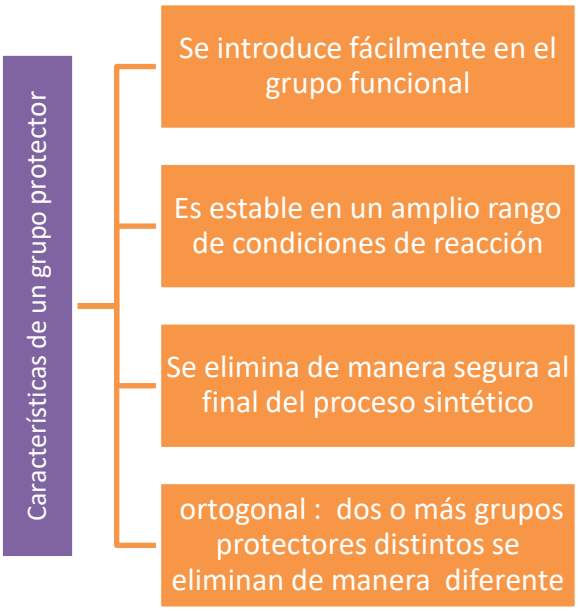


Figura 19. Características de un grupo protector.

2.11 Grupos protectores

- **Protección N-α-aminoácidos.**

Ocurre cuando un grupo α-amino se encuentra sustituido por un grupo funcional específico para disminuir su capacidad nucleofílica.

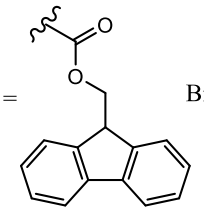
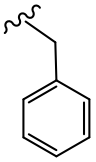
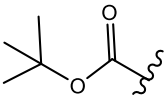
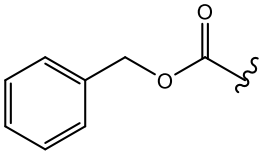
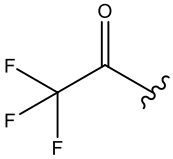
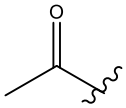
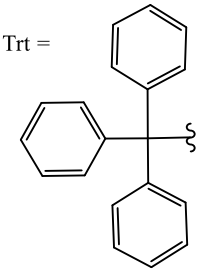
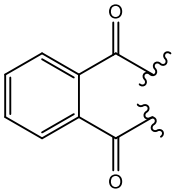
La eliminación de la protección del grupo N^{α} debe realizarse con un alto grado de selección; la protección N^{α} no debe intervenir de manera negativa (electrónica o estéricamente) en las reacciones del grupo carboxilo debido a su cercanía. Asimismo, es necesario que se generen derivados de aminoácidos que sean estables y que se puedan cristalizar.

Las condiciones rigurosas para un grupo que protege a un α-amino, y el logro de una adecuada N^{α}-protección ha sido complicado para el progreso en la creación de técnicas de acoplamiento efectivas.

Las protecciones de α-amino ácidos se pueden clasificar en diversos grupos. Los grupos pueden clasificarse en N^{α}-protecciones de tipo uretano como

benciloxicarbonilo (Cbz o Z), 9-Fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc), terc-butoxicarbonilo (Boc) y no-uretano, por ejemplo, trifluoroacetilo (Tfa), acilo (Ac), Ftaloilo (Phth), Trifenilmetilo (tritilo o Trt).

Tabla 3. Grupos Protectores de α-amino ácidos

Tipo	Ejemplos de Grupos Protectores (PG) de α-amino ácidos
Uretano	Fmoc =  Bn =  Boc =  Cbz o Z = 
No-uretano	Tfa =  Ac =  Trt =  Phth = 

- **Fmoc (9-Fluorenilmetoxicarbonilo).**

El Fmoc es un grupo protector tipo carbamato que fue incorporado para la fabricación de péptidos en los años setenta, por Carpino.[38] Este grupo es muy resistente a ácidos y, en buena medida, a la hidrogenación con catalizador, aunque una exposición prolongada a dicha hidrogenación puede descomponer el grupo. Esta notable reacción del Fmoc frente a la hidrogenación con catalizador se ha asociado con la estructura de β-feniletilóxido que puede separarse mediante el proceso de hidrogenólisis.

Este grupo protector es lábil en presencia de bases, la reacción es rápida con aminas primarias y secundarias, pero tiende a ser lenta con aminas terciarias (por ejemplo, trietilamina, *N*,*N*-diisoetilpropiletilamina).[39] Asimismo la eliminación en disolventes polares también conlleva velocidades de reacción más rápidas y la eliminación del grupo ocurre a través de un mecanismo E_1C_B, (**Figura 20**). La etapa que limita la reacción es la extracción del protón del anillo 9-fluorenilmetilo, lo que hace que la eliminación con aminas de impedimento estérico sea lenta y no se complete.

Entre las ventajas notables de este grupo se encuentra: una elevada capacidad de absorción en el ultravioleta.[40] Al llevar a cabo reacciones en soportes sólidos, se pueden utilizar esta valiosa propiedad para seguir el progreso de las reacciones de acoplamiento y eliminación de grupos protectores mediante fotometría.

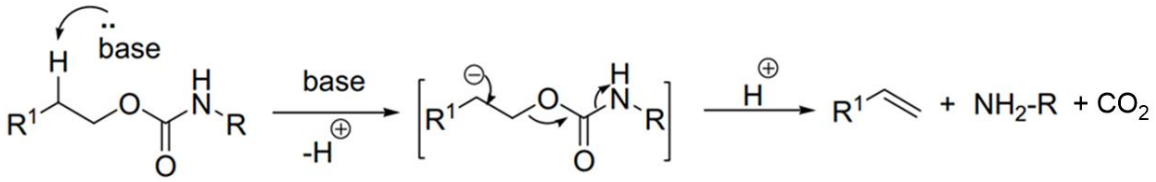


Figura 20. Mecanismo **E_1C_B** del grupo protector Fmoc.

- **Boc (tert-butoxicarbonilo)**

Para proteger una función amino en la síntesis, también se usa a menudo el carbamato de terc-butilo, debido a las ventajas del derivado Boc. La protección Boc se introdujo a fines de los años 50 y se adoptó rápidamente en la síntesis de

péptidos. Es resistente a la hidrogenación catalítica pero vulnerable ante condiciones ácidas leves. El grupo permanece inalterable en escenarios básicos y frente a la reducción ocasionada por Na en NH_3 líquido. Los métodos de desprotección convencionales conllevan el uso de ácidos fuertes, como el HCl, H_2SO_4 y condiciones básicas (NaOMe/MeOH-THF para pirroles, $Mg(OMe)_2$/MeOH para lactamas). Actualmente se han desarrollado otras alternativas como ácido trifluoroacético (TFA),[41] agua supercrítica,[42] ácidos de Lewis como $ZnBr_2$,[43] $Sn(OTf)_2$,[44] $FeCl_3$,[45] y disolventes eutécticos profundos (DES).[46]

La síntesis con $(Boc)_2O$ ofrece alta conversión en un breve periodo y a temperaturas reducidas. Este compuesto se encuentra disponible comercialmente, es duradero y puede almacenarse por períodos prolongados a temperaturas bajas y entornos sin humedad. Dadas estas características ventajosas, varias aminas, aminoácidos y péptidos suministrados por la industria farmacéutica se venden protegidos con Boc.

Entre los reactivos más utilizados para la síntesis de aminoácidos Boc protegidos podemos encontrar a di-tert-butildicarbonato $(Boc)_2O$ y el 2-(tert-butoxicarbonilóxido de imino)-2-fenilacetonitrilo (Boc-ON).

La capacidad de usar grupos de protección como Boc y Fmoc es importante. Estos grupos permiten proteger y desproteger de manera ortogonal, lo que significa que se puede eliminar un grupo protector sin afectar al otro. [47]

2.12 Actividad química y potencial químico.

La actividad de una sustancia, que a menudo se abrevia como “a”, se refiere a la concentración efectiva de esa sustancia en la mezcla de reacción.[48] Este concepto nos ayuda a representar un proceso real basándonos en un modelo ideal, como es el caso de una mezcla de agua y metanol (75:25).

En el caso ideal las concentraciones de agua y metanol las podemos expresar como fracciones molares, por el contrario, en el caso real como actividad.

La actividad es una magnitud adimensional y se calcula multiplicando el coeficiente de actividad γ por la concentración de la especie (C).[48]

$$a = \gamma \bullet C \qquad \textbf{Ecuación 1}$$

El coeficiente de actividad es un factor de corrección que cuantifica cuanto se desvía una solución de la idealidad (este factor depende la de la temperatura, la presión y la fuerza iónica del medio).

Para una mezcla liquida en estado no ideal, se emplean los conceptos de fugacidad (para gases) y actividad introducidos por G.N. Lewis, siendo el potencial químico para una mezcla liquida cualquiera :

$$\mu_i = g_i(T,p) + RT\ In\ a_i \qquad \textbf{Ecuación 2}$$

Esta ecuación nos indica a una temperatura y presión específica, un incremento en la actividad de un compuesto conlleva un aumento en el potencial químico del mismo.[49]

Para un sistema racional de actividades, g_i (T, p) se relaciona con el potencial químico del líquido puro μ_i^o (T,p).

$$g_i(T,p) = \mu_i^o(T,p) \qquad \textbf{Ecuación 3}$$

Por lo tanto, la ecuación 2 se convierte en

$$\mu_i = \mu_i^o + RT\ In\ a_i \qquad \textbf{Ecuación 4}$$

La actividad de un líquido puro es la unidad cuando $a_i = 1\ \ y\ \chi_i\ tiende\ a\ 1$ y por lo tanto $\mu_i = \mu_i^o$.

2.13 PROGRAMAS DE CÁLCULOS COMPUTACIONALES

2.13.1. SPARTAN

SPARTAN es un software que combina diferentes métodos químicos, como *ab initio*,[50] DFT,[51] semiempíricos[52] y mecánica molecular,[53] todo en una interfaz fácil de usar. Es popular entre químicos y, escuelas por su simplicidad y precisión, aunque a veces esto significa que algunos cálculos tardan más que otros programas.

Entre las características de SPARTAN, se incluyen la capacidad de calcular estados de transición, manipular coordenadas, así como herramientas de exploración y visualización.[53] El programa posee su propio sistema de gestión de trabajos, y estos se envían a la cola mediante un script que puede modificarse para hacer uso de un sistema de trabajos pendientes.[53,54]

2.13.2 Turbomol

En 1987 se desarrolló el programa Turbomol por el grupo del Prof. Reinhart, es un programa de química computacional *ab initio* que implementa varios métodos de química cuántica, la característica principal de este software se enfoca sobre todo en las técnicas de la estructura electrónica que tienen un balance costo-eficacia provechoso, como la teoría del funcional de la densidad (DFT), el método de Møller-Plesset de segundo orden y la teoría de clusters acoplados.[55] Continuamente se observan avances importantes, tales como la dinámica molecular no adiabática, métodos CC (Coupled cluster) ultra eficientes de orden superior, etc.

También cabe mencionar que investigadores de diversas áreas como la física, la biología y la medicina, emplean en la actualidad esta herramienta para apoyar su trabajo de investigación.[56]

2.13.3 COSMO-RS

COSMO-RS (Modelo de detección tipo conductor para disolventes reales),

representa el sistema mediante fragmentos de superficie, cuyos parámetros de interacción provienen del cálculo computacional.[57] Suele utilizarse para predecir el equilibrio gas-líquido, el equilibrio líquido-líquido y el equilibrio sólido-líquido, la presión de vapor de componentes puros y mezclas, el coeficiente de partición, el equilibrio de adsorción, la solubilidad, la entalpía de evaporación, el pKa y la viscosidad.[58]

Para realizar estos cálculos utiliza COSMO-RS un método de solvatación que considera el entorno como continuo, estableciendo la permitividad en un valor infinito (simulando un conductor ideal). Esto limita la carga de apantallamiento a la superficie, eliminando el campo eléctrico entre la molécula y el disolvente, así como la carga en el conductor.[59]

2.13.4 Teoría de COSMO-RS

Una descripción de la teoría básica de COSMO-RS parte de una molécula (Y) que bajo la condición de un apantallamiento ideal genera una densidad de carga de polarización (σ) en la interfaz entre la molécula y la superficie molecular (entorno de conductor virtual). Estos valores de σ del cálculo COSMO permiten extender el modelo a disolventes reales.

La energía de deformación resultante ($E_{mis\ fit}$) (**1**) de esta interacción electrostática puede calcularse, utilizando el área superficial de contacto efectiva (α_{effe}); las densidades de carga de apantallamiento netas, σ y σ' de los dos segmentos; α' el factor de energía.[60]

(**1**) $$E_{mis\ fit}(\sigma, \sigma') = \alpha_{eff}\ e_{mis\ fit}(\sigma + \sigma') = \alpha_{effe}\frac{\alpha'}{2}(\sigma + \sigma')^2$$

En caso de moléculas con polaridad alta como el agua, también será importante considerar las interacciones que se producen debido a los enlaces de hidrógeno (E_{hb}). Considerando esto se definieron a los donantes de enlaces de hidrógeno (σ_{don}) como segmentos con una densidad de carga de apantallamiento, menor que σ_{hb}, y a los aceptores como aquellos con una densidad de carga de apantallamiento, σ_{acc}, mayor que σ_{hb}.[61]

Klamt y Eckert propusieron la expresión de la contribución del hidrógeno E_{hb} como:

(**2**) $E_{hb}(\sigma, \sigma') = \alpha_{effCC\ hb}(T) \times min\ \{0, max[0, \sigma_{acc} - \sigma_{hb}]\ min[0, \sigma_{don} + \sigma_{\ hb}]\}$

siendo; $\sigma_{acc} = max\ [\sigma, \sigma']$ $\sigma_{don} = max\ [\sigma, \sigma']$

La energía total de interacción del fragmento (**3**) es:

(**3**) $e\ (\sigma, \sigma') = E_{mf}(\sigma, \sigma') + E_{hb}(\sigma, \sigma')$

Como únicamente se toma en cuenta la densidad de carga de apantallamiento ideal para definir los segmentos de superficie, para la caracterización total, solo es necesaria la distribución de la densidad de carga de apantallamiento $P_S(\sigma)$ (perfil σ) del sistema *S*.[60]

El potencial químico (**4**) del fragmento se puede calcular mediante:

(**4**) $\mu_s(\sigma) = -RT\ In\left[\int P_S(\sigma') e^{\left(\frac{a_{eff}(\mu_S(\sigma') - e(\sigma,\sigma'))}{RT}\right)} d\sigma'\right]$

La probabilidad $P_S(\sigma)$ (**5**) de encontrar un segmento con densidad de carga de apantallamiento σ en mezclas, se calcula usando sumas ponderadas. Esto se hace considerando la fracción molar x_i de los σ perfiles $P_i(\sigma)$ de los componentes puros del sistema *S*.[62]

(**5**) $P_s(\sigma) = \dfrac{\sum_i x_i A_i\ p_i(\sigma)}{\sum_i x_i\ A_i}$

El coeficiente de actividad (**6**) se determina únicamente a partir de estos datos:

(**6**) $\gamma_s^{\ j} = e^{\frac{\mu_S^j - \mu_L^j}{RT}}$

3. HIPÓTESIS

¿Se podrá llevar a cabo la hidrólisis de α-aminometil ésteres N-protegidos con Fmoc, Bn y Boc en presencia de una mezcla hidroalcohólica (agua-metanol) (75:25)? Si es así, ¿Los cálculos teóricos nos ayudarán a justificar los resultados experimentales?

4. JUSTIFICACIÓN

A partir de los resultados de hidrolisis por parte de Alexa,[33] de α-, β^2- y β^3 -aminoésteres con el mismo patrón de sustitución y rendimiento de 96, 96 y 61% respectivamente (**Figura 21**), bajo las condiciones 75:25 (agua: metanol) a reflujo se llevará a cabo esta misma metodología para α-aminoésteres N-protegidos con Boc, Bn y Fmoc.

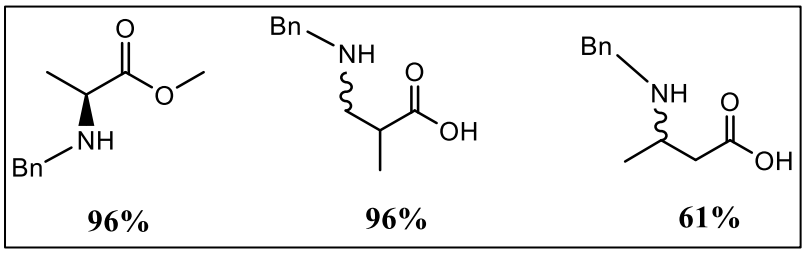


Figura 21. Porcentaje de hidrólisis del α-, β^2- y β^3-aminoésteres con el mismo patrón de sustitución.

Generalmente, la reacción de hidrólisis de ésteres es catalizada por ácidos o bases fuertes a reflujo, sin embargo, esta metodología genera subproductos que dan a lugar a residuos contaminantes y peligrosos al ambiente, lo cual es algo indeseable en química verde. Por lo tanto, en el presente proyecto se desarrollará una metodología ambientalmente amigable y enfocada en la química verde: “ ***Hidrólisis de amino-ésteres en una mezcla binaria 75:25 (agua: metanol) sin catalizador ácido o básico”***

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar y cuantificar reacciones de hidrólisis para α-aminometil-ésteres N-protegidos en una mezcla agua:metanol (75:25), así como, análisis del rendimiento de reacción y caracterización de los mismos.

5.2 Objetivos específicos

- Sintetizar y caracterizar espectroscópicamente los siguientes α-aminometil ésteres *N*-protegidos, (**Figura 22**):

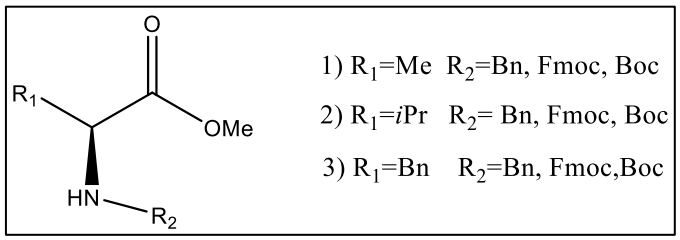


Figura 22. Esteres metílicos de L-Alanina, L-Valina y L-Fenilalanina.

- Efectuar las reacciones de hidrólisis de α-amino metil ésteres *N*-protegidos y *N*-protegidos desprotegidos en un sistema 75:25 (H_2O:MeOH) a reflujo.
- Analizar la reactividad y medir el porcentaje de reacción de la hidrólisis de α-aminoésteres *N*-protegidos.
- Sintetizar e hidrolizar el dipéptido Fmoc-L-Ala-L-Phe-OMe.
- Validar los datos experimentales con cálculos teóricos de la hidrólisis del Fmoc-L-Phe-OMe en diferentes sistemas 75:25, 20:80 y 10:90 (H_2O:MeOH).

6. METODOLOGÍA GENERAL DE SÍNTESIS

Se presenta a continuación la metodología para la síntesis de α-aminoésteres, así como su hidrólisis en condiciones verdes (**Figura 23**).

Paso A) Primero se llevará a cabo un proceso de esterificación, donde el ácido carboxílico del aminoácido es transformado en haluro de acilo con cloruro de tionilo, después el grupo haluro de acilo es tratado con un alcohol para formar el α-aminoéster correspondiente.

Paso B), C) y D) Partiendo del α-amino-metiléster correspondiente, se realizará la Fmoc protección, después la N-protección con Bencilo (Bn), y finalmente la Boc protección , respectivamente.

Paso E) Corresponde a la hidrólisis de los ésteres sintetizados en condiciones amigables con el medio ambiente, H_2O:MeOH (75:25) a reflujo por 24 h.

Paso F) Hidrolizar los esteres formados en el **paso A)** bajo las condiciones antes mencionadas**.**

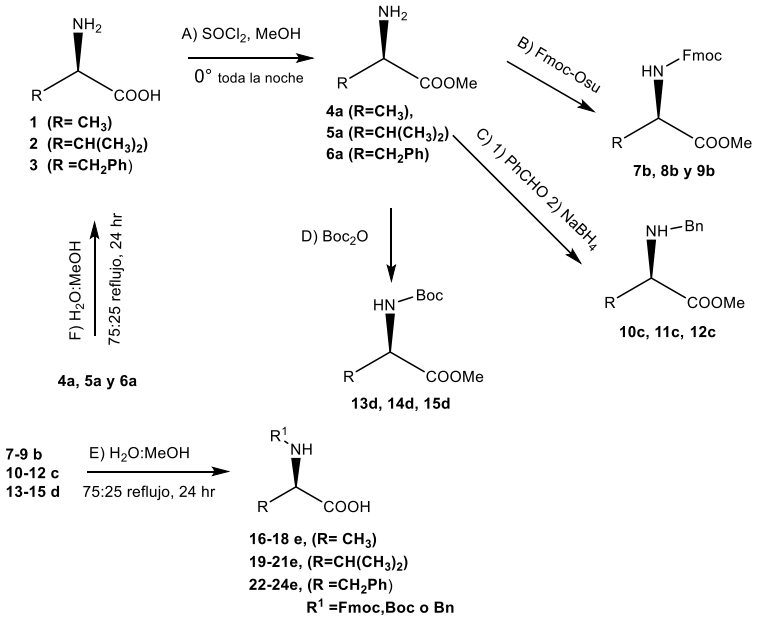


Figura 23. Metodología experimental de protección *N*-Fmoc, *N*-Bn y *N*-Boc de α-aminoésteres y su hidrólisis.

En una metodología alterna, primero se hará la *N*-protección [**Pasos A)**, **B)** y **C)**], seguida de la esterificación del grupo carboxílico (**Figura 24**). Finalmente, en el **Paso E)** se llevará a cabo la hidrólisis durante 24 horas a reflujo en un sistema 75:25 H_2O:MeOH. Y en el **Paso F)**, **4a,5a y 6a** se hidrolizan, en las condiciones anteriormente mencionadas.

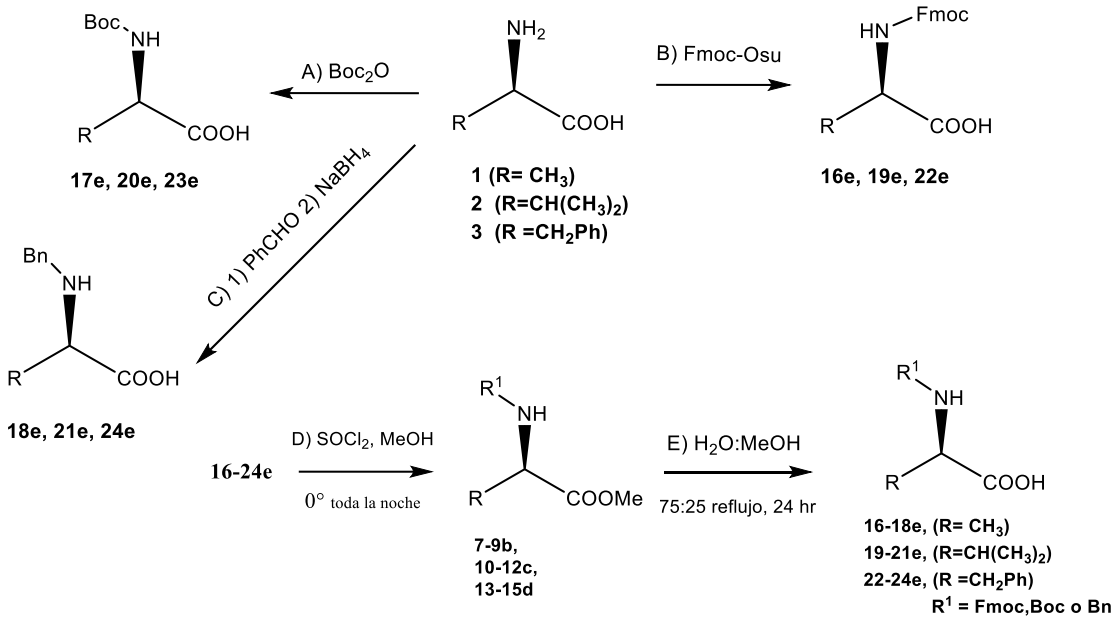


Figura 24. Metodología experimental alternativa para la protección *N*-Fmoc, *N*-Bn y *N*-Boc de α-aminoésteres y su hidrólisis.

Para la síntesis del péptido (((9*H*-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-L-alanil-fenilalaninato de metilo se partirá del L-fenilalaninato de metilo y (((9*H*-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-L-alaninato, para hacer el acoplamiento se usará el clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropilo)-*N′*-etilcarbodiimida como agente activante y una base ($NaHCO_3$), después de adicionar acetato de etilo, se agitará durante aprox.1 hr. **(Paso F).** Una vez sintetizado el péptido se llevará a cabo su hidrólisis **(Paso E)**, en las condiciones antes mencionadas, 75:25 (H_2O:MeOH) a reflujo, durante 24 hr (**Figura 25**).

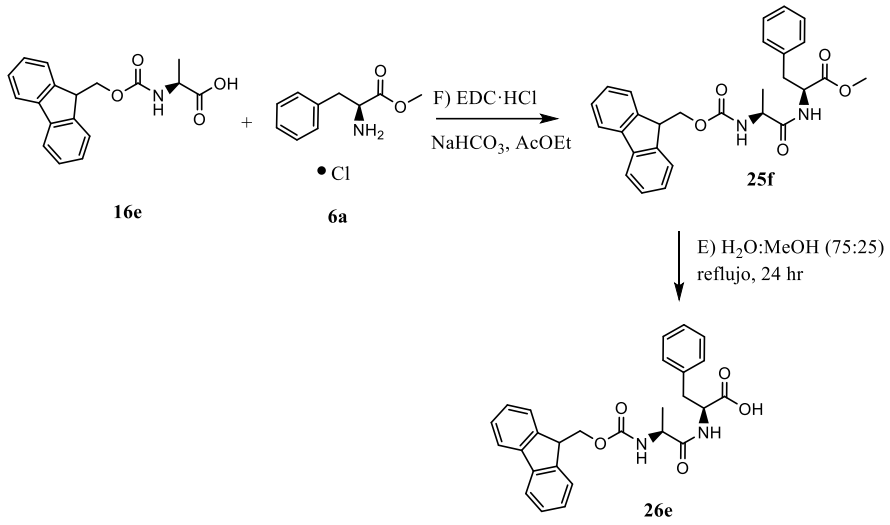


Figura 25. Metodología de síntesis del péptido y su hidrólisis.

6.1 Procedimiento general para la esterificación de aminoácidos (PG-A)

En un matraz bola de 50 mL se colocó una barra de agitación magnética, se añadió 1 mmol del sustrato a esterificar, y se suspendió en un volumen de metanol de grado HPLC (10 mL). Se selló el matraz con un tapón de septum y se purgó con nitrógeno. Después, se colocó el matraz en un baño de hielo a 0 °C, y con una jeringa se incorporó lentamente 1.2 equivalentes de cloruro de tionilo. Una vez realizada la adición, se retiró el baño de hielo y se dejó en agitación a temperatura ambiente durante toda la noche (aproximadamente 16 horas) en una atmósfera de nitrógeno. Al finalizar este tiempo, se evaporó la mezcla y se añadió al producto crudo 15 mL de agua destilada, ajustando el pH entre 8 y 9 con bicarbonato de sodio. Después, se llevaron a cabo extracciones con acetato de etilo a volúmenes iguales, repitiéndose tres veces. La fase orgánica se secó con sulfato de magnesio y se filtró utilizando un embudo de decantación y algodón. Finalmente, la fase orgánica se evaporó al vacío y se monitorearon los productos obtenidos mediante cromatografía en capa fina.
Los ésteres generados a través de esta metodología fueron: **4a, 5a, 6a**,**7b y 8b**

6.2 Procedimiento general para la Fmoc-protección (PG-B)

Se disolvió 2.1 mmol de L-alanina en 5 mL de agua en un matraz bola de 50 mL. En un matraz de precipitado se adicionó 20 mL de agua y 2 equivalentes de Na_2CO_3. Posteriormente, se mezcló el aminoácido L-alanina con la solución de Na_2CO_3, con una barra de agitación. Se añadió a la mezcla Fmoc-Osu en 12.5 mL de acetona. Después se midió el pH el cual estaba entre 9-10, al pasó de 3 h en agitación la reacción culminó, y se evaporó a vacío la acetona restante. El crudo fue lavado con AcOEt, secado con $MgSO_4$, y concentrado a vació. La reacción fue monitoreada en un sistema *n*-butanol: agua: AcOH,(4:1:1).
Los compuestos Fmoc-protegidos a través de esta metodología fueron **16e** y **9b**

6.3 Procedimiento general para la *N*-bencilación (PG-C)

En un matraz bola de 50 mL con barra de agitación se disolvió (1.72 mmol, 1 eq) del aminoéster correspondiente en 2 mL de CH_2Cl_2, después se añadió un equivalente de benzaldehído, 10 gotas de CH_3OH, y unos cristales de *p*-TsOH como catalizador, se deja en agitación 1 h. Finalmente se agregó 2eq de un agente reductor, en este caso $NaBH_4$ durante 2 h se agitó y se concentró a sequedad. Se monitorio la reacción con CCF en un sistema 8:2 hexano:acetato, se purificó por columna en gradiente. El tiempo total de reacción fue de 3 horas. Los productos **11c** y **12c** fueron sintetizados a través de este procedimiento general.

6.4 Procedimiento general para la Boc-protección (PG-D)

En un matraz bola de 50 mL, se pesó un equivalente del amino ester y se adicionó Et_3N (3 eq), después se agregó en un disolvente donde fue soluble la materia prima, (CH_2Cl_2). Por último, se añadieron dos equivalentes de $(Boc)_2O$ a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante la noche. Se filtró la mezcla y el filtrado se lavó con ácido cítrico acuoso. La fase orgánica se concentró para obtener el (*terc*-butoxicarbonil)-L-aminometil ester, respectivo. A partir de este método, se sintetizaron los compuestos **13d,14d y 15d. Para el 15d se usó etanol como disolvente** y en lugar de una base se agregó la resina de Intercambio de Iones Amberlyst-15 (7–10% w/w) como ácido para aumentar la velocidad de la reacción. En cambio, **en el producto 15d se empleó acetonitrilo como disolvente** y después se agregó la base 4-dimetilaminopiridina (DMAP).

6.5 Procedimiento general para la hidrólisis de α-aminometil ésteres (PG-E)

En un matraz de 50 mL con un agitador magnético, se añadieron 1 mmol del α-aminometil ester-*N*-protegido, después se agregó 5 mL de metanol y 15 mL de agua para hacer una solución de 0.05 M. Luego, se calentó la mezcla a reflujo durante 24 horas. Al finalizar el tiempo de reacción, se evaporó a vacío. Durante este proceso, se concentró la solución sin dejar que se secara completamente; a

medida que se evaporaba el metanol, se pudo observar la formación de un sólido blanco. El sólido obtenido fue filtrado y lavado con diclorometano. Se llevó a cabo el seguimiento de la reacción mediante cromatografía en capa fina usando un sistema de aminoácidos y revelado en ninhidrina.

Los productos obtenidos por esta metodología fueron: **1, 2, 3, 18e** (fue obtenido por Alexa *et al.*),[33] **21e y 24e**.

Para la hidrólisis de los reactivos se empleó 1 mmol excepto para **8b,14d** y **5a** donde solo se utilizó 0.05 , 0.5 y 0.5 mmoles, respectivamente, pero la concentración molar del sustrato fue 0.05 M, para todos los casos, **Tabla 9**.

6.6 Síntesis de péptido Fmoc-*L*-Ala-*L*-Phe-OMe (PG-F)

Una mezcla de PG-L-ALA-OH (PG = Fmoc), HCl·H_2N-L-PheOMe, EDC·HCl y $NaHCO_3$ en 10 mL de AcOEt se agitó durante 60 minutos. El crudo de reacción fue extraído con acetato de etilo y agua. La fase orgánica fue secada sobre sulfato de sodio y evaporada a presión reducida para obtener el péptido. Finalmente se obtuvo un sólido blanco con un rendimiento de 32.3 %.

6.7 Hidrólisis de péptido Fmoc-*L*-Ala-*L*-Phe-OMe (PG-E)

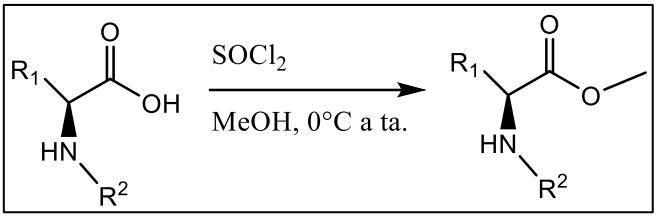
La reacción de hidrólisis de péptido Fmoc-L-Ala-L-Phe-OMe **11** se suspendió en una mezcla 1.44 mL agua destilada y 0.48 mL metanol para obtener una solución 0.05 M. se calentó a temperatura de reflujo y se dejó durante 24 horas, sin embargo, no se obtuvo el producto. Para seguir la reacción se utilizó cromatografía en capa fina (CCF) en un sistema hexano:acetato de etilo (6:4).

6.8 Reacción de esterificación. Procedimiento A (PA)

En general se destacan de buenos a excelentes los rendimientos para los α-aminoácidos: **1, 2, 3** ,**16e** y **19e** en la reacción de esterificación. Los compuestos Fmoc-L-Ala-OH (**16e**) y Fmoc-L-Valina-OH (**19e**) se esterificaron con un rendimiento cuantitativo durante toda la noche (16h) con un rendimiento

cuantitativo; en cambio para esterificar **5a** y **6a** se dejó la reacción durante 3 días, sin embargo, no se logró aumentar el rendimiento,
(Tabla 3).

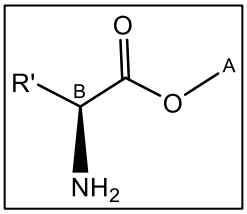
Tabla 3**.** Síntesis de ésteres a partir de derivados de α-aminoácidos.



Reactivo (mmol)	R^1	R^2	Producto	Rendimiento (%)	p.f (°C)	Tiempo (h)
16e (1.5)	CH_3	Fmoc	**7b**	98	108-110	16
19e (1.5)	*i*-Pr	Fmoc	**8b**	Cuantitativo	>300	18
1(10)	CH_3	H	**4a**	43	78-80	21
2 (9)	i-Pr	H	**5a**	60	Líquido	72
3(10)	Bn	H	**6a**	85	Líquido	72

Para la síntesis de **4a**, **5a** y **6a** se usaron los reactivos **1**, **2** y **3** que son los aminoácidos libres, los cuales dieron rendimientos moderados 43, 60 y 85 % respectivamente, **Tabla 3**. Al caracterizarlos con ^{1}H RMN para todos tenemos la señal de grupo metilo del éster como singulete en un intervalo de 3.68-3.84 ppm esto indica que se formó el ester metílico correspondiente, **Tabla 4**.

Tabla 4. Desplazamientos químicos (ppm) de ^{1}H RMN (80 MHz) de los aminoésteres **4a** ,**5a** y **6a** (500 MHz).

