

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 523 304**

51 Int. Cl.:

C12P 17/10 (2006.01)

C12P 7/62 (2006.01)

C12P 13/00 (2006.01)

C07D 405/06 (2006.01)

C07D 209/48 (2006.01)

C07D 319/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.07.2008 E 08788976 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.09.2014 EP 2185713**

54 Título: **Procedimiento de preparación de compuestos quirales**

30 Prioridad:

03.08.2007 US 953725 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

24.11.2014

73 Titular/es:

**PFIZER PRODUCTS INC. (100.0%)
Eastern Point Road
Groton, CT 06340 , US**

72 Inventor/es:

**BAUER, DAVID, WILLIAM;
HU, SHANGHUI;
O'NEILL, PADRAIG, MARY y
WATSON, TIMOTHY, JAMES, NORMAN**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 523 304 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento de preparación de compuestos quirales

La presente invención se refiere a un procedimiento quimioenzimático con 2-desoxirribosa-5-fosfato aldolasa (DERA) de preparación de compuestos quirales.

5 Se ha descrito el uso de la familia DERA (desoxirribosa aldolasa) de aldolasas en procedimientos quimioenzimáticos. Véanse la patente estadounidense nº 5.795.749, los documentos WO 03/006656, WO 2004/027075, WO 2005/012246; Gijzen, H. J. M., *et al.* JACS, 1994, 116, 8422-8423; Gijzen, H. J. M., *et al.*, JACS, 1995, 117, 7585-7591; Greenberg, W. A., *et al.*, PNAS, 2004, 101, 5788-5793, patente estadounidense nº 6.964.863 y Biotechnol J, 101, páginas 537-548 (2006). Sin embargo, algunos de los procedimientos proporcionaron un mal
10 rendimiento global así como una mezcla de productos. Además, los procedimientos se limitaron a sustratos específicos. Por consiguiente, existe una necesidad en la técnica de un procedimiento quimioenzimático que sea eficaz y eficiente para sustratos alternativos. La publicación de patente internacional WO – 2006/134482 describe un procedimiento que comprende la etapa de reaccionar un aldehído con un sustrato de aminoaldehído, un sustrato de aminoaldehído N-protegido o un sustrato de pirolaldehído en condiciones de condensación de aldol catalizado por aldolasa para formar el lactol correspondiente. Se describe el uso de varias aldolasas DERA y se recomienda el
15 uso de grupos de N-protección de benciloxicarbonilo, buroxycarbonilo, 9-fluorenilmetoxicarbonilo, bencilo y dibencilo.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a un procedimiento que comprende la etapa de hacer reaccionar acetaldehído con un sustrato de aminoaldehído N-protegido seleccionado del grupo que consiste en 3-ftalimidopropionaldehído y 3-succinimido-propionaldehído en condiciones de condensación aldólica catalizada por aldolasa para formar el correspondiente lactol.
20

La presente invención se refiere también a un procedimiento en el que dicha aldolasa es una aldolasa 2-desoxirribosa-5-fosfato aldolasa (DERA).

La presente invención se refiere también a un procedimiento en el que dicha aldolasa es DERA 04 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID Nº: 2 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID Nº: 17; DERA 06 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID Nº: 3 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID Nº: 18; DERA 101 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID Nº: 8 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID Nº: 23; DERA 102 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID Nº: 9 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID Nº: 24; DERA 103 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID Nº: 10 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID Nº: 25; DERA 104 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID Nº: 11 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID Nº: 26; DERA 105 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID Nº: 12 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID Nº: 27; DERA 106 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID Nº: 13 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID Nº: 28; DERA 107 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID Nº: 14 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID Nº: 29; DERA 108 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID Nº: 15 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID Nº: 30; o una aldolasa que tiene una identidad de secuencia de aminoácidos de al menos aproximadamente el 20% con las mismas.
25
30
35
40
45

Más específicamente, la presente invención se refiere también a un procedimiento en el que dicha aldolasa es DERA 04 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID Nº: 2 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID Nº: 17; DERA 06 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID Nº: 3 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID Nº: 18 o DERA 102 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID Nº: 9 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID Nº: 24.
50

Más específicamente, la presente invención se refiere también a un procedimiento en el que dicha aldolasa es DERA 04 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID Nº: 2 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID Nº: 17.

Más específicamente, la presente invención se refiere también a un procedimiento en el que dicha aldolasa es DERA 102 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID Nº: 9 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID Nº: 24.
55

La presente invención se refiere también a un procedimiento en el que dicho sustrato de aminoaldehído N-protegido es 3-ftalimidopropionaldehído.

La presente invención se refiere también a un procedimiento en el que dicho sustrato de aminoaldehído N-protegido es 3-succinimidopropionaldehído.
60

La presente invención se refiere a un procedimiento que comprende la etapa de:

(a) hacer reaccionar un aldehído con un sustrato de aminoaldehído N-protegido seleccionado del grupo constituido por 3-ftalimidopropionaldehído y 3-succinimido-propionaldehído en condiciones de condensación

aldólica catalizada por aldolasa para formar el correspondiente lactol;

(b) oxidar el lactol así formado para proporcionar la correspondiente lactona;

(c) hacer reaccionar la lactona así formada con alcohol isopropílico y acetona en catálisis ácida para proporcionar el correspondiente éster de isopropil-acetónido;

5 (d) tratar el éster de isopropil-acetónido así formado con una base para proporcionar el correspondiente éster isopropílico de amino-acetónido.

La presente invención se refiere a un procedimiento que comprende la etapa de:

10 (a) hacer reaccionar un aldehído con un sustrato de aminoaldehído N-protegido seleccionado del grupo constituido por 3-ftalimidopropionaldehído y 3-succinimido-propionaldehído en condiciones de condensación aldólica catalizada por aldolasa para formar el correspondiente lactol;

(b) oxidar el lactol así formado para proporcionar la correspondiente lactona;

(c) hacer reaccionar la lactona así formada con ciclopentanona para proporcionar el correspondiente éster isopropílico de ciclopentiliden-ftalimido; y

15 (d) tratar el éster isopropílico de ciclopentiliden-ftalimido así formado con base para proporcionar el correspondiente éster isopropílico de amino-ciclopentilideno.

La presente invención se refiere a un procedimiento que comprende las etapas de:

(a) hacer reaccionar un aldehído con un sustrato de aminoaldehído N-protegido seleccionado del grupo constituido por 3-ftalimidopropionaldehído y 3-succinimido-propionaldehído en condiciones de condensación aldólica catalizada por aldolasa para formar el correspondiente lactol;

20 (b) deshidrogenar el lactol así formado en condiciones de deshidrogenación catalítica para proporcionar el correspondiente ácido heptanoico;

(c) tratar dicho ácido 3,5-dihidroxiheptanoico así formado con dicitclohexilamina para formar la correspondiente sal;

25 (d) hacer reaccionar la sal así formada con ortoformiato de triisopropilo y acetona en catálisis ácida para proporcionar el correspondiente éster de isopropil-acetónido; y

(e) tratar el éster de isopropil-acetónido así formado con base para proporcionar el correspondiente éster isopropílico de amino-dicitclohexilamina.

La presente invención se refiere a un procedimiento que comprende las etapas de:

30 (a) hacer reaccionar un aldehído con un sustrato de aminoaldehído N-protegido seleccionado del grupo constituido por 3-ftalimidopropionaldehído y 3-succinimido-propionaldehído en condiciones de condensación aldólica catalizada por aldolasa para formar el correspondiente lactol;

(b) oxidar el lactol así formado para proporcionar el correspondiente ácido 3,5-dihidroxiheptanoico;

(c) tratar dicho ácido 3,5-dihidroxiheptanoico con dicitclohexilamina para formar la correspondiente sal; y

35 (d) hacer reaccionar la sal así formada con ortoformiato de triisopropilo para proporcionar el correspondiente éster de isopropil-acetónido; y

(e) tratar el éster de isopropil-acetónido así formado con base para proporcionar el correspondiente éster isopropílico de amino-acetónido.

La presente invención se refiere también a un procedimiento en el que dicha aldolasa es DERA 102.

Breve descripción de los dibujos

40 La figura 1 es un patrón de difracción de rayos X de polvo experimental para 4-fluoro-alfa-[2-metil-1-oxopropil]-gamma-oxo-N,beta-difenilbencenbutanamida. La escala de abscisas es grados de dos-theta. La ordenada es la intensidad de las cuentas.

La figura 2 es el termograma de calorimetría diferencial de barrido (DSC) para 4-fluoro-alfa-[2-metil-1-oxopropil]-gamma-oxo-N,beta-difenilbencenbutanamida.

45 La figura 3 es el espectro infrarrojo (FTIR) para 4-fluoro-alfa-[2-metil-1-oxopropil]-gamma-oxo-N,beta-difenilbencenbutanamida.

La figura 4 es el espectro Raman para 4-fluoro-alfa-[2-metil-1-oxopropil]-gamma-oxo-N,beta-difenilbencenbutanamida.

50 La figura 5 es un patrón de difracción de rayos X de polvo experimental para (2R-trans)-5-(4-fluorofenil)-2-(1-metiletil)-N,4-difenil-1-[2-(tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2H-piran-2-il)etil]-1H-pirrol-3-carboxamida. La escala de abscisas

es grados de dos-theta. La ordenada es la intensidad de las cuentas.

La figura 6 es el termograma de calorimetría diferencial de barrido (DSC) para (2R-trans)-5-(4-fluorofenil)-2-(1-metiletil)-N,4-difenil-1-[2-(tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2H-piran-2-il)etil]-1H-pirrol-3-carboxamida.

5 La figura 7 es el espectro infrarrojo (FTIR) para (2R-trans)-5-(4-fluorofenil)-2-(1-metiletil)-N,4-difenil-1-[2-(tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2H-piran-2-il)etil]-1H-pirrol-3-carboxamida.

La figura 8 es el espectro Raman para (2R-trans)-5-(4-fluorofenil)-2-(1-metiletil)-N,4-difenil-1-[2-(tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2H-piran-2-il)etil]-1H-pirrol-3-carboxamida.

Descripción detallada de la invención

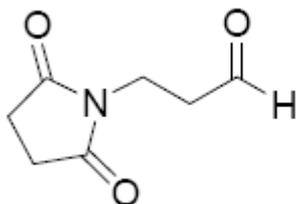
Definiciones

10 A menos que se indique lo contrario, los siguientes términos se definen tal como sigue:

El artículo “un” o “una” tal como se usa en el presente documento se refiere a ambas formas, singular y plural, del objeto al que se refiere.

15 La expresión “condiciones de condensación aldólica catalizada por aldolasa” tal como se usa en el presente documento se refiere a cualquier condición de condensación aldólica conocida en la técnica que puede estar catalizada por una aldolasa, tal como se describe en el presente documento.

Un sustrato para su uso en la presente invención es



3-succinimido-propionaldehído

En la invención, el sustrato de aminoaldehído es 3-ftalimidopropionaldehído o 3-succinimido-propionaldehído.

20 Una aldolasa para su uso en la presente invención puede ser cualquier enzima que tiene actividad aldolasa hacia un sustrato de aminoaldehído como se describe en el presente documento. En una invención, la aldolasa es una 2-desoxirribosa-5-fosfato aldolasa (DERA). Los ejemplos de una aldolasa DERA adecuada incluyen, pero no se limitan a:

DERA 03 (*E. coli*) (comercialmente disponible de Sigma Aldrich, St. Louis, MO);
 25 DERA 04 (William A. Greenberg, *et al.*, PNAS, (2004), Vol. 101, nº. 16, páginas 5788-5793 o una versión modificada del mismo);
 DERA 06 (número de acceso GenBank NP_294929 o una versión modificada del mismo);
 DERA 08 (número de acceso GenBank NP_465519 o una versión modificada del mismo);
 30 DERA 11 (número de acceso GenBank NP_439273);
 DERA 12 (número de acceso GenBank NP_229359);
 DERA 15 (Haruhiko Sakuraba, *et al.*, Journal of Biological Chemistry (2003), Vol. 278, nº 12, páginas 10799-10806);
 DERA 101 (número de acceso GenBank NP_906068.1 o una versión modificada del mismo);
 DERA 102 (número de acceso GenBank NP_813976.1 o una versión modificada del mismo);
 DERA 103 (número de acceso GenBank NP_01130044.1 o una versión modificada del mismo);
 35 DERA 104 (número de acceso GenBank YP_924715.1 o una versión modificada del mismo);
 DERA 105 (número de acceso GenBank YP_148352.1 o una versión modificada del mismo);
 DERA 106 (número de acceso GenBank NP_471437.1 o una versión modificada del mismo);
 DERA 107 (número de acceso GenBank NP_242218.1 o una versión modificada del mismo); y
 DERA 108 (número de acceso GenBank ZP_00875069.1 o una versión modificada del mismo).
 40

En una realización de la invención, la aldolasa es una aldolasa que tiene una identidad de secuencia de aminoácidos de al menos el 70% con las mismas, con respecto a una aldolasa DERA descrita en el presente documento. En una realización de la invención, la aldolasa DERA es DERA 04, DERA 08 o DERA 102. En una realización de la invención, la aldolasa DERA es DERA 102.

45 Según la invención, DERA 03, DERA 04, DERA 06, DERA 08, DERA 11, DERA 12, DERA 15, DERA 101, DERA 102, DERA 103, DERA 104, DERA 105, DERA 106, DERA 107 y DERA 108 se identifican mediante sus secuencias de nucleótidos y secuencias de aminoácidos expuestas en los ejemplos 1-30.

Más específicamente, DERA 03 es una aldolasa que tiene una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 1 y una

secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 16.

DERA 04 es una aldolasa que tiene una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 2 y una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 17.

5 DERA 06 es una aldolasa que tiene una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 3 y una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 18.

DERA 08 es una aldolasa que tiene una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 4 y una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 19.

DERA 11 es una aldolasa que tiene una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 5 y una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 20.

10 DERA 12 es una aldolasa que tiene una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 6 y una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 21.

DERA 15 es una aldolasa que tiene una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 7 y una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 22.

15 DERA 101 es una aldolasa que tiene una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 8 y una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 23.

DERA 102 es una aldolasa que tiene una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 9 y una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 24.

DERA 103 es una aldolasa que tiene una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 10 y una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 25.

20 DERA 104 es una aldolasa que tiene una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 11 y una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 26.

DERA 105 es una aldolasa que tiene una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 12 y una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 27.

25 DERA 106 es una aldolasa que tiene una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 13 y una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 28.

DERA 107 es una aldolasa que tiene una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 14 y una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 29.

DERA 108 es una aldolasa que tiene una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 15 y una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 30.

30 Las aldolasas DERA descritas en el presente documento pueden prepararse mediante cualquier medio conocido en la técnica, incluyendo, pero sin limitarse a, protocolos convencionales para expresión de proteínas en *E. coli* recombinante (Sambrook y Russell, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3ª Ed., Cold Spring Harbor, NY 2001). Tal como entenderá un experto en la técnica, versiones modificadas de aldolasas DERA conocidas pueden ser necesarias o pueden resultar dependientes de las condiciones de clonación y se abarcan por la presente invención.

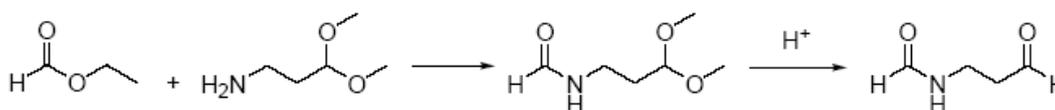
35 Los siguientes esquemas ilustran la presente invención.

Preparación A



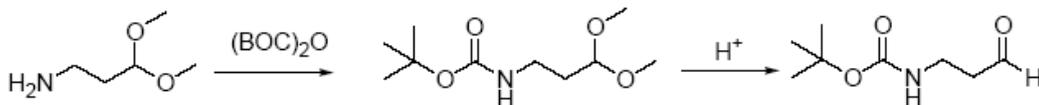
40 En la preparación A, se prepara 3-ftalimidopropionaldehído haciendo reaccionar ftalimida con acroleína en presencia de hidróxido de benciltrimetilamonio (Triton-B). Se agita la reacción a una temperatura entre aproximadamente 53°C y aproximadamente 67,5°C, preferiblemente de aproximadamente 60°C, durante un periodo de tiempo entre aproximadamente 30 minutos y aproximadamente 3 horas, preferiblemente de aproximadamente 90 minutos.

Preparación B



45 En la preparación B, se prepara N-formil-3-aminopropionaldehído haciendo reaccionar formiato de etilo con 1-amino-3,3-dimetoxipropano y tratando la amida así formada con ácido.

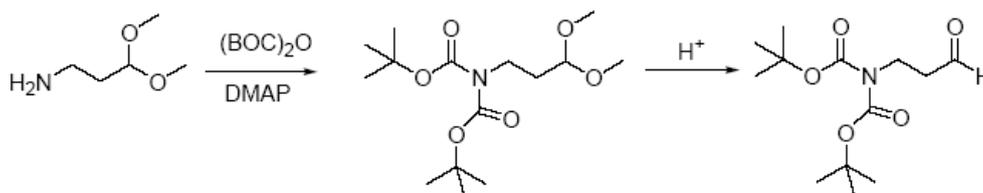
Preparación C



En la preparación C, se prepara N-Boc-3-aminopropionaldehído haciendo reaccionar 1-amino-3,3-dimetoxipropano con BOC anhídrido y tratando la amida así formada con ácido.

5

Preparación D



En la preparación D, se prepara N-di-Boc-3-aminopropionaldehído haciendo reaccionar 1-amino-3,3-dimetoxipropano con BOC anhídrido en presencia de 4-di(metilamino)piridina y tratando la amida así formada con ácido.

10

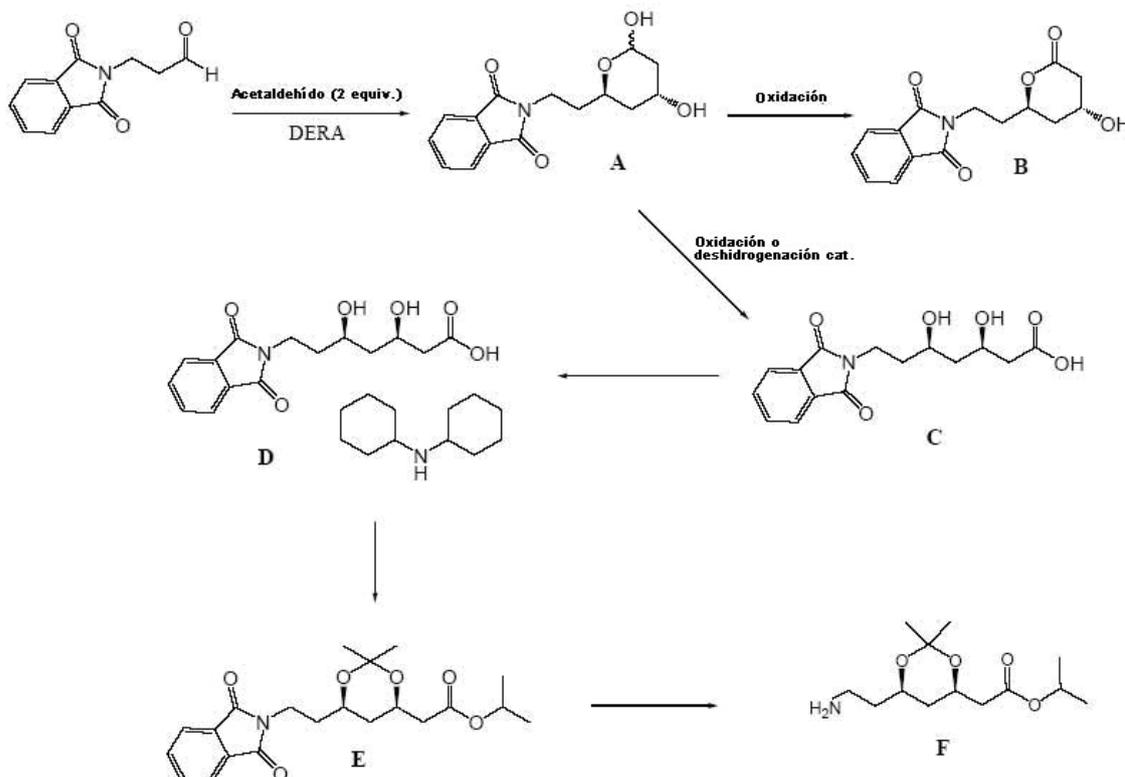
Preparación E

3-Succinimidopropionaldehído

Se añade acroleína a una disolución de succinimida en presencia de etóxido de sodio catalítico y un disolvente prótico polar, tal como etanol. Se agita la mezcla de reacción a una temperatura entre aproximadamente 10°C y aproximadamente 40°C, preferiblemente de aproximadamente 20-30°C, durante un periodo de tiempo entre aproximadamente 20 horas y aproximadamente 60 horas, preferiblemente de aproximadamente 48 horas.

15

Esquema 1



20 El esquema 1 describe en general un procedimiento abarcado por la presente invención. Tal como se expone en el

esquema 1, una aldolasa DERA cataliza dos reacciones de condensación aldólica secuenciales entre 3-ftalimidopropionaldehído y 2 moles de acetaldehído en presencia de otros disolventes adecuados tales como metil-terc-butil éter (MTBE) y agua para proporcionar el amino-lactol (**A**) deseado protegido. Las aldolasas DERA adecuadas incluyen, pero no se limitan a, DERA 04, DERA 06, DERA 101, DERA 102, DERA 104, DERA 105, 5 DERA 106, DERA 107 y DERA 108, preferiblemente DERA 04 y DERA 102. Se añade el acetaldehído a la mezcla de 3-ftalimidopropionaldehído y aldolasa DERA a lo largo de un periodo de tiempo entre aproximadamente 7 horas y aproximadamente 12 horas, preferiblemente de aproximadamente 10 horas. Se agita adicionalmente la mezcla así formada a una temperatura entre aproximadamente 15°C y aproximadamente 30°C, preferiblemente de aproximadamente 22°C, durante un periodo de tiempo entre aproximadamente 20 horas y aproximadamente 60 10 horas, preferiblemente de aproximadamente 48 horas.

El amino-lactol (**A**) puede experimentar deshidrogenación catalítica (por ejemplo platino sobre carbono o paladio sobre carbono) para formar el ácido carboxílico (**C**), que entonces puede experimentar lactonización para formar (**B**).

La presente invención abarca cualquier medio de deshidrogenación catalítica conocido en la técnica para transformar (**A**) en (**C**). Los ejemplos de catalizadores adecuados incluyen, pero no se limitan a, Pt/C, Pd/C, Pt/Bi/C, Pd/Bi/C y cualquier otro catalizador de deshidrogenación. En una realización de la invención, se lleva a cabo la deshidrogenación catalítica de aproximadamente pH 7 a aproximadamente pH 10 usando aire u oxígeno como oxidante terminal. 15

La presente invención abarca cualquier medio de lactonización conocido en la técnica para transformar el ácido carboxílico (**C**) en la lactona (**B**), incluyendo, pero sin limitarse al uso de catalizadores ácidos tales como, pero sin limitarse a, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido metansulfónico (MSA), ácido p-toluensulfónico (TSA) y cualquier otro ácido de lactonización conocido en la técnica. Más específicamente, el ácido 7-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-isoindo-2-il)-3,5-dihidroxi-heptanoico (**C**) se transforma en el correspondiente 2-[2-(4-hidroxi-6-oxo-tetrahidro-piran-2-il)-isoindol-1,3-diona (**B**) tratando (**C**) con ácido clorhídrico anhidro en presencia de acetato de etilo. Se agita la reacción a temperatura ambiente durante un periodo de tiempo entre aproximadamente 1 hora y aproximadamente 4 20 horas, preferiblemente de aproximadamente 2-3 horas.

