



# **“Síntesis de estructuras análogas a Scleritodermina A como potenciales quimioterápicos”**

**DIVER SELLANES**

Montevideo 2009



**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE QUÍMICA**

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA  
CÁTEDRA DE QUÍMICA FARMACÉUTICA**

**“Síntesis de estructuras análogas a Scleritodermina A  
como potenciales quimioterápicos”**

trabajo presentado por  
M. Sc. Diver Sellanes  
para aspirar al título de Doctor en Química

Dra. Gloria Serra  
Directora de Tesis

Dr. Eduardo Manta  
Co-Director de Tesis por  
Pedeciba

Tribunal:

Dr. Ronaldo A. Pilli

Dr. Enrique Pandolfi

Dra Virginia López

*A mi familia*

## AGRADECIMIENTOS

*La culminación de esta tesis doctoral no hubiese sido posible sin la ayuda y colaboración de mucha gente, a los cuales les estaré eternamente agradecido e intentaré mencionarlos brevemente:*

*En especial a mi directora, Gloria, porque han sido muchos años aprendiendo a su lado y esta es la culminación de un esfuerzo mutuo...*

*A mis amigos de la "cátedra" de todos los tiempos, con los cuales hemos compartido tantas cosas además de la química, les doy las gracias por su ayuda y por dejarme aprender junto a ellos: Eduardo, Danilo, Graciela, Chelo, Diego, Ivana, Laurita, Mauricio, Horacio, Carlos, Guillermo, Cecilia, Verónica, Chiara, Carolina, Francisco, Claudia, Rafa, Daniela, Nacho, Noel, Pablo...*

*A Ivana y Francisco, por formar parte de este proyecto y por toda su ayuda y cooperación en el tramo final...*

*A Horacio y Carolina, por la ayuda con la espectroscopía de RMN...*

*A quienes colaboraron en la realización de la EMAR: Prof. Julio Delgado, Prof. Ricardo Pérez, Dr. Marcelo Incerti, Q. F. Diego Fort en CSIC de Sevilla; Dra. Alejandra Rodríguez del Polo Tecnológico de Pando, Facultad de Química.*

*A la Dra. Jenny Saldaña y Dra. Laura Domínguez por los ensayos antihelmínticos.*

*A la Dra. Sylvia Dematteis, al Q.F. Gerardo Lin y al Lic. Bioq. Pablo Espósito por los ensayos de citotoxicidad.*

*A los compañeros del Departamento que me han ayudado tantas veces...*

*A toda mi familia, a Andrea por su apoyo y por compartir los mismos sueños; a Martín y Emilia, por ser mi motivación día a día; a mis padres y hermanos, por su cariño y confianza...*

*A las siguientes instituciones:*

*Facultad de Química*

*PEDECIBA*

*FIRCA-NIH, USA*

*Dicyt*



**Esponjas del género Scleritoderma**

*The chemist who designs and completes an original and esthetically pleasing multistep synthesis is like the composer, artist or poet who, with great individuality, fashions new forms of beauty from the interplay of mind and spirit.*

*-E. J. Corey*

*(Extraído de "Nobel lecture", 8 de diciembre de 1990)*

# INDICE

## Capítulo 1: Introducción, Antecedentes y Objetivos

1.1 Introducción.....	10
1.2 Antecedentes.....	13
1.3 Objetivos.....	19

## Capítulo 2: Síntesis de fragmentos claves

2.1- Síntesis del fragmento A	
2.1.1- Antecedentes y metodología propuesta.....	22
2.1.2- Discusión de resultados.....	29
2.2- Síntesis de fragmentos B, C y D	
2.2.1- Antecedentes: Síntesis peptídica.....	48
2.2.2- Análisis de las estrategias planteadas.....	55
2.2.3- Discusión de resultados.....	58

## Capítulo 3: Acoplamiento de Fragmentos sintetizados

3.1- Formación del enlace $\alpha$ -cetoamida	
3.1.1- Antecedentes y metodología propuesta.....	72
3.1.2- Discusión de resultados.....	79
3.2- Hacia la macrociclación	
3.2.1- Antecedentes y metodología propuesta.....	91
3.2.2- Discusión de resultados.....	96

## Capítulo 4: Actividad biológica

4.1- Introducción.....	101
------------------------	-----

4.2- Actividad citotóxica.....	103
4.3- Actividad antihelmíntica.....	106

**Capítulo 5: Conclusiones finales y perspectivas futuras.....110**

**Parte Experimental:**

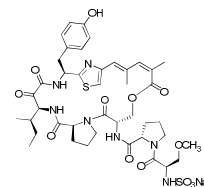
- Datos experimentales.....	117
- Espectros de los productos más relevantes.....	148
- Publicaciones y presentaciones.....	174

## Tabla de abreviaturas

$^{13}\text{C}$ -RMN	Resonancia Magnética Nuclear de carbono
18-c-6	1,4,7,10,13,16-Hexaoxaciclooctadecano
$^1\text{H}$ -RMN	Resonancia Magnética Nuclear de protón
AcOEt	acetato de etilo
Boc	<i>t</i> -butoxicarbonil
CE <sub>50</sub>	Concentración efectiva 50
COSY	Correlation Spectroscopy
d	doblete
DAST	Trifluoruro de <i>N,N</i> -dietilaminosulfuro
DCC	Diciclohexil carbodiimida
DCM	Diclorometano
dd	doble doblete
ddd	doble doble doblete
Deoxo Flúor	Trifluoruro de [bis(2-metoxietil)amino]sulfuro
DIBAL-H	Hidruro de Diisobutilaluminio
DMAP	4-dimetilaminopiridina
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMSO	Dimetil sulfóxido
EDCI	Clorhidrato de 1-(3-dimetil-aminopropil)-3-etilcarbodiimida
EMAR	Espectroscopía de masas de alta resolución
EP	Éter de petróleo
g	gramo
GI <sub>50</sub>	Concentración 50% inhibición del crecimiento celular
HBTU	hexafluorofosfato de <i>O</i> -(Benzotriazol-1-il)- <i>N,N,N',N'</i> -tetrametilamonio
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear multiple quantum correlation
HOBt	<i>N</i> -hidroxibenzotriazol
HOObt ó HODhbt	3-hidroxi-1, 2, 3-benzotriazin-4(3H)-ona (oxohidroxibenzotriazol)
HPLC	Cromatografía líquida de alta presión
HSQC	Heteronuclear Single-Quantum Correlation



Hz	Hertz
IR	Infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
KHMDS	Hexametildisililazano de potasio
L ó l	litro
LHMDS	Hexametildisililazano de litio
m	multiplete
M	molar
MeCN	acetonitrilo
MeOH	metanol
mg	miligramo
MHz	Mega Hertz
mL ó ml	mililitro
mmol	milimoles
NOE	Nuclear Overhauser Enhancement
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
°C	grados Celsius
P.F.	Punto de fusión
ppm	partes por millón
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
s	singulete
t	triplete
T. A.	Temperatura ambiente
TBDMS ó TBS	<i>t</i> -butildimetilsilano
TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano
TMS	tetrametilsilano
UV	Ultra violeta



## Capítulo 1: Introducción, Antecedentes y Objetivos

### 1.1- Introducción:

Los productos naturales han jugado un rol muy importante en el desarrollo de nuevas drogas. Actualmente, alrededor del 60 % de las drogas de uso clínico son productos naturales, derivados o inspirados en éstos, según la revisión de Newman y Cragg para el período 1981-2006.<sup>1, 2</sup>

A su vez, el área de los Productos Naturales Marinos emergió a finales de la década del 60; y los primeros investigadores en ésta área concentraron sus esfuerzos en el aislamiento y elucidación estructural de nuevos compuestos.

Con el paso del tiempo y la llegada de herramientas cada vez más potentes, el número de compuestos de esta fuente natural fue creciendo hasta alcanzar en la actualidad alrededor de 17000 compuestos reportados de los más diversos organismos.<sup>3</sup>

Si bien es cierto, que hoy en día la mayoría de las sustancias de origen marino que pueden ser candidatas a drogas aún se encuentran en desarrollo preclínico o en etapas clínicas tempranas, algunas ya están en el mercado.<sup>4,5</sup>

Ejemplo de ello, son el péptido Ziconotide (Prialt®; Elan Pharmaceuticals) aislado originalmente de un caracol tropical y que se utiliza como analgésico para el dolor crónico severo; y el anticancerígeno Trabectedin (Yondelis®, PharmaMar) el cual fue aislado de un tunicado, actualmente se utiliza para el

<sup>1</sup> Newman, D. J. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 2589.

<sup>2</sup> Newman, D. J.; Cragg, G. M. *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 461.

<sup>3</sup> Gordon Research Conferences ([www.grc.org](http://www.grc.org))

<sup>4</sup> Veras Costa-Lotufo, L.; Veras Wilke, D.; Jimenez, P. C. *Quim. Nova*, **2009**, *32*, 703.

<sup>5</sup> Molinski, T. F.; Dalisay, D. S.; Lievens, S. L.; Saludes, J. P. *Nature Reviews*, **2009**, *8*, 69.

tratamiento del sarcoma en tejidos blandos y además está en fase II para el tratamiento del cáncer de mama, de próstata y de pulmón.<sup>5,6</sup>

Las novedosas y diversas estructuras químicas junto a las variadas actividades biológicas que presentan este tipo de productos marinos, han hecho que la síntesis química de los mismos haya tenido un desarrollo paralelo. Ya sea, en busca de la confirmación de las estructuras aisladas o la producción de mayores cantidades para ensayos biológicos, la síntesis de dichas moléculas ha cobrado una importancia enorme.<sup>7,8</sup>

Estos objetivos sintéticos además, han logrado que grupos de investigación de todo el mundo estén continuamente desarrollando metodologías cada vez más avanzadas en busca de una producción más eficiente. Y aunque a veces la síntesis de estas moléculas no parezca útil de forma inmediata, las nuevas tecnologías y metodologías desarrolladas en su obtención serán utilizadas por los químicos en otros objetivos.

Tomando entonces como punto de partida estos productos naturales bioactivos los cuales presentan gran potencia y selectividad, gracias a la selección de años de evolución, los investigadores pueden usar la síntesis orgánica para obtener nuevas moléculas (análogos) basados en modificaciones estructurales de los primeros, y con esto llegar a nuevas entidades terapéuticas. Se busca así, que estos análogos sean más fáciles de sintetizar y tengan también mejores propiedades considerando, por ejemplo, factores como la bioactividad, biodisponibilidad, etc.

Es así que los productos naturales en general pueden entrar al desarrollo de una droga a través de diferentes vías. La más sencilla es que el producto como tal sea la droga sin sufrir modificaciones. Otra vía, consiste en realizar modificaciones en los grupos funcionales, de forma de obtener análogos estructurales fácilmente (semi-síntesis). Por último, otra forma de

---

<sup>6</sup> <http://www.pharmamar.com/yondelis-spanish.aspx>

<sup>7</sup> Mancini, I.; Defant, A.; Guella, G. *Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry*, **2007**, 6, 17.

<sup>8</sup> Jiménez, J.; Marfil, M.; Francesch, A.; Cuevas, C.; Alvarez, M.; Albericio, F. *Investigación y Ciencia*, **2007**, febrero, 75.

obtener análogos la cual ha tenido gran difusión en los últimos años, es realizar una ruta sintética que permita introducir “cambios profundos” en la estructura mientras se avanza hacia la síntesis total. Ésta última estrategia permite obtener una mayor cantidad de análogos con mejores características estructurales que el producto natural en sí.<sup>9</sup> Consiste entonces en desviar la ruta hacia la síntesis total para poder introducir dichos cambios, y ha sido denominada “síntesis total diversificada” o como se la conoce en inglés “diverted total synthesis” (DTS) (Figura 1).<sup>10</sup>

DTS es el método más versátil a la hora de obtener análogos de productos naturales. El término comenzó a utilizarse a partir del año 2004 y se le debe su introducción al químico Samuel J. Danishefsky. Una de las ventajas de esto es que los análogos son más fáciles de sintetizar que el producto natural en sí, y uno de sus mayores éxitos es que el análogo mantenga o mejore la actividad biológica disminuyendo la complejidad estructural.<sup>11</sup>

Algunos ejemplos de moléculas que han sido obtenidas mediante esta última estrategia:<sup>9</sup> son E7389 (potente análogo citotóxico de Halicondrina B), el análogo A de Briostatina, análogos de discodermolideo, etc.

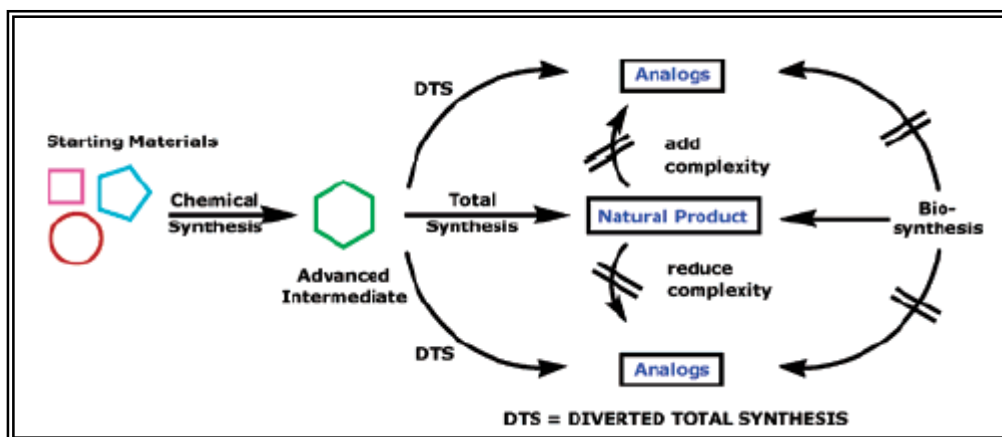


Figura 1: Síntesis total diversificada (extraída de referencia 10)

<sup>9</sup> Paterson, I.; Anderson, E. *Science*, **2005**, *310*, 451.

<sup>10</sup> Njardarson, J.; Gaul, C.; Shan, D.; Huang, X.; Danishefsky, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 1038.

<sup>11</sup> Haefner, B. *Drug Discovery Today*, **2003**, *8*, 536.

## 1.2- Antecedentes

Los organismos marinos invertebrados, algas y microorganismos, producen innumerables metabolitos secundarios estructuralmente únicos y biológicamente activos. Entre ellos se encuentran las esponjas, las cuales son un diverso y enorme grupo de especies distribuidas por todos los mares.

A su vez, aquellas esponjas que pertenecen al orden Litistida, han cobrado especial atención debido a la enorme variedad de nuevos productos que se han extraído de las mismas. Se han aislado péptidos activos cíclicos o lineales, con estructuras únicas y sin precedentes; los cuales contienen aminoácidos inusuales que se encuentran muy raras veces en ecosistemas terrestres o microbiales. Muchas especies de este género, se encuentran normalmente formando parte de simbiosis junto a bacterias, hongos, etc.<sup>12</sup>

A modo de ejemplo, mencionaremos algunas moléculas (Figura 2) cuyas estructuras y actividades biológicas han resultado de interés para muchos grupos de investigación que han llevado a cabo su síntesis:

- Cicloteonamidas, han sido aisladas de esponjas del género *Theonella*; se muestran como inhibidores de proteasas y varias síntesis totales han sido reportadas;<sup>13</sup>
- Keramamidas, son aisladas de esponjas del mismo género que las anteriores. La mayoría de sus miembros muestran actividad citotóxica.<sup>14</sup>

---

<sup>12</sup>Bewley, C. A.; Faulkner, D. J. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1998**, *37*, 2162.

<sup>13</sup>Wasserman, H. H.; Zhang, R. *Tetrahedron*, **2002**, *58*, 6277 y referencias allí citadas.

<sup>14</sup>Itagaki, F.; Shigemori, H.; Ishibashi, M.; Nakamura, T.; Sasaki, T.; Kobayashi, J. *J. Org. Chem.*, **1992**, *57*, 5540.

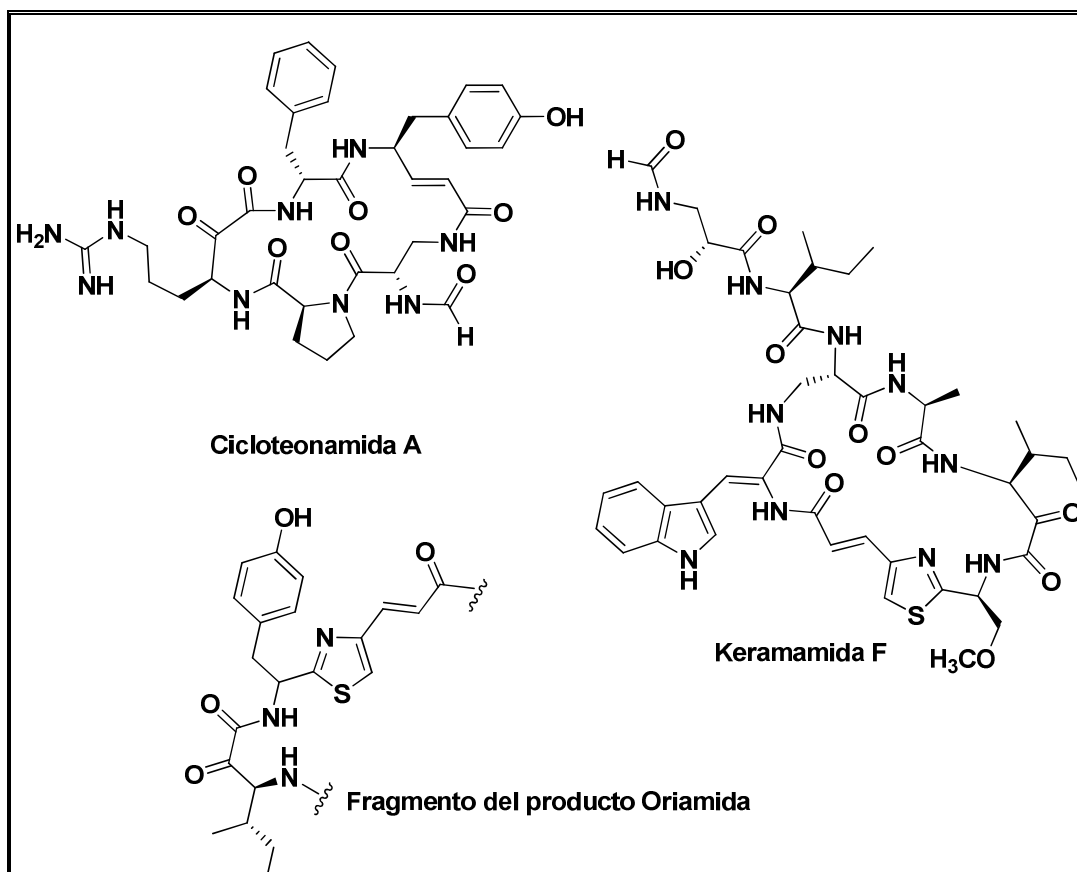


Figura 2: Productos naturales de origen marino

En el año 2004, fue reportado por el grupo de investigación de D. J. Faulkner de la Universidad de California un nuevo producto marino, Scleritodermina A al cual asignaron la estructura mostrada en la Figura 3.<sup>15</sup> Dicho producto fue aislado de la esponja *Scleritoderma Nodosum*, también del orden Litistida. Este compuesto se mostró activo contra diferentes células tumorales humanas, presentando una  $IC_{50} < 0,2 \mu M$ , y su actividad se le atribuye a su capacidad para inhibir la polimerización de la tubulina. Entre las diferentes líneas celulares contra las que fue testeado el producto natural, podemos mencionar HCT-116 (carcinoma de colon), A2780 (carcinoma de ovario) y SKBR3 (cáncer de mama).

<sup>15</sup> Schmidt, E. W.; Raventos-Suarez, C.; Bifano, M.; Menendez, A. T.; Fairchild, C. R.; Faulkner, D. J. *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 475.

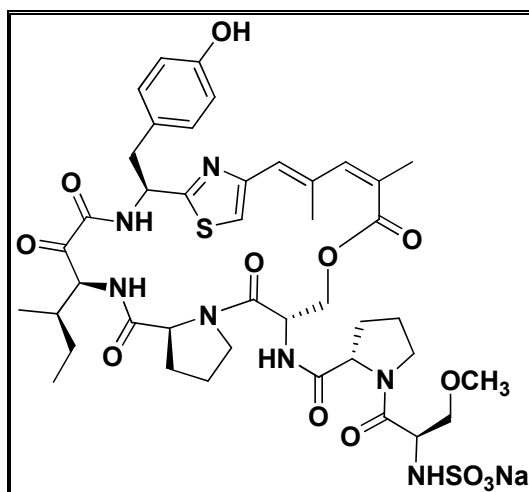
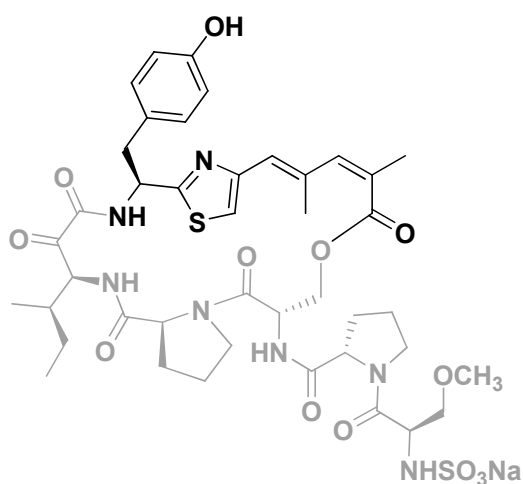


Figura 3: Estructura originalmente propuesta para Scleritodermina A

Scleritodermina A es un depsipéptido<sup>16</sup> cíclico, que presenta en su estructura porciones altamente modificadas. Está compuesto por diferentes fragmentos, los cuales se describen a continuación:

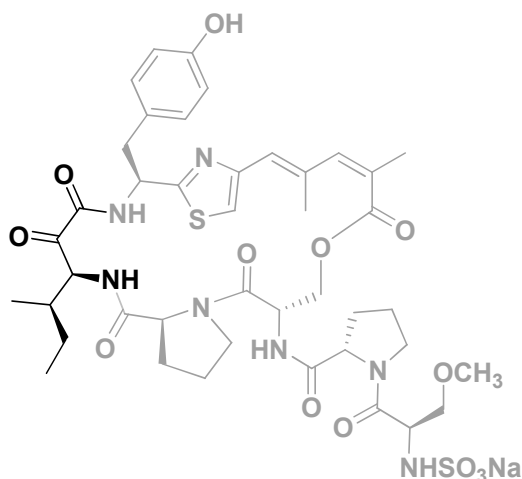
- **Fragmento ACT:** 2-(1-Amino-2-*p*-hidroxifeniletan)-4-(4-Carboxi-2,4-dimetil-2*Z*,4*E*-propadien)-Tiazol. Este fragmento contiene un anillo de tiazol 2,4-disustituido; donde en la posición 4 se encuentra una cadena doblemente insaturada y conjugada con la función lactona. En posición 2 del anillo encontramos un resto del aminoácido L-Tirosina.



<sup>16</sup> Depsipéptido: péptido donde uno o más enlaces amida han sido reemplazados por enlaces éster.

Este fragmento es la primera vez que se reporta, aunque ya existen precedentes de anillos de tiazol u oxazol conjugados en ciclopéptidos marinos, como la Keramamida ya nombrada.

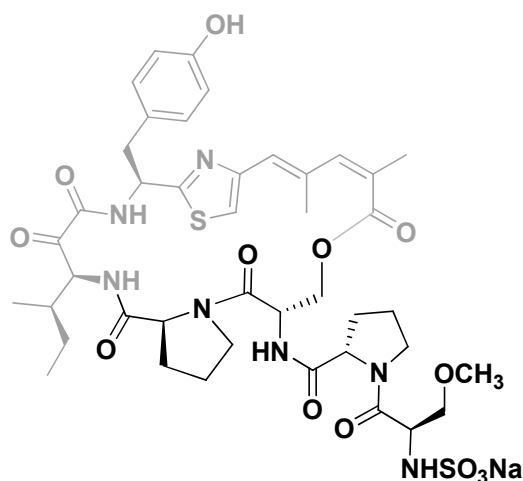
- **Ceto-*allo*-isoleucina:** este inusual aminoácido forma un enlace  $\alpha$ -cetoamida con el fragmento anterior. Esta función también se encuentra presente en productos marinos como Cicloteonamida, Keramamida y Oriamida (Figura 2).<sup>17</sup> Este último presenta un fragmento análogo a Scleritodermina A que ayudó a los autores durante la elucidación estructural.



- **Fragmento tetrapeptídico:** este fragmento está compuesto por 4 aminoácidos. Presenta 2 restos de L-Prolina, un resto de L-serina (cuyo hidroxilo primario forma parte de la lactona) y un resto de un aminoácido inusual D-Serina *N*-sulfatado cuyo hidroxilo además forma un éter metílico. Como se ve en la figura, dos de los cuatro aminoácidos se encuentran formando parte de la macrolactona, y los dos restantes son extracíclicos.

<sup>17</sup> Chill, L.; Kashman, Y. *Tetrahedron*, **1997**, 53, 16147.





A mediados del año 2008, mientras el presente trabajo ya estaba en su etapa final, Fa-Jun Nan *et al.*<sup>18</sup> del *Chinese National Center for Drug Screening* presentaron la síntesis total de Scleritodermina A y su revisión estructural.

En dicha publicación, la síntesis del Fragmento **ACT** se basa en nuestro reporte<sup>19</sup> del año 2007, mientras que la formación de la función  $\alpha$ -cetoamida se produce a través un grupo  $\alpha$ -azido-carboxilo (la metodología de obtención de esta función será explicada en el Capítulo 3 de esta tesis).

En el trabajo de este grupo, se obtiene en primer lugar la estructura originalmente planteada por Faulkner *et al.* pero el análisis espectroscópico los alerta de algunas diferencias con la espectroscopia del producto natural. Es así que sintetizan un análogo estructural (isómero) donde sustituyen *allo*-Ile por Ile, y el *E,Z*-dieno por *E,E*-dieno. Mediante la comparación de los datos espectroscópicos de ambos productos y a través de análisis por cromatografía líquida de alta performance con una muestra del producto natural, se llega a la conclusión que la verdadera estructura difiere de la reportada anteriormente (Figura 4).

<sup>18</sup> Liu, S.; Cui, Y-M.; Nan, F-J. *Org. Lett.*, **2008**, *10*, 3765.

<sup>19</sup> Sellanes, D.; Manta, E.; Serra, G. *Tetrahedron Letters*, **2007**, *48*, 1827.

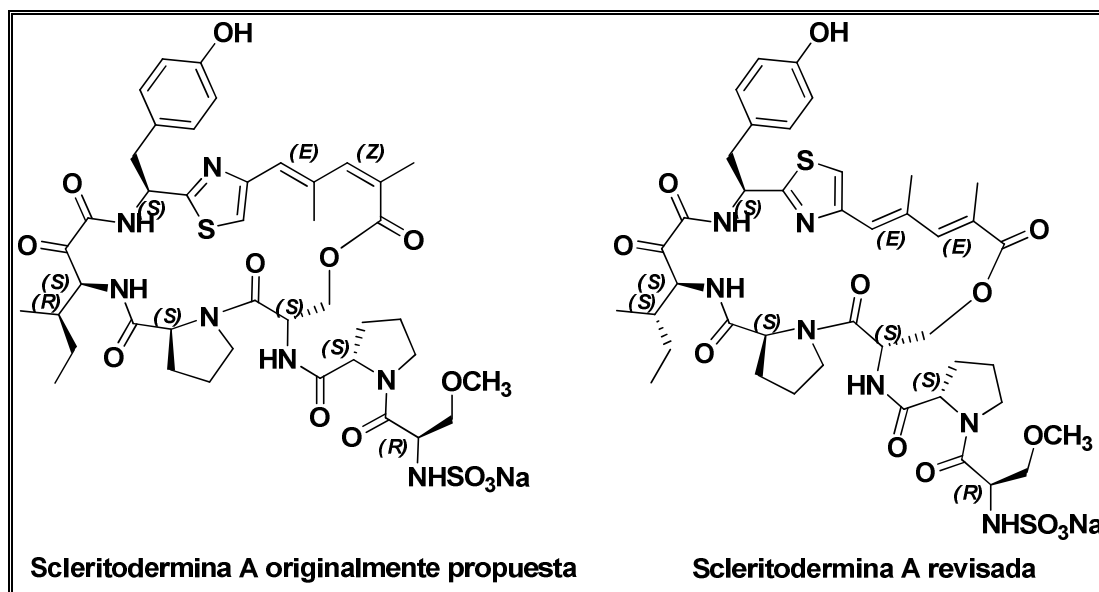


Figura 4: Revisión estructural de Scleritodermina A

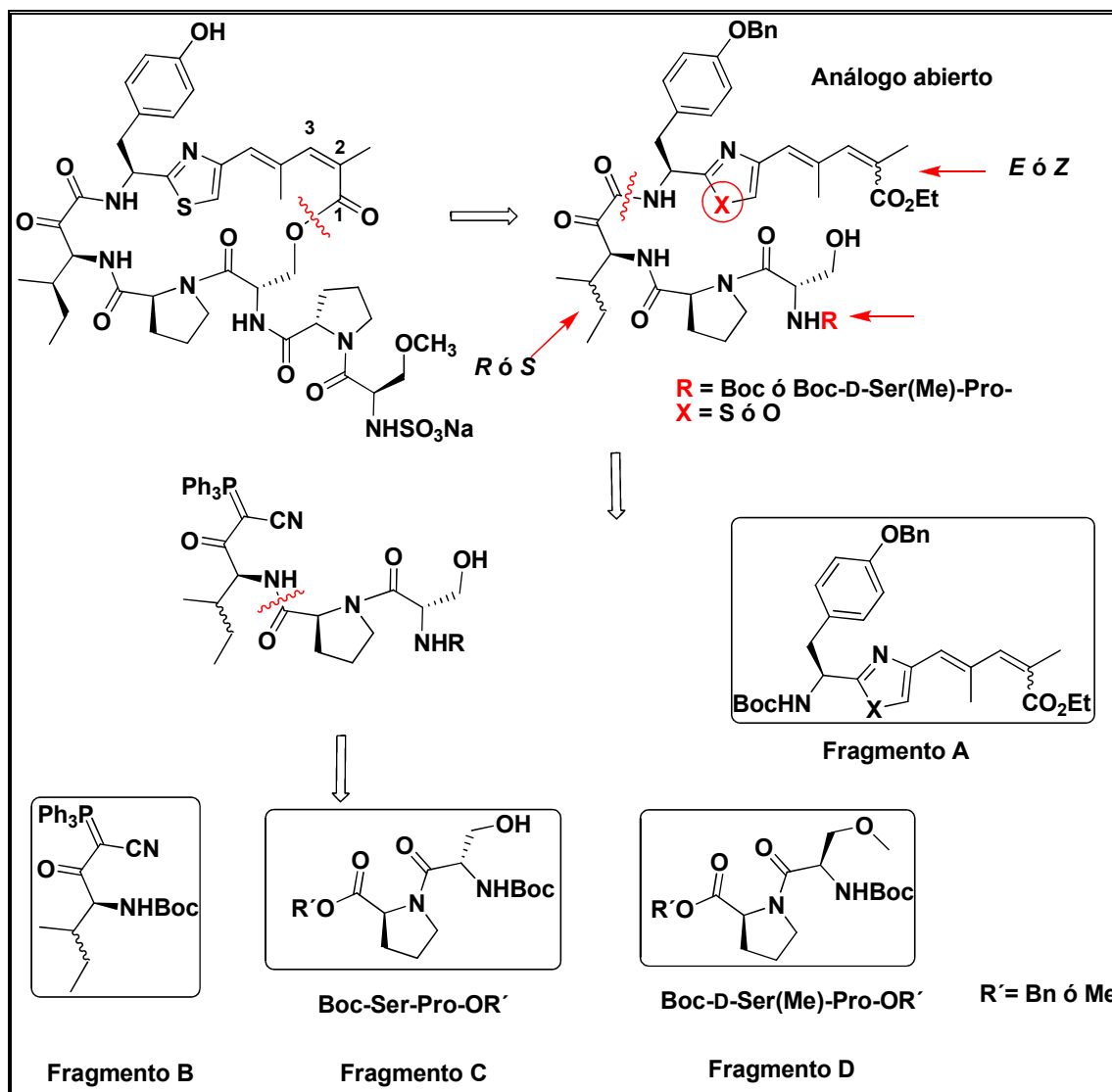
### 1.3- Objetivos

El objetivo general de esta tesis es desarrollar una metodología sintética que nos permita obtener análogos a la estructura originalmente planteada por Faulkner *et al.* y que actualmente debemos denominar isómero del producto natural Scleritodermina A con rendimientos adecuados. Posteriormente se realizarán los estudios de sus potenciales actividades citotóxicas sobre líneas tumorales humanas y antihelmínticas sobre *Nippostrongylus brasiliensis*.

Nuestro primer objetivo es realizar la síntesis de los fragmentos claves constituyentes del isómero del producto natural Scleritodermina A y/o sus análogos estructurales. Hemos decidido introducir diferentes cambios a los fragmentos que forman parte de la estructura originalmente reportada para la Scleritodermina A, de forma tal de obtener una serie de compuestos análogos. Estos cambios serían los siguientes:

1. Reemplazo isostérico del anillo de tiazol por uno de oxazol.
2. Obtención del isómero geométrico entre los carbonos 2 y 3 del fragmento **ACT**.
3. Utilización del aminoácido L-Isoleucina más económico, en vez de L-*allo*-Isoleucina.
4. Síntesis de una fracción peptídica incompleta (tripéptido Ile-Pro-Ser) que permite de todas formas obtener el precursor lineal del macrociclo.

Nuestro plan sintético para la construcción del isómero de Scleritodermina A y sus análogos estructurales es mostrado en el Esquema 1.



Esquema 1: Análisis Retrosintético

La primer desconexión en este posible análisis retrosintético se realiza a nivel del enlace macrolactónico, con lo cual se obtiene un precursor lineal completo al cual le podemos implementar los cambios enumerados anteriormente (en rojo en el Esquema 1).

A su vez, si realizamos sobre este análogo lineal una desconexión a nivel del enlace  $\alpha$ -cetoamida y posteriormente del enlace amida entre los residuos de Isoleucina y Prolina, llegamos a los **fragmentos claves** que tendremos que sintetizar previamente:

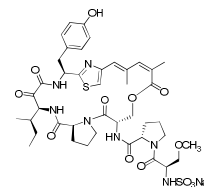
1. El **fragmento A** conteniendo el anillo heterocíclico de tiazol ó oxazol puede también ser obtenido como isómero *E,E* ó *E,Z*; lo cual nos da cuatro productos diferentes para sintetizar.
2. El **fragmento B**, es el derivado del aminoácido L-*allo*-Isoleucina o de su análogo L-Isoleucina, y se utilizará como precursor del enlace  $\alpha$ -cetoamida.
3. Por último, encontramos los **fragmentos C** y **D**, ambos peptídicos. El primer caso contiene la cadena peptídica completa (tetrapéptido) y en el otro caso solamente es un dipéptido que como ya dijimos permite construir un precursor lineal del macrociclo.

Mediante la combinación de estos cuatro fragmentos podemos realizar una síntesis convergente de varios análogos estructurales abiertos como los mostrados en el Esquema 1. De esta forma, con la síntesis individual de cada fragmento y su combinación posterior, estaríamos teniendo una biblioteca de análogos los cuales podrán ser sometidos a diferentes ensayos de actividad biológica.

En los capítulos siguientes, realizaremos el estudio retrosintético de cada uno de estos fragmentos y la descripción de la ruta sintética seguida en cada caso.

Posteriormente abordaremos los diferentes acoplamientos posibles entre los mismos explicando las ventajas y desventajas de cada estrategia planteada.

Por último, informaremos los resultados obtenidos de las actividades biológicas ensayadas para los diferentes intermediarios junto a conclusiones de relación estructura-actividad.



## Capítulo 2: Síntesis de fragmentos claves

### 2.1- Síntesis del fragmento A

#### 2.1.1- Antecedentes y metodología propuesta

Los anillos de oxazol / tiazol 2,4-disustituidos son estructuras que aparecen con asiduidad en productos naturales de origen marino. Nuestro grupo presenta una vasta experiencia en la síntesis de este tipo de compuestos, la cual se ha desarrollado durante los últimos años en trabajos relacionados con la obtención de análogos de Bengazoles,<sup>20</sup> Micotiazol,<sup>21</sup> Forboxazol,<sup>22</sup> etc. (Figura 5).

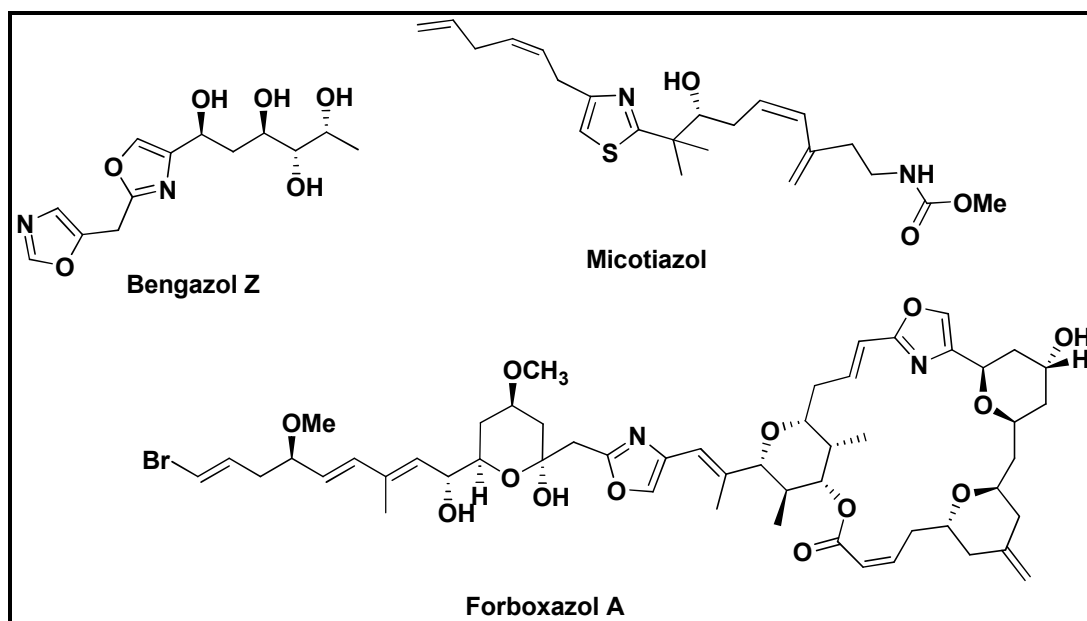


Figura 5: Moléculas estudiadas por nuestro grupo de investigación

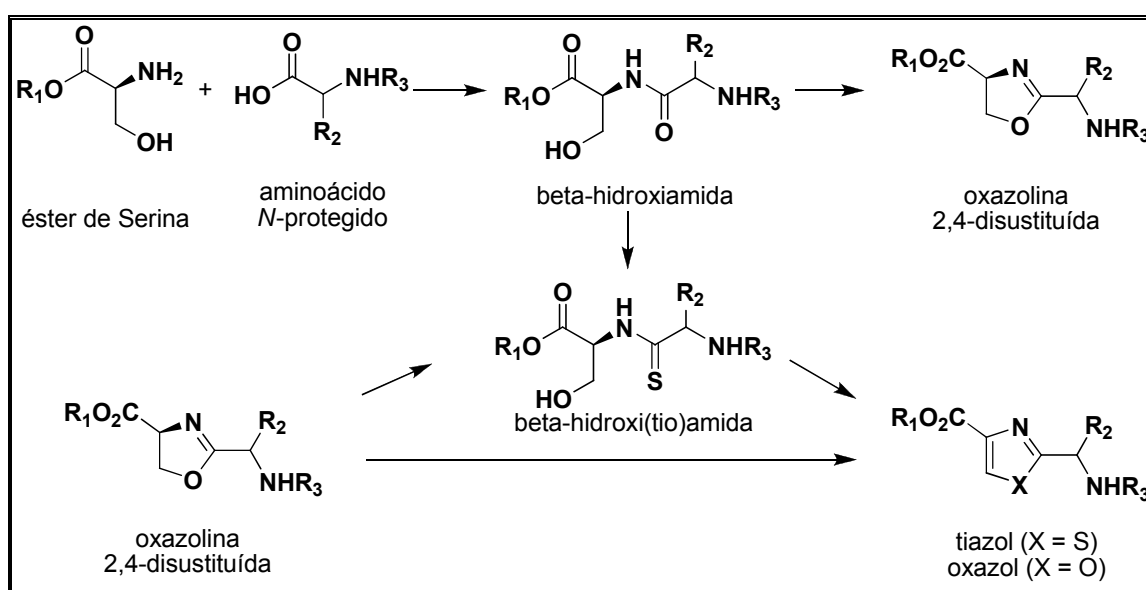
<sup>20</sup> Sellanes, D. Tesis de Maestría, Universidad de la República, Uruguay, 2004.

<sup>21</sup> a) Serra, G. L. Tesis doctoral, Universidad de la República, Uruguay, 1998 b) Mahler, S. G. Tesis doctoral, Universidad de la República, Uruguay, 2002.

<sup>22</sup> Incerti, M. Tesis doctoral, Universidad de la República, Uruguay, 2006.

La obtención de este tipo de heterociclos 2,4-disustituídos, se puede realizar mediante diferentes estrategias; pero sin duda la más utilizada es a partir de derivados peptídicos por reacciones de ciclodeshidratación / oxidación consecutivas.<sup>23</sup>

El acoplamiento de  $\beta$ -aminoalcoholes (por ej. ésteres del aminoácido Serina) con ácidos carboxílicos (por ej. aminoácidos *N*-protegidos), lleva a  $\beta$ -hidroxiamidas precursoras de anillos oxazolínicos a los cuales se arriba mediante una reacción de ciclodeshidratación (Esquema 2).



Esquema 2: Estrategias sintéticas para la obtención de Oxa(tia)zoles.

En este ejemplo, la función éster proveniente de Serina, queda ocupando la posición 4 del heterociclo, y la posición 2 es ocupada por la porción proveniente del ácido. A su vez, mediante la oxidación de este heterociclo se llega a la obtención del oxazol correspondiente, para lo cual en la mayoría de las metodologías reportadas es crucial la presencia de un grupo electrón atrayente como sustituyente del anillo.

<sup>23</sup> Palmer, D. C.; *Oxazoles: Synthesis, reactions, and spectroscopy, Part B*; Ed.; John Wiley & Sons, Inc.: New Jersey, 2004; Vol. 60.

Para el caso del anillo de tiazol, se debe partir de la  $\beta$ -hidroxitioamida análoga, la cual se puede obtener a partir de la  $\beta$ -hidroxiamida por cualquiera de las siguientes estrategias:

- 1) Sustituyendo el oxígeno carbonílico de la amida por azufre mediante la utilización de Reactivo de Lawesson.<sup>24</sup>
- 2) o, a través de una apertura de la oxazolona correspondiente a través de una tiólisis con  $\text{H}_2\text{S}$ .<sup>25</sup>

La obtención de oxazolinas, utilizando Deoxo-Flúor<sup>®</sup> y DAST (Figura 6), fue reportada por Wipf *et al.*<sup>26</sup> En este mismo reporte, se presenta un procedimiento para realizar la oxidación *in situ* de la oxazolona obtenida, utilizando la mezcla  $\text{BrCCl}_3/\text{DBU}$ . A su vez nuestro grupo, ha utilizado estos mismos reactivos (Deoxo-Flúor<sup>®</sup>/ $\text{BrCCl}_3/\text{DBU}$ ) para la obtención de tiazolinas y tiazoles a partir de  $\beta$ -hidroxitioamidas.<sup>27</sup>

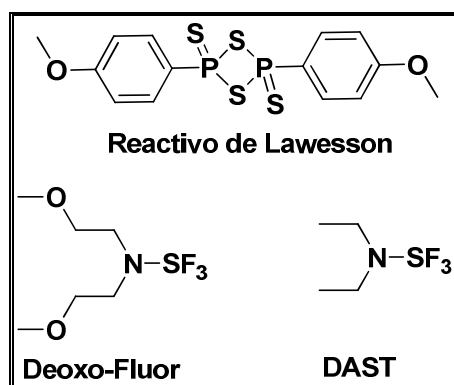


Figura: Agentes ciclodeshidratantes y reactivo de Lawesson

Todas estas metodologías de ciclodeshidratación y oxidación, son bien conocidas por nuestro grupo de trabajo. El uso de diferentes agentes ciclodeshidratantes, como DAST y Deoxo-Flúor, ha sido empleado con éxito en

<sup>24</sup> Pedersen, B. S.; Scheiby, S.; Clausen, K.; Lawesson, S.-O. *Bull. Soc. Chim. Belg.* **1978**, *87*, 293.

<sup>25</sup> Wipf, P.; Miller, C. P.; Venkatraman, S.; Fritch, P. C. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 6395.

<sup>26</sup> Phillips, A. J.; Uto, Y.; Wipf, P.; Reno, M. J.; Williams, D. R. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1165.

<sup>27</sup> Mahler, S. G.; Serra, G. L.; Antonow, D.; Manta E. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 8143.



trabajos previos realizados, dando lugar a varias publicaciones.<sup>28</sup> Lo mismo sucede con las reacciones de oxidación mencionadas, utilizando dióxido de manganeso ó BrCCl<sub>3</sub> / DBU (oxidación *in situ*).<sup>26</sup>

Es de destacar, que han sido encontrados varios precedentes en literatura de anillos de tiazol y/ú oxazol conjugados a dobles enlaces como por ejemplo en los productos naturales keramida F,<sup>29</sup> oriamida,<sup>30</sup> konbamida,<sup>31</sup> eptilonas,<sup>32</sup> etc.

La obtención de dobles enlaces carbono-carbono mediante reacciones de Wittig o modificaciones de ésta, ha sido también empleada en nuestro laboratorio en proyectos anteriores.<sup>33, 34</sup>

Tanto la reacción de Wittig con iluros de fósforo, o su modificación con fosfonatos (reacción de Horner-Wadsworth-Emmons (HWE)) son ampliamente usadas para la síntesis de ésteres  $\alpha,\beta$ -insaturados. Este tipo de reacciones, dan casi exclusivamente el alqueno *E*; por lo tanto, grandes esfuerzos se han realizado para obtener olefinas *Z*.

Aparecen en literatura unas pocas metodologías, las cuales son precisamente variaciones de las ya mencionadas, para la obtención de olefinas con configuración *Z*.

Para el caso de la reacción de Wittig con iluros de fósforo estabilizados, como sería en nuestro caso, encontramos un reporte que realiza la reacción utilizando el iluro **II** (Figura 7) y MeOH como solvente; y afirma que obtiene la estereoquímica *Z*, o sea inversa a lo esperado.<sup>35</sup>

En el caso de la reacción de Wittig en su modificación de Horner-Wadsworth-Emmons, se encuentran dos variaciones conocidas como: Still-

<sup>28</sup> a) Idem ref. 27. b) Scarone, L.; Sellanes, D.; Manta, E.; Wipf, P.; Serra, G. *Heterocycles* **2004**, *63*, 773. c) Mahler, G.; Serra, G.; Dematteis, S.; Saldaña, J.; Domínguez, L.; Manta, E. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 1309.

<sup>29</sup> Itagaki, F.; Shigemori, H.; Ishibashi, M.; Nakamura, T.; Sasaki, T.; Kobayashi, J. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 5540.

<sup>30</sup> Chill, L.; Kashman, Y.; Schleyer, M. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 16147.

<sup>31</sup> Kobayashi, J.; Itagaki, F.; Shigemori, H.; Takao, T.; Shimonishi, Y. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 2525.

<sup>32</sup> a) Gerth, K.; Bedorf, N.; Hofle, G.; Irschik, H.; Reichenbach, H. *J. Antibiot.* **1996**, *49*, 560.  
b) Hofle, G.; Bedorf, N.; Steinmetz, H.; Schomburg, D.; Gerth, K.; Reichenbach, H. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1567.

<sup>33</sup> Sellanes, D.; Scarone, L.; Mahler, G.; Manta, E.; Baz, A.; Dematteis, S.; Saldaña, J.; Domínguez, L.; Serra, G. *Letts. Drug Design Discovery* **2006**, *3*, 625.

<sup>34</sup> Sellanes, D.; Scarone, L.; Manta, E.; Wipf, P.; Serra, G. *Letters in Organic Chemistry*, **2006**, *3*, 309.

<sup>35</sup> Yadav, J. S.; Rajaiah, G.; Krishnam Raju, A. *Tetrahedron Letters* **2003**, *44*, 5831.

Genari<sup>36</sup> y Ando.<sup>37</sup> En la primera de ellas, se utilizan bis(trifluoroetil)fosfonésteres (III) y en la variación de Ando el grupo sustituyente del fosfonato es un fenilo. En ambas se logra obtener ésteres insaturados con alta selectividad Z.

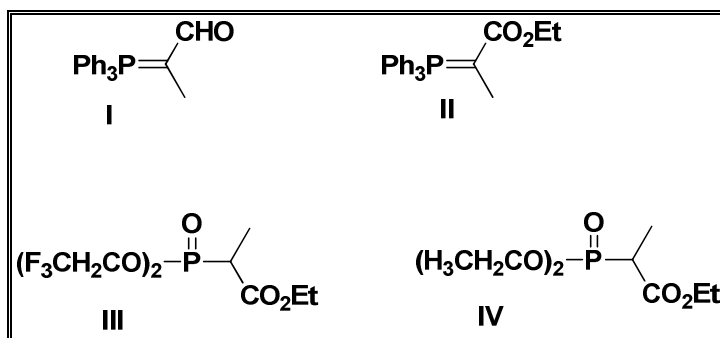


Figura 7: Iluros y fosfonatos

Otra variación reportada por Kishi en la síntesis de Monensin, utiliza un fosfonato con un grupo metil como sustituyente  $(\text{MeO})_2\text{P}(\text{O})\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}_2\text{CH}_3$ , y obtiene un alqueno con geometría Z.<sup>38</sup>

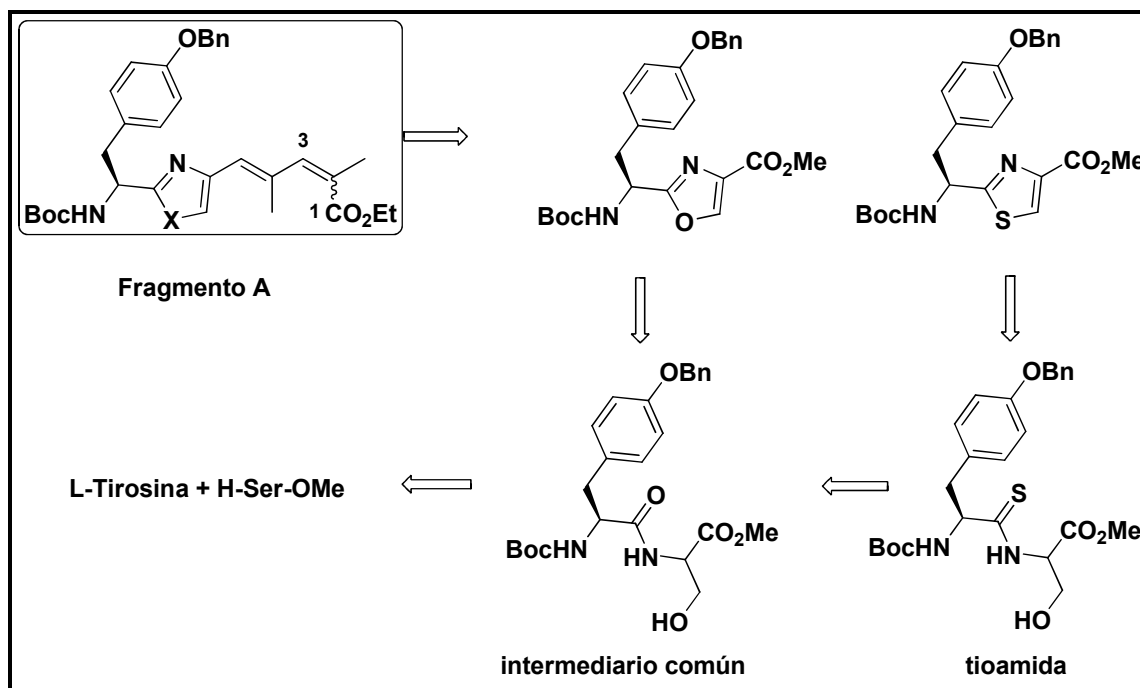
El **fragmento A** que nos proponemos sintetizar está compuesto por un anillo de tiazol ú oxazol 2,4-disustituido, presentando en posición 2 un resto de L-tirosina. El anillo se encuentra a su vez conjugado a una cadena doblemente insaturada, unida a la posición 4. La cadena presenta dos dobles enlaces trisustituidos y un carbonilo en el otro extremo.

Como podemos ver del análisis retrosintético propuesto para dicho fragmento (Esquema 3), la desconexión de la cadena lateral en posición 4 nos lleva al compuesto tiazólico ú oxazólico, a partir de reacciones de olefinación consecutivas. A su vez, los anillos aromáticos se pueden obtener de la  $\beta$ -hidroxi(tio)amida correspondiente, que proviene de los aminoácidos L-Serina y L-Tirosina. En el esquema se destaca también el precursor común a ambos anillos aromáticos.

<sup>36</sup> Still, W. C.; Gennari, C. *Tetrahedron Letters* **1983**, *24*, 4405.

<sup>37</sup> a) Ando, K. *Tetrahedron Letters* **1995**, *36*, 4105. b) Ando, K. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 8406.

<sup>38</sup> Schmid, G.; Fukuyama, T.; Akasaka, K.; Kishi, Y. *J. Am. Chem. Soc.*, **1979**, *101*, 259.



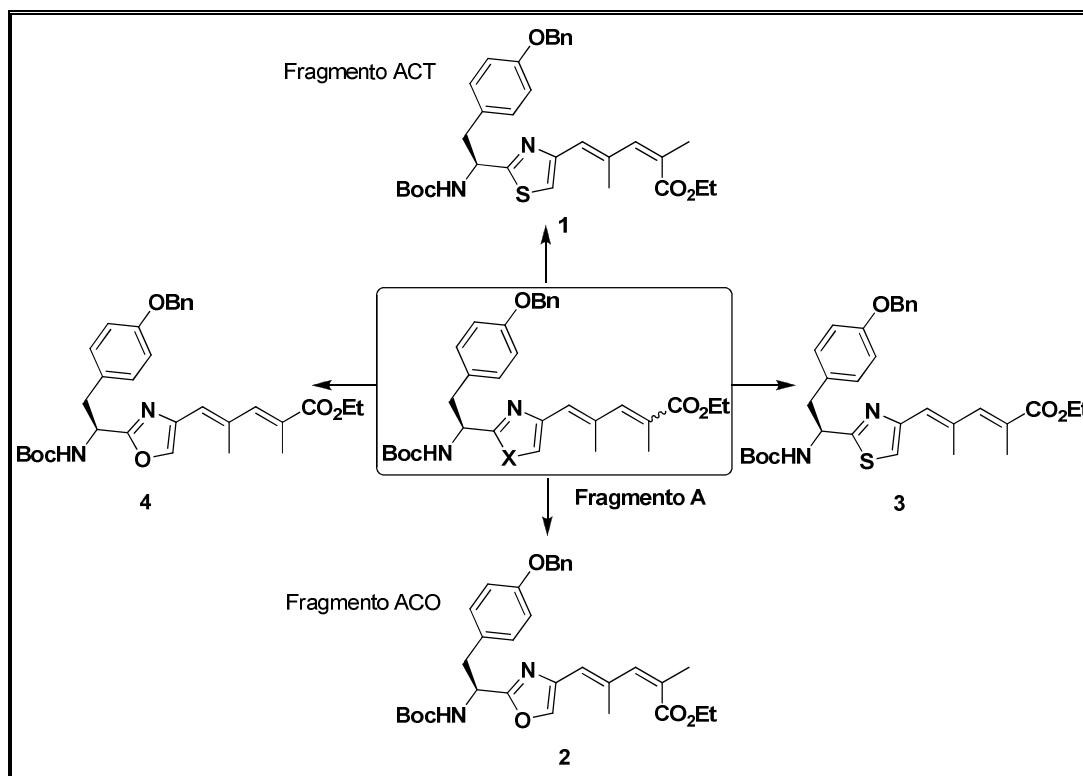
Esquema 3: Análisis retrosintético para el Fragmento A

El mayor desafío de esta etapa sintética, consiste precisamente en la formación del segundo doble enlace con configuración *Z*; el cuál está además conjugado a un grupo electrón atrayente (éster), donde utilizaremos las metodologías ya mencionadas.

Además, como mencionamos en el capítulo anterior, el doble enlace existente entre los carbonos 2 y 3 puede ser obtenido con ambas conformaciones, ya sea *Z* o *E*.

La estrategia sintética a desarrollar entonces, nos va a proporcionar cuatro **fragmentos A** distintos (Esquema 4):

- 1- el fragmento **ACT** (1), constituyente de la estructura del producto natural reportado originalmente, que presenta configuración *E,Z*.
- 2- el fragmento **ACO** (2), donde el anillo de tiazol del fragmento **ACT** es sustituido por su isómero oxazólico.
- 3- y ambos isómeros geométricos (3 y 4, con configuración *E,E*) de los fragmentos **ACT** y **ACO**.



Esquema 4: Variaciones estructurales del Fragmento A

### 2.1.2- Discusión de resultados:

Un factor importante a tener en cuenta al plantear la ruta sintética de estos fragmentos, es la adecuada elección de los grupos protectores a utilizar.

Para el aminoácido L-tirosina, hemos decidido utilizar bencilo (Bn) como grupo protector del hidroxilo fenólico y *t*-butoxicarbonilo (Boc) para la función amino. El grupo protector bencilo, es lo suficientemente inerte frente a las condiciones de reacción futuras, y podrá permanecer inalterado durante toda la síntesis.

Ambos grupos protectores son ortogonales<sup>39</sup> en condiciones ácidas suaves (TFA: diclorometano, 1:1 por ejemplo); por lo tanto, la función uretano puede ser removida sin afectar la integridad del éter.

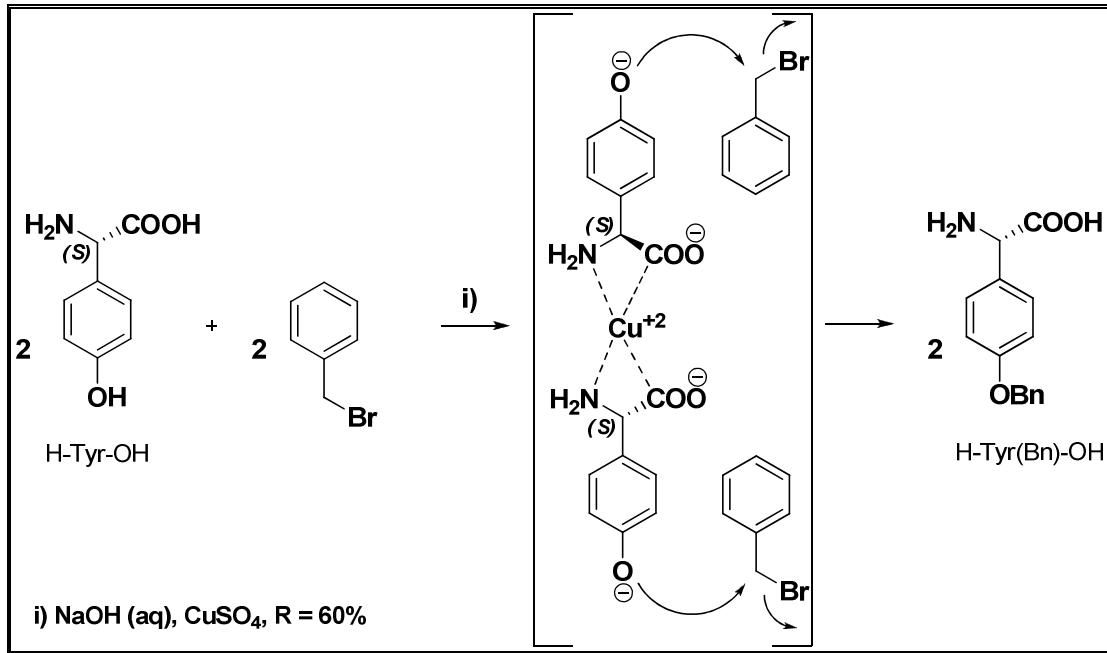
Al final, puede plantearse una remoción del bencilo por hidrogenación, en forma catalítica en presencia de un catalizador de Pd. Si bien la molécula tendrá dos dobles enlaces, estos no se verían afectados por esta metodología. Ambas olefinas presentan una alta estabilidad frente a la hidrogenación, por ser trisustituidas y estar formando un sistema conjugado con la función éster y el anillo aromático. Esta presunción está basada en diferentes ejemplos encontrados en la literatura.<sup>40</sup>

La síntesis del fragmento **ACT**, o su análogos, comienza entonces con la protección del grupo hidroxilo fenólico de la cadena lateral del aminoácido L-tirosina. La bencilación se realiza utilizando bromuro de bencilo en presencia de una sal de cobre en medio básico acuoso. En estas condiciones, dos moléculas del aminoácido se encuentran coordinadas a un catión de  $\text{Cu}^{+2}$ , permitiendo la sustitución del átomo de Br por el fenóxido, como se muestra en el Esquema 5.<sup>41</sup> Otros intentos de bencilación, utilizando cloruro de bencilo (BnCl) u otras bases como hidruro de sodio (NaH), hidróxido de potasio (KOH), etc; no dieron buenos resultados.

<sup>39</sup> a) Barany, G.; Merrifield, R. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 7363. b) Barany, G.; Albericio, F. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 4936.

<sup>40</sup> Greene, T. W.; Wuts, P. G. M. *Protective Groups in Organic Synthesis*; 3rd ed.; Wiley-Interscience: New York, 1999.

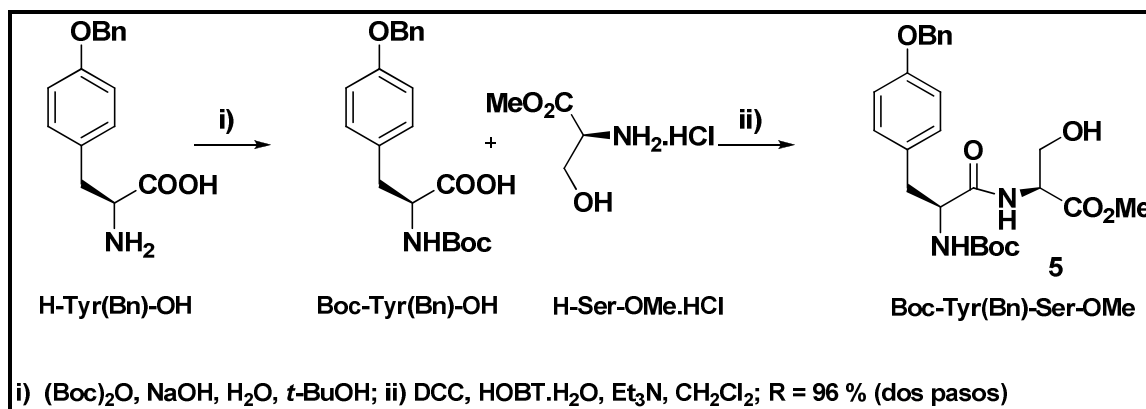
<sup>41</sup> Bodanszky, M. *Principles of peptide synthesis*; Springer: Berlin, 1984.



Esquema 5: Bencilación de L-Tyr en medio básico acuoso en presencia de Cu<sup>+2</sup>

Luego, el grupo amino se protege en medio básico acuoso en presencia de (Boc)<sub>2</sub>O. De esta forma, este aminoácido trifuncional, tiene dos de sus tres grupos funcionales protegidos y está listo para el acoplamiento a través del ácido carboxílico con el derivado de L-Serina.

En el Esquema 6, se presenta el acoplamiento entre ambos derivados aminoacídicos, utilizando como agente acoplante diciclohexilcarbodiimida (DCC) en presencia del alcohol aromático 1-hidroxibenzotriazol (HOBt). Se obtiene la amida **5**, con un excelente rendimiento del 96 %.



Esquema 6: Formación del dipéptido Boc-Tyr(Bn)-Ser-OMe (5)

Previamente, con el fin de mejorar los rendimientos para la formación del compuesto **5**, este acoplamiento se llevó a cabo bajo diferentes condiciones; obteniéndose los resultados que aparecen en la Tabla 1.

Reacción	Agente activante	Base <sup>1</sup>	Aditivo	Solvente	Temp. (°C)	Rendimiento (%)
1	EDCI	TEA	4-DMAP	DCM	TA	48
2	EDCI	TEA	-	DCM	TA	56
3	DCC	TEA	-	DCM	TA	73
4 <sup>2</sup>	DCC	TEA	HOBt	THF	TA	78
5 <sup>2</sup>	DCC	TEA	HOBt	DCM	TA	85
6 <sup>2</sup>	DCC	TEA	HOBt	DCM	0°C→TA	96

<sup>1</sup> Se añaden dos equivalentes de base.

<sup>2</sup> Rendimiento calculado a partir de H-Tyr(Bn)-OH (dos pasos de reacción)

Tabla 1: Condiciones de reacción para la formación de la amida **5**

De las reacciones 1 y 2, se puede concluir que cuando utilizamos EDCI como agente activante el agregado del aditivo 4-DMAP no mejora el rendimiento obtenido.

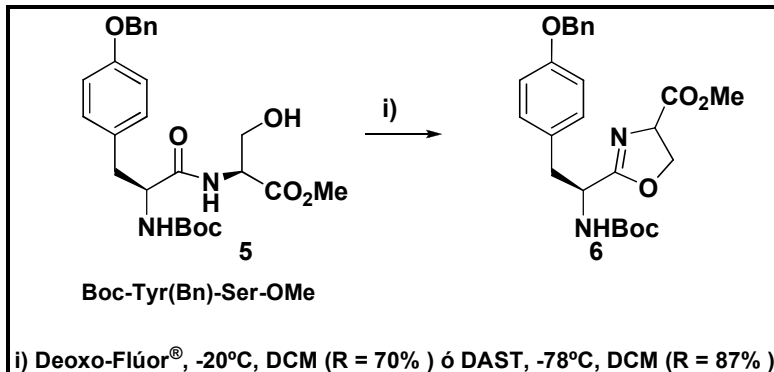
Comparando las reacciones 2 y 3, vemos un aumento en el rendimiento cuando se utiliza DCC en lugar de EDCI.

Queda evidenciado si comparamos las reacciones 3 y 5, que el uso de la combinación DCC/HOBt mejora notoriamente el rendimiento.

También investigamos el efecto de un cambio de solvente, encontrando un mejor resultado con el uso de DCM en lugar de THF como se desprende de la comparación de las reacciones 4 y 5. Cabe destacar también que el uso de solventes de bajas constantes dieléctricas, ayuda a prevenir la racemización (ver explicación de racemización en el Capítulo 2.2).<sup>42</sup>

Cuando realizamos el agregado de los reactivos a 0°C, y dejamos reaccionar luego a TA, obtuvimos una notoria mejoría en el rendimiento (reacción 6) comparada a cuando dicho agregado se hizo a temperatura ambiente (reacción 5).

Ahora, tomando como punto de partida la amida **5** (Boc-Tyr(Bn)-Ser-OMe) trabajamos hacia la obtención del anillo de tiazol y su análogo oxigenado. Partiendo entonces de la amida **5** se logra obtener la oxazolina **6**, con muy buenos rendimientos ya sea utilizando uno u otro agente ciclodeshidratante (Esquema 7).

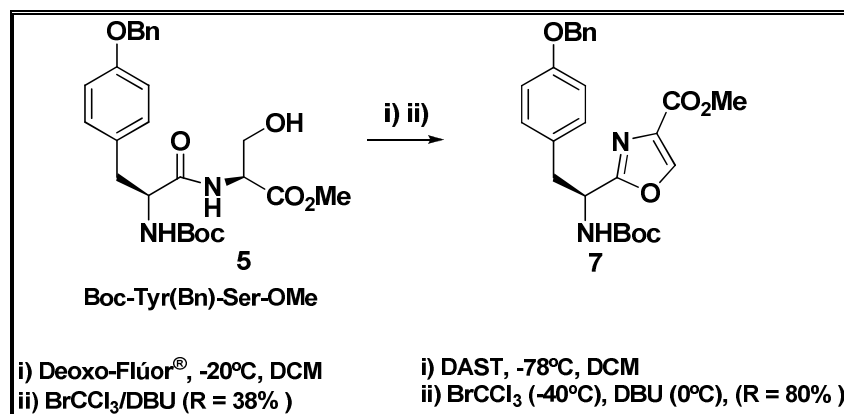


Esquema 7: Obtención de oxazolina **6**

A partir de la oxazolina **6**, por oxidación *in situ* con BrCCl<sub>3</sub>/DBU, se obtiene el oxazol **7** correspondiente (Esquema 8).

<sup>42</sup> Albericio, F. *Current Opinion in Chemical Biology* **2004**, 8, 211.



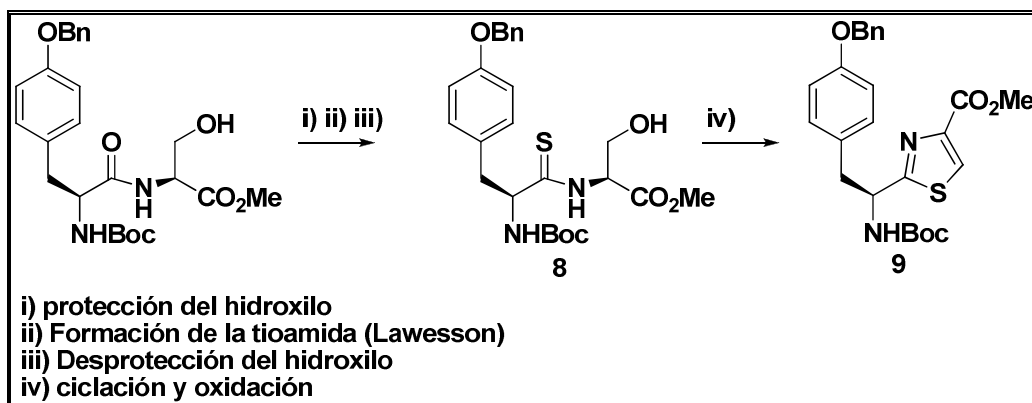
Esquema 8: Obtención del oxazol **7**

En el Esquema 8, también se ve claramente como el uso de DAST/BrCCl<sub>3</sub>/DBU da un rendimiento total (desde la amida al oxazol) muy superior (80%) comparado al Deoxo-Flúor<sup>®</sup> (38%). Se deduce claramente, que el paso de oxidación *in situ* cuando se usa Deoxo-Flúor<sup>®</sup> es de menor eficiencia que cuando se usa DAST.

