



**UNIVERSIDAD MICHOACANA
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

**“ESTUDIOS TENDIENTES A LA SÍNTESIS
DE PÉPTIDOS CÍCLICOS QUIRALES”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTA

JUAN MANUEL JUNIOR CERVERA VILLANUEVA

ASESORA DE TESIS

D.C. JUDIT ARACELI AVIÑA VERDUZCO

Morelia, Michoacán. Junio de 2010

ÍNDICE

Abreviaturas	1
Introducción	4
Aminoácidos y péptidos	8
Antecedentes	
Péptidos	19
Grupos protectores	21
Agentes activantes para la reacción de acoplamiento	25
Péptidos cíclicos (2,5-dicetopiperazinas).....	27
Sistemas heterocíclicos de siete eslabones	30
Objetivo	35
Objetivos particulares	35
Resultados y Discusión	36
Ciclación de (S,S)- <i>N</i> ^ε -Cbz- <i>N</i> ^α -NH ₂ -Lis-fen-OMe	56
Síntesis del ciclo-(S)- <i>N</i> ^ε -Cbz- <i>N</i> ^α -NH ₂ -Lis-β-homofenilalanina-OMe	59
Conclusiones	70
Parte experimental	

Características generales	71
---------------------------------	----

Procedimientos experimentales

Obtención de (S)-N ^ε -Cbz-N ^α -NH ₃ ⁺ Cl-Lis-OH	73
Obtención de (S)-N ^ε -Cbz-N ^α -Boc-Lis-OH (5)	75
Obtención (S)-Fen-OMe (6)	76
Obtención de β-Ala-O-Me (15)	77
Obtención de β-homofenilalanina (12)	78
Obtención de (S,S)-N ^ε -Cbz-N ^α -Boc-Lis-Fen-O-Me (7)	80
Obtención de (S)-N ^ε -Cbz-N ^α -Boc-Lis-β-Ala-O-Me (16)	81
Obtención de (S,S)-N ^ε -Cbz-N ^α -NH ₂ -Lis-Fen-O-Me (10)	83
Obtención de Dipéptido (S)-N ^ε -Cbz-N ^α -Boc-Lis-β-Ala-OH (18)	84
Obtención de (S)-N ^ε -Cbz-N ^α -NH ₃ ⁺ (F ₃ CCO ₂ ⁻)-Lis-β-Ala-OH (19)	85

Bibliografía	86
---------------------------	----

Espectros de RMN	90
-------------------------------	----

ABREVIATURAS

a	señal ancha
a.a.	aminoácido
AcOH	ácido acético
AcOEt	acetato de etilo
ACV	aciclovir
ADN	ácido desoxirribonucleico
Ala	alanina
AZT	zidobudina
β -Ala	β -alanina
Bn	bencilo
BnBr	bromuro de bencilo
Boc	diterbutil oxicarbonil
Btz	benzotriazol
c	señal cuádruple
Cbz	benciloxicarbonil
CDCl ₃	cloroformo deuterado
CD ₃ OD	metanol deuterado
d	señal doble
dd	señal doble de dobles
DCM	diclorometano
DEA	dietilamina

DIEA	<i>di</i> -isopropiletilamina
DIEA	<i>di</i> -isoprpiletilamina
DKP	dicetopiperazina
Diox	dioxano
DMF	dimetilformamida
DMSO <i>d6</i>	dimetilsulfoxido deuterado
Eq	Equivalente químico
Fen	fenilalanina
Fig.	figura
g	gramos
Gp	grupo protector
HOBT	hidroxibenzotriazol
Hex	<i>n</i> -Hexano
Hz	Hertz
<i>i</i> -BBCl	cloroformiato de isobutilo
Lis	lisina
m	señal múltiple
M	molar
MB	molécula blanco
Me	metilo
MeCN	acetonitrilo
MeOH	metanol
ml	mililitros

mmol	milimoles
N	normal
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -butil-litio
NMM	<i>n</i> -metil-morfolina
Pd/C	paladio sobre carbono
Ph	fenilo
% Rto.	porcentaje de rendimiento
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
s	señal simple
SIDA	síndrome de inmunodeficiencia adquirida
t	señal triple
T.A.	temperatura ambiente
<i>t</i> -Bu	tert-butilo
<i>t</i> -BuOH	terbutanol
TEA	triethylamina
TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano
TMS	tetrametilsilano
ppm	partes por millón

INTRODUCCIÓN

Los compuestos orgánicos son poseedores de una enorme diversidad estructural, desde los compuestos de cadena abierta hasta los que tienen sistemas anulares. Los elementos que acompañan con más frecuencia al carbono en los sistemas anulares son nitrógeno, oxígeno y azufre, llamándoseles a estos últimos heterociclos.¹

Tanto los compuestos lineales como los heterocíclicos tienen una amplia gama de aplicaciones, preponderando los compuestos farmacéuticos y alimenticios.²

Más de la mitad de los compuestos orgánicos conocidos incluyen al menos un heterocíclico. Ejemplo de ello son los fármacos eficaces para combatir enfermedades agresivas como el cáncer o virus que aquejan a la humanidad, siendo un punto de partida para la investigación de nuevos compuestos.³

Este es el caso de los análogos nucleósidos del ADN (ácido desoxirribonucleico) como la timidina. Es posible preparar análogos en los que se ha modificado la estructura del heterociclo, del azúcar o de ambos, donde un compuesto así podría interferir en el ciclo replicativo de un virus, al ser

incorporado en lugar del nucleósido natural. Cabe citar el caso de la zidovudina, AZT; que se utiliza en el tratamiento del SIDA, otro es el caso del Aciclovir (ACV); que es un derivado de la guanina en la que la cadena lateral acíclica imita parte de la estructura del azúcar del nucleósido natural, fármaco que resulta útil para el tratamiento de infecciones del virus del herpes.⁴ Figura 1.

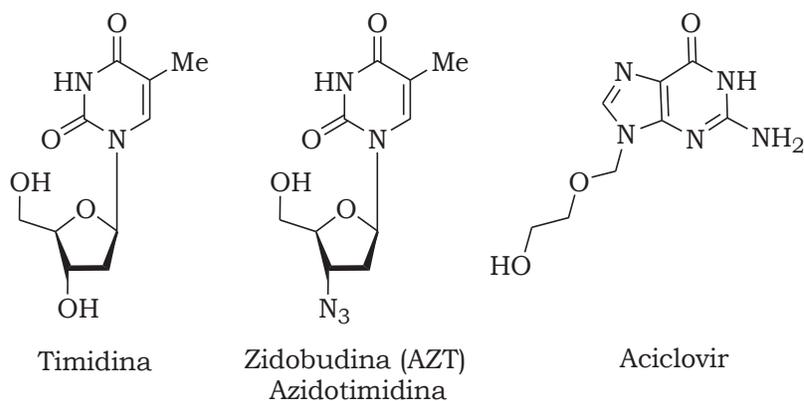


Figura 1. Nucleósidos utilizados en el tratamiento del SIDA.

A lo largo del tiempo la investigación científica ha tratado de competir con los procesos bioquímicos de los organismos, ya que estos son altamente eficientes. Tal es el caso de las enzimas, las cuales son constituyentes fundamentales para la realización de reacciones con elevados grados de selectividad, como los involucrados en las reacciones catalíticas dentro de las células.⁵

Los aminoácidos están cobrando cada vez más importancia en la investigación farmacológica y sintética principalmente. Caso particular es el uso de los aminoácidos no proteicos en fármacos los cuales producen importantes mejoras en sus propiedades, como afinidad por receptores *in vivo*, transporte y biodisponibilidad; un ejemplo de ello es el indorrenato.⁹ Ver Figura 3.

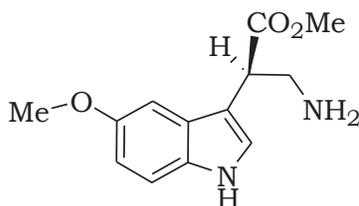


Figura 3. Indorrenato

El conocimiento acerca de los aminoácidos ha permitido la obtención de péptidos con nuevas propiedades farmacológicas tal es el caso del péptido **A**, derivado de aminoácidos no proteicos (Fig. 4) que se perfila como un inhibidor de la proteasa HIV-1 involucrada en la replicación del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).¹⁰

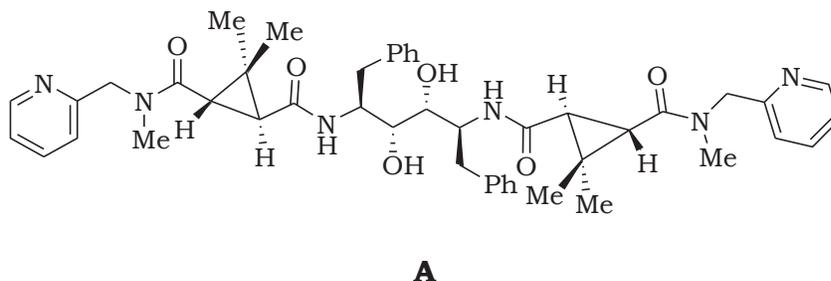


Figura 4. Inhibidor peptídico potencial de la proteasa HIV-1.

Otro ejemplo lo muestra el péptido **B**, el cual muestra actividad biológica misma que se atribuye al hecho de que induce conformaciones restringidas altamente especializadas.¹¹ Figura 5.

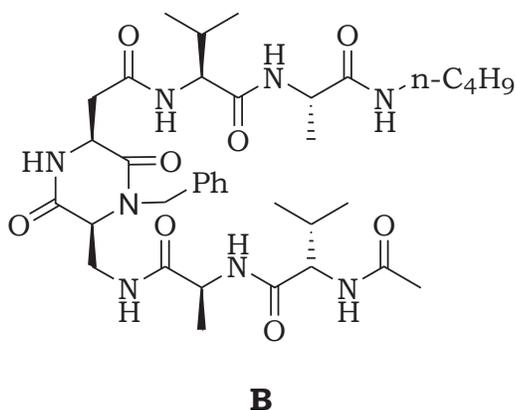


Figura 5. Diketopiperazina inductora de conformaciones β -orquilla

Aminoácidos y Péptidos

El termino aminoácido, en su sentido más general, se refiere a cualquier estructura que contenga tanto un grupo amino NH₂ como un grupo carboxilo COOH. Sin embargo, el termino puede denotar un miembro de la familia de los α -aminoácidos ó en otros casos es posible hacer referencia a un miembro del grupo de los β -aminoácidos.¹² Figura 6.

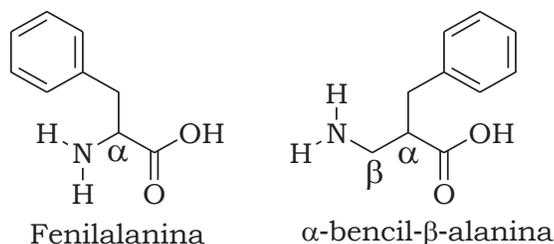


Figura 6. Un α -aminoácido (izquierda), un β -aminoácido (derecha)

Por lo que los aminoácidos pueden clasificarse como α , β , γ , etc., según sea la ubicación del grupo amino en la cadena hidrocarbonada que contiene la función ácido carboxílico.

Aunque se conocen más de 700 aminoácidos en la naturaleza, un grupo de 20 aminoácidos llamados “comunes” son codificados en la síntesis de proteínas dirigida por el ADN. Los seres humanos sintetizan diez de veinte aminoácidos llamados *no esenciales* tales como la alanina (Ala), prolina (Pro) y serina (Ser). Los otros diez aminoácidos son llamados *esenciales* los cuales deberán ser ingeridos mediante la dieta, entre estos se encuentra la lisina (Lis), arginina (Arg) y triptófano (Trp). Estos aminoácidos, solo difieren en la estructura del grupo R enlazada al carbono α . De modo que, los aminoácidos se clasifican principalmente de acuerdo con el grupo R que forma parte de la molécula y la química asociada e influida por este grupo.⁵ Figura 7.

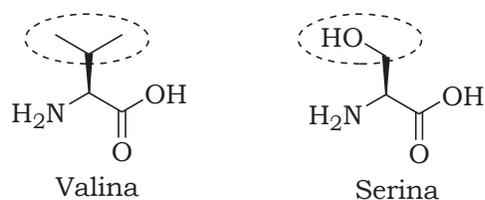


Figura 7. Valina, aminoácido hidrófobo. Serina, aminoácido hidrófilo.

Otro aspecto apreciable es que mientras que los 20 aminoácidos comparten la propiedad común de ser α -aminoácidos, sus cadenas ramificadas difieren respecto a su tamaño y forma, así mismo, las características electrónicas, propiedades ácido-base y capacidad de acoplarse en enlaces iónicos, enlaces covalentes, puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals.

A pesar de que comúnmente los aminoácidos se escriben con un grupo carboxílico y un grupo amino, su estructura real (Fig. 8) es iónica y depende del pH, así, estos existen como un ión dipolar o zwitterión.³

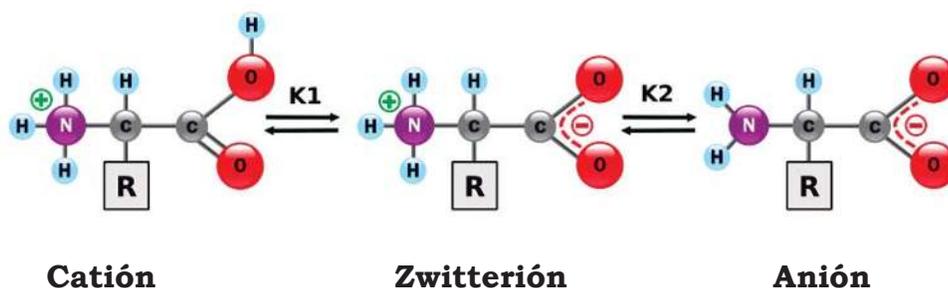


Figura 8. Estructura iónica de los aminoácidos

Cabe destacar que los aminoácidos tienen en su estructura un centro estereogénico lo que los hace ser moléculas asimétricas y por tanto quirales.

Figura 9.

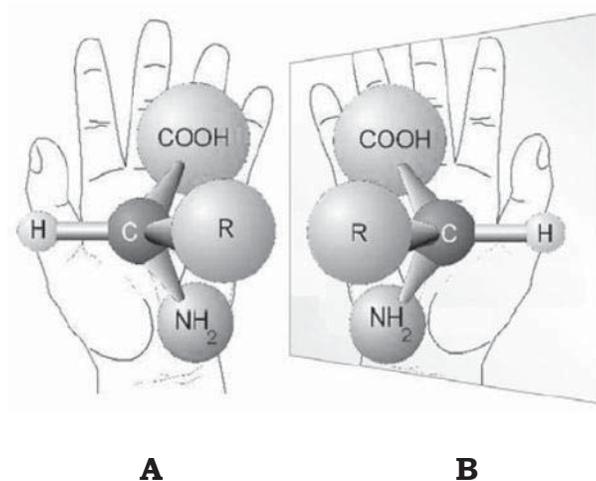


Figura 9. Imágenes especulares ó enantiómeros.

En las proteínas de nuestro organismo todos los aminoácidos (excepto la glicina), siendo solamente los enantiómeros de configuración *L* los que se encuentran formando parte de las proteínas, mientras que todos los carbohidratos en el ADN y ARN (ácido ribonucleico) son de configuración *D*.

Figura 10.

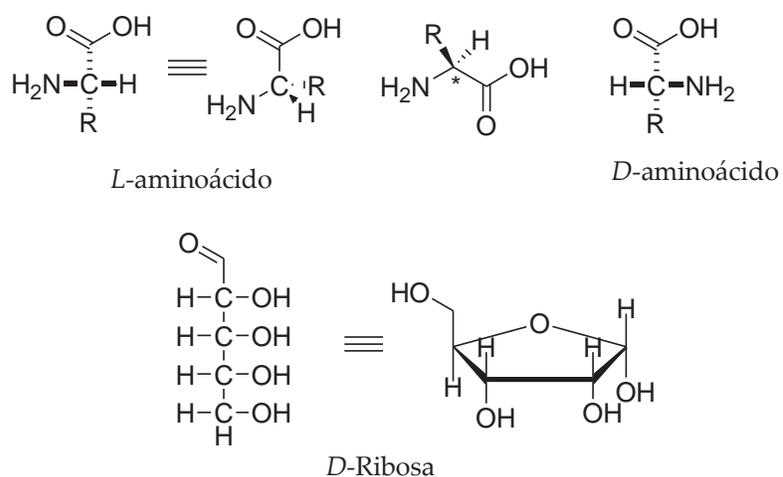


Figura 10. Configuración de los α -aminoácidos y azúcares en seres vivos.

Como podemos ver, la vida depende de la quiralidad molecular, en el sentido de que la mayoría de las funciones biológicas son inherentemente quirales. La mayoría de los fenómenos fisiológicos se encuentran basados en interacciones moleculares precisas, en las que los receptores quirales reconocen a las dos moléculas huésped enantioméricas de modos distintos.¹³ Figura 11.

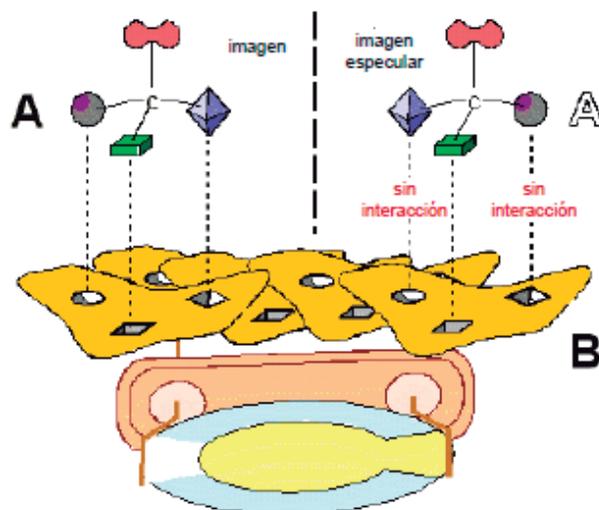


Figura 11. Modelo de la interacción sustrato (A) receptor (B).

Por otro lado los péptidos pueden ser de estructura y tamaño variado los cuales pueden encontrarse como dipéptidos, tripéptidos, tetrapéptidos, etc. Figura 12.

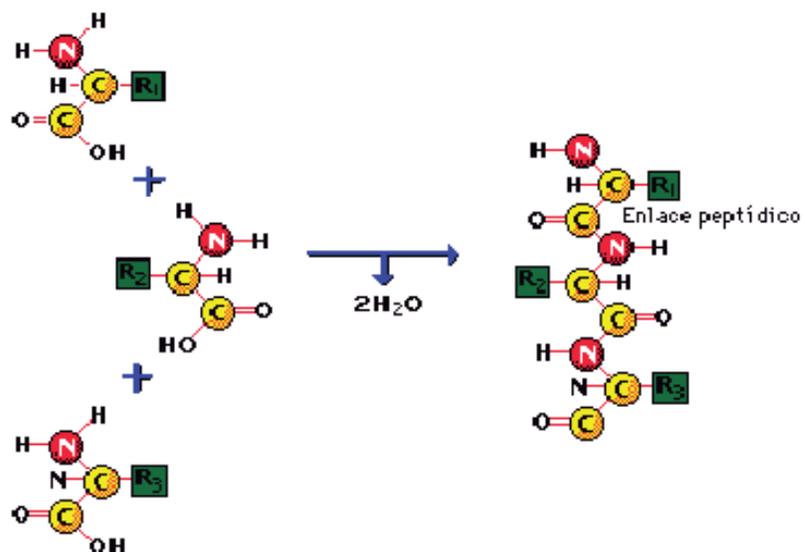


Figura 12. Formación de un tripéptido.

De entre los muchos péptidos importantes, encontramos la insulina (Fig. 13) que se desempeña como una hormona, la cual reduce el nivel de glucosa en la sangre, promueve el almacenamiento de glucosa como glucógeno y grasa.⁶

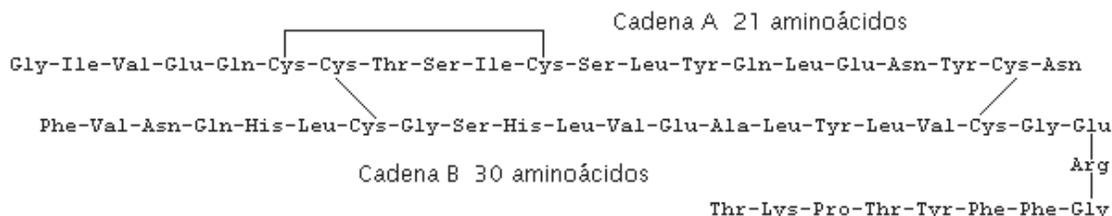


Figura 13. Estructura de la Insulina.

Además de que los péptidos forman parte de las biomoléculas, no son exclusivos de desempeñar funciones meramente biológicas, también encontramos un gran número de péptidos que se han utilizado para catalizar reacciones químicas en donde se obtiene productos con una alta selectividad enantiomérica.

Tal es el caso del dipéptido, el cual muestra actividad catalítica en la reacción de condensación aldólica donde se condensa un aldehído con una cetona dando como resultado el producto de condensación cetoalcohólico con una elevada pureza enantiomérica. De este tipo de moléculas tenemos al dipéptido (S,S)-triptofanilfenilalanina que se muestra en la figura 14.⁷

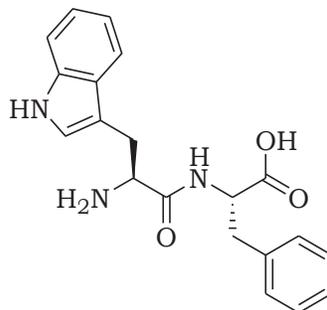


Figura 14. Dipéptido con actividad catalítica.⁷

Lisina como aminoácido precursor de péptidos

La lisina o ácido 2,6-diaminohexanoico es un aminoácido de los conocidos como básicos, ya que su segundo grupo amino proporciona un aumento del pH de sus disoluciones acuosas. Es también un compuesto quiral. La lisina natural tiene configuración *S* en su carbono 2 y también es conocida como *L*-lisina. Comercialmente se suministra como clorhidrato, compuesto mucho más estable que la *L*-lisina libre. Figura 15.

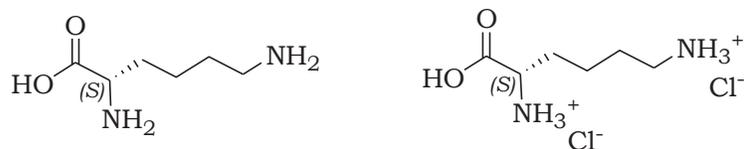


Figura 15. (*S*)-lisina; dihidrocloruro de (*S*)-lisina

Químicamente la lisina actúa como una base, al igual que la arginina y la histidina, esto debido a que su cadena lateral contiene un grupo amino que posee la característica de ser una base de Lewis, que participa formando puentes de hidrogeno así, como en la catálisis.¹³

Por lo anteriormente expuesto, propusimos sintetizar los péptidos lineales enantioméricamente puros, para posteriormente ciclar y obtener así los ciclo-péptidos, mismos que pudieran ser probados como catalizadores quirales.

ANTECEDENTES

La síntesis de moléculas orgánicas ha sido un campo de trabajo científico por más de un siglo. A pesar de ello, solo una pequeña cantidad de compuestos orgánicos han sido preparados y estudiados. Durante el último siglo nuestra capacidad de construir moléculas complejas ha aumentado considerablemente y sigue creciendo a medida que se descubren o inventan nuevas reacciones, se mejoran otras conocidas y se comprenden mejor los mecanismos de reacción involucrados.