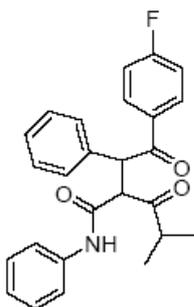
Como alternativa, la oxidación del lactol (**A**) para dar la lactona (**B**) o el ácido carboxílico (**C**) puede llevarse a cabo mediante el uso de cualquier medio de oxidación conocido en la técnica que conseguirá la transformación deseada. Más específicamente, la 2-[2-(4,6-dihidroxi-tetrahidro-piran-2-il)-isoindol-1,3-diona (**A**) se transforma en el correspondiente 2-[2-(4-hidroxi-6-oxo-tetrahidro-piran-2-il)-isoindol-1,3-diona (**B**) oxidando (**A**) en presencia de un agente de oxidación, tal como clorito de sodio. Se agita la reacción a una temperatura entre aproximadamente 10°C y aproximadamente 30°C, preferiblemente de aproximadamente 23°C, durante un periodo de tiempo entre aproximadamente 2 horas y aproximadamente 6 horas, preferiblemente de aproximadamente 4 horas. La 2-[2-(4,6-dihidroxi-tetrahidro-piran-2-il)-isoindol-1,3-diona (**A**) también puede transformarse en el correspondiente ácido 7-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-isoindo-2-il)-3,5-dihidroxiheptanoico (**C**) oxidando (**A**) en presencia de un agente de oxidación, tal como clorito de sodio, un tampón fosfato, un disolvente aprótico polar, tal como dimetilsulfóxido, y un alcohol, tal como isopropanol. Se mantiene la reacción a temperatura ambiente y un pH entre aproximadamente 5 y aproximadamente 6 durante un periodo de tiempo entre aproximadamente 2 horas y aproximadamente 6 horas, preferiblemente de aproximadamente 4 horas. 30

El ácido 7-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-isoindo-2-il)-3,5-dihidroxi-heptanoico (**C**) se transforma en la correspondiente sal de dicitclohexilamina (DCA) (**D**) tratando (**C**) con dicitclohexilamina en presencia de acetato de etilo. Entonces se transforma la sal de DCA (**D**) en el éster isopropílico de ftalimido-acetónido (**E**) haciendo reaccionar (**D**) con DCM, ortoformiato de triisopropilo en presencia de acetona y ácido metansulfónico. 35

También puede prepararse el éster isopropílico de ftalimido-acetónido (**E**) haciendo reaccionar 2-[2-(4-hidroxi-6-oxo-tetrahidro-piran-2-il)-isoindol-1,3-diona (**B**) con alcohol isopropílico en presencia de acetona y ácido metansulfónico (MSA). Se agita la mezcla de reacción a temperatura ambiente a un pH entre aproximadamente 1 y aproximadamente 2, preferiblemente de aproximadamente 1,5, durante un periodo de tiempo entre aproximadamente 20 horas y aproximadamente 28 horas, preferiblemente de aproximadamente 24 horas. 45

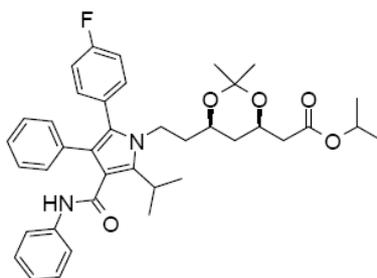
Se desprotege el éster isopropílico de ftalimido-acetónido (**E**) para dar el correspondiente éster isopropílico de amino-acetónido (**F**) tratando (**E**) con una base, tal como amina primaria, es decir una alquilamina, diamina tal como etilendiamina o una hidroxilamina, en presencia de un disolvente prótico polar, tal como metanol. Se agita la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante un periodo de tiempo entre aproximadamente 30 minutos y aproximadamente 4 horas, preferiblemente de aproximadamente 2 horas. 50

Puede hacerse reaccionar adicionalmente el éster isopropílico de amino-acetónido (**F**) con 4-fluoro-alfa-[2-metil-1-oxopropil]-gamma-oxo-N,beta-difenilbencenbutanamida de fórmula II



II

para dar el correspondiente éster isopropílico de acetónido que contiene anillo de pirrol, de fórmula III a continuación



III

- 5 Según la invención, tal como entenderá un experto en la técnica, la estereoselectividad de la etapa enzimática puede confirmarse mediante la preparación química de patrones racémicos y el desarrollo de los métodos cromatográficos quirales relacionados.

El patrón de PXRD para 4-fluoro-alfa-[2-metil-1-oxopropil]-gamma-oxo-N,beta-difenilbencenbutanamida se muestra en la figura 1.

- 10 Los picos principales (superiores al 13% de intensidad relativa) se dan en la tabla 1. La 4-fluoro-alfa-[2-metil-1-oxopropil]-gamma-oxo-N,beta-difenilbencenbutanamida presenta picos de difracción característicos a dos-theta de 9,0 grados, 12,7 grados, 20,2 grados, 22,6 grados y 25,2 grados \pm 0,1 grados. El termograma de DSC se muestra en la figura 2. La 4-fluoro-alfa-[2-metil-1-oxopropil]-gamma-oxo-N,beta-difenilbencenbutanamida muestra un pico endotérmico intenso a $213^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. El espectro de FT-IR se ilustra en la figura 3. La tabla de picos de FT-IR se da en la tabla 2. La 4-fluoro-alfa-[2-metil-1-oxopropil]-gamma-oxo-N,beta-difenilbencenbutanamida presenta picos característicos a 696 cm^{-1} , 1492 cm^{-1} , 1327 cm^{-1} , 843 cm^{-1} , 1151 cm^{-1} (en este orden). El espectro de FT-Raman se ilustra en la figura 4. La tabla de picos de FT-Raman se da en la tabla 3. La 4-fluoro-alfa-[2-metil-1-oxopropil]-gamma-oxo-N,beta-difenilbencenbutanamida presenta picos característicos a 1004 cm^{-1} , 115 cm^{-1} , 87 cm^{-1} , 877 cm^{-1} , 1601 cm^{-1} .

- 20 Tabla 1: Picos de PXRD principales para 4-fluoro-alfa-[2-metil-1-oxopropil]-gamma-oxo-N,beta-difenilbencenbutanamida

Ángulo 2-theta (°)	Intensidad relativa (%)	Ángulo 2-theta (°)	Intensidad relativa (%)
7,6	22,8	25,2	54,3
9,0	84,3	25,5	49,2
11,8	18,4	26,0	23,0
12,7	93,8	26,9	30,6
14,7	12,8	27,1	51,8
16,4	18,5	27,6	13,4
18,0	41,1	28,4	20,2
18,8	100,0	28,5	21,4
18,9	78,0	28,7	21,1
19,6	19,0	28,9	20,0

20,2	86,4	29,4	13,3
20,5	46,6	32,7	17,4
20,7	31,1	33,4	27,7
21,1	25,0	36,4	13,6
22,6	55,9	37,3	13,5
22,9	14,2	37,8	13,9
23,2	14,0	38,6	20,3
23,5	17,0	39,4	13,6
24,0	18,0	39,8	13,9
24,7	17,5		

Tabla 2: Picos de FT-IR para 4-fluoro-alfa-[2-metil-1-oxopropil]-gamma-oxo-N,betadifenilbencenbutanamida

El error experimental es $\pm 2 \text{ cm}^{-1}$ (d: débil, m: medio, f: fuerte)

Número de onda (cm^{-1})			
3290d*	1506d	1151m	683d
3083d	1492m	1099d	
3025d	1466d	1037d	
2969d	1448m	1012d	
2927d	1407d	992m	
2871d	1381m	875d	
1720m	1327m	843m	
1683m	1279m	809d	
1649f	1227m	754f	
1594m	1207m	736d	
1546m	1174d	696f	

5 Tabla 3: Picos de FT-Raman para 4-fluoro-alfa-[2-metil-1-oxopropil]-gamma-oxo-N,beta-difenilbencenbutanamida

El error experimental es $\pm 2 \text{ cm}^{-1}$. (d: débil, m: medio, f: fuerte, mf: muy fuerte)

Número de onda (cm^{-1})			
3301d*	1449d	877d	
3084f	1352d	843d	
3069f	1330d	813d	
3060m	1310d	633d	
3042d	1281d	619d	
2975d	1245d	307d	
2938d	1229d	290d	
2918d	1210d	234d	
2871d	1176m	186d	
1722d	1159d	158m	

1684f	1154d	115mf	
1652d	1033d	87mf	
1601f	1004f	70mf	
1546d	911d		

- El patrón de PXRD para (2R-trans)-5-(4-fluorofenil)-2-(1-metiletil)-N,4-difenil-1-[2-(tetrahydro-4-hidroxi-6-oxo-2H-piran-2-il)etil]-1H-pirrol-3-carboxamida se muestra en la figura 5. Los picos principales (superiores al 12% de intensidad relativa) se dan en la tabla 4. La (2R-trans)-5-(4-fluorofenil)-2-(1-metiletil)-N,4-difenil-1-[2-(tetrahydro-4-hidroxi-6-oxo-2H-piran-2-il)etil]-1H-pirrol-3-carboxamida presenta picos de difracción característicos a dos theta de 6,3 grados, 12,7 grados, 16,8 grados, 21,1 grados y 25,5 grados \pm 0,1 grados. El termograma de DSC se muestra en la figura 6. La (2R-trans)-5-(4-fluorofenil)-2-(1-metiletil)-N,4-difenil-1-[2-(tetrahydro-4-hidroxi-6-oxo-2H-piran-2-il)etil]-1H-pirrol-3-carboxamida muestra un pico endotérmico intenso a 166°C \pm 2°C. El espectro de FT-IR se ilustra en la figura 7. La tabla de picos de FT-IR se da en la tabla 5. La (2R-trans)-5-(4-fluorofenil)-2-(1-metiletil)-N,4-difenil-1-[2-(tetrahydro-4-hidroxi-6-oxo-2H-piran-2-il)etil]-1H-pirrol-3-carboxamida presenta picos característicos a 851 cm⁻¹, 1220 cm⁻¹, 1047 cm⁻¹, 757 cm⁻¹, 1153 cm⁻¹ (en este orden). El espectro de FT-Raman se ilustra en la figura 8. La tabla de picos de FT-Raman se da en la tabla 6. La (2R-trans)-5-(4-fluorofenil)-2-(1-metiletil)-N,4-difenil-1-[2-(tetrahydro-4-hidroxi-6-oxo-2H-piran-2-il)etil]-1H-pirrol-3-carboxamida presenta picos característicos a 1531 cm⁻¹, 997 cm⁻¹, 114 cm⁻¹, 99 cm⁻¹, 1605 cm⁻¹.
- 15 Tabla 4: Picos de PXRD principales para (2R-trans)-5-(4-fluorofenil)-2-(1-metiletil)-N,4-difenil-1-[2-(tetrahydro-4-hidroxi-6-oxo-2H-piran-2-il)etil]-1H-pirrol-3-carboxamida

Ángulo 2-theta (°)	Intensidad relativa (%)	Ángulo 2-theta (°)	Intensidad relativa (%)
6,3	66,9	25,0	17,8
8,8	13,7	25,5	41,3
10,4	18,7	26,7	29,7
11,1	14,1	26,9	28,4
12,3	21,4	27,2	19,3
12,7	35,5	27,8	33,9
16,8	82,0	28,4	12,5
17,7	84,3	29,5	22,7
17,9	47,4	31,4	12,2
18,3	21,3	31,9	17,9
18,9	100,0	32,5	14,3
19,1	76,5	32,8	15,1
20,0	35,2	33,5	14,2
20,1	56,7	34,7	15,8
20,3	19,8	36,3	18,1
20,7	47,6	36,6	13,2
20,8	61,6	37,5	14,1
21,1	48,0	38,3	15,6
22,8	27,7	39,5	13,2
24,3	21,0		

Tabla 5: Picos de FT-IR para (2R-trans)-5-(4-fluorofenil)-2-(1-metiletil)-N,4-difenil-1-[2-(tetrahydro-4-hidroxi-6-oxo-2H-piran-2-il)etil]-1H-pirrol-3-carboxamida

- 20 El error experimental es \pm 2 cm⁻¹. (d: débil, m: medio, f: fuerte)

Número de onda (cm ⁻¹)			
3431d*	<u>1497d</u>	1161d	<u>851f</u>
2961d	<u>1485m</u>	<u>1153m</u>	804m
2937d	1433f	1097d	795d
2927d	1387m	1083m	775d
1699f	1349d	1069m	<u>757f</u>
1662f	1312m	<u>1047m</u>	736m
1591m	1269d	996d	710f
1559d	1235m	988d	691f
1524m	<u>1220f</u>	885d	664m
1509f	1172m	869d	

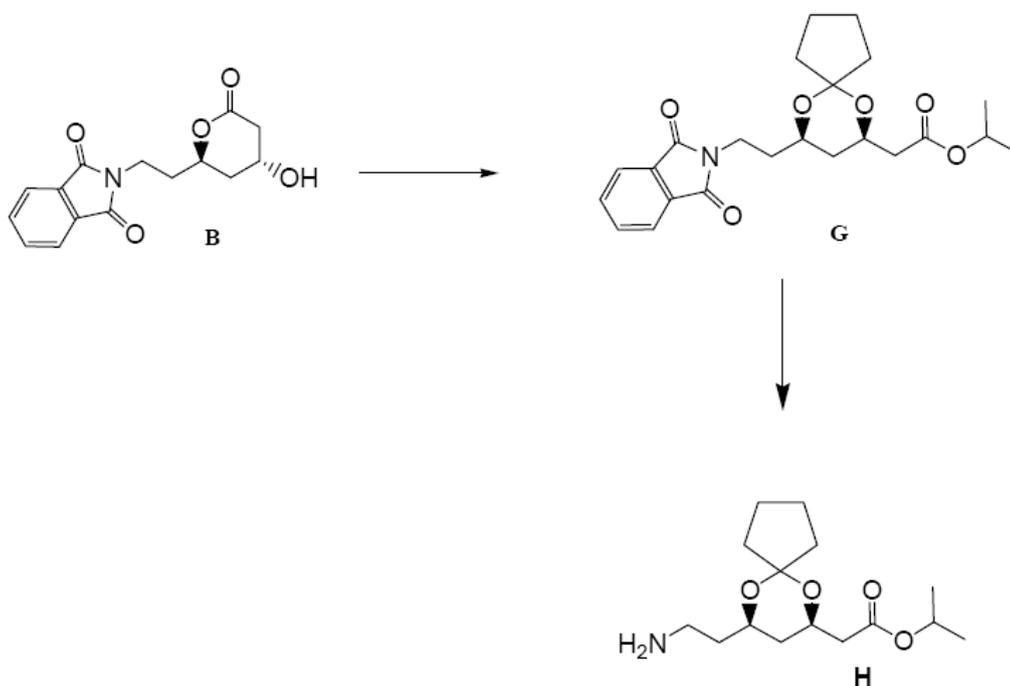
Tabla 6: Picos de FT-Raman para (2R-trans)-5-(4-fluorofenil)-2-(1-metiletil)-N,4-difenil-1-[2-(tetrahydro-4-hidroxi-6-oxo-2H-piran-2-il)etil]-1H-pirrol-3-carboxamida

El error experimental es $\pm 2 \text{ cm}^{-1}$. (d: débil, m: medio, f: fuerte, mf: muy fuerte)

Número de onda (cm ⁻¹)			
3433d*	<u>1531f</u>	<u>997m</u>	411d
3064m	1514m	902d	391d
3049m	1482m	861d	371d
2984d	1414m	836d	231d
2963d	1401d	824d	198d
2940d	1368d	805d	172d
2929d	1315d	731d	157m
2908d	1301d	701d	<u>114mf</u>
1701d	1239m	638d	<u>99mf</u>
1664f	1178d	618d	67mf
<u>1605f</u>	<u>1155d</u>	524d	61mf
1559d	1036d	504d	

5

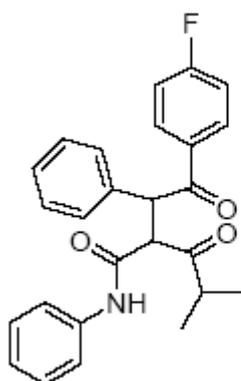
Esquema 2



5 Tal como se expone en el esquema 2, el éster isopropílico de ciclopentiliden-ftalimido (**G**) puede prepararse haciendo reaccionar 2-[2-(4-hidroxi-6-oxo-tetrahidro-piran-2-il]-isoindol-1,3-diona (**B**) con ciclopentanona y alcohol isopropílico en presencia de sulfato de magnesio y ácido metansulfónico (MSA). Se agita la mezcla de reacción a temperatura ambiente a un pH entre aproximadamente 1 y aproximadamente 2, preferiblemente de aproximadamente 1,5, durante un periodo de tiempo entre aproximadamente 20 horas y aproximadamente 28 horas, preferiblemente de aproximadamente 24 horas.

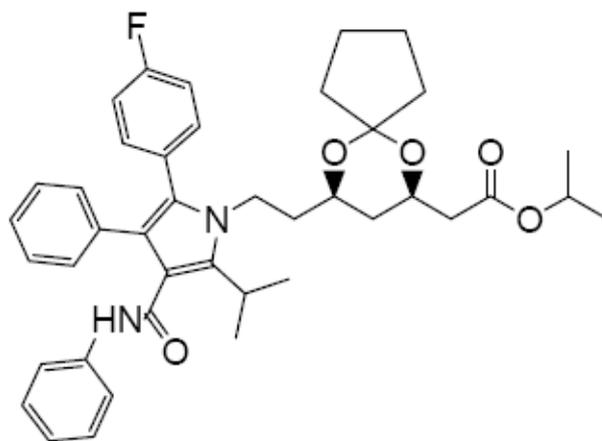
10 Se desprotege el éster isopropílico de ciclopentiliden-ftalimido (**G**) para dar el correspondiente éster isopropílico de amino-ciclopentilideno (**H**) tratando (**G**) con una base, tal como amina primaria, es decir una alquilamina, diamina tal como etilendiamina o una hidroxiamina, en presencia de un disolvente prótico polar, tal como metanol. Se agita la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante un periodo de tiempo entre aproximadamente 30 minutos y aproximadamente 4 horas, preferiblemente de aproximadamente 2 horas.

El éster isopropílico de amino-ciclopentilideno (**H**) así formado puede hacerse reaccionar adicionalmente con 4-fluoro-alfa-[2-metil-1-oxopropil]-gamma-oxo-N,beta-difenilbencenbutanamida de fórmula II



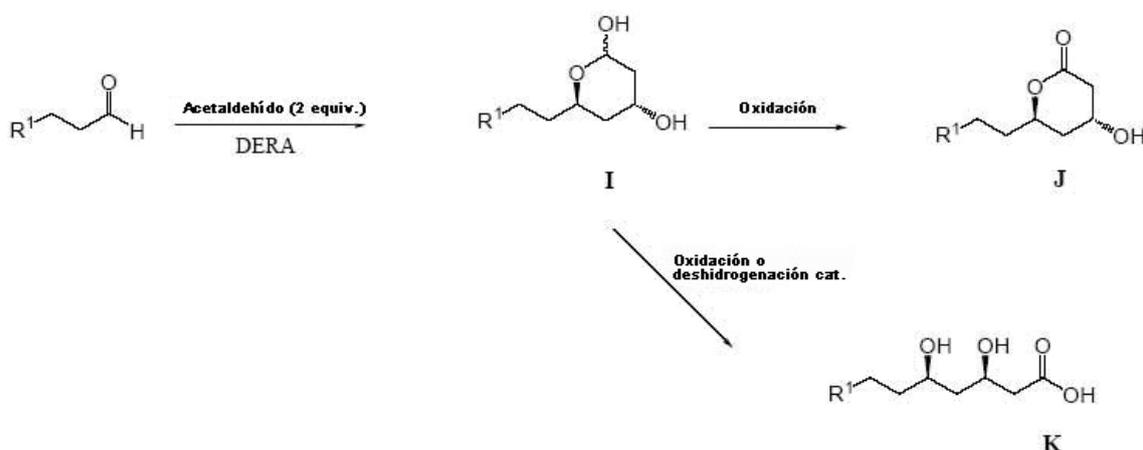
II

15 para dar el correspondiente éster isopropílico de ciclopentilideno que contiene anillo de pirrol, de fórmula IV a continuación



IV.

Esquema 3



5 El esquema 3 describe en general un procedimiento abarcado por la presente invención. Tal como se expone en el esquema 3, una aldolasa DERA cataliza dos reacciones de condensación aldólica secuenciales entre 3-succinimido-propionaldehído, y 2 moles de acetaldehído en presencia de un codisolvente adecuado tal como metil-terc-butil éter (MTBE) y agua para proporcionar el amino-lactol (I) deseado protegido. Las aldolasas DERA adecuadas incluyen, pero no se limitan a, DERA 04, DERA 06, DERA 101, DERA 102, DERA 104, DERA 105, DERA 106, DERA107 y DERA 108, preferiblemente DERA 04 y DERA 102. El acetaldehído se añade a una mezcla del aminoaldehído N-prottegido y la aldolasa DERA a lo largo de un periodo de tiempo entre aproximadamente 7 horas y aproximadamente 12 horas, preferiblemente de aproximadamente 10 horas. Se agita adicionalmente la mezcla así formada a una temperatura entre aproximadamente 15°C y aproximadamente 30°C, preferiblemente de aproximadamente 22°C, durante un periodo de tiempo entre aproximadamente 20 horas y aproximadamente 60 horas, preferiblemente de aproximadamente 48 horas.

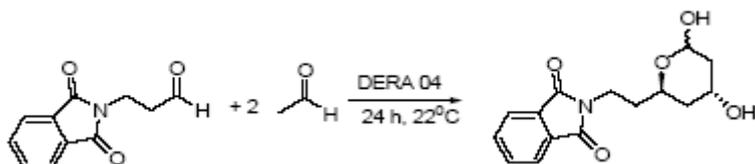
15 El amino-lactol (I) puede experimentar deshidrogenación catalítica (por ejemplo, con Pt/C, Pd/C) para formar el ácido carboxílico (K), que entonces puede experimentar lactonización para formar (J).

20 La presente invención abarca cualquier medio de deshidrogenación catalítica conocido en la técnica para transformar (I) en (K). Los ejemplos de catalizadores adecuados incluyen, pero no se limitan a, Pt/C, Pd/C, Pt/Bi/C, Pd/Bi/C y cualquier otro catalizador de deshidrogenación. En una realización de la invención, la deshidrogenación catalítica se lleva a cabo de aproximadamente pH 7 a aproximadamente pH 10 usando aire u oxígeno como oxidante terminal.

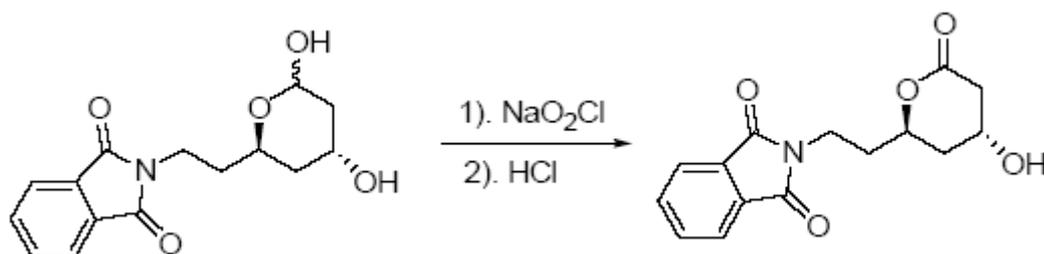
25 La presente invención abarca cualquier medio de lactonización conocido en la técnica para transformar el ácido carboxílico (K) en lactona (J), incluyendo, pero sin limitarse al uso de catalizadores ácidos tales como, pero sin limitarse a, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido metansulfónico (MSA), ácido p-toluensulfónico (TSA) y cualquier otro ácido de lactonización conocido en la técnica.

Como alternativa, la oxidación del lactol (I) para dar la lactona (J) o el ácido carboxílico (K) puede llevarse a cabo mediante el uso de cualquier medio de oxidación conocido en la técnica que conseguirá la transformación deseada.

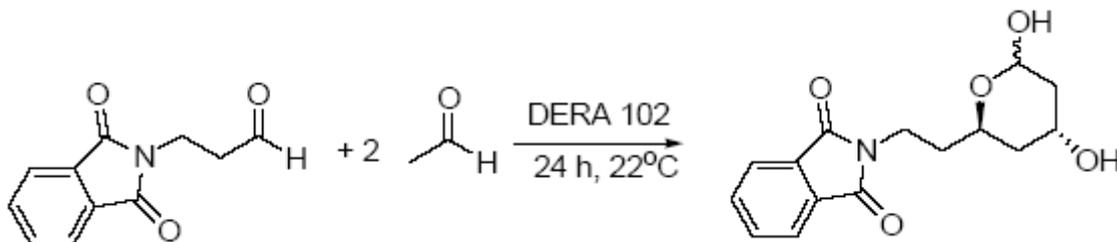
Los siguientes ejemplos no limitantes ilustran la invención.

