



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

**PROTECCIÓN DE CADENAS LATERALES DE α -AMINOÁCIDOS Y SINTESIS DE PÉPTIDOS
DE CADENA CORTA**

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

M. en C. JOSÉ ADRIÁN SÁNCHEZ CARRILLO



TUTOR: Dr. ALFREDO VÁZQUEZ MARTÍNEZ
Facultad de Química

2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

*El presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio 207 de la División de Estudios de Posgrado, bajo la dirección del **Dr. Alfredo Vázquez Martínez**, a quién agradezco su ayuda.*

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Nacional Autónoma de México** por brindarme la oportunidad de concluir mis estudios de Posgrado.

Al **Dr. Alfredo Vázquez Martínez** por la asesoría en la elaboración del presente proyecto, así como también por los valiosos consejos y su incondicional apoyo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología **CONACyT** por la beca otorgada durante la realización de mis estudios de posgrado (Número de becario **124593**).

A los miembros del jurado: **Dr. Luis Ángel Maldonado Graniel**, **Dr. José Mario Ordoñez Palacios**, **Dr. Luis Demetrio Miranda Gutiérrez**, **Dr. José Gustavo Ávila Zárraga** y **Dr. Alejandro Cordero Vargas** por las valiosas aportaciones y comentarios que ayudaron a mejorar la escritura de este trabajo.

Al **Dr. Ernesto Calderón Jaimes** jefe del departamento de Investigación en Inmunoquímica del Hospital Infantil de México "Federico Gómez" por su apoyo para la realización de las pruebas biológicas.

Al personal de la USAI Q. **Marisela Gutiérrez Franco**, M. en C. **Rosa Isela del Villar**, Q. **Georgina Duarte** y la Q.F.B. **Margarita Guzmán**, por la realización de los análisis de espectroscopía.

A toda las personas que contribuyeron en la culminación de este trabajo y para mi crecimiento personal y profesional.

*...A mis padres
Yolanda y Mario por todo su apoyo...*

Resultados del presente trabajo fueron presentados en los siguientes congresos:

- ❖ *XXXIX Congreso Mexicano de Química realizado en la ciudad de Mérida, Yucatán del 3-7 octubre del 2004.*
- ❖ *16th International Conference on Organic Synthesis realizado en Mérida, Yucatán, del 11 al 15 de junio del 2006.*
- ❖ *XXV Congreso Nacional de Investigación en Medicina, realizado en la Ciudad de Monterrey, Nuevo León, del 28-30 septiembre del 2007.*
- ❖ *Resultados fueron publicados en: Synthesis **2013**, 45, 1364. "Using the 9-BBN group as transient protective group for the functionalization of reactive chains of α -amino acids".*

RESUMEN

En los últimos años, la síntesis de aminoácidos no-proteinogénicos, y su uso en la obtención de péptidos, se ha convertido en un área de gran importancia en la búsqueda de nuevos productos con aplicación terapéutica, ó bien de nuevos compuestos que pueden ser utilizados como bloques de construcción en síntesis estereoselectivas.

En éste trabajo, se presenta la obtención de péptidos lineales de cadena corta preparados mediante técnicas convencionales empleadas en síntesis de péptidos en disolución. Los compuestos preparados están estructuralmente relacionados con la radiosumina, que es un dipéptido que muestra actividad como inhibidor de proteasas, y con el lipopéptido antibiótico daptomicina.

Por otra parte, la presencia de grupos funcionales con reactividades similares en la misma molécula, es una preocupación evidente durante la planificación de una síntesis, y representa un desafío experimental en síntesis de péptidos, en particular con aminoácidos que contienen cadenas laterales con funcionalidades carboxi o amino. Con el propósito de evitar los problemas de quimioselectividad inherentes a estos aminoácidos, se discute el uso de 9-borabicyclononano (9-BBN-H) para la protección selectiva de α -aminoácidos. La metodología sintética propuesta, permitió diversas transformaciones en las cadenas laterales de los aminoácidos empleados.

Todos los intermediarios y productos finales fueron satisfactoriamente identificados mediante técnicas espectroscópicas y espectrométricas convencionales.

ABSTRACT

In recent years, the synthesis of non-proteinogenic amino acids, and its use for the preparation of peptides has become an area of great interest in the search for new products with therapeutic applications, or new compounds that can be utilized as building blocks in stereoselective syntheses.

Herein, the preparation of short peptides, using solution peptide synthesis is described. The compounds thus prepared are structurally related to radiosumine, a dipeptide that displays activity as protease inhibitor, as well as to the lipopeptide antibiotic daptomycin.

On the other hand, the presence of functional groups with similar reactivity patterns in the same molecule, is a major concern during the planning of a synthetic strategy, and represents a practical challenge in peptide synthesis, particularly with the lateral chains of amino acids containing carboxy and amino functionalities. To overcome the inherent chemoselectivity issues of these aminoacids, the use of 9-BBN-H for the selective protection of α -aminoacids is discussed. This methodology allowed the selective manipulation of the side chains of the amino acids that were investigated.

All the intermediates and products were satisfactorily characterized using a combination of spectroscopic and spectrometric techniques.

ABREVIATURAS

Ac	Acetilo
AcOEt	Acetato de etilo
Ala	Alanina
Asp	Ácido aspártico
9-BBN	9-Borabicyclononano
Bn	Bencilo
BOC	<i>t</i> -Butoxicarbonilo
BOP	Hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxy,tri(dimetilamino)fosfonio
Cbz o Z	Benciloxicarbonilo
CC	Cromatografía en columna
CCF	Cromatografía en capa fina
Cys	Cisteína
DAST	Trifluoruro de (dietilamino) azufre
DBU	1,8-Diazabicyclo-7-undecano
DCC	Diciclohexilcarbodiimida
DCU	Diciclohexilurea
DEAD	Azodicarboxilato de dietilo
DIPEA	Diisopropiletilamina
DMAP	4-Dimetilaminopiridina
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfoxido
Dpm	Difenilmetilo
DTT	Ditio
EDC	1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
EM	Espectroscopía de masas
Fmoc	9-Fluorofenilmetilcarbamato

Glu	Ácido glutámico
Gly	Glicina
GP	Grupo protector
Hex	Hexano
HOBt	1-hidroxi-1H-benzotriazol
Kyn	Kinurenina
LDA	Diisopropilamiduro de litio
IR-ATR	Infrarrojo, reflectancia totalmente atenuada
Me	Metilo
MeCN	Acetonitrilo
NBS	<i>N</i> -Bromosuccinimida
Orn	Ornitina
pf	Punto de fusión
Ph	Phenilo
Phe	Fenilalanina
pI	Punto isoeléctrico del aminoácido
PFF	Pentafluorofenol
ppm	Partes por millón
Py	Piridina
RMN ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de carbono 13
RMN ¹ H	Resonancia magnética nuclear de protón
Ser	Serina
TFA	Ácido trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano
Thr	Treonina
Trp	Triptofano
Ts	Tosilo
Tyr	Tirosina

ÍNDICE GENERAL

	Pag
1. INTRODUCCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	3
2.1 Aminoácidos proteínogénicos	3
2.2 Usos y aplicaciones.....	5
2.3 Aminoácidos no proteínogénicos.....	6
2.4 α,β -Deshidroaminoácidos.....	7
2.5 Síntesis de α,β -deshidroaminoácidos.....	8
2.6 Reacciones de α,β -deshidroaminoácidos	18
2.7 Presencia de α,β -deshidroaminoácidos en productos naturales.....	25
2.8 Radiosumina.....	28
2.9 Péptidos bioactivos	32
2.10 Péptidos antimicrobianos.....	34
2.11 Daptomicina.	38
2.12 Síntesis de péptidos.....	40
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	49
4. OBJETIVOS.....	52
5. Discusión de Resultados.....	53
5.1 Síntesis de análogos de la radiosumina.....	53
5.2 Síntesis de lipopéptidos.....	87
5.3 Protección selectiva de aminoácidos.....	103
6. PARTE EXPERIMENTAL.....	120
7. CONCLUSIONES.....	156
8. PERSPECTIVAS.....	157

1. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, los compuestos de naturaleza peptídica han llegado a ser un tema de gran importancia para la investigación de nuevos productos con aplicación terapéutica en el campo de la medicina, o para ser utilizados como bloques de construcción para la obtención de otros productos más complejos, o en la obtención de compuestos enantiopuros mediante síntesis estereoselectivas.

En este trabajo se presenta la obtención de péptidos lineales de cadena corta preparados por las técnicas convencionales empleadas en la síntesis de péptidos en disolución. Estos compuestos están estructuralmente relacionados con los compuestos biológicamente activos: Radiosumina, un inhibidor de proteasas y Daptomicina, un agente antimicrobiano.

La composición de los péptidos incluye la presencia de aminoácidos no proteínogénicos, los cuales fueron sintetizados mediante la condensación de Horner-Wadsworth-Emmons, entre los correspondientes aldehídos y fosfonatos. Para la preparación de los sustratos, se utilizaron materias primas sencillas las cuales se encuentran disponibles comercialmente.

La obtención de análogos de la radiosumina ópticamente puros fue una limitante. Si bien se llevaron a cabo intentos para obtenerlos en forma enantiopura, los productos se obtuvieron como mezclas racémicas. Los lipopéptidos obtenidos fueron evaluados como agentes antimicrobianos, presentando valores de concentración mínima inhibitoria menor a la daptomicina; pero su actividad antimicrobiana se encuentra estrechamente relacionada a péptidos de cadena corta que han sido reportados como agentes inhibidores del crecimiento bacteriano.

Por otra parte, la manipulación de los grupos funcionales con grupos protectores ortogonales fue de vital importancia para la preparación de los compuestos deseados. Además de las reacciones comunes de protección implicadas en la síntesis de péptidos, se utilizó una metodología novedosa que consiste en el empleo de 9-BBN-H para proteger los grupos funcionales α -amino y carboxilo presentes en los aminoácidos, mediante la formación de oxazaborolidinonas. Estos productos pueden ser utilizados para llevar a cabo

manipulaciones de los grupos funcionales de la cadena lateral, y transformarlos bajo condiciones más suaves y eficientes. Una vez llevada a cabo la transformación deseada, la ruptura de complejo de boro, permite obtener los aminoácidos en buenos rendimientos. Esta estrategia fue utilizada para llevar a cabo transformaciones en las cadenas laterales de los aminoácidos: tirosina, ácido aspártico, arginina y lisina.

La caracterización estructural de todos los intermediarios y productos se llevó a cabo mediante técnicas espectroscópicas y espectrométricas convencionales (RMN¹H, RMN¹³C, IR y EM).

2. ANTECEDENTES

2.1 Aminoácidos Proteínogénicos

Los aminoácidos son las bases estructurales tanto de péptidos como de proteínas y han sido motivo de amplios temas de estudio. Un α -aminoácido es un compuesto orgánico, en cuya estructura fundamental se encuentra un grupo amino ($-\text{NH}_2$) y un ácido carboxílico (CO_2H). La posición que ocupa el grupo amino respecto al grupo carboxilo dentro de la estructura determinará la clasificación de éstos compuestos como aminoácidos α , β , γ y δ (Figura 1).¹

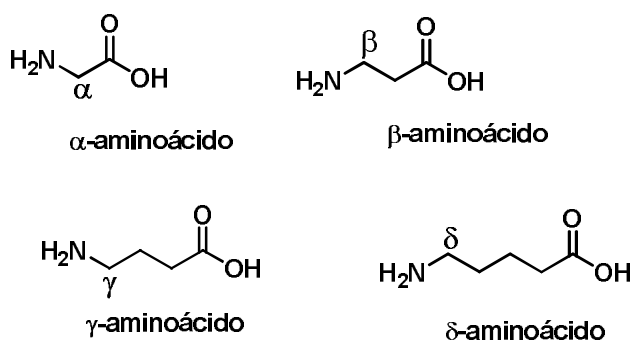


Figura 1. Clasificación de aminoácidos

Los aminoácidos proteínogénicos son un conjunto de 20 α -aminoácidos, cuya estructura difiere únicamente en el sustituyente **R** unido al carbono α de la molécula. La amplia gama de estos sustituyentes, a los que se denomina cadena lateral, es la que proporciona la diversidad estructural y en consecuencia la variedad de funciones de las proteínas. Los α -aminoácidos suelen representarse de la forma general $\text{H}_2\text{N}-\text{CHR}-\text{COOH}$, siendo **R** un radical o cadena lateral característica de cada aminoácido² (Figura 2).

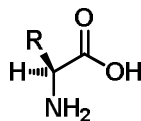
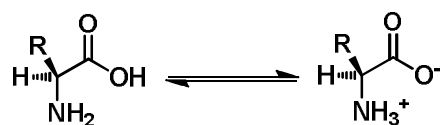


Figura 2. Estructura general de un α -aminoácido.

¹ Peña, A. *Bioquímica*. 6a. Ed. Limusa. México. 1998. 65-80 p.

² Nelson D. L., Cox M. M. *Lehninger Principios de Bioquímica*. 3a Edición. España, 2001. 116-125 p.

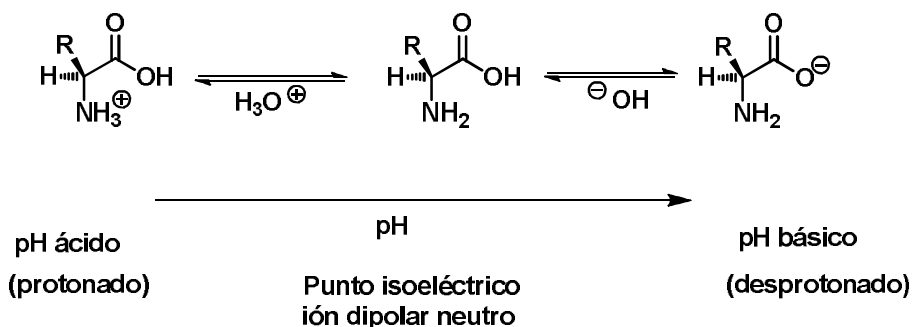
Por lo general, los aminoácidos se encuentran en forma ionizada (zwitterión), como iones bipolares o dipolos³ (Esquema 1).



Esquema 1. Aminoácido a pH fisiológico.

Las propiedades ácido-base de los aminoácidos está determinada por los grupos protonables o desprotonables que están implicados en su estructura, pudiendo tener hasta 3 grupos con carácter ácido-base, correspondiendo a el α -amino y el carboxilo, y en algunos casos, la cadena lateral $-R$ posee grupos funcionales que tienden a ganar o a perder protones. Esto hace que dependiendo del pH, el correspondiente equilibrio pueda desplazarse hacia la forma catiónica o hacia la aniónica.⁴

En solución ácida, un aminoácido se protona en el grupo amino y se encuentra principalmente como un catión; en solución básica, se desprotona el grupo carboxilo y se encuentra como un anión. Así, existe un pH intermedio en que el aminoácido está en equilibrio entre las formas aniónica y catiónica y se encuentra como el ión dipolar neutro y a este pH se le llama punto isoeléctrico (pI) del aminoácido⁵ (Esquema 2).



Esquema 2. Equilibrio ácido-base de un α -aminoácido.

Debido a que los aminoácidos son iones dipolares, sus propiedades físicas características son las de los compuestos iónicos; la mayoría poseen puntos de fusión

³ Bodansky, M. *Peptide Chemistry; A practical textbook*. Springer-Verlag. 1993. 1-5 p.

⁴ Barrett G. *Chemistry and Biochemistry of the Amino Acids*. New York: Chapman and Hall; 1985. 7-13, 20-23, 55-10 p.

⁵ Smith, M. *Organic Synthesis*. New York: McGraw-Hill Inc; 1994. 567-98 p.

elevados y se descomponen comúnmente a temperaturas superiores a los 200 °C, son muy solubles en agua pero poco solubles en disolventes no polares, poseen momentos dipolares grandes y sus soluciones acuosas tienen constantes dieléctricas elevadas.⁶

A excepción de la glicina, el carbono α se encuentra rodeado de cuatro grupos diferentes y esto les confiere actividad óptica específica a cada aminoácido, por lo que se pueden encontrar dos estereoisómeros posibles de cada aminoácido, los cuales son imágenes especulares entre sí (enantiómeros), por lo que no pueden superponerse una a la otra, (hay que considerar que algunos aminoácidos poseen carbonos quirales en su cadena lateral, por lo que se encuentran como diastereoisómeros). Esto les confiere propiedades físicas idénticas exceptuando la dirección en que desvían el plano de la luz polarizada. Si un aminoácido produce una desviación a la derecha se denomina dextrógiro (+) y si la desviación es a la izquierda son denominados levógiros (-).⁵

Los 19 aminoácidos con actividad óptica presentes en las proteínas corresponden a la serie L; en su proyección de Fischer poseen el grupo carboxilo en la parte superior, la cadena de átomos de carbono en la vertical hacia abajo y el grupo amino hacia la izquierda⁷ (Figura 3).

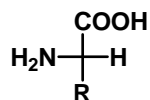


Figura 3. Proyección de Fisher de un L-aminoácido.

El enantiómero *S* o *L* se encuentra en las moléculas protéicas (amino ácidos naturales) y el enantiómero *R* o *D* se puede hallar en compuestos de origen natural, pero nunca en proteínas. Sin embargo, los D-aminoácidos se pueden encontrar en antibióticos de origen natural y en las paredes celulares de bacterias.^{1,8}

2.2 Usos y aplicaciones

Los α -aminoácidos como entidades monoméricas, tienen gran valor en síntesis orgánica, ya que son excelentes bloques de construcción para la preparación de moléculas

⁶ Sewald N, Jakubke H. *Peptides: Chemistry and Biology*. 2a Ed. Germany. Wiley-VCH; 2002. 1589.p.

⁷ Ege S. *Química Orgánica: estructura y reactividad*. 2a Ed. Barcelona: Reverté; 1997. 1197 p.

⁸ Barrett, G. C. *Chemistry and Biochemistry of the Amino Acids*. Chapman and Hall. New York. 1985; 7-13, 20-23, 55-109 p.

mas complejas con uso potencial en química y biología, además de ser excelentes inductores de quiralidad en organocatálisis.⁹

Los α -aminoácidos enantioméricamente puros que forman parte de péptidos endógenos y proteínas, poseen la capacidad de adoptar diferentes conformaciones en solución, lo cual los hace menos específicos ante las enzimas proteolíticas y debido a que cada una de sus conformaciones puede interactuar de manera diferente con su receptor biológico, el efecto farmacológico deseado puede disminuir considerablemente limitando su uso como fármacos.¹⁰

2.3 Aminoácidos no proteínogénicos

Existen aminoácidos que no se consideran proteínogénicos pero aparecen en algunas proteínas y péptidos y generalmente son derivados de otros aminoácidos, es decir, se incorporan a la proteína como uno de los aminoácidos proteícos y después de haber sido formada la proteína se modifican químicamente. Muchos aminoácidos forman proteínas (aminoácidos proteícos), mientras que otros nunca se encuentran en ellas (aminoácidos no proteínogénicos) y desempeñan otras funciones.⁴ La gran mayoría de los aminoácidos no proteínogénicos se han aislado de productos naturales, de animales superiores como mamíferos, de tejidos y fluidos fisiológicos y de microorganismos como hongos y bacterias. Muchos de estos aminoácidos son productos finales del metabolismo secundario y otros son intermediarios principales de rutas metabólicas.²

Los aminoácidos no proteínogénicos se pueden dividir en 3 grupos:

A) La serie D de los aminoácidos proteínogénicos, por ejemplo: D-serina (**1**), D-fenilalanina (**2**), ácido D-aspartico (**3**) (Figura 4).

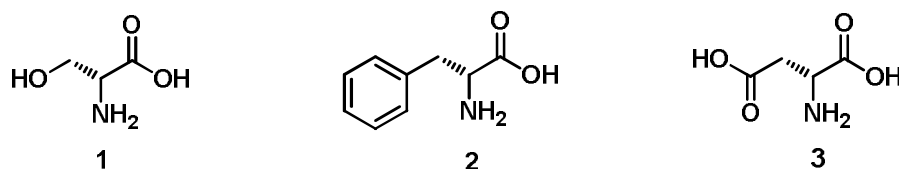


Figura 4. Ejemplos de D-aminoácidos.

⁹ Coppola, G. M.; Schuster, H. F. *Asymmetric Synthesis. Construction of Chiral Molecules Using Amino Acids*. Wiley-Interscience. New York. 1987. 2156 p.

¹⁰ Newman, J.; Bruch, M.; Gebauer, S. Brandsch, M. *Eur. J. Biochem.* **2004**. 271, 2012.

B) Los α -aminoácidos no proteinogénicos son importantes intermediarios en diferentes procesos metabólicos: la L-ornitina (**4**) y L-citrulina (**5**) son intermediarios del ciclo de la urea; la creatina (**6**), homoserina (**7**), homocisteína (**8**) y deshidrofenilalanina (**9**) son intermediarios importantes en la síntesis de catecolaminas, hormonas tiroideas o melanina (Figura 5).

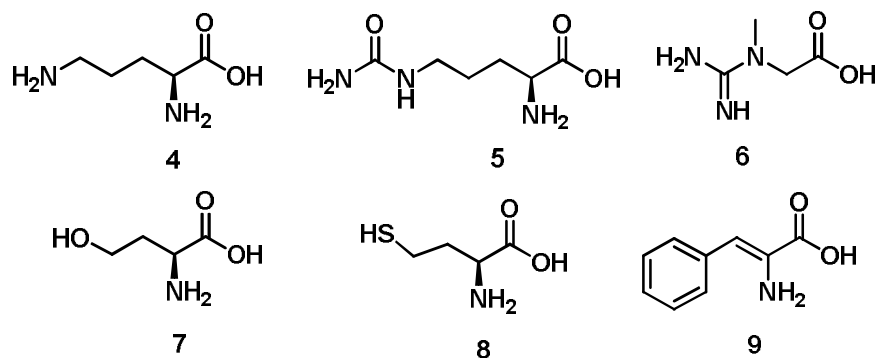


Figura 5. L-Aminoácidos no proteinogénicos.

C) Los β -aminoácidos y aminoácidos sustituidos en otra posición diferente a la α y β , en los que el grupo amino es sustituyente del último átomo carbono. Por ejemplo, la β -alanina (**10**) y el ácido γ -amino butírico (**11**), este último, importante neurotransmisor del sistema nervioso central¹¹ (Figura 6).



Figura 6. β -Aminoácidos.

2.4 α,β -deshidroaminoácidos

En los últimos años los α,β -deshidroaminoácidos han cobrado un interés creciente debido a su importancia como bloques de construcción para moléculas complejas y por su presencia en productos naturales con propiedades biológicas variadas. Debido a esto, son considerados objetivos primordiales para su elaboración sintética (Figura 7).¹²

¹¹Cowan, S. M.; Schirmer, T.; Rummel, J.; Jansonius, R. *Nature* **1992**, 358, 727.

¹²Nunami, K.; Hiramutsu, K.; Hayashi, K.; Matsumoto, K. *Tetrahedron* **1988**, 44, 5467.

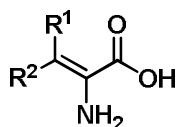
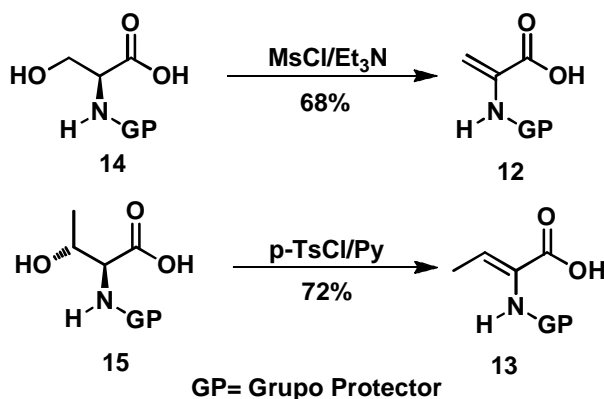


Figura 7. Estructura general de un α,β -deshidroaminoácido.

2.5 Síntesis de α,β -deshidroaminoácidos

2.5.1 Reacciones de Eliminación

La eliminación de agua de un β -hidroxi- α -aminoácido es una ruta bien establecida para la obtención de α,β -deshidroaminoácidos. Este método se ha utilizado para la preparación de la deshidroalanina (Δ Ala) (**12**) y el ácido deshidroaminobutanóico (Δ Abu) (**13**) a partir de serina (**14**) y treonina (**15**) vía un mesilato y tosilato¹³ (Esquema 3).

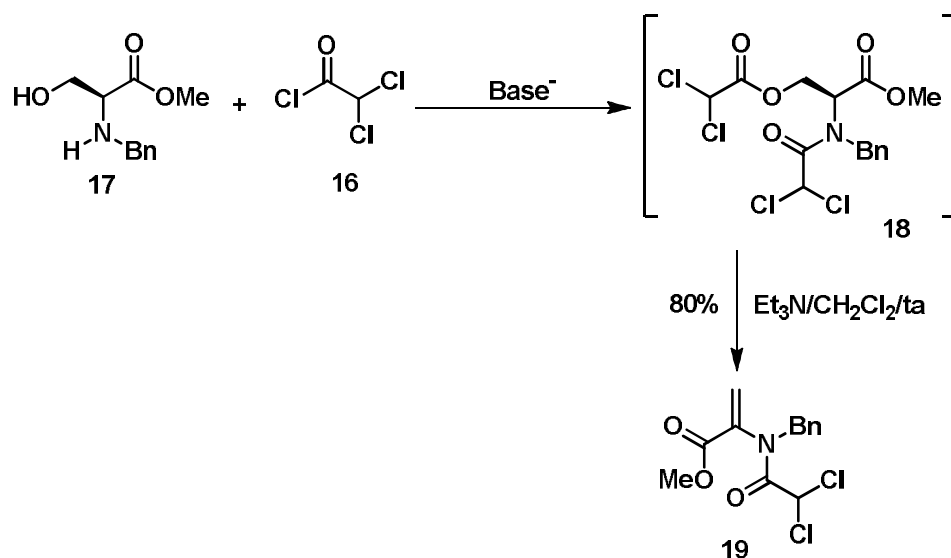


Esquema 3. Formación de α,β -deshidroaminoácidos via eliminación de agua.

La activación del grupo hidroxilo para su eliminación puede lograrse mediante el empleo de varios reactivos. Goodall y Parson¹⁴ prepararon una serie de derivados de α,β -deshidroaminoácidos a partir de *N*-bencil serina (**17**) con rendimientos superiores al 80%, que implicaba la reacción de cloruro de dicloroacetilo (**16**) en diclorometano en presencia de trietilamina. La reacción se llevó a cabo a través del intermediario dicloroéster **18**, el cual puede aislarse o más convenientemente ser tratado con un equivalente adicional de base para efectuar la eliminación de ácido dicloroacético *in situ* y producir el deshidroaminoácido deseado **19** (Esquema 4).

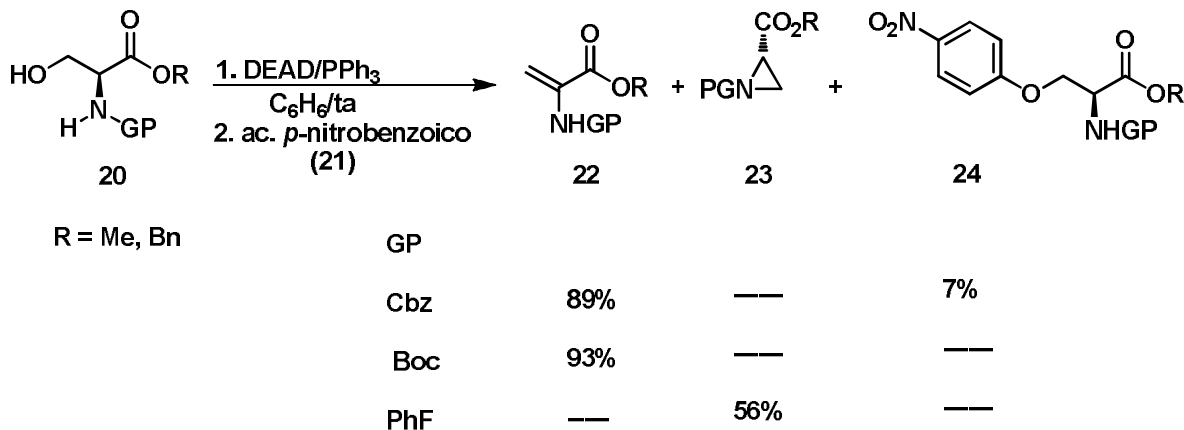
¹³ Srinivasan, A.; Stephenson, R. W.; Olsen, R. K. *J. Org. Chem.* **1977**, 42, 2253.

¹⁴ Goodall, K.; Parson, A. F. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 3259.



Esquema 4. Reacción de eliminación a través de la activación del grupo hidroxilo.

La reacción de Mitsunobu permite convertir un alcohol en una amplia gama de funcionalidades en condiciones de reacción suaves.¹⁵ Cherney y Wang¹⁶ han descrito la reacción de la serina *N*-protegida **20** con el ácido 4-nitrobenzicoico (**21**) bajo las condiciones de reacción de Mitsunobu, obteniendo la deshidroalanina **22** junto con una pequeña cantidad de los productos de sustitución nucleofílica **23** y **24**. Utilizando diversos grupos protectores sobre el grupo amino se mostró que solamente con los grupos *N*-Boc y *N*-Cbz se obtuvieron los derivados insaturados, ya que con el grupo *N*-PhF se obtiene el producto de sustitución (Esquema 5).

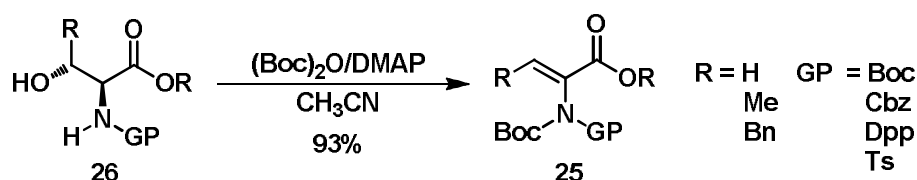


Esquema 5. Obtención de deshidroaminoácidos mediante una reacción de Mitsunobu.

¹⁵ Smith, M. B.; March, J. *March's Advanced Organic Chemistry*. 5a Ed. John Wiley & Sons, Inc. New York. 2001. 486 p.

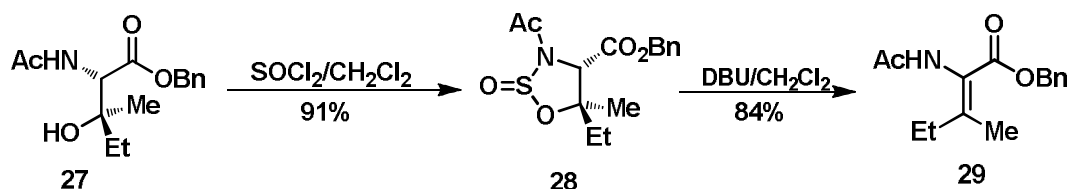
¹⁶ Cherney, R. J.; Wang, L. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 2544.

La obtención de algunos α,β -deshidroaminoácidos de estructura general **25** en rendimientos superiores al 90% fueron preparados por Ferreira y Maia¹⁷ mediante eliminación del derivado de treonina **26** utilizando $(\text{Boc})_2\text{O}$ y DMAP. La eliminación selectiva *anti* genera únicamente uno de los dos posibles isómeros geométricos (*E/Z*) (Esquema 6).



Esquema 6 Síntesis de deshidroaminoácidos por formación del éster carbámico.

Wandless¹⁸ ha descrito en la reacción de un β -hidroxiaminoácido **27** con SOCl_2 para producir el sulfamidito cíclico **28** y la subsiguiente eliminación con DBU generó selectivamente (*E*) ó (*Z*)- α,β -deshidroaminoácidos **29** que dependerá de la configuración del β -hidroxiaminoácido **27** utilizado como materia prima (Esquema 7).



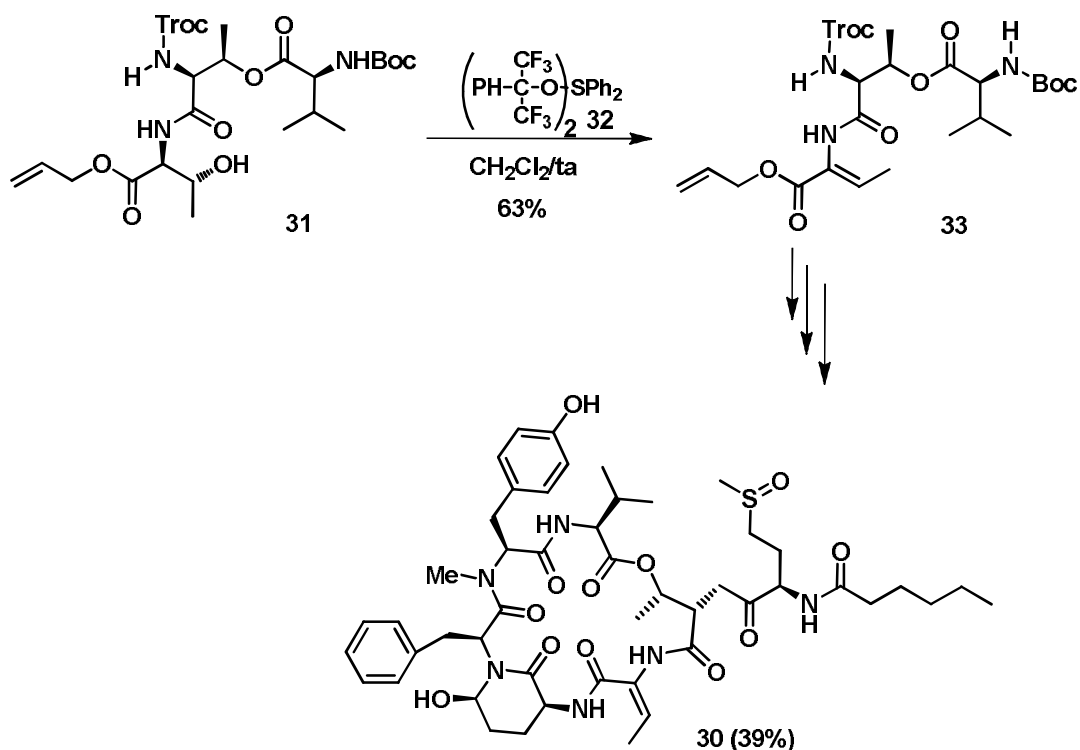
Esquema 7. Obtención de deshidroaminoácidos a partir de β -hidroxiácidos.

Una reacción de eliminación estereoespecífica se llevó a cabo en la síntesis total de la somamida A (**30**), un depsipéptido cíclico aislado de la cianobacteria *Lyngbya majuscula*, al hacer reaccionar la *N*-aciltreonina **31** con el sulfurano de Martin **32**, el cual proporcionó el ácido (*Z*)-2-amino-2-butenóico **33** en mayores rendimientos que otros métodos utilizados para llevar a cabo la eliminación del grupo hidroxilo mediante deshidratación¹⁹ (Esquema 8).

¹⁷ Ferreira, P. M.; Maia, H. L. *J. Chem. Soc. Perkin. Trans 1* **1999**, 3697.

¹⁸ Sohlmeier, M. M.; Tanaka, H.; Wandless, T. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 6100.

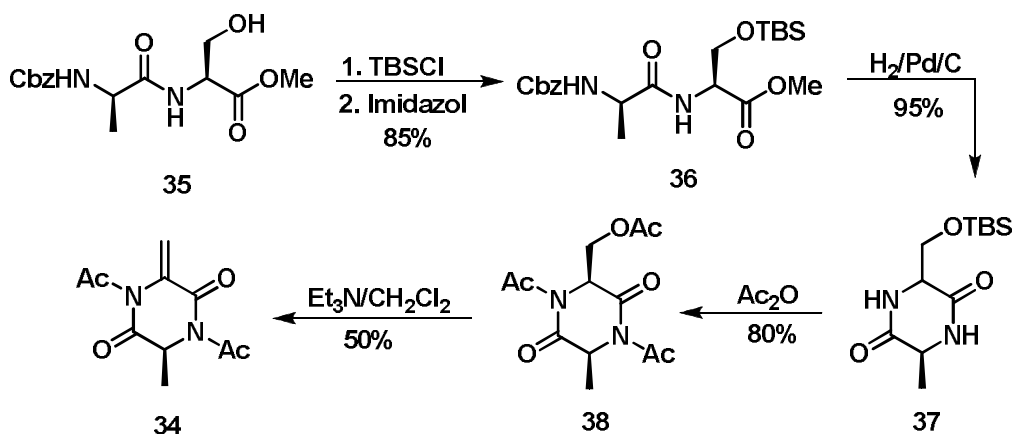
¹⁹ Yokokawa, F.; Shioiri, T. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 8673.



Esquema 8. Síntesis de la Somamida A.

Chai²⁰ desarrolló una metodología para la preparación de metileno-piperazinedionas **34**, donde la funcionalidad del aminoácido L-serina (**14**) fue utilizada para la introducción del enlace doble. Este compuesto fue preparado a partir del correspondiente dipéptido **35**, para lo cual se requirió de la protección del grupo hidroxilo con TBS (**36**), seguido de la remoción del grupo *N*-Cbz, para dar el dipéptido, que se cicló *in situ* para generar la piperazindiona **37**. Los grupos amino y el éter de silicio libres fueron acetilados para dar **38** y la posterior conversión al α,β -deshidroaminoácido **34** se hizo por la eliminación del grupo acetoxi mediante la trietilamina. Este tipo de piperazindionas han mostrado ser excelentes precursores para la síntesis asimétrica y al mismo tiempo se han empleado para la preparación estereoselectiva de nuevos α -aminoácidos, así como de 2,5-piperazindionas funcionalizadas (Esquema 9).

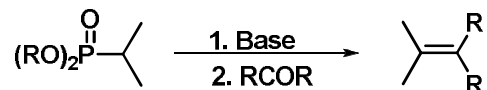
²⁰ Chai, C. L.; King, A. L. *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1* **1999**, 1173.



Esquema 9. Síntesis de diketopiperazinas.

2.5.2 Reacción de Horner-Wadsworth Emmons

La reacción de Wittig se utiliza para la formación de olefinas a partir de compuestos carbonílicos e iluros de fósforo. Esta treacción procede principalmente a través del intermediario betaína o del oxafosfetano. La estereoselectividad puede ser controlada por la selección adecuada del iluro, así como del compuesto carbonílico y las condiciones de reacción. Cuando el iluro es remplazado por el carbanión de un fosfonato, la reacción es denominada de Horner-Wadsworth-Emmons²¹ (Esquema 10).

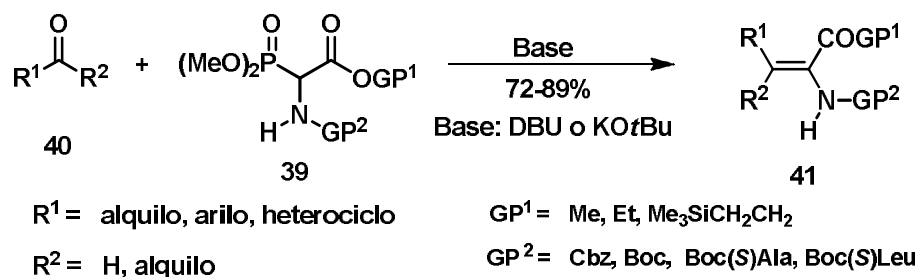


Esquema 10. Reacción de Horner-Wadsworth-Emmons.

Schmidt *et al*²² desarrollaron la síntesis de α,β -deshidroaminoácidos usando la reacción de Horner-Wadsworth-Emmons para la formación de un nuevo enlace carbono-carbono. La condensación de ésteres de *N*-acildialcoxi-fosforilglicina **39** con aldehídos y cetonas **40** generó el (*Z*)-deshidroaminoácido **41** como el producto mayoritario en rendimientos superiores a 80%. La mayoría de las reacciones fueron llevadas a cabo con DBU, *t*-butóxido de potasio, hidruro de sodio o Et₃N como base a una temperatura de -70 °C (Esquema 11).

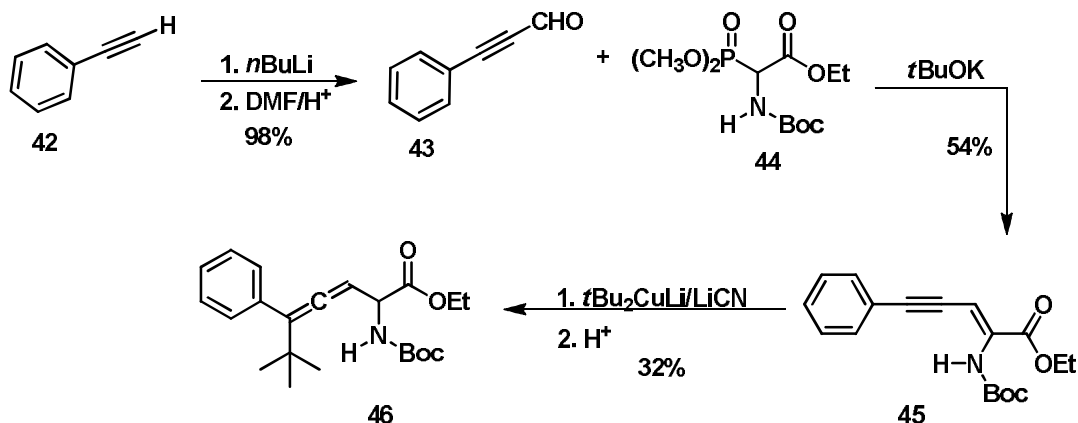
²¹ Mundy, B. P.; Ellerd, M. G.; Favalaro, F. G. *Name Reactions and Reagents in Organic Síntesis*. 2° Ed. John Wiley & Sons, Inc. New Jersey. **2005**. 334 p.

²² Schmidt, U.; Griesser, H.; Volver, L.; Lieberknecht, A.; Mangold, R.; Meyer, R.; Riedl, B. *Synthesis* **1991**, 487



Esquema 11. Obtención de deshidroaminoácidos por la reacción de Horner-Wadsworth-Emmons.

El uso de alenos funcionalizados ha sido de gran interés en síntesis debido a su gran reactividad e inherente quiralidad axial, lo que permite transformaciones estereoselectivas. En el esquema 12 se describe la utilización del alquino **42** para preparar el aldehído **43** mediante una metalación seguido de la adición de dimetilformamida e hidrólisis. El aldehído insaturado resultante fue sujeto a una reacción de olefinación tipo Horner-Wadsworth-Emmons con el α -aminofosfonato **44** para generar el producto α,β -deshidroaminoácido alquínico sustituido **45**. Si se usa una amina doblemente protegida con Bn y Cbz la obtención del isómero *E* se produce preferentemente, mientras la amina mono protegida (Boc o Ac) favoreció la obtención del isómero *Z*. La subsiguiente transformación al derivado alénico (**46**) se logró mediante la utilización de un cuprato²³

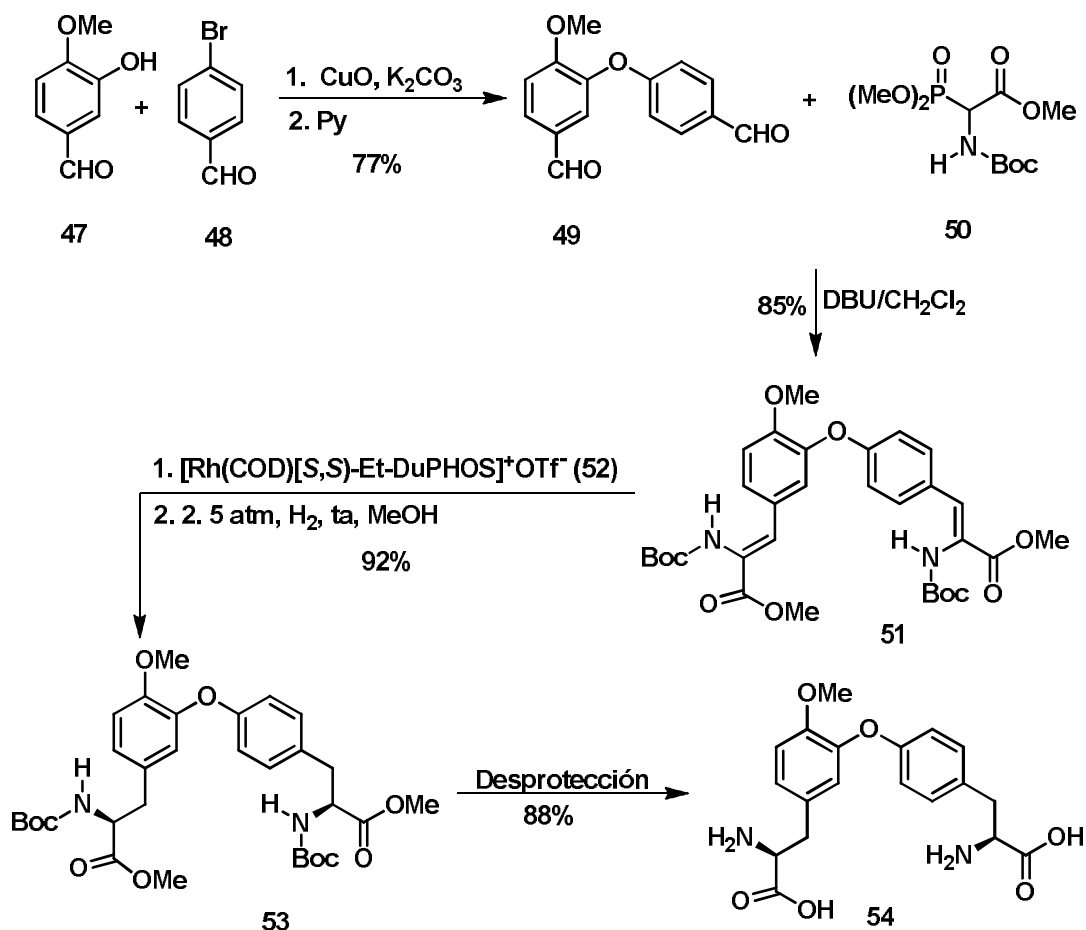


Esquema 12. Síntesis de derivados alénicos.

La síntesis estereoselectiva de la isoditirosina (**54**), que está formada por dos unidades de tirosina unidas por medio de un éter difenílico no simétrico, fue realizada en tres pasos a partir de la reacción de Ullman entre la isovainillina (**47**) con el *p*-bromobenzaldehído (**48**)

²³ Krause, N.; Hoffmann-Roder, A.; Canisius, J. *Synthesis* **2002**, 1759.

obteniéndose el bisaldehído **49**. Una reacción doble de Horner-Wadsworth-Emmons con el fosfonato **50** generó el derivado bis(deshidroaminoácido) **51**, que se hidrogenó con el catalizador de Burks (**52**) para generar **53**, el cual después de la desprotección de los grupos amino proporcionó la isoditirosina (**54**)²⁴ (Esquema 13).



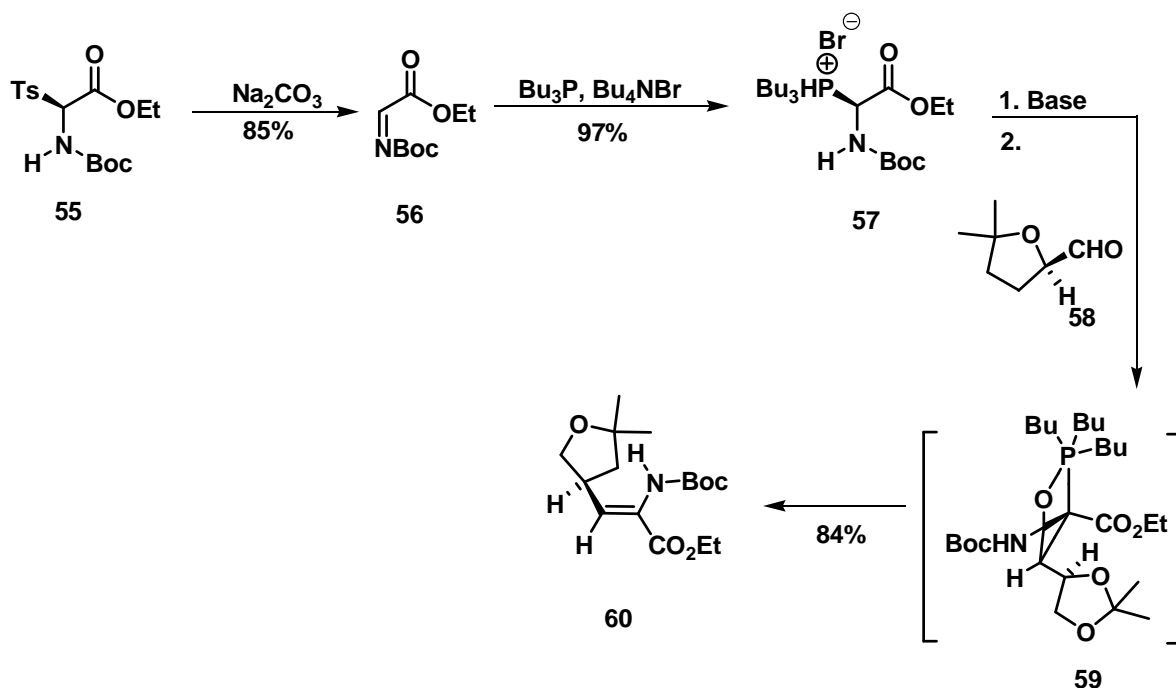
Esquema 13. Síntesis de la soditirosina.

Kimura, Nagano y Kinoshita²⁵ describieron un nuevo método para la preparación de α,β -deshidroaminoácidos con alta (*Z*)-selectividad utilizando una reacción tipo Horner-Wadsworth-Emmons, a partir de un éster de α -tosil glicina **55** con carbonato de sodio como base para generar la imina protegida **56**, la cual en presencia de tributilfosfina y bromuro de tetrabutilamonio como agente de transferencia de fase, produce la sal de fosfonio **57**. La reacción de ésta última con el (*R*)-isopropilidengliceraldehído (**58**) procede a través del

²⁴ Jørgensen, K. B.; Gautun, O. R. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 10536.

²⁵ Kimura, R.; Nagano, T.; Kinoshita, H. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2002**, *75*, 2517.

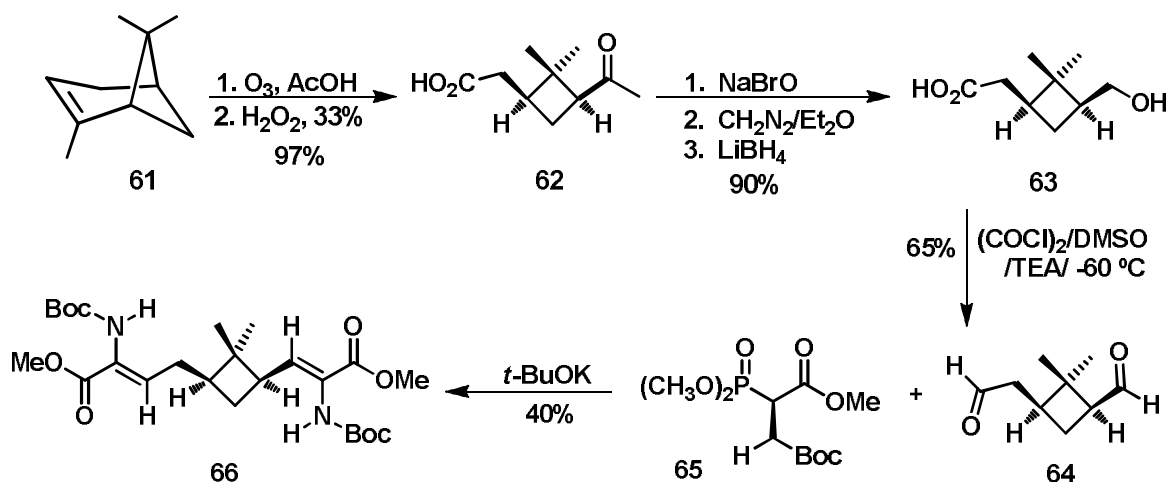
intermediario cíclico de 4 miembros **59**, cuya eliminación de $\text{Bu}_3\text{P}=\text{O}$ genera el producto **60** con la configuración predominantemente (*Z*) (Esquema 14).



Esquema 14. Obtención de (*Z*)-deshidroaminoácidos.

La unidad de ciclobutano está presente en una gran variedad de productos naturales y en compuestos de interés farmacéutico. El grupo de investigación de Moglioni²⁶ *et al* llevaron a cabo una síntesis eficiente del aldehído **64**, el cual es una de las materias de partida para la construcción de una gran variedad de productos. La materia prima fue el ácido (+)-*cis*-pinoico (**62**), el cual se obtuvo por oxidación del α -pineno (**61**) y posterior degradación de Liebig. Una metilación y subsecuente reducción generó el diol **63**. La oxidación de Swern proporcionó el dialdehído **64** que fue condensado con el fosfonato **65** para dar el deshidroaminoácido **66** en un rendimiento del 40%. La alta estereoselectividad de esta condensación conduce a una mayor proporción del isómero *Z* (Esquema 15).

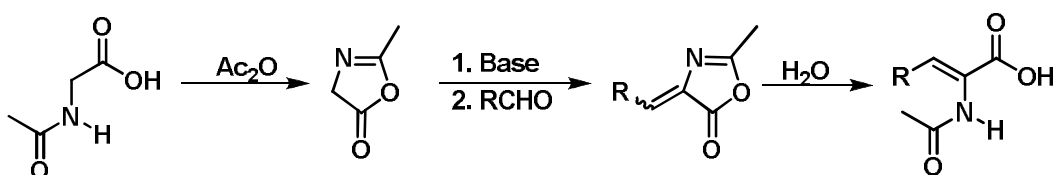
²⁶ Moglioni, A. G.; García-Expósito, E.; Moltrasio, G. Y.; Ortuño, R. M. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 3593.



Esquema 15. Síntesis de deshidroaminoácidos conteniendo la unidad del ciclobutano.

2.5.3 Apertura de oxazolonas

El método típico para la preparación de deshidroaminoácidos con anillos aromáticos es la síntesis de Erlenmeyer.²⁷ La reacción es posible llevar a cabo en una etapa mediante la condensación intramolecular de acilglicinas, anhídrido acético, acetato de sodio y un aldehído. Cuando es condensada una 5-(4H)-oxazolona con un aldehído, se requiere una base. La apertura del anillo con alcoholes genera α,β -deshidroaminoésteres, mientras que el uso de disolventes acuosos producen el ácido libre (Esquema 16)

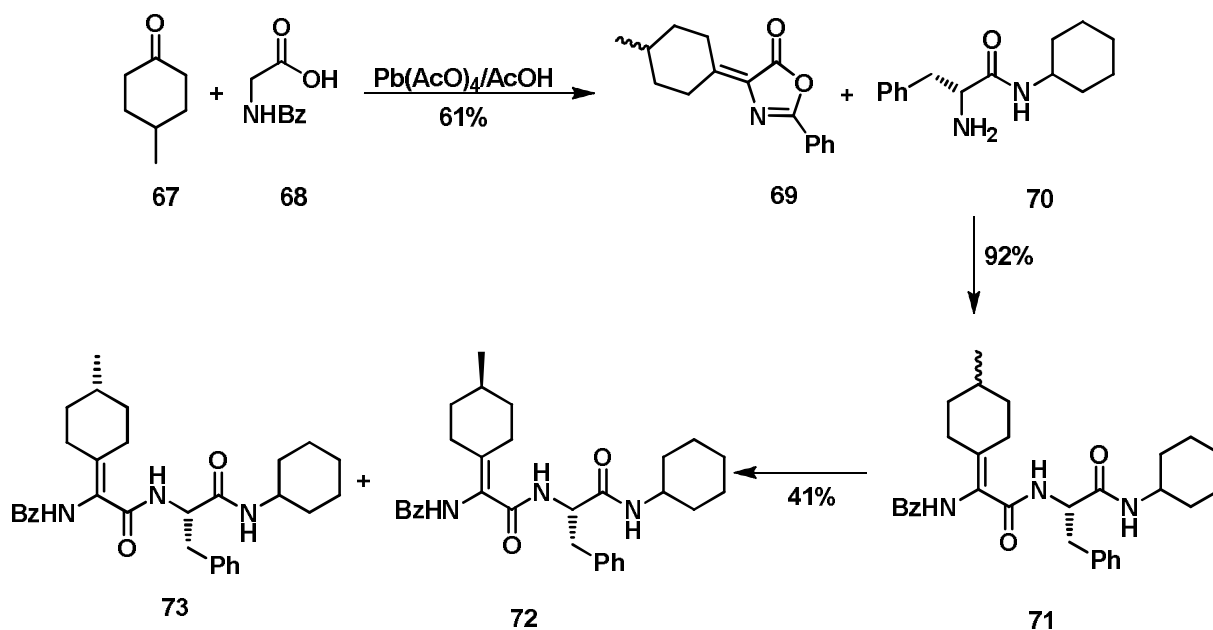


Esquema 16 Deshidroaminoácidos a partir de isoxazolonas.

Cativiela²⁸ *et al* obtuvieron α,β -deshidroaminoácidos con quiralidad axial utilizando el método de Erlenmeyer y la apertura del anillo de la oxazolona **69**. Esta fue preparada por la condensación de la cetona cíclica **67** con el derivado de la glicina **68**. El dipéptido **71** se obtuvo como mezcla de diastereoisómeros con un rendimiento del 42 al 85% por su acoplamiento con la ciclohexilamida de la *L*-fenilalanina (**70**), cuya posterior purificación permitió la separación de los diastereoisómeros **72** y **73** (Esquema 17).

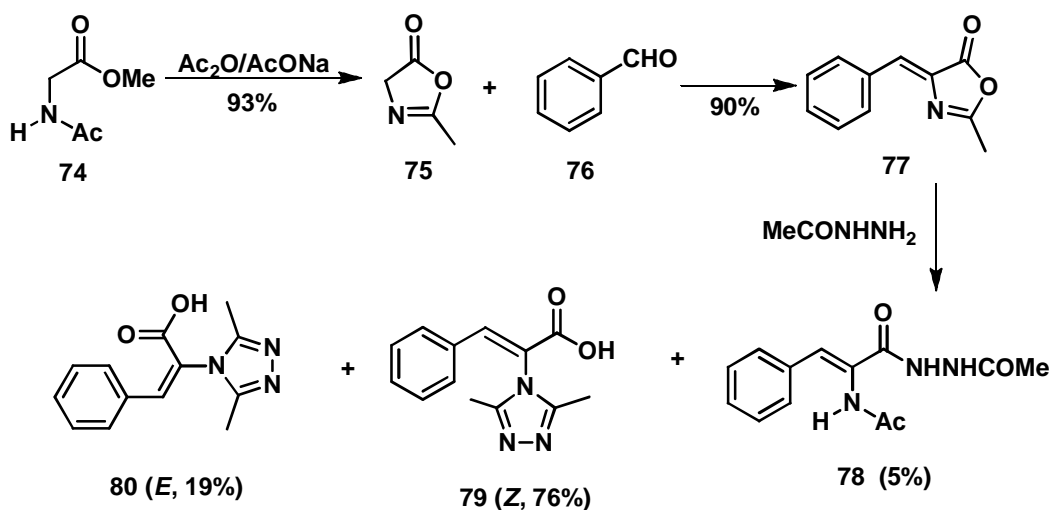
²⁷ McGaren, W. J.; Goodman, M. *Tetrahedron* **1967**, *23*, 2017.

²⁸ Cativiela, C.; Díaz de Villegas, M. D.; Gálvez, J. A. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 1027.



Esquema 17. Síntesis de deshidroaminoácidos por apertura de isoxazolonas.

La apertura del anillo de oxazolona **77** empleando acilhidracinas, puso de manifiesto tres diferentes sitios de adición nucleofílica, resultando en un método nuevo para la construcción de un anillo de 1,3,4-triazol (**79** y **80**) en el grupo amino de un (*Z*)- α -deshidroaminoácido en altos rendimientos²⁹ (Esquema 18).

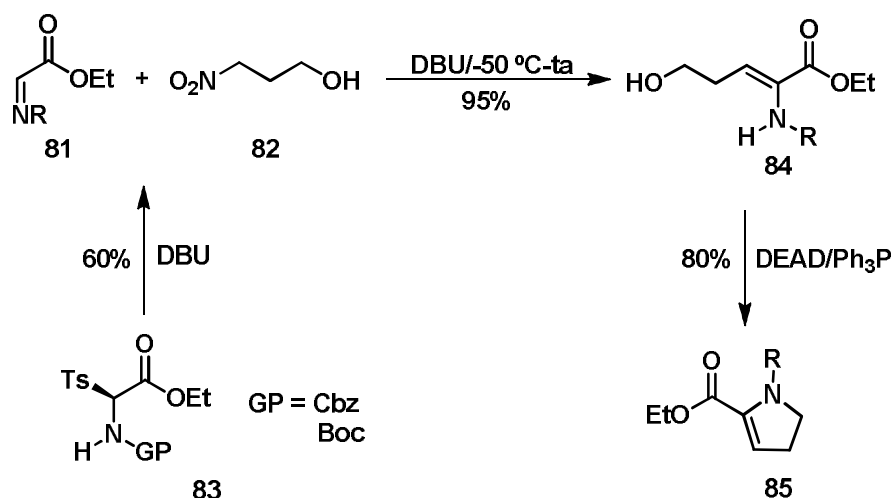


Esquema 18. Síntesis de triazoles por apertura de isoxazolonas.

²⁹ Maekawa, K.; Kanno, Y.; Kubo, K.; Igarashi, T.; Sakurai, T. *Heterocycles* **2004**, 63, 1273.

2.5.4 A partir de nitroalcanos

Nagano y Kinoshita³⁰ describieron un método conveniente para la síntesis de derivados de α,β -deshidroaminoácidos a partir de α -tosilglicinatos de etilo *N*-protegidos y una variedad de nitrocompuestos. Primeramente, y bajo condiciones básicas, el carbono C-3 de carácter nucleofílico en el 3-nitro-1-propanol (**82**) ataca al intermediario imina **81** generado por la eliminación del grupo tosilo del respectivo tosilglicinato **83**. La subsecuente eliminación de ácido nitroso generó el correspondiente δ -hidroxideshidroaminoácido **84**, el cual fue ciclado bajo condiciones de Mitsunobu empleando DEAD/ Ph_3P para producir el heterociclo **85** (Esquema 19).



Esquema 19. Síntesis de deshidroaminoácidos a partir de β -hidroxiácidos.

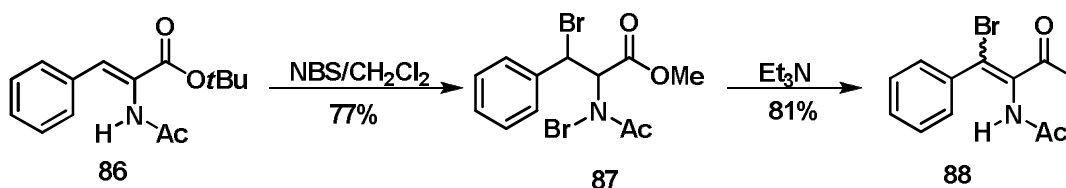
2.6 Reacciones de α,β -deshidroaminoácidos

2.6.1 Halogenación

La síntesis de β -bromo- α -alcoxi-aminoácidos fue lograda por la reacción de NBS con el α,β -deshidroaminoácido **86**. El uso de diclorometano como disolvente no nucleofílico permitió aislar el intermediario bromado **87** a temperatura ambiente que puede ser convertido a la β -bromoenamida **88** más estable, utilizando Et_3N ³¹ (Esquema 20).

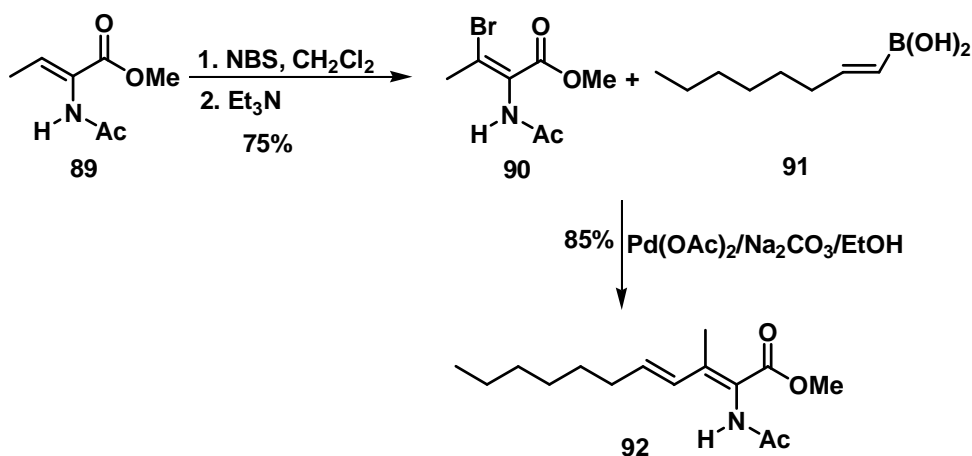
³⁰ Nagano, T.; Kinoshita, H. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2000**, *73*, 1605.

³¹ Danion-Bougnot, R.; Danion, D.; Francis, G. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 3739.



Esquema 20. Síntesis de β -bromo deshidroaminoácidos.

Los α,β -deshidroaminoácidos pueden ser bromados en su posición β cuando son tratados con NBS y trietilamina en diclorometano. Las condiciones de reacción tipo Suzuki han empleado para acoplar β -bromo enamidas con ácidos vinilborónicos para producir aminoácidos con cadenas laterales que contienen 1,3-dienos. Burk³² *et al* realizaron la bromación del 3-metil-2-acetamidoacrilato de metilo (**89**) por tratamiento con NBS para dar el isómero *E* **90**. El tratamiento de **90** con el ácido borónico **91**, Na₂CO₃, y Pd(OAc)₂ generó altos rendimientos del dieno **92**. Las condiciones de reacción suaves permitieron la obtención del producto de acoplamiento, en donde el grupo protector sobre el grupo amino determinó la estereoquímica de la reacción (Esquema 21).

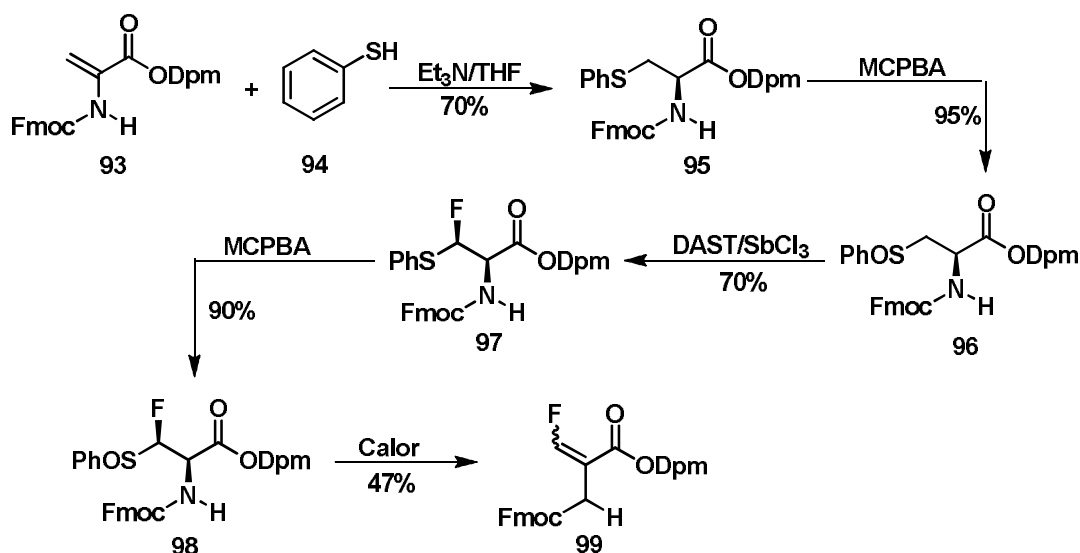


Esquema 21. Halogenación de deshidroaminoácidos con NBS.

La *N*-Fmoc-deshidroserina **93** fue transformada en su correspondiente derivado fluorado **99** como una mezcla de isómeros *E* y *Z*. Inicialmente el tiofenol (**94**) llevó a cabo la adición tipo Michael sobre el sustrato **93** para generar el sulfuro **95**, el cual fué oxidado al sulfóxido **96** que se hizo reaccionar con el reactivo DAST en cantidades catalíticas en una transposición tipo fluoro Pummerer. El β -fluoro derivado **97** fué oxidado al sulfóxido **98** que

³² Burk, M. J.; Allen, J. G.; Kiesman, W. F.; Stoffan, K. M. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 1309.

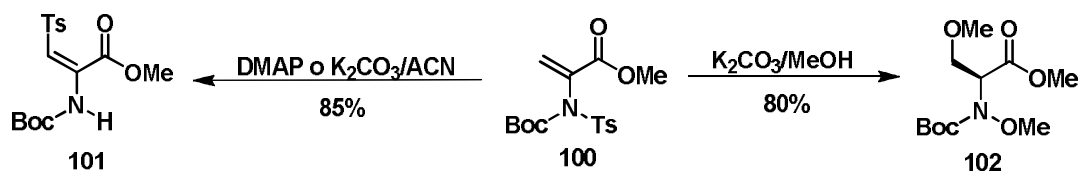
posteriormente se eliminó térmicamente al *N*-Fmoc de la β -fluorodehidroserina **99** como la mezcla de los isómeros geométricos.³³ (Esquema 22).



Esquema 22. Síntesis de fluoro deshidroaminoácidos mediante una reacción de Pummerer.

2.6.2 Adición Nucleofílica

Los deshidroaminoácidos son sustratos para reacciones de adición tipo Michael con tioles y aminas, pero son menos reactivos hacia un oxígeno nucleofílico a pesar de que el agua puede adicionarse bajo condiciones ácidas.³⁴ Utilizando el correspondiente derivado de deshidroalanina **100** con una base ocurre una transposición con la formación del isómero *E* **101**. Cuando el disolvente es cambiado por metanol es posible obtener el dimetoxiderivado de la alanina **102**. Esta ruta puede conducir a una nueva clase de compuestos como α -alcoxi- α -amino, α,α -dialcoxi o α,α -diaminoácidos (Esquema 23).³⁵



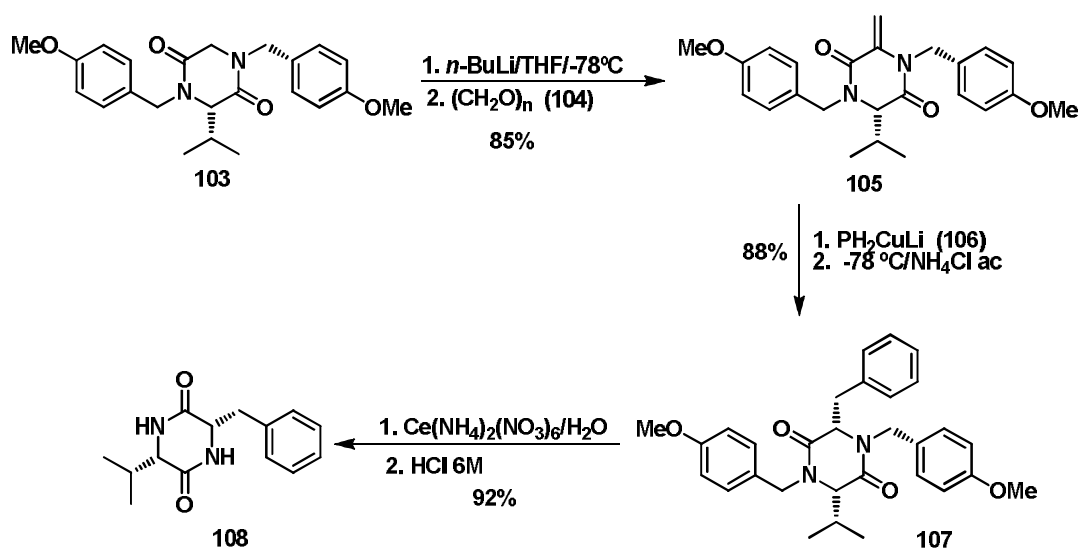
Esquema 23. Adición nucleofílica a deshidroaminoácidos.

³³ Zhou, H.; van der Donk, W. A. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 1335.

³⁴ Rich, D.; Bathnagar, P.; Mathiapparanam, P.; Grant, J.; Tam, J. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 296.

³⁵ Ferreira, P. M.; Maia, L. H.; Monteiro, L. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 4495.

Bull y Davies³⁶ reportaron la adición de organocupratos a la dicetopiperazina **105**, en donde la alta estereoselectividad resulta debido a la conformación que adoptan los dos grupos *N-p*-metoxibencilos. El sustrato **103** es desprotonado a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ con *n*-BuLi y se hace reaccionar con paraformaldehído (**104**) para generar el alqueno **105**, que actúa como aceptor de Michael. La adición de un difenilcuprato **106** genera la dicetopiperazina bencilada **107**, que fue *N*-desprotegida para proporcionar la dicetopiperazina (**108**) (Esquema 24).



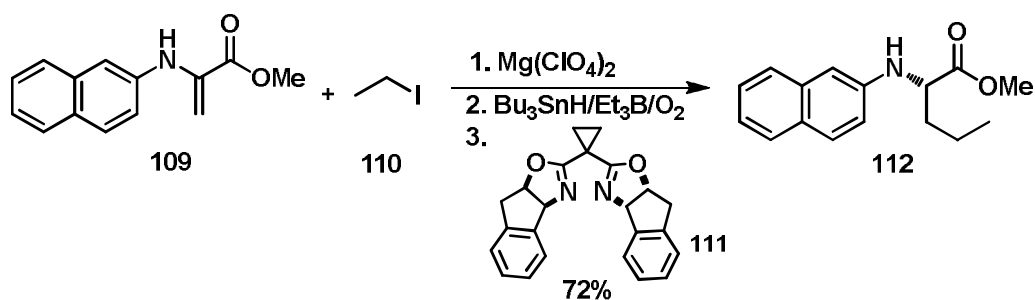
Esquema 24. Adición de organocupratos a deshidroaminoácidos.

2.6.3 Adición de radicales libres

La adición conjugada radicalaria a *N*-acilaminoacrilatos mediada por un ácido de Lewis quiral seguida por una transferencia enantioselectiva de un hidrógeno genera una variedad de derivados α -aminoácidos. Sibi³⁷ y col reportaron la reacción adición de radicales a un α,β -dehidroaminoéster **109** utilizando hidruro de *n*-tributilestaño como donador de radicales hidrógeno. En esta reacción fue utilizado perclorato de magnesio y la bisoxazolina **111** como ligante quiral a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ en diclorometano para generar el producto de adición **112** en rendimientos superiores al 70% y un 85% ee (Esquema 25).

³⁶ Bull, S. D.; Davies, S.; O`Shea, M. J. *Chem. Soc., Perkin Trans 1* **1998**, 3657.