Para la obtención del tiazol **9**, se pueden seguir las dos estrategias diferentes mencionadas anteriormente, a partir de la misma amida **5**, las cuales son explicadas a continuación:

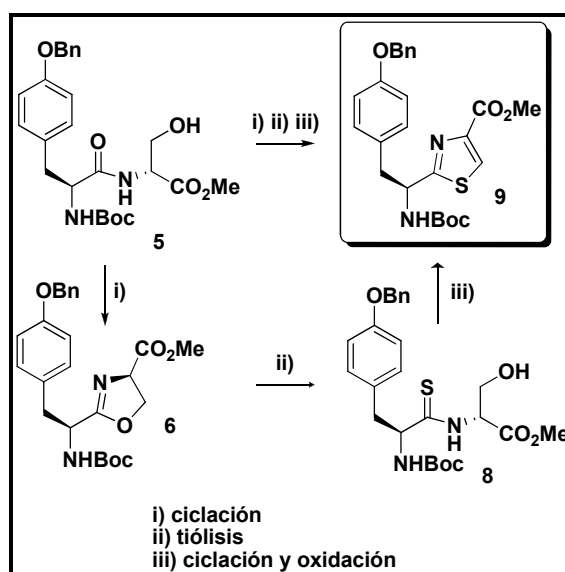
1) Se protege el hidroxilo de la amida **5**, utilizando un grupo protector fácilmente removible en presencia de los otros grupos protectores. Luego se realiza un intercambio del oxígeno carbonílico por un átomo de azufre utilizando reactivo de Lawesson,<sup>43</sup> obteniéndose la tioamida correspondiente. Por último, se desprotege el hidroxilo primario y se realiza una reacción de ciclodeshidratación y oxidación consecutivas de la β-hidroxitioamida con lo que se obtiene el tiazol mostrado en el siguiente Esquema 9; o,

<sup>43</sup> Pedersen, B. S.; Scheiby, S.; Clausen, K.; Lawesson, S.-O. *Bull. Soc. Chim. Belg.* **1978**, *87*, 293.



Esquema 9: Estrategia con reactivo de Lawesson

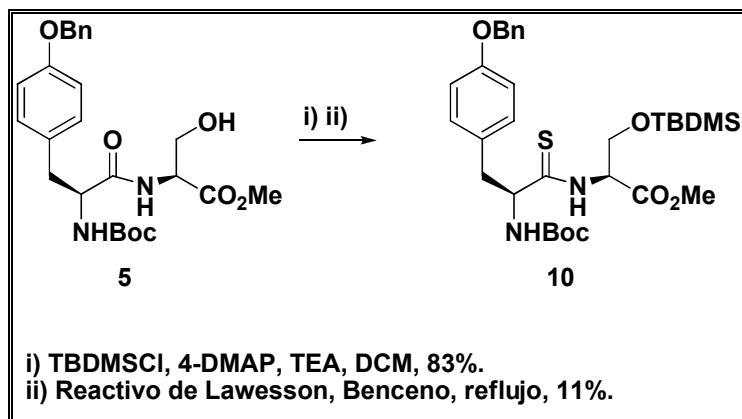
2) luego de obtener la oxazolina **6**, se realiza una apertura del ciclo utilizando sulfuro de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{S}$  (g)), es decir una tiólisis de la oxazolina, obteniéndose de esta manera la  $\beta$ -hidroxitioamida correspondiente con la cual se arriba al tiazol (Esquema 10).<sup>25</sup>



Esquema 10: Estrategia por tiólisis de oxazolina

Analizando estas estrategias vemos que la primera de ellas consiste de cuatro pasos de síntesis, dos de los cuales son reacciones de protección/desprotección. La segunda estrategia en cambio, solo necesita tres pasos a partir de la amida **5** para llegar al tiazol **9**.

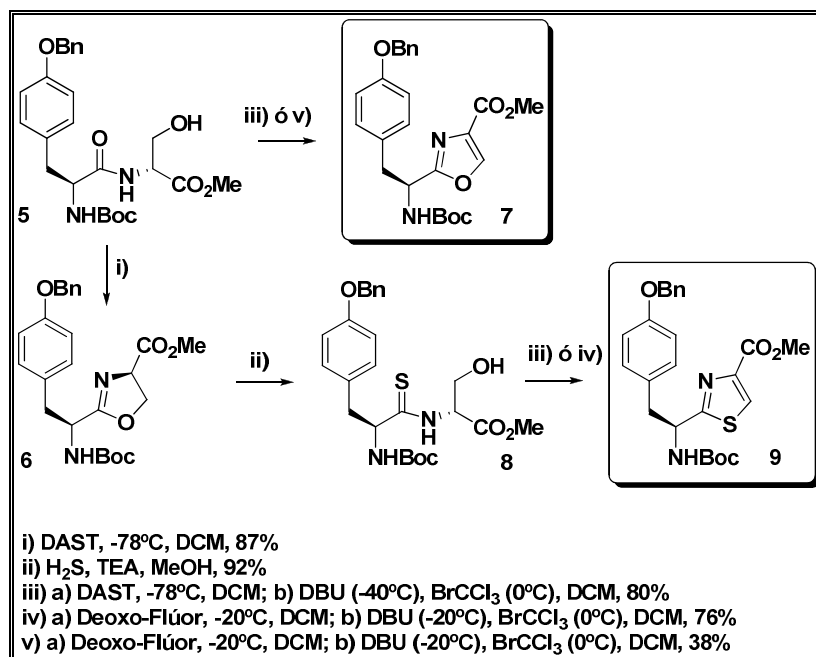
Ensayamos cada una de estas estrategias, y en la primera de ellas, encontramos un muy bajo rendimiento en la obtención de la tioamida **10** protegida utilizando reactivo de Lawesson (Esquema 11).



Esquema 11: Uso del reactivo de Lawesson

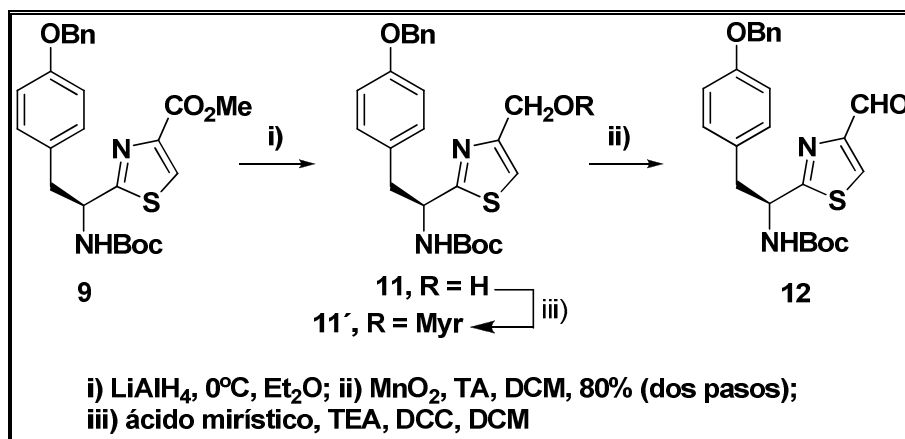
En la segunda estrategia, el rendimiento global de la secuencia de tres reacciones es muy bueno (64%), permitiéndonos obtener esta estructura de forma muy eficaz (Esquema 12). La estructura de la tioamida **8** es confirmada por la presencia de una señal a 205,0 ppm en el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN, asignable a la función tiocarbonilo; dicha señal se distingue de la del carbonilo del reactivo que aparece a 172,3 ppm.

Resumiendo, en el Esquema 12 podemos ver la estrategia sintética seguida para la obtención de ambos análogos heterocíclicos.

Esquema 12: Obtención del tiazol **9**

Con el anillo aromático en nuestras manos (tiazol **9** y oxazol **7**), trabajamos hacia la síntesis de la cadena insaturada que ocupa la posición 4 de los heterociclos. De esta forma, obtendremos el fragmento **ACT (1)**, su análogo **ACO (2)**, y los isómeros geométricos (**3** y **4**, configuración *E,E*) de ambos como discutimos anteriormente. Como se vió en el análisis retrosintético, el planteo consiste en realizar 2 reacciones de Wittig consecutivas con los reactivos indicados de forma de obtener las olefinas trisustituidas con la estereoquímica deseada.

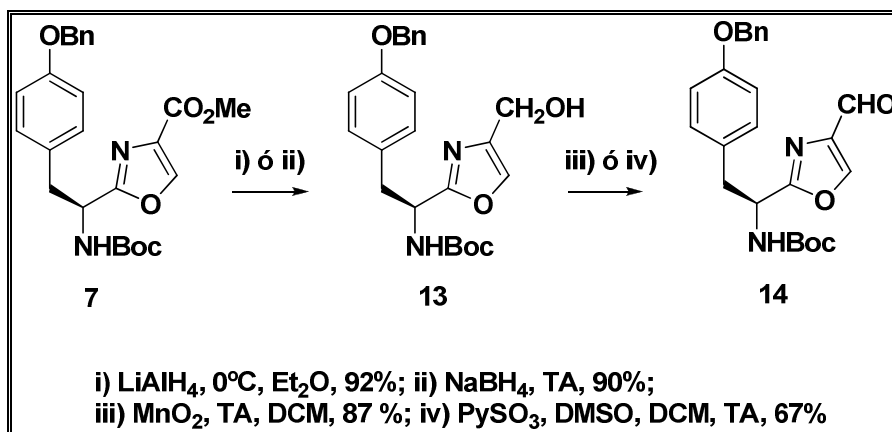
El grupo éster del tiazol **9**, es reducido al alcohol **11** correspondiente (Esquema 13) mediante el uso de hidruro de litio y aluminio (LiAlH<sub>4</sub>). La estrategia de realizar la reducción directamente a aldehído con hidruro de diisobutilaluminio (DIBALH) fue ensayada pero sin éxito; debido a que la alta activación del éster por encontrarse unido a un anillo aromático lleva a la conversión del mismo directamente a alcohol.

Esquema 13: Obtención del aldehído **12**

Este alcohol **11** es tratado con dióxido de manganeso (MnO<sub>2</sub>), obteniéndose el aldehído **12** con un rendimiento del 80 % (los dos pasos). El alcohol **11** fue sometido también a esterificación con ácido mirístico, dicho éster (**11'**) fue sometido a ensayos de actividad citotóxica.

El pasaje del éster oxazólico **7** a aldehído **14** fue realizado de forma análoga como se muestra en el Esquema 14. El rendimiento obtenido es también del 80 %. Utilizamos borohidruro de sodio para la reducción del éster a alcohol obteniendo un rendimiento algo menor (90%) comparado con el uso de hidruro de litio y aluminio (92%). A su vez, también se realizó la oxidación del alcohol **13** utilizando DMSO (oxidación tipo Swern) bajo las condiciones conocidas como Parikh-Doering;<sup>44</sup> pero no se produce un avance luego de un cierto tiempo de reacción, obteniéndose un rendimiento de 67%, aunque se recupera el reactivo.

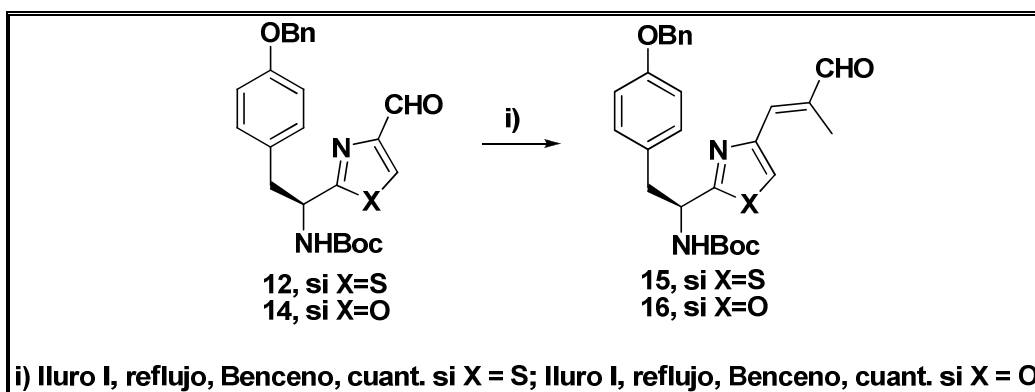
<sup>44</sup> Parikh, J. R.; Doering, W. V. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 5505.



Esquema 14: Obtención del aldehído 14

El siguiente paso, consiste en la olefinación del aldehído **12** y su análogo **14**. Con el uso del iluro de fósforo **I** (Figura 7) se lleva a cabo una reacción de Wittig, y en ambos casos tanto el rendimiento como la estereoselectividad obtenidas para los alquenos **15** y **16** son excelentes (Esquema 15).

Otra manera de obtener este mismo producto, es mediante la reacción de oxidación/Wittig *in situ*.<sup>45</sup> En esta metodología se parte del alcohol y se realiza la oxidación y posterior agregado del iluro mencionado *in situ*, con lo que se evita el aislamiento del aldehído. La misma fue ensayada obteniéndose un bajo rendimiento.

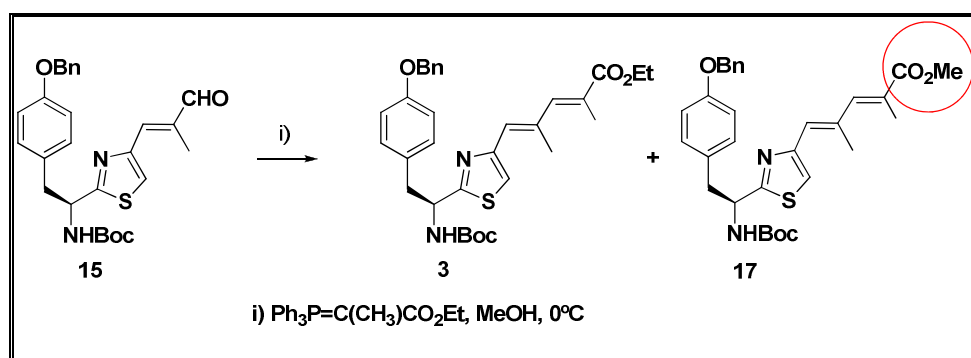


Esquema 15: Reacción de Wittig sobre Aldehídos 12 y 14

<sup>45</sup> Taylor, R. J. K.; Wei, X. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 3815.

Mediante experimentos de NOE, se confirma la estereoquímica del doble enlace sintetizado. Las correlaciones encontradas entre el grupo metilo y el protón en posición 5 del anillo y entre el protón alquénico y el protón aldehídico, demuestran la estereoquímica *E* del doble enlace.

El siguiente paso, consiste en sintetizar el segundo doble enlace de configuración *Z*. En la primer metodología investigada para este objetivo, se hace reaccionar el aldehído **15** con el iluro **II**, en MeOH como solvente. Se produce la formación del dieno **3** y el producto de transesterificación **17**, en una relación 1: 1. Ambos, presentan estereoquímica *E*, siendo por lo tanto un fracaso nuestro intento de obtener el doble enlace con la configuración correcta (Esquema 16).



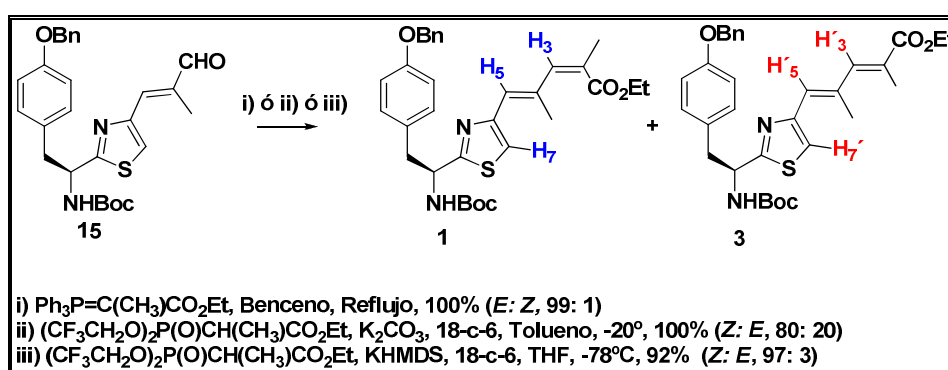
Esquema 16: Olefinación en MeOH

En el Esquema 17, se presenta la síntesis del dieno **1**. Se utiliza la metodología reportada por Still y Genari.<sup>36</sup> En ambos casos se utiliza el fosfonato **III**, generándose el carbanión correspondiente ya sea mediante  $\text{K}_2\text{CO}_3$  o la base hexametildisililazano de potasio (KHMDs o  $\text{KN}(\text{TMS})_2$ ). La primer reacción se realiza a  $-20^\circ\text{C}$  con benceno como solvente, mientras que la segunda utiliza THF a  $-78^\circ\text{C}$ .

La proporción entre los isómeros **1** y **3** es determinada mediante el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN, a través de la comparación de la integración de las señales de uno de los protones unidos a  $\text{C sp}^2$ . Bajo las condiciones de la primera reacción, la relación *Z*: *E* lograda es de 80: 20. Cuando se utilizan las condiciones de la segunda reacción, se obtiene una excelente estereoselectividad de 97: 3.

Para determinar inequívocamente la relación isomérica obtenida de estos productos y determinar que señal en el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN corresponde a uno u otro isómero, realizamos la síntesis del isómero **3** exclusivamente.

Como se describe en literatura, esto se logra realizando una reacción de HWE utilizando el fosfonato **IV**, obteniéndose solamente el isómero buscado. En la siguiente Figura 8, se muestra una comparación de los espectros de  $^1\text{H}$ -RMN de cada una de las reacciones descritas (Esquema 17). En color azul se indican los protones del isómero **1**, y en rojo los de **3**. Como se desprende de la Figura 8, en el espectro i), solo vemos señales pertenecientes al producto **3**.



Esquema 17: Síntesis de Dienes **1** y **3**



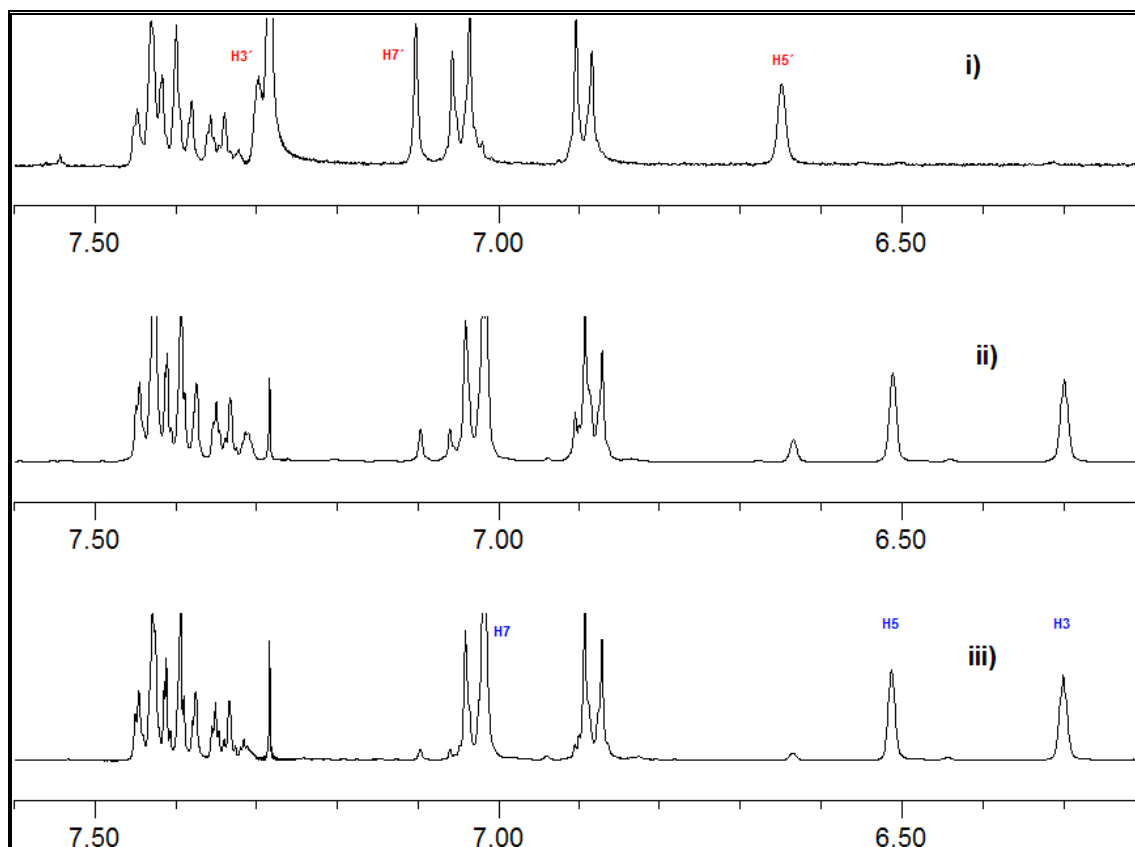


Figura 8: Espectros de  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de la mezcla de isómeros **1** y **3**

Adicionalmente, estudios de NOE fueron realizados sobre el isómero **1**.

Una fuerte correlación entre el protón **H-3** y los protones metílicos ( $\text{CH}_3$ -17) (Figura 9) indican una geometría *Z* de este doble enlace.

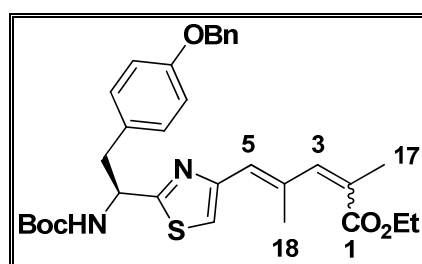


Figura 9

Se intentó también caracterizar estos productos mediante el cálculo de la constante de acoplamiento entre el carbono metílico ( $\text{CH}_3$ -17) y el protón en posición 3 de uno u otro isómero. Para esto, obtuvimos el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN

acoplado a protón del isómero **1**. En la Figura 10, se ve el desdoblamiento que presentan las señales de C en este tipo de espectro. En la parte inferior, vemos el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN no acoplado a protón, y en la parte superior el espectro acoplado. Sobre fondo de color, se señala la zona donde aparecen las señales de los carbonos metílicos ( $\text{CH}_3$ -17 y  $\text{CH}_3$ -18).

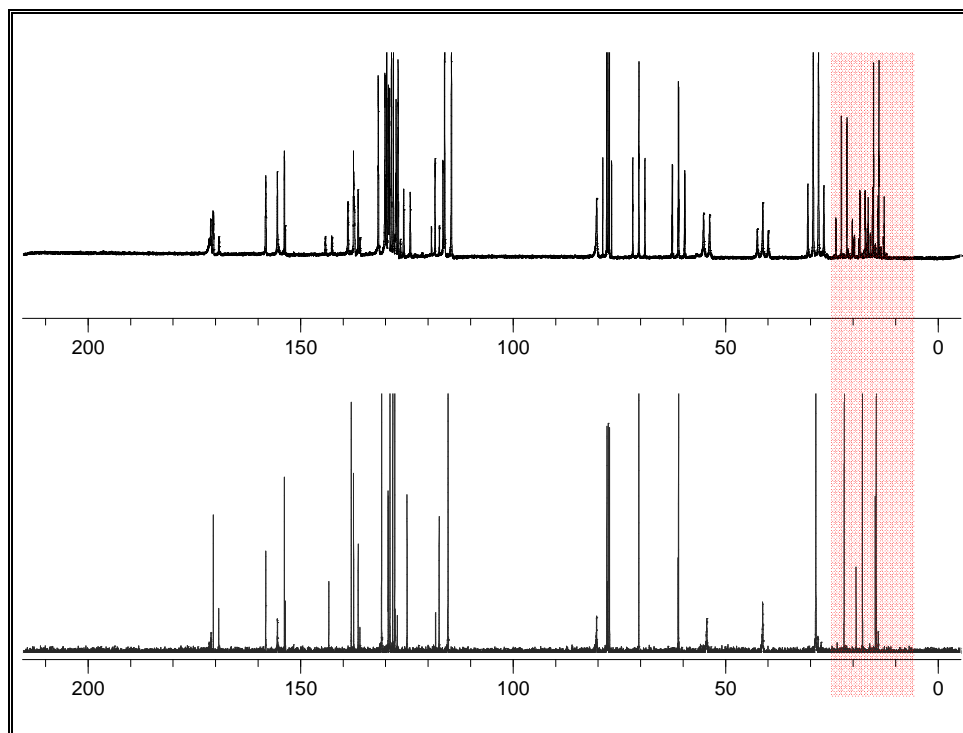


Figura 10: Espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) desacoplado (abajo) y  $^{13}\text{C}$ -RMN acoplado (arriba) del producto **1**

Si vemos esta zona ampliada, observaremos el desdoblamiento de las señales. Esto nos permite calcular las constantes de acoplamiento carbono-protón a uno y tres enlaces. Las constantes de acoplamiento del  $\text{CH}_3$ -17 son  $^1J_{\text{C17-H17}} = 128,7$  y  $^3J_{\text{C17-H3}} = 7,2$  Hz respectivamente. Mientras que  $\text{CH}_3$ -18 presenta tres constantes de acoplamiento:  $^1J_{\text{C18-H18}}$  de 127,4 Hz,  $^3J_{\text{C18-H5}}$  de 7,9 Hz y por último  $^3J_{\text{C18-H3}}$  de 3,9 Hz.

Para determinar la configuración del doble enlace *Z*, mediante esta forma, no alcanza con obtener solo el valor absoluto de la constante; sino que debemos comparar la constante  $^3J_{\text{C17-H3}}$  de ambos isómeros geométricos. Con este objetivo, obtuvimos el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN acoplado del isómero **3**.

Realizamos el análisis de las constantes de acoplamiento de la misma forma que el producto anterior; con tan poca fortuna, que la señal perteneciente al CH<sub>3</sub>-17 aparece con el mismo desplazamiento que el Carbono metílico del grupo éster, haciendo imposible el cálculo y la comparación de ambas constantes. De todas formas, cabe señalar que el valor de  $^3J_{C17-H3}$  de 7,2 Hz está de acuerdo a los datos bibliográficos que aparecen sobre el tema. En la Figura 11, se muestran dos estructuras y sus respectivas constantes de acoplamiento extraídas de "Structure determination of Organic Compounds".<sup>46</sup>

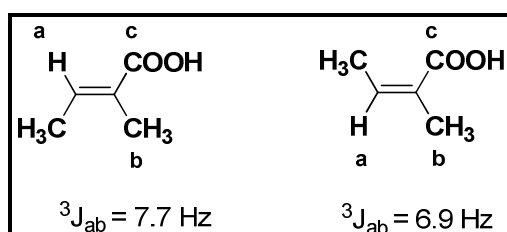
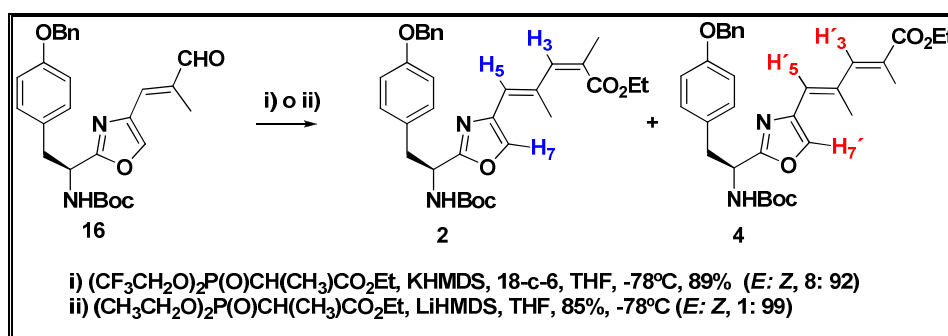


Figura 11: Constantes de acoplamiento extra

La obtención del producto **2** (ACO), se hizo en forma análoga al **1** (ACT). En el siguiente Esquema 18 se muestra la obtención del mismo. Tanto la estereoselectividad como el rendimiento obtenido son muy buenos (Figura 12).



Esquema 18: Síntesis de Dienes **2** y **4**

<sup>46</sup> Pretsch, E.; Buhlmann, P.; Affolter, C. *Structure determination of Organic Compounds*; Springer: Berlín, 2000 y ref allí citadas.

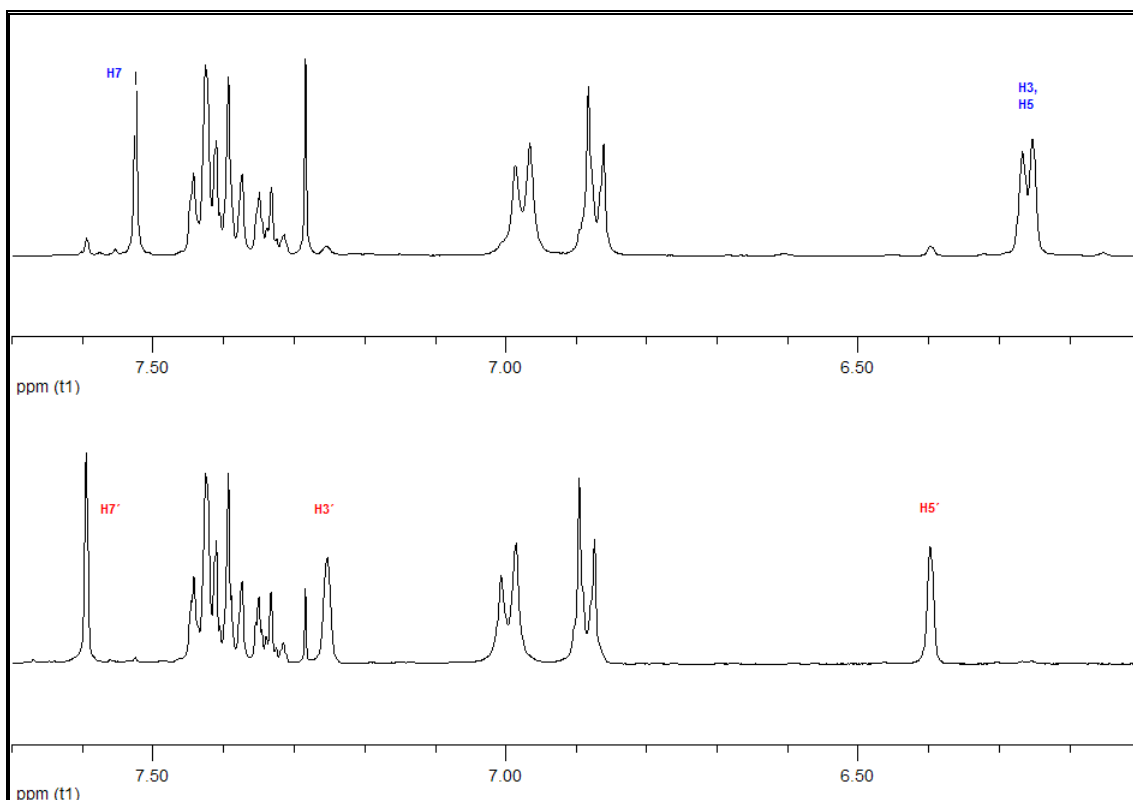


Figura 12: Espectros de  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de la mezcla de isómeros **2** y **4**

Una comparación de los espectros de  $^1\text{H}$ -RMN del tiazol **ACT** (**1**) o su análogo **ACO** (**2**) es realizada en la Figura 13. En la misma figura también podemos apreciar las diferencias y similitudes de los espectros de los isómeros **3** y **4**.

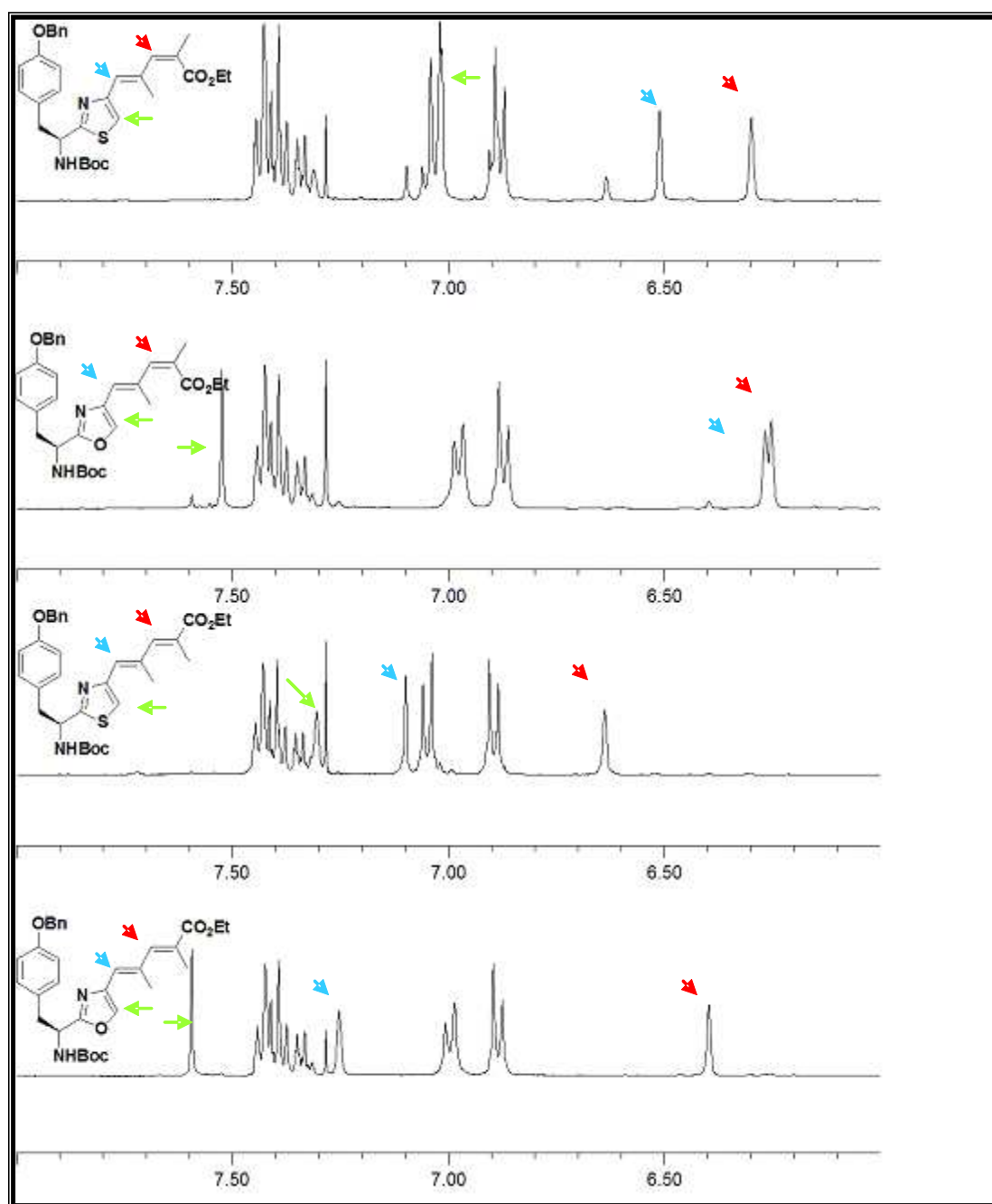


Figura 13: Comparación de los espectros  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de los cuatro Fragmentos A.

La comparación de las constantes de acoplamiento de carbono – protón tampoco pudo ser realizada en el caso de los productos oxazólicos.

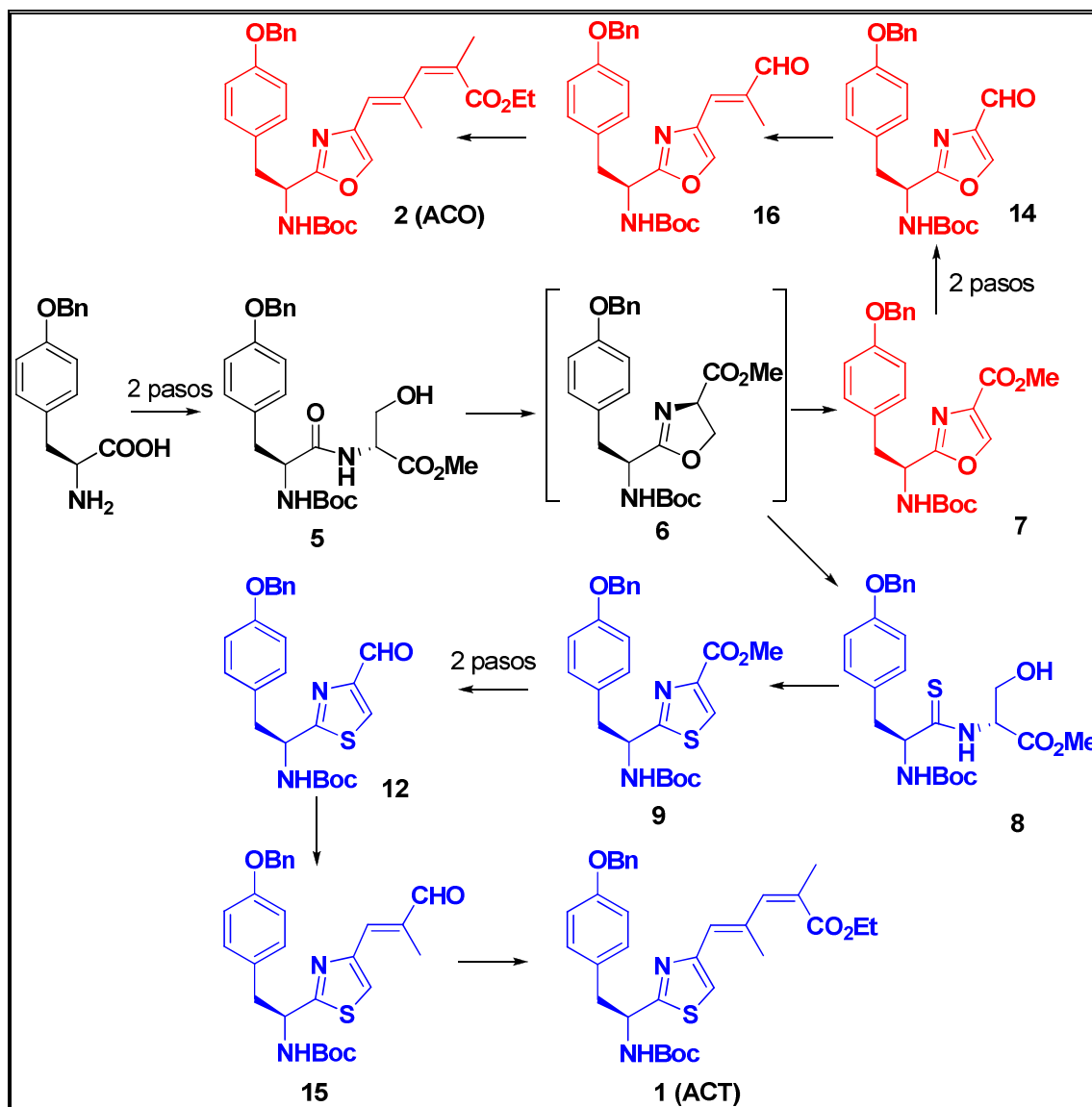
Lamentablemente para nuestros intereses, en el caso de los productos **2** (ACO) y **4** sucede exactamente lo mismo, en uno de los isómeros dos carbonos tienen

el mismo desplazamiento. Entonces, no pudimos verificar la configuración del doble enlace por éste método.

En el siguiente Esquema 19, vemos la síntesis completa de los fragmentos análogos **1**, **2**, **3** y **4**, a partir de O-Bencil-L-tirosina. La ruta sintética que lleva al producto **1**, consta de 9 pasos de reacción y se realiza con un rendimiento total de 45 %. Mientras tanto, la síntesis del análogo oxigenado **2** se lleva a cabo en 7 pasos de reacción con un rendimiento global del 55 %. En color negro, se destacan los pasos sintéticos comunes a ambos análogos, desde L-tirosina hasta la oxazolina **6**, si bien la misma no se aísla en la síntesis del oxazol. En la parte superior del esquema (en color rojo) se presentan las reacciones pertenecientes a la síntesis del oxazol **2** y en la parte inferior (en color azul) al tiazol **1**.

En el último paso de ambas rutas puede ser realizado el acoplamiento de Wittig para obtener los isómeros **3** y **4**. Dichos compuestos fueron obtenidos con un excelente rendimiento global del 49% en el caso del isómero azufrado y del 61 % para el oxigenado. En esta ruta se han sintetizado y caracterizado diecisiete nuevos productos.

Como se puede apreciar entonces, en nuestra ruta hacia la síntesis total del producto natural, nos hemos desviado sintetizando 3 análogos más, utilizando el concepto de la "*diverted total synthesis*". Hemos cumplido además con una de las premisas en la síntesis de análogos estructurales: la simplificación de la ruta sintética y la mejora en el rendimiento. Resta por saber, si dichos análogos pueden sustituir a las estructuras originales en cuanto a actividad biológica.



Esquema 19: Resumen de la síntesis del Fragmento A

## 2.2- Síntesis de los fragmentos B, C y D

### 2.2.1- Antecedentes: Síntesis peptídica

Los péptidos y proteínas juegan roles cruciales en procesos biológicos y fisiológicos de los organismos vivos. Es por eso que ha habido una gran expansión de estas moléculas como fármacos en los últimos años, y su importancia en el mercado farmacéutico actual es enorme. Esto ha hecho, que la búsqueda de metodologías cada vez más eficientes para la obtención de los mismos sea incesante.

El nacimiento de la síntesis peptídica es atribuida a los químicos Theodor Curtius (finales del siglo XIX) y Emil Fischer (principios del siglo XX). Desde esos primeros trabajos hasta la actualidad, se han producido importantes desarrollos.

Por ejemplo, importantes avances en el campo de los grupos protectores llevó a que en el año 1932 el químico Du Vigneaud sintetizara el octapéptido Oxitocina, por cuyo trabajo recibió el Premio Nobel. Así mismo, años más tarde, Merrifield publicó su trabajo acerca de la química en fase sólida, lo cual dio un impulso aún mayor a la síntesis peptídica, y por la cual este autor también recibió el Premio Nobel.<sup>47</sup> En tiempos más recientes, lo que ha marcado un hito en la síntesis de péptidos es la obtención del péptido compuesto por 36 aminoácidos conocido como T-20 Fuzeón<sup>®</sup>, el cual se utiliza como inhibidor del HIV.<sup>48</sup>

Todo este desarrollo, ha hecho que hoy en día, sean innumerables los reactivos para síntesis de péptidos que se han introducido en el mercado, lo que ha llevado a la síntesis peptídica a convertirse en una disciplina muy importante a nivel industrial.<sup>42</sup>

---

<sup>47</sup> Kimmerlin, T.; Seebach, D. *J. Peptide Res.* **2005**, 65, 229.

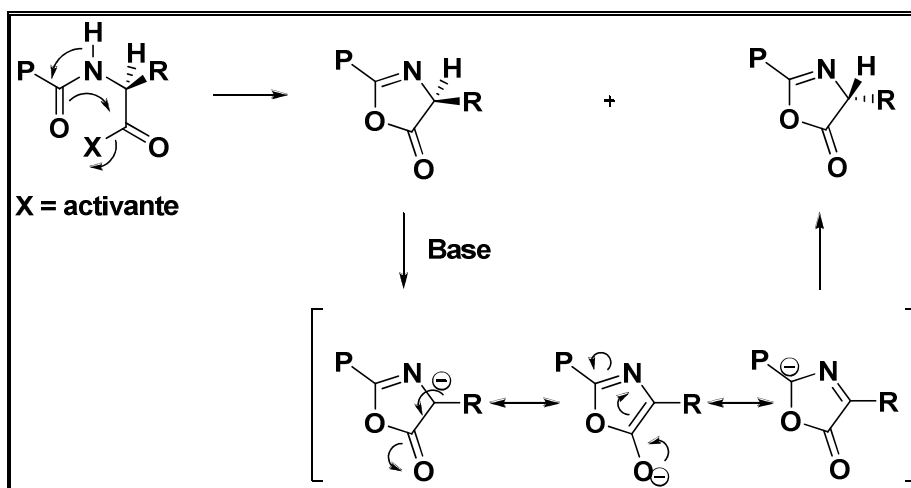
<sup>48</sup> Bruckdorfer, T.; Marder, O; Albericio, F. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, **2004**, 5, 29.



Como es sabido, la síntesis peptídica gira alrededor de dos cuestiones básicas, 1) la elección de grupos protectores adecuados y las condiciones para su remoción, y 2) la formación del enlace peptídico, para lo cual hay que activar el ácido carboxílico. Esto se logra mediante el uso de los conocidos “agentes acoplantes”, los cuales no solo se limitan a la síntesis de péptidos sino a todos los productos que conlleven la formación de un enlace amida o éster.<sup>49</sup>

Es tan vasto el arsenal tanto de grupos protectores como de agentes acoplantes, que se hace muy difícil poder abarcarlos todos en un solo trabajo. Muchas publicaciones han aparecido recientemente tratando de resumir este tema,<sup>50, 51</sup> acá presentaremos un breve resumen del mismo.

Antes debemos mencionar también otro capítulo muy importante en la síntesis de péptidos, y es lo que tiene que ver con la principal reacción secundaria que a menudo se da: la racemización. Ésta se puede dar por dos mecanismos fundamentalmente, uno es por abstracción del protón en carbono alfa (en muy raras ocasiones) y el otro es por formación de la oxazolona (Esquema 20).



Esquema 20: Racemización a través de la oxazolona

<sup>49</sup> Okada, Y. *Current Organic Chemistry*, **2001**, 5, 1.

<sup>50</sup> Montalbetti, C.; Falque, V. *Tetrahedron* **2005**, 61, 10827.

<sup>51</sup> So-Yeop, H.; Young-Ah, K. *Tetrahedron* **2004**, 60, 2447.

Para evitar el segundo mecanismo de racemización, cobran fundamental importancia tanto los grupos protectores utilizados como los agentes activantes.

Se ha visto que los grupos protectores más eficientes para los grupos  $\alpha$ -amino, son sin duda los carbamatos. A modo de resumen, podemos mencionar que existen tres tipos de carbamatos (Figura 14) los cuales pueden considerarse complementarios entre sí debido a la diferencia de aplicaciones que presentan:

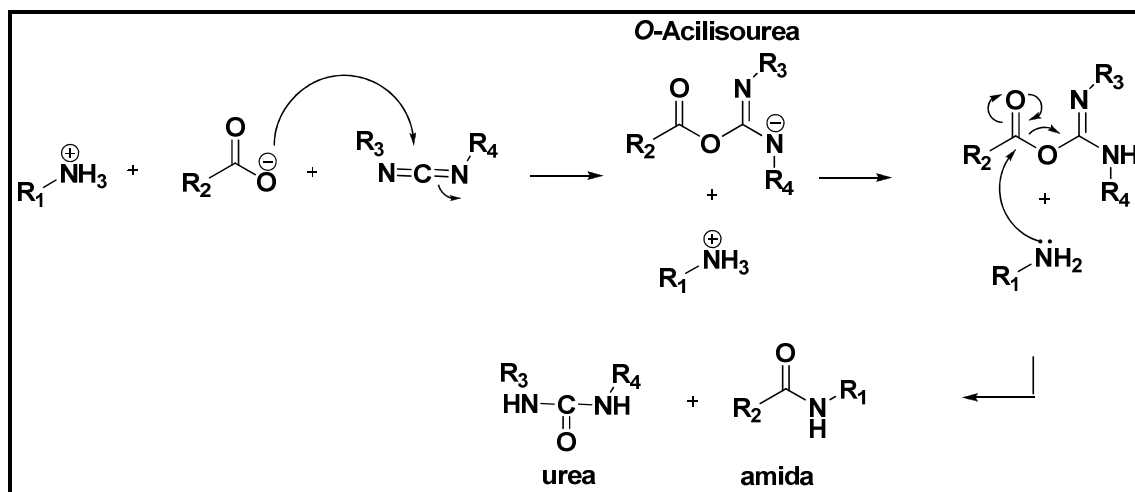
- a) Carbobenciloxi ó benciloxicarbonil, conocido como CBz ó Z. Es removible mediante hidrogenación o medio fuertemente ácido; es estable frente a bases.
- b) *t*-Butoxicarbonil, o Boc, es lábil en medio ácido pero soporta medios básicos y es estable frente a la hidrogenación.
- c) Fluorenilmetiloxicarbonil, abreviado como Fmoc. Es removido mediante el uso de aminas secundarias como piperidina, y es estable a la hidrogenación y a medios ácidos. Es muy usado en síntesis en fase sólida

La protección de los ácidos carboxílicos presentes en un aminoácido, se realiza normalmente mediante el uso de grupos ésteres. Ésteres metílicos y etílicos son removidos normalmente mediante hidrólisis básica (ó ácida, según convenga), y en el caso de ésteres bencílicos se utiliza la hidrogenación catalítica. Otro éster, como el *tert*-Butílico es removido en medio ácido.

Muchos aminoácidos presentan también en sus cadenas laterales grupos funcionales, los cuales debido a su reactividad, en muchos casos deben ser protegidos. Dependiendo de la estrategia sintética, cada aminoácido trifuncional puede protegerse con diferentes grupos protectores. Los más comunes son los grupos *t*-butilo y bencílico (para hidroxilos, fenoles, tioles, etc). Otros grupos laterales que normalmente necesitan de protección son los grupos amina (ej. Lisina), ácido carboxílico (ácido glutámico), etc.

En cuanto a agentes acoplantes, debemos mencionar que actualmente los químicos contamos con más de 80 de estos reactivos. La era de los agentes acoplantes en síntesis peptídica, se inicia en el año 1955 con la introducción de la diciclohexilcarbodiimida (DCC).<sup>52</sup> Una rápida clasificación de los agentes acoplantes, los divide de la siguiente manera (Figura 14).<sup>50, 51</sup>

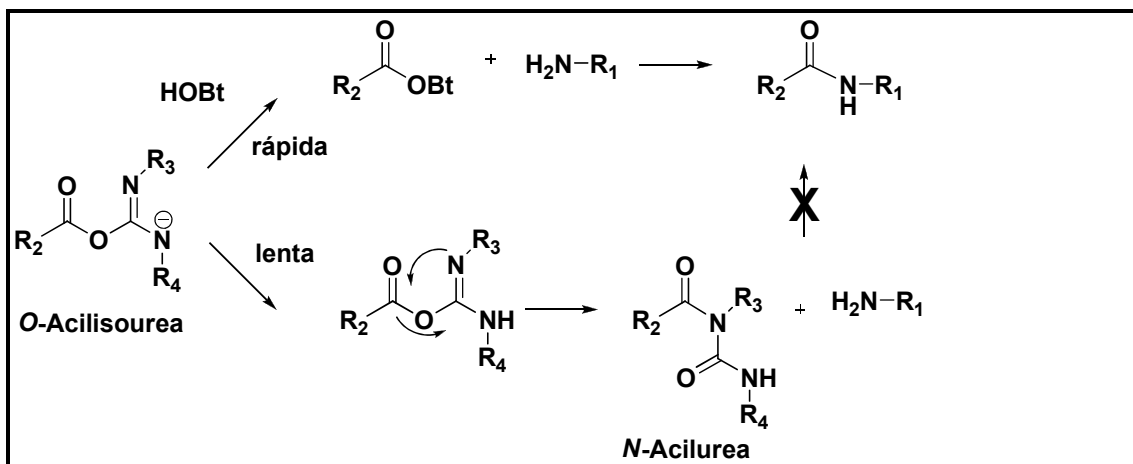
**Carbodiimidias:** donde la ya mencionada DCC es la más utilizada, generalmente acompañada de aditivos como el HOBt (ver más adelante). Presenta el inconveniente de dar como producto secundario la urea DCU, la cual es difícil de remover del crudo de reacción. Es por eso que otra carbodiimida (EDCI ó WSC) cuya urea es soluble en agua ha encontrado mucha aceptación por facilitar la purificación. En fase sólida por ejemplo se utiliza diisopropilcarbodiimida (DIC) cuya urea puede ser removida por lavados con diclorometano. Aún hoy en día con la aparición de tantos y eficaces nuevos agentes, las carbodiimidias continúan siendo muy utilizadas sobretodo a nivel industrial, donde sus bajos costos las convierten en los reactivos de elección.<sup>52</sup> Estas carbodiimidias actúan activando el ácido carboxílico mediante la formación de un intermediario O-Acilsourea (Esquema 21).<sup>50</sup>



Esquema 21: Formación de la función amida por carbodiimidias

<sup>52</sup> Marder, O.; Albericio, F. *Chimica Oggi*, **2003**, 6.

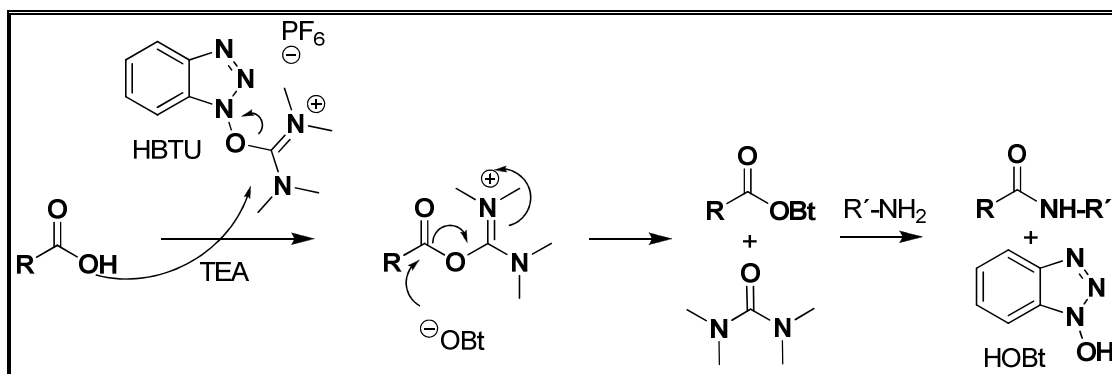
Dicho intermediario reacciona luego con el grupo amino presente en el medio, o puede sufrir una reacción secundaria para dar el producto *N*-Acilurea, el cual no es reactivo (Esquema 22).



Esquema 22: Uso de HOBt para minimizar la formación de *N*-acilurea

Para evitar que esto suceda, se puede adicionar otro nucleófilo que reaccione más rápido con *O*-Acilisourea. Muy a menudo, se utilizan alcoholes aromáticos con este propósito, de los cuales el más común sin duda es el HOBt. Éste forma un éster que evita dicha reacción secundaria, mejorando el rendimiento y evitando también la racemización por formación de la oxazolona como se muestra en el Esquema 20.<sup>51</sup>

**Sales de uonio:** en el año 1978 Dourtoglou introdujo el HBTU. Luego varios análogos fueron apareciendo. Estos reactivos tienen la ventaja de presentar en un solo producto el agente activante y el aditivo, generando *in situ* el éster activo, es por eso que son conocidos como “one-pot reagents”. En la Figura 14 podemos ver los principales representantes de este grupo y en el Esquema 23 vemos el mecanismo de reacción para HBTU.



Esquema 23: Procedimiento “one-pot coupling” usando HBTU

**Sales de fosfonio:** son derivados de sales de fosfonio, donde igualmente a los anteriores, estos reactivos también presentan en su molécula el agente activante unido al aditivo. Acá también estos aditivos pueden ser HOBT, HABt, etc. Los principales reactivos pertenecientes a este grupo son el PyBOP, PyAOP, etc. En este grupo también podemos incluir el PyBrOP, el cual se utiliza en acoplamiento complicados como los de *N*-metilaminoácidos.

**Otros:** existen hoy en el mercado muchos otros agentes acoplantes que no pueden ser clasificados dentro de los grupos anteriores. Algunos ejemplos más representativos son: DEPBT, un fosfonato conteniendo el alcohol aromático HOBT ó HODhbt el cual presenta una muy baja tendencia a la racemización; DAST, el cual forma un fluoruro de ácido; etc.

En la siguiente figura podemos ver las estructuras de los agentes mencionados, junto a varias sustancias utilizadas como aditivos de los mismos. Estos ayudan a mejorar el rendimiento y a evitar reacciones secundarias como la racemización. La mayoría de ellos son alcoholes, donde como ya mencionamos el más utilizado es sin duda alguna el HOBT.

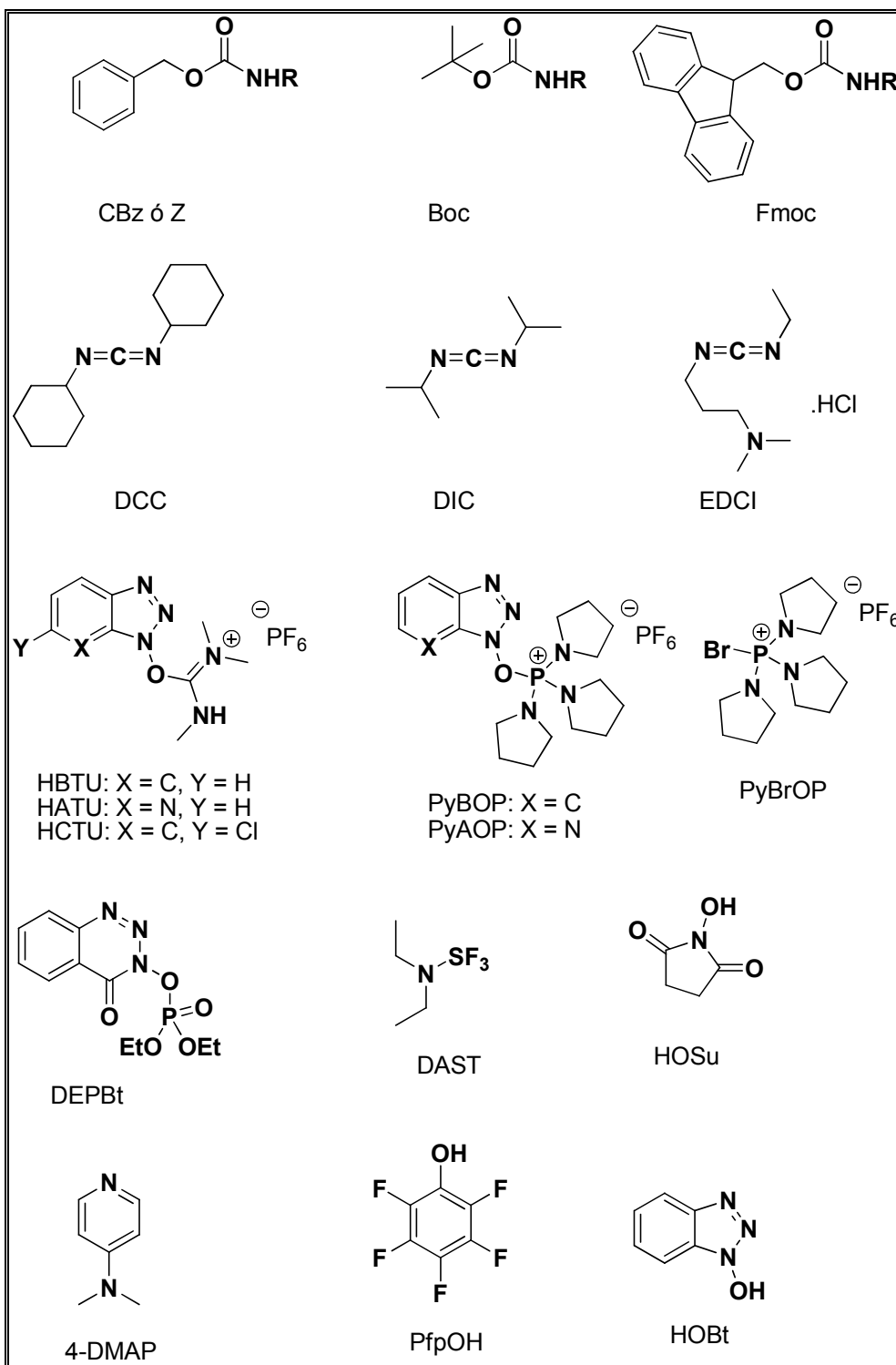


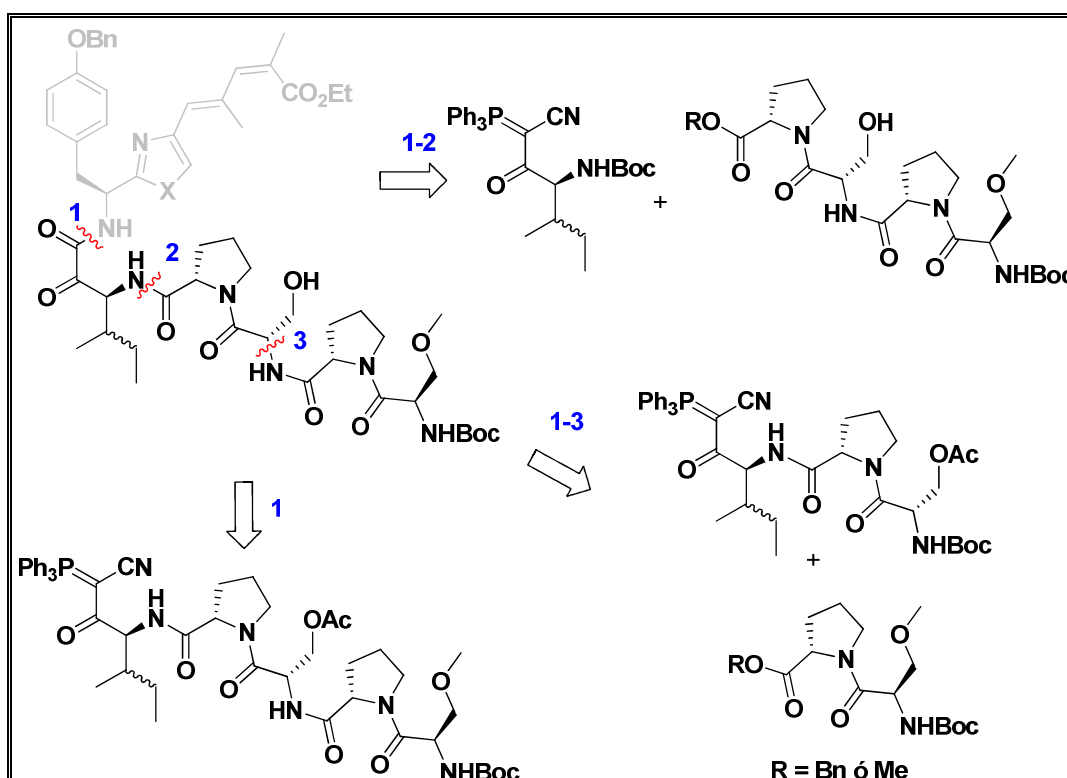
Figura 14: Grupos protectores, agentes acoplantes y aditivos

### 2.2.2- Análisis de las estrategias planteadas:

Luego de sintetizados los fragmentos **A**, debemos enfrentar la síntesis del resto de los fragmentos constituyentes del producto natural ya vistos en el análisis retrosintético del Esquema 1 presentado anteriormente.

El acoplamiento entre ambos fragmentos, junto con la formación simultánea de la función  $\alpha$ -cetoamida, serán tratados en el capítulo siguiente. Pero se hace imprescindible a esta altura realizar una discusión de las diferentes estrategias que podemos seguir.

Enfocándonos solamente en el fragmento peptídico, podemos realizar diferentes análisis retrosintéticos como se plantea en el Esquema 24; lo que lleva a que diferentes estrategias sintéticas puedan ser encaradas:



Esquema 24: Posibles estrategias a seguir

1- Si la desconexión se realiza en las posiciones marcadas como **1-2** en el Esquema 23, debemos sintetizar el derivado (y precursor de la  $\alpha$ -cetoamida)

de L-(*allo*)-Isoleucina. Luego del acoplamiento de éste al fragmento **A**, se forma un enlace amida entre el grupo amino de éste aminoácido y el tetrapéptido, obteniendo el precursor lineal completo; o,

2- Si la desconexión se realiza en las posiciones **1-3**, se sintetiza un derivado tripeptídico, el cual se acopla al fragmento **A**. El compuesto lineal obtenido de esta forma ya nos permite continuar hacia la formación del macrociclo, dejando para el final el acoplamiento del dipéptido Boc-D-Ser(Me)-Pro-OH exolactónico; o,

3- Si la desconexión se realiza en las posiciones **1**, se debe sintetizar ya un derivado pentapeptídico, con lo cual se logra acoplar la fracción peptídica completa tal cual aparece en el producto natural ó isómero.

La primera estrategia, presenta la ventaja de poder ensayar la reacción de formación de la función  $\alpha$ -cetoamida con un producto menos avanzado. Esto permite estudiar el comportamiento de la reacción y poner a punto las condiciones de la misma sin arriesgarnos con fragmentos mayores.

La segunda estrategia presenta la ventaja de acoplar un fragmento peptídico que ya nos permite continuar hacia la obtención de un posible macrociclo; o sea formar la lactona entre el hidroxilo de L-Serina y el ácido carboxílico proveniente del fragmento **A**.

Utilizando la tercera estrategia planteada, los dos fragmentos constituyentes se acoplan dando el compuesto lineal del macrociclo completo; es de las tres, la que presenta mayor convergencia.

De todas maneras, la clave está en sintetizar por una lado el derivado aminoácido **Fragmento B** y los dipéptidos (**Fragmentos C y D**). Y a partir de ellos lograr la síntesis de los compuestos tripeptídicos, tetrapeptídico y pentapeptídico (Figura 15). Con estos fragmentos claves en nuestro poder, podemos llevar adelante cualquiera de las tres estrategias discutidas. Cabe mencionar en este momento, que tanto el tripéptido como el pentapéptido deberán tener bloqueado el hidroxilo primario de L-Serina. Esta decisión la



hemos tomado basándonos en los reportes de Wasserman *et al.*<sup>53</sup> para evitar reacciones secundarias durante la formación de la función  $\alpha$ -cetoamida, ya que el hidroxilo primario puede llegar a reaccionar con el electrófilo intermediario formado durante el acoplamiento con el **fragmento A** (la discusión se dará en el próximo capítulo).

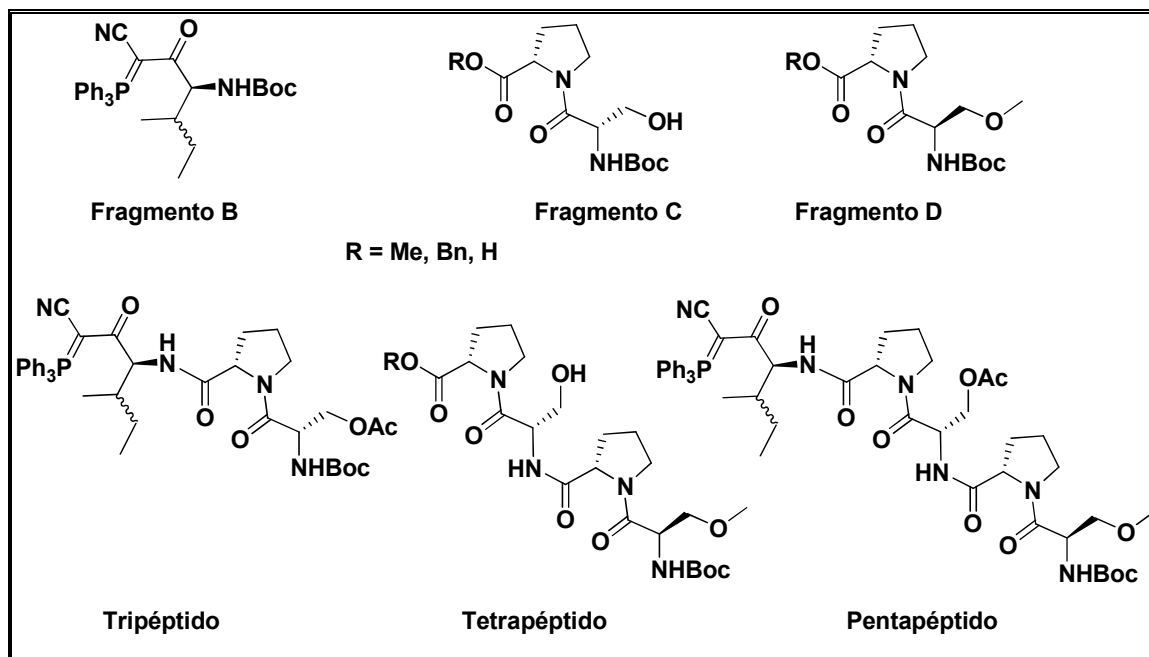
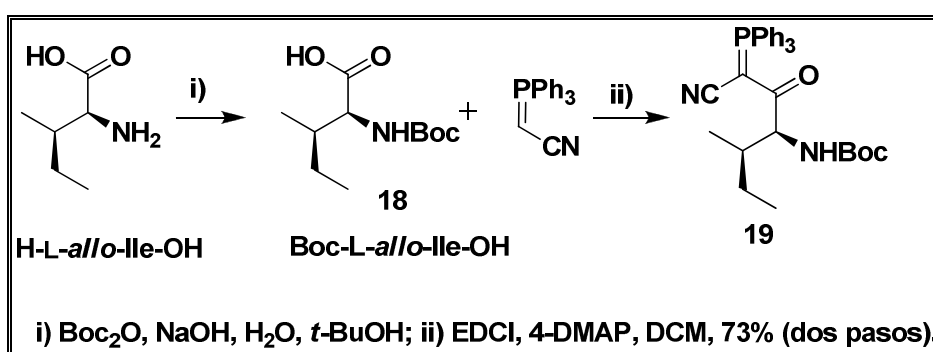


Figura 15: Fragmentos peptídicos claves y avanzados

<sup>53</sup> Wasserman, H. H.; Wen-Bin, H. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 4364.

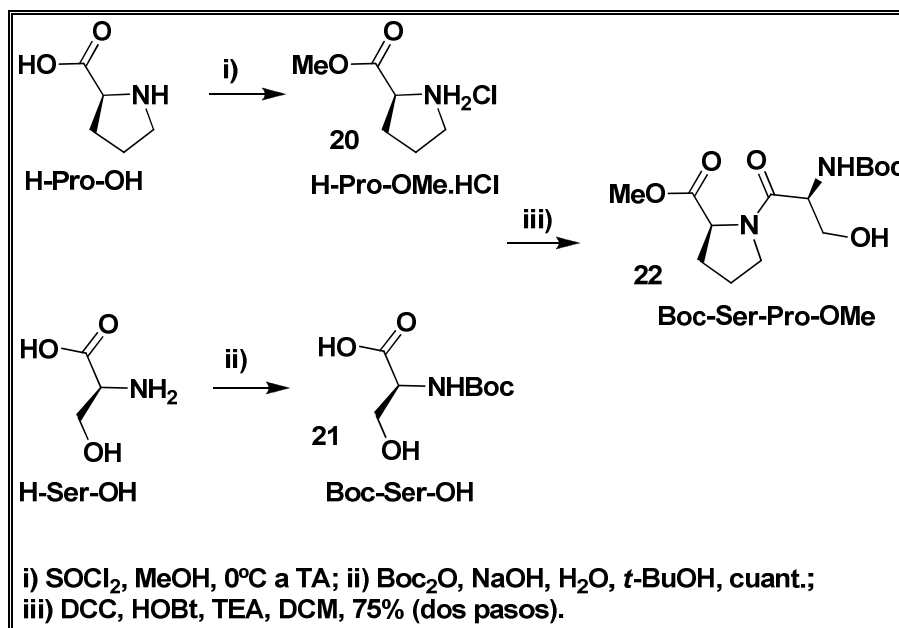
### 2.2.3- Discusión de resultados:

En el Esquema 25 se muestran los pasos sintéticos para la obtención del derivado (**19**) de L-*allo*-Isoleucina o su análogo de L-Isoleucina (**19'**). Luego de la protección mediante el grupo Boc de la función amino del aminoácido, se realiza el acoplamiento entre el ácido carboxílico y (cianometil)trifenilfosforano. Dicha metodología fue descrita por Wasserman y colaboradores.<sup>53</sup> El producto (**fragmento B**) se obtiene con un rendimiento del 73% y su estructura es confirmada mediante espectroscopía de RMN.