Ejemplo 12-[2-(4,6-Dihidroxi-tetrahidro-piran-2-il)-isoindol-1,3-diona

5 A una suspensión de 3-ftalimido-propionaldehído (10,0 gramos, 49,2 mmoles) en 20 ml de terc-butil-metil éter (MTBE) se le añadió una disolución de lisado de DERA 04 (52,0 ml, 10.400 unidades, preparada a partir de 13,0 gramos de células húmedas de DERA 04 en tampón fosfato, pH 7,0, 0,01 M) y tampón fosfato (102 ml, pH 7,0, 0,01 M) con agitación enérgica a 22°C. Se añadió continuamente acetaldehído (4,8 gramos, 108,2 mmoles, Aldrich) disuelto en agua (10 ml) a la mezcla de reacción mediante una bomba programada durante 10 horas. Se mantuvo el pH de la mezcla de reacción a 7,0 mediante valoración con hidróxido de sodio 1,0 N. Se agitó adicionalmente la mezcla de reacción a 22°C durante 10 horas y se monitorizó la conversión mediante cromatografía líquida a alta presión (HPLC). Tras 20 horas, se consumió aproximadamente el 95% del material de partida y se produjo el 50-55% del lactol deseado basándose en el análisis de cromatografía líquida a alta presión, y se usó directamente la mezcla de reacción resultante en la etapa de oxidación posterior. CL-ESIEM de lactol: m/z [M+H]⁺ 292,3.

Ejemplo 215 2-[2-(4-Hidroxi-6-oxo-tetrahidro-piran-2-il)-isoindol-1,3-diona

20 A una suspensión de lactol bruto (200 ml; preparado según el ejemplo 1) se le añadió dimetilsulfóxido (10 ml) con agitación. Entonces se añadió gota a gota una disolución de clorito de sodio (1,5 eq., 8,3 gramos, Aldrich) en agua (18 ml) a lo largo de 30 minutos. Se controló la temperatura en el intervalo de 20-25°C. El pH de la mezcla de reacción debe mantenerse por encima de 4,0. Tras 4 horas, se añadió acetona (200 ml). Se agitó la mezcla de reacción a 0-5°C durante 1 hora y entonces se filtró a través de una almohadilla de celite (10 gramos) en un embudo buchel. Se lavó la torta filtrada con acetona (50 ml, dos veces). Se concentró el filtrado de acetona combinado para eliminar la acetona y el metil-terc-butil éter (MTBE) a vacío. Se ajustó la disolución acuosa restante a pH de aproximadamente 4,0 y se extrajo con acetato de etilo (100 ml, tres veces). Se secó la disolución de acetato de etilo combinada sobre sulfato de magnesio y se concentró hasta aproximadamente 100 ml a vacío, lo que se trató con ácido clorhídrico seco (0,6 ml, 4 M en dioxano) en presencia de sulfato de magnesio (2 gramos) y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Entonces se lavó la mezcla de reacción con bicarbonato de sodio saturado/salmuera y se secó sobre sulfato de sodio. Se concentró la disolución de acetato de etilo hasta 50 ml a la que entonces se añadieron 50 ml de heptano. Se filtró el sólido formado y se lavó con heptano (20 ml), y se secó en un horno proporcionando la lactona como un sólido blanco (el 40%-45% para tres etapas, 95% de pureza química, ee >99%, ed >86%). CL-ESIEM [M+Na]⁺ m/z 312,0. RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,82 (m, 2H), 7,68 (m, 2H), 4,78 (m, 1H), 4,41 (m, 1H), 3,84 (m, 2H), 2,65 (m, 2H), 1,94-2,14 (m, 3H), 1,81 (m, 1H). RMN de ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) δ 170,15, 168,61 (2), 134,32 (2), 132,20 (2), 123,58 (2), 73,82 (2), 62,85, 38,63, 35,70, 34,47, 34,40.

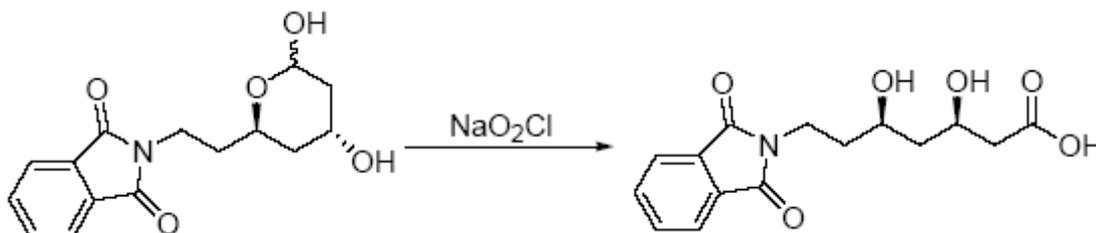
Ejemplo 335 2-[2-(4,6-Dihidroxi-tetrahidro-piran-2-il)-isoindol-1,3-diona

A una suspensión de células de *E. coli* que contenían DERA 102 (4 gramos de células húmedas suspendidas en 190 ml de tampón fosfato, pH 7,0, 0,01 M) se le añadió una mezcla de 3-ftalimido-propionaldehído (2,0 gramos, 9,8 mmoles) y acetaldehído (0,96 gramos, 21,8 mmoles, Aldrich) en dimetilsulfóxido (15 ml) mediante una bomba

programada a lo largo de 10 horas. Se agitó adicionalmente la mezcla de reacción a 22°C durante 14 horas. Se monitorizó el progreso de la reacción mediante cromatografía líquida a alta presión (HPLC). Tras 24 horas, se extrajo la mezcla de reacción con acetato de etilo (100 ml, dos veces). Tras la separación de las fases mediante centrifugación, se secó la fase orgánica y se evaporó dando el lactol bruto (1,6 gramos, 45-50%) como un sólido, que se sometió directamente a la etapa de oxidación siguiente. CL-ESIEM del lactol: m/z $[M+H]^+$ 292,3.

Ejemplo 4

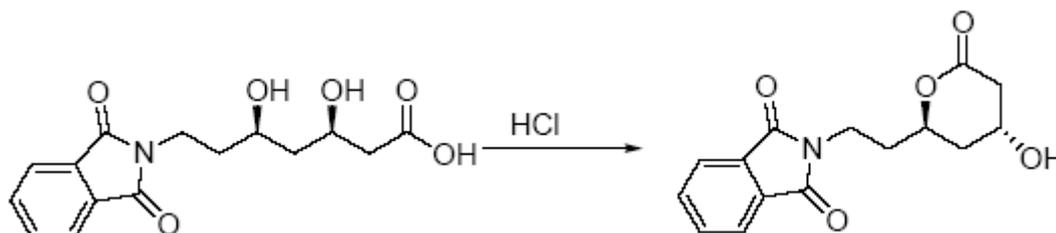
Ácido 7-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-isoindo-2-il)-3,5-dihidroxi-heptanoico



A una mezcla de lactol bruto (1,6 gramos; preparada según el ejemplo 3) en isopropanol (4,8 ml) y dimetilsulfóxido (1,0 ml) y 26 ml de tampón fosfato (pH 6,0, 0,01 M) se le añadió una disolución de clorito de sodio (0,9 gramos, Aldrich) en agua (2 ml) a temperatura ambiente. Se mantuvo el pH de la mezcla de reacción entre 5,0 y 6,0. Tras 4 horas, se neutralizó la mezcla de reacción a pH 7,0 con hidróxido de sodio 1 N y se extrajo con acetato de etilo (30 ml). Tras la eliminación de la fase orgánica, se acidificó la fase acuosa hasta pH 4,0 con ácido clorhídrico 1 N y se extrajo con acetato de etilo (30 ml, tres veces). Se trató la fase orgánica combinada que contenía el ácido bruto con dicitohexilamina (1,5 ml) proporcionando la correspondiente sal de dicitohexilamina (1,5 gramos, aproximadamente el 90% de pureza) a temperatura fría (5-10°C). CL-ESIEM m/z $[M+Na]^+$ 330,0. RMN de 1H ($CDCl_3$, 400 MHz): δ 7,59 (m, 4H), 3,88 (m, 1H), 3,58 (m, 1H), 3,56 (m, 2H), 3,03 (m, 2H), 2,07-2,19 (m, 2H), 1,40-1,82 (m, 14H), 0,80-1,20 (m, 10H). RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 180,22, 170,82, 134,65 (2), 131,52 (2), 123,32 (2), 67,36, 67,31, 53,23 (2), 44,87, 43,14, 34,82, 34,57, 29,14 (4), 24,64 (2), 24,04 (4).

Ejemplo 5

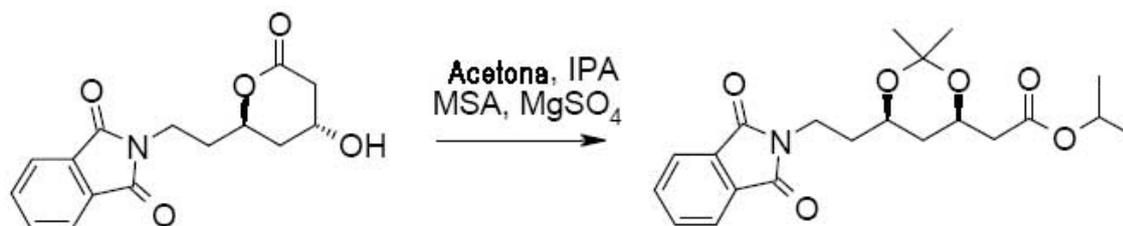
2-[2-(4-Hidroxi-6-oxo-tetrahydro-piran-2-il)-isoindol-1,3-diona



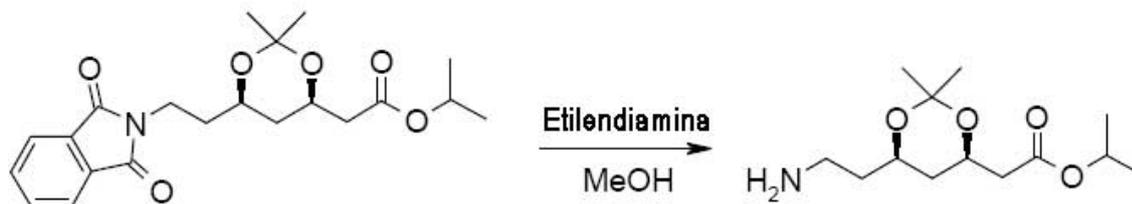
Se trató el ácido bruto (1,0 gramo, preparado según el ejemplo 4) en acetato de etilo (20 ml) con ácido clorhídrico anhidro en dioxano (4 M, 50 μ l) y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 2-3 horas. Se lavó la mezcla de reacción con agua (pH 7,0, 50 ml, dos veces). Se secó la fase orgánica sobre Na_2SO_4 y se evaporó dando la lactona deseada como un sólido blanco (0,94 gramos, aproximadamente el 94% de pureza química, ee >99%, de >93%).

Ejemplo 6

Éster isopropílico de ftalimido-acetónido

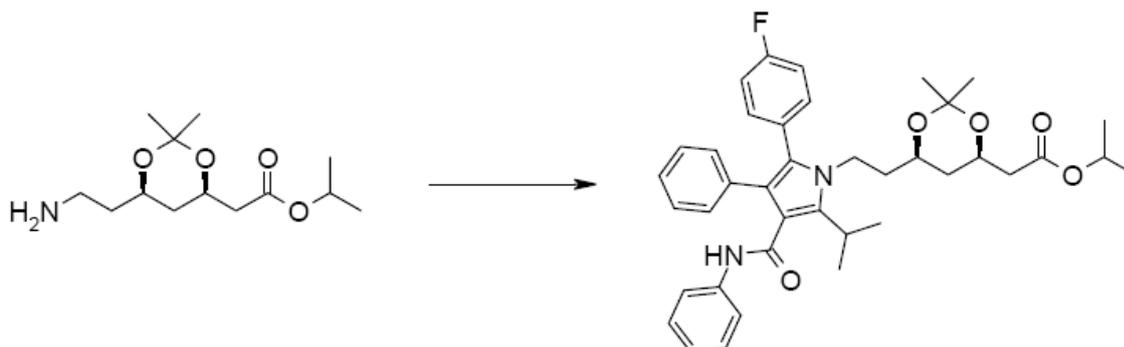


Se suspendió la ftalimido-lactona (5,0 gramos, 17,3 mmoles) en tolueno (100 ml). Se añadieron IPA (6,6 ml, 86,0 mmoles, 5 eq.), acetona (6,3 ml, 86,0 mmoles, 5 eq.), sulfato de magnesio (5,0 gramos) y ácido metansulfónico (0,4 ml, 6,0 mmoles, 0,35 eq.). pH = 1,5 (necesario < 2). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 24 horas. Se extinguió la reacción con trietilamina (0,9 ml, 6,5 mmoles) y se filtró la mezcla a través de un embudo sinterizado de grado 4, lavando con tolueno (20 ml). Se lavó el filtrado con $NaHCO_3$ acuoso saturado. (20 ml), se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a vacío dando un aceite incoloro, 6,88 gramos, 100%.

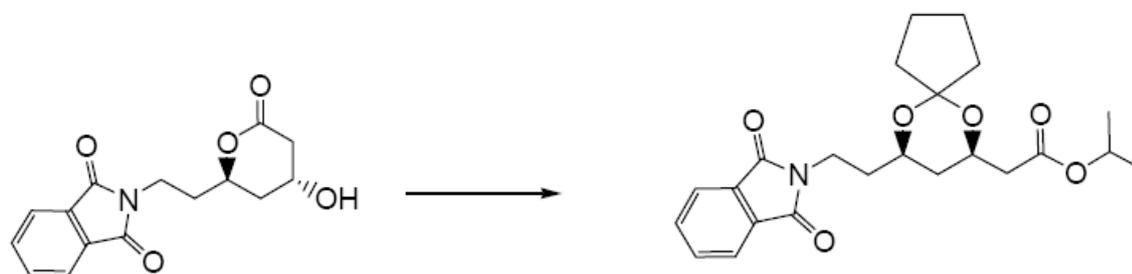
Ejemplo 7Éster isopropílico de amino-acetonido

5 Se disolvió el éster isopropílico de ftalimido-acetonido (6,55 g, 16,8 mmoles) en metanol (65 ml, 10 volúmenes). Se añadió gota a gota etilendiamina (10,1 gramos, 168 mmoles, 10 eq.) y se agitó la disolución a temperatura ambiente.

10 El análisis de HPLC tras 1 hora no indicaba nada de material de partida. Tras 2 horas se concentró la mezcla de reacción a vacío en un rotavapor. Se repartió el residuo entre tolueno (65 ml, 10 volúmenes) y agua (65 ml, 10 volúmenes) – se agitó durante 15 minutos entonces se dejó reposar durante 15 minutos. Se volvió a extraer la fase acuosa turbia con tolueno (65 ml) – se agitó durante 15 minutos entonces se dejó reposar durante 15 minutos. Se lavaron los extractos de tolueno combinados con agua (65 ml) - se agitaron durante 15 minutos entonces se dejaron reposar durante 15 minutos. Se concentraron los extractos de tolueno a vacío dando un producto oleoso, 2,85 gramos, rendimiento del 65,0%.

Ejemplo 8Éster isopropílico de pirrolil-acetonido (AIE)

15 Se pesó 4-fluoro-alfa-[2-metil-1-oxopropil]-gamma-oxo-N,beta-difenilbencenbutanamida (4,64 gramos, 11,1 mmoles, 1,03 eq.) en un matraz de fondo redondo de 50 ml de una boca. Se añadió éster isopropílico de amino-acetonido (2,80 gramos, 10,8 mmoles) en terc-butil-metil éter (MTBE; 11 ml) seguido de un lavado con tetrahidrofurano (4,2 ml). Se añadió trietilamina (1,09 gramos, 10,8 mmoles, 1 eq.) y se calentó la suspensión hasta 50°C. Se añadió ácido pivalico (1,10 gramos, 10,8 mmoles, 1 eq.) y se calentó la mezcla a reflujo (67-68°C) durante 88 horas. Al enfriar, se eliminaron los compuestos volátiles a vacío y se llevó el residuo a alcohol isopropílico (IPA; 17,5 ml) y se calentó hasta 80°C. Se necesitó IPA (10 ml) adicional dando una disolución transparente. Se dejó enfriar la disolución hasta temperatura ambiente – no se produjo la cristalización. Se sembró la disolución con producto auténtico y se produjo la cristalización. Se enfrió la suspensión hasta 0°C y se mantuvo durante 30 minutos. Se recogió el producto en un embudo sinterizado de grado 2 y se lavó con alcohol isopropílico (es decir, IPA; 3 veces con 10 ml). Se secó el producto en un horno de vacío a 40-50°C durante 18 horas dando un sólido amarillo pálido (4,15 gramos, rendimiento del 60,0 %).

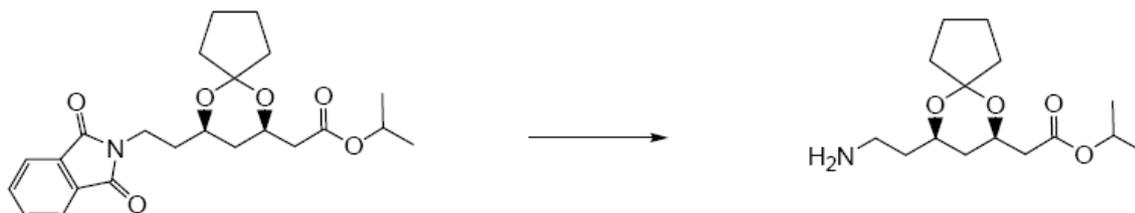
Ejemplo 9Éster isopropílico de ciclopentiliden-ftalimido

30 Se suspendió la ftalimido-lactona (5,0 gramos, 17,3 mmoles) en tolueno (50 ml). Se añadieron IPA (6,6 ml, 86,0 mmoles, 5 eq.), ciclopentanona (3,0 gramos, 34,8 mmoles, 2 eq.), sulfato de magnesio (5,0 gramos) y ácido

metansulfónico (0,4 ml, 6,0 mmoles, 0,35 eq.). pH de 1,5 (inferior al pH de 2 necesario). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 24 horas. Se extinguió la reacción con trietilamina (0,9 ml, 6,5 mmoles) y se filtró la mezcla a través de un embudo sinterizado de grado 4, lavando con tolueno (20 ml). Se lavó el filtrado con NaHCO₃ acuoso saturado (20 ml), se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a vacío dando un aceite incoloro, 7,18 gramos, 100%.

Ejemplo 10

Éster isopropílico de amino-ciclopentilideno

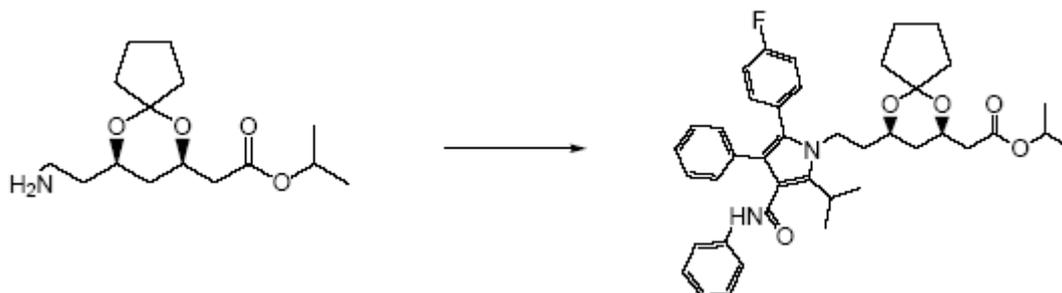


Se disolvió el éster isopropílico de ciclopentilideno-ftalimido (10,0 gramos, 24,1 mmoles) en metanol (50 ml, 5 volúmenes). Se añadió etilendiamina (2,9 gramos, 48,2 mmoles, 2 eq.) gota a gota y se agitó la disolución a temperatura ambiente.

El análisis de cromatografía líquida a alta presión (HPLC) tras 1 hora no indicaba nada de material de partida. Tras 2 horas se concentró la mezcla de reacción a vacío en un rotavapor. Se repartió el residuo entre tolueno (100 ml, 10 volúmenes) y agua (100 ml, 10 volúmenes) – se agitó durante 15 minutos entonces se dejó reposar durante 15 minutos. Se volvió a extraer la fase acuosa turbia con tolueno (65 ml) – se agitó durante 15 minutos entonces se dejó reposar durante 15 minutos. Se lavaron con agua los extractos de tolueno combinados con agua (65 ml) – se agitaron durante 15 minutos entonces se dejaron reposar durante 15 minutos. Se concentraron los extractos de tolueno a vacío dando el producto como un aceite, 6,45 gramos, rendimiento del 94,0%. Es importante garantizar la ausencia de etilendiamina del producto bruto ya que conduce a la formación de una impureza (bispirrol) en la reacción de Paal-Knorr posterior.

Ejemplo 11

Éster isopropílico de pirrolilciclopentilideno (CIE)



Se pesó 4-fluoro-alfa-[2-metil-1-oxopropil]-gamma-oxo-N,beta-difenilbencenbutanamida (4,64 gramos, 11,1 mmoles, 1,03 eq.) en un matraz de fondo redondo de 50 ml de una boca. Se añadió éster isopropílico de aminociclopentilideno (3,08 gramos, 10,8 mmoles) en MTBE (11 ml) seguido de un lavado con tetrahydrofurano (4,2 ml). Se añadió trietilamina (1,09 gramos, 10,8 mmoles, 1 eq.) y se calentó la suspensión hasta 50°C. Se añadió ácido píválico (1,10 gramos, 10,8 mmoles, 1 eq.) y se calentó la mezcla a reflujo (67-68°C) durante 88 horas. Al enfriar, se eliminaron los compuestos volátiles a vacío y se llevó el residuo a alcohol isopropílico (17,5 ml) y se calentó hasta 80°C. Se necesitó más alcohol isopropílico (10 ml) para dar una disolución transparente. Se sembró la disolución con producto auténtico y se produjo la cristalización. Se enfrió la suspensión hasta 0°C y se mantuvo durante 30 minutos. Se recogió el producto en un embudo sinterizado de grado 2 y se lavó con alcohol isopropílico (3 veces, 10 ml). Se secó el producto en un horno de vacío a 40-50°C durante 18 horas dando un sólido amarillo pálido (4,31 gramos, rendimiento del 60,0%). La pureza mediante cromatografía líquida a alta presión fue superior al 99% de pureza.

Ejemplo 12

4-Fluoro-alfa-[2-metil-1-oxopropil]-gamma-oxo-N,beta-difenilbencenbutanamida

Se inertiza un recipiente de reacción usando al menos 4 ciclos de vacío, liberando el vacío cada vez con nitrógeno. Se cargan 250 litros de tetrahydrofurano al recipiente de reacción mediante boquillas de pulverización. Las boquillas de pulverización con bola garantizan que se penetra en todas las zonas del recipiente de reacción, en particular la superficie superior interna del recipiente y el dispositivo agitador también presente en el recipiente de reacción. Se desaguan los lavados de tetrahydrofurano y se recogen para el reciclado de desechos.

Cuando el recipiente de reacción está seco se cargan 480 kg de 2-bencilidinoisobutirilacetamida (BIBEA), 60 kg de bromuro de etil-hidroxi-etilmetil-tiazolio (MTB o etil-hidroxi-etil-MTB), 200 litros, 216 kg de 4-fluorobenzaldehído y 120

kg de trietilamina al recipiente de reacción y se calientan con agitación entre 60°C y 70°C. Se envejece la mezcla de reacción durante 16 horas a 24 horas manteniendo la temperatura a 65 +/- 5°C. Entonces se enfría el contenido hasta 60 +/- 5°C durante 54 minutos a 66 minutos. Se cargan 600 litros de isopropanol a la mezcla de reacción y se calienta la mezcla hasta aproximadamente 100°C para conseguir una disolución. Se cargan 600 litros de agua desionizada al recipiente de reacción a lo largo de 30 minutos mientras se mantiene la temperatura a 60 +/- 5°C. Se envejece el lote durante 54 minutos a 66 minutos y se enfría el contenido entre 25 +/- 5°C a lo largo de un periodo de 2 horas a 4 horas a una velocidad de 15/20°C por hora. Se envejece el lote a esta temperatura durante al menos 1 hora y se enfría el contenido adicionalmente hasta 0 +/- 5°C y se envejece durante al menos 1 hora.

Se aísla el lote en un filtro y se lava con isopropanol. Se seca el producto a vacío a 50 +/- 5°C hasta un contenido en agua inferior al 0,5%. Entonces se enfría el contenido hasta aproximadamente menos de 30°C antes de la descarga.

