UNIVERSIDAD VERACRUZANA

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

SÍNTESIS DE 2,5-DICETOPIPERAZINAS BASADAS EN LA ESTRUCTURA DEL ÁCIDO 2,3-DIAMINOPROPIÓNICO Y AMINOÁCIDOS AROMÁTICOS

TESIS

QUE PARA ACREDITAR LA EXPERIENCIA RECEPCIONAL DE LA CARRERA DE QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

RUBÉN OSWALDO ARGÜELLO VELASCO

DIRECTORES DEL TRABAJO

Dr. Oscar García Barradas
Unidad SARA

Dr. Jorge G. Domínguez Chávez
Facultad de Bioanálisis-Veracruz

XALAPA-ENRÍQUEZ, VERACRUZ **ENERO, 2014**

UNIVERSIDAD VERACRUZANA

FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

CARTA DE ACEPTACIÓN
DE TRABAJO RECEPCIONAL CONCLUIDO

Síntesis de 2,5-Dicetopiperazinas Basadas en la Estructura del Ácido 2,3-Diaminopropiónico y Aminoácidos Aromáticos

TESIS

Que para acreditar la Experiencia Recepcional de la Carrera de Químico Farmacéutico Biólogo

PRESENTA

Rubén Oswaldo Argüello Velasco

Dr. Oscar García Barradas
Unidad de Servicios de Apoyo en Resolución Analítica
Universidad Veracruzana

Dr. Jorge Guillermo Domínguez Chávez
Facultad de Bioanálisis-Veracruz
Universidad Veracruzana

Dr. Omar David Muñoz Muñiz
Sinodal

Dr. Ernesto Juárez Loera
Sinodal

Xalapa, Veracruz **Enero, 2014**

El presente trabajo fue realizado en la Unidad de Servicios de Apoyo en Resolución Analítica (SARA) de la Universidad Veracruzana, bajo la dirección del profesor Dr. Oscar García Barradas, en colaboración con el profesor Dr. Jorge Guillermo Domínguez Chávez, de la Facultad de Bioanálisis, Campus Veracruz, de la Universidad Veracruzana. Durante su desarrollo se contó con financiamiento del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), proyecto número 119327, Convocatoria de Apoyos Complementarios a Investigadores en Proceso de Consolidación (SNI 1) 2009.

Dedicatorias y Agradecimientos

Principalmente quiero agradecer a los seres más preciados de mi vida, a mis padres, ya que sin el apoyo de ellos no hubiera podido realizar mis objetivos. A ti mamá, que siempre diste todo tu esfuerzo y amor inmenso, gracias a todo eso pude superar muchas cosas solo. A ti papá, por tus consejos, el apoyo y confianza que desde lejos me has brindado y por creer en mí. Gracias a ustedes, soy quien soy!

A mis hermanos: Ana Karina y David Armando, por siempre darle ese impulso a mi vida y por apoyarme en esta etapa. Son un motivo muy grande para que yo siga adelante.

A ti Eva, por esos momentos tan agradables que compartimos y vivimos. Por el apoyo en momentos difíciles y principalmente por terminar este logro juntos.

A Nayo, Susi y Erwin; quienes siempre se enorgullecieron de mí y siempre tuvieron fe en que realizaría éste gran logro, quiero que sepan que no les fallé y que seguiré adelante recordándolos siempre.

A mis tíos: Armando, Alfredo, Carmen, Tencha, Aurora, Flori, Rafa, Rosalba y Gloria; quienes en toda ésta etapa estuvieron pendientes del camino que seguía aunque estuviera lejos, les dedico con mucho cariño éste trabajo. Y a toda la familia que no recordé en éste momento pero saben quiénes son.
A mis primos: Belén, Daniel (mimosín), Arturo y Edgar; les dedico éste trabajo primos, ya que siempre hemos sido unos primos unidos y estoy seguro que estarán muy felices por concluir ésta etapa.

Les dedico esto con mucho cariño a mis abuelas Luz y Trinidad, quienes estuvieron conmigo la mayor parte de mi vida en Comitán y a quienes les guardo un cariño inmenso.

Trini, sé que estés donde estés estarás muy orgullosa de mí y me estarás enviando las bendiciones que siempre me dabas cuando estabas con nosotros, te extraño abuela.

Este trabajo también quiero dedicárselo a mis padrinos Amparo y Sergio, quienes han estado presentes en todas las etapas de mi vida y a quienes les guardo mucho cariño.

A Ud. Dr. Oscar por brindarme su amistad, darme la oportunidad de trabajar en éste proyecto, compartir sus conocimientos y por dejarme ser parte de su equipo de trabajo, en verdad, fue un honor trabajar con usted, es una excelente persona. Parte de éste gran grupo de trabajo son Lupita, Susy y la Dra. Remedios, quienes siempre me apoyaron en las cosas que necesitaba y me brindaron su amistad, gracias.

A mis sinodales: Dr. Omar y Dr. Ernesto, quienes influyeron fuertemente en mi formación académica y que hicieron que me enamorara aún más de ésta hermosa carrera.

Gracias al Dr. Jorge Guillermo por el apoyo en la mejora de éste trabajo.

Gracias Dios por brindarme salud, fuerza, energía y valor para pasar por momentos difíciles y agradables.

A mi Amigo Marcos quien compartió momentos agradables y que hizo que tuviera una estancia agradable en Xalapa, gracias hermano. Y también a mis amigos con quienes compartí buenos momentos en Xalapa: Alexis, Marco, Tavation, Mei, Mauricio y Claudia.

Dedico con cariño éste trabajo a mis amigos Chuy, Mauricio, Gaby y Lalo con quienes desde hace mucho tiempo mantengo una amistad y un cariño muy fuerte.

Resumen

Los péptidos cíclicos se utilizan ampliamente como moléculas modelo para péptidos más grandes en la química, bioquímica y química farmacéutica. De entre una gran variedad de ciclopéptidos reportados en la literatura, existe una clase especial de éstos compuestos denominados 2,5-dicetopiperazinas (DKP's), las cuales son pequeños péptidos cíclicos, que han mostrado amplias aplicaciones terapéuticas, además de que algunas han sido usados como catalizadores orgánicos en la hidrocianación de iminas y en el campo de los peptidomiméticos, han mostrado ser moléculas prometedoras en el desarrollo de nuevos fármacos. El objetivo de éste trabajo es desarrollar la síntesis de dipéptidos cíclicos con potencial actividad biológica partiendo de aminoácidos sintéticos y naturales. Para llegar a la reacción de acoplamiento iniciamos sintetizando el éster metílico de tirosina utilizando DIPEA y clorotrimetilsilano que resultan ser buenos reactivos para ésta reacción. La obtención del acido 2,3-diamino propiónico se obtuvo realizando la protección de la asparagina con el grupo protector Boc, posteriormente se realizó el reordenamiento de Hoffman con PIDA para obtener el grupo amino y así realizar la protección del grupo amino con cloformiato de bencilo. El acoplamiento se realizó con cloroformiato de isobutilo que resultó ser un buen reactivo para ésta reacción. La obtención de dicetopoperazinas será de gran importancia e interés en muchas áreas, principalmente en el área de farmacia y ciencias de la salud ya que se podrían realizar pruebas biológicas en las que se identificarían las posibles actividades biológicas del compuesto obtenido y registrarlas para futuros proyectos.

Índice

Resumen……..i
Índice de tablas……..v
Índice de compuestos……vi
Abreviaturas……vii
1. Introducción……..1
2. Antecedentes……4
2.1. Clasificación y propiedades de los aminoácidos……4
2.2. Péptidos y proteínas: características y propiedades……8
2.3. Péptidos y ciclopéptidos……8
2.4. 2,5-Dicetopiperacinas……11
2.5. Ácido 2,3-Diaminopropionico……14
3. Planteamiento del problema……16
4. Hipótesis……17
5. Objetivos……18
5.1. Objetivo general……18
5.2. Objetivos específico……18
6. Resultados y Discusión……19
6.1. Ruta general de síntesis……19
6.2. Síntesis del ácido (S)-3-amido-2-((t-butoxicarbonil) amino) propanoico. [(*S*)-2]……21
6.3. Síntesis del ácido (S)-3-amino-2-((t-butoxicarbonil) amino) propanoico (reordenamiento de Hoffman). [(*S*)-3]……24
6.4. Síntesis del ácido (S)-3-((benciloxicarbonil) amino)-2-((terbutoxicarbonil) amino). [(*S*)-4]……27
6.5. Síntesis de los clorhidratos de los ésteres metílicos de los α-aminoácidos ……30
6.5.1. Síntesis del clorhidrato del éster metílico de *L*-Tirosina. [(*L*)-6]……30
6.5.2. Síntesis del clorhidrato del éster metílico de *L*-Fenilalanina. [(*L*)-8]……32
6.6. Síntesis de dipéptidos constituidos por el ácido (*S*)-2,3-diaminopropiónico y los ésteres metílicos de los α-aminoácidos……34