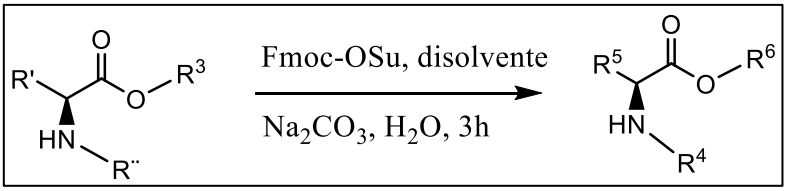


Compuesto	R´ δ (ppm)	OCH_3 (A) δ (ppm)	H(B) δ (ppm)
4a	CH_3:1.55	3.84	4.12
5a	*i*-Pr: 2.24 – 1.84 0.97 0.89	3.71	3.51 – 3.17
6a	Bn: 3.01, 2.92 7.31-7.27, 7.24- 7.21, 7.19- 7.17	3.68	3.71

6.9 Reacción de protección con Fmoc-Osu (N-(9-fluorenilmetoxicarboniloxi) succinimida), procedimiento B (PB)

Se partió del aminoácido L-valina después se protegió con Fmoc para obtener **16e** con rendimiento del 99%, este procedimiento pertenece a la metodología experimental alternativa (**Figura 17**), mientras que para la síntesis de **9b** se partió del aminometil-éster de fenilalanina, **Tabla 5**.

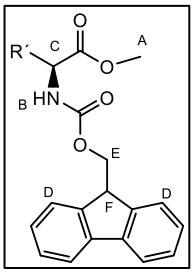
Tabla 5. Reacción Fmoc-protección de **1** y **6a**.



Reactivo (mmol)	R’	R´´	R^3	Producto	R^4	R^5	R^6	Rend. %	p.f (°C)
1 (2.1)	CH_3	H	H	**16e**	Fmoc	CH_3	H	Cuantitativo	130-132
6a (3)	Bn	H	CH_3	**9b**	Fmoc	Bn	CH_3	Cuantitativo	Líquido

Los desplazamientos de los hidrógenos aromáticos de los compuesto **7b, 8b, 9b** se encuentran en un intervalo de 7.4 ppm hasta 7.94 ppm, en el espectro de RMN ^{1}H,**Tabla 6**. Asimismo, los hidrógenos metílicos y metilenos del grupo Fmoc de **9b** se desplazan más a campo bajo 4.62-4.52 ppm en comparación con **7b** y **8b**, **Tabla 6**.

Tabla 6. Desplazamientos químicos (ppm) de ^{1}H RMN (600 MHz) de los compuestos **7b**, **8b** y **9b** de (500 MHz).

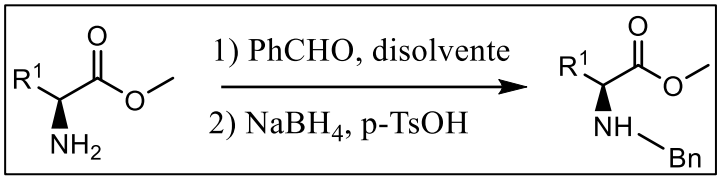


Compuesto	R´	δ(ppm) OCH_3 (A)	δ(ppm) H(C)	δ (ppm) NH(B)	δ (ppm) $CHCH_2$-Fmoc (E,F)	δ (ppm) Aromáticos Fmoc (D)
7b	**CH_3 =** 1.43	3.76	4.23	5.46	4.45-4.35	7.77, 7.61 ,7.43 – 7.25
8b	***i*-Pr =** 2.18, 0.98, 0.92	3.76	4.24	5.32	4.44 – 4.37, 4.32	7.77, 7.61 ,7.40 7.32
9b	**Bn =** 3.16, 3.10, 7.57, 7.52 – 7.48	3.74	4.85	5.45	4.62, 4.52, 4.38.	7.94, 7.79, 7.74

7. Reacción Bencilación. Procedimiento C (PC)

En la reacción de bencilación de L-Val-OMe y L-Phe-OMe, los productos **11c** y **12c** se obtuvieron con un rendimiento del 70 y 37 %, y en un tiempo de 2.5 y 4h respectivamente, **Tabla 7**.

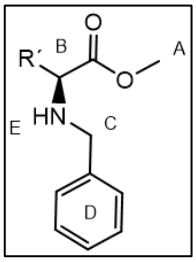
Tabla 7. Reacción *N*-Bencilación de los α-aminometil-ésteres **5a** y **6a.**



Reactivo (mmol)	**R^1**	**Producto**	**Rendimiento %**	**p.f (°C)**	**Tiempo (h)**
5a (1.72)	*i*-Pr	**11c**	70	Aceite	2.5
6a (1.5)	Bn	**12c**	37	Líquido	4

En el espectro de RMN ^{1}H, Los protones del grupo **Bn** en Bn-Phe-OMe (**12c**) se encuentran más desprotegidos (cerca al nitrógeno de la amina, el cual es de mayor electronegatividad) 7.45 – 7.39 ppm (5H) vs 7.39 –7.30 ppm (en **11c**). Sin embargo, el hidrógeno N**H** de **5a** se encuentra a 5.29 ppm en comparación de **12c,** que se desplaza a 4.83 ppm (N**H**), (**Tabla 8**).

Tabla 8. Desplazamientos químicos (ppm) de ^{1}H RMN (MHz) de los compuestos **5a** y **12c**.

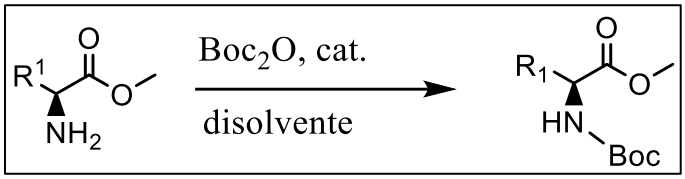


Compuesto	**R´**	**δ(ppm) OCH_3 (A)**	**δ(ppm) H(B)**	**δ(ppm) NH(E)**	**δ(ppm) CH_2 (C)**	**δ (ppm) Aromáticos Bn (D)**
11c	i-Pr: 0.96,0.92, 2.02 – 1.90	3.72	3.02	5.29	3.87 y 3.60	7.39 –7.30
12c	Bn: 3.13 7.38 – 7.35, 7.33 – 7.29	3.79	3.70	4.83	3.97-3.81	7.45 – 7.39

7.1 Reacción de protección con Boc_2O dicarbonato de di-*terc-butilo.* Procedimiento D (PD)

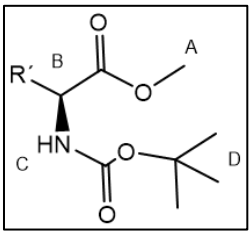
Los compuestos **2b**, **5** y **9** se obtuvieron con buenos a excelentes rendimientos bajo diferentes condiciones, ver **Tabla 9**. En la **Tabla 10** se observa que el hidrógeno (**B**) aumenta su desplazamiento en comparación de **2b** y **5**, ya que el grupo fenilo de (**9**) desapantalla más a estos hidrógenos. Además, se observan señales de hidrógenos del grupo *tert*-butilo que caen en un intervalo de 1.41-1.42 ppm.

Tabla 9.Reacción de Boc-Protección de α-aminometil-ésteres **4a**, **5a** y **6a**.



Reactivo	R^1	Producto	Cat.	Disolvente	Rendimiento %	p.f (°C)	mmol	Tiempo
4a	CH_3	**13d**	NEt_3	CH_2Cl_2	Cuantitativo	28-30	5	16 h
5a	*i*-Pr	**14d**	DMAP	MeCN	86	Líquido	1	3 h
6a	Bn	**15d**	Amberlyst-15	EtOH	48	Líquido	2.1	20 min

Tabla 10. Desplazamientos químicos (ppm) de ^{1}H RMN de los compuestos **13d** (500 MHz), **14d** (80Mhz) y **15d** (600 Mhz).

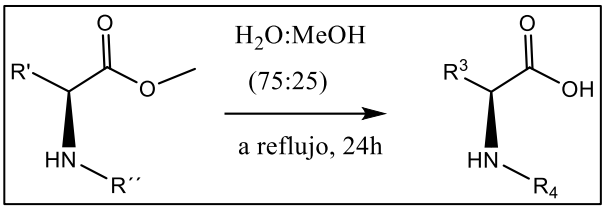


Compuesto	δ(ppm) R´	δ(ppm) OCH_3(A)	δ(ppm) H(B)	δ(ppm) NH(B)	δ(ppm) $C(CH_3)_3$(D)
13d	CH_3 = 1.35	3.72	4.35-4.25	5.04	1.42
14d	*i*-Pr =0.94, 0.86, 2.07	3.71	4.26 – 4.05	5.02	1.42
15d	Bn = 3.0,2.97 7.48 – 7.28	3.7	4.73	5.13	1.41

7.2 Reacciones de Hidrólisis. Procedimiento E (PE)

En la reacción de hidrólisis para los aminoésteres *N*-Bencilados de L-Ala **10c** y L-Val **11c** dieron rendimientos de 96 % y 88 % respectivamente; para L-Phe **12c** fue del 16 % (**Tabla 11**). Cuando se hidrolizaron los compuestos **13b**, **14d** y **15d** primero ocurrió una Boc-desprotección (una reacción no deseada) y después se hidrolizó al aminoácido correspondiente con excelentes rendimientos, (**Tabla 11**).
Por otra parte, los *N*-Fmoc-aminoésteres de L-Alanina (**7b**) y L-Fenilalanina (**9b**) no reaccionaron, y el Fmoc-valina-OMe (**8b**) se desprotege e hidroliza al mismo tiempo con un rendimiento del 36 %. Para los aminoésteres no *N*-sustituidos **4a**, **5a** y **6a** los productos fueron los aminoácidos correspondientes **1** (19 %), **2** y **3** con excelentes rendimientos (90 y 85 %). Cabe destacar que los resultados, pueden ser predecibles conociendo que los grupos Boc y Fmoc se desprotegen en condiciones ácidas o básicas y el agua puede intervenir en la desprotección actuando como ácido o base fuerte a altas temperaturas, pero sin aumentar su pH.

Tabla 11. Hidrólisis de los α-aminometil-ésteres-*N*-protegidos con H_2O:MeOH (75:25)



Reactivo (mmol)	**R'**	**R''**	**Producto**	**R^3**	**R^4**	**Rendimiento %**	**p.f (°C)**
7b (1 mmol)	CH_3	Fmoc	-	-	-	-	108-110
13b (1 mmol)	CH_3	Boc	**1**	CH_3	H	98	28-30
10c	CH_3	Bn	**18e**	CH_3	Bn	96	226-230
8b (0.05 mmol)	*i*-Pr	Fmoc	**2**	i-Pr	H	36	>300
14d (0.5 mmol)	i-Pr	Boc	**2**	i-Pr	H	98	Líquido
11c (1 mmol)	i-Pr	Bn	**21e**	i-Pr	Bn	88	Aceite
9b (1 mmol)*	Bn	Fmoc	-	-	-	-	Líquido
15d (1 mmol)	Bn	Boc	**3**	Bn	H	71	Líquido
12c (1 mmol)	Bn	Bn	**24e**	Bn	Bn	16	38-40
4a (1 mmol)	CH_3	H	**1**	CH_3	H	19	295-297
5a (0.5 mmol)	*i*-Pr	H	**2**	*i*-Pr	H	90	296-298
6a (1 mmol)	Bn	H	**3**	Bn	H	85	282-284

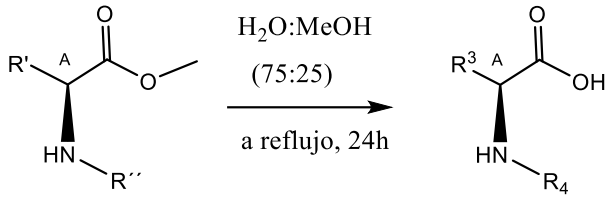
***Reacciona en sistemas 20:80 y 10:90 H_2O:MeOH, ver Tabla 11.**

En el espectro de RMN ^1H, las señales del grupo metoxilo en 3.72 y 3.79 ppm de **11c** y **12c**, desaparecen al hidrolizarlos para dar los α-aminoácidos **21e** y **24e.** En los compuestos **13d, 14d** y **15d** al hidrolizarse se desprotege el grupo Boc y da como producto el aminoácido correspondiente L-Alanina (**1**), L-Valina (**2**) y L-fenilalanina (**3**), esto también ocurre con los reactivos **8b** y **9b** (reacciona en los sistemas 10:90 y 20:80 H_2O:MeOH), **Tabla 12 y 13**.

También, en la tabla anteriormente mencionada vemos que el hidrógeno (**A**) aumenta su desplazamiento desde 3.65 ppm < 4.07 – 3.79 ppm < 4.25 – 4.05

ppm, para L-Ala, L-Phe y L-Val respectivamente.

Tabla 12. Desplazamientos químicos (ppm) de ^{1}H RMN (500, 600 y 80 MHz) de los aminoésteres hidrolizados.



Reactivo			Producto			
Compuesto	**R´**	**R´´**	**δ(ppm) R^3**	**δ(ppm) R^4**	**Compuesto**	**δ(ppm) H(A)**
13d	CH_3	**Boc**	**CH_3** = 1.34	H	**1**	3.65
10c	CH_3	**Bn**	**CH_3=**1.64	**Bn=** 7.40-7.62 4.28.	**18e**	4.11
8b, 14d	*i*-Pr	**Fmoc, Boc**	***i*-Pr=** 2.15 – 1.83, 0.93, 0.84.	H	**2**	4.25 – 4.05
11c	*i*-Pr	**Bn**	***i*-Pr=** 2.46 – 2.36, 1.08, 0.99	**Bn=**7.59 – 7.53, 7.44 – 7.38, 4.28	**21e**	3.81
9b 15d	Bn	**Fmoc, Boc**	**Bn=** 7.21 – 6.95, 3.12 – 2.84.	H	**3**	4.07 – 3.79
12c	Bn	**Bn**	**Bn=** 7.36 – 7.27, 3.42, 3.24	**Bn=** 7.54 – 7.50, 7.47 – 7.43, 4.26	**24e**	4.22

Asimismo, se probó la reacción de hidrólisis de **12c** en diferentes proporciones (H_2O:MeOH) y logró reaccionar en los sistemas 20:80 y 10:90 (H_2O:MeOH), **Tabla 13**. Con estos resultados se intuye que el rendimiento y las condiciones de reacción tienen relación con la solubilidad y actividad termodinámica de cada aminoéster *N*-protegido.

Tabla 13. Hidrólisis de Fmoc-L-Phe-OMe en diferentes sistemas

Sistema	**75:25**	**20:80**	**10:90**
Fmoc-Phe-OMe	No hubo reacción	Si hubo reacción*****	6% de L-Phe

*** No se cuantifico el producto de reacción.**

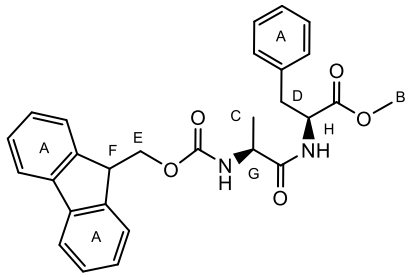
7.3 Síntesis del péptido, Procedimiento F (PF).

Finalmente se realizó la síntesis del péptido Fmoc-L-Ala-L-Phe-OMe, el metilo del ester en encuentra en 3.49 ppm, las señales multipletes en un intervalo de 8.27–7.31 ppm que integran a 13H para los hidrógenos aromáticos (**Tabla 14**), lo que indica la formación del péptido. Después se hidrolizó sin formar el producto deseado.

Tabla 14. Rendimiento del producto e hidrólisis del péptido.

Péptido	**Formación del péptido**	**Reacción de hidrólisis. (75:25 H_2O:MeOH a reflujo)**
Fmoc-L-Ala-*L*-Phe-OMe	32 %	0 %

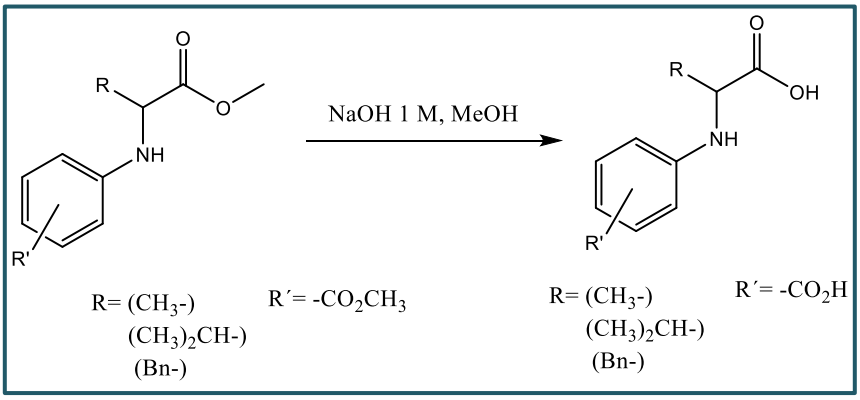
Tabla 15. desplazamientos químicos (ppm) de ^{1}H RMN del péptido (80 MHz).



δ(ppm) N(H)	δ(ppm) H(D)	δ(ppm) H(A)	δ(ppm) H(B)	δ(ppm) H(C)	δ(ppm) H(E)	δ(ppm) H (F,G,H)
6.08 (s, 1H), 5.47 – 4.95 (m, 1H)	3.65 – 3.31 (m, 2H, $PhCH_2$)	8.27– 7.31 (m, 13H)	3.49 (d, J = 6.1 Hz, 3H)	1.71 – 1.56 (m, CH_3)	4.38 (s, 2H, CH_2-Fmoc)	4.09 (s, 3H, CH)

7.4 Contraste de la metodología aplicada vs tradicional.

Tabla 16. Hidrolisis de α-aminoésteres N-arílicos con NaOH 1M.



Producto	Condiciones	Tiempo (h)	Rendimiento (%)
N-(3'-Carboxifenil)-L-alanina	NaOH 1 M (1,1 mmol) MeOH (5 mL)	22	90
N-(3'-Carboxifenil)-L-valina	NaOH 1 M (1,1 mmol) MeOH (5 mL)	20	87
N-(3'-Carboxifenil)-L-fenilalanina	NaOH 1 M (1,1 mmol) MeOH (5 mL)	26	88

Jasim M. Al-Rawi y colaboradores hidrolizaron α-aminoésteres N-arílicos de alanina, valina y fenilalanina, con buenos rendimientos (88-90%) en 22, 20 y 26 h, respectivamente.[63] En contraste con la metodología aplicada en la que se utilizó H_2O:MeOH (75:25) a reflujo para los N-Bencil-aminoésteres (**18e**, **21e**, **24e**) se obtuvieron excelentes rendimientos (96-70%), (**Tabla 11)** en 24 h, sin utilizar una base fuerte (NaOH), que requiere ser neutralizada después con ácido (HCl).

8. MÉTODO TEÓRICO

Para predecir la solubilidad y actividad teórica de Fmoc-Phe-OMe sintetizado, se constituyó primero del cálculo mecánico cuántico con Turbomol, seguido del método COSMO a fin de estimar la solubilidad.

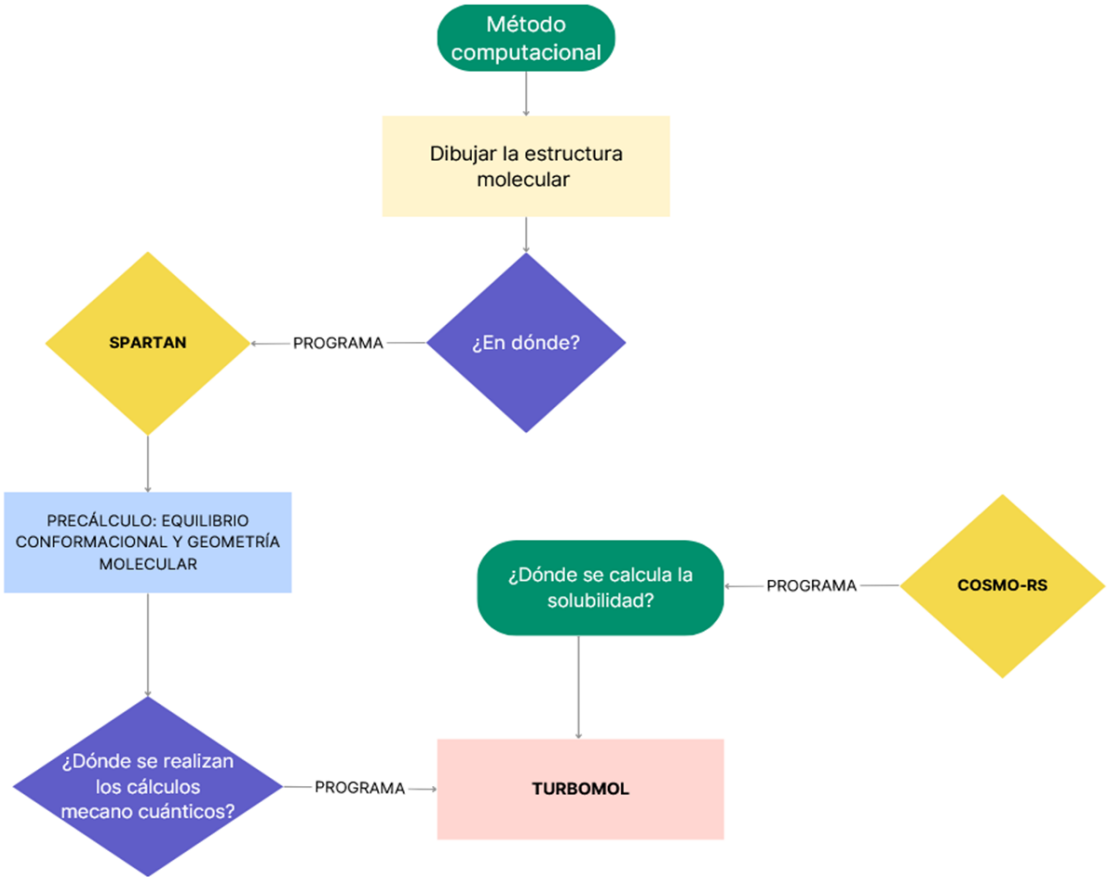


Figura 26. Procedimiento del método teórico para calcular la solubilidad y actividad teórica.

8.1 Estudio teórico de la reacción de hidrólisis de metil-(((9*H*-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-L-fenilalaninato en una mezcla 10:90 H_2O:MeOH

Para comenzar el estudio teórico sobre cómo afecta la solubilidad y actividad termodinámica en la hidrolisis del compuesto **9b, Figura 26**. Primero se calculó la actividad del agua en la mezcla H_2O:MeOH en diferentes proporciones (75:25) , (20:80) y (10:90), (**Tabla 17**). En esta tabla vemos que la mayor actividad (0.8305) se presenta para el sistema H_2O:MeOH (75:25), esto quiere decir que en esas condiciones el agua (teóricamente) sería más reactiva y capaz de realizar la hidrólisis. Sin embargo, cuando se tiene en cuenta a la actividad (en este caso gamma) y la solubilidad del compuesto **9b** en la solución (H_2O:MeOH), podemos notar en las **Tablas 18 y 19**, que el factor que determina la hidrólisis del aminoéster es la solubilidad.

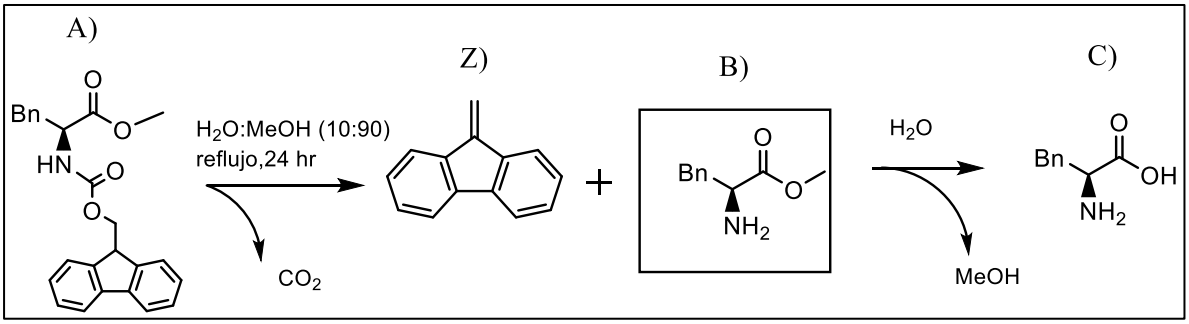
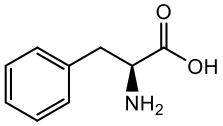
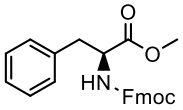
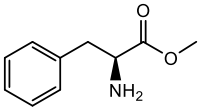


Figura 26. Reacción de hidrólisis de metil-(((9*H*-fluoren-9-il) metoxi)carbonil)-*L*-fenilalaninato en 10:90 (H_2O:MeOH) a reflujo.

Tabla 17. Actividad teórica del agua en diferentes mezclas H_2O:MeOH

Actividad	H_2O:MeOH
0.1137	**10:90**
0.8305	**75:25**
0.25	**20:80**

Tabla 18. Medición teórica de gamma (γ) correlacionada con la actividad.

Compuesto	Fórmula química	H_2O:MeOH 10:90 gamma (γ)	H_2O:MeOH 72:25 gamma (γ)	H_2O:MeOH 20:80 gamma (γ)
L-PheOH	 **3**	0.94	9.85	1.15
Fmoc-Phe-OMe	 **9b**	36.32	26903.03	65
L-Phe-OMe	 **6a**	1.62	14.40	1.95

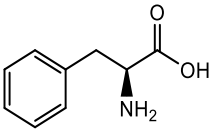
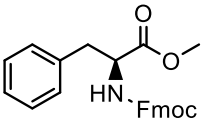
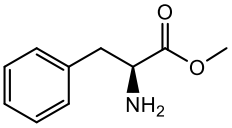
Tomando en cuanto lo anterior, la actividad de **9b** en 75:25 (H_2O:MeOH) es alta (26903.03 gamma) y se esperaría que fuera más reactivo (más propenso a reaccionar con el medio) en estas condiciones; sin embargo, experimentalmente no procede la reacción, dado que la solubilidad es muy baja, del orden de 10^{-5} (**Tabla 19)**.

Aunque en el sistema 10:90 (H_2O:MeOH) se tiene mayor solubilidad de **9b** aun así es aproximadamente 7 veces más baja que la del producto L-Phe (**C**) (0.121 g/g) y

alrededor de 25 veces más baja que el intermediario L-Phe-OMe (**B**), esto no permite que se lleve a cabo completamente la reacción (solo un 6% de L-Fenilalanina), **Tabla 19**.

Así mismo, al aumentar el porcentaje de metanol en la mezcla H_2O:MeOH, disminuyó drásticamente la actividad de Fmoc-Phe-OMe para los sistemas 20:80 y 10:90, un 55.9% de gamma de Fmoc-Phe-OMe disminuyó al pasar del sistema 20:80 a 10:90 H_2O:MeOH, pero hubo un aumento sustancialmente de la solubilidad (de $3.3x10^{-5}$ g/g a 0.0172 g/g) lo que permitió la reacción, **Tabla 19**.

Tabla 19. Medición de la solubilidad (g/g) en la mezcla 10:90, 20:80 y 75:25 H_2O: MeOH a 25°C en COSMO-RS.

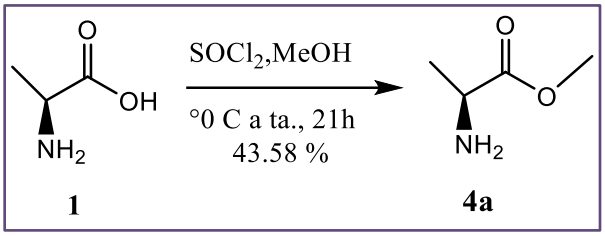
Compuesto	**Fórmula química**	**H_2O:MeOH 10:90**	**H_2O:MeOH 72:25**	**H_2O:MeOH 20:80**
Solubilidad *L*-PheOH	 **3**	0.121	0.0191	0.106
Solubilidad Fmoc-Phe-OMe	 **9b**	0.0172	0.00003284	0.010
Solubilidad *L*-Phe-OMe	 **6a**	0.436	0.1031	0.413

9. CONCLUSIONES

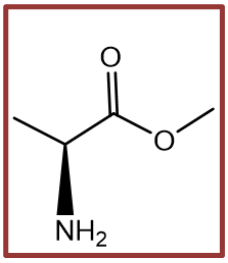
1. Es posible comparar los rendimientos de hidrólisis de α-aminoésteres respecto a β^2 y β^3-aminoéster reportados en la tesis de Alexa ,[33] en donde se observa que al alargar la cadena principal y lateral de carbonos disminuye el rendimiento.
2. La hidrólisis de grupo ester en H_2O:MeOH a 75:25 ,sin la N-desprotección solo se logró para los compuestos *N*-bencil-*L*-fenilalaninato de metilo (37%) y *N*-bencil *L*-valinato de metilo (70%).
3. La hidrólisis de los α-aminoésteres no protegidos en una mezcla H_2O:MeOH (75:25) se llevó a cabo con un rendimiento considerable (30-80% aproximadamente).
4. Para la hidrólisis de aminoésteres protegidos con Boc ocurrió la desprotección y después la hidrólisis del ester dando como producto el aminoácido libre (con un rendimiento del 48-100 %) .
5. En el caso de Fmoc-L-Valina-OMe su hidrolisis dió L-Valina, pero con Fmoc-L-Ala-OMe y Fmoc-Phe-OMe no hubo reacción a 75:35 H_2O:MeOH. Sin embargo, al cambiar la proporción agua-metanol a 10:90 o 20:80 el Fmoc-L-Phe-OMe reaccionó y el producto fue L-Phe con un 6% de rendimiento.
6. Una buena solubilidad del sustrato, subproducto y producto en el medio de reacción es fundamental para que ocurra la reacción de hidrólisis (H_2O:MeOH, 75:25 a reflujo).

10. PARTE EXPERIMENTAL

10.1 Esterificación de L-alanina (**1**)



Siguiendo el procedimiento general PG-A, se pesó 0.89 g (10 mmol) de L-Ala-OH, se agregó 15 mL de MeOH y a 0°C se adicionó 1.45 mL de $SOCl_2$ (2 eq, 20 mmol). La reacción se monitoreó por TLC en un sistema de aminoácidos(4:1:1 *n*-butanol: agua: ácido acético), revelando en ninhidrina, se concentró y se adicionó al crudo de reacción 5 mL de agua destilada y con ayuda de carbonato de sodio se ajustó el pH entre 8-9. Se concentró la sequedad y dió un sólido blanco, con un rendimiento de 43.58 %.

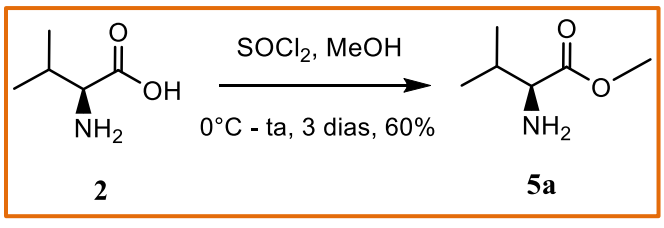


Sólido blanco p.f 78-80°C, Lit.[64]109-111 °C

^{1}H NMR (80 MHz, metanol-d_4)

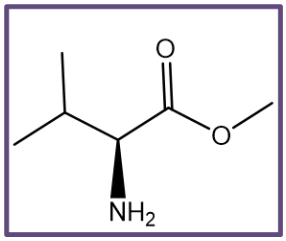
δ(ppm) 4.12 (q, *J* = 7.2 Hz,1H, CH_3CH), 3.84 (s, 3H, OCH_3), 1.55 (d, J= 7.2, 3H, CH_3CH).

10.2 Esterificación de L-valina (**2**)



En un matraz de 50 mL provisto de una barra de agitación magnética, se

colocaron 0.35 g (9 mmol,1 eq) de L-valina y 40 mL de metanol grado reactivo. El matraz se selló con un tapón septum y se purgó con N_2. Después se colocó en baño de hielo a 0°C y con una jeringa se adicionó gota a gota 653 µl (9.02 mmol) de $SOCl_2$. Se monitoreó el terminó de la reacción por TLC en sistema de aminoácidos (4:1:1, *n*-butanol: agua: ácido acético), reveló en ninhidrina, pero no reveló en UV, ni en yodo. A continuación, se purificó mediante una percolada con sílica gel para eliminar la coloración y finalmente se obtuvo un líquido incoloro con un rendimiento del 60 %.



Líquido incoloro

^{1}H NMR (80 MHz, Cloroformo-*d*)

δ(ppm) 3.71 (s, 3H,OCH_3),

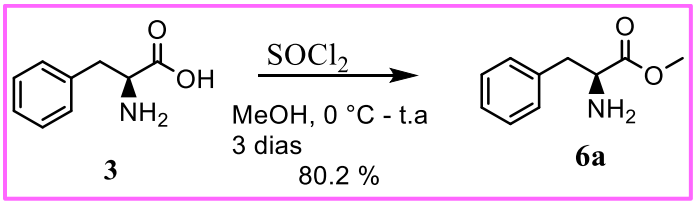
3.51 – 3.17 (m, 1H, $CHNH_2$),

2.24 – 1.84 (m, 1H, CH_3CH),

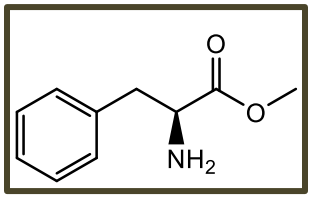
0.97 (d, *J* = 4.9 Hz, 3H, CH_3CH),

0.89 (d, *J* = 4.9 Hz, 3H, CH_3CH).

10.3 Síntesis de L-fenilalaninato de metilo **(6a)**



En un matraz de 10 mL provisto de una barra de agitación magnética, se colocaron 2.47 g (10 mmol, 1 eq) de L-Phe y 30 mL de metanol grado HPLC. El matraz se selló con un tapón septum y se purgó con N_2. Después se colocó en baño de hielo a 0°C y con una jeringa se adicionó gota a gota 0.72 mL (10 mmol, 1 eq) de $SOCl_2$. El transcurso de reacción se monitoreó por TLC en sistema de aminoácidos (4:1:1, *n*-butanol: agua: ácido acético). Finalmente, el producto fue un líquido incoloro y con un rendimiento del 80.22%.

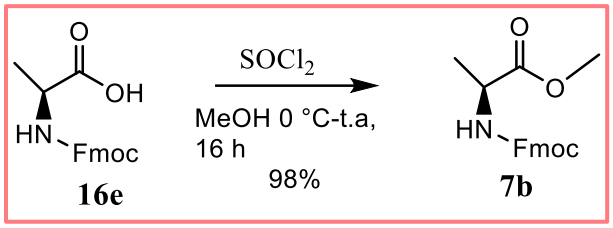


Líquido incoloro

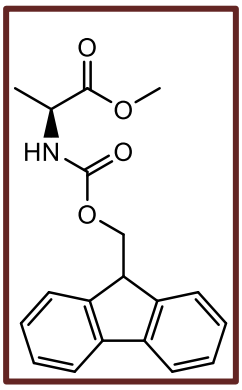
^{1}H NMR (600 MHz, metanol-d_4) δ(ppm) 7.31-7.27 (m, 2H, C_6H_5), 7.24- 7.21 (m, 1H, C_6H_5), 7.19- 7.17 (m, 2H, C_6H_5), 3.71 (t, *J* = 6.65Hz, 1H, $CHNH_2$), 3.68 (s, 3H, OCH_3), 3.01 (dd, *J* = 13.5, 6.2 Hz,1H, CH_2), 2.92 (dd, *J* = 13.5, 6.9 Hz,1H, CH_2).