Ejemplo 13

PXRD de 4-fluoro-alfa-[2-metil-1-oxopropil]-gamma-oxo-N,beta-difenilbencenbutanamida

Se determinó el patrón de difracción de rayos X de polvo usando un difractor de rayos X de polvo D4 de Bruker-AXS Ltd. equipado con un cambiador de muestras automático, un goniómetro theta-theta, ranura de divergencia de haces automática, un detector PSD Vantec-1. Se preparó la muestra para el análisis montando sobre un soporte de muestras de oblea de silicio de fondo bajo. Se rotó la muestra mientras que se irradiaba con rayos X K-alfa₁ de cobre (longitud de onda = 1,5406 Ångstroms) operando el tubo de rayos X a 40 kV/30 mA. Se llevaron a cabo los análisis funcionando el goniómetro en modo continuo fijado para una cuenta cada 0,2 segundos para pasos de 0,018° a lo largo de un intervalo de 2° a 55°. Se seleccionaron los picos usando el software de evaluación Bruker-AXS Ltd. con un umbral de 1 y una anchura de pico de 2-theta de 0,3°. Se recogieron los datos a 21°C.

Tal como apreciará un experto, las intensidades relativas de los diversos picos dentro de la tabla 1 dada a continuación pueden variar debido a varios factores tales como por ejemplo los efectos de orientación de los cristales en el haz de rayos X o la pureza del material que se está analizando o el grado de cristalinidad de la muestra. Las posiciones de los picos pueden desplazarse por variaciones en la altura de la muestra, pero las posiciones de los picos permanecerán fundamentalmente tal como se define en la tabla dada.

Ejemplo 14

DSC de 4-fluoro-alfa-[2-metil-1-oxopropil]-gamma-oxo-N,beta-difenilbencenbutanamida

Se calentaron 3,117 mg de 4-fluoro-alfa-[2-metil-1-oxopropil]-gamma-oxo-N,beta-difenilbencenbutanamida desde 10°C hasta 250°C a 20°C por minuto usando un DSC Diamond de Perkin Elmer con inyector automático y una cubeta de aluminio ventilada de pared lateral con 4 orificios y tapa con gas de flujo de nitrógeno.

Ejemplo 15

FT-IR de 4-fluoro-alfa-[2-metil-1-oxopropil]-gamma-oxo-N,beta-difenilbencenbutanamida

Se adquirió el espectro de IR usando un espectrómetro de FTIR Nexus de ThermoNicolet equipado con un accesorio de ATR de reflexión simple "DurasampIR" (superficie de diamante sobre sustrato de seleniuro de cinc) y detector d-TGS KBr. Se recogió el espectro a 2 cm⁻¹ de resolución y una adición conjunta de 256 barridos. Se usó la apodización de Happ-Genzel. Debido a que se registró el espectro de FT-IR usando ATR de reflexión simple, no se necesitó preparación de muestras. El uso de FT-IR de ATR hará que las intensidades relativas de las bandas infrarrojas se diferencien de las observadas en un espectro de FT-IR de transmisión usando preparaciones de muestras de pasta de nujol o disco de KBr. Debido a la naturaleza de FT-IR de ATR, las bandas a número de onda inferior son más intensas que aquéllas a número de onda mayor. El error experimental, a menos que se indique lo contrario, fue de ± 2 cm⁻¹. Se seleccionaron los picos usando el software de Omnic 6.0a de ThermoNicolet. Las asignaciones de intensidad son respecto a la banda principal del espectro, de modo que no se basan en los valores absolutos medidos con respecto al nivel inicial.

Ejemplo 16

FT-Raman IR de 4-fluoro-alfa-[2-metil-1-oxopropil]-gamma-oxo-N,beta-difenilbencenbutanamida

Se recogió el espectro Raman usando un espectrómetro de FT-Raman Vertex70 de Bruker con módulo Ramll equipado con un láser NdYAG de 1064 nm y detector de LN-germanio. Se registraron todos los espectros usando resolución de 2 cm⁻¹ y apodización Blackman-Harris de 4 términos. Se recogió el espectro usando polvo de láser de 300 mW y 4096 barridos añadidos conjuntamente. Se colocó la muestra en un vial de vidrio y se expuso a radiación láser. Los datos se presentan como la intensidad en función del desplazamiento Raman (cm⁻¹) y se corrigen con respecto a la dispersión dependiente de la frecuencia y respuesta del instrumento usando un espectro de luz blanca de una lámpara de referencia. Se usó la función de corrección para Raman de Bruker para realizar la corrección. (Software de Bruker- OPUS 6.0). El error experimental, a menos que se indique lo contrario, fue de ± 2 cm⁻¹. Se seleccionaron los picos usando el software Omnic 6.0a de ThermoNicolet. Las asignaciones de intensidad son relativas a la banda principal del espectro, de modo que no se basan en los valores absolutos medidos con respecto al nivel inicial.

Ejemplo 17

(2R-trans)-5-(4-Fluorofenil)-2-(1-metiletil)-N,4-difenil-1-[2-(tetrahydro-4-hidroxi-6-oxo-2H-piran-2-il)etil]-1H-pirrol-3-carboxamida

Se añaden 50 gramos de terc-butyl-isopropilideno (TBIN), preparado tal como se describe en Tetrahedron Letters,

2279 (1992), 13,25 gramos de catalizador de níquel de esponja húmeda, disolución de amoniaco al 28% (137,5 ml) y 375 ml de alcohol isopropílico (IPA) a un recipiente a presión. Se reduce la mezcla con 340 kPa (50 psi) de hidrógeno, luego se filtra y se concentra a vacío. Se disuelve el aceite resultante en 250 ml de tolueno templado, se lava con agua y de nuevo se concentra a vacío dando éster de amino. Se cargan el éster de amino, 85 gramos de 4-fluoro-alfa-[2-metil-1-oxopropil]-gamma-oxo-N,beta-difenilbencenbutanamida (patente estadounidense nº 5.155.251 y Bauman K.L., Butler D.E., Deering C.F. *et al* Tetrahedron Letters 1992;33:2283-2284 ambas referencias incorporadas por referencia en su totalidad), 12,5 gramos de ácido píválico, 137,5 ml de tetrahidrofurano y 137,5 ml de hexanos a un recipiente a presión inertizado con argón que se sella y se calienta hasta 75°C durante 96 horas. Tras enfriar, se diluye la disolución con 400 ml de metil-terc-butil éter (MTBE) y se lava en primer lugar con hidróxido de sodio acuoso diluido seguido de ácido clorhídrico acuoso diluido. Entonces se concentra la mezcla es a vacío dando un éster de acetónido.

Se disuelve el éster de acetónido en 275 ml de metanol templado y se añade ácido clorhídrico acuoso (5 gramos de ácido clorhídrico al 37% en 75 ml de agua). Se agita la mezcla a 30°C para producir un éster de diol. Entonces se añaden 100 ml de metil-terc-butil éter e hidróxido de sodio acuoso (150 ml de agua y 25 gramos de hidróxido de sodio acuoso al 50%) y se agita la mezcla a 30°C produciendo la sal de sodio. Se añaden 600 ml de agua y se lava la mezcla dos veces con 437,5 ml de metil-terc-butil éter.

En este caso, se destila la mezcla a presión atmosférica hasta una temperatura de lote de 99°C. Se continúa la destilación hasta que el contenido en metanol de la mezcla se reduce hasta 0,4 p/v. Se agita el lote al 75-85% durante 18 horas, luego se enfría, se acidifica y se extrae en 875 ml de tolueno. Se calienta la mezcla a reflujo durante 4 horas y se elimina el agua de manera azeotrópica. Tras enfriar, se filtra la mezcla, se lava con tolueno y se seca directamente. Se aísla el compuesto del título como un sólido blanco (rendimiento: 37,9 gramos).

Ejemplo 18

PXRD de (2R-trans)-5-(4-fluorofenil)-2-(1-metiletil)-N,4-difenil-1-[2-(tetrahydro-4-hidroxi-6-oxo-2H-piran-2-il)etil]-1H-pirrol-3-carboxamida

Se determinó el patrón de difracción de rayos X de polvo usando un difractorómetro de rayos X de polvo D4 de Bruker-AXS Ltd. equipado con un cambiador de muestras automático, un goniómetro theta-theta, ranura de divergencia de haces automática y un detector PSD Vantec-1. Se preparó la muestra para el análisis montando en un soporte de muestras de oblea de silicona de fondo bajo. Se rotó la muestra mientras que se irradiaba con rayos X K-alfa₁ de cobre (longitud de onda = 1,5406 Ångstroms) operando el tubo de rayos X a 40 kV/30 mA. Se llevaron a cabo los análisis funcionando el goniómetro en modo continuo fijado para una cuenta cada 0,2 segundos para pasos de 0,018° a lo largo de un intervalo de 2° a 55°. Se seleccionaron los picos usando el software de evaluación Bruker-AXS Ltd. con un umbral de 1 y una anchura de pico de 2-theta de 0,3°. Se recogieron los datos a 21°C.

Tal como apreciará un experto, las intensidades relativas de los diversos picos en la tabla 1 dada a continuación pueden variar debido a varios factores tales como por ejemplo los efectos de orientación de los cristales en el haz de rayos X o la pureza del material que se está analizando o el grado de cristalinidad de la muestra. Las posiciones de los picos pueden desplazarse por variaciones en la altura de la muestra, pero las posiciones de los picos permanecerán fundamentalmente tal como se define en la tabla dada.

Se considera que tales patrones de PXRD adicionales generados mediante el uso de longitudes de onda alternativas son representaciones alternativas de los patrones de PXRD de los materiales cristalinos de la presente invención y como tal están dentro del ámbito de la presente invención.

Ejemplo 19

DSC de (2R-trans)-5-(4-fluorofenil)-2-(1-metiletil)-N,4-difenil-1-[2-(tetrahydro-4-hidroxi-6-oxo-2H-piran-2-il)etil]-1H-pirrol-3-carboxamida

Se calentaron 2,893 mg de la muestra desde 10°C hasta 300°C a 20°C por minuto usando un DSC Diamond de Perkin Elmer con inyector automático y una cubeta de aluminio ventilada de pared lateral con 4 orificios y tapa con gas de flujo de nitrógeno.

Ejemplo 20

FT-IR de (2R-trans)-5-(4-fluorofenil)-2-(1-metiletil)-N,4-difenil-1-[2-(tetrahydro-4-hidroxi-6-oxo-2H-piran-2-il)etil]-1H-pirrol-3-carboxamida

Se adquirió el espectro de IR usando un espectrómetro de FTIR Nexus de ThermoNicolet equipado con un accesorio de ATR de reflexión simple "DurasamplIR" (superficie de diamante sobre sustrato de seleniuro de cinc) y detector d-TGS KBr. Se recogió el espectro a 2 cm⁻¹ de resolución y una adición conjunta de 256 barridos. Se usó la apodización de Happ-Genzel. Debido a que se registró el espectro de FT-IR usando ATR de reflexión simple, no se necesitó preparación de muestras. El uso de FT-IR de ATR hará que las intensidades relativas de las bandas infrarrojas se diferencien de las observadas en un espectro de FT-IR de transmisión usando preparaciones de muestras de pasta de nujol o disco de KBr. Debido a la naturaleza de FT-IR de ATR, las bandas a número de onda inferior son más intensas que aquéllas a número de onda mayor. El error experimental, a menos que se indique lo contrario, fue de ± 2 cm⁻¹. Se seleccionaron los picos usando el software de Omnic 6.0a de ThermoNicolet. Las asignaciones de intensidad son respecto a la banda principal del espectro, de modo que no se basan en los valores absolutos medidos con respecto al nivel inicial.

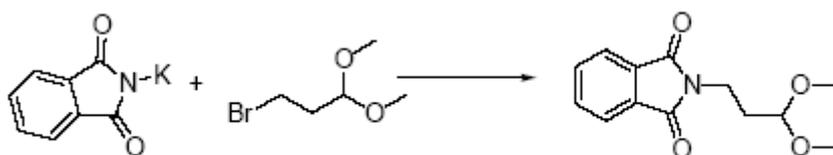
Ejemplo 21

FT-Raman de (2R-trans)-5-(4-fluorofenil)-2-(1-metiletil)-N,4-difenil-1-[2-(tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2H-piran-2-il)etil]-1H-pirrol-3-carboxamida

5 Se recogió el espectro Raman usando un espectrómetro de FT-Raman Vertex70 de Bruker con módulo Ramll equipado con un láser NdYAG de 1064 nm y detector de LN-germanio. Se registró el espectro usando 2 cm^{-1} de resolución y apodización Blackman-Harris de 4 términos. Se recogió el espectro usando polvo de láser de 300 mW y 4096 barridos añadidos conjuntamente. Se colocó la muestra en un vial de vidrio y se expuso a la radiación láser. Los datos se presentan como la intensidad en función del desplazamiento Raman y se corrigen con respecto a la dispersión dependiente de la frecuencia y respuesta del instrumento usando un espectro de luz blanca de una lámpara de referencia. Se usó la función de corrección para Raman de Bruker para realizar la corrección. (Software de Bruker – OPUS 6.0). El error experimental, a menos que se indique lo contrario, fue de $\pm 2\text{ cm}^{-1}$. Se seleccionaron los picos usando el software Omnic 6.0a de ThermoNicolet. Las asignaciones de intensidad son relativas a la banda principal del espectro, de modo que no se basan en los valores absolutos medidos con respecto al nivel inicial.

Ejemplo 22

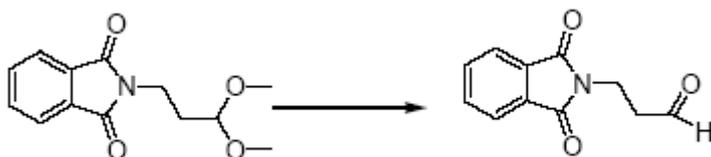
15 Ftalimida-acetal



20 Suspensión de 50,0 g de ftalimida de potasio (1 eq.) en 400 ml (8 vol.) de N,N-dimetilformamida a temperatura ambiente, una suspensión. Se añadió gota a gota dimetil-acetal de 3-bromopropionaldehído, 54,4 gramos (1,1 eq.) a temperatura ambiente, una suspensión. Se mantuvo la reacción durante aproximadamente 15 horas y se consideró completa. Se añadieron y se agitaron 2-metiltetrahidrofurano, 250 ml, y agua, 250 ml, se dejaron reposar y se separaron. Se volvió a lavar la fase acuosa dos veces con 100 ml de 2-MTHF, se combinaron las fases orgánicas y se lavaron con salmuera saturada al 70% para eliminar el agua. Entonces se secó la fase orgánica sobre sulfato de sodio, se destiló a presión atmosférica dando una suspensión. Se granuló la suspensión blanca a temperatura reducida de 0-5 °C durante 1 h, se filtro sobre un embudo Buckner cubierto con papel y se lavó con 2-MTHF. Se secaron los sólidos blancos en un horno de vacío a menos de 40°C, dando como resultado un rendimiento del 46,5% del producto del título.

Ejemplo 23

3-Ftalimido-propionaldehído



30 Se añadieron 15,0 gramos de ftalimida-acetal (1 eq.) a 700 ml (aproximadamente 47 vol.) de ácido acético glacial y 70 ml (aproximadamente 5 vol.) de agua. Se mantuvo esta reacción durante 48 horas a temperatura ambiente hasta 30°C, y se consideró completa. Se añadió bicarbonato de sodio saturado a un pH de 7, y se extrajo con 500 ml de 2-MTHF, se volvió a extraer con 500 ml de 2-MTHF. Entonces se secó la fase orgánica sobre sulfato de sodio, se destiló a vacío dando una suspensión. Se granuló la suspensión blanca a temperatura reducida de 0-5°C durante 1 hora, se filtró sobre un embudo Buckner cubierto con papel y se lavó con 2-MTHF. Se secaron los sólidos blancos en un horno de vacío a temperatura ambiente, dando como resultado un rendimiento del 47% del producto del título.

Ejemplo 24

SEC ID N°: 1 - Secuencia de nucleótidos de DERA03

40 atgactgatctgaaagcaagcagcctgctgactgaaattgatggacctgaccaccctgaatgacgacgacaccgacgagaa
 agtgatcgccctgtgtcatcaggcctgcaaaactccggctcgcaataccgccgctatctgtatctatcctcgcttatcccggattgctgca
 aaactgaaagagcagggcaccgccgaaatccgtatcgtacggtaaccaactcccacacggtaacgacgacatcgacatc
 gcgctggcagaaaccggctgcgcaatcgctacggtgctgatgaaagttgacgtgtgttcccgctaccgctgctgagcgggtaa
 cgagcaggtgtttgacctggtgaaagcctgtaaagaggctgctgcccagcgaatgactgctgaaagtgatcatcgaaac
 45 gccgaactgaaagacgaagcgtgatccgtaagcgtctgaaatctccatcaaagcgggtgcccactcatcaaacctctacc
 ggtaaagtggctgtaacgacgcccggaaagcgcgcacatgatggaagtgatccgtgatggcgtagaaaaaccgt
 tggtttcaaacggcggcggctgctgactgctggaagatgctgcaaaaatctcgccatgacagatgaactgtcgggtgctgact
 gggcagatgctgctactaccgcttggcgtccagcctgctggcaagcctgctgaaagcctggtcacggcagcgtaaga
 gcgccagcagctactaa

Ejemplo 25

SEC ID N°: 2 - Secuencia de nucleótidos de DERA04

atgggtaatatcgcgaaatgattgatcacaccctctaaacccgaagcaaccgaacaacaattgtacaattatgcacggaag
 5 cgaaacaatatggcttgcagcagatgcgtaaatccgacatgggttaaaccgcccacgtgaattaagcgggacagacgttcg
 tgtgtactgtaattggattccctggcgctacgactccagaactaaagcattcgaactactaacgcgattgaaaatggagca
 cgggaagtagataggtaattaattgggtgcatgaaatctggacaagatgaactggggaacgtgatattcgtccggttgtaag
 ctgcagcaggccgctgtgaaagtaattgtagaaacagccctctactgatgaagaaaaagttcgcgctgtcaattagcag
 taaaagcgggtgccgattatgtagaacgctgcagcagattagcgggtgggtgcaacgggtggaagatgtggcttaatgcggaa
 10 aacggttggtgatcgtgcaggggtcaaagcaagcggcgagtagcgtgactggaaaaacagcagaagcaatgattaacgcagga
 gcaacgcgcatggcacaagtctggagtagcaatcgtaacaggtggaaaccggccggcagactattaa

Ejemplo 26

SEC ID N°: 3 - Secuencia de nucleótidos de DERA06

atgggactcgcctcctacatcgaccacacgctgctaaggccaccgcccacgctcgcgacatccgcacgctgtgtgaggaagc
 15 cgcgagcactcgttctacgcggtgtcatcaaccggtcttattcccacgcccgcctggctcgaaggcagcgcgagctgaaggt
 cggccaccgtcgcggttccctcggcgccatcagctccgagcagaagctctggaagcccgcctgagcgcgaaacggggc
 cgcgcaaatcgatgtagtcatccacatcgcgctcgcgctgcccgcgactgggacgcggtggaagccgacgtgcgggagtg
 gcggcgccggtgcggcagcaggtgctcaaggtgattatgaaacctgctaccgacgcgagcaaaagcgttggcagctga
 20 gctgcgctgacggcgccgcaactcgtgaaagcagcagcagcaggtctcggcaccggcgccaccgtggacgcagcgtgcg
 ctgatggcggaaagtgaicggggcggcgccggactcaagcgggcgggcgctcgcactcctcgcgacgcgcaagccatg
 atcagggcggcgcaaccgctggcgcactcggcgcggtgggtctggtctcggcggaacggagcggcgtactga

Ejemplo 27

SEC ID N°: 4 - Secuencia de nucleótidos de DERA08

atgggaattgctaaaatgatcgatcacactgctttaaaccagacacaacgaaagaacaaattttaacactaacaagaagca
 25 agagaatcaggtttgctccgatgctgtaaatccaacttgggtaaaactatccgctgaacaactgctggagcagaatctgtagat
 gtactgttatcgtttccactaggagcgaataaccctgaagtaaaagcatttgaagtaaaagatgctatcaaaaacgggtgcaaaa
 aaagtggatggttattaatcggcgcaactaaagacaagacgacgaactagtagaacgtgatattcgcgctgtgtagcgtatg
 tgcctaaaggaaaagcattagtaaaagtaattatcgaaacttgcctattaacagacgaagaaaaagttcgcgcatgtgaaatcgt
 gtaaaagcgggaacagacftcgttaaaacatccactggattcctcacaggtggcgcaactgccgaagatcgcttaatgctga
 30 aaactgtaggaccaaacatcggcgtaaaagcactcgtggtgggtctgtagcgaagaagcgtgaaaaaatgatcgaagcagg
 cgcaactcgtattggcgaagtgaggtgtcgaattgttccggcgaaaaaccagccaaccagataaactaa

Ejemplo 28

SEC ID N°: 5 - Secuencia de nucleótidos de DERA11

atgacatcaaatcaactgctcaatataatcgatcacaccgcaactaccgcagaaaaaatgaacaagatattcgacactctgta
 35 gaagcattgaaacaggtttatctgtatgtaaatctgcttatattccactcgtctaaagaaaaactgctggtcacaatgtaaaa
 attgaccgtagtggattcccttggggcgaaatttaacctcagtcgaagcatttgaacgcgaagaatctattaaagcgggtgca
 atgaaattgatagttgtaattatgtaggtgataaaatcgcaaaaatgggatgaagtaaaacaagatattcaagcgttattaatg
 ctgtaatgcaacgcaataaaagtgatttagaaactgttctcactaaagatgaaatagtgaaagcctgcgaaattgtaaaaga
 aatcgggtgtagctttgtaaaacatcaacaggtttaaaggggtgtagcaccgtgaagatgttcattgatgaaaaacacggctc
 40 gcaaatattggttaaaagcaggtggtgctgtagactgaaactgcactgcaatgattaaggcgggtgcgactcgcattggtg
 caagcgtggtcattgcatattagcggtagcaagacactcaaacgactactaa

Ejemplo 29

SEC ID N°: 6 - Secuencia de nucleótidos de DERA12

atgatagagtagcaggtgaggaggcagtagcgaagtacagagagttctacgaattcaagcccgcagagaaagcgcaggtatt
 45 gaagatgtgaaaagtgctatagagcacacgaatctgaaaccgtttgcccacacagacgatataaaaaactcgtctgaaagca
 aggaaaaatcgtttccatgagctgtgtgtaattccgtgtatgtgaaactggctcgtgaagaactcgaaggaaaccgatgtgaaagt
 gtcaccggtgtgtttccactgggagcgaacgaaactcggacgaaagccatgagcgtatttcgctgtgagagtgaggccgat
 gagatcgatagtgcatcaactgtgcatgctcaaggcaaggagtgaggtagctttacgaggatataagaagtggtgcaaat
 50 ggtgaaaggaaaagtgtgaaagtgatcatgaaactgctatctggatcggaagagaagatagcggcgtgtgctatttccaaa
 ctgtcgtgagctcatttcgtaagactcaccgggatttgaacagggaggggcgaccgcgaagacggtcatctcatgaaatggat
 cgtgggagatgagatgggtgtaaaagctccggaggatcagaacctcggaggcgtgttaaaatgatcatgtacgggtcgtgata
 gaataggaaacgaggtcgggagttaaagatcgttcaggggggagaagagagataggaggtga

Ejemplo 30

SEC ID N°: 7 - Secuencia de nucleótidos de DERA15

atgccgtcggccagggatatactgcagcagggctagacagggctagggagccctgaggacctcgcctcagggatagactctacg
 55 ctactaagccctagggtacgcgaggagcagtaggaatctgtgagagagcgcgactcgggttagatgcgctgagctgca
 ctccagtgatcacagtaaaagtcttggctggctgagaagctgtgtgaaagctatgtagcgttataggcttccccctggccaggc
 ccgctcagaggtaaagctagttgagccacaaactgttttagaggctgggctactgagctgtgttccccatctcactagggc
 cccgaagctgttaaggaggctcagggatagtaagttggcgaaaagctatggagccgtgtgaaagtaattattagaagcgc
 60 cactctggagtgacaaaacgctcctccctcgtgtagctcgtcagagggcgggcgccgagatagtagaagacaagcaccggg
 gtctatacaaaaggtgtgatccagtaaacggctctcaggctggccagctcggccttggatgggtgtaaaaggcaagcgg

cggataaggagtgatcgacgcccgtcctcgccgtaggagctggcgcgatcatagggacaagcagtgctgtaaaagtttg
gagagctcaaatccctagctaa

