



Nuevas Aplicaciones de la L-Serina Hidroximetiltransferasa y la Benzaldehído Liasa en Síntesis Orgánica

Karel Hernández Sánchez



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència **Reconeixement- Compartitqual 3.0. Espanya de Creative Commons.**

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia **Reconocimiento - Compartitqual 3.0. España de Creative Commons.**

This doctoral thesis is licensed under the **Creative Commons Attribution-ShareAlike 3.0. Spain License.**

Nuevas Aplicaciones de la L-Serina Hidroximetiltransferasa y la Benzaldehído Liasa en Síntesis Orgánica.

Instituto de Química Avanzada de Cataluña (IQAC).

Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona. Departamento de
Bioquímica y Biología Molecular. Programa de Biotecnología.

Karel Hernández Sánchez
2014

Contenido

Figura1S(3.1) Aliniamiento multiple de secuencia (ClustalW) de SHMT de diferentes organismos	7
Figura2S(3.1) Representación del posible mecanismo de “desactivación” de la SHMT causado por D,L-Cys.....	10
Figura3S(3.1) Variación del espectro de absorción de la SHMT _{sth} nativa y las variantes	11
Figura4S(3.1) Resultados de la secuenciación del producto de la mutación por saturación de sitio en el codón 55 de la SHMT _{sth} nativa. El cromatograma de la secuenciación es representado utilizando el programa Chromas versión 2.01.	12
Figura5S(3.1) Análisis de la librería de mutantes de la SHMT _{sth} Y55X. La reacción entre D-Ser (1a) y el (benciloxi)acetaldehído (2a) se siguió por HPLC.	12
Tabla1S(3.1). Datos cuantitativos de la reacción a escala analítica de adición aldólica de D-Ser (1a) a diferentes aldehídos (2a-p), catalizado por la SHMT _{sth} nativa y las variantes Y55T, Y55S y Y55C.....	16
Tabla2S(3.1). Datos cuantitativos de la reacción de adición aldólica a escala analítica de D-Ala (1b) a diferentes aldehídos (2a-p), catalizado por la SHMT _{sth} nativa y las variantes Y55T, Y55S y Y55C.....	17
Tabla3S(3.1). Datos cuantitativos de la reacción de adición aldólica a escala analítica de GLY (1c) a diferentes aldehídos (2a-p), catalizado por la SHMT _{sth} nativa y las variantes Y55T, Y55S y Y55C.	17
Tabla4S(3.1) Reacciones ensayadas para modificar los productos 3a sintetizados por la adición aldólica de D-Ser a diferentes aldehídos catalizado por SHMT _{sth} Y55T.....	18
Tabla5S(3.1) Masa molecular de las variantes de la SHMT _{sth}	20
Figura6S(3.1) Espectros MS ESI/TOF y espectros deconvolucionados de las variantes de SHMT _{sth}	20
Figura7S(3.1). Espectros de RMN (D ₂ O) de los productos 3cb y 4cb de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{sth} nativa: a) ¹ H; b) ¹³ C; c) 2D ¹ H- ¹ H COSY y d) HSQC.....	23
Figura8S(3.1). Espectros de RMN (D ₂ O) de los productos 3ch y 4ch de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{sth} nativa: a) ¹ H; b) ¹³ C; c) 2D ¹ H- ¹ H COSY y d) HSQC.....	25
Figura9S(3.1). Espectros de RMN (D ₂ O) de los productos 3ci y 4ci de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{sth} nativa: a) ¹ H; b) ¹³ C; c) 2D ¹ H- ¹ H COSY y d) HSQC.	27
Figura10S(3.1). Espectros de RMN (D ₂ O) de los productos 3cj y 4cj de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{sth} nativa: a) ¹ H; b) ¹³ C; c) 2D ¹ H- ¹ H COSY y d) HSQC.	29

Figura11S(3.1). Espectros de RMN(D ₂ O) de los productos 3ck y 4ck de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{StH} nativa: a) ¹ H; b) ¹³ C; c) 2D ¹ H- ¹ H COSY y d) HSQC.	31
Figura12 S(3.1). Espectros de RMN (D ₂ O) de los productos 3cl y 4cl de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{StH} nativa: a) ¹ H; b) ¹³ C; c) 2D ¹ H- ¹ H COSY y d) HSQC.	33
Figura13S(3.1). Espectros de RMN (D ₂ O) de los productos 3cm y 4cm de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{StH} nativa: a) ¹ H; b) ¹³ C; c) 2D ¹ H- ¹ H COSY y d) HSQC.....	35
Figura14S(3.1). Espectros de RMN (D ₂ O) de los productos 3cn y 4cn de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{StH} nativa: a) ¹ H; b) ¹³ C; c) 2D ¹ H- ¹ H COSY, d) HSQC y e) 1D-NOESY selectivo.....	37
Tabla6S(3.1). Resumen de los desplazamientos químicos (ppm) de ¹ H y ¹³ C para los productos 3c y 4c	39
Figura15S(3.1). Espectros RMN (DMSO- <i>d</i> ₆) de las oxazolidin-2-onas obtenidas por derivatización de los productos 3cb y 4cb de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{StH} nativa: a) ¹ H ; b) ¹³ C; c) 2D ¹ H- ¹ H COSY y d) HSQC.....	40
Figura16S(3.1). Espectros RMN (DMSO- <i>d</i> ₆) de las oxazolidin-2-onas obtenidas por derivatización de los productos 3ch y 4ch de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{StH} nativa: a) ¹ H; b) ¹³ C; c) 2D ¹ H- ¹ H COSY y d) HSQC.	42
Figura17S(3.1). Espectros RMN (DMSO- <i>d</i> ₆) de las oxazolidin-2-onas obtenidas por derivatización de los productos 3ci y 4ci de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{StH} nativa: a) ¹ H; b) ¹³ C; c) 2D ¹ H- ¹ H COSY y d) HSQC.	44
Figura19S(3.1). Espectros RMN (DMSO- <i>d</i> ₆) de las oxazolidin-2-onas obtenidas por derivatización de los productos 3ck y 4ck de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{StH} nativa: a) ¹ H; b) ¹³ C; c) 2D ¹ H- ¹ H COSY y d) HSQC.....	49
Figura20S(3.1). Espectros RMN (DMSO- <i>d</i> ₆) de las oxazolidin-2-onas obtenidas por derivatización de los productos 3cl y 4cl de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{StH} nativa: a) ¹ H; b) ¹³ C; c) 2D ¹ H- ¹ H COSY y d) HSQC.....	51
Figura21S(3.1). Espectros RMN (DMSO- <i>d</i> ₆) de las oxazolidin-2-onas obtenidas por derivatización de los productos 3cm y 4cm de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{StH} nativa: a) ¹ H; b) ¹³ C; c) 2D ¹ H- ¹ H COSY y d) HSQC.....	53
Figura22S(3.1). Espectros RMN (DMSO- <i>d</i> ₆) de las oxazolidin-2-onas obtenidas por derivatización de los productos 3cn y 4cn de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{StH} nativa: a) ¹ H; b) ¹³ C; c) 2D ¹ H- ¹ H COSY, d) HSQC y e) 1D-NOESY selectivo.	55
Tabla7S(3.1). Desplazamiento químico de ¹ H y ¹³ C (ppm) y constantes de acoplamiento (³ J(H _a ,H _b), Hz) de las oxazolidin-2-onas derivadas de 3c y 4c	58

Figura23S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de 3ba de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{Sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.	59
Figura24S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de 3bb y 4bb de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{Sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.	61
Figura25S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de 3bc de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{Sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.....	63
Figura26S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de 3bd de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{Sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.....	65
Figura27S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de 3bg y 4bg de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{Sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.	67
Figura28S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de 3bh y 4bh de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{Sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.	69
Figura29S(3.1). Espectro de RMN ($DMSO-d_6$) de 3bi y 4bi de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{Sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.	71
Figura30S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de 3bk y 4bk de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{Sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.	73
Figura31S(3.1). Espectros de RMN ($DMSO-d_6$) de 3bl y 4bl de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{Sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.....	75
Figura32S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de 3bn y 4bn de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{Sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.	77
Figura33S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de 3ba y 4ba de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{Sth} nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.	79
Figura34S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de 3bb y 4bb de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{Sth} nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.	81
Figura35S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de 3bc y 4bc de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{Sth} nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.	83
Figura36S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de 3bd y 4bd de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{Sth} nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.	85
Figura37S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de 3bh y 4bh de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{Sth} nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.	87
Figura38S(3.1). Espectro de RMN ($DMSO-d_6$) de 3bi y 4bi de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{Sth} nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.	89
Figura39S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de 3bj y 4bj de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{Sth} nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.	91

Figura40S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de 3bk y 4bk de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{sth} nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.	93
Figura41S(3.1). Espectro de RMN ($DMSO-d_6$) de 3bl y 4bl de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{sth} nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.	95
Figura42S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de 3bm y 4bm de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{sth} nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.	97
Figura43S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de 3bn y 4bn de la reacción aldólica catalizada por SHMT _{sth} nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.	99
Tabla8S(3.1). Desplazamientos químicos (ppm) de 1H y ^{13}C de los productos 3b y 4b	101
Figura44S(3.1). Espectros de RMN ($CDCl_3$) de las oxazolidin-2-onas derivadas de 3ba de la adición aldólica catalizada por SHMT _{sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.	102
Figura45S(3.1). Espectros de RMN ($CDCl_3$) de las oxazolidin-2-onas derivadas de 3bb de la adición aldólica catalizada por SHMT _{sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.	105
Figura46S(3.1). Espectros de RMN ($CDCl_3$) de las oxazolidin-2-onas derivadas de 3bc de la adición aldólica catalizada por SHMT _{sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.	108
Figura47S(3.1). Espectros de RMN ($CDCl_3$) de las oxazolidin-2-onas derivadas de 3bd de la adición aldólica catalizada por SHMT _{sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.	111
Figura48S(3.1). Espectros de RMN ($CDCl_3$) de las oxazolidin-2-onas derivadas de 3bg y 4bg de la adición aldólica catalizada por SHMT _{sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.	114
Figura49S(3.1). Espectros de RMN ($CDCl_3$) de las oxazolidin-2-onas derivadas de 3bh y 4bh de la adición aldólica catalizada por SHMT _{sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.	117
Figura50S(3.1). Espectros de RMN($CDCl_3$) de las oxazolidin-2-onas derivadas de 3bi de la adición aldólica catalizada por SHMT _{sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY; d) HSQC y e) NOESY.	120
Figura51S(3.1). Espectros de RMN ($CDCl_3$) de las oxazolidin-2-onas derivadas de 3bk y 4bk de la adición aldólica catalizada por SHMT _{sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.	123

Figura52S(3.1). Espectros de RMN (CDCl_3) de las oxazolidin-2-onas derivadas de 3bl y 4bl de la adición aldólica catalizada por SHMT _{Stth} Y55T: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.....	126
Figura53S(3.1). Espectros de RMN (CDCl_3) de las oxazolidin-2-onas derivadas de 3bn de la adición aldólica catalizada por SHMT _{Stth} Y55T: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.....	129
Figura54S(3.1). Espectros de RMN (CDCl_3) de las oxazolidin-2-onas derivadas de 3ba de la adición aldólica catalizada por SHMT _{Stth} nativa: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.....	132
Figura55S(3.1). Espectros de RMN (CDCl_3) de las oxazolidin-2-onas derivadas de 3bb y 4bb de la adición aldólica catalizada por SHMT _{Stth} nativa: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.....	135
Figura56S(3.1). Espectros de RMN (CDCl_3) de las oxazolidin-2-onas derivadas de 3bc de la adición aldólica catalizada por SHMT _{Stth} nativa: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.....	138
Figura57S(3.1). Espectros de RMN (CDCl_3) de las oxazolidin-2-onas derivadas de 3bd de la adición aldólica catalizada por SHMT _{Stth} nativa: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.....	141
Figura58S(3.1). Espectros de RMN (CDCl_3) de las oxazolidin-2-onas derivadas de 3bh y 4bh de la adición aldólica catalizada por SHMT _{Stth} nativa: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.....	144
Figura59S(3.1). Espectros de RMN (CDCl_3) de las oxazolidin-2-onas derivadas de 3bi de la adición aldólica catalizada por SHMT _{Stth} nativa: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.....	147
Figura60S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de las oxazolidin-2-onas derivadas de 3bj y 4bj de la adición aldólica catalizada por SHMT _{Stth} nativa: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.....	198
Figura61S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de las oxazolidin-2-onas derivadas de 3bk y 4bk de la adición aldólica catalizada por SHMT _{Stth} nativa: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.....	202
Figura62S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de las oxazolidin-2-onas derivadas de 3bl y 4bl de la adición aldólica catalizada por SHMT _{Stth} nativa: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.....	206

Figura63S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de las oxazolidin-2-onas derivadas de 3bm y 4bm de la adición aldólica catalizada por SHMT _{sth} nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.....	210
Figura64S(3.1). Espectros de RMN(D_2O) de las oxazolidin-2-onas derivadas de 3bn y 4bn de la adición aldólica catalizada por SHMT _{sth} nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY, d) HSQC, e) NOESY y f) 1D-NOESY selectivo.....	214
Tabla9S(3.1). Desplazamiento químico (ppm) de 1H y ^{13}C de las oxazolidin-2-ones derivadas de 3b y 4b	219
Figura65S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de 3aa de la adición aldólica catalizada por SHMT _{sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY, d) HSQC y e) 1D-NOESY selectivo.	220
Figura66S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de 3ab de la adición aldólica catalizada por SHMT _{sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.....	224
Figura67S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de 3ac de la adición aldólica catalizada por SHMT _{sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.....	227
Figura68S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de 3ad de la adición aldólica catalizada por SHMT _{sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.....	230
Figura69S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de 3ag y 4ag de la adición aldólica catalizada por SHMT _{sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY, d) HSQC y e) 1D-NOESY selectivo.....	233
Figura70S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de 3ah y 4ai de la adición aldólica catalizada por SHMT _{sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY, d) HSQC y e) 1D-NOESY selectivo.....	237
Figura71S(3.1). Espectros de RMN ($DMSO-d_6$) de 3ai de la adición aldólica catalizada por SHMT _{sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY, d) HSQC y e) 1D-NOESY selectivo.....	241
Figura72S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de 3ak y 4ak de la adición aldólica catalizada por SHMT _{sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.	245
Figura73S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de 3al y 4al de la adición aldólica catalizada por SHMT _{sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.....	249
Figura74S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de 3an y 4an de la adición aldólica catalizada por SHMT _{sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.....	253
Tabla10S(3.1) Desplazamiento químico (ppm) de 1H , ^{13}C de los productos 4a	257

Figura1S(3.1) Alineamiento múltiple de secuencia (ClustalW) de SHMT de diferentes organismos. SHMT de *B. stearothermophilus* (SHMT_{Bst}, código (NCIB): S30382), SHMT de *B. subtilis* (SHMT_{Bsb}, WP_014115504), SHMT de *S. thermophilus* (SHMT_{Stth}, EHE87326), SHMT de *E. coli* (SHMT_{Eco}, ACA76793), MSHMT de *Aminobacter sp.* AJ110403 (MSHMT_{Ab}, BAG31001), MSHMT de *Paracoccus sp.* AJ110402 (MSHMT_{Pc}, BAG 31000), MSHMT de *Ensifer sp.* AJ110404 (MSHMT_{Ef}, BAG 31004), SHMT de *O. aries*, citosólica (SHMT_{Oac}, NP_001009469). SHMT de *O. cuniculus*, citosólica (SHMT_{Occ}, NP_001095187), SHMT de *O. cuniculus*, mitocondrial (SHMT_{Ocm}, A33696), SHMT de *H. sapiens*, mitocondrial (SHMT_{Hsm}, NP_001159829), SHMT de *P. falciparum*, (SHMT_{Pf}, AAF07198.1), SHMT de *M. jannaschii* (SHMT_{Mj}, Q58992), SHMT de *S. tokodaii* (SHMT_{St}; Q971K4.1). Un * (asterisco) indica posiciones con residuos muy conservados. A: (dos puntos) indica conservación entre grupos con propiedades muy similares (> 0.5 en una matriz PAM 250). A. (punto) indica conservación entre grupos con propiedades poco similares (≤ 0.5 en una matriz PAM 250).

```

SHMTBst -----MKYLPQQDPQVFAAIEQERKRQHAKIELIASE 32
SHMTBsb -----MKHLPAQDEQVFNAIKNERERQQTKEIELIASE 32
SHMTStth -----MIFDKEDYKAFDPELWNAIDAEAEERQQNNIELIASE 36
SHMTEco -----MRMLKREMNIADYDAELWQAMEQEKVQRQEEHIELIASE 38
MSHMTAb -----MTEQTKAYFNTTPVHERDPLVAQALDNERKRQQDQIELIASE 41
MSHMTPc -----MNELTRTFFNSSFVHDTDPLIAQALDDERARQKNQIELIASE 41
MSHMTEf -----MDHATRAHFTMTVGEVDPLLADALASERGRQQNQIELIASE 41
SHMTOac -----MAAPVKNKAPRDADLWSLHEKMLAQPLKDNDEVYNI IKKESNRQVRGLELIASE 54
SHMTOcc -----MATAVNGAPRDAALWSSHEQMLAQPLKDSDAEVYDI IKKESNRQVRGLELIASE 54
SHMTOcm -----KAAQTQTGEASRGWTGQESLSDTDPEMWELLQREKDRQCRGLELIASE 48
SHMTHsm GSGQLVRMAIRAQHSNAAQTQTGEANRGWTGQESLSDSDPEMWELLQREKDRQCRGLELIASE 63
SHMTPf -----MFNNDPLQKYDKELFDLLEKEKNRQIETINLIASE 35
SHMTMj -----MEYSDVPKFIR---DVSIKQHEWMR-ESIKLIASE 31
SHMTSt -----MSQIPKELEKVIELTREQNRWRRTVINLIASE 33
                                     :      : :*****

                                     Y55      Y65
SHMTBst NFVSRVMEAQGSVLTNKYAEGYPGRRYYGGCEYVDIVEELARERAKQLFGAEH----ANVQP 91
SHMTBsb NFVSEAVMEAQGSVLTNKYAEGYPGRRYYGGCEHVDVVEDIARDRAKEIFGAEH----VNVQP 91
SHMTStth NVVSKAVMAAQGTLLTNKYAEGYPGRRYGGTAVIDVETLAIERAKKLFGAKE----ANVQP 95
SHMTEco NYTSPRVMAQGSQVLTNKYAEGYPGRRYYGGCEYVDIVEQLAIDRAKELFGADY----ANVQP 97
MSHMTAb NIVSRVLDALGHEMTNKTLEGYPGNRFHGGGQFVDVVEQAAIDRAKELFGCAY----ANVQP 100
MSHMTPc NIVSQAVLDALGHEMTNKTLEGYPGNRFHGGGQFVDVVEQAAIDRAKQLFNCGY----ANVQP 100
MSHMTEf NIVSRVLDALGHEITNKTLEGYPGNRFHGGGQFVDIAEQAAIDRAKQLFNCGY----ANVQP 100
SHMTOac NFASRAVLEALGSCLNKYSSEGYPGQRYYGGTEFIDELEVLQKRALQVYGLDPECWGVNVQP 117
SHMTOcc NFASRAVLEALGSCLNKYSSEGYPGQRYYGGTEHIDELETLCQKRALQAYGLDPQCWGVNVQP 117
SHMTOcm NFCSRAALEALGSCLNKYSSEGYPGKRYYGGAEVVDEIELLCQRRALEAFDLDPAQWGVNVQP 111
SHMTHsm NFCSRAALEALGSCLNKYSSEGYPGKRYYGGAEVVDEIELLCQRRALEAFDLDPAQWGVNVQP 126
SHMTPf NLTNTAVRECLGDRISNKYSEGYPHKRYYGGNDYVDKIEELCYKRALEAFNVSEEEWGVNVQP 98
SHMTMj NITSLAVREACATDFMHRYAEGLPGRKLYQGCKYIDEVETLCIELSKELFKAHE----ANVQP 90
SHMTSt NVMSPLAETVYMSDFMSRYAEGKPYKRYYQGTKYVDEVETLAMQLMNEITNTKF----CDLRA 92
      . .      : :  ** * . * : * : *      :      : : : .

```

SHMT_{Bst} HSGAQANMAVYFTVLEHGDTVLGMNLSHGGLTHG-----SPVNFSGVQYNFVAYGVDPETHV 149
SHMT_{Bsb} HSGAQANMAVYFTILEQGDTVLGMNLSHGGLTHG-----SPVNFSGVQYNFVEYGVDPKETQY 149
SHMT_{Stb} **HSGSQANAAYMSLIQPGDTVMGMDLSAGGHLTHG-----APVSFSGKTYNFVSYNVDKESEL 153**
SHMT_{Eco} HSGSQANFAVYTALLEPGDTVLGMNLAHGGLTHG-----SPVNFSGKLYNIVPYGID-ATGH 155
MSHMT_{Ab} HSGTQANLAVFFLLLPKPGDKVLSDLAAGGHLSHG-----MKGNLSGRWFESHNYNVDPEDEV 158
MSHMT_{Pc} HSGTQANLAVFFLLVPKPGDRILSLDLAAGGHLSHG-----MKGNLSGRWFEAHNYNVDPPQNEV 158
MSHMT_{Ef} HSGTQANLAVFFLLLPKPGDKVLSDLAAGGHLSHG-----MKANLSGRWFDATNYNVPNPQNEV 158
SHMT_{Oac} YSGSPANFAVYTALVEPHGRIMGLDLPDGGHLTHGFMTDKKKISATSIFFESMPYKVNPDGTGY 180
SHMT_{Occ} YSGSPANFAVYTALVEPHGRIMGLDLPDGGHLTHGFMTDKKKISATSIFFESMAYKVNPDGTGY 180
SHMT_{Ocm} YSGSPANLAAYTALLQPHDRIMGLDLPDGGHLTHGYMSDVKRVSATSIFFESMPYKLNPDQTGL 174
SHMT_{Hsm} YSGSPANLAVYTALLQPHDRIMGLDLPDGGHLTHGYMSDVKRISATSIFFESMPYKLNPKTGL 189
SHMT_{Pf} LSGSAANVQALYALVGKKGIMGMHLCSGGHLTHGFFDEKKKVSITSDLFESKLYKCNSE-GY 160
SHMT_{Mj} TSGVVANLAVFFAETKPGDKLMALSVDPGGHISHW-----KVSAAGIRGLKVINHPFDPEEMN 148
SHMT_{St} TSGTIANAAVFRVLANPGEKALIAPVQAGAHVSHT-----KFGTLGALGIEHIELPYDADKMN 150
 ** * * . : : * . * : * :

SHMT_{Bst} IDYDDVREKARLHRPKLIVAAASAYPRIIDFAKFREIADEVGAYLMVDMAHIAGLVAAGLHPN 212
SHMT_{Bsb} IDYDDVREKALAHKPKLIVAGASAYPRTIDFKKFREIADEVGAYFMVDMAHIAGLVAAGLHPN 212
SHMT_{Stb} **LDYDAILAQAKEVRPKLIVAGASAYSRIIDFAKFREIADEVGAYLMVDMAHIAGLVASGHPS 216**
SHMT_{Eco} IDYADLEKQAKEHKPKMIIGGFSAYSGVVDWAKMREIADSIGAYLFVDMAHVAGLVAAGVYPN 217
MSHMT_{Ab} IDYDEMERIAEEVVRPTLLITGGSAYPRELDFERMGIKAKKVGAWFLVDMAHIAGLVAGGAHPS 221
MSHMT_{Pc} INYDEMERIAEEVKPKLLITGGSAYPRELDFARMAQIAKKVGAFPMVDMAHIAGLVAGGAHPS 221
MSHMT_{Ef} IDLDEMERLAEIIRPKLLITGGSAYPRELDFERMSRIAKKVGAYFLVDMAHIAGLVAGGVHPS 221
SHMT_{Oac} INYDQLEENARLFHPRLLIAGTSCYSRNLDYARLRKIADDDNGAYLMADMAHISGLVAAGVVPS 243
SHMT_{Occ} IDYDRLEENARLFHPRLLIAGTSCYSRNLDYGRLRKIADENGAYLMADMAHISGLVVAGVVPS 243
SHMT_{Ocm} IDYEQALALTARLFRPRLLIAGTSAYARLIDYARMREVCDEVKAHLLADMAHISGLVAAKVIPS 237
SHMT_{Hsm} IDYNQLALTARLFRPRLLIAGTSAYARLIDYARMREVCDEVKAHLLADMAHISGLVAAKVIPS 252
SHMT_{Pf} VDMESVRNLALSFOQPKVICGYTSYPRIDYKGFREICDEVNAYLFADISHISSFVACNLLNN 223
SHMT_{Mj} IDADAMVKKILEEKPKLILFGGSLFPFPHPVADAYEAAQEVGAKIAYDGAHVGLGIAGKQFQD 211
SHMT_{St} VDVDKAIKMIEQIKPKFIVMGGSLLYLFPHPVKELAPHAHAVGAKVVYDAAHVYGLITGKAHWN 213
 : : * . . : : : . . * . * : * : *

H229

SHMT_{Bst} PVPY-AHFVTTTT**H**KTLRGPRGGMILCQ-----EQFAKQIDKAIFPGIQGGPL 259
SHMT_{Bsb} PVPY-ADFVTTTT**H**KTLRGPRGGMILCR-----EEFGKKIDKSIFPGIQGGPL 259
SHMT_{Stb} **PVPY-AHVTTTT**H**KTLRGPRGGLILTDD-----EDIAKKLNSAVFPGLQGGPL 264**
SHMT_{Eco} PVPY-AHVTTTT**H**KTLRGPRGGLILAKGGS-----EELYKKLNSAVFPGGQGGPL 267
MSHMT_{Ab} PFPY-ADIVTCTT**T**KTLRGPRGGLILTNN-----EAWFKKLQSAVFPGVQGSLLH 269
MSHMT_{Pc} PFPY-ADIVTCTT**T**KTLRGPRGGLILTNN-----EEWYKKLQTAFFPGVQGSLLH 269
MSHMT_{Ef} PFPY-ADIVTCTT**T**KTLRGPRGGLILTNN-----EEWYKKLQAAVFPGVQGSLLH 269
SHMT_{Oac} PFEH-CHVVTTTT**H**KTLRGCRAGMIFYRKGVRSVDPKTGKETRYNLESLNSAVFPGLQGGPH 305
SHMT_{Occ} PFEH-CHVVTTTT**H**KTLRGCRAGMIFYRRGVRSVDPKTGKEILYNLESLNSAVFPGLQGGPH 305
SHMT_{Ocm} PFKH-ADVTTTT**H**KTLRGARSGLIFYRKGVRTVDPKTGQEIPYTFEDRINFVFPGLQGGPH 299
SHMT_{Hsm} PFKH-ADIVTTTT**H**KTLRGARSGLIFYRKGVKAVDPKTGREIPYTFEDRINFVFPGLQGGPH 314
SHMT_{Pf} PFTY-ADVTTTT**H**KILRGPRSALIFFNK---KRN-----GIDQKINSSVFPFQGGPH 274
SHMT_{Mj} PLREGAEYLMGST**H**KTFFGPQGGVILT-----KENADKIDSHVFPGVVSNHH 259
SHMT_{St} PLEEGADIMTSST**H**KTFFGPQGGAVFSNE-----EEIFKKVADTIFPWFVSNHH 262
 . . : * * : * : . . : : : * * .

SHMT _{Bst}	MHVIAAKAVAFGEALQDDFKAYAKRVVDNAKRLASALQNE-GFTLVSGG---TDNHLILLVDLR	318
SHMT _{Bsb}	MHVIAAKAVSFGEVLQDDFKTYAQNVISNAKRLAEALTKE-GIQLVSGG---TDNHLILVDLR	318
SHMT _{Stb}	EHVIAAKAVALKEALDPAFKEYGENVIKNAAMADVFNQHPDFRVISGG---TNNHLFLVDVT	323
SHMT _{Eco}	MHVIAAGKAVALKEAMEPEFKTYQQQVAKNAKAMVEVFLER-GYKVVSGG---TDNHLFLVDLV	326
MSHMT _{Ab}	SNVLAAKAVCLGEALRPDFKVYAAQVKANARVLAETLIAR-GVRIVSGG---TDTHIVLVDLS	328
MSHMT _{Pc}	SNVLAAKAICLGEALRPEFRDYVAQVVKNAKVLAEITLTSR-GIRIVSGG---TDTHIVLVDLS	328
MSHMT _{Ef}	SNVLAAKAICLGEAMLDDFKVYARQVVANAKVLANTLAER-GVRIVSGG---TDTHIVLVDLA	328
SHMT _{Oac}	NHAIAGVAVALKQAMTPEFRAYQRQVVANCRALAEALMGL-GYRVVTGG---SDNHLILVDLR	364
SHMT _{Occ}	NHAIAGVAVALKQAMTPEFKEYQRQVVANCRALSAALVEL-GYKIVTGG---SDNHLILVDLR	364
SHMT _{Ocm}	NHAIAAVAVALKQACTPMFREYSLQVLKNARAMADALLER-GYSLVSGG---TDNHLVLVDLR	358
SHMT _{Hsm}	NHAIAAVAVALKQACTPMFREYSLQVLKNARAMADALLER-GYSLVSGG---TDNHLVLVDLR	373
SHMT _{Pf}	NNKIAAVACQLKEVNTPFKEYTKQVLLNSKALAECLLKR-NLDLVTNG---TDNHLIVVDLR	333
SHMT _{Mj}	LHHKAGLAIALAEMLFEG-EAYAKQVIKNAKALAQALYER-GFNVLCHEHKDFTESHQVIIDIE	320
SHMT _{St}	LHRLPATAVTALEMKYFG-EDYAKQITKNAKAFEAALAAE-GFKVIGEHLGYTQSHQVVDLVR	323
	: . . * : . * . : * . : : . : : : . . * : : *	
SHMT _{Bst}	PQQ---LTGKTAEKVLDEVGITVNKNTIPYDPESPFTV-SGIRIGTAAVTTRGFGLEEMDEIA	377
SHMT _{Bsb}	SLG---LTGKVAEHVLDEIGITSNKNNAIPYDPEKPFVT-SGIRLGTAAVTSRGFDGDALEEVG	377
SHMT _{Stb}	KVV---ENGKVAQNVLEEVNITLNKNSIPYEQLSPFKT-SGIRVGSPAITSRGMGEAESRQIA	383
SHMT _{Eco}	DKN---LTGKEADAALGRANITVNKNSVPNDPKSPFTV-SGIRVGTPAITRRGFKEAEAKELA	385
MSHMT _{Ab}	SKG---LNGKQAE DLLARANITANKNPIPNDSRPAEW-VGMRLGVSAATTRGMKEDEFRTLK	387
MSHMT _{Pc}	SKG---LNGKQAE DALARANITSNKNPIPNDSRPAEW-VGMRLGVSAATTRGMKEDEFKRLK	387
MSHMT _{Ef}	SKG---LLGKQAE TLLAKANITSNKNPIPGDSRPPPEW-VGMRLGSSAATTRGLKEAEFRVLG	387
SHMT _{Oac}	SKG---TDGGRAEKVLEACSIACNKNTCPGD-KSALRP-SGLRLGTPALTSRGLLEEDFRKVA	422
SHMT _{Occ}	SKG---TDGGRAEKVLEACSIACNKNTCPGD-KSALRP-SGLRLGTPALTSRGLLEKDFQKVA	422
SHMT _{Ocm}	PKG---LDGARAERVLELVSITANKNCPGD-RSAITP-GGLRLGAPALTSRQFREDDFRRV	416
SHMT _{Hsm}	PKG---LDGARAERVLELVSITANKNCPGD-RSAITP-GGLRLGAPALTSRQFREDDFRRV	431
SHMT _{Pf}	KYN---ITGSKLQETCNAIINALNKNITIPSD-VDCVSP-SGIRIGTPALTRGCKEKMDEFIA	348
SHMT _{Mj}	SSPDIEFSASELAKMYEENIILNKNLLPWDDVNNSDNPSGIRLGTVQECTRLGMKEKEMEIEIA	383
SHMT _{St}	NLG---GGAKIAKLFE DANIIITNKNLLPYDPPSAVKDPSGIRLGVQEMTRFGMKEEEMREIA	382
	. . * * * * : * : * : * *	
SHMT _{Bst}	AIIGLVL-----KNVGS---EQALEEARQ RVAALTDPTSRSAAGTME	416
SHMT _{Bsb}	AIIALAL-----KNHED---EGKLEEARQ RVAALTDKFP-LYKELD	414
SHMT _{Stb}	EWVMEAL-----ENHDK---PEVLERIRGDVKVLTDAFP--LY----	416
SHMT _{Eco}	GWMCDVL-----DSIND---EAVIERIKGVLDICARYP--VY----	419
MSHMT _{Ab}	TVIADLI-----EAEAAGNADGVVEGAKAKVATLTAAFP--VYAH--	425
MSHMT _{Pc}	NVVADLL-----EAESAGNGPEAAEKAKVTVRELTEAFP--VYAH--	425
MSHMT _{Ef}	TVIADLI-----DAEVAGKADDVVEGAKAKIAELTNTFP--VYGO--	425
SHMT _{Oac}	HFIHRGIELTLQIQDAVGKATLKEFMEKLAGAEHQRVAVTALRAEVESFATLFP--LPGLPG	483
SHMT _{Occ}	HFIHRGIELTVQIQDDTGPRATLKEFKEKLAGDEKHQRAVRALRQEVESFAALFP--LPGLPG	483
SHMT _{Ocm}	DFIDEGVNIGLEVKRKT---AKLQDFKSFLKDPETSQRLADLRRRVQQFARAFP--MPGFPE	474
SHMT _{Hsm}	DFIDEGVNIGLEVKSKT---AKLQDFKSFLKDSSETSQRLANLRQVEQFARAFP--MPGFDE	489
SHMT _{Pf}	DMLLKAILLTDELQQKYG--KKLVDFKKGLVNNP----KIDELKKEVVQWAKNLP--FA----	442
SHMT _{Mj}	EFMKRIA-----IDKEKPEKVREDVKEFAKEYSTIHYSFDEG----DG	424
SHMT _{St}	KLMREVA-----IDGKDPNEVKKKVIEFRKNYLEVKYTFSDLSKYSN	425
	:	

SHMT _{Bst}	FEA-----	419
SHMT _{Bsb}	Y-----	415
SHMT _{Stb}	-----	419
SHMT _{Eco}	-----	419
MSHMT _{Ab}	-----	425
MSHMT _{Pc}	-----	425
MSHMT _{Ef}	-----	425
SHMT _{Oac}	F-----	484
SHMT _{Occ}	F-----	484
SHMT _{Ocm}	H-----	475
SHMT _{Hsm}	H-----	490
SHMT _{Pf}	-----	
SHMT _{Mj}	FKYLRFY-	429
SHMT _{St}	GKMLPLLI	433

Figura2S(3.1) Representación del posible mecanismo de “desactivación” de la SHMT causado por D,L-Cys.

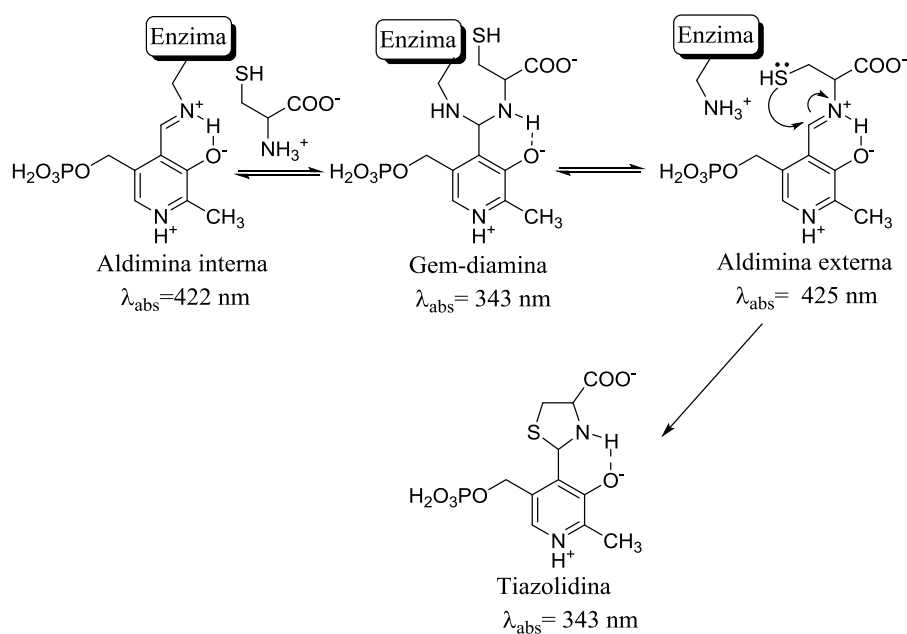


Figura3S(3.1) Variación del espectro de absorción de la SHMT_{Sth} nativa y las variantes Y55T, Y55S y Y55C). Enzima (6 mg mL⁻¹) en 0,1 M tampón fosfato, pH 8,0 , Gly (0,4 M) o D,L-Cys (0,4 M) a 25°C. Curva 1 (verde) espectro de absorción de la SHMT_{Sth} sin aminoácidos; curva 2 (negro) con Gly; curva 3 (rojo) con D,L-Cys. La absorbancia fue medida inmediatamente después de añadir el aminoácido en cubetas de paso óptico de 1 cm. A: SHMT_{Sth} nativa; B: SHMT_{Sth} Y55S; C: SHMT_{Sth} Y55C; D: SHMT_{Sth} Y55T.

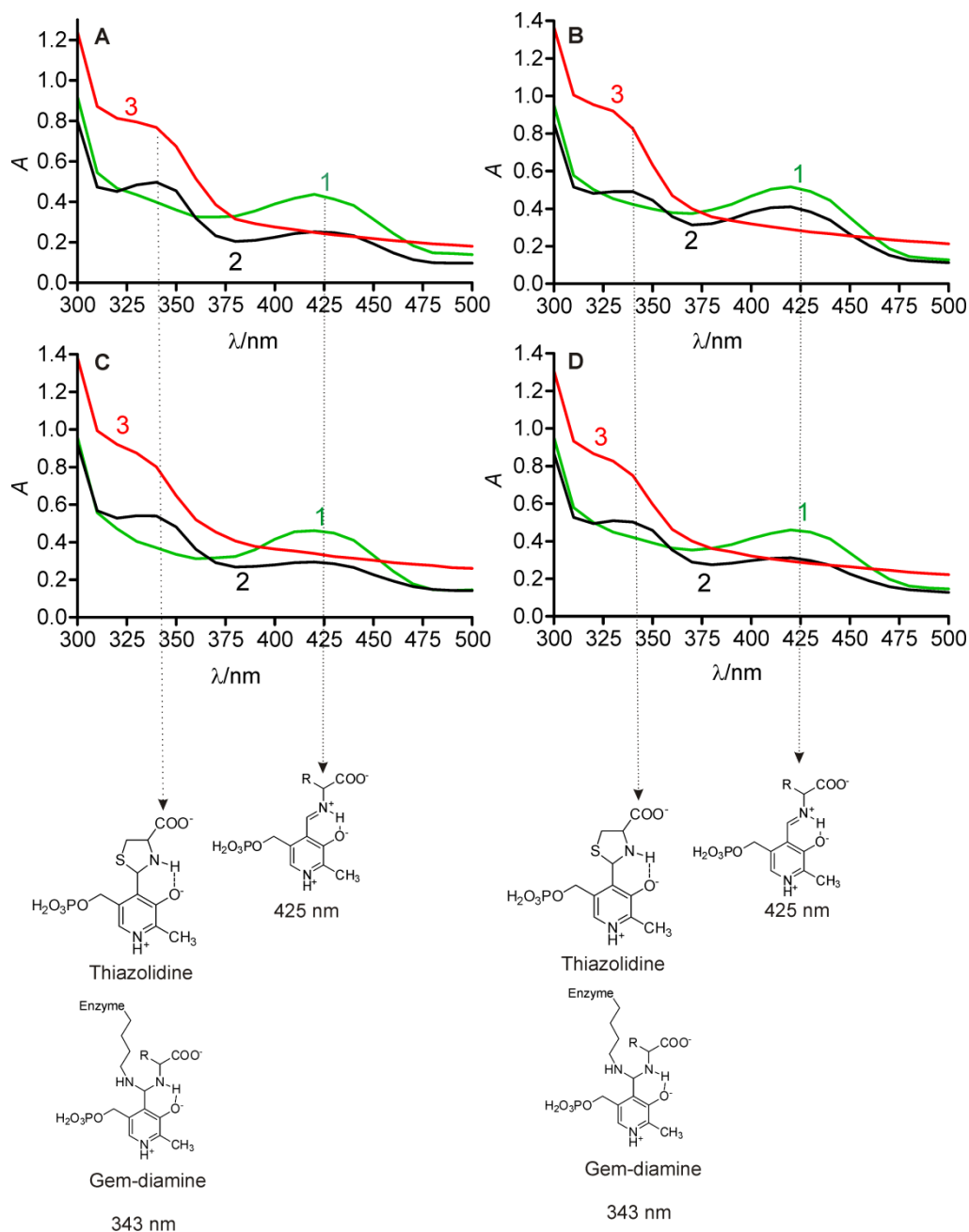


Figura4S(3.1) Resultados de la secuenciación del producto de la mutación por saturación de sitio en el codón 55 de la SHMT_{Sth} nativa. El cromatograma de la secuenciación es representado utilizando el programa Chromas versión 2.01.

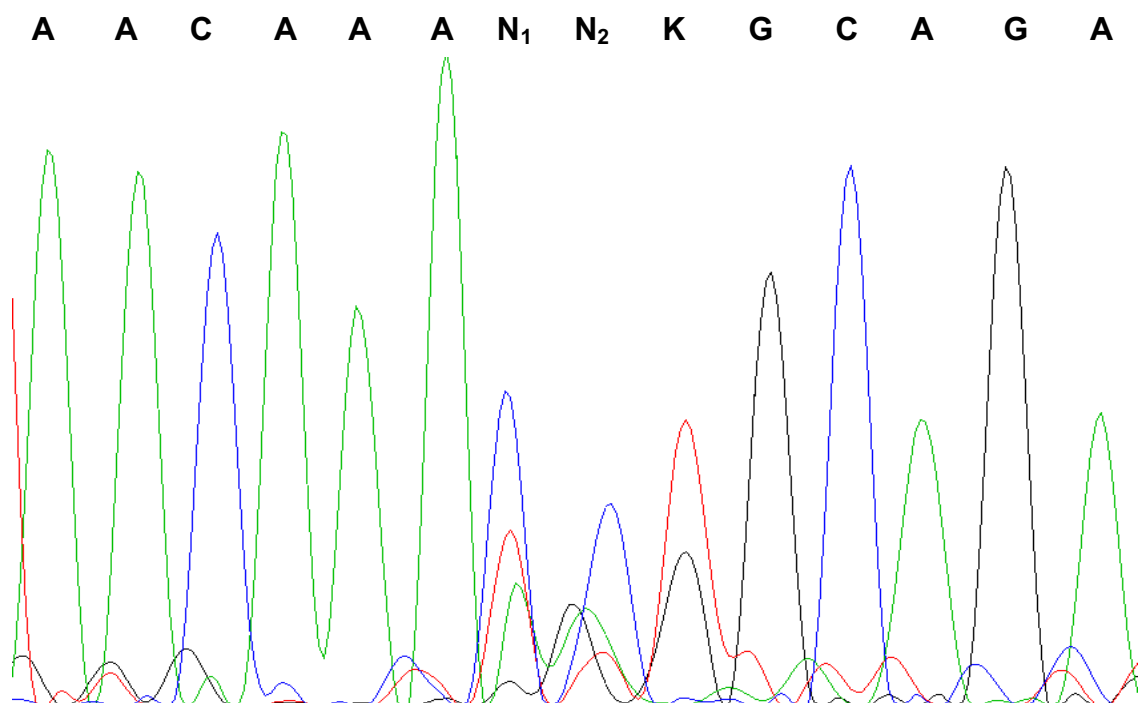
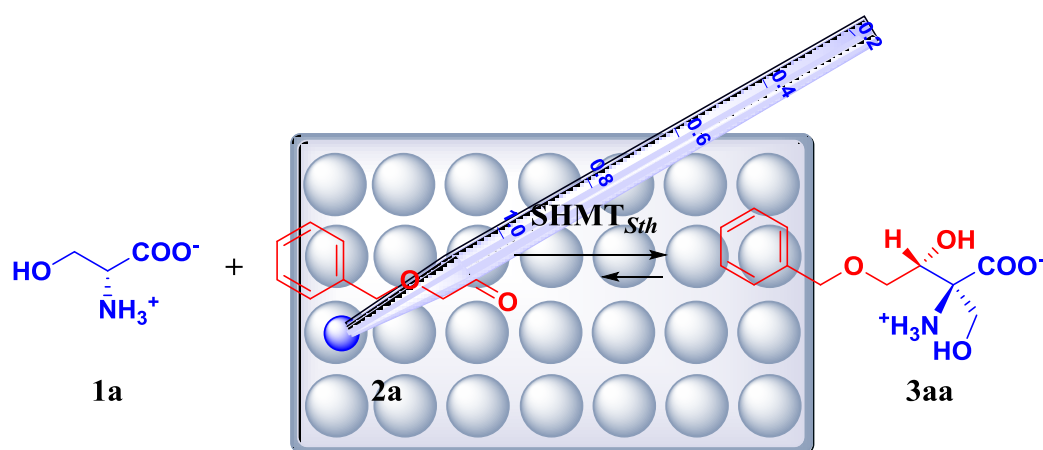
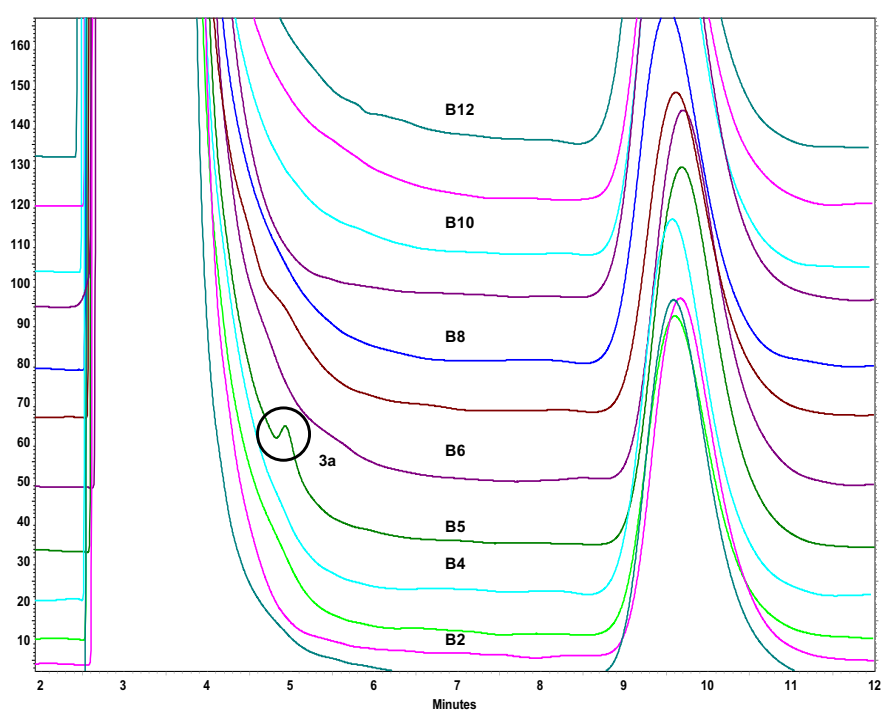
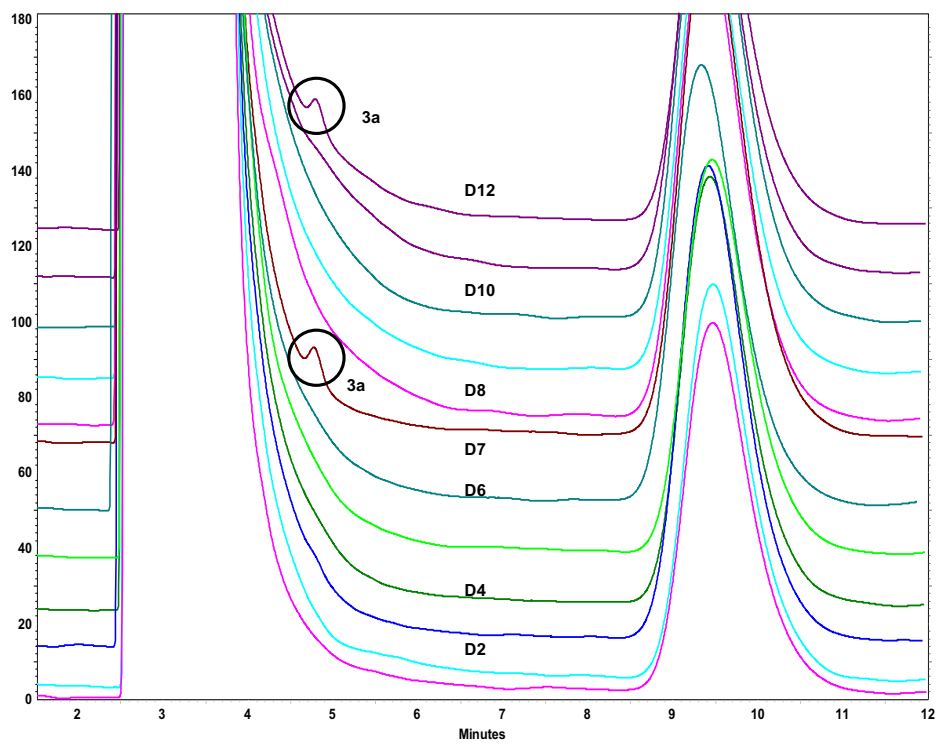
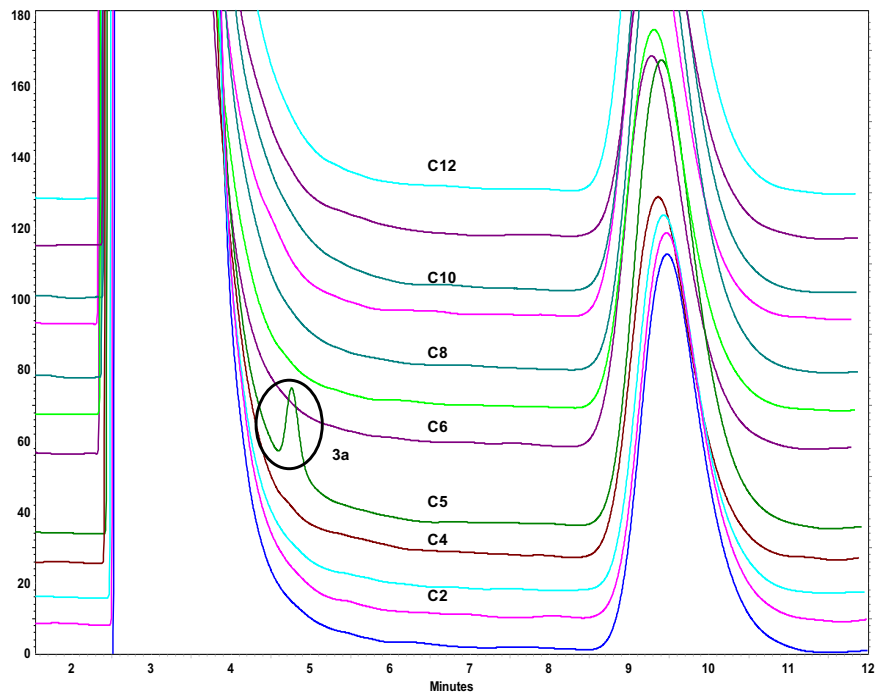


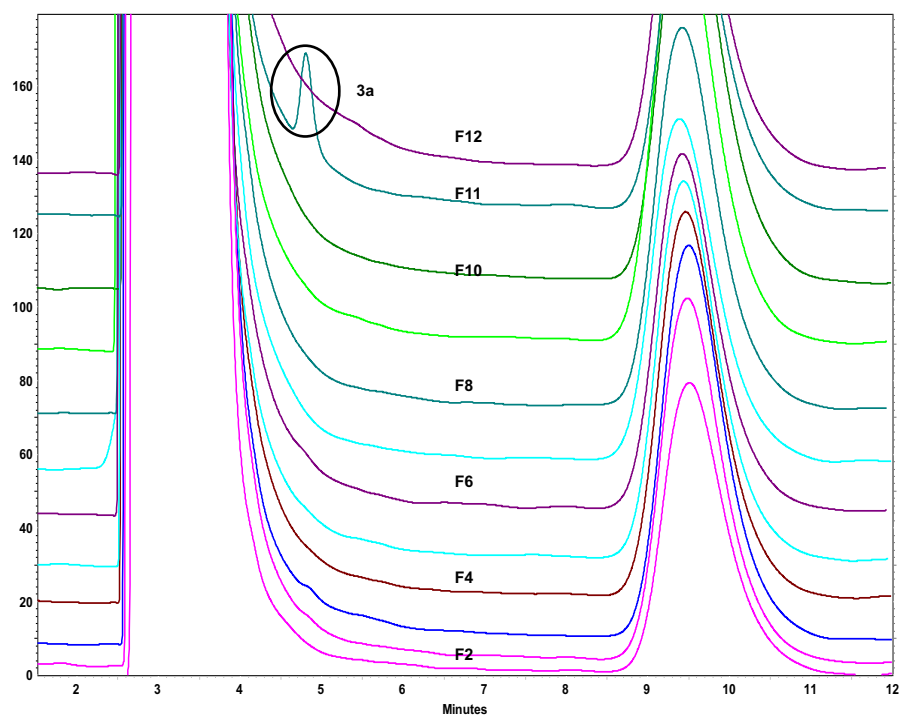
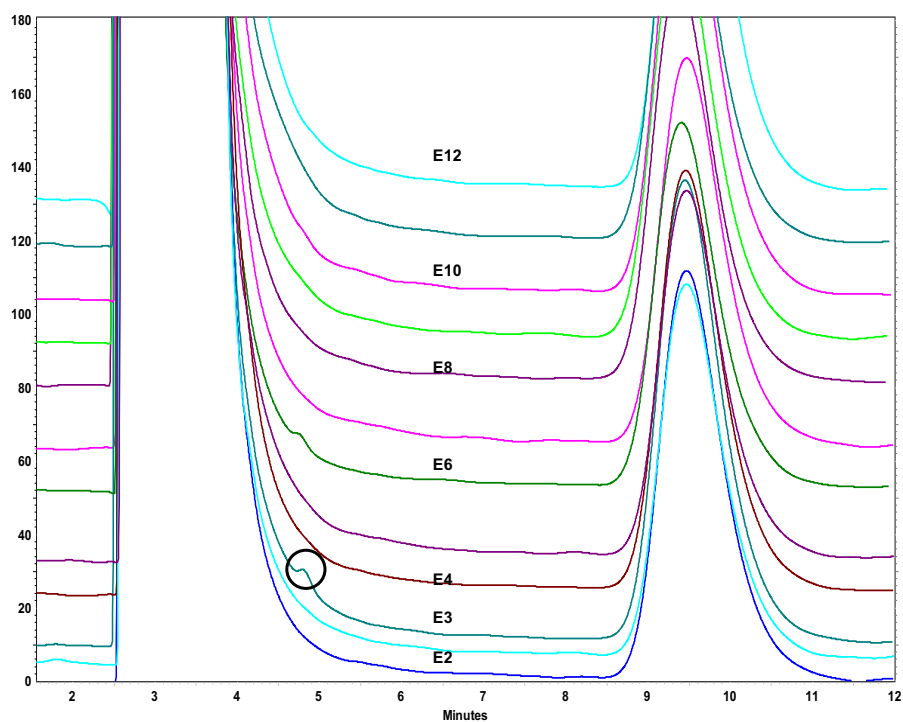
Figura5S(3.1) Análisis de la librería de mutantes de la SHMT_{Sth} Y55X. La reacción entre D-Ser (1a) y el (benciloxi)acetaldehído (2a) se siguió por HPLC.



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B	-	-	-	-	Y55T	-	-	-	-	-	-	-
C	-	-	-	-	Y55T	-	-	-	-	-	-	-
D	-	-	-	-	-	-	Y55C	-	-	-	-	Y55T
E	-	-	Y55S	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Y55C	-
G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H	-	-	-	-	-	-	-	Y55G	-	-	Y55T	Y55T







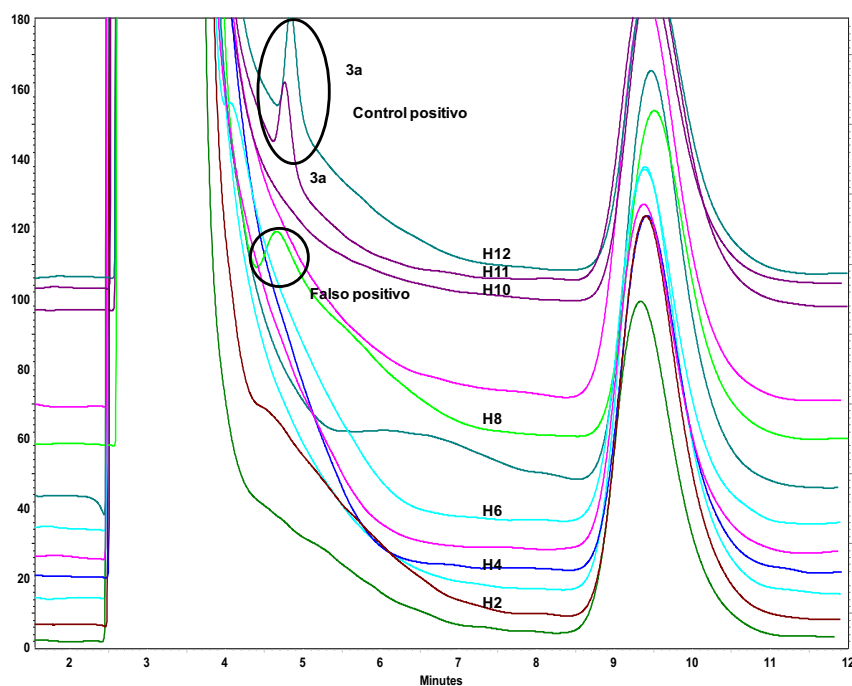


Tabla1S(3.1). Datos cuantitativos de la reacción a escala analítica de adición aldólica de D-Ser (**1a**) a diferentes aldehídos (**2a-p**), catalizado por la SHMT_{StH} nativa y las variantes Y55T, Y55S y Y55C.

R ¹	a			
	Producto formado (%) ^[a]			
R ²	Nativa	Y55T	Y55S	Y55C
a	0	46	11	46
b	0	43	16	23
c	0	38	0	27
d	0	38	12	33
e	0	0	0	0
f	0	0	0	0
g	0	36	8	21
h	0	43	16	32
i	0	26	0	11
j	0	0	0	0
k	0	12	10	12
l	0	18	15	18
m	0	0	0	0
n	13	11	12	11
o	0	0	0	0
p	0	0	0	0

^[a]Determinado por HPLC después de 24 h.

Tabla2S(3.1). Datos cuantitativos de la reacción de adición aldólica a escala analítica de D-Ala (**1b**) a diferentes aldehídos (**2a-p**), catalizado por la SHMT_{Sth} nativa y las variantes Y55T, Y55S y Y55C.

R ¹		b		
R ²		Producto formado (%) ^[a]		
	Nativa	Y55T	Y55S	Y55C
a	27	50	18	35
b	27	11	6	6
c	18	21	3	15
d	28	36	12	25
e	0	0	0	0
f	0	0	0	0
g	12	25	6	7
h	16	33	12	22
i	18	18	6	9
j	21	9	22	12
k	23	24	21	15
l	90	41	40	37
m	85	43	27	15
n	62	20	59	24
o	0	0	0	0
p	0	0	0	0

^[a]Determinado por HPLC después de 24 h.

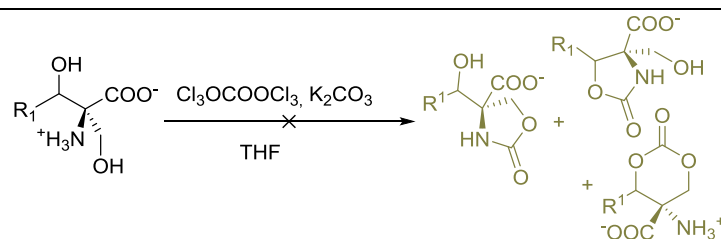
Tabla3S(3.1). Datos cuantitativos de la reacción de adición aldólica a escala analítica de GLY (**1c**) a diferentes aldehídos (**2a-p**), catalizado por la SHMT_{Sth} nativa y las variantes Y55T, Y55S y Y55C.

R ¹		c		
R ²		Producto formado (%) ^[a]		
	Nativa	Y55T	Y55S	Y55C
a	89	21	10	18
b	25	30	19	12
c	41	6	0	6
d	4	11	9	10
e	42	0	0	0
f	24	0	19	0
g	9	14	9	6
h	50	35	26	22
i	98	6	22	21
j	25	20	21	19
k	27	31	37	24
l	63	38	81	54
m	81	5	36	14
n	39	47	23	39
o	0	0	0	0
p	0	0	0	0

^[a]Determinado por HPLC después de 24 h.

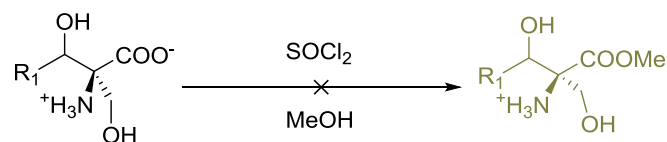
Tabla4S(3.1) Reacciones ensayadas para modificar los productos **3a** sintetizados por la adición aldólica de D-Ser a diferentes aldehídos catalizado por SHMT_{Sth} Y55T.

Reacciones	Condiciones	Comentarios
	Aminoácido, 1 eq (20 mg). (BOC) ₂ O, 2 eq. Et ₃ N, 4 eq. CH ₂ Cl ₂ , 5 mL. 25°C, 12h.	No hay reacción o descomposición del aminoácido.
	Aminoácido, 1 eq (20 mg). (BOC) ₂ O, 5 eq. Dioxano/ NaHCO ₃ 10% (1:1, v/v), 5 mL. 25°C, 12h	No hay reacción o descomposición del aminoácido. Hidrólisis del (BOC) ₂ O.
	Aminoácido, 1 eq (20 mg). CbzOSu, 2 eq. Et ₃ N, 4 eq. CH ₂ Cl ₂ , 5 mL. 25°C, 12h.	No hay reacción o descomposición del aminoácido.
	Aminoácido, 1 eq (20 mg). CbzOSu, 2 eq. Et ₃ N, 4 eq. DMF, 5 mL. 25°C, 12h.	No hay reacción o descomposición del aminoácido.
	Aminoácido, 1 eq (20 mg). CbzOSu, 5 eq. Dioxano/ NaHCO ₃ 10% (1:1, v/v), 5 mL. 25°C, 12h.	No hay reacción o descomposición del aminoácido. Hidrólisis del CbzOSu.
	Aminoácido, 1 eq (20 mg). Benzyl chloride, 2 eq. Et ₃ N, 4 eq. Solvent, 5 mL. 25°C, 2 h or 24 h.	No hay reacción o descomposición del aminoácido.
	Aminoácido, 1 eq (20 mg). Anhydride acetic, 2 eq. Et ₃ N, 4 eq. Solvent, 5 mL. 25°C, 2 h or 24 h.	No hay reacción o descomposición del aminoácido.
	Aminoácido, 1 eq (20 mg). Anhydride acetic, 2 eq. Acetic acid, 5 mL. 25°C, 2 h or 24 h.	No hay reacción o descomposición del aminoácido.



Aminoácido, 1 eq (20 mg).
Triphosgene, 2 eq. K₂CO₃, 200 mg. THF, 2mL. 25°C, 12h.

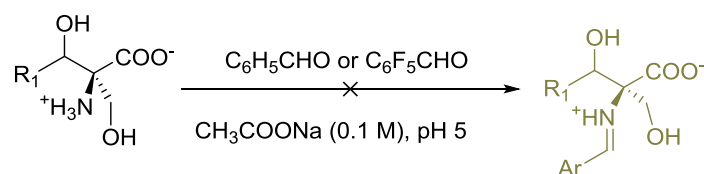
No hay reacción o descomposición del aminoácido.



Aminoácido, 1 eq (20 mg).
SOCl₂, 10 eq. MeOH, 5mL. 25°C, 12h.

No hay reacción.

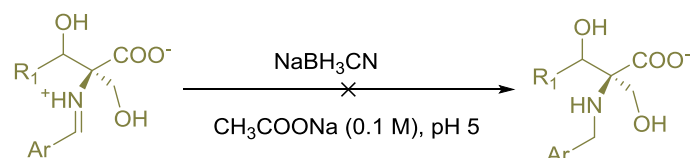
a)



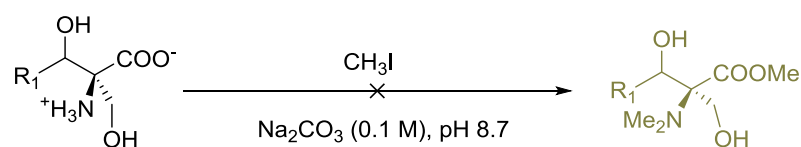
a) Aminoácido, 1 eq (20 mg).
ArCHO, 1.1 eq. Buffer, 5 mL. 25°C, 2h.

No hay reacción. Reducción del aldehído.

b)

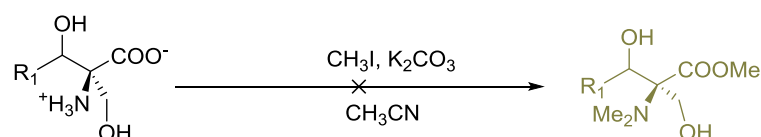


b) NaBH₃CN, 2 eq. 25 °C, 12h.



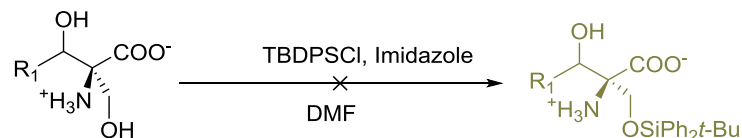
Aminoácido, 1 eq (20 mg). MeI, 2 mL. Buffer, 5 mL. 25°C, 12h.

No hay reacción o descomposición del aminoácido.



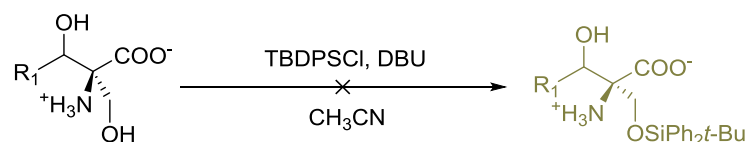
Aminoácido, 1 eq (20 mg) MeI, 2 mL. K₂CO₃, 200 mg. CH₃CN, 5 mL. 25°C, 12h.

No hay reacción o descomposición del aminoácido.



Aminoácido, 1 eq (20 mg).
TBDPSCI, 1.1 eq. Imidazole, 4eq. DMF, 1mL. 25°C, 2 h or 24 h.

No hay reacción o descomposición del aminoácido.

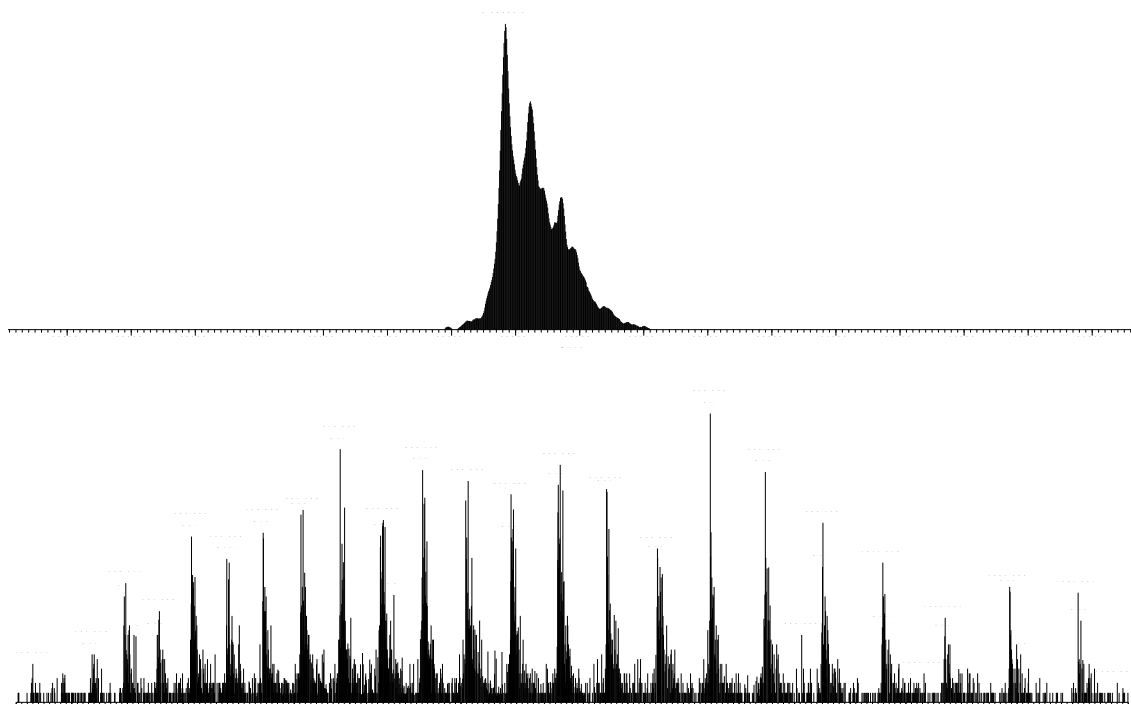
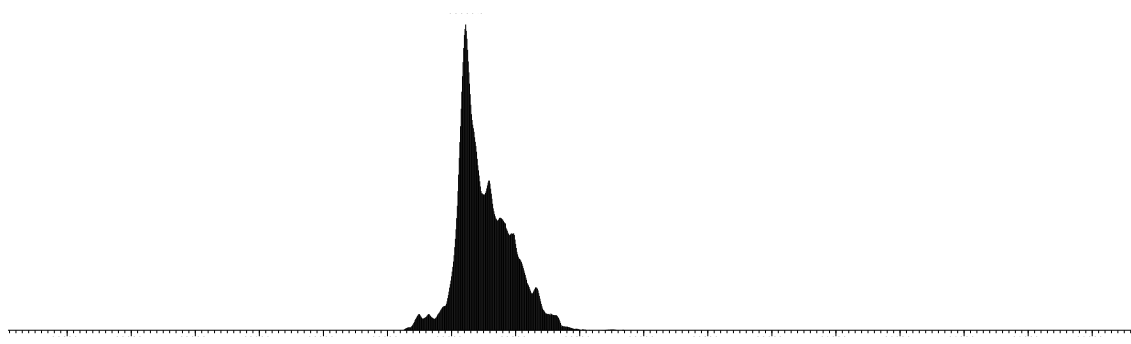


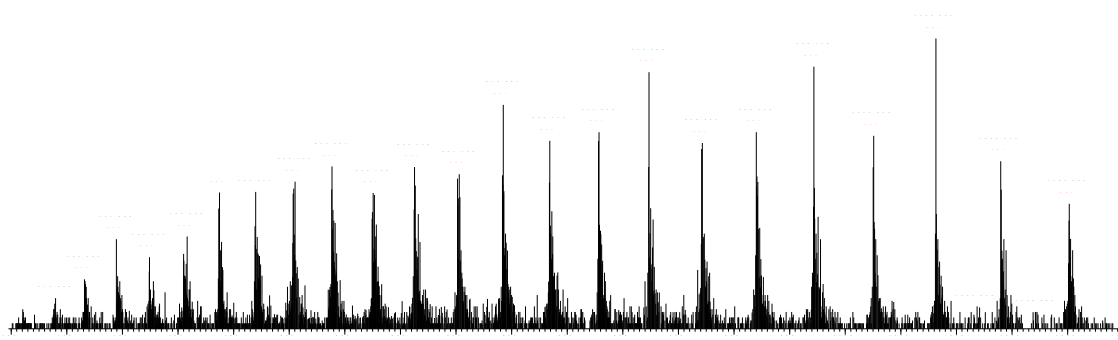
Aminoácido, 1 eq (20 mg).
TBDPSCI, 1 eq. DBU, 4eq. CH₃CN, 1mL. 25°C, 2 h or 24 h.

No hay reacción o descomposición del aminoácido.

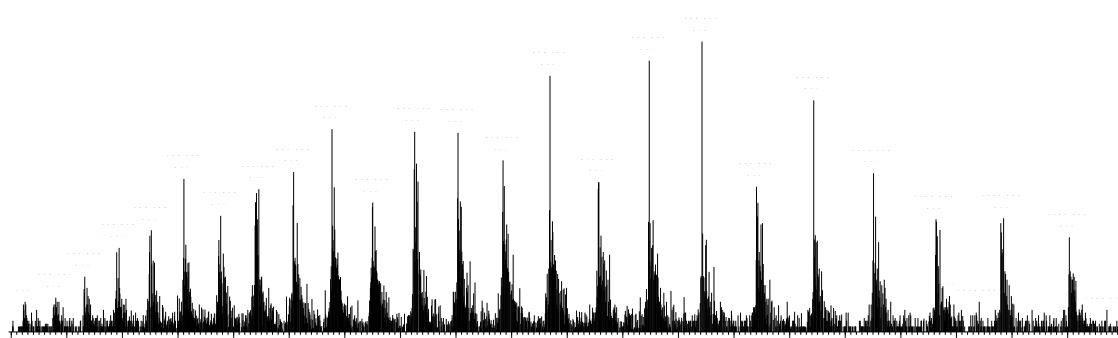
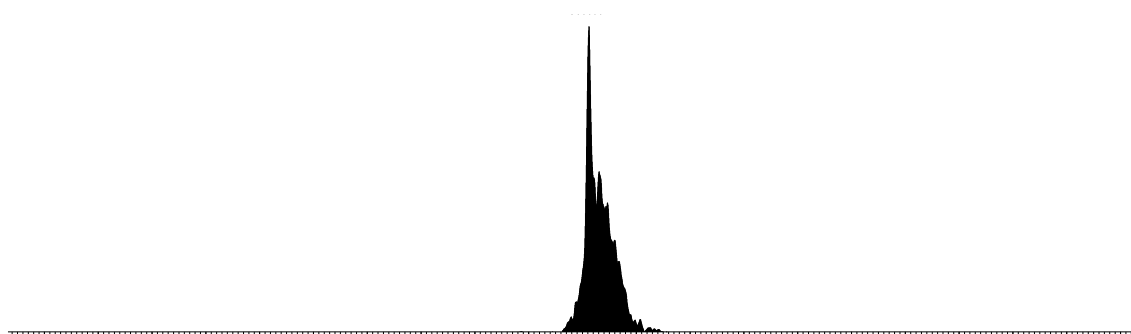
Tabla5S(3.1) Masa molecular de las variantes de la SHMT_{Sth}.

SHMT _{Sth}	Mw calculated/Da	Mw observed/Da	Error/Da
Nativa	46484.68	46484.0	0.7
Y55T	46422.60	46422.0	0.6
Y55C	46424.64	46424.0	0.6
Y55S	46408.58	46408.0	0.6

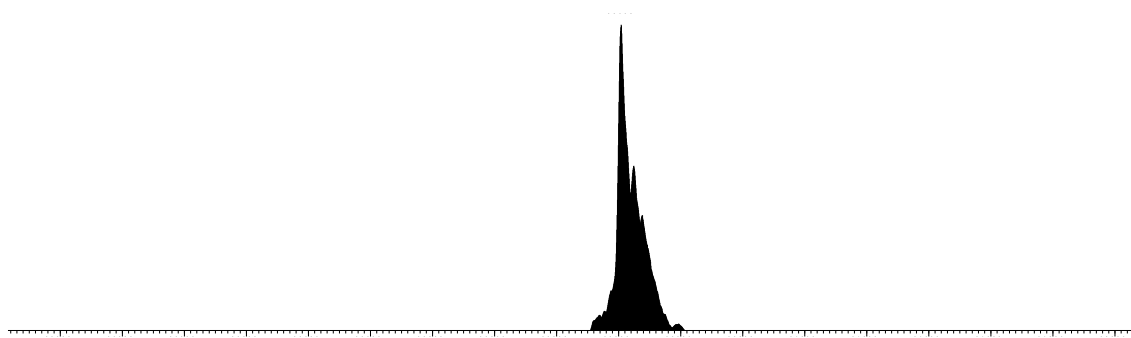
Figura6S(3.1) Espectros MS ESI/TOF y espectros deconvolucionados de las variantes de SHMT_{Sth}.a) SHMT_{Sth} nativab) SHMT_{Sth} Y55T



c) SHMT_{Sth} Y55C



d) SHMT_{Sth} Y55S



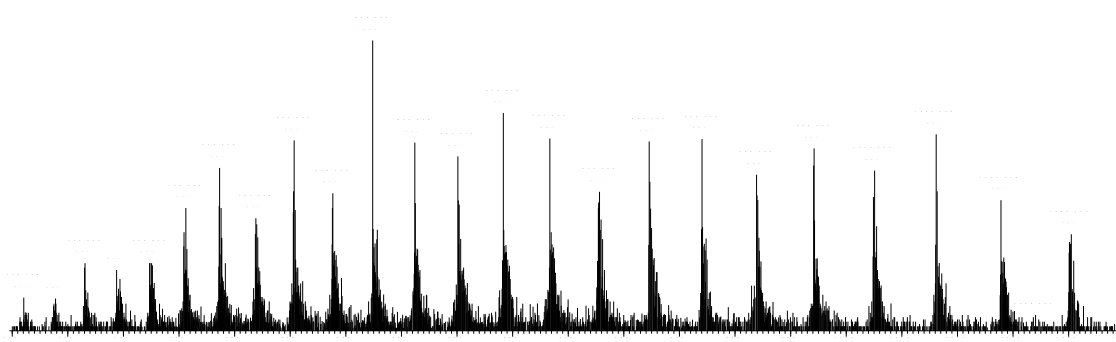
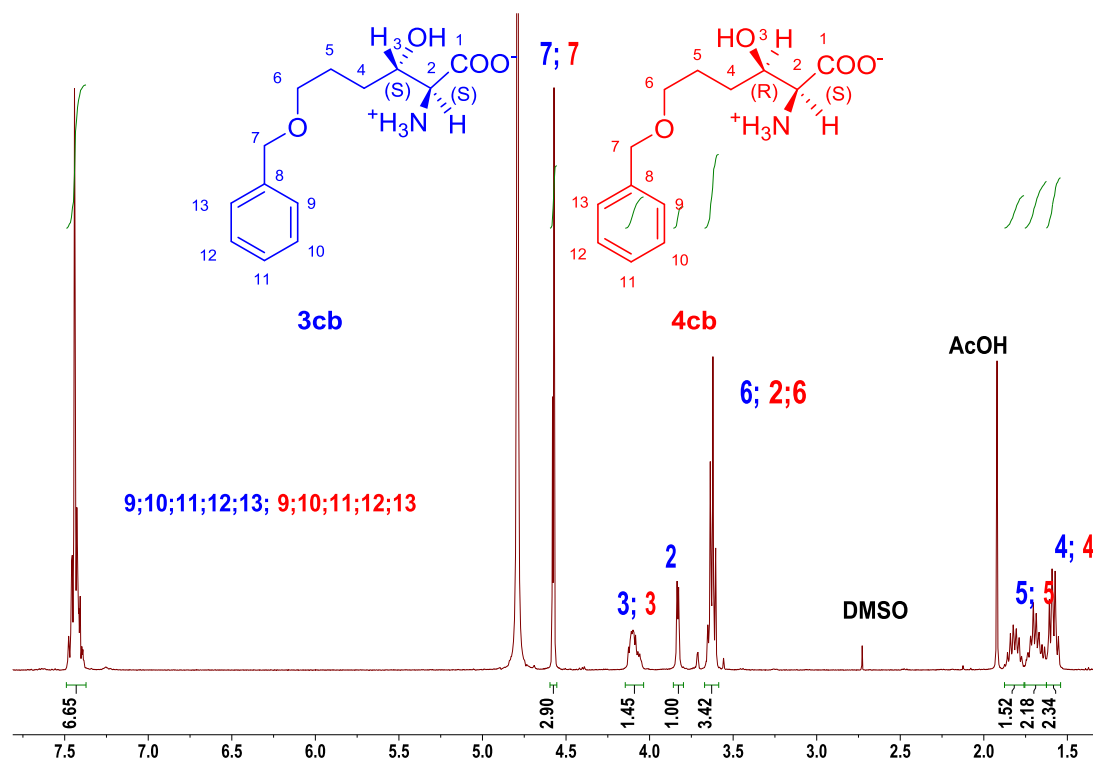
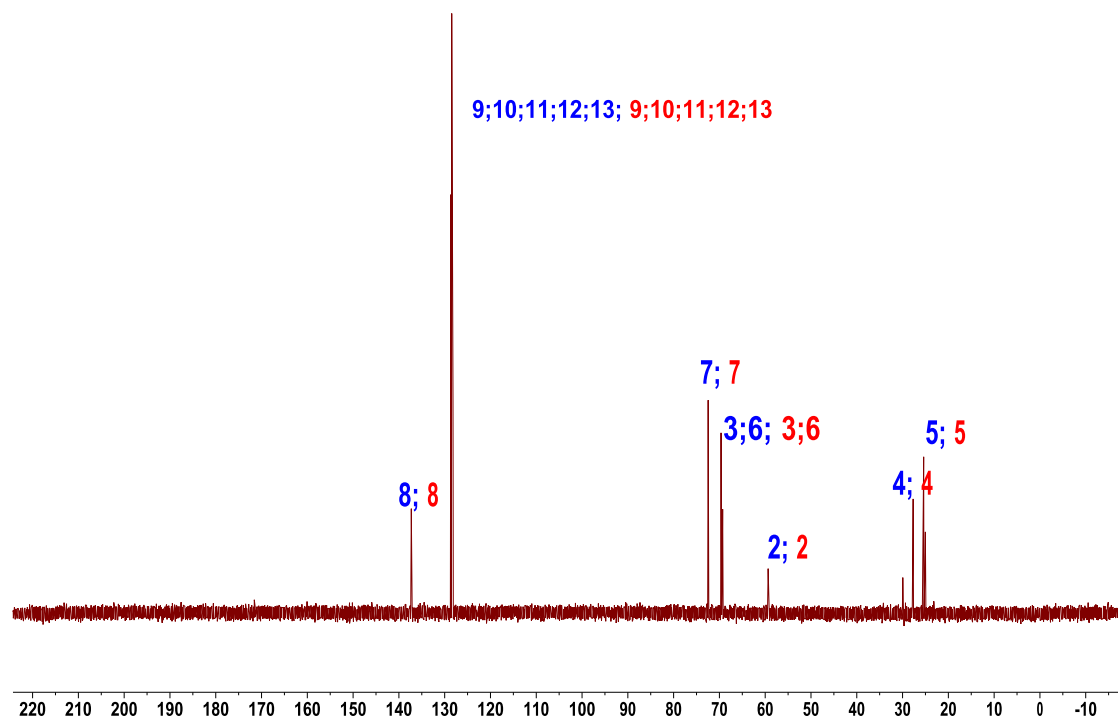


Figura7S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de los productos **3cb** y **4cb** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Sth} nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.

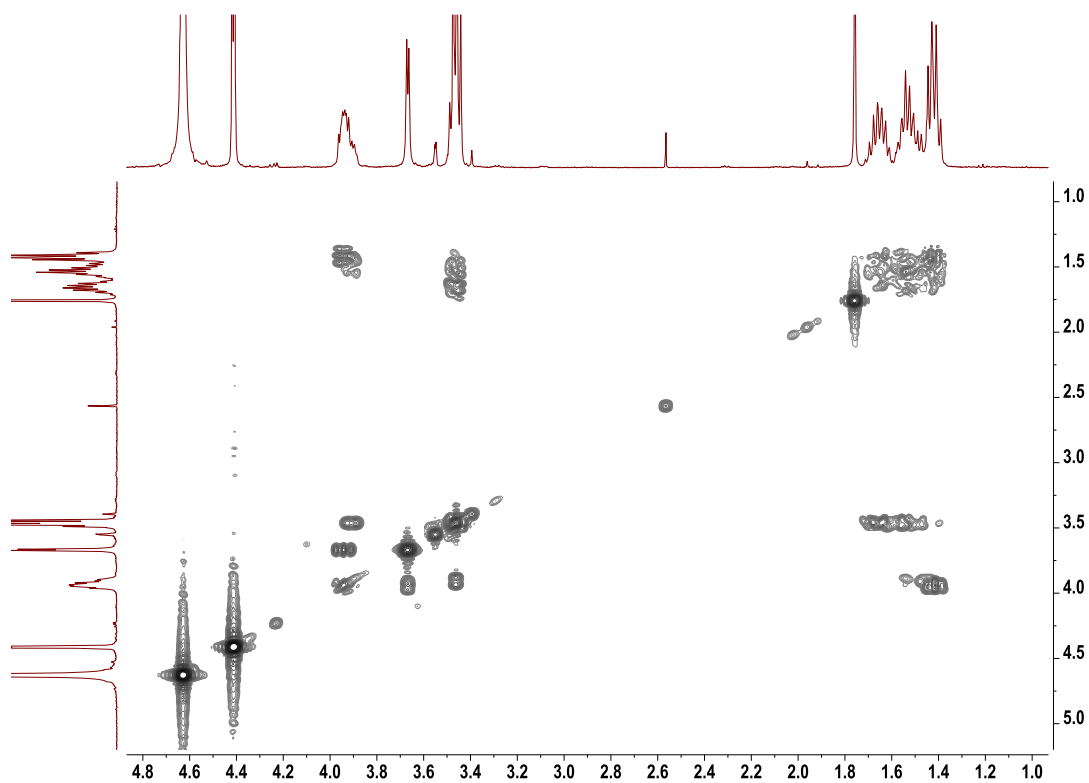
a)



b)



c)



d)

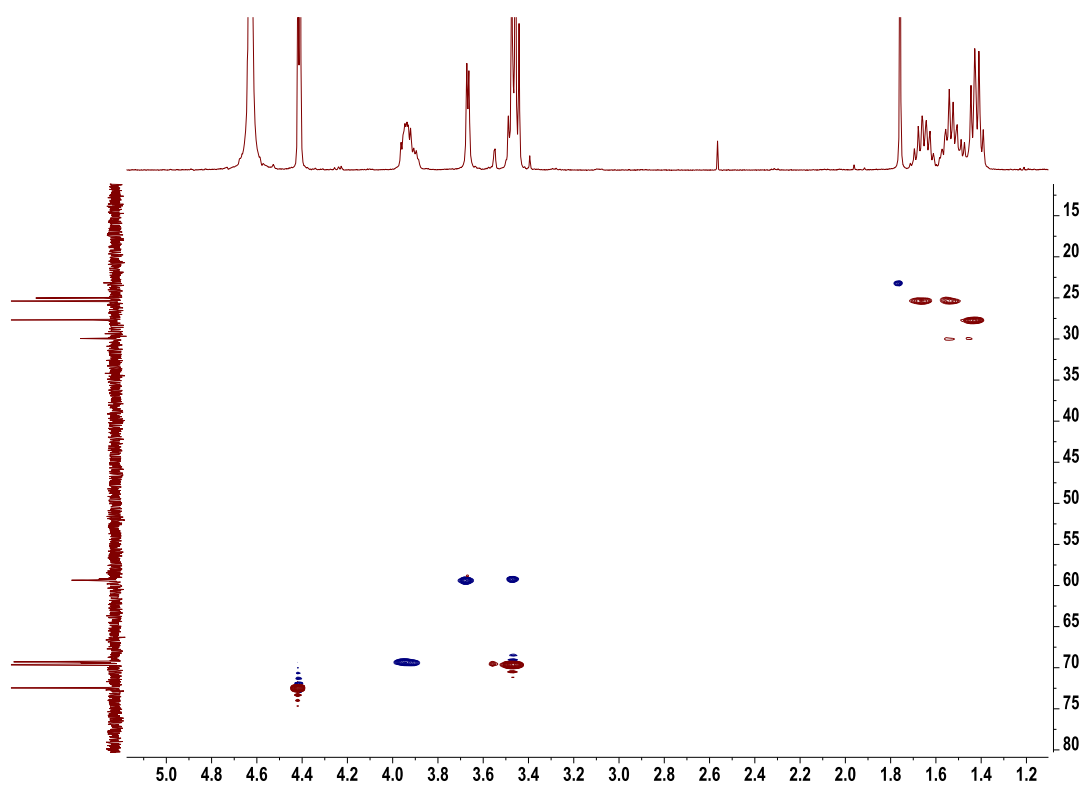
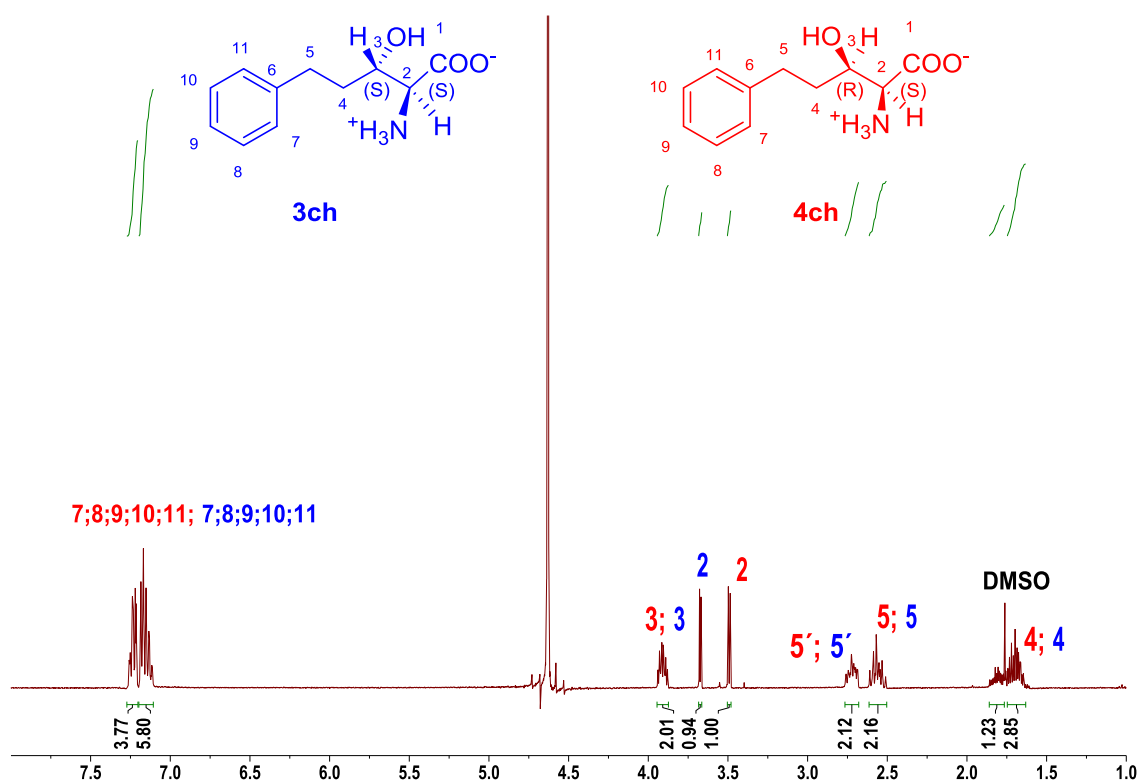
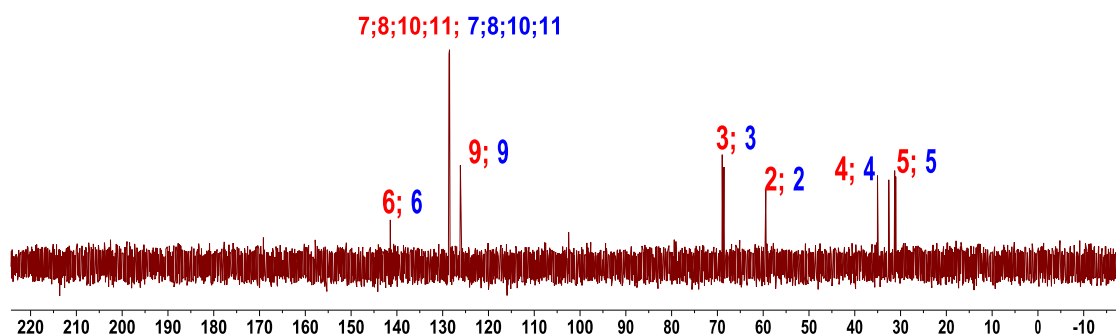


Figura8S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de los productos **3ch** y **4ch** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Sth} nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.

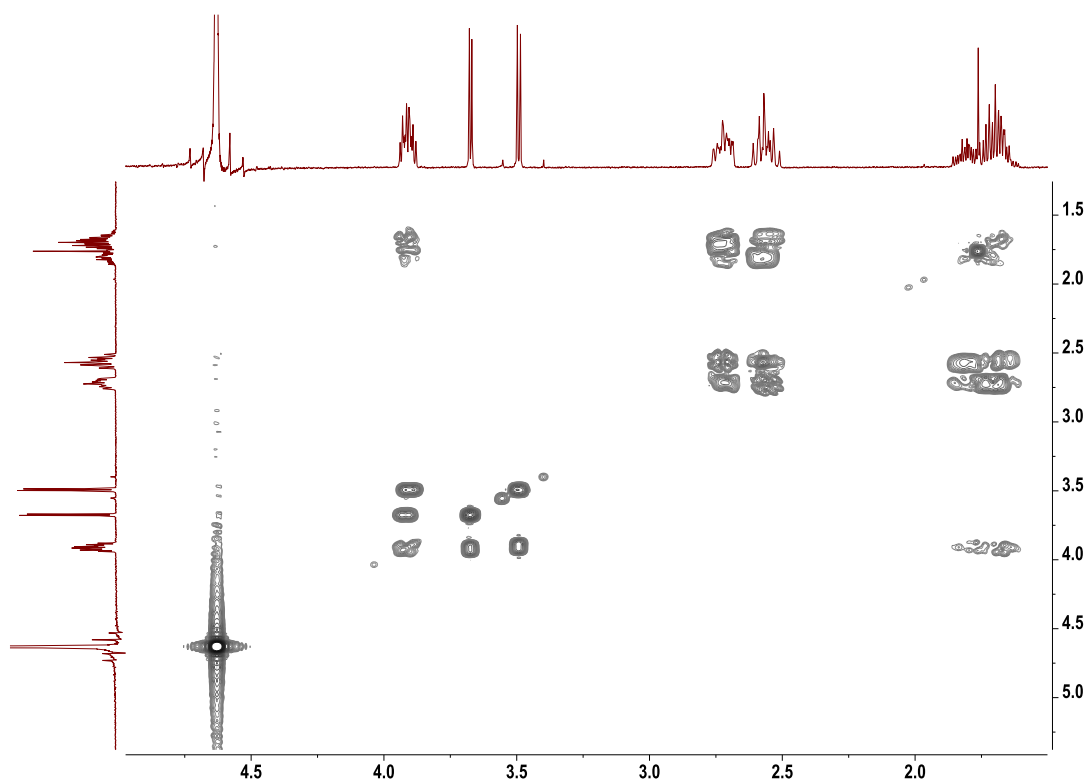
a)



b)



c)



d)

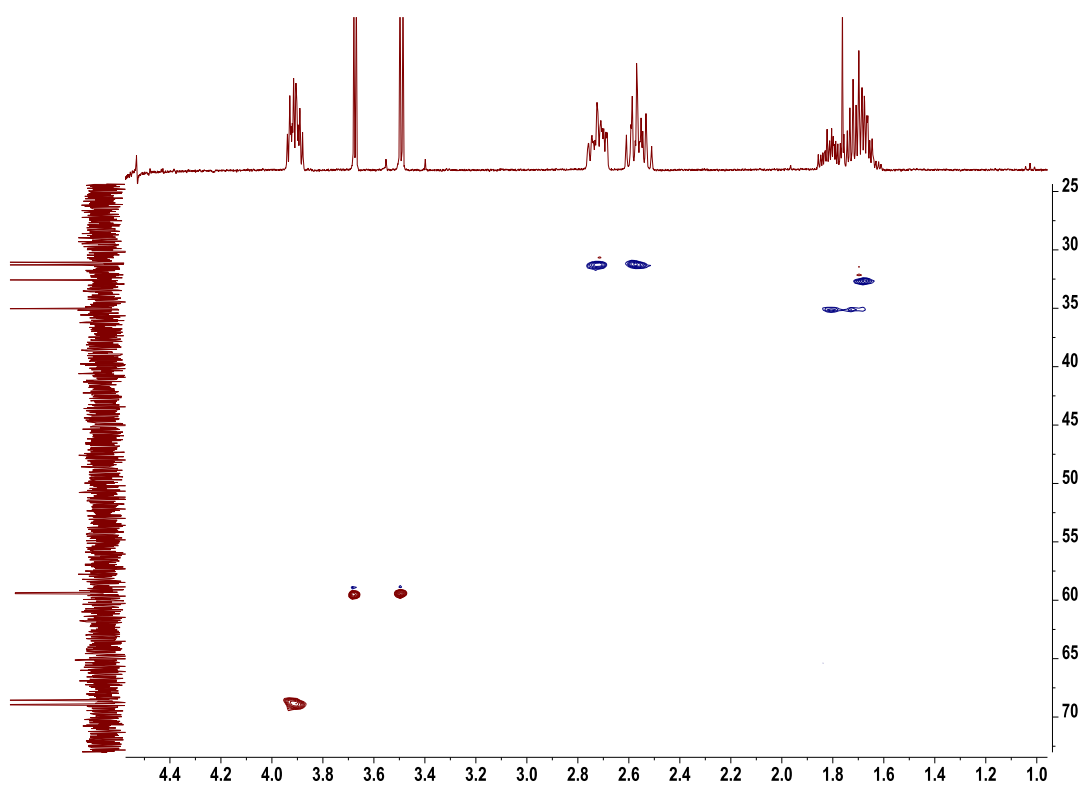
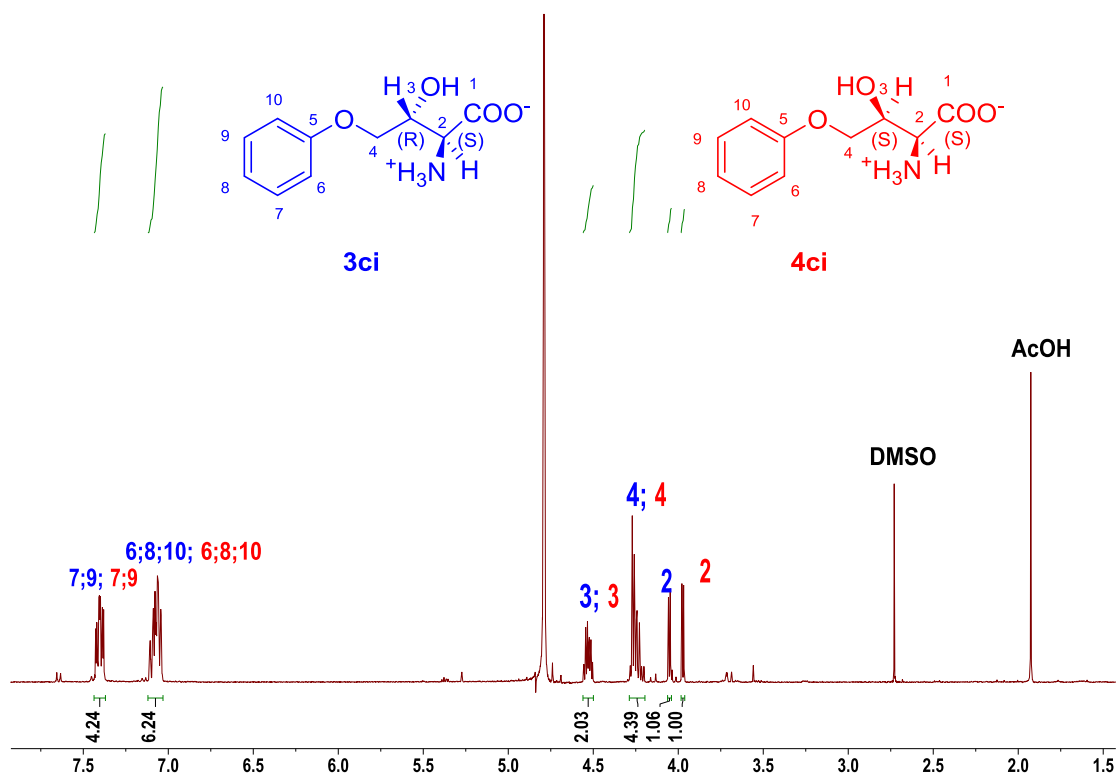
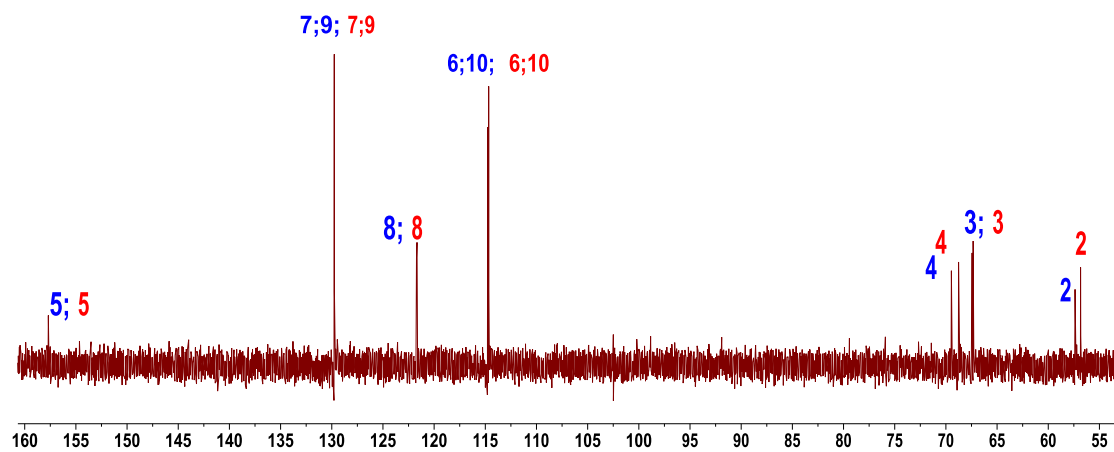


Figura9S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de los productos **3ci** y **4ci** de la reacción aldólica catalizada por SHMT *Sth* nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.

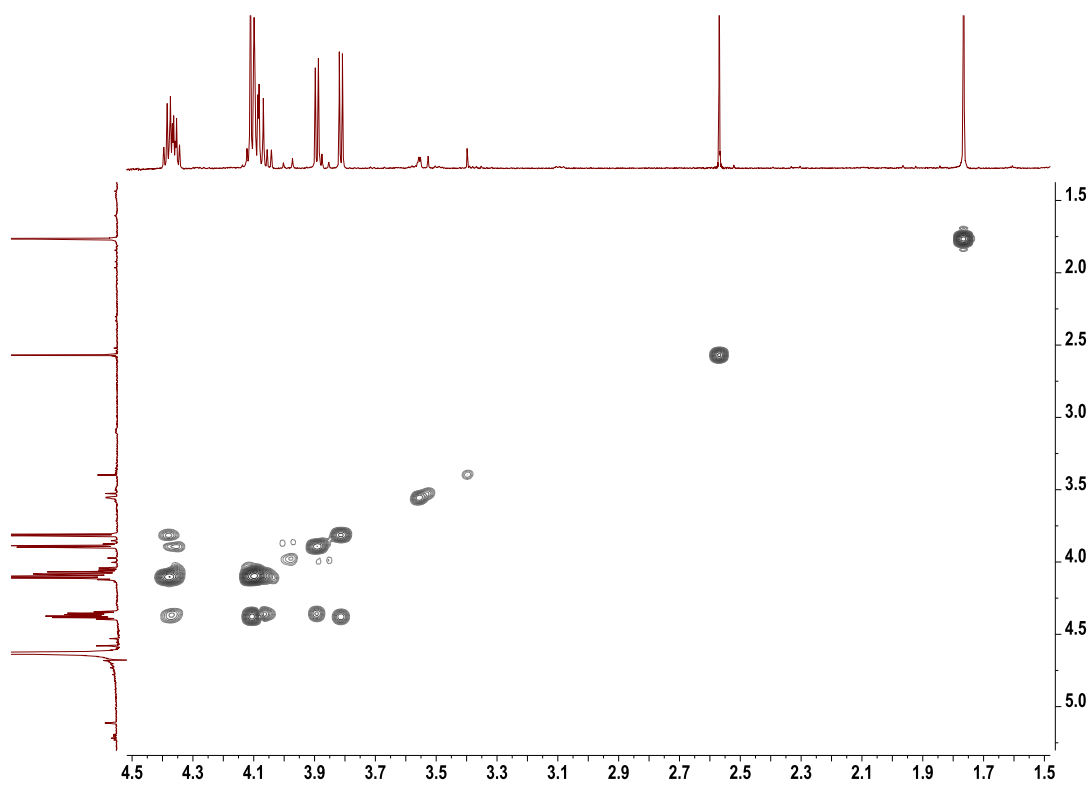
a)



b)



c)



d)

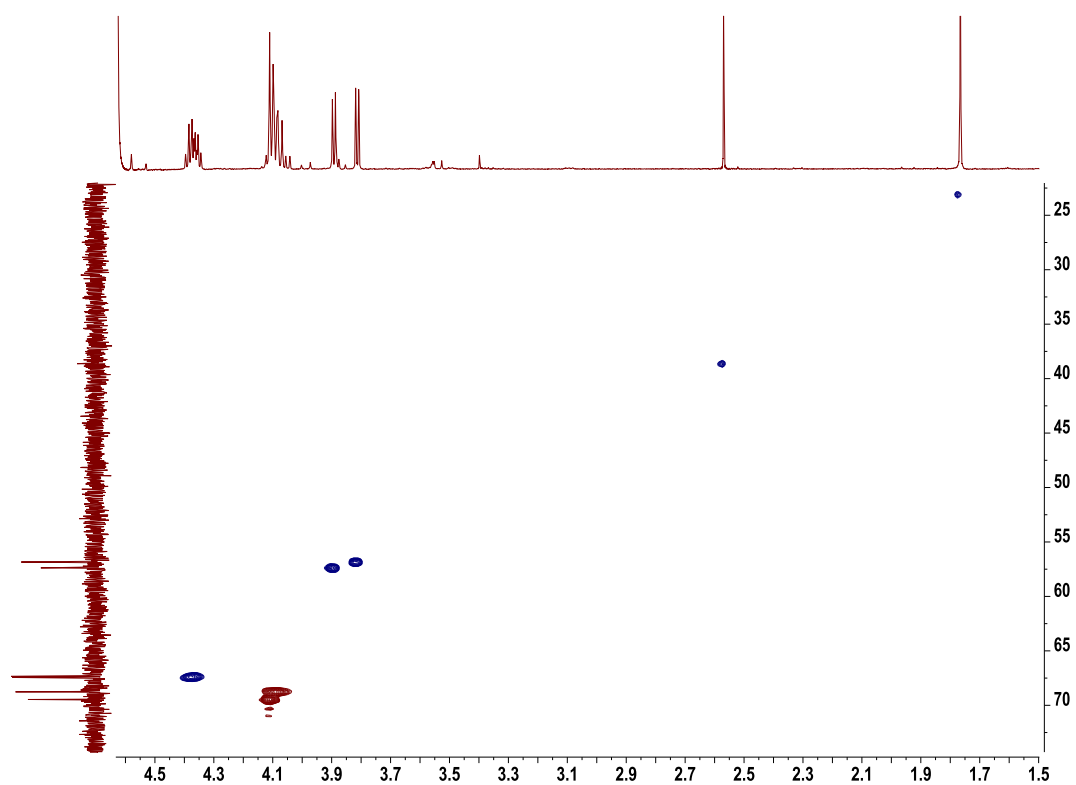
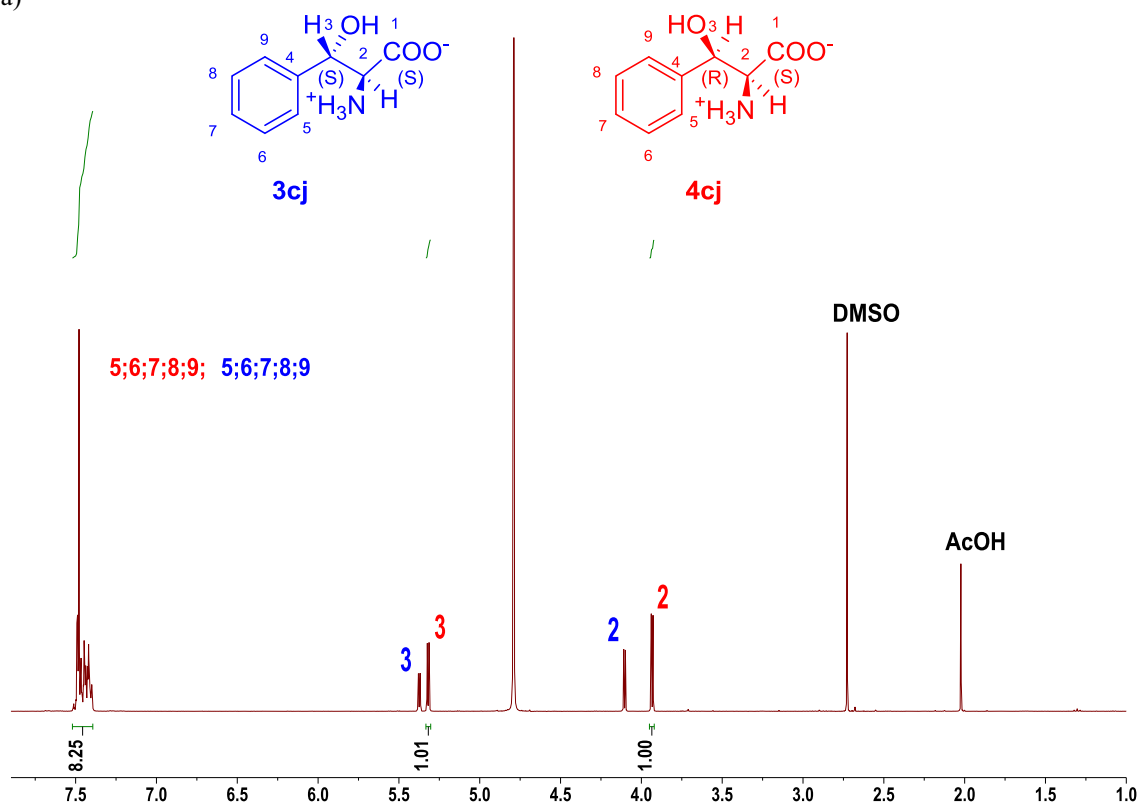
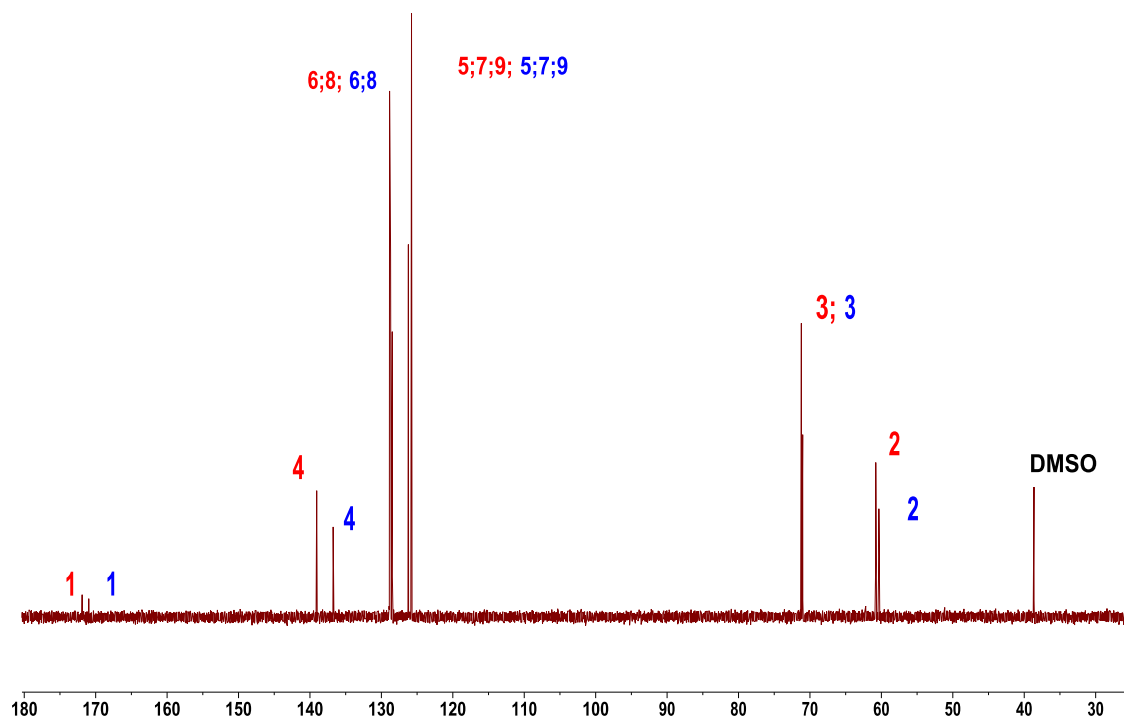


Figura10S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de los productos **3cj** y **4cj** de la reacción aldólica catalizada por SHMT *Sh* nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.

