

Síntesi total de productes marins amb l'estructura triptòfan-pirroloindole

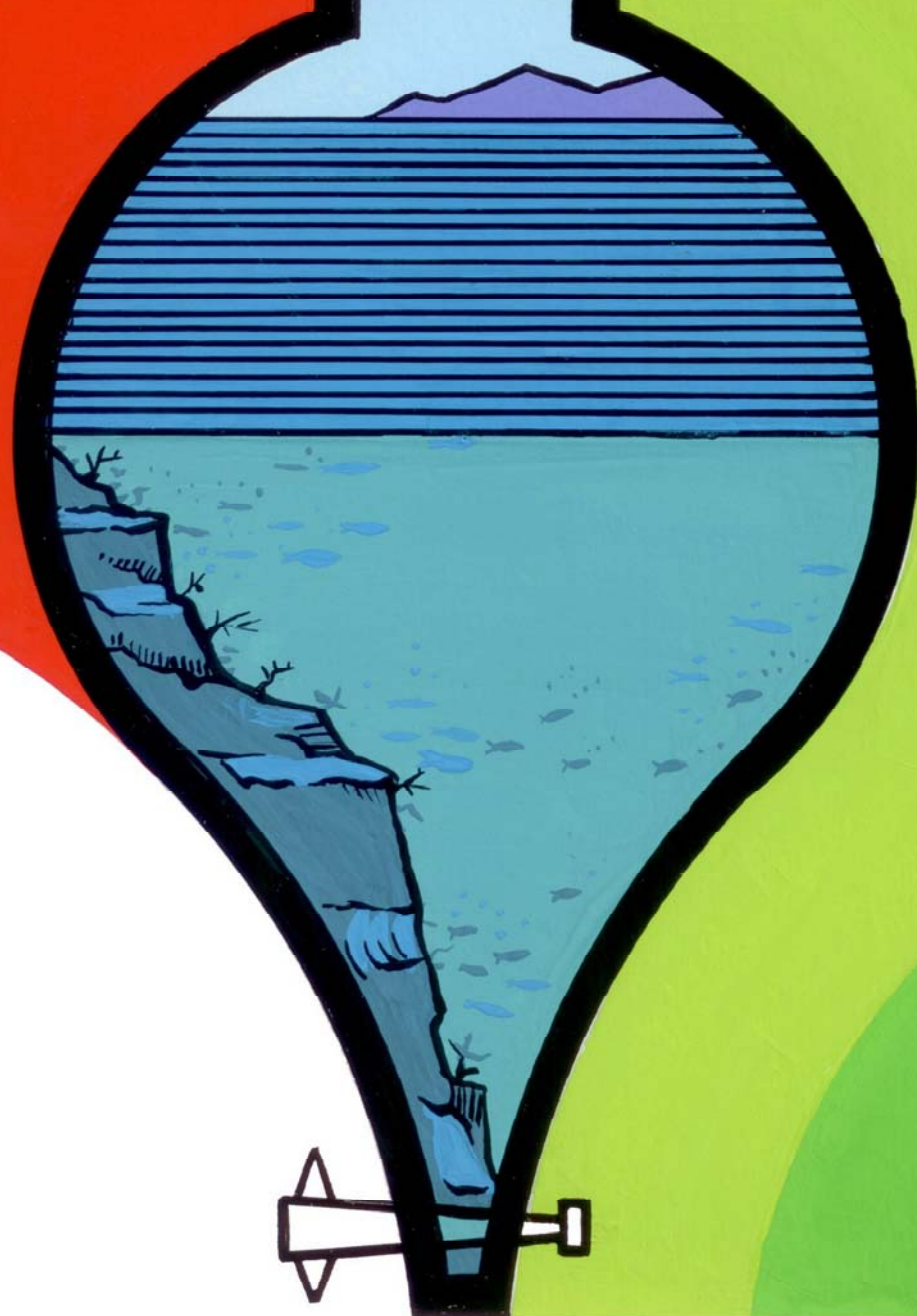
Pau Ruiz Sanchis

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

PAU RUIZ SANCHIS



**SÍNTESI TOTAL
DE PRODUCTES MARINS
AMB L'ESTRUCTURA
TRIPTÒFAN-PIRROLOINDOLE**

UNIVERSITAT DE BARCELONA

FACULTAT DE FARMÀCIA

DEPARTAMENT DE FARMACOLOGIA I QUÍMICA TERAPÈUTICA

**SÍNTESI TOTAL DE PRODUCTES MARINS AMB
L'ESTRUCTURA TRIPTÒFAN-PIRROLOINDOLE**

Pau Ruiz Sanchis

2011





UNIVERSITAT DE BARCELONA

FACULTAT DE FARMÀCIA

DEPARTAMENT DE FARMACOLOGIA I QUÍMICA TERAPÈUTICA

SÍNTESI TOTAL DE PRODUCTES MARINS AMB L'ESTRUCTURA

TRIPTÒFAN-PIRROLOINDOLE

Memòria presentada per:

Pau Ruiz Sanchis

per optar al títol de Doctor per la Universitat de Barcelona.

Programa de doctorat: QUÍMICA ORGÀNICA EN LA INDÚSTRIA QUÍMICO FARMACÈUTICA

Bienni 2006-2008

Dirigida per:

Dra. Mercedes Álvarez Domingo

Dr. Fernando Albericio Palomera

Barcelona, 2011

*Al meu abuelo,
a mos pares, a Llam
i a Lore.*

El treball descrit en aquesta memòria s'ha realitzat a l'Institut de Recerca Biomèdica de Barcelona (IRBB) ubicat al Parc Científic de Barcelona. Aquest treball ha gaudit dels següents ajuts:

Projecte "Combiestrategias para el Descubrimiento de Nuevos Fármacos Peptídicos y/o Heterocíclicos" finançat per la Comissió de Ciència i Tecnologia (CTQ2009-07758/BQU). Grup de recerca reconegut per la Generalitat de Catalunya, Química Combinatòria per al Desenvolupament de Nous Compostos (2009SGR 1024). Centro de Investigación Biomédica en Red, de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN 0074) finançat pel Ministerio de Sanidad y Consumo a través de l'Institut de Salud Carlos III. Conveni PharmaMar S.A. – Parc Científic de Barcelona amb el projecte "Síntesis de Nuevos Agentes Terapéuticos".

P.R.S. ha rebut una beca predoctoral de l'IRBB (02/06-IRB).

ÍNDEX GENERAL

ÍNDEX D'ABREVIATURES.....	v
ÍNDEX DE COMPOSTOS	vii
AMINOÀCIDS, AGENTS D'ACOBLAMENT I GRUPS PROTECTORS	xi

INTRODUCCIÓ I OBJECTIUS

1	Introducció	3
1.1	Productes naturals d'origen marí.....	6
1.2	Estructures dels productes naturals amb l'hexahidropirrol[2,3- <i>b</i>]indole.....	9
1.3	Mayotlida	14
2	Objectius	17

CAPÍTOL 1. Grups Protectors Ortogonals en la Síntesi del Triptòfan-Hexahidropirrolindole

1	Introducció	21
2	Síntesi del Br-HPI.....	21
2.1	Ruta A	24
2.2	Ruta B	26
2.3	Comparació de les rutes A i B.....	27
3	Sistema Trp-HPI.....	29

CAPÍTOL 2. Síntesi Total de la Mayotlida

1	Introducció	37
2	Síntesi i estereoquímica de l'anell A	37
2.1	Ciclació per l'enllaç Trp-HPI.....	38
2.2	Ciclació per l'enllaç Ile-HPI	41
2.3	Ciclació per l'enllaç Trp-Ile	42

2.4	Estereoquímica de l'anell A.....	44
3	Síntesi de la cadena pentapeptídica	45
4	Ciclació de l'anell B i formació de la mayotlida.....	47
4.1	Aproximació sintètica a la mayotlida amb 26 . Desprotecció del Moc.....	48
4.2	Aproximació sintètica a la mayotlida amb 29	49

CAPÍTOL 3. Estudi de la Relació Estructura-Activitat de la Mayotlida

1	Introducció	55
2	Activitat de la mayotlida	56
2.1	Anell A	56
2.2	Anàlegs de la mayotlida	57

CONCLUSIONS	63
-------------------	----

EXPERIMENTAL

1	Materials	67
1.1	Instruments	67
1.2	Dissolvents	68
1.3	Reactius	68
2	Mètodes	68
2.1	Cromatografia	68
2.2	Tests d'identificació en fase sòlida.....	69
2.3	Espectrometria de masses	70
2.4	Espectrometria d'RMN.....	71
2.5	Espectrometria d'infraroig	71
3	Capítol 1	71
3.1	Síntesi de 2	71
3.2	Síntesi dels anàlegs N^α, N^i -protegit-Trp esters alquílics (3)	75
3.3	Síntesi d' 1,2,3,3a,8,8a-hexahidropirrolo[2,3- <i>b</i>]indole	80
3.4	Síntesi de 6	82

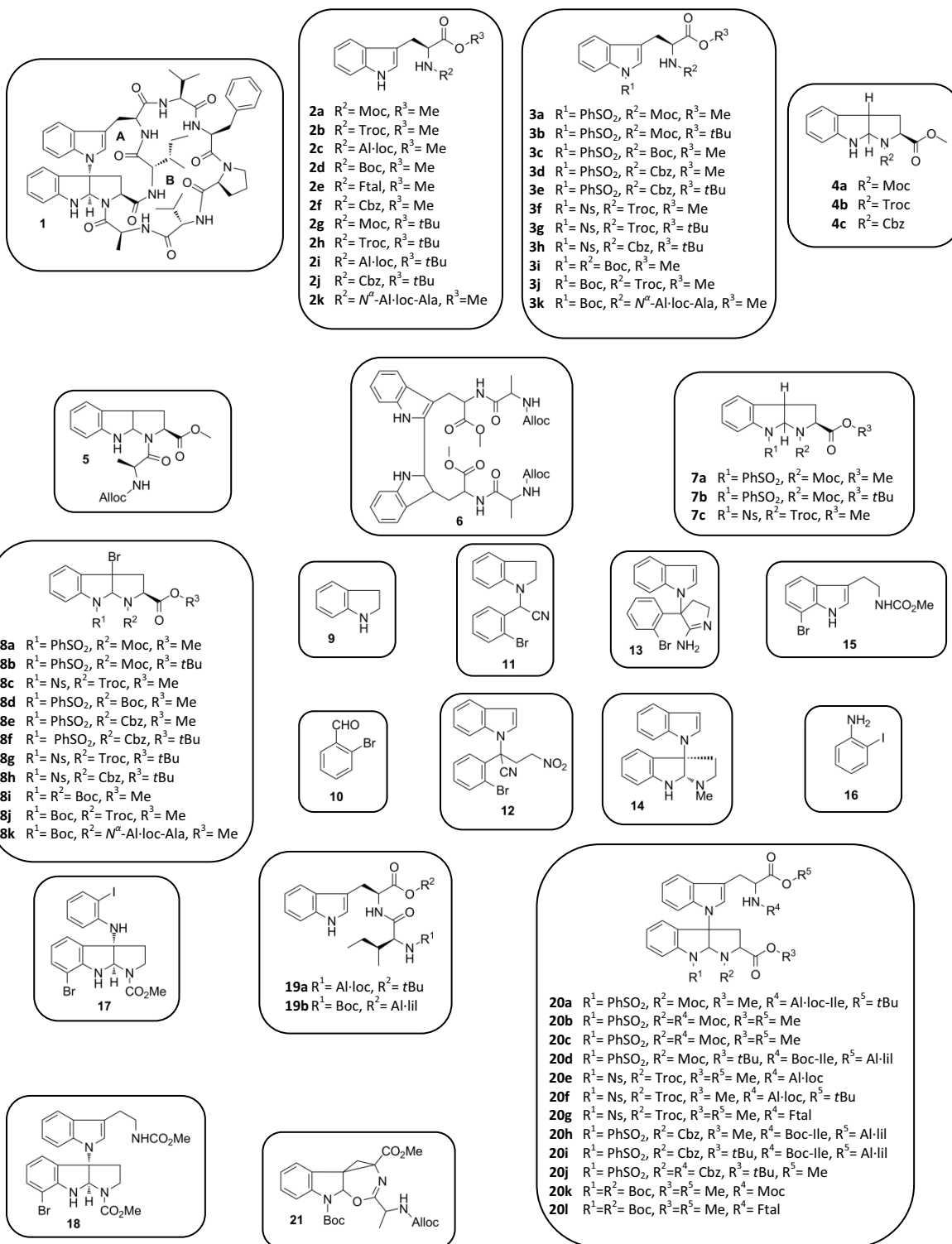
3.5	Síntesi dels anàlegs N^{β} -protegits-HPI-2-carboxilat de metil (7)	82
3.6	Procediment general per a la síntesi de 3a-bromo-HPI-2-carboxilat d'alquil.....	84
3.7	Síntesi de 19	92
3.8	Mètode general per a la síntesi de 20	94
3.9	Síntesi de 21	100
4	Capítol 2.	101
4.1	Síntesi de l'anell A	101
4.2	Síntesi del N^{α} -Boc-Val-Phe-Pro-Val-Ala-OAl·lil (33).....	109
4.3	Ciclació de l'anell B i formació de la mayotlida.....	111
5	Capítol 3.	114
5.1	Assaig de GI50	114
5.2	Síntesi de 38	115
5.3	Síntesi de Trp-Ile-Trp-Val-Phe-Pro-Val-Ala-OH (42)	116
5.4	Síntesi del cicle Trp-Ile-Trp-Val-Phe-Pro-Val-Ala (40).....	117
	ANNEX 1. Article publicat	119
	ANNEX 2. Article enviat per a publicar.....	143
	ANNEX 3. Espectres d'RMN.....	CD

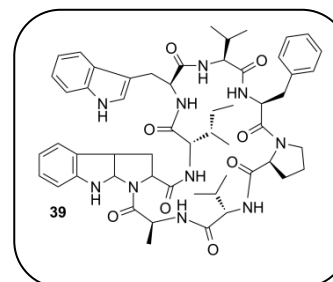
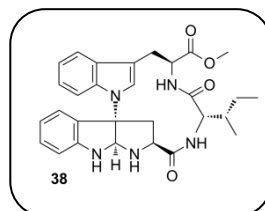
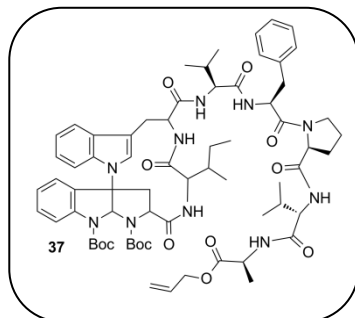
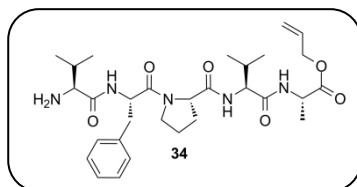
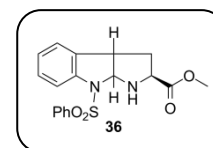
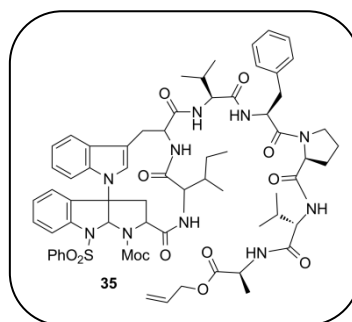
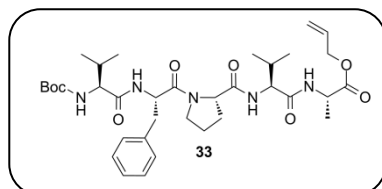
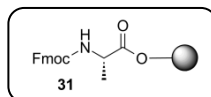
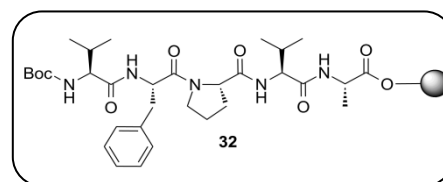
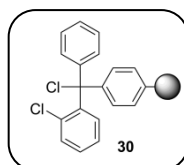
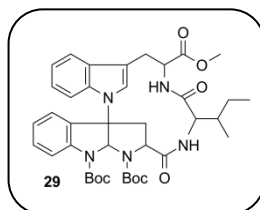
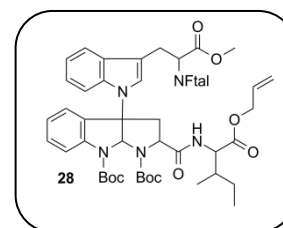
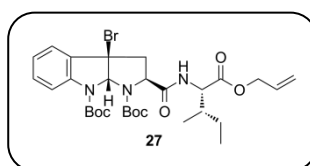
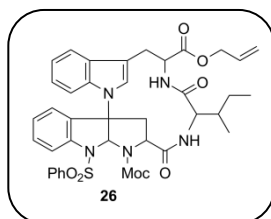
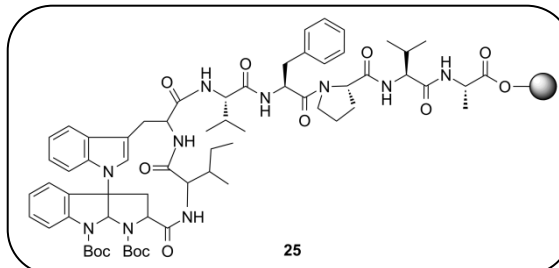
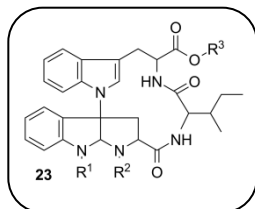
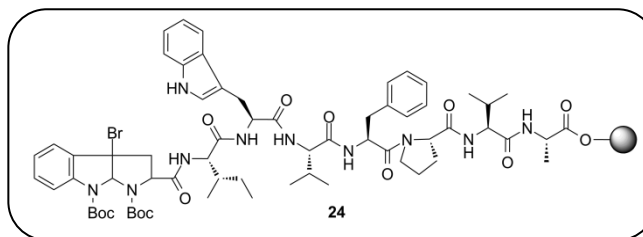
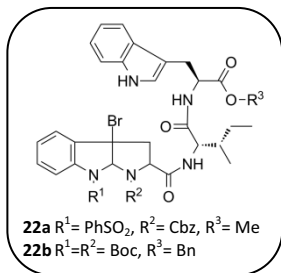
ÍNDEX D'ABREVIATURES

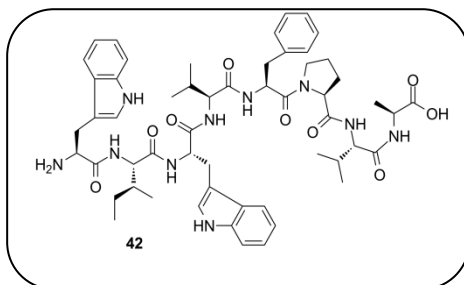
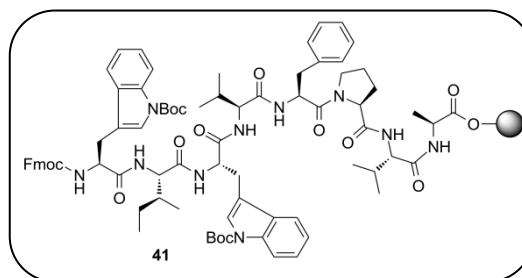
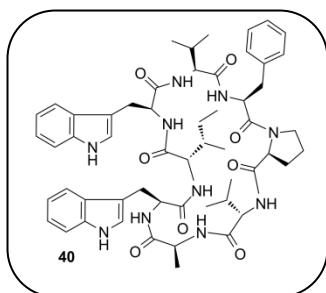
A-549	Línia cel·lular humana de càncer de pulmó	EDC	1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
aa	Aminoàcid	EMA	European Medicines Agency
abs.	Absolut	ESI	Ionització amb electroesprai
AIBN	2,2'-Azobisisobutironitril	FDA	Food and Drug Administration
Ala	L-Alanina	Fmoc	Fluorenilmetiloxicarbonil
Al·loc	Al·liloxicarbonil	Ftal	Ftalimida
anh.	Anhidre	gHSQC	Heterocorrelació via detecció inversa
Boc	<i>tert</i> -Butoxicarbonil	HATU	Hexafluorofosfat de 2-(1 <i>H</i> -7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluroni
Br-HPI	3a-Bromo-HPI	HBTU	Hexafluorofosfat de 2-(1 <i>H</i> -benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluroni
bs	Senyal ampla	HMPA	Hexametilfosforamida
Cbz	Benziloxicarbonil	HOAt	1-Hidroxi-7-azabenzotriazol
CCF	Cromatografia de capa fina	HOBt	Hidroxibenzotriazol
d	Doblet	HPI	1,2,3,3a,8,8a-Hexahidropirrol[2,3- <i>b</i>]indole
DCM	Diclorometà	HPLC	Cromatografia líquida d'alta resolució
DCP	Dicetopiperazina	HRMS	Espectroscòpia de masses d'alta resolució
DDQ	2,3-Dicloro-5,6-dicianobenzoquinona		
DIEA	<i>N,N</i> -Diisopropiletilamina		
DIPC	<i>N,N'</i> -Diisopropilcarbodiimida		
DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamida		
DMSO	Dimetilsulfòxid		

HT-29	Línia cel·lular humana de càncer de colon	PyAOP	Hexafluorofosfat de (7-azabenzotriazol-1-iloxi)-trispírrolidinofosfoni
HTS	Bioanàlisi d'alt rendiment		
Ile	L-Isoleucina	PyOxP	Hexafluorofosfat de O-[(ciano-(etoxicarbonil)metiliden)-amino]-iloxitripírrolidinofosfoni
IR	Infraroig		
LIMS	Sistema de gestió d'informació del laboratori	Red-Al	Bis(2-metoxietoxi)aluminhidrur de sodi
m	Multiplet	RMN	Ressonància magnètica nuclear
MDA-MB-231	Línia cel·lular humana de càncer de mama	RPMI	Medi Roswell Park Memorial Institute
Moc	Metoxicarbonil	s	Singlet
MTBE	Metil <i>terc</i> -butil èter	sat.	Saturat
MW	Microones	SRB	Sulfurodamina B
NBS	<i>N</i> -Bromosuccinimida	t	Triplet
NHMDS	Bis(trimetilsilil)amidur de sodi	t.a.	Temperatura ambient
NIS	<i>N</i> -Iodosuccinimida	TEA	Trietilamina
NOE	Efecte nuclear Overhauser	TFA	Àcid trifluoroacètic
Ns	2-Nitrofenilsulfonil	THF	Tetrahidrofurà
PDA	Photodiode array	TMSI	Iodur de trimetilsilil
Phe	L-Fenilalanina	Tr	Trifenilmetil (tritol)
Pip	Piperidina	Troc	2,2,2-Tricloroetoxicarbonil
PNZ	<i>p</i> -Nitrobenziloxicarbonil	Trp	L-Triptòfan
PPTS	<i>p</i> -Toluensulfonat de piridini	UV	Ultraviolat
Pro	L-Prolina	Val	L-Valina
py	Piridina	VLC	Cromatografia líquida amb buit

ÍNDICE DE COMPOSTOS

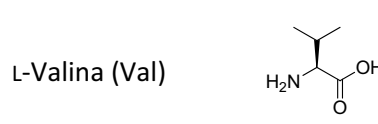
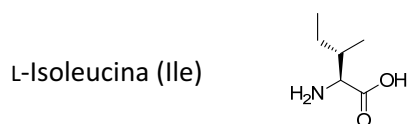
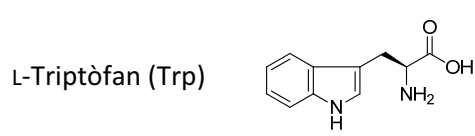
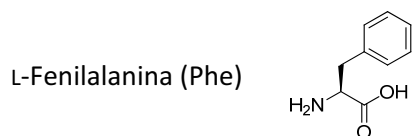
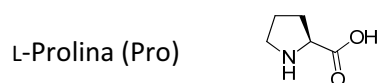
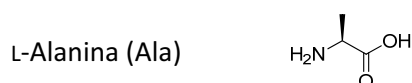






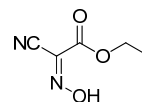
AMINOÀCIDS, AGENTS D'ACOBLEMENT I GRUPS PROTECTORS

1.1 Aminoàcids



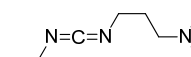
1.2 Agents d'acoblament

2-Ciano-2-hidroximinoacetat d'etil



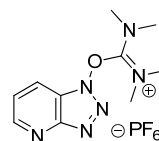
EDC

1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida



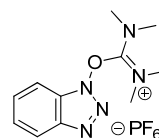
HATU

Hexafluorofosfat de 2-(1*H*-7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluroni



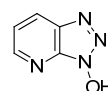
HBTU

Hexafluorofosfat de 2-(1*H*-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluroni

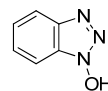


HOAt

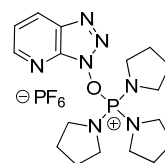
1-Hidroxí-7-azabenzotriazol



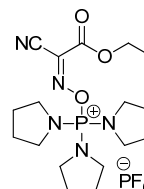
HOBt
Hidroxibenzotriazol



PyAOP
Hexafluorofosfat de (7-azabenzotriazol-1-
iloxi)-tripirrolidinofosfoni

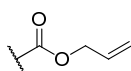


PyOxP
Hexafluorofosfat de *O*-[(ciano-
(etoxicarbonil)metiliden)-amino]-
iloxitripirrolidinofosfoni

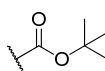


1.3 Grups protectors

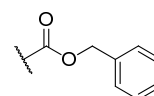
Al-loc
Al·liloxicarbonil



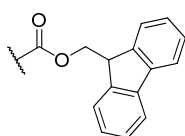
Boc
tert-Butoxicarbonil



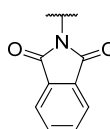
Cbz
Benziloxicarbonil



Fmoc
Fluorenilmetiloxicarbonil



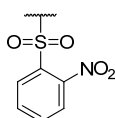
Ftal
Ftalimida



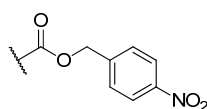
Moc
Metoxicarbonil



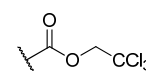
Ns
2-Nitrofenilsulfonil



PNZ
p-Nitrobenziloxicarbonil



Troc
2,2,2-Tricloroetoxicarbonil



Experimental

1 Materials

1.1 Instruments

- Balances
 - Mettler Toledo PB3002-S, 2 xifres significatives.
 - Mettler Toledo AB204-S, 4 xifres significatives.
 - Mettler Toledo AT261 Detlarange, 5 xifres significatives.
- Centrifugues
 - Beckman Coulter, Allegra 21R Centrifuge.
- Liofilitzador
 - VirTis Freezemobile 12 EL.
- Rotavapors
 - Heidolph Laborota 4003-Control
- HPLC-PDA
 - Analític: mòdul de separació Waters Alliance 2695 i detector PDA Waters 996.
 - Semipreparatiu: equip compost pels mòduls Waters Controller 600, Waters Sample Manager 2700, Waters 2487 Dual Absorbance Detector (a 220 i 254 nm) i Waters Fraction Collector II.
- HPLC-MS
 - Equip compost pel mòdul Waters Separation Module 2695, Waters PDA 2998, Waters Micromass ZQ 4000.
- Cromatografia automàtica de mitja pressió
 - Teledyne Isco Combiflash® R_F
- Sintetitzador automàtic de pèptids acoblat a microones
 - Liberty™
- Assecador de dissolvents (THF i DMF)
 - Innovative Technology Pure-Solv
- Microones
 - CEM Discover MW

1.2 Dissolvents

Els dissolvents més utilitzats en aquesta tesi han sigut:

Taula e.1. Dissolvents emprats més comuns.