Ejemplo 31

SEC ID N°: 8 – Secuencia de nucleótidos de DERA 101

5 atggctgcaacaaatagaaatggcctcgcacagttcgcagctgaaagcgaagaacgcatcctg
ctgaaaactgaccagatcattcgtgaccactattcccgttcgacactccagaactaaaaagtccctg
catggcgttatcgatctgacgtctcgaacgccaccgactctgaggaaatctactaaatcaccgaa
tctgtaaacgatttcaagafaccgaccgactatccctagcgttcggcgatctgctttatccgaac
10 ttgtcagcaccgtgctgaaacccctgactgcccgaagaatgtaaagtgcgaagcgtcagcgggtgctc
ccggcctcccagagctcgaagtgaaactggcagaaccgactggcggttagcgagcgggctggat
gaaattgacattgttcaacatgggtaaatcctgtccgggtgattcagaggccgagccactgagatc
gaggaacagatcgctgcccgaaggtgcccgaactgaaagttaactggagactggtgctcgaagacg
15 ccggaaaacattcgcgcgaaccatcctgtctgttttggcgcccattcgttaaaacctctact
ggcaaaggctaccgggcccctctggaagcagcttacctatgtgtaaagctgaaacagactactac
ggcctgtcgtgaaagttcgtggcatcaagctgagcggcggtatccctaccaccgaagacgcggttaag
tactactgctgatcgaacgctgctggcgaagaatggctgaccccgcgacttccgcacatcgccgccc
tcctctggttgatgctcgcgcccagatattatggttaa

Ejemplo 32

SEC ID N°: 9 – Secuencia de nucleótidos de DERA 102

20 Atggaactgaaccgatgattgaccacactattctgaaaccggaagccaccgagggcgctgacagaaa
attatcgatgaagctaaagaatacaactctcagcgtctgtatcaaccggttgggtgcttttgcc
tccgagcagctggctgatactgattgcccgtctgaccgtaacggttcccgtggcgcgcaacacg
ccggaggttaaagcgtacgaagcagctgacgcattaaaaacgggtgctaagaggtgatatggtgatc
25 aatattggtgctgaaatccaacagctacgactacgtgcccgaagacatccagggtggtgacgccc
cmetaaggtaaagcactggttaagttatcgcgaactgccctgctgaccgatgaagagaaagttaa
gcttgcgaactggcgaagaagcagggcgtgattctgtaaaaccagcaccggttttccactggcggt
gcaaaagtgtgacattcgtctgatcgcgaaaccggtgggtccggatagggcgtaaaagcatccgggt
ggcgtacacaacgcagaagaagcactggccatgatcgaagcggcgcaactcgtatcgccgctccacc
gggtgaccatcgtaaagcgggtgactggtgagggtaaccaatggtaa

Ejemplo 33

SEC ID N°: 10 – Secuencia de nucleótidos de DERA 103

atgactattgaatccgctatcgcgctggcacctgcagaacgctgctgtaacctgattggtagcgcactg
accgaaaaatctgaaactgcactcgggaagccctgtctggtgacgcggttggctggaacagcgt
35 gctgcccgtctgaccaccgctctatcaaaaccacctcaaaagctggccctggacaccatcatcaaa
ctgatcgtactgactactgagggcgagatactccggcgaaggttctctggtgcaagca
atgctgcccggacgctctgatgctccgctccgaggtggcagctgctgctttacgggtgatggtg
ccatacgcgagcggaaagcactgggtcctctggtctaattggtctgacaacggcattaacggtgctg
gtggcaactgcttccatccggtgagcgtcccctgccaatcaaatcgtgacaccaaggaagccggt
40 gccaccggtgctgacgaaatcgacatggtaatcgatcgtggtgcttctgagcggcaaatcaggtgt
gtttcgaccagatcgtgctgtaagaagcctgcccggcgaaaaacggcacttaccgacactgaaa
gtatcctggaaccggcgaactgaacacctatgacaacgtccgctgctcctggtgctgacatcctg
gcccgtggtgactttgtaaaacctctaccggcaaggttagcccggcgaaccctgcccgttacgctg
ctgatctggaagctgctgctgattgctgctgactggcgagaaatcgggtgtaaacagccggt
ggtatccgctctcaaaagcgcgataaatacctggtcaccggtggcgaaacctgaggtgaagaggtg
45 ctgcaaccgacactgttccgtttggcgcctcctccctgctgaaacgacttctgatgcagcgtcagaag
ctgctaccggcactactccggcccagattacgtgacctcgtactaa

Ejemplo 34

SEC ID N°: 11 – Secuencia de nucleótidos de DERA 104

atgtcttactccaactattctgattccggcgtttgaggacgttaccggttctgaagcatctctgccc
50 cgtttctgcacgcccctgcccgggtgctgatcaggtgggcccagagggcccgtgcccgtggtctggcaacc
cgttccattaaaacgtccgcaaaagaattgactggacctggcgtatcgtatggtgacctgaccacg
ctggagggccaggatcgcgggtaaggttctgcccgtgagcgcgaagcaatgctccggatccgtct
gatccaactgctcctgactgctgctgattgtttaccggacatggttgcatcgcgaacagggc
ctgggtactagcggcgtacacgtgctgctggtgcttctccgcttggccggtgcccgtctggaac
55 atcaaaactggcggacgttctgatgctggtgacgagggcgtgacgaaatcgtatggtatcgaaccg
ggtgctttctggtgctgtaaccaacacgtatacgcgaatgttgcggtgcccgaagcctgccc
cgtgaaaacgggtgaagcgcctcaccgaaggtatctcagactggtgagctgcagacctacgacaac
gttcgcccgtgagctggtgctgctgattggtgctgacactcgttaaaacgtccaccggcaagtc
cagccgagcctaccctgcccgttaccctggtatgctgacggccgtaacgttctggtgcccgaacg
60 ggccgtatggttggcgttaaacctgctgcccgtatccctaccgcaagcgaacatcaaacctggtt
atgtaaacgaggtgagcggcgaagattgctgacccggactggttctggttggctatcactctg
ctgaaacgacctgctgatcagcgtacgaagatgaaaaccggccgttacagcggcccagactacttacc
ctggaactaa

Ejemplo 35

SEC ID N°: 12 – Secuencia de nucleótidos de DERA 105

atggaactgatcactcagccgtctgttgggtatfttccgctctttccgccgctcagtagcggctggctg
 5 gttttgtggaaggtgcttggtagcagtggtcgcgctcaaaactttccacctggatgtaaccggccgcaaa
 ggcttctgcgcatgactatgaatatcgcaaaaatgatcgatcacaccctgctgaaaccggaagcgact
 gagcagcagatcgtaacaactgacccgaagcctaaacagtaggtttgcttccggttggtaaccct
 acgtgggtgaaaccgcccagcgcgaactgctggtaccgacgttctggtttgacctgaaatggcttc
 ccgctgggcccagactaccagaaaccaagcgttcgaaactccaacgctgacgaaaccgcccgtctg
 10 gaagtcgacatggaatcaacattggcgtctgaatctggtcaggacgaactgtagagcgtgacatc
 ccgcccgtcgtagaagctgcccagccgctgcaactggfaaaagtaactgtaaacccgctcgtgact
 gatgaagagaaggtcgtgctgacgtggcgttaaaagctggtcagattacgtgaaaccgagcact
 ggttctccggtggcgtcactgctgaagcgtggcgtgatgctgtaaacctgtagcagatcgcgca
 ggctgtaaacgagcggcgtgctgattggaagactgcccgaagctatgattaacgcagggcggact
 cgtatcggcactctagcggcgtggcaattgttactgcccggaccggtcgcgctgacactaaatggtaa

Ejemplo 36

SEC ID N°: 13 – Secuencia de nucleótidos de DERA 106

atgactatcgctaaatgattgatcacacggcgtgaagccagataccaccaagaacaaatcctgacg
 ctgaccaaagaagcacgtgaatatggcfttgcctgctgctgtaactccgactgggtgaaactgtct
 20 gcggaacagctgagcggcgtgaatctgtggtgacaccgctcgttttccgctgggcccgaataact
 ccggaagtgaagcattcgaagtaaaaacgctatcgaaaacggcgcgaaggaagtagatggttattc
 aacattggtgctcgaaggataaggacgacgaactggtggaacgctgataccgctgctggtgact
 gctaaaggtaaacgctggtgaaagctcattatcgaaacctgctgaccgatgagaagaaggtccgt
 gcttgcgaaatcggcgtgaaagctggcactgattcgttaaaacttactggttctactggtggc
 25 gcgactgcagaagacatcgcactgatgctgaagactgctgctccgaacatcgggtgtaaacgctccggt
 ggtgttcgactaaagaagcgttgagaagatgatcgaagcgggtgcccaccgctatcggcgtctgca
 ggtgtggcaatcgtatccggtgaaaaccggcgaacctgacaacccaagtggtaa

Ejemplo 37

SEC ID N°: 14 – Secuencia de nucleótidos de DERA 107

atgtctcgtctattgcacaaatgatcgatcacaccctgctgaaacctaataaccaccgaagaccagatc
 30 gtgaaactgtgcaagagcctaaagaacttcttccgctcgtatgctcaaccaacgtgggtcgcg
 ctggcagcgcagctgctgaaagacgctcctgatgtgaaagtgtgactgttatcggcttccactgggt
 gcaaccacgctgaagtaaaagcgtttgaaaccactaacgcaatcgagaacggcgcgaacggggtgat
 atggttatcaacatcgggtccctgaaggcaaaaacgtacgaactggttggctgtagatccaggctgtt
 35 gtgaaggcagcagaagcgaagcctgaccaaagtgattatcgaacctccctgctgaccgaagaagaa
 aagaaggcggctgtgaaactggcgtgaaagcaggtgctgattcgtcaaacgcttaccggtttctct
 ggtggcgggtgcaaccgcagaagacattgccctgatgctgaaggttggctcctaacctgggctaaag
 gccagcggcgggtgctgacgtctgacgcgaagcagatgtagcggcgcgactcgtatcggc
 gcttccgaggtgtgcatcgttaatggtgaacgctcgaaggtccacgaaatggaccgcagctggt gcggcagcagcgtgctgtagggcggctaa

Ejemplo 38

SEC ID N°: 15 – Secuencia de nucleótidos de DERA 108

atgaaactgaacaaatacatcgatcacaccatcctgaaaccggaacgactcaggaacaggtggagaaa
 atcctggctgaagcgaagaatacgtattcgcgctcgtctgctgtaaccgacgtgggtagctctggca
 40 gctgaaagcctgaaagatagcgaagcctgcaaaagtctgactgctcgcgcttcccgctgggcccgaact
 ccggcagtgaaagcgttcgaaactaaagcgtattagcaacggcgcggatgaaatcgacatggtgatt
 aacatcggcgcactgaaaaacgggtaactacgtatgctggaagatgaaagctgctgtagcagca
 45 agcggcgataaactgtaaggtaatcatcgaagcgtgctgctgaccgacgatgaaaggttaaagcg
 tgcacgctgctcaggaagcggcgtgactacgtcaagacgagcactgcttcttaccggcgggtgcg
 acggtcgcagatgtgctgtagcgtgaaactgtggccggacatggcgtaaaagcgtctggcgggt
 50 gcgctcttacgaagacgctatcgcgttcatgaaagcgtggcgaagcgtattggcgcagctcgtg
 gtggcagatcgaatggtgcccagcgtgatggcgaaccaagtgttaa

Ejemplo 39

SEC ID N°: 16 - Secuencia de aminoácidos de DERA 03

Mtdlkasslralklmdltlndddtdekvalchqaktpvgnataaiciyprfipiarktlkeqgtpeir
 55 iatvtnfphgnddidialaetraaiaygadevdfvfpymalmagneqvfdlvkackeacaaanvllkv
 iietgelkdealirkaseisikagadfiktstgkvavnatpesarimmeviridmgvektvgfkpaggvr
 taedaqkylaiadelfgadwadarhyrfassllasllkalghgdgksassy.

Ejemplo 40

SEC ID N°: 17 - Secuencia de aminoácidos de DERA 04

Mgniakmidhtllkpeateqjvqlcteakqygfavcvnptwvkaarelsqtdvrvctvignpattpetkafetnaiengarev
 60 dmvinigalksgqdelverdiravveaaagralvkivetalltdeekvracqlavkagadykvtstgfsgggatvedvalmrktvgd

ragvkasggvrwdktaeaminagatrigtssgvaivtggtrady.

Ejemplo 41

SEC ID N°: 18 - Secuencia de aminoácidos de DERA 06

5 Mglasyidhtllkatatladirlltceeahrsfyavcnpvfipharawlegsdvkvatvcgplgaisseqkalearlsaetgadeidm
vihigsalagdwdaveadvravrravpeqvlkviietcylltdeqkrlatevavqggadfvktstgfgtgatvddvrlmaeviggragl
kaaggvrtpadaqamieagatrigtssgvgvlgsggengagy.

Ejemplo 42

SEC ID N°: 19 - Secuencia de aminoácidos de DERA 08

10 Mgiakmidhtalkpdttketlltkeareygfascvncpntvwwklsaeqlagaesvvtvfgplgantpevkafevkdaiqngakev
dmvinigalkkddelverdiravvdaakgkalvkviiecltdeekvraceiavkagtdfvktstgfgtgataedialmrktvgpnig
vkasggvrtkedvekmieagatrigasagvaivsggepkakpdny.

Ejemplo 43

SEC ID N°: 20 - Secuencia de aminoácidos de DERA 11

15 Mtsnqlaqyidhtaltaekneqdistlceaeihgfyvscinsayiplakeklagsnvkictvvgfplganltsvkafetqesikagane
idmvinvgwiksqkwddevkqdiqavfnacngtplkvilecltdeekvaceickeigvafvktstgfnkggatvedvalmknvtgni
gvkasggvrdtetalamikagatrigasagvaivsgtqdtqsty.

Ejemplo 44

SEC ID N°: 21 - Secuencia de aminoácidos de DERA 12

20 Mieyrieavakyrefyefkpvresagiedvksaiehtnlkpfatpddikklclarenrhgvncvncpvyklareelegtdvkvtv
gfplganetrkaheafavesgadeidmvinvgmlkakeweyvvedirsvvesvkgkvkviietcylltdeekiaacvisklagah
fvktstgfgtgataedvhlmkwivgdemgvkasggirtfedavkmimygadrigtssgvkivqggeerygg.

Ejemplo 45

SEC ID N°: 22 - Secuencia de aminoácidos de DERA 15

25 Mpsardilqgglrdrgspedlasridstllsprateedvnlvreasdygfrcaavltpvytkisglaklgvklcsvgfplgqaplevklv
eaqtveagateldvphlslgpeavyrevsgivklaksygavvkvileaplwdktilsvdsrragadivktstgvvtkggdptvtf
rlaslakplgmvgkasggirsgidavlvagagadiigtssavkvlsefkslv.

Ejemplo 46

SEC ID N°: 23 - Secuencia de aminoácidos de DERA 101

30 maankyemafaqfdpaeseerillktqdiirdhysrfdtpetkklfhgvidltslnatdseesitkfte
svndfedtptipsvaaicvypnfvstvrelltaenvkvasvsgcfpasqsfievklaetalavsdgad
eidivlnmgkflsgdyeaaateieeqiaaakgatvkvieltgalktpenirratilslfcgahfvktst
gkgyppgasleaaytmckvlkqyyglfgevrgekisggirtedavkyyclietllgkewitpayfriga ssvldalrqdimv.

Ejemplo 47

SEC ID N°: 24 - Secuencia de aminoácidos de DERA 102

35 melnrmidhtilkpeateavqkiideakeynffsvncpncwvafaseqladtdvavctvigfplgant
pevkayeadaiknganevdmvinigalksqydyvrqdiqgvdaakgkalvkviiecltdeekvk
acelakeagadfvktstgfgtgakvadirlmretvpgdmvgkasggvhnnaealamieagatrigast gvaivsgatgegkw.

Ejemplo 48

SEC ID N°: 25 - Secuencia de aminoácidos de DERA 103

40 mtiesaalapaeravnligsdltksklhleglsgvdavgleqraaglstrsikttskawaldtiik
lidltlegadtpgkvrslaakampdasdvsapqvaavcvygdmpyaaealgsswsngsdnginva
vatafpgsrsslpikiadtkeavahgadeidmvidrgafilsgkygvvfdqivavkeacrrengtyahlk
viletgelntydnvrraswlaillaggdfvktstgkvspaatlpvtllmlevvrdwhvltgekigvcpag
girsskdaikylvtaetvgeewlqphlfrfgassllndvmlmrqkklstghysgpdvtytid.

45 **Ejemplo 49**

SEC ID N°: 26 - Secuencia de aminoácidos de DERA 104

50 mssstpldpafedvtrseaslrffhlgplgvdqvgaearaaglatrsiktssakefaldlairmvdltt
legqdtpgkvralsakamrpdspdtcpataavcvypdmvgiakqalgtsgvhvaavatafpgsgraald
ikladvrdavdagadeidmvidrgaflgryqhvdeivavreacrengegahlkvifetgelqtydn
vrraswlammagahfvktstgkvqpaatlpvtllmqavrdfrgatgrmvgvkpaggirtakdaikylv

mvnevagedwldpdwfrfgastllndllmqrtkmktgrysgpdyftld.

Ejemplo 50

SEC ID N°: 27 - Secuencia de aminoácidos de DERA 105

5 melitqpscwwfsvffrrqygwlvfvegawydgrqrqfhdgnrkgflrmtmniakmidhtllkpeat
 eqqivqlcteakqygfascvnpvkwtaarelsqtdvrvctvigfplgattpetkafettnaiengar
 evdmvinigalksgqdelverdiravveaaagralvkvivetalltdeekvracqlavkagadyvktst
 gfsqggatvedvalmrktvgdragvksqgvrwdwtaeaminagatrigtssgvaivtggtgradtkw.

Ejemplo 51

SEC ID N°: 28 - Secuencia de aminoácidos de DERA 106

10 mtiakmidhtalkpdttkqiltlkeareygfascvnpvkwksaeqlsgaesvctvigfplgant
 pevkafevknaingakevdmvinigalkdkddelverdiravvdaakgkalvkvietcltdeekvr
 aceiavkagtdfvktstgfstggataedialmrktvgpnigvksqgvrtdedvekmieagatrigasa gvaivsgkepapakpdntkw.

Ejemplo 52

SEC ID N°: 29 - Secuencia de aminoácidos de DERA 107

15 msrsiaqmidhtllkpnrttedqivklceeakeydfascvnpvwalaaqllkdapdvkvctvigfplg
 attpevkafettnaiengatevdmvinigalkdkqyelvgrdiqavvkaeagkalkviietsllteee
 kkaacelavkagadfvktstgfsqggataedialmrkvvgpnlgvksqgvrtdisdakamidagatrig asagvaivngersegstkwtaagaattcactgg.

Ejemplo 53

SEC ID N°: 30 - Secuencia de aminoácidos de DERA 108

20 mklnkyidhtltpettqeqvekilaeakeydfascvnpvvalaaeslkdsdvkvctvigfplgant
 pavkafetkdaisngadeidmvinigalktgnvdlvedikavvaasgdklvkviieacltddekvka
 cqlsqeagadyvktstgfstggatvadvalmrktvgpdmgvksqgarsyedaiafieagasrigassg vaimnqaqadgdtkw.

25 Aunque la invención se ha descrito anteriormente con referencia a las realizaciones dadas a conocer, los expertos en la técnica apreciarán fácilmente que los experimentos específicos detallados son sólo ilustrativos de la invención. Por consiguiente, la invención sólo está limitada por las reivindicaciones siguientes.

Listado de secuencias

- <110> Pfizer Inc. Bauer, David W O'Neil, Padraig M Watson, Timothy J. Hu, Shangui
- 30 <120> Procedimiento de preparación de compuestos quirales
- <130> PC33600A
- <150> 60/953,725 <151> 2007-08-03
- <160> 30
- <170> Versión Patentin 3.5
- 35 <210> 1
- <211> 780
- <212> ADN
- <213> Escherichia coli
- <400> 1

ES 2 523 304 T3

atgactgatc tgaagcaag cagcctgcgt gcaactgaaat tgatggacct gaccaccctg 60
aatgacgacg acaccgacga gaaagtgatc gccctgtgtc atcaggccaa aactccggtc 120
ggcaataaccg ccgctatctg tatctatcct cgctttatcc cgattgctcg caaaactctg 180
aaagagcagg gcaccccgga aatccgtatc gctacggtaa ccaacttccc acacggtaac 240
gacgacatcg acatcgcgct ggcagaaacc cgtgaggcaa tcgcctacgg tgctgatgaa 300
gttgacgttg tgttcccgta ccgcgcgctg atggcgggta acgagcaggt tggttttgac 360
ctggtgaaag cctgtaaaga ggcttgcgcg gcagcgaatg tactgctgaa agtgatcatc 420
gaaaccggcg aactgaaaga cgaagcgctg atccgtaaag cgtctgaaat ctccatcaaa 480
gcgggtgctg acttcatcaa aacctctacc ggtaaagtgg ctgtgaacgc gacgccgga 540
agcgcgcgca tcatgatgga agtgatccgt gatatgggcg tagaaaaaac cgttggtttc 600
aaaccggcgg gcggcgctgc tactgaggaa gatgagcaga aatatctcgc cattgcagat 660
gaactgttcg gtgctgactg ggcagatgcg cgtcactacc gctttggcgc ttccagcctg 720
ctggcaagcc tgctgaaagc gctgggtcac ggcgacggta agagcggcag cagctactaa 780

<210> 2

<211> 669

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> ADN aleatorio aislado de una muestra ambiental

<400> 2

atgggtaata tcgcgaaaat gattgatcac accctcttaa aaccggaagc aaccgaacaa 60
caaattgtac aattatgcac ggaagcgaaa caatatggct ttgcagcagt atgcgtaaat 120
ccgacatggg ttaaaaccgc cgcacgtgaa ttaagcggga cagacgttcg tgtgtgtact 180
gtaattggat ttcccttggg cgctacgact ccagaaacta aagcattcga aactactaac 240
gcgattgaaa atggagcacg ggaagtagat atggtaatta atattggtgc attgaaatct 300
ggacaagatg aactggtgga acgtgatatt cgtgccgttg ttgaagctgc agcaggccgc 360
gcgcttgtga aagtaattgt agaaacagcc cttcttactg atgaagaaaa agttcgcgct 420
tgtcaattag cagtaaaagc gggtgccgat tatgtgaaga cgtcgacagg atttagcgg 480
gggtggtgcaa cgggtggaaga tgtggcttta atgcggaaaa cggttggtga tcgtgcaggg 540
gtcaaagcaa gcggcggagt acgtgactgg aaaacagcag aagcaatgat taacgcagga 600
gcaacgcgca ttggcacaag ttctggagta gcaatcgtaa caggtggaac cggccgggca 660
gactattaa 669

10

ES 2 523 304 T3

<210> 3

<211> 663

<212> ADN

<213> *Deinococcus radiodurans*

5 <400> 3

atgggactcg cctcctacat cgaccacacg ctgcttaagg ccaccgccac gctcgccgac	60
atccgcacgc tgtgtgagga agcccgcgag cactcgttct acgcggtgtg catcaacccg	120
gtctttattc cccacgcccg cgcctggctc gaaggcagcg acgtgaaggt cgccaccgtc	180
tgcggctttc ccctcggcgc catcagctcc gagcagaaag ctctggaagc ccgcctgagc	240
gccgaaacgg gcgccgacga aatcgatatg gtcatccaca tcggctcggc gcttgccggc	300
gactgggacg cgggtggaagc cgacgtgcgg gcagtgcgcc gcgcggtgcc cgagcaggtg	360
ctcaaggtga ttatcgaaac ctgctacctg accgacgagc aaaagcgctt ggcgactgag	420
gtcgccgtac agggcggcgc cgacttcgtg aagacgagca caggcttcgg caccggcggc	480
gccaccgtgg acgacgtgcg cctgatggcg gaagtgatcg ggggccgcgc cggactcaag	540
gcggcgggcg gcgtccgcac tcctgccgac gcgcaagcca tgatcgaggc gggcgcgacc	600
cggctgggca cctcgggdcg cgtgggtctg gtgtcgggdcg gcgaaaacgg agccggctac	660
tga	663

<210> 4

<211> 672

<212> ADN

10 <213> *Listeria monocytogenes*

<400> 4

ES 2 523 304 T3

atgggaattg ctaaatgat cgatcacact gctttaaaac cagacacaac gaaagaacaa 60
 attttaacac taacaaaaga agcaagagaa tacggttttg cttccgtatg cgtaaatcca 120
 acttgggtaa aactatccgc tgaacaactt gctggagcag aatctgtagt atgtactggt 180
 atcggtttcc cactaggagc gaatacccct gaagtaaaag catttgaagt aaaagatgct 240
 atccaaaacg gtgcaaaaga agtggatatg gttattaata tcggcgact aaaagacaaa 300
 gacgacgaac tagtagaacg tgatattcgc gctgtagtcg atgctgccaagg gaaagca 360
 ttagtaaaag taattatcga aacttgcccta ttaacagacg aagaaaaagt tcgcgcatgt 420
 gaaatcgctg taaaagcggg aacagacttc gttaaaacat cactggatt ctccacaggt 480
 ggcgcaactg ccgaagatat cgccttaatg cgtaaaactg taggaccaa catcggcgta 540
 aaagcatctg gtggggttcg tacgaaagaa gacgtagaaa aatgatcga agcaggcgca 600
 actcgtattg gcgcaagtgc aggtgtcgca attgtttccg gcgaaaaacc agccaaacca 660
 gataattact aa 672