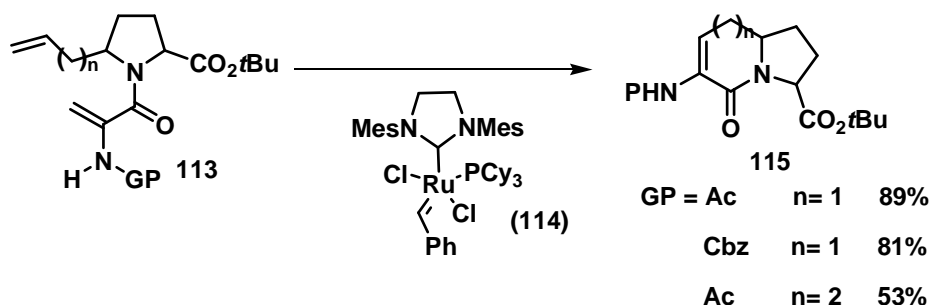
³⁷ Sibi, M.; Asano, Y.; Sausker, J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 1293.



Esquema 25. Alquilación de deshidroaminoácidos via radicales libres.

2.6.4 Reacción de Metátesis

La reacción de metátesis en la formación de compuestos cíclicos multifuncionalizados es un procedimiento ampliamente utilizado.³⁸ Manzonni³⁹ y col obtuvieron lactamas bicíclicas **115** de 6 y 7 miembros al hacer reaccionar el derivado de la prolina **113** con el catalizador de Grubbs de segunda generación **114** (Esquema 26).



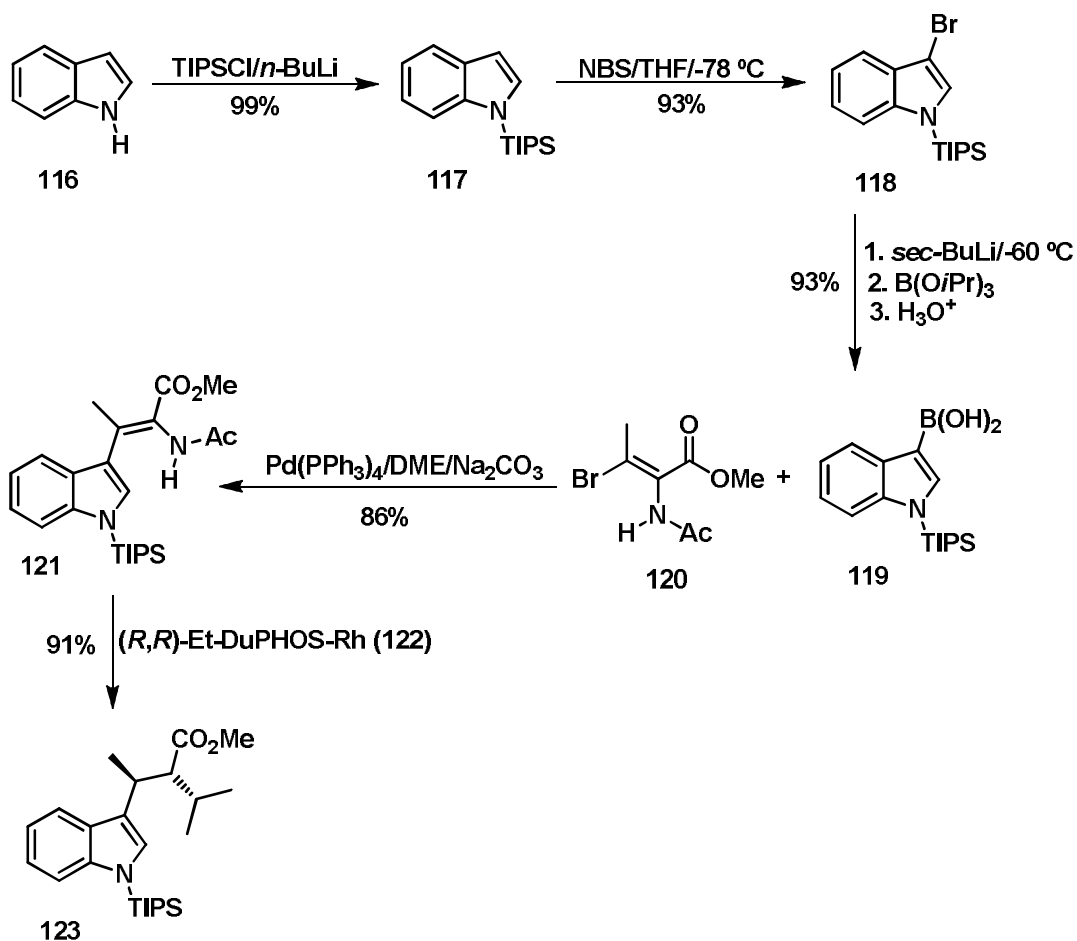
Esquema 26. Reacción de metátesis en aminoácidos α,β -insaturados.

2.6.5 Reacción de Suzuki

La siliación del indol (**117**) se realizó con NBS para generar el bromoindol **118**. El ácido borónico derivado **119** se obtuvo por el tratamiento de **118** con *sec*-BuLi y triisopropilborato con el (*Z*)-vinilbromuro **120**. La hidrogenación enantioselectiva asimétrica de la olefina tetrasustituida **121** se llevó a cabo con el catalizador quiral (*R,R*)-Et-DuPHOS-Rh (**122**) con un 91% ee del producto β -(2*R*,3*S*)-metiltriptófano **123** (Esquema 27).

³⁸ Dougherty, J.; Klein, T.; Probst, DA.; Robinson, R. Snelgrove, K. *Tetrahedron* **2000**, 56, 9781.

³⁹ Manzonni, L.; Colombo, M.; Scolastico, C. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 2623.

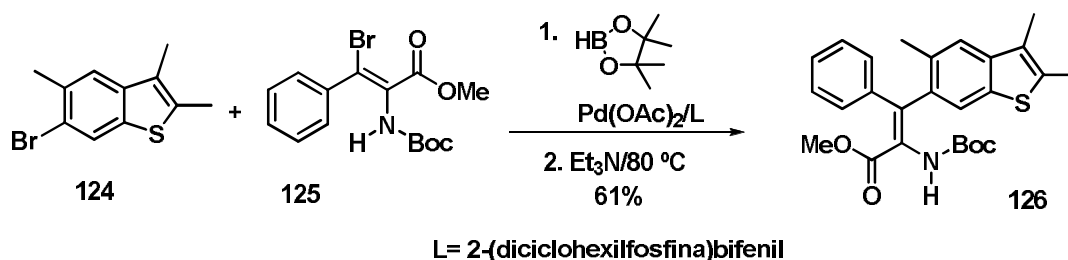


Esquema 27. Hidrogenación enantioselectiva de deshidroaminoácidos.

Algunos benzo(b)tienildeshidroaminoácidos **126** han sido preparados en un solo paso mediante la metodología de Suzuki,⁴⁰ la reacción es catalizada por paladio, lo cual q permite un acoplamiento cruzado de haluros orgánicos o sulfatos perfluorados con derivados de organoboro y procede con alta estereo y regioselectividad. Abreu⁴¹ *et al* prepararon el acrilato **126** mediante el acoplamiento del bromobenzotiofeno (**124**) y el β -bromodeshidroaminoéster **125**. Los productos mantuvieron la estereoquímica de los sustratos de partida. Estos resultados ampliaron la aplicación de la reacción de Suzuki a un sistema no aromático (Esquema 28).

⁴⁰ Miyaura, N.; Suzuki, A. *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2457.

⁴¹ Abreu, A.; Ferreira, P.; Queiroz, M. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 6007.



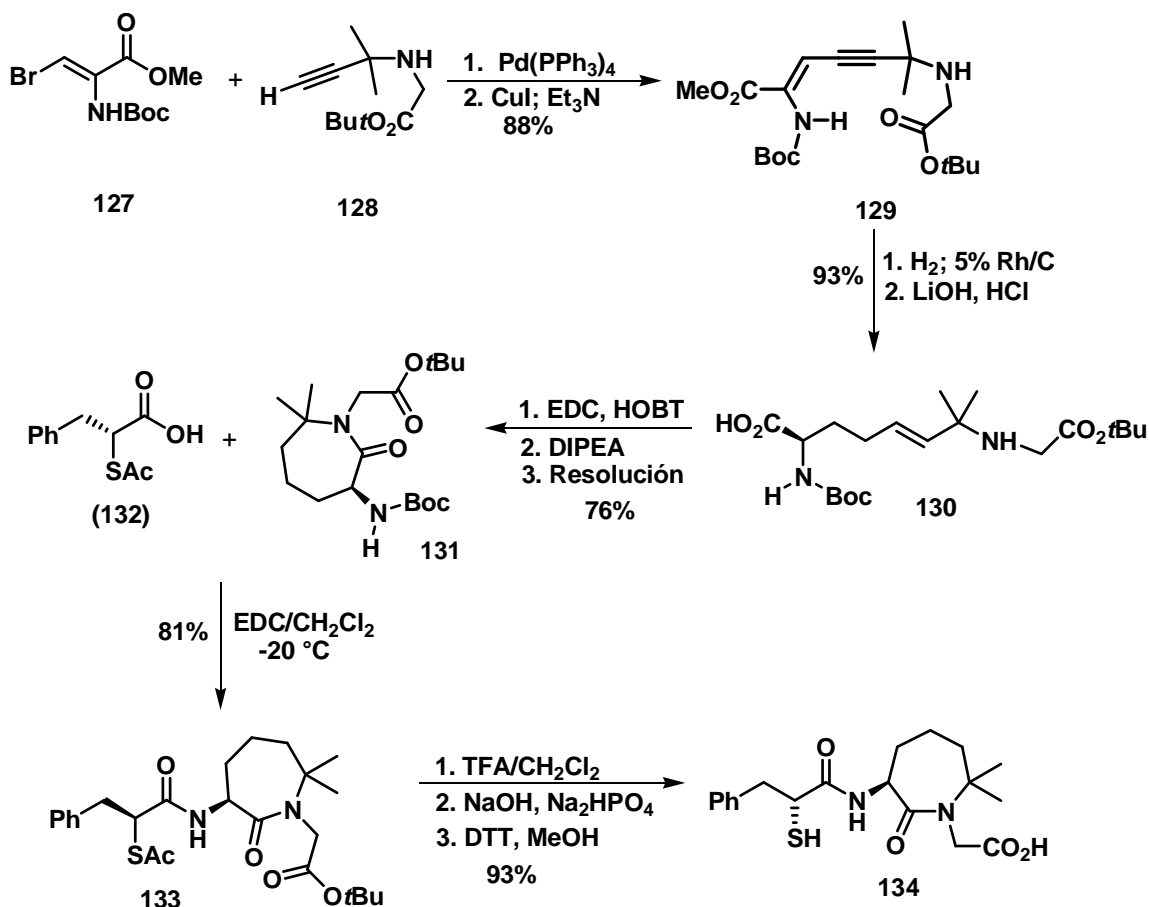
Esquema 28. Síntesis de deshidroaminoácidos mediante una reacción de Suzuki.

2.6.6 Reacción de Sonogashira

La metodología desarrollada por Sonogashira,⁴² en donde alquinos disustituídos son preparados por el acoplamiento de un alquino monosustituído con un halogenuro de alquilo con la utilización de paladio, fue empleada por Sing⁴³ *et al* para llevar a cabo la síntesis asimétrica del compuesto BMS-189921 (**134**), el cual es utilizado como vasodilatador. La clave del proceso fue la preparación del enino **129** por una reacción tipo Sonogashira entre el alquino **128** y el bromuro de vinilo **127**. La remoción del grupo Boc de la azepinona **131** y el posterior acoplamiento con el ácido **132**, seguido de la desprotección de los grupos protectores de **133** generó el compuesto **134** (Esquema 29).

⁴² Miossec, B.; Danino-Bougot, R.; Danion, D. *Synthesis* **1994**, 1171.

⁴³ Sing, J.; Kronenthal, D.; Schwinden, M.; Di Marco, JD. *Org. Lett.* **2003**, 5, 3155.



Esquema 29. Síntesis de BMS-189921 mediante un acoplamiento de Sonogashira.

2.7 Presencia de α,β -deshidroaminoácidos en Productos Naturales

Los α,β -deshidroaminoácidos no pertenecen al grupo de los 20 α -aminoácidos naturales proteinogénicos, pero se ha encontrado que estos compuestos forman parte de la estructura de una gran variedad de toxinas, antibióticos y metabolitos aislados de plantas y animales, los cuales tienen una importante función en la biosíntesis de otros aminoácidos no proteinogénicos y D-aminoácidos. Los α,β -deshidroaminoácidos, como parte de la estructura en cadenas de péptidos, proporcionan una mayor resistencia hacia la degradación enzimática y han mostrado que inducen cambios conformacionales en la estructura secundaria del polipéptido o a la misma estructura en la cual este presente, lo cual puede incrementar la afinidad péptido-receptor para las funciones biológicas.⁴⁴

⁴⁴ Humphrey, J. M.; Chamberlain, R. A. *Chem. Rev.* **1997**, 97, 2243.

Los aminoácidos insaturados son encontrados en una familia de péptidos antibióticos policíclicos conocidos como lantibióticos,⁴⁵ este grupo de sustancias activas contienen un gran número de aminoácidos no proteínogénicos como la deshidroalanina (I) y la deshidrobutirina (II) entre otros⁴⁶ (Figura 8)



Figura 8. Aminoácidos α,β -insaturados.

Esponjas marinas, hongos, bacterias, algas y otras formas inferiores de vida animal son una rica fuente de péptidos estructuralmente poco comunes y que pueden exhibir actividad biológica antimicrobiana, antiviral, antitumoral, antiinflamatoria e insecticida, entre otras.⁴⁷ Algunos de estos compuestos han sido utilizados en medicina como compuestos modelo para el desarrollo de fármacos, mientras que otros han sido de gran utilidad en la elucidación de los mecanismos bioquímicos.⁴⁸ Esta diversidad farmacológica es una función de la conformación y de la estructura del péptido el cual está regido por los aminoácidos que lo constituyen y muchos de los aminoácidos poseen estructuras no encontradas en polipéptidos sintetizados ribosómicamente. Ejemplos de α,β -deshidroaminoácidos producidos por microorganismos son los carbapenemos **135** y **136** del tipo de antibióticos β -lactámicos con un amplio espectro de actividad antimicrobiana⁴⁹ (Figura 9).

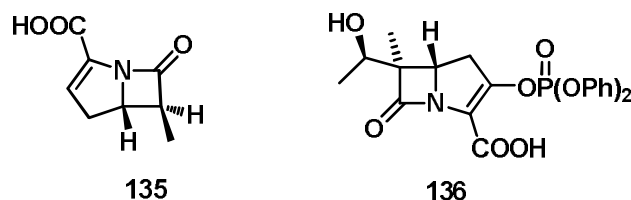


Figura 9. Carbapenemos de interés clínico.

⁴⁵ Jung, G. *Angew. Chem. Int. Engl.* **1991**, 30, 1051.

⁴⁶ Burrage, S.; Raynham, T.; Williams, G.; Essex, J. W.; Allen, C.; Cardno, M.; Swalli, V.; Bradley, M. *Chem. Eur. J.* **2000**, 6, 1455.

⁴⁷ Fusetani, N.; Matsunaga, S. *Chem Rev.* **1993**, 93, 1793.

⁴⁸ Wipf, P. *Chem. Rev.* **1995**, 95, 2115.

⁴⁹ Sader, H. S.; Gales, A. C.; *Drugs* **2001**, 61, 553.

Entre los compuestos de origen natural que poseen α,β -deshidroaminoácidos como parte de su estructura, se puede mencionar a la azinomicina (**137**), que posee actividad antitumoral y que muestra una actividad *in vivo* contra líneas celulares cancerígenas P388 en ratón⁵⁰ (Figura 10).

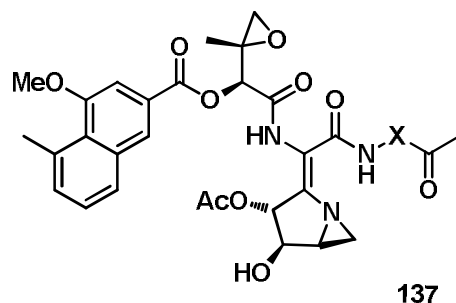


Figura 10. Azinomicina.

La celenamida B⁵¹ (**138**) fue aislada como su derivado peracetilado de la esponja *Cliona celata*. Estos compuestos están estrechamente relacionados con los ciclopéptidos alcaloides de origen marino (Figura 11).

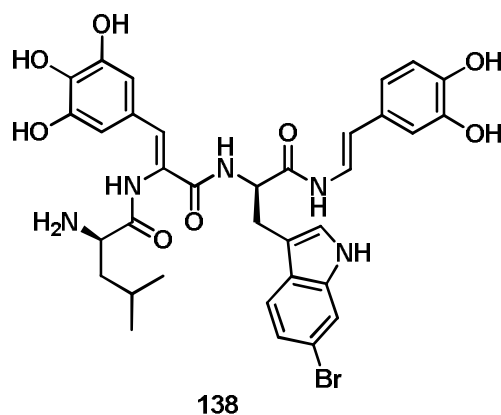


Figura 11. Celenamida B.

Otros compuestos como la tentoxina (**139**) y la Am-toxina (**140**) son dos ejemplos de α,β -deshidrodepsipéptidos con potencial actividad herbicida⁵² (Figura 12).

⁵⁰ Coleman, R. S.; Kong, J. S.; Richardson, T. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 9088.

⁵¹ Fusetani, N.; Matsunaga, S. *Chem. Rev.* **1993**, 93, 1793.

⁵² Jiménez, J. C.; Chavarría, B.; López-Macia, A.; Royo, M.; Giralt, E. Albericio, F. *Org. Lett.* **2003**, 5, 2115.

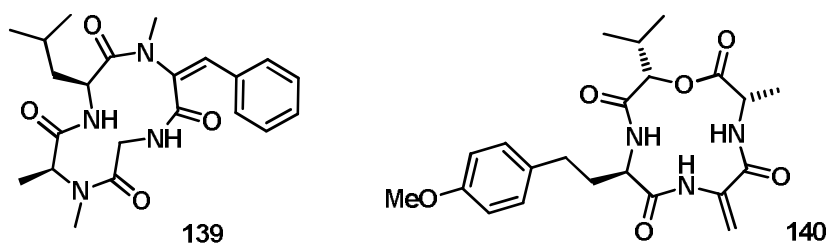


Figura 12. Herbicidas de origen natural.

La tunicroma B (**141**) es un pigmento amarillo de la sangre del tunicato *Ascida nigra*; es un deshidropéptido o pseudopéptido altamente oxigenado que regula el pH fisiológico de éste microorganismo actuando en la complejación del vanadio (III) y (IV)⁵³ (Figura 13).

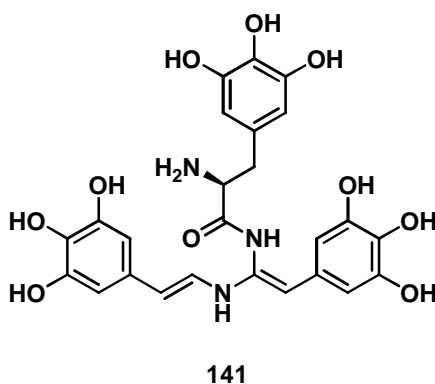


Figura 13. Tunicroma B.

2.8 Radiosumina

La radiosumina (**142**) es un dipéptido aislado de un alga verde-azul de agua dulce que muestra actividad como inhibidor de proteasas, siendo muy eficiente para tripsina y plasmina a bajas concentraciones y no mostrando actividad contra quimiotripsina, elastasa y papaína, aun a concentraciones elevadas.⁵⁴ Está formado por dos α -aminoácidos no proteinogénicos β,γ -insaturados y uno de ellos presenta un enlace doble C-C adicional; estos enlaces dobles podrían desempeñar un papel relevante en su actividad biológica como inhibidor de proteasas. Cada uno de los aminoácidos de la radiosumina posee dos centros estereogénicos (C_2 y C_7) y uno de ellos presenta un sistema de enlaces dobles

⁵³ Bruening, R. C.; Oltz, E. M.; Fukurawa, J.; Nakanishi, K.; Kustin, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 5298.

⁵⁴ Coleman, J.; Wrigth, J. *J. Nat. Procl.* **2001**, *64*, 668.

conjugados, desconociéndose que parte de la molécula es la que le confiere la actividad biológica como inhibidora de proteasas⁵⁵ (Figura 14).

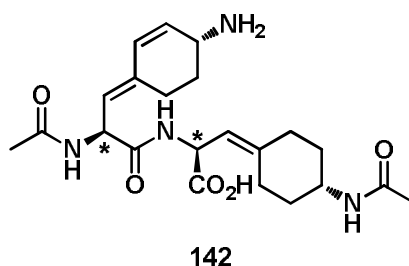
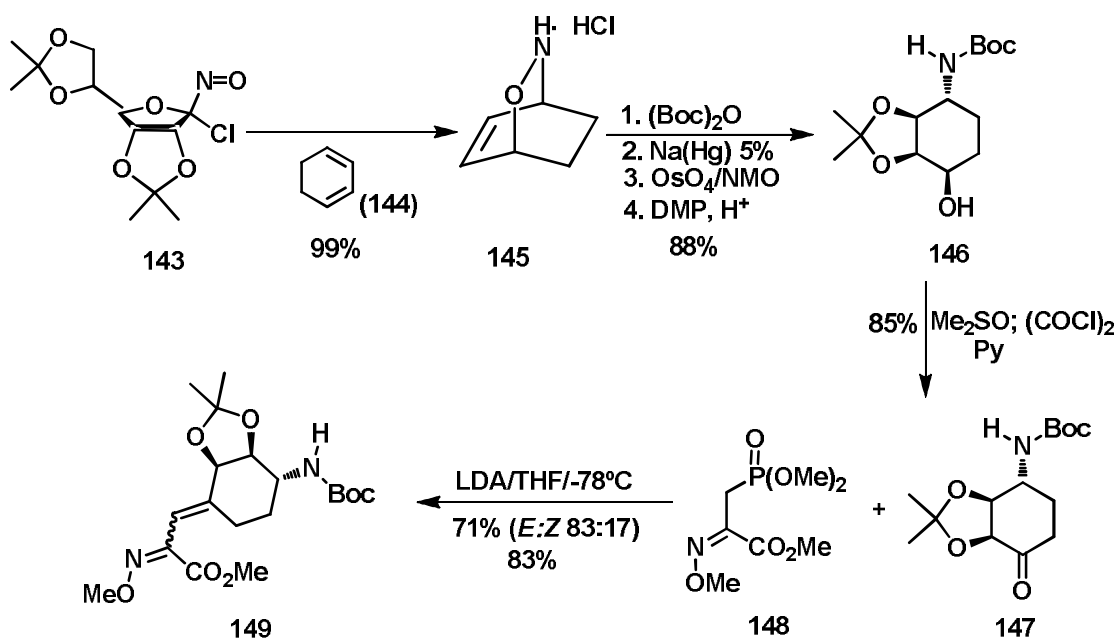


Figura 14. Estructura de la radiosumina.

En 2002 Aoyama⁵⁶ sintetizó por primera vez la radiosumina **142**. La síntesis comprendió la formación inicial del anillo de oxazina **145** mediante una reacción hetero Diels-Alder entre el nitroso-compuesto **143** y el 1,3-ciclohexadieno (**144**, Esquema 30).



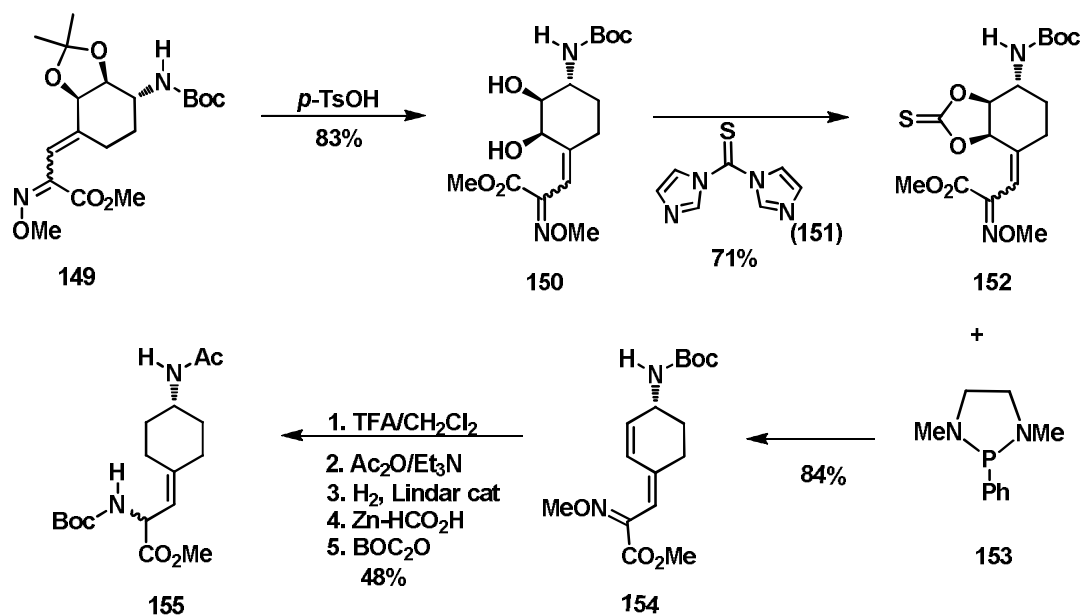
Esquema 30. Síntesis de la Radiosumina: Preparación del aminoácido no proteínogénico.

La protección selectiva del grupo amino con $(\text{Boc})_2\text{O}$, seguido por una dihidroxilación con OsO_4 , formación del cetal y reducción con amalgama de $\text{Na}(\text{Hg})$, condujo al ciclohexano correspondiente **146**, el cual fué oxidado bajo condiciones de Swern al aminociclitol **147**, que se sometió a una reacción de condensación de Horner-

⁵⁵ Matsuda, H.; Okino, T.; Murakami, M. J. *Org. Chem.* **1996**, 61, 8648.

⁵⁶ Hoguchi, H.; Aoyama, S.; Shiori, T. *Heterocycles* **2002**, 58, 471

Wadsworth-Emmons con el fosfonato de Elder **148** en presencia de *n*-butillitio para proporcionar el compuesto insaturado (**149**) en una proporción mayoritaria del isómero *E* (Esquema 30). El compuesto insaturado **149** se sometió a una hidrólisis del acetónido y el tratamiento del diol **150** con tiocarbonildiimidazol generó el tiocarbonato (**152**), el cual con la adición del fosfolideno (**153**) proporcionó el dieno (**154**) de acuerdo al protocolo de Corey-Winter.⁵⁷ La respectiva acetilación, reducción del enlace endocíclico con el catalizador de Lindlar y la reducción de la oxima con Zn en ácido fórmico seguido de la *N*-protección de la amina con (Boc)₂O generó el aminoácido (**155**) (Esquema 31).

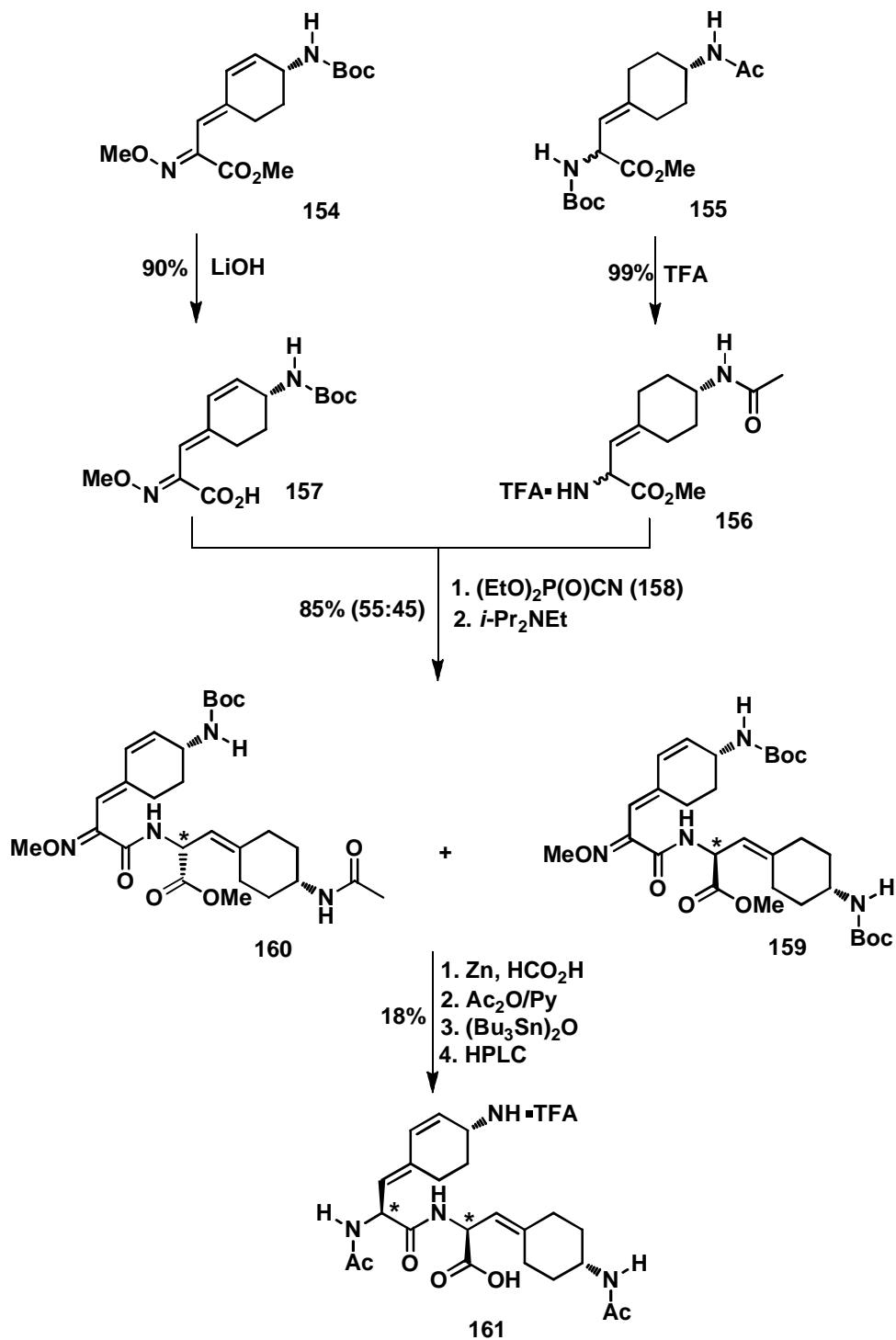


Esquema 31. Síntesis de la Radiosumina: Preparación de los deshidroaminoácidos.

La radiosumina **142** fue preparada después de la remoción de los grupos protectores de los aminoácidos **154** y **155**, seguido por su acoplamiento con fosforociamidato de dietilo (**158**), para la obtención de los dipéptidos **159** y **160** como una mezcla de diastereoisómeros. Las oximas **159** y **160** fueron reducidas con Zn en ácido fórmico seguido de la acetilación de la amina generada. La conversión final a la radiosumina (**142**) fue lograda después de la hidrólisis del éster metílico y su purificación por HPLC con un sistema de elución ácido, se obtuvo la radiosumina en forma de sal (**161**). La síntesis desarrollada por Aoyama tuvo como utilidad comprobar la

⁵⁷ Corey, E.J.; Hopkins, P.B. *Tetrahedron Lett.* **1982**, 23, 1979.

estereoquímica absoluta de las posiciones C-7 de los residuos que forman la radiosumina (142)^{52,58} (Esquema 32).



Esquema 32. Síntesis de la Radiosumina: Acoplamiento.

⁵⁸ Noguchi, H.; Aoyama, T.; Shiori, T. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 2883.

2.9 Péptidos Bioactivos

Los péptidos y las proteínas constituyen los elementos de control de un buen número de procesos biológicos muy significativos.⁵⁹ Tras asociarse con sus receptores, estos neurotransmisores, neuromoduladores u hormonas influyen en la comunicación intercelular y controlan una serie de funciones vitales como el metabolismo, la defensa inmune, la digestión, la respiración, la sensibilidad al dolor, la reproducción, el comportamiento y el nivel de electrolitos en la sangre.⁶⁰ Por todo ello, este tipo de compuestos poseen un interés farmacológico altamente elevado.⁶¹

El aislamiento de péptidos bioactivos, seguido de su caracterización y síntesis a mayor escala, ha permitido emplear dichos compuestos para ensayos clínicos y farmacológicos,^{62,63} los cuales han dado lugar a nuevos métodos terapéuticos para el tratamiento de una amplia serie de enfermedades. Sin embargo, el uso de los péptidos como fármacos se ha visto limitado por una serie de factores,⁶⁴ entre los cuales cabe destacar:

- a) Presentan una estabilidad metabólica reducida, ya que se degradan con mucha facilidad por enzimas proteolíticas y se excretan rápidamente a través de las funciones renal y hepática.
- b) Su absorción tras ingestión oral es baja, debido a su peso molecular relativamente elevado y/o a la falta de sistemas de transporte específicos.
- c) Muestran una baja biodisponibilidad, particularmente en su paso a través de las barreras lipófilas como la mucosa intestinal o la barrera hemoneuronal.
- d) Los péptidos son moléculas que se caracterizan por ser altamente flexibles y por la influencia del medio en su estructura.⁶⁵ Ello permite la interacción de un mismo péptido con varios receptores, inconveniente que se ve acentuado, además,

⁵⁹ Krieger, D. T. *Science* **1983**, 222, 975.

⁶⁰ Schmidt, G. *Top. Curr. Chem.* **1986**, 136, 109.

⁶¹ Brison, J. W.; Betz, S. F.; Lu, H. S.; Suich, D. J.; Zhou, H. X.; O'Neil, K. T.; Degrado, W. F. *Science* **1995**, 270, 935.

⁶² Hirschmann, R. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, 30, 1278.

⁶³ Schneider, H.-J. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, 32, 848.

⁶⁴ Giannis, A.; Kolter, T. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, 32, 1244.

⁶⁵ Marshall, G. R.; Gorin, F. A.; Moore, M. L. *Annu. Rev. Med. Chem.* **1978**, 13, 227.

debido a la amplia distribución de los receptores específicos de un mismo péptido en distintos tejidos de un mismo organismo

Es por ello que en los últimos años, se ha desarrollado un interés creciente por la preparación de *peptidomiméticos*.^{66,67,68} Estos compuestos, ya sean como ligantes o como receptores, imitan o bloquean el efecto biológico de un péptido a nivel de su receptor.⁶⁹ En comparación con el péptido al que pretenden emular, presentan mayor estabilidad metabólica, mayor afinidad y selectividad por el receptor y al mismo tiempo, presentan una actividad farmacológica mejorada.⁷⁰

De entre las distintas estrategias para el diseño de nuevos peptidomiméticos, la síntesis de péptidos modificados constituye una metodología de notable interés.^{71,72} La información recopilada en distintos tipos de estudios biológicos ha puesto de manifiesto la importancia de la restricción conformacional de la cadena peptídica para conseguir elevar su potencial farmacológico.^{73,74}

De entre los distintos factores que contribuyen a la modificación y estabilización de nuevas conformaciones en cadenas peptídicas, cabe destacar dos estrategias:

A) α -Alquilación: Los α -alquil- α -aminoácidos influyen notablemente en la conformación del péptido al cual se incorporan⁷⁵, debido principalmente a las severas restricciones en la libertad rotacional del enlace N-C(α) y C(α)-C=O. Así por ejemplo, los α -metil- α -aminoácidos intervienen en la estabilización de los giros β en la cadena peptídica.⁷⁶ Por otra parte, los α -alquil- α -aminoácidos constituyen importantes materiales de partida para la síntesis de productos naturales.⁷⁷

⁶⁶ Belvisi, L.; Colombo, L.; Colombo, M.; Giacomo, M. D.; Manzoni, L.; Vodopivec, B.; Scolastico, C. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 6463.

⁶⁷ Smith, C. K.; Reagan, L. K. *Acc. Chem. Res.* **1997**, *30*, 153.

⁶⁸ Yamazaki, T.; Benedetti, E.; Kent, D.; Goodman, M. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 1437.

⁶⁹ Babine, R. E.; Bender, S. L. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1357.

⁷⁰ Wiley, R. A.; Rich, D. H.; *Med. Res. Rev.* **1993**, *13*, 327.

⁷¹ Davies, J. S. *Aminoacid and peptides* **1991**, *22*, 145.

⁷² Zuckermann, R. N.; Dill, K. A. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1999**, *9*, 530.

⁷³ Hannesian, S.; McNosughton-Smith, G.; Lombart, H.-G.; Lubell, W. D.; *Tetrahedron* **1997**, *53*, 12789.

⁷⁴ Burgess, K.; Ho, K.-K.; Pal, B. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 3808

⁷⁵ Jiménez, A. I.; Cativiela, C.; Aubry, A.; Marraud, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 9452.

⁷⁶ Jorgensen, K. A. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2000**, *39*, 4114.

⁷⁷ Chinchilla, R.; Falvello, L. R.; Galindo, N.; Nájera, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 3133.

B) Ciclación: Los aminoácidos cíclicos han sido muy utilizados como inductores de giros β en la cadena peptídica.⁷⁸ En particular la prolina y la cisteína al formar puentes de disulfuro, como α -aminoácidos naturales, juegan un papel muy importante en diversos procesos biológicos, como son la formación de la estructura secundaria de las proteínas y el reconocimiento protéico.⁷⁹

De este modo, la inclusión de aminoácidos no proteínogénicos en las cadenas peptídicas puede inducir las modificaciones estructurales que se requieren para el control y la mejora de la actividad farmacológica de dichas moléculas. Por consiguiente, el diseño y la síntesis de nuevos α -aminoácidos no proteínogénicos que presenten restricciones conformacionales en sus cadenas laterales constituye un área de elevado interés en el desarrollo de nuevos fármacos.

Por otra parte, las proteasas son enzimas que tienen la función de llevar a cabo la hidrólisis de bio-polímeros y los sitios de acción donde catalizan las reacciones de desdoblamiento de macromoléculas incluyen enlaces tipo éster, enlaces glicosídicos, enlaces peptídicos y las uniones C-N. Las proteasas juegan un papel importante en las funciones celulares de todos los organismos, incluyendo los virus, y éstas pueden ser metabólicas, nutricionales o reproductivas. En el campo de la medicina se han elaborado fármacos que son utilizados para combatir enfermedades virales y bacterianas y que actúan como inhibidores de alguna de las funciones de las proteasas, incluso extractos proteicos son empleados en la destrucción tisular, tumoral y en la terapia de procesos antiartríticos.^{80,81}

2.10 Péptidos Antimicrobianos

En los últimos 50 años, dentro del campo de la medicina clínica, los antibióticos naturales, semisintéticos y sintéticos, han tenido un gran desarrollo en el combate de enfermedades infecciosas. Sin embargo, en 1994 la Organización Mundial de la Salud estableció que los niveles de resistencia presentada por los agentes antibacterianos se han incrementado en una proporción alarmante resultando en un serio problema de salud pública a nivel mundial. La resistencia presentada se debe fundamentalmente a 2 factores:

⁷⁸ Müller, G.; Hessler, H.; Decornez, H. Y. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2000**, 39, 894.

⁷⁹ Chen, J. K.; Scheiber, S.L. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, 34, 953.

⁸⁰ Evans, M. J.; Cravatt, B. F. *Chem. Rev.* **2006**, 106, 23.

⁸¹ Grzonka, Z.; Jankowska, E.; Kozak, M. *Acta Bioch. Pol.* **2001**, 48, 1.

una es la gran variedad de mutaciones que puede originar un microorganismo patógeno, ocasionando que familias completas de antibióticos sean ineficaces. La segunda, es la ausencia durante los últimos años del desarrollo de una nueva familia de antibióticos.⁸²

La defensa de un organismo contra microorganismos invasores patógenos mediante segregación y la utilización de péptidos de origen endógeno, puede ser considerada como un antiguo y evolucionado mecanismo de inmunidad. En las últimas décadas se ha comenzado a estudiar una nueva clase de compuestos como una posible alternativa para la solución de este problema.⁸³ Estos productos son denominados péptidos antimicrobianos y han sido aislados de plantas y animales, lo que ha conducido a una gran variedad de compuestos con características similares.^{84,85}

Muchos péptidos han sido aislados y estudiados en su actividad, estructura y organización química.⁸⁶ Estos compuestos tienen la característica de ser de cadena corta (entre 10 y 35 aminoácidos), poseer naturaleza catiónica presentando una carga de al menos +2 y comúnmente +4, +5, o +6, dependiendo de la cantidad de residuos de arginina o lisina que posea.⁸⁷ Este tipo de péptidos presentan un diseño anfipático tridimensional interno, doblado sobre si mismo y formando una región hidrofóbica en la cadena originada por aminoácidos no polares, así como una región hidrofílica⁸⁸ debida a los aminoácidos polares y a los aminoácidos cargados positivamente. Estos productos se han clasificado en base a sus propiedades bioquímicas o a sus características estructurales como péptidos aniónicos, dipéptidos aromáticos y los péptidos catiónicos, siendo estos últimos los más abundantes y entre los que podemos destacar a las cecropinas, defensinas, tioninas, catelicidinas y trombocidinas. Por el amplio espectro de actividad antimicrobiana reportada, se les ha denominado como antibióticos naturales, ya que todas estas moléculas son elementos importantes directamente implicados en la respuesta inmune innata del huésped y forman la primera barrera de defensa.⁸⁹

⁸² Zasloff, M. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1987**, **84**, 5449.

⁸³ Hancock, RW. *Lancet* 1997, **349**, 418.

⁸⁴ Bowman, HG.; Wade, D.; Bowman, IA.; Whalin, B.; Merrifield, RB. *FEBS Lett.* **1989**, 259, 103.

⁸⁵ Nicolas, P.; Mor, A. *Annu. Rev. Microbiol.* **1995**, 49, 277.

⁸⁶ Hancock, RW.; Falla, T.; Brown, M. *Adv. Microb. Physiol.* **1995**, 37, 135.

⁸⁷ Levy, O. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2000**, 44, 2925.

⁸⁸ Hancock, RW.; Leher, RI. *Trends Biotechnol.* **1998**, 16, 82.

⁸⁹ Boman, HG. *Annu. Rev. Immun.* **1995**, 13, 61.

Los péptidos antimicrobianos difieren marcadamente entre si por la longitud, estructura y secuencia de la cadena de aminoácidos, pero comparten dos características en común: un carácter catiónico que los atrae a la superficie aniónica de los microorganismos y la capacidad de adoptar conformaciones anfipáticas que favorecen la inserción dentro de las membranas microbianas.^{90,91} Una clasificación actualmente aceptada los divide en dos grandes grupos: péptidos cíclicos (con uno o mas puentes de disulfuro) y péptidos lineales.⁹² Estos últimos pueden adoptar una estructura anfipática y activa de α -hélice y están entre los más abundantes encontrados en la naturaleza.⁹³

Un requisito esencial para la utilización de cualquier agente antimicrobiano es que debe poseer una toxicidad selectiva contra células de microorganismos sin afectar a las del huésped. Una característica de gran valor de los péptidos antimicrobianos endógenos, es su capacidad de discriminar entre las células de microorganismos y las células del huésped para desplegar su acción letal. La base de ese proceso radica en las diferencias entre las características estructurales, conformacionales y electroquímicas de la membrana celular.⁹⁴

Los péptidos antimicrobianos, especialmente los péptidos catiónicos, se caracterizan por poseer una secuencia de aminoácidos definida en su cadena, lo que les confiere diversas propiedades, como son carácter hidrofóbico o hidrofílico, anfipaticidad y una carga mínima eléctrica, siendo ésta última necesaria para poder llevar a cabo su acción específicamente contra diversas biomembranas. Esta reacción se favorece, debido a la atracción electrostática hacia membranas microbianas cargadas negativamente y su capacidad para desplazar cationes asociados a membranas.⁹⁵

El mecanismo de acción para esta clase de compuestos no ha sido claramente elucidado, pero hay evidencias satisfactorias de que los péptidos catiónicos debido a su naturaleza anfipática lineal y por la carga positiva, interaccionan electrostáticamente con los lípidos aniónicos de la bicapa lipídica de la membrana bacteriana, desplazándolos e incrementando su permeabilidad, lo que causa desestabilización de la membrana al

⁹⁰ Bessalla, R.; Gorea, A.; Shalit, I.; Metzger, JW.; Dass, C.; Desisario, DM.; Friedkin, M. *J. Med. Chem.* **1992**, 3, 1203.

⁹¹ Pathak, N.; Salas-Auvert, R.; Ruche, G.; McCarty, D. Harrison, R. *Proteins.* **1995**, 22, 182.

⁹² Oh, JE.; Hohn, SM.; Lee, KH. *J. Peptide Res.* **1999**, 53, 41.

⁹³ Tossi, A.; Sandri, L.; Giangaspero, A. *Biopolymers.* **2000**, 55, 4.

⁹⁴ Falla, T.; Karanuratne, DN.; Hancock, RW. *J. Bio. Chem.* **1996**, 271, 19298.

⁹⁵ Ludtke, S.; He, K.; Heller, W.; Harroun, T.; Yang; L.; Huang, H. *Biochemistry* **1996**, 35, 13723.

formarse canales a través de esta membrana. Esto puede originarse por el desplazamiento de los iones catiónicos divalentes, los cuales estabilizan la membrana externa celular, por parte de los péptidos catiónicos para interaccionar en los sitios aniónicos y facilitar su inserción a través de la membrana.⁹⁶ Otras hipótesis sugieren la inducción de hidrolasas para degradar la pared celular, alteración de las funciones de la membrana y daño en sitios específicos intracelulares después de la inserción del péptido.^{97,98}

Algunos péptidos catiónicos *in vitro* poseen una gran actividad antimicrobiana, comparados con algunos antibióticos convencionales, así mismo, poseen un valor de MIC (concentración mínima inhibitoria) en el rango de 1-8 µg/mL, que los hacen competitivos al compararlos con antibióticos comerciales y potencialmente útiles en contra de organismos resistentes como: *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, y *S. maltophilia*, contra cepas multirresistentes de *Staphylococcus aureus*, microorganismos resistentes a la vancomicina como *Enterococcus faecium* y aquellos productores de β-lactamasas de amplio espectro.⁹⁹ Este tipo de compuestos están en sus primeras etapas de investigación para el desarrollo de un nuevo fármaco, pero representan un campo con grandes perspectivas en el combate de los agentes patógenos.¹⁰⁰

Reportes recientes han demostrado que los péptidos antimicrobianos sintéticos pueden ser diseñados y que su preparación mediante técnicas biotecnológicas o mediante síntesis química, puede llevar a la obtención de productos puros a gran escala y al mismo tiempo, la producción de nuevos compuestos con una mayor actividad biológica.¹⁰¹

Estudios llevados a cabo con péptidos antimicrobianos en base a la relación estructura/actividad han servido para elucidar su modo de acción, y al mismo tiempo, se han podido establecer siete parámetros importantes que están relacionados con su actividad biológica: tamaño, secuencia, carga, conformación estructural, carácter hidrofóbico, carácter hidrofílico, ángulo de plegamiento y grado helicoideal.¹⁰² Estos parámetros están íntimamente relacionados, así que modificando uno de ellos puede

⁹⁶ Matsuzaki, K.; Murase, O.; Tokuda, H.; Funakoshi, S.; Miyajima, K. *Biochemistry* **1994**, 3342.

⁹⁷ Zasloff, M. *Nature* **2002**, 415, 389.

⁹⁸ Honh, M. *Acc. Chem. Res.* **2005**, 7

⁹⁹ Peschel, A. *Trends. Microbiol.* **2002**, 10, 179.

¹⁰⁰ Hancock, R. W. *Lancet* **2001**, 1, 156.

¹⁰¹ Oh, J. E.; Honh, S. Y.; Lee, K. H. *J. Peptide Res.* **1999**, 53, 41.

¹⁰² Maloy, W. L.; Kari, U. P. *Biopolymers* **1995**, 37, 105.

resultar en cambios significativos en sus propiedades biológicas. Al mismo tiempo, se ha podido establecer un patrón de secuencia en el ordenamiento de los aminoácidos que resulta básica para el diseño sintético de péptidos antimicrobianos, por lo que la frecuencia mostrada en el orden llega a ser: a) glicina, b) aminoácido hidrofóbico, c) aminoácido aromático, d) aminoácido cargado positivamente, e) aminoácido cargado negativamente, f) aminoácido polar sin carga.¹⁰³

Los péptidos no ribosómicos son aquellos sintetizados por microorganismos, principalmente por bacterias. Hasta ahora, innumerables péptidos con una gran variedad de efectos biológicos y fisiológicos han sido detectados, aislados, caracterizados y sintetizados. Desde hace algunos años, compuestos derivados de polimixina, bacitracina y gramicidina fueron utilizados por sus propiedades antibióticas. Algunos están fuera de uso por presentar propiedades tóxicas y otros como la penicilina han favorecido el desarrollo de nuevas generaciones de compuestos más potentes como las cefalosporinas y ciclosporinas en la lucha de las infecciones bacterianas, pero siempre estando presente la posibilidad de su inactivación como consecuencia de la resistencia bacteriana.

2.11 Daptomicina

La daptomicina (**162**, Fig 15) es un lipopéptido cíclico que ha sido aprobado por la FDA para el tratamiento tópico de infecciones en la piel y está en estudios de fase 3 para su utilización en endocarditis infecciosa y septicemia.¹⁰⁴ Este compuesto es un producto de la fermentación de *Streptomyces roseosporus*, que está constituido por 13 residuos de aminoácidos, incluyendo tres D-aminoácidos (D-asparagina, D-alanina y D-serina), tres aminoácidos no proteínogénicos (ornitina, ácido 3-metilglutámico, y kinurenina) y una cadena grasa de *n*-decanoilo en la parte amino *N*-terminal.¹⁰⁵ Hay 4 cadenas ácidas correspondientes a tres residuos de ácido aspártico y uno de ácido 3-metilglutámico y una cadena básica derivada de la ornitina, resultando en una carga molecular total de -3 a pH neutro. La molécula forma un macrociclo, en el cual un enlace tipo éster está formado entre la treonina y la kinurenina.¹⁰⁶

¹⁰³ Tossi, A.; Tarantino, R. D. *Eur. J. Biochem.* **1997**, *250*, 549.

¹⁰⁴ Raja, A.; LaBonte, J.; Kirkpatrick, P. *Nat. Rev. Drug. Discov.* **2003**, *2*, 943.

¹⁰⁵ Grünwald, A. R.; Siebert, S. A.; Mahler, C.; Linne, U.; Mahariel, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 17023.

¹⁰⁶ Steenberger, J.; Adler, J.; Thorne, G.; Tally, F. J. *Antimicrobial and Chemother.* **2005**, *55*, 283.

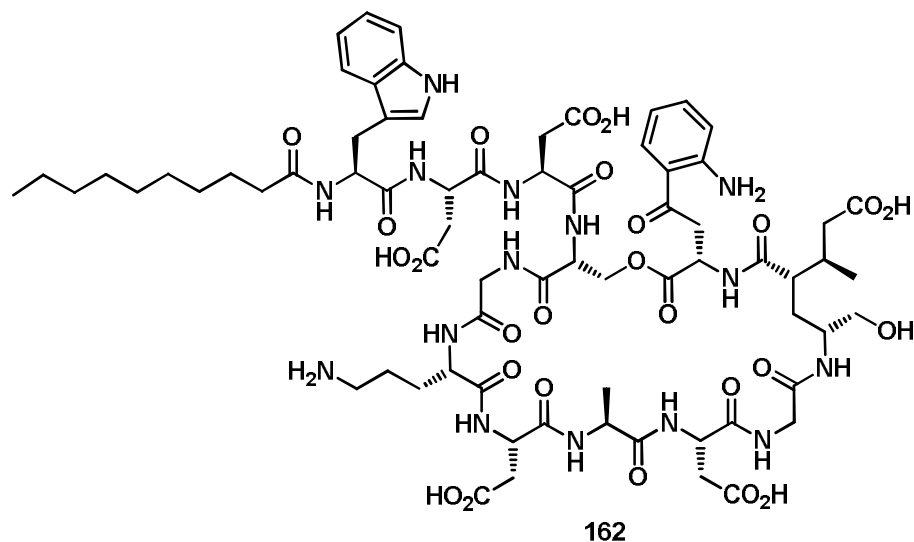


Figura 15. Lipopéptido antibiótico Daptomicina.

La daptomicina (**162**) es un lipopéptido antibiótico que ha demostrado una amplia actividad bactericida *in vitro* contra la mayoría de los organismos aerobios y anaerobios Gram-positivos como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus ssp*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus spp*, *Corynebacterium jeikeium*, *Clostridium perfringes* y *Propionibacterium acne* entre otros, que incluyen cepas multiresistentes a antibióticos como la meticilina.¹⁰⁷

La estructura cíclica de la daptomicina, la cual contiene una cadena lateral de decanoílo, le confiere un mecanismo de acción novedoso, que involucra su inserción de la parte lipofílica en la membrana celular causando una rápida despolarización y pérdida de iones potasio, seguido por la inhibición de la síntesis de ADN, RNA y proteínas ocasionando la muerte celular^{108,109} (Figura 16).

¹⁰⁷ Lundstrom, TS.; Jack, DS. *Infect. Dis. Clin. N. Am.* **2004**, 18, 651.

¹⁰⁸ Jones, RN.; Barry, AL. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1987**, 31, 625.

¹⁰⁹ Schriever, C.; Fernández, C.; Rodvold, K.; Danzinger, L. *Am. Health Syst. Pharm.* **2005**, 62, 1145.

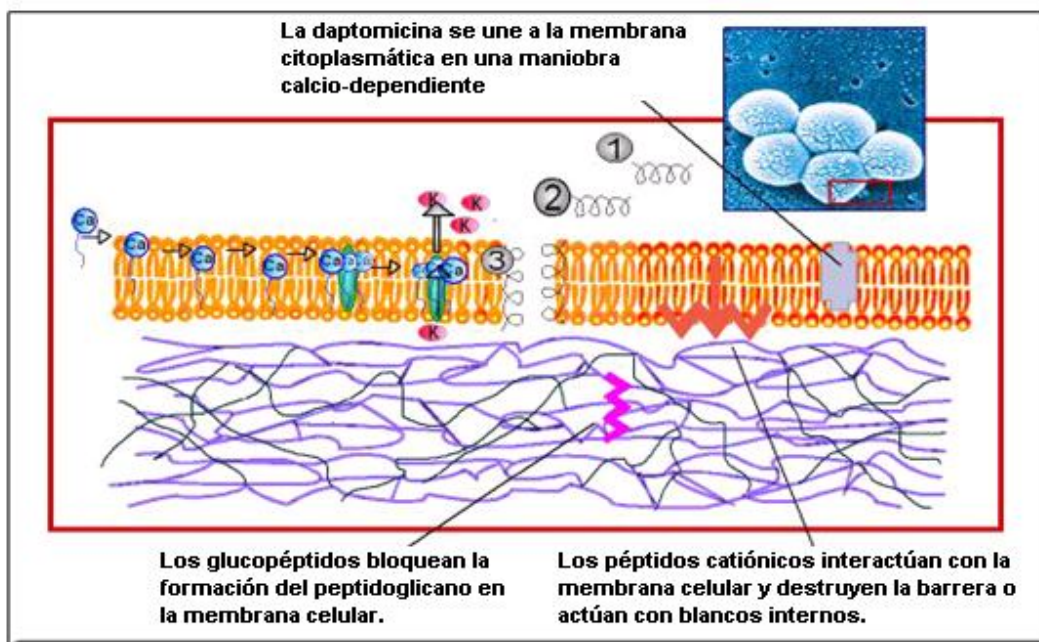


Figura 16. Mecanismo de acción de péptidos antimicrobianos.

Además, se ha establecido que el calcio juega un papel esencial en su actividad antimicrobiana y recientemente Jung¹¹⁰ *et al* establecieron mediante mediciones fluorescentes que la membrana citoplasmática de *Staphylococcus aureus* contiene fosfolípidos ácidos y neutros, en donde inicialmente los iones Ca^{+2} se unen a la daptomicina en solución y causan un cambio conformacional que incrementa la anfipaticidad y disminuye su carga, permitiendo de esta manera que la daptomicina interactúe con membranas ácidas y/o neutras. Posteriormente, los iones Ca^{+2} pueden actuar como un puente entre la daptomicina y los fosfolípidos ácidos, guiando a un segundo cambio conformacional, permitiendo que penetre más profundamente en la membrana y haya mayores alteraciones fisicoquímicas que llevan a la muerte celular (Figura 16).

2.12 Síntesis de Péptidos¹¹¹

La formación del enlace amida (conocido como enlace peptídico) entre dos aminoácidos requiere de la protección selectiva del grupo amino de uno de los aminoácidos y en el grupo carboxilo del otro aminoácido, para conseguir el péptido

¹¹⁰ Jung, D.; Rozek, A.; Okon, M.; Hancock, EW. *J. Chem. Biol.* **2004**, *11*, 949.

¹¹¹ Hughes, A. B. *Amino Acids, Peptides and Proteins in Organic Chemistry*. V 3. Wiley-VCH. Germany, 2013, 583 p.p.

proyectado en la ruta sintética. Sin estas consideraciones, ambos aminoácidos, al tener expuestos sus grupos reactivos, pueden conducir a la formación de dímeros y productos secundarios no deseados. Por tal motivo, es necesario bloquear (proteger) a los grupos que no paticiparán en la formación del enlace peptídico deseado.

Los grupos protectores ideales deben reunir las siguientes características:¹¹²

1. La introducción del grupo protector debe conducir a la formación de un derivado del aminoácido donde ya no este presente la forma zwitteriónica.
2. La introducción y remoción de los grupos protectores debe ocurrir en condiciones suaves. El grupo protector debe ser químicamente inerte a los procesos de acoplamiento entre los aminoácidos.
3. La caracterización, estabilidad y solubilidad de los aminoácidos protegidos deben ser favorables, logrando de este modo su fácil manejo y purificación.

Un grupo ortogonal, dentro de un conjunto de grupos protectores, es aquel grupo funcional que no se ve afectado por las reacciones de desprotección de los otros grupos protectores presentes en la molécula y que puede reaccionar en cualquier orden y en presencia uno de otro.

2.12.1 Protección del grupo amino

El objetivo fundamental que se debe lograr al proteger el grupo amino es el de suprimir su reactividad nucleofílica. Una gran cantidad de grupos protectores han sido desarrollados para el grupo amino, los cuales han sido utilizados en la síntesis de péptidos y proteínas (Figura 17).

¹¹² Wuts, G. M.; Greene, T. W. *Greenes's Protective Groups in Organic Synthesis*. 4a. Ed. Wiley & Sons. USA. 2007, 1082 p.p.

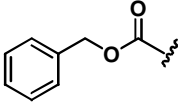

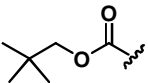
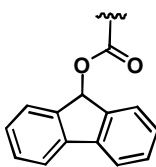
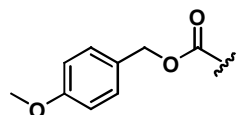
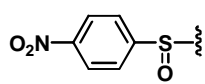
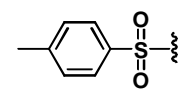
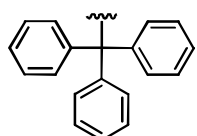
NOMBRE	ACRÓNIMO	ESTRUCTURA	REMOCIÓN
Benciloxycarbonilo	Cbz		H ₂ /Pd HBr/AcOH
Trifluoroacetilo	F ₃ Ac		TFA
<i>tert</i> -Butoxicarbonio	BOC		TFA/CH ₂ Cl ₂ HCl/Disolvente orgánico
Fluorenil-9-metoxicarbonio	Fmoc		Piperidina
4-Metoxibenciloxycarbonio	Cbz(OMe)		TFA/H ₂ /Pd
4-Nitrofenilsulfenilo	Nps		Na ₂ /Hg Na/NH ₃
Tosilo	pTs		Na/NH ₃ , Na ₂ /Hg
Trifenilmetilo o tritilo	Trt		HCl, H ₂ , Pd, Na/NH ₃ TFA 2%

Figura 17. Principales grupos protectores del grupo funcional amino.

Entre los grupos más utilizados para proteger aminas, se encuentran los del tipo alcóxicarbonilo, para generar carbamatos, como ejemplos se pueden mencionar: *tert*-butoxicarbonilo (Boc), benciloxycarbonilo (Cbz), 9-fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc), 2-(4-bifenilil)-isopropoxycarbonilo (Bpoc). Grupos del tipo carboxamida son el grupo formilo y el trifluoroacetilo. La *N*-protección también puede ser realizada con grupos del tipo sulfonamida y sulfenamida, siendo los más utilizados el grupo 1-nitrofenilsulfenil (Nps), 2- y 4-nitrobencensulfonil (oNbs y pNbs), además de grupos protectores de tipo alquílico como el trifenilmetilo o tritilo (Tr).

2.12.2 Protección del grupo carboxilo

La protección del grupo carboxilo es recomendable que los ácidos para evitar que el protón ácido no interfiera en reacciones catalizadas por bases y para aumentar la solubilidad de la molécula en los disolventes orgánicos.

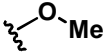
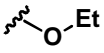
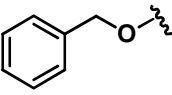
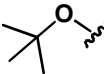
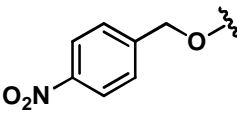
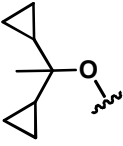
NOMBRE	ACRÓNIMO	ESTRUCTURA	REMOCIÓN
Metil	Me		Hidrólisis alcalina o enzimática
Etil	Et		Hidrólisis alcalina o enzimática
Bencil	Bn		H ₂ /Pd, HBr/AcOH, hidrólisis alcalina
<i>tert</i> -Butilo	<i>t</i> -Bu		Hidrólisis ácida (TFA)
4-Nitrobencil	NBn		H ₂ /Pd, Hidrólisis alcalina, estable a HBr/AcOH
Diciclopropilmetil	Dcpm		TFA 1%/CH ₂ Cl ₂

Figura 18. Grupos protectores más comunes del grupo carboxilo.

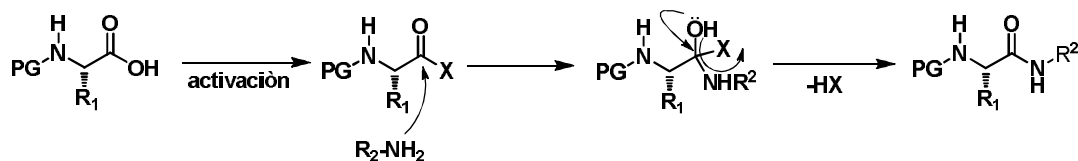
Además, el grupo protector debe también ser removido sin afectar la integridad de la molécula, por esta razón, un gran número de grupos protectores para ácidos han sido desarrollados, los cuales pueden ser removidos por una simple hidrólisis en condiciones ácidas o básicas (Figura 18).

Normalmente, el grupo carboxilo de un aminoácido es protegido como el éster metílico, etílico, bencílico o *tert*-butílico, aunque ocasionalmente se pueden utilizar los ésteres 2 y 4-nitrobencílicos. Un grupo protector relativamente nuevo, el cual fue

introducido por Carpino,¹¹³ es el grupo diciclopropilmetilo (Dcpm), el cual puede ser fácilmente removido con 1% de TFA en diclorometano, incluso en presencia de otros grupos protectores del tipo *tert*-butilo.

2.12.3 Formación del enlace peptídico: Activación y Acoplamiento¹¹⁴

Los ácidos carboxílicos ordinariamente forman sales con las aminas a temperatura ambiente y a pesar de que la transformación de estas sales en amidas es posible mediante calentamiento, estas condiciones ponen en riesgo la integridad estereoquímica de los aminoácidos involucrados, por lo que es necesaria la transformación del grupo carboxílico en un derivado que incremente su electrofilicidad (activación) para permitir el ataque nucleofílico por parte del grupo amino (Esquema 33).



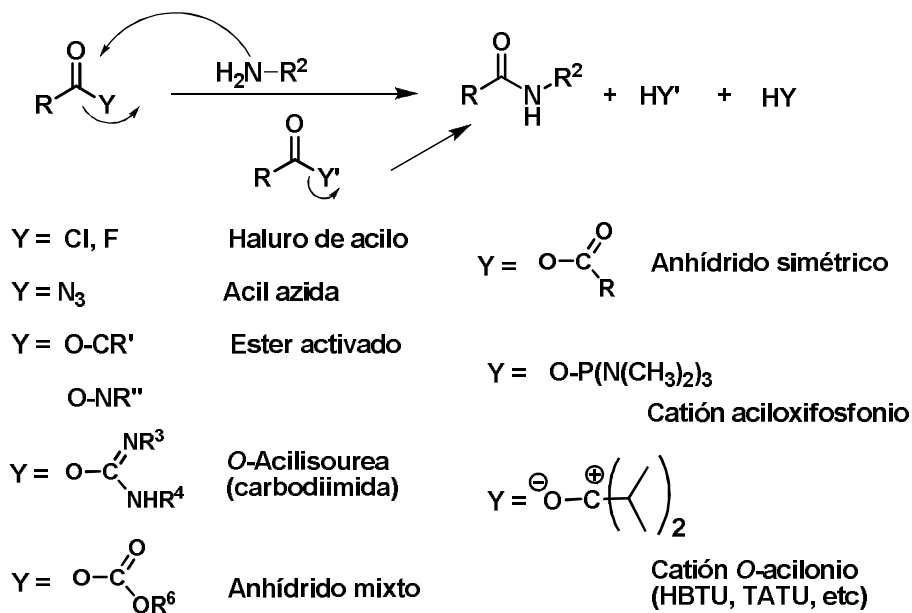
Esquema 33. Formación del enlace peptídico.

Los procedimientos utilizados para acoplar dos residuos de aminoácidos para formar un péptido son referidos como métodos de acoplamiento e involucran el ataque nucleofílico por parte del grupo amino al centro electrofílico del átomo de carbono carboxílico, que ha sido activado mediante la introducción de un grupo electroattractor Y (Esquema 34)

La activación puede ser llevada a cabo en presencia del *N*-nucleófilo o en su ausencia dependiendo de las condiciones de la reacción. La activación en la ausencia del nucleófilo es referida como una preactivación y cuando un acoplamiento es efectuado por la adición de un solo compuesto a una mezcla de dos reactivos, el compuesto es referido como un reactivo de acoplamiento y en algunos casos requiere una subsecuente desprotonación de uno de los reactivos para que se lleve a cabo la reacción. Las formas comunes activadas del grupo carboxilo se presentan en el esquema 34 en el orden del incremento de su complejidad, el cual también corresponde –con la excepción del anhídrido mixto- al orden en el cual los métodos llegan a ser disponibles.

¹¹³ Carpino, V. J. *Org. Chem.* **1995**, *60*, 7718.

¹¹⁴ Benoiton, Leon. *Chemistry of Peptide Synthesis*. 2006, Taylor & Francis, New York, 290 p.p.



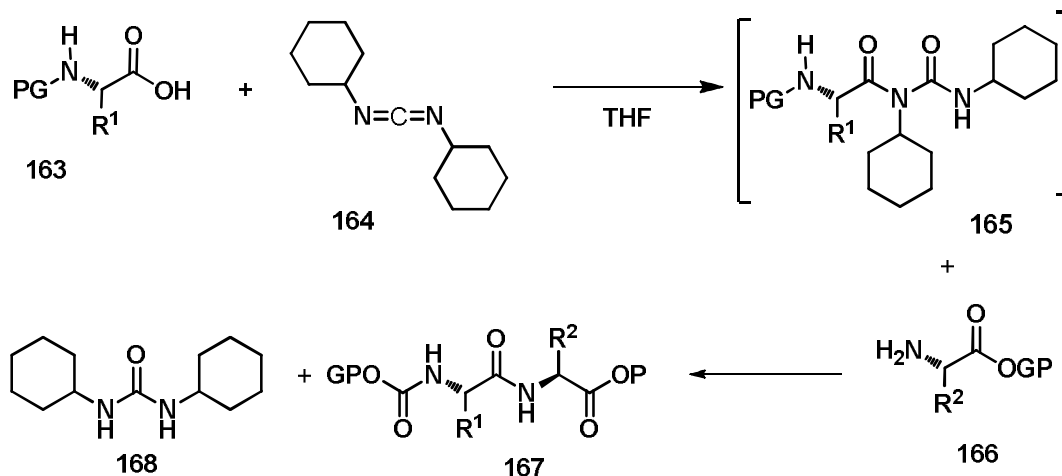
Esquema 34. Activación del grupo carboxilo.

El grupo Y puede ser un átomo de halógeno, un grupo azida o un átomo de oxígeno unido a un átomo de carbono con un enlace doble (O-C=C), un carbono catiónico (O-C⁺), un átomo de fósforo (O-P⁺), o un átomo de nitrógeno adyacente a un átomo con un enlace doble (O-NX=), que es desplazado nucleofílicamente por una amina para generar el péptido (Esquema 35).

Todos los reactivos y métodos de acoplamiento son aplicables para la formación del enlace peptídico a partir de aminoácidos *N*-protegidos, pero no todos son aplicables para el acoplamiento de péptidos, ya que la naturaleza de los sustratos varía considerablemente y no puede generalizarse la utilización de un mismo protocolo para cualquier sustrato.

El método más empleado para la formación de enlaces peptídicos es el método de la carbodiimida, utilizando la *N,N*-diciclohexilcarbodiimida (**164**), la cual contiene dos átomos de nitrógeno que son ligeramente básicos, que es suficiente para poner en funcionamiento una reacción entre la misma carbodiimida y un ácido **163**. En el curso de la reacción un abundante precipitado de *N,N*-diciclohexilurea (**168**) se separa en pocos minutos al utilizar diciclohexilcarbodiimida. El proceso de separación de los productos de reacción no es fácil, ya que la DCC es parcialmente soluble en los disolventes orgánicos utilizados en la síntesis e insoluble en soluciones acuosas y llega a convertirse en un producto contaminante en las reacciones de acoplamiento para la generación de péptidos. Por esta

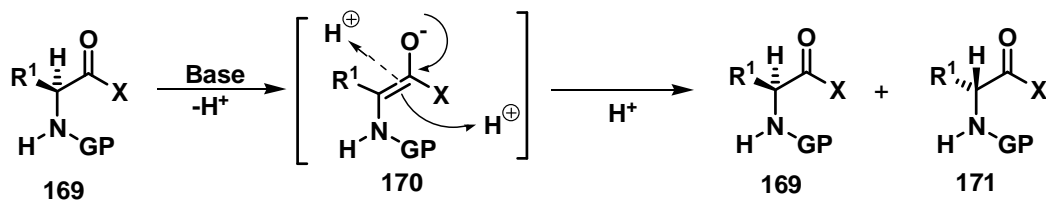
razón se introdujo el uso de carbodiimidias solubles y la correspondiente urea de estas es fácilmente eliminada del producto, simplemente lavando con ácido diluido. La dicitclohexildicarbodiimida se propuso como un reactivo de acoplamiento por Sheehan y Hess¹¹⁵ en 1955, y desde entonces se ha utilizado en la síntesis de péptidos (Esquema 35).



Esquema 35. Reacción de acoplamiento entre 2 aminoácidos.

2.12.4 Problemas en Síntesis de Péptidos

La formación de intermediarios reactivos durante el proceso de activación puede venir acompañada por reacciones secundarias que conducen a productos no deseados. Por ejemplo, la desprotonación en el carbono α en **169** lleva a la formación de enolatos del tipo **170**, que pueden ser reprotonados y formar epímeros **169**, **171**. Los grupos fuertemente electroattractores (por ejemplo cloruros) y el uso de bases fuertes no voluminosas son factores que pueden favorecer que la epimerización ocurra antes que la formación del enlace peptídico¹¹⁶ (Esquema 36).

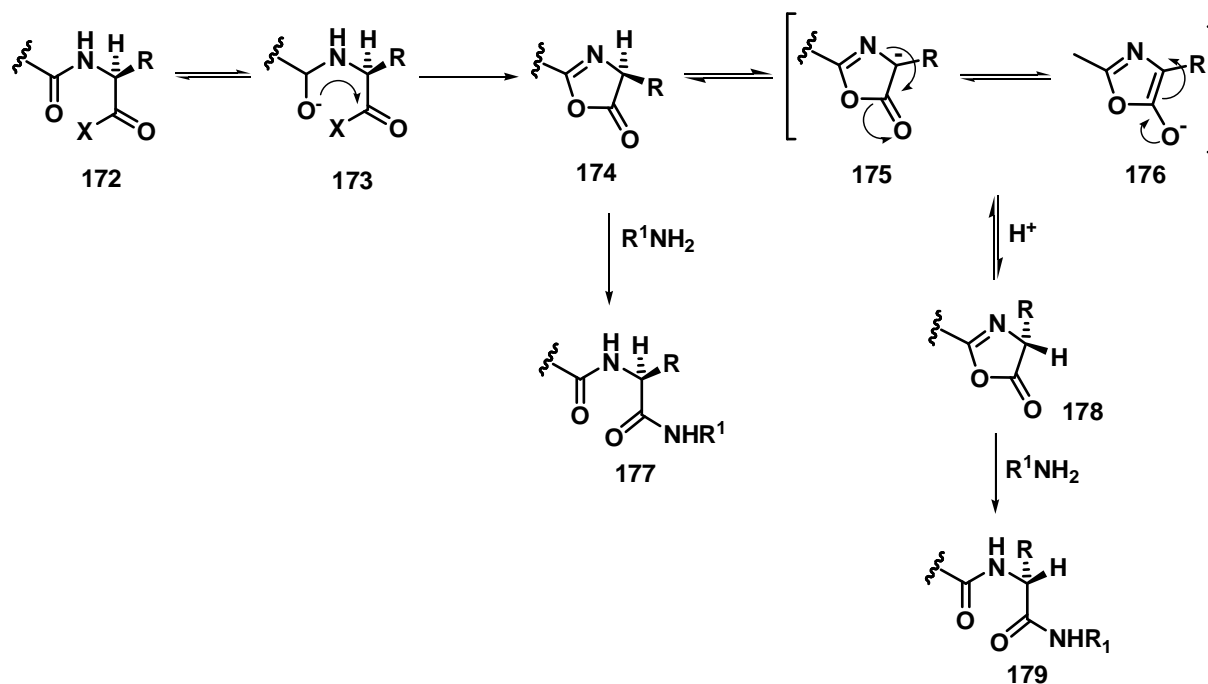


Esquema 36. Reacción de epimerización de un aminoácido activado

¹¹⁵ Sheehan, G. Hess, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 1067.

¹¹⁶ Benoiton, NL.; Chen, FM. *Can. J. Chem.* **1981**, *59*, 384.

