

OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



(1) Número de publicación: 2 634 431

51) Int. Cl.:	
C07K 1/00	(2006.01)
C07K 5/02	(2006.01)
C07D 487/04	(2006.01)
C07D 487/14	(2006.01)
C07K 7/64	(2006.01)
C07K 5/12	(2006.01)
C07F 7/18	(2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

Т3

86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacion	nal: 16.03.2	2010 PCT/CA2	010/000408
87 Fecha y número de publicación internacional:	23.09.2010	WO10105363	
96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea:	16.03.2010	E 10753047 (9)	
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea:	03.05.2017	EP 2408802	

54 Título: Moléculas de aminoácidos cíclicos y procedimientos de preparación de las mismas

30 Prioridad:

16.03.2009 US 160571 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente: 27.09.2017 73 Titular/es:

THE GOVERNING COUNCIL OF THE UNIVERSITY OF TORONTO (100.0%) MaRS Centre, Heritage Building 101 College Street, Suite 320 Toronto, Ontario M5G 1L7, CA 72 Inventor/es: YUDIN, ANDREI y

YUDIN, ANDREI Y HILI, RYAN

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

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

Moléculas de aminoácidos cíclicos y procedimientos de preparación de las mismas

5 CAMPO

La presente invención se refiere a moléculas de aminoácidos cíclicos y procedimientos de preparación de las mismas y, en particular, la macrociclación de aminoácidos o péptidos lineales por reacción con aminoaldehídos anfóteros e isocianuros.

10

ANTECEDENTES

Los péptidos juegan un papel vital en la mediación de un amplio rango de procesos biológicos, actuando como hormonas, antibióticos y moléculas señalizadoras. Debido a la interacción altamente específica con sus dianas biológicas, los péptidos se han usado ampliamente en medicina. Sin embarro, no siempre es fácil comprender el

- 15 biológicas, los péptidos se han usado ampliamente en medicina. Sin embargo, no siempre es fácil comprender el enorme potencial terapéutico de los péptidos debido a su baja biodisponibilidad. Esta deficiencia es una consecuencia de la degradación de los péptidos por las endo y exopeptidasas, que deriva en una pobre estabilidad in vivo de los péptidos. En comparación con sus homólogos lineales, los péptidos cíclicos son más resistentes a la degradación. Hay dos razones principales para esta estabilidad. En primer lugar, las exopeptidasas no pueden
- 20 escindir el péptido cíclico en sus (inexistentes) extremos. En segundo lugar, los péptidos cíclicos, especialmente aquellos con un tamaño de anillo de pequeño a medio, están protegidos contra las endopeptidasas porque la cadena principal de los péptidos cíclicos está restringida y evita la adaptación de la conformación extendida necesaria durante la proteólisis. Además, la reducida carga y los puentes de hidrógeno intramoleculares de los péptidos cíclicos facilitan la permeabilidad pasiva a través de la membrana, lo que contribuye a mejorar su biodisponibilidad.
- 25 Más significativamente, las restricciones conformacionales impuestas por la topología cíclica en la secuencia de aminoácidos maximizan las interacciones entálpicas entre los péptidos cíclicos y sus dianas bioquímicas a la vez que garantizan una entropía favorable para su unión.

Ha habido un enorme interés en los péptidos cíclicos, tanto los presentes naturalmente como los sintéticos, como 30 matrices que preorganizan una secuencia de aminoácidos en una conformación rígida.¹ De entre el vasto número de péptidos cíclicos conocidos, los de anillos rígidos de pequeño a mediano tamaño han sido de particular interés. Se han desarrollado diversos procedimientos de ciclolactamización y ciclación no peptídica.²

- La macrociclación de precursores lineales se ve afectada por varias dificultades cinéticas y termodinámicas 35 derivadas de las preferencias conformacionales de los péptidos lineales. El equilibrio conformacional cadena/anillo es el obstáculo principal al que nos enfrentamos en la síntesis de moléculas cíclicas a partir de precursores acíclicos. Los péptidos lineales cortos pueden adoptar fácilmente una conformación circular, que se produce por apareamiento de iones entre los extremos N- y C-terminales (Esquema 1, A).³ A pesar de la desfavorable entropía, estas conformaciones circulares se ven termodinámicamente favorecidas por la entalpía obtenida gracias a interacciones
- 40 electrostáticas y otras interacciones polares. Tal y como se muestra en el Esquema 1, los reactivos de activación convencionales tienden a eliminar el carácter zwitteriónico del péptido, haciéndolo incapaz de formar pares iónicos. Por consiguiente, sin la contribución entálpica de las interacciones electrostáticas y otras interacciones polares, el péptido activado adopta una conformación linear aleatoria (Esquema 1, B). Para que se produzca la macrociclación, el péptido activado debe adoptar una conformación previa a la ciclación (C) antes de formar la molécula cíclica
- 45 deseada (D). Una alta dilución, del orden de 10⁻⁴ o superior, es esencial para limitar la formación de subproductos derivados de la ciclodimerización,⁴ ciclotrimerización y polimerización.⁵ Desafortunadamente, la dilución conlleva largos tiempos de reacción que, a su vez, provocan procesos en la cadena principal tales como la epimerización. Entre las ciclaciones más exigentes se encuentran las intentadas en péptidos lineales que contienen menos de siete residuos.^{6,7}
- 50



Esquema 1. Una estrategia habitual de macrociclación de péptidos

Otra dificultad habitual en la exploración del espacio de la química macrocíclica tiene que ver con la modificación en etapas tardías. Esta es una dificultad histórica para las bibliotecas de compuestos macrocíclicos creadas en las empresas histornalógicas y formación de apilla.

5 empresas biotecnológicas y farmacéuticas. Sus técnicas de ciclación habituales (metátesis de cierre de anillo, cicloadición de Huisgen) no se prestan de forma natural a elaboraciones posteriores. Los asideros del grupo funcional deben estar integrados antes de la ciclación para conseguir este objetivo.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

10

En el presente documento se describe un procedimiento de formación de un péptido o aminoácido cíclico que comprende las etapas de:

(i) hacer reaccionar un grupo terminal amina de un péptido con un aldehído aziridínico que tiene la estructura 15 siguiente:



20

y

(ii) hacer reaccionar la mezcla de la etapa (i) con un isocianuro.

En ejemplos adicionales descritos en el presente documento, se proporciona un proceso para producir una molécula de aminoácido cíclico que comprende la reacción de una molécula de aminoácido, que tiene un amino terminal y un 25 carboxilo terminal, con un isocianuro y un compuesto que tiene la fórmula (la) y/o (lb):



donde:

- 5 n = 0 o 1, y R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ se seleccionan independientemente de entre H; alquilo inferior; alquenilo; heterociclo; cicloalquilo; ésteres de fórmula -C(O)OR* donde R se selecciona de entre alquilo y arilo; amidas de fórmula C(O)NR R, donde R y R se seleccionan independientemente de entre alquilo y arilo; -CH₂C(O)R, donde R se selecciona de entre -OH, alquilo inferior, arilo, alquilarilo inferior, o -NR₃Rb, donde R₃ y R_b se seleccionan independientemente de entre H; alquilo inferior; -C(O)R_c, donde R se selecciona de entre H, alquilo inferior, arilo, alquilarilo inferior; -C(O)R_c, donde R se seleccionan independientemente de entre H, alquilo inferior, arilo, alquilarilo inferior; -C(O)R_c, donde R se seleccionan independientemente de entre H, alquilo inferior, arilo, alquilarilo inferior; -C(O)R_c, donde R se seleccionan independientemente de entre H, alquilo inferior, arilo, alquilarilo inferior; -C(O)R_c, donde R se seleccionan independientemente de entre H, alquilo inferior, arilo, alquilarilo inferior; -C(O)R_c, donde R se seleccionan independientemente de entre H, alquilo inferior, arilo, alquilarilo inferior; -C(O)R_c, donde R se seleccionan independientemente de entre H, alquilo inferior, arilo, alquilarilo inferior; -C(O)R_c, donde R se seleccionan independientemente de entre H, alquilo inferior, arilo, alquilarilo inferior; -C(O)R_c, donde R se seleccionan independientemente de entre H, alquilo inferior, arilo, alquilarilo inferior; -C(O)R_c, donde R se seleccionan independientemente de entre H, alquilo inferior, arilo, alquilarilo inferior; -C(O)R_c, donde R se seleccionan independientemente de entre H, alquilo inferior; -C(O)R_c, donde R se seleccionan independientemente de entre H, alquilo inferior; -C(O)R_c, donde R se seleccionan independientemente de entre H, alquilo inferior; -C(O)R_c, donde R se seleccionan independientemente de entre H, alquilo inferior; -C(O)R_c, donde R se seleccionan independientemente entre H, alquilo R se seleccionan independi
- 10 selecciona de entre alquilo inferior, arilo o alquilarilo inferior; o alquil-ORa inferior, donde R_d es un grupo protector o un grupo OH adecuado; todos ellos opcionalmente sustituidos en una o más de las posiciones sustituibles por uno o más sustituyentes adecuados; y el componente aldehído del mismo puede estar opcionalmente en su forma de aducto de bisulfito; y la molécula de aminoácido es un aminoácido, un péptido lineal o una sal de los anteriores, a condición de que
- 15 si la molécula de aminoácido es un péptido lineal, el compuesto comprende un centro quiral de aziridina proximal al aldehído con estereoquímica coincidente con el átomo de carbono proximal al amino terminal del péptido.

En ejemplos adicionales descritos en el presente documento, se proporciona una molécula de aminoácido cíclico 20 preparada usando ejemplos adicionales de procesos descritos en el presente documento.

En ejemplos adicionales descritos en el presente documento, se proporciona una molécula de aminoácido cíclico de fórmula (II):



25

donde

n = 0 o 1, y R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ se seleccionan independientemente de entre H; alquilo inferior; arilo; heteroarilo;
 alquenilo; heterociclo; ésteres de fórmula -C(O)OR* donde R se selecciona de entre alquilo y arilo; amidas de fórmula - C(O)NR** R*** , donde R** y R*** se seleccionan independientemente de entre alquilo y arilo; - CH₂C(O)R, donde R se selecciona de entre -OH, alquilo inferior, arilo, alquilarilo inferior, o -NR₃Rb, donde R₃ y Rb se seleccionan independientemente de entre H, alquilo inferior, arilo o alquilarilo inferior; -C(O)R₀, donde Ro se selecciona de entre alquilo inferior, arilo o alquil-ORd inferior, donde Rj es un grupo

protector o un grupo OH adecuado; todos ellos opcionalmente sustituidos en una o más de las posiciones sustituibles por uno o más sustituyentes adecuados,

los enlaces [a] y [b] tienen una conformación relativa syn;

R' es una cadena lateral de aminoácido del aminoácido del extremo amino terminal;

(Ia)

R" es una amida opcionalmente sustituida;

y la molécula de aminoácido es un aminoácido o un péptido lineal, donde N' es el nitrógeno del extremo amino terminal de la molécula de aminoácido y C es el carbono del extremo carboxilo terminal de la molécula de aminoácido, y a condición de que si la molécula de aminoácido es un péptido lineal, los enlaces [a] y [c] están en 10 conformación relativa anti.

En ejemplos adicionales descritos en el presente documento, se proporciona el uso de un compuesto para la ciclación de una molécula de aminoácido, donde el compuesto tiene la fórmula (la)/(lb):



15

5

comprende un estereocentro aen el átomo de carbono proximal al grupo aldehído con estereoquímica coincidente con el átomo de carbono proximal al amino terminal de la molécula de aminoácido; y

(Ib)

- 20 n = 0 o 1, y R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 se seleccionan independientemente de entre H; alquilo inferior; arilo; heteroarilo; alquenilo; heterociclo; ésteres de fórmula -C(O)OR* donde R* se selecciona de entre alquilo y arilo; amidas de fórmula - C(O)NR R, donde R y R se seleccionan independientemente de entre alquilo y arilo; -CH₂C(O)R, donde R se selecciona de entre -OH, alquilo inferior, arilo, alquilarilo inferior, o -NRaRb, donde Ra y Rb se seleccionan independientemente de entre H, alquilo inferior, arilo o alquilarilo inferior; -C(O)Rc, donde R£ se selecciona de entre
- 25 alquilo inferior, arilo o alquilarilo inferior; o alquil-ORd inferior, donde Rd es un grupo protector adecuado; todos ellos opcionalmente sustituidos en una o más de las posiciones sustituibles por uno o más sustituyentes adecuados; y la molécula de aminoácido es un aminoácido, un péptido lineal o una sal de los anteriores, a condición de que si la molécula de aminoácido es un péptido lineal, el compuesto comprende un centro quiral aziridina proximal al aldehído con estereoquímica coincidente con el átomo de carbono proximal al extremo amino terminal del péptido.
- 30

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS:

Las realizaciones de la invención se pueden entender mejor consultando la siguiente descripción y los dibujos que la acompañan. En la descripción y los dibujos, numerales similares se refieren a estructuras o procesos similares. En 35 los dibujos:

La FIG. 1 es una comparación del espectro RMN ¹H de mezclas de reacción crudas usando isómeros de leucina.

La FIG. 2 es un esquema que representa una reacción incompatible que lleva a productos aminales.

La FIG. 3 es una reacción compatible que lleva a un producto cíclico.

40 La FIG. 4 muestra las estructuras químicas de los productos cíclicos sintetizados mediante los Procedimientos 1-3.

- 40 La FIG. 4 muestra las estructuras químicas de los productos cíclico La FIG. 5 es el espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 1. La FIG. 6 es el espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 2. La FIG. 7 es el espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 3. La FIG. 8 es el espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 4.
 45 La FIG. 9 es el espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 5. La FIG. 10 es el espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 6 La FIG. 11 es el espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 7. La FIG. 12 es el espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 7.

 - La FIG. 12 es el espectro RMN ¹H para el producto cíclico 8.
 - La FIG. 13 es el espectro RMN ¹H para el producto cíclico 9.

La FIG. 14 es el espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 10.
La FIG. 15 es el espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 11
La FIG. 16 es el espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 12.
La FIG. 17 es el espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 13.
La FIG. 18 es el espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 14.
La FIG. 19 es el espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 15.
La FIG. 20 es el espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 16.
La FIG. 21 es el espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 17.
La FIG. 22 es el espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 18.
La FIG. 23 es el espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 20.
La FIG. 24 es el espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 20.
La FIG. 25 es el espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 21.
La FIG. 26 es el espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 21.
La FIG. 27 es el espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 22.
La FIG. 28 representa un análisis LC-MS(ESI) crudo de ciclación mediada por HATU de Pro-Gly-Gly-Gly a 0,2 M.

La FIG. 30 muestra la apertura nucleófila del anillo de péptidos cíclicos que contienen aziridina. La FIG. 31 representa los pK_a de los tioles e iones amonio y los ΔpK_a de los pares iónicos.

20 La FIG. 32 representa un análisis LC-MS(ESI) crudo para una mezcla de reacción de un producto abierto tiol.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

En el presente documento se describe un proceso de una etapa que proporciona péptidos cíclicos con altos rendimientos y selectividades a la vez que evita los problemas encontrados habitualmente durante las reacciones de ciclación tradicionales. Ahora, la diversificación en etapas tardías de las moléculas macrocíclicas se puede conseguir de forma impecable. Los productos de la macrociclación están dotados de sitios de modificación específicos, que permiten la modificación estructural en una etapa tardía de los péptido cíclicos. La diversificación posterior a la ciclación ha supuesto un reto histórico para las bibliotecas macrocíclicas tanto en la industria biotecnológica como en 30 la farmacéutica. El presente enfogue de la macrociclación resuelve, entre otros, este problema.