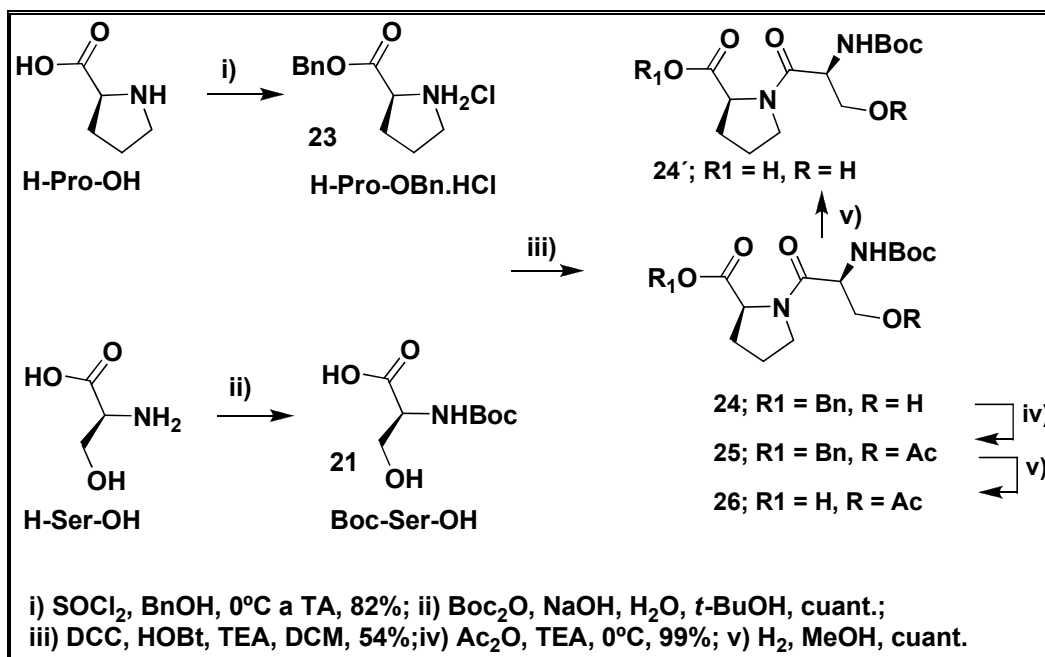
Esquema 25: Síntesis del derivado **19** (Fragmento B)

Por otro lado la síntesis del **fragmento C**, se realizó partiendo de los aminoácidos L-Prolina y L-Serina. La protección como carbamato del grupo amino de L-Serina se realizó en medio básico acuoso con  $\text{Boc}_2\text{O}$ . Dicha reacción es cuantitativa, y se obtiene un producto (**21**) (Esquema 26) con una muy buena pureza, por lo que decidimos no realizar la purificación cromatográfica y continuar trabajando con el crudo de reacción para el próximo acoplamiento.

Esquema 26: Obtención del dipéptido **22** (Fragmento C)

En una primera reacción, protegimos el ácido carboxílico de L-Prolina como éster metílico (**20**). Dicha reacción se realiza utilizando cloruro de tionilo como agente activante del ácido, obteniéndose el clorhidrato del éster metílico del aminoácido. Esta reacción también procede casi por completo y en el próximo acople también se utiliza el producto sin purificación adicional. El acoplamiento entre ambos derivados se realiza utilizando DCC/HOBt como mezcla acoplante y produce el dipéptido **22** con un rendimiento del 75% a partir de L-Prolina.

Para obtener el **fragmento C** como ácido dipeptídico Boc-Ser-Pro-OH (**24'** en el siguiente Esquema 27), intentamos la hidrólisis básica del producto **22**. Diferentes bases fueron utilizadas en esta reacción, como por ejemplo: hidróxido de sodio, hidróxido de litio, carbonato de sodio, carbonato de potasio; utilizando MeOH/agua ó THF/agua como solventes.



Esquema 27: Obtención de los dipéptidos **24**, **24'**, **25** y **26** (Fragmento C)

En todos los casos se produce la descomposición del reactivo o producto, obteniéndose una mezcla compleja de productos la cual no pudo ser purificada. Creemos que quizás la presencia del hidroxilo de Serina sin proteger sea la causante de la descomposición del dipéptido ya que cuando se realiza la hidrólisis básica del dipéptido Boc-D-Ser(Me)-Pro-OMe (**28**) se pudo obtener sin problemas el ácido libre (Esquema 28). Los mismos problemas de descomposición se dan cuando se quiere hidrolizar el éster tetrapeptídico **35** (Esquema 31), el cual también posee el hidroxilo libre.

No encontramos reportes en literatura explicando este fenómeno, y la única síntesis del dipéptido Boc-Ser-Pro-OH se realiza utilizando H-Pro-OBn como reactivo de partida; realizando al final una reacción de hidrogenación para remover el grupo bencílico.<sup>54</sup> Decidimos cambiar entonces nuestra ruta sintética partiendo del éster bencílico. Esta síntesis se muestra en el anterior Esquema 27, dando resultados comparables a la obtención del dipéptido **22**.

En el caso del éster bencílico **23**, este se prepara mediante la formación del cloruro de ácido con cloruro de tionilo en alcohol bencílico como solvente.

<sup>54</sup> Appel, R.; Willms, L. *Chem. Ber.* **1979**, 112, 1064.

Luego de 72 hs se detiene la reacción, la cual no transcurre totalmente y el producto es precipitado con dietiléter. El sólido aislado es purificado en columna cromatográfica para retirar los restos de reactivo, obteniéndose de esta forma un rendimiento del 82 %.

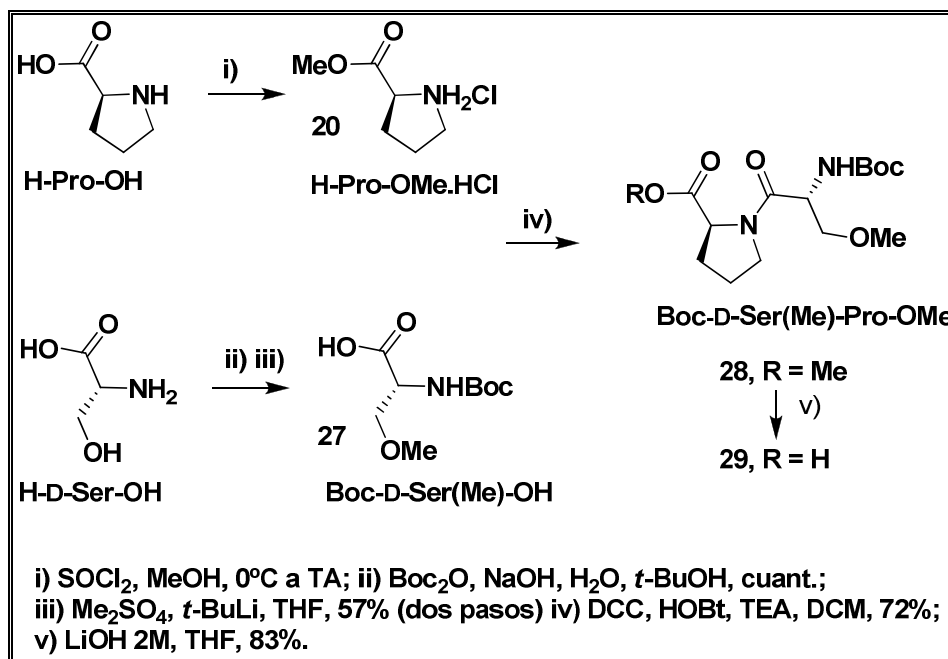
El dipéptido **24** es sometido también a acetilación del hidroxilo libre, con lo cual se obtiene el producto **25** con un excelente rendimiento.

La obtención del **fragmento D**, es mostrada en el Esquema 28. La estrategia es la misma que para el fragmento C, sumándole la reacción de metilación del hidroxilo de D-Serina.

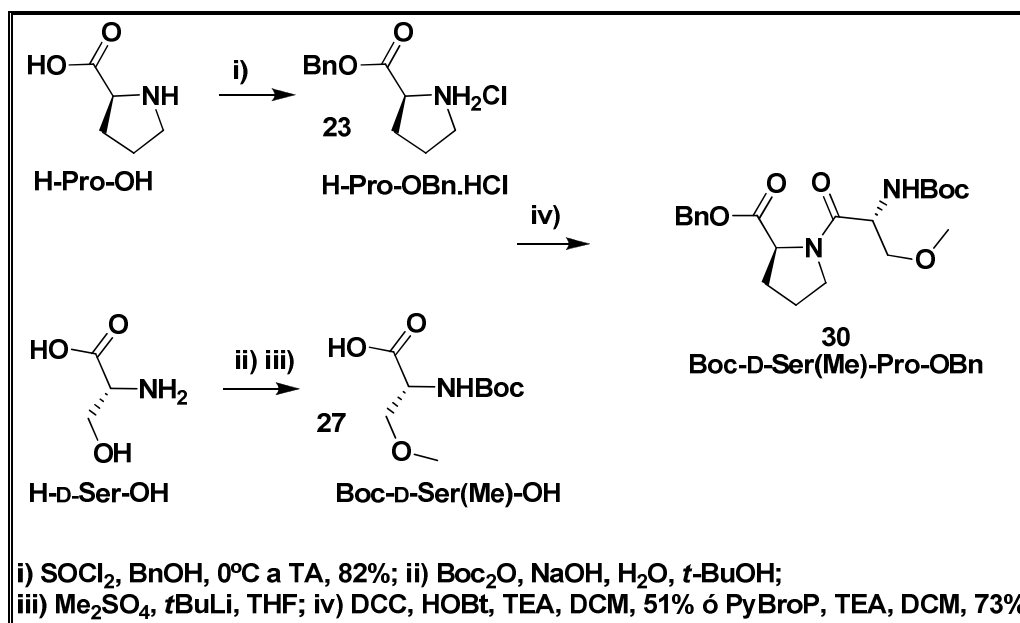
Esta reacción se realiza partiendo de Boc-D-Ser-OH, utilizando sulfato de dimetilo ( $\text{Me}_2\text{SO}_4$ ) como agente alquilante en presencia de una base fuerte como *t*-BuLi. El rendimiento de la reacción es aproximadamente del 60 %. Esta metodología es explicada en profundidad en literatura y la misma se puede realizar en solución o mediante un catalizador de transferencia de fase.<sup>55</sup> Otra forma de llegar al mismo producto es mediante metilación de Boc-D-Ser-OMe y la posterior hidrólisis del éster metílico. Dicha secuencia sintética está reportada y dice presentar el inconveniente de racemización en el carbono alfa. Finalmente, la hidrólisis básica del éster metílico nos permite obtener el ácido **29**. Esto podría indicar una dependencia de la protección del hidroxilo primario para lograr éxito en dicha reacción.

---

<sup>55</sup> EP 1642 889 A1; Riedner, J; Ennis, C. C. Improved Synthesis Scheme for Lacosamide; oct, 2004.

Esquema 28: Obtención del dipéptido **29** (Fragmento D)

De forma análoga a la obtención de **28**, se obtiene el dipéptido Boc-D-Ser(Me)-Pro-OBn (**30**) (Esquema 29).

Esquema 29: Obtención del dipéptido **30** (Fragmento D)

Boc-D-Ser(Me)-OH (**27**) se acopla al éster bencílico de L-Prolina (**23**) (Esquema 29), ya sea mediante el uso de DCC/HOBT ó PyBrOP como agentes activantes. En el primero de los casos el rendimiento llega solo a un 51% y en

el segundo caso el rendimiento alcanza un 73%. Pensamos que un acoplamiento dificultoso como éste por la presencia del grupo amino secundario, procede mejor cuando el ácido es activado como bromuro de ácido con PyBroP, debido al menor impedimento estérico en comparación al éster – OBt.

Las estructuras de los productos dipeptídicos (**22**, **24**, **25**, **28**, **30**) fueron confirmadas mediante espectroscopía de RMN. Si observamos detenidamente el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN del dipéptido Boc-Ser(Ac)-Pro-OBn (**25**) (Figura 15), vemos además de las señales principales, la presencia de señales menores. La relación entre las señales mayoritaria: minoritaria es de 9: 1 aproximadamente.

Por TLC se observan dos manchas que pudieron ser separadas por columna cromatográfica. Sin embargo, al dejarlas en solución ocurrió una interconversión. Esto podría indicarnos la existencia de conformeros.

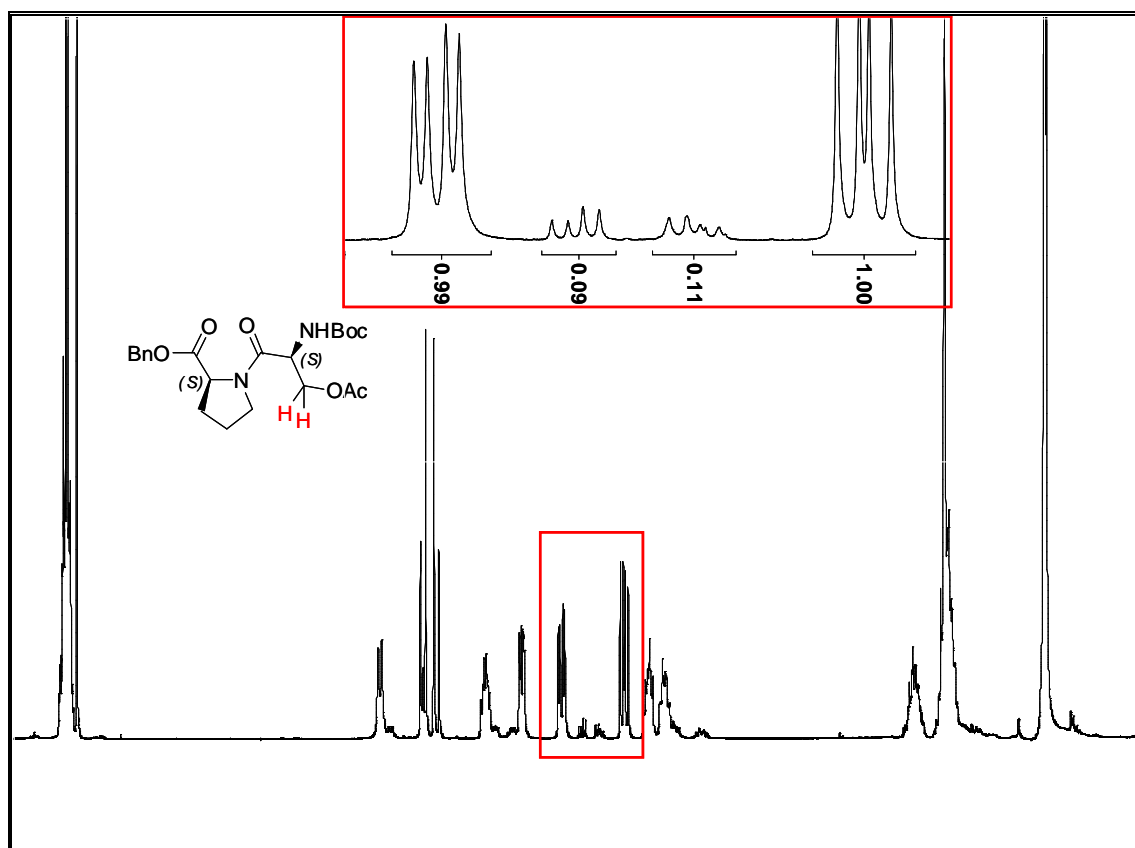


Figura 16: Espectro  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) del dipéptido **25**

Para confirmar la presencia de los mismos, decidimos realizar los espectros a diferentes temperaturas.

En la Figura 17 siguiente, vemos el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN para el dipéptido **30** (Boc-D-Ser(OMe)-Pro-OBn) obtenido por acoplamiento con PyBrOP. En la Figura 18, se muestra la zona ampliada entre 4,5 y 5,5 ppm de los espectros obtenidos a las temperaturas de 22°C, 30°C y 60°C (de arriba abajo en la Figura 18). En la misma, se pueden distinguir la presencia de señales del conformero minoritario. A medida que aumenta la temperatura, estas señales se vuelven menos intensas y más difusas; lo que correspondería a un aumento de la velocidad de interconversión entre ambos rotámeros.

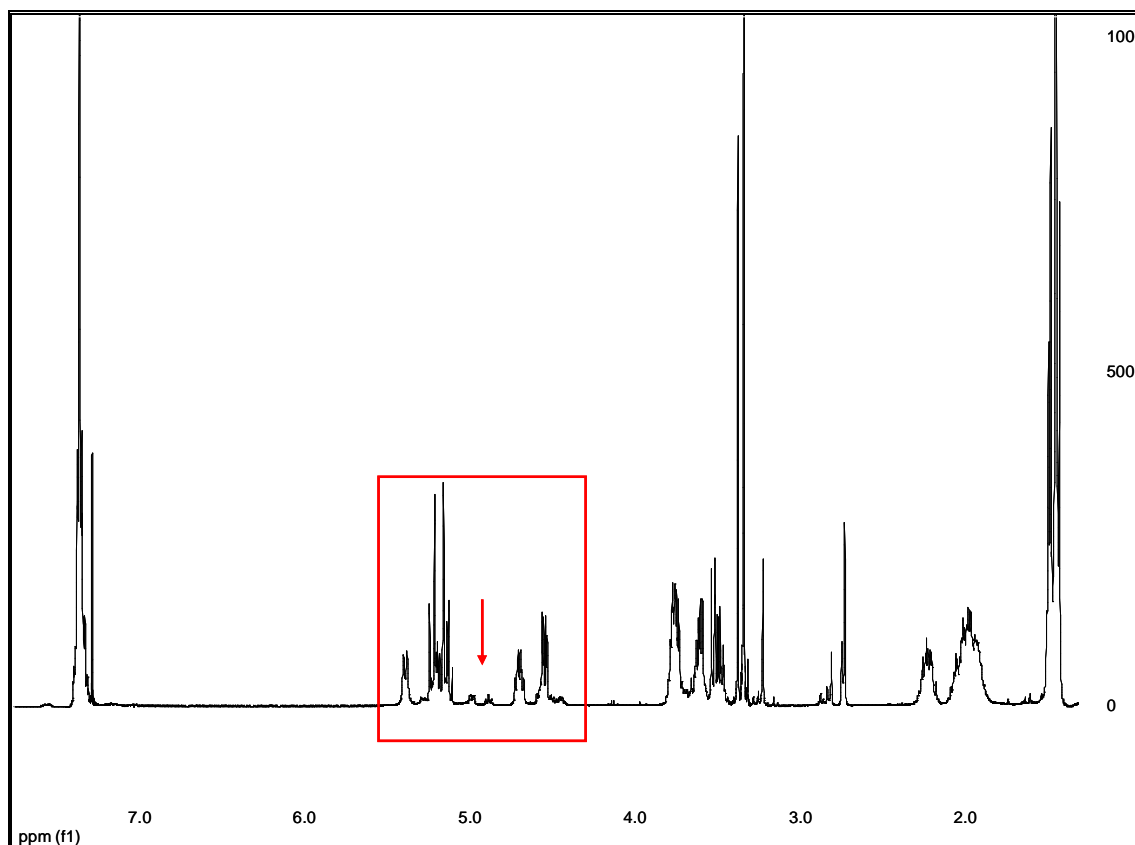


Figura 17: Espectro  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) del dipéptido **30**



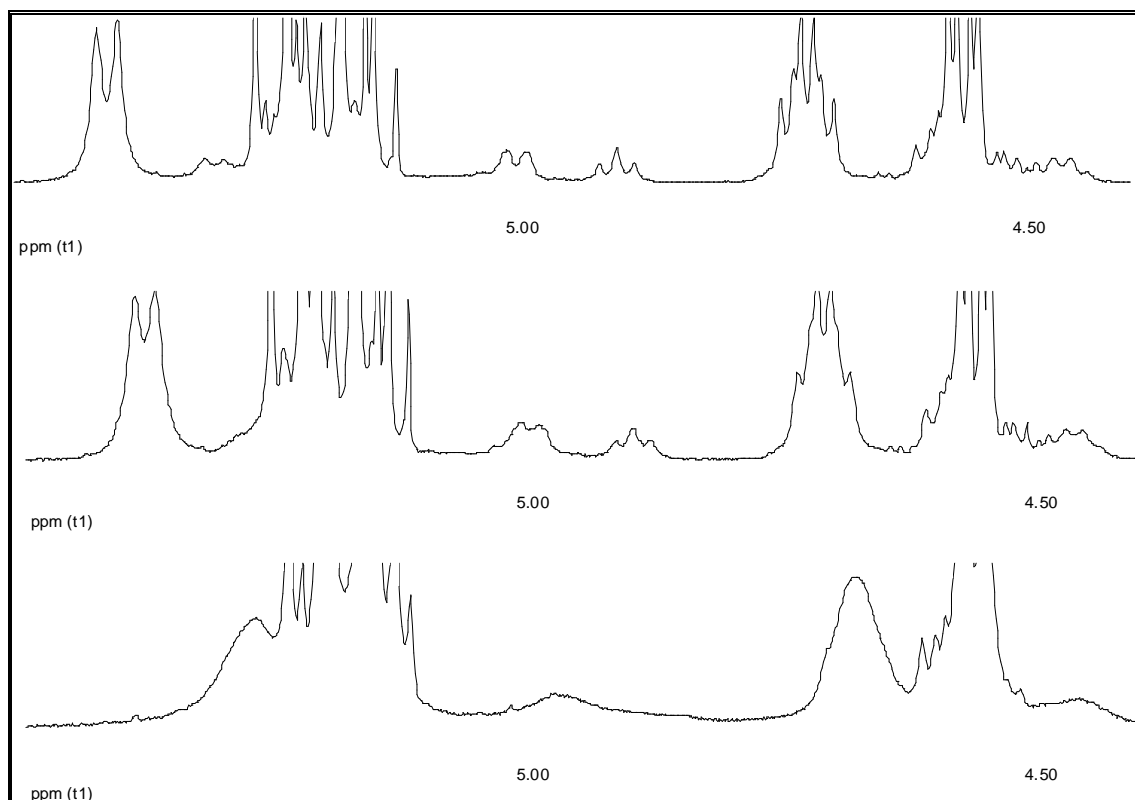


Figura 18: Espectros de  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) del dipéptido **30** a 22, 30 y  $60^\circ\text{C}$ .

Una explicación para la presencia de estos conformeros podría ser la siguiente:

Es sabido que el enlace amida (enlace peptídico) presenta cierto carácter parcial de doble enlace. Por lo tanto, existen dos conformaciones energéticamente y estéricamente favorecidas alrededor de este tipo de enlace (Esquema 30).<sup>56</sup>

La mayoría de las veces y bajo circunstancias normales, el enlace amida entre dos residuos aminoacídicos adopta la conformación *trans* casi exclusivamente. La única excepción a esto, es cuando aparece un residuo de Prolina formando parte del enlace peptídico, ya que ésta al tratarse de una amina secundaria puede adoptar una u otra conformación.<sup>57, 58</sup>

Prolina es el único aminoácido cuya cadena lateral está covalentemente unida al grupo amino; lo cual produce un impedimento rotacional alrededor del enlace

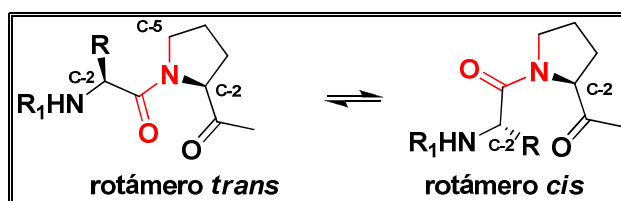
<sup>56</sup> Pahlke, D.; Freund, C.;, Dietmar Leitner, D.; Labudde, D. *BMC Structural Biology*, **2005**, 5, 8.

<sup>57</sup> Curran, T.; Marcaurelle, L. A.; O'Sullivan, K. M. *Org. Lett.*, **1999**, 1, 1225.

<sup>58</sup> Deng, S.; Taunton, J. *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, 916.

amida que da lugar a la aparición de éstos confórmeros denominados **rotámeros**.

La relación *trans/cis* entre un dipéptido del tipo Xaa-Xaa<sup>59</sup> es aproximadamente 99,7: 0,03; mientras que un dipéptido Xaa-Pro llega a ser de 94,8: 5,2.<sup>60</sup> Esto es debido, a que la barrera energética entre ambos confórmeros, es pequeña ( $\Delta G^{\circ} = 0,5$  Kcal/mol) comparada con los demás aminoácidos ( $\Delta G^{\circ} = 2,6$  Kcal/mol). La distribución isomérica es determinada por la interacción estérica entre los C-2 de ambos aminoácidos (rotámero *cis*) y entre el C-5 de Prolina y el C-2 del otro resto aminoacídico (rotámero *trans*).<sup>61</sup>



Esquema 30: Rotámeros de Prolina

Esta libertad conformacional limitada juega un importante rol en la estructura de las proteínas por ejemplo,<sup>57</sup> y tiene implicancias biológicas importantes como son a modo de ejemplo: la velocidad del plegado de las proteínas (proceso catalizado por la enzima peptidil-prolil-isomerasa (PPI)), interacciones ligando-proteínas, respuesta inmune, etc.<sup>62</sup> Además, son muchos los compuestos naturales que presentan la presencia de estos confórmeros; encontrando interés la aislación e identificación de forma de obtener “isómeros auténticos” y de esta forma facilitar el estudio de los procesos biológicos como los ya mencionados.<sup>63</sup> Un ejemplo de este tipo de productos naturales es la Ceratospongamida, un heptapéptido cuyos rotámeros son lo suficientemente estables como para ser aislados por HPLC.<sup>58</sup>

<sup>59</sup> Xaa = cualquier aminoácido proteínogénico

<sup>60</sup> Young, K. K.; Jong, S. J.; Hae, S. P. *J. Phys. Chem.*, **2006**, *110*, 17645.

<sup>61</sup> Qian W.; Tran Huu Dau, M-E.; Sasaki, N. A. *Tetrahedron*, **2001**, *57*, 6455.

<sup>62</sup> Young, K. K.; Ha Young, C. *Biophysical Chemistry*, **2004**, *111*, 135.

<sup>63</sup> Kálmán, A.; Thuncke, F.; Schmidt, R.; Schiller, P.; Horváth, C. *Journal of Chromatography A*, **1996**, *729*, 155.

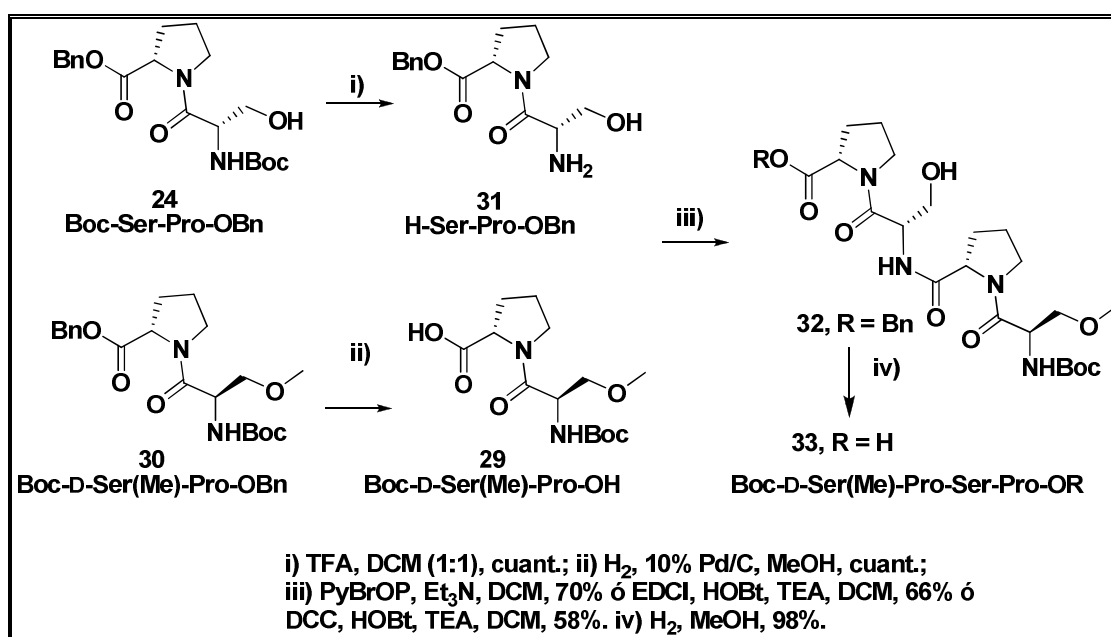
En el caso de Scleritodermina A, se hace mención a la aparición de numerosos picos minoritarios en el espectro de  $^1\text{H-RMN}$ , los cuales no pueden ser separados por cromatografía.

Con los productos dipeptídicos ya sintetizados, podemos continuar hacia la obtención del resto de los fragmentos peptídicos.

En el siguiente esquema se muestra la formación del tetrapeptido **33**, el cual servirá para su utilización siguiendo la estrategia descrita en primer lugar (Desconexión 1-2 en el Esquema 24).

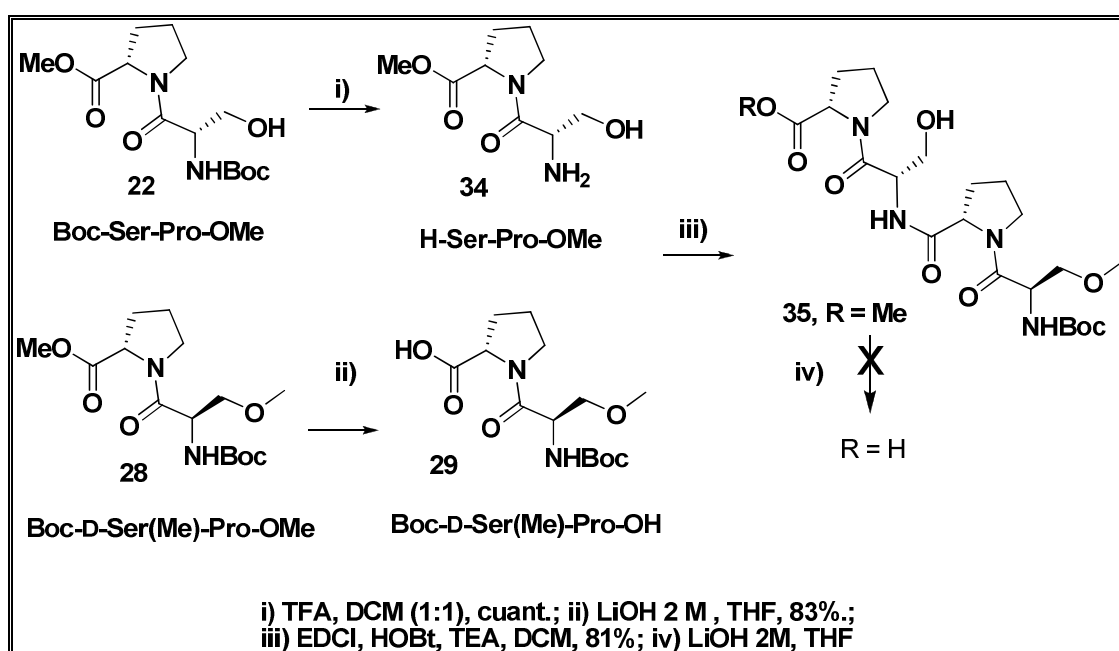
El grupo Boc del dipéptido **24** es removido por acidólisis, utilizando TFA: DCM (1: 1) y el éster del dipéptido **30** es sometido a una reacción de hidrogenación en presencia de catalizador de Pd al 10% sobre carbono. Ambas reacciones proceden de forma cuantitativa, obteniéndose la amina **31** y el ácido **29** respectivamente, por lo que continuamos trabajando con el crudo de reacción sin posterior purificación.

En el caso del fragmento ácido-protégido **31**, se realiza la extracción del mismo en medio básico acuosa, de forma de remover el ión trifluoroacetato. La permanencia del mismo puede provocar reacciones de acilación indeseadas en el próximo acoplamiento (Esquema 31).



Esquema 31: Obtención del ácido tetrapeptídico **33**

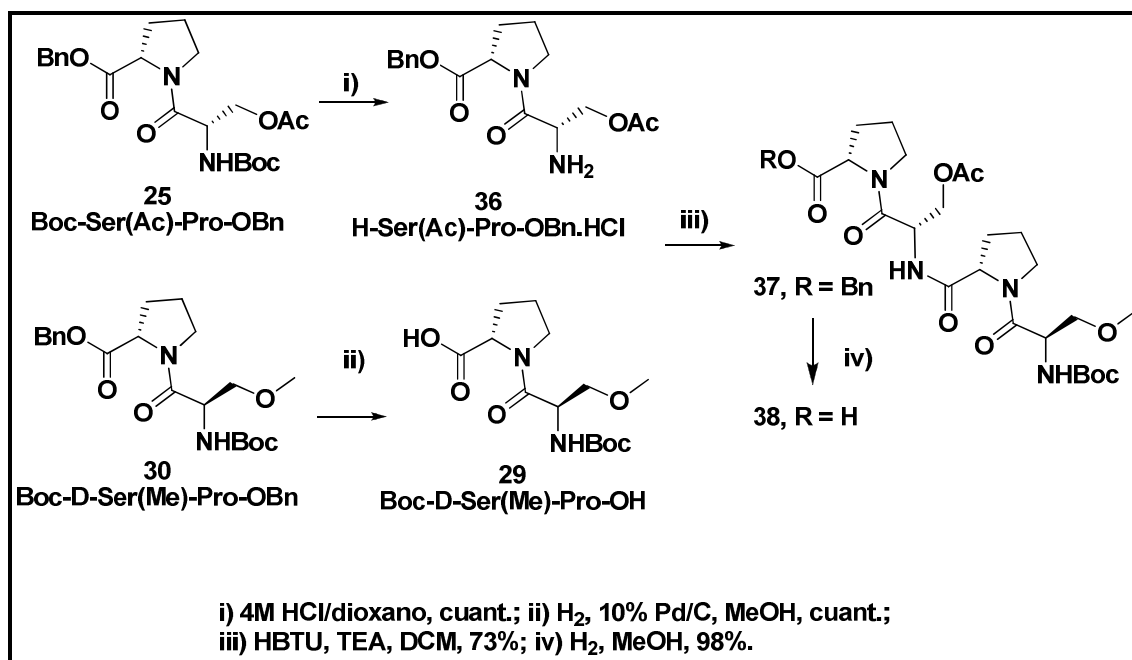
Ambos dipéptidos son ahora acoplados utilizando DCC/HOBt ó EDCI/HOBt ó PyBrOP. En el mejor de los casos (PyBrOP) el rendimiento llega al 70%, mientras que el uso de ambas carbodiimidas resulta levemente inferior (ver Esquema 31). Se realiza la desprotección del ácido carboxílico, mediante hidrogenación catalítica, obteniéndose el ácido tetrapeptídico **33** con un excelente rendimiento. El éster tetrapeptídico, precursor de **33**, también se obtuvo por acoplamiento de los dipéptidos **29** (Boc-D-Ser(Me)-Pro-OH) y el **34** (H-Ser-Pro-OMe) pero como en el caso de los dipéptidos, la posterior hidrólisis básica para obtener el ácido no dio los resultados esperados (Esquema 32).



Esquema 32: Obtención del tetrapeptido **35**

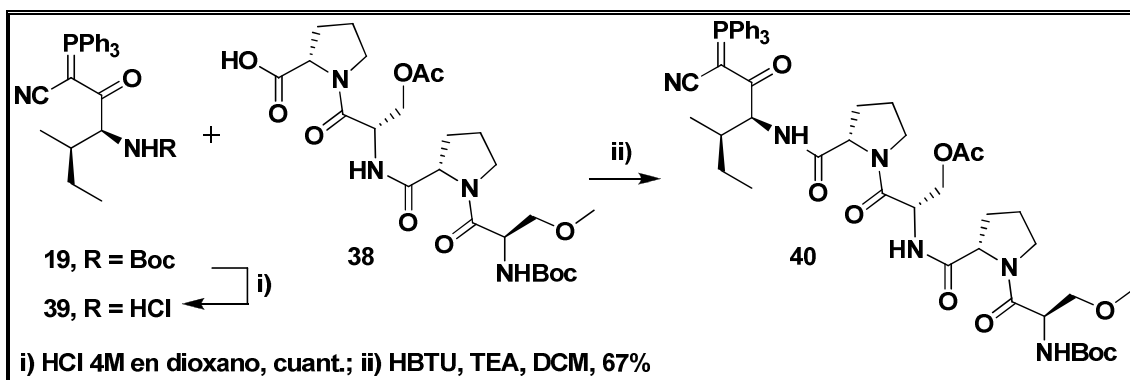
El tetrapeptido **38** (Esquema 33), conteniendo el hidroxilo acetilado, se sintetiza a partir de los dipéptidos **25** y **30**. Se remueve el grupo protector Boc con HCl 4 M en dioxano, y el grupo bencilo por hidrogenación catalítica. El acoplamiento se da utilizando HBTU como agente acoplante, y por último se remueve el grupo bencilo obteniéndose el tetrapeptido ácido libre (**38**) para acoplarlo con el derivado del **fragmento B**. Nuevamente en estos productos tetrapeptídicos, se observa la presencia de confórmeros (rotámeros) en el espectro de  $^1\text{H-RMN}$ . En estos casos, la cantidad de rotámeros que se pueden

formar es mayor a un dipéptido Xaa-Pro, y se calcula como  $2^n$ , donde n es el número de residuos de Prolina en la molécula.



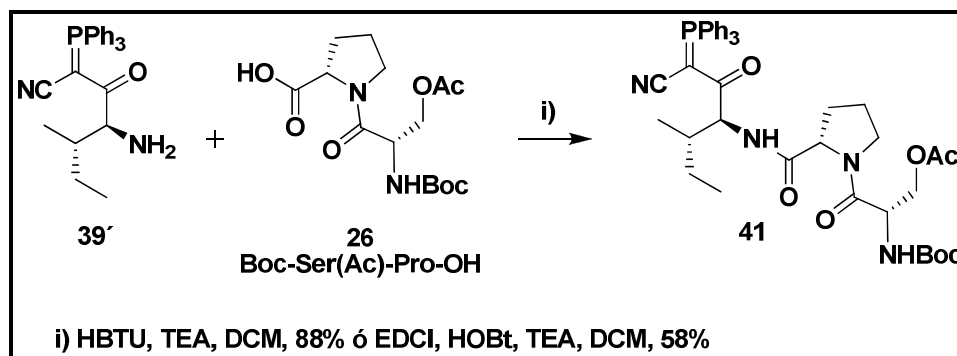
Esquema 33: Obtención del tetrapéptido **38**

La obtención del pentapéptido **40**, es llevada a cabo utilizando HBTU como agente acoplante. El grupo Boc se puede remover ya sea utilizando HCl 4M en dioxano o en una mezcla de TFA: DCM (1: 1). En ambos casos la reacción transcurre cuantitativamente. La ventaja que presenta la utilización de HCl en dioxano, es que a la hora del tratamiento post-reacción, simplemente se destila el solvente a presión reducida, obteniéndose la sal (clorhidrato) de amonio del compuesto desprotegido. En el caso de utilizar TFA para la acidólisis, éste debe ser removido antes del próximo acoplamiento para evitar reacciones de trifluoroacetilación (Esquema 34).

Esquema 34: Obtención del pentapéptido **40**

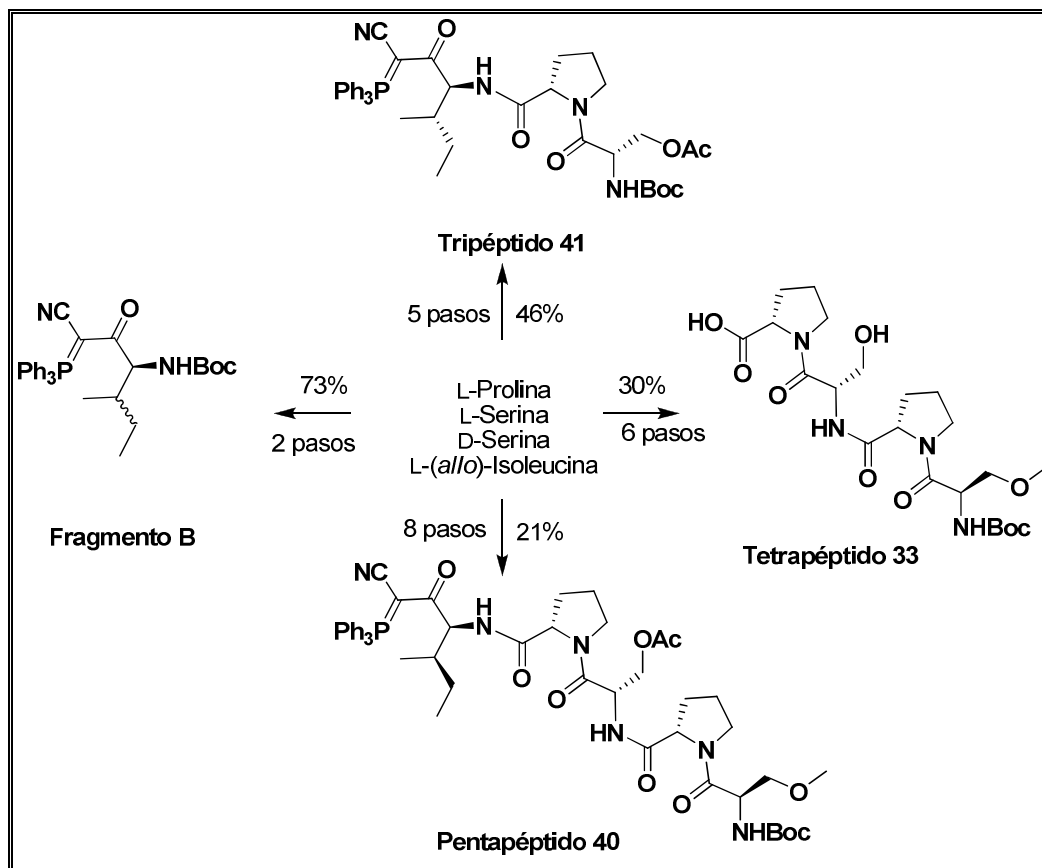
De forma análoga a la obtención del pentapéptido **40**, se trabaja para la obtención del tripéptido **41**. El dipéptido **26**, obtenido de **25** mediante hidrogenación catalítica, se acopla al derivado de L-Isoleucina (**39'**) (análogo a **39**).

Dicha reacción de acoplamiento se realiza utilizando dos diferentes agentes acoplantes como son EDCI y HBTU (Esquema 35). El segundo agente, nos proporciona un mejor rendimiento, si bien en ambos casos el éster activo es el formado con el HOBT.

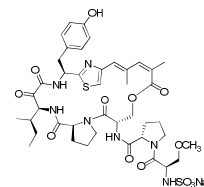
Esquema 35: Obtención del tripéptido **41**

En el siguiente Esquema 36 vemos un resumen de los fragmentos peptídicos obtenidos, los cuales se podrán acoplar al **fragmento A** ya sintetizado según las estrategias explicadas. Partiendo del L-Prolina, L-Serina, D-Serina y tanto L-*Allo*-Isoleucina como L-Isoleucina obtuvimos los derivados aminoácidos **19** y **19'** (**Fragmento B**); y los péptidos **33**, **40** y **41**. El rendimiento que aparece en el

esquema es el de la ruta sintética a partir de L-Prolina C-terminal. Hemos sintetizado en esta segunda etapa, 24 productos a partir de sus aminoácidos constituyentes.



Esquema 36: Fragmentos peptídicos sintetizados



## Capítulo 3: Acoplamiento de Fragmentos sintetizados

### 3.1- Formación del enlace $\alpha$ -cetoamida

#### 3.1.1- Antecedentes y metodología propuesta

En este capítulo, trataremos sobre el acoplamiento de los fragmentos sintetizados en el capítulo anterior: los fragmentos conteniendo el anillo de tiazol ú oxazol y la cadena insaturada (**Fragmento A**) y los diferentes derivados peptídicos (**Fragmentos B, C y D**).

En el análisis retrosintético planteado en el Esquema 1, se propuso realizar el acoplamiento entre el **Fragmento A** y la porción peptídica a través de la formación de la función  $\alpha$ -cetoamida entre los residuos aminoácidos de L-tirosina y L-(*allo*)-Isoleucina.

Como ya discutimos en el Capítulo 2, podemos acoplar diferentes fragmentos peptídicos de los sintetizados; pero todos estos acoples se realizarán a través de la formación de este enlace.

La función  $\alpha$ -cetoamida, se encuentra en algunos productos naturales, los cuales generalmente presentan actividad como inhibidores de enzimas proteolíticas. Dicha actividad es atribuida a la presencia del grupo  $\alpha$ -carbonilo, el cuál presenta una altísima electrofilia<sup>53</sup> y es capaz de reaccionar con nucleófilos tales como hidroxilos ó tioles,<sup>64</sup> provocando la pérdida de actividad de diferentes enzimas. Un ejemplo de esto, es la actividad inmunosupresora que presentan productos como FK-506 (Figura 18), el cuál inhibe peptidil-prolil *cis-trans* isomerasas.<sup>65</sup>

<sup>64</sup> Chen, J. J.; Deshpands, S. V. *Tetrahedron Letters*, **2003**, 44, 8873.

<sup>65</sup> Maryanoff, B. E.; Greco, G.; Han-Cheng Z.; Andrade-Gordon, P.; Kauffman, J. A.; Nicolaou, K. C.; Aijun L.; Brungs, P. H. *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 117, 1225.



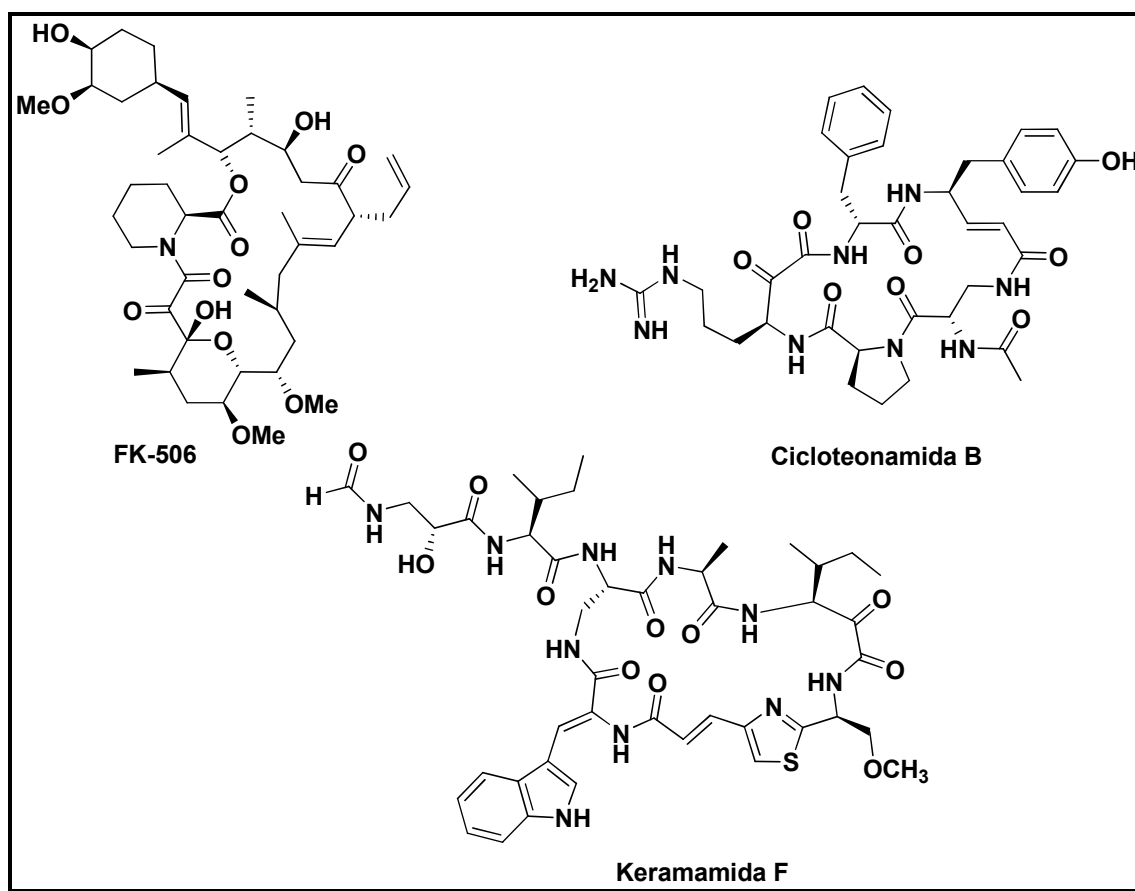


Figura 19:  $\alpha$ -cetoamidas en Productos Naturales

La presencia de esta función en otros productos naturales como cicloteonamida<sup>66</sup> y keramamida<sup>67</sup> por ejemplo, ha llevado a diferentes grupos a interesarse en el desarrollo de distintas metodologías para alcanzar su síntesis.

Varios métodos son los reportados en literatura para la preparación de  $\alpha$ -cetoamidas, entre ellos, podemos destacar:

1. amidación de  $\alpha$ -cetoácidos<sup>68</sup>
2. oxidación de  $\alpha$ -hidroxiamidas<sup>69</sup>
3. utilización de ciano-fosforanos de acilo (metodología del ciano-iluro)<sup>53</sup>
4. doble carbonilación de haluros de arilo catalizada por paladio<sup>70</sup>

<sup>66</sup> Nobuhiro F.; Shigeki M. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 7053.

<sup>67</sup> Itagaki, F.; Shigemori, H.; Ishibashi, F.; Nakamura, T.; Sasaki, T.; Kobayashi, J. *J. Org. Chem.*, **1992**, *57*, 5541.

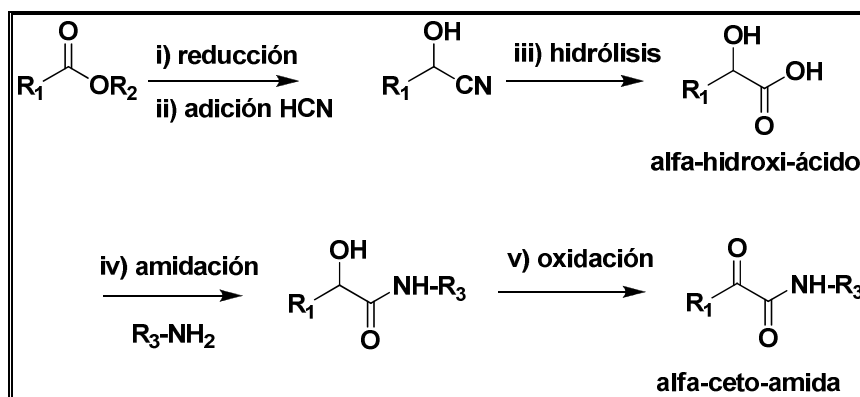
<sup>68</sup> Singh, R. P.; Shreeve, J. M. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 6063.

<sup>69</sup> Xu, P.; Lin, W.; Zhou, X. *Synthesis* **2002**, 1017.

5. utilización de cloruros de ácido e isonitrilos (método de UGI)<sup>71, 64</sup>
6. otros

De estos métodos, uno de los principalmente utilizados cuando se trabaja con derivados aminoacídicos, es la oxidación de  $\alpha$ -hidroxiamidas. Dicho método (Esquema 37) utiliza como material de partida un éster, generalmente de algún aminoácido, el cual se reduce para obtener el aldehído correspondiente. Un posterior tratamiento con cianuro de hidrógeno e hidrólisis del producto de adición nos lleva al  $\alpha$ -hidroxiácido deseado. Posteriormente se realiza el acoplamiento con el grupo amino, y por último la oxidación del grupo hidroxilo en posición  $\alpha$ .

Sin embargo, esta metodología consiste de varios pasos y además el paso final de oxidación resulta problemático en muchos casos, generalmente debido a la isomerización del carbono adyacente al grupo carbonilo cetónico.<sup>72</sup> Diferentes agentes oxidantes son usados para este propósito, a modo de ejemplo podemos mencionar TEMPO, Dess-Martin y PCC.<sup>73</sup>



Esquema 37: Oxidación de  $\alpha$ -hidroxiamidas

Otro método que ha venido ganando en popularidad a la hora de sintetizar  $\alpha$ -cetoamidas, es aquel desarrollado por Wasserman *et al.*,<sup>53</sup> el cual

<sup>70</sup> Ozawa, F.; Soyama, H.; Yanagihara, H.; Aoyama, I.; Takino, H.; Izawa, K.; Yamamoto, T.; Yamamoto, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 3235.

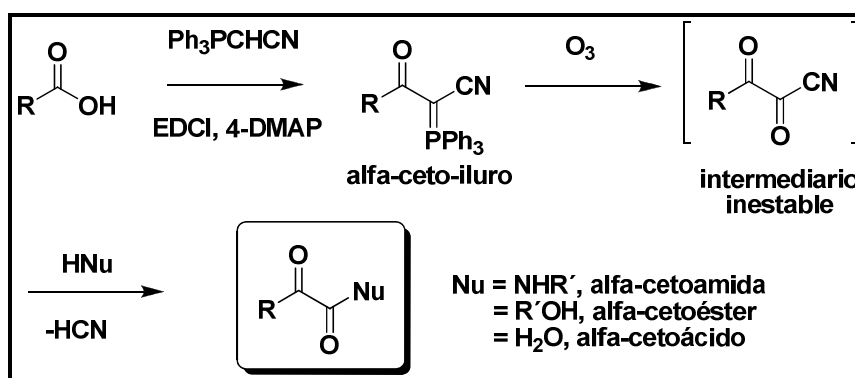
<sup>71</sup> Grassot, J. M.; Masson, G.; Zhu, J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 947.

<sup>72</sup> Bastiaans, H. M. M.; Van der Baan, J. L.; Ottenheijm, H. C. J. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 3880.

<sup>73</sup> US 2007/0027067 A1; Etzkorn, F.; Transition-state inhibitors of PIN1, Alpha-ketoamide-containing péptidos miméticos, and synthesis thereof; feb. 1 2007.

consiste en la utilización de (cianometil)trifenilfosforano y es conocido como metodología del “ciano-iluro” (Esquema 38).

En este método, se acopla éste reactivo a un ácido carboxílico, produciendo el  $\alpha$ -ceto-iluro correspondiente. Luego, se somete a una reacción de ozonólisis, lo que genera un producto altamente electrofílico, el  $\alpha,\beta$ -dicetonitrilo. Éste puede recibir el ataque de algún nucleófilo presente en el medio de reacción, liberando cianuro de hidrógeno y formando por esta vía el producto dicarbonílico.



Esquema 38: Metodología del ciano-iluro

Éste método ha tenido una amplia aceptación y ha sido aplicado en la síntesis de diferentes compuestos como por ejemplo Cicloteonamida E<sub>2</sub> y E<sub>3</sub>,<sup>74</sup> Verongamina y peptidomiméticos.<sup>75</sup>

La ventaja de este método con el anterior, es que presenta una ruta sintética de menos etapas, y los productos de partida son comerciales. Se pueden utilizar diferentes ácidos carboxílicos de partida, especialmente aminoácidos; obteniéndose muy buenos rendimientos globales.

En nuestro caso, y por las ventajas discutidas hemos decidido aplicar el método del ciano-iluro a nuestra síntesis. Esto hace, que tengamos que derivatizar el ácido carboxílico del aminoácido L-*allo*-isoleucina (que forma

<sup>74</sup> Wasserman, H. H.; Zhang, R. *Tetrahedron Letters*, **2002**, 43, 3743.

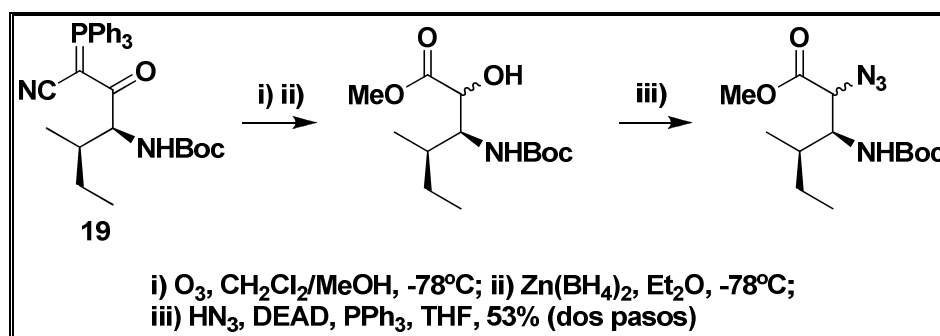
<sup>75</sup> a) Wasserman, H. H.; Wang, J. *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 5581. b) Kim, H.-O.; Nakanishi, H.; Lee, M.; Kahn, M. *Org. Lett.* **2000**, 2, 301.

parte de la estructura original del producto natural) o su isómero más económico, L-Isoleucina.

Entre otros métodos utilizados puntualmente para la obtención de esta función, destacaremos solamente el utilizado por **Fa-Jun Nan *et al.***<sup>18</sup> en su síntesis total de Scleritodermina A e isómeros, reportada como ya dijimos el año pasado (2008).

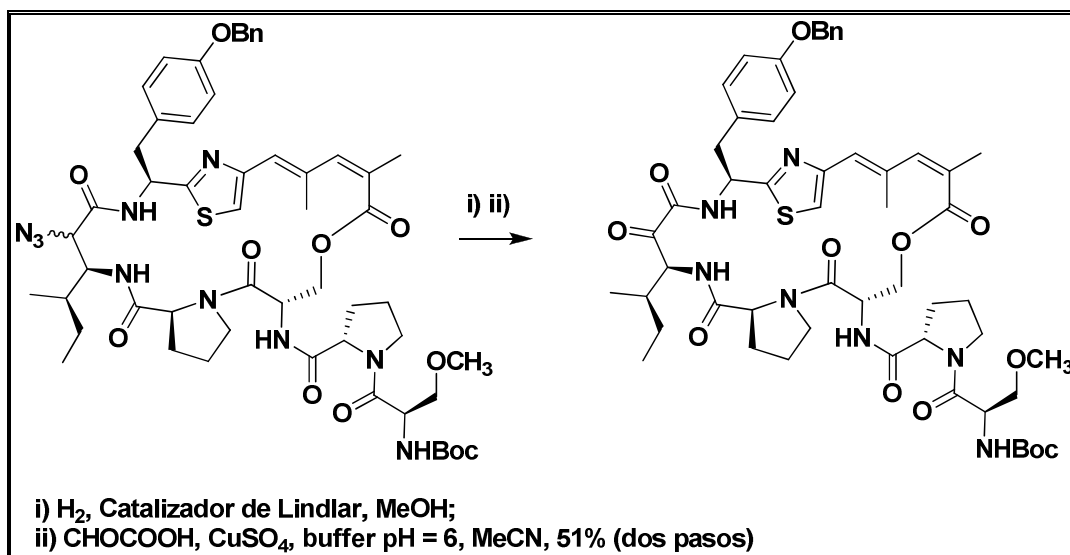
En dicha síntesis, el paso de obtención de la función  $\alpha$ -cetoamida es realizado al final de la ruta sintética y el mismo consiste en la conversión desde un grupo  $\alpha$ -azido-carbonilo pasando por una función  $\alpha$ -amino-amida hasta llegar a la ceto-amida.

La síntesis de la función  $\alpha$ -cetoamida comienza con la conversión del grupo carbonilo del compuesto **19**, en un grupo azido (Esquema 39).



Esquema 39: Formación del grupo  $\alpha$ -azido-carbonilo

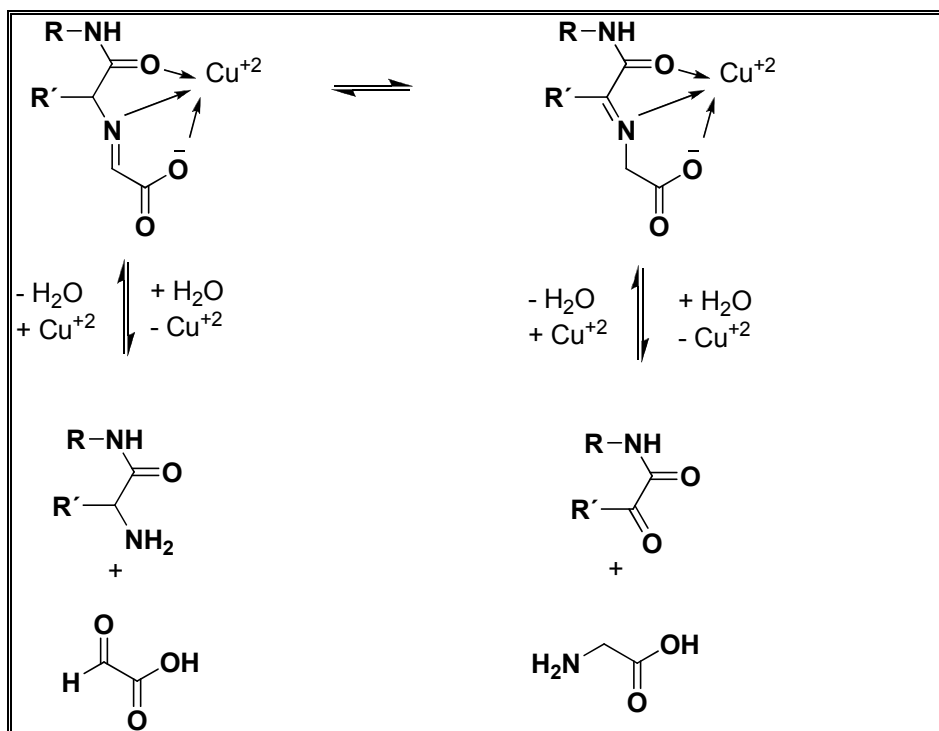
Al final de la ruta sintética dicho grupo es reducido a amino mediante una hidrogenación catalítica; y luego esta amina es convertida en carbonilo mediante el uso de una reacción de desaminación oxidativa utilizando glioxilato como electrófilo y  $Cu^{+2}$  como catalizador (Esquema 40).



Esquema 40: Obtención de la función  $\alpha$ -cetoamida (reducción y desaminación oxidativa)

En el Esquema 41 vemos el mecanismo de la reacción de desaminación reportada por Meldal *et al.*<sup>76</sup> La obtención de la función cetoamida consiste en total de cinco reacciones a partir del compuesto **19**, y el pasaje final desde la función azido a la cetoamida tiene un rendimiento de solo 51%, provocando una drástica caída en el rendimiento total de la síntesis.

<sup>76</sup> Papanikos, A.; Rademann, J; Meldal, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 2176.



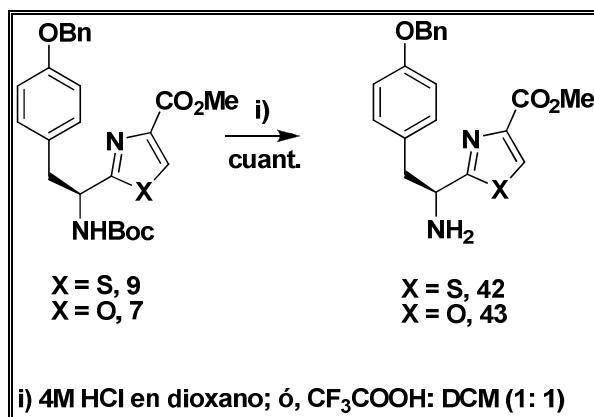
Esquema 41: Desaminación oxidativa catalizada por Cu<sup>2+</sup>

### 3.1.2- Discusión de resultados:

Partiendo entonces del derivado de L-(*allo*)-Isoleucina **19**, cuya síntesis fue descrita anteriormente, y dependiendo de la estrategia que vayamos a seguir, podemos acoplar directamente (formando la función  $\alpha$ -cetoamida) con el fragmento **ACT/ACO**; o, realizar el acoplamiento con alguno de los fragmentos peptídicos sintetizados en el capítulo anterior, a través de la función amino.

En el primero de los casos y en un primer momento, con la intención de conocer el comportamiento de esta nueva reacción para nosotros, decidimos realizar un acoplamiento utilizando un derivado tiazólico u oxazólico lo menos avanzado posible. Fue así que elegimos los productos **7** y **9** (Esquema 42) para este ensayo.

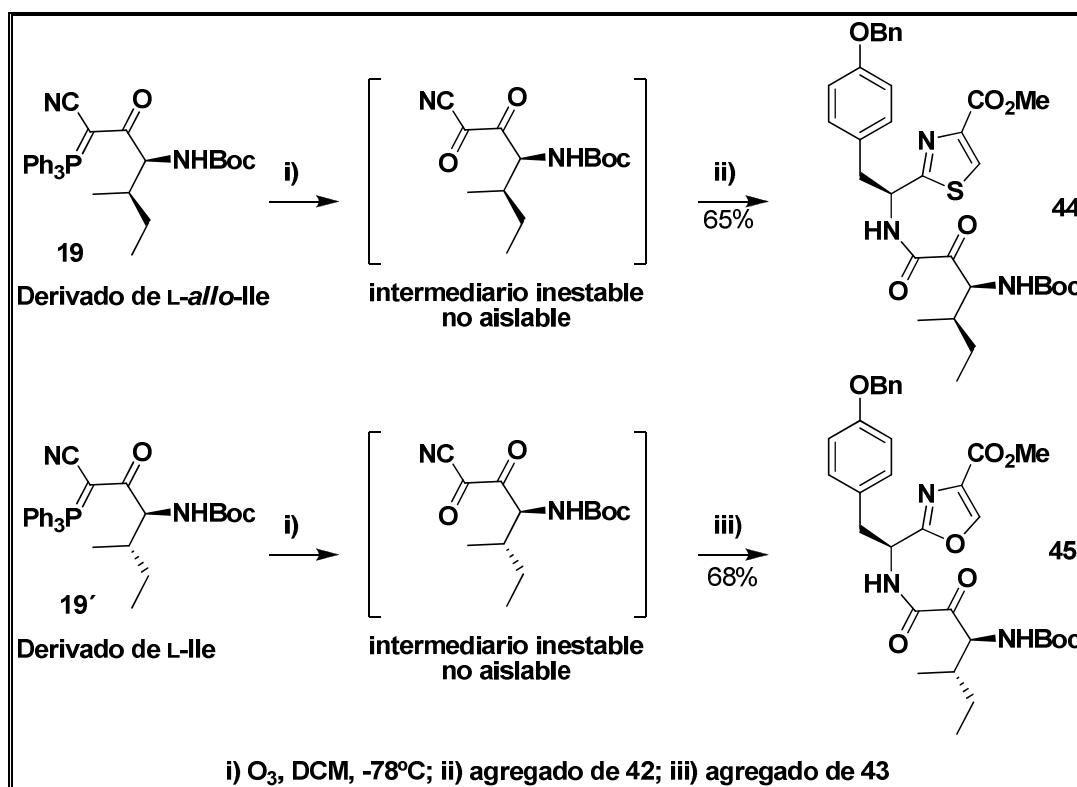
Así, se realiza la remoción del grupo carbamato del heterociclo **7** y **9**, liberando de esta forma la función amina, que actuará como nucleófilo en la próxima reacción. Esta reacción de desprotección se realiza en medio ácido, ya sea con ácido trifluoroacético: DCM (1: 1) ó con HCl/dioxano 4M. En caso de utilizar TFA, se debe realizar una extracción en medio básico (solución acuosa saturada en bicarbonato de sodio) para remover el carboxilato proveniente del TFA. Cuando dicha reacción se realiza en presencia de cloruro de hidrógeno en dioxano, se obtiene directamente el clorhidrato del producto, el cual se utiliza posteriormente sin purificación adicional. En ambos casos, la reacción transcurre de forma cuantitativa.



Esquema 42: Desprotección del grupo amino

De esta forma, con ambos reactivos en nuestras manos, realizamos el acoplamiento entre ambos con la obtención a su vez de la función  $\alpha$ -cetoamida (Esquema 43).

Como se muestra en el esquema siguiente, el reactivo **19** ó **19'** disuelto en DCM, es sujeto a ozonólisis mediante barboteo de ozono en la solución a  $-78^{\circ}\text{C}$ . Luego que la solución se torna verdosa y que la cromatografía en capa fina muestra desaparición del reactivo, se agrega una solución del nucleófilo (**42** ó **43**, según el caso) en DCM. Se monitorea el avance de la reacción mediante cromatografía en capa fina, y se deja agitando alrededor de dos horas a  $-78^{\circ}\text{C}$  hasta no percibir avances en la misma. El producto es obtenido con un rendimiento del 68 % en el caso del oxazol (**45**) y del 65% para el tiazol (**44**), y los productos son caracterizados por espectroscopía de RMN. Las estructuras de ambos productos obtenidos son confirmadas por la presencia de una señal a 200 ppm ( $^{13}\text{C}$ -RMN) aproximadamente asignable a la función  $\alpha$ -cetoamida.

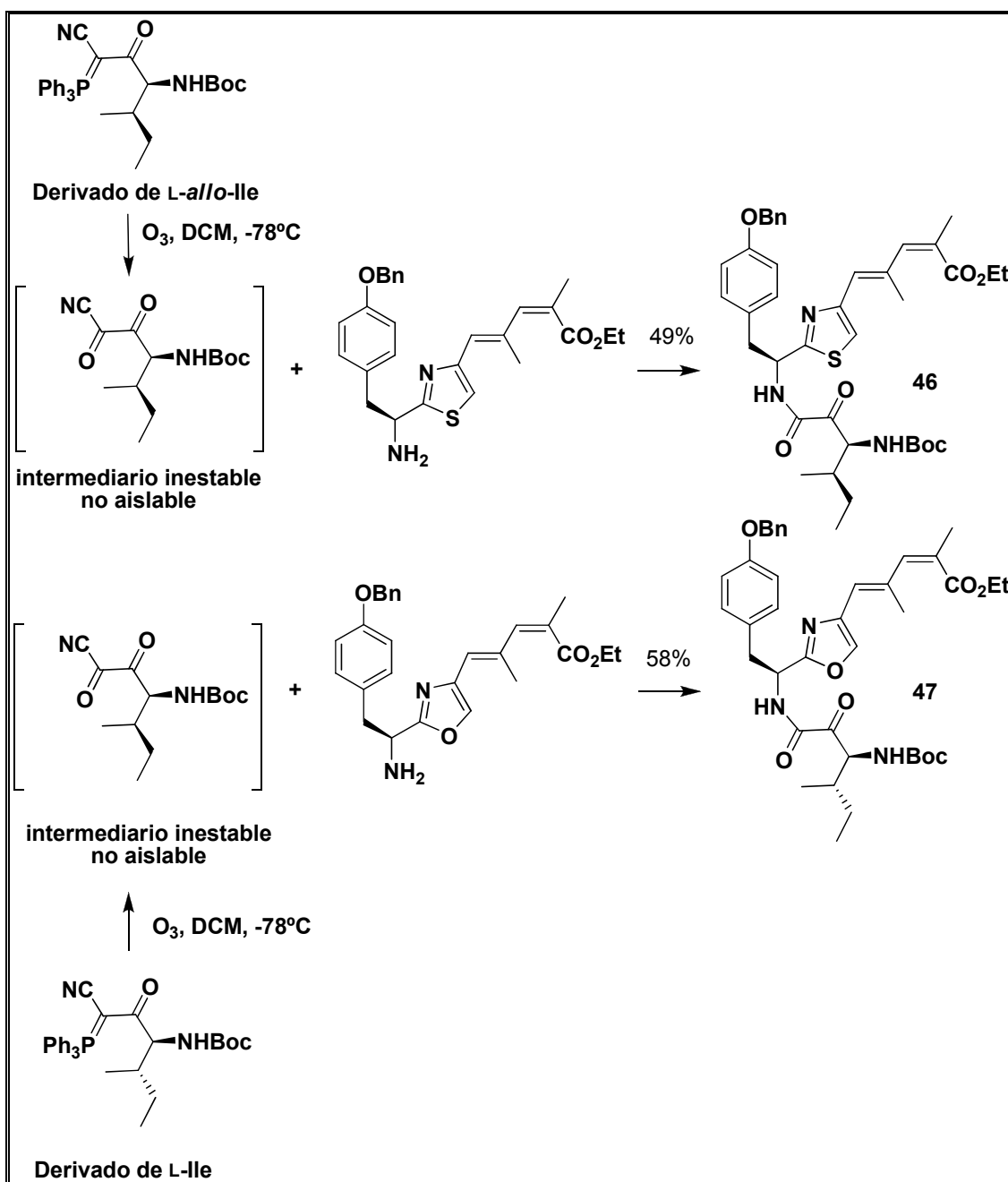


Esquema 43: Obtención de los productos **44** y **45**



Una vez ensayada la obtención de la función  $\alpha$ -cetoamida mediante esta metodología, nos propusimos realizar el acoplamiento de productos más avanzados. Fue así como, de la misma manera, realizamos el acoplamiento de los compuestos desprotegidos de **ACT** y **ACO** (obtenidos de forma análoga a como lo hiciéramos con **42** y **43**), ya sea al derivado de L-*allo*-Ile ó L-Ile.