Los acil-aminoácidos **172** activados bajo la influencia de una base, pueden sufrir ciclación para generar oxazolonas (**174**), los cuales en el medio de reacción generan el intermediario pseudoaromático **175-176**, que al reprotonarse pueden conducir a productos de epimerización **177**, **179**¹¹⁷ (Esquema 37).



Esquema 37. Epimerización vía oxazolonas.

Las oxazolonas se comportan como agentes acilantes y la formación de epímeros conducirá a productos de acoplamiento diastereoméricos, lo cual disminuye el rendimiento. Para reducir la epimerización que se presenta en la activación de acil- α -aminoácidos, Kônig y Geiger^{118,119}, encontraron que el 1-hidroxi-1H-benzotriazol (HOBt, **180**), la 3-hidroxi-4-oxo-3,4-dihidro-1,2,3-benzotriazina (HODhbt, **181**) y 7-aza-1-hidroxi-1H-benzotriazol (HOAt, **182**)¹²⁰ son aditivos eficaces que reaccionan con la O-acilurea, formando ésteres activos los cuales reaccionan rápidamente con el componente amino y la epimerización es reducida considerablemente (Figura 19).

¹¹⁷ Jones, J. H.; Witty, M: J. *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1* **1979**, 3203.

¹¹⁸ Kônig, W.; Geiger, R. *Chem. Ber.* **1970**, 103, 788.

¹¹⁹ Kônig, W. Geiger, R. *Chem. Ber.* **1970**, 103, 2034.

¹²⁰ Sureshbabu, V.; Chennakrishnaireddy, G. *Indian J. Chem.* **2009**, 48B, 981.

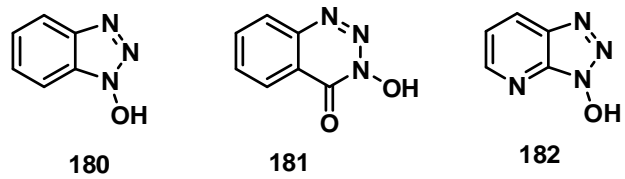


Figura 19. Reactivos para prevenir la epimerización.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Como resultado de la resistencia a muchos antibióticos desarrollada por un número creciente de bacterias, se requiere la búsqueda de compuestos nuevos que tengan la propiedad de inhibir el crecimiento bacteriano con mecanismos de acción diferentes a los antibióticos actualmente disponibles.

La modificación estructural de un compuesto bioactivo puede tener repercusiones importantes en sus propiedades fisicoquímicas y cambios en su actividad que pueden ir desde la potenciación hasta la desaparición total de la misma y en algunos casos es posible la aparición de propiedades biológicas diferentes.

En el presente estudio se pretende llevar a cabo la síntesis de péptidos de cadena corta, análogos a la radiosumina **142** y lipopéptidos de cadena corta derivados de la secuencia de aminoácidos de la daptomicina **162**, mediante técnicas de acoplamiento de péptidos convencionales en disolución.

La estrategia de síntesis para los análogos alifático **183** y aromático **184** de la radiosumina **142**, consistirá en un cambio de posición de los enlaces dobles para obtener dipéptidos α,β -insaturados o reducidos cuando se utilizan deshidroaminoácidos (Figura 20).

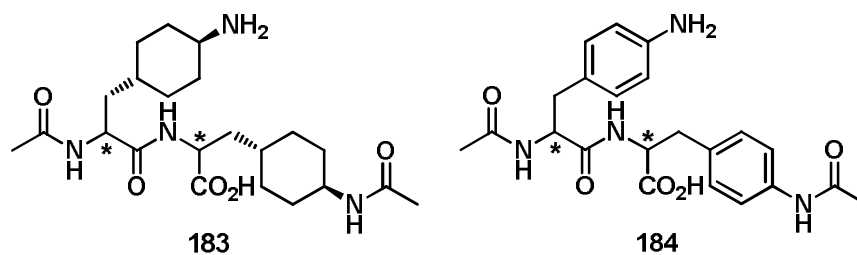
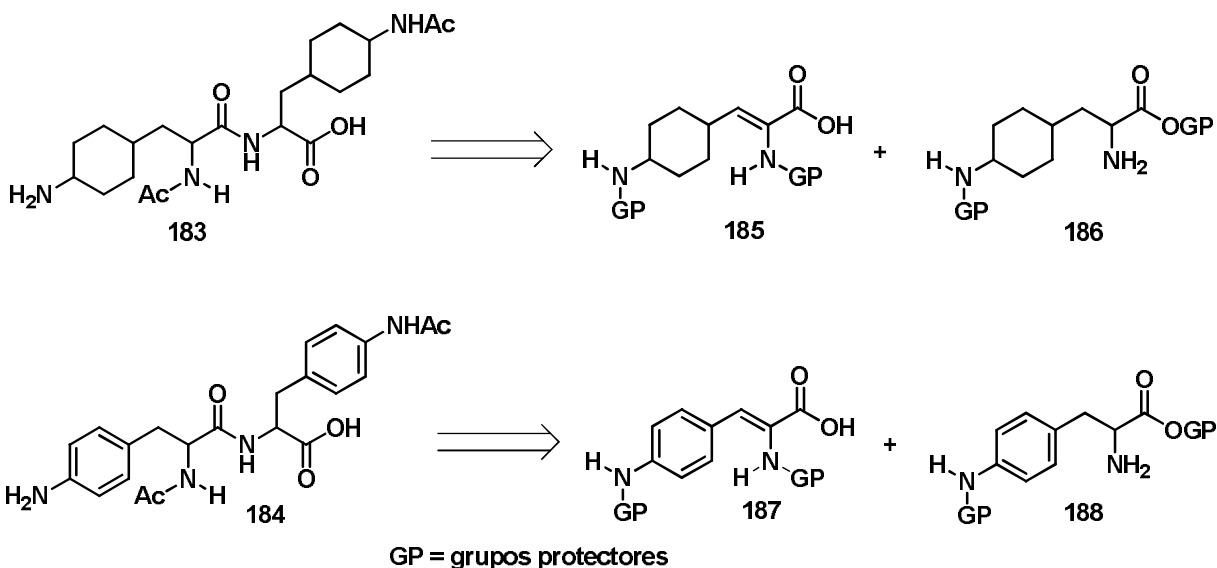


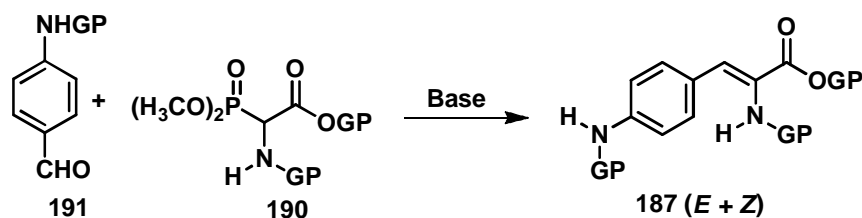
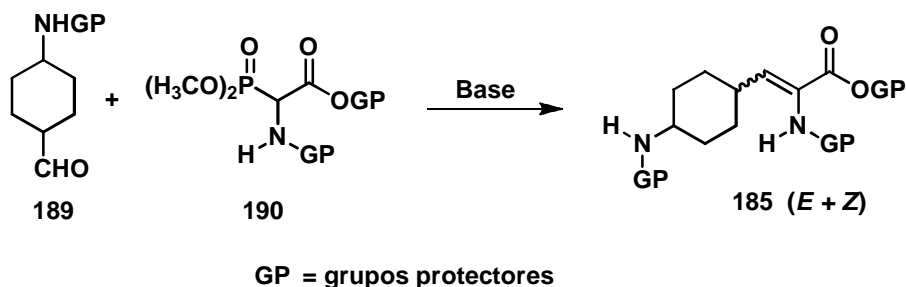
Figura 20. Análogos de la Radiosumina.

De acuerdo a la estrategia de síntesis, los análogos de la radiosumina pueden ser obtenidos a partir del acoplamiento de los respectivos aminoácidos, mostrados en el esquema 38, utilizando técnicas convencionales de síntesis de péptidos.



Esquema 38. Retrosíntesis: formación de análogos de la Radiosumina.

La estrategia general para la preparación de los aminoácidos α,β -insaturados **185** y/o **187** consistirá en la reacción entre el correspondiente aldehído **189** y/o **191** y el fosfonato de dimetilo **190** (Reacción de Horner-Wadsworth-Emmons, Esquema 39).¹²¹

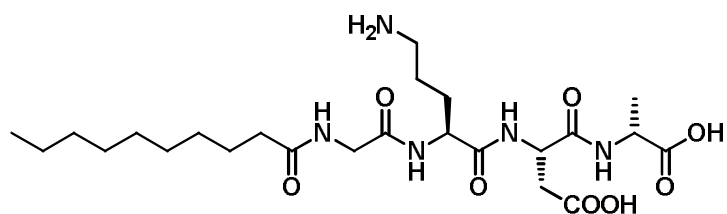


Esquema 39. Retrosíntesis: Preparación de aminoácidos α,β -insaturados.

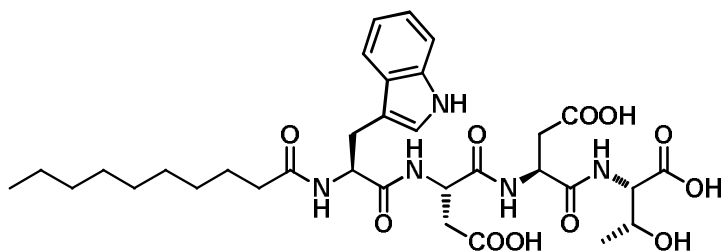
Por otro lado, para la síntesis de lipopéptidos, se planteó la preparación de 3 lipopéptidos de cadena corta: *N*-decanoíl-Gly-Orn-Asp-D-Ala (**192**), *N*-decanoíl-Trp-Asp-Asp-Thr (**193**) y *N*-decanoíl-Kyn-3-Me-Glu-D-Ser-Gly-Asp (**194**) en los cuales la cadena

¹²¹ Schmidt, U.; Leitenberger, V. *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* **1989**, 28, 929.

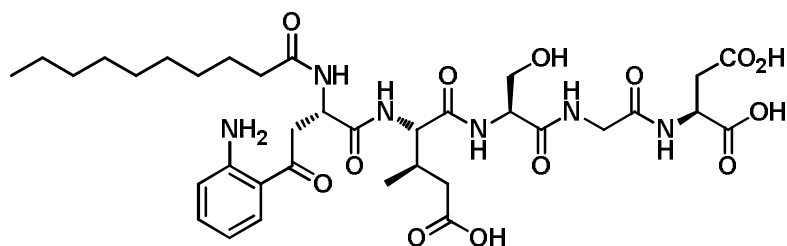
lipofílica estará enlazada en el amino terminal y la secuencia de los aminoácidos está estrechamente relacionada con la molécula de Daptomicina **162** (Figura 21).



N-Decanoil-Gly-Orn-Asp-D-Ala-OH (192)



N-Decanoil-Trp-Asp-Asp-Thr-OH (193)



N-Decanoil-Kyn-3-Me-Glu-D-Ser-Gly-Asp-OH (194)

Figura 21. Lipopéptidos derivados de la daptomicina.

Los lipopéptidos lineales de cadena corta se prepararán por una metodología convencional de síntesis de péptidos en disolución. Ésta se basa en el uso de reactivos de acoplamiento y esquemas de protección específicos para los grupos funcionales de los diversos aminoácidos, lo cual permitirá la preparación de péptidos que contienen secuencias de aminoácidos complejas y con impedimento estérico pronunciado.

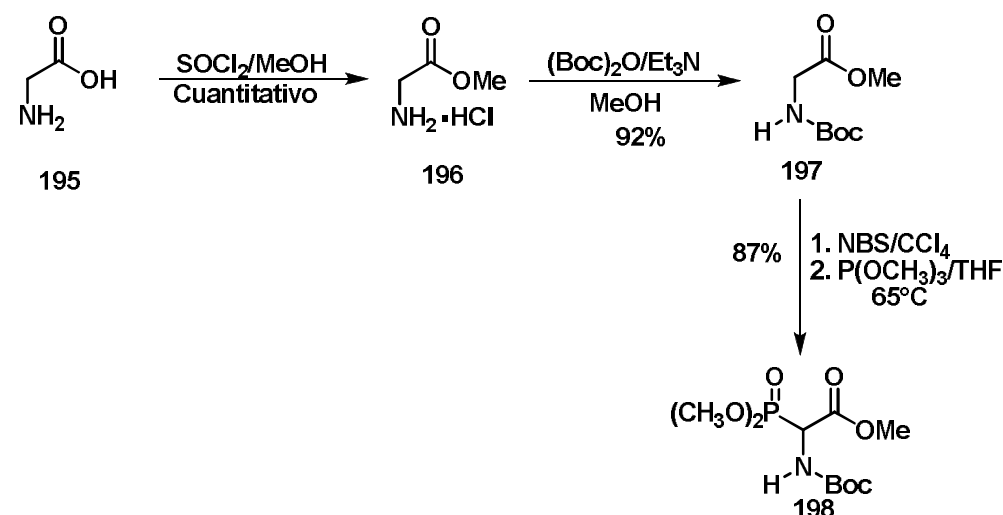
4. OBJETIVOS

- a.** Llevar a cabo la síntesis de análogos estructurales de la radiosumina de tipo alifático y aromático y alterando además la posición de los enlaces dobles presentes.
- b.** Preparación de lipopéptidos de cadena corta análogos a la daptomicina.
- c.** Protección selectiva de cadenas laterales de α -aminoácidos.
- d.** Caracterización estructural de cada uno de los productos obtenidos.

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Síntesis de Análogos de la Radiosumina

La primera parte de la síntesis consistió en la obtención de los correspondientes fosfonatos **198** y **203**. El compuesto **198** se preparó mediante la protección de la glicina (**195**), en su forma del éster metílico de la *N*-Boc-glicina (**197**), seguido de la protección del grupo amino para producir *N*-Boc-Gly-OMe (**197**) y de la bromación sobre el C- α con el empleo de NBS. El producto bromado no fue aislado, y se trató directamente con fosfito de trimetilo para conducir al fosfonato (**198**), como un sólido blanco con un rendimiento del 87% (Esquema 40).

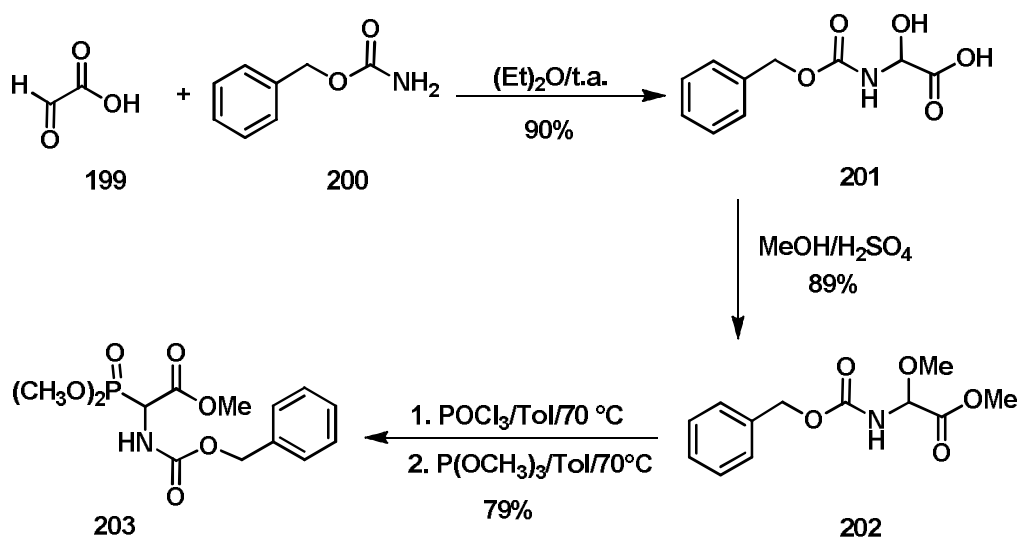


Esquema 40. Preparación del fosfonato derivado de la glicina.

Para la preparación del fosfonato **203**, en un primer intento se siguió el mismo procedimiento que para **198**, pero el rendimiento fue menor al 35%, por lo que se decidió optar por la metodología descrita por Zoller e Ishai.¹²² El fosfonato **203** se obtuvo a partir de la reacción entre el ácido glioxílico (**199**) y el carbamato (**200**). El derivado ácido **201** así obtenido, se trató con metanol en medio ácido y el éster metílico **202** obtenido se transformó en el derivado halogenado con oxiclورو de fósforo, el cual sin aislarse se hizo reaccionar con fosfito de trimetilo para producir el correspondiente fosfonato **203**.¹²³ El producto final se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 79% (Esquema 41).

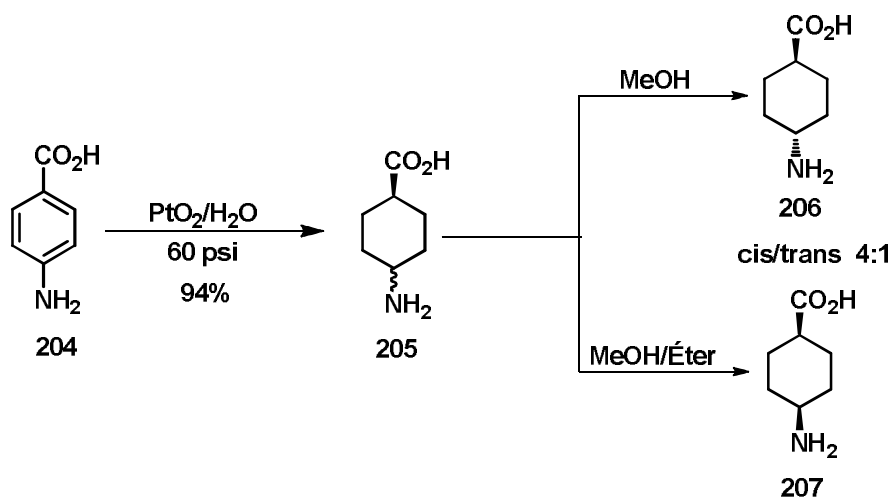
¹²² Zoller, U.; Ben-Ishai, D. *Tetrahedron* **1975**, 31, 863.

¹²³ Schmidt, U.; Lieberknecht, A.; Wild, J. *Synthesis* **1984**, 53.



Esquema 41. Síntesis del fosfonato derivado de la *N*-Cbz glicina.

La preparación del aldehído **211** se inició con la hidrogenación del ácido *p*-aminobenzóico (**204**) en presencia de óxido de platino a 60 psi de presión. El producto de la reacción consistió en una mezcla de isómeros *trans* **206** y *cis* **207**, los cuales se purificaron por cristalización fraccionada¹²⁴ (Esquema 42).

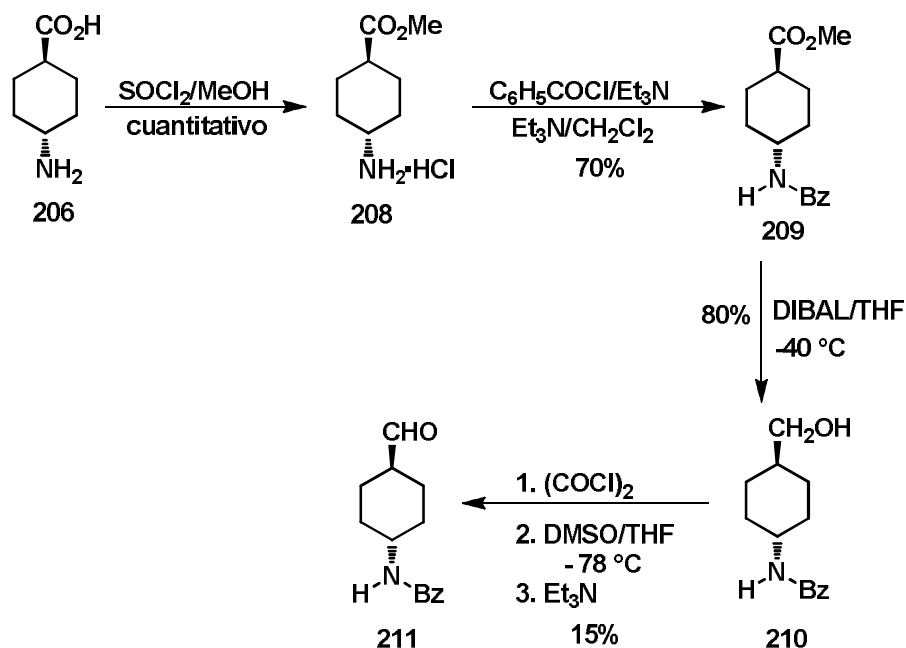


Esquema 42. Hidrogenación catalítica del ácido *p*-aminobenzoico.

El ácido *trans*-4-aminociclohexancarboxílico (**206**) se transformó a la benzamida **209** derivada del éster metílico **208**. Los primeros intentos para obtener el aldehído mediante la

¹²⁴ Skaric, V.; Kovaceic, M.; Skaric, D. *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1* **1976**, 1199.

reducción del éster metílico con DIBAL fracasaron, obteniéndose el alcohol correspondiente **210** y trazas del aldehído **211**. La oxidación del alcohol bajo las condiciones de Swern¹²⁵ tampoco fue efectiva para la obtención del aldehído, ya que sólo se obtuvo en 15% de rendimiento (Esquema 43).



Esquema 43. Síntesis del *trans* ciclohexancarbaldehído.

Por lo tanto, se intentó obtener el aldehído por la reducción de la correspondiente amida de Weinreb, ya que este tipo de compuestos son reducidos de forma eficiente al derivado carbonílico correspondiente con bajo riesgo de reducciones posteriores cuando se emplean hidruros o compuestos organometálicos.¹²⁶

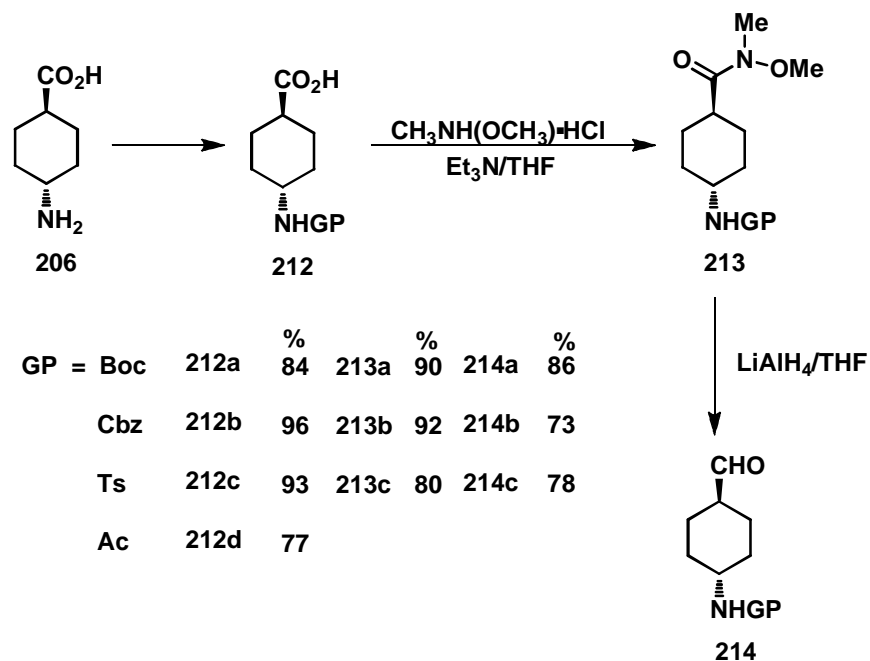
La secuencia sintética implicó primeramente la preparación del compuesto **212**, en donde el grupo amino está convenientemente protegido. Se utilizaron 4 diferentes grupos protectores para la protección del grupo amino del aminoácido **206**, con el propósito de conocer cuál podría funcionar mejor como grupo protector ortogonal. Las amidas de Weinreb¹²⁷ **213a-c** se obtuvieron mediante la formación de un anhídrido mixto, el cual no se aisló, sino que fue desplazado nucleofílicamente con la metoximetilhidroxilamina. Finalmente, el aldehído **214** se obtuvo por reducción de la amida de Weinreb con LiAlH_4

¹²⁵ Boger, D. A.; Jacobson, R. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 2115.

¹²⁶ De Luca, L.; Giacomelli, G.; Taddei, M. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 2534.

¹²⁷ Weinreb, S. M. *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 3815.

(Esquema 44). Los ácidos **212a-d** se prepararon sin problemas, pero no se pudo formar la amida de Weinreb **213d**, obteniéndose en su lugar una serie de productos que no fueron identificados. Éste problema se presentó a pesar de intentar diversas formas de activación del ácido carboxílico **212d**.



Esquema 44. Obtención de *trans* aminocarbonyl.

El análisis espectroscópico de RMN¹H de las amidas de Weinreb preparadas, muestra las señales características de los dos metilos, los cuales se observan como singuletes entre 3.0-3.5 ppm (Figura 22). El espectro de RMN¹H del *trans* 4-(*N,N*-metoxi(metil)carbonil)ciclohexilcarbamato de *t*-butilo (**213a**), muestra tres singuletes a 1.47, 3.20 y 3.72 ppm, que corresponden a los metilos del grupo Boc y a los 2 metilos de la amida de Weinreb. Los protones metilénicos del anillo del ciclohexano se observan como 2 cuartetos a campo alto (1.10 a 1.70 ppm), junto con dos multipletes en 1.88 y 2.14 ppm; mientras que los protones de los carbonos trisustituídos aparecen como multipletes más desplazados a menor campo debido su vecindad con el grupo amino (2.64 ppm) y con el grupo carboxilo de la amida (3.45 ppm).

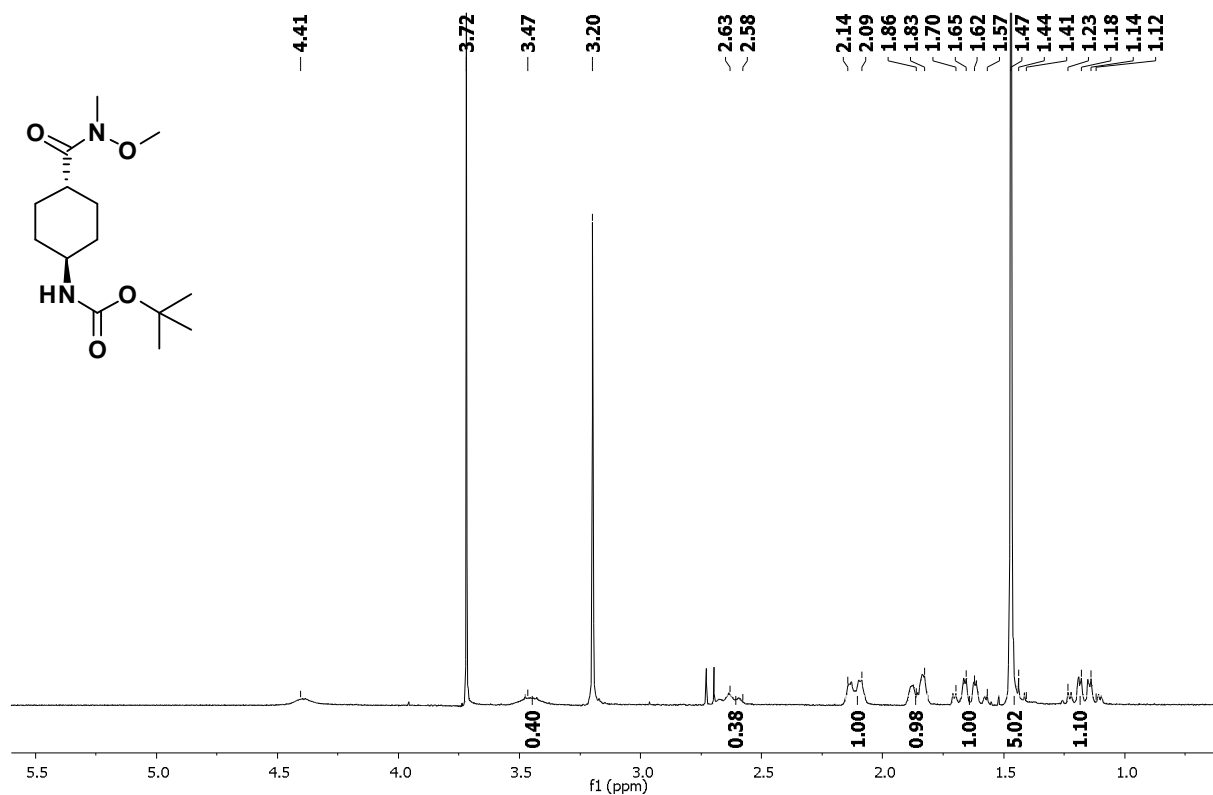


Figura 22. Espectro de RMN¹H del producto **213a**.

Los aldehidos preparados muestran en los espectros correspondientes de RMN¹H el singulete del protón del aldehído cerca de 9.0 ppm, desapareciendo las señales de los metilos de la amida de Weinreb y en RMN¹³C se puede apreciar la señal del carbonilo a más de 200 ppm. (Figura 23 y 24). En el espectro de RMN¹H para el compuesto **214a** se observa el singulete del protón del aldehído en 9.62 ppm, la señal correspondiente al grupo Boc y la de los protones del anillo de ciclohexano se localizan a campo bajo entre 1.10 y 2.13 ppm. En RMN¹³C se observa la señal del carbonilo a 204 ppm y a campo alto los carbonos del anillo del ciclohexano, así como los metilos del grupo *tert*-butilo y la señal del carbono cuaternario a 28.5 y 79.6 ppm respectivamente.

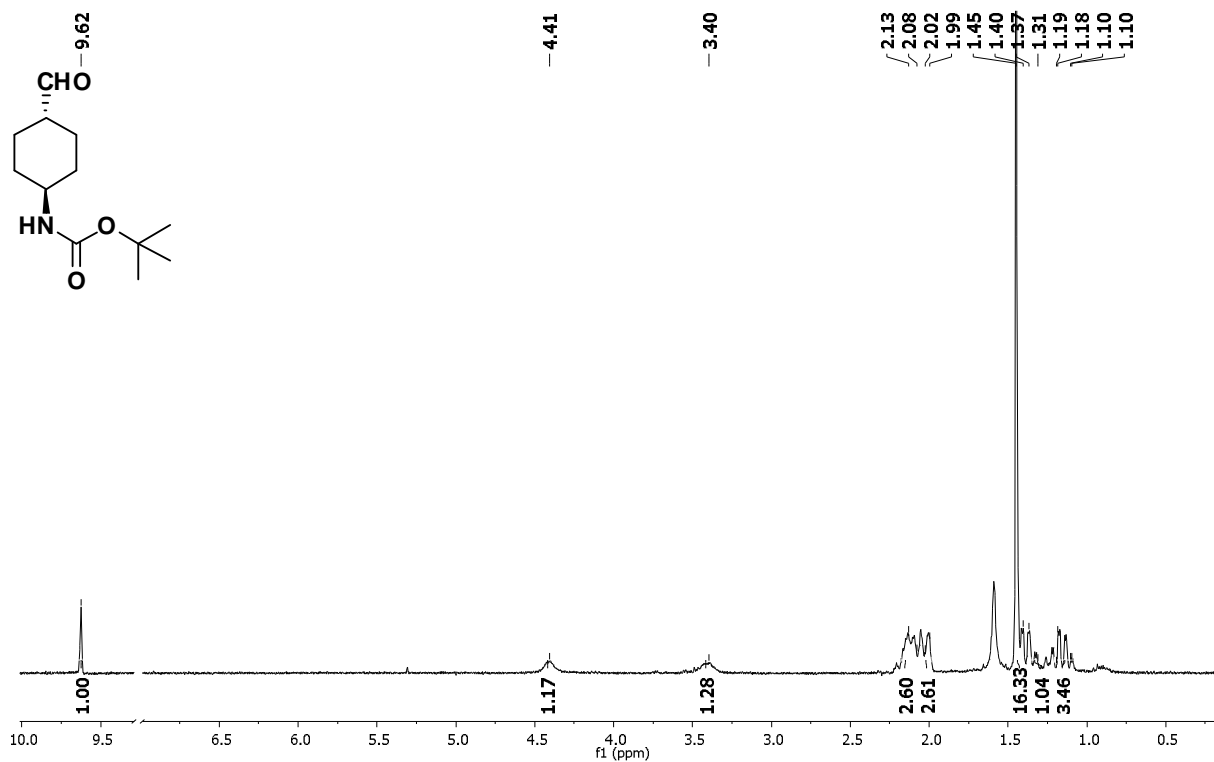


Figura 23. Espectro de RMN¹H del aldehído 214a.

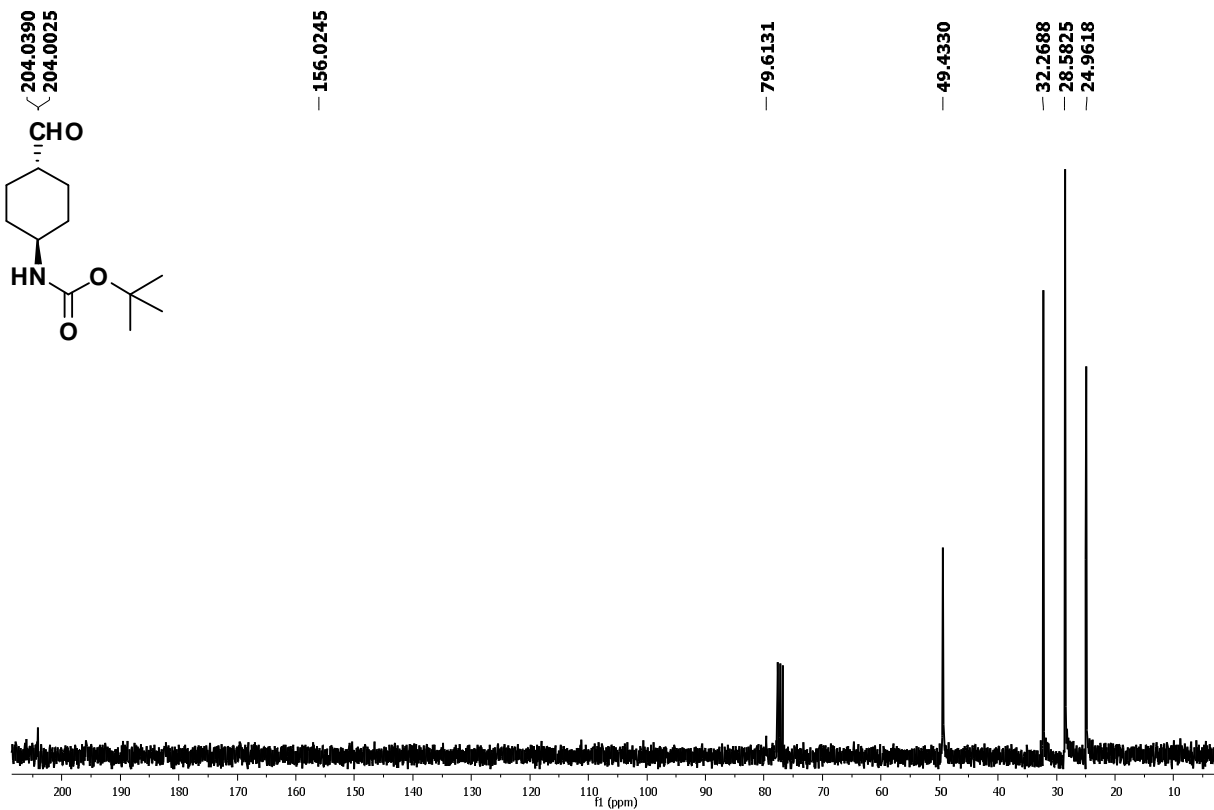
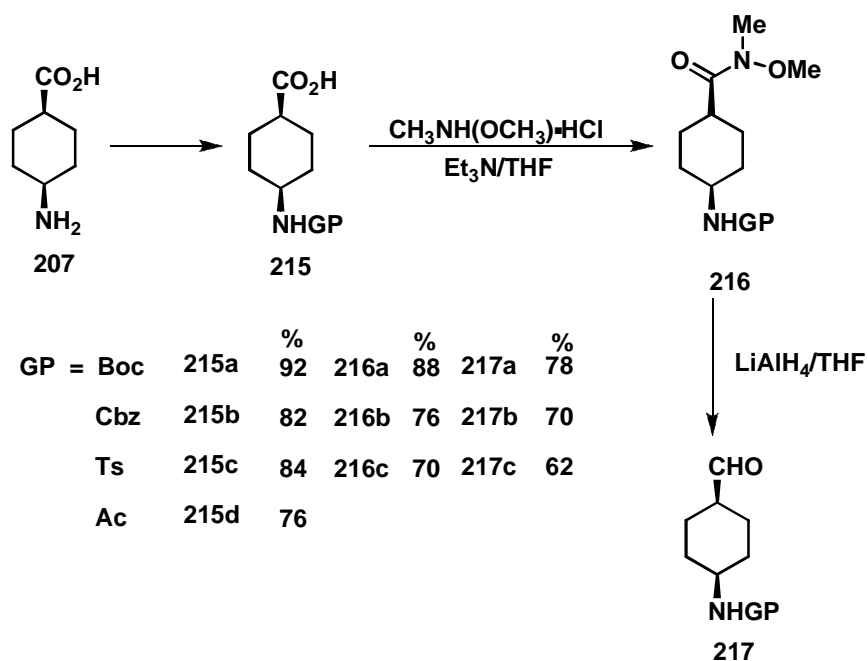


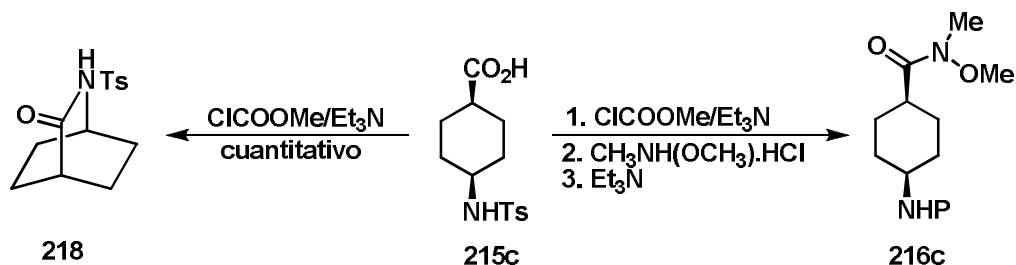
Figura 24. Espectro de RMN¹³C del aldehído 214a.

El mismo procedimiento se aplicó para obtener los aldehídos **217a-c** derivados del *cis* aminoácido **207** (Esquema 45).



Esquema 45. Síntesis de *cis* ciclohexancarbaldehídos.

En un primer intento para la preparación del derivado **216c** bajo las condiciones de reacción empleadas para el isómero *trans*, **216c** no pudo obtenerse, ya que el producto que se aisló cuando el residuo de la reacción se purificó por cromatografía en columna fue la correspondiente isoquinuclidona **218** (Esquema 46).



Esquema 46. Obtención de la isoquinuclidona **218**.

Como puede verse en el esquema 44, la disposición de los sustituyentes en el compuesto *cis*-**216c** favorece que se lleve a cabo la reacción de ciclación durante la formación del anhidrido mixto. Este problema fue resuelto convenientemente al modificar el

orden de adición de los reactivos para la formación de la amida de Weinreb; cuando todos los reactivos fueron mezclados juntos, el producto **216c** fue aislado con rendimientos del 70%. Con los diferentes derivados **216a** ó **216b** este problema no se presentó, lo que hace suponer que el nitrógeno de la sulfonamida está más activo nucleofílicamente que cuando está enlazado a un grupo carbamoilo, para desplazar al anhídrido y llevar a cabo la reacción intramolecular, debido a la mayor acidez del átomo de hidrógeno unido al nitrógeno.

La caracterización espectroscópica de los productos *cis* muestra las señales de la amida de Weinreb, entre 3 y 4 ppm. El espectro de RMN¹H de la amida de Weinreb **216c** muestra los singuletes de los metilos de la amida sustituida en 3.20 y 3.67 ppm. Además, se observan las señales del grupo protector en 2.42 ppm para el singulete del metilo aromático, así como en campo bajo dos dobletes con un valor de la constante de acoplamiento de 9.0 Hz correspondiente a los protones del anillo de benceno *p*-sustituido. Los protones del anillo de ciclohexano se observan a campo alto entre 1.47 y 1.96 como multipletes (Figura 25).



Figura 25. Espectro RMN¹H amida de Weinreb **216c**.

Para el correspondiente aldehído **217c** se observa en RMN¹H un singlete en 9.3 ppm y la desaparición de las señales de los metilos de la amida de Weinreb (Figura 26).

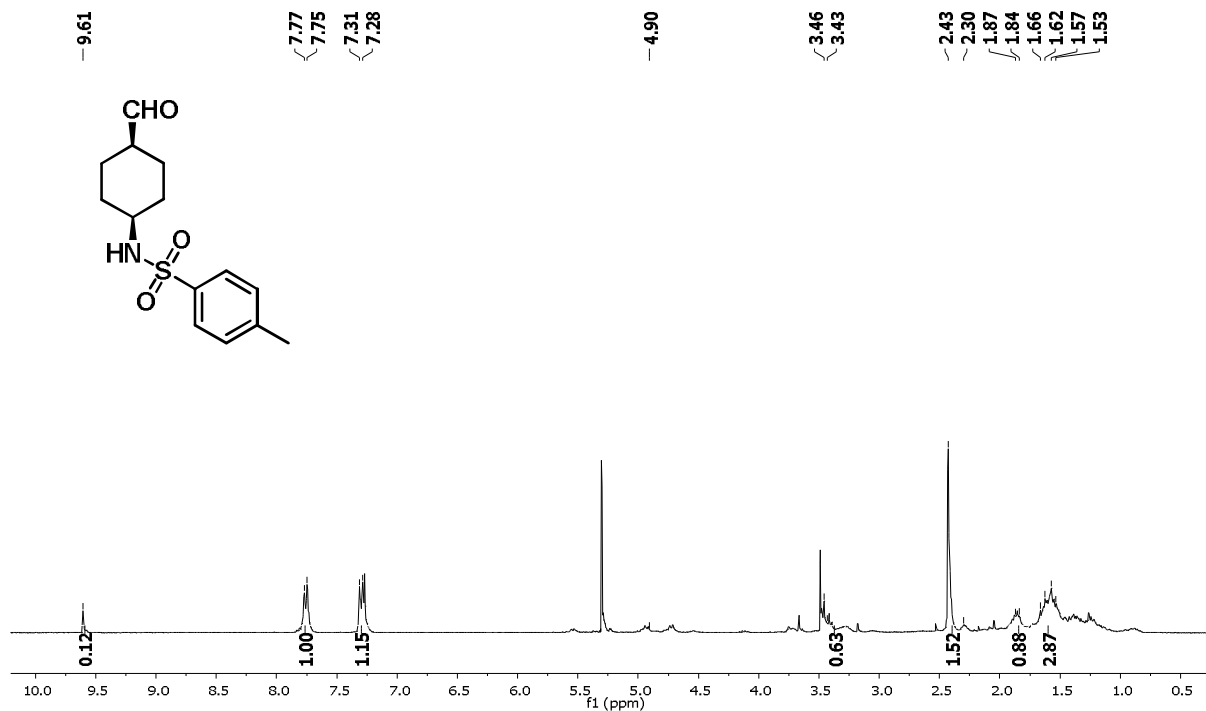


Figura 26. Espectro de RMN¹H del aldehído **217c**.

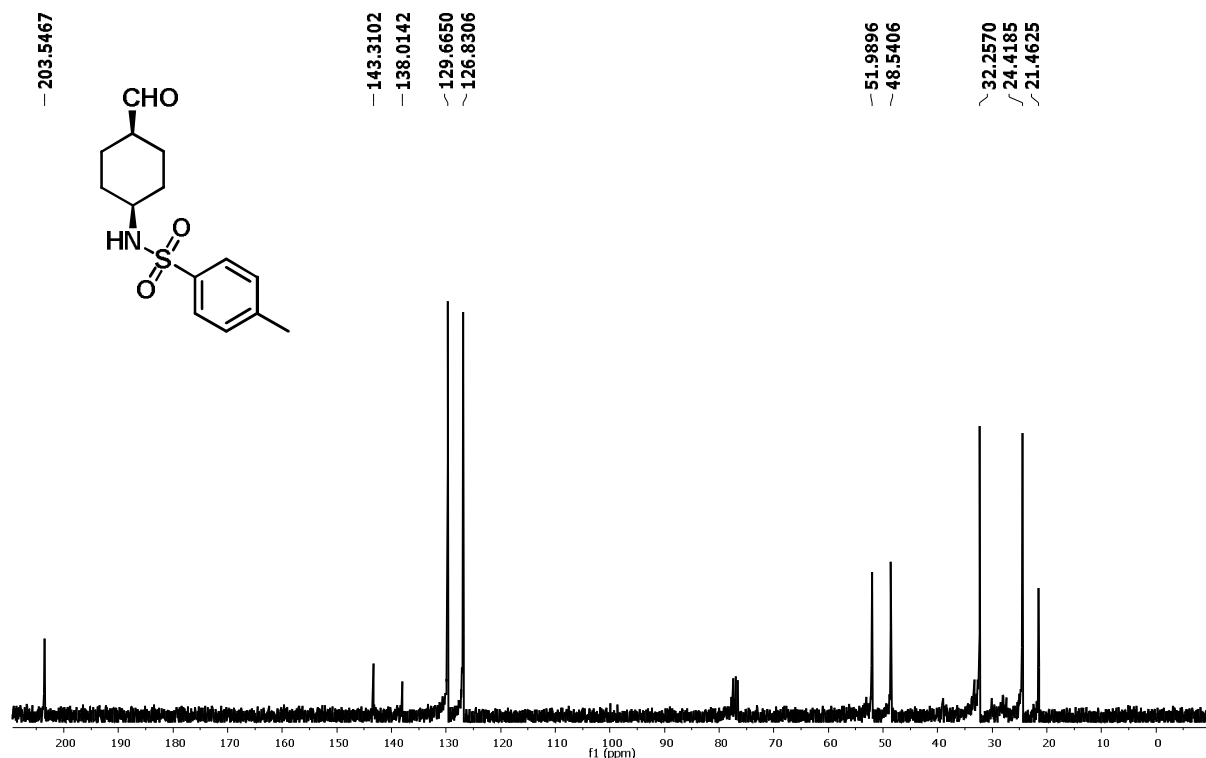
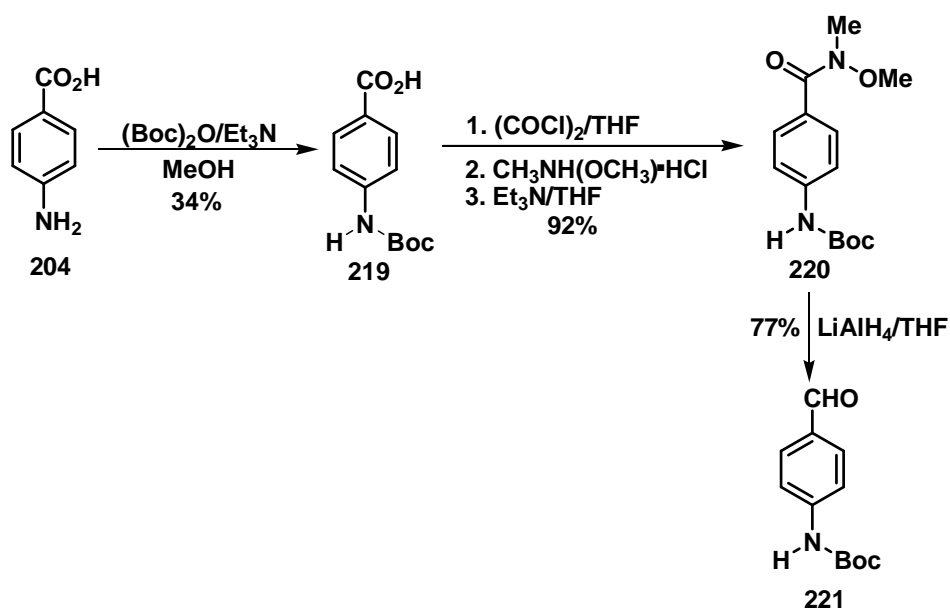


Figura 27. Espectro de RMN¹³C del aldehído **217c**.

En el espectro de RMN¹³C se observan las señales de los carbonos aromáticos en 126 y 129 ppm y en 203 ppm la señal del carbonilo, los carbonos del anillo de ciclohexano se localizan a campo alto entre 21 y 51 ppm (Figura 27).

Para la obtención del aldehído aromático **221** se siguió una metodología similar a la descrita para la preparación de los aldehídos alifáticos. El ácido **219** es obtenido en bajos rendimientos debido a la baja nucleofilicidad de la amina aromática. La única variante se dió en la preparación de la amida de Weinreb **220**, ya que con el uso del cloroformiato de metilo el rendimiento resultó ser menor del 30%, por lo que se utilizó el cloruro de oxalilo para activar el ácido carboxílico como su correspondiente cloruro de ácido. Se tuvo el cuidado de trabajar la reacción inmediatamente una vez que cesó la producción de gas (CO y CO₂) para eliminar las trazas de HCl generadas en el medio de reacción y evitar que el grupo Boc se pudiera hidrolizar. De esta manera el producto se obtuvo con un rendimiento mayor al 90%. (Esquema 47).



Esquema 47. Preparación del aldehído aromático **221**.

El espectro de RMN¹H para el compuesto **221** muestra las señales típicas de protones aromáticos del anillo de benceno *p*-sustituido como dos señales dobles cuya constante de acoplamiento tiene un valor de 9.0 Hz y en 9.90 ppm se observa el singulete del protón del aldehído (Figura 28). En el espectro de RMN¹³C, se aprecian las señales de todos los carbonos del compuesto **221** y la señal del carbonilo en 191 ppm (Figura 29)

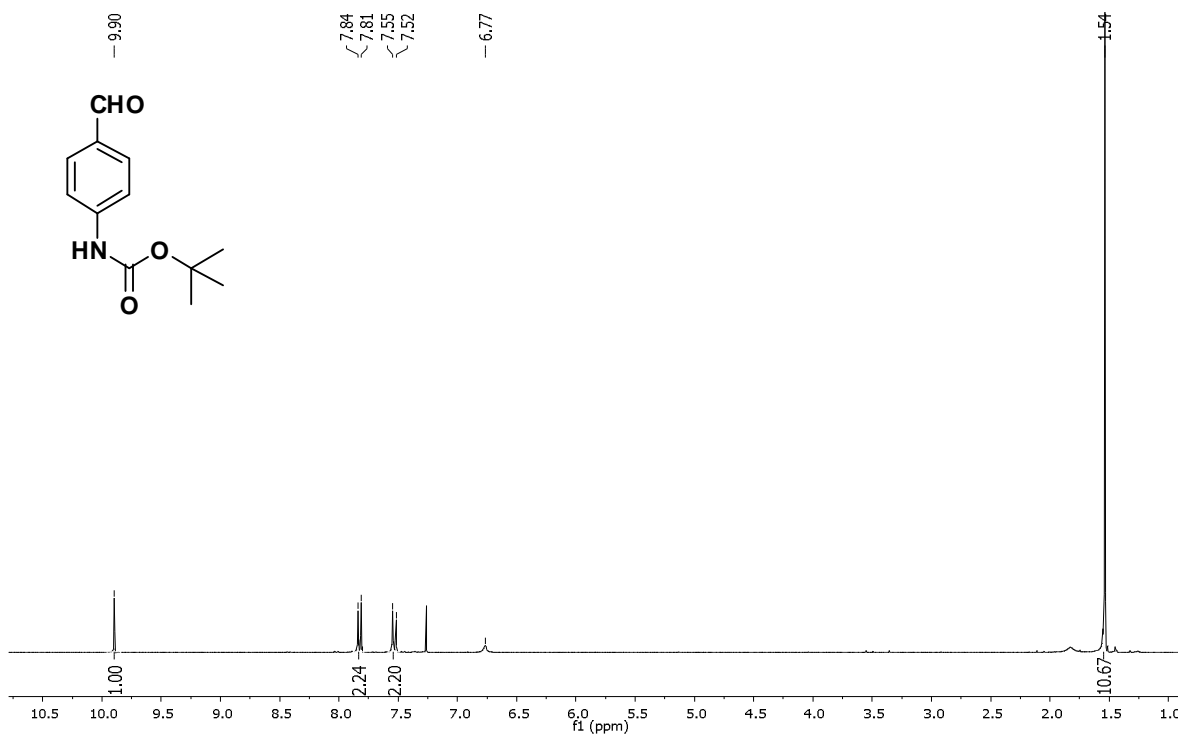


Figura 28. Espectro de RMN¹H del aldehído 221.

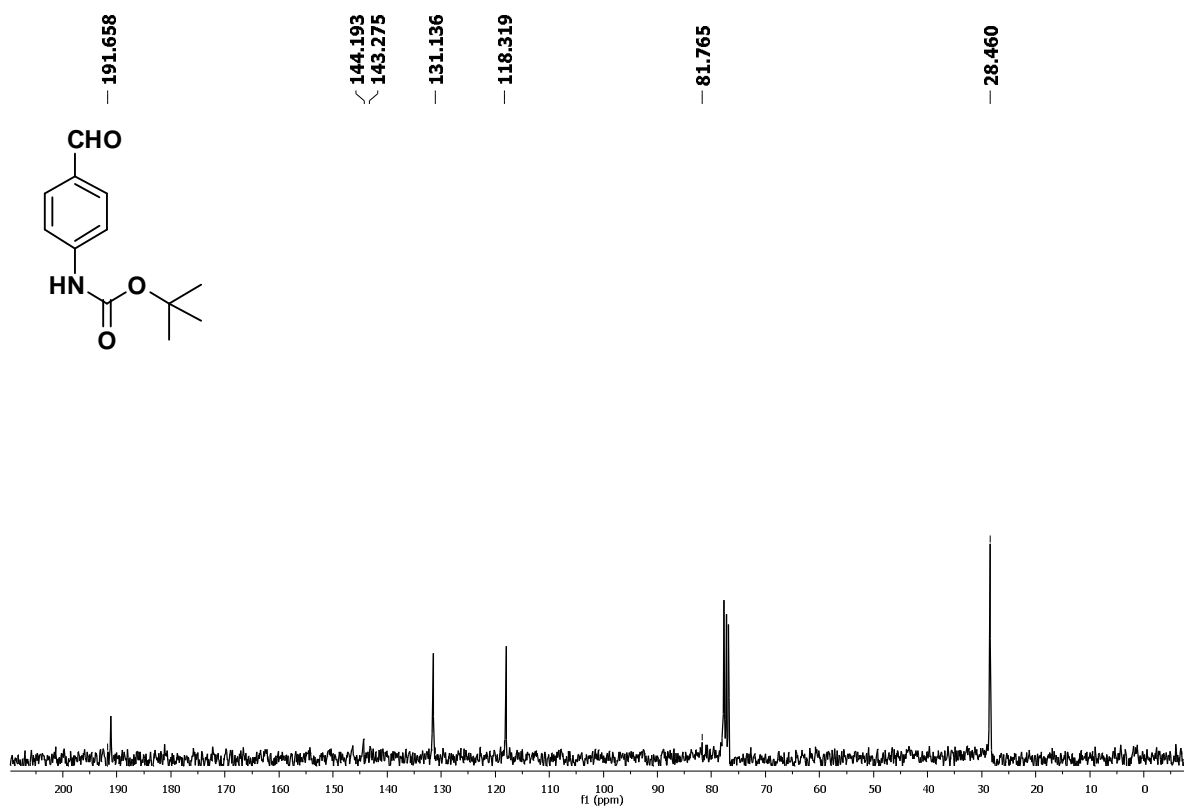
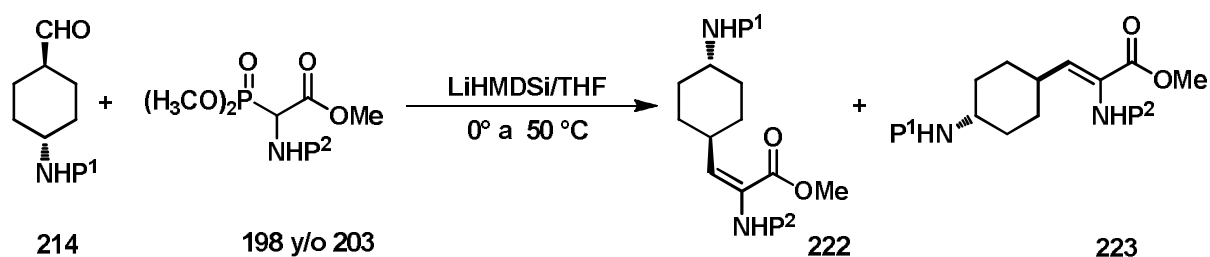


Figura 29. Espectro de RMN¹³C del aldehído 221.

La reacción de Horner-Wadsworth-Emmons, que es una modificación de la reacción de Wittig,¹²⁸ sirvió para la obtención de los deshidroaminoácidos correspondientes. Después de algunos intentos para obtener los mejores resultados y con el empleo de hexametildisilazuro de litio (LiHMDSi) como base para generar el carbanión, se logró llevar a cabo la reacción entre el aldehído **214** y los fosfonatos **198** y/o **203** para generar el aminoácido α,β -insaturado (Esquema 48).



P ¹	P ²	%	(E:Z)
Boc	Cbz	86	222a:223a (1:4)
Cbz	Boc	76	222b:223b (1:2)
Ts	Boc	81	222c:223c (1:2)

Esquema 48. Síntesis de aminoácidos α,β -insaturados.

Si la reacción se mantiene a temperatura ambiente, el derivado insaturado no se genera, por lo que se debe aumentar la temperatura de reacción para que el fosfetano intermediario pueda eliminarse y generar el correspondiente alqueno. Los isómeros geométricos de los aminoácidos α,β -insaturados **222** y **223** fueron purificados y el rendimiento de la reacción es descrito como la mezcla total de ambos isómeros. En este caso, no afectó en los objetivos del trabajo la obtención de la mezcla de isómeros ya que el enlace doble se hidrogenaría cuando se acondicionan los aminoácidos para su acoplamiento en reacciones posteriores.

El espectro de RMN¹H del aminoácido **223a** muestra la presencia de las señales de los grupos protectores ortogonales de los 2 sustratos implicados en la reacción de condensación, en 1.44, 3.73, 5.14 y 7.35 ppm se identifican los protones del grupo *t*-butilo, del éster metílico y del benciloxi. Además, en 6.44 ppm aparece un doblete correspondiente al protón vinílico con una constante de acoplamiento de 9 Hz, que

¹²⁸ Wadsworth, S.; Emmons, W. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *83*, 1733.

identifica al isómero *Z* de la mezcla de aminoácidos insaturados (Figura 30). En el isómero *E* el protón vinílico aparece como un singlete ancho a 6.75 ppm (Figura 31).

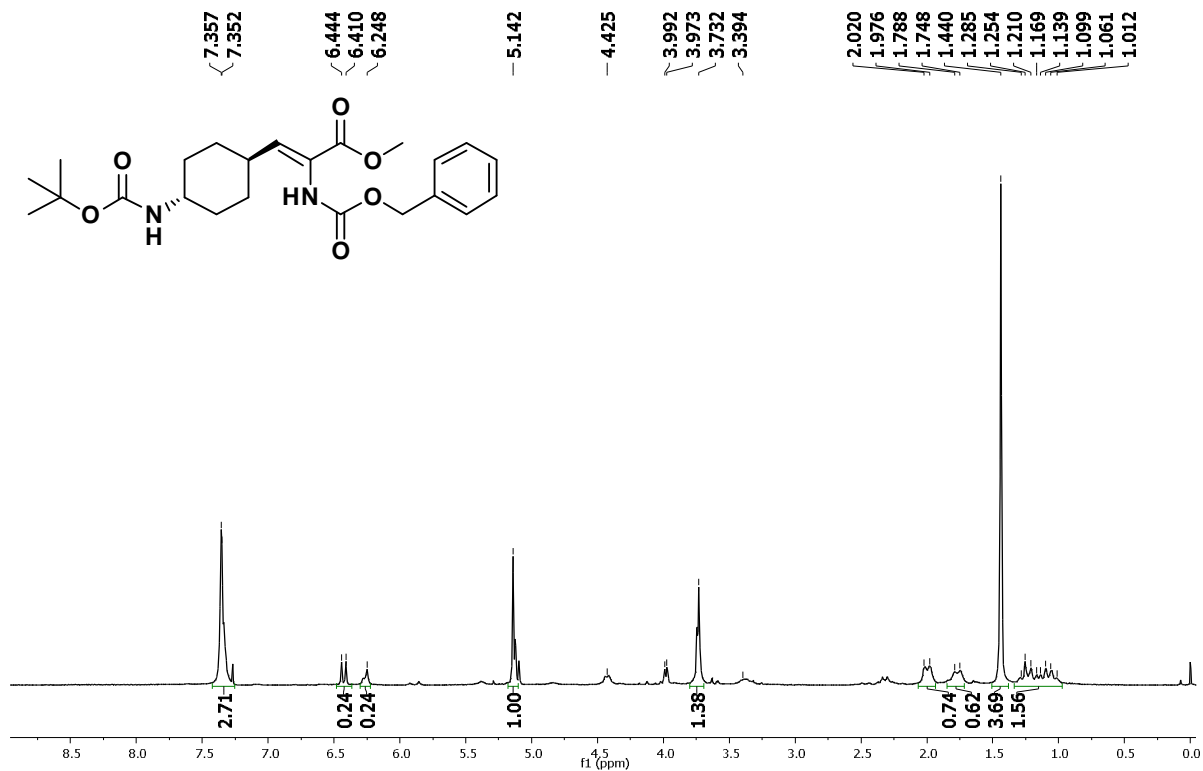


Figura 30. Espectro de RMN¹H del aminoácido *Z* 223a

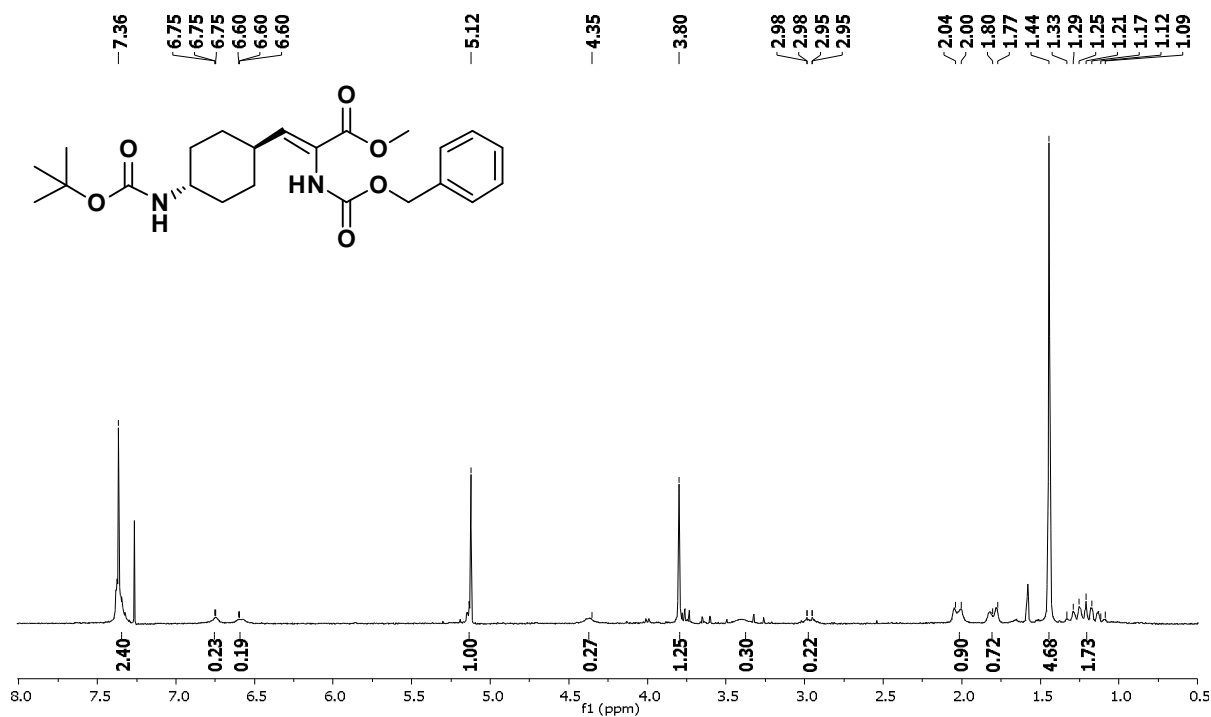
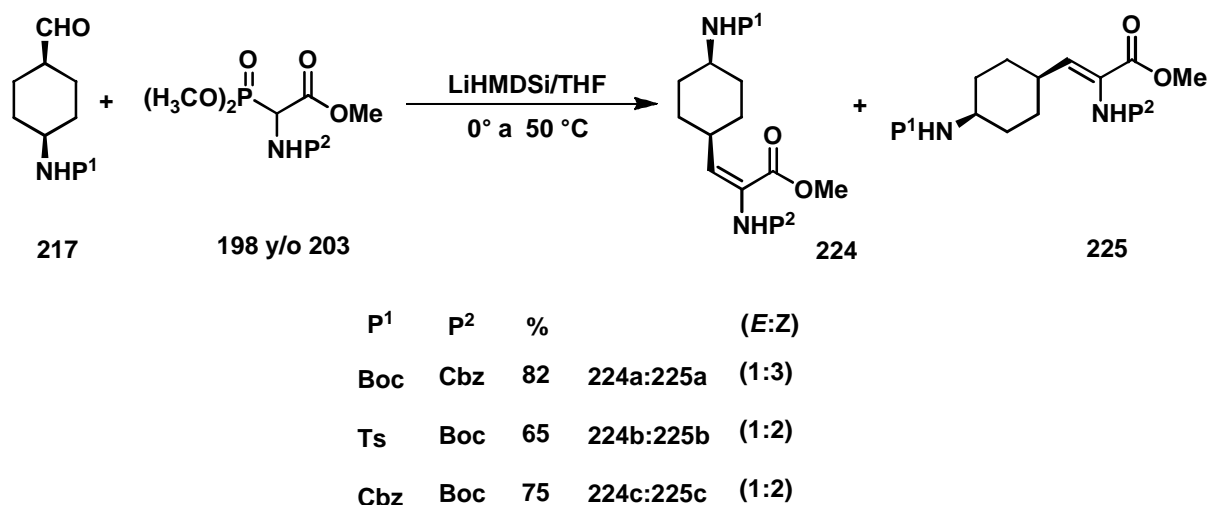


Figura 31. Espectro de RMN¹H del aminoácido *E* 222a.

Los aminoácidos α,β -insaturados **224** y **225**, derivados de los carbaldehídos *cis* fueron preparados por la reacción de Horner-Wadsworth-Emmons, empleando las mismas condiciones de reacción que se utilizaron para los *trans* carbaldehídos (Esquema 49).



Esquema 49. Preparación de aminoácidos α,β -insaturados.

En el espectro de RMN¹H del deshidroaminoácido **225a** aparecen las señales características de los singuletes en 1.45 ppm para los protones del *t*-butilo, en 3.66 ppm los protones del éster metílico y en 5.14 ppm los protones bencílicos. El protón vinílico se observa como un doblete con una constante de acoplamiento de 9 Hz para identificarlo como el isómero *Z* del aminoácido α,β -insaturado (Figura 32). En el espectro de RMN¹³C se pueden resaltar las señales en 25.1, 48.9 y 63.5 ppm de los carbonos del grupo Boc, éster metílico y bencilo. Además, en 120.3 y 130.4 ppm se aprecian los carbonos vinílicos y en 150.4, 151.9 y 160.7 ppm se observan las tres señales correspondientes a los carbonilos (Figura 33).

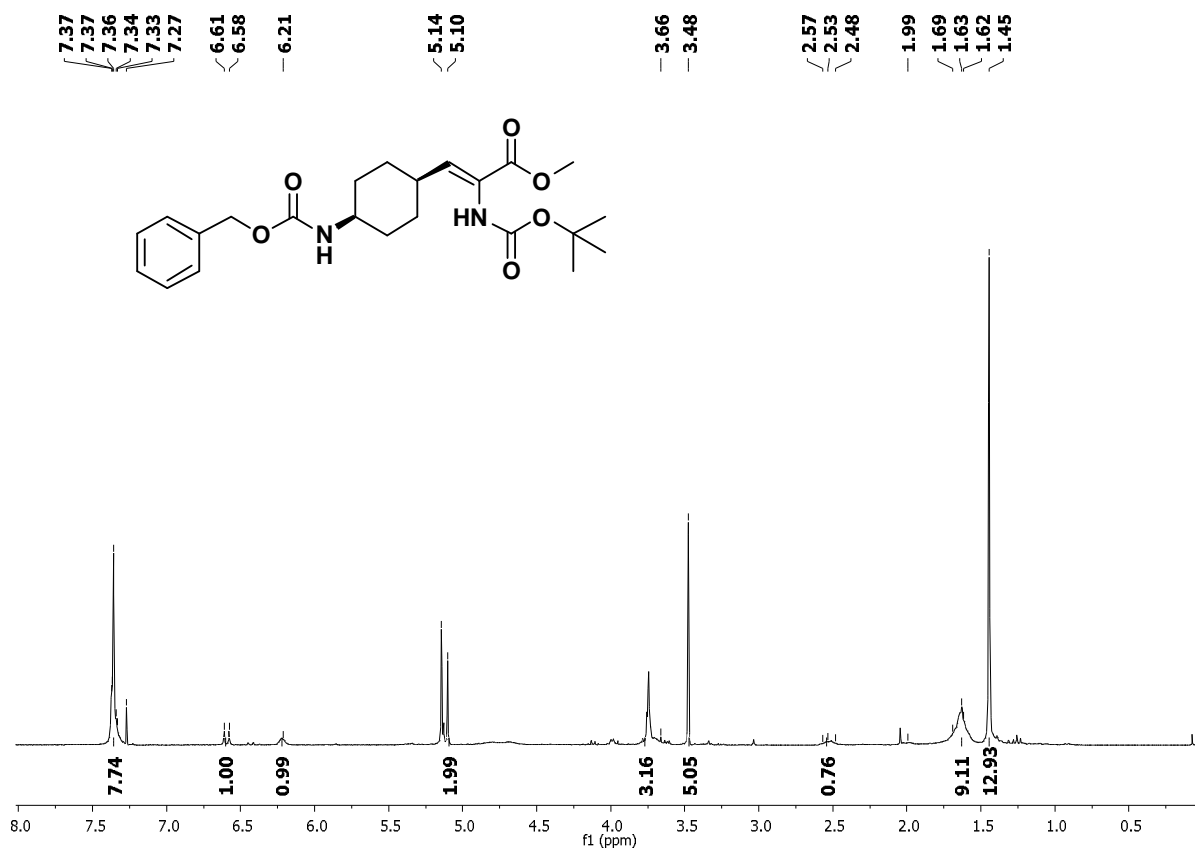


Figura 32. Espectro de RMN¹H del aminoácido Z 225a.

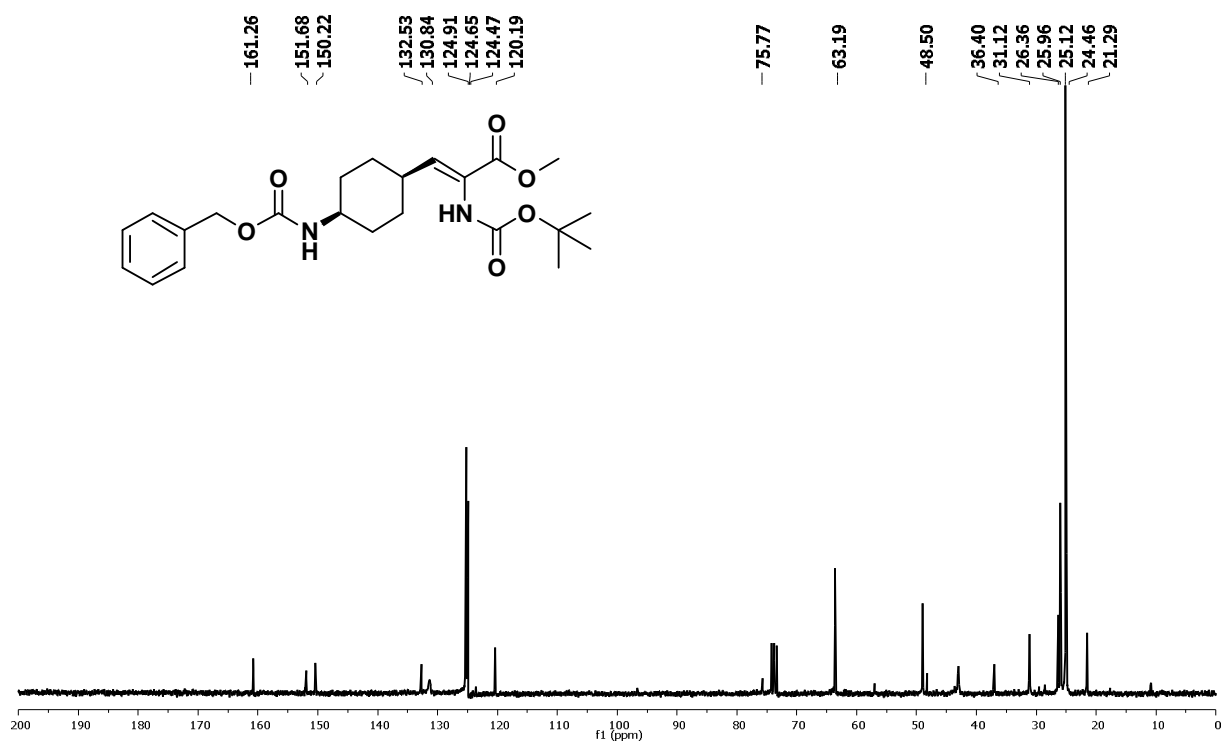
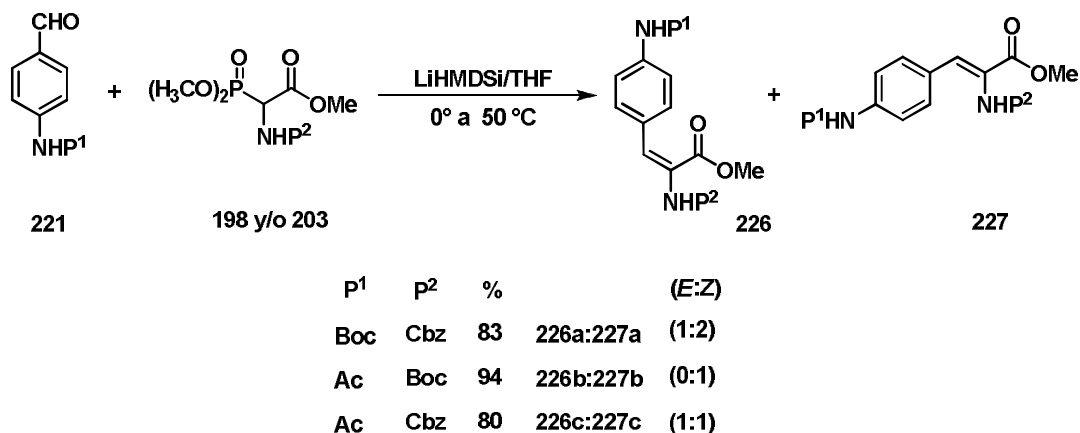


Figura 33. Espectro de RMN¹³C del aminoácido Z 225a.