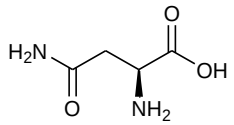
6.6.1. Acoplamiento del ácido (*S*)-2,3-diamino propiónico y el éster de (*L*)-Tirosina. [(*S*,*S*)-9]……37
6.6.2. Acoplamiento del ácido (S)-2,3-diamino propiónico y el éster de (*L*)-Fenilalanina. [(*S*,*S*)-10]……40
6.7. Síntesis de péptidos cíclicos basados en la estructura de 2,5-Dicetopiperazina……42
6.7.1. Síntesis de Ciclo-[(*L*)-metil-(*L*)-tirosina]. [(*S*,*S*)-11]……43
6.7.2. Síntesis de Ciclo-[(*L*)-metil-(*L*)-Fenilalanina]. [(*S*,*S*)-12]……46
6.8. Predicción teórica de la actividad biológica y de la toxicidad de los dipéptidos lineales y cíclicos obtenidos……49
6.8.1. Predicción de los espectros de actividad biológica utilizando PASS Online……49
6.8.2. Predicción de la toxicidad y viabilidad de compuestos bioactivos mediante OSIRIS Property Explorer……51
6.8.3. Predicción de la actividad biológica, riesgos de toxicidad y viabilidad para (*S*,*S*)-9 y su derivado relacionado……51
6.8.4. Predicción de la actividad biológica, riesgos de toxicidad y viabilidad sobre (*S*,*S*)-10 y sus derivados relacionados……53
6.8.5. Predicción de la actividad biológica, riesgos de toxicidad y viabilidad sobre (*S*,*S*)-11 y sus derivados relacionados……55
6.8.6. Predicción de la actividad biológica, riesgos de toxicidad y viabilidad sobre (*S*,*S*)-12 y sus derivados relacionados……56
7. Parte Experimental……59
7.1. Información general……21
Síntesis del ácido (S)-3-amido-2-((t-butoxicarbonil) amino) propanoico. [(*S*)-2]……59
7.2 Métodos de Síntesis……60
7.2.1. Síntesis del ácido (S)-3-amido-2-((t-butoxicarbonil) amino) propanoico. [(*S*)-2]……60
7.2.2. Síntesis del ácido (S)-3-amino-2-((t-butoxicarbonil) amino) propanoico (reordenamiento de Hoffman). [(*S*)-3]……61
7.2.3. Síntesis del ácido (S)-3-((benciloxicarbonil) amino)-2-((terbutoxicarbonil) amino). [(*S*)-4]……61
7.2.4. Método General para la Preparación de Ésteres Metílicos de Amino Ácidos……62
7.2.4.1. Síntesis del clorhidrato del éster metílico de *L*-Tirosina. [(*L*)-6]……62
7.2.4.2. Síntesis del clorhidrato del éster metílico de *L*-Fenilalanina. [(*L*)-8]……62
7.2.5. Método General para el Acoplamiento de Amino Ácidos……63
7.2.5.1. Acoplamiento del ácido (S)-2,3-diamino propiónico y el éster de (*L*)-Tirosina. [(*S*,*S*)-9]……63
7.2.5.2. Acoplamiento del ácido (S)-2,3-diamino propiónico y el éster de (*L*)-Fenilalanina. [(S,S)-10]……64
7.2.6. Método General para la Obtención de los Péptidos Bicíclicos……64
7.2.6.1. Síntesis de Ciclo-[(*S*)-metil-(*S*)-tirosina]. [(*S*,*S*)-11]……65

7.2.6.2. Síntesis de Ciclo-[(*L*)-metil-(*L*)-Fenilalanina]. [(*S*,*S*)-12]……..……..65
8. Conclusiones……66

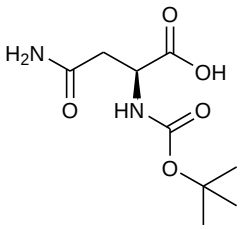
Índice de Tablas

Tabla 1. Clasificación de los Aminoácidos en base a la polaridad de sus grupos R... 5
Tabla 2. Datos espectroscópicos de RMN ^{1}H para (*S*)-2..... 23
Tabla 3. Datos espectroscópicos de RMN ^{1}H para (*S*)-3..... 26
Tabla 4. Datos espectroscópicos de RMN ^{1}H para (*S*)-4..... 29
Tabla 5. Datos espectroscópicos de RMN ^{1}H para (*L*)-6..... 31
Tabla 6. Datos espectroscópicos de RMN ^{1}H para (*L*)-8..... 33
Tabla 7. Reactivos importantes en síntesis de dipéptidos..... 36
Tabla 8. Datos espectroscópicos de RMN ^{1}H para (*S,S*)-9..... 39
Tabla 9. Datos espectroscópicos de RMN ^{1}H para (*S,S*)-10..... 41
Tabla 10. Datos espectroscópicos de RMN ^{1}H para (*S,S*)-11..... 44
Tabla 11. Datos espectroscópicos de RMN ^{1}H para (*S,S*)-12..... 47
Tabla 12. Predicción de la toxicidad de (*S*,*S*)-**9** y su derivado..... 52
Tabla 13. Predicción del potencial farmacológico de (*S*,*S*)-**9** y sus derivados**.** 53
Tabla 14. Predicción de la toxicidad de (*S*,*S*)-**10** y sus derivados..... 54
Tabla 15. Predicción del potencial farmacológico de (*S*,*S*)-**10** y sus derivados. 54
Tabla 16. Predicción de la toxicidad de (*S*,*S*)-**11** y su derivado..... 55
Tabla 17. Predicción del potencial farmacológico de (*S*,*S*)-**11** y sus derivados. 56
Tabla 18. Predicción de la toxicidad de (*S*,*S*)-**12** y sus derivados..... 57
Tabla 19. Predicción del potencial farmacológico de (*S*,*S*)-**21** y sus derivados. 67

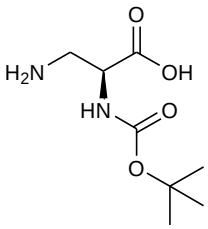
Índice de compuestos



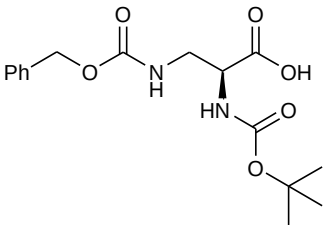
(*s*)-**1**



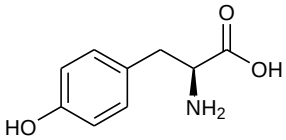
(*s*)-**2**



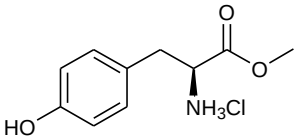
(*s*)-**3**



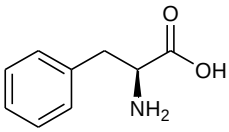
(*s*)-**4**



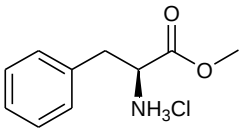
(*L*)-**5**



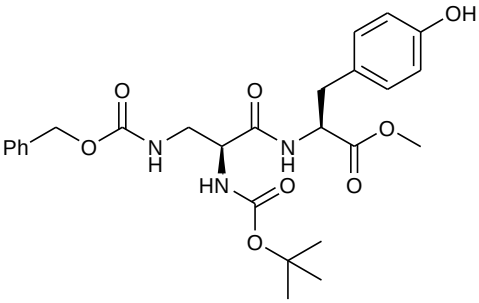
(*L*)-**6**



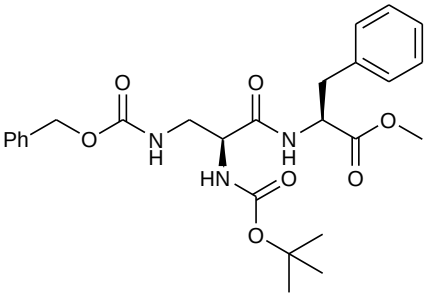
(*L*)-**7**



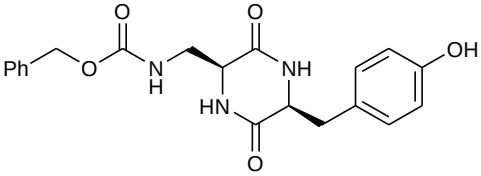
(*L*)-**8**



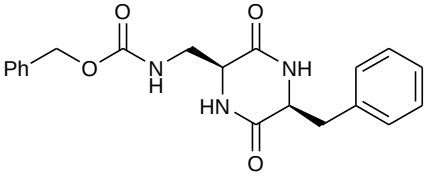
(*s*, *s*)-**9**



(*s*, *s*)-**10**



(*s*, *s*)-**11**



(*s*, *s*)-**12**

Abreviaturas

Bn	Bencilo
Boc	*tert*-butoxicarbonilo
Cbz	Benciloxicarbonilo
COSY	Correlación espectroscópica
DAP	Ácido 2,3-diamino propiónico
DIPEA	Diisopropiletilamina
DKP	Dicetopiperazina
DMSO	Dimetilsulfóxido
EtOH	Etanol
Fmoc	9-fluorenilmetoxicarbonilo
GABA	Ácido γ-aminobutírico
HCl	Ácido clorhídrico
i-BuOCOCl	Cloroformiato de isobutilo
MeOH	Metanol
Na2CO2	Carbonato de sodio
PDIA	Diacetato de iodobenceno
PIFA	bis-trifluoroacetóxi de iodobenceno
ppm	Partes por millón
RMN	Resonancia magnética nuclear

SOCl2	Cloruro de tionilo
t.a.	Temperatura ambiente
TBTU	Tetrafluroborato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio
TFA	Ácido trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano

1. Introducción

Los péptidos son una importante clase de biomoléculas con una multitud de funciones en los organismos vivos. La importancia de la estructura de los péptidos radica en la formación del enlace amídico. Los péptidos individuales se distinguen por el número de residuos de aminoácidos que contienen y sus respectivas cadenas laterales funcionales. Un subconjunto de esta clase de compuestos lo conforman los péptidos cíclicos, muchos de los cuales son biológicamente activos y que se componen de un anillo que contiene dos (para un dipéptido) o más enlaces peptídicos: La estructura más sencilla es un ciclo constitutido por dos aminoácidos al que se denomina dicetopiperazina.