^{13}C NMR (150 MHz, metanol-d_4) δ(ppm) 176.3, 138.3, 130.3, 129.5, 127.9, 56.7, 52.3, 41.7.

10.4 Síntesis de (((9*H*-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-L-alaninato de metilo (**7b**)



Primero, en un matraz de 50 mL con una barra de agitación magnética se colocaron 0.46 g (1.5 mmol, 1 eq) de *N*-Fmoc-L-Alanina, se agregaron 15 mL de MeOH, se selló con septum y se purgo con N_2, después se colocó en un baño de hielo a 0°C, y se enfrió a temperatura ambiente. Posteriormente se dejó en agitación toda la noche (16 h). Por último, se concentró el crudo de reacción y se purifico por cromatografía en columna, obteniendo un rendimiento de 98% de un producto sólido.



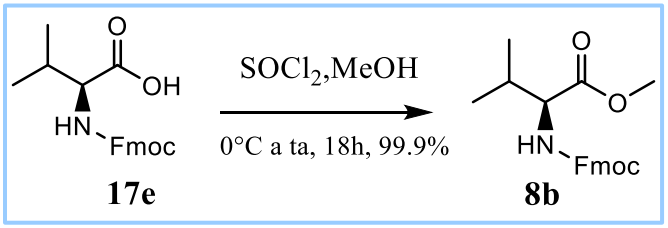
Sólido blanco, p.f 108-110 °C. Lit.[65] 117-119°C

^{1}H NMR (600 MHz, Cloroformo-*d*)

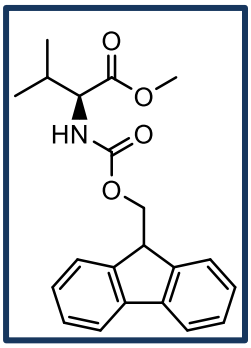
δ (ppm) 7.77 (d, *J* = 6.7 Hz, 2H, Ph-H Fmoc), 7.61 (m, 2H, Ph-H Fmoc),7.43 – 7.25 (m, 4H, Ph-H Fmoc), 5.46 (s,1 HN), 4.40(bs ,3H, $CHCH_2$Fmoc),4.23 (bs ,1H, CH_3CH), 3.76 (s, 3H, OCH_3), 1.43 (d, J= 5.2 Hz, 3H, CH_3CH).

^{13}C NMR (150 MHz, Cloroformo-d) δ (ppm) 173.7, 155.8, 143.8, 141.4, 127.8, 127.1, 125.1, 120.1, 67.1, 52.6, 50.9, 47.2, 18.7.

10.5 Síntesis de (((9*H*-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-L-valinato de metilo (**8b**).



En un matraz de 50 mL con barra de agitación magnética, 0.51 g (1.5 mmol) de Fmoc-L-Valina-OH se suspendió en 10 mL de metanol grado HPLC y se selló con un septum. A continuación, se purgo con N_2 y se colocó en un baño de hielo a 0°C. Se dejó en agitación con atmosfera de N_2 por 18 h. Después se concentró a vacío y se purificó. Se monitoreo la reacción en sistema hexano: acetato de etilo (7:3), dando un rendimiento de 99.9%, como un sólido blanco con p.f > 300°C

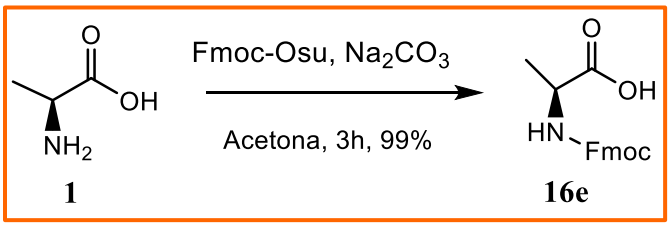


Sólido blanco, p.f > 300°C Lit.[66] 511.6 ± 33 °C (predicho)

^{1}H NMR (600 MHz, Cloroformo-d) δ (ppm) 7.77 (d, J =7.6 Hz,2H, PhH), 7.61 (t, J = 5.8 Hz, 2H, PhH), 7.40 (t, J = 7.2 Hz, 2H, PhH), 7.32 (t, J = 7.2 Hz, 2H, PhH), 5.32 (d, J = 8.9 Hz, 1HN), 4.44 – 4.37 (m, 2H, CH_2),4.32 (dd, J = 4.8, J=8.8 Hz,1H, CH-Fmoc), 4.24 (t, J = 7.1 Hz,1H, CHNH-Fmoc), 3.76 (s, 3H, OCH_3), 2.18 (octet, J = 2.1, 1H, $CH(CH_3)_2$), 0.98 (d, J=6.6,3H, $CH(CH_3)_2$), 0.92 (d, J = 6.8 Hz,3H, $CH(CH_3)_2$).

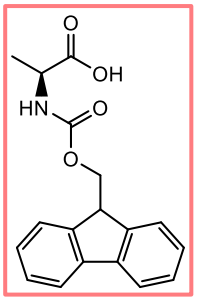
^{13}C NMR (150 MHz, Cloroformo-d) δ(ppm) 172.7, 156.3, 143.9, 141.4, 127.8, 127.2, 125.2, 120.1, 77.3, 77.1, 67.1, 59.1, 52.3, 47.3, 31.4, 19.1, 17.7.

10.6 Síntesis de (((9*H*-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-L-alanina (**16e**)



Para la obtención de los compuestos **16e** y **9b** se usó el procedimiento general PG-B, se pesó 0.19 g (1 eq, 2.1 mmol) de L-Alanina en 5 mL de agua en un matraz bola de 50 mL, con una barra de agitación. Al matraz se adicionó 20 mL de agua, 0.45 g de Na_2CO_3 y 2.6 mmol de Fmoc-Osu en 12.5 mL de acetona, después se midió el pH el cual estaba entre 9-10. Al pasó de 3 h en agitación la reacción culminó, la reacción fue monitoreada en un sistema *n*-butanol : agua :

AcOH (4:1:1) y revelado en UV, yodo y $KMnO_4$. Resultando un sólido blanco con 99% y un punto de fusión de 130-132°C.

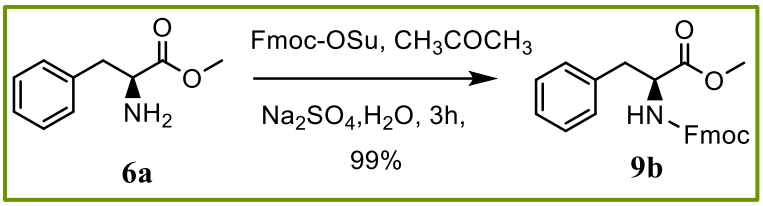


Sólido blanco, p.f 130-132°C. Lit.[67] 147-153 °C

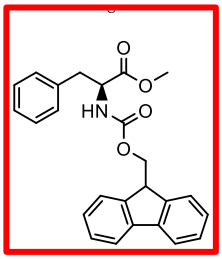
^{1}H NMR (600 MHz, Cloroformo-d) δ (ppm) 7.76 (d, J= 7.4 Hz,2H, Ar-H Fmoc), 7.60 (t, J = 6.8 Hz, 2H, Ar-H Fmoc), 7.40 (t, J = 7.4 Hz, 2H, Ar-H, Fmoc) y 7.3 (t, J = 7.4 Hz, 2H, Ar-H Fmoc), 4.23 (t, J = 6.8 Hz, 1H, CH), 4.46 – 4.37 (m, 3H, CH_2 y CH del Fmoc), 1.48 (d, J = 7.2 Hz, CH_3)

^{13}C NMR (151 MHz, Cloroformo-d) δ (ppm) 177.6, 156.2, 144.1, 141.6, 128.1, 127.4, 125.4, 120.3, 67.5, 49.8, 47.4, 18.7.

10.7 Síntesis de (((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-L-Fenilalaninato de metilo (**9b**)



Se disolvió 0.54 g (1 eq, 3 mmol) de L-Phe-OMe en 20 mL de agua en un matraz bola de 100 mL. En un matraz de precipitado con una barra de agitación, se adicionó 20 mL de agua y 0.67 g de Na_2CO_3 (6.3 mmol, 2 eq). Posteriormente, el aminoéster se mezcló con la solución de Na_2CO_3. Se añadió a la mezcla Fmoc-Osu 1.21 g (1 eq, 3.6 mmol) en 15 mL de acetona. Después se midió el pH el cual estaba entre 9-10. Al pasó de 3 h en agitación la reacción culminó. La reacción fue monitoreada en un sistema hexano: acetato de etilo (8:2), dando un líquido incoloro 99% de rendimiento.

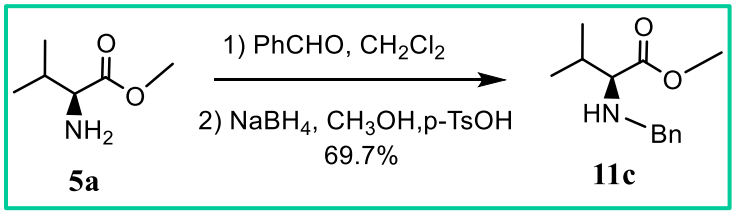


Líquido incoloro

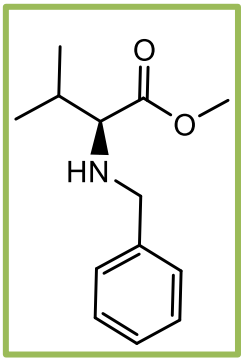
^{1}H NMR (500 MHz, Cloroformo-*d*) δ(ppm) 7.94 (dd, *J* = 7.5, 3.4 Hz, 4H, ArH-Fmoc), 7.79 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H, Ar-H-Fmoc), 7.74 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H, ArH Fmoc), 7.57 (t, *J* = 7.4 Hz, 4H PhH), 7.52 – 7.48 (m, 1H,PhH), 4.85 (q, J=6.2 Hz, 1H,CH-NH), 4.62 (dd, *J* = 10.7, 7.1 Hz,1H,CH_2 Fmoc), 4.52 (dd, *J* = 10.5, 7.0 Hz,1H,CH_2 Fmoc), 4.38 (t, *J* = 7.0 Hz,1H,CH Fmoc), 3.74 (s, 3H,OCH_3), 3.16 (dd, *J* = 13.8, 5.7 Hz, 1H,$PhCH_2$), 3.10 (dd, *J* = 13.8, 6.0 Hz, 1H,$PhCH_2$), 5.45 (d, J = 8.3 Hz, NH).

^{13}C NMR (125 MHz, Cloroformo) δ(ppm) 172.1, 155.6, 143.9, 143.8, 141.6, 141.4, 135.8, 129.4, 128.7, 127.8, 127.2, 125.1, 124.8, 120.1, 67.0, 54.9, 52.4, 47.2, 38.3.

10.8 Síntesis de *N*-bencil-L-valinato de metilo (**11c**)



Utilizando el procedimiento general (PC), se disolvió 0.22 mg de L-Val-OMe (1.72 mmol, 1 eq) en 2 mL de CH_2Cl_2, después se añadió 0.18 mL de benzaldehído (1 eq,1.72 mmol), 10 gotas de CH_3OH, y un cristal de *p*-TsOH como catalizador. Finalmente se agregó 0.076 g (2 eq) de $NaBH_4$. Se monitoreó la reacción con TLC en un sistema 8:2 hexano: acetato de etilo. El tiempo de reacción fue 2.5 h, dió un aceite incoloro con rendimiento de 69.7%

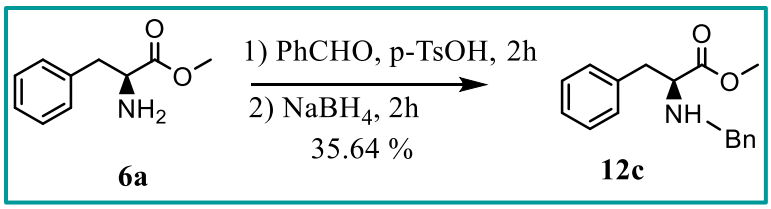


Aceite incoloro

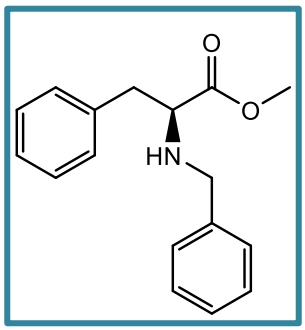
^{1}H NMR (500 MHz, Cloroformo-d) δ(ppm) 7.39 –7.30 (m, 3H,C_6H_5),7.29-7.25 (m, 2H, C_6H_5), 3.72 (s, 3H,OCH_3), 3.87 y 3.60 (ABq, J = 13.2 Hz, 2H,$PhCH_2NH$), 3.02 (d, J = 6.1 Hz, 1H,CHNH), 2.02 – 1.90 (m, 1H, $(CH_3)_2CH$), 0.96 (d, *J* = 6.9 Hz,3H,CH_3CH),0.92 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H,CH_3CH), 5.29 (bs,1H,NH).

^{13}C NMR (125 MHz, Cloroformo-d) δ(ppm) 175.8, 140.1, 128.4, 128.4, 127.1, 66.7, 52.6, 51.5, 31.8, 19.4, 18.8.

10.9 Síntesis de *N*-bencil-L-fenilalaninato de metilo (**12c**)



En un matraz bola de 5 mL con barra de agitación se disolvió 404 mg (1.5 mmol,1 eq) de L-Phe-OMe, después se añadió 0.159 mL (1 eq, 1.5 mmol) de benzaldehído, 10 gotas de metanol y un cristal p-TsOH, se esperó 2 h hasta su terminó. Después se agregó 0.057 g (1eq ,1.5 mmol) de $NaBH_4$ y se agito por un periodo de dos horas. La reacción se monitoreó con TLC 8:2 hexano: acetato de etilo y se purificó por columna en gradiente 95:05 - 70:30 (hexano: acetato etilo). Resultando un sólido blanco con un punto de fusión de 38-40 °C y un rendimiento de 35.6 %.

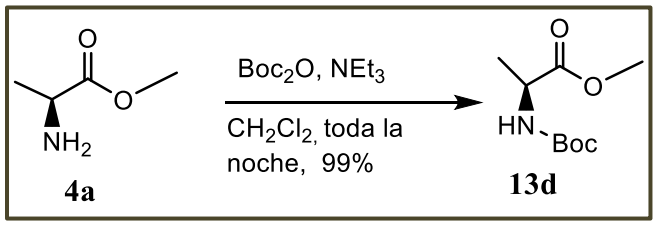


Sólido blanco p.f 38-40°C Lit.[68] 158-162 Bzl-Phe-OMe •HCl

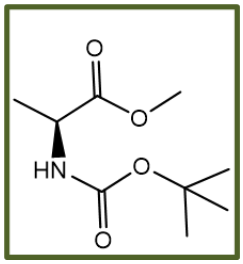
^{1}H NMR (500 MHz, Cloroformo-d) δ(ppm), 7.45 – 7.39 (m, 5H), 7.38 – 7.35 (m, 3H), 7.33 – 7.29 (m, 2H), 3.97-3.81 (ABq, J=12.52, 2H, $PhCH_2NH$), 3.70 (t, J = 6.9 Hz, 1H, $PhCH_2CH$,), 3.79 (s, 3H,OCH_3), 3.13 (d, J = 6.7 Hz, 2H,$PhCH_2CH$), 4.83 (s,1H,CH).

^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ(ppm) 174.96, 139.41, 137.33, 129.33, 128.50, 128.47, 128.30, 127.20, 126.82, 83.13, 77.16, 62.11, 52.06, 51.79, 39.75.

10.10 Síntesis de (tert-butoxicarbonil)-L-alaninato de metilo (**13d**)



Siguiendo el procedimiento general (PD), se pesó 0.50 g de L-Ala-OMe, se adicionó 2 mL Et_3N, en 10 mL CH_2Cl_2, después se añadió 2.1 g $(Boc)_2O$ a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante la noche (16 h). Se filtró la mezcla y el filtrado se lavó con ácido cítrico acuoso. Y finalmente, resultó un **sólido blanco** con p.f. 28-30°C y un rendimiento cuantitativo 99.9 %.

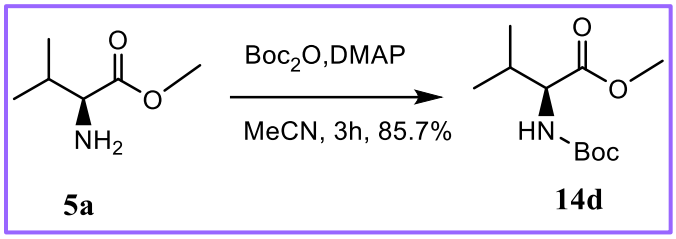


Sólido blanco, p.f 28-30°C Lit.[69] 32-35 °C

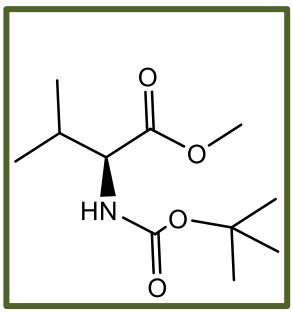
^{1}H NMR (500 MHz, Cloroformo-d) δ (ppm) 5.04 (bs, NH), 4.30 (bs,1H, $CH(CH_3)$), 3.72 (s, 3H, OCH_3), 1.42 (s, 9H, $C(CH_3)_3$), 1.35 (d, J = 7.2 Hz, 3H, $CH(CH_3)$).

^{13}C NMR (125 MHz, Cloroformo-d) δ (ppm) 173.9, 155.2, 85.2, 52.3, 49.2, 29.8, 28.4, 27.5, 18.7.

10.11 Síntesis de (tert-butoxicarbonil)-L-valinato de metilo (**14d**).



Se colocó 0.21 g (1mmol, 1 eq) de valinato de metilo en MeCN (23.8 mL) en un matraz bola de 50 mL con una barra de agitación y se trató con una solución de 0.38 g Boc_2O (1.1 eq ,1.76 mmol) en 5 mL de MeCN, después se agregó 0.015 g (0.08 eq, 0.128 mmol) de DMAP, se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 3 horas se concentró a vacío y se extrajo con AcOEt (10 mL x 3). Posteriormente se purificó por columna con gradiente (hexano:acetato de etilo 9:1-6:4), y como producto dió un 85.7 % de rendimiento de un líquido incoloro con punto de fusión de 40-42°C.



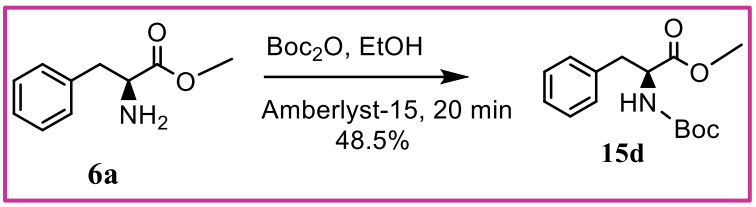
Líquido incoloro

^{1}H NMR (80 MHz, Cloroformo-d)

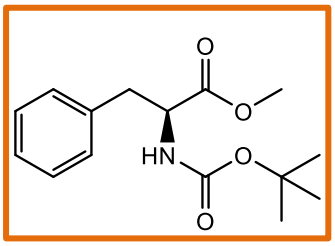
δ (ppm) 5.02 (m, 1HN), 4.26 – 4.05 (m,1H, CH-NH-Boc), 3.71 (s, 3H, OCH_3), 1.42 (s, 9H, $CH(CH_3)_3$), 2.07 (m,1H,$CH(CH_3)_2$),

0.94 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, $CH(CH_3)$), 0.86 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, $CH(CH_3)$).

10.12 Síntesis de (*terc*-butoxicarbonil)-L-fenilalaninato de metilo (**15d**).



Se colocó 0.59 g de L-Phe-OMe, (2.1 mmol, 1 eq) en EtOH (2.1 mL) en un matraz bola de 25 mL con una barra de agitación, se agregó 0.458 g de Boc_2O (1e eq, 2.1 mmol), 58.7 mg Amberlyst-15 (7–10% w/w) y se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 20 min. Después de purificarlo por columna en gradiente, hexano: acetato de etilo 9:1-6:4. Se obtuvo un rendimiento del 48.5 % como líquido incoloro.

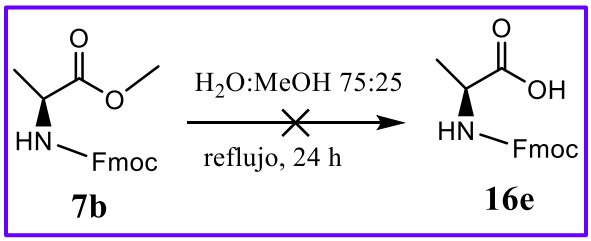


Líquido incoloro

^{1}H NMR (500 MHz, Cloroformo-*d*) δ(ppm) 7.48 – 7.28 (m, 5H, C_6H_5), 5.13 (d, *J* = 7.3 Hz,1HN), 4.73 (dd, J= 4.7, J= 13.4,1H,CH), 3.7(s, 3H,OCH_3), 3.0 (dd, *J* = 13.9, 5.8 Hz, 1H, Ph**C**H_2), 2.97 (dd, *J* = 13.8, 6.2 Hz, 1H, Ph**C**H_2)1.41 (s, 9H $C(CH_3)_3$).

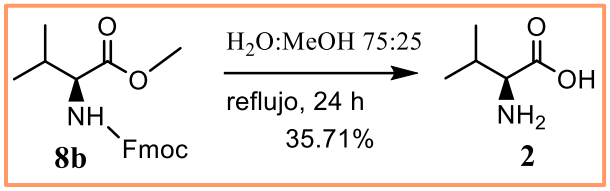
^{13}C NMR (125 MHz, Cloroformo-d) δ(ppm) 172.47, 155.20, 136.13, 129.41, 128.66, 127.13, 80.04, 54.54, 52.32, 38.48, 28.42.

10.13 Hidrólisis de (((9*H*-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-L-alaninato de metilo (**7b**)

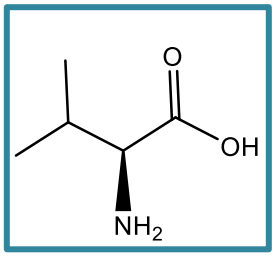


Para realizar la reacción de hidrolisis, se empleó el proceso general (PG-E), se pesó 0.32 g (1 mmol) del éster metílico de Fmoc-alanina en un matraz redondo de 100 mL, se agregó 5 mL de MeOH grado reactivo y 15 mL de H_2O destilada para obtener una solución 0.05 M. La reacción permaneció en reflujo durante 24 h (con una mantilla de calentamiento conectada al reóstato). Se plaqueó con TLC, en un sistema hexano : acetato de etilo (7:3), para verificar el término de la reacción. Sin embargo, no hubo reacción.

10.14 Hidrólisis de (((9*H*-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-L-valinato de metilo (**8b**)



En un matraz bola de 50 mL con barra de agitación se colocaron 0.05 mmol de Fmoc-Val-OMe (0.02 g) y se disolvió en 10 mL de una mezcla H_2O:MeOH (75:25) para obtener una solución 0.05 M. Más tarde, la solución se calentó a reflujo por 24 h y fue monitoreado en dos sistemas de TLC uno de aminoácidos y otro de hexano: acetato de etilo (7:3). El producto se obtuvo con un rendimiento de 35.71 % de valina.

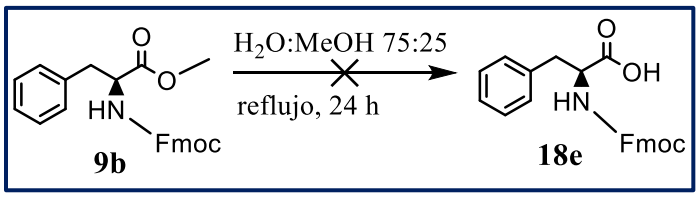


Sólido blanco, p.f 296-298°C Lit.[70] 295-300 °C

^{1}H NMR (80 MHz,D_2O)

δ(ppm) 4.25 – 4.05 (m, 1H, $CHNH_2$), 2.15 – 1.83 (m, 1H, CH_3CH), 0.93 (d, *J* = 3.4 Hz, 3H, CH_3CH), 0.84 (d, *J* = 3.4 Hz, 3H, CH_3CH).

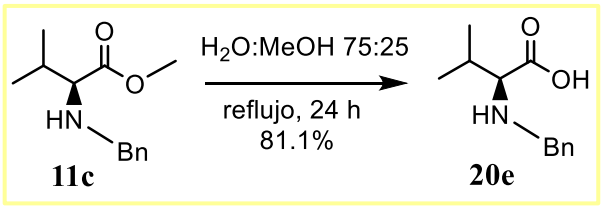
10.15 Hidrólisis de (((9*H*-fluoren-9-il) metoxi)carbonil)-L-fenilalaninato metilo (**9b**)



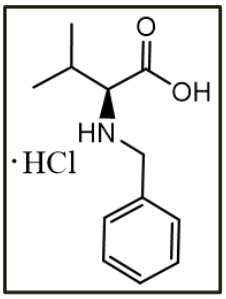
En un matraz bola de 50 mL con barra de agitación se colocaron 1 mmol (0.40 g) de Fmoc-L-Phe-OMe, se suspendió en 5 mL MeOH y 15 mL de H_2O para obtener una solución 0.05 M. Seguidamente la solución se calentó a reflujo por 24 h y se monitoreó por TLC en un sistema de 8:2 hexano: acetato de etilo. Sin embargo, no procedió la reacción.

Hidrólisis de metil-(((9*H*-fluoren-9-il) metoxi)carbonil)-L-fenilalaninato H_2O:MeOH (10:90). Se realizo otro experimento con **9b**, pero ahora se cambiaron las proporciones de H_2O:MeOH, a 1 mmol de Fmoc-L-Phe-OMe, se le añadió 18 mL MeOH y 2 mL H_2O para hacer una solución 0.05 M y se calentó a reflujo. Después de seguir el procedimiento anterior, el producto dio un rendimiento del 6 % de un sólido blanco (L-Phe). Sin embargo, no se logró aislar el aminoácido del crudo de reacción. No obstante, se calculó la composición porcentual a partir de ^{1}H RMN, (ver, **Anexo**).

10.16 Hidrólisis de *N*-bencil-L-valinato metilo (**11c**)



En un matraz de 50 mL con barra de agitación magnética, se colocaron 0.28 g (1 mmol) de metil-*N*-bencil-L-valinato, el cual se disolvió en 5 mL de MeOH grado HPLC y posteriormente se adicionaron 15 mL de H_2O destilada (la solución se tornó lechosa y liberó calor) para obtener una solución 0.05 M en una mezcla 75:25 (H_2O: MeOH), y se dejó a reflujo por 24 horas. Una vez pasado el tiempo, se monitoreó la reacción por TLC en un sistema 8:2 (hexano: AcOEt). El sólido se cuantificó dando 0.214 g que corresponden al 81.1 % de rendimiento del sólido blanco con p.f = 130-132°C.

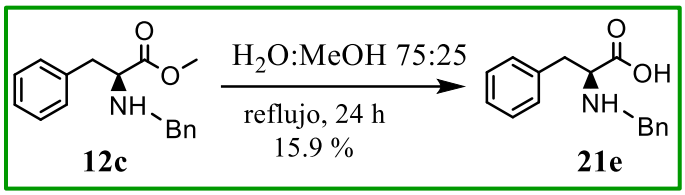


Sólido blanco, p.f 130-132°C. Lit. no reportado

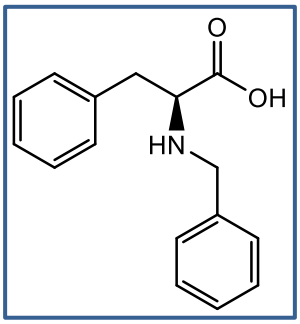
^{1}H NMR (500 MHz, metanol-HCl) δ(ppm) 7.59 – 7.53 (m, 2H, C_6H_5), 7.44 – 7.38 (m, 3H,C_6H_5), 4.28 (s, 2H,CH_2), 3.81 (d, *J* = 3.2 Hz,1H,CHNH), 2.46 – 2.36 (m, 1H, CH_3CH), 1.08 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H,CH_3CH),0.99 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, CH_3CH).

^{13}C NMR (125 MHz, metanol-HCl) δ(ppm) 169.4, 131.5, 131.3, 130.5, 129.8, 65.4, 30.0, 19.6, 17.2

10.17 Hidrólisis de *N*-bencil-L-fenilalaninato de metilo (**12c**)



En un matraz bola de 50 mL con barra de agitación se colocaron 1 mmol de *N*-Bn-Phe-OMe (0.27 g) y se suspendió en 5 mL de MeOH grado reactivo y 15 mL de H_2O destilada para obtener una solución 0.05 M. A continuación, la solución se calentó a reflujo por 24 horas fue monitoreado por TLC en sistema de hexano: acetato de etilo (8:2) , se obtuvo 40.6 mg de producto y un rendimiento del 15.9%.Se obtuvo como un sólido blanco con un punto de fusión: 210-212°C.

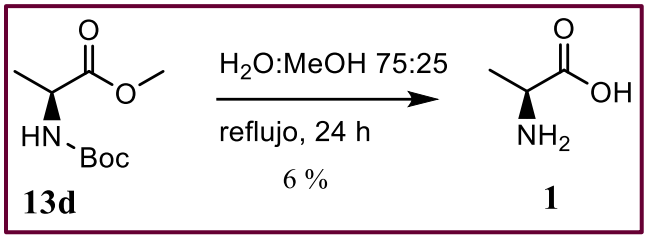


Sólido blanco, p.f 210-212°C Lit.[71] 225 °C (descomposición)

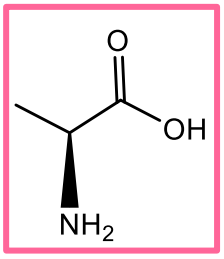
^{1}H NMR (600 MHz, metanol-d_4) δ(ppm) 7.54 – 7.50 (m, 2H,C_6H_5), 7.47 – 7.43 (m, 3H, C_6H_5), 7.36 – 7.27 (m, 5H, C_6H_5),4.26 (dd, J = 13.21,18.8 Hz,2H, $PhCH_2NH$), 4.22 (dd, J = 8.0, 5.6 Hz,1H, CHNH), 3.42 (dd, *J* = 14.2, 5.5 Hz,1H, $PhCH_2CH$), 3.24 (dd, *J* = 14.2, 8.1 Hz,1H, $PhCH_2CH$).

^{13}C NMR (150 MHz, metanol-D_4) δ(ppm) 170.5, 135.4, 131.8, 131.4, 130.8, 130.5, 130.2, 129.9, 128.73, 61.7, 51.6, 36.7

10.18 Hidrólisis de (*terc* butoxicarbonil)-L-alaninato de metilo (**13d**)



En un matraz bola de 50 mL con barra de agitación se colocaron 203.24 mg (1 mmol) de Boc-Ala-OMe y se suspendió en una mezcla 15 mL H_2O y 5 mL MeOH para obtener una solución 0.05 M. Pasado el tiempo de reacción (24 h a reflujo). La reacción se monitoreó por TLC en un sistema de aminoácidos para observar el producto, y la materia prima en un sistema hexano : acetato de etilo (1:1). Sin embargo, no procedió la reacción deseada (solo la hidrolisis del ester metílico). Rendimiento 6 % del aminoácido L-Ala-OH.



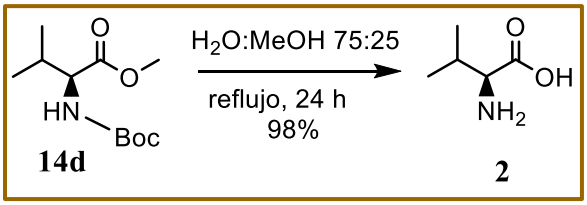
Solido blanco, p.f 295-297°C Lit.[72] 296 °C

^{1}H NMR (80 MHz) δ(ppm) 3.65

(q, J = 7.2 Hz, $CHNH_2$, 1H),

1.34 (d, J = 7.2 Hz, 3H).

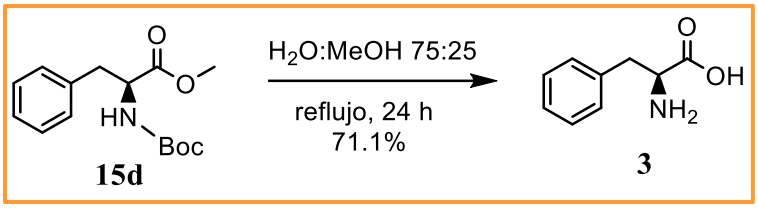
10.19 Hidrólisis de (*terc*-butoxicarbonil)-*L*-valinato metilo (**14d**)



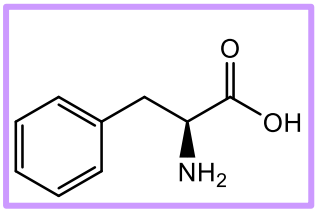
Se pesó 0.11 g (0.5 mmol) de metil-(*terc*-butoxicarbonil)-L-valinato se colocaron en un matraz de 25 mL con barra de agitación, en seguida se agregó 2.5 mL de

MeOH y 7.5 mL de H_2O destilada. Después de 24 h, se evaporó a sequedad dando como resultado un sólido blanco con un punto de fusión experimental de 240-242°C. Del sólido blanco se obtuvo 57.20 mg de L-valina, 98 % de rendimiento. El producto fue identificado por TLC, por este motivo no hay información de RMN.

10.20 Hidrólisis de (*terc*-butoxicarbonil)-*L*-fenilalaninato de metilo (**15d**)



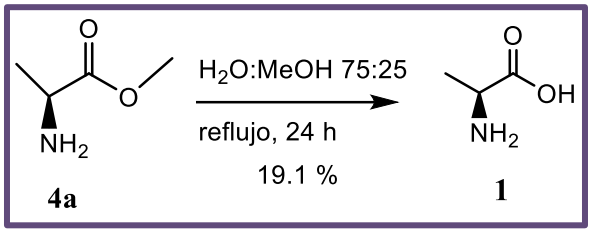
En un matraz bola de 50 mL con barra de agitación se colocaron 1 mmol (0.28 g) de Boc-Phe-OMe y se suspendió en 5 mL MeOH con 15 mL de H_2O para obtener una solución 0.05 M. Pasado el tiempo del reflujo (24 h) se concentró a vacío, dando un sólido blanco. La reacción se monitoreó por TLC en un sistema de 8:2 hexano : acetato etilo. Resultando en un 71.1% de rendimiento de L-Phe.