Dissolvent	Qualitat	Casa comercial
EtOAc	Analítica	SDS
DCM	Analítica	SDS
Hexà	Analítica	SDS
MeCN	HPLC	SDS
MeOH	HPLC	SDS
DMF	Síntesi peptídica	SDS
	HPLC	Scharlau
THF	HPLC	Scharlau
H₂O	Mili-Q	Millipore

1.3 Reactius

Els aminoàcids emprats són de les cases comercials Novabiochem i Iris Biotech.

La resta de reactius utilitzats són de distintes cases: Sigma-Aldrich, Bachem, Alfa Aesar, Merck,... Quan ha sigut necessari s'han purificat seguint el llibre *Purification of Laboratory Chemicals* (Armarego, W. i Chai, C.; Elsevier; 2003).

2 Mètodes

2.1 Cromatografia

2.1.1 Cromatografia en capa fina (CCF)

La CCF s'ha realitzat en cromatofolis de gel de sílice amb indicador de fluorescència a 254 nm sobre suport d'alumini.

El revelat d'aquestes capes s'ha fet segons la naturalesa dels compostos estudiats:

- UV: la llum d'ultraviolada ens permet detectar grups aromàtics/cromòfors.
- Ninhidrina: útil per detectar grups amino lliures. El reactiu és una dissolució de ninhidrina al 0,5% en acetona.

- Permanganat: oxidant. La dissolució es prepara amb 40 g de K_2CO_3 i 6 g de $KMnO_4$ en 600 mL de H_2O ; després s'afegeix 5 mL de NaOH al 10%.

2.1.2 Cromatografia en columna

2.1.2.1 Manual

Per a la cromatografia en columna s'ha utilitzat gel de sílice (60A 35-70 μm , SDS). La columna es carrega amb 30 g de sílice per cada gram de cru a purificar.

2.1.2.2 Automàtica

En aquestes purificacions s'han utilitzat columnes preempaquetades Redisep sílice gel (47 a 60 μm) o Bondersil- C_{18} (40 μm), de diferents mides segons la quantitat de cru per purificar.

2.1.3 Cromatografia líquida d'alta resolució (HPLC)

Aquesta cromatografia s'ha emprat a escala analítica i semipreparativa. Les columnes emprades han sigut:

- Analítica: Flux d'1 mL/min. Elució amb H_2O (0,045% TFA) i MeCN (0,036% TFA).
 - Waters XBridge C_{18} (75 x 4,6 mm, 2,5 μm)
 - Waters SunFire C_{18} (100 x 4,6 mm, 3,5 μm)
 - Waters Symmetry C_{18} (150 x 4,6 mm, 5 μm)
- Semipreparativa: Flux de 15 mL/min. Elució amb H_2O (0,1% TFA) i MeCN (0,1% TFA).
 - Waters SunFire Prep. C_{18} (19 x 100 mm, 5 μm)
 - Waters XBridge Prep. C_{18} (19 x 100 mm, 5 μm)

2.2 Tests d'identificació en fase sòlida

2.2.1 Test qualitatiu de Kaiser o de ninhidrina¹

El test de ninhidrina indica de manera qualitativa la presència de grups amino primaris en una resina. S'ha utilitzat en el control de les etapes d'acoblament i de desprotecció d'aminoàcids en la síntesi de pèptids en fase sòlida.

Aquest test requereix dos reactius:

¹ E. Kaiser, R.L. Collescott, C.D. Bossinger, P.I. Cook *Anal. Biochem.*, **1970**, 34, 595.

- Reactiu A: s'addicionen 2 mL d'una dissolució de KCN (65 mg) en H₂O (100 mL) sobre 100 mL de piridina acabada de destil·lar sobre ninhidrina. D'altra banda s'escalfa una dissolució de fenol (40 g) en EtOH (10 mL). Llavors, s'afegeixen 4 g de resina Amberlite MB-3 a ambdues dissolucions i s'agiten durant 45 min. Finalment es filtren i es mesclen les dues dissolucions fornint el reactiu A.
- Reactiu B: és una dissolució de ninhidrina (2,5 g) en EtOH (50 mL). Aquest reactiu cal protegir-lo de la llum i desar-lo preferentment sota atmosfera d'argó.

Per realitzar l'assaig es fica una mica de peptidil-resina mullada en DCM en un tub d'assaig petit. S'addicionen 6 gotes de reactiu A i 2 gotes del B, es barreja i s'escalfa a 110 °C durant 1 min. Llavors es refreda el tub i s'observa el color:

- Ninhidrina positiva: la resina o el sobrenedant presenten una coloració blava o blau-verdosa. Indica la presència d'amines primàries.
- Ninhidrina negativa: la coloració groga assegura l'absència d'amines primàries.

2.2.2 Test qualitatiu de cloranil²

El test de cloranil s'utilitza en els acoblament sobre amines secundàries.

El reactiu en aquest cas és una dissolució saturada de 2,3,5,6-tetracloro-1,4-benzoquinona (0,75 g) en toluè (25 mL).

L'assaig es realitza amb una mica de peptidil-resina mullada en DCM dins d'un tub d'assaig. Llavors s'afegeix 20 gotes d'acetona, 5 gotes del reactiu de cloranil i s'agita durant 5 minuts a t.a.

- Cloranil positiu: la resina presenta una coloració blau-verdosa. Indica la presència d'amines secundàries.
- Cloranil negatiu: la resina no ha canviat de color i, per tant, no hi ha amines secundàries.

2.3 Espectrometria de masses

Els experiments d'Espectrometria de Masses d'Alta Resolució (HRMS) s'han realitzat en un equip Acquity UPLC Binary Sol MGR (Waters-Corporation) en la Plataforma Científica d'Espectrometria de Masses de l'IRBB, i en un equip Bruker Autoflex en el Servei d'Espectrometria de Masses de la Universitat de Barcelona.

² T. Christensen *Acta Chem. Scand.*, **1979**, 33B, 763.

2.4 Espectrometria d'RMN

Els experiments de Ressonància Magnètica Nuclear s'han realitzat en la Unitat de RMN de la UB. Els equips emprats han sigut:

- Gemini 200 Mhz (^1H RMN de 200 MHz i ^{13}C de 50 MHz).
- Varian Mercury 400 Mhz (^1H RMN de 400 MHz i ^{13}C de 100 MHz).
- Varian VNMR5 500 Mhz (^1H RMN de 500 MHz i ^{13}C de 125 MHz).
- Bruker DMX 500 Mhz (^1H RMN de 500 MHz i ^{13}C de 125 MHz).

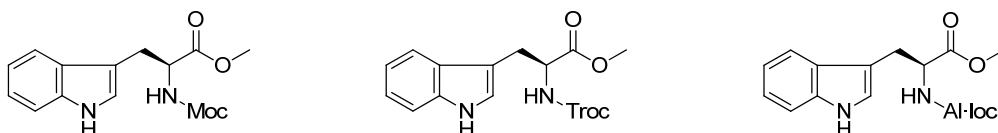
2.5 Espectrometria d'infraroig

Els espectres d'IR s'han obtingut en un equip Thermo Nicolet FT-IR spectrometer

3 Capítol 1. Grups protectors ortogonals en la síntesi del triptòfan-hexahidropirroloindole

3.1 Síntesi de 2

3.1.1 N^α -Moc-Trp-OMe (**2a**),³ N^α -Troc-Trp-OMe (**2b**)⁴ i N^α -Al·loc-Trp-OMe (**2c**)⁴



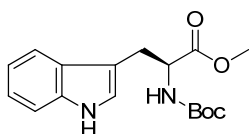
Una dissolució de L-Trp-OMe·HCl (5,4 g, 21,2 mmol), TEA (7,4 mL, 53,0 mmol) en DCM anhidre (95 mL) fou afegida lentament a una dissolució de l'apropiat cloroformat (1,5 eq) en DCM anhidre (64 mL) refredada amb un bany de gel. La barreja de reacció s'agità durant 2 hores a temperatura ambient. La dissolució orgànica es rentà amb NaCl saturat i es secà amb Na_2SO_4 anhidre. El dissolvent es va evaporar i el cru es va purificar amb columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc 70:30) per obtenir el compost desitjat (**2a**, 95%; **2b**, 99%; **2c**, 84%).

Les dades espectroscòpiques de **2a**,³ **2b**⁴ i **2c**⁴ coincideixen amb les descrites.

³ Y. Ito, H. Ushitora *Tetrahedron*, **2006**, 62, 226

⁴ P.S. Baran, B.D. Hafensteiner, N.B. Ambhaikar, C.A. Guerrero, J.D. Gallagher *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 8678.

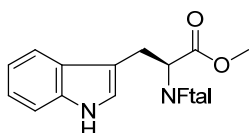
3.1.2 N^{α} -Boc-Trp-OMe (**2d**)⁵



El procediment és idèntic a l'anterior però les quantitats emprades de reactius foren: L-Trp-OMe·HCl (0,5 g, 2,0 mmol), TEA (0,41 mL, 3,0 mmol) i dicarbonat de di-*terc*-butil (0,51 g, 2,4 mmol). El cru es purificà amb una columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc 60:40) i s'obtingué **2d** (0,5 g, 99%).

Les dades espectroscòpiques de **2d**, coincideixen amb les descrites.⁵

3.1.3 N^{α} -Ftal-Trp-OMe (**2e**)⁶

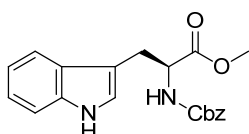


TEA (25,1 mL, 180,0 mmol) s'addicionà lentament en una mescla de L-Trp-OMe·HCl (9,2 g, 36,0 mmol) en DCM anhidre (108 mL). La dissolució resultant s'agità a t.a. durant 5 hores. Després es va rentar amb NaHCO₃ sat., es va assecar amb MgSO₃ anhidre i es va concentrar, obtenint un cru (8,6 g).

Aquest es barrejà amb anhídrid ftàlic (5,8 g, 36,0 mmol). S'escalfà el baló fins 150 °C, mentre es mesclaven els reactius amb una vareta de vidre fins que són suficientment líquids com per poder afegir un nucli. La reacció s'agità durant 1,5 h a 150 °C. Aleshores, es va deixar refredar a t.a. i es va afegir DCM. Es rentà amb NH₄Cl saturat, NaHCO₃ saturat, s'assecà amb Na₂SO₄ i es concentrà. El cru (11,8 g) obtingut es va purificar amb columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc 60:40) fornint el compost **2e** (11,1 g, 88%).

Les dades espectroscòpiques de **2e**, coincideixen amb les descrites.⁶

3.1.4 N^{α} -Cbz-Trp-OMe (**2f**)⁷



⁵ G. Cardillo, L. Gentilucci, C. Tomasini, L. Tomasoni *Tetrahedron: Assym.*, **1995**, 6, 1947

⁶ M. Bodansky, A. Bodansky *The Practice of Peptide Synthesis*, Springer-Verlag, **1984**, 10.

⁷ T. Mukai, N. Suganuma, K. Soejima, J. Sasaki, F. Yamamoto, M. Maeda *Chem. Pharm. Bull.*, **2008**, 56, 260

Una dissolució de L-Trp-OMe·HCl (5,6 g, 22,1 mmol) i NaOH 2M (11,1 mL, 22,1 mmol) en dioxà (26,5 mL) es refredà amb un bany de gel. Llavors, se li afegí ClCO₂Bn (3,4 mL, 24,3 mmol) i NaOH 2M (11,1 mL, 22,1 mmol) i es va agitar durant 20 minuts. Passat el temps, es va diluir amb EtOAc i la fase aquosa es va extraure amb més EtOAc. Les fases orgàniques combinades es rentaren amb HCl 1M i NaCl saturat; s'assecaren amb Na₂SO₄ i s'evaporaren al buit. El cru es va purificar amb una columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc des de 70:30 fins 60:40) fornint **2f** (7,4 g, 95%).

Les dades espectroscòpiques de **2f**, coincideixen amb les descrites.⁷

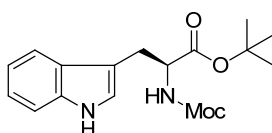
3.1.5 Síntesi dels anàlegs *N*^α-protegit-Trp-OtBu (**2g-2j**)⁸

Hidròlisi de l'ester metílic. *N*^α-protegit-Trp-ester metílic (1 mmol) es dissolgué en una mescla THF:H₂O 10:1 (17 mL) i LiOH 2M (1,5 mL, 3 mmol) fou afegit; la dissolució es barrejà a t.a. durant 2 h. Aleshores es diluí amb H₂O i s'acidificà amb HCl 2N fins pH 5. La fase aquosa es va saturar amb NaCl i les fases es separaren. La fase aquosa s'extragué amb més THF. Les fases orgàniques es combinaren, s'assecaren amb Na₂SO₄ i es concentraren en el rotavapor per donar l'àcid carboxílic amb un rendiment quantitatiu.

Formació de l'ester terc-butílic. Una barreja de l'àcid anterior (3 mmol), BnEt₃NCl (0,68 g, 3 mmol) i K₂CO₃ (2,7 g, 19,5 mmol) en MeCN (9 mL) fou agitat vigorosament durant 5 hores a t.a. Llavors, fou afegit tBuBr (3,4 mL, 30 mmol) i la barreja de reacció s'escalfà a 50 °C. Després de 2 h es va afegir més MeCN (4,5 mL) i l'agitació i calefacció es van mantenir durant 24 hores. Transcorregut el temps, el dissolvent s'evaporà i el sòlid resultant es dissolgué en una barreja de EtOAc:H₂O 2:1. La fase aquosa s'extragué amb més EtOAc. Les fases orgàniques combinades es rentaren amb NaCl saturat, es secaren amb Na₂SO₄ i el dissolvent fou evaporat al buit, donant el *N*^α-protegit-Trp carboxilat de *terc*-butil. (**2g**, 58%; **2h**, 55%; **2i**, 40%, **2j**, 84%).

Les dades espectroscòpiques de **2j**, coincideixen amb les descrites.⁸

3.1.5.1 *N*^α-Moc-Trp-OtBu (**2g**)



¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 1,38 (s, 9H); 3,19-3,33 (m, 2H); 3,65 (s, 3H); 4,61 (dd, *J* = 5,7 i 13,3 Hz, 1H); 5,25 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H); 7,01 (s, 1H); 7,12 (dd, *J* = 7,0 i 7,9 Hz, 1H); 7,19 (dd, *J* = 7,0 i 8,1 Hz, 1H); 7,34 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H); 7,61 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H); 8,17 (bs, 1H).

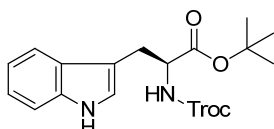
⁸ G.W. Anderson, F.M. Callahan *US3325466 (A)*, **1967**, United States

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 27,9 (3q); 28,0 (t); 52,2 (q); 54,9 (d); 82,0 (s); 110,3 (s); 111,1 (d); 118,8 (d); 119,5 (d); 122,1 (d); 122,6 (d); 127,7 (s); 136,0 (s); 156,5 (s); 171,2 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 3348, 2979, 1708, 1514, 1458, 1368, 1230, 1155, 1074, 911, 742.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_4$ m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) 319,1652, trobada 319,1656.

3.1.5.2 N^α -Troc-Trp-OtBu (2h)



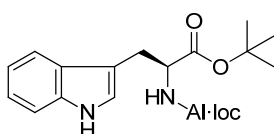
^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 1,39 (m, 9H); 3,22-3,40 (m, 2H); 4,59-4,72 (m, 1H); 4,65 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H); 4,79 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H); 5,57 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H); 7,03 (bs, 1H); 7,13 (dd, $J = 7,3$ i 7,6 Hz, 1H); 7,20 (dd, $J = 7,3$ i 7,8 Hz, 1H); 7,35 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H); 7,62 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H); 8,11 (bs, 1H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 27,9 (3q i t); 55,2 (d); 74,5 (t); 82,4 (s); 95,4 (s); 110,1 (s); 111,1 (d); 118,9 (d); 119,6 (d); 122,2 (d); 122,7 (d); 127,7 (s); 136,0 (s); 153,9 (s); 170,5 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 3409, 2979, 1720, 1508, 1457, 1369, 1227, 1155, 1095, 1045, 819, 740.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4\text{Cl}_3$ m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) 435,0640, trobada 435,0651.

3.1.5.3 N^α -Al·loc-Trp-OtBu (2i)



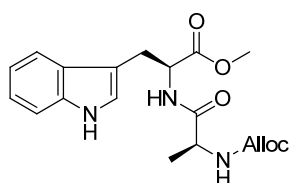
^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 1,38 (s, 9H); 3,24 (dd, $J = 5,9$ i 15,1 Hz, 1H); 3,30 (dd, $J = 5,9$ i 15,1 Hz, 1H); 4,56 (d, $J = 5,4$ Hz, 2H); 4,59-4,65 (m, 1H); 5,19 (d, $J = 10,4$ Hz, 1H); 5,23-5,33 (m, 1H); 5,83-5,95 (m, 1H); 7,01 (s, 1H); 7,12 (dd, $J = 7,1$ i 7,8 Hz, 1H); 7,19 (dd, $J = 7,1$ i 8,1 Hz, 1H); 7,34 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H); 7,61 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H); 8,18 (bs, 1H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 27,9 (3q); 28,0 (t); 54,9 (d); 65,6 (t); 82,0 (s); 110,3 (s); 111,1 (d); 117,6 (t); 118,9 (d); 119,5 (d); 122,1 (d); 122,6 (d); 127,7 (s); 132,7 (d); 136,0 (s); 155,7 (s); 171,1 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 3355, 2979, 1714, 1511, 1370, 1230, 1157, 1056, 995, 743.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_4$ m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) 345,1809, trobada 345,1815.

3.1.6 Síntesi de l' N^{α} -Al·loc-L-Ala-L-Trp-OMe (**2k**)



EDC·HCl (7,6 g, 39,6 mmol) i HOBT (5,3 g, 39,6 mmol) s'afegiren a una dissolució d'Al·loc-L-Ala (6,7 g, 38,8 mmol) en DCM:DMF (1:1, 58 mL). La mescla es remenà i s'addicionà una dissolució de L-Trp-OMe·HCl (9,9 g, 38,8 mmol) i DIEA (6,9 mL, 77,6 mmol). La reacció s'agità durant 4,5 h a t.a. La fase orgànica es rentà amb NH_4Cl saturat, NaHCO_3 10% i H_2O , s'assecà amb Na_2SO_4 i s'evaporà el dissolvent. El cru es purificà amb columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc des de 80:20 fins 50:50) per donar el compost **2k** (11,2 g, 77%).

^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 1,30 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H); 3,30 (d, $J = 5,4$ Hz, 2H); 3,66 (s, 3H); 4,18-4,28 (m, 1H); 4,41-4,56 (m, 2H); 4,90 (dt, $J = 5,4$ Hz, 1H); 5,15-5,30 (m, 2H); 5,37 (d, $J = 6,4$ Hz, 1H); 5,79-5,92 (m, 1H); 6,65 (d, $J = 6,5$ Hz, 1H); 6,96 (s, 1H); 7,09 (dd, $J = 7,1$ i 7,9 Hz, 1H); 7,16 (dd, $J = 7,1$ i 8,1 Hz, 1H); 7,32 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H); 7,50 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H); 8,38 (s, 1H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 18,6 (q); 27,5 (t); 50,4 (d); 52,4 (q); 52,9 (d); 65,7 (t); 109,5 (s); 111,3 (d); 117,7 (t); 118,4 (d); 119,5 (d); 122,1 (d); 123,1 (d); 127,5 (s); 132,5 (d); 136,1 (s); 155,7 (s); 171,1 (s); 172,0 (s).

MS (ESI+) $m/z = 374$ ($\text{M}+\text{H}^+$, 100%), 747 ($2\text{M}+\text{H}^+$, 4%).

HPLC (MeCN: H_2O des de 30:70 fins 100:0 en 8 minuts): $t_R = 3,71$ min.

3.2 Síntesi dels anàlegs N^{α} , N^i -protegit-Trp esters alquílics (**3**)

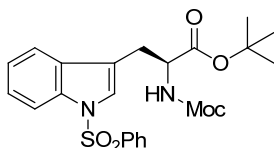
2 (4 mmol), Bu_4NHSO_4 (68 mg, 0,2 mmol) i NaOH mòlta (0,5 g, 12 mmol) es barrejaren en DCM (20 mL). Després PhSO_2Cl (0,6 mL, 4,8 mmol) fou afegit lentament i la barreja resultant es va agitar durant 2 hores a temperatura ambient. La barreja de reacció es filtrà amb Celite® i el filtrat es va evaporar en el rotavapor. El cru es dissolgué en una barreja NH_4Cl (aq)/EtOAc 1:1. La fase aquosa es va extraure amb EtOAc. Les fases orgàniques es varen combinar per rentar-les amb H_2O i assecar-les amb Na_2SO_4 anhidre. El dissolvent es va evaporar i el cru es purificà amb columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc des de 80:20 fins 60:40) per donar el compost corresponent: **3a** (82%), **3b** (93%), **3c** (87%), **3d** (92%) i **3e** (80%).

Per protegir amb Nosyl, els compostos N^α -Troc-Trp-OMe (**2b**), N^α -Troc-Trp-OtBu (**2h**) o N^α -Cbz-Trp-OtBu (**2j**) foren tractats amb clorur de 2-nitrobenzesulfonyl (1,2 eq), donant com a resultat els corresponents anàlegs **3f** (43%), **3g** (46%) i **3h** (80%).

Per protegir amb Boc, el compost N^α -Boc-Trp-OMe (**2d**), N^α -Troc-Trp-OMe (**2b**) o N^α -Al·loc-Ala-Trp-OMe (**2k**) foren tractats amb di-*tert*-butil dicarbonat (1,5 eq) en DCM. La mixtura de reacció es va agitar durant 15 hores per donar **3i** (88%), **3j** (42%) i **3k** (16%) respectivament.

Les dades espectroscòpiques de **3a**⁹ i **3i**¹⁰ coincideixen amb les descrites.

3.2.1 N^i -Fenilsulfonyl- N^α -metoxicarboniltryptofanat de *tert*-butil (**3b**)



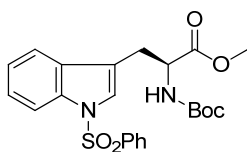
¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 1,32 (s, 9H); 3,13-3,20 (m, 2H); 3,67 (s, 3H); 4,57 (dt, *J* = 5,8 i 12,5 Hz, 1H); 5,28 (bd, 1H); 7,24 (dd, *J* = 7,5 i 7,6 Hz, 1H); 7,31 (dd, *J* = 7,6 i 7,8 Hz, 1H); 7,40 (bs, 1H); 7,42 (bs, 1H); 7,44 (bs, 1H); 7,49-7,54 (m, 2H); 7,83 (bs, 1H); 7,85 (bs, 1H); 7,96 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H).

¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 27,8 (3q); 27,9 (t); 52,3 (q); 54,2 (d); 82,6 (s); 113,6 (d); 117,6 (s); 119,6 (d); 123,2 (d); 124,2 (d); 124,9 (d); 126,7 (2d); 129,2 (2d); 131,0 (s); 133,7 (d); 134,9 (s); 138,1 (s); 156,3 (s); 170,3 (s).

IR (KBr): ν (cm⁻¹) 3339, 2977, 1720, 1522, 1448, 1368, 1175, 1122, 1062, 977, 745, 601.

HRMS (ESI+) calculada per a C₂₃H₂₇N₂O₆S₁ *m/z* (M+H⁺) 459,1584, trobada 459,1597.

3.2.2 N^α -*tert*-Butoxicarbonil- N^i -fenilsulfonyltryptofanat de metil (**3c**)



⁹ D. Crich, X. Huang *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 7218.

¹⁰ S.P. Marsden, K.M. Depew, S.J. Danishefsky *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, *116*, 11143.

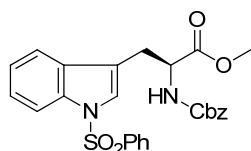
^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 1,44 (s, 9H); 3,16 (dd, $J = 5,2$ i $14,6$ Hz, 1H); 3,24 (dd, $J = 5,5$ i $14,6$ Hz, 1H); 3,61 (s, 3H); 4,63 (dd, $J = 5,2$ i $5,5$ Hz, 1H); 5,07 (d, $J = 7,3$ Hz, 1H); 7,23 (dd, $J = 7,3$ i $7,7$ Hz, 1H); 7,31 (dd, $J = 7,3$ i $8,1$ Hz, 1H); 7,36 (s, 1H); 7,40-7,48 (m, 3H); 7,52 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H); 7,84 (d, $J = 7,5$ Hz, 2H); 7,97 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 27,8 (t); 28,3 (3q); 52,3 (q); 53,5 (d); 80,1 (s); 113,7 (d); 117,5 (s); 119,5 (d); 123,3 (d); 124,3 (d); 124,9 (d); 126,6 (2d); 129,2 (2d); 130,9 (s); 133,7 (d); 135,1 (s); 138,1 (s); 154,9 (s); 171,9 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 3395, 2978, 1712, 1502, 1448, 1367, 1175, 1121, 978, 736, 600.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{26}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}_1$ m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) 459,1584, trobada 459,1585.

3.2.3 N^α -Benziloxicarbonil- N^i -fenilsulfoniltriptofanat de metil (3d)



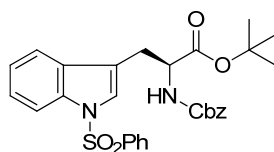
^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 3,19 (dd, $J = 5,5$ i $14,9$ Hz, 1H); 3,25 (dd, $J = 5,6$ i $14,9$ Hz, 1H); 3,62 (s, 3H); 4,70 (dd, $J = 5,5$ i $5,6$ Hz, 1H); 5,05-5,18 (m, 2H); 5,30 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H); 7,19 (dd, $J = 7,1$ i $8,0$ Hz, 1H); 7,31 (dd, $J = 7,2$ i $8,3$ Hz, 1H); 7,32-7,45 (m, 9H); 7,49 (dd, $J = 7,4$ i $7,5$ Hz, 1H); 7,81 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H); 7,97 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 27,8 (t); 52,4 (q); 53,9 (d); 67,1 (t); 113,7 (d); 117,2 (s); 119,4 (d); 123,4 (d); 124,4 (d); 125,0 (d); 126,6 (2d); 128,1 (2d); 128,2 (d); 128,6 (2d); 129,2 (2d); 130,7 (s); 133,8 (d); 135,1 (s); 136,1 (s); 138,0 (s); 155,5 (s); 171,6 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 3363, 2952, 1719, 1517, 1447, 1366, 1175, 1121, 745.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}_1$ m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) 493,1428, trobada 493,1432.

3.2.4 N^α -Benziloxicarbonil- N^i -fenilsulfoniltriptofanat de *terc*-butil (3e)



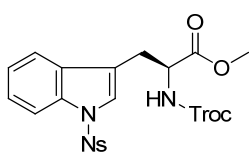
^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 1,33 (s, 9H); 3,12-3,26 (m, 2H); 4,60 (dd, $J = 5,8$ i $13,0$ Hz, 1H); 5,11 (dd, $J = 12,2$ i $18,8$ Hz, 2H); 5,34 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H); 7,19 (dd, $J = 7,3$ i $7,5$ Hz, 1H); 7,27-7,43 (m, 9H); 7,49 (dd, $J = 7,3$ i $7,7$ Hz, 2H); 7,83 (d, $J = 7,7$ Hz, 2H); 7,97 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 27,8 (3q i t); 54,3 (d); 66,9 (t); 82,7 (s); 113,6 (d); 117,5 (s); 119,7 (d); 123,2 (d); 124,3 (d); 124,9 (2d); 126,7 (2d); 128,1 (d); 128,2 (d); 128,5 (2d); 129,2 (2d); 131,0 (s); 133,7 (d); 135,0 (s); 136,2 (s); 138,1 (s); 155,6 (s); 170,2 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 3341, 2978, 1722, 1502, 1448, 1368, 1215, 1175, 1121, 1059, 977, 911, 745, 601.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{29}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) 535,1897, trobada 535,1906.

3.2.5 N^α -(2,2,2-Tricloroetoxicarbonil)- N^i -((2-nitrofenil)sulfonil)triptofanat de metil (3f)



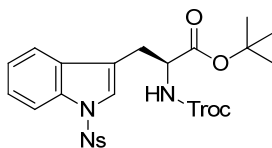
^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 3,25-3,41 (m, 2H); 3,73 (s, 3H); 4,66 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H); 4,73-4,79 (m, 1H); 4,78 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H); 5,72 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H); 7,26-7,35 (m, 2H); 7,43 (s, 1H); 7,55 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H); 7,63-7,69 (m, 1H); 7,71-7,74 (m, 2H); 7,78-7,85 (m, 2H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 27,9 (t); 53,0 (q); 54,3 (d); 74,9 (t); 95,5 (s); 113,7 (d); 116,6 (s); 120,0 (d); 124,1 (d); 125,2 (d); 125,5 (d); 125,8 (d); 130,2 (d); 130,9 (s); 132,0 (s); 132,7 (d); 135,0 (s); 135,1 (d); 148,1 (s); 154,1 (s); 171,4 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 3406, 2954, 2361, 1734, 1544, 1447, 1380, 1179, 1124, 1047, 741, 654, 596.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_8\text{SCl}_3$ m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) 577,9953, trobada 577,9966.

3.2.6 N^i -((2-Nitrofenil)sulfonil)- N^α -(2,2,2-tricloroetoxicarbonil)triptofanat de *terc*-butil (3g)



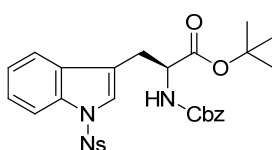
^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 1,39 (s, 9H); 3,23 (dd, $J = 5,7$ i $14,9$ Hz, 1H); 3,32 (dd, $J = 5,7$ i $14,9$ Hz, 1H); 4,60-4,67 (m, 1H); 4,64 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H); 4,76 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H); 5,71 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H); 7,26-7,36 (m, 2H); 7,46 (s, 1H); 7,59-7,64 (m, 2H); 7,67 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H); 7,71 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H); 7,74 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H); 7,82 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 27,8 (t); 27,9 (3q); 54,6 (d); 74,5 (t); 83,2 (s); 95,3 (s); 113,4 (d); 117,0 (s); 120,0 (d); 123,8 (d); 124,9 (d); 125,2 (d); 125,3 (d); 129,6 (d); 130,7 (s); 132,0 (s); 132,5 (d); 134,7 (d); 134,8 (s); 147,8 (s); 153,9 (s); 169,8 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 3407, 2979, 2361, 2337, 1733, 1545, 1448, 1370, 1179, 1154, 1124, 1045, 742, 655, 596.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_8\text{S}\text{Cl}_3\text{Na}$ m/z ($\text{M}+\text{Na}^+$) 642,0242, trobada 642,0253.

3.2.7 N^α -Benziloxicarbonil- N^i -((2-nitrofenil)sulfonil)triptofanat de *terc*-butil (3h)



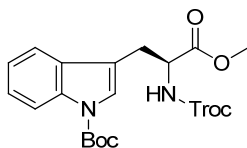
^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 1,37 (s, 9H); 3,20 (dd, $J = 5,6$ i 14,6 Hz, 1H); 3,29 (dd, $J = 5,6$ i 14,6 Hz, 1H); 4,62 (dd, $J = 5,6$ i 14,6 Hz, 1H); 5,02-5,13 (m, 2H); 5,47 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H); 7,21-7,27 (m, 1H); 7,27-7,37 (m, 6H); 7,44 (s, 1H); 7,50-7,71 (m, 5H); 7,81 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 27,9 (3q i t); 54,4 (d); 66,9 (t); 82,8 (s); 113,4 (d); 117,4 (s); 120,0 (d); 123,8 (d); 124,8 (d); 125,1 (d); 125,2 (2d); 127,9 (d); 128,1 (d); 128,4 (2d); 129,2 (d); 130,8 (s); 132,5 (d); 132,6 (s); 134,5 (d); 134,8 (s); 136,2 (s); 140,7 (s); 155,5 (s); 170,1 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 3339, 2978, 1719, 1545, 1449, 1369, 1217, 1179, 1154, 1123, 1059, 982, 743, 596.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_8\text{S}$ m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) 580,1748, trobada 580,1756.

3.2.8 N^i -*terc*-Butoxicarbonil- N^α -((2,2,2-tricloroetoxicarbonil)triptofanat de metil (3j)



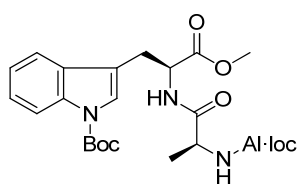
^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 1,67 (s, 9H); 3,24 (dd, $J = 5,5$ i 14,8 Hz, 1H); 3,31 (dd, $J = 5,5$ i 14,8 Hz, 1H); 3,71 (s, 3H); 4,64 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H); 4,71-4,78 (m, 1H); 4,82 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H); 5,62 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H); 7,23 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H); 7,31 (dd, $J = 7,6$ i 7,8 Hz, 1H); 7,41 (s, 1H); 7,49 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H); 8,11 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 27,8 (t); 28,2 (3q); 52,6 (q); 54,2 (d); 74,6 (t); 83,8 (s); 95,3 (s); 114,4 (s); 115,3 (d); 118,7 (d); 122,6 (d); 124,3 (d); 124,6 (d); 130,3 (s); 135,3 (s); 149,5 (s); 153,8 (s); 171,5 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 3350, 2979, 1733, 1518, 1453, 1371, 1257, 1158, 1094, 1047, 819, 747.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6\text{Cl}_3$ m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) 493,0694, trobada 493,0707.

3.2.9 $-N^\alpha$ -(N^α -Al·liloxicarbonilalaninil)- N^i -terc-butoxicarboniltriptofanat de metil (3k)

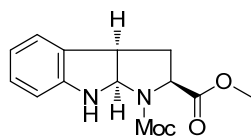


^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 1,35 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H); 1,66 (s, 9H); 3,22 (dd, $J = 5,5$ i 14,7 Hz, 1H); 3,29 (dd, $J = 5,5$ i 14,7 Hz, 1H); 3,70 (s, 3H); 4,19 (t, $J = 7,1$ Hz, 1H); 4,44-4,58 (m, 2H); 4,90 i 4,91 (2t, $J = 5,5$ Hz, 1H); 5,14 (bs, 1H); 5,16-5,31 (m, 2H); 5,81-5,93 (m, 1H); 6,54 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H); 7,22 (dd, $J = 7,2$ i 7,7 Hz, 1H); 7,30 (dd, $J = 7,2$ i 8,0 Hz, 1H); 7,39 (s, 1H); 7,46 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H); 8,10 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 18,5 (q); 27,3 (t); 28,2 (3q); 50,5 (d); 52,5 (q); 52,6 (d); 65,9 (t); 83,8 (s); 114,7 (s); 115,3 (d); 117,9 (t); 118,7 (d); 122,6 (d); 124,2 (d); 124,6 (d); 130,5 (s); 132,5 (d); 135,3 (s); 149,5 (s); 155,6 (s); 171,7 (s); 171,9 (s).

3.3 Síntesi d' 1,2,3,3a,8,8a-hexahidropirrolol[2,3-*b*]indole

3.3.1 1-metoxicarbonil-HPI-2-carboxilat de metil¹¹ (4a)¹²



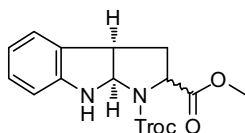
La barreja d'**2a** (1,0 g, 3,6 mmol) i H_3PO_4 85% (11 mL) s'agità vigorosament a temperatura ambient durant 3 hores. Aleshores, la dissolució resultant es va abocar lentament a sobre una mescla de DCM (43 mL) i Na_2CO_3 15% (109 mL). La fase aquosa es va extraure amb més DCM. Les fases orgàniques es combinaren i s'assecaren amb Na_2SO_4 anhidre. S'evaporà el dissolvent donant el compost **4a** amb rendiment quantitatiu i una proporció *endo:exo* de 90:10.

¹¹ HPI és 1,2,3,3a,8,8a-hexahidropirrolol[2,3-*b*]indole

¹² M. Taniguchi, T. Hino *Tetrahedron*, **1981**, 37, 1487.

Les dades espectroscòpiques de **4a** coincideixen amb les descrites.¹²

3.3.2 1-(2,2,2-Tricloroetoxicarbonil)-HPI-2-carboxilat de metil (**4b**)



Una dissolució d' **2b** (1,0 g, 2,5 mmol) i TFA (6,3 mL) fou agitada durant 30 minuts a temperatura ambient. Després va ser abocada lentament en una barreja de DCM (30,5 mL) i Na₂CO₃ 15% (76,2 mL). La fase aquosa fou extreta amb DCM. Es combinaren les fases orgàniques i es secaren amb Na₂SO₄ anhidre. S'evaporà el dissolvent i s'obtingué el compost **4b** amb rendiment quantitatiu i una proporció *endo:exo* de 52:48.

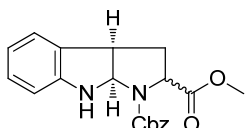
¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 2,64-2,72 (m, 4H); 3,15 i 3,18 (2s, 3H i 3H); 3,92-4,01 (m, 2H); 4,60-4,64 (m, 2H); 4,69 (d, *J* = 11,9 Hz, 1H); 4,75 (d, *J* = 11,9 Hz, 1H); 4,78 (d, *J* = 11,8 Hz, 1H); 4,94 (d, *J* = 11,8 Hz, 1H); 5,62 i 5,67 (2d, *J* = 6,6 Hz, 1H i 1H); 6,61 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H); 6,70 (dd, *J* = 5,3 i 7,4 Hz, 2H); 7,00-7,07 (m, 4H).

¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 33,8 i 34,5 (2t); 45,1 i 46,1 (2d); 52,1 (2q); 59,1 i 59,5 (2d); 74,8 i 74,9 (2t); 77,1 i 77,6 (2d); 95,0 i 95,4 (2s); 108,9 i 109,0 (2d); 118,9 i 119,0 (2d); 124,0 i 124,1 (2d); 127,0 i 127,3 (2s); 128,6 i 128,7 (2d); 149,5 i 149,8 (2s); 152,2 i 152,7 (2s); 171,0 i 171,4 (2s).

IR (KBr): ν (cm⁻¹) 3410, 2953, 1733, 1508, 1438, 1341, 1215, 1096, 819, 740.

HRMS (ESI+) calculada per a C₁₅H₁₅N₂O₄Cl₃ *m/z* (M+H⁺) 430,9729, trobada 430,9736.

3.3.3 1-(Benziloxicarbonil)-HPI-2-carboxilat de metil (**4c**)¹³

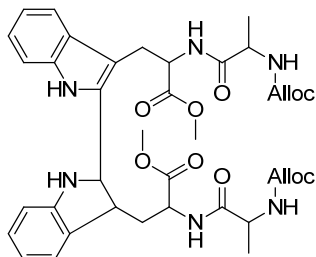


El procediment és el mateix que l'emprat per obtenir **4b**. El compost de partida fou **2f** (1,2 g, 3,4 mmol) i es va tenir durant 38 hores remenant-se amb TFA a temperatura ambient. El cru es purificà amb columna de gel de sílice (hexà:EtOAc, 80:20) i forní **4c** (0,9 g, 73%) i una proporció *endo:exo* de 61:39.

¹³ J. Xiao, Z.Z. Wong, Y.P. Lu, T.P. Loh *Adv. Synth. Catal.*, **2010**, 352, 1107

Les dades espectroscòpiques de **4c** coincideixen amb les descrites.¹³

3.4 Síntesi de **6**



Partint de **2k**, es segueix el mateix procediment descrit en l'apartat 3.3.2 per obtenir **6**. La reacció s'agità a t.a. durant 2 h. El cru es purificà amb un columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc, des de 70:30 fins 50:50) fornint **6** (84%).

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 1,18 (s, 3H); 1,20 (s, 3H); 2,17-2,36 (m, 2H); 3,24-3,41 (m, 2H); 3,62 (s, 3H); 3,63 (s, 3H); 3,78 (bs, 1H); 4,09 (t, *J* = 7,1 Hz, 1H); 4,22-4,51 (m, 5H); 4,70 (dd, *J* = 7,6 i 12,0 Hz, 1H); 4,92 (dd, *J* = 6,7 i 12,8 Hz, 1H); 5,13-5,28 (m, 5H); 5,31 (d, *J* = 6,9 Hz, 1H); 5,49 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H); 5,76-5,90 (m, 2H); 6,63 (bs, 1H); 6,95 (bd, *J* = 6,4 Hz, 1H); 7,03-7,20 (m, 5H); 7,22 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H); 7,31 (t, *J* = 4,4 Hz, 1H); 7,45 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H); 9,42 (s, 1H).

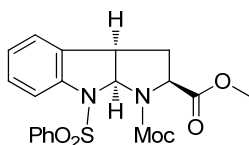
¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 17,4 (q); 18,0 (q); 27,1 (t); 35,8 (t); 46,1 (d); 50,2 (d); 50,3 (2d); 52,6 (q); 52,7 (q); 52,9 (d); 60,6 (d); 66,0 (t); 66,2 (t); 109,2 (s); 111,7 (d); 116,0 (d); 118,1 (2t); 118,8 (d); 119,9 (d); 122,8 (s); 123,2 (d); 124,7 (d); 126,1 (d); 127,6 (s); 127,9 (s); 129,1 (d); 132,1 (d); 132,3 (d); 136,1 (s); 156,4 (s); 160,9 (s); 161,2 (s); 171,8 (s); 172,9 (s); 173,1 (2s).

MS (ESI+) *m/z* = 747 (M+H⁺, 100%), 374 (½M+H⁺, 30%).

HPLC (MeCN:H₂O des de 40:60 fins 50:50 en 8 minuts): *t_R* = 5,52 min.

3.5 Síntesi dels anàlegs *N*^β-protegits-HPI-2-carboxilat de metil (**7**)

3.5.1 1-Metoxycarbonil-8-fenilsulfonil-HPI-2-carboxilat de metil (**7a**)¹⁴

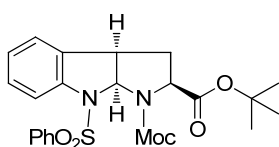


¹⁴ C.-O. Chan, C.J. Cooksey, D. Crich *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1992**, 777.

Clorur de benzesulfonyl (0,8 mL, 6,4 mmol) fou afegit lentament a una barreja de **4a** (0,9 g, 3,2 mmol) i piridina (4 mL) refredada a 0 °C. Acte seguit, la reacció fou agitada a temperatura ambient durant 15 hores. El dissolvent orgànic es va evaporar en el rotavapor i el residu es dissolgué amb EtOAc. La fase orgànica es va rentar amb HCl 2M, Na₂CO₃ 15% i NaCl saturat; es va assecar amb Na₂SO₄ i es va evaporar el dissolvent. El cru obtingut es purificà amb columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc 75:25) fornint **7a** (1,1 g, 80%).

Les dades espectroscòpiques de **7a** coincideixen amb les descrites.¹⁴

3.5.2 1-Metoxicarbonil-8-fenilsulfonyl-HPI-2-carboxilat de *terc*-butil (**7b**)



Hidròlisi de l'ester metílic. **7a** (5,0 g, 12,0 mmol) es dissolgué en una mescla THF:H₂O 10:1 (204 mL) i LiOH 2M (12,0 mL, 24,0 mmol) fou afegit; la dissolució es barrejà a temperatura de reflux durant 2,5 h. Aleshores es diluí amb H₂O i s'acidificà amb HCl 2N fins pH 4,5. La fase aquosa es va saturar amb NaCl i les fases es separaren. La fase aquosa s'extragué amb més THF. Les fases orgàniques es combinaren, s'assecaren amb Na₂SO₄ i es concentraren en el rotavapor per donar l'àcid carboxílic amb un rendiment quantitatiu.

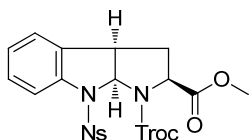
Formació de l'ester terc-butílic. Una barreja de l'àcid anterior (4,8 g, 11,9 mmol), BnEt₃NCl (2,7 g, 11,9 mmol) i K₂CO₃ (10,7 g, 77,3 mmol) en MeCN (36 mL) fou agitat vigorosament durant 5 hores a t.a. Llavors, fou afegit tBuBr (13,4 mL, 119,0 mmol) i la barreja de reacció s'escalfà a 50 °C. Després de 2 h es va afegir més MeCN (18 mL) i l'agitació i calefacció es van mantenir durant 24 hores. Transcorregut el temps, el dissolvent s'evaporà i el sòlid resultant es dissolgué en una barreja de EtOAc:H₂O 2:1 (83 mL). La fase aquosa s'extragué amb més EtOAc. Les fases orgàniques combinades es rentaren amb NaCl saturat, es secaren amb Na₂SO₄ i el dissolvent fou evaporat al buit, donant **7b** (4,4 g, 81%).

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 1,07 (s, 9H); 2,42-2,55 (m, 2H); 3,53 (s, 3H); 3,64 (bs, 1H); 4,45 (bs, 1H); 6,25 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H); 7,04 (d, *J* = 4,4 Hz, 2H); 7,19-7,25 (m, 1H); 7,38 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H); 7,42-7,46 (m, 1H); 7,50 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H); 7,74 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H).

¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 27,4 (3q); 33,2 (t); 45,8 (d); 52,5 (q); 59,5 (d); 80,0 (d); 81,4 (s); 118,3 (d); 124,2 (d); 125,3 (d); 126,4 (2d); 128,7 (d); 128,7 (2d); 132,7 (d); 133,3 (s); 142,3 (2s); 154,6 (s); 169,5 (s).

HRMS (ESI+) calculada per a $C_{23}H_{27}N_2O_6S$ m/z ($M+H^+$) 459,1584, trobada 459,1580.

3.5.3 1-(2,2,2-Tricloroetoxicarbonil)-8-((2-nitrofenil)sulfonyl)-HPI-2-carboxilat de metil (7c)



Clorur de 2-nitrobenzesulfonyl (2,0 g, 9,2 mmol) fou afegit lentament a una barreja de **4b** (0,9 g, 2,3 mmol) i piridina (3,0 mL) refredada a 0 °C; la barreja de reacció va ser agitada durant 2 hores a temperatura ambient. Llavors, la piridina fou evaporada en el rotavapor i el cru resultant es va dissoldre amb EtOAc. La fase orgànica es rentà amb HCl 2M, Na_2CO_3 15% i NaCl saturat, després s'assecà amb Na_2SO_4 i es concentrà. El cru resultant es va purificar amb columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc 75:25) per donar el compost **7c** (0,9 g, 65%).

1H -RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 2,70 (bs, 2H); 3,21 (s, 3H); 4,23-4,31 (m, 1H); 4,47 (d, J = 11,4 Hz, 1H); 4,58 (d, J = 11,4 Hz, 1H); 4,69 (bs, 1H); 6,41-6,63 (m, 1H); 7,06 (t, J = 7,2 Hz, 1H); 7,15 (d, J = 7,4 Hz, 1H); 7,21 (dd, J = 7,2 i 7,8 Hz, 1H); 7,31 (d, J = 7,8 Hz, 1H); 7,55-7,72 (m, 2H); 7,79 (dd, J = 1,2 i 7,8 Hz, 1H); 8,21 (dd, J = 1,4 i 7,8 Hz, 1H).