La estructura del anillo confiere alta estabilidad y de hecho hasta resistencia a la digestión humana, de modo que los dipéptidos se han considerado como andamios químicos por los diseñadores de fármacos. En muchos de estos compuestos se ha comprobado que poseen actividad biológica, incluyendo propiedades antivirales, antitumorales o antibióticas. Debido a sus conformaciones espaciales únicas, su simplicidad y la libertad conformacional limitada, los péptidos cíclicos se utilizan ampliamente como moléculas modelo para péptidos más grandes en química, bioquímica y química farmacéutica.[1]

Se ha estudiado mucho sobre métodos de síntesis y características biológicas de dipéptidos cíclicos y se han descubierto muchos dipéptidos cíclicos aplicables para todo

[1] Wickrama, A. P.; Wang, F.; Feyer, V.; Plekan, O.; Prince, K. C.; Correlation of electronic structures of three cyclic dipeptides with their photoemission spectra. *J. Chem. Phys.* **2010**, *133*, 1.

tipo de propagación y también se han sintetizado muchos dipéptidos cíclicos con actividades biológicas, que se han confirmado en los experimentos.

Debido a que los dipéptidos cíclicos tienen muchas funciones biológicas potenciales tales como mejorar la inmunidad, el cáncer, la fatiga y la mejora de la memoria, es que existen ampliamente en los sistemas neuronales y tracto gastrointestinal de los humanos; para la investigación es muy importante explorar el mecanismo funcional y otras características biológicas de dipéptidos cíclicos nuevos.[2]

De entre una gran variedad de ciclopéptidos reportados en la literatura, existe una clase especial de éstos compuestos denominados 2,5-dicetopiperazinas (DKP's), las cuales son pequeños péptidos cíclicos que han mostrado amplias aplicaciones terapéuticas, además de que algunos han sido usados como catalizadores orgánicos en la hidrocianación de iminas y en el campo de los peptidomiméticos, han mostrado ser moléculas prometedoras en el desarrollo de nuevos fármacos (Figura 1).[3]

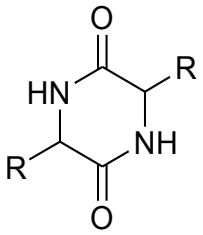


Figura 1. Estructura general de las 2,5-DKP´s

Las dicetopiperazinas son estructuras privilegiadas para el descubrimiento de nuevos compuestos por química combinatoria y se consideran ideales para el uso racional del desarrollo de nuevos agentes terapéuticos. Las 2,5-dicetopiperazinas son los péptidos cíclicos más pequeños conocidos, comúnmente biosintetizadas de los aminoácidos por diferentes organismos, incluyendo mamíferos, y se considera que son metabolitos

[2] Zhu, Y.; Shi, X.; Zhao, Y.; Quantum chemical study of cyclic dipeptides; Wiley InterScience. **2006**, 107, 745-746.

[3] Ressurreição, A. S. M.; Bordessa, A.; Civera, M.; Belvisi, L.; Gennari, C.; Piarulli, U. Synthesis and conformational studies of peptidomimetics containing a new bifunctional diketopiperazine scaffold acting as a β-hairpin inducer. *J Org Chem.* **2008**, *73*, 652-660.

secundarios funcionales o productos secundarios de la escisión de un péptido terminal. Los dipéptidos cíclicos son ampliamente obtenidos por extracción de fuentes naturales, sin embargo, también pueden ser obtenidos mediante procesos de síntesis.[4]

En el presente trabajo, se abordará el proceso de preparación de nuevas 2,5-dicetopiperazinas, en las que se incorporen un aminoácido no proteinogénico, así como aminoácidos naturales aromáticos.

[4] Martins, M. B.; Carvalho, I.; Diketopiperazines: biological activity and synthesis. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 9923-9932.

2. Antecedentes

2.1. Clasificación y propiedades de los aminoácidos

La Figura 2 muestra la fórmula estructural general para los 20 α-aminoácidos hallados comúnmente en las proteínas, llamados también aminoácidos simples o proteinogénicos. Excepto la prolina, todos ellos tienen como denominadores comunes un grupo carboxilo y un grupo amino libres, así como un sustituyente en el átomo de carbono α. Difieren entre sí en la estructura de sus cadenas laterales distintidas representadas en la estructura por R (Figura 2). Además de los 20 α-aminoácidos comunes, existen una gran número de aminoácidos que han sido aislados a partir de diversas fuentes en la naturaleza o que han sido preparados en el laboratorio, muchos de ellos han manifestado diversas acciones biológicas, lo que incrementa el interés por los mismos.

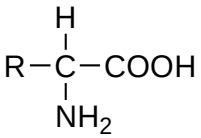
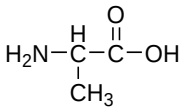
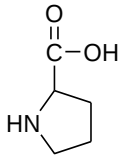
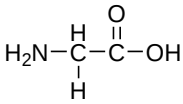
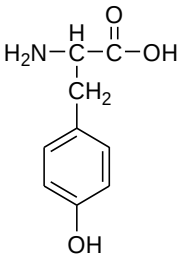
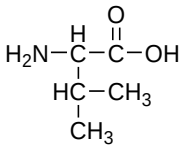
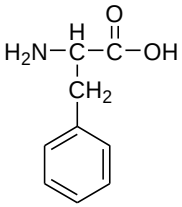
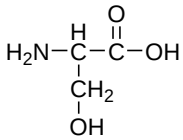
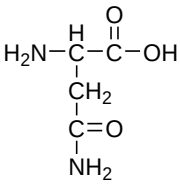
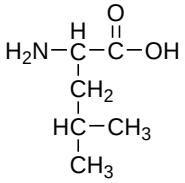
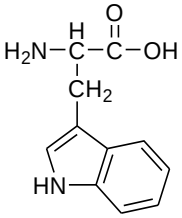
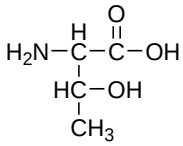
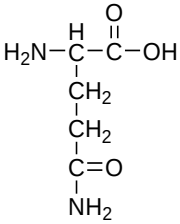
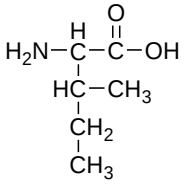
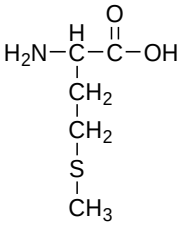
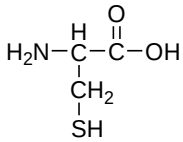


Figura 2. Estructura general de los aminoácidos

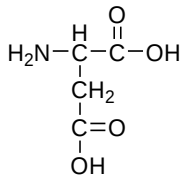
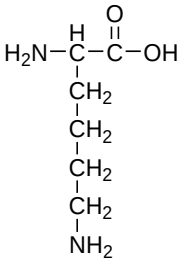
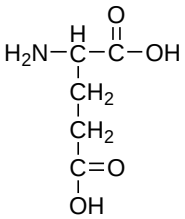
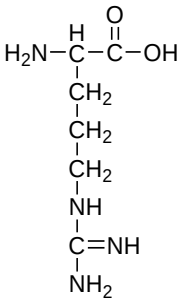
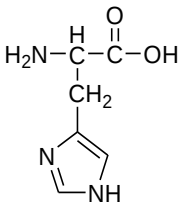
Para el caso de los aminoácidos proteinogéncos se han desarrollado varios métodos para su clasificación sobre la base de sus cadenas laterales, el más significativo se basa en la polaridad de dichas cadenas. Existen cuatro clases principales: 1) cadenas laterales no polares o hidrofóbicas; 2) cadenas laterales polares, pero sin carga; 3) cadenas

laterales con carga positiva, y 4) cadenas laterales cargadas negativamente (a pH 6.0-7.0, que constituye el pH intracelular). Dentro de cada clase existen considerables variaciones en el tamaño, la forma y las propiedades de las cadenas (Tabla 1).[5]

Tabla 1. Clasificación de los Aminoácidos en base a la polaridad de sus grupos R.

Aminoácidos con cadena no polar		**Aminoácidos con cadena polar**	
 Alanina	 Prolina	 Glicina	 Tirosina
 Valina	 Fenilalanina	 Serina	 Asparagina
 Leucina	 Triptofano	 Treonina	 Glutamina
 Isoleucina	 Metionina	 Cisteína	

[5] Barrett, C.G.; Elmore, D. T.; Amino Acids And Peptides. Cambridge, University Press. **2004**, 11-16.

Aminoácidos ácidos (cargados negativamente a pH de 6)	Aminoácidos básicos (cargados positivamente a pH de 6)
 Ácido aspártico	 Lisina
 Ácido glutamico	 Arginina
	 Histidina

Muchos de estos aminoácidos tienen funciones de gran importancia en el organismo, también a algunos de ellos podemos encontrarlos en los sabores de alimentos, por ejemplo, las intensidades de sabor de aminoácidos aromáticos, son dignos de mención, *L*-triptófano es casi tan amargo como la cafeína, *D*-triptófano es 35 veces más dulce que la sacarosa. *L*- y *D*-fenilalanina y *L*- y *D*-tirosina tienen similares cualidades gustativas.[6]

Además de los veinte aminoácidos comunes y de varios otros poco frecuentes de las proteínas, se conocen unos 150 aminoácidos más que se encuentran en diferentes

[6] Solms, J. The taste of amino acids, peptides, and proteins. *J. Agr. Food Chem.* **1969**, *17*, 4.

células y tejidos en forma libre o combinada, pero nunca en las proteínas. La mayor parte de ellos son derivados de los α-aminoácidos hallados en las proteínas, pero también se conocen β, γ y δ-aminoácidos.