En el presente documento se demuestra un uso para una clase de aminoaldehídos anfóteros estables que contienen grupos aldehído y aziridina sin proteger útiles sintéticamente hablando.⁸ Los aminoaldehídos anfóteros son inducidos a experimentar una reacción reversible con los extremos amino y carboxilo del péptido. El producto intermedio

- 35 electrófilo resultante reacciona rápidamente con la porción de aziridina nucleófila debido a la altamente efectiva molaridad. Como resultado, se modifica el desfavorable equilibrio cadena/anillo usando el principio de Le Chatelier, garantizando una conversión eficaz a productos cíclicos. En otro aspecto, la ciclación tolera residuos de la cadena lateral de aminoácido alifáticos, ácidos y básicos. En particular, los péptidos, incluyendo aquellos que contienen tanto residuos ácidos como básicos, se encuentran dentro del alcance de este proceso, liberando un único producto
- 40 diastereomérico en cada caso. El trifluoroetanol ("TFE"), conocido por su capacidad para estabilizar la estructura peptídica secundaria y fomentar las interacciones polares,⁹ es el medio de reacción preferido. La condensación de cuatro componentes de Ugi, una reacción bien conocida que implica ácidos carboxílicos, aminas, aldehídos e isocianuros¹⁰, es el medio preferido para generar precursores de macrociclación zwitteriónicos. Mecánicamente, se sabe que la reacción de Ugi se lleva a cabo mediante una serie de transformaciones reversibles que tienden a ser la
- 45 fuerza motriz termodinámica de la formación de enlaces amida. Cuando se usan como materiales de partida un αaminoácido, un aldehído y un isocianuro, la reacción pasa por un producto intermedio de ión iminio zwitteriónico, que al ser atacado por el isocianuro produce un anhídrido mixto electrófilo. La posterior reacción con metanol da un éster peptídico lineal en forma de una mezcla de diastereoisómeros.¹¹ Se ha intentado esta reacción en la síntesis de péptidos cíclicos a partir de péptidos lineales y aldehídos (monofuncionales) convencionales. Sin embargo, los bajos
- 50 rendimientos vienen acompañados de una falta de diastereoselectividad y de productos de ciclodimerización dominantes.^{12,13}

En ejemplos adicionales descritos en el presente documento, se proporciona un proceso para producir una molécula de aminoácido cíclico que comprende la reacción de una molécula de aminoácido, que tiene un amino terminal y un 55 carboxilo terminal, con un isocianuro y un compuesto que tiene la fórmula (la) y/o (lb):



donde:

- 5 n = 0 o 1, y R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ se seleccionan independientemente de entre H; alquilo inferior; alquenilo; heterociclo; cicloalquilo; ésteres de fórmula -C(O)OR donde R* se selecciona de entre alquilo y arilo; amidas de fórmula C(O)NR** R***, donde R** y R*** se seleccionan independientemente de entre alquilo y arilo; CH₂C(O)R, donde R se selecciona de entre -OH, alquilo inferior, arilo, alquilarilo inferior, o -NR₃Rb, donde R_a y Rb se seleccionan independientemente de entre R, alquilo R
- 10 se selecciona de entre alquilo inferior, arilo o alquilarilo inferior; o alquil-OR_d inferior, donde Ra es un grupo protector o un grupo OH adecuado; todos ellos opcionalmente sustituidos en una o más de las posiciones sustituibles por uno o más sustituyentes adecuados; y el componente aldehído del mismo puede opcionalmente estar en su forma de aducto de bisulfito;
- y la molécula de aminoácido es un aminoácido, un péptido lineal o una sal de los anteriores, a condición de que
 si la molécula de aminoácido es un péptido lineal, el compuesto comprende un centro quiral de aziridina proximal al aldehído con estereoquímica coincidente con el átomo de carbono proximal al amino terminal del péptido.

Los ejemplos del presente documento describen que si la molécula de aminoácido es un aminoácido, entonces el 20 amino terminal es un grupo amino primario o un grupo amino secundario pero cuando la molécula de aminoácido es un péptido, entonces el amino terminal es un grupo amino secundario.

También se describen ejemplos donde cualquiera de los Ri - R_5 es H. Preferentemente, n=0 y R_2 y R_3 es H o Ri - R_3 es H.

25

También se describen ejemplos donde Ri es CH₂OTBDMS o CH₂¹Pr.

También se describen ejemplos donde la molécula de aminoácido es un péptido lineal. Preferentemente, el aminoácido del extremo amino terminal del péptido lineal se selecciona de entre el grupo que consiste en prolina y 30 un aminoácido con un grupo amino sustituido por NHBn, NHCH₂CH₂SO₂Ph o NHCH₂CH₂CN.

También se describen ejemplos donde la molécula de aminoácido es un aminoácido D o L seleccionado de entre el grupo que consiste en: alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, selenocisteína, serina, tirosina, treonina, 35 triptófano y valina.

La molécula de aminoácido puede ser un alfa-aminoácido, beta-aminoácido o gamma-aminoácido.

- También se describen ejemplos donde el isocianuro se selecciona de entre el grupo que consiste en: isocianuro de 40 (S)-(-)- α<-metilbencilo; isocianuro de 1,1,3,3,-tetrametilbutilo; isocianuro de 1-pentilo; isocianuro de 2,6-dimetilfenilo; isocianuro de 2-morfolinoetilo; isocianuro de 2-naftilo; isocianuro de 2-pentilo; isocianuro de 4-metoxifenilo; isocianuro de bencilo; isocianuro de cutilo; isocianuro de ciclohexilo; isocianuro de isopropilo; isocianuro de p-toluenosulfonilmetilo; dicloruro de isocianuro de fenilo; isocianuro de terc-butilo; isocianuro de (trimetilsilil)metilo; isocianuro de 1H-benzotriazol-1-ilmetilo; isocianuro de 2-cloro-6- metilfenilo; 2-isocianosuccinato de di-terc-butilo; 2-
- 45 isociano-3-metilbutirato de terc-butilo; 2-isociano-3-fenilpropionato de terc-butilo; 2-isocianopropionato de terc-butilo; y 3-isocianopropionato de terc-butilo, preferentemente, isocianuro de terc-butilo.

También se describen ejemplos donde el proceso se realiza en un medio de reacción no nucleófilo, prefererentemente trifluoroetanol o HFIP mezclado con agua.

ES 2 634 431 T3

También se describen ejemplos donde si la molécula de aminoácido es un aminoácido, el proceso se realiza en agua.

- 5 En algunos ejemplos descritos en el presente documento, el proceso además comprende la conjugación de un marcador fluorescente a la molécula de aminoácido cíclico mediante apertura nucleófila del anillo del resto de aziridina.
- 10 En algunos ejemplos descritos en el presente documento, el péptido tiene una longitud de entre 2 y 30 aminoácidos.

En ejemplos adicionales descritos en el presente documento, se proporciona una molécula de aminoácido cíclico preparada usando ejemplos del proceso descrito en el presente documento.

15 Se entiende que la ciclación, en algunos casos, puede necesitar e incluirá la protección de ciertas cadenas laterales del péptido o aminoácido de una forma conocida por un experto en la materia.

En ejemplos adicionales descritos en el presente documento, se proporciona una molécula de aminoácido cíclico de fórmula (II): molécula de aminoácido

20



donde,

n = 0 o 1, y R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ se seleccionan independientemente de entre H; alquilo inferior; arilo; heteroarilo; alquenilo; heterociclo; ésteres de fórmula -C(O)OR* donde R se selecciona de entre alquilo y arilo; amidas de fórmula - C(O)NR R, donde R y R se seleccionan independientemente de entre alquilo y arilo; -CH₂C(O)R, donde R se selecciona de entre -OH, alquilo inferior, arilo, alquilarilo inferior, o -NR_aRb, donde R_a y R_b se seleccionan independientemente de entre alquilo inferior; -C(O)R₀, donde R_c se selecciona de entre H, alquilo inferior, arilo o alquilarilo inferior; -C(O)R₀, donde R_c se selecciona de entre alquilo inferior, arilo

o alquilarilo inferior; o alquil-ORd inferior, donde Rd es un grupo protector o un grupo OH adecuado; todos ellos opcionalmente sustituidos en una o más de las posiciones sustituibles por uno o más sustituyentes adecuados, los enlaces [a] y [b] tienen una conformación relativa syn;

- R' es una cadena lateral de aminoácido del aminoácido del extremo amino terminal;
- 35 R" es una amida opcionalmente sustituida;

y la molécula de aminoácido es un aminoácido o un péptido lineal, donde N' es el nitrógeno del extremo amino terminal de la molécula de aminoácido y C es el carbono del extremo carboxilo terminal de la molécula de aminoácido, y a condición de que si la molécula de aminoácido es un péptido lineal, los enlaces [a] y [c] están en 40 conformación relativa anti.

En ejemplos descritos en el presente documento, si la molécula de aminoácido es un aminoácido, entonces el amino terminal es un grupo amino primario o un grupo amino secundario, pero cuando la molécula de aminoácido es un péptido lineal, entonces el amino terminal es un grupo amino secundario.

45

En ejemplos adicionales descritos en el presente documento, cualquiera de los R1 - R5 es H. Preferentemente, n=0

$y R_2 y R_3 es H o R_1 - R_3 es H$.

En ejemplos descritos en el presente documento, R_1 es $CH_2OTBDMS$ o $CH_2^{-1}Pr$.

5 En ejemplos adicionales descritos en el presente documento, la molécula de aminoácido es un péptido lineal. Preferentemente, el aminoácido del extremo amino terminal del péptido lineal se selecciona de entre el grupo que consiste en prolina y un aminoácido con un grupo amino sustituido por NHBn, NHCH₂CH₂SO₂Ph o NHCH₂CH₂CN.

En ejemplos adicionales descritos en el presente documento, la molécula de aminoácido es un aminoácido D o L 10 seleccionado de entre el grupo que consiste en: alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, selenocisteína, serina, tirosina, treonina, triptófano y valina.

La molécula de aminoácido puede ser un alfa-aminoácido, beta-aminoácido o gamma-aminoácido.

15

En ejemplos adicionales descritos en el presente documento, R" es terc-butilamida.

En ejemplos adicionales descritos en el presente documento, se proporciona el uso de un compuesto para la ciclación de una molécula de aminoácido, donde el compuesto tiene la fórmula (la)/(lb):

20



comprende un estereocentro α en el átomo de carbono proximal al grupo aldehído con estereoquímica coincidente con el átomo de carbono proximal al amino terminal de la molécula de aminoácido; y

25

n = 0 o 1, y R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ se seleccionan independientemente de entre H; alquilo inferior; arilo; heteroarilo; alquenilo; heteroacilo; ésteres de fórmula -C(O)OR* donde R* se selecciona de entre alquilo y arilo; amidas de fórmula -C(O)NR R, donde R y R se seleccionan independientemente de entre alquilo y arilo; -CH₂C(O)R, donde R se selecciona de entre -OH, alquilo inferior, arilo, alquilarilo inferior, o -NR₃Rb, donde R_a y Rb se seleccionan de entre alquilo inferior; arilo, alquilarilo inferior; -C(O)Rc, donde R_a y Rb se seleccionan de entre de entre H, alquilo inferior, arilo o alquilarilo inferior; -C(O)Rc, donde R_a y Rb se seleccionan de entre alquilo inferior; o alquilo inferior, arilo o alquilarilo inferior; -C(O)Rc, donde R_c se selecciona de entre alquilo inferior; o alquil-ORd inferior, donde Ra es un grupo protector adecuado; todos ellos opcionalmente sustituidos en una o más de las posiciones sustituibles por uno o más sustituyentes adecuados;

y la molécula de aminoácido es un aminoácido, un péptido lineal o una sal de los anteriores, a condición de que si la 35 molécula de aminoácido es un péptido lineal, el compuesto comprende un centro quiral de aziridina proximal al aldehído con estereoquímica coincidente con el átomo de carbono proximal al amino terminal del péptido.

Tal y como se usa en el presente documento, el término "molécula de aminoácido" está destinado a incluir aminoácidos sencillos y también péptidos.

40

Tal y como se usa en el presente documento, el término "aminoácido" se refiere a moléculas que contienen un grupo amina, un grupo ácido carboxílico y una cadena lateral que varía. El término aminoácido está destinado a incluir no solo los veinte aminoácidos que se encuentran habitualmente en las proteínas sino también aminoácidos no estándar y derivados de aminoácidos no naturales conocidos por los expertos en la materia y, por lo tanto, incluye,

45 pero no se limita a, alfa-, beta- y gamma-aminoácidos. Los péptidos son polímeros de al menos dos aminoácidos y pueden incluir aminoácidos estándar, no estándar y no naturales.

Tal y como se usa en el contexto de la presente invención, el término "sustituyente adecuado" está destinado a incluir independientemente los grupos H; hidroxilo; ciano; alquilo, tal como alquilos inferiores, tal como metilo, etilo,

ES 2 634 431 T3

propilo, n-butilo, t-butilo, hexilo y similares; alcoxi, tal como alcoxis inferiores, tal como metoxi, etoxi y similares; ariloxi, tal como fenoxi y similares; vinilo; alquenilo, tal como hexenilo y similares; alquinilo; formilo; haloalquilo, tal como haloalquilos inferiores que incluyen CF₃, CCl₃ y similares; halido; arilo, tal como fenilo y naftilo; heteroarilo, tal como tienilo, furanilo y similares; amida tal como C(O)NR_aR_b, donde R_a y R_b se seleccionan independientemente de

5 entre alquilo inferior, arilo o bencilo, y similares; acilo, tal como C(O)-C₆H₅ y similares; éster tal como -C(O)OCH₃ y similares; éteres y tioéteres, tal como O-Bn y similares; tioalcoxi; fosfino; y -NR_aR_b, donde R_a y R_b se seleccionan independientemente de entre alquilo inferior, arilo o bencilo, y similares. Tal y como se usa en el contexto de la presente invención, se debe entender que un sustituyente adecuado está destinado a denotar un sustituyente que no interfiere con la formación del producto deseado mediante los procesos de la presente invención.

10

Tal y como se usa en el contexto de la presente invención, el término "alquilo inferior" tal y como se usa en el presente documento, bien solo, bien en combinación con otro sustituyente, significa un sustituyente alquilo no cíclico de cadena lineal o ramificada que contiene de uno a seis carbonos e incluye, por ejemplo, los grupos metilo, etilo, 1-metiletilo, 1-metilpropilo, 2-metilpropilo y similares. Se debe entender un uso similar del término para "alcoxi inferior", "tioalquilo inferior", "alquenilo inferior" y similares con respecto al número de átomos de carbono. Por ejemplo, "alcoxi

15 "tioalquilo inferior", "alquenilo inferior" y similares con respecto al número de átomos de carbono. Por ejemplo inferior", tal y como se usa en el presente documento, incluye lo grupos metoxi, etoxi y t-butoxi.

El término "alquilo" abarca los alquilos inferiores y también incluye grupos alquilo que tengan más de seis átomos de carbono, tales como, por ejemplo, sustituyentes alquilo no cíclicos de cadena lineal o ramificada que tengan de siete 20 a diez átomos de carbono.

Tal y como se usa en el presente documento, el término "arilo", bien solo, bien en combinación con otro sustituyente, significa un sistema monocíclico aromático o un sistema policíclico aromático. Por ejemplo, el término "arilo" incluye un anillo fenilo o naftilo, y también puede incluir sistemas policíclicos aromáticos mayores, tales como marcadores 25 fluorescentes (por ejemplo, antraceno) o radiactivos y sus derivados.