Debido a la complejidad de las moléculas orgánicas, su construcción *eficiente* requiere (salvo en casos muy simples) de varias etapas, cada una de las cuales emplea reacciones químicas que llevan específicamente a una estructura.¹⁵

Desde el punto de vista de la síntesis química, los factores que hacen difícil la planificación y elaboración de un esquema de síntesis particular son los mismos que dan lugar a la complejidad estructural. Esos elementos de complejidad pueden resumirse en:

1. Tamaño molecular
2. Contenido de elementos y grupos funcionales
3. Conectividad
4. Quiralidad
5. Reactividad
6. Inestabilidad estructural

La síntesis de un compuesto requiere desarrollar un esquema de síntesis viable que en general consistirá en una serie de intermediarios sintéticos acoplados por “reacciones posibles” para realizar las interconversiones.

La secuencia de reacciones que se use en una síntesis puede ser lineal o convergente.

En una *síntesis lineal* (esquema 1) se lleva a cabo mediante una serie de pasos consecutivos, en donde la materia prima se lleva de una etapa a otra haciendo las transformaciones químicas hasta que se logra obtener la molécula buscada o molécula blanco (MB).



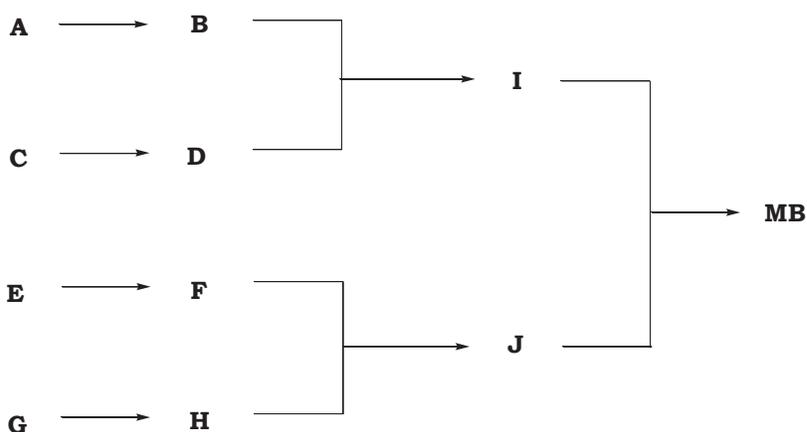
MB: Molécula blanco

A,B...F son intermediarios de reacción

Esquema 1. Síntesis lineal hasta la obtención de la molécula blanco.

A los compuestos químicos producidos en cada paso se les denomina *intermediarios sintéticos*.

En la *síntesis convergente* la construcción molecular se encuentra basada en la creación de intermediarios sintéticos que se encuentran y conectan en un punto de la ruta sintética y así lograr la obtención de una molécula con un mayor grado de complejidad (esquema 2). Este método resulta ser muy útil en la preparación de compuestos orgánicos complejos.¹¹



MB: Molécula blanco

A,B...J son intermediarios de reacción

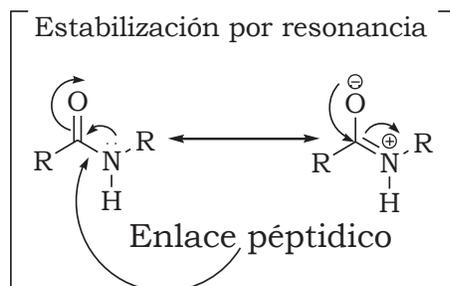
Esquema 2. Síntesis convergente hasta la obtención de la molécula blanco.

Péptidos

El enlace peptídico es la unión covalente de un grupo amino de un aminoácido con la función carboxilo de otro aminoácido. Por lo que un dipéptido es una molécula formada por dos aminoácidos unidos por un enlace peptídico. Los péptidos que tienen más de 30 a 50 aminoácidos se les denomina polipéptidos.¹⁷

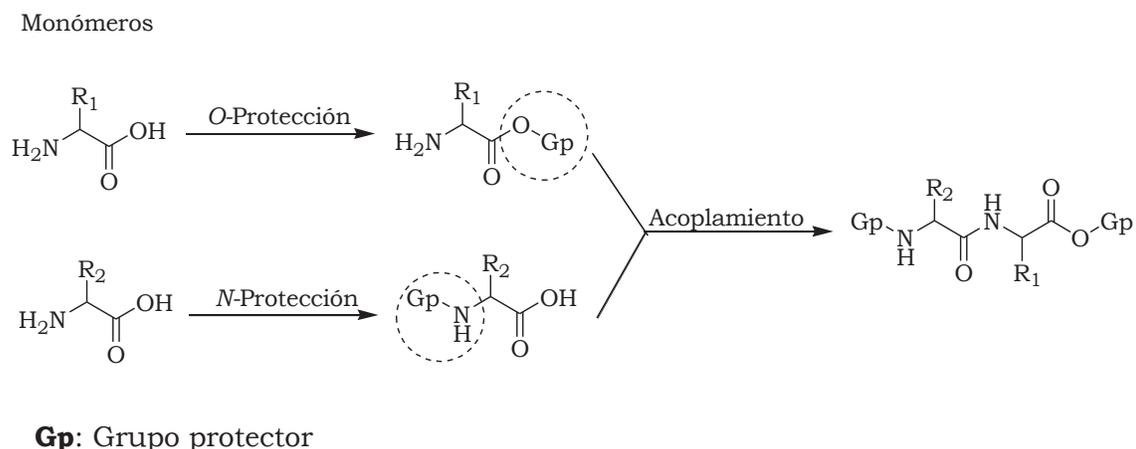
La estabilización por resonancia de una amida da lugar a su gran estabilidad, a la disminución de basicidad del átomo de nitrógeno y a la rotación restringida puesto que existe un carácter de doble enlace parcial del enlace C-N.¹⁸

Esquema 3.



Esquema 3. Forma resonante del enlace peptídico.

Al igual que la biosíntesis de péptidos en el ribosoma, la síntesis de péptidos en el laboratorio utiliza una estrategia iterativa, en la que los aminoácidos se van incorporando en un orden preprogramado a la cadena peptídica creciente.² Esquema 4.



Esquema 4. Estrategia para la preparación de un péptido.

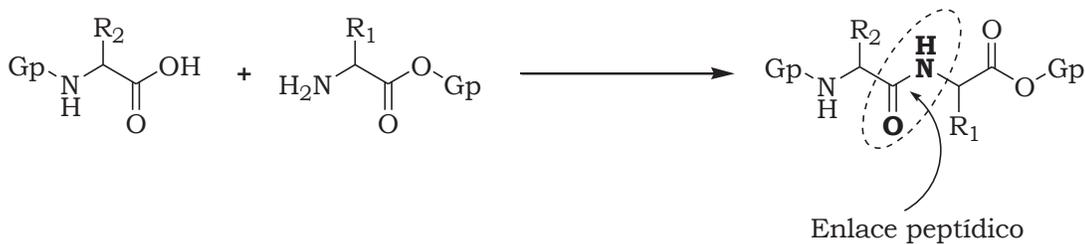
La formación de uniones amida por sustitución nucleofílica sobre un centro electropositivo de un carbonilo es una etapa clave en la síntesis de péptidos. Tres aspectos son relevantes en esta etapa:

- Para unir los aminoácidos entre sí, se requiere la formación de una amida por una reacción de condensación específica (llamada reacción de acoplamiento) entre el ácido carboxílico de un aminoácido y la amina de otro. Puesto que cada aminoácido contiene ambos grupos

funcionales, es necesario proteger el grupo amino de uno y el grupo carboxílico de otro. De lo contrario obtendríamos una mezcla compleja de péptidos homogéneos y heterogéneos. Ver esquema 4.

- b) Acoplamiento de los dos aminoácidos protegidos por formación de un enlace amida entre ellos
- c) Desprotección del grupo amino del *N*-terminal y del grupo carboxilo del *C*-terminal.¹⁹

En condiciones adecuadas, el grupo amino de una molécula condensa con el grupo carbonilo de otra. El producto obtenido es una amida, denominada dipéptido, y al enlace amida formado se le llama enlace peptídico. Esquema 5.



Esquema 5. Formación del enlace peptídico.

Grupos Protectores

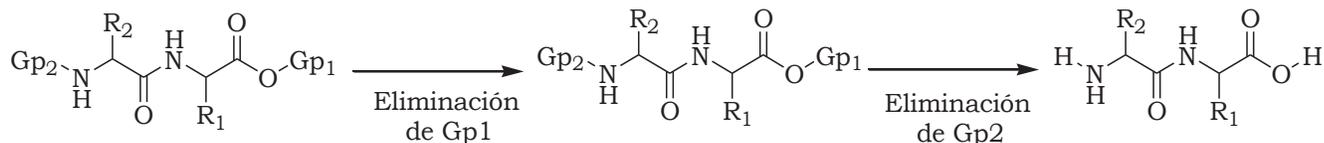
Cuando una reacción química requiere que se lleve a cabo selectivamente en un compuesto polifuncional, será necesario bloquear temporalmente otros

sitios reactivos en la molécula, muchos grupos protectores se han desarrollado para este propósito. Un grupo protector deberá cumplir algunos requerimientos esenciales. Así, deberá reaccionar con un buen rendimiento para dar un sustrato protegido que se mantenga estable para llevar a cabo la reacción proyectada en un paso y/o etapas subsecuentes, además, el grupo protector deberá ser removido fácil y selectivamente.

Un grupo protector es un grupo funcional que enmascara la reactividad característica de otro grupo, en el cual se puede convertir. Así entonces limita a la reacción para evitar que vaya por rutas alternas.

Para seleccionar un grupo protector específico, deberán considerarse todos los reactivos, las condiciones de reacción y las funcionalidades implicadas en el plan de síntesis propuesto. Por lo que habrá que evaluar todos los grupos funcionales en el reactante para así determinar las funcionalidades que pueden intervenir en una reacción dada o que serán inestables para las condiciones en las que la reacción transcurrirá, conociendo esto podrá ser posible elegir el grupo protector.²⁰

El uso de un grupo protector exige la etapa de desprotección. Donde los grupos funcionales, en los cuales se quería evitar las reacciones colaterales en el transcurso de la síntesis, son desenmascarados y así obtener una molécula funcionalizada. Esquema 6.



Gp: Grupo protector

Esquema 6. Eliminación del grupo protector.

En los aminoácidos el grupo amino se protege principalmente por medio de la formación de un carbamato (esquema 7) y así el grupo amino, que es muy reactivo y se le considera un buen nucleófilo es transformado a una amida poco reactiva y desactivada para una reacción de condensación.¹⁵



Esquema 7. Protección del grupo amino y la formación de un carbamato.

De los protectores más utilizados (fig. 16) son los carbamatos, como el Carbobenzoxilo (Cbz o Z), *ter*-butoxicarbonilo (Boc) y el fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc).¹⁶

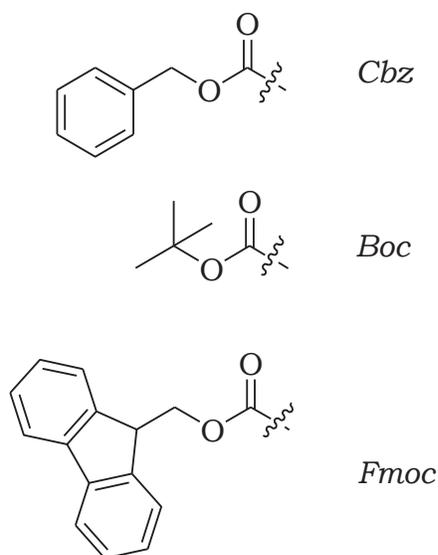
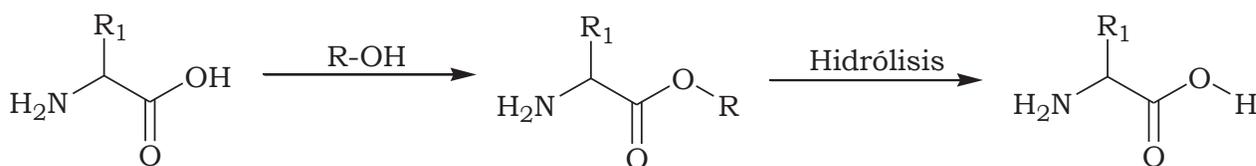


Figura 16. Algunos grupos protectores.

Por otra parte los ácidos carboxílicos se protegen comúnmente en forma de esteres de metilo (Me), terbutilo (*t*-But) y bencilo (Bn), y posteriormente desprotegidos por hidrólisis acida o alcalina. Como se muestra en el esquema 8.²¹



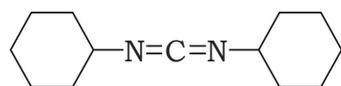
R= Me, Bn, *t*-But

Esquema 8. Reacciones de O-protección.

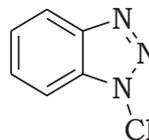
Agentes activantes para la reacción de acoplamiento

La reacción más importante en la síntesis de péptidos es la formación de enlaces peptídicos; en este contexto, la activación de ácidos carboxílicos para la formación de amidas es un proceso crucial en la síntesis de gran calidad de compuestos orgánicos, tales como péptidos, oligoamidas, β -lactamas, benzodiazepinas y dicetopiperacinas.

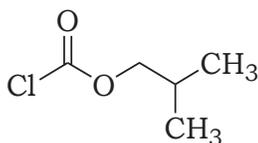
Este proceso se suele llevar a cabo a través de los denominados reactivos de acoplamiento peptídico o agentes activantes, y pueden ser utilizados en métodos distintos, ya sea por activación *in situ* del ácido carboxílico o la preparación y aislamiento previo de las especies activas. Cualquiera que fuese el método que se emplee requiere una combinación de altos rendimientos y bajos niveles de racemización. Esta combinación de factores se ha de tener siempre presente a la hora de preparar nuevos enlaces amida. Por lo que los agentes activantes más destacados se muestran en la figura 17.²²



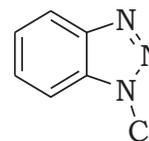
N,N'-diciclohexilcarbodiimida



Hidroxibenzotriazol



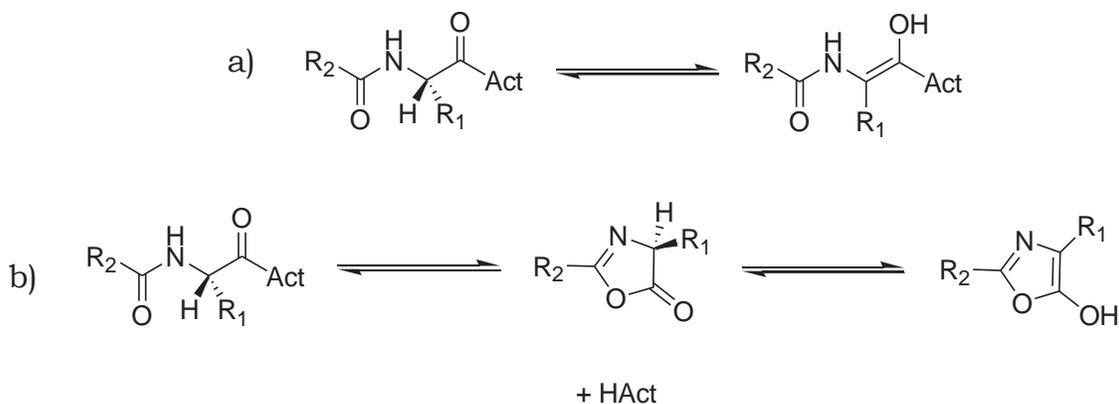
Cloroformiato de isobutilo



N-Cloro benzotriazol

Figura 17. Agentes activantes para el grupo carboxilo en la síntesis de péptidos.

La formación del enlace amídico ocurre a través de un ataque nucleofílico de una amina al carbono carbonílico activado de un ácido carboxílico, por lo que se requiere la activación de dicho ácido. Cuando el carbono tiene un centro estereogénico en la posición α - respecto al carbonilo, como es el caso de los α -aminoácidos, y se produce la activación este centro puede epimerizar, siendo este proceso una reacción lateral que conviene evitar o, por lo menos, reducir al máximo. La epimerización puede ocurrir a través de dos posibles mecanismos que se muestran en el esquema 9.



Esquema 9. Mecanismos de racemización durante el acoplamiento peptídico a) Enolización; b) Formación de oxazolona.

El grado de racemización depende del método de activación empleado. Así pues, en los métodos en que se empleen bases existirá la tendencia a la enolización por pérdida del protón en α respecto al carbonilo. Además, si el grupo activante (Act) es un buen grupo saliente será más fácil que se forme la oxazolona y el protón en α con respecto al carbonilo será todavía más ácido, siendo más fácil de abstraer por la base.²³

Péptidos Cíclicos (2,5-dicetopiperazinas)

Las 2,5-dicetopiperazinas son compuestos cíclicos, frecuentes en la naturaleza como productos de degradación de péptidos, proteínas y hasta algunos fármacos, por lo que en muchas ocasiones han sido consideradas como productos no deseados.¹⁸

Se han encontrado dicetopiperazinas en forma de productos naturales, en hongos de la especie *Pestalotia palmarum*, como metabolitos con actividad biológica importante y que además son biosintetizadas de *L*-prolina y otros aminoácidos, mostradas en la fig. 18. Es el caso de B y C aisladas de *Pestalotia palmarum* que presentaron actividad fitotóxica, C presenta actividad antitumoral y fungicida; B y D demostraron ser antibióticos potenciales.²⁴

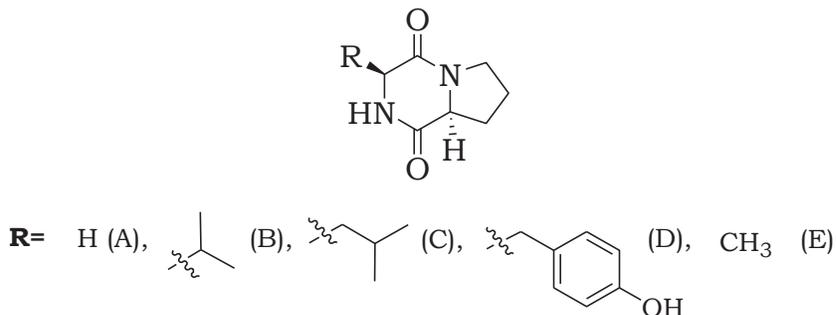
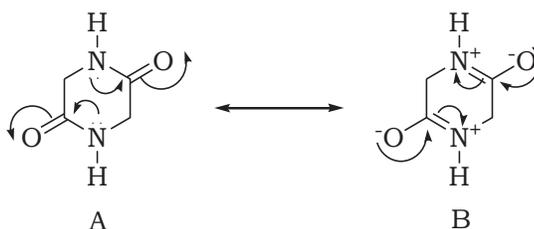


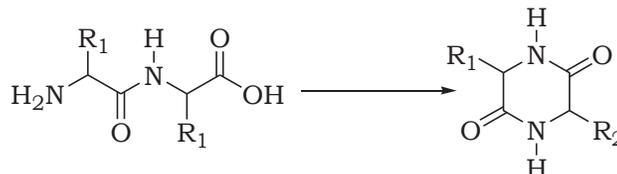
Figura 18. Dicetopiperazinas como productos naturales.

Las 2,5-dicetopiperazinas poseen estructuras rígidas debido al carácter de doble enlace del grupo amida (esquema 10) y en este sentido la estructura se entiende como un híbrido en resonancia. Por lo que es posible inferir un descenso en el efecto entrópico desfavorable.²⁵



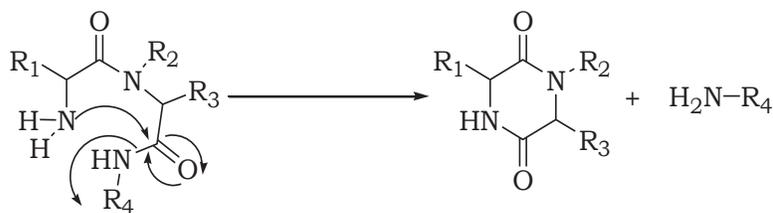
Esquema 10. Formas resonantes de la dicetopiperazina.

En 1906 Fisher obtuvo las primeras dicetopiperazinas (DKP's) a partir de los ésteres de los aminoácidos en forma de sal y a un pH neutro o ligeramente básico con pérdida de alcohol para formar las dicetopiperazinas por una reacción de amidación intramolecular.²⁶ Tal como aparece en el esquema 11.



Esquema 11. Amidación intramolecular de un péptido lineal.

En 1998 Capasso y Mazarella estudiaron la ciclación de péptidos *N*-terminales en donde se lleva a cabo un ataque nucleofílico sobre un carbonilo de amida *N*-sustituida para la obtención de las 2,5-dicetopiperazinas correspondientes (esquema 12) de donde destaca la poca viabilidad del método debido al costo de producción de los compuestos, puesto que la purificación de las materias primas se realiza por HPLC.²⁷



Esquema 12. Obtención de la dicetopiperazina por ataque intramolecular sobre un carbonilo de amida.

Sistemas Heterocíclicos de Siete Eslabones

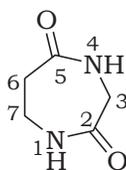


Figura 19. Estructura fundamental de la 1,4-benzodiazepin-2,5-diona

El estímulo principal para investigación de la síntesis y propiedades de los heterociclos de siete miembros ha nacido, del descubrimiento de actividad biológica útil en las benzodiazepinas. De las benzodiazepinas, los derivados del sistema 1,4-diazepina (Fig. 19) tienen una enorme importancia; a finales de la década de 1970, se habían sintetizado miles de estos compuestos como fármacos potenciales. El clordiazepoxido (librium) y el diazepam (valium), son prototipos de las 1,4-benzodiazepinas que se emplean principalmente para aliviar los estados de ansiedad.⁸ Figura 20.

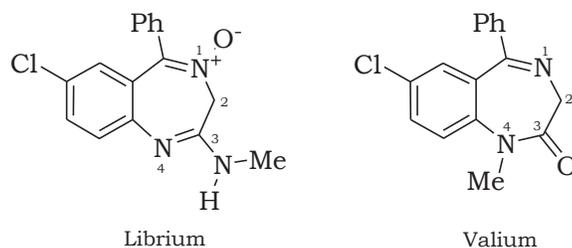
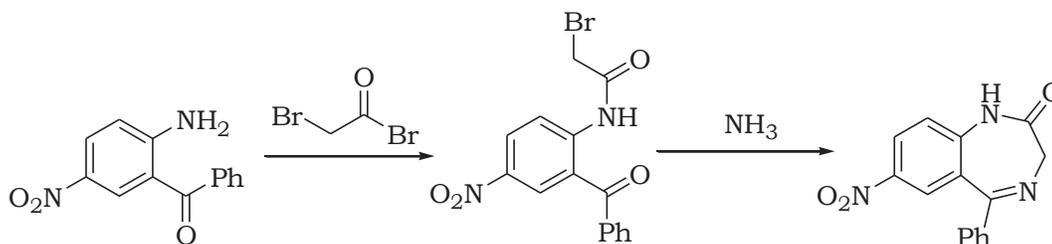


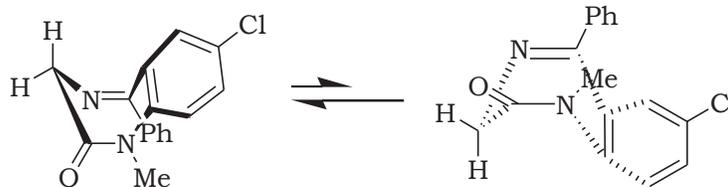
Figura 20. Fármacos con núcleo 1,4-diazepina.