Una cualidad de estos aminoácidos no proteinogénicos es que normalmente son incapaces de ser utilizados en la síntesis ribosómica. Algunos de estos aminoácidos libres juegan un papel importante, siendo un ejemplo (*S*)-adenosil-(*L*)-metionina, que es un *proveedor* de grupos metilo celulares, por ejemplo, para la biosíntesis de aminas neuroactivas. Otro α-aminoácido fisiológicamente importante en esta categoría es la (*L*)-dopa, el precursor de la dopamina en el cerebro, que se utiliza para el tratamiento de afecciones tales como la enfermedad de Parkinson y para llevar a cabo el regreso de ciertos estados de coma que pueden ser inducidos por (*L*)-dopa.[5]

Algunos aminoácidos no proteinogénicos actúan como precursores importantes o intermediarios en el metabolismo; así, la *β-alanina* es el precursor de la vitamina ácido pantoténico; la homocisteína y la homooserina son intermediarios en el metabolismo de ciertos aminoácidos; la citrulina y la ornitina, son intermediarios en la síntesis de la arginina. Otros aminoácidos no proteinogénicos actúan como agentes químicos para la transmisión de los impulsos nerviosos, tal como ocurre con el ácido γ-aminobutírico, comúnmente conocido como GABA.

Los hongos y las plantas superiores contienen una variedad extraordinaria de aminoácidos no proteinogénicos, algunos de los cuales poseen estucturas muy curiosas.[7]
Los aminoácidos poseen actividades biológicas además de su papel como sustrato para la síntesis de proteínas. Algunos ejemplos incluyen a la arginina y la glutamina, estudios recientes sugieren que la suplementación con glutamina disminuye las infecciones y mejora el resultado en pacientes críticamente enfermos después de un trauma/cirugía. Asimismo, la cisteína es un componente principal de glutatión, un compuesto antioxidante importante.[8]

---

[7] Nelson, D. L.; Cox, M. M.; Lehninger, principios de bioquímica, 4ª Ed. Ediciones Omega, S.A., **2006**, 73-93.
[8] Zaloga, G. P.; Siddiqui, R. A. Biologically Active Dietary Peptides. *J. Med Chem.* **2004**, *4*, 815-821.

2.2. Péptidos y proteínas: características y propiedades

Las proteínas son las macromoléculas más versátiles de los seres vivos y desempeñan funciones cruciales en prácticamente todos los procesos biológicos. Funcionan como catalizadores, transportan y almacenan a otras moléculas como el oxígeno, proporcionan apoyo mecánico y protección inmunológica, generan movimiento, transmiten impulsos nerviosos y controlan el crecimiento y la diferenciación. Son polímeros lineales construidos a partir de aminoácidos enlazados uno tras otro. Las proteínas también contienen una amplia gama de grupos funcionales: alcoholes, tioles, tioéteres, ácidos carboxílicos, carboxiamidas y una serie de grupos básicos. La mayoría de estos grupos son químicamente activos. Ésta diversidad de grupos funcionales, combinada en distintas secuencias, es la responsable del amplio espectro de funciones de las proteínas.[9]

Las proteínas son polímeros lineales formados por la unión del grupo α-amino de un aminoácido con el grupo carboxilo de otro aminoácido: este tipo de unión se denomina enlace peptídico. Los enlaces peptídicos son muy estables cinéticamente, el tiempo de vida de un enlace peptídico en disolución acuosa en ausencia de un catalizador es cercano a los 1,000 años.

El valor biológico de una proteína depende fundamentalmente de su composición en aminoácidos indispensables Conocida ésta es posible predecir, dentro de ciertas limitaciones, su comportamiento en el organismo.[10]

2.3. Péptidos y ciclopéptidos

Una serie de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos forman una cadena polipeptídica y cada unidad aminoácido de un polipéptido se denomina residuo. Una cadena polipeptídica tiene polaridad porque sus extremos son diferentes, con un grupo α-amino en un extremo y un grupo α-carboxilo en otro.[7] La protección del grupo α-amino de

[9] Berg, J. M.; Tymoczko, J. L.; Stryer, L.; Bioquímica. 6. Barcelona-España: Reverté, **2008**; 25.

[10] Suarez, M. M.; Kizlansky, A.; López, L. B. Evaluación de la calidad de las proteínas en los alimentos calculando el escore de aminoácidos corregido por digestibilidad; *Nutr Hosp.* **2006**, *21*(1), 47-51.

los aminoácidos es una de las cuestiones más importantes en la química de péptidos y es obligatorio para prevenir la polimerización de los aminoácidos una vez que se activa.[11] Se pueden sintetizar péptidos de secuencia definida para ayudar a los análisis bioquímicos. Estos péptidos son herramientas útiles por varias razones:

- Los péptidos sintéticos pueden servir como antígenos para la detección de anticuerpos contra determinado agente etiológico.[12]
- Los péptidos sintéticos se pueden usar para aislar receptores de muchas hormonas y otras moléculas marcadoras.
- Los péptidos sintéticos pueden utilizarse como fármacos. Por ejemplo, la vasopresina es una hormona peptídica que estimula la reabsorción de agua en los túbulos distales del riñón, formando una orina más concentrada.[7]

Los péptidos individuales se distinguen por el número de residuos de aminoácidos que contienen y sus respectivas cadenas laterales funcionales. Un subconjunto de esta clase de compuestos consiste en péptidos cíclicos, muchos de los cuales son biológicamente activos, y se componen de un anillo que contiene dos (para un dipéptido) o más enlaces peptídicos: el péptido cíclico mas simple es glicil-glicina el cual es formado mediante reaccón cabeza-cola de los aminoácidos para conformar una 2,5-dicetopiperazina. La estructura del anillo resulta considerablemente estable y le confiere una alta resistencia, incluso resistente a la digestión humana, de modo que los dipéptidos se han considerado andamios químicos para los diseñadores de fármacos.[1]

Los dipéptidos cíclicos son los miembros más sencillos de la familia de los ciclopéptidos encontrados en la naturaleza. Muchos dipéptidos cíclicos naturales tienen distintas bioactividades que desempeñan un papel vital en el curso de la vida. Los

[11] Isidro, A.; Álvarez, M.; Albericio, F. Amino acid-protecting groups. *Chem. Rev.* **2008**, *109*, 2455-2504.

[12] Hernández-Marín, M.; Rodríguez-Tanty, C; Higginson-Clarke, D.; Márquez-Bocalandro, Y.; Díaz-Navarro, J.; González-López, L. J.; Síntesis química en fase sólida de dos péptidos de la glicoproteína de la transmembrana (gp21) del HTLV-I. *CENIC Ciencias Químicas* **2007**, *38*(2), 331-334.

dipéptidos cíclicos tienen una alta estabilidad debido a que sus estructuras adquieren forma de dicetopiperazina.

Debido a sus especiales conformaciones espaciales, los péptidos cíclicos han demostrado su potencial en muchas áreas, incluyendo la química, la química farmacéutica, la bioquímica y las ciencias de la vida en general.[2]

En 1888, Curtius y Gloebel sintetizaron el primer péptido cíclico (Gly-Gly), sin embargo, su existencia como un grupo especial de compuestos valiosos en la naturaleza no fue reconocida hasta principios del siglo XX. Los dipéptidos cíclicos poseen otras características importantes para los organismos en general, particularmente su actividad biológica, la cual ha demostrado cierta utilidad como antibióticos, inhibidores de enzimas, factores del crecimiento de las plantas y la inhibición de hormonas.

Algunos dipéptidos cíclicos han demostrado interesantes actividades, entre las que se pueden mencionar: la mejora de la inmunidad contra el cáncer,[13] la resistencia a la fatiga, y la mejora de la memoria. Algunos de ellos han sido aislados de los sistemas neuronales o del tracto gastrointestinal del humano.[2]

Muchas de las dicetopiperazinas biológicamente activas conocidas han sido aisladas a partir de fuentes naturales, sin embargo, dada la simplicidad estructural de su núcleo básico (Figura 3), se han desarrollado diversos métodos de síntesis basados principalmente en reacciones de dipéptidos, que pueden ser fácilmente preparados a partir de los aminoácidos individuales mediante una metodología convencional. Las Investigaciones relacionadas con los dipéptidos cíclicos, han contribuido en gran medida a conocer los diversos aspectos de la síntesis de los péptidos en general.

Una de las estrategias para la preparación de péptidos tanto lineales como cíclicos, es la síntesis en fase sólida, la cual proporciona buenos rendimientos y ha sido el método más utilizado, empleando diversas variaciones en el tipo de resina utilizada, así como los grupos protectores y el tipo de ruptura, entre otros.

---

[13] Rodríguez, R. A.; Pan, P. S.; Vasko, R. C.; Pan, C. M.; Disman, W. S.; McAlpine, S. R. Structure-activity of sansalvamide A derivatives and their apoptotic activity in the pancreatic cancer cell line PL-45. *J. Mex. Chem. Soc.* **2008**, *52*, 201-211.