Se prepararon los aminoácidos α,β -insaturados **226** y **227** derivados de los aldehídos aromáticos utilizando la misma estrategia que en los casos anteriormente descritos, a partir de los respectivos fosfonatos (Esquema 50).



Esquema 50. Síntesis de aminoácidos α,β -insaturados.

En el espectro de RMN¹H para el compuesto **227a** se observan los protones metílicos del grupo Boc, éster metílico y bencilo en 1.51, 3.63 y 5.16 ppm respectivamente. El protón vinílico aparece en 6.66 ppm como un singulete y entre 7.02 y 7.38 ppm se localizan los protones de los 2 sistemas aromáticos, sobresaliendo una señal doble en 7.18 ppm con una constante de acoplamiento $J = 6.0$ Hz correspondientes a 2 protones del anillo aromático *p*-sustituido. El otro doblete está traslapado con un multiplete correspondiente a los protones del anillo aromático del grupo Cbz (Figura 34).

El espectro de RMN¹³C del compuesto **227b** muestra los carbonos vinílicos en 119 y 123 ppm, las dos señales de los carbonos del anillo aromático *p*-sustituido en 129 y 131 ppm y la señal del grupo protector acetilo en 24 ppm. En 28 y 81 ppm la presencia del grupo Boc y en 52 ppm el éster metílico (Figura 35).

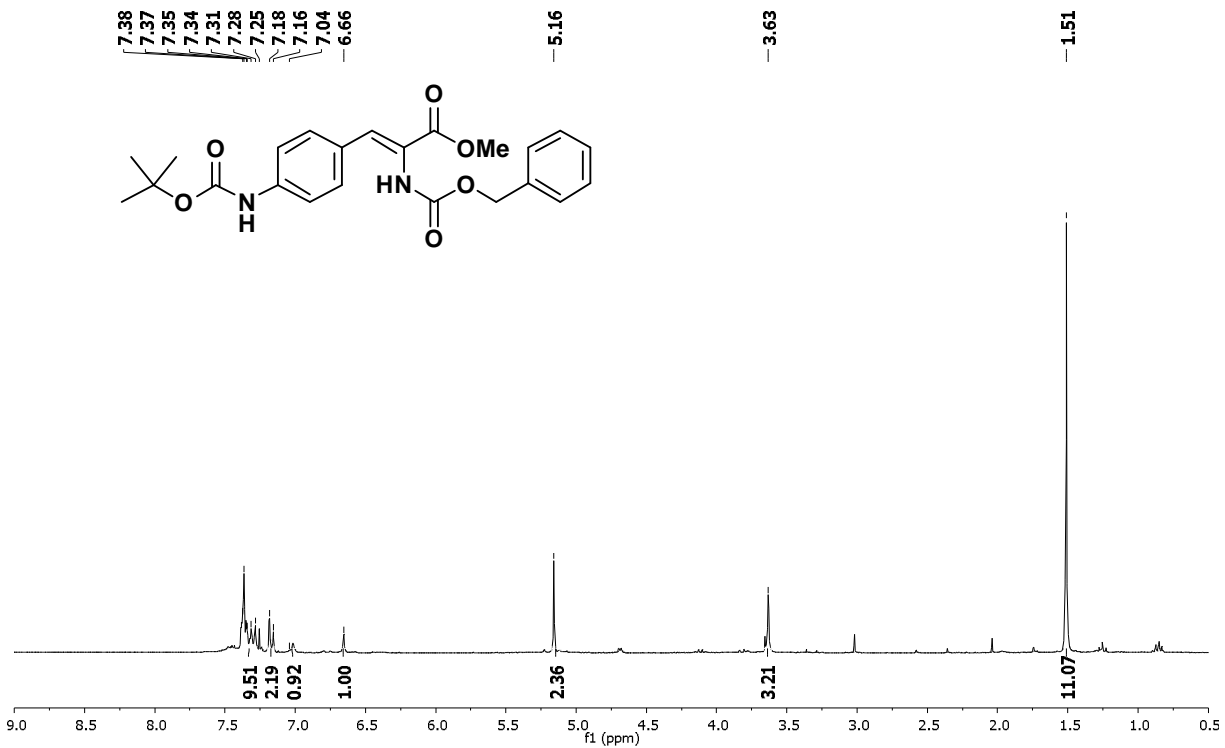


Figura 34. Espectro de RMN¹H del aminoácido Z 227a.

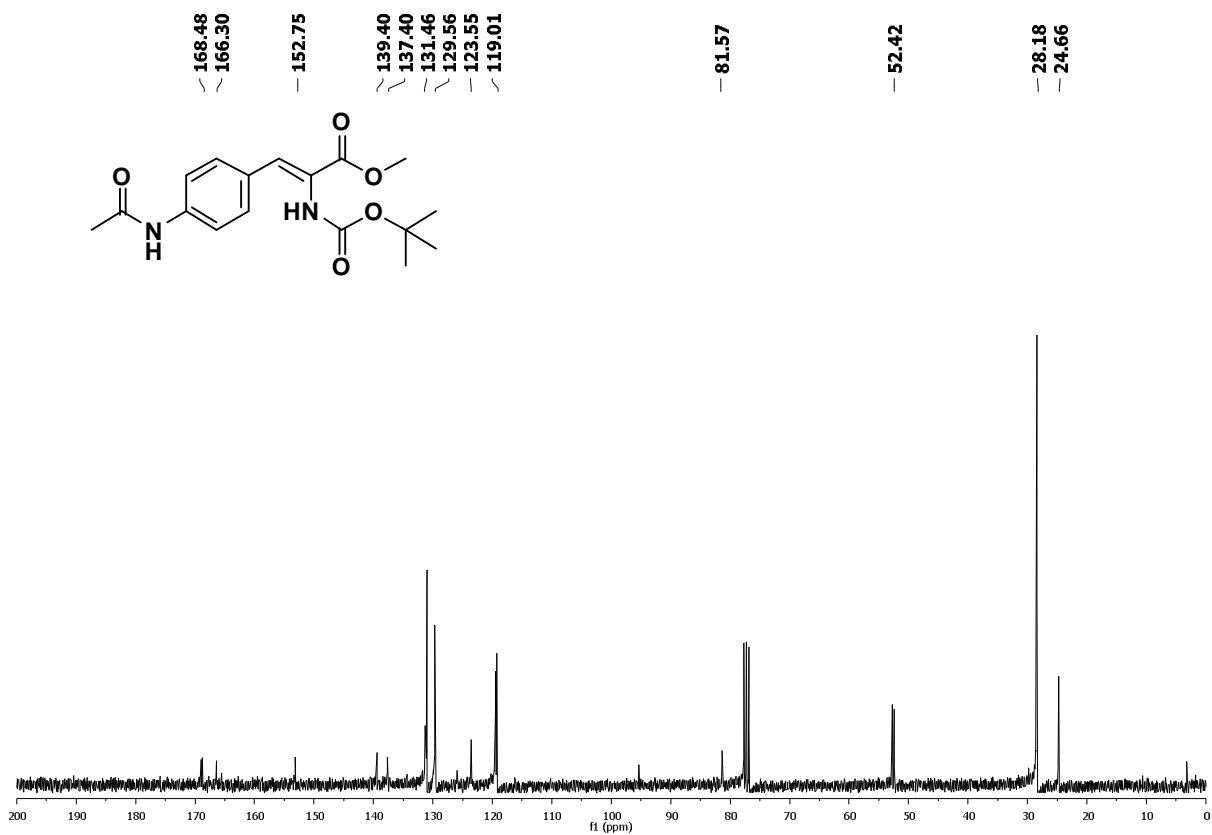
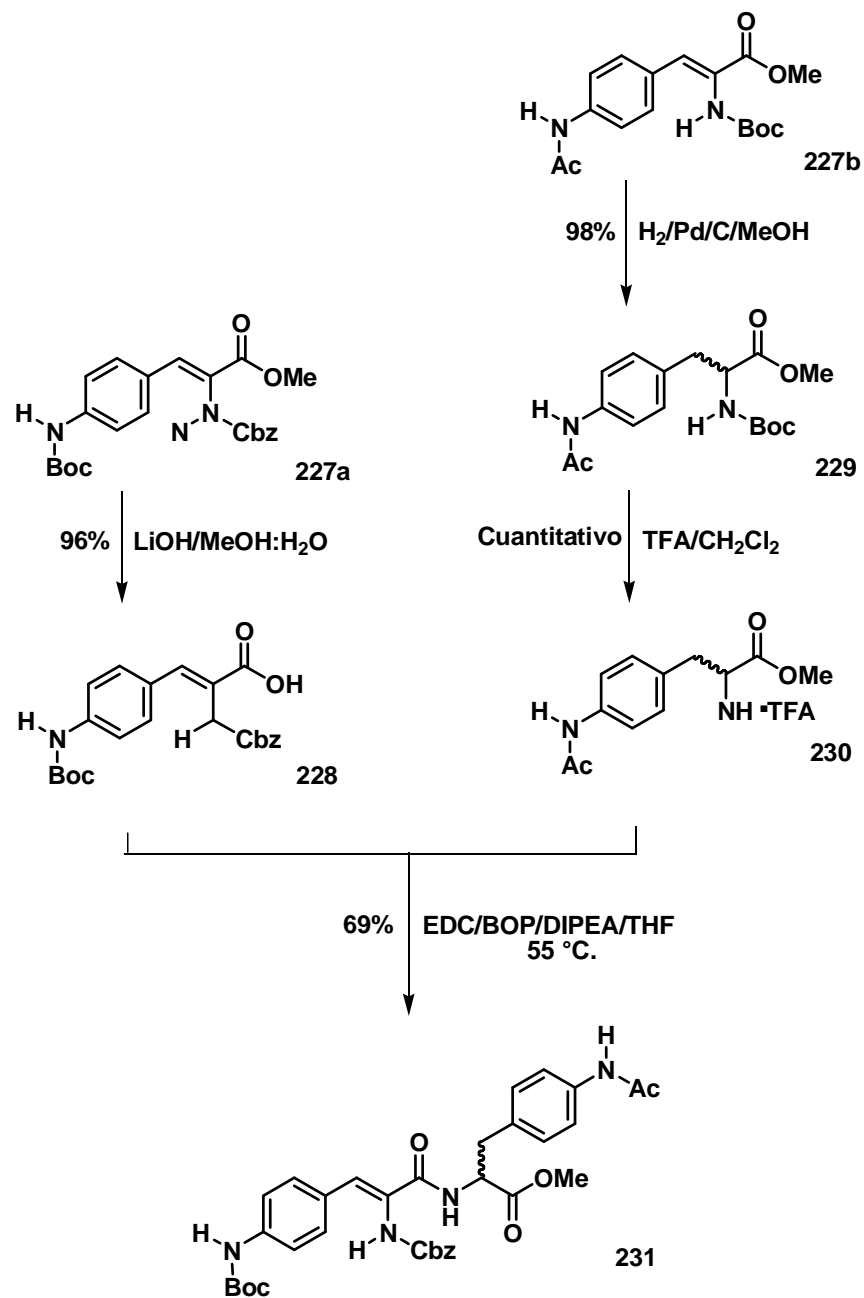


Figura 35. Espectro de RMN¹³C del isómero Z 227b.

Una vez preparados los aminoácidos α,β -insaturados, se trabajó únicamente con los sustratos que contenían los grupos protectores Boc y Cbz en el grupo amino. Esta selección se basó a la mayor facilidad en las condiciones de desprotección que se realizaron sobre los sustratos para proceder a la reacción de acoplamiento y obtener el dipéptido conteniendo grupos protectores ortogonales en su estructura.

Inicialmente se hidrogenó el enlace doble del aminoácido **227b** bajo condiciones catalíticas con Pd/C-hidrógeno para obtener el producto **229** como mezcla racémica. Paralelamente, se trabajó con el aminoácido **227a** para liberar el grupo carboxilo, lo cual se llevó a cabo mediante una hidrólisis básica utilizando LiOH (Esquema 51).

Antes de llevar a cabo el acoplamiento entre los aminoácidos aromáticos **228** y **230**, los aminoácidos α,β -insaturados **227a** y **227b** fueron desprotegidos selectivamente y se formó el correspondiente dipéptido **231** utilizando métodos convencionales para la síntesis de péptidos. Se decidió utilizar EDC/BOP como agente de acoplamiento después de fracasar en la obtención del dipéptido empleando DCC. Es importante mencionar que por separado, cuando se utilizó solo EDC o BOP, los rendimientos fueron por debajo del 20% (Esquema 51).



Esquema 51. Síntesis del dipéptido aromático α,β -insaturado **231**.

El espectro de RMN¹H del compuesto **229** muestra la presencia de 2 dobles de dobles a campo alto en 2.88 y 3.07, señales que corresponden a los protones diastereotópicos del carbono bencílico del aminoácido. Se observa un multiplete en 4.65 ppm correspondiente al protón α al grupo carboxilo. Las señales de los protones del grupo Boc en 1.38 ppm, el grupo acetilo en 2.10 ppm y el éster metílico a 3.68 ppm son también apreciadas, junto con el par de señales dobles a campo bajo (7.08 y 7.44 ppm)

características de un anillo aromático *p*-sustituido y que poseen una constante de acoplamiento de 9 Hz (Figura 36).

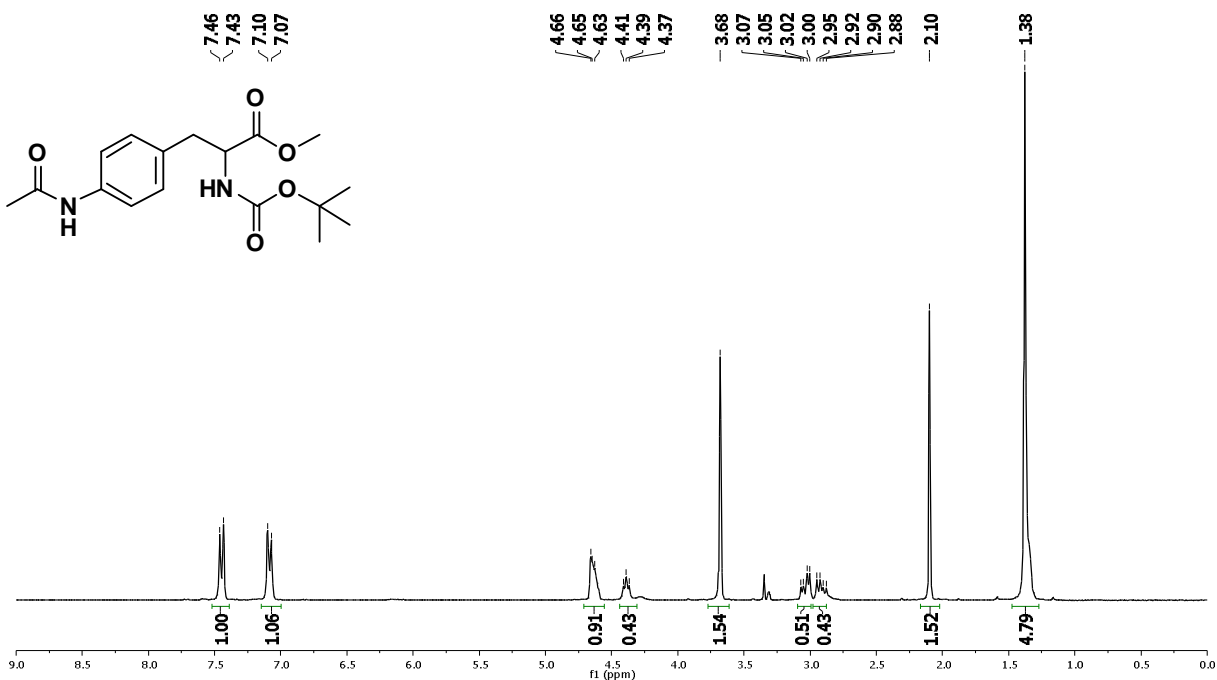


Figura 36. Espectro de RMN¹H del aminoácido 229.

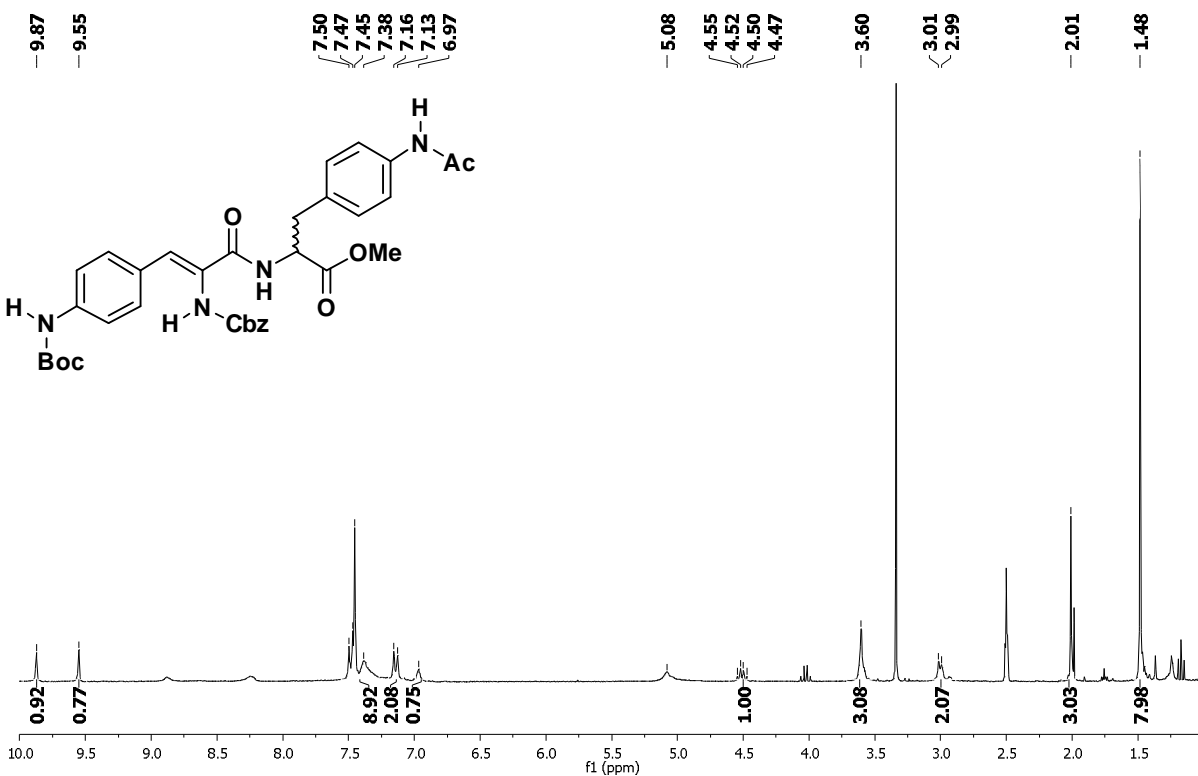


Figura 37. Espectro de RMN¹H del dipéptido 231.

El espectro de RMN¹H del dipéptido **231** muestra las señales características de los grupos funcionales ortogonales presentes en la molécula: en 1.48 ppm el grupo Boc; en 2.01 ppm el grupo acetilo, en 3.60 el grupo éster metílico y en 5.0 ppm el bencilo del grupo Cbz. Los protones diasterotópicos no se diferencian, aparecen como un multiplete en 3.0 ppm y el protón α se localiza en 4.51 ppm. A campo bajo hay un singulete a 6.9 ppm del protón vinílico y de los protones aromáticos, únicamente se diferencia un doblete a 7.14 ppm con un valor de su constante de acoplamiento $J = 9$ Hz ya que todos los demás conforman un multiplete entre 7.16-7.50 ppm. (Figura 37).

En el espectro de RMN¹³C se observan las señales en 28.7 y 80.9 ppm para el grupo Boc, 24.4 ppm para el grupo acetilo, en 52.8 ppm el éster metílico y 67.3 ppm para el CH₂ del bencilo del grupo Cbz (Figura 38).

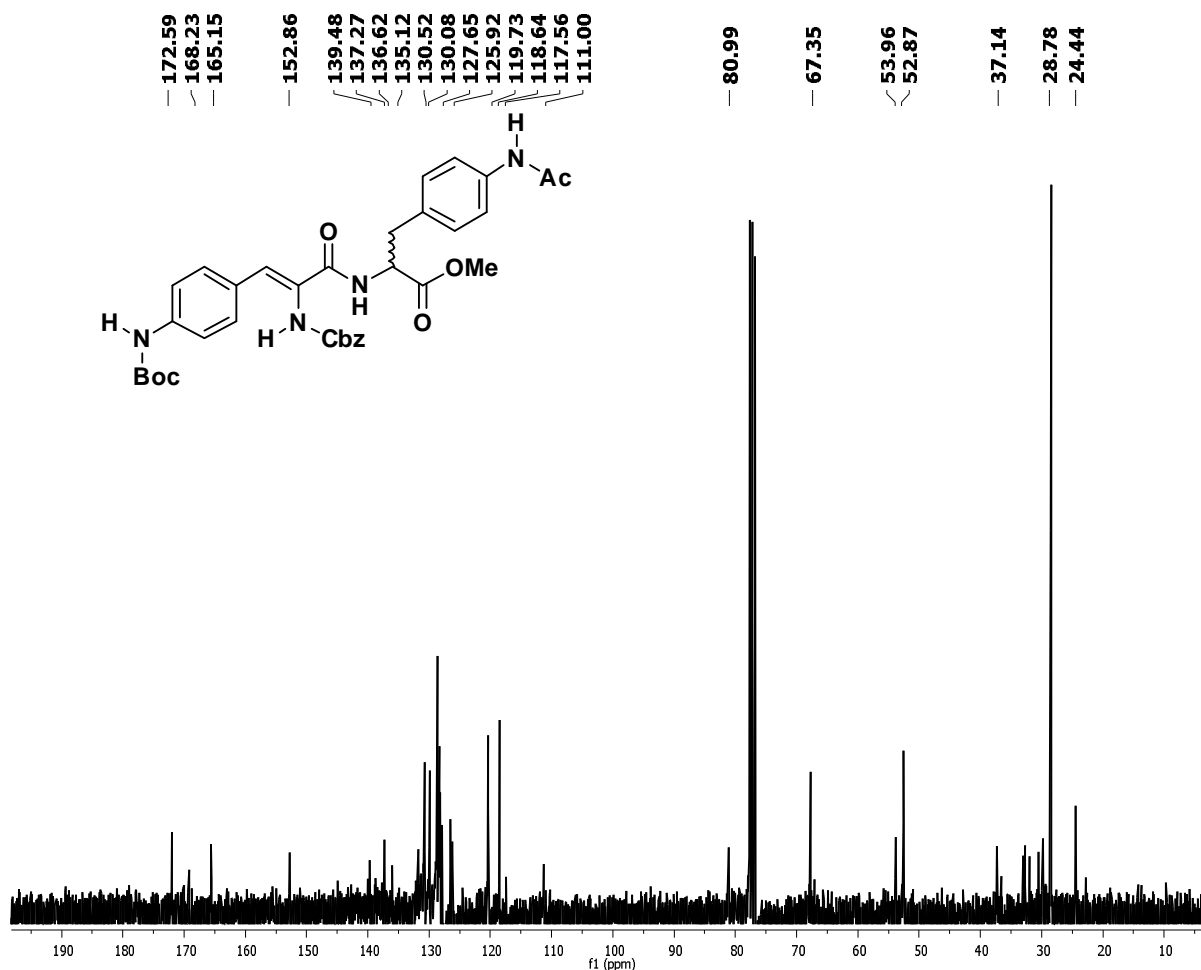
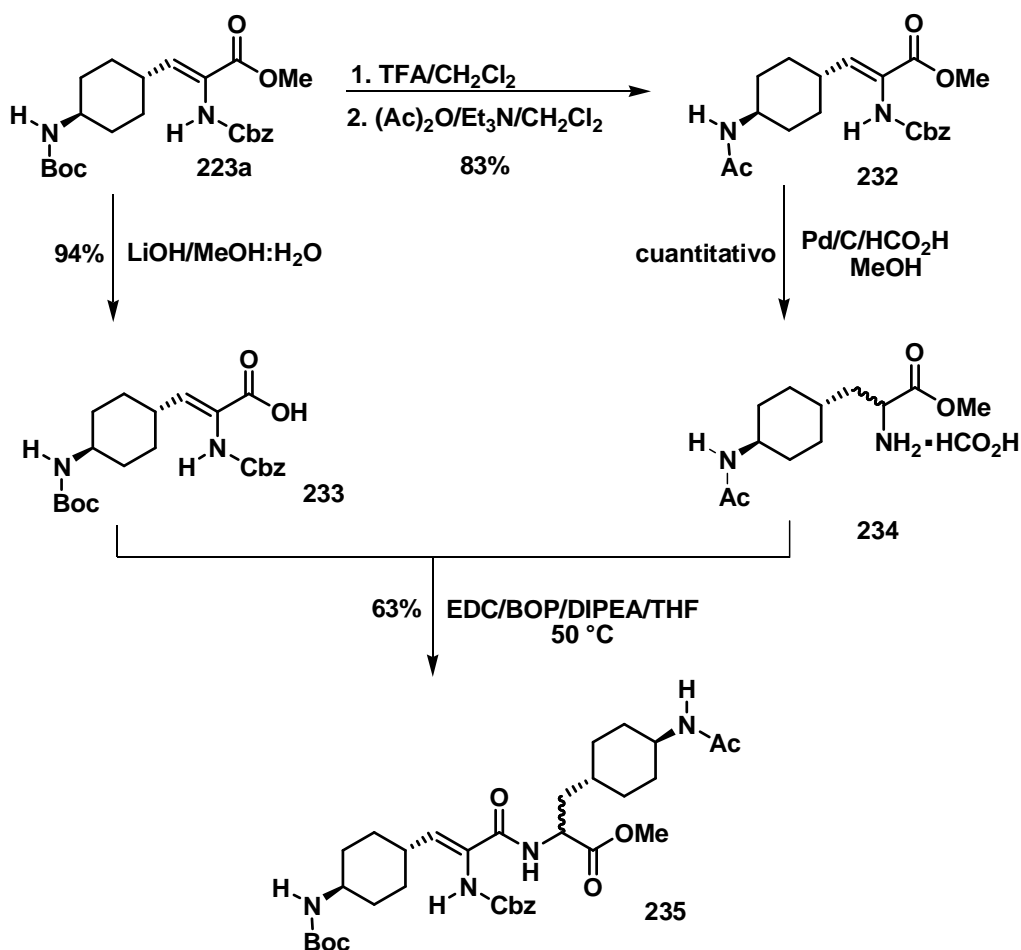


Figura 38. Espectro de RMN¹³C del dipéptido **231**.

Antes de proceder con la preparación del dipéptido **235**, se llevó a cabo una manipulación de los grupos protectores de los sustratos **222a** y/o **223a**. En primera instancia, se cambió de grupo protector en el grupo α -amino del compuesto **223a**, de Boc a acetilo, por lo que se preparó el aminoácido **232**. El grupo carboxilo del aminoácido **222a** fue liberado, mediante una hidrólisis básica utilizando hidróxido de litio para generar el ácido **233**. El empleo de las mismas condiciones de acoplamiento utilizadas para la formación del dipéptido aromático se aplicó para la obtención del dipéptido alifático **235** (Esquema 52).



Esquema 52. Síntesis de dipéptidos alifáticos α,β -insaturados **235**.

En el espectro de RMN¹H del compuesto **232** se observa la desaparición de la señal del grupo Boc y en 1.96 ppm un singlete correspondiente al metilo del grupo acetilo (Figura 39).

El espectro de RMN¹H del ácido **233** muestra la desaparición de las señales del éster metílico (Figura 40).

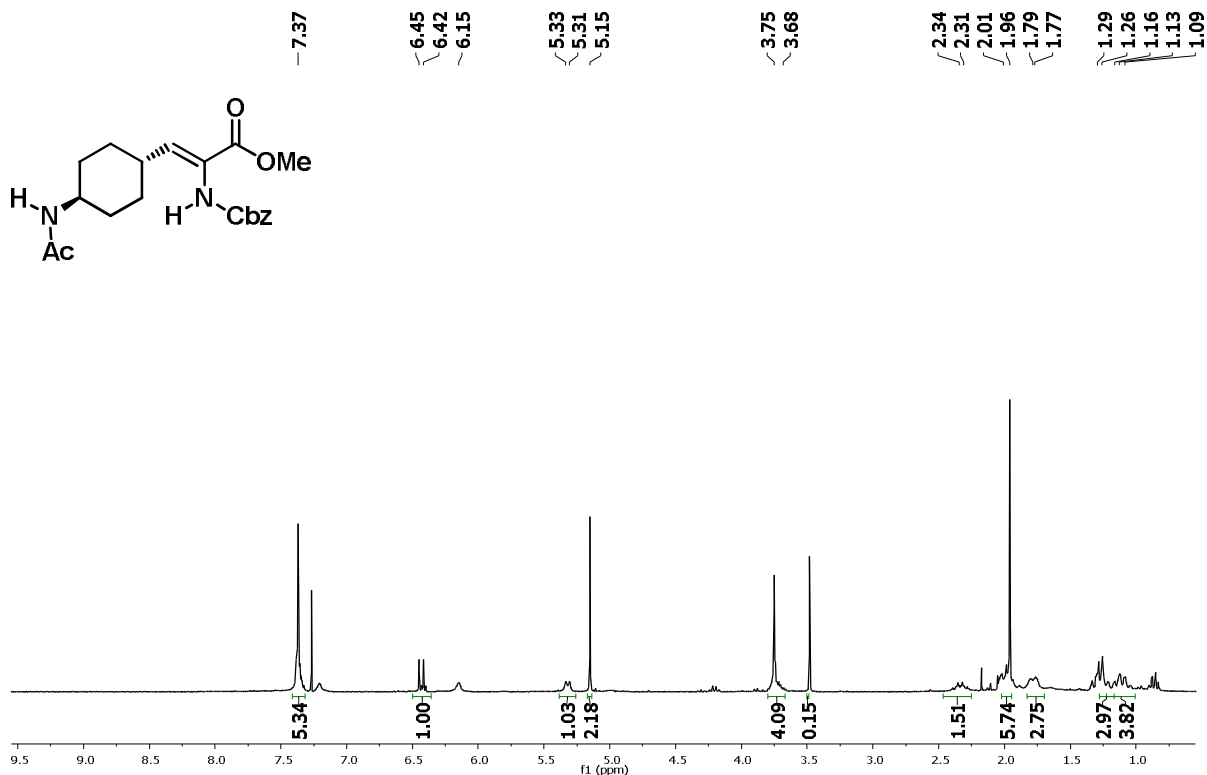


Figura 39. Espectro de RMN¹H del aminoácido **232**.

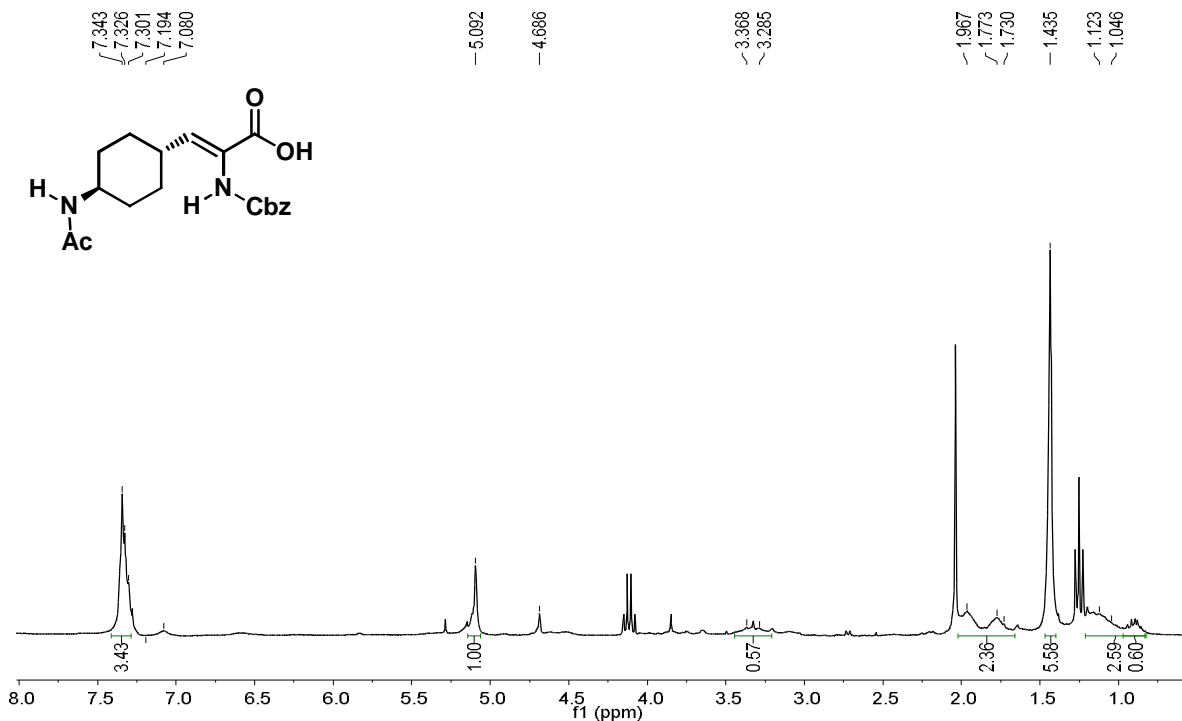


Figura 40 Espectro de RMN¹H del ácido **233**.

El espectro de RMN¹H del compuesto **235** muestra las señales características de los grupos funcionales que conforman la molécula (Figura 41). Se aprecian en 1.43 ppm las señales del grupo Boc, en 1.95 ppm los protones metílicos del grupo acetilo, en 3.71 ppm el éster metílico y como multipletes los protones de los anillos de ciclohexano. A campo bajo (7.34 ppm) se aprecian las señales de los protones aromáticos.

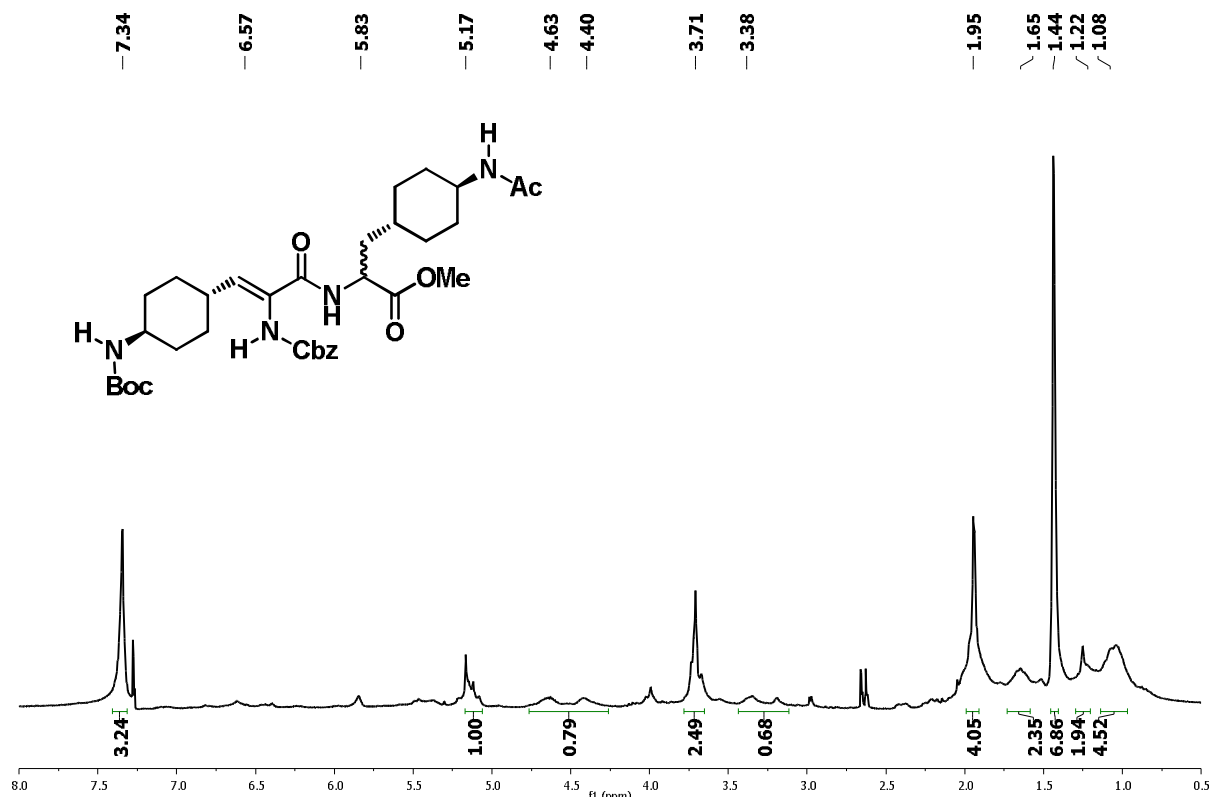


Figura 41. Espectro de RMN¹H del dipéptido alifático **235**.

En el espectro de RMN¹³C se observan las señales en 28.5 y 79.3 ppm para el grupo Boc, 23.0 ppm para el grupo acetilo, en 52.5 ppm el éster metílico y 60.5 ppm para el CH₂ del bencilo del grupo Cbz. (Figura 42).

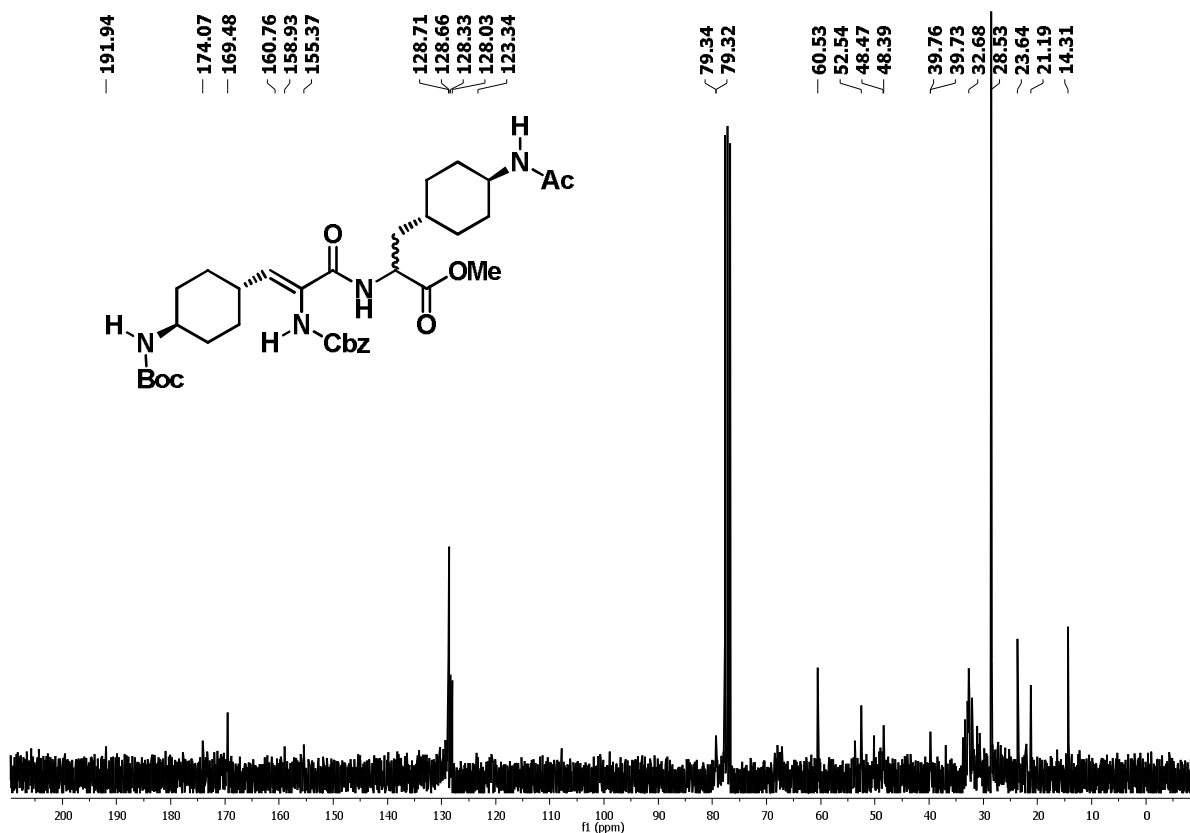
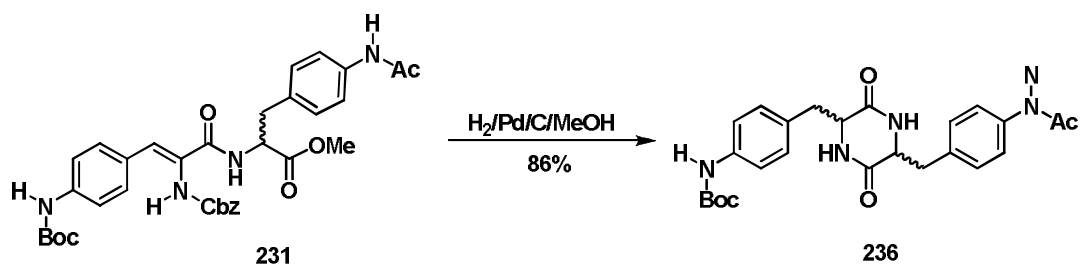


Figura 42. Espectro de RMN¹³C del dipéptido alifático **235**.

Quando los grupos protectores el dipéptido **231** fueron manipulados para obtener un derivado análogo a la radiosumina, se obtuvo la dicetopiperazina **236** a causa de una ciclación intramolecular, puesto que al remover el grupo Cbz por hidrogenólisis, la amina libre atacó al éster metílico presente en la molécula (Esquema 53).



Esquema 53. Obtención de dicetopiperazinas.

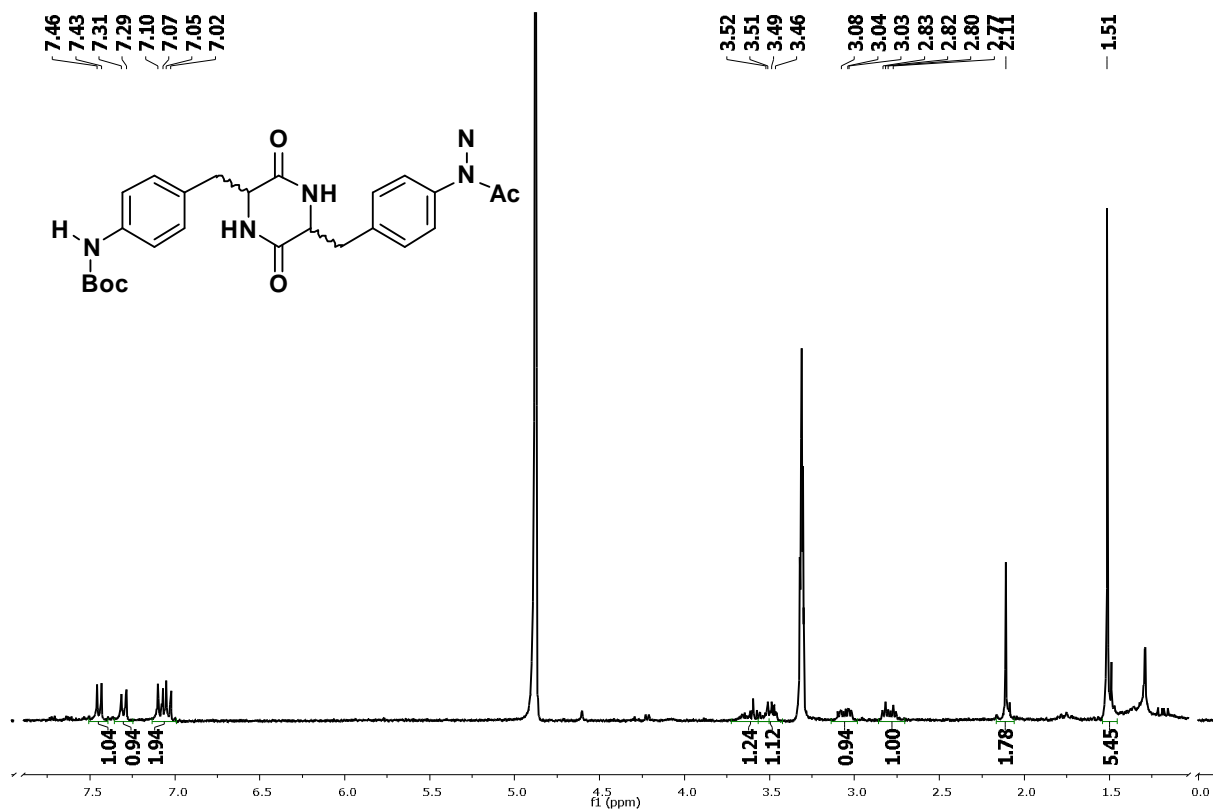


Figura 43. Espectro de RMN¹H de la dicetopiperazina 236.

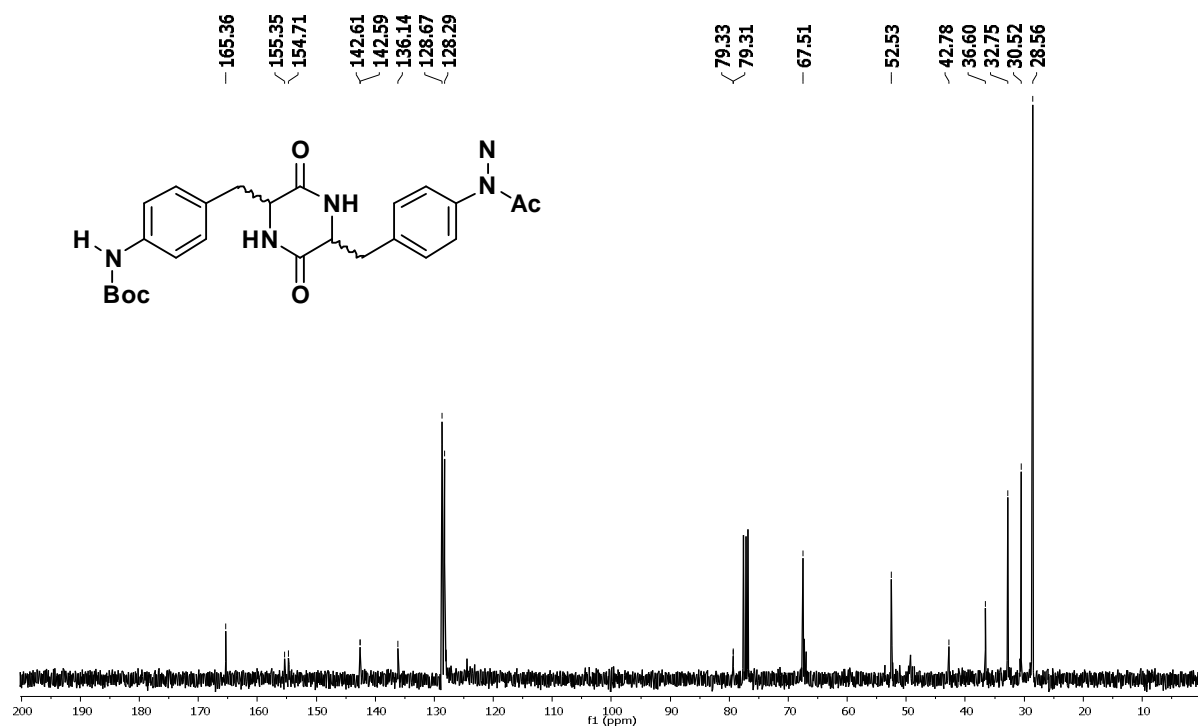
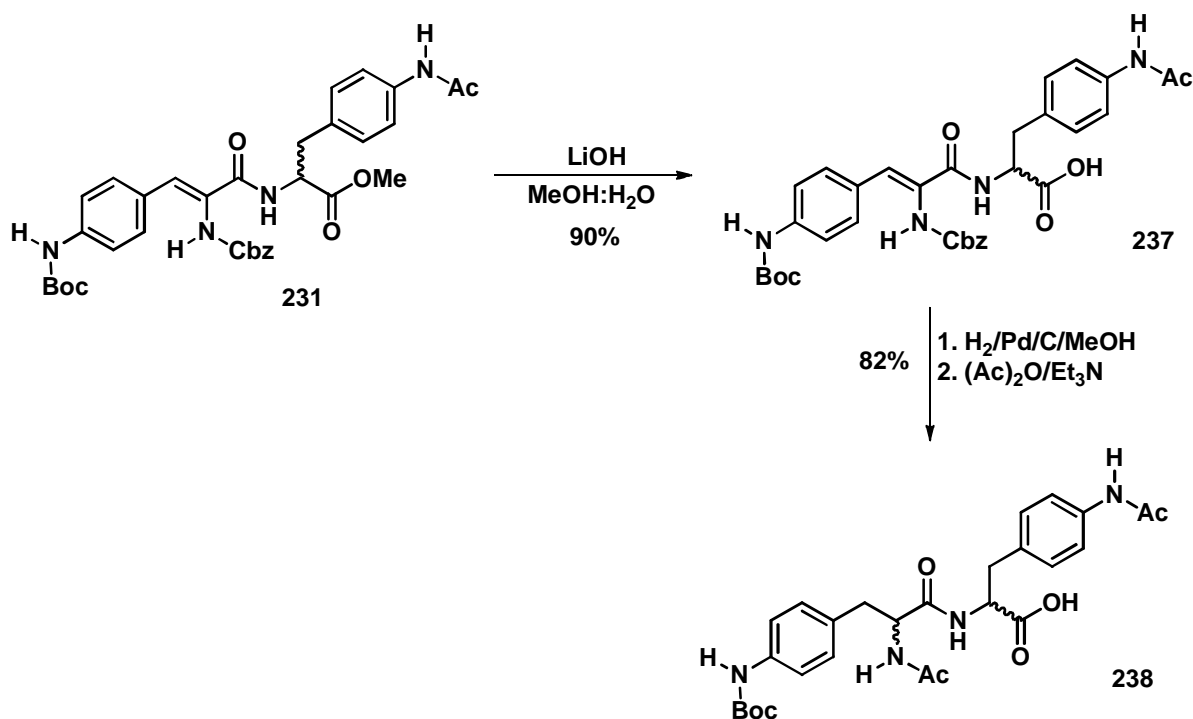


Figura 44. Espectro de RMN¹³C de la dicetopiperazina 236.

El espectro de RMN¹H del compuesto **236** muestra singuletes del grupo para el grupo Boc en 1.51 ppm y a 2.11 ppm para el grupo acetilo. Se puede observar una serie de multipletes que aparecen en 2.80 y 3.04 ppm, que pertenecen a los protones bencílicos que son diasterotópicos y otro par de multipletes en 3.49 y 3.59 ppm, que corresponden a los protones del anillo de la dicetopiperazina (Figura 43). Por la multiplicidad mostrada, se puede deducir que el compuesto está presente como una mezcla racémica de 2 diastereoisómeros, ya que al hidrogenarse el enlace doble se genera un segundo centro quiral en la molécula. En el espectro de RMN¹³C se observan 2 señales en 35 y 38 ppm y otro par de señales en 59 y 64 ppm que corresponden a los dos carbonos alifáticos después de la reducción y ciclación que se llevó a cabo sobre el compuesto **231** (Figura 44).

Para evitar la reacción de ciclación intramolecular, sobre el grupo carboxilo del dipéptido aromático **231** fue liberado a través de la hidrólisis básica del éster metílico con LiOH. Posteriormente, el grupo Cbz fue removido mediante una hidrogenación catalítica con Pd/C para liberar el grupo amino, el cual fue posteriormente acetilado para formar **238**. La manipulación selectiva de los grupos protectores permitió la formación del análogo aromático de la radiosumina en forma racémica (Esquema 54).



Esquema 54. Obtención de análogos aromáticos de la radiosumina.

El espectro de RMN¹H del dipéptido **237** muestra dos señales dobles a 3.00 y 3.10 ppm para los protones bencílicos diastereotópicos, la señal del grupo Boc en 1.70 ppm, el acetilo a 2.17 ppm y el Cbz en 5.17 ppm pueden observarse pero ya no aparece el singulete del éster metílico. A campo bajo, los protones aromáticos se encuentran en un multiplete a 7.62 ppm (Figura 45). En el espectro de RMN¹³C la única diferencia con el espectro del compuesto **231** es la desaparición de la señal del éster metílico (Figura 46).

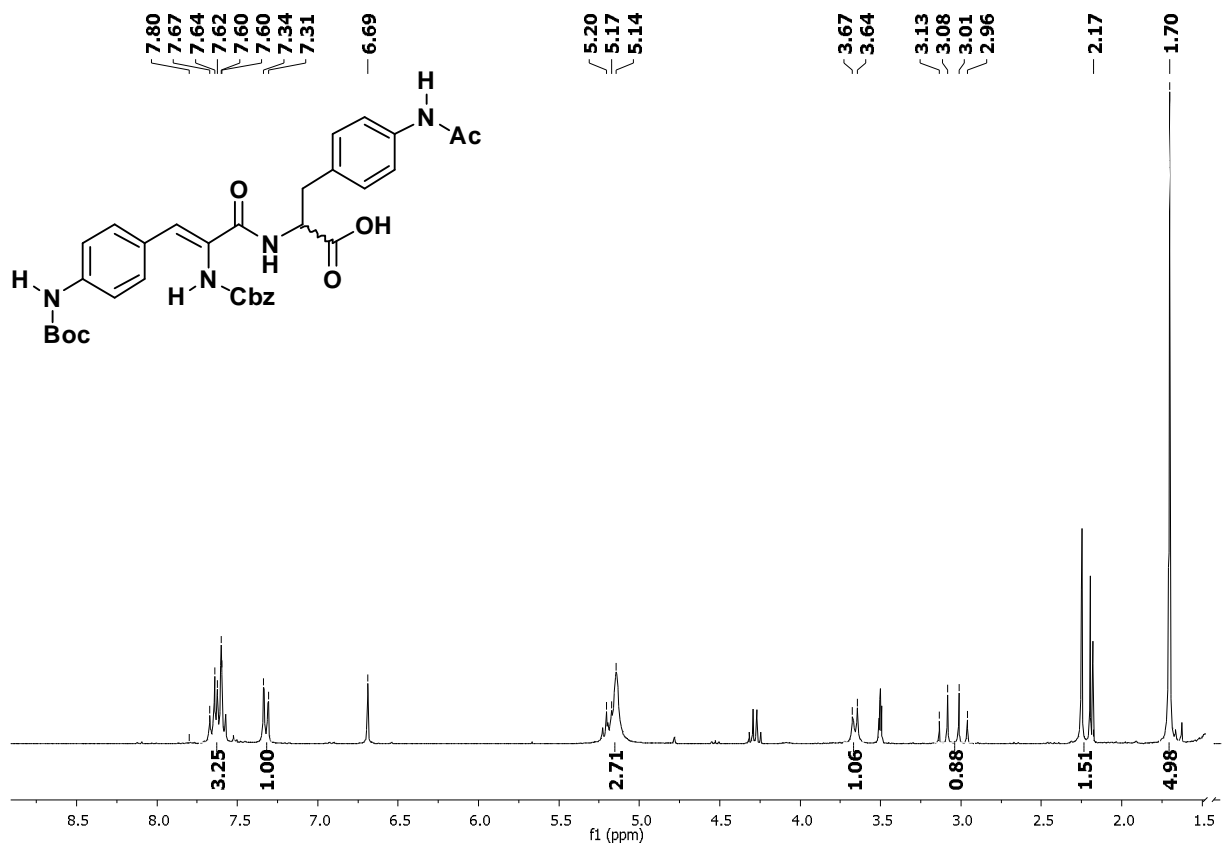


Figura 45. Espectro de RMN¹H del ácido **237**.

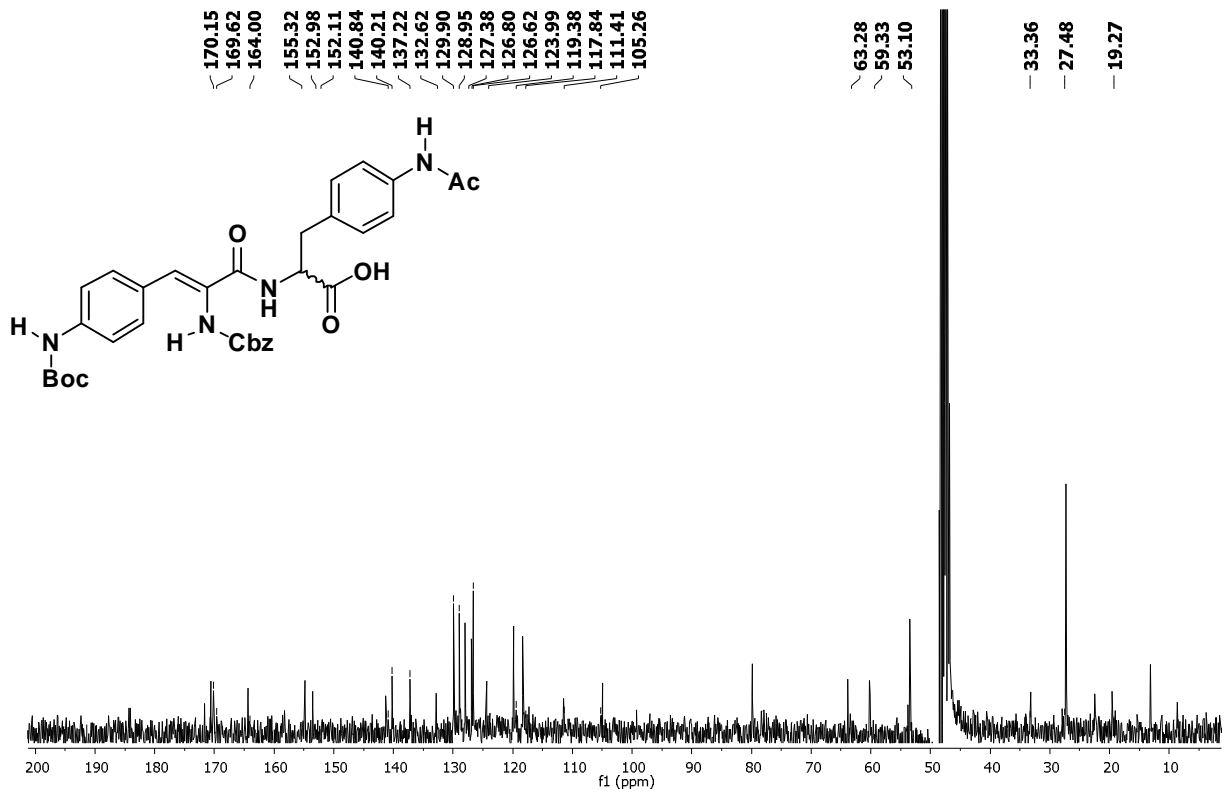


Figura 46. Espectro de RMN¹³C del ácido 237.

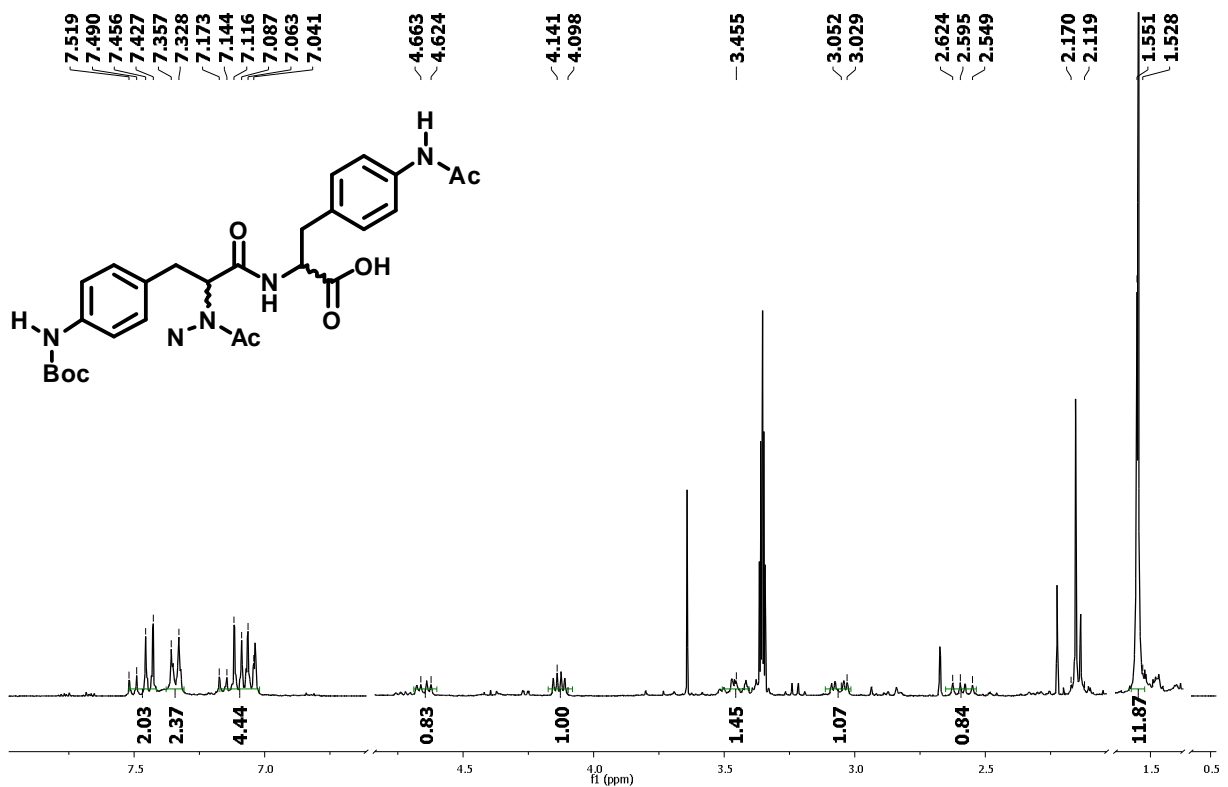


Figura 47. Espectro de RMN¹H del compuesto 238.

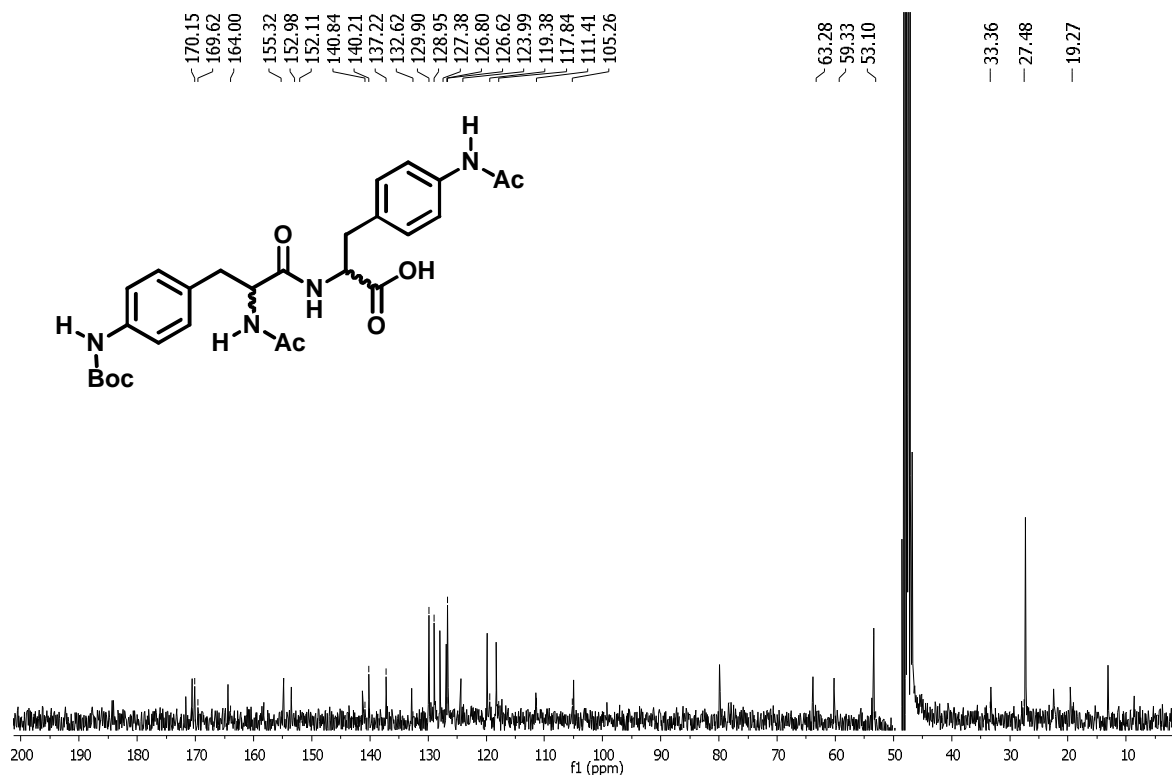
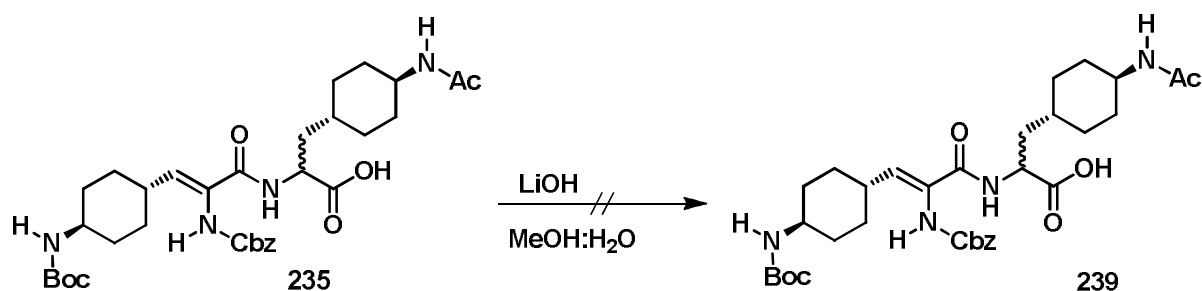


Figura 48. Espectro de RMN¹³C del producto **238**.

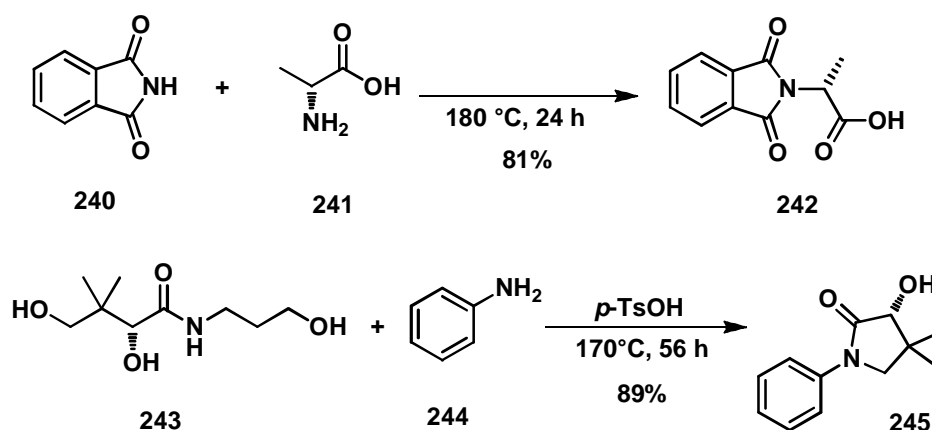
El espectro de RMN¹H del producto **238** muestra la desaparición del grupo protector Cbz y la aparición de dos singuletes en 2.10 y 2.11 ppm que corresponden a los protones de los grupos acetilo. A campo bajo, los protones aromáticos muestran una multiplicidad más definida, pudiéndose apreciar cuatro juegos de dobletes característicos de anillos aromáticos *p*-sustituidos. A campo alto, se observan multipletes definidos correspondientes a los protones alifáticos en 2.5, 3.0, 4.1 y 4.6 ppm; junto a estas señales se aprecian señales similares con una magnitud menor, lo mismo sucede con los protones aromáticos (Figura 47). Estas señales corresponden a los diastereoisómeros presentes en la mezcla racémica, ya que se generó un segundo carbono quiral al cambiar el grupo protector Cbz, por lo que es posible la presencia de 4 posibles diastereoisómeros.

A pesar de que se realizaron varios intentos, no se pudo obtener el análogo de la radiosumina alifática **239**. Cuando se manipularon los grupos protectores, no se logró hidrolizar selectivamente el grupo éster ya que el producto se hidrolizaba en el grupo acetilo y no se podía extraer de la fase acuosa (Esquema 55).



Esquema 55. Desprotección del grupo carboxílico del dipéptido alifático.

Con el propósito de llevar a cabo la resolución de la mezcla racémica del análogo de la radiosumina **237**, se prepararon los compuestos quirales¹²⁹ **242** y **245**. El compuesto **242** se obtuvo mediante el acoplamiento de la ftalimida (**240**) con la D-alanina (**241**) a una temperatura de 180 °C; mientras el sustrato **245** proviene de la ciclación del D-pantenol (**243**) y anilina (**244**) a una temperatura de 170 °C. Ambos compuestos se obtuvieron en rendimientos mayores al 80% (Esquema 56).



Esquema 56. Síntesis de auxiliares quirales.

En el espectro de RMN¹H del compuesto **245** se observan dos singuletes en 1.10 y 1.31 ppm correspondientes a los dos metilos, un par de dobles de dobles para los protones diastereotópicos y un singulete en 4.1 ppm para el CH. A campo bajo, los protones aromáticos del anillo de la anilina entre 7.1 y 7.6 ppm (Figura 49). En el espectro de RMN¹³C se distinguen las 10 señales correspondientes a los carbonos del producto **245** (Figura 50).

¹²⁹ Camps, P.; Pérez, F.; Soldevilla, N.; Borrego, M. *Tetrahedron Asymmetry* **1999**, *10*, 493.

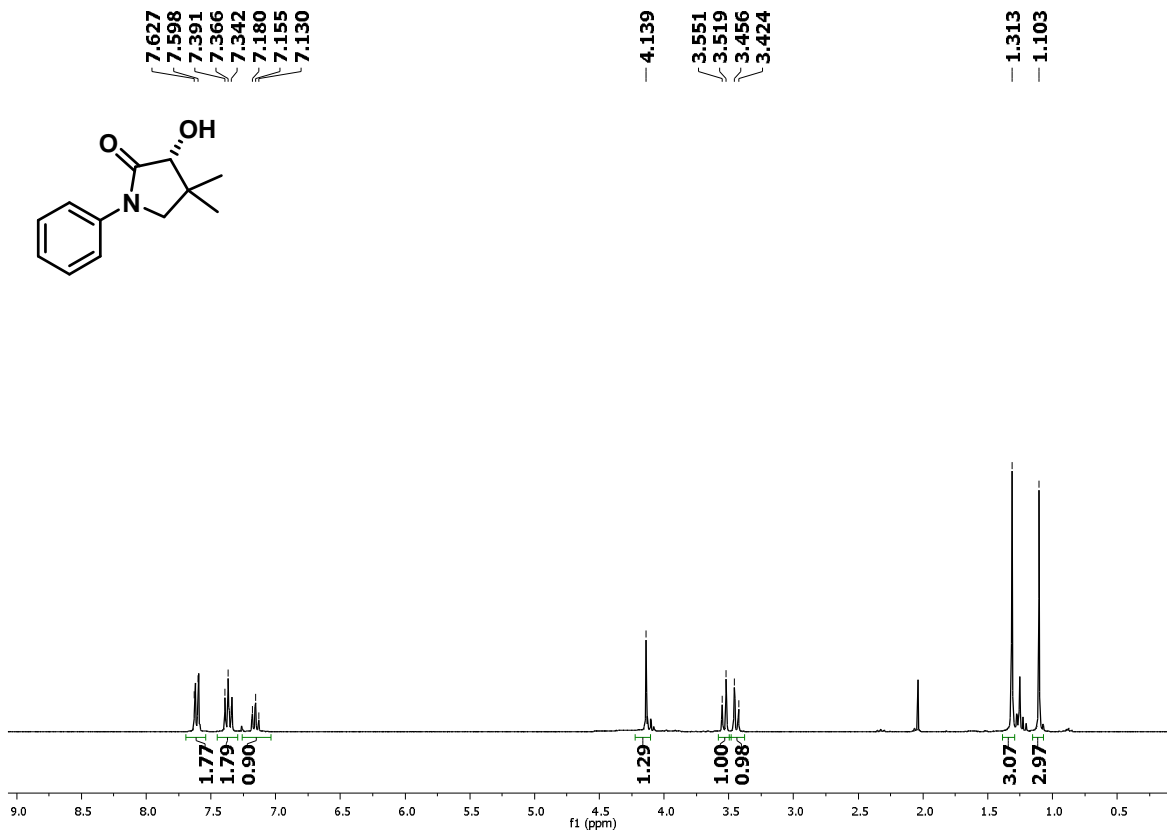


Figura 49. Espectro de RMN¹H de la pantolactama 245.