^{13}C -RMN (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 33,8 (t); 45,0 (d); 52,2 (q); 59,0 (d); 75,0 (t); 80,6 (d); 94,9 (s); 116,5 (d); 124,6 (d); 124,9 (2d); 129,0 (d); 129,9 (s); 131,1 (d); 132,0 (d); 133,4 (d); 134,0 (s); 141,6 (s); 147,8 (s); 151,6 (s); 171,0 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 2916, 2848, 1732, 1542, 1478, 1404, 1361, 1170, 1126, 1041, 754, 654, 583.

HRMS (ESI+) calculada per a $C_{21}H_{19}N_3O_8Cl_3S$ m/z ($M+H^+$) 577,9953, trobada 577,9964.

3.6 Procediment general per a la síntesi de 3a-bromo-HPI-2-carboxilat d'alquil

3.6.1 Mètode A: Bromació radicalària (8a¹⁵-8c).

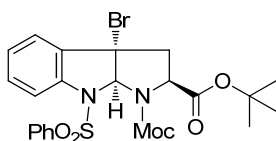
AIBN (0,25 g, 1,5 mmol) es va afegir a una dissolució de **7** (3,0 mmol) en CCl_4 anhidre (54 mL) sota atmosfera de N_2 . La reacció s'escalfà a temperatura de reflux i s'addicionà NBS (0,53 g, 3,0 mmol). La reacció s'agità durant 2 hores a temperatura de reflux. Després, es refredà a

¹⁵ M. Bruncko, D. Crich, R. Samy *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 5543.

temperatura ambient i es va filtrar per desfer-se del precipitat. El filtrat es va concentrar al buit i el cru resultant es va purificar amb columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc des de 80:20 fins 60:40) fornint l'anàleg desitjat del 3a-Br-HPI: **8a** (49%), **8b** (46%), **8c** (14%). Es tots els casos es recuperà material de partida.

Les dades espectroscòpiques de **8a** coincideixen amb les descrites.¹⁵

3.6.1.1 *endo-3a-Bromo-8-(fenilsulfonyl)-1-(metoxycarbonil)-HPI-2-carboxilat de terc-butil (8b)*



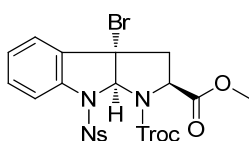
¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 1,08 (s, 9H); 3,04 (dd, *J* = 9,6 i 13,2 Hz, 1H); 3,23 (d, *J* = 13,2 Hz, 1H); 3,65 (s, 3H); 4,49 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H); 6,35 (s, 1H); 7,12 (dd, *J* = 7,5 i 7,8 Hz, 1H); 7,27-7,35 (m, 2H); 7,41 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H); 7,47-7,55 (m, 2H); 7,86 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H).

¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 27,5 (3q); 44,3 (t); 52,7 (s); 52,9 (q); 60,2 (d); 82,0 (s); 87,2 (d); 118,2 (d); 124,5 (d); 125,9 (d); 127,4 (2d); 128,9 (2d); 129,1 (s); 131,0 (d); 133,2 (d); 133,6 (s); 141,6 (s); 157,2 (s); 160,0 (s).

IR (KBr): ν (cm⁻¹) 2979, 1721, 1600, 1447, 1369, 1172, 1092, 975, 850, 756, 735.

HRMS (ESI+) calculada per a C₂₃H₂₆BrN₂O₆S *m/z* (M+H⁺) 537,0689, trobada 537,0687.

3.6.1.2 *endo-3a-Bromo-8-((2-nitrofenil)sulfonyl)-1-(2,2,2-tricloroetoxicarbonil)-HPI-2-carboxilat de metil (8c)*



¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 3,08-3,19 (m, 1H); 3,21 (s, 3H); 3,35 (d, *J* = 13,2 Hz, 1H); 4,50 (m, 2H); 4,67 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H); 6,59 (s, 1H); 7,21 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H); 7,33-7,50 (m, 3H); 7,57 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H); 7,69 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H); 7,79 (bd, *J* = 7,2 Hz, 1H); 8,03 (bs, 1H).

¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 44,5 (t); 52,5 (q); 58,8 (s); 59,6 (d); 75,0 (t); 86,5 (d); 94,6 (s); 117,9 (d); 121,0 (s); 124,4 (d); 124,8 (d); 125,9 (d); 129,6 (d); 131,4 (d); 132,1 (d); 132,6 (s); 133,6 (d); 134,0 (s); 141,3 (s); 148,0 (s); 169,4 (s); 175,6 (s).

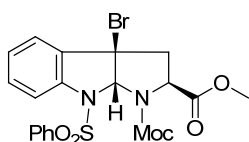
IR (KBr): ν (cm⁻¹) 2994, 1736, 1545, 1463, 1376, 1228, 1175, 1048, 852, 767, 583.

HRMS (ESI+) calculada per a $C_{21}H_{18}BrCl_3N_3O_8S$ m/z ($M+H^+$) 655,9064, trobada 655,9041.

3.6.2 Mètode B: bromociclació en un pas (8a-8j)

A una dissolució de PPTS (1,30 g, 5,0 mmol) i NBS (0,89 g, 5,0 mmol) en DCM (45 mL sota atmosfera de N_2 fou afegit **3** (5,0 mmol). La reacció s'agità durant 4 hores a t.a. La reacció es rentà amb $NaHCO_3$ 15%, $Na_2S_2O_4$ 10% i NaCl saturat, i s'assecà amb Na_2SO_4 anhidre. Es va evaporar el dissolvent i el cru es va purificar amb columna cromatogràfica de gel de sílice per furnir **8** (els eluents emprats i els rendiments es poden veure a continuació).

3.6.2.1 *exo-3a-Bromo-8-fenilsulfonil-1-metoxycarbonil-HPI-2-carboxilat de metil (8a).*



Purificació feta amb columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc 70:30); 96% de rendiment.

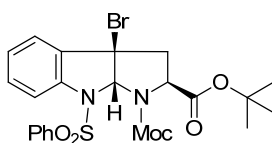
1H -RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 2,81 (dd, $J = 10,4$ i $12,7$ Hz, 1H); 3,11 (dd, $J = 6,0$ i $12,7$ Hz, 1H); 3,75 (s, 3H); 3,81 (bs, 3H); 3,87 (dd, $J = 6,0$ i $10,4$ Hz, 1H); 6,29 (s, 1H); 7,18 (dd, $J = 7,4$ i $7,7$ Hz, 1H); 7,27 (bd, $J = 7,7$ Hz, 1H); 7,31-7,39 (m, 3H); 7,48 (dd, $J = 7,4$ i $7,5$ Hz, 1H); 7,60 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H); 7,80 (d, $J = 7,4$ Hz, 2H).

^{13}C -RMN (100 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 43,4 (t); 52,7 (q); 53,0 (q); 59,1 (s); 59,2 (d); 86,7 (d); 118,8 (d); 123,8 (d); 126,4 (d); 128,1 (2d); 128,8 (2d); 131,0 (d); 133,5 (d); 133,7 (s); 138,4 (s); 140,2 (s); 149,3 (s); 170,4 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 2954, 1714, 1447, 1366, 1173, 1092, 1027, 733.

HRMS (ESI+) calculada per a $C_{20}H_{20}BrN_2O_6S$ m/z ($M+H^+$) 495,0220, trobada 495,0219.

3.6.2.2 *exo-3a-Bromo-8-fenilsulfonil-1-metoxycarbonil-HPI-2-carboxilat de terc-butil (8b).*



Purificació feta amb columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc des de 80:20 fins 70:30); 58% de rendiment; *endo:exo* (25:75).

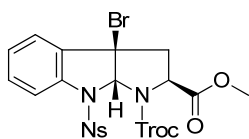
^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3) producte *exo*: δ (ppm) 1,45 (s, 9H); 2,75 (dd, $J = 10,3$ i $12,7$ Hz, 1H); 3,09 (dd, $J = 6,3$ i $12,7$ Hz, 1H); 3,75 (dd, $J = 6,3$ i $10,3$ Hz, 1H); 3,78 (bs, 3H); 6,28 (s, 1H); 7,18 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H); 7,29 (t, $J = 7,0$ Hz, 1H); 7,32-7,40 (m, 3H); 7,42-7,51 (m, 1H); 7,58 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H); 7,79 (bd, $J = 6,9$ Hz, 2H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3) producte *exo*: δ (ppm) 27,8 (q); 43,6 (t); 52,8 (q); 59,2 (s); 60,1 (d); 82,3 (s); 86,9 (d); 118,7 (d); 123,9 (d); 125,1 (s); 126,3 (d); 128,1 (2d); 128,7 (d); 129,4 (d); 130,9 (d); 133,4 (d); 138,5 (s); 140,2 (s); 169,6 (s); 171,5 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 2979, 1725, 1447, 1369, 1172, 595.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{BrN}_2\text{O}_6\text{S}$ m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) 537,0695, trobada 537,0681.

3.6.2.3 *exo*-3a-Bromo-8-((2-nitrofenil)sulfonyl)-1-(2,2,2-tricloroetoxicarbonil)-HPI-2-carboxilat de metil (8c)



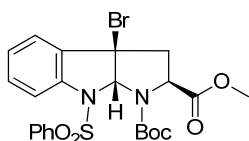
Purificat amb columna cromatogràfica de gel de sílice (DCM); 57% de rendiment; *endo:exo* (8:92).

^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 2,90 (dd, $J = 10,1$ i $13,0$ Hz, 1H); 3,20 (dd, $J = 6,2$ i $13,0$ Hz, 1H); 3,74 (s, 3H); 3,93-4,02 (m, 1H); 4,55 i 4,58 (2s, 2H); 6,60 (s, 1H); 7,30 (dd, $J = 7,4$ i $7,6$ Hz, 1H); 7,38 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H); 7,43 (dd, $J = 7,4$ i $7,9$ Hz, 1H); 7,48 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H); 7,57 (d, $J = 7,3$ Hz, 1H); 7,64 (dd, $J = 7,3$ i $8,0$ Hz, 2H); 7,73-7,83 (m, 1H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 43,7 (t); 52,8 (q); 58,7 (s); 59,5 (d); 75,1 (t); 86,1 (d); 94,8 (s); 119,6 (d); 123,9 (d); 124,3 (d); 127,2 (d); 130,3 (d); 131,3 (d); 131,4 (d); 132,0 (s); 134,1 (s); 134,3 (d); 139,9 (s); 148,9 (s); 160,1 (s); 169,7 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 2955, 1750, 1545, 1464, 1373, 1208, 1177, 1061, 774, 595.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{BrCl}_3\text{N}_3\text{O}_8\text{S}$ m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) 655,9064, trobada 655,9045.

3.6.2.4 *exo-3a-Bromo-1-terc-butoxicarbonil-8-fenilsulfonil-HPI-2-carboxilat de metil (8d)*

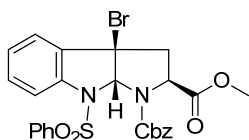
Purificat amb columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc 70:30); 92% de rendiment.

^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 1,54 (bs, 9H); 2,77 (dd, $J = 10,4$ i $12,6$ Hz, 1H); 3,06 (dd, $J = 6,0$ i $12,6$ Hz, 1H); 3,73 (s, 3H); 3,83 (dd, $J = 6,0$ i $10,4$ Hz, 1H); 6,32 (bs, 1H); 7,17 (dd, $J = 7,5$ i $8,0$ Hz, 1H); 7,24-7,28 (m, 1H); 7,34 (dd, $J = 7,1$ i $7,5$ Hz, 3H); 7,46 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H); 7,57 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H); 7,82 (bs, 2H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 28,3 (3q); 43,2 (t); 52,5 (q); 58,6 (s); 59,5 (d); 86,7 (d); 88,9 (s); 118,8 (d); 123,9 (d); 126,4 (d); 128,3 (2d); 128,6 (2d); 129,3 (s); 130,9 (d); 133,4 (d); 134,1 (s); 140,3 (s); 170,8 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 2979, 1752, 1702, 1448, 1367, 1032, 1171, 733.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{BrN}_2\text{O}_6\text{S}$ m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) 537,0689, trobada 537,0689.

3.6.2.5 *exo-1-Benziloxicarbonil-3a-bromo-8-fenilsulfonil-HPI-2-carboxilat de metil (8e)*

Purificat amb columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc 70:30); 82% de rendiment.

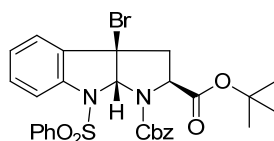
^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 2,78 (dd, $J = 10,1$ i $12,8$ Hz, 1H); 3,09 (dd, $J = 6,3$ i $12,8$ Hz, 1H); 3,68 (bs, 3H); 3,88 (dd, $J = 6,3$ i $10,1$ Hz, 1H); 5,13-5,45 (m, 2H); 6,33 (bs, 1H); 7,18 (dd, $J = 7,4$ i $8,0$ Hz, 1H); 7,26 (d, $J = 6,8$ Hz, 2H); 7,29-7,40 (m, 6H); 7,47 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H); 7,62 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H); 7,79 (bs, 2H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 43,3 (t); 52,4 (q); 59,3 (d); 59,5 (s); 67,9 (t); 86,7 (d); 118,9 (d); 123,8 (2d); 126,4 (d); 128,2 (2d); 128,3 (2d); 128,7 (2d); 128,8 (2d i s); 131,0 (d); 133,5 (d); 133,8 (s); 138,4 (s); 140,2 (s); 170,4 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 2953, 1749, 1711, 1408, 1366, 1172, 1029, 755.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{BrN}_2\text{O}_6\text{S}$ m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) 571,0533, trobada 571,0531.

3.6.2.6 *exo*-1-Benziloxicarbonil-3a-bromo-8-fenilsulfonil-HPI-2-carboxilat de *terc*-butil (**8f**)



Purificat amb columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc des de 80:20 fins 70:30); 83% de rendiment; *exo*.

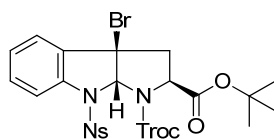
$^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 1,35 (s, 9H); 2,73 (dd, $J = 10,2$ i $12,7$ Hz, 1H); 3,09 (dd, $J = 6,3$ i $12,7$ Hz, 1H); 3,78 (bs, 1H); 5,11 (d, $J = 12,1$, 1H); 5,37 (bs, 1H); 6,31 (bs, 1H); 7,17 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H); 7,25-7,40 (m, 7H); 7,46 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H); 7,47-7,51 (m, 1H); 7,60 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H); 7,79 (bs, 2H).

$^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 27,7 (3q); 43,3 (t); 59,3 (s); 60,2 (d); 67,6 (t); 82,2 (s); 86,9 (d); 118,8 (d); 123,9 (2d); 126,3 (d); 128,0 (d); 128,2 (d); 128,3 (2d); 128,7 (2d); 129,4 (s); 130,9 (2d); 133,4 (2d); 134,1 (s); 138,5 (s); 140,2 (s); 161,9 (s); 169,0 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 2978, 1715, 1463, 1368, 1216, 1172, 1041, 595.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{BrN}_2\text{O}_6\text{S}$ m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) 613,1008, trobada 613,1002.

3.6.2.7 *exo*-3a-Bromo-8-((2-nitrofenil)sulfonil)-1-(2,2,2-tricloroetoxicarbonil)-HPI-2-carboxilat de *terc*-butil (**8g**)



Purificat amb columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc des de 80:20 fins 70:30); rendiment de 59%; *exo*.

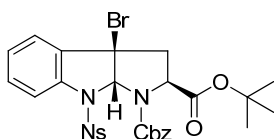
$^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 1,45 (s, 9H); 2,85 (dd, $J = 10,5$ i $12,4$ Hz, 1H); 3,08-3,28 (m, 1H); 3,66-4,08 (bd, 1H); 4,22-4,67 (m, 1H); 4,88-5,26 (m, 1H); 6,59 (s, 1H); 7,31 (dd, $J = 7,4$ i $7,5$ Hz, 1H); 7,42-7,50 (m, 3H); 7,52-7,71 (m, 4H).

$^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 28,1 (3q); 43,8 (t); 59,1 (s); 60,7 (d); 74,9 (t); 83,1 (s); 85,5 (d); 95,2 (s); 119,9 (d); 124,2 (d); 124,4 (2d); 127,6 (d); 130,3 (s); 131,6 (2d); 134,5 (d); 137,9 (s); 140,0 (s); 149,0 (s); 167,8 (s); 168,6 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 2980, 1741, 1546, 1464, 1371, 1218, 1152, 1062, 851, 773, 595.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{BrCl}_3\text{N}_3\text{O}_8\text{S}$ m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) 697,9533, trobada 697,9526.

3.6.2.8 *exo*-1-Benziloxicarbonil-3 α -bromo-8-((2-nitrofenil)sulfonil)-HPI-2-carboxilat de terc-butil (8h)



Purificat amb columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc 80:20) donant el compost amb 80% de rendiment; *endo:exo* (7:93).

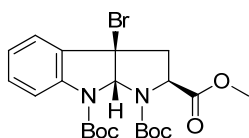
^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 1,34 (s, 9H); 2,80 (dd, $J = 10,5$ i $12,2$ Hz, 1H); 3,10-3,19 (m, 1H); 3,79 (bs, 1H); 4,90 i 4,93 (2s, 1H); 5,20 (bs, 1H); 6,54 (s, 1H); 7,25-7,47 (m, 10H); 7,55-7,65 (m, 3H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 27,9 (3q); 43,3 (t); 59,2 (s); 60,3 (d); 67,5 (t); 82,4 (d); 85,4 (s); 119,3 (d); 123,9 (2d); 124,2 (d); 127,0 (s); 128,1 (2d); 128,3 (2d); 128,4 (d); 129,9 (s); 131,1 (d); 131,4 (2d); 134,1 (d); 134,4 (s); 139,8 (s); 148,6 (s); 168,7 (s); 171,1 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 2978, 1719, 1546, 1463, 1370, 1217, 1152, 1063, 594.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{29}\text{H}_{29}\text{BrN}_3\text{O}_8\text{S}$ m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) 658,0859, trobada 658,0856.

3.6.2.9 *exo*-3 α -Bromo-1,8-di-terc-butoxicarbonil-HPI-2-carboxilat de metil (8i)



Purificació feta amb columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc 80:20); 86% de rendiment.

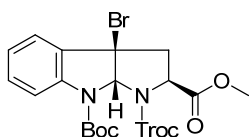
^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 1,40 (s, 9H); 1,59 (s, 9H); 2,82 (dd, $J = 10,3$ i $12,6$ Hz, 1H); 3,20 (dd, $J = 6,3$ i $12,6$ Hz, 1H); 3,74 (s, 3H); 3,89 (dd, $J = 6,3$ i $10,3$ Hz, 1H); 6,39 (s, 1H); 7,12 (dd, $J = 7,5$ i $7,6$ Hz, 1H); 7,32 (dd, $J = 7,5$ i $8,1$ Hz, 1H); 7,36 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H); 7,56 (bs, 1H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 28,5 (3q); 28,6 (3q); 42,2 (t); 52,7 (q); 59,8 (d); 60,1 (s); 81,8 (s); 82,6 (s); 84,1 (d); 119,2 (d); 123,5 (d); 124,7 (d); 130,9 (d); 140,7 (s); 141,9 (s); 152,5 (s); 163,6 (s); 171,8 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 2979, 1720, 1394, 1333, 1161, 733.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{BrN}_2\text{O}_6\text{S}$ m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) 497,1282, trobada 497,1276.

3.6.2.10 *exo*-3a-Bromo-8-*tert*-butoxicarbonil-1-(2,2,2-tricloroetoxicarbonil)-HPI-2-carboxilat de metil (8j)



Després de purificar amb columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc 30:70) forní el compost amb 77% de rendiment; *endo:exo* (11:89).

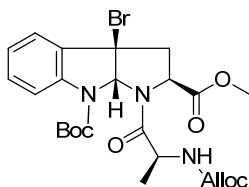
$^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 1,61 (s, 9H); 2,88 (dd, $J = 10,0$ i $13,0$ Hz, 1H); 3,33 (dd, $J = 6,5$ i $13,0$ Hz, 1H); 3,76 (s, 3H); 4,05-4,13 (m, 1H); 4,75 i 4,78 (2s, 2H); 6,45 (bs, 1H); 7,14 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H); 7,34 (dd, $J = 7,6$ i $7,9$, 1H); 7,38 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H); 7,68 (bs, 1H).

$^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 29,6 (q); 43,5 (t); 53,7 (s); 54,2 (q); 60,7 (d); 76,5 (t); 84,0 (s); 85,7 (d); 96,1 (s); 119,2 (d); 124,6 (d); 125,2 (s); 125,8 (d); 132,3 (d); 142,6 (s); 153,3 (2s); 172,2 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 2979, 1719, 1479, 1401, 1156, 1063, 754, 577.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{BrCl}_3\text{N}_2\text{O}_6$ m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) 570,9805, trobada 570,9791.

3.6.2.11 *exo*-(N^α -Al·liloxicarbonil-Ala-O-yl)-3a-bromo-1-(*tert*-butoxicarbonil)-HPI-2-carboxilat de metil (8k)



Purificat amb columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc des de 80:20 fins 70:30); 47% de rendiment.

$^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 1,50 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H); 1,62 (s, 9H); 2,79 (dd, $J = 10,9$ i $12,5$ Hz, 1H); 3,26 (dd, $J = 6,2$ i $12,5$ Hz, 1H); 3,73 (s, 3H); 4,03 (dd, $J = 6,2$ i $10,9$ Hz, 1H); 4,46-4,57 (m, 2H); 5,02 (t, 6,8 Hz, 1H); 5,13-5,29 (m, 2H); 5,43 (bs, 1H); 5,82-5,94 (m, 1H); 6,41 (s, 1H); 7,18 (dd, $J = 7,3$ i $7,4$ Hz, 1H); 7,32-7,40 (m, 2H); 7,50 (bs, 1H).

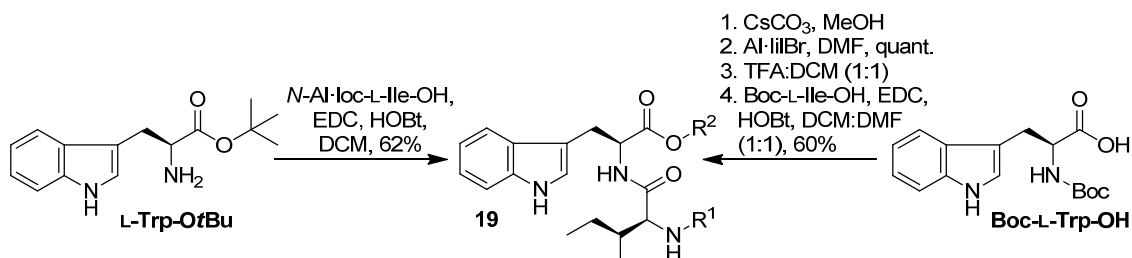
$^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 19,3 (q); 28,1 (3q); 40,6 (t); 47,9 (d); 52,5 (q); 60,0 (d); 65,3 (t); 67,9 (s); 84,0 (s); 84,5 (d); 117,3 (t); 120,5 (d); 122,8 (d); 125,6 (d); 128,1 (s); 130,8 (d); 132,9 (d); 133,4 (s); 154,9 (s); 170,3 (s); 173,8 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 3325, 2979, 1724, 1663, 1478, 1414, 1370, 1333, 1254, 1155, 852, 754.

HRMS (ESI+) calculada per a $C_{24}H_{31}BrN_3O_7$ m/z ($M+H^+$) 552,1340, trobada 552,1338.

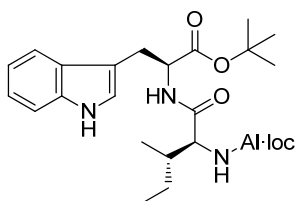
3.7 Síntesi de 19

Taula e.2. Síntesi de 19.



Compost	R ¹	R ²	Rendiment (%)
19a	Al-loc	tBu	62
19b	Boc	Al-lil	60

3.7.1 N^{α} -Al-loc-L-Ile-L-Trp-OtBu (19a)



Una dissolució de Al-lilCO₂Cl (1,7 mL, 15,3 mmol) en dioxà (6 mL) i una altra de NaN₃ (1,5 g, 23,9 mmol) en H₂O (4 mL) es mesclaren i s'agiten durant 2 h a t.a. S'addicionà una dissolució de L-Ile (2,5 g, 19,1 mmol) i Na₂CO₃ 1% (580 µL) en una mescla dioxà:H₂O (50:50, 50 mL). La reacció es va agitar a t.a. durant 5 h, ajustant el pH entre 8-10 amb Na₂CO₃ 10%. Finalitzada la reacció s'afegí H₂O (100 mL) i el pH es va ajustar a 9 amb Na₂CO₃ 10% i es va rentar amb MTBE. La fase aquosa s'acidificà a pH 2,5 amb HCl 2M i s'extragué amb EtOAc. La fase orgànica s'assecà amb Na₂SO₄ i es concentrà al buit, fornint N^{α} -Al-loc-L-Ile-OH (3,1 g, 96%).