Tal y como se usa en el presente documento, el término "heteroarilo", bien solo, bien en combinación con otro sustituyente, significa un heterociclo insaturado de 5, 6 o 7 miembros que contiene desde uno hasta 4 heteroátomos seleccionados de entre nitrógeno, oxígeno y azufre y que forma un sistema aromático. El término "heteroarilo"
30 también incluye un sistema aromático policíclico que comprende un heterociclo insaturado de 5, 6 o 7 miembros que contiene de uno a 4 heteroátomos seleccionados de entre nitrógeno, oxígeno y azufre.

Tal y como se usa en el presente documento, el término "cicloalquilo", bien solo, bien en combinación con otro sustituyente, significa un sustituyente cicloalquilo que incluye por ejemplo, pero no se limita a, los grupos ciclopropilo, 35 ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y cicloheptilo.

Tal y como se usa en el presente documento, el término "cicloalquilalquilo" significa un radical alquilo al que hay unido directamente un radical cicloalquilo;

e incluye, pero no se limita a, el ciclopropilmetilo, ciclobutilmetilo, ciclopentilmetilo, 1-ciclopentiletilo, 2-ciclopentiletilo,
40 ciclohexilmetilo, 1-ciclohexiletilo y 2-ciclohexiletilo. Se debe entender un uso similar al de los términos "alquilo" o
"alquilo inferior" para arilalquilo, arilalquilo inferior (por ejemplo, bencilo), alquilalquenilo inferior (por ejemplo, alilo),
heteroarilalquilo y similares tal y como se usan en el presente documento. Por ejemplo, el término "arilalquilo" significa un radical alquilo al que se ha unido un arilo. Entre los ejemplos de arilalquilos se incluyen, pero no se limitan a, el bencil(fenilmetilo), 1-feniletilo, 2-feniletilo y fenilpropilo.

45

Tal y como se usa en el presente documento, el término "heterociclo", bien solo, bien en combinación con otro radical, significa un radical monovalente derivado de la eliminación de un hidrógeno de un heterociclo saturado o insaturado (incluyendo los aromáticos) de tres a siete miembros que contiene de uno a cuatro heteroátomos seleccionados de entre nitrógeno, oxígeno y azufre. Entre los ejemplos de tales heterociclos se incluyen, pero no se

- 50 limitan a, la aziridina, el epóxido, la azetidina, la pirrolidina, el tetrahidrofurano, la tiazolidina, el pirrol, el tiofeno, la hidantoina, la diazepina, el imidazol, el isoxazol, el tiazol, el tetrazol, la piperidina, la piperazina, la homopiperidina, la homopiperazina, el 1,4-dioxano, la 4-morfolina, la 4-tiomocfolina, la piridina, el N-óxido de piridina o la pirimidina y similares.
- 55 Tal y como se usa en el presente documento, el término "alquenilo", bien solo, bien en combinación con otro radical, está destinado a significar un radical no cíclico insaturado de cadena lineal que contiene dos o más átomos de carbono, al menos dos de los cuales están unidos entre sí por un doble enlace. Entre los ejemplos de tales radicales se incluyen, pero no se limitan a, el etenil(vinilo), 1-propenilo, 2-propenilo y 1-butenilo.
- 60 Tal y como se usa en el presente documento, el término "alquinilo" está destinado a significar un radical no cíclico

insaturado de cadena lineal que contiene dos o más átomos de carbono, al menos dos de los cuales están unidos entre sí por un triple enlace. Entre los ejemplos de tales radicales se incluyen, pero no se limitan a, el etinilo, 1propinilo, 2-propinilo y 1-butinilo. Tal y como se usa en el presente documento, el término "alcoxi", bien solo, bien en combinación con otro radical, significa el radical -O-(Ci.n)alquilo, donde el alquilo es tal y como se ha definido

- 5 anteriormente y contiene 1 o más átomos de carbono, e incluye, por ejemplo, los radicales metoxi, etoxi, propoxi, 1metiletoxi, butoxi y 1,1-dimetiletoxi. Cuando n es de 1 a 6, se aplica el término "alcoxi inferior", tal y como se ha señalado anteriormente, mientras que el término "alcoxi" abarca los grupos "alcoxi inferiores" y los grupos alcoxi en los que n es mayor que 6 (por ejemplo, n = 7 a 10). Tal y como se usa en el presente documento, el término "ariloxi", bien solo, bien en combinación con otro radical, significa -O-arilo, donde el arilo es tal y como se ha definido 10 anteriormente.

Un péptido es un polímero de dos o más aminoácidos.

Los ejemplos siguientes son ilustrativos de diversos ejemplos de la invención.

15 **EJEMPLOS**

Ejemplo 1

20 Materiales y procedimientos

Se compró tolueno anhidro y dimetilformamida (DMF) y se usaron tal como se recibieron. Se destiló tetrahidrofurano (THF) a partir de cetilbenzofenona sódica bajo argón. Todos los demás disolventes, incluyendo el TFE (2,2,2trifluoroetanol) y el HFIP (1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-isopropanol) fueron de grado de calidad reactivo. Los puntos de 25 fusión se obtuvieron en un aparato de medición de puntos de fusión Mel-Temp y están sin corregir.

Procedimiento 1: la reacción de ciclación del aminoácido/péptido se llevó a cabo usando el procedimiento siguiente. En un vial con tapa roscada equipado con una barra de agitación magnética se añadieron el péptido (0,2 mmol) y 1 ml de TFE y se agitaron hasta que se obtuvo una solución homogénea. A continuación, se

- añadió secuencialmente el dímero de aldehído aziridínico (0,1 mmol) e isocianuro (0,2 mmol) y se agitó la 30 mezcla resultante durante el tiempo especificado en la Tabla 1. Las reacciones se controlaron mediante espectrometría de masas con ionización por electrospray ("ESI-MS") a 60 eV y/o análisis por cromatografía en capa fina ("TLC"). Una vez completada la reacción, se añadió 1 ml de agua y 1 ml de Et₂O, se agitó la mezcla vigorosamente y, a continuación, se enfrió en hielo. El precipitado resultante se filtró y lavó con hexanos y Et₂O
- 35 frío (1 ml) para proporcionar el péptido cíclico. Para productos solubles en agua o que no precipitan, se concentró la mezcla de reacción bajo presión reducida y, a continuación, se trituró con Et₂O y hexanos (0,2 ml) para proporcionar el producto péptido cíclico.
- Procedimiento 2: la reacción de ciclación del aminoácido/péptido se llevó a cabo usando HFIP en lugar de TFE 40 (Procedimiento 2). Se añadió el péptido (0,2 mmol) y 1 ml de HFIP a un vial con tapón de rosca equipado con una barra de agitación magnética y se agitaron hasta que se obtuvo una solución homogénea. A continuación, se añadió secuencialmente el dímero de aldehído aziridínico (0,1 mmol) e isocianuro (0,2 mmol) y se agitó la mezcla resultante durante el tiempo especificado en la Tabla 1. Las reacciones se controlaron mediante ESI-MS a 60 eV y/o análisis por TLC. Una vez completada la reacción, se concentró la mezcla bajo presión reducida y, a 45 continuación, se trituró con Et₂O y hexanos (0,2 ml) para proporcionar el producto péptido cíclico.
- Procedimiento 3: la reacción de ciclación del aminoácido/péptido se llevó a cabo usando HFIP y agua. En un vial con tapa roscada equipado con barra de agitación magnética se añadieron el péptido (0,2 mmol), 1 ml de HFIP y 47 microlitros de H₂O y se agitaron hasta su homogeneidad. A continuación, se añadió secuencialmente el dímero de aldehído aziridínico (0,1 mmol) e isocianuro (0,2 mmol) y se agitó la mezcla resultante durante el
- 50 tiempo especificado en la Tabla 1. Las reacciones se controlaron mediante ESI-MS a 60 eV y/o análisis por TLC. Una vez completada la reacción, se concentró la mezcla bajo presión reducida y, a continuación, se trituró con Et₂O y hexanos para proporcionar el producto péptido cíclico.

Nota: En las reacciones que implican cisteína o péptidos que contiene residuos de tiol, se desgasificó el disolvente 55 con argón durante dos horas antes de la reacción. Después, se llevó a cabo la reacción en una atmósfera de argón.

Algunos de los productos cíclicos que se pueden sintetizar a partir de cada uno de los Procedimientos 1-3 se resumen en la Tabla 3 y se representan en la Figura 4.

60

Tabla 3 Procedimientos usados para las reacciones de ciclación del aminoácido/péptido.

Procedimiento	Productos cíclicos
1	1, 2, 3, 4, 7, 9, 11, 12, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22
2	5, 8, 10, 13, 14
3	6

La estereoquímica relativa de cada producto cíclico enumerado en la Tabla 3 se estableció correlacionando la región del grupo metino de cada espectro RMN ¹H con la de la piperazinona 1.

5 Cromatografía: La cromatografía en columna rápida se llevó a cabo usando gel de sílice Silicycle de malla 230-400. Se realizó cromatografía en capa fina (TLC) en placas de vidrio para TLC de Macherey Nagel previamente revestidas (SIL G/UV254, 0,25 mm) y se visualizó usando una lámpara UV (254 nm) y tinción con yoduro.

Espectro de resonancia magnética nuclear: Se registraron los espectros RMN ¹H y ¹³C en espectrómetros Varian 10 Mercury de 400 o 500 MHz. Para el espectro RMN ¹H se tomó como referencia el TMS (0 ppm) y para el espectro RMN ¹³C se tomó como referencia el CDC13 (77,23 ppm). Las multiplicidades de pico se designaron mediante las siguientes abreviaturas: s, singlete; bs, singlete ancho; d, doblete; t, triplete; q, cuarteto; m, multiplete; ds, doblete de singletes; dd, doblete de dobletes; ddd, doblete de doblete de dobletes; bt, triplete ancho; td, triplete de dobletes; tdd, triplete de dobletes.

15

Espectroscopía de masas: Se obtuvo la espectroscopía de masas de alta resolución en un espectrómetro de masas VG 70-250S (doble enfoque) a 70 eV o en un espectrómetro de masas ABI/Sciex Qstar con fuente ESI, MS/MS y posibilidad de exactitud de masas. Se obtuvieron espectros de masas de baja resolución (ESI) a 60 eV, 70 eV y 100 eV.

20

Rutas sintéticas hacia los dímeros de aldehído aziridínico: Todos los aminoaldehídos diméricos usados en este estudio se prepararon de acuerdo con la ruta sintética indicada en las Figuras complementarias 1 y 2.

Resultados

25

Se produjeron diversas piperazinonas en un proceso de una etapa (Tabla 1).

Tabla 1 Alcance de la síntesis de piperazinona (se muestra el producto derivado del L-aminoácido).



0					
Entrada ^a	R^1	Aminoácido	Tiempo	Producto ^b	
1	CH₂OTBDMS	L-Phe	1	1 (92)	
2 3	CH ₂ OTBDMS CH ₂ OTBDMS	D-Phe L-Ala	1,5 1,5	2 (90) 3 (82)	
4	CH₂OTBDMS	L-Pro	1	4 (98)	
5	CH₂Pr	D-Arg	1	5 (83)	
6 ^c	CH ₂ Pr	L-Lys HClg	1	6 (76)	
7	CH ₂ OTBDMS	L-Gly	1	7 (80)	
8 ^e	CH ₂ ¹ Pr	L-Asp	3	8 (76)	
9 ^f	CH ₂ OTBDMS	L-Cys	2	9 (82)	
10 ^d	CH ₂ OTBDMS	L-His	1	10 (88)	
11	CH ₂ OTBDM	L-Ser	3	11 (77)	



- ^a A menos que se especifique lo contrario, las reacciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente usando 0,2 mmol de isocianuro y aminoácido, y 0,1 mmol de dímero de aminoaldehído en TFE (0,2 M). ^b % de rendimiento aislado.
- ^c Se usó como disolvente HFIP/H₂O (20:1) (0,2 M). ^d Se usó como disolvente HFIP (0,2 M).
- ^e La ciclación se produce en el ácido α-carboxílico más ácido.
- ^f Se desgasificó el TFE antes de usarlo.
- ⁹ La amina de la cadena lateral de lisina está protonada.

La etapa que cambia el equilibrio anillo/cadena es el colapso transanular del grupo nucleófilo NH de la aziridina a anhídrido mixto electrófilo generado cuando se somete un aminoaldehído anfótero a las condiciones de la reacción de Ugi (Esquema 2). La reacción tiene lugar en condiciones esteguiométricas y libera el producto péptido cíclico. No 5 es necesaria una dilución alta, condición crítica normalmente necesaria para conseguir rendimientos altos en la síntesis de péptidos cíclicos.



Esquema 2. A. Macrociclación con un aldehído monofuncional; B. Macrociclación mediada por un aminoaldehído anfótero

10 Los normalmente complicados anillos de tamaño medio se pueden fabricar con gran facilidad y con buenos rendimientos en varias horas (Tabla 2).



Tabla 2. Alcance representativo de la macrociclación de un pétido lineal

^a A menos que se especifique lo contrario, las reacciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente usando 0,2 mmol de isocianuro y aminoácido y 0,1 mmol de dímero de aminoaldehído en TFE (0,2 M). ^b Rendimiento aislado. ^c Se confirmó una diastereoselectividad >20:1 mediante análisis por RMN ¹H de cada mezcla de reacción cruda. La estereoquímica relativa se estableció mediante correlación de la región del grupo metino de cada espectro de RMN ¹H con la de la piperazinona 1 (véase la estructura cristalina por rayos X de 1). ^d Se usó como disolvente HFIP (0,2 M).

Los espectros RMN¹H y ¹³C de los productos cíclicos de la Tabla 3 se muestran en las Figuras 5 - 27.

- 5 Se proporciona un proceso de una etapa para fabricar péptidos cíclicos versátiles con alta quimio y estereoselectivad por los péptidos lineales, isocianuros y aminoaldehídos anfóteros. La reacción de Ugi se lleva a cabo con un aminoaldehído anfótero en lugar de con un aldehído monofuncional. Cuando se hizo reaccionar la L-fenilalanina con isocianuro de terc-butilo y un aldehído aziridínico, se obtuvo una piperazinona cíclica con un 92 % de rendimiento en aproximadamente una hora (Tabla 1 Entrada 1). La estereoquímica relativa de 1 se estableció usando análisis por 10 rayos X. Se sometió un rango de aminoácidos a esta reacción y, en todos los casos, los correspondientes productos
- de piperazinona se obtuvieron en forma de diastómeros sencillos sin formación de péptidos lineales (Figura 1).

La existencia de productos epiméricos se investigó mediante el uso de análisis por RMN ¹H (DMSO-d₆ o CDCl₃) de las mezclas de reacción crudas. En todas las reacciones estudiadas, no hubo señales detectables correspondientes 15 al epímero. Como tales, los péptidos cíclicos crudos resultantes se obtuvieron con una selectividad >20:1.

Se estudió el efecto de la longitud de cadena de péptidos de medio tamaño en el resultado de la reacción (tabla 2). Los complicados anillos de tamaño medio se preparan fácilmente; los tiempos de reacción son inferiores a 10 horas y se consiguen con altos rendimientos y estereoselectividades. El proceso de tratamiento preferido implica la

20 precipitación del producto a partir de éter dietílico y hexanos. Los péptidos cíclicos no necesitan purificación posterior por HPLC. Además, no se detectó racemización a lo largo de todo el curso de la reacción ni durante el aislamiento del producto. La ausencia de epimerización se evidencia además por la alta estereoselectividad; los aldehídos aziridínicos con estereocentros S próximos al grupo carbonilo experimentan macrociclación con los péptidos que contienen un residuo de L-aminoácido en el extremo N-terminal. La reacción "incompatible" con el péptido que termina en un D-aminoácido es improductiva y lleva a la formación de aminales estables.