<210> 5
 <211> 672
 <212> ADN
 <213> Haemophilus influenzae

<400> 5

atgacatcaa atcaacttgc tcaatatatc gatcacaccg cacttaccgc agaaaaaat 60
 gaacaagata tttcgacact ctgtaatgaa gcgattgaac acggatttta ttctgtatgt 120
 atcaattctg cttatattcc actcgctaaa gaaaaacttg ctggctcaaa tgtaaaaatt 180
 tgcaccgtag ttggattccc tttgggggcg aatttaacct cagtcaaagc atttgaacg 240
 caagaatcta ttaaagcggg tgcaaatgaa attgatatgg tgattaatgt aggttgata 300
 aaatcgcaaa aatgggatga agtaaaacaa gatattcaag cggtatttaa tgcttgtaat 360
 ggacgccat taaaagtgat tttagaaact tgtttgctca ctaaagatga aatagtgaaa 420
 gcctgcgaaa tttgtaaaga aatcggtgta gcttttgta aaacatcaac aggccttaat 480
 aaagggtggtg cgaccgtaga agatggtgca ttgatgaaaa acacggtcgg caatattggt 540
 gttaaagcat cagggtggtg gcgtgatact gaaactgcac ttgcaatgat taaggcgggt 600
 gcgactcgca ttggtgcaag cgctggcatt gcgattatta gcggtactca agacactcaa 660
 agcacttact aa 672

<210> 6
 <211> 747
 <212> DNA
 <213> Thermotoga maritima

<400> 6

ES 2 523 304 T3

atgatagagt acaggattga ggaggcagta gcgaagtaca gagagttcta cgaattcaag 60
cccgtcagag aaagcgcagg tattgaagat gtgaaaagtg ctatagagca cacgaatctg 120
aaaccgtttg ccacaccaga cgatataaaa aaactctgtc ttgaagcaag ggaaaatcgt 180
ttccatggag tctgtgtgaa tccgtgttat gtgaaactgg ctcgtgaaga actcgaagga 240
accgatgtga aagtcgtcac cgttgttggg tttccactgg gagcgaacga aactcggacg 300
aaagcccatg aggcgatttt cgctgttgag agtggagccg atgagatcga tatggtcac 360
aacgttgga tgctcaaggc aaaggagtgg gagtacgttt acgaggatat aagaagtgtt 420
gtcgaatcgg tgaaggaaa agttgtgaag gtgatcatcg aaacgtgcta tctggatacg 480

gaagagaaga tagcggcgtg tgtcatttcc aaacttgcctg gagctcattt cgtgaagact 540
tccacgggat ttggaacagg aggggcgacc gcagaagacg ttcattctcat gaaatggatc 600
gtgggagatg agatgggtgt aaaagcttcc ggagggatca gaaccttcga ggacgctgtt 660
aaaatgatca tgtacggtgc tgatagaata ggaacgagtt cgggagtaa gatcgttcag 720
gggggagaag agagatatgg aggttga 747

<210> 7
<211> 708
<212> ADN
<213> Aeropyrum pernix

<400> 7

atgccgtcgg ccagggatat actgcagcag ggtctagaca ggctagggag ccctgaggac 60
ctcgcctcga ggatagactc tacgctacta agccctaggg ctacggagga ggacgtagg 120
aatcttgtga gagaggcgtc ggactacggg tttagatgcg cggttctgac tccagtgtac 180
acagtaaaga tttctgggct ggctgagaag cttgggtgtga agctatgtag cgttataggc 240
tttcccctgg gccaggcccc gctcagagta aagctagtgt aggcacaaac tgttttagag 300
gctgggggcta ctgagcttga tgttgtcccc catctctcac taggccccga agctgtttac 360
agggaggtct cagggatagt gaagttggcg aaaagctatg gagccgttgt gaaagtaata 420
ttagaagcgc cactctggga tgacaaaacg ctctccctcc tgggtggactc gtcgaggagg 480
gcgggggvcgg atatagtga gacaagcacc ggggtctata caaagggtgg tgatccagta 540
acggtcttca ggctggccag tcttgccaag ccccttggtg tgggtgtaaa ggcaagcggc 600
ggataagga gtggcatcga cgccgtcctc gccgtaggag ctggcgcgga tatcataggg 660
acaagcagtg ctgtaaaggt tttggagagc ttcaaatccc tagtctaa 708

<210> 8
<211> 870
<212> ADN
<213> Porphyromonas gingivalis

<400> 8

ES 2 523 304 T3

atggctgcaa acaaatatga aatggccttc gcacagttcg atccagctga aagcgaagaa	60
cgcatcctgc tgaaaactga ccagatcatt cgtgaccact attcccgttt cgatactcca	120
gaaactaaaa agttcctgca tggcgttata gatctgacgt ctctgaacgc caccgactct	180
gaggaatcta tcaactaaatt caccgaatct gtaaaccgatt tcgaagatac cgacccgact	240
atccctagcg ttgcggcgat ctgcgtttat ccgaactttg tcagcaccgt gcgtgaaacc	300
ctgactgccg agaatgtgaa agttgcaagc gtcagcgggt gcttccccggc ctcccagagc	360
ttcatcgaag tgaactggc agaaaccgca ctggcggtta gcgacgggtc ggatgaaatt	420
gacattgttc tgaacatggg taaattcctg tccggtgatt acgaggccgc agccactgag	480
atcgaggaac agatcgctgc ggcgaagggt gcgaccgtaa aagtatcct ggagactggt	540
gctctgaaga cgccggaaaa cattcgccgc gcaaccatcc tgtctctggt ttgtggcgcc	600
catttcgtta aaacctctac tggcaaaggc taccggggcg cctctctgga agcagcttac	660
actatgtgta aagtcctgaa acagtactac ggctgttcg gtgaagttcg tggcatcaag	720
ctgagcggcg gtatccgtac caccgaagac gcggttaagt actactgcct gatcgaacg	780
ctgctgggca aagaatggct gaccccgcg tacttccgca tcggcgccct ctctctggtt	840
gatgctctgc gccaggatat tatggtttaa	870

<210> 9
 <211> 669
 <212> ADN
 <213> Enterococcus faecalis

<400> 9	
atggaactga accgcatgat tgaccacact attctgaaac cggaagccac cgaggcggct	60
gtgcagaaaa ttatcgatga agctaaagaa tacaacttct tcagcgtctg tatcaaccg	120
tgttgggttg cttttgcctc cgagcagctg gctgatactg atggtgccgt ctgtaccgta	180
atcggtttcc cgctgggcgc gaacacgccg gaggttaaag cgtacgaagc agctgacgcc	240
attaaaaacg gtgctaata ggtggatatg gtgatcaata ttggtgctct gaaatcccaa	300
cagtacgact acgtgcgcca agacatccag ggtgtggttg acgccgcaa aggtaaagca	360
ctggttaaag ttatcatcga aactgccctg ctgaccgatg aagagaaagt taaggcttgc	420
gaactggcga aagaagcagg cgctgatttc gtgaaaacca gcaccggtt ttccactggc	480
ggtgcaaaag ttgctgacat tcgtctgatg cgcgaaaccg tgggtccgga tatgggcggt	540
aaagcatccg gtggcgtaca caacgcagaa gaagcactgg ccatgatcga agcgggcgca	600
actcgtatcg gcgcttccac cggtgtagcc atcgtaagcg gtgctactgg tgagggtacc	660
aaatggtaa	669

ES 2 523 304 T3

<210> 10
 <211> 1014
 <212> ADN
 <213> marine actinobacterium

<400> 10

atgactattg aatccgctat cgcgctggca cctgcagaac gtgctgttaa cctgattggt	60
agcgacctga ccgaaaaatc tctgaaactg cacctggaag gcctgtctgg tgtcgacgcg	120
gttggtctgg aacagcgtgc tgccggctctg tccaccgct ctatcaaaac cacctccaaa	180
gcttgggccc tggacaccat catcaaaactg atcgatctga ctactctgga gggcgcagat	240
actccgggca aggttcgttc tctggctgcg aaagcaatgc tgccggacgc ctctgatgtg	300
tccgctccgc aggtggcagc tgtgtgcggt tacggtgata tgggtccata cgcggcgaa	360
gcactgggct cctcttggtc taatggttct gacaacggca ttaacgttgc tgcggtggca	420
actgcgttcc catccggtcg cagctccctg ccaatcaaaa tcgctgacac caaggaagcc	480
gttgcccacg gtgctgacga aatcgacatg gtaatcgatc gtggtgcggt cctgagcggc	540
aaatacggtg ttgtgttcga ccagatcgta gctgtgaaag aagcttgccg ccgcaaaaac	600
ggcacttacg cgcacctgaa agttatcctg gaaaccggcg aactgaacac ctatgacaac	660
gtccgccgtg cctcctggct ggcgatcctg gcgggtggtg actttgtgaa aacctctacc	720
ggcaagggtta gcccggccgc aaccctgccg gttacgctgc tgatgctgga agtcgttcgc	780
gattggcatg tgctgactgg cgagaaaatc ggtgtgaaac cagccggtgg tatccgctcc	840
tccaaagacg cgattaaata cctggtcacc gtggcggaaa ccgtaggtga agagtggctg	900
caaccgcacc tgtttcgctt tggcgcctcc tccctgctga acgacgttct gatgcagcgt	960
cagaagctgt ctaccggcca ctactccggc ccagattacg tgaccatcga ctaa	1014

<210> 11
 <211> 975
 <212> ADN
 <213> Nocardioides species

<400> 11

ES 2 523 304 T3

atgtcttcta ctccaactat tctggatccg gcgtttgagg acgttacccg ttctgaagca	60
tctctgcgcc gtttcctgca cggcctgccg ggtgtcgatc aggtgggccc agaggcccgt	120
gccgctggtc tggcaacccg ttccattaaa acgtccgcaa aagaatttgc actggacctg	180
gcgattcgta tggttgacct gaccacgctg gagggccagg atacgccggg taaggttcgt	240
gccctgagcg cgaaagcaat gcgtccggat ccgtctgatc caacctgtcc tgctactgct	300
gctgtatgtg tttacccgga catggttggc atcgcgaaac aggcgctggg tactagcggc	360
gtacacgtag ctgctgtggc tactgctttc ccgtctggcc gtgccgctct ggacatcaaa	420
ctggcggacg ttcgtgatgc ggtggacgca ggcgctgacg aaatcgatat ggttatcgac	480
cgcggtgctt ttctggctgg tcgttaccaa cacgtatacg acgaaattgt tgcggtgcgc	540
gaagcctgcc gccgtgaaaa cgggtaaggc gtcacactga aggtaatctt cgagactggt	600
gagctgcaga cctacgacaa cgttcgccgt gcgagctggc tggcgatgat ggctggtgca	660
cacttcgta aaacgtccac cggcaaagtc cagccggcag ctaccctgcc ggttaccctg	720
gttatgctgc aggccgtacg tgactttcgt ggcgcaacgg gccgtatggt tggcgtaaaa	780
cctgctggcg gtatccgtac cgccaaggac gcaatcaaat acctggttat ggtaaacgag	840
gtagcgggcg aagattggct ggacccggac tggtttcggt ttggtgcatc tactctgctg	900
aacgacctgc tgatgcagcg tacgaagatg aaaaccggcc gttacagcgg cccagactac	960
tttaccctgg actaa	975

<210> 12

<211> 828

<212> **ADN**

<213> *Geobacillus kaustophilus*

<400> 12

atggaactga tcaactcagcc gtcttggtgg gtattttccg tctttttccg ccgtcagtac	60
ggctggctgg tttttgtgga aggtgcttgg tacgatggtc gccgtcaaac tttccacctg	120

gatggtaacg gccgcaaagg cttcctgcg	atgactatga atatcgcaaa aatgatcgat	180
cacaccctgc tgaaacccga agcgactgag	cagcagatcg tacaactgtg caccgaagct	240
aaacagtatg gttttgcttc cgtttggtg	aaccctacgt gggtgaaaac cgccgcacgc	300
gaactgtctg gtaccgacgt tcgtgtttgt	accgtaattg gcttcccgtg gggcgcgact	360
accccagaaa ccaaagcggt cgaaactacc	aacgcgatcg aaaacggcgc tcgtgaagtc	420
gacatggtaa tcaacattgg cgctctgaaa	tctggtcagg acgaactggg agagcgtgac	480
atccgcgccg tcgtagaagc tgcggcaggc	cgtgcactgg taaaagtaat cgttgaaacc	540
gctctgctga ctgatgaaga gaaagttcgt	gcgtgtcagc tggcgggtaa agctgggtgca	600
gattacgtga aaacgagcac tggtttctcc	gggtggggcg ctactgtcga agacgtggcg	660
ctgatgcgta aaaccgtagg cgatcgcgca	ggcggttaaag cgagcggcgg tgttcgtgat	720
tggaagactg ccgaagctat gattaacgca	ggcgcgactc gtatcggcac ttctagcggc	780
gtggcaattg ttactggcgg caccggtcgc	gctgacacta aatggtaa	828

<210> 13
 <211> 678
 <212> **ADN**
 <213> *Listeria innocua*

<400> 13

atgactatcg ctaaaatgat tgatcacacg	gcgctgaagc cagataccac caaagaacaa	60
atcctgacgc tgaccaaaaga agcacgtgaa	tatggctttg ctagcgtctg tgtgaatccg	120
acttgggtga aactgtctgc ggaacagctg	agcggcgcgtg aatctgtggt gtgcaccgtc	180
atcggttttc cgctgggccc gaatactccg	gaagtgaagg cattcgaagt aaaaaacgct	240
atcgaaaacg gcgcgaagga agtagatag	gttatcaaca ttgggtgctt gaaggataag	300
gacgacgaac tgggtggaac tgatatccgt	gccgtcgtgg atgctgctaa aggtaaagcg	360
ctggtgaaag tcattatcga aacctgcctg	ctgaccgatg aagagaaggt ccgtgcttgc	420
gaaatcgccg tgaaagctgg cactgatttc	gttaaaactt ctactggctt ttctactggt	480
ggcgcgactg cagaagacat cgcactgatg	cgtaagactg tcgggccgaa catcgggtga	540
aaagcgtccg gtgggtgttcg tactaaagaa	gacgttgaga agatgatcga agcgggtgcc	600
acccgtatcg gcgcttctgc aggtgtggca	atcgtatccg gtgaaaaacc ggcgaaacct	660
gacaacacca agtggttaa		678

<210> 14
 <211> 723
 <212> **ADN**
 <213> *Bacillus halodurans*

<400> 14

ES 2 523 304 T3

atgtctcgct ctattgcaca aatgatcgat cacaccctgc tgaaacctaa taccaccgaa 60
gaccagatcg tgaaaactgtg cgaagaggct aaagaataact ctttcgcctc cgtatgcgtc 120

aaccaacgt gggtcgctgct ggcagcgcag ctgctgaaag acgctcctga tgtgaaagtg 180
tgcactgtta tcggcttccc actgggtgca accacgcctg aagtaaaagc gtttgaaacc 240
actaacgcaa tcgagaacgg cgcaacggag gttgatatgg ttatcaacat cggtgccctg 300
aaggacaaac agtacgaact ggttggtcgt gatatccagg ctgttgtgaa ggcagcagaa 360
ggcaaagccc tgaccaaaagt gattatcgaa acctccctgc tgaccgaaga agaaaagaag 420
gcggcttgtg aactggcggg aaaagcaggt gctgatttcg tcaaaacgtc taccggtttc 480
tctgggtggcg gtgcaaccgc agaagacatt gccctgatgc gtaaggttgt tggctctaac 540
ctgggcgtta aggccagcgg cgggtgtcgt gacctgtctg acgcgaaggc gatgattgac 600
gcgggcgca ctcgtatcgg cgcttccgca ggtgttgca tcgttaatgg tgaacgctct 660
gaaggtcca cgaaatggac cgcagctggt gcggcgacga cgtgcgcttg tacgggcggc 720
taa 723

<210> 15
<211> 669
<212> ADN
<213> Streptococcus suis

<400> 15

atgaaactga acaaatacat cgatcacacc atcctgaaac cggaaacgac tcaggaacag 60
gtggagaaaa tcctggctga agcgaaagaa tacgatttcg cgtccgtctg cgtaaccgg 120
acgtgggtag ctctggcagc tgaagcctg aaagatagcg acgtcaaagt ctgcactgtc 180
atcggcttcc cgctgggcgc taacactccg gcagtgaagg cgttcgaaac taaagacgct 240
attagcaacg gcgcggatga aatcgacatg gtgattaaca tcggcgcact gaaaacgggt 300
aactacgatc tggttctgga agatattaag gctgtcgttg cagcaagcgg cgataaactg 360
gtaaaggtaa tcacgaagc gtgcctgctg accgacgatg aaaagggtta agcgtgccag 420
ctgtctcagg aagcgggcgc tgactacgtc aagacgagca ctggcttctc taccggcggg 480
gcgacggtcg cagatggtgc tctgatgctg aaaactgttg gcccgacat gggcgtaaaa 540
gcgtctggcg gtgcgcgctc ttacgaagac gctatcgcgt tcattgaagc tggcgcaagc 600
cgtattggcg ccagctctgg cgtggcgatc atgaatggtg cgcaggctga tggcgacacc 660
aagtggtaa 669

<210> 16
<211> 259
<212> PRT
<213> Escherichia coli

<400> 16

Met Thr Asp Leu Lys Ala Ser Ser Leu Arg Ala Leu Lys Leu Met Asp
 1 5 10 15
 Leu Thr Thr Leu Asn Asp Asp Asp Thr Asp Glu Lys Val Ile Ala Leu
 20 25 30
 Cys His Gln Ala Lys Thr Pro Val Gly Asn Thr Ala Ala Ile Cys Ile
 35 40 45
 Tyr Pro Arg Phe Ile Pro Ile Ala Arg Lys Thr Leu Lys Glu Gln Gly
 50 55 60
 Thr Pro Glu Ile Arg Ile Ala Thr Val Thr Asn Phe Pro His Gly Asn
 65 70 75 80
 Asp Asp Ile Asp Ile Ala Leu Ala Glu Thr Arg Ala Ala Ile Ala Tyr
 85 90 95
 Gly Ala Asp Glu Val Asp Val Val Phe Pro Tyr Arg Ala Leu Met Ala
 100 105 110
 Gly Asn Glu Gln Val Gly Phe Asp Leu Val Lys Ala Cys Lys Glu Ala
 115 120 125
 Cys Ala Ala Ala Asn Val Leu Leu Lys Val Ile Ile Glu Thr Gly Glu
 130 135 140
 Leu Lys Asp Glu Ala Leu Ile Arg Lys Ala Ser Glu Ile Ser Ile Lys
 145 150 155 160
 Ala Gly Ala Asp Phe Ile Lys Thr Ser Thr Gly Lys Val Ala Val Asn
 165 170 175
 Ala Thr Pro Glu Ser Ala Arg Ile Met Met Glu Val Ile Arg Asp Met
 180 185 190
 Gly Val Glu Lys Thr Val Gly Phe Lys Pro Ala Gly Gly Val Arg Thr
 195 200 205
 Ala Glu Asp Ala Gln Lys Tyr Leu Ala Ile Ala Asp Glu Leu Phe Gly
 210 215 220
 Ala Asp Trp Ala Asp Ala Arg His Tyr Arg Phe Gly Ala Ser Ser Leu
 225 230 235 240
 Leu Ala Ser Leu Leu Lys Ala Leu Gly His Gly Asp Gly Lys Ser Ala
 245 250 255
 Ser Ser Tyr

<210> 17

<211> 222

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5 <220>

<223> ADN aleatorio aislado de una muestra ambiental

<400> 17

```

Met Gly Asn Ile Ala Lys Met Ile Asp His Thr Leu Leu Lys Pro Glu
 1           5           10           15

Ala Thr Glu Gln Gln Ile Val Gln Leu Cys Thr Glu Ala Lys Gln Tyr
           20           25           30

Gly Phe Ala Ala Val Cys Val Asn Pro Thr Trp Val Lys Thr Ala Ala
           35           40           45

Arg Glu Leu Ser Gly Thr Asp Val Arg Val Cys Thr Val Ile Gly Phe
 50           55           60

Pro Leu Gly Ala Thr Thr Pro Glu Thr Lys Ala Phe Glu Thr Thr Asn
 65           70           75           80

Ala Ile Glu Asn Gly Ala Arg Glu Val Asp Met Val Ile Asn Ile Gly
           85           90           95

Ala Leu Lys Ser Gly Gln Asp Glu Leu Val Glu Arg Asp Ile Arg Ala
 100          105          110

Val Val Glu Ala Ala Ala Gly Arg Ala Leu Val Lys Val Ile Val Glu
 115          120          125

Thr Ala Leu Leu Thr Asp Glu Glu Lys Val Arg Ala Cys Gln Leu Ala
 130          135          140

Val Lys Ala Gly Ala Asp Tyr Val Lys Thr Ser Thr Gly Phe Ser Gly
 145          150          155          160

Gly Gly Ala Thr Val Glu Asp Val Ala Leu Met Arg Lys Thr Val Gly
 165          170          175

Asp Arg Ala Gly Val Lys Ala Ser Gly Gly Val Arg Asp Trp Lys Thr
 180          185          190

Ala Glu Ala Met Ile Asn Ala Gly Ala Thr Arg Ile Gly Thr Ser Ser
 195          200          205

Gly Val Ala Ile Val Thr Gly Gly Thr Gly Arg Ala Asp Tyr
 210          215          220
    
```

<210> 18

ES 2 523 304 T3

<211> 220
 <212> PRT
 <213> *Deinococcus radiodurans*
 <400> 18

Met Gly Leu Ala Ser Tyr Ile Asp His Thr Leu Leu Lys Ala Thr Ala
 1 5 10 15
 Thr Leu Ala Asp Ile Arg Thr Leu Cys Glu Glu Ala Arg Glu His Ser
 20 25 30
 Phe Tyr Ala Val Cys Ile Asn Pro Val Phe Ile Pro His Ala Arg Ala
 35 40 45
 Trp Leu Glu Gly Ser Asp Val Lys Val Ala Thr Val Cys Gly Phe Pro
 50 55 60
 Leu Gly Ala Ile Ser Ser Glu Gln Lys Ala Leu Glu Ala Arg Leu Ser
 65 70 75 80
 Ala Glu Thr Gly Ala Asp Glu Ile Asp Met Val Ile His Ile Gly Ser
 85 90 95
 Ala Leu Ala Gly Asp Trp Asp Ala Val Glu Ala Asp Val Arg Ala Val
 100 105 110
 Arg Arg Ala Val Pro Glu Gln Val Leu Lys Val Ile Ile Glu Thr Cys
 115 120 125
 Tyr Leu Thr Asp Glu Gln Lys Arg Leu Ala Thr Glu Val Ala Val Gln
 130 135 140
 Gly Gly Ala Asp Phe Val Lys Thr Ser Thr Gly Phe Gly Thr Gly Gly
 145 150 155 160
 Ala Thr Val Asp Asp Val Arg Leu Met Ala Glu Val Ile Gly Gly Arg
 165 170 175
 Ala Gly Leu Lys Ala Ala Gly Gly Val Arg Thr Pro Ala Asp Ala Gln
 180 185 190
 Ala Met Ile Glu Ala Gly Ala Thr Arg Leu Gly Thr Ser Gly Gly Val
 195 200 205
 Gly Leu Val Ser Gly Gly Glu Asn Gly Ala Gly Tyr
 210 215 220