Sólido blanco, p.f 282-284°C Lit. [73] 283 °C (se descompone)

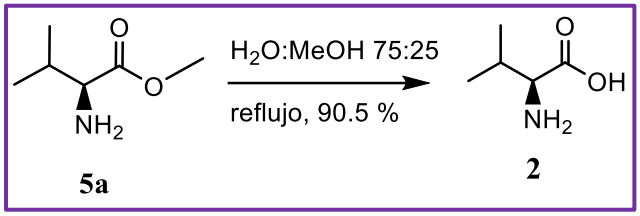
^{1}H NMR (80 MHz, D_2O) δ(ppm) δ 7.21 – 6.95 (m, 5H,C_6H_5), 4.07 – 3.79 (m, 1H,CH), 3.12 – 2.84 (m, 2H,CH_2).

10.21 Hidrólisis de L-alaninato de metilo (**4a**)



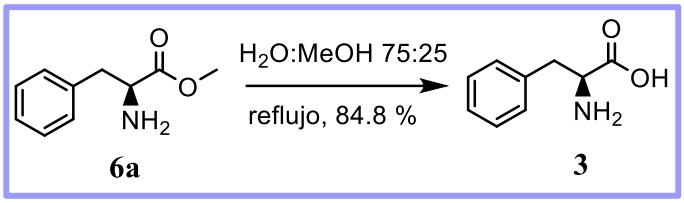
En un matraz bola de 50 mL con barra de agitación se colocaron 1 mmol (0.10 g) de Ala-OMe y se añadió en 5 mL de MeOH con 15 ml de H_2O para obtener una solución H_2O:MeOH (0.05 M).La reacción se monitoreó por TLC en un sistema de aminoácidos para observar el producto y la materia prima en un sistema de aminoácidos. Después de 24 h, se obtuvo un rendimiento de 19.1% de *L*-Ala y el resto materia prima. El producto fue reconocido por TLC y reveló en ninhidrina, por esta razón no hay datos de RMN.

10.22 Hidrólisis de *L*-valinato de metilo (**5a**)



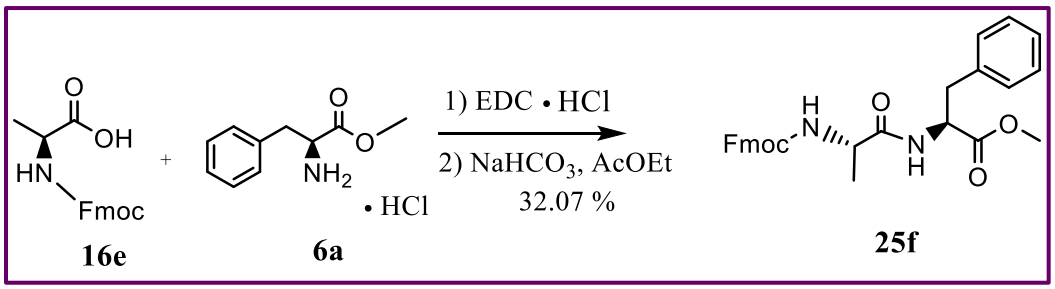
Una vez pesado 65.57 mg (0.5 mmol) de Valina-OMe , se agregaron en un matraz bola de 50 mL, se adicionó 2.5 mL de MeOH y 7.5 mL de H_2O destilada para dar solución 0.05 M y una barra de agitación magnética, se dejó a temperatura de reflujo por 12 horas. Durante la primera hora no se observó producto, después de 4 horas se observa formación de producto. Finalmente, después de 12 horas culminó la reacción, con un rendimiento de 90.5%. El producto fue identificado por TLC, por lo tanto, no hay datos de RMN.

10.23 Hidrólisis de L-fenilalaninato de metilo (**6a**)

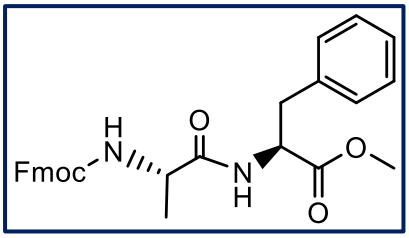


En un matraz bola de 50 mL con barra de agitación se colocaron 1 mmol (0.18 g) de L-Phe-OMe y se suspendió en 5 mL MeOH y 15 mL de H_2O para obtener una solución 0.05 M. Después de 24 h a reflujo, se generó un líquido incoloro con un rendimiento de 84.8 %. El líquido incoloro fue reconocido por TLC, por lo que no se dispone de información de RMN.

10.24 Síntesis de péptido Fmoc-L-Ala-L-Phe-OMe (**16e**)



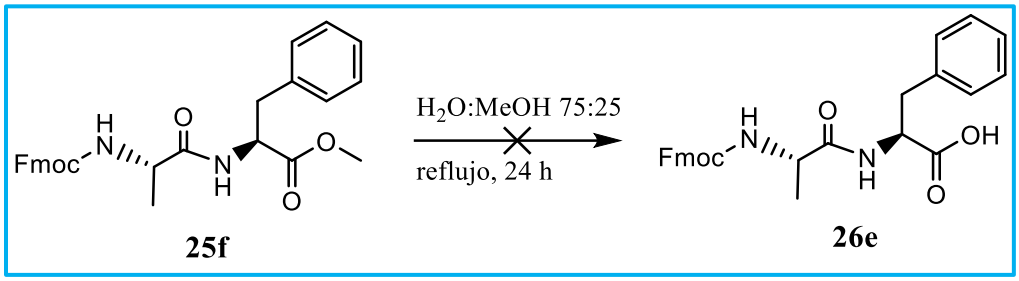
Se dispuso del procedimiento general (PF) para la síntesis del péptido. Una mezcla de Fmoc-L-Ala-OH (54 mg, 0.17 mmol) y H_2N-L-PheOMe·HCl (37.3 mg, 0.17 mmol), se le adiciona EDC·HCl (32.5 mg, 0.17 mmol) y $NaHCO_3$ (14.2 mg, 1.82 mmol) en agitación con acetato de etilo (10 mL) durante 60 minutos. Después el crudo de reacción fue extraído con acetato de etilo (3 x 20 mL) y la fase orgánica fue evaporada a presión reducida. El resultado fue un sólido blanco con un rendimiento 32.07% y un punto de fusión 50-52°C.



Sólido blanco, p.f 50-52°C.Lit. no reportado

^{1}H NMR (80 MHz, Cloroformo-*d*) δ(ppm) 8.27– 7.31 (m, 13H, Ar-H), 4.38 (s, 2H,CH_2-Fmoc), 6.08 (s, 1HN), 5.47 – 4.95 (m, 1HN),4.09 (s, 3H, CH,CH_2), 3.49 (d, J = 6.1 Hz, 3H), 3.65 – 3.31 (m,2H, $PhCH_2$), 1.71 – 1.56 (m, 3H, CH_3CH).

10.25 Hidrólisis del péptido Fmoc-L-Ala-L-Phe-OMe **(PE)**



En un matraz bola de 5 mL con barra de agitación se colocaron 23 mg (0.048 mmol) de Fmoc-L-Ala-L-Phe-OMe y se suspendió en de una mezcla 1.44 mL H_2O y 0.48 mL MeOH para obtener una solución 0.05 M. Durante 24 h estuvo en agitación bajo reflujo, sin embargo, dio 0% de rendimiento. La reacción se monitorio por TLC, sin embargo, no se obtuvo el producto.

11. PERSPECTIVAS

- Se propone evaluar diferentes ésteres y sustratos en distintas proporciones de H_2O:MeOH, así como en diversos medios de reacción con distintos grados de polaridad, con el objetivo de estudiar sistemáticamente el comportamiento de la hidrólisis.

- Se plantea investigar una serie de ésteres N-sustituidos con el propósito de analizar cómo la estructura química de los sustratos afecta el proceso de N-desprotección bajo condiciones de hidrólisis en una mezcla de agua y metanol (H_2O:MeOH, 75:25).

- La reacción de hidrólisis en una mezcla de H_2O:MeOH (75:25) puede provocar la eliminación de determinados grupos protectores, lo que restringe el alcance de la metodología empleada. Por tanto, su aplicación se limita a sustratos cuyos grupos protectores no sean susceptibles de desprotección en condiciones ácidas o básicas, o que presenten reactividad en presencia de agua.

- Se sugiere aumentar diez veces la concentración de los sustratos en la reacción de hidrólisis de aminoésteres N-sustituidos respecto a las condiciones experimentales previamente establecidas, con la finalidad de analizar la robustez, la reproducibilidad y la eficiencia de la metodología a una escala de concentración mayor.

12. ANEXO

11.1 Gráficos de solubilidad y actividad calculados en el programa COSMO-RS.

Gráfico 1. Actividad del agua en H_2O:MeOH a diferentes proporciones (1-0 y 0-1).

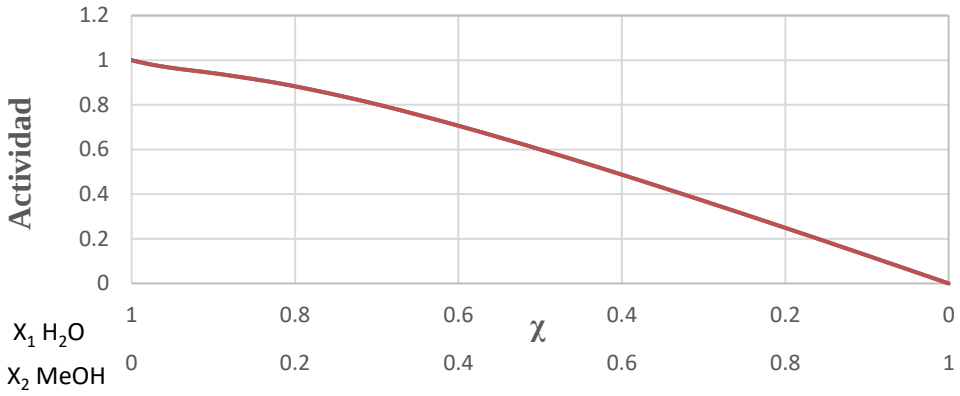
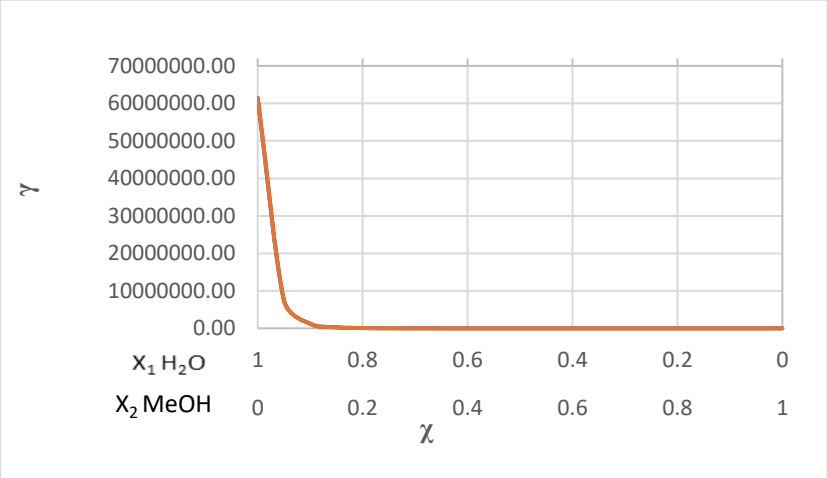
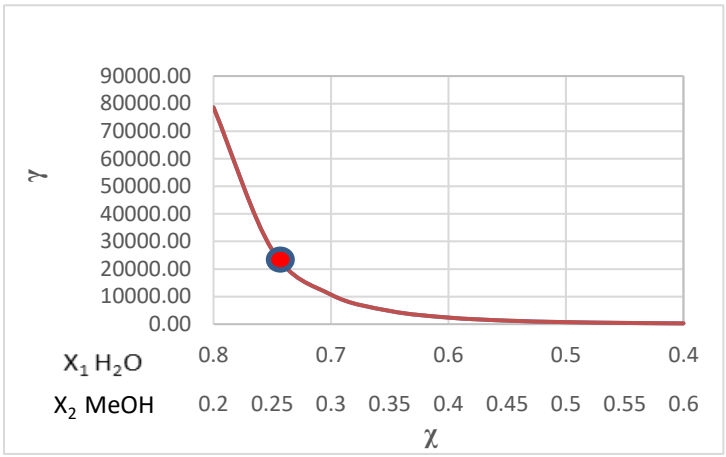


Gráfico 2. Contraste γ vs χ para determinar la actividad de Fmoc-Phe-OMe, gráfico **A**. Las ampliaciones del gráfico A se identifican como **B)** y **C)**.

A)



B) 75:25



C) 20:80 y 10:90

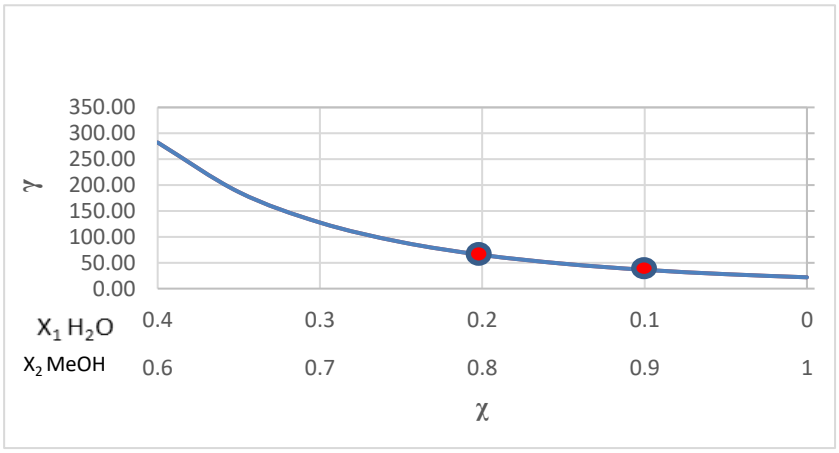
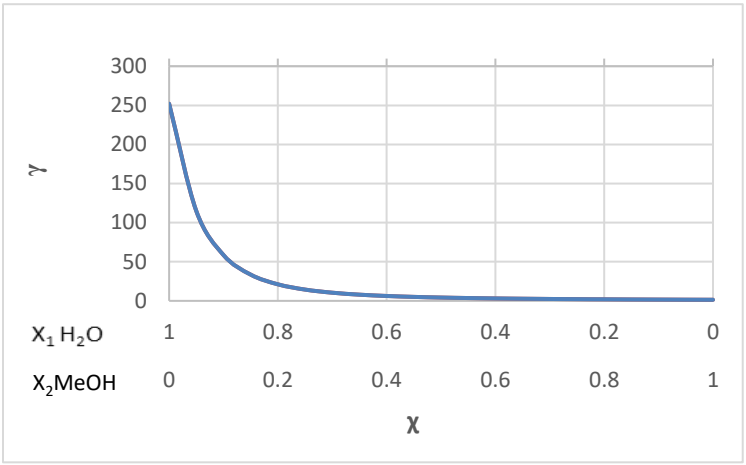
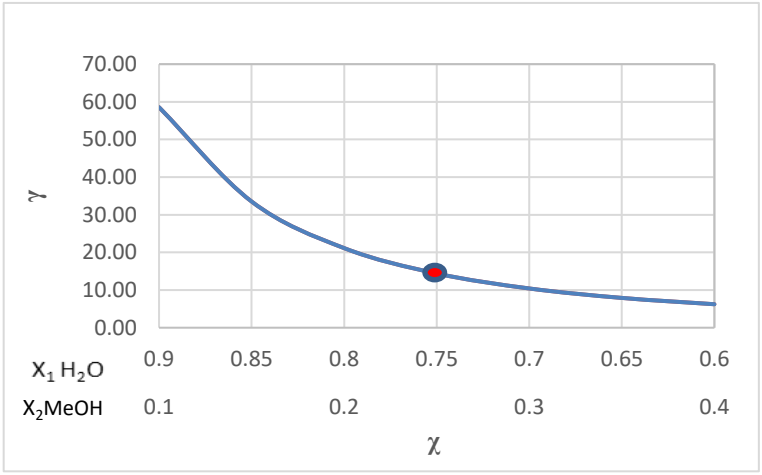


Gráfico 3. Contraste γ vs χ para para determinar la actividad de L-Phe-OMe **A).** Ampliaciones del gráfico **A** se señalan como **B) y C).**

A)



B) 75:25



C) 20:80 y 10:90

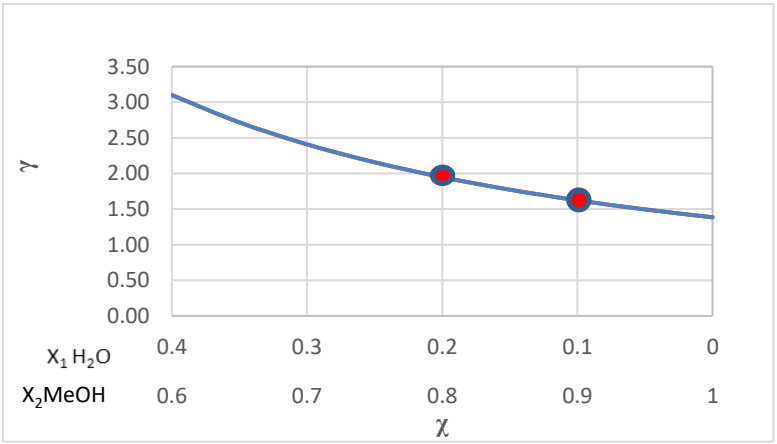
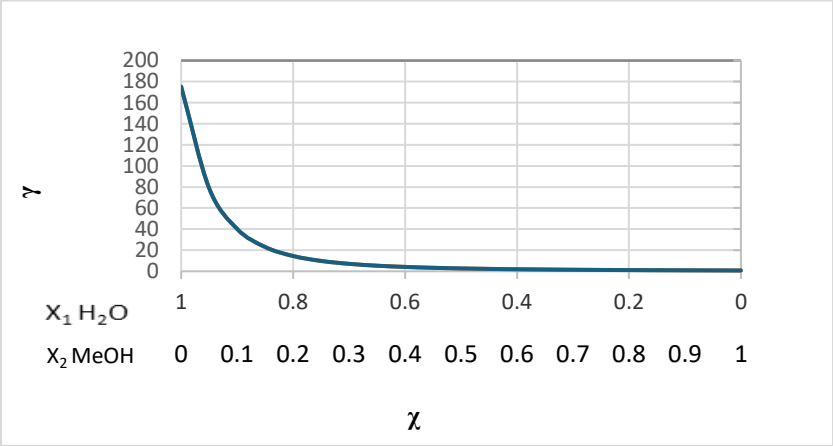
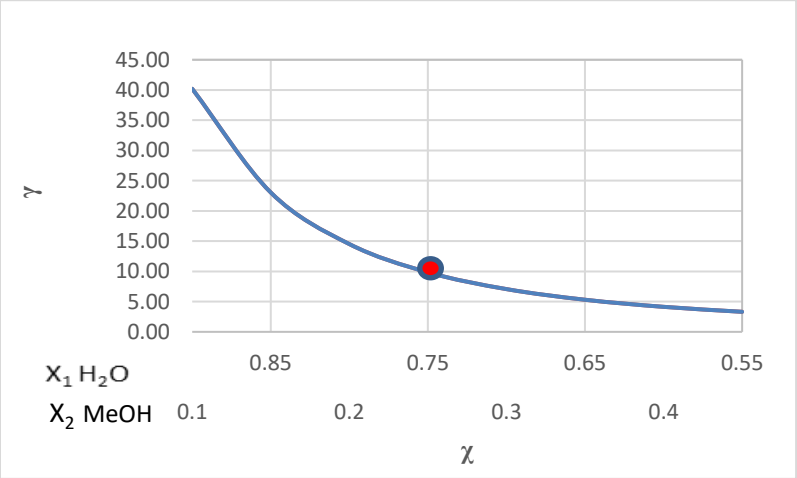


Gráfico 4. Contraste γ vs χ para determinar la actividad de L-Phe . El gráfico señalado con **B) y C)** es una ampliación de **A).**

A)



B) 75:25



C) 20:80 y 10:90

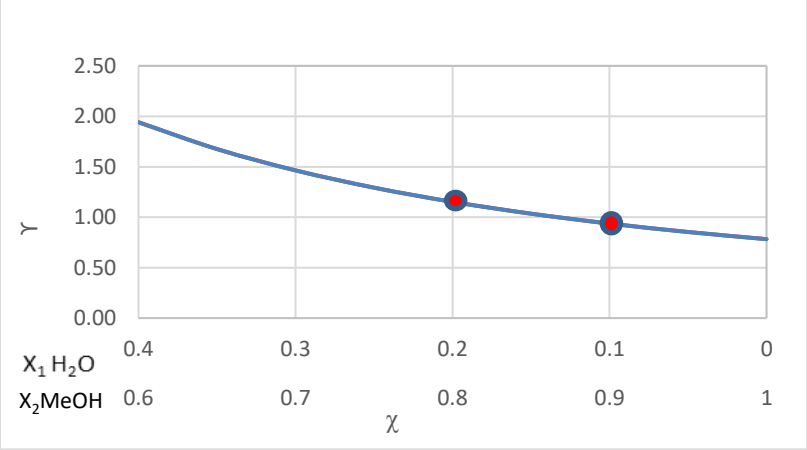
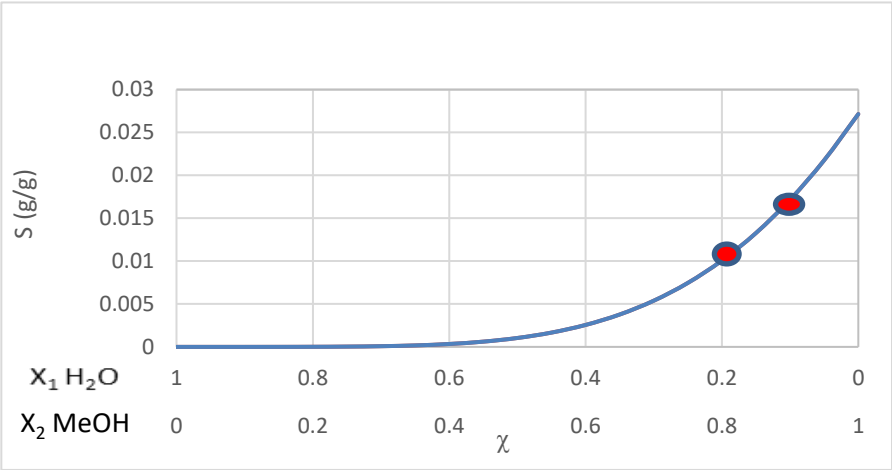


Gráfico 5. Solubilidad calculada para Fmoc-Phe-OMe. El gráfico señalado con **B)** es una ampliación de **A).**

A) 20:80 y 90:10



B) 75:25

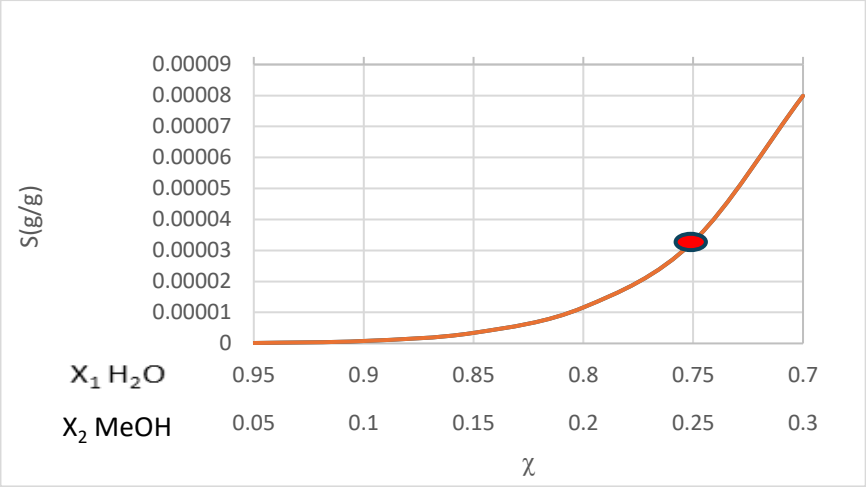


Gráfico 6. Solubilidad calculada de L-PheOMe.

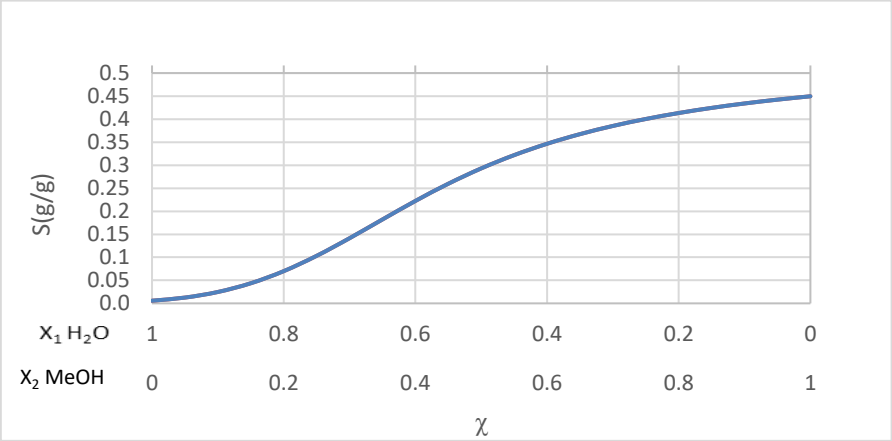
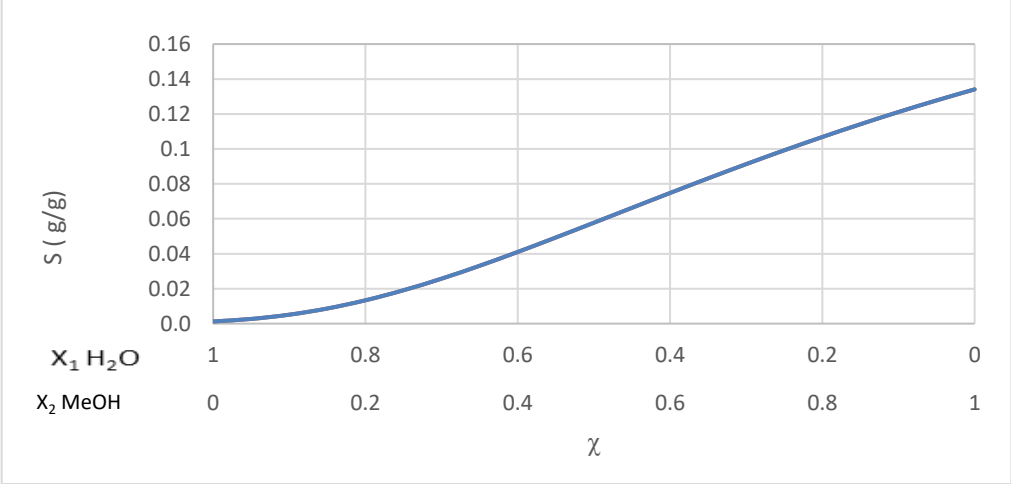
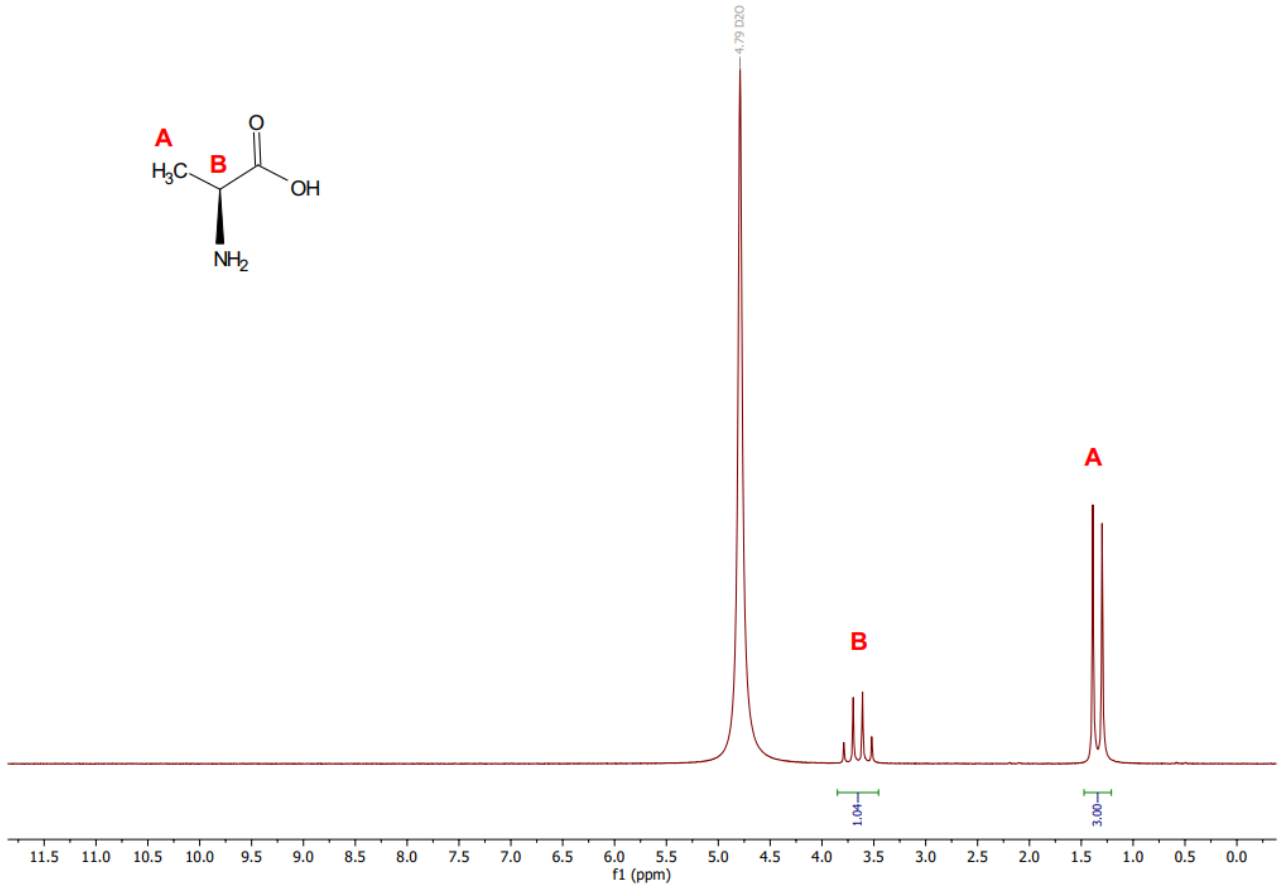


Gráfico 7. Solubilidad calculada de L-Phe-OH

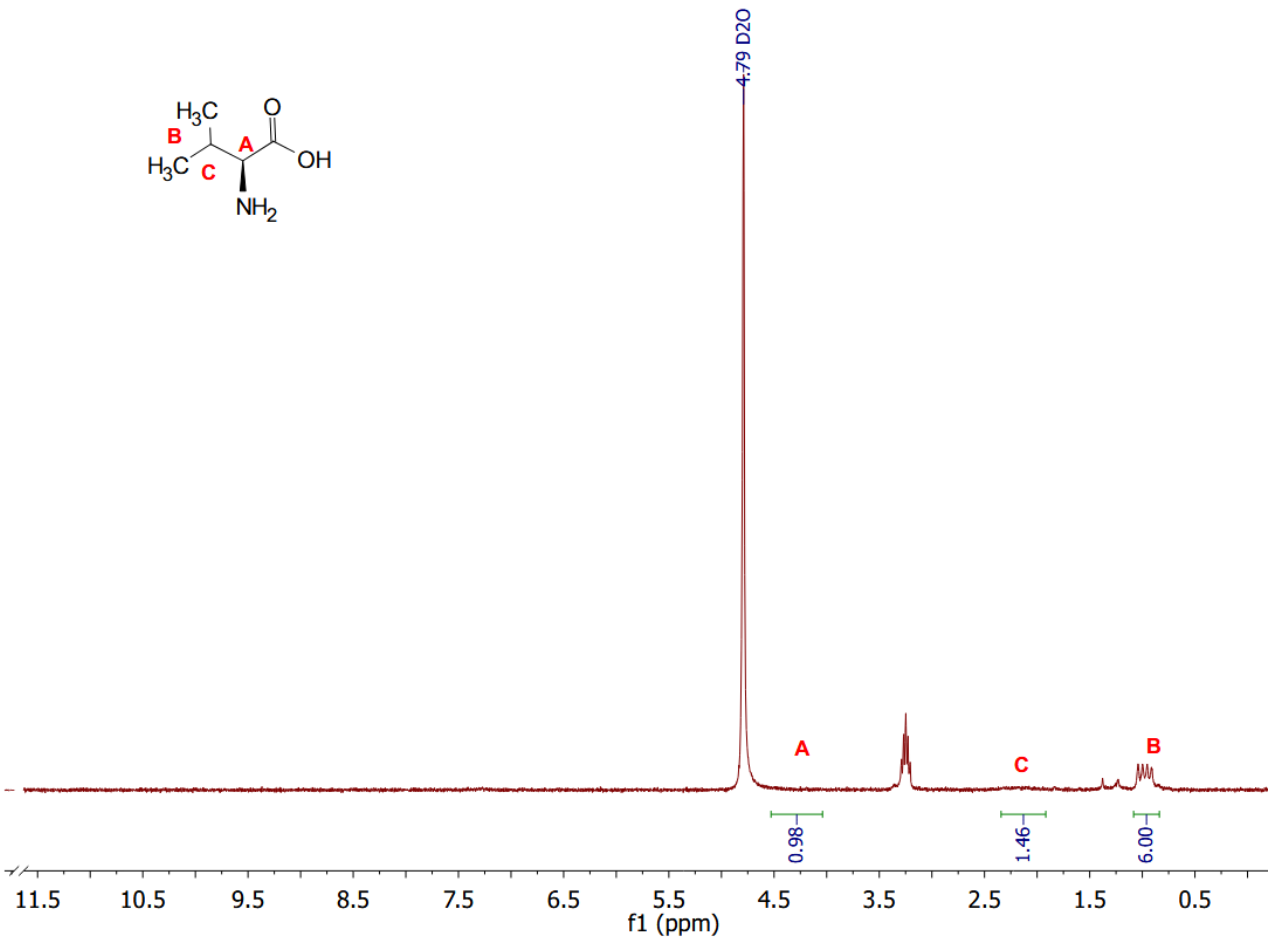


Nota: Datos teóricos calculados a una temperatura de 25°C.