El sistema anular se puede preparar, a partir de los bencenos 1,2-disustituídos (esquema 13). Como es en el caso de la preparación del *clonazepam* bajo una ruta general sencilla para este tipo de sistema anular.⁴



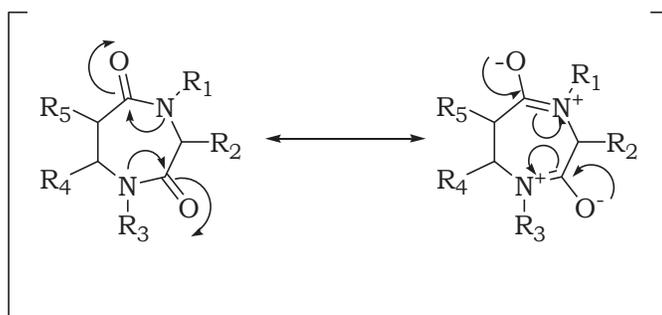
Esquema 13. Síntesis de clonazepam.

En 2003 Carlier y col. describen a las 1,4-benzodiazepinas como un “prototipo privilegiado” de una estructura de alta estabilidad, y describe su conformación.²⁸ Esquema 14.



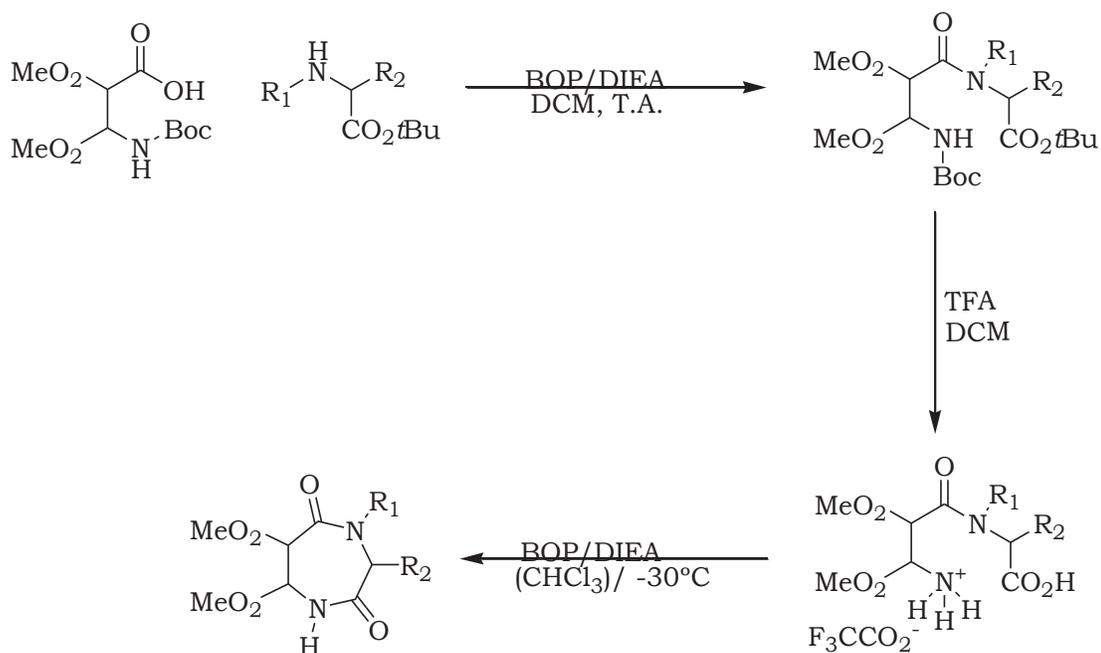
Esquema 14. Equilibrio conformacional para diazepam.

Lavergne en el año 2000, publica un estudio, donde describe a las, 1,4-diazepin-2,5-dionas (figura 19); que al igual que las dicetopiperazinas, presentan restricción conformacional (esquema 17), pues poseen 2 sistemas internos de lactama (*bis-lactama*) derivadas de aminoácidos o péptidos. Este tipo de sistemas presentan una alta resistencia a la degradación enzimática y una elevada selectividad por sitios bioactivos. Sin embargo, a diferencia de las 1,4-piperazin-2,5-dionas su síntesis representa una gran dificultad puesto que los enlaces peptídicos del precursor lineal poseen la preferencia de adoptar la conformación trans, y como es de imaginarse no es el conformero favorecido para la reacción de acoplamiento intramolecular.



Esquema 15. Formas resonantes de la 1,4-diazepin-2,5-diona.

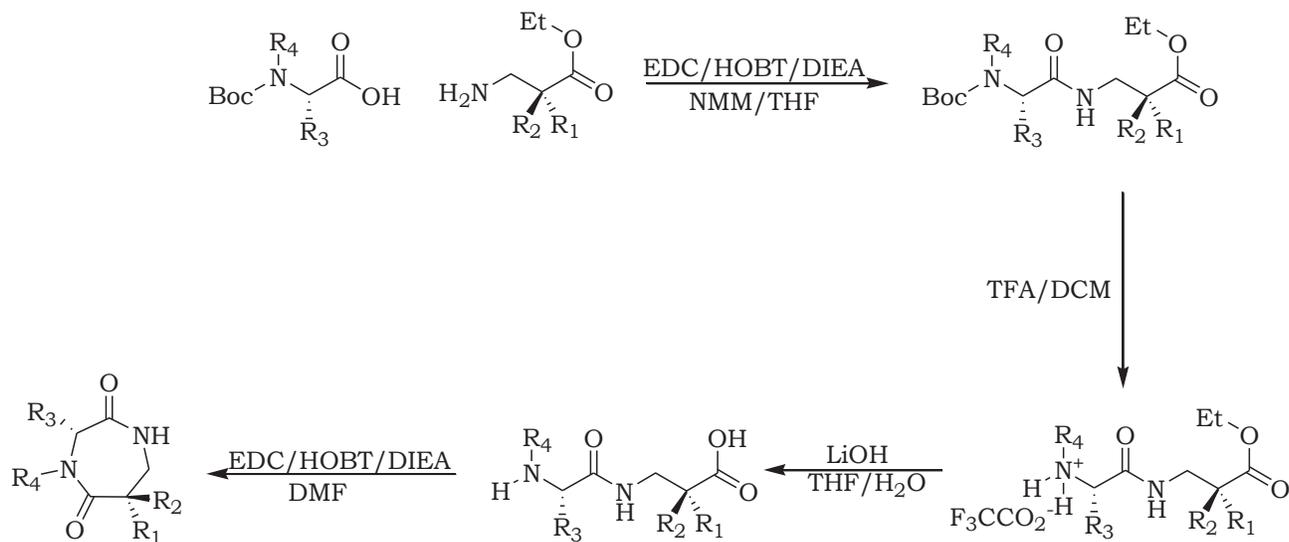
Lavergne presentó una síntesis, expuesta en el esquema 16. Para la obtención del anillo 1,4-diazepin-2,5-diona el cual utiliza como agente de acoplamiento BOP y DIEA como base. ²⁹



Esquema 16. Método propuesto por Lavergne para la obtención de diazepindionas.

Müller-Hartwig desarrolló una síntesis heterocíclica para sistemas anulares de siete eslabones mostrada esquema 17, en el que parte de α -aminoácidos y β -aminoácidos, primeramente *acoplado* y posteriormente *ciclando*.

Haciendo uso de EDC [*N*-etil-*N*'-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida]/HOBT como agentes activantes del grupo carboxilo y DIEA como base.³⁰



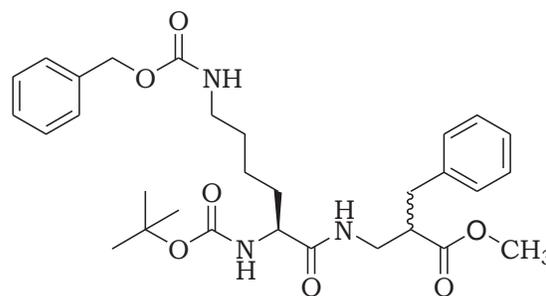
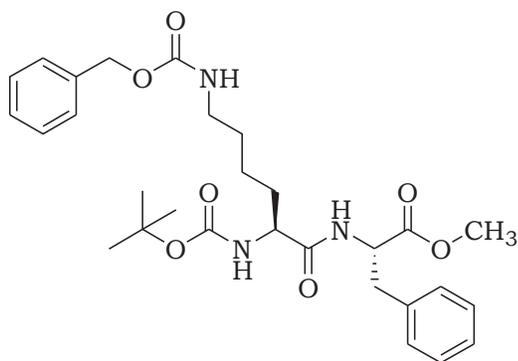
Esquema 17. Método propuesto por Müller-Hartwig para la obtención de diazepindionas.

OBJETIVO GENERAL

Se propone sintetizar los péptidos acíclicos α -lisil- α -fenilalanina y α -lisil- β -alanina, y analizar una metodología viable para la ciclación de los precursores lineales mediante los siguientes objetivos particulares.

Objetivos particulares:

1. Sintetizar los dipéptidos lineales como intermediarios sintéticos, N^{ϵ} -Cbz- N^{α} -Boc-Lis-Fen-OMe y N^{ϵ} -Cbz- N^{α} -Boc-Lis- β -homofenilalanil-OMe.

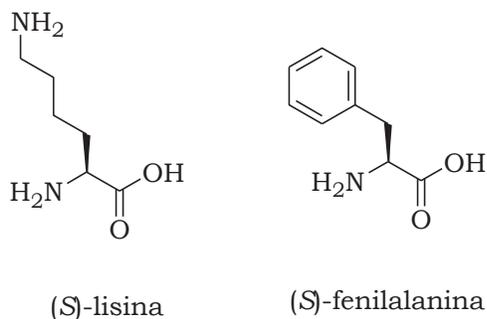


2. Elucidar mediante espectroscopía de RMN las estructuras de los péptidos intermediarios.
3. Encontrar un método viable para la obtención de los péptidos cíclicos enantioméricamente puros.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

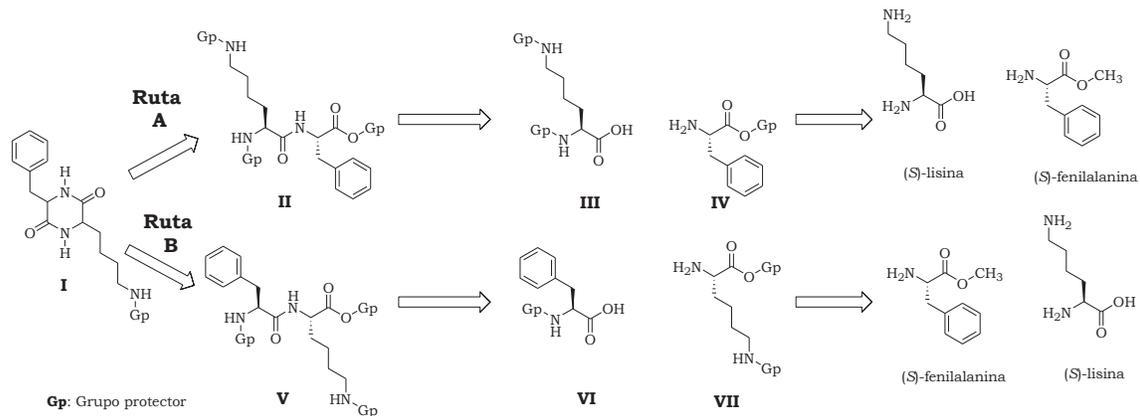
El fundamento primordial de esta tesis es obtener y aislar los péptidos lineales intermediarios para la obtención de los ciclopéptidos, por lo que se plantea un esquema retrosintético en el cual se proponen todos los distintos intermediarios posibles, primeramente para llegar a la obtención del péptido lineal y después la búsqueda y descarte de metodologías para la preparación del péptido lineal. Como se puede observar en el esquema retrosintético existen dos rutas (A y B) para llegar a la molécula blanco. Esquema 18.

Como puede observarse en la ruta A, para llegar al péptido protegido **II** es necesario preparar la (S)-fenilalanina *O*-protegida **IV** y la (S)-lisina *N,N*-protegida **III**, evidentemente comenzando de los clorhidratos de los aminoácidos correspondientes.



En la ruta B es necesaria la *N*-protección de la (S)-fenilalanina dejando libre el grupo carboxilo (intermediario **VII**), y también la *N*-protección de la (S)-lisina

(intermediario sintético **VII**) y de igual manera que en la ruta A, partiendo de los precursores monoméricos más simples.

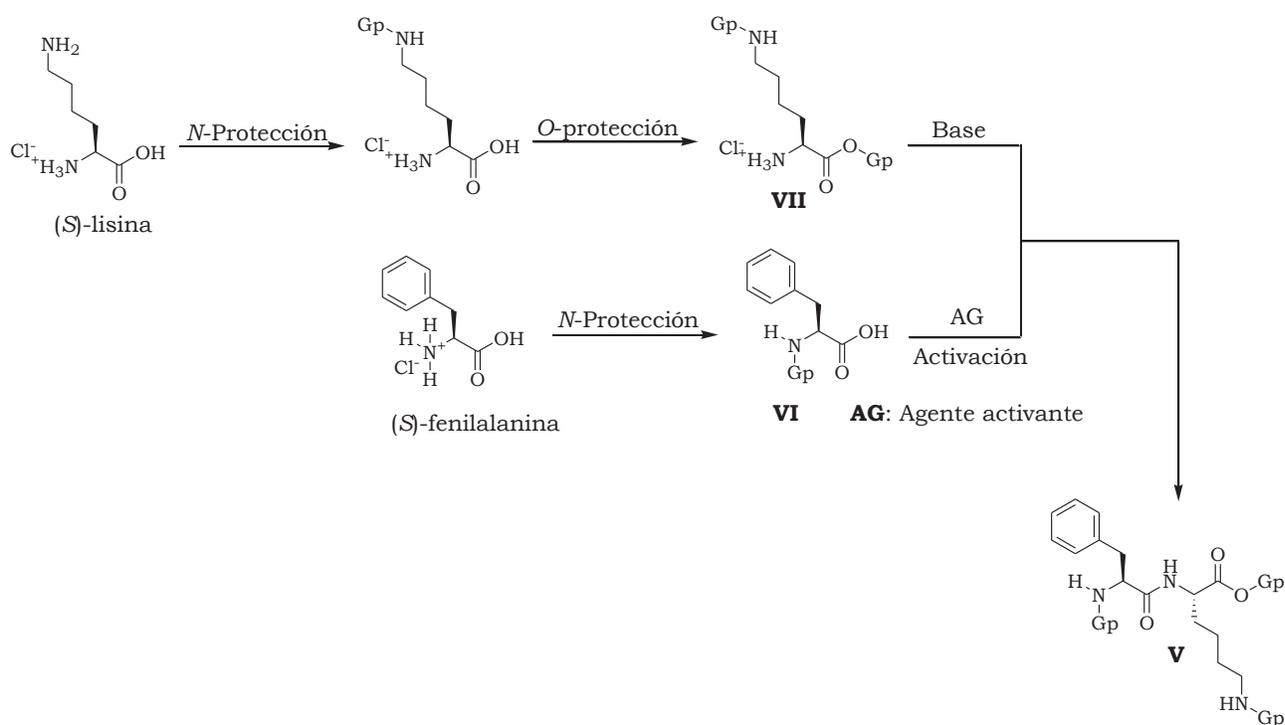


Esquema 18. Análisis retrosintético para la obtención de la dicetopiperazina.

Con base en el esquema retrosintético, se optó por comenzar por la ruta sintética B (Ver esquema 18).

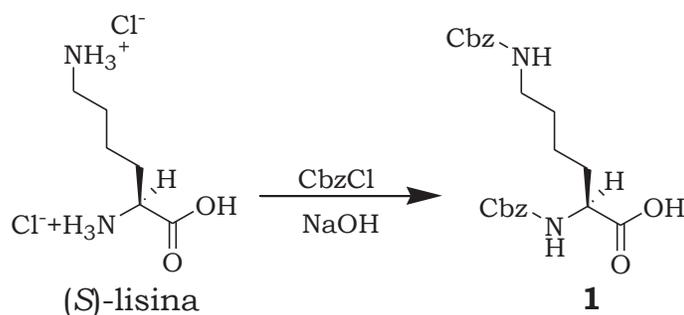
Aunque las amidas simples pueden formarse por la reacción entre aminas y cloruros de ácido, la síntesis de péptidos es más compleja por que deberán formarse enlaces peptídicos en un orden específico y no aleatorio. La solución al problema de la especificidad (quimioselectividad) es la protección de los grupos reactivos que no deberán intervenir en la formación de dicho enlace.

Así entonces se siguió la estrategia sintética bajo el esquema 19.



Esquema 19. Modelo sintético para la obtención de péptidos lineales.

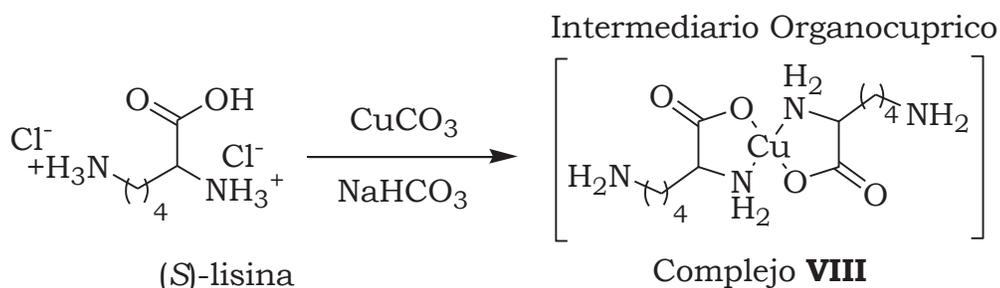
Se procedió a la protección del grupo ϵ -NH₂ (épsilon-amino) de la lisina con cloroformiato de bencilo (CbzCl). Como era de esperarse, puesto que los dos nitrógenos son básicos, la protección del grupo amino ocurrió de forma no selectiva, frente al CbzCl como se muestra en la siguiente esquema (ver esquema 20), observándose la entrada del grupo Cbz en los dos NH₂ de la molécula, mostrando que son químicamente equivalentes. Sin embargo, la síntesis planeada para la dicetopiperacina requiere que la *N*-desprotección una vez hecho el péptido, sea quimioselectiva para liberar el grupo α -amino.



Esquema 20. Protección no selectiva de la (S)-Lisina

Como ya se dijo anteriormente, los dos nitrógenos de la lisina son químicamente equivalentes por lo que se procedió a la búsqueda de un intermediario factible, donde fuera posible la restricción del grupo NH₂ del carbono α y así dejar libre al NH₂ del carbono ϵ para protegerlo selectivamente.

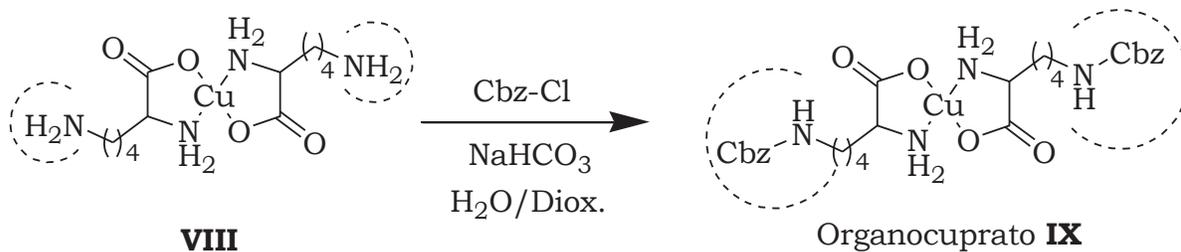
Para introducir un control regioselectivo³¹, en la reacción de protección se planteó el uso de una sal cúprica como CuCO_3 o CuSO_4 que diera lugar a un complejo tetracoordinado⁵¹ entre el grupo COOH y el grupo $\alpha\text{-NH}_2$ de la lisina, acomplejándose con el ion Cu^{+2} y así restringiendo el grupo $\alpha\text{-NH}_2$. Esquema 21.



Esquema 21. Formación de un complejo tetracoordinado.

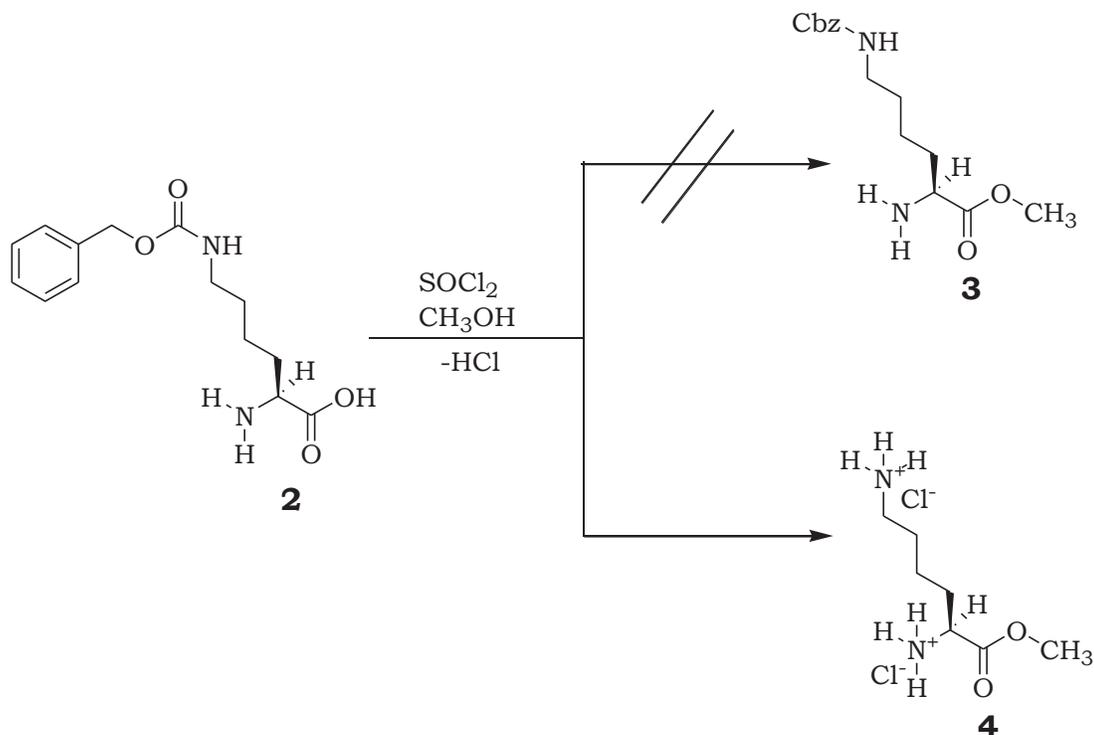
La reacción se llevó a cabo en un medio básico con NaHCO_3 , para lograr perder los protones ácidos de la $2\text{HCl}\cdot(\text{S})\text{-lisina}$; promoviendo la formación del carboxilato (COO^-), el cual deslocaliza su carga negativa a lo largo de los dos oxígenos del grupo carboxilo, con favoreciendo la reacción de complejación entre el ion Cu^{+2} , el grupo $\alpha\text{-NH}_2$ y el CO_2^- **VIII**; en donde se ve imposibilitado el grupo $\alpha\text{-amino}$ para reaccionar frente al grupo protector que está siendo añadido.

A continuación fue añadido el CbzCl a baja temperatura obteniéndose el complejo tetracoordinado de Cu^{+2} **IX** provisto del grupo Cbz en el $\epsilon\text{-NH}_2$ como un polvo azul muy fino. Esquema 22.