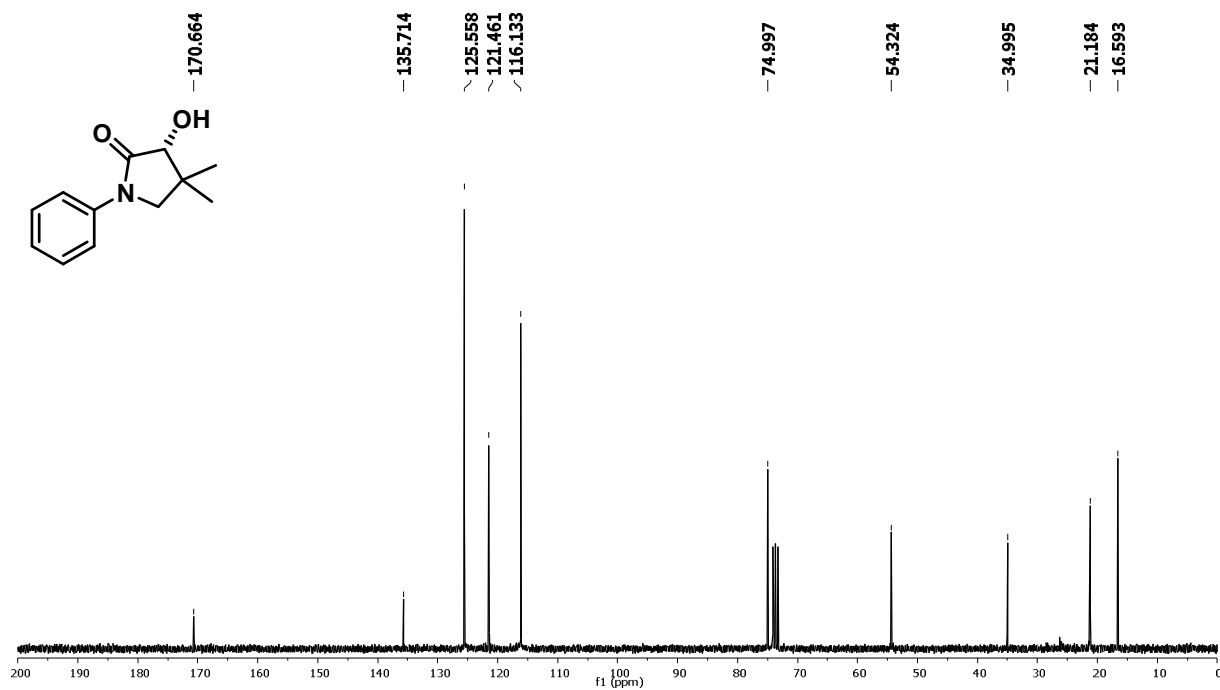
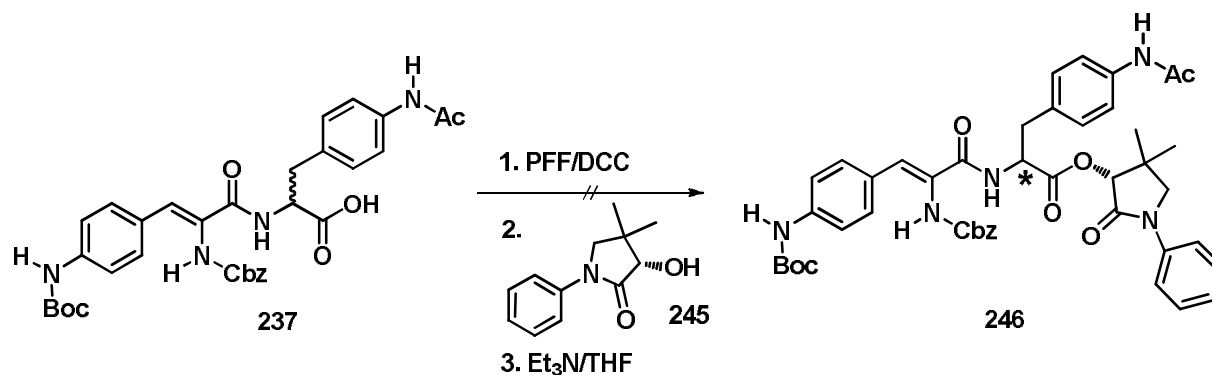


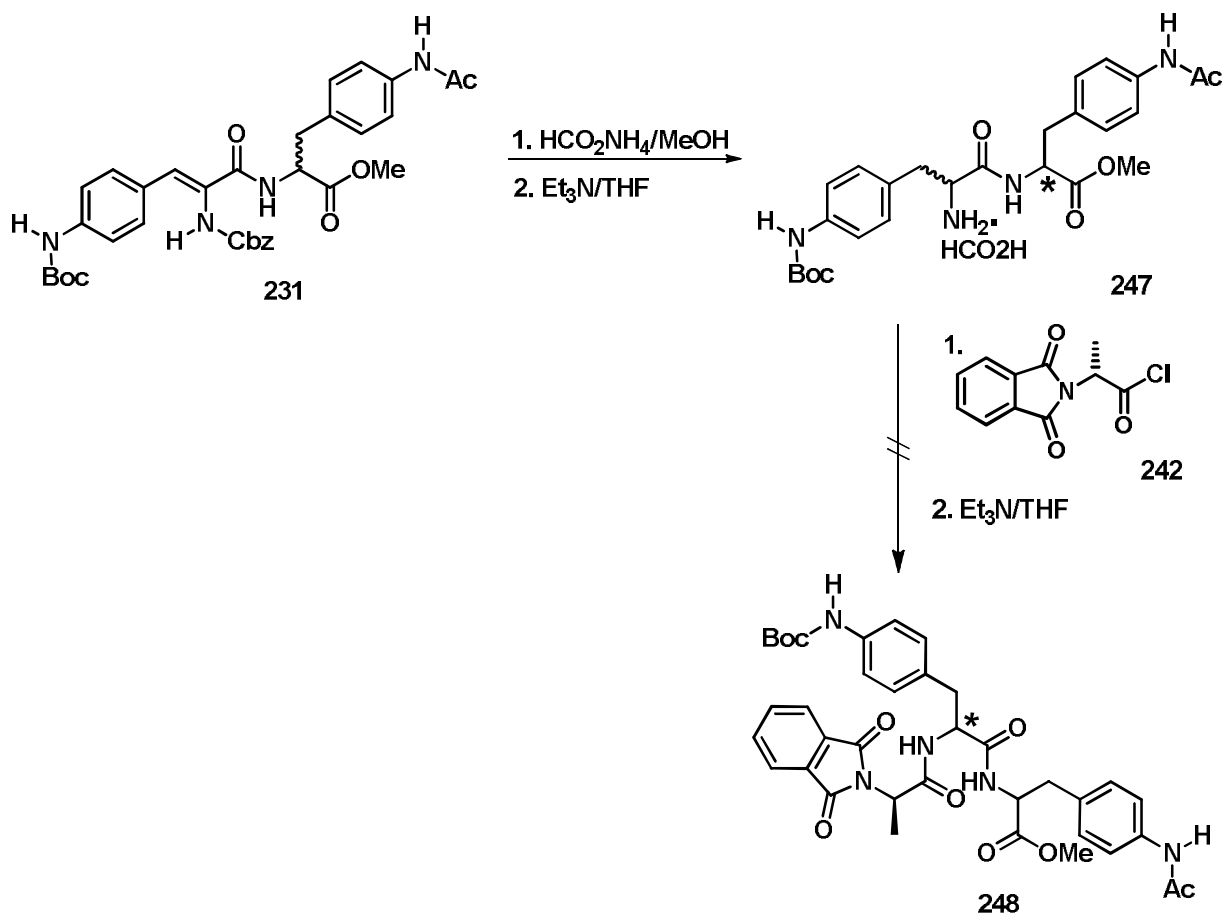
Figura 50. Espectro de RMN¹³C de la pantolactama 245.

De esta manera, los sustratos quirales preparados se utilizaron para intentar separar la mezcla racémica del dipéptido **237** y probándose en primer lugar el compuesto **245**. El ácido carboxílico fué activado con PFF/DCC, pero bajo las condiciones de reacción no se observó la formación de los productos de esterificación (Esquema 57).



Esquema 57. Intento de separación de los enantiómeros del dipéptido aromático.

Con la utilización del sustrato quiral **242**, se intentó separar la mezcla racémica del compuesto **231**, por lo que se procedió a formar el cloruro de ácido de **242**, y en forma paralela se liberó la amina del dipéptido **231** con formiato de amonio/Pd/C para evitar la reacción de ciclación y obtener el grupo amino como la sal de amonio. Bajo las condiciones de reacción, no se logró obtener el compuesto **248** y los productos de reacción no pudieron ser identificados (Esquema 58)



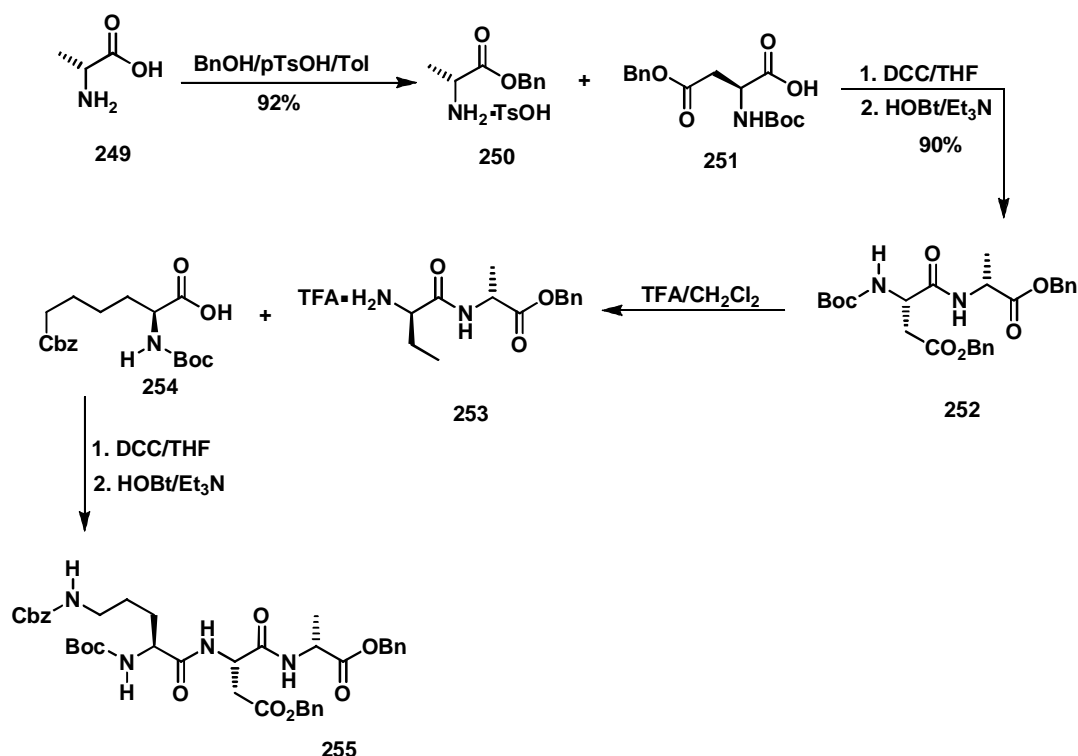
Esquema 58. Intento de separación de los enantiómeros del dipéptido aromático **248**.

5.2 Síntesis de Lipopéptidos

Debido a la importancia de la daptomicina (**162**) como antibiótico y a la disponibilidad de estudios de bioactividad con algunos sustratos análogos, esta macromolécula ha revelado un papel significativo de los constituyentes no proteinogénicos en la potencia antibacteriana.¹³⁰ Además de la preparación de análogos de la radiosumina (**142**), se planteó la preparación de los lipopéptidos de cadena corta: *N*-decanoíl-Gly-Orn-Asp-D-Ala (**192**), *N*-decanoíl-Trp-Asp-Asp-Thr (**193**) y *N*-decanoíl-Kyn-3-Me-Glu-D-Ser-Gly-Asp (**194**) en donde la cadena lipofílica está enlazada en el amino terminal, con el propósito de evaluar sus propiedades antimicrobianas ya que poseen una secuencia de aminoácidos correspondientes a los mismos que posee la molécula de Daptomicina (**162**),

¹³⁰ Jones, Jones. *Amino acids and Peptide Synthesis*. 2a. Ed. Oxford University Press. 1992, 92 p.p.

La preparación del primer lipopéptido **192** (Figura 20), que posee 2 aminoácidos no proteínogénicos se llevó a cabo mediante una síntesis lineal en disolución. Para las reacciones de acoplamiento de los primeros 3 aminoácidos se empleó DCC y HOBt para evitar reacciones de epimerización y formar la cadena peptídica *N*-Boc-(Cbz)-Orn-(OBn)-Asp-D-Ala-OBn (**255**). Previo a la reacción de acoplamiento, el aminoácido *N*-Boc protegido se sometió a una hidrólisis ácida con TFA para liberar el grupo α -amino (Esquema 59).



Esquema 59. Síntesis del tripéptido *N*-Boc-(Cbz)-Orn-(Bn)-Asp-D-Ala-OBn.

El espectro de RMN¹H del tripéptido **255** muestra en 1.36 y 1.19 ppm las señales de los protones del metilo de la cadena lateral de la treonina y los metilos del grupo Boc. También hay un conjunto de señales múltiples entre 2.73 y 3.26 ppm que corresponden a los protones diastereotópicos de los metilenos de las cadenas laterales del ácido aspártico del tripéptido. Los protones en C- α de cada uno de los aminoácidos forma un multiplete entre 4.49 y 4.85 ppm. A campo bajo en 7.31 ppm se distinguen los protones de los anillos aromáticos del grupo Cbz (Figura 51). El espectro de RMN¹³C muestra las señales de los grupos protectores de la alanina en 49.3 ppm para el éster metílico y de la ornitina en 28.4 y 80.6 ppm correspondiente al grupo Boc (Figura 52).

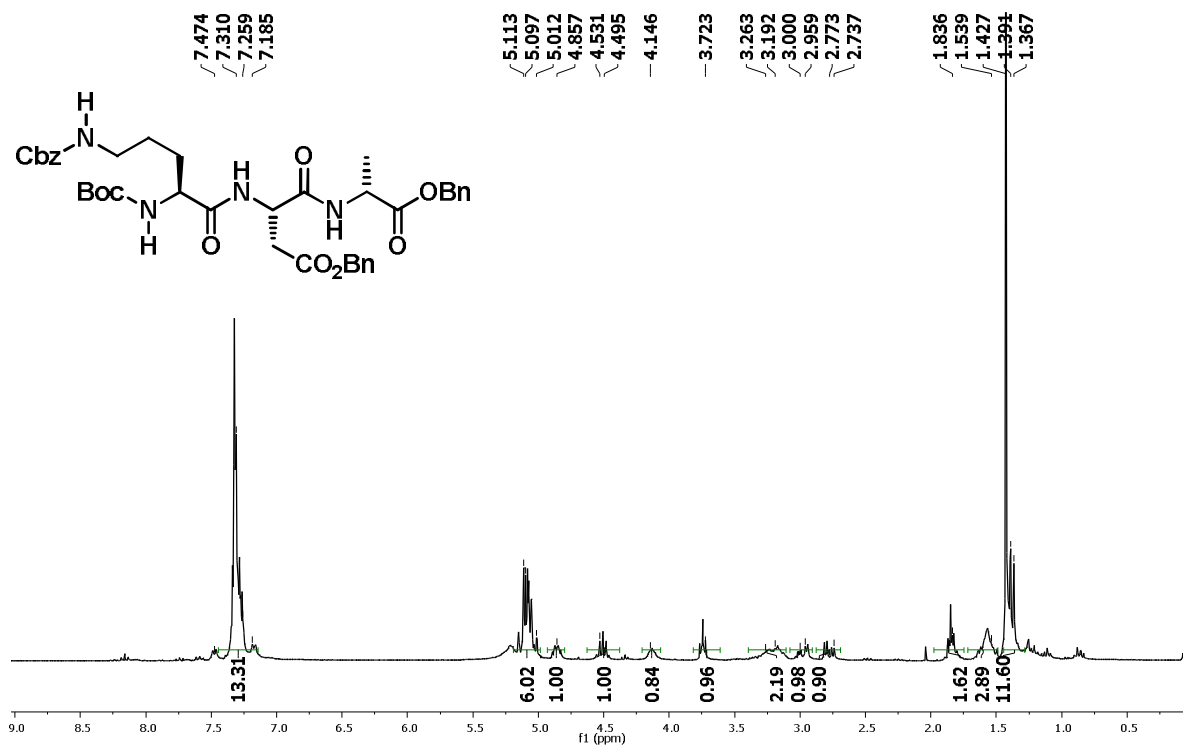


Figura 51. Espectro de RMN¹H del tripeptido 255.

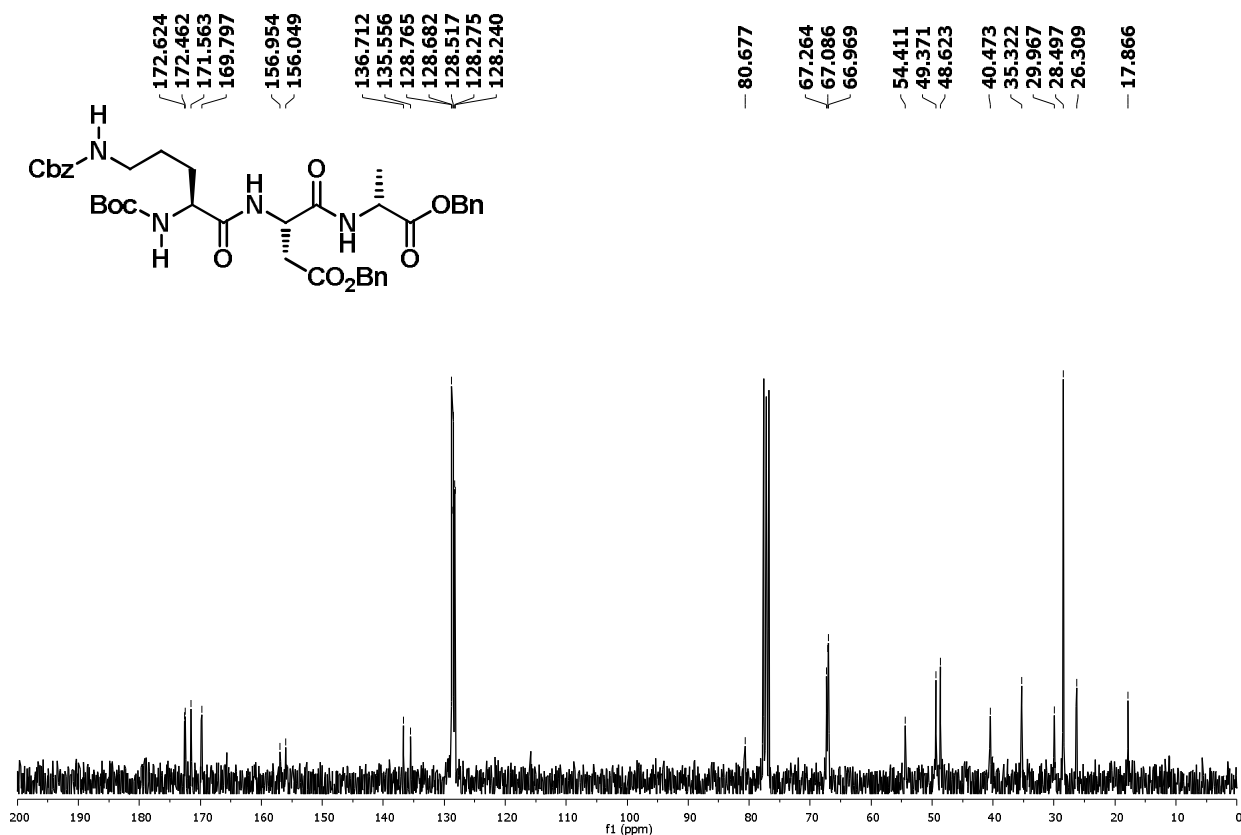
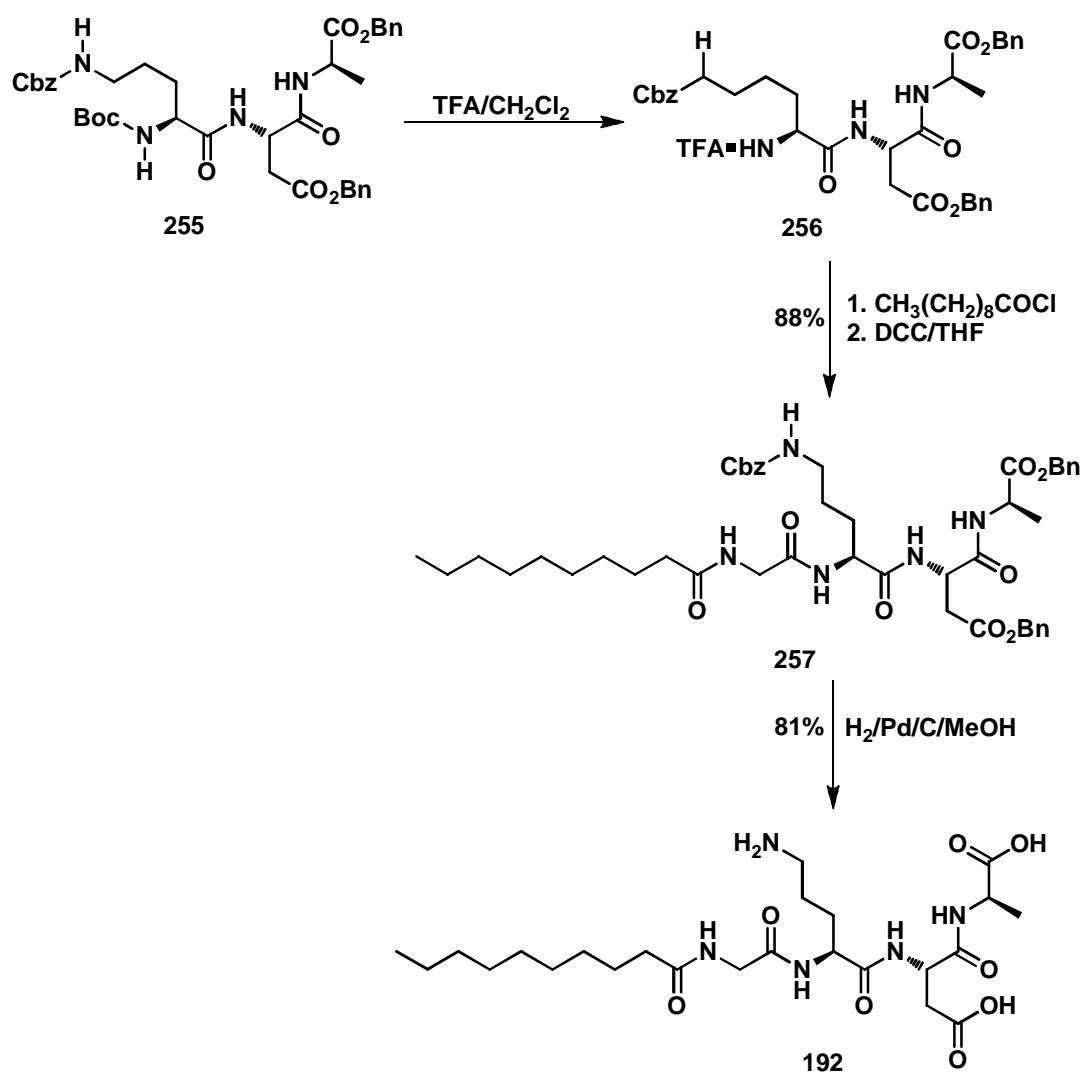


Figura 52. Espectro de RMN¹³C del tripeptido 255.

El cuarto aminoácido, glicina, fue acoplado conteniendo la cadena de decanoílo enlazada en el grupo amino y no fué necesario la utilización de HOBT en la reacción de acoplamiento, ya que siendo la glicina un aminoácido no quiral, el empleo de DCC fue suficiente para activar el ácido carboxílico sin problemas de epimerización en este paso. El lipopéptido **192** fué obtenido cuando se removieron los grupos protectores Bn y Cbz por la hidrogenólisis en presencia de paladio sobre carbón. Después de la eliminación del catalizador, el producto se obtuvo en rendimientos superiores al 80% (Esquema 60).



Esquema 60. Síntesis del lipopéptido *N*-Dec-Gly-Orn-Asp-D-Ala-OH.

En el espectro de RMN¹H del lipopéptido **192** se puede apreciar la cadena de decanoílo que aparece en campo bajo como una señal ancha que integra para 15

protones. También se pueden observar que los protones aromáticos de los grupos protectores Cbz y Bn ya no aparecen y los protones α de los aminoácidos se observan como multipletes que aparecen entre 3.63 y 4.48 ppm (Figura 53).

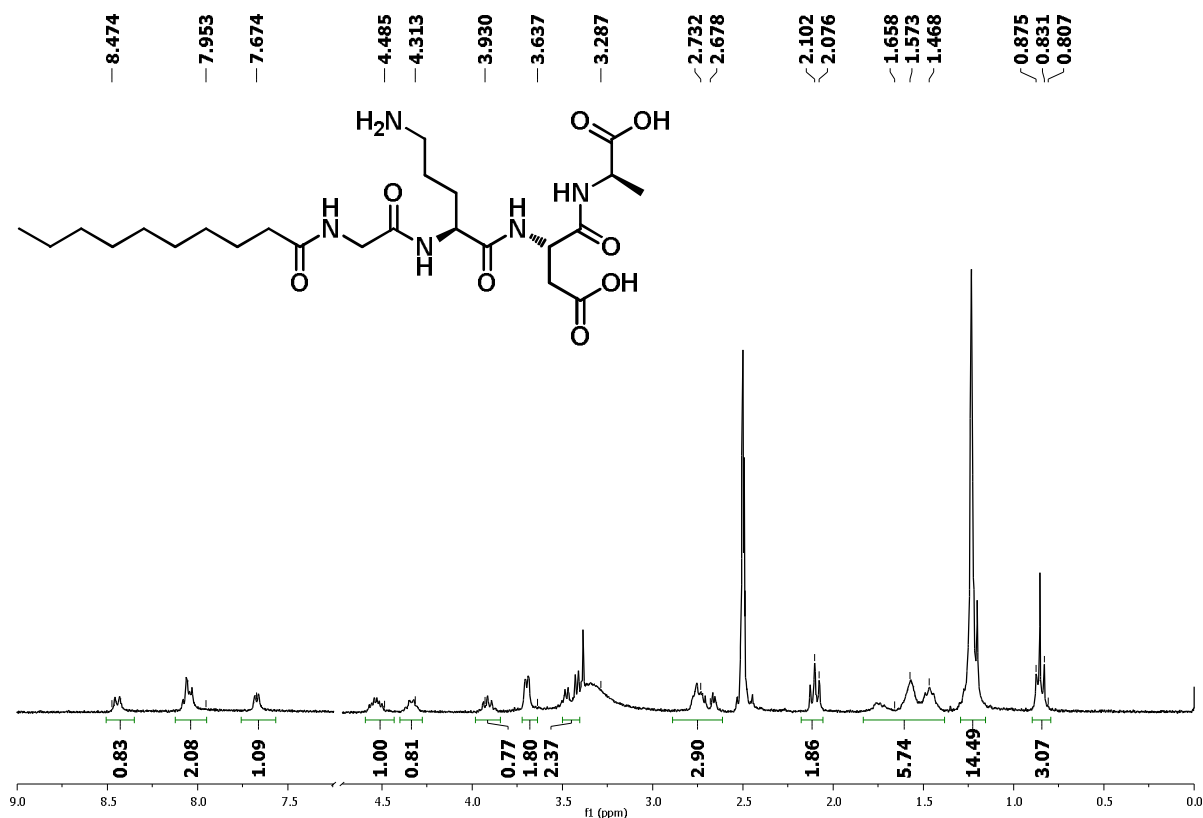
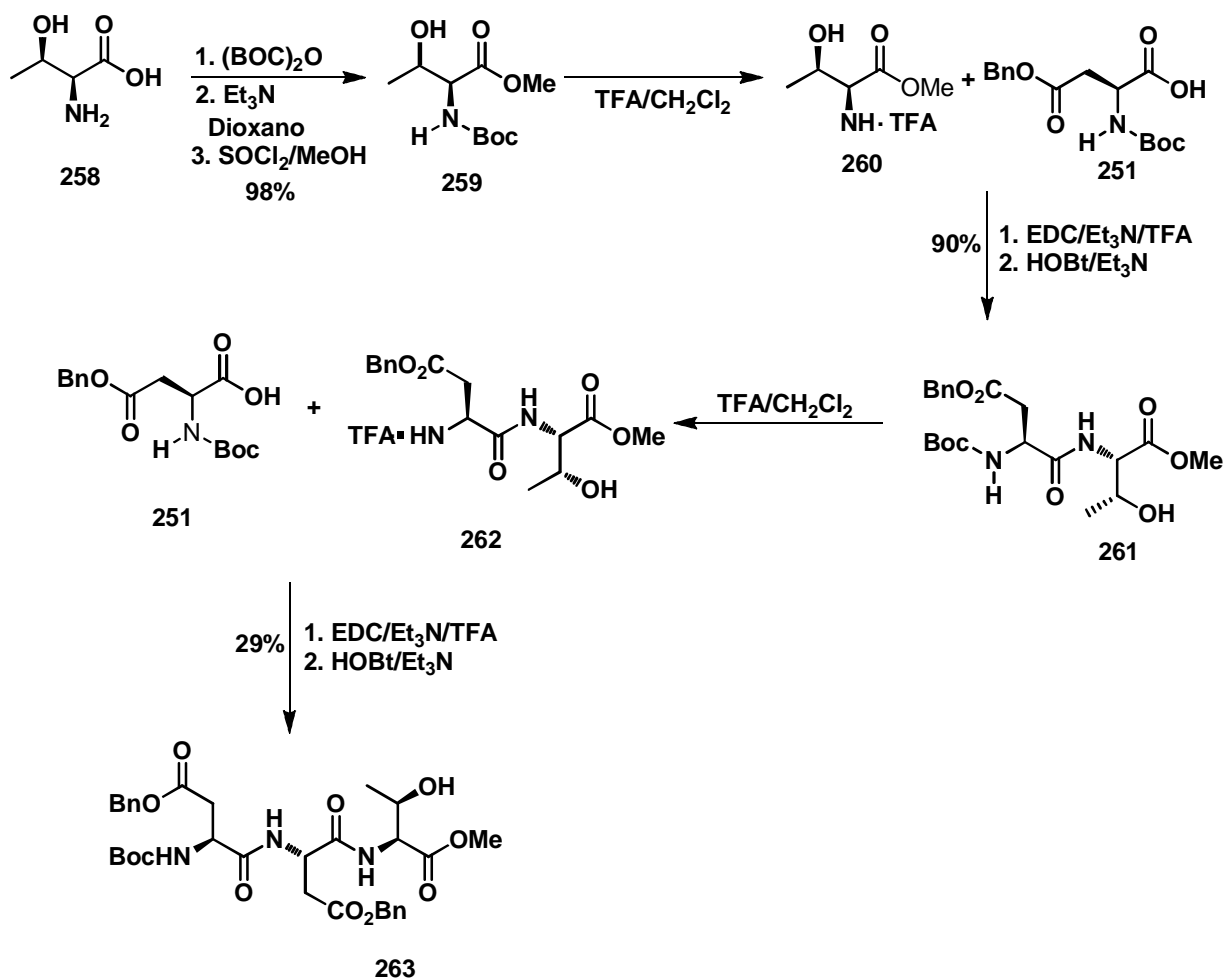


Figura 53. Espectro de RMN¹H del lipopéptido **192**.

El lipopéptido, *N*-decanoílo-Trp-Asp-Asp-Thr (**193**), fue preparado a través de una síntesis convergente en disolución, ya que cuando se intentó llevar a cabo la síntesis en forma lineal, el tripéptido *N*-Boc-(Bn)-Asp-(Bn)-Asp-Thr-OMe (**263**) fué obtenido en bajos rendimientos. El impedimento estérico, por la presencia de las cadenas laterales del ácido aspártico, influyó en que la reacción de acoplamiento (Esquema 61). El dipéptido **261** solo pudo acoplarse de manera efectiva utilizando EDC/HOBt para activar el ácido carboxílico del ácido aspártico (**251**), ya que cuando se utilizó la DCC/HOBt la reacción no procedió. La utilización de treonina (**258**) sin proteger el grupo hidroxilo de la cadena lateral puede influir desfavorablemente en la reacción de acoplamiento.



Esquema 61. Síntesis del tripeptido *N*-Boc-(Bn)-Asp-(Bn)-Asp-Thr-OMe.

El espectro de RMN¹H del tripeptido **263** muestra entre 2.70 y 3.15 ppm una serie de señales dobles de dobles correspondientes a los protones diastereotópicos de los metilenos de las cadenas laterales de los 2 residuos de ácido aspártico. Los protones de los metilos de la alanina, del grupo protector Boc y del éster metílico aparecen en 1.17, 1.43 y 3.74 ppm. Los protones en C-α de los aminoácidos se localizan como multipletes entre 4.05 y 4.87 ppm (Figura 54). En el espectro de RMN¹³C se observan dos señales a 63 y 67 ppm correspondientes a los carbonos bencílicos del grupo protector Cbz y en 28 y 80 ppm las señales del grupo protector Boc (Figura 55).

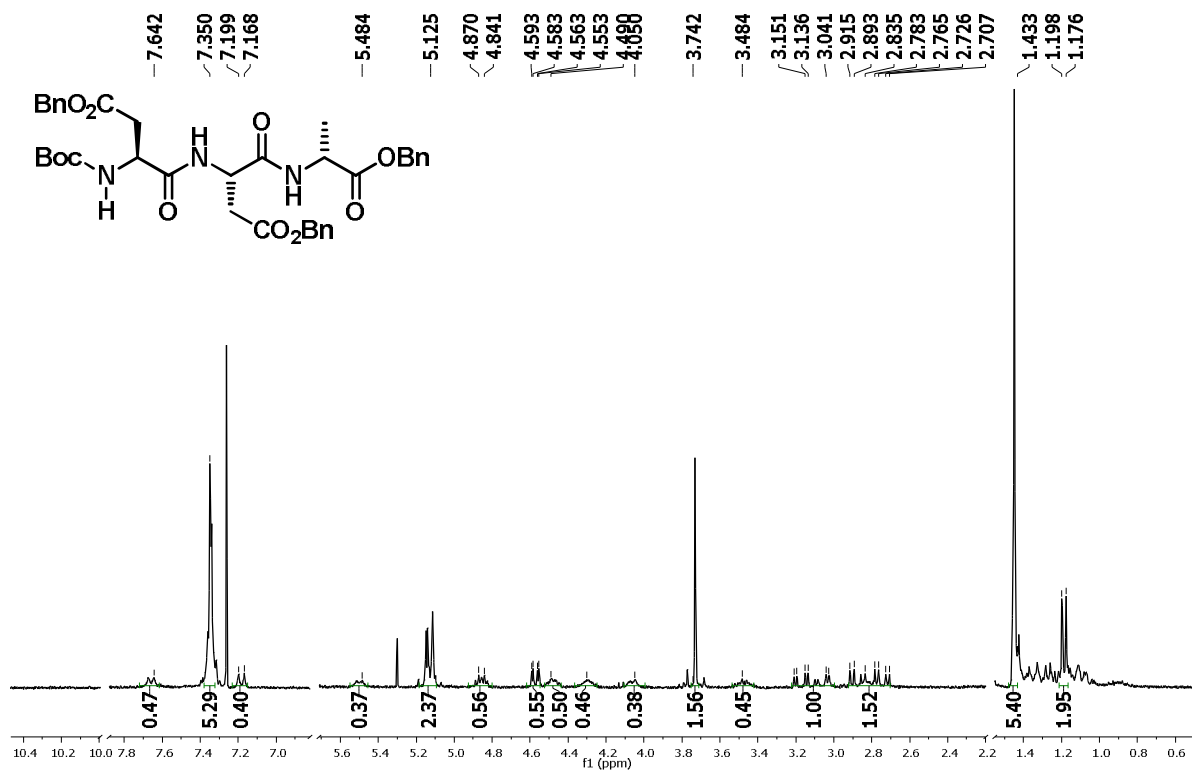


Figura 54. Espectro de RMN¹H del tripeptido 263.

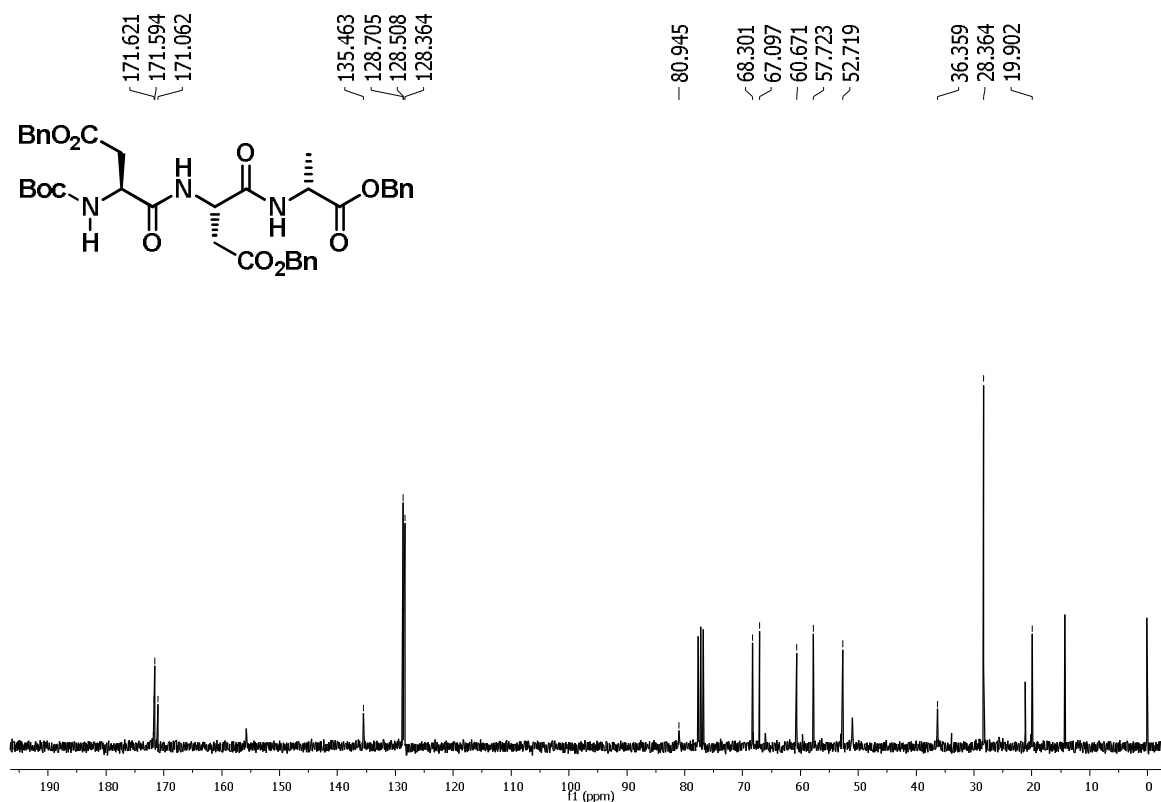
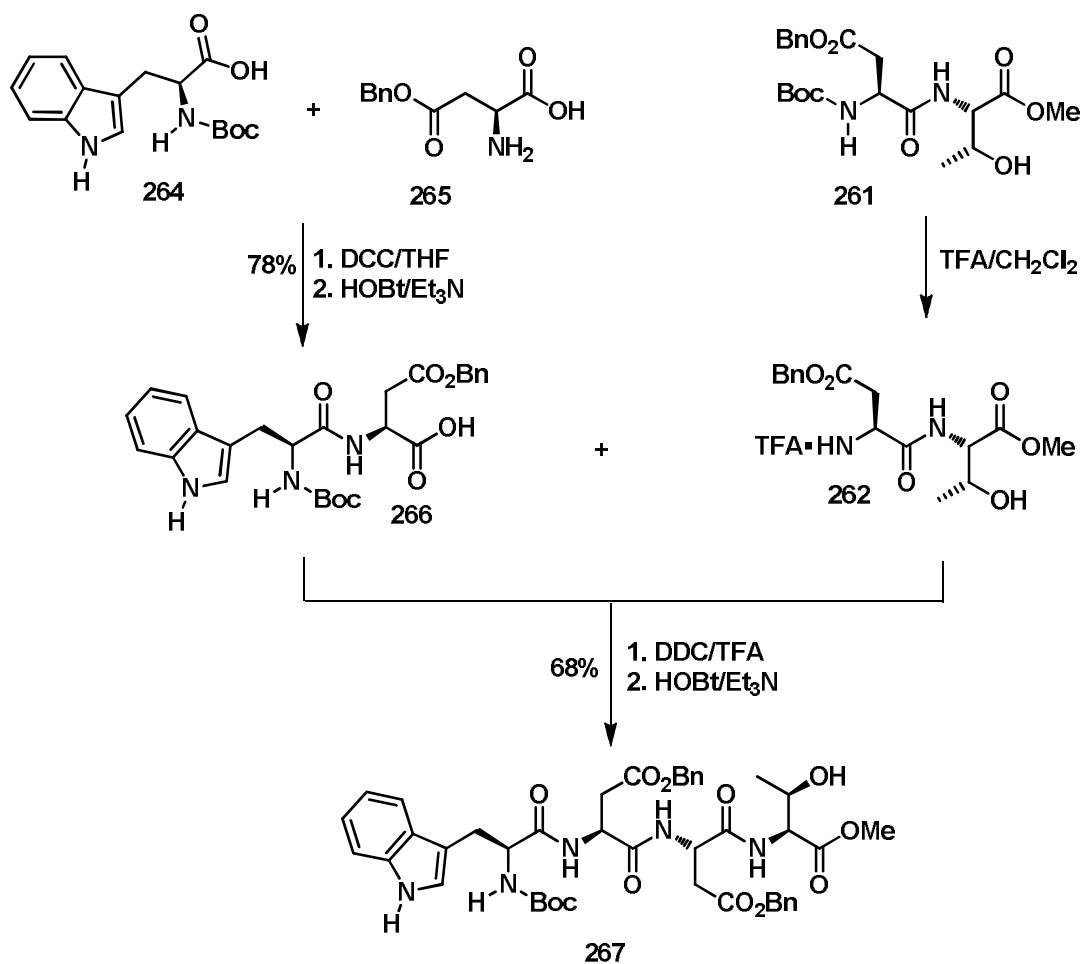


Figura 55. Espectro de RMN¹³C del tripeptido 263.

Debido a los bajos rendimientos para la obtención del tripéptido **263**, se procedió a preparar el dipéptido **266**. El *N*-Boc-Trp-OH (**264**) fue activado para proceder a su acoplamiento con el (Bn)-Asp-OH (**265**), el cual se utilizó con el grupo ácido libre, en donde la mayor nucleofilicidad de la amina sobre el ácido libre, favoreció la obtención del producto **266** en rendimientos aceptables del 78%. Los rendimientos pudieron haber sido mayores, pero la purificación por columna utilizando un sistema de elución ácido, probablemente ocasionó la hidrólisis del grupo Boc y su retención en la fase sólida de la columna cromatográfica. Finalmente, el tetrapéptido **267** se obtuvo a partir del acoplamiento de los rdipéptidos Trp-Asp (**266**) y Asp-Thr (**261**) previa ruptura del grupo Boc (Esquema 62). El acoplamiento entre estos dos dipéptidos condujo a que el residuo de Trp quedara como el aminoácido *N*-terminal y el residuo de Thr como el aminoácido *C*-terminal.



Esquema 62. Síntesis del tetrapéptido *N*-Boc-Trp-(Bn)-Asp-(Bn)-Asp-Thr-OMe.

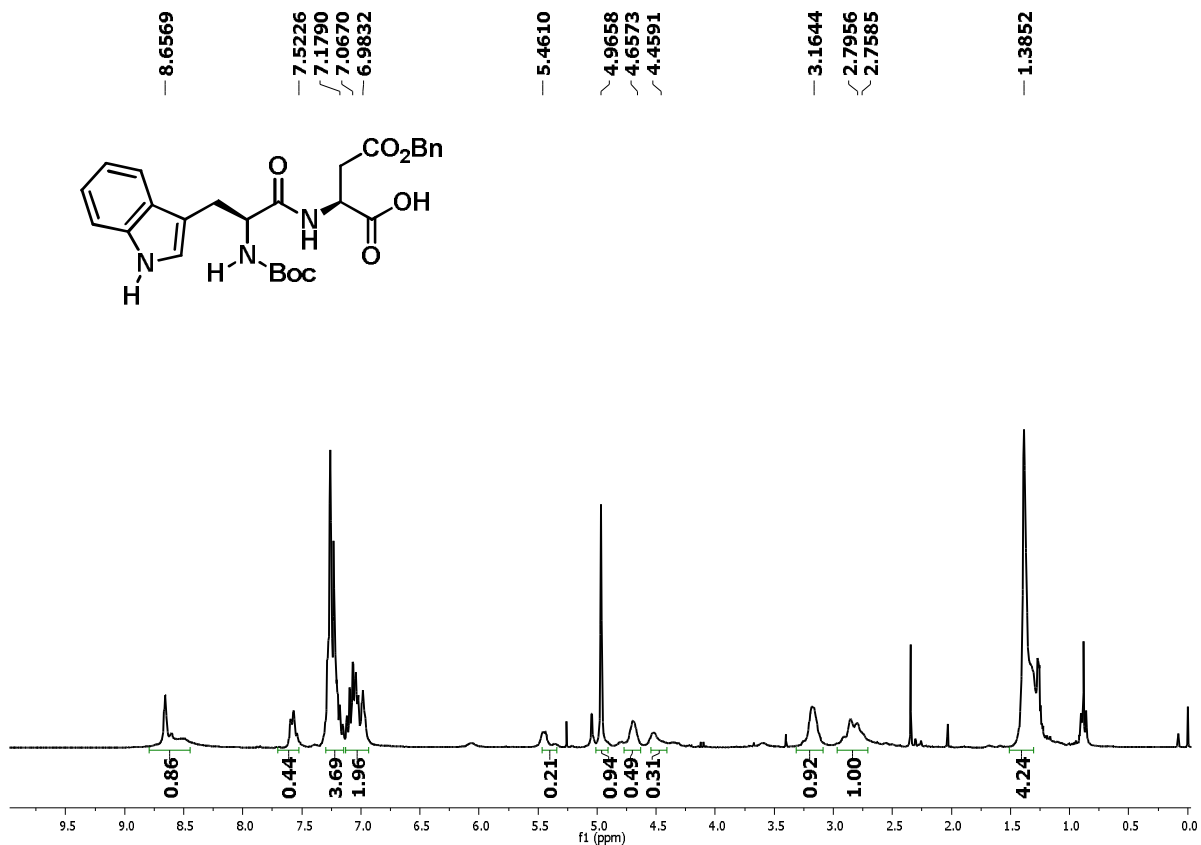


Figura 56. Espectro de RMN¹H del dipéptido 266.

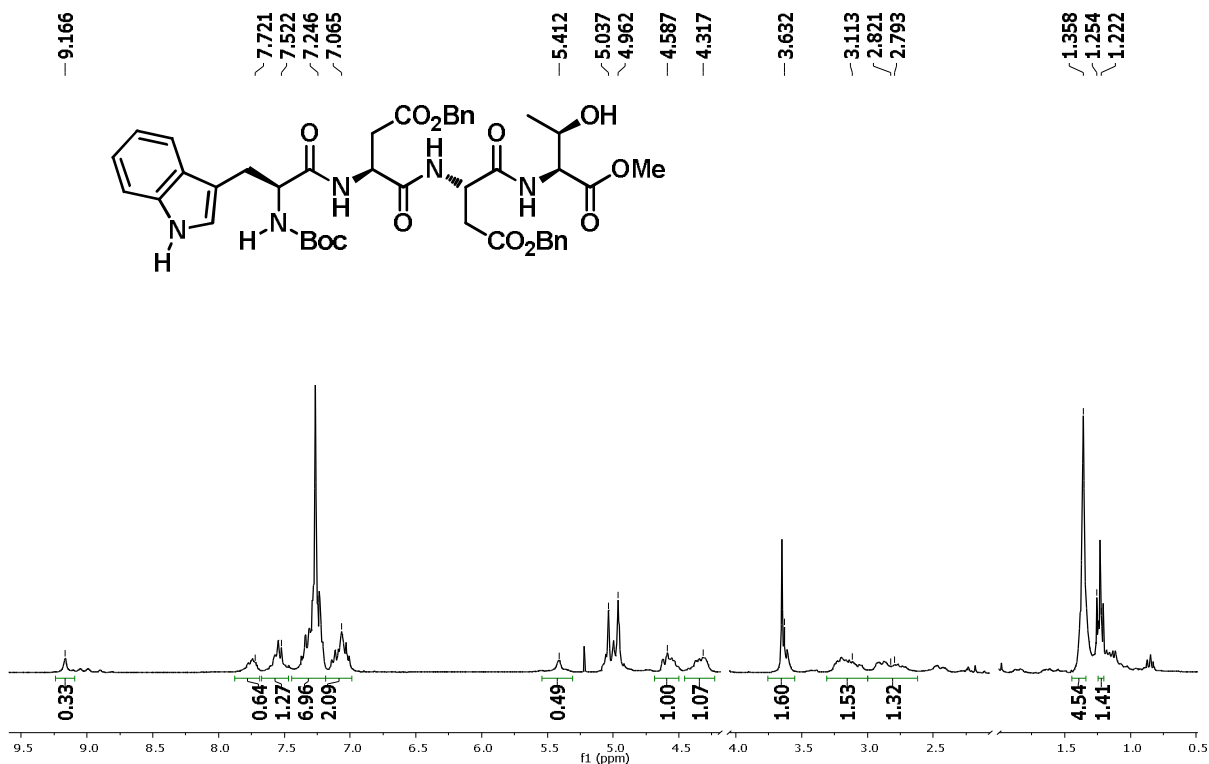
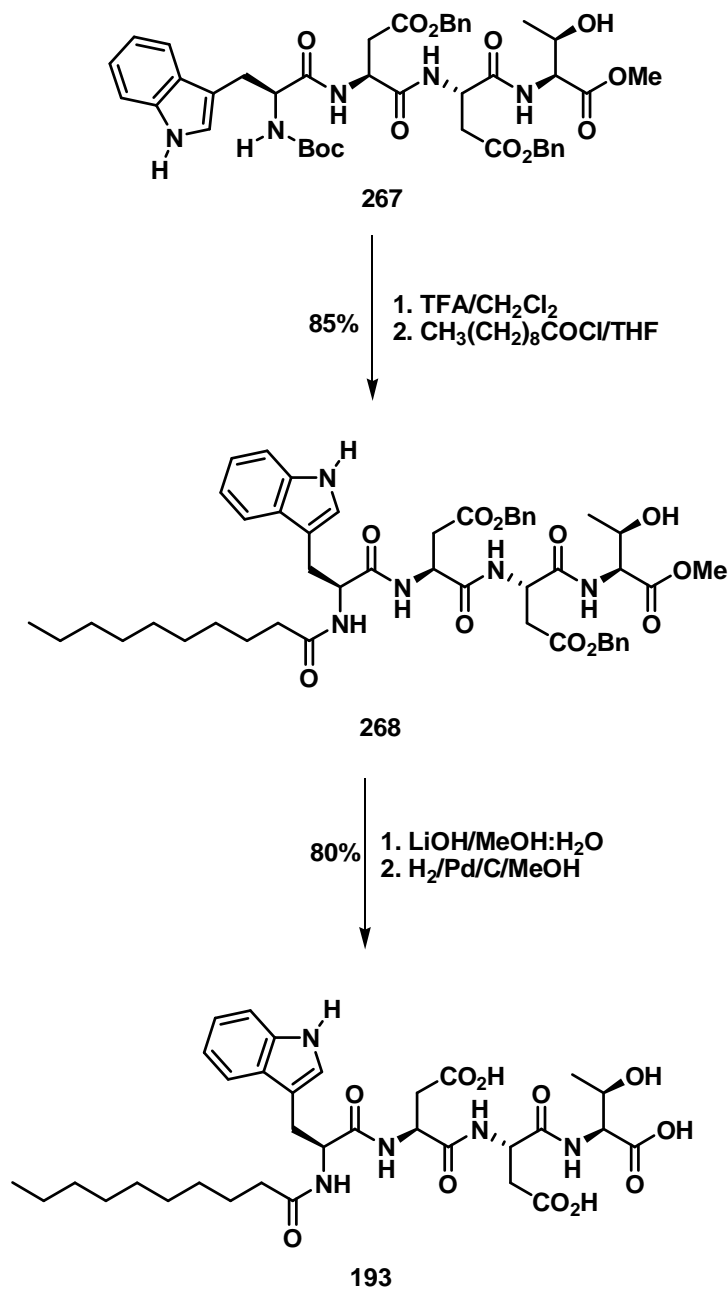


Figura 57. Espectro de RMN¹H del tetrapéptido 267.

El espectro de RMN¹H del dipéptido **266** muestra dos multipletes entre 2.75 y 3.16 ppm correspondientes a los protones diasterotópicos de la cadena lateral del ácido aspártico y triptofano. Los protones de los metilos del grupo protector Boc están en 1.38 ppm y del grupo Cbz en 4.96 y 7.17 ppm. Los protones del anillo del indol se localizan entre 6.98 y 7.52 ppm (Figura 56). En el espectro de resonancia RMN¹H del tetrapéptido **267** se aprecian las señales de los 2 aminoácidos terminales, triptofano y treonina, ya que los grupos protectores que poseen se pueden observar a 1.35 ppm la señal para el grupo Boc y a 3.63 ppm la señal del éster metílico (Figura 57).

La manipulación de los grupos protectores del tetrapéptido **267** fue fundamental para la introducción de la cadena lipofílica y para la remoción de los grupos protectores de los productos finales para obtener el lipopéptido **193**. Esta cadena se introdujo en el aminoácido terminal triptofano, llevando a cabo la remoción del grupo protector Boc y la amina resultante se hizo reaccionar con el cloruro de decanilo (preparado inmediatamente antes de ser usado) en medio básico (Esquema 63).



Esquema 63. Síntesis del lipopéptido *N*-Dec-Trp-Asp-Asp-Thr-OH.

En el espectro de RMN¹H del lipopéptido **268** se aprecia a 0.85, 1.19, 1.44 y 2.16 ppm las señales múltiples correspondientes a la cadena hidrofóbica de decanoilo enlazada al aminoácido triptofano que ya no posee el grupo protector Boc. Además se observa en 3.67 ppm la señal del éster metílico del aminoácido treonina, y entre 2.80 y 3.25 ppm los protones diasterotópicos de los 2 residuos de ácido aspártico y triptofano (Figura 58).

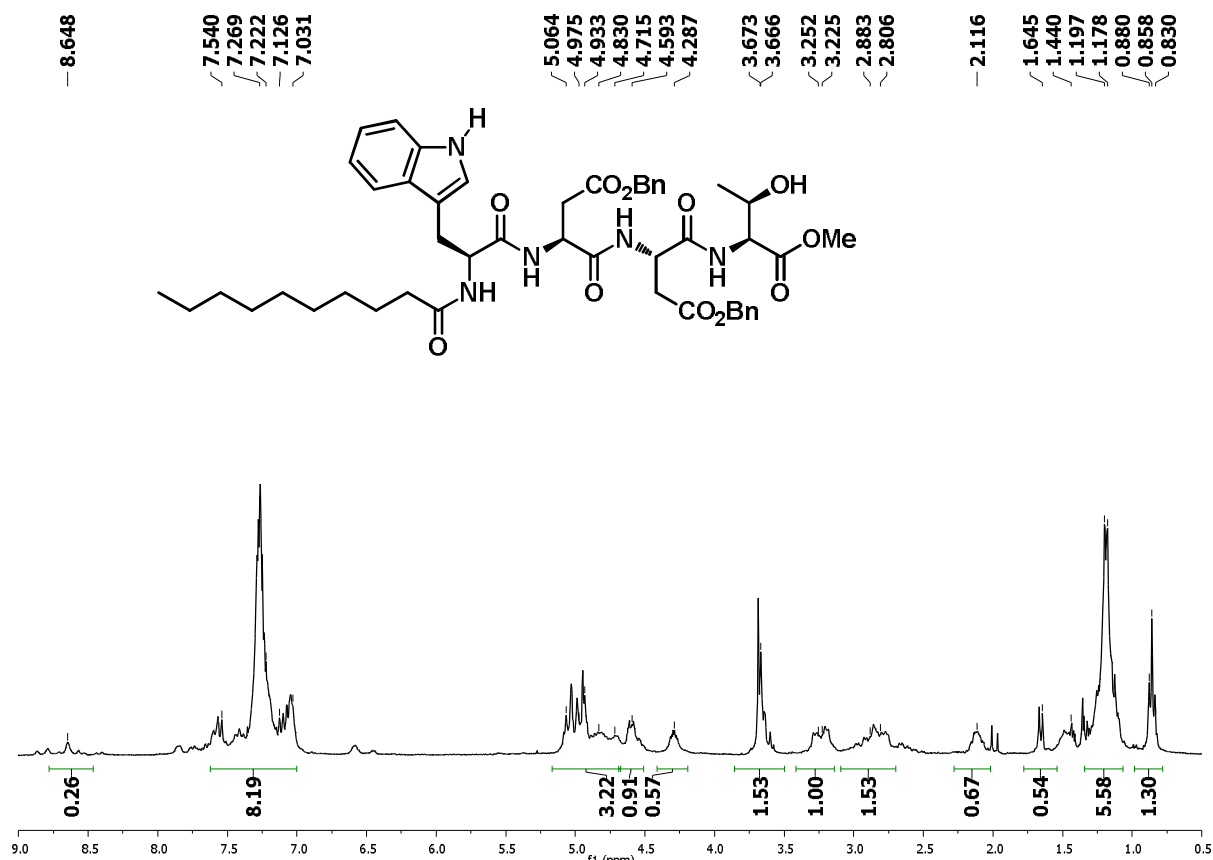
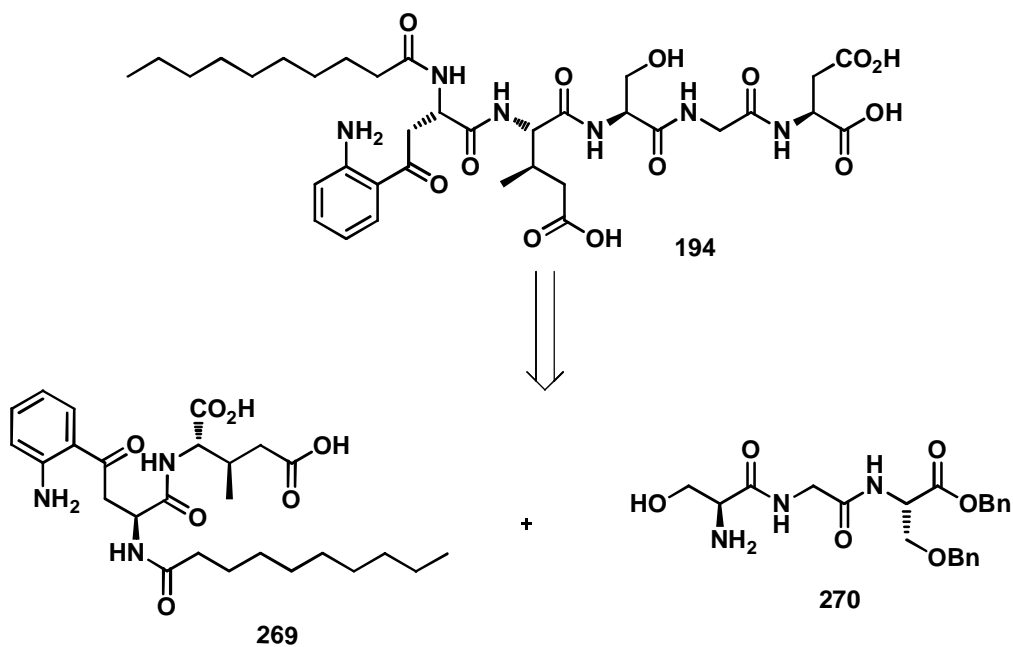


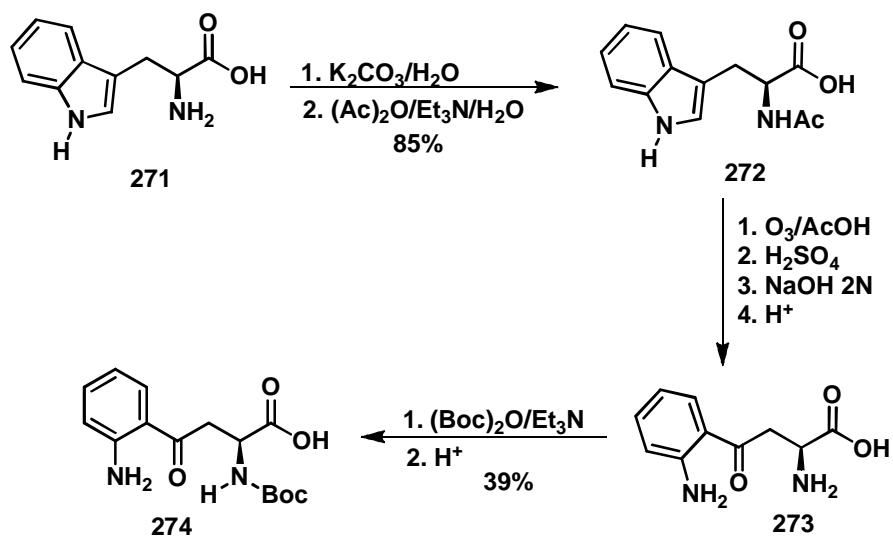
Figura 58. Espectro de RMN ^1H del tetrapéptido **268**.

El tercer lipopéptido *N*-decanoil-Kyn-3-Me-Glu-D-Ser-Gly-Asp (**194**), el cual posee tres aminoácidos no proteínogénicos, se intentó preparar a través de una síntesis convergente mediante el acoplamiento del dipéptido **269** y el tripéptido **270** (Esquema 64). La propuesta retrosintética para el precursor, implica la preparación de α -aminoácidos (Kyn y 3-Me-Glu) que no son disponibles comercialmente.



Esquema 64. Retrosíntesis del lipopéptido N-Dec-Kyn-3-Me-Glu-D-Ser-Gly-Asp-OH.

El primer aminoácido no proteínogénico que se pretendió preparar fue la kinurenina (**273**); éste fue obtenido mediante la oxidación del *N*-acetil-triptófano¹³¹ (**272**). Este procedimiento implicó la ozonólisis del anillo pirrólico del triptófano seguido de un tratamiento ácido para la ruptura del ozonónido. Para su mejor manejo, el producto fue obtenido como el derivado *N*-Boc **274** (Esquema 65).



Esquema 65. Síntesis de la Kinurenina.

¹³¹ Ross, F.C.; Bottung, N. P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, 6, 875.

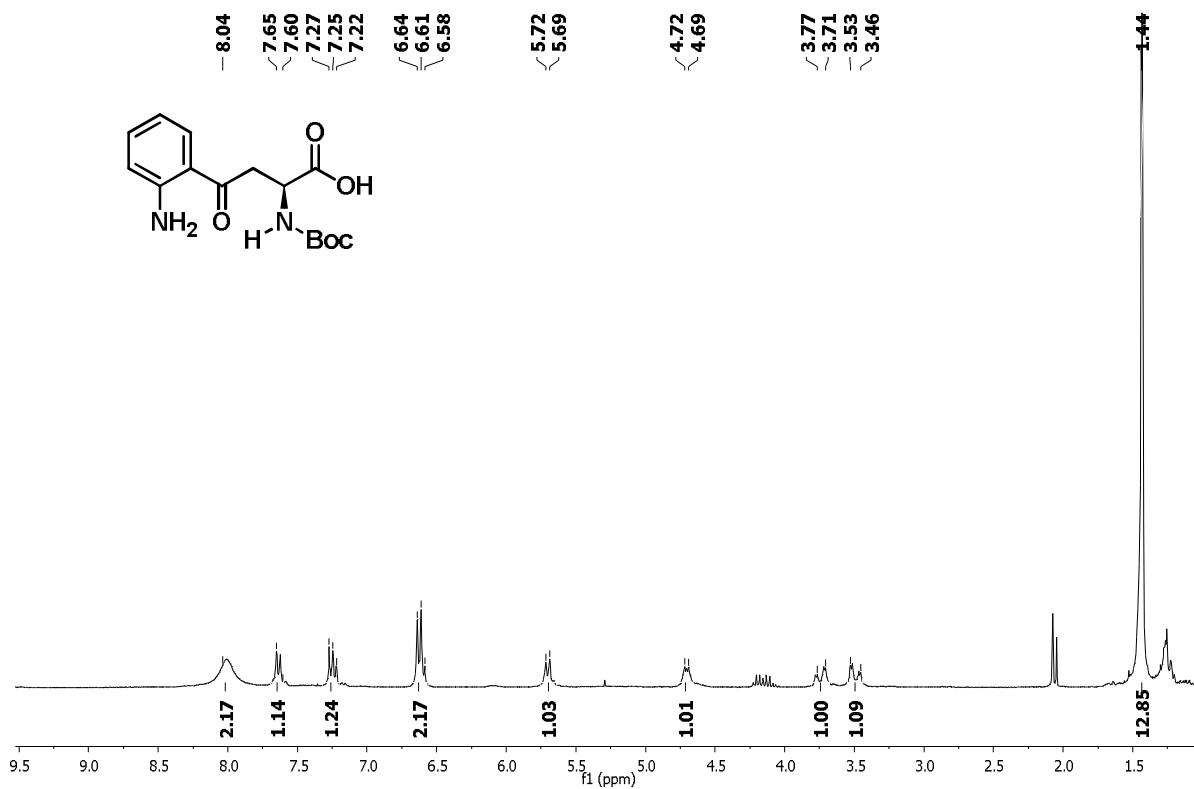


Figura 59. Espectro de RMN¹H de la N-Boc-Kyn-OH 274.

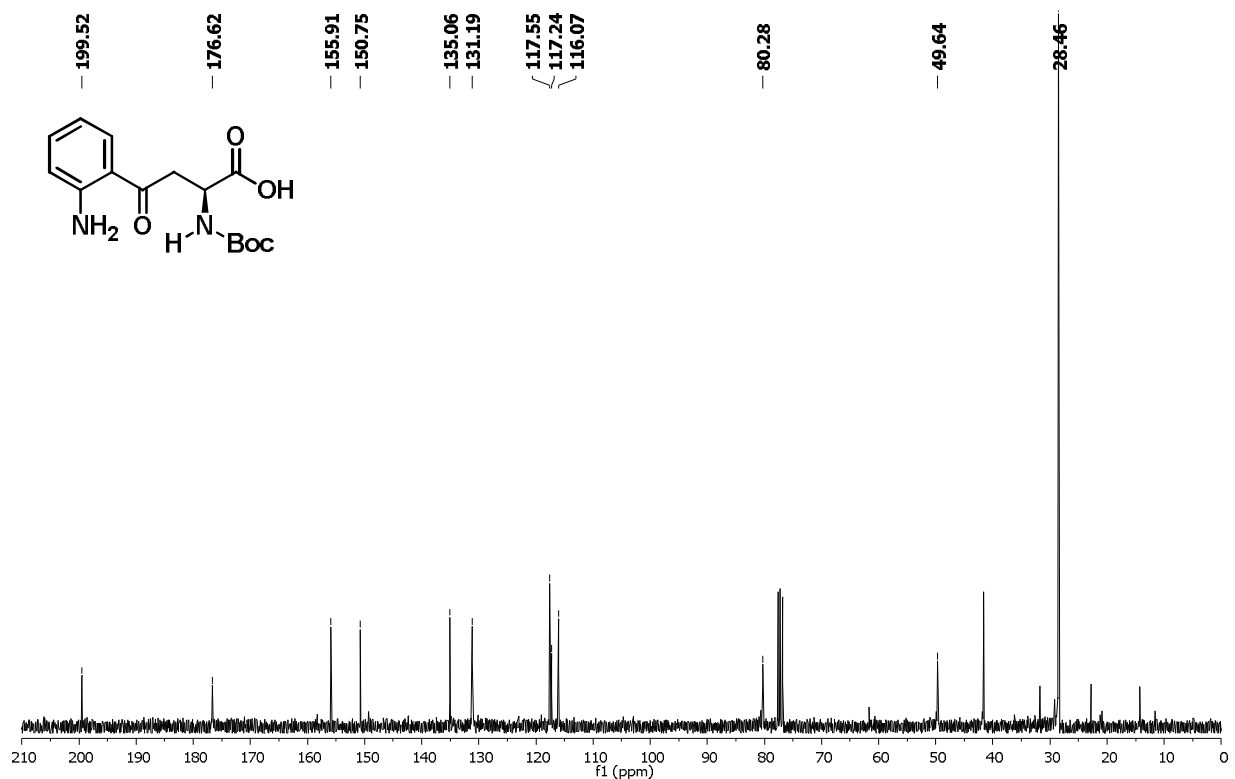
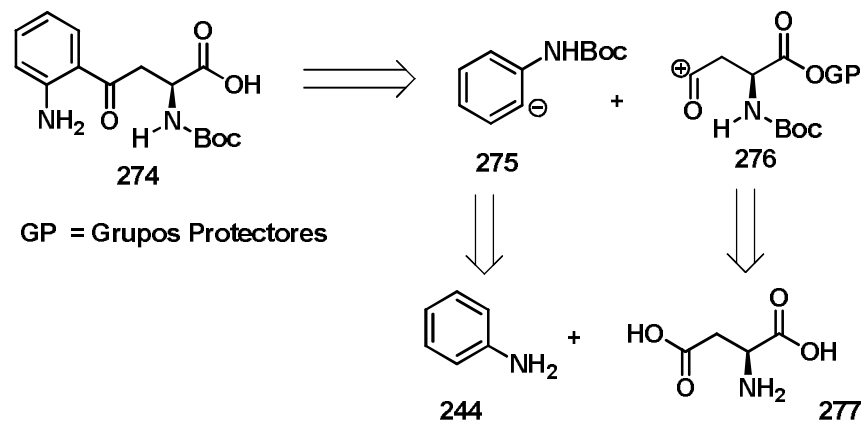


Figura 60. Espectro de RMN¹³C del aminoácido 274.

En el espectro de RMN¹H del aminoácido **274** se pueden observar dos señales dobles a 2.45 y 2.71 ppm correspondientes a los protones diastereotópicos β de la cadena lateral de la kinurenina y a 4.70 ppm un multiplete del protón α del aminoácido y los protones del anillo del indol se localizan entre 6.61 y 7.65 ppm (Figura 59). En el espectro de RMN¹³C se distingue a 200 ppm la señal del carbonilo cetónico de la kinurenina, los 2 carbonos aromáticos no sustituidos entre 116 y 117 ppm y los carbonos cuaternarios a 131 y 135 ppm (Figura 60).

Debido al bajo rendimiento obtenido, se planteó la posibilidad de obtener la kinurenina protegida (**274**) mediante la reacción de un compuesto litiado derivado de la anilina protegida (**275**) y de un derivado de ácido aspártico (**276**) selectivamente protegido (Esquema 66).

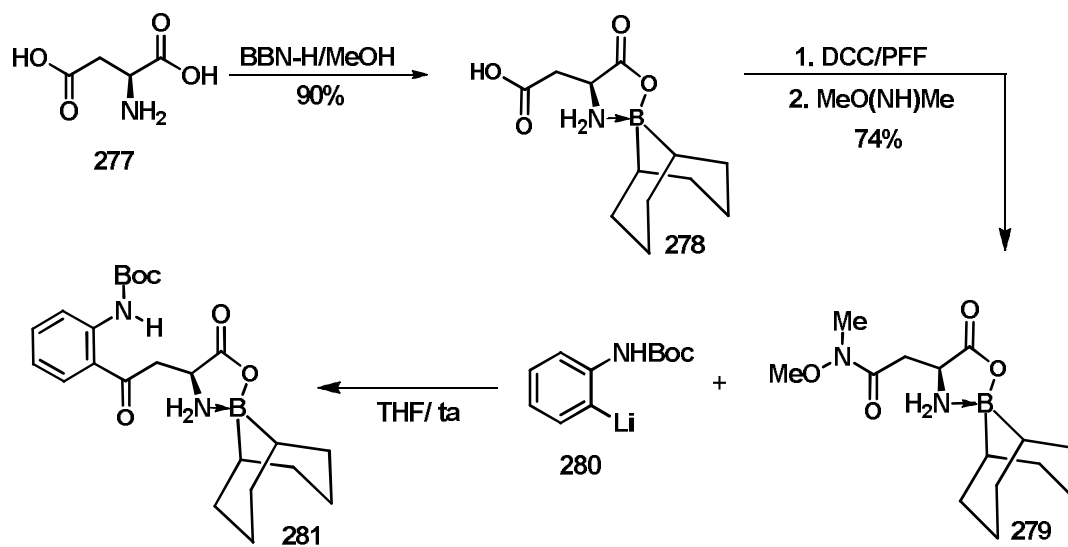


Esquema 66. Retrosíntesis para la preparación de la *N*-Boc-Kinurenina.

Se seleccionó el 9-BBN-H como grupo protector dual para el carbonilo y el átomo de nitrógeno, reacción descrita por Dent¹³² y *col*, en base a la formación de un anillo de oxazaborolidinona entre los grupos amino y ácido del respectivo aminoácido y el átomo de boro, que en éste caso proviene del 9-BBN-H. De esta forma, la preparación de la oxazaborolidinona **278** a partir del ácido aspártico (**277**) con 9-BBN-H, permitió la manipulación de la cadena lateral del aminoácido, la cual fué convertida en la correspondiente amida de Weinreb **279**. Cuando se intentó hacer reaccionar la oxazaborolidinona **279** con *N*-Boc-anilina litiada (**280**) no se tuvo éxito en la obtención del

¹³² Dent, W. H. III.; Fields, S. C.; Parker, M. H.; Tromiczak, E. G. *Org. Lett.* **2002**, 2, 1249.

compuesto de acoplamiento **281**, que permitiría obtener el aminoácido kinurenina (**273**). Después de la remoción del grupo 9-BBN, se recuperó materia prima (Esquema 67).



Esquema 67. Síntesis del complejo kinurenina oxazaborolidinona.

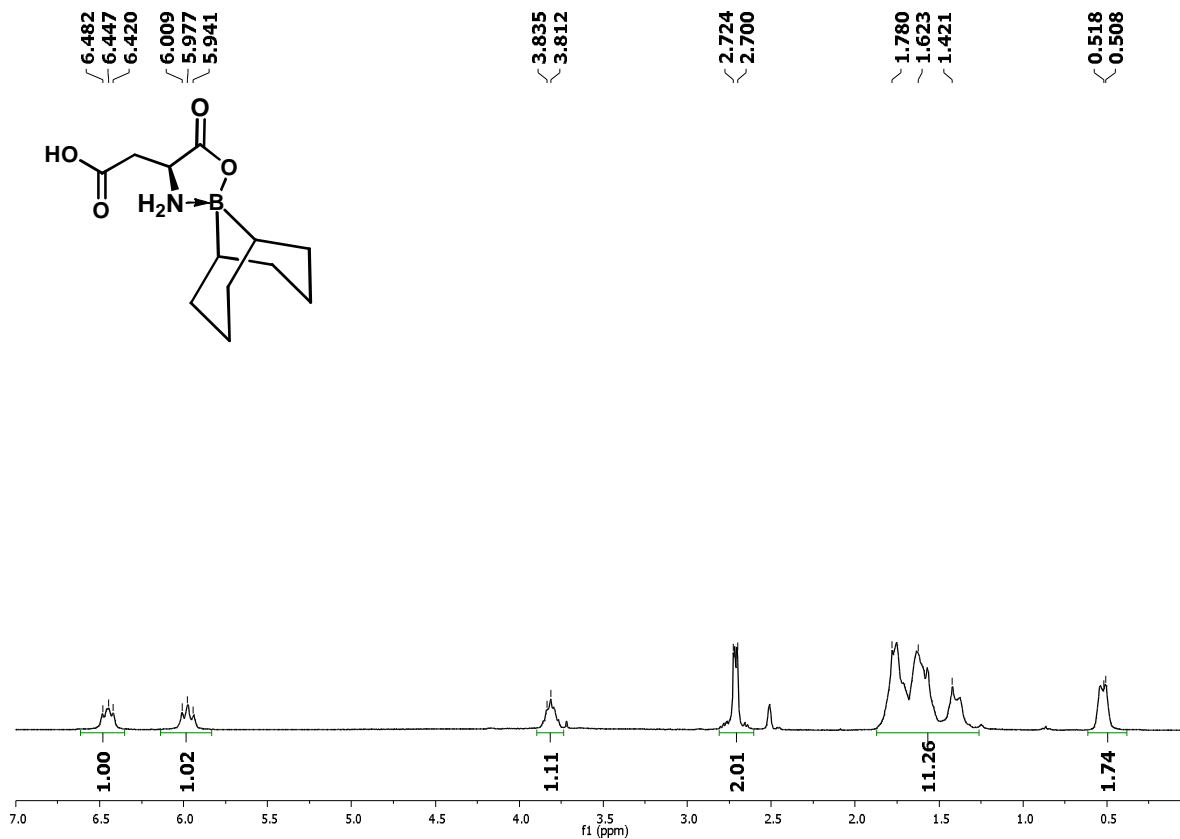


Figura 61. Espectro de RMN¹H de la oxazaborolidinona **278**.