En el siguiente Esquema 44 se presentan entonces los resultados de dichos acoplamientos.



Esquema 44: Obtención de los productos **46** y **47**

Nuevamente acá, mediante espectroscopía de RMN se puede comprobar la formación de la función buscada. En la siguiente Figura 19 podemos ver el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN del producto **46**. Las señales del fragmento proveniente del aminoácido L-*allo*-Ile aparecen a 0.67, 1.00, 1.31, 1.96 y 5.22 ppm. Por otro lado, vemos las señales pertenecientes al fragmento **ACT**: ambos protones unidos a  $\text{Csp}^2$  (6,31 y 6,50 ppm), los protones aromáticos de L-tirosina (6,88 7 7,03 ppm) y del grupo protector bencilo (5,03 ppm). A través del espectro bidimensional protón-protón (Cosy) (Figura 20) podemos determinar el sistema conformado entre los protones unidos al Carbono alfa del resto de L-tirosina, los protones metilénicos ( $-\text{CH}_2-$ ) y la señal perteneciente al grupo NH de la función cetoamida, la cual aparece en 7,67 ppm.

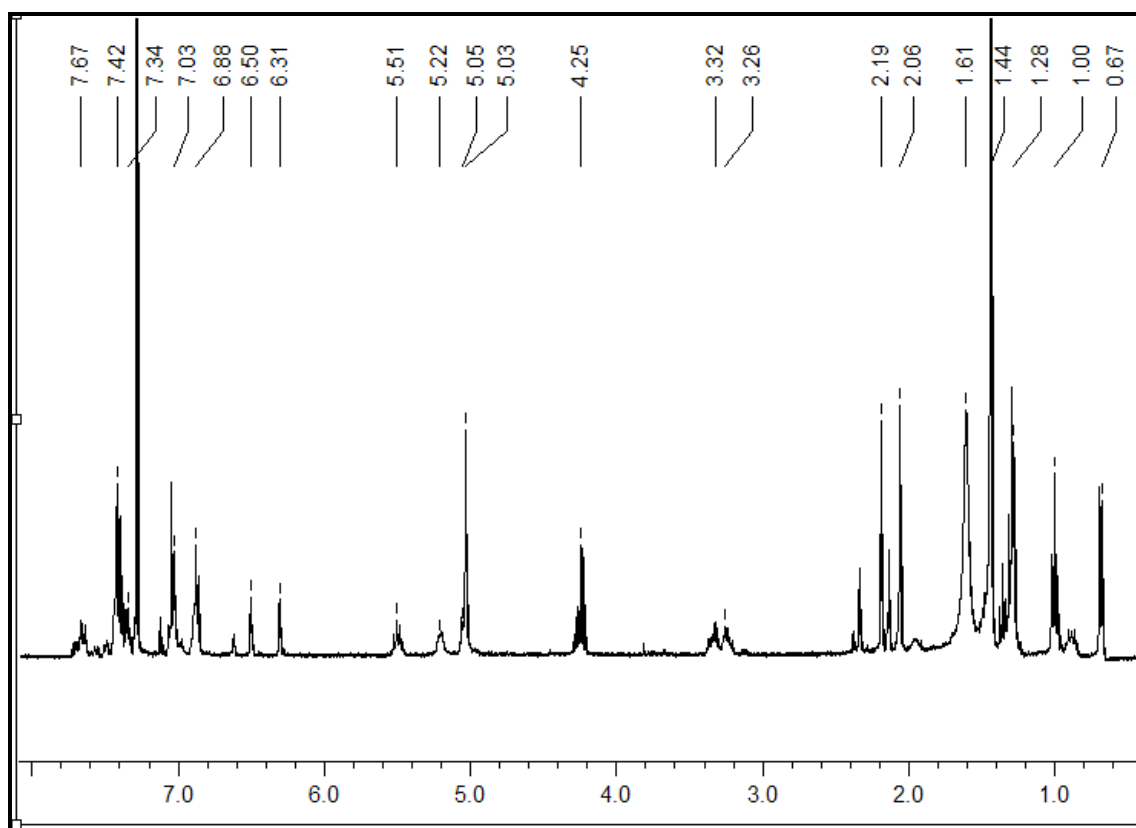


Figura 20: Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) del producto **46**

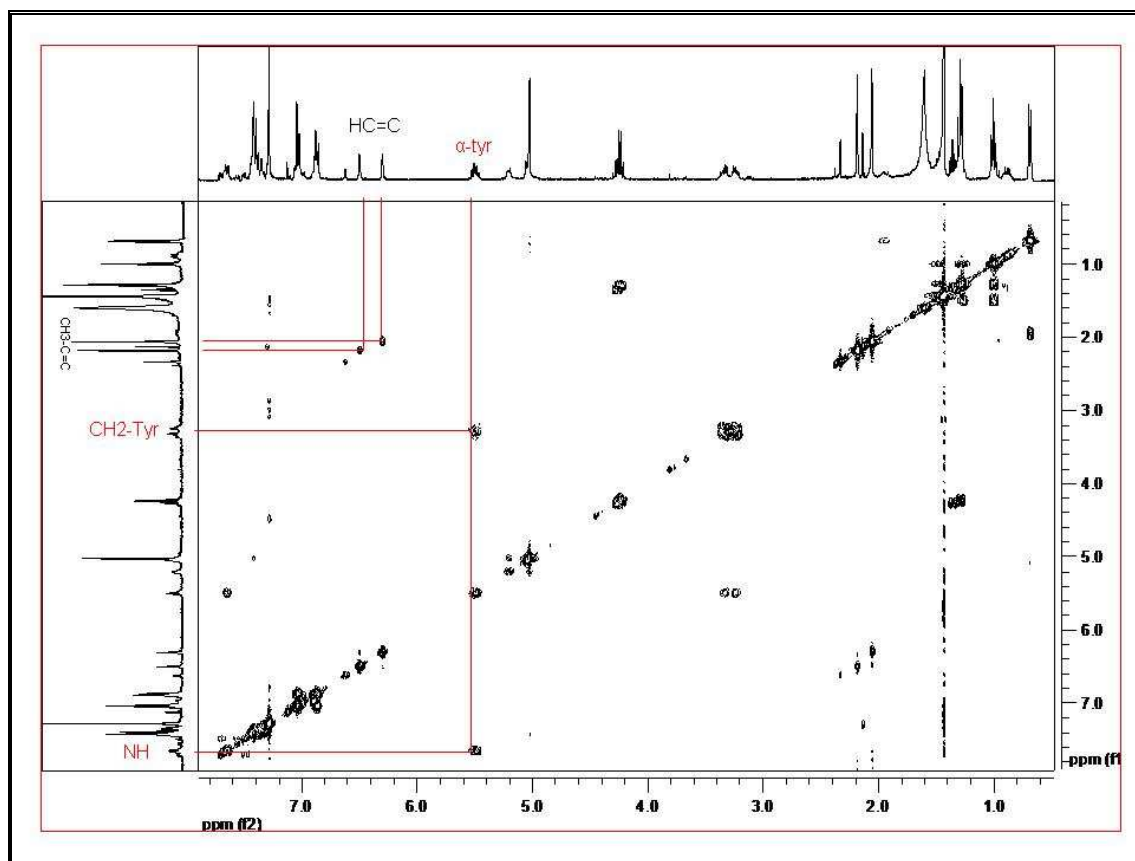


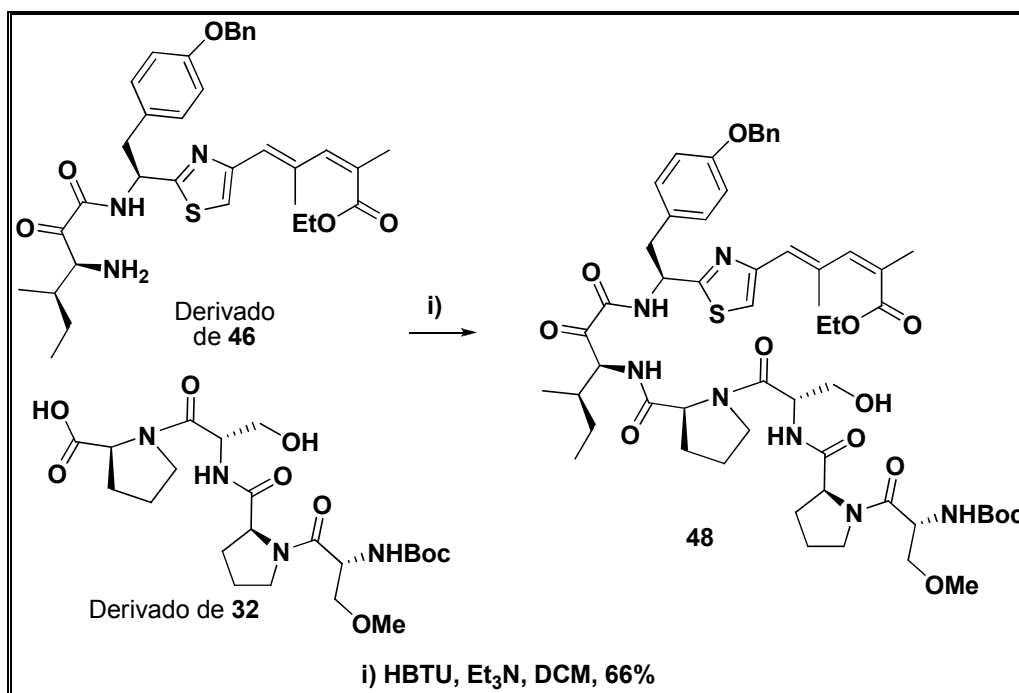
Figura 21: Cosy del producto **46**

En el caso anterior, logramos realizar el acoplamiento del fragmento **ACT/ACO** con el derivado del aminoácido *L-allo-Ile/L-Ile*. A partir de estos compuestos, avanzamos hacia el acoplamiento con los derivados peptídicos obtenidos anteriormente.

Mediante tratamiento ácido de estos compuestos, logramos remover la función carbamato, liberando el grupo amino. Por otro lado, como ya vimos anteriormente, el grupo éster bencílico del tetrapéptido **32** es removido mediante una reacción de hidrogenación catalítica (ambos reacciones transcurren de forma cuantitativa y se continúa trabajando con el crudo de reacción).

Con ambos productos desprotegidos en nuestras manos, se obtuvo la función amida entre el grupo amino de *L-allo-Ile* y el ácido carboxílico del resto de *L-Pro*. Para esta reacción utilizamos como agente acoplante HBTU (Esquema 45).

El producto lineal **48**, precursor del macrociclo, es obtenido con un rendimiento del 66 %.



Esquema 45: Síntesis del producto **48**

En la siguiente Figura 21 se puede apreciar el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN del compuesto **48**. Claramente se distinguen los protones pertenecientes al aminoácido *allo*-Ile (recuadro) a 0.9 ppm aproximadamente. El grupo metilo del éster etílico da un triplete a 1.28 ppm. Otras señales que podemos señalar en este espectro son: dos singuletes pertenecientes a los grupos metilos unidos a  $\text{C sp}^2$ ; el éter metílico que forma el aminoácido D-Serina; las señales de los grupos metilénicos unidos a O (Serina) o a N (Prolina) entre 3.4 y 4.0 ppm; el cuarteto a 4.19 ppm perteneciente al grupo metileno del éster etílico ( $-\text{OCH}_2-$ ); el singulete a 4.99 ppm asignable al  $\text{CH}_2$  bencílico; los protones unidos a C alfa de cada uno de los aminoácidos presentes entre 4.4 y 5.4 ppm; las señales originadas por los protones unidos a  $\text{C sp}^2$  en 6.2 y 6.5 ppm; y por último aparecen las señales de protones aromáticos de Tirosina y del grupo protector bencilo.

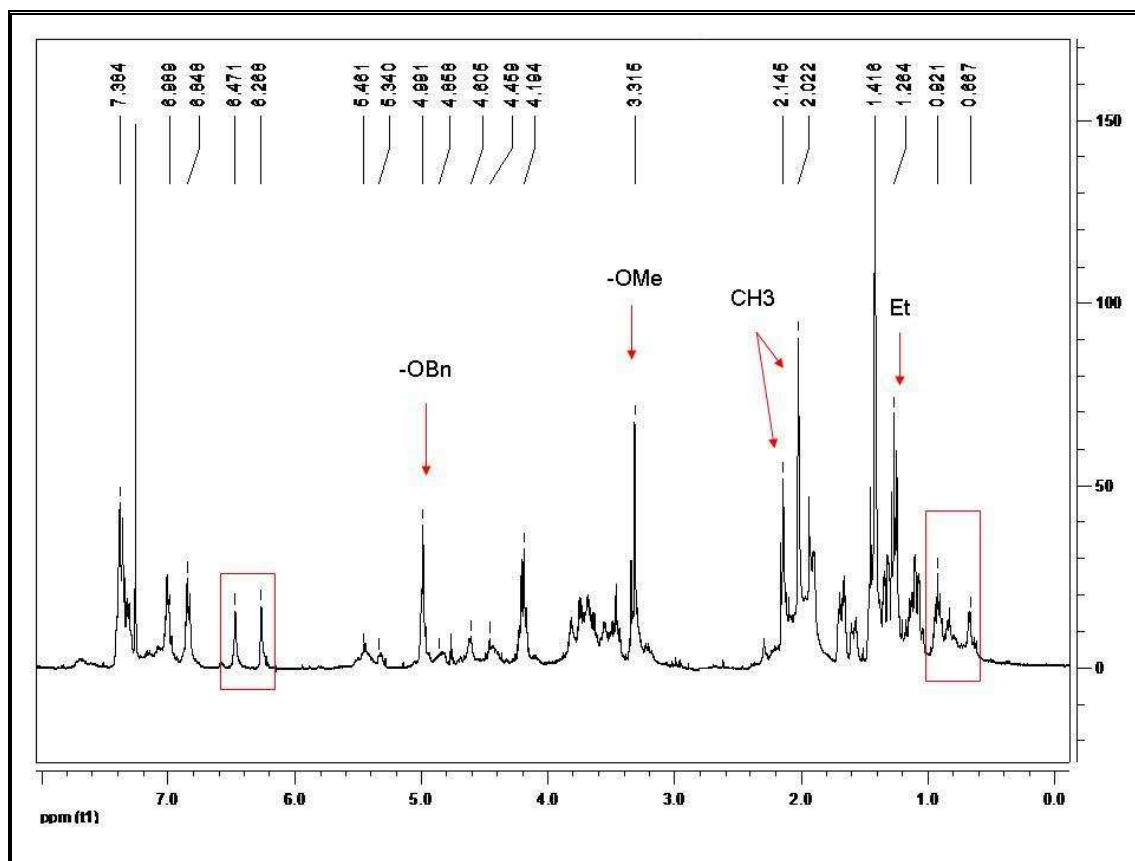


Figura 22: Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) del producto **48**

Se distingue en este espectro, la presencia de algunas señales poco definidas, anchas y hasta en algunos casos dobles; lo que indica la presencia de confómeros estructurales como sucede con los fragmentos peptídicos que contienen Prolina.

La identidad de este compuesto **48**, fue confirmada además por espectroscopía de masa. El ión molecular del compuesto es obtenido por Electrospray y aparece en una relación  $m/z$  de 1086.5101 ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup>, además de unido a un átomo de sodio en 1108.4997. La pérdida del grupo Boc, es una fragmentación característica de este tipo de productos; dicha pérdida produce una señal en 987.4522. En la Figura 22, podemos apreciar dicho espectro.

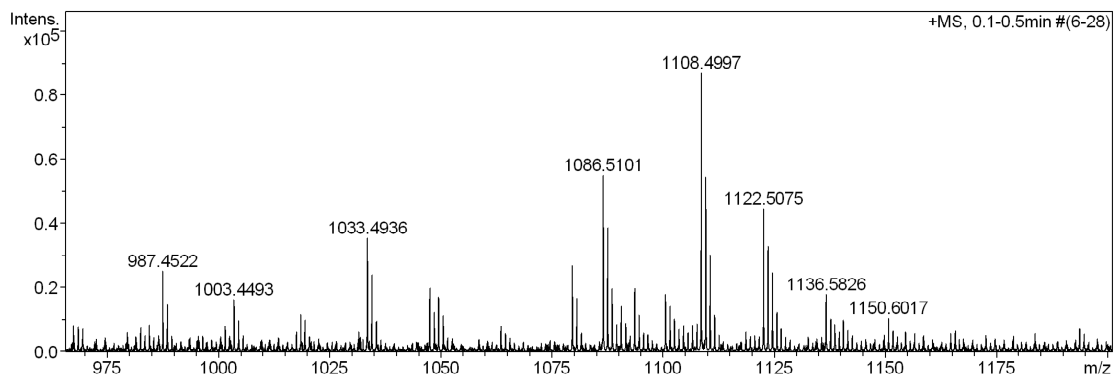


Figura 23: Espectro de masa de alta resolución del producto **48**

El patrón característico del ión molecular + Na, tanto teórico (abajo) como encontrado (arriba) es mostrado en la Figura 23:

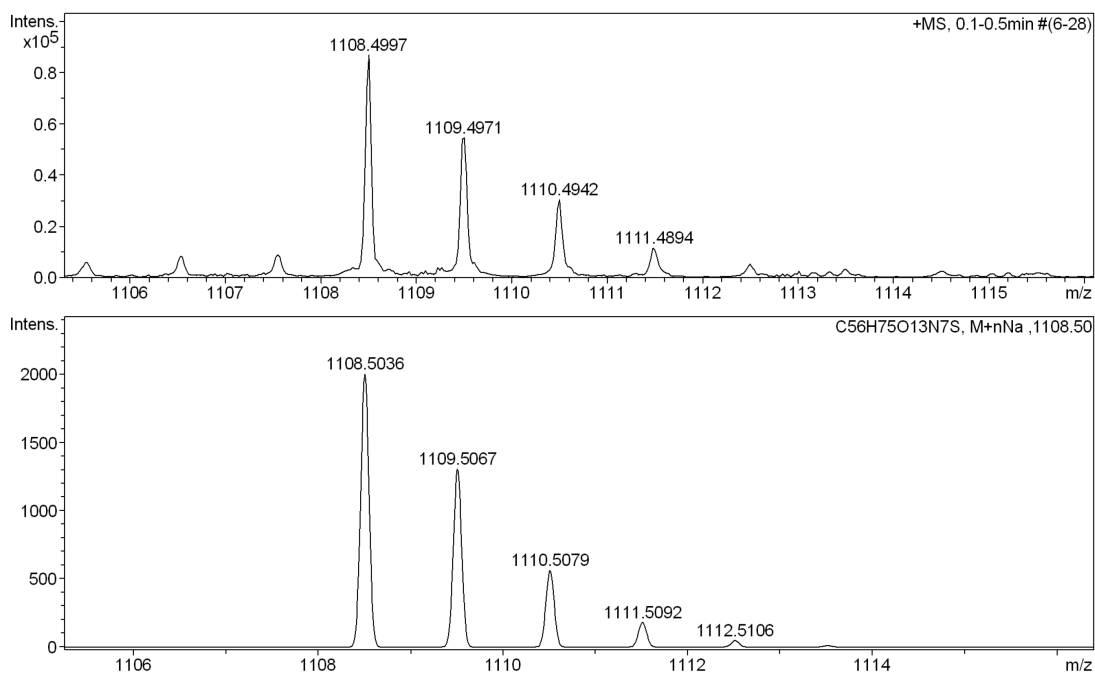
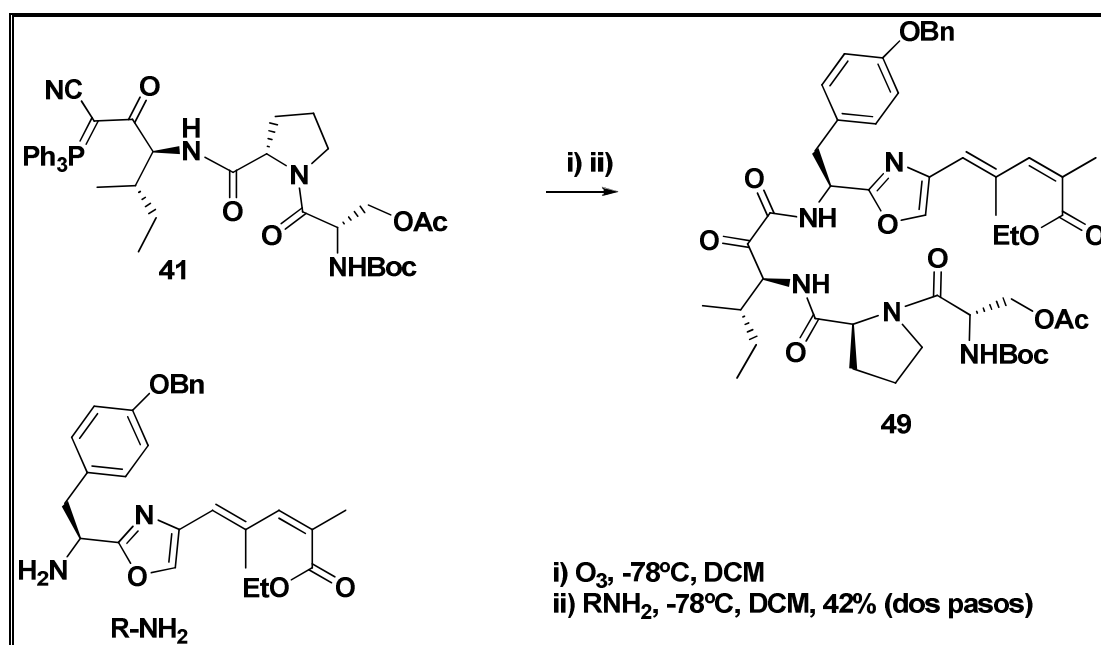


Figura 24: Distribución isotópica experimental (arriba) y calculada (abajo) del producto **48**

Como ya discutimos anteriormente, el acoplamiento de **ACT** ó **ACO** con el fragmento peptídico a través de la función  $\alpha$ -cetoamida puede ser realizado en un solo paso. O sea, acoplado directamente con el pentapéptido **40** ó el tripéptido **41**.

En nuestro caso, con la intención de probar esta metodología alternativa, realizamos el acoplamiento del fragmento **ACO** desprotegido, con el tripéptido **41**. Dicha reacción nos proporciona el producto **49** precursor de un macrociclo con un rendimiento del 42 % (Esquema 46). Para evitar reacciones inter y/o intramoleculares del hidroxilo primario del resto de L-Serina (actuando como nucleófilo) frente al potente electrófilo formado durante la ozonólisis, fue que decidimos la protección del mismo como acetato. Dicha función podrá ser removida junto al éster etílico en etapas posteriores.



Esquema 46: Obtención del producto **49**

El espectro de <sup>1</sup>H-RMN (Figura 23) obtenido para este producto, muestra claramente todas las señales pertenecientes tanto al fragmento **ACO** como a los restos aminoacídicos provenientes del tripéptido **41**. Además, nuevamente acá se puede confirmar la formación de la función α-cetoamida mediante el espectro de <sup>13</sup>C-RMN.

En este caso es evidente la presencia de señales mucho más definidas, lo que hace suponer menor cantidad de conformeros y mayor rigidez en la molécula, quizás debido a la ocurrencia de un único resto de L-Prolina.

Se pueden ver algunas de las señales ya observadas en el producto anterior **48**, como por ejemplo las pertenecientes a los aminoácidos Isoleucina, Tirosina, Serina y Prolina.

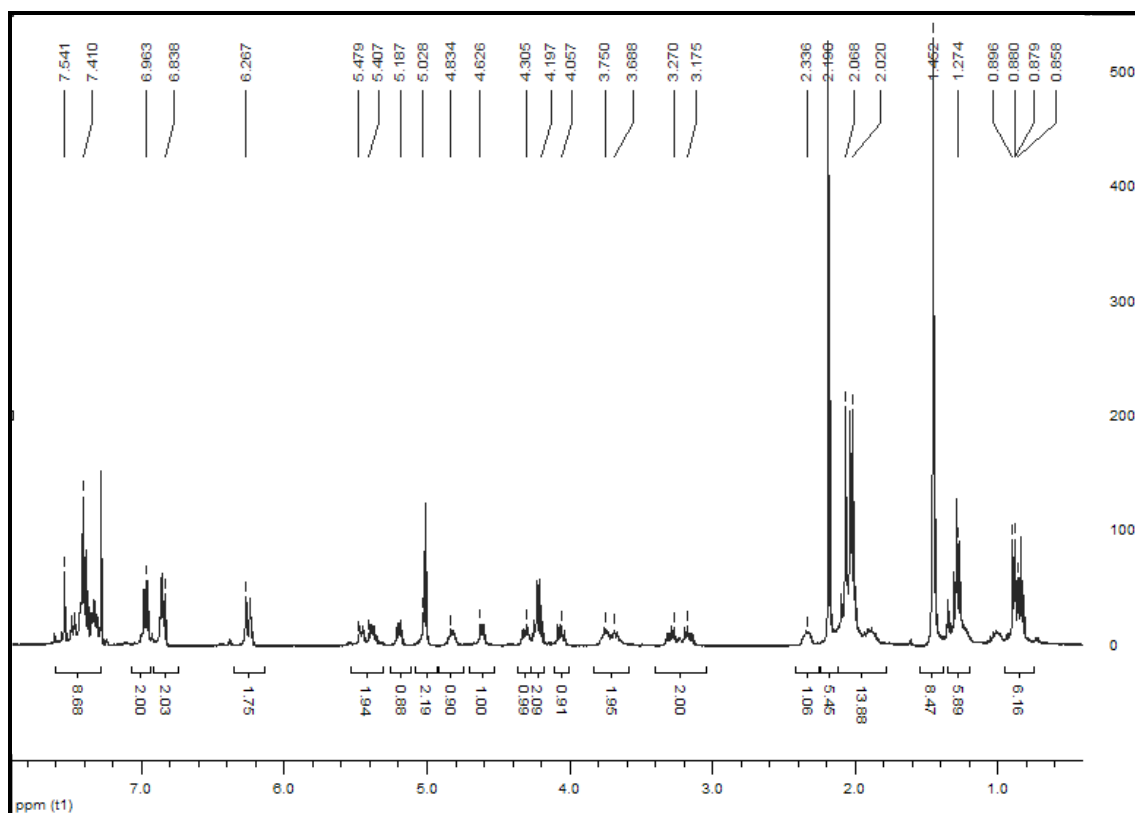


Figura 25: Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) del producto **49**

El espectro bidimensional protón-protón (Figura 24) muestra los acoplamientos esperados. Entre ellos destacamos:

- El acoplamiento entre los protones unidos a  $\text{C sp}^2$  y los grupos metilos adyacentes (círculo) aproximadamente en las coordenadas 6.2-2.0 ppm.
- El acoplamiento de los dos únicos grupos  $\text{NH}$  amídicos a los protones unidos a Carbono alfa de los restos aminoácidos tirosina y Isoleucina (cuadrado en 5.1-7.2 ppm aproximadamente).
- El característico acoplamiento del protón unido a Carbono alfa de L-Serina con los dos protones metilénicos  $\text{CH}_2\text{OH}$ , y con el grupo  $\text{NH}$  de la función carbamato (4.9-4.0, 4.2 ppm).
- De los protones del grupo metileno de L-Tirosina (3.2 ppm) con el protón unido a carbono alfa del mismo aminoácido (5.2 ppm).



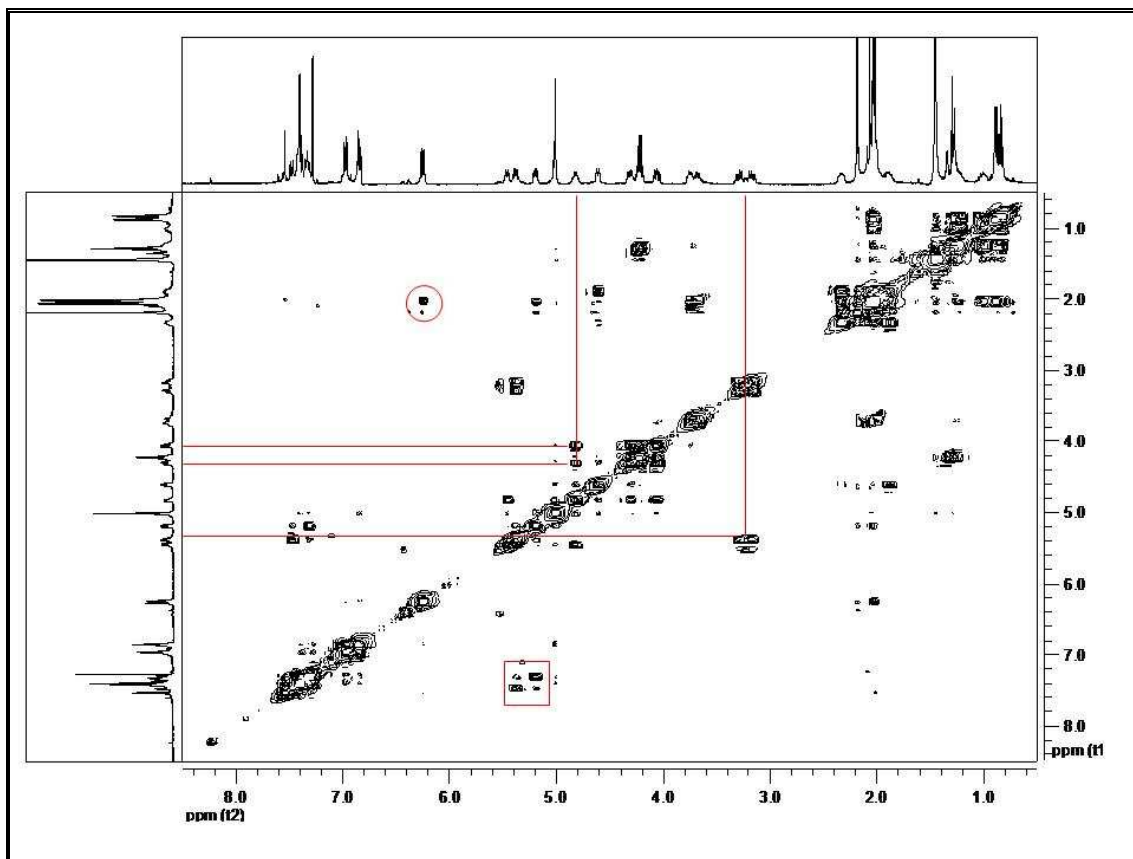


Figura 26: Cosy del producto **49**

La identidad del producto **49** además de por RMN fue confirmada por espectroscopía de masa. Con el espectrofotómetro operando en modo positivo se obtuvo el siguiente espectro (Figura 25):

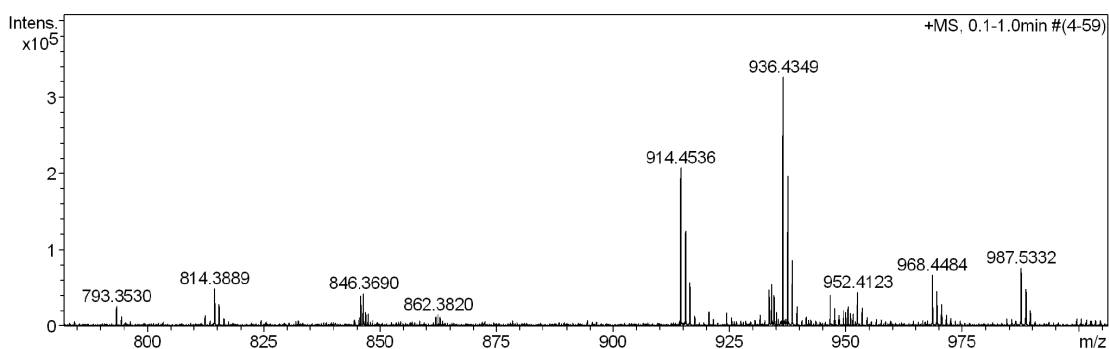


Figura 27: Espectro de masa de alta resolución del producto **49**

La ionización de la muestra se realizó por Electrospray, y se puede apreciar el ión molecular unido a hidrógeno en un  $m/z$  de 914.4536, y el mismo ión molecular unido a un átomo de sodio en 936.4349.

El patrón isotópico para el producto **49**, aparece en la Figura 26, donde en la parte superior se observa el calculado teóricamente.

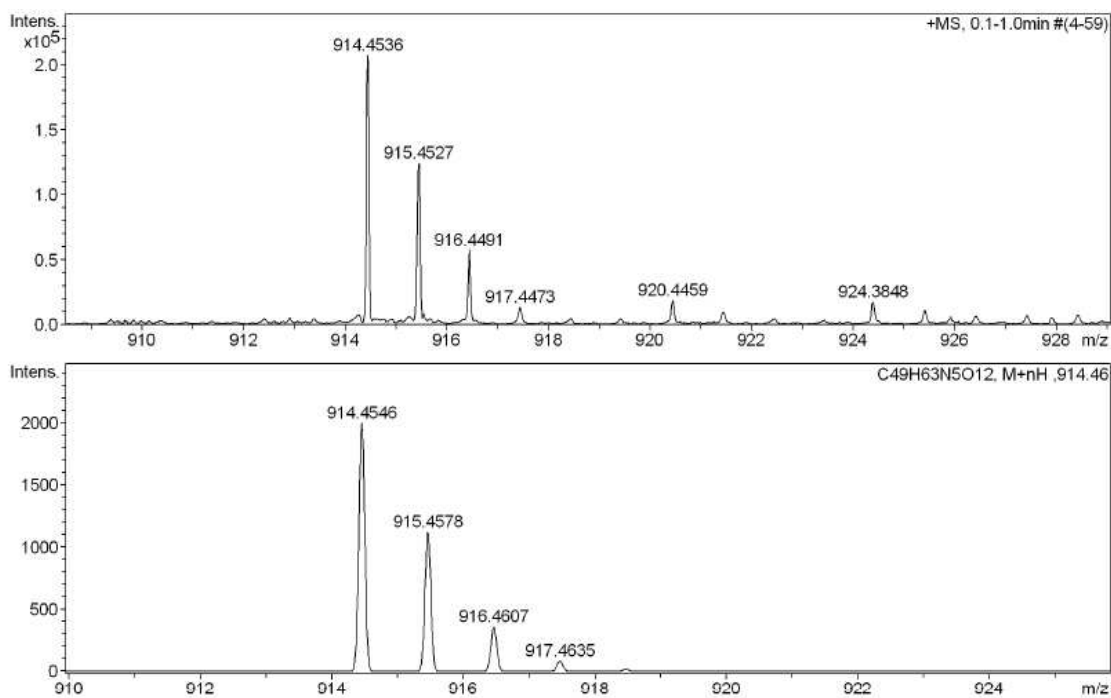


Figura 28: Distribución isotópica experimental (arriba) y calculada (abajo) del producto **49**

## 3.2- Hacia la macrociclación

### 3.2.1- Antecedentes y metodología propuesta

Los productos naturales macrocíclicos han recibido una gran atención por diversos motivos, ya sean “estructurales” o “biológicos”; y si bien la construcción de los mismos se ha basado a menudo en los procesos de macrolactonización o macrolactamización, recientemente se han ido desarrollando también otros caminos alternativos de macrociclación.

En el caso de la formación de macrolactonas, la ciclación directa no puede llevarse a cabo (por factores entrópicos y entálpicos) sin previa activación ya sea del ácido carboxílico o del alcohol. Es así, que diferentes reportes utilizando condiciones y reactivos muy variados han sido publicados.<sup>77</sup>

A modo de ejemplo, podemos mencionar algunos de los métodos más utilizados: (en la Figura 27, se muestran los reactivos utilizados en cada método)

- Método de Corey:<sup>78</sup> en el cual se realiza la activación del ácido carboxílico mediante la formación de un tio-éster.

- Método de Mukaiyama:<sup>79</sup> donde se produce la sustitución del cloruro (de la sal de Mukaiyama) por el ión carboxilato.

- Método de Keck:<sup>80</sup> realiza la activación del ácido mediante el uso de la mezcla DCC/4-DMAP/4-DMAP-HCl.

- Métodos basados en reactivos organo-fosforados: utiliza compuestos como por ejemplo, BOP-Cl, para producir la activación del ácido. Masamune y Corey fueron los primeros autores en utilizar este tipo de macrolactonización.<sup>81,82</sup>

<sup>77</sup> Parenty, A.; Moreau, X.; Campagne, J.-M. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 911 y ref allí citadas.

<sup>78</sup> Corey, E. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 5614

<sup>79</sup> Mukaiyama, T. *Chem. Lett.* **1976**, 49.

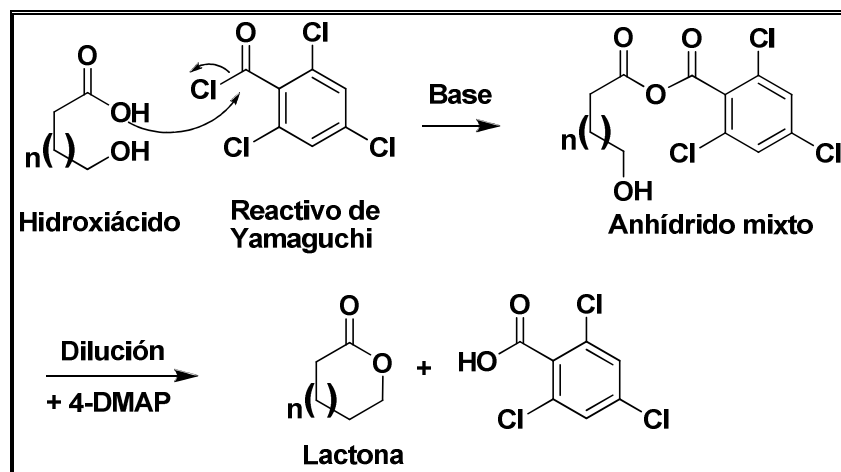
<sup>80</sup> Keck, G. E. *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 2394.

<sup>81</sup> Kaiho, T.; Masamune, S.; Toyoda, T. *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 1612.

<sup>82</sup> Corey, E. J.; Hua, D. H.; Pan, B. C.; Seitz, S. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 6818.

-Método de Yamaguchi:<sup>83</sup> es sin duda el método más popular a la hora de realizar macrolactonizaciones (Esquema 47). Produce la activación del hidroxiaácido mediante la formación de un anhídrido mixto con el reactivo cloruro de 2,4,6-triclorobenzoílo en presencia de una base. Generalmente se aísla el clorhidrato de la base formado, aunque esto no es crucial y se puede continuar en su presencia. Posteriormente, se agrega la mezcla de reacción a una solución diluida de 4-DMAP y se deja reaccionar a reflujo hasta obtener la lactona correspondiente.

Algunos autores han informado el aislamiento del anhídrido simétrico del ácido utilizado.<sup>84</sup>



Esquema 47: Macrolactonización de Yamaguchi

-Método de Mitsunobu:<sup>85</sup> a diferencia de los métodos nombrados anteriormente, en éste se realiza la activación del grupo hidroxilo utilizando DEAD y trifenilfosfina.

<sup>83</sup> Inanaga, J.; Hirata, K.; Saeki, H.; Katsuki, T.; Yamaguchi, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1979**, *52*, 1989.

<sup>84</sup> Dhimitruka, I.; Santalucía, J. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 47.

<sup>85</sup> Mitsunobu, O. *Synthesis* **1981**, *1*; Mitsunobu, O. *Tetrahedron Lett.* **1976**, 2455.

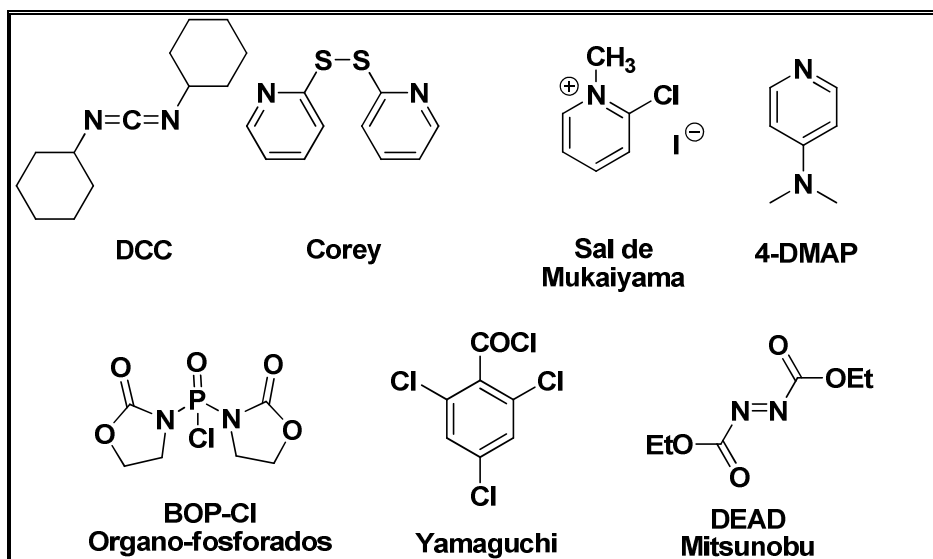


Figura 29: Reactivos usados en macrociclaciones

Otros métodos para la obtención de macrociclos, los cuales no involucran la formación de lactonas o lactamas, han también tenido un importante desarrollo en los últimos tiempos. Podemos citar entre ellos, los métodos que consisten en la formación de enlaces simples carbono-carbono, como por ejemplo:

-Reacciones de Stille y Suzuki intramoleculares: ambas son llevadas a cabo con catalizadores basados en paladio. Varios productos naturales macrocíclicos han sido sintetizados mediante estas reacciones.<sup>86, 87</sup>

También aquellos que involucran la formación de un doble enlace carbono-carbono, como por ejemplo:

-Reacción de Horner-Wadsworth-Emmons (HWE):<sup>88</sup> la cual se realiza a través de la formación de un ceto-fosfonato<sup>89</sup> interno con un grupo hidroxilo. Con esta metodología se logra el control de la estereoquímica del doble enlace formado, utilizando por ejemplo la modificación de Still-Genari.<sup>90</sup>

-Metátesis de olefinas:<sup>91</sup> conocida por sus siglas en inglés como RCM ("ring-closing olefin methatesis"), esta metodología es de gran utilidad a la hora

<sup>86</sup> Pattenden, G.; Sinclair, D. J. *Journal of Organometallic Chemistry* **2002**, 653, 261.

<sup>87</sup> White, J. D. *Chem. Comm.* **1998**, 79-80.

<sup>88</sup> Morin-Fox, M. L.; Lipton, M. A. *Tetrahedron Lett.*, **1993**, 34, 7899.

<sup>89</sup> Stork, G.; Nakamura, N. *J. Org. Chem.*, **1979**, 44, 4010.

<sup>90</sup> O'Neil, G. W.; Phillips, A. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 5340.

<sup>91</sup> Lee, C. W.; Grubbs, R. H. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 7155.

de obtener macrociclos. Varios productos naturales han sido sintetizados por esta vía.<sup>92</sup>

En las referencias citadas, se describe la obtención de diferentes productos naturales mediante las metodologías descritas.

Destacamos dentro de las metodologías de macrociclación aquellas utilizadas para la obtención de forboxazoles y epotilonas (Figura 28), dos moléculas cuyas síntesis totales ya son clásicas de la química orgánica sintética. Ambas estructuras cíclicas son ampliamente conocidas entre la comunidad científica, y sus síntesis han sido realizadas por varios grupos de investigación.

Estos dos casos, son un claro ejemplo en nuestra opinión, de como la búsqueda de diferenciación de los grupos abocados a su síntesis total, los lleva a desarrollar y optimizar metodologías sintéticas cada vez más avanzadas. Es así como la revisión de la síntesis de diferentes Forboxazoles,<sup>93</sup> muestra la obtención del macrociclo por diferentes vías. Por ejemplo, Forsyth *et al.* utilizan una olefinación de Still-Genari en la macrociclación y Evans *et al.* obtienen el macrociclo mediante una lactonización de Yamaguchi.

De la misma forma, una revisión reportada recientemente por Mulzer *et al.* sobre Epotilonas,<sup>94</sup> muestra como Danishefsky llega al macrociclo a través de una macroaldolización, de una RCM ó a través de una macrolactonización de Yamaguchi. En la misma referencia, se presentan y discuten las síntesis de las mismas moléculas realizadas por Nicolau *et al.*, Schinzer *et al.* y otros autores.

---

<sup>92</sup> Gradillas, A.; Perez-Castells, J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 6086.

<sup>93</sup> Haustedt, L. O.; Hartung, I. V.; Hoffmann, H. M. R. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2003**, *42*, 2711 y ref allí citadas.

<sup>94</sup> Mulzer, J.; Altmann, K. H.; Hofle, G.; Muller, R.; Prantz, K. C. *R. Chimie* **2008**, *11*, 1336.

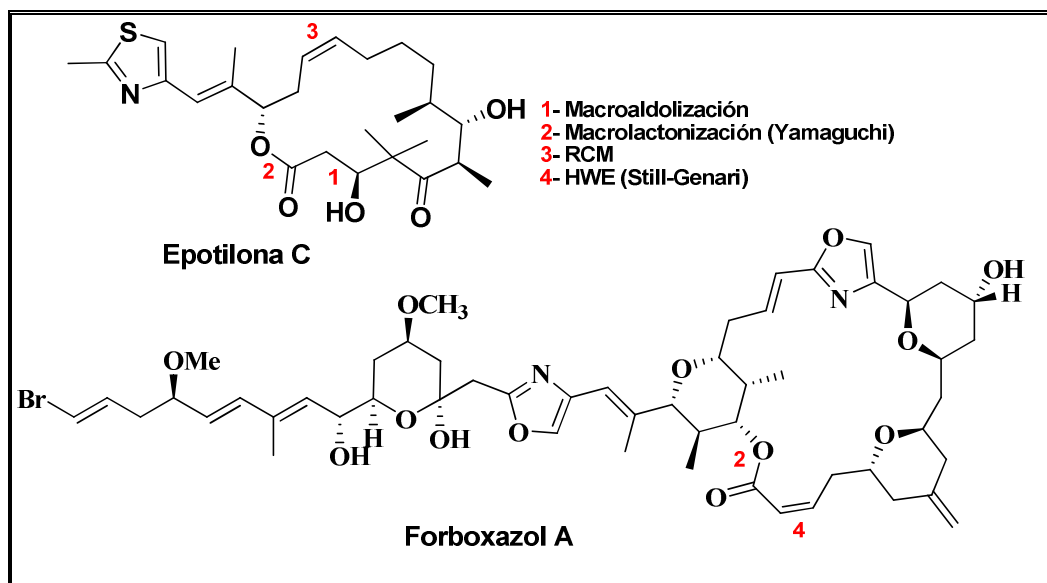


Figura 30: Macrociclos de epotilona y forboxazol.

Para el caso del isómero de Scleritodermina A, como ya analizamos en nuestra propuesta retrosintética, hemos decidido realizar una reacción de macrolactonización entre el ácido carboxílico proveniente del **Fragmento A** y el hidroxilo primario contenido en el resto de L-Serina (Esquema 1). Si bien tenemos una amplia variedad de métodos a la hora de formar la lactona, hemos elegido utilizar la metodología desarrollada por Yamaguchi. Por lo tanto, utilizando el cloruro de 2,4,6-triclorobenzoílo, pensamos formar el anhídrido mixto con nuestro ácido para luego, con posterior dilución de la mezcla de reacción y el agregado de 4-DMAP, permitir el ataque nucleofílico del alcohol primario para formar la lactona.

### 3.2.2- Discusión de resultados

En el capítulo previo, habíamos logrado el acoplamiento de los fragmentos claves sintetizados anteriormente, obteniendo de esa forma el precursor lineal del anillo macrocíclico.

En primera instancia, el oxazol **49** disuelto en THF fue tratado con una solución acuosa de hidróxido de litio. Rápidamente, la cromatografía en capa fina indicó un cambio de  $R_f$ , atribuible seguramente a la desprotección del hidroxilo primario de L-Serina (hidrólisis del acetato). La reacción no presentó avance significativo en las siguientes 24 hs, por lo que decidimos extraer la reacción. El espectro obtenido muestra aún señales perteneciente al éster etílico, por lo que pensamos que las condiciones ensayadas no fueron suficientes para hidrolizar dicha función.

Decidimos probar y optimizar diferentes condiciones de desprotección del ácido carboxílico sobre un intermediario menos avanzado, para ello elegimos el producto **2**.

Los primeros resultados nos indicaron que el éster etílico se presentaba bastante estable frente a condiciones comunes de hidrólisis; por ejemplo utilizando diferentes soluciones básicas acuosas ( $K_2CO_3$ , LiOH, NaOH) a temperatura ambiente.

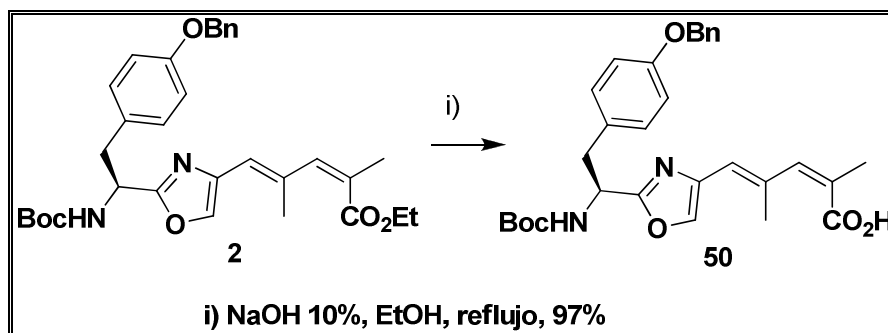
Dicha estabilidad puede ser atribuida al sistema conjugado con los dobles enlaces y el anillo heterocíclico en el que el éster se encuentra.

Basándonos en datos extraídos de la bibliografía<sup>95</sup> para ésteres  $\alpha,\beta$ -insaturados, decidimos ensayar condiciones más drásticas que las habituales, con lo cual pudimos obtener el ácido **50** (Esquema 48). La reacción fue llevada a reflujo por 3 horas hasta consumo total del reactivo, obteniéndose el producto con un excelente rendimiento. La estructura del mismo fue confirmada por RMN.

---

<sup>95</sup> Ohata, K.; Terashima, S. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 2787.

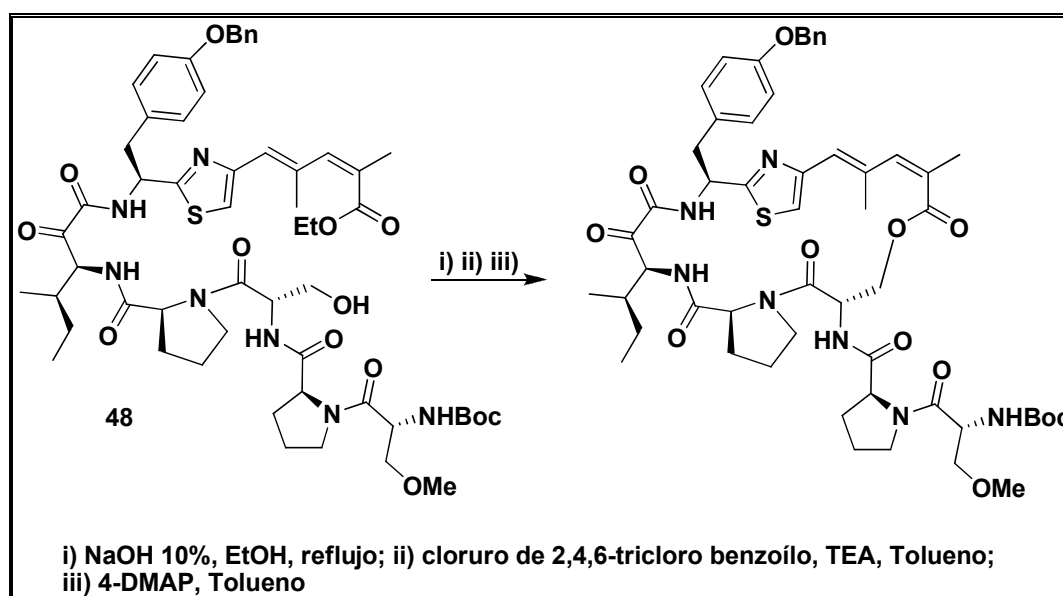




Esquema 48: Hidrólisis del compuesto 2

Como la totalidad de la muestra del producto **49** fue sometida mucho tiempo a hidrólisis básica, y el espectro de RMN del crudo final podría indicar una pérdida del fragmento peptídico Ser-Pro decidimos utilizar las nuevas condiciones optimizadas sobre el compuesto **48**.

La hidrólisis del precursor lineal **48** (Esquema 49) fue controlada por TLC hasta desaparición total del reactivo, de la cual obtuvimos un crudo de reacción. Dicha mezcla fue sometida a estudios espectroscópicos de RMN y masa, para poder verificar la estructura del ácido esperado.



Esquema 49: Intento de macrociclación

Cabe destacar acá, que nos hemos encontrado con serios inconvenientes a la hora de la elucidación estructural de estas moléculas

complejas, cuyo alto peso molecular, elevada polaridad y formación de confómeros hace muy dificultosa dicha determinación a través de espectroscopía de RMN. La cantidad de señales, a menudo anchas y poco definidas, las cuales se mezclan entre sí, no permiten distinguir con nitidez ni aseverar inequívocamente que se trata de la estructura esperada.

En estos casos, el método que quizás mejor se adapte a este tipo de productos sea la espectroscopía de masa. Por lo tanto, hemos intentado identificar ésta molécula a través de la realización de esta clase de experimentos por el método de ionización por electrospray. En los primeros análisis realizados el ión molecular no fue observado, sin embargo fueron encontrados tres iones atribuibles a fragmentaciones esperadas como son la ruptura entre ambos carbonilos de la función  $\alpha$ -cetoamida, descarboxilación del ácido, y la ruptura a nivel del grupo amino del resto de L-Tirosina (Figura 31):

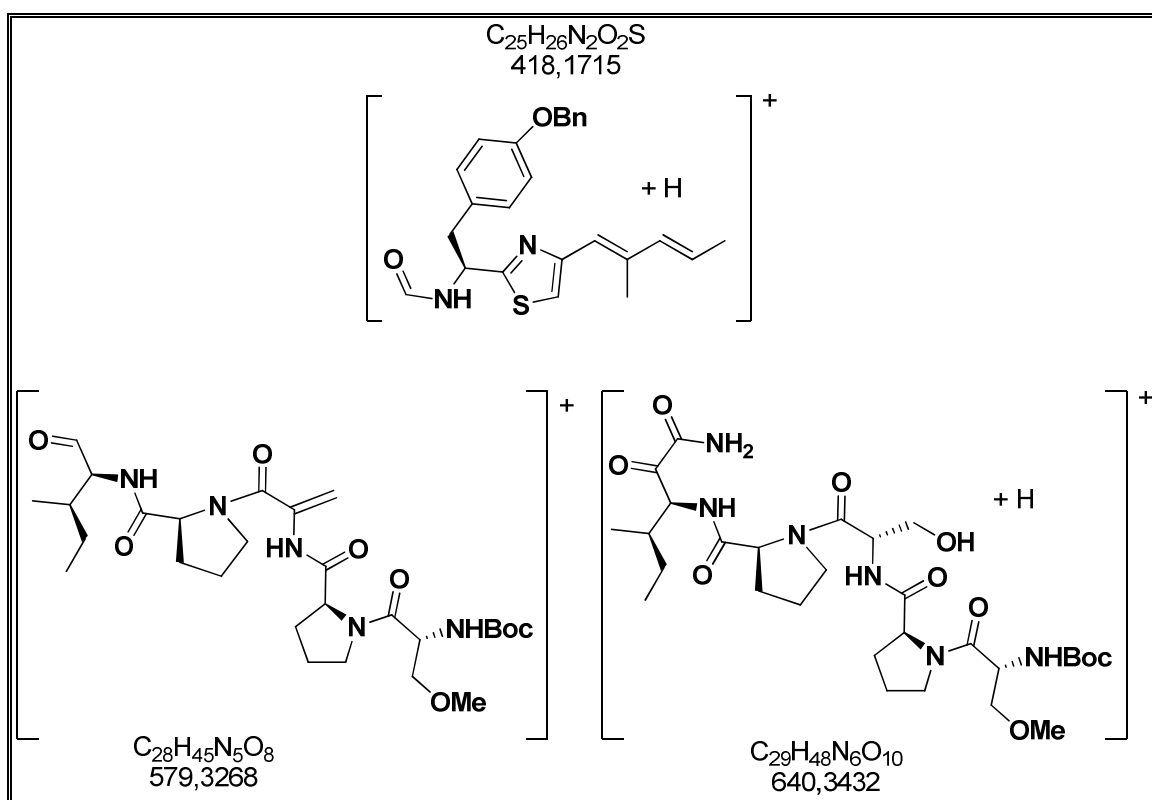


Figura 31: Fragmentaciones esperadas

Un análisis posterior de este mismo producto, mostró el ión  $(M+Na)^+$  con una muy baja intensidad y un error de 4.9 ppm (ver parte experimental).

Analizando el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de este crudo, vemos la presencia de las señales características del producto esperado.

Como los análisis fueron realizados sobre el crudo de la reacción, deseamos destacar que también podríamos estar en presencia de una mezcla de productos de hidrólisis parciales dadas las condiciones drásticas utilizadas. De todas formas y dado el consumo de **48**, decidimos continuar hacia el próximo paso.

La macrolactonización de Yamaguchi, fue realizada según Panek *et al.*<sup>96</sup> El crudo proveniente de la reacción, fue separado en diferentes fracciones por sucesivas columnas cromatográficas. Es de destacar, que nuestra posible macrolactona por las condiciones de reacción de Yamaguchi, se encontraría en una muy baja proporción frente a los otros reactivos utilizados.

Las fracciones conteniendo los productos de menor polaridad, fueron analizadas por espectroscopía de RMN, presentando señales de protones aromáticos derivados del reactivo de Yamaguchi. Las fracciones siguientes de mayor polaridad que las anteriores, presentaron restos aminoacídicos (por ejemplo, serina y prolina) y señales de fragmentos aromáticos, no visualizándose restos de la porción ACT. Esto podría sugerir una hidrólisis parcial de nuestros precursores durante el proceso de hidrólisis previo.

En aumento de polaridad, el producto siguiente aislado mostraba señales en sus espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  RMN asignables al ácido de Yamaguchi; es de destacar que dicho producto fue detectado por TLC durante el avance de dicha reacción lo que podría indicar que la reacción de activación podía haber tenido lugar.

De las fracciones más polares, se separó un producto que al analizar su espectro de  $^1\text{H}$ -RMN mostró todas las señales que deberían estar presentes para que su estructura correspondiera a la macrolactona deseada. Este producto por TLC era de polaridad menor al ester **48**. Con el fin de elucidar dicha estructura realizamos espectroscopía de RMN tanto mono como bidimensional. De dichos estudios pudimos concluir la existencia de restos aminoacídicos de Serina, Prolina, O-metil-D-Serina, *allo*-Isoleucina y la presencia del fragmento ACT que podrían indicar la presencia del producto

---

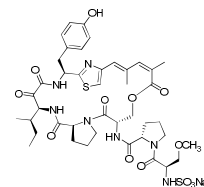
<sup>96</sup> Hu, T.; Takenaka, N.; Panek, J. S. *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, 12807.

deseado. Dada la previsible complejidad de los espectros debido a la presencia de confórmeros y la baja cantidad de muestra, se decidió realizar espectroscopia de masa ya sea utilizando ionización por electrospray o mediante Maldi-Tof. Lamentablemente, el ion molecular ( $m/z$  1039) no fue observado en los experimentos, observándose un ion importante de  $m/z=$  1074. En la fragmentación de éste en Maldi-Tof se obtiene como ion principal uno de  $m/z$  446 que podría ser atribuido a la fragmentación de la macrolactona deseada a nivel del enlace entre los carbonilos de la  $\alpha$ -cetoamida y a nivel del enlace C-O de la función lactona.

En este punto, debemos mencionar que la baja cantidad de muestra obtenida no nos permitió realizar nuevas purificaciones y nuevos análisis espectroscópicos. Tal vez el análisis de espectroscopia IR podría haber aportado datos que ayudaran a dilucidar la presencia o no de la función lactona.

Por lo anterior, debemos concluir que con los datos de los análisis obtenidos, no es posible confirmar inequívocamente la obtención de la macrolactona. De todas formas en caso de haberla obtenido, el rendimiento luego de las sucesivas purificaciones fue muy bajo (menor al 10%).

Concluimos por lo tanto, que los últimos dos pasos en nuestra ruta (hidrólisis y macrolactonización) deberían ser optimizados utilizando una mayor cantidad de sus precursores y ajustando las condiciones de reacción para la obtención de este macrociclo con buenos rendimientos.



## Capítulo 4: Actividad biológica

### 4.1- Introducción

Los microtúbulos son el componente clave del citoesqueleto y juegan un rol crucial en el desarrollo y mantenimiento de la forma celular, en el transporte de vesículas, en señales celulares, y en la división celular.

Están compuestos por heterodímeros de  $\alpha$ -tubulina y  $\beta$ -tubulina. Son polímeros muy dinámicos, y tanto su polimerización como despolimerización está altamente regulada. Los mismos son extremadamente importantes en el proceso de mitosis, durante la cual los cromosomas duplicados dan lugar a dos células hijas idénticas.

Si la dinámica microtubular es alterada, la división celular se interrumpe y eventualmente la célula sufre apoptosis. Ya que las células cancerígenas se dividen mucho más rápido que las normales, varios agentes antimitóticos que tienen como objetivo la tubulina son utilizados como potenciales drogas anticancerígenas.

Este tipo de drogas, pueden ser divididas en aquellas que promueven la polimerización de la tubulina y aquellas que la inhiben. Algunos ejemplos del primer grupo son: epotilona, taxanos, discodermolide, etc; y productos como alcaloides de la vinca, colchicina e indanocina pertenecen al segundo grupo. Un tercer grupo, puede agrupar a aquellas drogas como la Estramustina que promueve la despolimerización.

Debido al gran éxito de estas clases de drogas, se puede asegurar que los microtúbulos son el mejor objetivo en la quimioterapia del cáncer.<sup>97</sup>

En el caso de Scleritodermina A, la actividad citotóxica es atribuida a la capacidad de este producto para inhibir la polimerización, según ha sido reportado en la publicación original.<sup>98</sup> Esta molécula fue sometida a ensayos de

<sup>97</sup> Jordan, M. A.; Wilson, L. *Nature Reviews*, **2004**, 4, 253.

<sup>98</sup> Schmidt, E. W.; Ravento-Suarez, C.; Bifano, M.; Menendez, A. T.; Fairchild, C. R.; Faulkner, D. J. *J. Nat. Prod.* **2004**, 67, 475.

actividad citotóxica en un panel de células tumorales humanas, y se obtuvieron resultados significativos en algunas líneas celulares como son HCT-116 (carcinoma de colon), A2780 (carcinoma de ovario), y SKBR3 (carcinoma de mama). Otras drogas que también actúan como Scleritodermina A y son de origen marino son halicondrinas, dolastatinas y criptoficinas.<sup>99</sup>

Nuestro grupo, como parte de un programa de búsqueda y desarrollo de nuevas drogas biológicamente activas, ha decidido realizar ensayos de actividad cancerígena y de actividad antihelmíntica en colaboración con los grupos de investigación de las Cátedras de Inmunología y Farmacología respectivamente.

Es así, que los productos intermediarios obtenidos durante nuestra síntesis hacia análogos de este producto natural fueron sometidos a estos ensayos. Además, los resultados obtenidos en los mismos, constituyen una retroalimentación (“feed-back”) muy importante a la hora de la elección y planificación de la síntesis de nuevos productos.

---

<sup>99</sup> Eibler, S.; Stoncius, A.; Nahrwold, M.; Sewald, N. *Synthesis*, **2006**, 22, 3747.

## 4.2- Actividad citotóxica

A continuación (Tabla 2) presentamos los resultados obtenidos de actividad citotóxica realizados en colaboración con la Cátedra de Inmunología, utilizando el protocolo descrito por Skehan.<sup>100</sup> En estos ensayos se utilizó una línea celular HCT-15 (carcinoma de colon), utilizando mitomicina como sustancia de referencia.

En la siguiente tabla hemos incorporado las diferentes estructuras testeadas, junto con su actividad expresada en GI<sub>50</sub><sup>101</sup>. Como se puede apreciar, hemos colocado las estructuras análogas más similares en la misma fila de forma de facilitar la comparación.

Algunos datos importantes que podemos extraer de estos resultados son los siguientes:

-el anillo de tiazol u oxazol, están muy influidos por los grupos sustituyentes que poseen para ser más o menos activos. Es así como por ejemplo, el tiazol **9** y el oxazol **7** se muestran inactivos, y sin embargo el anillo **3** es inactivo y el oxazol **14** presenta una actividad interesante del orden de  $\mu\text{M}$ .

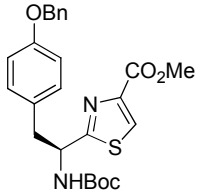
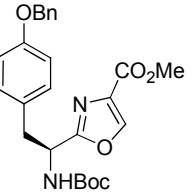
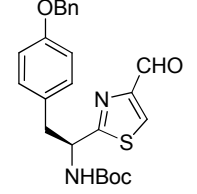
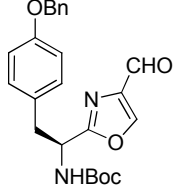
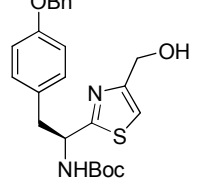
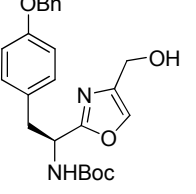
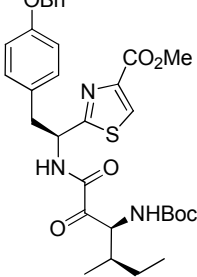
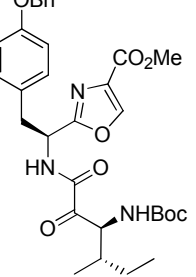
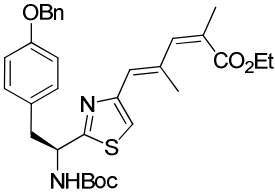
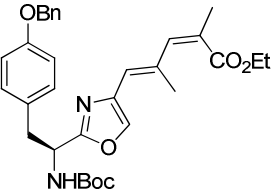
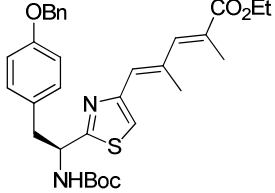
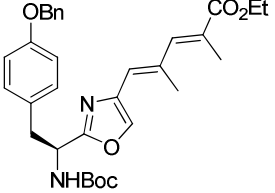
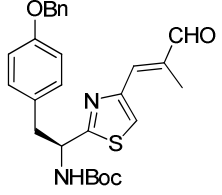
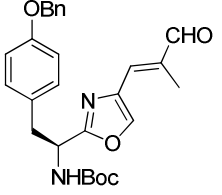
-en el caso de los compuestos **11** y **13**, no hay influencia de la sustitución del tiazol por oxazol en las actividades de estos compuestos, ya que las mismas se encuentran dentro del mismo orden. Lo mismo ocurre si comparamos las actividades de los compuestos **15** y **16**.

-en estructuras mayores, como el **Fragmento A**, los compuestos **1** y **3** se presentan inactivos frente a sus análogos oxigenados **2** y **4**.

-comparando las estructuras más avanzadas como son los precursores macrocíclicos **48** y **49**, observamos que el primero de los compuestos tiene una actividad de  $40 \mu\text{M}$  mientras que el segundo se presenta inactivo frente a esta línea celular. Cabe destacar, que el compuesto **49** presenta un anillo de oxazol y además no contiene el resto dipeptídico Boc-D-Ser(Me)-Pro-OH.

<sup>100</sup> Skehan, P. *Cytotoxicity and cell growth assays*; 2da ed.; Academic Press; USA **1998**; vol. 1.

<sup>101</sup> GI<sub>50</sub>: Concentración inhibitoria del 50% del crecimiento celular (Grown Inhibition).

Estructura	Nro	GI <sub>50</sub> (μM) <sup>102</sup>	Estructura	Nr o	GI <sub>50</sub> (μM) <sup>102</sup>
	9	630		7	>200 0
	12	>513		14	8
	11	10		13	63
	44	63		45	25
	1	2000		2	130
	3	>300 0		4	119
	15	20		16	25

<sup>102</sup> Control: Mitomicina (Mit); GI<sub>50</sub> = 1,6 μM +/- 0,4.