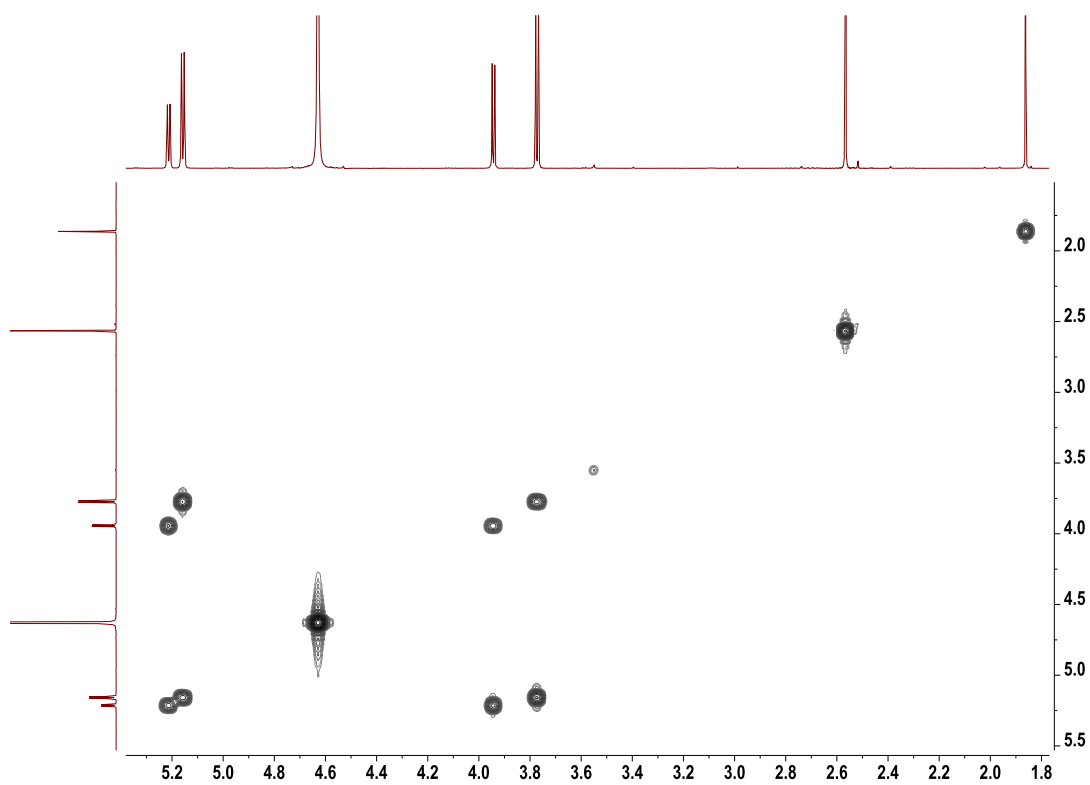
a)



b)



c)



d)

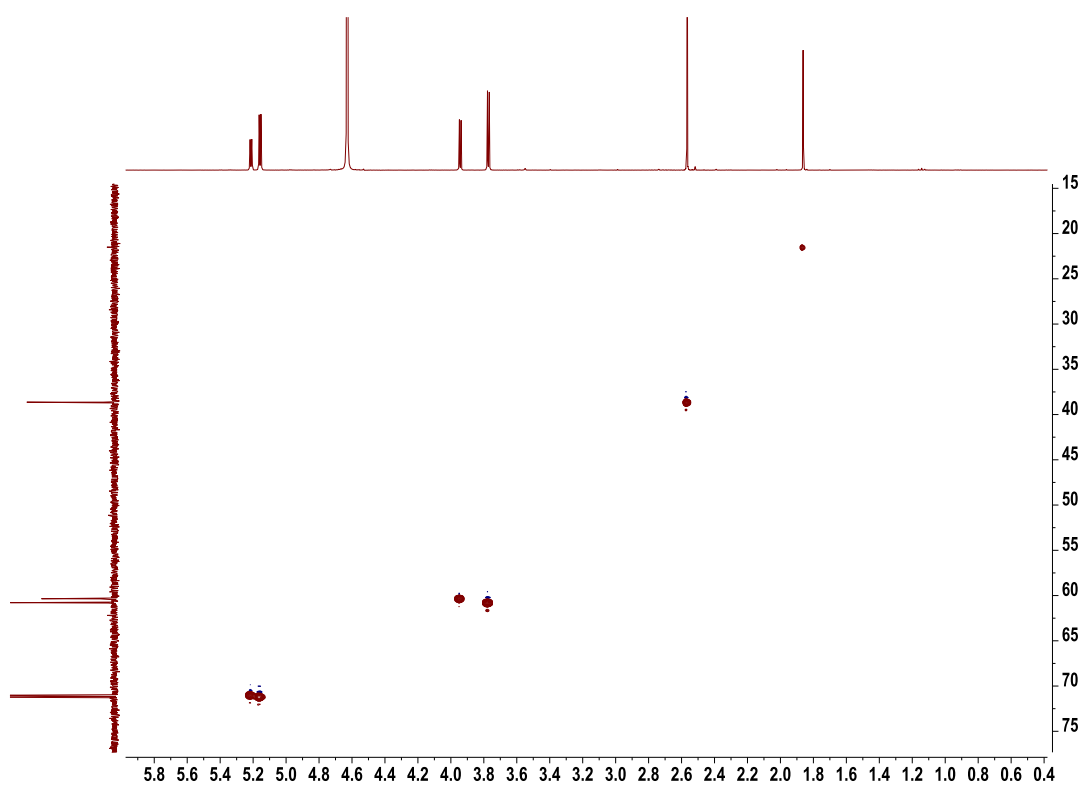
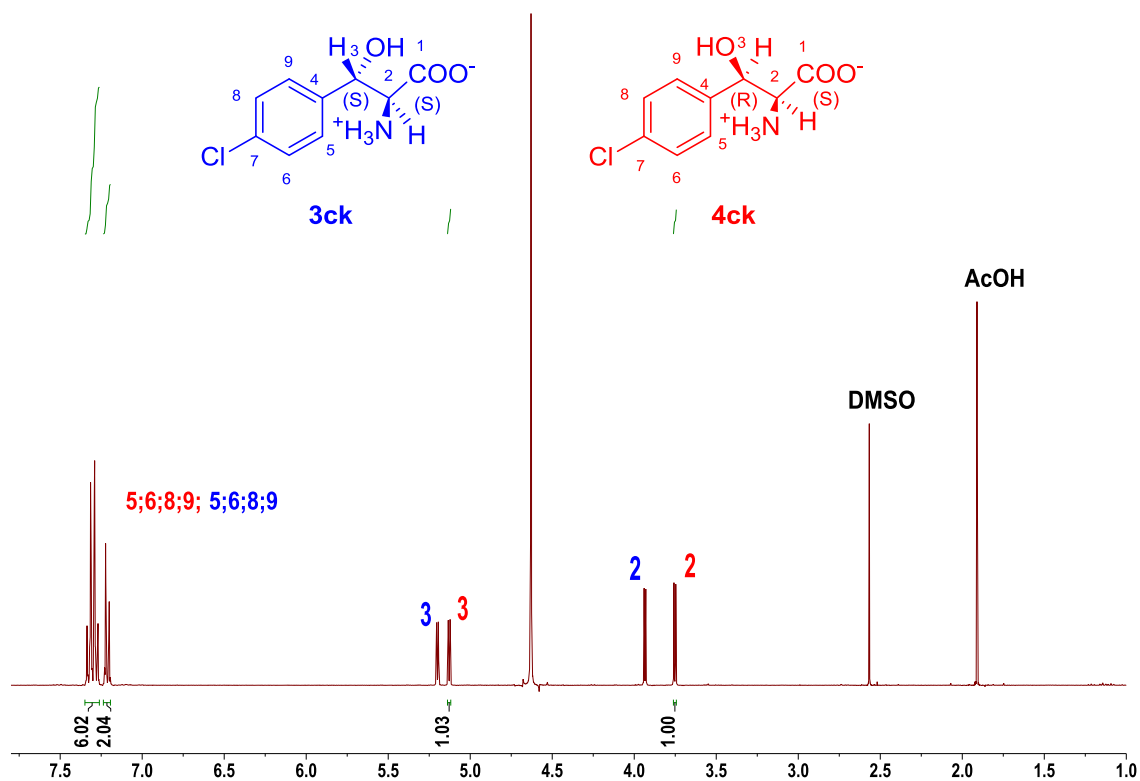
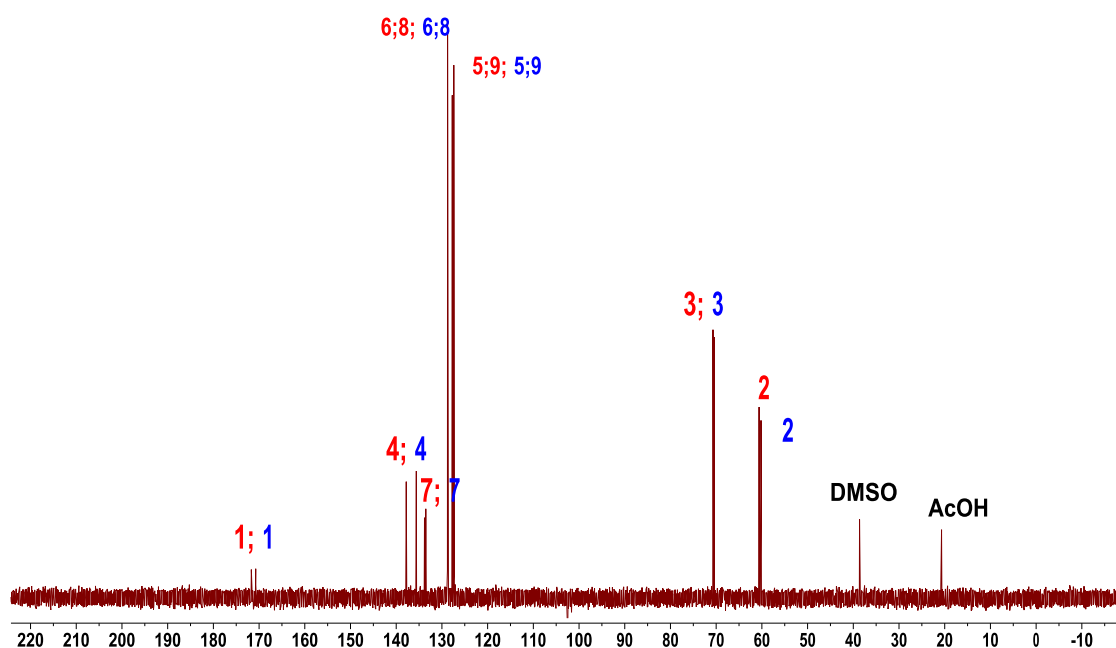


Figura11S(3.1). Espectros de RMN(D₂O) de los productos **3ck** y **4ck** de la reacción aldólica catalizada por SHMT *Sth* nativa: a) ¹H; b) ¹³C; c) 2D ¹H-¹H COSY y d) HSQC.

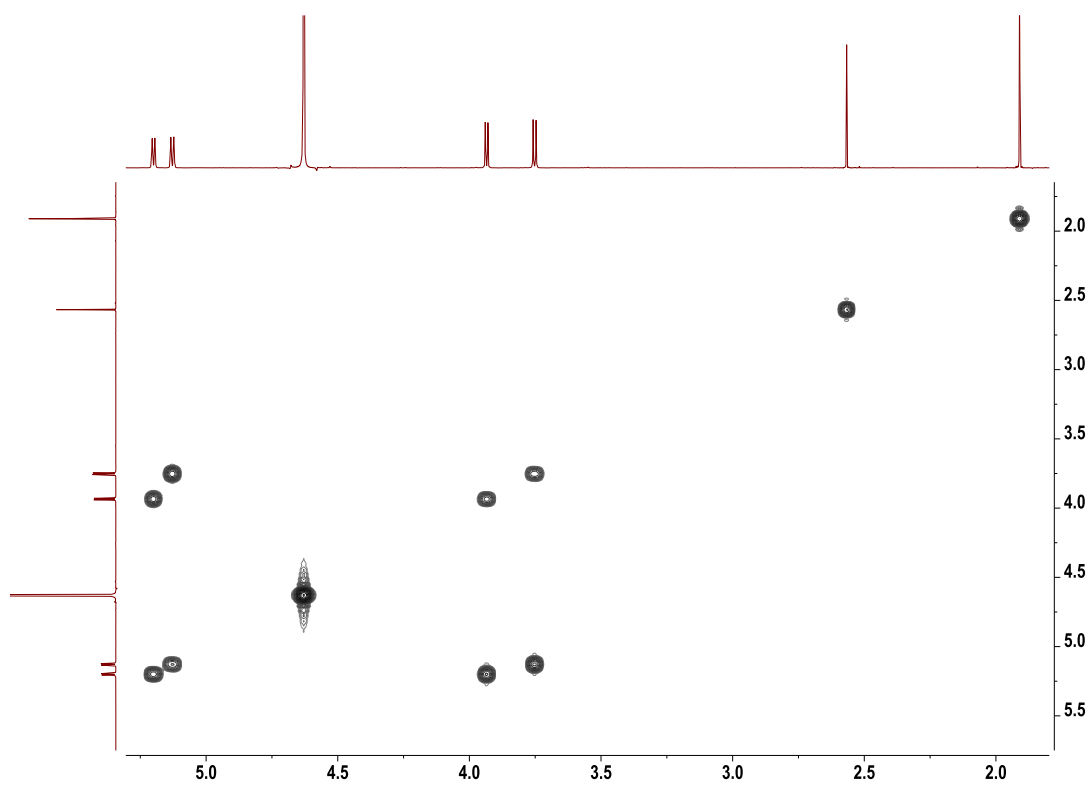
a)



b)



c)



d)

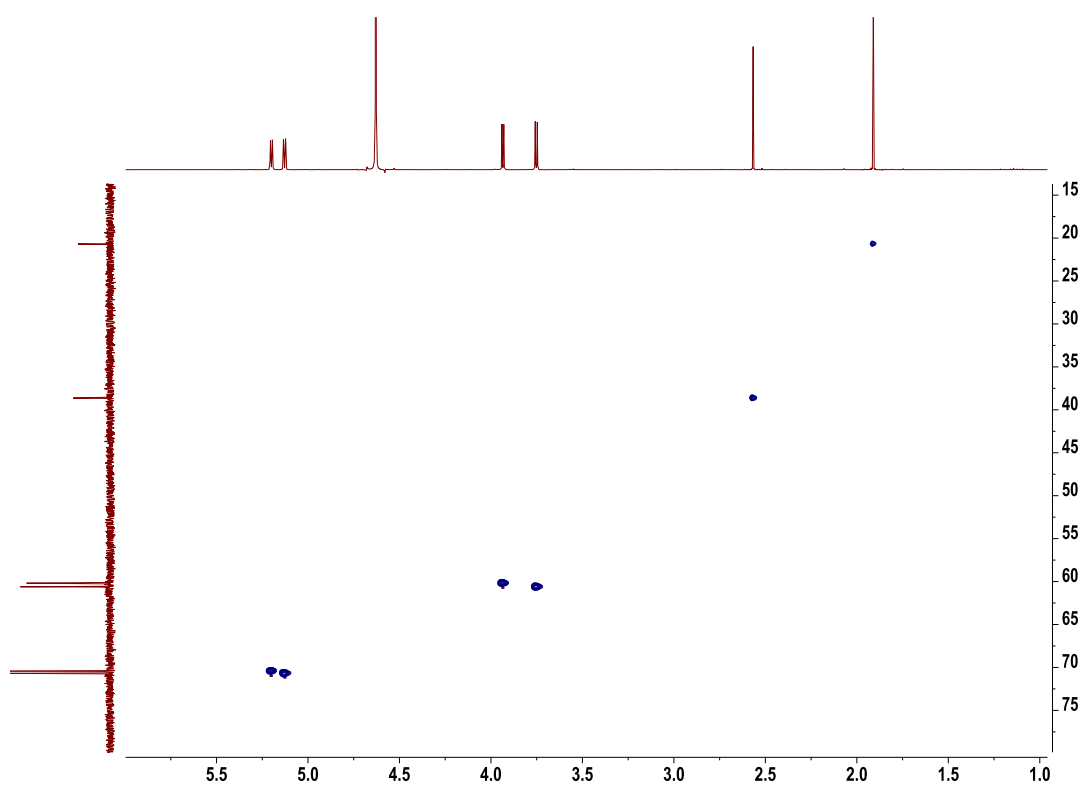
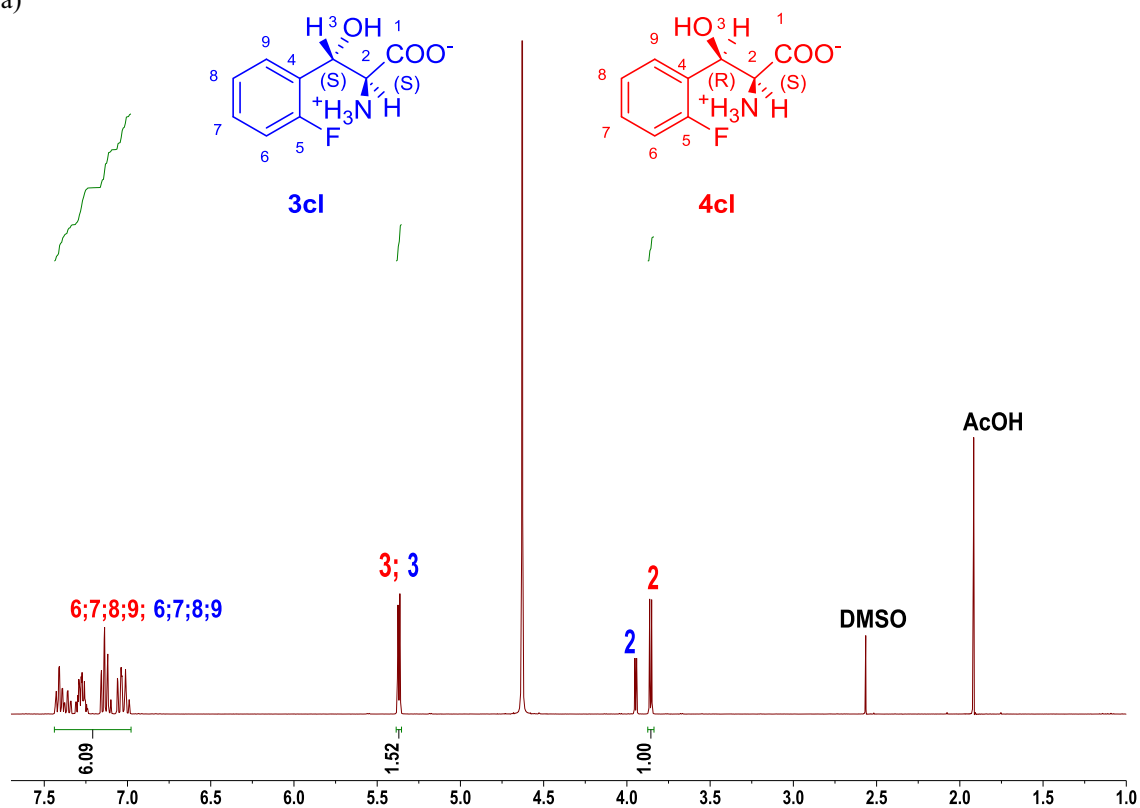
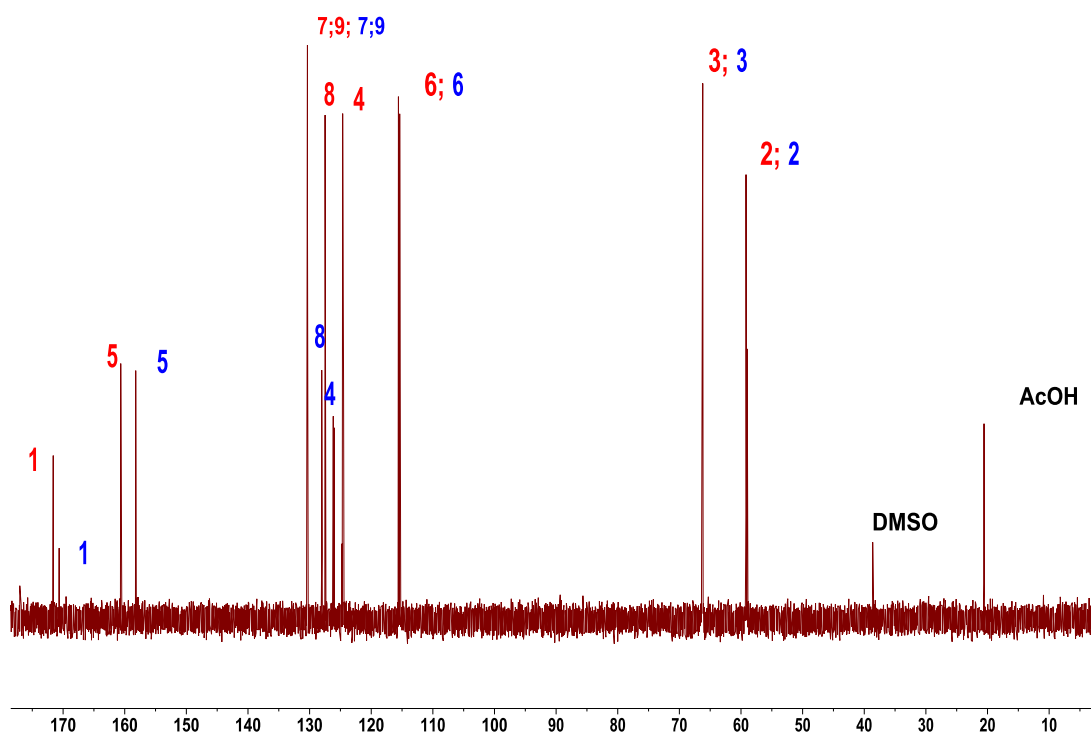


Figura12 S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de los productos **3cl** y **4cl** de la reacción aldólica catalizada por SHMT *Sth* nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.

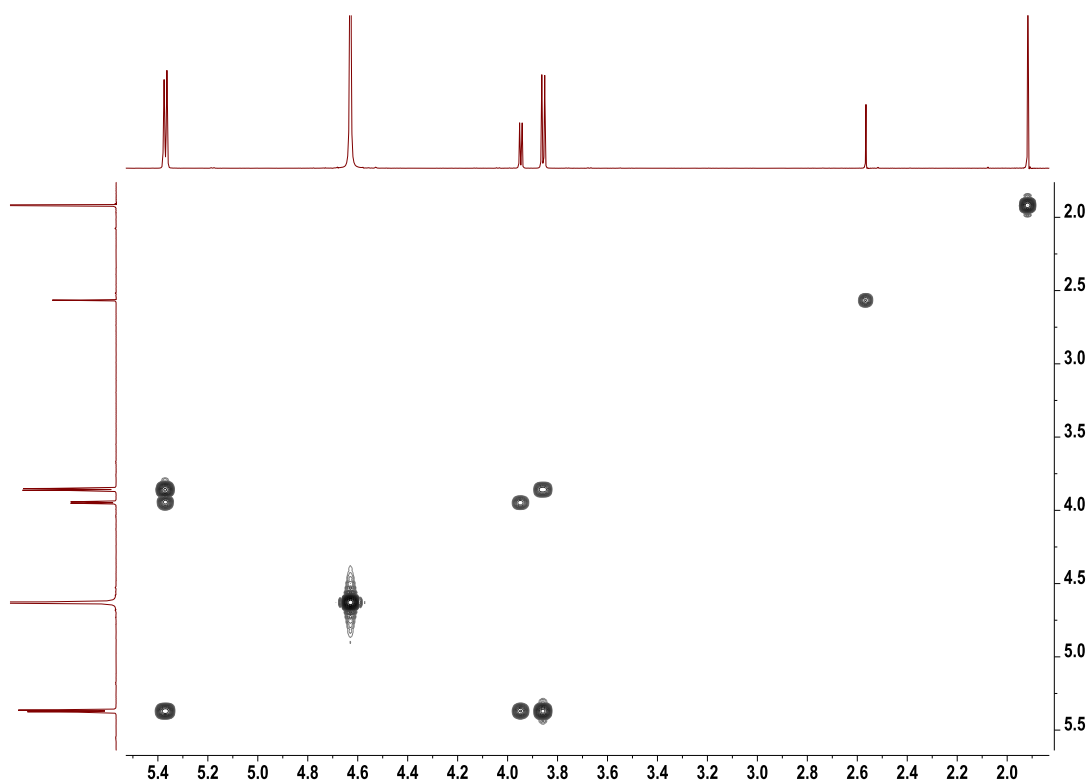
a)



b)



c)



d)

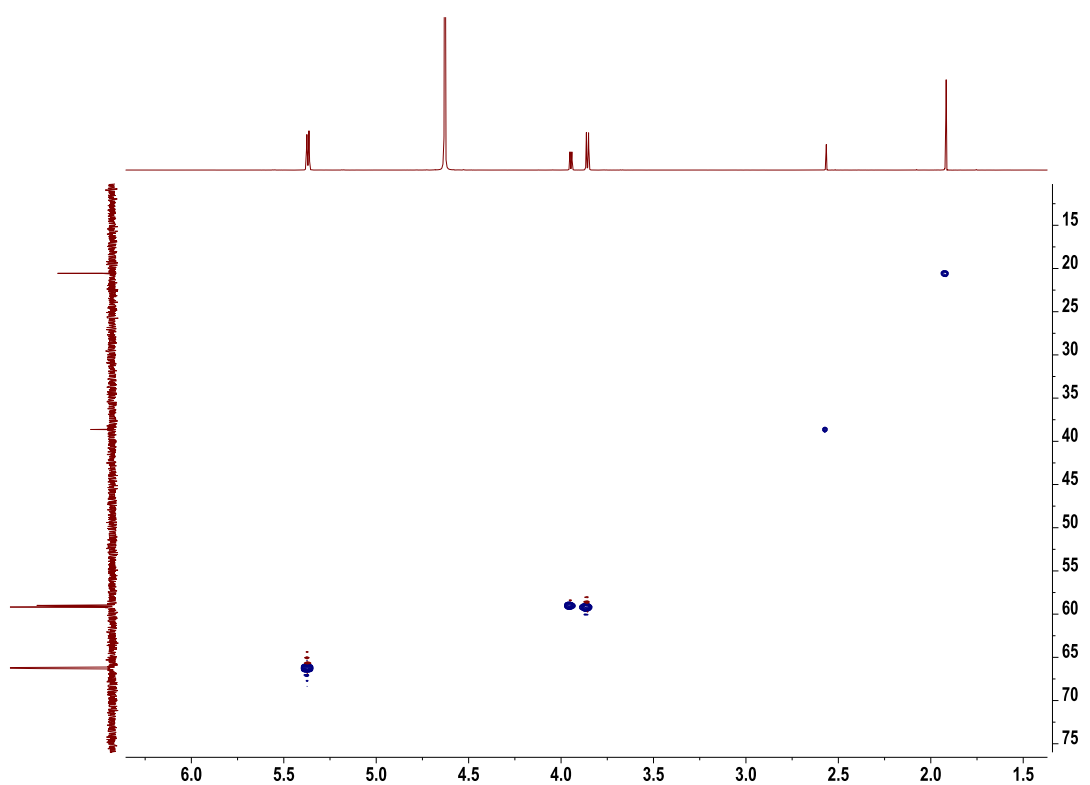
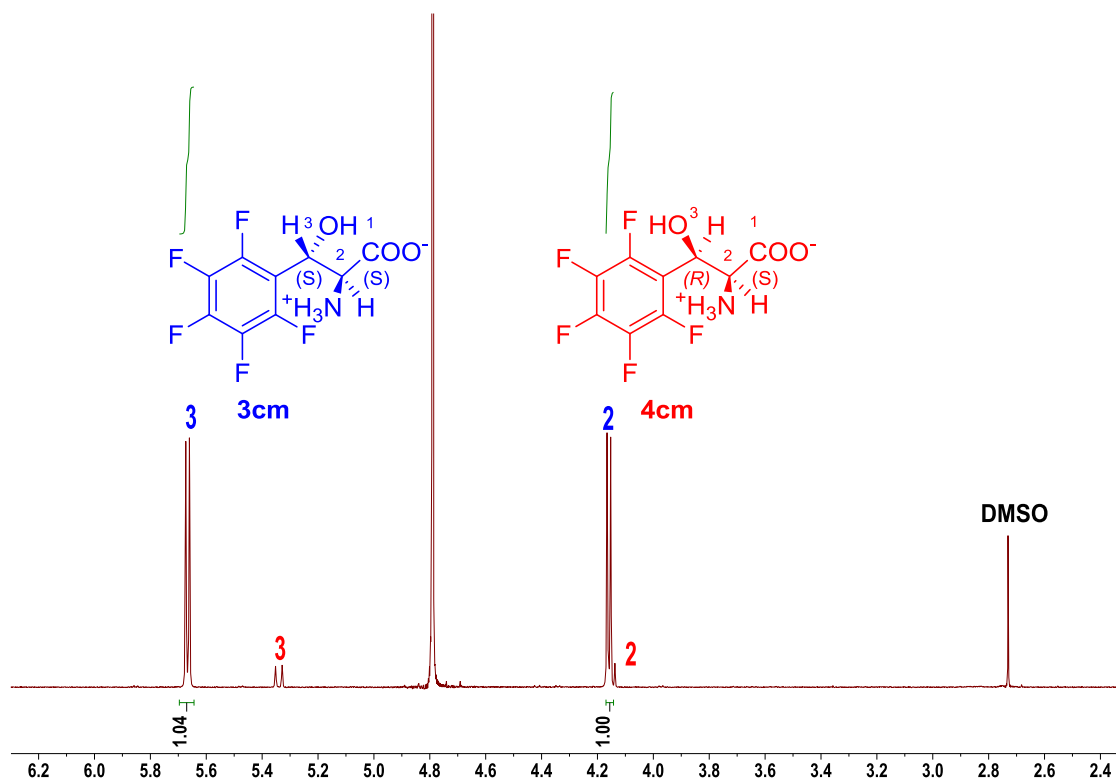
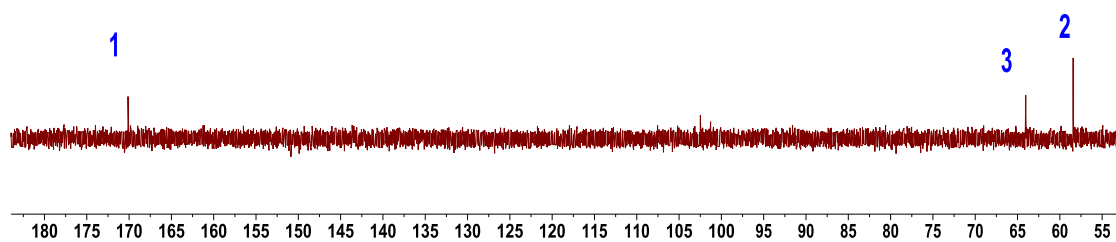


Figura13S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de los productos **3cm** y **4cm** de la reacción aldólica catalizada por SHMT $_{Sh}$ nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.

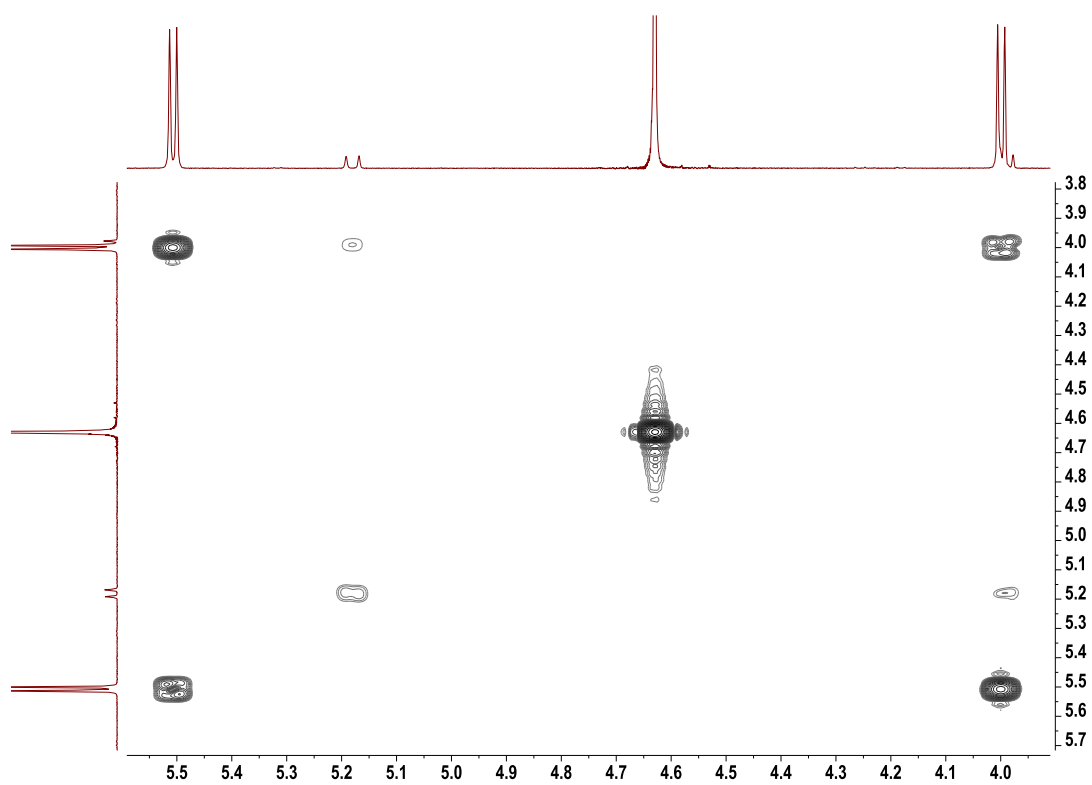
a)



b)



c)



d)

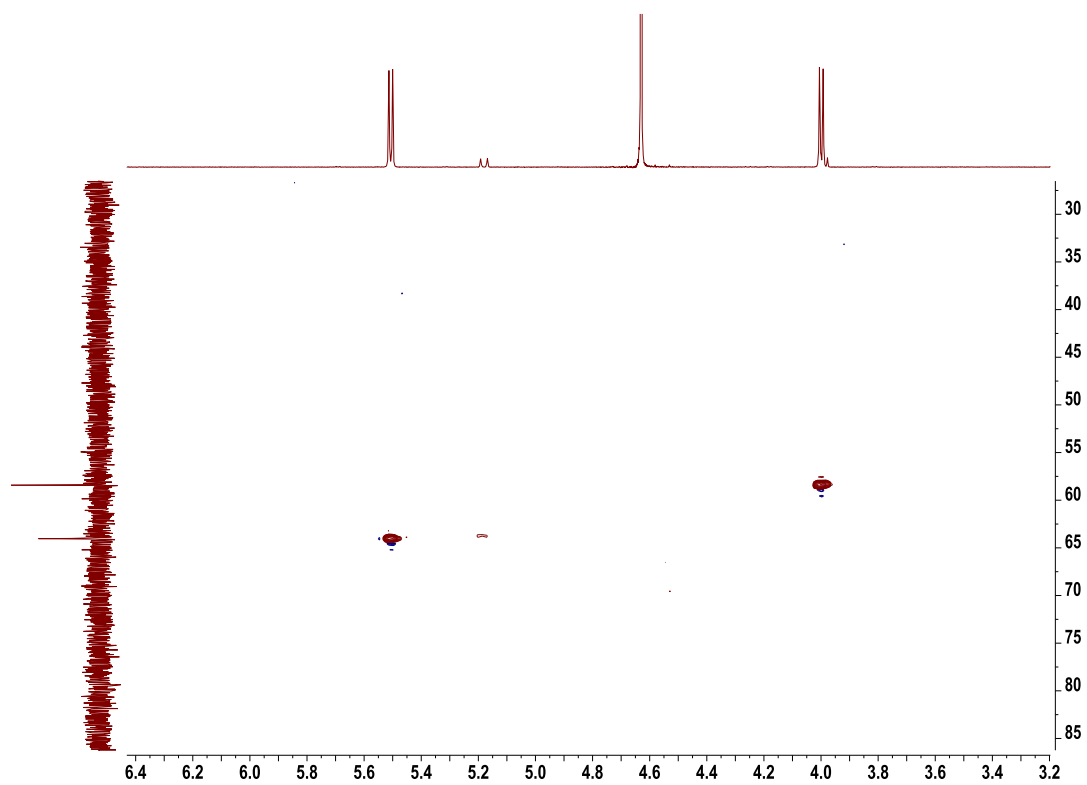
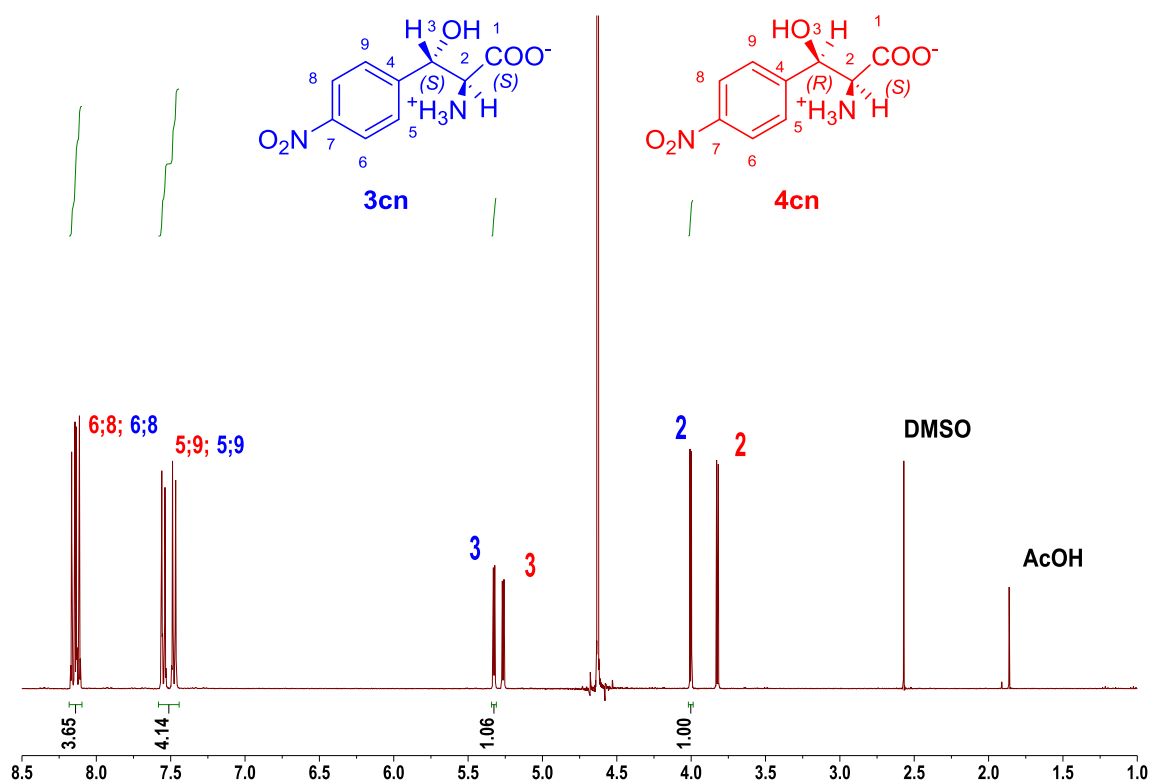
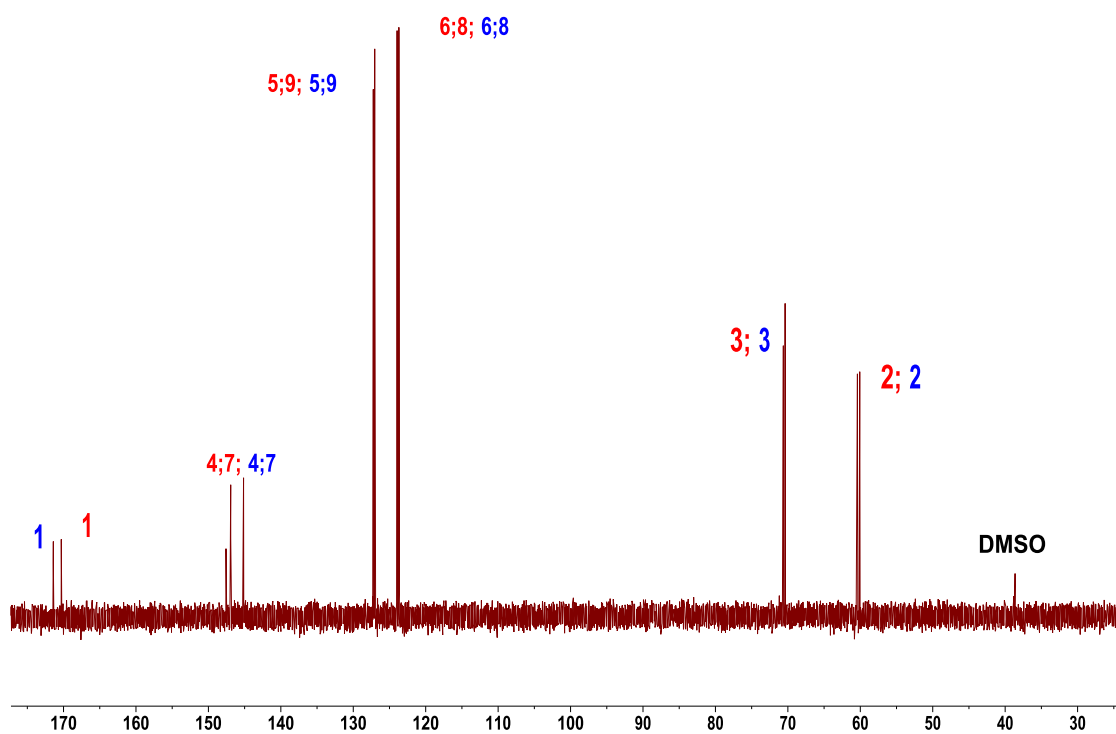


Figura14S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de los productos **3cn** y **4cn** de la reacción aldólica catalizada por SHMT *Sth* nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY, d) HSQC y e) 1D-NOESY selectivo.

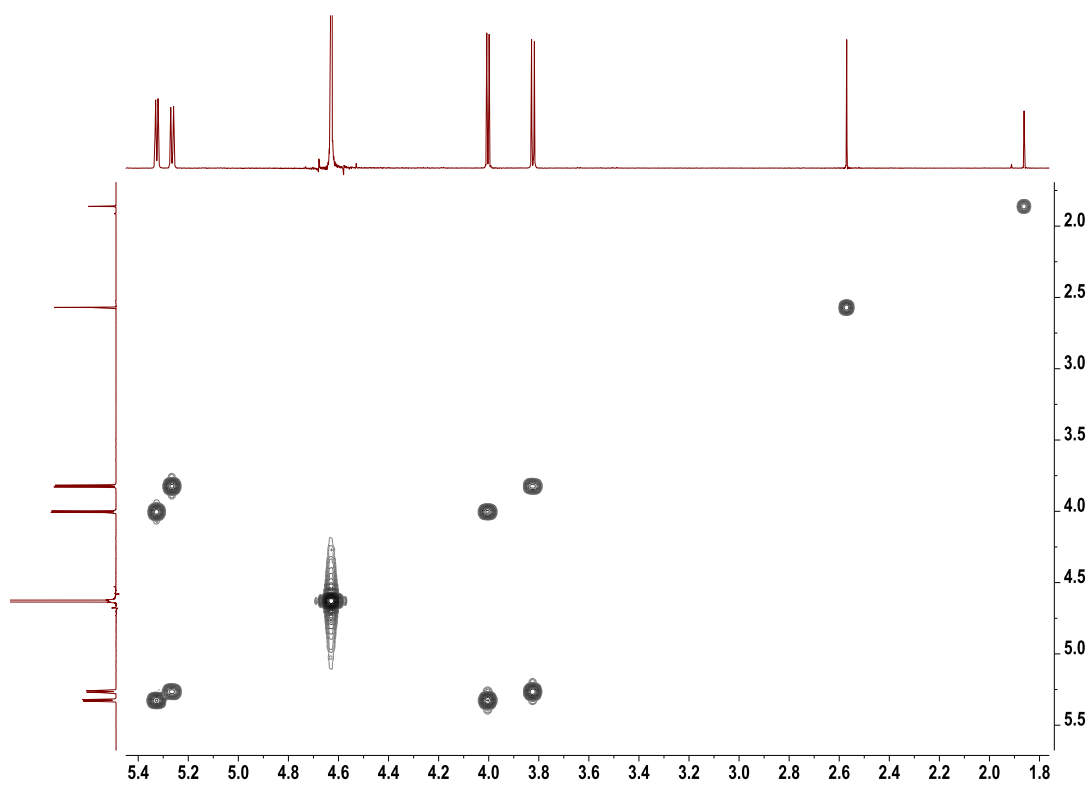
a)



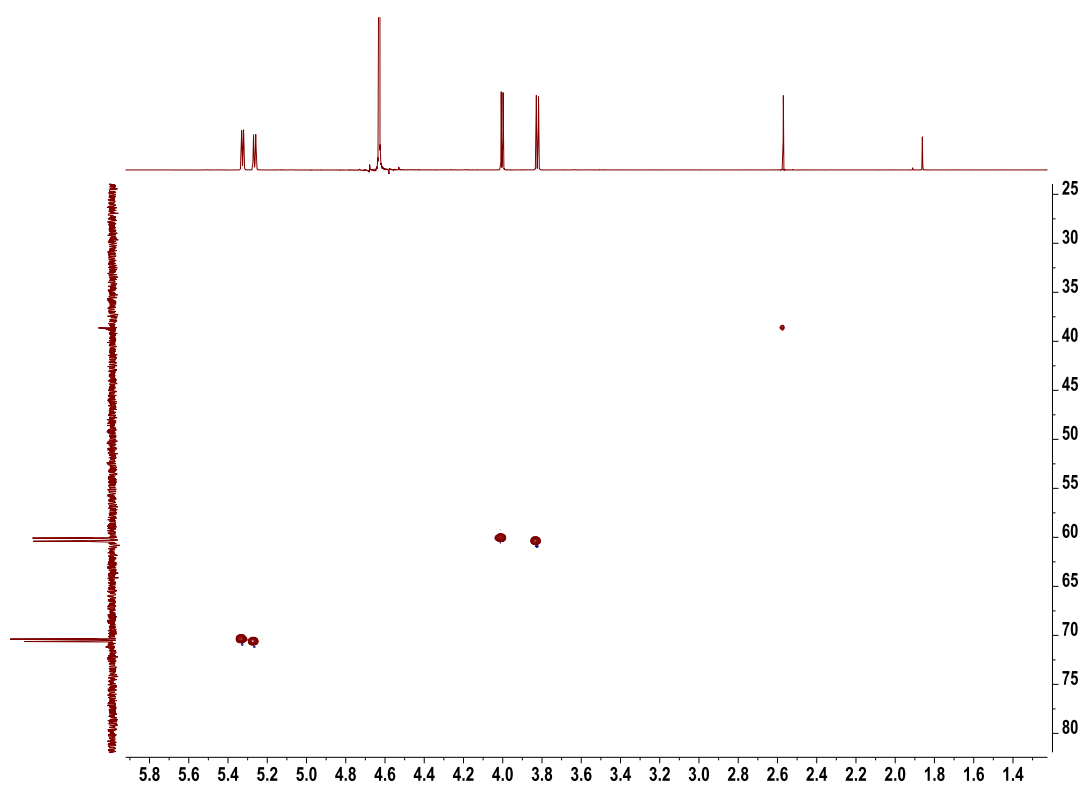
b)



c)



d)



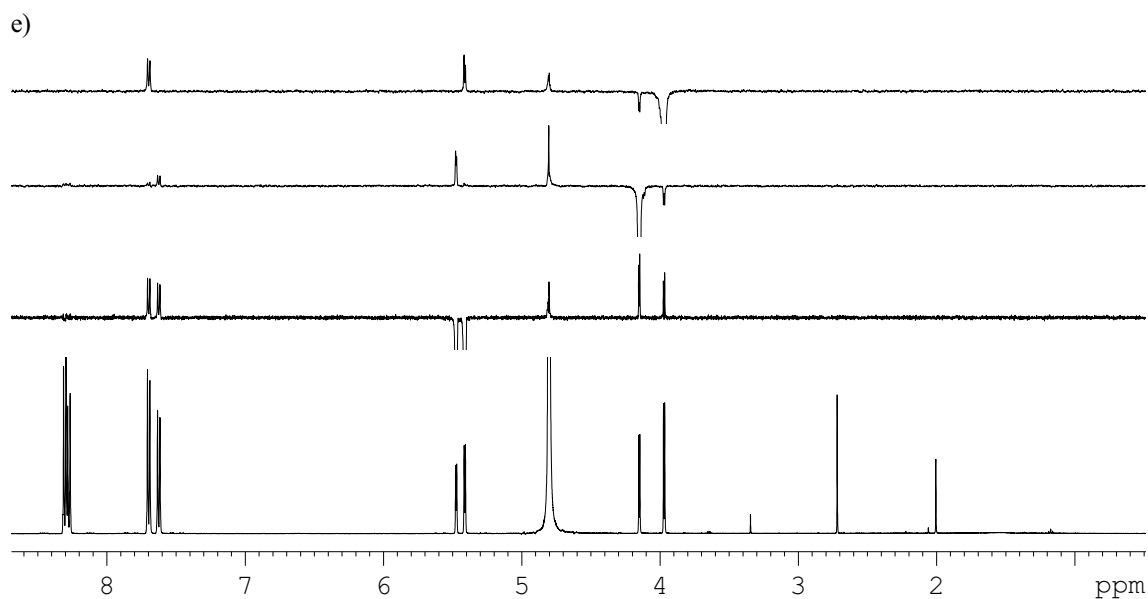
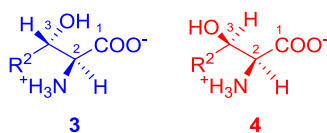


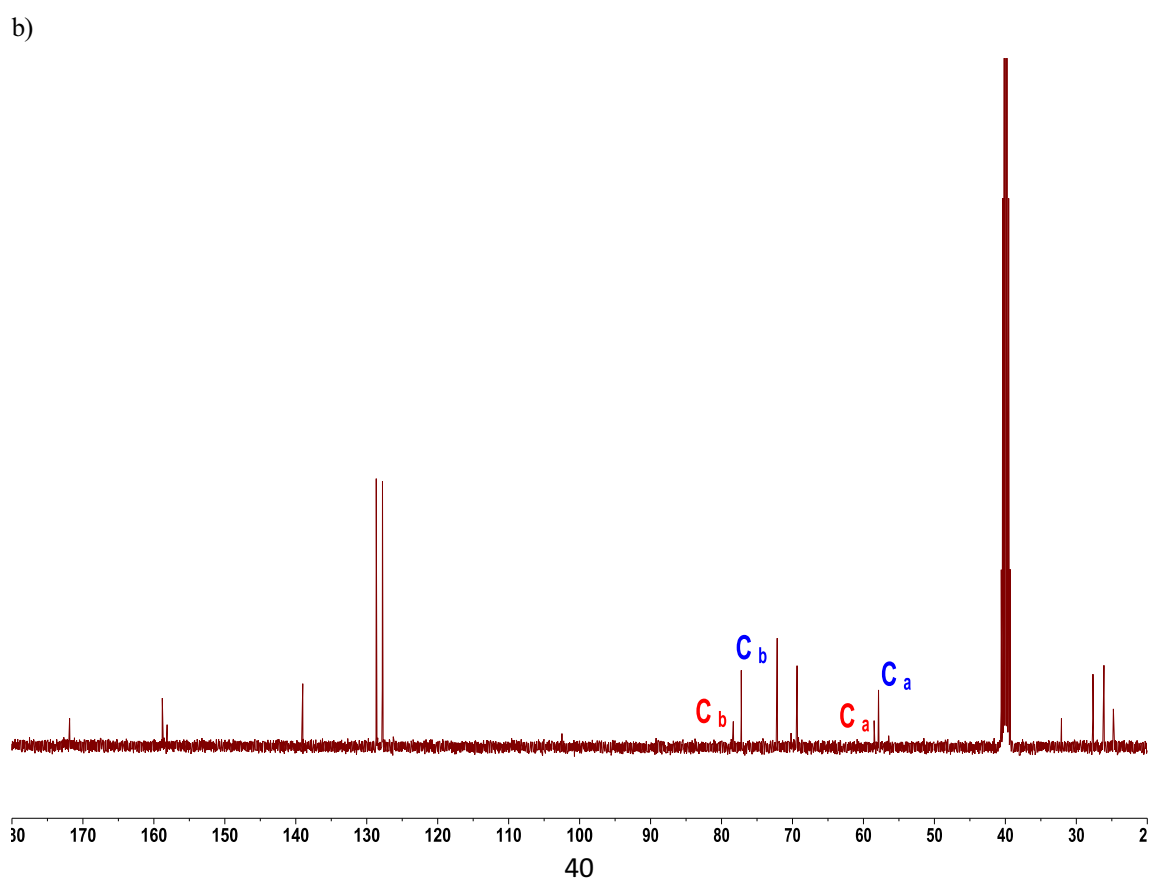
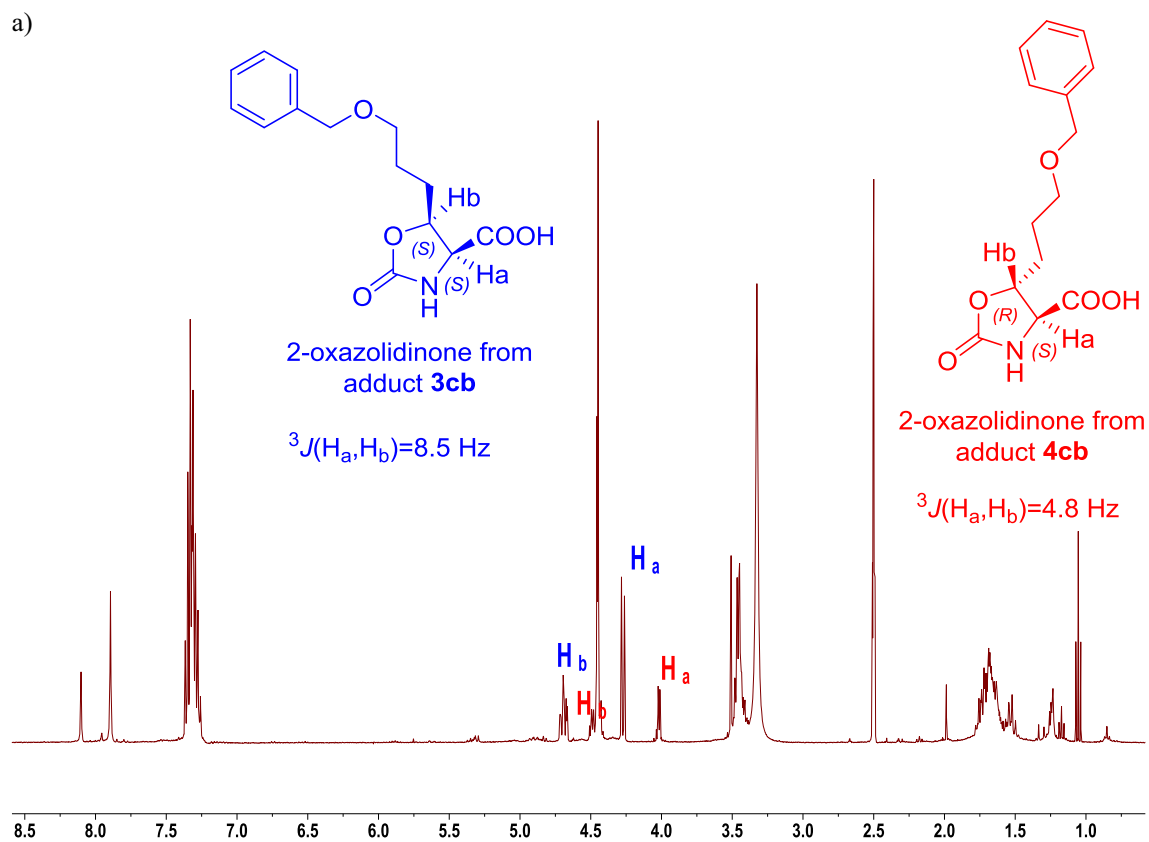
Tabla6S(3.1). Resumen de los desplazamientos químicos (ppm) de ^1H y ^{13}C para los productos 3c y 4c.



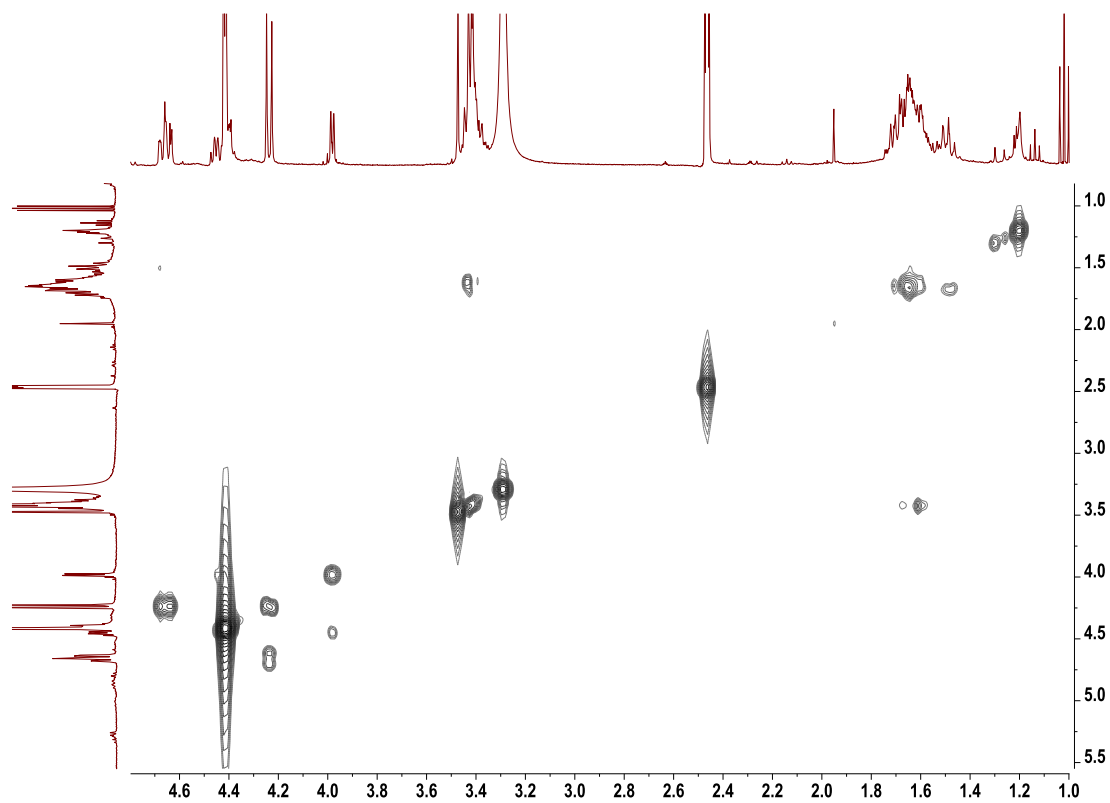
	3					4					
R^2	δH_2	δC_2	δH_3	δC_3	δC_1	δH_2	δC_2	δH_3	δC_3	δC_1	RMN solvente
$\text{BnO}(\text{CH}_2)_3$ (3cb, 4cb)	3.83	59.44	4.10	69.43		3.62	59.44	4.10	69.43		D_2O
$\text{Ph}(\text{CH}_2)_2$ (3ch, 4ch)	3.67	59.44	3.92	68.56		3.49	59.44	3.92	68.96		D_2O
PhOCH_2 (3ci, 4ci)	4.06	57.34	4.53	67.43		3.96	56.79	4.53	67.35		D_2O
Ph (3cj, 4cj)	4.11	60.35	5.38	71.04		3.93	60.81	5.31	71.21		D_2O
$4\text{-ClC}_6\text{H}_4$ (3ck, 4ck)	3.93	60.19	5.21	70.43		3.75	60.61	5.12	70.70		D_2O
$2\text{-FC}_6\text{H}_4$ (3cl, 4cl)	3.95	59.00	5.37	66.28		3.86	59.19	5.37	66.28		D_2O
C_6F_5 (3cm, 4cm)	4.15	58.58	5.67	63.98		4.14		5.33			D_2O
$4\text{-O}_2\text{NC}_6\text{H}_4$ (3cn, 4cn)	3.99	60.08	5.32	70.38		3.83	60.40	5.27	70.63		D_2O

	3					4				
	δH_2	δC_2	δH_3	δC_3	δC_1	δH_2	δC_2	δH_3	δC_3	δC_1
$\delta(\text{media})$	3.96	59.30	4.94	68.44		3.82	59.53	4.87	69.22	
$\text{SD}(\delta)$	0.16	1	0.66	2.42		0.2	1.37	0.60	1.84	

Figura15S(3.1). Espectros RMN (DMSO- d_6) de las oxazolidin-2-onas obtenidas por derivatización de los productos **3cb** y **4cb** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Sth} nativa: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY y d) HSQC.



c)



d)

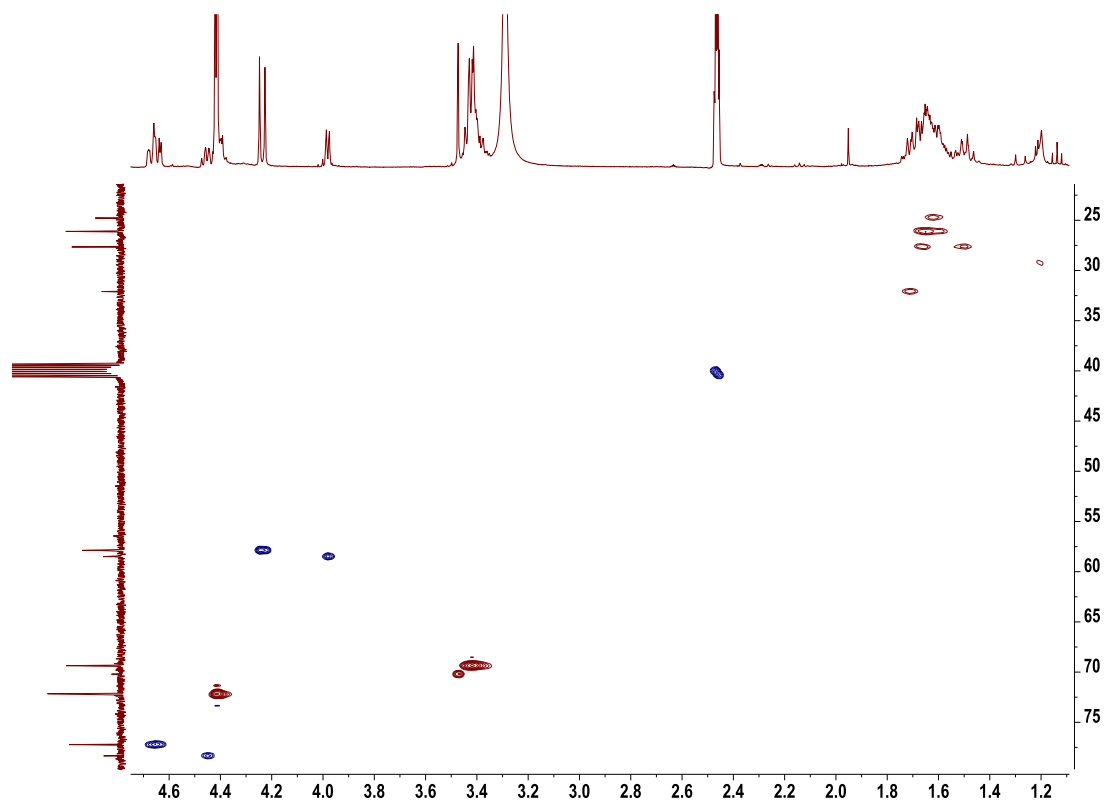
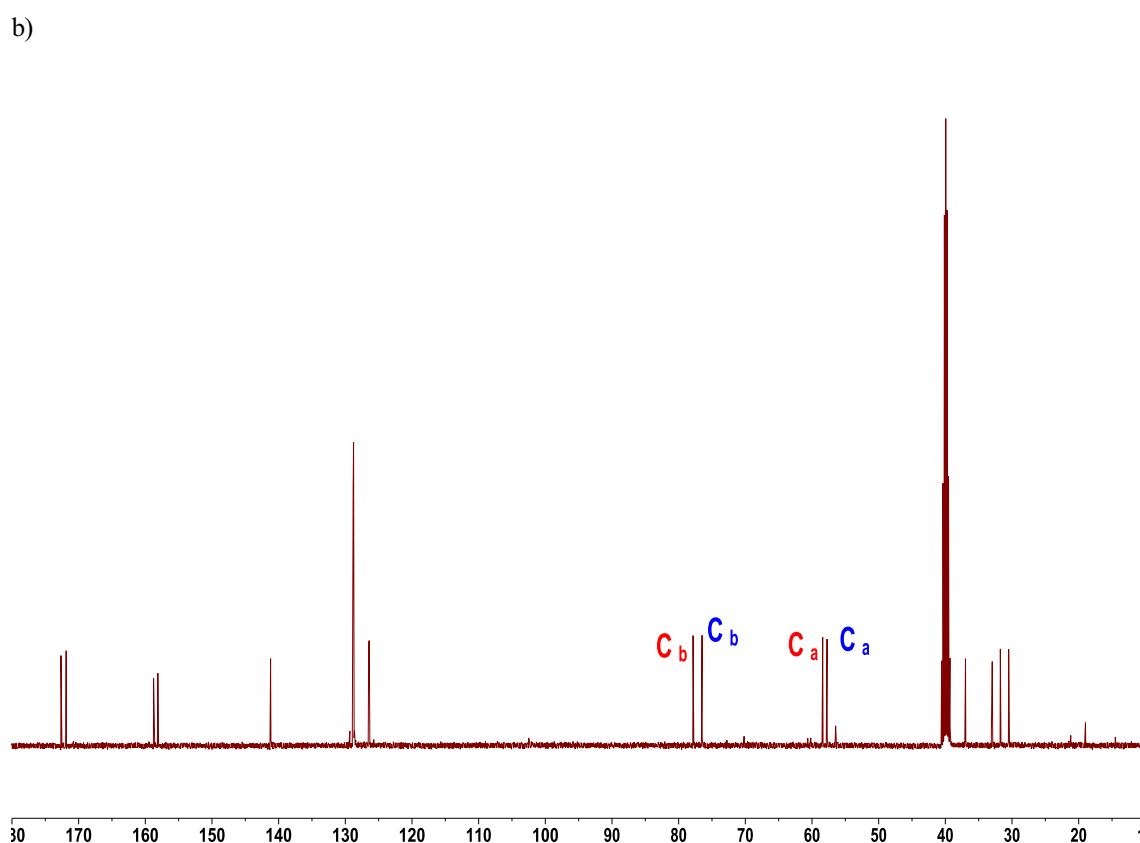
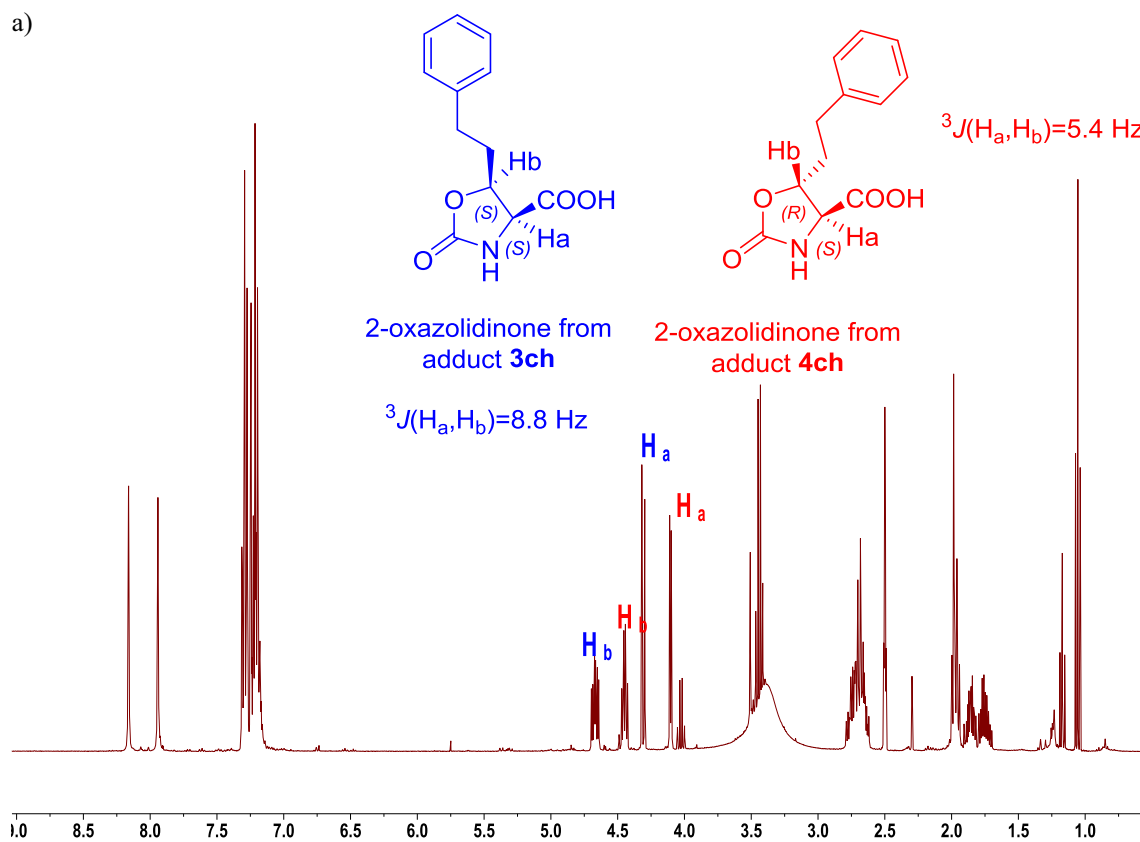
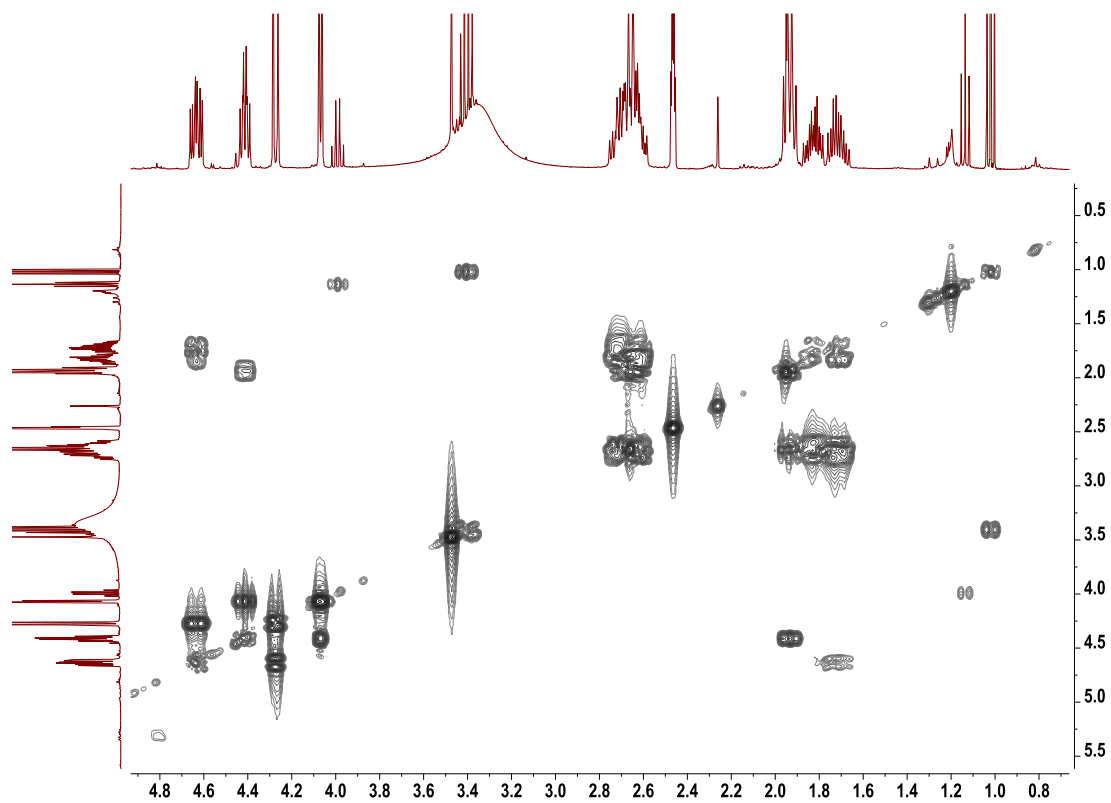


Figura16S(3.1). Espectros RMN (DMSO- d_6) de las oxazolidin-2-onas obtenidas por derivatización de los productos **3ch** y **4ch** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Stt} nativa: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY y d) HSQC.



c)



d)

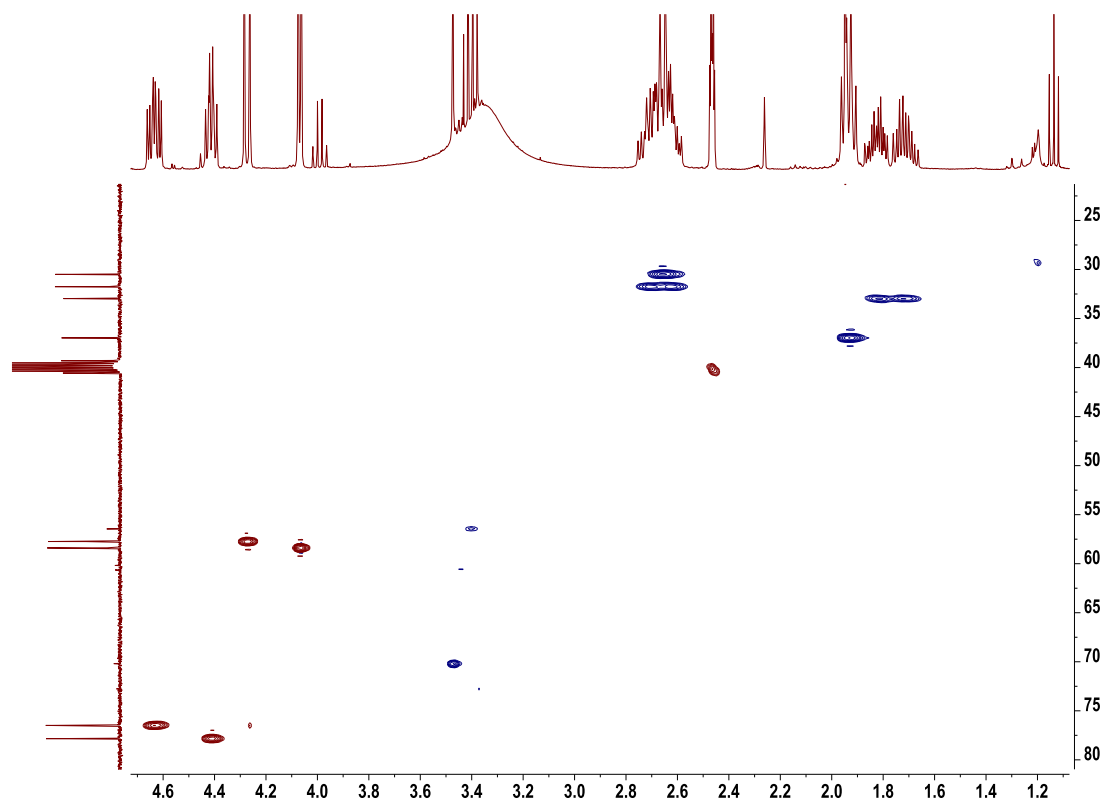
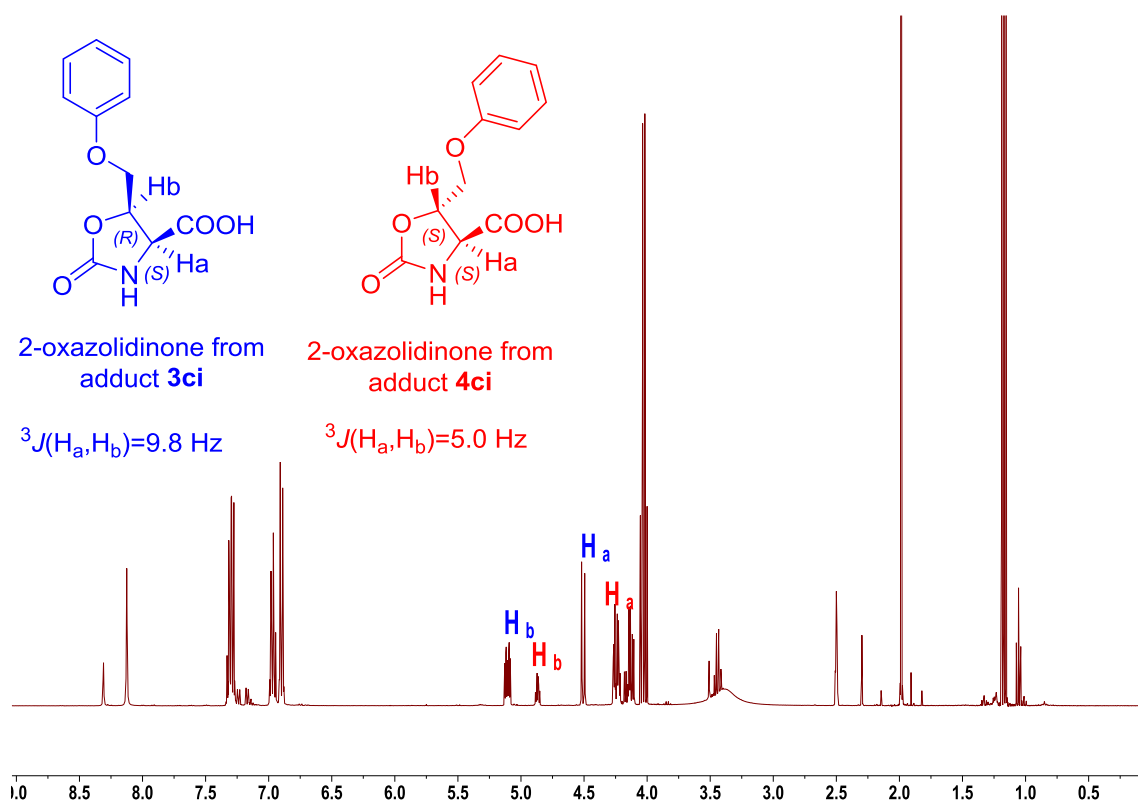
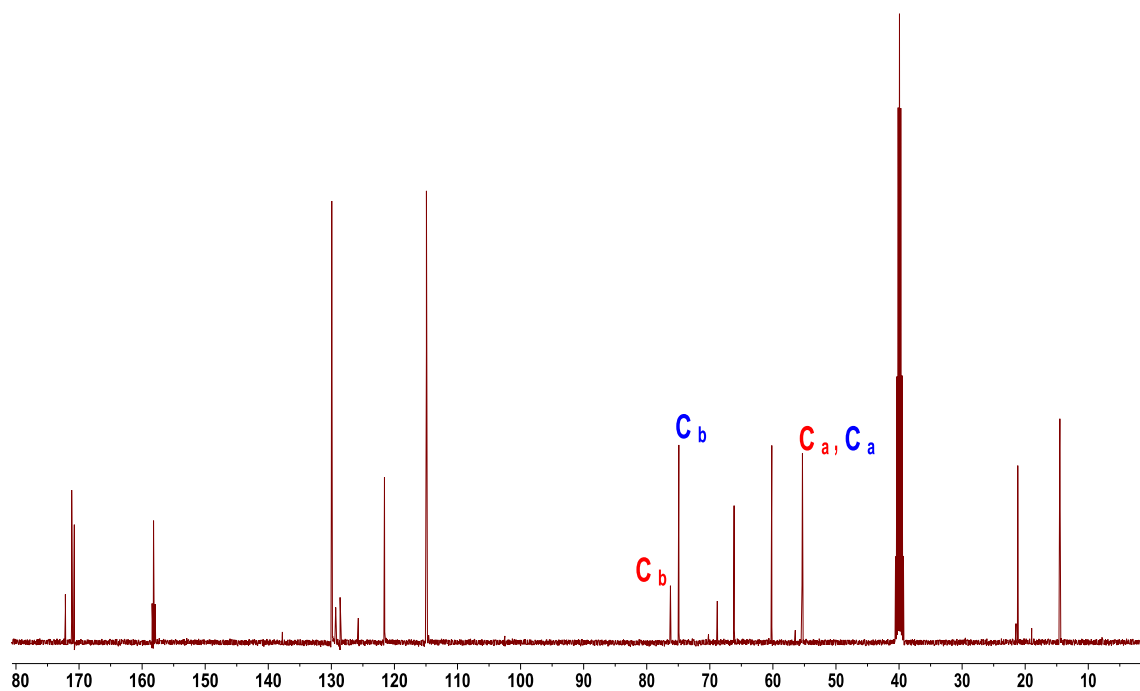


Figura17S(3.1). Espectros RMN (DMSO- d_6) de las oxazolidin-2-onas obtenidas por derivatización de los productos **3ci** y **4ci** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Sth} nativa: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY y d) HSQC.

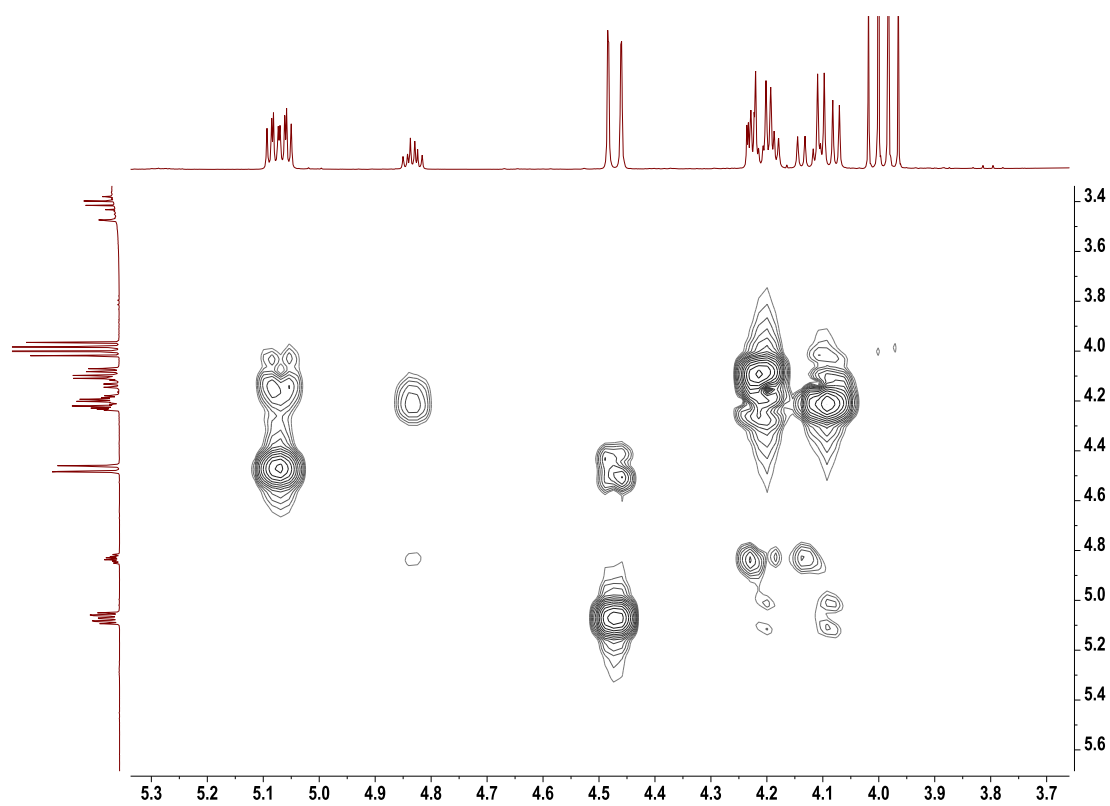
a)



b)



c)



d)

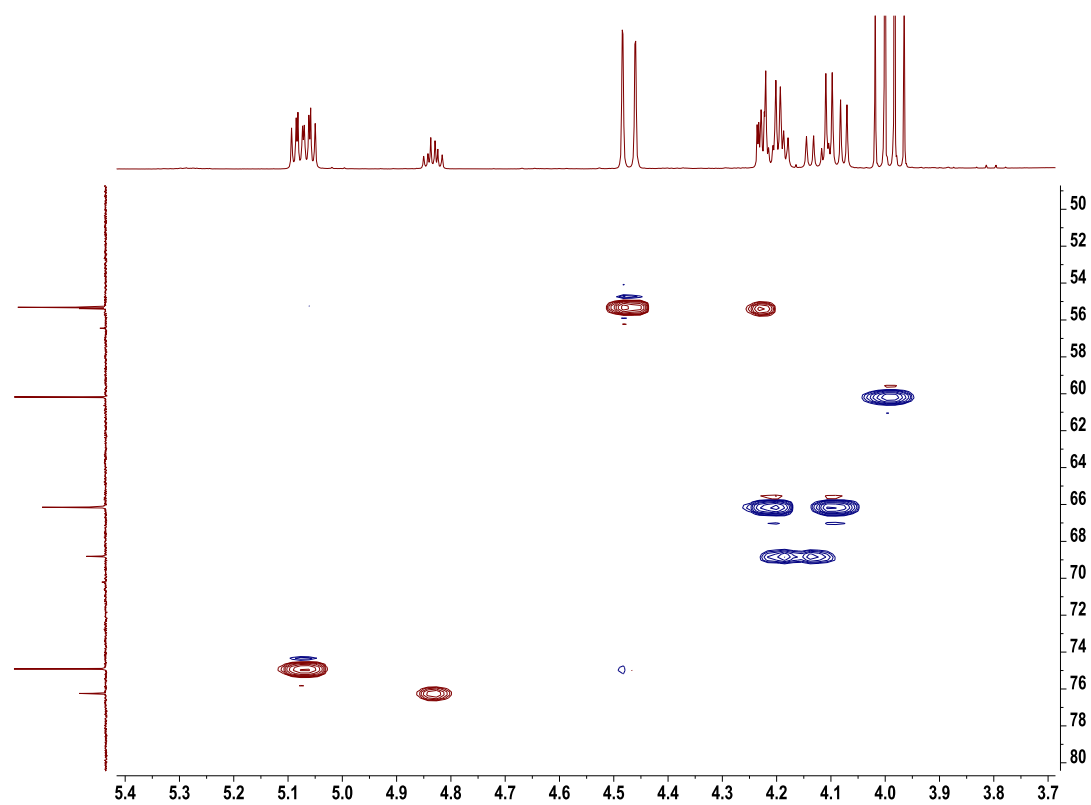
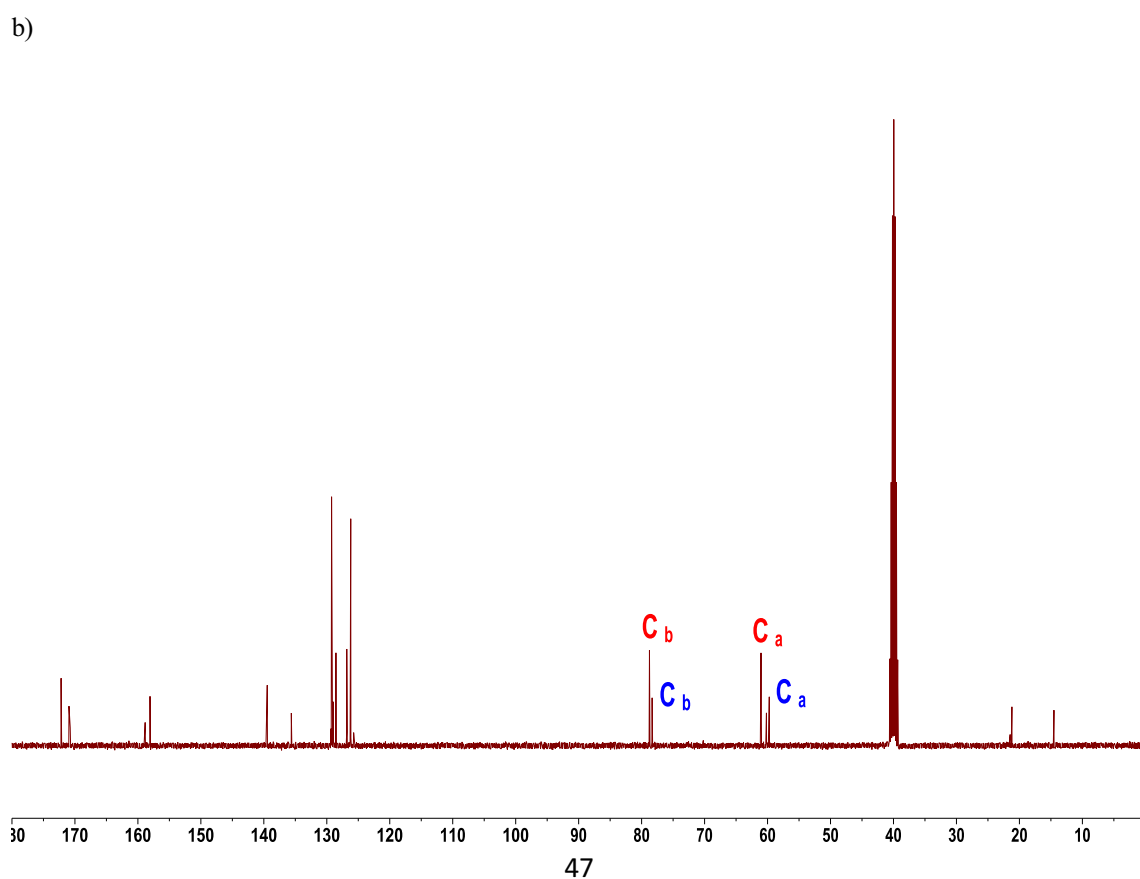
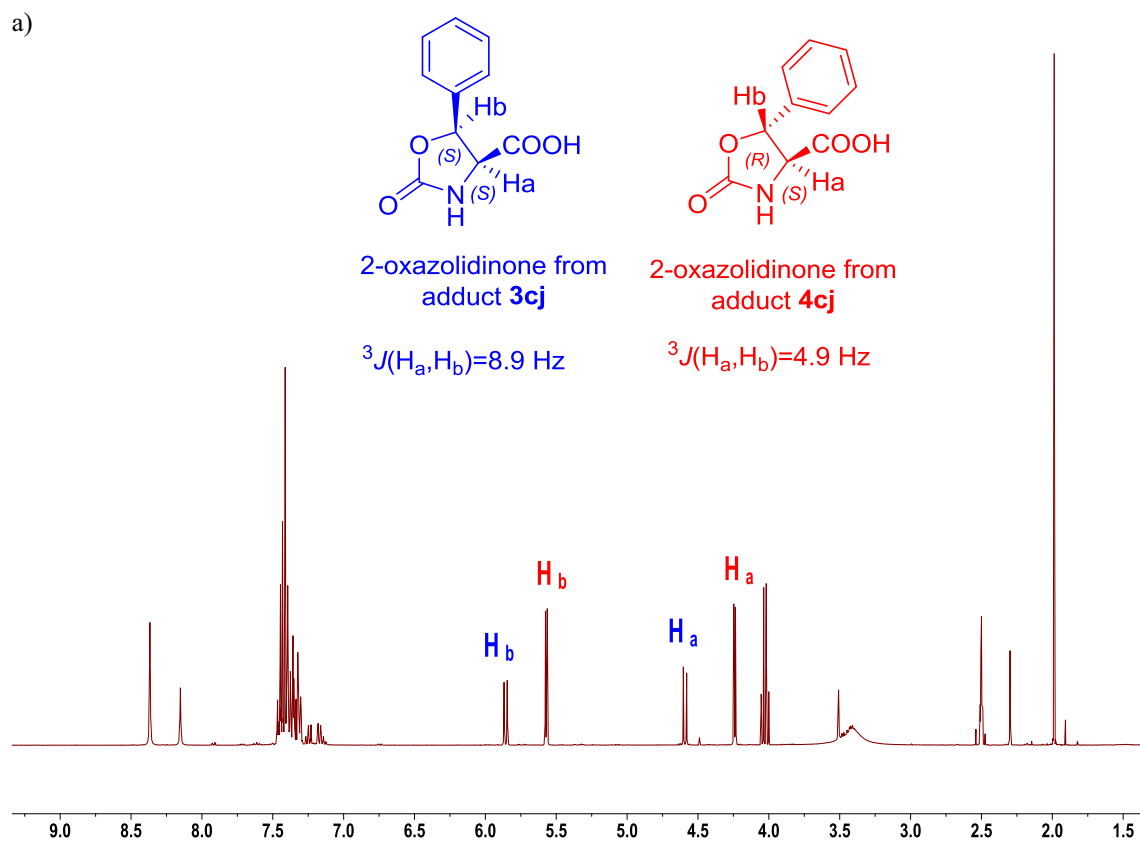
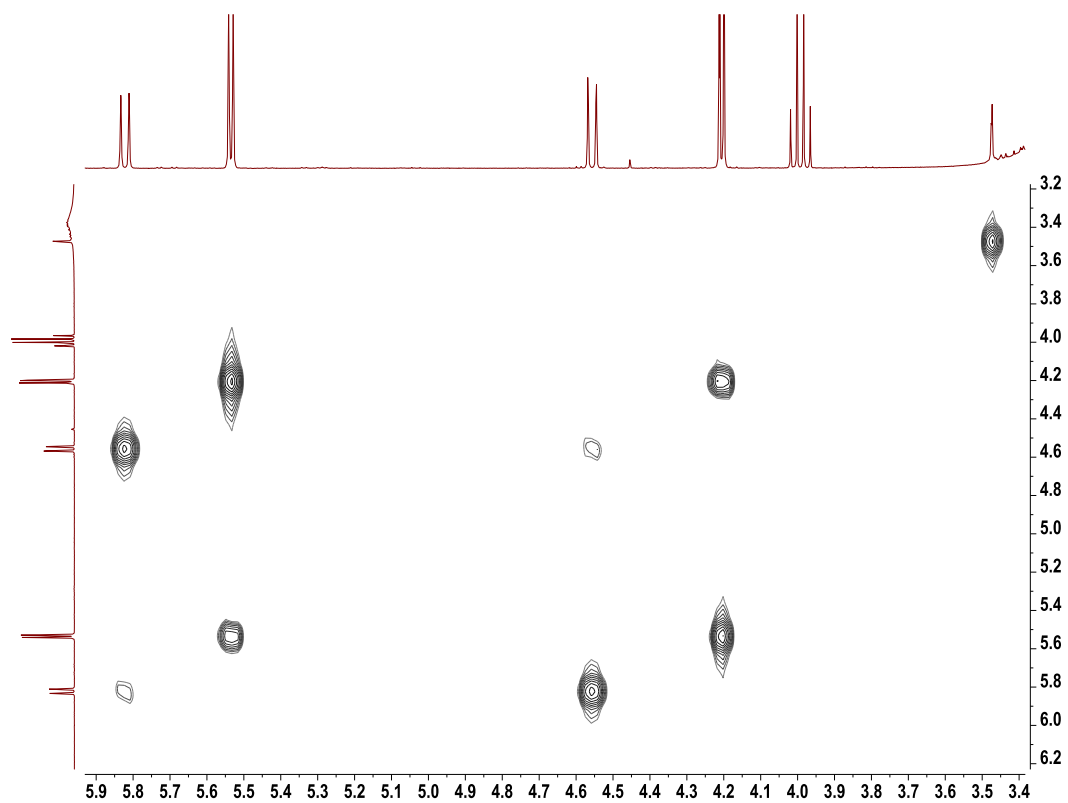


Figura18S(3.1). Espectros RMN (DMSO- d_6) de las oxazolidin-2-onas obtenidas por derivatización de los productos **3cj** y **4cj** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Sth} nativa: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY y d) HSQC.



c)



d)

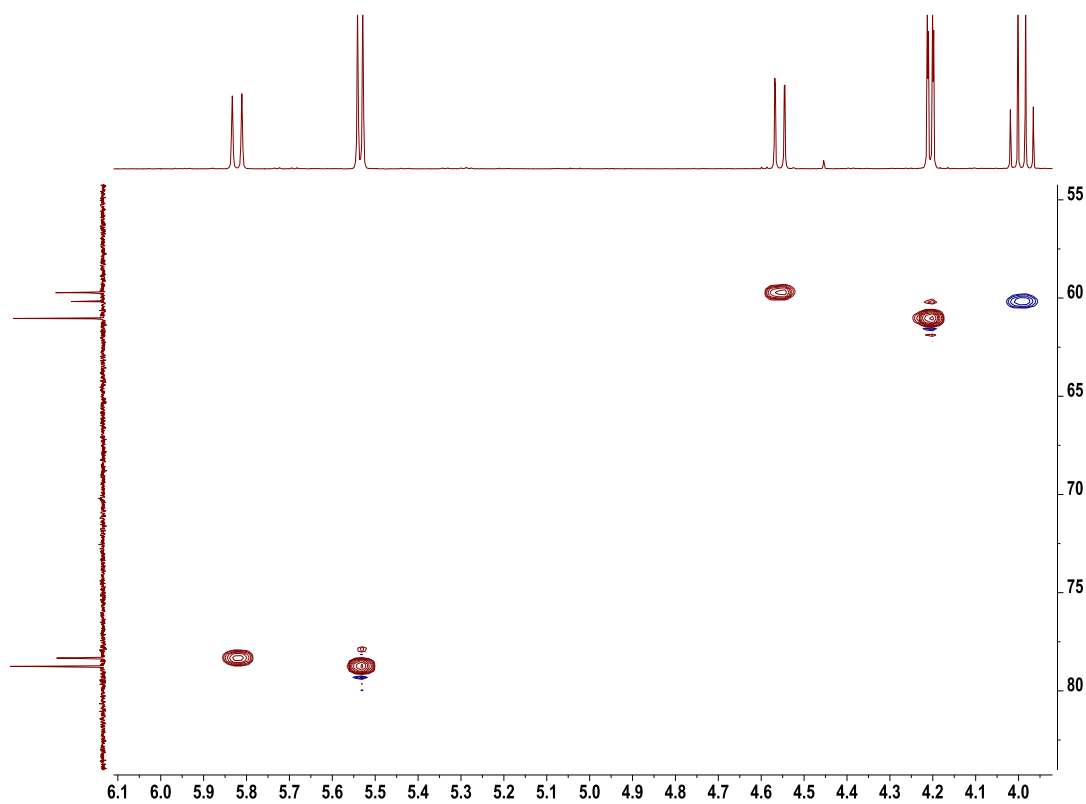
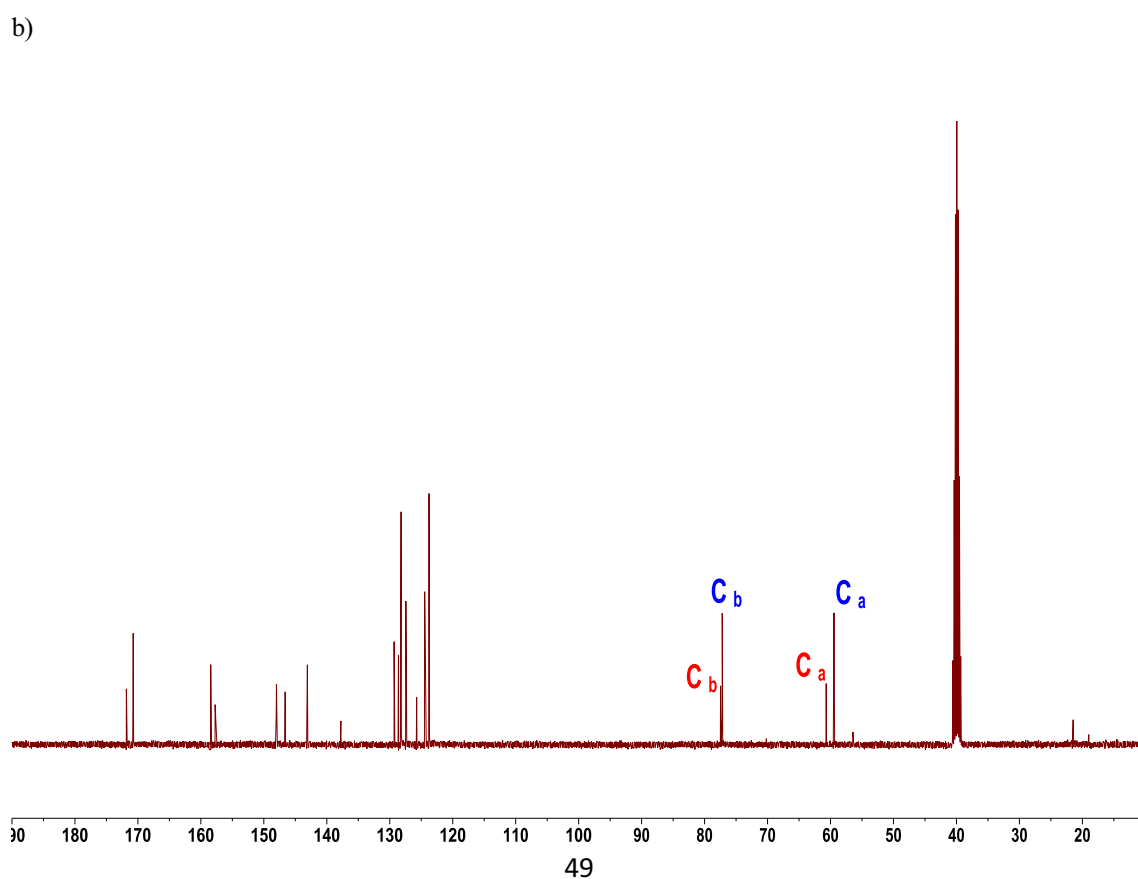
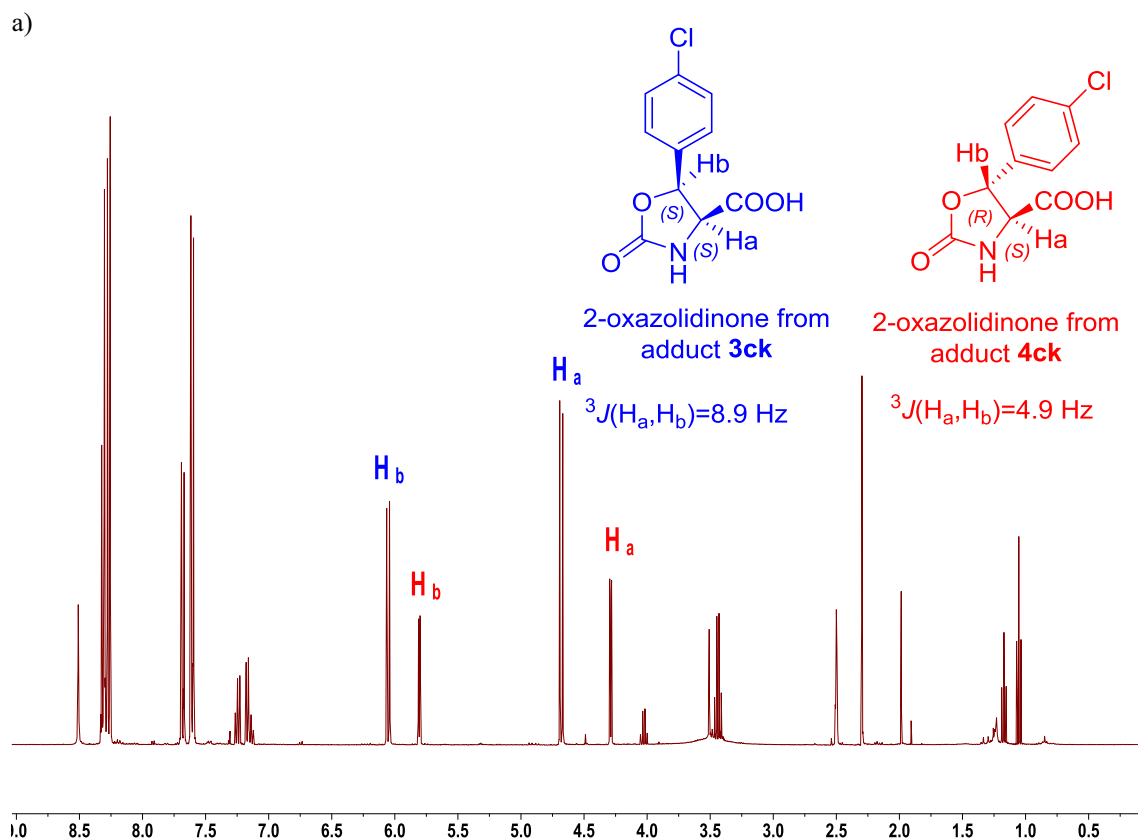
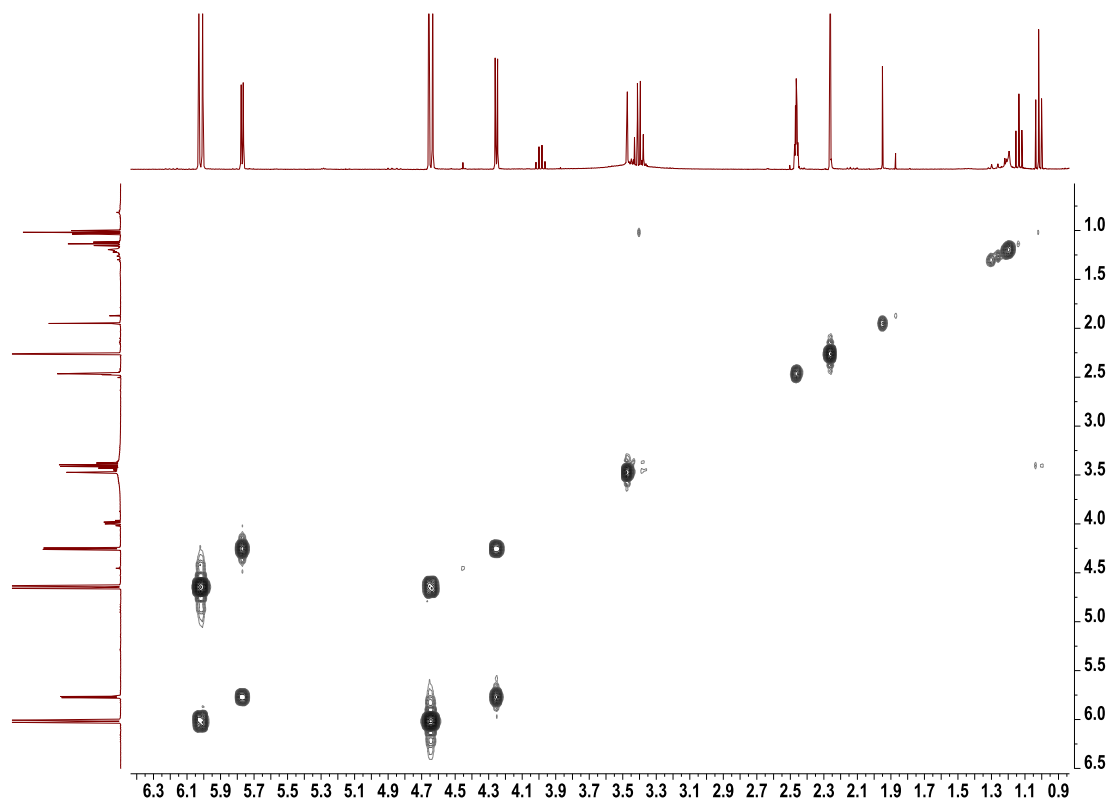


Figura19S(3.1). Espectros RMN (DMSO- d_6) de las oxazolidin-2-onas obtenidas por derivatización de los productos **3ck** y **4ck** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Sth} nativa: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY y d) HSQC.



c)



d)

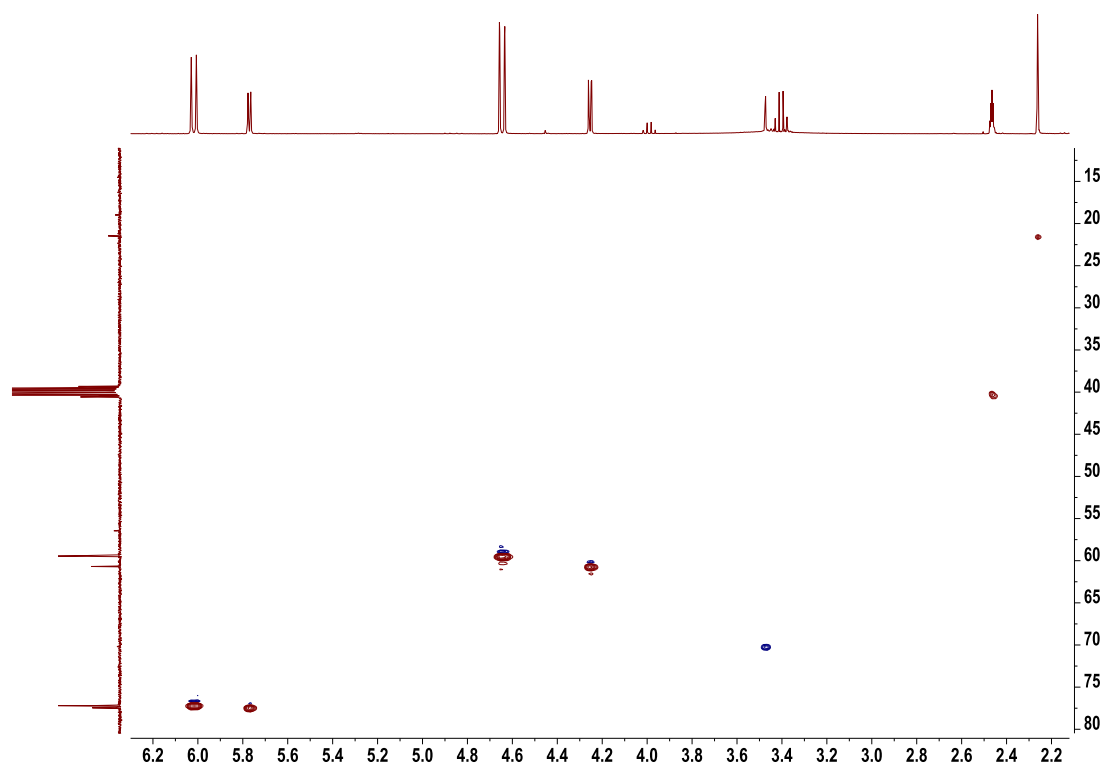
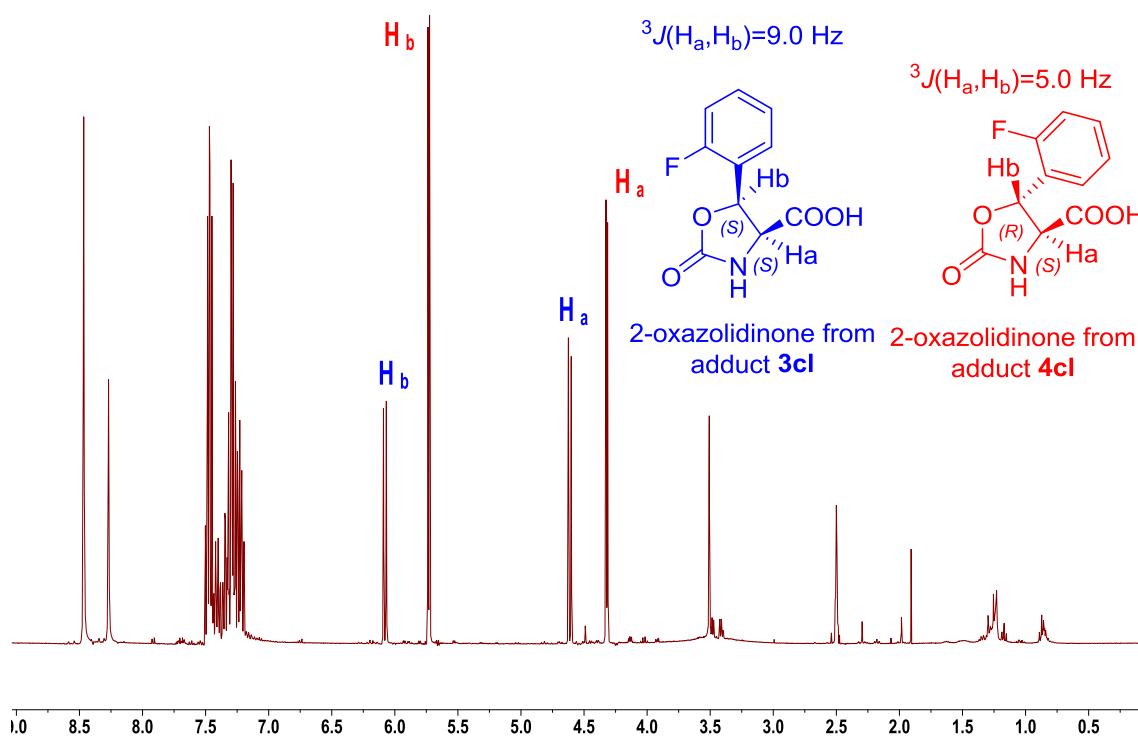
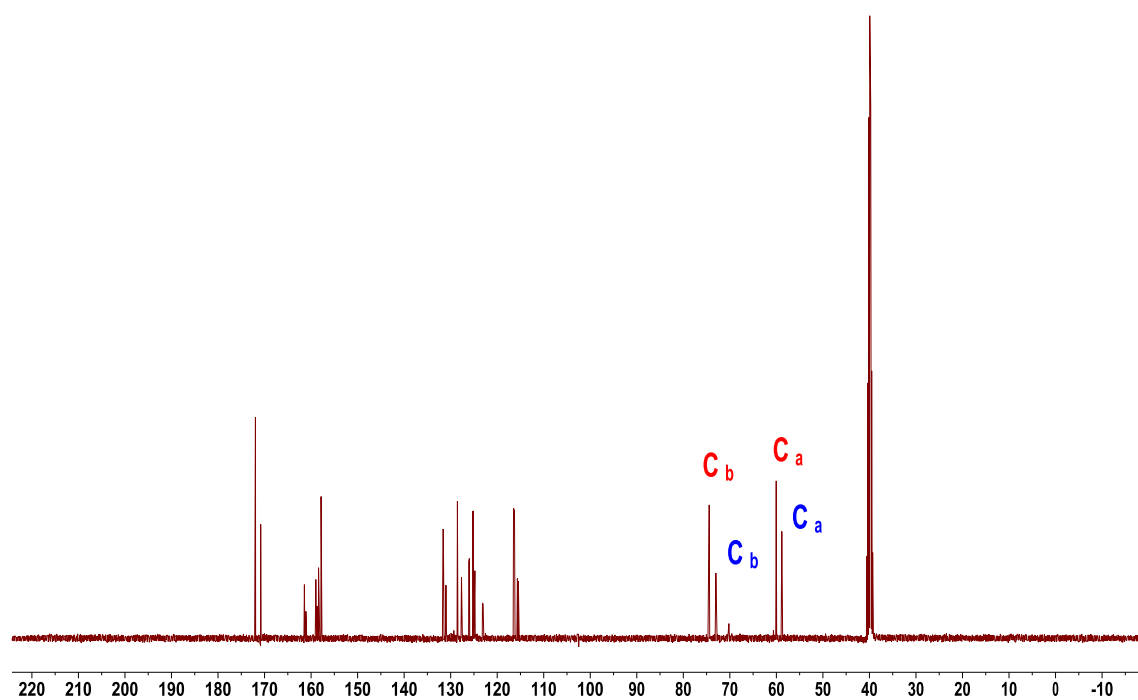


Figura20S(3.1). Espectros RMN (DMSO- d_6) de las oxazolidin-2-onas obtenidas por derivatización de los productos **3cl** y **4cl** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Sth} nativa: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY y d) HSQC.