El espectro de RMN¹H del compuesto **278** muestra los protones diastereotópicos de la cadena lateral del ácido aspártico como un doblete ancho a 2.73 ppm, el protón α del aminoácido a 3.82 ppm como un multiplete y los protones del anillo del borano se localizan como un multiplete entre 1.42 y 1.78 ppm y debido a la presencia del átomo de boro en la molécula y a su coordinación con el nitrógeno, los 2 protones del α-amino se diferencian dando una señal de doblete de doblete cada uno a 5.88 y 6.38 ppm (Figura 61).

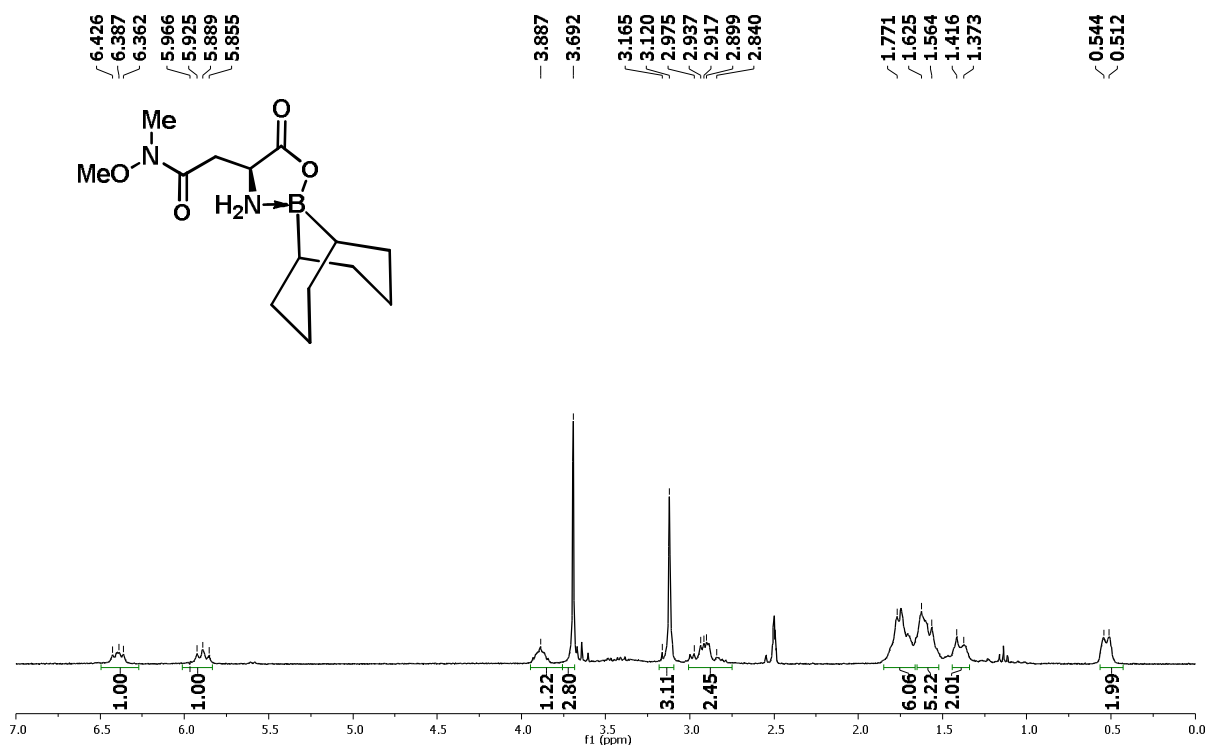


Figura 62. Espectro de RMN¹H de la amida de Weinreb **279**.

El compuesto **279** muestra en el espectro de RMN¹H las señales de los protones metílicos de la amida de Weinreb como singuletes en 3.16 y 3.69 ppm, además se aprecian los protones de la amina como dobles de dobles en 5.88 y 6.38 ppm. El protón α del aminoácido se localiza como un multiplete en 3.88 ppm y los protones de la cadena lateral en 2.93 ppm (Figura 62).

5.3 Protección Selectiva de α-aminoácidos

La presencia de grupos funcionales con reactividades similares en la misma molécula es una preocupación obvia para la planificación de una síntesis, ya que ambos

grupos reaccionan de la misma forma bajo condiciones similares.¹³³ El control sobre la reactividad individual de los grupos dentro de una molécula (quimioselectividad) todavía sigue siendo en gran parte un reto que se puede encontrar con frecuencia durante la síntesis química de péptidos,¹³⁴ en particular con residuos de aminoácidos que contienen cadenas laterales con funcionalidades carboxi o amino tales como el ácido aspártico (**277**) y glutámico (**282**) o lisina (**283**) y ornitina (**4**) (Figura 63).

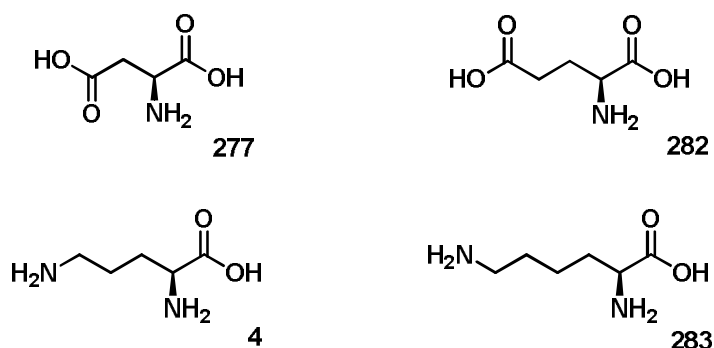
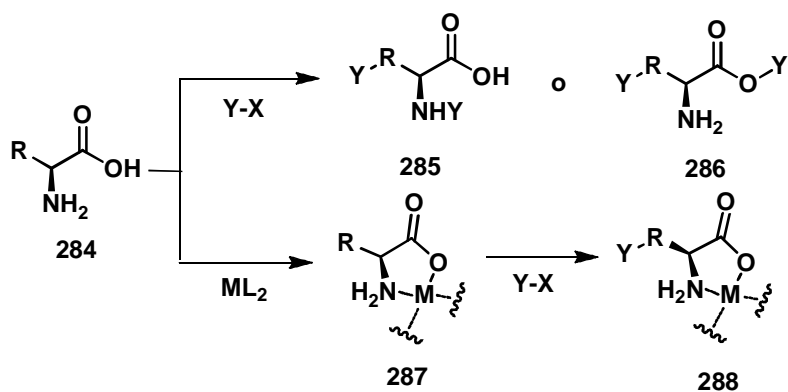


Figura 63. Aminoácidos con cadenas laterales funcionalizadas.

Una solución parcial a este problema es la protección de las funcionalidades de la cadena lateral con una variedad de grupos protectores semipermanentes específicos, aunque esta operación no siempre es fácil de realizar. Por ejemplo, el 9-borabicyclononano (9-BBN-H)¹³⁵ ha sido utilizado para proteger aminoácidos que pretenden ser funcionalizados quimioselectivamente en su cadena lateral (Esquema 68).



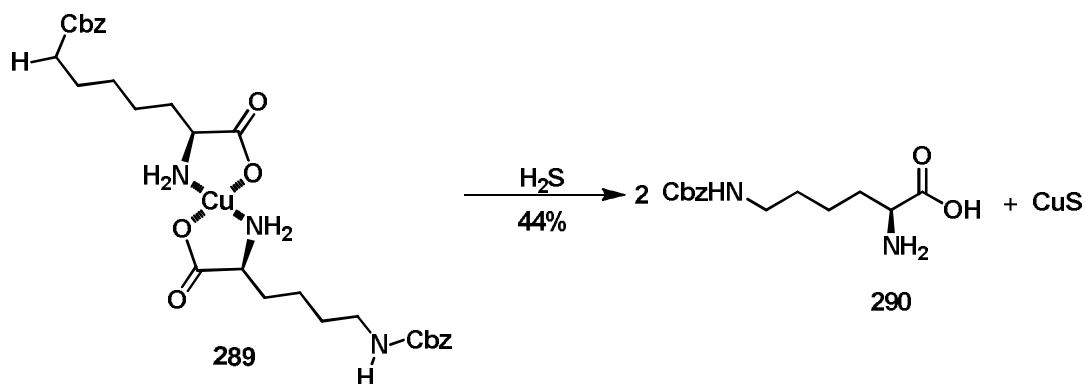
Esquema 68. Esquema de protección selectiva de α -aminoácidos.

¹³³ Bodanzsky, M. Bodanzsky A. *The Practical of Peptides Synthesis*. 1991. Sprinige Verlag, New York, 1991, 217 p.p.

¹³⁴ Warren, S. Wyatt, P. *Organic Synthesis: Strategy and Control*. 2a. Ed. London. 207.

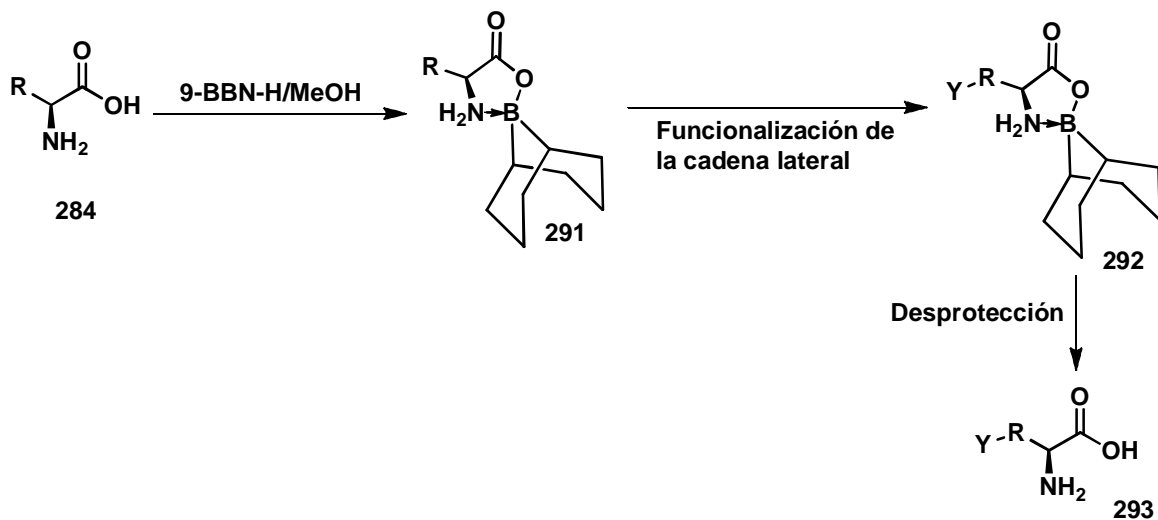
¹³⁵ Dent, W. H. III.; Fields, S. C.; Parker, M. H.; Tromiczak, E. G. *Org. Lett.* **2002**, 2, 1249.

Con la finalidad de controlar la reactividad de los grupos funcionales presentes en las moléculas, se ha utilizado la formación de complejos metálicos. Entre las posibilidades, el cobre forma complejos estables con α -aminoácidos que permiten la funcionalización de la cadena lateral.¹³⁶ Sin embargo, se requiere H_2S para romper el complejo de cobre que por cuestiones de seguridad hace que este método sea poco atractivo¹³⁷ (Esquema 69).



Esquema 69. Protección selectiva de α -aminoácidos con iones metálicos.

Otra alternativa que se ha descrito, es el uso de oxazaborolidinonas **291** como grupos protectores semipermanentes para aminoácidos.¹³⁸ La estrategia general que se utiliza está representada en el esquema 70.



Esquema 70. Preparación de oxazaborolidinonas a partir de α -aminoácidos.

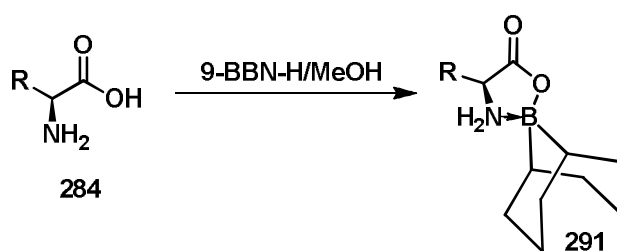
¹³⁶ Roeske, R.; Stewart, FH.; Stedman, J.; du Vigneaud, V. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 5883.

¹³⁷ Bodanszky, M.; Bodanszky, A. *The Practice of Peptide Synthesis*. 1994. Springer Verlag. New York. 1991. 217 p.p.

¹³⁸ Dent, W. H. III.; Fields, S. C.; Parker, M. H.; Tromiczak, E. G. *Org. Lett.* **2002**, 2, 1249.

Siguiendo la metodología de Dent¹³⁷ que describe el empleo del 9-BBN para la preparación de oxazaborolidinonas y como continuación a su trabajo,¹³⁹ se llevó a cabo la síntesis de diferentes oxazaborolidinonas **291** por calentamiento de **284** con 9-BBN-H en metanol a reflujo con buenos rendimientos (Tabla 1), con el propósito de funcionalizar la cadena lateral de los α -aminoácidos bajo condiciones de reacción más atractivas y la obtención de α -aminoácidos selectivamente protegidos después de la remoción del grupo 9-BBN. Dos fuentes diferentes de 9-BBN-H se ensayaron: el dímero del 9-BBN y el 9-BBN-H (0.5 M en THF).

Tabla 1



Amino ácido 284	Tiempo (h)		Rendimiento de 291 (%)	
	A	B	A	B
Tirosina (Tyr) (284a)	3.0	24	90	84
Arginina (Arg) (284b)	1.0	24	89	83
Lisina (Lys) (284c)	2.5	24	91	82
Cisteína (Cys) (284d)	2.0	24	63	38
Ác. aspártico (Asp) (277)	3.0	36	90	70
Glicina (Gly) (284e)	3.0	36	95	95
Serina (Ser) (284f)	--	24	--	94
Treonina (Thr) (284g)	--	24	--	98

A: 9-BBN dímero; B: 0.5 M THF 9-BBN-H.

En general, los mejores resultados se obtuvieron utilizando la forma dimérica cristalina del 9-BBN, incluyendo rendimientos mejores y tiempos cortos de reacción.

El espectro de RMN¹H de la oxazaborolidinona **291c** muestra los protones α al grupo amino de la cadena lateral de la lisina en 2.69 ppm y los protones del grupo α -amino en 5.96 y 6.44 ppm como dobles de dobles. El protón α del aminoácido se localiza como un multiplete en 3.80 ppm (Figura 64).

¹³⁹ Sánchez, A.; Calderón, E.; Vázquez, A. *Synthesis* **2013**, 45, 1364.

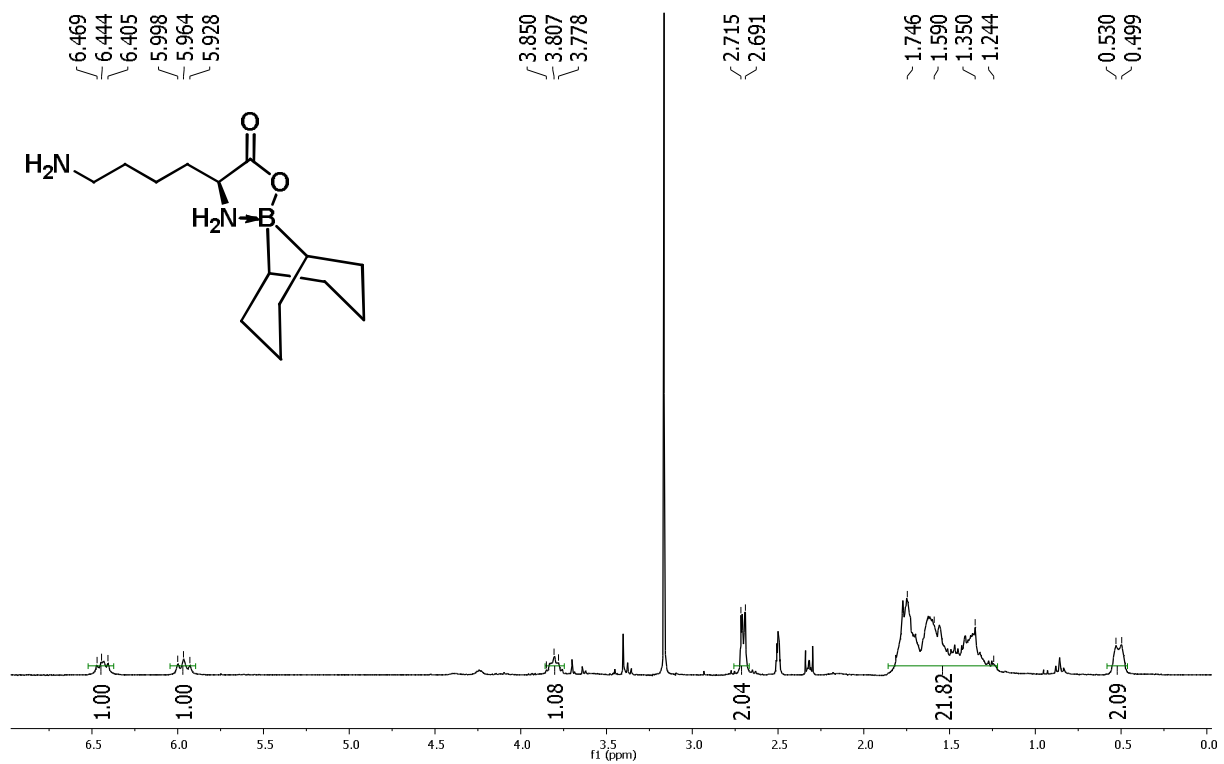


Figura 64. Espectro de RMN¹H de la oxazaborolidinona 291c.

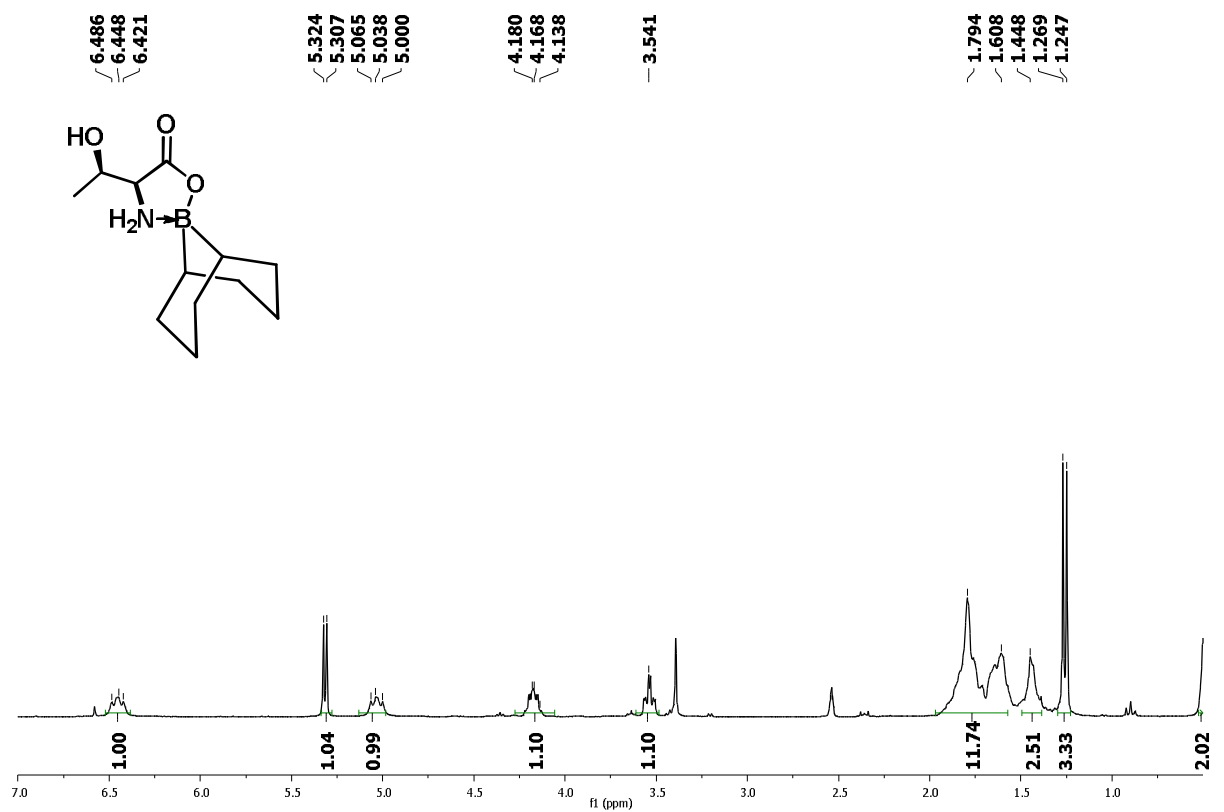
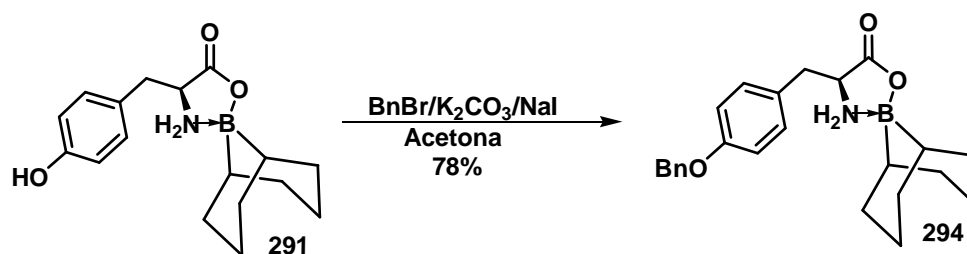


Figura 65. Espectro de RMN¹H de la oxazaborolidinona 291g.

El espectro de RMN¹H de la oxazaborolidinona **291g** muestra una señal doble a 1.25 ppm correspondiente al metilo de la cadena lateral de la treonina. Hay dos multipletes en 3.51 y 4.16 ppm asignados al protón de la cadena lateral y al protón α del aminoácido. Los protones de la amina se localizan como dobles de dobles en 5.03 y 6.44 ppm, y el protón del grupo hidroxilo se observa como un doblete a 5.31 ppm (Figura 65).

Entre los grupos que se han descrito para proteger la cadena lateral de la tirosina, el grupo bencilo (Bn) ha sido ampliamente utilizado, debido a que puede ser removido bajo condiciones suaves y selectivas (por ejemplo, H₂, Pd/C).¹⁴⁰ El complejo Tyr-9-BBN (**291a**), se trató con BnBr en presencia de K₂CO₃ y NaI en acetona a temperatura ambiente para producir el éter de bencilo **294** en 78% (Esquema 71).



Esquema 71. Funcionalización quimioselctiva de Tirosina.

El espectro de RMN¹H de la oxazaborolidinona **294** muestra dos señales dobles de dobles entre 2.84 y 3.17 ppm para los protones diastereotópicos de la cadena lateral del bencilo. El protón α del aminoácido aparece en 3.78 ppm y los protones del grupo amino se observan como un doble de dobles en 5.67 y 6.44 ppm. Hay dos dobletes en 6.94 y 7.25 ppm con una constante de acoplamiento $J = 9$ Hz para los protones del anillo aromático *p*-sustituido. Las señales para el grupo bencilo aparecen en 5.08 como un singulete y un multiplete en 7.38 (Figura 66).

¹⁴⁰ Sajiki, H.; Hirota, K. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 13981.

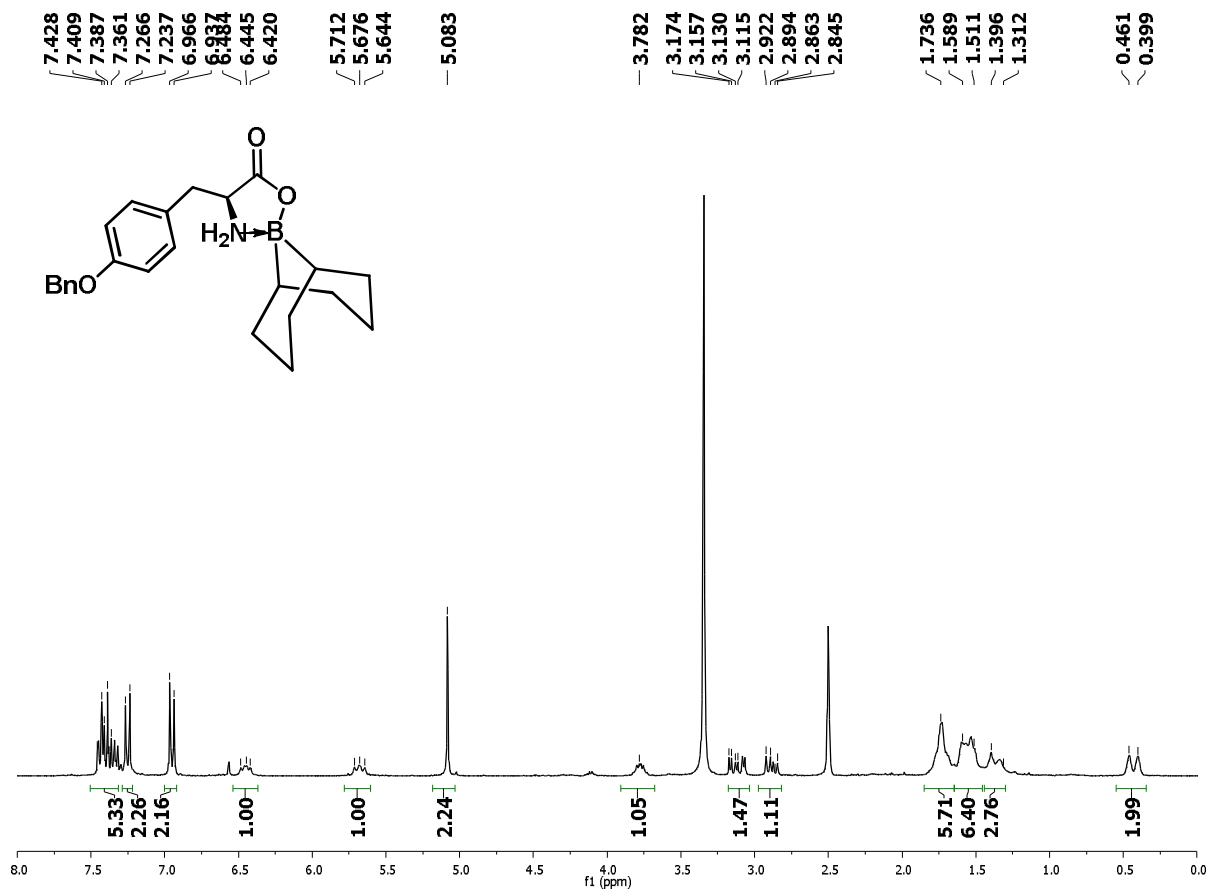
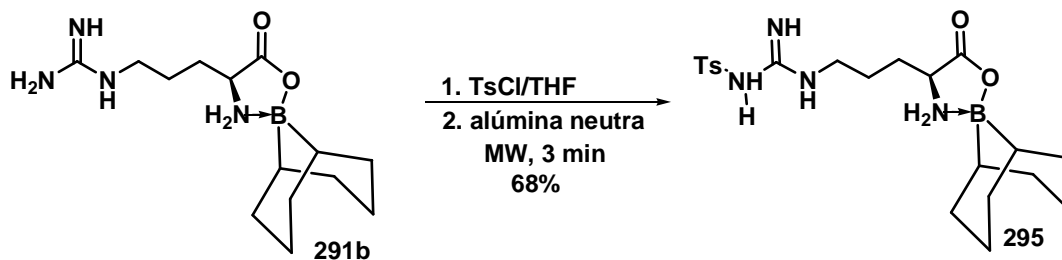


Figura 66. Espectro de RMN¹H de la oxazaborolidinona **294**.

La cadena lateral de la arginina comúnmente se protege usando un derivado de sulfonilo en presencia de una base tal como NaOH.¹⁴¹ Este procedimiento dió resultados bajos en el caso del complejo Arg-9-BBN (**284b**). Sin embargo, cuando **291b** se hizo reaccionar con *p*-TsCl, en presencia de alúmina neutra, y el uso de microondas como fuente de calentamiento, se obtuvo **295** en 68% de rendimiento (Esquema 72).



Esquema 72. Funcionalización de la cadena lateral de la arginina.

¹⁴¹ Nishimura, O.; Fujino, M. *Chem. Pharm. Bull.* **1976**, *24*, 1568.

El espectro de RMN¹H de la oxazaborolidinona **295** muestra dos señales dobles a 7.23 y 7.70 ppm característicos de los anillos aromáticos *p*-sustituidos, con una constante de acoplamiento de 9 Hz. Los protones del grupo α -amino se observan como singuletes anchos a 5.79 y 6.43 ppm, el proton a del aminoácido se muestra como un multiplete a 3.71 ppm y el metilo aromático como un singulete a 2.4 ppm (Figura 67).

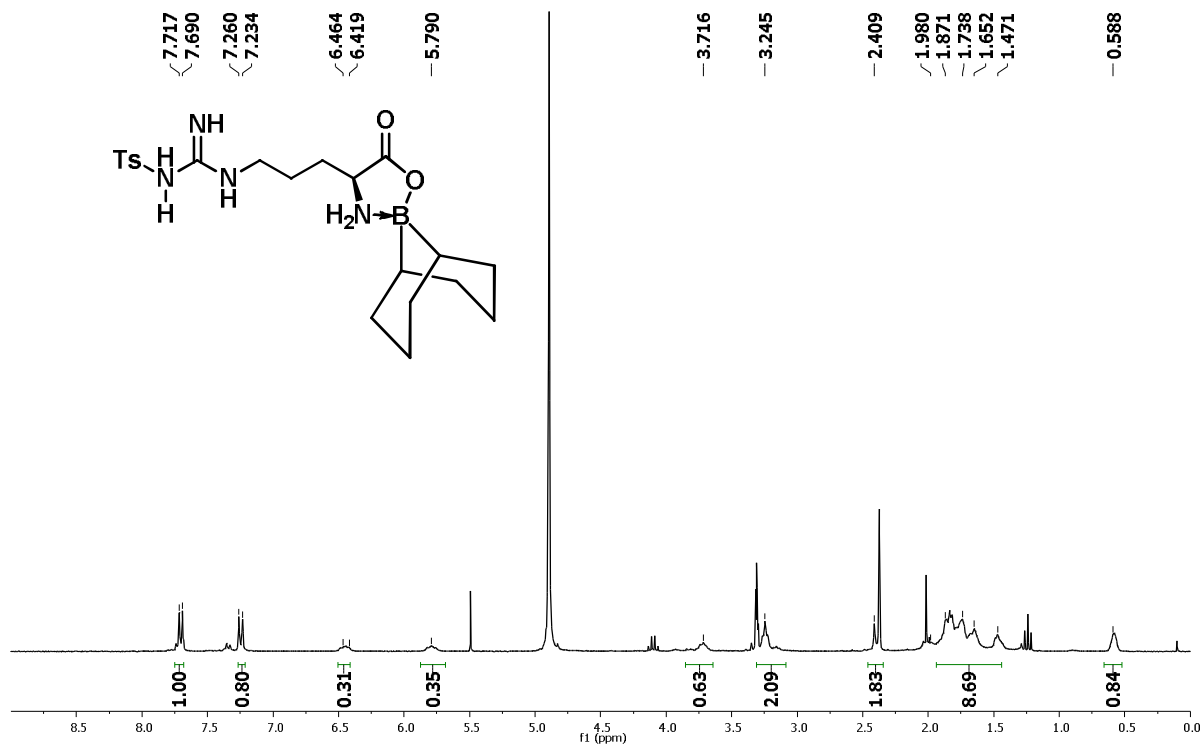
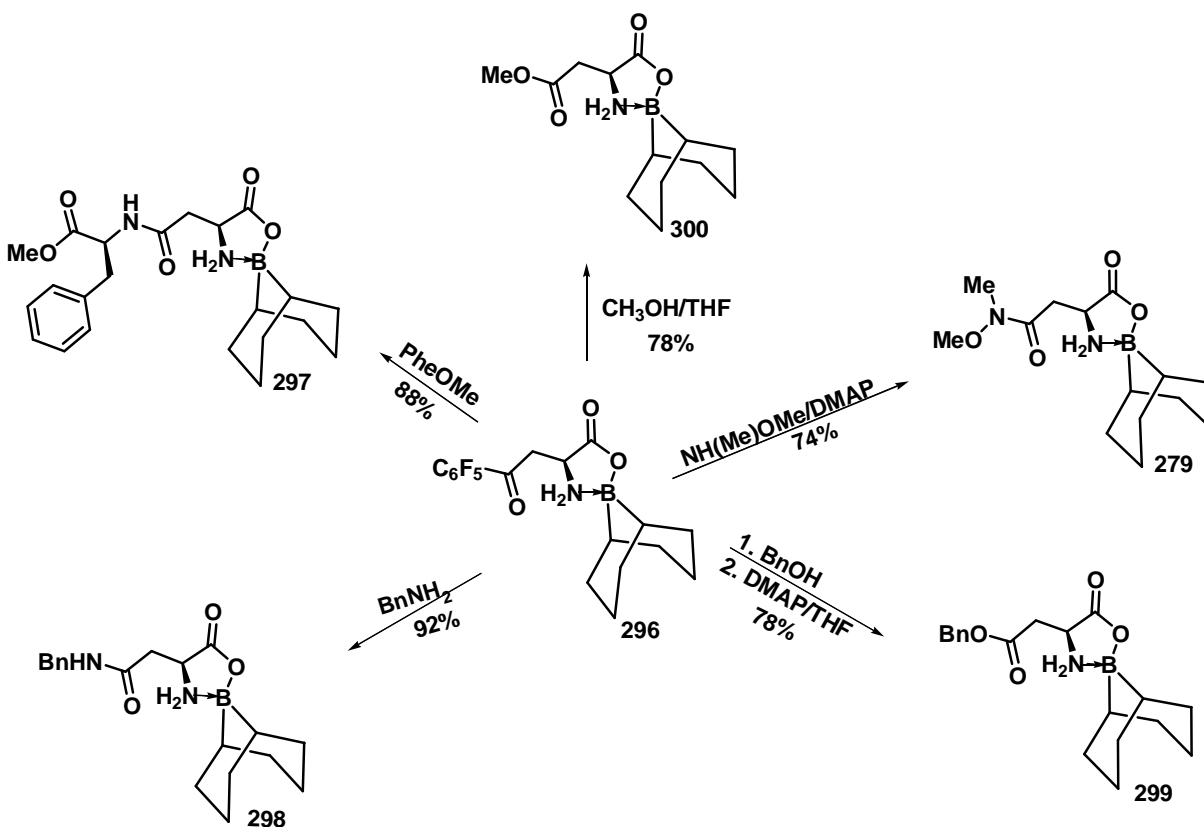


Figura 67. Espectro de RMN¹H de la oxazaborolidinona **295**.

Con la finalidad de funcionalizar la cadena lateral del ácido aspártico **277** y de demostrar la utilidad del 9-BBN-H como grupo protector, Asp-9-BBN (**278**) se transformó en su éster de pentafluorofenol¹⁴² **296** con un rendimiento cuantitativo (DCC, EtOAc). La elección de esta forma de activación del ácido carboxílico se debió a que el complejo de oxazaborolidinona es inestable a la presencia de ácido o bases, lo que promueve su degradación y aparición de subproductos no deseados. De esta manera cualquier manipulación como la liberación del aminoácido de su respectiva sal, se hizo de forma separada, para proseguir a la reacción de acoplamiento. Cuando este compuesto se acopló con PheOMe, el dipéptido correspondiente **297** se obtuvo en 88% de rendimiento; este resultado demuestra la posibilidad de obtener dos cadenas peptídicas divergentes de

¹⁴² Kovacs, J.; Kistaludy, L.; Ceprini, M. Q. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 183.

ácido aspártico de una manera fácil. Por otra parte, la reacción entre **296** y Bn NH₂ produjo la bencilamida correspondiente **298** con un rendimiento del 92%. Además, el tratamiento de **296** con BnOH, en presencia de DMAP produjo el éster bencílico **299** en 74% de rendimiento. La oxazaborolidinona **278** se convirtió en el éster metílico **300** por tratamiento a reflujo con metanol en 88% de rendimiento (Esquema 73).



Esquema 73. Funcionalización de la cadena lateral del ácido aspártico.

El espectro de RMN¹H de la oxazaborolidinona **298** muestra una serie de multipletes para los protones diastereotópicos de los protones de la cadena lateral del ácido aspártico y del bencilo unido a la amida entre 2.49 y 3.44 ppm. El protón α del aminoácido se observa a 3.91 ppm, así como una señal doble de dobles para los protones del grupo amino a 4.89 y 5.85 ppm. Los protones aromáticos están en 7.13 y 7.31 ppm (Figura 68).

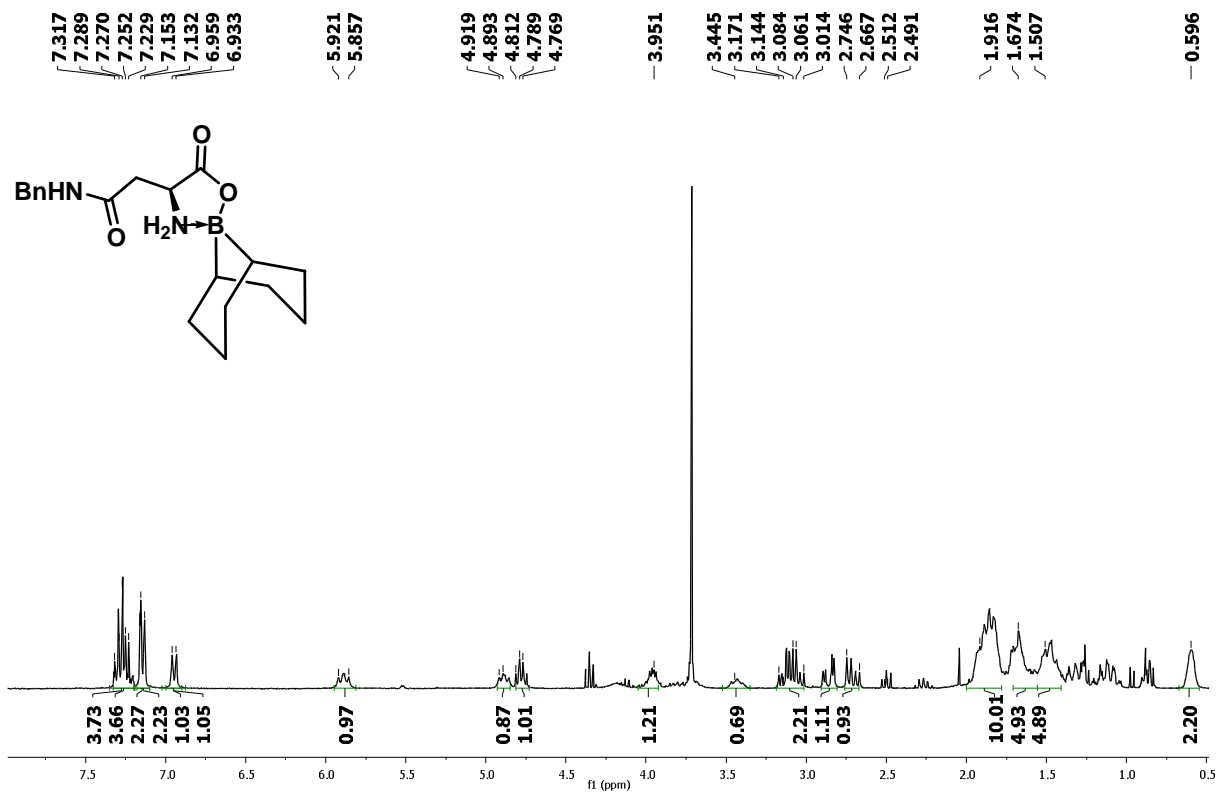


Figura 68. Espectro de RMN¹H de la oxazaborolidinona 298.

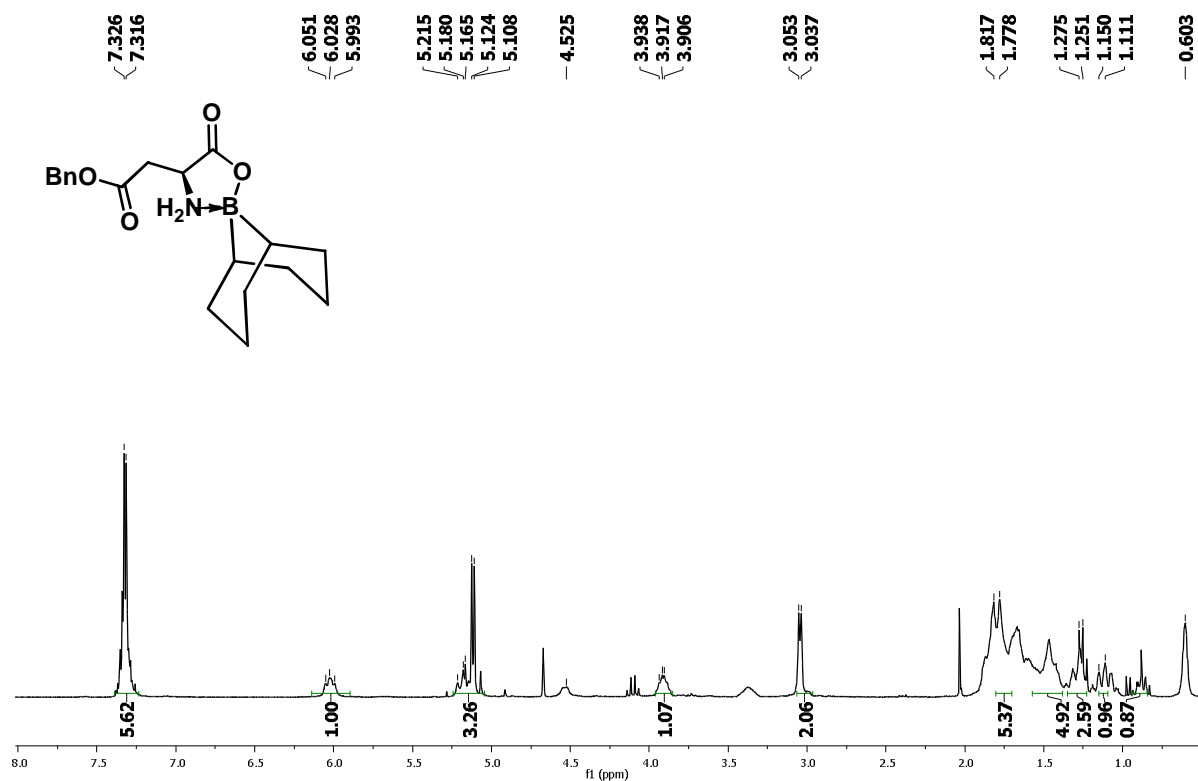
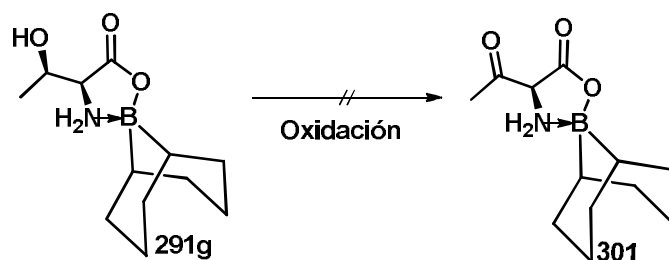


Figura 69. Espectro de RMN¹H de la oxazaborolidinona 299.

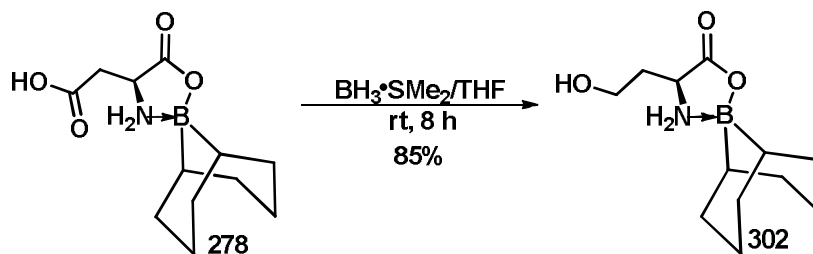
En el espectro de RMN¹H de la oxazaborolidinona **299** se observa una señal doble ancha para los protones diastereotópicos de la cadena lateral del ácido aspártico a 3.03 ppm. El protón α del aminoácido se ve como un multiplete en 3.91 ppm y los protones del grupo amino están diferenciados como una señal doble de dobles a 6.02 y 5.18 ppm; esta última está dentro de la señal de los protones bencílicos, los cuales se observan a 5.12 ppm. (Figura 69).

Se llevó a cabo la investigación entorno a la viabilidad de llevar a cabo la oxidación del grupo hidroxilo de la cadena lateral del complejo Thr-9-BBN (**291g**) por tratamiento con IBX (DMSO, 80 ° C, 8 h) y solamente se observó materia prima sin reaccionar por CCF y RMN¹H del crudo de la reacción. Cuando se utilizó PCC como el agente oxidante, se observó la ruptura del complejo Thr-9-BBN (**291g**), junto con materia prima sin reaccionar y dos productos no identificados (Esquema 74).



Esquema 74. Oxidación de la cadena lateral de la treonina.

Para investigar la estabilidad del 9-BBN-H como un grupo protector durante las reacciones redox, el ácido carboxílico presente en la cadena lateral del complejo formado entre 9-BBN-H y el ácido aspártico **277**, se redujo al alcohol **302** utilizando el complejo de diborano sulfuro de dimetilo con un rendimiento del 85% (Esquema 75).



Esquema 75. Reducción de la cadena lateral del ácido aspártico.

El espectro de RMN¹H de la oxazaborolidinona **302** muestra 2 señales múltiples a 1.95 y 3.64 ppm que corresponden al metileno central y al metileno final de la cadena lateral del ácido aspártico, a 4.14 ppm se observa el protón α del aminoácido. Los protones del grupo amino se observan como señales dobles dobleteadas a 5.88 y 6.42 ppm y el protón del grupo hidroxilo libre aparece como un triplete a 4.79 ppm (Figura 70).

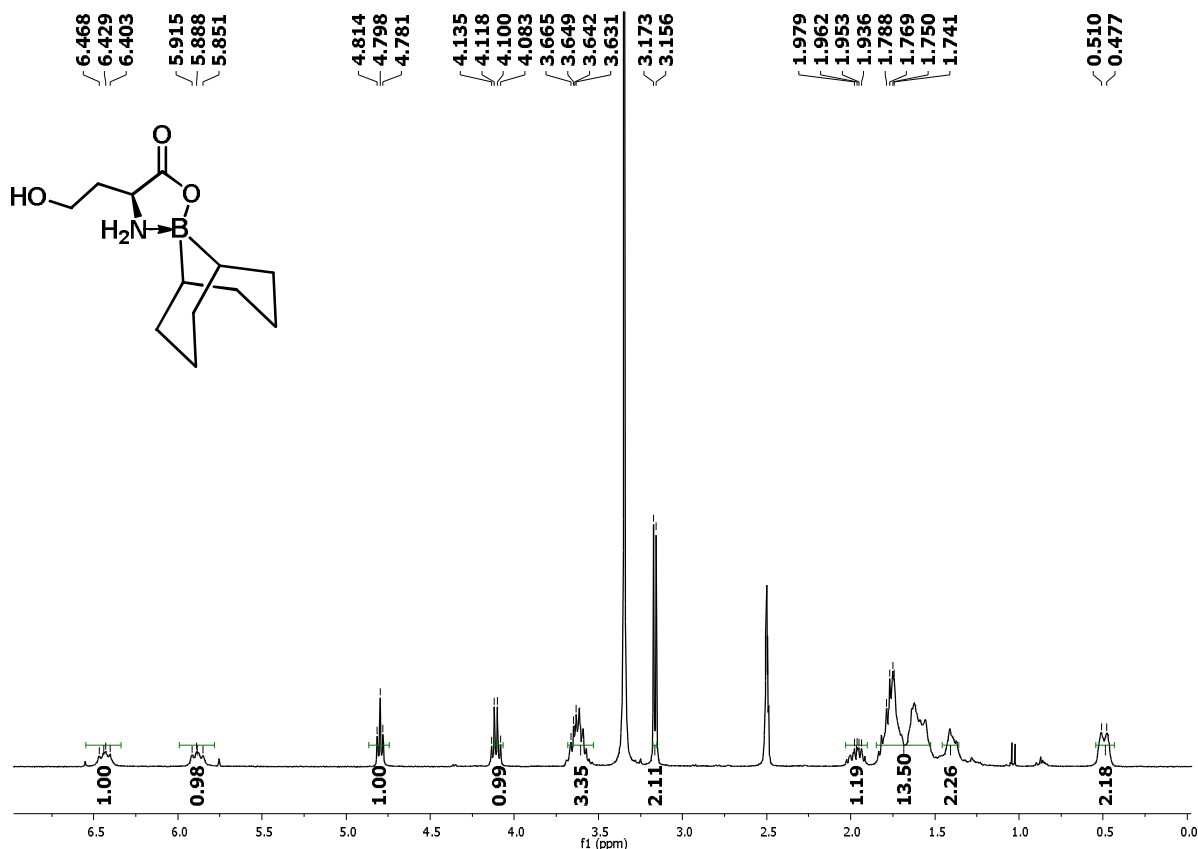
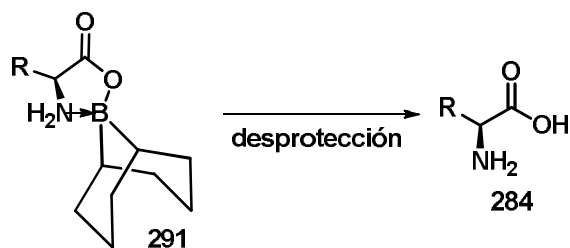


Figura 70. Espectro de RMN¹H de la oxazaborolidinona **302**.

La liberación del correspondiente aminoácido del complejo de oxazaborolidinona fue necesaria para demostrar la versatilidad y utilidad del método de protección de aminoácidos con 9-BBN-H.

Esta transformación puede realizarse utilizando un medio ácido (Método A: HCl conc.) o en condiciones básicas (Método B: etilendiamina o Método C: etanolamina, Tabla 2). Todos los aminoácidos protegidos se sometieron a una hidrólisis para eliminar el grupo 9-BBN. De los tres métodos empleados para llevar a cabo éste propósito, el uso de HCl resultó ser la mejor opción, proporcionando mejores rendimientos en la recuperación del aminoácido.

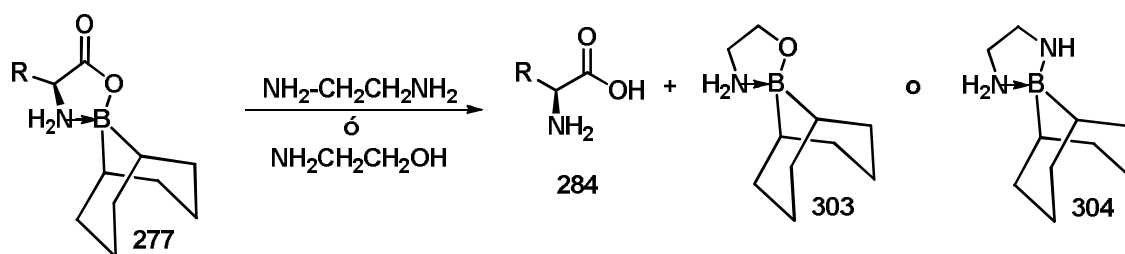
Tabla 2. Desprotección de oxazaborolidinonas.



Oxazaborolidinona	Rendimiento de 284 (%)		
	A	B	C
Tyr-9-BBN (291a)	80	29	30
Arg-9-BBN (291b)	74	45	50
Lys-9-BBN (291c)	91	50	33
Cys-9-BBN (291d)	66	45	50
Asp-9-BBN (278)	81	60	72
Gly-9-BBN (289e)	93	47	62
Ser-9-BBN (291f)	85	47	62
Thr-9-BBN (291g)	78	56	67

Método A: HCl conc. Método B: $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$. Método C: $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$.

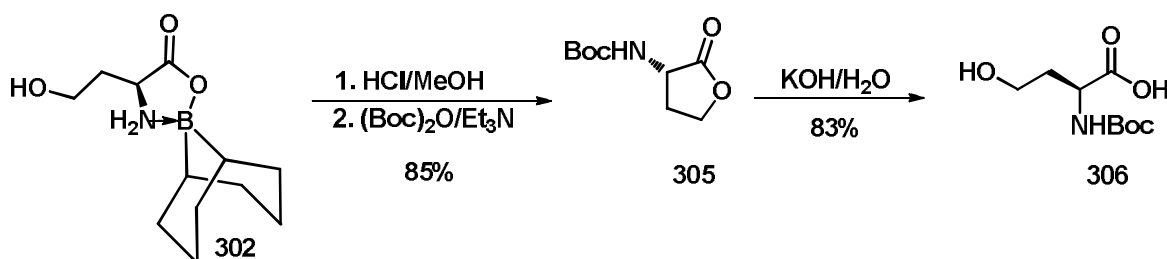
El uso de etanolamina dió mejores rendimientos que la etilendiamina en la hidrólisis de la oxazaborolidinona. Con estos últimos reactivos la desprotección procede a través de la formación de un nuevo derivado cíclico (**303** o **304**, Esquema 76).



Esquema 76. Hidrólisis de la oxazaborolidinona.

Cuando el alcohol **302**, obtenido por la reducción de Asp-9-BBN (**277**), fue desprotegido bajo condiciones ácidas (Método A), seguido por la protección de la amina

con Boc, el compuesto **306** fue obtenido en 82% de rendimiento, aunque se presentaron algunos problemas de reproducibilidad. Sin embargo, cuando una solución de HCl 1M en metanol fue utilizada en lugar de HCl concentrado en metanol, la lactona correspondiente **305** fue aislada en 85% de rendimiento después de ser purificada por cromatografía en columna. Los datos espectroscópicos del producto concuerdan con los reportados en la literatura.¹⁴³ Cuando la lactona **305** es tratada con hidróxido de potasio en metanol, el ácido **306** fue obtenido con un rendimiento del 83%¹⁴⁴ (Esquema 77).



Esquema 77. Síntesis de la *N*-Boc-homoserina.

El espectro de RMN¹H de la lactona **305** muestra dos multipletes entre 2.14 y 2.46 ppm, que corresponden a los protones β del anillo de la lactona; dos aparecen entre 4.08 y 4.27 ppm y se observan los protones γ de la lactona y el protón α se encuentra a 4.28 ppm (Figura 71).

El espectro de RMN¹H del producto **306** muestra dos multipletes para los protones diastereotópicos α de la cadena lateral de la homoserina en 1.78 y 2.20 ppm, un múltiplete en 3.78 para los protones adyacentes al grupo hidroxilo y en 4.45 ppm se observa el protón α del aminoácido (Figura 72).

¹⁴³ Ozinskas, A. J.; Rosenthal, G. A. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 5047.

¹⁴⁴ Wolfe, S.; Wilson, M-C.; Cheng, M-S.; Shustov, G. V.; Akuche, C. I. *Can. J. Chem.* **2003**, *81*, 883.

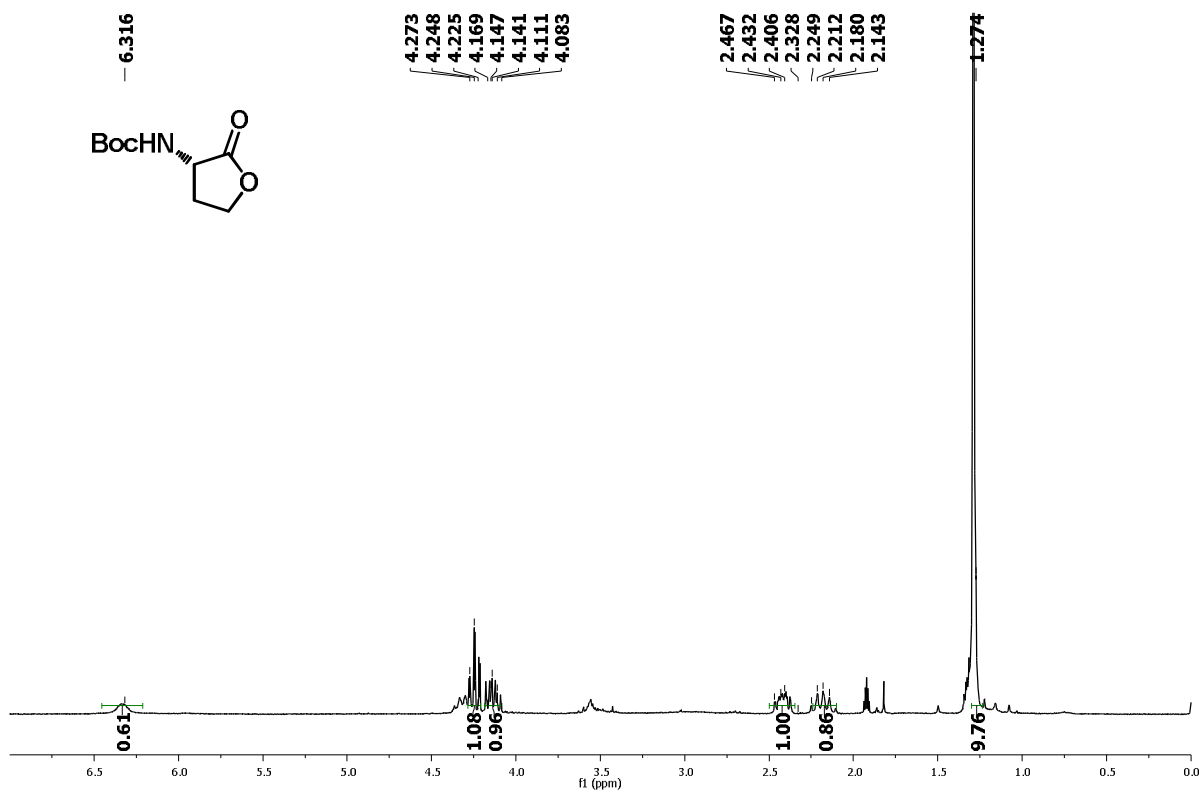


Figura 71. Espectro de RMN¹H de la lactona **305**.

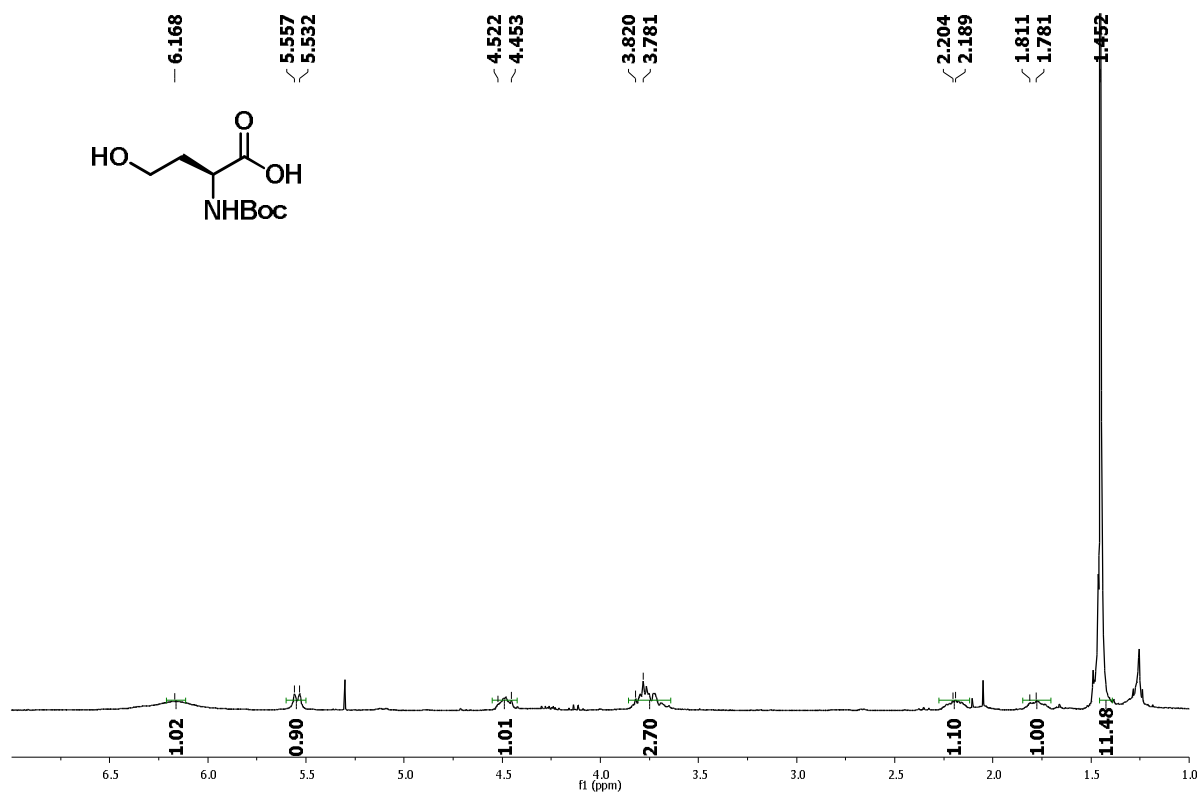
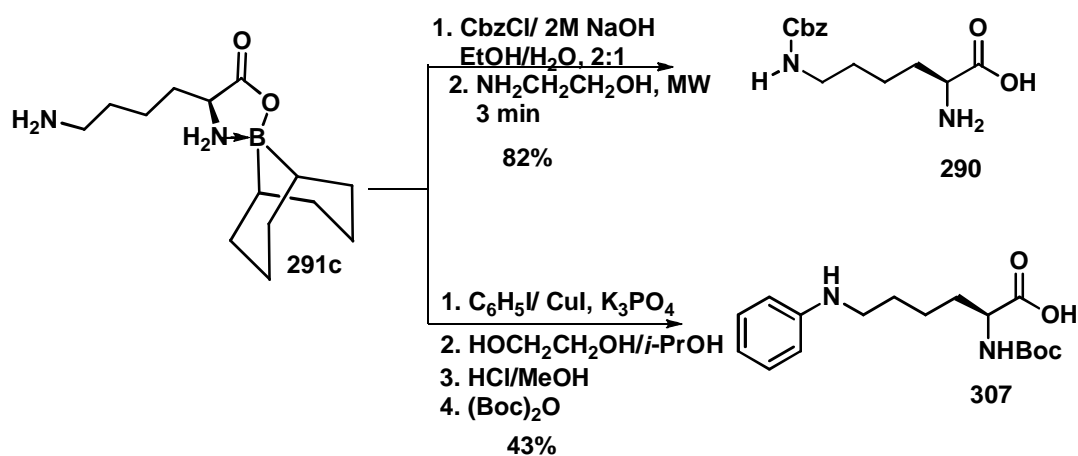


Figura 72. Espectro de RMN¹H de la *N*-Boc-homoserina.

Se observó que en algunos casos, el aislamiento del aminoácido funcionalizado es más fácil, si después de la hidrólisis del complejo 9-BBN-aminoácido, se lleva a cabo sobre el aminoácido resultante una protección *N* o *C* selectiva

Cuando se utilizó la oxazaborolidinona **291c**, el grupo α -amino de la lisina fue protegido como el derivado *N*-Cbz en alto rendimiento. Sin embargo, dado que el producto *N*-Cbz protegido fue obtenido como una goma de color amarillo pálido, la cual resultó difícil de manejar, la oxazaborolidinona fue hidrolizada con etanolamina (MW, 3 min) para obtener **290** en 82% de rendimiento (Esquema 78).

Para establecer una visión más general para la utilización del complejo aminoácido-9-BBN, la arilación de la cadena lateral del complejo Lys-9-BBN **291c** fue llevada a cabo con yodobenceno en presencia de CuI y K₃PO₄, utilizando una mezcla de etilenglicol/*i*PrOH.¹⁴⁵ Sin purificación posterior, el producto se sometió a una hidrólisis en medio ácido, seguido de una *N*-Boc protección del grupo α -amino para aislar **307** con un rendimiento del 43% (Esquema 78).



Esquema 78. Obtención de derivados *N*-protegidos de la lisina.

Este interesante resultado demostró la posibilidad de una transformación química en la cadena lateral de la lisina más que una simple protección y queda un campo amplio para la preparación de aminoácidos modificados que pueden ser utilizados en síntesis orgánica.

¹⁴⁵ Kwong, F. Y.; Klapars, A.; Buchwald, S. L. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 581.

En el espectro de RMN¹H del compuesto **290** se observan las señales de los protones de la cadena alifática del aminoácido como multipletes en 1.82, 2.10, 2.51 y 2.68 ppm, en 5.20 ppm se localiza el par de protones bencílicos del grupo protector Cbz y en 7.38 ppm los protones aromáticos (Figura 73).

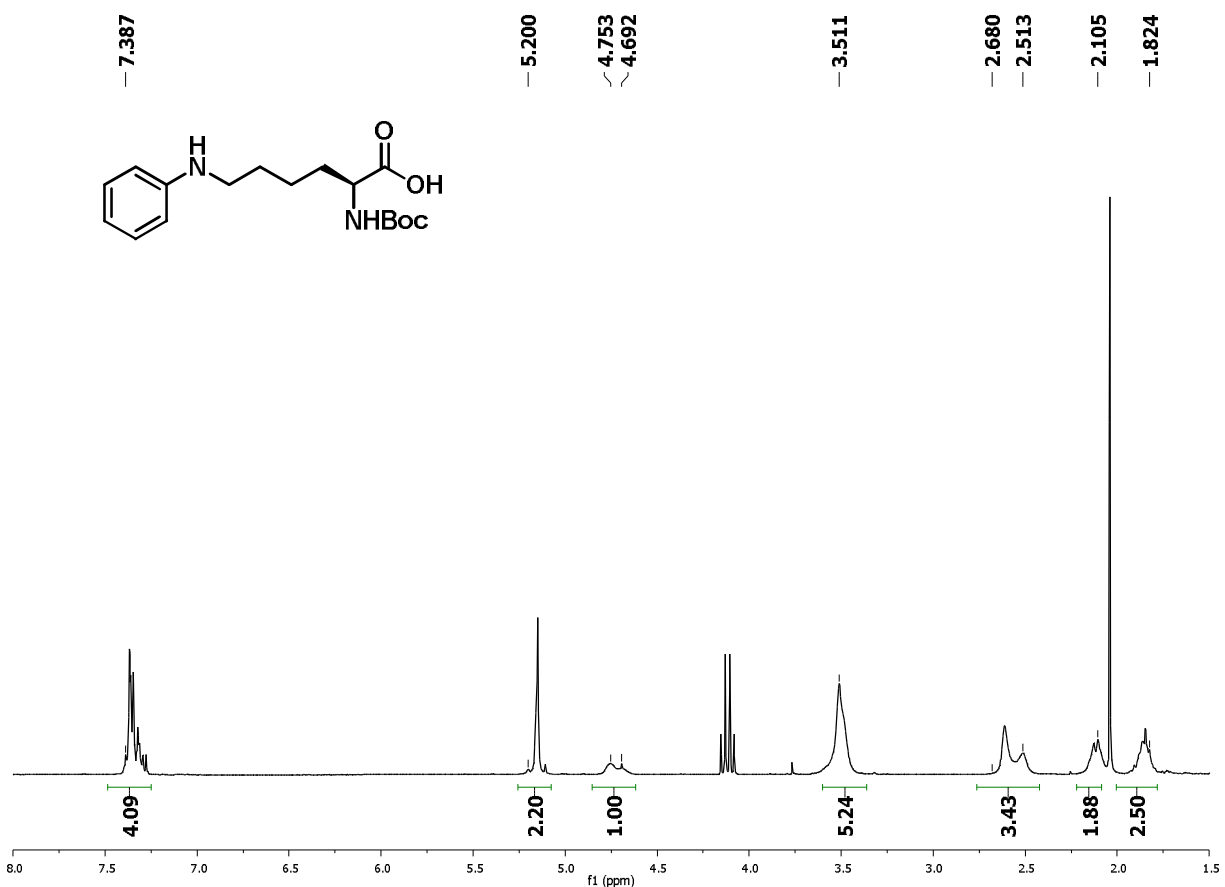


Figura 73. Espectro de RMN¹H del producto 307.

La caracterización de los intermediarios y de cada uno de los productos obtenidos se realizó utilizando una combinación de técnicas espectroscópicas convencionales (e.g. RMN¹H, RMN¹³C, IR, EM)

6. PARTE EXPERIMENTAL

6.1 Métodos Generales

Los disolventes anhidros utilizados se destilaron bajo atmósfera de argón, de la siguiente manera: CH₂Cl₂, Py, Et₃N, DMSO y HMPA fueron destilados sobre CaH₂; tetrahidrofurano (THF) sobre sodio y benzofenona, éter etílico, benceno y tolueno sobre sodio metálico. Todos los experimentos que involucraron compuestos sensibles al aire y/o humedad, se llevaron a cabo en matraces redondos secados en una estufa, provistos de tapones tipo septum (Tapones abatibles de hule), a los cuales se introdujo una aguja adaptada a un globo lleno de argón o nitrógeno según se indica. Los baños para las reacciones a baja temperatura fueron: hielo-agua (0 °C), hielo-NaCl (-10 °C), CO₂/CH₃CN (-40 °C) y CO₂/acetona (-78 °C).

Las cromatografías en capa fina preparativa se llevaron a cabo en placas de vidrio (20 x 20 cm) recubiertas (0.25 mm) con gel de sílice SIL G 50 UV₂₅₄. Los compuestos fueron detectados por visualización bajo una lámpara de luz ultravioleta o mediante inmersión de la placa en una solución de ácido fosfomolibdico, seguido de calentamiento. Las cromatografías en columna flash (CCF) se llevaron a cabo de acuerdo al procedimiento reportado¹⁴⁶ utilizando gel de sílice (230-400 mallas) de la marca Macherey Nagel. Todas las mezclas de disolventes usadas como eluyentes se reportan como soluciones v/v.

6.2 Datos Espectroscópicos y Equipos.

Los espectros de masas de baja resolución (EMBR) fueron obtenidos en un espectrómetro JEOL SMX-102a. La ionización por impacto electrónico (IE), se llevó a cabo a 70 eV, la ionización química a 50 eV en amoníaco como gas reactivo y el bombardeo atómico rápido (FAB) en modo de ión positivo en una matriz de alcohol nitrobenílico. Los espectros de infrarrojo (IR) se obtuvieron en un espectrómetro marca Perkin Elmer modelo 1605 utilizando KBr y sólo se reportan las bandas diagnóstico. Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) se midieron en un equipo Varian Unity Inova 300 en soluciones con disolventes deuterados a 300 MHz para ¹H y 75 MHz para ¹³C, utilizando TMS como referencia interna. Los desplazamientos químicos (δ) y las constantes de

¹⁴⁶ Leonard, J. and Procter G. *Advanced Practical Organic Chemistry*. 2a. Ed. Blackie Academic & Professional, Gran Bretaña, 1995, 204.

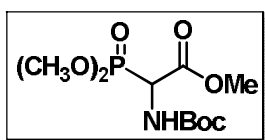
acoplamiento (J) fueron determinados asumiendo un comportamiento de primer orden. La multiplicidad de las señales es indicada como: s (simple), d (doble), t (triple), c (cuarteto), q (quinteto), m (múltiple). Las constantes de acoplamiento (J) están expresadas en Hz. Las señales en RMN¹H fueron asignadas en base al desplazamiento químico, multiplicidad y consistencia con una serie de estructuras similares. Las señales en RMN¹³C fueron asignadas en base al desplazamiento químico y consistencia con una serie de estructuras similares.

6.3 Materiales y Reactivos.

El hidruro de sodio, el hexametildisilazuro de litio, el cloroformiato de metilo, el hidruro doble de litio y aluminio, el clorhidrato de *N*-*O*-dimetilhidroxilamina y el dicarbonato de diterbutilo fueron adquiridos de la compañía Sigma-Aldrich S. A. de C. V. y se utilizaron directamente a menos que se indique otra cosa.

6.4 Procedimientos Experimentales y Caracterización

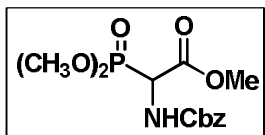
2-(*t*-Butoxicarbonilamino)-2-(dimetoxifosfonil)acetato de metilo (**198**).



En un matraz redondo conteniendo el éster metílico de la *N*-Boc-glicina **197** (5 g, 26.45 mmol) y NBS (5.18 g, 29.1 mmol) fueron adicionados 260 mL de CCl₄. La mezcla resultante se calentó a reflujo por 1 h, se enfrió a 0 °C y se filtró sobre celita para eliminar la succinimida formada. El disolvente se concentró y el residuo se disolvió en THF seco (40 mL), seguido de la adición de fosfito de trimetilo (3.8 mL, 29.1 mmol). La mezcla se calentó a reflujo por 12 h, la solución se enfrió a temperatura ambiente y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna (hexano/metanol 60:40). Se obtuvieron 6.8 g (87%) del producto **198** como un sólido color blanco. pf 63-65 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3364, 1751, 1710, 1161, 1049 cm⁻¹. **RMN¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.45 (s, 9H), 3.79 (d, $J = 11.0$ Hz, 3H), 3.83 (d, $J = 11.0$ Hz, 3H), 3.84 (s, 3H), 4.90 (dd, $J = 23.0, 9.0$ Hz, 1H), 5.44 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 28.1, 50.6, 52.9, 53.2, 54.0, 80.9, 154.8, 177.6. **EM:** (FAB) m/z ($M^+ + 1H$) 298, 242, 224, 198, 182, 165, 138, 110

2-(Benciloxycarbonilamino)-2-dimetoxifosfonil-acetato de metilo (**203**).



Método A.