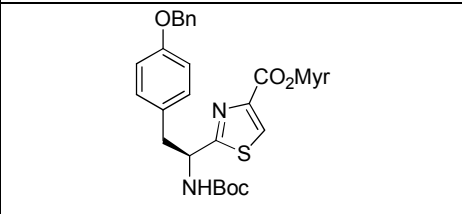
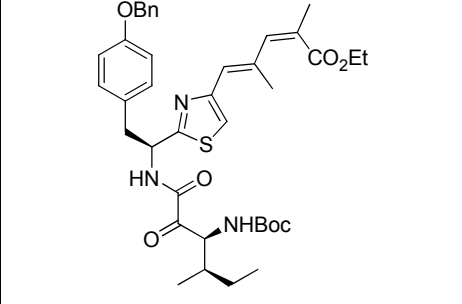
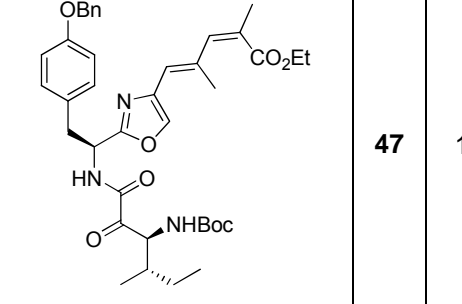
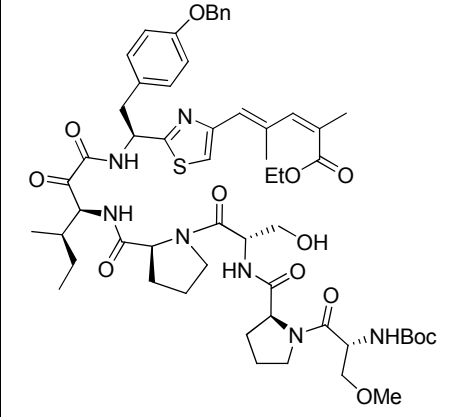
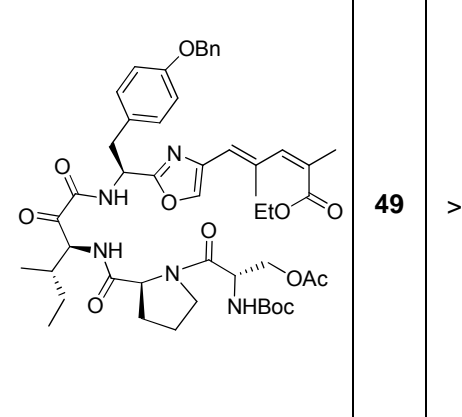
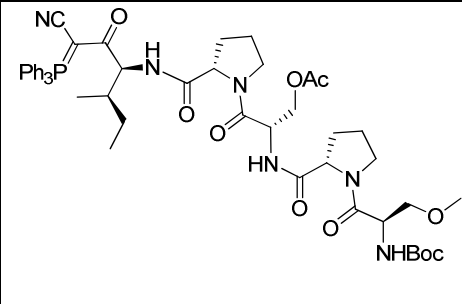
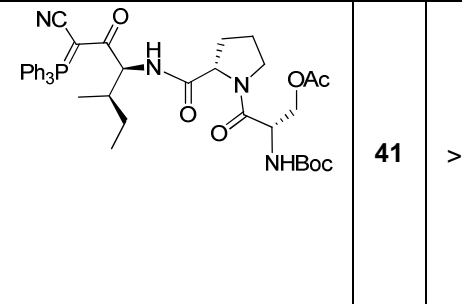
Estructura	Nro	GI <sub>50</sub> (μM) <sup>102</sup>	Estructura	Nr o	GI <sub>50</sub> (μM) <sup>102</sup>
	11	>422			
	46	>500		47	188
	48	40		49	>246
	40	50		41	>391

Tabla 2: Datos de Actividad Citotóxica

Para una mejor visualización de los resultados obtenidos en estos ensayos hemos graficado los valores para cada compuesto en la siguiente Figura 30 (la barra en color rojo pertenece a la Mitomicina (M)):

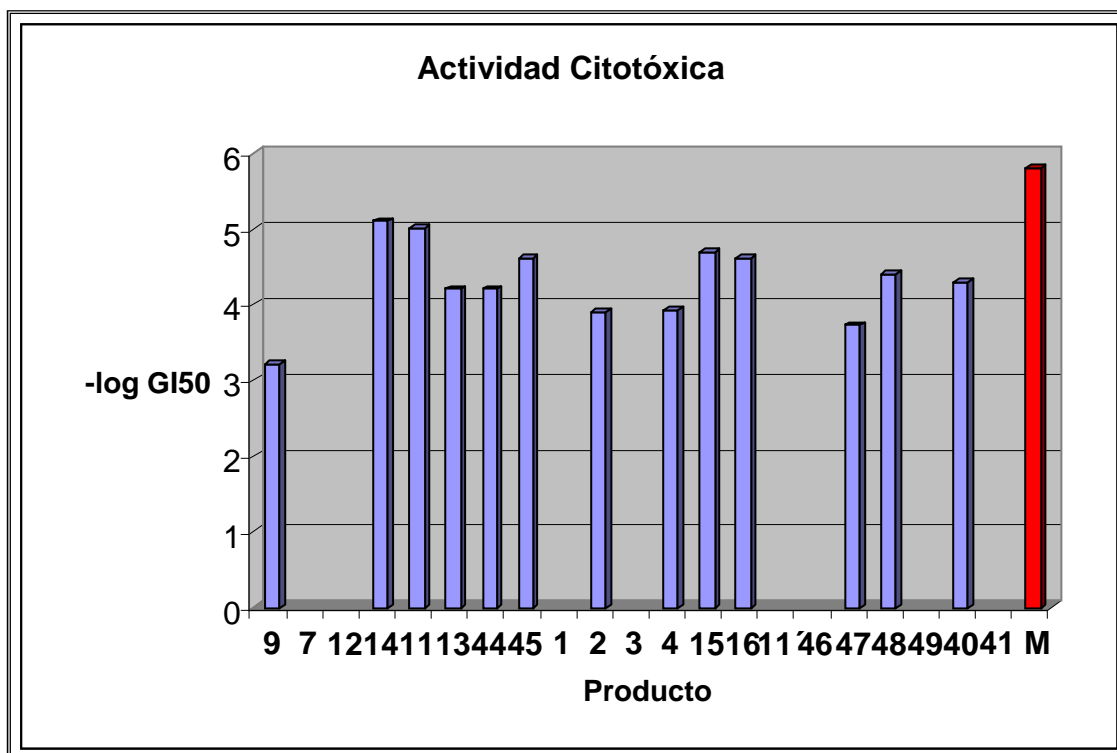


Figura 32: Actividad Citotóxica

#### 4.3- Actividad antihelmíntica

El ensayo “*in vitro*” contra *Nippostrongylus brasiliensis* es uno de los test biológicos aceptados universalmente como screening primario para determinar actividad antihelmíntica.

Los ensayos se realizaron por parte del grupo de la Cátedra de Farmacología dirigido por la Dra. Laura Domínguez, según protocolo descrito por Gordon *et al.*<sup>103</sup> usando como patrón de actividad Albendazol y determinando la concentración efectiva necesaria para producir el 50% de muerte larval (LC<sub>50</sub>).

Algunas consideraciones que podemos extraer de las actividades reportadas en la siguiente Tabla 3 son las siguientes:

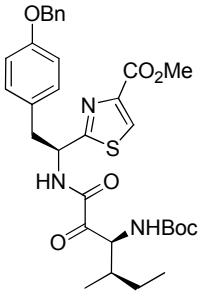
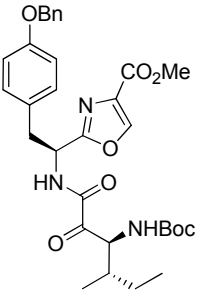
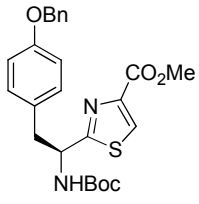
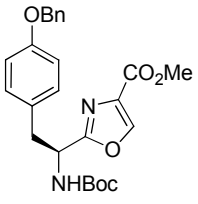
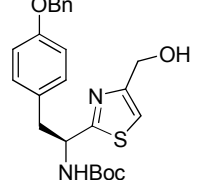
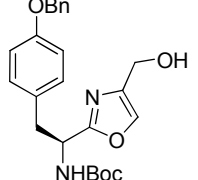
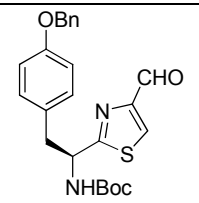
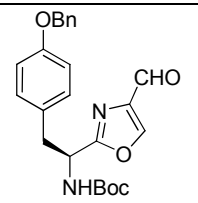
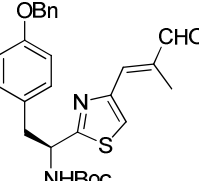
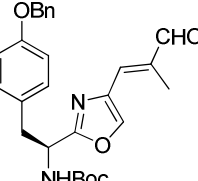
-Nuevamente acá, dependiendo de los diferentes sustituyentes sobre el anillo aromático (tiazol u oxazol), la actividad puede aumentar o disminuir a favor de uno u otro. Por ejemplo, el producto **9** presenta una LC<sub>50</sub> = 500 µM y

<sup>103</sup> Gordon, S.; Costa, L.; Incerti, M.; Manta, E.; Saldaña, J.; Domínguez, L.; Marizcurrena, R.; Suescun, L. *II Farmaco* **1997**, 52, 603.

su análogo oxazólico (**7**) una  $LC_{50} = 15 \mu\text{M}$ . Sin embargo, el tiazol **11** presenta una  $LC_{50}$  cincuenta veces menor comparada con la su análogo oxigenado **13**.

-En forma general, los oxazoles muestran una mejor actividad frente a los anillos azufrados, como surge de la comparación entre los compuestos **44-45** y **9-7**.

-En otros casos, los compuestos oxazólicos y tiazólicos están en el mismo orden de actividad, como lo demuestra la comparación de los productos **15, 16, 3, 4, 46** y **47**.

Estructura	Nro	$LC_{50}$ ( $\mu\text{M}$ ) <sup>104</sup>	Estructura	Nro	$LC_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )
	<b>44</b>	300		<b>45</b>	13
	<b>9</b>	500		<b>7</b>	15
	<b>11</b>	10		<b>13</b>	500
	<b>12</b>	340		<b>14</b>	170
	<b>15</b>	40		<b>16</b>	15

<sup>104</sup> Control: Albendazol (ABZ),  $LC_{50} = 0,34 \mu\text{M} \pm 0,02$

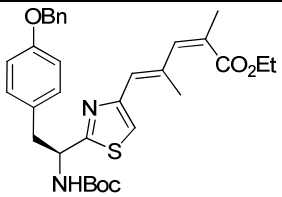
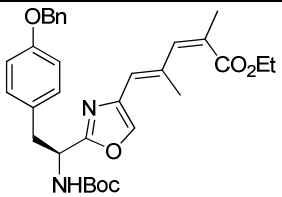
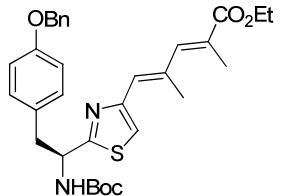
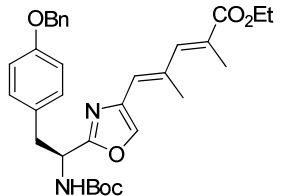
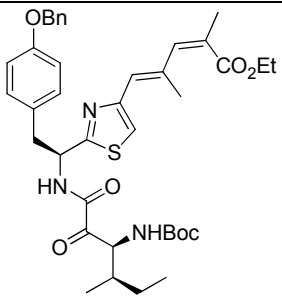
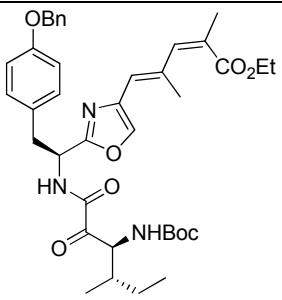
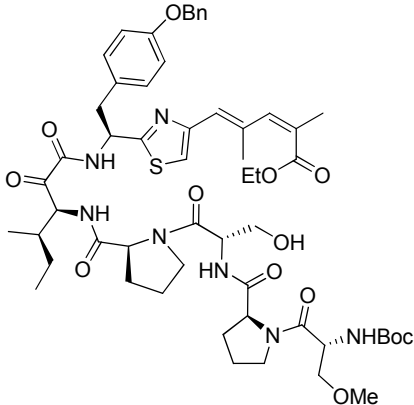
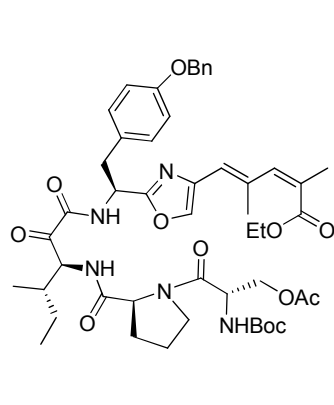
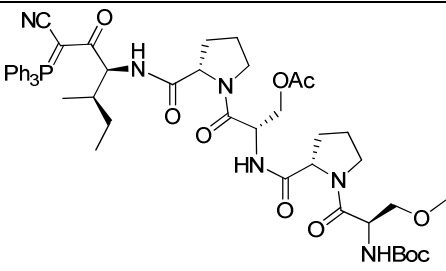
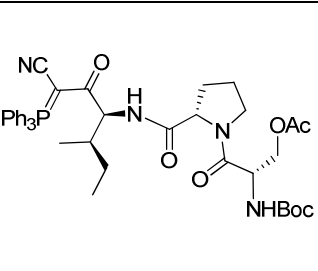
Estructura	Nro	LC <sub>50</sub> (μM) <sup>104</sup>	Estructura	Nro	LC <sub>50</sub> (μM)
	1	100		2	300
	3	30		4	70
	46	20		47	30
	48	9,6		49	16
	40	30		41	170

Tabla 3: Datos de Actividad Antihelmíntica

El gráfico de estos últimos resultados es presentado en la siguiente Figura 31, donde la barra en color rojo pertenece al Albendazol (A).

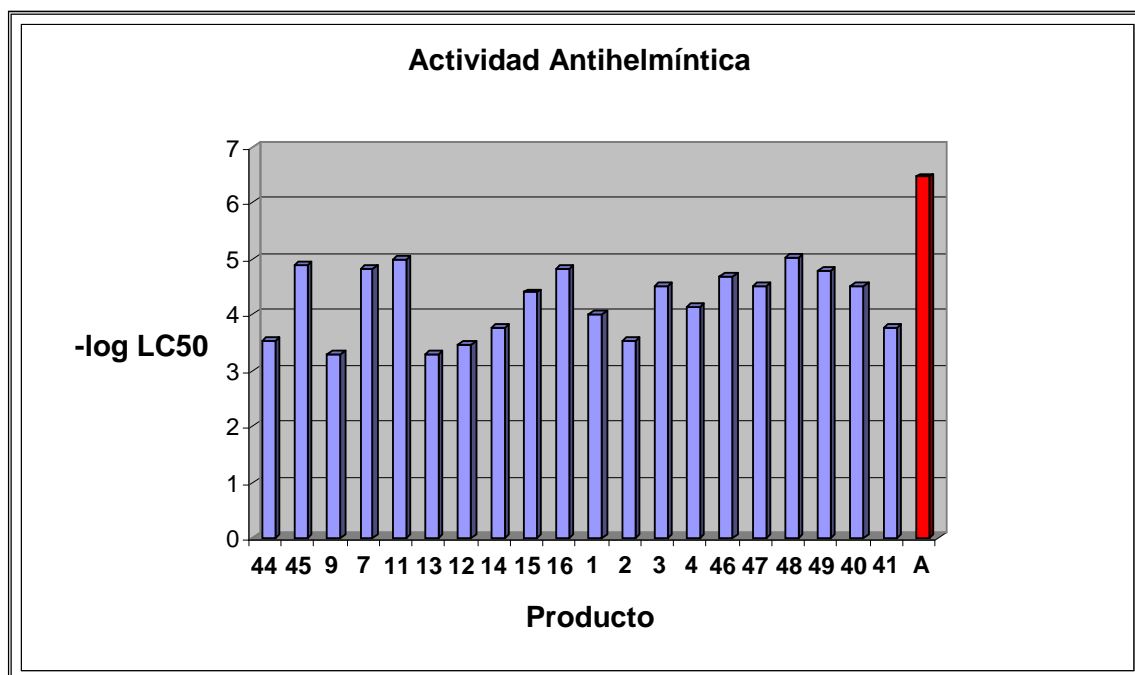
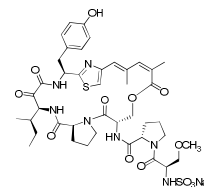
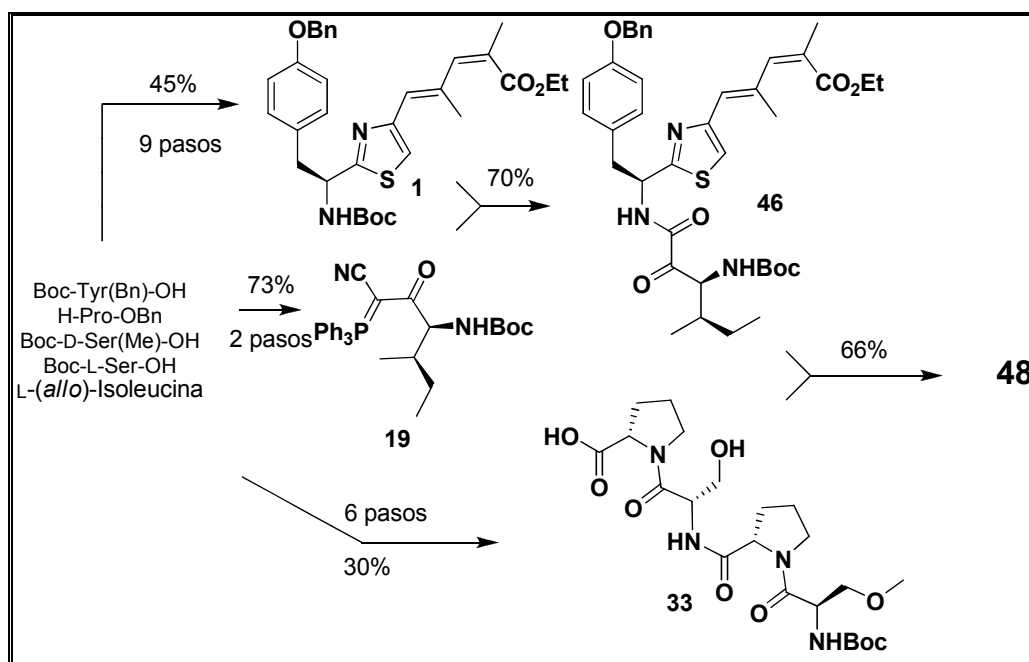


Figura 33: Actividad Antihelmíntica



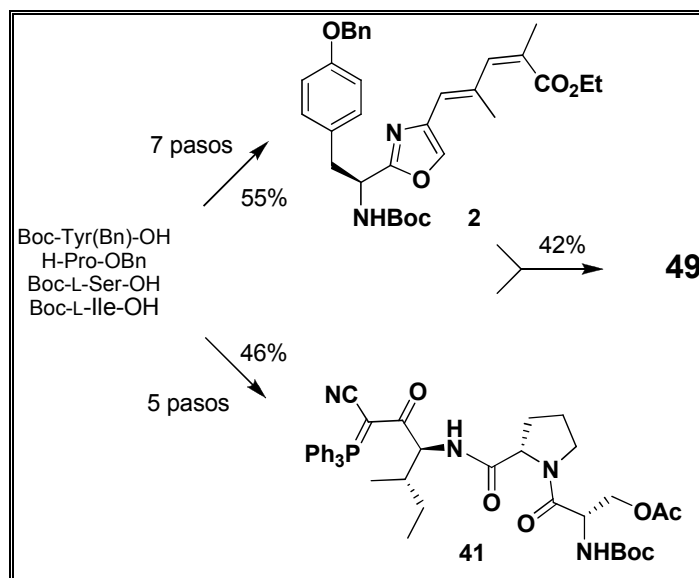
## Capítulo 5: Conclusiones finales y perspectivas futuras

- Hemos desarrollado una metodología sintética para la obtención de análogos de Scleritodermina A, partiendo de reactivos comerciales.
- Hemos alcanzado con éxito la síntesis de análogos estructurales cumpliendo con una estrategia de “síntesis total diversificada”.
- El producto **48** fue obtenido mediante una estrategia convergente (Esquema 50), con un rendimiento aproximado del 20% ya sea partiendo del éster bencílico de L-Prolina C-terminal ó de Boc-Tyr(Bn)-OH.



Esquema 50: Ruta sintética del compuesto **48**

- Para el caso del análogo **49** (Esquema 51), éste fue obtenido con un rendimiento global similar, aunque el número de pasos es menor y la estrategia es más convergente.

Esquema 51: Ruta sintética del compuesto **49**

- Se han sintetizado 21 nuevos compuestos, no reportados anteriormente en literatura los cuales han sido caracterizados y testeados para conocer sus actividades citotóxicas y antihelmínticas.
- Hasta los ésteres **48** y **49**, nuestra estrategia sintética parecería ser más eficaz en comparación a la síntesis reportada por **Fa-Jun Nan et al.**<sup>18</sup> Si comparamos ambas estrategias para la obtención de la función  $\alpha$ -cetoamida a partir del derivado de L-*allo*-Isoleucina (**19**), la desarrollada por nosotros hasta presenta un rendimiento del 49% y la presentada por Fa-Jun Nan presenta un rendimiento del 27%. Más eficaz aún es la obtención de nuestro compuesto **49**, cuya estrategia es más convergente ya que al formar la función cetoamida se incorpora a la vez la fracción tripeptídica. Claramente, son demasiados y en su mayoría de bajo rendimiento, los pasos sintéticos utilizados para la obtención de la cetoamida por parte de Fa-Jun Nan. Por otra parte, hay varios pasos realizados en forma lineal sobre el compuesto macrocíclico ya conteniendo todos los fragmentos constituyentes, lo cual disminuye el rendimiento global excesivamente. Sin lugar a dudas, nuestra idea de sintetizar la función cetoamida a medida que también se acopla la fracción peptídica es la ruta con mayor convergencia y eficacia que

podemos llevar a cabo, con las ventajas que esto representa a la hora de hablar de rendimiento y número de pasos.

- Hemos sintetizado los fragmentos claves para la síntesis de la estructura revisada del producto natural.
- Algunos de los productos sintetizados presentan actividades citotóxicas prometedoras, como por ejemplo los productos **11**, **14**, **15**, **16** y **45**.
- Los productos **7**, **11**, **16**, **45**, **48** y **49** son los que presentan las más altas actividades antihelmínticas.
- Tanto los resultados de síntesis como los obtenidos de los ensayos biológicos nos orientan y nos motivan en el planteamiento de nuevos objetivos sintéticos a desarrollar en un futuro.
- Se han obtenido fragmentos claves que presentan actividades citotóxicas del orden micromolar, las cuales resultan interesantes para continuar con estudios posteriores. Dado que no contamos con datos de actividad citotóxica de la Scleritodermina A sobre la línea HCT-15 y que el análogo abierto **48** muestra una  $GI_{50}$  de 40  $\mu$ M, sería recomendable realizar nuevos estudios de actividad sobre otras líneas celulares y de inhibición de la polimerización de la tubulina.
- Se han obtenido promisorios resultados en los ensayos antihelmínticos, donde el análogo abierto a Scleritodermina A (**48**) es el compuesto que exhibe mayor actividad con una  $LC_{50}$  del orden micromolar, si bien la misma es 28 veces menor a la del fármaco de referencia.
- Luego de analizar los resultados obtenidos en los últimos dos pasos de hidrólisis y macrolactonización, podríamos concluir que probablemente haya un problema de estabilidad de nuestra molécula frente a las condiciones de hidrólisis básica drásticas que debimos utilizar para la desprotección del ácido carboxílico. Es así que vemos la necesidad de realizar nuevos planteos para estos últimos pasos de nuestra ruta sintética, con el objetivo de completar la síntesis de este producto.

Veamos tres nuevas posibles estrategias a seguir:



- 1) Utilizar otro grupo protector para el ácido carboxílico del **Fragmento A** (Figura 31), de forma de realizar su remoción en condiciones diferentes al medio básico acuoso utilizado en su momento. Podemos plantear el uso del grupo *t*-butilo (*t*-Bu), el cuál se remueve por tratamiento ácido, por ejemplo en presencia de ácido trifluoroacético (TFA). En este caso, el grupo amino del fragmento de L-Tirosina debe ser protegido con otro tipo de grupo diferente al Boc (por ejemplo se puede utilizar Fmoc, el cual se remueve con una amina secundaria como piperidina), lo cual nos permite diferenciar las condiciones de remoción de uno y otro grupo funcional.

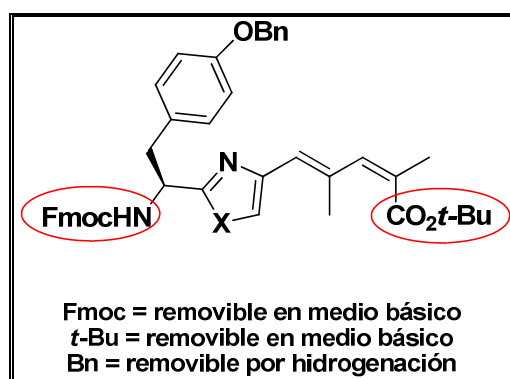
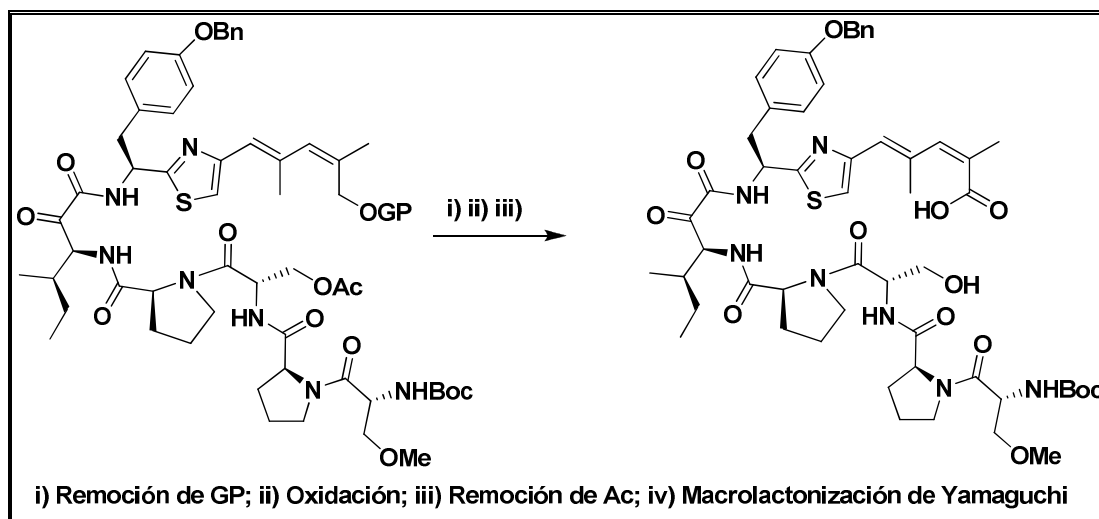


Figura 34: Uso de otros grupos protectores

En esta primer estrategia planteada, hemos respetado nuestro análisis retrosintético original, y solamente cambiaríamos esos dos grupos protectores.

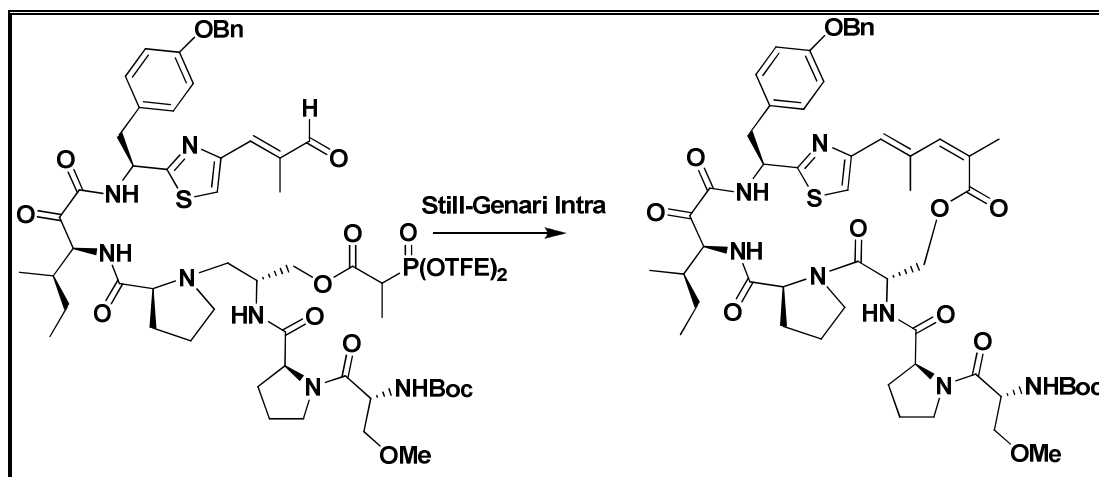
- 2) Reducción del grupo éster del **Fragmento A** y posterior protección del hidroxilo alílico formado; luego del acoplamiento con el pentapéptido **40**, se desprotege este alcohol y se oxida a ácido. Se realiza la remoción del grupo acetato y se forma la macrolactona por Yamaguchi (Esquema 52).



Esquema 52: Estrategia de reducción-oxidación

Nuevamente en esta segunda estrategia, estamos comenzando nuestro análisis retrosintético realizando la desconexión de la macrolactona en primer lugar.

3) Utilizar la presencia del doble enlace para realizar la ciclación a través de su formación (Esquema 53). O sea, realizar un acoplamiento del aldehído **15** al pentapéptido **40**, remover el grupo acetato y esterificar el hidroxilo primario con el ácido  $(\text{CF}_3\text{CH}_2\text{O})_2\text{P}(\text{O})\text{CH}(\text{CH}_3)\text{COOH}$ . Formando de esta forma un cetofosfonato interno el cual mediante una reacción intramolecular de Still-Genari nos proporcionaría el macrociclo cuyo doble enlace tendría configuración Z.



Esquema 53: Estrategia de formación del doble enlace

En esta estrategia hemos modificado el análisis retrosintético, realizando la primer desconexión del macrociclo a la altura de uno de los dobles enlaces. De todas formas, eligiendo el cetofosfonato adecuado podemos obtener un doble enlace *trans* o *cis*.

Obviamente, también pueden ser propuestas otras formas de cerrar el ciclo, como son por ejemplo reacciones de RCM o Cross-Coupling aprovechando la presencia de cualquiera de los dobles enlaces que la molécula posee. Las estrategias de ciclación anteriormente planteadas, son quizás las más directas observando los intermediarios ya sintetizados.

## Parte Experimental

Los espectros de RMN se realizaron en un equipo Bruker Avance DPX-400. Los desplazamientos químicos se relacionan a TMS como standard interno.

Los espectros de masa se realizaron en: un espectrómetro de masa MALDI TOF/TOF (Applied Biosystems 4800 Analyzer), un espectrómetro de masa Q-TOF (Bruker Daltoniks) con ionización por electrospray (ESI) y un equipo VG modelo AutoSpecQ.

Los espectros de Infrarrojo se realizaron en un espectrofotómetro FT-IR Shimadzu 8101 en film sobre pastillas de bromuro de potasio. Las frecuencias de absorción se expresan en  $\text{cm}^{-1}$ .

Las columnas cromatográficas flash se realizaron con sílica gel 60 (J. T. Baker, 40 mm de diámetro de partícula).

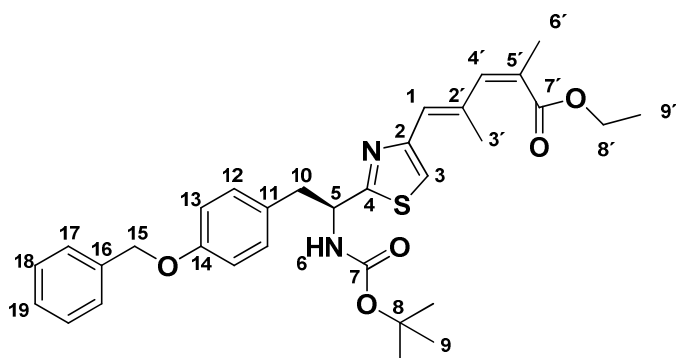
Las reacciones y separaciones cromatográficas se siguieron por TLC en placas de sílica gel sobre plástico de 0.20 mm de espesor (Macherey-Nagel, Polygram<sup>®</sup> SIL G/UV 254).

Todas las reacciones se llevaron a cabo en solventes secos bajo condiciones anhidras a menos que otra cosa se indique. Los rendimientos se determinaron partir de los productos cromatográfica y espectroscópicamente ( $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -RMN) puros.

**(2Z,4E)-5-(2-((S)-2-(4-(benciloxi)fenil)-1-(tert-butoxicarbonilamino)**

**etil)tiazol-4-il)-2,4-dimetilpenta-2,4-dienoato de etilo (1):** A una solución de (TFEO)<sub>2</sub>POCHMeCO<sub>2</sub>Et (505 mg, 1,46 mmol) y 18-c-6 (1,9 g, 7,3 mmol) en DCM (50 mL) a -78°C se añadió KHMDS (2,92 mL, 1,46 mmol). Luego, se agregó el aldehído **15** (700 mg, 1,46 mmol) y la mezcla resultante fue añadida a -78°C por media hora hasta desaparición del reactivo.

Se agregó solución saturada de NH<sub>4</sub>Cl y se extrajo con DCM. Se juntó las capas orgánicas y se secó con MgSO<sub>4</sub>. Se destiló el solvente a presión reducida y el producto se purificó por cromatografía en columna (AcOEt/ *n*-hexano, 1: 2), obteniéndose el producto **1** como un aceite incoloro (823 mg, 100 %) (Z: E, 97: 3).



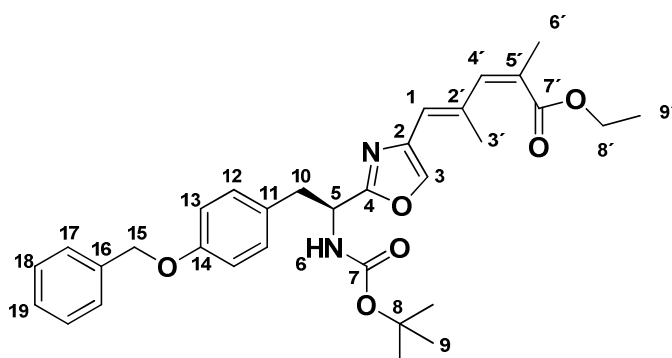
**1:** R<sub>f</sub> = 0.56 (AcOEt/ *n*-hexano, 1: 2); IR (film) 2924, 1749, 1716, 1508, 1265, 1014, 740; <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.29 (t, 3 H<sub>9'</sub>, J = 7.2 Hz), 1.44 (s, 9 H<sub>9</sub>), 2.05 (d, 3 H<sub>6'</sub>, J = 1.4 Hz), 2.19 (s, 3 H<sub>3'</sub>), 3.26 (m, 2 H<sub>10</sub>), 4.23 (q, 2 H<sub>8'</sub>, J = 7.2 Hz), 5.04 (s, 2 H<sub>15</sub>), 5.25 (m, 2 H<sub>5,6</sub>), 6.30 (s, 1 H<sub>4'</sub>), 6.50 (s, 1H<sub>1</sub>), 6.88 (d, 2 H<sub>13</sub>, J = 8.7 Hz), 7.03 (d, 2 H<sub>12</sub>, J = 8.7 Hz), 7.4 (s, 1 H<sub>3</sub>), 7.30 (s, 1 H<sub>4</sub>), 7.41 (m, 5 H<sub>17, 18, 19</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ 14.5 (C<sub>9'</sub>), 17.8 (C<sub>3'</sub>), 22.1 (C<sub>6'</sub>), 28.7 (C<sub>9</sub>), 41.3 (C<sub>10</sub>), 54.3 (C<sub>5</sub>), 61.1 (C<sub>8'</sub>), 70.4 (C<sub>15</sub>), 80.4 (C<sub>8</sub>), 115.3 (C<sub>13</sub>), 117.3 (C<sub>3</sub>), 124.9 (C<sub>1</sub>), 127.8 (C<sub>18</sub>), 128.3 (C<sub>19</sub>), 128.9 (C<sub>17</sub>), 129.3 (C<sub>11</sub>), 130.9 (C<sub>12</sub>), 136.6 (C<sub>2'</sub>), 137,5 (C<sub>16</sub>), 137,9 (C<sub>5'</sub>), 138.0 (C<sub>4'</sub>), 153.5 (C<sub>2</sub>), 155.4 (C<sub>7</sub>), 158.2 (C<sub>14</sub>), 169.2 (C<sub>4</sub>), 170.6 (C<sub>7</sub>); EMAR m/z calculada para C<sub>32</sub>H<sub>38</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S ((M+H)<sup>+</sup>) 563.2579, observada 563.2600.

**(2Z,4E)-5-(2-((S)-2-(4-(benciloxi)fenil)-1-(tert-butoxicarbonilamino)**

**etil)oxazol-4-il)-2,4-dimetilpenta-2,4-dienoato de etilo (2):** A una solución de

(TFE0)<sub>2</sub>POCHMeCO<sub>2</sub>Et (702 mg, 2,03 mmol) y 18-c-6 (2,7 g, 10,2 mmol) en DCM (60 mL) a -78°C se añadió KHMDs 0,5M (4,06 mL, 2,03 mmol). Luego, se agregó el aldehído **16** (940 mg, 2,03 mmol) y la mezcla resultante fue agitada a -78°C por media hora hasta desaparición del reactivo.

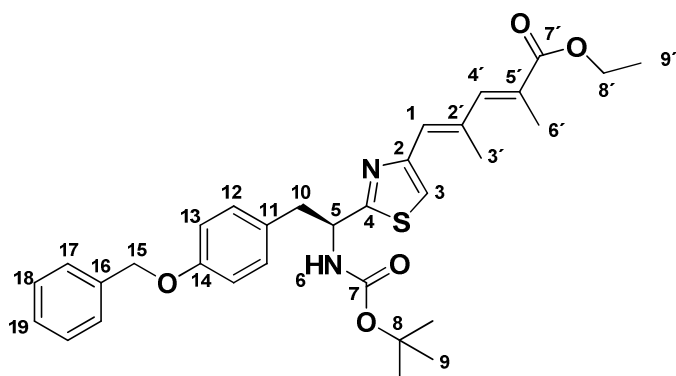
Se agregó solución saturada de NH<sub>4</sub>Cl y se extrajo con DCM. Se juntó las capas orgánicas y se secó con MgSO<sub>4</sub>. Se destiló el solvente a presión reducida y el producto se purificó por cromatografía en columna (AcOEt/ *n*-hexano, 1: 3), obteniéndose el producto **2** como un aceite incoloro (984 mg, 89%) (Z: E, 92: 8).



**2**: aceite,  $R_f = 0.4$  (AcOEt: *n*-hexano, 1: 3); IR (film) 696, 1024, 1111, 1172, 1244, 1367, 1512, 1720, 2980; <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.30 (t, 3 H<sub>9</sub>,  $J = 7.2$  Hz), 1.44 (s, 9 H<sub>9</sub>), 2.03 (m, 6 H<sub>3',6'</sub>), 3.19 (m, 2 H<sub>10</sub>), 4.22 (q, 2 H<sub>8'</sub>,  $J = 7.2$  Hz), 5.04 (s, 2 H<sub>15</sub>), 5.16 (m, 2 H<sub>5,6</sub>), 6.25 (m, 2 H<sub>4',1</sub>), 6.87 (d, 2 H<sub>13</sub>,  $J = 8.5$  Hz), 6.97 (d, 2 H<sub>12</sub>,  $J = 8.5$  Hz), 7.39 (m, 5 H<sub>ar</sub>), 7.52 (s, 1 H<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ 14.9 (C<sub>9'</sub>), 18.0 (C<sub>6'</sub>), 22.0 (C<sub>3'</sub>), 28.7 (C<sub>9</sub>), 39.8 (C<sub>10</sub>), 50.6 (C<sub>5</sub>), 61.1 (C<sub>8'</sub>), 70.4 (C<sub>15</sub>), 80.4 (C<sub>14</sub>), 115.3 (C<sub>13</sub>), 121.2 (C<sub>1</sub>), 127.8, 128.3, 128.7, 128.9, 129.4, 130.8 (C<sub>12</sub>), 136.5 (C<sub>3</sub>), 137.5 (C<sub>4'</sub>), 137.7, 139.5, 138.6, 142.5, 158.2 (C<sub>7</sub>), 163.3 (C<sub>4</sub>), 170.4 (C<sub>7'</sub>).

**(S,2E,4E)-5-(2-((S)-2-(4-(benciloxi)fenil)-1-(tert-butoxicarbonilamino)**

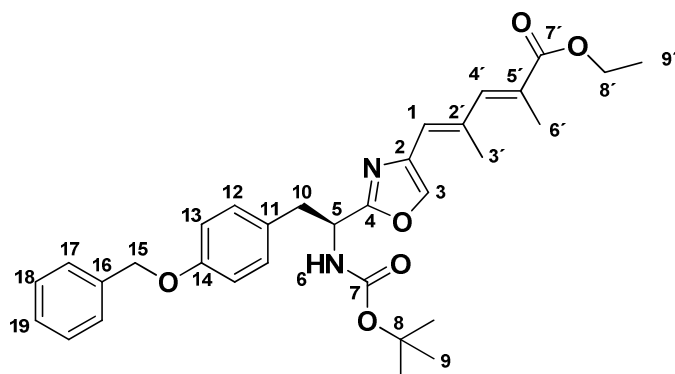
**etil)tiazol-4-il)-2,4-dimetilpenta-2,4-dienoato de etilo (3)**: En benceno (5 mL) se disolvió el iluro Ph<sub>3</sub>P=C(Me)CO<sub>2</sub>Et (45 mg, 0,13 mmol) y el aldehído **15** (50 mg, 0,1 mmol). Se llevó la mezcla a reflujo hasta consumo total del reactivo. Se purifico el producto por columna cromatográfica (AcOEt/ *n*-hexano, 1: 2), obteniéndose el producto **3** como un aceite incoloro (54 mg, 100%).



**3**:  $R_f = 0,56$  (AcOEt/ *n*-hexano, 1: 2);  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.32 (m, 3  $\text{H}_{9'}$ ), 1.44 (s, 9  $\text{H}_9$ ), 2.14 (s, 3  $\text{H}_{6'}$ ), 2.33 (s, 3  $\text{H}_{3'}$ ), 3.28 (m, 2  $\text{H}_{10}$ ), 4.24 (m, 2  $\text{H}_8$ ), 5.04 (s, 2  $\text{H}_{15}$ ), 5.26 (m, 2  $\text{H}_{5,6}$ ), 6.63 (s, 1  $\text{H}_1$ ), 6.89 (d, 2  $\text{H}_{13}$ ,  $J = 8.6$  Hz), 7.04 (d, 2  $\text{H}_{12}$ ,  $J = 8.6$  Hz), 7.1 (s, 1  $\text{H}_3$ ), 7.30 (s, 1  $\text{H}_{4'}$ ), 7.41 (m, 5  $\text{H}_{17,18,19}$ );  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  14.4 ( $\text{C}_{9'}$ ), 14.6 ( $\text{C}_{6'}$ ), 19.3 ( $\text{C}_{3'}$ ), 28.7 ( $\text{C}_9$ ), 41.3 ( $\text{C}_{10}$ ), 54.4 ( $\text{C}_5$ ), 61.3 ( $\text{C}_{8'}$ ), 70.4 ( $\text{C}_{15}$ ), 80.5 ( $\text{C}_8$ ), 115.3 ( $\text{C}_{13}$ ), 118.2 ( $\text{C}_3$ ), 127.1 ( $\text{C}_1$ ), 127.8 ( $\text{C}_{18}$ ), 128.2 ( $\text{C}_{11}$ ), 128.4 ( $\text{C}_{19}$ ), 129.0 ( $\text{C}_{17}$ ), 131.0 ( $\text{C}_{12}$ ), 133.8 ( $\text{C}_{2'}$ ), 136.0 ( $\text{C}_{5'}$ ), 137.5 ( $\text{C}_{16}$ ), 143.3 ( $\text{C}_{4'}$ ), 153.6 ( $\text{C}_2$ ), 155.4 ( $\text{C}_7$ ), 158.2 ( $\text{C}_{14}$ ), 169.7 ( $\text{C}_{7'}$ ), 171.4 ( $\text{C}_4$ ); **EMAR**  $m/z$  calculada para  $\text{C}_{32}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$  ( $(\text{M}+\text{H})^+$ ) 563.2574, observada 563.2568.

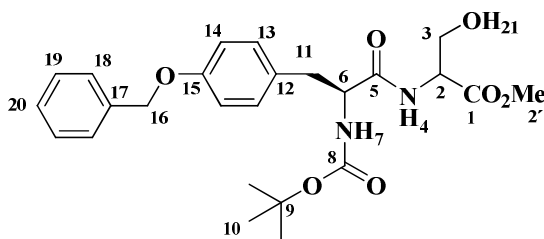
**(2E,4E)-5-(2-((S)-2-(4-(benciloxi)fenil)-1-(tert-butoxicarbonilamino)etil)oxazol-4-il)-2,4-dimetilpenta-2,4-dienoato de etilo (4)**

**etil)oxazol-4-il)-2,4-dimetilpenta-2,4-dienoato de etilo (4)**: Se suspendió en THF (10 mL)  $(\text{EtO})_2\text{P}(\text{O})\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}_2\text{Et}$  (312 mg, 1,31 mmol), y se enfrió a  $-78^\circ\text{C}$ . Se agregó gota a gota la base LHMDs (1,2 mL, 1,31 mmol). A  $-78^\circ\text{C}$  se agregó lentamente el aldehído **16** (55 mg, 1,31 mmol) y se dejó agitando por media hora hasta desaparición del reactivo. Se agregó  $\text{NH}_4\text{Cl}$  y se extrajo con AcOEt. Se secó con  $\text{MgSO}_4$  la capa orgánica y se destiló el solvente a P reducida. El producto se purificó por cromatografía en columna (AcOEt: *n*-hexano, 1:3) y se obtuvieron 55 mg del dieno **4** (85% de rendimiento).



**4:** aceite,  $R_f = 0.4$  (AcOEt: *n*-hexano, 1: 3);  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.34 (m, 3H<sub>9'</sub>), 1.44 (s, 9H<sub>9</sub>), 2.07 (s, 3H<sub>6'</sub>), 2.17 (s, 3H<sub>3'</sub>), 3,22 (m, 2H<sub>10</sub>), 4,22 (q,  $J = 7,14$  Hz, 29,4 Hz, 2H<sub>8'</sub>), 5.04 (s, 2H<sub>15</sub>), 5.13 (m, 2H<sub>5,6</sub>), 6.25 (s, 1H<sub>1</sub>), 6.90 (d, 2 H<sub>13</sub>,  $J = 8.6$  Hz), 7.04 (d, 2 H<sub>12</sub>,  $J = 8.6$  Hz), 7.25 (s, 1H<sub>4'</sub>), 7,41 (m, 5H<sub>ar</sub>), 7.59 (s, 1H<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  14.6 (C<sub>9'</sub>), 14.7 (C<sub>6'</sub>), 19.5 (C<sub>3'</sub>), 28.7 (C<sub>9</sub>), 39.8 (C<sub>10</sub>), 50.6 (C<sub>5</sub>), 61.1 (C<sub>8'</sub>), 70.4 (C<sub>15</sub>), 80.4 (C<sub>8</sub>), 115.3 (C<sub>13</sub>), 123.3 (C<sub>1</sub>), 127.8, 127.9, 128.3, 128.7, 128.9, 130.8, 136.2, 136.9, 137.5, 138.5, 142.5 (C<sub>4'</sub>), 154.0 (C<sub>8</sub>), 158.3 (C<sub>14</sub>), 163.5 (C<sub>4</sub>), 169.1 (C<sub>7</sub>).

**Boc-Tyr(Bn)-Ser-OMe (5):** Clorohidrato del éster metílico de L-Serina (1.15 g, 7.4 mmol), 1-hidroxi-benzotriazol monohidrato (1.0 g, 7.4 mmol), Boc-O-Bencil-tirosina (2.74 g, 7.4 mmol) y trietilamina (1.49 g, 14.8 mmol) fueron disueltos en DCM (30 mL). La solución fue enfriada en un baño de agua-hielo y se agitó mientras se fue añadiendo DCC (1.53 g, 7.4 mmol). Se continuó la agitación por una hora a 0°C y luego una hora más a temperatura ambiente. El precipitado formado (DCU) fue filtrado y se destiló el solvente a presión reducida. El producto fue purificado mediante cromatografía en columna (AcOEt/*n*-hexano, 2:1). Se obtuvo el producto **5** (2.95 g, 6.3 mmol) (96 %) como un aceite incoloro.

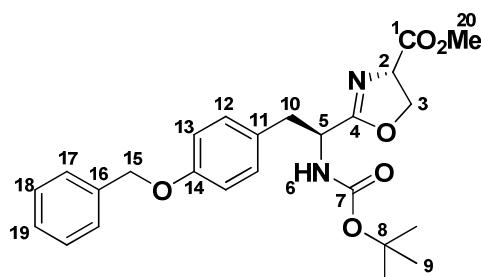




**5:**  $R_f = 0.45$  (AcOEt/ *n*-hexano, 2: 1);  $[\alpha]_D = +12.3$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>); **IR** (film) 3887, 1741, 1687, 1660, 1512, 1242, 1176, 1024 cm<sup>-1</sup>; **<sup>1</sup>H-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  1.41 (s, 9 H<sub>10</sub>), 2.97 (dd, 1 H<sub>11</sub>,  $J = 7.6$  Hz,  $J = 14.0$  Hz), 3.08 (dd, 1 H<sub>11</sub>,  $J = 6.0$  Hz,  $J = 14.0$  Hz), 3.44 (sa, 1 H<sub>21</sub>), 3.75 (s, 3 H<sub>2'</sub>), 3.92 (s, 2 H<sub>3</sub>), 4.38 (m, 1 H<sub>6</sub>), 4.64 (m, 1 H<sub>2</sub>), 5.04 (s, 2 H<sub>16</sub>), 5.27 (d, 1 H<sub>7</sub>,  $J = 7.8$  Hz), 6.92 (d, 2 H<sub>14</sub>,  $J = 8.7$  Hz), 7.10 (m, 1 H<sub>4</sub>), 7.14 (d, 2 H<sub>13</sub>,  $J = 8.7$  Hz), 7.41 (m, 5 H<sub>18, 19, 20</sub>); **<sup>13</sup>C-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)  $\delta$  28.7 (C<sub>10</sub>), 37.8 (C<sub>11</sub>), 53.0 (C<sub>2'</sub>), 55.3 (C<sub>2</sub>), 56.4 (C<sub>6</sub>), 63.2 (C<sub>3</sub>), 70.4 (C<sub>16</sub>), 80.8 (C<sub>9</sub>), 115.4 (C<sub>14</sub>), 127.8 (C<sub>19</sub>), 128.3 (C<sub>20</sub>), 129.0 (C<sub>18</sub>), 129.2 (C<sub>12</sub>), 130.8 (C<sub>13</sub>), 137.4 (C<sub>17</sub>), 156.2 (C<sub>7</sub>), 158.3 (C<sub>15</sub>), 171.0 (C<sub>1</sub>), 172.3 (C<sub>5</sub>); **EMAR**  $m/z$  calculada para C<sub>25</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 472.2210, encontrada 472.2226.

**2-((S)-2-(4-(benciloxi)fenil)-1-(tert-butoxicarbonilamino)etil)-(S)-4,5-**

**dihidrooxazol-4-carboxilato de metilo (6):** DAST (0.91 mL, 6.88 mmol) fue añadido gota a gota a una solución enfriada (-78 °C) del compuesto **5** en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 mL). Después de agitar por una hora a -78 °C, se agregó K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.50 g, 6.88 mmol), y la mezcla de reacción se llevó a temperatura ambiente. Se volcó la reacción en una solución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub>, y se extrajo con DCM. Los extractos orgánicos combinados se secaron con MgSO<sub>4</sub>. Se removió el solvente a presión reducida. Se purificó el producto mediante columna cromatográfica (AcOEt/ *n*-hexano, 2: 1), obteniéndose la oxazolina **6** (2.46 g, 87 %) como un aceite incoloro.

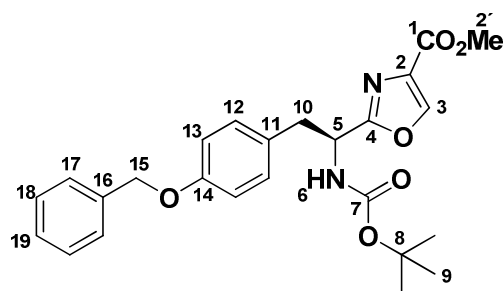


**6:**  $R_f = 0.67$  (AcOEt/ *n*-hexano, 2: 1);  $[\alpha]_D = +5.7$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>); **IR** (film) 2976, 1743, 1716, 1662, 1512, 1367, 1244, 1174, 1016; **<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  1.43 (s, 9 H<sub>9</sub>), 3.09 (m, 2 H<sub>10</sub>), 3.76 (s, 3 H<sub>20</sub>), 4.45 (dd, 1 H<sub>3</sub>,  $J = 10.3$  Hz, 8.4 Hz), 4.60 (t, 1 H<sub>3</sub>,  $J = 8.4$  Hz), 4.68 (m, 1 H<sub>5</sub>), 4.74 (m, 1 H<sub>2</sub>), 5.05 (s, 2

H<sub>15</sub>), 5.15 (sa, 1 H<sub>6</sub>), 6.90 (d, 2 H<sub>13</sub>, *J* = 8.6 Hz), 7.06 (d, 2 H<sub>12</sub>, *J* = 8.6 Hz), 7.41 (m, 5 H<sub>17, 18, 19</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ 28.7 (C<sub>9</sub>), 38.4 (C<sub>10</sub>), 50.2 (C<sub>5</sub>), 53.0 (C<sub>20</sub>), 68.2 (C<sub>2</sub>), 70.4 (C<sub>15</sub>), 70.4 (C<sub>3</sub>), 80.1 (C<sub>8</sub>), 115.1 (C<sub>13</sub>), 127.8 (C<sub>18</sub>), 128.3 (C<sub>19</sub>), 128.5 (C<sub>11</sub>), 129.0 (C<sub>17</sub>), 131.0 (C<sub>12</sub>), 137.5 (C<sub>16</sub>), 156.2 (C<sub>7</sub>), 158.3 (C<sub>14</sub>), 169.8 (C<sub>4</sub>), 171.3 (C<sub>1</sub>); **EMAR** *m/z* calculada para C<sub>25</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> (M<sup>+</sup>) 454.2104, encontrada 454.2109.

### 2-((S)-2-(4-(benciloxi)fenil)-1-(*tert*-butoxicarbonilamino)etil)oxazol-4-

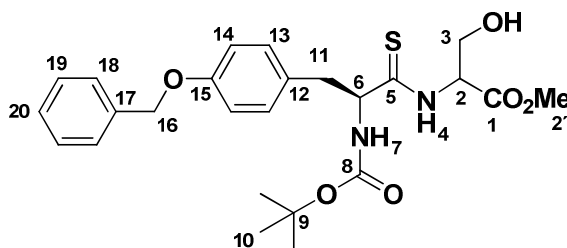
**carboxilato de metilo (7)**: DAST (0,42 mL, 3,2 mmol) fue añadido gota a gota a una solución enfriada a -78 °C de **5** (1,37 g, 2,9 mmol) en DCM (70 mL). Después de 30 minutos, DBU (1,55 mL, 10,4 mmol) se agregó gota a gota a la mezcla de reacción a una temperatura de -40°C, seguido por BrCCl<sub>3</sub> (1,02 mL, 10,4 mmol) at 0°C. Se agitó la reacción a temperatura ambiente por 8 h y luego se agregó una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio. La capa acuosa se extrajo con DCM, y se destiló el solvente a presión reducida. Se purificó el producto por cromatografía en columna (AcOEt/ *n*-hexano, 1: 1), obteniéndose el oxazol **7** como un aceite amarillento (1,05 g, 80 % de rendimiento).



**7**: R<sub>f</sub> = 0.64 (AcOEt: *n*-hexano, 2: 1); [α]<sub>D</sub> = -2.0 (*c* = 1.0, CHCl<sub>3</sub>); IR (film) 3368, 2980, 1724, 1693, 1583, 1512, 1246, 1167, 1003; <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.42 (s, 9 H<sub>9</sub>), 3.18 (m, 2 H<sub>10</sub>), 3.92 (s, 3 H<sub>2'</sub>), 5.03 (s, 2 H<sub>15</sub>), 5.20 (m, 2 H<sub>5, 6</sub>), 6.87 (d, 2 H<sub>13</sub>, *J* = 8.5 Hz), 6.96 (d, 2 H<sub>12</sub>, *J* = 8.5 Hz), 7.39 (m, 5 H<sub>17, 18, 19</sub>), 8.14 (s, 1 H<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ 28.7 (C<sub>9</sub>), 39.9 (C<sub>10</sub>), 50.7 (C<sub>5</sub>), 52.6 (C<sub>2'</sub>), 70.4 (C<sub>15</sub>), 80.6 (C<sub>8</sub>), 115.4 (C<sub>13</sub>), 127.8 (C<sub>18</sub>), 128.2 (C<sub>19</sub>), 128.3 (C<sub>11</sub>), 129.0 (C<sub>17</sub>), 130.7 (C<sub>12</sub>), 133.7 (C<sub>2</sub>), 137.4 (C<sub>16</sub>), 144.2 (C<sub>3</sub>), 156.2 (C<sub>7</sub>), 158.4

(C<sub>14</sub>), 161.9 (C<sub>1</sub>), 165.3 (C<sub>4</sub>); **EMAR** calculada para C<sub>25</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> (M<sup>+</sup>) 452.1947, observada 452.1942.

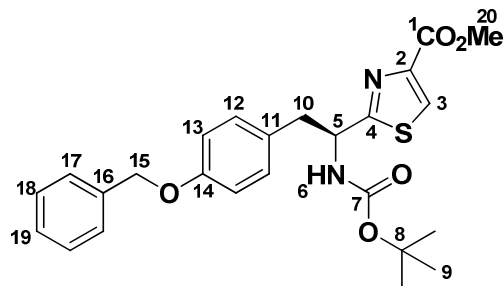
**2-((S)-3-(4-(benciloxi)fenil)-2-(*tert*-butoxicarbonilamino) propanoato de metilo (8):** una solución de **6** (88 mg, 0.19 mmol) en 14 mL de MeOH/Et<sub>3</sub>N (1:1) fue saturada con H<sub>2</sub>S y se agitó a temperatura ambiente toda la noche. El exceso de H<sub>2</sub>S, MeOH y Et<sub>3</sub>N fueron destilados a presión reducida, y el producto fue purificado por cromatografía en columna (AcOEt/ *n*-hexano, 1: 1), obteniéndose **8** (87 mg, 92 %) como un aceite amarillento.



**8:** R<sub>f</sub> = 0.40 (AcOEt/ *n*-hexano, 1: 1); **IR** (film) 2978, 1741, 1689, 1512, 1242, 1174, 1022; **<sup>1</sup>H-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.43 (s, 9 H<sub>10</sub>), 3.14 (d, 2 H<sub>11</sub>, J = 6.8 Hz), 3.77 (s, 3 H<sub>2'</sub>), 3.96 (m, 1 H<sub>3</sub>), 4.14 (m, 1 H<sub>3</sub>), 4.59 (m, 1 H<sub>6</sub>), 5.06 (s, 2 H<sub>16</sub>), 5.17 (m, 1 H<sub>2</sub>), 5.26 (sa, 1 H<sub>7</sub>), 5.36 (sa, 1 H<sub>7'</sub>), 6.94 (m, 2 H<sub>14</sub>), 7.19 (m, 2 H<sub>13</sub>), 7.39 (m, 5 H<sub>18, 19, 20</sub>); **<sup>13</sup>C-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ 28.7 (C<sub>10</sub>), 41.1 (C<sub>11</sub>), 53.2 (C<sub>2'</sub>), 60.0 (C<sub>2</sub>), 61.8 (C<sub>3</sub>), 62.9 (C<sub>6</sub>), 70.4 (C<sub>16</sub>), 81.1 (C<sub>9</sub>), 115.4 (C<sub>14</sub>), 127.8 (C<sub>19</sub>), 128.4 (C<sub>20</sub>), 129.0 (C<sub>18</sub>), 129.1 (C<sub>12</sub>), 130.7 (C<sub>13</sub>), 137.4 (C<sub>17</sub>), 156.1 (C<sub>7</sub>), 158.3 (C<sub>15</sub>), 170.2 (C<sub>1</sub>), 205.0 (C<sub>5</sub>); **EMAR** m/z calculada para C<sub>25</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S (M<sup>+</sup>) 488.1981, encontrada 488.1977.

**2-((S)-2-(4-(benciloxi)fenil)-1-(*tert*-butoxicarbonilamino)etil)tiazol-4-carboxilato de metilo (9):** DAST (0.43 mL, 3.3 mmol) fue añadido gota a gota a una solución enfriada (-78 °C) de **8** (1.44 g, 2.95 mmol) en DCM. Después de 30 minutos, DBU (1.58 mL, 10.6 mmol) se agregó gota a gota a la mezcla de reacción a una temperatura de -40°C, seguido por BrCCl<sub>3</sub> (1.04 mL, 10.6 mmol) at 0°C. Se agitó la reacción a temperatura ambiente por 8 h y luego se agregó una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio. La capa acuosa

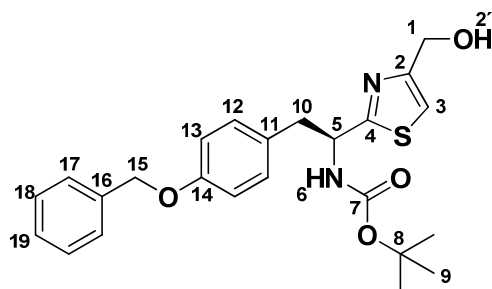
se extrajo con DCM, y se destiló el solvente a presión reducida. Se purificó el producto por cromatografía en columna (AcOEt/ *n*-hexano, 1: 2), obteniéndose el tiazol **9** como un aceite amarillento (1.05 g, 80 %).



**9:**  $R_f = 0.48$  (AcOEt/ *n*-hexano, 1: 2);  $[\alpha]_D = -7.8$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ); IR (film) 3348, 2361, 1716, 1512, 1244, 1221, 1167;  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.43 (s, 9  $\text{H}_9$ ), 3.09 (m, 2  $\text{H}_{10}$ ), 3.76 (s, 3  $\text{H}_{20}$ ), 4.45 (dd, 1  $\text{H}_3$ ,  $J = 10.3$  Hz, 8.4 Hz), 4.60 (t, 1  $\text{H}_3$ ,  $J = 8.4$  Hz), 4.68 (m, 1  $\text{H}_5$ ), 4.74 (m, 1  $\text{H}_2$ ), 5.05 (s, 2  $\text{H}_{15}$ ), 5.15 (sa, 1  $\text{H}_6$ ), 6.90 (d, 2  $\text{H}_{13}$ ,  $J = 8.6$  Hz), 7.06 (d, 2  $\text{H}_{12}$ ,  $J = 8.6$  Hz), 7.41 (m, 5  $\text{H}_{17, 18, 19}$ );  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  28.7 ( $\text{C}_9$ ), 38.4 ( $\text{C}_{10}$ ), 50.2 ( $\text{C}_5$ ), 53.0 ( $\text{C}_{2'}$ ), 68.2 ( $\text{C}_2$ ), 70.4 ( $\text{C}_{15}$ ), 70.4 ( $\text{C}_3$ ), 80.1 ( $\text{C}_8$ ), 115.1 ( $\text{C}_{13}$ ), 127.8 ( $\text{C}_{18}$ ), 128.3 ( $\text{C}_{19}$ ), 128.5 ( $\text{C}_{11}$ ), 129.0 ( $\text{C}_{17}$ ), 131.0 ( $\text{C}_{12}$ ), 137.5 ( $\text{C}_{16}$ ), 156.2 ( $\text{C}_7$ ), 158.3 ( $\text{C}_{14}$ ), 169.8 ( $\text{C}_4$ ), 171.3 ( $\text{C}_1$ ); EMAR  $m/z$  calculada para  $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$  ( $\text{M}^+$ ) 468.1719, encontrada 468.1732.

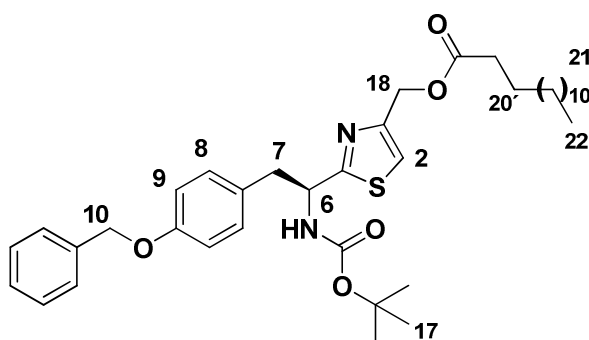
**(1S)-2-(4-(benciloxi)fenil)-1-(4-formiltiazol-2-il) etilcarbamato de *tert*-butilo (12):** En varias porciones se agregó  $\text{LiAlH}_4$  (17.1 mg, 0.45 mmol) a una solución del éster **9** (211 mg, 0.45 mmol) en dietil éter (5 mL) a  $0^\circ\text{C}$ . La mezcla de reacción fue agitada a temperatura ambiente toda la noche. Se detuvo la reacción agregando una solución acuosa al 20 % de NaOH (20 mL). La capa acuosa fue extraída con AcOEt, y el solvente fue destilado a presión reducida. Se obtuvo el alcohol **11** el cual fue utilizado en el próximo paso sin purificar.  $\text{MnO}_2$  (304 mg, 3.5 mmol) fue agregado a una solución del alcohol (154 mg, 0.35 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción resultante fue agitada por 15 h hasta comprobar desaparición del reactivo por TLC. El  $\text{MnO}_2$  fue filtrado, lavado con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , y el solvente se destiló a presión reducida. Se purificó el producto mediante cromatografía en columna (AcOEt/

*n*-hexano, 1: 2) obteniéndose el aldehído **12** como un aceite incoloro (123 mg, 80 % dos pasos).

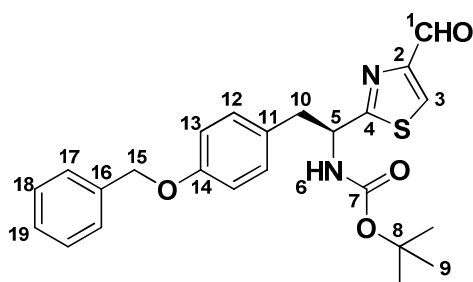


**11**: aceite,  $R_f = 0.19$  (AcOEt: *n*-hexano, 2: 3); **IR** (film) 3346, 1688. 1514, 1267, 1248, 1167;  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.42 (s, 9  $\text{H}_9$ ), 2.69 (s, 1  $\text{H}_{2'}$ ), 3.25 (m, 2  $\text{H}_{10}$ ), 4.77 (s, 2  $\text{H}_1$ ), 5.04 (s, 2  $\text{H}_{15}$ ), 5.28 (m, 2  $\text{H}_{5, 6}$ ), 6.88 (d, 2  $\text{H}_{13}$ ,  $J = 8.6$  Hz), 7.01 (d, 2  $\text{H}_{12}$ ,  $J = 8.6$  Hz), 7.08 (s, 1  $\text{H}_3$ ), 7.41 (m, 5  $\text{H}_{17, 18, 19}$ );  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  28.7 ( $\text{C}_9$ ), 41.5 ( $\text{C}_{10}$ ), 54.5 ( $\text{C}_5$ ), 61.4 ( $\text{C}_1$ ), 70.4 ( $\text{C}_{15}$ ), 80.8 ( $\text{C}_8$ ), 114.8 ( $\text{C}_3$ ), 115.5 ( $\text{C}_{13}$ ), 127.8 ( $\text{C}_{18}$ ), 128.3 ( $\text{C}_{11}$ ), 129.0 ( $\text{C}_{19}$ ), 129.1 ( $\text{C}_3$ ), 130.8 ( $\text{C}_{17}$ ), 130.8 ( $\text{C}_{12}$ ), 137.4 ( $\text{C}_{16}$ ), 155.3 ( $\text{C}_{2, 7}$ ), 156.7 ( $\text{C}_2$ ), 158.2 ( $\text{C}_{14}$ ), 174.0 ( $\text{C}_4$ ); **EMAR**  $m/z$  calculada para  $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4\text{SNa}$  ( $(\text{M}+\text{Na})^+$ ) 463.1662, observada 463.1672.

**(11)**: el ácido mirístico (6.6 mg, 0.03 mmol) se disolvió en DCM (0.5 mL) y se agregó TEA, HOBt (4.2 mg, 0.03 mmol) y EDCI (8.0 mg, 0.04 mmol) a 0°. Se agitó por 30 minutos y se agregó 12.5 mL del alcohol **11** (12.5 mg, 0.03 mmol) disuelto en DCM (0.2 mL). Se agitó por 12 hs y se agregó agua para detener la reacción. Se extrajo con DCM y se secó la capa orgánica con  $\text{MgSO}_4$ . Se destiló el solvente a presión reducida y se purificó el producto por cromatografía en columna ( $\text{CHCl}_3$ ) obteniéndose 14 mg (76 % de rendimiento).



**11'**: aceite;  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  0.90 (t,  $J = 6$  hz,  $3\text{H}_{22}$ ), 1.27 (sa,  $20\text{H}_{21}$ ), 1.43 (s,  $9\text{H}_{17}$ ), 1.66 (m,  $2\text{H}_{20}$ ), 2.40 (m,  $2\text{H}_{20}$ ), 3.24 (d,  $J = 8.0$  Hz,  $2\text{H}_7$ ), 5.05 (s,  $2\text{H}_{10}$ ), 5.19 (m,  $3\text{H}_{6,18}$ ), 6.89 (d,  $J = 8.6$  Hz,  $2\text{H}_9$ ), 7.01 (d,  $J = 8.6$  Hz,  $2\text{H}_8$ ), 7.17 (s,  $1\text{H}_2$ ), 7.40 (m,  $5\text{H}_{ar}$ );  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  14.1 ( $\text{C}_{22}$ ), 24.9 ( $\text{C}_{20}$ ), 28.3 ( $\text{C}_{17}$ ), 29.2-29.7 ( $\text{C}_{myr}$ ), 34.2 ( $\text{C}_{20}$ ), 40.9 ( $\text{C}_7$ ), 54.0 ( $\text{C}_6$ ), 61.6 ( $\text{C}_{18}$ ), 70.0 ( $\text{C}_{10}$ ), 80.0 ( $\text{C}_{16}$ ), 114.8 ( $\text{C}_9$ ), 117.2, 127.5-128.6 ( $\text{C}_{arom}$ ), 130.5, 137.0, 151.4, 154.0 ( $\text{C}_{15}$ ), 157.8, 173.5 ( $\text{C}_{19}$ ), 174.0 ( $\text{C}_5$ ). **EMAR**  $m/z$  calculada para  $\text{C}_{38}\text{H}_{54}\text{N}_2\text{NaO}_5\text{S}$  ( $(\text{M}+\text{Na})^+$ ) 673.3646, encontrada 673.3663.

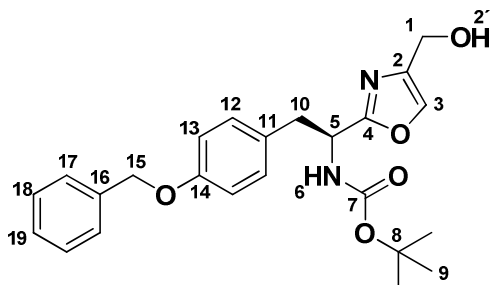


**12**:  $R_f = 0.58$  (AcOEt/ *n*-hexano, 2: 3); **IR** (film) 3343, 1701, 1512, 1367, 1246, 1174;  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.44 (s,  $9\text{H}_9$ ), 3.28 (m,  $2\text{H}_{10}$ ), 5.05 (s,  $2\text{H}_{15}$ ), 5.28 (m,  $2\text{H}_{5,6}$ ), 6.89 (d,  $2\text{H}_{13}$ ,  $J = 8.6$  Hz), 7.03 (d,  $2\text{H}_{12}$ ,  $J = 8.6$  Hz), 7.36 (m,  $5\text{H}_{17,18,19}$ ), 8.08 (s,  $1\text{H}_3$ ), 10.03 (s,  $1\text{H}_1$ );  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  28.7 ( $\text{C}_9$ ), 41.0 ( $\text{C}_{10}$ ), 54.5 ( $\text{C}_5$ ), 70.5 ( $\text{C}_{15}$ ), 80.8 ( $\text{C}_8$ ), 115.5 ( $\text{C}_{13}$ ), 127.8 ( $\text{C}_{18}$ ), 128.2 ( $\text{C}_{11}$ ), 128.4 ( $\text{C}_{19}$ ), 128.6 ( $\text{C}_3$ ), 129.0 ( $\text{C}_{17}$ ), 131.1 ( $\text{C}_{12}$ ), 137.4 ( $\text{C}_{16}$ ), 155.3 ( $\text{C}_{2,7}$ ), 141.2 ( $\text{C}_1$ ), 158.4 ( $\text{C}_{14}$ ), 174.5 ( $\text{C}_4$ ), 185.0 ( $\text{C}_1$ ); **EMAR**  $m/z$  calculada para  $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$  ( $\text{M}^+$ ) 439.1692, encontrada 439.1662.