EDC·HCl (0,39 g, 2,04 mmol) i HOBT (0,31 g, 2,04 mmol) s'addicionaren a una dissolució de N^{α} -Al-loc-L-Ile-OH (0,44 g, 2,04 mmol) en DCM (20 mL) i es barrejaren durant 5 minuts, després dels quals es va afegir una dissolució de Trp-OtBu (0,52 g, 2,0 mmol) en DCM (10 mL). La mescla de reacció es va agitar durant 4 h a t.a. Aleshores es va rentar amb NaHCO₃ 10% i NaCl saturat, es va assecar amb Na₂SO₄ i es concentrà al buit. El cru es va purificar amb columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc des de 70:30 fins 50:50) fornint **19a** (0,56 g, 62%).

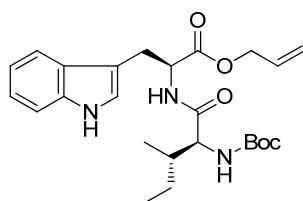
^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 0,84 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H); 0,89 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H); 0,97-1,14 (m, 1H); 1,35 (s, 10H); 1,75-1,87 (m, 1H); 3,25 (d, $J = 5,8$ Hz, 2H); 4,06 (dd, $J = 6,7$ i 8,3 Hz, 1H); 4,46 (dd, $J = 5,4$ i 12,9 Hz, 1H); 4,53 (dd, $J = 5,4$ i 12,9 Hz, 1H); 4,82 (dd, $J = 5,8$ i 13,2 Hz, 1H); 5,13-5,32 (m, 2H); 5,37 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H); 5,79-5,93 (m, 1H); 6,49 (d, $J = 7,4$ Hz, 1H); 6,99 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H); 7,10 (dd, $J = 7,2$ i 7,9 Hz, 1H); 7,16 (dd, $J = 7,2$ i 8,0 Hz, 1H); 7,32 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H); 7,58 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H); 8,26 (bs, 1H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 11,3 (q); 15,3 (q); 24,6 (t); 27,6 (t); 27,9 (3q); 37,7 (d); 53,3 (d); 59,5 (d); 65,8 (t); 82,1 (s); 110,0 (s); 111,1 (d); 117,7 (t); 118,8 (d); 119,5 (d); 122,1 (d); 122,9 (d); 127,6 (s); 132,6 (d); 136,0 (s); 156,1 (s); 170,6 (s); 170,8 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 3318, 2968, 2934, 1712, 1657, 1529, 1458, 1368, 1231, 1157, 1039, 911, 739.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{O}_5$ m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) 458,2649, trobada 458,2655.

3.7.2 N^α -Boc-L-Ile-L-Trp-Oal·lil (19b)



A una dissolució de Boc-L-Trp-OH (6,3 g, 20,6 mmol) en MeOH (62 mL) s'addicionà Cs_2CO_3 (7,0 g, 21,6 mmol) i s'agità durant 30 minuts a t.a. Aleshores es va concentrar al buit i es va obtenir un cru que es va dissoldre en DMF anhidra (31 mL). S'afegí Al·lilBr (1,8 mL, 41,2 mmol) a la nova dissolució que s'agità durant 3 hores a t.a. La reacció es va abocar sobre una dissolució de NaHCO_3 al 2%. La fase aquosa es va extreure amb EtOAc, les fases orgàniques es combinaren, es secaren amb Na_2SO_4 i es concentraren donant Boc-L-Trp-OAl·lil (6,9 g) amb rendiment quantitatiu.

Una mescla de TFA:DCM 50:50 (60 mL) s'addiciona a sobre de Boc-L-Trp-OAl·lil (6,9 g, 20,1 mmol) i s'agità durant 1,5 h. Llavors, la reacció es va concentrar al buit donant la sal del Trp-OAl·lil (7,2 g).

EDC·HCl (3,9 g, 20,5 mmol) i HOBT (2,8 g, 20,5 mmol) s'afegiren a una dissolució de Boc-L-Ile-OH (4,8 g, 20,1 mmol) en DCM:DMF 50:50 (10 mL) i s'agità durant 5 min a t.a. Una dissolució de l'anterior sal del Trp-OAl·lil (7,2 g, 20,1 mmol) en DCM:DMF 50:50 (5 mL) i DIEA (3,6 mL, 20,5 mmol) s'afegí. La mescla de reacció s'agità durant 20 h a t.a. La reacció es rentà amb: NH_4Cl 5%, NaHCO_3 5% i NaCl saturat, s'assecà amb Na_2SO_4 i es concentrà al buit. El cru fornit es va purificar amb columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc des de 70:30 fins 60:40) i es va obtenir **19b** (5,5 g, 60%).

^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 0,79-0,85 (m, 3H); 0,87 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H); 0,97-1,09 (m, 1H); 1,43 (s, 10H); 1,74-1,86 (m, 1H); 3,28 (dd, $J = 5,6$ i 14,8 Hz, 1H); 3,34 (dd, $J = 5,6$ i 14,8 Hz, 1H); 3,96 (t, $J = 7,1$ Hz, 1H); 4,45-4,59 (m, 2H); 4,93 (dt, $J = 5,6$ i 7,7 Hz, 1H); 5,08 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H); 5,21 (dd, $J = 1,2$ i 10,4 Hz, 1H); 5,26 (dd, $J = 1,2$ i 17,2 Hz, 1H); 5,74-5,87 (m, 1H); 6,42 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H); 7,02 (s, 1H); 7,11 (dd, $J = 7,0$ i 7,9 Hz, 1H); 7,17 (dd, $J = 7,0$ i 8,0 Hz, 1H); 7,33 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H); 7,54 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H); 8,26 (bs, 1H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 11,4 (q); 15,3 (q); 24,6 (t); 27,7 (t); 28,3 (3q); 37,4 (d); 52,8 (d); 59,1 (d); 66,0 (t); 79,8 (s); 109,6 (s); 111,2 (d); 118,5 (d); 118,9 (t); 119,6 (d); 122,2 (d); 123,1 (d); 127,5 (s); 131,4 (d); 136,1 (s); 155,6 (s); 171,2 (2s).

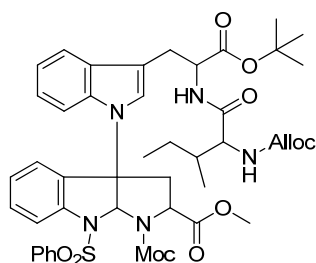
IR (KBr): ν (cm^{-1}) 3321, 2967, 2933, 1739, 1658, 1515, 1367, 1170, 1012, 911, 739.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{O}_5$ m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) 458,2649, trobada 458,2658.

3.8 Mètode general per a la síntesi de 20

Una dissolució de **2** o **19** (3,0 mmol) en DMF anhidra (3 mL) s'afegí a una suspensió de NaH al 60% en oli mineral (0,14 g, 3,6 mmol) en DMF anhidra (6 mL); la mescla resultant es va agitar a t.a. durant 15 minuts. S'addicionà una dissolució de **8** (3,0 mmol) en DMF anhidra (3 mL) i la reacció es va agitar durant 1,5 h a 70 °C. Les condicions anhidres i d'ordre dels reactius són molt importants per al correcte funcionament de la reacció. Després, la reacció es refredà a t.a. i s'afegí H_2O . La fase aquosa es va saturar amb NaCl i es va extraure amb EtOAc. Les fases orgàniques es combinaren, es secaren amb Na_2SO_4 i es concentraren al buit. El cru resultant es va purificar amb columna cromatogràfica de gel de sílice per fornir **20**.

3.8.1 3a-(N^α -Alloc-L-Ile-L-Trp-OtBu- N^i -il)-1-Moc-8-fenilsulfonil-HPI-2-carboxilat de metil (20a)



Purificat amb columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc, 60:40) fornint el compost desitjat amb 41% de rendiment.

^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 0,81-0,88 (m, 6H); 1,00-1,12 (m, 1H); 1,31 (s, 9H); 1,39 (bs, 1H); 1,72-1,82 (m, 1H); 2,67 (dd, $J = 4,7$ i 14,7 Hz, 1H); 2,82 (d, $J = 13,3$ Hz, 1H); 3,08 (dd, $J = 5,9$

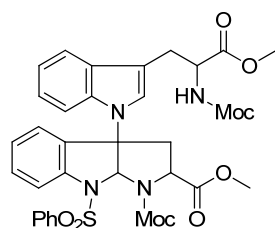
i 14,7 Hz, 1H); 3,21 (s, 3H); 3,50 (m, 1H); 3,83 (s, 3H); 3,89 (dd, $J = 6,6$ i $8,4$ Hz, 1H); 4,54 (m, 2H); 4,64 (m, 1H); 4,92 (bs, 1H); 5,21 (d, $J = 10,5$ Hz, 1H); 5,26-5,34 (m, 2H); 5,83 (bs, 1H); 5,84-5,96 (m, 1H); 6,10 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H); 6,70 (bs, 1H); 6,90 (t, $J = 7,8$ Hz, 2H); 7,15 (bs, 2H); 7,16-7,22 (m, 2H); 7,23-7,35 (m, 4H); 7,50 (t, $J = 7,3$ Hz, 2H); 7,77 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 11,4 (q); 15,3 (q); 24,7 (t); 27,6 (t); 28,0 (3q); 37,2 (t); 37,8 (d); 52,3 (q); 53,3 (q i d); 59,2 (d); 59,5 (d); 65,8 (t); 73,4 (s); 81,9 (s); 82,1 (d); 109,2 (s); 110,9 (d); 117,7 (t); 119,9 (2d); 120,5 (d); 122,7 (d); 124,3 (d); 125,7 (d); 126,4 (2d); 126,7 (d); 128,5 (2d); 130,3 (s); 130,6 (s); 131,7 (d); 132,2 (d); 132,7 (d); 133,5 (s); 138,2 (s); 143,2 (s); 154,8 (s); 155,9 (s); 170,1 (s); 170,5 (s); 170,6 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 3367, 2954, 1721, 1447, 1363, 1170.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{45}\text{H}_{54}\text{N}_5\text{O}_{11}\text{S}$ m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) 872,3541, trobada 872,3557.

3.8.2 8-Fenilsulfonil-1-Moc-3a-(N^α -Moc-L-Trp-OMe- N^i -il)-HPI-2-carboxilat de metil (20b)



Purificat amb columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc, 60:40) fornint el compost desitjat amb 77% de rendiment.

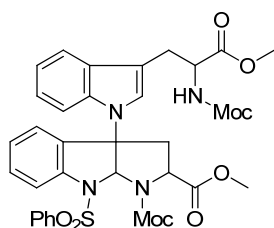
^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 2,66 (dd, $J = 5,3$ i $9,5$ Hz, 1H); 2,79 (d, $J = 13,3$ Hz, 1H); 3,03-3,14 (m, 1H); 3,20 (s, 3H); 3,42-3,54 (m, 1H); 3,58-3,68 (m, 6H); 3,84 (s, 3H); 4,42-4,57 (m, 1H); 4,91 (bs, 1H); 5,10 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H); 5,73 (s, 1H); 6,71 (bs, 1H); 6,87 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H); 7,12-7,35 (m, 5H); 7,43-7,58 (m, 3H); 7,80 (bd, $J = 7,8$ Hz, 1H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 28,0 (t); 37,5 (t); 52,5 (3q); 53,5 (q); 54,8 (d); 59,4 (d); 73,6 (s); 82,1 (d); 109,4 (s); 111,2 (d); 119,8 (d); 120,2 (d); 120,7 (d); 123,0 (d); 124,3 (d); 124,5 (s); 125,8 (s); 126,6 (2d); 126,8 (d); 128,7 (2d); 130,5 (s); 132,1 (2d); 132,4 (d); 133,7 (s); 138,3 (s); 143,5 (s); 156,5 (s); 170,6 (s); 172,3 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 3328, 2964, 1722, 1676, 1448, 1368, 1170.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{34}\text{H}_{35}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}$ m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) 691,2074, trobada 691,2079.

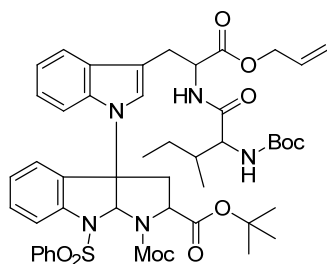
3.8.3 8-Fenilsulfonyl-1-Moc-3a-(N^α -Moc-L-Trp-OMe- N^i -il)-HPI-2-carboxilat de metil (20c)



MS (ESI+) m/z = 691 ($M+H^+$, 100%), 1382 ($2M+H^+$, 6%), 708 ($M+H_2O$, 4%), 660 ($M-2Me$, 2%), 550 ($M+H^+-PhSO_2$, 1%).

HPLC¹⁶ (MeCN:H₂O des de 30:70 fins 100:0 en 8 minuts): t_R = 5,34 min.

3.8.4 3a-(N^α -Boc-L-Ile-L-Trp-OAl-lil- N^i -il)-8-fenilsulfonyl-1-Moc-HPI-2-carboxilat de *terc*-butil (20d)



Purificat amb columna cromatogràfica C₁₈ de fase inversa (MeCN:H₂O, des de 30:70 fins 50:50) fornint el compost desitjat amb 30% de rendiment.

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0,84 (m, 6H); 1,07 (m, 1H); 1,18 (s, 9H); 1,40 (s, 10H); 1,80 (m, 1H); 2,80 (m, 2H); 3,10 (dd, J = 5,9 i 14,6 Hz, 1H); 3,50 (dd, J = 10,1 i 13,4 Hz, 1H); 3,81 (s, 3H); 3,85 (m, 1H); 4,41 (dd, J = 5,7 i 13,2 Hz, 1H); 4,51 (dd, J = 5,7 i 13,2 Hz, 1H); 4,70-4,87 (m, 2H); 5,10 (bs, 1H); 5,20 (m, 2H); 5,70 (m, 1H); 5,78 (bs, 1H); 6,20 (d, J = 7,0 Hz, 1H); 6,65 (bs, 1H); 6,85 (t, J = 7,6, 2H); 7,25 (m, 8H); 7,50 (m, 2H); 7,80 (d, J = 7,6 Hz, 1H).

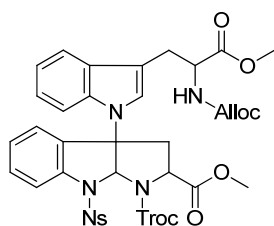
¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 11,6 (q); 15,4 (q); 24,7 (t); 27,7 (3q); 28,2 (t); 28,4 (3q); 31,5 (q); 36,6 (q); 37,3 (t); 37,7 (d); 53,2 (d); 59,1 (d); 60,0 (d); 66,0 (t); 79,8 (s); 82,1 (d); 82,3 (s); 109,0 (d); 111,1 (d); 118,8 (t); 119,6 (d); 120,1 (s); 120,6 (d); 122,8 (d); 124,4 (d); 126,0 (d); 126,5 (d); 126,6 (d); 128,6 (2d); 130,4 (d); 131,0 (s); 131,4 (d); 131,7 (d); 132,3 (d); 133,7 (s); 138,3 (s); 141,7 (s); 143,2 (s); 145,0 (s); 155,6 (s); 162,7 (s); 168,8 (s); 171,0 (s); 171,3 (s).

IR (KBr): ν (cm⁻¹) 3323, 2965, 2929, 1716, 1448, 1367, 1171.

HRMS (ESI+) calculada per a C₄₈H₆₀N₅O₁₁S m/z ($M+H^+$) 914,4010, trobada 914,3986.

¹⁶ Columna Waters XBridge C₁₈ (75 x 4,6 mm, 2,5 μ m), MeCN:H₂O

3.8.5 3a-(*N*^α-Alloc-L-Trp-OMe-*N*ⁱ-il)-8-Nosyl-1-Troc-HPI-2-carboxilat de metil (20e)



Purificat amb columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc, des de 70:30 fins 60:40) fornint el compost desitjat amb 29% de rendiment.

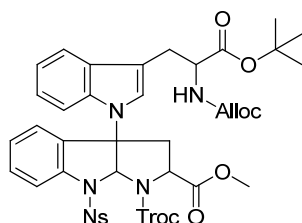
¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 2,81-2,95 (m, 1H); 2,98 (d, *J* = 13,4 Hz, 1H); 3,07 (ddd, *J* = 5,0, 5,4 i 14,8 Hz, 1H); 3,27 (s, 3H); 3,57 i 3,63 (2s, 3H); 3,62-3,68 (m, 1H); 4,06-4,17 i 4,59-4,67 (2m, 1H); 4,74-4,82 i 5,27-5,33 (2m, 1H); 4,50-4,57 (m, 3H); 4,96-5,08 (m, 1H); 5,09-5,30 (m, 3H); 5,80-5,96 (m, 1H); 6,32 i 6,43 (2s, 1H); 6,80 i 6,93 (2d, *J* = 13,7 Hz, 1H); 7,10 (dd, *J* = 7,6 i 8,1 Hz, 1H); 7,12-7,18 (m, 2H); 7,21 (bs, 1H); 7,37 (bs, 1H); 7,39-7,49 (m, 4H); 7,52-7,59 (m, 1H); 7,62 (dd, *J* = 2,9 i 8,1 Hz, 1H); 7,86 (bs, 1H).

¹³C-RMN (125 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 27,7 i 27,8 (t); 37,9 (t); 52,3 (q); 52,6 (q); 54,1 i 54,4 (d); 59,4 i 60,1 (d); 65,8 (t); 72,9 i 74,0 (s); 74,6 i 75,3 (t); 81,0 i 81,7 (d); 94,8 i 95,3 (s); 109,3 (s); 110,9 (d); 117,8 i 117,9 (t); 119,7 (d); 119,8 (d); 120,5 (d); 122,8 (d); 124,0 i 124,2 (d); 124,8 (d); 125,8 (d); 126,2 (d); 126,5 (s); 129,7 (d); 130,2 (s); 130,5 (s); 131,5 (d); 132,1 (d); 132,6 (d); 133,3 (d); 133,8 i 133,9 (s); 143,0 i 143,1 (s); 147,3 (s); 151,6 i 152,6 (s); 155,4 i 155,5 (s); 169,9 (s); 171,9 i 172,0 (s).

IR (KBr): ν (cm⁻¹) 3369, 2953, 1733, 1545, 1402, 1368, 1231, 1174, 1055, 852, 740, 580.

HRMS (ESI+) calculada per a C₃₇H₃₅N₅O₁₂SCl₃ *m/z* (M+H⁺) 878,1063, trobada 878,1059.

3.8.6 3a-(*N*^α-Alloc-L-Trp-OtBu-*N*ⁱ-il)-8-Nosyl-1-Troc-HPI-2-carboxilat de metil (20f)



Purificat amb columna cromatogràfica C₁₈ de fase inversa (MeCN:H₂O, des de 0:100 fins 70:30) fornint el compost desitjat amb 22% de rendiment.

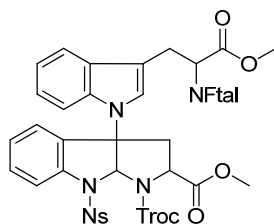
$^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 1,22 i 1,34 (2s, 9H); 2,74-3,11 (m, 3H); 3,27 (s, 3H); 3,49-3,68 (m, 1H); 4,45 (bs, 1H); 4,49-4,58 (m, 2H); 4,59-4,84 (m, 2H); 5,02 (bs, 1H); 5,09-5,33 (m, 3H); 5,79-5,96 (m, 1H); 6,36 i 6,46 (2s, 1H); 6,82 i 6,94 (2d, $J = 18,7$ Hz, 1H); 7,04-7,25 (m, 4H); 7,29-7,58 (m, 6H); 7,62 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H); 7,75-7,97 (m, 1H).

$^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 27,8 i 28,0 (3q); 27,9 (t); 37,9 (t); 52,6 (q); 54,4 i 54,6 (d); 59,4 (d); 65,7 (t); 74,6 (s); 75,3 (t); 81,6 (s); 82,2 (d); 109,5 (s); 110,8 (d); 117,8 (t); 119,8 (d); 120,2 (d); 120,5 (d); 122,7 (d); 124,2 (d); 124,6 (d); 125,8 (d); 126,3 (s); 126,7 (d); 129,7 (d); 130,5 (s); 131,7 (d); 132,1 (d); 132,7 (d); 133,3 (d); 133,7 (s); 137,9 (s); 143,1 (s); 147,4 (s); 155,6 (s); 155,7 (s); 169,9 (s); 170,6 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 3419, 2979, 1733, 1545, 1368, 1230, 1173, 1129, 1055, 740, 581.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{40}\text{H}_{41}\text{N}_5\text{O}_{12}\text{SCl}_3$ m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) 920,1538, trobada 920,1578.

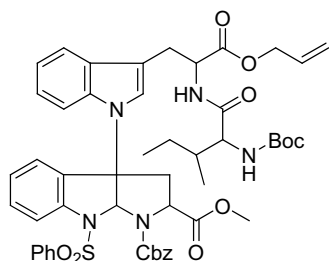
3.8.7 3a-(N^α -Ftal-L-Trp-OMe- N^i -il)-8-Nosyl-1-Troc-HPI-2-carboxilat de metil (20g)



MS (ESI+) $m/z = 923$ (M, 100%), 925 ($\text{M}+2\text{H}^+$, 60%), 943 ($\text{M}+2\text{H}^++\text{H}_2\text{O}$, 60%)

HPLC¹⁶ (MeCN:H₂O des de 70:30 fins 100:0 en 8 minuts): $t_R = 5,54$ min.

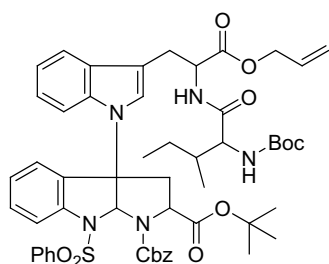
3.8.8 3a-(N^α -Boc-L-Ile-L-Trp-OAl-lil- N^i -il)-8-fenilsulfonil-1-Cbz-HPI-2-carboxilat de metil (20h)



MS (ESI+) $m/z = 949$ ($\text{M}+2\text{H}^+$, 100%), 848 (M-Boc, 48%), 892 (M-*t*Bu+ H^+ , 10%).

HPLC¹⁶ (MeCN:H₂O des de 60:40 fins 100:0 en 8 minuts): $t_R = 5,29$ min.

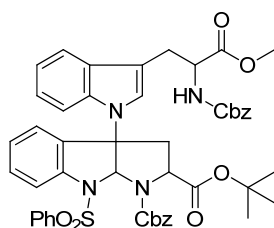
3.8.9 3a-(*N*^α-Boc-L-Ile-L-Trp-OAl·lil-*N*ⁱ-il)-8-fenilsulfonil-1-Cbz-HPI-2-carboxilat de *tert*-butil (20i)



MS (ESI+) m/z = 951 (M-Al·lil+H⁺, 100%), 850 (M-Al·lil-Boc, 24%), 894 (M-Al·lil-*t*Bu+2H⁺, 8%).

HPLC¹⁶ (MeCN:H₂O des de 50:50 fins 100:0 en 8 minuts): t_R = 7,03 min.

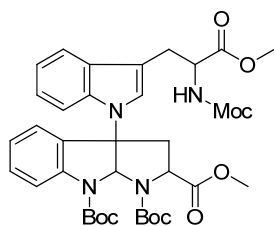
3.8.10 3a-(*N*^α-Cbz-L-Trp-OMe-*N*ⁱ-il)-8-fenilsulfonil-1-Cbz-HPI-2-carboxilat de *tert*-butil (20j)



MS (ESI+) m/z = 615 (M-2Cbz+H⁺, 100%), 884 (M, 5%).

HPLC¹⁶ (MeCN:H₂O des de 60:40 fins 100:0 en 8 minuts): t_R = 5,49 min.

3.8.11 1,8-diBoc-3a-(*N*^α-Moc-L-Trp-OMe-*N*ⁱ-il)-HPI-2-carboxilat de metil (20k)



Purificat amb columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc, des de 80:20 fins 50:50) fornint el compost desitjat amb 20% de rendiment.

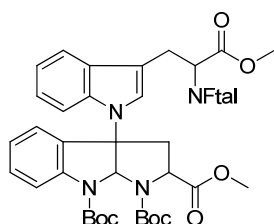
¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 1,50 (s, 9H); 1,52 (s, 9H); 2,98-3,20 (m, 3H); 3,23 (s, 3H); 3,54-3,65 (m, 7H); 4,60 (m, 1H); 4,90 (bs, 1H); 5,19 (t, J = 8,3 Hz, 1H); 6,69 (d, J = 7,3 Hz, 1H); 6,75 (s, 1H); 7,07-7,33 (m, 5H); 7,35-7,42 (m, 1H); 7,52 (t, J = 7,5 Hz, 1H); 7,67 (bs, 1H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 27,6 (t); 28,2 (3q); 28,3 (3q); 38,4 (t); 52,2 (q); 52,3 (q); 52,4 (q); 54,5 (d); 59,4 (d); 72,5 (s); 79,8 (d); 81,6 (s); 82,4 (s); 109,3 (s); 111,6 (d); 119,4 (d); 120,2 (2d); 122,5 (d); 123,6 (d); 124,9 (d); 125,3 (d); 130,2 (s); 131,0 (d); 131,1 (s); 134,8 (s); 143,5 (s); 152,2 (s); 156,6 (s); 164,3 (s); 171,5 (s); 172,3 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 3352, 2978, 1719, 1394, 1368, 1158, 740.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{36}\text{H}_{45}\text{N}_4\text{O}_{10}$ m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) 693,3130, trobada 693,3118.