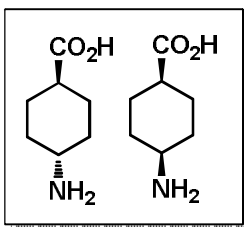
En un matraz redondo se colocaron el éster metílico de la *N*-Cbz-glicina (2 g, 3.75 mmol), NBS (1.75 g, 9.83 mmol) y tetracloruro de carbono seco (200 mL). La mezcla resultante se calentó a reflujo bajo atmósfera de argón por 1 h. Transcurrido este tiempo, la reacción se enfrió a 0 °C y la succinimida se filtró a vacío. Al filtrado se le eliminó el disolvente y el residuo se disolvió en THF seco (50 mL). Se adicionó fosfito de trimetilo (1.1 mL, 8.96 mmol) y se calentó a reflujo por 15 h. Se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con acetato de etilo (30 mL), la fase orgánica se separó, se lavó con solución de ácido cítrico al 10%, con una solución saturada de NaCl, y se secó con Na₂SO₄. El disolvente se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/AcOEt 1:1). Se obtuvieron 0.81 g (27%) del producto **203** como un sólido blanco. pf. 73-75 °C.

Método B.

En un matraz redondo se disolvió el éster metílico de la *N*-Cbz-glicina (**202**) (0.5 g, 1.976 mmol) y tricloruro de fósforo (0.17 mL, 1.976 mmol) en tolueno seco (20 mL). El matraz se colocó en un baño de aceite y se calentó a 70 °C por 19 h. El fosfito de trimetilo (1.1 mL, 1.97 mmol) se adicionó y se dejó en agitación por 2 h. El tolueno se concentró y el residuo se disolvió en acetato de etilo (30 mL) y se lavó con una solución saturada de ácido cítrico al 10% y se lavó con una solución concentrada de NaCl y la fase orgánica se secó con Na₂SO₄. El disolvente se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/AcOEt 1:1) obteniéndose 0.31 g (79%) del producto **203** como un sólido blanco. pf 73-75 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3263, 1723, 1533, 1266, 1042 cm⁻¹. **RMN¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 3.78 (d, $J = 11.0$ Hz, 3H), 3.81 (d, $J = 10.0$ Hz, 3H), 3.80 (s, 3H), 4.89-4.99 (dd, $J = 9.0, 19.0$ Hz, 1H), 5.12 (s, $J = 12.0$ Hz 1H), 5.16 (s, $J = 12.0$ Hz, 1H), 5.88 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H), 7.33-7.36 (m, 5H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 51.1, 53.1, 53.3, 54.2, 67.6, 128.1, 128.3, 128.5, 135.9, 155.7, 167.2. **EM** (IE): m/z (M⁺+1H) 331, 299, 272, 224, 198, 182, 109, 91.

Ácido *trans* y *cis* 4-aminociclohexencarboxílico (**206**) y (**207**).



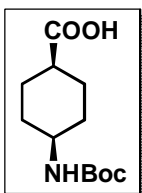
Se preparó una suspensión del ácido *p*-amino benzóico (**204**) (5 g, 2.2 mmol) y del catalizador PtO₂ (0.5 g, 10% w/w) en agua (250 mL) y se hidrogenó a temperatura ambiente a 60 lb de presión. La reacción se continuó hasta que ya no hubo consumo de hidrógeno. Se filtró el catalizador sobre celita y el agua se concentró a la mitad de su volumen. Se le adicionó metanol (100 mL) precipitando el isómero *trans* **206** (1.97 g, 20%) como un sólido blanco, el cual se separó por filtración, pf: >200 °C. A la solución metanólica resultante se le adicionó éter etílico (20 mL) obteniéndose 2.72 g (80%) del isómero *cis* **207** como un sólido blanco. pf >200 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3443, 2937, 1634, 1548, 1524, 1402, 1298 cm⁻¹. **RMN¹H** (300 MHz, D₂O) δ (ppm) isómero *trans*: 1.34-1.42 (m, 4 H), 1.58-1.69 (m, 1H), 1.81-2.17 (m, 4H), 3.10-3.21(m, 1H). **RMN¹H** (300 MHz, D₂O) δ (ppm): isómero *cis* 1.55-1.71 (m, 4H), 1.83-1.97 (m, 4H), 2.39-2.44 (m, 1H), 3.29-3.36 (m, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, D₂O) δ (ppm) Isómero *trans*: 22.9, 29.8, 32.1, 36.1, 186.9. **RMN¹³C** (75 MHz, D₂O) δ (ppm) Isómero *cis*: 25.1, 27.5, 41.3, 49.2, 183.8. **EM**: (IE) *m/z* 143 (M⁺+1H) 125, 97, 82, 69, 54, 41.

Método general para la preparación de los derivados carboxílicos.

En un matraz redondo se colocó el ácido carboxílico correspondiente (**206** o **207**, 1 eq) y se disolvió con una mezcla de H₂O/dioxano 1:1 (15 mL). Se adicionó el agente protector (1.2 eq, de *p*-TsCl, (Boc)₂O, Ac₂O o cloroformiato de metilo) y Et₃N (1.2 eq) y se dejó en agitación a temperatura ambiente por 8 h. El disolvente se concentró, se agregó ácido cítrico al 10% hasta pH 3, el producto se extrajo con AcOEt (20 mL, 3x), la fase orgánica se lavó con NaHCO₃, con una solución saturada de NaCl y se secó con Na₂SO₄. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 7:3 + 10% MeOH).

Ácido *cis* 4-(*t*-butoxicarbonilamino)ciclohexancarboxílico (**215a**).

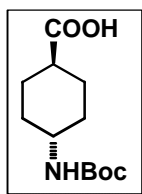


Preparado a partir del aminoácido **207** (0.5 g, 3.5 mmol). Se obtuvieron 0.79 g (92%) del producto **215a** como un sólido blanco. pf 160-162 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3325, 2934, 1707, 1171 cm⁻¹. **RMN¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.45 (s, 9 H); 1.60-1.71 (m, 6H); 1.87-1.91 (m, 2H), 2.49 (m, 1H), 3.61

(m, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 27.8, 28.5, 32.6, 45.7, 79.5, 155.4, 181.3. **EM** (FAB) *m/z* 243 (M⁺+1H) 244, 188, 142, 126, 107, 57.

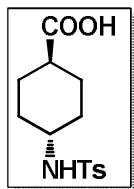
Ácido *trans* 4-(*t*-butoxicarbonilamino)ciclohexancarboxílico (212a).



Preparado a partir de aminoácido **206** (1.0 g, 6.99 mmol). Se obtuvieron 1.43 g (84%) del producto **212a** como un sólido blanco. pf 157-158 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3367, 1683, 1518, 1171 cm⁻¹. **RMN¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.11-1.23 (m, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.50-1.59 (m, 2H), 2.02-2.06 (m, 4H), 2.20-2.29 (m, 1H), 3.41 (m, 1H), 4.43 (sa, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 24.7, 28.6, 29.8, 40.2, 47.3, 79.8, 154.1, 180.6. **EM** (FAB) *m/z* 243 (M⁺+1H) 244, 188, 154, 144, 126, 107, 81, 57.

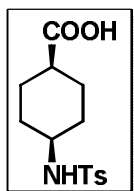
Ácido *trans* 4-(*p*-toluensulfonamido)ciclohexancarboxílico (212c).



Preparado a partir del aminoácido **206** (1.0 g, 6.99 mmol) Se obtuvieron 1.92 g (93%) del producto **212c** como un sólido blanco. pf 135-137 °C.

IR ν_{\max} : 3287, 1691, 1431, 1157, 1075 cm⁻¹. **RMN¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.11-1.24 (cd, *J* = 15.0, 3.0 Hz, 2H), 1.36-1.44 (cd, *J* = 12.0, 3.0 Hz, 2H), 1.55-1.70 (m, 2H), 1.82-1.98 (m, 2H), 2.16-2.20 (m, 1H), 2.43 (s, 3H), 3.09 (m, 1H), 5.56 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.28 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 7.76 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H). **RMN¹³C** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 21.6, 29.2, 33.9, 43.3, 53.5, 128.0, 130.8, 140.5, 144.6, 179.3. **EM** (FAB) *m/z* 297 (M⁺+1H) 298, 280, 172, 154, 135, 107, 91, 81.

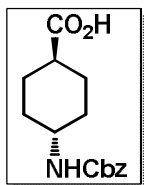
Ácido *cis* 4-(*p*-toluensulfonamido)ciclohexancarboxílico (215c).



Preparado a partir del aminoácido **207** (1.0 g, 6.99 mmol). Se obtuvieron 1.84 g (84%) del producto **215c** como un sólido blanco. pf 159-161 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3432, 3288, 1692, 1634, 1329, 1158 cm⁻¹. **RMN¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.37-1.44 (m, CH₂), 1.74-1.78 (m, 2H), 2.27 (m, 1H), 2.37 (s, 3H), 3.01 (m, CH, 1H), 7.36-7.38 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.53-7.56 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 7.67-7.70 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 21.7, 24.2, 30.4, 39.9, 49.7, 100.21, 127.1, 129.9, 138.7; 144.3, 179.7. **EM** (FAB) *m/z* 297 (M⁺+1H) 298, 280, 250, 172, 154, 136, 107, 91, 81.

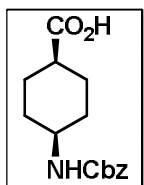
Ácido *trans* 4-(benciloxycarbonilamino)ciclohexancarboxílico (212b).



Preparado a partir del aminoácido **206** (1.0 g, 6.99 mmol). Se obtuvieron 1.87 g (96%) del producto **212b** como un sólido blanco. pf 152-154 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3305, 1683, 1544, 1258, 1045 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1.30-1.43 (m, 2H), 1.61-1.84 (m, 4H), 1.91-1.84 (m, 2H), 2.37-2.42 (m, 1H), 3.63-3.65 (m, 1H), 4.70 (s, 1H), 5.09 (s, 2H), 5.16 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.34-7.38 (m, 5H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 25.8, 32.8, 40.4, 48.9, 66.3, 128.6, 128.7, 129.2, 138.6, 156.5, 176.3. **EM** (FAB) m/z 277 ($M^+ + 1H$) 278, 234, 165, 91, 57.

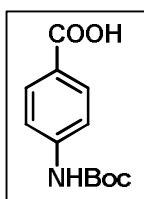
Ácido *cis* 4-(benciloxycarbonilamino)ciclohexancarboxílico (215b).



Preparado a partir del aminoácido **207** (1.0 g, 6.99 mmol). Se obtuvieron 1.72 g (82%) del producto **215b** como un aceite amarillo claro.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3305, 2945, 1683, 1544, 1258 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, CDCl_3) (ppm): 1.59-1.71 (m, 6H), 1.84-1.90 (m, 2H), 2.49 (m, 1H), 3.68-3.69 (m, 1H), 4.98 (d, 1H), 5.07 (s, 2H), 7.33 (m, 5H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl_3) (ppm): 24.8 (CH_2), 29.7 (CH_2), 40.1 (CH_2), 47.0 (CH), 66.8 (CH_2), 128.3 (CH), 128.6 (CH), 136.6 (C), 155.8 (NHCbz), 180.0 (COOH). **EM** (FAB) m/z 277; ($M^+ + 1H$) 278, 234, 165, 91, 57.

Ácido 4-(*t*-butiloxycarbonilamino)benzoico (219).



Preparado a partir del aminoácido **204** (2.0 g, 14.59 mmol). Se obtuvieron 1.2 g (34%) del producto **219** como un sólido blanco. pf 198-200 °C.

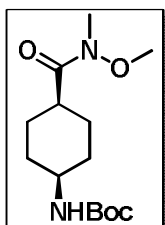
IR-FT ATR ν_{\max} : 3328, 1727, 1611, 1530, 1236, 1158 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1.54 (s, 9H), 6.76 (sa, 1H), 7.46 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 8.05 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 28.4, 81.6, 117.6, 125.8, 131.8, 138.0, 147.7, 163.8, 177.0. **EM** (FAB) m/z 237 ($M^+ + 1H$) 238, 182, 154, 137, 120, 95, 77, 57.

Método general para la preparación de Amidas de Weinreb

En un matraz redondo bajo atmósfera de argón se disolvió el aminoácido *N*-protegido (1 eq) en THF seco (20 mL) y se adicionó cloroformiato de metilo (1.1 eq). El matraz se colocó en un baño de hielo a 0 °C, se adicionó lentamente Et_3N (1.1 eq) y se dejó en

agitación por 30 min. Se adicionó el clorhidrato de la *N,O*-dimetilhidroxilamina (1.1 eq), se adicionó Et₃N (1.1 eq) y la mezcla de reacción se dejó en agitación por 8 h a temperatura ambiente. El disolvente se concentró, el residuo se redisolvió en AcOEt (30 mL), se lavó con una solución de ácido cítrico al 10% y con solución saturada de NaHCO₃ y NaCl. La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ y el disolvente se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 7:3 + 5% MeOH).

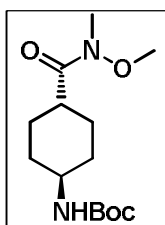
***cis* 4-(*N,N*-metoxi(metil)carbonil)ciclohexilcarbamato de *t*-butilo (**216a**).**



Se partió del aminoácido protegido **215a** (0.5 g, 2.05 mmol). Se obtuvieron 0.52 g (88 %) del producto **216a** como un sólido blanco. pf 137-139 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3334, 2933, 1707, 1652, 11521, 247, 1172 cm⁻¹. **RMN¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.44 (s, 9H), 1.56-1.72 (m, 6H), 1.83-1.87 (m, 2H), 2.75 (m, 1H), 3.19 (s, 3H), 3.70 (s, 3H); 3.79 (m, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 24.0, 28.6, 29.6, 32.9, 39.3, 45.6, 61.7, 79.3, 155.5, 178.6. **EM (FAB)** m/z 286 (M⁺+1H) 287, 231, 187, 170, 154, 136, 126, 107, 89, 77, 57.

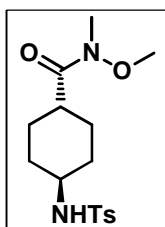
***trans* 4-(*N,N*-metoxi(metil)carbonil)ciclohexilcarbamato de *t*-butilo (**213a**).**



Se partió del aminoácido protegido **212a** (1.5 g, 6.17 mmol). Se obtuvieron 1.58 g (90%) del producto **213a** como un sólido blanco. pf 45-46 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3339, 1707, 1647, 151529, 1253 cm⁻¹. **RMN¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.07-1.21 (cd, $J = 13.0, 3.0$ Hz, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.53-1.67 (cd, $J = 13.0, 3.0$ Hz, 2H), 1.80-1.86 (m, 2H), 2.06-2.10 (m, 2H), 2.57-2.65 (m, 1H), 3.17 (s, 3H), 3.40-3.45 (m, 1H), 3.69 (s, 3H), 4.46 (sa, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 24.0, 28.6, 29.8, 32.4, 38.2, 45.5, 61.7, 79.2; 155.5, 178.4. **EM (FAB)** m/z 286 (M⁺+1H) 287, 231, 187, 170, 154, 136, 126, 107, 81, 77, 57.

***trans* 4-(*N*-metoxi-*N*-metil-4-(4-metilfenilsulfonamido)ciclohexancarboxamida (**213c**).**

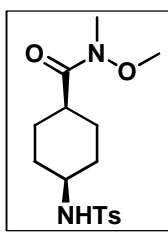


Se partió del aminoácido protegido **212c** (1.5 g, 5.0 mmol). Se obtuvieron 1.28 g (80%) del producto **213c** como un sólido blanco. pf 135-137 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3252, 1692, 1596, 1300, 1149 cm⁻¹. **RMN¹H** (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 1.14-1.27 (cd, $J = 12.0, 3.0$ Hz, 2H), 1.41-1.56 (cd, $J = 13.0, 3.0$ Hz, 2H), 1.74-1.78 (m, 2H), 1.89-1.94 (m, 2H), 2.44 (s, 3H), 2.52-

2.56 (1H, m), 3.02-3.14 (m, 1H), 3.14 (s, 3H), 3.66 (s, 1H), 4.62 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 7.76 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H). **RMN¹³C** (75 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 21.6, 25.9, 29.2, 31.4, 33.9, 43.3, 48.5, 53.5, 128.0, 130.8, 140.5, 144.6, 179.3. **EM BR (FAB)** m/z 340 ($M^+ + 1H$) 341. 280, 252, 170, 155, 91, 81, 55.

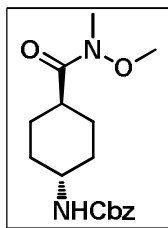
cis 4-(N-metoxi-N-metil-4-(4-metilfenilsulfonamido)ciclohexancarboxamida (216c).



En un matraz redondo se colocó el ácido *N*-Ts protegido (1.5 g, 5.0 mmol), el clorhidrato de la *N,O*-dimetilhidroxilamina (0.98 g, 10.10 mmol) y se agregó THF seco (10 mL) bajo atmósfera de argón. Se enfrió en un baño de hielo a 0 °C, se adicionó el cloroformiato de metilo (0.37 mL, 5.55 mmol) y se adicionó lentamente Et₃N (2.1 mL, 15.0 mmol), dejándose en agitación a 0 °C por 1 h. Se retiró el baño de hielo y se agitó a temperatura ambiente por 5 h. Se agregó AcOEt (50 mL) y solución de ácido cítrico al 10%. La fase orgánica se separó y se lavó con agua, con solución saturada de NaCl y se secó con Na₂SO₄. El disolvente se concentró y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (Hex:AcOEt 7:3 + 10% MeOH). Se obtuvieron 1.13 g (70%) del producto **216c** como un sólido blanco. pf 120-122 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3225, 1639, 1449, 1326, 1160 cm⁻¹. **RMN¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.50-1.77 (m, 8H), 2.41 (s, 3H), 2.68 (m, 1H), 3.16 (s, 3H), 3.50-3.54 (m, 1H), 3.66 (s, 3H), 4.85 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 7.26-7.30 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 7.75-7.78 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 21.6, 27.8, 33.1, 38.6, 49.0, 52.3, 68.1, 127.0, 129.8, 138.3, 143.3, 176.4. **EM:** (FAB) 340 m/z ($M^+ + 1H$) 341. 280. 252, 185, 170, 155, 136, 107, 91, 81.

Trans 4-(N-metoxi-N-metilcarbamoil)ciclohexilcarbamato de bencilo (213b).

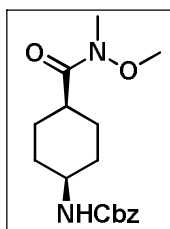


Se partió de del aminoácido protegido **212b** (1.5 g, 5.5 mmol). Se obtuvieron 1.48 g (92%) del producto **213b** como un sólido blanco. pf 102-105 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3321, 2932, 1707, 1640, 11259 cm⁻¹. **RMN¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.10-1.24 (cd, $J = 13.0, 3.0$ Hz, 2H), 1.56-1.68 (cd, $J = 13.0, 3.0$ Hz, 2H), 1.81-1.85 (m, 2H), 2.08-2.12 (m, 2H), 2.57-2.65 (m, 1H), 3.17 (s, 3H), 3.44-3.52 (m, 1H), 3.68 (s, 3H), 4.68 (sa, 1H), 5.08 (s, 2H), 7.33-7.36 (m, 5H). **RMN¹³C** (75

MHz, CDCl₃) δ (ppm): 27.9, 32.4, 32.8, 39.1, 42.5, 49.7, 61.7, 66.7, 128.3, 128.4, 128.7, 136.7, 155.6, 176.6. **EM** (FAB) *m/z* 320 (M⁺+1H) 321, 170, 147, 91, 57.

cis 4-(*N, N*-metoxi(metil)carbamoil)ciclohexilcarbamato de bencilo (216b).

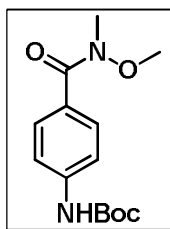


Se partió del aminoácido protegido **215b** 2.0 g (8.43 mmol). Se obtuvieron 1.78 g (76%) del producto **216b** como un sólido blanco. pf 65-67 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3222, 2932, 1707, 1640, 1527, 1259 cm⁻¹. **RMN¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.66-1.72 (m, 6H), 1.83-1.88 (m, 2H), 2.75 (m, 1H), 3.17 (s, 3H), 3.68 (s, 3H), 3.88 (s, 1H), 5.09 (s, 2H), 7.35 (m, 5H). **RMN¹³C**

(75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 24.2, 29.6, 32.4, 38.1, 46.3, 61.7, 66.7, 128.2, 128.7, 136.8; 155.9, 176.9. **EM** (FAB) *m/z* 320 (M⁺+1H) 321, 244, 147, 137, 109, 97, 91, 81, 69.

4-(*N, N*-metoxi(metil)carbamoil)fenilcarbamato de *t*-butilo (220).



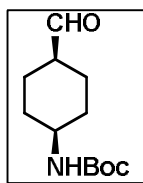
El ácido **219** (2.0 g, 8.43 mmol) se colocó en un matraz redondo, bajo atmósfera de nitrógeno y se disolvió en THF seco (15 mL). Se agregó cloruro de oxalilo (0.5 mL, 8.43 mmol) y DMF (1 gota) y se dejó en agitación a temperatura ambiente hasta que el CO y CO₂ dejó de producirse. El disolvente se concentró, el residuo se resuspendió en THF seco (15 mL) y se adicionó el clorhidrato de la *N,O*-dimetilhidroxilamina (0.81 g, 8.43 mmol) y Et₃N (1.0 mL, 10.2 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente por 5 h, se agregó AcOEt (50 mL) y la fase orgánica se lavó con solución de ácido cítrico al 10%, con una solución saturada de NaCl y se secó con Na₂SO₄. El disolvente se concentró y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 7:3). Se obtuvieron 1.78 g (92%) del producto **220** como un sólido blanco. pf 88-90 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3369, 1707, 1680, 1525, 1234, 1159 cm⁻¹. **RMN¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.51 (s, 9 H), 3.35 (s, 3H), 3.54 (s, 3H), 7.21 (sa, 1H), 7.41-7.45 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 7.67-7.70 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 28.4, 34.0, 61.1, 81.0, 117.5, 129.8, 131.4, 141.1, 152.8, 169.4. **EM** (FAB) *m/z* 280 (M⁺+1H) 281, 225, 207, 164, 147, 120, 73, 57.

Método general para la preparación de aldehídos.

En un matraz redondo bajo atmósfera de argón se colocó LiAlH_4 (0.5 eq) El hidruro se suspendió en THF seco (5 mL) y el matraz se colocó en un baño de hielo a 0 °C. Se adicionó la amida de Weinreb (1.0 eq) disuelta en THF seco (2 mL) y la reacción se dejó en agitación a 0 °C por 2 h. Se aciduló con solución de ácido cítrico al 10% hasta pH 3, el producto se extrajo con acetato de etilo (15 mL, 3x). La fase orgánica se separó, se lavó con agua y con una solución saturada de NaCl y se secó con Na_2SO_4 . El disolvente se concentró y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 8:2).

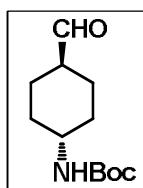
cis 4-Formilciclohexilcarbamato de *t*-butilo (**217a**).



Se partió de la amida de Weinreb **216a** (0.5 g, 1.74 mmol). Se obtuvieron 0.30 g (78%) del producto **217a** como un sólido blanco. pf 78-80 °C.

IR-FT ATR ν_{max} : 3355, 2935, 1704, 1513, 1205 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1.32-1.36 (m, 2H), 1.43 (s, 9H), 1.65-1.82 (m, 6H), 1.92-2.00 (m, 1H), 2.36-2.39 (m, 1H), 4.5 (sa, 1H), 9.67 (s, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 24.9, 28.5, 32.2, 42.3, 49.4, 79.5, 155.3, 203.9. **EM** (FAB) m/z 227 ($\text{M}^+ + 1\text{H}$) 228. 210, 172, 154, 136, 110, 57.

trans 4-Formilciclohexilcarbamato de *t*-butilo (**214a**).



Método A.

Se partió de la amida de Weinreb **213a** (1.0 g, 3.49 mmol). Se obtuvieron 0.79 g (86%) del producto **214a** como un sólido blanco. pf 98-100 °C.

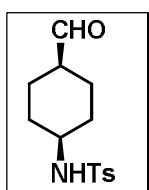
Método B.

En un matraz redondo y acondicionado con atmósfera de argón a una temperatura de -78 °C, conteniendo cloruro de oxalilo (0.22 mL, 0.254 mmol) en cloruro de metileno (1 mL), se adicionó DMSO seco (0.009 mL, 0.127 mmol). Se agitó por 5 min y se adicionó el alcohol (0.036 g, 0.127 mmol) disuelto en cloruro de metileno seco (1 mL). Después de 5 min a la misma temperatura, se adicionó Et_3N (0.07 mL, 0.508 mmol) y se continuó la agitación por 30 min. Se adicionó HCl al 10% (1 mL) y se diluyó con agua (50 mL). El producto se extrajo con cloruro de metileno (20 mL, 3x), la fase orgánica se lavó con agua,

seguida por una solución concentrada de NaCl y se secó con Na₂SO₄. El disolvente se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice. Se obtuvieron 0.23 g (15%) del producto **214a** como un sólido blanco. pf 141-143 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3340, 1693, 1520, 1247, 1171 cm⁻¹. **RMN¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.02-1.16 (cd $J = 6.0, 13.5$ Hz, 2 H), 1.24-1.33 (cd, $J = 3.0, 13.5$ Hz, 2H), 1.37 (s, 9H), 1.93-2.08 (m, 5H), 3.29-3.36 (m, 1H), 9.6 (s, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 25.0, 28.6, 32.3, 49.4, 79.6, 155.4, 204.0. **EM** (FAB) m/z 227 (M⁺+1H) 228, 210, 172, 154, 136, 110.

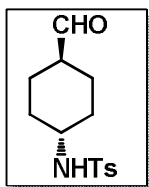
cis *N*-(4-Formilciclohexil)-4-metilbencensulfonamida (**217c**).



En un matraz redondo se colocó LiAlH₄ (0.058 g, 1.52 mmol), el sistema se cerró y se adaptó atmósfera de argón. El hidruro se suspendió en THF seco (2 mL) y el matraz se colocó en un baño de hielo a 0 °C. Se adicionó la amida de Weinreb **216c** (1.0 g, 3.08 mmol) disuelta en THF seco (1 mL) y la reacción se dejó en agitación a 0 °C por 2 h. La mezcla se aciduló con solución de ácido cítrico al 10% hasta pH 3 y el producto se extrajo con acetato de etilo (15 mL, 3x). La fase orgánica se separó, se lavó con agua, con una solución saturada de NaCl, se secó con Na₂SO₄, el disolvente se concentró y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna. Se obtuvieron 0.72 g (62%) del producto **217c** como un sólido blanco. pf 97-99 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3250, 2937, 1722, 1161 cm⁻¹. **RMN¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.21-1.87 (m, 6H), 1.84-1.87 (m, 2H), 2.30 (m, 1H), 2.43 (s, 3H), 4.90 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 7.76 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 9.61 (s, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 21.5, 24.4, 32.3, 48.5, 51.9, 126.8, 129.7, 138.0, 143.3, 203.5. **EM** (FAB) m/z 281 (M⁺+1H) 282, 264, 252, 221, 154, 136, 109, 95, 81, 69.

trans *N*-(4-Formilciclohexil)-4-metilbencensulfonamida (**214c**).

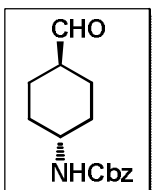


Se partió de la amida de Weinreb **213c** (0.2 g, 0.59 mmol). Se obtuvieron 0.10 g (78%) del producto **214c** como un sólido blanco. pf 116-118 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3250, 2937, 1722, 1161 cm⁻¹. **RMN¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.15-1.34 (m, 4H), 1.90-1.97 (m, 4H), 2.08-2.12 (m, 1H), 2.44 (s, 3H), 3.03-3.08 (m, 1H), 5.03 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.32 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.77 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 9.57 (s, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 21.6, 24.7, 32.5, 48.8, 52.2, 127.1,

129.9, 138.2, 143.5, 203.6. **EM** (FAB) m/z 281 ($M^+ + 1H$) 282, 264, 252, 231, 221, 154, 136, 123, 109, 95, 81, 69, 55.

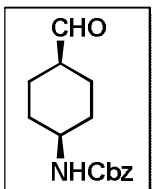
trans 4-Formilciclohexilcarbamato de bencilo (214b).



Se partió de la amida de Weinreb **213b** (1.2 g, 3.75 mmol). Se obtuvieron 0.22 g (73%) del producto **214b** como un sólido blanco. pf 113-115°C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3303, 1703, 1533, 1207 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1.32-1.38 (m, 2H), 1.57-1.72 (m, 4H), 1.91-2.01 (m, 2H), 2.37-2.42 (m, 1H), 3.62-3.69 (m, 1H), 4.70 (s, 2H), 5.16 (d, 1H), 7.34-7.38 (m, Ar-5H), 9.66 (s, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 24.2, 29.6, 38.1, 46.3, 66.7, 128.2, 128.4, 128.7, 136.8, 155.9, 193.5. **EM** (FAB) m/z 261 ($M^+ + 1H$) 262, 221, 154, 107, 91, 77.

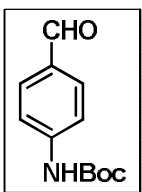
cis 4-Formilciclohexilcarbamato de bencilo (217b).



Se partió de la amida de Weinreb **216b** (1.2 g, 3.75 mmol). Se obtuvieron 0.22 g (70%) del producto **217b** como un aceite amarillo.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3303, 2937, 1703, 1533, 1297 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1.45 (6H, m, CH_2), 1.86 (2H, dd, $J = 9.4, 4.2$ Hz, CH_3), 2.37 (1H, dd $J = 8.1, 4.5$ Hz, CH_3), 3.52 (1H, m, CH), 5.08 (2H, s, CH_2), 9.56 (1H, s, CHO). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 25.2, 27.7, 32.5, 47.7, 66.8, 128.3, 128.7, 134.8, 157.1, 193.9. **EM** (FAB) m/z 261 ($M^+ + 1H$) 262, 221, 154, 107, 91, 77.

4-Formilfenilcarbamato de tert-butilo (221).



Se partió de la amida de Weinreb **220** (0.1 g, 0.357 mmol). Se obtuvieron 0.678g (77%) del producto **221** como un sólido amarillo. pf 137-139 °C.

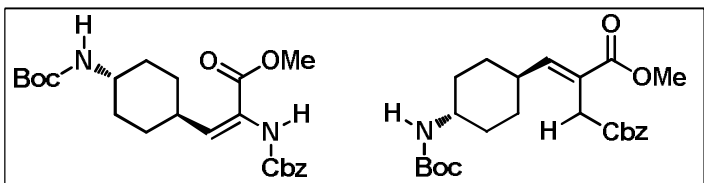
IR-FT ATR ν_{\max} : 3254, 1734, 1675, 1602, 1536, 1236, 1151 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1.54 (s, 9H), 6.77 (sa, 1H), 7.51-7.54 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 7.81-7.84 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 9.90 (s, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 28.5, 81.7, 118.0, 131.5, 144.3, 152.2, 191.1. **EM** (FAB) m/z 221 ($M^+ + 1H$) 222, 166, 149, 133, 121, 91, 87, 57.

Método general para la preparación de los aminoácidos α,β -insaturados.

En un matraz redondo se colocó el correspondiente fosfonato (1.1 eq y se adaptó atmósfera de argón. El fosfonato se disolvió con THF seco (5 mL) y se colocó en un baño de hielo a $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se adicionó hexametidisilazuro de litio (1.1 eq) dejándose en agitación por 20 min. Se adicionó el aldehído (1.0 eq disuelto) en THF (5 mL), dejándose en agitación a temperatura ambiente por 20 min y se calentó a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 18 h. El disolvente se eliminó, el residuo se disolvió en AcOEt (20 mL), se lavó con solución de ácido cítrico al 10% y solución saturada de NaCl. La fase orgánica se secó con Na_2SO_4 y el disolvente se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 7:3).

(Z)-2-(Benciloxycarbonilamino)-4-(*t*-butoxicarbonilamino) ciclohexilacrilato de metilo (222a).

(E)-2-(Benciloxycarbonilamino)-4-(*t*-butoxicarbonilamino) ciclohexilacrilato de metilo (223a).

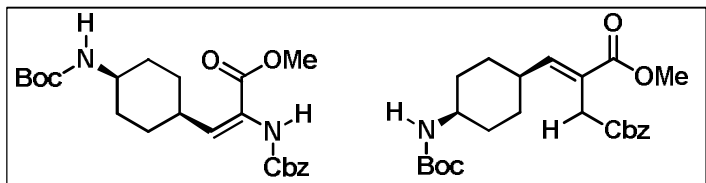


Se partió del aldehído **214a** (0.6 g, 2.64 mmol). Se obtuvieron 0.856 g (86%) de la mezcla de isómeros **222a/222b** como sólidos blancos. pf isómero *E*: 81-83 $^{\circ}\text{C}$. pf isómero *Z*: 108-110 $^{\circ}\text{C}$.

IR-FT ATR ν_{max} : 3351, 1711, 1517, 1246, 1169 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) Isómero *E*: 1.09-1.29 (m, 4H), 1.44 (s, 9H), 1.78-1.82 (m, 2H), 2.00-2.04 (m, 2H), 2.48 (m, 1H), 3.58 (m, 1H), 3.80 (s, 3H), 4.40 (sa, 1H), 5.13 (d, 2H), 6.58 (sa, 1H); 6.77 (s, 1H), 7.35 (m, 5H). **RMN¹H** (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm) isómero *Z*: 1.02-1.29 (m, 4H), 1.44 (s, 9H), 1.75-1.79 (m, 2H), 1.98-2.01 (d, 2H), 2.30-2.32 (m, 1H), 3.37 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.98 (d, $J = 9$ Hz, NH), 4.42-4.44 (m, 1H), 5.14 (s, 2H), 6.25 (sa, 1H), 6.43 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.36 (m, 5H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm) isómero *Z*: 28.6, 30.5, 32.7, 36.6, 42.8, 52.7, 67.5, 79.3, 124.5, 128.2, 128.3, 128.4, 128.7, 136.1, 154.7, 155.3, 165.4. **EM** (FAB) isómero *Z*: m/z 432 ($\text{M}^+ + 1\text{H}$) 433, 393, 377, 333, 287, 261, 241, 149, 91, 71, 57.

(Z)-2-(Benciloxycarbonilamino)-4-(*t*-butoxicarbonilamino)-ciclohexilacrilato de metilo. (224a).

(E)-2-(Benciloxycarbonilamino)-4-(*t*-butoxicarbonilamino)-ciclohexilacrilato de metilo. (225a).

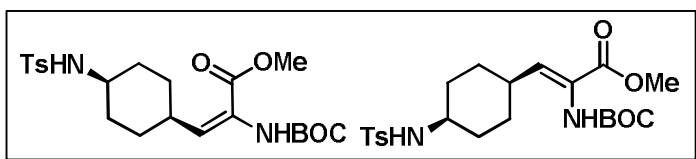


Se partió del aldehído **217a** (0.5 g, 2.2 mmol). Se obtuvieron 0.71 g (82%) de la mezcla de isómeros **224a** y **225a** como aceite color amarillo.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3282, 1725, 1656, 1546, 1260 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) isómero *E*: 1.43 (s, 9H), 1.64-1.65 (m, 8H), 3.12-3.18 (m, 1H), 3.67-70 (m, 1H), 3.79 (s, 3H), 4.66 (sa, 1H), 5.12 (s, 2H), 6.55 (sa, 1H), 6.87 (sa, 1H), 7.34-7.37 (m, 5H). **RMN¹H** (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) isómero *Z*: 1.44 (s, 9H), 1.62-1-64 (m, 8H), 2.51-2.54 (m, 1H), 3.60-3.63 (m, 1H), 3.74 (s, 3H), 5.14 (s, 2H), 6.35 (sa, 1H), 6.59 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H), 7.36 (m, 5H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm) isómero *Z*: 25.8, 28.9, 29.3, 34.9, 46.4, 52.5, 67.5, 79.4, 124.5, 128.2, 128.4, 136.1, 141.6, 154.7, 155.4, 165.4. **EM** (FAB+) isómero *Z*: m/z 432 ($M^+ + 1H$) 433, 377, 333, 241, 180, 149, 91, 57.

(Z)-2-(*t*-Butoxicarbonilamino)-4-(4-metilfenilsulfonamido)ciclohexilacrilato de metilo (224b).

(E)-2-(*t*-Butoxicarbonilamino)-4-(4-metilfenilsulfonamido)ciclohexilacrilato de metilo (225b).



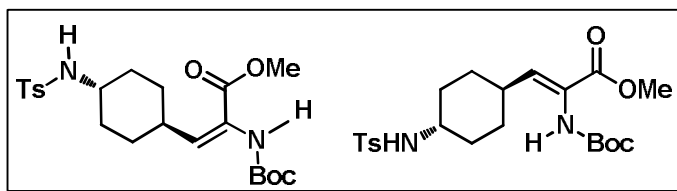
Se partió del aldehído **217c** (0.6 g, 0.213 mmol). Se obtuvieron 0.55 g (65%) de la mezcla de isómeros **234a/235b** como aceite amarillo.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3331, 1738, 1643, 1542, 1185 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) isómero *E*: 1.43 (s, 9H), 1.60, (m, 6H). 1.88 (m, 2H), 2.56 (m, 1H), 3.71 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.96 (d, 1H), 5.12, (d, $J = 12$ Hz, 1H), 6.4 (d, $J = 12$ Hz, 1H), 6.6 (sa, 1H), 7.32 (m, 5H). **RMN¹H** (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) isómero *Z*: 1.42 (s, 9H), 1.49-1.60 (m, 6H), 1.83 (m, 2 H), 2.43 (s, 3H), 2.44 (m, 1H), 3.41 (m, 1H), 3.77 (s, 3H), 4.72 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 5.90 (sa, 1H), 6.43 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 7.76 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H).

RMN¹³C (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) isómero *Z*: 26.7, 28.5, 29.8, 34.9 (CH₂), 46.3, 52.4, 79.3, 124.5, 128.2, 128.6, 136.1, 141.6, 154.7, 155.4, 165.4. **EM** (FAB) isómero *Z*: *m/z* 420 (M⁺+1H) 454, 397, 353, 264, 182, 155, 91, 57.

(Z)-2-(Benciloxycarbonilamino)-4-(4-*t*-butoxicarbonilaminociclohexilacrilato de metilo (222c).

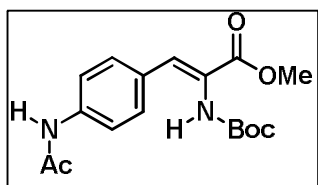
(E)-2-(Benciloxycarbonilamino)-4-(4-*t*-butoxicarbonilamino)ciclohexilacrilato de metilo (223c).



Se partió del aldehído **214c** (0.5 g, 1.88 mmol). Se obtuvieron 0.52 g (76%) del producto **231c/232c** como un sólido color blanco. pf isómero *E*: 147-149 °C. pf isómero *Z*: 165-167 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3344, 2977, 1698, 1534, 1250 cm⁻¹. **RMN¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) isómero *E*: 1.18 (cd, *J* = 12.0, 3.0 Hz, 2H), 1.47 (s, 9H), 1.58 (dd, *J* = 12.0, 3.0 Hz, 2H), 1.78 (d, *J* = 9.0, 3.0 Hz, 2H), 1.83 (dd, *J* = 9.0, 3.0 Hz, 2H), 2.29 (m, 1H), 2.45 (s, 3H), 3.11 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 6.01 (sa, 1H), 6.40 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 6.67 (sa, 1H), 7.37 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 7.79 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H). **RMN¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) isómero *Z*: 1.15 (cd, *J* = 12.0, 3.0 Hz, 2H), 1.41 (s, 9H), 1.55 (cd, *J* = 13.0, 3.0 Hz, 2H), 1.72 (dd, *J* = 6.0, 3.0 Hz, 2H), 1.87 (dd, *J* = 6.0, 3.0 Hz, 2H), 2.25 (m, 1H), 2.43 (s, 3H), 2.48 (m, 1H), 3.08 (m, 1H), 3.65 (s, 3H), 6.05 (s, 1H), 6.43 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 6.59 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 7.35 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 7.77 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) isómero *Z*: **EM** (FAB) isómero *Z*: *m/z* 453 (M⁺+1H) 454, 397, 353, 264, 182, 155, 91, 57.

(Z)-3-(4-Acetamidofenil)-2-(*t*-butoxicarbonilamino)acrilato de metilo (227b).

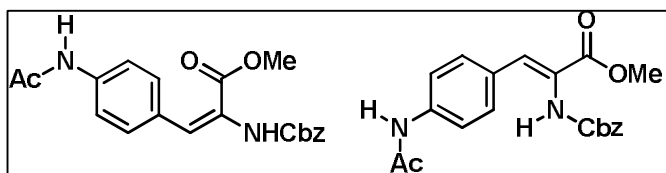


Se partió del aldehído **221a** (0.5 g, 3.06 mmol). Se obtuvieron 0.89 g (94%) del producto **227b** como cristales blancos. pf 183-185 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3283, 1723, 1677, 1535, 1251 cm⁻¹. **RMN¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.49 (s, 9H), 2.18 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 7.17-7.20 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.23 (s, 1H), 7.42-7.45 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 24.7,

28.4, 52.8, 81.3, 119.2, 123.5, 129.6, 131.0, 137.7, 139.4, 153.1, 166.4, 168.7. **EM** (IE) m/z 334 ($M^+ + 1H$) 334, 279, 247, 234, 203, 175, 154, 131, 57.

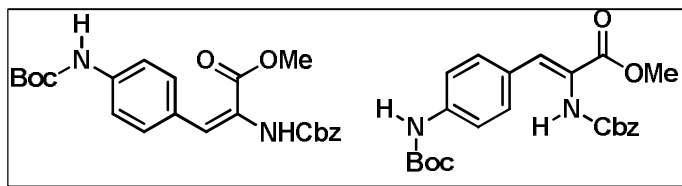
(Z)-3-(4-Acetamidofenil)-2-(benciloxicarbonilamino)acrilato de metilo (226c).
(E)-3-(4-Acetamidofenil)-2-(benciloxicarbonilamino)acrilato de metilo (227c).



Se partió del aldehído **221a** (0.5 g, 3.06 mmol). Se obtuvieron 0.81 g (80 %) de la mezcla de isómeros **226b/227b** como cristales blancos. pf isómero *E*: 125-127 °C. pf isómero *Z*: 141-143 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3355, 1731, 1708, 1688, 1672, 1595, 1502, 1227, 1056 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) Isómero *E*: 2.18 (s, 3H), 3.65 (s, 3H), 5.17 (s, 2H), 6.97 (sa, 1H), 7.21 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 7.32-7.38 (m, 5H), 7.44 (s, 1H), 7.48 (d, 1H), 7.54 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H). **RMN¹H** (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm) Isómero *Z*: 2.16 (s, 3H), 3.64 (s, 3H), 5.17 (s, 2H), 7.00 (s, 1H), 7.20 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 7.35-7.39 (m, 6H), 7.44 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 7.51 (sa, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm) isómero *Z*: 24.5, 52.9, 67.4, 119.4, 124.6, 125.4, 128.1, 128.3, 128, 130.2, 130.9, 135.9, 137.9, 155.4, 166.1, 168.9. **EM** (FAB) isómero *Z*: m/z 368 ($M^+ + 1H$) 369, 325, 281, 207, 147, 136, 91, 73.

(Z)-2-(Benciloxicarbonilamino)3-(4-(t-butoxicarbonilamaino)fenil)acrilato de metilo (226a).
(E)-2-(Benciloxicarbonilamino)3-(4-(t-butoxicarbonilamaino)fenil)acrilato de metilo (227a).

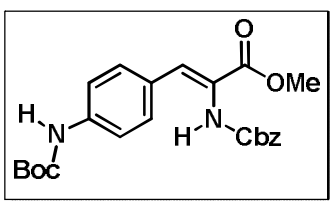


Se partió del aldehído **221b** (0.5 g, 2.26 mmol). Se obtuvieron 0.77 g (83 %) de la mezcla de isómeros **226a/227a** como sólidos color amarillo pálido. pf isómero *E*: 122-124 °C, pf isómero *Z*: 156-157 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3326, 2977, 1708, 1523, 1234, 1158 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) isómero *E*: 1.51 (s, 9H), 3.63 (s, 3H), 5.15 (s, 2H), 6.65 (sa, 1H), 7.02 (s, 1H), 7.17

(d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 7.27 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 7.31-7.38 (m, 5H). **RMN¹H** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) isómero *Z*: 1.52 (s, 9H), 3.80 (s, 3H), 5.10 (s, 2H), 6.63 (s, 1H), 6.96 (s, 1H), 7.19 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H). 7.29-7.38 (m, 5H), 7.47 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) isómero *Z*: 28.4, 52.7, 67.7, 81.1; 118.1, 122.6, 128.2, 128.3, 128.6, 129.8, 131.2, 132.6, 136.1, 139.9, 152.6, 166.1, 174.4. **EM** (FAB) isómero *Z*: m/z 426 ($M^+ + 1H$) 427, 426, 370, 327, 281, 235, 154, 133, 91, 69, 57.

3-(4-Acetamidofenil)-2-(*tert*-butoxicarbonilamino)propanoato de metilo (229).



En un matraz redondo se colocó el aminoácido **227b** (0.1 g, 0.231 mmol) y se disolvió en MeOH (15 mL), posteriormente se adicionó a la solución el catalizador Pd/C (0.01 g, 10 % w/w). El sistema se cerró y se adaptó un globo de hidrógeno, dejándose en agitación a temperatura ambiente por 5 h. La solución se

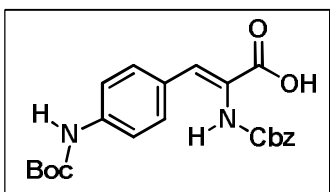
filtró a través de celita y el disolvente se eliminó obteniéndose 0.98 g (98 %) del producto **229** como un sólido blanco. *pf* 76-88 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3331, 1754, 1740, 1687, 1540, 1162 cm⁻¹. **RMN¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.38 (9H, s, CH₃), 2.09 (3H, s, CH₃), 2.87 2.94 (1H, dd, $J = 7.0, 13.0$ Hz, CH), 3.00-3.07 (1H, dd, $J = 5.0, 13.0$ Hz, CH), 3.68 (3H, s, CH₃), 4.38 (1H, t, $J = 6.6$ Hz, CH), 4.62-4.65 (2H, m, CH), 7.08 (2H, d, $J = 8.1$ Hz, Ar-CH), 7.44 (2H, d, $J = 8.1$ Hz, Ar-CH). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 23.9, 28.6, 37.9, 52.6, 55.7, 80.6, 120.9, 130.2, 132.9, 138.0, 156.8, 170.9, 173.6. **EM** (FAB) m/z 336 ($M^+ + 1H$) 237, 204, 172, 144, 148, 109, 95, 81, 57.

Método general para la hidrólisis del éster metílico

En un matraz redondo se colocó el aminoácido (1.0 eq) y se disolvió en una mezcla de MeOH/H₂O 3:2 (5 mL). Se adicionó LiOH (1.2 eq) a la solución y se mantuvo en agitación por 6 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se llevó a pH 3 con una solución de ácido cítrico al 10%. El compuesto se extrajo con AcOEt (15 mL, 3x) y la fase orgánica se lavó con agua y con una solución concentrada de NaCl y se secó con Na₂SO₄. El disolvente se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Hex/AcOEt 1:1 + 10% MeOH).

Ácido (Z)-2-(benciloxycarbonilamino)-3-(4-(t-butoxicarbonilamino)fenil) acrílico (228).

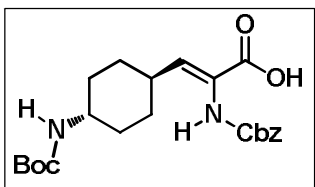


Se partió del aminoácido **227b** (0.2 g, 0.47 mmol). Se obtuvieron 0.183 g (96%) del producto **228** como un sólido amarillo. pf 175-177 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3308, 1703, 1587, 1524, 1523, 1237, 1157 cm^{-1}

¹. **RMN¹H** (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 1.52 (s, 9H), 5.12 (s, 2H), 6.45 (sa, 1H), 6.85 (sa, 1H), 7.32-7.34 (m, 8H), 7.46 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H). **RMN¹³C** (75 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 28.8, 68.1, 81.3, 119.2, 119.3, 125.0, 128.0, 128.9, 129.0, 129.1, 129.3, 129.6, 132.2, 135.8, 142.3, 154.9, 155.0. **EM**: (FAB) m/z 412 ($M^+ + 1H$) 413, 355, 327, 281, 221, 147, 91, 73, 58.

Ácido (Z)-2-(benciloxycarbonilamino)-3-(4-(t-butoxicarbonilamino) ciclohexil)acrílico (233).

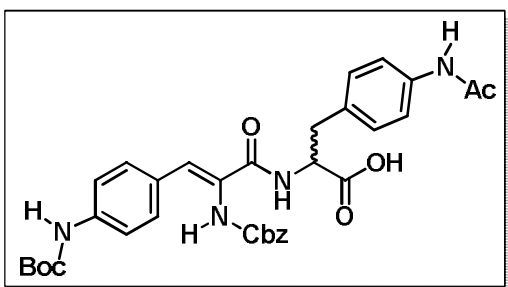


Se partió del aminoácido **223a** (0.05 g, 0.116 mmol). Se obtuvieron 0.045 g (94%) del producto **233** como un sólido amarillo. pf 117-120 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3351, 1704, 1694. 1513, 1169 cm^{-1} . **RMN¹H**

(300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.06-1.26 (m, 4H), 1.46 (s, 9H), 1.76-1.79 (m, 2H), 1.98-2.01 (m, 2H), 2.32-2.35 (m, 1H), 3.38 (m, 1H), 4.41 (d 1H), 5.15 (s, 2H), 6.33 (sa, 1H), 6.55 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H), 7.33 (m, 5H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 28.5, 30.3 (CH₂), 32.5, 36.5; 42.6, 67.6, 79.5, 124.3, 127.9, 128.1, 28.3, 128.4, 128.7, 136.1, 144.2, 155.6, 166.6. **EM**: (FAB) m/z 418 ($M^+ + 1H$) 419, 391, 363, 319, 153, 136, 102, 91, 77, 57.

Ácido (E)-3-(4-acetamidofenil)-2-(2-(benciloxycarbonilamino)-3-(4-(t-butoxicarbonilamino)fenil)acrilamido)propiónico (237).



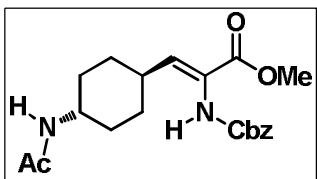
Se partió del dipéptido **231** (0.1 g, 0.116 mmol). Se obtuvieron 0.089 g (90%) del producto **237** como un sólido amarillo. pf >200 °C (desc).

IR-FT ATR ν_{\max} : 3411, 3310, 2932, 1715, 1687, 1658, 1532, 1171 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 1.41 (s, 9 H), 1.95 (s, 3H), 3.35-

3.39 (m, 2H), 4.38 (d, 1H), 4.89-4.92 (m, 1H), 6.39 (s, 1H), 7.12 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 7.21-7.48 (m, 10H). **RMN¹³C** (75 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 23.9, 28.8, 34.7, 55.1, 65.3, 81.3, 113.0, 119.7, 121.3, 125.8, 128.1, 128.4, 128.7, 129.5, 130.4, 131.4, 141.3, 138.7, 141.7,

155.0, 156.3, 165.8, 171.6, 172.0. **EM:** (FAB) m/z 616 ($M^+ + 1H$) 615, 558, 514, 453, 407, 365, 203, 132, 106, 91.

(Z)-3-(4-Acetamidociclohexil)-2-(benciloxycarbonilamino)acrilato de metilo (232).



En un matraz redondo se colocó el aminoácido **223a** (0.05 g, 0.116 mmol), se adaptó atmósfera de nitrógeno, se disolvió en CH_2Cl_2 seco (3 mL) y se enfrió en un baño de hielo a $0^\circ C$. Se adicionó lentamente TFA (1.0 mL) y se dejó en agitación por 5 h a temperatura ambiente. El disolvente se concentró y el residuo se lavó con tolueno (5 mL, 3x) para eliminar las trazas de TFA. El residuo se resuspendió en CH_2Cl_2 seco (10 mL) y se adicionó anhídrido acético (1.0 mL, 9.8 mmol) y Et_3N (1.0 mL, 9.9 mmol). La mezcla de reacción se dejó en agitación por 6 h a temperatura ambiente. El disolvente se concentró y el residuo se lavó con tolueno y posteriormente se purificó por cromatografía en columna (Hex/AcOEt 1:1 + 10% MeOH). Se obtuvieron 0.037 g (83%) del producto **232** como un sólido amarillo. pf 112-114 $^\circ C$.

IR-FT ATR ν_{max} : 3293, 1724, 1650, 1529, 1214 cm^{-1} . **RMN^{1H}** (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 1.05-1.34 (m, 4H), 1.76-1.80 (m, 2H), 1.96 (s, 3H), 1.98-2.04 (m, 2H), 2.26-2.39 (m, 1H), 3.63-3.77 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 5.15 (s, 2H), 5.26 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 6.09 (sa, 1H), 6.41-6.45 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H), 7.35 (m, 5H). **RMN^{13C}** (75 MHz, $DMSO-d_6$) δ (ppm): 23.5, 30.4, 32.3, 36.5, 48.0, 52.5, 67.4, 124.6, 127.0, 128.1, 128.3, 128.6, 136.1, 154.8, 166.3, 169.5. **EM:** (FAB) m/z 374 ($M^+ + 1H$) 375, 331, 180, 147, 91, 79.

Método general de hidrólisis del grupo Boc.

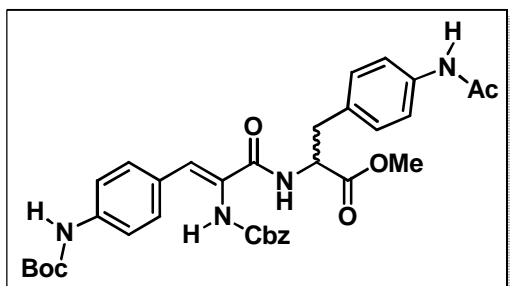
Se colocó el dipéptido *N*-Boc-prottegido (1.0 eq), se adaptó atmósfera de nitrógeno y el sólido se disolvió en CH_2Cl_2 seco (6 mL) manteniéndose en agitación a $0^\circ C$. Se adicionó lentamente TFA (2 mL) y se mantuvo en agitación por 3.0 h. El disolvente se concentró y el residuo se lavó con tolueno para eliminar las trazas de TFA, obteniéndose un aceite color aqmarillo.

Método general de acoplamiento peptídico.

En un matraz redondo se colocó el aminoácido-COOH terminal (1.0 eq) y DCC (1.1 eq), se adaptó atmósfera de nitrógeno al sistema y se suspendió en THF seco (10 mL). La mezcla se dejó en agitación a $0^\circ C$ por 20 min y se adicionó HOBt (1.1 eq) continuándose

la agitación por 30 min más. El aminoácido-NH₂ (1.0 eq) se adicionó a la mezcla de reacción, se adicionó Et₃N (1.1 eq) y se dejó en agitación por 12 h a temperatura ambiente. La solución se filtró sobre celita para eliminar la DCU, el filtrado se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna.

(Z)-3-(4-Acetamidofenil)-2-(2-(benciloxycarbonilamino)-3-(4-(*t*-butoxi carbonilamino)fenil)acrilamido)propanoato de metilo (231).

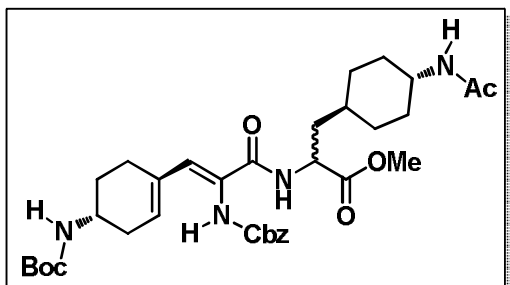


Se partió del aminoácido **228** (0.05 g, 0.149 mmol), EDC (0.029 g, 0.149 mmol), BOP (0.065 g, 0.149 mmol) y el aminoácido **229** (0.3 g, mmol). La mezcla de reacción se resuspendió en THF seco (10 mL), se adaptó atmósfera de nitrógeno y se colocó en un baño de hielo a 0 °C. Se adicionó

DIPEA (0.132 mL, 0.74 mmol), y se continuó la agitación por 30 min a 0 °C. y se continuó con la agitación por 12 h a temperatura ambiente. El disolvente se concentró y el residuo se disolvió en AcOEt (20 mL) y se lavó con solución de ácido cítrico al 10%. La fase orgánica se separó y se lavó con solución saturada de NaCl y se secó con Na₂SO₄. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó en cromatografía en columna (AcOEt/CH₂Cl₂ + 10% MeOH). Se obtuvieron 0.035 g (69%) del producto **231** como un sólido amarillo. *mp* >200 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3308, 1727, 1673, 1605, 1522. 1237, 1156 cm⁻¹. **RMN¹H** (300 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 1.48 (9 H, s, CH₃), 2.01 (3H, s, CH₃), 2.93-3.01 (m, 2H), 3.60 (s, 3H), 4.47-4.54 (m, 1H), 5.07 (sa, 2H), 6.96 (sa, 1H), 7.12-7.15 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 7.38-7.49 (m, 10H), 8.24 (sa, 1H), 8.88 (sa, 1H), 9.55 (s, 1H), 9.82 (s, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, CD₆OD) δ (ppm): 24.4, 28.4, 37.3, 52.5, 53.8, 67.5, 81.1, 111.3, 118.5; 120.3, 126.2, 126.5, 127.9, 128.1, 128.2, 128.3, 128.3, 128.6; 129.9, 130.9, 131.7, 135.9, 137.2, 139.6, 152.7, 155.8, 165.5, 169.2, 171.9. **EM**: (FAB) *m/z* 630 (M⁺+1H) 631, 531, 399, 341, 265, 221, 154, 136, 109, 95, 73, 69.

(Z)-3-(4-Acetamidociclohexil)-2-(2-(benciloxicarbonilamino)-3-(4-(*t*-butoxi carbonilamino)ciclohexil)acrilamido)propanoato de metilo (235).

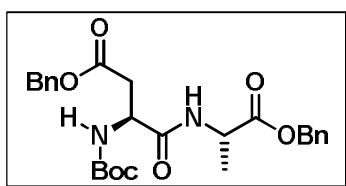


Se partió del aminoácido **233** (0.05 g, 0.149 mmol), EDC (0.029 g, 0.149 mmol), BOP (0.065 g, 0.149 mmol) y el aminoácido **232** (0.3 g, mmol). La mezcla de reacción se resuspendió en THF seco (10 mL), se adaptó atmósfera de nitrógeno y se enfrió en un baño de hielo a 0 °C. Se adicionó

DIPEA (0.132 mL, 0.74 mmol), se continuó dejó la agitación por 30 min a 0 °C y por 12 h a temperatura ambiente. El disolvente se concentró y el residuo se disolvió en AcOEt (20 mL) y se lavó con solución de ácido cítrico al 10%. La fase orgánica se separó, se lavó con solución saturada de NaCl y se secó con Na₂SO₄. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó en cromatografía en columna (AcOEt/CH₂Cl₂ 7:3 + 10% MeOH). Se obtuvieron 0.035 g (63%) del producto **231** como un sólido amarillo. pf >200 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : **RMN¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ : 1.35-1.41 (m, 8 H), 1.43 (s, 9H), 1.56-1.70 (m, 4H), 1.94 (s, 3H), 1.98-2.1 (4H), 3.1 (m, 2H), 3.70 (s, 3H), 5.16 (s, 2H), 7.34 (m, 5H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ : 22.8, 28.9, 31.1, 32.2, 37.1, 39.5, 44.7, 52.8, 67.8, 79.9, 120.8, 128.9, 129.1, 129.5, 129.6, 157.8, 157.9, 172.4. **EM**: (FAB) m/z 642 (M⁺+1H) 647, 543, 435, 390, 243, 110, 91, 79, 57.

N-Boc-(Bn)-Asp-D-Ala-OBn (252).

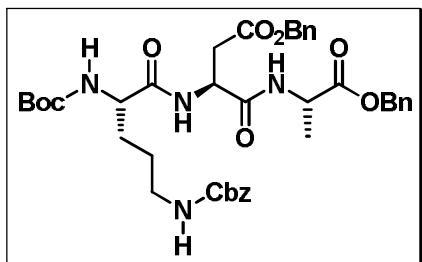


A partir del ácido *N*-Boc-(Bn)-aspártico (**251**) (0.92 g, 2.85 mmol) y el clorhidrato del éster metílico de la D-alanina (1g, 2.85 mmol) El residuo se purificó por cromatografía en columna (hexano/AcOEt 85:15), obteniéndose 1.18 g (90%)

del producto **252** como un sólido blanco. pf 76-78 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3330, 1756, 1730, 1692, 1657, 1526, 1270, 1170 cm⁻¹. **RMN¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ : 1.39 (d, J = 7.2 Hz, 3H), 1.45 (s, 9H), 2.66-2.74 (dd J = 6.6, 17.2 Hz, 1H), 3.01-3.08 (dd, J = 4.5, 17.2 Hz, 1H), 4.53 (m, 2H), 5.12-5.17 (m, 4H), 5.65 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.05 (J = 7.2 Hz, 1H), 7.34-7.36 (m, 10H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ : 18.0, 28.3, 33.7, 48.4, 60.4, 60.4, 67.6, 80.5, 128.1, 128.2, 128.6; 128.9; 135.4, 155.5, 170.5, 172.3, 172.6. **EM**: (FAB) m/z 484 (M⁺+1H) 485, 429, 385, 295, 181, 91, 57.

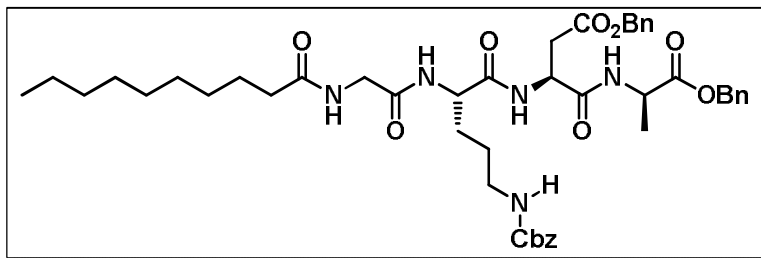
***N*-Boc-(Cbz)-Orn-(Bn)-Asp-D-Ala-OBn (255).**



Se partió del dipéptido **252** (1.0 g, 2.19 mmol) y ornitina **254** (0.745 g, 2.19 mmol). El residuo se purificó por cromatografía en columna (hexano/AcOEt 6:4 + 10% MeOH), obteniéndose 1.27 g (78%) del producto **255** como un sólido blanco. pf 104-106 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3315, 1733, 1690, 1649, 1545, 1275, 1167 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, CDCl_3): 1.38 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H); 1.43 (s, 9H), 1.50-1.54 (m, 2H), 1.80-1.82 (m, 2H), 2.72-2.80 (dd $J = 6.3, 16.9$ Hz, 1H), 2.96-3.03 (dd, $J = 4.8, 16.9$ Hz, 1H), 3.17 (m, 1H), 3.27 (m, 1H). 4.12 (m, 1H), 4.46-4.56 (c, $J = 7.5$ Hz, 1H), 4.82-4.88 (m, 1H), 5.05-5.12 (m, 6H), 7.11 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 7.29-7.34 (m, 15H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl_3) δ : 17.9, 26.3; 28.5, 29.9, 36.3, 40.5; 48.6, 49.4, 54.5, 67.0, 67.1, 67.3, 80.8, 128.3; 128.5, 128.8, 135.5, 136.7; 156.1, 156.9, 169.8, 171.6, 172.5, 172.6. **EM** (FAB) m/z 732 ($M^+ + 1H$) 733, 633, 599, 480, 385, 225, 181, 91, 57.

***N*-Dec-Gly-(Cbz)-Orn-(Bn)-Asp-D-Ala-OBn (257).**

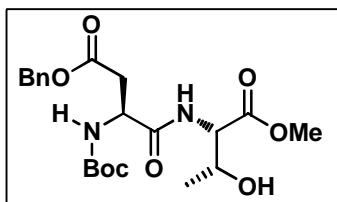


Se partió del tripéptido **255** (1.0 g, 1.38 mmol) y la *N*-decanoil-Gly (0.316 g, 1.38 mmol). El residuo se purificó por cromatografía en columna (hexano: AcOEt 1:4 + 10% MeOH), obteniéndose 0.87 g (88%) del producto **257** como un sólido amarillo claro. pf 95-97 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3412, 3376, 1738, 1657, 1531, 1224, 1174 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, CD_3OD) δ : 0.84 (t $J = 6.6$ Hz, 3H); 1.25 (m, 23H), 1.26 (d, $J = 7.5$ Hz, 3H), 1.41-1.47 (m, 6H), 2.12 (t, $J = 3$ Hz, 2H), 2.64-2.72 (dd, $J = 16.2, 8.4$ Hz, 1H), 2.77-2.84 (dd, $J = 16.2, 6.0$ Hz, 2H), 2.96 (m, 2H), 3.69 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 4.19-4.29 (m, 2H), 4.61-4.68 (m, 1H), 5.06-5.09 (m, 6H), 7.19 (m, 1H), 7.31-7.36 (m, 15H), 8.02-8.11 (m, 2H), 8.18 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, CD_3OD) δ : 14.2, 17.5, 21.2, 25.8, 29.4, 31.9, 36.0, 37.6, 40.5, 43.3, 48.5, 49.7, 52.9, 66.7, 66.8, 67.1, 128.1, 128.2, 128.5, 128.6, 128.7, 135.5, 135.6, 135.7,

157.1, 169.8, 170.4, 170.5, 172.1, 174.5. **EM** (FAB) m/z 843 ($M^+ + 1H$) 844, 652, 480, 225, 91, 57.

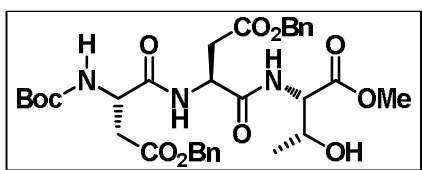
***N*-Boc-(Bn)-Asp-Thr-OMe (261).**



En un matraz redondo se colocó PFF (4.3 mmol), DCC (0.89 g, 4.3 mmol) y *N*-BOC-Z-Asp (**251**) (1.38 g, 4.3 mmol). La mezcla se disolvió en THF seco (15 mL) y se dejó en agitación por 30 min a 0 °C. La DCU se eliminó por filtración a través de celita y el disolvente se concentró. El residuo se suspendió en THF seco (20 mL) y se adicionó *N*-BOC-Thr-OMe (1.0 g, 4.3 mmol) previamente desprotegido. Se agregó HOBT (0.58 g, 4.3 mmol) y se mantuvo la reacción en agitación por 30 min a 0 °C. Se adicionó Et₃N (0.9 mL, 6.43 mmol) y se dejó en agitación por 12 h a temperatura ambiente. El disolvente se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna (hexano/AcOEt 7:3), obteniéndose 1.69 g (90%) del producto **261** como un aceite amarillo.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3329, 1722, 1534, 1218 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ : 1.20 ($J = 6.6$ Hz, 3H), 1.48 (s, 9H), 2.76-2.84 (dd, $J = 6.0, 17.0$ Hz, 1H), 3.02-3.09 (dd $J = 17.0, 5.4$ Hz, 1H), 3.73 (s, 3H), 4.30-4.37 (m, 1H), 4.55-4.63 (m, 1H), 5.13 (s, 2H), 5.78 (d, $J = 9$ Hz, 1H); 7.34 (m, 5H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ : 19.9, 28.4, 36.4, 52.7, 57.7, 60.7, 67.1, 68.3, 80.9, 128.4, 128.5, 128.7, 135.5, 155.9, 171.1, 171.6. **EM** (FAB): m/z 438 ($M^+ + 1H$) 439, 383, 339, 275, 178, 134, 91, 57.

***N*-Boc-(Bn)-Asp-(Bn)-Asp-Thr-OMe (263).**

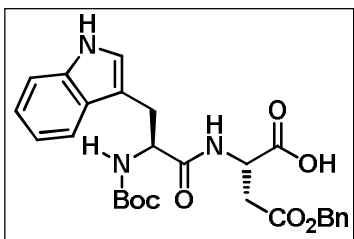


Se partió del dipéptido **261** (0.25 g, 0.570 mmol) y del *N*-Boc-(Bn)-Asp-OH (0.184 g, 0.570 mmol). El disolvente se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna (hexano/AcOEt 7:3 + 5% MeOH), obteniéndose 0.102 g (29%) del producto **263** como un sólido blanco. pf 110-112 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3344, 1734, 1728, 1676, 1685 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ : 1.98 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H), 1.45 (s, 9H), 2.70-2.76 (dd, $J = 12.0, 6.0, 6H$), 2.28-2.91 (dd, $J = 17.0, 6.0$, Hz, 1H), 3.02-3.07 (dd, $J = 17.0, 5.0$, HZ, 1H), 3.15-3.2 (dd, $J = 17.0, 4.0$, Hz, 1H), 3.73 (s, 3H), 4.02-4.04 (m, 1H), 4.28-4.30 (m, 1H), 4.30-4.47 (m, 1H), 4.53-4.59 (dd, $J = 9.0, 3.0$, Hz, 1), 4.82-4.88 (m, 1H), 5.11 (s, 2H), 5.14 (s, CH₂), 5.48 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 7.17 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 7.32-7.36 (m, 10H), 7.67 (d, $J = 9$ Hz, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ : 21.1, 28.3,

36.4, 36.6, 49.5, 52.1, 54.3, 52.3, 56.2, 60.5, 66.8, 66.9, 67.0, 80.2, 128.3, 128.4, 128.4, 128.5, 128.6, 128.7, 135.4, 135.5, 155.6, 169.9, 170.6, 171.2, 171.5, 174.3. **EM** (FAB): m/z 643 ($M^+ + 1H$) 644, 589, 411, 268, 178, 134, 91, 57.

***N*-Boc-Trp-(Bn)-Asp-COOH (266).**

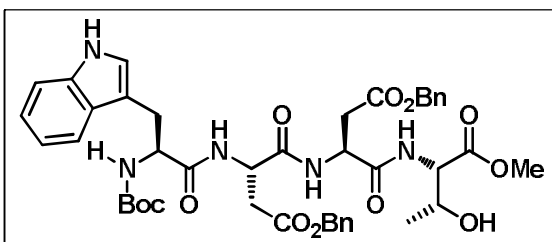


Se partió del *N*-Boc-Trp (0.3 g, 0.987 mmol) y el *N*-Boc-(Bn)-Asp-OH (0.320 g, 0.987 mmol). El disolvente se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna (hexano/AcOEt 4:6 + 5% MeOH/Ac. Acético 1 mL), obteniéndose 0.427 g (78%) del producto **266** como un sólido

café oscuro. pf 135-137 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3344, 1734, 1728, 1676, 1685 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, CDCl_3) δ : 1.38 (s, 3H), 2.72-2.78 (m, 1H), 2.78 (m, 1H), 3.07 (m, 2H), 4.40 (m, 1H), 4.57 (m, 1H), 4.97 (s, 2H), 5.19 (sa, 1H), 5.36 (sa, 1H), 7.04-7.09 (m, 4H), 7.21-7.37 (m, 8H), 7.66-7.75 (m, 4H), 8.46 (s, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl_3) δ : 21.6, 28.3, 36.1, 66.8, 81.3, 109.4, 111.5, 111.9, 128.2, 128.6, 128.5, 135.4, 136.4, 155.8, 170.1, 172.6, 173.5 (COOH). **EM** (FAB): m/z 509 ($M^+ + 1H$) 510, 410, 391, 307, 155, 130, 107, 91, 57.

***N*-Boc-Trp-(Bn)-Asp-(Bn)-Asp-Thr-OMe (267).**

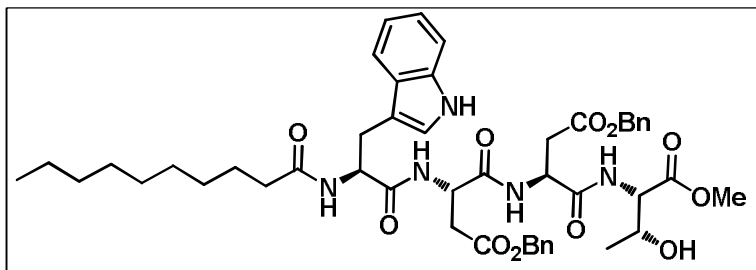


Se partió del dipéptido **261** (0.3 g, 0.685 mmol) y el dipéptido **266** (0.350 g, 0.685 mmol). El residuo se purificó por cromatografía en columna (hexano/ AcOEt 1:1 + 10% MeOH), obteniéndose 0.423 g (68%) del producto **267**

como un sólido amarillo. pf 161-63 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3360, 1720, 1534, 1167 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, CDCl_3) δ : 1.23 (d, 3H), 1.44 (s, 9H), 2.73-3.23 (m, CH_2 , 6H), 3.63 (s, 3H), 4.31-4.37 (m, 2H), 4.54-4.62 (m, 2H), 4.96-5.05 (m, 5H), 7.00-7.13 (m, 2H), 7.20-7.31 (m, 14H), 7.52-7.57 (m, 3H), 7.70-7.77 (m, 1H), 9.16 (as, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl_3) δ : 19.9, 24.9, 28.3, 33.6, 35.6; 50.2, 52.5, 56.2, 58.4, 60.5, 66.6, 67.0, 68.5, 81.3, 109.0, 111.7, 118.5, 119.6, 122.3, 123.9, 127.2, 128.2, 128.3, 128.4, 128.5, 128.6, 135.2, 135.4, 135.6, 156.7, 170.3, 170.7, 171.0, 171.4, 172.7, 173.9. **EM** (FAB): m/z 829 ($M^+ + 1H$) 830, 439, 383, 339, 133, 91, 57.

N-Dec-Trp-(Bn)-Asp-(Bn)-Asp-Thr-OMe (268).