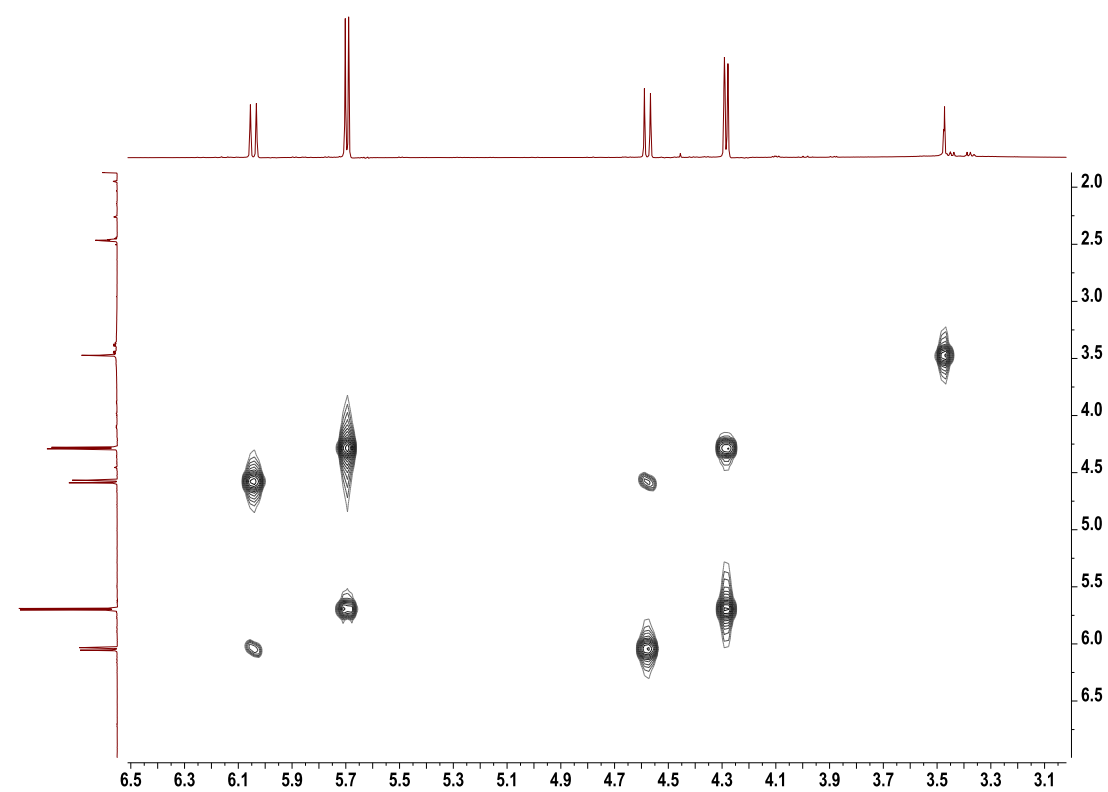
a)



b)



c)



d)

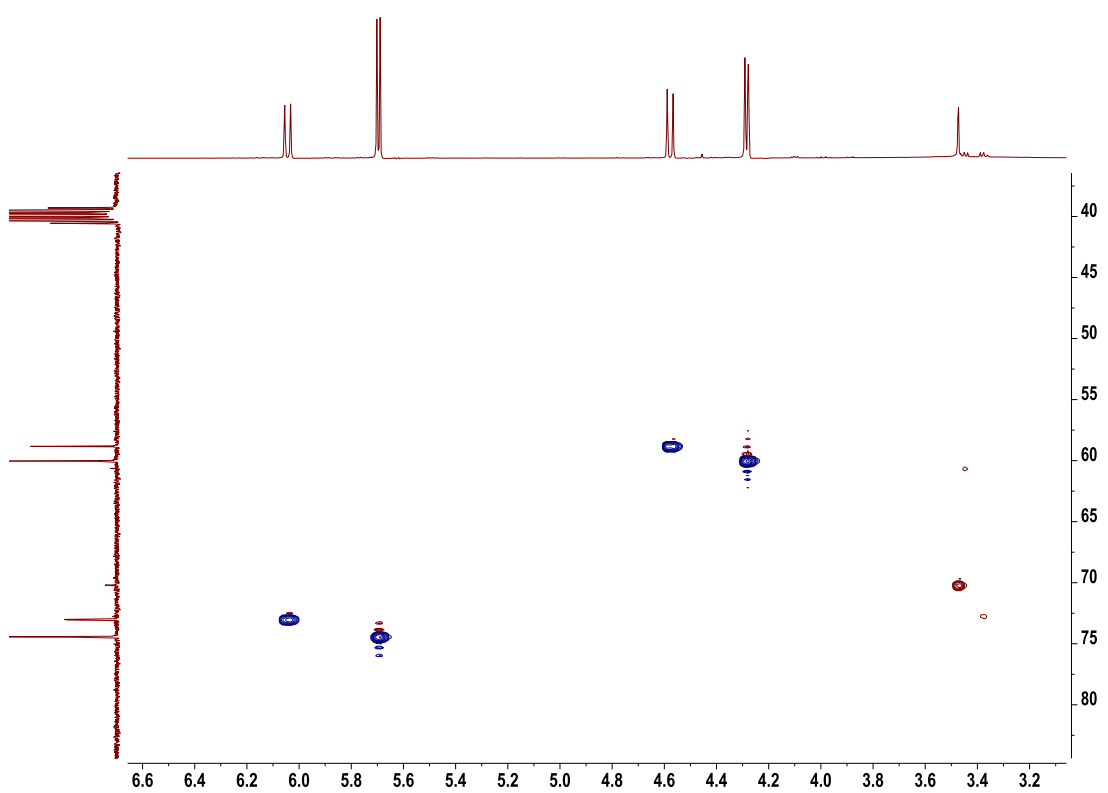
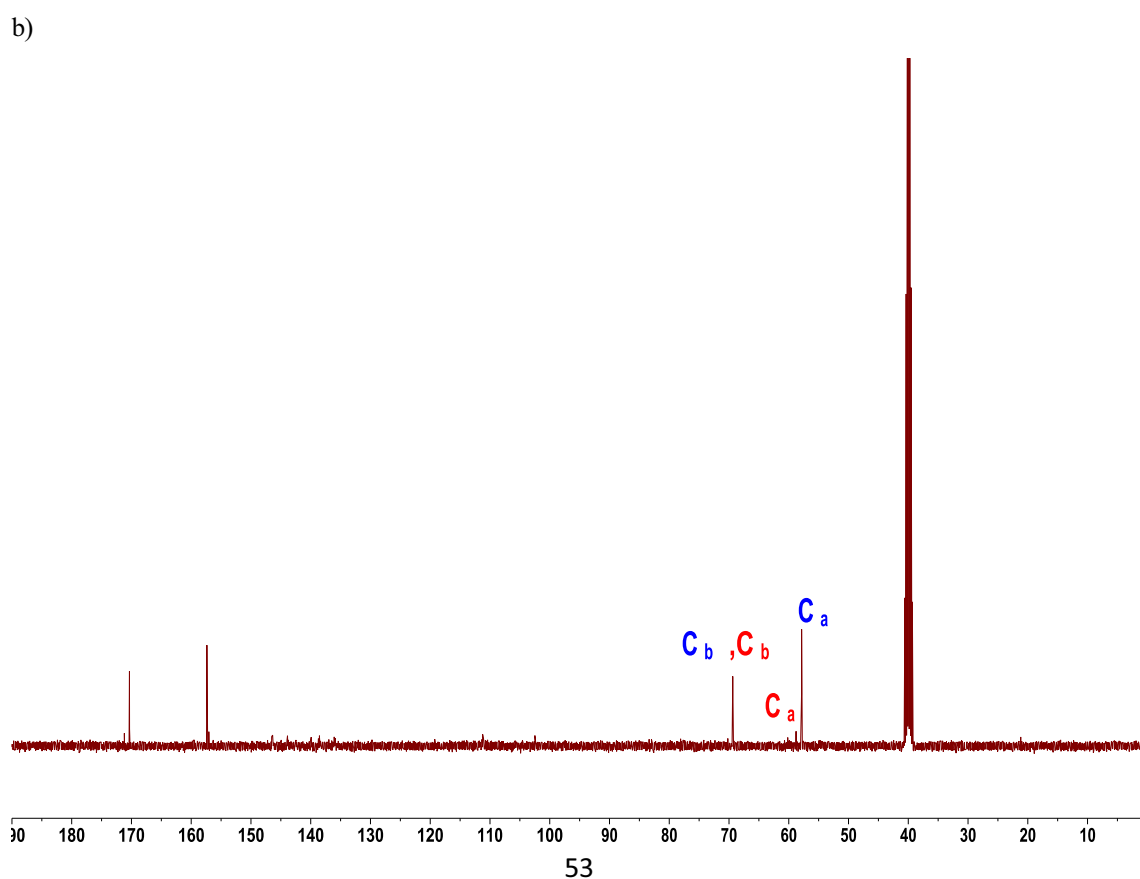
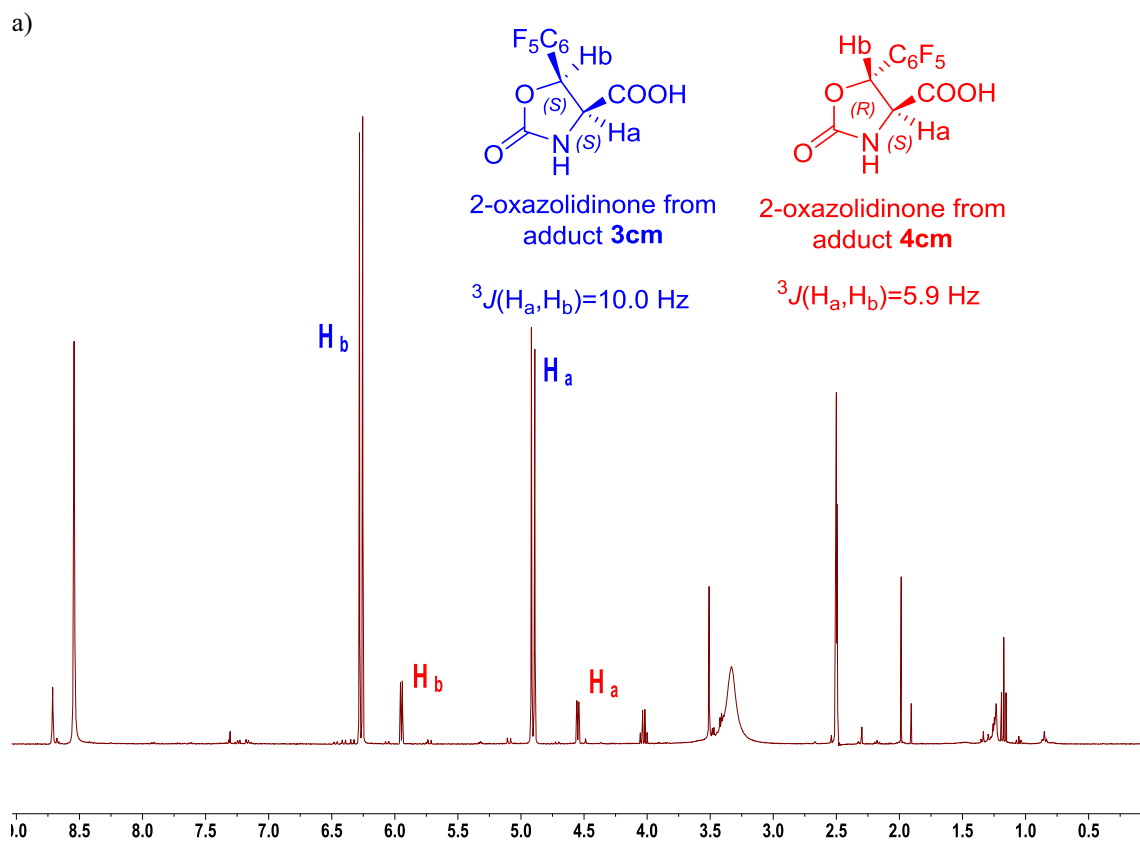
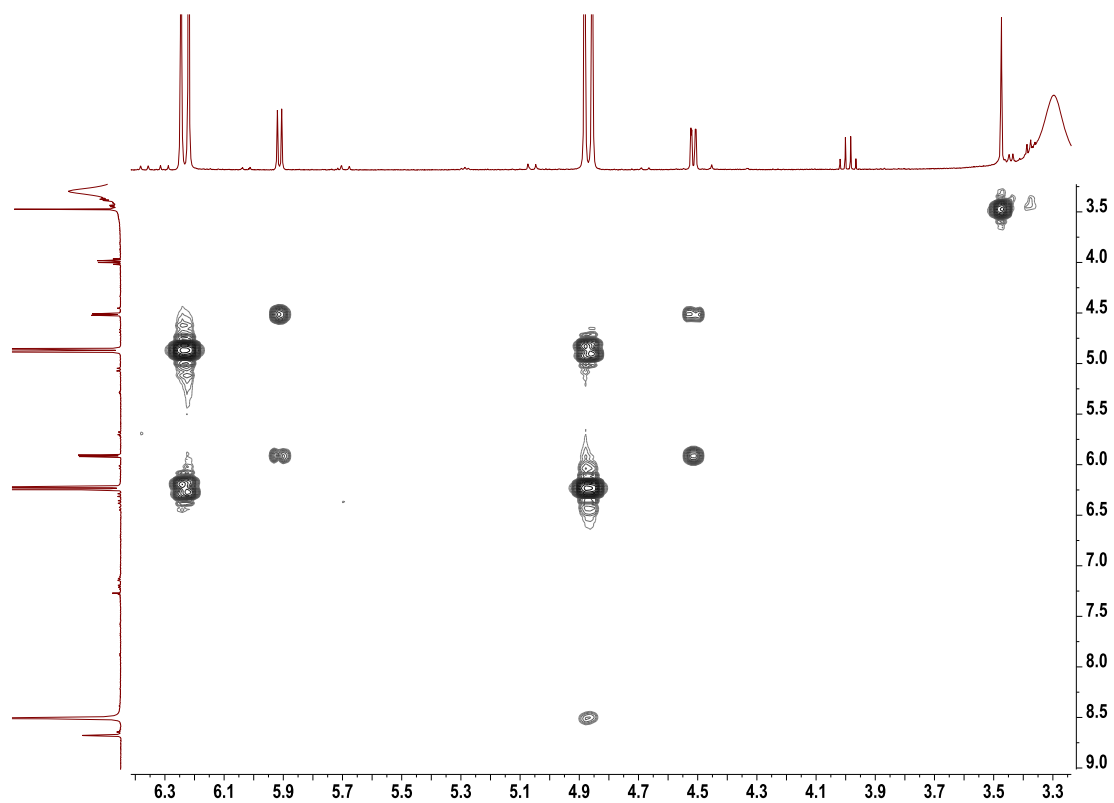


Figura21S(3.1). Espectros RMN (DMSO- d_6) de las oxazolidin-2-onas obtenidas por derivatización de los productos **3cm** y **4cm** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Stt} nativa: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY y d) HSQC.



c)



d)

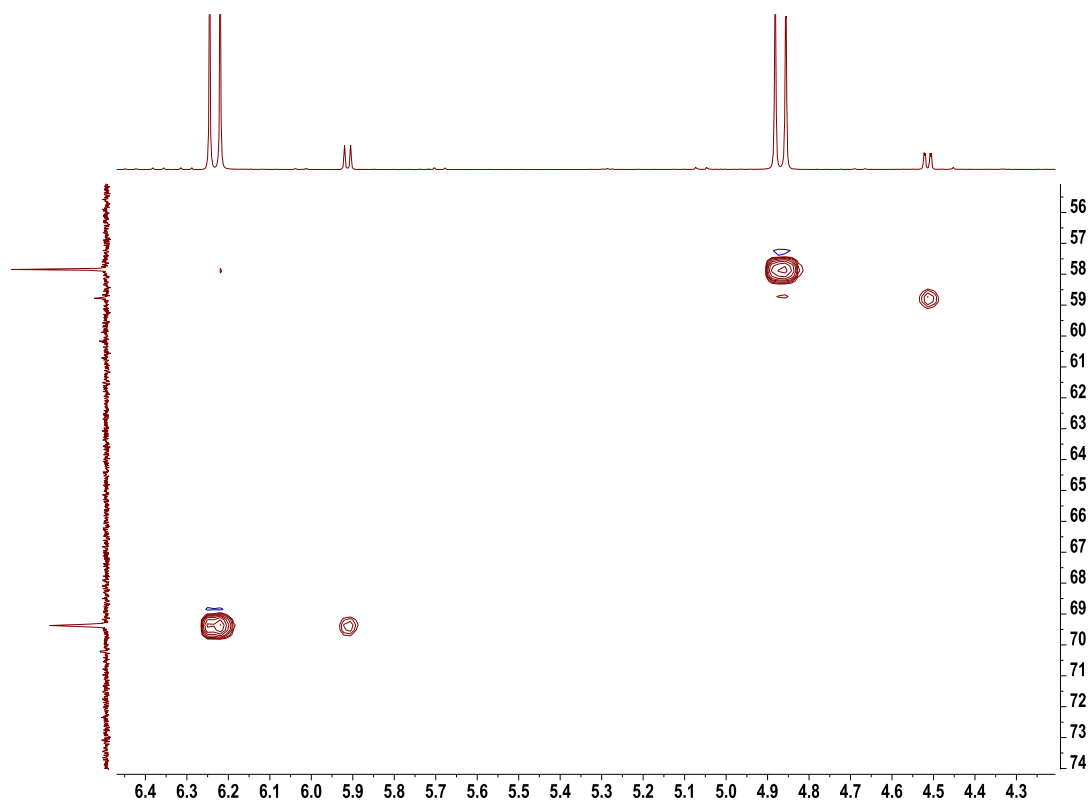
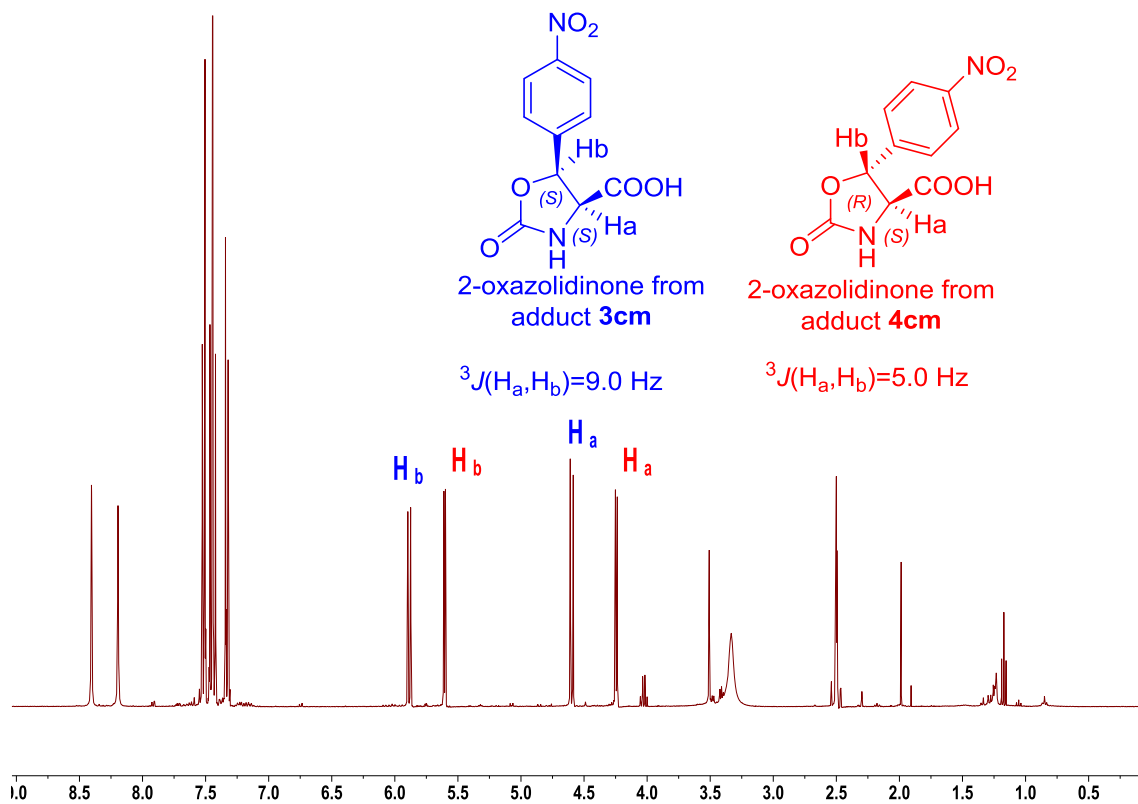
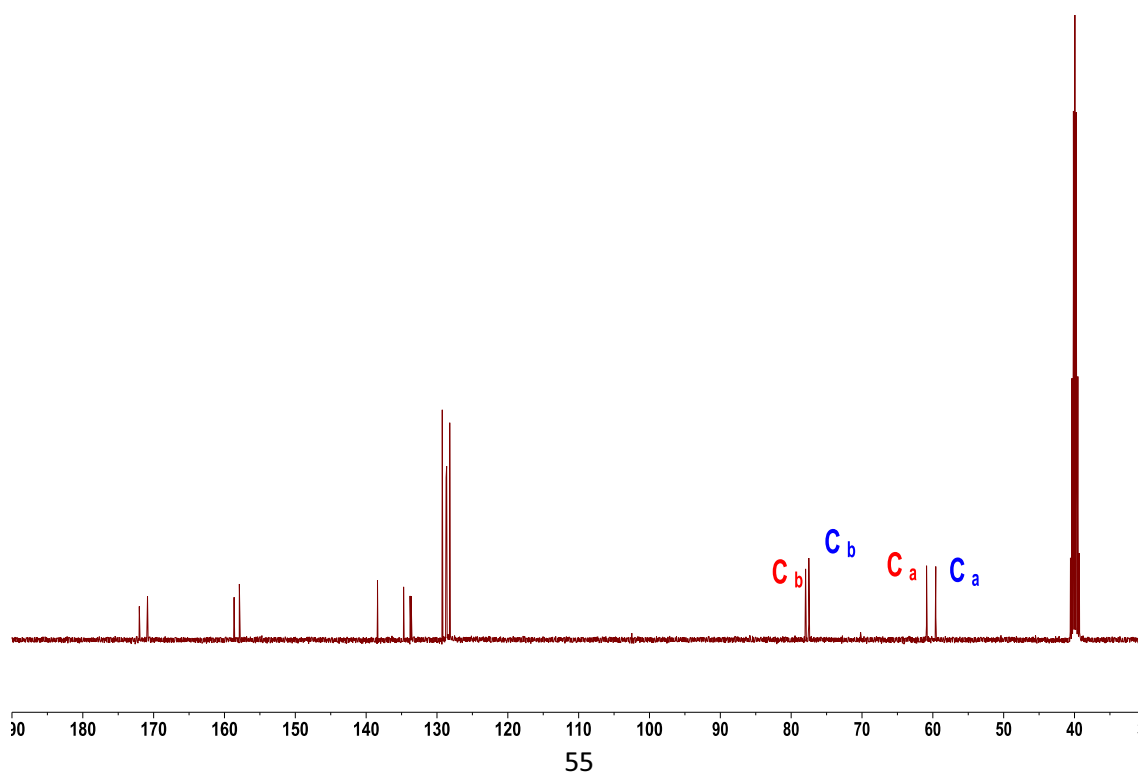


Figura22S(3.1). Espectros RMN (DMSO- d_6) de las oxazolidin-2-onas obtenidas por derivatización de los productos **3cn** y **4cn** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Sth} nativa: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY, d) HSQC y e) 1D-NOESY selectivo.

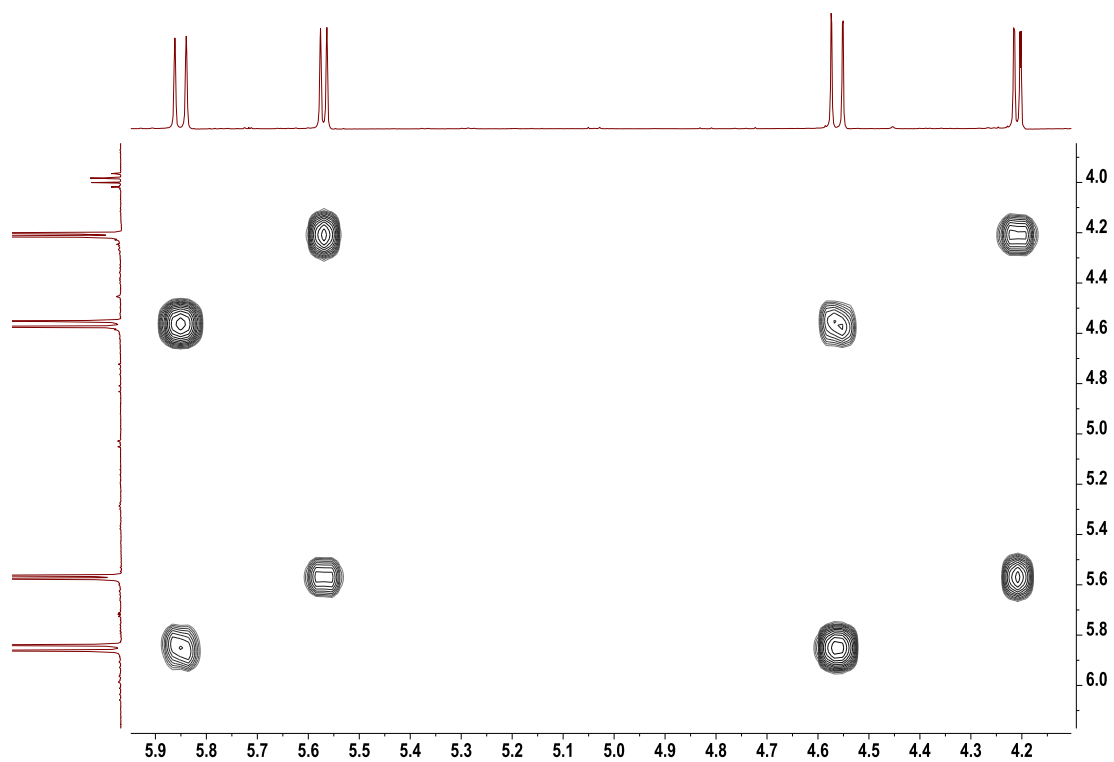
a)



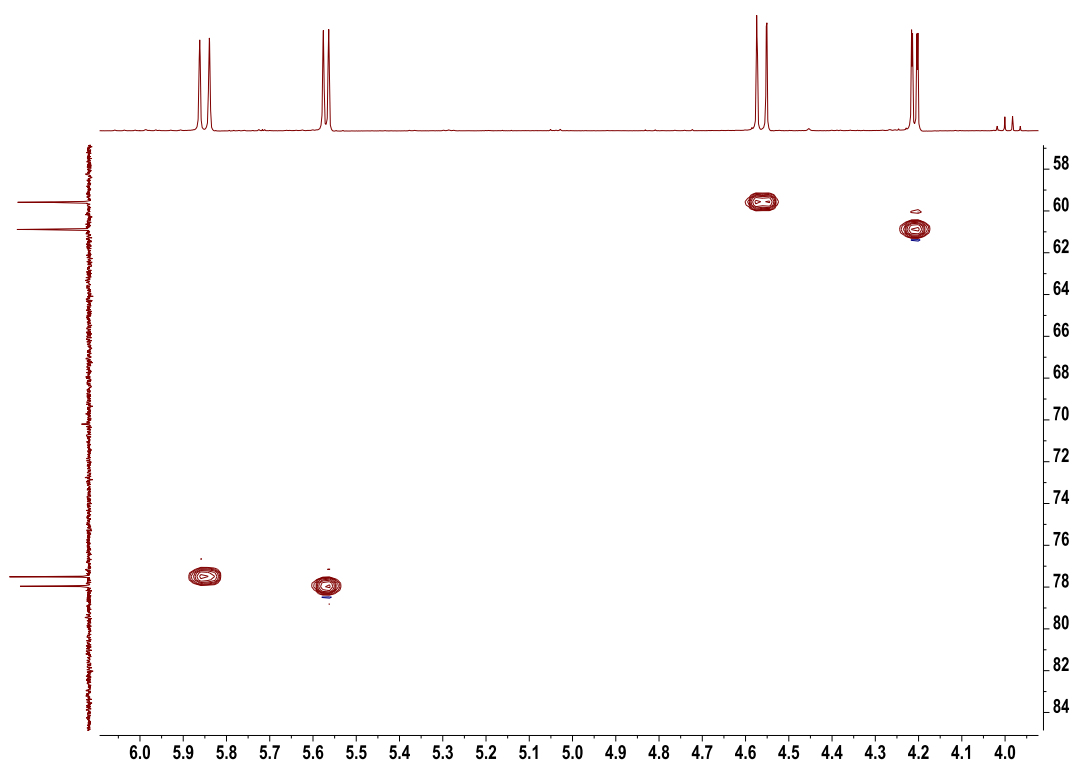
b)



c)



d)



e)

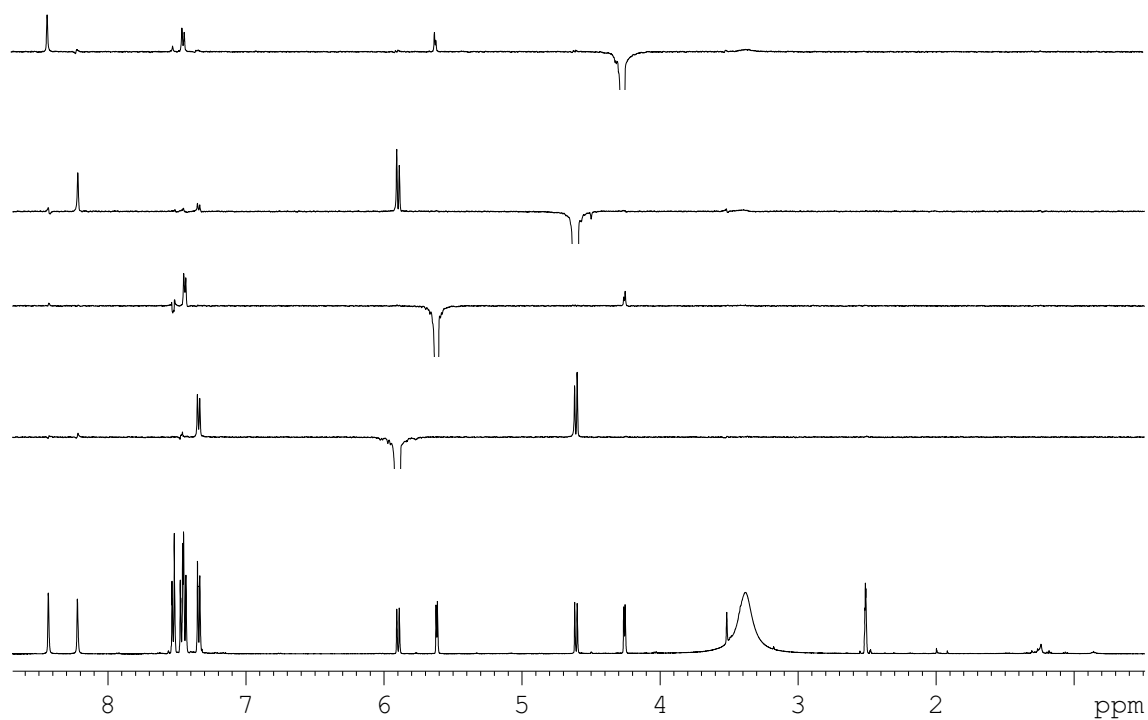
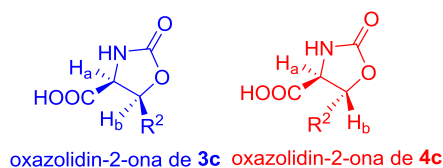


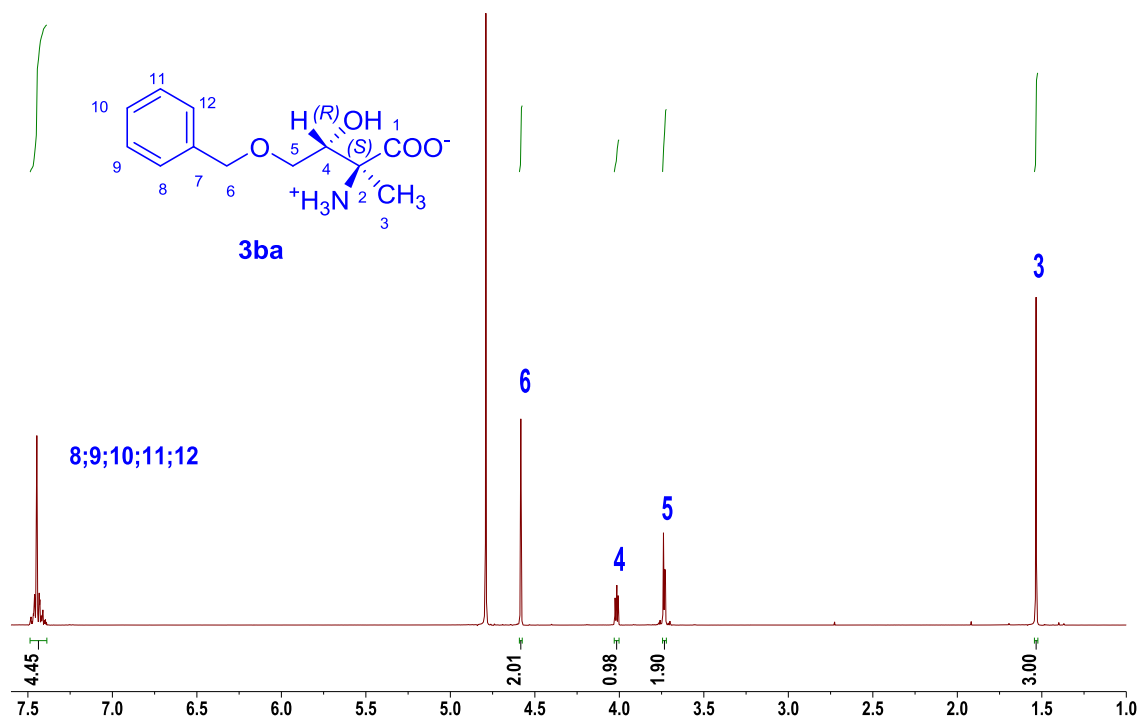
Tabla7S(3.1). Desplazamiento químico de ^1H y ^{13}C (ppm) y constantes de acoplamiento ($^3J(\text{H}_a, \text{H}_b)$, Hz) de las oxazolidin-2-onas derivadas de **3c** y **4c**.



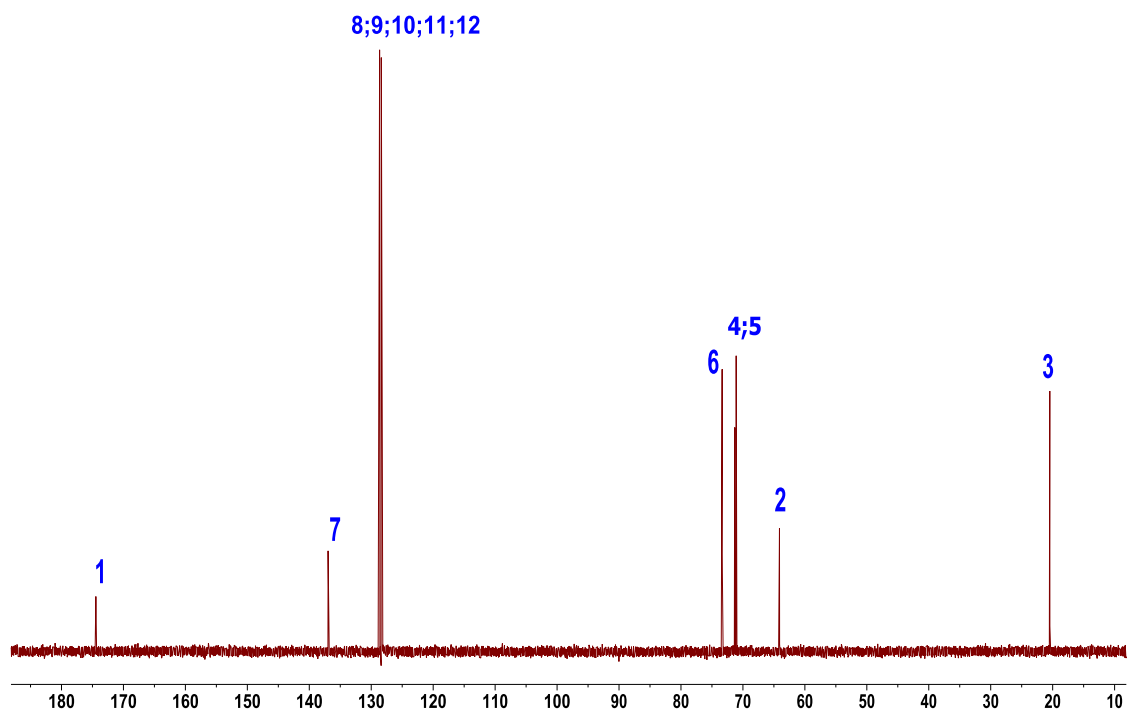
R^2	3						4				
	$\delta(\text{H}_a)$	$\delta(\text{H}_b)$	$^3J(\text{H}_a, \text{H}_b)$	$\delta(\text{C}_a)$	$\delta(\text{C}_b)$	$\delta(\text{H}_a)$	$\delta(\text{H}_b)$	$^3J(\text{H}_a, \text{H}_b)$	$\delta(\text{C}_a)$	$\delta(\text{C}_b)$	RMN solvente
BnO(CH₂)₃ (3cb , 4cb)	4.27	4.69	8.5	57.87	77.30	4.02	4.49	4.8	58.67	78.48	DMSO- <i>d</i> ₆
Ph(CH₂)₂ (3ch , 4ch)	4.31	4.67	8.8	57.54	76.48	4.11	4.44	5.4	58.39	77.73	DMSO- <i>d</i> ₆
PhOCH₂ (3ci , 4ci)	4.50	5.11	9.8	55.32	75.00	4.26	4.87	5.0	55.40	76.11	DMSO- <i>d</i> ₆
Ph (3cj , 4cj)	4.59	5.86	8.9	59.59	78.12	4.24	5.57	4.9	60.92	78.81	DMSO- <i>d</i> ₆
4-ClC₆H₄ (3ck , 4ck)	4.69	6.09	8.9	59.22	77.11	4.28	5.8	4.9	60.59	77.51	DMSO- <i>d</i> ₆
2-FC₆H₄ (3cl , 4cl)	4.61	6.08	9.0	58.70	73.02	4.32	5.74	5.0	59.84	74.52	DMSO- <i>d</i> ₆
C₆F₅ (3cm , 4cm)	4.90	6.27	10.0	57.82	69.22	4.55	5.95	5.9	58.72	69.22	DMSO- <i>d</i> ₆
4-O₂NC₆H₄ (3cn , 4cn)	4.59	5.89	9.0	59.45	77.52	4.24	5.61	5.0	60.81	77.89	DMSO- <i>d</i> ₆

Figura23S(3.1). Espectros de RMN (D₂O) de **3ba** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Stt} Y55T:a) ¹H; b) ¹³C; c) 2D ¹H-¹H COSY y d) HSQC.

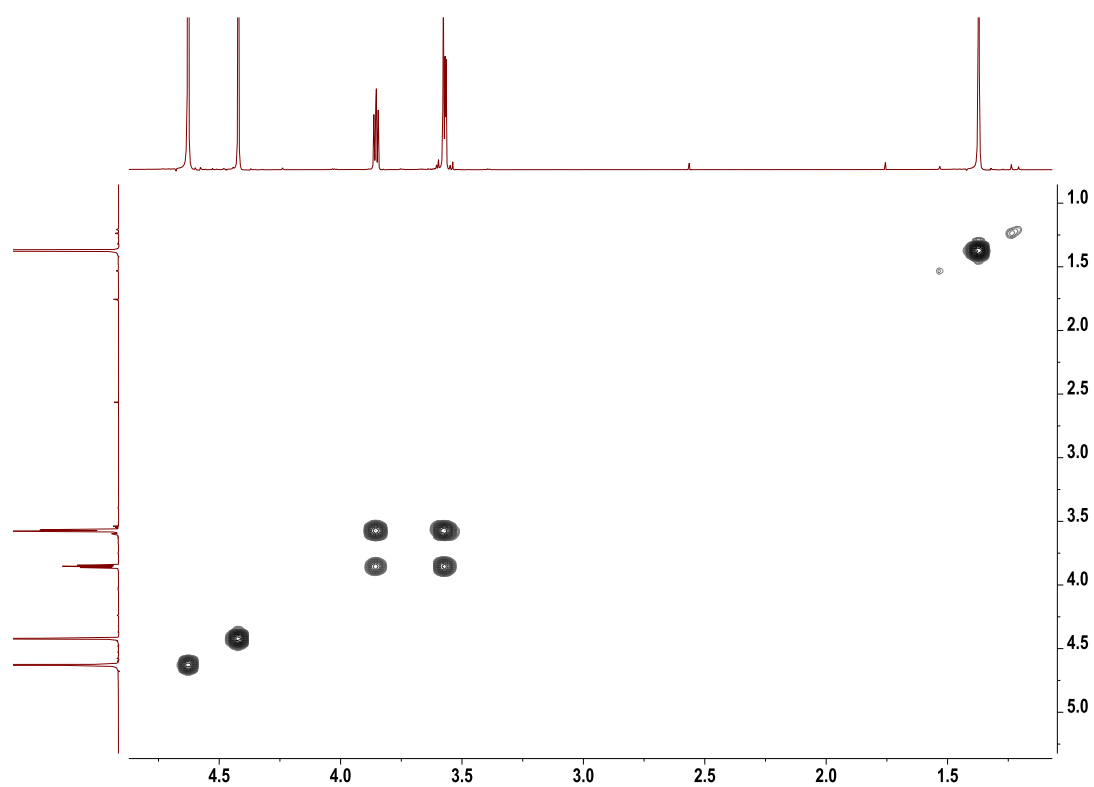
a)



b)



c)



d)

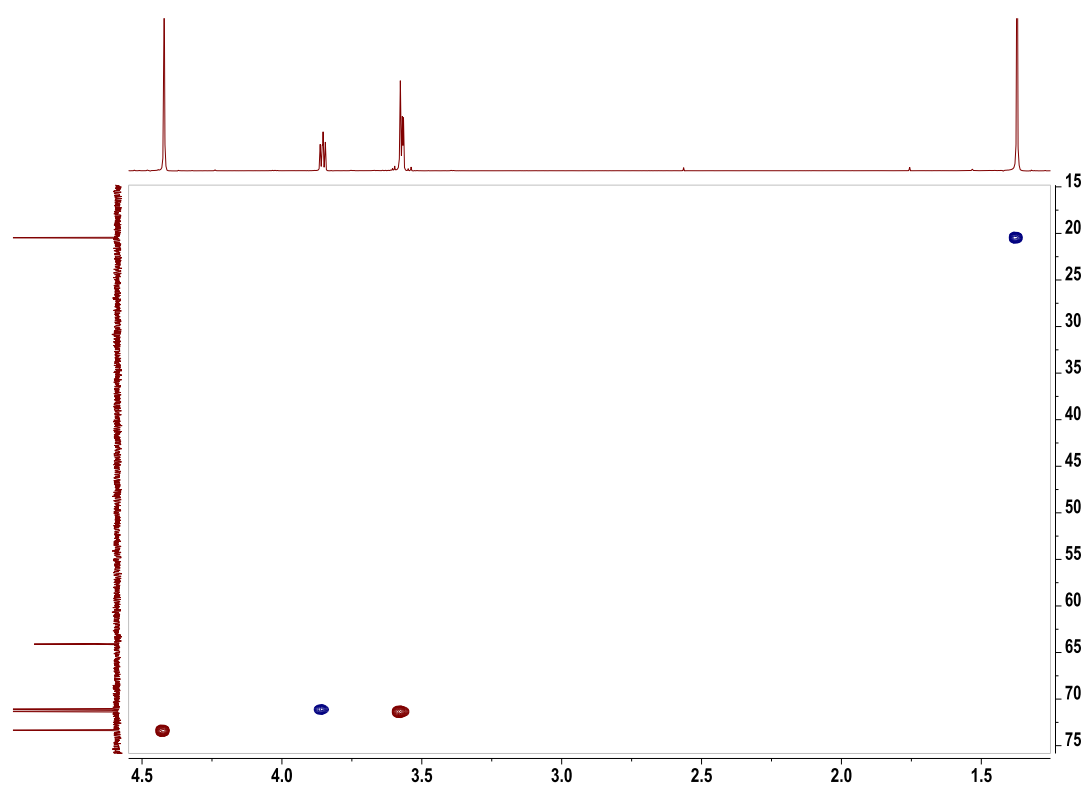
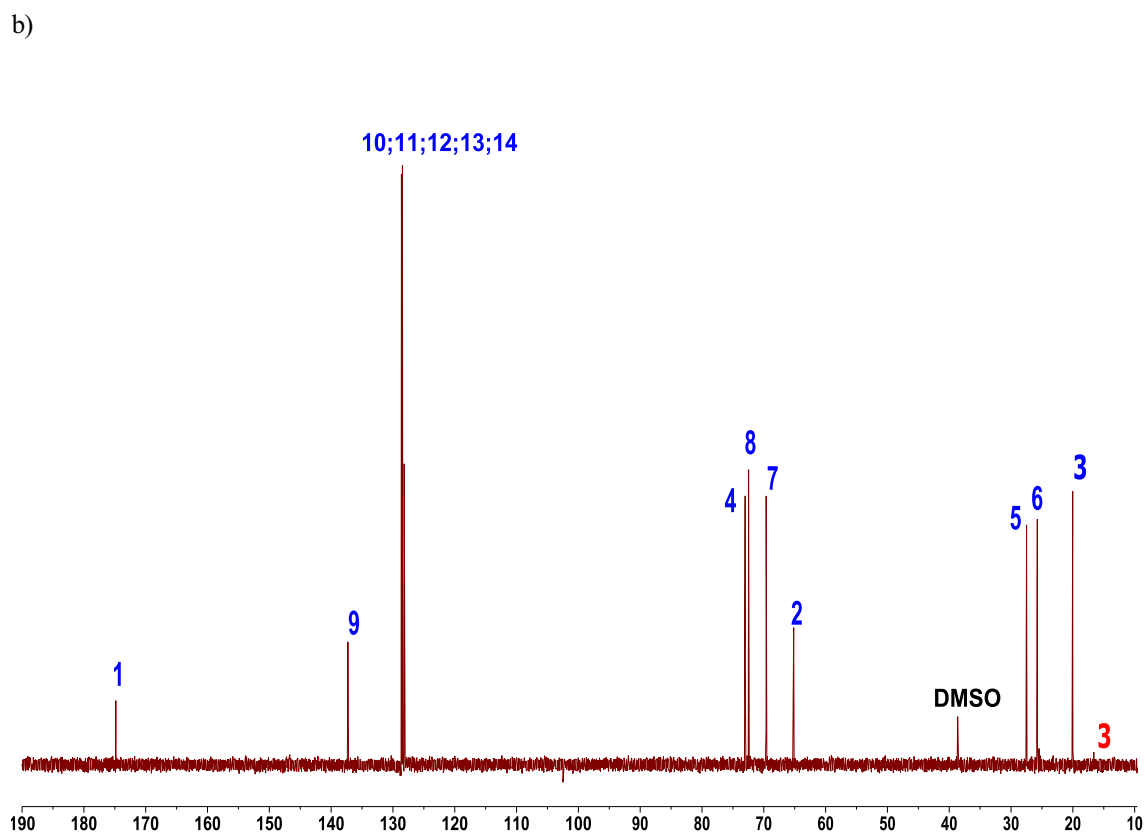
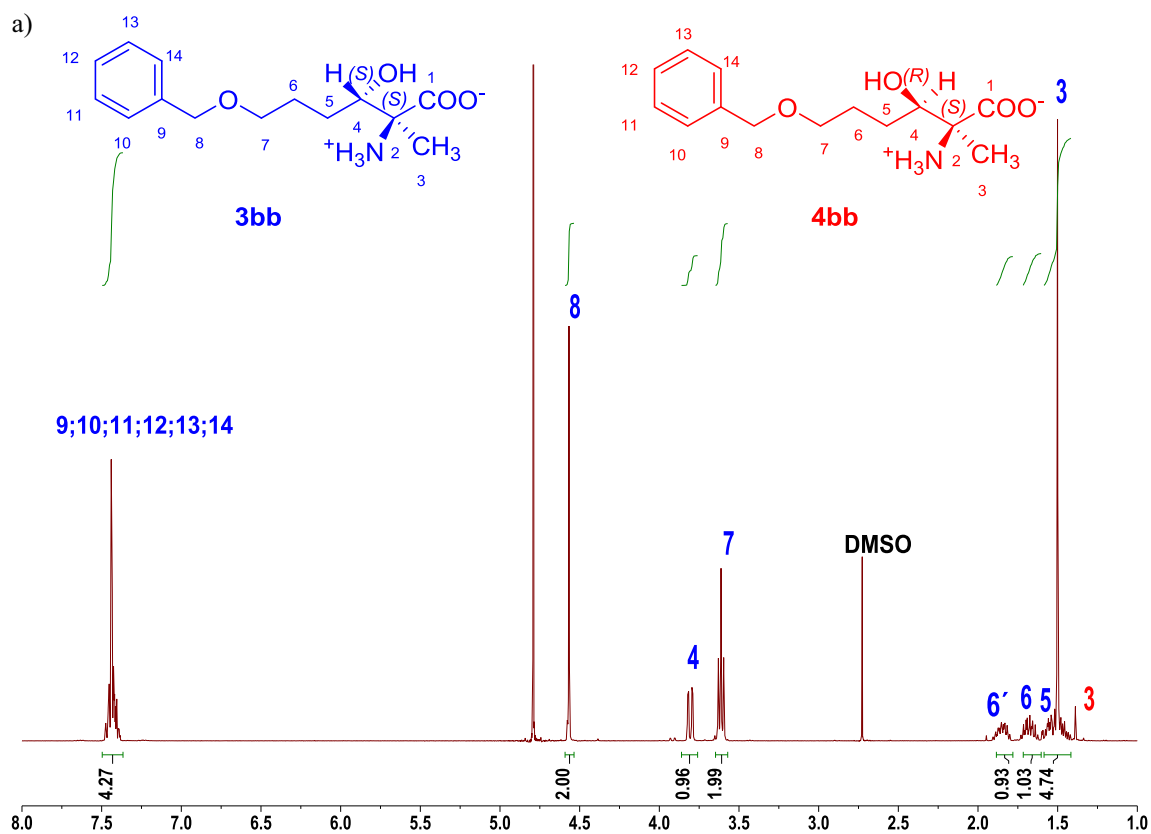
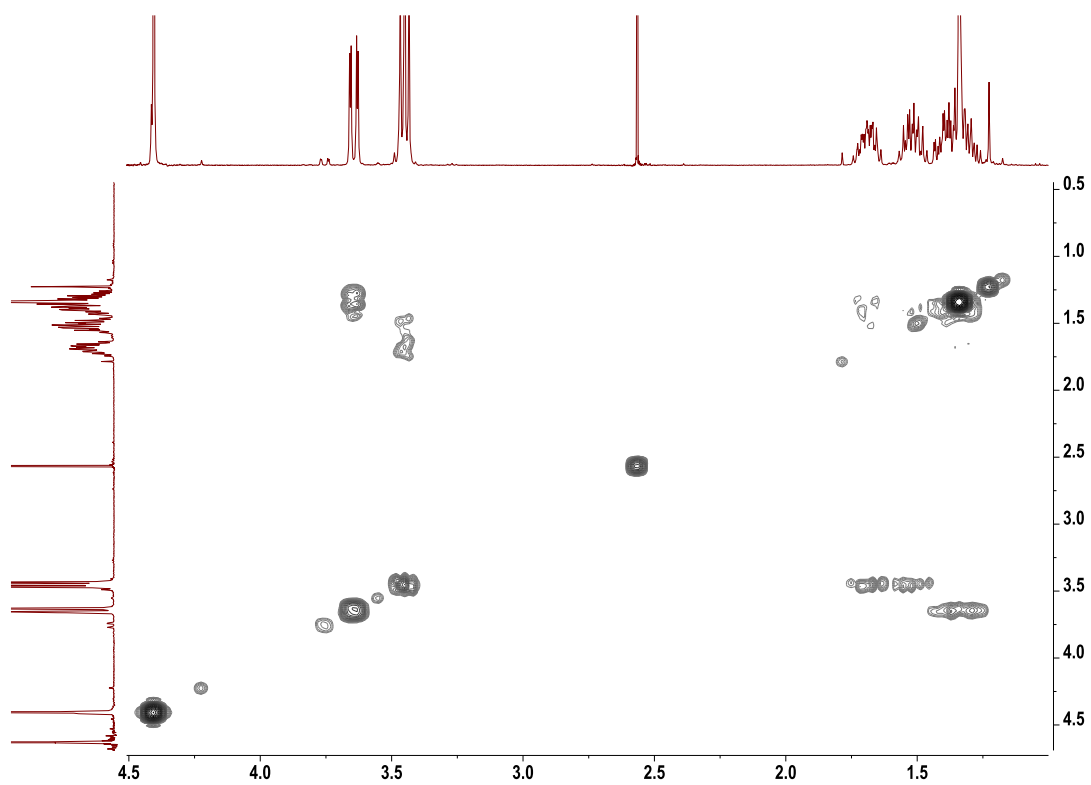


Figura24S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de **3bb** y **4bb** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.



c)



d)

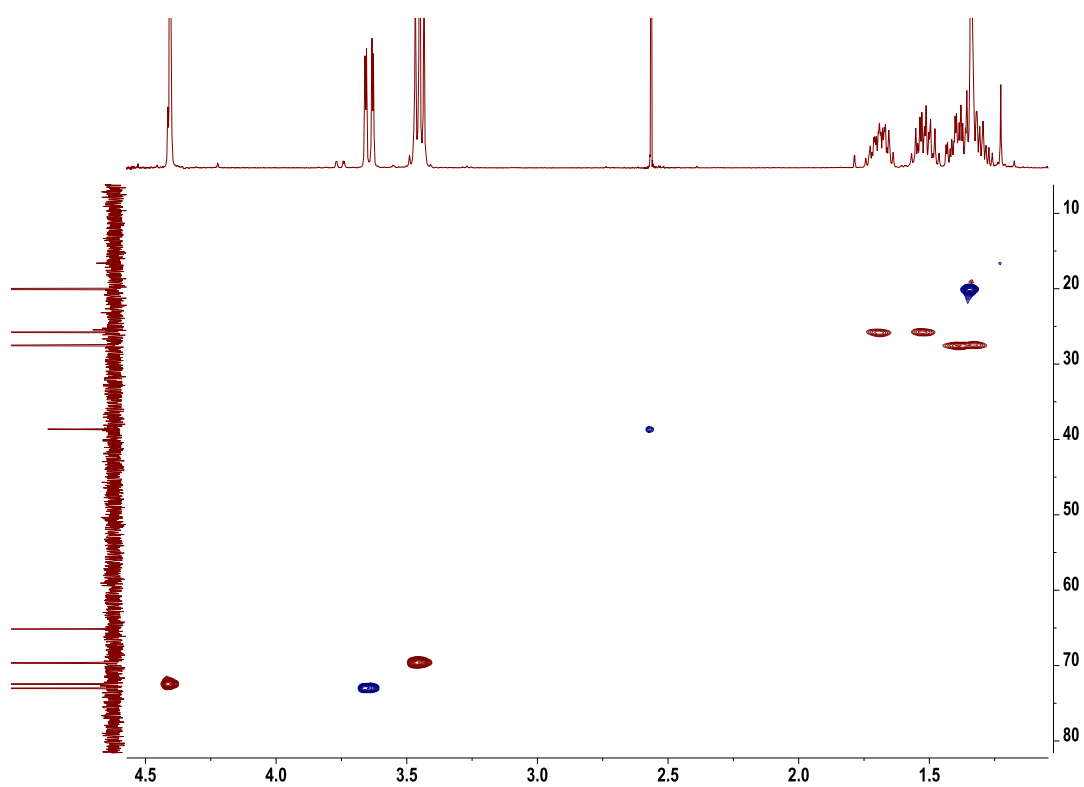
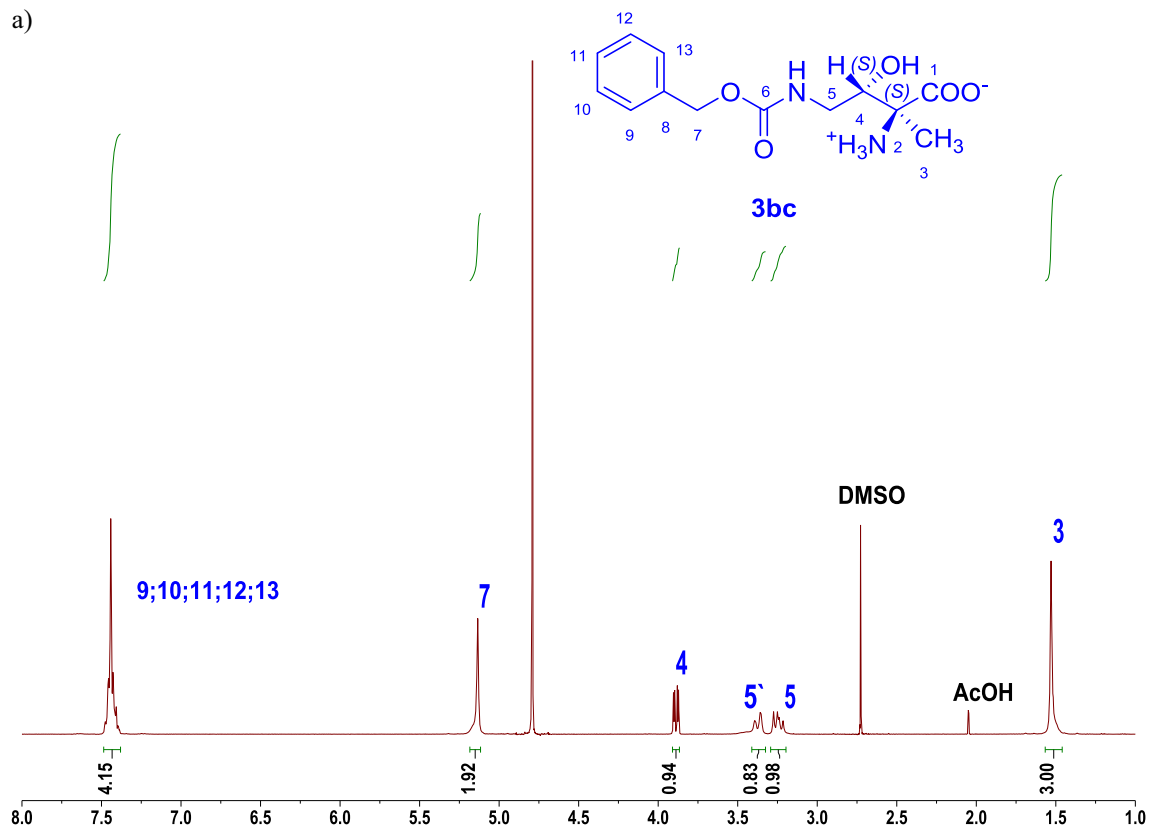
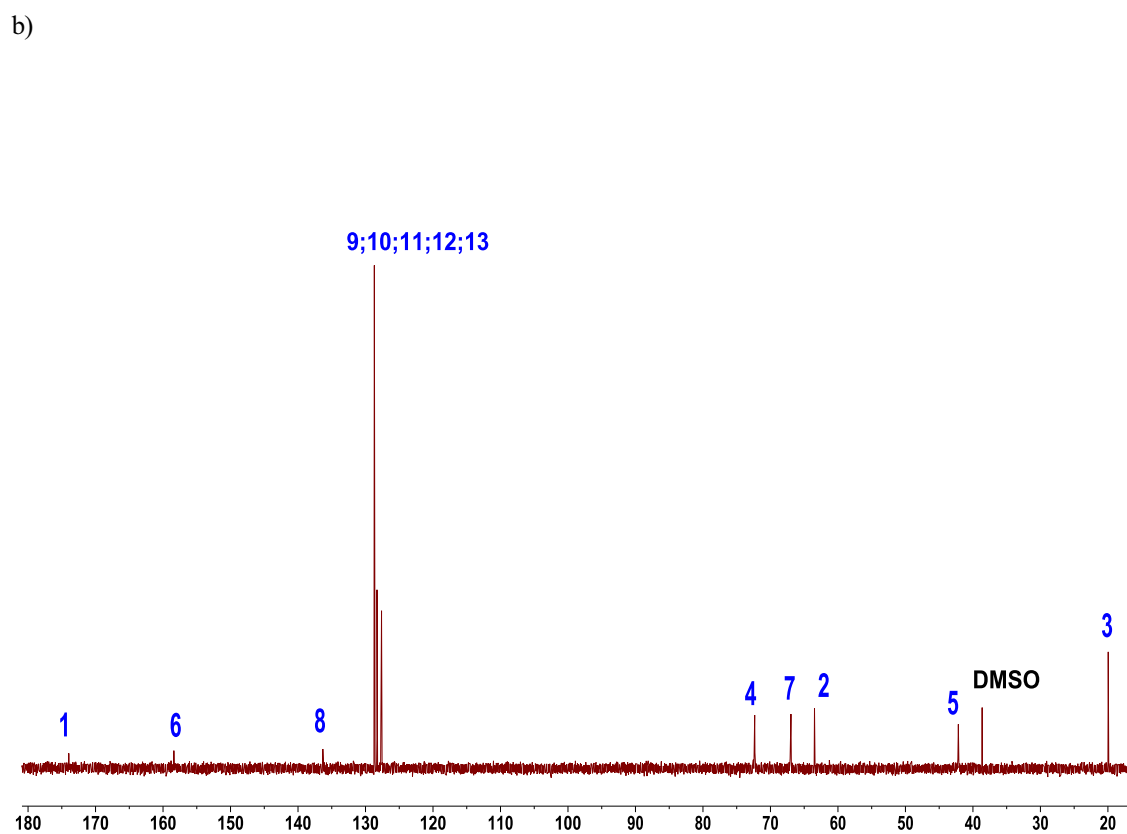


Figura25S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de **3bc** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.

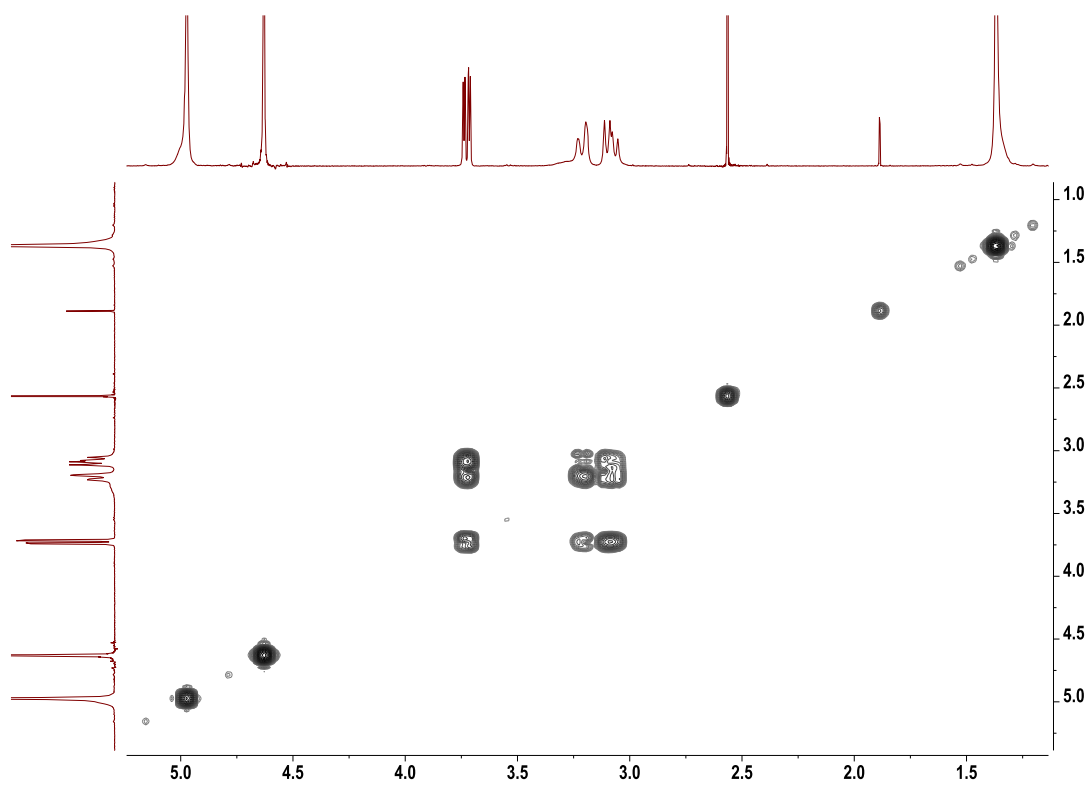
a)



b)



c)



d)

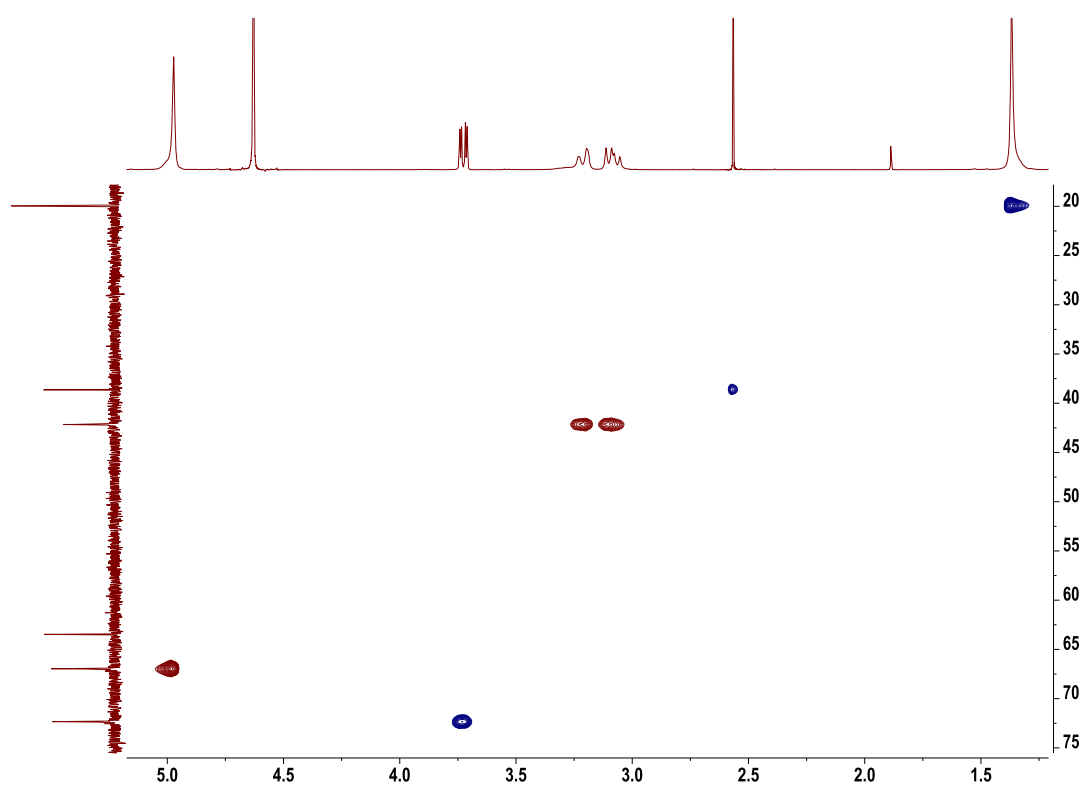
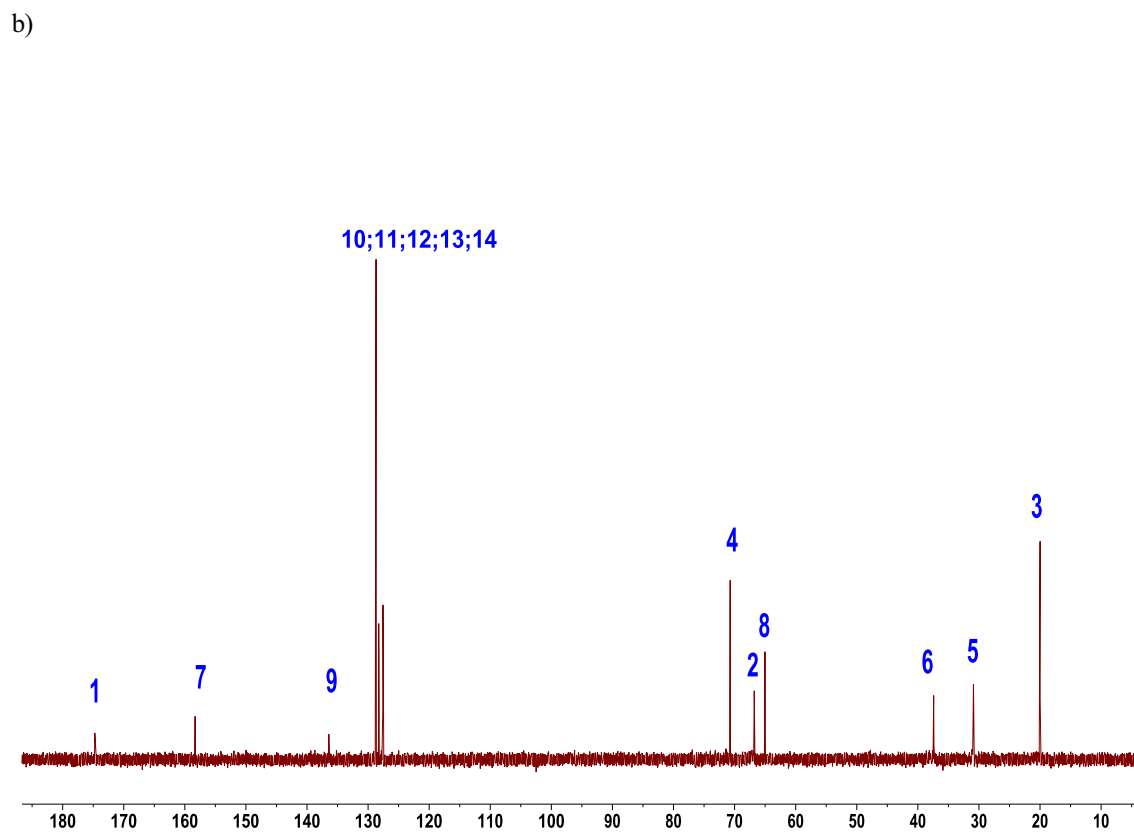
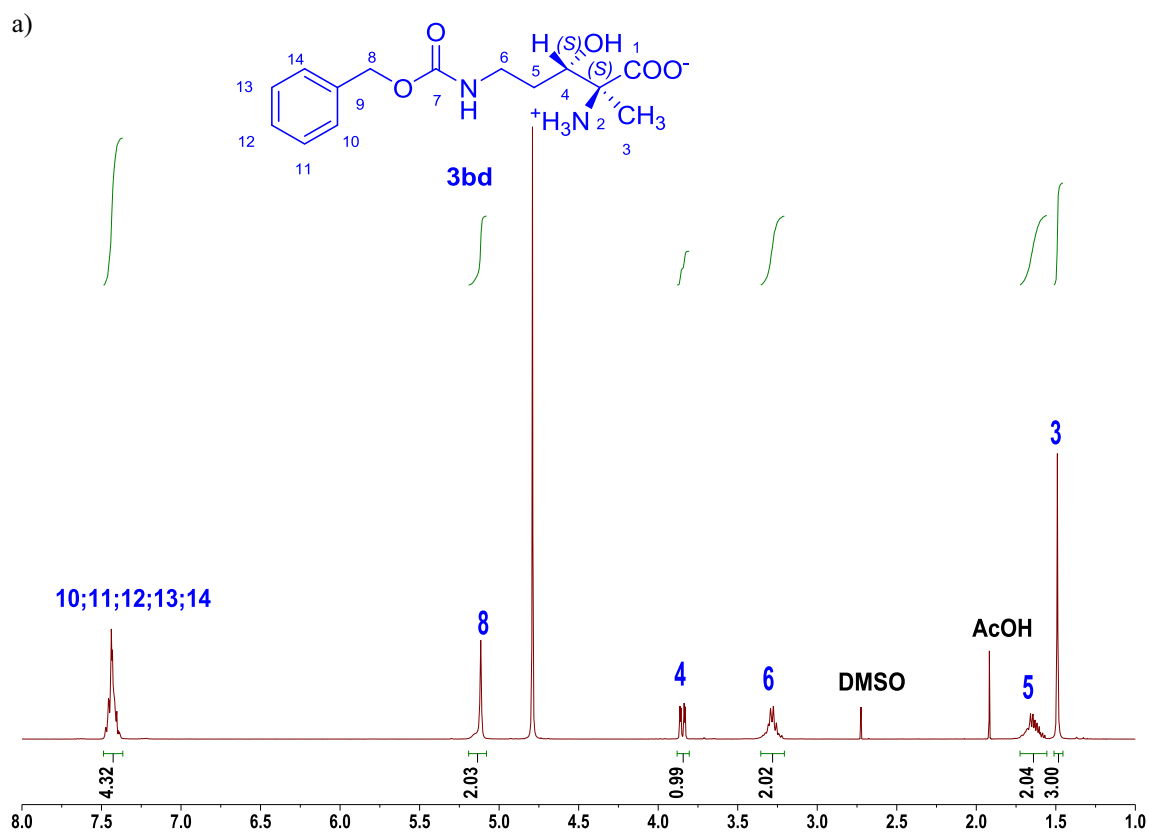
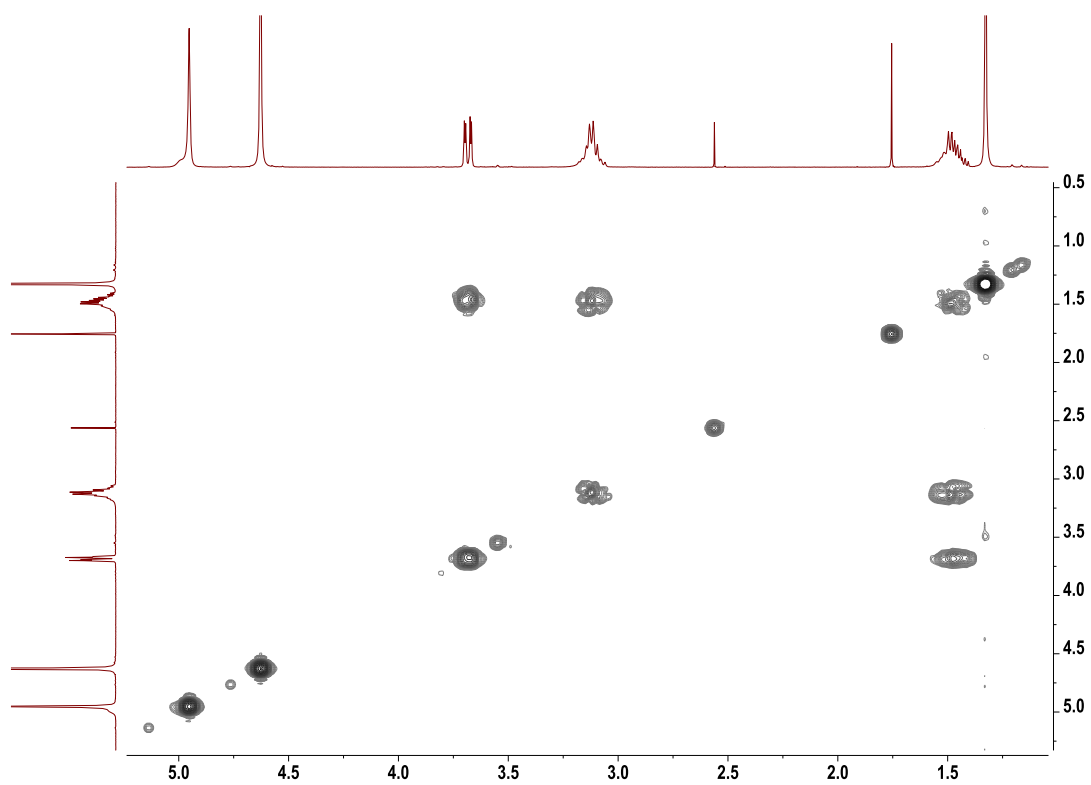


Figura26S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de **3bd** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Sth} Y55T:a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.

c)



d)

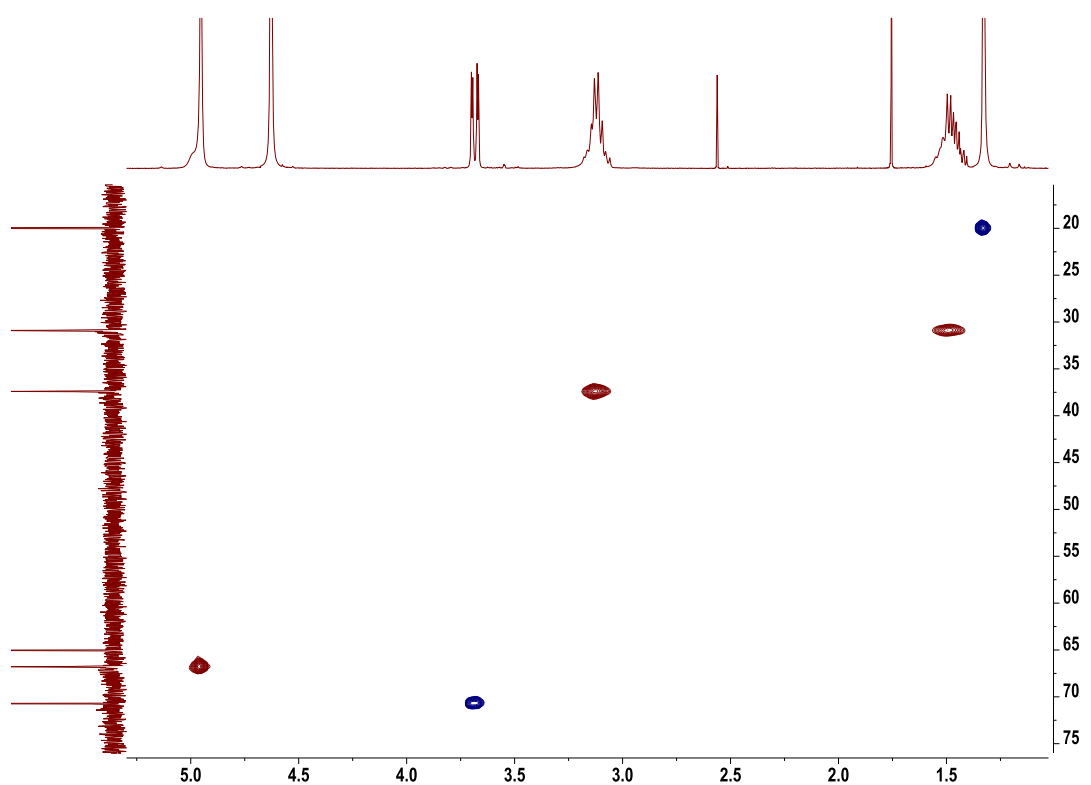
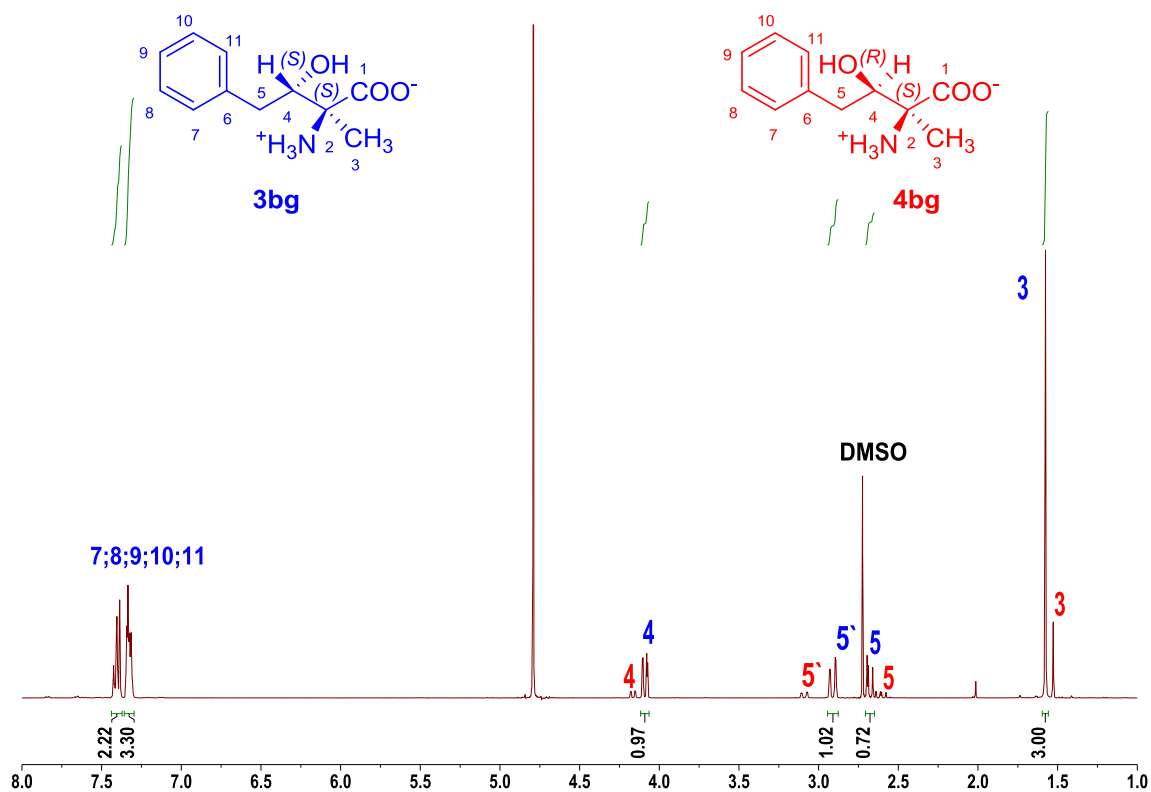
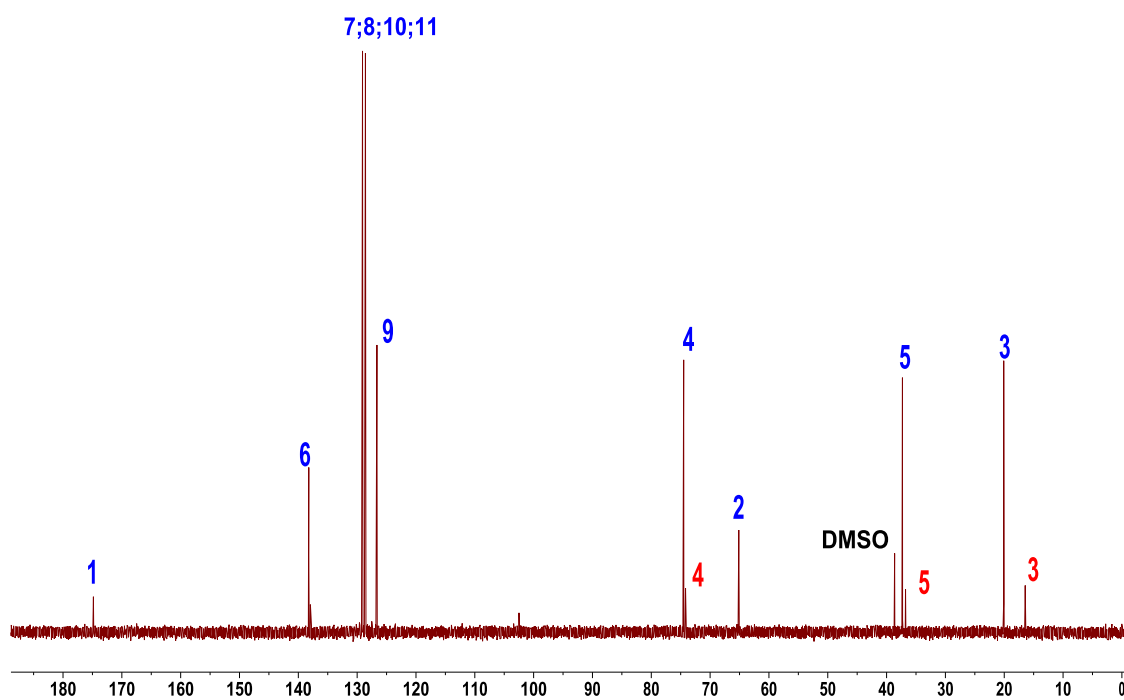


Figura27S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de **3bg** y **4bg** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.

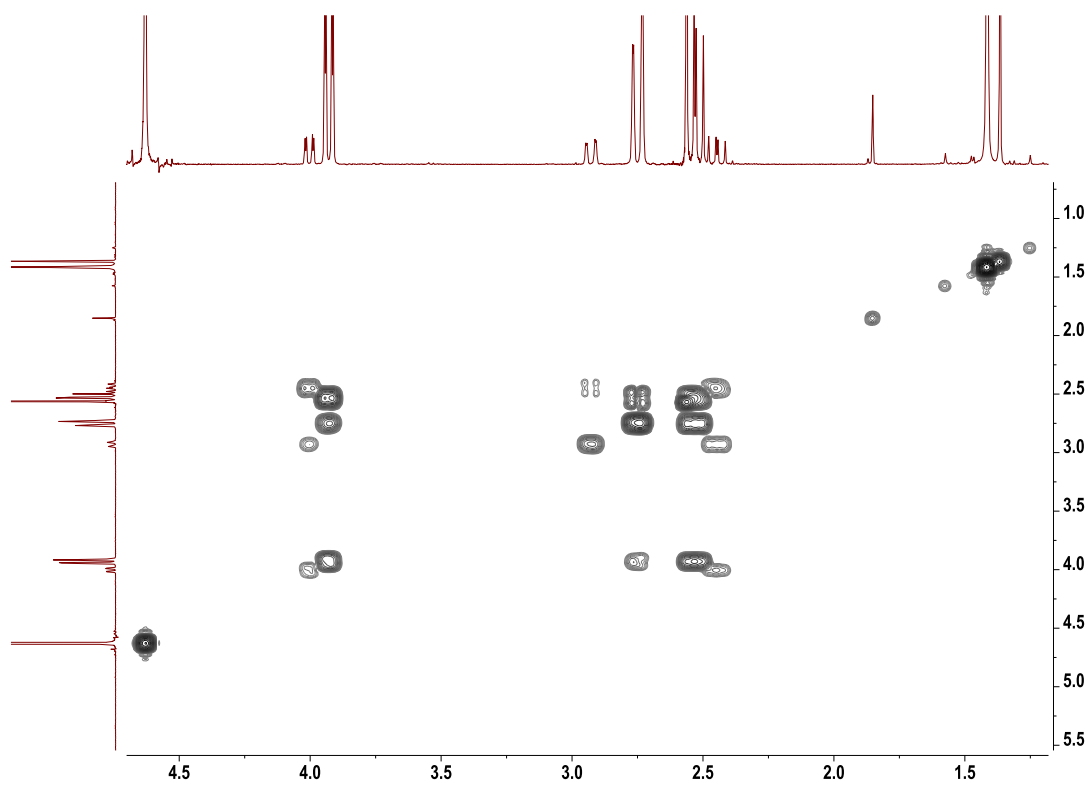
a)



b)



c)



d)

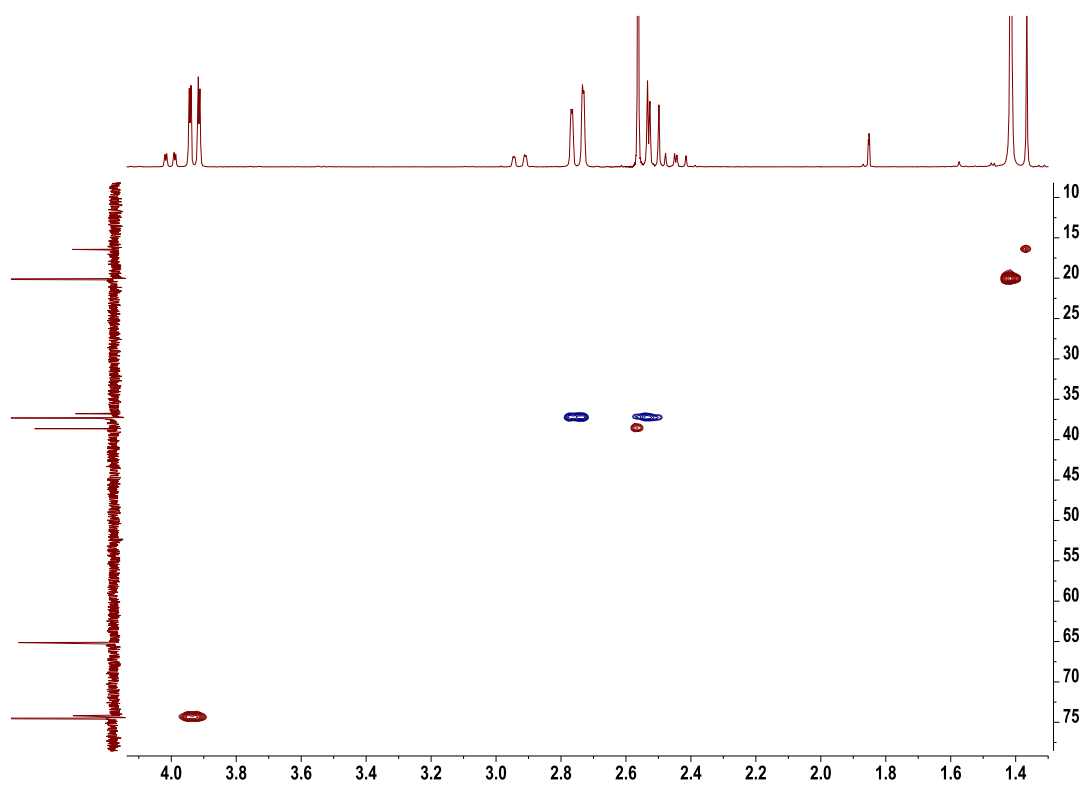
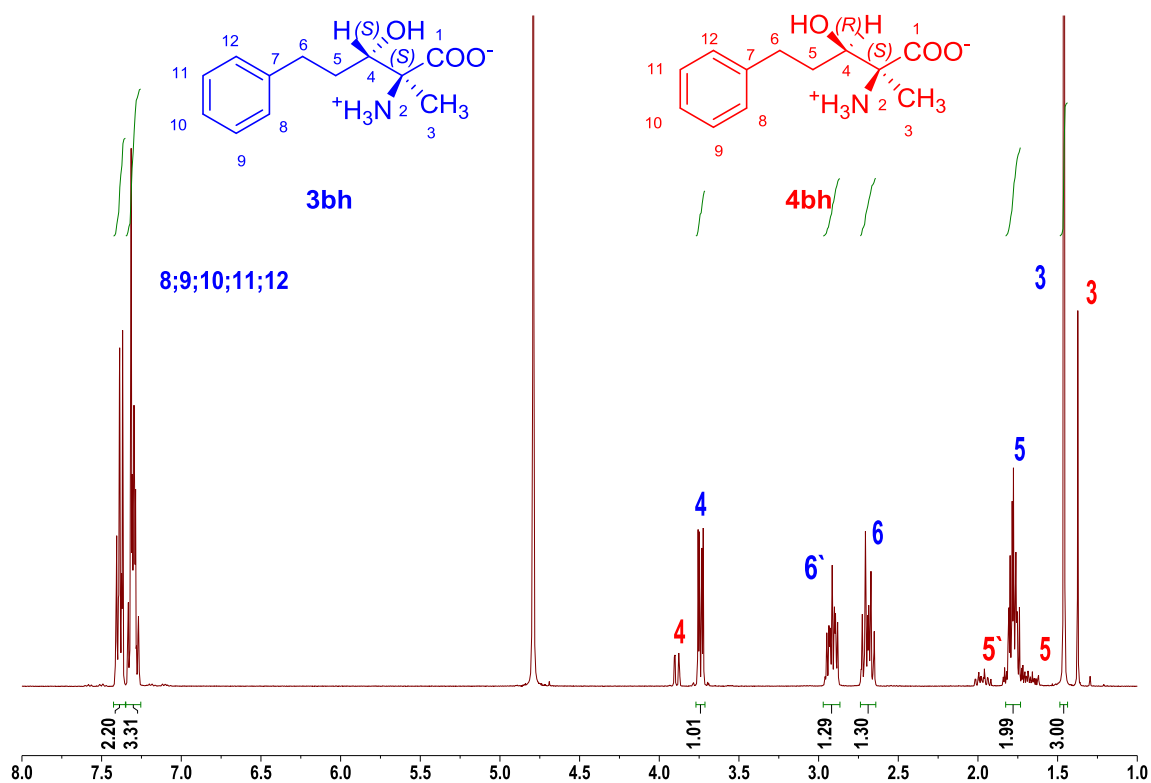
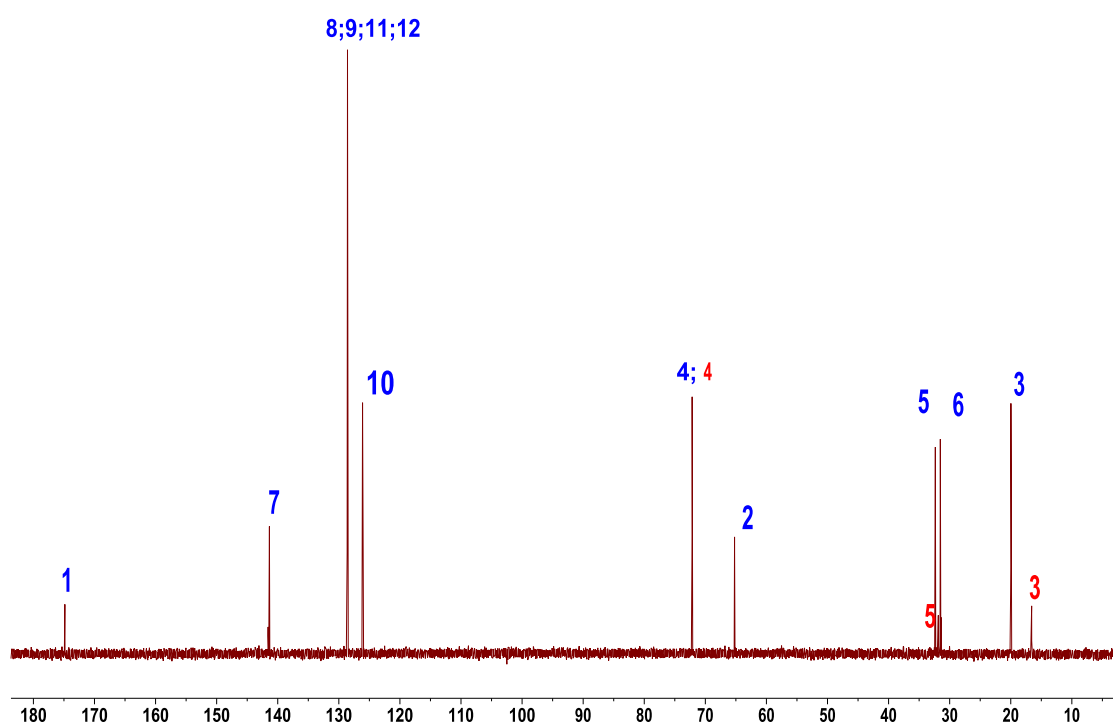


Figura28S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de **3bh** y **4bh** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.

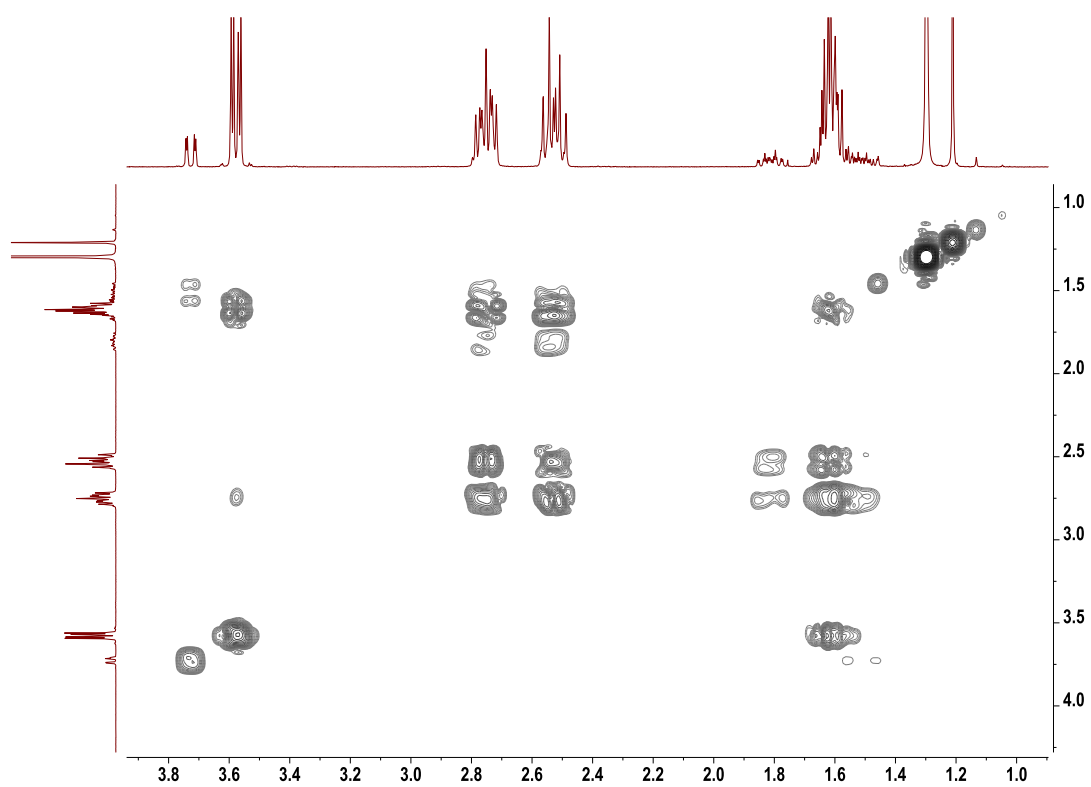
a)



b)



c)



d)

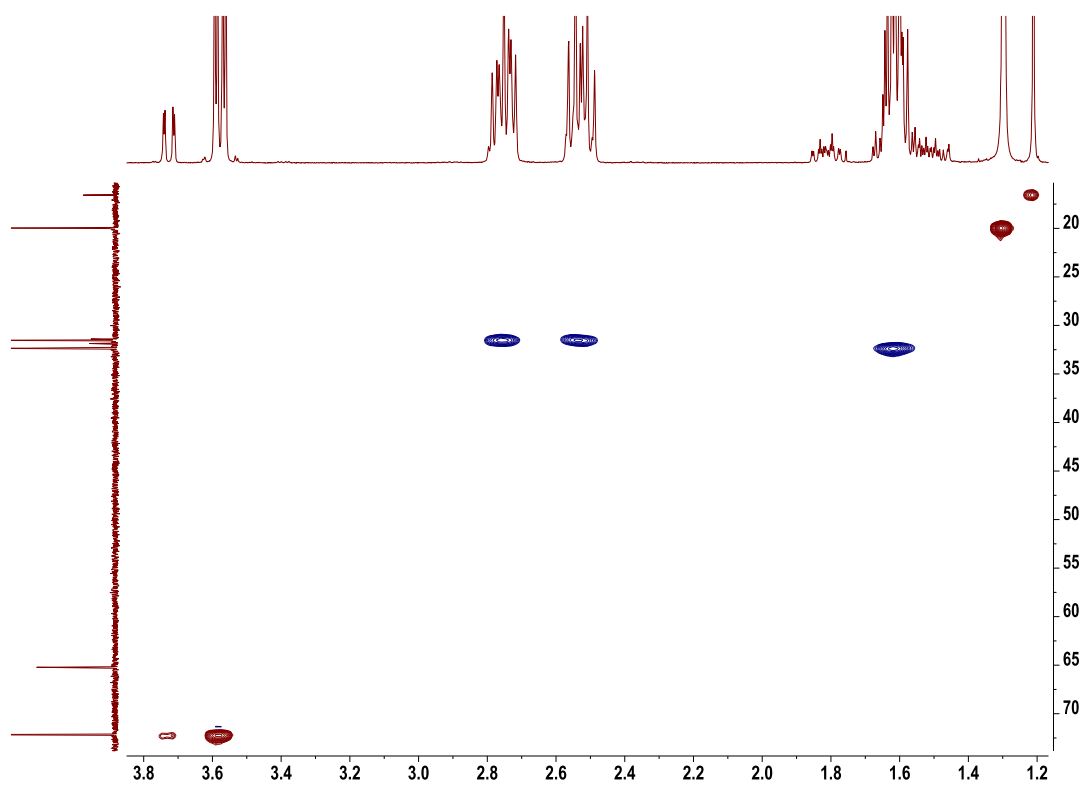
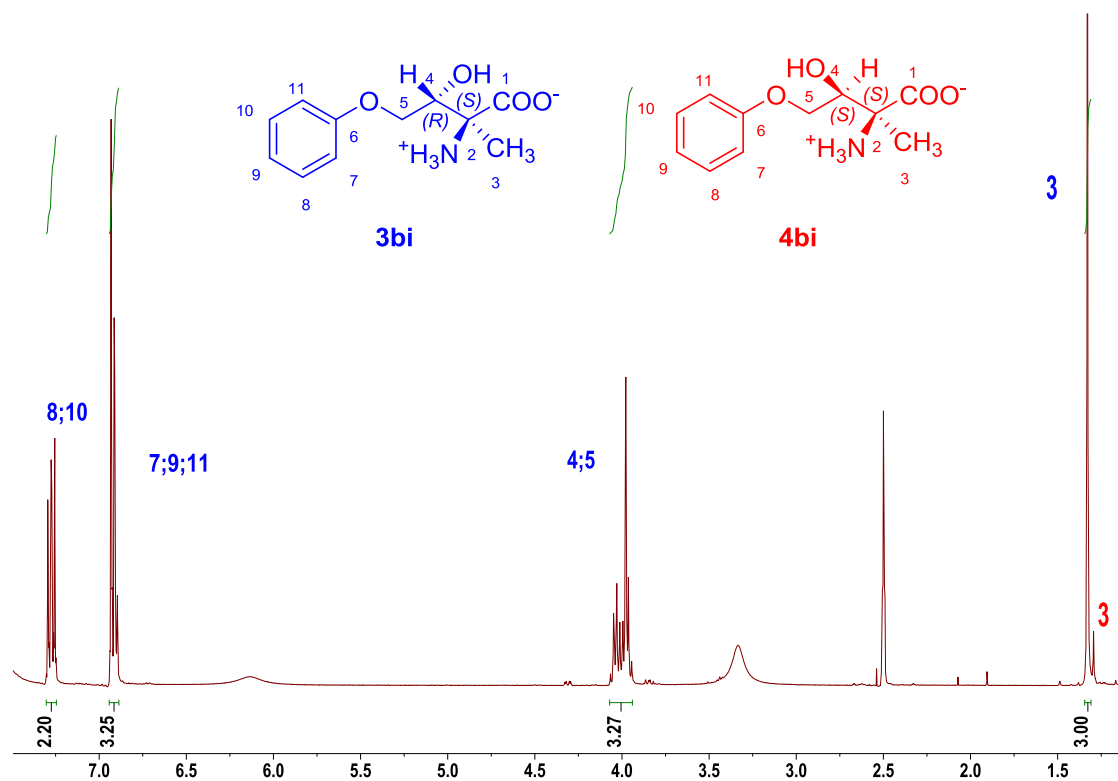
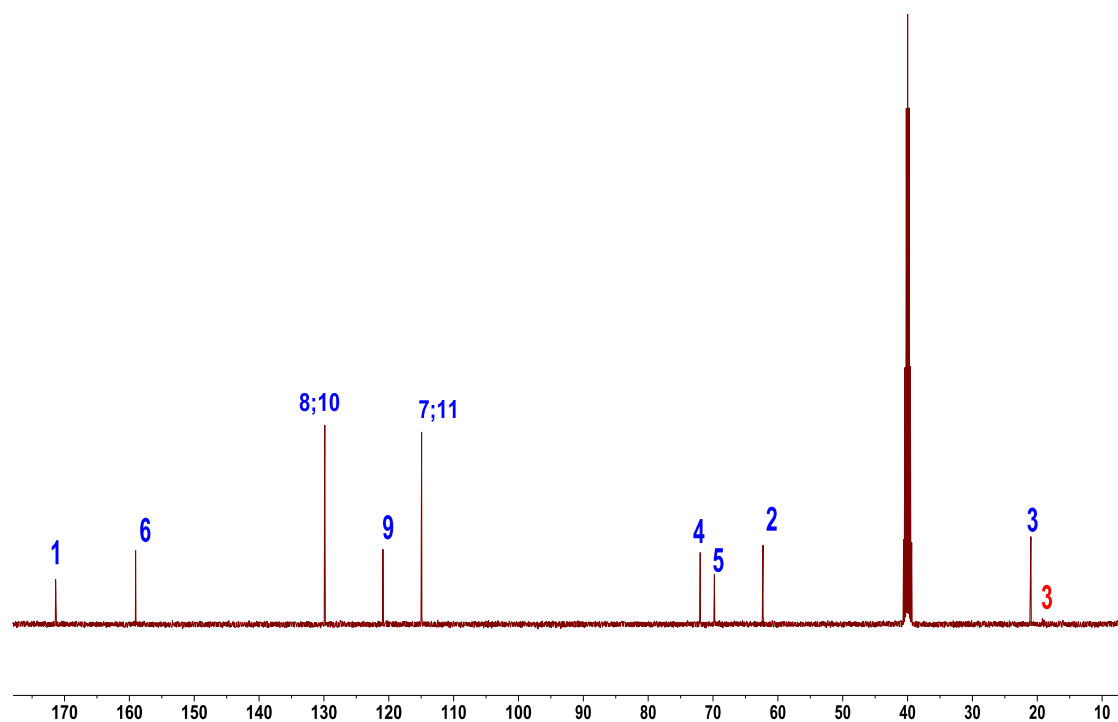


Figura29S(3.1). Espectro de RMN (DMSO- d_6) de **3bi** y **4bi** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Sth} Y55T: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY y d) HSQC.

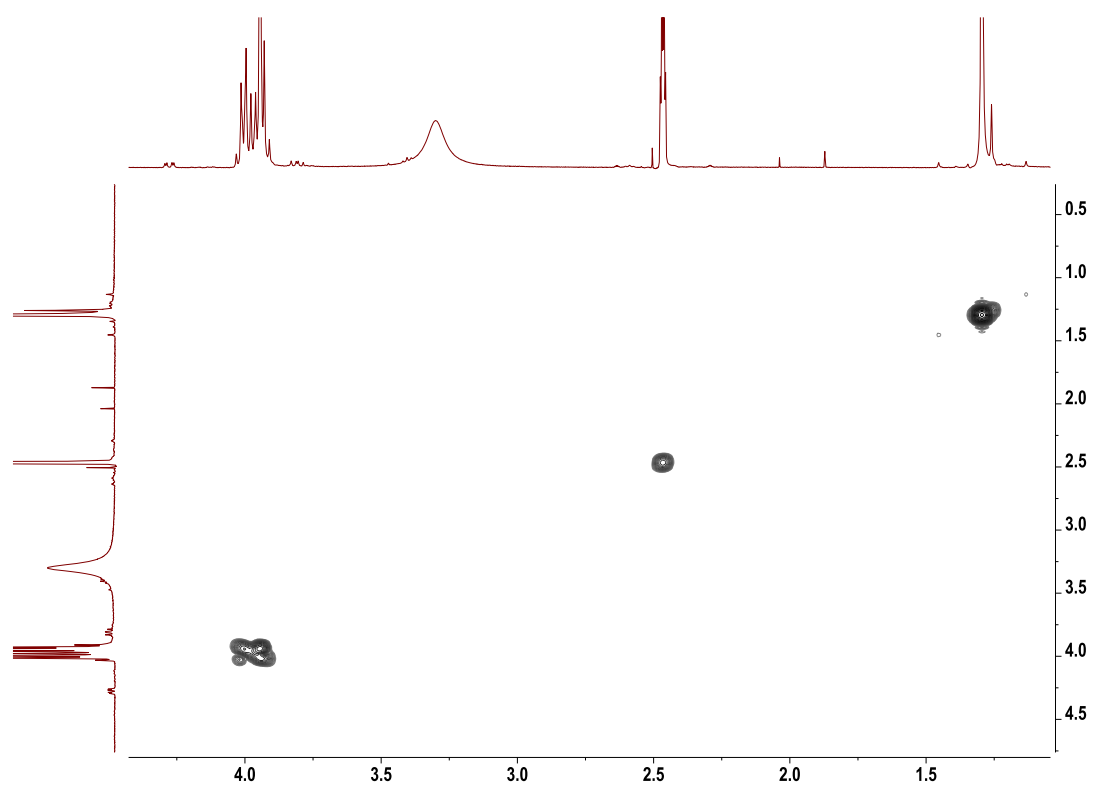
a)



b)



c)



d)

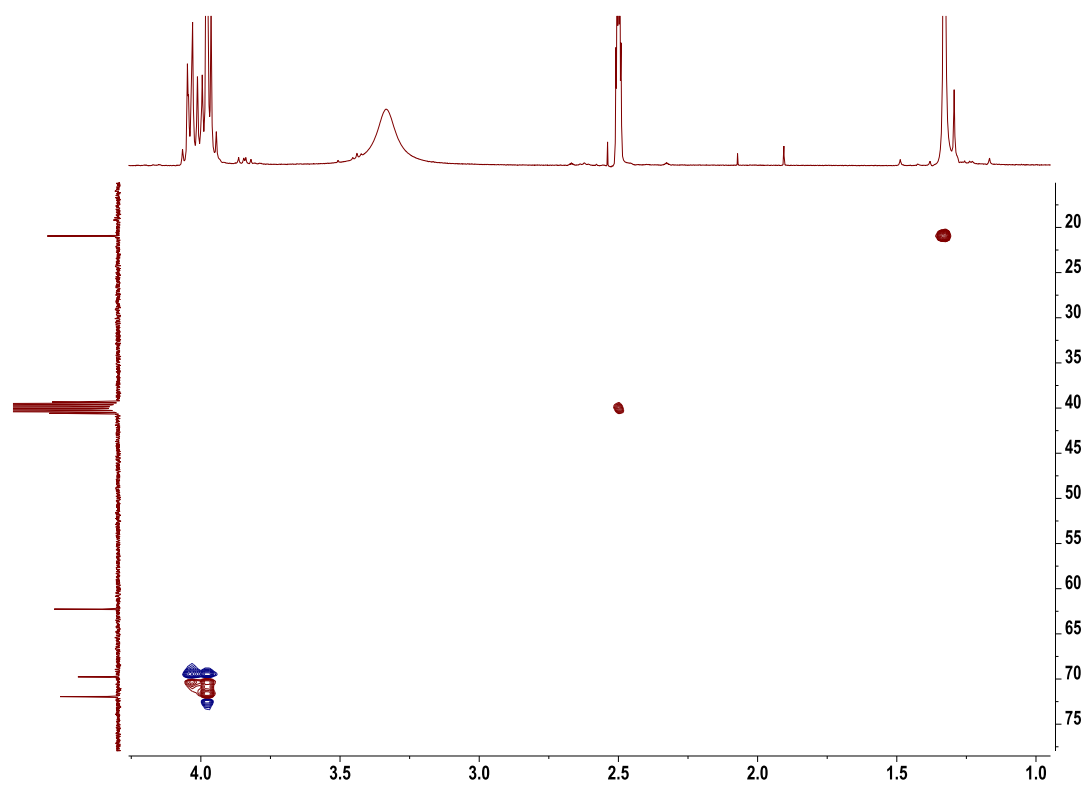
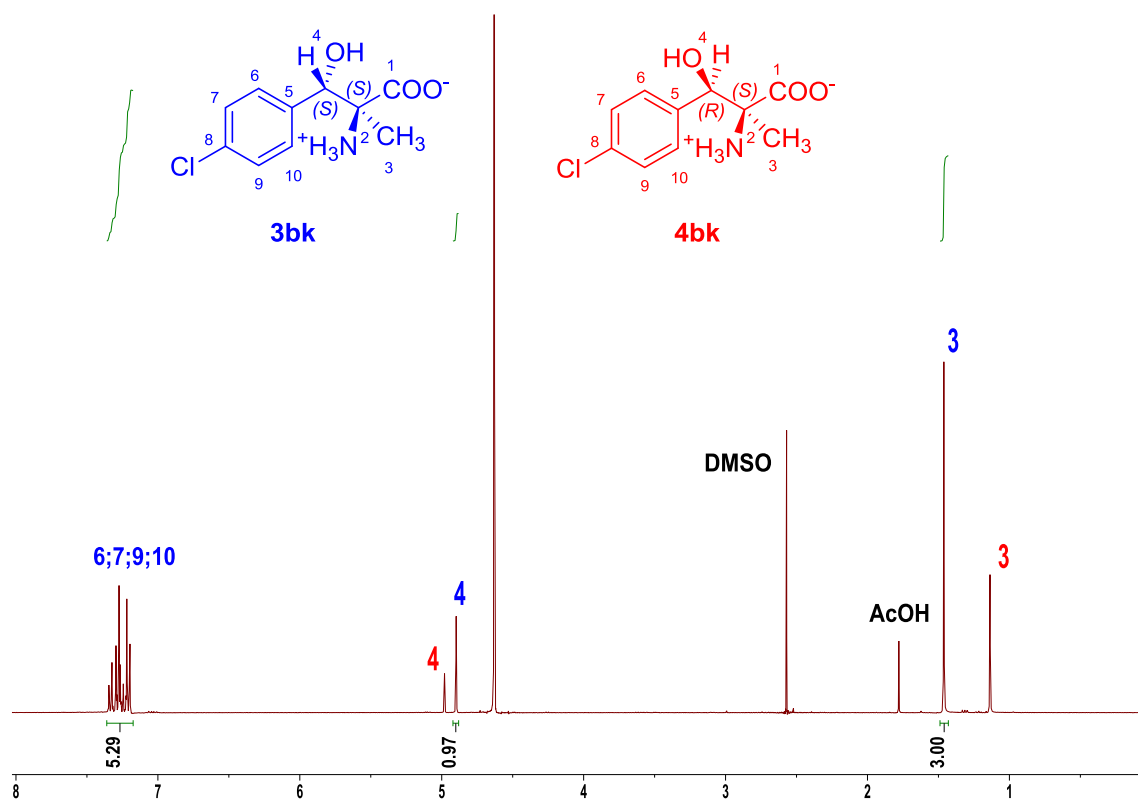
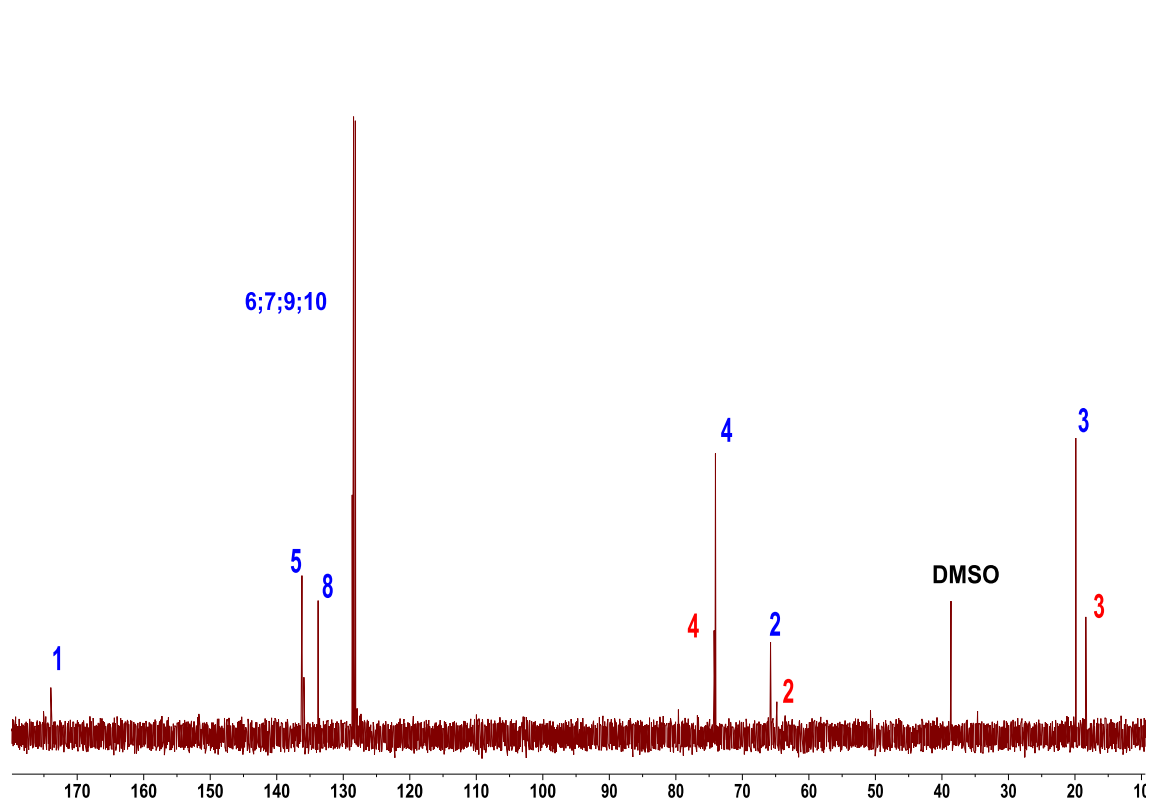


Figura30S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de **3bk** y **4bk** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.