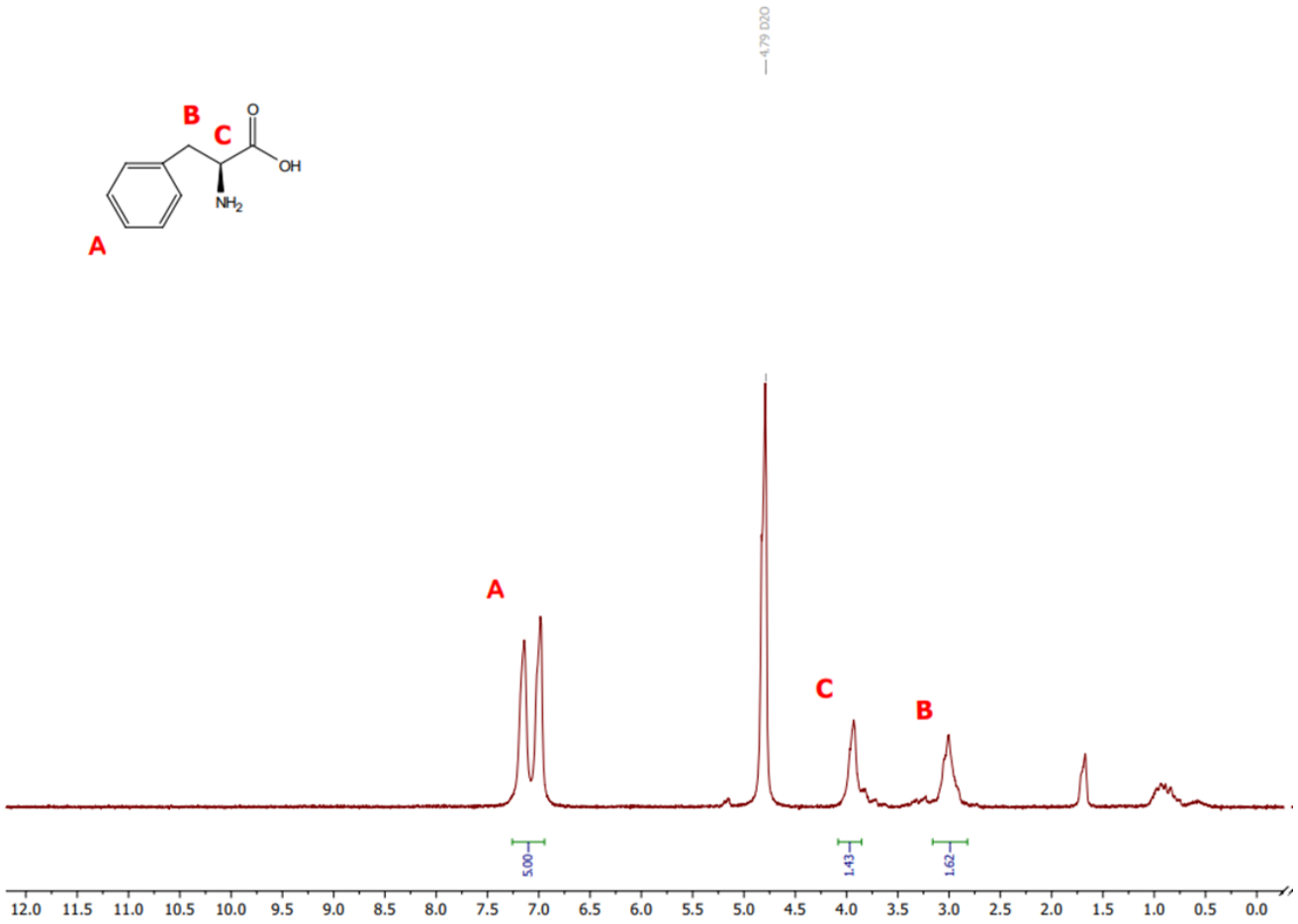
11.2 ESPECTROS DE RMN



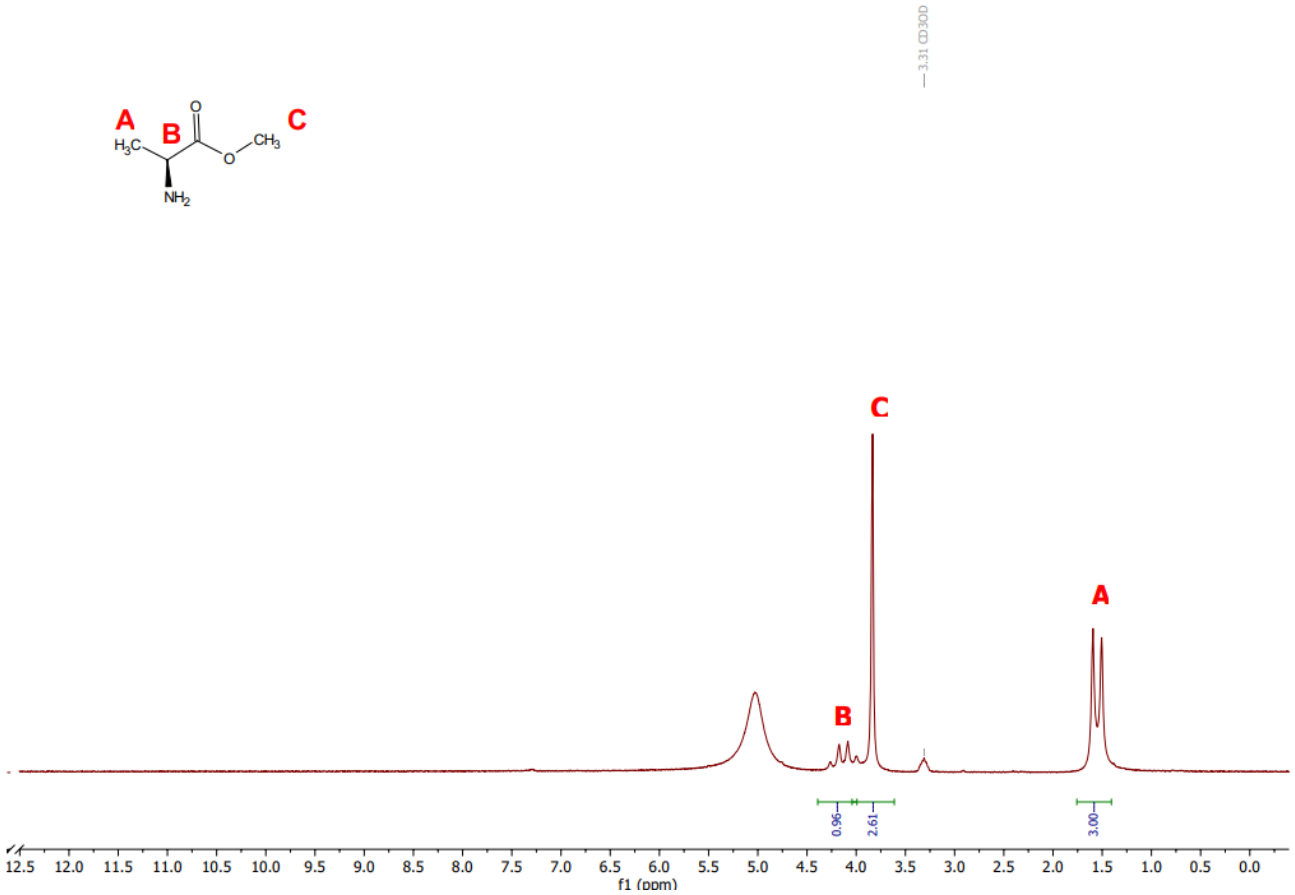
1. Espectro de ^{1}H RMN (D_2O, 80 MHz) de L-alanina.



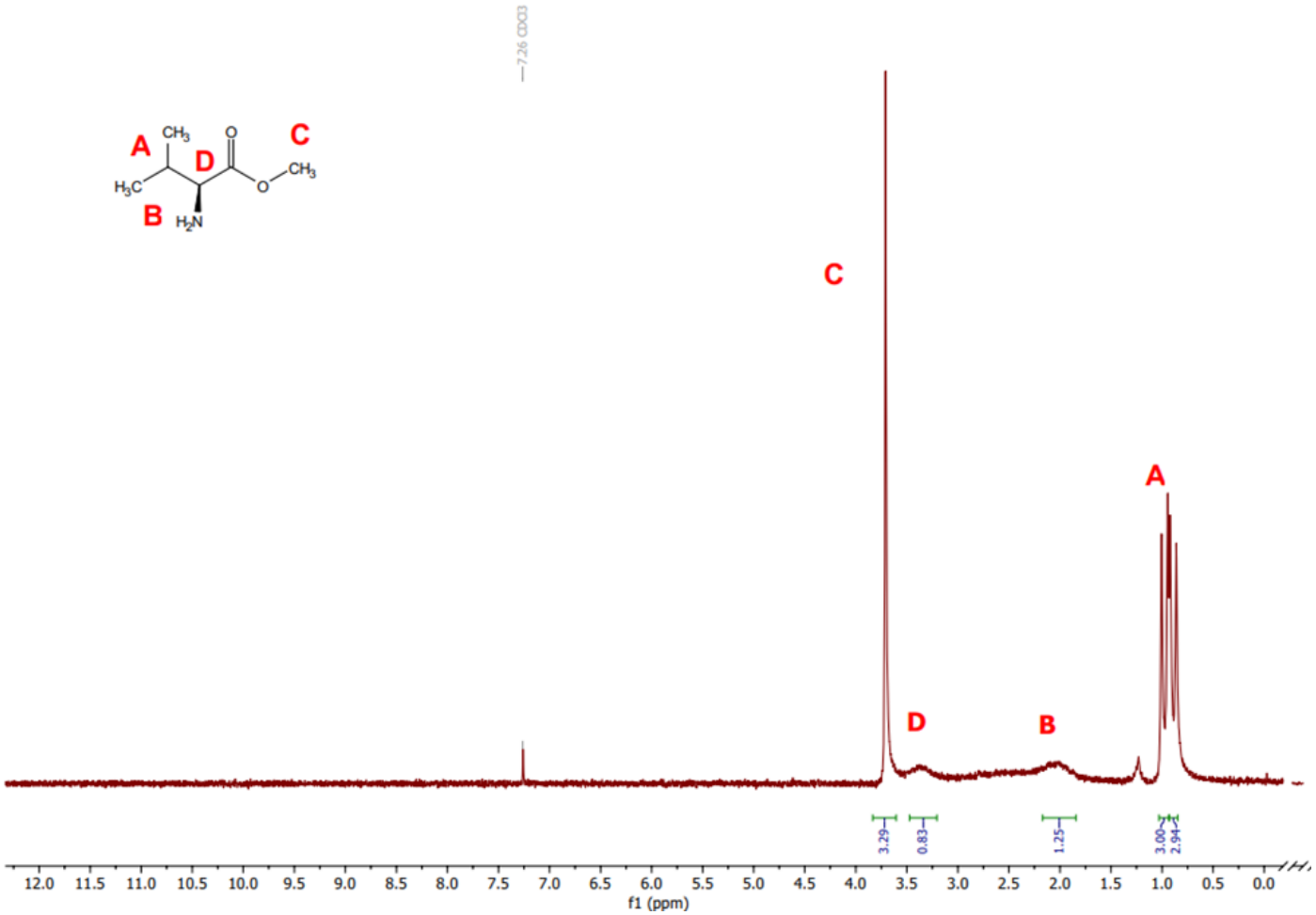
2. Espectro de ^{1}H RMN (D_2O, 80 MHz) de L-valina.



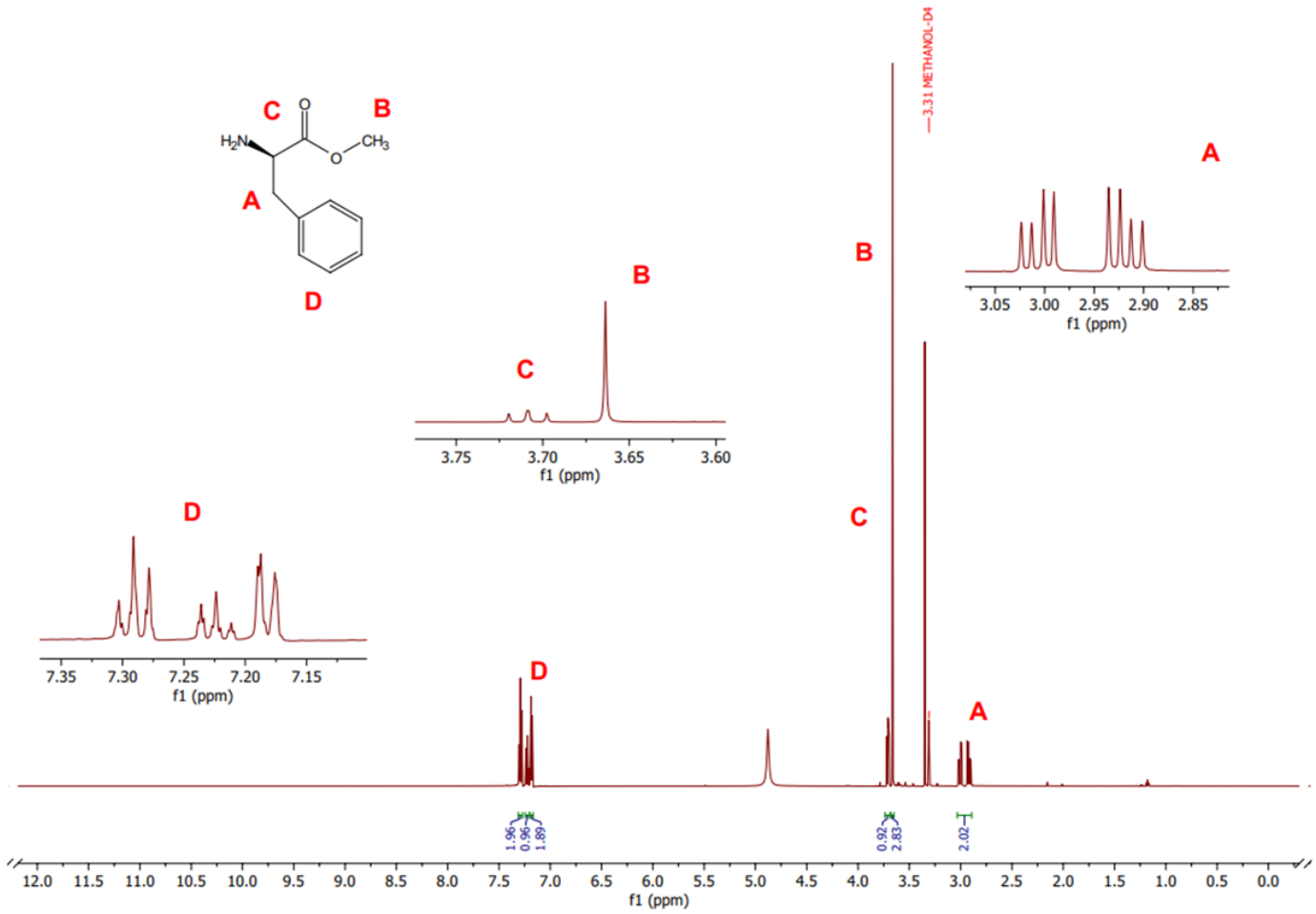
3. Espectro de ^{1}H RMN (D_2O,80 MHz) de L-fenilalanina.



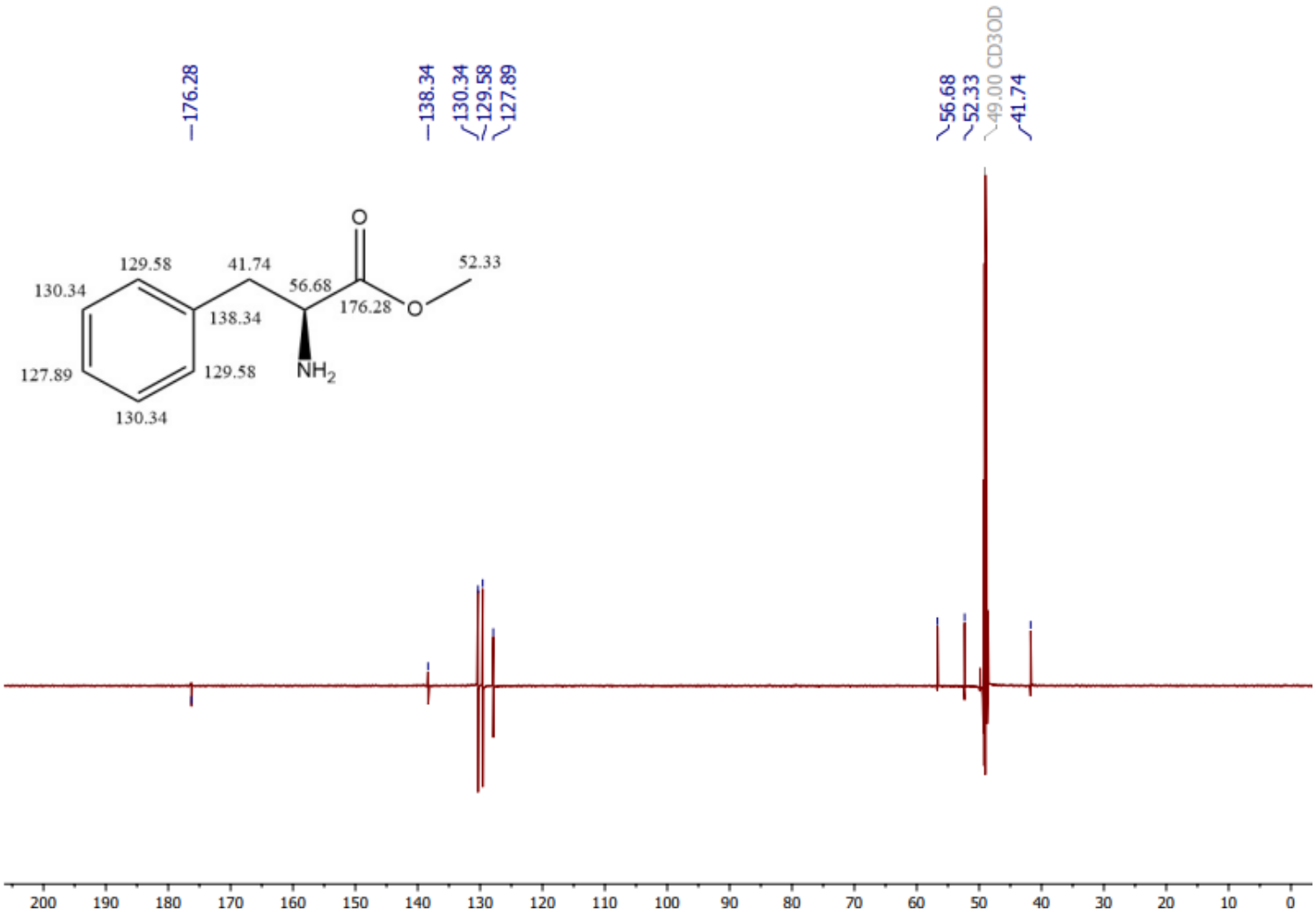
4. Espectro de ^{1}H RMN (CD_3OD,80 MHz) de L-alaninato de metilo.



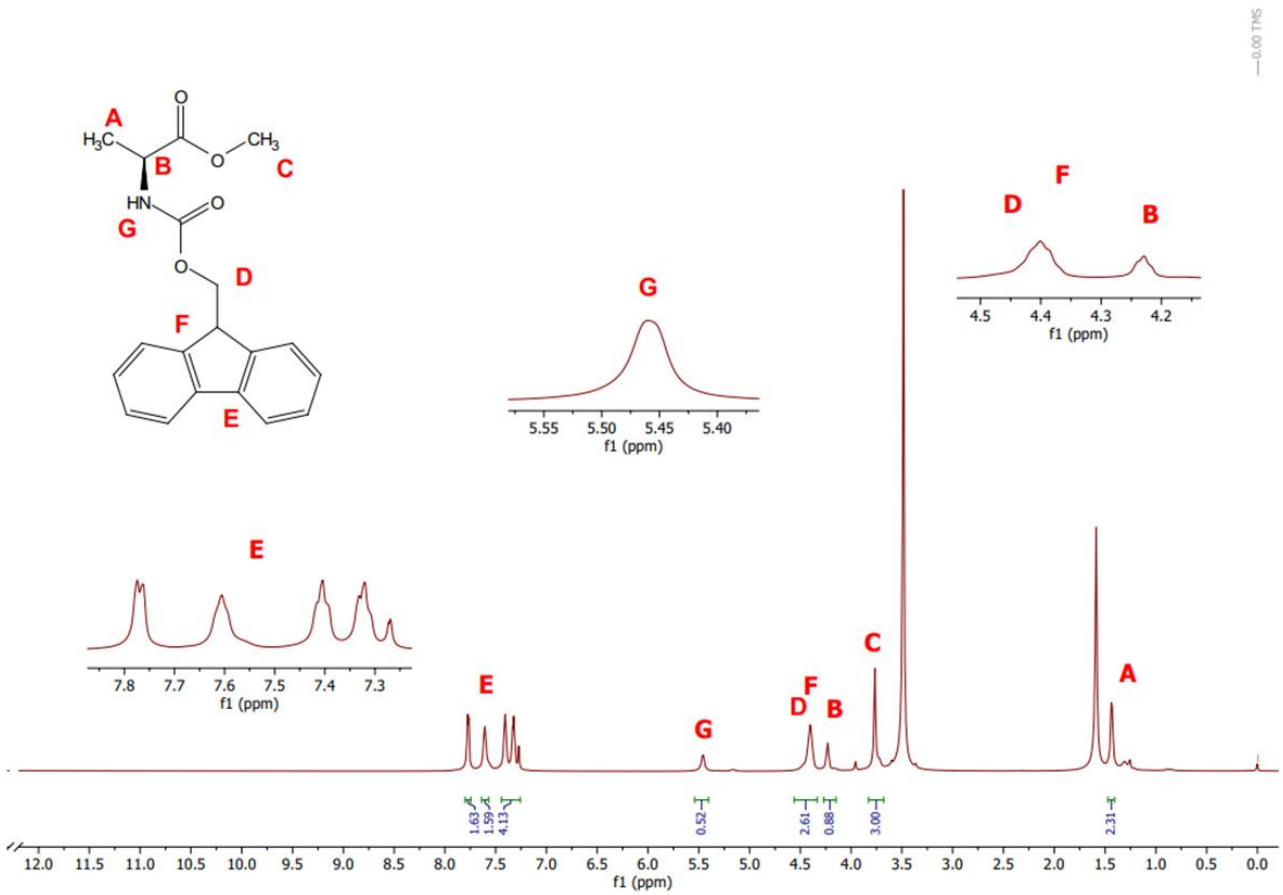
5. Espectro de ^{1}H RMN ($CDCl_3$,80 MHz) de L-valinato de metilo.



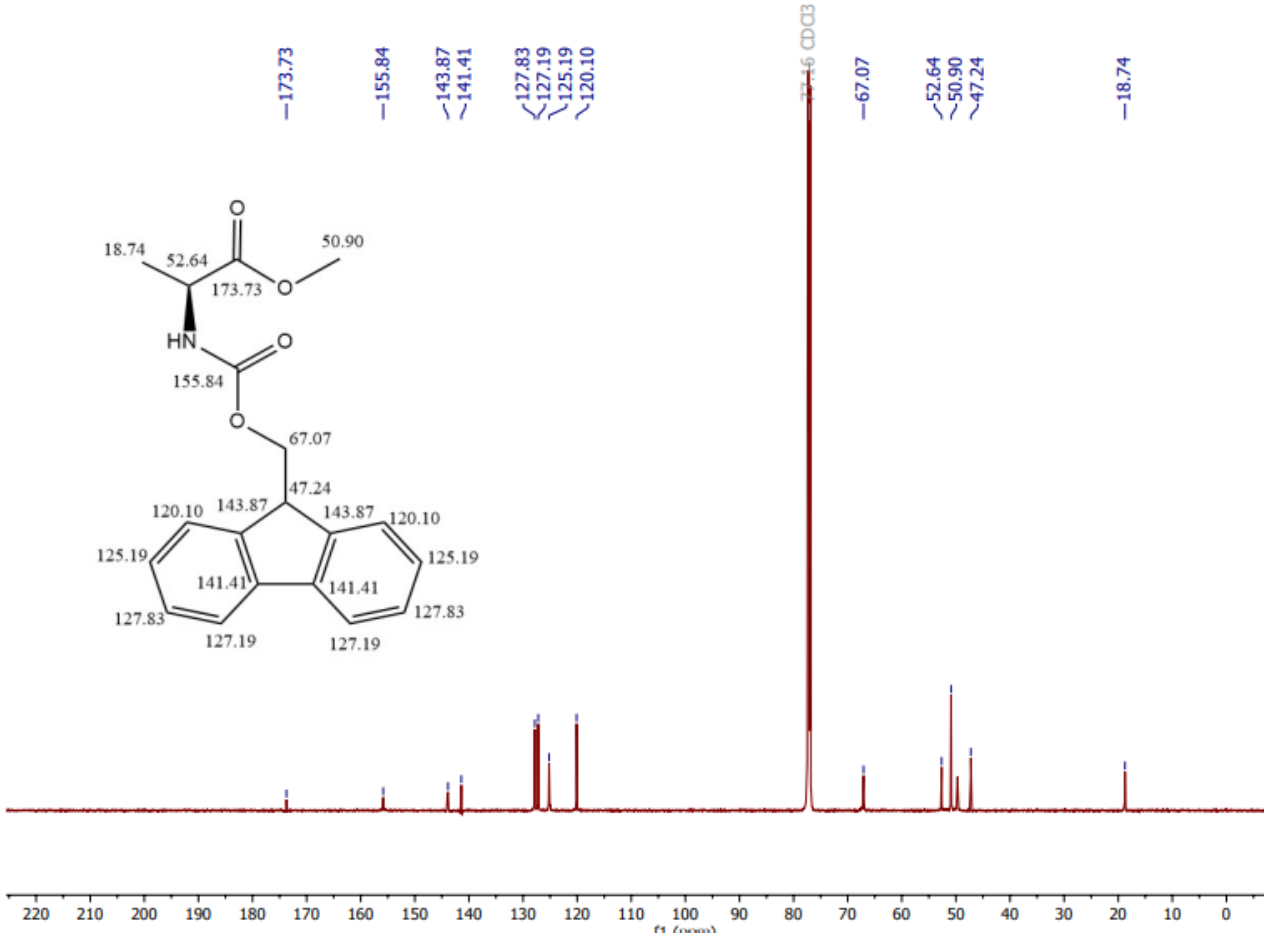
6. Espectro de ^{1}H RMN (CD_3OD,500 MHz) de L-fenilalaninato de metilo.



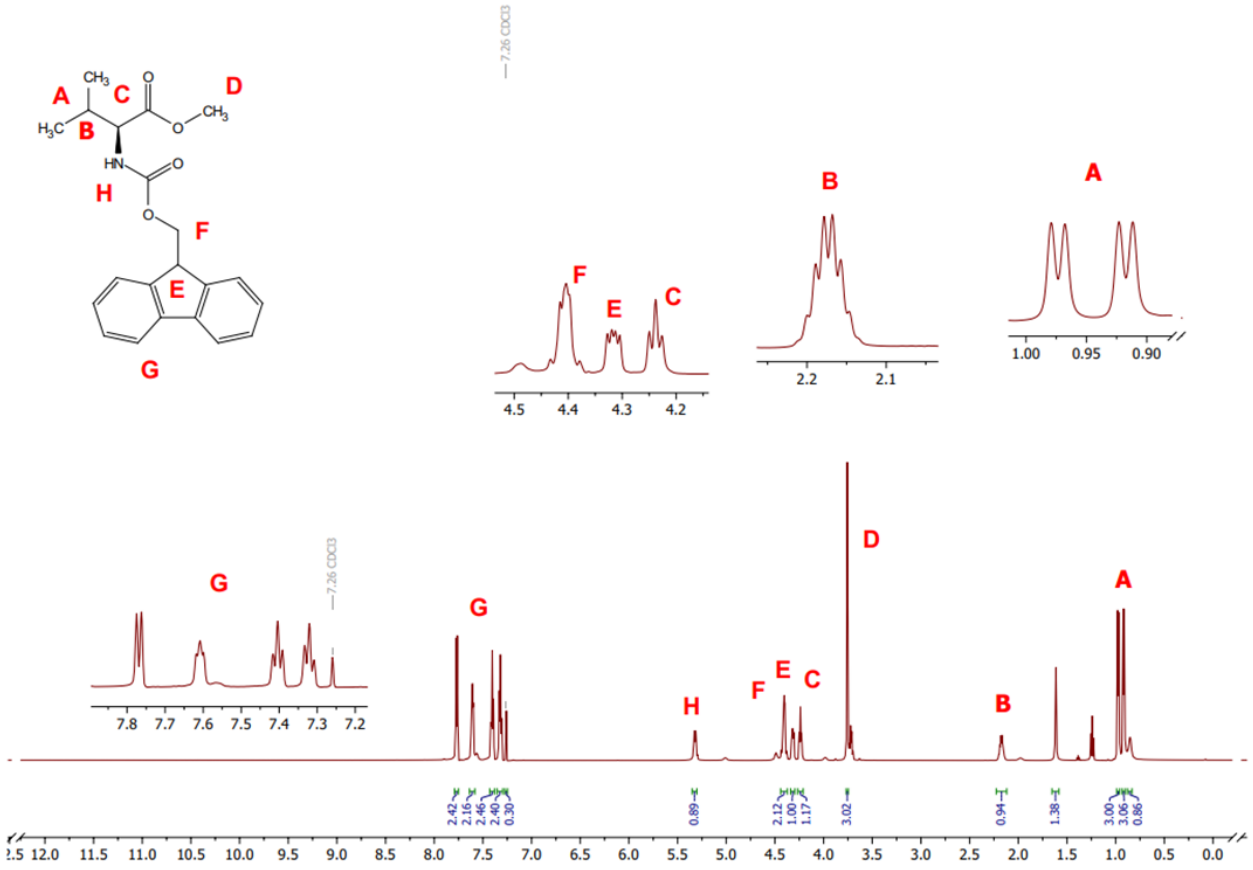
7. Espectro de ^{13}C RMN (CD_3OD,125 MHz) de L-fenilalaninato de metilo.



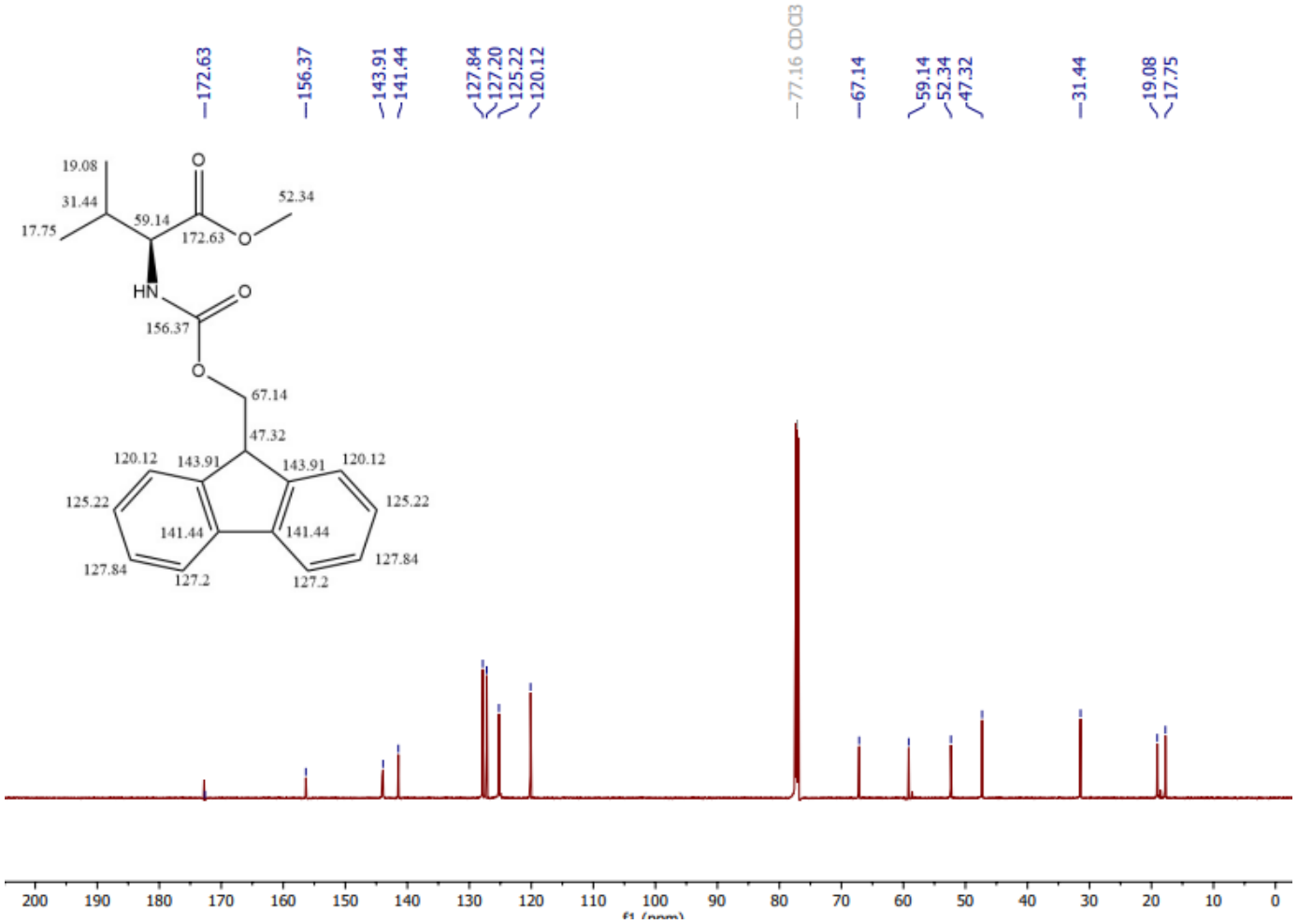
8. Espectro de ^{1}H RMN ($CDCl_3$,600 MHz) de (((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil))-L-alaninato de metilo.