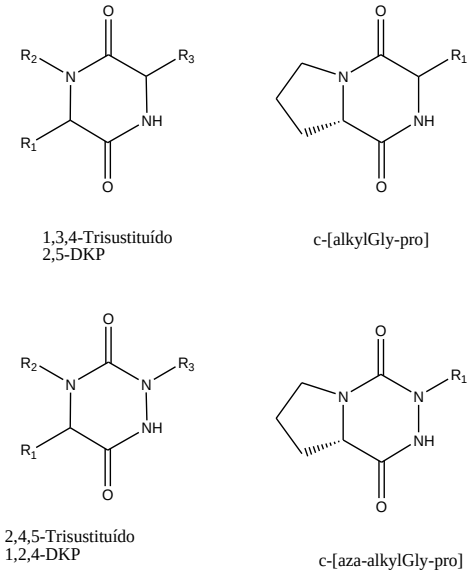


Figura 3. Estructura general de las dicetopiperazinas (DKP) y azadicetopiperazinas (aza-DKP). Imagen tomada de Bonnet et al., 2012.[14]

Aunque no es tan común, también se ha descrito la síntesis de péptidos en solución, la cual tiene la ventaja de requerir de un número menor de pasos de reacciones.[4]

2.4. 2,5-Dicetopiperazinas

A pesar de que las dicetopiperazinas han sido conocidas desde hace más de un siglo (década de 1900 por Emil Fischer), sólo recientemente se les ha dedicado mayor atención, particularmente a las 2,5-dicetopiperazinas, debido a sus propiedades biológicas. Su sistema heterocíclico peculiar se encuentra presente en varios núcleos de productos naturales[15] y constituye una rica fuente de nuevos compuestos biológicamente activos.[4]

[14] Bonnet, D.; Margathe, J. F.; Radford, S.; Pflimlin, E.; Riché, S.; Doman, P.; Hibert, M.; Ganesan, A.; Combinatorial aid for underprivileged scaffolds: solution and solid-phase strategies for a rapid and efficient access to novel azadiketopiperazines (Aza-DKP); *ACS Comb. Sci.* **2012**, *14*, 323−334.

[15] Bianco, A.; Furrer, J.; Limal, D.; Guichard, G.; Elbayed, K.; Raya, J.; Piotto, M.; Briand, Jean-Paul. Multistep synthesis of 2,5-diketopiperazines on different solid supports monitored by high resolution magic angle spinning NMR spectroscopy. *J. Comb. Chem.* **2000**, *2*, 681-690.

Las 2,5-dicetopiperazinas (2,5-DKPs) son dipéptidos cíclicos obtenidos por la condensación de dos α-aminoácidos. No sólo abundan en la naturaleza, si no que a menudo se producen como productos de degradación de polipéptidos, especialmente en alimentos procesados y bebidas.[16] La actividad biológica de muchos de estos ha sido demostrada experimentalmente.[1]

Las 2,5-dicetopiperazinas se producen en numerosos productos naturales, y estas subunidades se encuentran a menudo solas o se insertan en estructuras más complejas de una variedad de productos naturales producidos por hongos, bacterias, plantas y mamíferos.[17] No sólo son una clase privilegiada de estructuras de origen natural que tienen la capacidad de unirse a una amplia gama de receptores sino que también tienen varias características que las hacen atractivas como estructuras base para el descubrimiento de nuevos fármacos.[18] Son pequeñas, conformacionalmente restringidas y son estables a la proteólisis.[12]

El estudio de estos compuestos se centró en los numerosos productos naturales que contienen el anillo de 2,5-dicetopiperazina. En 1975 se revisaron diversos aspectos tales como su fuente, su síntesis, la biogénesis y sus propiedades fisicoquímicas,[19] mientras que la química y la biología de los productos naturales que contienen el anillo de 2,5-dicetopiperazina y las propiedades farmacológicas de este sistema de anillos fueron estudiadas en 1990. La síntesis, las características físicas, la reactividad química y sus posibles aplicaciones fueron estudiadas en 1993,[20] mientras que la bioactividad de los péptidos cíclicos simples, los monocíclicos 2,5-dicetopiperazina, fueron analizados en 1995.[21] Los avances en la síntesis de 2,5-dicetopiperazinas en la década anterior (1990-

---

[16] Lee, T.; Gong, Y. D. Solid-phase parallel synthesis of drug-like artificial 2*H*-benzopyran libraries. *Molecules* **2012**, *17*, 5467-5496.

[17] Giessen, T. W.; Tesmar, A. M.; Marahiel, M. A. A tRNA-dependent two-enzyme pathway for the generation of singly and doubly methylated ditryptophan 2,5-diketopiperazines. *Biochemistry* **2013**, *52*, 4274–4283.

[18] Du, Y.; Creighton, C. J.; Tounge, D. A.; Reitz, A. B; Noncovalent self-assembly of bicyclo[4.2.2]-diketopiperazines: influence of saturation in the bridging carbacyclic ring. *Org. Lett.* **2004**, *6*(3), 309-312.

[19] Witiak, D. T.; Wei, Y. Dioxopiperazines: chemistry and biology. *Prog. Drug Res.* **1990**, *35*, 249.

[20] Rajappa, S.; Natekar, M. V. *Adv. Heterocycl. Chem.* **1993**, *57*, 187.

[21] Prasad, C. Bioactive cyclic dipeptides. *Peptides* **1995**, *16*, 151.

2000) fueron revisados por Dinsmore y Beshore en 2002.[22] La química de los péptidos de 2,5-dicetopiperazinas y los avances en la década anterior en los métodos generales para su síntesis en fase sólida fueron revisados por Fischer en 2003,[23] y su síntesis en fase sólida ha sido recientemente probada. La síntesis combinatoria en fase sólida en síntesis orgánica se utiliza rutinariamente para preparar un gran número de pequeñas moléculas heterocíclicas. Esto es especialmente cierto para las estructuras privilegiadas, que son componentes básicos de un gran número de sustancias que poseen una amplia gama de actividades biológicas interesantes.[12]

Algunas de las propiedades químicas de las 2,5-dicetopiperazinas son muy interesantes para la química farmacéutica, tales como la resistencia a la proteólisis,[24] su potencial farmacomimético, la estereoquímica de los grupos sustituyentes (definido y controlado en un máximo de cuatro combinaciones), su rigidez conformacional,[25] sus sustituyentes donantes y aceptores de enlaces de hidrógeno (que favorecen la interacción con dianas biológicas).[26]

El descubrimiento de un gran número de 2,5-dicetopiperazinas (DKP) bioactivas de origen natural, los rápidos avances de la síntesis en solución o en fase sólida, y la utilización de la tecnología asistida por microondas, además del progreso en la funcionalización selectiva del anillo de 2,5-DKP han conducido a la síntesis total de algunas estructuras complejas que contienen este marco heterocíclico, además de que han sido blanco para generar bibliotecas para diferentes campos de la química.[27] Estudios recientes

---

[22] Dinsmore, J. C.; Beshore, D. C. Recent advances in the synthesis of diketopiperazines. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 3297.

[23] Fischer, P. M. J. *Peptide Sci.* **2003**, *9*, 9.

[24] Ando, S.; Grote, A. L.; Koide, K.; Diastereoselective synthesis of diketopiperazine bis-α,β-epoxides. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 1155-1158.

[25] Li, X.; Hopmann, K. H.; Hudecová, J.; Stensen, W.; Novotná, J.; Urbanová, M.; Svendsen, John-Sigurd.; Bour, P.; Ruud, K. Absolute configuration of a cyclic dipeptide reflected in vibrational optical activity: ab initio and experimental investigation. *J. Phys. Chem. A.* **2012**, *116*, 2554−2563.

[26] Palacin, S.; Chin, D. N.; Simanek, E. E.; MacDonald, J. C.; Whitesides, G. M.; McBride, M. T.; Palmore, T. R. Hydrogen-bonded tapes base on symmetrically substituted diketopiperazines: a robust structural motif for the engineering of molecular solids. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 11807-11816.

[27] Kennedy, A. L.; Fryer, A. M.; Josey, J. A. A new resin-bound universal isonitrile for the Ugi 4CC reaction: preparation and applications to the synthesis of 2,5-diketopiperazines and 1,4-benzodiazepine-2,5-diones. *Org Lett.* **2002**, *4*(7), 1167-1170.

de las 2,5-dicetopiperazinas han demostrado que poseen efectos antifúngicos, antibióticos y anticancerígenos,[28] también han demostrado ser antagonistas de la oxitocina,[29] e inhibidores específicos de la glucógeno fosforilasa, lo que permite darles un enfoque terapéutico emergente para el tratamiento de la diabetes tipo 2.

Entre los fármacos que han sido desarrollados a partir de la estructura de la 2,5-DKP se encuentra Aplaviroc, que fue desarrollado por GlaxoSmithKline, y que tiene una gran actividad contra el VIH, así como los efectos inhibidores contra las variantes altamente resistentes a múltiples fármacos del VIH-1.[30]

Por lo anterior, es de esperarse una evolución considerable de las 2,5-dicetopiperazinas en el descubrimiento de nuevos fármacos. El interés continuo en la conformación y estructuras altamente ordenadas de esta simple clase de péptidos cíclicos, así como su uso como mimético conformacional de péptidos lineales y catalizadores y auxiliares quirales nos llevan a esperar la apertura de muchas nuevas perspectivas de la investigación de las 2,5-DKP.[31]

2.5. Ácido 2,3-Diaminopropionico

La incorporación del ácido 2,3-diaminopropiónico (2,3-Dap, Figura 4) en diversos procesos comúnmente ha contribuido a investigar muchos de los aspectos sobre la estructura de las proteínas y péptidos. Por ejemplo, la sustitución de lisina por Dap se ha utilizado para demostrar que la longitud de la cadena lateral afecta a la estabilidad de la formación de la hélice α en los polipéptidos simples.[32]

---

[28] Tullberg, M.; Grotli, M.; Luthman, K. Synthesis of Functionalized, unsymmetrical 1,3,4,6-tetrasubstituted 2,5-diketopiperazines. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 195-199.