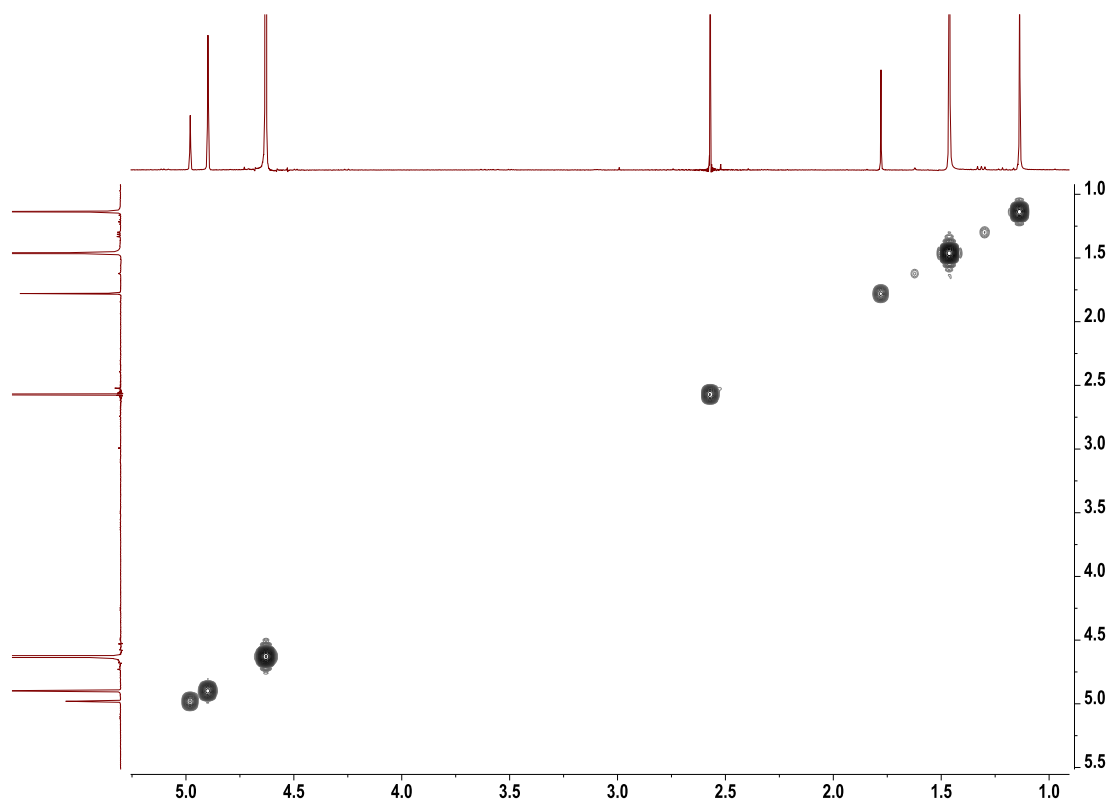
a)



b)



c)



d)

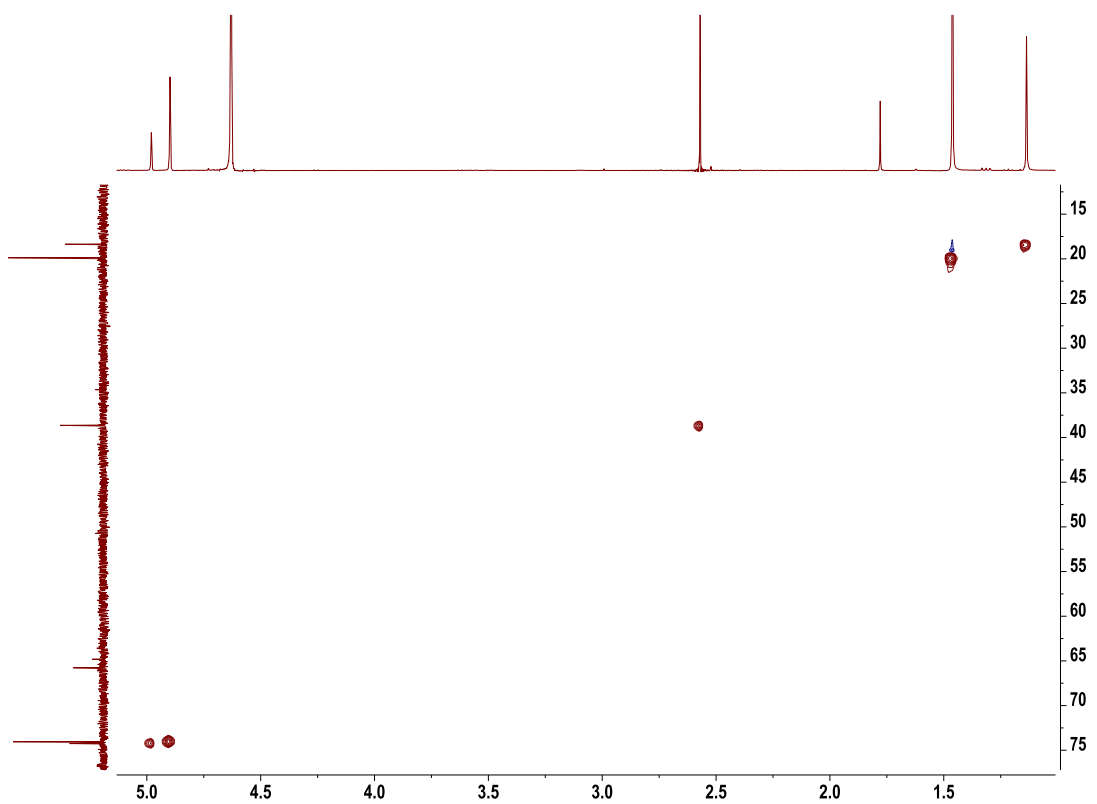
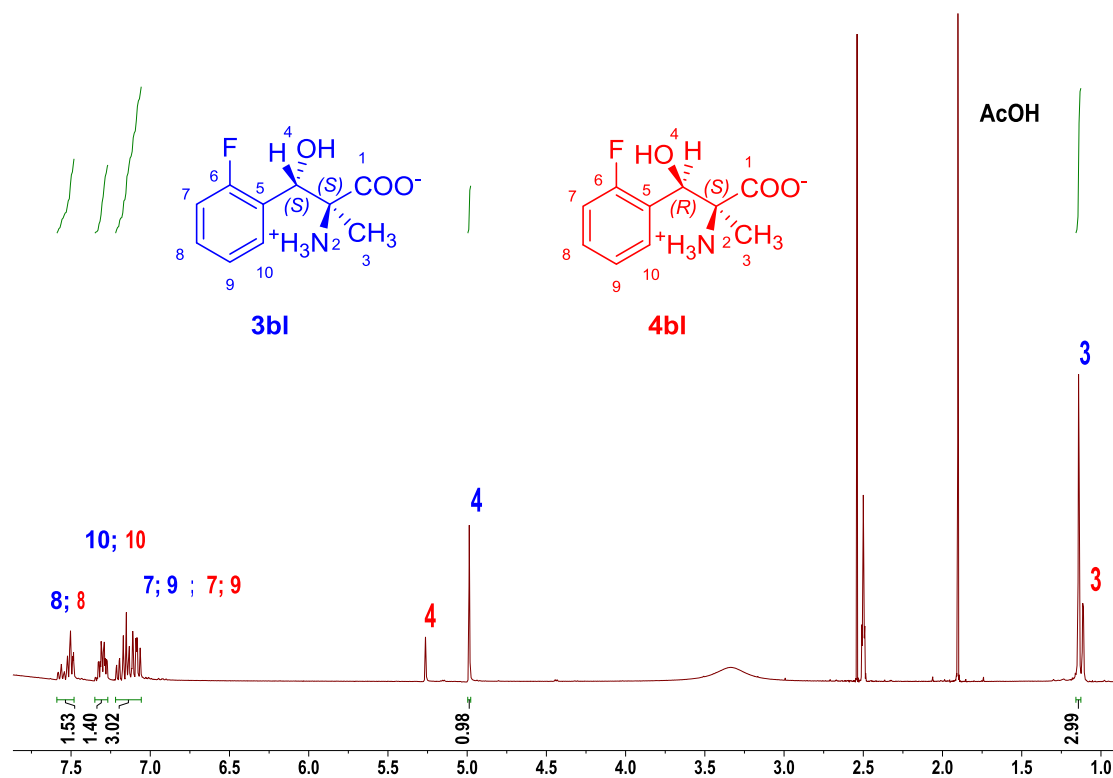
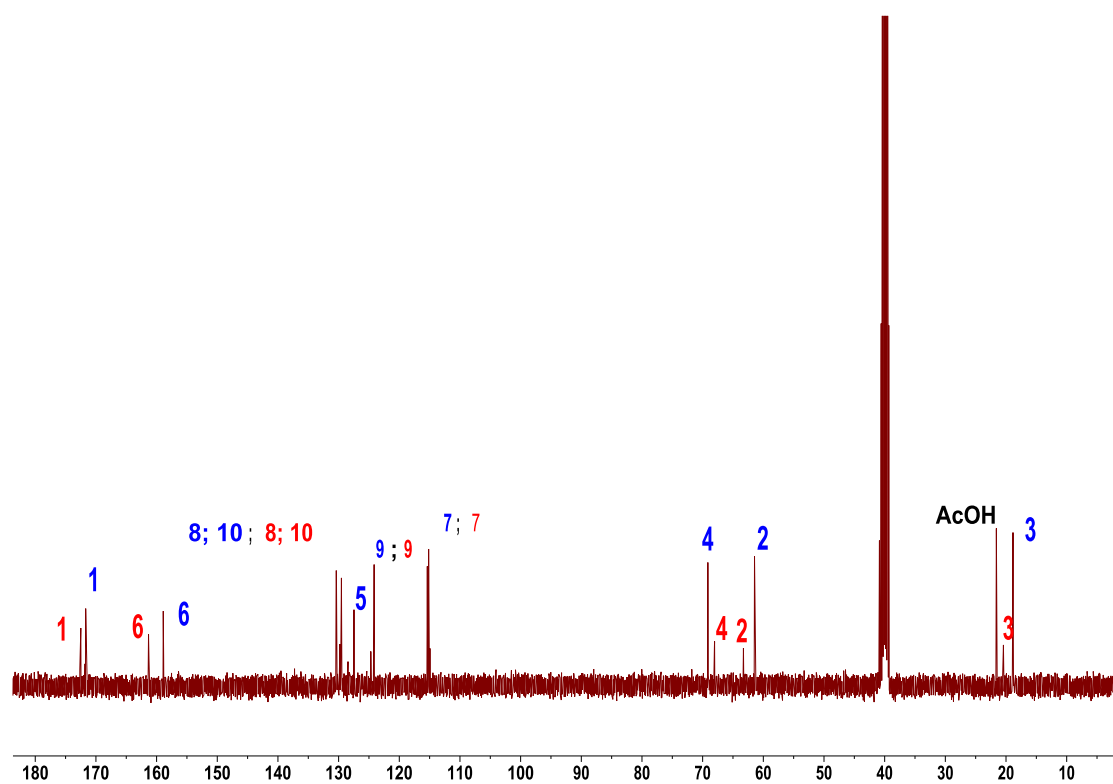


Figura31S(3.1). Espectros de RMN (DMSO- d_6) de **3bl** y **4bl** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Sth} Y55T: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY y d) HSQC.

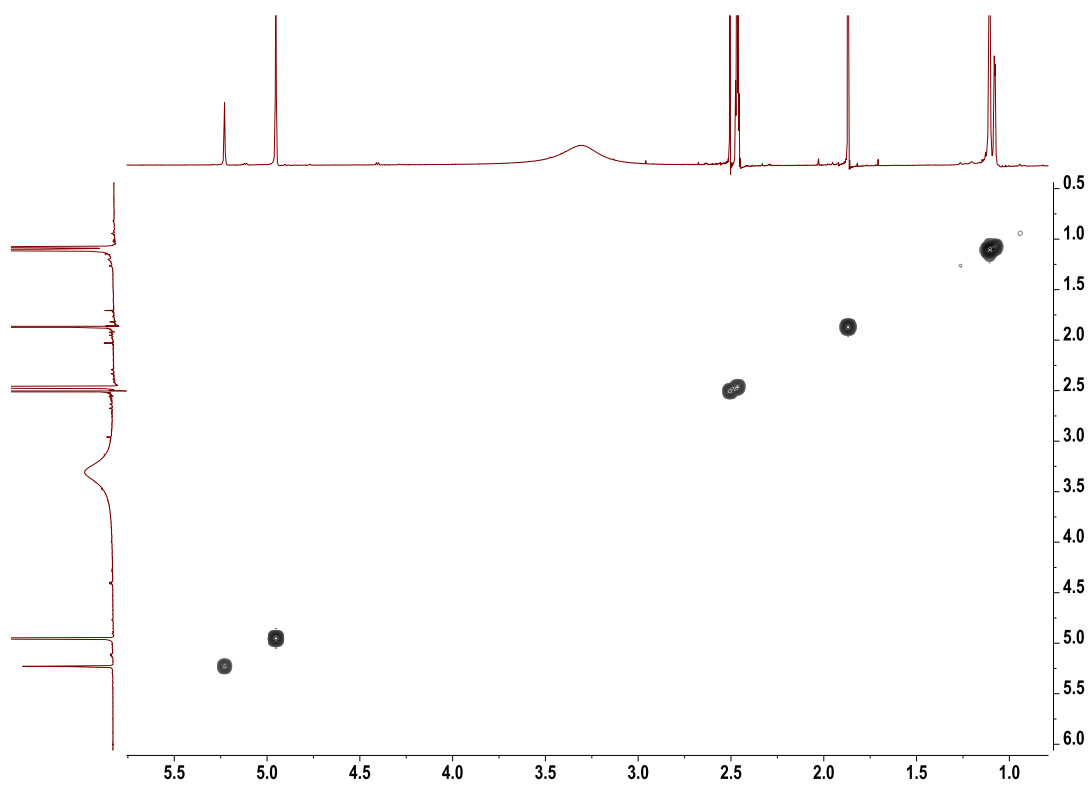
a)



b)



c)



d)

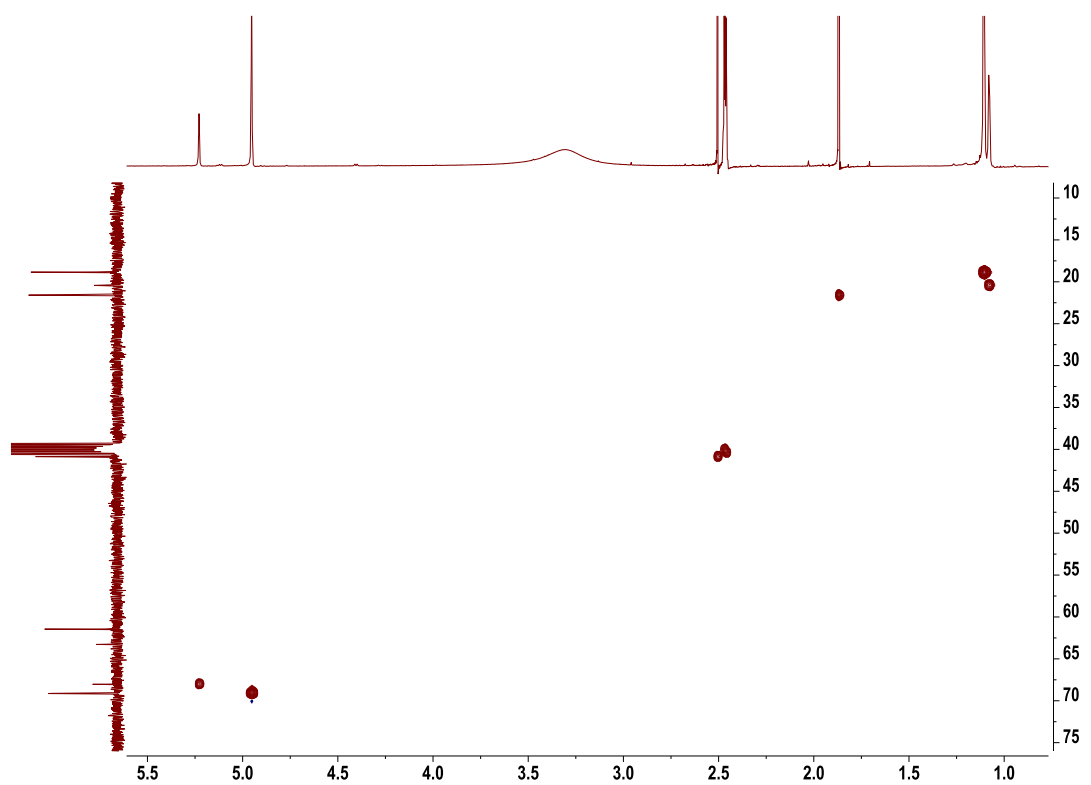
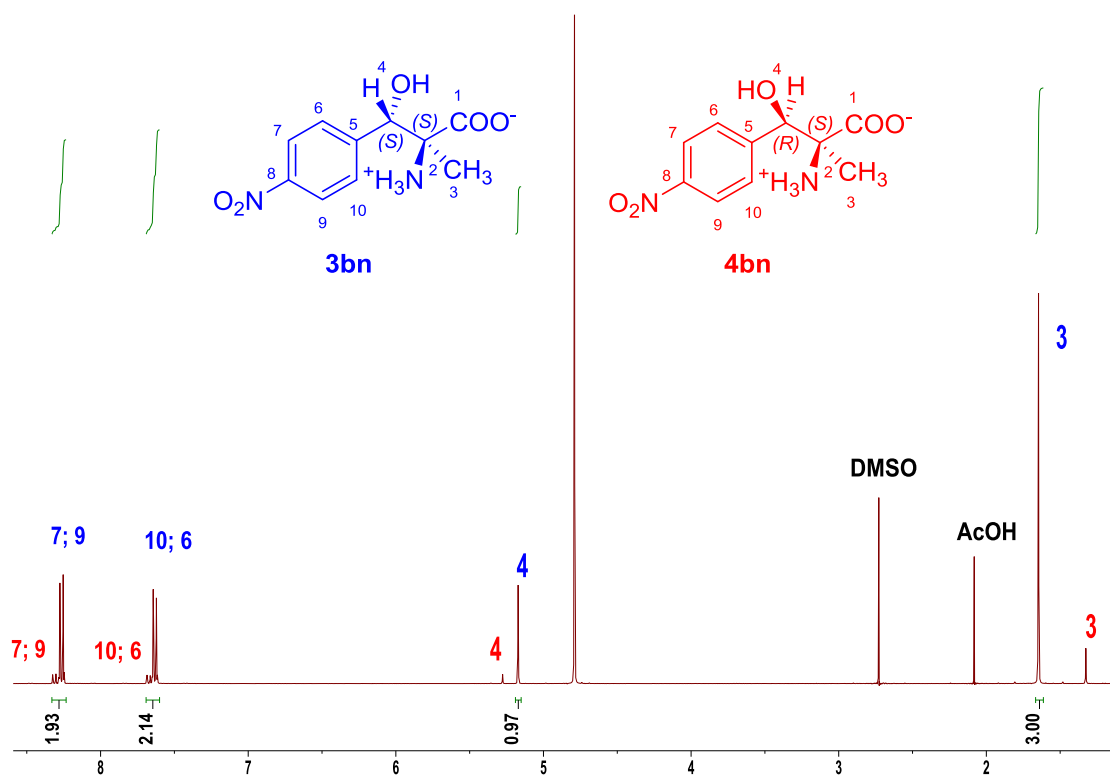
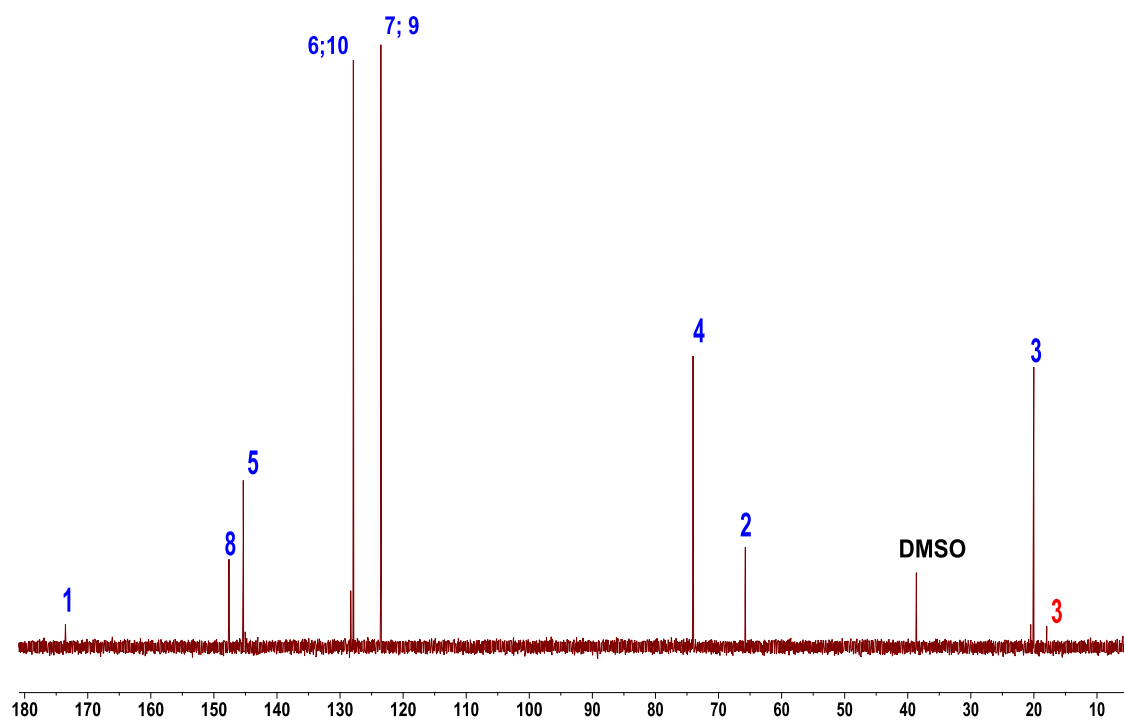


Figura32S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de **3bn** y **4bn** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Stt} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.

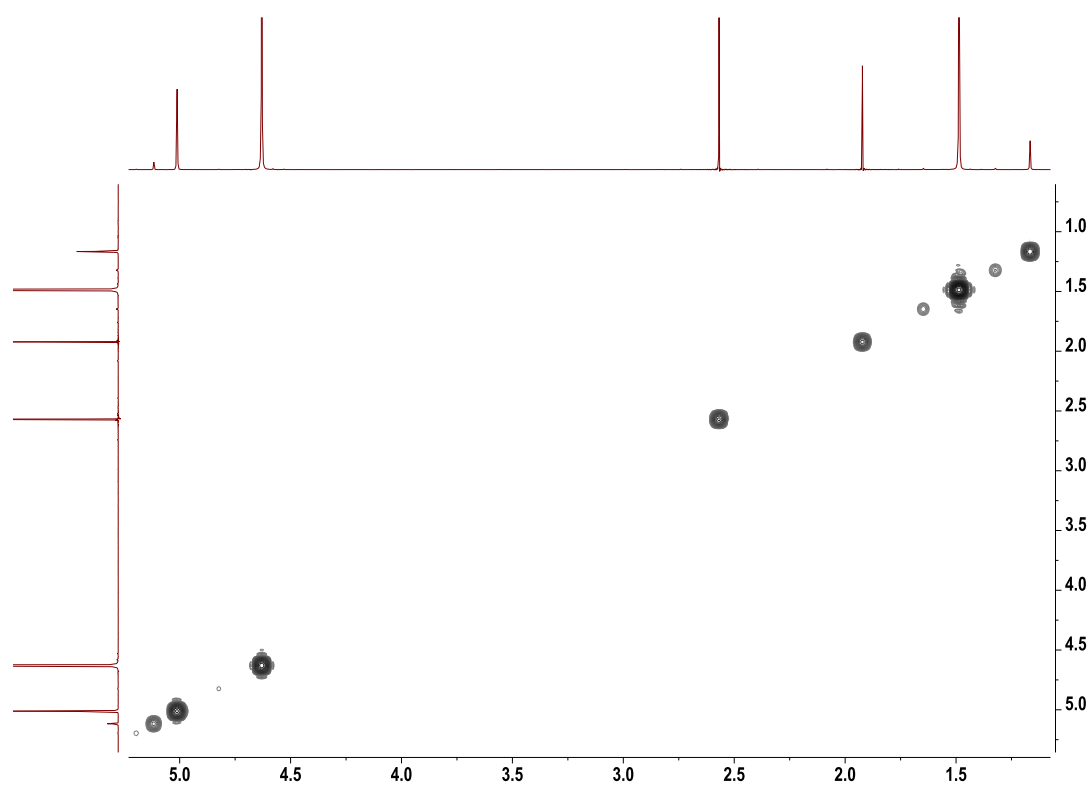
a)



b)



c)



d)

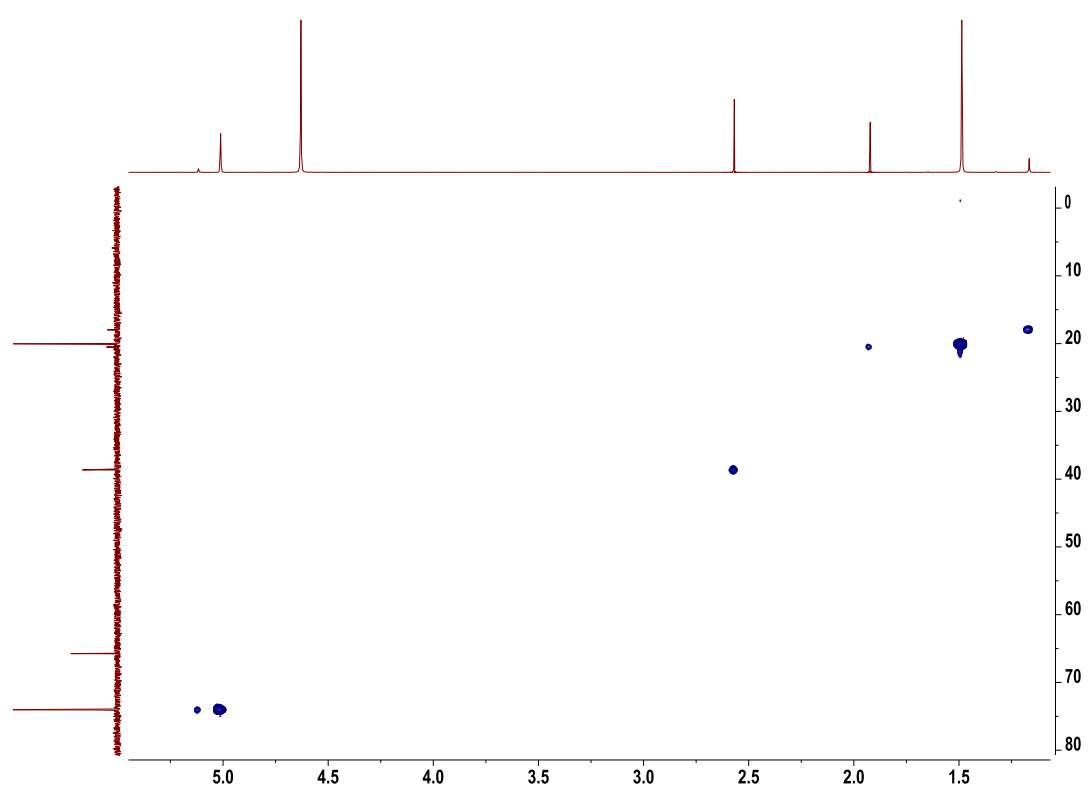
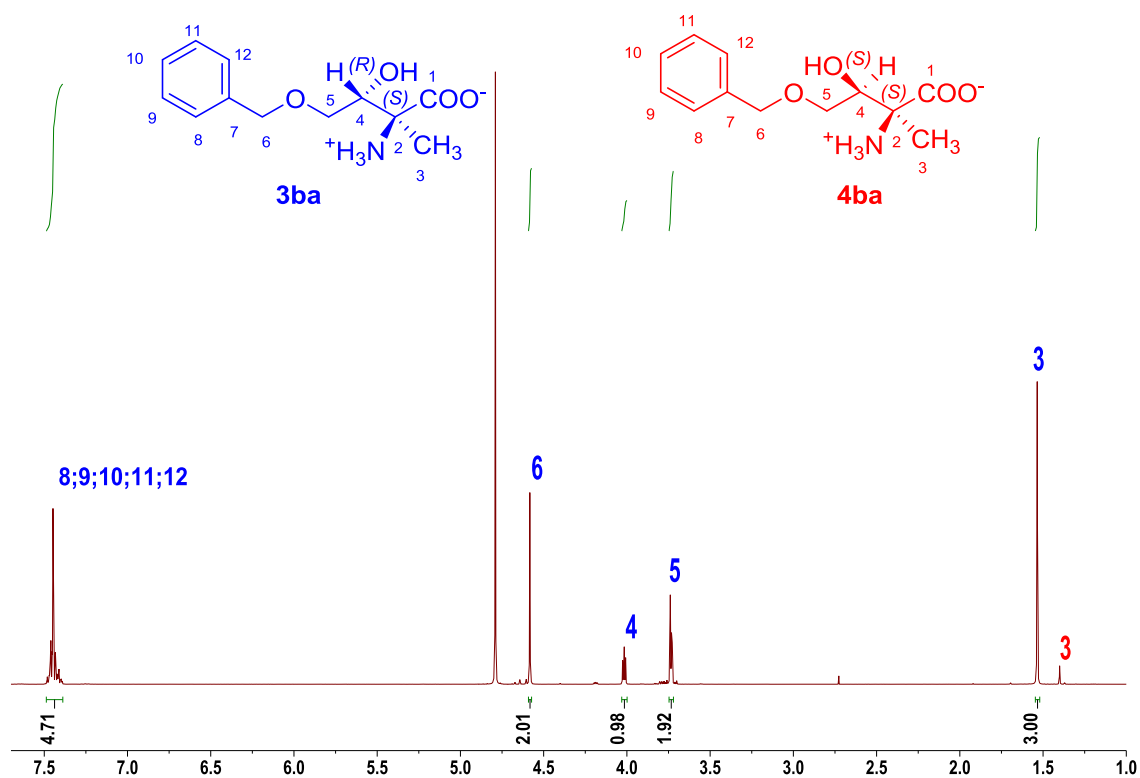
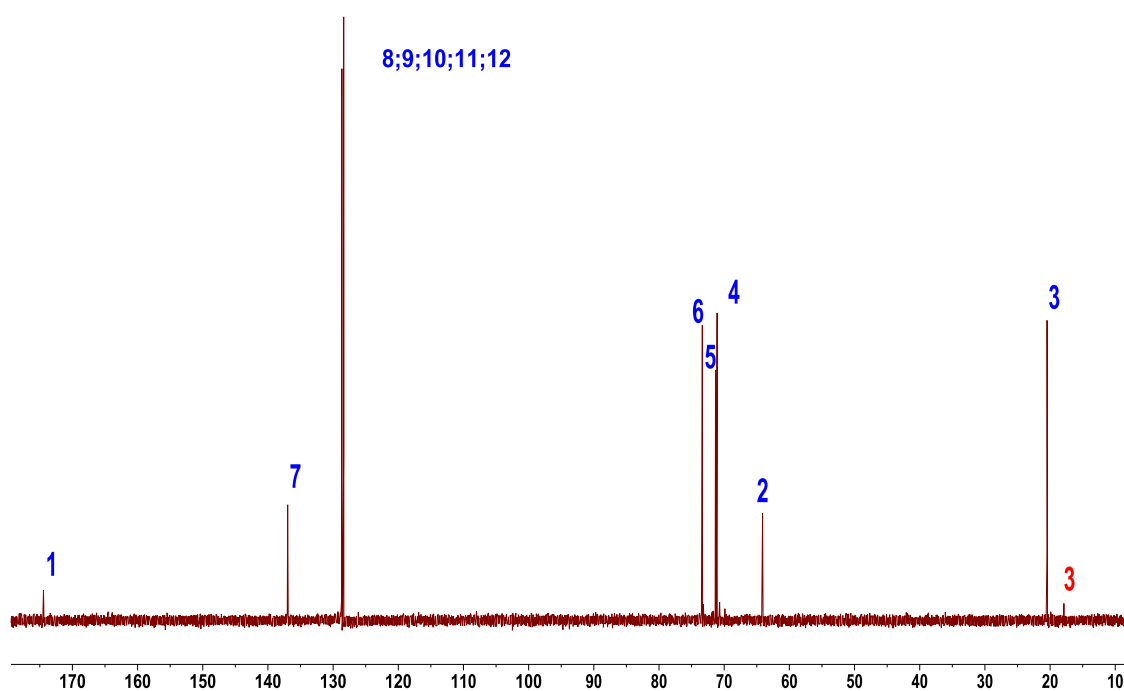


Figura33S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de **3ba** y **4ba** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Sth} nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.

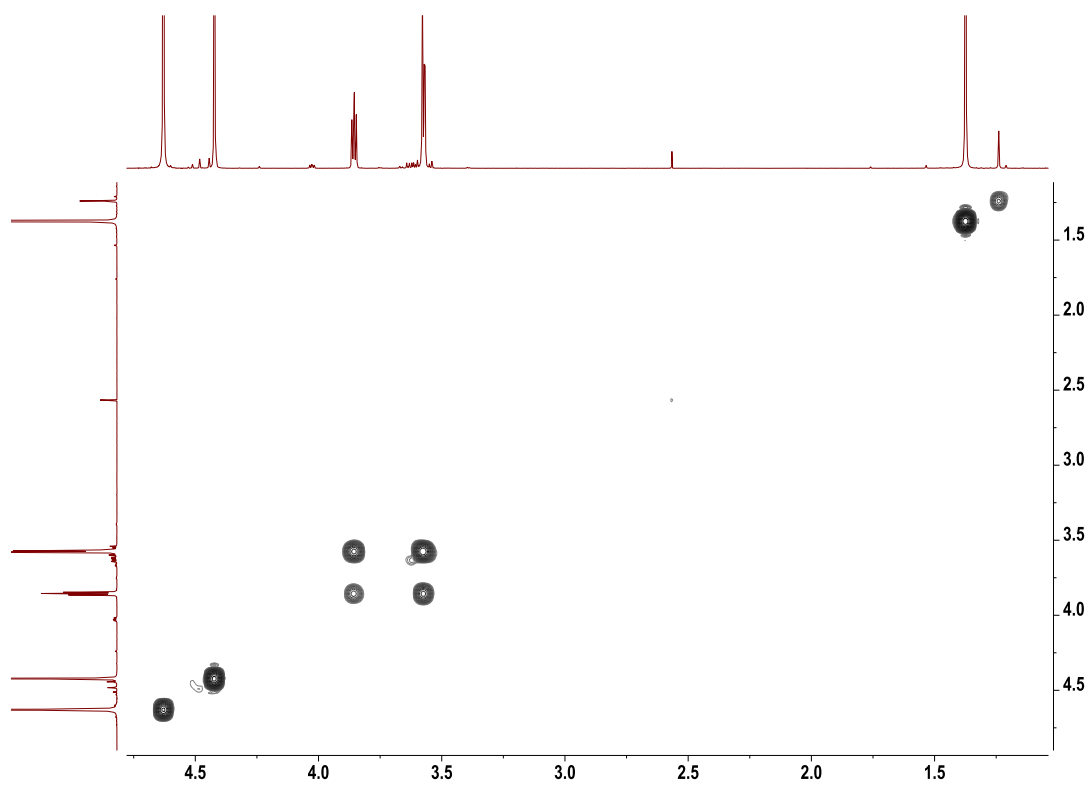
a)



b)



c)



d)

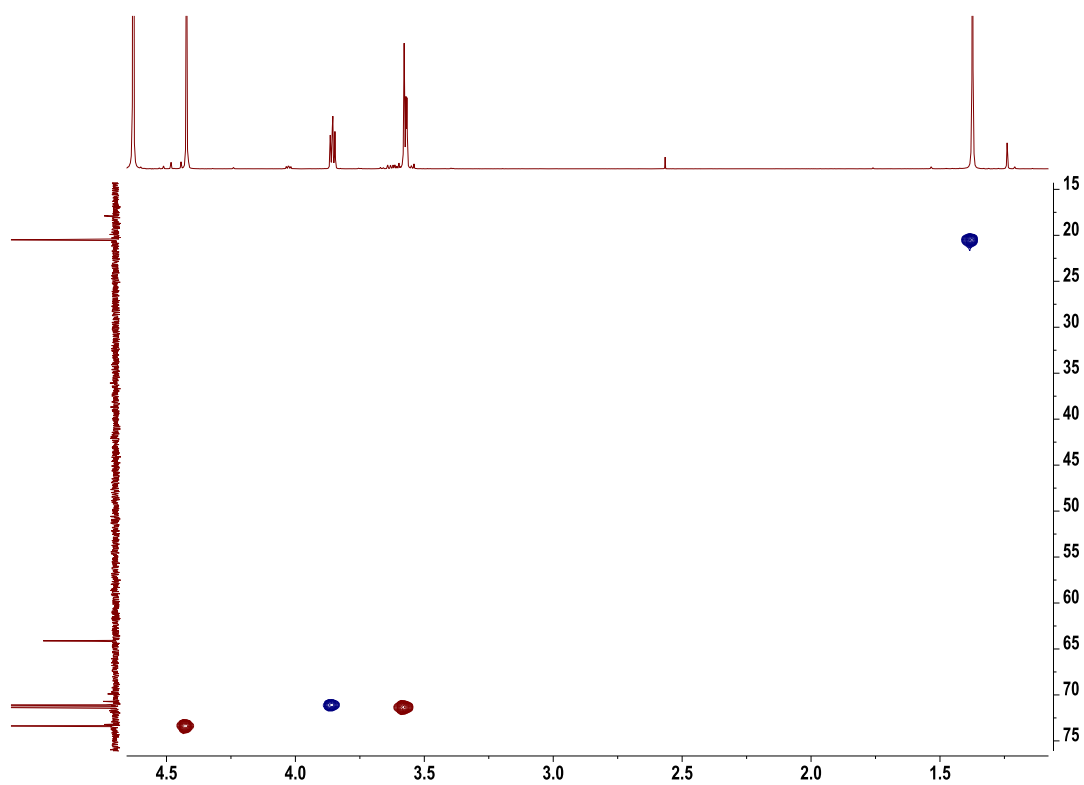
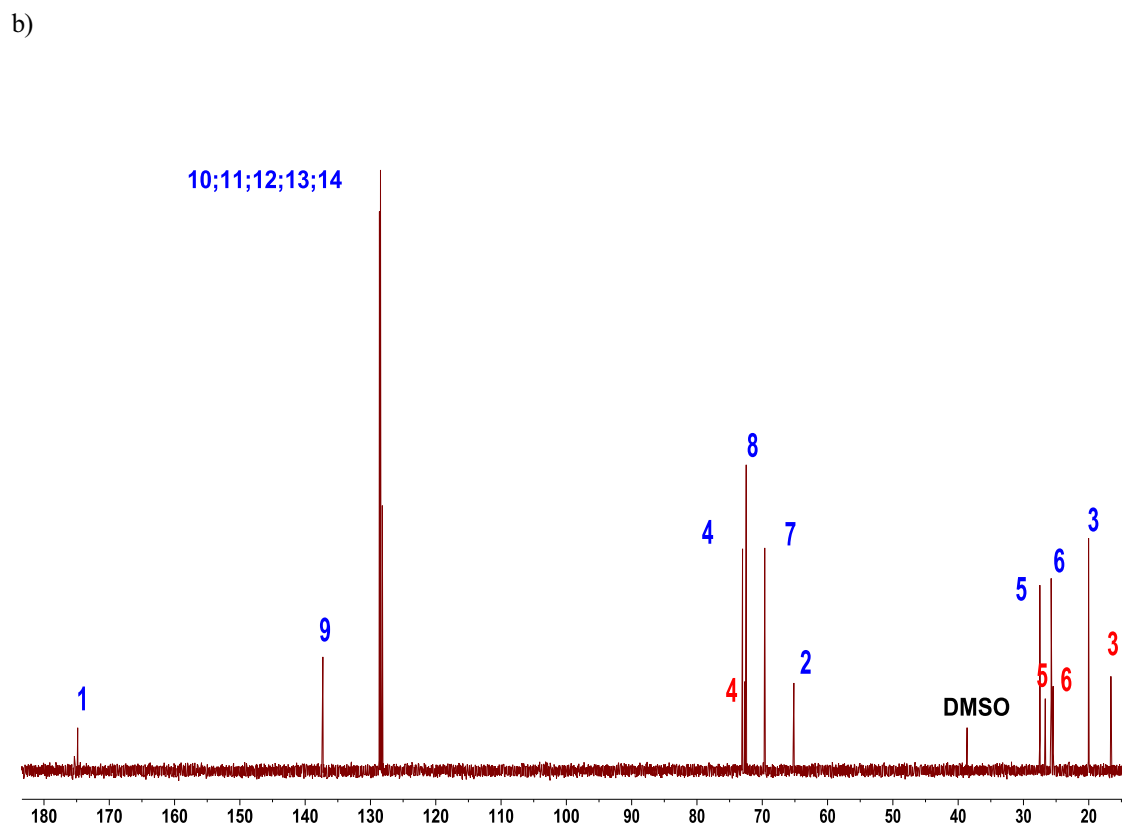
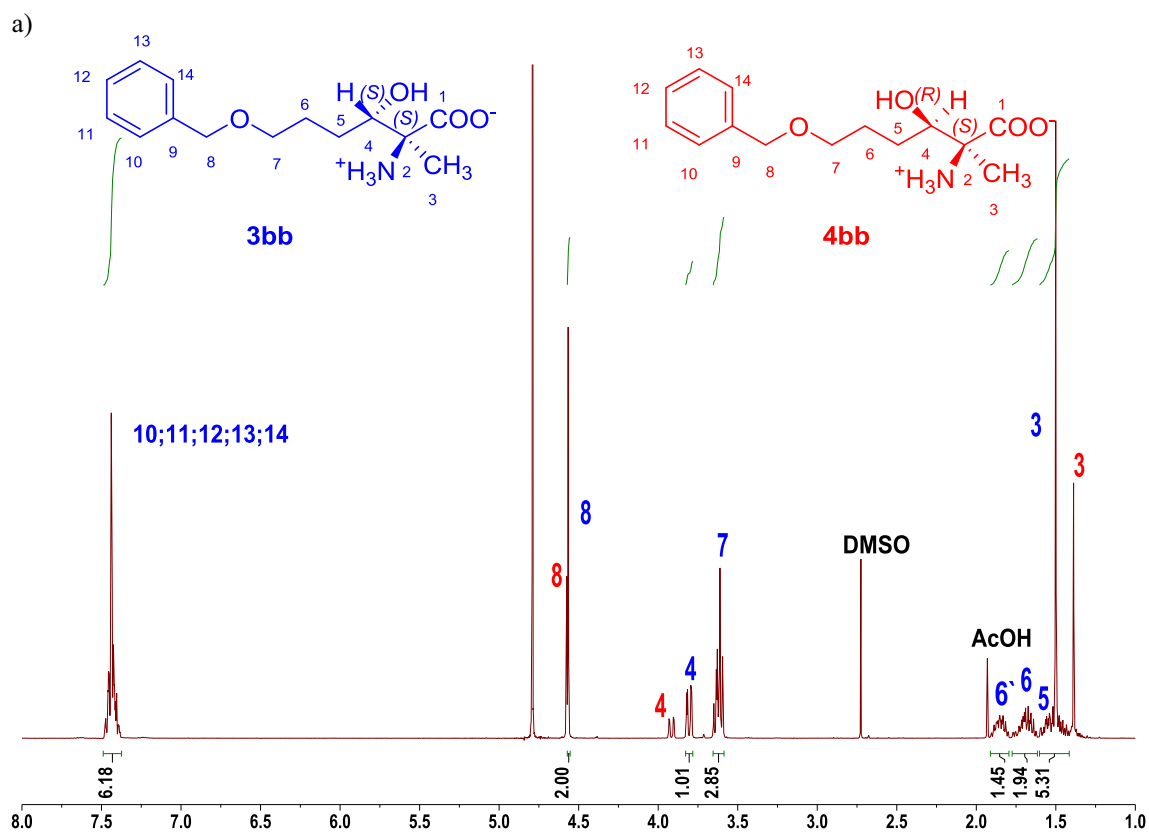
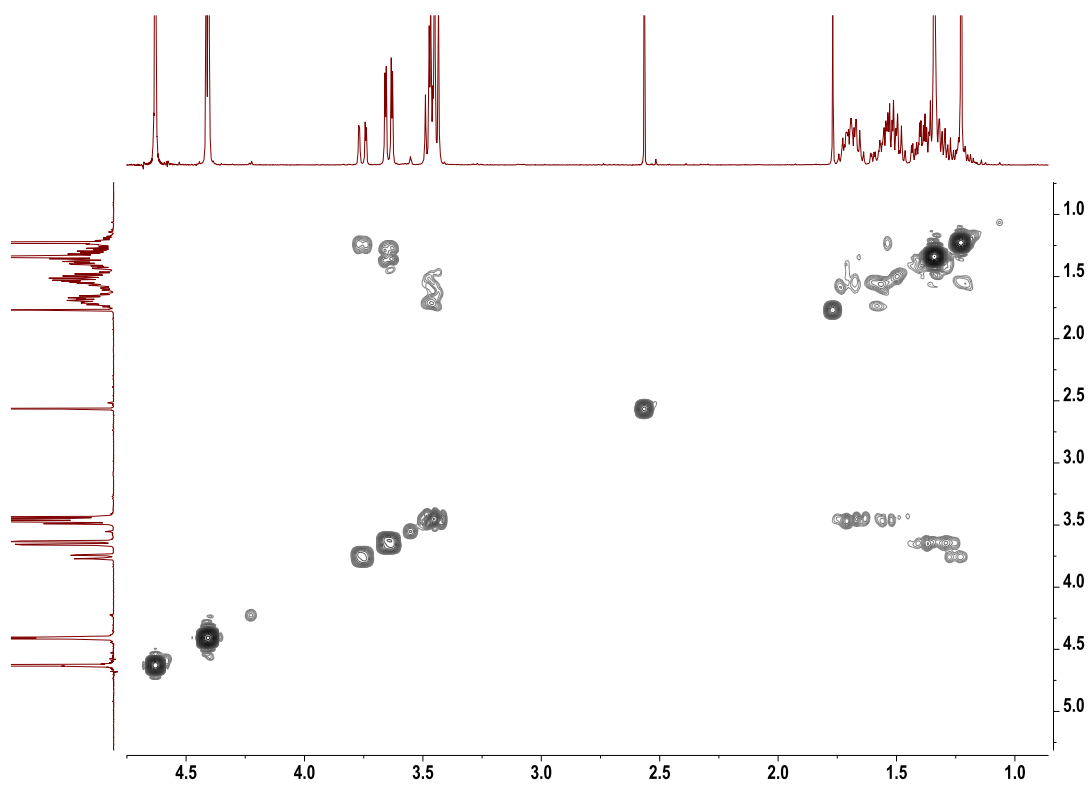


Figura34S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de **3bb** y **4bb** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Sth} nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.



c)



d)

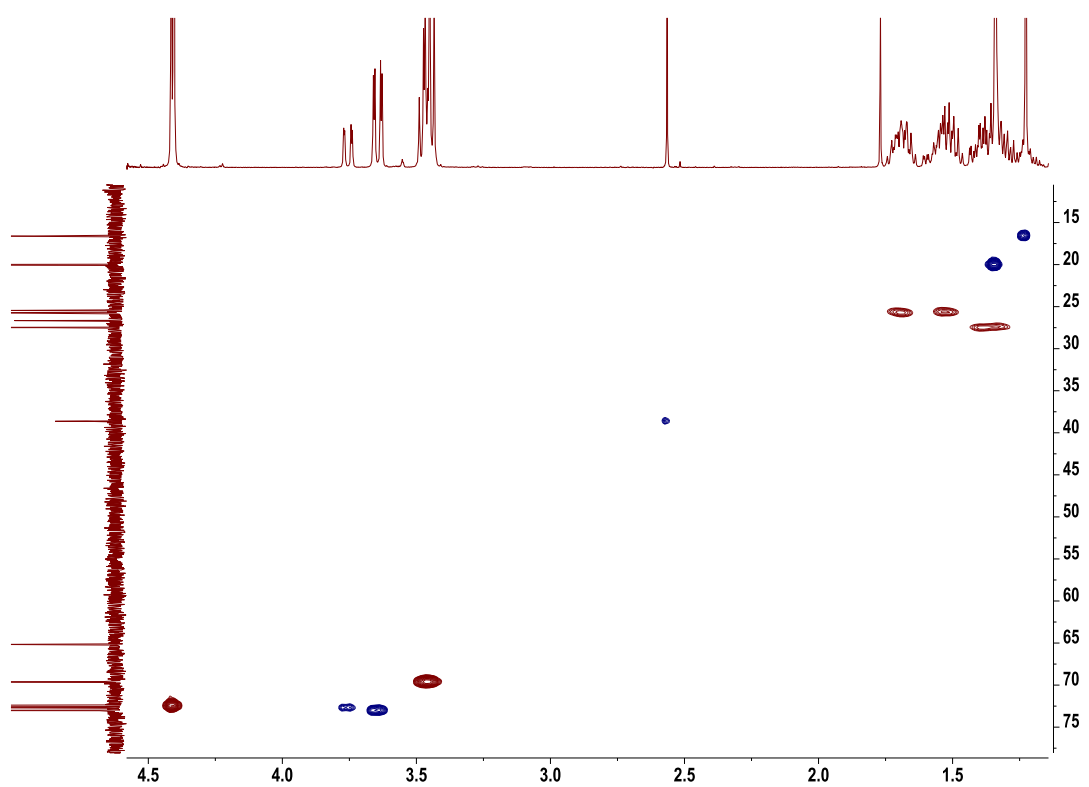
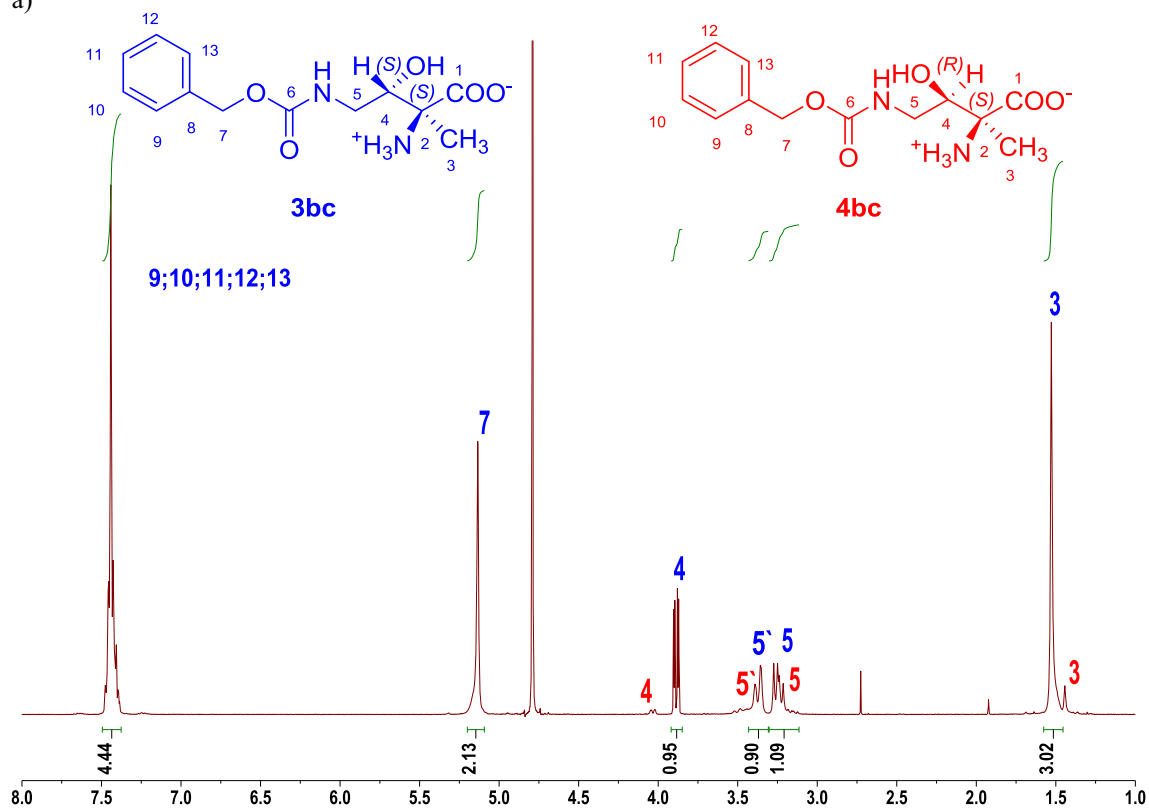
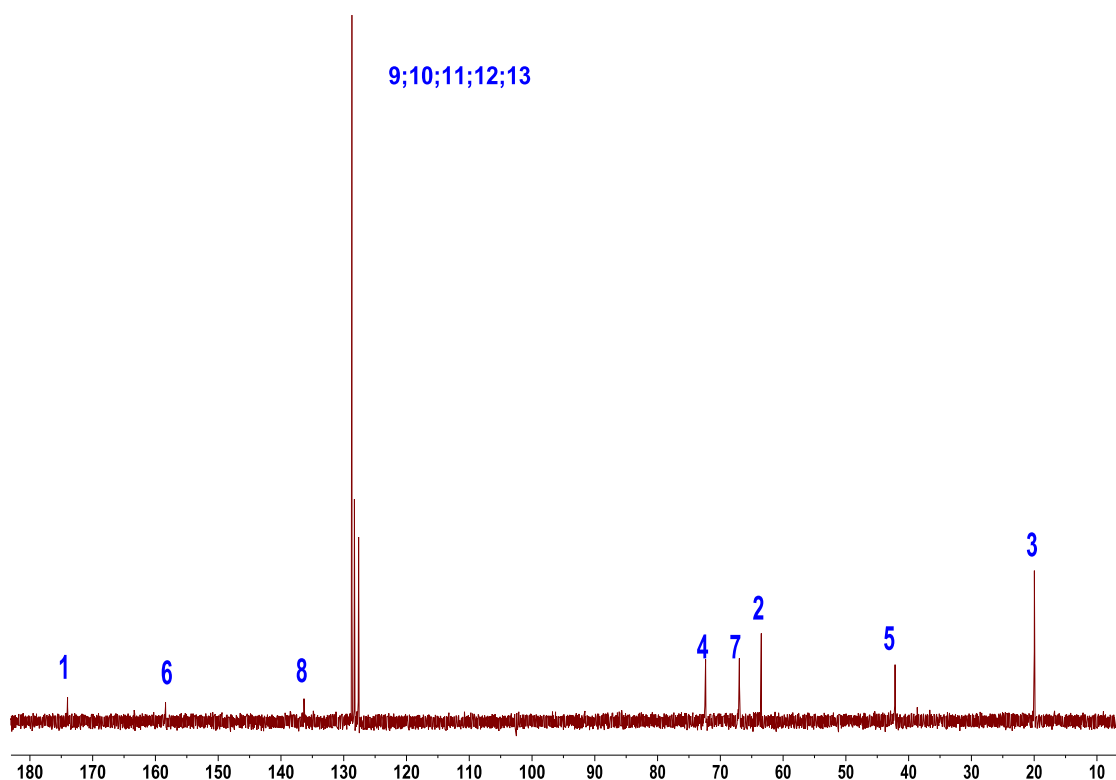


Figura35S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de **3bc** y **4bc** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Sth} nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.

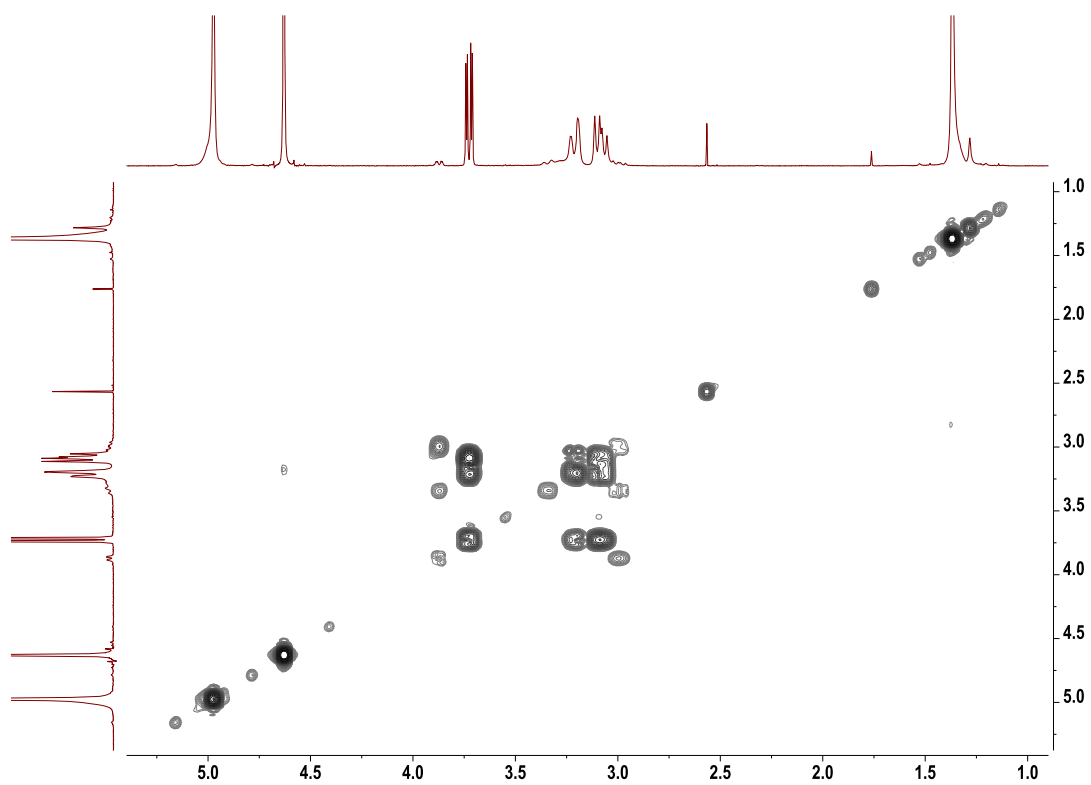
a)



b)



c)



d)

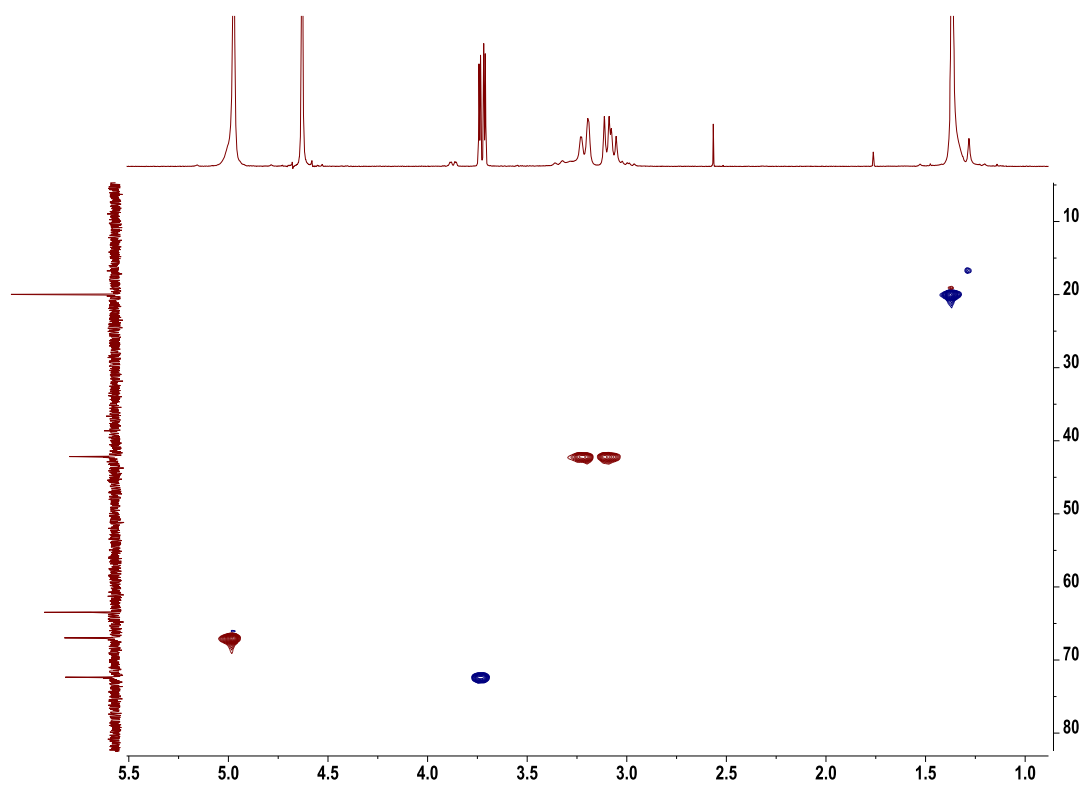
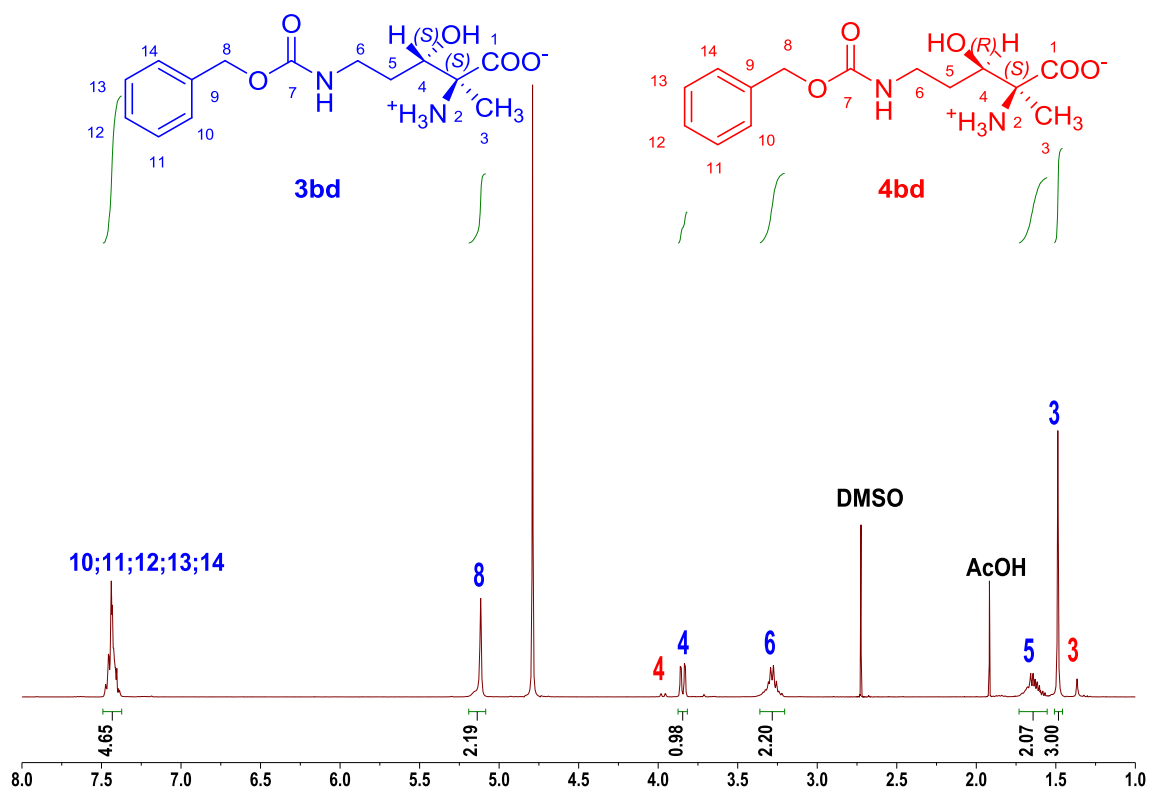
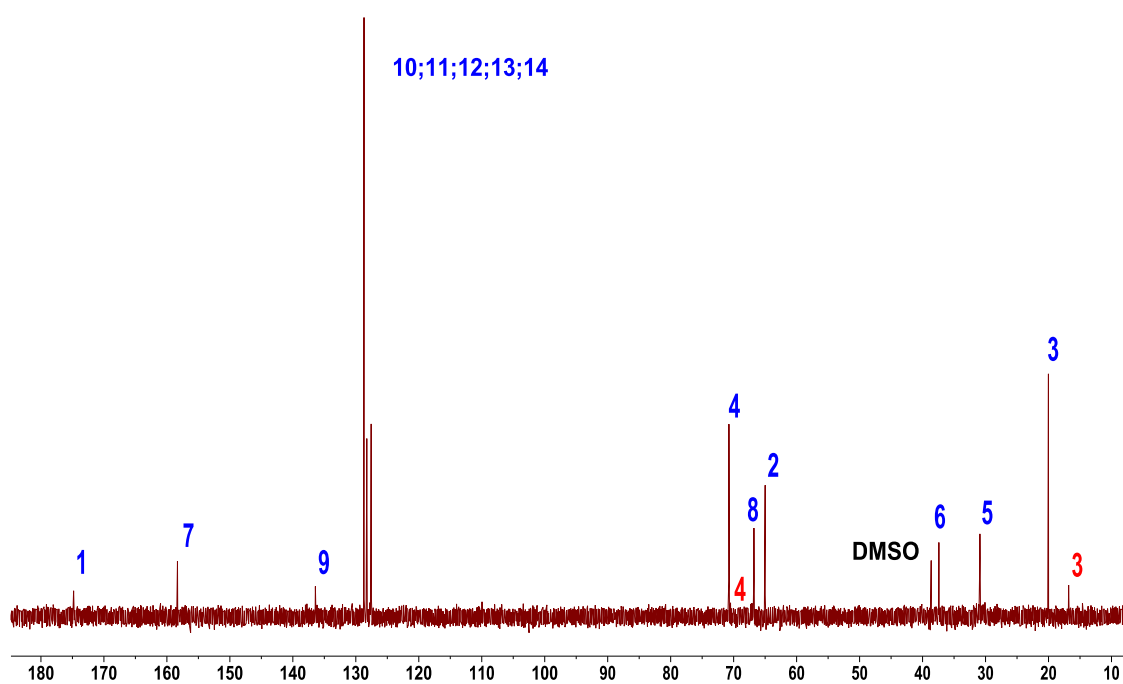


Figura36S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de **3bd** y **4bd** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Sth} nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.

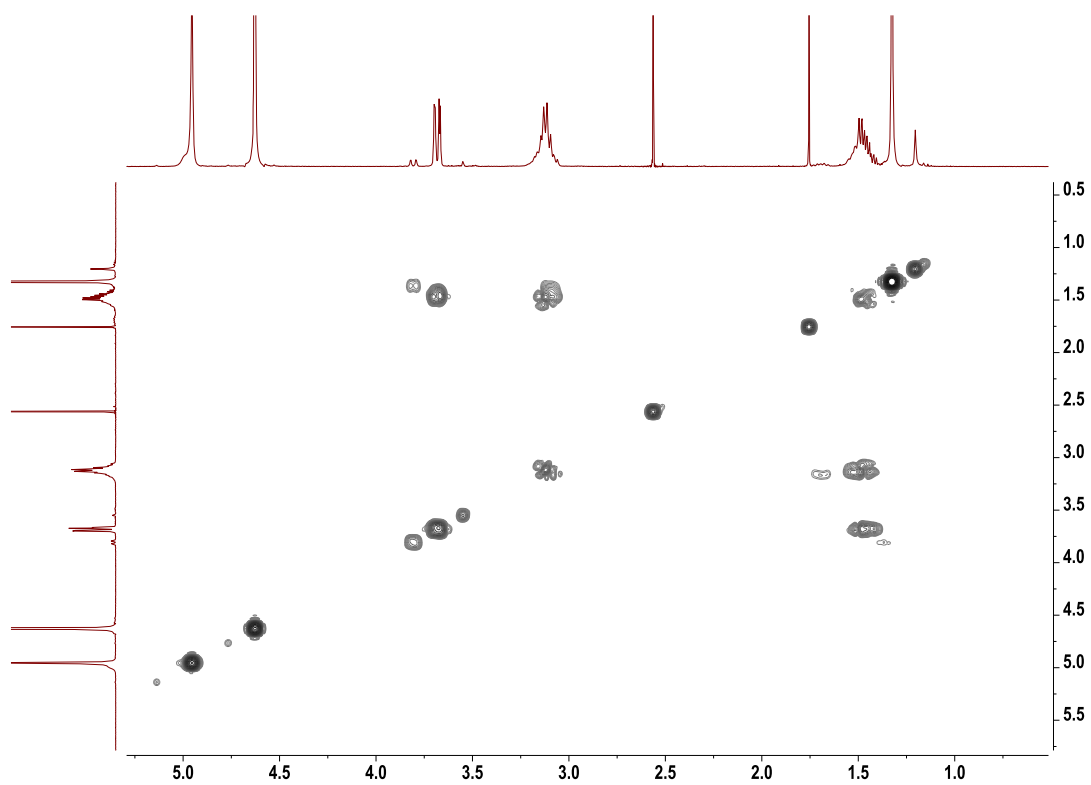
a)



b)



c)



d)

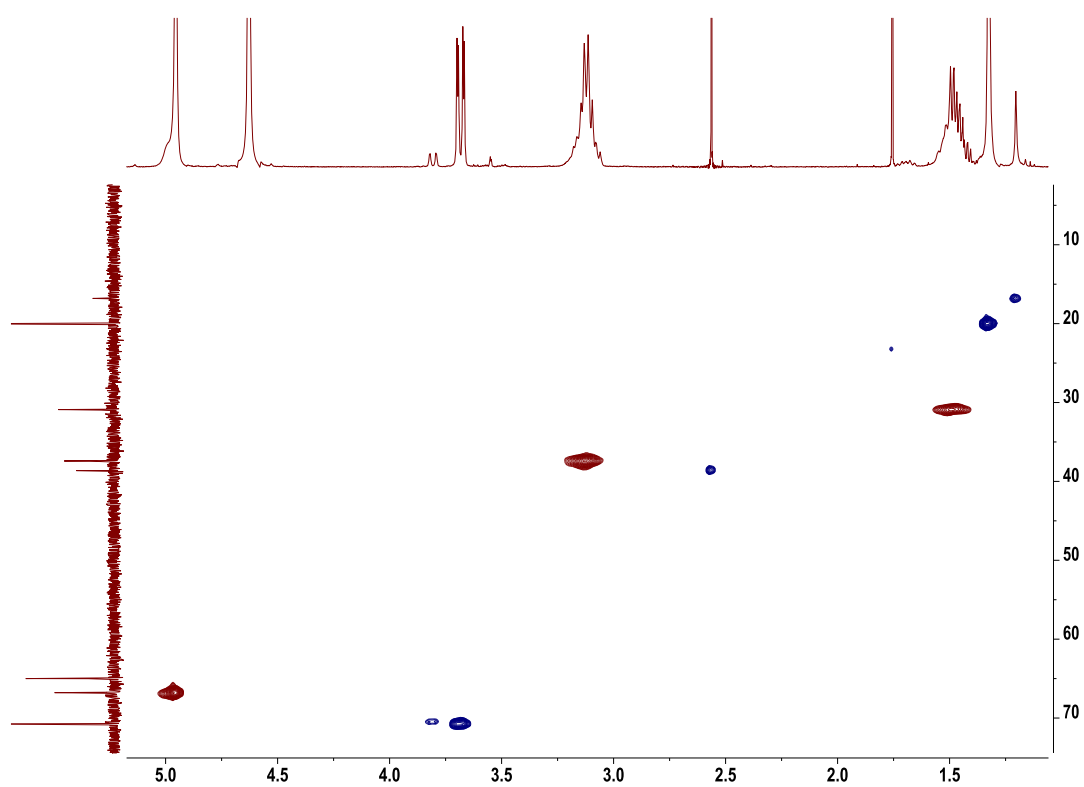
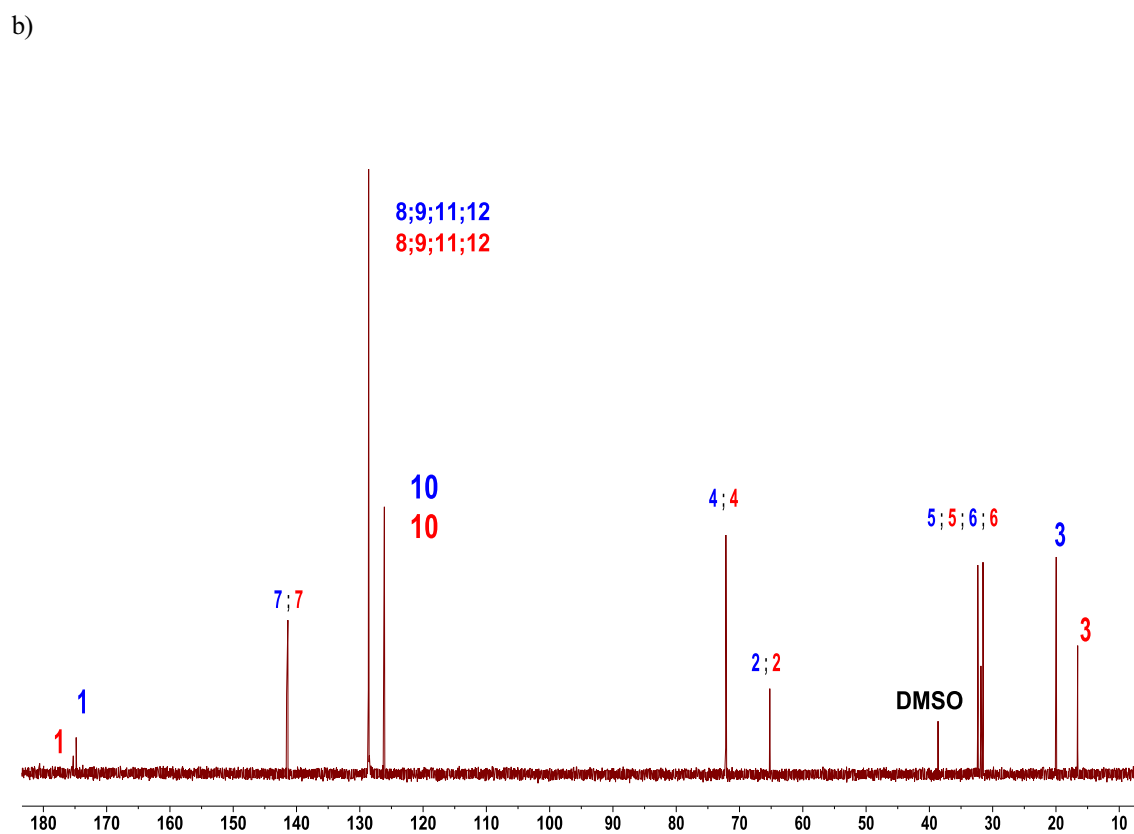
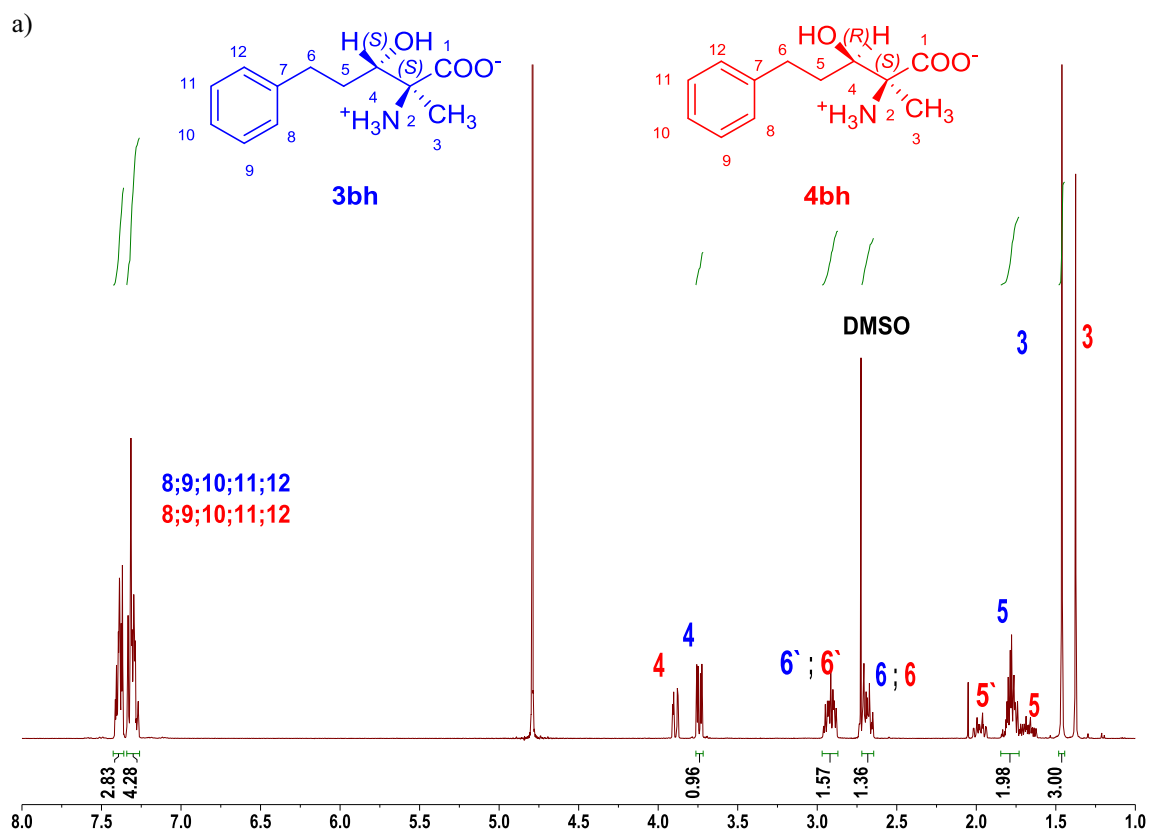
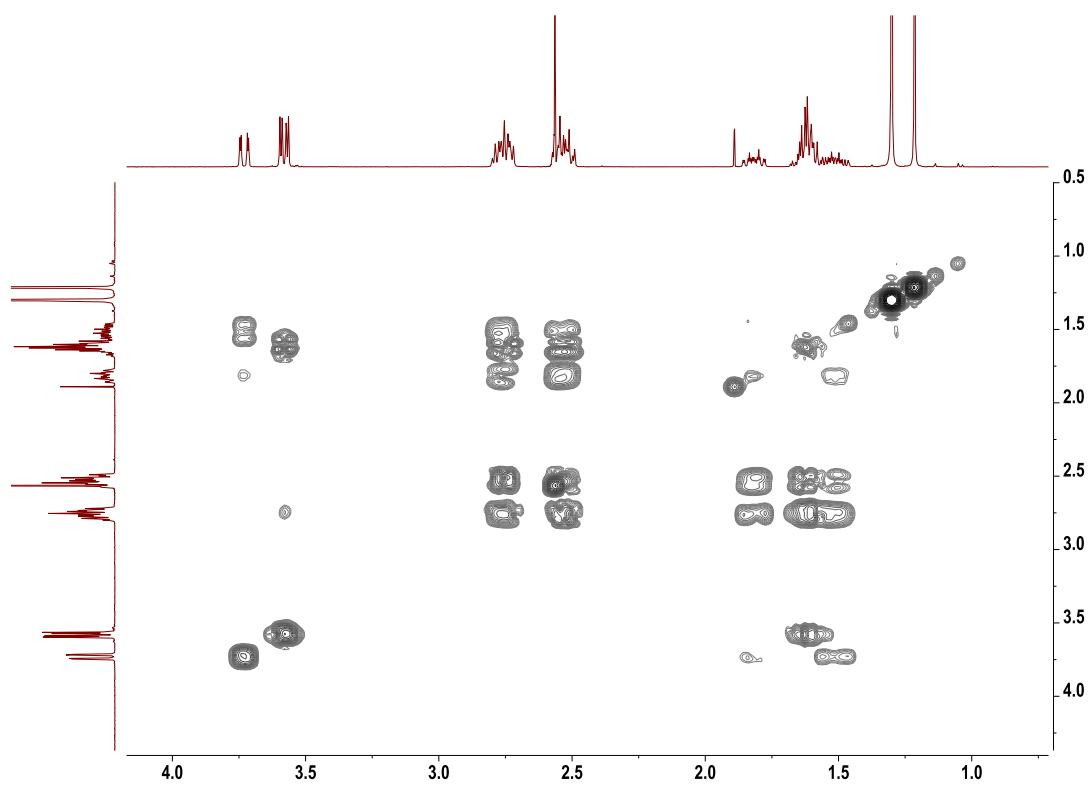


Figura37S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de **3bh** y **4bh** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Sth} nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.



c)



d)

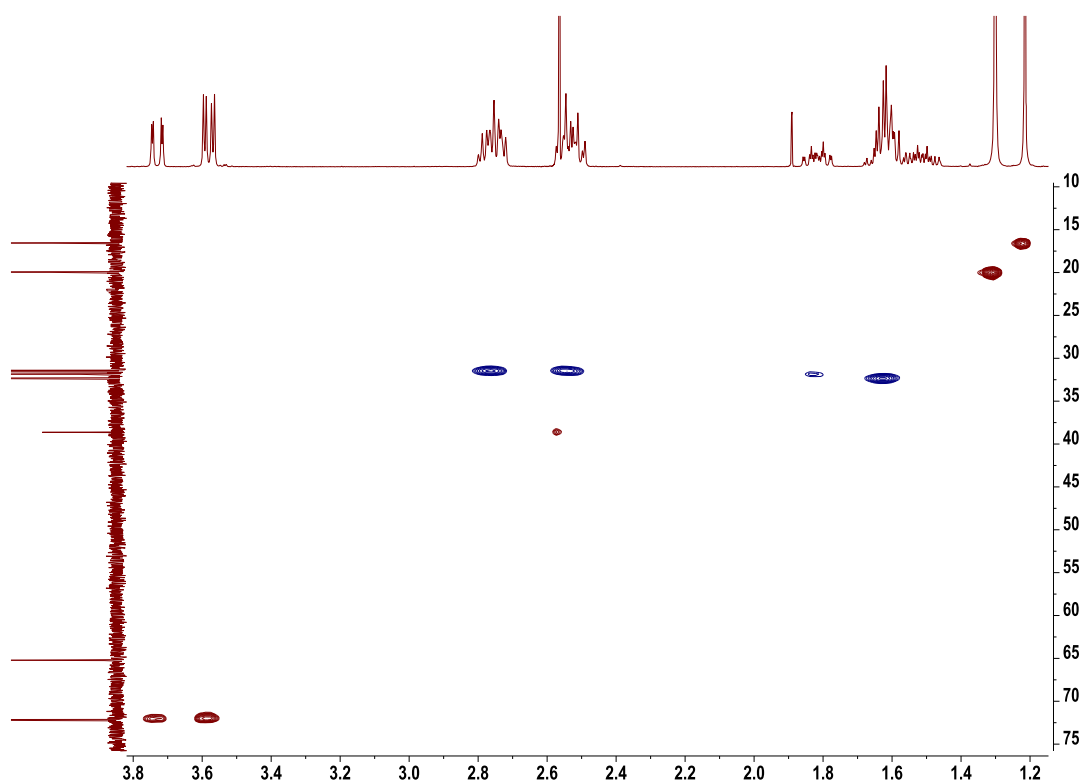
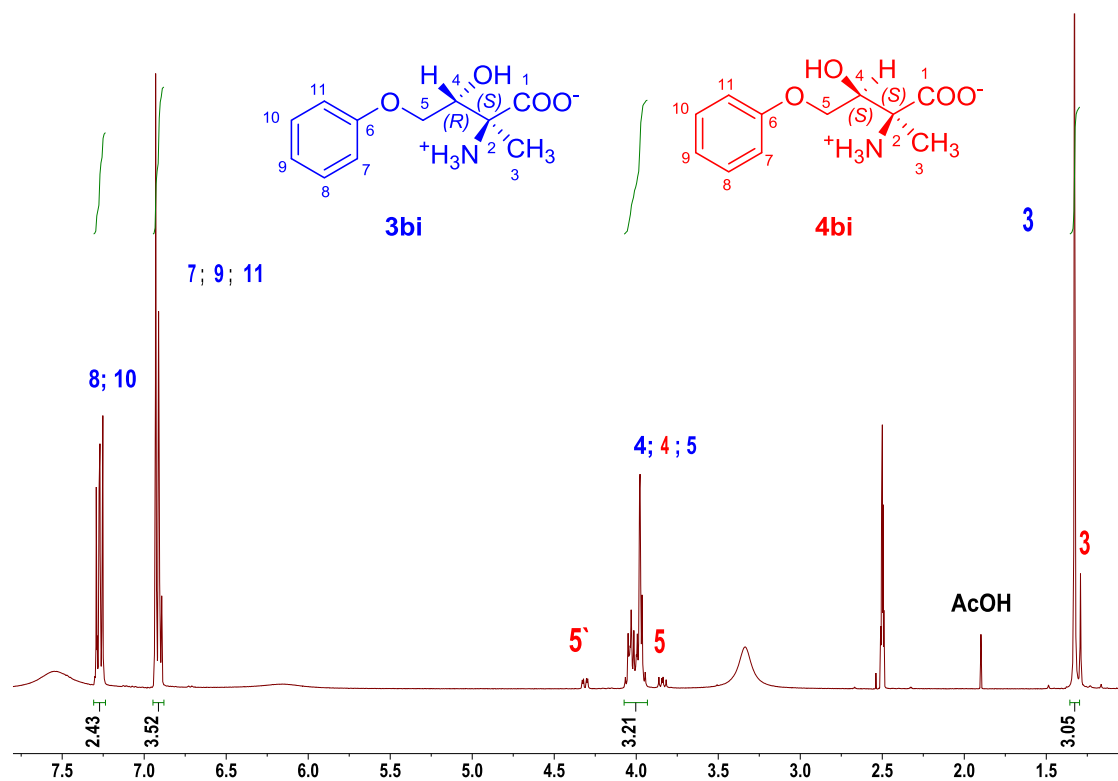
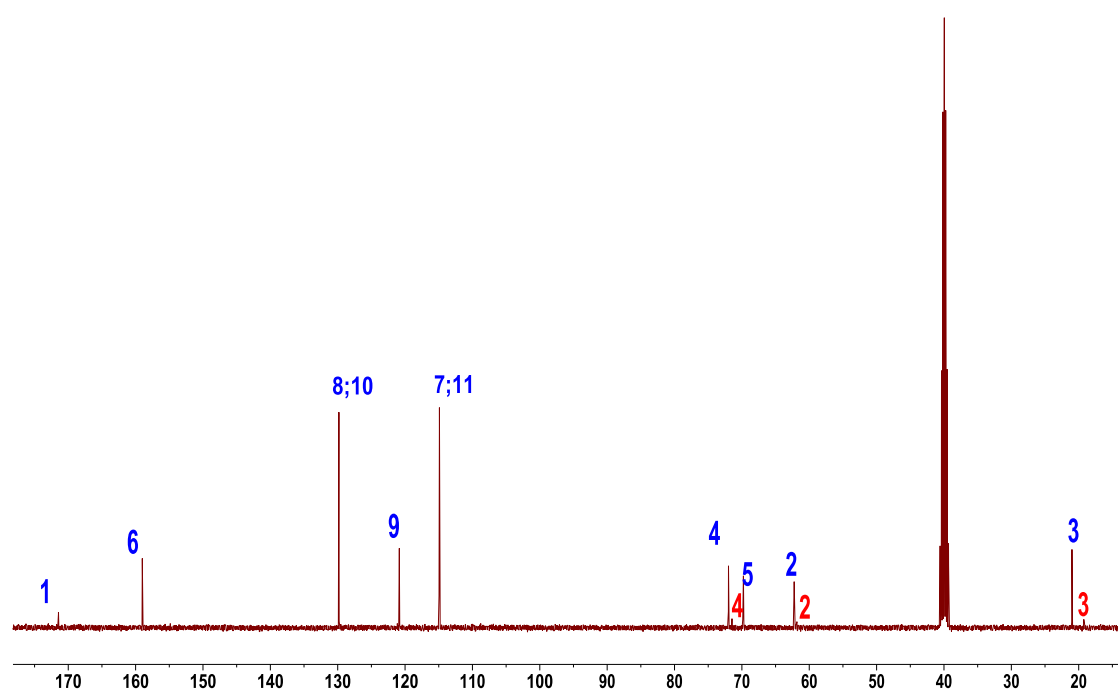


Figura38S(3.1). Espectro de RMN (DMSO- d_6) de **3bi** y **4bi** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Sth} nativa: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY y d) HSQC.

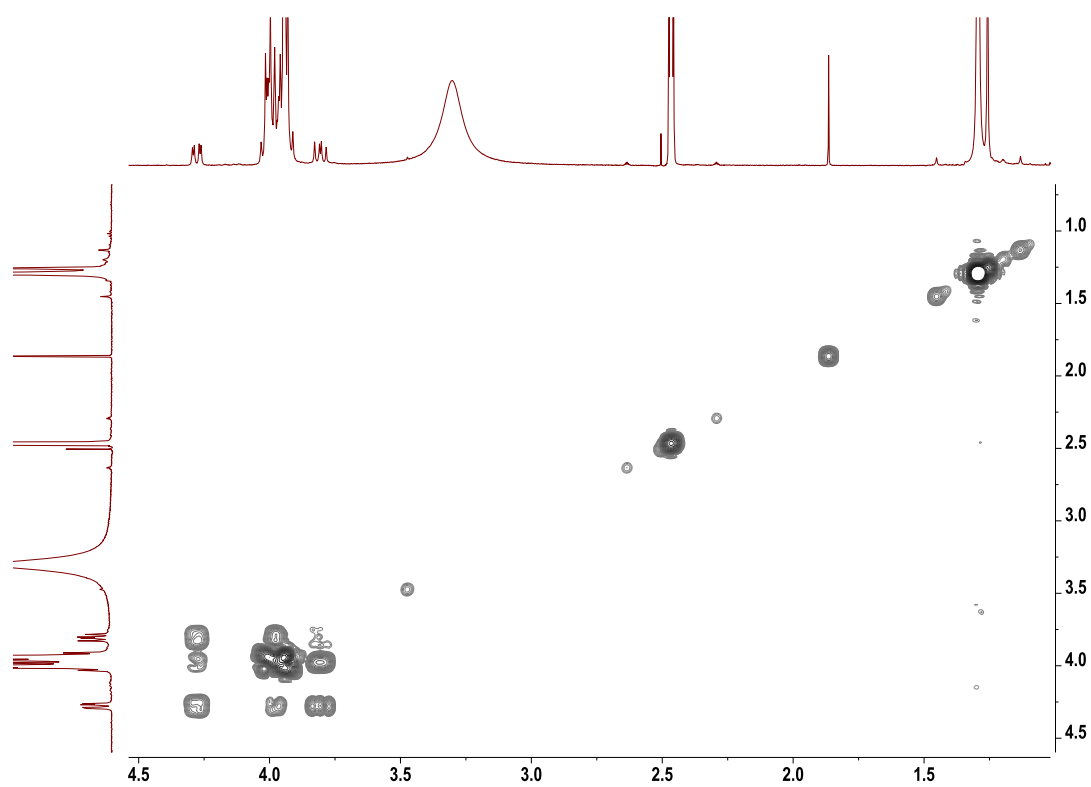
a)



b)



c)



d)

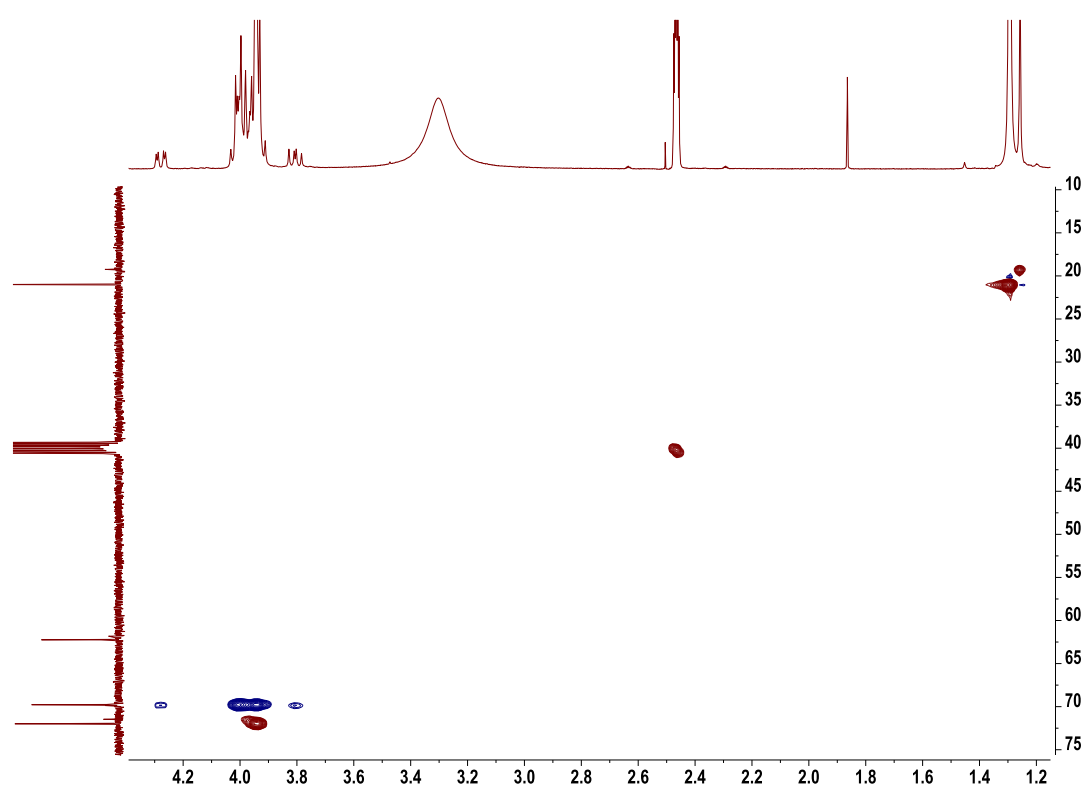
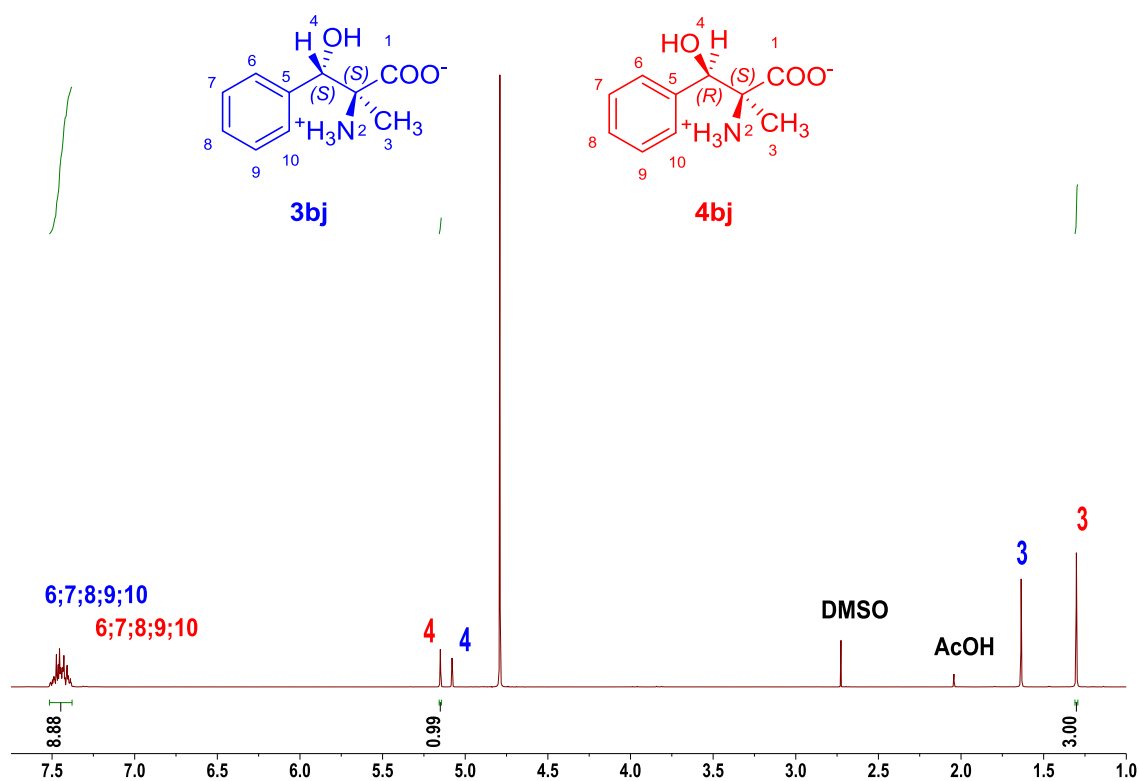
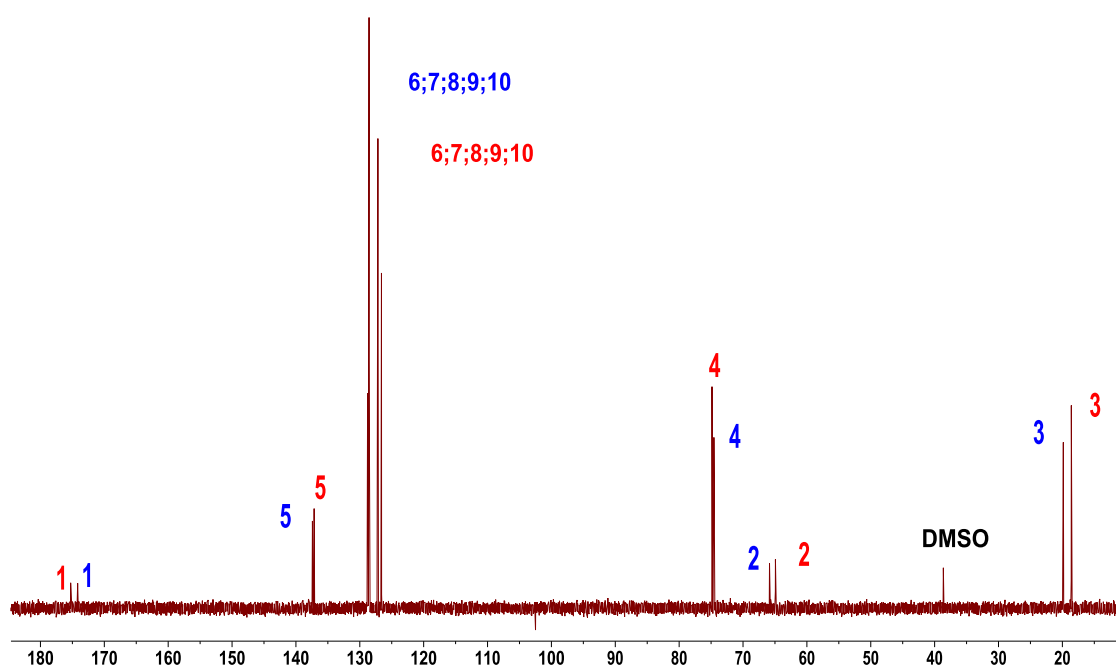


Figura39S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de **3bj** y **4bj** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Stt} nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.

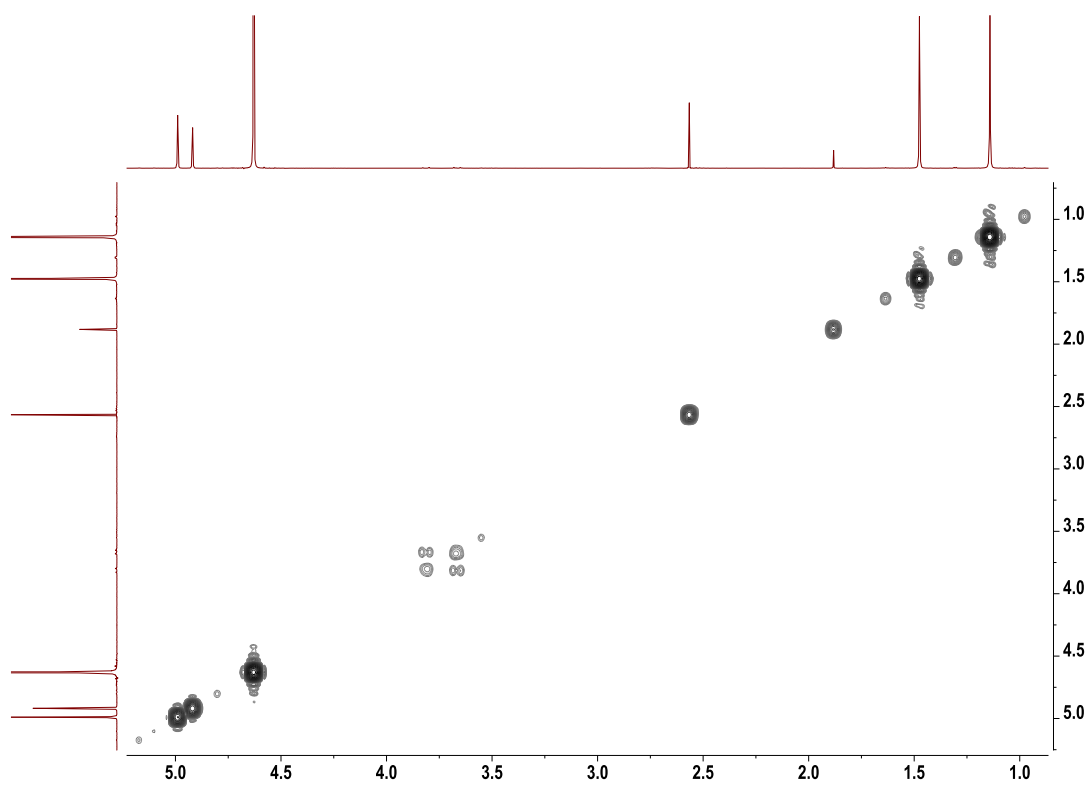
a)



b)



c)



d)

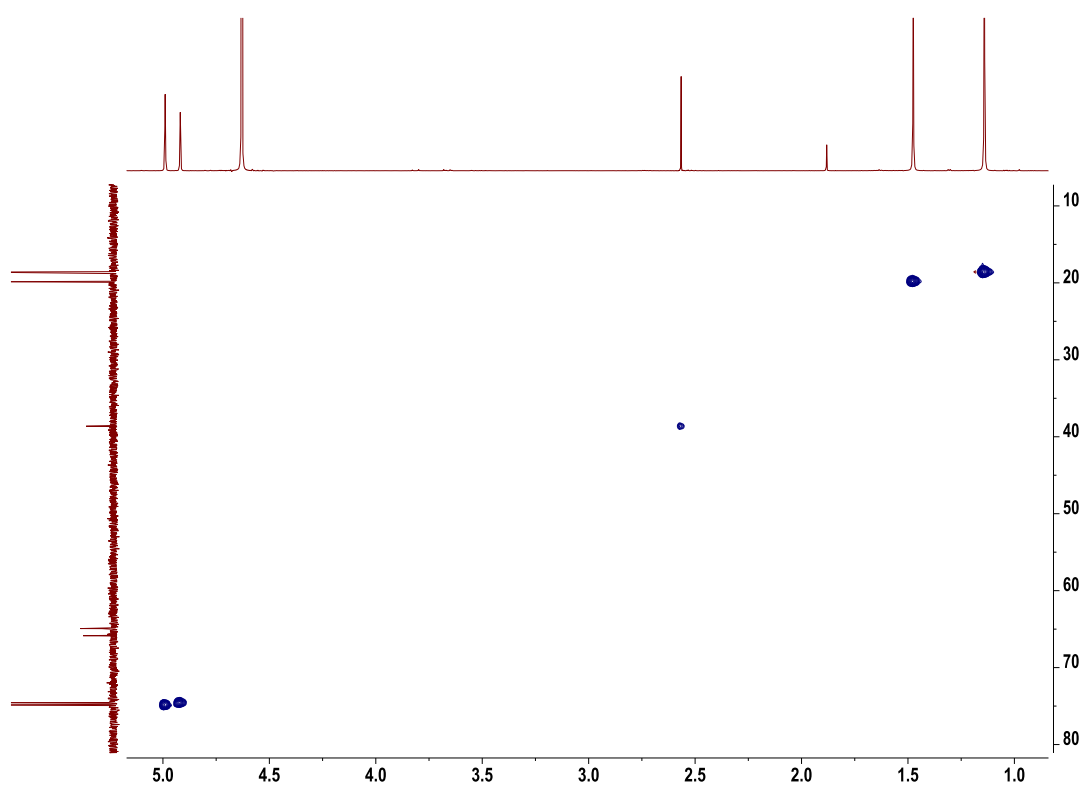
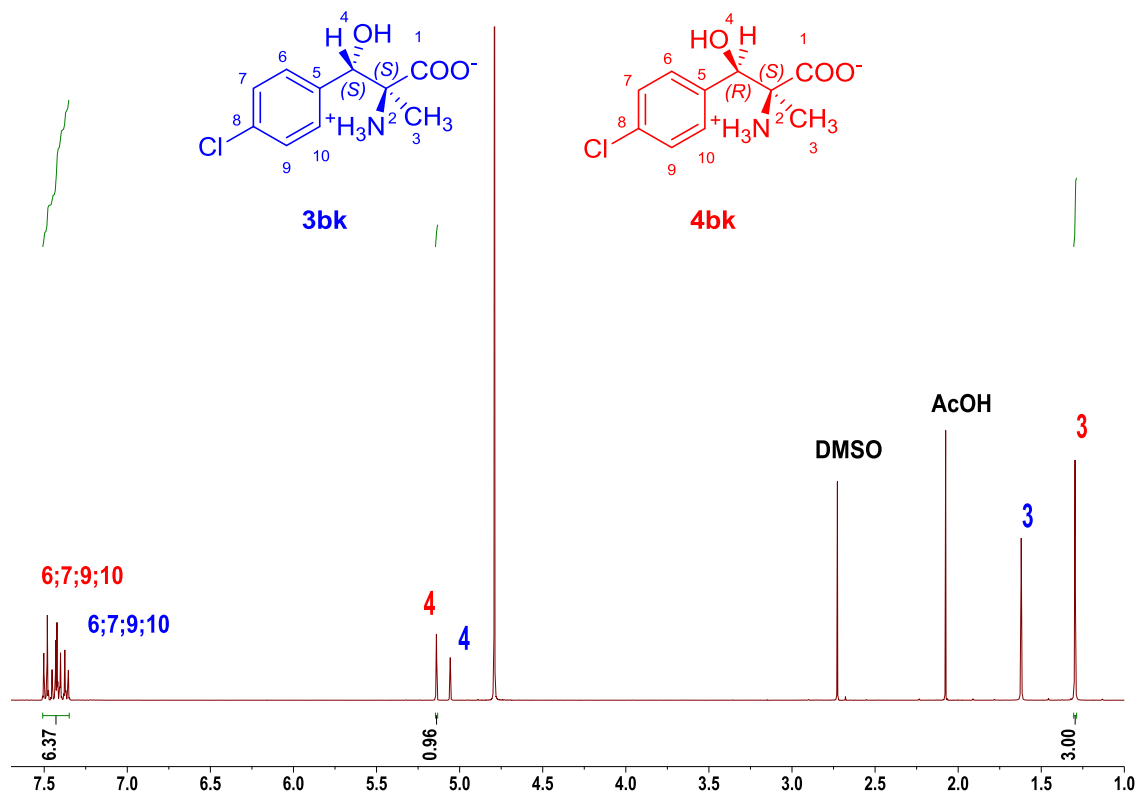
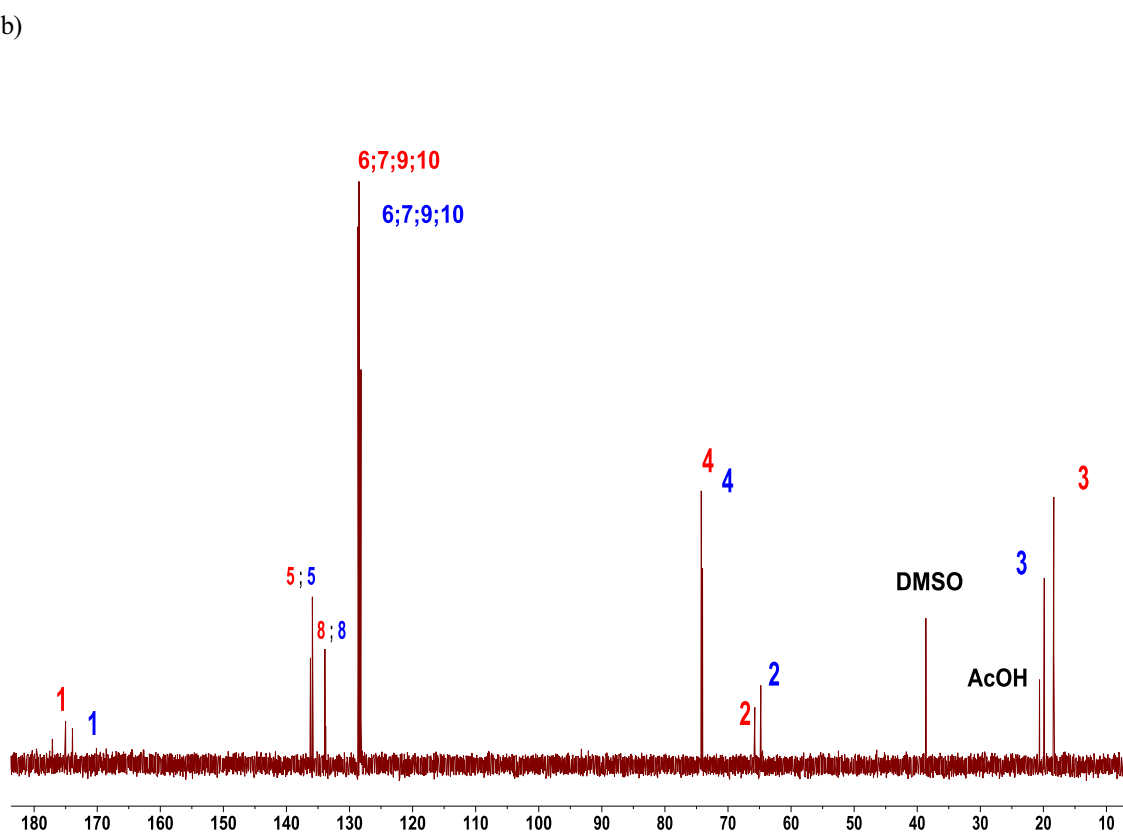


Figura40S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de **3bk** y **4bk** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Sth} nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.

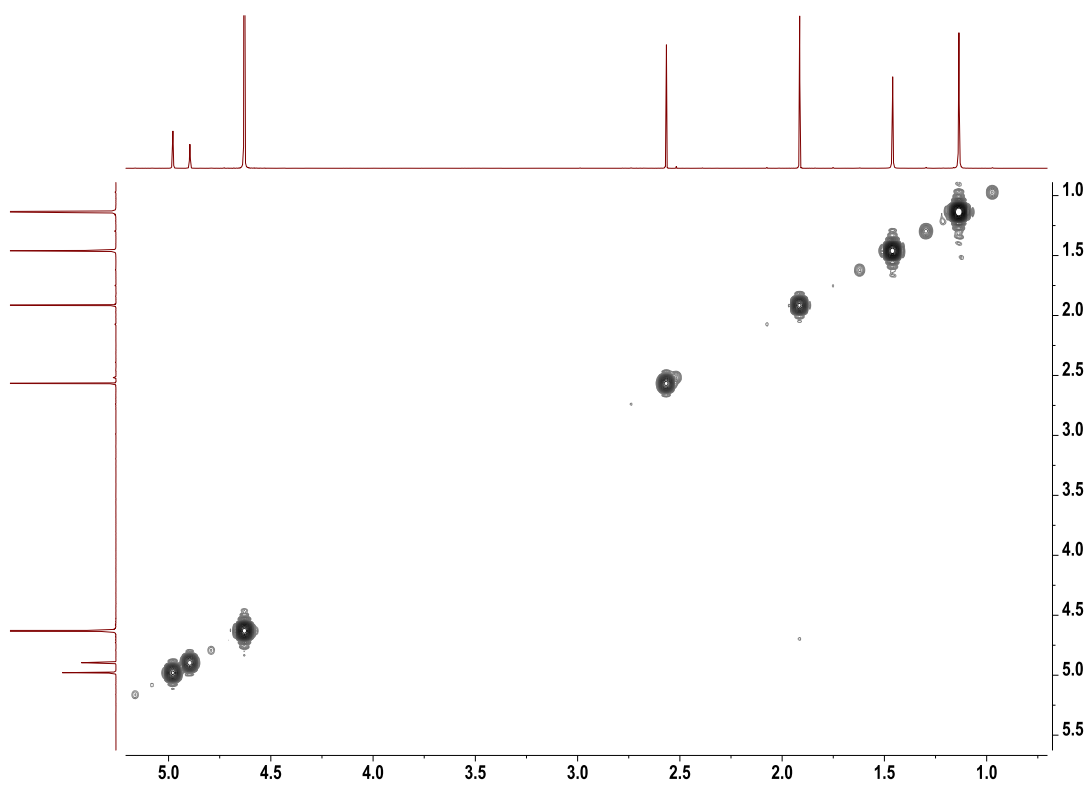
a)



b)



c)



d)

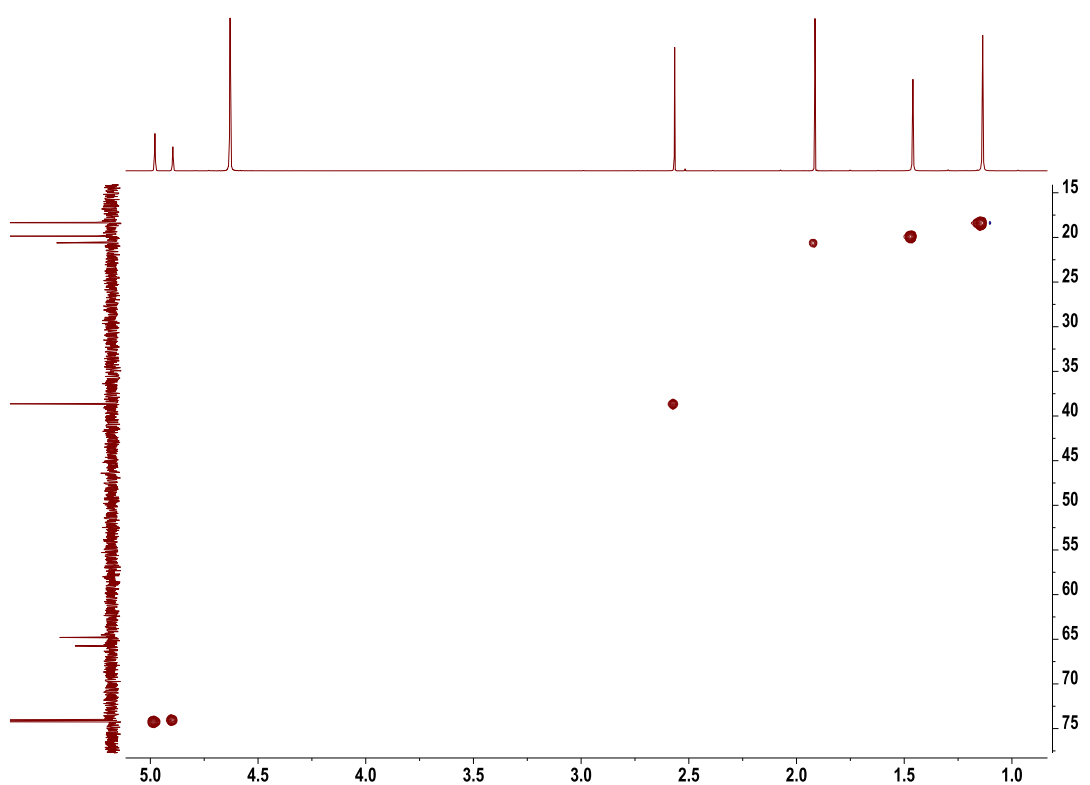
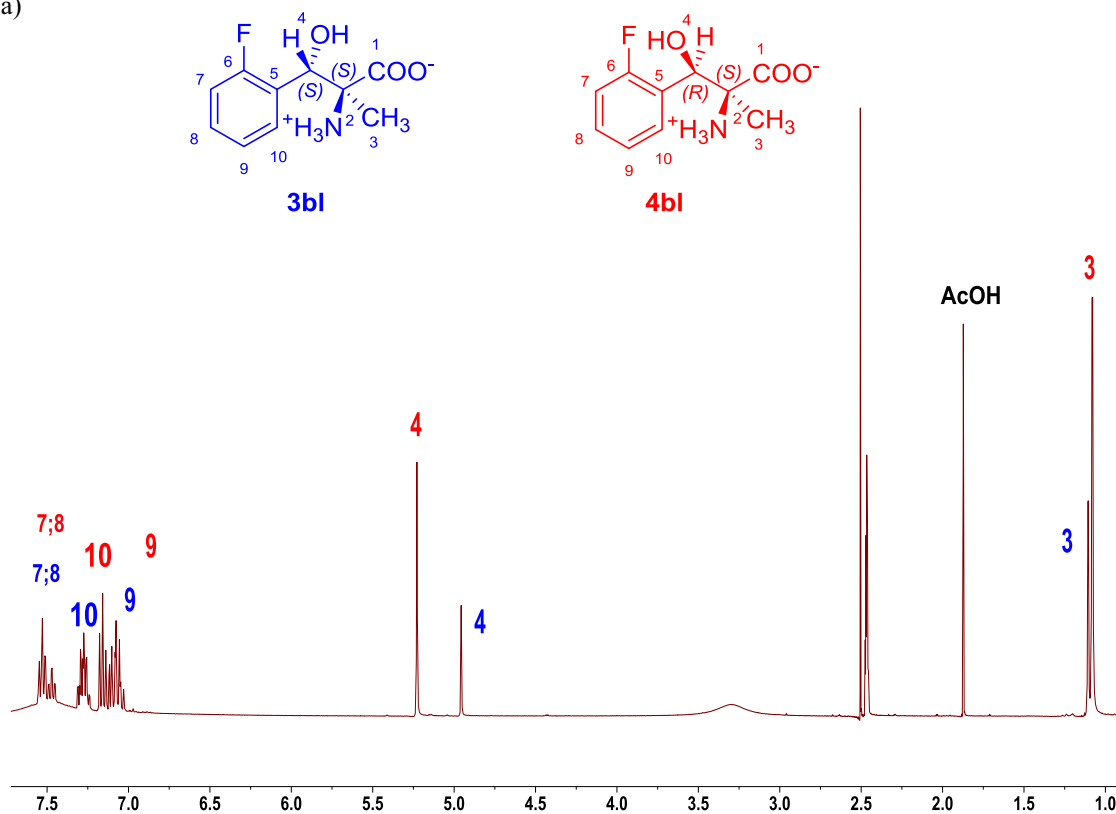
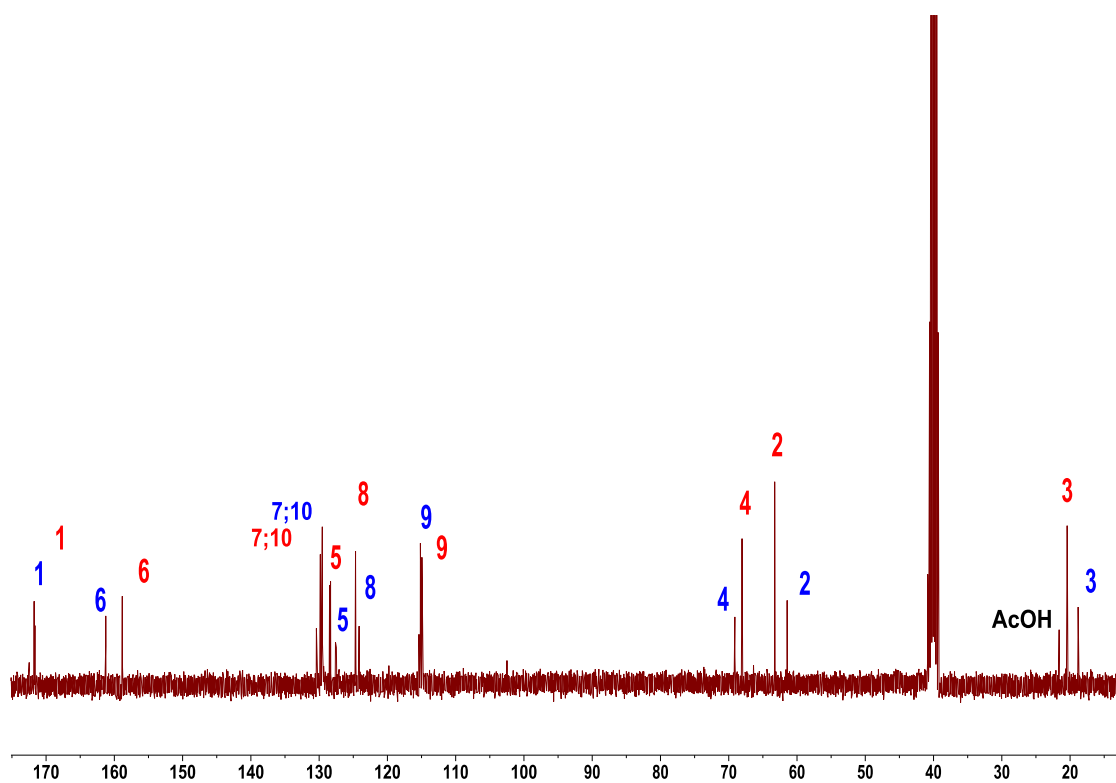


Figura41S(3.1). Espectro de RMN (DMSO- d_6) de **3bl** y **4bl** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Sth} nativa: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY y d) HSQC.