<210> 19
 <211> 223
 <212> PRT
 <213> *Listeria monocytogenes*

<400> 19

Met Gly Ile Ala Lys Met Ile Asp His Thr Ala Leu Lys Pro Asp Thr
 1 5 10 15
 Thr Lys Glu Gln Ile Leu Thr Leu Thr Lys Glu Ala Arg Glu Tyr Gly
 20 25 30
 Phe Ala Ser Val Cys Val Asn Pro Thr Trp Val Lys Leu Ser Ala Glu
 35 40 45
 Gln Leu Ala Gly Ala Glu Ser Val Val Cys Thr Val Ile Gly Phe Pro
 50 55 60
 Leu Gly Ala Asn Thr Pro Glu Val Lys Ala Phe Glu Val Lys Asp Ala
 65 70 75 80
 Ile Gln Asn Gly Ala Lys Glu Val Asp Met Val Ile Asn Ile Gly Ala
 85 90 95
 Leu Lys Asp Lys Asp Asp Glu Leu Val Glu Arg Asp Ile Arg Ala Val
 100 105 110
 Val Asp Ala Ala Lys Gly Lys Ala Leu Val Lys Val Ile Ile Glu Thr
 115 120 125
 Cys Leu Leu Thr Asp Glu Glu Lys Val Arg Ala Cys Glu Ile Ala Val
 130 135 140
 Lys Ala Gly Thr Asp Phe Val Lys Thr Ser Thr Gly Phe Ser Thr Gly
 145 150 155 160
 Gly Ala Thr Ala Glu Asp Ile Ala Leu Met Arg Lys Thr Val Gly Pro
 165 170 175
 Asn Ile Gly Val Lys Ala Ser Gly Gly Val Arg Thr Lys Glu Asp Val
 180 185 190
 Glu Lys Met Ile Glu Ala Gly Ala Thr Arg Ile Gly Ala Ser Ala Gly
 195 200 205
 Val Ala Ile Val Ser Gly Glu Lys Pro Ala Lys Pro Asp Asn Tyr
 210 215 220

<210> 20

<211> 223

<212> PRT

<213> Haemophilus influenzae

<400> 20

ES 2 523 304 T3

Met Thr Ser Asn Gln Leu Ala Gln Tyr Ile Asp His Thr Ala Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Glu Lys Asn Glu Gln Asp Ile Ser Thr Leu Cys Asn Glu Ala Ile
 20 25 30

Glu His Gly Phe Tyr Ser Val Cys Ile Asn Ser Ala Tyr Ile Pro Leu
 35 40 45

Ala Lys Glu Lys Leu Ala Gly Ser Asn Val Lys Ile Cys Thr Val Val
 50 55 60

Gly Phe Pro Leu Gly Ala Asn Leu Thr Ser Val Lys Ala Phe Glu Thr
 65 70 75 80

Gln Glu Ser Ile Lys Ala Gly Ala Asn Glu Ile Asp Met Val Ile Asn
 85 90 95

Val Gly Trp Ile Lys Ser Gln Lys Trp Asp Glu Val Lys Gln Asp Ile
 100 105 110

Gln Ala Val Phe Asn Ala Cys Asn Gly Thr Pro Leu Lys Val Ile Leu
 115 120 125

Glu Thr Cys Leu Leu Thr Lys Asp Glu Ile Val Lys Ala Cys Glu Ile
 130 135 140

Cys Lys Glu Ile Gly Val Ala Phe Val Lys Thr Ser Thr Gly Phe Asn
 145 150 155 160

Lys Gly Gly Ala Thr Val Glu Asp Val Ala Leu Met Lys Asn Thr Val
 165 170 175

Gly Asn Ile Gly Val Lys Ala Ser Gly Gly Val Arg Asp Thr Glu Thr
 180 185 190

Ala Leu Ala Met Ile Lys Ala Gly Ala Thr Arg Ile Gly Ala Ser Ala
 195 200 205

Gly Ile Ala Ile Ile Ser Gly Thr Gln Asp Thr Gln Ser Thr Tyr
 210 215 220

<210> 21
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Thermotoga maritima

<400> 21

ES 2 523 304 T3

Met Ile Glu Tyr Arg Ile Glu Glu Ala Val Ala Lys Tyr Arg Glu Phe
 1 5 10 15

Tyr Glu Phe Lys Pro Val Arg Glu Ser Ala Gly Ile Glu Asp Val Lys
 20 25 30

Ser Ala Ile Glu His Thr Asn Leu Lys Pro Phe Ala Thr Pro Asp Asp
 35 40 45

Ile Lys Lys Leu Cys Leu Glu Ala Arg Glu Asn Arg Phe His Gly Val
 50 55 60

Cys Val Asn Pro Cys Tyr Val Lys Leu Ala Arg Glu Glu Leu Glu Gly
 65 70 75 80

Thr Asp Val Lys Val Val Thr Val Val Gly Phe Pro Leu Gly Ala Asn
 85 90 95

Glu Thr Arg Thr Lys Ala His Glu Ala Ile Phe Ala Val Glu Ser Gly
 100 105 110

Ala Asp Glu Ile Asp Met Val Ile Asn Val Gly Met Leu Lys Ala Lys
 115 120 125

Glu Trp Glu Tyr Val Tyr Glu Asp Ile Arg Ser Val Val Glu Ser Val
 130 135 140

Lys Gly Lys Val Val Lys Val Ile Ile Glu Thr Cys Tyr Leu Asp Thr
 145 150 155 160

Glu Glu Lys Ile Ala Ala Cys Val Ile Ser Lys Leu Ala Gly Ala His
 165 170 175

Phe Val Lys Thr Ser Thr Gly Phe Gly Thr Gly Gly Ala Thr Ala Glu
 180 185 190

Asp Val His Leu Met Lys Trp Ile Val Gly Asp Glu Met Gly Val Lys
 195 200 205

Ala Ser Gly Gly Ile Arg Thr Phe Glu Asp Ala Val Lys Met Ile Met
 210 215 220

Tyr Gly Ala Asp Arg Ile Gly Thr Ser Ser Gly Val Lys Ile Val Gln
 225 230 235 240

Gly Gly Glu Glu Arg Tyr Gly Gly
 245

<210> 22
 <211> 235
 <212> PRT
 <213> Aeropyrum pernix

<400> 22

Met Pro Ser Ala Arg Asp Ile Leu Gln Gln Gly Leu Asp Arg Leu Gly
 1 5 10 15
 Ser Pro Glu Asp Leu Ala Ser Arg Ile Asp Ser Thr Leu Leu Ser Pro
 20 25 30
 Arg Ala Thr Glu Glu Asp Val Arg Asn Leu Val Arg Glu Ala Ser Asp
 35 40 45
 Tyr Gly Phe Arg Cys Ala Val Leu Thr Pro Val Tyr Thr Val Lys Ile
 50 55 60
 Ser Gly Leu Ala Glu Lys Leu Gly Val Lys Leu Cys Ser Val Ile Gly
 65 70 75 80
 Phe Pro Leu Gly Gln Ala Pro Leu Glu Val Lys Leu Val Glu Ala Gln
 85 90 95
 Thr Val Leu Glu Ala Gly Ala Thr Glu Leu Asp Val Val Pro His Leu
 100 105 110
 Ser Leu Gly Pro Glu Ala Val Tyr Arg Glu Val Ser Gly Ile Val Lys
 115 120 125
 Leu Ala Lys Ser Tyr Gly Ala Val Val Lys Val Ile Leu Glu Ala Pro
 130 135 140
 Leu Trp Asp Asp Lys Thr Leu Ser Leu Leu Val Asp Ser Ser Arg Arg
 145 150 155 160
 Ala Gly Ala Asp Ile Val Lys Thr Ser Thr Gly Val Tyr Thr Lys Gly
 165 170 175
 Gly Asp Pro Val Thr Val Phe Arg Leu Ala Ser Leu Ala Lys Pro Leu
 180 185 190
 Gly Met Gly Val Lys Ala Ser Gly Gly Ile Arg Ser Gly Ile Asp Ala
 195 200 205
 Val Leu Ala Val Gly Ala Gly Ala Asp Ile Ile Gly Thr Ser Ser Ala
 210 215 220
 Val Lys Val Leu Glu Ser Phe Lys Ser Leu Val
 225 230 235

<210> 23

<211> 289

<212> PRT

<213> Porphyromonas gingivalis

ES 2 523 304 T3

<400> 23

Met Ala Ala Asn Lys Tyr Glu Met Ala Phe Ala Gln Phe Asp Pro Ala
 1 5 10 15
 Glu Ser Glu Glu Arg Ile Leu Leu Lys Thr Asp Gln Ile Ile Arg Asp
 20 25 30
 His Tyr Ser Arg Phe Asp Thr Pro Glu Thr Lys Lys Phe Leu His Gly
 35 40 45
 Val Ile Asp Leu Thr Ser Leu Asn Ala Thr Asp Ser Glu Glu Ser Ile
 50 55 60
 Thr Lys Phe Thr Glu Ser Val Asn Asp Phe Glu Asp Thr Asp Pro Thr
 65 70 75 80
 Ile Pro Ser Val Ala Ala Ile Cys Val Tyr Pro Asn Phe Val Ser Thr
 85 90 95
 Val Arg Glu Thr Leu Thr Ala Glu Asn Val Lys Val Ala Ser Val Ser
 100 105
 Gly Cys Phe Pro Ala Ser Gln Ser Phe Ile Glu Val Lys Leu Ala Glu
 115 120 125
 Thr Ala Leu Ala Val Ser Asp Gly Ala Asp Glu Ile Asp Ile Val Leu
 130 135 140
 Asn Met Gly Lys Phe Leu Ser Gly Asp Tyr Glu Ala Ala Ala Thr Glu
 145 150 155 160
 Ile Glu Glu Gln Ile Ala Ala Ala Lys Gly Ala Thr Val Lys Val Ile
 165 170 175
 Leu Glu Thr Gly Ala Leu Lys Thr Pro Glu Asn Ile Arg Arg Ala Thr
 180 185 190
 Ile Leu Ser Leu Phe Cys Gly Ala His Phe Val Lys Thr Ser Thr Gly
 195 200 205
 Lys Gly Tyr Pro Gly Ala Ser Leu Glu Ala Ala Tyr Thr Met Cys Lys
 210 215 220
 Val Leu Lys Gln Tyr Tyr Gly Leu Phe Gly Glu Val Arg Gly Ile Lys
 225 230 235 240
 Leu Ser Gly Gly Ile Arg Thr Thr Glu Asp Ala Val Lys Tyr Tyr Cys
 245 250 255
 Leu Ile Glu Thr Leu Leu Gly Lys Glu Trp Leu Thr Pro Ala Tyr Phe
 260 265 270
 Arg Ile Gly Ala Ser Ser Leu Val Asp Ala Leu Arg Gln Asp Ile Met
 275 280 285
 Val

<210> 24
 <211> 222

ES 2 523 304 T3

<212> PRT

<213> Enterococcus faecalis

<400> 24

```

Met Glu Leu Asn Arg Met Ile Asp His Thr Ile Leu Lys Pro Glu A
 1           5           10           15

Thr Glu Ala Ala Val Gln Lys Ile Ile Asp Glu Ala Lys Glu Tyr A
           20           25           30

Phe Phe Ser Val Cys Ile Asn Pro Cys Trp Val Ala Phe Ala Ser G
           35           40           45

Gln Leu Ala Asp Thr Asp Val Ala Val Cys Thr Val Ile Gly Phe P
 50           55           60

Leu Gly Ala Asn Thr Pro Glu Val Lys Ala Tyr Glu Ala Ala Asp A
 65           70           75

Ile Lys Asn Gly Ala Asn Glu Val Asp Met Val Ile Asn Ile Gly A
           85           90           95

Leu Lys Ser Gln Gln Tyr Asp Tyr Val Arg Gln Asp Ile Gln Gly V
           100          105          110

Val Asp Ala Ala Lys Gly Lys Ala Leu Val Lys Val Ile Ile Glu T
           115          120          125

Ala Leu Leu Thr Asp Glu Glu Lys Val Lys Ala Cys Glu Leu Ala L
           130          135          140

Glu Ala Gly Ala Asp Phe Val Lys Thr Ser Thr Gly Phe Ser Thr G
           145          150          155

Gly Ala Lys Val Ala Asp Ile Arg Leu Met Arg Glu Thr Val Gly P
           165          170          175

Asp Met Gly Val Lys Ala Ser Gly Gly Val His Asn Ala Glu Glu A
           180          185          190

Leu Ala Met Ile Glu Ala Gly Ala Thr Arg Ile Gly Ala Ser Thr G
           195          200          205

Val Ala Ile Val Ser Gly Ala Thr Gly Glu Gly Thr Lys Trp
           210          215          220

```

<210> 25

<211> 337

<212> PRT

<213> marine actinobacterium

<400> 25

ES 2 523 304 T3

Met Thr Ile Glu Ser Ala Ile Ala Leu Ala Pro Ala Glu Arg Ala Val
 1 5 10 15
 Asn Leu Ile Gly Ser Asp Leu Thr Glu Lys Ser Leu Lys Leu His Leu
 20 25 30
 Glu Gly Leu Ser Gly Val Asp Ala Val Gly Leu Glu Gln Arg Ala Ala
 35 40 45
 Gly Leu Ser Thr Arg Ser Ile Lys Thr Thr Ser Lys Ala Trp Ala Leu
 50 55 60
 Asp Thr Ile Ile Lys Leu Ile Asp Leu Thr Thr Leu Glu Gly Ala Asp
 65 70 75 80
 Thr Pro Gly Lys Val Arg Ser Leu Ala Ala Lys Ala Met Leu Pro Asp
 85 90 95
 Ala Ser Asp Val Ser Ala Pro Gln Val Ala Ala Val Cys Val Tyr Gly
 100 105 110
 Asp Met Val Pro Tyr Ala Ala Glu Ala Leu Gly Ser Ser Trp Ser Asn
 115 120 125
 Gly Ser Asp Asn Gly Ile Asn Val Ala Ala Val Ala Thr Ala Phe Pro
 130 135 140
 Ser Gly Arg Ser Ser Leu Pro Ile Lys Ile Ala Asp Thr Lys Glu Ala
 145 150 155 160
 Val Ala His Gly Ala Asp Glu Ile Asp Met Val Ile Asp Arg Gly Ala
 165 170 175
 Phe Leu Ser Gly Lys Tyr Gly Val Val Phe Asp Gln Ile Val Ala Val
 180 185 190
 Lys Glu Ala Cys Arg Arg Glu Asn Gly Thr Tyr Ala His Leu Lys Val
 195 200 205
 Ile Leu Glu Thr Gly Glu Leu Asn Thr Tyr Asp Asn Val Arg Arg Ala
 210 215 220
 Ser Trp Leu Ala Ile Leu Ala Gly Gly Asp Phe Val Lys Thr Ser Thr
 225 230 235 240
 Gly Lys Val Ser Pro Ala Ala Thr Leu Pro Val Thr Leu Leu Met Leu
 245 250 255

Glu Val Val Arg Asp Trp His Val Leu Thr Gly Glu Lys Ile Gly Val
 260 265 270
 Lys Pro Ala Gly Gly Ile Arg Ser Ser Lys Asp Ala Ile Lys Tyr Leu
 275 280 285
 Val Thr Val Ala Glu Thr Val Gly Glu Glu Trp Leu Gln Pro His Leu
 290 295 300
 Phe Arg Phe Gly Ala Ser Ser Leu Leu Asn Asp Val Leu Met Gln Arg
 305 310 315 320
 Gln Lys Leu Ser Thr Gly His Tyr Ser Gly Pro Asp Tyr Val Thr Ile
 325 330 335

Asp

<210> 26
 <211> 324
 <212> PRT
 <213> Nocardiooides species

<400> 26

Met Ser Ser Thr Pro Thr Ile Leu Asp Pro Ala Phe Glu Asp Val Thr
 1 5 10 15
 Arg Ser Glu Ala Ser Leu Arg Arg Phe Leu His Gly Leu Pro Gly Val
 20 25 30
 Asp Gln Val Gly Ala Glu Ala Arg Ala Ala Gly Leu Ala Thr Arg Ser
 35 40 45
 Ile Lys Thr Ser Ala Lys Glu Phe Ala Leu Asp Leu Ala Ile Arg Met
 50 55 60
 Val Asp Leu Thr Thr Leu Glu Gly Gln Asp Thr Pro Gly Lys Val Arg
 65 70 75 80
 Ala Leu Ser Ala Lys Ala Met Arg Pro Asp Pro Ser Asp Pro Thr Cys
 85 90 95
 Pro Ala Thr Ala Ala Val Cys Val Tyr Pro Asp Met Val Gly Ile Ala
 100 105 110
 Lys Gln Ala Leu Gly Thr Ser Gly Val His Val Ala Ala Val Ala Thr
 115 120 125
 Ala Phe Pro Ser Gly Arg Ala Ala Leu Asp Ile Lys Leu Ala Asp Val
 130 135 140

Arg Asp Ala Val Asp Ala Gly Ala Asp Glu Ile Asp Met Val Ile Asp
 145 150 155 160
 Arg Gly Ala Phe Leu Ala Gly Arg Tyr Gln His Val Tyr Asp Glu Ile
 165 170 175
 Val Ala Val Arg Glu Ala Cys Arg Arg Glu Asn Gly Glu Gly Ala His
 180 185 190
 Leu Lys Val Ile Phe Glu Thr Gly Glu Leu Gln Thr Tyr Asp Asn Val
 195 200 205
 Arg Arg Ala Ser Trp Leu Ala Met Met Ala Gly Ala His Phe Val Lys
 210 215 220
 Thr Ser Thr Gly Lys Val Gln Pro Ala Ala Thr Leu Pro Val Thr Leu
 225 230 235 240
 Val Met Leu Gln Ala Val Arg Asp Phe Arg Gly Ala Thr Gly Arg Met
 245 250 255
 Val Gly Val Lys Pro Ala Gly Gly Ile Arg Thr Ala Lys Asp Ala Ile
 260 265 270
 Lys Tyr Leu Val Met Val Asn Glu Val Ala Gly Glu Asp Trp Leu Asp
 275 280 285
 Pro Asp Trp Phe Arg Phe Gly Ala Ser Thr Leu Leu Asn Asp Leu Leu
 290 295 300
 Met Gln Arg Thr Lys Met Lys Thr Gly Arg Tyr Ser Gly Pro Asp Tyr
 305 310 315 320
 Phe Thr Leu Asp

<210> 27

<211> 275

<212> PRT

<213> Geobacillus kaustophilus

<400> 27

Met Glu Leu Ile Thr Gln Pro Ser Cys Trp Val Phe Ser Val Phe Phe
 1 5 10 15
 Arg Arg Gln Tyr Gly Trp Leu Val Phe Val Glu Gly Ala Trp Tyr Asp
 20 25 30
 Gly Arg Arg Gln Thr Phe His Leu Asp Gly Asn Gly Arg Lys Gly Phe
 35 40 45

ES 2 523 304 T3

Leu Arg Met Thr Met Asn Ile Ala Lys Met Ile Asp His Thr Leu Leu
 50 55 60
 Lys Pro Glu Ala Thr Glu Gln Gln Ile Val Gln Leu Cys Thr Glu Ala
 65 70 75 80
 Lys Gln Tyr Gly Phe Ala Ser Val Cys Val Asn Pro Thr Trp Val Lys
 85 90 95
 Thr Ala Ala Arg Glu Leu Ser Gly Thr Asp Val Arg Val Cys Thr Val
 100 105 110
 Ile Gly Phe Pro Leu Gly Ala Thr Thr Pro Glu Thr Lys Ala Phe Glu
 115 120 125
 Thr Thr Asn Ala Ile Glu Asn Gly Ala Arg Glu Val Asp Met Val Ile
 130 135 140
 Asn Ile Gly Ala Leu Lys Ser Gly Gln Asp Glu Leu Val Glu Arg Asp
 145 150 155 160
 Ile Arg Ala Val Val Glu Ala Ala Ala Gly Arg Ala Leu Val Lys Val
 165 170 175
 Ile Val Glu Thr Ala Leu Leu Thr Asp Glu Glu Lys Val Arg Ala Cys
 180 185 190
 Gln Leu Ala Val Lys Ala Gly Ala Asp Tyr Val Lys Thr Ser Thr Gly
 195 200 205
 Phe Ser Gly Gly Gly Ala Thr Val Glu Asp Val Ala Leu Met Arg Lys
 210 215 220
 Thr Val Gly Asp Arg Ala Gly Val Lys Ala Ser Gly Gly Val Arg Asp
 225 230 235 240
 Trp Lys Thr Ala Glu Ala Met Ile Asn Ala Gly Ala Thr Arg Ile Gly
 245 250 255
 Thr Ser Ser Gly Val Ala Ile Val Thr Gly Gly Thr Gly Arg Ala Asp
 260 265 270
 Thr Lys Trp
 275

<210> 28
 <211> 225
 <212> PRT
 <213> Listeria innocua

<400> 28

ES 2 523 304 T3

Met Thr Ile Ala Lys Met Ile Asp His Thr Ala Leu Lys Pro Asp Thr
 1 5 10 15
 Thr Lys Glu Gln Ile Leu Thr Leu Thr Lys Glu Ala Arg Glu Tyr Gly
 20 25 30
 Phe Ala Ser Val Cys Val Asn Pro Thr Trp Val Lys Leu Ser Ala Glu
 35 40 45
 Gln Leu Ser Gly Ala Glu Ser Val Val Cys Thr Val Ile Gly Phe Pro
 50 55 60
 Leu Gly Ala Asn Thr Pro Glu Val Lys Ala Phe Glu Val Lys Asn Ala
 65 70 75 80
 Ile Glu Asn Gly Ala Lys Glu Val Asp Met Val Ile Asn Ile Gly Ala
 85 90 95
 Leu Lys Asp Lys Asp Asp Glu Leu Val Glu Arg Asp Ile Arg Ala Val
 100 105 110
 Val Asp Ala Ala Lys Gly Lys Ala Leu Val Lys Val Ile Ile Glu Thr
 115 120 125
 Cys Leu Leu Thr Asp Glu Glu Lys Val Arg Ala Cys Glu Ile Ala Val
 130 135 140
 Lys Ala Gly Thr Asp Phe Val Lys Thr Ser Thr Gly Phe Ser Thr Gly
 145 150 155 160
 Gly Ala Thr Ala Glu Asp Ile Ala Leu Met Arg Lys Thr Val Gly Pro
 165 170 175
 Asn Ile Gly Val Lys Ala Ser Gly Gly Val Arg Thr Lys Glu Asp Val
 180 185 190
 Glu Lys Met Ile Glu Ala Gly Ala Thr Arg Ile Gly Ala Ser Ala Gly
 195 200 205
 Val Ala Ile Val Ser Gly Glu Lys Pro Ala Lys Pro Asp Asn Thr Lys
 210 215 220
 Trp
 225

<210> 29
 <211> 240
 <212> PRT
 <213> Bacillus halodurans
 <400> 29

ES 2 523 304 T3

Met Ser Arg Ser Ile Ala Gln Met Ile Asp His Thr Leu Leu Lys Pro
 1 5 10 15
 Asn Thr Thr Glu Asp Gln Ile Val Lys Leu Cys Glu Glu Ala Lys Glu
 20 25 30
 Tyr Ser Phe Ala Ser Val Cys Val Asn Pro Thr Trp Val Ala Leu Ala
 35 40 45
 Ala Gln Leu Leu Lys Asp Ala Pro Asp Val Lys Val Cys Thr Val Ile
 50 55 60
 Gly Phe Pro Leu Gly Ala Thr Thr Pro Glu Val Lys Ala Phe Glu Thr
 65 70 75 80
 Thr Asn Ala Ile Glu Asn Gly Ala Thr Glu Val Asp Met Val Ile Asn
 85 90 95
 Ile Gly Ala Leu Lys Asp Lys Gln Tyr Glu Leu Val Gly Arg Asp Ile
 100 105 110
 Gln Ala Val Val Lys Ala Ala Glu Gly Lys Ala Leu Thr Lys Val Ile
 115 120 125
 Ile Glu Thr Ser Leu Leu Thr Glu Glu Glu Lys Lys Ala Ala Cys Glu
 130 135 140
 Leu Ala Val Lys Ala Gly Ala Asp Phe Val Lys Thr Ser Thr Gly Phe
 145 150 155 160
 Ser Gly Gly Gly Ala Thr Ala Glu Asp Ile Ala Leu Met Arg Lys Val
 165 170 175
 Val Gly Pro Asn Leu Gly Val Lys Ala Ser Gly Gly Val Arg Asp Leu
 180 185 190
 Ser Asp Ala Lys Ala Met Ile Asp Ala Gly Ala Thr Arg Ile Gly Ala
 195 200 205
 Ser Ala Gly Val Ala Ile Val Asn Gly Glu Arg Ser Glu Gly Ser Thr
 210 215 220
 Lys Trp Thr Ala Ala Gly Ala Ala Thr Thr Cys Ala Cys Thr Gly Gly
 225 230 235 240