[29] Sollis, S. L. Short and novel stereospecific synthesis of trisubstituted 2,5-diketopiperazines. *J. Org. Chem;.* **2005**, *70*, 4735-4740.

[30] Santra, S.; Andreana, P. R. A rapid, one-pot, microwave-influenced synthesis of spiro-2,5-diketopiperazines via a cascade Ugi/6-exo-Trig Aza-Michael reaction. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 2261-2264.

[31] Borthwick, A. D. 2,5-Diketopiperazines: synthesis, reactions, medicinal chemistry, and bioactive natural products; *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 3641-3716.

[32] Englound, E. A.; Gopi, H. N.; Apella, D. H. An efficient synthesis of a probe for protein function: 2,3-diaminopropionic acid with orthogonal protecting groups. *Org. Lett.* **2003**, *6*(2), 213-215.

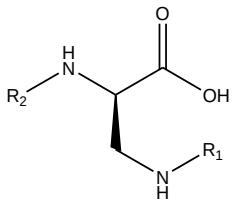


Figura 4. Estructura del ácido 2,3-diaminopropiónico.

Estudios recientes han demostrado que análogos del ácido 2,3-diaminopropiónico resultan ser buenos transportadores de aminoácidos excitatorios y podrían desempeñar un papel fundamental en el mantenimiento de la homeostasis del glutamato en el sistema nervioso central de los mamíferos evitando así una exitotoxicidad relacionada con enfermedades neurodegenerativas. Existen ventajas en éstos análogos ya que presentan mejoras farmacológicas debido a la presencia de un solo centro de quiralidad mejorando así su selectividad.[33]

El Ácido 2,3-Diaminopropionico es un importante homólogo inferior del α-aminoácido lisina. Es un constituyente de diversos antibióticos peptídicos tales como edeinas, tuberactinomicinas, y bleomicinas. 2,3-Dap se ha utilizado en la síntesis de 2,8-diaminopurinas, y en 2003, Kretsinger y Schneider demostraron la utilización de mono, di y tri-Dap en las preferencias de plegamiento de proteínas.[34]

En el presente trabajo, se recurrirá a la incorporación de 2,3-Dap a estructuras de 2,5-dicetopiperazinas, combinado con aminoácidos proteinogénicos, en busca de nuevas actividades biológicas para este tipo de sustancias.

[33] Greenfield, A.; Grosanu, C.; Dunlop, J.; McIlvain, B.; Carrick, T.; Jow, B.; Lu, Q.; Kowald, D.; Williams, J.; Butera, J. Synthesis and biological activities of aryl-ether-, biaryl-, and fluorene-aspartic acid and diaminopropionic acid analogs as potent inhibitors of the high-affinity glutamate transporter EAAT-2; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 4985-4988.

[34] Ramana, R. R. V.; Tantry, S. J.; Suresh, B. V. V. Practical and efficient synthesis of orthogonally protected α-2,3-diaminopropionic acid (2,3-Dap), 2,4-diaminobutanoic acid (2,4-Dab), and their *N*-methylated derivatives; *Synthetic Communications* **2006**, *36*, 2901–2912.

3. Planteamiento del Problema

Se ha descubierto, que dentro de los péptidos, los más estables y simples son los dipéptidos cíclicos que han sido encontrados en la naturaleza con diversas bioactividades y son parte importante en los organismos.

Se ha demostrado que las 2,5-dicetopiperazinas poseen gran estabilidad y resistencia a la proteólisis. Su amplia distribución en la naturaleza y la facilidad de unirse a varias estructuras complejas como son los receptores, han sido atractivos para el descubrimiento de nuevos fármacos.

Actualmente no se han hecho estudios en los que un aminoácido natural se acople a uno sintético formando una dicetopiperazina, esto podría dar como resultado potenciar el efecto de tal aminoácido o podría actuar como un profarmaco con actividades biológicas interesantes, por eso resulta interesante sintetizar este tipo de compuestos para obtener una dicetopiperazina que podría tener una potencial actividad biológica. Con un proceso de síntesis convencional y accesible se podrían obtener éste tipo de compuestos que podrían tener una posible actividad biológica y que sería de gran interés para el área de la química farmacéutica. El uso de combinatoria química de los aminoácidos naturales y no naturales puede dar lugar a una serie de compuestos que pueden contribuir a una comprensión estructural con la interacción de un receptor, lo que permitiría nuevas perspectivas para los procesos de descubrimiento de nuevos fármacos.

4. Hipótesis

La obtención de dipéptidos cíclicos basados en la estructura del Ácido 2,3-diaminopropiónico y de aminoácidos aromáticos, es posible mediante métodos de síntesis convencionales, accesibles, de bajo costo y obteniendo buenos rendimientos.

5. Objetivos

5.1. Objetivo General

Desarrollar la síntesis de dipéptidos cíclicos con potencial actividad biológica partiendo de aminoácidos sintéticos y naturales.

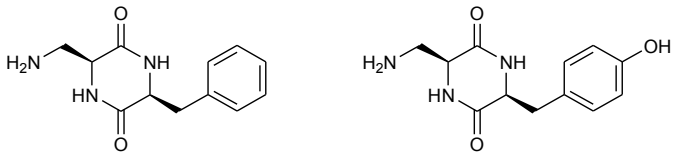
5.2. Objetivos Específicos

- Desarrollar un proceso de síntesis para la obtención del ácido (*S*)-2,3-diaminopropiónico a partir de (*S*)-asparagina.
- Desarrollar la síntesis de ésteres metílicos de aminoácidos aromáticos tales como (*L*)-tirosina y (*L*)-fenilalanina.
- Realizar la síntesis de dipéptidos lineales constituídos por el ácido (*S*)-2,3-diaminopropiónico y aminoácidos naturales.
- Desarrollar el proceso de síntesis para ciclar los dipéptidos lineales obtenidos.
- Desarrollar el análisis estructural de todo el proceso por medio de espectros de RMN de protón (H).
- Realizar un estudio teórico para predecir la posible actividad biológica y la toxicidad de los compuestos obtenidos con la ayuda de herramientas computacionales.

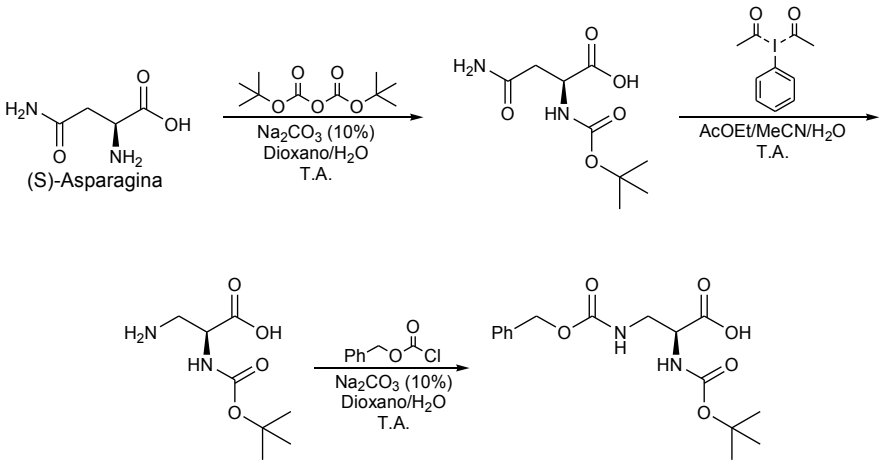
6. Resultados y Discusión

6.1. Ruta General de Síntesis

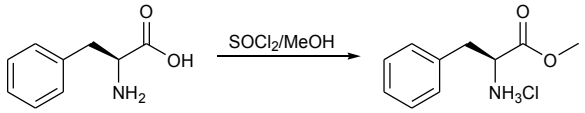
El esquema general propuesto para llevar a cabo la síntesis de los derivados deseados se muestra a continuación:

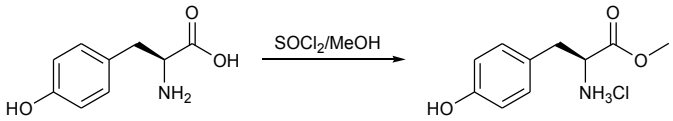


Preparación del ácido (*S*)-2,3-diamino propiónico protegido

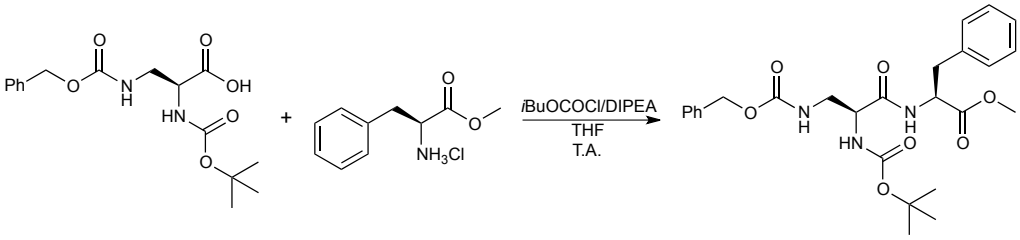


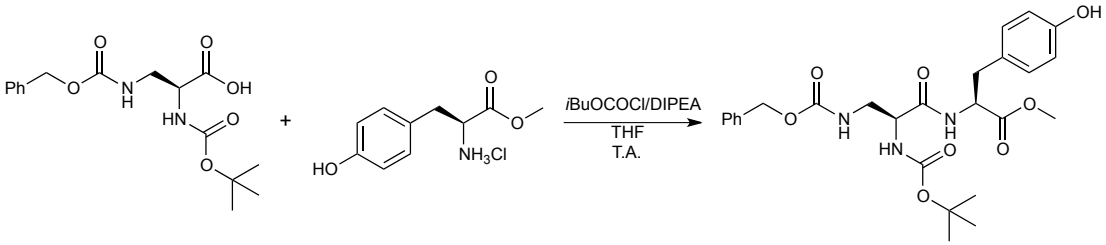
Preparación de ésteres metílicos



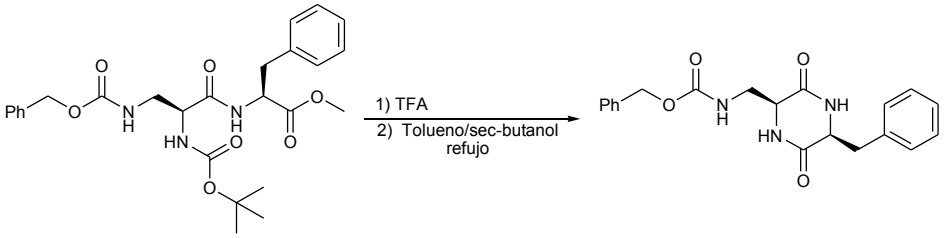


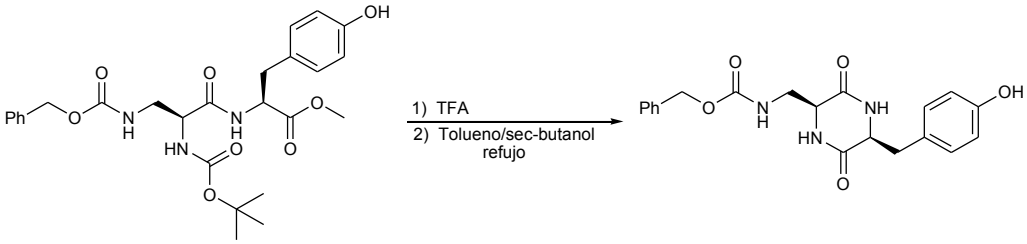
Acoplamiento





Ciclación

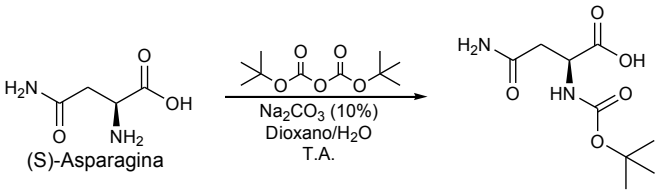




Las dicetopiperazinas (DKPs) son los péptidos cíclicos más pequeños y son derivados del plegado cabeza-cola[35] de dipéptidos desprotegidos lineales[36] entre el N y C de los aminoácidos terminales de los dipeptidos.[37] Varios procedimientos de síntesis de 2,5-dicetopiperazinas se han reportado, tanto en solución como en fase sólida[29] de aminoácidos comercialmente disponibles y/o análogos (aminoácidos no proteinogénicos). En éste trabajo se incorpora al ácido 2,3-diaminopropiónico como aminoácido no proteinogénico como materia prima y los aminoácidos aromáticos: (*L*)-fenilalanina y (*L*)-tirosina (aminoácidos naturales), para la síntesis de nuevos derivados de DKPs.

Siguiendo la ruta sintética descrita anteriormente, el primer paso para la síntesis de nuevos derivados de DKPs es la síntesis del ácido 2,3-diamino propiónico, por lo que el desarrollo de éste compuesto se describe a continuación. Cabe mencionar que debido a problemas técnicos con el equipo de RMN no fue posible obtener la espectroscopía de RMN ^{13}C por lo que se proporcionan las predicciones teóricas de los espectros proporcionados por el programa MestReNova[38], con el fin de confirmar y apoyar la asignación de las señales obtenidas por RMN ^{1}H.

6.2. Síntesis del ácido (*S*)-3-amido-2-((t-butoxicarbonil) amino) propanoico. [(*S*)-2].



Para la síntesis de (*S*)-**2** se requirió de (*S*)-Asparagina como materia prima, aminoácido natural que puede ser obtenido comercialmente. La primera etapa de la

[35] Tullberg, M.; Luthman, K.; Grotli, M. Microwave-Assisted Solid-Phase Synthesis of 2,5-Diketopiperazines: Solvent and Resin Dependence. *J. Comb. Chem.* **2006**, *8*, 915-922.

[36] Bianco, A.; Sonksen, C. P.; Roepstorff, P.; Briand, Jean-Paul. Solid-Phase Synthesis and Structural Characterization of Highly Substituted Hydroxyproline-Based 2,5-Diketopiperazines. *J. Org. Chem.* **2000,** *65,* 2179-2187.

[37] Bonilla Landa I.; *Sintesis y análisis estructural de 2,5-dicetopiperazinas incorporando al Acido 2,3-Diamino Propionico.* Tesis de licenciatura. Mexico: Universidad Veracruzana, Facultad de Quimica Farmaceutica Biologica. **2011**.

[38] MestReNova. MestReLab Research, Chemistry Software Solutions. Universidad de Santiago de Compostela. http://mestrelab.com.

síntesis consistió en el bloqueo del grupo α amino empleando un grupo protector (*t*-Boc). Los α-aminoácidos naturales y no naturales juegan un papel central en la química y la biología. El uso de los α-aminoácidos y sus derivados dependen únicamente del grupo protector unido a la funcionalidad de amina y ácido. Entre los diversos grupos protectores para la funcionalidad de una amina, el grupo *t*-butoxicarbonilo (Boc) es uno de los más frecuentemente utilizados en la síntesis orgánica debido a su estabilidad química a las condiciones básicas y ligeramente ácidas y su facilidad de eliminación en condiciones específicas.[39]

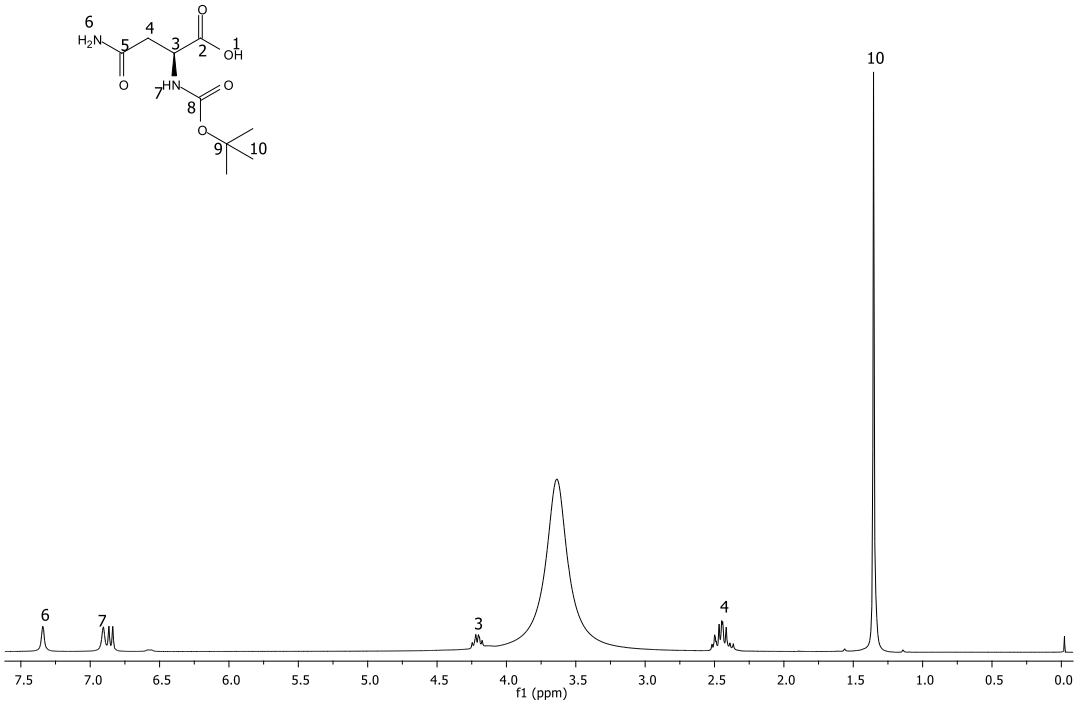
La síntesis en química orgánica se basa en la elección de reactivos y catalizadores para lograr la formación limpia de nuevos enlaces, y son necesarios grupos protectores apropiados para evitar la formación de enlaces no deseados y reacciones laterales. Por lo tanto, una estrategia sintética puede ponerse en peligro si los grupos protectores correspondientes no están bien elegidos. Un buen grupo protector debe cumplir algunas características como:

- Debe introducirse fácilmente en el grupo funcional
- Debe ser estable a una amplia gama de condiciones de reacción
- Se elimina de forma segura y en cualquier orden[11]

Los *N*-*t*-butilcarbamatos son agentes protectores para grupos amino que son estables frente a una amplia gama de condiciones de reacciones empleadas en síntesis orgánica.[40] Por lo anterior es que se eligió una *N*-*t*-butilcarboxilación haciendo reaccionar la (*S*)-asparagina bajo las condiciones apropiadas para la protección de aminoácidos. Trascurrido el tiempo de reacción, el producto precipita al adicionar una solución de HCl 2N, obteniéndose un (precipitado) solido cristalino.