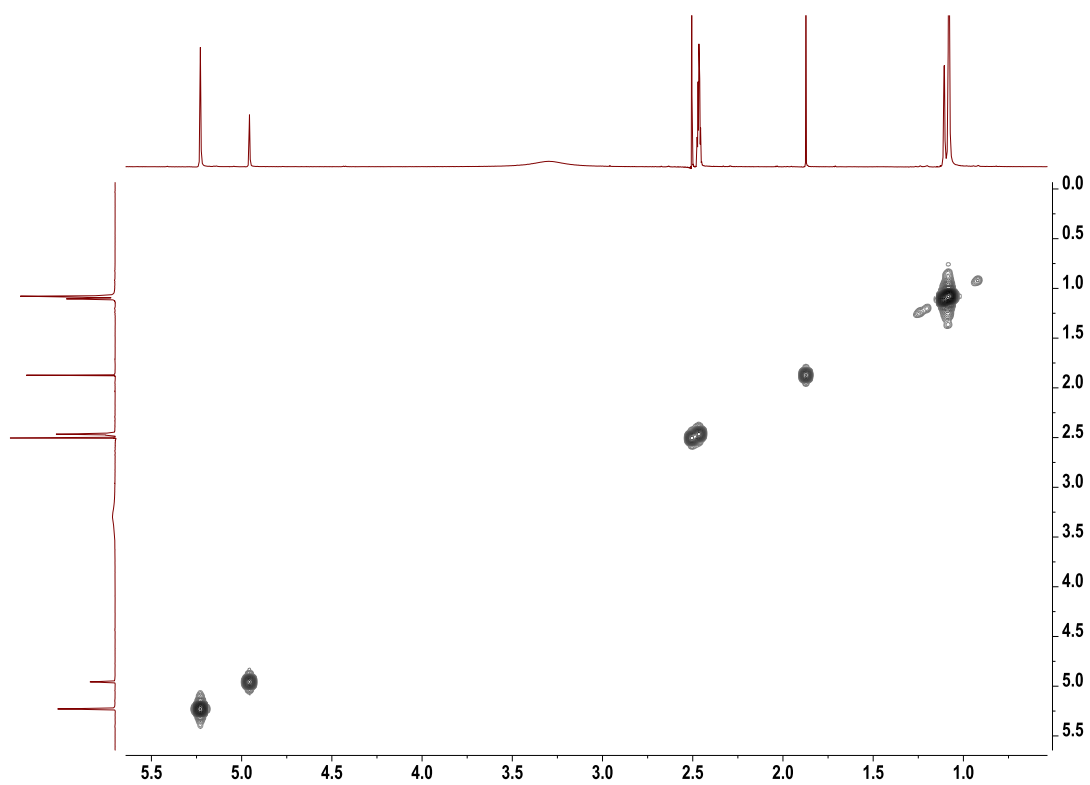
a)



b)



c)



d)

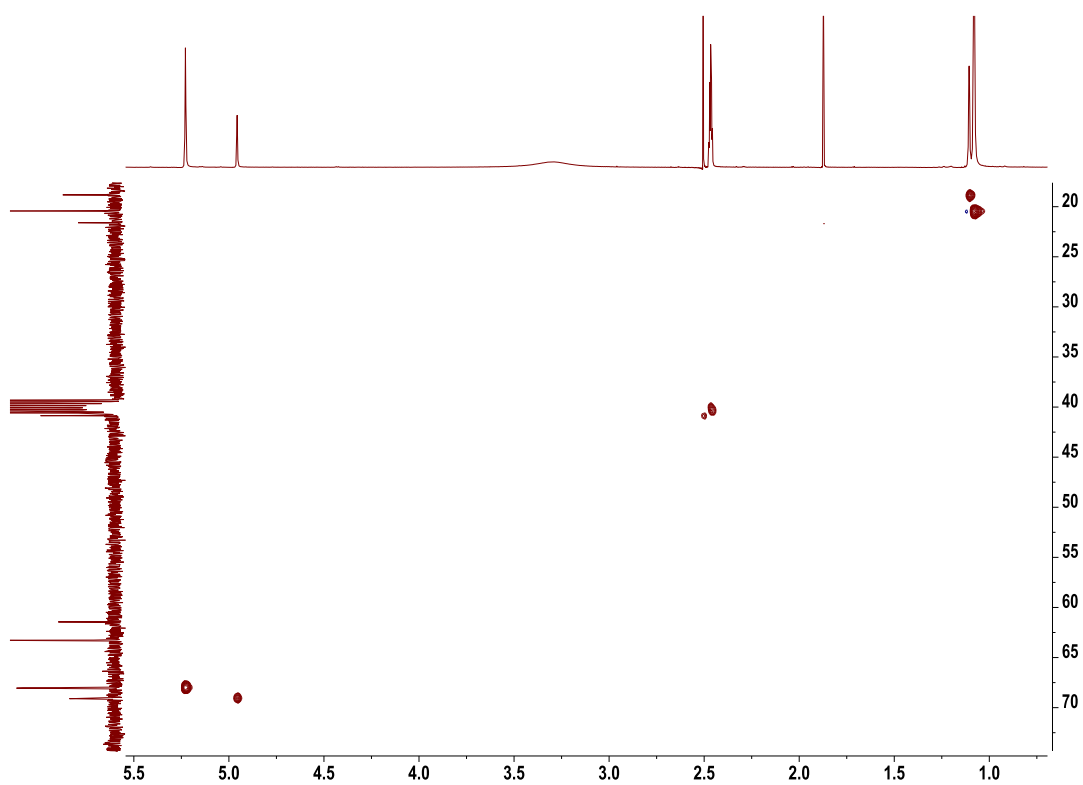
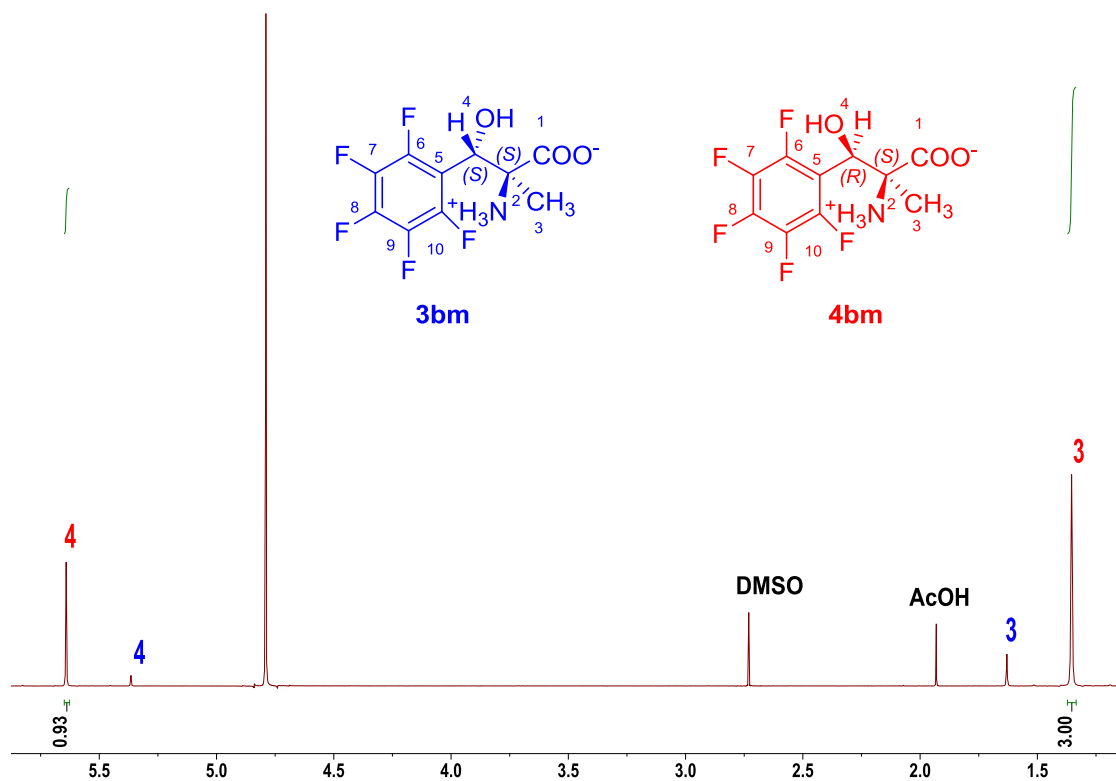
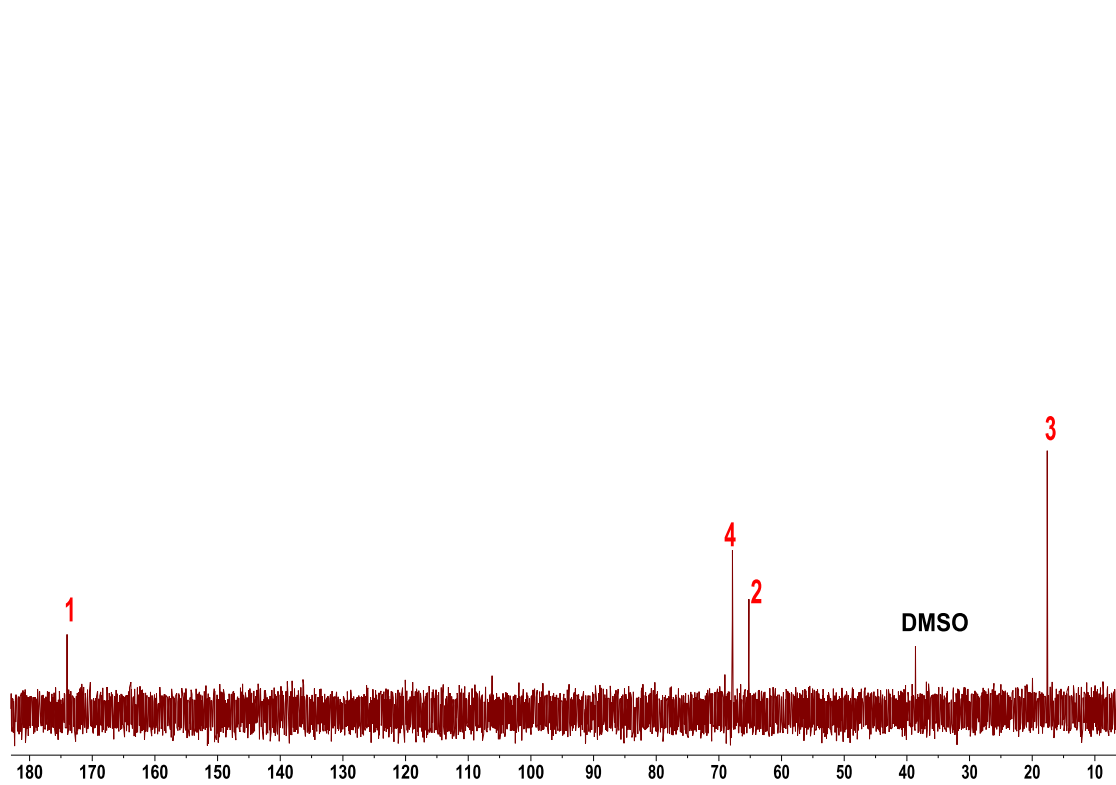


Figura42S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de **3bm** y **4bm** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Sth} nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.

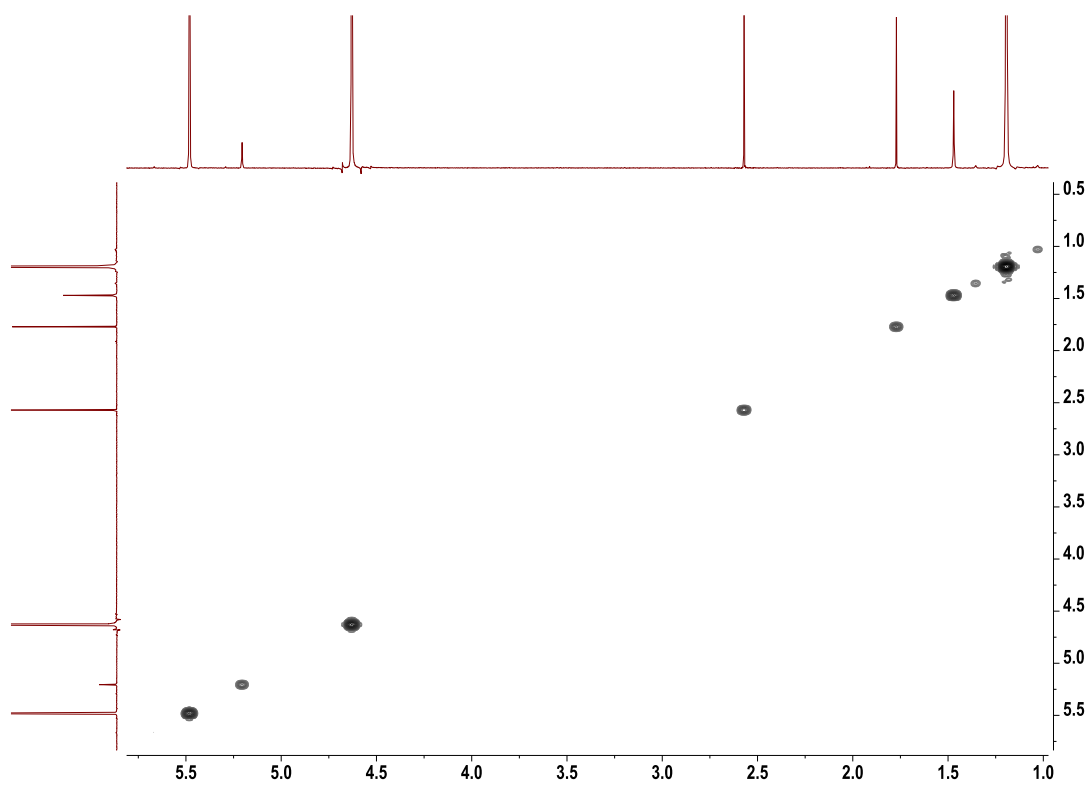
a)



b)



c)



d)

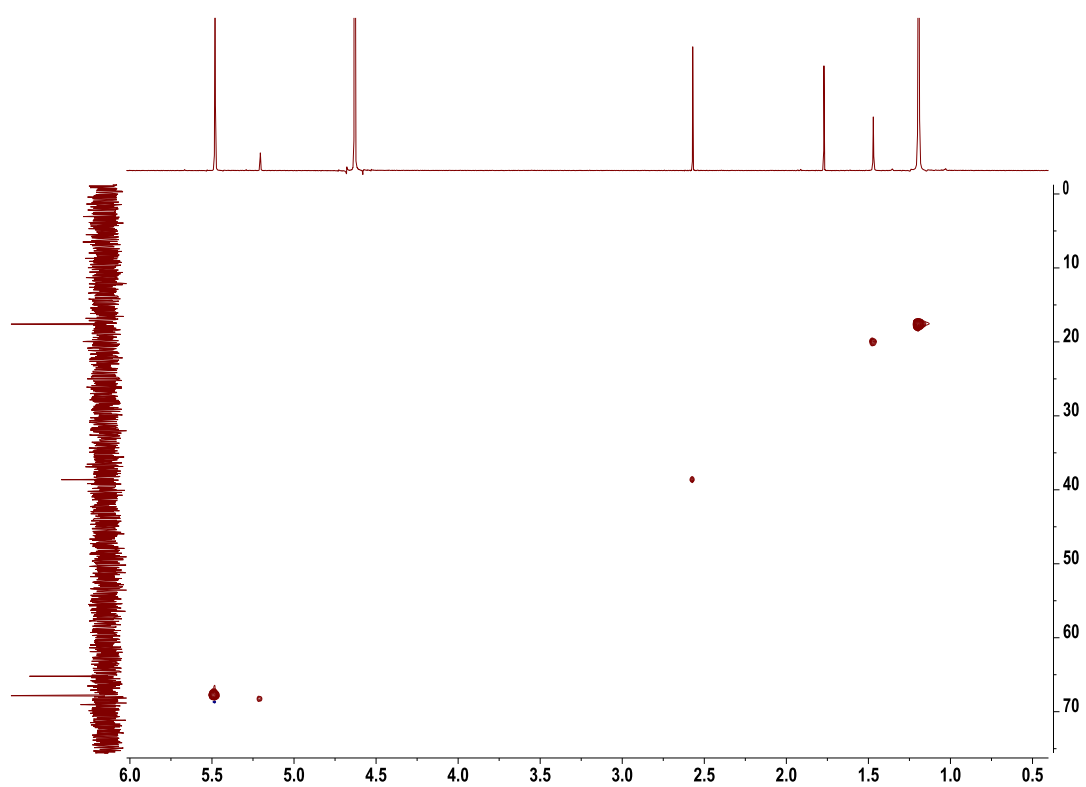
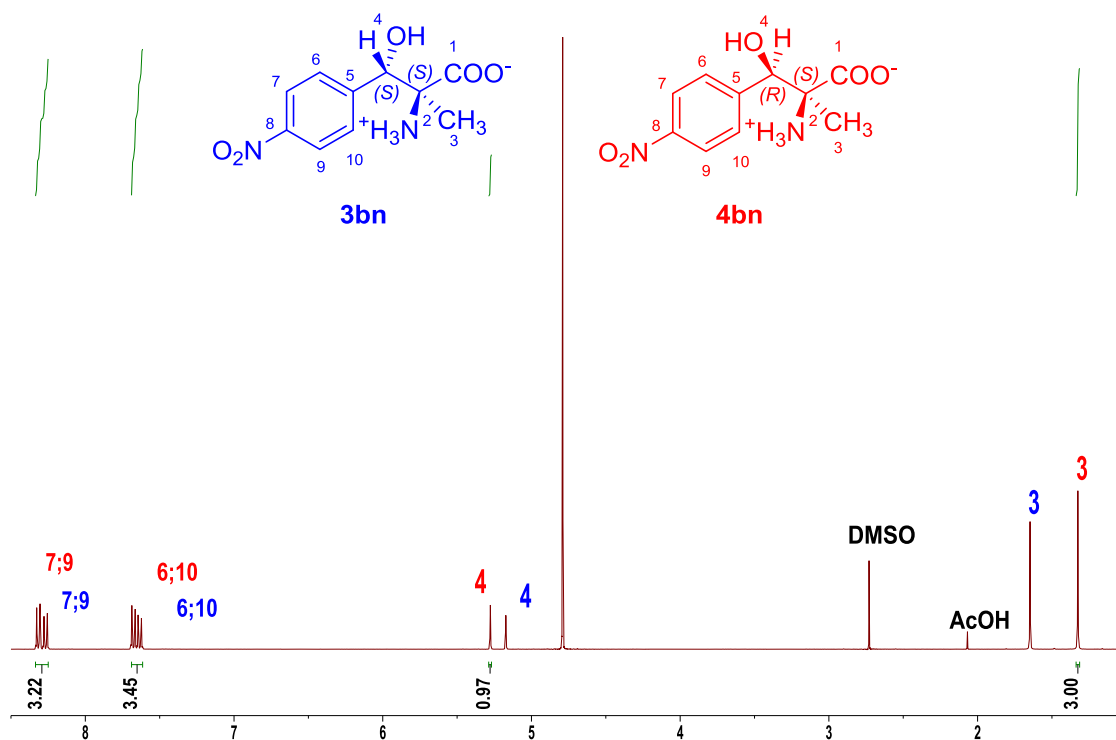
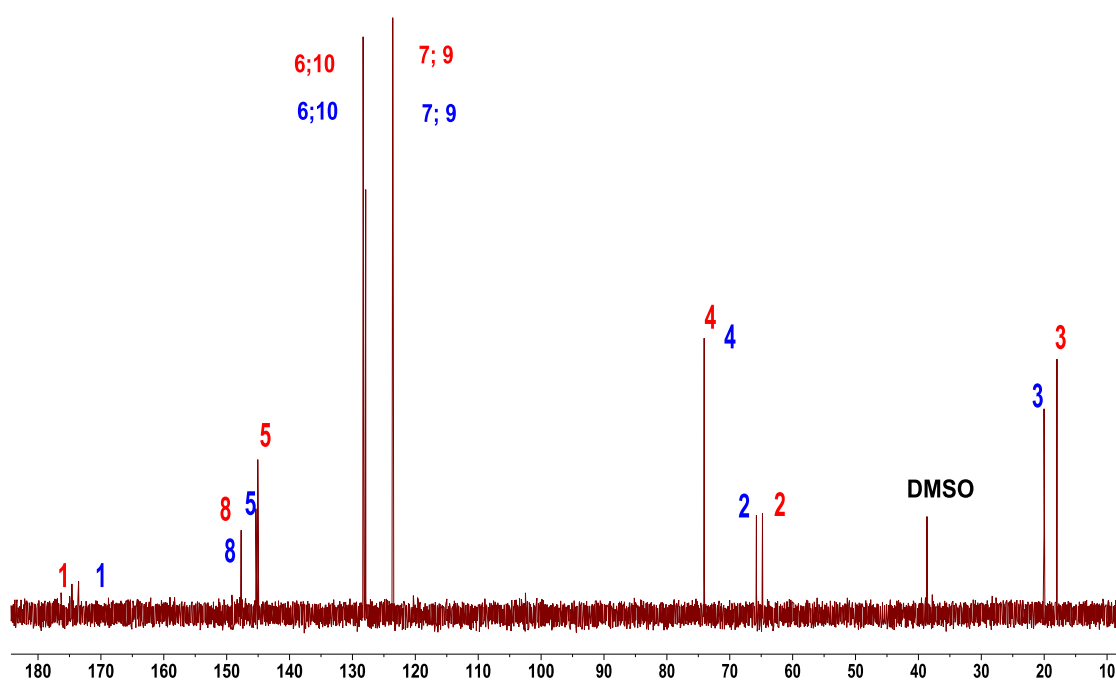


Figura43S(3.1). Espectro de RMN (D_2O) de **3bn** y **4bn** de la reacción aldólica catalizada por SHMT_{Stt} nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.

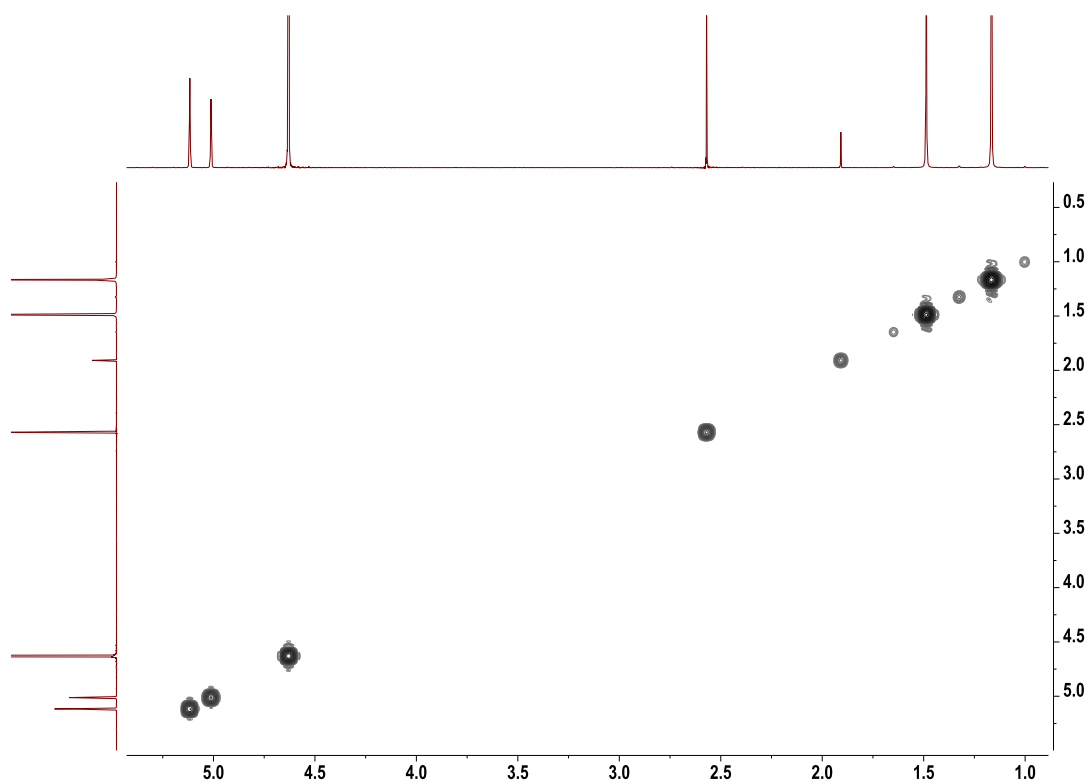
a)



b)



c)



d)

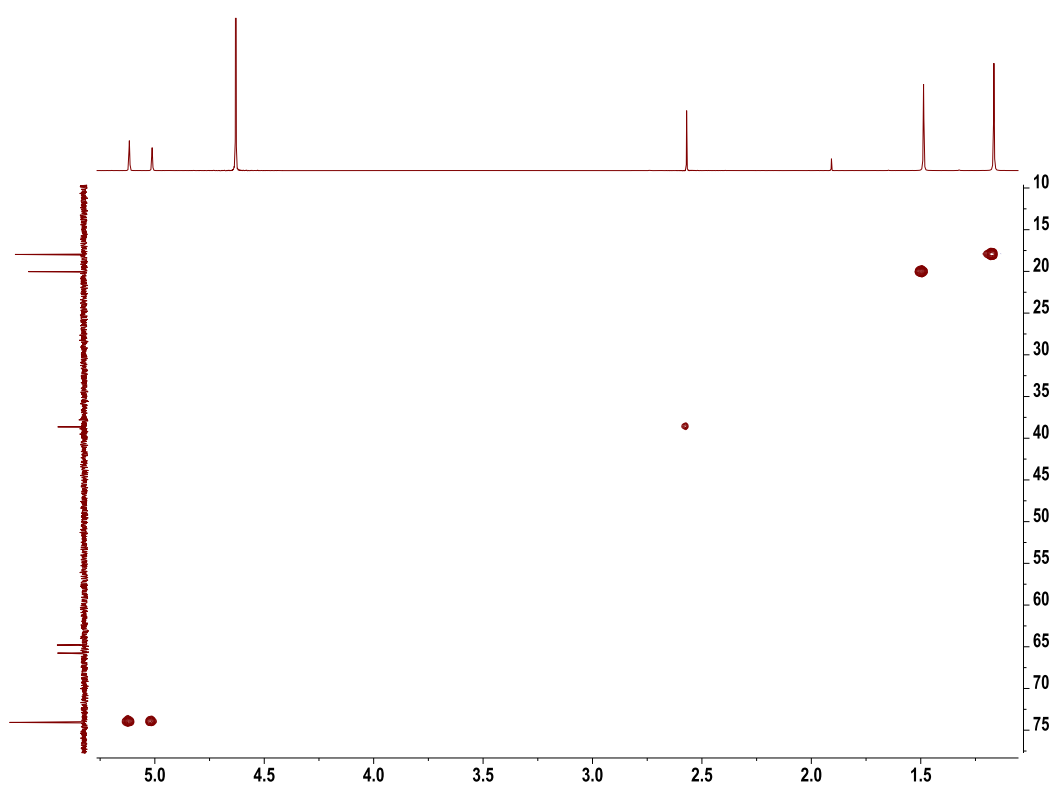


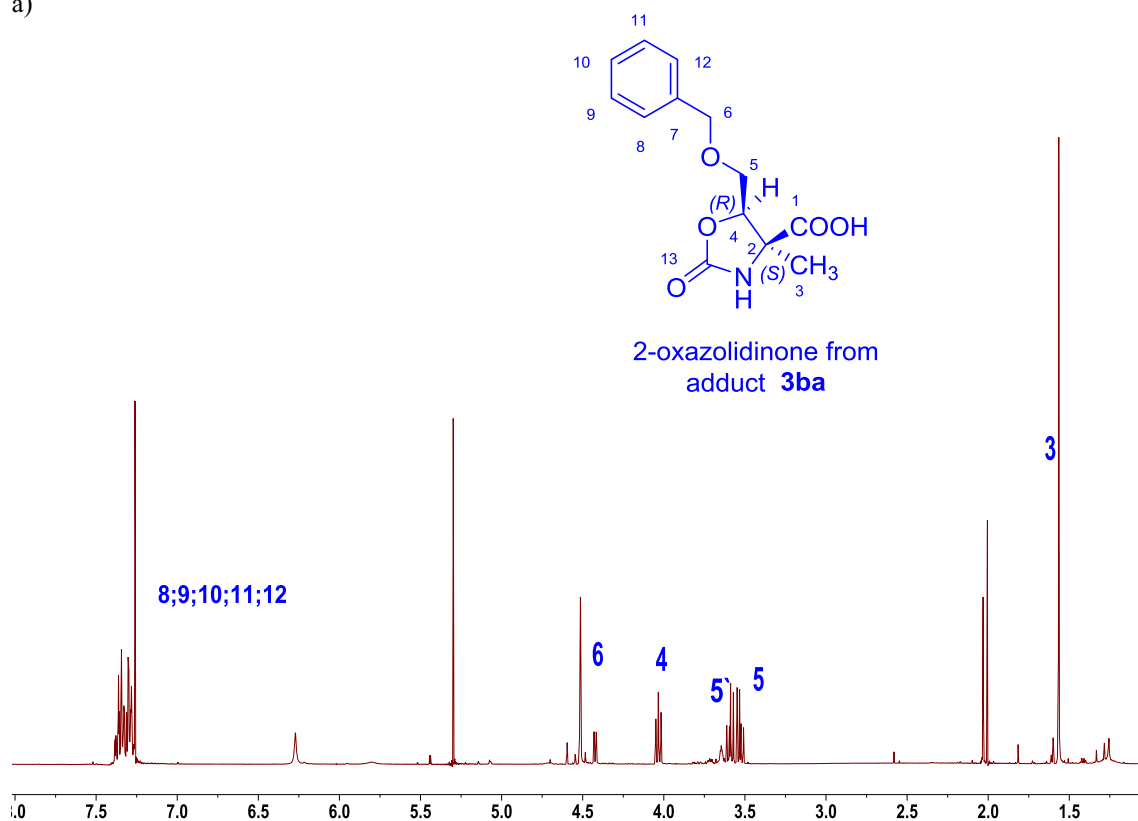
Tabla8S(3.1). Desplazamientos químicos (ppm) de ^1H y ^{13}C de los productos **3b** y **4b**.

3								4						
R ²	SHMT	δH_3	δC_3	δH_4	δC_4	δC_1	δC_2	δH_3	δC_3	δH_4	δC_4	δC_1	δC_2	RMN solvente
BnOCH ₂ (3ba)	Y55T	1.54	20.50	4.01	71.06	174.45	64.10							D ₂ O
BnO(CH ₂) ₃ (3bb)	Y55T	1.50	19.94	3.80	73.03	174.83	65.16	1.39	16.59	3.76	72.70			D ₂ O
CbzNHCH ₂ (3bc)	Y55T	1.52	19.94	3.88	72.36	173.97	63.47							D ₂ O
CbzNH(CH ₂) ₂ (3bd)	Y55T	1.49	19.89	3.86	70.79	174.74	66.78							D ₂ O
PhCH ₂ (3bg, 4bg)	Y55T	1.58	19.82	4.09	74.31	174.83	65.13	1.52	16.28	4.16	74.15			D ₂ O
Ph(CH ₂) ₂ (3bh, 4bh)	Y55T	1.45	20.06	3.74	72.11	174.85	65.20	1.37	16.68	3.89	72.11			D ₂ O
PhOCH ₂ (3bi)	Y55T	1.33	20.99	4.00	71.85	171.36	62.17	1.30	19.09	4.31	69.38			DMSO- <i>d</i> ₆
4-ClC ₆ H ₄ (3bk, 4bk)	Y55T	1.61	19.94	5.05	74.04	173.96	65.77	1.30	18.24	5.14	74.25	175.25	64.82	D ₂ O
2-FC ₆ H ₄ (3bl, 4bl)	Y55T	1.15	18.68	4.99	69.14	171.69	61.45	1.11	20.22	5.26	67.90	172.49	63.11	DMSO- <i>d</i> ₆
4-O ₂ NC ₆ H ₄ (3bn, 4bn)	Y55T	1.65	20.03	5.17	73.97	173.53	65.75	1.33	18.08	5.27	73.97			D ₂ O
BnOCH ₂ (3ba, 4ba)	nativa	1.54	20.49	4.02	71.04	174.44	64.11	1.40	17.73	4.02	70.70			D ₂ O
BnO(CH ₂) ₃ (3bb, 4bb)	nativa	1.50	20.01	3.80	73.02	174.84	65.16	1.39	16.66	3.92	72.68	175.34	65.21	D ₂ O
CbzNHCH ₂ (3bc)	nativa	1.52	19.81	3.89	72.27	174.00	63.48	1.45	16.71	4.04	71.51			D ₂ O
CbzNH(CH ₂) ₂ (3bd, 4bd)	nativa	1.48	19.87	3.85	70.77	174.80	65.00	1.37	16.80	3.97	70.55			D ₂ O
Ph(CH ₂) ₂ (3bh, 4bh)	nativa	1.46	19.99	3.73	72.22	174.81	65.22	1.38	16.67	3.89	72.22	175.27	65.20	D ₂ O
PhOCH ₂ (3bi, 4bi)	nativa	1.33	20.91	4.00	72.10	171.45	62.24	1.30	19.27	4.00	71.51		61.79	DMSO- <i>d</i> ₆
Ph (3bj, 4bj)	nativa	1.63	19.90	5.08	74.55	174.17	64.93	1.30	18.59	5.16	74.85	175.27	65.85	D ₂ O
4-ClC ₆ H ₄ (3bk, 4bk)	nativa	1.62	19.74	5.06	74.31	173.93	64.80	1.29	18.21	5.15	74.31	175.02	65.75	D ₂ O
2-FC ₆ H ₄ (3bl, 4bl)	nativa	1.14	18.79	4.99	69.21	171.63	61.45	1.11	20.40	5.27	67.99	171.75	63.27	D ₂ O
C ₆ F ₅ (3bm, 4bm)	nativa	1.63	20.11	5.37	68.30			1.35	17.53	5.64	68.05	174.02	65.21	D ₂ O
4-O ₂ NC ₆ H ₄ (3bn, 4bn)	nativa	1.65	19.87	5.17	73.97	173.55	65.76	1.33	17.85	5.28	73.97	174.61	64.80	D ₂ O

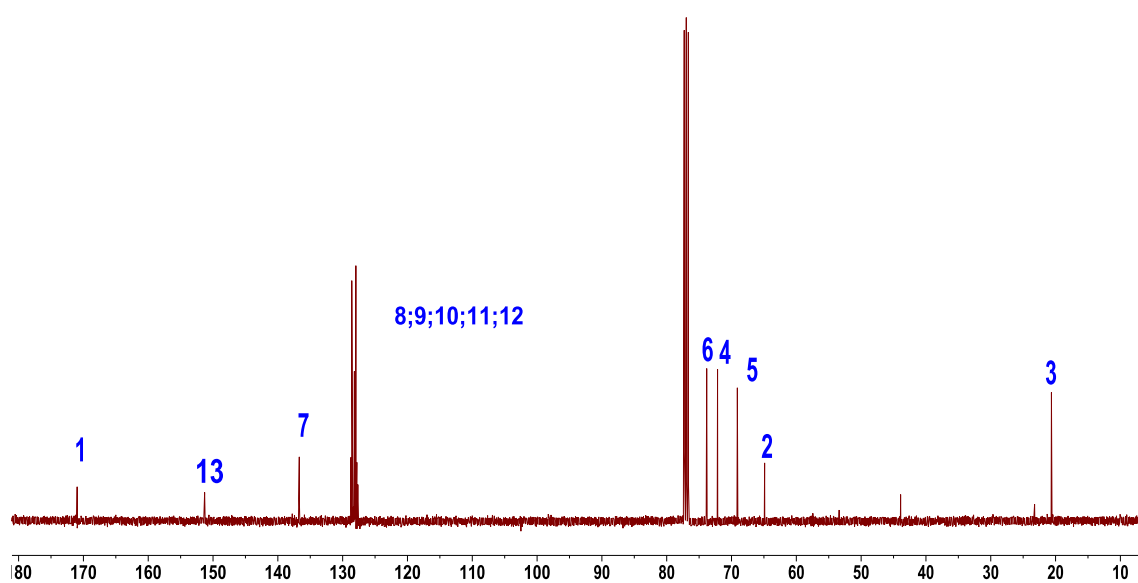
3								4						
	δH_3	δC_3	δH_4	δC_4	δC_1	δC_2		δH_3	δC_3	δH_4	δC_4	δC_1	δC_2	
$\delta(\text{media})$	1.49	19.97	4.36	72.12	173.79	64.36		1.33	18.87	4.56	71.82	174.34	64.50	
SD(δ)	0.15	0.53	0.61	1.81	1.24	1.52		0.10	1.27	0.67	2.31	1.34	1.33	

Figura44S(3.1). Espectros de RMN (CDCl_3) de las oxazolidin-2-onas derivadas de **3ba** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Sth} Y55T: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.

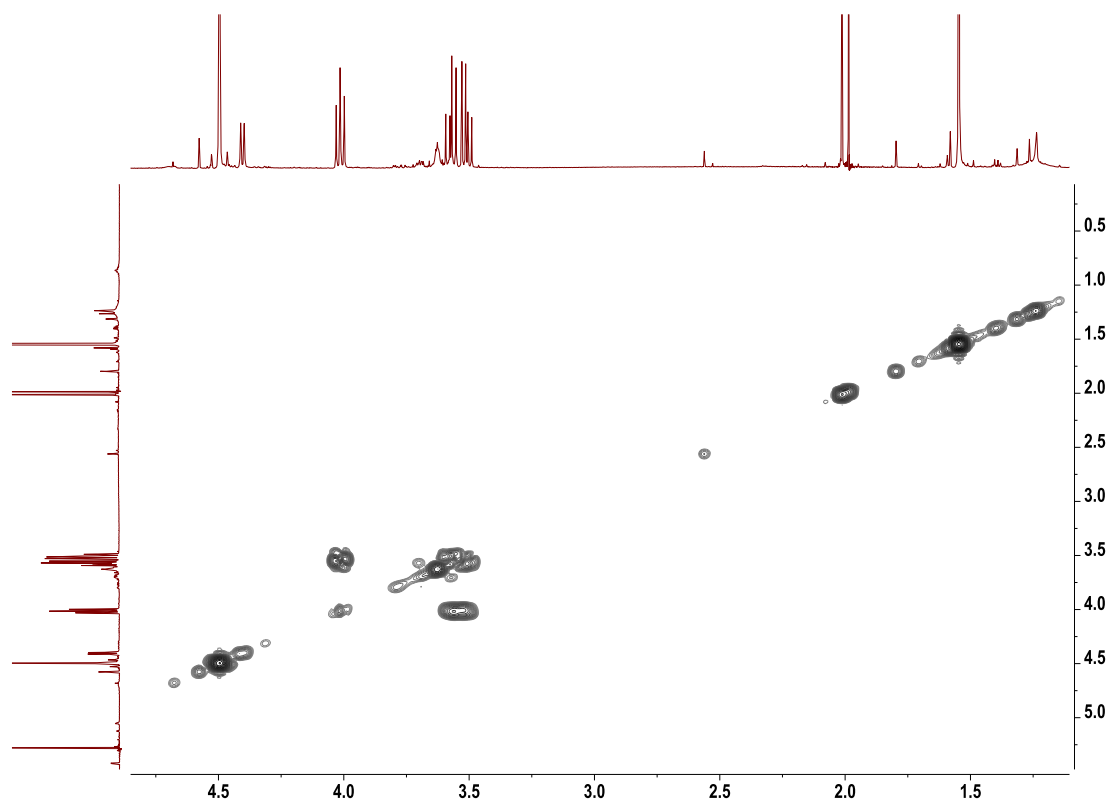
a)



b)



c)



d)

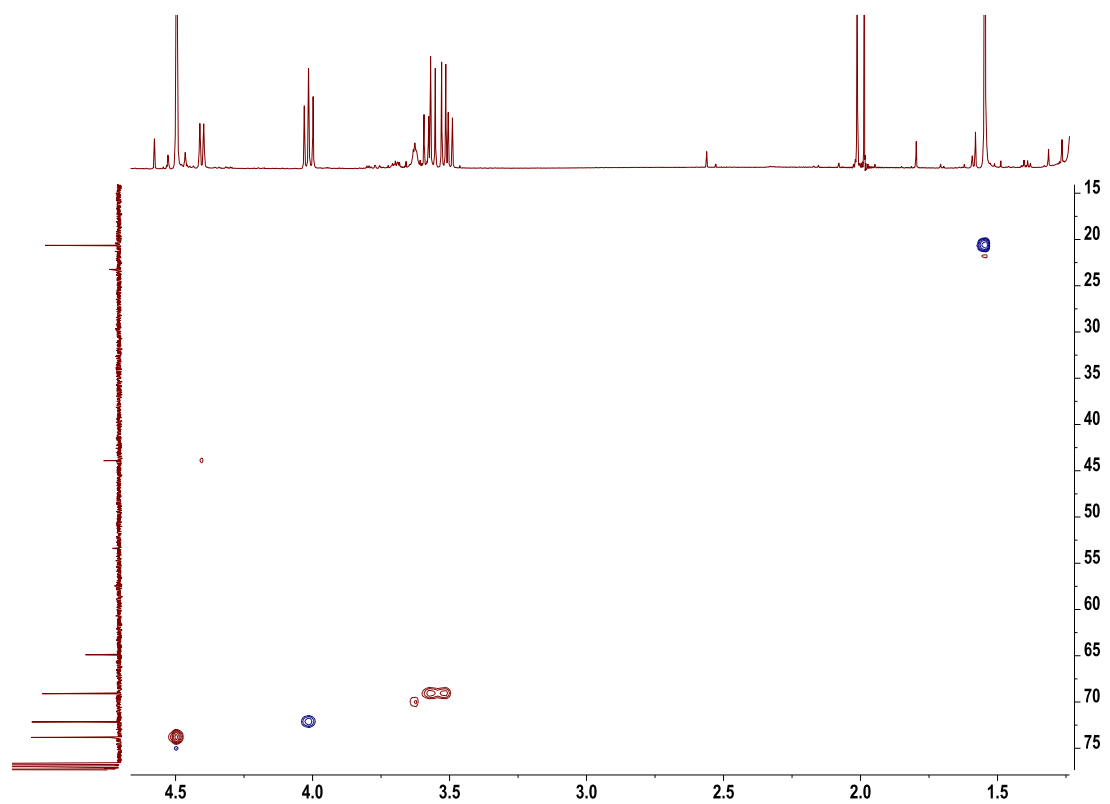
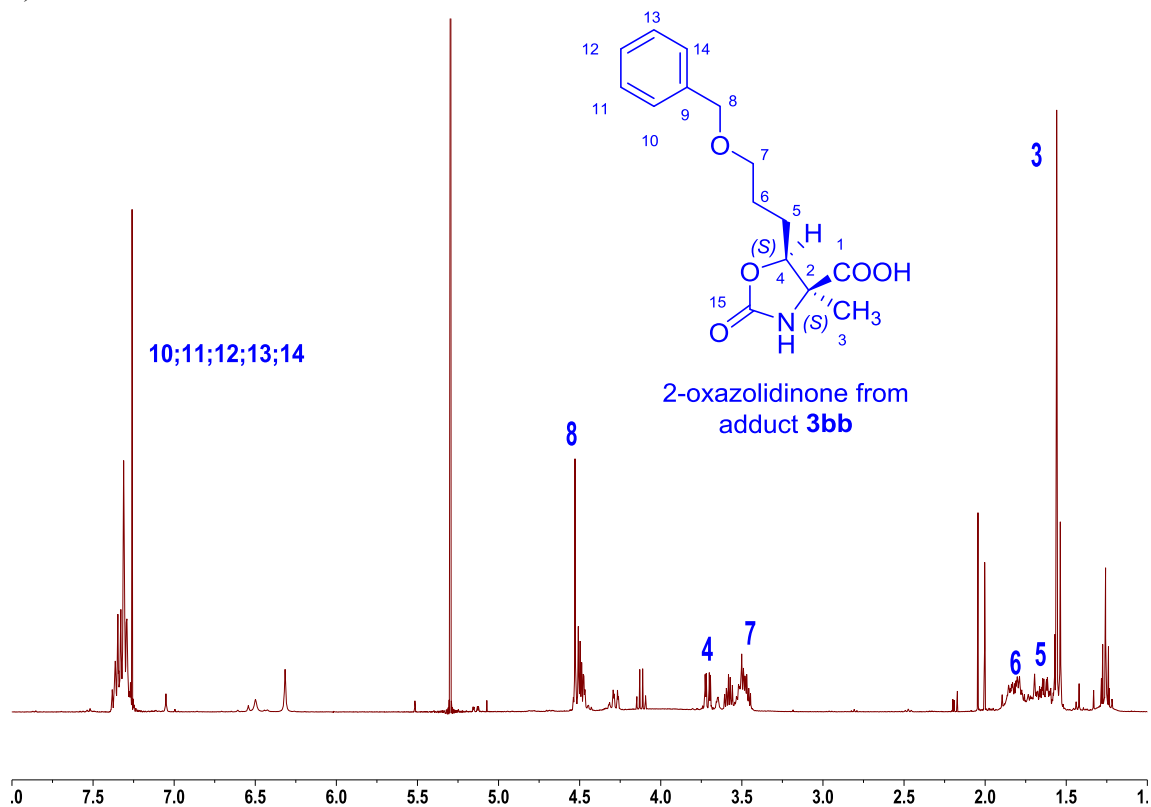
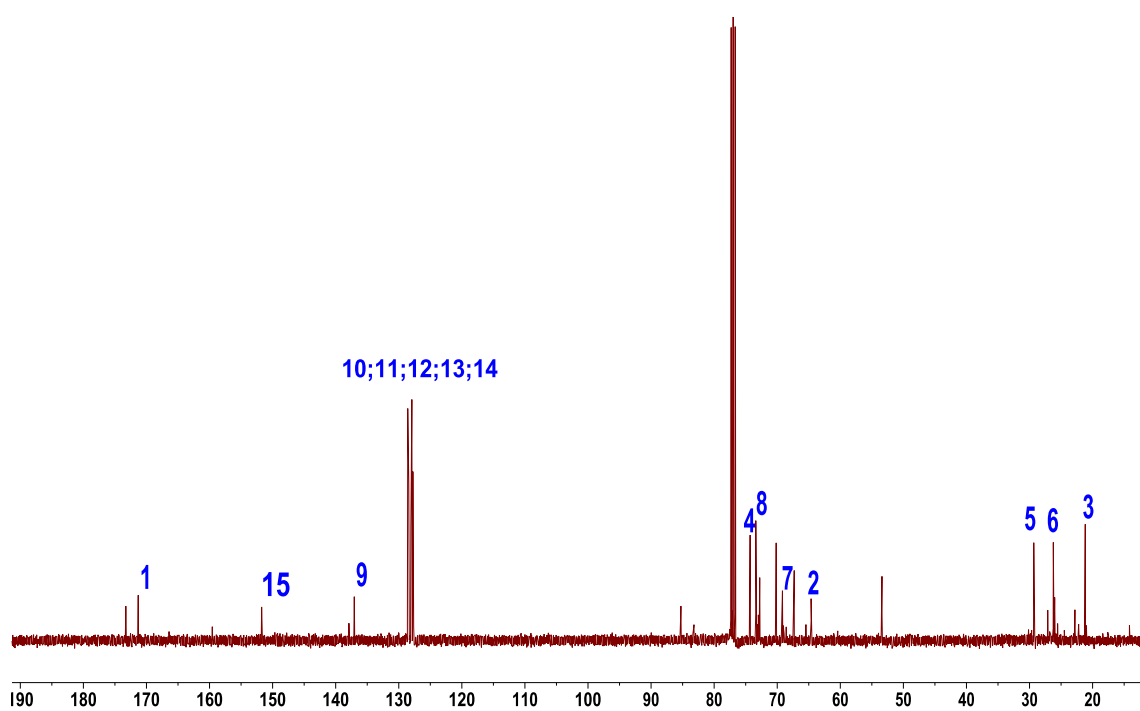


Figura45S(3.1). Espectros de RMN (CDCl_3) de las oxazolidin-2-onas derivadas de **3bb** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Stt} Y55T: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.

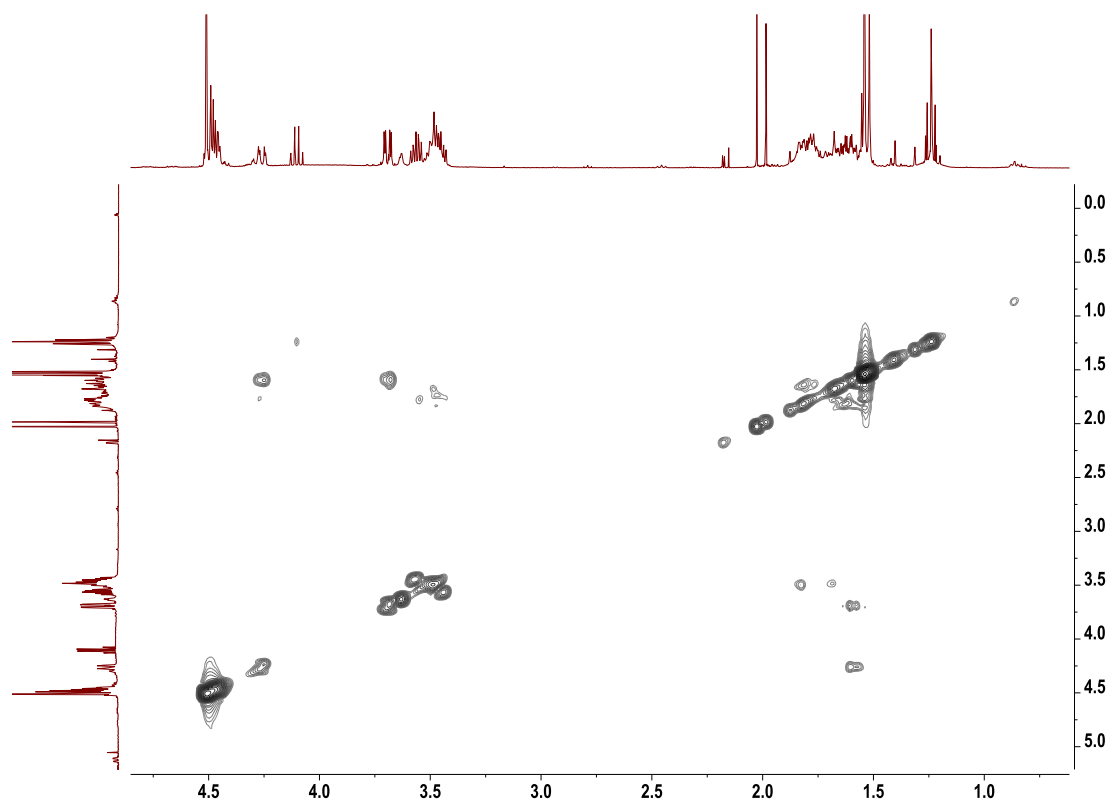
a)



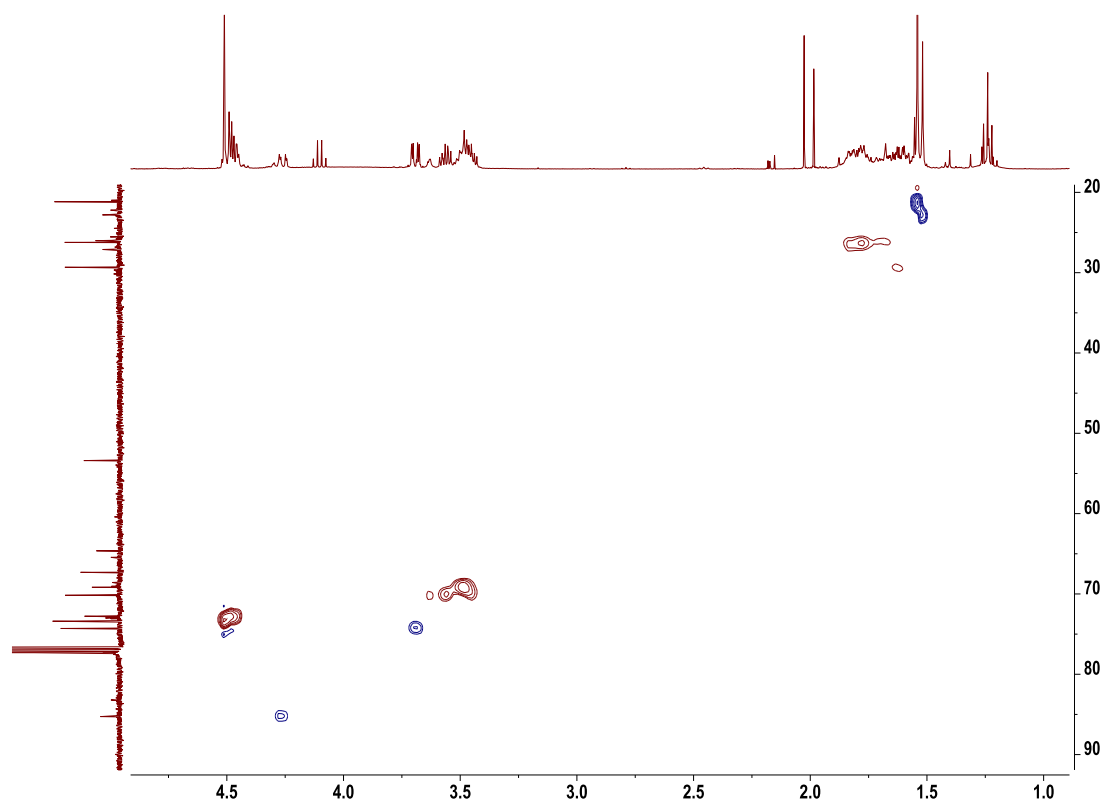
b)



c)



d)



e)

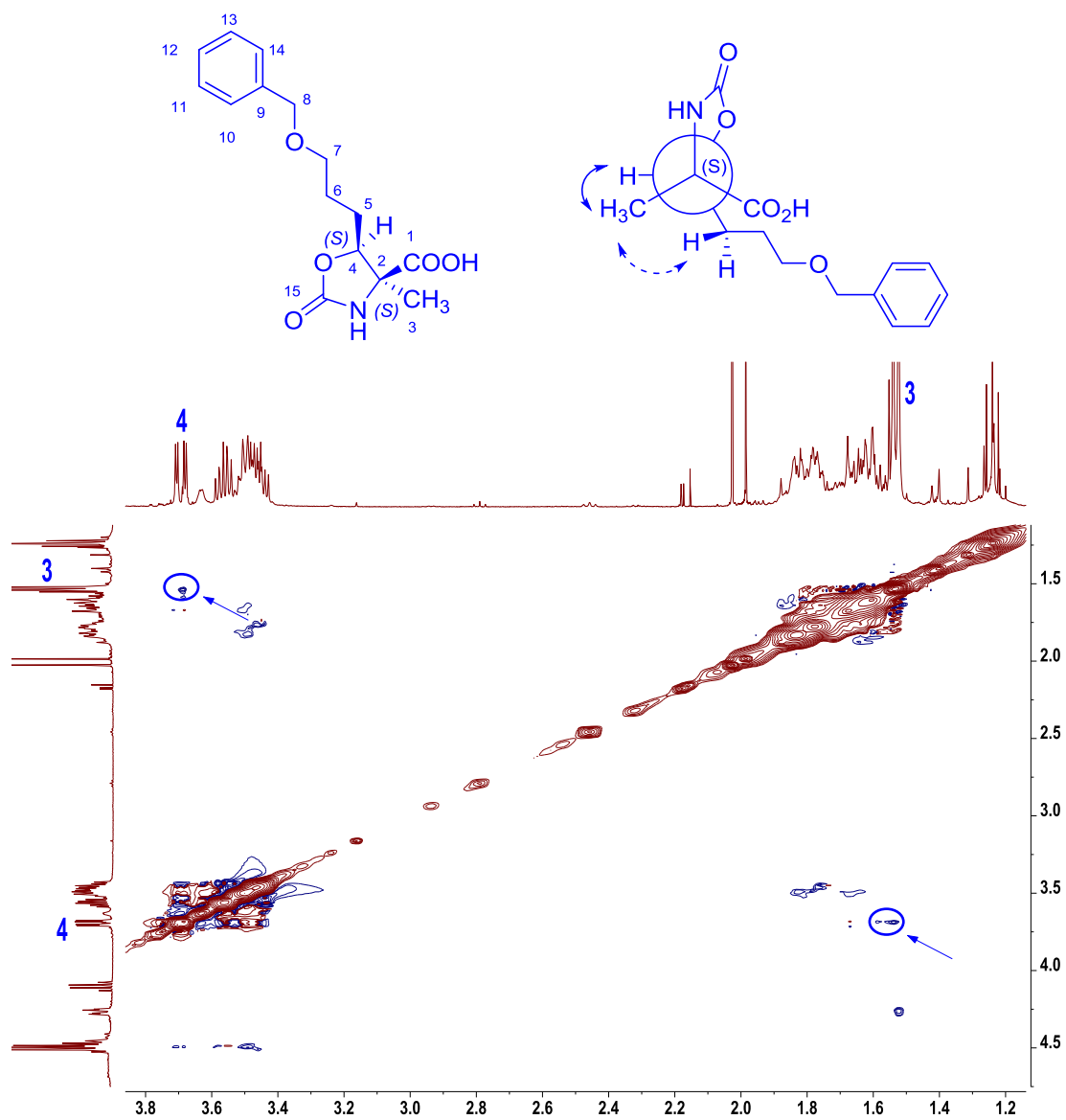
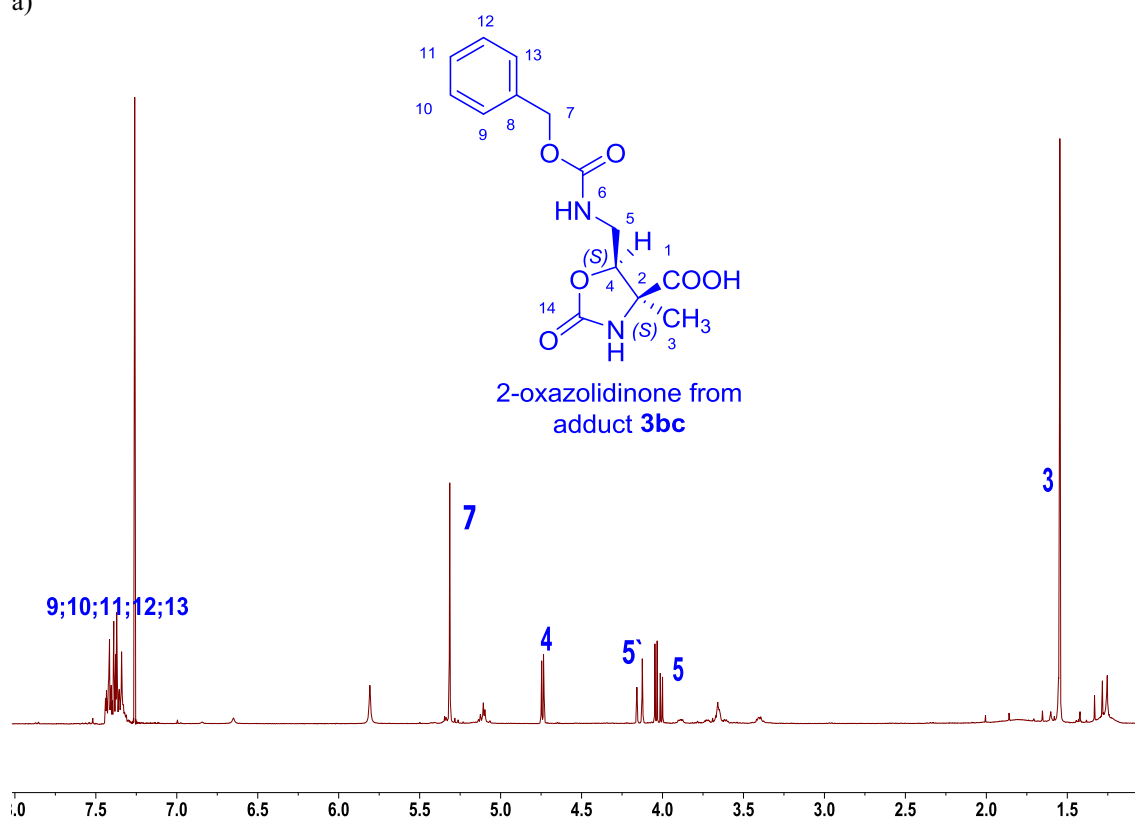
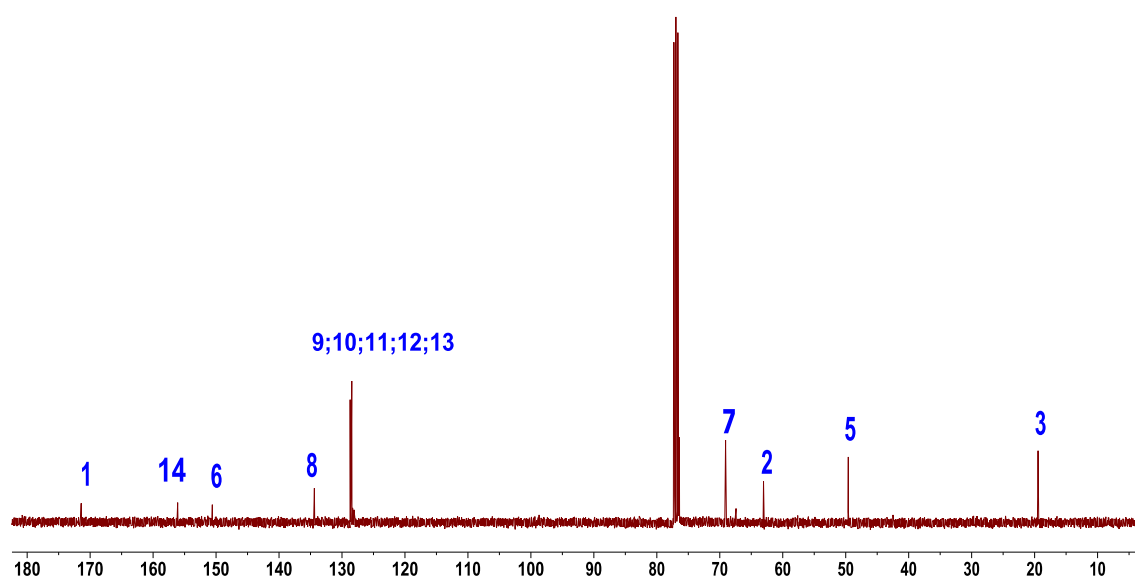


Figura46S(3.1). Espectros de RMN (CDCl_3) de las oxazolidin-2-onas derivadas de **3bc** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Stt} Y55T: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.

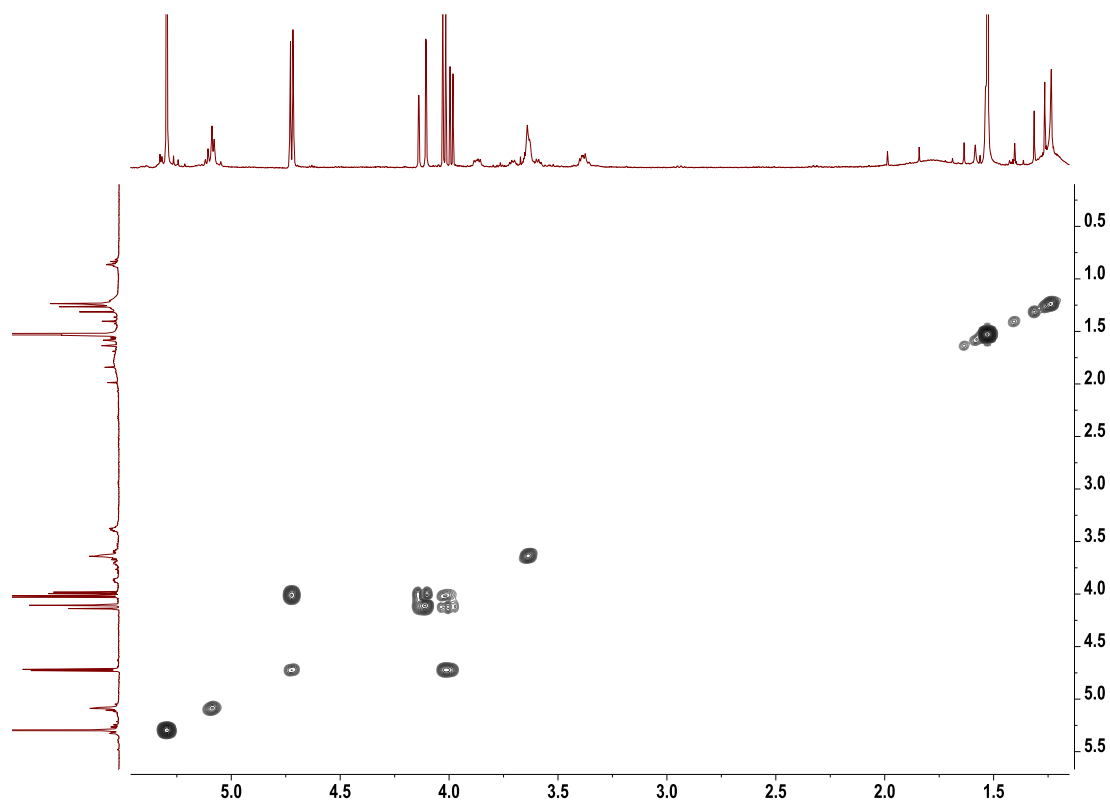
a)



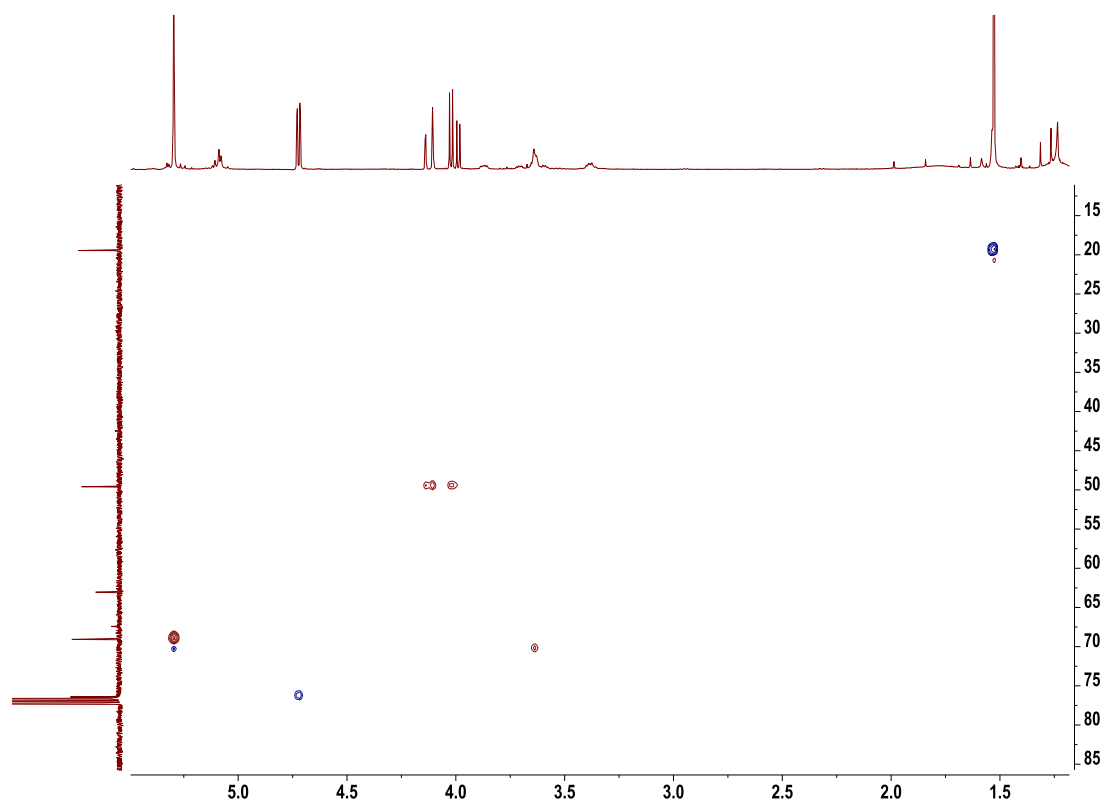
b)



c)



d)



e)

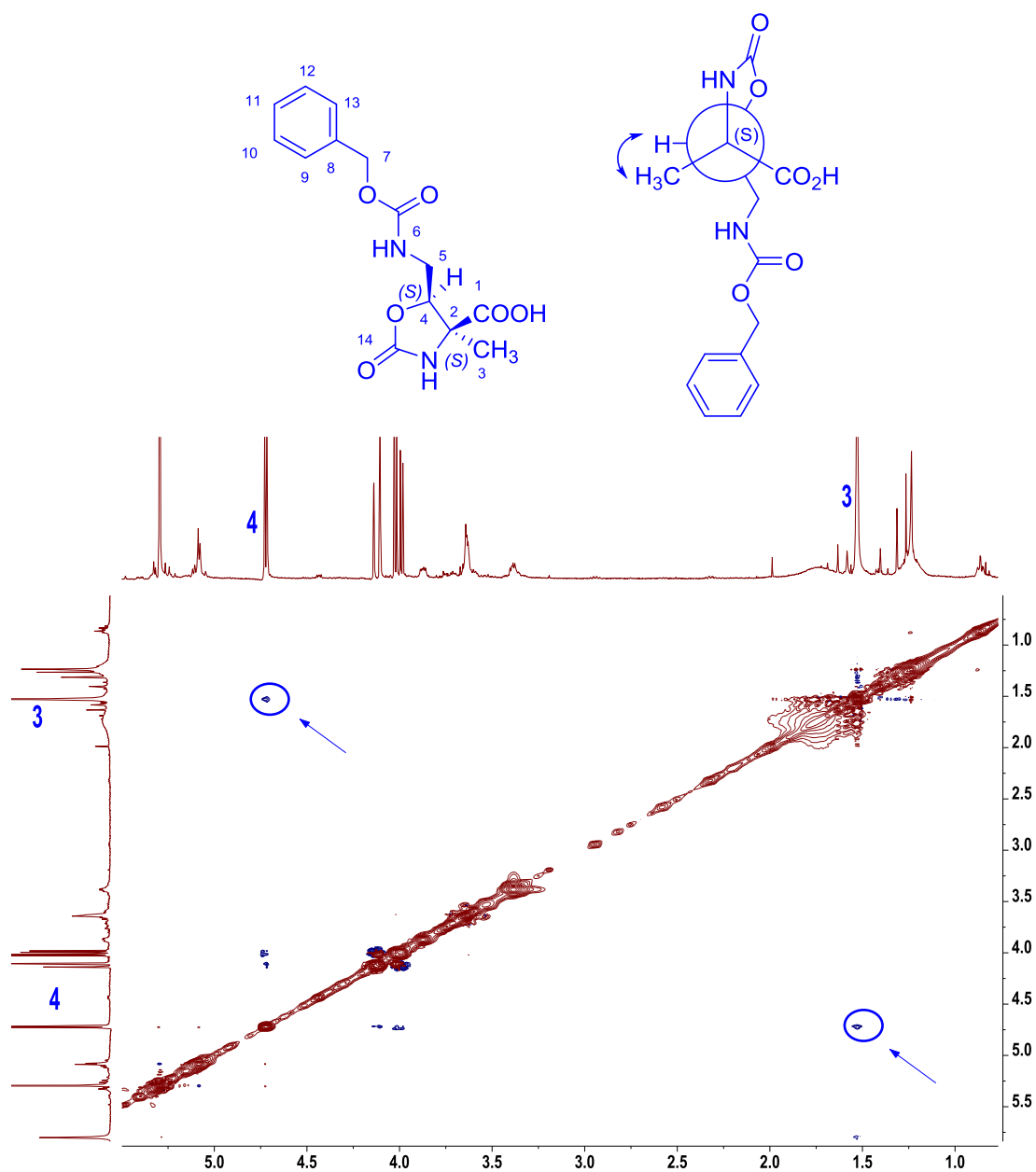
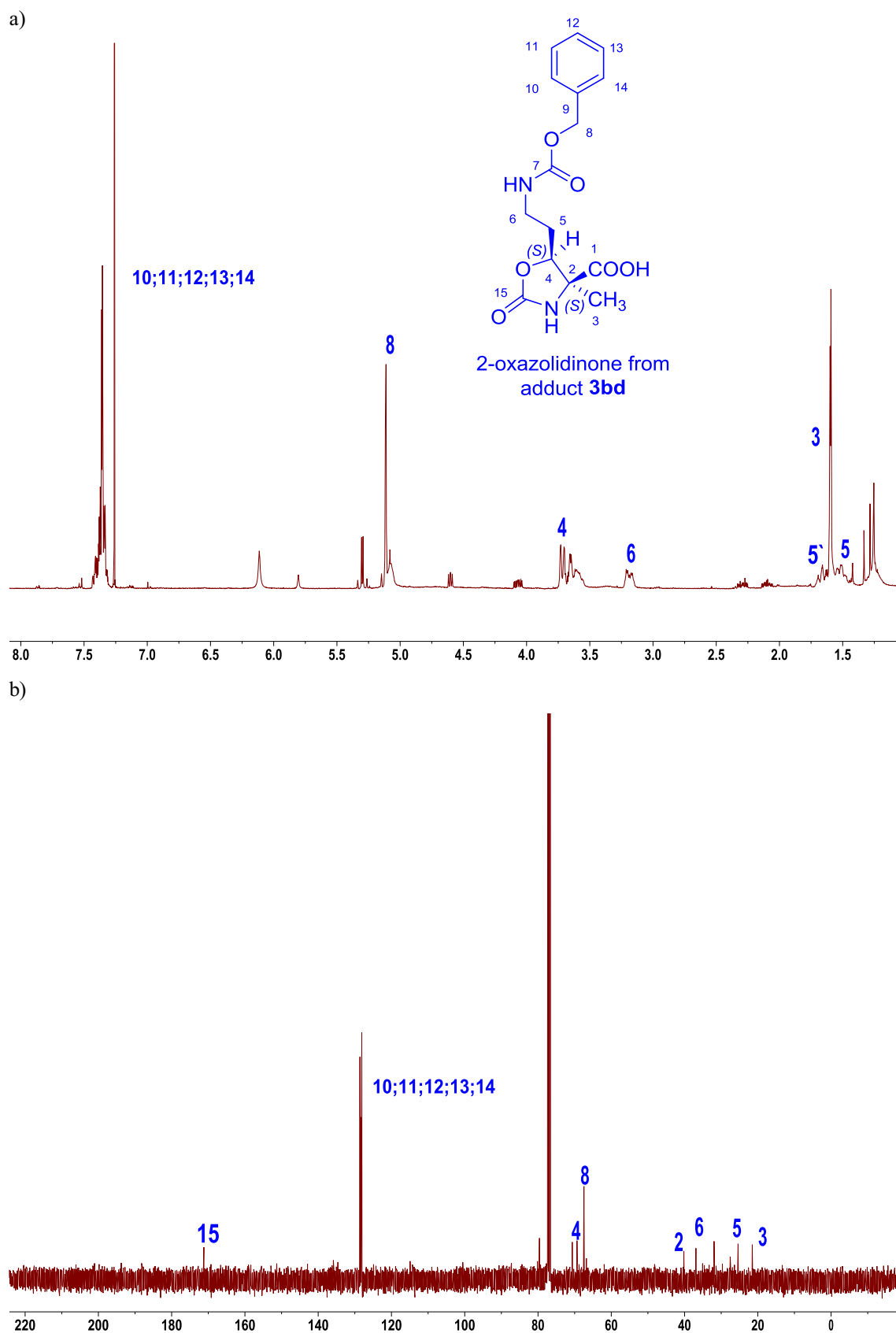
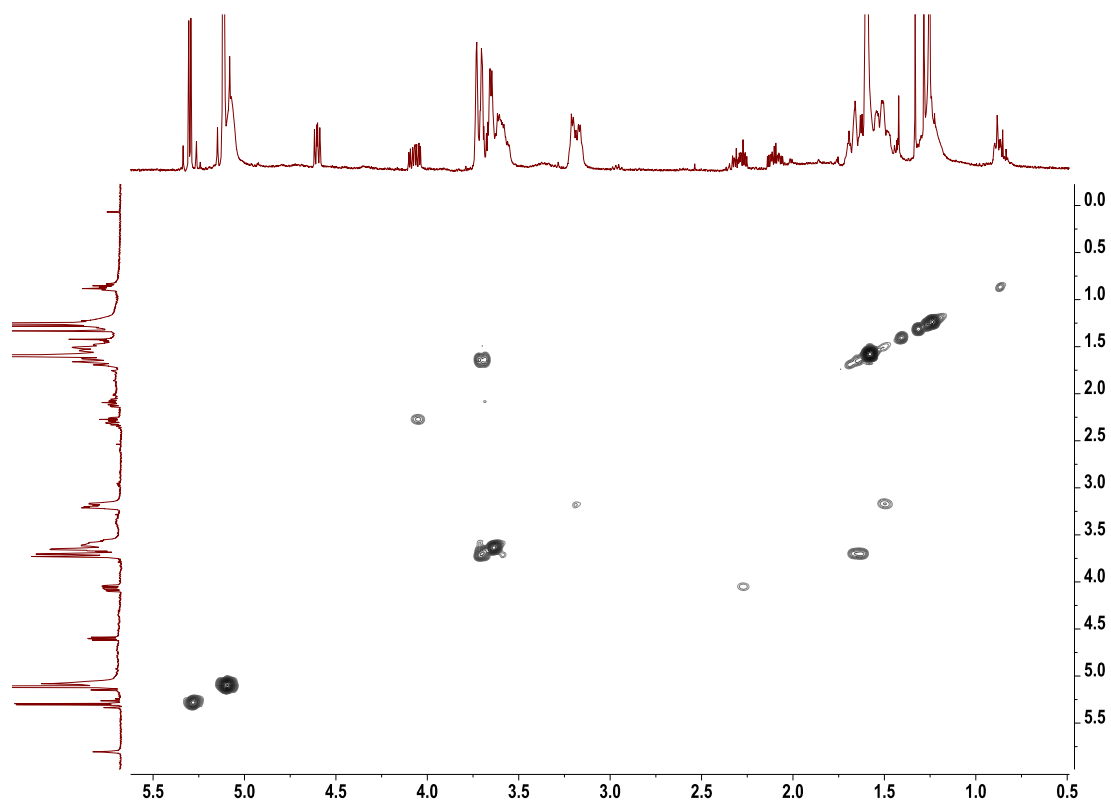


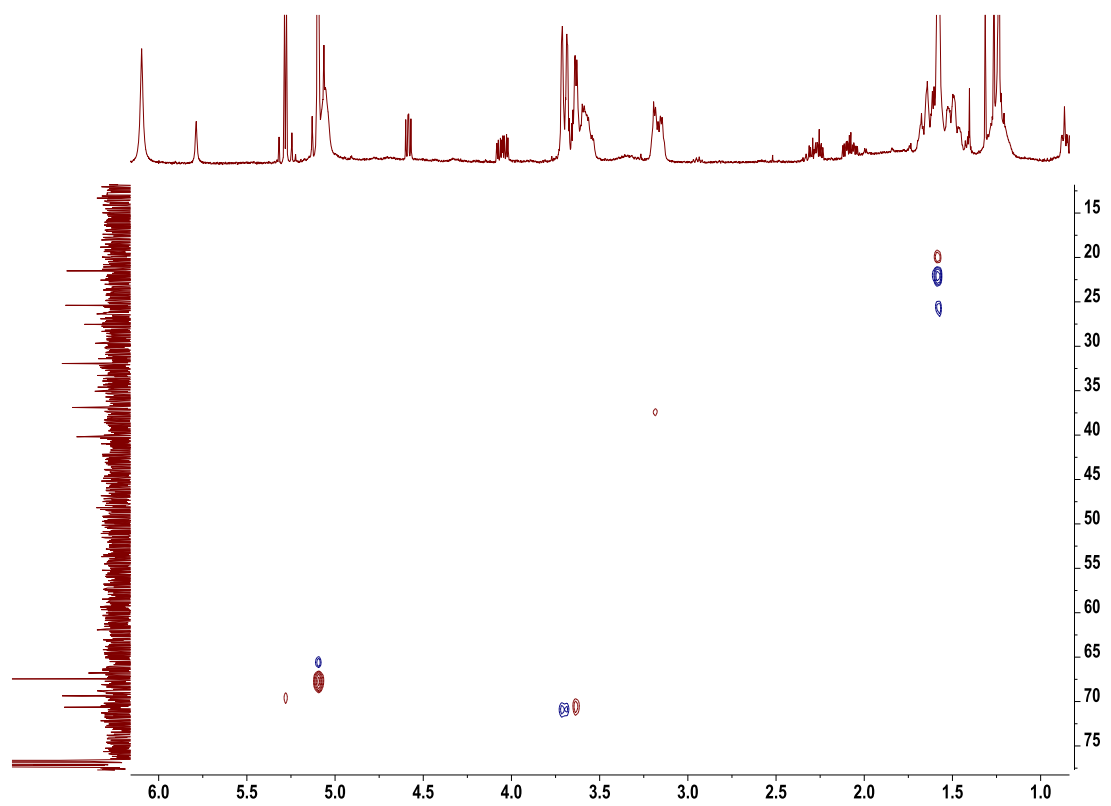
Figura47S(3.1). Espectros de RMN (CDCl_3) de las oxazolidin-2-onas derivadas de **3bd** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Sth} Y55T: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.



c)



d)



e)

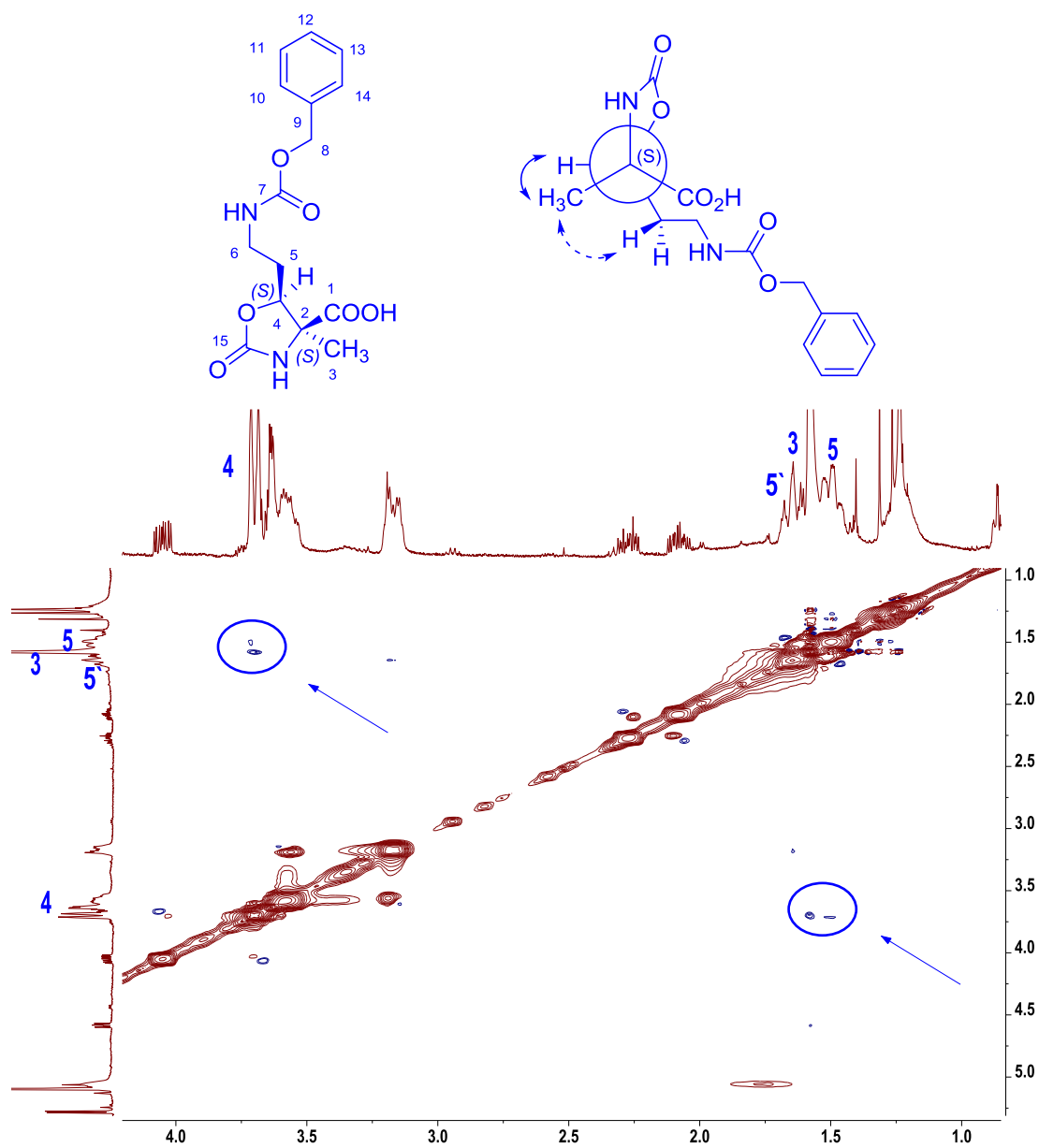
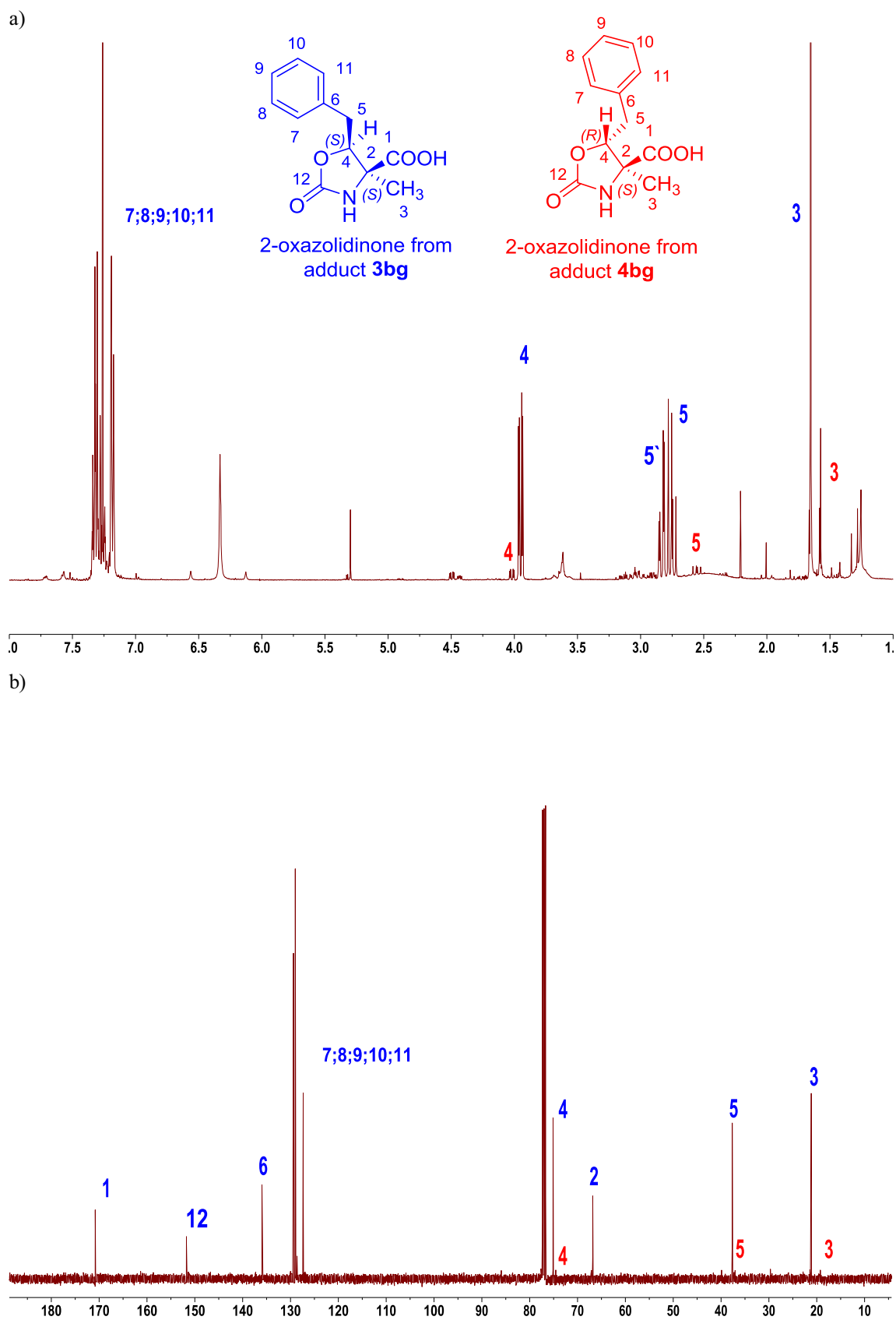
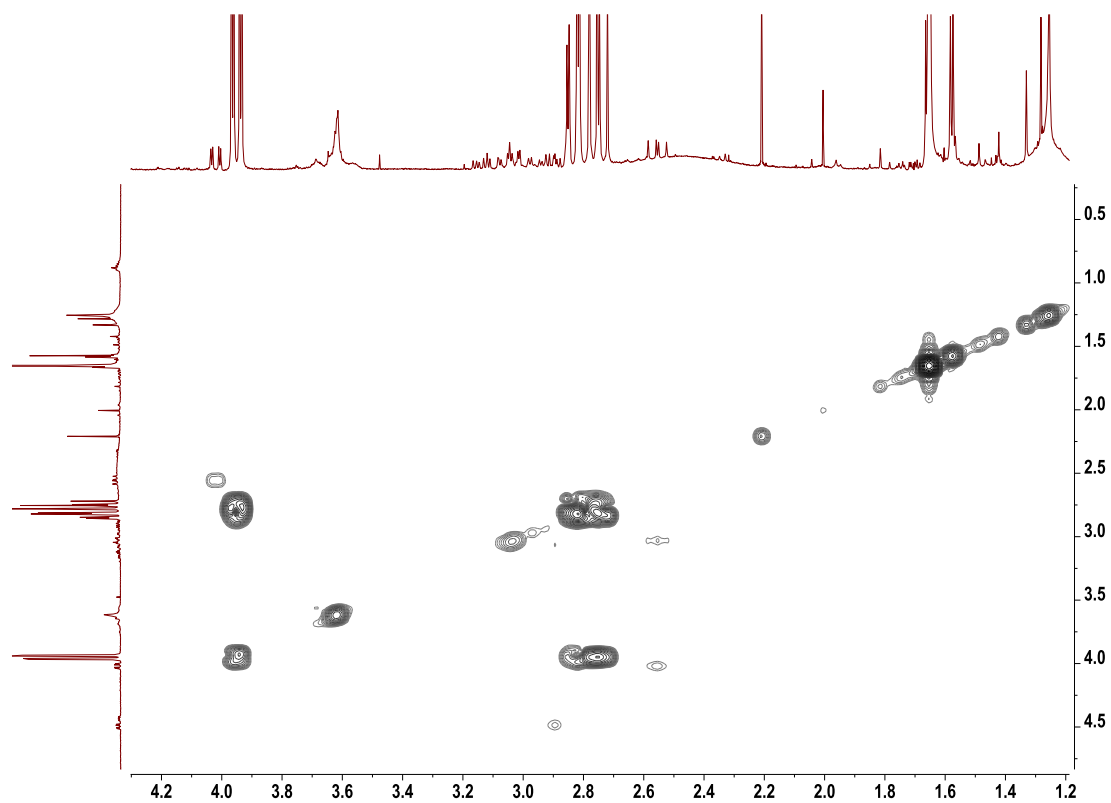


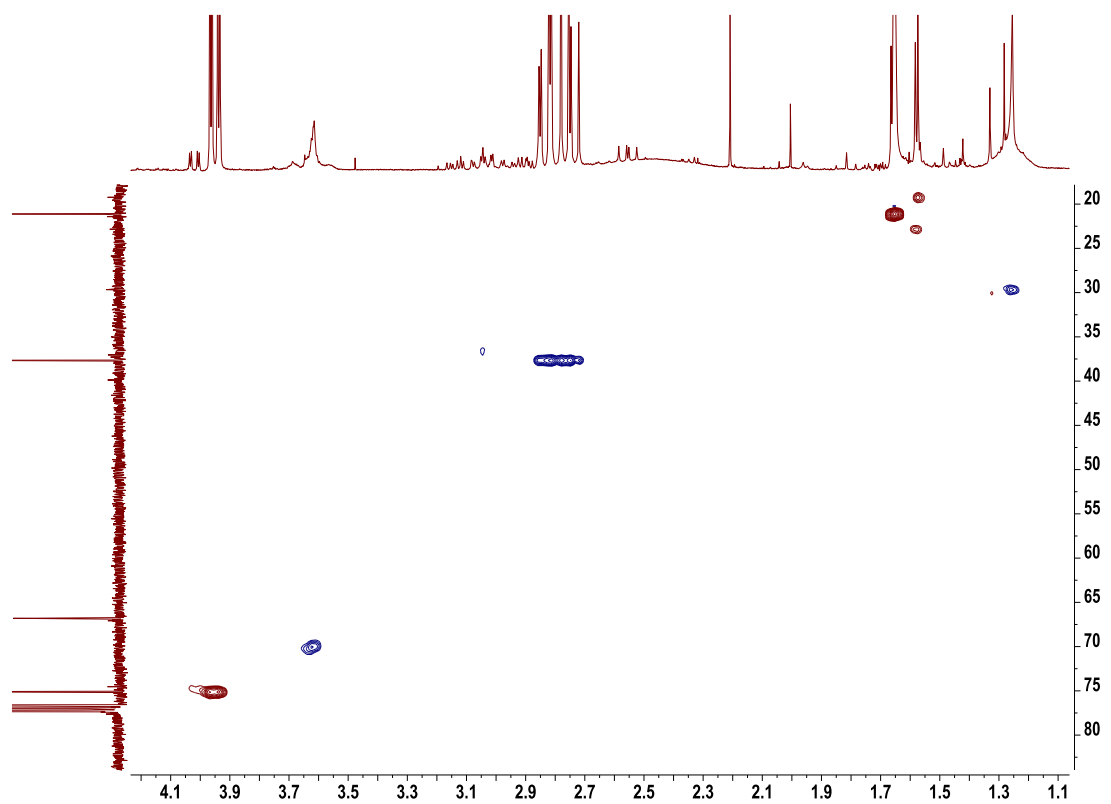
Figura48S(3.1). Espectros de RMN (CDCl_3) de las oxazolidin-2-onas derivadas de **3bg** y **4bg** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Sth} Y55T: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.



c)



d)



e)

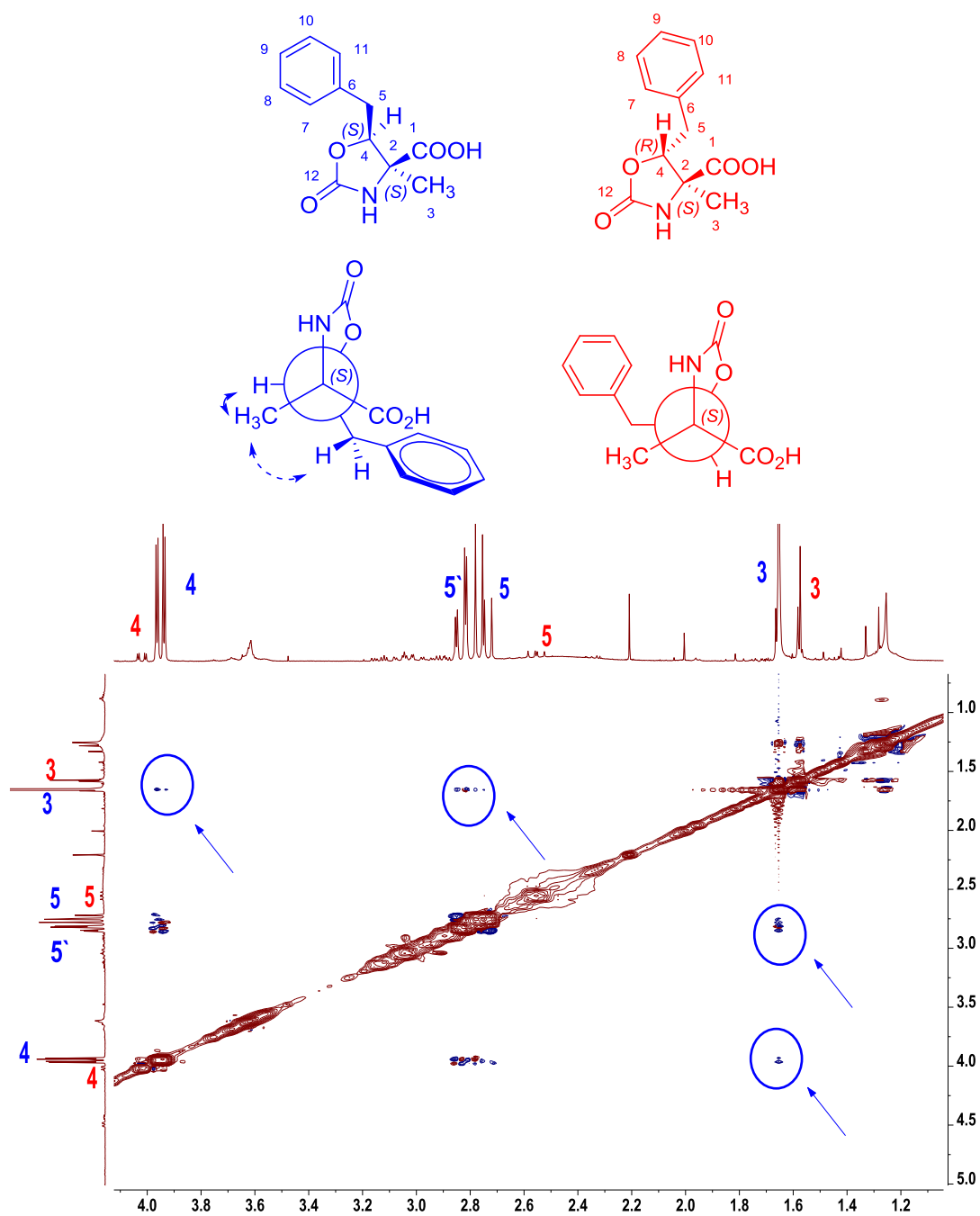
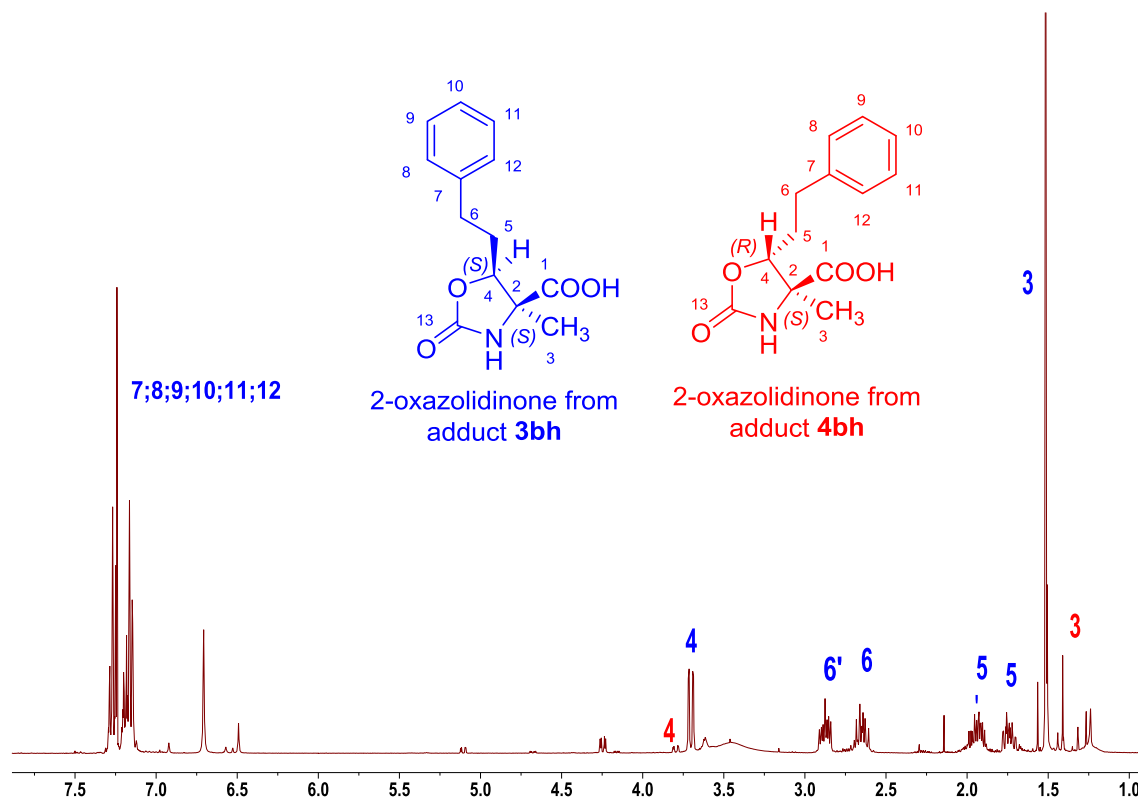
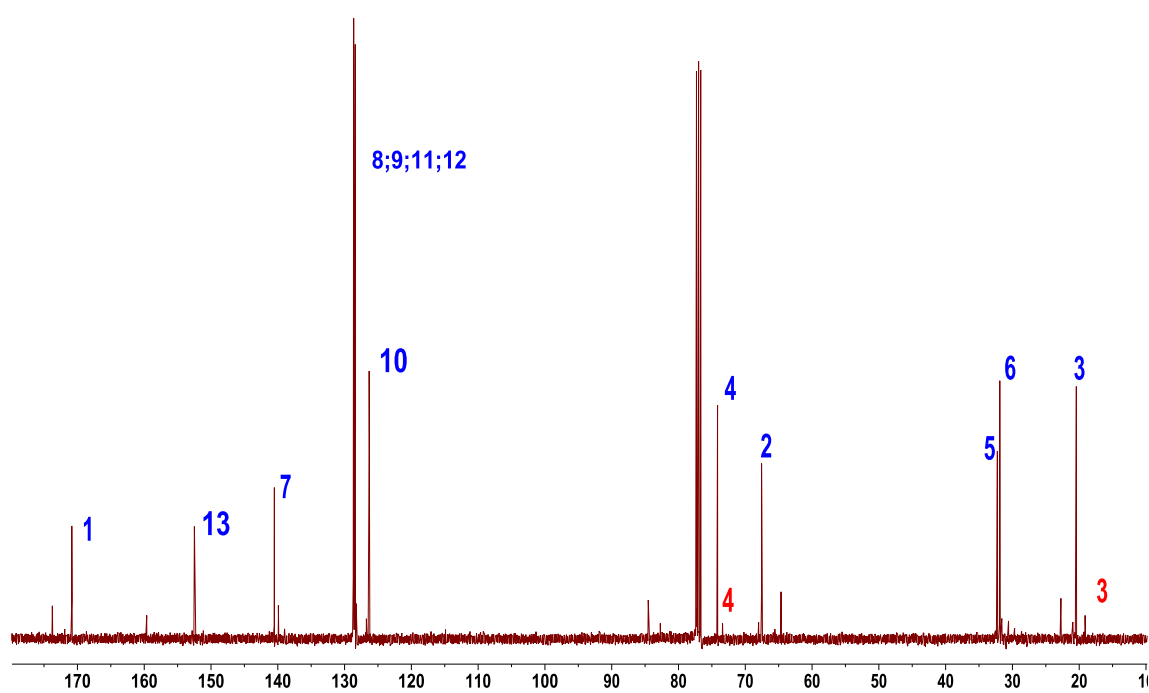


Figura49S(3.1). Espectros de RMN (CDCl_3) de las oxazolidin-2-onas derivadas de **3bh** y **4bh** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Sth} Y55T: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.

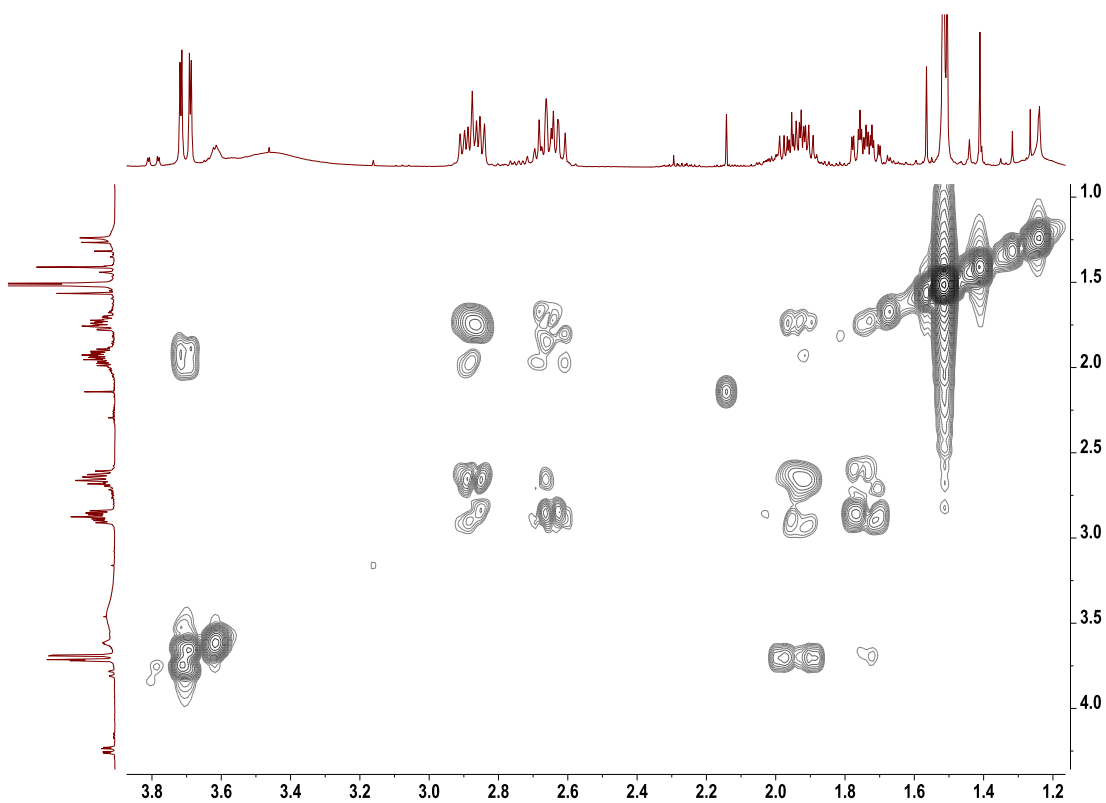
a)



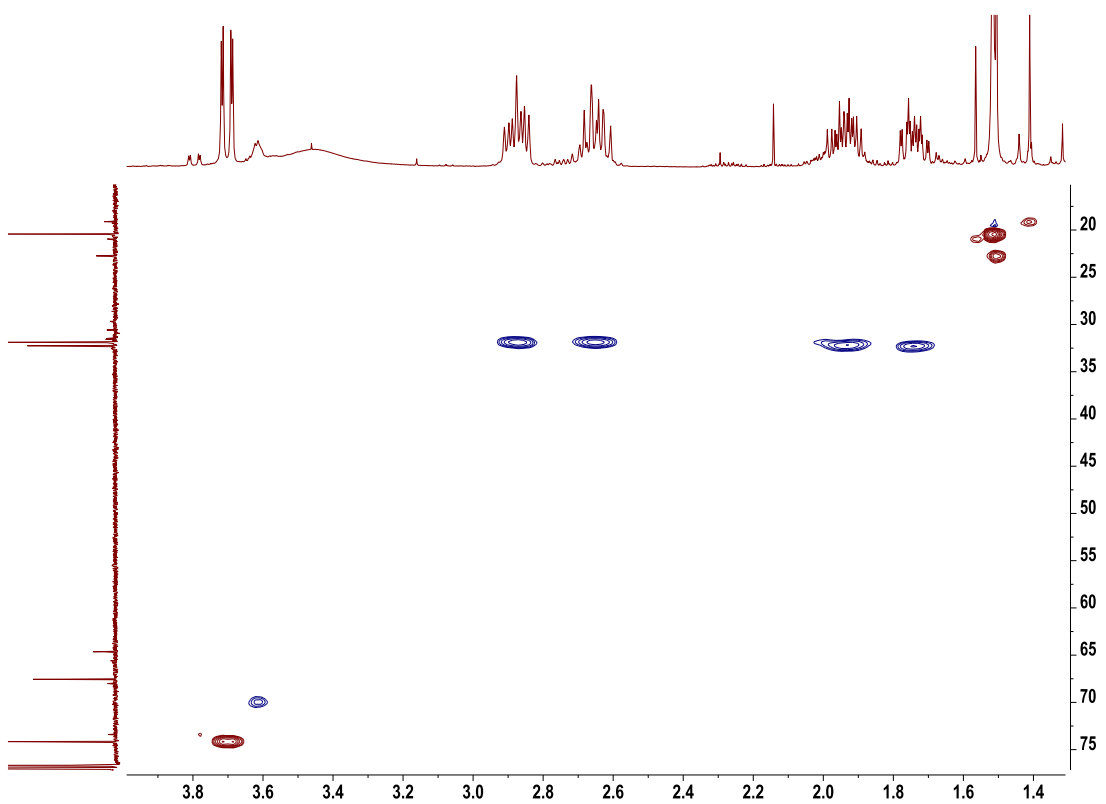
b)



c)



d)



e)

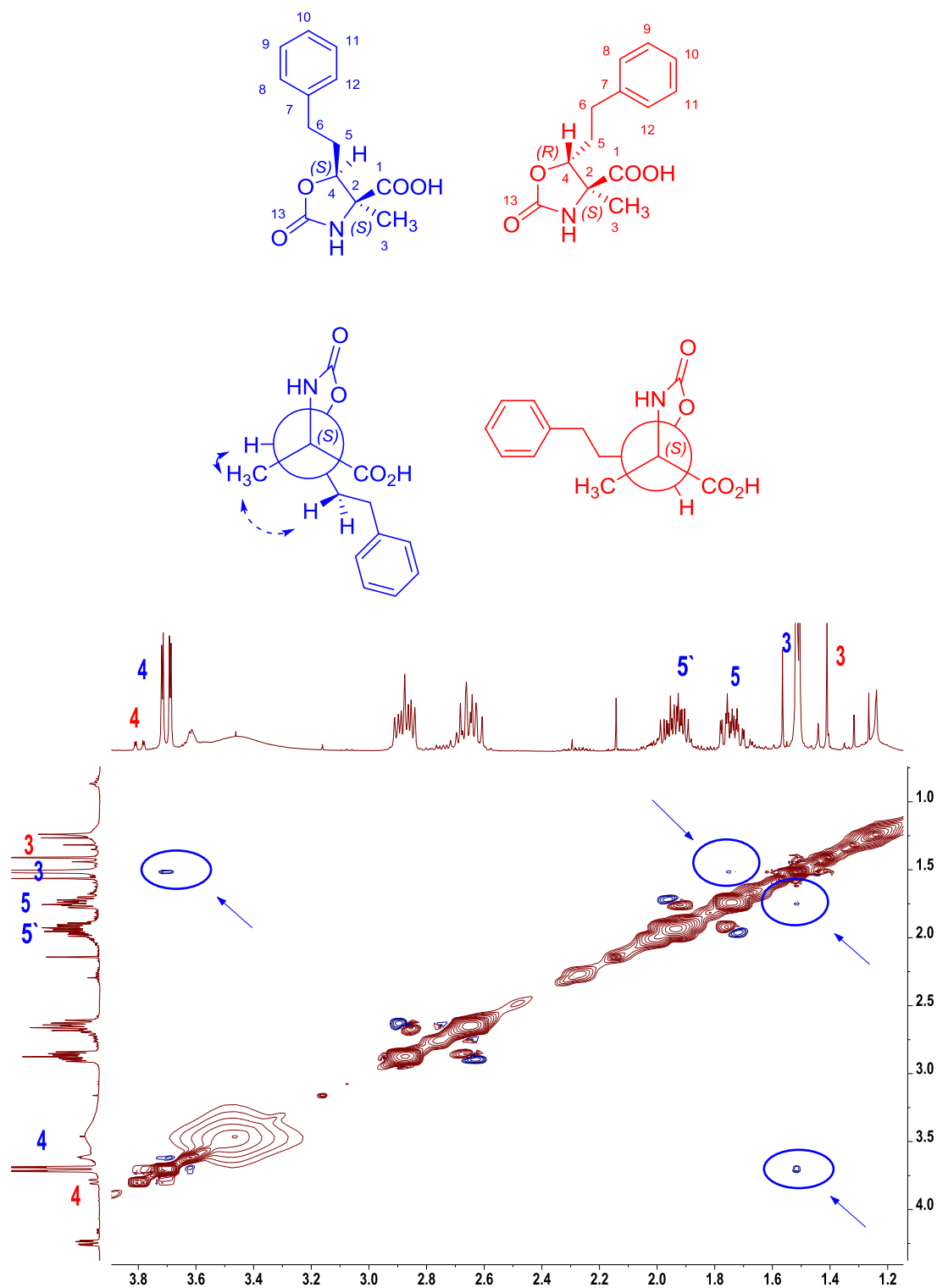
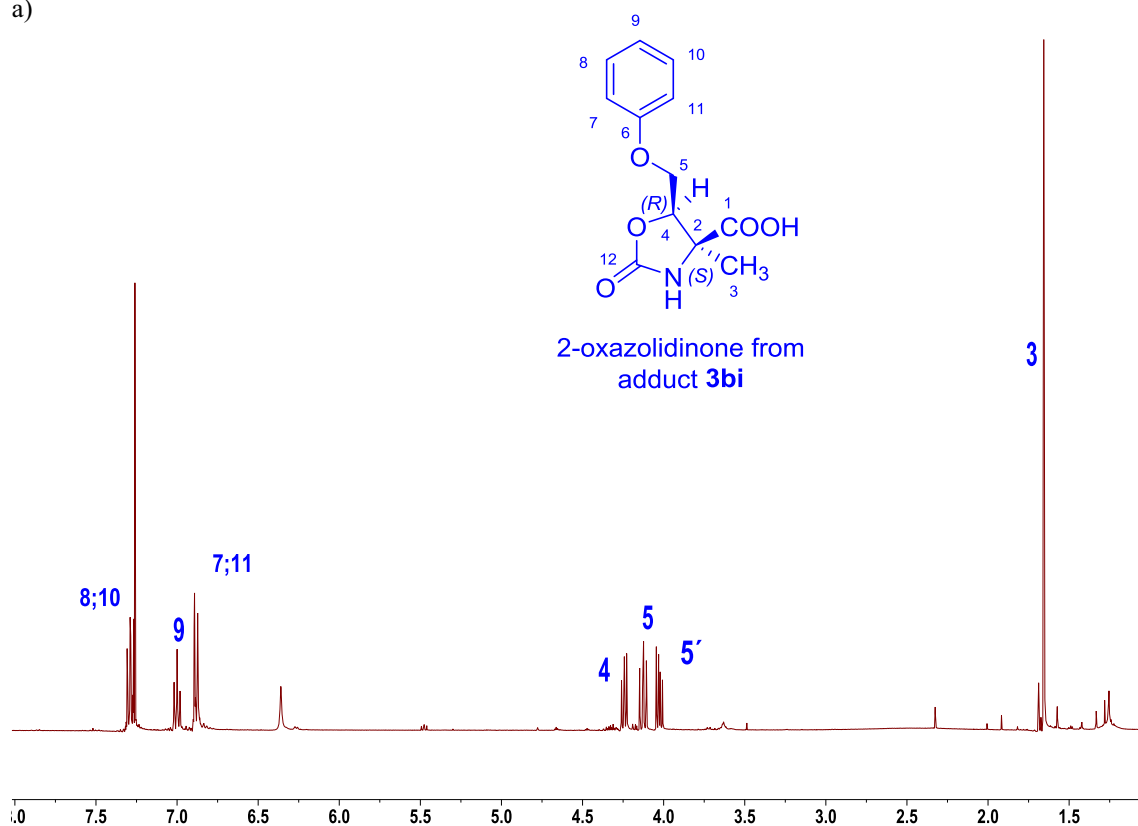
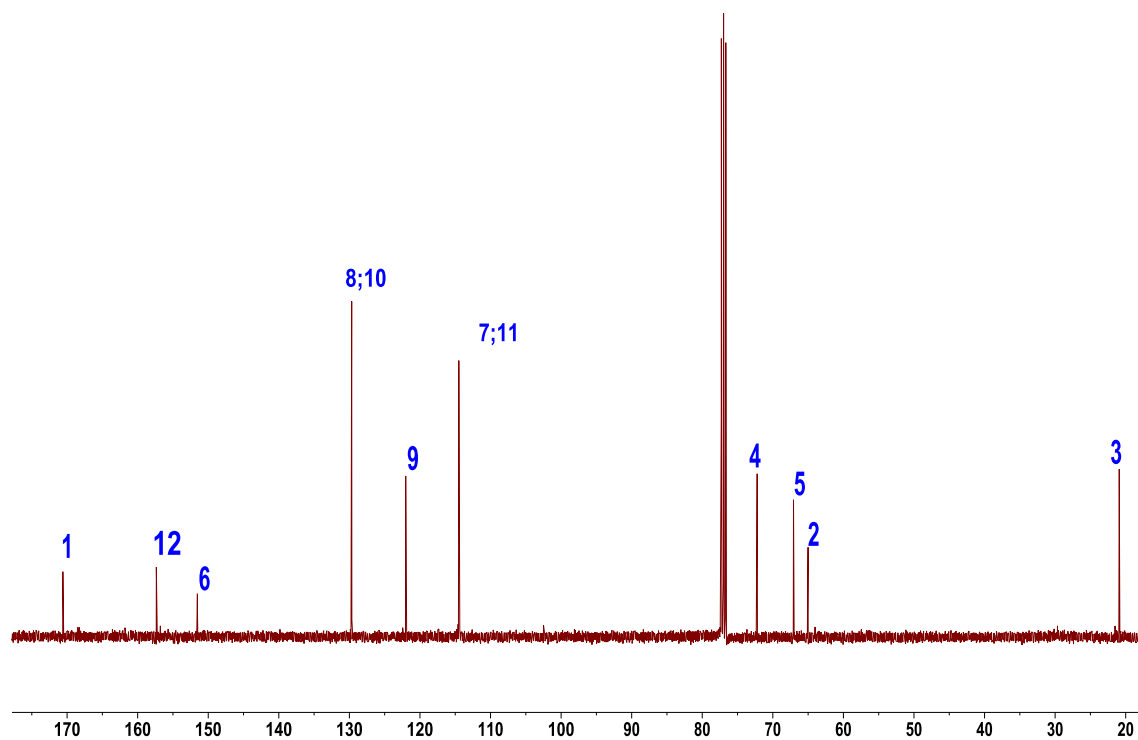


Figura50S(3.1). Espectros de RMN(CDCl₃) de las oxazolidin-2-onas derivadas de **3bi** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Sth} Y55T: a) ¹H; b) ¹³C; c) 2D ¹H-¹H COSY; d) HSQC y e) NOESY.