<210> 30
 <211> 222
 <212> PRT
 <213> Streptococcus suis

<400> 30

ES 2 523 304 T3

Met Lys Leu Asn Lys Tyr Ile Asp His Thr Ile Leu Lys Pro Glu Thr
 1 5 10 15
 Thr Gln Glu Gln Val Glu Lys Ile Leu Ala Glu Ala Lys Glu Tyr Asp
 20 25 30
 Phe Ala Ser Val Cys Val Asn Pro Thr Trp Val Ala Leu Ala Ala Glu
 35 40 45
 Ser Leu Lys Asp Ser Asp Val Lys Val Cys Thr Val Ile Gly Phe Pro
 50 55 60
 Leu Gly Ala Asn Thr Pro Ala Val Lys Ala Phe Glu Thr Lys Asp Ala
 65 70 75 80
 Ile Ser Asn Gly Ala Asp Glu Ile Asp Met Val Ile Asn Ile Gly Ala
 85 90 95
 Leu Lys Thr Gly Asn Tyr Asp Leu Val Leu Glu Asp Ile Lys Ala Val
 100 105 110
 Val Ala Ala Ser Gly Asp Lys Leu Val Lys Val Ile Ile Glu Ala Cys
 115 120 125
 Leu Leu Thr Asp Asp Glu Lys Val Lys Ala Cys Gln Leu Ser Gln Glu
 130 135 140
 Ala Gly Ala Asp Tyr Val Lys Thr Ser Thr Gly Phe Ser Thr Gly Gly
 145 150 155 160
 Ala Thr Val Ala Asp Val Ala Leu Met Arg Lys Thr Val Gly Pro Asp
 165 170 175
 Met Gly Val Lys Ala Ser Gly Gly Ala Arg Ser Tyr Glu Asp Ala Ile
 180 185 190
 Ala Phe Ile Glu Ala Gly Ala Ser Arg Ile Gly Ala Ser Ser Gly Val
 195 200 205
 Ala Ile Met Asn Gly Ala Gln Ala Asp Gly Asp Thr Lys Trp
 210 215 220

REIVINDICACIONES

- 1.- Un procedimiento que comprende la etapa de hacer reaccionar acetaldehído con un sustrato de aminoaldehído N-protegido seleccionado del grupo que consiste en 3-ftalimidopropionaldehído y 3-succinimidopropionaldehído en condiciones de condensación aldólica catalizada por aldolasa para formar el correspondiente lactol.
- 5 2.- El procedimiento según la reivindicación 1, en el que dicha aldolasa es una aldolasa 2-desoxirribosa-5-fosfato aldolasa (DERA).
- 3.- El procedimiento según la reivindicación 2, en el que dicha aldolasa es DERA 04 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 2 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 17; DERA 06 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 3 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 18; DERA 101 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 8 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 23; DERA 102 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 9 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 24; DERA 103 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 10 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 25; DERA 104 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 11 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 26; DERA 105 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 12 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 27; DERA 106 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 13 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 28; DERA 107 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 14 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 29; DERA 108 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 15 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 30; o una aldolasa que tiene una identidad de secuencia de aminoácidos de al menos aproximadamente el 70% con las mismas.
- 4.- El procedimiento según la reivindicación 2, en el que dicha aldolasa es DERA 04 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 2 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 17; DERA 06 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 3 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 18 o DERA 102 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 9 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 24.
- 5.- El procedimiento según la reivindicación 2, en el que dicha aldolasa es DERA 04 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 2 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 17.
- 35 6.- El procedimiento según la reivindicación 2, en el que dicha aldolasa es DERA 102 que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 9 o una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 24.
- 7.- El procedimiento según la reivindicación 1, en el que dicho sustrato de aminoaldehído N-protegido es 3-ftalimidopropionaldehído.
- 40 8.- El procedimiento según la reivindicación 1, en el que dicho sustrato de aminoaldehído N-protegido es 3-succinimido-propionaldehído.
- 9.- El procedimiento según la reivindicación 1, que incluye además oxidar el lactol así formado para proporcionar la correspondiente lactona.
- 10.- El procedimiento según la reivindicación 9, que incluye además hacer reaccionar la lactona así formada con alcohol isopropílico y acetona para proporcionar el correspondiente éster de isopropil-acetónido.
- 45 11.- El procedimiento según la reivindicación 9, que incluye además hacer reaccionar la lactona así formada con ciclopentanona y alcohol isopropílico para proporcionar el correspondiente éster isopropílico de ciclopentiliden-ftalimido.
- 12.- El procedimiento según la reivindicación 1, que incluye además:
- 50 (a) deshidrogenar el lactol así formado en condiciones de deshidrogenación catalítica para proporcionar el correspondiente ácido 3,5-dihidroxiheptanoico;
- (b) tratar dicho ácido 3,5-dihidroxiheptanoico con diciclohexilamina para formar la correspondiente sal; y
- (c) hacer reaccionar la sal así formada con ortoformiato de triisopropilo y acetona para proporcionar el correspondiente éster de isopropil-acetónido.
- 13.- El procedimiento según la reivindicación 1, que incluye además:
- 55 (a) oxidar el lactol así formado para proporcionar el correspondiente ácido 3,5-dihidroxiheptanoico;
- (b) tratar dicho ácido 3,5-dihidroxiheptanoico con diciclohexilamina para formar la correspondiente sal; y
- (c) hacer reaccionar la sal así formada con ortoformiato de triisopropilo y acetona para proporcionar el correspondiente éster de isopropil-acetónido.
- 60 14.- El procedimiento según las reivindicaciones 10, 12 o 13, que incluye además tratar el éster de isopropil-acetónido, en el que dicho sustrato de aminoaldehído N-protegido es 3-ftalimidopropionaldehído así formado con una base para proporcionar el correspondiente éster isopropílico de amino-acetónido.

FIG. 1

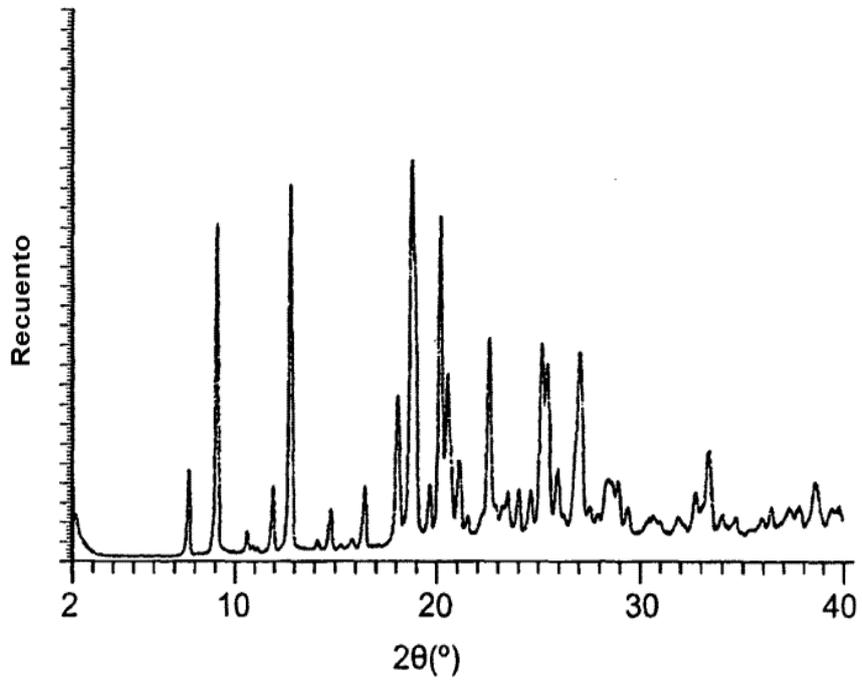


FIG. 2

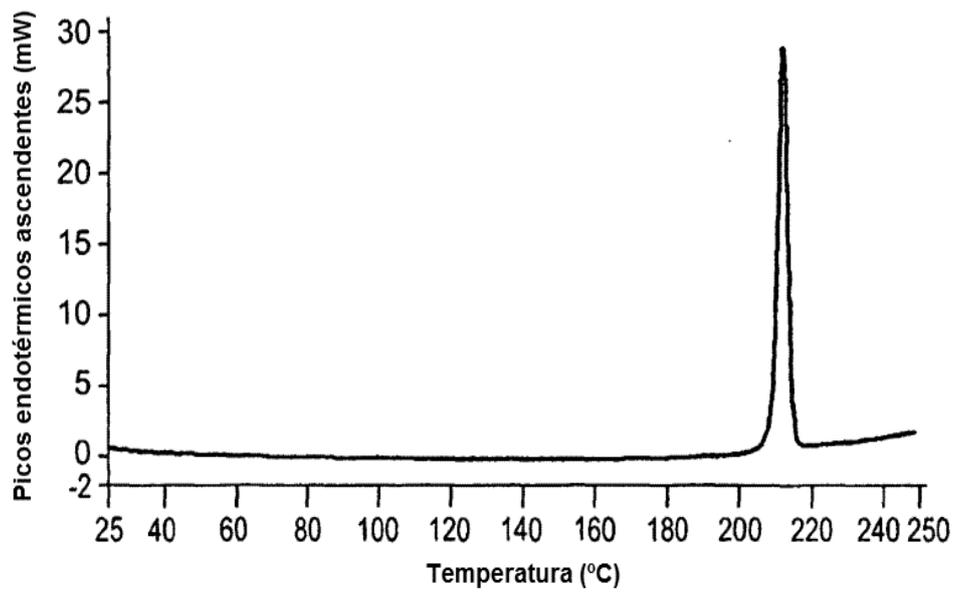


FIG. 3A

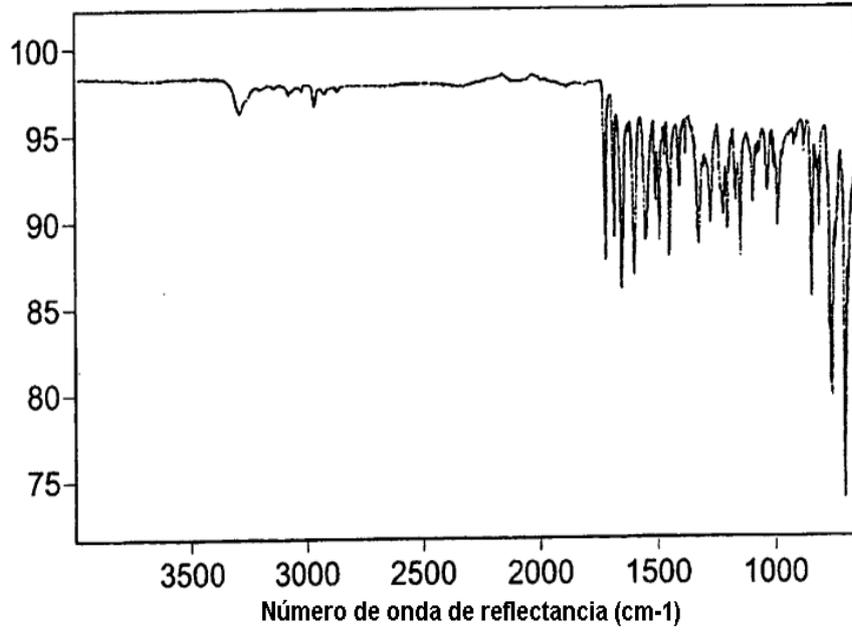


FIG. 3B

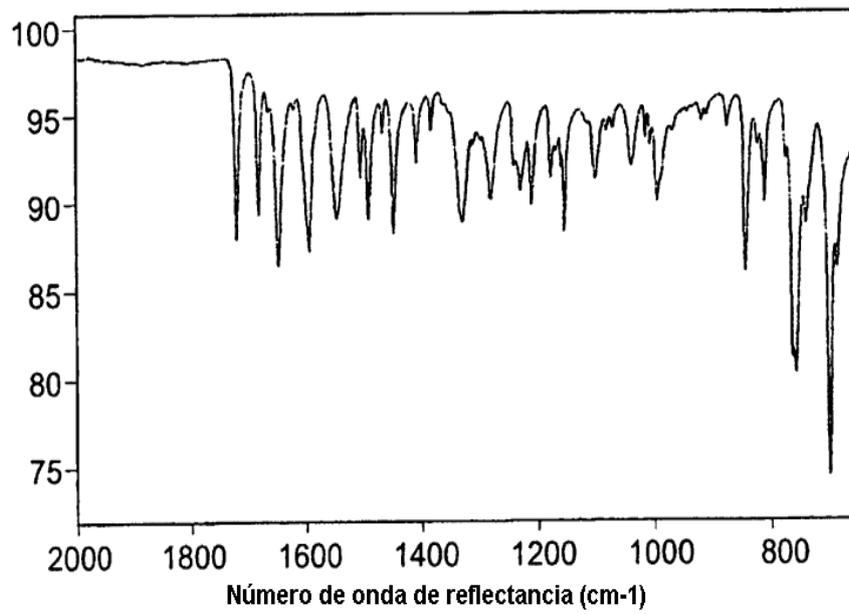


FIG. 4A

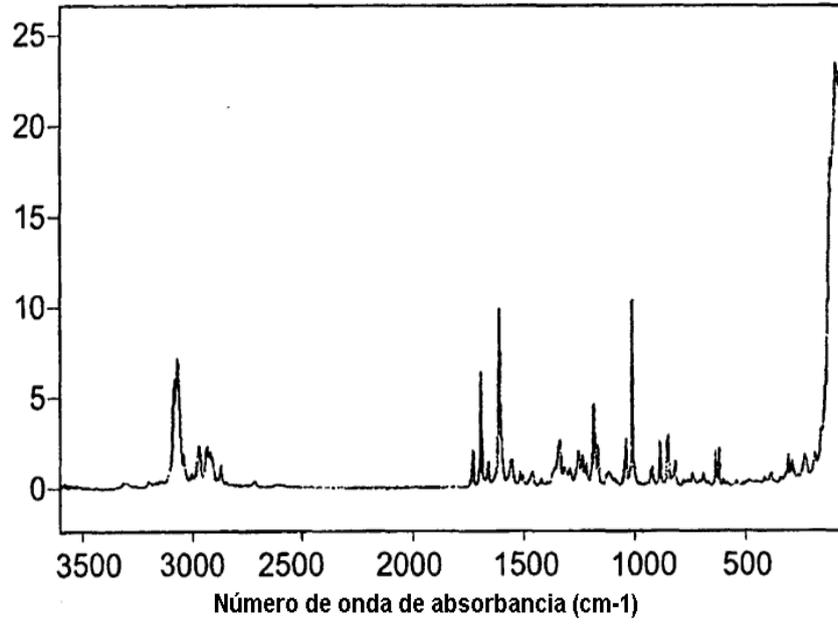


FIG. 4B

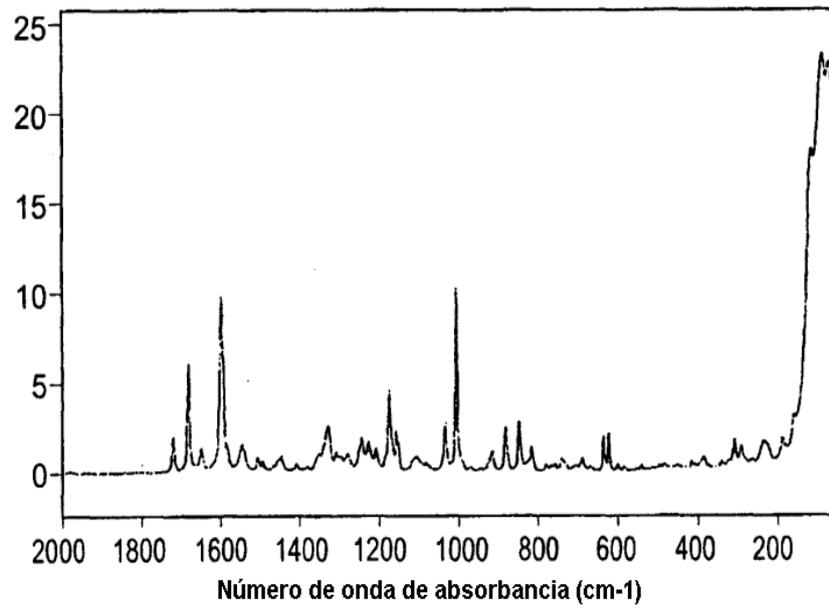


FIG. 5

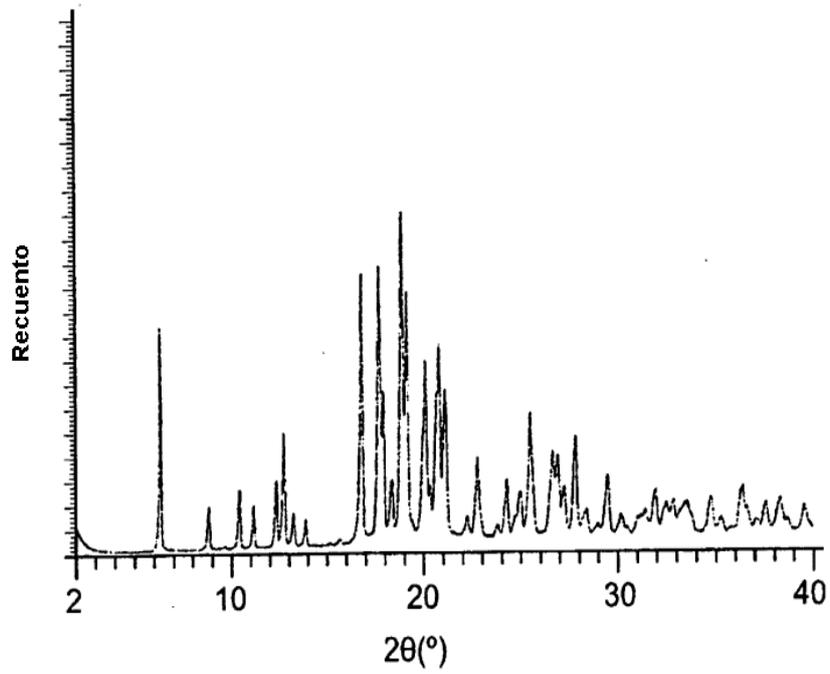


FIG. 6

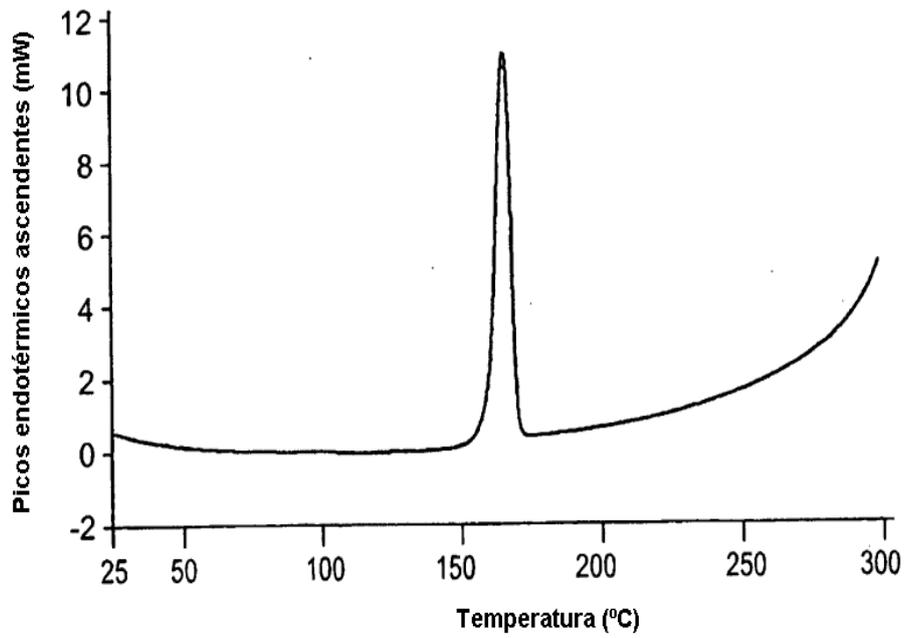


FIG. 7A

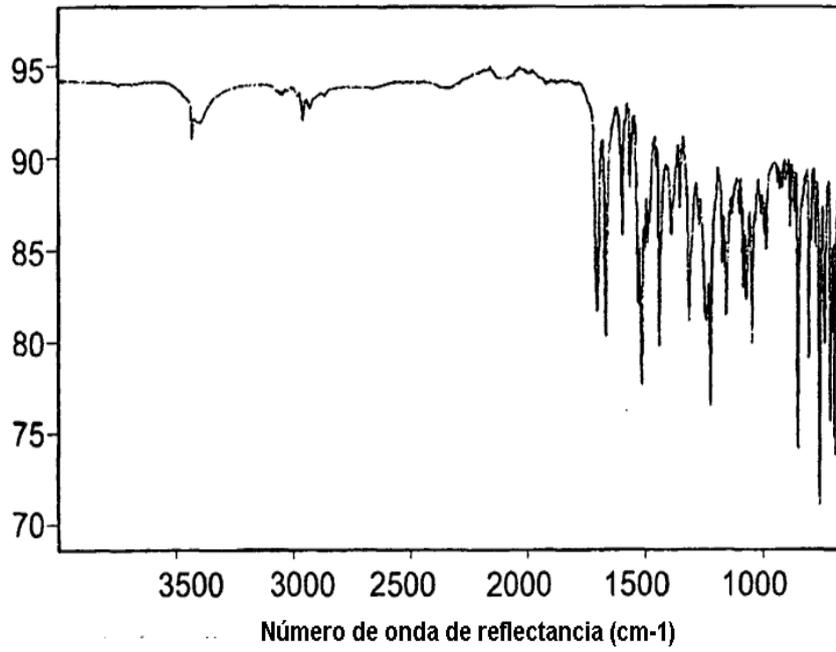


FIG. 7B

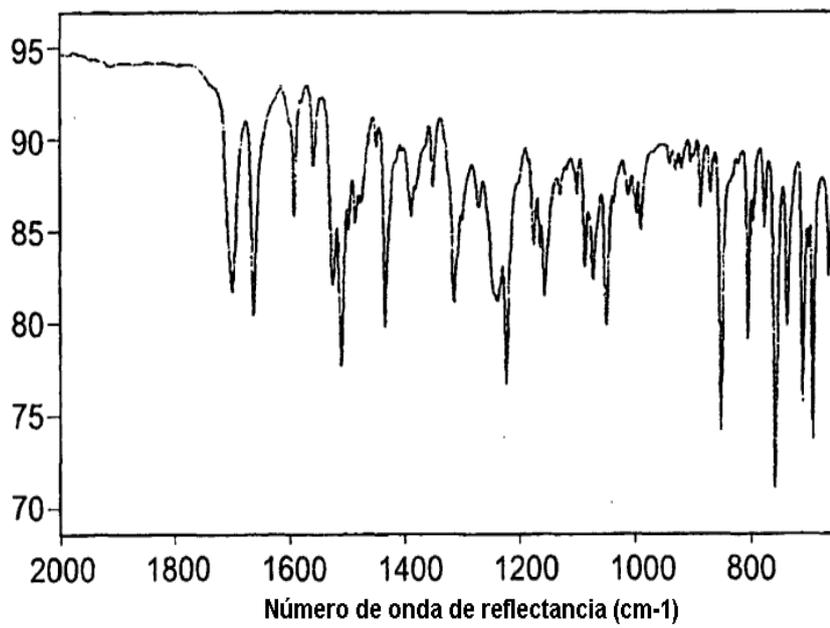


FIG. 8A

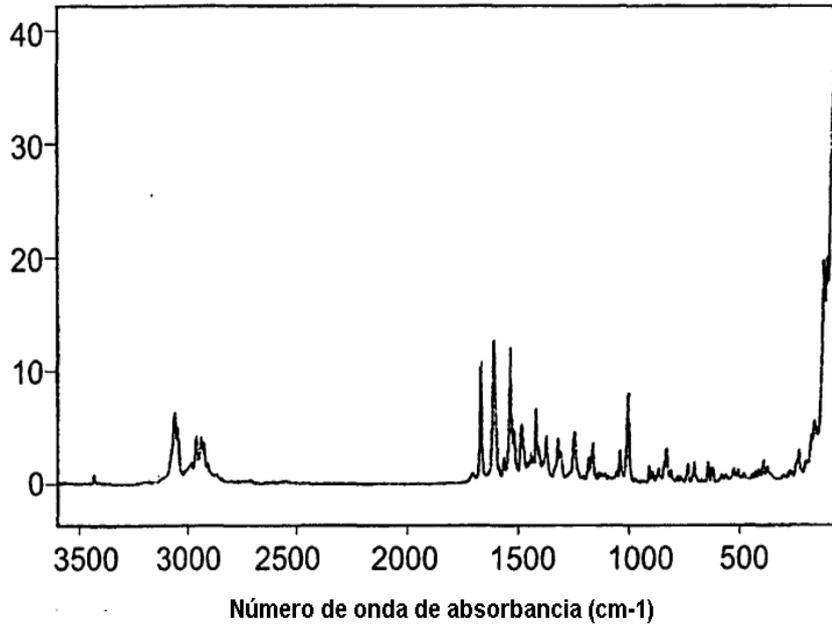


FIG. 8B