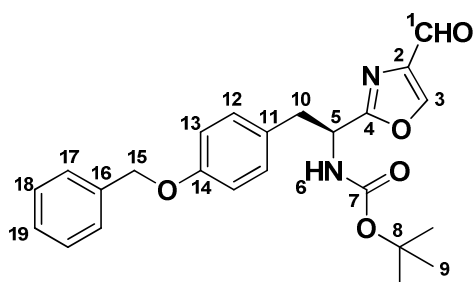
**(1S)-2-(4-(benziloxi)fenil)-1-(4-formiloxazol-2-il) etilcarbamato de *tert*-butilo**

**(14)**: En varias porciones se agregó  $\text{LiAlH}_4$  (118 mg, 3,1 mmol) a una solución del éster **7** (1,4 mg, 3,1 mmol) en THF (50 mL) a  $0^\circ\text{C}$ . La mezcla de reacción fue agitada a temperatura ambiente toda la noche. Se detuvo la reacción agregando una solución acuosa al 20 % de NaOH (20 mL). La capa acuosa fue extraída con AcOEt, y el solvente fue destilado a presión reducida. Se obtuvo el alcohol **13** el cual fue utilizado en el próximo paso sin purificar.  $\text{MnO}_2$  (0,56 g, 6,42 mmol) fue agregado a una solución del alcohol (272 mg, 0,642 mmol) en DCM (15 mL) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción resultante fue

agitada por 15 h hasta comprobar desaparición del reactivo por TLC. El  $\text{MnO}_2$  fue filtrado, lavado con DCM, y el solvente se destiló a presión reducida. Se purificó el producto mediante cromatografía en columna (AcOEt/ *n*-hexano, 2: 3) obteniéndose el aldehído **14** como un aceite incoloro (236 mg, 87 %).



**13**: aceite,  $R_f = 0.10$  (AcOEt: *n*-hexano, 1: 2); **IR** (film) 742, 1024, 1170, 1244, 1510, 1699, 2374, 2976, 3354;  **$^1\text{H-RMN}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.42 (s, 9  $\text{H}_9$ ), 3.18 (m, 2  $\text{H}_{10}$ ), 4.56 (s, 2  $\text{H}_1$ ), 5.05 (s, 2  $\text{H}_{15}$ ), 5.15 (m, 1 $\text{H}_5$ ), 5.30 (m, 1  $\text{H}_6$ ), 6.87 (d, 2  $\text{H}_{13}$ ,  $J = 8.6$  Hz), 6.96 (d, 2  $\text{H}_{14}$ ,  $J = 8.6$  Hz), 7.41 (m, 5  $\text{H}_{ar}$ ), 7.51 (s, 1 $\text{H}_3$ );  **$^{13}\text{C-RMN}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  28.7 ( $\text{C}_9$ ), 39.9 ( $\text{C}_{10}$ ), 50.7 ( $\text{C}_5$ ), 57.0 ( $\text{C}_1$ ), 70.4 ( $\text{C}_{15}$ ), 80.4 ( $\text{C}_8$ ), 115.3 ( $\text{C}_{13}$ ), 127.8, 128.3, 128.7, 129.0, 130.7 ( $\text{C}_{12}$ ), 135.4 ( $\text{C}_3$ ), 137.4, 140.7, 154.0 ( $\text{C}_7$ ), 158.3 ( $\text{C}_{14}$ ), 164.7 ( $\text{C}_4$ ); **EMAR**  $m/z$  calculada para  $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}$  ( $(\text{M}+\text{Na})^+$ ) 447.1890, observada 447.1872.

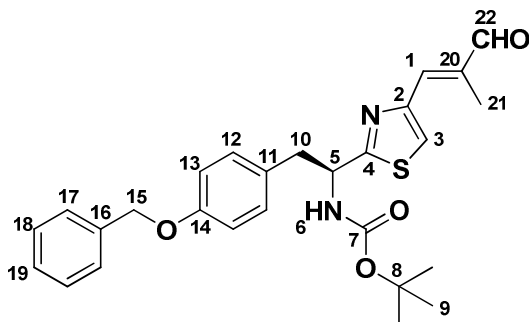


**14**: aceite,  $R_f = 0.7$  (AcOEt: *n*-hexano, 1: 1); **IR** (film) 696, 810, 1047, 1165, 1246, 1512, 1691, 3092, 3362 ;  **$^1\text{H-RMN}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1,43 (s, 9  $\text{H}_9$ ), 3,20 (m, 2  $\text{H}_{10}$ ), 5.03 (s, 2  $\text{H}_{15}$ ), 5.20 (m, 2  $\text{H}_{5,6}$ ), 6.87 (d, 2  $\text{H}_{13}$ ,  $J = 8.5$  Hz), 6.96 (d, 2  $\text{H}_{12}$ ,  $J = 8.5$  Hz), 7.39 (m, 5  $\text{H}_{ar}$ ), 8.18 (s, 1  $\text{H}_3$ ), 9,90 (s, 1  $\text{H}_1$ );  **$^{13}\text{C-RMN}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  28.7 ( $\text{C}_9$ ), 39.7 ( $\text{C}_{10}$ ), 50.7 ( $\text{C}_5$ ), 70.4 ( $\text{C}_{15}$ ), 80.7 ( $\text{C}_8$ ), 115.5 ( $\text{C}_{13}$ ), 127.8, 128.4, 128.5, 129.0, 130.7 ( $\text{C}_{12}$ ), 137.4, 141.1, 144.8 ( $\text{C}_3$ ), 155.3

(C<sub>7</sub>), 158.4 (C<sub>14</sub>), 165.8 (C<sub>4</sub>), 184.1 (C<sub>1</sub>); **EMAR** calculada para C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ((M+Na)<sup>+</sup>) 445.1734, observada 445.1725.

**(1S)-2-(4-(benciloxi)fenil)-1-(4-(2-metil-3-oxoprop-1E-enil)tiazol-2-**

**il)etilcarbamato de *tert*-butilo (15):** Una solución del aldehído **12** (1.26 g, 2.88 mmol) e iluro (α-formiletilideno)trifenil fosforano (1.1 g, 3.46 mmol) en benceno (30 mL) fue agitada a reflujo por 5 h. Se controló la reacción por TLC hasta desaparición del reactivo. Se destiló el solvente a presión reducida y se purificó el producto por columna cromatográfica (AcOEt/ *n*-hexano, 1: 2), obteniéndose el aldehído α,β-insaturado **15** (1.27 g, 100 %).



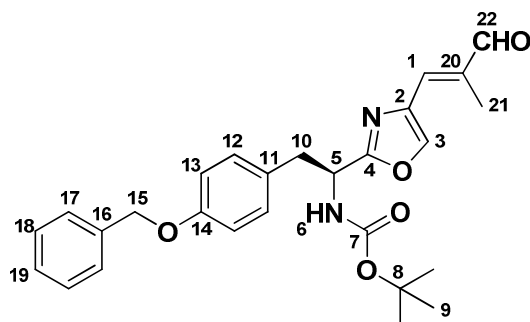
**15:** R<sub>f</sub> = 0.36 (AcOEt/ *n*-hexano, 1: 2); **IR** (film) 2977, 1681, 1679, 1512, 1244, 1164; **<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.44 (s, 9 H<sub>9</sub>), 2.24 (s, 3 H<sub>21</sub>), 3.28 (d, 2 H<sub>10</sub>, J = 6.2 Hz), 5.05 (s, 2 H<sub>15</sub>), 5.20 (sa, 1 H<sub>6</sub>), 5.28 (sa, 1 H<sub>5</sub>), 6.89 (d, 2 H<sub>13</sub>, J = 8.6 Hz), 7.04 (d, 2 H<sub>12</sub>, J = 8.6 Hz), 7.27 (s, 1 H<sub>1</sub>), 7.40 (m, 5 H<sub>17, 18, 19</sub>), 7.56 (s, 1 H<sub>3</sub>), 9.61 (s, 1 H<sub>22</sub>); **<sup>13</sup>C-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ 11.5 (C<sub>21</sub>), 28.7 (C<sub>9</sub>), 41.1 (C<sub>10</sub>), 54.5 (C<sub>5</sub>), 70.5 (C<sub>15</sub>), 80.5 (C<sub>8</sub>), 115.4 (C<sub>13</sub>), 123.3 (C<sub>3</sub>), 127.8 (C<sub>18</sub>), 128.4 (C<sub>19</sub>), 128.9 (C<sub>11</sub>), 129.0 (C<sub>17</sub>), 130.9 (C<sub>12</sub>), 137.4 (C<sub>16</sub>), 139.2 (C<sub>20</sub>), 141.2 (C<sub>1</sub>), 152.3 (C<sub>2</sub>), 155.0 (C<sub>7</sub>), 158.3 (C<sub>14</sub>), 173.0 (C<sub>4</sub>), 195.7 (C<sub>22</sub>); **EMAR** m/z calculada para C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S (M<sup>+</sup>) 479.2005, encontrada 479.1999.

**(1S)-2-(4-(benciloxi)fenil)-1-(4-(2-metil-3-oxoprop-1E-enil)oxazol-2-**

**il)etilcarbamato de *tert*-butilo (16):** Una solución del aldehído **14** (1.1 g, 2,6 mmol) e iluro (α-formiletilideno)trifenil fosforano (992 mg, 3,12 mmol) en benceno (30 mL) fue agitada a reflujo por 5 h. Se controló la reacción por TLC hasta desaparición del reactivo. Se destiló el solvente a presión reducida y se

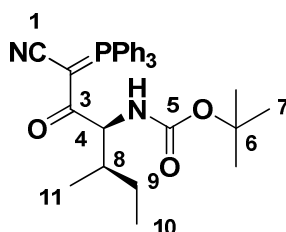


purificó el producto por columna cromatográfica (AcOEt/ *n*-hexano, 1: 2), obteniéndose el aldehído  $\alpha,\beta$ -insaturado **16** (1.04 g, 100 % de rendimiento).



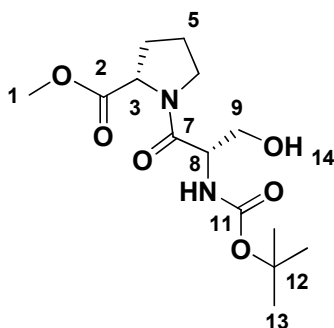
**16**: aceite,  $R_f = 0.71$  (AcOEt: *n*-hexano, 1: 1); IR (film) 696, 1026, 1111, 1167, 1246, 1514, 1693, 1713, 2076 ;  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1,45 (s, 9  $\text{H}_9$ ), 2.10 (s, 3  $\text{H}_{21}$ ), 3.20 (m, 2  $\text{H}_{10}$ ), 5.05 (s, 2  $\text{H}_{15}$ ), 5.13 (m, 2  $\text{H}_{5,6}$ ), 6.89 (d, 2  $\text{H}_{13}$ ,  $J = 8.5$  Hz), 7.00 (d, 2  $\text{H}_{12}$ ,  $J = 8.5$  Hz), 7.08 (s, 1  $\text{H}_1$ ), 7.36 (m, 5  $\text{H}_{ar}$ ), 7,85 (s, 1  $\text{H}_3$ ), 9,56 (s, 1  $\text{H}_{22}$ );  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  11.5 ( $\text{C}_{21}$ ), 28.7 ( $\text{C}_9$ ), 39.6 ( $\text{C}_{10}$ ), 50.6 ( $\text{C}_5$ ), 70.4 ( $\text{C}_{15}$ ), 80.7 ( $\text{C}_8$ ), 115.4 ( $\text{C}_{13}$ ), 127.8, 128.4, 128.5, 129.0, 130.0, 130.8 ( $\text{C}_{12}$ ), 137.4 ( $\text{C}_1$ ), 137.8 ( $\text{C}_2$ ), 139.5 ( $\text{C}_{20}$ ), 140.1 ( $\text{C}_3$ ), 155.3 ( $\text{C}_7$ ), 158.3 ( $\text{C}_{14}$ ), 164.6 ( $\text{C}_4$ ), 194,6 ( $\text{C}_{22}$ ); EMAR calculada para  $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_5$  ( $(\text{M}+\text{H})^+$ ) 463,2227, observada 463,2218;  $(\text{M}+\text{Na})^+$  485,2047, observada 485,2049.

**(19)**: Una solución de Boc-L-*allo*-Ile-OH (529 mg, 2,29 mmol) en DCM (30 mL) fue tratada con DMAP (28 mg, 0,23 mmol) y EDCI (484 mg, 2,52 mmol), seguida por la adición de (cianometilen)trifenilfosforano (759 mg, 2,52 mmol). La mezcla de reacción se agita por 4 horas y luego es concentrada. El producto se purificó por cromatografía en columna (AcOEt/  $\eta$ -hexano, 1: 2), obteniéndose el producto **19** (857 mg, 73% de rendimiento) como un aceite incoloro.



**19:**  $R_f = (\text{AcOEt}/ \eta\text{-hexano}, 1: 2)$ ;  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  0,75 (d, 3  $\text{H}_{11}$ ,  $J = 6,86$  Hz), 1,03 (t, 3  $\text{H}_{10}$ ,  $J = 7,4$  Hz), 1,28 (m, 1  $\text{H}_9$ ), 1,44 (s, 9  $\text{H}_7$ ), 1,56 (m, 1  $\text{H}_9$ ), 2,17 (m, 1  $\text{H}_8$ ), 4,92 (m, 1  $\text{H}_4$ ), 5,12 (m, 1  $\text{H}_{\text{NH}}$ ), 7,64 (m, 15  $\text{H}_{\text{ar}}$ );  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  12,3 ( $\text{C}_{10}$ ), 14,2 ( $\text{C}_{11}$ ), 27,6 ( $\text{C}_9$ ), 28,8 ( $\text{C}_7$ ), 38,4 ( $\text{C}_8$ ), 47,6 (d,  $J = 125,5$  Hz), 59,4 ( $\text{C}_4$ ), 79,2 ( $\text{C}_6$ ), 121,5 (-CN), 123,6 (d,  $\text{C}_2$ ,  $J = 93,0$  Hz), 129,5, 133,5, 134,1, 156,5 ( $\text{C}_5$ ), 195,5 ( $\text{C}_3$ ).

**Boc-Ser-Pro-OMe (22):** Clorhidrato del éster metílico de L-Prolina (3,48 g, 19 mmol), 1-hidroxi-benzotriazol monohidrato (2,8 g, 21 mmol), Boc-Ser-OH (3,89 g, 21 mmol) y TEA (5.8 mL, 42 mmol) fueron disueltos en DCM (50 mL). La solución fue enfriada en un baño de agua-hielo y se agitó mientras se fue añadiendo DCC (4,33 mg, 21 mmol). Se continuó la agitación por una hora a  $0^\circ\text{C}$  y luego 12 horas más a temperatura ambiente. Se filtró la DCU formada y se destiló el solvente a presión reducida. El producto fue purificado mediante cromatografía en columna (AcOEt:  $\eta$ -hexano, 3: 1). Se obtuvo el producto **22** (5,19 g, 87%) como un aceite incoloro.

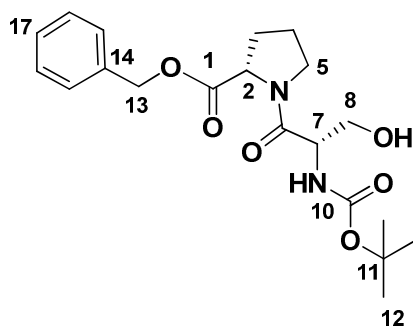


**22:** aceite,  $R_f = 0.4$  (AcOEt:  $n$ -hexano, 3: 1); **IR** (film) 590, 873, 1080, 1188, 1221, 1747;  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.44 (s, 9 $\text{H}_{13}$ ), 2.01 (m, 3 $\text{H}_{5,5,4}$ ), 2.26 (m, 1 $\text{H}_4$ ), 3.23 (m, 1 $\text{H}_{14}$ ), 3.70 (m, 1 $\text{H}_9$ ), 3.75 (s, 3 $\text{H}_1$ ), 3.83 (m, 3 $\text{H}_{9,6,6}$ ), 4.59 (m, 2 $\text{H}_{8,3}$ ), 5.49 (m, 1 $\text{H}_{\text{NH}10}$ );  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  25.3 ( $\text{C}_5$ ), 28.7 ( $\text{C}_{13}$ ), 29.3 ( $\text{C}_4$ ), 47.6 ( $\text{C}_6$ ), 53.0 ( $\text{C}_1$ ), 53.8 ( $\text{C}_3$ ), 59.3 ( $\text{C}_8$ ), 64.6 ( $\text{C}_9$ ), 80.4 ( $\text{C}_{12}$ ), 156.0 ( $\text{C}_{11}$ ), 170.6 ( $\text{C}_7$ ), 173.3 ( $\text{C}_2$ ).

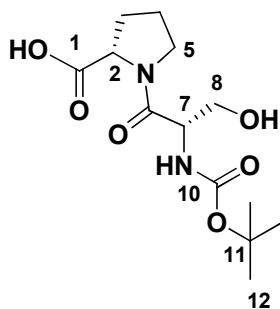
**Boc-Ser-Pro-OH (24):** Clorhidrato del éster bencílico de L-Prolina (1,29 g, 5,34 mmol), 1-hidroxi-benzotriazol monohidrato (0,79 g, 5,88 mmol), Boc-Ser-OH

(1,1 g, 5,34 mmol) y TEA (1,5 mL, 1,08 mmol) fueron disueltos en DCM (25 mL). La solución fue enfriada en un baño de agua-hielo y se agitó mientras se fue añadiendo DCC (1,2 g, 5,88 mmol). Se continuó la agitación por una hora a 0°C y luego 12 horas más a temperatura ambiente. Se filtró la DCU formada y se destiló el solvente a presión reducida. El producto fue purificado mediante cromatografía en columna (AcOEt:  $\eta$ -hexano, 3: 1). Se obtuvo el producto **24** (1,13 g, 54%) como un aceite incoloro.

El éster bencílico **24** (3,74 mg, 0,95 mmol) se disolvió en MeOH (10 mL). Se agregó el catalizador Pd/C al 10% (37 mg), y la mezcla fue hidrogenada toda la noche. Se filtró el catalizador y se removió el solvente a presión reducida. Se obtuvo el ácido **24'** (300 mg) como un aceite incoloro el cual se utilizó en el próximo paso sin purificación adicional.

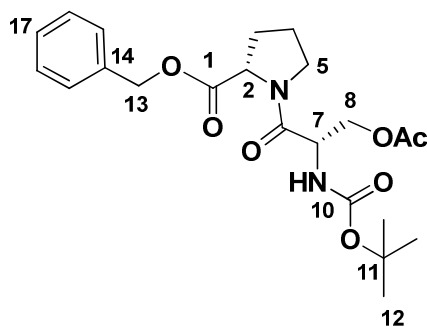


**24**: aceite,  $R_f = 0.5$  (AcOEt: *n*-hexano, 3: 1);  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz)  $\delta$  1.45 (s, 9H<sub>12</sub>), 2.05 (m, 3H<sub>3,3,4</sub>), 2.26 (m, 1H<sub>4</sub>), 3,14 (m, 1H<sub>-OH</sub>), 3.8 (m, 4H<sub>5,8</sub>), 4,65 (m, 2H<sub>7,2</sub>), 5,12 (d, J = 16 Hz, 1H<sub>13</sub>), 5,25 (d, J = 16 Hz, 1H<sub>13</sub>), 5.50 (sa, 1H<sub>NH</sub>), 7.38 (m, 5H<sub>ar</sub>);  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz)  $\delta$  24.8 (C<sub>3</sub>), 28.3 (C<sub>12</sub>), 28.9 (C<sub>4</sub>), 47.2 (C<sub>5</sub>), 53.3 (C<sub>2</sub>), 59.1 (C<sub>7</sub>), 64.2 (C<sub>8</sub>), 67.3 (C<sub>13</sub>), 80.0 (C<sub>11</sub>), 128.1, 128.5, 128.7, 135.3 (C<sub>14</sub>), 155.6 (C<sub>10</sub>), 170.2 (C<sub>6</sub>), 172.2 (C<sub>1</sub>).



**24**: aceite,  $R_f = 0.1$  (AcOEt: *n*-hexano, 3: 1);  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz)  $\delta$  1.41 (s, 9H<sub>12</sub>), 2.05 (m, 3H<sub>3,3,4</sub>), 2.30 (m, 1H<sub>4</sub>), 3.74 (m, 4H<sub>8,5</sub>), 4.76 (m, 2H<sub>7,2</sub>);  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz)  $\delta$  25.1 (C<sub>3</sub>), 28.0 (C<sub>12</sub>), 29.3 (C<sub>4</sub>), 47.4 (C<sub>5</sub>), 55.0 (C<sub>2</sub>), 53.8 (C<sub>7</sub>), 60.1 (C<sub>8</sub>), 82.1 (C<sub>11</sub>), 158.0 (C<sub>10</sub>), 172.0 (C<sub>6</sub>), 176.4 (C<sub>1</sub>).

**Boc-Ser(Ac)-Pro-OBn (25)**: Sobre el producto **24** (533 mg, 1,36 mmol) se agregó TEA (10 mL) y anhídrido acético (10 mL) a 0°C. Se dejó agitando la mezcla toda la noche a TA. Se agregó solución acuosa 1 M de HCl hasta pH = 3 y se extrajo con AcOEt. Se secó la capa orgánica con  $\text{MgSO}_4$  y se destiló el solvente a presión reducida. Se purificó el producto mediante columna cromatográfica (AcOEt/  $\eta$ -hexano, 1: 1), obteniéndose el dipéptido acetilado **25** (582 mg, 99 %) como un aceite incoloro.

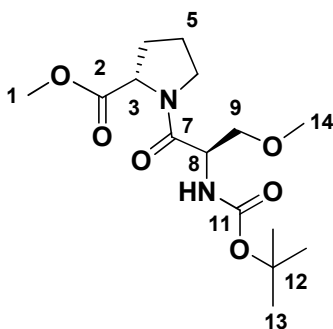


**25**: aceite,  $R_f = 0.5$  (AcOEt: *n*-hexano, 1: 1);  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.44 (s, 9H<sub>12</sub>), 1.97-2.2 (m, 6H<sub>-OAc,3,3,4</sub>), 2.23 (m, 1H<sub>4</sub>), 3.72 (m, 1H<sub>5</sub>), 3.84 (m, 1H<sub>5</sub>), 3.98 (dd,  $J = 8$  Hz,  $J = 12$  Hz, 1H<sub>8</sub>), 4.36 (dd,  $J = 4$  Hz,  $J = 12$  Hz, 1H<sub>8</sub>), 4.6 (m, 1H<sub>2</sub>), 4.8 (m, 1H<sub>7</sub>), 5.11 (d,  $J = 12$  Hz, 1H<sub>13</sub>), 5.19 (d,  $J = 12$  Hz, 1H<sub>13</sub>), 5.45 (m, 1H<sub>-NH</sub>), 7.31-7.39 (m, 5H<sub>ar</sub>);  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  20.7 (C<sub>-OAc</sub>), 24.9 (C<sub>3</sub>), 28.3 (C<sub>12</sub>), 29.0 (C<sub>4</sub>), 47.2 (C<sub>5</sub>), 51.2 (C<sub>7</sub>), 59.4 (C<sub>2</sub>), 64.7 (C<sub>8</sub>), 67.0 (C<sub>13</sub>), 79.9 (C<sub>11</sub>), 128.1, 128.3, 128.6, 135.5 (C<sub>14</sub>), 155.6 (C<sub>10</sub>), 167.9 (C<sub>-OAc</sub>), 170.6 (C<sub>6</sub>), 171.3 (C<sub>1</sub>).

**Boc-Ser(Ac)-Pro-OH (26)**: El éster bencílico **25** (266 mg, 0,61 mmol) se disolvió en MeOH (10 mL). Se agregó el catalizador Pd/C al 10% (27 mg), y la mezcla fue hidrogenada toda la noche. Se filtró el catalizador y se removió el

solvente a presión reducida. Se obtuvo el ácido **26** (245 mg) como un aceite incoloro el cual se utilizó en el próximo paso sin purificación adicional.

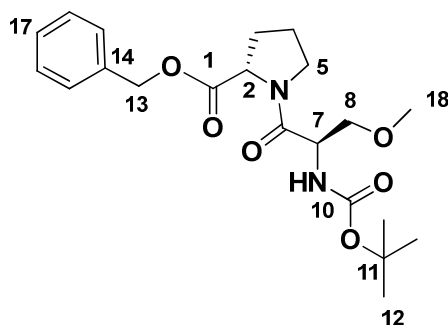
**Boc-D-Ser(Me)-Pro-OMe (28):** Clorhidrato del éster metílico de L-Prolina (1.36 g, 8,2 mmol), 1-hidroxi-benzotriazol monohidrato (1,11 g, 8,2 mmol), Boc-D-Ser(Me)-OH (1,64 g, 7,5 mmol) y TEA (2,2 mL, 16 mmol) fueron disueltos en DCM (20 mL). La solución fue enfriada en un baño de agua-hielo y se agitó mientras se fue añadiendo DCC (1,69 g, 8,2 mmol). Se continuó la agitación por una hora a 0°C y luego 12 horas más a temperatura ambiente. Se filtró la DCU formada y se destiló el solvente a presión reducida. El producto fue purificado mediante cromatografía en columna (AcOEt: DCM, 1: 2). Se obtuvo el producto **28** (1,8 g, 72%) como un aceite.



**28:** aceite,  $R_f = 0.4$  (AcOEt: DCM, 1: 2);  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.45 (s, 9H<sub>13</sub>), 1.99 (m, 3H<sub>4,4,5</sub>), 2.23 (m, 1H<sub>5</sub>), 3.34 (s, 3H<sub>14</sub>), 3.51 (m, 2H<sub>9</sub>), 3.60 (m, 2H<sub>6</sub>), 3.76 (s, 3H<sub>1</sub>), 4.48 (dd,  $J = 8.7$  Hz,  $J = 4.0$  Hz, 1H<sub>3</sub>), 4.67 (m, 1H<sub>8</sub>), 5.36 (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H<sub>NH</sub>);  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  25.1 (C<sub>4</sub>), 28.7 (C<sub>13</sub>), 29.5 (C<sub>5</sub>), 47.5 (C<sub>6</sub>), 51.2 (C<sub>8</sub>), 52.6 (C<sub>1</sub>), 59.4 (C<sub>3</sub>), 59.7 (C<sub>14</sub>), 73.7 (C<sub>9</sub>), 80.2 (C<sub>12</sub>), 155.5 (C<sub>11</sub>), 169.9 (C<sub>7</sub>), 172.8 (C<sub>2</sub>); **EMAR**  $m/z$  calculada para C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>6</sub> ((M+Na)<sup>+</sup>) 353.1683, encontrada 353.1687.

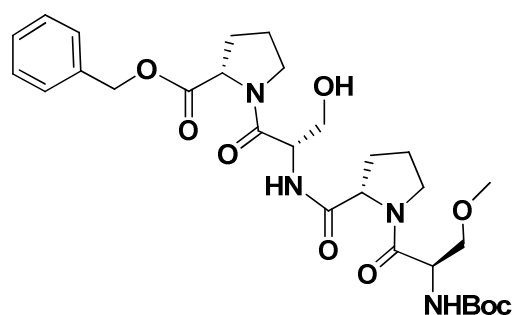
**Boc-D-Ser(Me)-Pro-OBn (30):** Clorhidrato del éster bencílico de L-Prolina (690 mg, 2,86 mmol), Boc-D-Ser(Me)-OH (626 mg, 2,86 mmol) y TEA (0,84 mL, 6 mmol) fueron disueltos en DCM (20 mL). La solución fue enfriada en un baño de agua-hielo y se agitó mientras se fue añadiendo PyBroP (1.1 eq). Se

continuó la agitación por una hora a 0°C y luego 12 horas más a temperatura ambiente. Se lavó la capa orgánica con solución acuosa de HCl 1M. Se secó la capa orgánica con MgSO<sub>4</sub> y se destiló el solvente a presión reducida. El producto fue purificado mediante cromatografía en columna (AcOEt: *n*-hexano, 3: 2). Se obtuvo el producto **30** ( 2.1 mmol) (73% de rendimiento) como un aceite incoloro.



**30**: aceite,  $R_f = 0.5$  (AcOEt: *n*-hexano, 1: 1); **IR** (film) 1167, 1448, 1655, 1743, 2978; **<sup>1</sup>H-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  1.45 (s, 9H<sub>12</sub>), 1.98 (m, 3H<sub>3,3,4</sub>), 2.20 (m, 1H<sub>4</sub>), 3.34 (s, 3H<sub>18</sub>), 3.5-3.78 (m, 4H<sub>5,8</sub>), 4.53 (dd,  $J = 8.8$  Hz,  $J = 3.9$  Hz, 1H<sub>7</sub>), 4.69 (m, 1H<sub>2</sub>), 5.11 (d,  $J = 12$  Hz, 1H<sub>13</sub>), 5.19 (d,  $J = 12$  Hz, 1H<sub>13</sub>), 5.37 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H<sub>NH</sub>), 7.37 (m, 5H<sub>ar</sub>); **<sup>13</sup>C-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)  $\delta$  25.0 (C<sub>3</sub>), 28.7 (C<sub>12</sub>), 29.5 (C<sub>4</sub>), 47.5 (C<sub>5</sub>), 52.0 (C<sub>2</sub>), 59.6 (C<sub>7</sub>), 67.2 (C<sub>18</sub>), 73.7 (C<sub>13</sub>), 80.2 (C<sub>11</sub>), 128.4, 128.9, 129.1, 136.1 (C<sub>14</sub>), 155.5 (C<sub>10</sub>), 169.9 (C<sub>6</sub>), 172.1 (C<sub>1</sub>); **EMAR**  $m/z$  calculada para C<sub>21</sub>H<sub>31</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> ((M+Na)<sup>+</sup>) 407.2182, encontrada 407.2174.

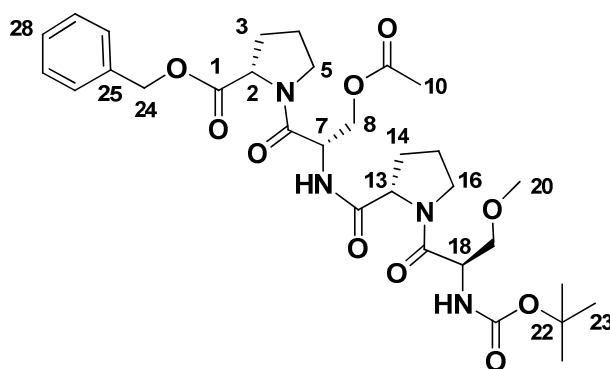
**Boc-D-Ser(Me)-Pro-Ser-Pro-OBn (32)**: El ácido **29** (1,41 mmol) y la amina **31** (1,41 mmol) se disolvieron en DCM (10 mL). La mezcla se enfrió a 0°C y se agregó TEA (0,2 mL, 1,41 mmol). Se añadió PyBroP (657 mg, 1,41 mmol) y se dejó agitando la reacción toda la noche a TA. Se agregó HCl 1M y se extrajo con DCM. Las capas orgánicas se lavaron con solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio. Las capas orgánicas fueron secadas con MgSO<sub>4</sub> y el solvente se destiló a presión reducida. El producto fue purificado mediante cromatografía en columna (CHCl<sub>3</sub>: MeOH, 10: 1) obteniéndose el tetrapéptido **32** (580 mg) con un 70 % de rendimiento.



**32:** aceite,  $R_f = 0.5$  ( $\text{CHCl}_3$ : metanol, 10:1);  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.43 (s, 9H), 1.97-2.3 (m, 8H), 3.38 (s, 3H), 3.56 (m, 3H), 3.74 (m, 5H), 4.48 (m, 1H), 4.71 (m, 2H), 4.86 (m, 1H), 5.11 (d,  $J = 12$  Hz, 1H), 5.19 (d,  $J = 12$  Hz, 1H), 5.43 (m, 1H), 7.28 (s, 1H), 7.36 (m, 5H);  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  25.2, 28.7, 28.8, 29.2, 30.1, 47.5, 47.8, 52.0, 53.3, 59.5, 59.7, 60.1, 63.7, 67.5, 73.0, 80.4, 128.6, 128.8, 129.0, 135.8, 155.0, 170.0, 171.1, 171.8, 172.3.

**Boc-D-Ser(Me)-Pro-Ser(Ac)-Pro-OBn (37):** el compuesto **25** (183 mg, 0,42 mmol) fue disuelto en una solución 4 M de HCl en dioxano. La mezcla de reacción fue agitada hasta desaparición del reactivo confirmada por TLC. Se destiló el solvente a presión reducida. Se obtuvo la amina **36** como una aceite amarillo el cual se utilizó en el próximo paso sin purificación adicional.

El crudo del ácido **29** (0,47 mmol) y de la amina **36** (0,42 mmol) se disolvieron en DCM (10 mL) y se enfrió la mezcla a  $0^\circ\text{C}$ . Posteriormente se agregó TEA (0,13 mL, 0,92 mmol) y el agente acoplante HBTU (175 mg, 0,46 mmol). Se dejó la reacción agitando a TA durante toda una noche. Se volcó la reacción en solución acuosa 1 M de HCl y se extrajo con DCM. Se secó la orgánica con  $\text{MgSO}_4$  y se destiló el solvente a presión reducida. El producto **37** se purificó mediante columna cromatográfica ( $\text{CHCl}_3$ : MeOH, 10: 1) y se obtuvo con un rendimiento de 73 % (193 mg).



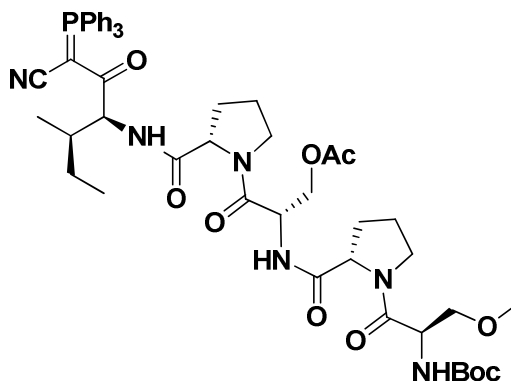
**37**: aceite,  $R_f = 0.6$  (AcOEt: metanol, 10:1);  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.43 (s, 9H<sub>23</sub>), 2.03 (m, 9H-OAc, 3,14,4,15), 2.07 (s, 2H<sub>4,15</sub>), 3.37 (s, 3H<sub>20</sub>), 3.58 (m, 4H<sub>5,16</sub>), 3.73 (m, 2H<sub>19</sub>), 4.06 (m, 1H<sub>8</sub>), 4.38 (m, 1H<sub>8</sub>), 4.55 (m, 2H<sub>2,13</sub>), 4.68 (m, 1H<sub>18</sub>), 5.03 (m, 1H<sub>7</sub>), 5.11 (d,  $J = 12$  Hz, 1H<sub>24</sub>), 5.2 (d,  $J = 12$  Hz, 1H<sub>24</sub>), 5.5 (m, 1H-NHBoc), 7.36 (m, 6H-NH,ar);  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  20.7 (C<sub>3,14</sub>), 24.7 (C<sub>10</sub>), 24.8 (C<sub>23</sub>), 28.4 (C<sub>4,15</sub>), 47.1 (C<sub>5</sub>), 47.3 (C<sub>16</sub>), 50.2 (C<sub>7</sub>), 51.7 (C<sub>18</sub>), 59.1 (C<sub>20</sub>), 59.3 (C<sub>2</sub>), 60.3 (C<sub>13</sub>), 63.3 (C<sub>8</sub>), 66.8 (C<sub>24</sub>), 72.9 (C<sub>19</sub>), 128.1, 128.2, 128.3, 135.6 (C<sub>25</sub>), 155.0 (C<sub>22</sub>), 167.3 (C<sub>12</sub>), 170.3 (C<sub>17</sub>), 170.9 (C<sub>6</sub>), 171.1 (C<sub>10</sub>), 171.3 (C<sub>1</sub>); **EMAR**  $m/z$  calculada para C<sub>31</sub>H<sub>44</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>10</sub> ((M+Na)<sup>+</sup>) 655.2950, encontrada 655.2967.

**(40)**: El compuesto **19** fue disuelto en una solución 4 M de HCl en dioxano. La mezcla de reacción fue agitada hasta desaparición del reactivo confirmada por TLC. Se destiló el solvente a presión reducida. Se obtuvo la amina **39** como una aceite amarillo el cual se utilizó en el próximo paso sin purificación adicional.

El ácido **38** (obtenido por hidrogenación del éster bencílico **37**) (120 mg, 0,22 mmol) y la amina **39** (0,24 mmol) obtenida en el paso anterior fueron disueltos en DCM (10 mL). La solución formada se enfría a 0°C y se agregó la base TEA (0,44 mmol). Por último se añade el agente acoplante HBTU (86 mg, 0,22 mmol) y se dejó la mezcla de reacción agitando por 12 hs a TA. La reacción se controló por TLC hasta desaparición del ácido **38**. Se volcó la reacción en una solución acuosa 1 M de HCl y se extrajo con DCM. Los extractos orgánicos combinados se secaron con MgSO<sub>4</sub>. Se removió el solvente a presión reducida. Se purificó el producto mediante columna cromatográfica (CHCl<sub>3</sub>: MeOH, 10:



1), obteniéndose el pentapéptido **40** (139 mg, 67 % de rendimiento) como un aceite incoloro.

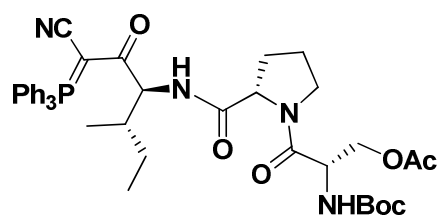


**40**: aceite,  $R_f = 0.2$  (CHCl<sub>3</sub> : Metanol, 10: 1); <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  0.86 (m, 3H), 0.95 (m, 3H), 1.2 (m, 2H), 1.45 (s, 9H), 1.75 (m, 1H), 1.89-2.07 (m, 9H), 2.23 (s, 2H), 3.33 (m, 3H), 3.57-4.10 (m, 8H), 4.5-5.6 (m, 5H), 5.68 (as, 1H), 6.50-7.22 (m, 4H), 7.5-7.6 (m, 15H); <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)  $\delta$  11.9, 17.0, 20.7, 24.8, 28.3, 38.6, 44.5, 47.2, 50.2, 59.3, 60.3, 73.0, 79.9, 122.3, 122.9 (d,  $J = 93$  Hz), 125.7 (d,  $J = 35$  Hz), 126.6 (d,  $J = 42$  Hz), 132.4, 133.7, 134.12 (d,  $J = 11$  Hz), 155.2, 161.5, 166.3, 167.5, 170.1, 170.9, 171.0, 177.0, 193.9 ( $J = 4$  Hz); **EMAR** calculada para C<sub>50</sub>H<sub>63</sub>N<sub>6</sub>O<sub>10</sub>PNa ((M+Na)<sup>+</sup>) 961.4646, observada 961.4079.

**(41)**: el compuesto **19'** fue disuelto en una solución 4 M de HCl en dioxano. La mezcla de reacción fue agitada hasta desaparición del reactivo confirmada por TLC. Se destiló el solvente a presión reducida. Se obtuvo la amina **39'** como una aceite amarillo el cual se utilizó en el próximo paso sin purificación adicional.

El ácido **26** (0,61 mmol) y la amina **39'** (0,68 mmol) obtenida en el paso anterior fueron disueltos en DCM (10 mL). La solución formada se enfría a 0°C y se agregó la base TEA (0,19 mL, 0,67 mmol). Por último se añade el agente acoplante HBTU (254 mg, 0,67 mmol) y se dejó la mezcla de reacción agitando por 12 hs a TA. La reacción se controló por TLC hasta desaparición del ácido **26**. Se volcó la reacción en una solución acuosa 1 M de HCl y se extrajo con DCM. Los extractos orgánicos combinados se secaron con MgSO<sub>4</sub>. Se removió el solvente a presión reducida. Se purificó el producto mediante columna

cromatográfica (CHCl<sub>3</sub>: MeOH, 10: 1), obteniéndose el tripéptido **41** (450 mg, 88 % de rendimiento) como un aceite incoloro.

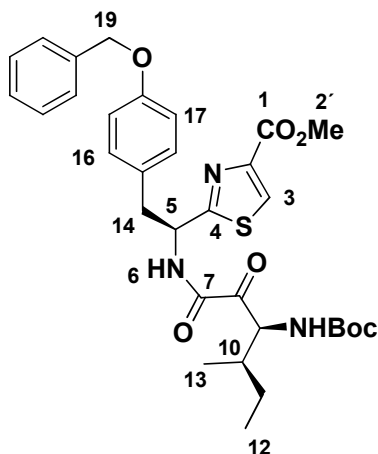


**41**: aceite,  $R_f = 0.4$  (CHCl<sub>3</sub> : Metanol, 10: 1); <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  0.81 (m, 3H<sub>Ile</sub>), 0.97 (m, 3H<sub>Ile</sub>), 1.45 (s, 9H<sub>Boc</sub>), 1.75 (m, 2H<sub>Ile</sub>), 1.97 (m, 1H<sub>Ile</sub>), 2.03 (s, 3H<sub>OAc</sub>), 2.12-2.22 (m, 4H<sub>Pro</sub>), 3.65 (m, 1H<sub>Pro</sub>), 3.79 (m, 1H<sub>Pro</sub>), 3.9 (m, 1H<sub>Ser</sub>), 4.12 (m, 1H<sub>Ser</sub>), 4.53 (m, 1H <sub>$\alpha$ -Pro</sub>), 4.77 (m, 1H <sub>$\alpha$ -Ser</sub>), 5.03 (m, 1H <sub>$\alpha$ -Ile</sub>), 5.40 (m, NHBoc), 6.88 (m, 1H<sub>NH</sub>), 7.5-7.6 (m, 15H<sub>ar</sub>); <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)  $\delta$  11.7 (Ile), 16.1 (Ile), 20.7 (Ile), 23.8 (Pro), 25.1 (Ile), 28.1 (Pro), 28.3 (Boc), 38.7 (Ac), 47.5 (Pro), 50.8 ( $\alpha$ -Ser), 59.5 ( $\alpha$ -Ile), 60.4 ( $\alpha$ -Pro), 64.4 (Ser), 79.9 (Boc), 120.8, 122.9 ( $J = 93.0$  Hz), 129.1 ( $J = 10.0$  Hz), 133.2 ( $J = 2.9$  Hz), 133.6 ( $J = 10.3$ ), 155.2 (Boc), 168.7, 170.1, 170.7, 193.9 ( $J = 4$  Hz); **EMAR**  $m/z$  calculada para C<sub>41</sub>H<sub>49</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>7</sub>P ((M+Na)<sup>+</sup>) 763.3231, encontrada 763.3268.

**2-((S)-2-(4-(benciloxi)fenil)-1-((3S,4R)-3-(tert-butoxicarbonilamino)-4-metil-2-oxohexanamido)etil)tiazol-4-carboxilato de metilo (44)**: el éster tiazólico **9** (0,3 mmol) fue disuelto en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (6 mL) y TFA (2 mL) fue agregado a 0°C. La mezcla de reacción fue agitada hasta desaparición del reactivo confirmada por TLC. Se destiló el solvente a presión reducida. Se disolvió la mezcla en una solución acuosa saturada en bicarbonato de sodio y se extrajo con AcOEt. Se secó la capa orgánica con sulfato de magnesio y se destiló el solvente a presión reducida. Se obtuvo la amina libre como una aceite amarillo la cual se utilizó en el próximo paso sin purificación adicional.

Una solución del cianoiluro **19** (152 mg, 0,3 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4 mL) fue ozonolizada a -78°C hasta consumo del reactivo confirmado por TLC o hasta que la solución permanece de color azul. Después de purgar la solución con nitrógeno, se agregó la amina (108 mg, 0,3 mmol) a -78°C. La mezcla se agitó por 2 h a la misma temperatura. Se deja llegar la mezcla a temperatura ambiente, se agregó HCl 1M y se extrajo con AcOEt. Se secaron las capas

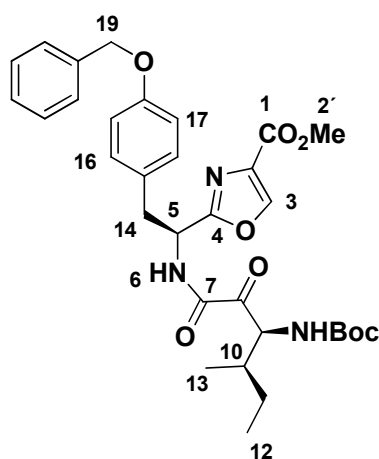
orgánicas combinadas y se destiló el solvente a presión reducida. Se purificó el producto por cromatográfica en columna (AcOEt/ *n*-hexano, 1: 1,5), obteniéndose el producto **44** como un aceite amarillento (13 mg, 65% de rendimiento).



**44**:  $R_f = 0.7$  (AcOEt/ *n*-hexano, 1: 1.5);  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  0.66 (d,  $J = 7.0$  Hz,  $3\text{H}_{13}$ ), 0.97 (m,  $3\text{H}_{12}$ ), 1.29 (m,  $1\text{H}_{11}$ ), 1.45 (m,  $10\text{H}_{\text{Boc},11}$ ), 1.91 (m,  $1\text{H}_{10}$ ), 3.30 (m,  $2\text{H}_{14}$ ), 3.95 (s,  $3\text{H}_{2'}$ ), 5.05 (d,  $J = 10.6$  Hz,  $2\text{H}_{19}$ ), 5.2 (m,  $2\text{H}_{\text{NHBoc},9}$ ), 5.50 (m,  $1\text{H}_5$ ), 6.88 (d,  $2\text{H}_{17}$ ,  $J = 8.6$  Hz), 7.01 (d,  $2\text{H}_{16}$ ,  $J = 8.6$  Hz), 7.4 (m,  $6\text{H}_{\text{NH},\text{Ar}}$ ), 8.07 (s,  $1\text{H}_3$ );  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  12.1 ( $\text{C}_{12}$ ), 14.1 ( $\text{C}_{13}$ ), 28.4 (Boc), 30.1 ( $\text{C}_{11}$ ), 36.7 ( $\text{C}_{10}$ ), 40.8 ( $\text{C}_{14}$ ), 52.8 ( $\text{C}_5$ ), 52.9 ( $\text{C}_{2'}$ ), 58.7 ( $\text{C}_9$ ), 70.5 ( $\text{C}_{19}$ ), 80.4 ( $\text{C}_{\text{Boc}}$ ), 115.5 ( $\text{C}_{17}$ ), 127.8, 128.1, 128.4 ( $\text{C}_3$ ), 129.4, 130.8, 134.0 ( $\text{C}_{16}$ ), 137.4 (C), 147.5, 154.0 (C), 158.4 ( $\text{C}_{18}$ ), 159.0 ( $\text{C}_7$ ), 162.0 ( $\text{C}_1$ ), 170.2 ( $\text{C}_4$ ), 194.5 ( $\text{C}_8$ ); **EMAR** calculada para  $\text{C}_{32}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_7\text{SNa}$  ( $(\text{M}+\text{Na})^+$ ) 632.2401, observada 632.2406.

**2-((S)-2-(4-(benziloxi)fenil)-1-((3S,4S)-3-(tert-butoxicarbonilamino)-4-metil-2-oxohexanamido)etil)oxazol-4-carboxilato de metilo (45)**: el éster oxazólico **7** (100 mg, 0,22 mmol) fue disuelto en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 mL) y TFA (2 mL) fue agregado a  $0^\circ\text{C}$ . La mezcla de reacción fue agitada hasta desaparición del reactivo confirmada por TLC. Se destiló el solvente a presión reducida. Se disolvió la mezcla en una solución acuosa saturada en bicarbonato de sodio y se extrajo con AcOEt. Se secó la capa orgánica con sulfato de magnesio y se

destiló el solvente a presión reducida. Se obtuvo la amina libre como una aceite amarillo el cual se utilizó en el próximo paso sin purificación adicional (103 mg). Una solución del cianoiluro **19'** (112 mg, 0,22 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 mL) fue ozonolizada a -78°C hasta consumo del reactivo confirmado por TLC o hasta que la solución permanece de color azul. Después de purgar la solución con nitrógeno, se agregó la amina (112 mg, 0,22 mmol) a -78°C. La mezcla se agitó por 2 h a la misma temperatura. Se deja llegar la mezcla a temperatura ambiente, se agregó HCl 1M y se extrajo con AcOEt. Se secaron las capas orgánicas combinadas y se destiló el solvente a presión reducida. Se purificó el producto por cromatográfica en columna (AcOEt/ *n*-hexano, 1: 1), obteniéndose el producto **45** como un aceite amarillento (88 mg, 68 % de rendimiento).

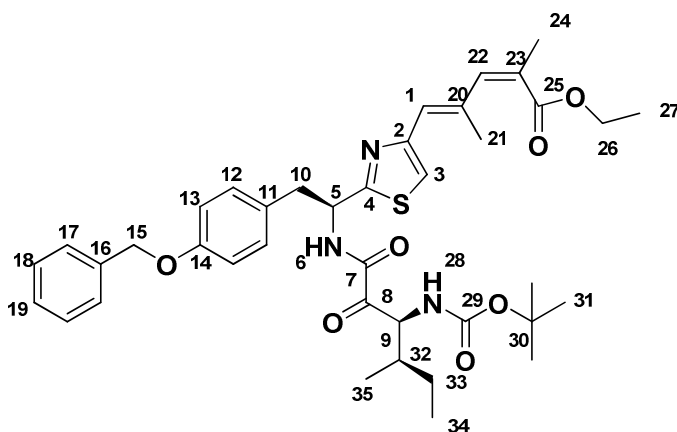


**45**: aceite,  $R_f = 0.8$  (AcOEt: *n*-hexano, 1: 1); **IR** (film) 696, 758, 1111, 1174, 1246, 1512, 1680, 2966, 3289; **<sup>1</sup>H-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  0.85 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H<sub>12</sub>), 0.94 (d,  $J = 7.8$  Hz, 3H<sub>13</sub>), 0.99 (m, 1H<sub>11</sub>), 1.23 (m, 1H<sub>11</sub>), 1.45 (s, 9H<sub>Boc</sub>), 2.06 (m, 1H<sub>10</sub>), 3.25 (m, 2H<sub>14</sub>), 3.95 (s, 3H<sub>2'</sub>), 4.98 (m, 1H<sub>9</sub>), 5.05 (s, 2H<sub>19</sub>), 5.07 (m, 1H<sub>NHBoc</sub>), 5.44 (q,  $J = 7.4$  Hz, 16.0 Hz, 1H<sub>6</sub>), 6.86 (d, 2 H<sub>17</sub>,  $J = 8.6$  Hz), 6.99 (d, 2 H<sub>16</sub>,  $J = 8.6$  Hz), 7.40 (m, 6 H<sub>NH, ar</sub>), 8.16 (s, 1H<sub>3</sub>); **<sup>13</sup>C-RMN** (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)  $\delta$  11.8 (C<sub>12</sub>), 16.5 (C<sub>13</sub>), 24.7 (C<sub>11</sub>), 28.7 (C<sub>Boc</sub>), 37.6 (C<sub>10</sub>), 39.3 (C<sub>14</sub>), 49.2 (C<sub>5</sub>), 52.7 (C<sub>2'</sub>), 60.3 (C<sub>9</sub>), 70.4 (C<sub>19</sub>), 80.3 (C<sub>Boc</sub>), 115.5 (C<sub>17</sub>), 127.8, 128.4, 129.0, 130.6 (C<sub>16</sub>), 133.9 (C<sub>2</sub>), 137.3, 144.5 (C<sub>3</sub>), 154.1 (C<sub>Boc</sub>), 158.5 (C<sub>18</sub>), 159.1 (C<sub>7</sub>), 161.7 (C<sub>1</sub>), 163.5 (C<sub>4</sub>), 196.8 (C<sub>8</sub>); **EMAR** calculada para C<sub>32</sub>H<sub>39</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>8</sub> ((M+Na)<sup>+</sup>) 616.2629, observada 616.2653.

**(2Z,4E)-5-(2-((S)-2-(4-(benciloxi)fenil)-1-((3S,4R)-3-(tert-butoxicarbonilamino)-4-metil-2-oxohexanamido)etil)tiazol-4-il)-2,4-**

**dimetilpenta-2,4-dienoato de etilo (46):** el compuesto **1** (128 mg, 0.23 mmol) fue disuelto en DCM (2 mL) y TFA (1 mL) fue agregado a 0°C. La mezcla de reacción fue agitada hasta desaparición del reactivo confirmada por TLC. Se destiló el solvente a presión reducida. Se disolvió la mezcla en una solución acuosa saturada en bicarbonato de sodio y se extrajo con AcOEt. Se secó la capa orgánica con sulfato de magnesio y se destiló el solvente a presión reducida. Se obtuvo la amina libre como un aceite amarillo el cual se utilizó en el próximo paso sin purificación adicional (103 mg).

Una solución de **19** (126 mg, 0.24 mmol) en DCM (5 mL) fue ozonolizada a -78°C hasta consumo del reactivo confirmado por TLC o hasta que la solución permanece de color azul. Después de purgar la solución con nitrógeno, se agregó la amina (103 mg, 0.22 mmol) a -78°C. La mezcla se agitó por 2 h a la misma temperatura. Se deja llegar la mezcla a temperatura ambiente, se agregó HCl 1M y se extrajo con AcOEt. Se secaron las capas orgánicas combinadas y se destiló el solvente a presión reducida. Se purificó el producto por cromatográfica en columna (AcOEt/ *n*-hexano, 1: 2), obteniéndose el producto **46** (mezcla de isómeros *Z/E*) como un aceite amarillento (76 mg, 49 %).



**46:**  $R_f = 0.45$  (AcOEt/ *n*-hexano, 1: 2); IR (film) 2926, 1716, 1699, 1508, 1248, 1016, 748;  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  0.68 (d, 3  $\text{H}_{35}$ ,  $J = 6.9$  Hz), 1.00 (t, 3  $\text{H}_{34}$ ,  $J = 6.9$  Hz), 1.31 (m, 5  $\text{H}_{33, 27}$ ), 1.44 (s, 9  $\text{H}_{31}$ ), 1.96 (m, 1  $\text{H}_{32}$ ), 2.06 (s, 3

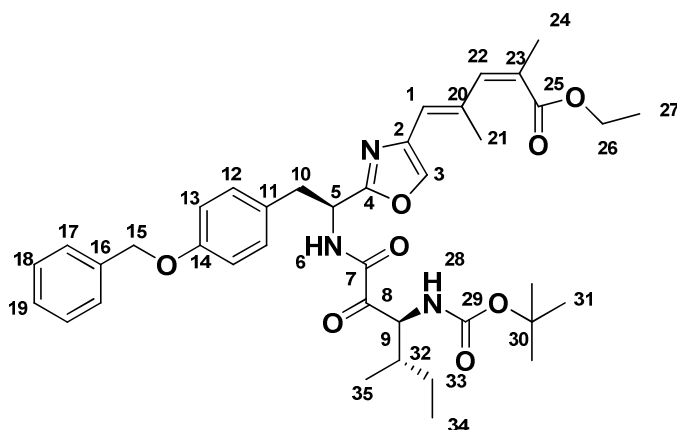
H<sub>24</sub>), 2.20 (s, 3 H<sub>21</sub>), 3.29 (m, 2 H<sub>10</sub>), 4.23 (q, 2 H<sub>26</sub>, *J* = 7.2 Hz), 5.03 (m, 3 H<sub>28, 15</sub>), 5.20 (m, 1 H<sub>9</sub>), 5.50 (m, 1 H<sub>5</sub>), 6.31 (s, 1 H<sub>22</sub>), 6.50 (s, 1 H<sub>1</sub>), 6.88 (d, 2 H<sub>13</sub>, *J* = 8.7 Hz), 7.03 (m, 3 H<sub>12, 3</sub>), 7.42 (m, 5 H<sub>17, 18, 19</sub>), 7.67 (m, 1 H<sub>6</sub>); **<sup>13</sup>C-NMR** (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ 12.0 (C<sub>34</sub>), 14.1 (C<sub>35</sub>), 14.5 (C<sub>27</sub>), 17.8 (C<sub>21</sub>), 22.0 (C<sub>24</sub>), 28.6 (C<sub>31</sub>), 30.0 (C<sub>33</sub>), 36.7 (C<sub>32</sub>), 41.4 (C<sub>10</sub>), 52.5 (C<sub>5</sub>), 58.8 (C<sub>9</sub>), 61.1 (C<sub>26</sub>), 70.4 (C<sub>15</sub>), 79.9 (C<sub>30</sub>), 115.3 (C<sub>13</sub>), 117.5 (C<sub>3</sub>), 124.2 (C<sub>1</sub>), 127.8 (C<sub>18</sub>), 128.3 (C<sub>19</sub>), 128.9 (C<sub>17</sub>), 129.3 (C<sub>11</sub>), 129.6 (C<sub>23</sub>), 130.8 (C<sub>12</sub>), 136.4 (C<sub>20</sub>), 137.5 (C<sub>16</sub>), 137.9 (C<sub>22</sub>), 153.6 (C<sub>2</sub>), 152.4 (C<sub>29</sub>), 158.4 (C<sub>14</sub>), 167.4 (C<sub>4</sub>), 169.2 (C<sub>7</sub>), 170.2 (C<sub>25</sub>), 194.5 (C<sub>8</sub>); **EMAR** *m/z* calculada para C<sub>39</sub>H<sub>49</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>S (M<sup>+</sup>) 703.3291, encontrada 703.3246.

**(2Z,4E)-5-(2-((S)-2-(4-(benciloxi)fenil)-1-((3S,4S)-3-(tert-**

**butoxicarbonilamino)-4-metil-2-oxohexanamido)etil)oxazol-4-il)-2,4-**

**dimetilpenta-2,4-dienoato de etilo (47)**: el compuesto **2** (0.36 mmol) fue disuelto en DCM (2 mL) y TFA (1 mL) fue agregado a 0°C. La mezcla de reacción fue agitada hasta desaparición del reactivo confirmada por TLC. Se destiló el solvente a presión reducida. Se disolvió la mezcla en una solución acuosa saturada en bicarbonato de sodio y se extrajo con AcOEt. Se secó la capa orgánica con sulfato de magnesio y se destiló el solvente a presión reducida. Se obtuvo la amina libre como un aceite amarillo el cual se utilizó en el próximo paso sin purificación adicional.

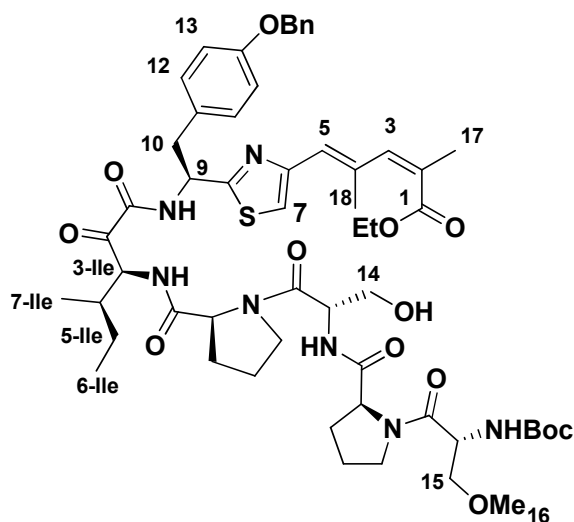
Una solución de **19'** (238 mg, 0.46 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 mL) fue ozonolizada a -78°C hasta consumo del reactivo confirmado por TLC o hasta que la solución permanece de color azul. Después de purgar la solución con nitrógeno, se agregó la amina (159 mg, 0.36 mmol) a -78°C. La mezcla se agitó por 2 h a la misma temperatura. Se deja llegar la mezcla a temperatura ambiente, se agregó HCl 1M y se extrajo con AcOEt. Se secaron las capas orgánicas combinadas y se destiló el solvente a presión reducida. Se purificó el producto por cromatográfica en columna (AcOEt/ *n*-hexano, 1: 4), obteniéndose el producto **47** (mezcla de isómeros *Z/E*) como un aceite amarillento (1,14 g, 58 %).



**47**: aceite,  $R_f = 0.4$  (AcOEt: *n*-hexano, 1: 4); **IR** (film) 1514, 1242, 1172, 1115, 1020, 698;  **$^1\text{H-RMN}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  0.85 (t, 3H<sub>34</sub>,  $J = 7.4$  Hz), 0.90 (d, 3H<sub>35</sub>,  $J = 6.7$  Hz), 0.95 (m, 1H<sub>33</sub>), 1.31 (m, 4H<sub>33,27</sub>), 1.45 (s, 9H<sub>31</sub>), 2.04 (m, 7H<sub>32,24,21</sub>), 3.21 (m, 2H<sub>10</sub>), 4.22 (q, 2H<sub>26</sub>,  $J = 4$  Hz, 12 Hz), 5.01 (m, 4 H<sub>9,NHBoc,15</sub>), 5.4 (m, 1H<sub>5</sub>), 6.25 (s, 2H<sub>1,22</sub>), 6.86 (d, 2 H<sub>13</sub>,  $J = 8.0$  Hz), 6.96 (d, 2 H<sub>12</sub>,  $J = 8.0$  Hz), 7.43 (m, 6H<sub>ar, NH</sub>), 7.54 (s, 1H<sub>3</sub>);  **$^{13}\text{C-RMN}$**  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  11.4 (C<sub>34</sub>), 14.1 (C<sub>27</sub>), 16.1 (C<sub>35</sub>), 17.6 (C<sub>21</sub>), 21.6 (C<sub>24</sub>), 24.3 (C<sub>33</sub>), 28.3 (C<sub>31</sub>), 37.3 (C<sub>32</sub>), 38.8 (C<sub>10</sub>), 48.9 (C<sub>5</sub>), 60.0 (C<sub>9</sub>), 60.7 (C<sub>26</sub>), 70.0 (C<sub>15</sub>), 80.4 (C<sub>30</sub>), 114.9 (C<sub>13</sub>), 120.4 (C<sub>1</sub>), 127.4, 127.6, 128.0, 128.6, 129.2, 130.7 (C<sub>12</sub>), 136.4, 136.6, 136.9 (C<sub>3</sub>), 137.3 (C<sub>22</sub>), 138.5, 154.0 (C<sub>30</sub>), 158.4 (C<sub>14</sub>), 159.1 (C<sub>7</sub>), 161.6 (C<sub>4</sub>), 170.0 (C<sub>25</sub>), 196.6 (C<sub>8</sub>); **EMAR**  $m/z$  calculada para C<sub>39</sub>H<sub>49</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>8</sub> ((M+Na)<sup>+</sup>) 688.3592, encontrada 688.3606.

**(2Z,4E)-5-(2-((S)-2-(4-(benciloxi)fenil)-1-((3S,4R)-3-((S)-1-((S)-2-((S)-1-((R)-2-(tert)butoxicarbonilamino)-3-metoxipropanoil)pirrolidin-2-carboxamido)-3-hidroxiopropanoil)pirrolidin-2-carboxamido)-4-metil-2-oxohexanamido)etil)tiazol-4-il)-2,4-dimetilpenta-2,4-dienoato de etilo (48)**: el compuesto **46** (0,025 mmol) se trató con solución 4 M de HCl en dioxanos. La mezcla de reacción fue agitada hasta desaparición del reactivo confirmada por TLC. Se destiló el solvente a presión reducida y el clorhidrato obtenido se utilizó en el siguiente paso sin purificación adicional. Se disolvió la amina (0,025 mmol) obtenida en el paso anterior y el ácido (obtenido por hidrogenación del éster **32**) (8 mg, 0,028 mmol) en DCM (5 mL). Se enfrió la mezcla a 0°C y se agregó TEA (0,01 mL, 0,05 mmol). Se añadió

HBTU (11 mg, 0,03 mmol) y se dejó la reacción agitando a TA durante toda una noche. Se volcó la reacción en solución acuosa 1 M de HCl y se extrajo con DCM. Se secó la orgánica con MgSO<sub>4</sub> y se destiló el solvente a presión reducida. El producto **48** se purificó mediante columna cromatográfica (CHCl<sub>3</sub>: MeOH, 10: 1) y se obtuvo con un rendimiento de 66 % (13,2 mg).

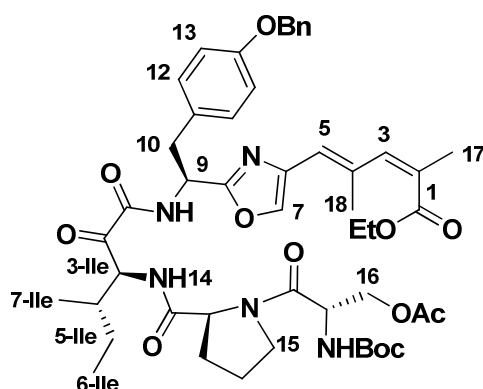


**48**: aceite,  $R_f = 0.4$  (AcOEt: metanol, 10:1); <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  0.67 (m, 3H<sub>7-Ile</sub>), 0.92 (m, 3H<sub>6-Ile</sub>), 1.1 (m, 1H<sub>5-Ile</sub>), 1.26 (m, 3H<sub>Et</sub>), 1.32 (m, 1H<sub>5-Ile</sub>), 1.42 (s, 9H<sub>Boc</sub>), 1.67-2.1 (m, 9H<sub>Pro</sub>, 4-Ile), 2.02 (s, 3H<sub>17</sub>), 2.14 (s, 3H<sub>18</sub>), 3.22 (m, 2H<sub>10</sub>), 3.31 (s, 3H<sub>16</sub>), 3.46-3.82 (m, 8H<sub>Ser,Pro</sub>), 4.19 (m, 2H<sub>Et</sub>), 4.44 (m, 1H <sub>$\alpha$ -Pro</sub>), 4.62 (m, 2H <sub>$\alpha$ -Pro</sub>,  $\alpha$ -D-Ser), 4.84 (m, 1H <sub>$\alpha$ -Ser</sub>), 4.99 (s, 2H<sub>-OCH<sub>2</sub>Bn</sub>), 5.32 (m, 1H<sub>NHBoc</sub>), 5.32 (m, 1H <sub>$\alpha$ -Ile</sub>), 5.45 (m, 1H <sub>$\alpha$ -Tyr</sub>), 6.27 (s, 1H<sub>3</sub>), 6.47 (s, 1H<sub>5</sub>), 6.85 (m, 2H<sub>13</sub>), 7.01 (m, 3H<sub>12</sub>, 7), 7.16-7.39 (m, 8H<sub>ar</sub>, NH); <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)  $\delta$  11.7 (C<sub>6-Ile</sub>), 14.1 (C<sub>7-Ile</sub>), 14.2 (-OEt), 17.4 (C<sub>18</sub>), 21.7 (C<sub>17</sub>), 25.0 (C<sub>5-Ile</sub>), 25.6 (C<sub>Pro</sub>), 28.3 (Boc), 40.1 (C<sub>10</sub>), 47.5 (C<sub>Pro</sub>), 49.1 (C<sub>Pro</sub>), 51.9 (C <sub>$\alpha$ -D-Ser</sub>), 53.1 (C<sub>9</sub>), 53.2 (C <sub>$\alpha$ -L-Ser</sub>), 57.4 (C<sub>3-Ile</sub>), 59.0 (C<sub>16</sub>), 59.8 (C <sub>$\alpha$ -Pro</sub>), 60.2 ( $\alpha$ -Pro), 60.5 (-OEt), 63.2 (C<sub>14</sub>), 69.5 (-OCH<sub>2</sub>Bn), 72.2 (C<sub>15</sub>), 81.2 (Boc), 114.7 (C<sub>13</sub>), 117.2 (C<sub>7</sub>), 123.8 (C<sub>5</sub>), 127.5, 128.0, 128.6, 130.1 (C<sub>12</sub>), 137.1 (C<sub>3</sub>), 153.5 (Boc), 156.9, 157.8, 170.2, 171.3, 197.8 (C<sub>2-Ile</sub>); **EMAR** calculada para C<sub>56</sub>H<sub>75</sub>N<sub>7</sub>O<sub>13</sub>SNa ((M+Na)<sup>+</sup>) 1108.5036, observada 1108.4997; calculada para ((M+H)<sup>+</sup>) 1086.5222, observada 1086.5101.



**(2Z,4E)-5-(2-((S)-1-((3S,4S)-3-((S)-1-((S)-3-acetoxi-2-(*tert*-butoxicarbonilamino)propanoil)pirrolidin-2-carboxamido)-4-metil-2-oxohexanamido)-2-(4-(benciloxi)fenil)etil)oxazol-4-il)-2,4-dimetilpenta-2,4-dienoato de etilo (49):** el compuesto **47** (0,23 mmol) fue disuelto en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 mL) y TFA (1 mL) fue agregado a 0°C. La mezcla de reacción fue agitada hasta desaparición del reactivo confirmada por TLC. Se destiló el solvente a presión reducida. Se disolvió la mezcla en una solución acuosa saturada en bicarbonato de sodio y se extrajo con AcOEt. Se secó la capa orgánica con sulfato de magnesio y se destiló el solvente a presión reducida. Se obtuvo la amina libre como un aceite amarillo el cual se utilizó en el próximo paso sin purificación adicional (mg).

Una solución de **41** (206 mg, 0,28 mmol) en DCM (15 mL) fue ozonolizada a -78°C hasta consumo del reactivo confirmado por TLC o hasta que la solución permanece de color azul. Después de purgar la solución con nitrógeno, se agregó la amina obtenida anteriormente (0,23 mmol) a -78°C. La mezcla se agitó por 2 h a la misma temperatura. Se deja llegar la mezcla a temperatura ambiente, se agregó HCl 1M y se extrajo con AcOEt. Se secaron las capas orgánicas combinadas y se destiló el solvente a presión reducida. Se purificó el producto por cromatografía en columna (CHCl<sub>3</sub>: MeOH, 10: 1), obteniéndose el producto **49** (mezcla de isómeros *Z/E*) como un aceite amarillento (80 mg, 42 %).

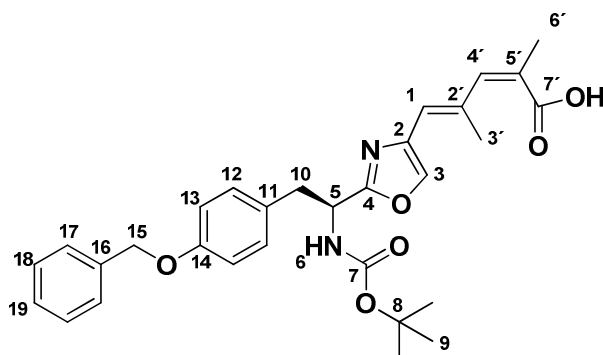


**49:** aceite,  $R_f = 0.6$  (AcOEt: metanol, 10:1); <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  0,84 (t, 3H<sub>6-Ile</sub>,  $J = 7.2$  Hz), 0.88 (d, 3H<sub>7-Ile</sub>,  $J = 6.8$  Hz), 1.02 (m, 1H<sub>5-Ile</sub>), 1.22 (m, 1H<sub>5-Ile</sub>), 1.27 (t, 3H<sub>Et</sub>,  $J = 7.2$  Hz), 1.45 (s, 9H<sub>Boc</sub>), 1.89 (m, 1H<sub>Pro</sub>), 2.0-2.2 (m, 3H<sub>4-Ile, Pro</sub>), 2.00 (s, 3H<sub>17</sub>), 2.06 (s, 3H<sub>18</sub>), 2.19 (s, 3H<sub>Ac</sub>), 2.3 (m, 1H<sub>Pro</sub>), 3.2 (m, 2H<sub>10</sub>),

3.7 (m, 2H-CH<sub>2</sub>N- (Pro)), 4.06 (dd, 1H<sub>16</sub>, *J* = 7.6, 11.1 Hz), 4.22 (q, 2 H<sub>Et</sub>, *J* = 6.0, 13.2 Hz), 4.31 (dd, 1H<sub>16</sub>, *J* = 5.2, 11.1 Hz), 4.63 (d, *J* = 10.8 Hz, 1H<sub>α-Pro</sub>), 4.80 (m, 1H<sub>α-Ser</sub>), 5.02 (s, 2H-OCH<sub>2</sub>Ar), 5.19 (dd, 1H<sub>3-Ile</sub>, *J* = 4 Hz, *J* = 7.6 Hz), 5.38 (dd, 1H<sub>9</sub>, *J* = 5.6 Hz, *J* = 14 Hz), 5.46 (d, 1H<sub>NHBoc</sub>, *J* = 8.4 Hz), 6.25 (s, 1H<sub>5</sub>), 6.27 (s, 1H<sub>3</sub>), 6.85 (d, 1H<sub>13</sub>, *J* = 8 Hz), 6.97 (d, 1H<sub>12</sub>, *J* = 8 Hz), 7.41 (m, 7H<sub>Ar, NH</sub>), 7.54 (s, 1H<sub>7</sub>); <sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ 11.4 (C<sub>6-Ile</sub>), 14.1 (C-OEt), 16.1 (C<sub>7-Ile</sub>), 17.1 (C<sub>17</sub>), 20.7 (C<sub>18</sub>), 21.7 (C<sub>5-Ile</sub>), 24.4 (C<sub>Pro</sub>), 25.1 (C<sub>Pro</sub>), 28.3 (Boc), 30.9 (Ac), 36.8 (C<sub>4-Ile</sub>), 38.8 (C<sub>10</sub>), 47.7 (C-CH<sub>2</sub>N- (Pro)), 48.8 (C<sub>9</sub>), 51.1 (C<sub>α-Ser</sub>), 58.5 (C<sub>3-Ile</sub>), 59.9 (C<sub>α-Pro</sub>), 60.8 (-OEt), 64.3 (C<sub>16</sub>), 69.9 (C-OCH<sub>2</sub>Ar), 80.2 (Boc), 114.9 (C<sub>13</sub>), 120.4 (C<sub>5</sub>), 127.5, 127.6, 128.0, 128.6, 129.2, 130.3 (C<sub>12</sub>), 136.5, 136.7, 137.0 (C<sub>7</sub>), 138.3 (C<sub>3</sub>), 155.2, 157.9, 158.6, 161.3, 169.5, 170.0, 170.4, 170.7, 196.0 (C<sub>2-Ile</sub>); **EMAR** calculada para C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ((M+H)<sup>+</sup>) 914.4546, observada 914.4536; ((M+Na)<sup>+</sup>) 936.4349.