Se ha determinado que el estereocentro αdel aminoácido N-terminal, en este caso prolina, debería coincidir con el estereocentro αdel aldehído aziridínico para que se produzca la ciclación, con respecto a los péptidos. En una 5 reacción incompatible, el único producto formado es el aminal correspondiente (Figura 2). Incluso después de un

- amplio tiempo de reacción y equivalentes adicionales de isocianuro, no se observó formación del péptido cíclico. Esta restricción no está presente en la ciclación de aminoácidos sencillos.
- Cuando se usó el enantiómero opuesto del aminoaldehído en la misma reacción, tanto la prolina como el 10 aminoaldehído tuvieron una configuración S en sus estereocentros α. Este caso compatible experimentó fácilmente ciclación del péptido para dar el correspondiente producto cíclico con un alto rendimiento (Figura 3).

Este proceso de estereoselectividad es significativo en el contexto de una posible epimerización en el extremo Nterminal. Como es necesaria una estereoquímica compatible para que se produzca la ciclación, los péptidos cíclicos

- 15 resultantes contendrán necesariamente estereocentros coincidentes. Asimismo, el hecho que no se observara formación del péptido cíclico en las reacciones incompatibles sugiere que no se produce epimerización, que daría lugar a sustratos compatibles, en nuestras macrocondiciones.
- Posiblemente, los consistentes rendimientos de esta química se obtienen debido al mecanismo que gobierna la 20 ciclación. Es en este punto cuando se vuelve aparente una desviación de la reacción de Ugi con los aldehídos monofuncionales. Cuando se usan aldehídos monofuncionales en la reacción con isocianuros y péptidos, se observan bajas diastereoselectividades. Y lo que es más importante, la ciclodimerización no deseada se produce durante la ciclación de péptidos lineales que contienen menos de seis residuos; la ciclación de tripéptidos solo produce ciclodímeros.¹³ Esta baja selectividad se debe a un ataque *transanular* lento de la amina al anhídrido mixto
- 25 (Esquema 2, A), que permite de ese modo que el proceso intermolecular sea cinéticamente competitivo. Añadiendo un aminoaldehído anfótero a la mezcla de reacción de ciclación que contiene un péptido terminado en una amina secundaria, el lento ataque transanular se sustituye por un ataque rápido por parte de la aziridina nucleófila, que está ubicada de forma exocíclica al anhídrido mixto (Esquema 2, B). Esto proporciona una trayectoria de ataque libre. Como el TFE es un disolvente no nucleófilo, no se observa solvólisis prematura del anhídrido mixto. El mecanismo
- 30 de reacción garantiza que el extremo C-terminal se activa solo por formación del anhídrido cíclico mixto intermedio, el cual es a continuación atacado por la aziridina exocíclica. Esto no solo garantiza selectividad para la macrociclación intramolecular, sino que también evita una activación prolongada del extremo C-terminal y la posible epimerización. En consecuencia, no es necesaria una dilución alta, condición crítica normalmente necesaria para conseguir rendimientos altos en la síntesis de péptidos cíclicos convencional.⁶ Asimismo, no se detectaron
- 35 subproductos oligoméricos o poliméricos en los experimentos que nos ocupan. Se llevó a cabo una comparación directa de la reacción que nos ocupa con la lactamización tradicional de un tetrapéptido lineal, ampliamente usado en la síntesis de péptidos cíclicos. La macrociclación mediada por aminoaldehído llevó a la formación rápida, selectiva y eficaz del péptido cíclico. Por el contrario, solo se detectaron trazas del péptido cíclico entre la infinidad de estructuras formadas durante el curso de la lactamización. La ciclodimerización⁵ no deseada ha dominado este
- 40 proceso, lo cual es una evidencia de la lenta cinética del proceso intramolecular convencional. Las reacciones de macrociclación de péptidos normalmente se llevan a cabo con diluciones extremas. Los protocolos habituales necesitan concentraciones molares de 10⁻⁴ M. Esta gran dilución aumenta la selectividad por las ciclaciones intramoleculares, limitando así la ciclodimerización y trimerización no deseadas.
- 45 La caracterización de la estereoquímica relativa de cada producto cíclico enumerado en la Tabla 3 se expone a continuación.

(3S,5R,6R,7S)-3-bencil-W-terc-butil-7-((terc-butildimetilsNiloxi)metil)-2-oxo-1,4-diazabiciclo[4.1.0]heptano-5-carboxamida (1)

50

- RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ : 7,36 7,18 (m, 5H); 6,75 (bs, 1H); 3,86 (dd, *J* = 11,6 Hz, 4,8 Hz, 1H); 3,74 (dd, *J* = 11,2 Hz, 4,8 Hz, 1H); 3,54 (bs, 1H); 3,47 (dd, *J* = 3,6 Hz, 1,2 Hz, 1H); 3,25 (dd, *J* = 14,4 Hz, 3,2 Hz, 1H); 3,10 (m, 1H); 2,52 (dd, *J* = 14,4 Hz, 10,4 Hz, 1H); 2,40 (m, 1H); 1,80 (bs, 1H); 1,02 (s, 9H); 0,90 (s, 9H); 0,10 (s, 3H); 0,08 (s, 3H) ppm. RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) δ : 184,8; 169,0; 138,5; 129,7; 128,9; 127,0; 63,9; 57,5; 53,6; 50,7; 44,6; 39,0; 35,5; 55 28,5; 26,1; 18,6; -5,0 ppm. HRMS (ESI) [MH]+ calculado 446,2833; encontrado 446,2831.
 - (3R,5R,6R,7S)-3-bencil-N-terc-butil-7-((terc-butildimetilsNiloxi)metil)-2-oxo-1,4-diazabiciclo[4.1.0]heptano-5-carboxamida (2)

60

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ: 7,35 - 7,20 (m, 5H); 6,32 (bs, 1H); 3,86 (m, 1H); 3,73 (dd, *J* = 11,5 Hz, 4,2 Hz, 1H); 3,86 (bs, 1H); 3,73 (dd, *J* = 11,5 Hz, 4,2 Hz, 1H); 3,25 (dd, *J* = 14,4 Hz, 3,2 Hz, 1H); 3,10 (m, 1H); 2,52 (dd, *J* = 14,4 Hz, 10,4 Hz, 1H); 2,40 (m, 1H); 1,80 (bs, 1H); 1,31 (s, 9H); 0,90 (s, 9H); 0,10 (s, 3H); 0,08 (s, 3H) ppm. RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) δ: 184,0; 169,1; 136,2; 129,2; 129,1; 127,3; 63,0; 59,5; 51,4; 49,6; 42,2; 38,7; 36,0; 28,8; 26,1; 18,7; 5 -5,1 ppm. MS (ESI) [MH]+ calculado 446,3; encontrado 446,3.

(3S,5R,6R,7S)-N-terc-butil-7-((terc-butildimetilsNiloxi)metil)-3-metil-2-oxo-1,4-diazabiciclo[4.1.0]heptano-5-carboxamida (3)

10

25

35

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ: 7,42 (s, *NH*); 3,88 (dd, *J* = 11,2 Hz, 4,8 Hz, 1H); 3,70 (dd, *J* = 11,2 Hz, 5,2 Hz, 1H); 3,55 (d, *J* = 0,8 Hz, 1H); 3,46 (dd, *J* = 3,6 Hz, 1,6 Hz, 1H); 3,07 (m, 1H); 2,36 (td, *J* = 4,8 Hz, 3,6 Hz, 1H); 1,8 (bs, NH); 1,39 (s, 9H); 1,23 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H); 0,90 (s, 9H); 0,09 (s, 3H); 0,08 (s, 3H) ppm. RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) δ : 185,5; 169,3; 63,9; 53,8; 51,2; 51,0; 44,5; 39,3; 28,9; 26,1; 16,6; 15,0; -5,0 ppm. HRMS (ESI) [MH]+ calculado 15 370,2520; encontrado 370,2520.

(1S,3aS,8R,8aS)-N-terc-butil-1-((terc-butildimetilsMiloxi)metil)-3-oxooctahidroazirmo [1,2-a] pirrolo[1,2-d]pirazina-8-carboxamida (4)

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ: 6,17 (s, 1H); 3,76 (dd, J = 11,6 Hz, 4,4 Hz, 1H); 3,67 (dd, J = 11,6 Hz, 4,8 Hz, 1H); 3,70 (d, J = 6,2 Hz, 1H); 3,12 (dt, J = 4,8 Hz, 9,2 Hz, 1H); 2,97 (dd, J = 6,4 Hz, 3,6 Hz, 1H); 2,93 - 2,89 (m, 1H); 2.60 (q, J = 4,4 Hz, 1H); 2,25 - 2,05 (m, 2H); 1,90 - 1,75 (m, 3H); 1,70 - 1,51 (m, 1H); 1,48 (s, 9H); 0,85 (s, 9H); 0,09 (s, 3H); 0,08 (s, 3H) ppm. RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) δ: 183,0; 168,6; 65,0; 63,4; 63,2; 54,6; 51,3; 43,4; 41,0; 29,0; 26,1; 22,2; 22,0; 18,9; -5,1 ppm. HRMS (ESI) [MH]+ calculado 396,2676; encontrado 396,2656.

(3R,5S,6S,7S)-N-terc-butil-3-(3-guamdinopropil)-7-isobutil-2-oxo-1,4-diazabiciclo [4.1.0]heptano-5carboxamida (5)

RMN ¹H (D₂O, 400 MHz) δ: 3,59 (t, J = 5,6 Hz, 1H); 3,46 (m, 1H); 3,13 (m, 1H); 2,94 (m, 1H); 3,37 (m, 1H); 1,78 - 30 1,44 (m, 8H); 1,22 (s, 9H); 0,83 (d, J = 2,8 Hz, 3H); 0,81 (d, J = 2,8 Hz, 3H) ppm. RMN ¹³H (D₂O, 400 MHz) δ: 186,7; 172,0; 156,9; 54,9; 54,5; 54,0; 44,5; 42,8; 28,7; 27,9; 26,5; 25,7; 25,0; 24,1; 22,2; 21,5 ppm. MS (ESI) [MH]+ calculado 367,3; encontrado 367,2 y 184,1 para [M+2H]²+/2.

(3S,5S,6S,7S)-3-(4-aminobutil)-N-terc-butil-7-isobutil-2-oxo-1,4-diazabiciclo[4.1.0]heptano-5-carboxamida (6)

RMN (D₂O con 10 % en volumen CD₃COOD, 400 MHz) δ : 5,14 (ddd, *J* = 9,6 Hz, 4,4 Hz, 2,4 Hz, 1H); 4,12 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H); 3,07 (dd, *J* = 7,6 Hz, 4,4 Hz, 1H); 2,85 (t, *J*= 7,6 Hz, 2H); 1,82 - 1,46 (m, 10H); 1,32 (s, 9H); 0,83 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H); 0,81 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H) ppm. RMN ¹³C (D₂O con 10 % en volumen CD₃COOD, 100 MHz) δ : 178,0; 173,8; 97,2; 58,6; 54,5; 53,0; 40,6; 39,3; 29,3; 27,8; 27,6; 27,2; 26,8; 24,6; 22,2; 21,9; 20,8 ppm. MS (ESI) [MH]+ calculado 339,3; encontrado 339,2 y 170,1 para [M+2H]²+/2

(5R,6R,7S)-N-terc-butil-7-((terc-butildimetilsMiloxi)metil)-2-oxo-1,4-diazabiciclo [4.1.0]heptano-5-carboxamida (7)

45 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 6,98 (s, 1H); 3,87 (dd, J = 11,5, 4,5 Hz, 1H); 3,78 (dd, J = 11,5; 4,5 Hz, 1H); 3,34 - 3,24 (m, 2H); 3,13 (d, J = 4,6 Hz, 1H); 2,40 (td, J = 4,5, 3,4 Hz, 1H); 2,17 - 1,96 (m, 1H); 1,43 - 1,36 (m, 9H); 0,94 - 0,86 (m, 9H); 0,13 - 0,05 (m, 6H). RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ: 183,93; 168,37; 77,48; 77,16; 76,84; 63,02; 55,81; 51,25; 48,72; 45,27; 39,64; 28,87; 26,06; 18,55; 0,15; -5,09; -5,12.

50 Ácido 2-((3S,5R,6R,7R)-5-(terc-butilcarbamoil)-7-isobutil-2-oxo-1,4-diazabiciclo[4.1.0]heptan-3-il)acético (8)

RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ : 4,69 - 4,58 (m, 1H); 3,92 (d, J = 2,0 Hz, 1H); 3,76 (dd, J = 9,8, 3,6 Hz, 1H); 3,66 (dd, J = 7,8, 4,0 Hz, 1H); 2,90 (dd, J = 17,5, 3,6 Hz, 1H); 2,81 (dd, J = 16,7, 4,0 Hz, 1H); 2,69 - 2,53 (m, 2H); 1,36 - 1,32 (m, 9H); 0,98 (dt, J = 8,5, 4,2 Hz, 6H). RMN ¹³C (101 MHz, CD₃OD) δ : 188,21; 172,40; 158,66; 158,62; 56,05; 55,25; 55,23; 51,95; 44,17; 43,55; 43,35; 42,55; 42,39; 42,16; 41,98; 29,85; 28,90; 28,85; 28,10; 27,37; 27,16; 26,85; 26,51; 23,19; 22,63; 21,05.

(3R,5R,6R,7S)-N-(terc-butil)-7-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-3-(mercaptometil)-2-oxo-1,4-diazabiciclo[4.1.0]heptano-5-carboxamida (9)

60

ES 2 634 431 T3

Nota: la caracterización espectroscópica de este compuesto es complicada porque los espectros se caracterizan por picos extremadamente anchos. Esto se atribuye a la inestabilidad inherente de 9 debida a la presencia del tiol nucleófilo y a su susceptibilidad a la oxidación y a la apertura de anillo de la aziridina.

5 RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ: 3,47 (s, 1H); 3,41 (d, *J*= 6,5 Hz, 1H); 4,35-2,42 (m, 7H); 1,70-1,42 (bs, 10H); 0,90 (s, 9H); 0,10 (s, 3H); 0,08 (s, 3H) ppm. MS (ESI) [MH]+ calculado 402,6; encontrado 402,2.

(3S,5R,6R,7S)-3-((1H-imidazol-4-il)metil)-N-(terc-butil)-7-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-2-oxo-1,4-diazabiciclo [4.1.0]heptano-5-carboxamida (10)

10

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ: 7,56 (s, 1H); 7,25 (s, 1H); 6,87 (s, 1H); 6,22 (s, 1H); 4,46 (m, 1H); 3,72 (dd, *J* = 11,2 Hz, 4,8 Hz, 1H); 3,60 (m, 1H); 3,44 (dd, *J* = 3,6 Hz, 1,5 Hz, 1H); 3,27 (dd, *J* = 14,1 Hz, 3,1 Hz, 1H); 2,99 (dd, *J* = 14,7 Hz, 4,2 Hz, 1H); 2,80 (dd, *J* = 15,2 Hz, 8,1 Hz, 1H); 2,40 (m, 1H); 2,05 (bs, 1H); 1,36 (s, 9H); 0,87 (s, 9H); 0,07 (s, 3H); 0,05 (s, 3H) ppm. RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) δ: 185,4; 171,4; 169,5; 168,6; 135,1; 64,3; 62,7; 60,6; 54,7; 51,2; 44,5; 15 39,3; 28,9; 26,0; 18,4; -5,3 ppm. MS (ESI) [MH]+ calculado 436,6; encontrado 436,2.