Esquema 22. Reacción quimioselectiva de N^ϵ -protección.

Para la destrucción del organocuprato **IX** se pensó en usar un quelato que tuviera mayor afinidad química por el metal, decidiendo utilizar un ligando hexadentado³² de mayor afinidad por el Cu^{+2} . Este fue el EDTA que posee una mayor afinidad que la lisina como quelato por el Cu, liberando el grupo α -amino, y obteniendo así el aminoácido N^ϵ -mono-protegido **2**. Esquema 23.

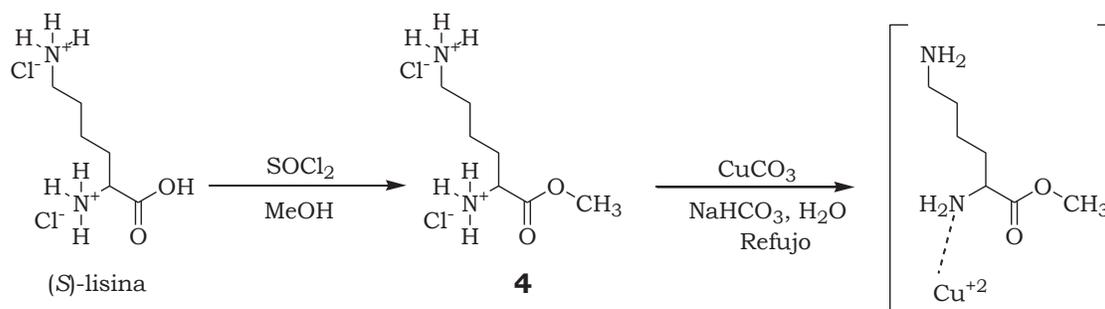


Esquema 24. Esterificación de la (S)-N^ε-Cbz-N^α-NH₂-Lisina **2**.

El resultado de la reacción no fue satisfactorio, ya que en el proceso además de esterificarse el carboxilo, se perdió el fragmento correspondiente al grupo Cbz, debido a que el medio de reacción, que es altamente ácido, provocó la N-desprotección obteniéndose en el crudo de reacción el aminoéster **4**.

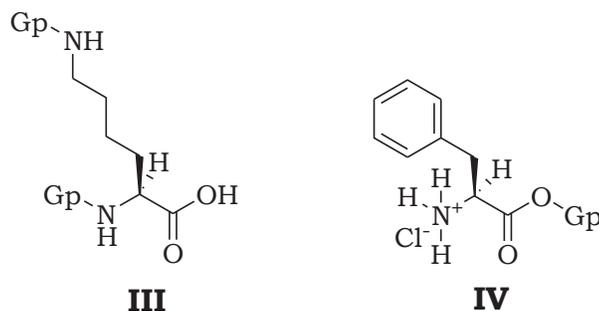
Debido a este inconveniente se pensó en invertir la secuencia de reacciones para la formación del aminoácido diprotegido **3**, llevando a cabo la esterificación de la (S)-lisina, para obtener **4** y posteriormente la N-protección selectiva de la lisina. Sin embargo esto no fue posible ya que al realizar primeramente la

esterificación, no se formaría el complejo organocúprado **VIII** y por tanto no sería posible la protección químiomselectiva del grupo ϵ -NH₂. Esquema 25.



Esquema 25. Formación de un complejo tetracoordinado.

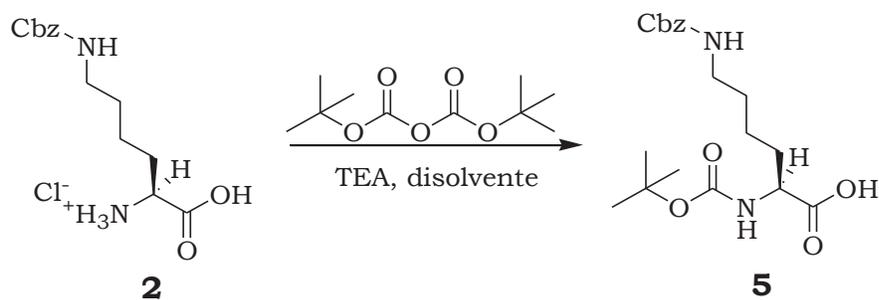
Regresando al análisis retrosintético mostrado en el esquema 20, se optó por iniciar con la ruta A, en la cual la fenilalanina se encuentra *O*-protegida (intermediario **IV**) y la lisina esta *N,N'*-diprotegida selectivamente y con el fragmento ácido libre, intermediario **III**.



Se partió de la lisina de configuración (*S*), haciéndola reaccionar con CuCO_3 en una solución de NaHCO_3 , formando el complejo entre los grupos α -NH₂

y COO^- de la lisina con el ion Cu^{+2} . A continuación se añadió el CbzCl a una temperatura de 0°C , por 12 hs, seguido de la adición de EDTA, obteniendo así el aminoácido N^ϵ -protegido **2**. Mostrado en el esquema 23.

Posteriormente se protegió el grupo $\alpha\text{-NH}_2$ del compuesto **2** utilizando ahora el grupo Boc como grupo protector. Para ello se empleó $(\text{Boc})_2\text{O}$ en las condiciones de reacción mostradas en la tabla 1, obteniéndose $(S)\text{-}N^\epsilon\text{-Cbz-}N^\alpha\text{-Boc-Lisina}$ **5** como un aceite amarillo translucido.

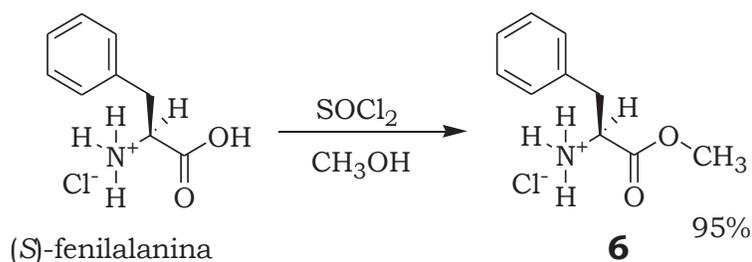


Ensayo	Disolvente	Rto. %
1	DMF	37
2	MeOH	88
3	MeOH: <i>t</i> -BuOH	95

Tabla 1. Protección del grupo $\alpha\text{-NH}_2$ de $(S)\text{-}N^\epsilon\text{-Cbz-}N^\alpha\text{-NH}_2\text{-Lisina}$ **2**.

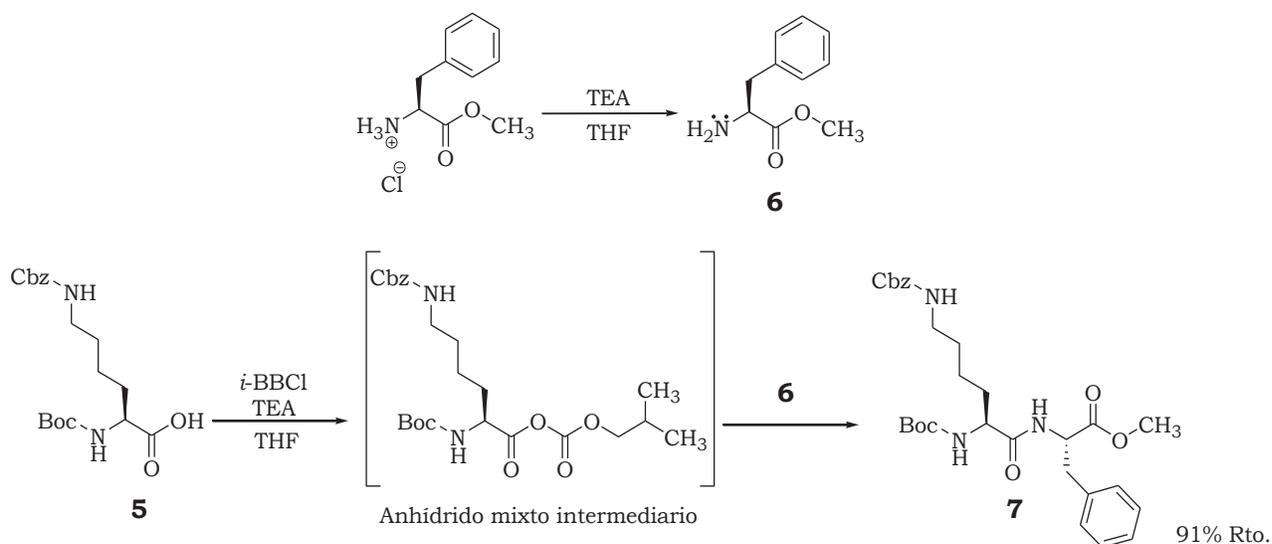
Como se puede observar la protección llevada a cabo en condiciones básicas y con DMF como disolvente da en rendimientos muy pobres; mientras que al utilizar metanol y una mezcla $\text{MeOH}/t\text{-BuOH}$ se obtiene el producto de reacción **5** con rendimientos cuantitativos.³⁴

Por otro lado la (S)-fenilalanina se sometió a una reacción de esterificación con MeOH y catalizada con SOCl₂ a una temperatura de 0°C. La factibilidad de esta reacción es posible, dado que el intermediario formado es altamente reactivo, además de que el MeOH se encuentra en exceso actuando como reactivo y disolvente, desplazando el equilibrio hacia el producto de reacción observándose rendimientos excelentes. Esquema 26.



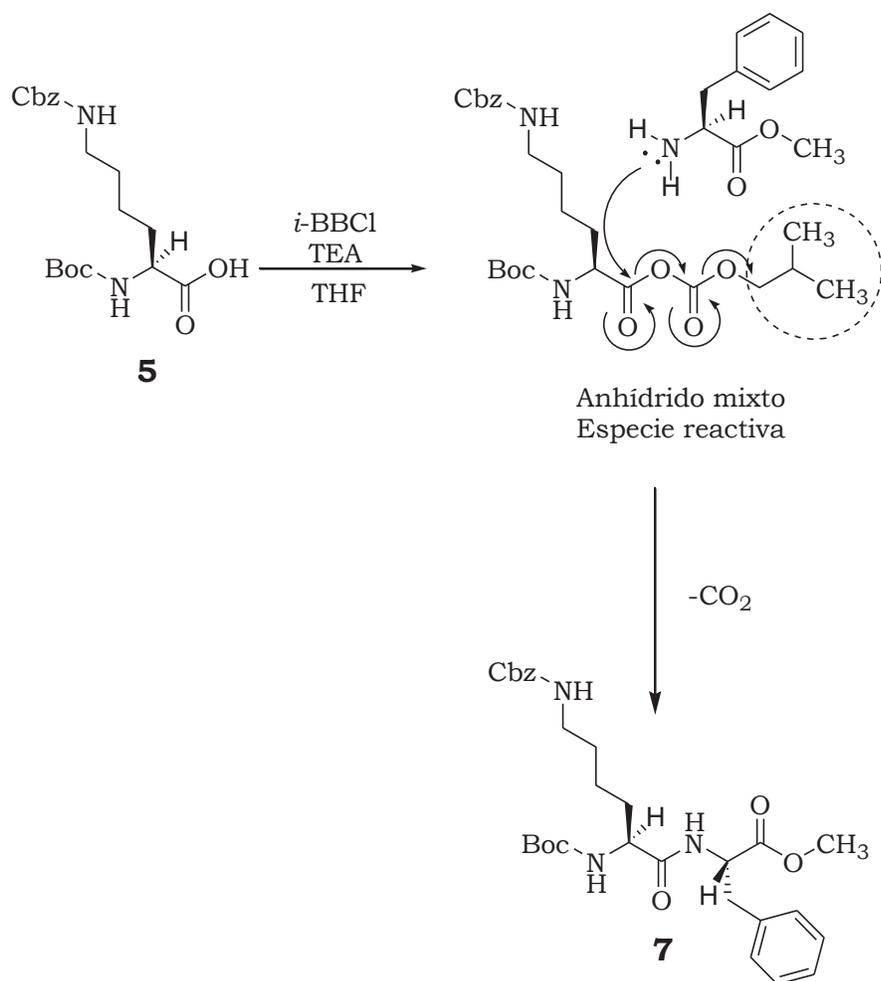
Esquema 26. Esterificación de (S)-fenilalanina.

Una vez que fueron protegidos los aminoácidos que participarán en la reacción de formación del péptido lineal **7**, se procedió a tratar el amino éster metílico de fenilalanina **6** con TEA como base y THF como disolvente, para llevarlos a la formación del anión correspondiente y así favorecer la reacción de condensación intermolecular con el grupo carboxilo de la N^ε-Cbz-N^α-Boc-Lisina-OH **5**. Esquema 27.



Esquema 27. Síntesis del péptido (*S,S*)-*N*^α-Cbz-*N*^ε-Boc-Lis-Fen-OMe **7**.

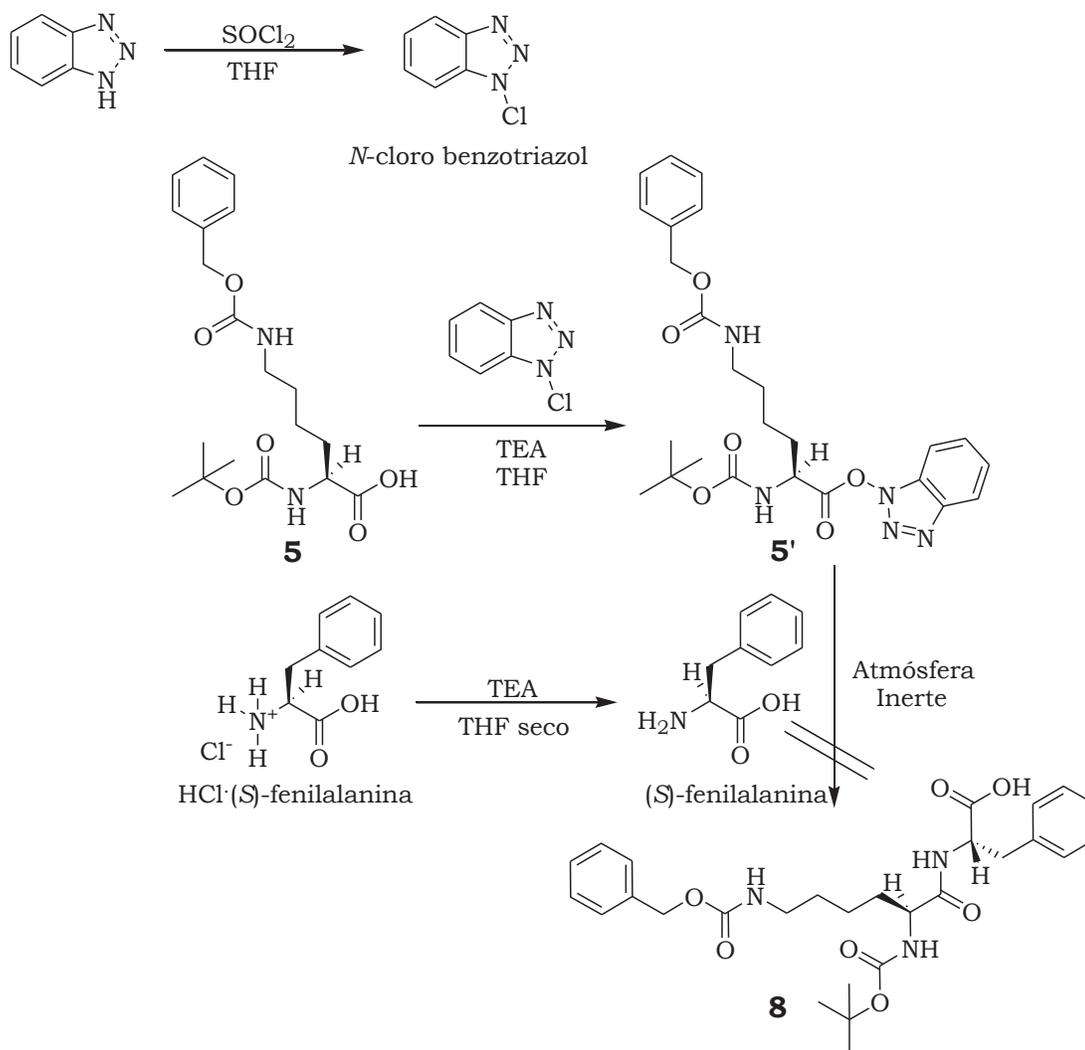
En este proceso fue necesario activar el grupo carboxilo del aminoácido **5**, por medio de la formación del anhídrido mixto (especie reactiva) seguido de un ataque nucleofílico por parte del aminoéster **6** (Esquema 28) que lleva a la formación del péptido protegido lineal **7**. Esta reacción demostró gran factibilidad de ser, ya que si se analiza con detenimiento, el anhídrido mixto formado posee un volumen estérico considerable sobre el centro electrofílico del carbonilo proveniente del cloroformiato, lo que hace menos probable obtener el producto de la transesterificación. Por lo que la reacción se ve limitada a transcurrir hacia la obtención del péptido buscado.



Esquema 28. Mecanismo del ataque nucleofílico sobre el anhidrido mixto.

Es necesario subrayar que en un intento por disminuir el número de etapas de la síntesis del α,α -dipéptido libre (*S,S*)-*N*^α-Cbz-*N*^ε-Boc-lisil-fenilalanina **8** y además, mejorar el rendimiento global, se ensayó la reacción de acoplamiento para el aminoácido (*S*)-*N*^α-Cbz-*N*^ε-Boc-Lisina **5** vía el éster activo derivado de benzotriazol **5'** ^{7,32} (Esquema 29). Como se puede observar la reacción no procedió en la forma esperada, ya que por cromatografía en capa fina se observaron solo

productos de descomposición haciéndose impráctica y de poca utilidad para la preparación del dipéptido.

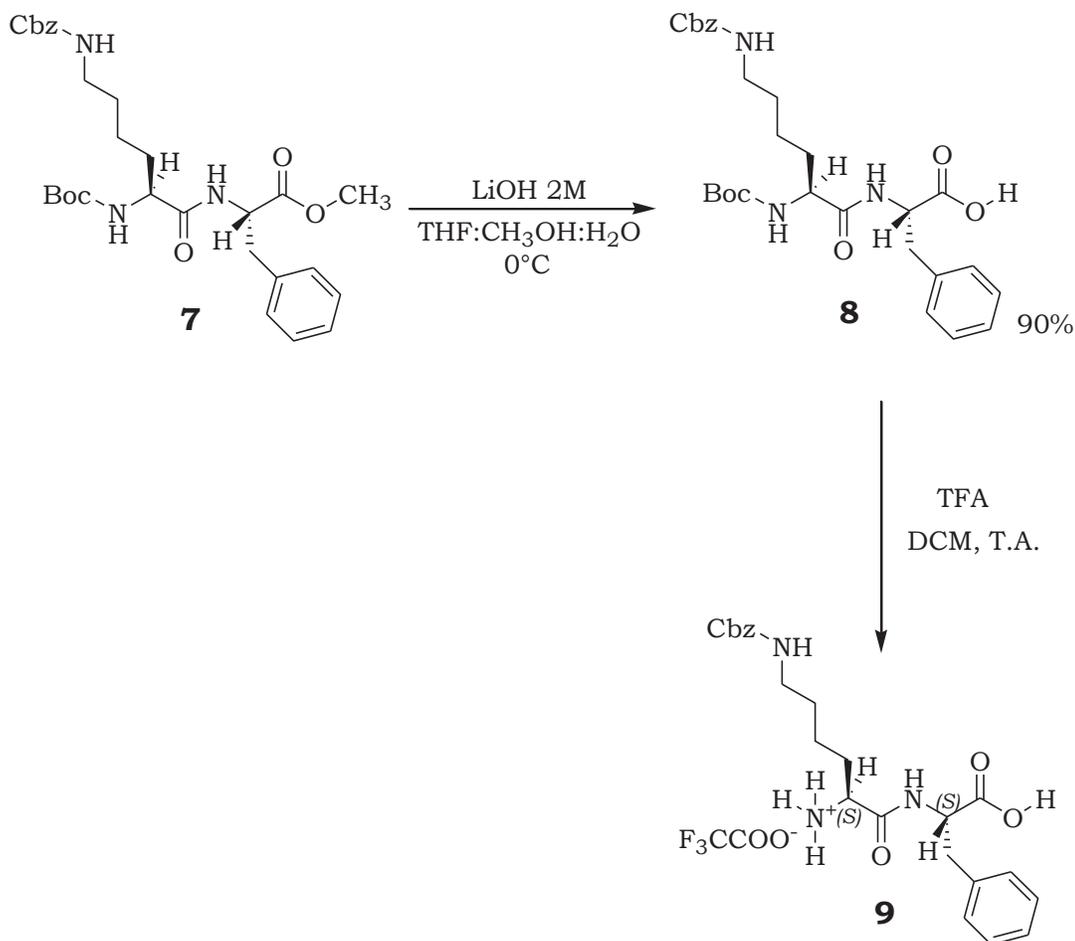


Esquema 29. Reacción de acoplamiento vía el éster activo de benzotriazol.⁷

En esta metodología se preparó el éster **5'** tratando al aminoácido *N,N'*-diprotegido **5** con *N*-cloruro de benzotriazol proveniente de la reacción entre el Btz y SOCl_2 como se muestra en el esquema 29. Esta metodología suponía la “ventaja” de añadir el segundo residuo de aminoácido totalmente desprotegido lo

que en un principio sugería que la reacción era sencilla y fácil de realizarse. El hecho de que la reacción no procediera, reflejo la complejidad y la no de trivialidad de trabajar con una molécula di-prottegida como la (S)- N^α -Cbz- N^ϵ -Boc-Lisina **5**.

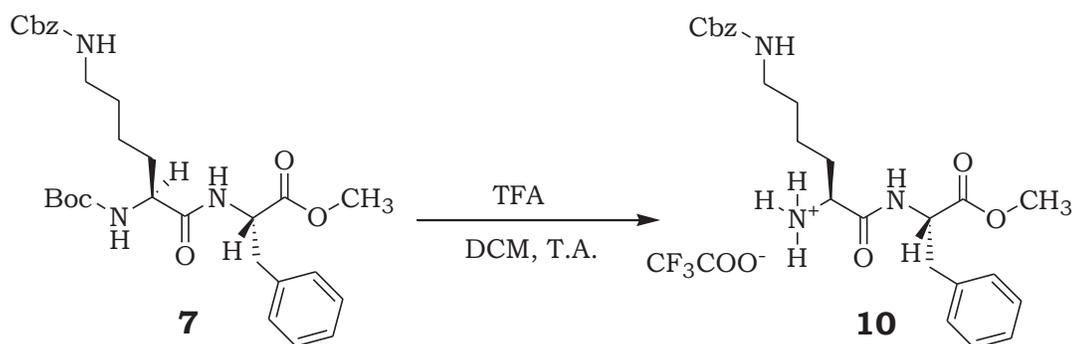
Siguiendo con la ruta sintética el siguiente paso era la eliminación de los grupos protectores tanto en el α -amino y el carboxilo terminales del dipéptido **7**. Para ello se sometió a condiciones de hidrólisis alcalina por medio del tratamiento con LiOH al 2M en una mezcla de disolventes compuesta por THF, MeOH y H₂O en una relación 25:3:0.1 a 0°C, obteniéndose el dipéptido diprottegido N^ϵ -Cbz- N^α -Boc-lisil-fenilalanil-OMe **8**. Posteriormente el producto crudo se hizo reaccionar con ácido TFA en DCM a 0°C. Cabe destacar que no fue posible la purificación del compuesto **9**, observándose solamente productos de descomposición, después de realizar la purificación por columna cromatografica. Esquema 30.