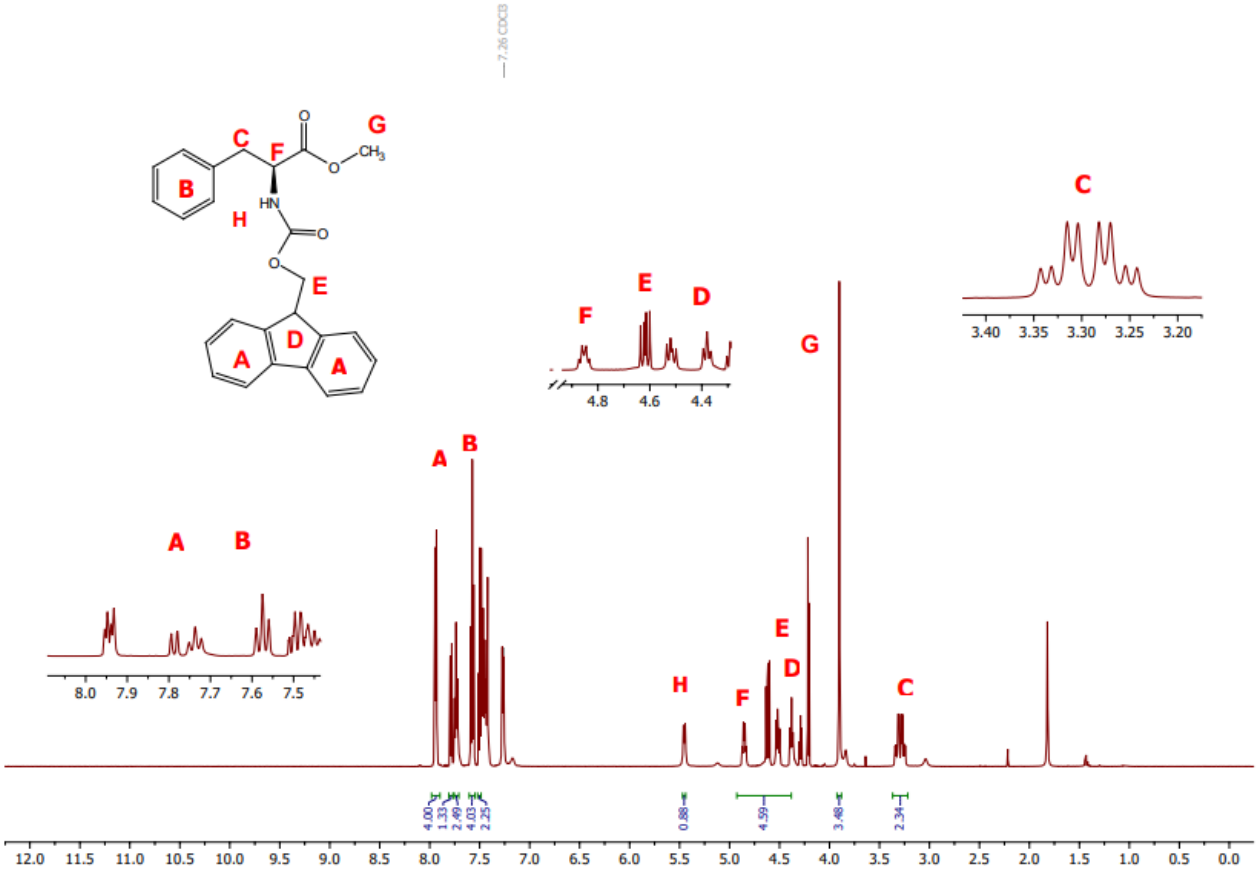
9. Espectro de ^{13}C RMN ($CDCl_3$,150 MHz) de (((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-L-alaninato de metilo.



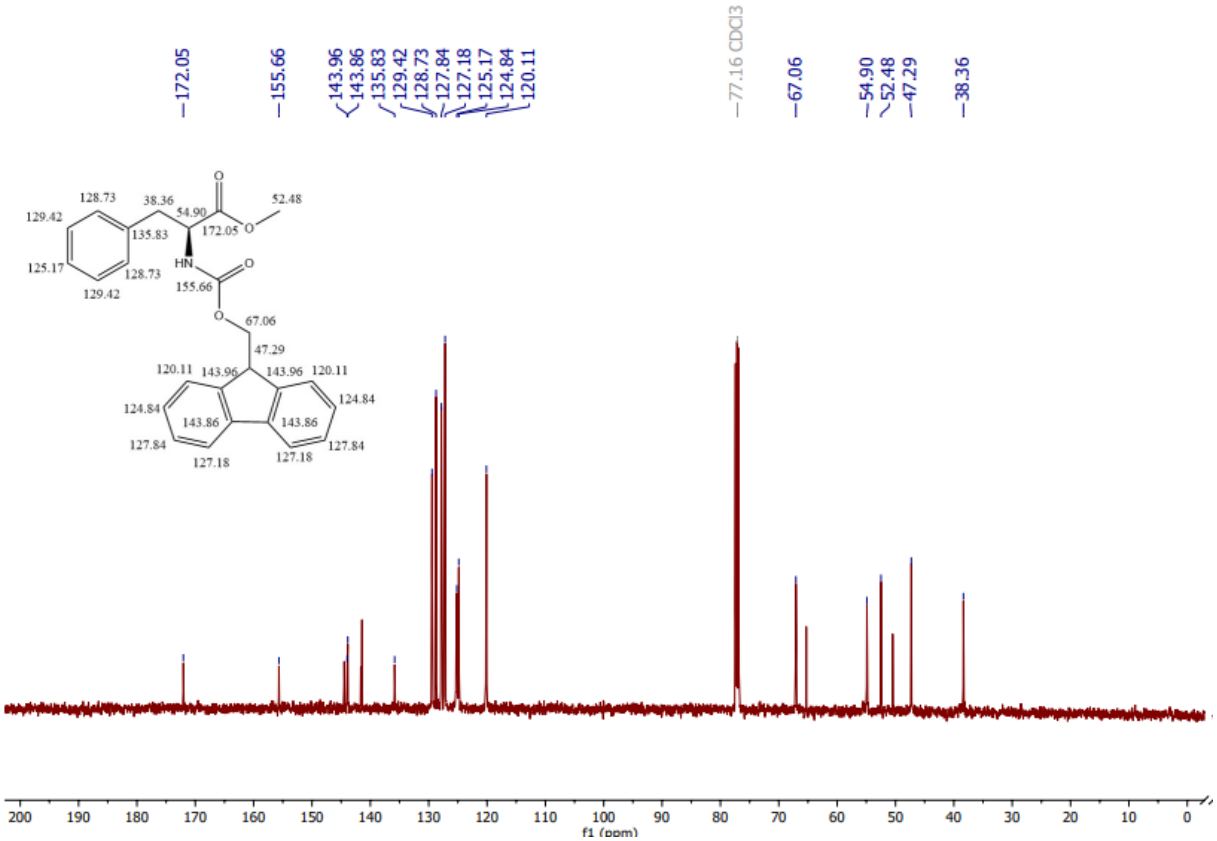
10. Espectro de ^{1}H RMN ($CDCl_3$, 500 MHz) de (((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-L-valinato de metilo



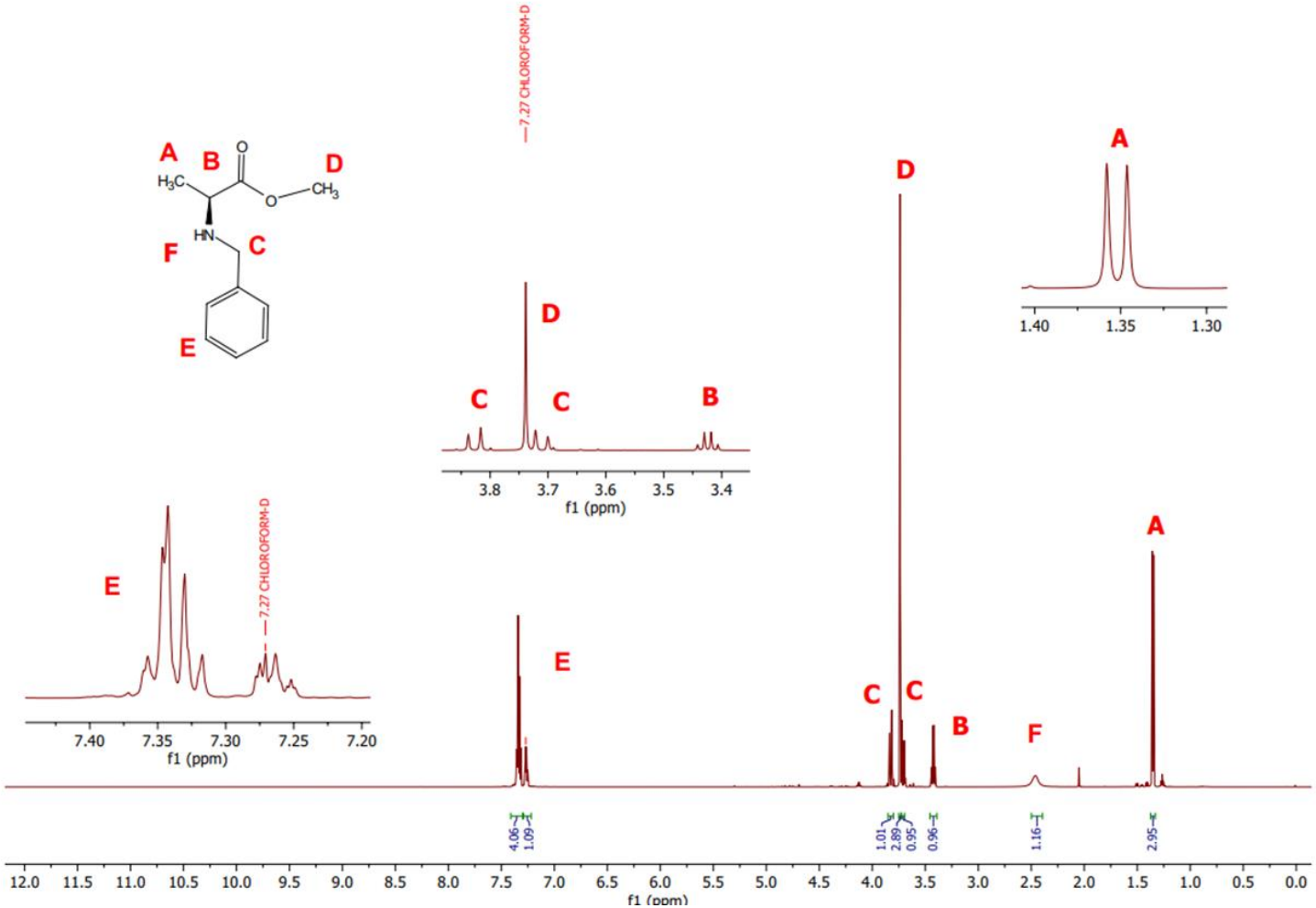
11. Espectro de ^{13} C RMN ($CDCl_3$, 125 MHz) (((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-L-valinato de metilo.



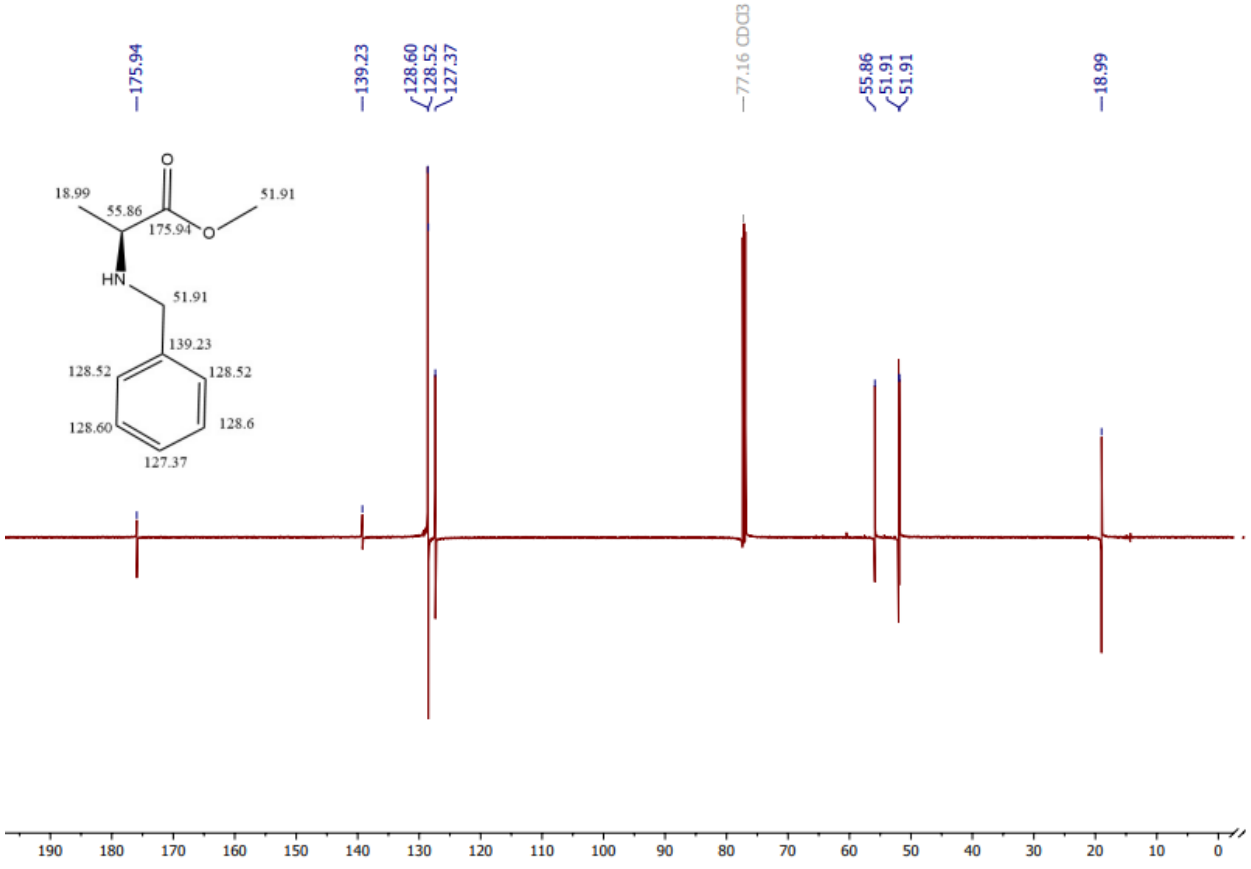
12. Espectro de ^{1}H RMN ($CDCl_3$, 600 MHz) de (((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-L-fenilalaninato de metilo.



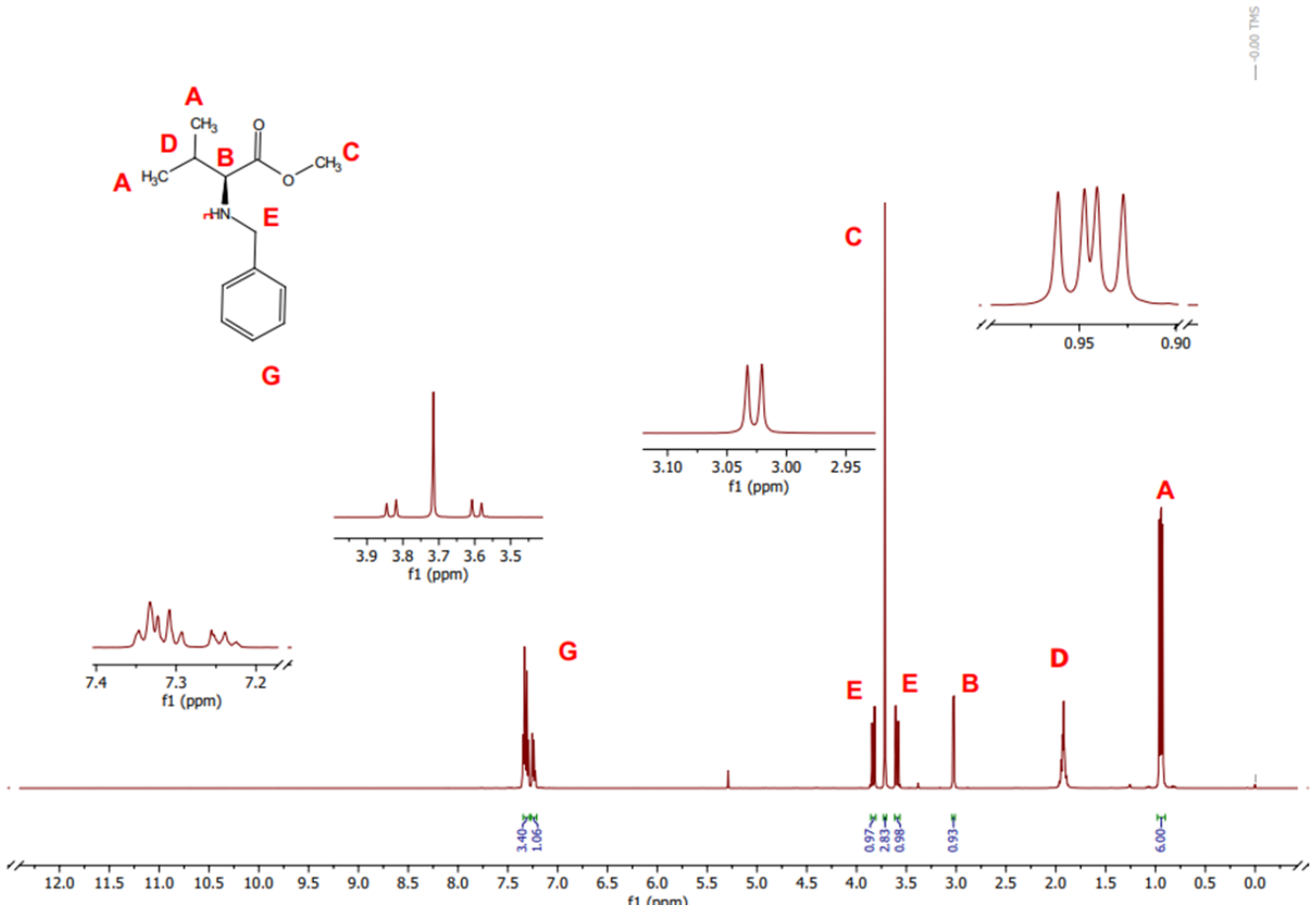
13.Espectro de ^{13}C RMN ($CDCl_3$,150 MHz) de (((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-L-fenilalaninato de metilo.



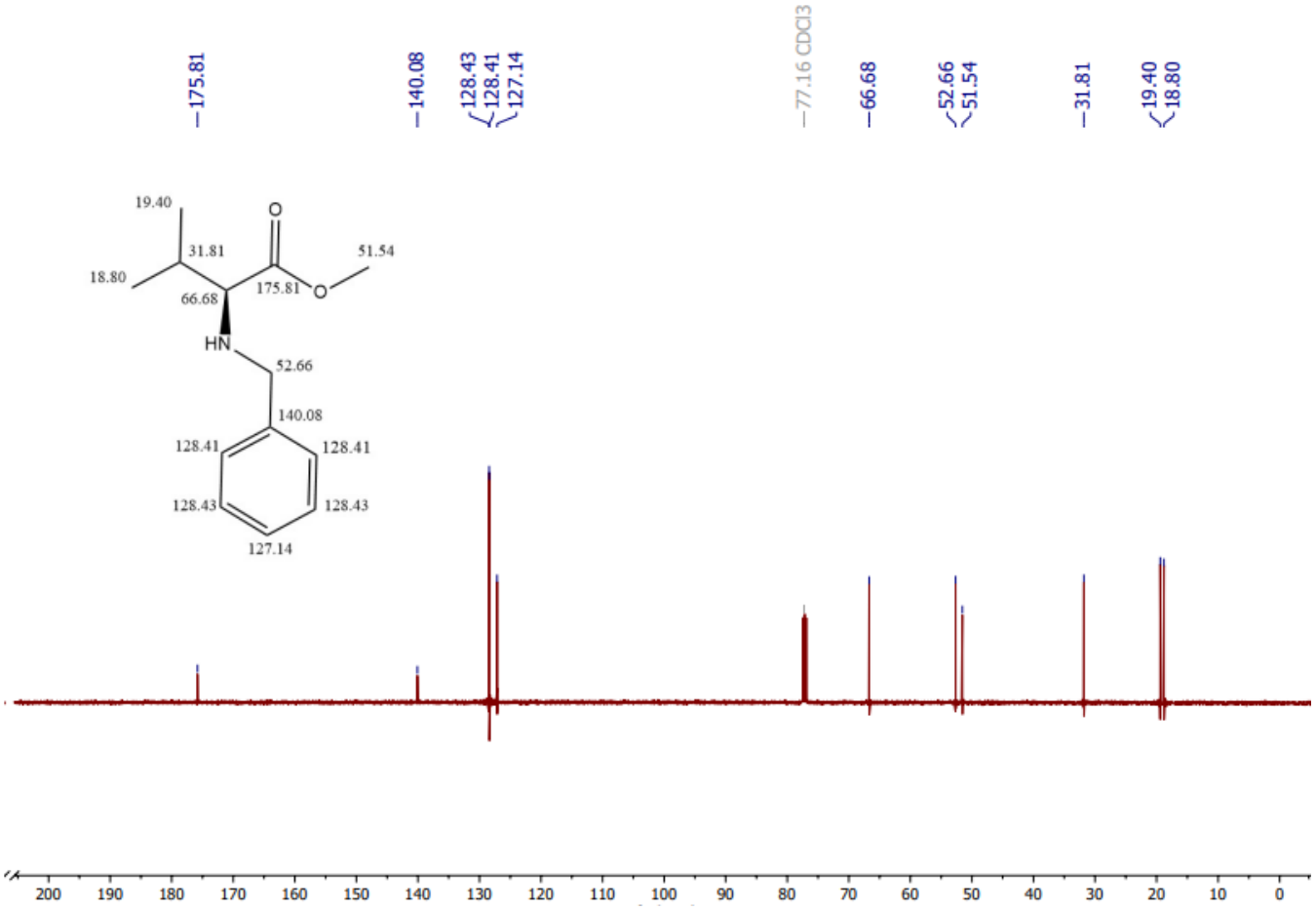
14. Espectro de ^{1}H RMN ($CDCl_3$,600 MHz) de *N*-bencil-*L*-alaninato de metilo.



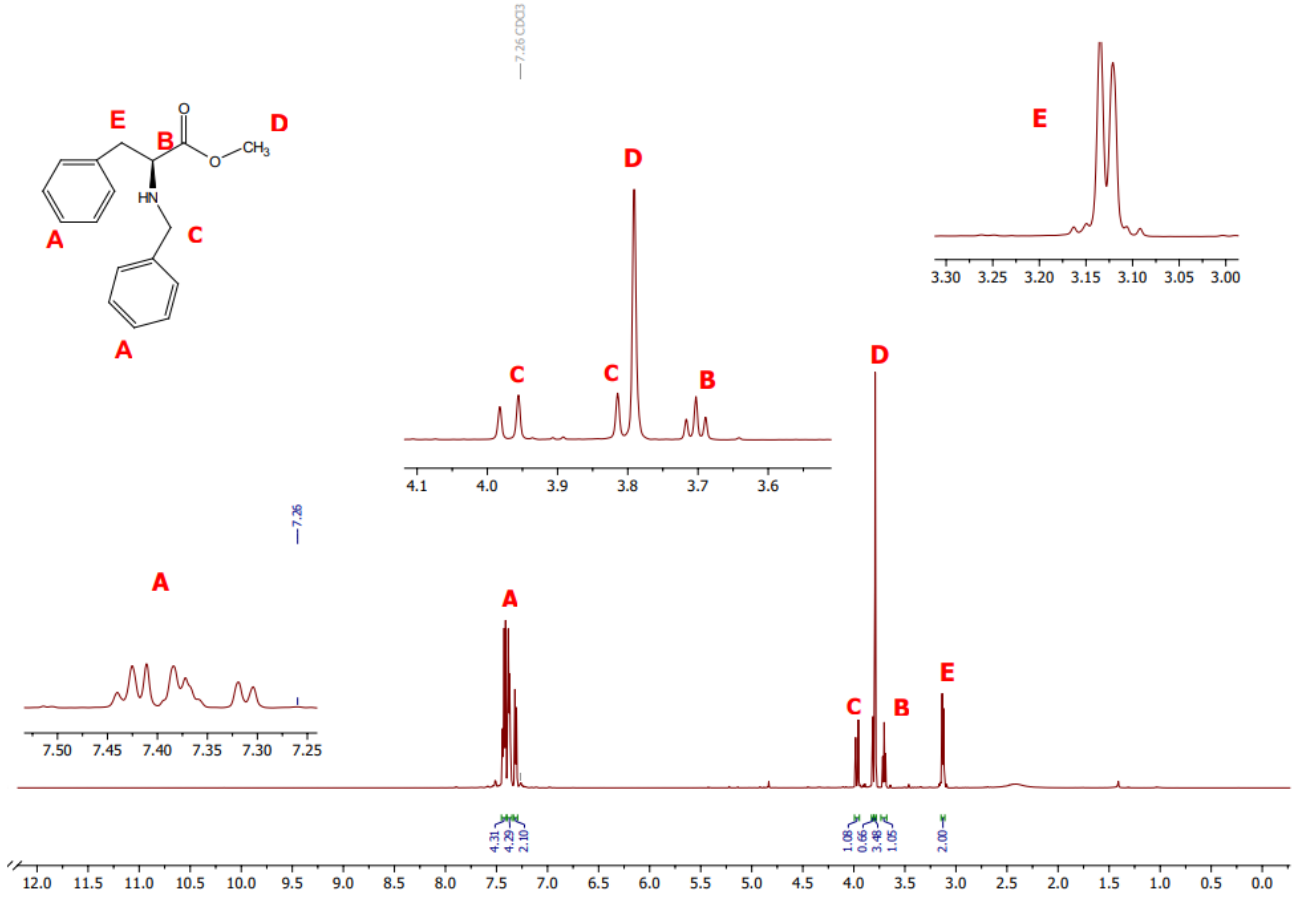
16. Espectro de ^{1}H RMN ($CDCl_3$,500 MHz) de *N*-bencil-L-valinato de metilo.



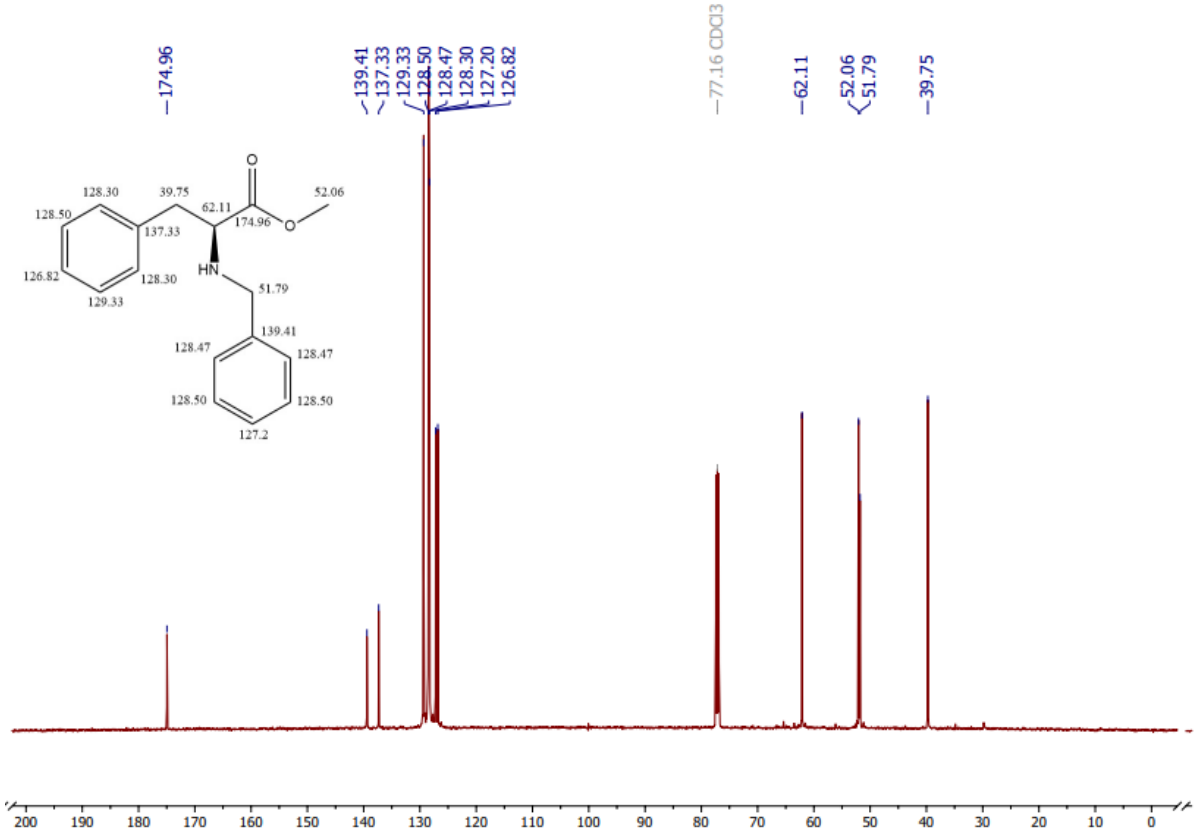
15. Espectro de ^{13}C RMN ($CDCl_3$,150 MHz) de *N*-bencil-L-alaninato de metilo.



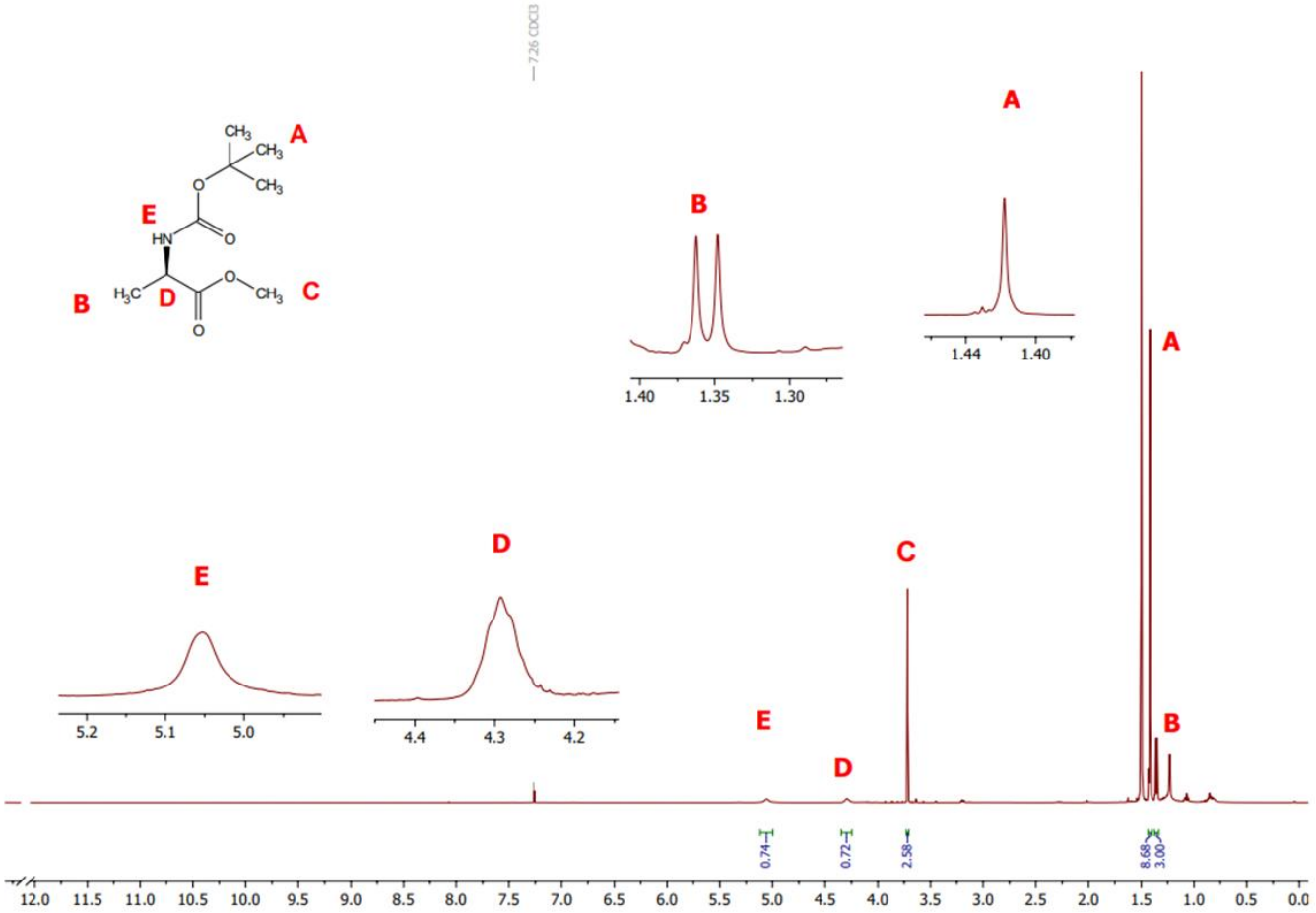
17. Espectro de ^{13}C RMN ($CDCl_3$, 125 MHz) de *N*-bencil-L-valinato de metilo.



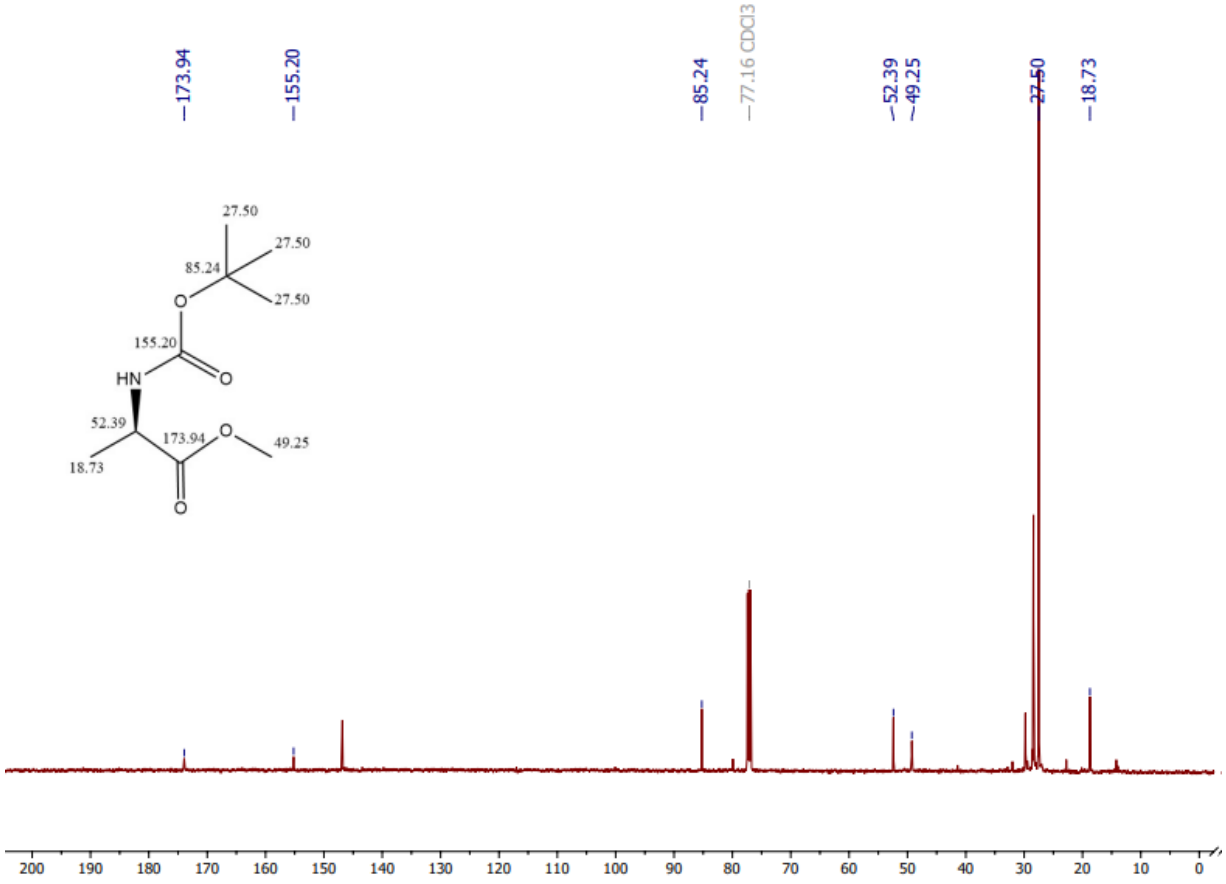
18. Espectro de ^{1}H RMN ($CDCl_3$,600 MHz) de N-bencil-L-fenilalaninato de metilo.