(3S,5R,6R,7S)-N-(terc-butil)-7-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-3-(hidroximetil)-2-oxo-1,4-diazabiciclo[4.1.0]heptano-5-carboxamida (11)

20 RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ: 6,80 (bs, 1H); 6,15 (bs, 1H); 4,02 (d, *J* = 11,6 Hz, 1H); 3,85 (dd, *J* = 13,3 Hz, 6,7 Hz, 1H); 3,76 (dd, *J* = 14,2 Hz, 3,0 Hz, 1H); 3,68 (bs, 1H); 3,53 (d, *J* = 5,0 Hz, 1H); 3,45 (dd, *J* = 3,5 Hz, 2,4 Hz, 1H); 3,13 (m, 1H); 2,55 (m, 1H); 2,42 (m, 1H); 1,39 (s, 9H); 0,90 (s, 9H); 0,10 (s, 3H); 0,08 (s, 3H) ppm. RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) δ: 185,3; 168,9; 63,5; 61,4; 55,8; 53,9; 51,2; 44,9; 39,6; 28,9; 26,1; 18,6; -5,1 ppm. MS (ESI) [MH]+ calculado 386,6 encontrado 386,2

25

(1S,4S,6aS,11R,11aS)-N-terc-butil-1-((terc-butildimetilsNiloxi)metil)-4-isobutil-3,6-dioxodecahidro-1H-azirino[1,2-a]pirrolo[1,2-d] [1,4,7] triazonina-11-carboxamida (12)

RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz) δ: 4,47 (m, 1H); 4,14 (dd, J = 8,4 Hz, 6 Hz, 1H); 4,07 - 3,99 (m, 2H); 3,84 (dd, J= 12 Hz, 30 3,2 Hz, 1H); 3,32 (d, J= 5,6 Hz, 1H); 3,26 - 3,15 (m, 2H); 2,42 - 2,30 (m, 2H); 1,92 - 1,78 (m, 3H); 1,74 (q, J = 6,8 Hz, 2H); 1,59 (sept, J = 6,8 Hz, 1H); 1,22 (s, 9H); 0,90 (d, J = 6,8 Hz, 3H); 0,87 (d, J = 6,4 Hz, 3H); 0,84 (s, 9H); 0,06 (s, 3H); 0,03 (s, 3H) ppm. RMN ¹³C (CD₃OD, 100 MHz) δ: 174,1; 164,1; 157,4; 86,5; 62,4; 60,7; 60,6; 57,7; 54,2; 52,1; 50,2; 39,6; 29,0; 25,8; 25,2; 25,1; 22,1; 21,0; 20,5; 17,9; -6,5 ppm. MS (ESI) [MH]+ calculado 509,3; encontrado 509,3.

(1S,4S,6aR,11S,11aR)-N-terc-butil-4-(3-guamdmopropil)-1-isobutil-3,6-dioxodecahidro-1H-azirmo[1,2-a]pirrolo[1,2-d][1,4,7]triazonina-11-carboxamida (13)

RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz) δ: 4,26 (t, *J* = 5,6 Hz, 1H); 4,18 (dd, *J* = 8,8 Hz, 2,4 Hz, 1H); 3,58 (dd, *J* = 8,8 Hz, 5,2 Hz, 40 1H); 3,28 - 3,24 (m, 2H); 3,00 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H); 2,70 (dd, *J* = 10,4 Hz, 6,4 Hz, 1H); 2,32 - 2,18 (m, 2H); 1,98 - 1,52 (m, 11H); 1,28 (s, 9H); 1,01 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H); 0,96 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H) ppm. RMN ¹³C (CD₃OD, 100 MHz) δ: 178,0; 160,8; 159,1; 157,4; 86,9; 64,3; 63,5; 60,2; 54,5; 53,7; 51,0; 42,6; 41,4; 29,4; 28,8; 26,1; 24,9; 24,5; 22,7; 21,3; 20,4 ppm. MS (ESI) [MH]+ calculado 464,3; encontrado 464,3 y 232,6 para [M+2H]²⁺/2

45 Ácido 2-((1S,4S,6aR,11S,11aR)-11-(terc-butilcarbamoil)-1-isobutil-3,6-dioxodecahidro-1H-azirmo[1,2a]pirrolo[1,2- d][1,4,7]triazonin-4-il)acético (14)

RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz) δ: 4,46 (t, J = 9,2 Hz, 1H); 4,34 (dd, J = 8,4 Hz, 2,0 Hz, 1H); 3,81 (dd, J = 8,4 Hz, 5,6 Hz, 1H); 3,38 - 3,30 (m, 1H); 3,02 (dd, J = 17,2 Hz, 2,4 Hz, 1H); 2,85 - 2,73 (m, 1H); 2,57 (dd, J = 17,2 Hz, 8,4 Hz, 1H); 50 2,45 - 2,32 (m, 2H); 2,05 - 1,62 (m, 7H); 1,58 - 1,48 (m, 2H); 1,27 (s, 9H); 1,01 (d, J = 6,4 Hz, 3H); 0,98 (d, J = 6,4 Hz, 3H); ppm. MS (ESI) [MH]+ calculado 423,3; encontrado 423,2.

(1S,4S,9aS,14R,14aS)-N-terc-butil-1-((terc-butildimetilsNiloxi)metil)-4-isobutil-3,6,9trioxotetradecahidroazirino[1,2-a]pirrolo[1,2-d][1,4,7,10]tetraazaciclododecina-14-carboxamida (15)

- 55
 - RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz) δ : 4,55 (ddd, J = 8 Hz, 3,2 Hz, 1,6 Hz, 1H); 4,32 (dd, J = 10,4 Hz, 4 Hz, 1H); 4,21 (dd, J = 14 Hz, 6 Hz, 1H); 4,15 4,05 (m, 3H); 3,91 (dd, J= 12 Hz, 3,2 Hz, 1H); 3,41 Hz (dd, J = 6 Hz, 1 H); 3,36 3,28 (m, 1H); 2,50 2,30 (m, 2H); 2,00 1,50 (m, 7H); 1,31 (s, 9 H); 0,98 0,92 (m, 6H); 0,92 (s, 9 H); 0,13 (s, 3H); 0,11 (s, 3H) ppm. RMN ¹³C (CD₃OD, 100 MHz) δ : 178,3; 166,4; 165,1; 157,6; 86,7; 62,7; 61,0; 60,1; 54,2; 53,7; 52,6; 50,5; 44,0; 10,41 (s; 28 0; 28 5); 25 (s; 25 s; 25 s; 25 1; 25 1; 25 1; 25 1; 26 1; 27 0; 50 5; 45 0; 50 5; 4
- 60 41,6; 28,9; 25,6; 25,2; 25,1; 25,1; 22,6; 20,7; 20,5; 17,9; -6,5; -6,5 ppm. MS (ESI) [MH]+ calculado 566,4; encontrado

566,4.

(1R,1aS,2R,6aS,12S,18S)-18-bencil-N-terc-butil-1,12-diisobutil-7,10,13,16,19-pentaoxoicosahidroazirmo[1,2-a]pirrolo[1,2-d][1,4,7,10,13,16]hexaazaciclooctadecina-2-carboxamida (16)

- 5
 RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) δ: 7,82 (bs, NH); 7,40 7,20 (m, 5H); 7,18 (bs, NH); 7,05 (bs, NH); 6,81 (bs, 2 NH); 4,64 (q, J = 6,8 Hz, 1H); 4,13 (dd, J = 16 Hz, 7,6 Hz, 1H); 4,10 3,90 (m, 2H); 3,57 (dd, J = 16 Hz, 4,8 Hz, 1H); 3,50 3,39 (m, 2H); 3,26 (dd, J = 14 Hz, 5,6 Hz, 1H); 3,12 (dd, J = 14 Hz, 7,2 Hz, 1H); 3,12 3,08 (m, 1H); 3,00 2,92 (m, 2H); 2,63 (t, J = 3,6 Hz, 1H); 2,28 2,18 (m, 1H); 1,90 1,70 (m, 2H); 1,37 1,25 (m, 9H); 1,10 0,88 (m, 12H) ppm.
 10 RMN ¹³C (CDCl₃, 125 MHz) δ: 181,4; 176,1; 175,7; 172,1; 170,1; 169,2; 136,4; 130,1; 128,7; 126,8; 56,2; 63,0; 43,2;
- RMN ¹³C (CDCl₃, 125 MHz) δ: 181,4; 176,1; 175,7; 172,1; 170,1; 169,2; 136,4; 130,1; 128,7; 126,8; 56,2; 63,0; 43,2; 42,5; 40,2; 38,6; 37,9; 31,2; 30,0; 29,8; 29,5; 28,8; 28,7; 27,2; 25,1; 24,9; 24,3; 23,3; 23,1; 22,8; 22,7; 22,6; 22,4; 22,3; 21,9; MS (ESI) [MH]+ calculado 682,4; encontrado 682,4

(1S,12aS,17R,17aR)-N-terc-butil-1-isobutil-3,6,9,12-tetraoxohexadecahidro-1H-azirmo[1,2-a]pirrolo[1,2-d] 15 [1,4,7,10,13]pentaazaciclopentadecina-17-carboxamida (17)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 4,57 - 4,44 (m, 1H); 4,32 - 3,70 (m, 10H); 3,38 (d, J = 5,4 Hz, 1H); 3,28 (s, 1H); 3,14 (dd, J = 11,2, 5,6 Hz, 1H); 2,52 - 2,41 (m, 1H); 2,37 (d, J = 6,9 Hz, 1H); 2,15 - 1,65 (m, 8H); 1,64 - 1,48 (m, 2H); 1,42 - 1,23 (m, 8H); 1,00 (dt, J = 21,4, 7,4 Hz, 6H).

20

RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) δ: 176,18; 171,23; 168,97; 165,90; 159,24; 86,37; 65,77; 63,49; 61,48; 59,76; 55,41; 51,43; 47,38; 45,65; 45,23; 44,59; 44,43; 44,19; 43,41; 42,46; 29,85; 29,43; 28,97; 28,58; 28,46; 27,72; 27,13; 26,74; 25,68; 23,84; 23,68; 23,14; 23,06, 22.16,21.62.

25 Acetato de terc-butil 2-((1S,4S,7S,13S,15aS,20R,20aS)-20-(terc-butilcarbamoil)-1-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-4-metil-3,6,9,12,15-pentaoxo-13-(3-(3-((2,2,4,6,7-pentametil-2,3-dihidrobenzofuran-5-il)sulfonil)guanidino)propil)icosahidroazirino[1,2-a]pirrolo[1,2-d][1,4,7,10,13,16]hexaazaciclooctadecin-7-ilo) (18)

- 30 RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 7,84 (d, *J*=9,7 Hz, 2H); 7,58 (dd, *J* = 18,1, 9,1 Hz, 2H); 7,07 (s, 1H); 6,41 (s, 2H); 5,68 (s, 1H); 4,85 (dq, *J*= 13,7, 6,8 Hz, 1H); 4,70 4,58 (m, 1H); 4,3 (q, *J* = 8,1 Hz, 1H); 4,17 4,07 (m, 1H); 3,97 (dd, *J* = 14,2, 7,5 Hz, 2H); 3,74 (s, 1H); 3,69 3,57 (m, 1H); 3,56 3,42 (m, 2H); 3,42 3,13 (m, 4H); 2,96 (s, 2H); 2,93 (d, *J*= 2,3 Hz, 1H); 2,89 2,76 (m, 4H); 2,66 2,53 (m, 7H); 2,42 2,15 (m, 2H); 2,10 (s, 3H); 2,07 1,98 (m, 1H); 1,87 1,55 (m, 8H); 1,46 (s, 6H); 1,44 (s, 9H); 1,34 (s, 9H); 0,87 (s, 9H); 0,09 (s, 3H); 0,05 (s, 3H). RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ :
- 35 187,07; 176,14; 174,46; 171,46; 171,04; 169,11; 166,93; 158,77; 156,39; 138,63; 133,66; 132,55; 124,65; 117,55; 105,24; 86,49; 82,64; 63,92; 63,84; 60,81; 57,07; 51,69; 51,31; 50,37; 49,56; 45,47; 43,51; 40,43; 37,55; 35,99; 30,28; 29,17; 28,83; 28,22; 26,11; 24,61; 19,49; 18,71; 18,19; 17,31; 12,69, -5.11,-5.44. MS (ESI) [MH]⁺ calculado 1104,6; encontrado 1104,6

40 (4-((1S,4S,7S,10S,13S,15aS,20R,20aS)-13-((R)-1-(terc-butoxi)etil)-20-(terc-butilcarbamoil)-1-(((tercbutildimetilsilil)oxi)metil)-4-metil-10-(2-(metiltiio)etil)-3,6,9,12,15-pentaoxoicosahidroazirino[1,2-a]pirrolo[1,2d] [1,4,7,10,13,16] hexaazaciclooctadecin-7-il)butil)carbamato de terc-butilo (19)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 7,83 (d, J= 8,1 Hz, 1H); 7,77 (s, 1H); 7,50 (d, J = 21,3 Hz, 1H); 7,35 (m, 2H); 7,08 (dd, 45 J = 15,7, 7,5 Hz, 1H), 6,90 (s, 1H), 6,82 (s, 1H), 4,98 (d, J = 27,6 Hz, 1H), 4,84 - 4,67 (m, 1H), 4,60 (s, 1H), 4,40 - 4,30 (m, 1H), 4,16 - 3,93 (m, 4H), 3,82 (s, 2H), 3,77 - 3,69 (m, 3H), 3,67 (d, J = 6,3 Hz, 1H), 3,45 - 3,28 (m, 2H), 3,27 - 2,99 (m, 6H), 3,00 - 2,86 (m, 2H), 2,84 (s, 1H), 2,78 - 2,55 (m, 3H), 2,45 - 2,19 (m, 5H), 2,12 (s, 4H), 2,06 - 1,97 (m, 3H); 1,89 (d, J = 4,7 Hz, 7H); 1,71 - 1,55 (m, 3H); 1,54 - 1,39 (m, 21H); 1,36 (s, 13H); 1,31 - 1,26 (m, 12H); 1,06 (t, J = 10,5 Hz, 4H); 0,93 - 0,82 (m, 14H); 0,06 (s, 3H); 0,05 (s, 3H). RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ: 182,99;
50 175 20: 171 94: 170 75: 170 37: 168 93: 156 44: 77 43: 75 66: 663 5: 64 39: 61 77: 57 52: 56 58: 54 28: 42 68:

50 175,20; 171,94; 170,75; 170,37; 168,93; 156,44; 77,43; 75,69; 66,32; 64,35; 63,93; 61,77; 57,52; 56,58; 54,28; 42,68; 40,37; 31,21; 30,95; 30,08; 29,88; 29,36; 28,85; 28,66; 26,01; 24,92; 24,16; 18,91; 18,48; 17,89; 15,48, -5.25,-5.29. MS (ESI) [MH]+ calculado 983,6; encontrado 983,6

(1S,7S,10S,15aS,20R,20aS)-10-((1H-imidazol-5-il)metil)-7-(4-(terc-butoxi)bencil)-N-(terc-butil)-1-(((terc-55 butildimetilsilil)oxi)metil)-3,6,9,12,15-pentaoxoicosahidroazirino[1,2-a]pirrolo[1,2-d] [1,4,7,10,13,16]hexaazaciclooctadecina-20-carboxamida (20)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 9,92 (s, 1H); 7,49 (d, J = 4,8 Hz, 2H); 7,39 - 7,27 (m, 11H); 7,17 - 7,02 (m, 11H); 6,78 (d, J = 8,4 Hz, 2H); 6,69 (s, 1H); 4,48 (p, J = 6,9 Hz, 1H); 4,42 - 4,18 (m, 2H); 4,06 - 3,99 (m, 1H); 3,91 (dd, J = 11,4, 60 3.8 Hz, 1H); 3,78 (dd, J = 11,3, 4,4 Hz, 1H); 3,61 (dd, J = 9,8, 4,8 Hz, 1H); 3,48 - 3,37 (m, 1H); 3,32 - 2,99 (m, 8H);