3.8.12 1,8-diBoc-3a-(N^α -Ftal-L-Trp-OMe- N^i -il)-HPI-2-carboxilat de metil (20l)



Purificat amb columna cromatogràfica C_{18} de fase inversa ($\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}$, des de 30:70 fins 90:10) fornint el compost desitjat amb 21% de rendiment.

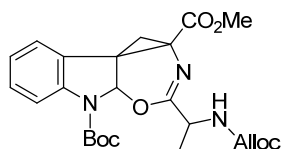
^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 1,46 i 1,48 (2s, 9H); 1,50 i 1,52 (2s, 9H); 2,77 i 2,90 (2d, $J = 12,9$ Hz, 1H); 3,17 i 3,21 (2s, 3H); 3,38 (dd, $J = 9,3$ i $12,9$ Hz, 1H); 3,50-3,66 (m, 2H); 3,76 (s, 3H); 4,83 (bs, 1H); 5,08-5,18 (m, 1H); 6,64-6,75 (m, 3H); 6,82 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H); 7,03-7,14 (m, 4H); 7,24-7,31 (m, 1H); 7,57 (dd, $J = 7,6$ i $7,8$ Hz, 1H); 7,66-7,79 (m, 4H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 24,4 (t); 28,2 (3q); 28,3 (3q); 38,8 (t); 52,1 (q); 52,6 (d); 52,8 (q); 59,3 (d); 72,4 (s); 79,6 (d); 79,7 (s); 82,0 (s); 110,4 (s); 111,4 (d); 119,2 (d); 119,9 (d); 122,3 (d); 123,1 (d); 123,4 (2d); 124,4 (d); 124,7 (d); 125,0 (d); 128,9 (s); 129,7 (s); 130,8 (d); 131,7 (s); 134,0 (s i 2d); 134,7 (s); 143,5 (s); 151,8 (2s); 167,2 (s); 167,4 (s); 169,4 (s); 171,0 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 2977, 1716, 1390, 1255, 1158, 1019, 739, 721.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{42}\text{H}_{45}\text{N}_4\text{O}_{10}$ m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) 765,3130, trobada 765,3091.

3.9 Síntesi de 21



^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 0,66 i 0,77 (2d, $J = 6,6$ Hz, 3H); 1,64 (s, 9H); 3,43 (d, $J = 15,4$ Hz, 1H); 3,81 (s, 3H); 3,91 (d, $J = 15,4$ Hz, 1H); 4,04-4,19 (m, 1H); 4,54-4,77 (m, 2H); 5,15-5,44 (m, 2H); 5,84-5,99 (m, 1H); 7,08 (bs, 1H); 7,14 (dd, $J = 7,2$ i $7,6$ Hz, 1H); 7,27 (dd, $J = 7,2$ i $8,2$ Hz, 1H); 7,43-7,52 (m, 2H); 8,08 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 17,0 (q); 28,1 (3q); 28,9 (t); 53,3 (q); 54,9 (d); 66,4 (t); 77,9 (s); 83,8 (s); 113,3 (s); 115,1 (d); 118,1 (t); 119,1 (d); 122,6 (d); 124,4 (d); 125,9 (d); 132,0 (s); 135,0 (s); 149,6 (s); 154,0 (s); 170,2 (s); 172,9 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 3283, 2931, 1735, 1452, 1370, 1257, 1158, 1082, 747.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{48}\text{H}_{58}\text{N}_6\text{O}_{14}\text{Na}$ m/z ($2\text{M}+\text{Na}^+$) 965,3909, trobada 965,3934.

4 Capítol 2. Síntesi total de la mayotlida

4.1 Síntesi de l'anell A

4.1.1 Ciclació per l'enllaç Trp-HPI

4.1.1.1 Síntesi de 22a

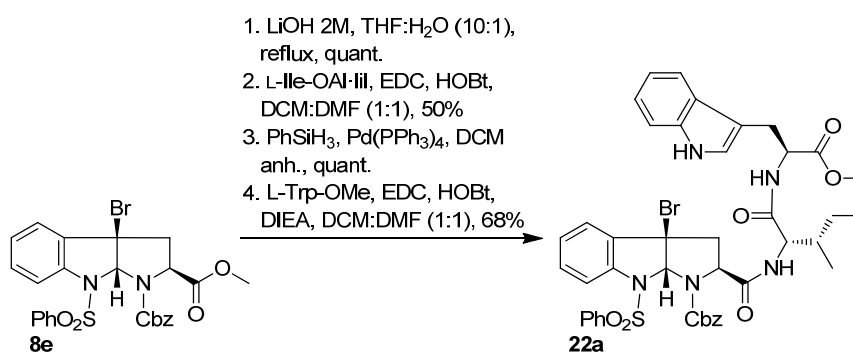


Figura e.1. Síntesi de 22a.

LiOH 2M (2,8 mL, 5,7 mmol) s'afegí sobre una dissolució de **8e** (1,62 g, 2,8 mmol) en THF:H₂O 10:1 (48 mL). La reacció s'escalfà a temperatura de reflux durant 3 hores. S'addicionà H₂O i el pH s'ajustà a 5 afegint gota a gota HCl 2M. Es separaren les fases i la fase aquosa s'extragué amb EtOAc. Les fases orgàniques es combinaren, es rentaren amb NaCl saturat, i es van assecar amb Na₂SO₄ anhidre. L'evaporació del dissolvent al buit forní l'àcid corresponent amb rendiment quantitatiu.

EDC·HCl (0,26 g, 1,4 mmol) i HOBt (0,18 g, 1,4 mmol) s'addicionaren sobre una dissolució de l'àcid anterior (0,69 g, 1,2 mmol) en DCM:DMF (1:1, 4 mL). La solució es remenà durant 5

minuts i s'afegí una dissolució de L-Ile-OAl·lil (0,21 g, 1,2 mmol) en DCM:DMF (1:1, 2 mL). La reacció s'agità durant 3 h a t.a. Es rentà amb NaHCO₃ 10% i NaCl saturat, s'assecà amb Na₂SO₄ i es concentrà. El cru obtingut es va purificar amb columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc, 70:30) fornint el dipèptid **1-benziloxicarbonil-3a-bromo-8-fenilsulfonil-HPI-2-carbonil-Ile-OAl·lil** (0,44 g, 50%).

PhSiH₃ (75 µL, 0,6 mmol) i Pd(PPh₃)₄ (21 mg, 0,02 mmol) s'afegiren en una dissolució del dipèptid anterior (0,43 g, 0,6 mmol) en DCM anhidre (15 mL) sota atmosfera de N₂. La reacció s'agità durant 6 h a t.a. Es filtrà sobre Celite® i el filtrat es rentà amb NaCl saturat fornint l'àcid corresponent del producte de partida amb rendiment quantitatiu.

S'addicionà EDC·HCl (0,12 g, 0,6 mmol) i HOBt (0,08 g, 0,6 mmol) sobre una dissolució de l'àcid anterior (0,41 g, 0,6 mmol) en DCM:DMF (1:1, 2 mL). La mescla de reacció s'agità durant 5 minuts i s'afegí una dissolució de L-Trp-OMe (0,15 g, 0,6 mmol), DIEA (0,11 mL, 0,6 mmol) en DCM:DMF (1:1, 2 mL). La reacció es remenà durant 7,5 h a t.a. La fase orgànica es rentà amb NaHCO₃ 10% i NaCl saturat, es va assecar amb Na₂SO₄ i es concentrà. El cru es purificà amb columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc 60:40) fornint **22a** (0,36 g, 68%).

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0,76-0,85 (m, 6H); 1,26 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H); 1,74 (bs, 1H); 2,71 (dd, *J* = 10,3 i 12,9 Hz, 1H); 2,94 (dd, *J* = 5,9 i 12,9 Hz, 1H); 3,27 (d, *J* = 6,9 Hz, 2H); 3,65 (s, 3H); 3,69 (dd, *J* = 5,9 i 10,3 Hz, 1H); 4,26 (t, *J* = 6,9 Hz, 1H); 4,86 (dt, *J* = 5,6 Hz, 1H); 5,13 (d, *J* = 12,2 Hz, 1H); 5,35 (d, *J* = 12,2 Hz, 1H); 6,26 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H); 6,31 (s, 1H); 6,47 (d, *J* = 6,9 Hz, 1H); 7,03 (s, 1H); 7,10 (dd, *J* = 7,0 i 7,9 Hz, 1H); 7,16 (dd, *J* = 7,1 i 7,9 Hz, 2H); 7,21 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H); 7,27-7,38 (m, 7H); 7,41-7,48 (m, 3H); 7,50 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H); 7,60 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H); 7,74 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H); 8,29 (s, 1H).

MS (ESI+) *m/z* = 871 (M+H⁺, 100%), 1763 (2M+Na⁺, 6%).

HPLC¹⁷ (MeCN:H₂O des de 50:50 fins 100:0 en 15 minuts): t_R = 9,70 min.

4.1.1.2 Síntesi de **22b**

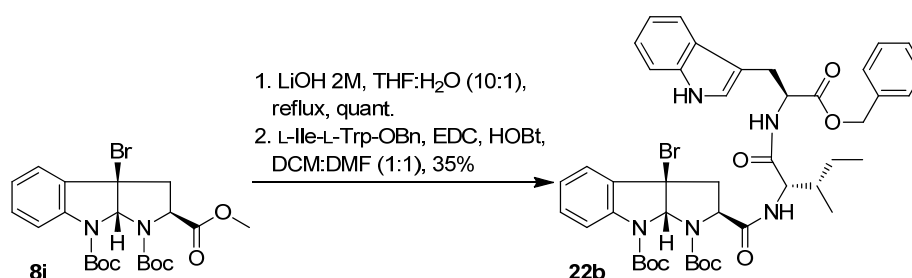


Figura e.2. Síntesi de **22b**.

¹⁷ Columna Symmetry C18 (5 µm, 4,6 x 150 mm). λ = 254 nm.

S'afegí EDC·HCl (1,94 g, 10,1 mmol) i HOBt (1,37 g, 10,1 mmol) sobre una dissolució de N^α -Boc-L-Ile (2,39 g, 9,94 mmol) en DCM:DMF (1:1, 6 mL). La reacció s'agità durant 10 minuts i s'addicionà una dissolució de L-Trp-OBn (2,92 g, 9,94 mmol) i DIEA (1,76 mL, 10,1 mmol) en DCM:DMF (1:1, 4 mL). La reacció es va remenar durant 20 h a t.a. La fase orgànica es rentà amb NH_4Cl 5%, NaHCO_3 10% i NaCl saturat, s'assecà amb Na_2SO_4 i es concentrà, fent el dipèptid **N^α -Boc-L-Ile-L-Trp-OBn** (4,53 g, 90%).

Aquest dipèptid **N^α -Boc-L-Ile-L-Trp-OBn** (0,22 g, 0,43 mmol) es dissolgué en una barreja de TFA:DCM (1:1, 5 mL) i es remenà durant 30 minuts per obtenir el dipèptid sense el grup Boc, **L-Ile-L-Trp-OBn** amb rendiment quantitatiu.

Per una altra banda, LiOH 2M (0,7 mL, 1,3 mmol) s'afegí sobre una dissolució de **8i** (0,22 g, 0,4 mmol) en THF:H₂O 10:1 (7,5 mL). La reacció s'escalfà a temperatura de reflux durant 3 hores. S'addicionà H₂O i el pH s'ajustà a 5 amb l'addició de HCl 2M. Es separaren les fases i la fase aquosa s'extragué amb EtOAc. Les fases orgàniques es combinaren, es rentaren amb NaCl saturat, i es van assecar amb Na_2SO_4 anhidre. L'evaporació del dissolvent al buit donà l'àcid corresponent amb rendiment quantitatiu.

EDC·HCl (0,08 g, 0,44 mmol) i HOBt (0,06 g, 0,44 mmol) s'addicionaren sobre una dissolució de l'àcid anterior (0,21 g, 0,4 mmol) en DCM:DMF (1:1, 2,1 mL) i la mescla s'agità durant 5 minuts. S'afegí una dissolució de **L-Ile-L-Trp-OBn** (0,18 g, 0,43 mmol) i DIEA (0,1 mL, 0,44 mmol) en DCM:DMF (1:1, 2,2 mL). La reacció s'agità durant 6 h a t.a. La fase orgànica es rentà amb NH_4Cl 5%, NaHCO_3 10% i NaCl saturat, s'assecà amb Na_2SO_4 i es concentrà. El cru obtingut es purificà amb columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc, des de 80:20 fins 70:30) donant **22b** (0,13 g, 35%).

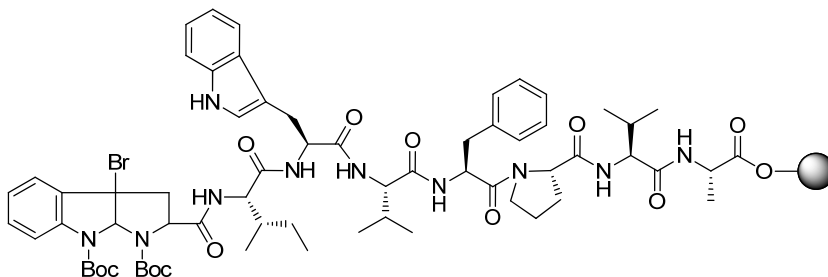
¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0,80 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H); 0,84 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H); 1,26 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H); 1,40 (s, 9H); 1,58 (s, 9H); 1,76-1,84 (m, 1H); 2,75 (dd, $J = 10,3$ i 12,6 Hz, 1H); 3,09 (dd, $J = 6,2$ i 12,6 Hz, 1H); 3,27 (dd, $J = 6,0$ i 7,5 Hz, 2H); 3,75 (dd, $J = 6,2$ i 10,3 Hz, 1H); 4,26-4,33 (m, 1H); 4,94 (dt, $J = 5,7$ Hz, 1H); 5,05 (s, 2H); 6,39 (s, 1H); 6,41-6,49 (m, 1H); 6,56 (bs, 1H); 6,89 (s, 1H); 7,09 (q, $J = 7,2$ i 7,4 Hz, 2H); 7,15 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H); 7,17-7,22 (m, 2H); 7,27-7,34 (m, 6H); 7,50 (d, $J = 7,78$ Hz, 2H); 8,35 (bs, 1H).

¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 11,2 (q); 15,2 (q); 27,7 (t); 28,3 (3q); 28,4 (3q); 29,7 (t); 37,4 (d); 42,1 (t); 52,7 (d); 57,7 (d); 59,9 (s); 61,4 (d); 67,3 (t); 81,8 (s); 82,5 (s); 84,2 (d); 109,4 (s); 111,3 (d); 118,5 (d); 118,9 (d); 119,8 (d); 121,1 (s); 122,3 (d); 123,3 (d); 123,4 (d); 124,7 (d); 127,4 (s); 128,4 (d); 128,5 (2d); 128,5 (2d); 130,5 (d); 132,2 (s); 135,1 (s); 136,1 (s); 170,1 (s); 170,3 (s); 171,2 (s).

MS (ESI+) $m/z = 872$ (M, 100%), 1746 (2M+4H⁺, 24%).

HPLC¹⁷ (MeCN:H₂O des de 50:50 fins 100:0 en 15 minuts): $t_R = 9,98$ min.

4.1.1.3 Síntesi de 24



La resina 2-Cl-Tr (1,03 g, 1 mmol/g) es ficà en una xeringa de polipropilè de 50 mL equipada amb un filtre de polietilè. La resina es rentà amb DMF (30 mL x 1 min x 3) i DCM (30 mL x 1 min x 3). Després s'addicionà una dissolució de Fmoc-L-Ala (0,33 g, 1,0 mmol) i DIEA (255 μ L, 1,5 mmol) en DCM (15 mL). 5 min després, s'afegí més DIEA (1,0 mL, 4,0 mmol) i la barreja s'agità durant 1 h a t.a. S'afegí MeOH (800 μ L) i es va remenar durant 30 min més. La resina Fmoc-L-Ala-O-Cl-Tr es rentà amb DMF (30 mL x 1 min x 3) i DCM (30 mL x 1 min x 3). El grup Fmoc de l'Fmoc-L-Ala-O-Cl-Tr es va treure tractant-la amb piperidina al 20% en DMF (20 mL x 3 min i 20 mL x 10 min x 2), i es rentà amb DMF (30 mL x 1 min x 3) i DCM (30 mL x 1 min x 3). S'afegí una dissolució, prèviament remenada durant 5 minuts, d' Fmoc-L-Val (1,02 g, 3,0 mmol), HOBt (0,40 g, 3,0 mmol) i DIPC (467 μ L, 3,0 mmol) a la resina i s'agità durant 2 h a t.a. Es rentà amb DMF (30 mL x 1 min x 3) i DCM (30 mL x 1 min x 3) i es feu el test de ninhidrina per comprovar que no quedava cap grup amino lliure. Després es repetiren els protocols per treure el grup Fmoc de cada aminoàcid i per acoblar els successius aminoàcids: l'Fmoc-L-Pro (1,01 g, 3,0 mmol), l'Fmoc-L-Phe (1,16 g, 3,0 mmol), l'Fmoc-L-Val (1,02 g, 3,0 mmol), l'Fmoc-L-Trp (1,28 g, 3,0 mmol) i l'Fmoc-L-Ile (1,06 g, 3,0 mmol). Tots els acoblaments es comprovaren fent el test de la ninhidrina, menys l'acoblament de l'Fmoc-L-Phe sobre la resina, que es feu el test de cloranil perquè aquest acoblament és fa sobre una amina secundària: l'amina de la Pro. A més, després d'aquest mateix acoblament, el protocol de rentat de la resina canvià pel següent: DMF (30 mL x 1 min x 3), *i*PrOH (30 mL x 3 min x 1), DMF (30 mL x 1 min x 1) i DCM (30 mL x 1 min x 3).

Després d'enganxar i desprotegir l'Fmoc-L-Ile a la cadena, es va acoblar **8i**; per a lo qual, prèviament, es saponificà el metil ester. LiOH 2M (7,5 mL, 15,0 mmol) s'afegí sobre una dissolució de **8i** (2,48 g, 5,0 mmol) en THF:H₂O 10:1 (85 mL). La reacció s'escalfà a temperatura de reflux durant 3 hores. Aleshores, es va afegir H₂O i el pH es va ajustar a 5 amb l'addició de HCl 2M. Es separaren les fases i la fase aquosa s'extragué amb EtOAc. Les fases orgàniques es combinaren, es rentaren amb NaCl saturat, i es van assecar amb Na₂SO₄ anhidre. L'evaporació del dissolvent al buit forní l'àcid corresponent amb rendiment quantitatiu.

Una dissolució activada durant 5 min de l'anterior àcid (1,56 g, 3,2 mmol), HATU (2,68 g, 7,0 mmol), HOAt (0,96 g, 7,0 mmol) i DIEA (2,5 mL, 14,1 mmol) en DMF (10 mL) s'addicionà a la

resina. La resina s'agità durant 2 h a t.a. Es va rentar amb DMF (30 mL x 1 min x 3), *i*PrOH (30 mL x 3 min x 1), DMF (30 mL x 1 min x 1) i DCM (30 mL x 1 min x 3). Fornint el pèptid **24** desitjat acoblat a la resina, que es va caracteritzar per HPLC i ESI+.

MS (ESI+) m/z = 1298 (M+2H⁺, 82%), 1097 (M-2Boc+H⁺, 7%).

HPLC¹⁷ (MeCN:H₂O des de 70:30 fins 80:20 en 15 minuts): t_R = 4,26 min.

4.1.2 Cicllació per l'enllaç Ile-HPI

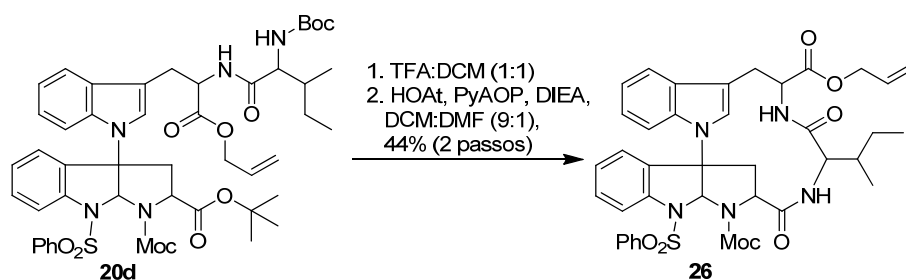


Figura e.3. Cicllació de l'anell A **26**.

20d (0,21 g, 0,23 mmol) es dissolgué en una barreja TFA:DCM (50:50, 4 mL) i la reacció s'agità durant 1 h. La reacció es concentrà en el rotavapor i s'obtingué el compost aminoàcid corresponent de **20d** de forma quantitativa.

HOAt (0,13 g, 0,92 mmol), PyAOP (0,48 g, 0,92 mmol) i DIEA (0,64 mL, 3,7 mmol) s'afegiren a una dissolució de l'aminoàcid anterior en DCM:DMF (9:1, 38,5 mL, 6 mM). La reacció s'agità a t.a. durant 18 h. La fase orgànica es rentà amb HCl 1M, H₂O, NaHCO₃ 10% i H₂O. El cru es purificà amb una columna C₁₈ (H₂O:MeCN, des de 70:30 fins 20:80) per obtenir **26** (0,08 g, 45%).

El compost **26** s'ha caracteritzat principalment amb l'espectre de gHSQC, on es veuen clarament totes les correlacions ¹H-¹³C del compost. Tanmateix, s'han descrit a continuació els espectres d' ¹H-RMN i ¹³C-RMN.

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0,93-0,99 (m, 6H); 1,13-1,24 (m, 1H); 1,70-1,81 (m, 1H); 2,10-2,20 (m, 1H); 2,26-2,51 (m, 2H) 3,13-3,20 (m, 1H); 3,46 (dd, J = 3,7 i 14,8 Hz, 1H); 3,67 (s, 3H); 3,99-4,14 (m, 1H); 4,44 (dd, J = 5,5 i 12,8 Hz, 1H); 4,47-4,56 (m, 1H); 5,00-5,06 (m, 1H); 5,07-5,14 (m, 1H); 5,16-5,27 (m, 2H); 5,42 (bs, 1H); 5,68-5,80 (m, 1H); 6,19 (s, 1H); 6,36 (s, 1H); 6,80-6,90 (m, 2H); 7,00 (dd, J = 7,4 i 7,5 Hz, 1H); 7,37-7,45 (m, 2H); 7,52 (dd, J = 7,7 i 7,8 Hz, 2H); 7,66 (dd, J = 7,4 i 7,5 Hz, 2H); 7,81 (s, 1H); 8,02 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 8,24 (bs, 2H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 10,6 (q); 15,4 (q); 25,3 (t); 26,8 (t); 34,9 (d); 43,5 (t); 51,9 (d); 53,7 (q); 59,2 (d); 62,9 (d); 66,2 (t); 73,1 (s); 86,3 (d); 109,6 (s); 115,2 (d); 118,7 (d); 119,1 (t); 119,3 (d); 119,5 (d); 121,4 (d); 123,3 (d); 124,6 (d); 125,0 (d); 127,5 (d); 128,2 (2d); 129,3 (d); 130,3 (d); 131,3 (d); 131,8 (s); 134,1 (d); 134,3 (s); 134,8 (s); 137,9 (s); 138,3 (s); 155,1 (s); 170,2 i 170,5 (s); 171,4 i 171,6 (s); 172,2 (s).

MS (ESI+) m/z = 740 ($\text{M}+\text{H}^+$, 100%), 757 ($\text{M}+\text{H}_2\text{O}$, 5%).

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{78}\text{H}_{83}\text{N}_{10}\text{O}_{16}\text{S}_2$ m/z ($2\text{M}+\text{H}^+$) 1479,5424, trobada 1479,5390.

HPLC¹⁷ (MeCN:H₂O des de 50:50 fins 100:0 en 15 minuts): t_R = 8,3 i 8,4 min.

4.1.3 Cicllació per l'enllaç Trp-Ile

4.1.3.1 Síntesi de 3a-bromo-1,8-(di-terc-butoxicarbonil)-HPI-2-carbonil-Ile-OAl-lil (27)

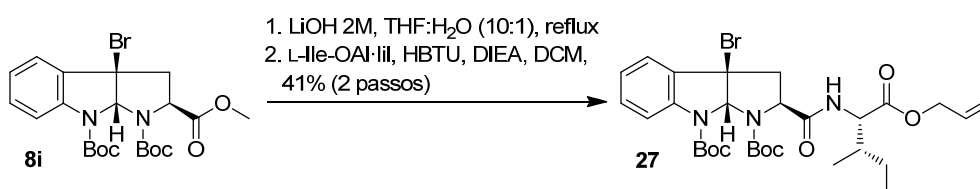


Figura e.4. Síntesi de 27.