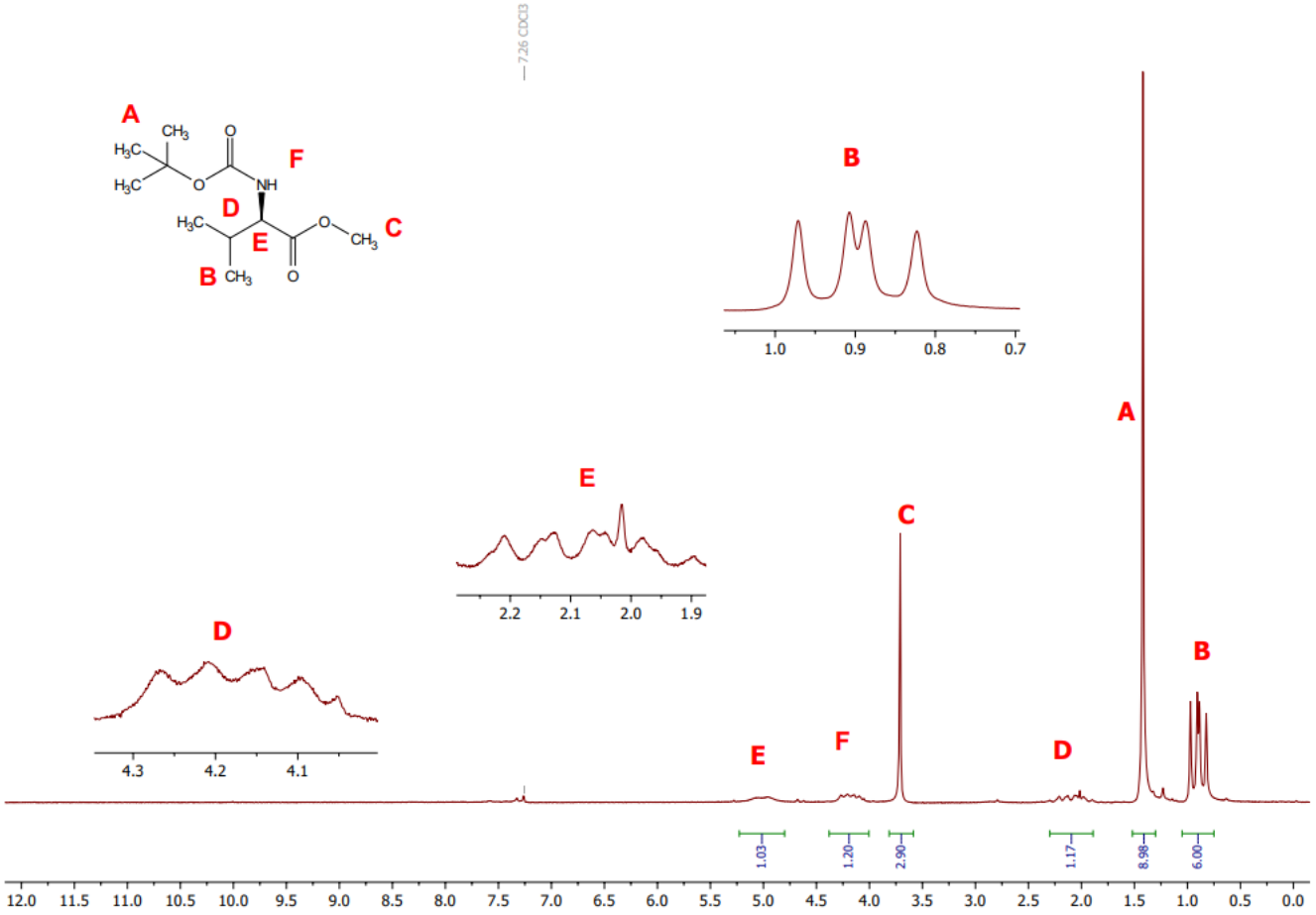
19. Espectro de ^{13}C RMN ($CDCl_3$,150 MHz) de *N*-bencil-L-fenilalaninato metilo.



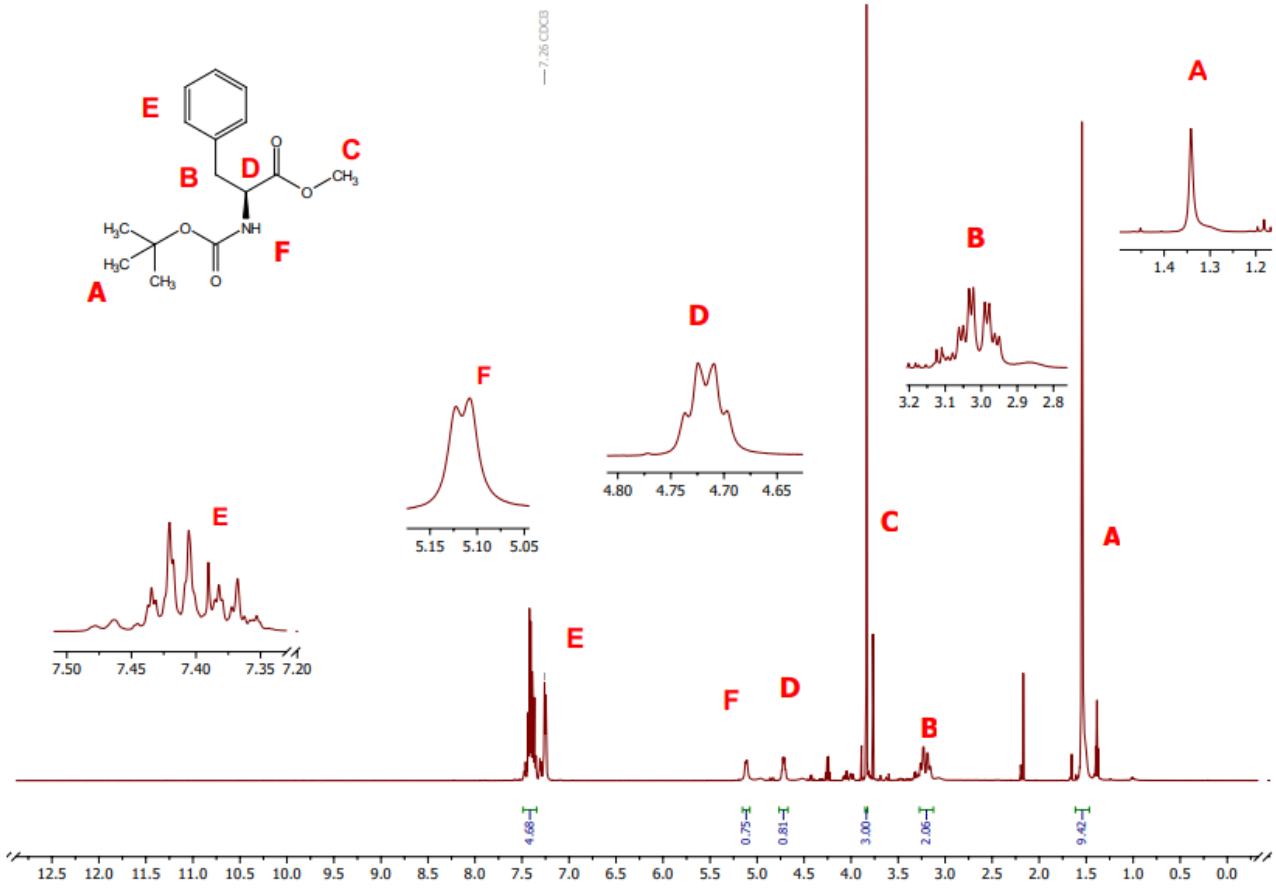
20. Espectro de ^{1}H RMN ($CDCl_3$,500 MHz) de (terc-butoxicarbonil)-L-alaninato de metilo.



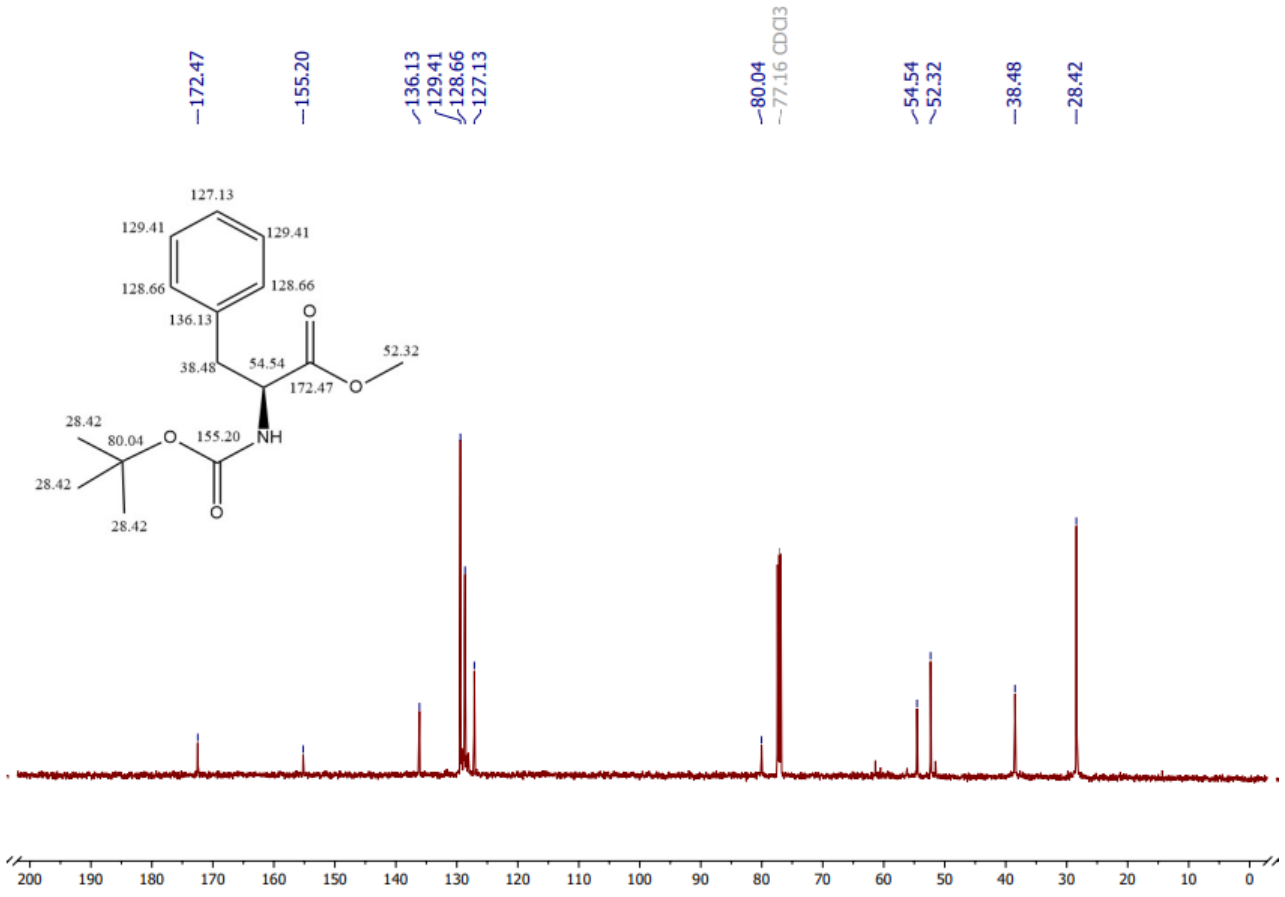
21. Espectro de ^{13}C RMN ($CDCl_3$, 125 MHz) de (terc-butoxicarbonil)-L-alaninato de metilo.



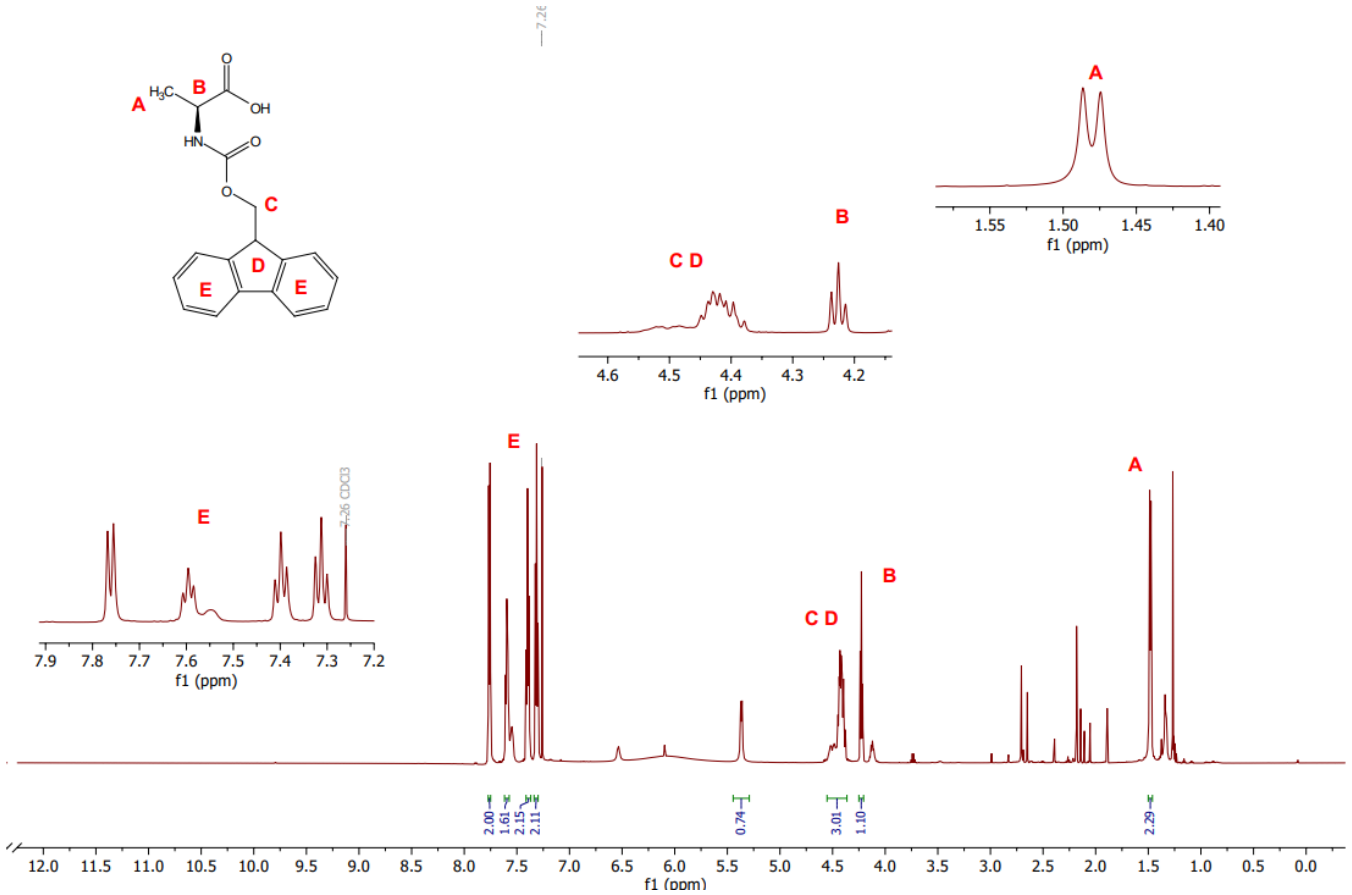
22. Espectro de ^{1}H RMN ($CDCl_3$, 80 MHz) de (terc-butoxicarbonil)-L-valinato de metilo.



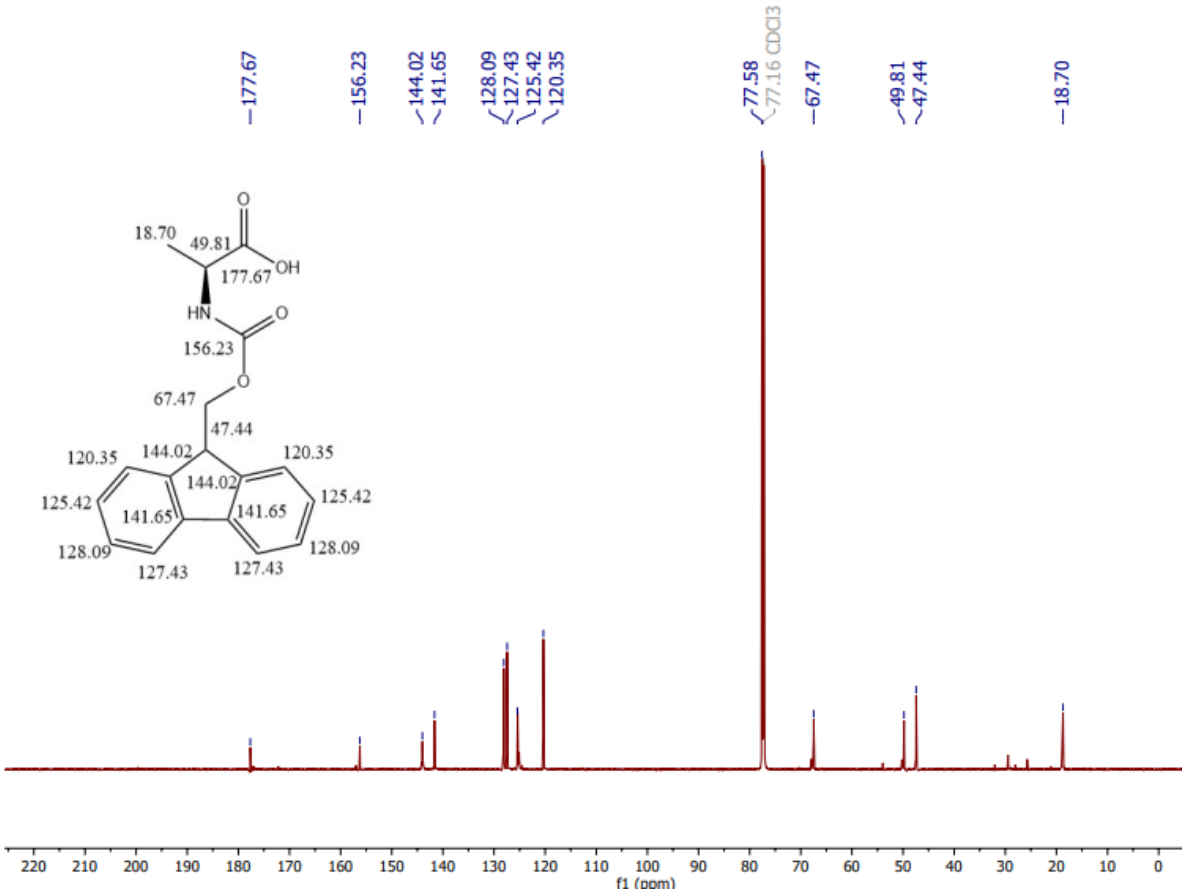
23. Espectro de ^{13}H RMN (CD_3Cl, 600 MHz) de (terc-butoxicarbonil)-L-fenilalaninato de metilo.



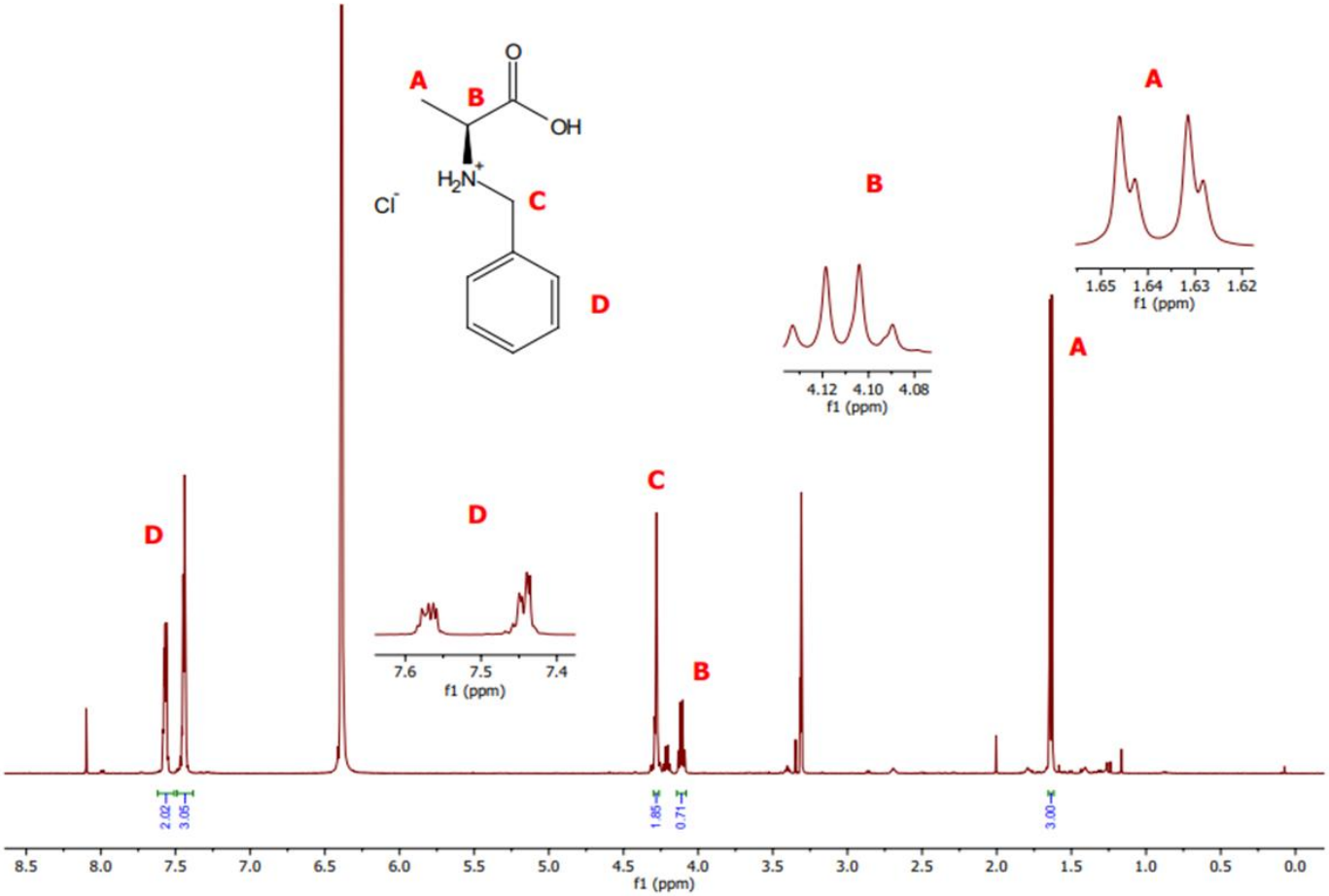
24. Espectro de ^{13}C RMN ($CDCl_3$,150 MHz) de (terc-butoxicarbonil)-L-fenilalaninato de metilo.



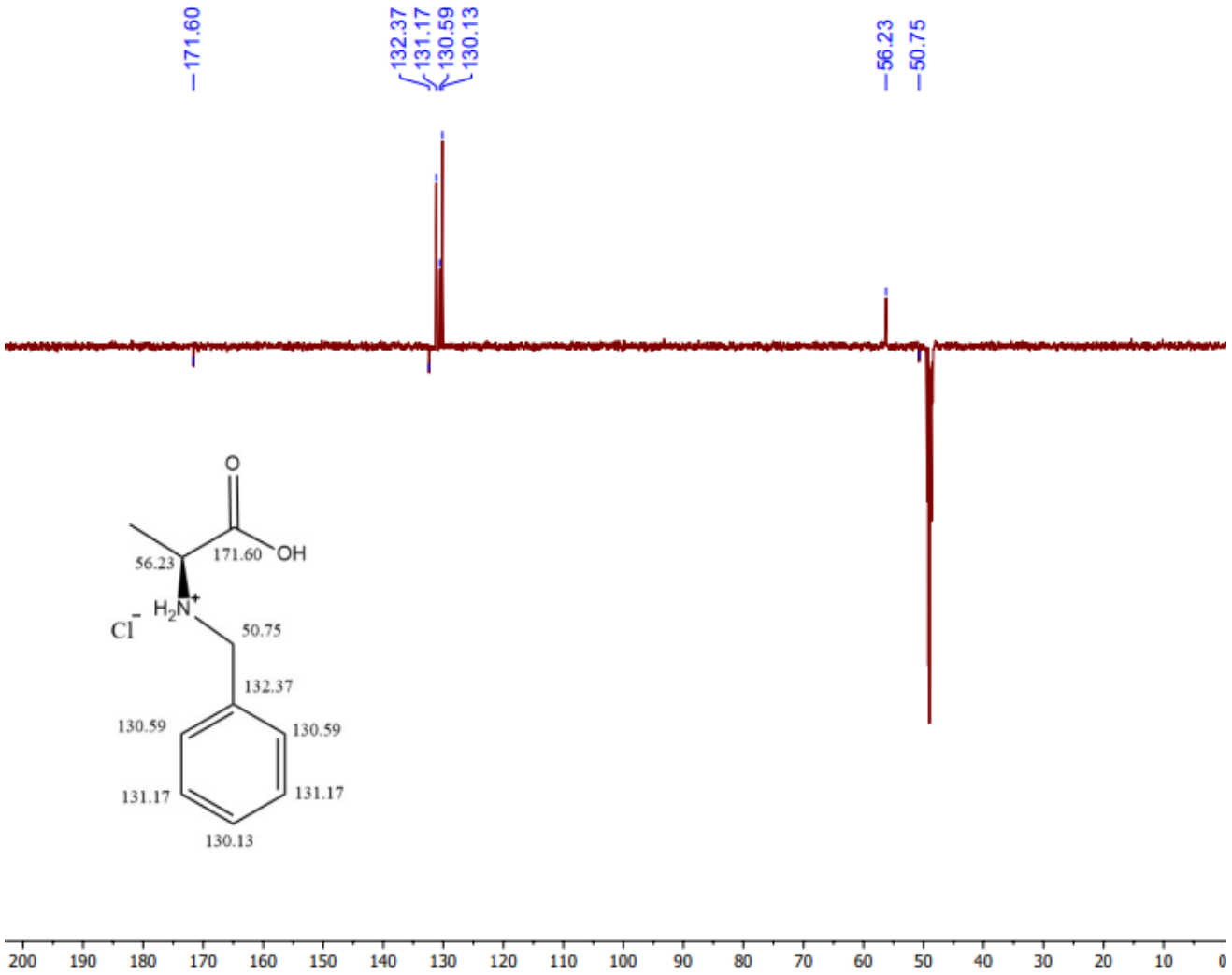
25. Espectro de ^{1}H NMR (600, MHz, $CDCl_3$) de (((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil))-L-alanina.



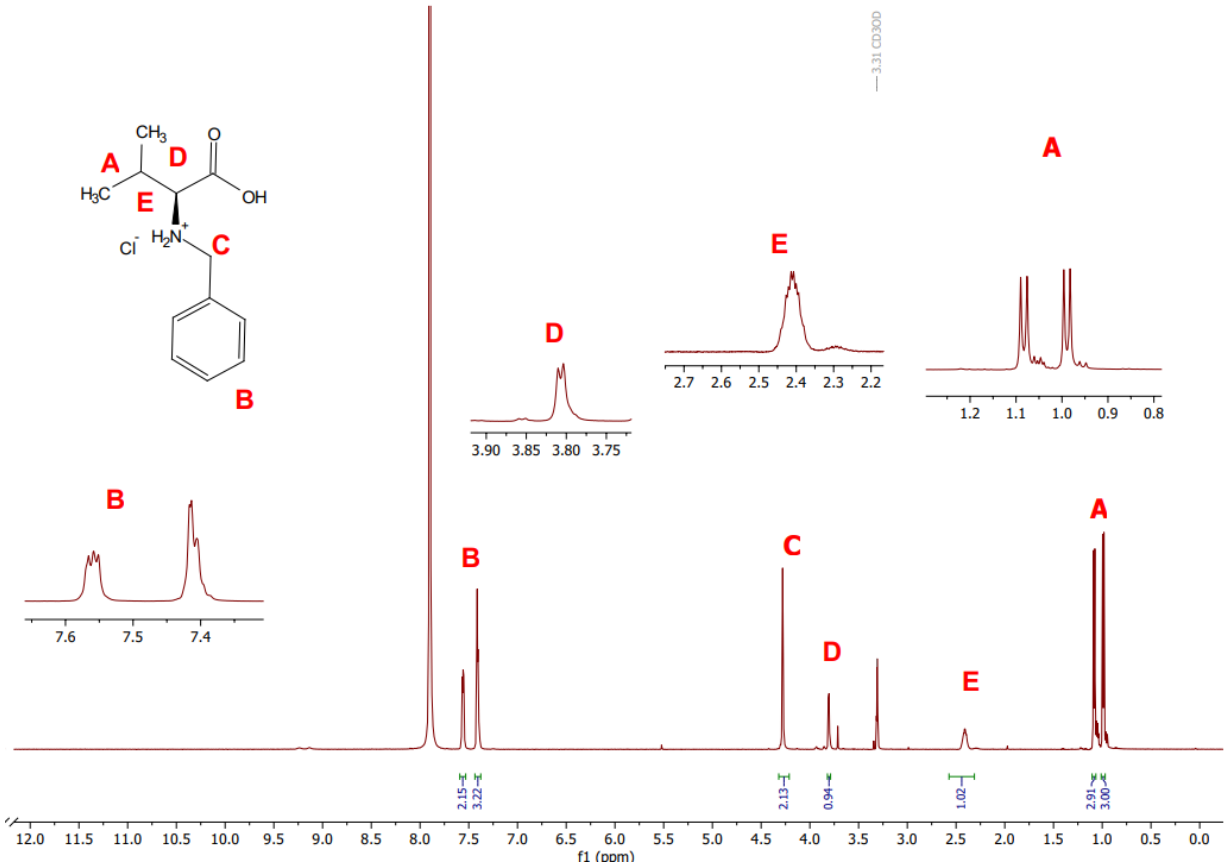
25. Espectro de ^{13}C RMN ($CDCl_3$,-HCl,125 MHz)de (((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil))-L-alanina.