2,83 (dd, J = 6,8, 3,4 Hz, 1H); 2,41 - 1,95 (m, 2H); 1,91 - 1,72 (m, 2H); 1,61 (s, 12H); 1,41 (s, 10H); 1,35 - 1,24 (m, 20H); 0,72 (s, 1H); 0,07 (s, 3H); 0,05 (s, 3H). RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ : 184,31; 175,20; 172,61; 170,67; 169,47; 168,12; 154,53; 142,31; 138,19; 136,81; 131,91; 129,97; 129,85; 128,43; 128,37; 120,09; 77,43; 63,49; 62,17; 61,55; 57,84; 54,97; 52,19; 51,15; 48,67; 43,36; 42,53; 41,75; 36,36; 31,84; 30,99; 29,92; 29,88; 29,44; 29,05; 28,67; 26,07; 5 24,49; 19,80, 18.56,-5.19. MS (ESI) [MH]+ calculado 866,5; encontrado 866,5

(1S,4S,7S,13S,15aS,20R,20aS)-13-bencil-N-(terc-butil)-1-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-4-metil-3,6,9,12,15pentaoxo-7-(2-oxo-2-(tritilamino)etil)icosahidroazirino[1,2-a]pirrolo[1,2-d] [1,4,7,10,13,16]hexaazaciclooctadecina-20-carboxamida (21)

10

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 7,94 (t, J = 9,8 Hz, 2H); 7,73 (d, J = 8,7 Hz, 1H); 7,51 (t, J = 6,7 Hz, 1H); 7,34 - 7,11 (m, 23H); 6,79 (s, 1H); 4,92 - 4,72 (m, 2H); 4,59 (dd, J = 16,3, 8,6 Hz, 1H); 4,25 (d, J = 11,5 Hz, 1H); 4,01 (d, J = 10,7 Hz, 1H); 4,01 (d, 1H); 3,82 (dd, J = 14,2, 7,6 Hz, 1H); 3,73 (s, 1H); 3,59 - 3,51 (m, 2H); 3,48 - 3,24 (m, 3H); 3,09 (dd, J = 13,8; 8.9 Hz, 1H); 2,96 - 2,68 (m, 6H); 2,59 (dd, J = 15,8, 3,6 Hz, 1H); 2,45 - 2,08 (m, 2H); 2,07 - 1,96 (m, 1H); 1,62 (s, 5H); 1,52 - 1,17 (m, 18H); 0,94 (s, 9H); 0,15 (s, 3H); 0,13 (s, 3H). RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ : 184,06; 175,64; 173,93; 171,01; 170,49; 169,15; 167,20; 144,28; 136,98; 129,61; 128,81; 128,49; 128,30; 127,48; 126,75; 77,55; 77,23; 76,91; 71,17; 63,63; 60,72; 57,12; 52,96; 51,54; 50,58; 49,71; 49,27; 45,35; 44,53; 37,27; 36,80; 33,93; 30,22; 29,24; 26,24; 24,32;

20 (4S,10S,15aS,20R,20aS)-4-bencil-N-(terc-butil)-10-isobutil-3,6,9,12,15-pentaoxoicosahidroazirino[1,2a]pirrolo[1,2-d][1,4,7,10,13,16]hexaazaciclooctadecina-20-carboxamida (22)

18,78; 17,89; 0,22, -5.11,-5.34. MS (ESI) [MH]+ calculado 1027,5; encontrado 1027,6

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ: 8,33 (bs, 1H); 8,17 (d, J = 9,1 Hz, 1H); 8,03 (d, J = 7,4 Hz, 1H); 7,54 (s, 1H); 7,21 (m, 5H); 6,04 (bs, 1H); 5,08 (bs, 1H); 4,58 (m, 1H); 3,87 (dd, J= 8,1 Hz, 5,0 Hz, 1H); 3,80 (bs, 1H); 2,48 (dd, J= 3,6 Hz, 1H); 3,80 (bs, 1H); 2,48 (dd, J= 3,6 Hz, 1H); 3,80 (bs, 1H); 3,80 (25 1,8 Hz, 2H); 2,16 (m, 2H); 1,62-1,57 (m, 7H); 1,48 (m, 2H); 1,42 (m, 2H); 1,35 (m, 2H); 1,20 (m, 9H); 1,07 (m, 2H); 0,81 (m, 6H) ppm. MS (ESI) [MH]+ calculado 626,8; encontrado 626,3 y 313,7 para [M+2H]²⁺/2

7-mmc conjugado 22 (23)

30 El péptido cíclico 22 se hizo reaccionar en forma de material crudo para dar el péptido conjugado 23. (véase la página 39) RMN ¹H (300 MHz, DMSO) δ: 8,95 (s, 1H); 8,68 (d, J = 8,2 Hz, 1H); 8,32 (t, J = 6,3 Hz, 1H); 7,68 (d, J = 8,4 Hz, 1H); 7,51 (d, J = 9,4 Hz, 1H); 7,42 - 7,08 (m, 5H); 6,46 (s, 1H); 6,31 (s, 1H); 4,47 - 4,15 (m, 3H); 3,73 (dd, J = 20,5, 14,1 Hz, 3H); 3,45 - 3,33 (m, 2H); 3,17 (dd, J = 20,9, 13,0 Hz, 2H); 2,98 - 2,64 (m, 4H); 2,40 (s, 2H); 2,22 - 2,10 (m, 1H); 1,91 (ddd, J = 22,9, 13,4, 6,6 Hz, 2H); 1,79 - 1,40 (m, 5H); 1,30 - 1,15 (m, 9H); 0,93 - 0,74 (m, 6H). MS (ESI) 35 [MH]+ calculado 818,4; encontrado 818,3

Ciclación mediada por HATU

Afortunadamente, la reacción de ciclación se puede llevar a cabo a una concentración de al menos 0,002 M del 40 aminoácido/péptido de partida. Preferentemente, la concentración se mantiene entre 0.002 M y 0.2 M.

En otra realización, el proceso se lleva a cabo a una concentración de al menos 0,1 M del aminoácido/péptido de partida. En otra realización, el proceso se lleva a cabo a una concentración de alrededor de 0,2 M del aminoácido/péptido de partida.

45

Tradicionalmente, no se pueden llevar a cabo macrociclaciones previas a concentraciones tan altas. Esto se demostró usando una comparación directa con el proceso HATU, que falla en que los productos principales observados derivan de la oligomerización y polimerización.

- 50 Se comparó la ciclación mediada por hexaflurofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio ("HATU") de Pro-Gly-Gly-Gly con el procedimiento de ciclación de aminoaldehído/isocianuro a 0.2 M. Una vez completada, se analizaron las mezclas de reacción crudas usando cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas con ionización por electrospray ("LC- MS(ESI)") para evaluar el nivel de selectividad para el péptido cíclico deseado.
- 55

La espectrometría de masas ("MS")-análisis de la reacción HATU revelaron que la ciclodimerización predominaba a 0,2 M (Figura 28). Los picos principales a m/z = 537,2 y 559,2 corresponden al producto ciclodímero y a su quelato de sodio, respectivamente, mientras que solo de detectaron trazas del péptido cíclico deseado a m/z = 269. También se detectó el ciclotrímero (m/z = 805). La mezcla de reacción cruda también contenía otros subproductos no

60 identificados.

En los resultados del análisis de picos MS se encontraron 6 componentes.

Componente 1: Pico en barrido a 27,4. Los iones principales son 655 566 923
5 Componente 2: Pico en barrido a 28,4. Los iones principales son 982 744 714
Componente 3: Pico en barrido a 29,9. Los iones principales son 235 848 538
Componente 4: Pico en barrido a 30,9. Los iones principales son 559 827 560
Componente 5: Pico en barrido a 31,9. Los iones principales son 752 931
Componente 6: Pico en barrido a 32,7. Los iones principales son 537 295 446

10

El análisis LC-MS(ESI) crudo para la ciclación mediada por isocianuro/aminoaldehído revelo un alto nivel de selectividad para el péptido cíclico deseado (m/z = 479) a 0,2 M (Figura 29). No se detectaron picos de trazas para el subproducto dímero o trímero. Solo permanecieron en la mezcla de reacción picos de fragmentación característicos y Pro-Gly-Gly-Gly residual.

15

En los resultados del análisis de picos MS se encontraron 2 componentes.

Componente 1: Pico en barrido a 29,7. Los iones principales son 287 212 383 (Pro-Gly-Gly-Gly) Componente 2: Pico en barrido a 30,9. Los iones principales son 479 396 240 (péptido cíclico)

20 Ejemplo 2

Procedimientos y materiales

- 25 Procedimiento A: se lleva a cabo la apertura de anillo de un péptido cíclico que contiene aziridina usando un tiol aromático como nucleófilo (Procedimiento A). En un vial con tapa roscada equipado con una barra de agitación magnética se añadieron el péptido cíclico que contiene aziridina (0,06 mmol) y tiol aromático (0,066 mmol) a 0,2 ml de CHCl₃ desgasificado. A continuación, se añadió NEt₃ (0,06 mmol) a la solución y se agitó la reacción a temperatura ambiente durante 3-4 horas. A continuación, se diluyó la reacción con CH₂Cl₂, se lavó dos veces aperatura ambiente durante (2, ml).
- 30 con NH₄Cl acuoso saturado (3 ml) seguido de un lavado con salmuera (3 ml). La capa orgánica se secó posteriormente sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró a presión reducida. Los productos crudos de anillo abierto fueron de alta pureza, pero se obtuvieron muestras analíticamente puras tras purificación por cromatografía en columna rápida (5 % de MeOH en EtOAc).
- 35 Procedimiento B: se lleva a cabo la apertura de anillo de un péptido cíclico que contiene aziridina usando un tiol alifático o imida como nucleófilo (Procedimiento B). En un vial con tapa roscada equipado con una barra de agitación magnética se añadieron el péptido cíclico que contiene aziridina (0,06 mmol) y tiol alifático o imida (0,066 mmol) a 0,2 ml de CHCl₃ desgasificado. A continuación, se añadió DBU (0,06 mmol) a la solución y se agitó la reacción a temperatura ambiente durante 3-4 horas. A continuación, se diluyó la reacción con CH₂Cl₂,
- 40 se lavó dos veces con NH₄Cl acuoso saturado (3 ml) seguido de un lavado con salmuera (3 ml). La capa orgánica se secó posteriormente sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró a presión reducida. Los productos crudos de anillo abierto fueron de alta pureza, pero se obtuvieron muestras analíticamente puras tras purificación por cromatografía en columna rápida (5 % de MeOH en EtOAc).

45 Resultados

Se han agregado a los productos de la macrociclación cadenas laterales que incluyen, pero no se limitan a, sustituyentes fluorescentes (Esquema 3).



Esquema 3. Unión específica al sitio, en etapa tardía, de marcadores a un péptido cíclico

La incorporación de un anillo de aziridina activado a la estructura de un péptido cíclico proporciona un punto útil para la conjugación a diversas cadenas laterales por apertura nucléofila de anillo, metodología bien desarrollada que se

- 5 ha demostrado usando biomoléculas nucleófilas que van desde los carbohidratos a la biotina y los derivados del farnesilo.¹⁴ Como ejemplo, la estrategia de conjugación del péptido cíclico se puede demostrar mediante la apertura nucleófila de anillo de un resto de aziridina con el marcador fluorescente tan ampliamente usado 7-mercapto-4-metil-cumarina (7-mmc) (Esquema 3). En otro aspecto, también se puede usar una síntesis en etapa tardía de un residuo de tioéster mediante apertura de anillo del péptido cíclico con ácido tiobenzoico disponible en el mercado. La
- 10 reacción se produce sin problemas, liberando el producto de anillo abierto con un rendimiento del 98 %. La incorporación en etapas tardías de la funcionalidad tioéster evita etapas habitualmente necesarias para su protección frente a la oxidación y los reactivos electrófilos. Se pueden instalar muchas otras cadenas laterales de aminoácidos, tanto naturales como no naturales, mediante protocolos similares de apertura de anillo, abriendo las puertas a la optimización conformacional de los péptidos cíclicos en una etapa tardía de su síntesis. Otros
- 15 nucleófilos tales como tioles alifáticos, ácidos, aminas secundarias, tales como la morfolina, e imidas funcionaron igual de bien durante la apertura del anillo.

En otro aspecto, se sometieron a la apertura de anillo péptidos cíclicos dotados de anillos de aziridina (Figura 30). En el curso de este proceso, se puede añadir una cadena lateral de interés a la matriz del péptido cíclico en una 20 etapa tardía de su síntesis. Las reacciones de apertura del anillo se llevaron a cabo usando un sistema base/nucleófilo adecuado que se seleccionó en base al pK_a. Las reacciones preferidas implicaron el empleo de un par base/nucleófilo que cumplía con ΔpK_a = pK_a[NR3H+] - pK_a[nucleófilo] *-1 (Figura 31).

- Estos datos sugieren que un fuerte apareamiento de iones (ΔpK_a>1) entre la base y el nucleófilo puede derivar en 25 una disminución de la reactividad. Se comprobó que las condiciones optimizadas para la apertura del anillo se desarrollaban de forma limpia para producir los péptidos cíclicos modificados de alta pureza tras el tratamiento extractivo (Figura 32).
- Ejemplo 3 30

Se llevó a cabo el análisis por rayos X del producto cíclico 1.