Esquema 30. Reacciones selectivas de O-desprotección y N-desprotección.

Se pensó entonces en invertir el orden de desprotección comenzando ahora con la N-desprotección, esto con la finalidad de obtener el éster metílico del péptido **7**, el cual nos serviría posteriormente para llevar a cabo la ciclación. El grupo (Boc) se eliminó bajo condiciones de desprotección en medio ácido, por tratamiento con 25 eq de TFA y DCM como disolvente a T.A. obteniéndose la sal trifluoroacética del péptido (S,S)-N^ε-Cbz-N^α-NH₂-Lisil-fenilalanil-OMe **10**, con un porcentaje de conversión cuantitativo. Esquema 31. Destaca mencionar que se

hicieron varios intentos para la desprotección de este grupo, ya que inicialmente se utilizaron 3eq. de TFA y posteriormente con 5eq, 10eq, 15eq. No fue sino hasta 25eq donde se observó el producto de reacción como un aceite de color ámbar, lo que nuevamente reflejo que las particularidades de trabajar con una molécula polifuncionalizada como el dipéptido tri-protegido **7**.



Esquema 31. Obtención de la sal trifluoroacética del dipéptido **7**.

El compuesto **10** se sometió a purificación por cromatografía en columna, no obstante no fue posible esta purificación seguramente a la afinidad que existe del grupo α -NH₂ en su forma catiónica por la sílice. Por esta razón, el péptido **10** se utilizó en la siguiente reacción sin previa purificación.

Otro factor que influyó en esta decisión fue que en el espectro de RMN de ¹H se observa el producto de reacción **10** con pequeñas impurezas. Figura 22. Como puede apreciarse en el espectro se observa la desaparición de la señal correspondiente al grupo Boc aproximadamente en 1.4 ppm (teniendo la certeza de que el Boc ha sido removido del dipéptido **7**), así mismo se observa que se

mantuvieron las señales clave de este compuesto entre las que se enumeran las siguientes: las correspondientes a los hidrógenos del grupo OCH₃ en δ de 3.63 ppm; de 1.2 a 1.8 ppm, los H's 9,10 y 11; de 3.0 a 3.2 ppm se aprecian los hidrógenos 4' y 8; en 3.8 y 4.2 ppm el H-7; 4.8 se observa H-4; en 5.02 ppm los hidrógenos correspondientes al CH₂ del grupo Bn del Cbz; en 5.88 y 6.28 ppm, los hidrógenos de los NH correspondientes a las amidas. Figura 22.

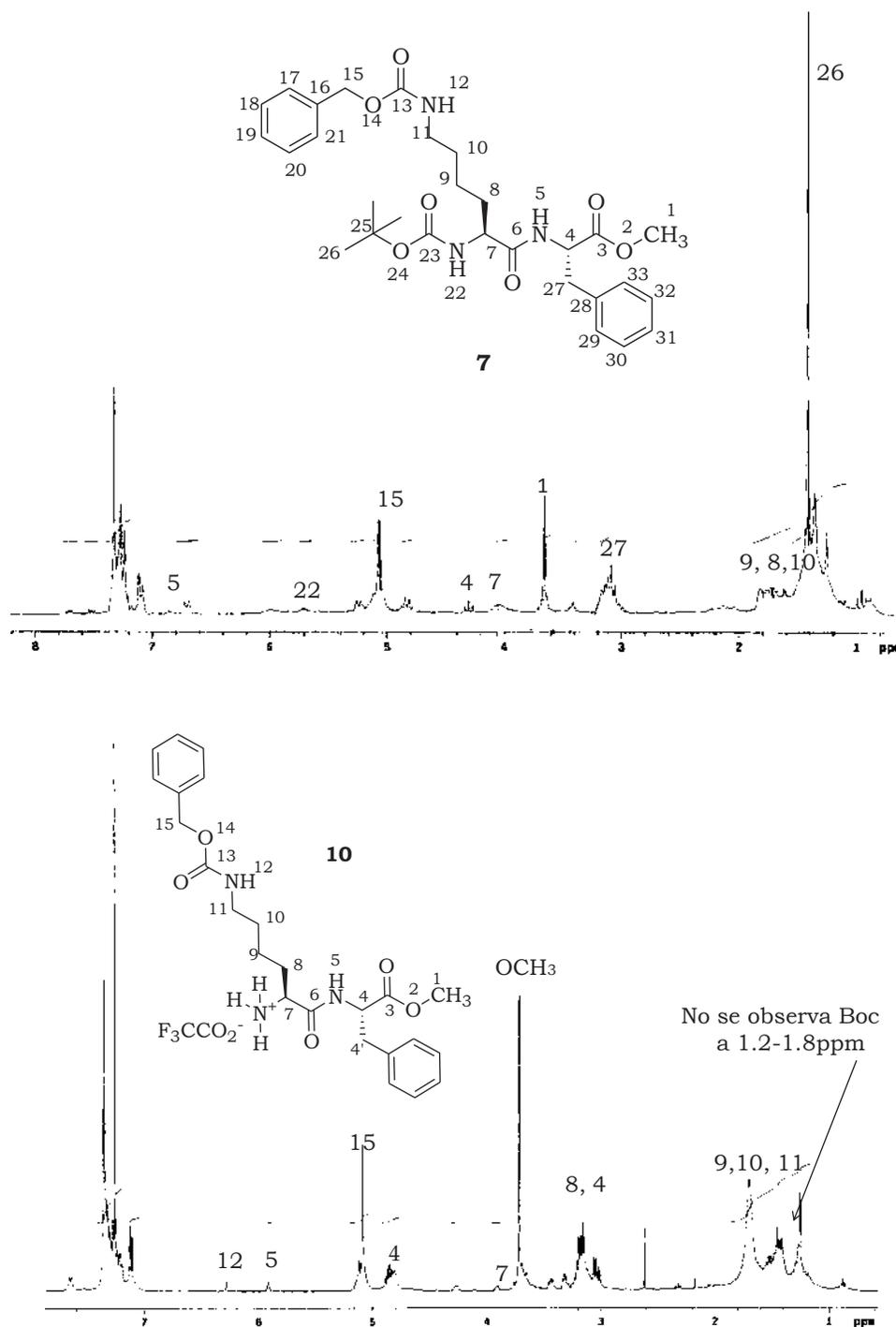
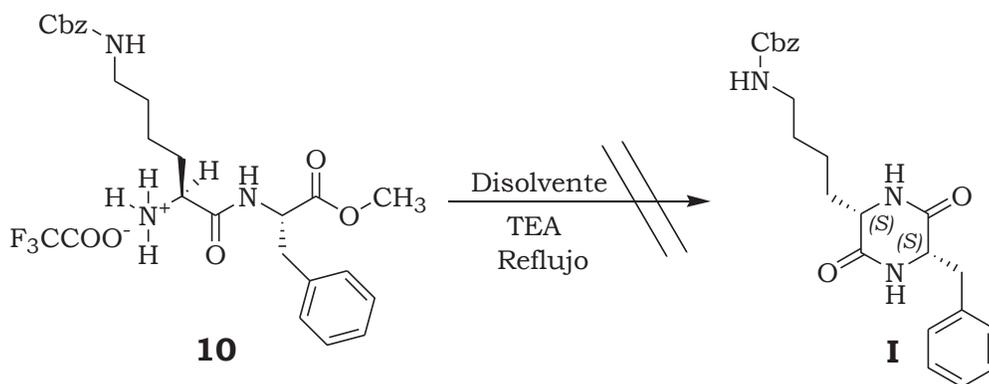


Figura 22. Espectros de RMN de ¹H de los intermediarios péptidicos **7** y *N*^ε-Cbz-*N*^α-NH₂-lisisil-fenilalanina-OMe **10**.

Ciclación de (S,S)-N^ε-Cbz-N^α-NH₂-lisil-fen-OMe **10**

Una vez obtenido el precursor peptídico lineal se procedió a la búsqueda de condiciones idóneas para la ciclación del compuesto **10** y obtener así el ciclopeptido **I**.

Al realizar una búsqueda bibliográfica se encontró que uno de los métodos reportados era vía una reacción de condensación intramolecular termolítica de ésteres derivados de α -dipéptidos lineales.³⁷ Por tanto, se hizo reaccionar el éster metílico del péptido **10** en reflujo de metanol, y usando TEA como base.^{42, 55} (ensayo 1), Tabla 2. Como se puede apreciar la reacción no procedió, por lo que se pensó en cambiar el MeOH por un disolvente con un punto de ebullición más alto como el MeCN y/o tolueno (ensayos 2 y 3, Tabla 2) no observándose un resultado positivo para la conversión de la materia prima y recuperándose esta por completo. Se intento además la reacción en condiciones de microondas (ensayo 5 y 6) y de igual manera que para los otros casos no se observó el compuesto buscado, recuperándose en su totalidad la materia prima.

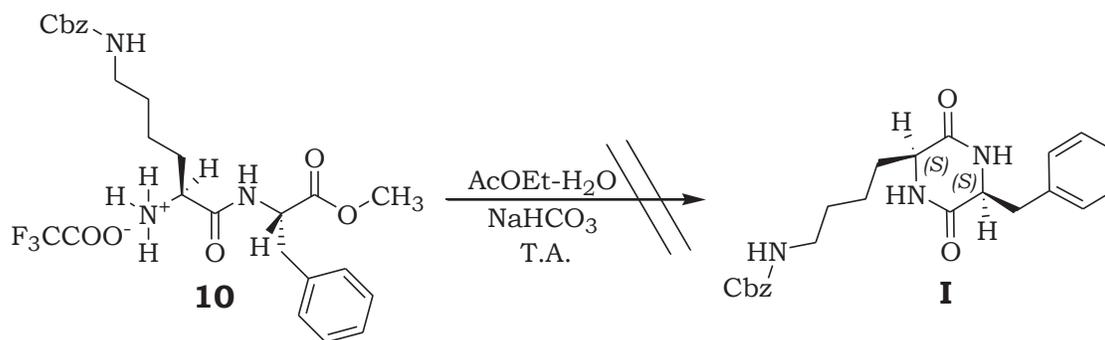


Ensayo	Condiciones	Disolvente	Rendimiento
1	Reflujo	Metanol	No Reacciona
2	Reflujo	Acetonitrilo	No Reacciona
3	Reflujo	Tolueno	No Reacciona
5	M.O 250 watts	Acetonitrilo	No Reacciona
6	M.O 250 watts	Tolueno	No Reacciona

Tabla 2. Ciclación de la sal trifluoroacética del éster metílico del α,α -dipéptido **10** con distintos disolventes.

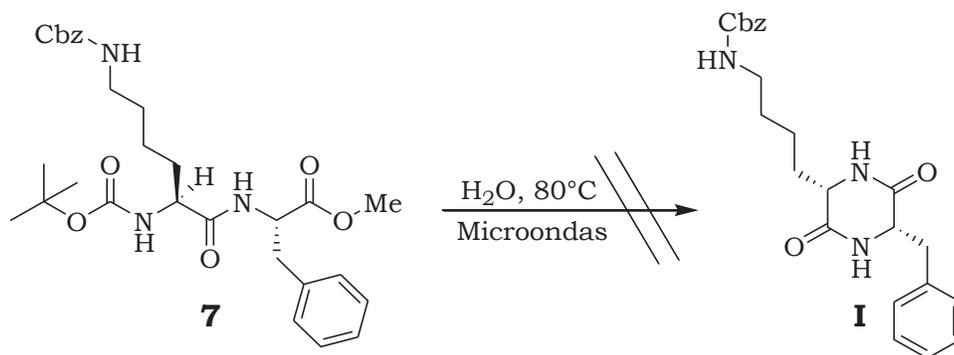
Fue al no obtener el péptido cíclico **I** que se consideró el uso de diferentes bases como la DEA, DIEA y K_2CO_3 usando como disolvente MeCN ya que en la literatura se presume como el mejor disolvente para favorecer la reacción. En este caso tampoco procedió la reacción, recuperándose en su totalidad la materia prima.²⁷

También se realizó la reacción de ciclación para **10** empleando $NaHCO_3$ (aq) al 2M como base, en AcOEt y temperatura ambiente por 72 hs.¹¹ La reacción no procedió. Esquema 32.



Esquema 32. Ciclación del α,α -dipéptido en medio acuoso y temperatura ambiente.

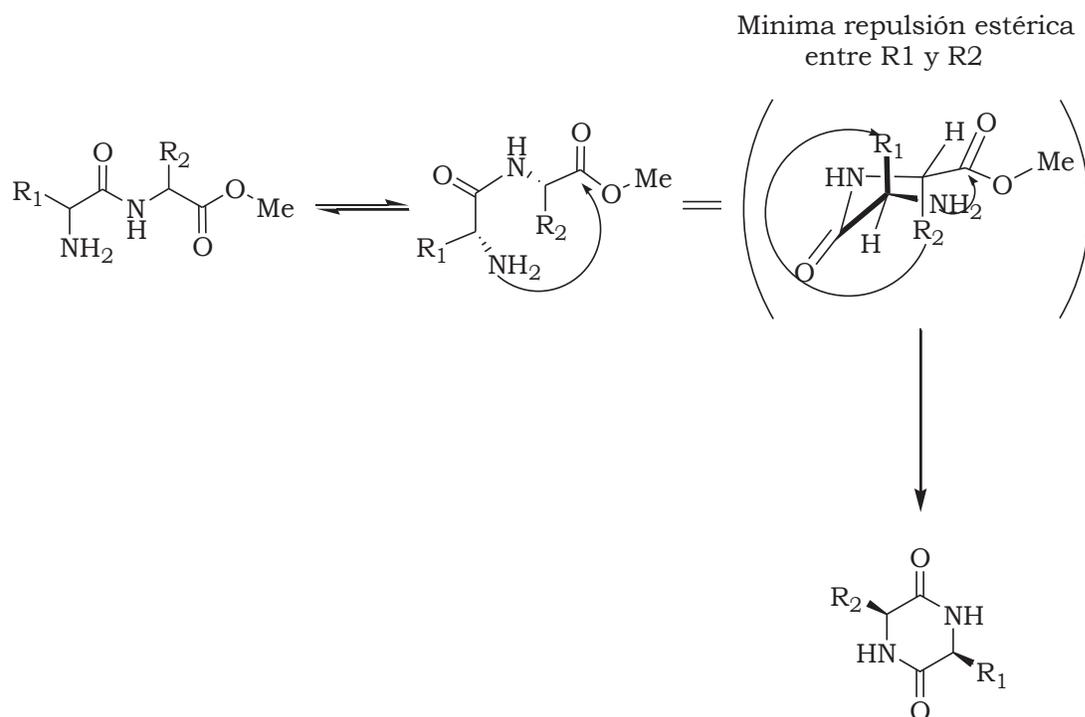
Reciente se publicó la síntesis de dicetopiperazinas en medio acuoso, asistido por radiación de microondas.³⁶ Tomando como base este trabajo, se intentó la reacción con nuestro péptido **7** en medio acuoso, a 250 watts y 80°C de temperatura durante 40 minutos, como se muestra en el esquema 33. Lamentablemente, en este caso tampoco se observó progreso en la reacción, recuperándose la materia prima.



Esquema 33. Ciclación en medio acuoso y radiación de microondas.

Es muy probable que la reacción no ocurriera debido a que la geometría exigida para la ciclación no se alcance por el péptido bajo el argumento de que no hay la suficiente cercanía de los grupos funcionales. Naturalmente, el proceso es desfavorable ya que los grupos R de los aminoácidos (R₁ y R₂) generan una gran repulsión estérica en el estado de transición. Tal como se muestra en el

mecanismo para la formación de dicetopiperazinas. Muy seguramente, a consecuencia de que el grupo R de la lisina al ser una cadena lineal, se encuentra perturbada por la agitación térmica lo que impide el estado de mínima repulsión requerido para su acercamiento del grupo amino.⁴⁰ Esquema 34.



Esquema 34. Geometrías requeridas para la formación de las dicetopiperazinas.

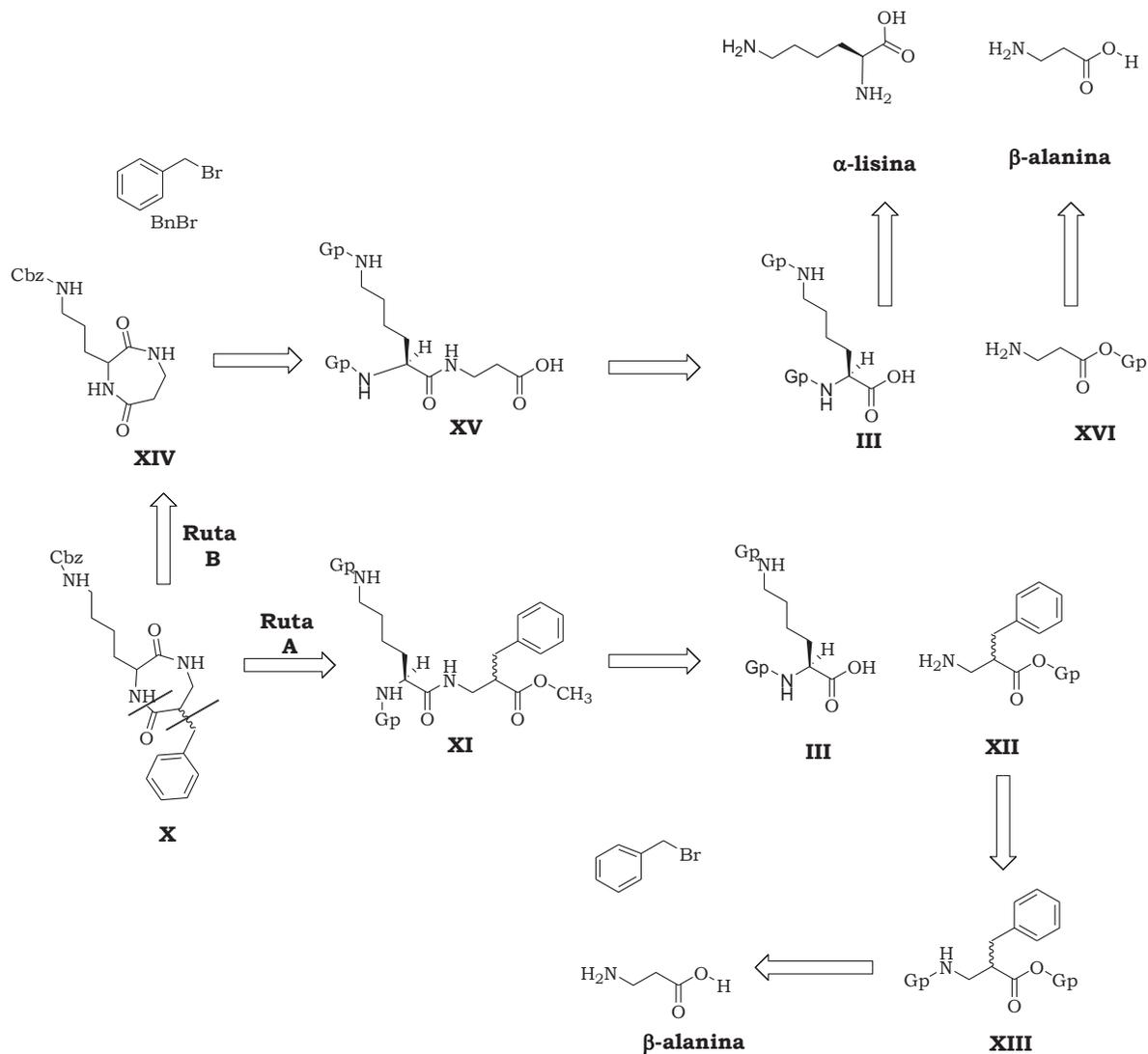
Síntesis del Ciclo-(S)-N^ε-Cbz-N^α-NH₂-lisi-β-homofenilalanina-OMe

Una vez conocido el comportamiento de la (S)-lisina y el método de acoplamiento más adecuado en la síntesis de α-péptidos, surgieron las siguientes preguntas:

- ¿Qué ocurrirá si en la síntesis del dipéptido, tanto lineal como cíclico (diazepindiona), se cambia un α -aminoácido por su análogo β -aminoácido?
- Más específicamente, ¿la α -fenilalanina por β -homofenilalanina?
- ¿Procederá la condensación intermolecular y formación del primer enlace péptidico?
- ¿La conformación del α,β -dipéptido lineal formado favorecerá la ciclación del compuesto?

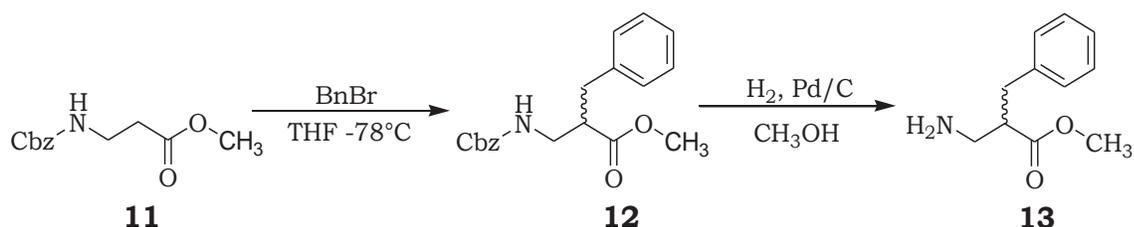
Para tratar de contestar estas preguntas se comenzó por el planteamiento de la ruta de síntesis a seguir mediante un el análisis retrosintético del *Ciclo (S)-N^ε-Cbz-lisil- β -fenilalanina*, Esquema 35.

Como lo muestra el esquema 35 existen también dos rutas posibles para la obtención de nuestra molécula blanco (Ruta A y B). En la ruta A la diazepindiona proviene del dipéptido (S)-N^ε-Gp-N^α-Gp-lisil- β -homofenilalanina-OGp lineal(intermediario **XI**), que a su vez se puede obtener por condensación de (S)-lisina diprotendida **III** y β -homofenilalanina O-protendida **XII**. En la ruta B, nuestra molécula blanco proviene de la α -bencilación selectiva del fragmento de β -alanina del ciclo α,β -dipéptido **XIV**; y este último se genera a partir del α,β -dipeptido protegido **XV**, el cual proviene de la (S)-lisina y la β -alanina o ácido β -aminoprónico.



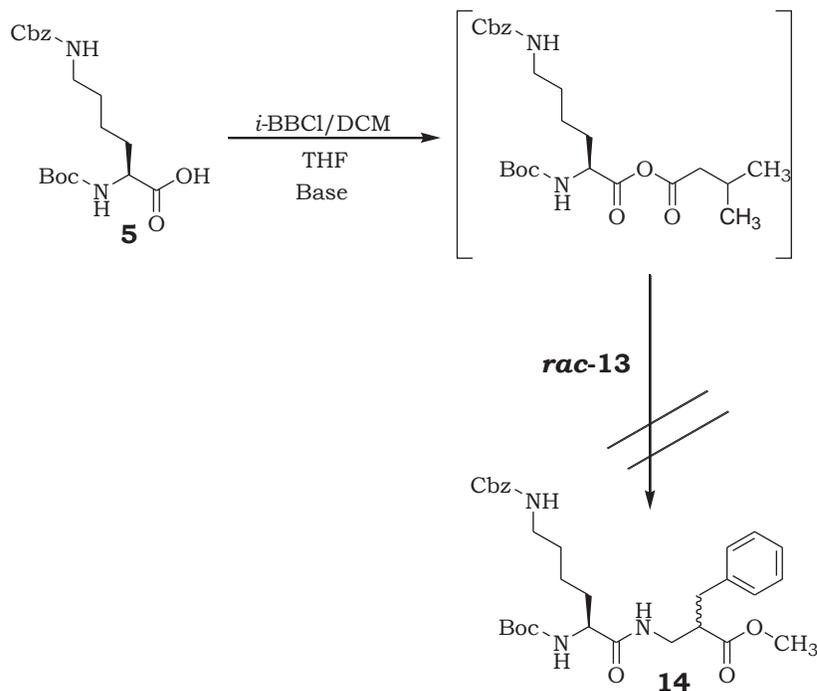
Esquema 35. Análisis retrosintético para la obtención de la 1,4-diazepin-2,5-diona.