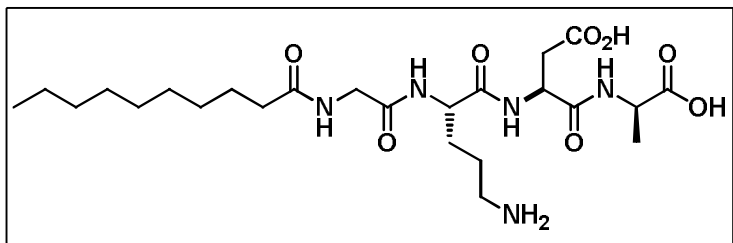
En un matraz redondo se colocó ácido decanoico (0.084 g, 0.552 mmol), se disolvió en THF seco (10 mL) y se agregó cloruro de oxalilo (0.75 mL, 0.552 mmol) y DMF (1 gota). La reacción se dejó en agitación por 30 min hasta que el CO y CO₂ dejaron de producirse. El disolvente se concentró y el residuo se disolvió en THF seco (10 mL), se agregó el tetrapéptido **267** (0.3 g, 0.368 mmol) y la reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente por 7 h. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó por cromatografía en columna (hexano/AcOEt 50:50 + 5% MeOH), obteniéndose 0.250 g (85%) del producto **268** como un sólido amarillo. pf 109-111 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3360, 1720, 1534, 1281, 1167 cm⁻¹. **RMN¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.83-0.87 (t, J = 6.0 Hz, 3H), 1.10-1.24 (m, 17H), 2.07-2.15 (m, 2H), 2.61-2.98 (m, 4H), 3.20-3.29 (m, 2H), 3.66 (s, 3H), 4.27-4.32 (m, 2H), 4.55-4.61 (m, 2H), 4.83-4.94 (m, 2H), 4.99-5.08 (m, 4H), 7.05-7.13 (m, 3H), 7.15-7.35 (m, 15H), 7.51-7.57 (m, 2H), 8.65 (sa, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ : 14.3, 19.9, 22.8, 25.5, 29.4, 28.8, 29.6, 29.9, 31.9, 35.6; 35.6, 36.2, 50.4, 52.7, 58.2, 66.8, 67.8, 68.5, 68.6, 109.1, 111.7, 118.7, 119.9, 122.5, 123.5, 127.4, 128.2, 128.3, 128.4, 128.5, 128.6, 128.7, 135.2, 135.6, 136.3, 170.2, 170.5, 171.1, 171.4, 171.6, 172.8, 175.1. **EM** (FAB): m/z 884 (M⁺+1H) 885, 768, 712, 544, 339, 188, 159, 130, 1107, 91, 57.

Método general para la hidrogenólisis de grupos protectores.

En un matraz redondo se colocó el péptido (1 eq) y se disolvió en metanol (20 mL). Se adicionó Pd/C (10% w/w), se aplicó vacío al sistema, se adaptó atmósfera de hidrógeno y se mantuvo en agitación a temperatura ambiente por 12 h. La mezcla de reacción se filtró sobre celita y el filtrado se concentró en un evaporador rotatorio. El residuo se purificó por cromatografía en columna.

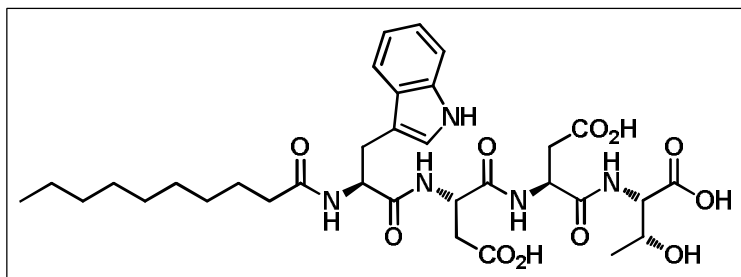
***N*-Dec-Gly-Orn-Asp-Ala-COOH (192).**



Se partió del tetrapéptido **257** (0.5 g, 0.59 mmol) y se disolvió en metanol (20 mL). El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (hexano/ AcOEt 2:8 + 10% MeOH), Se obtuvieron 0.185 g (81%) del producto **192** como un sólido amarillo. pf >200 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3287, 1677, 1548, 1205, 1139 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.80-0.83 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H), 1.21-1.29 (m, 18H), CH_2), 1.54 (m, 2H), 1.84-1.85 (m, 2H), 2.17-2.23 (t, $J = 9.0$ Hz, 2H), 2.44-2.51 (m, 1H), 2.45-2.47, 2.63-2.68 (m, 1H), 2.85-2.88 (m, 2H), 3.73-3.80 (m, 1H), 3.92 (m, 1H), 4.04-4.09 (m, 1H), 4.26-4.28 (m, 1H), 4.68-4.72 (m, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl_3) δ : 14.6, 19.4, 21.1, 23.8, 24.6, 27.0, 29.9, 30.5, 30.6, 30.7, 33.2, 37.1, 40.4, 43.6, 52.1, 52.6, 54.8, 172.2, 172.6, 173.6, 177.1, 178.3, 179.7. **EM** (FAB): m/z calculado 529 (M^++1H) 530, 212, 155, 91, 70.

***N*-Dec-Trp-Asp-Asp-Thr-COOH (193).**



Se partió del tetrapéptido **268** (0.2 g, 0.231 mmol). El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (hexano/ AcOEt 2:8 + 10% MeOH), Se obtuvieron 0.135 g (80%) del producto como un sólido amarillo. pf >200 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3358, 1718 1536, 1279, 1165 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, CD_3OD) δ : 0.81-0.85 (t, $J = 6.0$ Hz, 3H), 1.09-1.26 (m, 17H), 2.03-2.10 (m, 2H), 2.58-2.91 (m, 4H), 3.17-3.26 (m, 2H), 4.22-4.30 (m, 2H), 4.54-4.60 (m, 2H), 4.81-4.90 (m, 2H), 7.00-7.13 (m, 2H), 7.52-7.57 (m, 2H), 7.70-7.77 (m, 2H), 8.1 (sa, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, CD_3OD) δ : 14.1, 19.5, 22.7, 25.4, 29.5, 28.4, 29.2, 29.5, 31.7, 35.4; 35.6, 36.1, 50.1, 58.0, 67.3, 68.5, 109.1,

111.5, 119.6, 122.1, 123.3, 135.2, 135.2, 170.1, 170.5, 171.0, 171.3, 171.6, 172.5, 175.0.

EM (FAB): m/z para 689 ($M^+ + 1H$) 690, 273, 127, 155, 102, 72.

Formación del complejo α -aminoácido-9-BBN.

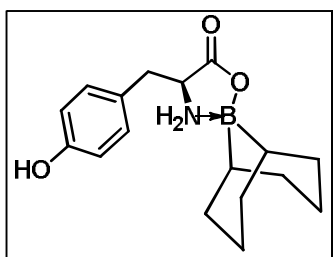
A. Empleando el dímero 9-BBN

En un matraz redondo bajo atmósfera de nitrógeno fue disuelto el dímero 9-BBN (1.1 equiv) en metanol anhidro (150 mL) y se calentó a reflujo. Después de 30 min el correspondiente aminoácido (25 mmol) fue adicionado y el reflujo continuó hasta que cesó la evolución de gas y el sólido se disolvió completamente. La mezcla de reacción se concentró y el residuo se volvió a disolver en THF caliente (100 mL); el sólido se filtró y el filtrado se concentró a vacío. El residuo fue triturado con hexano para obtener la correspondiente oxazaborolidinona.

B. Empleando solución 0.5M de 9-BBN-H en THF.

Una mezcla del correspondiente aminoácido (3.12 mmol) en MeOH (20 mL) se calentó a reflujo hasta que la mezcla llegó a ser clara, se adicionó lentamente la solución 0.5 M 9-BBN-H en THF (6.7 mL, 3.2 mmol) y el calentamiento continuó hasta que la solución se clarificó. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se suspendió en THF caliente (15 mL), se filtró; y se concentró. El residuo se trituró con hexano caliente para obtener la correspondiente oxazaborolidinona después de filtración.

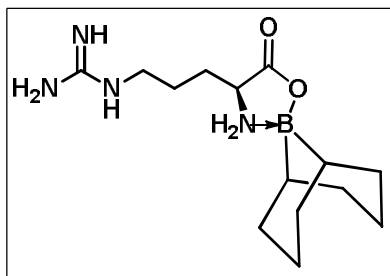
(S)-4-(4-Hidroxibencil)-2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano-1,3,2-oxazaborolidin-5-ona(291a).



Preparado de **284a** (0.56 g) siguiendo el procedimiento general B, para obtener 0.78 g (84%) del producto deseado **291a** como un sólido blanco. pf 210 °C (desc).

IR-FT ATR ν_{\max} : 3272, 2923, 1709, 1231 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 0.36 (sa, 1H), 0.72 (as, 1H), 1.34-1.72 (m, 14H), 2.81-2.88 (dd, $J = 15.0, 6.0$ Hz, 1H), 3.01-3.07 (dd, $J = 15.0, 6.0$ Hz, 1H), 3.70-3.76 (m, 1H), 5.56 (dd, $J = 12.0, 9.0$ Hz, 1H), 6.45 (dd, $J = 12.0, 9.0$ Hz, 1H), 6.68 (d, $J = 9$ Hz, 2H), 7.11 (d, $J = 9$ Hz, 2H), 9.25 (s, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 24.4, 24.7, 31.0, 31.2, 31.8, 35.7, 49.1, 56.6, 115.6, 127.6, 130.7, 156.6, 173.7 (O=C-O). **EM (TOF)**, m/z 301 [$M^+ + 1H$], 302, 138, 136.

(S)-4-(3-Guanidinopropil)2,2borabicyclo[3.3.1] nonano-1,3,2-oxazaborolidin-5-ona (291b).

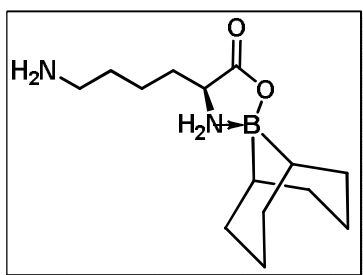


Preparado de **284b** (0.54 g) de acuerdo al procedimiento general B para dar 0.76 g (83%) del producto deseado **291b** como un sólido blanco. pf 196-198 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3334, 3162, 2920, 2845, 1673, 1632, 1216 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, MeOD) δ : 0.64 (m, 2H), 1.44-2.08 (m, 16H), 3.26-3.35 (m, 4H), 3.75-3.79 (m, 4H).

RMN¹³C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 23.7, 25.3, 26.1, 26.5, 27.8, 30.7, 31.8, 32.1, 40.5, 41.4, 54.4, 70.9, 157.4, 175.6. **EM** (TOF), m/z 294 ($M^+ + 1H$) 295, 69, 67, 56.

(S)-4-(4-Aminobutil)2,2-borabicyclo[3.3.1] nonano-1,3,2-oxazaborolidin-5-ona (291c).

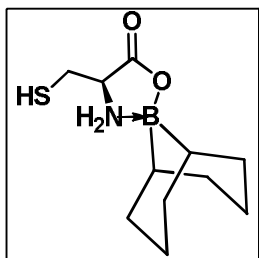


Preparado de **284c** (0.45 g) siguiendo el procedimiento general B para dar 0.67 g (82%) del producto deseado **291c** como un sólido blanco. Pf. >200 °C (desc).

IR-FT ATR ν_{\max} : 3260, 2915, 2842, 1709, 1252 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 0.66 (sa, 2H), 0.72 (as, 1H), 1.60-1.96 (m, 16H), 2.95 (m, 2H), 3.67-3.82 (m, 2H), 6.11 (dd, $J = 12.0, 9.0$ Hz, 1H), 6.73 (dd, $J = 12.0, 9.0$ Hz, 1H).

RMN¹³C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 22.7, 24.4, 24.7, 26.8, 30.0, 31.2, 31.8, 54.6, 174.2. **EM** (TOF), m/z 266 ($M^+ + 1H$) 267, 195.

(S)-4-(Mercaptometil)2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano-1,3,2-oxazaborolidin-5-ona (291d).

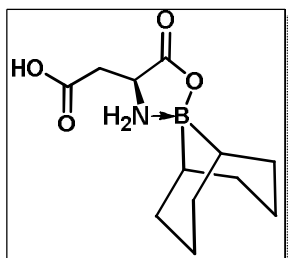


Preparado de **284d** (0.37 g) de acuerdo al método general A para dar 0.47 g (63%) del producto deseado **291d** como un sólido blanco. pf 194-196 °C (desc).

IR-FT ATR ν_{\max} : 3215, 2981, 2837, 1701, 1294 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 0.47 (sa, 1H), 0.59 (sa, 1H), 1.41-1.77 (m, 12H), 2.87 (d, $J = 3.0$ Hz, 2H), 3.84 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H), 5.76 (dd $J = 12.0, 9.0$ Hz, 1H), 6.61 (dd, $J = 12.0, 9.0$ Hz, 1H).

RMN¹³C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 22.7, 21.2, 22.7, 24.4, 24.7, 31.1, 31.2, 31.7, 37.9, 54.15, 60.2, 172.7. **EM** (FAB), m/z 241 ($M^+ + 1H$) 242, 195, 112, 109, 91, 76, 55.

(S)-4-(carboximetil)2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano-1,3,2-oxaborolidin-5-ona (278).

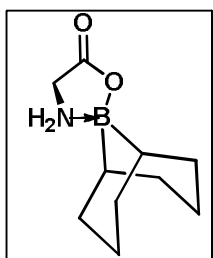


Preparado de **277** (0.42 g) de acuerdo al procedimiento general B para dar 0.56 g (90%) del producto deseado **278** como un sólido blanco. pf 220 °C (desc).

IR-FT ATR ν_{\max} : 3346, 3221, 2920, 2847, 1717, 1681, 1203, 1115 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 0.47 (sa, 1H), 0.59 (sa, 1H).

1.39-1.78 (m, 13H), 2.72 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3.79 (s, 1H), 5.98 (dd, $J = 12.0, 9.0$ Hz, 1H), 6.45 (dd, $J = 9.0, 2.0$ Hz, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 23.9, 24.3, 25.2, 30.7, 30.9, 31.1, 31.2, 34.2, 51.1, 67.0, 171.6, 172.8. **EM** (FAB), m/z : 253 ($M^+ + 1H$), 254, 162, 102, 88, 55.

2,2-Borabicyclo[3.3.1]nonane-1,3,2-oxazaborolidin-5-one (291e).

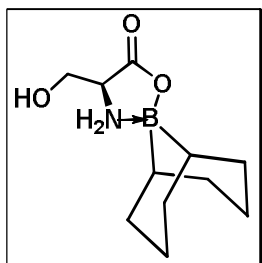


Preparado de **284e** (0.61 g) siguiendo el procedure general B, para dar 1.5 g (95%) del producto deseado **291e** como un sólido blanco. pf >200 °C (desc).

IR-FT ATR ν_{\max} : 3224, 2920, 2842, 1703, 1614, 1515, 1217 cm^{-1} .

RMN¹H (300 MHz, CD_3OD) δ : 0.5 (m, 2H), 1.41 (s, 4H), 1.57-1.75 (m, 8H), 3.36 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 6.23 (s, 2H). **RMN¹³C** (75 MHz, CD_3OD) δ : 24.3, 24.7, 31.3, 31.6, 43.1, 172.4. **EM** (FAB), m/z : 195 ($M^+ + 1H$) 196, 162, 102, 88, 55.

(S)-4-(Hidroximetil)2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano-1,3,2-oxaborolidin-5-ona (291f).

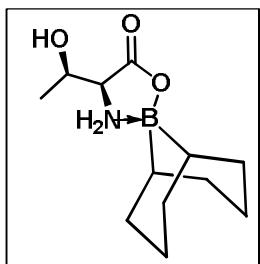


Preparado de **284f** (0.5 g) de acuerdo al procedimiento general B, obteniendo 1.0 g (94%) del producto **291f** como un sólido blanco. pf 215 °C (desc).

IR-FT ATR ν_{\max} : 3528, 3214, 1713, 1674, 1242 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 0.51 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H), 1.41-1.78 (m, 13H), 3.68-3.72 (m, 2H), 3.78-3.86 (m, 1H), 5.16 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H), 5.48

(dd, $J = 12.0, 9.0$ Hz, 1H), 6.53 (dd, $J = 12.0, 9.0$ Hz, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 23.8, 24.3, 31.0, 31.1, 32.0, 53.6, 58.9, 176.9. **EM** (FAB⁺), m/z : 225 ($M^+ + 1H$) 226, 180, 102, 91, 88, 60.

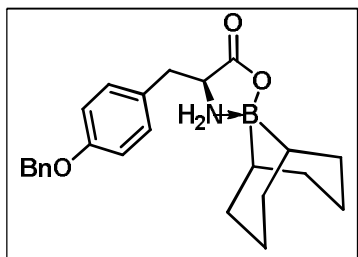
(S)-4-(1-Hidroxietil)2,2-borabicciclo[3.3.1]nonano-1,3,2-oxaborolidin-5-ona (290g).



Preparado de **284g** (0.5 g) de acuerdo al procedimiento general B para dar 0.98 g (98%) del producto **290g** como un sólido blanco. pf 220 °C (desc).

IR-FT ATR ν_{\max} : 3559, 3146, 1686, 1659, 953 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 0.50 (m, 2H), 1.26 (d, $J = 6.0$ Hz, 3H), 1.45-1.79 (m, 13H), 3.51-3.57 (td, $J = 12.0, 9.0$ Hz, 1H), 4.15-4.20 (m, 1H), 5.04 (dd, $J = 12.0, 6.0$ Hz, 1H), 5.31 (t, $J = 3.0$ Hz, 1H), 6.45 (dd, $J = 12.0, 9.0$ Hz, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 20.9, 23.9, 24.3, 30.6, 30.7, 31.2, 31.3, 60.3, 64.1, 172.3. **EM** (FAB⁺), m/z : 239 ($M^+ + 1H$), 240, 185, 102, 93, 75, 57.

(S)-4-(4-(Benciloxi)bencil)2,2-borabicciclo[3.3.1]nonano-1,2,3-oxazaboralidin -5-ona (294).

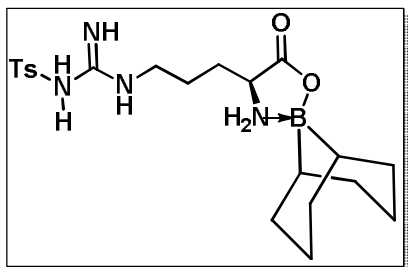


Una mezcla de **291a** (1 g, 33 mmol), K_2CO_3 (0.165 g, 1.5 mmol), bromuro de bencilo (0.4 mL, 3.5 mmol) y NaI (0.52 g, 3.3 mmol) en acetona seca (20 mL) se calentó a reflujo por 3 h, se enfrió a temperatura ambiente y se eliminó el disolvente. El residuo fue disuelto en EtOAc, lavado con ácido cítrico al 10%, salmuera y se secó con Na_2SO_4 anhidro. El disolvente

se evaporó y el residuo se purificó por cromatografía en columna (Hex/EtOAc 3:7) para dar 0.38 g (78%) de **294** como un sólido blanco. pf 170-171 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3203, 2914, 2848, 1713, 1514, 1246, 1174 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 0.40 (sa, 1H), 0.46 (sa, 1H), 1.34-1.73 (m, 15H), 2.84-2.92 (dd, $J = 15.0, 9.0$ Hz, 1H), 3.08-3.17 (dd, $J = 15.0, 9.0$ Hz, 1H), 3.76-3.80 (m, 1H), 5.08 (s, 2H), 5.68 (dd, $J = 12.0, 6.0$ Hz, 1H), 6.45 (dd, $J = 12.0, 6.0$ Hz, 1H), 6.96 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.26 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 7.34-7.48 (m, 5H). **RMN¹³C** (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 22.0, 23.0, 23.7, 24.0, 30.3, 30.5, 31.0, 31.3, 35.0, 55, 8, 68.9, 114.4, 127.4, 127.6, 128.3, 129.2, 130.2, 137.0, 156.9, 172.9. **EM** (FAB), m/z : 391 ($M^+ + 1H$), 392, 296, 197, 107, 91, 77.

(S)-4-(3-(3-Tosil-guanidino)propil)2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano-1,3,2-oxazaborolidin-5-ona (295).



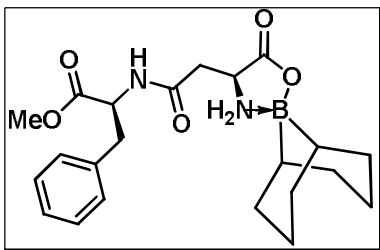
Una mezcla de la correspondiente oxazaborolidinona (**291b**) (0.56 g, 2 mmol), cloruro de *p*-toluenesulfonilo (0.347 g, 1.8 mmol) y alúmina básica activada (1 g, 150 mallas) en THF (2 mL) fue irradiada en un horno de microondas (CEM Discover, 100 W, 60 °C) por 5 min. La mezcla resultante se enfrió a temperatura ambiente, el THF se eliminó al vacío y el residuo se trituró con CH₂Cl₂ (15 mL). El sólido formado se filtró y secó bajo vacío para dar 0.55 g (68%) de **295** como un sólido amarillo pálido. *mp* 194-196 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3334, 3162, 2920, 2845, 1673, 1632, 1216 cm⁻¹. **RMN¹H** (300 MHz, CD₃OD) δ : 0.56 (m, 2H), 1.48-2.01 (m, 16H), 2.34 (s, 3H), 3.22-3.24 (m, 2H), 3.71 (m, 2H), 5.8 (dd, *J* = 12.0, 9.0 Hz, 1H), 6.44 (dd, *J* = 12.0, 9.0 Hz, 1H), 7.25 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H), 7.34 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.70 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H). **RMN¹³C** (75 MHz, CD₃OD) δ : 19.9, 23.5, 24.1, 24.2, 27.9, 30.6, 31.4, 40.6, 54.6, 60.1, 125.5, 128.5, 140.5, 141.9, 157.2, 175.7. **EM** (EI), *m/z*: 448 (M⁺+5H) 453, 421, 257, 155, 121, 95, 81, 55.

Método general para la funcionalización de la cadena de BBN-Asp

Una mezcla del aminoácido protegido **278** (0.3 g, 0.118 mmol), pentafluorofenol (0.218 g, 1.18mmol) y DCC (0.165 g, 1.18 mmol), en EtOAc (10 mL) se agitó por 1 h a temperatura ambiente. La mezcla se filtró para eliminar la DCU y el filtrado se lavó con EtOAc. Después de eliminar el disolvente al vacío, el residuo se disolvió en THF seco (10 mL), seguido por la adición del correspondiente sustrato (0.118 mmol) para funcionalizar la cadena lateral y Et₃N (1.18 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por 7 h, el THF se evaporó al vacío y el residuo se disolvió en EtOAc (20 mL), se lavó sucesivamente con soluciones de NaHCO₃ al 10% y ácido cítrico al 10% y se secó con Na₂SO₄ anhidro. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó por cromatografía en columna (Hex/EtOAc 3:7).

(S)-4-(2-Acetamido-3-fenil-2-oxopropil)-2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano-1,3,2-oxazaborolidin-5-ona (297).

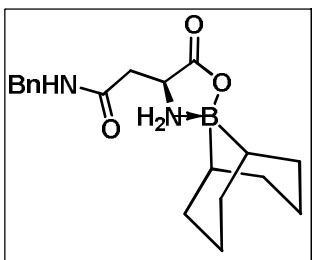


Se obtuvieron 0.41 g (88%) del producto deseado **297** como un sólido blanco. pf 142-144 °C.

IR-FT ATR: ν_{\max} : 3324, 2926, 1771, 1657, 1627, 1573, 1216 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.42 (sa, 1H), 0.46 (as, 1 H). 0.67-1.74 (m, 12H), 2.54-2.62 (dd, $J = 15.0, 6.0$ Hz, 1H), 2.88-2.95 (dd, $J = 15.0, 6.0$ Hz, 1H), 3.58 (s, 3H),

3.77-3.81 (m, 1H), 4.33 (dd, $J = 12.0, 9.0$ Hz, 1H), 4.61-4.67 (q, $J = 6.0$ Hz, 1H), 5.84 (dd, $J = 12.0, 6.0$ Hz, 1H), 6.39 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H); 6.98 (d, 2H), 7.12 (m, 3H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl_3) δ : 22.7, 23.9, 24.5, 25.7, 31.4, 32.4, 36.1, 37.6, 41.2, 52.6, 53.8, 55.7, 127.2, 128.7, 129.2, 135.8, 170.6, 172.0, 173.7. **EM** (FAB), m/z 414 ($M^+ + 1H$) 415, 295, 225, 180, 91, 67.

(S)-4-(2-N-Bencil-2-acetamido)-2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano-1,3,2-oxazaborolidin-5-ona (298).

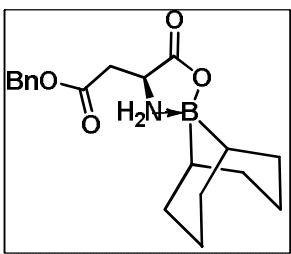


Se obtuvieron 0.37 g (92%) del producto deseado **298** como un sólido blanco. pf 164-166 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3324, 2926, 1771, 1657, 1627, 1573, 1216 cm^{-1} .

RMN¹H (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.60 (sa, 2H), 1.44-1.89 (m, 12H), 2.88 (dd, $J = 12.0, 6.0$ Hz, 1H), 2.71 (dd, $J = 3, 15$ Hz, 1H), 3.01 (dd, $J = 6, 12$ Hz, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.96-3.98 (m, 1H), 4.74-4.81 (m, 1H), 4.89 (dd, $J = 12.0, 9.0$ Hz, 1H), 5.89 (dd, $J = 12.0, 9.0$ Hz, 1H), 6.95 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H); 7.13-7.16 (d, $J = 9$ Hz, 2H), 7.27-7.29 (m, 3H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl_3) δ : 24.0, 25.1, 25.8, 31.4, 31.7, 34.1, 37.8, 49.5, 52.9, 53.8, 55.7, 127.5, 128.4, 129.4, 135.7, 170.6, 172.0, 172.9. **EM** (FAB), m/z 342 ($M^+ + 1H$) 343, 295, 225, 180, 91, 67.

(S)-4-(2-Benciloxi-2-oxoetil)-2,2borabicyclo[3.3.1]nonano-1,3,2-oxazaborolidin-5-ona (299).

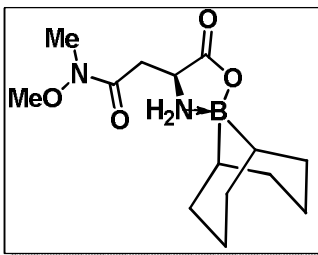


Se obtuvieron 0.32 g (78%) del producto deseado **299** como un sólido blanco. pf 177-180 °C

IR-FT ATR ν_{\max} : 3324, 1711, 1625, 1573, 1214 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.60 (sa, 2H), 0.88-1.82 (m, 12H), 3.04 (d, $J = 3.0$ Hz, 2H), 3.91-3.94 (m, 1H), 5.12 (d, $J = 3.0$ Hz, 2H), 5.16 (dd, $J =$

12.0, 9.0 1H), 6.03 (dd, $J = 12.0, 9.0$ Hz, 1H), 7.32-7.34 (m, 5H). **RMN¹³C** (300 MHz, CDCl₃) δ : 24.0 24.6, 25.7, 31.6, 31.8, 32.9, 49.4, 51.9, 67.5, 128.4, 128.8, 129.8, 134.9, 171.7, 173.4. **EM** (FAB), m/z : 343 ($M^+ + 1H$) 344, 225, 178, 91, 70.

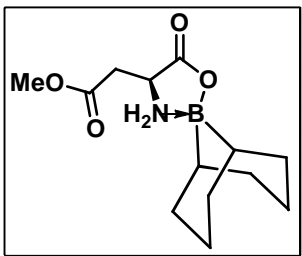
(S)-4-(2-N,O-Dimetoxi-2-acetamido)-2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano-1,3,2-oxazaborolidin-5-ona (279).



Se obtuvieron 0.29 g (74%) del producto deseado **279** como un sólido blanco. pf 95-97 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3228, 2849, 1714, 1549, 1186 cm⁻¹. **RMN¹H** (300 MHz, DMSO-d₆): 0.48 (as, 1H), 0.56 (sa, 1H), 1.37-1.77 (m, 12H); 2.89-3.00 (m, 2H); 3.12 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 3.89 (m, 1H), 4.69 (dd, $J = 12.0, 9.0$ Hz, 1H), 5.71 (dd, $J = 9.0$ Hz, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, DMSO-d₆) δ : 23.4, 23.8, 24.3, 24.7, 31.2, 31.4, 31.6, 31.7, 51.3, 61.5, 170.7, 173.5. **EM** (FAB), m/z : 296 ($M^+ + 1H$) 297, 251, 133, 131, 91, 70.

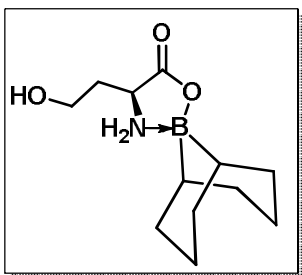
(S)-4-(2-Metoxi-2-oxoetil)2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano-1,3,2-oxazaborolidin-5-ona (300).



Se obtuvieron 0.15 g (78%) del producto deseado **300** como un sólido blanco. pf 188-190 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3247, 2951, 2839, 1752, 1703, 1224, 1182 cm⁻¹. **RMN¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.67 (m, 2H), 1.53-1.95 (m, 14H), 2.98 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3.78 (s, 3H), 4.07-4.10 (m, 1H), 5.93 (dd, $J = 12.0, 9.0$ Hz, 1H), 5.42 (dd, $J = 12.0, 9.0$ Hz, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, CD₃OD) δ : 23.9, 24.3, 30.8, 31.1, 31.2, 33.4, 51.2, 51.5, 171.0, 174.6. **EM** (FAB), m/z : 267 ($M^+ + 1H$) 268, 148, 128, 102, 91, 70.

(S)-4-(2-Hidroxi-etil)-2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano-1,3,2-oxazaborolidin-5-ona (302).



La oxazaborolidinona **278** (0.5 g, 1.9 mmol) se colocó en un matraz redondo, el sistema se tapó con un septum y se colocó atmósfera de nitrógeno. Mediante una jeringa se adicionó THF seco (10 mL) y se colocó en un baño de hielo a 0 °C. Mediante una jeringa se adicionó gota a gota el complejo borano-sulfuro de dimetilo (0.18 mL, 1.9 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente por 3 h, se concentró al vacío y el residuo se purificó por

cromatografía en columna (Hexano/AcOEt 1: 4 + 10% MeOH) para proporcionar 0.4 g (85%) del producto deseado **302** como un sólido blanco. *mp* 113-115 °C.

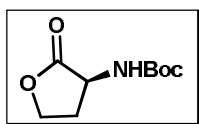
IR-FT ATR ν_{\max} : 3442, 3224, 2843, 1722, 1600, 1573, 1276, cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 0.50 (m, 2H), 1.41-1.77 (m, 14H), 1.94-1.98 (m, 2H), 3.59-3.65 (m, 2H), 4.08-4.14 (m, 1H), 4.80 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H), 5.89 (dd, $J = 12.0, 9.0$ Hz, 1H), 6.43 (dd, $J = 12.0, 9.0$ Hz, 1H). **RMN¹³C** (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 23.8, 24.3, 31.0, 31.1, 32.0, 53.6, 58.8, 176.3. **EM** (FAB), m/z : 225 ($\text{M}^+ + 1\text{H}$) 226, 194, 167, 149, 113, 74, 57.

Rompimiento del complejo aminoácido-9-BBN

Método A. La correspondiente oxazaborolidinona (4 mmol) se disolvió en metanol (8 mL) y se agregó HCl concentrado (4 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por 30 min, se evaporó el disolvente y se agregó THF caliente (20 mL); Se agitó por 15 min y el precipitado así obtenido se recogió por filtración y se lavó con THF caliente.

Método B Una mezcla de la correspondiente oxazaborolidinona (1.5 mmol) y etanolamina (1 mL), fue irradiada en un horno de microondas (CEM Discover, 40 W, 100 °C). La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con acetona (10 mL) y THF (2 mL) y se agitó por 15 min. El sólido se colectó por filtración y se lavó con acetona-THF (5:1).

Ácido 2- (*t*-Butoxicarbonil)amino-4-hidroxitbutanóico (**305**).

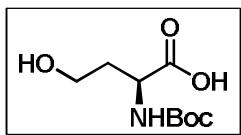


La oxazaborolidinona **302** (0.1 g, 0.415 mmol) se trató con una solución de HCl 1M en metanol (10 mL) por 2 h. El disolvente se eliminó al vacío y el residuo se disolvió en 5 mL de CH_2Cl_2 , seguido por la adición de $(\text{BOC})_2\text{O}$ (0.108 g, 0.497 mmol) y Et_3N (0.115 mL, 0.826 mmol) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente por 17 h. El disolvente se eliminó al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna (Hexano/AcOEt 7:3) para proporcionar 0.71 g (85%) de la lactona **303** como un sólido amarillo pálido. *mp* 139-141 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3356, 1774, 1680, 1526, 1155 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, CDCl_3): 1.46 (s, 9H); 2.22-2.32 (m, 1H); 2.68-2.77 (m, 1H), 3.69 (s, 3H), 4.21-4.30 (m, 1H), 4.41-4.48 (m,

2H.), 5.41 (sa, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ: 28.3, 30.6, 50.3, 65.9, 80.7, 155.6, 175.4. **EM** (TOF), *m/z*: 201 (M⁺+1H) 202, 100, 85, 57.

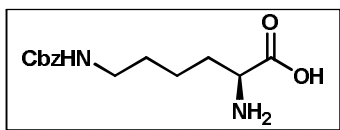
Ácido 2- (t-Butoxicarbonil)amino-4-hidroxitbutanóico (306).



La lactona **303** se disolvió en MeOH (2 mL) y se agregó KOH (0.025 g, 0.446 mmol) a temperatura ambiente por 12 h. Después de eliminar el disolvente, el residuo se redisolvió en H₂O (5 mL) y se aciduló a pH 3 con solución de ácido cítrico al 10% y el producto se extrajo con AcOEt (15 mL, 3x), se lavó con agua, se secó con Na₂SO₄ y concentró al vacío para proporcionar 0.52 g (83%) del producto **304** como un aceite amarillo.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3354, 1778, 1687, 1568, 1416 cm⁻¹. **RMN¹H** (300 MHz, CDCl₃): 1.46 (s, 9H); 1.74-1.81 (m, 1H); 2.17-2.20 (m, 1H), 3.75-3.80 (m, 2H), 4.45-4.49 (m, 1H), 5.54 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H). **RMN¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ: 28.3, 35.1, 51.5, 65.9, 58.3, 80.1, 156.4, 176.8. **EM** (TOF) *m/z*: 219 (M⁺+1H) 220, 118, 73, 43.

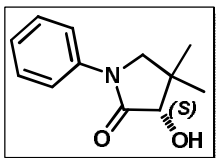
Ácido (S)-2-amino-(6-fenil amino) hexanóico (307).



Una mezcla del aminoácido **291c** (0.8 g, 3 mmol), clorofornio de bencilo (0.5 mL, 3.5 mmol) NaOH 2M (5mL) en etanol (20 mL) fue agitada por 1 h a temperatura ambiente. Después de eliminar el disolvente, el residuo se disolvió en EtOAc (20 mL), se lavó sucesivamente con ácido cítrico al 10% a pH 3, se secó con Na₂SO₄ anhidro y el disolvente se eliminó al vacío. El complejo aminoácido-9BBN se hidrolizó de acuerdo al procedimiento B para proporcionar 0.46 g (82%) del producto deseado **307** como un sólido blanco. pf. >200 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3343, 3061, 2947, 2866, 1527 cm⁻¹. **RMN¹H** (300 MHz, CD₃OD) δ: 1.58 (m, 4H), 1.95 (m, 2H), 3.18 (t, *J* = 6 Hz, 2H), 3.99 (t, *J* = 6 Hz, 1H), 5.11 (s, 2H), 7.39 (m, 5H). **RMN¹³C** (300 MHz, CD₃OD) δ: 22.0, 28.8, 29.1, 39.5, 52.2, 65.2, 65.6, 127.4, 127.7, 136.6, 157.3, 161.2, 170.3. **EM** (EI), *m/z*: 280 (M⁺+1H) 281, 108, 91, 79, 77.

(S)-3-hidroxi-4,4-dimetil-1-fenil-2-pirrolidinona (245).



En un matraz redondo se colocó D-pantenol (2.0 g, 10.58 mmol), anilina (20 mL, 236,5 mmol) y *p*-TsOH (0.300 g, 15% w/w). El matraz se calentó a reflujo bajo atmósfera de nitrógeno por 40 hr. Se enfrió y se adicionó CHCl_3 (30 mL), se lavó con HCl 5N (30 mL, 3x) y la fase orgánica se lavó con agua hasta pH neutro, se secó con Na_2SO_4 y el disolvente se eliminó. El producto se purificó por recristalización de AcOEt/Hexano obteniéndose 1.90 g (89%) de **245** como cristales blancos. pf 77-79 °C.

IR-FT ATR ν_{max} : 3357, 1711, 1594, 1523, 1155 cm^{-1} . **RMN¹H** (300 MHz, CDCl_3) δ : 1.10 (s, 3H), 1.31 (s, 3H), 3.43 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 3.53 (d, $J = 12$ Hz, 1H), 4.13 (s, 1H), 7.13-7.18 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H), 7.34-7.39 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 7.59-7.62 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H). **RMN¹³C** (300 MHz, CDCl_3) δ : 16.5, 21.2, 34.9, 54.3, 74.9, 116.1, 121.4, 125.5, 135.7, 170.6. **EM** (EI), m/z : 205 ($\text{M}^+ + 1\text{H}$) 206, 154, 136, 106, 77, 69.

7. CONCLUSIONES

Se llevó a cabo la síntesis racémica de análogos estructurales de la radiosumina en dos versiones: en la primera, se utilizaron sustratos alifáticos, y en la segunda sustratos aromáticos.

Para la versión alifática no fue posible encontrar las condiciones adecuadas para llevar a cabo el intercambio de los grupos protectores por los grupos protectores que posee la molécula original de la radiosumina ya que en el procedimiento de la reacción el producto se perdía. Una vez separados los dos enantiómeros se llevaría a cabo la acetilación del grupo amino para obtener así el producto deseado.

Para el análogo aromático de la radiosumina **238**, faltaría solamente llevar a cabo la resolución de la mezcla racémica. Esta puede llevarse a cabo con algún sustrato y las condiciones de reacción que proporcionen diastereoisómeros como productos para facilitar su separación por cristalización o por cromatografía.

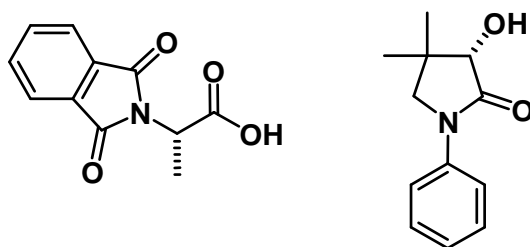
Se llevó a cabo la síntesis en solución de los lipopéptidos **192** y **193**, los cuales fueron caracterizados estructuralmente empleando una combinación de métodos espectroscópicos (IR, RMN ^1H y ^{13}C) y espectrométricos (EM). Los lipopéptidos mencionados fueron evaluados en su actividad antimicrobiana en pruebas de dilución doble seriada con *S. aureus* y *E. coli*. Los valores CMI (concentración mínima inhibitoria) estuvieron en el rango de 60 $\mu\text{g/mL}$ para ambos compuestos en contra del microorganismo Gram (+) y siendo ineficaz para el microorganismo Gram (-). Estos resultados muestran similitud para algunos péptidos antimicrobianos de cadena corta reportados y aunque el valor es alto comparado con el valor MIC de la daptomicina, hay que resaltar que los lipopéptidos **192** y **193** representan sólo una parte de la cadena total de la molécula original.

Se desarrolló una metodología que permite la protección selectiva de las cadenas laterales de aminoácidos la cual consiste en la formación de oxazaborolidinonas con 9-BBN. La generalidad de la metodología fue demostrada mediante la instalación de diversos grupos protectores en algunos aminoácidos seleccionados de una manera sencilla y eficiente. Tanto la formación, como la ruptura de las correspondientes oxazaborolidinonas se llevaron a cabo bajo condiciones suaves y en alto rendimiento. Además de la

introducción de grupos funcionales, se realizaron otras reacciones químicas como reducción y formación de enlaces peptídicos. Esta metodología ofrece el potencial de usarse en la preparación de α -amino ácidos estructuralmente complejos, a partir de aminoácidos fácilmente accesibles.

8. PERSPECTIVAS

Para la separación de las mezclas de estereoisómeros, se pueden utilizar enzimas, por medio de una resolución cinética. También se pueden utilizar auxiliares quirales como por ejemplo los compuestos que aparecen a continuación.



Para la obtención del análogo alifático de la radiosumina, se puede utilizar otro grupo protector diferente al éster metílico, para evitar la hidrólisis del grupo acetilo cuando se libera el grupo carboxilo en condiciones básicas.

La manipulación de los aminoácidos **227a**, **229**, **232** y **233** con los auxiliares quirales mencionados anteriormente, permitiría la obtención de sustratos quirales en forma pura y proceder al acoplamiento peptídico de forma individual con cada uno de los enantiómeros obtenidos.

With compliments of the Author

Using the 9-BBN Group as a Transient Protective Group for the Functionalization of Reactive Chains of α -Amino Acids

Adrián Sánchez,^{*a} Ernesto Calderón,^b Alfredo Vazquez^{*a}

^a Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, 04510, México D.F., México

Fax +52(56)223722; E-mail: ausbir@yahoo.com.mx; E-mail: joseavm@unam.mx

^b Laboratorio de Inmunquímica Hospital Infantil de México Federico Gómez, Dr. Márquez 162, Col Doctores, Cuauhtémoc, 06720, México D.F., Mexico

Received: 11.12.2012; Accepted after revision: 01.01.2013

Abstract: Achieving chemoselectivity is a longstanding challenge in chemical synthesis. This problem has been addressed using different approaches, but a definitive solution is still pending. For instance, in peptide chemistry, particularly with amino acids containing side chains functionalities with reactivity patterns similar to the main functional groups, such as aspartic and glutamic acids, and lysine and ornithine, specific semi-permanent protecting groups have been employed. The use of 9-borabicyclo[3.3.1]nonane (9-BBN-H) as a transient protective group for the selective protection of α -amino acids, which allows the chemoselective manipulation of the functional groups embedded in the side chains of the molecule, is described.

Key words: α -amino acids, selective protection, 9-BBN-H, protecting groups, oxazaborolidinones

Introduction

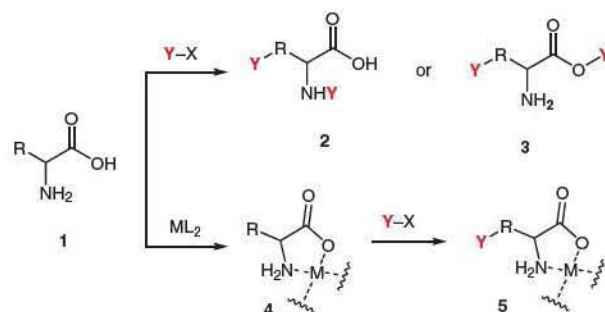
The presence of functional groups with similar reactivity in the same molecule is an obvious concern during the planning of a synthesis, since both groups will react alike under the same conditions.¹ The control over the individual reactivity of the groups within a molecule (chemoselectivity) still remains a largely unanswered challenge.² This problem can be found frequently during the chemical synthesis of peptides, particularly with amino acid residues containing side chains with carboxy or amino functional groups such as aspartic and glutamic acids, or lysine and ornithine.³ One partial solution to this problem is the protection of the side chain functionalities with a variety of specific semi-permanent protecting groups; although this operation is not always simple to perform. For instance, 9-borabicyclo[3.3.1]nonane (9-BBN-H)⁴ has been utilized to protect functionalized amino acids for potential chemoselective side chain manipulation.

Herein, we present a synthetic procedure allowing the chemoselective manipulation of α -amino acids containing reactive side chains, based on the complex formation between 9-borabicyclo[3.3.1]nonane (9-BBN-H) and the corresponding amino acid, followed by selective manipu-

lation and cleavage. This protocol was employed to perform selective transformations on some amino acids.

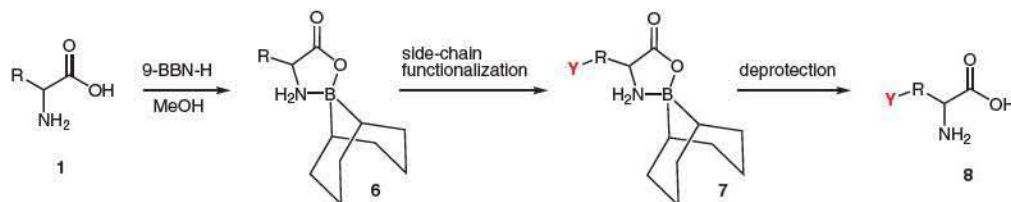
Results and Discussion

α -Amino acids are bifunctional molecules, and certain amino acids contain side chains with extra reactive groups raising a selectivity concern, particularly with groups with very close reactivity such as α - and ϵ -amino groups of lysine, or the carboxy groups in aspartic acid. Thus, performing chemical reactions, such as protections, on the side chains might result in the formation of side products (Scheme 1).⁵



Scheme 1 Side chain functionalization of α -amino acids

In order to control the reactivity of the functional groups present in the amino acids, metal complex formation has been used. Among the manifold of possibilities, copper⁶ forms stable complexes with α -amino acids allowing the functionalization of the side chain. However, H_2S is required to cleave the copper complex,⁷ which imposes safety concerns and makes this approach unattractive. The use of oxazaborolidinones as semi-permanent protective groups for amino acids has been documented in the literature.⁸ However, examples of its use for chemoselective manipulation are not abundant. The general strategy used in the present work is depicted in Scheme 2.

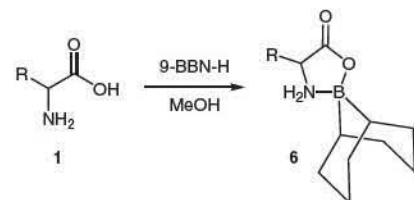


Scheme 2 Use of oxazaborolidinones for chemoselective transformations of α -amino acids

The corresponding amino acid **1** was complexed with 9-BBN-H, followed by functionalization of the side chain; **6** \rightarrow **7**. Cleavage of the oxazaborolidinone **7** would afford the functionalized amino acid **8**.

Oxazaborolidinones **6** were prepared by refluxing the corresponding amino acid **1** with 9-BBN-H in methanol in good yields. Two different sources of 9-BBN were tested, namely, the dimeric 9-BBN and a 0.5 M 9-BBN-H THF solution. In general, better results were obtained using crystalline dimeric 9-BBN, including higher yields and short reaction times (Table 1). It is worth to mention that in the case of serine (Ser) and threonine (Thr), compounds **6g** and **6h** were the only isolated products and the OH groups in the side chain did not form complexes with 9-BBN-H.

Table 1 Reaction of Amino Acids **1** with 9-BBN-H^a



Amino acid	Time (h)		Yield (%) of 6	
	A	B	A	B
Tyrosine (Tyr) (1a)	3	24	90	84
Arginine (Arg) (1b)	1	24	89	83
Lysine (Lys) (1c)	2.5	24	91	82
Cysteine (Cys) (1d)	2	24	63	38
Aspartic acid (Asp) (1e)	3	36	90	70
Glycine (Gly) (1f)	3	36	95	95
Serine (Ser) (1g)	–	24	–	94
Threonine (Thr) (1h)	–	24	–	98

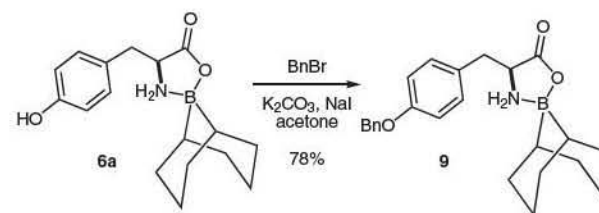
^a A: 9-BBN dimer; B: 0.5 M THF 9-BBN-H.

Benzyl Protection of Tyrosine Side Chain

Blocking the hydroxyl groups with benzoyl or *tert*-butyl type groups is of eminent practical importance. Common-

ly, *O*-benzyltyrosine is formed by direct alkylation of the tyrosine-copper complex with benzyl bromide.⁷ Interestingly, removal of the *O*-benzyl group in Cbz-Tyr(Bn), can be performed efficiently through hydrogenolysis in the presence of 2,2'-dipyridyl.⁹

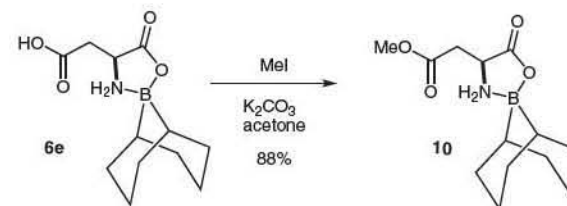
Among the groups that have been employed to protect the side chain of tyrosine, the benzyl group (Bn) has been widely used, mainly because it can be removed under mild conditions (e.g., H₂, Pd/C).¹⁰ In our case, Tyr-9-BBN complex **6a**, was treated with BnBr in the presence of K₂CO₃ and KI in acetone at ambient temperature to produce the benzyl ether in 78% (Scheme 3).



Scheme 3 Benzyl protection of tyrosine side chain

Methyl Ester Formation of the Side Chain of Aspartic Acid

Orthogonal protection is required in most cases for the amino dicarboxylic acids such as aspartic and glutamic acids. Formation of isoaspartyl peptides via the corresponding succinimide active esters¹¹ is the most prominent side reaction of aspartic side chain where an ester is present. Regioselective acid-catalyzed esterification at the α -carbonyl group with benzyl alcohol can be achieved using H₂SO₄ in yields over 75%. The oxazaborolidinone **6e** derived from aspartic acid was converted into the methyl ester **10** upon treatment with MeI (K₂CO₃, acetone) in 88% yield (Scheme 4).

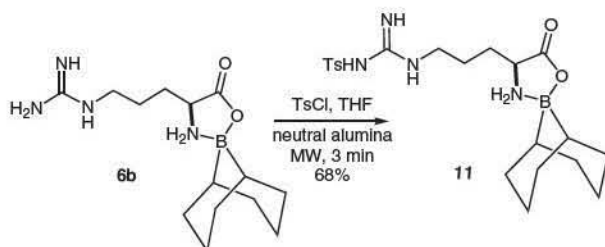


Scheme 4 Methyl ester formation of the side chain of aspartic acid

Protection of the Guanidine Group of Arginine

Even though the guanidine group of arginine is usually protected by protonation under normal conditions, due to its strongly basic character, the low solubility of the corresponding derivative in organic solvents hampers the manipulation of this compound. The arenesulfonyl group offers complete protection for the guanidine group.¹² For instance, the toluenesulfonyl group (Ts) is the most used group for this purpose, and it can only be removed by acidolysis, or by reduction with sodium in liquid ammonia.¹⁰

Typically, the side chain of arginine is protected using a sulfonyl derivative in the presence of a base such as NaOH. This procedure proved to give poor results in the case of the Arg-9-BBN complex **6b**. However, when **6b** was reacted with *p*-TsCl in the presence of neutral alumina, and using microwaves¹³ as the source of heating, **11** was cleanly obtained in 68% yield (Scheme 5).



Scheme 5 Side chain protection of arginine

Further Transformations of the Complex Asp-9-BBN (**6e**)

In order to functionalize the side chain of aspartic acid, Asp-9-BBN (**6e**) was transformed into its pentafluorophenol active ester **12** in practically quantitative yield (DCC,

EtOAc).¹⁴ When this compound was coupled with phenylalanine methyl ester (PheOMe), the corresponding dipeptide **13** was obtained in 88% yield (Scheme 6). This result exemplifies the possibility to obtain two divergent peptidic chains from aspartic acid in an easy manner.

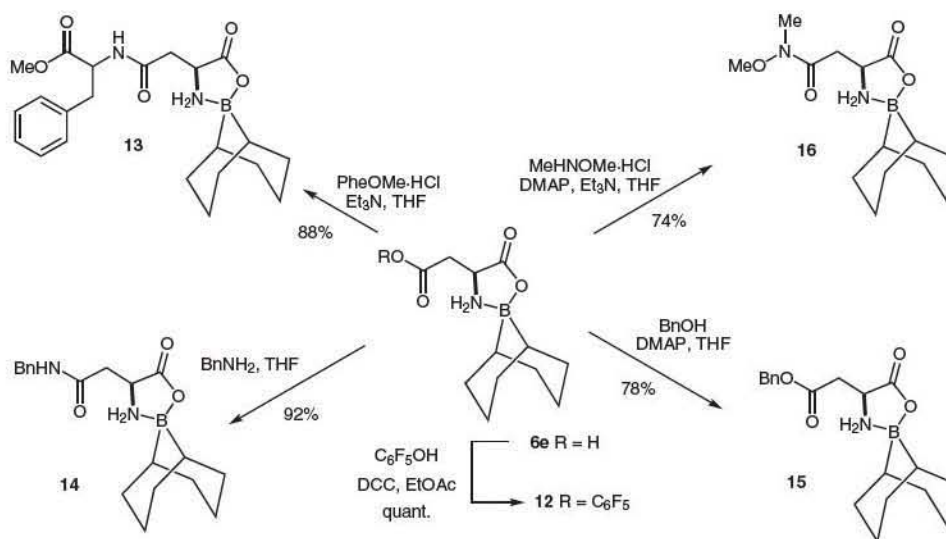
On the other hand, the reaction between **12** and BnNH₂ produced the corresponding benzylic amide **14** in 92% yield. Additionally, treatment of **12** with BnOH, in the presence of DMAP¹⁵ produced the benzyl ester **15** in 74% yield. Notably, in the absence of DMAP, no product was obtained whatsoever (Scheme 6). The use of Swern reaction conditions resulted in a complex mixture of products, which were not isolated.

Compound **12** was reacted with *N,O*-dimethylhydroxylamine hydrochloride (Et₃N–DMAP), to obtain the corresponding Weinreb amide¹⁶ **16** in 84% yield (Scheme 6). Although no further transformations were attempted with this compound, we strongly believe that this intermediate might be useful to introduce other functionalities on the side chain, allowing the preparation of derivatives of aspartic acid after removal of the oxazaborolidinone moiety.

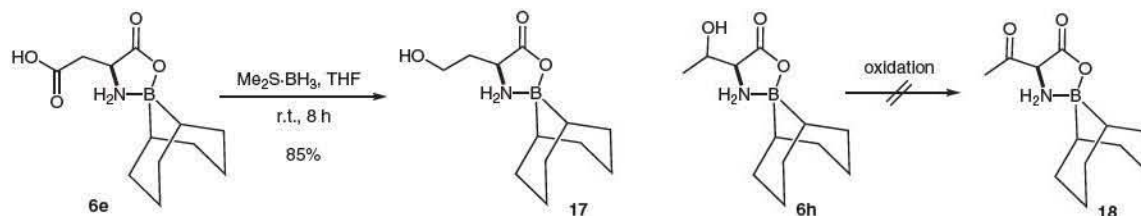
Reduction of the Side Chain of Asp-9-BBN and Oxidation of Thr-9-BBN

To further investigate the usefulness of 9-BBN-H as a protective group during redox reactions, the carboxylic acid present in the side chain of the complex **6e**, formed between 9-BBN-H and aspartic acid, was smoothly reduced (Me₂S·BH₃, THF, r.t., Scheme 7) to alcohol **17** in good yield (85%), along with some unreacted starting material.

Alternatively, experiments to investigate the viability to oxidize the side chain of Thr-9-BBN (**6h**) were conduct-



Scheme 6 Further transformations of the side chain of Asp-9-BBN



Scheme 7 Reduction of the side chain of Asp-BBN complex and oxidation of the side chain of Thr-BBN

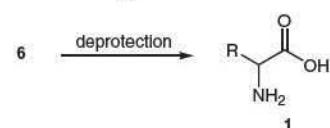
ed. Thus, Thr-9-BBN (**6h**) was treated with IBX (DMSO, 80 °C, 8 h) and only unreacted starting material was observed by TLC and ¹H NMR analyses of the crude reaction mixture. When PCC was used as the oxidizing agent, cleavage of the Thr-9-BBN complex was observed, along with some unreacted starting material and two unidentified products.

The possibility to perform selective reductions on α -amino acids with two carboxy functionalities, represents an interesting result, because it might be an entry to prepare a wide variety of non-proteinogenic amino acids from readily available starting materials.

Cleavage of Amino Acid-9-BBN Complexes

This transformation can be achieved either under acidic (Method A: concd HCl) or basic conditions (Method B: ethylenediamine, or Method C: ethanolamine, Table 2).

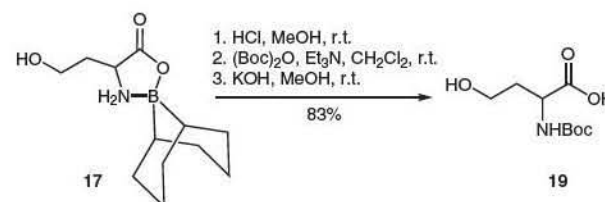
Table 2 Deprotection of Oxazaborolidinones^a



Oxazaborolidinone	Yield (%) of 1		
	A	B	C
Tyr-9-BBN (6a)	80	29	30
Arg-9-BBN (6b)	74	45	50
Lys-9-BBN(6c)	91	50	33
Cys-9-BBN (6d)	66	45	50
Asp-9-BBN (6e)	81	60	72
Gly-9-BBN (6f)	93	47	62
Ser-9-BBN (6g)	85	47	62
Thr-9-BBN (6h)	78	56	67

^a Method A: concd HCl. Method B: NH₂CH₂CH₂NH₂. Method C: NH₂CH₂CH₂OH.

When alcohol **17**, obtained upon reduction of Asp-9-BBN (vide supra), was deprotected under acidic conditions (Method A), followed by *N*-Boc protection, compound **19** was obtained in 82% isolated yield, although with some reproducibility problems. However, when a solution of 1 M hydrochloric acid in methanol was used instead of concentrated hydrochloric acid in methanol, the corresponding lactone of **19** was cleanly obtained in 85% yield after column chromatography (SiO₂, 30% EtOAc–hexanes) showing ¹H and ¹³C NMR data in accordance with the data reported in the literature for this compound.¹⁷ When the previously isolated lactone was treated with potassium hydroxide in methanol, compound **19** was obtained in 83% isolated yield.¹⁸

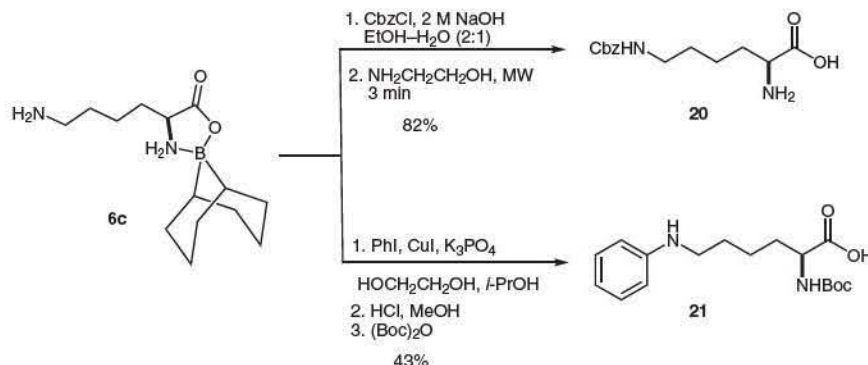


Scheme 8 Cleavage and *N*-Boc protection of **17**

It was observed that in some cases, the isolation of the functionalized complex is rather complicated, and therefore the products were identified after cleavage of the 9-BBN complexes. Depending on the transformations to be performed after breaking the complex, a selective *N*- or *C*-protection can be carried out on the resulting amino acid.

For instance, when the oxazaborolidinone approach was used, the ϵ -amino group of lysine was Cbz-protected in very good yield. However, since Cbz-**6c** was obtained as a light yellow gum, the oxazaborolidinone was cleaved with ethanolamine (MW, 3 min) to afford **20** in 82% yield (Scheme 9). Clearly, this procedure offers some advantages over the typical protocol commonly used for the same purpose.

To establish the scope of the complex formation between α -amino acids and 9-BBN-H as a tool to control the selectivity during chemical manipulations of these compounds, the arylation of the side chain of Lys-9-BBN complex **6c** was carried out with iodobenzene in the presence of CuI and K₃PO₄, using a mixture of ethylene glycol-*i*-PrOH.¹⁹ Without purification, the resulting product was subjected



Scheme 9 Protection of the side chain of lysine

to acidic hydrolysis and Boc-protection of the α -amino group to isolate **21** in an overall yield of 43% (Scheme 9). This interesting result demonstrates the possibility to perform chemical transformation on the side chain of lysine other than simple protections, and opens the possibility to prepare modified amino acids that can be employed in different fields.

Conclusions

The reaction between amino acids and 9-BBN-H to form the corresponding oxazaborolidinones was used as a tool to control the selectivity during transformations performed on amino acids containing reactive side chains. The transient group thus introduced allowed the functionalization of the side chains under different conditions illustrating the scope of oxazaborolidinones as protective groups. We believe that the results reported here represent an important contribution to peptide chemistry and can be used elsewhere.

¹H NMR measurements were performed on a Varian Inova (300 MHz) spectrometer. Chemical shifts (δ) of ¹H NMR are expressed in parts per million downfield from TMS as internal standard ($\delta = 0$). IR spectra were recorded on a PerkinElmer Spectrum 400 FT-IR/FIR spectrometer with ATR. Mass spectra were carried out on a Jeol SMX-102a spectrometer. The progress of all the reactions was monitored by TLC using glass plates precoated with silica gel 60 F254 (0.5 mm, Merck). Column chromatography was performed using 230–400 mesh silica gel. Commercially available α -amino acids, 9-BBN-H, solvents, and other reagents were used (Aldrich Chemical Co.). All reactions were performed under N₂ atmosphere. THF was distilled from sodium benzophenone ketyl under N₂ prior to use. Et₃N was dried over CaH₂.

All the products were characterized using a combination of spectroscopic and spectrometric techniques.

Complex Formation Between α -Amino Acids and 9-BBN-H

Using 9-BBN Dimer; General Procedure A

In a flask under N₂ atmosphere was dissolved 9-BBN dimer (1.1 equiv) in anhyd MeOH (150 mL) under reflux conditions. After 30 min, the corresponding amino acid **1** was added (25 mmol) and the refluxing was continued until gas evolution ceased and the solid had

completely dissolved. The reaction mixture was concentrated and the residue was redissolved in hot THF (100 mL). The solid was filtered and the filtrate was concentrated under vacuum. The residue was triturated with hexanes to obtain the corresponding oxazaborolidinone.

Using 0.5 M THF 9-BBN-H; General Procedure B

A mixture of the corresponding amino acid **1** (3.12 mmol) in MeOH (20 mL) was heated under reflux until the mixture became clear, then 0.5 M 9-BBN-H in THF (6.7 mL, 3.2 mmol) was added dropwise and the heating was continued until the solution became clear. The mixture was cooled to r.t. and concentrated in vacuo. The residue was suspended in hot THF (15 mL) and filtered; the filtrate was concentrated, and the residue triturated with hot hexanes to obtain the corresponding oxazaborolidinone after filtration.

(S)-4-(4-Hydroxybenzyl)-2,2-borabicyclo[3.3.1]nonane-1,3,2-oxazaborolidin-5-one (**6a**)

Prepared from **1a** (0.56 g) following the General Procedure B to afford 0.78 g (84%) of the desired product as a white solid; mp 210 °C (dec.).

FT-IR (ATR): 3272, 2923, 2803, 1709, 1231 cm⁻¹.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 0.36 (br s, 1 H), 0.72 (br s, 1 H), 1.34–1.72 (m, 14 H), 2.81–2.88 (dd, J = 6, 15 Hz, 1 H), 3.01–3.07 (dd, J = 6, 15 Hz, 1 H), 3.70–3.76 (m, 1 H), 5.56 (dd, J = 9, 12 Hz, 1 H), 6.45 (dd, J = 6, 12 Hz, 1 H), 6.68 (d, J = 9 Hz, 2 H), 7.11 (d, J = 9 Hz, 2 H), 9.25 (s, 1 H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 24.4, 24.7, 31.0, 31.2, 31.8, 35.7, 49.1, 56.6, 115.6, 127.6, 130.7, 156.6, 173.7.

LRMS (TOF): m/z = 302 [M + 1]⁺, 138, 136.

(S)-4-(3-Guanidinopropyl)-2,2-borabicyclo[3.3.1]nonane-1,3,2-oxazaborolidin-5-one (**6b**)

Prepared from **1b** (0.54 g) following the General Procedure B to afford 0.76 g (83%) of the desired product as a white solid; mp 196–198 °C.

FT-IR (ATR): 3334, 3162, 2920, 2845, 1673, 1632, 1216 cm⁻¹.

¹H NMR (300 MHz, MeOD): δ = 0.64 (m, 2 H), 1.44–2.08 (m, 16 H), 3.26–3.35 (m, 4 H), 3.75–3.79 (m, 4 H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 23.7, 25.3, 26.1, 26.5, 27.8, 30.7, 31.8, 32.1, 40.5, 41.4, 54.4, 70.9, 157.4, 175.6.

LRMS (TOF): m/z = 295 [M + 1]⁺, 69, 67, 56.

(S)-4-(4-Aminobutyl)-2,2-borabicyclo[3.3.1]nonane-1,3,2-oxazaborolidin-5-one (**6c**)

Prepared from **1c** (0.45 g) following the General Procedure B to afford 0.67 g (82%) of the desired product as a white solid; mp 250 °C (dec.).

Method B: A homogeneous mixture of the corresponding oxazaborolidinone (1.5 mmol) and ethanolamine (1 mL) was irradiated in a microwave oven (CEM Discover, 40 W, 100 °C). The mixture was cooled to r.t. and diluted with acetone (10 mL) and THF (2 mL), and stirred for 15 min. The solid was collected by filtration and rinsed with acetone–THF (5:1, 25 mL).

2-[(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]-4-hydroxybutanoic Acid (19)
Oxazaborolidinone **17** (100 mg, 0.415 mmol) was treated with a solution of 1 M HCl in MeOH (10 mL) for 2 h. The solvent was then removed in vacuo and the residue was redissolved in CH₂Cl₂ (5 mL), followed by the addition of (Boc)₂O (0.108 g, 0.497 mmol) and Et₃N (0.115 mL, 0.826 mmol). After stirring the resultant mixture at ambient temperature for 17 h, the solvent was evaporated and the residue was purified by column chromatography (SiO₂, 30% EtOAc–hexanes) to provide 71 mg (85%) of the corresponding lactone as a light yellow solid; mp 139–141 °C.

FT-IR (ATR): 3356, 1774, 1680, 1526, 1155 cm⁻¹.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.46 (s, 9 H), 2.22–2.32 (m, 1 H), 2.68–2.77 (m, 1 H), 4.21–4.30 (m, 1 H), 4.41–4.48 (m, 2 H), 5.41 (br s, 1 H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 28.3, 30.6, 50.3, 65.9, 80.7, 155.6, 175.4.

LRMS (TOF): *m/z* = 202 [M + 1]⁺.

The lactone obtained above was dissolved in MeOH (2 mL) and treated with KOH (0.025 g, 0.446 mmol) at ambient temperature for 12 h. After removal of the solvent, the residue was redissolved in H₂O (15 mL) and the solution was acidified to pH 3 with 10% citric acid and the product was extracted with EtOAc (15 mL), washed with H₂O (3 × 5 mL), dried (Na₂SO₄) and concentrated in vacuo to provide 52 mg (83%) of **19** as a yellow oil.

FT-IR (ATR): 3354, 1778, 1687, 1568, 1416 cm⁻¹.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.46 (s, 9 H), 1.74–1.81 (m, 1 H), 2.17–2.20 (m, 1 H), 3.75–3.80 (m, 2 H), 4.45–4.49 (m, 1 H), 5.54 (d, *J* = 9 Hz, 1 H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 28.3, 35.1, 51.5, 58.3, 80.1, 156.4, 176.8.

LRMS (TOF): *m/z* = 221 [M + 1]⁺.

(*S*)-N²-(Carbobenzyloxy)-L-lysine (20)

A mixture of the protected amino acid **6c** (0.8 g, 3 mmol) and benzyl chloroformate (0.5 mL, 3.5 mmol), aq 2 M NaOH (5 mL) in EtOH (20 mL) was stirred for 1 h at r.t. After removal of the solvent in vacuo, the residue was taken up in EtOAc (30 mL), washed with 10% citric acid (pH 3) (2 × 15 mL), dried (Na₂SO₄), and the solvent removed in vacuo. The 9-BBN-amino acid complex was cleaved according to Method B to afford 4.6 g (82%) of the desired product **20** as a white solid; mp >200 °C.

FT-IR (ATR): 3343, 3061, 2947, 2866, 1527 cm⁻¹.

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD): δ = 1.58 (m, 4 H), 1.95 (m, 2 H), 3.18 (t, *J* = 6 Hz, 2 H), 3.99 (t, *J* = 6 Hz, 1 H), 5.11 (s, 2 H), 7.39 (m, 5 H).

¹³C NMR (75 MHz, CD₃OD): δ = 22.0, 28.8, 29.1, 39.5, 52.2, 65.2, 65.6, 127.4, 127.7, 136.6, 157.3, 161.2, 170.3.

LRMS (EI): *m/z* = 280 [M]⁺, 108, 91, 79, 77.

(*S*)-2-[(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]-6-(phenylamino)hexanoic Acid (21)

A mixture of KI (0.02 g, 0.1 mmol), K₃PO₄ (0.88 g, 4.1 mmol), iodobenzene (300 mL, 2.6 mmol) and oxazaborolidinone **6a** (0.532 g, 2 mmol) in *i*-PrOH (4 mL) was stirred at 80 °C (oil bath) under an argon atmosphere for 16 h. The mixture was cooled to ambient temperature and concentrated in vacuo. The residue was extracted with EtOAc (2 × 10 mL). After removing the solvent under reduced pressure, the residual oil (0.664 g) was redissolved in MeOH (4 mL) and treated with concd HCl (2 mL) for 20 min at ambient temperature.

The resultant mixture was concentrated to dryness and the residue dissolved in 2 M KOH (5 mL) followed by the addition of dioxane (16 mL) and Boc₂O (0.44 g, 2.1 mmol) at 0 °C. After removal of the ice bath, the stirring was continued at ambient temperature for 30 min, the solvent was removed in vacuo, and the residue was purified by column chromatography (silica gel, EtOAc–hexanes) to provide 0.227 g (59%) of **21** as a white solid; mp 167–170 °C.

FT-IR (ATR): 3342, 2976, 1168, 780 cm⁻¹.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.29 (m, 2 H), 1.42 (s, 9 H), 1.5–1.7 (m, 4 H), 3.10 (m, 2 H), 4.37 (m, 1 H), 6.12 (m, 2 H), 6.5 (m, 1 H), 7.0 (m, 2 H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ = 20.9, 28.4, 29.5, 32.2, 40.1, 56.5, 80.0, 113.4, 129.3, 146.8, 155.7, 173.5.

LRMS (TOF): *m/z* = 323 [M + 1]⁺, 101, 77.

¹H NMR measurements were performed on a Varian Inova (300 MHz) spectrometer. Chemical shifts (δ) of ¹H NMR are expressed in parts per million downfield from TMS as internal standard (δ = 0). IR spectra were recorded on a PerkinElmer Spectrum 400 FT-IR/FIR spectrometer with ATR. Mass spectra were carried out on a Jeol SMX-102a spectrometer. The progress of all the reactions was monitored by TLC using glass plates precoated with silica gel 60 F254 (0.5 mm, Merck). Column chromatography was performed using 230–400 mesh silica gel. Commercially available α-amino acids, 9-BBN-H, solvents, and other reagents were used (Aldrich Chemical Co.). All reactions were performed under N₂ atmosphere. THF was distilled from sodium benzophenone ketyl under N₂ prior to use. Et₃N was dried over CaH₂.

All the products were characterized using a combination of spectroscopic and spectrometric techniques.

Acknowledgment

We would like to thank Ms. Norma Castillo and Dr. Oscar Perez for the preparation of some of the compounds. We thank DGAPA-UNAM for financial support (Grant No. IN221510). AS thanks CONACYT for a scholarship.

Supporting Information for this article is available online at <http://www.thieme-connect.com/ejournals/toc/synthesis>.

References

- (1) Bodanszky, M. *Principles of Peptide Synthesis*, 2nd ed.; Springer-Verlag: Berlin, 1993.
- (2) Warren, S.; Wyatt, P. *Organic Synthesis: Strategy and Control*; Wiley: London, 2007.
- (3) Benoiton, L. N. *Chemistry of Peptides Synthesis*, 2nd ed.; CRC Press: New York, 2005.
- (4) Dent, W. H. III; Erickson, W. R.; Fields, S. C.; Parker, M. H.; Tromiczak, E. G. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 1249.
- (5) Sewald, N.; Jakubke, H.-D. *Peptides: Chemistry and Biology*; Wiley-VCH: Weinheim, 2002.
- (6) (a) Ojima, I.; Inaba, S. *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 2077.
(b) Schwyzler, R.; Rittel, W. *Helv. Chim. Acta* **1961**, *44*, 159.
(c) Neuberger, A.; Sanger, F. *Biochem. J.* **1943**, *37*, 515.
(d) Sato, M.; Okawa, K.; Akabori, S. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1957**, *30*, 937.
- (7) Bodanszky, M.; Bodanszky, A. *The Practice of Peptide Synthesis*, 2nd ed.; Springer-Verlag: Berlin, 1994.
- (8) Lang, K.; Nuetzel, K.; Schubert, F. German Patent 1130445, **1962**; *Chem. Abstr.* **1963**, *58*, 1488a.
- (9) Sajiki, H.; Hirota, K. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 13981.
- (10) Greene, T. W.; Wuts, P. G. M. *Protective Groups in Organic Synthesis*; Wiley: New York, 1991.

- (11) (a) Bodanszki, M.; Tolle, J. C.; Bdeshtmane, S. S.; Bodanszki, A. *Int. J. Pept. Protein Res.* **1978**, *12*, 57.
(b) Dölling, R.; Beyermann, M.; Haenel, J.; Kernchen, F.; Krause, E.; Brudel, M.; Bienert, M. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, 853.
- (12) (a) Nishimura, O.; Fujino, M. *Chem. Pharm. Bull.* **1976**, *24*, 1568. (b) Yajima, H.; Takeyama, M.; Kanaki, J.; Mitani, K. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1978**, 482.
- (13) *Microwaves in Organic Synthesis*; Loupy, A., Ed.; VCH-Wiley: Weinheim, **2002**.
- (14) Kovacs, J.; Kistaludy, L.; Ceprini, M. Q. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 183.
- (15) Neises, B.; Steglich, W. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1978**, *17*, 522.
- (16) Nahm, S.; Weinreb, S. M. *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 3815.
- (17) Ozinskas, A. J.; Rosenthal, G. A. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 5047.
- (18) Wolfe, S.; Wilson, M.-C.; Cheng, M.-H.; Shustov, G. V.; Akuche, C. I. *Can. J. Chem.* **2003**, *81*, 883.
- (19) Kwong, F. Y.; Klapars, A.; Buchwald, S. L. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 581.