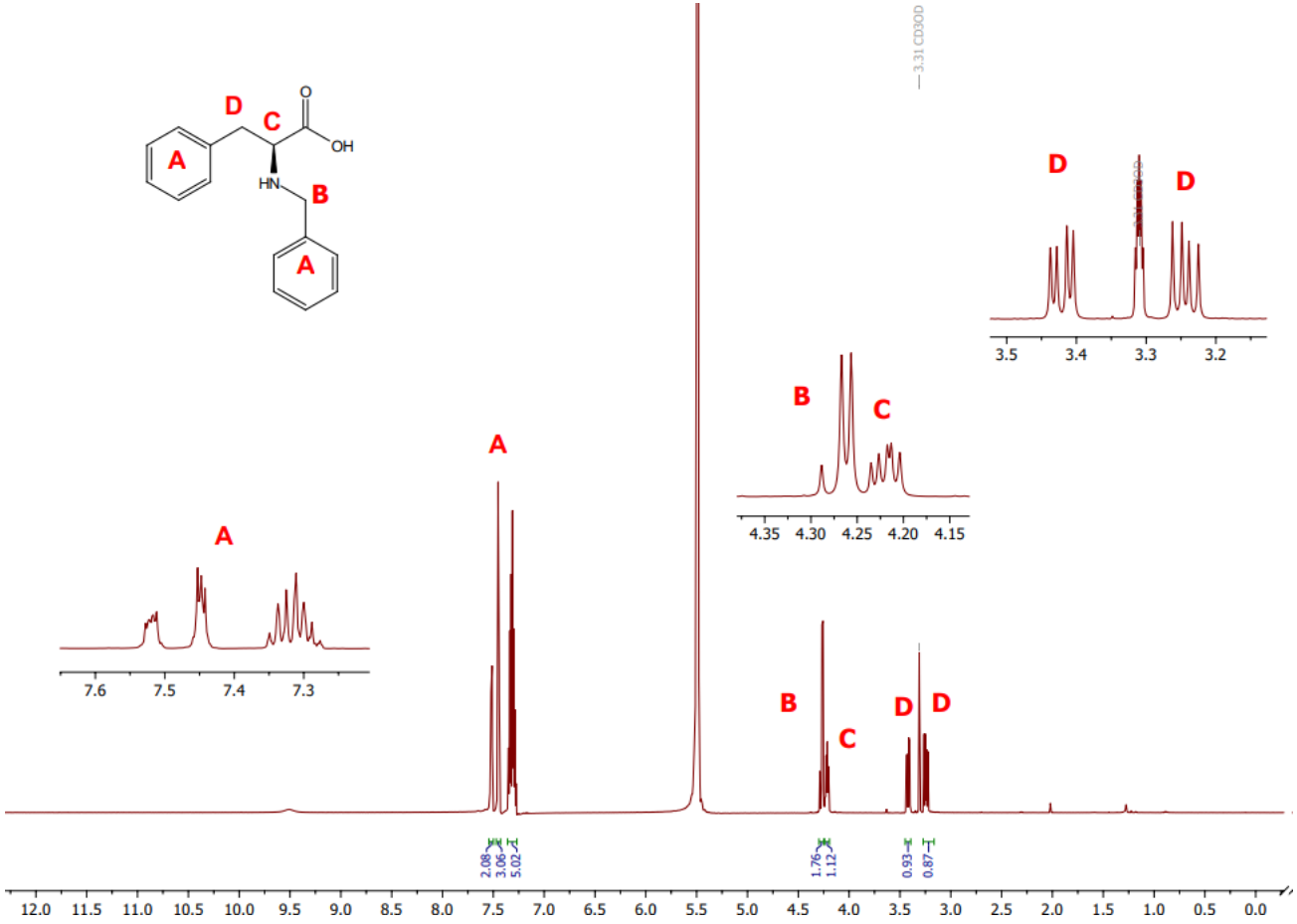
27. Espectro de ^{1}H RMN ($CDCl_3$-HCl ,500 MHz) de clorhidrato de *N*-bencil-L-alanina.[22]



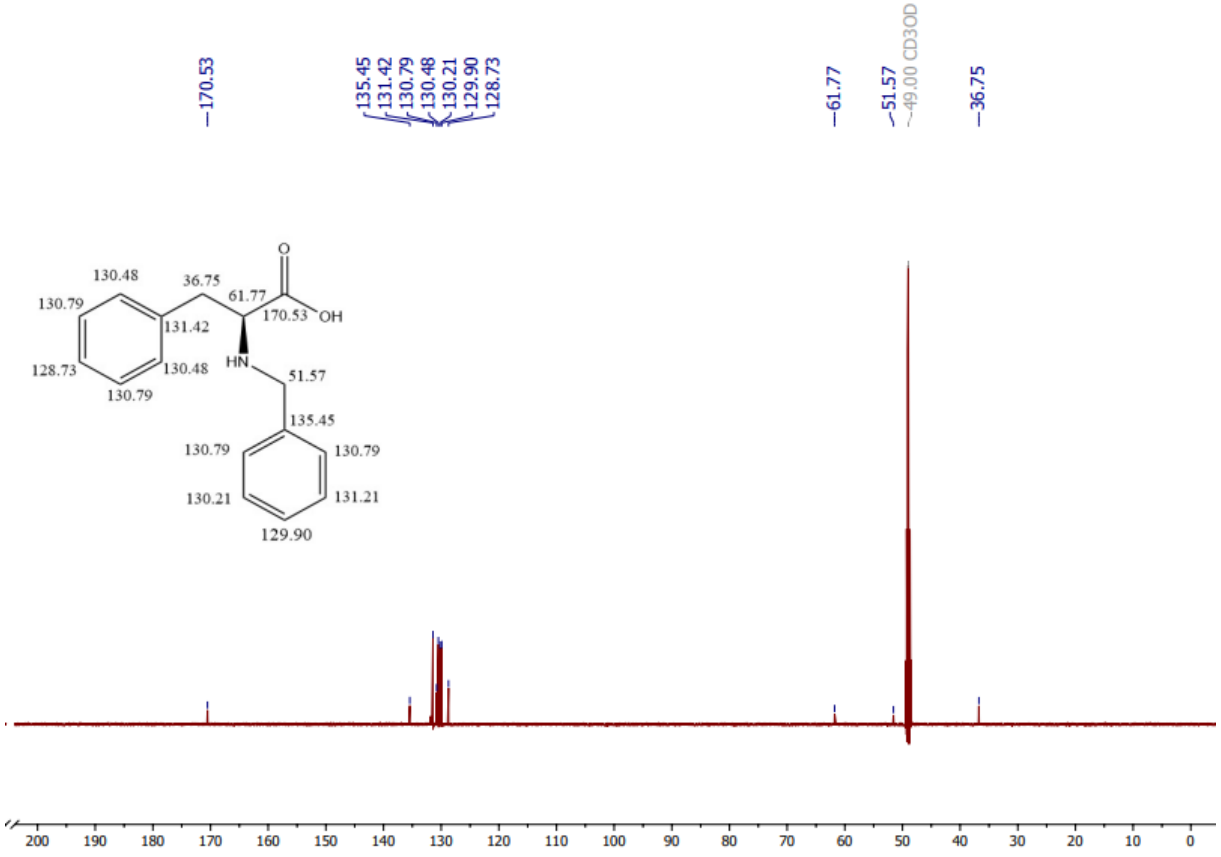
28. Espectro de ^{13}C RMN ($CDCl_3$,-HCl,125 MHz) de clorhidrato de *N*-bencil-L-alanina.[22]



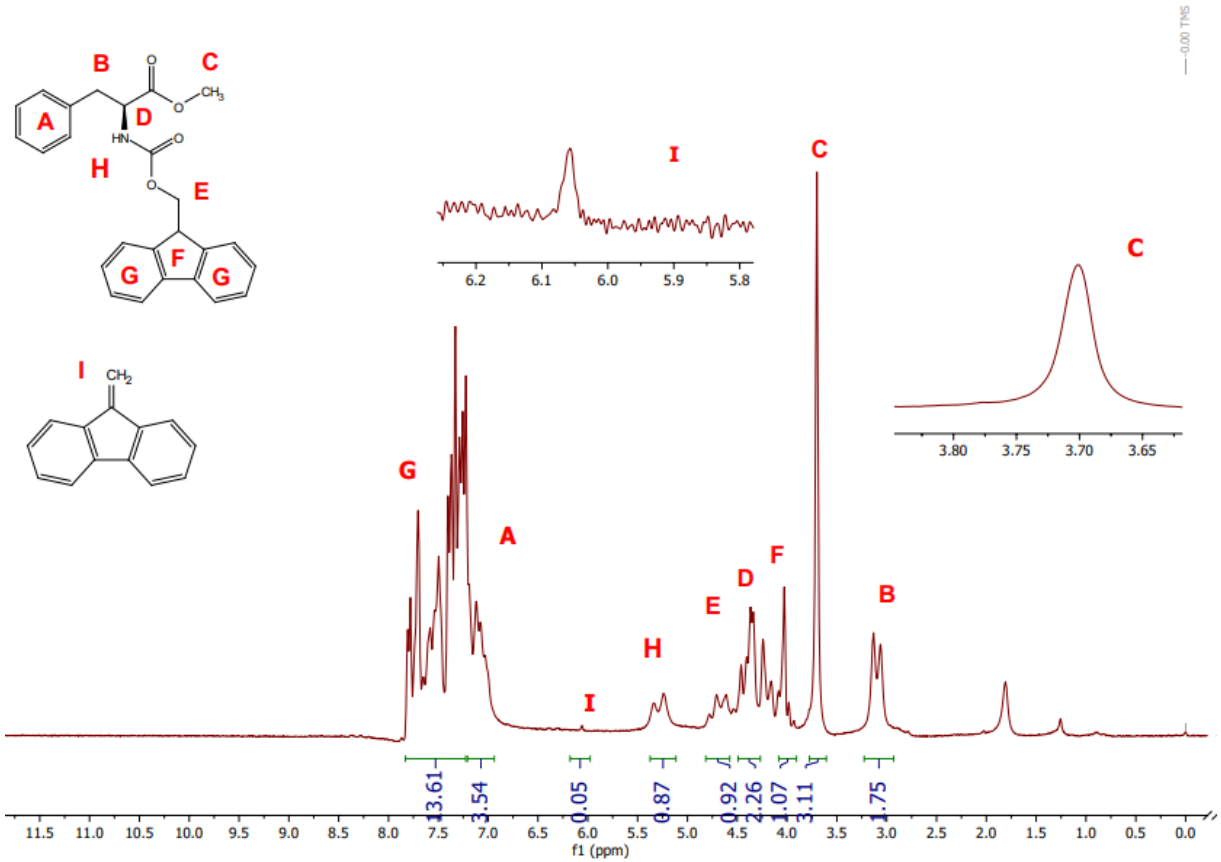
29. Espectro de ^{1}H RMN (CD_3OD-HCl,500 Mhz) de clorhidrato de *N*-bencil-*L*-valina.



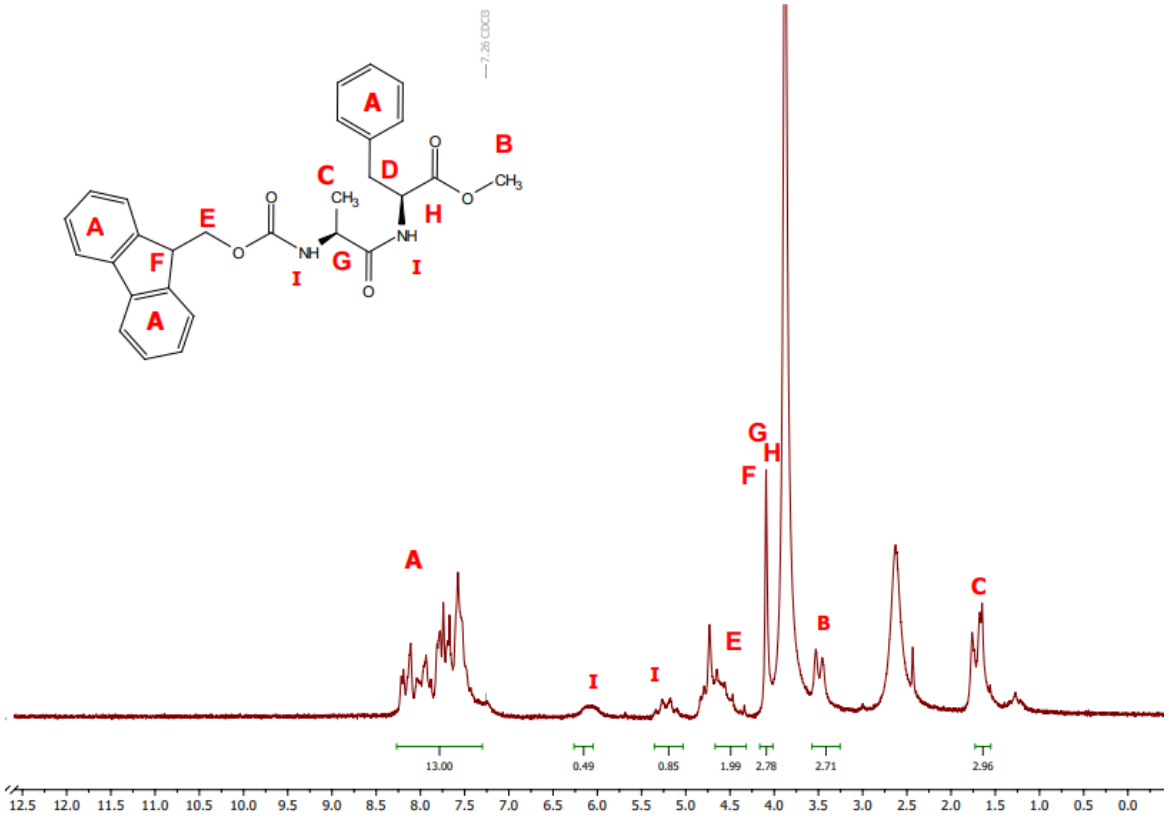
30. Espectro de ^{1}H RMN (CD_3OD,500 MHz) de *N*-bencil-L-fenilalanina.



31. Espectro de ^{13}C RMN (CD_3OD,125 MHz) de *N*-bencil-L-fenilalanina.



32. Espectro ^{1}H NMR ($CDCl_3$,80 MHz) del crudo de la reacción de hidrolisis de metil-(((9*H*-fluoren-9-il) metoxi)carbonil)-L-fenilalaninato en H_2O:MeOH (10:90).



33. Espectro ^{1}H NMR ($CDCl_3$,80 MHz) de (9*H*-fluoren-9il)metoxi)carbonil)alanil-L-fenilalaninato de metilo.

13. BIBLIOGRAFIA

(1) Eftekhari, M.; Monhemi, H. Green Chemistry in the Hydrolysis Process of Cellulose by Acids: Modelling, Optimization, and Life Cycle Assessment. *Environ. Ind. Lett.* **2024**, *2* (1), 1–15. https://doi.org/10.15157/eil.2024.2.1.1-15

(2) Ramos, V.; Vasconcelos, V. Palytoxin and Analogs: Biological and Ecological Effects. *Mar. Drugs* **2010**, *8*, 2021–2037. https://doi.org/10.3390/md8072021

(3) Moore, R. E.; Scheuer, P. J. Palytoxin: A New Marine Toxin from a Coelenterate. *Science* **1971**, *172* (3982), 495–498. https://doi.org/10.1126/science.172.3982.495

(4) Suh, E. M.; Kishi, Y. Synthesis of Palytoxin from Palytoxin Carboxylic Acid. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116* (24), 11205–11206. https://doi.org/10.1021/ja00103a065

(5) Enantiomer. **2019**. https://doi.org/doi:10.1351/goldbook.E02069

(6) Doig, A. Frozen, but No Accident - Why the 20 Standard Amino Acids Were Selected. *FEBS J.* **2016**, *284*. https://doi.org/10.1111/febs.13982

(7) Akal, C. Chapter 28 - Benefits of Whey Proteins on Human Health. In *Dairy in Human Health and Disease Across the Lifespan*; Watson, R. R., Collier, R. J., Preedy, V. R., Eds.; Academic Press, 2017; pp 363–372. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809868-4.00028-5

(8) *The Intricacies of Amino Acid Synthesis: A Comprehensive Guide - BOC Sciences*. https://aapep.bocsci.com/resources/the-intricacies-of-amino-acid-synthesis-a-comprehensive-guide.html (accessed 2026-10-13)

(9) Wade, L. G.; Pedrero, Á. M. M.; García, C. B. *Química Orgánica*; Fuera de colección Out of series; Pearson Educación, 2004.

(10) von Liebig, J. F. *Justus Liebigs Annalen Der Chemie*; Verlag Chemie, 1913.

(11) *26.4: Synthesis of Amino Acids*. Chemistry LibreTexts. https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Organic_Chemistry_(Morsch_et_al.)/26%3A_Biomolecules-_Amino_Acids_Peptides_and_Proteins/26.04%3A_Synthesis_of_Amino_Acids

(accessed 2026-10-13)

(12) Pratelli, R.; Pilot, G. Regulation of Amino Acid Metabolic Enzymes and Transporters in Plants. *J. Exp. Bot.* **2014**, *65* (19), 5535–5556. https://doi.org/10.1093/jxb/eru320

(13) *Ácido aspártico: qué es, definición | Diccionario CUN*. https://www.cun.es. https://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/acido-aspartico (accessed 2026-10-13)

(14) Abdussalam-Mohammed, W.; Qasem Ali, A.; O. Errayes, A. Green Chemistry: Principles, Applications, and Disadvantages. *Chem. Methodol.* **2020**, *4* (4), 408–423. https://doi.org/10.33945/SAMI/CHEMM.2020.4.4

(15) PhosAgro/UNESCO/IUPAC Green Chemistry for Life Grant Programme. **2016**, *38* (3–4), 29–29. https://doi.org/10.1515/ci-2016-3-411

(16) Jiménez-González, C.; Curzons, A.; Constable, D.; Cunningham, V. Cradle-to-Gate Life Cycle Inventory and Assessment of Pharmaceutical Compounds. *Int. J. Life Cycle Assess.* **2004**, *9*, 114–121. https://doi.org/10.1007/BF02978570

(17) Welton, T. Solvents and Sustainable Chemistry. *Proc. R. Soc. Math. Phys. Eng. Sci.* **2015**, *471* (2183), 20150502. https://doi.org/10.1098/rspa.2015.0502

(18) Pandit, B.; Saha, P. Eco-Friendly Alternatives to Conventional Solvents: Innovations and Applications in Pharmaceutical Manufacturing. *Sustain. Chem. Clim. Action* **2025**, *7*, 100140. https://doi.org/10.1016/j.scca.2025.100140

(19) Clarke, C. J.; Tu, W.-C.; Levers, O.; Bröhl, A.; Hallett, J. P. Green and Sustainable Solvents in Chemical Processes. *Chem. Rev.* **2018**, *118* (2), 747–800. https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00571

(20) Armstrong, J. P.; Hurst, C.; Jones, R. G.; Licence, P.; Lovelock, K. R. J.; Satterley, C. J.; Villar-Garcia, I. J. Vapourisation of Ionic Liquids. *Phys Chem Chem Phys* **2007**, *9* (8), 982–990. https://doi.org/10.1039/B615137J

(21) Liu, R.; Zhang, P.; Zhang, S.; Yan, T.; Xin, J.; Zhang, X. P. Ionic Liquids and Supercritical Carbon Dioxide: Green and Alternative Reaction Media for Chemical Processes. *Rev. Chem. Eng.* **2016**, *32*. https://doi.org/10.1515/revce-2015-0078

(22) Arriaga, S.; Aizpuru, A. Chapter Nine - Innovative Non-Aqueous Phases and Partitioning Bioreactor Configurations. In *Advances in Chemical Engineering*; Huerta-Ochoa, S., Castillo-Araiza, C. O., Quijano, G., Eds.; Academic Press, 2019; Vol. 54, pp 299–348. https://doi.org/10.1016/bs.ache.2018.12.004

(23) Wysokowski, M.; Luu, R. K.; Arevalo, S.; Khare, E.; Stachowiak, W.; Niemczak, M.; Jesionowski, T.; Buehler, M. J. Untapped Potential of Deep Eutectic Solvents for the Synthesis of Bioinspired Inorganic–Organic Materials. *Chem. Mater.* **2023**, *35* (19), 7878–7903. https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.3c00847

(24) Firouzeh, N.; Hossein, K. A Green and Highly Efficient Protocol for Catalyst-Free Knoevenagel Condensation and Michael Addition of Aromatic Aldehydes with 1,3-Cyclic Diketones in PEG-400. *Chin. J. Chem.* **2011**, *29* (11), 2407–2410. https://doi.org/10.1002/cjoc.201100005

(25) Cortes-Clerget, M.; Yu, J.; Kincaid, J. R. A.; Walde, P.; Gallou, F.; Lipshutz, B. H. Water as the Reaction Medium in Organic Chemistry: From Our Worst Enemy to Our Best Friend. *Chem Sci* **2021**, *12* (12), 4237–4266. https://doi.org/10.1039/D0SC06000C

(26) Vinson, J. A.; Fritz, J. S.; Kingsbury, C. A. Quantitative Determination of Esters by Saponification in Dimethyl Sulphoxide. *Talanta* **1966**, *13* (12), 1673–1677. https://doi.org/10.1016/0039-9140(66)80251-5

(27) Zhou, F.; Hearne, Z.; Li, C.-J. Water—the Greenest Solvent Overall. *Curr. Opin. Green Sustain. Chem.* **2019**, *18*, 118–123. https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2019.05.004

(28) Armstrong, R. W.; Beau, J. M.; Cheon, S. H.; Christ, W. J.; Fujioka, H.; Ham, W. H.; Hawkins, L. D.; Jin, H.; Kang, S. H. Total Synthesis of Palytoxin Carboxylic Acid and Palytoxin Amide. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111* (19), 7530–7533. https://doi.org/10.1021/ja00201a038

(29) Koshikari, Y.; Sakakura, A.; Ishihara, K. N,N-Diarylammonium Pyrosulfate as a Highly Effective Reverse Micelle-Type Catalyst for Hydrolysis of Esters. *Org. Lett.* **2012**, *14* (12), 3194–3197. https://doi.org/10.1021/ol301290c

(30) 良樹越仮. Development of Catalytic Ester Condensations and Hydrolysis of

Esters toward Green Chemistry; 2012.

(31) Harvey, A. Thermodynamic Properties of Water: Tabulation From the IAPWS Formulation 1995 for the Thermodynamic Properties of Ordinary Water Substance for General and Scientific Use. **1998**. https://doi.org/10.6028/NIST.IR.5078

(32) Medina-Ramos, W.; Mojica, M. A.; Cope, E. D.; Hart, R. J.; Pollet, P.; Eckert, C. A.; Liotta, C. L. Water at Elevated Temperatures (WET): Reactant, Catalyst, and Solvent in the Selective Hydrolysis of Protecting Groups. *Green Chem* **2014**, *16* (4), 2147–2155. https://doi.org/10.1039/C3GC42569J

(33) Colin, A. B. A. Desarrollo de metodologías empleando química verde para la síntesis y resolución de β2- y β3-aminoácidos, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, 2024.

(34) Austin, S.; Murray, J. E.; Laurieri, N.; Delgoda, R. Chapter 23 - Proteins. In *Pharmacognosy (Second Edition)*; McCreath, S. B., Clement, Y. N., Eds.; Academic Press, 2024; pp 531–557. https://doi.org/10.1016/B978-0-443-18657-8.00031-1

(35) Chapter Two - Active Peptides. In *Active Peptides for Skin Care*; Ding, W., Ed.; Academic Press, 2025; pp 17–39. https://doi.org/10.1016/B978-0-443-30287-9.00003-1

(36) Parker, E. J.; Pratt, A. J. Amino Acid Biosynthesis. In *Amino Acids, Peptides and Proteins in Organic Chemistry*; 2010; pp 1–82. https://doi.org/10.1002/9783527631803.ch1

(37) Kent, S. Chemistry of Peptide Synthesis. Edited by N. Leo Benoiton. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45* (26), 4234–4234. https://doi.org/10.1002/anie.200585369

(38) Fields, G. B. Introduction to Peptide Synthesis. *Curr. Protoc. Protein Sci.* **2001**, *26* (1), 18.1.1-18.1.9. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/0471140864.ps1801s26

(39) Zinieris, N.; Leondiadis, L.; Ferderigos, N. N α-Fmoc Removal from Resin-Bound Amino Acids by 5% Piperidine Solution. *J. Comb. Chem.* **2005**, *7*, 4–6. https://doi.org/10.1021/cc049872d

(40) Várady, L.; Rajur, S. B.; Nicewonger, R. B.; Guo, M.; Ditto, L. Fast and Quantitative High-Performance Liquid Chromatography Method for the Determination of 9-Fluorenylmethoxycarbonyl Release from Solid-Phase Synthesis Resins. *J. Chromatogr. A* **2000**, *869* (1), 171–179. https://doi.org/10.1016/S0021-9673(99)00844-4

(41) Gibson, F. S.; Bergmeier, S. C.; Rapoport, H. Selective Removal of an N-BOC Protecting Group in the Presence of a Tert-Butyl Ester and Other Acid-Sensitive Groups. *J. Org. Chem.* **1994**, *59* (11), 3216–3218. https://doi.org/10.1021/jo00090a045

(42) Wang, J.; Liang, Y.-L.; Qu, J. Boiling Water-Catalyzed Neutral and Selective N-Boc Deprotection. *Chem. Commun.* **2009**, No. 34, 5144–5146. https://doi.org/10.1039/B910239F

(43) Nigama, S. C.; Mann, A.; Taddei, M.; Wermutha, C.-G. Selective Removal of the Tert-Butoxycarbonyl Group from Secondary Amines: ZnBr2 as the Deprotecting Reagent. *Synth. Commun.* **1989**, *19* (18), 3139–3142. https://doi.org/10.1080/00397918908052712

(44) Bose, S.; Kumar, K.; Reddy, A. A New Protocol for Selective Deprotection of N - Tert -Butoxycarbonyl Protective Group (t -Boc) with Sn(OTf)2. *Synth. Commun. Vol 33* **2003**, *No. 3*, 445–450. https://doi.org/10.1081/SCC-120015775

(45) Giri, R. S.; Roy, S.; Dolai, G.; Manne, S. R.; Mandal, B. FeCl3-Mediated Boc Deprotection: Mild Facile Boc-Chemistry in Solution and on Resin. *ChemistrySelect* **2020**, *5* (6), 2050–2056. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/slct.201904617

(46) Procopio, D.; Siciliano, C.; De Rose, R.; Trombino, S.; Cassano, R.; Di Gioia, M. L. A Brønsted Acidic Deep Eutectic Solvent for N-Boc Deprotection. *Catalysts* **2022**, *12* (11). https://doi.org/10.3390/catal12111480

(47) Almaliti, J.; Alhindy, M.; Yoon, M.; Hook, V.; Molinski, T.; O'Donoghue, A.; Gerwick, W. Orthogonal Deprotection Strategy of Fmoc Provides Improved Synthesis of Sensitive Peptides: Application to Z-Arg-Lys-AOMK. *ACS Omega* **2024**, *9*. https://doi.org/10.1021/acsomega.3c08629

(48) *6.4: La actividad es una Concetración Efectiva*. LibreTexts Español. https://espanol.libretexts.org/Bookshelves/Quimica/Qu%C3%ADmica_General/Mapa%3A_Qu%C3%ADmica_(Zumdahl_y_Decoste)/6%3A_Equilibrio_Qu%C3%ADmico/6.4%3A_La_actividad_es_una_Concetraci%C3%B3n_Efectiva (accessed 2026-10-13)

(49) Castellan, G. W.; Basín, M. E. C. *Fisicoquimica*; Addison-Wesley Iberoamericana, 1974.

(50) Hehre, W. J. *AB INITIO Molecular Orbital Theory*; John Wiley & Sons,: New York:, 1986.

(51) Hohenberg, P.; Kohn, W. Inhomogeneous Electron Gas. *Phys Rev* **1964**, *136* (3B), B864–B871. https://doi.org/10.1103/PhysRev.136.B864

(52) Zakharian, T. Y.; Coon, S. R. Evaluation of Spartan Semi-Empirical Molecular Modeling Software for Calculations of Molecules on Surfaces: CO Adsorption on Ni(111). *Comput. Chem.* **2001**, *25* (2), 135–144. https://doi.org/10.1016/S0097-8485(00)00075-9

(53) Agarwal, M.; Frank, M. SPARTAN: A Software Tool for Parallelization Bottleneck Analysis. *Multicore Softw. Eng. ICSE Workshop On* **2009**, *0*, 56–63. https://doi.org/10.1109/IWMSE.2009.5071384

(54) Young, D. *Computational Chemistry: A Practical Guide for Applying Techniques to Real World Problems*; Wiley, 2004.

(55) Franzke, Y. J.; Holzer, C.; Andersen, J. H.; Begušić, T.; Bruder, F.; Coriani, S.; Della Sala, F.; Fabiano, E.; Fedotov, D. A.; Fürst, S.; Gillhuber, S.; Grotjahn, R.; Kaupp, M.; Kehry, M.; Krstić, M.; Mack, F.; Majumdar, S.; Nguyen, B. D.; Parker, S. M.; Pauly, F.; Pausch, A.; Perlt, E.; Phun, G. S.; Rajabi, A.; Rappoport, D.; Samal, B.; Schrader, T.; Sharma, M.; Tapavicza, E.; Treß, R. S.; Voora, V.; Wodyński, A.; Yu, J. M.; Zerulla, B.; Furche, F.; Hättig, C.; Sierka, M.; Tew, D. P.; Weigend, F. TURBOMOLE: Today and Tomorrow. *J. Chem. Theory Comput.* **2023**, *19* (20), 6859–6890. https://doi.org/10.1021/acs.jctc.3c00347

(56) Steffen, C.; Thomas, K.; Huniar, U.; Hellweg, A.; Rubner, O.; Schroer, A. TmoleX—A Graphical User Interface for TURBOMOLE. *J. Comput. Chem.*

2010, *31* (16), 2967–2970. https://doi.org/10.1002/jcc.21576

(57) Tomasi, J.; Mennucci, B.; Cammi, R. Quantum Mechanical Continuum Solvation Models. *Chem. Rev.* **2005**, *105* (8), 2999–3094. https://doi.org/10.1021/cr9904009

(58) Eckert, F. Prediction of Solubility with COSMO-RS. In *Development and Applications in Solubility*; Letcher, T. M., Ed.; The Royal Society of Chemistry, 2007; p 0. https://doi.org/10.1039/9781847557681-00188

(59) Klamt, A. Chapter 7 - Refinements, Parameterization, and the Complete COSMO-RS. In *COSMO-RS*; Klamt, A., Ed.; Elsevier: Amsterdam, 2005; pp 109–125. https://doi.org/10.1016/B978-044451994-8/50007-9

(60) Klamt, A. Conductor-like Screening Model for Real Solvents: A New Approach to the Quantitative Calculation of Solvation Phenomena. *J. Phys. Chem.* **1995**, *99* (7), 2224–2235. https://doi.org/10.1021/j100007a062

(61) Klamt, A.; Jonas, V.; Bürger, T.; Lohrenz, J. C. W. Refinement and Parametrization of COSMO-RS. *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102* (26), 5074–5085. https://doi.org/10.1021/jp980017s

(62) Klamt, A. Conductor-like Screening Model for Real Solvents: A New Approach to the Quantitative Calculation of Solvation Phenomena. *J. Phys. Chem.* **1995**, *99* (7), 2224–2235. https://doi.org/10.1021/j100007a062

(63) McKerrow, J.; Al-Rawi, J.; Brooks, P. Synthesis of Some N-Aryl α-Amino Acids Using Diaryliodonium Salts. *Asian J. Chem.* **2012**, *24*, 1227–1236.

(64) *L -Alanine methyl ester 99 2491-20-5*. sigmaaldrich. https://www.sigmaaldrich.com/MX/es/product/aldrich/330639?srsltid=AfmBOoo_H-uUl4Q58wLl5FS3VjM6BW8kKW7zPbb8EQ9DnKTnwR9QGdS0 (accessed 2026-05-27)

(65) *146346-88-5 Fmoc-Ala-OMe AKSci Y3349*. https://aksci.com/item_detail.php?cat=Y3349 (accessed 2026-05-28)

(66) *Fmoc-L-Val-OMe CAS#: 82911-80-6*. chemical book. https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB73155917_EN.htm (accessed 2026-05-28)

(67) *Fmoc-Ala-OH 95 35661-39-3*. sigmaaldrich.

https://www.sigmaaldrich.com/MX/es/product/aldrich/531480?srsltid=AfmBOooLz3EklxVdFhB5DaCGvZFYPpoyuC1Nzq6Nd5IoV_2SonQt4SJe (accessed 2026-05-28)

(68) *Bzl-phe-ome hydrochloride* | *7703-09-5*. sigmaaldrich. https://www.sigmaaldrich.com/MX/es/product/combiblocksinc/com448675892?context=bbe&srsltid=AfmBOopo6VvsVwQKxqXe1oO4CVmsWrPymIc5rhJ0vgIEXlFXR0KvL5UO (accessed 2026-05-28)

(69) *BOC-L-ALANINE METHYL ESTER* | *28875-17-4*. ChemicalBook. https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB5329809.htm (accessed 2026-05-28)

(70) *81201-85-6 CAS MSDS (L-VALINE-1-13C) Melting Point Boiling Point Density CAS Chemical Properties*. chemical book. https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_US_CB4194163.aspx (accessed 2026-05-28)

(71) *L-Phenylalanine, N-(phenylmethyl)- CAS#: 19461-04-2*. ChemicalBook. https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB95478511.htm (accessed 2026-05-28)

(72) Jini, D.; Aravind, M.; Jothi Nirmal, L.; Ajitha, S. Structural, Optical, and Biological Properties of L-Alanine Single Crystal by Slow Evaporation Method. *Int. Conf. Adv. Mater. Behav. Charact. ICAMBC 2020* **2021**, *43*, 2032–2035. https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.11.736

(73) PubChem. *L-Phenylalanine*. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6140 (accessed 2026-05-28)

Cuernavaca, Mor., a 22 de octubre de 2026

DRA. LINA ANDREA RIVILLAS ACEVEDO
COORDINADORA DEL POSGRADO EN CIENCIAS
P R E S E N T E

Atendiendo a la solicitud para emitir DICTAMEN sobre la revisión de la tesis titulada: *Reacción de hidrólisis de ésteres metílicos empleando un proceso sustentable* que presenta el L.D.M.N.Q. Rodrigo Javier García Sánchez (10002926), para obtener el título de Maestro en Ciencias.

Dirección de tesis: Dr. Jaime Escalante García
Unidad Académica: Instituto de Investigación en Ciencias Básicas y Aplicadas (IICBA)

Nos permitimos informarle que nuestro voto es:

NOMBRE	DICTAMEN
Dra. Laura Patricia Álvarez Berber CIQ – UAEM	APROBADO
Dra. Angélica Berenice Aguilar Guadarrama CIQ – UAEM	APROBADO
Dr. José Domingo Rivera Ramírez CUCEI - UDG	APROBADO
Dra. Carolina Godoy Alcántar CIQ – UAEM	APROBADO
Dra. Mayra Yaneth Antúnez Mojica CIQ - UAEM	APROBADO

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANÓ INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

MAYRA YANETH ANTUNEZ MOJICA | Fecha:2026-11-04 17:15:13 | FIRMANTE

lk+DeKvJFNUQosVba31QZpNk60g44qUMjOC02/MmvhoMCa9uXvcIuVbruKAo1CHGtoS1aP2vJd4kXufP6V356DzpLO9IED0pYTbpvxDR+JHgMk32NMcWn2QfPxA2Ep/Y8q3ey
PQ/c2em1KWnwLcQdks9XLwFI8LlNTjomPzl8SMKKFQ/TjJbT1g+x93qUCQzCqtAK16ztRKWaQXt4g74r1QhJScvyKtf4aeIcgVZd6J+hL0wQuVDqhA3RJDh5Gj6kVwYtxVDjWjLIy5
GWbwvIb5EIElzIJT1lBzaMKsDo0Lw3Tg4wUebMkxhiBJobkqF/Th1hmWj/5bolPB3jR2ZtA==

CAROLINA GODOY ALCANTAR | Fecha:2026-11-04 19:11:29 | FIRMANTE

ZJVDubjE28Lr7lUjzWGeT8nqxhKLdEdWsBZizGanM6T7jmVJX0cnhzNE18vFs5kqRaOJ8jVXnyJx5aF5dA2Ou9CxLEDLWdNIknKASCKUFgA5R2U3CHsYpX0Sp6UMyRTwgmbb
dQ2Eg/bhbR9rjLjt0KvvSUN4SFPyqRGjBdn2A2taI4AJgDkCSGx3gAdGrH4D+Dq1EwuCCS+oJUyEXLNQQSvh0jDAwLje13PDe7v4Z1P4fKajgIv5LNO61aQTQUUT1tzA2dzxNMtd
TNqfrg5i7Kntm6ZxG9SS299fxlp2iHZutWVaSAKlMU9BcvPVkmt2DBRFnD2+aabVZKbEvVxZuA==

LAURA PATRICIA ALVAREZ BERBER | Fecha:2026-11-05 10:15:12 | FIRMANTE

UH6xWsx43UR8H0Hu6LFZpKVsRCLEr0fMU9KCKW1xEgBuDyxmW7vxcsjxZ7iD65RqFYkOKRHoAHt/5kTXo3xUdhhAbEz52TRLQ011iED4rUoyOqItlqFrVqjqLH5R/TIXUIQNn/fh
IplkgHSuLkhSqWWTQ80w6yhbOrpquOv8xmn26nh2DU78AQ8/lqwLogp8dGNq9uPOMl76ipFD3tJvibcU2EU9dwgjDpG9d+4znCop+exzDaGVjY3uDBmG17ZphZ3ataMZXX+zkQ
U+68bH71WQd1LFZ05XWFcBjwJmmcuqSI0pYVEVy8xbfULCeprMo8t+uOpxpdjPrICkr6BeDA==

ANGELICA BERENICE AGUILAR GUADARRAMA | Fecha:2026-11-06 12:55:56 | FIRMANTE

wyp9L6bG9wPvl3/75puqq4yeSArxur3Cd7Lf2oYaiUSt0GS24q7YZlQuRbo1G4mprqk0qEGgH6wWqDUZEmK1AUWXzy+mgvsl5UFNWc3icRftOgrZ5wL+mBPaWw7X0z4Pqi3w/q
1KgOuZiiJbk8lx9Xk/7NrJ5DFPMMoaLGYkUJEe2S8sBM4l9/XAznwnSJH7MgmD0wjduobyAVUtBdSdD44LdMs/WK+3/IXHhshdg6odmNalRSlcumNb6b3hSH7yJn57OogvfFMevA
eBHJOrLNagMqZ0KzIwMX/saBqWipx/brwJXZD17GC9mfvVm3Spjb6luw2Gyvijc9fq9qI3Hg==

JOSÉ DOMINGO RIVERA RAMÍREZ | Fecha:2026-11-09 10:19:58 | FIRMANTE

GFy82Lp+7sKiKLuT4xwswTIhNFNF8ut65dwoxwdK7hVMTiEVKK+gSPamdPSDCzvbHyenJlj8QEc8pnYYqFSc3VBRM73Ujr/XA0f4c6M1KyRwJt7OBSBzHmezmLb8d3anmDS3S
GDw7e+/peqxmdUC7f1nZAwZhRjidFoX3VF0UEi5bsdY+MSkb9yxeMunpjzq7O4W753CJitNKw3IrczCeVpRbJKZCC9Yfw3AVRdiVLpTySjwqjSzEiKln7wQs51l0D4EIuFfMZ+pp4u
uWw39szgVrMZzHl9p6IsGVhL/FsM3aebwRkOngdnCCP9m5nQJ86Y0noxva6/BjXjC1pfYzQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:

iCIu9OUtA

https://efirma.uaem.mx/noRepudio/jsetRhqwvv6v6eUybgy8niyB8Rxby4Rt