Iniciada la síntesis de los intermediarios se partió de la alquilación de la N^β-Cbz-β-alanina-OMe **11** por medio del tratamiento con BnBr, en THF, y *n*-BuLi bajo atmósfera de nitrógeno a -78°C, para obtener el (*rac*)-N^β-Cbz-α-bencil-β-alanina en 81% de rendimiento. Posteriormente, (*rac*)-**12** fue sujeto a una reacción de hidrogenólisis en MeOH y catalizada por Pd/C al 10% con la finalidad de eliminar el grupo Cbz y así obtener (*rac*)-**13**. Esquema 36.



Esquema 36. Síntesis del éster metílico de la α-bencil-β-homofenilalanina.

El producto de la reacción de *N*-desprotección **13** y la (*S*)-lisina *N,N*-diprotégida **5** fueron tratados con el método de condensación o acoplamiento por medio de la activación del carboxilo por formación del anhídrido mixto derivado del *i*-BBCl y utilizando como base la TEA. Sin embargo la reacción no generó el producto esperado **14**. Por lo que se intentó otro método de acoplamiento, haciendo uso de condiciones de reacción inertes así como una mezcla de disolventes anhidros y utilizando como base NMM tal como se muestra en el esquema 37, de donde, no se generó el α,β-dipeptido diprotégido **14**.⁴⁰

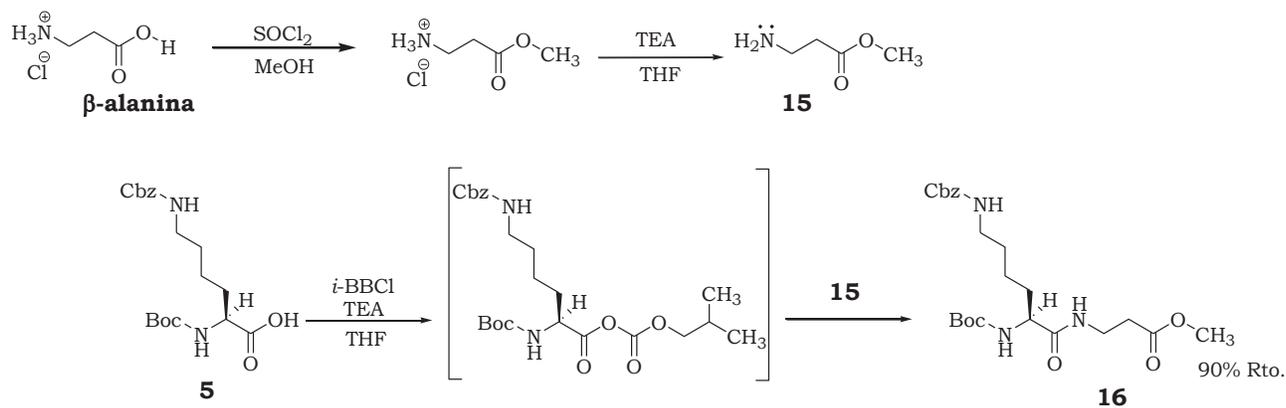


Esquema 37. Intento de la obtención de (S)-N^ε-Cbz-N^α-Boc-lisil-β-homofenilalanil-OMe.

Un análisis de los productos de reacción nos muestra principalmente la transesterificación para ambos casos del β-aminoácido y la hidrólisis parcial de los grupos Boc y Cbz de la (S)-lisina diprottegida **5**.

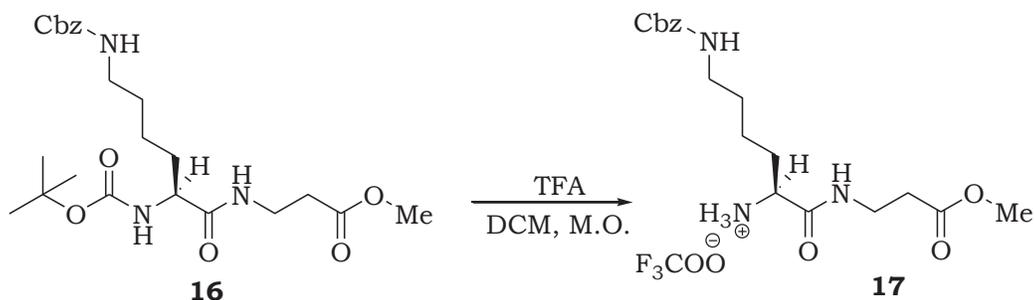
Se decidió entonces seguir la ruta B del esquema retrosíntetico 38 partiendo de la esterificación de la β-alanina con MeOH y SOCl₂ como catalizador para dar **15** (esquema 38), seguida de la reacción de acoplamiento con **5** y con *i*-BBCL como agente activante. La reacción procedió exitosamente dando el producto (S)-N^ε-Cbz-

N^α -Boc-lisil- β -alaninaOMe **16** en alta pureza y con un rendimiento del 90 %, por lo que no fue necesaria su posterior purificación.



Esquema 38. Obtención de (*S*)- N^ϵ -Cbz- N^α -Boc-lisil- β -fenilalanil-OMe **16**.

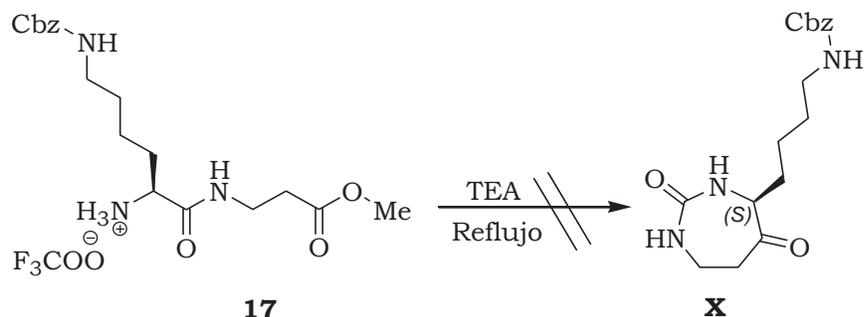
La N -Boc desprotección del α,β -dipéptido **16** se hizo como la reportada para su análogo **7**. Debido a que se observa varios subproductos de reacción, se procedió a utilizar la radiación de microondas, en donde la mayoría de los casos, la reacción transcurre de forma limpia y en tiempos cortos de reacción;⁴¹ así entonces **16** se trató con TFA en DCM como disolvente a una potencia de 250 watts y un suave reflujo, lográndose un porcentaje de conversión total. Esquema 39.



Esquema 39. Reacción de *N*-Boc desprotección en TFA/DCM en microondas.

Una vez obtenida la sal trifluoroacética del péptido (*S*)-*N*^ε-Cbz-*N*^α-Boc-Lis-β-ala-O-Me **16** el paso decisivo era la ciclación intramolecular de **17** para obtener la diazepindiona **X**. Para ello se llevaron a cabo una serie de reacciones de ciclación, empleando diferentes condiciones reportadas en la literatura y haciendo modificaciones a estas últimas teniendo siempre la precaución de cambiar solo una variable por ensayo.

En este contexto, se sometió el éster metílico del (*S*)-*N*^ε-Cbz-*N*^α-NH₃⁺.CF₃COO⁻-Lis-β-ala-O-Me **17** a reflujo tradicional o reflujo en microondas (M.O.) de metanol, acetonitrilo y de tolueno en TEA y analizando también diferentes tiempos de reacción, no obteniéndose el compuesto buscado, para los 5 ensayos realizados. Tabla 3.

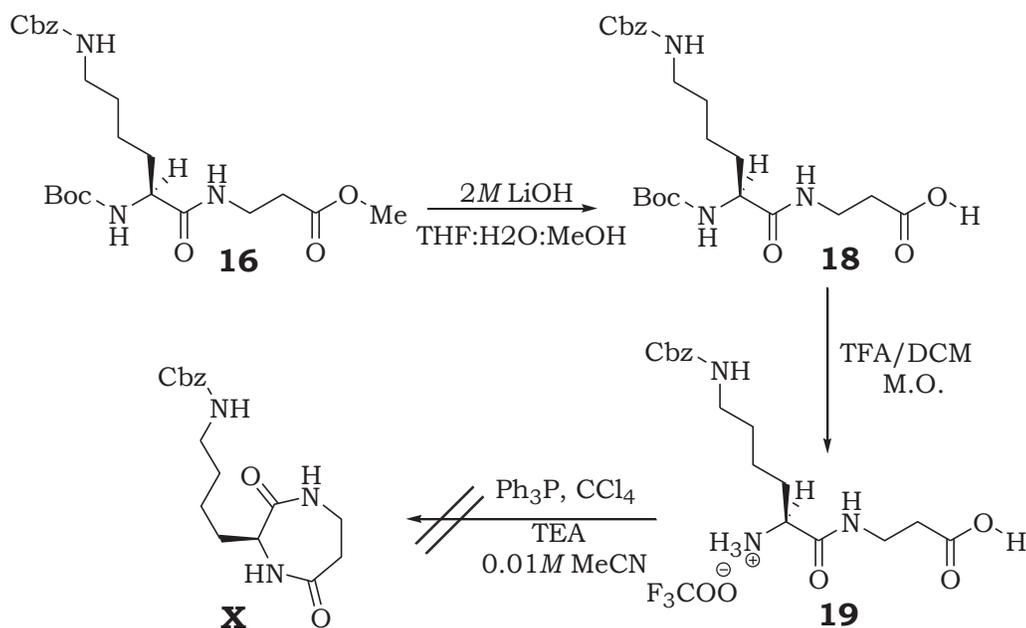


Ensayo	Condiciones	Disolvente	Tiempo	Resultado
1	Reflujo	Metanol	24hr's	No reacciona
2	Reflujo	Acetonitrilo	24hr's	No reacciona
3	Reflujo	Tolueno	24hr's	No reacciona
4	M.O 250 watts	Acetonitrilo	1hr	No reacciona
5	M.O 250 watts	Tolueno	1hr	No reacciona

Tabla 3. Ciclación de la sal trifluoroacética del α,β -dipéptido **17**.

No fue sorprendente que la reacción no procediera convenientemente en los casos arriba descritos, ya que la formación de los anillos de siete eslabones no se ven favorecidas por razón de que la agitación térmica favorece a la forma abierta (lineal) sobre la forma cíclica.

Así entonces se procedió a la activación del grupo carboxilo con grupos más reactivos que el éster $-\text{OMe}$ bajo la siguiente estrategia sintética.⁴² Esto tratando de facilitar la adición del amino terminal del compuesto **17** al carbonilo terminal de este mismo, favoreciendo la ciclación.

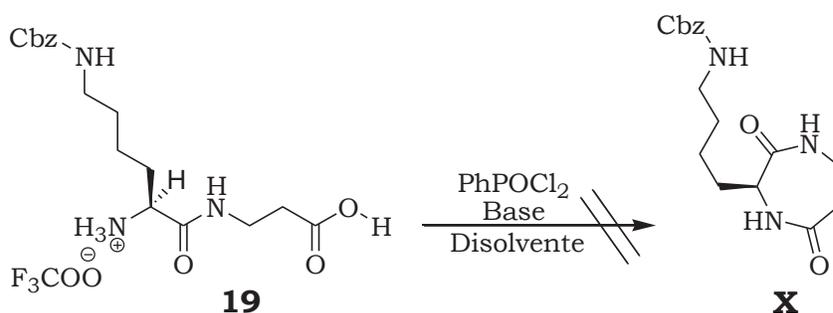


Esquema 40. Intento de ciclación de la sal trifluoroacética de (S)- N^ϵ -Cbz- N^α -NH₂-Lis- β -ala-OH **19**.

Inicialmente se hidrolizo el péptido (S)- N^ϵ -Cbz- N^α -Boc-Lis- β -ala-OMe **16** en condiciones alcalinas para así obtener el grupo carboxilo libre que posteriormente fue protonado obteniéndose así **18**. Consecutivamente se desprotegió del grupo (Boc) en TFA/DCM en microondas lográndose el péptido (S)- N^ϵ -Cbz- N^α -NH₃⁺·CF₃COO⁻-Lis- β -ala-OH **19**. Habiendo hecho esto se activo el COOH con Ph₃P (trifenilfosfina) disuelta en tetracloruro de carbono (CCl₄) y TEA como base, tal mezcla se llevo a reflujo de acetonitrilo. Bajo estas condiciones la reacción no ocurre, seguramente a que el intermediario reactivo no se genera en el matraz de reacción, tal como se muestra en el esquema 40.

Dado que la reacción no procedió con Ph_3P como agente activante, se tomó la decisión de probar con otros agentes activantes derivados de fósforo; uno de ellos fue el PhPOCl_2 (óxido de diclorofenilfosfina).

La reacción se realizó con TEA ó DIEA como base, en reflujo de tolueno ya sea en condiciones de reacción convencionales así como con radiación de microondas. En ninguno de los casos la reacción procedió, recuperándose la materia prima en un rendimiento aproximado del 50 %.⁴⁰ Tabla 6.



Ensayo	Base	Disolvente	Condiciones	Resultado
1	TEA	Tolueno	Reflujo	Recuperación de la
2	DIEA	Tolueno	Microondas	materia prima 50%

Tabla 4. Intento de ciclación con PhPOCl_2 .

Como se puede observar a lo largo de la discusión del presente trabajo, la ciclación de los compuestos peptídicos no es una tarea fácil ni mucho menos trivial.

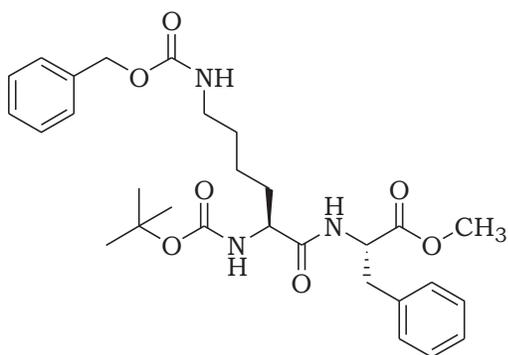
Debemos considerar que la formación de los péptidos cíclicos no ocurre debido probablemente a que la forma lineal esta favorecida sobre la forma cíclica, además se advierte que un carbono alifático más en la cadena peptídica le provee a la molécula un número mayor de conformaciones estables en su forma abierta.

Los resultados expuestos, también se explican tomando encuentra que los péptidos se encuentran en su forma isomérica *trans* que es la de mayor estabilidad y que la formación de un péptido cíclico exige que la porción rotamérica gire al rotámero *cis* el cual presenta interacciones desfavorables. A este impedimento de tipo rotacional se le atribuye la estabilidad las formas peptídicas lineales.

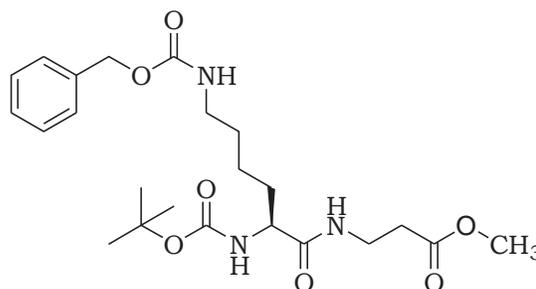
Además, se deben tomar en cuenta varios factores indispensables antes de comenzar con el trabajo experimental, primeramente las características individuales de cada aminoácido que interviene en la formación del péptido lineal, la buena selección del agente activante, que es determinante en la síntesis peptídica, y por último; el mismo péptido lineal formado.

CONCLUSIONES

- Se sintetizaron y elucidaron los dipéptidos protegidos:



(S,S)-N^ε-Cbz-N^α-Boc-lisil-fenilalanil-OMe



(S)-N^ε-Cbz-N^α-Boc-lisil-β-fenilalanil-OMe

- Se probaron diversas metodologías para la ciclación de los péptidos lineales.
- Se concluyó también que para la ciclación de los compuestos peptídicos deberán tenerse en cuenta factores como:
 - ✓ Características individuales de cada aminoácido
 - ✓ Factores estéricos y estereoelectrónicos
 - ✓ Selección del agente activante para el carbonilo

PARTE EXPERIMENTAL

Características generales

Los disolventes cuando fue necesario se destilaron en torre de vigreux y se secaron antes de su uso según las técnicas habituales, THF y tolueno se destilaron sobre sodio metálico. El DCM se destiló sobre P_2O_5 y se guardó en un matraz bajo atmosfera inerte. Los reactivos de partida fueron del mejor grado comercialmente disponible (grado reactivo) adquiridos de la casa ALDRICH y se usaron sin purificación previa. En las reacciones que ocurrieron bajo atmosfera inerte se hizo uso de argón seco.

La purificación de algunos intermediarios de reacción se llevo a cabo por cromatografía en columna utilizando sílica gel 70-230 Mesh y como sistema eluyente el apropiado en cada caso según correspondiera.

El monitoreo del avance de las reacciones se efectuó por cromatografía en capa fina sobre cromatofolios Merk, empelando como fase estacionaria sílica gel 60 F₂₅₄ y como reveladores se utilizaron radiación UV y vapores de I_2 .

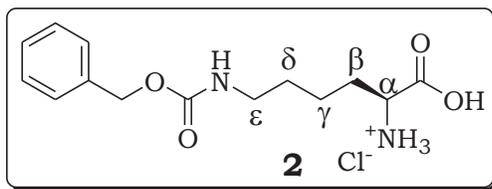
Los puntos de fusión fueron determinados mediante el método de Fisher en un equipo marca EVEL Mod. 1237 utilizando cubreobjetos redondos.

Los espectros de resonancia ^1RMN y de ^{13}RMN se realizaron en equipos Mercury 200 y 400. Los disolventes deuterados empleados en la obtención de los espectros fueron: D_2O , $CDCl_3$, CD_3OD , y $DMSO-d_6$ con TMS como referencia interna. Los desplazamientos químicos (δ) se reportan en partes por millón (ppm),

las constantes de acoplamiento (J) se expresan en Hertz (Hz) y para indicar la multiplicidad de las señales en ^1H se utilizan las abreviaturas: a, s, d, dd, t, c, y m.

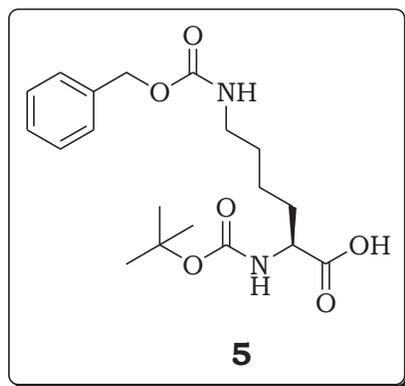
Procedimientos Experimentales

Reacciones de protección



(S)-N^ε-Cbz-N^α-NH₃Cl-Lis-OH (2). Fueron puestos en un matraz redondo dispuesto con agitación magnética 0.5g (3.422mmol) del clorhidrato de (S)-Lisina y se disolvieron en no más de 3ml de H₂O (solución 1.15M) y así se llevó a una temperatura que oscilaba entre los 80-90°C. Después se mezcló con 0.756g (3.422mmol) de CuCO₃ y se agitó por un periodo de 5min. Posteriormente se hirvió a reflujo por 30min. Pasado el tiempo de reflujo la mezcla de reacción fue filtrada sobre un embudo de membrana de vidrio y se lavó con H₂O caliente (3X5ml) de donde se guardo la fase acuosa. Esta fase acuosa se colocó en un matraz balón provisto de agitación magnética y se puso a agitación severa con 0.977g (11.635mmol) de NaHCO₃ seguido de una solución de 0.674ml (4.791mmol) CbzCl disueltos en 5ml de Dioxano (solución 0.1M) añadido gota a gota y muy lentamente. La reacción se dejo así por 24hs a temperatura ambiente.

Concluido el tiempo de reacción se filtro y lavo con H₂O (3X1ml). El sólido filtrado se colocó en un matraz balón provisto de agitación magnética y se disolvió en 2ml de AcOH 2N y se llevo a agitación por 1hr y después se filtró y lavó con 1ml de H₂O, 1ml de Dioxano y 1ml de CHCl₃. El complejo cúprico pulverizado finamente es puesto en matraz balón y adicionado a una disolución sobresaturada de EDTA·2Na 1.694g (4.551mmol) y 0.213g (2.535mmol) de NaHCO₃ en 3ml de H₂O (solución 0.8M); tal suspensión fue llevada a una vigorosa agitación por 24hs. Finalmente la suspensión fue filtrada en un embudo de membrana de vidrio de donde se recupero 0.6g de un polvo blanco fino puro (61% Rto) que descompuso a 259°C.



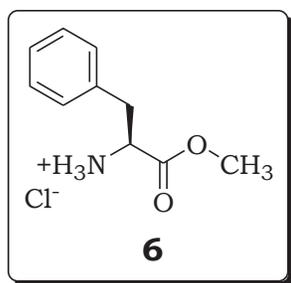
(S)-N^ε-Cbz-N^α-Boc-Lis-OH (5). En un Matraz balón provisto de agitación magnética fueron colocados 0.1g de (S)-N^ε-Cbz-N^α-NH₃⁺Cl-lisina (0.357mmol), 2ml de MeOH y 0.08ml (0.535mmol) de TEA y la suspensión fue llevada a agitación. Mientras que en un matraz erlenmeyer se disolvieron en 2ml de MeOH, 0.10g (0.461mmol) de (Boc)₂O. Esta mezcla se añadió con ayuda de una pipeta Pasteur al matraz en el que se encontraba el aminoácido monoprotegido y se dejó en agitación durante toda la noche. Pasado el tiempo de reacción se evaporó a presión reducida, se ajustó el pH a 3 empleando una solución de HCl 1M. Se extrajo con AcOEt (3X100ml), se colectó la fase orgánica y se secó con Na₂SO₄ Anhidro, se filtró y concentró a presión reducida en el rotavapor. De donde se obtuvo 0.12g de un aceite amarillo translúcido (88% Rto).

¹H RMN

(CDCl₃, 400 MHz) δ 1.41 (s, 9H, CH₃), 1.48 (m, CH₂), 1.64 (d, J= 7.13 Hz, 2H, CH₂), 1.81 (s, 2H, CH₂), 3.05 (c, J = 7.13 y 7.14, 2H, CH₂), 4.19 (s, 1H, CH), 5.07 (s, 2H, CH₂), 5.22 (s, 1H, NH), 5.41 (a, 1H, NH), 7.33 (m, 5H)

¹³C RMN

(CDCl₃, 400 MHz) δ 28.29 (CH₃), 40.63 (CH), 45.15 (CH₂), 76.68, 77.00, 77.31 (β - δ CH₂), 79.94 (C), 127.96, 128.05, 128.40, (C aromáticos) 136.57 (C ipso), 155.74 (CO), 156.56 (CO), 176.56 (CO₂)



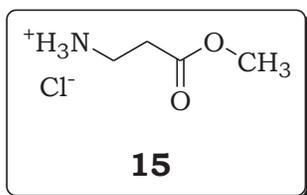
(S)-Fen-OMe (6). En un matraz redondo provisto de agitación magnética se colocaron 2g del Clorhidrato de (S)-fenilalanina (12.1mmol) y 50ml de MeOH. La mezcla de reacción se llevo a baño de hielo/sal/acetona y se puso en agitación. Pasados 10min se añadieron gota a gota y muy lentamente 1.76ml (24.2mmol) de SOCl₂ y se dejo reaccionar por toda la noche. Fue evaporado el solvente en el rotavapor y el exceso de SOCl₂ fue eliminado con lavados sucesivos de DCM. De donde se obtuvieron 2.5g de cristales blancos puros (95% Rto) con un punto fusión de 130°C.