**Ácido (2Z,4E)-5-(2-((S)-2-(4-(benciloxi)fenil)-1-(tert-butoxicarbonilamino)etil)oxazol-4-il)-2,4-dimetilpenta-2,4-dienoico (50):**

El compuesto **2** (80 mg, 0,15 mmol) se disolvió en EtOH (5 mL) y se agregó solución acuosa de NaOH 10% (0,5 mL). Se llevó la reacción a reflujo por 2 horas hasta consumo total del reactivo. Se dejó enfriar la mezcla, se destiló a presión reducida el EtOH y se llevó a pH ácido con solución acuosa 1 M de HCl. Se extrajo la capa acuosa con DCM, se secó la capa orgánica con MgSO<sub>4</sub> y se destiló el solvente a presión reducida. El producto fue purificado mediante columna cromatográfica (AcOEt/ *n*-hexano, 1: 1) obteniéndose **50** (73 mg) con un 97% de rendimiento.



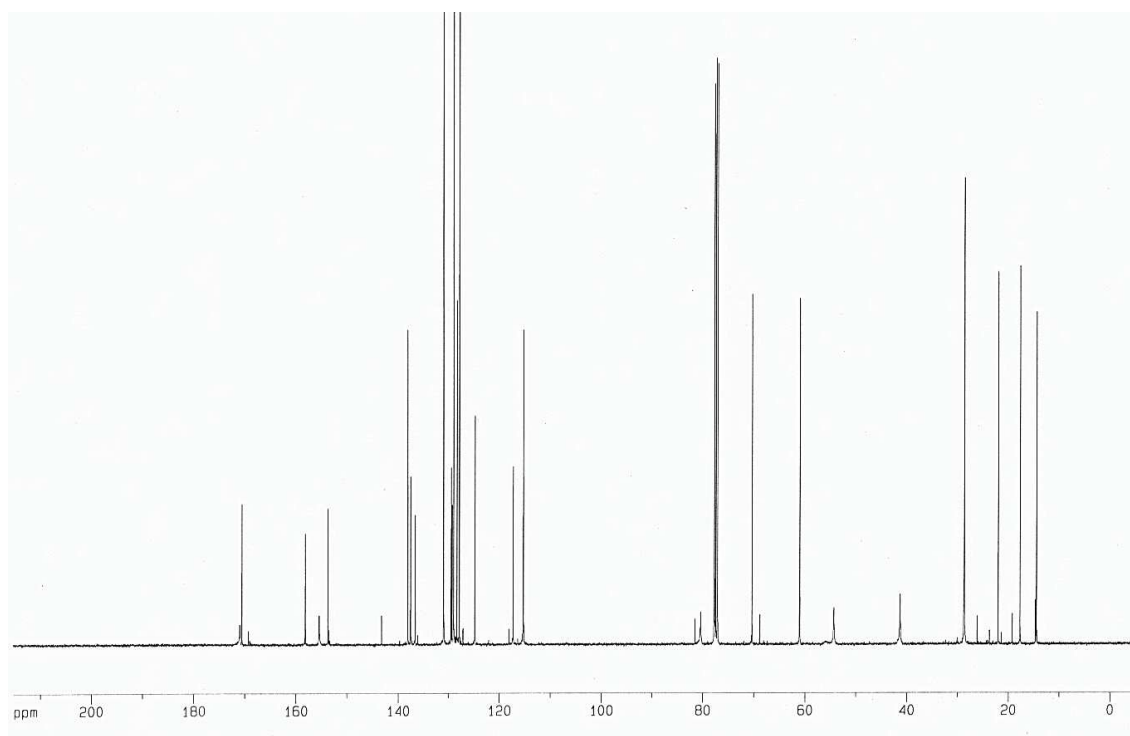
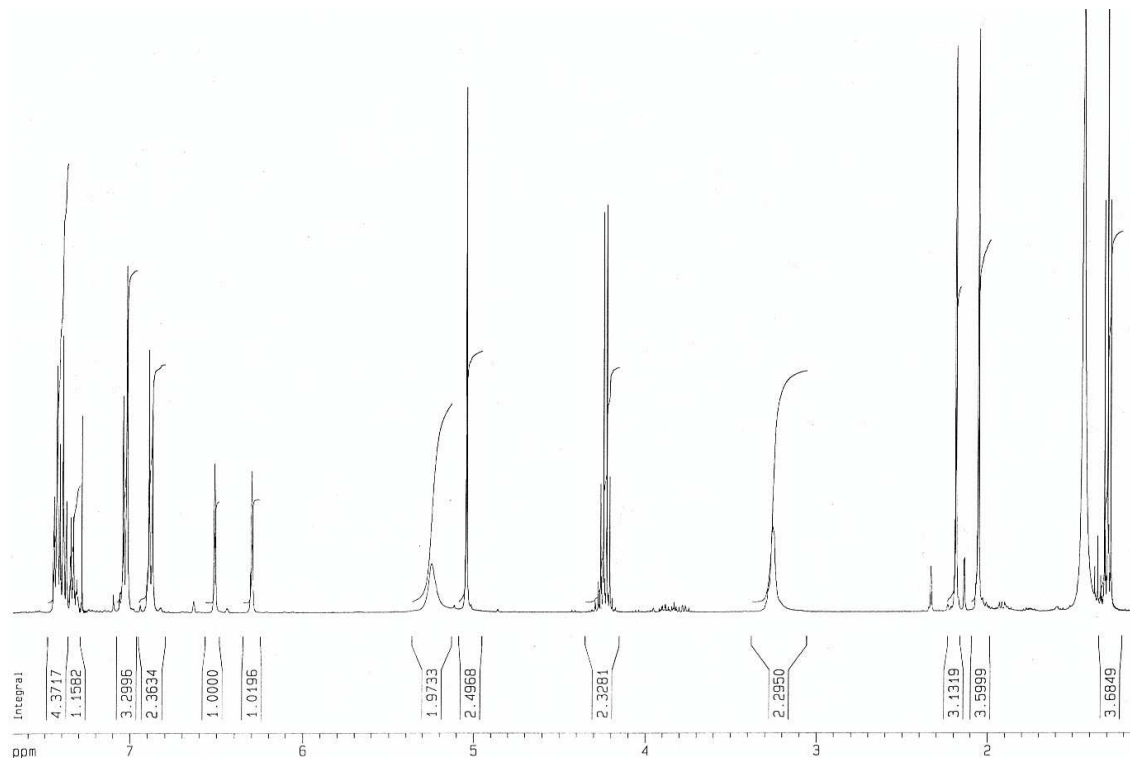
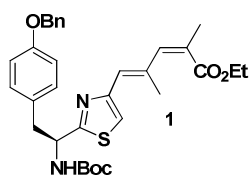
**50**: aceite,  $R_f = 0.6$  (AcOEt: *n*-hexano, 1: 1);  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.42 (s, 9H<sub>9</sub>), 2.05 (s, 3H<sub>6'</sub>), 2.07 (s, 3H<sub>3'</sub>), 3.17 (m, 2H<sub>10</sub>), 5.03 (s, 2H<sub>15</sub>), 5.14 (m, 1H<sub>5</sub>), 5.46 (m, 1H<sub>6</sub>), 6.33 (s, 1H<sub>1</sub>), 6.34 (s, 1H<sub>4'</sub>), 6.87 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H<sub>13</sub>), 6.98 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H<sub>12</sub>), 7.42 (m, 5H<sub>7</sub>), 7.53 (s, 1H<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  17.6 (C<sub>17</sub>), 21.2 (C<sub>18</sub>), 28.5 (C<sub>9</sub>), 39.8 (C<sub>10</sub>), 50.0 (C<sub>5</sub>), 69.9 (C<sub>15</sub>), 80.3 (C<sub>8</sub>), 114.1 (C<sub>13</sub>), 120.7 (C<sub>1</sub>), 127.8, 128.3, 128.7, 128.9, 130.1 (C<sub>12</sub>), 136.5, 137.7, 137.5, 138.7 (C<sub>4'</sub>), 139.5, 142.5, 155.3 (C<sub>7</sub>), 158.2, 163.3 (C<sub>4</sub>), 171.0 (C<sub>1</sub>); **EMAR** calculada para  $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{NaO}_6$  ((M+Na)<sup>+</sup>) 541.2309, observada 541.2310.

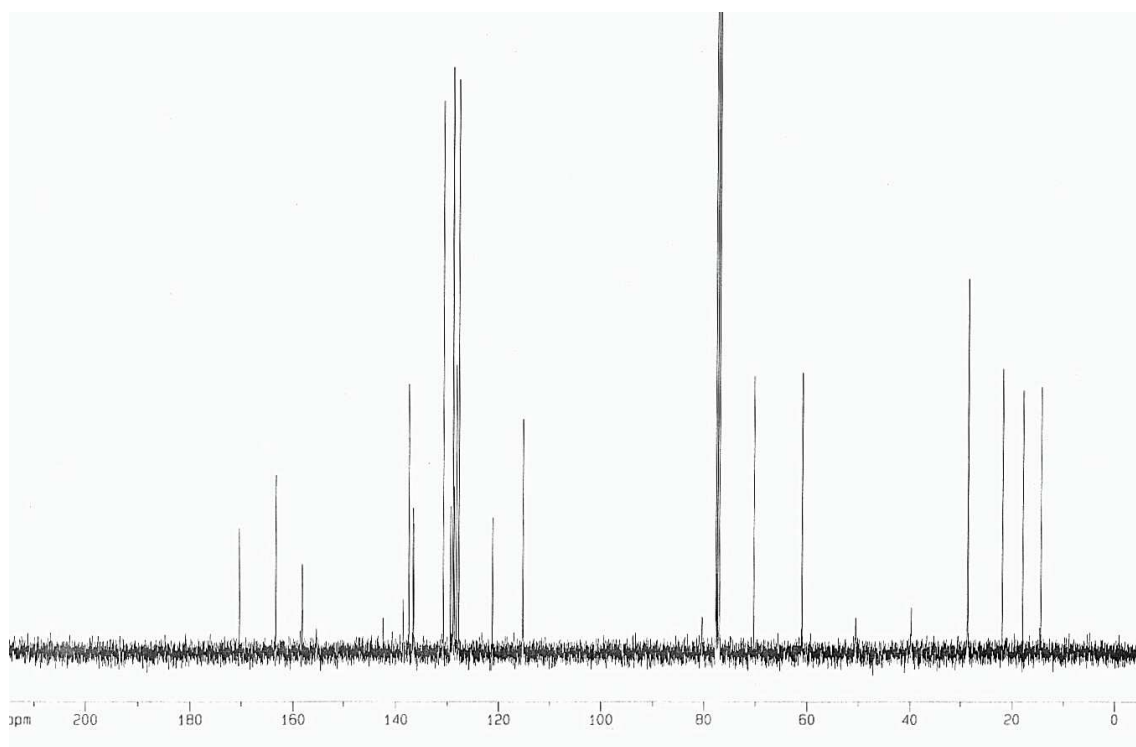
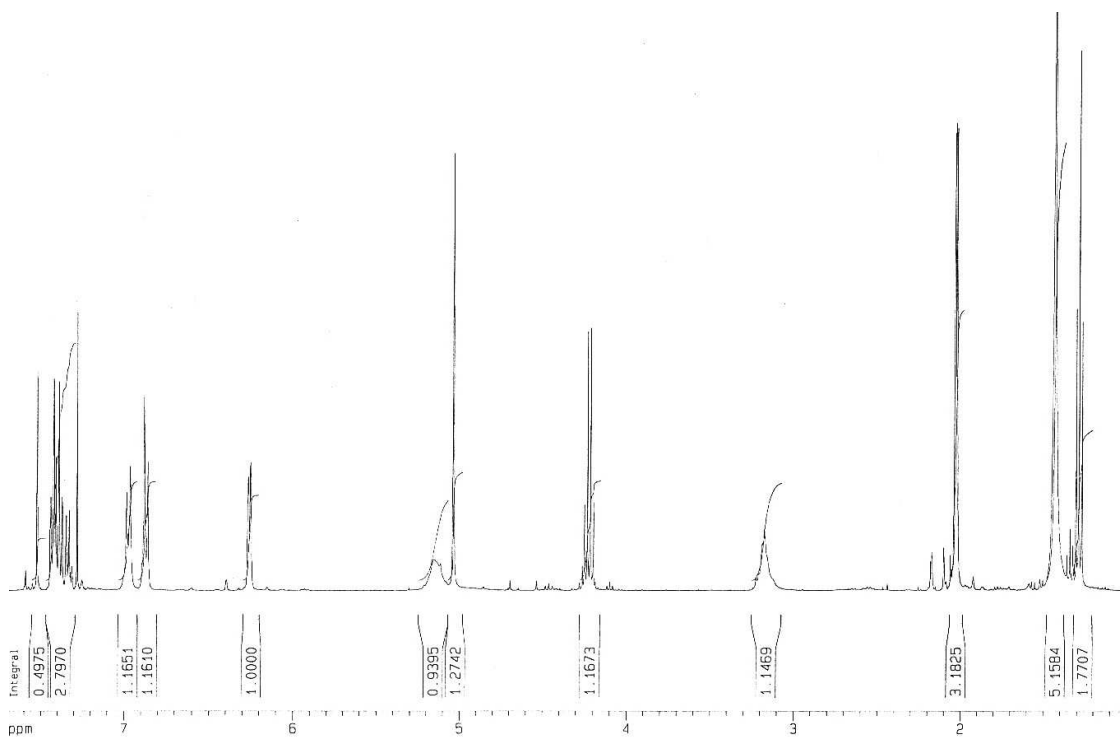
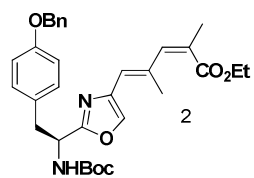
### Reacción de macrolactonización de Yamaguchi:

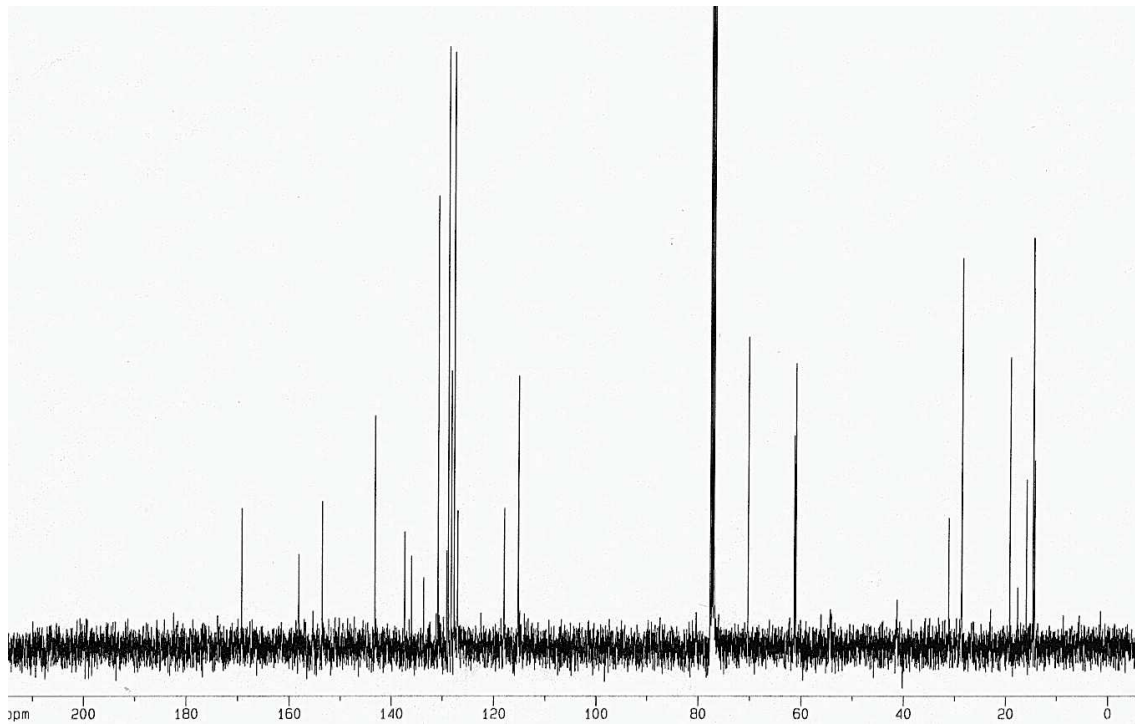
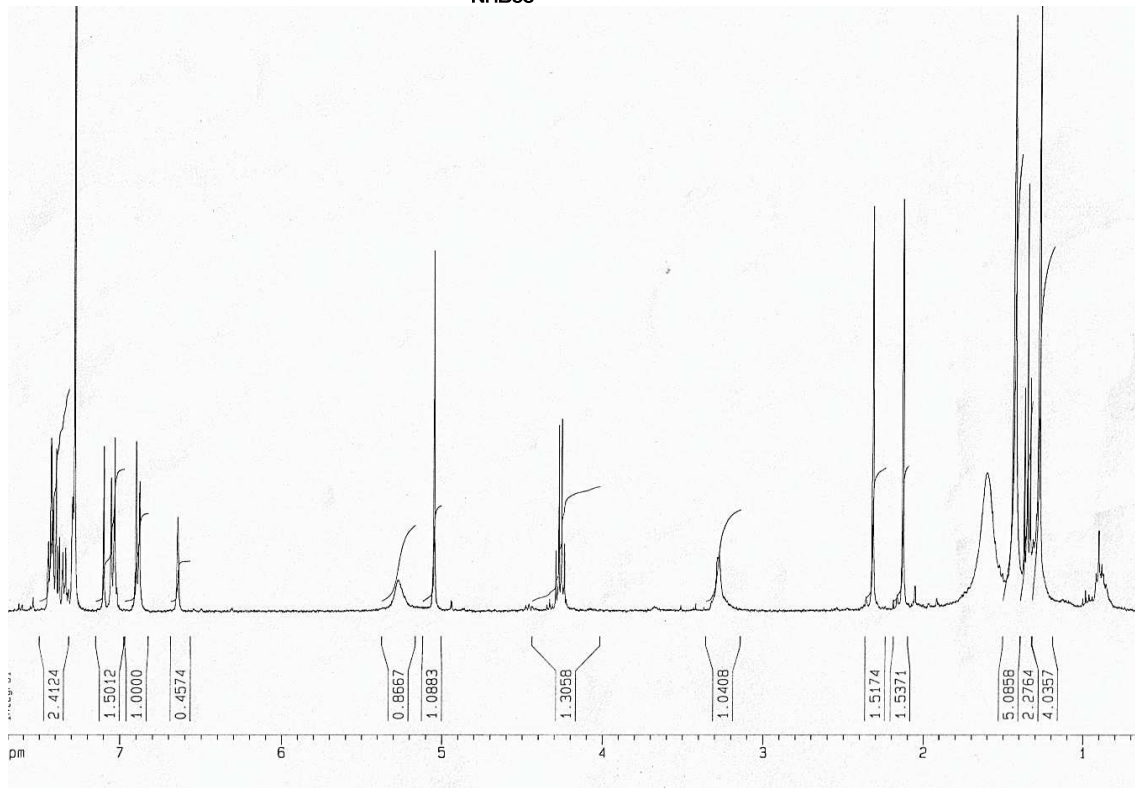
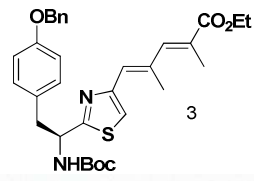
El producto **48** (50 mg, 0.046 mmol) fue disuelto en EtOH (5 mL) y se agregó solución acuosa al 10% de hidróxido de sodio (5 mL). Se llevó la mezcla de reacción a reflujo hasta desaparición del reactivo. Se destiló el EtOH a presión reducida, se llevó la solución acuosa a pH < 3 con HCl 1M y se extrajo con AcOEt. Se secó la capa orgánica con MgSO<sub>4</sub> y se destiló el solvente a presión reducida. El crudo obtenido fue utilizado en el próximo paso sin purificación adicional (ver espectro de masa, de  $^1\text{H-RMN}$  y Cosy).

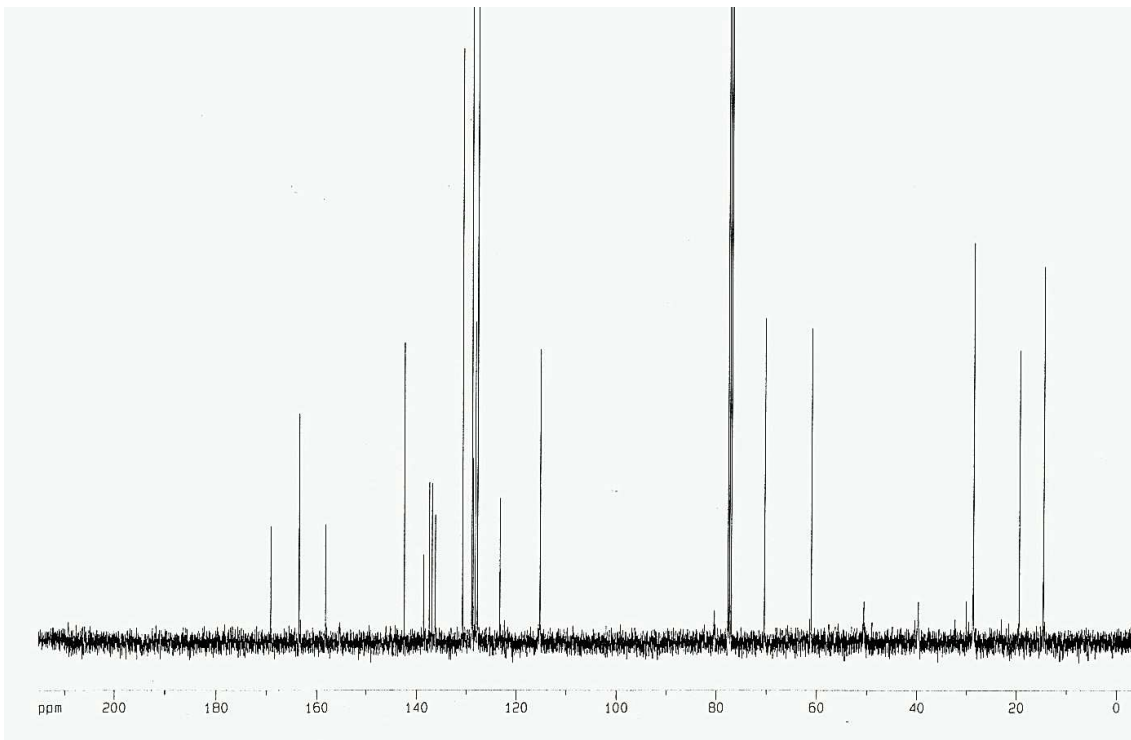
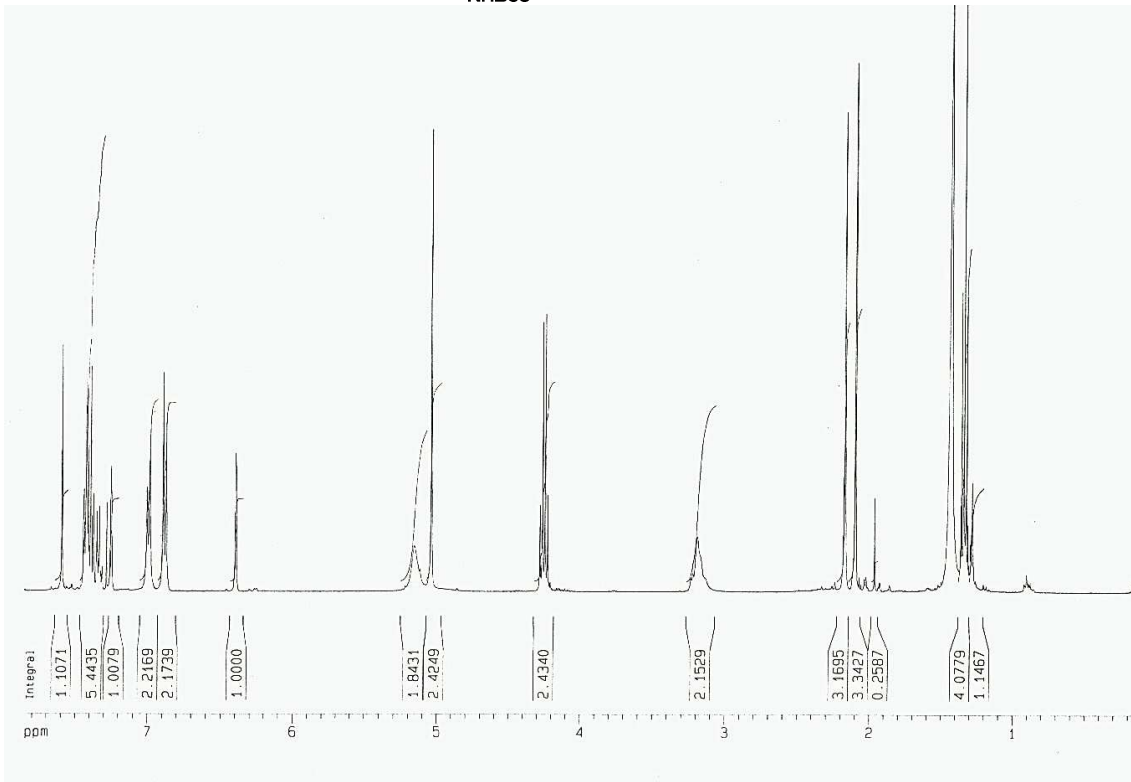
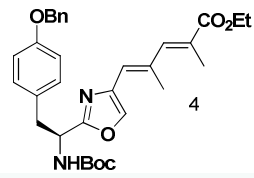
Se disolvió el crudo de la reacción anterior en Benceno seco (3 mL) a temperatura ambiente, se agregó DIPEA (0.24 mL) y el cloruro de 2,4,6-triclorobenzoílo (0.92 mmol, 0.15 mL). Se dejó reaccionar por aproximadamente 13 hs y se diluyó con benceno seco (46 mL). Se agregó 4-DMAP (222 mg, 1.8 mmol) y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente por 12 hs. Se agregó a la reacción solución acuosa saturada de NH<sub>4</sub>Cl y luego se extrajo con AcOEt. Las capas orgánicas combinadas fueron secadas con MgSO<sub>4</sub> y el solvente fue destilado a presión reducida hasta obtener un crudo de reacción, el cual contenía diferentes productos los cuales fueron aislados por cromatografía en columna y analizados por espectroscopía de RMN y masa. Del probable macrociclo se aislaron 4 mg (ver espectro de  $^1\text{H-RMN}$  y Cosy)

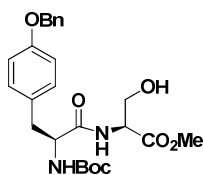
## Espectros de los productos más relevantes



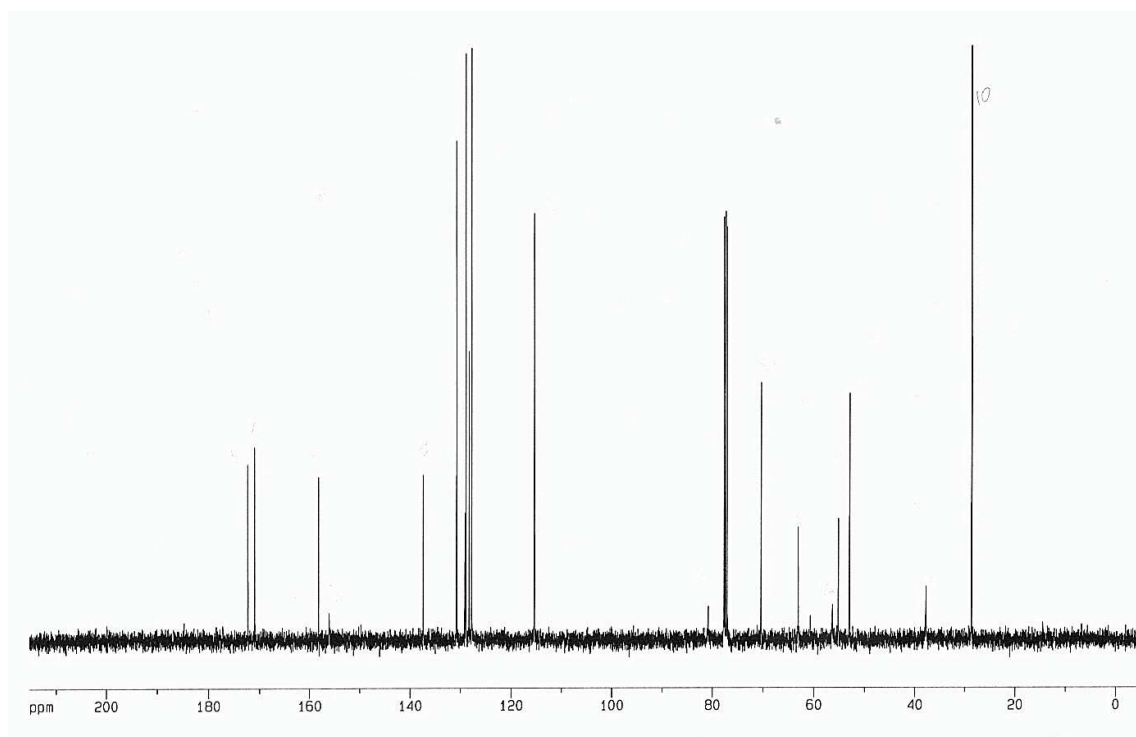
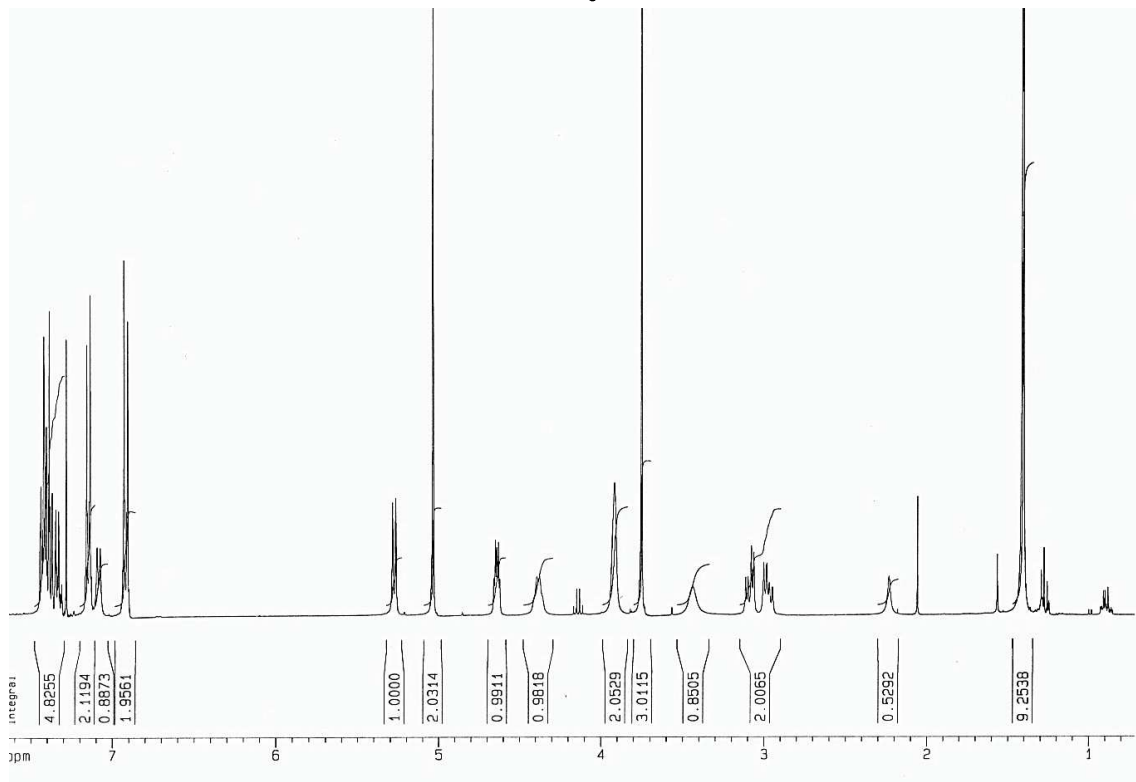




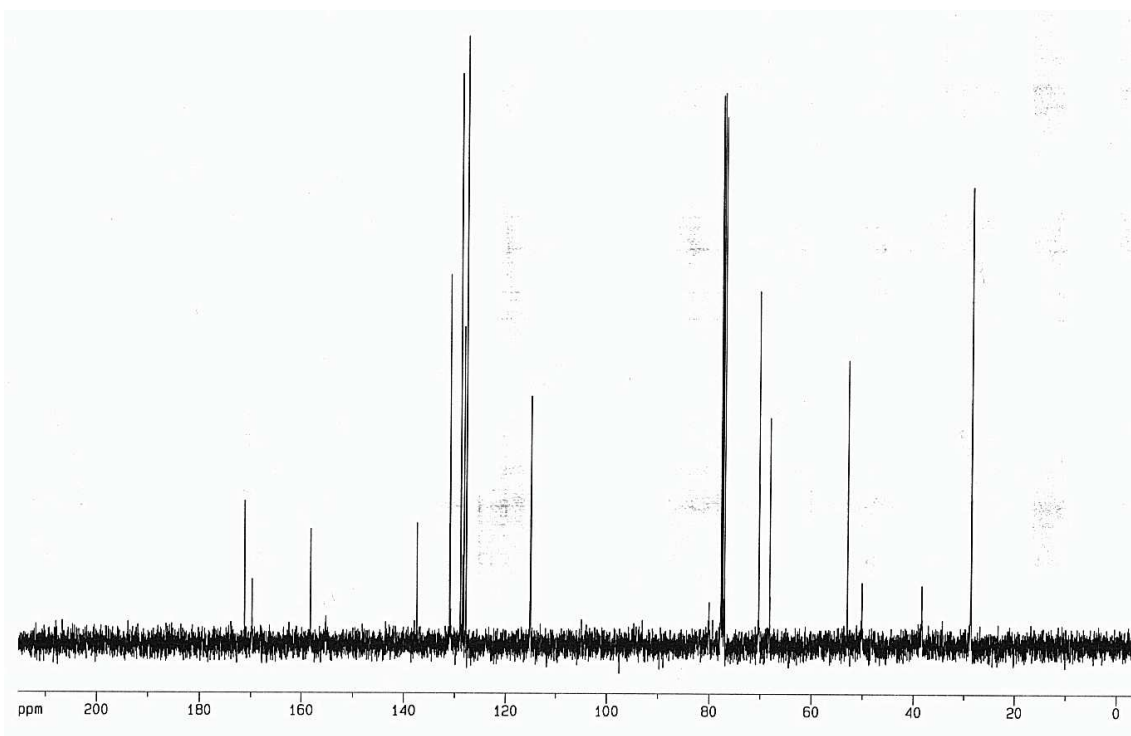
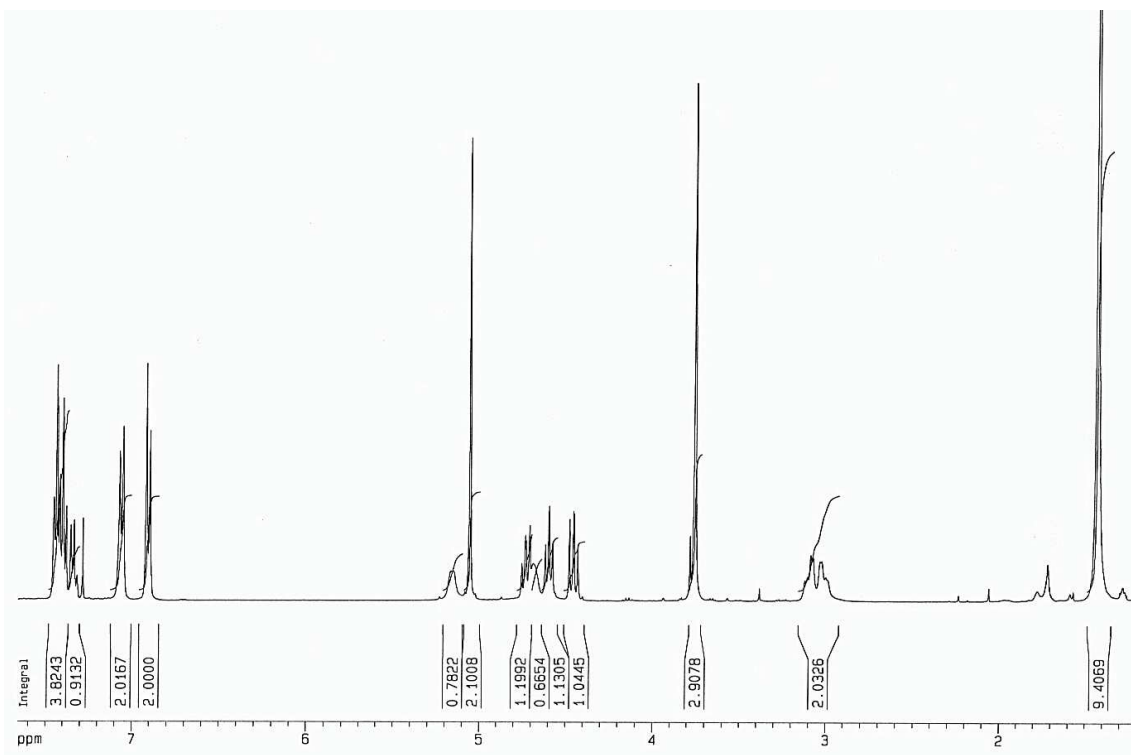
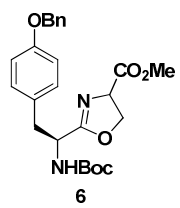


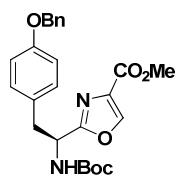


5

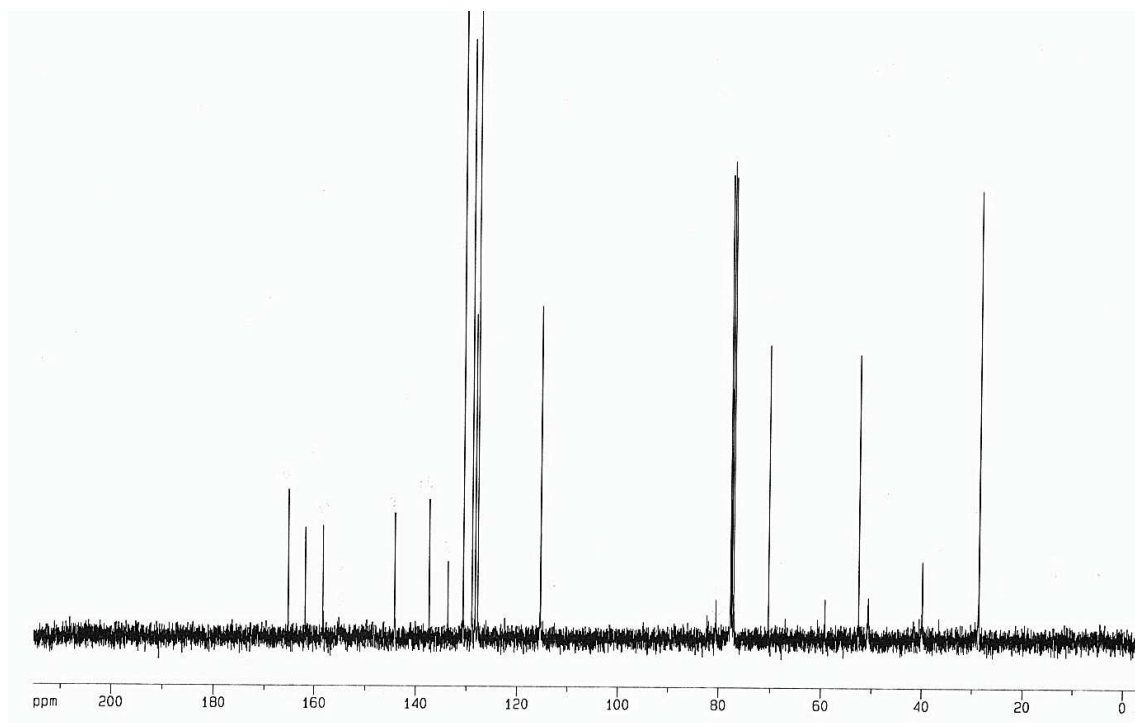
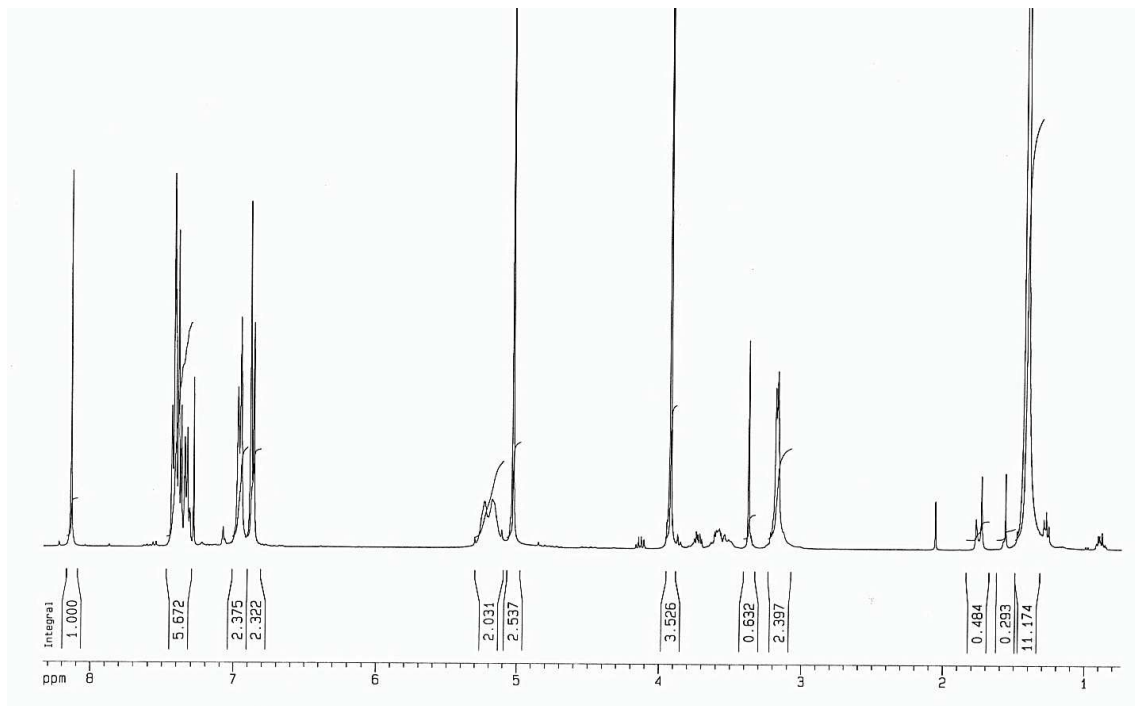


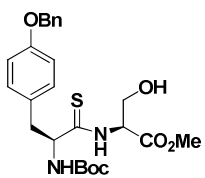




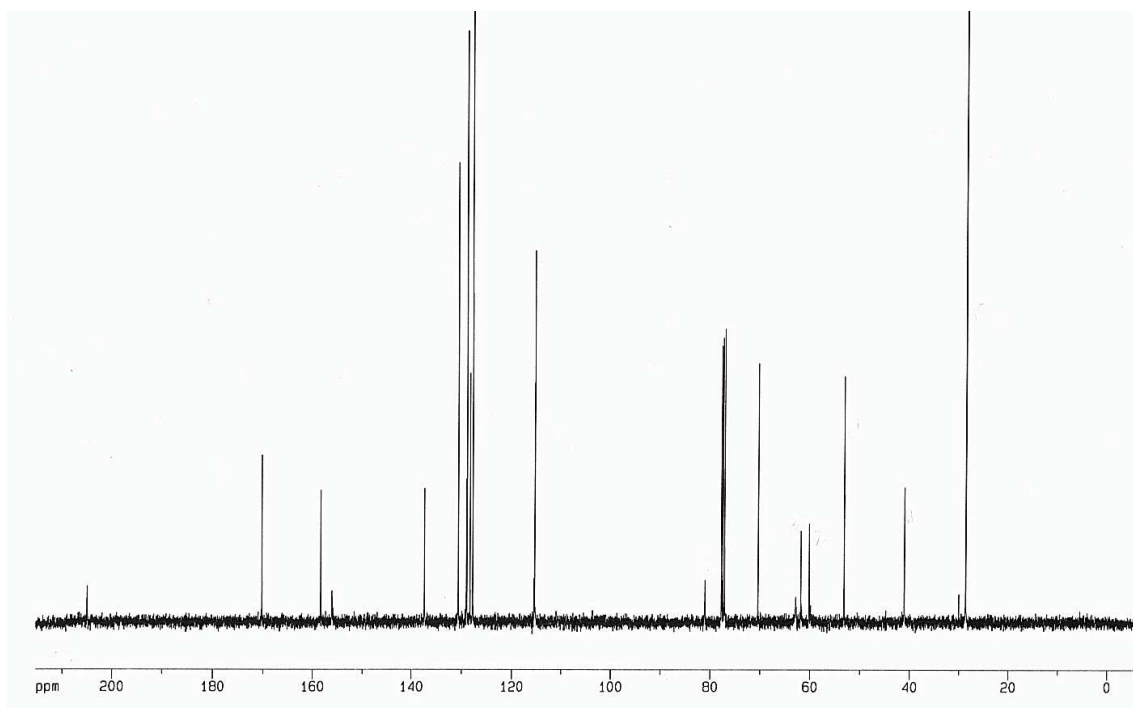
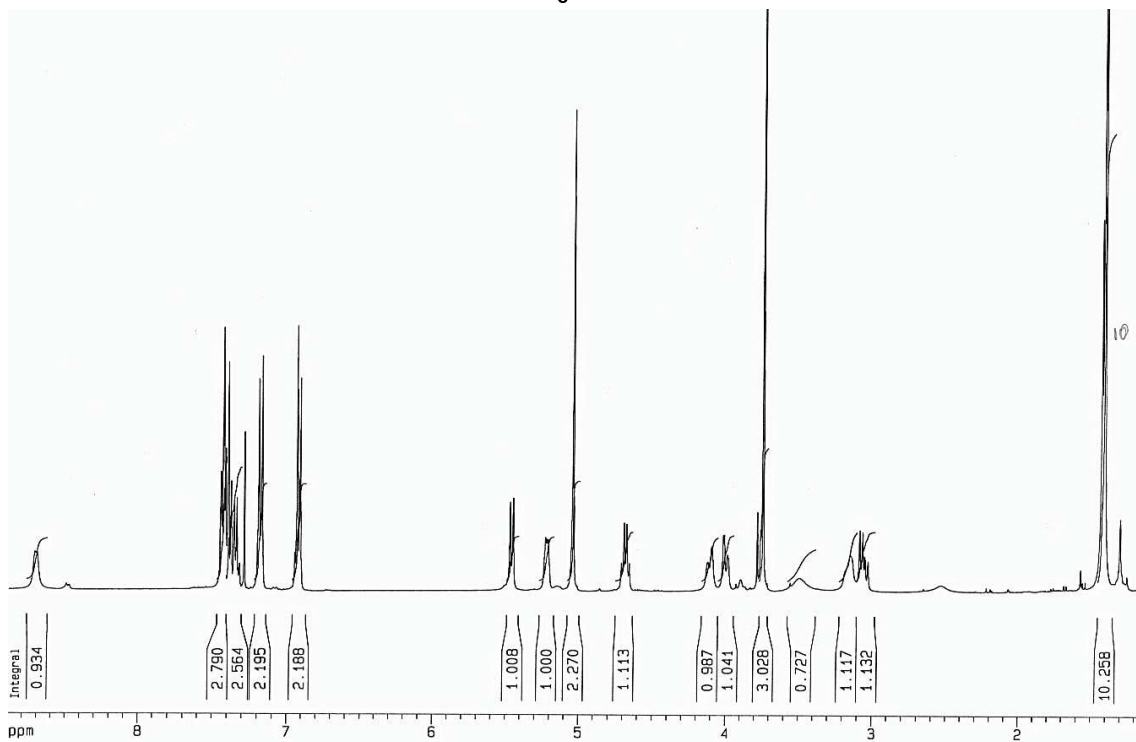


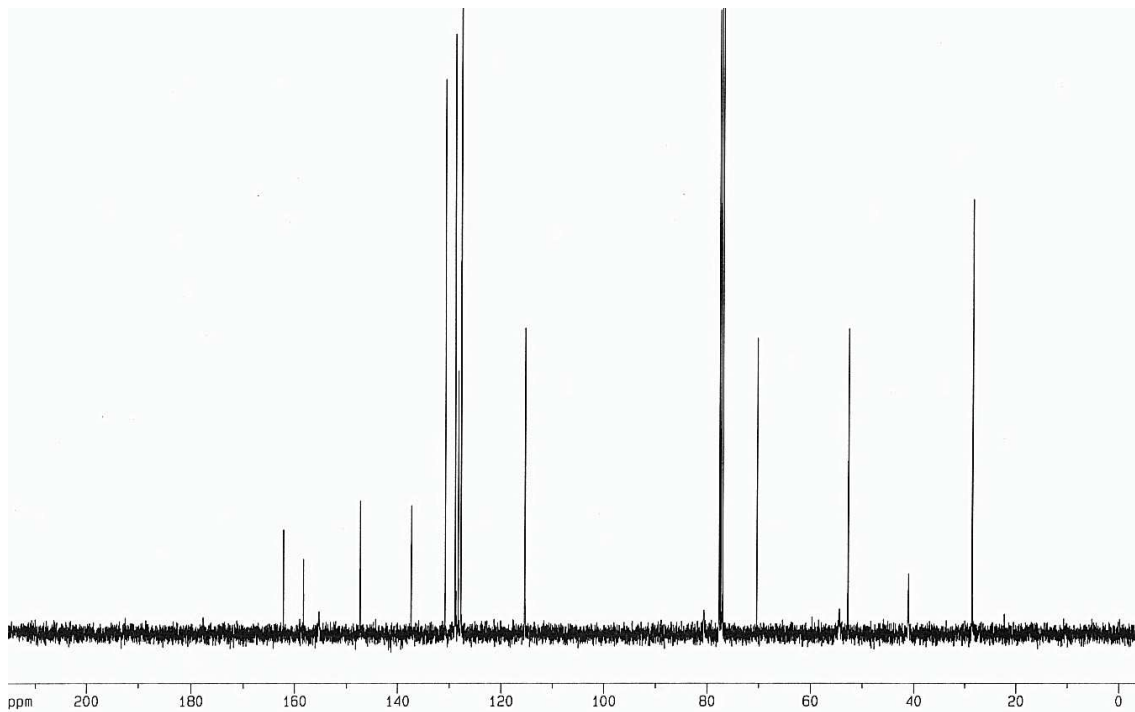
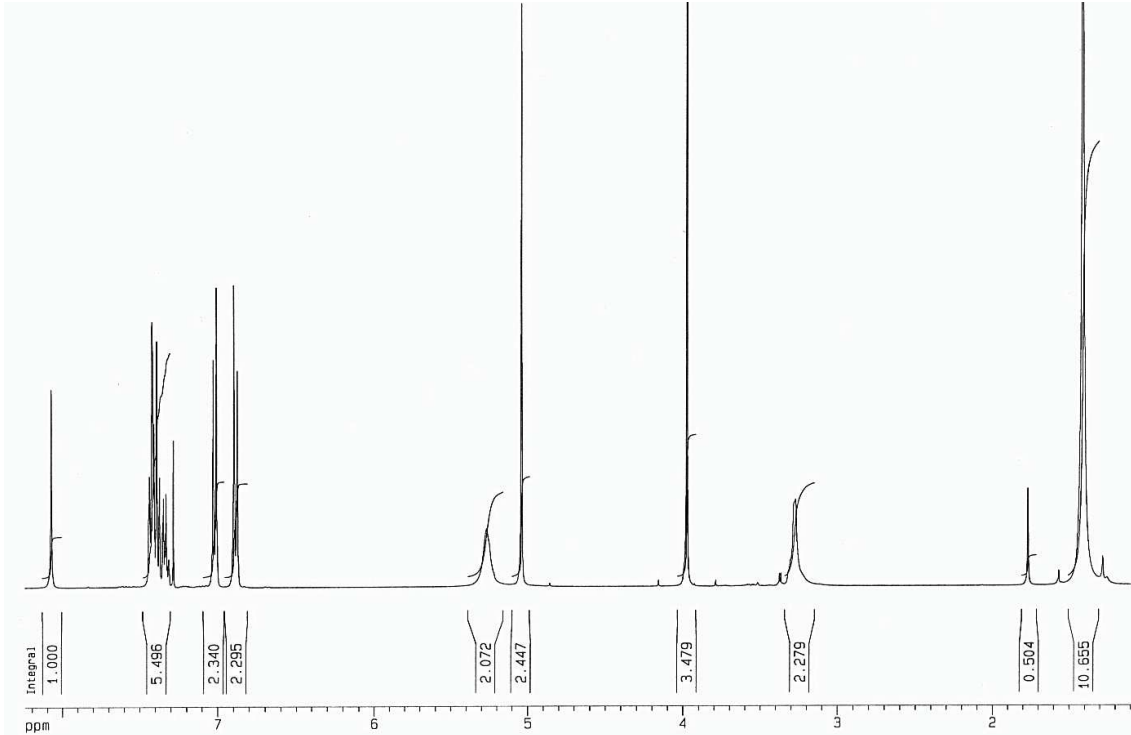
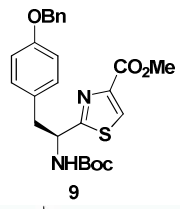
7

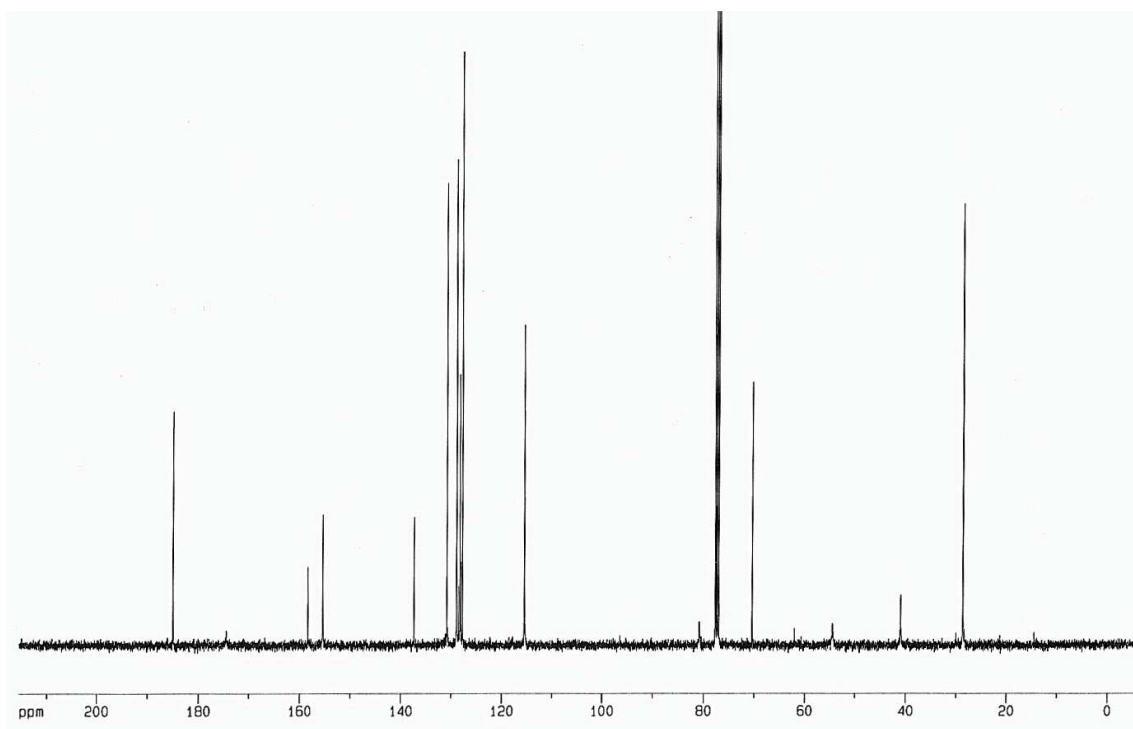
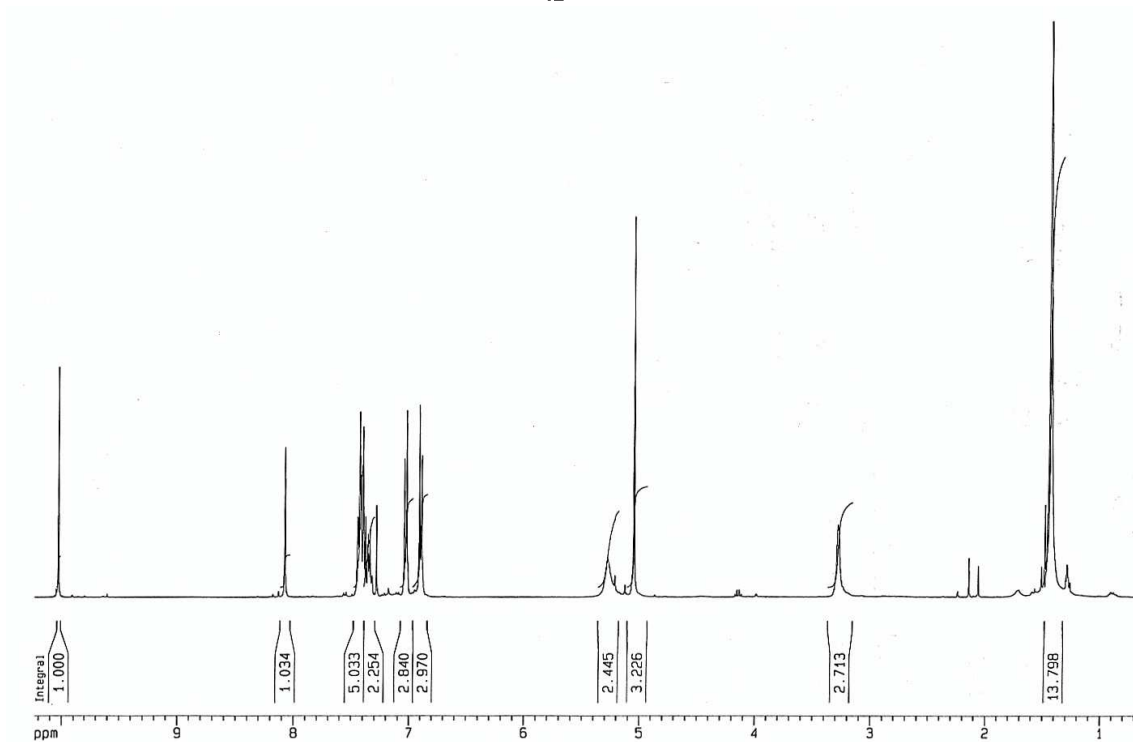
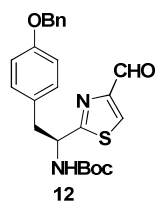


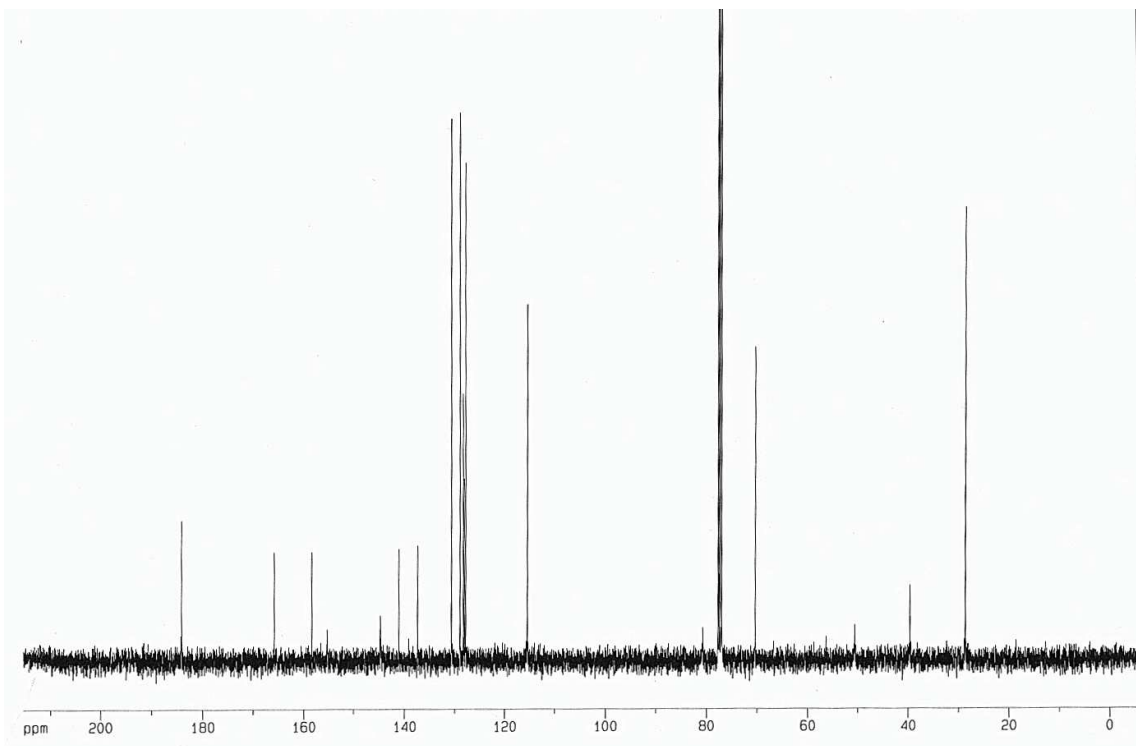
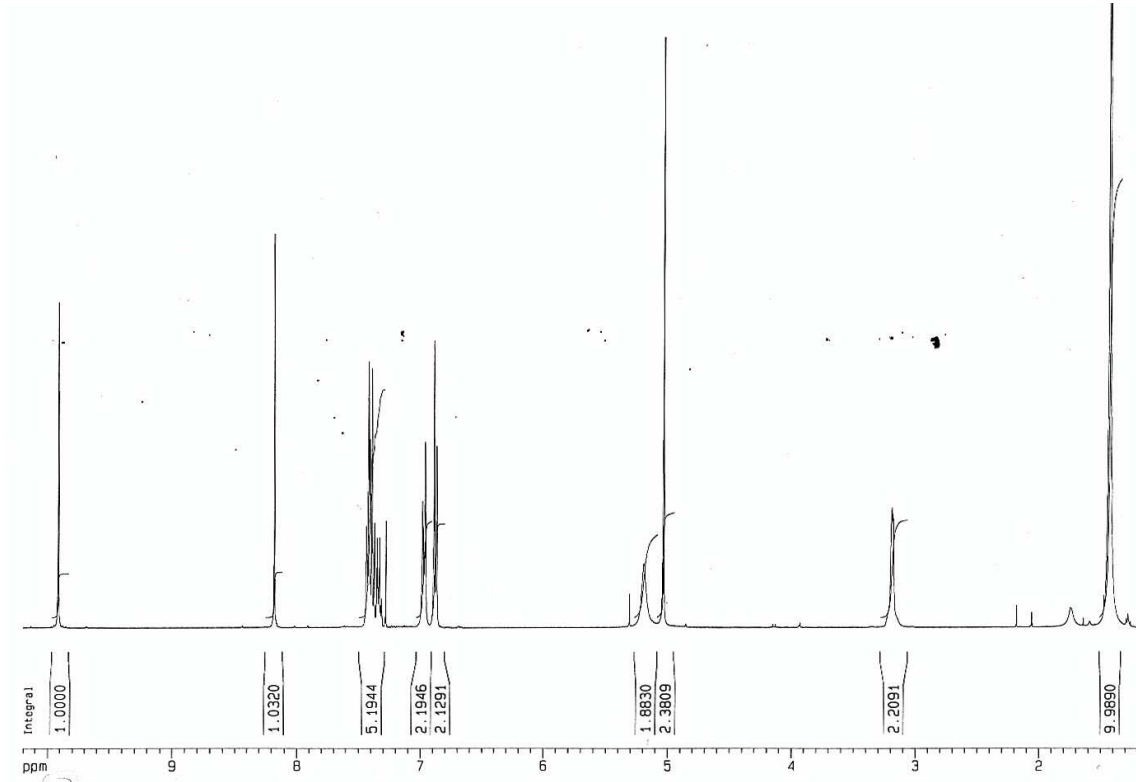
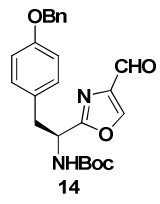


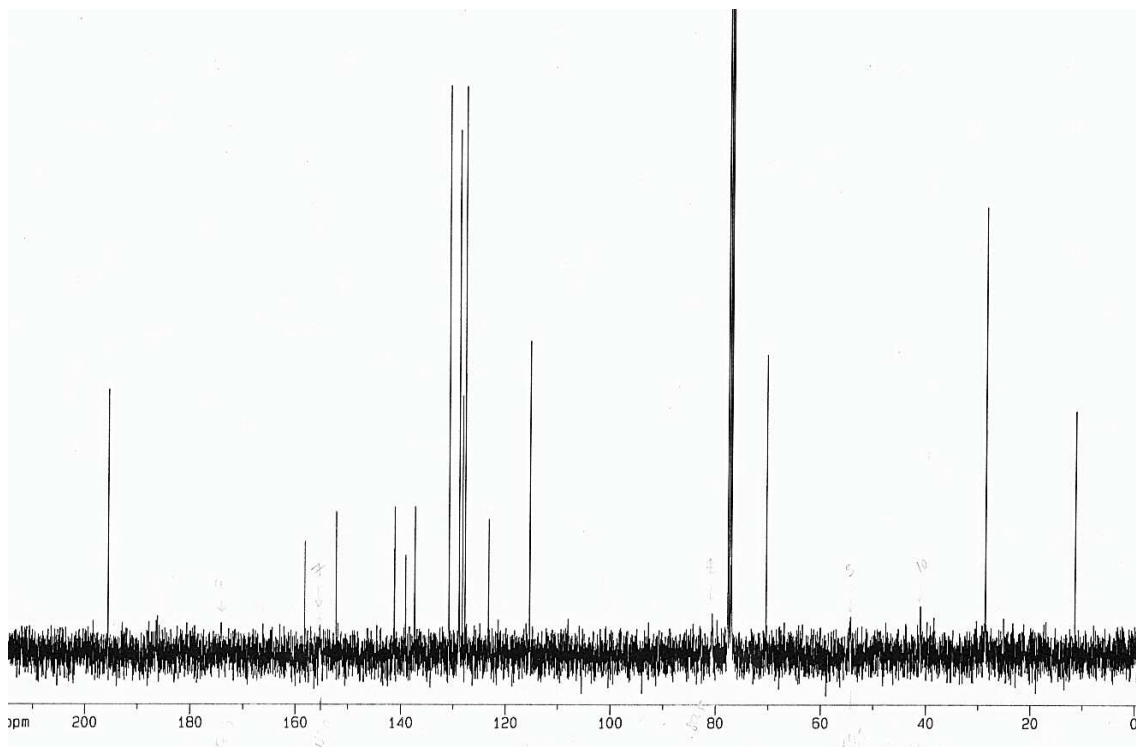
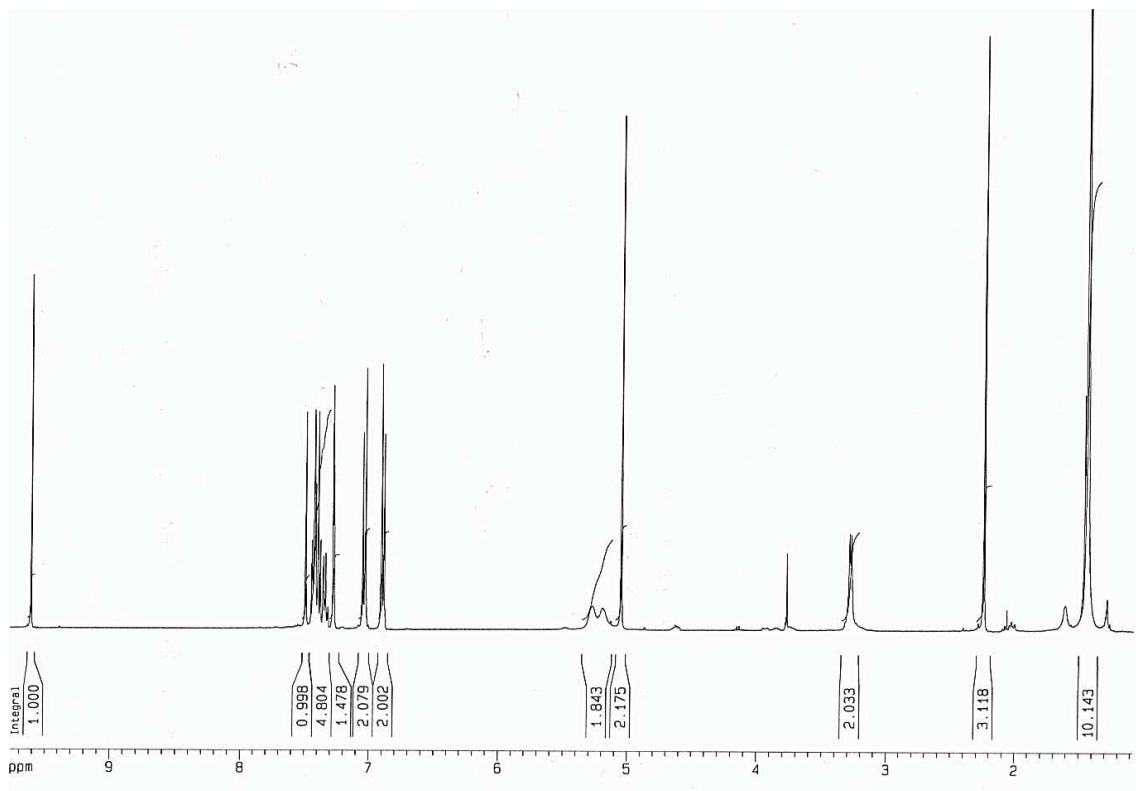
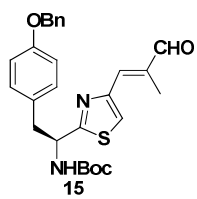
8