Resultados



Tabla 4 Datos cristalinos y refi	namiento estructural para k07227
Código identificativo	k07227
Fórmula empírica	C24 H38 N3 O3 Si
Peso de la fórmula	445,67
Temperatura	150(2) K
Longitud de onda	0.71073 Å
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	P 21
Dimensiones de la celdilla unidad	a = 14.590(2) Å α= 90°.
	b = 12.326(2) Å P = 94.718(7)°.
	c =15.088(2) Å γ= 90°.
Volumen	2704.2(7) Å ³
Z	4
Densidad (calculada)	1,097 Mg/m³
Coeficiente de absorción	0,115 mm ⁻¹
F(000)	968
Tamaño del cristal	0,32 x 0,10 x 0,08 mm ³
Intervalo de theta para la recogida de datos	2,62 a 23,05°
Intervalos de índices	-15<=h<=15, -13<=k<=12, -15<=1<=16
Reflexiones recogidas	10115
Reflexiones independientes	3828 [R(int) = 0,1359]
Completitud para theta = 23,05°	95.9 %
Corrección de la absorción	Semiempírica a partir de equivalentes
Transmisión máx. y mín.	1,000 y 0,770
Procedimiento de refinamiento	Minimos cuadrados de matriz entera en F2
Datos/restricciones/parametros	3828/1/559
Bondad de ajuste en F2	1,044
F2 Indices R finales [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0982, WR2 = 0.2560
Indices R (todos los datos)	R1 = 0.1/15, WR2 = 0.3055
Mayor diferencia de pico y agujero	0,492 y -0.316 e. A °

5 Tabla 5 Coordenadas atómicas (x 10⁴) y parámetros de desplazamiento isotrópico equivalente (Á²x 10³) para k07227. U(eq) se define como un tercio de la traza del tensor U^{ij} ortogonalizado

	х	У	Z	U(eq)
Si(1A)	7245(3)	4768(4)	8396(3)	68(1)
O(1A)	3310(7)	4696(12)	6317(8)	94(4)
O(2A)	4778(6)	4429(8)	4729(7)	62(3)
O(3A)	4070(7)	3807(11)	8551(7)	82(3)
O(4A)	6881(6)	4731(9)	7332(6)	64(3)
N(1A)	5222(7)	4298(9)	6198(7)	53(3)
N(2A)	2735(8)	3545(12)	7673(8)	74(4)
C(1A)	4577(10)	4187(12)	5473(9)	56(4)
C(2A)	3624(9)	3854(14)	5700(9)	61(4)
C(3A)	3884(8)	4758(14)	7161(9)	61(4)
C(4A)	4916(9)	4610(11)	7073(9)	57(4)

C(5A)	5474(9)	5392(12)	6570(9)	55(4)
C(6A)	6464(10)	5591(15)	6823(10)	72(5)
C(7A)	7044(16)	3423(18)	8820(12)	118(8)
C(8A)	6568(12)	5820(20)	9009(13)	105(6)
C(9A)	8501(12)	5097(14)	8489(14)	86(6)
C(10A)	8607(13)	6160(30)	8022(19)	150(11)
C(11A)	9045(13)	4350(30)	8043(17)	169(14)
C(12A)	8846(14)	5210(20)	9454(15)	133(9)
C(13A)	3590(10)	3973(17)	7871(11)	76(5)
C(14A)	2268(10)	2780(16)	8263(10)	74(5)
C(15A)	2819(13)	1767(18)	8419(13)	103(6)
C(16A)	2093(11)	3415(16)	9107(10)	86(5)
C(17A)	1325(12)	2540(20)	7748(12)	110(7)
C(18A)	2957(9)	3707(15)	4897(9)	66(4)
C(19A)	2151(10)	3006(18)	5091(10)	77(5)
C(20A)	2294(13)	1877(19)	5232(12)	90(5)
C(21A)	1548(17)	1230(20)	5361(14)	112(7)
C(22A)	725(19)	1640(30)	5502(16)	128(9)
C(23A)	525(13)	2770(30)	5385(13)	116(9)
C(24A)	1270(12)	3480(20)	5217(11)	101(7)
Si(1B)	8204(3)	2344(4)	2871(3)	68(1)
O(1B)	6478(7)	2195(11)	6755(7)	86(3)
O(2B)	4724(6)	1912(7)	5174(6)	53(2)
O(3B)	8659(6)	1106(10)	6205(7)	75(3)
O(4B)	7241(6)	2259(8)	3360(6)	66(3)
N(1B)	6249(7)	1815(8)	4890(7)	48(3)
N(2B)	7884(8)	963(11)	7449(9)	69(3)
C(1B)	5494(10)	1740(12)	5431(9)	55(4)
C(2B)	5816(9)	1389(12)	6398(9)	53(3)
C(3B)	7344(9)	2232(14)	6288(8)	59(4)
C(4B)	7165(9)	2098(12)	5256(9)	60(4)
C(5B)	6589(10)	2897(14)	4693(11)	70(4)
C(6B)	6790(11)	3147(14)	3790(11)	74(5)
C(7B)	8766(12)	968(16)	3042(13)	97(6)
C(8B)	8926(11)	3466(19)	3390(11)	98(6)
C(9B)	7893(10)	2620(14)	1666(10)	71(5)
C(10B)	7510(13)	3777(14)	1548(11)	85(5)
C(11B)	7165(14)	1807(19)	1279(12)	103(6)
C(12B)	8748(12)	2536(19)	1143(11)	100(6)
C(13B)	8015(10)	1332(15)	6630(11)	69(4)
C(14B)	8453(10)	163(13)	7952(11)	66(4)
C(15D)	9420(12)	942(17)	7332(11)	111(7)
	0439(13)	-042(17)	1440(10)	07(0)
	9438(11)	0(00)	8135(13)	97(6)
	8040(11)	0(20)	8825(11)	103(7)
C(18B)	5021(9)	1225(13)	6976(9)	61(4)
C(19B)	5242(8)	526(15)	7787(10)	65(5)

C(20B)	5337(10)	-610(14)	7633(11)	65(4)
C(21B)	5477(11)	-1260(20)	8343(13)	101(7)
C(22B)	5524(12)	-940(20)	9202(18)	105(7)
C(23B)	5439(11)	130(30)	9374(13)	100(7)
C(24B)	5292(10)	878(19)	8643(11)	86(6)

Tabla 6 Longitudes de enlac	e [Å] y ángulos [°] para k07227.
Si(1A)-O(4A)	1,649(10)
Si(1A)-C(7A)	1,81(2)
Si(1A)-C(9A)	1,871(18)
Si(1A)-C(8A)	1,91(2)
O(1A)-C(3A)	1,468(17)
O(1A)-C(2A)	1,491(18)
O(2A)-C(1A)	1,221(15)
O(3A)-C(13A)	1,211(17)
O(4A)-C(6A)	1,418(18)
N(1A)-C(1A)	1,390(17)
N(1A)-C(4A)	1,479(16)
N(1A)-C(5A)	1,494(18)
N(2A)-C(13A)	1,36(2)
N(2A)-C(14A)	1,50(2)
C(1A)-C(2A)	1,52(2)
C(2A)-C(18A)	1,502(19)
C(3A)-C(13A)	1,53(2)
C(3A)-C(4A)	1,533(18)
C(4A)-C(5A)	1,507(19)
C(5A)-C(6A)	1,48(2)
C(9A)-C(11A)	1,42(3)
C(9A)-C(10A)	1,50(3)
C(9A)-C(12A)	1,51(3)
C(14A)-C(15A)	1,49(3)
C(14A)-C(16A)	1,53(2)
C(14A)-C(17A)	1,55(2)
C(18A)-C(19A)	1,51(2)
C(19A)-C(20A)	1,42(3)
C(19A)-C(24A)	1,44(2)
C(20A)-C(21A)	1,38(3)
C(21A)-C(22A)	1,34(3)
C(22A)-C(23A)	1.44(4)
C(23A)-C(24A)	1.44(3)
Si(1B)-O(4B)	1 643(9)
Si(1B)-C(9B)	1 868(16)
Si(1B)-C(8B)	1,871(10)
	1 202/40)
O(4D) O(2D)	1,033(10)
	1,457(18)
O(1B)-C(3B)	1,496(16)

ES 2 634 431 T3

O(2B)-C(1B)	1,177(15)
O(3B)-C(13B)	1,214(16)
O(4B)-C(6B)	1,457(18)
N(1B)-C(1B)	1,428(17)
N(1B)-C(4B)	1,446(17)
N(1B)-C(5B)	1,461(19)
N(2B)-C(13B)	1,344(19)
N(2B)-C(14B)	1,461(19)
C(1B)-C(2B)	1,56(2)
C(2B)-C(18B)	1,522(18)
C(3B)-C(13B)	1,54(2)
C(3B)-C(4B)	1,567(18)
C(4B)-C(5B)	1,51(2)
C(5B)-C(6B)	1,45(2)
C(9B)-C(12B)	1,53(2)
C(9B)-C(10B)	1,54(2)
C(9B)-C(11B)	1,54(2)
C(14B)-C(15B)	1,45(3)
C(14B)-C(17B)	1,51(2)
C(14B)-C(16B)	1,52(2)
C(18B)-C(19B)	1,51(2)
C(19B)-C(24B)	1,36(2)
C(19B)-C(20B)	1,43(2)
C(20B)-C(21B)	1,34(2)
C(21B)-C(22B)	1,35(3)
C(22B)-C(23B)	1,35(3)
C(23B)-C(24B)	1,44(3)
O(4A)-Si(1A)-C(7A)	105,7(8)
O(4A)-Si(1A)-C(9A)	108,3(7)
C(7A)-Si(1A)-C(9A)	111,0(9)
O(4A)-Si(1A)-C(8A)	110,6(8)
C(7A)-Si(1A)-C(8A)	110,1(10)
C(9A)-Si(1A)-C(8A)	111,0(9)
C(3A)-O(1A)-C(2A)	113,3(11)
C(6A)-O(4A)-Si(1A)	126,6(10)
C(1A)-N(1A)-C(4A)	119,6(10)
C(1A)-N(1A)-C(5A)	121,0(11)
C(4A)-N(1A)-C(5A)	60,9(8)
C(13A)-N(2A)-C(14A)	124,4(13)
O(2A)-C(1A)-N(1A)	120,1(13)
O(2A)-C(1A)-C(2A)	124,6(12)
N(1A)-C(1A)-C(2A)	115,0(11)
O(1A)-C(2A)-C(18A)	112,0(12)
O(1A)-C(2A)-C(1A)	106,7(12)

C(18A)-C(2A)-C(1A)	113,3(11)
O(1A)-C(3A)-C(13A)	113,7(13)
O(1A)-C(3A)-C(4A)	114,4(11)
C(13A)-C(3A)-C(4A)	108,6(12)
N(1A)-C(4A)-C(5A)	60,0(8)
N(1A)-C(4A)-C(3A)	118,7(11)
C(5A)-C(4A)-C(3A)	122,9(12)
C(6A)-C(5A)-N(1A)	116,8(12)
C(6A)-C(5A)-C(4A)	122,1(12)
N(1A)-C(5A)-C(4A)	59,1(8)
O(4A)-C(6A)-C(5A)	112,4(12)
C(11A)-C(9A)-C(10A)	105(2)
C(11A)-C(9A)-C(12A)	111,3(18)
C(10A)-C(9A)-C(12A)	109(2)
C(11A)-C(9A)-Si(1A)	113,9(16)
C(10A)-C(9A)-Si(1A)	107,0(12)
C(12A)-C(9A)-Si(1A)	109,9(13)
O(3A)-C(13A)-N(2A)	125,1(16)
O(3A)-C(13A)-C(3A)	121,6(14)
N(2A)-C(13A)-C(3A)	113,2(14)
C(15A)-C(14A)-N(2A)	110,8(13)
C(15A)-C(14A)-C(16A)	114,8(16)
N(2A)-C(14A)-C(16A)	106,7(15)
C(15A)-C(14A)-C(17A)	111,4(17)
N(2A)-C(14A)-C(17A)	104,4(13)
C(16A)-C(14A)-C(17A)	108,1(14)
C(2A)-C(18A)-C(19A)	112,2(12)
C(20A)-C(19A)-C(24A)	120,2(19)
C(20A)-C(19A)-C(18A)	118,9(16)
C(24A)-C(19A)-C(18A)	121(2)
C(21A)-C(20A)-C(19A)	119(2)
C(22A)-C(21A)-C(20A)	122(3)
C(21A)-C(22A)-C(23A)	122(3)
C(22A)-C(23A)-C(24A)	118(2)
C(23A)-C(24A)-C(19A)	118(2)
O(4B)-Si(1B)-C(9B)	107,5(6)
O(4B)-Si(1B)-C(8B)	109,4(7)
C(9B)-Si(1B)-C(8B)	110,9(8)
O(4B)-Si(1B)-C(7B)	105,0(7)
C(9B)-Si(1B)-C(7B)	111,3(9)
C(8B)-Si(1B)-C(7B)	112,5(9)
C(2B)-O(1B)-C(3B)	114,0(11)
C(6B)-O(4B)-Si(1B)	125,9(10)
C(1B)-N(1B)-C(4B)	122.0(11)

C(1B)-N(1B)-C(5B)	117,7(11)
C(4B)-N(1B)-C(5B)	62,6(9)
C(13B)-N(2B)-C(14B)	126,0(13)
O(2B)-C(1B)-N(1B)	124,1(13)
O(2B)-C(1B)-C(2B)	124,4(12)
N(1B)-C(1B)-C(2B)	111,4(11)
O(1B)-C(2B)-C(18B)	113,1(11)
O(1B)-C(2B)-C(1B)	107,3(11)
C(18B)-C(2B)-C(1B)	112,9(11)
O(1B)-C(3B)-C(13B)	111,0(12)
O(1B)-C(3B)-C(4B)	112,7(10)
C(13B)-C(3B)-C(4B)	107,8(12)
N(1B)-C(4B)-C(5B)	59,2(8)
N(1B)-C(4B)-C(3B)	118,6(10)
C(5B)-C(4B)-C(3B)	122,0(13)
C(6B)-C(5B)-N(1B)	118,9(14)
C(6B)-C(5B)-C(4B)	121,4(13)
N(1B)-C(5B)-C(4B)	58,2(9)
C(5B)-C(6B)-O(4B)	113,1(13)
C(12B)-C(9B)-C(10B)	107,8(14)
C(12B)-C(9B)-C(11B)	109,0(15)
C(10B)-C(9B)-C(11B)	109,1(14)
C(12B)-C(9B)-Si(1B)	110,2(11)
C(10B)-C(9B)-Si(1B)	109,8(12)
C(11B)-C(9B)-Si(1B)	110,8(12)
O(3B)-C(13B)-N(2B)	125,6(15)
O(3B)-C(13B)-C(3B)	119,1(14)
N(2B)-C(13B)-C(3B)	114,7(13)
C(15B)-C(14B)-N(2B)	108,6(13)
C(15B)-C(14B)-C(17B)	110,9(16)
N(2B)-C(14B)-C(17B)	107,0(13)
C(15B)-C(14B)-C(16B)	110,2(15)
N(2B)-C(14B)-C(16B)	111,3(13)
C(17B)-C(14B)-C(16B)	108,9(15)
C(19B)-C(18B)-C(2B)	114,7(11)
C(24B)-C(19B)-C(20B)	118,0(16)
C(24B)-C(19B)-C(18B)	125,4(18)
C(20B)-C(19B)-C(18B)	116,5(14)
C(21B)-C(20B)-C(19B)	117,9(18)
C(20B)-C(21B)-C(22B)	125(3)
C(23B)-C(22B)-C(21B)	119(2)
C(22B)-C(23B)-C(24B)	119(2)
C(19B)-C(24B)-C(23B)	121(2)
	-