¹H RMN

(D₂O, 100 MHz) (MHz) δ 3.09 (dd, *J*=7.51 y 14.8 Hz, 1H, CH₂), 3.23 (dd, *J*=5.86 y 14.29 Hz, 1H, CH₂), 3.71 (s, CH₃), 4.31 (dd, *J*= 6.32 y 7.33 Hz, 1H, CH), 7.13-7.53 (m, 5H)

¹³C RMN

(D₂O, 50 MHz) δ 35.72 (CH₂), 53.72 (CH₃), 54.25 (CH), 128.27, 129.84 y 129.53 (C aromáticos), 133.87 (C ipso), 170.2 (CO₂)



β-Ala-O-Me (HCl-β-aminopropionato de metilo) (15). En un matraz redondo provisto de agitación magnética se colocaron 2g (15mmol) de β-Ala-OH·HCl y 50ml de MeOH. La mezcla de reacción se llevo a un baño de hielo/sal/acetona y se puso en agitación. Pasados 10min se añadieron gota a gota y muy lentamente 2.32ml (35.8mmol) de SOCl₂ y se dejo reaccionar por toda la noche. Fue evaporado el solvente en el rotavapor y el exceso de SOCl₂ fue eliminado con

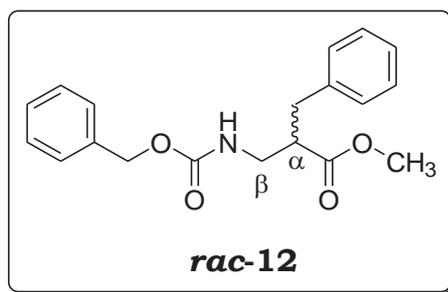
lavados sucesivos de DCM. De donde se obtuvieron 2.07g de cristales blancos puros (99% Rto) con punto de fusión de 95°C.

¹H RMN

(CDCl₃, 400 MHz) δ 2.79 (t, *J*=6.77 y 6.59 Mhz, 2H, CH₂), 3.22 (t, *J*=6.59 y 6.59, 2H, CH₂), 3.78 (s, 3H, CH₃), 4.95 (a, 3H, NH₃)

¹³C RMN

(CDCl₃, 100 MHz) δ 32.09 (CH₂), 35.45 (CH₂), 52.73 (CH₃), 172.67 (CO)



β-homofenilalanina (12). En un matraz balón provisto de agitación magnética, mantilla de calentamiento y un refrigerante en posición vertical, fueron colocados a reflujo 0.59g (1.90mmol) de rac-*N*^c-Cbz-homofenilalanina-OH los que se disolvieron en 30ml de MeOH absoluto y secuencialmente le fueron vertidos 0.5ml

de HCl concentrado. Pasadas 1.5hr's, el solvente fue evaporado en rotavapor a presión reducida, consecutivamente el acetie obtenido se disolvió en 100ml de AcOEt y la fase orgánica fue lavada con 5ml de una solución sobresaturada de NaHCO₃, se recupero la fase orgánica y se seco sobre Na₂SO₄ anhidro de donde se obtuvo un aceite amarillo que fue purificado por columna en una mezcla 8:2 de Hexano:AcOEt como eluyente, obteniéndose un aceite transparente con un rendimiento del 59% Rto.

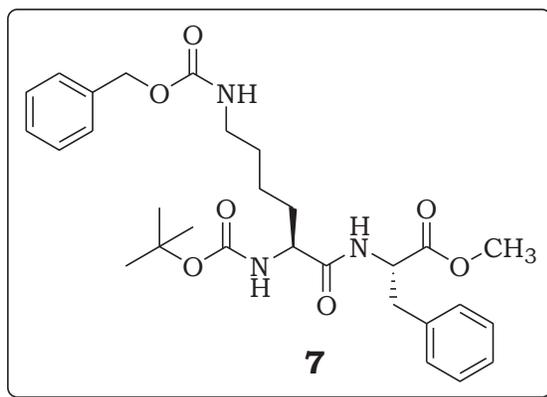
¹H (CDC13, 300 MHz)

δ 2.77 (dd, J = 9.8, 16.2 Hz, H), 2.93 (dd, J = 7.0, 16.0 Hz, 2H), 3.25-3.44 (m, 2H), 3.60 (s, 3H), 5.05 (s, 2H), 5.37 (dd, J = 5.8 Hz, 1H), 7.11-7.30 (m, 10H)

¹³C (CDC13, 75 MHz)

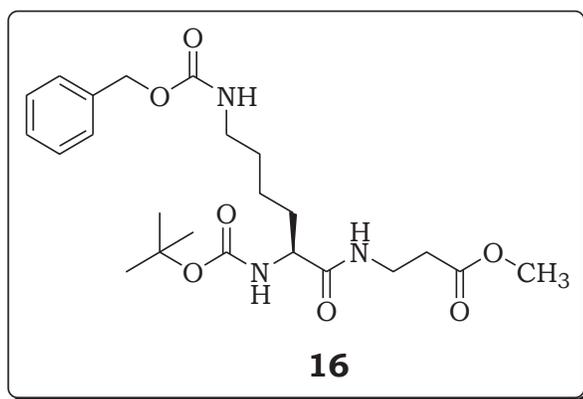
¹³C (CDC13, 75 MHz) δ 35.8, 41.9, 47.2, 51.8, 66.5, 126.6, 128.1, 128.5, 128.51, 128.8, 136.5, 138.1, 174.5.

Reacciones de acoplamiento



(S,S)-N^ε-Cbz-N^α-Boc-Lis-Fen-O-Me (7). En un matraz redondo provisto de agitación magnética se colocaron 0.312g (1.44mmol) de (S)-Fen-OMe·HCl y se disolvieron en 7.24ml de THF (solución 0.2M) y 0.50ml (3.61mmol) de TEA; se llevaron a agitación vigorosa por 3 horas. En otro matraz redondo con agitación se pusieron 0.5g (1.31mmol) de (S)-N^ε-Cbz-N^α-Boc-Lis-OH suspendidos en 6.55ml de THF (solución 0.2M) acompañados de 0.17ml (1.31mmol) de TEA y esta mixtura fue puesta en baño de hielo/sal/acetona antes de la adición de 0.17ml (1.3mmol) de *i*-BBCl disueltos en 6.55ml de THF (solución 0.2M) y vertidos gota a gota con ayuda de una pipeta Pasteur. Se dejó en agitación y baño de hielo por un periodo no mayor a 20min. Concluidos las 3 horas de agitación de los esteres y los 20min de agitación de los ácidos. A través de un embudo de adición con presión compensada fueron vertidos los esteres al acido carboxílico de manera paulatina y

se dejó reaccionar por toda la noche. La mezcla de reacción fue filtrada y el solvente fue destilado a presión reducida en el rotavapor, se lavó con 2 porciones de H₂O y se extrajo con AcOEt (3X100ml). La fase orgánica fue secada con Na₂SO₄ anhidro, y nuevamente se filtró y se concentró en el rotavapor. Por último el crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna empleando una mezcla 7:3 de Hexano:AcOEt como eluyente, de donde se obtuvieron 0.648g de hojuelas amarillas (91% Rto) con punto de fusión de 91.5°C.



(S)-N^ε-Cbz-N^α-Boc-Lis-β-Ala-O-Me (16). En un matraz redondo provisto de agitación magnética se colocaron 0.234g (1.68mmol) de β-Ala-OMe·HCl y se disolvieron en 8.4ml de THF (solución 0.2M) y 0.58ml (4.2mmol) de TEA; se llevaron a agitación vigorosa por 3 horas. En otro matraz redondo con agitación se pusieron 0.58g (1.53mmol) de (S)-N^ε-Cbz-N^α-Boc-Lis-OH suspendidos en 7.65ml de THF (solución 0.2M) acompañados de 0.25ml (0.18mmol) de TEA y esta

mixtura fue puesta en baño de hielo/sal/acetona antes de la adición de 0.19ml (0.15mmol) de *i*-BBCl disueltos en 7.65ml de THF (solución 0.2M) y vertidos gota a gota con ayuda de una pipeta Pasteur. Se dejó en agitación y baño de hielo por un periodo no mayor a 20min. Concluidos las 3 horas de agitación de los esteres y los 20min de agitación de los ácidos. A través de un embudo de adición con presión compensada fueron vertidos los esteres al ácido carboxílico de manera paulatina y se dejó reaccionar por toda la noche. La mezcla de reacción fue filtrada y el solvente fue destilado a presión reducida en el rotavapor, se lavo con 2 porciones de H₂O y se extrajo con AcOEt (3X100ml). La fase orgánica fue secada con Na₂SO₄ anhidro, y nuevamente se filtro y se concentro en el rotavapor. Por ultimo el crudo de reacción se purifico por cromatografía en columna empleando una mezcla 4:6 de Hexano:AcOEt como eluyente, de donde se obtuvo 0.642g de un aceite amarillo (90% Rto).

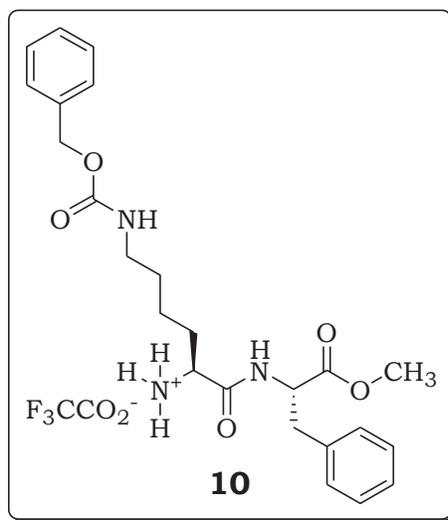
¹H RMN

(CDCl₃, 400 MHz) δ 1.42 (s, 9H, 3CH₃), 1.50 (m, 2H, CH₂), 1.60 (m, 2H, CH₂), 1.77 (m, 2H, CH₂), 2.52 (t, *J* = 6.22 y 5.47, 2H, CH₂), 3.17 (c, *J* = 6.40, 2H, CH₂), 3.49 (m, 2H, CH₂), 3.66 (s, 3H, CH₃), 4.03 (d, *J* = 5.49, 1H, CH), 5.08 (s, 2H, CH₂), 5.14 (m, 1H, NH), 5.14 (a, 1H, NH), 6.89 (a, 1H, NH), 7.28-7.35 (m, 5H)

¹³C RMN

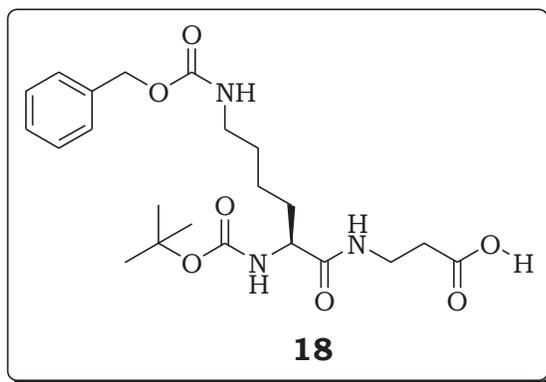
(CDCl₃, 100 MHz) δ 28.19 (CH₃), 29.29, 31.90, 33.62, 34.82, 40.29 (CH₂), 51.71 (OCH₃), 54.24 (CH), 66.49 (CH₂), 79.88 (C), 127.96-128.38 (C aromáticos), 136.47 (C ipso), 155.66 (CO), 156.57 (CO), 172.20 (CONH), 172.20 (COOCH₃)

Reacciones de desprotección

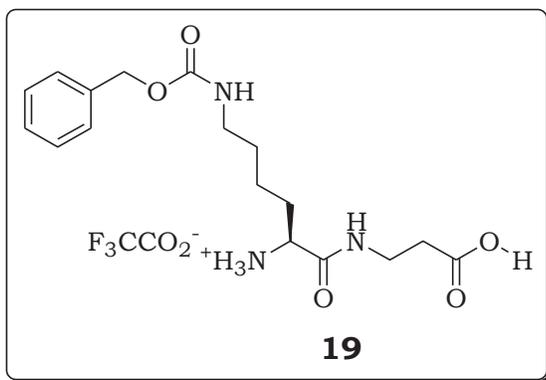


(S,S)-N^ε-Cbz-N^α-NH₂-Lis-Fen-O-Me (10). En un matraz redondo y provisto de agitación magnética fueron colocados 0.1g (0.184mmol) de (S)-N^ε-Cbz-N^α-NH₂-Cl-Lis-Fen-O-Me y se solubilizarón en 4ml de DCM (solución 0.04M) secuencialmente fueron vertidos 0.35ml (10.72mmol) de TFA. La mezcla de reacción se dejo a temperatura ambiente por toda la noche. Pasado el tiempo de reacción se lavo con una solución sobresaturada de NaHCO₃ y se extrajo con DCM. La fase orgánica fue secada sobre Na₂SO₄ anhidro se filtro y concentro en el rotavapor. Por ultimo

el crudo de reacción se purifico por cromatografía en columna empleando una mezcla 97:2:1 de DCM:MeOH:NH₄OH como eluyente, de donde se obtuvo 0.0636g de hojuelas blancas con un rendimiento del 63% Rto).



Dipéptido (S)-N^ε-Cbz-N^α-Boc-Lis-β-Ala-OH (18). En un matraz redondo y provisto de agitación magnética fueron colocados 0.337g (0.72mmol) de (S)-N^ε-Cbz-N^α-Boc-Lis-β-Ala-OMe y se disolvieron en 3.37ml de una mezcla de THF:H₂O:MeOH (25:3:0.1), una vez disuelto el péptido el matraz fue llevado a un baño de hielo y secuencialmente fueron añadidos 1.08ml (2.17mmol) de una solución de LiOH 2M y se dejo reaccionando bajo una agitación vigorosa por toda la noche. Acabado el tiempo de la reacción, se destilo el solvente a presión reducida. El crudo de la reacción fue suspendido en 10ml de H₂O y se hizo un lavado con 2.0ml de DCM y otro con 2.0ml de Et₂O. La fase acuosa se acidifico con una solución de HCl 1M hasta lograr un pH de 4 y se hicieron 4 extracciones con AcOEt (4X25ml). La fase orgánica fue secada sobre Na₂SO₄ anhidro, filtrada y concentrada en rotavapor. De donde se obtuvo 0.243g de un aceite amarillo (74% Rto).



(S)-N^ε-Cbz-N^α-NH⁺₃(F₃CCO₂⁻)-Lis-β-Ala-OH (19). En un matraz redondo provisto de agitación magnética fueron puestos 0.24g (0.538mmol) de (S)-N^ε-Cbz-N^α-Boc-Lis-β-Ala-OH los cuales se suspendieron en 25ml de DCM, acompañados de 0.411ml (5.38mmol) de TFA (solución 0.02M). El matraz fue introducido en la cabina del reactor de microondas *Discovery* y se le adaptó un refrigerante en posición vertical y se inició un reflujo a 200watts, 35°C y 60min de reacción. Concluido el tiempo, el crudo de reacción fue vertido en un embudo de separación tipo squib y se hizo un lavado con una solución sobresaturada de NaHCO₃. La fase orgánica fue filtrada y secada sobre Na₂SO₄ anhidro y el solvente se destiló a presión reducida en rotavapor. De donde se obtuvo 0.212g de un aceite ámbar 85% Rto.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) McMurry, J.; *Química Orgánica*; McGraw-Hill Interamericana: Madrid, **2001**.
- 2) Wade Jr., L.G.; *Química Orgánica*; Pearson-Prentice Hall: Madrid, **2004**.
- 3) Carey, F.A.; *Química Orgánica*; McGraw-Hill Interamericana Editores: México, **2003**.
- 4) Gilchrist, T.L.; *Química Heterocíclica*; Addison-Wesley Iberoamericana: E.U.A., **1995**.
- 5) Lheninger.; *Bioquímica*; Editorial Omega: España.; **1980**
- 6) Mathews, C., K.; van Holde, K., E.; Ahern, G.; *Bioquímica*, Pearson Education: Madrid, **2002**
- 7) Guzmán-Rodríguez, J.J.; *Síntesis y Actividad Catalítica de Péptidos en Presencia de Bismuto; Tesis de Licenciatura*, U.M.S.N.H.-Q.F.B.: **2009**.
- 8) Avendaño, C.; *Introducción a la Química Farmacéutica*; McGraw-Hill Interamericana: Madrid, **2001**.
- 9) Juaristi, C. E.; *Diseño y Producción de Fármacos*; Colegio Nacional: México, D.F., **2008** Colegio Nacional: México, D.F., **2008**
- 10) Martin, S.F.; Dorsey, Gane.T.; Hillier, M.C. *J. Med. Chem.*, 41, 1581: **1998**.
- 11) Piarulli, U.; Gennari, C.; *J. Org. Chem.*, **2007**
- 12) Wingrove A.S., Caret R.L.; *Química Orgánica*; Harla: New York, N.Y., **1984**.

- 13) Juaristi, C. E.; Novaro, O.; *Quiralidad en la Química la Física y la Biología*; 14. Fox M.A., Whithesel J.K.; *Química Orgánica*; Pearson-Prentice Hall: Madrid, **2000**
- 14) Smith M.B.; *Organic Synthesis*; McGraw-Hill Education: Singapore, **2004**.
- 15) Wyatt, P.; Warren, S.; *Organic Synthesis Strategy and Control*, Wiley & Sons, Ltd; England **2007**.
- 16) Reinhard, B.; *Advanced Organic Chemistry*; Elsevier: U.S.A.; pp. 242: **2002**.
- 17) Groutas, W.C.; *Mecanismos De Reacción En Química Orgánica*; McGraw-Hill: México, **2002**.
- 18) Ahluwalia, V.K., Parashar R.K.; *Organic Reaction Mechanisms*; Alpha Science International Ltd.: India, **2005**.
- 19) Greene, T.W.; Wuts, P.G.M.; *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, Inc. U.S.A. **1991**
- 20) Fessenden R.J., Fessenden J.S.; *Química Orgánica*; Grupo Editorial Iberoamérica: Argentina, **1983**
- 21) Marder, O.; Albericio, F. Industrial application of coupling reagents in peptides. *Chim. Oggi* , June, 6-11.; **2003**.
- 22) Griehl, C.; Hoffmann, F.; Brandt, W.; Plass, M.; Peptides 1998. Proceedings of the 25th European Peptide Symposium, Bajusz, S.; Hudecz, F., Eds., pag. 212. Akademiai Kiado, Budapest 1999

- 23) Trigos, A.; Reyna, S.; Galindo, G.; Ramos, J.M.; *Natural Product Letters.*; Vol. 8, pp. 199-205: **1996**.
- 24) Katritzky, A.R.; Pozharskii, A.F.; *Handbook Of Heterocyclic Chemistry*; Elsevier Science Ltd: Kidlington, Oxford., **2000**.
- 25) Acheson, R.M.; *Química Orgánica Heterocíclica*; Publicaciones Cultural: México, D.F., **1985**
- 26) Capasso, S.; Mazzarella, L.; *J. Chem. Soc.. Perkin Trans 2.* 329-332.; **1999**.
- 27) Carlier, P.R.; Zhao, H.; DeGuzman, J.; Lam, P.; *J. Am. Chem. Soc.*; 11482-11483: **2003**,
- 28) Mahdi, O.; Lavergne, J.P.; Martinez, J.; Viallefont, P.; Essassi, E.M.; Riche, C.; *Eur. J. Org. Chem.*; 251-255: **2000**,
- 29) Müller-Hartwig, J.C.; Akyel, K.G.; Zimmermann, J.; *J. Peptide Sci.*; 9, 187-199: **2003**.
1. 31. Adamczyk, M.; Jhonson, D.D.; Reddy, R.E.; *Tetrahedron: Asymetry*; 11; 2289-2298, **2000**.
2. 32. Albericio, F.; Nicolas, E.; Ruiz-Gayo, M.; Pedroso, E.; Giralt, E.; *Synthesis.*; 119-122: **1990**.
3. 33. Pietryzky, D.J.; Frank, C.W.; *Química Analítica*; Interamericana, México, D.F., **1983**.
4. 34. Katritzky, A.; Angrish, P.; Hür, D.; Suszuky, K.; *Journal of Synthetic Organic Chemistry.*, No. 3, 397-402: **2004**

5. 35. Tse-lok, Ho.; *Tandem Organic Reactions*; A John Wiley & Interscience Publication. Canada. **1992**.
6. 36. Mendez, J.C.; Avendaño, C.; *Synthesis*; No. 19, pp 3412-3422: **2005**.
7. 37. Pérez, P. L.; Escalante, J.; Olivo H. F.; Rios, M. Y.; *J. Molecules* 14, 2836-2849; doi:10.3390/molecules14082836., **2009**.
8. 38. Williams, P.L.; Albericio, F.; Giralt, E.; *Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins*. E.U., **1997**.
9. Aviña-Verduzco, J.A.; Tesis Doctoral, CINVESTAV: México, D.F.: **2004**
10. Juaristi, C. E.; *Aplicaciones de Microondas en Química y en Biología*; Colegio Nacional: México, D.F., **2009**.
11. Murayama, T.; Kobayashi, T.; Miura, T.; Pergamon; Vol. 36, No. 21; 3703-3706, **1995**.