LiOH 2M (4,5 mL, 9,1 mmol) s'afegí sobre una dissolució de **8i** (1,5 g, 3,02 mmol) en THF:H₂O 10:1 (51,3 mL). La reacció s'escalfà a temperatura de reflux durant 3 hores. Aleshores, es va afegir H₂O i el pH es va ajustar a 5 amb l'addició de HCl 2M. Es separaren les fases i la fase aquosa s'extragué amb EtOAc. Les fases orgàniques es combinaren, es rentaren amb NaCl saturat, i es van assecar amb Na₂SO₄ anhidre. L'evaporació del dissolvent al buit forní l'àcid corresponent amb rendiment quantitatiu.

Una dissolució d'Ile-OAl-lil (0,6 g, 3,6 mmol) i DIEA (0,63 mL, 3,6 mmol) en DCM (14 mL) s'addicionà a una dissolució de l'anterior àcid (1,4 g, 3,02 mmol) en DCM (23 mL). La barreja es va agitar durant 10 minuts a -10 °C. Es va afegir HBTU (1,1 g, 3,02 mmol) i la dissolució resultant es va agitar a t.a. durant 21 h. Es rentà amb NaHCO₃ 5%, NH₄Cl sat. i NaCl sat. La fase orgànica es secà amb Na₂SO₄ i es concentrà. El cru es va purificar amb columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc 70:30) fornint **27** (0,54 g, 41% rendiment).

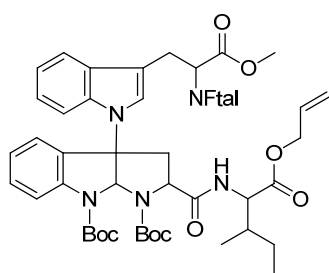
^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 0,88-0,94 (m, 6H); 1,15-1,26 (m, 1H); 1,39 (s, 9H); 1,41-1,49 (m, 1H); 1,58 (s, 9H); 1,86-1,93 (m, 1H); 2,84-2,95 (m, 1H); 3,18 (dd, $J = 6,3$ i $12,8$ Hz, 1H); 3,77 (dd, $J = 6,3$ i $10,1$ Hz, 1H); 4,58 (dd, $J = 3,6$ i $4,9$ Hz, 1H); 4,59-4,63 (m, 2H); 5,26 (ddd, $J = 1,1$, $2,5$ i $10,4$ Hz, 1H); 5,33 (ddd, $J = 1,4$, $2,5$ i $17,2$, 1H); 5,84-5,95 (m, 1H); 6,28 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H); 6,36 (s, 1H); 7,12 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H); 7,30 (dd, $J = 7,6$ i $7,9$ Hz, 1H); 7,35 (bd, $J = 7,6$ Hz, 1H); 7,50 (bd, $J = 7,9$ Hz, 1H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 11,5 (q); 15,4 (q); 25,1 (t); 28,2 (3q); 28,3 (3q); 38,1 (d); 41,9 (t); 56,5 (d); 59,9 (s); 61,3 (d); 65,8 (t); 81,6 (s); 82,4 (s); 84,1 (d); 118,7 (d); 119,0 (t); 123,3 (d); 124,5 (d); 130,5 (d); 131,5 (d); 133,3 (s); 141,4 (s); 152,3 (s); 169,9 (s); 171,4 (2s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 3343, 2975, 2933, 1721, 1532, 1478, 1394, 1368, 1331, 1165, 853, 751.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{30}\text{H}_{42}\text{BrN}_3\text{O}_7$ m/z (M) 635,2206, trobada 635,2628.

4.1.3.2 Síntesi de 1,8-(di-Boc)-3a-(N^α -Ftal-L-Trp-OMe- N^i -il)-HPI-2-carbonil-Ile-OAl·lil (28)



Una dissolució de **2e** (1,06 g, 3,0 mmol) en DMF anhidra (10 mL) s'addicionà a una suspensió de NaH 60% en oli mineral (0,15 g, 3,6 mmol) en DMF anhidra (20 mL). La mescla resultant s'agità a t.a. durant 15 minuts. Després es va afegir una dissolució de **27** (1,93 g, 3,0 mmol) en DMF anhidra (10 mL). La reacció s'agità durant 1,5 h a 70 °C. Es refredà a t.a. i s'afegí H_2O . La fase aquosa es saturà amb NaCl i s'extragué amb EtOAc (50 mL x 3). La fase orgànica s'assecà amb Na_2SO_4 i es concentrà al buit. El cru es purificà amb columna cromatogràfica de gel de sílice (hexà:EtOAc 70:30) obtenint **28** (0,85 g, 30% rendiment).

^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 0,85-1,03 (m, 6H); 1,13 (dd, $J = 3,2$ i $6,7$ Hz, 2H); 1,54 (s, 9H); 1,56 (s, 9H); 2,52 (bs, 1H); 2,68-2,90 (m, 1H); 2,97-3,15 (m, 1H); 3,54-3,66 (m, 2H); 3,77 (s, 3H); 3,94-4,07 (m, 1H); 4,49-4,73 (m, 3H); 5,08-5,31 (m, 3H); 5,75-5,90 (m, 1H); 6,50 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H); 6,65 (d, $J = 11,2$ Hz, 1H); 6,75 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H); 6,87-7,18 (m, 5H); 7,33-7,41 (m, 1H); 7,61 (dd, $J = 6,1$ i $7,4$ Hz, 1H); 7,66-7,83 (m, 5H); 7,87-8,01 (bs, 1H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 10,7 i 11,3 (q); 15,8 i 16,8 (q); 24,3 (t); 25,8 i 27,4 (t); 28,2 (6q); 34,1 i 34,4 (d); 39,9 (t); 52,2 i 52,3 (d); 52,8 (q); 56,8 i 58,2 (d); 61,2 (d); 61,5 (s); 66,3 (t); 78,4 (d); 78,7 (s); 83,1 (2s); 109,7 (s); 110,7 (d); 111,0 (d); 116,0 i 116,1 (d); 118,8 (t); 119,4 (d); 120,3 (d); 122,8 (d); 123,3 (d); 123,4 (d); 123,5 i 123,6 (s); 124,5 (2d); 126,4 (s); 129,9 (s); 131,4 (d); 131,5 (d); 131,7 (s); 134,1 (2d); 134,3 (s); 134,4 (s); 151,2 (s); 167,1 (s); 167,3 (s); 168,0 (s); 168,1 (s); 169,3 (2s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 3413, 2969, 1718, 1483, 1455, 1388, 1253, 1162, 1019, 739, 720.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{46}\text{H}_{49}\text{N}_5\text{O}_{11}$ m/z ($M - t\text{-Bu}$) 847,3429, trobada 847,3658.

4.1.3.3 Síntesi del tripèptid cíclic **29**

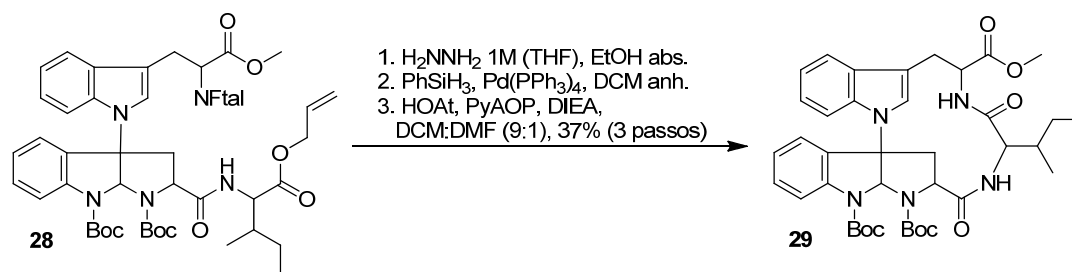


Figura e.5. Desprotecció de la ftalimida i l'al·lil de **28** i formació de l'anell A **29**.

Una dissolució de H_2NNH_2 1M (7 mL, 7,0 mmol) en THF s'afegí a sobre de **28** (1,3 g, 1,4 mmol) en EtOH abs. (35 mL). La barreja s'agità a t.a. durant 20h. S'evaporà el dissolvent per fornir el compost *N*-desprotegit amb rendiment quantitatiu.

Aquest es sotmeté directament a la desprotecció del grup al·lil; per a lo qual es mesclà amb PhSiH_3 (0,20 mL, 1,4 mmol) i $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (57 mg, 0,04 mmol) en DCM anhidre (16 mL) i es remoué durant 1h a t.a. Després la reacció es filtrà sobre Celite[®]. El filtrat es va rentar amb NH_4Cl aquós sat. i NaCl sat. La fase orgànica s'assecà amb Na_2SO_4 i concentrà en el rotavapor donant el compost amb el grup àcid lliure.

PyAOP (3,02 g, 5,6 mmol), HOAt (0,79 g, 5,6 mmol) i DIEA (4,03 mL, 22,4 mmol) s'afegiren a la dissolució de l'àcid anterior en DCM:DMF (9:1, 424 mL), i el pH s'ajustà a 8. La reacció es remenà durant 23 h a t.a. La fase orgànica es rentà amb HCl 1M, H_2O , NaHCO_3 10% i H_2O . El cru es purificà amb una columna C_{18} -semipreparativa (H_2O :MeCN, des de 70:30 fins 20:80 en 45 min) per obtenir **29** (0,38 g, 37%).

^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 0,86 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H); 1,07 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H); 1,10-1,21 (m, 1H); 1,40-1,48 (m, 1H); 1,60 (s, 18H); 2,48-2,61 (m, 1H); 3,09 (t, $J = 11,7$ Hz, 1H); 3,19-3,27 (m, 2H); 3,36 (dd, $J = 6,1$ i 11,7 Hz; 1H); 3,62 (s, 3H); 4,20 (dd, $J = 5,9$ i 11,2 Hz; 1H); 4,41 (d, $J = 10,6$ Hz, 1H); 5,11 (dd, $J = 7,4$ i 11,9 Hz, 1H); 6,50 (s, 1H); 6,63 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H); 6,93 (dd, $J = 7,4$ i 8,2 Hz, 1H); 6,99-7,13 (m, 3H); 7,18 (s, 1H); 7,37 (dd, $J = 7,5$ i 8,2 Hz, 2H); 7,47 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H); 7,53 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H); 8,00 (bs, 1H).

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 10,1 (q); 15,9 (q); 25,8 (t); 28,1 (t); 28,3 (6q); 32,9 (d); 41,3 (t); 52,4 (q i d); 60,3 (d); 62,7 (d); 79,2 (d); 83,3 (2s); 110,0 (s); 110,1 (d); 115,5 (d); 119,1 (d); 120,2 (d); 122,9 (d); 124,1 (d); 124,2 (d); 124,9 (d); 127,8 (s); 129,4 (s); 131,2 (d); 134,1 (s); 135,2 (s); 142,1 (s); 151,4 (s); 156,0 (s); 168,5 (s); 172,2 (s); 173,1 (s).

IR (KBr): ν (cm^{-1}) 3391, 2970, 1718, 1457, 1368, 1153, 883, 665.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{39}\text{H}_{49}\text{N}_5\text{O}_8\text{NaK}$ m/z ($M + \text{Na} + \text{K}$) 777,3116, trobada 777,2331.

4.2 Síntesi del N^α -Boc-Val-Phe-Pro-Val-Ala-OAl·lil (33)

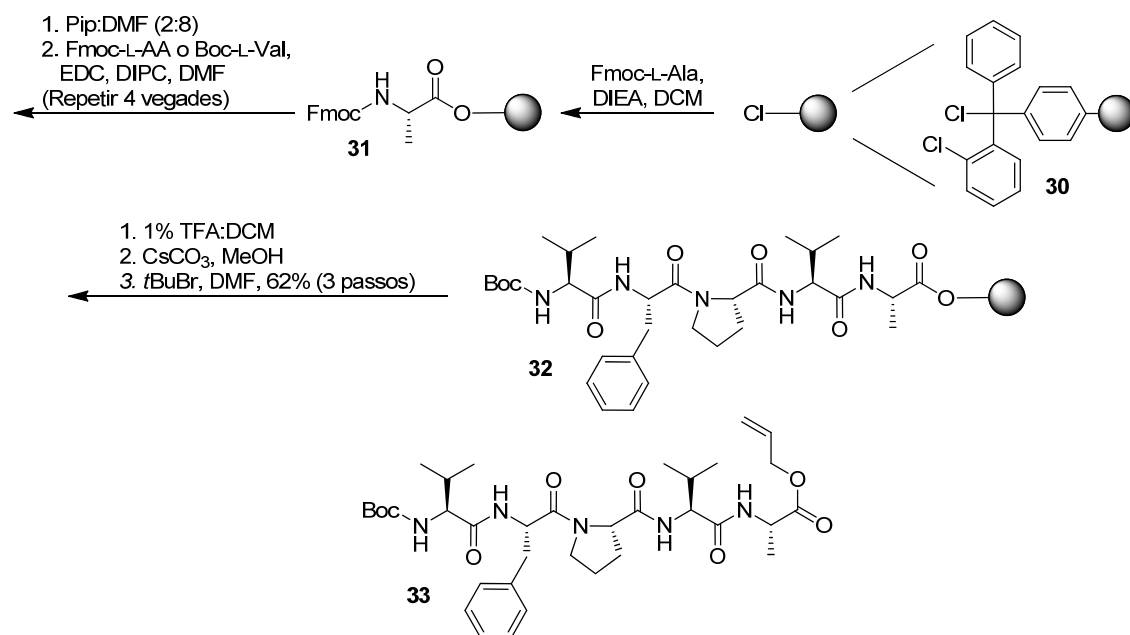


Figura e.6. Síntesi en fase sòlida i solució de 33.

La resina 2-Cl-Tr (1,0 g, 1 mmol/g) es col·locà en una xeringa de 20 mL de polipropilè equipada amb un disc de polietilè. La resina es rentà amb DMF (30 mL x 1 min x 3) i DCM (30 mL x 1 min x 3). S'afegí una dissolució de Fmoc-L-Ala-OH (0,31 g, 1 mmol) i DIEA (0,26 mL, 1,5 mmol) en DCM (15 mL). Després de 5 min, DIEA (0,8 mL, 6 mmol) s'addicionà i la barreja es remogué durant 1 h a 25 °C. MeOH (0,8 mL) s'addicionà i la resina s'agità durant 30 min més. La resina

Fmoc-L-Ala-O-CI-Tr es va rentar amb DMF (30 mL x 1 min x 3) i DCM (30 mL x 1 min x 3). El pèptid elongà en un sintetitzador automàtic LibertyTM Automatic Microwave Peptide Synthesizer emprant el següent protocol: la resina Fmoc-L-Ala-O-CI-Tr es rentà amb DMF (7 mL x 1 min x 4), DCM (7 mL durant 1 min) i DMF (20 mL durant 1 min). El grup Fmoc de la resina Fmoc-L-Ala-O-CI-Tr es va eliminar per tractament amb 20% piperidina/DMF (20 mL) a 30 °C durant 40 s. La resina es rentà amb DMF (5 mL x 1 min), una dissolució de 20% piperidina en DMF (20 mL x 10 min) a 50 °C i finalment amb DMF (20 mL x 30 s x 4). Dissolucions de DMF amb Fmoc-L-Val-OH (0,2 M, 15 mL), HBTU (0,45 M, 6 mL) i DIEA (2 M, 3 mL) es mesclaren amb la resina a 50 °C durant 6 min. La resina es rentà amb DMF (20 mL x 30 s x 3). Les següents eliminacions del grup Fmoc i els acoblaments d'aminoàcids (de Fmoc-L-Pro-OH, Fmoc-L-Phe-OH i Boc-Val-OH) es realitzaren tal i com es descriu a sobre per fornir el pèptid acoblat a la resina *N*^α-Boc-Val-Phe-Pro-Val-Ala-O-CI-Tr. La resina es va tractar amb 1% TFA:DCM per escindir el pèptid. El dissolvent i el TFA s'evaporaren en el rotavapor. El cru es dissolgué en H₂O/MeCN i es liofilitzà per obtenir *N*^α-Boc-Val-Phe-Pro-Val-Ala-OH (0,6 g) amb rendiment quantitatiu.

CsCO₃ (0,3 g, 1,1 mmol) s'afegí a una dissolució del pèptid obtingut (0,6 g, 1,01 mmol) en MeOH (3 mL). La reacció s'agità a t.a. durant 40 minuts. El MeOH es va evaporar al buit i el cru obtingut es va dissoldre en DMF (3 mL). S'addicionà *t*BuBr (0,10 mL, 1,0 mmol) a la dissolució i es remenà durant 4 h a t.a. Després, la mescla de reacció es diluï amb EtOAc i es rentà amb NaHCO₃ 2%. La fase aquosa s'extragué amb EtOAc. Les fases orgàniques es combinaren i es rentaren amb NaCl saturat, es secaren amb Na₂SO₄ i s'evaporaren al buit, donant un cru. Aquest cru es purificà amb un equip Semi-Preparatiu, emprant una columna XBridge i un gradient MeCN:H₂O des de 30:70 fins 100:0, fornint el compost desitjat **33** (0,40 g, 62%).

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0,77 (d, *J* = 6,0 Hz, 3H); 0,85 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H); 0,88-1,00 (m, 6H); 1,42 (s, 9H); 1,44 (s, 3H); 1,90-2,20 (m, 6H); 2,88-2,98 (m, 1H); 3,03-3,11 (m, 1H); 3,32 i 3,46 (m, 1H); 3,73 i 3,83 (m, 1H); 4,00 (bs, 1H); 4,29 (dd, *J* = 7,5 i 7,6 Hz, 1H); 4,52 (bs, 1H); 4,54-4,70 (m, 3H); 4,97-5,12 (m, 1H); 5,23-5,37 (m, 2H); 5,81-5,97 (m, 1H); 6,76 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H); 7,16-7,36 (m, 5H); 8,86 (bs, 3H).

¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 17,3 (q); 18,0 (q); 18,1 (q); 19,1 (2q); 25,0 (t); 28,2 (3q); 28,5 (t); 30,7 (d); 31,1 (d); 38,2 (t); 47,8 i 48,2 (t); 48,3 (d); 52,2 (d); 58,9 (d); 59,9 (d); 60,5 (d); 66,2 (t); 80,4 (s); 119,0 (t); 127,2 (d); 127,8 (d); 128,6 (d); 129,0 (d); 129,3 (d); 131,3 (d); 135,5 (s); 155,9 (s); 159,2 (s); 159,6 (s); 171,1 (s); 171,3 (s); 172,0 (s).

IR (KBr): ν (cm⁻¹) 3302, 2967, 1718, 1634, 1540, 1453, 1209, 1166.

HRMS (ESI+) calculada per a C₃₅H₅₄N₅O₈ *m/z* (M+H⁺) 672,3967, trobada 672,3966.

4.3 Cicllació de l'anell B i formació de la mayotlida

4.3.1 Síntesi de 35

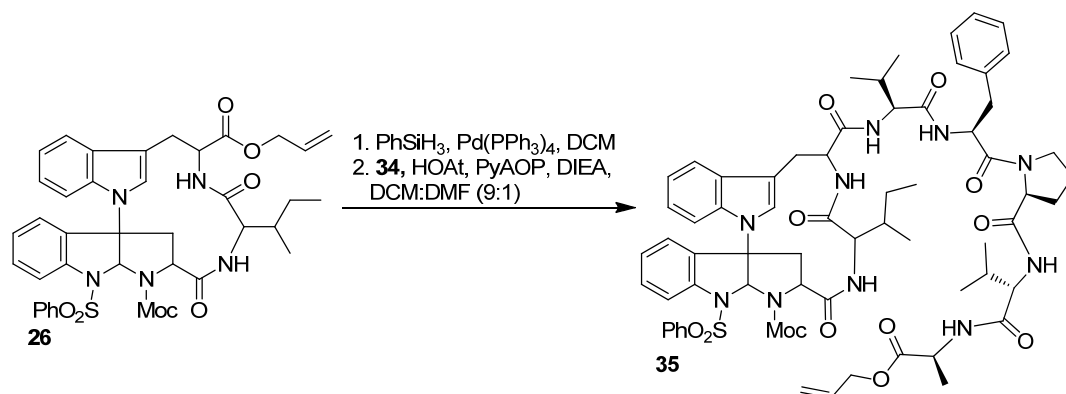


Figura e.7. Acoblament de la cadena pentapeptídica sobre l'anell A **26**.

Per a desprotegir el grup al·lil de **26**, PhSiH₃ (43 µL, 0,35 mmol) i Pd(PPh₃)₄ (12 mg, 0,01 mmol) s'afegiren a una dissolució de **26** (0,25 g, 0,35 mmol) en DCM anhidre (3 mL) i es remogué durant 1 h a t.a. Després la reacció es filtrà sobre Celite®. La fase orgànica s'assecà amb Na₂SO₄ i concentrà en el rotavapor donant el compost amb el grup àcid lliure.

Paral·lelament, **33** (0,24 g, 0,36 mmol) es va dissoldre en una barreja de TFA:DCM 1:1 (7 mL) i fou agitat durant 1 h a t.a. Llavors es va concentrar donant **34** de forma quantitativa.

EDC·HCl (0,07 g, 0,35 mmol) i HOAt (0,05 g, 0,35 mmol) s'addicionaren a una dissolució de l'àcid anterior (0,24 g, 0,35 mmol) en DCM:DMF (9:1, 4 mL). La dissolució s'agità durant 10 min i s'afegí una dissolució de **34** (0,20 g, 0,35 mmol) en DCM:DMF (9:1, 3 mL). La reacció es remenà durant 20 h a t.a. La fase orgànica es rentà amb NH₄Cl sat., NaHCO₃ 10% i NaCl sat., s'assecà amb Na₂SO₄ i concentrà al buit. El cru es purificà amb una columna C₁₈ (MeCN:H₂O, des de 30:70 fins 70:30) donant el compost **35** (0,06 g, 13%)

¹H-RMN (500 Mhz, CDCl₃) i ¹³C-RMN(100 Mhz, MeOD): La resolució dels espectres ha sigut dolenta, però amb l'espectre de gHSQC es troben unes senyals indicatives de la presència de **35**: δ (¹H ppm; ¹³C ppm) (0,53; 18,6) CH₃; (0,63; 19,4) CH₃; (0,81; 11,2) CH₃; (0,81; 15,9) CH₃; (0,87; 18,9) CH₃; (0,90; 19,8) CH₃; (1,29; 17,4) CH₃; (1,96; 32,6) CH; (2,72; 38,4) i (3,02; 38,5) CH₂-HPI; (3,21; 49,3) CH₃-O; (3,58; 54,7) H^α; (3,95; 59,9) H^α; (4,10; 60,0) H^α; (4,32; 49,7) H^α; (4,40; 61,7) H^α; (4,72; 54,1) H^α; (4,51; 67,0) CH₂CH=CH₂; (5,25; 119,2) i (5,12; 119,3) CH₂CH=CH₂; (6,51; -) H^{8a}.

MS (ESI+) *m/z* = 1255 (M+3H⁺, 100%).

HRMS (ESI+) calculada per a C₆₆H₈₁N₁₀O₁₃S *m/z* (M+H⁺) 1253,5699, trobada 1253,5662.

HPLC (MeCN:H₂O des de 50:50 fins 100:0 en 15 minuts): $t_R = 13,1$ min.

4.3.2 Síntesi de 37

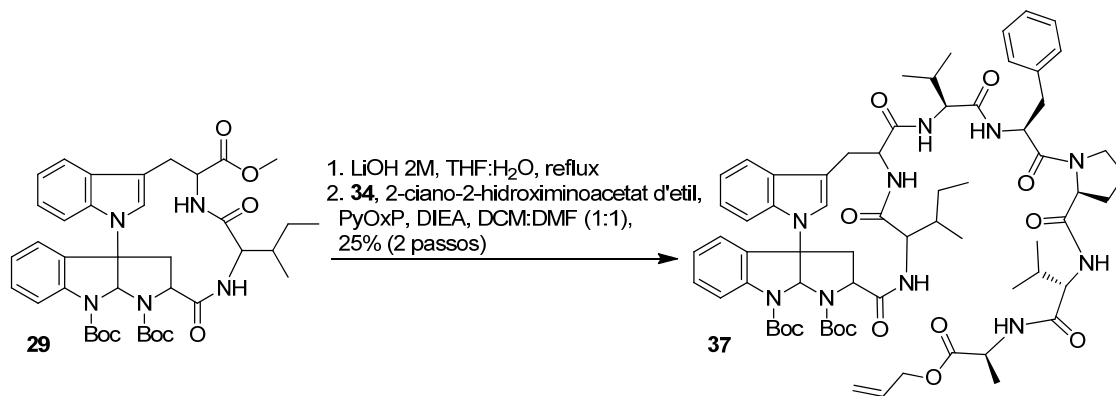


Figura e.8. Acoblament de la cadena pentapeptídica en l'anell A **29**.

LiOH 2M (0,90 mL, 1,8 mmol) s'afegí sobre una dissolució de **29** (0,43 g, 0,6 mmol) en THF:H₂O (10:1, 11 mL). La barreja de reacció s'agità durant 2 hores a temperatura de reflux. Després es va afegir H₂O i el pH es va ajustar a 5 amb HCl 2M. Es va afegir NaCl per saturar la fase aquosa i separar ambdues fases. La fase aquosa s'extragué amb THF. Les fases orgàniques es combinaren, s'assecaren amb Na₂SO₄ i s'evaporaren per donar l'àcid carboxílic amb un rendiment quantitatiu.