	desplazar	niento anisotrópio	o toma la forma:	-2π ⁻ [h ⁻ a* ⁻ U'' +	·, + 2 h k a* b* L)]
	U ¹¹	U ²²	U ³³	U ²³	U ¹³	U ¹²
Si(1A)	59(2)	75(3)	67(3)	-5(2)	-2(2)	-7(2)
O(1A)	67(6)	116(10)	101(8)	-29(8)	23(6)	-1(7)
O(2A)	66(6)	55(6)	64(7)	-6(5)	11(5)	0(5)
O(3A)	61(6)	118(10)	66(7)	14(7)	8(5)	-7(6)
O(4A)	55(5)	64(6)	76(6)	5(6)	11(4)	-3(5)
N(1A)	54(7)	54(7)	54(7)	-6(6)	19(6)	1(6)
N(2A)	51(7)	99(11)	74(8)	17(8)	12(6)	6(7)
C(1A)	77(10)	49(9)	40(8)	1(7)	-2(7)	3(7)
C(2A)	60(9)	70(10)	52(8)	-9(8)	3(7)	6(8)
C(3A)	44(7)	70(10)	70(9)	-7(9)	5(6)	7(7)
C(4A)	61(8)	46(9)	65(9)	9(7)	7(7)	0(7)
C(5A)	51(8)	48(9)	64(9)	4(7)	4(7)	4(7)
C(6A)	62(10)	86(13)	69(10)	20(10)	18(8)	-7(9)
C(7A)	170(20)	110(17)	71(12)	20(12)	-25(12)	-17(16)
C(8A)	83(12)	124(18)	109(14)	-12(13)	23(10)	3(12)
C(9A)	69(10)	59(11)	130(16)	44(11)	17(11)	11(9)
C(10A)	47(11)	180(30)	220(30)	30(20)	-10(13)	-16(14)
C(11A)	61(13)	300(50)	140(20)	-60(20)	-2(13)	13(19)
C(12A)	101(14)	170(20)	122(17)	57(17)	-40(13)	-18(15)
C(13A)	49(9)	122(15)	59(9)	-5(10)	12(8)	-2(10)
C(14A)	58(9)	101(14)	64(10)	15(9)	17(7)	-2(9)
C(15A)	95(14)	103(16)	113(15)	37(13)	27(11)	15(12)
C(16A)	85(11)	105(15)	68(11)	-27(10)	17(8)	-17(10)
C(17A)	82(12)	150(20)	95(13)	10(14)	15(10)	-60(13)
C(18A)	63(9)	86(12)	51(8)	3(8)	8(7)	-16(9)
C(19A)	59(10)	122(18)	49(9)	5(10)	-2(7)	2(10)
C(20A)	97(13)	92(15)	85(12)	4(11)	31(10)	-19(12)
C(21A)	118(18)	121(19)	100(15)	8(13)	21(13)	-48(16)
C(22A)	95(19)	190(30)	102(17)	11(19)	0(13)	-26(19)
C(23A)	50(11)	210(30)	86(14)	9(17)	1(9)	1(16)
C(24A)	63(12)	170(20)	68(11)	-7(13)	-7(8)	0(13)
SI(1B)	60(3)	75(3)	70(3)	8(3)	13(2)	2(2)
O(1B)	71(7)	106(9)	83(7)	14(7)	14(5)	3(7)
O(2B)	51(6)	44(5)	65(6)	-3(5)	3(4)	3(4)
O(3B)	52(6)	99(9)	75(7)	4(6)	9(5)	9(6)
O(4B)	69(6)	60(6)	71(6)	11(6)	24(5)	5(5)
N(1B)	60(7)	36(6)	49(6)	-1(5)	6(5)	13(5)
	5U(7)	10(9)	84(9)	10(8)	13(b) 6(7)	3(7)
	57 (1U) 45/9)	40(9) 50(0)	б I (9) 65 (0)	-1/(/)	0(7) 4(6)	-4(7)
	40(δ) 51/0)	50(9) 70(10)	60(9) 54(9)	-11(7)	4(b) 2(c)	U(7)
	51(δ) 47/9)	7∠(10) €2(10)	54(δ) 72(0)	-1(ð) 25(9)	3(b) 17(7)	ο(Ζ)
	41(δ) 50(0)	0∠(1U) 65(11)	13(9) 96(12)	∠ວ(ŏ)	I / (/) Q(Q)	o(7)
	09(9) 90(11)	00(11)	00(1∠) 77(11)	0(9)	0(0)	-9(0) 17(0)
	o∠(11) 94(40)	00(11)	102(15)	10(9)	∠ı(ŏ)	17(9)
U(1B)	04(1Z)	07(14)	123(15)	34(TZ)	20(10)	30(11)

Tabla 7 Parámetros de desplazamiento anisotrópico (Å ²x 10³) para k07227. El exponente del factor de desplazamiento anisotrópico toma la forma: -2π²[h² a^{*2}U¹¹ + ..., + 2 h k a^{*} b^{*} U¹²]

C(8B)	64(10)	147(19)	84(12)	-19(13)	10(8)	-22(11)
C(9B)	56(9)	78(13)	82(11)	10(9)	14(8)	-12(8)
C(10B)	113(13)	64(11)	77(11)	23(10)	11(9)	-7(10)
C(11B)	121(16)	104(16)	84(12)	-14(12)	11(11)	-22(13)
C(12B)	97(13)	117(17)	89(12)	32(13)	36(10)	13(12)
C(13B)	48(9)	85(12)	75(11)	-3(10)	18(8)	-9(8)
C(14B)	66(10)	50(10)	81(11)	11(9)	3(8)	0(8)
C(15B)	88(13)	88(17)	152(19)	37(15)	-11(12)	29(11)
C(16B)	62(10)	112(17)	116(15)	14(13)	-1(10)	-1(10)
C(17B)	80(11)	150(20)	74(11)	55(13)	12(9)	23(12)
C(18B)	48(8)	73(11)	61(9)	-5(8)	7(6)	6(7)
C(19B)	34(7)	105(15)	56(10)	14(10)	8(6)	-16(8)
C(20B)	67(10)	64(11)	64(10)	11(9)	3(7)	1(8)
C(21B)	76(12)	150(20)	74(13)	14(16)	6(10)	-11(12)
C(22B)	67(12)	120(20)	120(20)	35(17)	13(11)	-20(13)
C(23B)	60(11)	180(30)	64(12)	9(16)	10(8)	-26(14)
C(24B)	59(10)	138(17)	63(11)	-3(12)	14(8)	-8(10)

Tabla 8 Coordenadas del hidrógeno (x 10⁴) y parámetros de desplazamiento isotrópico (Á²x 10³) para k07227.

	х	У	Z	U(eq)
H(2A)	2439	3731	7164	89
H(2AB)	3677	3148	6028	73
H(3AA)	3805	5507	7399	73
H(4AA)	5261	4254	7594	69
H(5AA)	5126	6016	6284	66
H(6AA)	6788	5688	6277	86
H(6AB)	6530	6272	7171	86
H(7AA)	7391	2890	8499	177
H(7AB)	6386	3254	8734	177
H(7AC)	7246	3395	9455	177
H(8AA)	5915	5621	8958	157
H(8AB)	6644	6535	8745	157
H(8AC)	6797	5834	9638	157
H(10A)	9261	6348	8041	225
H(10B)	8274	6725	8319	225
H(10C)	8356	6093	7402	225
H(11A)	9691	4578	8109	254
H(11B)	8832	4327	7410	254
H(11C)	8989	3625	8301	254
H(12A)	9506	5375	9499	199
H(12B)	8742	4534	9768	199
H(12C)	8516	5804	9723	199
H(15A)	3407	1942	8750	154
H(15B)	2933	1440	7847	154
H(15C)	2478	1254	8764	154
H(16A)	2680	3561	9449	128
H(16B)	1699	2986	9469	128

H(16C)	1788	4103	8942	128
H(17A)	1421	2134	7206	166
H(17B)	1014	3229	7588	166
H(17C)	944	2115	8123	166
H(18A)	3279	3371	4415	80
H(18B)	2729	4426	4688	80
H(20A)	2894	1576	5238	108
H(21A)	1622	461	5349	135
H(22A)	261	1165	5684	154
H(23A)	-81	3040	5417	140
H(24A)	1185	4248	5190	122
H(2B)	7412	1227	7705	83
H(2BB)	6146	681	6365	64
H(3BA)	7647	2950	6413	71
H(4BA)	7677	1752	4955	72
H(5BA)	6321	3505	5026	84
H(6BA)	7190	3796	3799	89
H(6BB)	6209	3326	3435	89
H(7BA)	8930	851	3678	146
H(7BB)	9322	938	2721	146
H(7BC)	8336	402	2817	146
H(8BA)	8613	4161	3276	147
H(8BB)	9522	3478	3134	147
H(8BC)	9023	3346	4033	147
H(10D)	7339	3913	916	127
H(10E)	7981	4300	1769	127
H(10F)	6967	3855	1883	127
H(11D)	7007	1971	649	154
H(11E)	6613	1863	1604	154
H(11F)	7412	1069	1336	154
H(12D)	8576	2679	512	149
H(12E)	9009	1805	1211	149
H(12F)	9206	3070	1372	149
H(15D)	8712	-718	6882	166
H(15E)	7802	-1087	7323	166
H(15F)	8792	-1398	7788	166
H(16D)	9719	649	7571	146
H(16E)	9792	36	8509	146
H(16F)	9437	1264	8442	146
H(17D)	7413	-280	8715	154
H(17E)	8026	694	9140	154
H(17F)	8414	-521	9189	154
H(18C)	4814	1945	7173	73
H(18D)	4502	892	6609	73
H(20B)	5304	-894	7046	78
H(21B)	5548	-2016	8234	121
H(22B)	5615	-1446	9672	126
H(23B)	5475	386	9970	120
H(24B)	5229	1630	8761	104

REFERENCES

(1) Drahl, S. Chem. Eng. News 2009, 87, 31.

- (2) a) Shao, Y.; Lu, W.; Kent, S. B. H. Tetrahedron. Lett. 1998, 39, 3911. b) Tam, J. P.; Lu, Y.-A.; Yu, Q. J. Am.Chem.
 5 Soc. 1999, 121, 4316. c) Bernal, F.; Tyler, A. F.; Korsmeyer, S. J.; Walensky, L.D.; Verdine, G. L. J. Am.Chem. Soc. 2007, 129, 2456. d) Home, W.S.; Stout, C. D.; Ghadiri, M. R. J. Am. Chem. Soc. 2003, 125, 9372. e) Blackwell, H. E.; Sadowsky, J. D.; Howard, R. J.; Sampson; J. N., Chao; J. A., Steinmetz, W. E.; O'Leary, D. J.; Grubbs, R. H. J. Org. Chem. 2001, 66, 5291. f) Kirshenbaum, K.; Arora, P. S. Nat. Chem. Bio. 2008, 4, 527. g) Hebach, C.; Kazmaier, U. Chem. Comm. 2003, 9, 596. h) Reid, R. C.; Kelso, M. J.; Scanlon, M. J.; Fairlie, D. P. J. Am. Chem. Soc. 2002, 124,
- 5673. i) Al-Obeidi, F.; de Castrucci, A. M. L.; Hadley, M. E.; Hruby, V. J. J. Med. Chem. 1989, 32, 2555. j) Geyer, A.; Mueller, G.; Kessler, H. J. Am. Chem. Soc. 1994, 116, 7735.
 (3) Schmuck, C.; Wienand, W. J. Am. Chem. Soc. 2003, 125, 452.
 (4) A. F. Spatola and P. Romanovskis, in Combinatorial Peptide and Nonpeptide Libraries; Jung, G., Ed.; VCH: Weinheim, 1996; p 328.
 (5) H. C. Gilon, C. Mang, E. Lohof, A. Friedler, H. Kessler, in Synthesis of Peptides and Peptidomimetics; Goodman,
- M., Ed.; Thieme: Stuttgart, 2004; pp 461.
 (6) Zimmer, S.; Hoffmann, E.; Jung, G.; Kessler, H. Liebigs. Ann. Chem. 1993, 497.
 (7) Schmidt, U.; Langner, J. J. Pept. Res. 1997, 49, 67.
 (8) a) Hili, R.; Yudin, A. K. J. Am. Chem. Soc. 2009, 131, 16404. b) Baktharaman, S.; Hili, R.; Yudin, A. K.
 20 Aldrichimica Acta 2008, 41, 109. c) Hili, R.; Baktharam, S.; Yudin, A. K. Eur. J. Org. Chem. 2008, 5201. d) Hili, R.;
- Yudin, A. K. Angew. Chem. Int. Ed. 2008, 47, 4188. e) Yudin, A. K.; Hili, R. Chem. Eur. J. 2007, 13, 6538. f) Hili, R.;
 Yudin, A. K. J. Am. Chem. Soc. 2006, 128, 14772.
 (9) Roccatano, D., Colombo, G., Fioroni, M., Mark, A.E. Proc. Nat. Acad. Sci. 2002, 99, 12179.
- (10) a) Domling, A.; Ugi, I. Angew. Chem. Int. Ed. 1997, 39, 3168. b) Dömling, A.; Ugi, I. Angew. Chem. Int. Ed. 2000, 25 39, 3169. c) Thompson, M. J.; Chen, B. J. Org. Chem. 2009, 74, 7084.
- (11) Demharter, A.; Hörl, W.; Herdtweck, E.; Ugi, I. Angew. Chem. Int. Ed. 1996, 36,173.
 (12) For a recent example describing consecutive Ugi reactions to access glycine-based peptoid structures from formaldehyde, see: Vercillo, O. E., Andrade, C. K. Z., Wessjohann, L. A. Org. Lett. 2008, 10, 205.
 (13) A. Failli, H. Immer, M. Götz, Can. J. Chem. 1979, 57, 3257.
- 30 (14) Galonic, D. P.; Ide, N. D.; van der Donk, W. A.; Gin, D. Y. J. Am. Chem. Chem. 2005, 127, 7359.

REIVINDICACIONES

- 1. Procedimiento de formación de un péptido cíclico que comprende las etapas de:
- 5 (i) hacer reaccionar un grupo terminal amina de un péptido o aminoácido con un aldehído aziridínico que tiene la estructura siguiente:



10 y

(ii) hacer reaccionar la mezcla de la etapa (i) con un isocianuro.

2. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, donde el aldehído aziridínico es bisulfito del 15 aldehído aziridínico.

3. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, donde el isocianuro es isocianuro de butilo terciario.

20 4. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el procedimiento es un proceso de una etapa.

5. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la reacción tiene lugar en condiciones estequiométricas.

25 6 Dr

6. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la reacción se lleva a cabo con un aminoácido en agua.

7. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que además comprende 30 la etapa de: (iii) hacer reaccionar la mezcla de la etapa (ii) para abrir el anillo de aziridina.

8. Procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones 7, donde la mezcla de la etapa (ii) se hace reaccionar con un tioéster.

35 9. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 7, donde el ácido del tiol es ácido tiobenzoico.

10. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores que además comprende la etapa de incorporación de marcadores fluorescentes al péptido cíclico mediante apertura nucleófila del anillo del resto de aziridina.

40

11. Compuesto de acuerdo con la fórmula general siguiente:



donde,

- R^1 y R^n se seleccionan independientemente de un grupo de cadena lateral de aminoácido y R^2 es un grupo alquilo. 5
 - 12. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 11, donde R² es un grupo butilo terciario.
 - 13. Compuesto que tiene una fórmula de acuerdo con la fórmula (I) a (VII):

10



Fórmula (III)



Fórmula (V)



Fórmula (VII)

ŇН

Н

^tBu

I ŅН

O


Fórmula (I)



Fórmula (II)



Fórmula (III)



Fórmula (IV)



Fórmula (V)



Fórmula (VI)



Fórmula (VII)





Reacción cruda a partir de L-Leu



Figura 1. Comparación del espectro RMN ¹H entre mezclas de reacción crudas usando isómeros de isoleucina



Figura 2. La reacción incompatible solo lleva a productos aminales.



Figura 3. La reacción compatible es rápida y tiene un rendimiento alto



Figura 4. Estructuras químicas de los productos cíclicos sintetizados mediante los Procedimientos 1-3



Figura 5. Espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 1



Figura 6. Espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 2



Figura 7. Espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 3



Figura 8. Espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 4



Figura 9. Espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 5



Figura 10. Espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 6



Figura 11. Espectro RMN 1 H y 13 C para el producto cíclico 7



Figura 12. Espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 8



Figura 13. Espectro RMN ¹H para el producto cíclico 9



Figura 14. Espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 10



Figura 15. Espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 11



Figura 16. Espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 12



Figura 17. Espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 13



Figura 18. Espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 14



Figura 19. Espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 15



Figura 20. Espectro RMN ¹H, COSY y ¹³C para producto cíclico 16



Figura 20. Continuación



Figura 21. Espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 17



Figura 22. Espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 18



Figura 23. Espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 19



Figura 24. Espectro RMN 1H y 13C para el producto cíclico 20



Figura 25. Espectro RMN ¹H y ¹³C para el producto cíclico 21



Figura 26. Espectro RMN 'H y COSY para producto cíclico 22



Figura 27. Espectro RMN ¹H para producto cíclico 23



Figura 28. Análisis crudo LC-MS(ESI) de la ciclación mediada por HATU de Pro-Gly-Gly-Gly a 0,2 M



Figura 29. Análisis LC-MS(ESI) de la ciclación mediada por isocianuro/aminoaldheído de Pro-Gly-Gly-Gly a 0,2 M.



Figura 30. Apertura nucleófila del anillo de péptidos cíclicos que contienen aziridina



Figura 31. pKa de los tioles e iones amonio y DpKa de los pares iónicos


Figura 32. Mezcla de reacción cruda de un producto tiol abierto