ESPECTROS

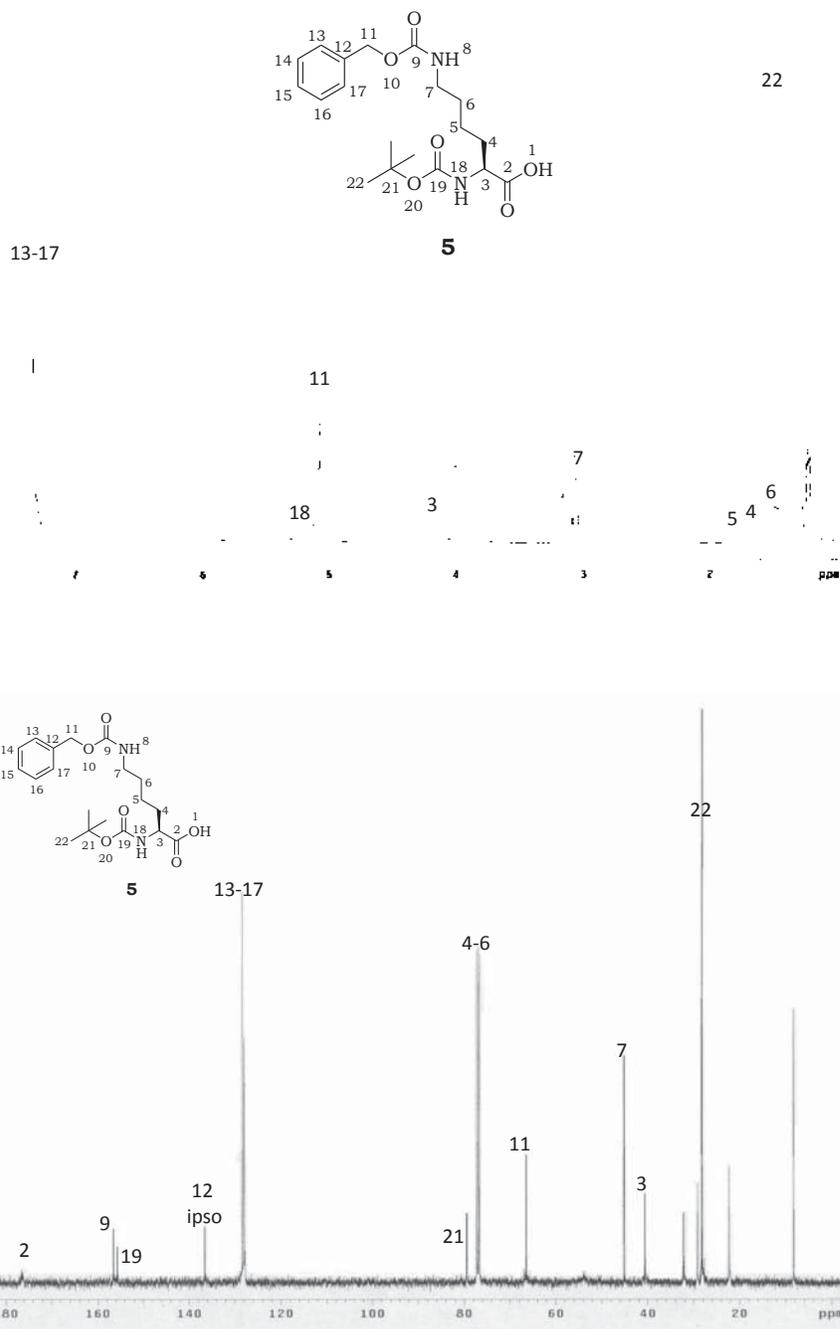


Figura 23. Superior. Espectro de ^1H RMN a 400 MHz en CDCl_3 de **5**.

Inferior. Espectro de ^{13}C RMN a 100 MHz en CDCl_3 de **5**.

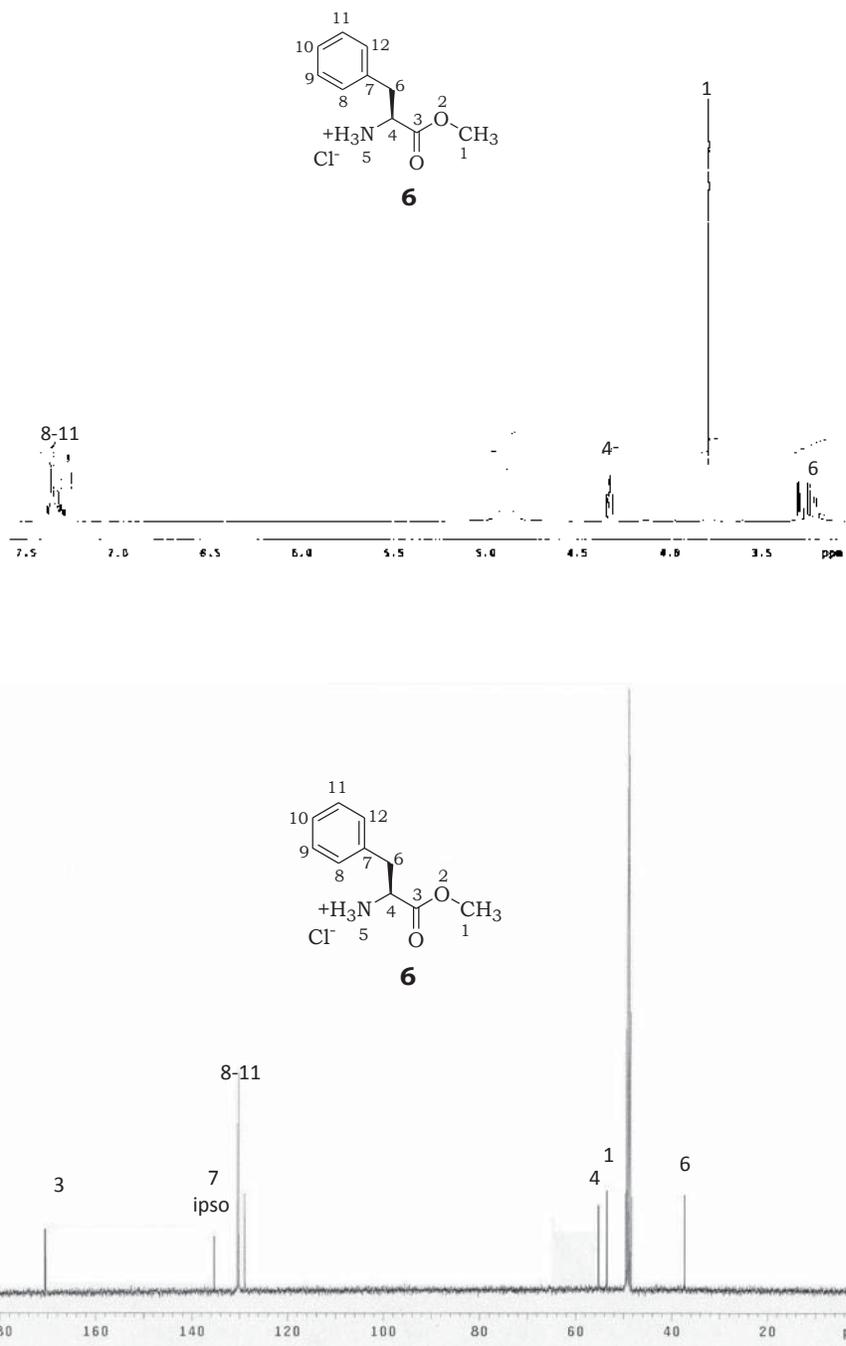


Figura 24. Superior. Espectro de ^1H RMN a 400 MHz en $\text{DMSO-}d_6$ de **6**.

Inferior. Espectro de ^{13}C RMN a 100 MHz en $\text{DMSO-}d_6$ de **6**.

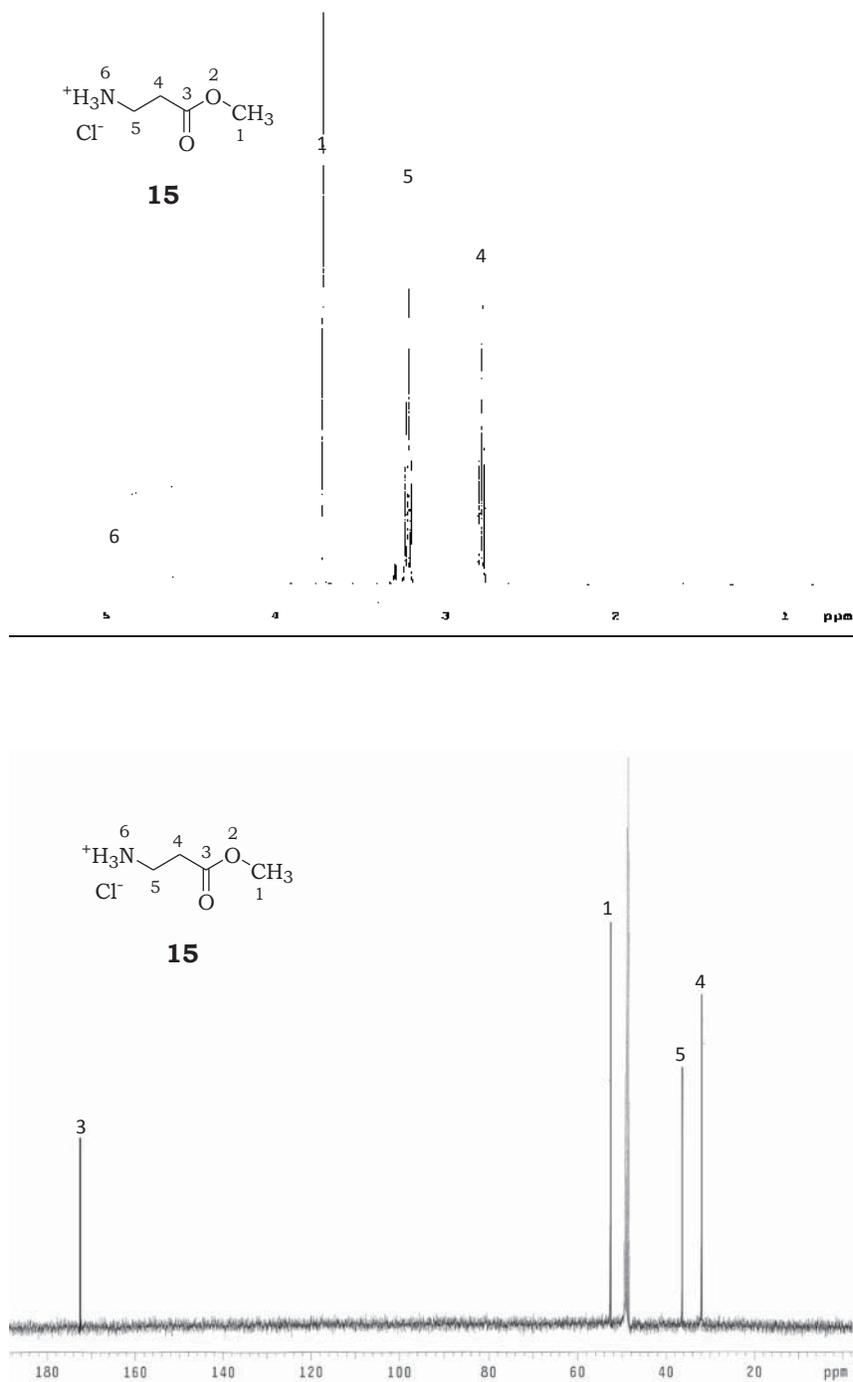


Figura 25. Superior. Espectro de ^1H RMN a 400 MHz en MeOD de **15**.
Inferior. Espectro de ^{13}C RMN a 100 MHz en MeOD de **15**.

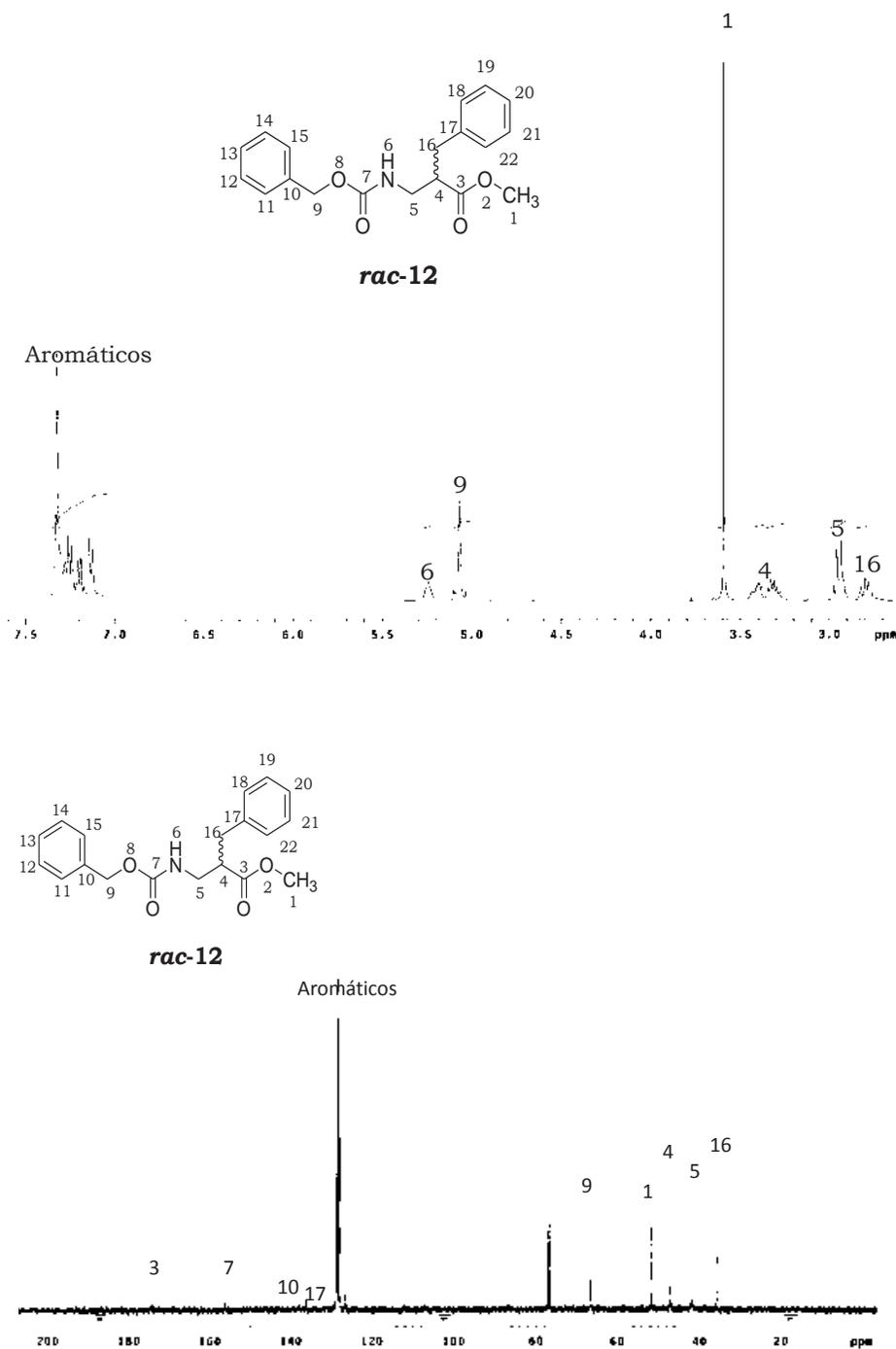


Figura 26. Superior. Espectro de ¹H RMN a 400 MHz en CDCl₃ de **rac-12**.

Inferior. Espectro de ¹³C RMN a 100 MHz en CDCl₃ de **rac-12**.

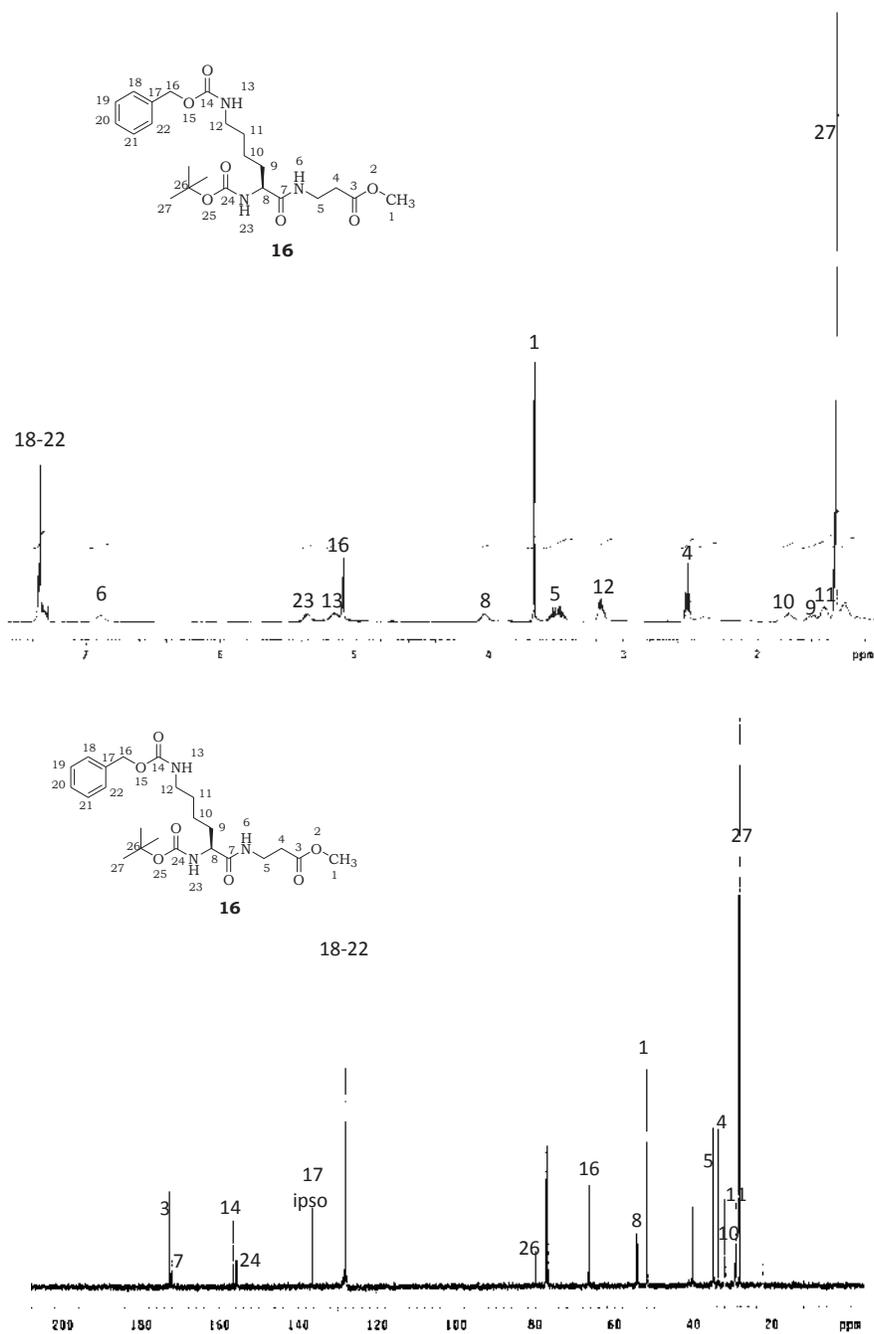


Figura 26. Superior. Espectro de ^1H RMN a 400 MHz en CDCl_3 de **16**.

Inferior. Espectro de ^{13}C RMN a 100 MHz en CDCl_3 de **16**.

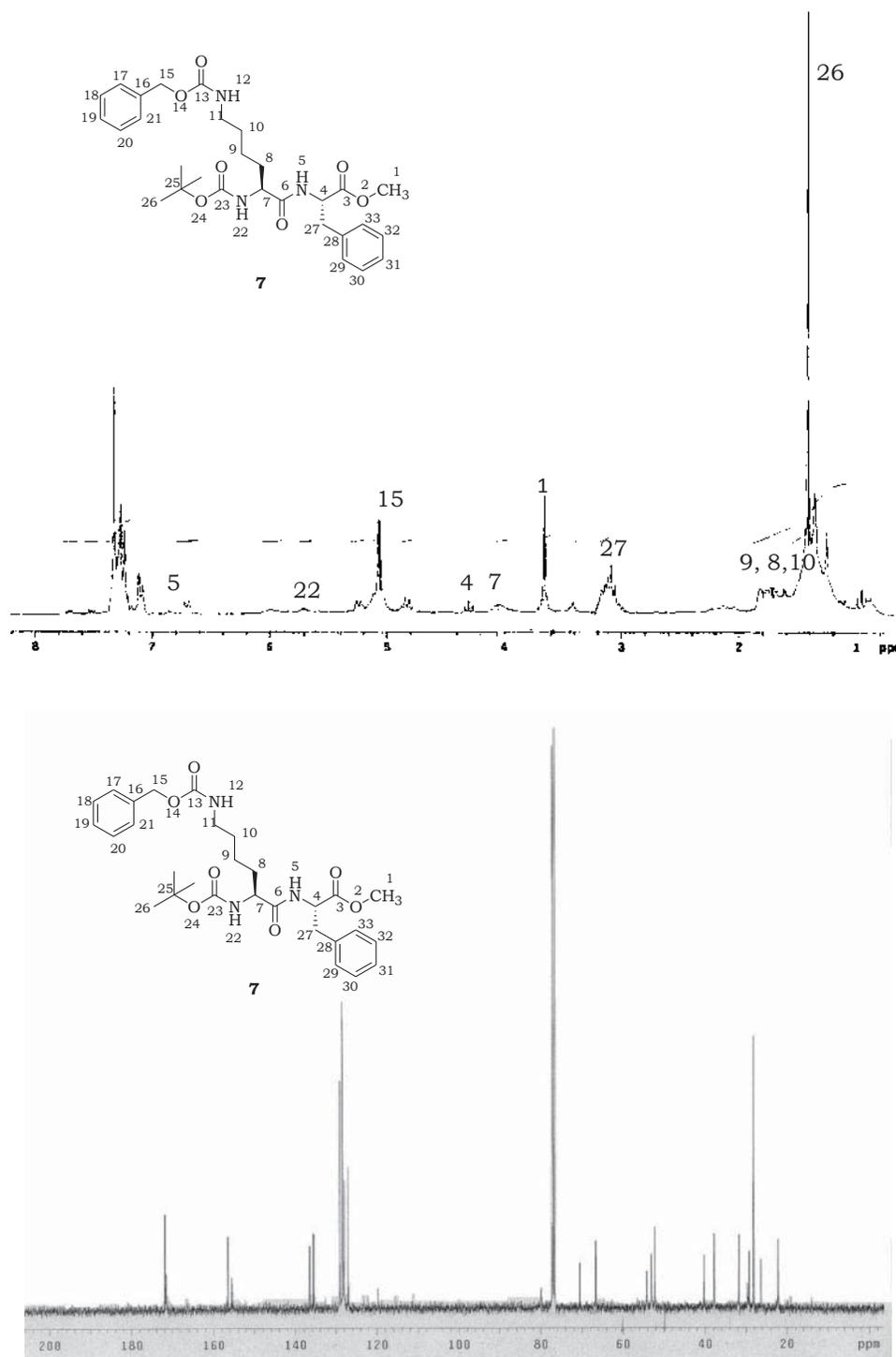


Figura 27. Superior. Espectro de ¹H RMN a 400 MHz en CDCl₃ de **19**.
Inferior. Espectro de ¹H RMN a 100 MHz en MeOD de **19**.

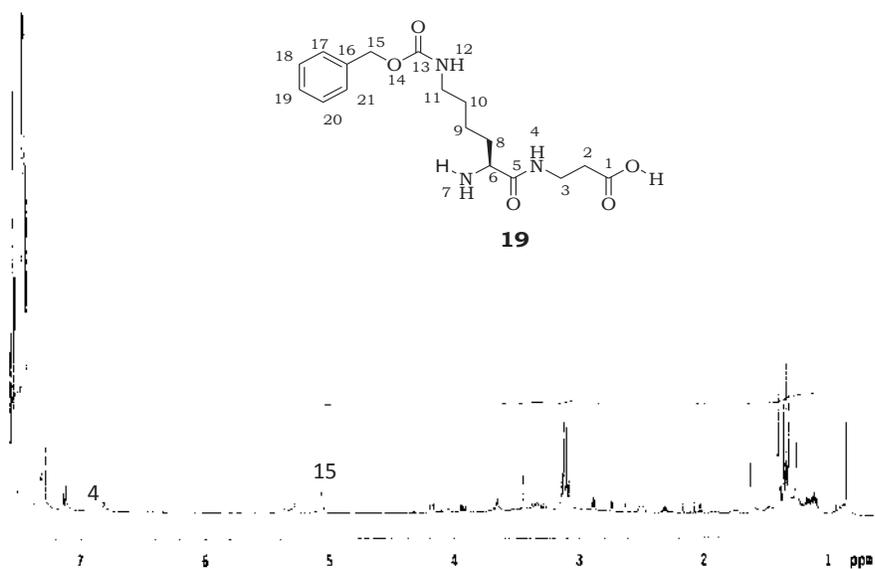


Figura 33. Espectro de ¹H RMN a 400 MHz en CDCl₃ de 19.