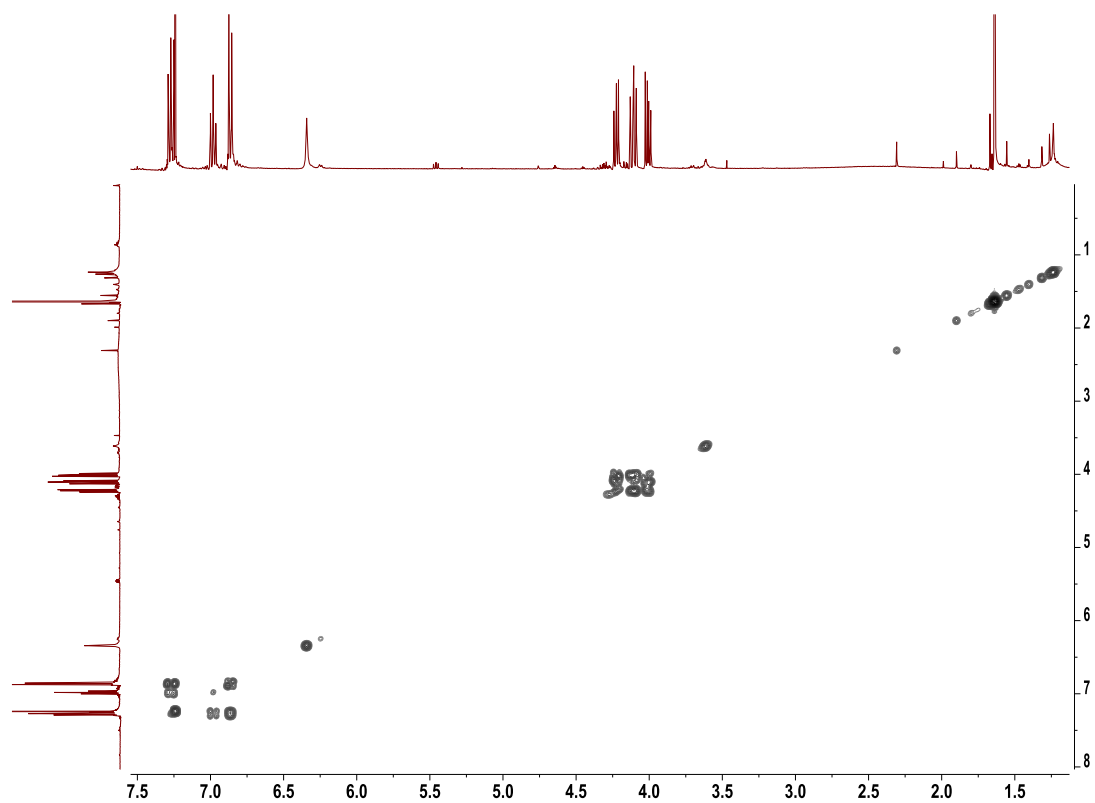
a)



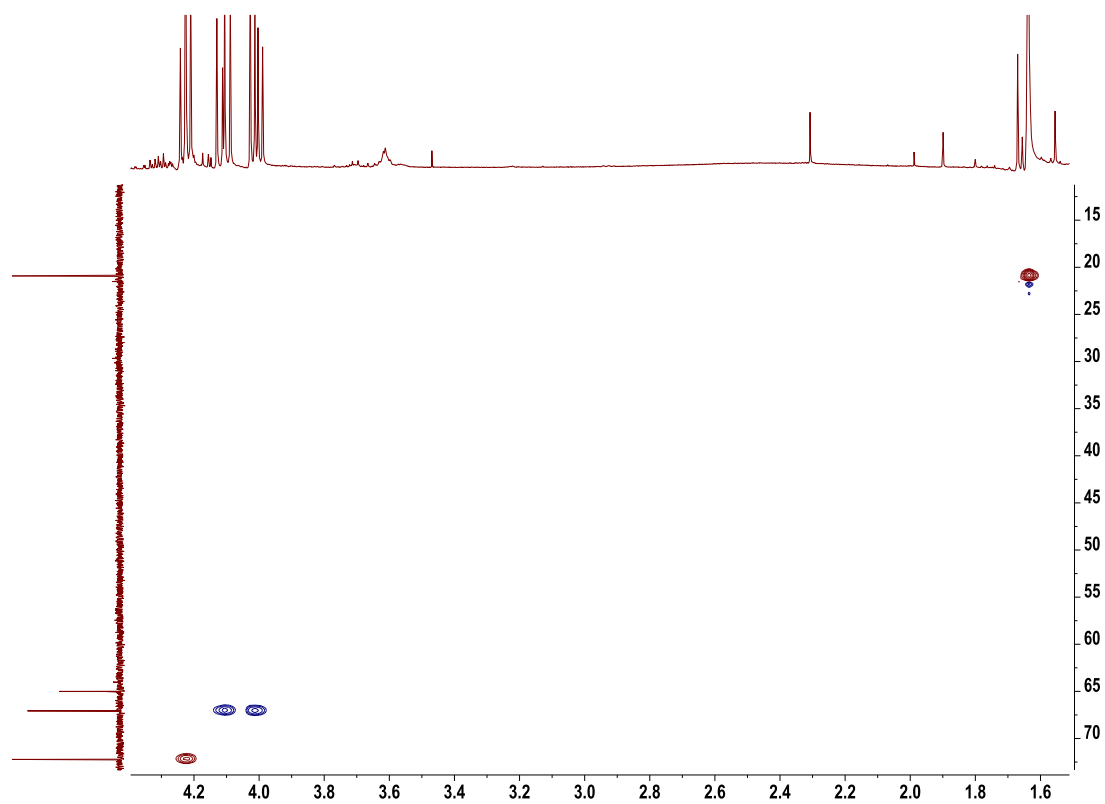
b)



c)



d)



e)

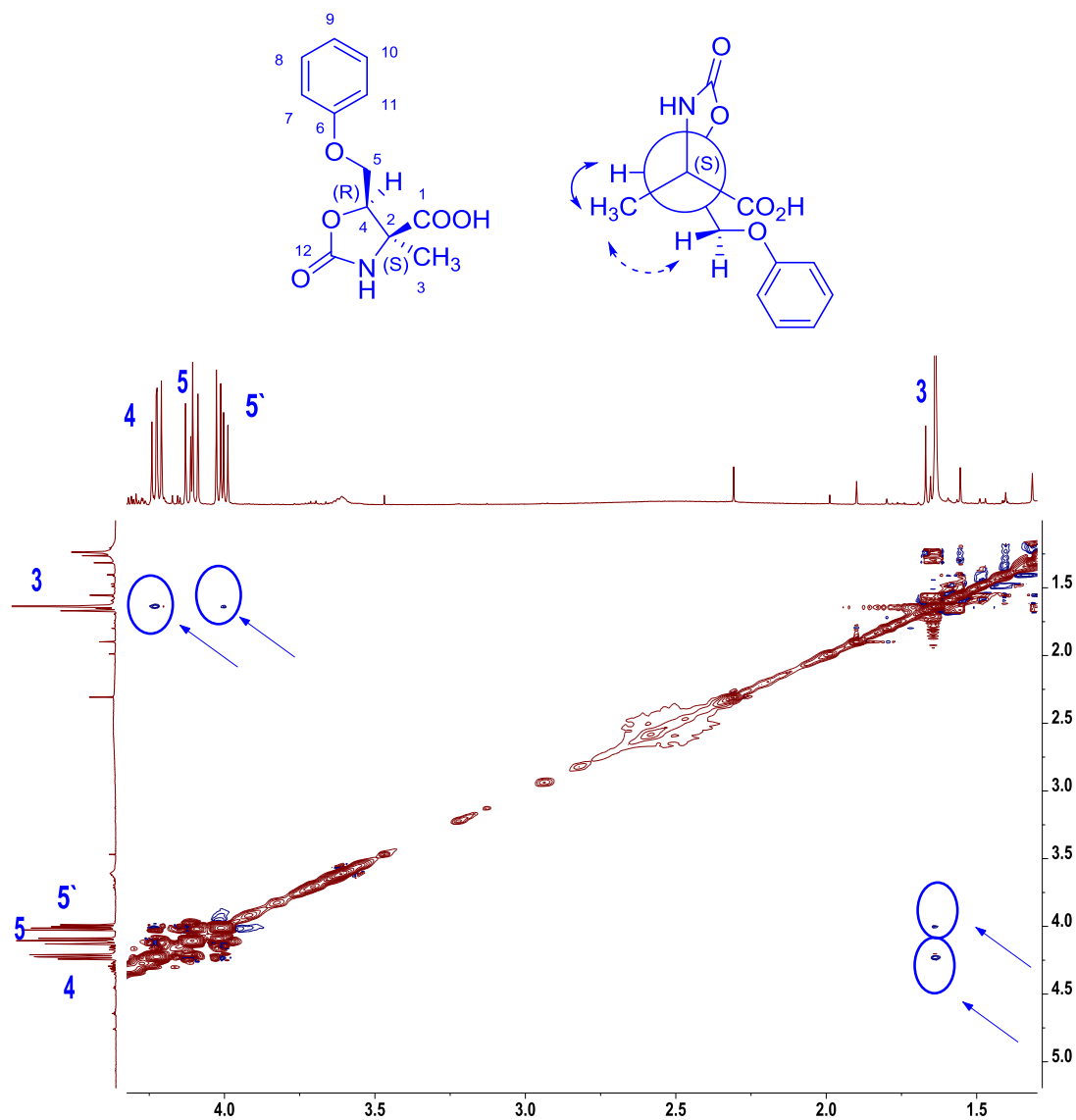
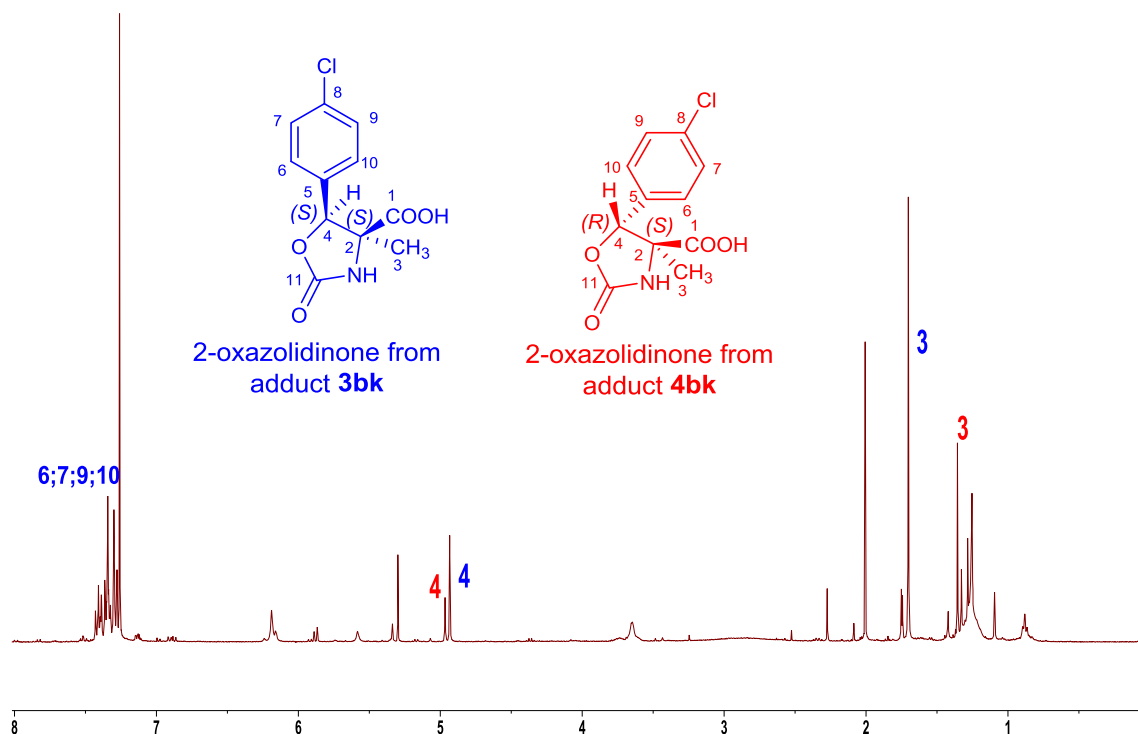
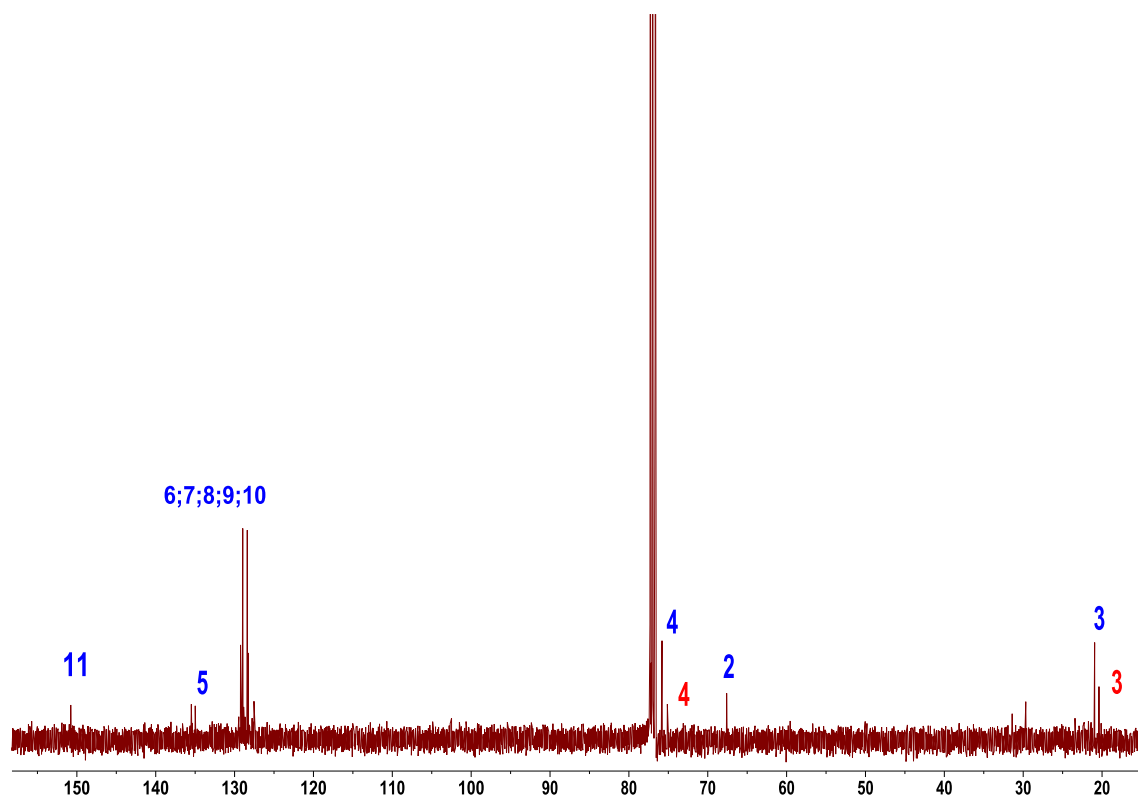


Figura51S(3.1). Espectros de RMN (CDCl_3) de las oxazolidin-2-onas derivadas de **3bk** y **4bk** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Sth} Y55T: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.

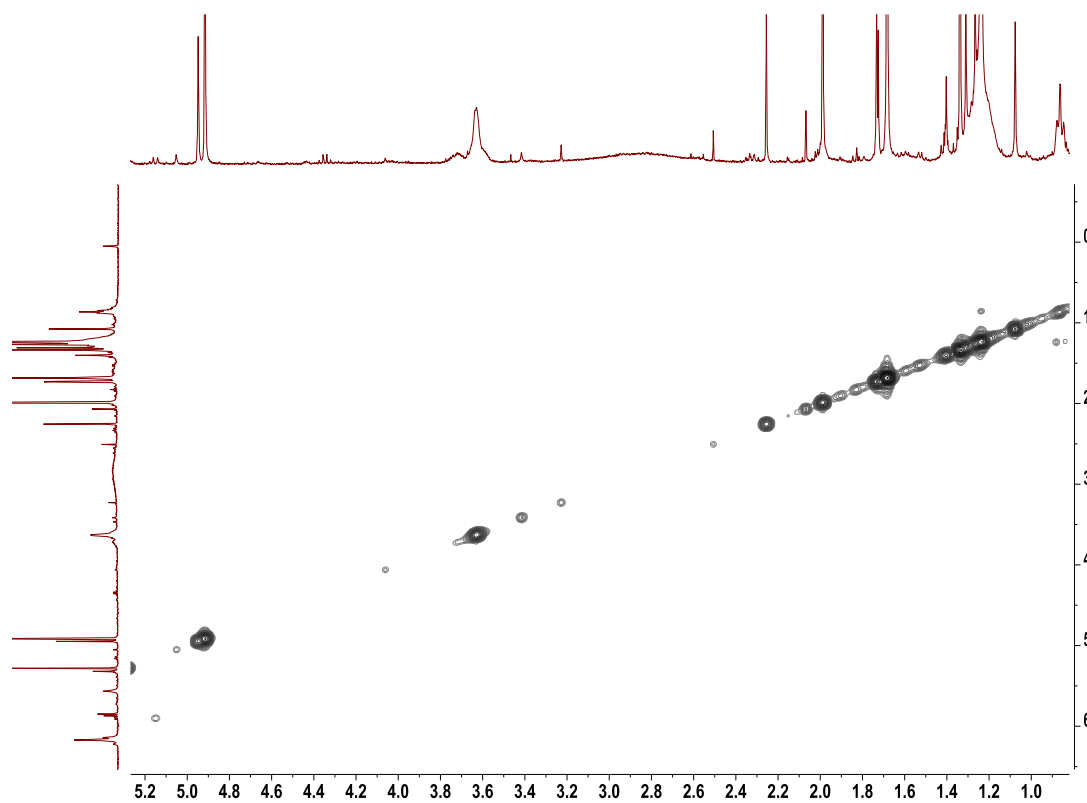
a)



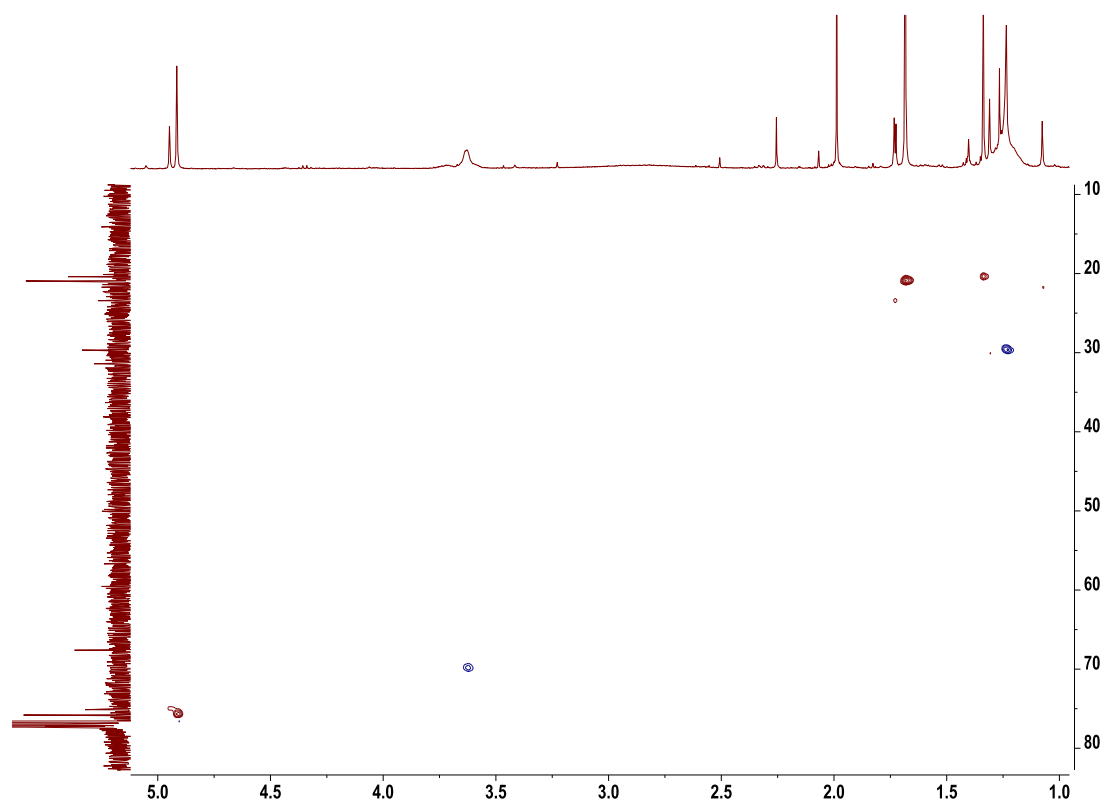
b)



c)



d)



e)

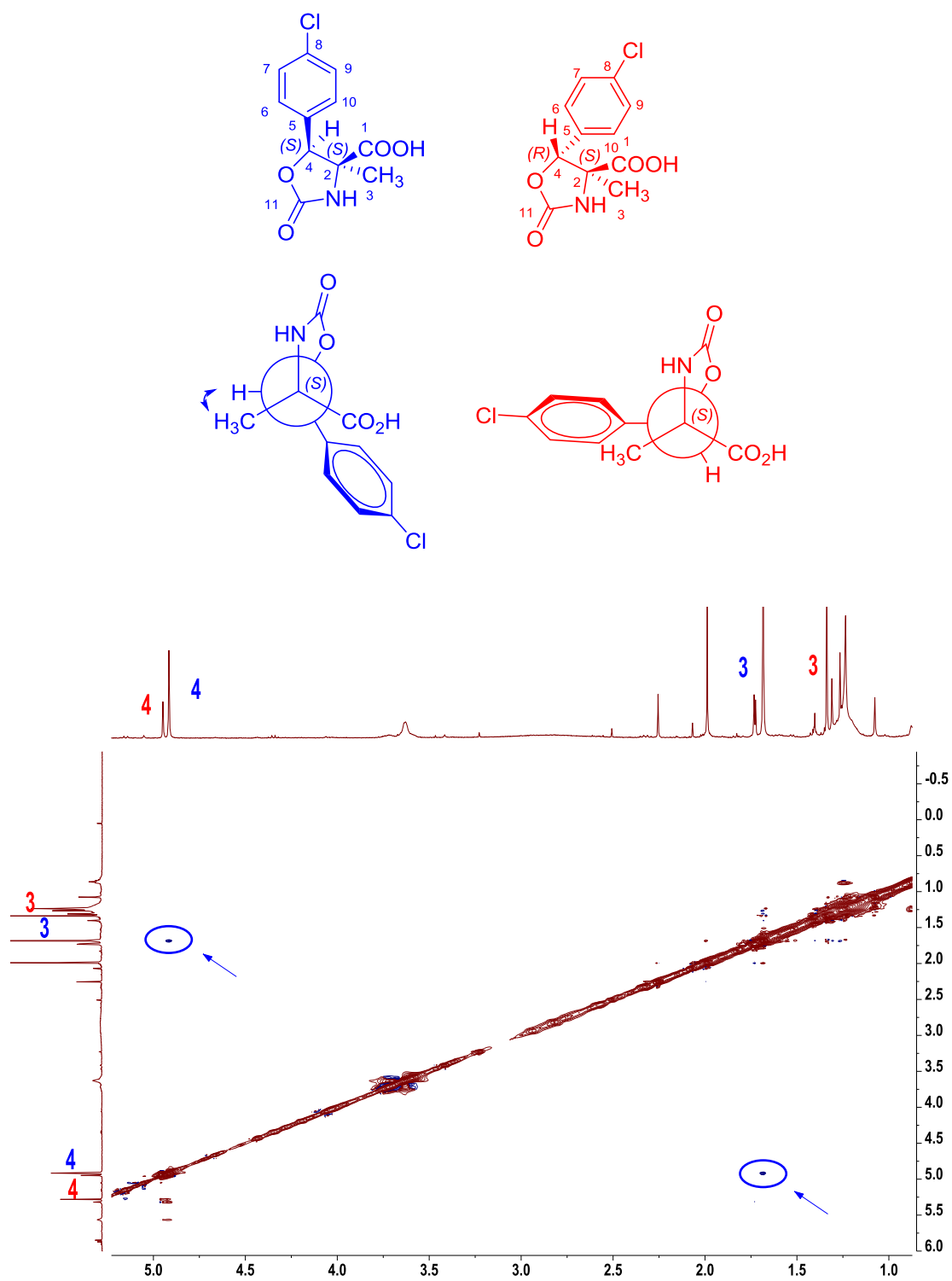
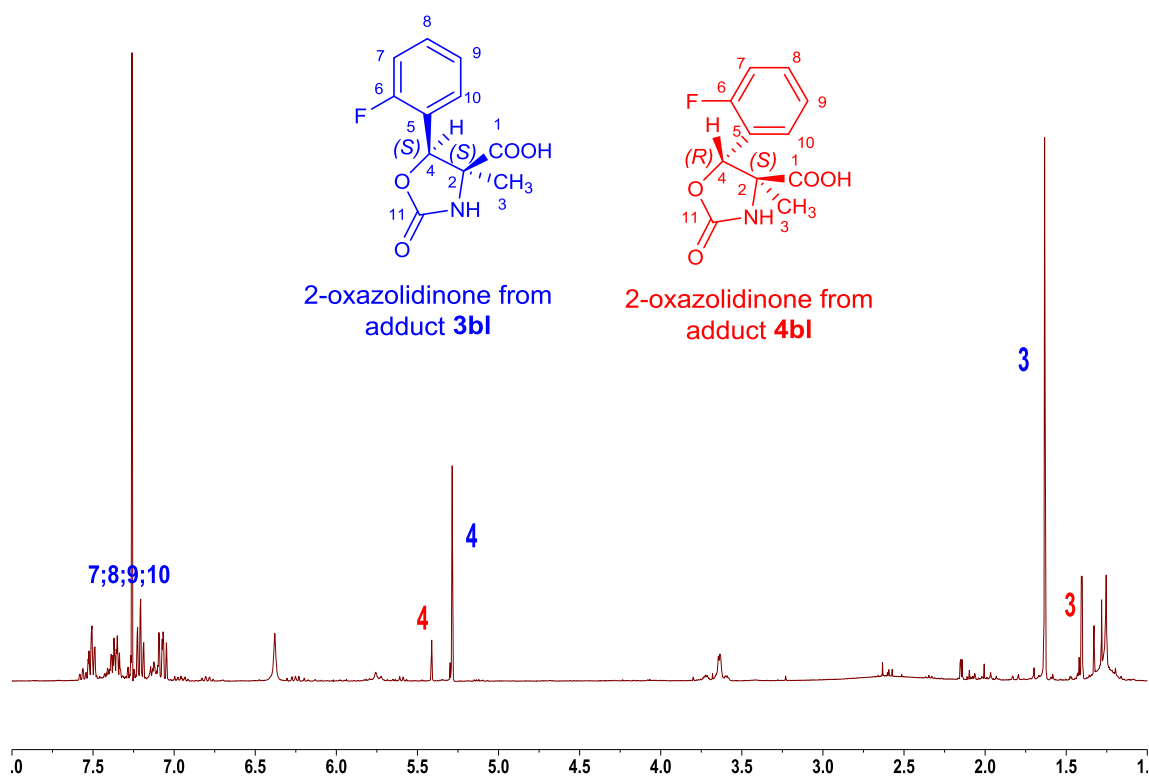
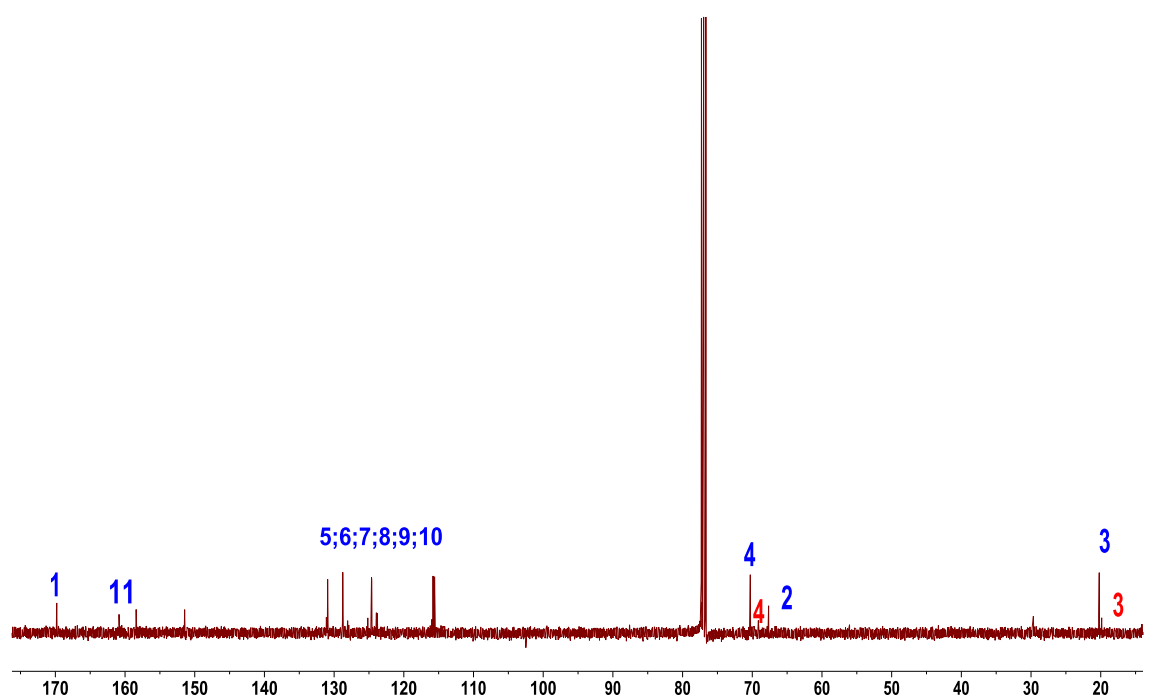


Figura52S(3.1). Espectros de RMN (CDCl_3) de las oxazolidin-2-onas derivadas de **3bl** y **4bl** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Sth} Y55T: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.

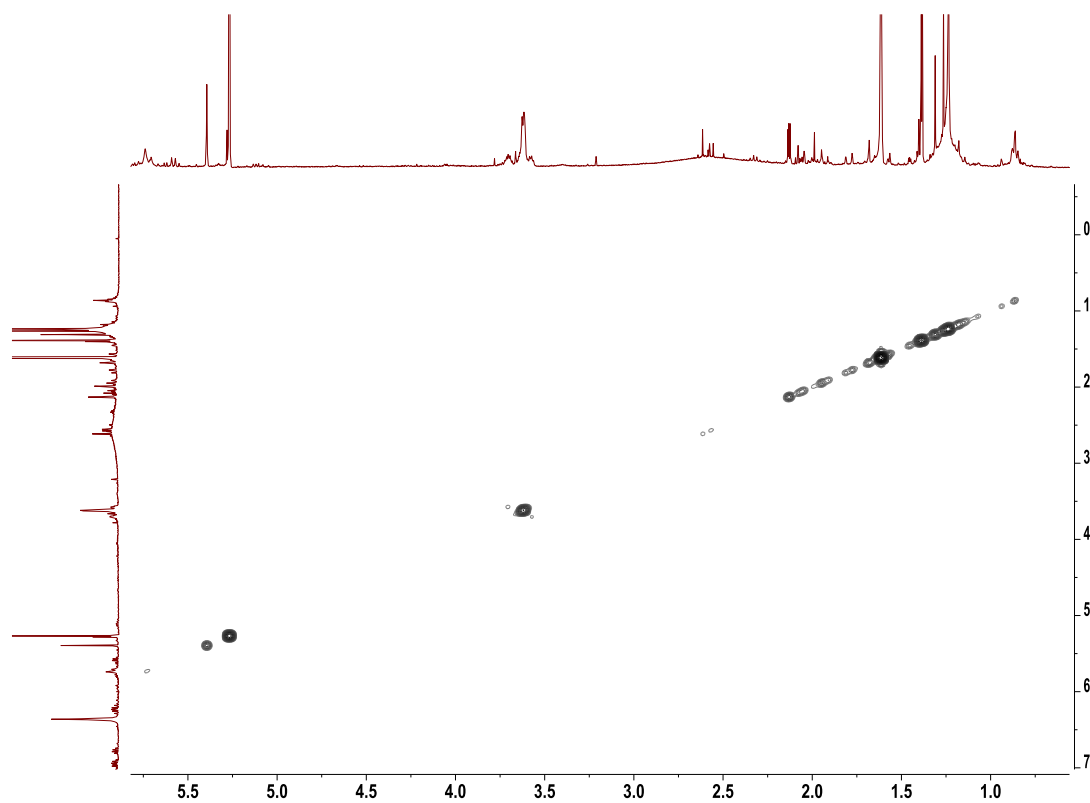
a)



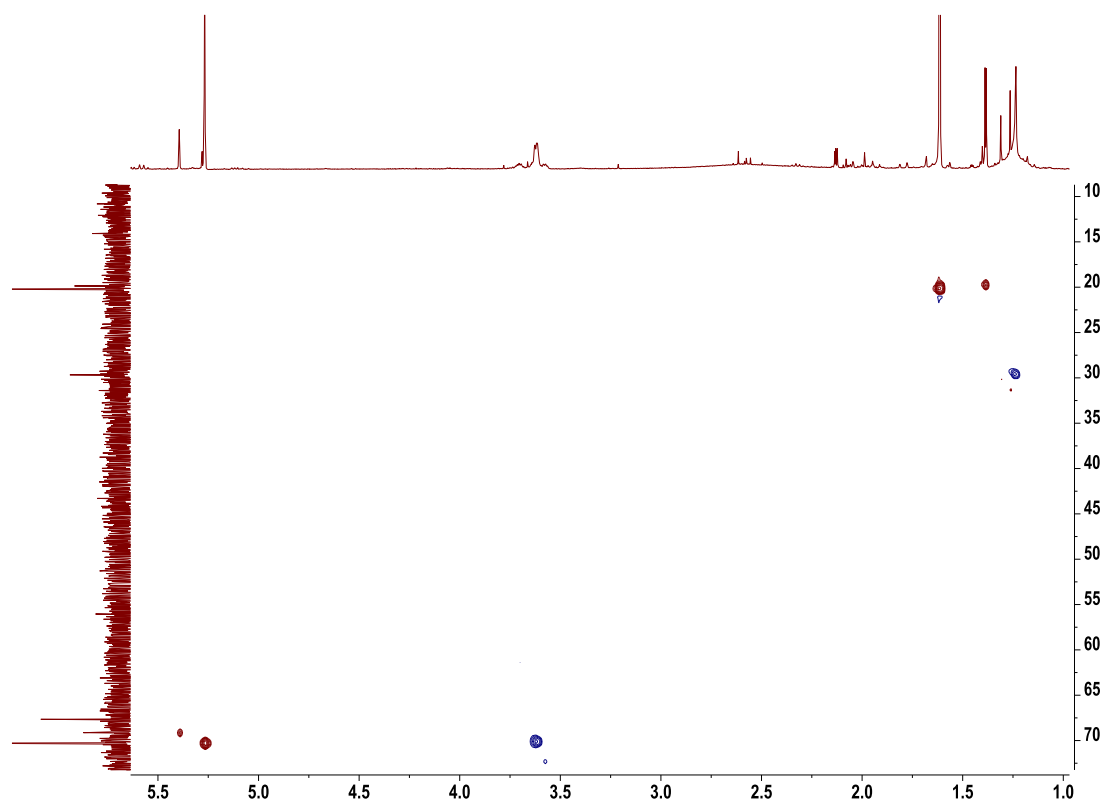
b)



c)



d)



e)

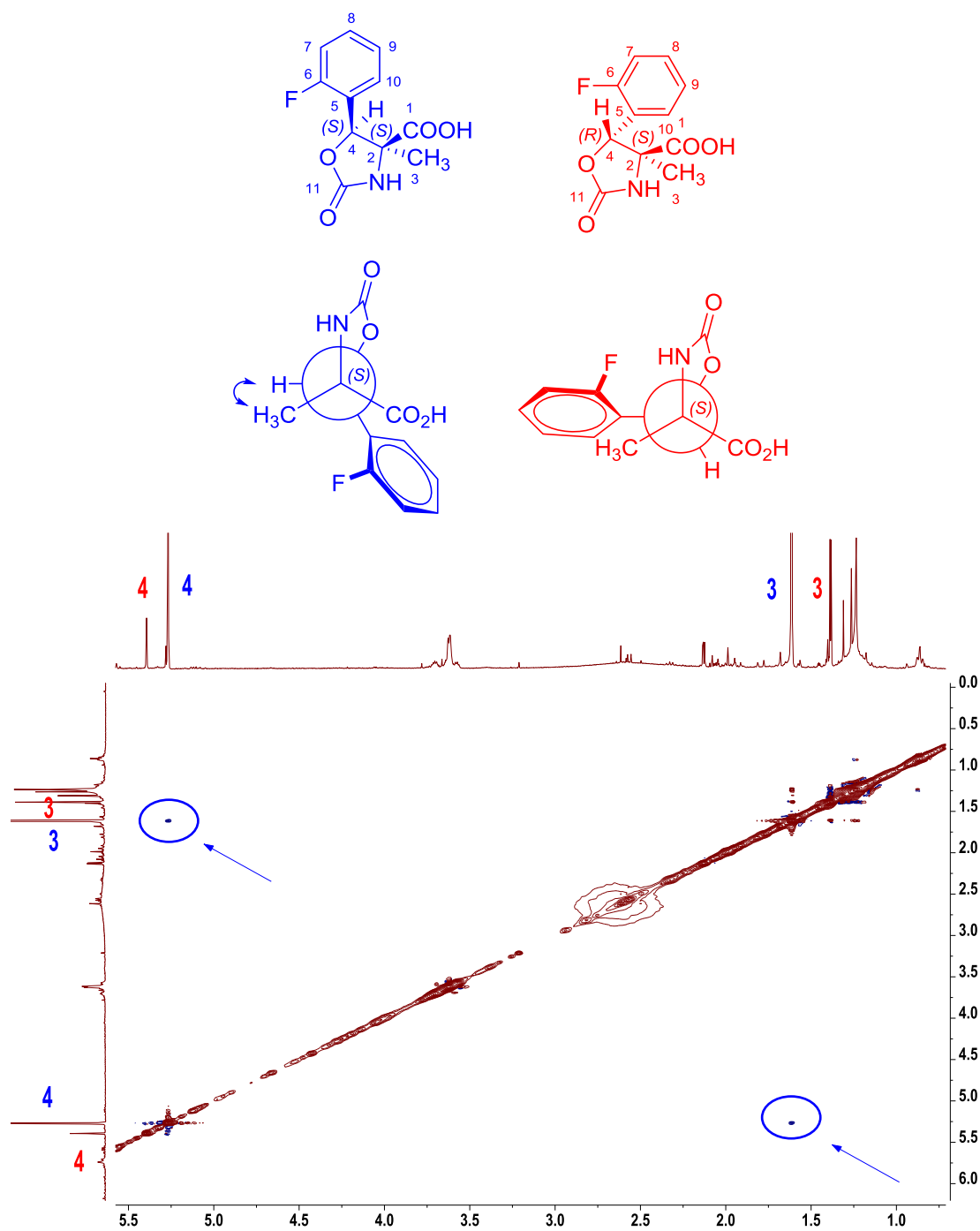
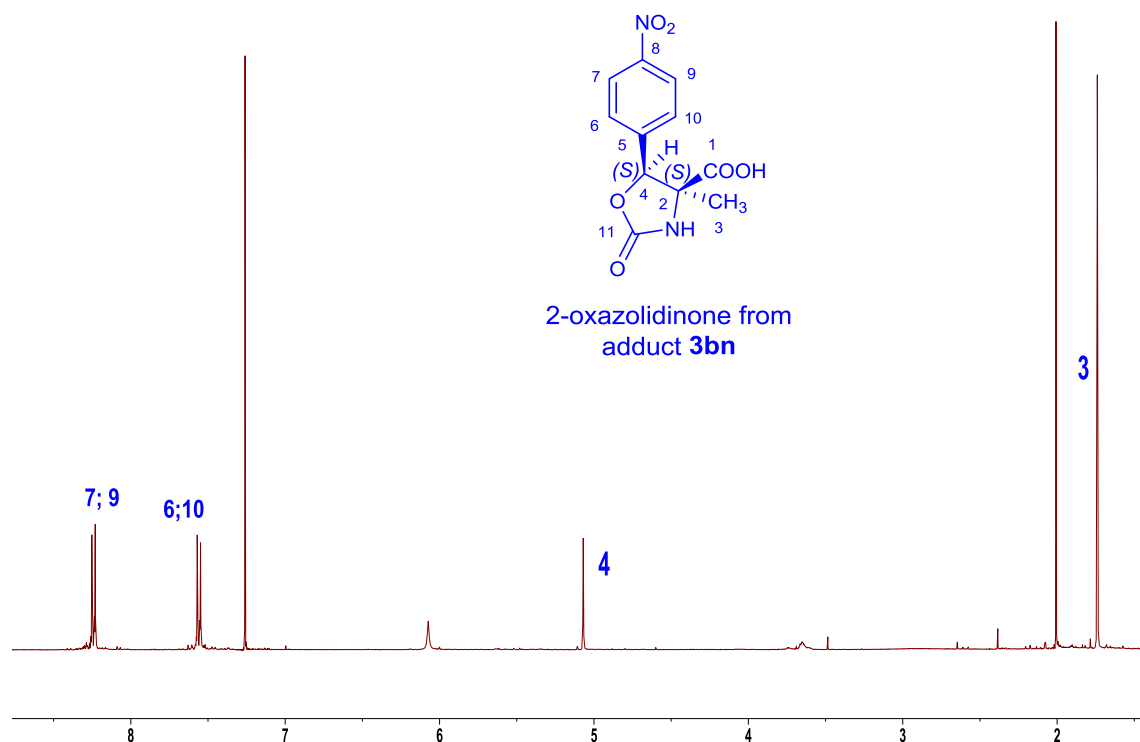
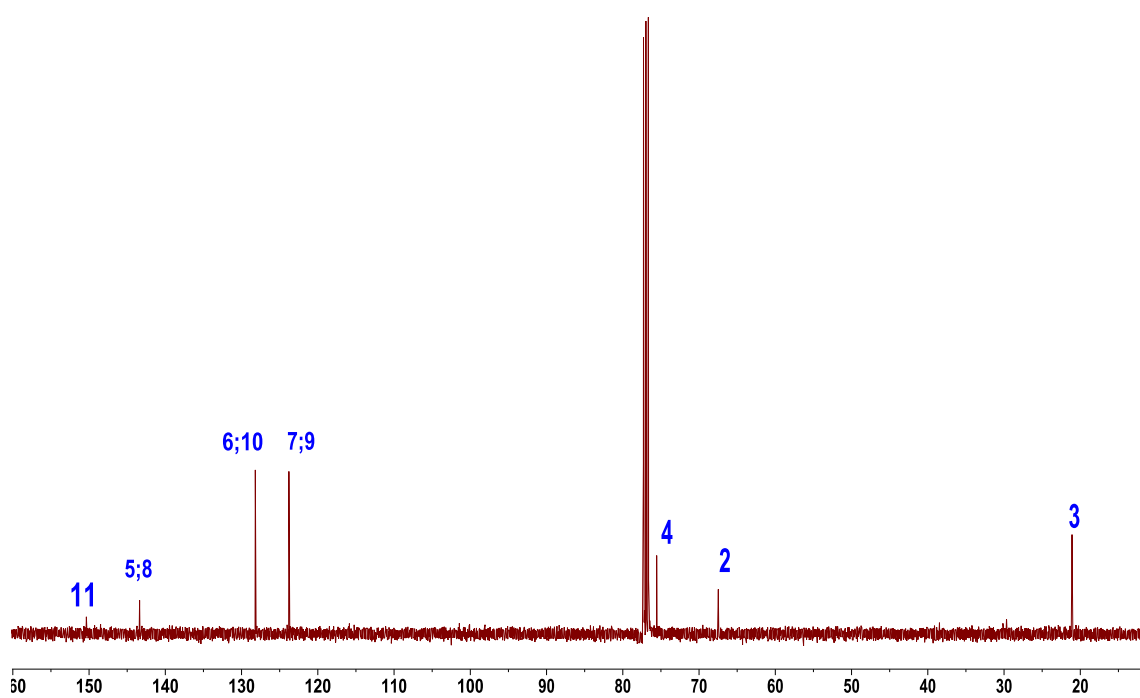


Figura53S(3.1). Espectros de RMN (CDCl_3) de las oxazolidin-2-onas derivadas de **3bn** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Sth} Y55T: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.

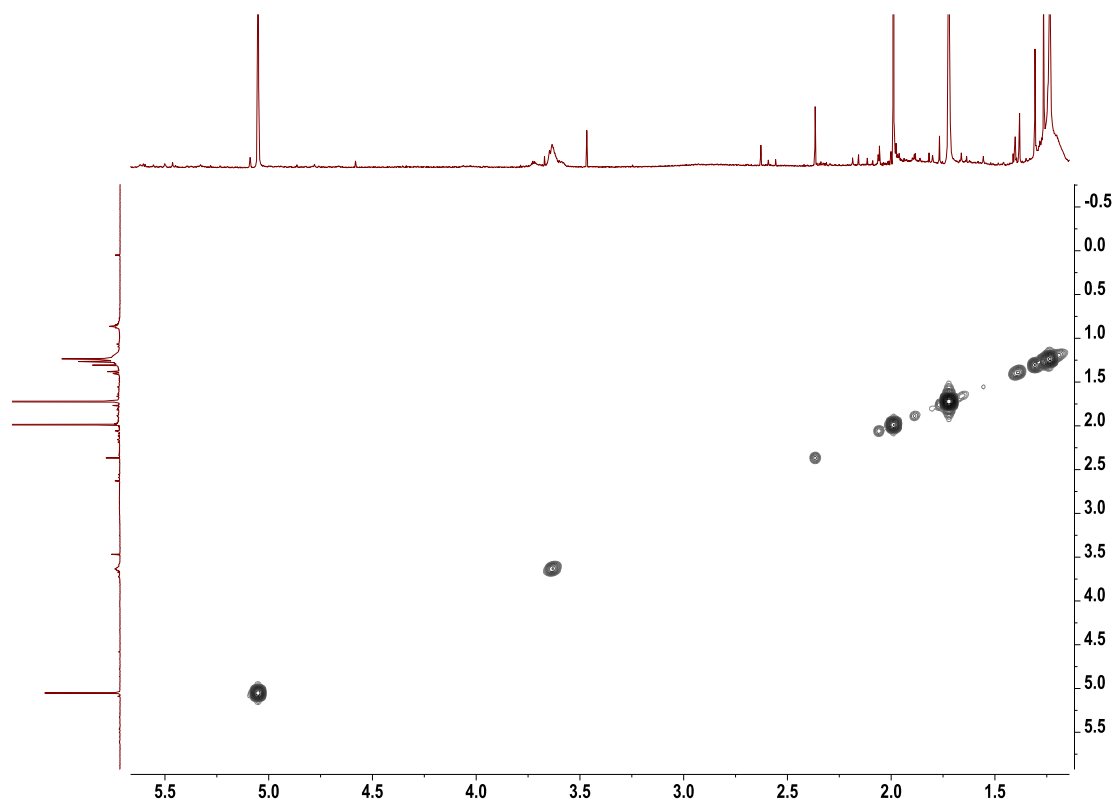
a)



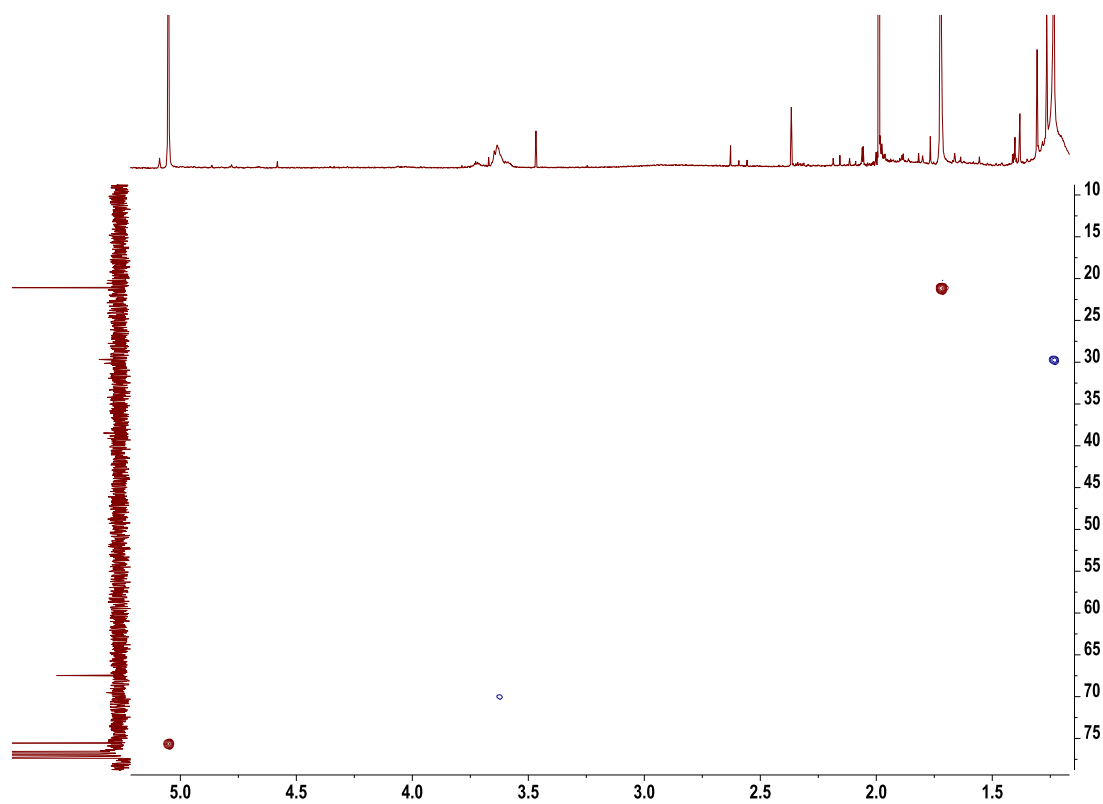
b)



c)



d)



e)

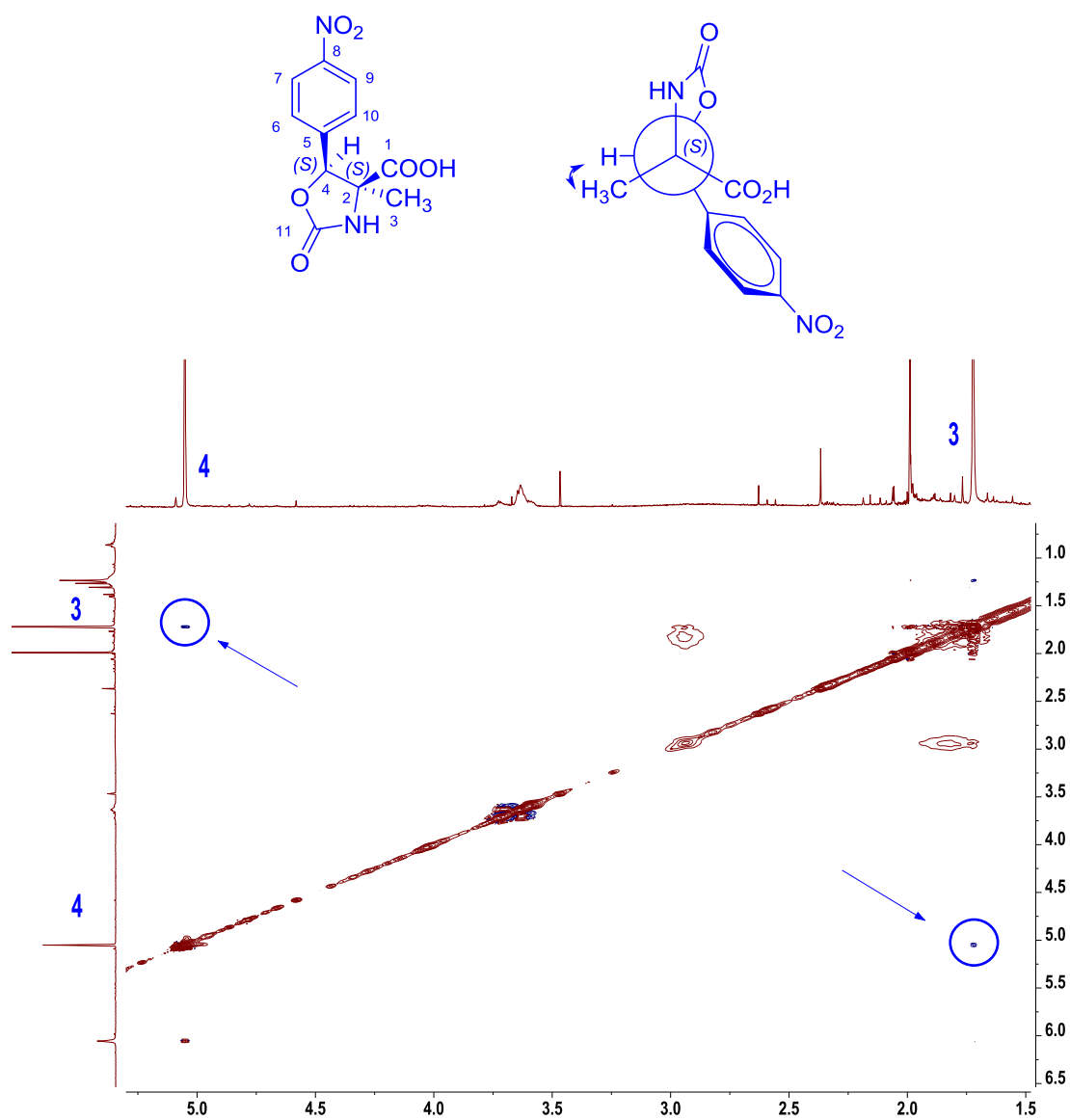
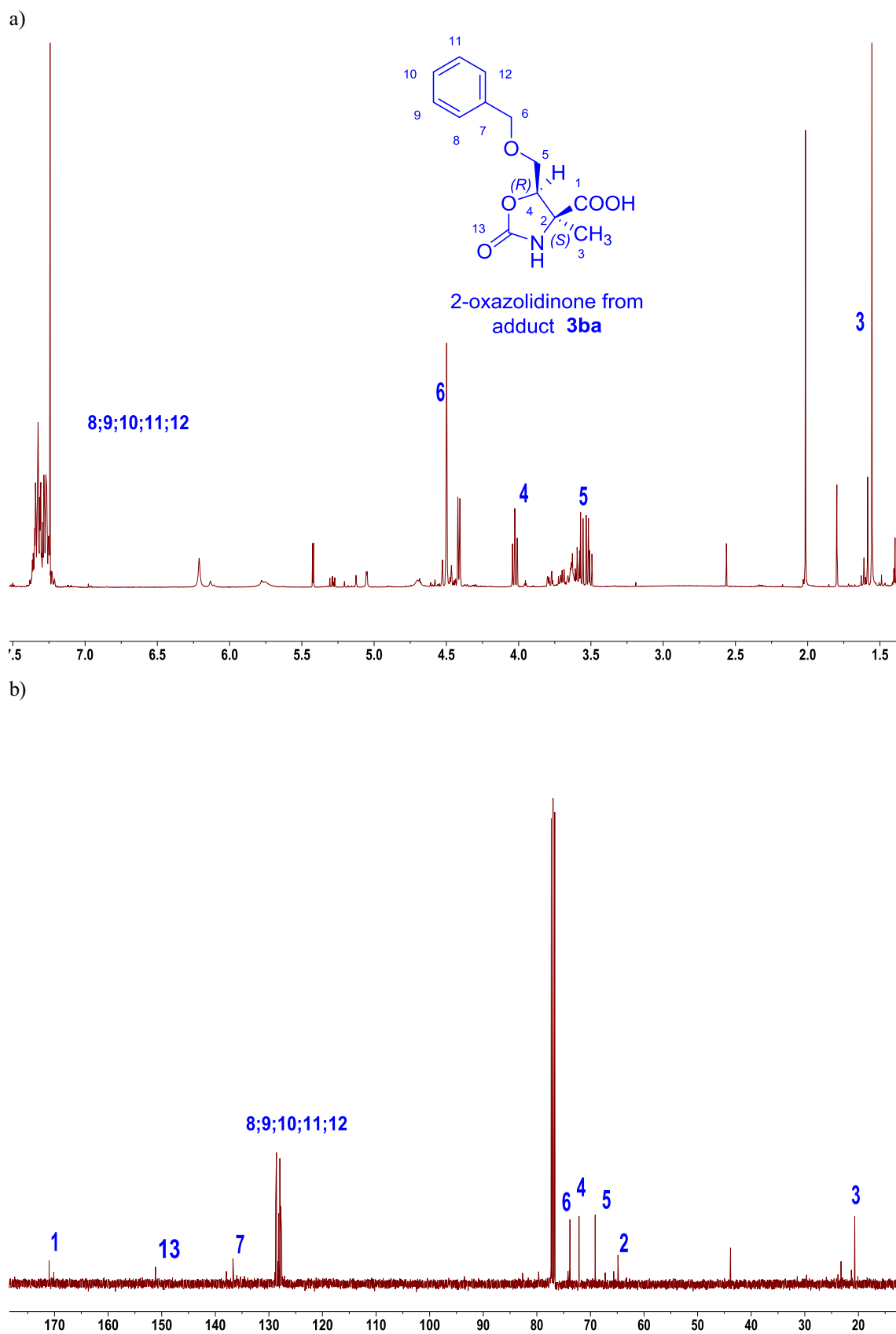
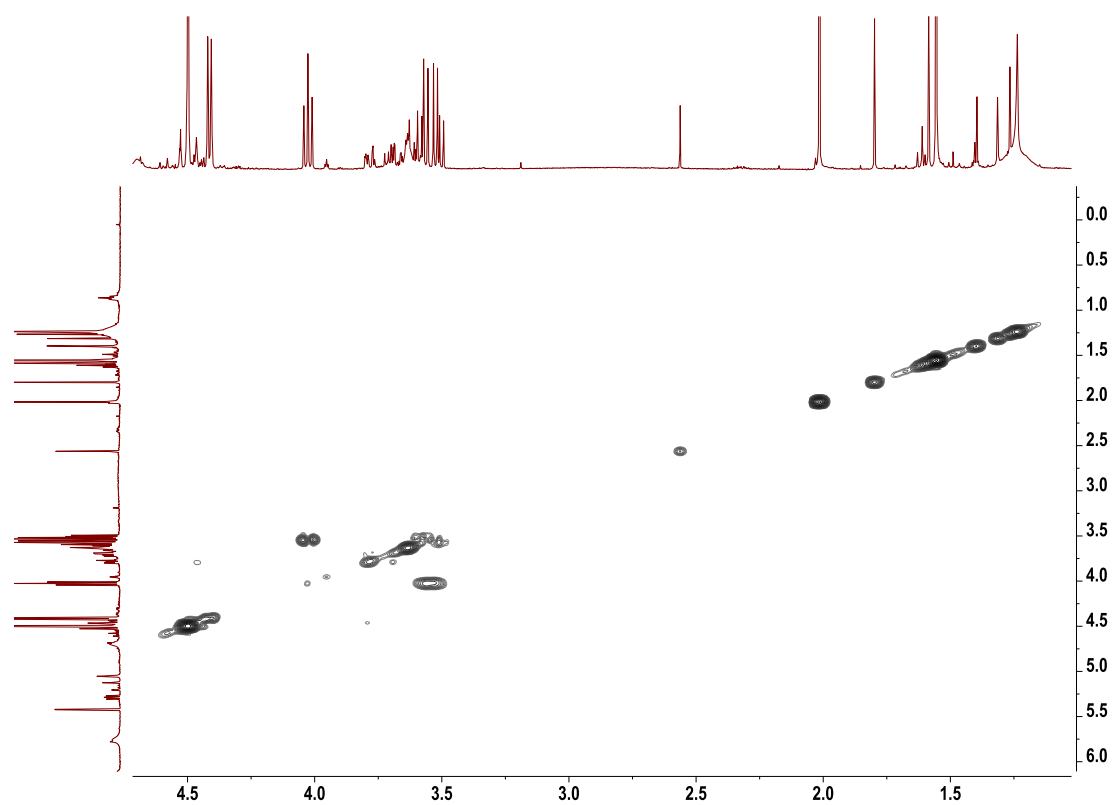


Figura54S(3.1). Espectros de RMN (CDCl_3) de las oxazolidin-2-onas derivadas de **3ba** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Sth} nativa: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.



c)



d)

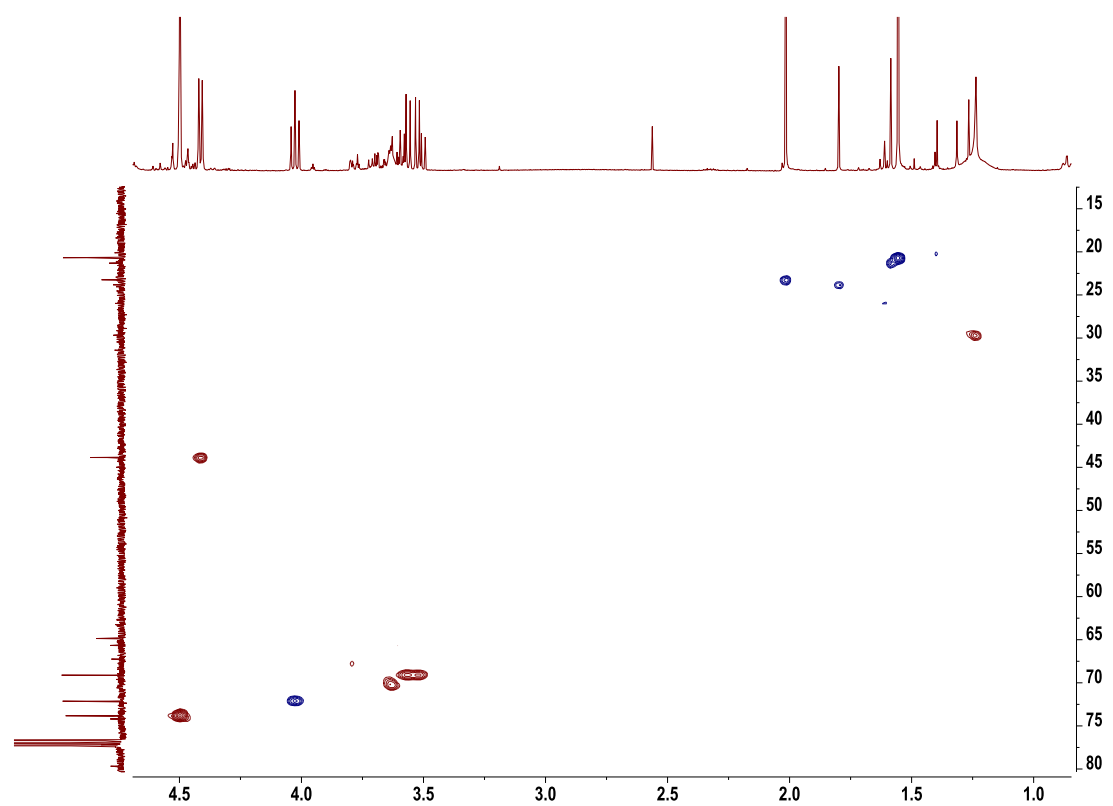
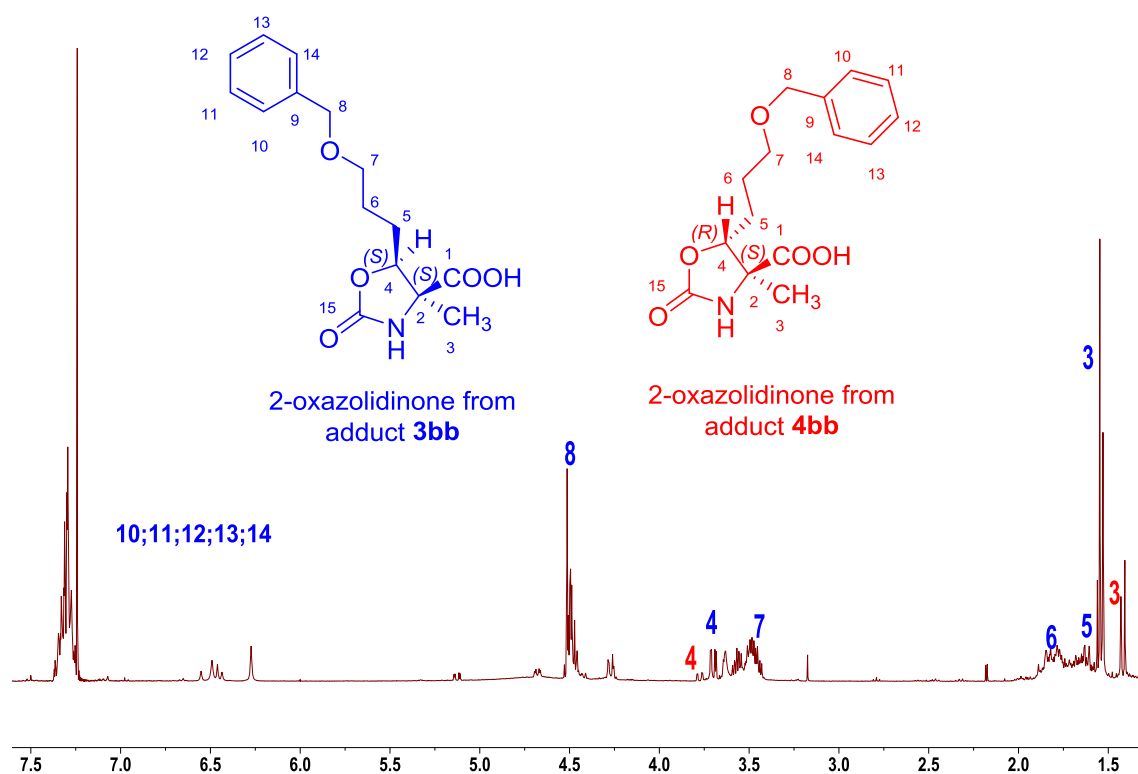
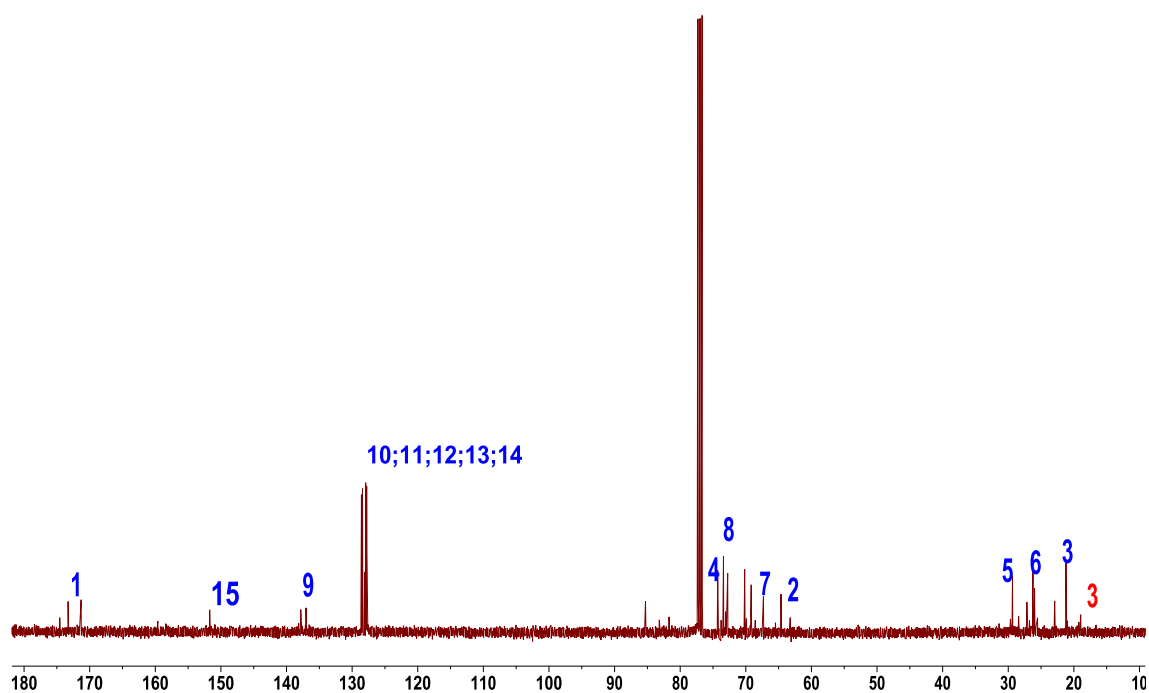


Figura55S(3.1). Espectros de RMN (CDCl_3) de las oxazolidin-2-onas derivadas de **3bb** y **4bb** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Sth} nativa: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.

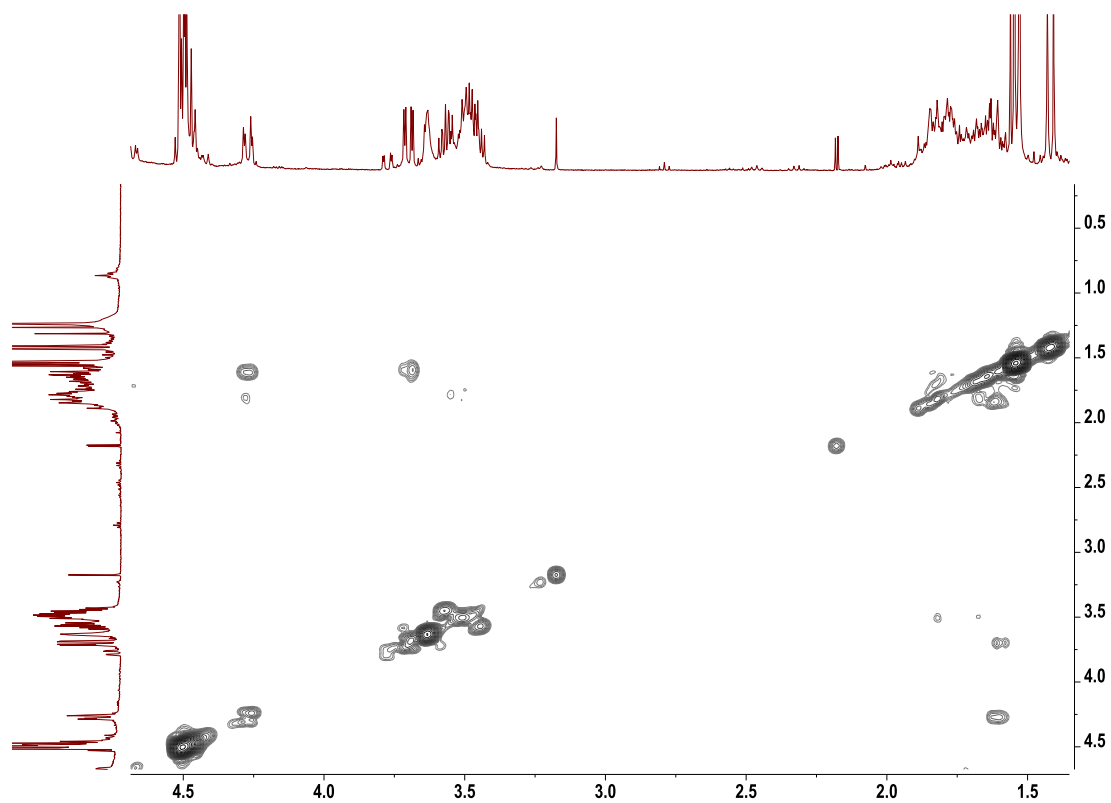
a)



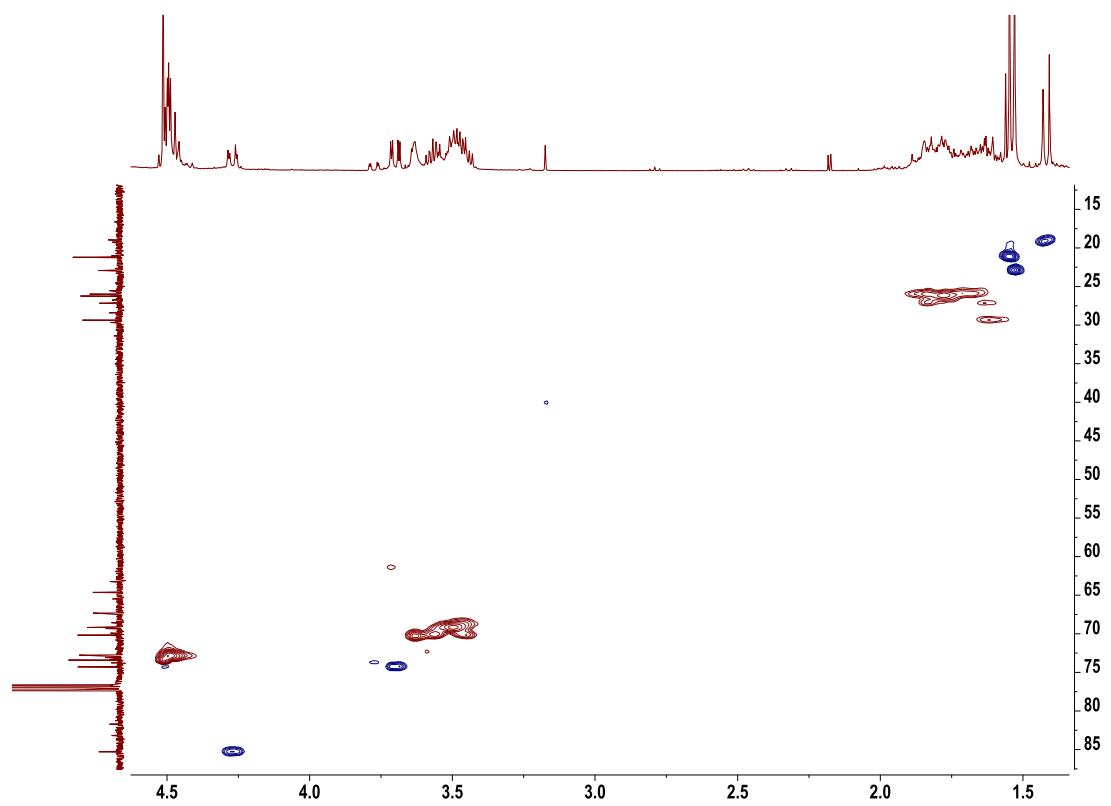
b)



c)



d)



e)

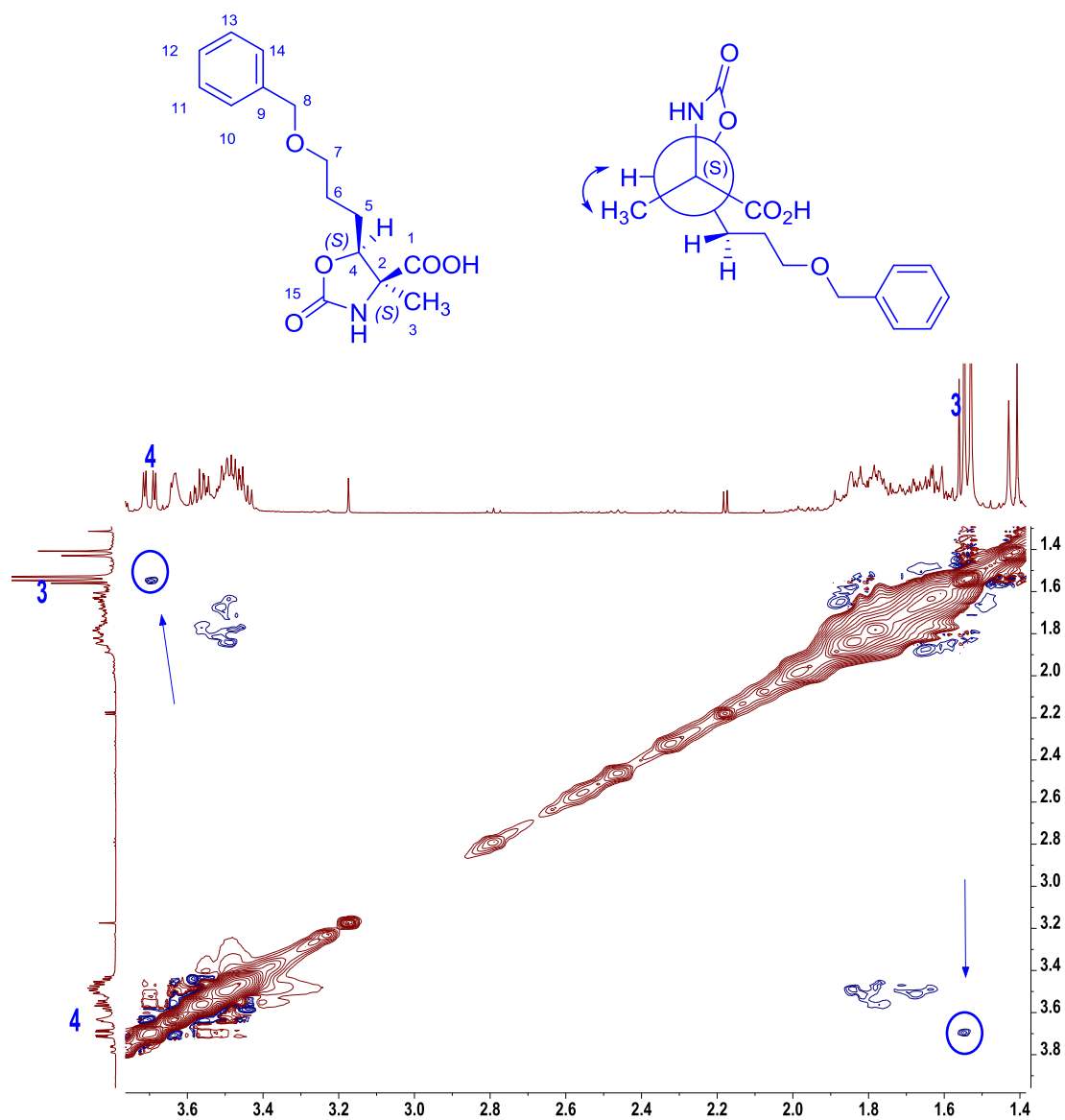
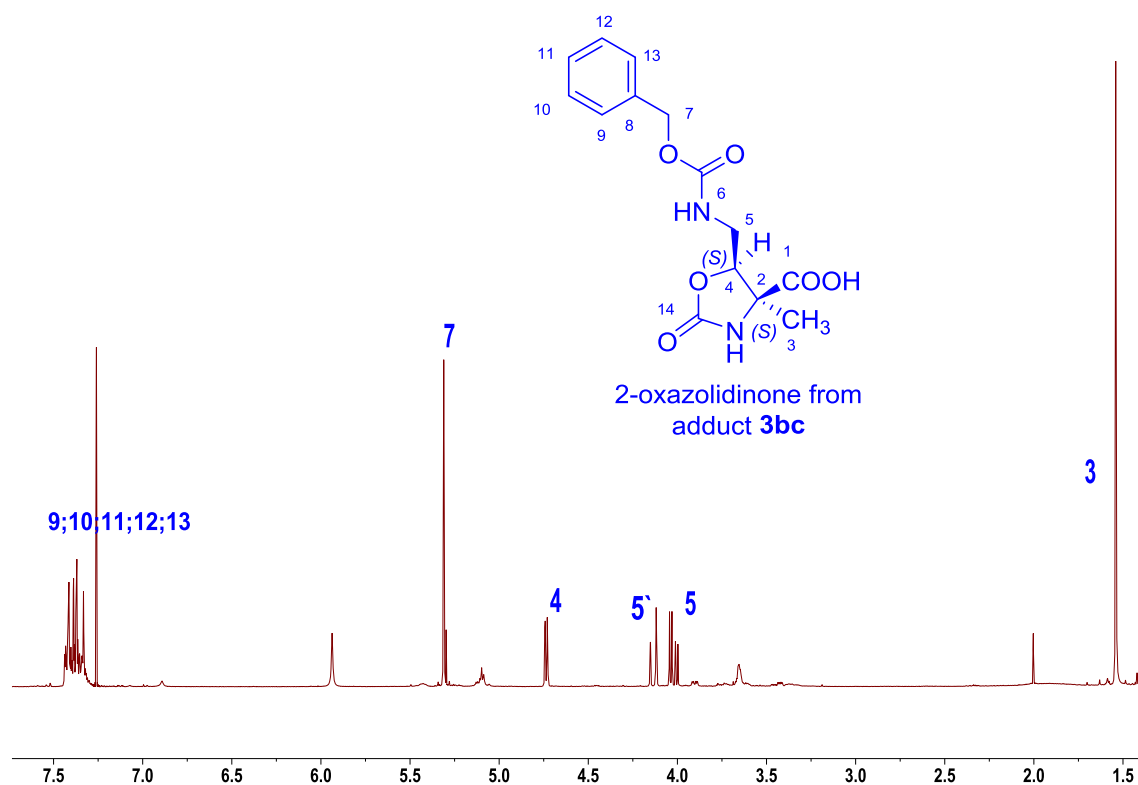
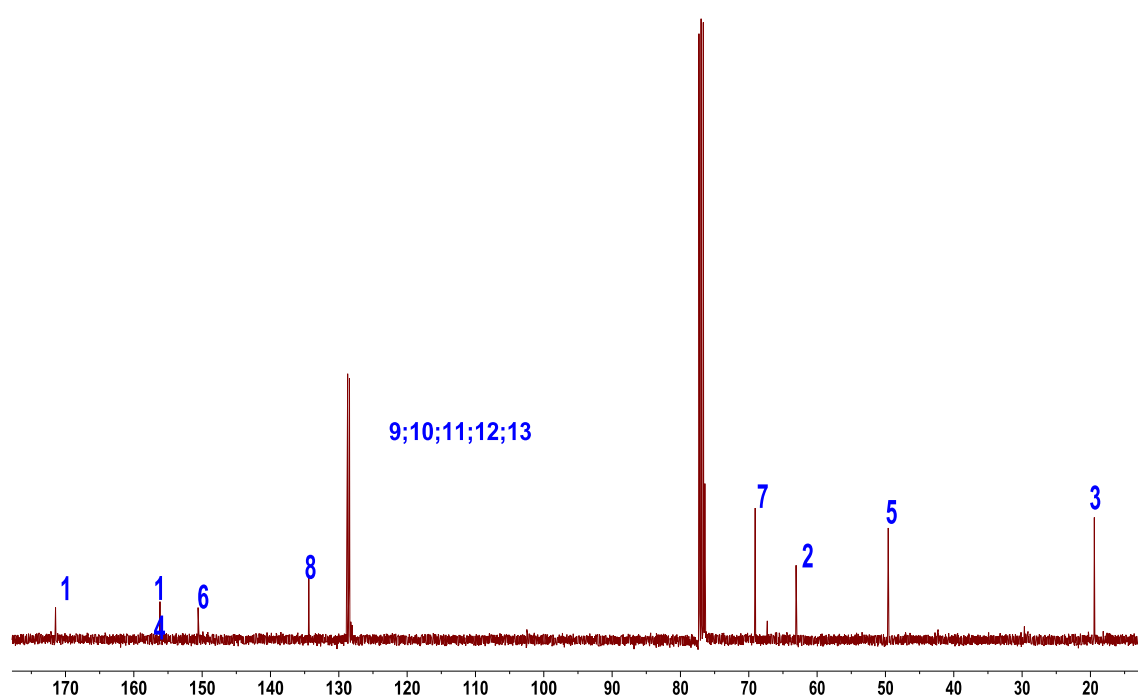


Figura56S(3.1). Espectros de RMN (CDCl_3) de las oxazolidin-2-onas derivadas de **3bc** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Sth} nativa: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.

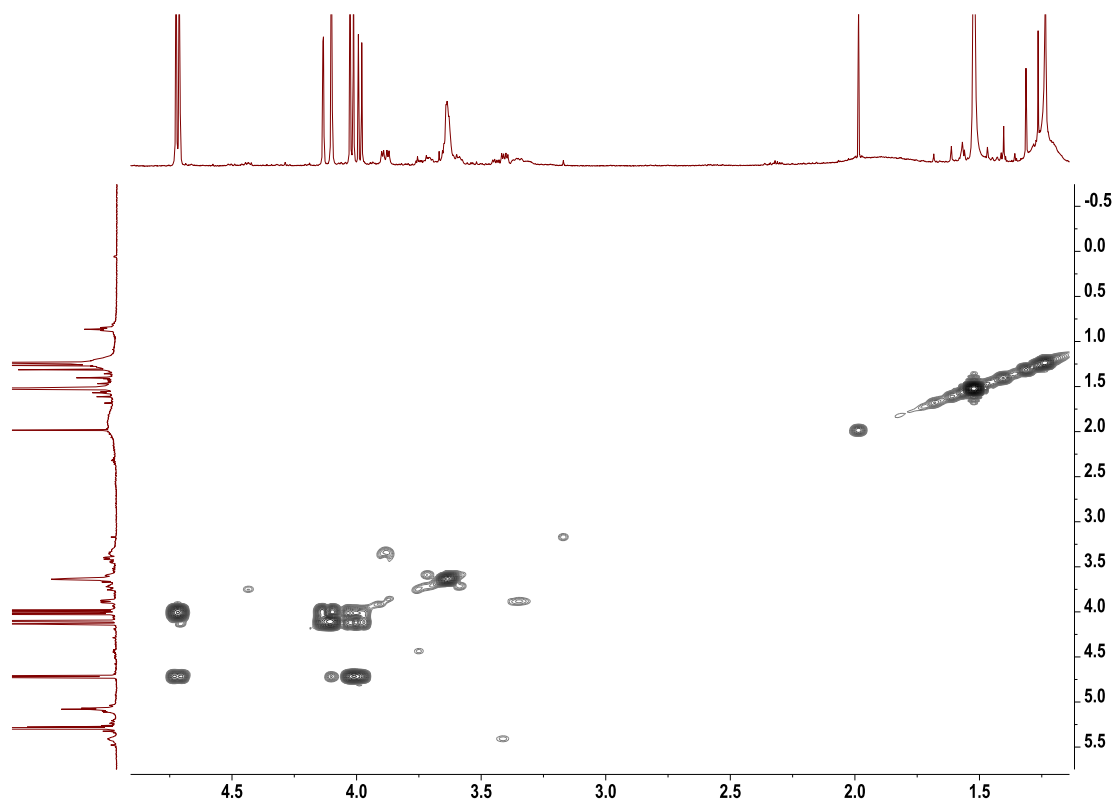
a)



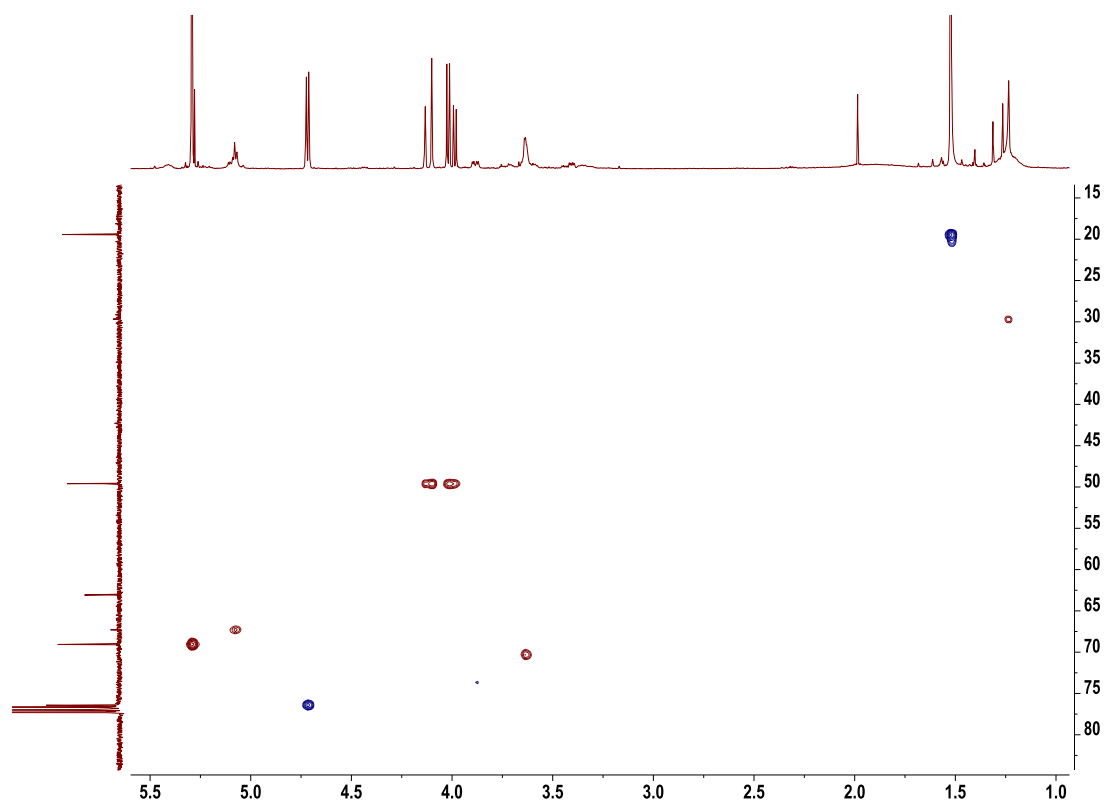
b)



c)



d)



e)

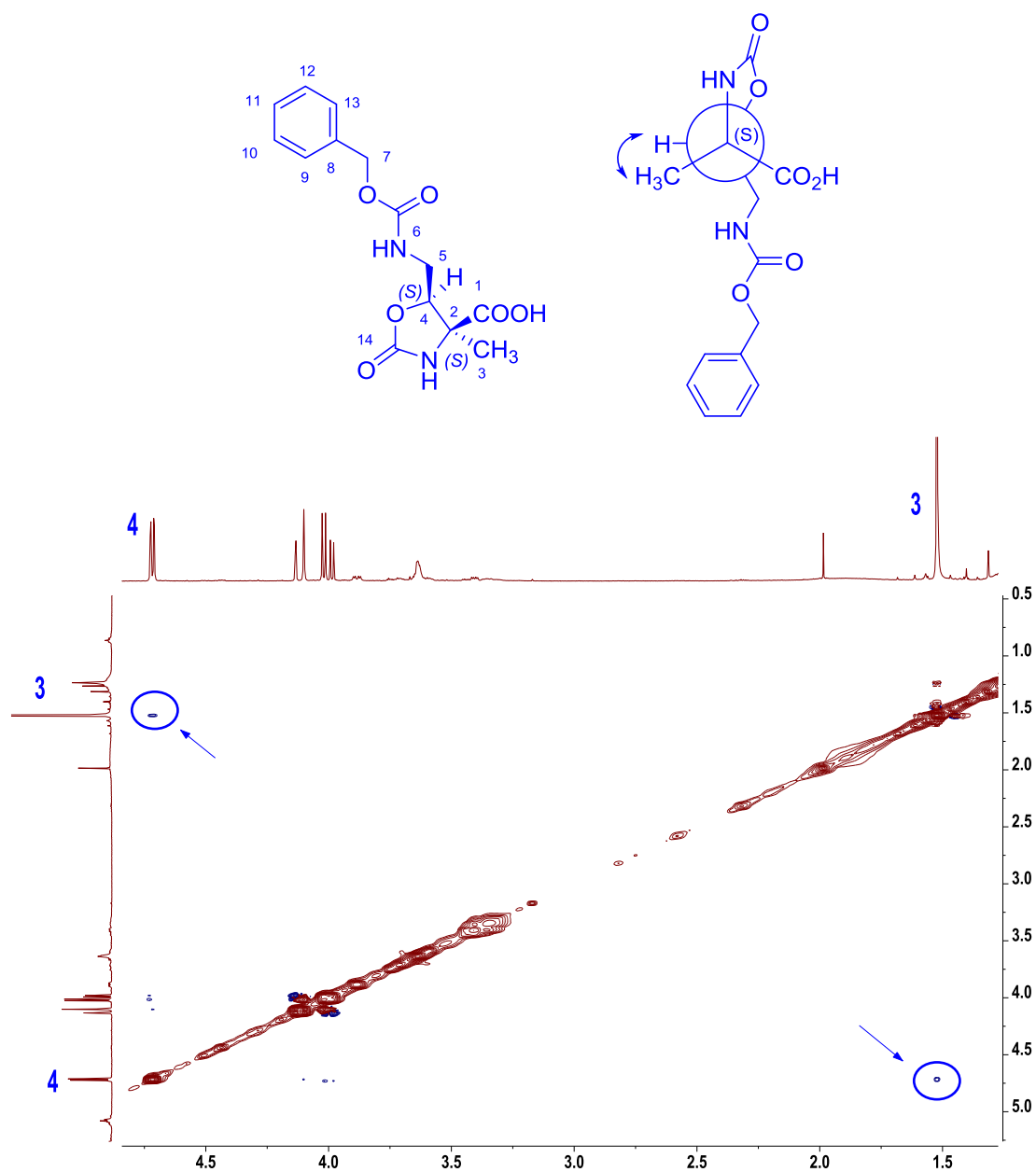
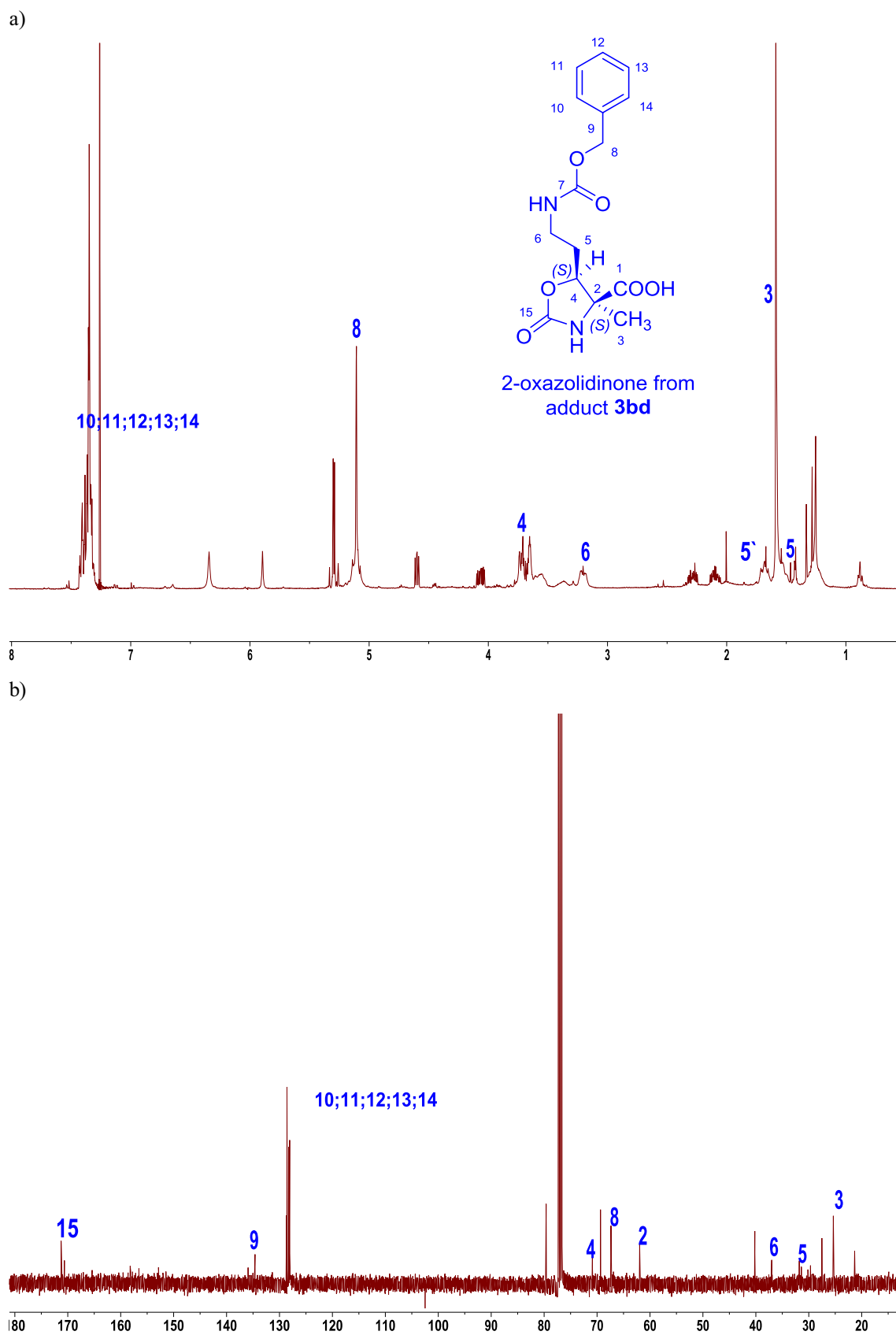
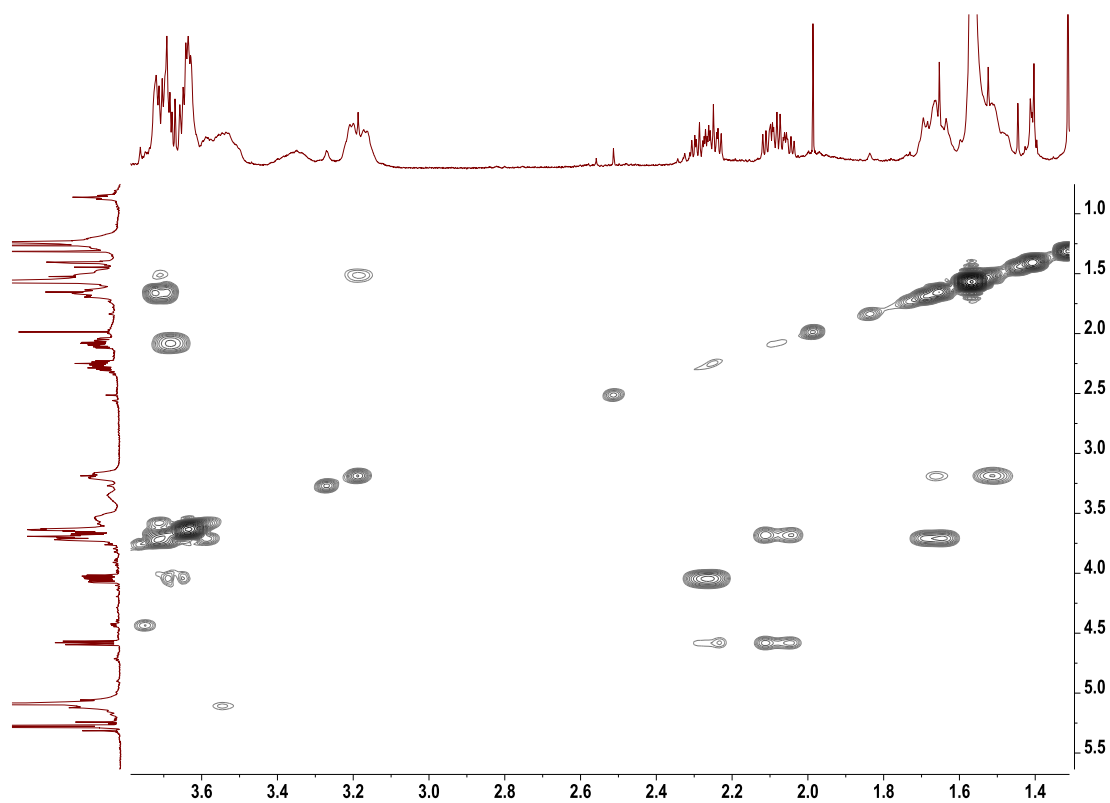


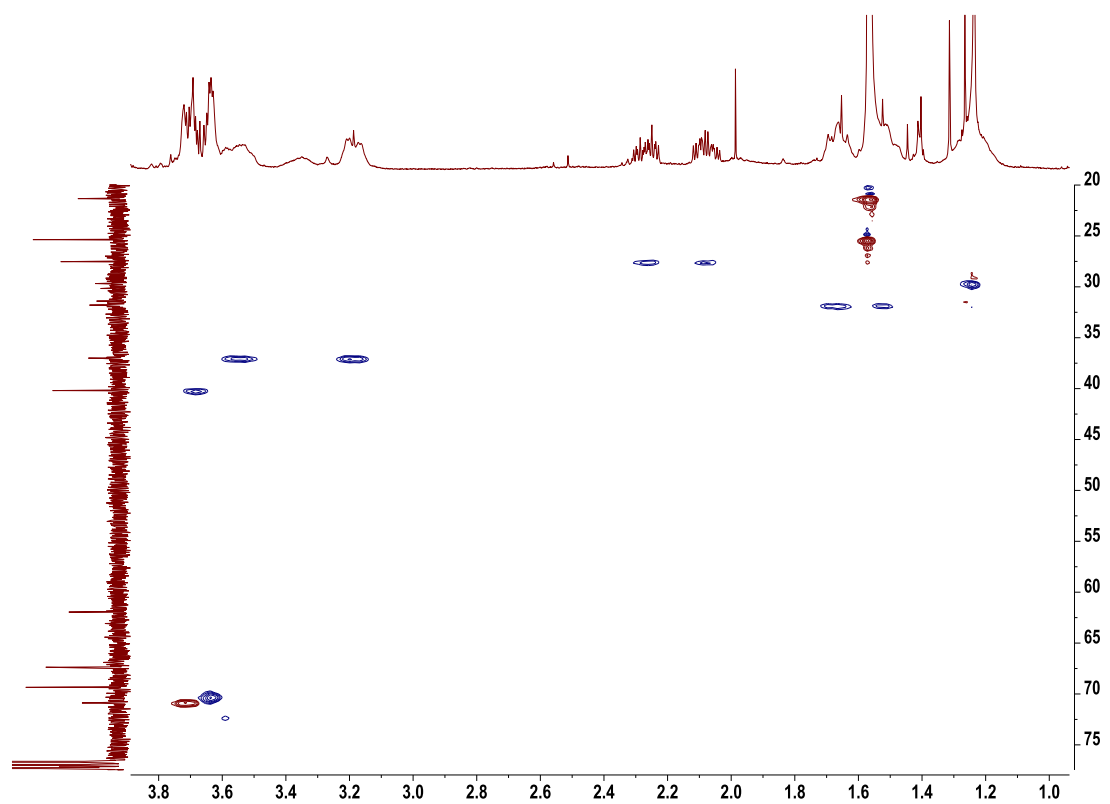
Figura57S(3.1). Espectros de RMN (CDCl_3) de las oxazolidin-2-onas derivadas de **3bd** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Sth} nativa: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.



c)



d)



e)

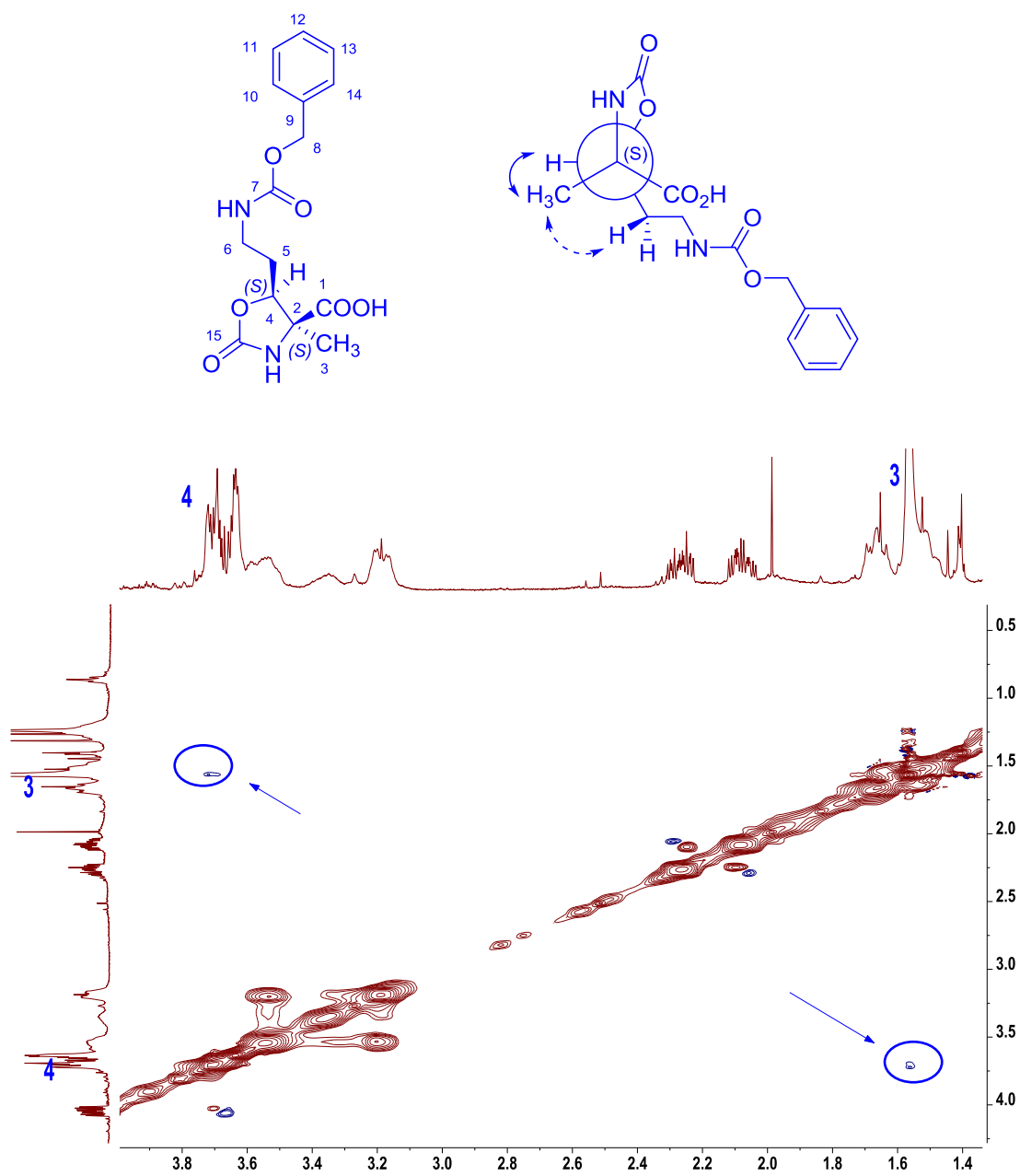
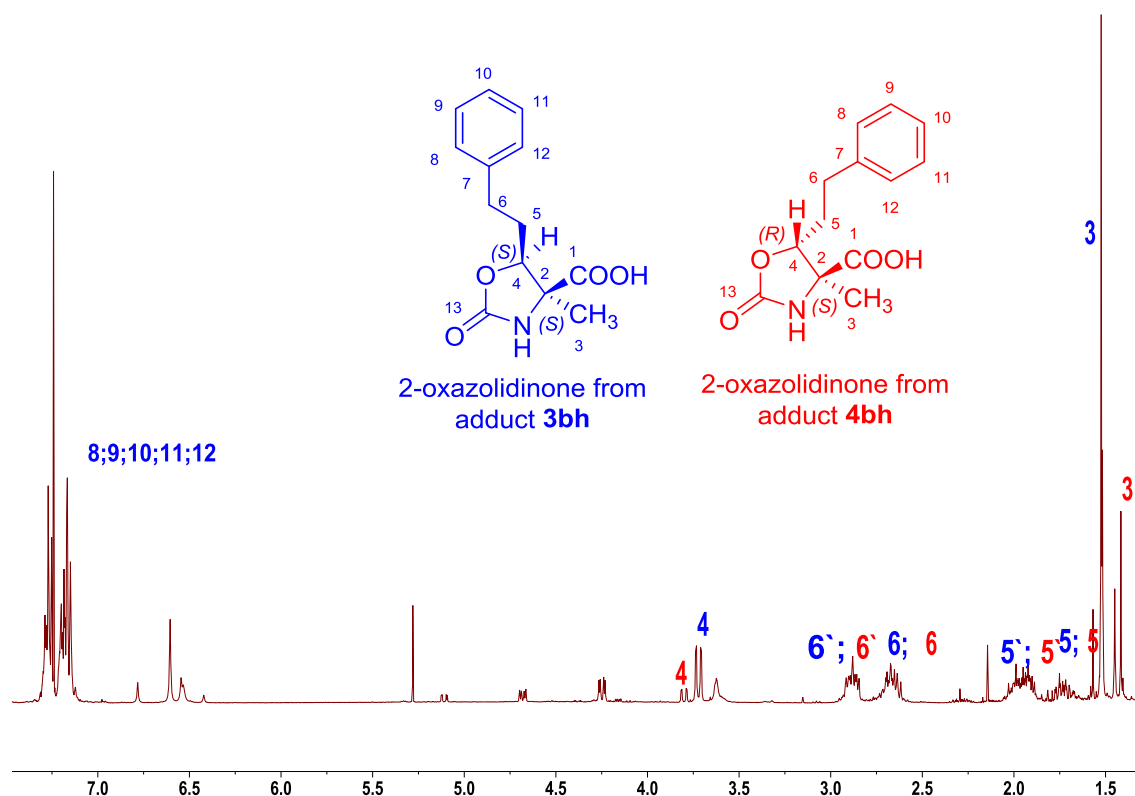
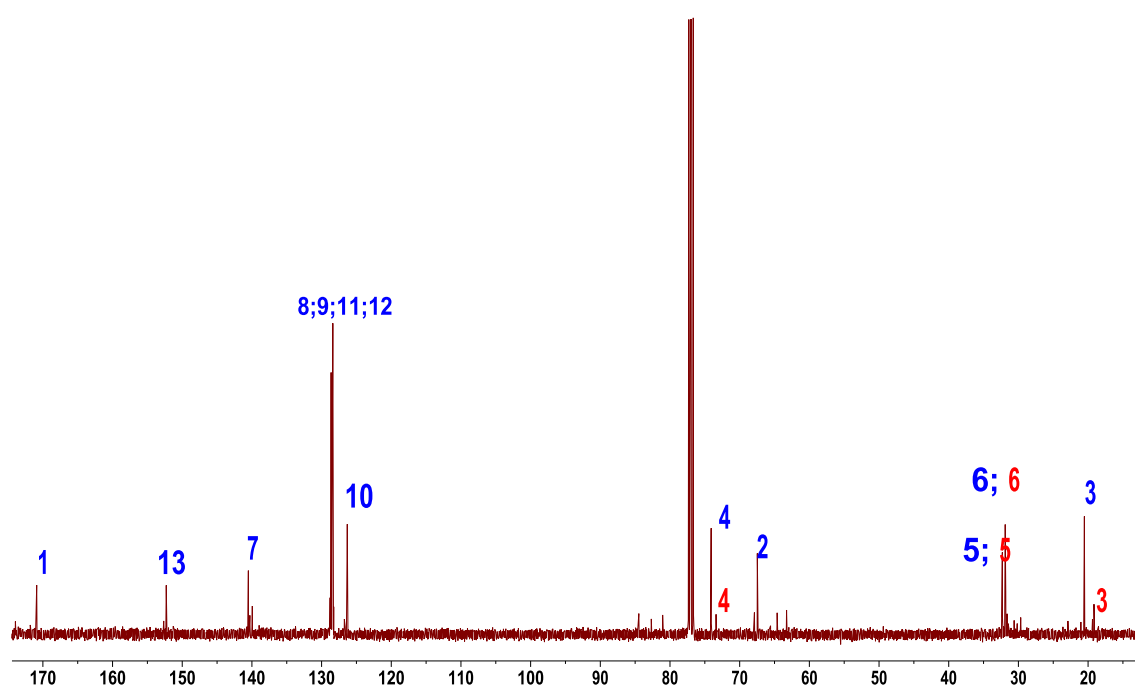


Figura58S(3.1). Espectros de RMN (CDCl_3) de las oxazolidin-2-onas derivadas de **3bh** y **4bh** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Sth} nativa: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.