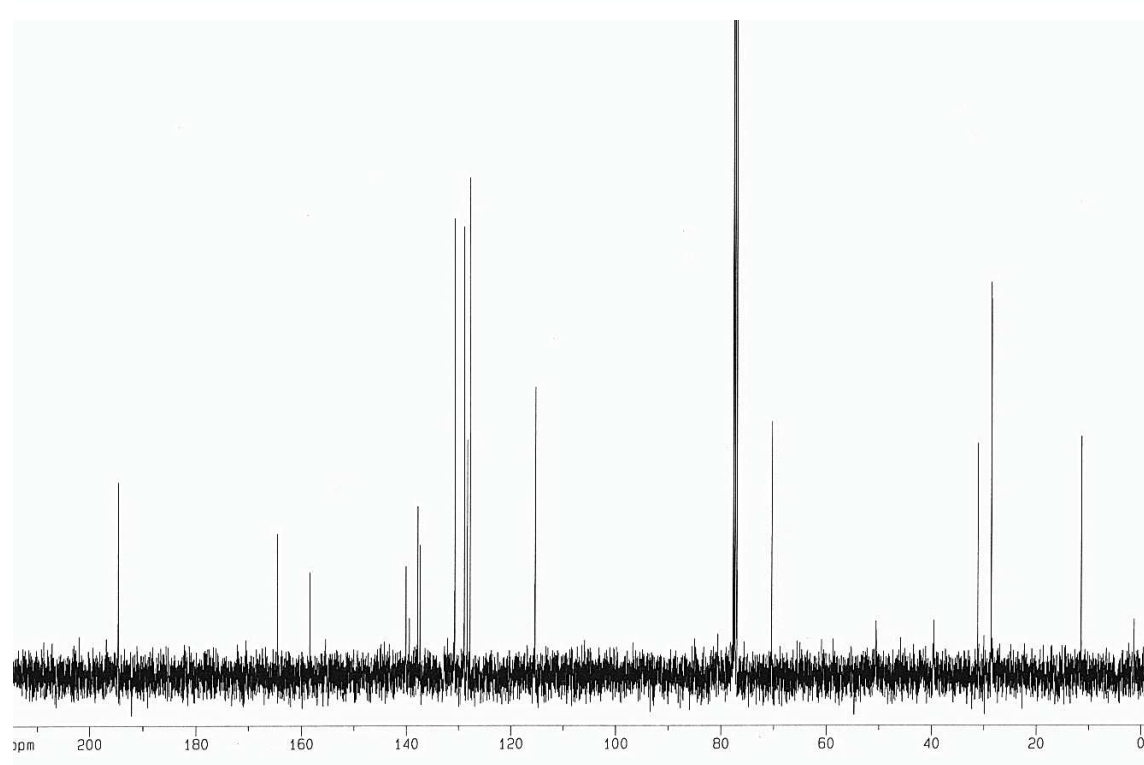
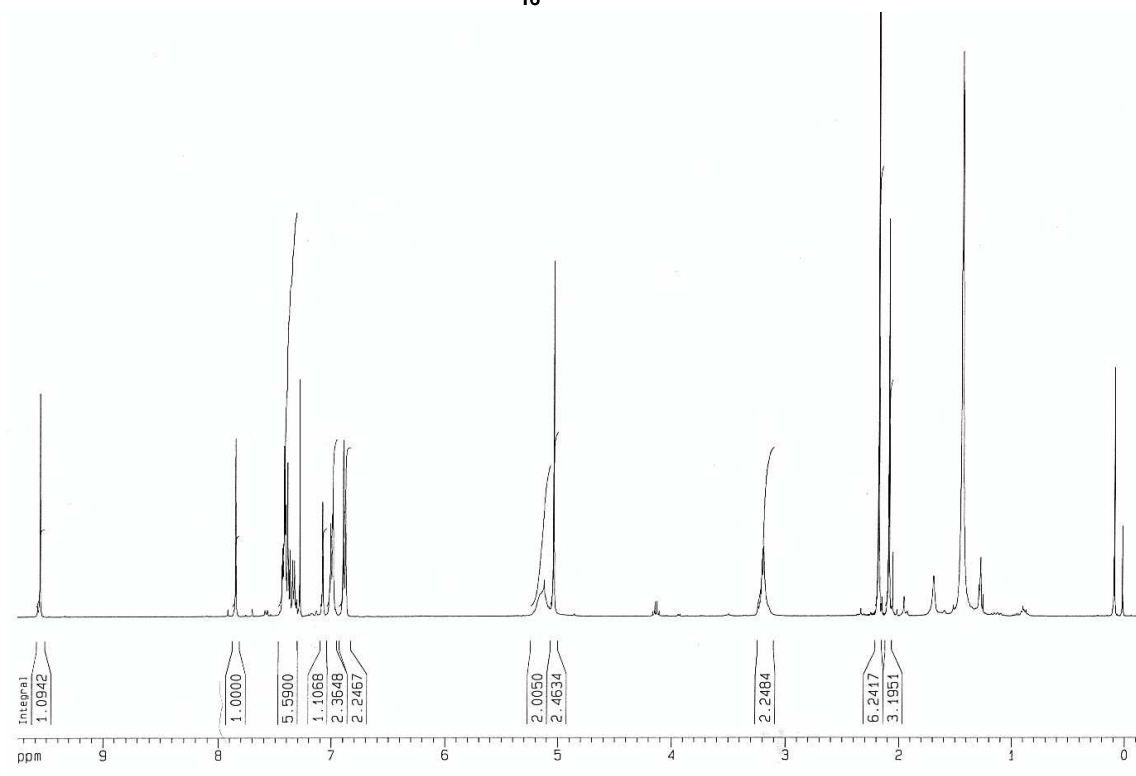
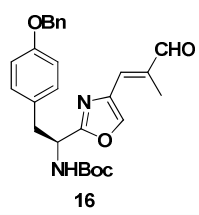




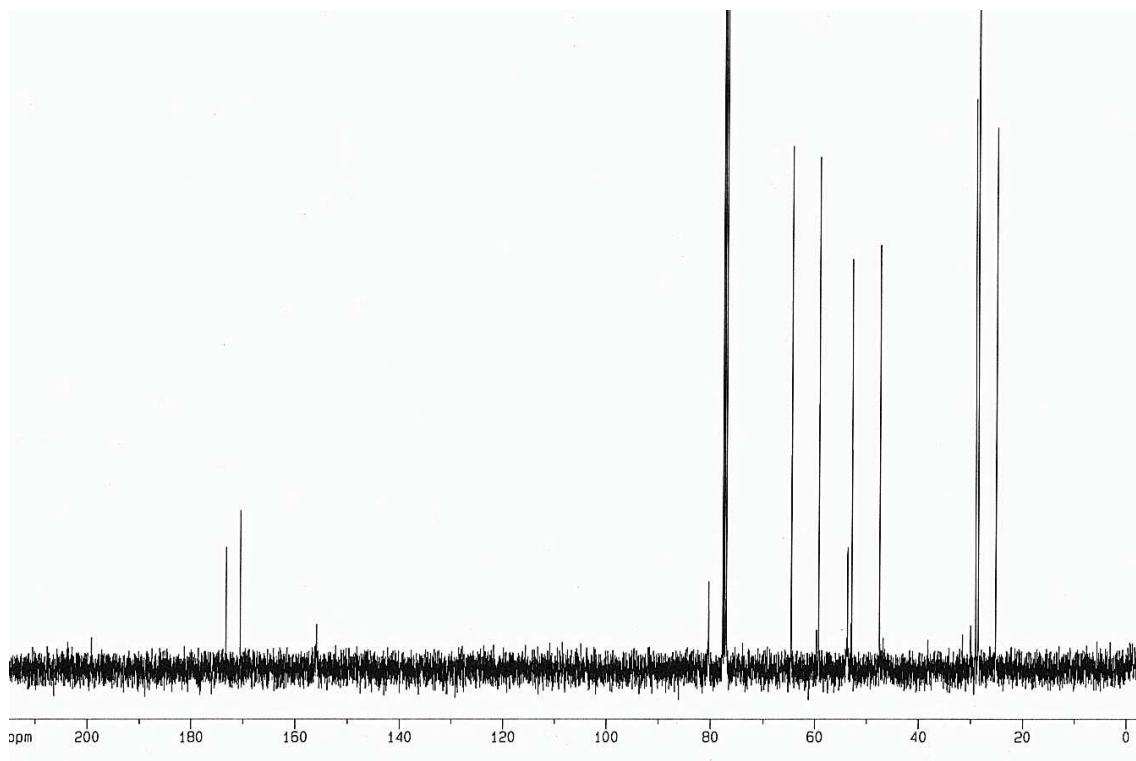
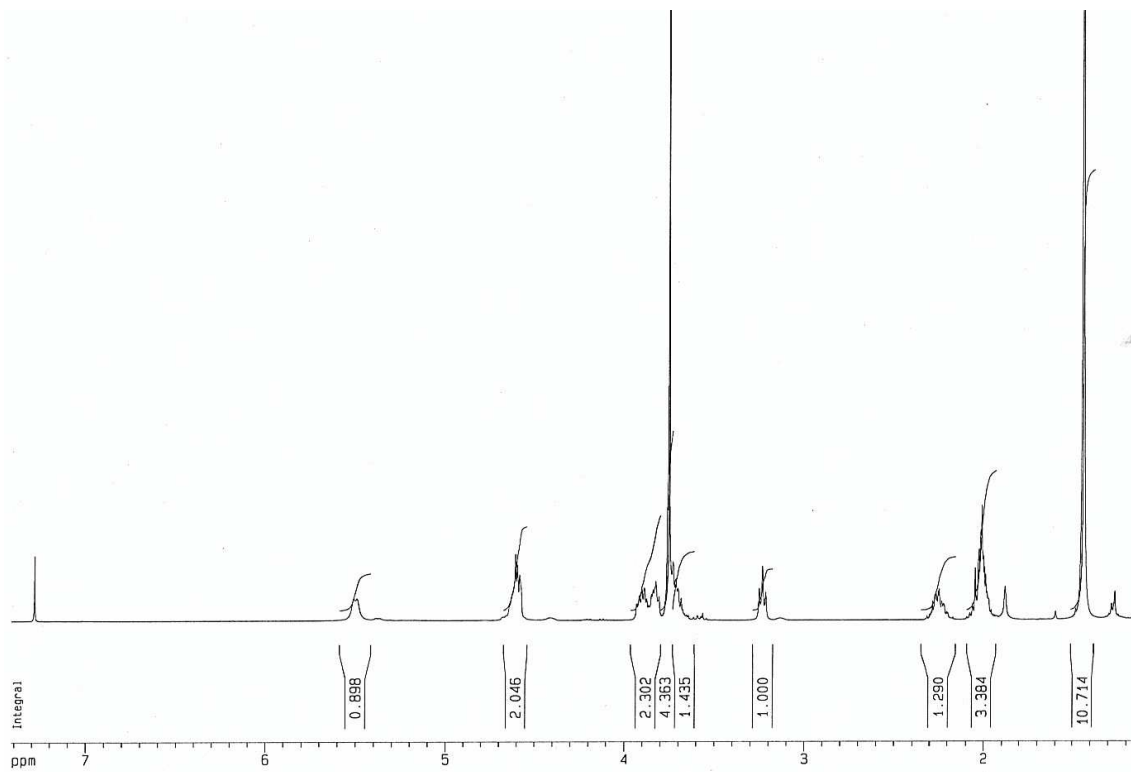
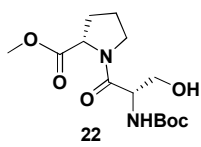


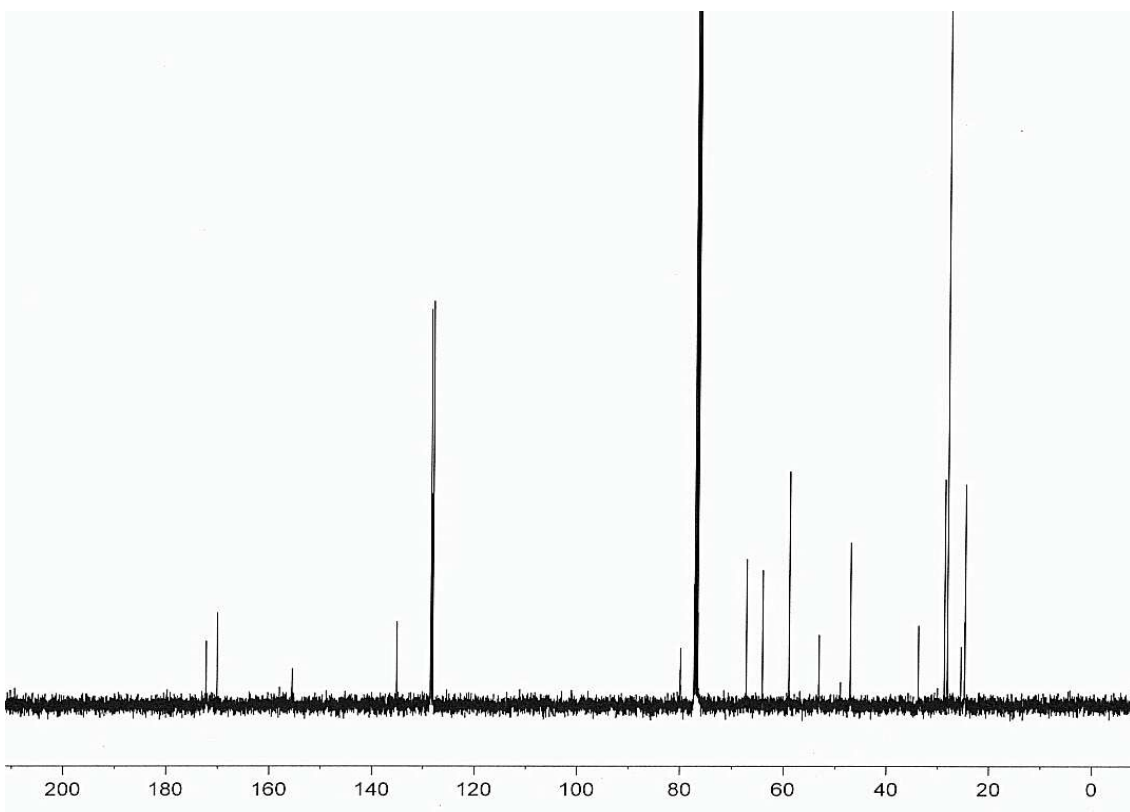
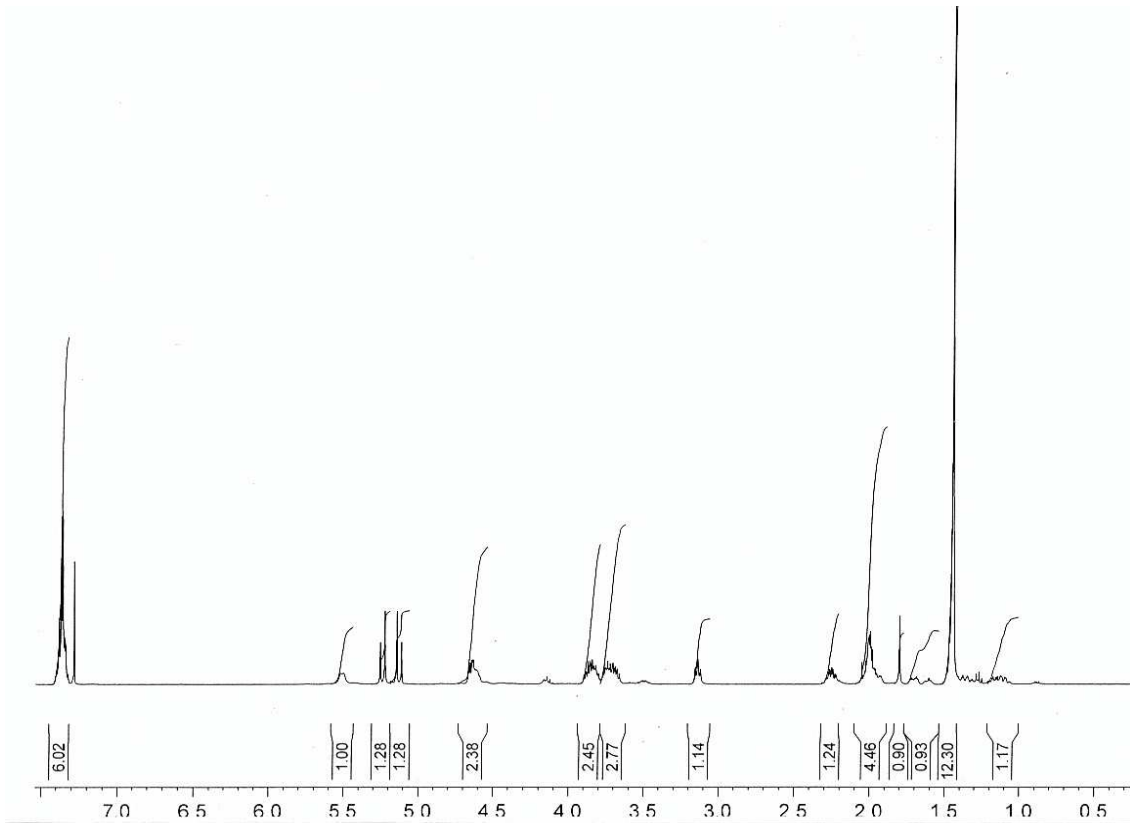
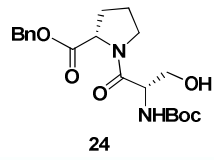


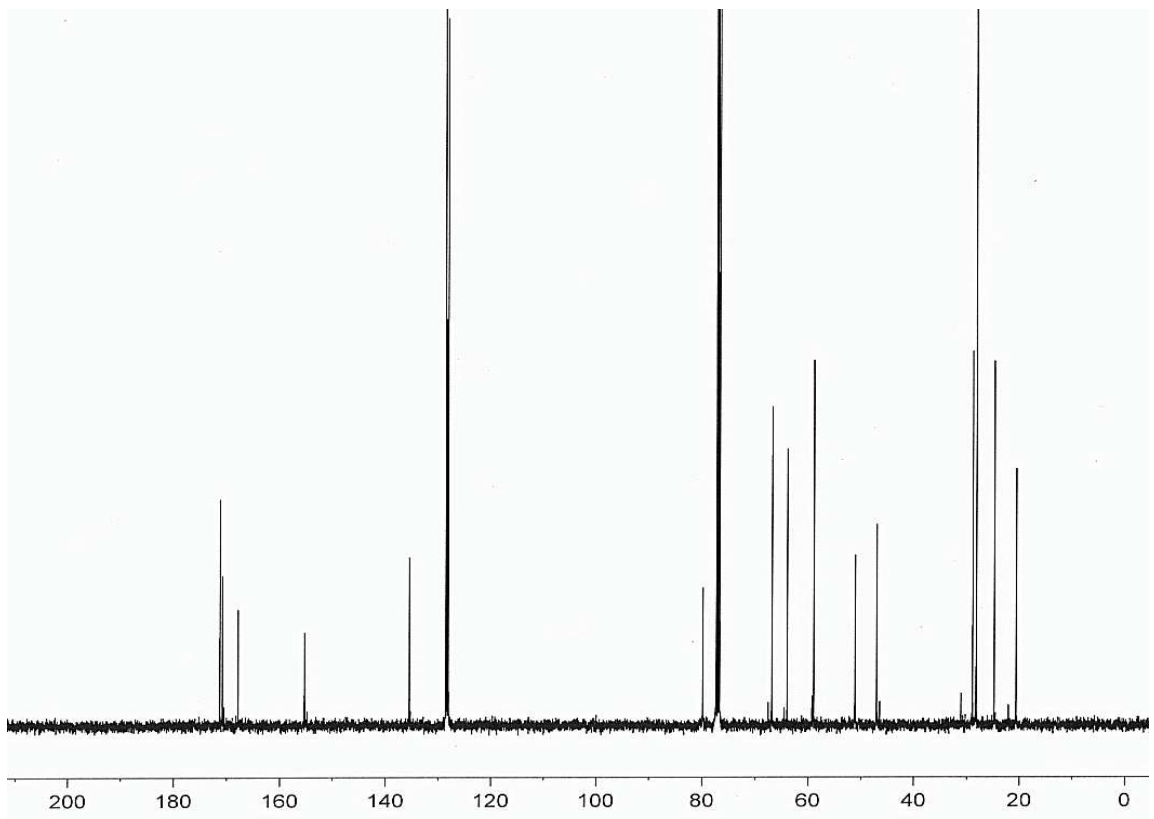
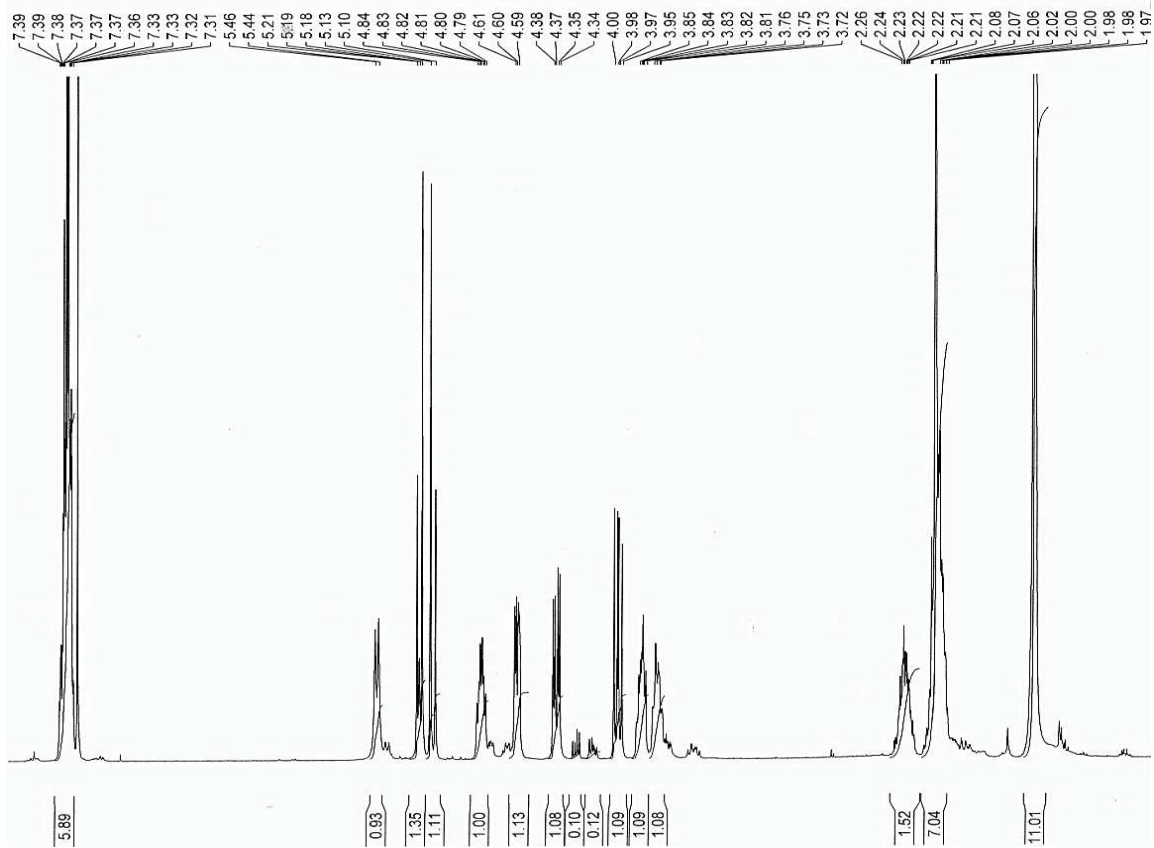
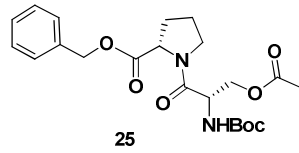


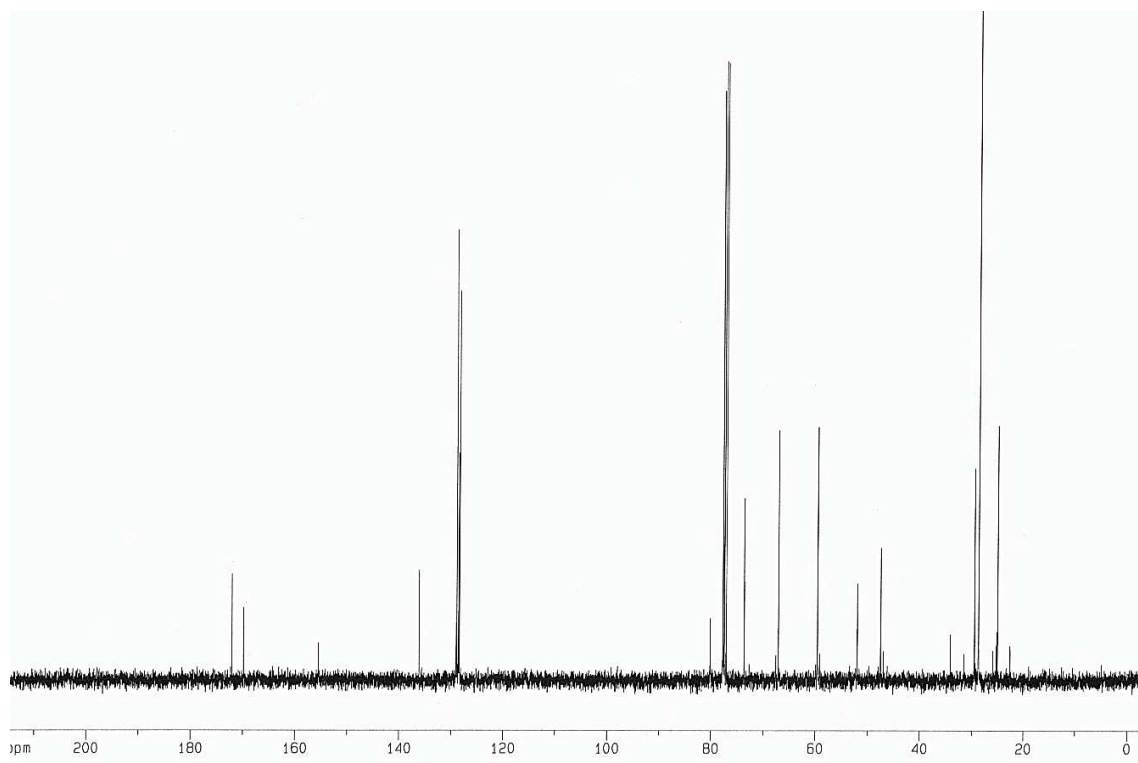
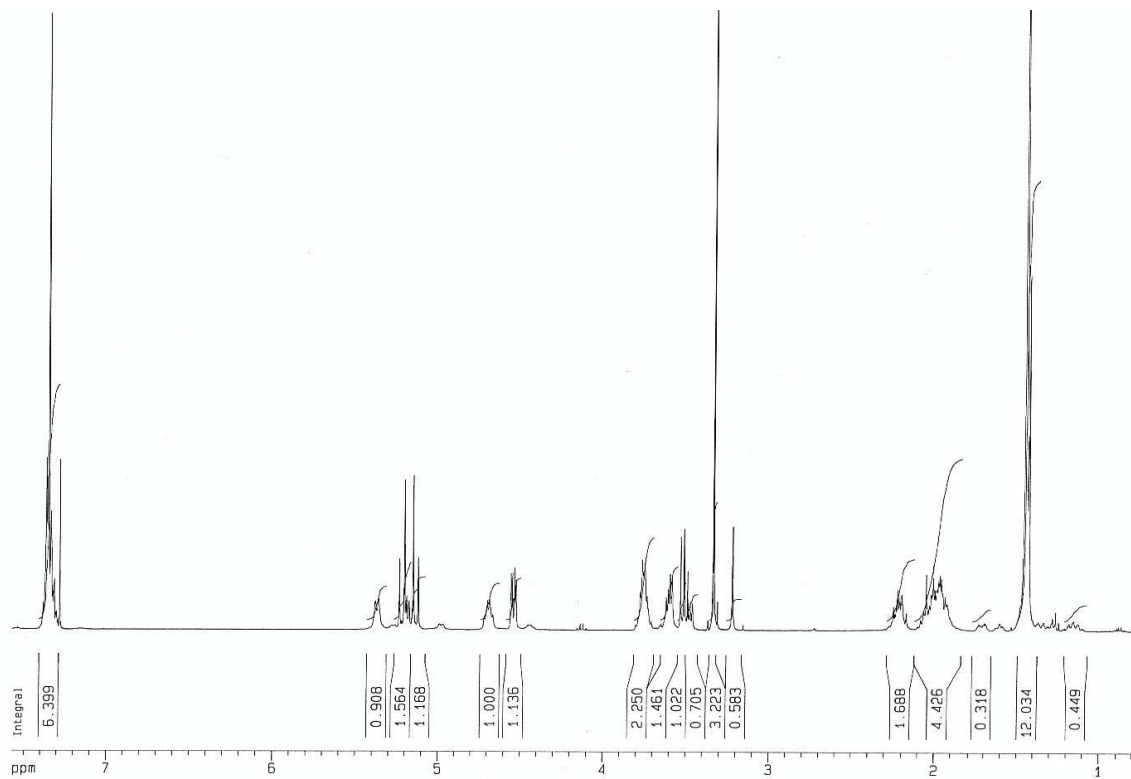
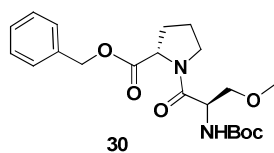


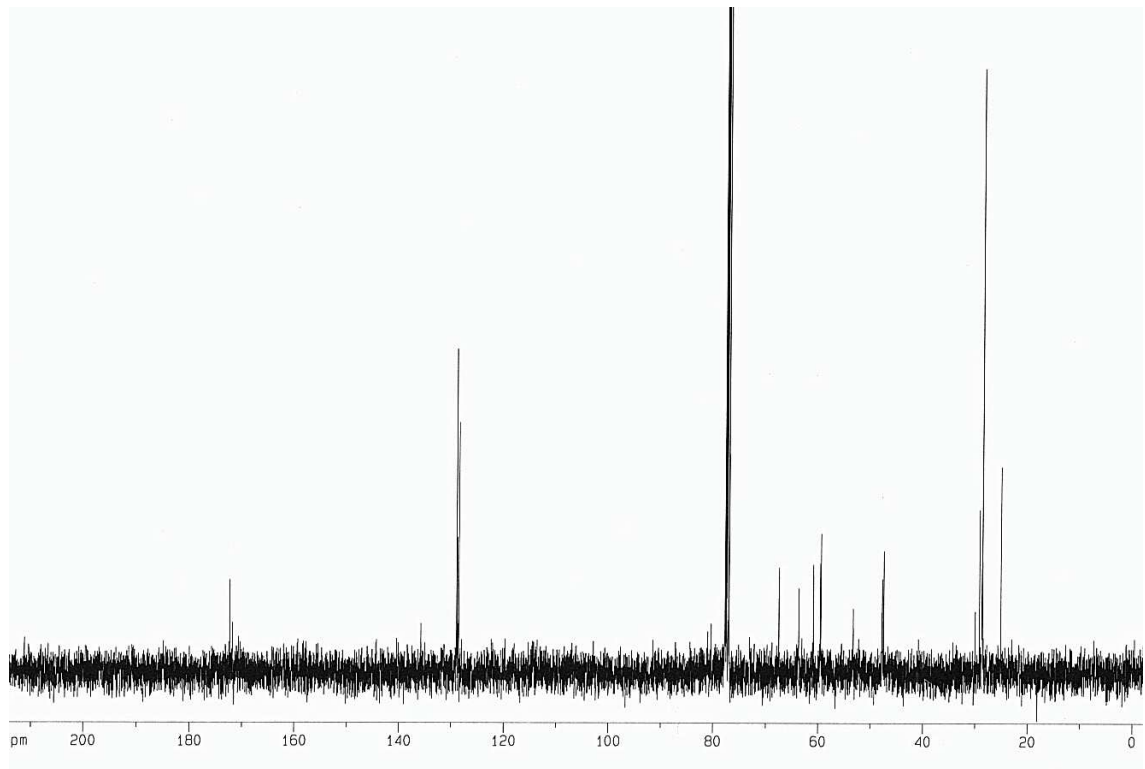
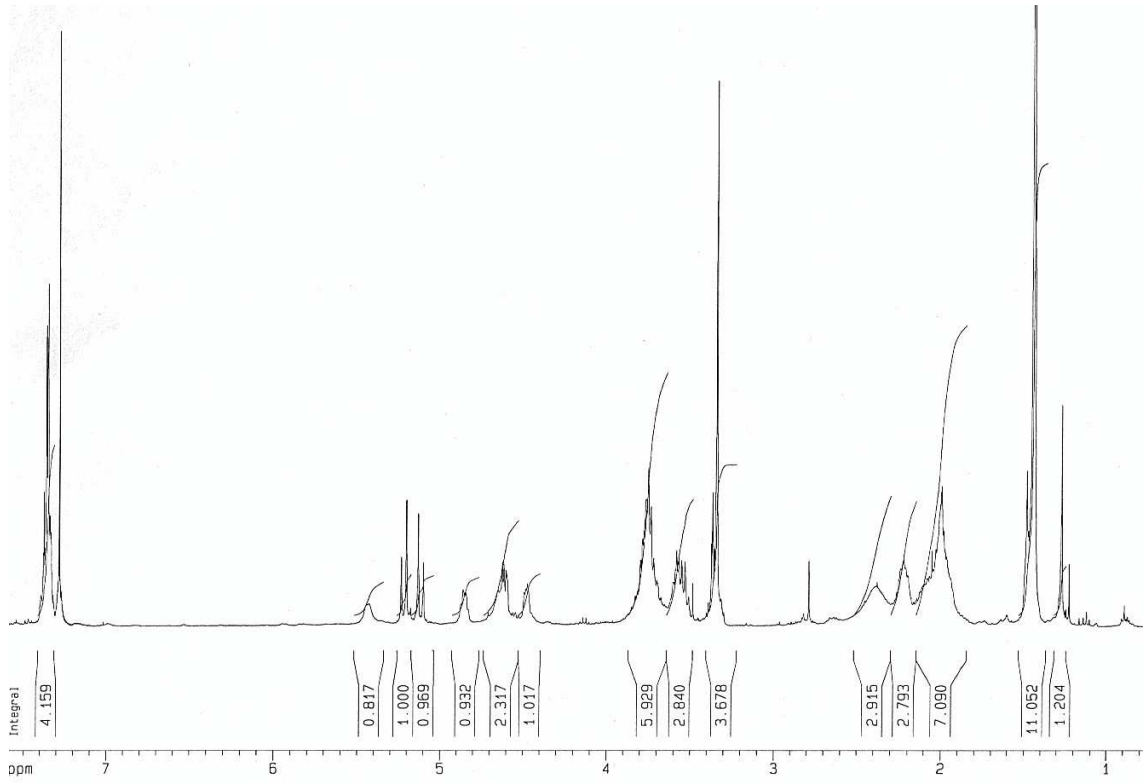
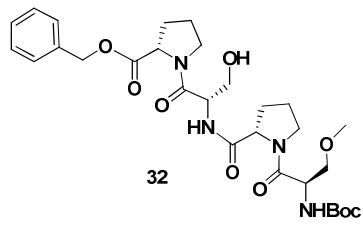




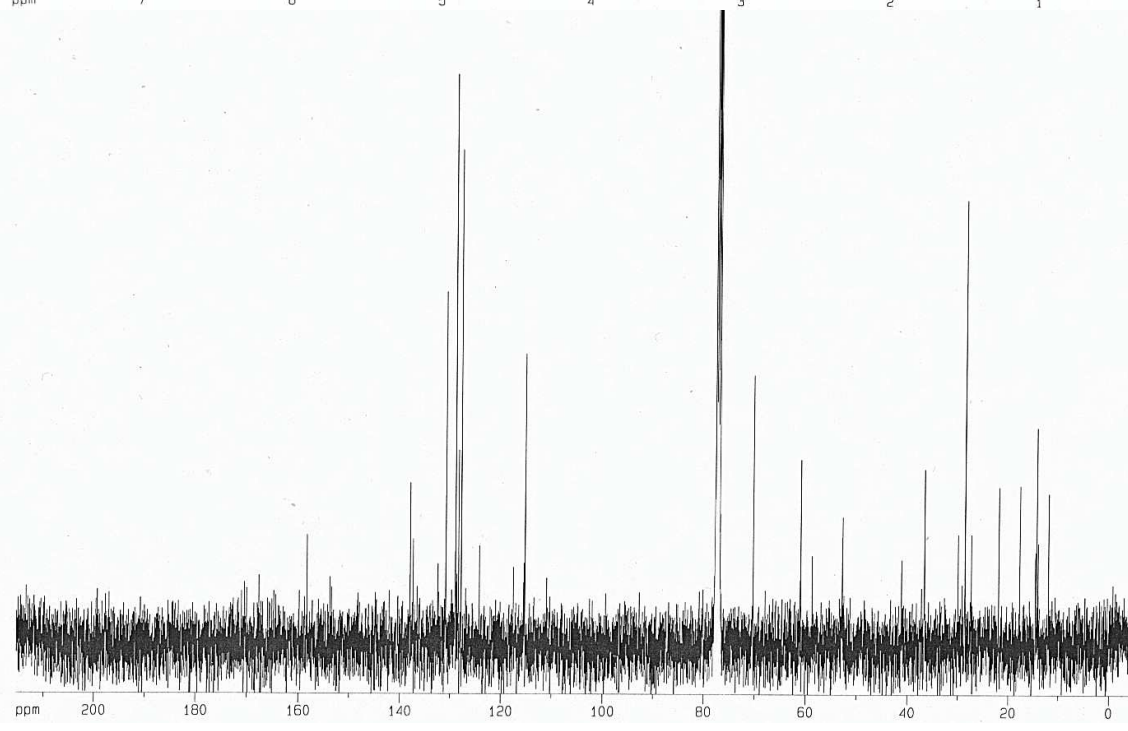
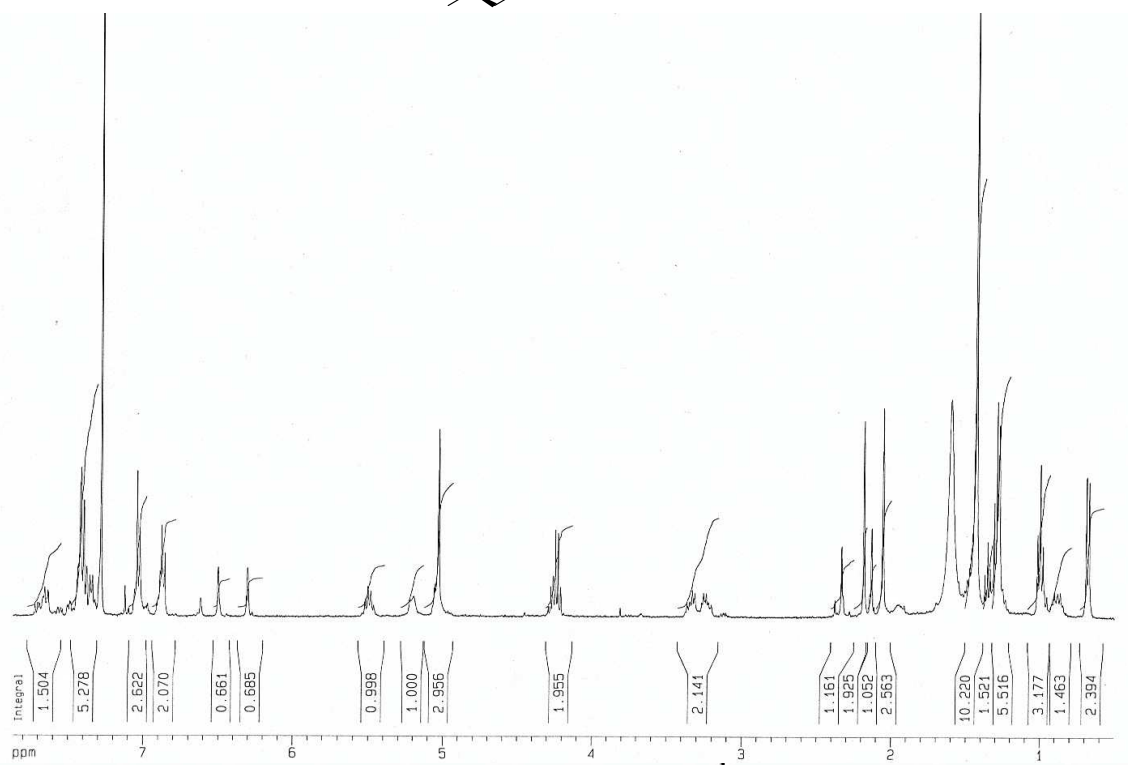
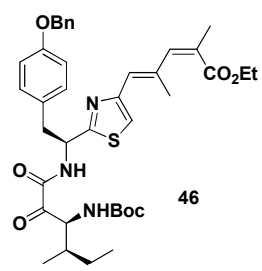


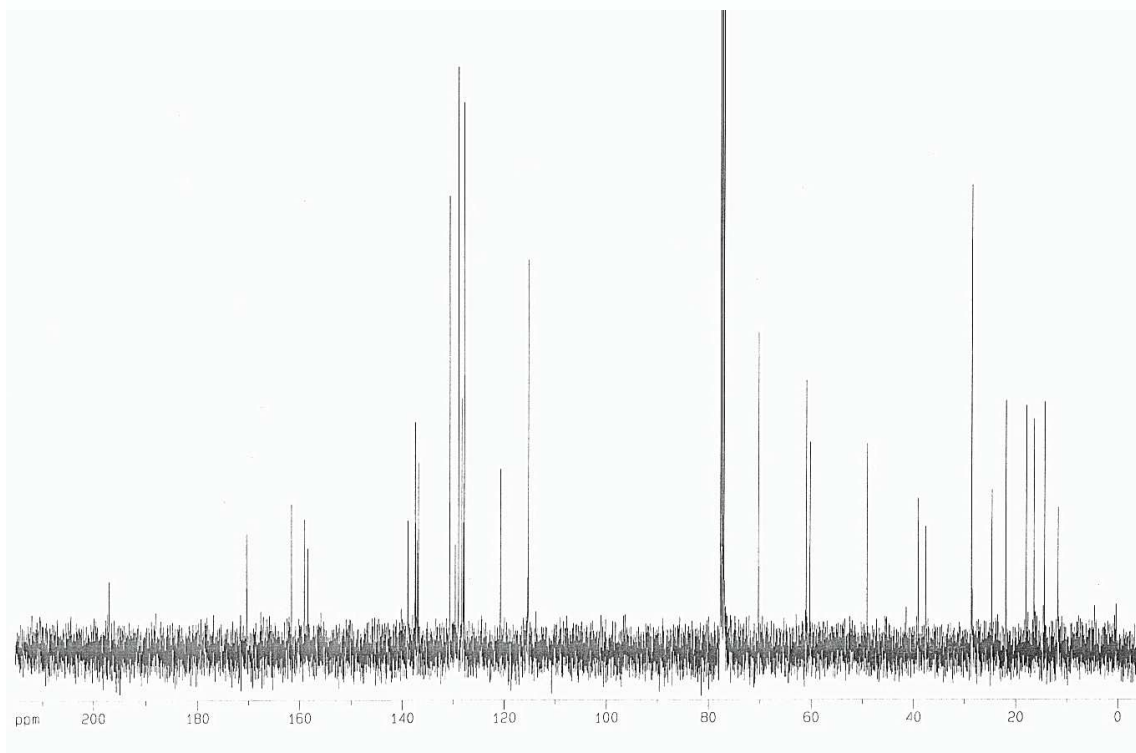
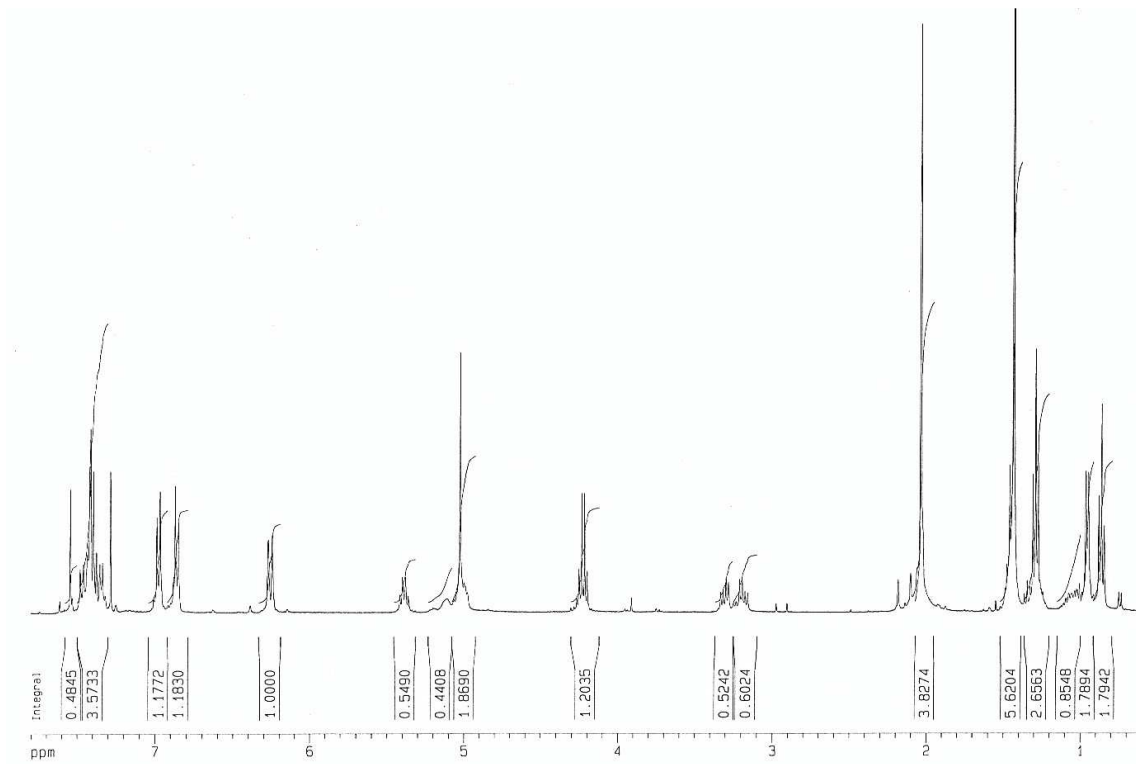
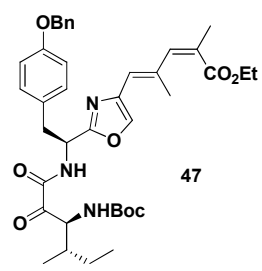




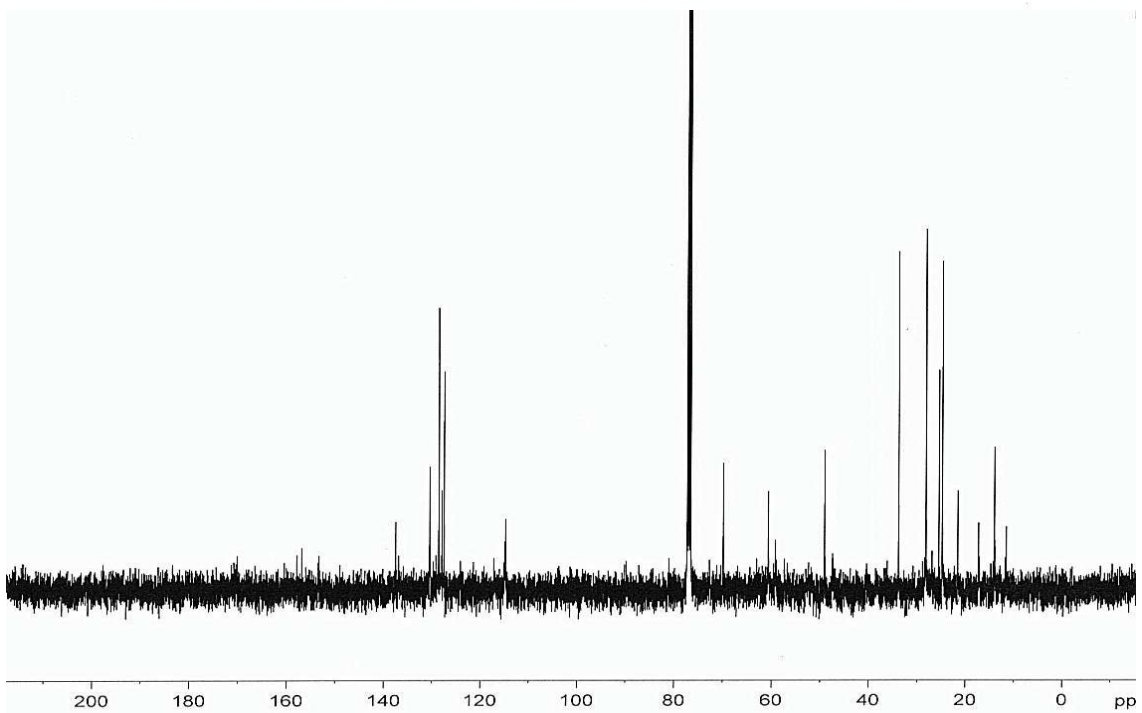
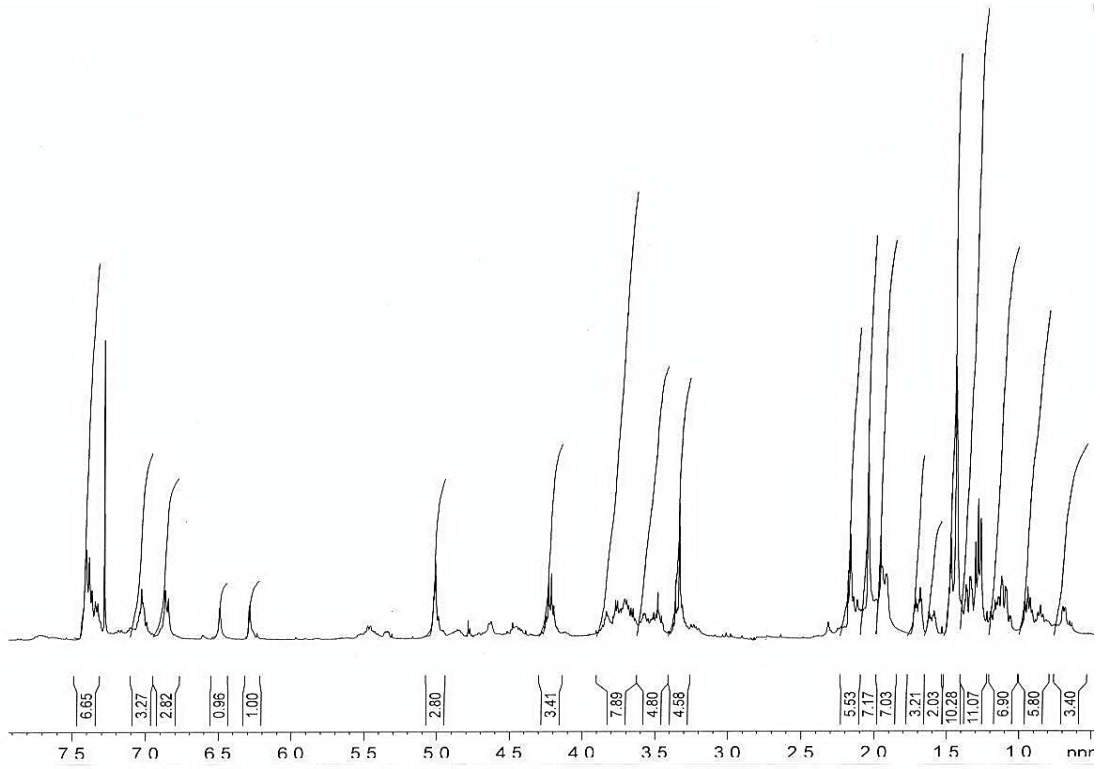
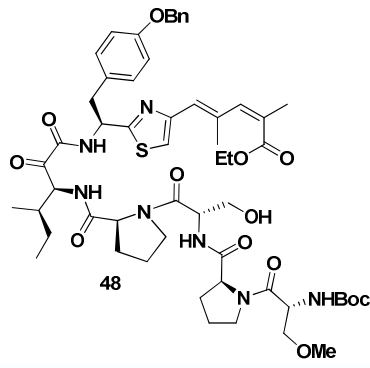


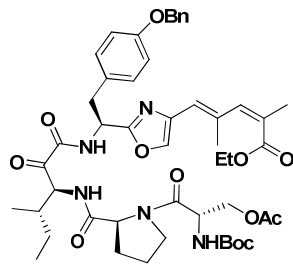




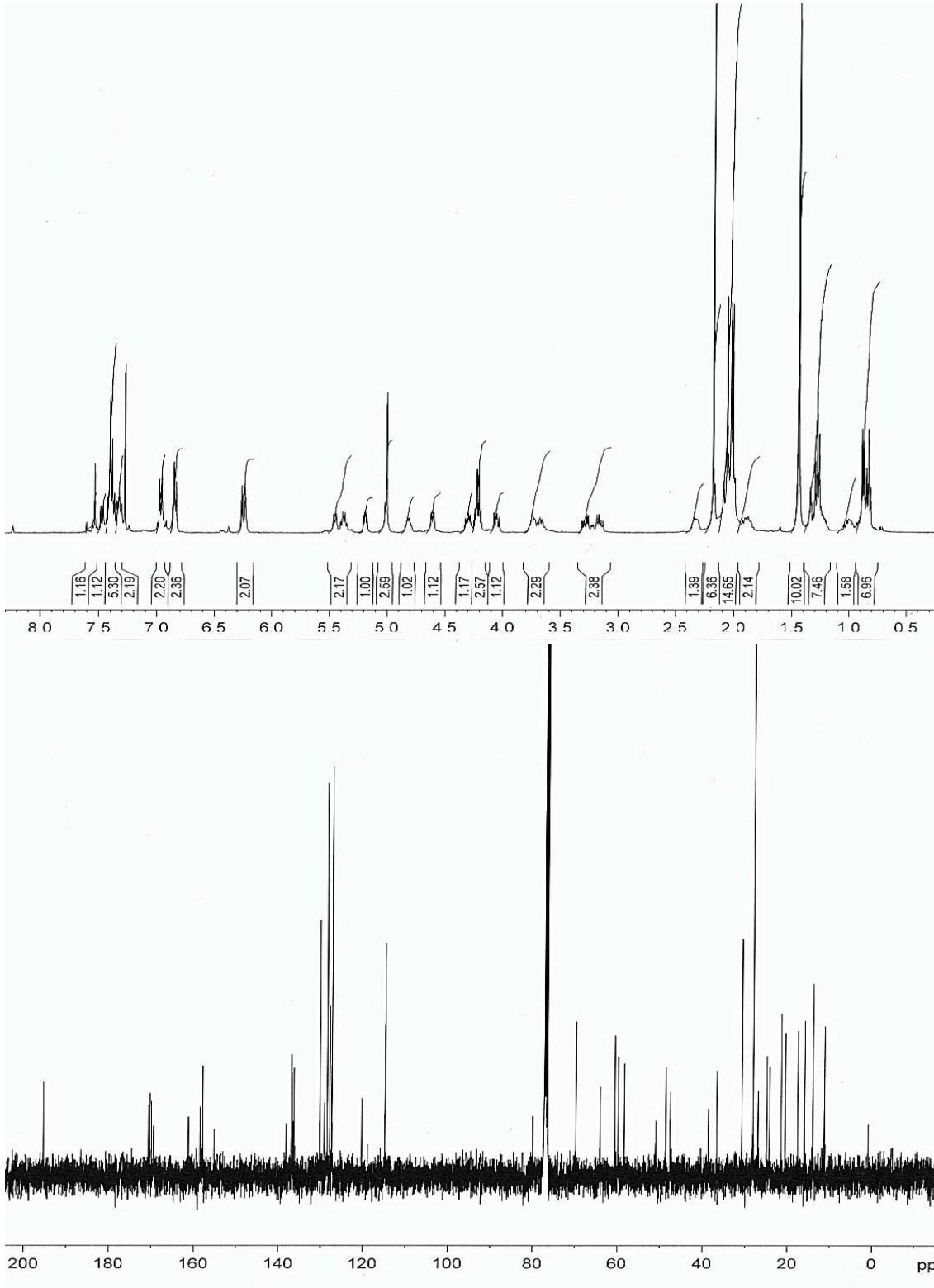


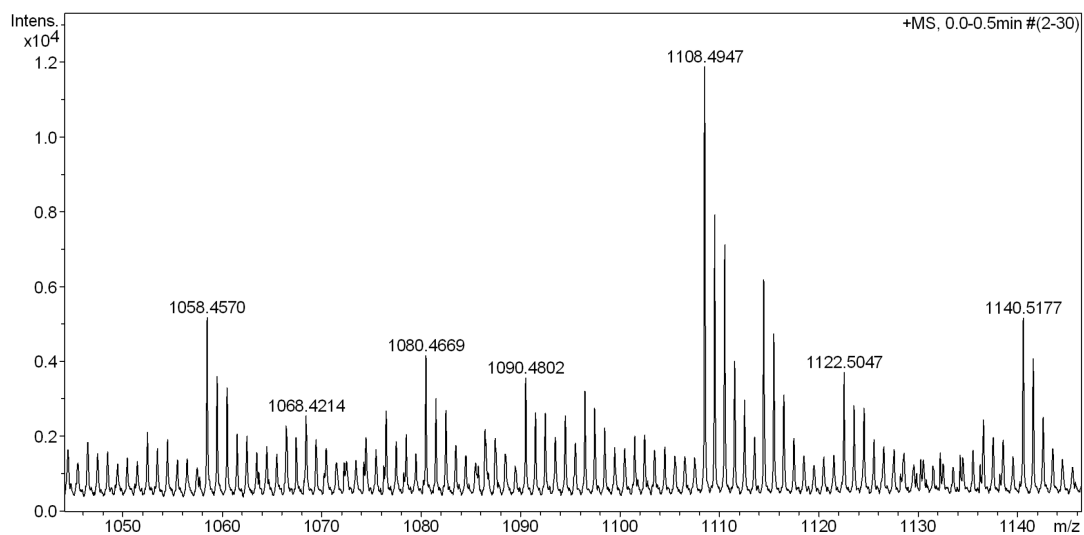
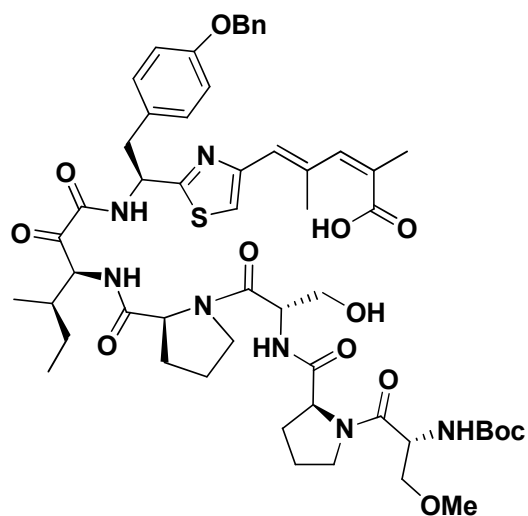






49

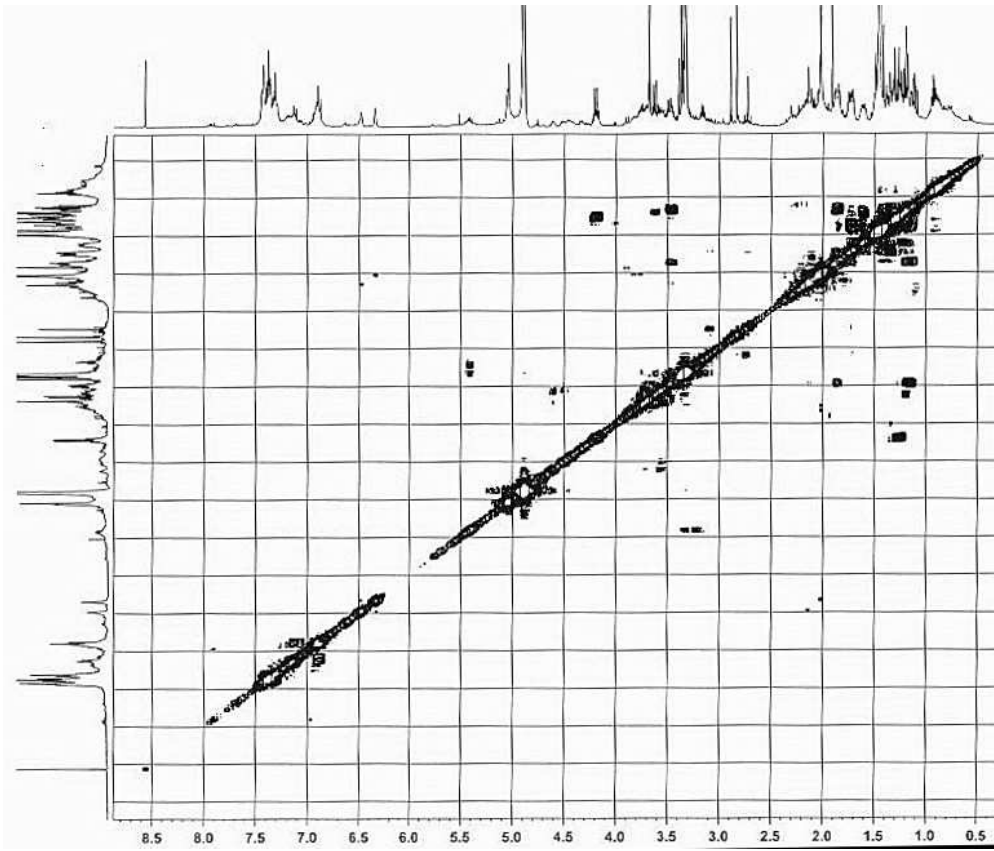
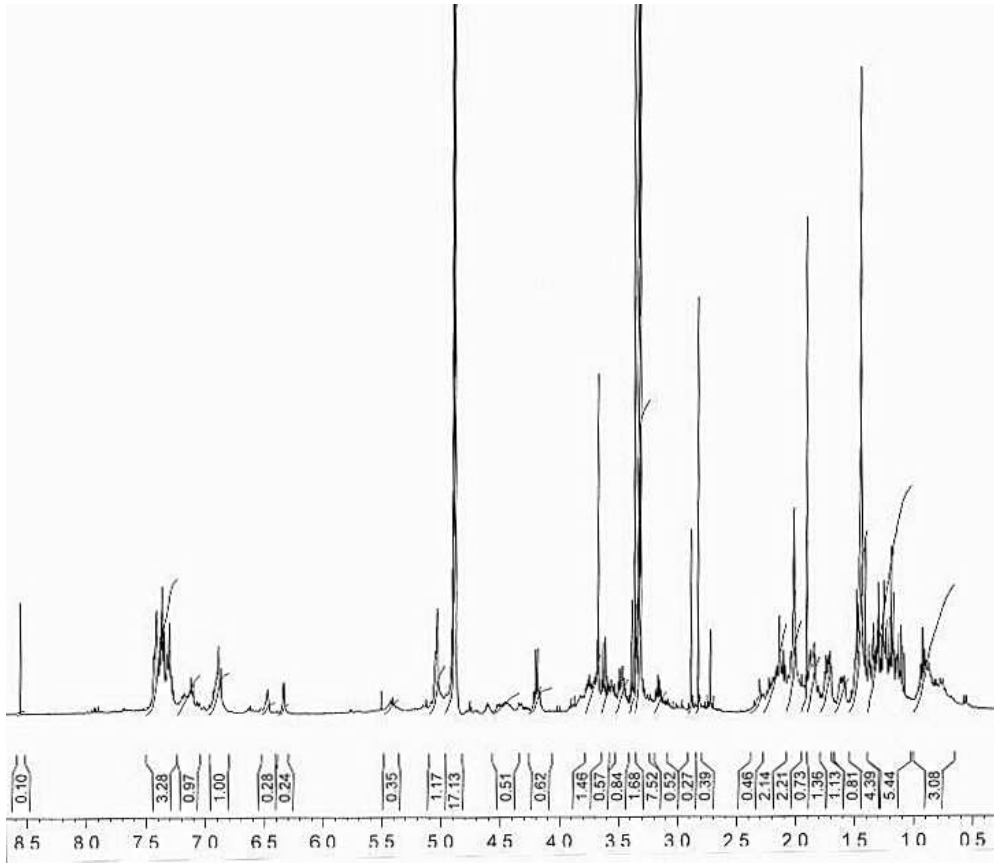


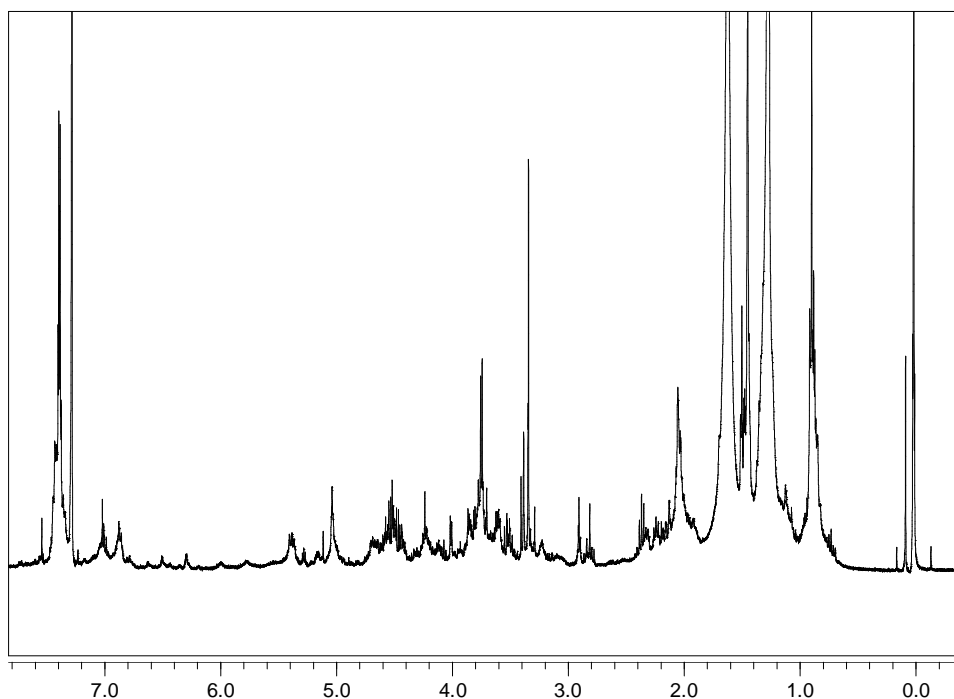


Espectro de masa de alta resolución del ácido derivado de **48**.

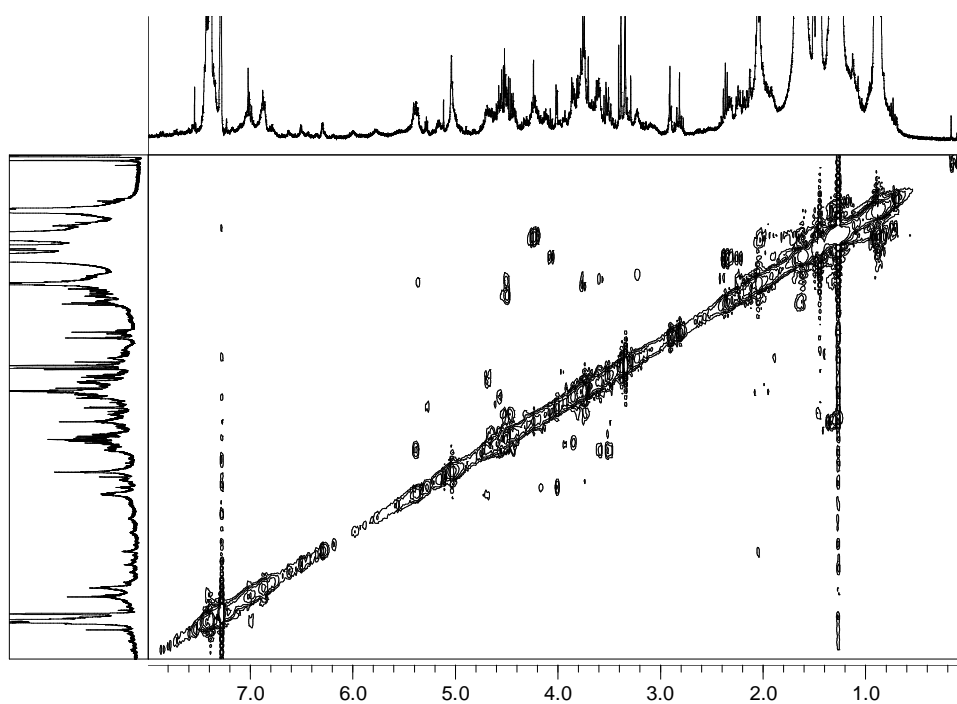
Masa calculada para  $C_{54}H_{71}N_7O_{13}S$  ( $M+H$ )<sup>+</sup> 1058.4909, observada 1058.4570.

Masa calculada para  $C_{54}H_{71}N_7NaO_{13}S$  ( $M+Na$ )<sup>+</sup> 1080.4728, observada 1080.4669.





Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) del producto aislado de la reacción de macrociclación.



Espectro bidimensional protón-protón ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) del producto aislado de la reacción de macrociclación.

## Publicaciones y presentaciones

- “A Convergent route to Scleritodermin A and Analogs”. Sellanes, D., Campot, F., Manta, E., Serra, G.\* *Drugs Future*. **2008**, *33*, 166-167.
- “Toward the total synthesis of Scleritodermin A: preparation of the C1–N15 fragment”, Sellanes, D.; Manta, E.; Serra, G. *Tetrahedron Letters*, **2007**, *48*, 1827.
- “Síntesis de Análogos a Scleritodermina A.” Diver Sellanes, Francisco Campot, Eduardo Manta, Gloria Serra\*. XVI Simposio Nacional de Química Orgánica y I SIBEAQO, Mar del Plata, Argentina, 11 al 14 de Noviembre de 2007. Trabajo que recibió *Mención Especial en el Premio SAIQO*.
- *Hacia la Síntesis Total de Scleritodermina A: Síntesis y Evaluación Biológica de Fragmentos Claves*, Sellanes, D.; Manta, E.; Saldaña, J.; Domínguez, L.; Espósito, P.; Dematteis, S.; Serra, G.; I Reunión Latinoamericana de Química Medicinal, abril **2007**, Montevideo, Uruguay.
- *Toward the Total Synthesis of Scleritodermin A*, Sellanes, D; Manta, E.; Serra, G. International Symposium on Chemistry, Biology and Medicine, 28 Mayo al 1 de Junio **2006**, Chipre.
- *Síntesis de intermediarios claves para la obtención de Scleritodermin A y análogos*, Sellanes, D.; Manta, E.; Serra, G.; V Reunión de la Sociedad Latinoamericana de Fitoquímica (I Congreso de Fitoterápicos del Mercosur), noviembre **2005**, Montevideo, Uruguay.
- *Approach to the synthesis of cyclic peptides containing heterocycles*; Sellanes, D.; Manta, E.; Serra, G.; 11<sup>th</sup> Brazilian Meeting on Organic Synthesis, agosto **2005** en Canela, Brasil.