D'altra banda **33** (0,37 g, 0,55 mmol) es va dissoldre en una barreja de TFA:DCM 1:1 (7 mL) i fou agitat durant 2 h a t.a. Llavors es va concentrar donant **34** de forma quantitativa.

2-ciano-2-hidroxiacetat d'etil (0,28 g, 0,41 mmol), PyOxP (0,22 g, 0,41 mmol) i DIEA (0,085 mL, 0,49 mmol) s'afegiren a una dissolució de l'àcid de **29** (0,29 g, 0,41 mmol) en una mescla DCM:DMF (1:1, 6 mL). La mescla de reacció es remogué a t.a. durant 10 minuts. Una dissolució de **34** (0,28 g, 1 eq) en DCM:DMF (1:1, 6 mL) s'addicionà i la dissolució resultant es remenà a t.a. durant 4,5 h. Després, la reacció es rentà amb NaHCO₃ 5%, NH₄Cl sat. i NaCl sat. La fase orgànica es va assecar amb Na₂SO₄ i concentrar al buit. El cru es purificà amb una columna C₁₈ (MeCN:H₂O, des de 30:70 fins 70:30 en 30 min) donant el compost **37** (0,130 g, 25%).

¹H-RMN i ¹³C-RMN (400 Mhz, CDCl₃): La resolució dels espectres ha sigut dolenta, però amb l'espectre de gHSQC i HMBC es troben unes senyals indicatives de la presència de **37**. δ (¹H ppm; ¹³C ppm) (0,86; 22,6) CH₃; (0,90; 13,9) CH₃; (0,93; 10,8) CH₃; (1,31; 22,8) CH₂-Pro; (1,43; 23,7) CH₂-Ile; (1,43; 28,1) tBu; (1,52; 28,1) tBu; (1,69; 38,6) CH₃; (1,93; 26,2) CH₂; (3,98; 59,4)

H^{α} ; (4,18; 59,1) H^{α} ; (4,58; 48,1) H^{α} ; (4,59; 61,5) H^{α} ; (4,62; 65,8) $CH_2-CH=CH_2$; (4,94; 52,2) H^{α} ; (5,25; 118,8) $CH_2-CH=CH_2$; (5,36; 82,3) H^{8a} .

HRMS (ESI+) calculada per a $C_{68}H_{93}N_{10}O_{14}NaK$ m/z ($M+H^++H_2O$) 1273,6873, trobada 1273,5575.

4.3.3 Síntesi de mayotlida

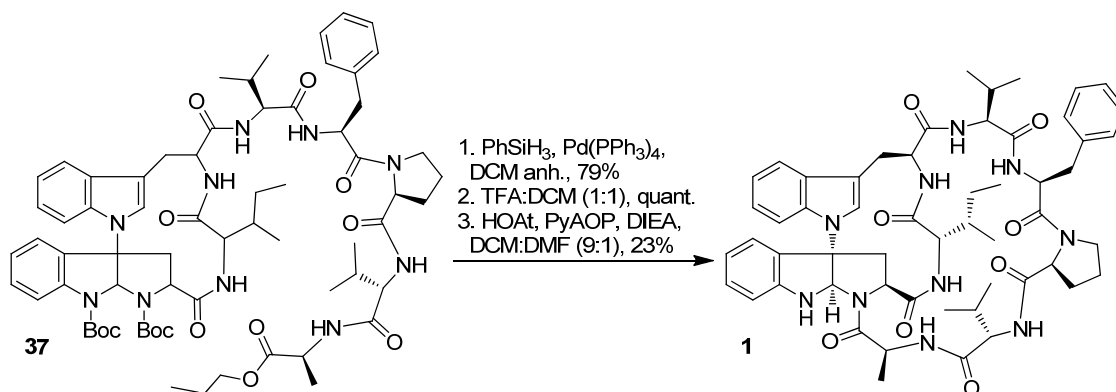


Figura e.9. Ciclació de l'anell B i obtenció d'1.

PhSiH₃ (0,013 mL, 0,10 mmol) i Pd(PPh₃)₄ (4 mg, 0,003 mmol) s'afegiren a una dissolució de **37** (0,13 g, 0,10 mmol) en DCM anhidre (8 mL). La reacció es remogué durant 1 h a t.a. S'addicionà DCM i es rentà amb NaHCO₃ 10%, NH₄Cl saturat i NaCl saturat; es secà amb Na₂SO₄ i s'evaporà el dissolvent, obtenint el producte hidrolitzat (0,1 g, 79%).

L'anterior compost (0,1 g, 0,08 mmol) es dissolgué en TFA:DCM (1:1, 4 mL). La reacció s'agità durant 1 h a t.a. S'evaporà el dissolvent obtenint el producte amb rendiment quantitatiu.

Finalment, HOAt (0,04 g, 0,3 mmol), PyAOP (0,14 g, 0,3 mmol) i DIEA (0,18 mL, 1,1 mmol) s'afegiren a una dissolució de l'anterior compost (0,07 g, 0,07 mmol) en DCM:DMF (90:10, 17 mL). La reacció s'agità a t.a. durant 16 h. S'addicionà DCM i es rentà amb NaHCO₃ 10%, NH₄Cl saturat i NaCl saturat; es secà amb Na₂SO₄ i es concentrà en el rotavapor, obtenint un cru. Aquest cru es purificà amb columna de fase inversa (MeCN:H₂O des de 20:80 fins 70:30) fornint **1** (0,011 g, 13 %).

MS (ESI+) m/z = 1023 ($M+3H^++Na$, 100%); 999 ($M+3H^+$, 70%).

HPLC¹⁸ (MeCN:H₂O des de 30:70 fins 100:0 en 22 minuts): t_R = 9,98 min.

¹⁸ Columna Symmetry C18 (5 μ m, 4,6 x 150 mm). λ = 220 nm.

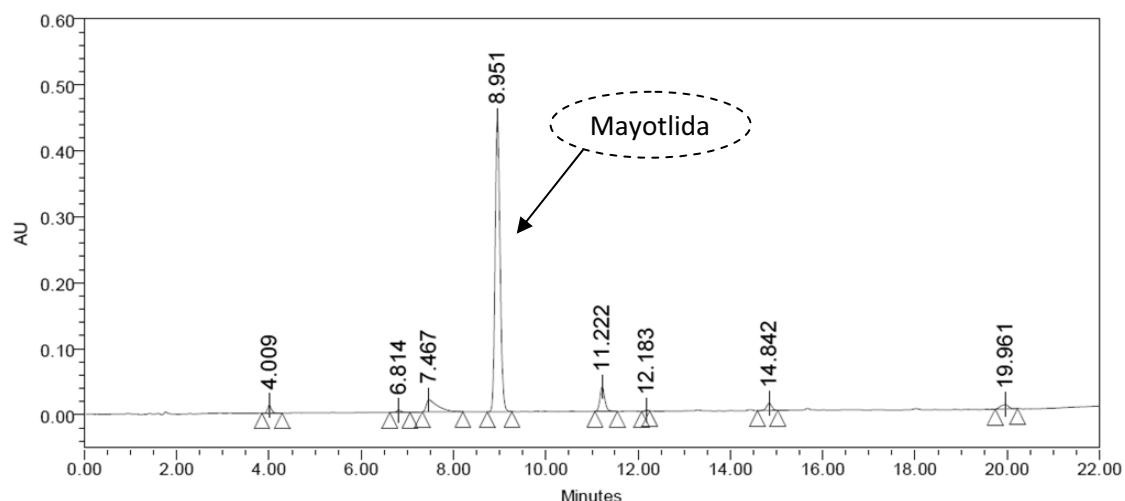


Figura e.10. Cromatograma de la maytllid sintètica.

5 Capítol 3. Estudi de la relació estructura-activitat de la maytllid

5.1 Assaig de GI50

Un mètode descrit prèviament^{19,20} s'adaptà a un assaig colorimètric amb sulforodamina B per mesurar quantitativament el creixement cel·lular i la viabilitat.

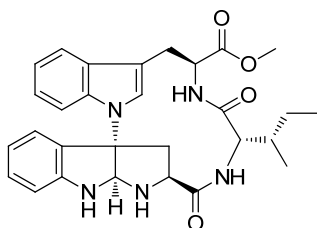
Les cèl·lules es cultivaren en plaques de 96 pous microperforades, ficant 5×10^3 cèl·lules en cada pou amb alíquotes de 195 μL de medi RPMI. Les cèl·lules es deixaren créixer lliures de fàrmacs durant 18 h, llavors, s'afegiren les mostres en alíquotes de 5 μL (dissoltes en $\text{DMSO}:\text{H}_2\text{O}$, 3:7). Després de 72 h d'exposició, l'efecte antitumoral es mesurà amb la metodologia SRB. 50 μL d'àcid tricloracètic fred al 50% s'afegiren a les cèl·lules per fixar-les i s'incubaren durant 60 min a 4 °C. Les plaques es rentaren amb H_2O desionitzada i es secaren; 100 μL de solució d'SRB (0,4% en àcid acètic a l'1%) s'afegiren a cada micropou i s'incubaren durant 10 min a t.a. L'excés d'SRB s'eliminà rentant amb àcid acètic a l'1%. Les plaques es secaren amb una corrent d'aire i el tint unit es solubilitzà amb tampó Tris. Les densitats òptiques es llegiren amb un espectrofotòmetre a una longitud d'ona de 490 nm. Les anàlisis de dades es generaren amb implementació LIMS. La concentració de fàrmac que provoca el 50% d'inhibició del creixement (GI50) es calcula amb l'equació: $100 \times \left(\frac{T - T_0}{C - T_0} \right) = 50$; on

¹⁹ P. Skehan, R. Storeng, D. Scudiero, A. Monks, J. McMahon, D. Vistica, J.T. Warren, H. Bokesch, S. Kenney, M.R. Boyd *J. Natl. Cancer Inst.*, **1990**, 82, 1107

²⁰ G.T. Faircloth, D. Stewart, J.J. Clement *J. Tissue Cult. Methods*, **1988**, 11, 201

“C” és valor de la densitat òptica de control, “T” és el valor de la densitat òptica de test, i “T₀” és la densitat òptica a temps zero.

5.2 Síntesi de 38



29 (0,20 g, 0,28 mmol) es dissolgué en una barreja de TFA:DCM (1:1, 10 mL) i s'agità durant 1 h a t.a. El dissolvent s'evaporà. El cru es purificà amb columna semipreparativa (MeCN:H₂O des de 30:70 fins 100:0 en 30 minuts) fornint **38** (0,06 g, 46%), després de ser liofilitzat.

¹H-RMN (400 MHz, MeOD): δ (ppm) 0,89 (t, *J* = 7,3 Hz, 3H); 0,96 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H); 1,21-1,30 (m, 2H); 2,52-2,63 (m, 1H); 2,89 (dd, *J* = 4,8 i 15,0 Hz, 1H); 3,20 (t, *J* = 11,6 Hz, 1H); 3,52 (dd, *J* = 4,0 i 15,0 Hz, 1H); 3,70 (s, 3H); 3,92 (dd, *J* = 6,0 i 11,6 Hz, 1H); 4,33 (dd, *J* = 6,0 i 11,6 Hz, 1H); 4,44 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H); 4,97-5,04 (m, 1H); 6,81 (dd, *J* = 7,2 i 8,0 Hz, 1H); 7,06 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H); 7,10 (s, 1H); 7,14 (dd, *J* = 7,5 i 7,8 Hz, 1H); 7,23-7,31 (m, 1H); 7,34 (dd, *J* = 7,2 i 8,5 Hz, 1H); 7,45 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H); 7,48 (s, 1H); 7,60 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H); 7,67 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H).

¹³C-RMN (100 MHz, MeOD): δ (ppm) 10,1 (q); 14,8 (q); 27,1 (t); 30,9 (t); 32,9 (d); 39,7 (t); 51,5 (d); 52,4 (q); 62,3 (d); 62,8 (d); 79,7 (s); 84,7 (d); 110,0 (s); 111,3 (d); 111,6 (d); 119,3 (d); 120,1 (d); 121,8 (d); 122,9 (d); 123,6 (d); 127,7 (d); 128,6 (s); 129,6 (s); 131,5 (d); 135,8 (s); 149,2 (s); 168,6 (s); 170,9 (s); 171,9 (s).

5.3 Síntesi de Trp-Ile-Trp-Val-Phe-Pro-Val-Ala-OH (42)

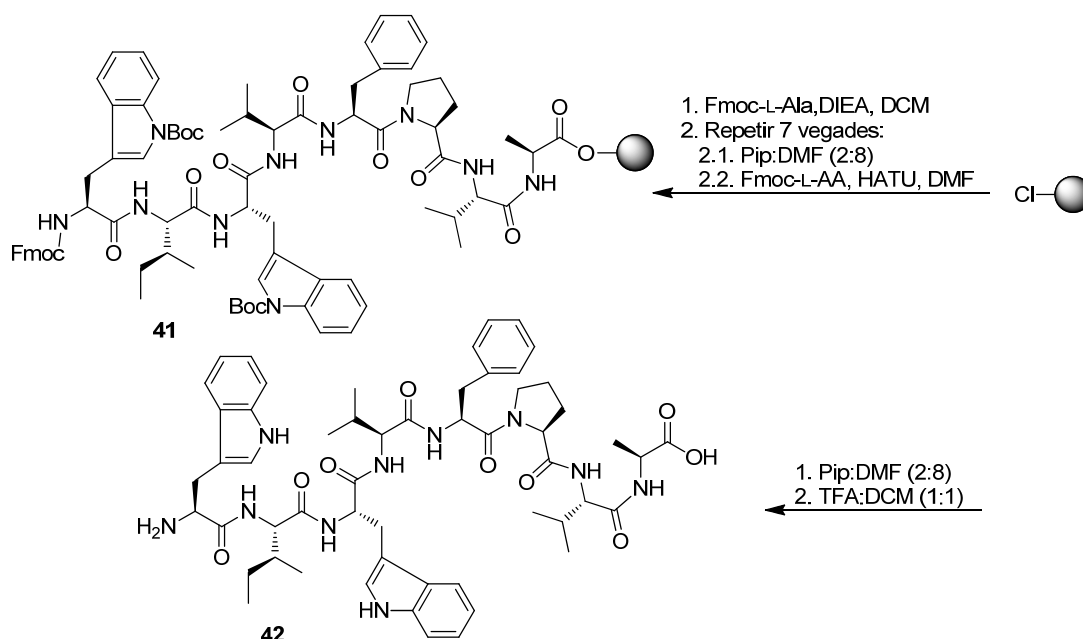


Figura e.11. Síntesi de 42.

La resina 2-Cl-Tr (1,07 g, 1 mmol/g) es ficà en una xeringa de polipropilè de 50 mL equipada amb un filtre de polietilè. La resina es rentà amb DMF (30 mL x 1 min x 3) i DCM (30 mL x 1 min x 3). Després es va afegir una dissolució de Fmoc-L-Ala (0,35 g, 1 mmol) i DIEA (0,27 mL, 1,5 mmol) en DCM (15 mL). Després de 5 min, més DIEA (0,73 mL, 4,5 mmol) fou afegit i la barreja s'agità durant 1 h a t.a. S'afegí MeOH (0,8 mL) i es va agitar durant 30 min més. La resina Fmoc-L-Ala-O-Cl-Tr es rentà amb DMF (30 mL x 1 min x 3) i DCM (30 mL x 1 min x 3). L'elongació del pèptid es feu en l'equip LibertyTM Automatic Microwave Peptide Synthesizer seguint el següent protocol: la resina Fmoc-L-Ala-O-Cl-Tr es va netejar amb DMF (7 mL x 1 min x 4), DCM (7 mL durant 1 min) i DMF (20 mL durant 1 min). El grup Fmoc de Fmoc-L-Ala-O-Cl-Tr es va treure tractant-la amb piperidina al 20% en DMF (20 mL) a 30 °C durant 40 s, rentat amb DMF (5 mL) durant 1 min, dissolució de piperidina al 20% en DMF (20 mL) a 50 °C durant 10 min, i finalment DMF (20 mL x 30 s x 4). Després dissolucions de DMF de Fmoc-L-Val (0,2 M, 15 mL), HATU (0,5 M, 6 mL) i DIEA (2 M, 3 mL) foren mesclades amb la resina a 50 °C durant 6 min. La resina es va netejar amb DMF (20 mL x 30 s x 3). Successives eliminació del grup Fmoc i acoblaments de Fmoc-L-Pro, Fmoc-L-Phe, Fmoc-L-Val, Fmoc-L-Trp(Boc), Fmoc-L-Ile i Boc-L-Trp(Boc) foren realitzats com s'ha descrit abans per fornir a la fi el pèptid ancorat a la resina *N*^α-Boc-Trp(Boc)-Ile-Trp(Boc)-Val-Phe-Pro-Val-Ala-OH. El pèptid s'escindí amb TFA al 1% en DCM, i es concentrà al buit. El cru es dissolgué en una barreja de TFA:DCM (1:1, 30 mL) i s'agità durant 1 h a t.a. El dissolvent s'evaporà. El cru es dissolgué en la mínima quantitat de DCM,

s'afegí H₂O a la dissolució orgànica per provocar la precipitació del compost, es centrifugà i decantà. El precipitat es dissolgué en MeCN: H₂O per a ser liofilitzat, obtenint **42** (0,49g, 50%).

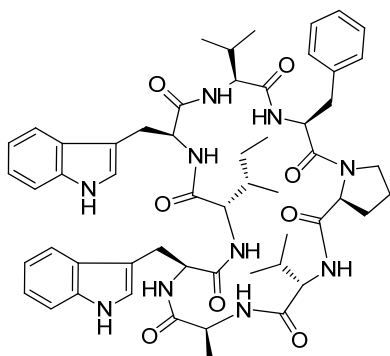
¹H-RMN (400 MHz, MeOD): δ (ppm) 0,73-0,86 (m, 12H); 0,92 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H); 0,97 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H); 1,00-1,09 (m, 1H); 1,36 (d, *J* = 7,3 Hz, 3H); 1,43-1,53 (m, 1H); 1,70-1,80 (m, 1H); 1,83-2,07 (m, 6H); 2,83 (dd, *J* = 8,6 i 14,0 Hz, 1H); 3,01-3,27 (m, 5H); 3,46-3,54 (m, 1H); 3,70-3,79 (m, 1H); 4,17 (dd, *J* = 5,5 i 8,8 Hz, 1H), 4,21 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H); 4,28-4,33 (m, 1H); 4,35 (d, *J* = 7,3 Hz, 2H); 4,49-4,55 (m, 1H); 4,75-4,81 (m, 1H); 4,87-4,92 (m, 1H); 6,93-7,15 (m, 7H); 7,16-7,23 (m, 4H); 7,25 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H); 7,32 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H); 7,61 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H).

¹³C-RMN (100 MHz, MeOD): δ (ppm) 11,5 (q); 16,0 (q); 17,6 (q); 18,7 (q); 18,9 (q); 19,8 (2q); 25,9 (2t); 29,0 (t); 29,3 (t); 30,3 (t); 32,3 (d); 32,6 (d); 38,7 (d i t); 48,8 (t); 49,4 (d); 53,8 (d); 54,8 (d); 55,3 (d); 59,5 (d); 59,8 (d); 59,9 (d); 61,4 (d); 107,9 (s); 111,0 (s); 112,4 (d); 112,6 (d); 119,2 (d); 119,5 (d); 120,0 (d); 120,4 (d); 122,5 (d); 123,0 (d); 124,7 (d); 125,8 (d); 127,8 (d); 128,3 (s); 128,8 (s); 129,6 (2d); 130,6 (2d); 138,1 (s); 138,2 (s); 138,3 (s); 170,1 (s); 172,2 (s); 172,8 (s); 173,0 (s); 173,3 (s); 173,7 (s); 174,1 (s); 175,7 (s).

IR (KBr): ν (cm⁻¹) 3302, 3063, 2967, 1647, 1527, 1457, 1202, 744.

HRMS (ESI+) calculada per a C₅₅H₇₃N₁₀O₉ *m/z* (M+H⁺) 1017,5562, trobada 1017,5574.

5.4 Síntesi del cicle Trp-Ile-Trp-Val-Phe-Pro-Val-Ala (40)



DIEA (85 μL, 0,48 mmol) fou afegit en una dissolució de Trp-Ile-Trp-Val-Phe-Pro-Val-Ala-OH (0,25 g, 0,24 mmol), HOAt (0,07 g, 0,48 mmol), PyAOP (0,25 g, 0,48 mmol) en DCM (200 mL). La mescla de reacció s'agità durant 2 hores a t.a. La dissolució es rentà amb H₂O, 1N HCl, H₂O, 10% NaHCO₃, H₂O i s'assecà amb Na₂SO₄ anhidre. Després d'evaporar el dissolvent, el cru obtingut es purificà amb una columna SunFire Prep. C₁₈ (19 x 100 mm, 5 μm) (MeCN:H₂O des de 50:50 fins 60:40). El compost es liofilitzà i s'obtingué **40** (20 mg, 8%).

^1H -RMN (400 MHz, MeOD): δ (ppm) 0,49 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H); 0,53 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H); 0,59-0,68 (m, 7H); 0,73 (bd, $J = 6,5$ Hz, 4H); 0,81 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H); 0,85 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H); 0,87 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H); 0,88-0,94 (m, 9H); 0,97 (d, $J = 6,2$ Hz, 3H); 1,02-1,07 (m, 1H); 1,09-1,16 (m, 1H); 1,27-1,31 (m, 1H); 1,33 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H); 1,40-1,47 (m, 2H); 1,49 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H); 1,59-1,67 (m, 1H); 1,78-1,89 (m, 3H); 1,90-1,99 (m, 4H); 2,00-2,07 (m, 1H); 2,09-2,18 (m, 1H); 2,18-2,26 (m, 1H); 2,82 (dd, $J = 5,4$ i 13,5 Hz, 1H); 2,91 (t, $J = 12,3$ Hz, 1H); 3,06 (dd, $J = 5,0$ i 12,3 Hz, 1H); 3,13 (dd, $J = 8,2$ i 12,3 Hz, 1H); 3,24-3,39 (m, 6H); 3,46 (d, $J = 7,7$ Hz, 2H); 3,51-3,61 (m, 4H); 3,70-3,77 (m, 2H); 3,80-3,86 (m, 2H); 4,09-4,18 (m, 2H); 4,19-4,24 (m, 2H); 4,27-4,36 (m, 3H); 4,39 (t, $J = 6,7$ Hz, 1H); 4,48 (dd, $J = 6,9$ i 14,1 Hz, 1H); 4,55 (dd, $J = 4,9$ i 10,8 Hz, 1H); 4,64 (bs, 1H); 4,89-4,94 (m, 1H); 6,97-7,15 (m, 10H); 7,16-7,37 (m, 16H); 7,50 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H); 7,53 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H); 7,63 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H).

^{13}C -RMN (100 MHz, MeOD): δ (ppm) 11,8 (q); 11,9 (q); 15,8 (q); 16,3 (q); 17,5 (q); 17,7 (q); 18,7 (q); 19,0 (2q); 19,3 (q); 19,5 (q); 19,7 (q); 20,0 (q); 20,3 (q); 22,5 (t); 24,8 (t); 25,3 (t); 25,9 (t); 26,0 (t); 26,9 (t); 27,4 (t); 27,5 (t); 29,9 (d); 30,4 (d); 30,5 (t); 31,0 (t); 32,4 (d); 37,2 (2d); 38,7 (t); 38,9 (t); 40,0 (d); 47,2 (t); 48,7 (t); 50,0 (d); 52,0 (d); 54,7 (d); 55,2 (d); 57,3 (d); 57,4 (d); 57,6 (d); 58,7 (d); 59,2 (d); 59,9 (d); 60,0 (d); 61,2 (d); 61,4 (d); 62,6 (d); 64,8 (d); 110,2 (2s); 111,8 (2s); 112,3 (d); 112,4 (d); 112,5 (d); 112,7 (d); 119,1 (d); 119,2 (2d); 119,3 (d); 119,7 (d); 119,8 (d); 120,1 (d); 120,4 (d); 122,3 (d); 122,5 (d); 122,8 (d); 123,0 (d); 124,1 (d); 124,4 (d); 124,7 (2d); 127,9 (d); 128,4 (s); 128,6 (d); 128,8 (2s); 128,9 (s); 129,7 (2d); 130,1 (2d); 130,4 (2d); 130,7 (2d); 137,1 (s); 138,0 (s); 138,1 (s); 138,2 (s); 138,3 (s); 138,6 (s); 172,8 (s); 172,9 (2s); 173,0 (s); 173,2 (s); 173,3 (s); 173,5 (s); 173,6 (2s); 173,8 (2s); 174,4 (s); 174,7 (s); 176,0 (s).

IR (KBr): ν (cm $^{-1}$) 3335, 2965, 1653, 1520, 1457, 1203, 743.

HRMS (ESI+) calculada per a $\text{C}_{55}\text{H}_{71}\text{N}_{10}\text{O}_8$ m/z ($\text{M}+\text{H}^+$) 999,5456, trobada 999,5436.