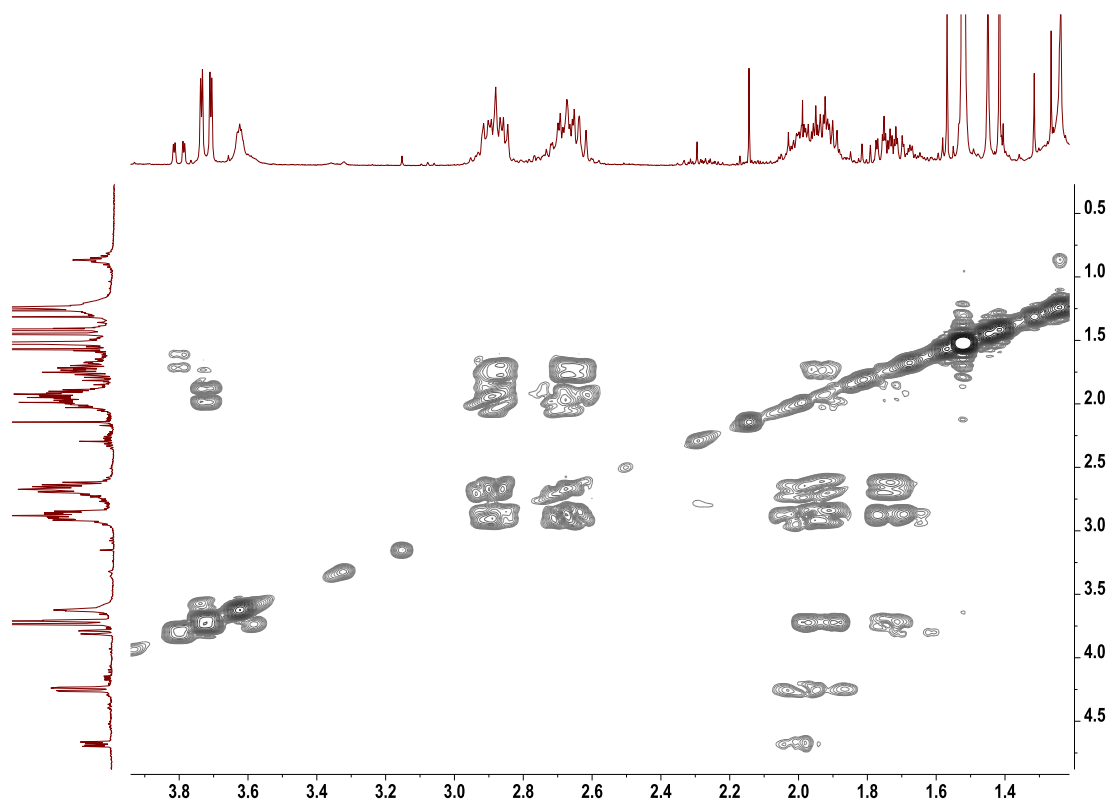
a)



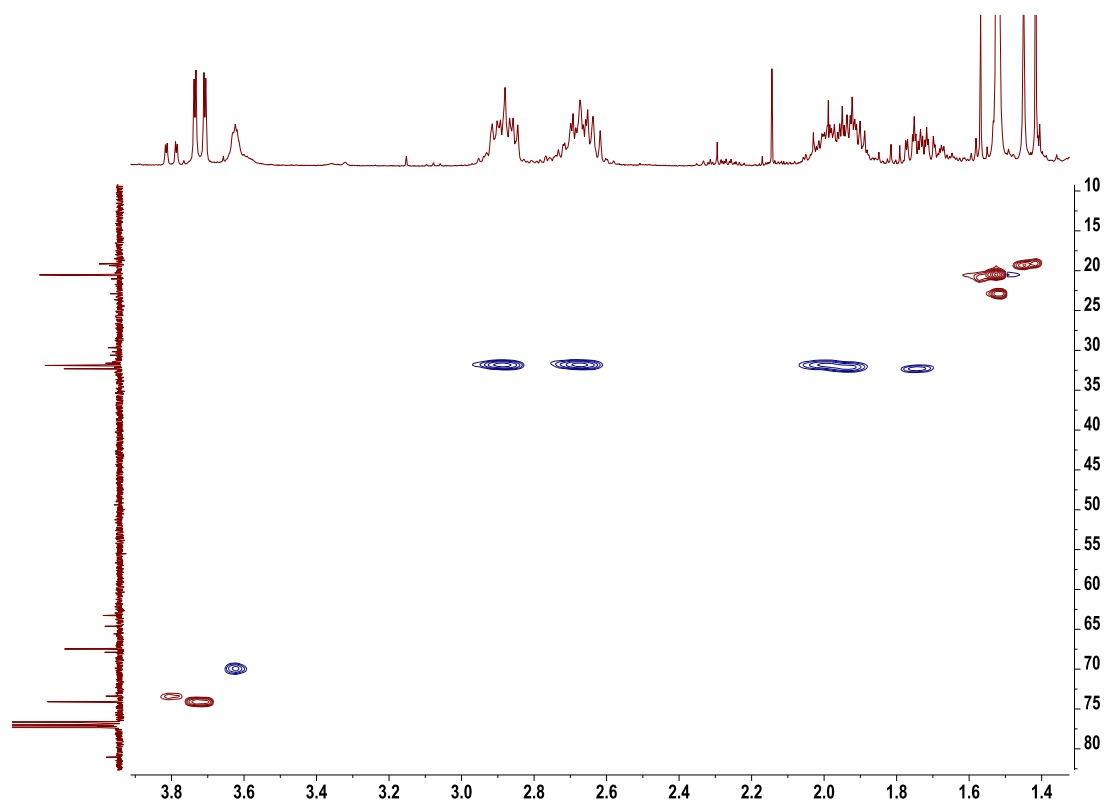
b)



c)



d)



e)

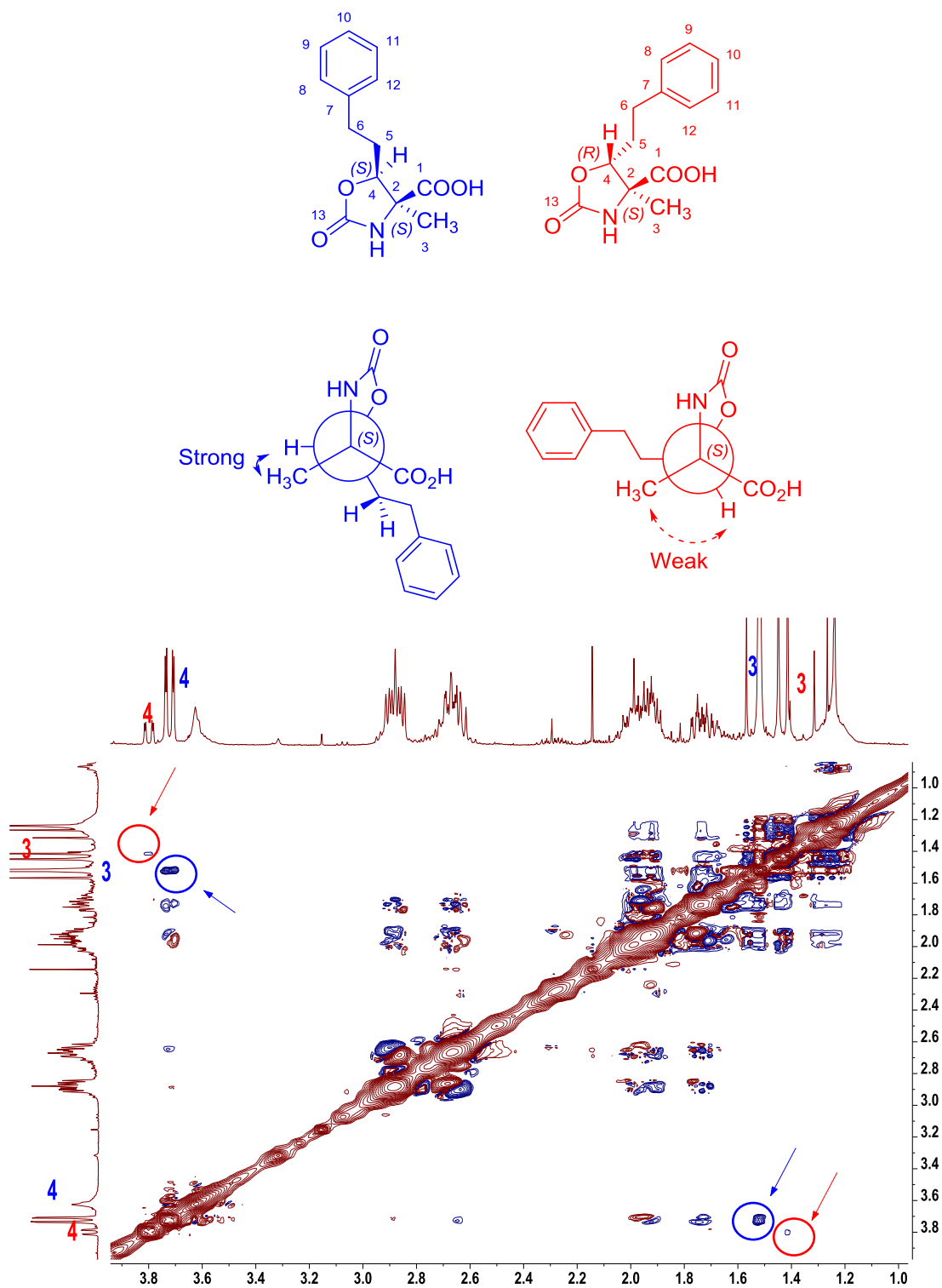
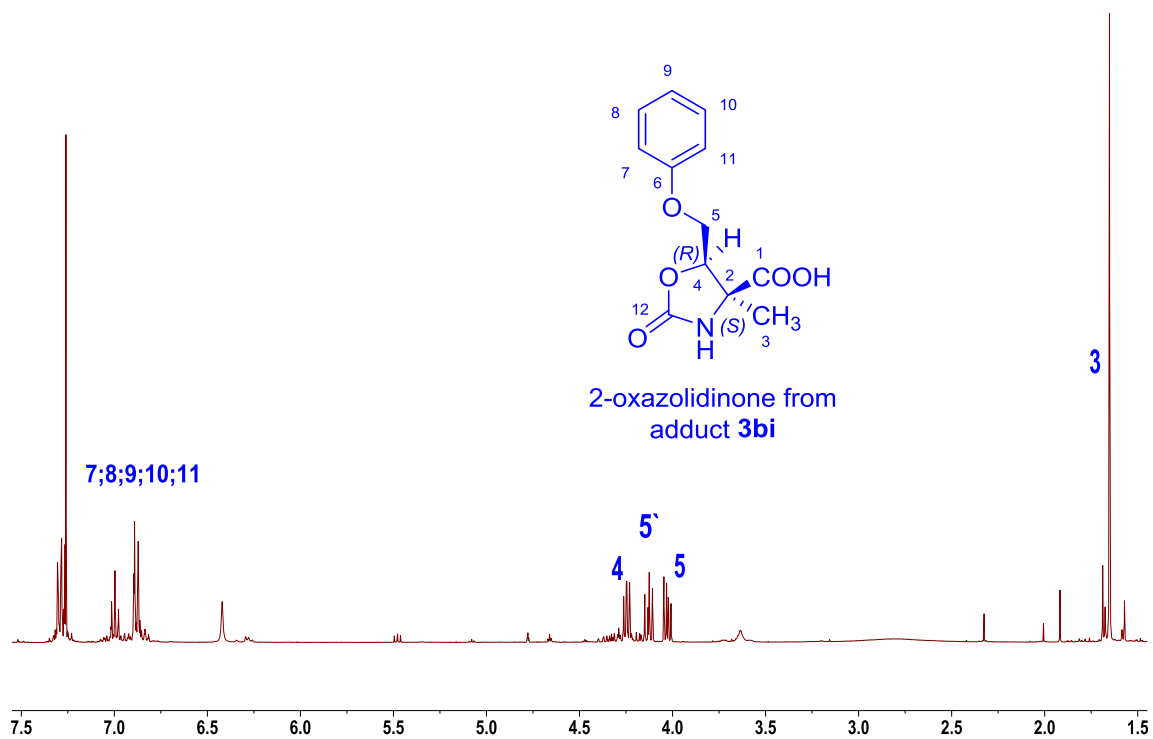
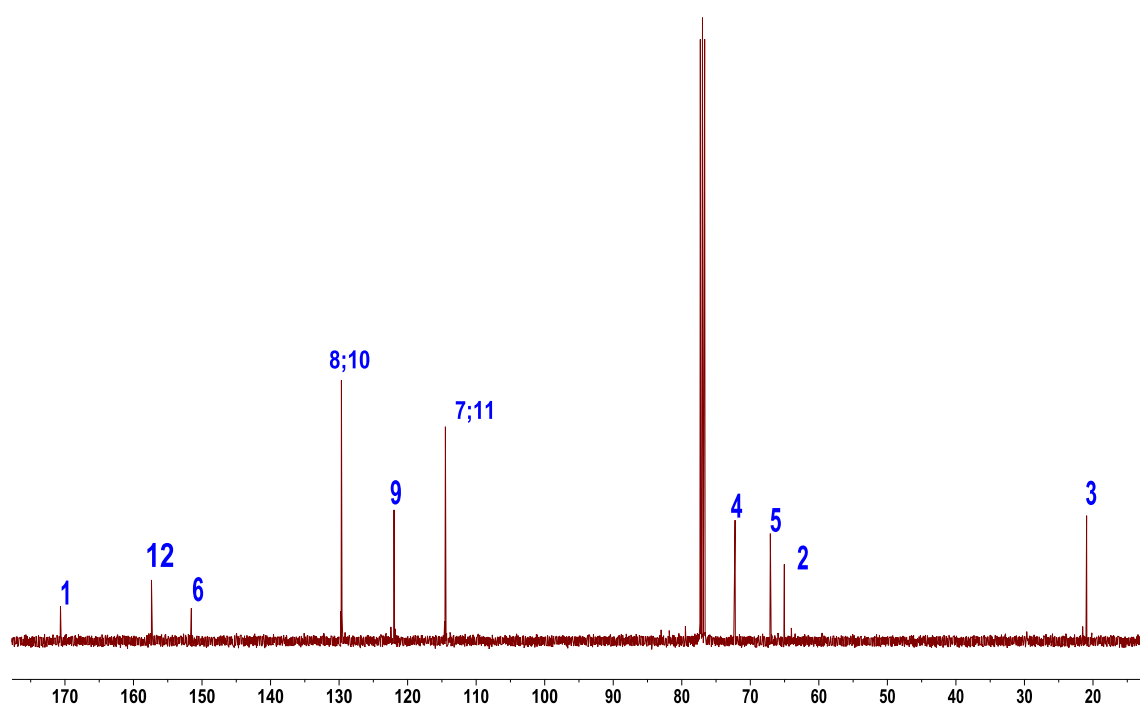


Figura59S(3.1). Espectros de RMN (CDCl_3) de las oxazolidin-2-onas derivadas de **3bi** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Sth} nativa: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.

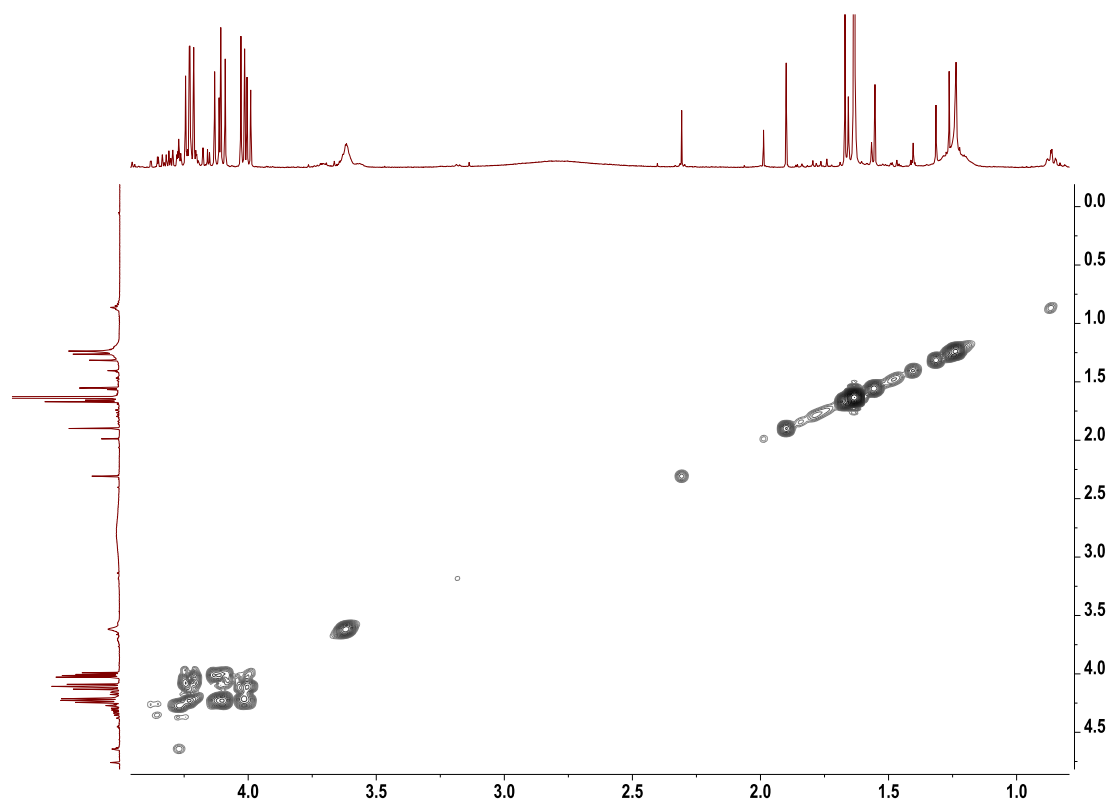
a)



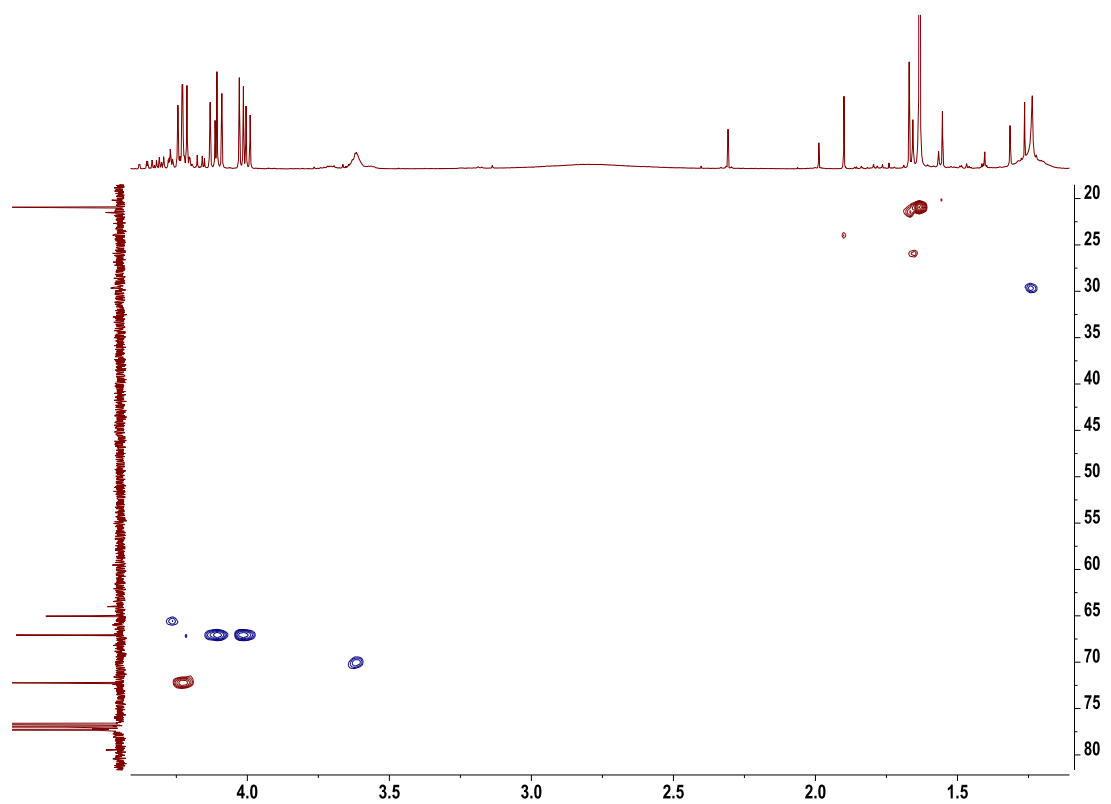
b)



c)



d)



e)

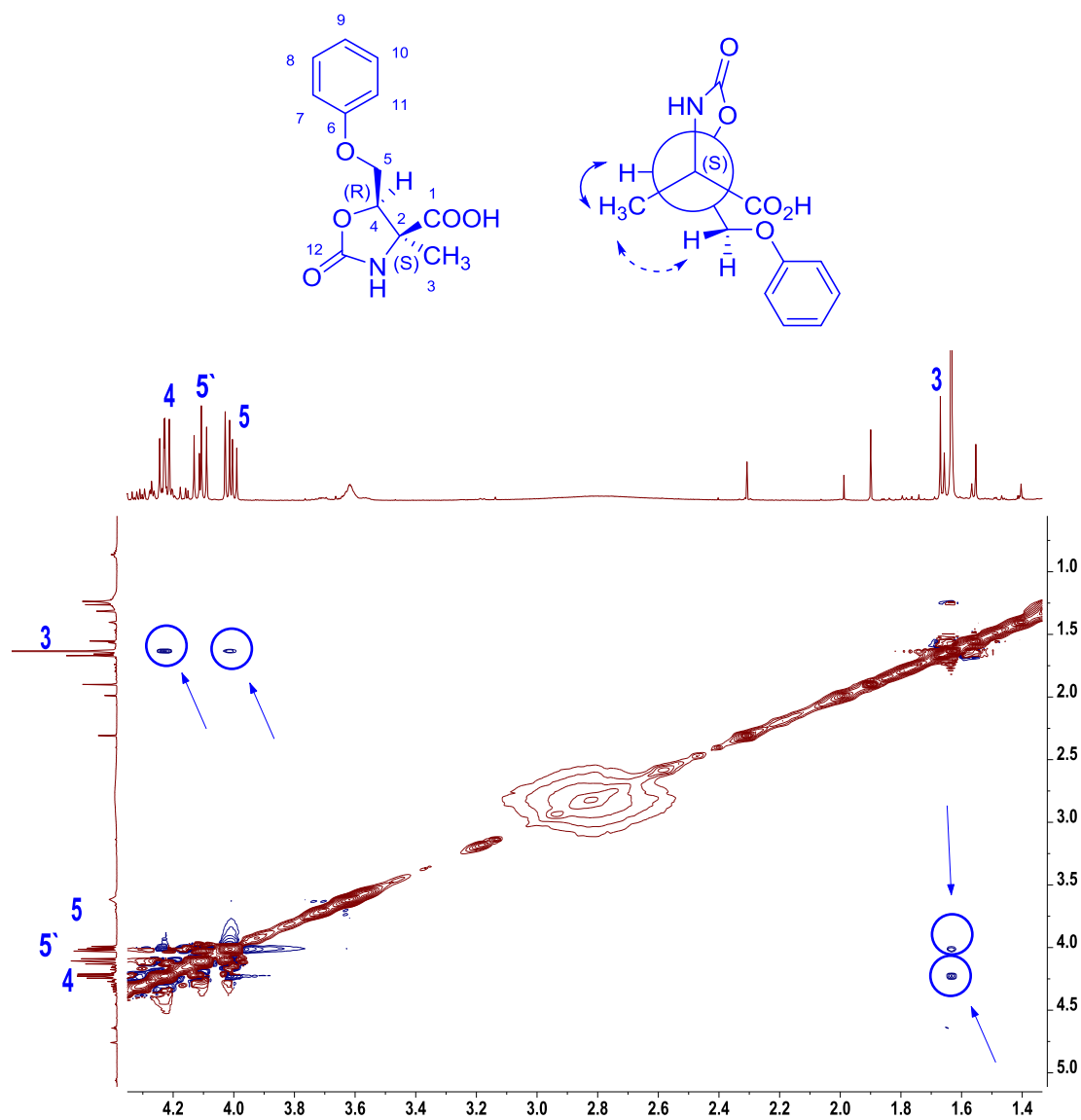
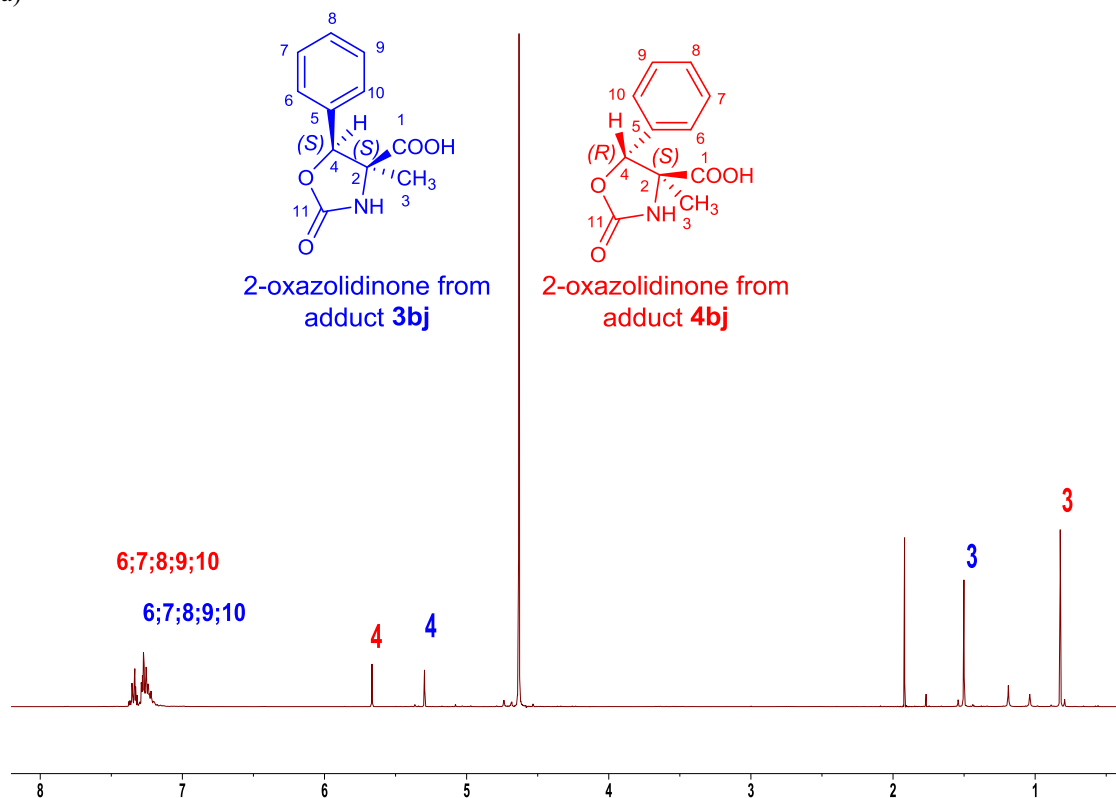
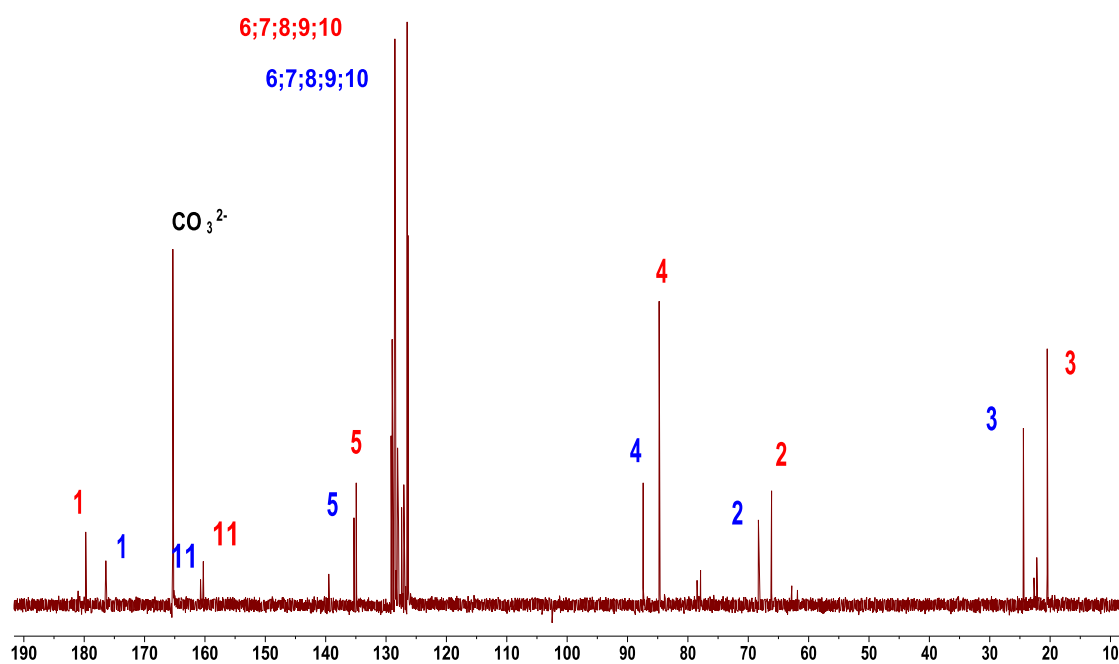


Figura60S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de las oxazolidin-2-onas derivadas de **3bj** y **4bj** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Sth} nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.

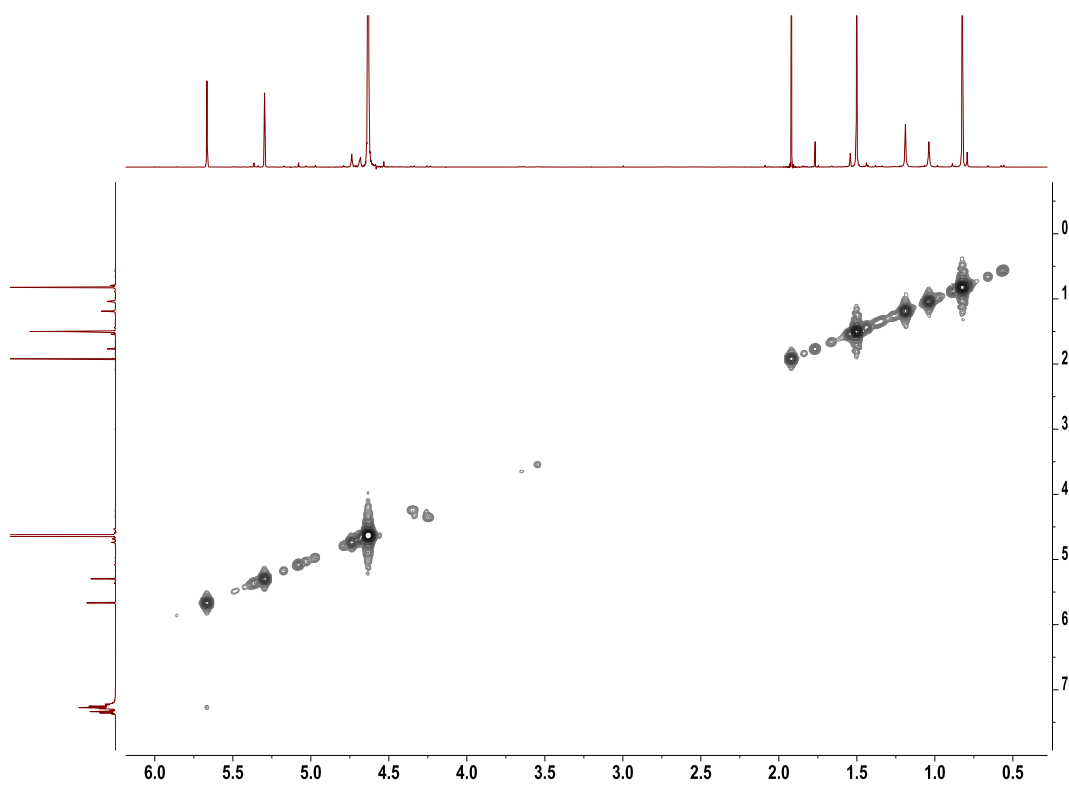
a)



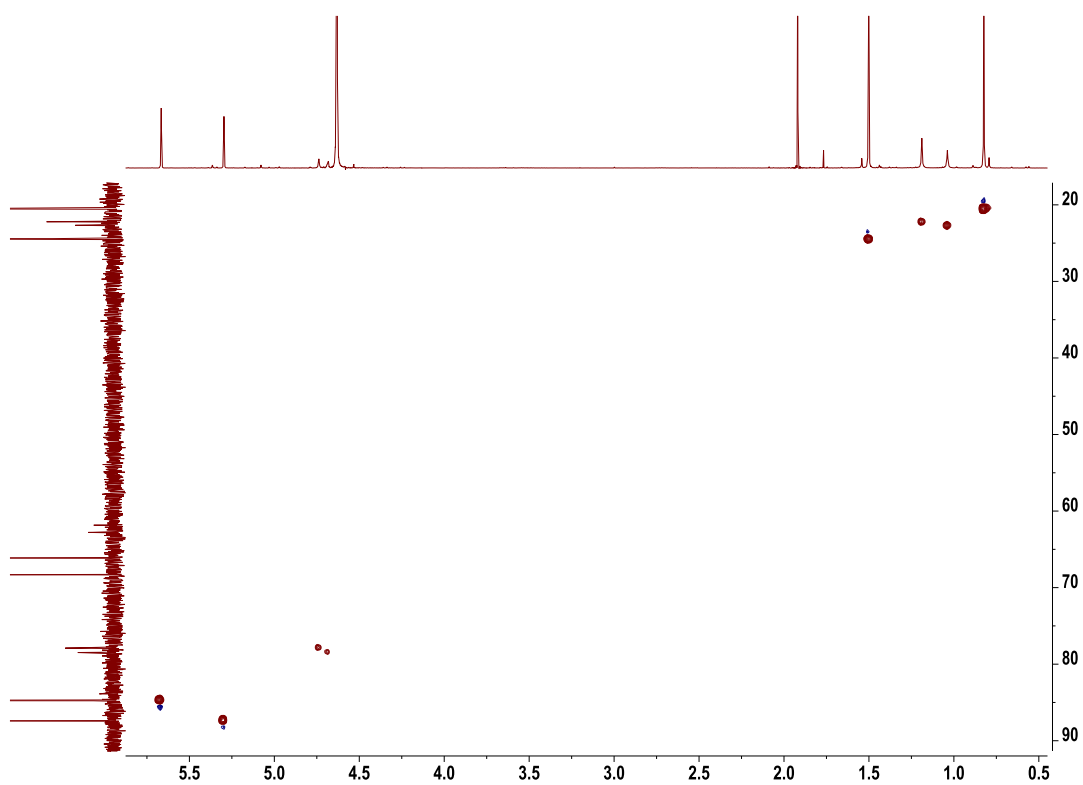
b)



c)



d)



e)

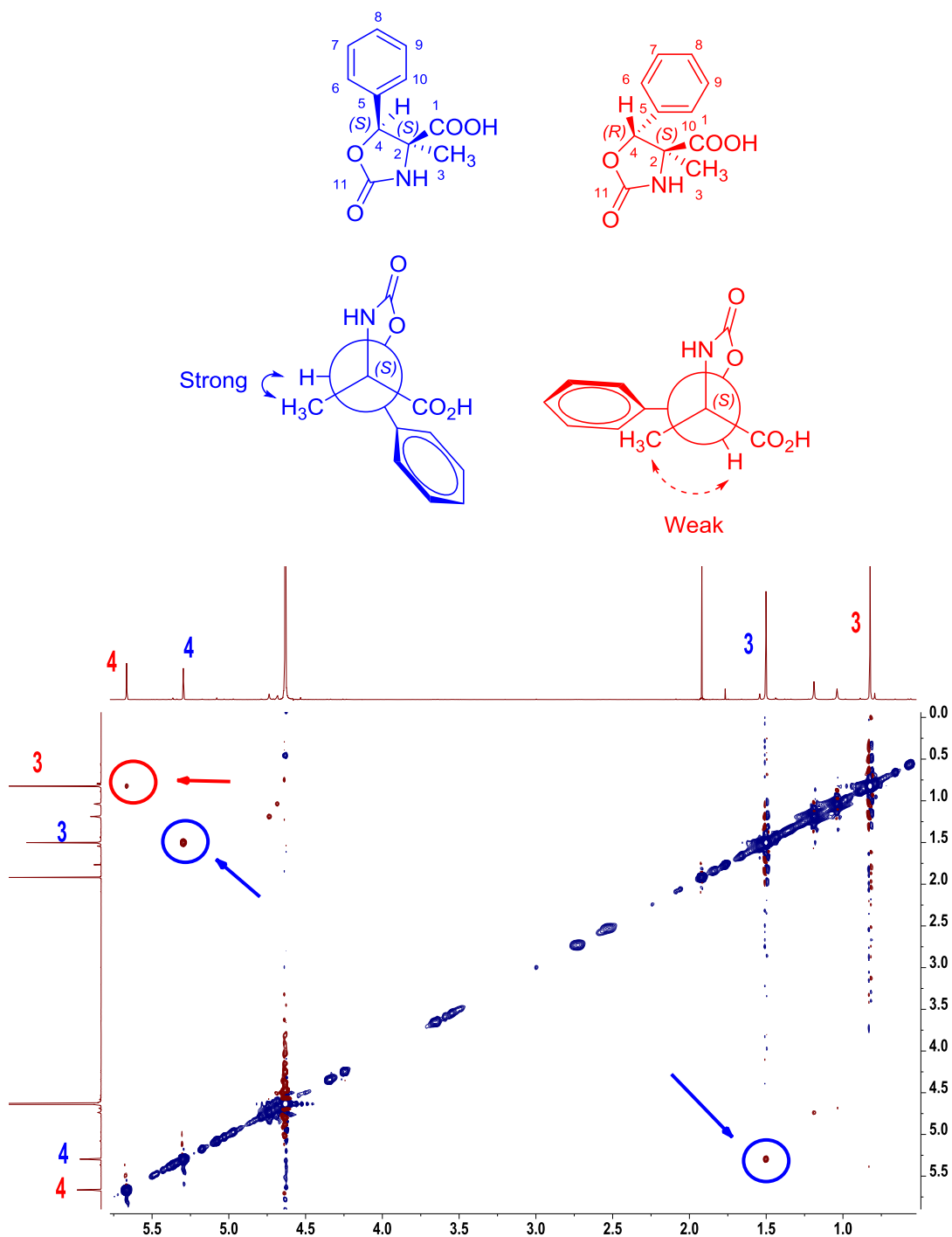
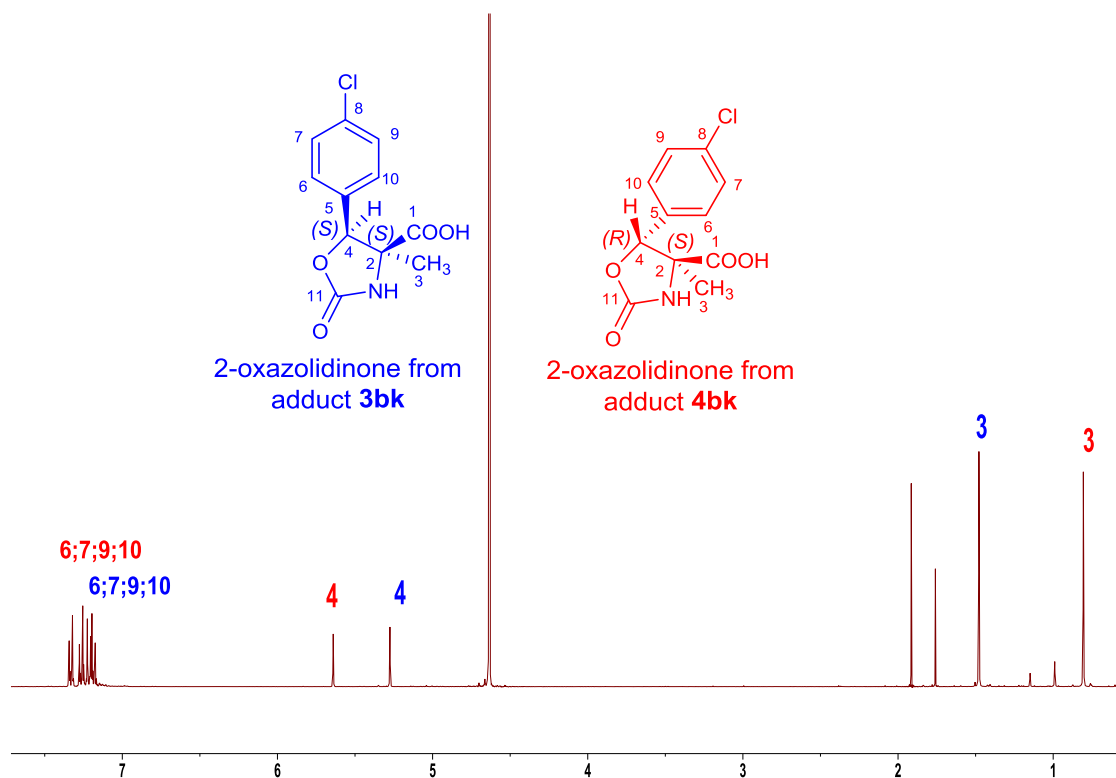
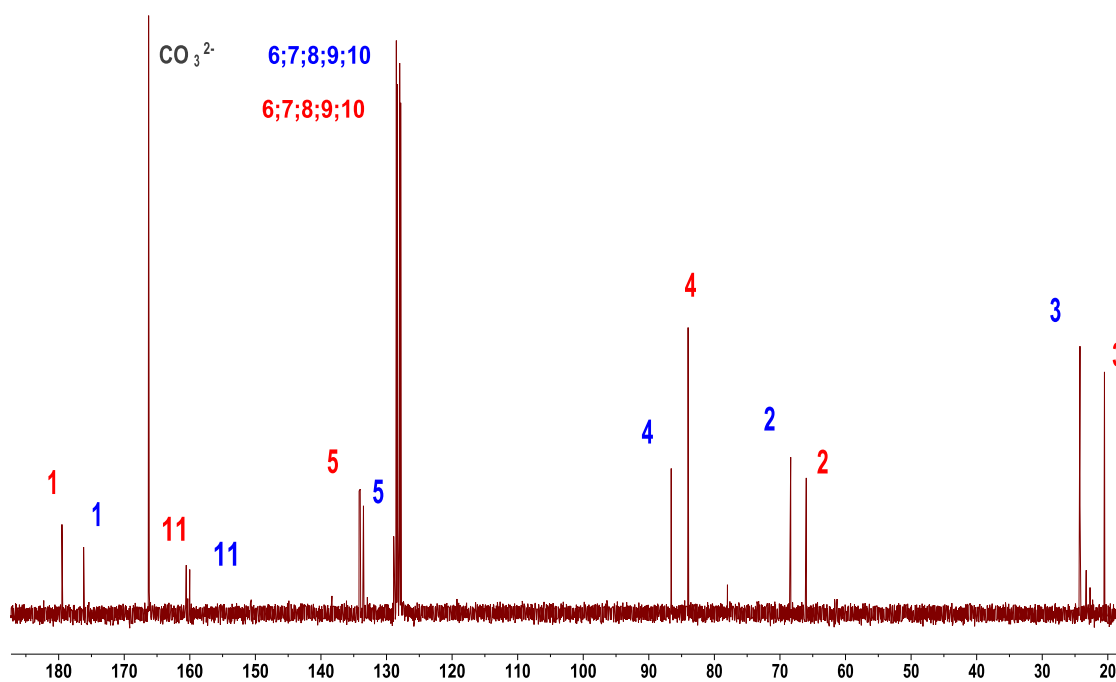


Figura61S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de las oxazolidin-2-onas derivadas de **3bk** y **4bk** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Sth} nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.

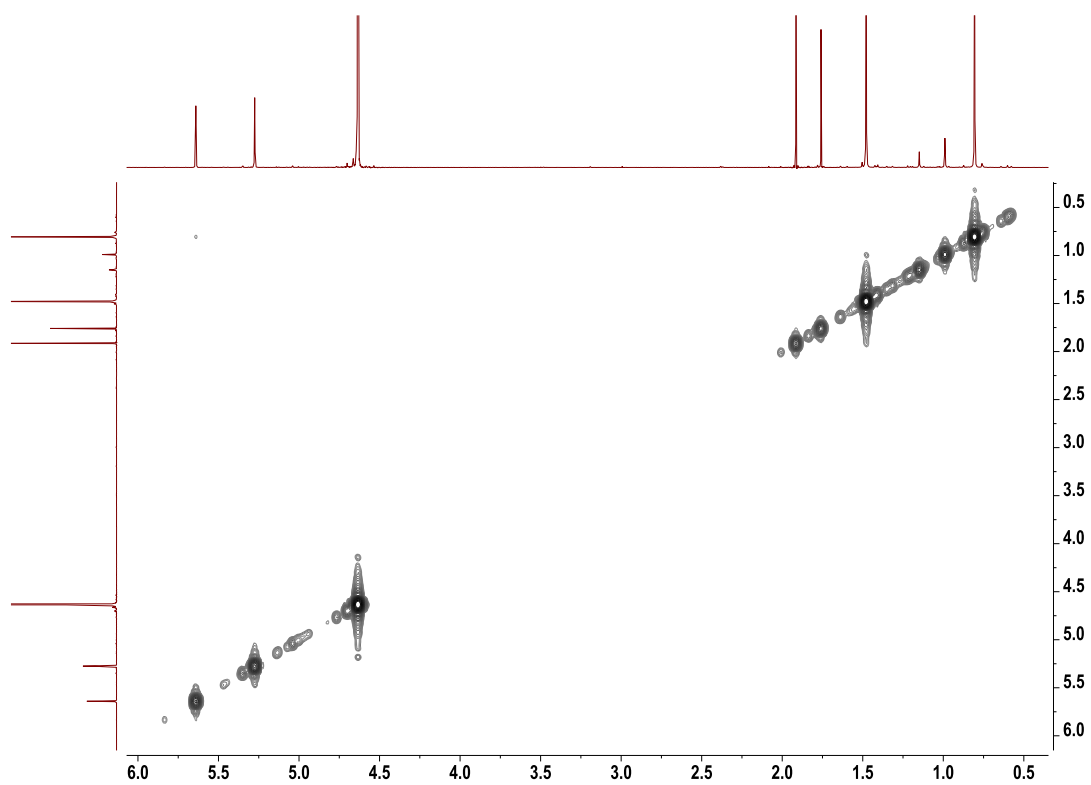
a)



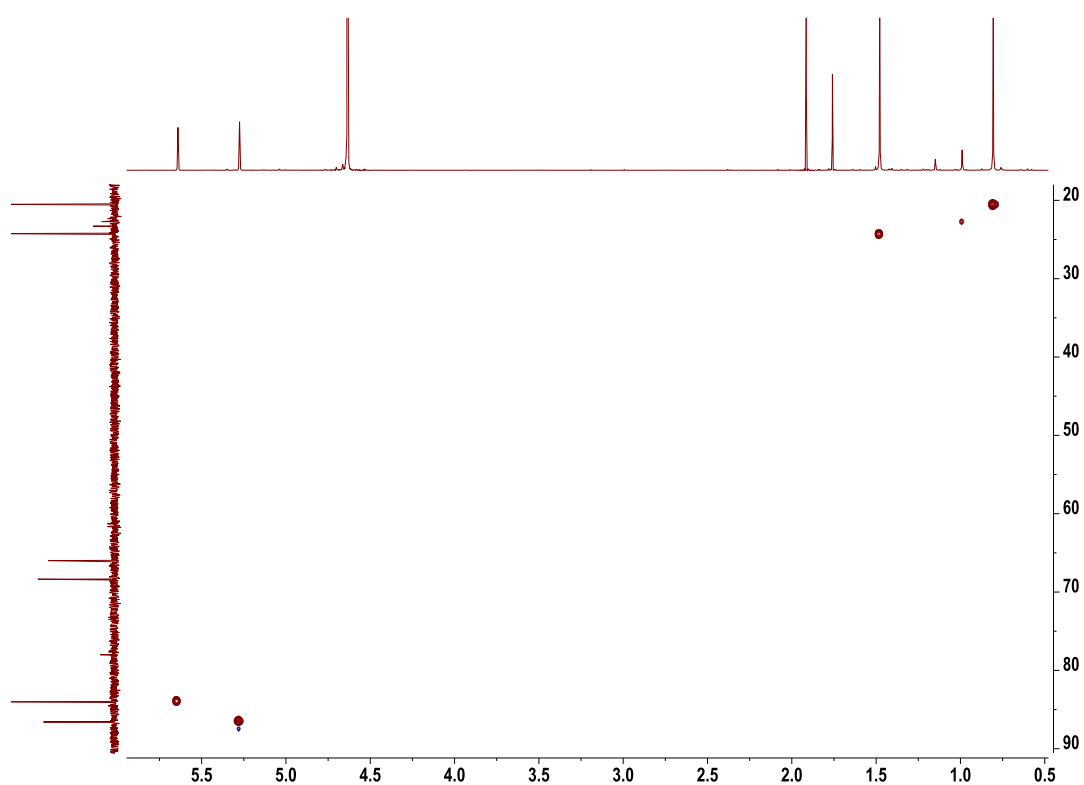
b)



c)



d)



e)

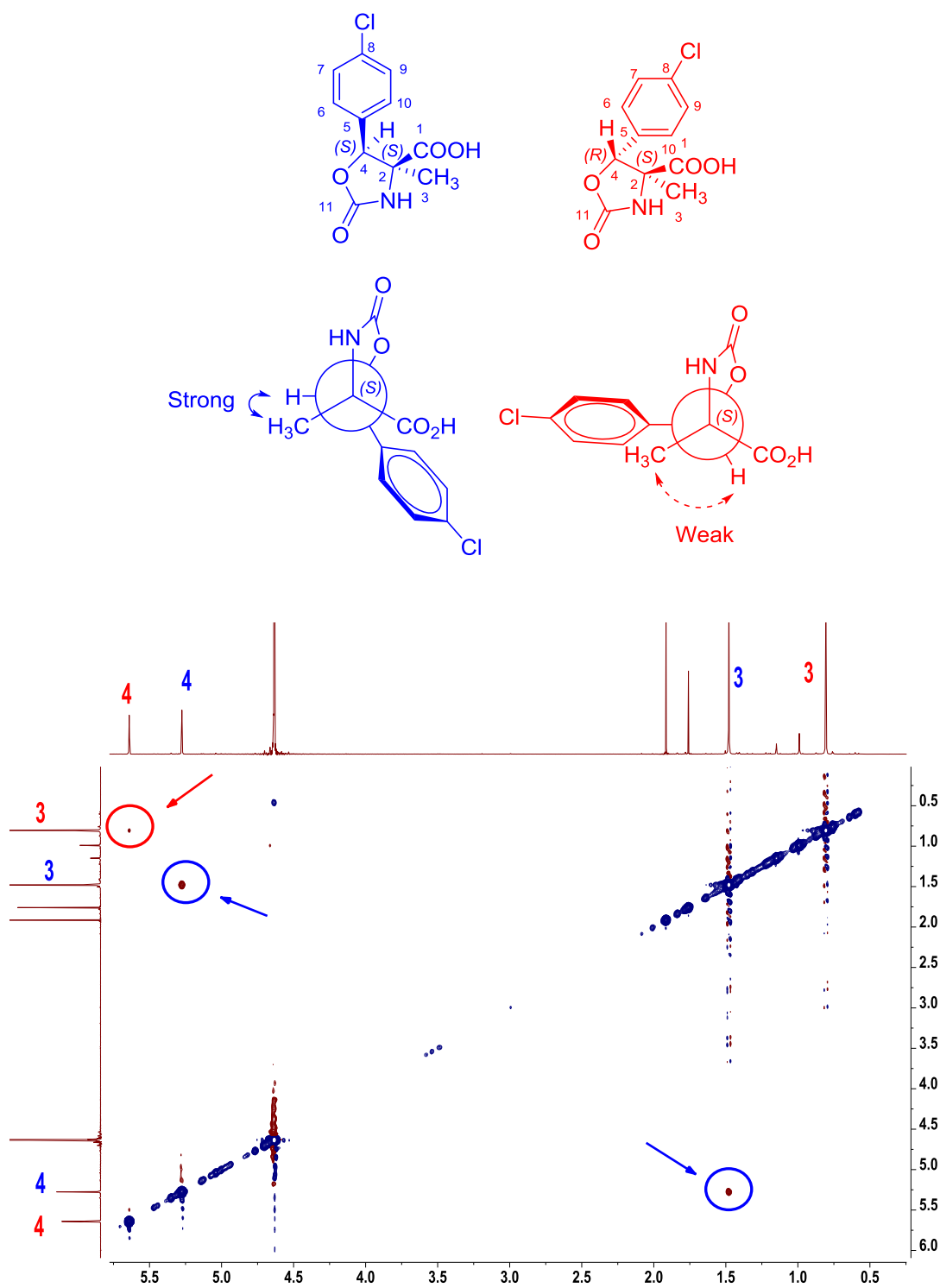
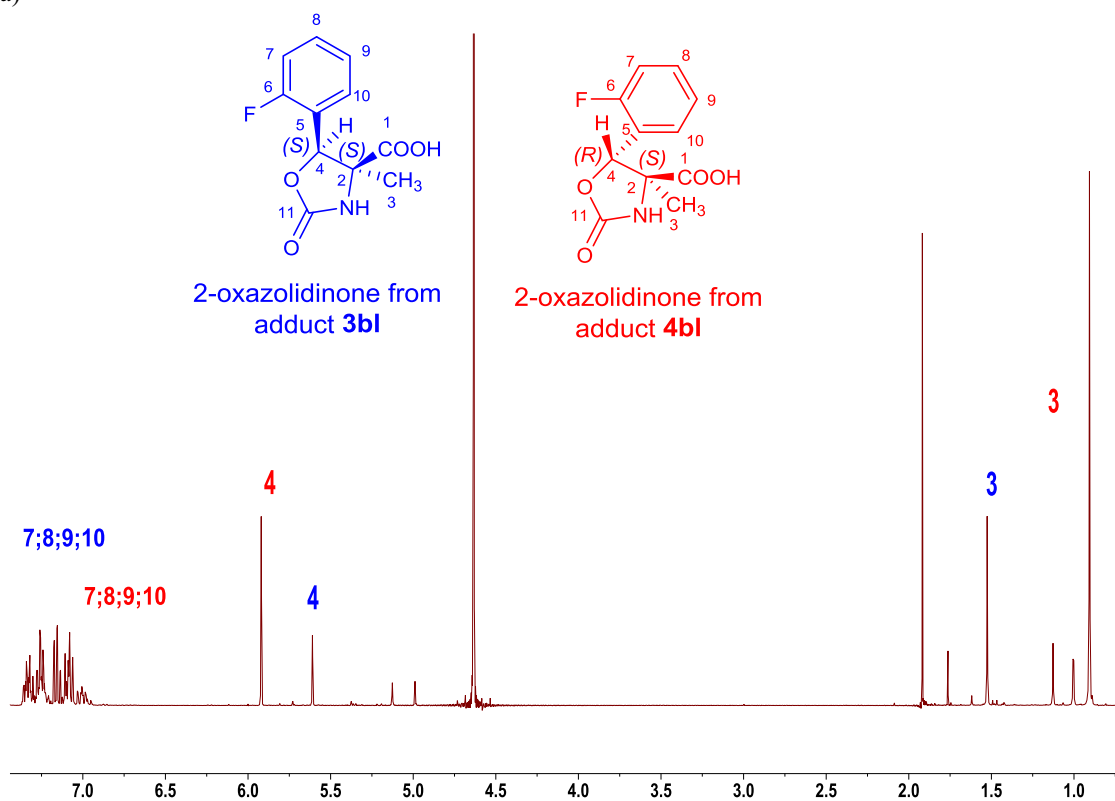
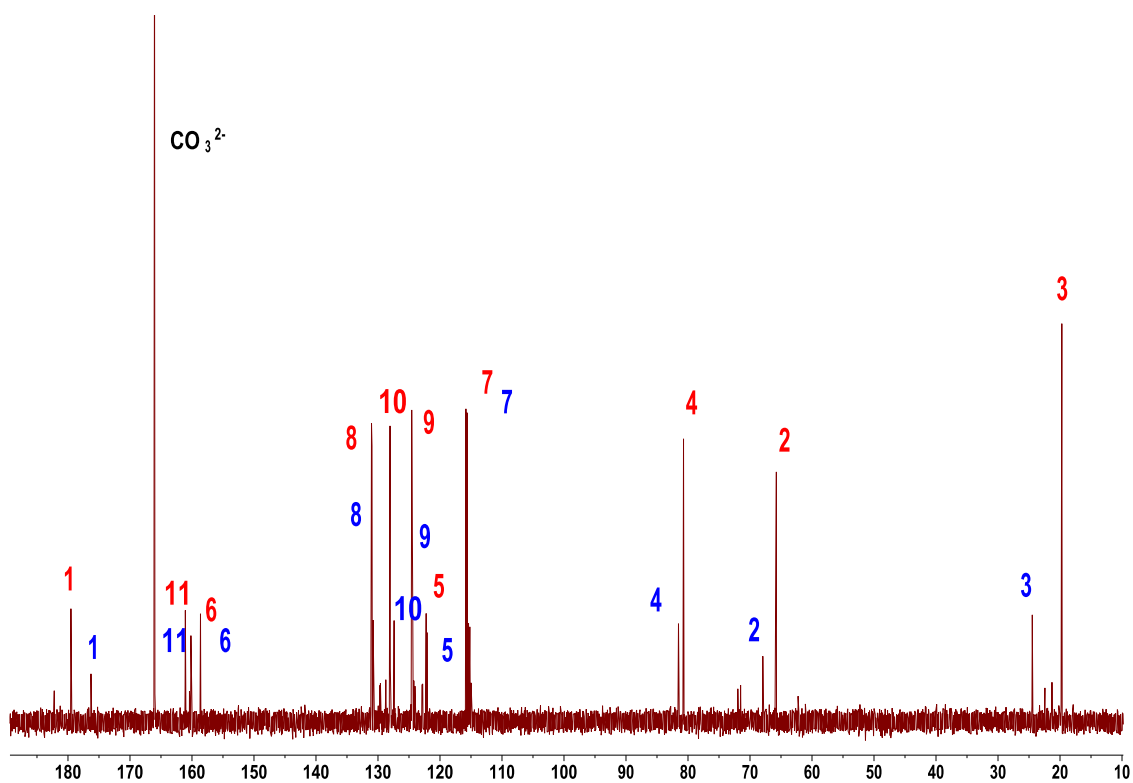


Figura62S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de las oxazolidin-2-onas derivadas de **3bl** y **4bl** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Stt} nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.

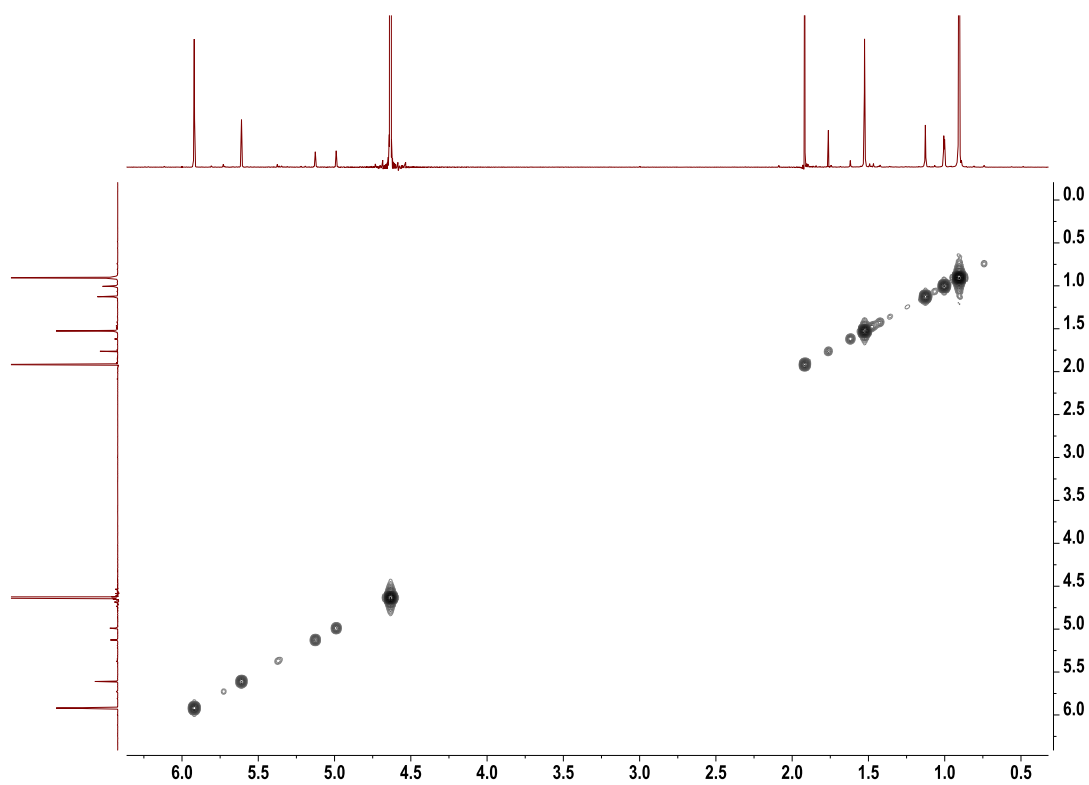
a)



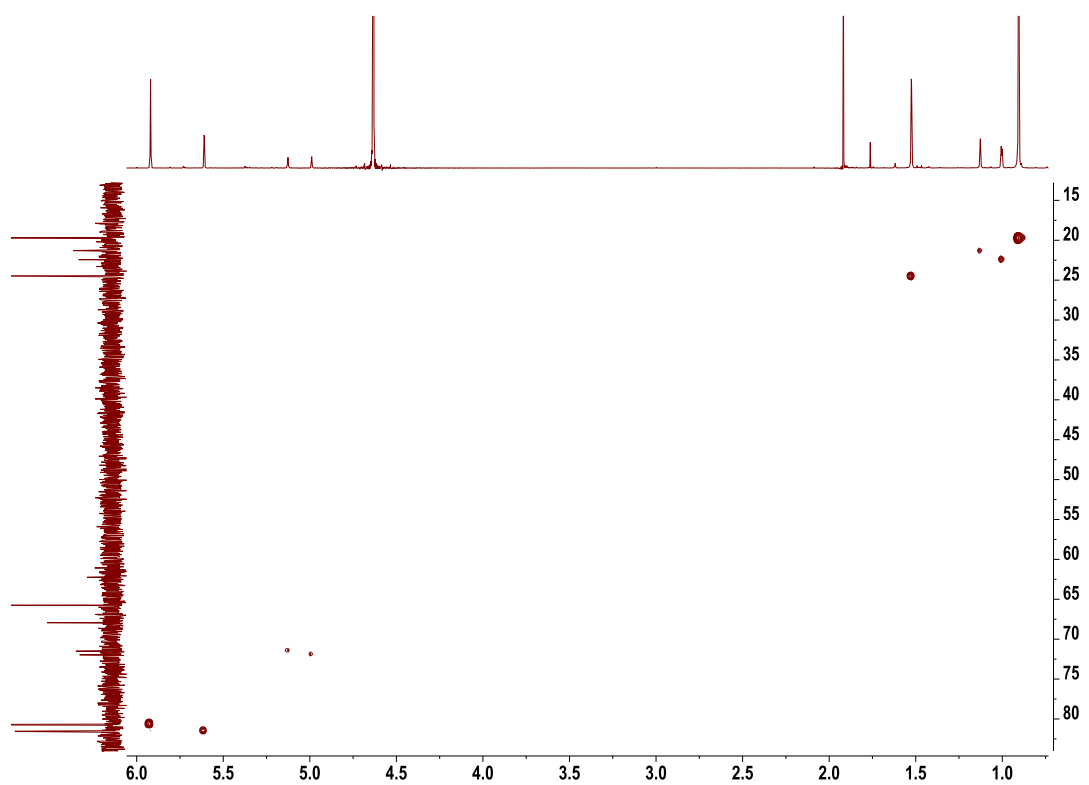
b)



c)



d)



e)

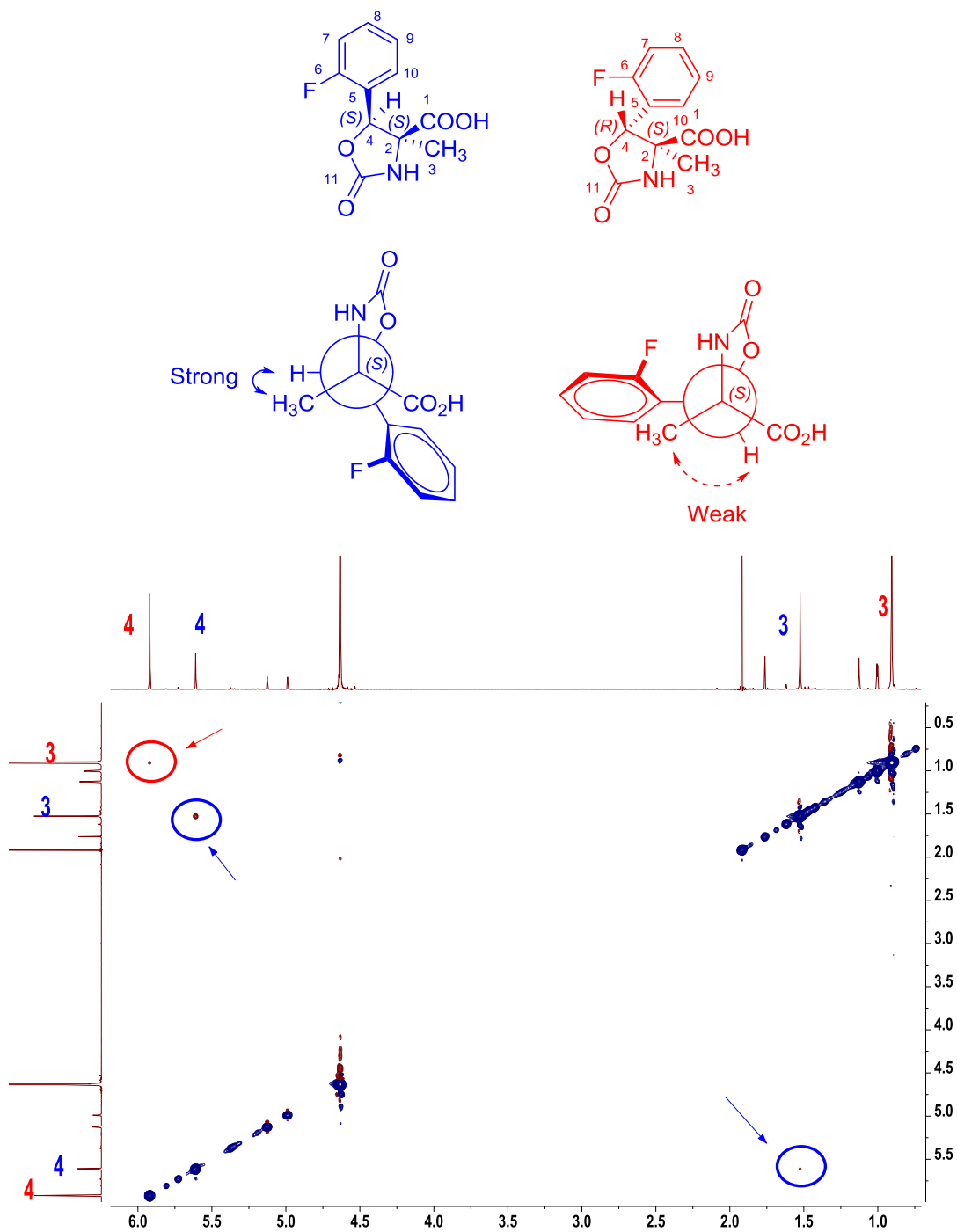
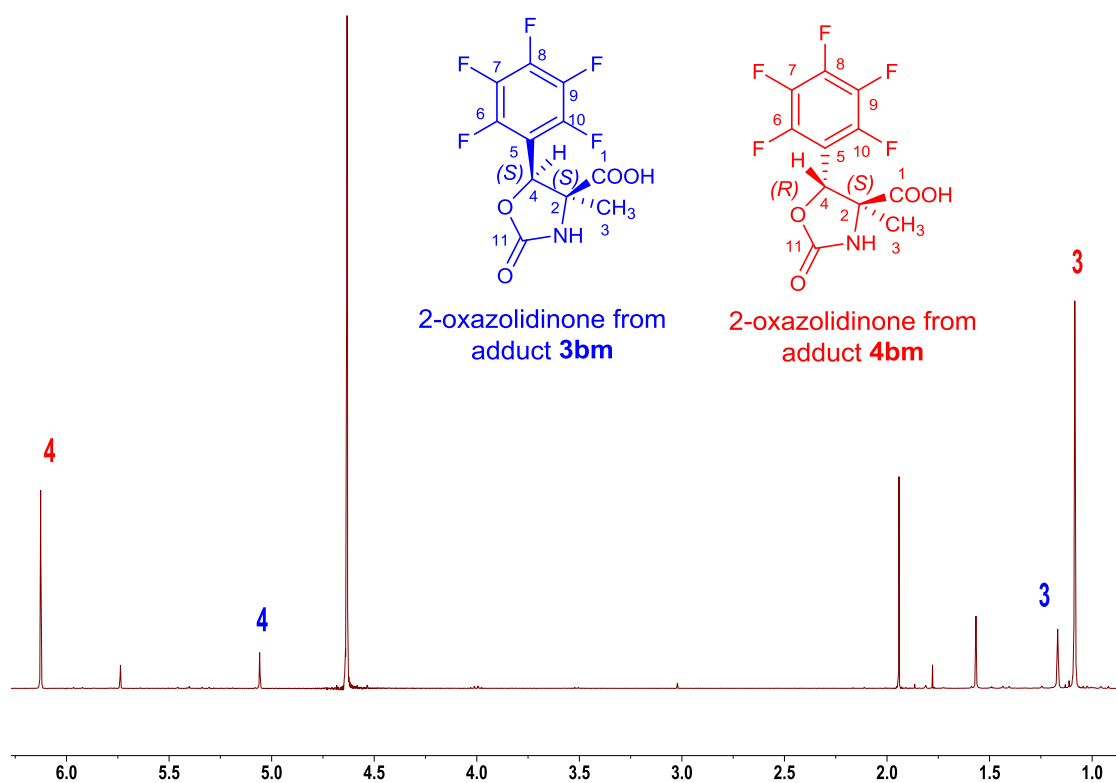
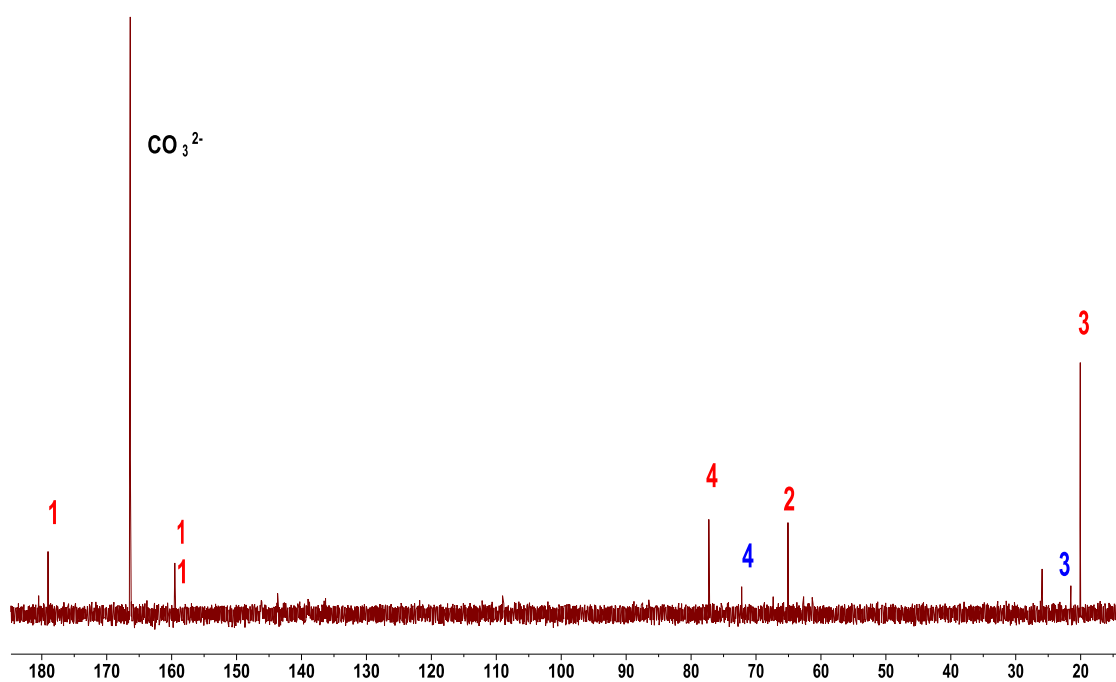


Figura63S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de las oxazolidin-2-onas derivadas de **3bm** y **4bm** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Sth} nativa: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY, d) HSQC y e) NOESY.

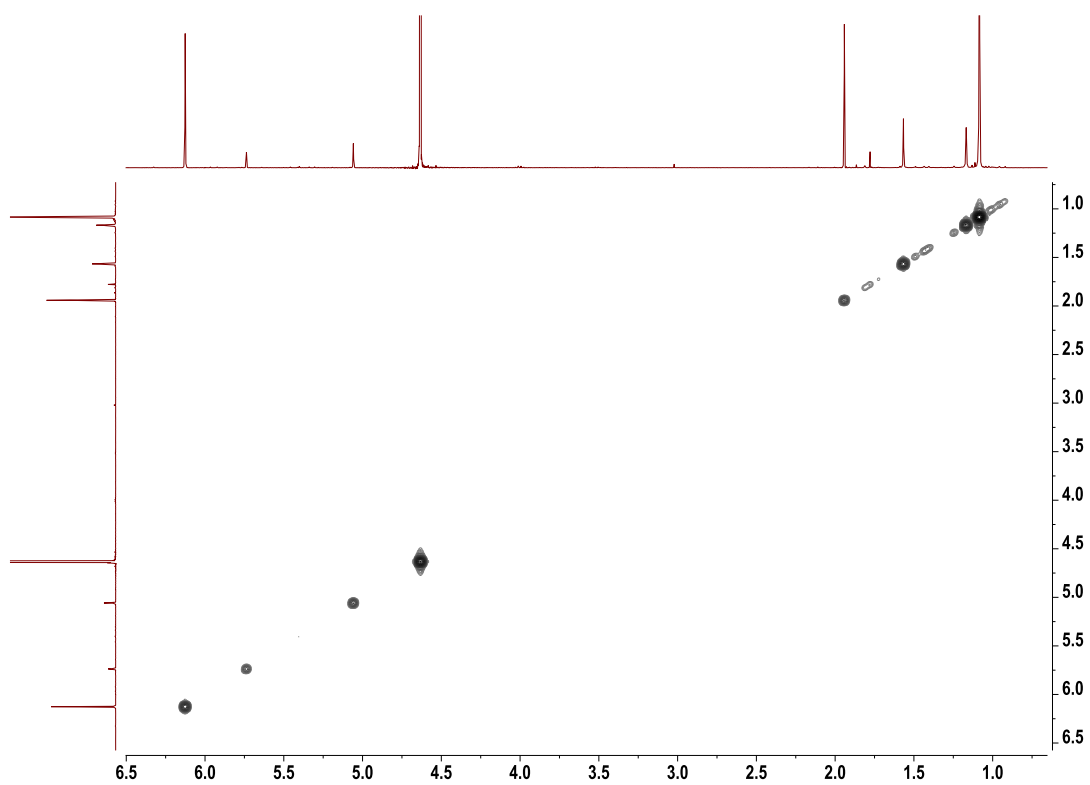
a)



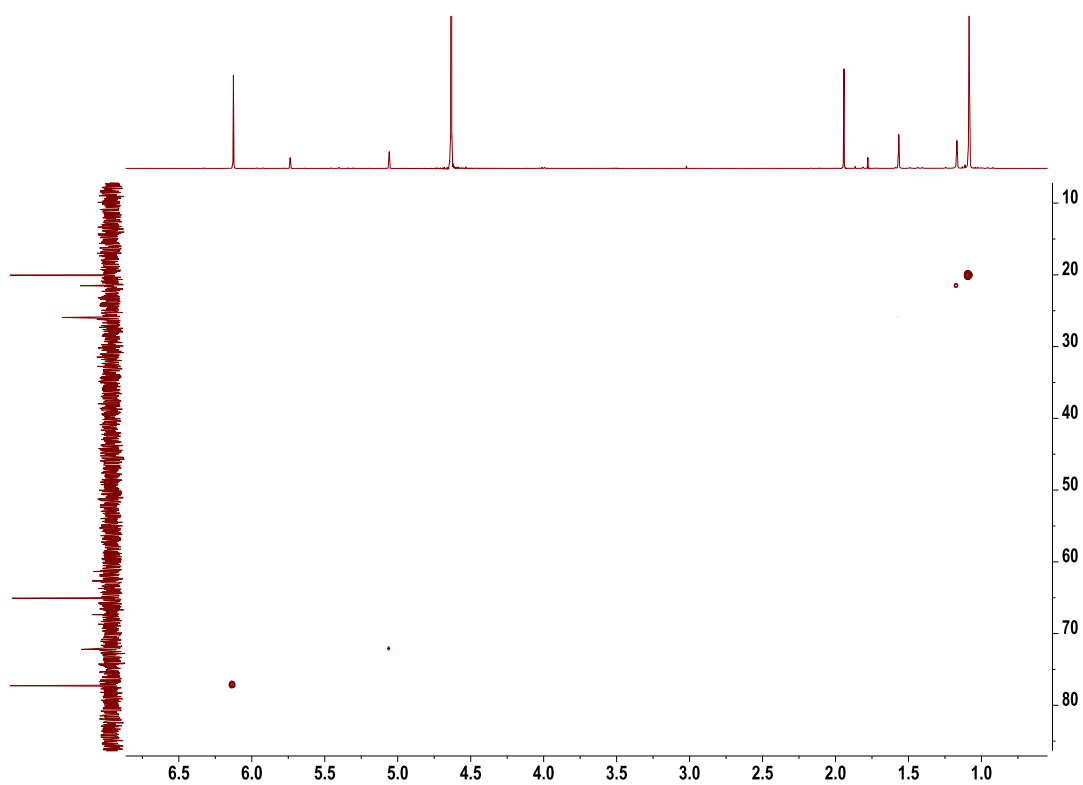
b)



c)



d)



e)

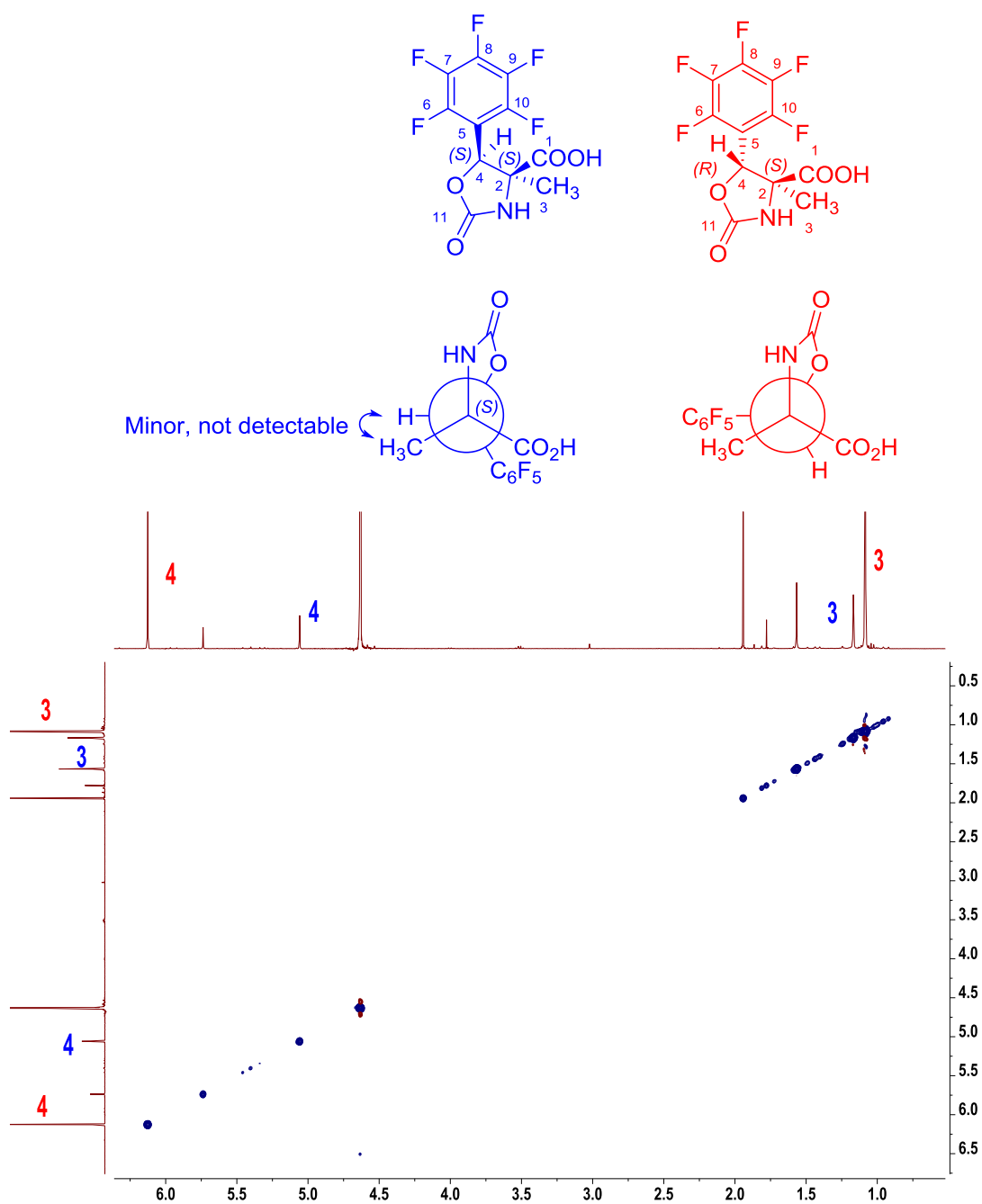
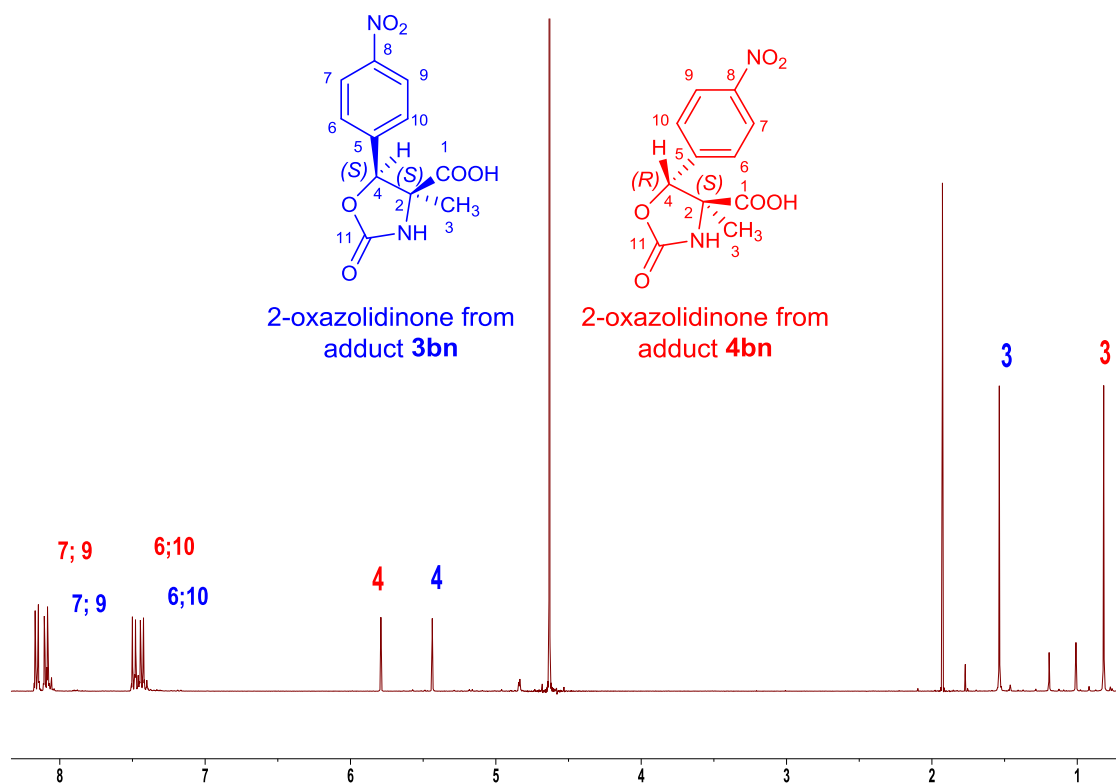
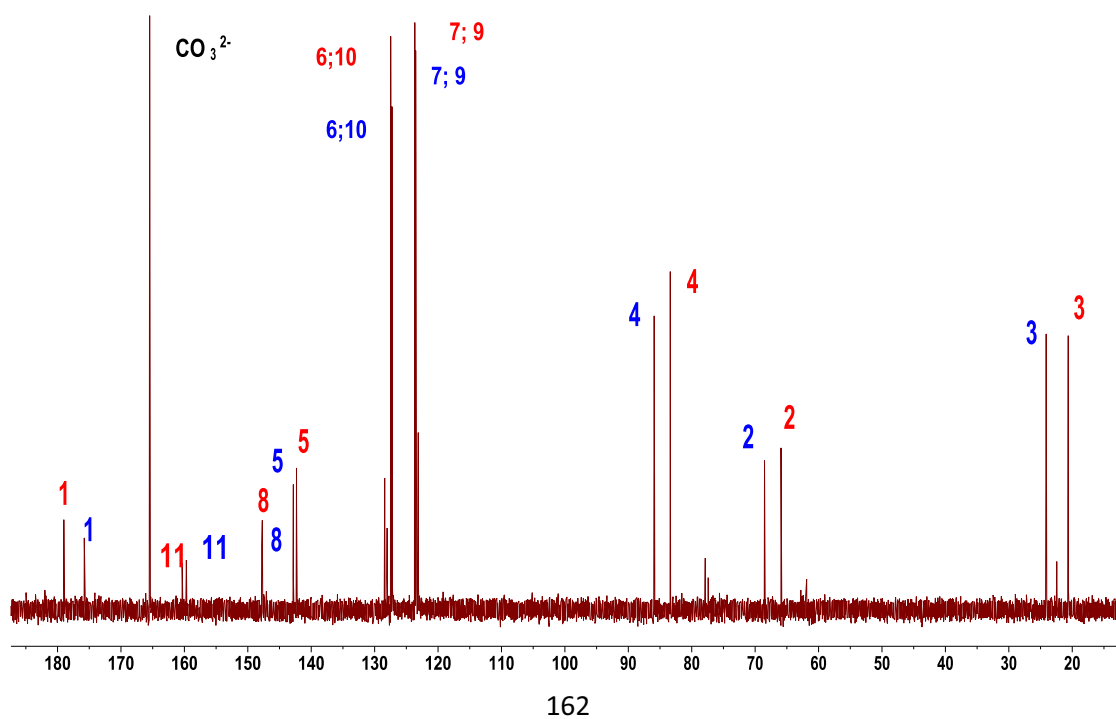


Figura64S(3.1). Espectros de RMN(D₂O) de las oxazolidin-2-onas derivadas de **3bn** y **4bn** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Sth} nativa: a) ¹H; b) ¹³C; c) 2D ¹H-¹H COSY, d) HSQC, e) NOESY y f) 1D-NOESY selectivo.

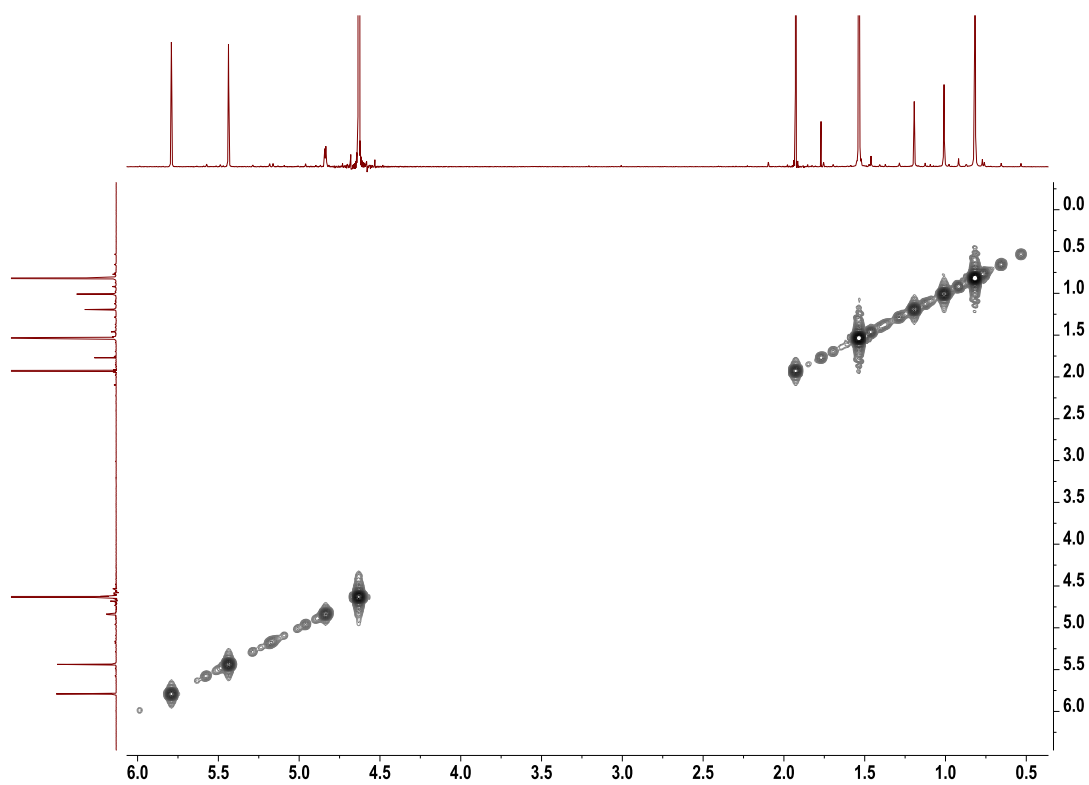
a)



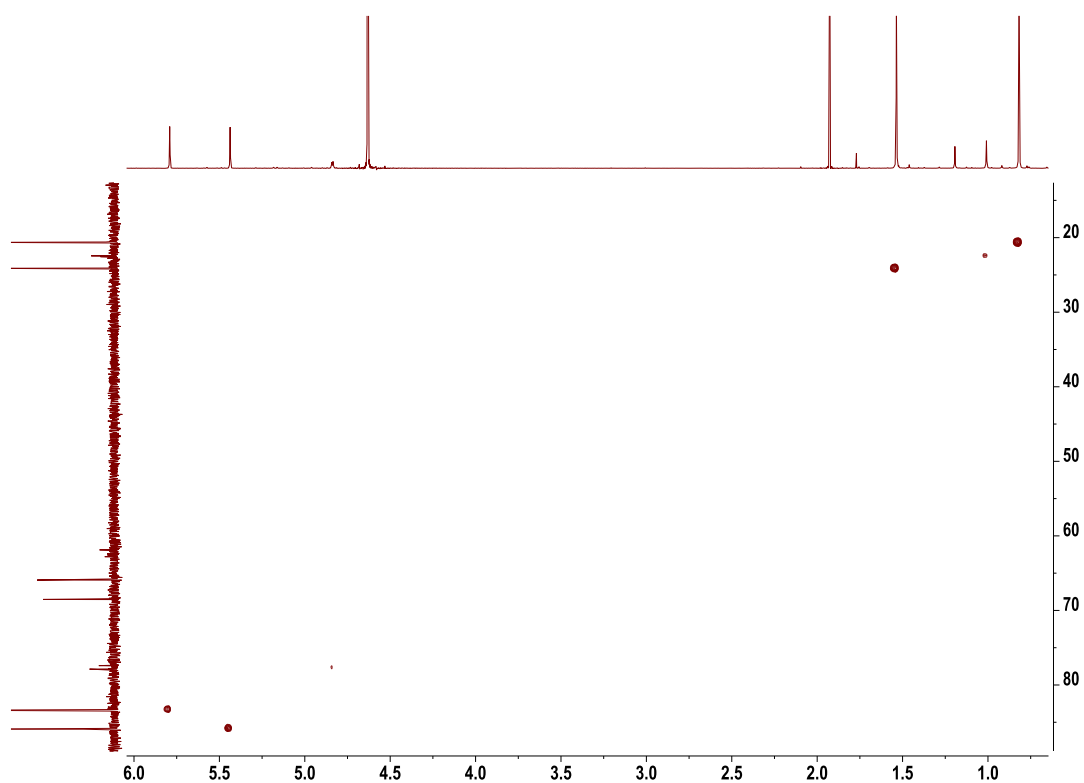
b)



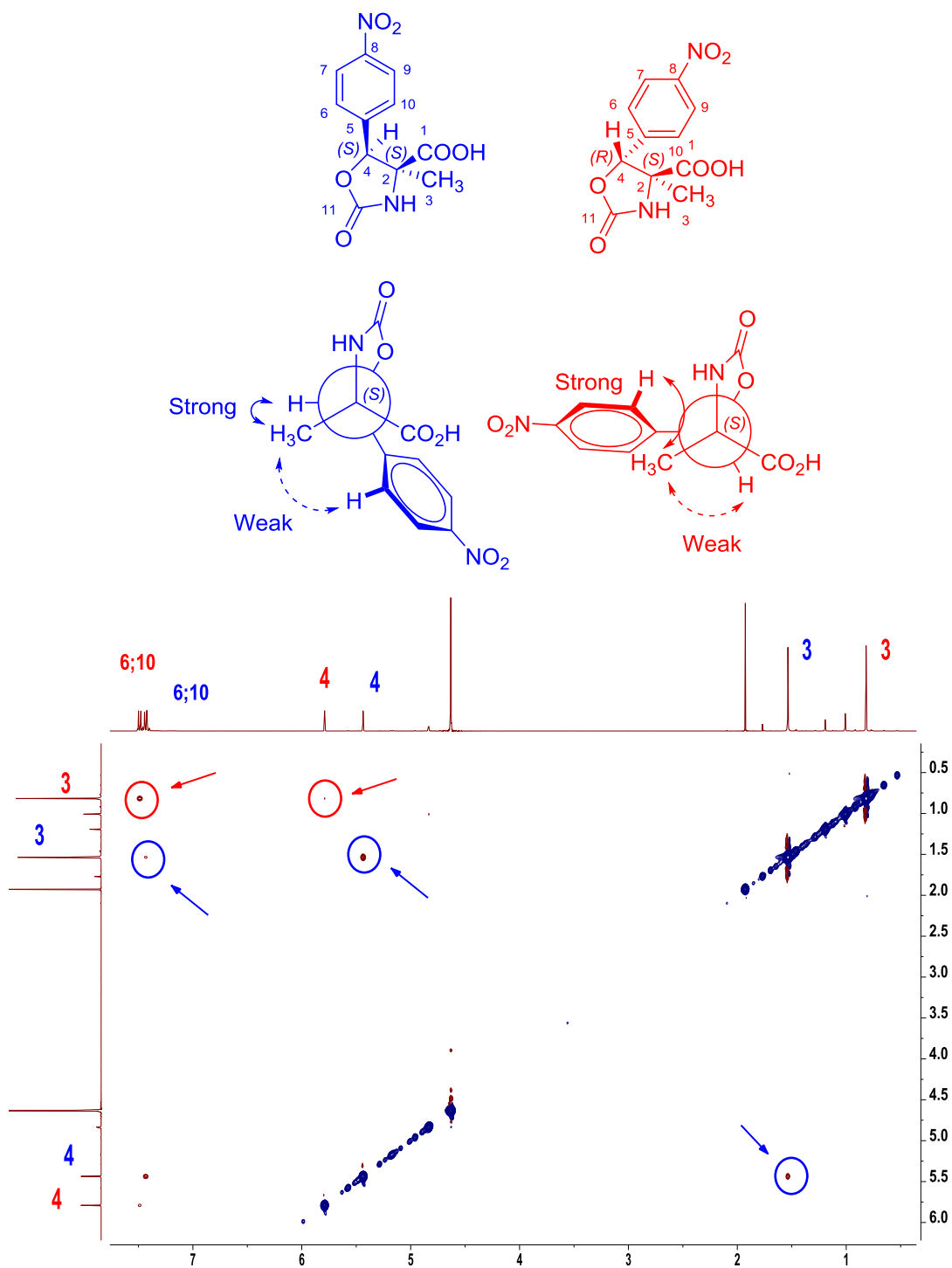
c)



d)



e)



f)

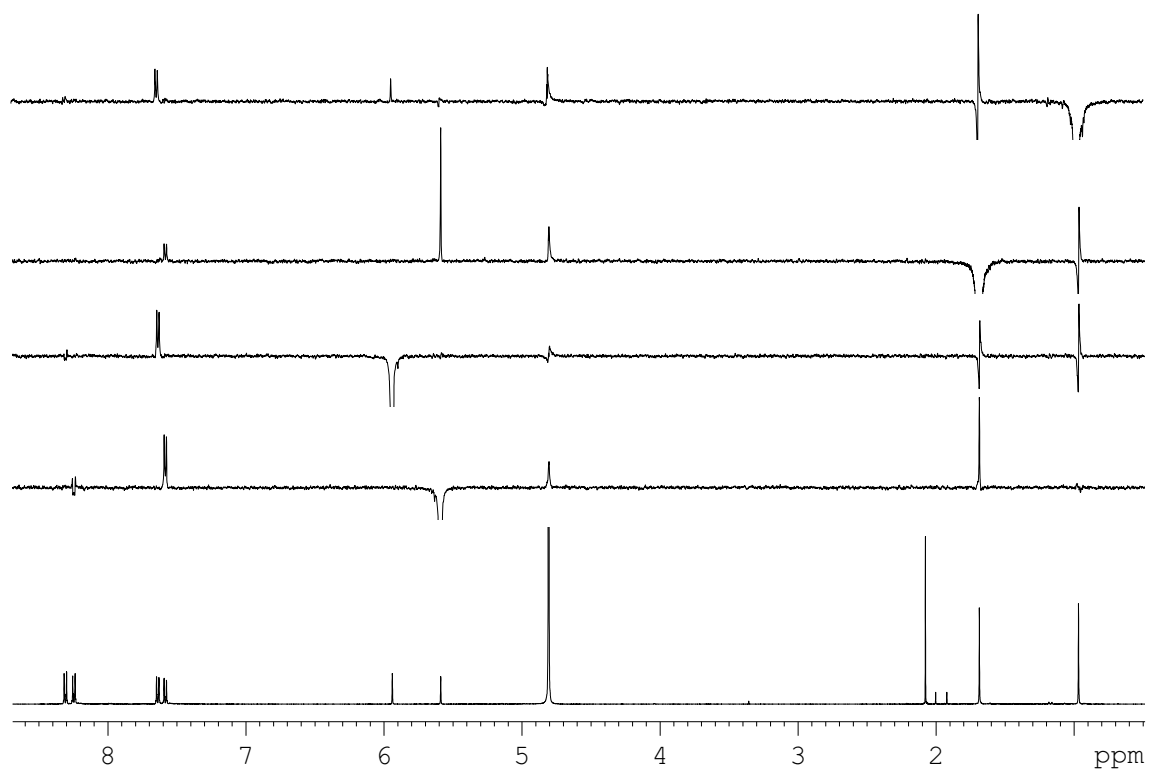
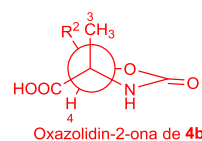
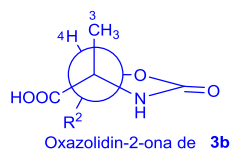


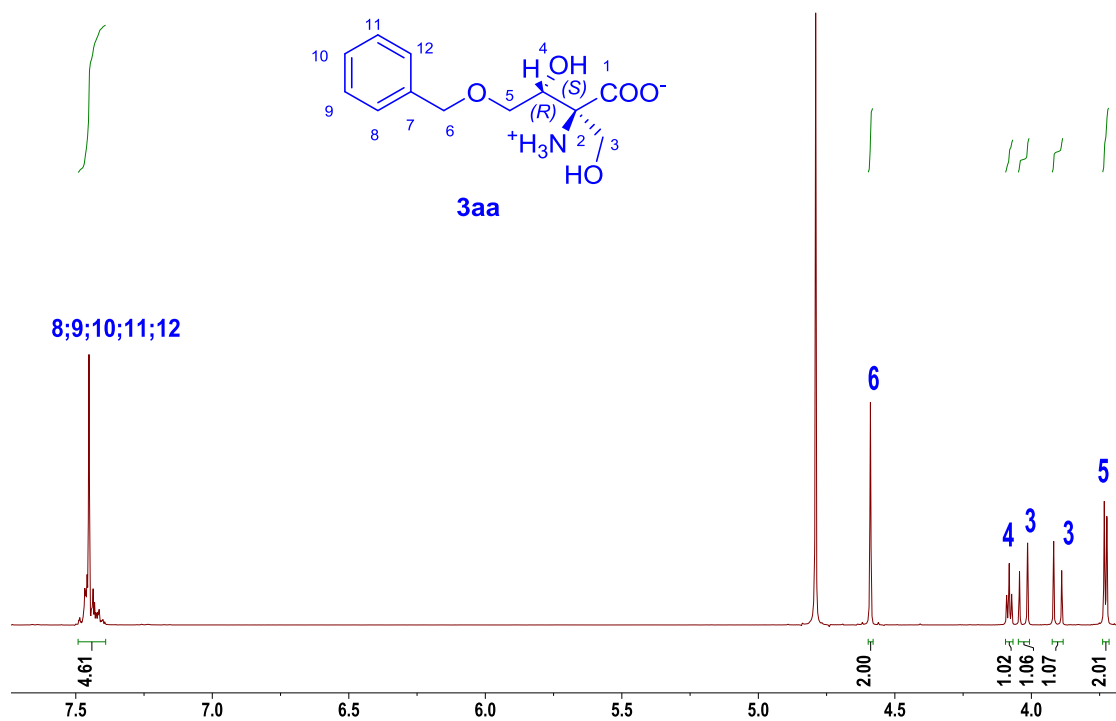
Tabla9S(3.1). Desplazamiento químico (ppm) de ^1H y ^{13}C de las oxazolidin-2-ones derivadas de **3b** y **4b**.

R^1	SHMT	δH_3	δC_3	δH_4	δC_4	NOE ($\text{H}_3\text{-H}_4$)	δH_3	δC_3	δH_4	δC_4	NOE ($\text{H}_3\text{-H}_4$)	RMN solvent
BnOCH₂ (3ba)	Y55T	1.56	20.52	4.03	72.03	STRONG						CDCl_3
BnO(CH₂)₃ (3bb)	Y55T	1.56	21.11	3.71	74.25	STRONG						CDCl_3
CbzNHCH₂ (3bc)	Y55T	1.54	19.46	4.74	76.22	STRONG						CDCl_3
CbzNH(CH₂)₂ (3bd)	Y55T	1.60	21.67	3.72	70.73	STRONG						CDCl_3
PhCH₂ (3bg , 4bg)	Y55T	1.65	21.16	3.95	75.12	STRONG	1.57	19.32	4.01	74.47	WEAK	CDCl_3
Ph(CH₂)₂ (3bh , 4bh)	Y55T	1.52	20.30	3.70	74.23	STRONG	1.41	19.05	3.79	73.38	WEAK	CDCl_3
PhOCH₂ (3bi)	Y55T	1.65	20.95	4.24	72.18	STRONG						$\text{DMSO-}d_6$
4-ClC₆H₄ (3bk , 4bk)	Y55T	1.70	20.95	4.93	75.83	STRONG	1.36	20.40	4.96	75.11	WEAK	CDCl_3
2-FC₆H₄ (3bl , 4bl)	Y55T	1.64	20.14	5.28	70.24	STRONG	1.41	19.75	5.42	69.05	WEAK	CDCl_3
4-O₂NC₆H₄ (3bn)	Y55T	1.74	21.11	5.07	75.48	STRONG						CDCl_3
BnOCH₂ (3ba)	wild-type	1.55	20.52	4.02	72.13	STRONG						CDCl_3
BnO(CH₂)₃ (3bb , 4bb)	wild-type	1.55	21.04	3.70	74.27	STRONG	1.40	18.91	3.77	73.74	WEAK	CDCl_3
CbzNHCH₂ (3bc)	wild-type	1.55	19.49	4.74	76.40	STRONG						CDCl_3
CbzNH(CH₂)₂ (3bd)	wild-type	1.58	25.32	3.72	70.92	STRONG						CDCl_3
Ph(CH₂)₂ (3bh , 4bh)	wild-type	1.52	20.55	3.72	74.02	STRONG	1.41	18.92	3.80	73.25	WEAK	CDCl_3
PhOCH₂ (3bi)	wild-type	1.65	20.84	4.24	72.23	STRONG						CDCl_3
Ph (3bj , 4bj)	wild-type	1.66	24.41	5.45	87.56	STRONG	0.99	20.48	5.83	84.79	WEAK	$\text{D}_2\text{O}^{[a]}$
4-ClC₆H₄ (3bk , 4bk)	wild-type	1.64	24.21	5.43	86.57	STRONG	0.96	20.59	5.80	84.03	WEAK	$\text{D}_2\text{O}^{[a]}$
2-FC₆H₄ (3bl , 4bl)	wild-type	1.68	24.35	5.76	81.70	STRONG	1.06	19.68	6.07	80.57	WEAK	$\text{D}_2\text{O}^{[a]}$
C₆F₅ (3bm , 4bm)	wild-type	1.32	21.64	5.22	72.09		1.24	19.94	6.29	77.22	WEAK	$\text{D}_2\text{O}^{[a]}$
4-O₂NC₆H₄ (3bn , 4bn)	wild-type	1.69	24.29	5.60	85.82	STRONG	0.98	20.56	5.95	83.41	WEAK	$\text{D}_2\text{O}^{[a]}$

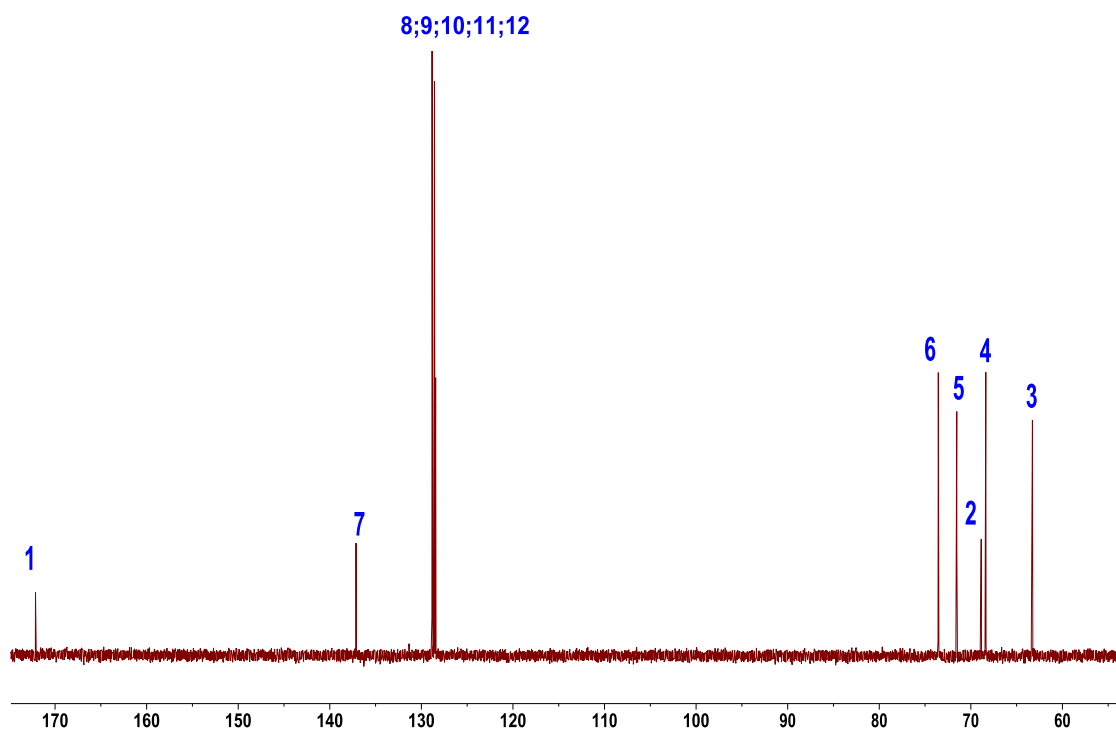
^[a] La oxazolidin-2-ona derivada de 4, para estos productos, es parcialmente soluble en CDCl_3 , por ello se realizó los experimentos de RMN en D_2O .

Figura65S(3.1). Espectros de RMN (D₂O) de **3aa** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Stt} Y55T:a) ¹H; b) ¹³C; c) 2D ¹H-¹H COSY, d) HSQC y e) 1D-NOESY selectivo.

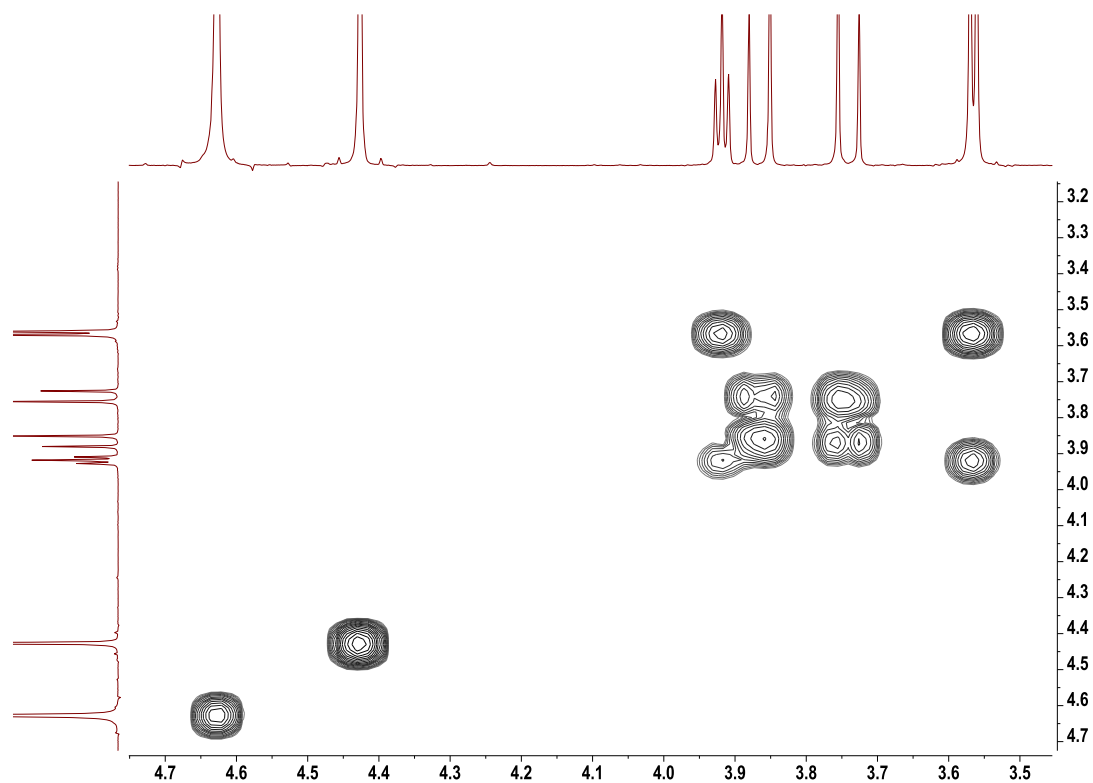
a)



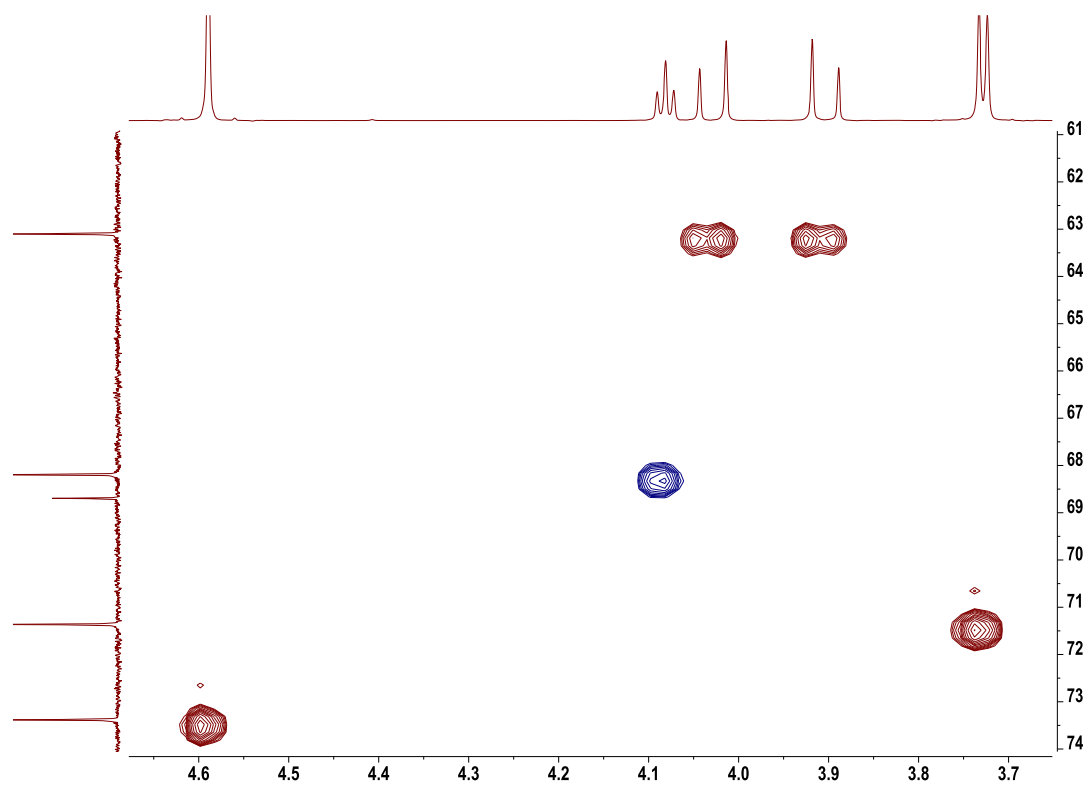
b)



c)



d)



e)

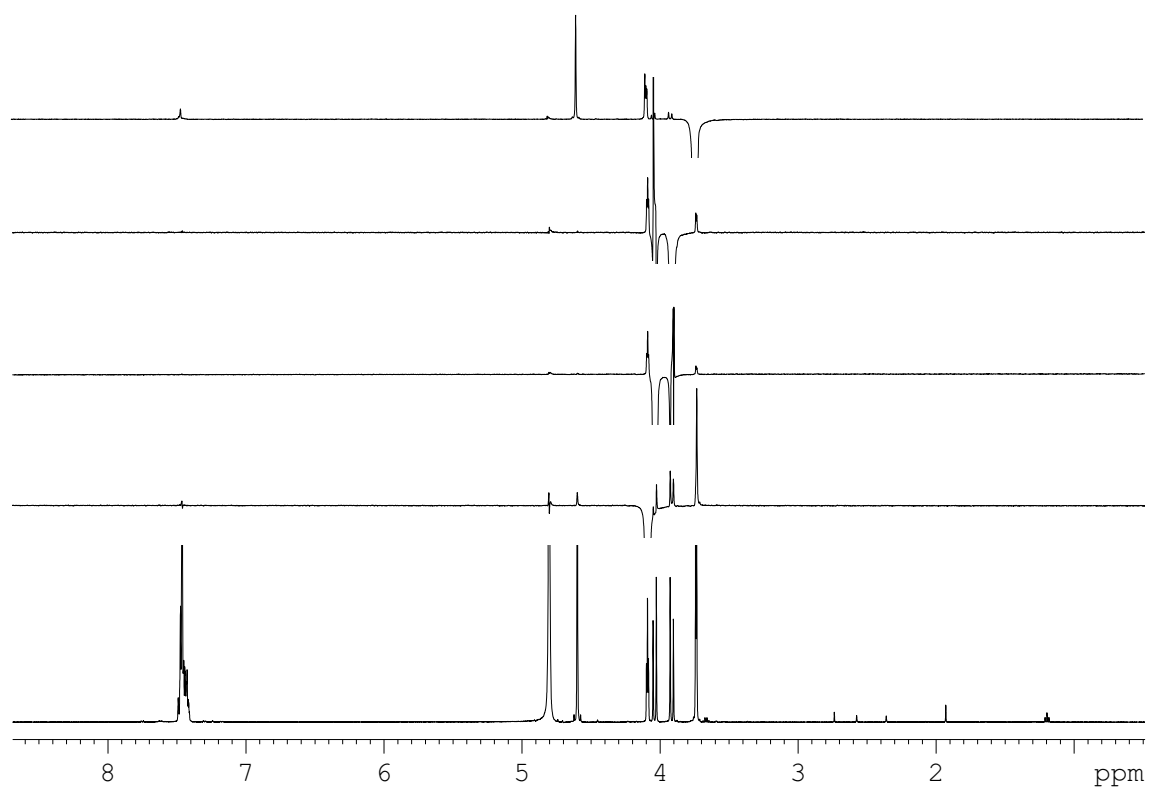
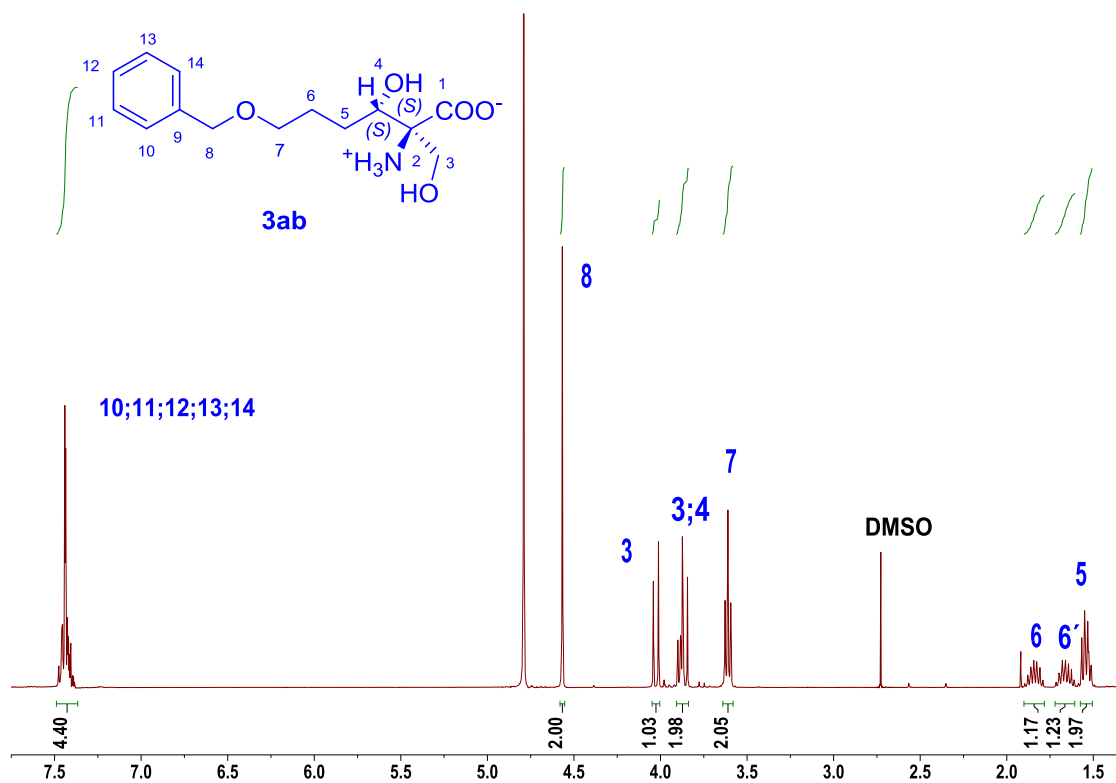
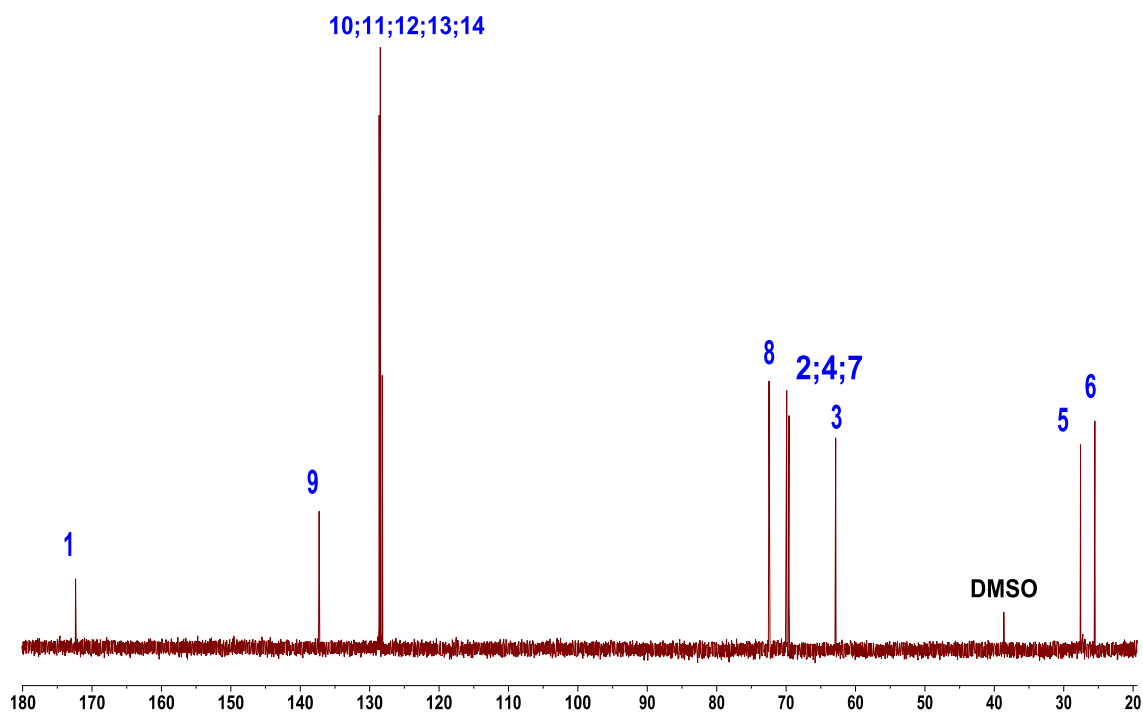


Figura66S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de **3ab** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Stt} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.

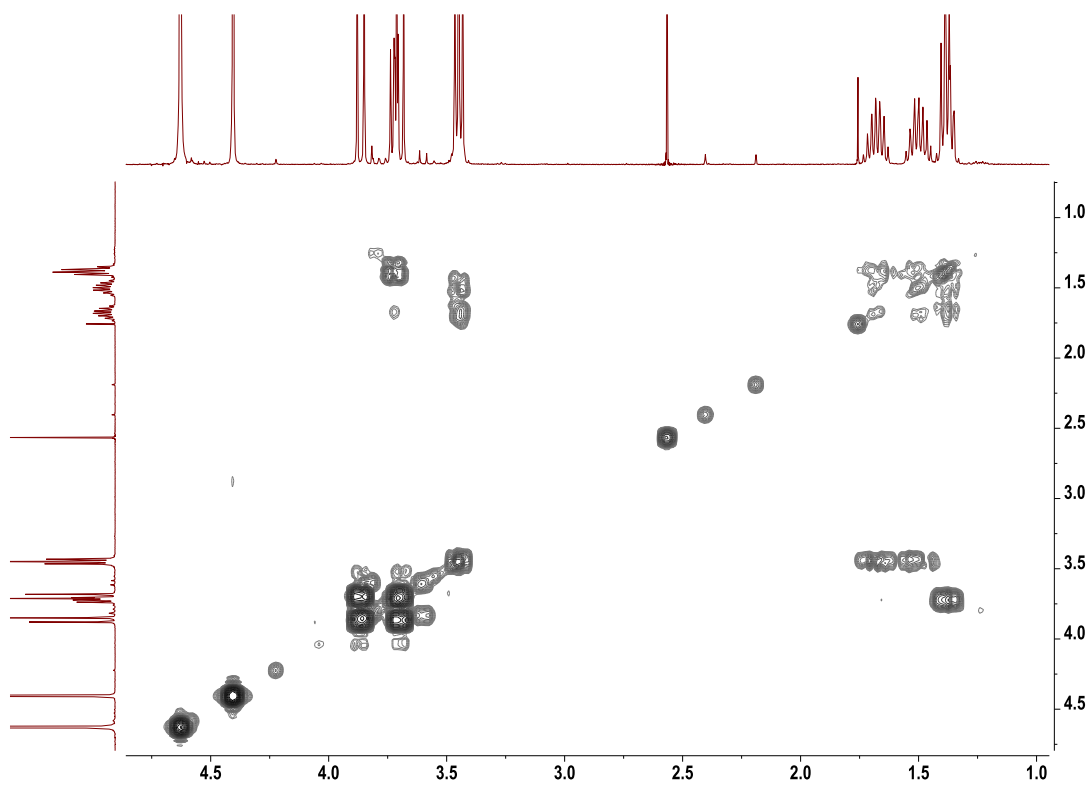
a)



b)



c)



d)

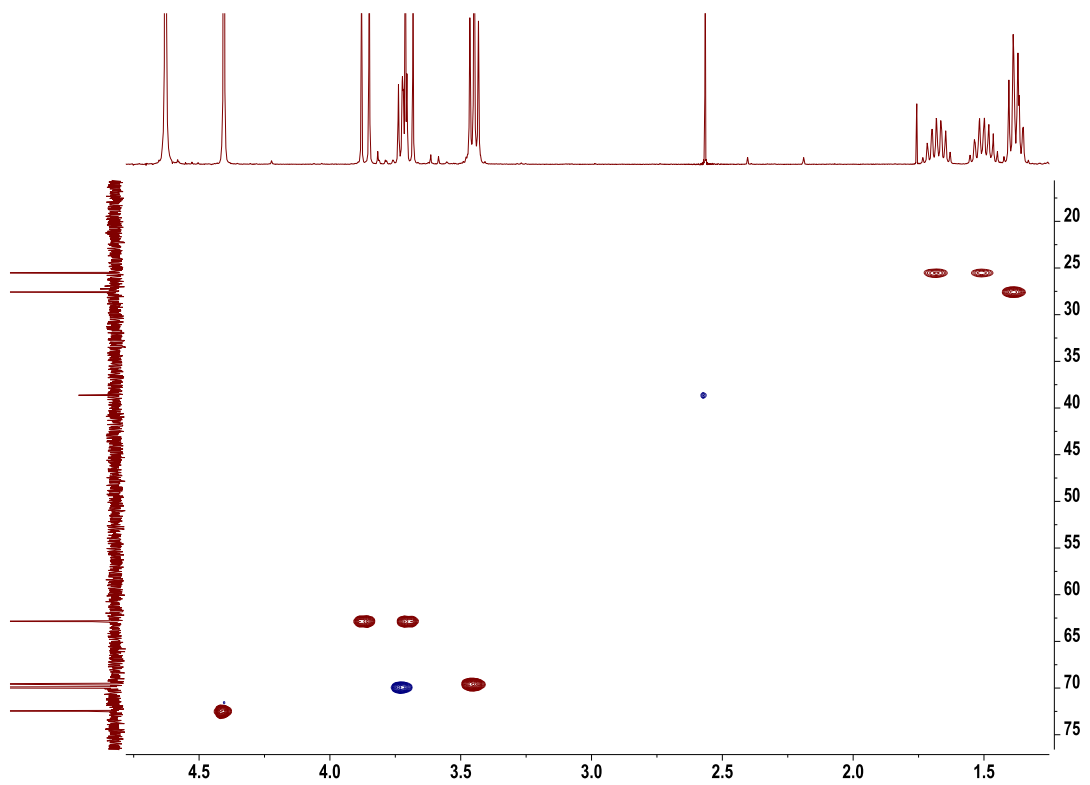
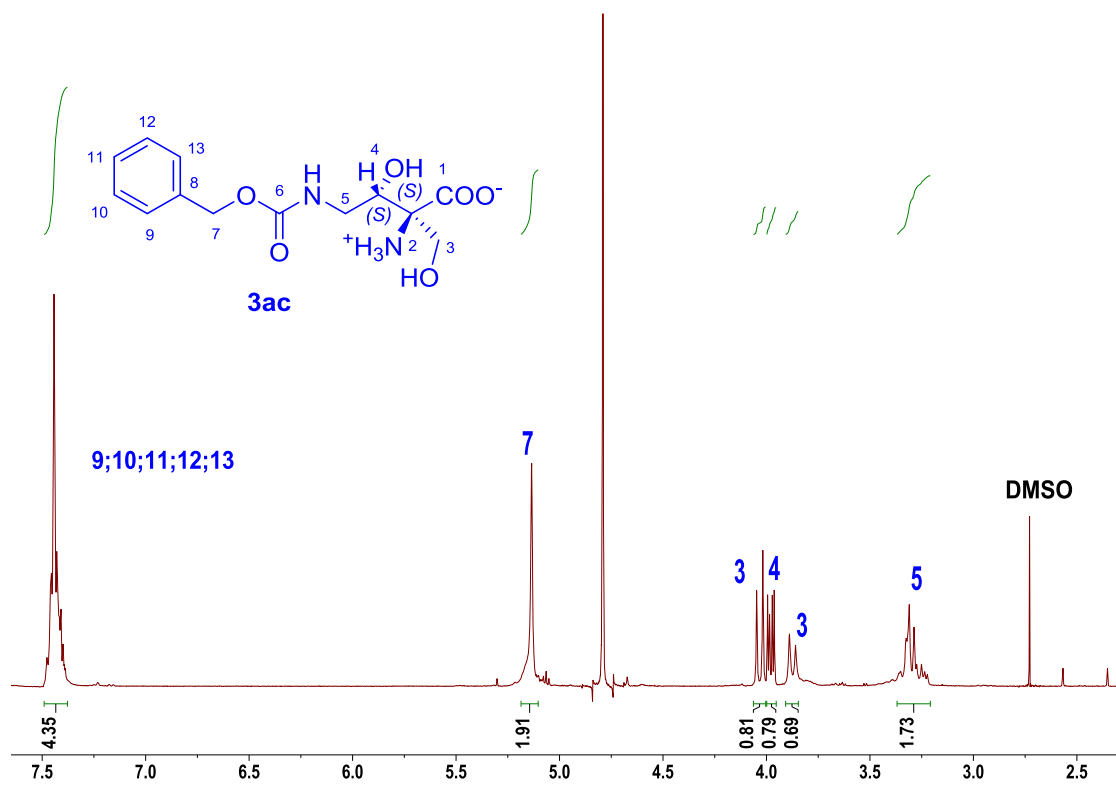
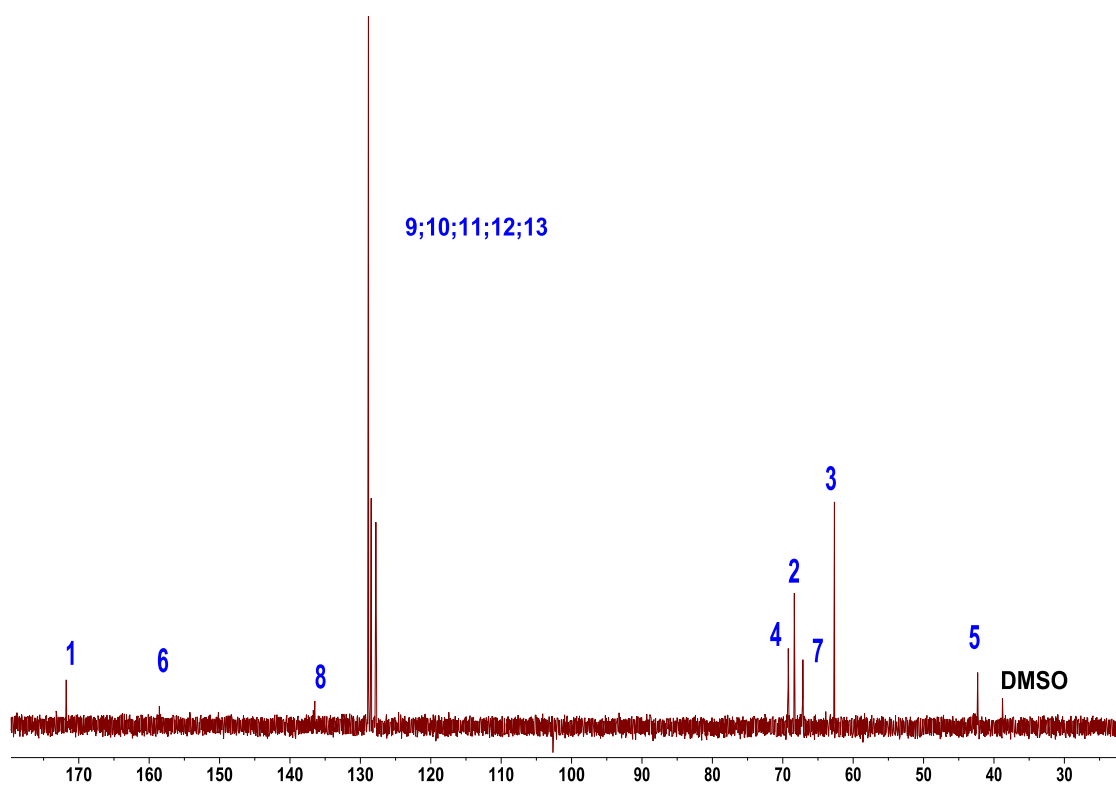


Figura67S(3.1). Espectros de RMN (D₂O) de **3ac** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Sth} Y55T:a) ¹H; b) ¹³C; c) 2D ¹H-¹H COSY y d) HSQC.

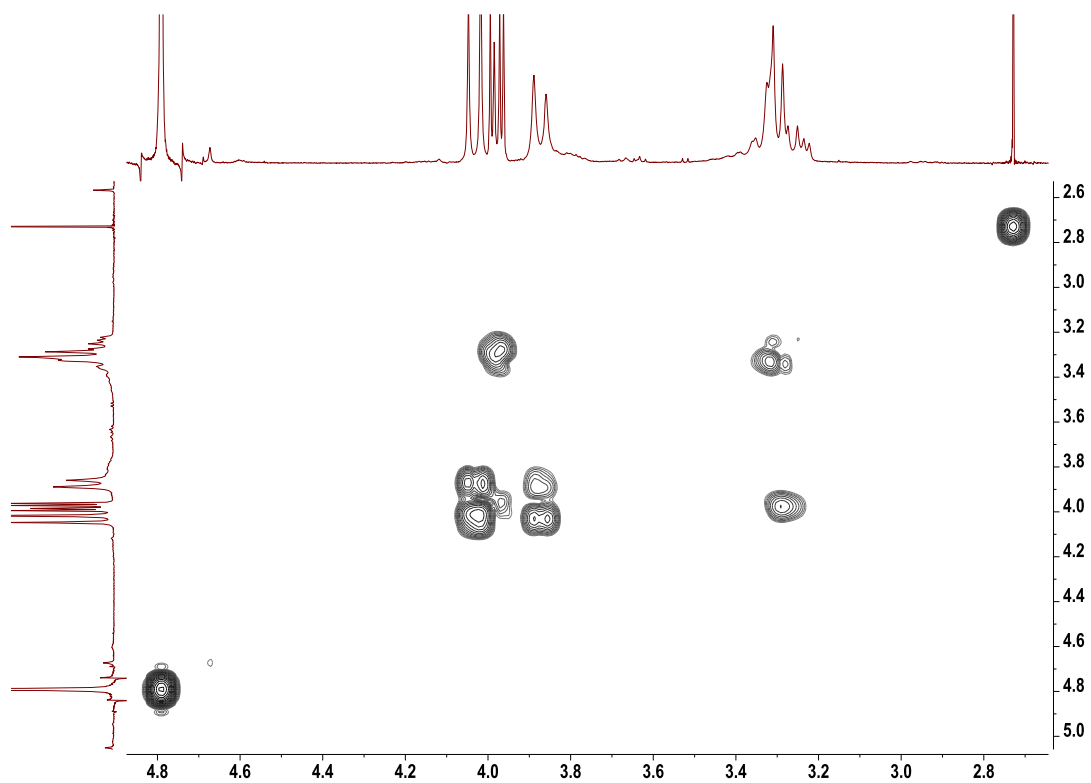
a)



b)



c)



d)

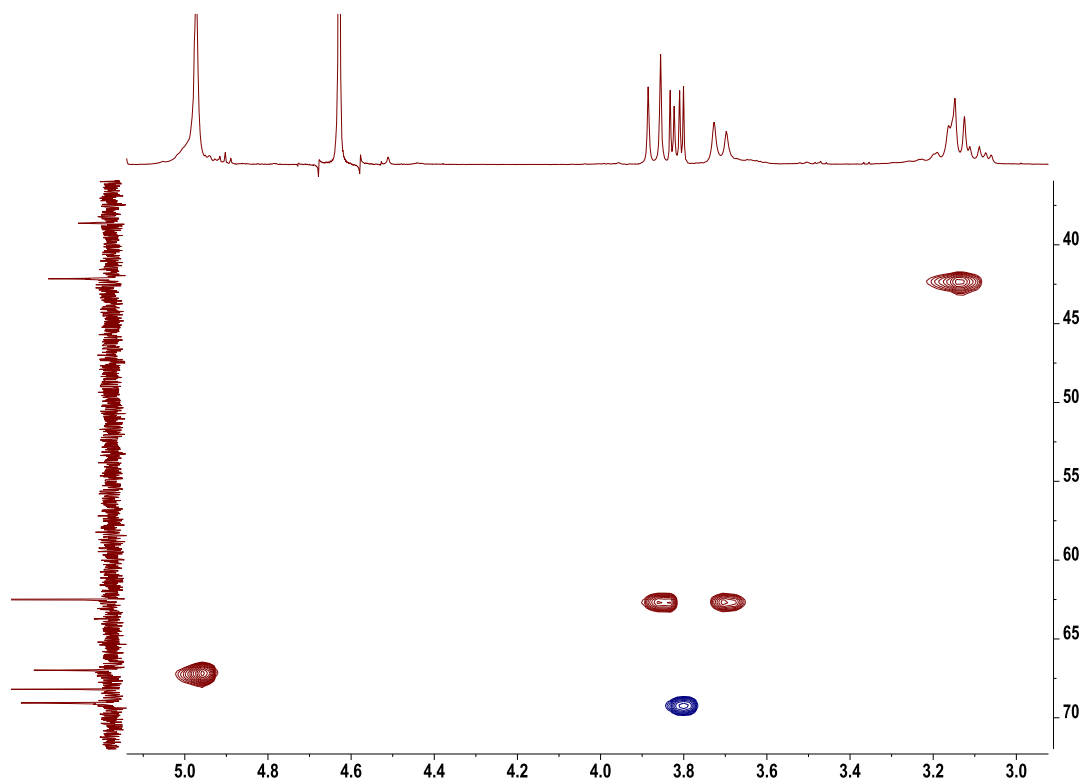
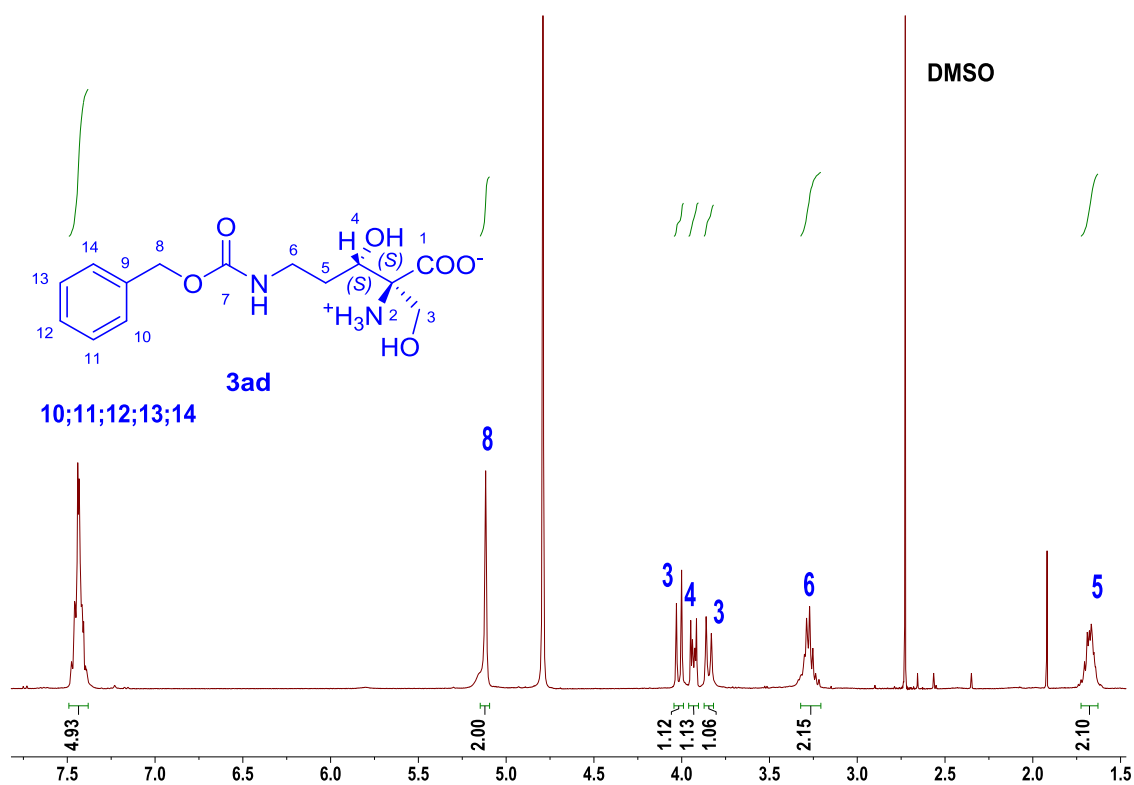
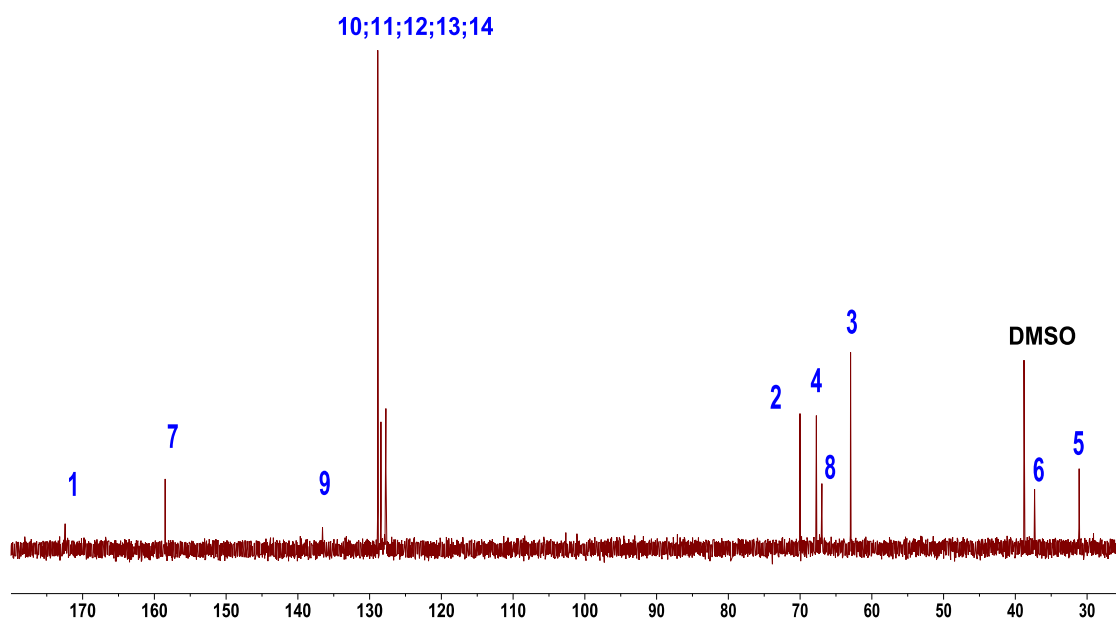


Figura68S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de **3ad** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Sth} Y55T:a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.

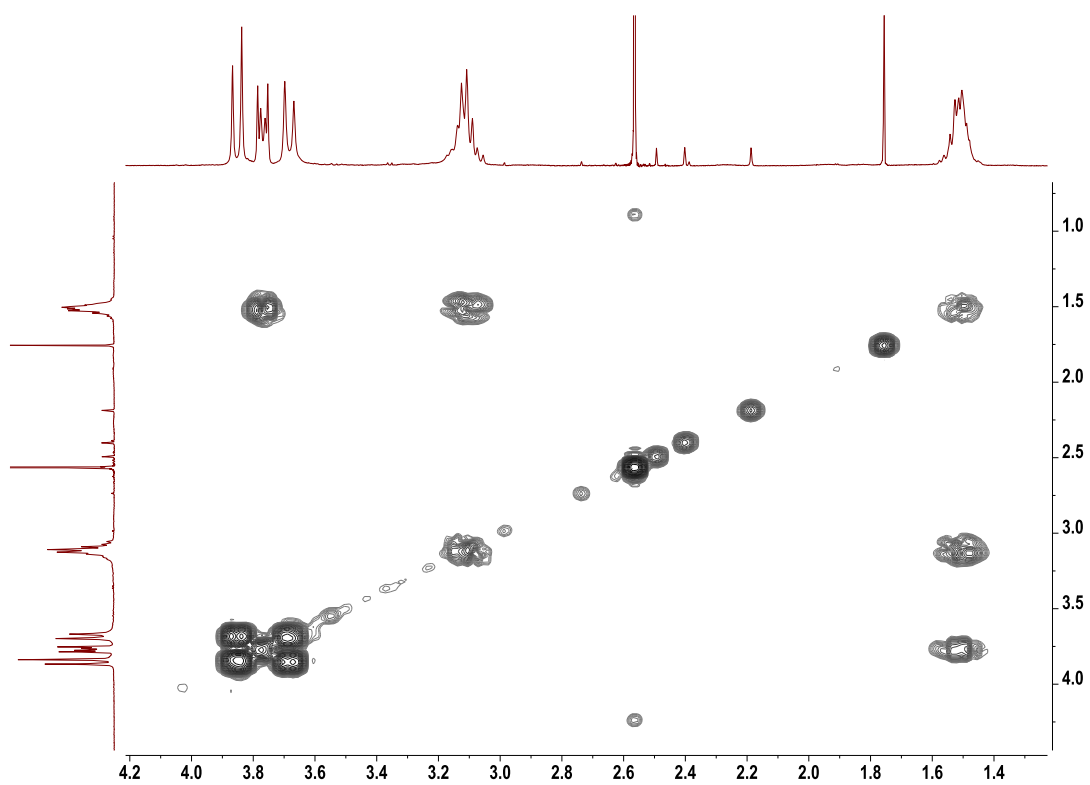
a)



b)



c)



d)

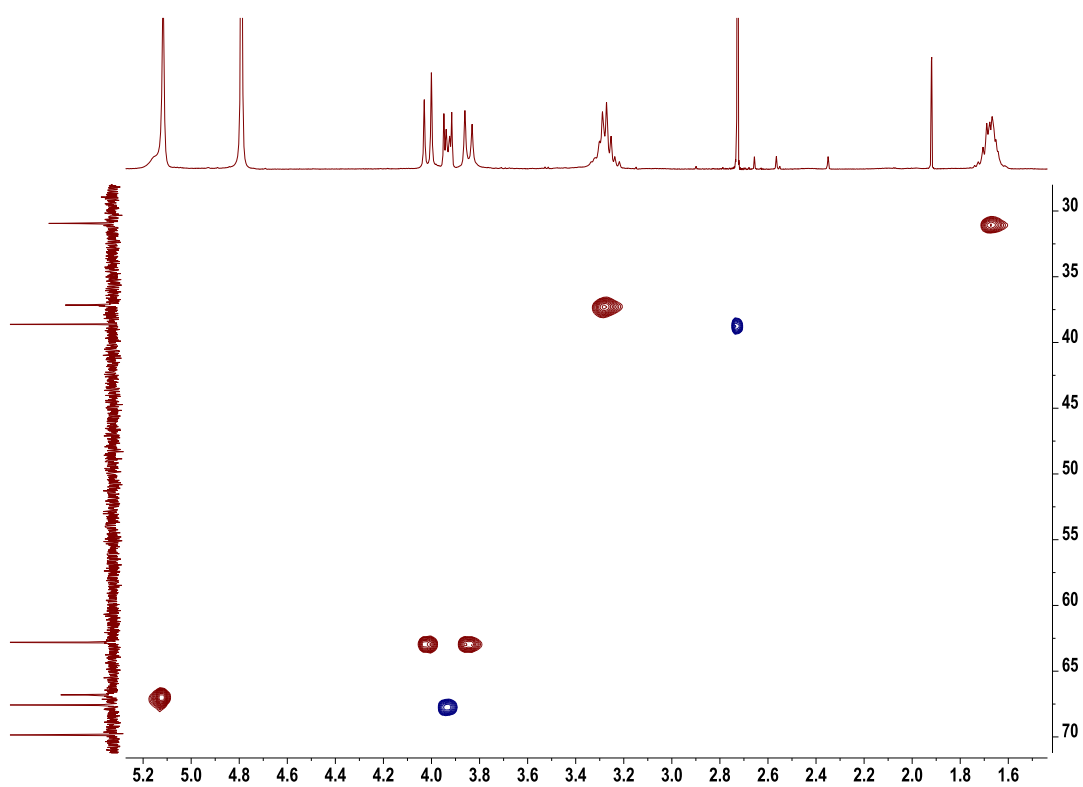
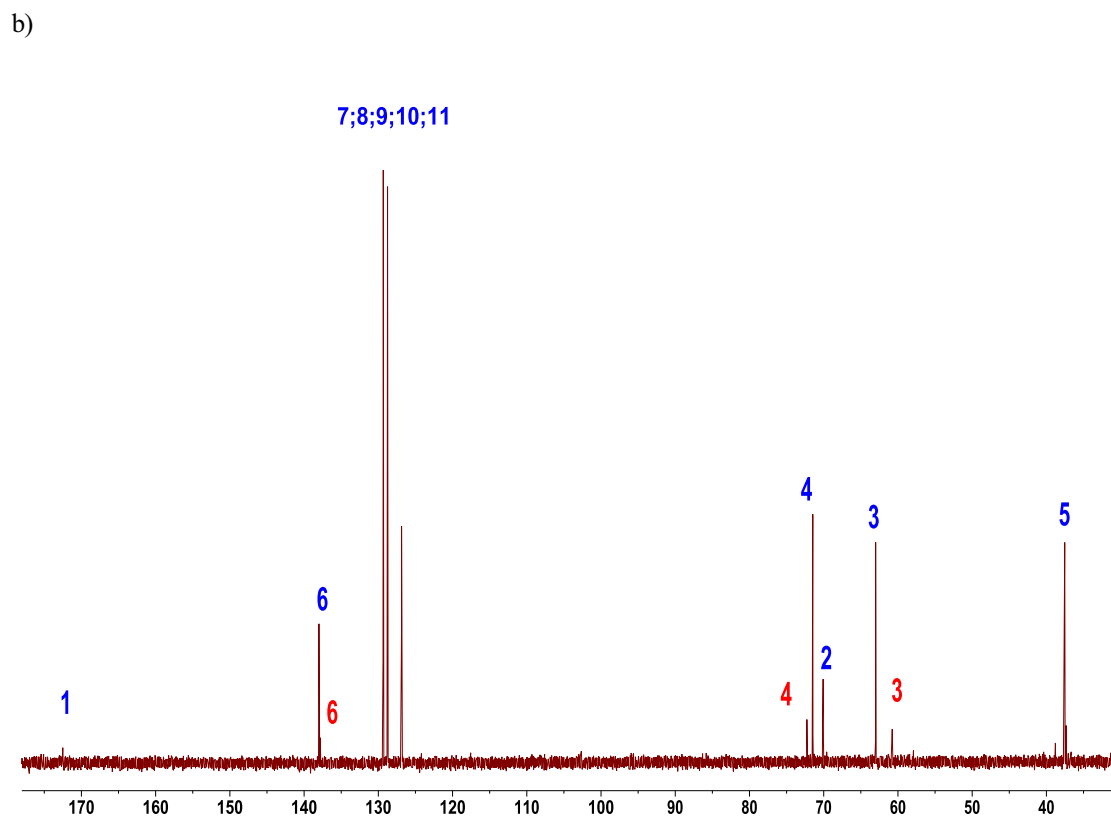
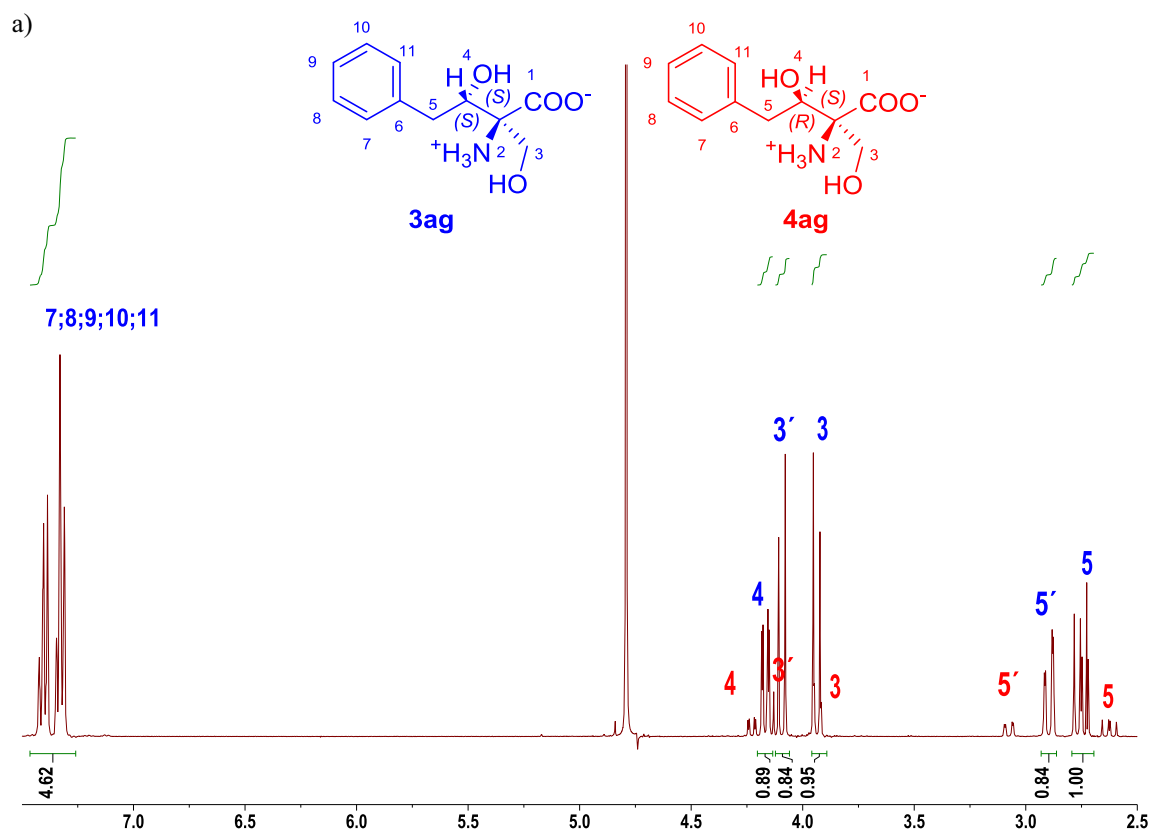
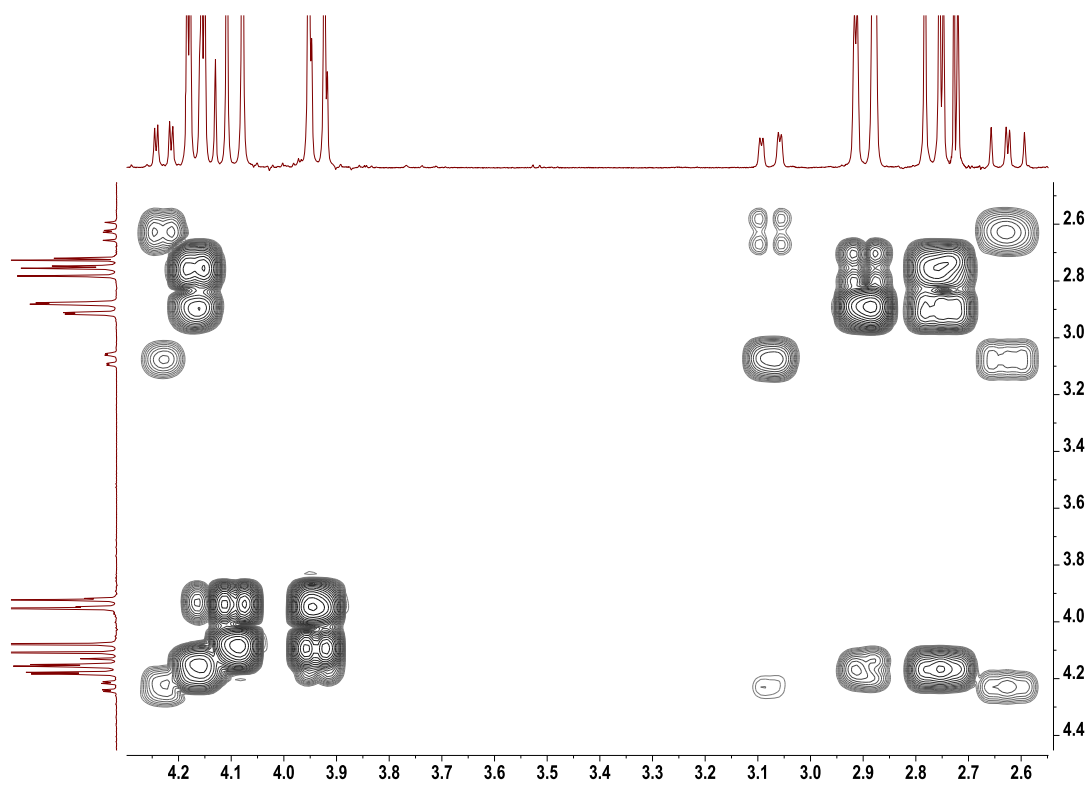


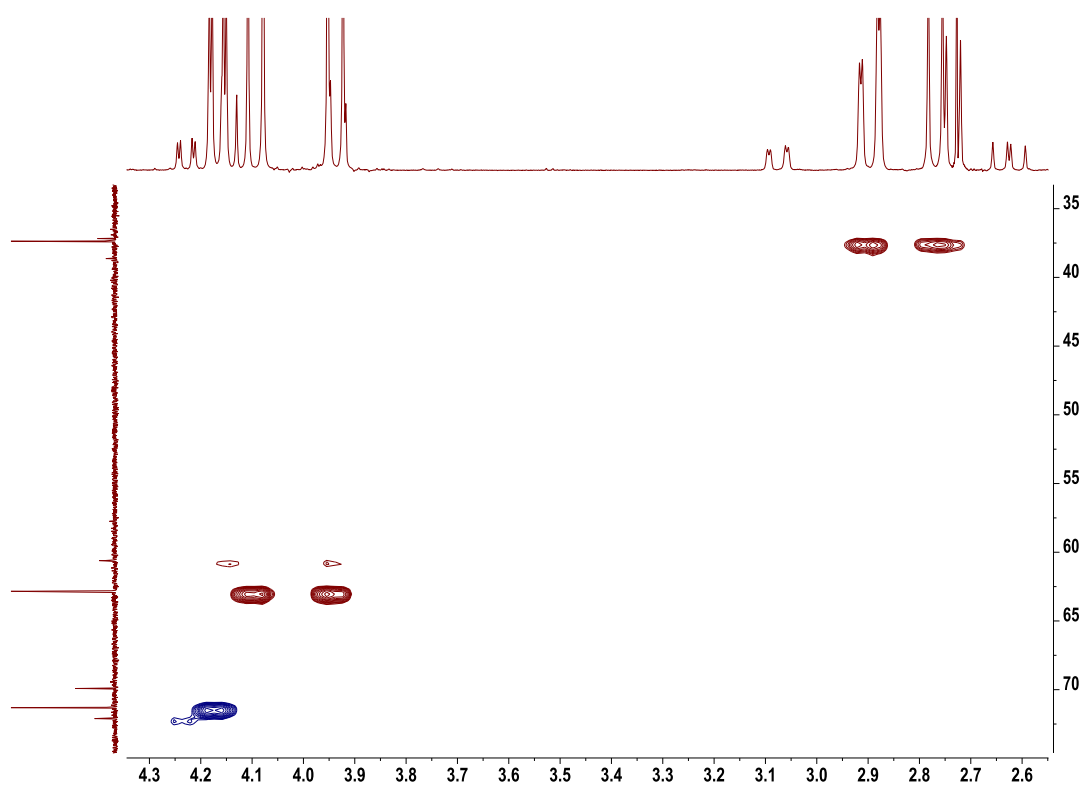
Figura69S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de **3ag** y **4ag** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY, d) HSQC y e) 1D-NOESY selectivo.



c)



d)



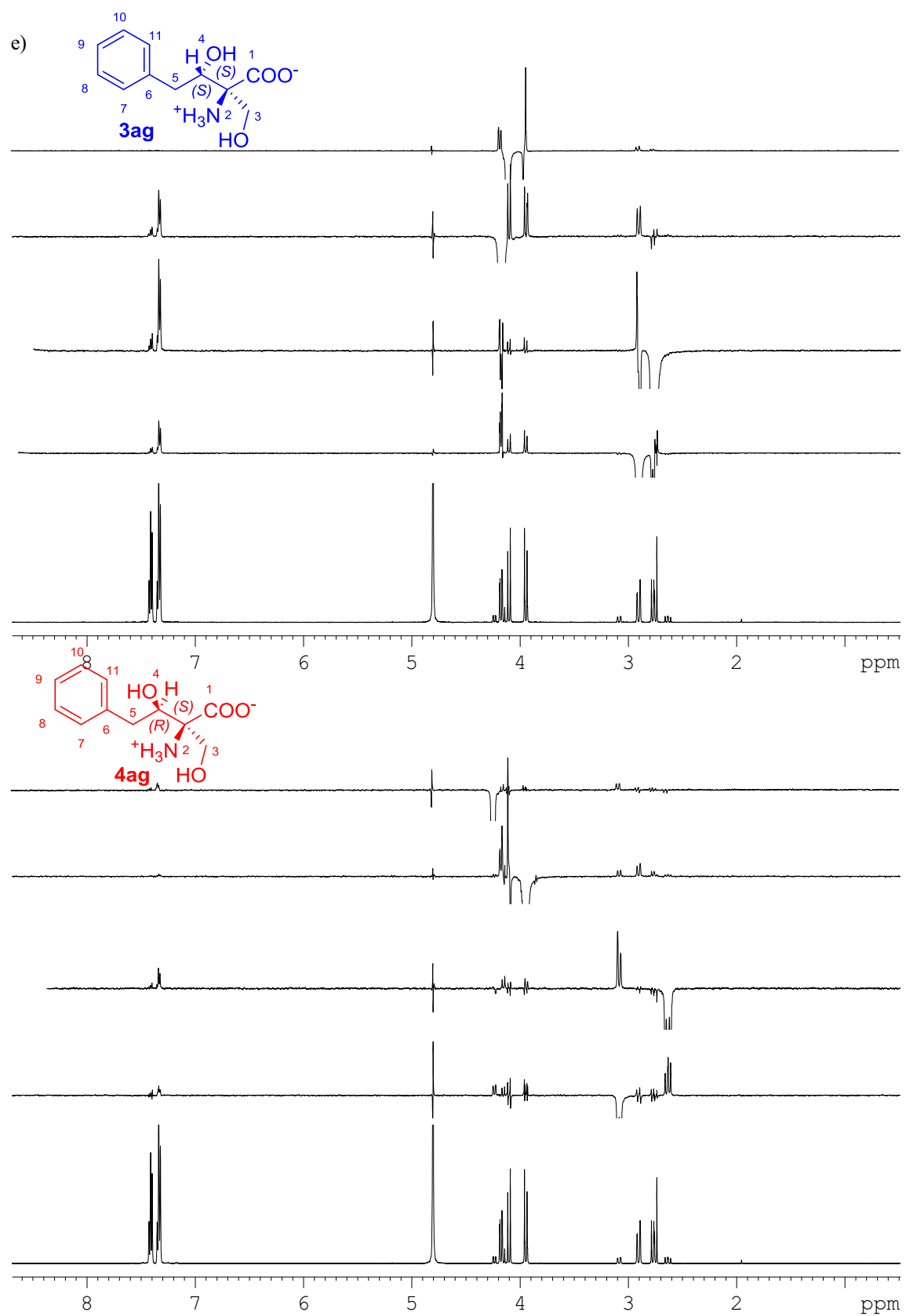
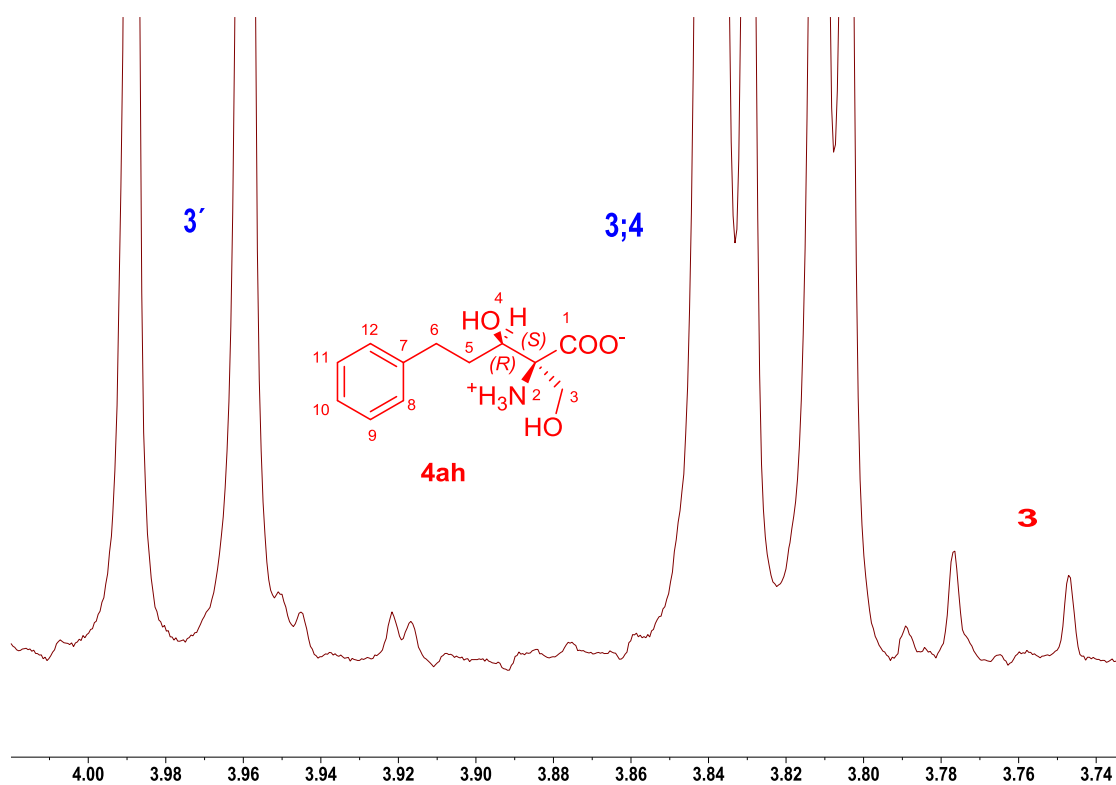
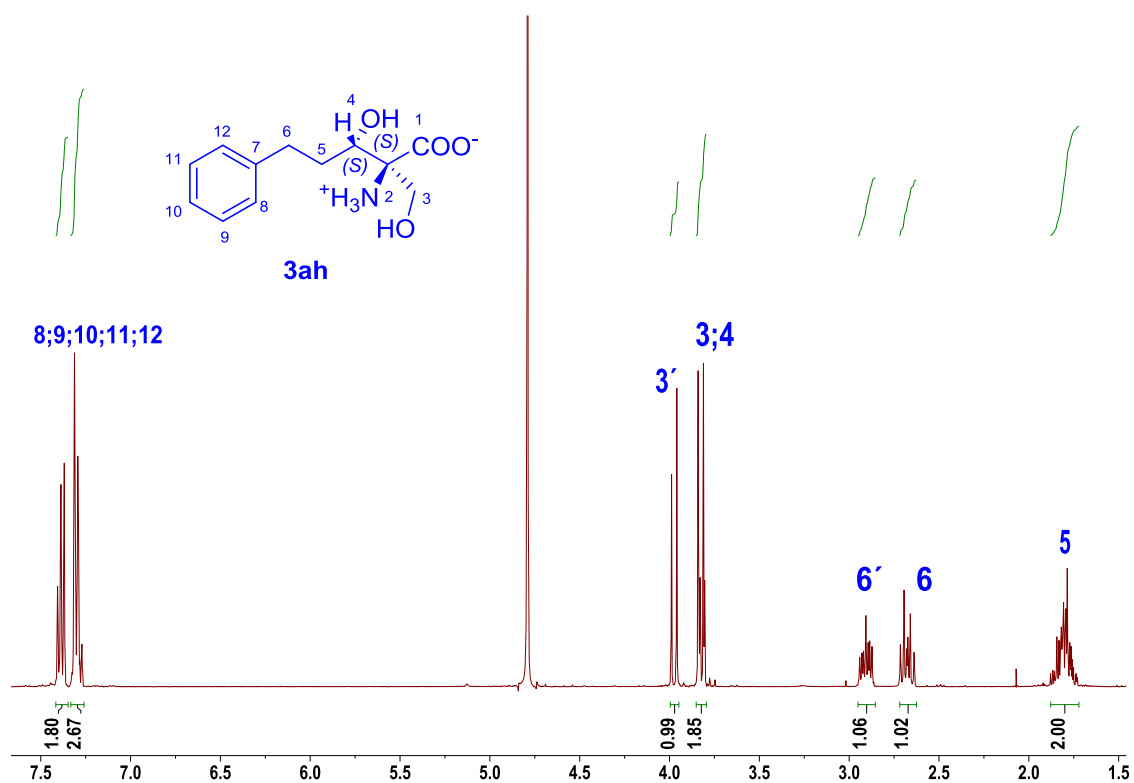
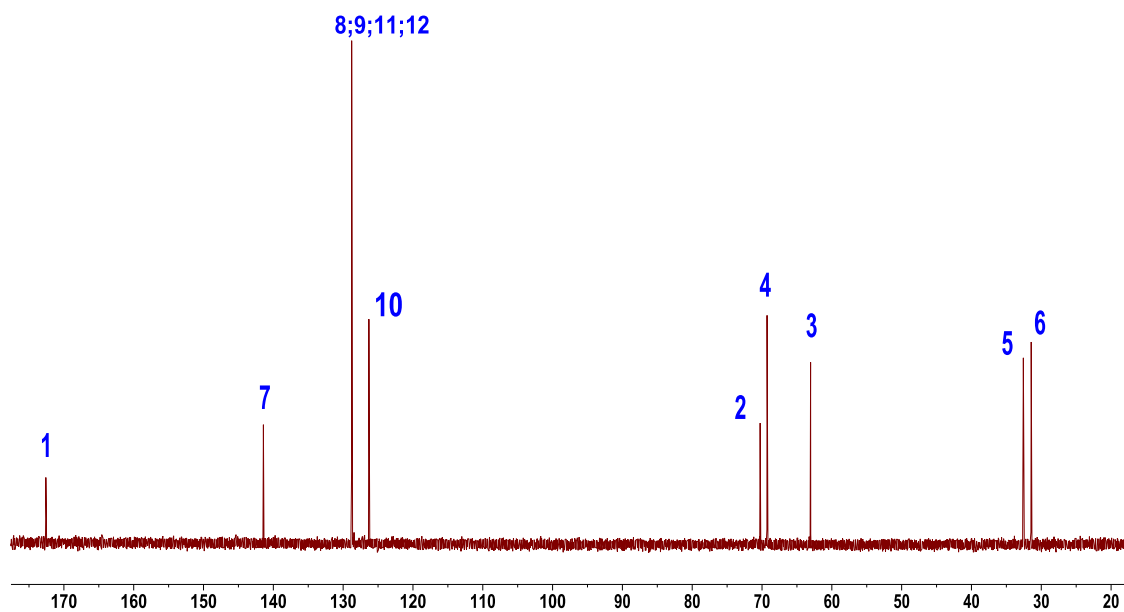


Figura70S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de **3ah** y **4ai** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY, d) HSQC y e) 1D-NOESY selectivo.

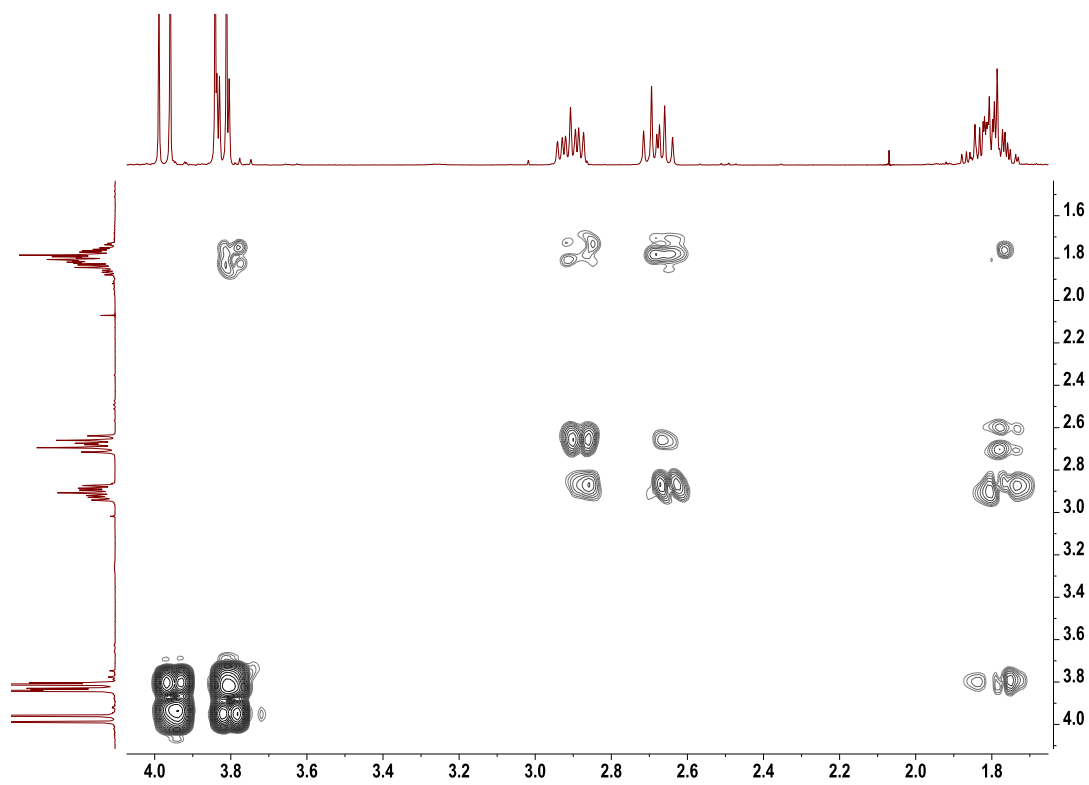
a)



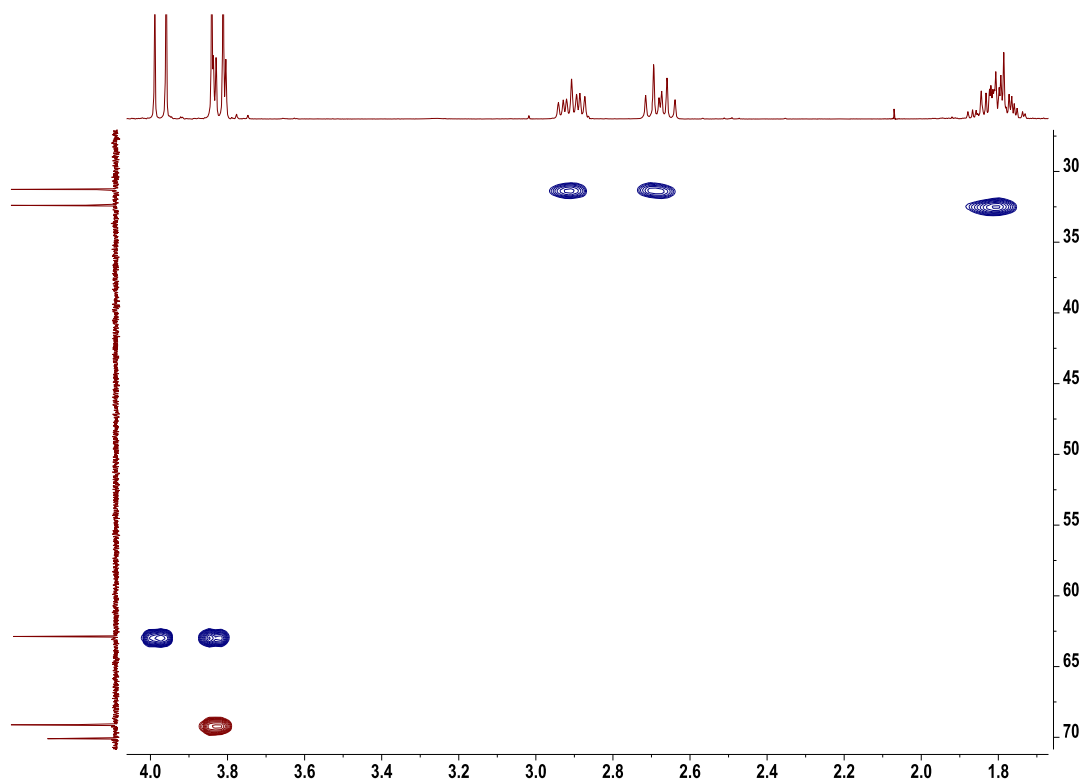
b)



c)



d)



e)

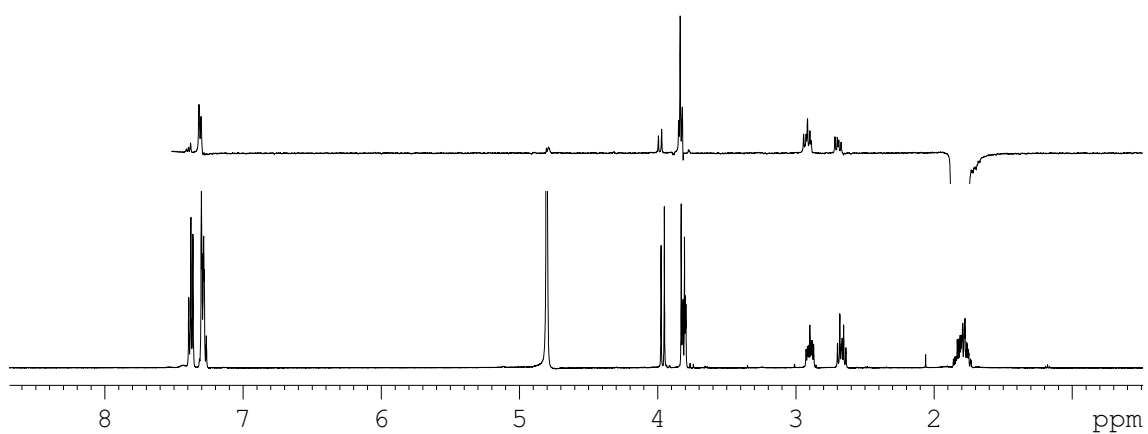
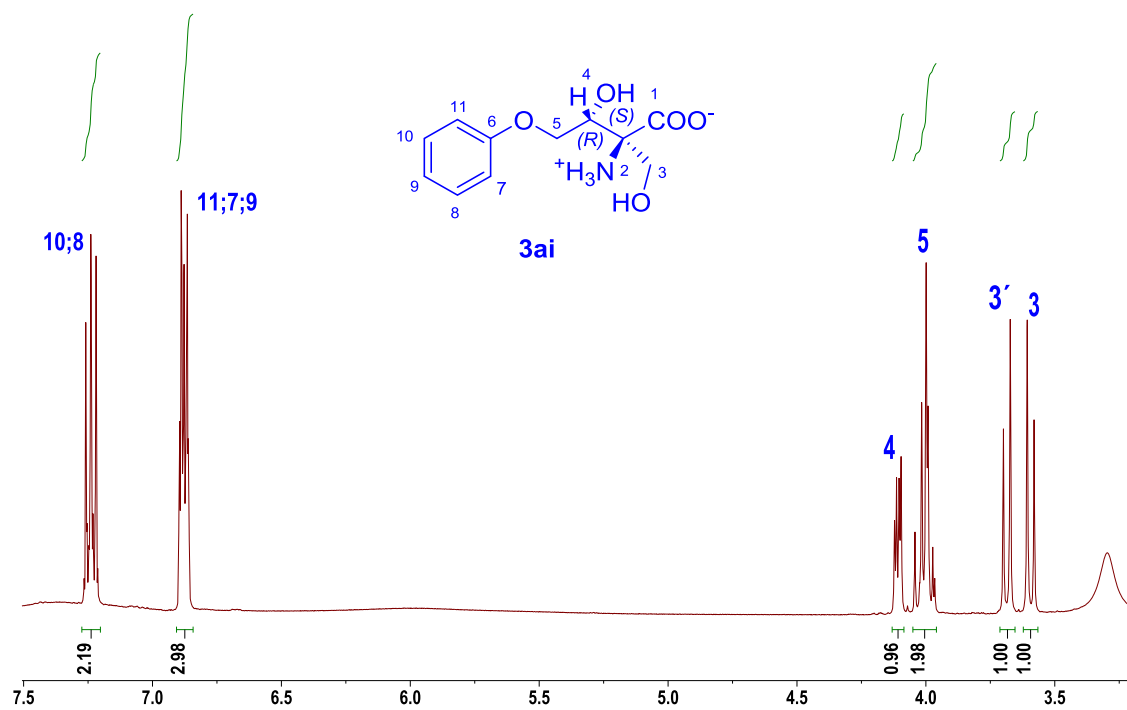
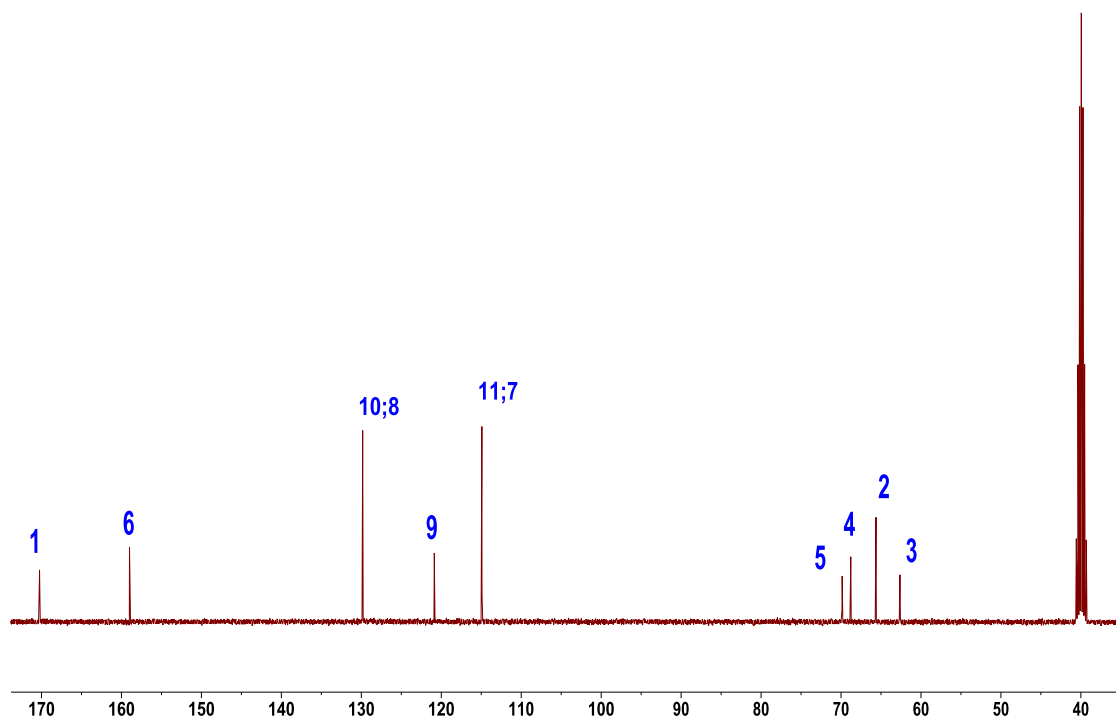


Figura71S(3.1). Espectros de RMN (DMSO- d_6) de **3ai** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Sth} Y55T: a) ^1H ; b) ^{13}C ; c) 2D ^1H - ^1H COSY, d) HSQC y e) 1D-NOESY selectivo.

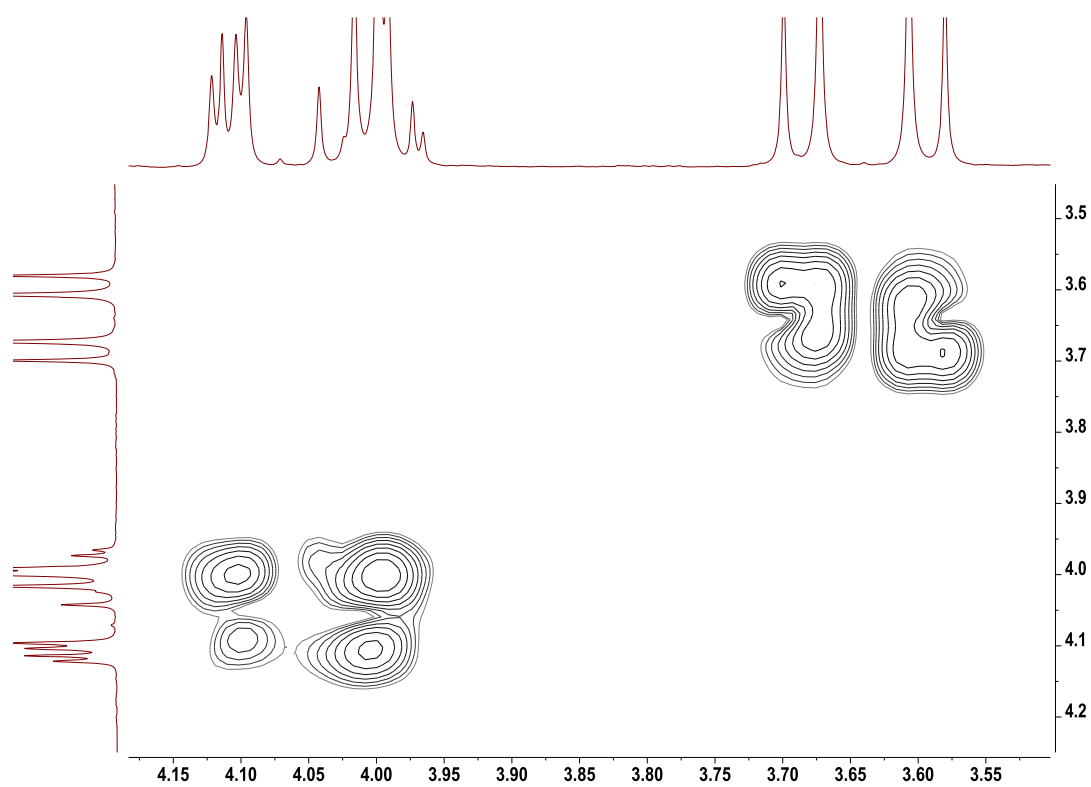
a)



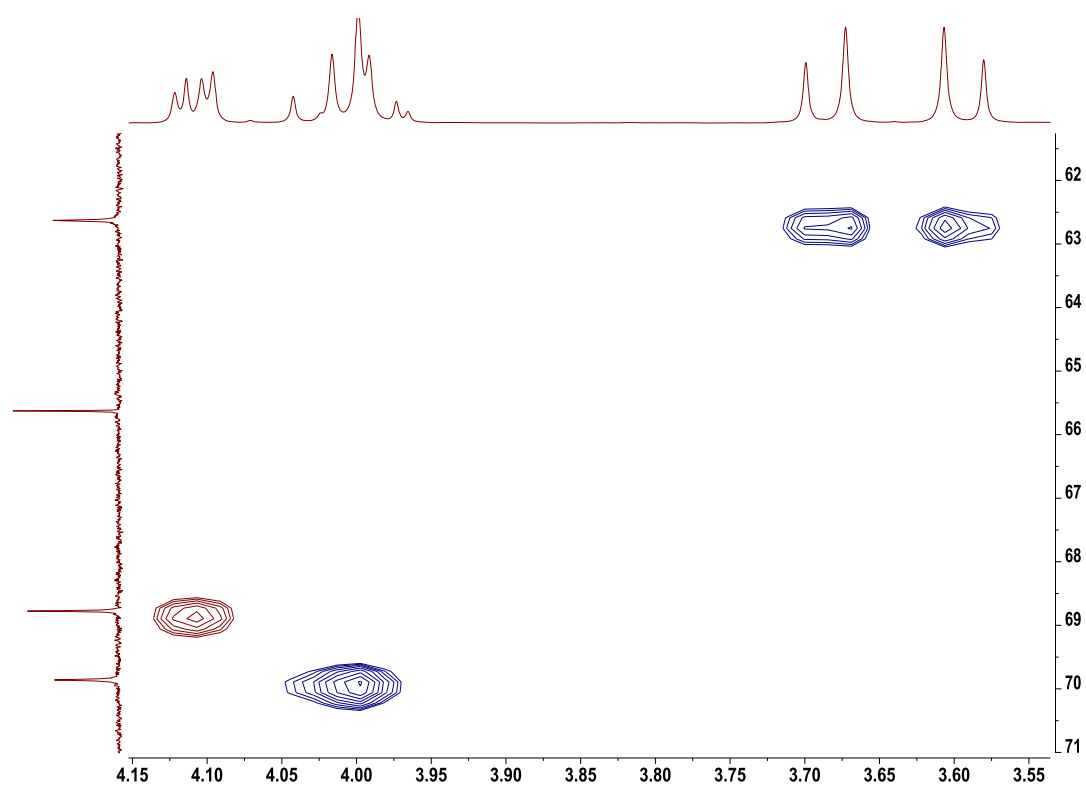
b)



c)



d)



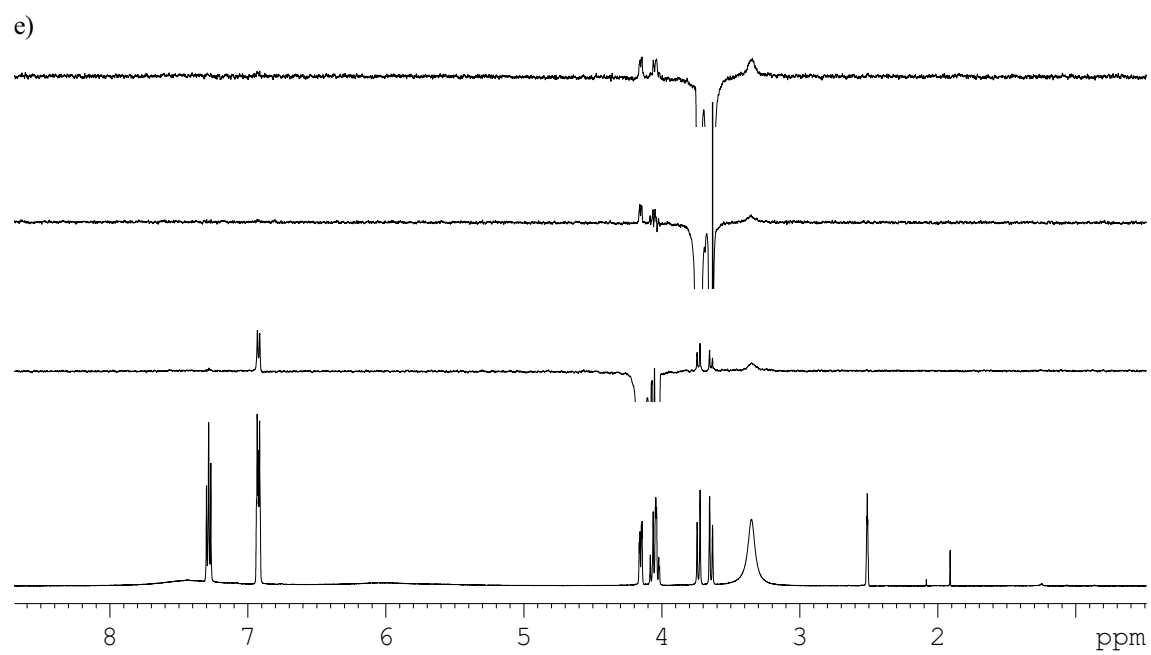
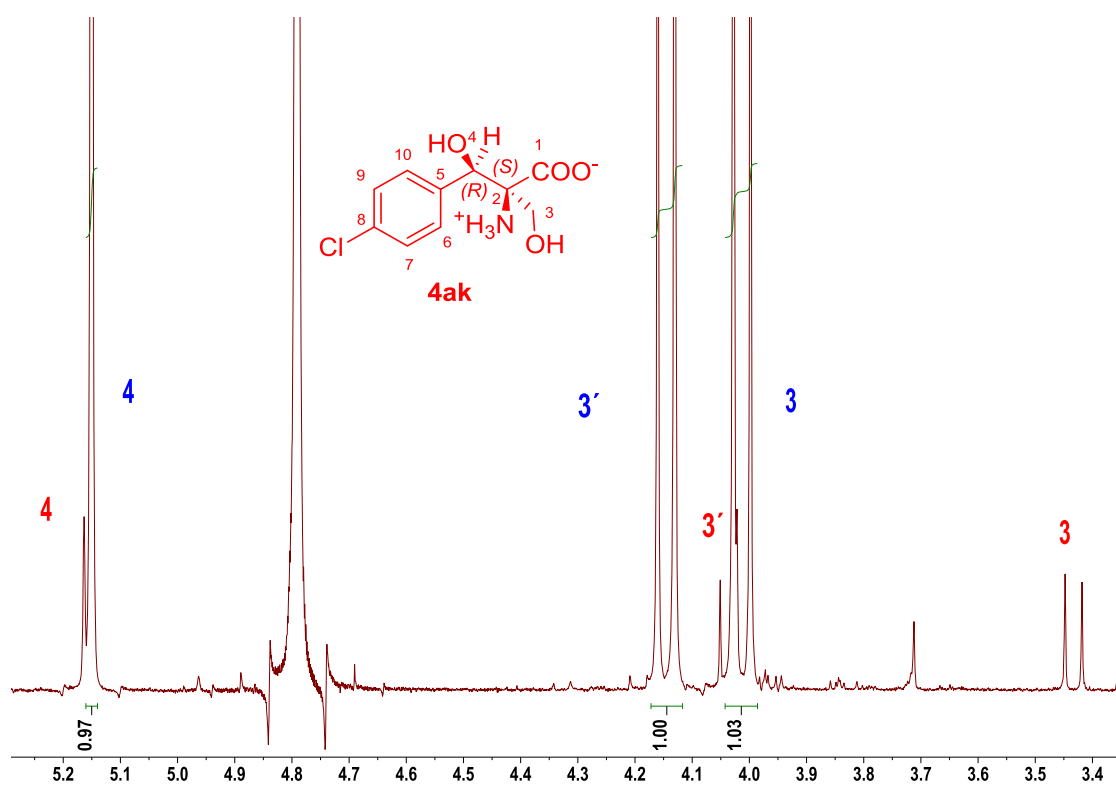
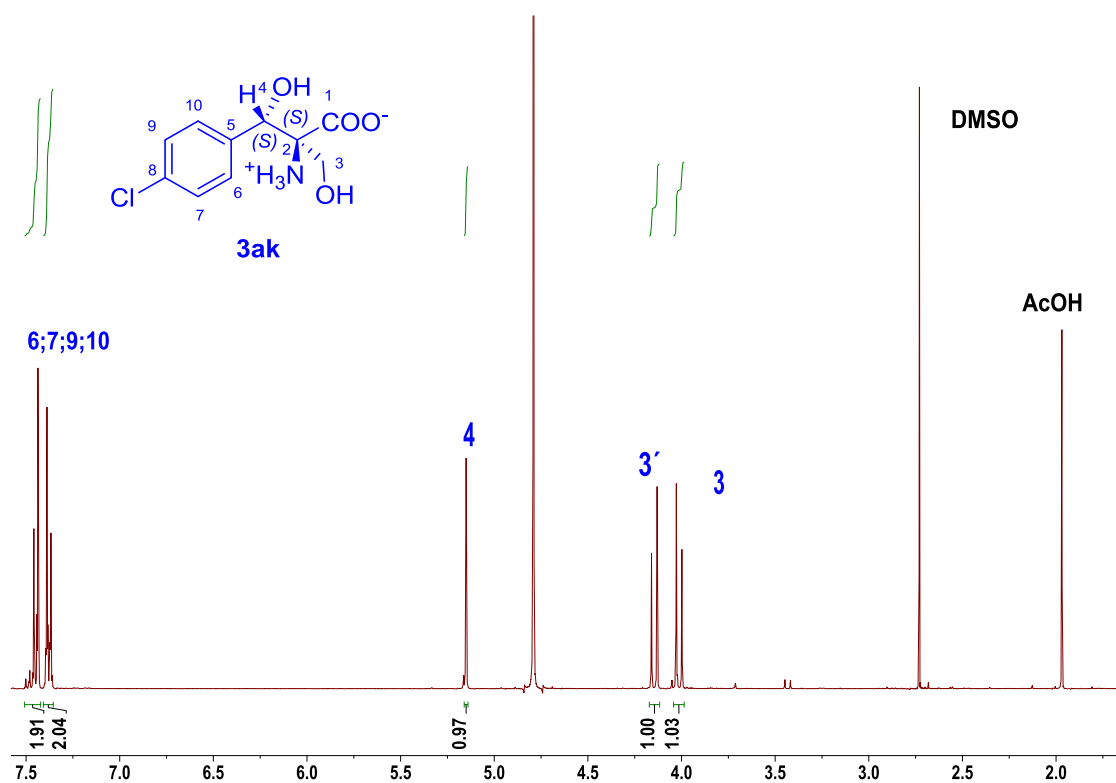
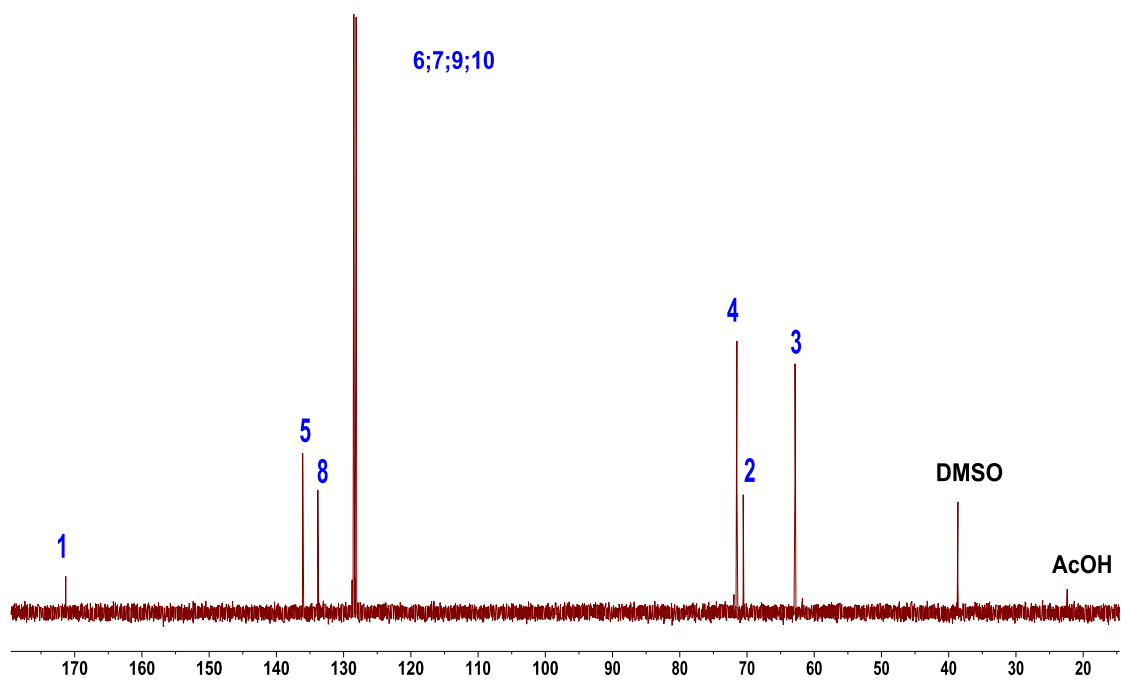


Figura72S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de **3ak** y **4ak** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.

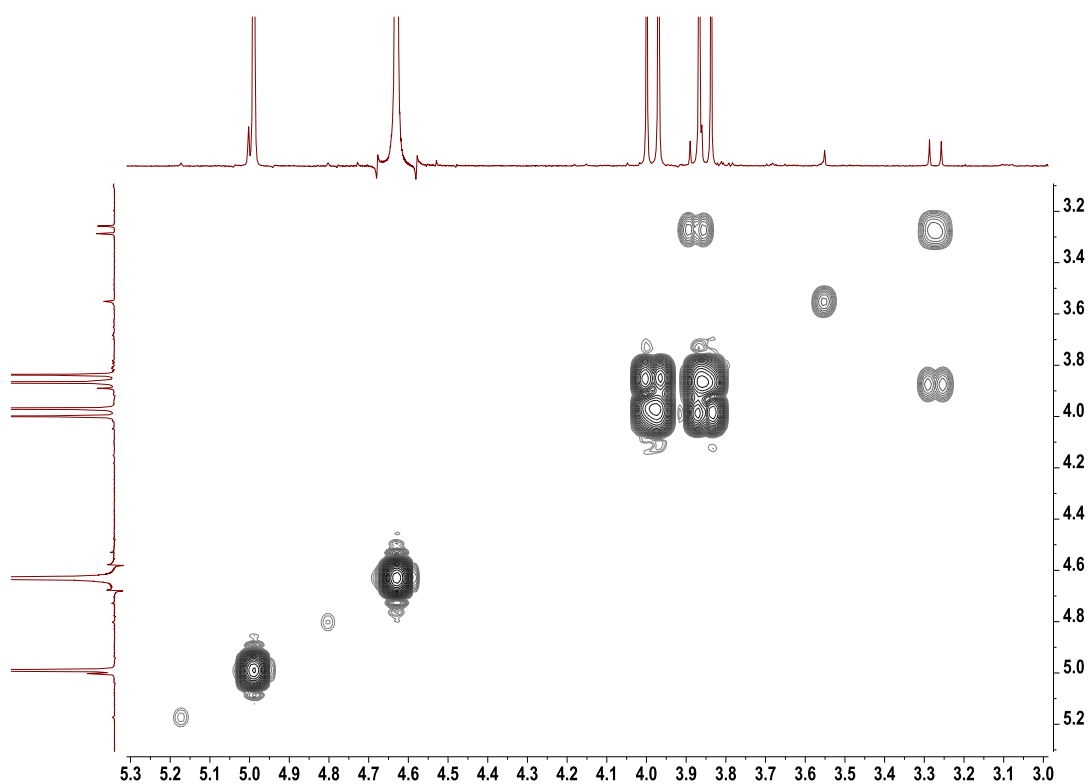
a)



b)



c)



d)

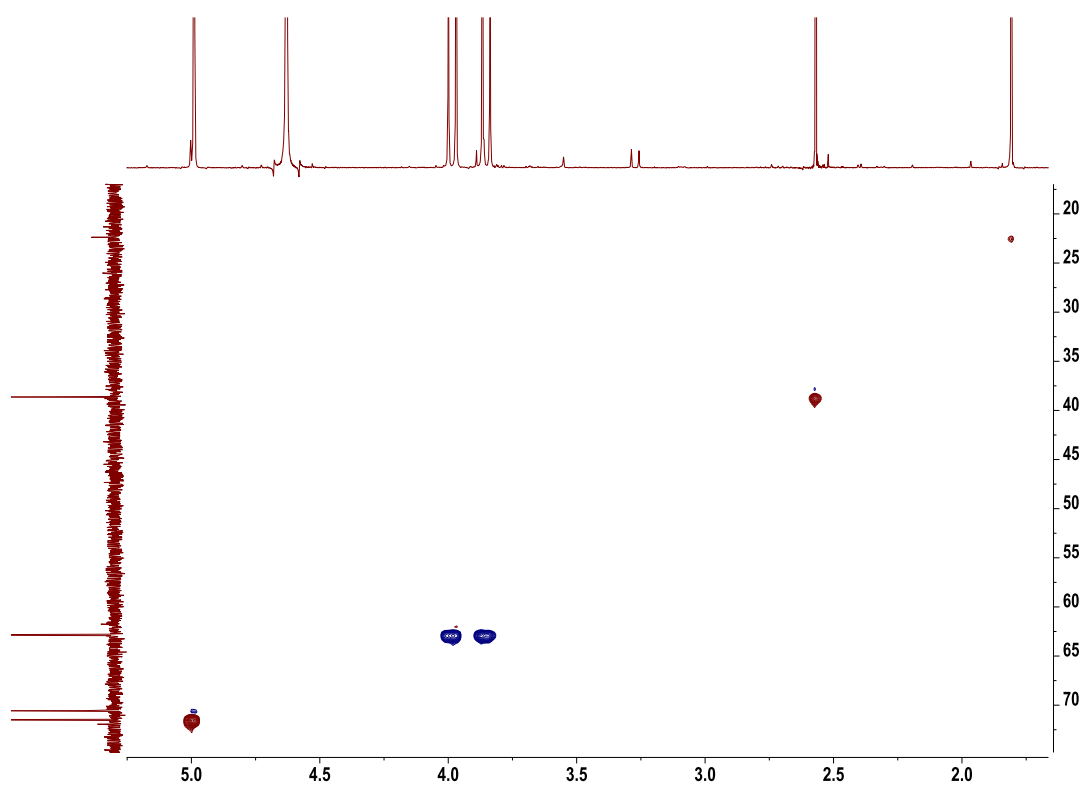
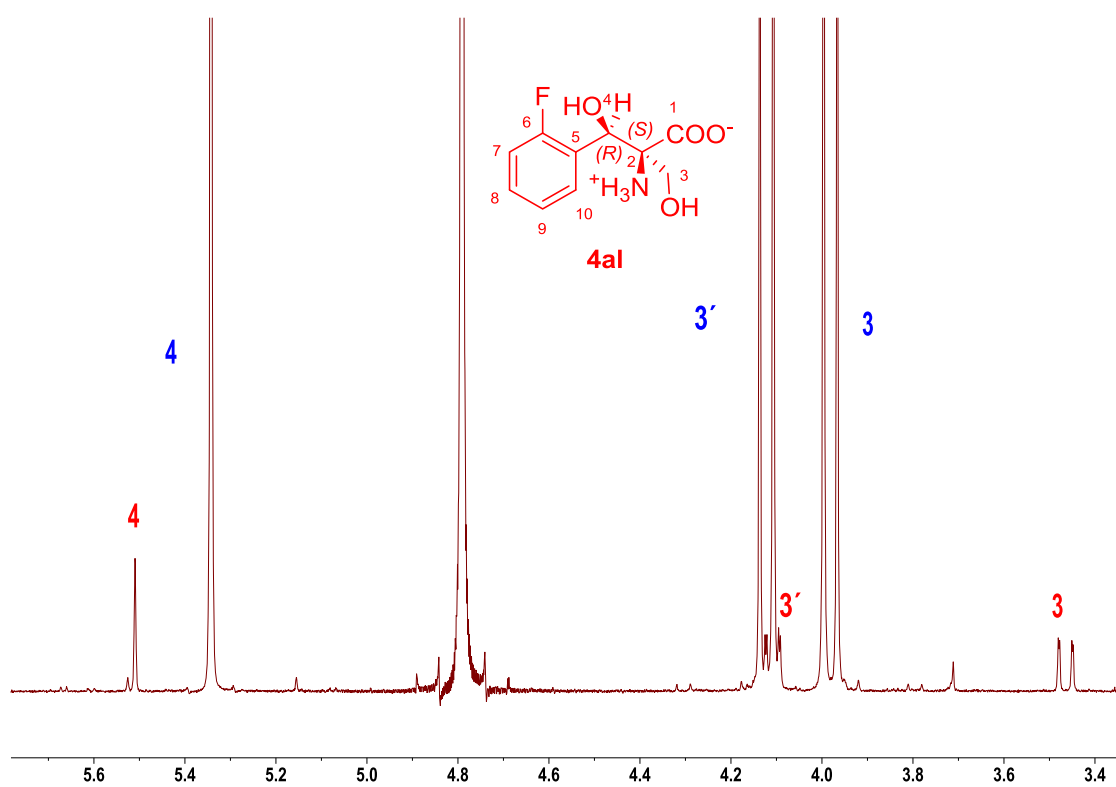
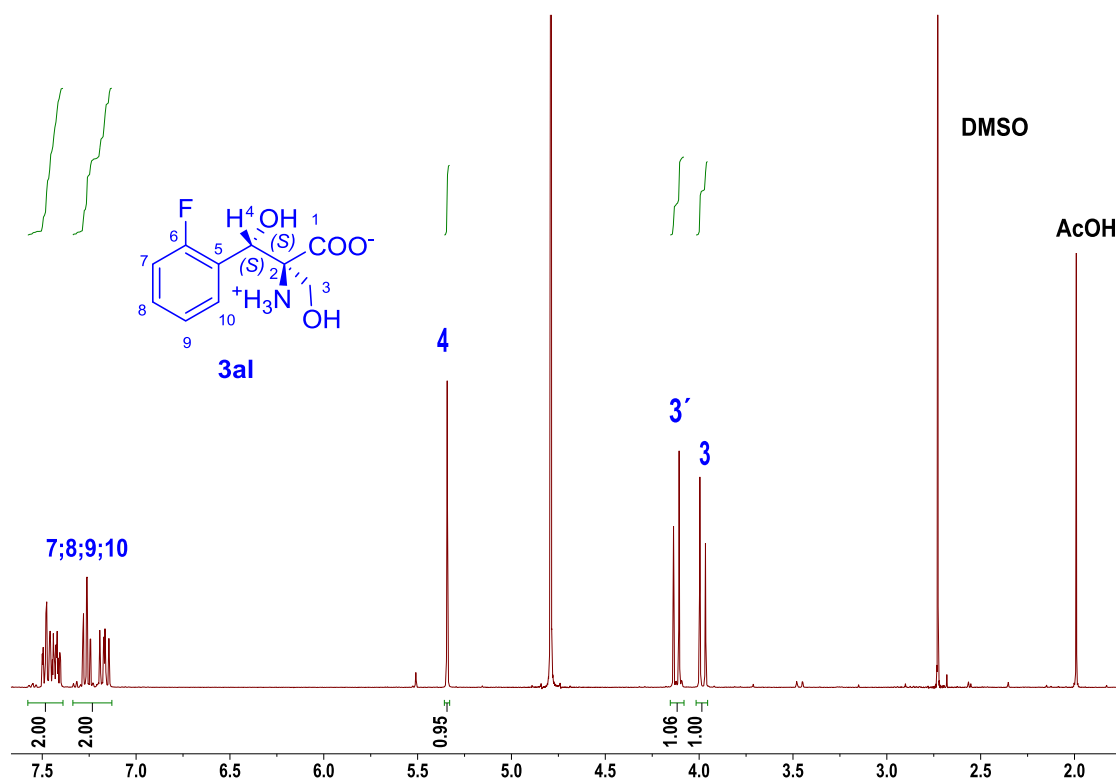
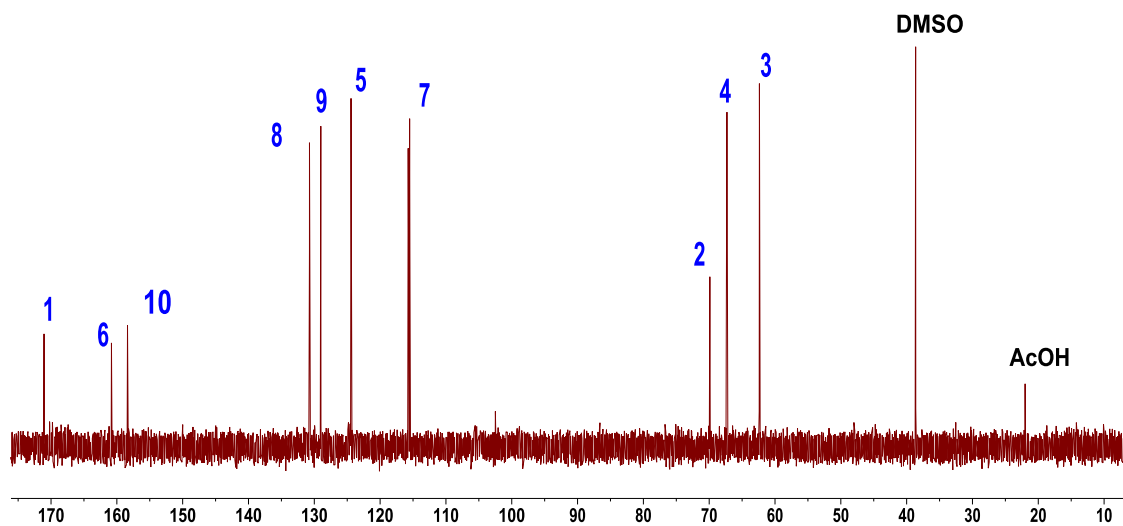


Figura73S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de **3al** y **4al** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.

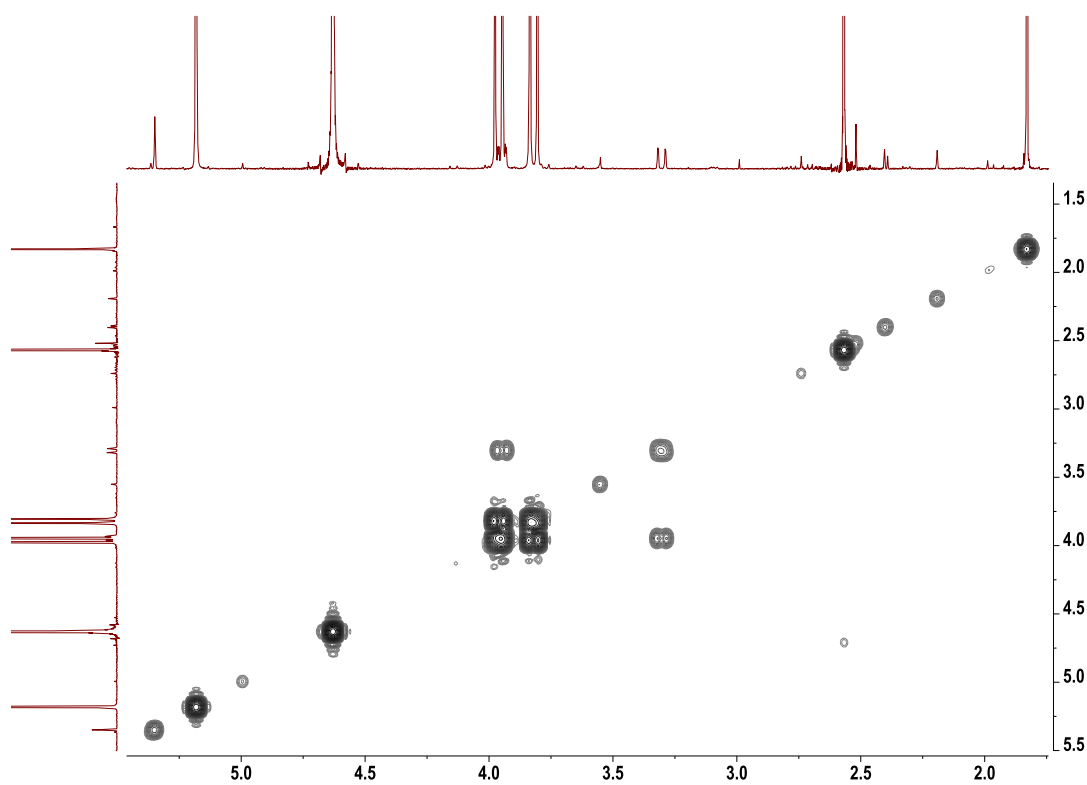
a)



b)



c)



d)

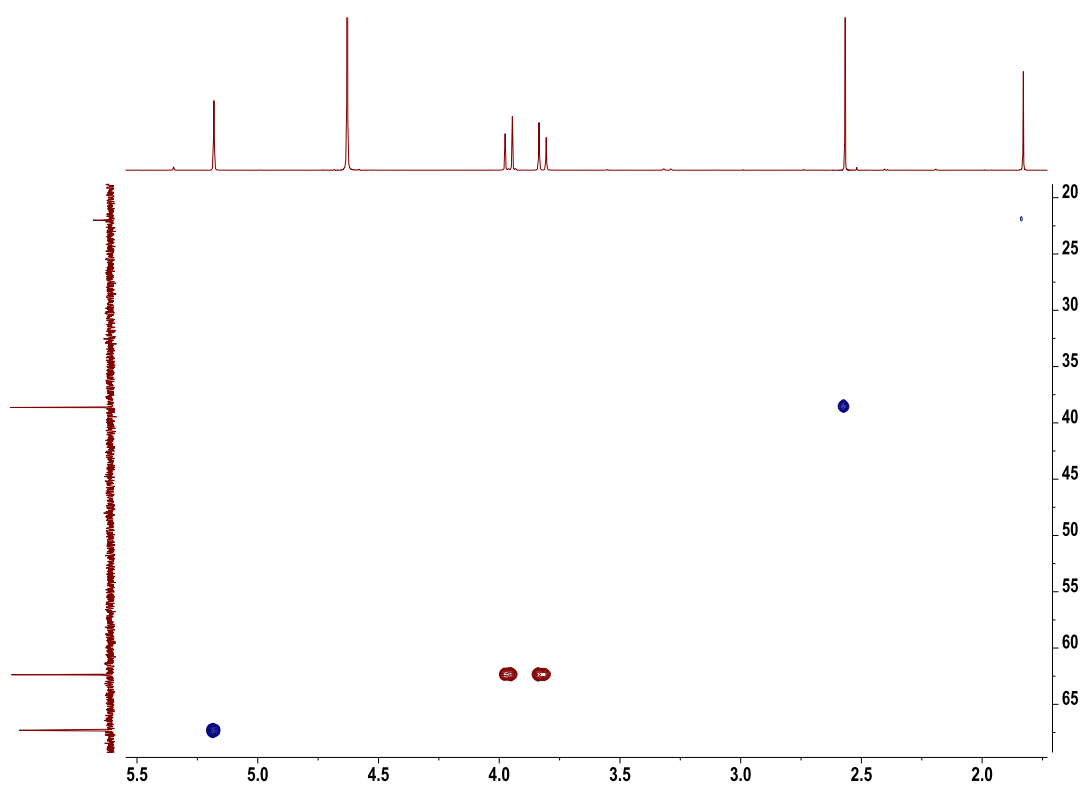
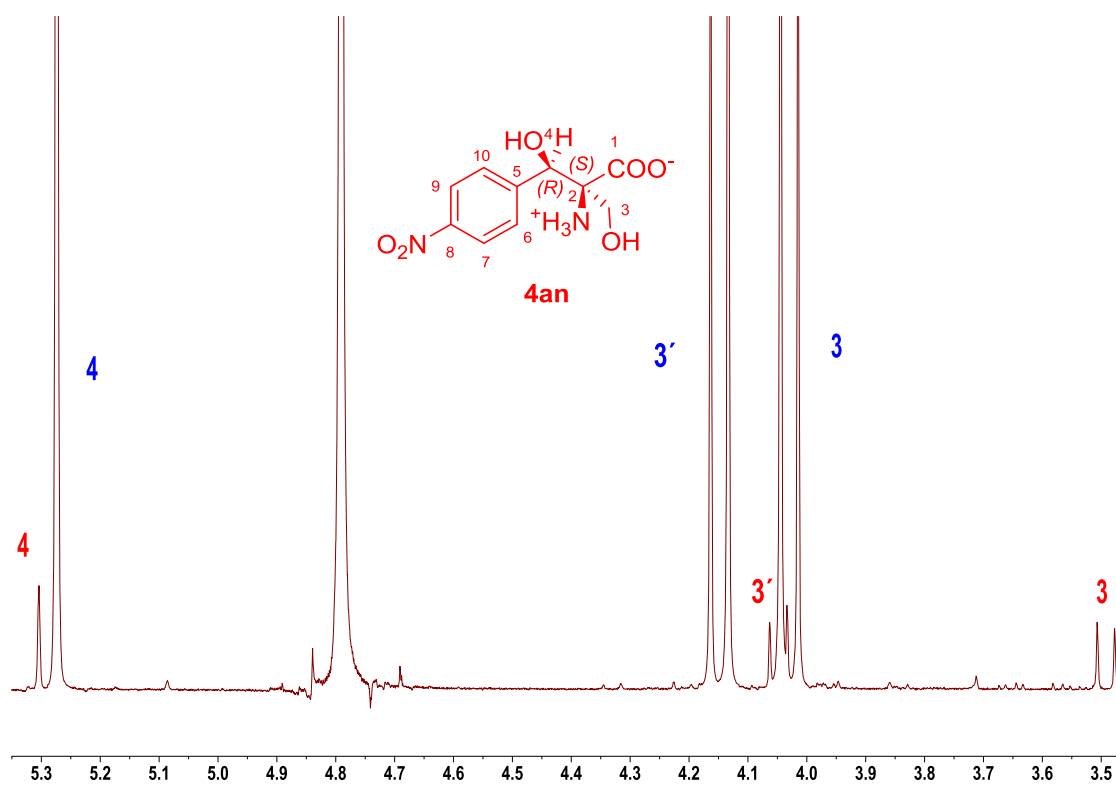
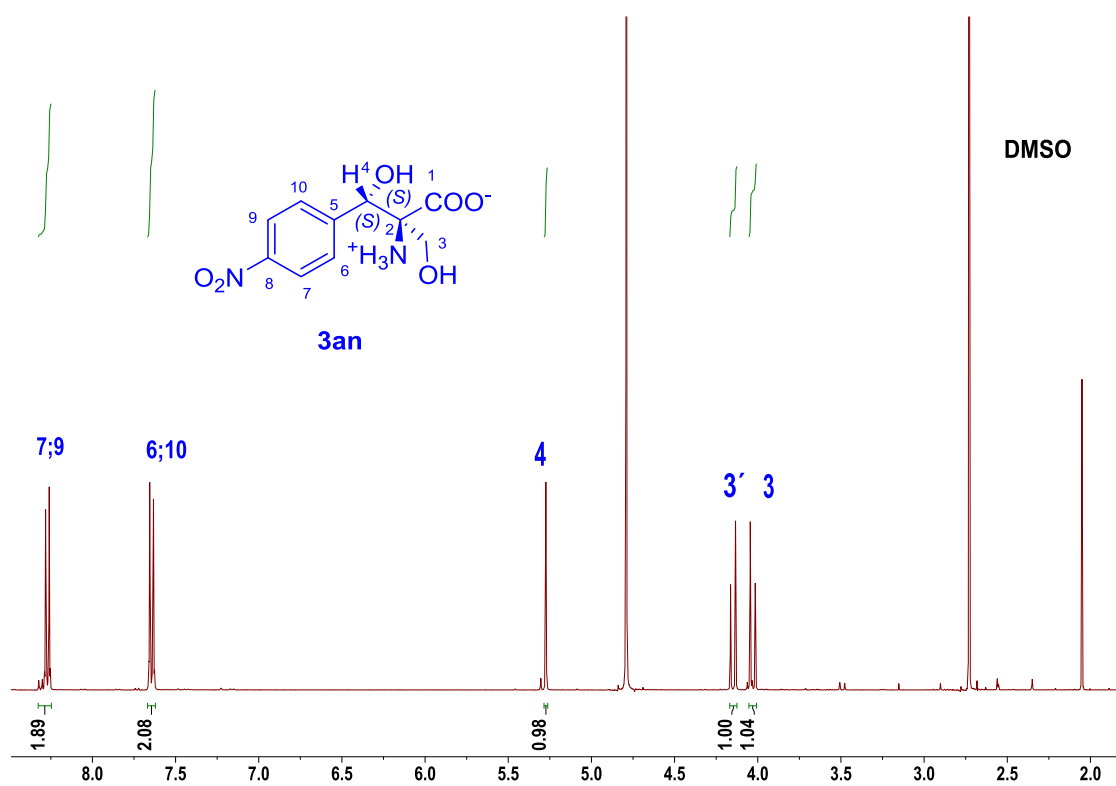
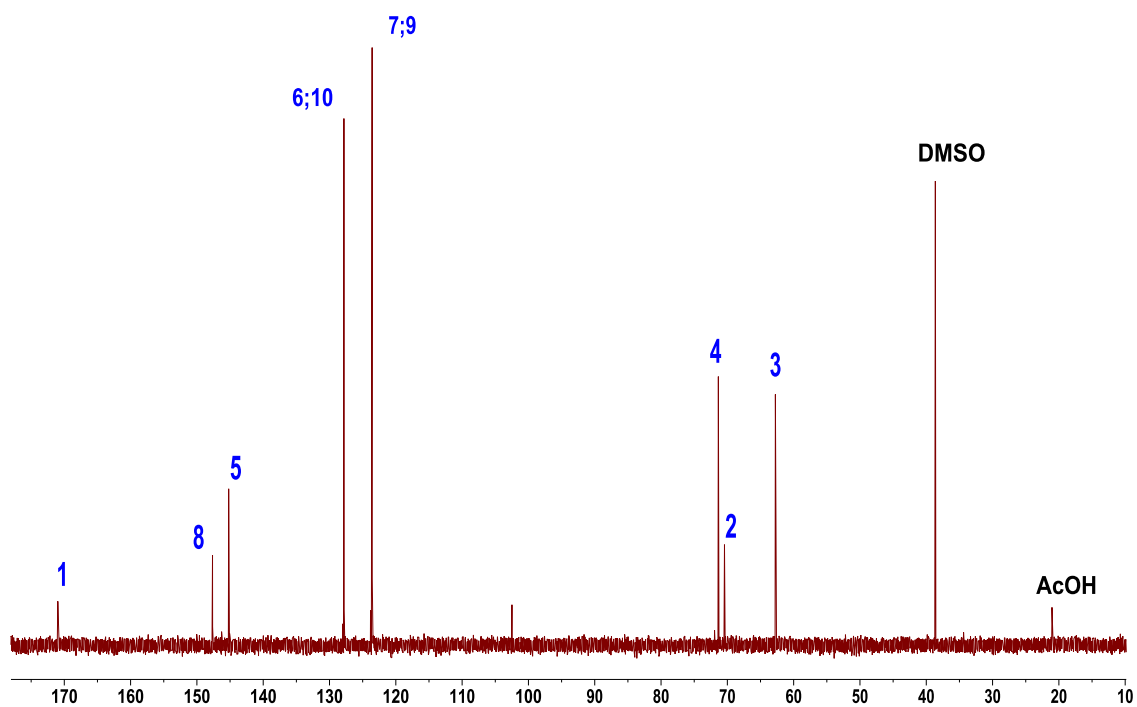


Figura74S(3.1). Espectros de RMN (D_2O) de **3an** y **4an** de la adición aldólica catalizada por SHMT_{Sth} Y55T: a) 1H ; b) ^{13}C ; c) 2D 1H - 1H COSY y d) HSQC.

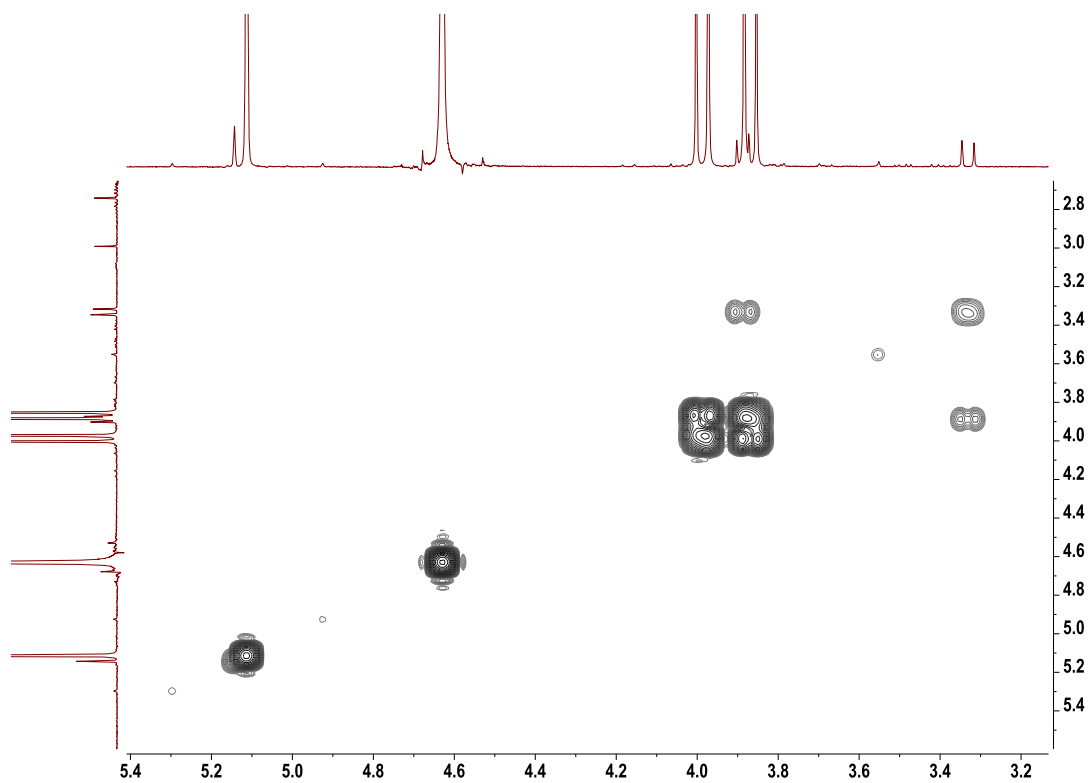
a)



b)



c)



d)

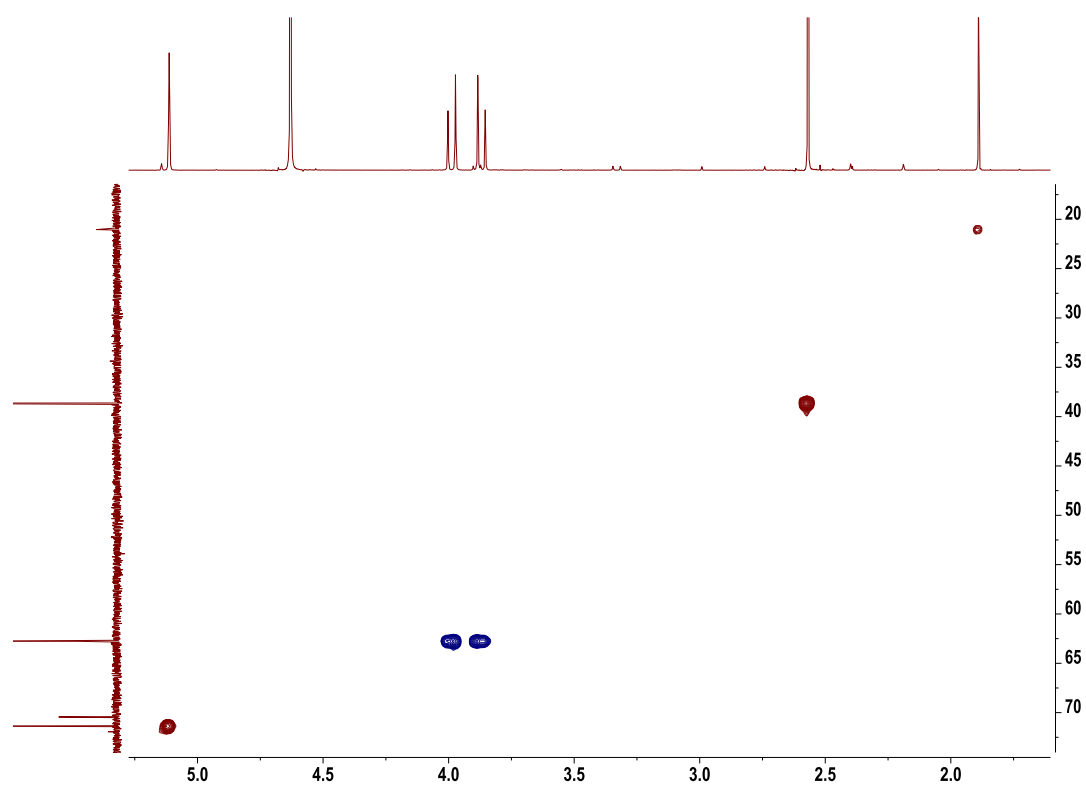
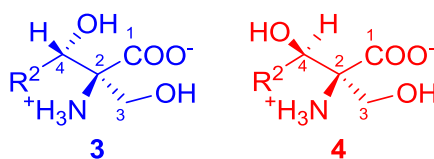


Tabla10S(3.1) Desplazamiento químico (ppm) de ^1H , ^{13}C de los productos **4a**.

	3						4						
R^2	δH_3	δC_3	δH_4	δC_4	δC_1	δC_2	δH_3	δC_3	δH_4	δC_4	δC_1	δC_2	RMN solvente
BnOCH₂ (3aa)	3.90 4.03	63.23	4.08	68.37	172.11	65.63							D ₂ O
BnO(CH₂)₃ (3ab)	3.86 4.02	63.08	3.88	69.91	172.35	69.99							D ₂ O
CbzNHCH₂ (3ac)	3.87 4.03	62.69	3.98	69.24	171.76	68.24							D ₂ O
CbzNH(CH₂)₂ (3ad)	3.85 4.02	62.92	3.93	67.80	172.50	69.90							D ₂ O
PhCH₂ (3ag, 4ag)	3.94 4.09	63.12	4.17	71.43	172.72	70.10	3.94 4.12	60.73	4.23	72.32			D ₂ O
Ph(CH₂)₂ (3ah, 4ah)	3.82 3.97	63.06	3.82	69.22	172.46	70.23	3.76	60.90					D ₂ O
PhOCH₂ (3ai)	3.55 3.59	62.50	4.11	68.76	170.39	65.63							DMSO- d ₆
4-ClC₆H₄ (3ak, 4ak)	4.01 4.15	62.94	5.15	71.58	171.29	70.74	3.27 3.87	61.60	5.00	71.63			D ₂ O
2-FC₆H₄ (3al, 4al)	3.98 4.12	62.22	5.34	67.29	171.07	70.03	3.29 3.94	61.36	5.35	66.48			D ₂ O
4-O₂NC₆H₄ (3an, 4an)	4.03 4.15	62.70	5.27	71.31	170.95	70.50	3.31 3.90	61.38	5.14	71.92			D ₂ O

	3						4					
	δH_3	δC_3	δH_4	δC_4	δC_1	δC_2	δH_3	δC_3	δH_4	δC_4	δC_1	δC_2
$\delta(\text{media})$	3.88 4.02	62.85	4.37	69.49	171.76	69.10	3.51 3.96	61.19	4.93	70.59		
$\text{SD}(\delta)$	0.14 0.16	0.32	0.62	1.54	0.79	1.94	0.31 0.11	0.36	0.49	2.75		