[39] Mohapatra, D. K.; Durugkar, K. A. Efficient and selective cleavage of the *ter*-butoxycarbonyl (Boc) group under basic condition. ARKIVOC, **2005** (xiv) 20-28.
[40] Agami C, couti F. The reactivity of the *N*-Boc protecting group: an underrated feature. *Tetrahedron* **2002,** *58*, 2701.

El espectro de RMN ^{1}H (Espectro 1) muestra una señal simple a 1.35 ppm que integra para 9 H correspondientes a los metilos del grupo protector *t*-Boc de la posición 10. En 2.44 ppm se observó una señal múltiple que integra para 2 H del metileno de la posición 4 correspondiente a la (*S*)-Asparagina. En 4.22 ppm se observa una señal doble de dobles que integra para 1 H correspondiente al metino de la posición 3, la multiplicidad es debido al acoplamiento con los protones diasterotópicos del metileno de la posición 4. En 6.85 ppm se observa una señal doble asignada al NH de la posición 7. En 7.34 se observa una señal simple asignada al grupo NH_2 de la posición 6.

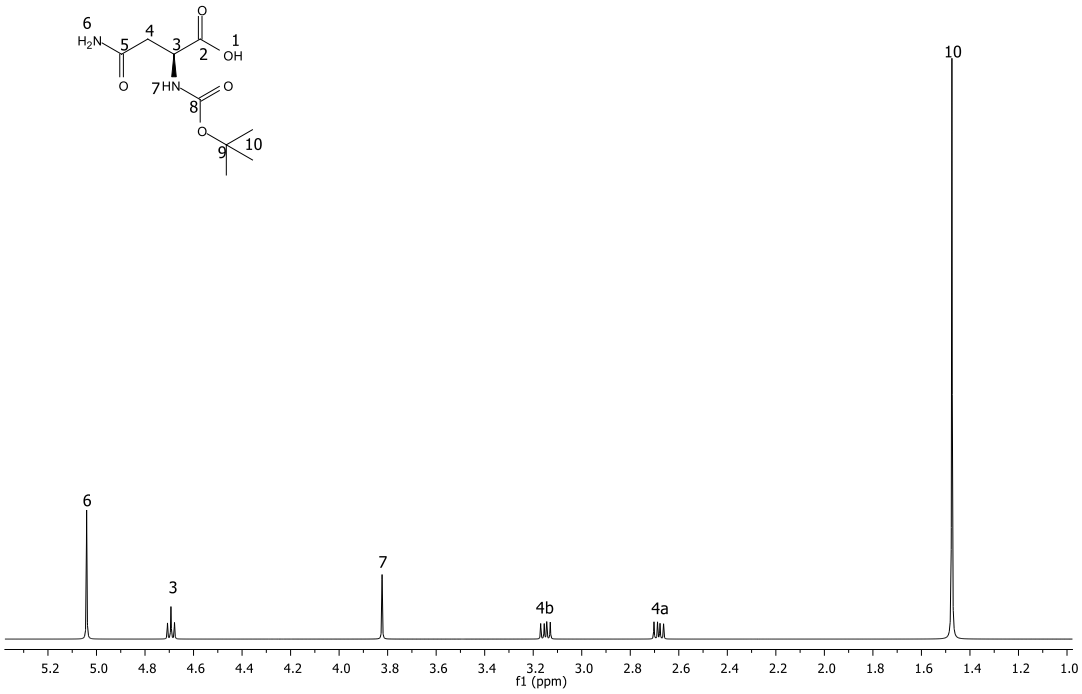


Espectro 1. RMN ^{1}H (DMSO, t.a.) para (*S*)-2.

Tabla 2. Datos espectroscópicos de RMN ^{1}H para (*S*)-2.

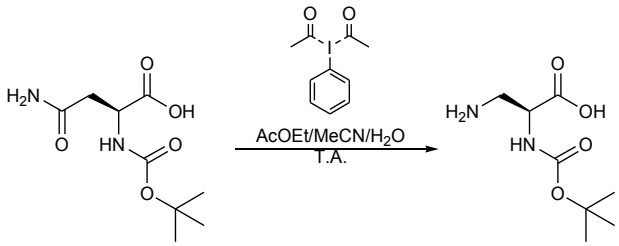
No. H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)
10	1.35	*s*	
4	2.44	*m*	
3	4.22	*dd*	7.9, 13.4
7	6.85	*d*	8.2
6	7.34	*s*	

Con el fin de apoyar la asignación del espectro anterior, se realizó la predicción teórica del espectro de RMN ^{1}H de (*S*)-2 (Espectro1) empleando el programa MestReNova, en el que se observa buena correlación entre las señales asignadas anteriormente corroborando así la obtención del producto esperado.



Espectro 2. Predicción de RMN ^{1}H para (*S*)-2.

6.3. Síntesis del ácido (*S*)-3-amino-2-((t-butoxicarbonil)amino) propanoico (reordenamiento de Hoffman). [(*S*)-3].



La síntesis más común del Ácido 2,3-diaminopropiónico implica un reordenamiento de Hoffman o reordenamieno modificado de Curtius de derivados de

asparaginas.[41] Sin embargo, estos métodos, en el reordenamiento de Hofmann, es una reacción que consiste en la transformación de una amida en una amina mediante la degradación de la cadena carbonílica, generando un producto con un carbono menos que la molécula original. Como intermediario de reacción se obtiene un isocianato, el grupo isocianato contiene un átomo de carbono altamente electrofílico que puede ser atacado por diferentes nucleófilos.

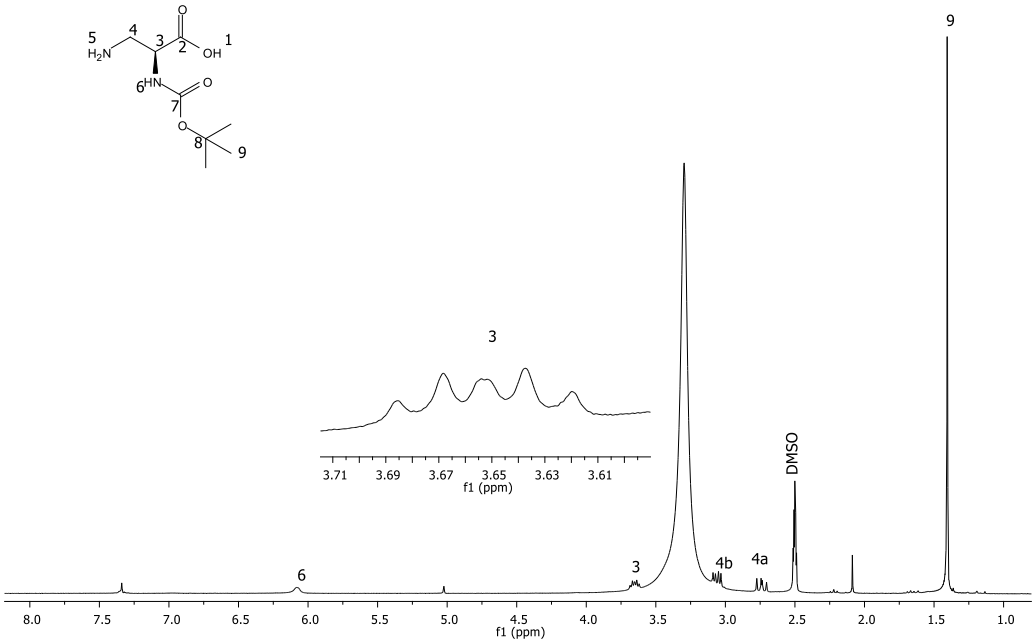
Aunque bis (trifluoroacetoxi) yodobenceno (PIFA) es comúnmente utilizado en la transposición de Hoffmann, también se puede utilizar, aunque en raras veces, el análogo simple diacetato de yodobenceno (PIDA). Después del estudio de muchos reactivos de oxidación tales como hipoclorito, hipobromito, tribromuro de benciltrimetilamonio, *N*-bromosuccinimida, la sal sódica del ácido dicloroisocianúrico, PIFA, y PIDA, se hizo evidente que PIDA proporciona un medio excelente para la inducción de la transposición de Hofmann dando un buen rendimiento. Este reactivo no sólo proporciona una alternativa útil hacia PIFA sino que también es ventajosa en otros aspectos. La reacción se lleva a cabo en condiciones menos ácidas, la catálisis de piridina es innecesaria, la velocidad de reacción es más rápida y el producto aislado es limpio.[42]

Se llevó a cabo la reacción siguiendo las condiciones propuestas por Zhang y colaboradores quienes hicieron reaccionar Asparagina N_{α}-protegida con diferentes grupos protectores en una mezcla de disolventes agua-acetonitrilo-acetato de etilo. Transcurrido el tiempo de reacción (24 horas) el producto se recuperó por filtración al vacío haciendo lavados con Hexano y acetato de etilo sobre el papel filtro, dando un compuesto cristalino blanco que se secó posteriormente en estufa.

---

[41] Teng, H.; Jiang, Z.; Wu, L.; Su, J.; Feng, X.;, Qiu, G.; Liang, S.; Hu, X. Facile Way to Synthesize N^{α}-Boc-N^{β}-Cbz-2,3-Diaminopropionic Acid Derivates via 5-oxazolidione. Taylor & Francis Group, LLC, *Synthetic Communications* **2006**, *36*, 3803-3807.

[42] Zhang, L.; Kauffman, G. S.; Pesti, J. A.; Yin, J. Rearrangement of *N*α-protected *L*-Asparagines with iodosobenzene diacetate. A practica route to β-amino-*L*-alanine derivatives. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6918-6920.



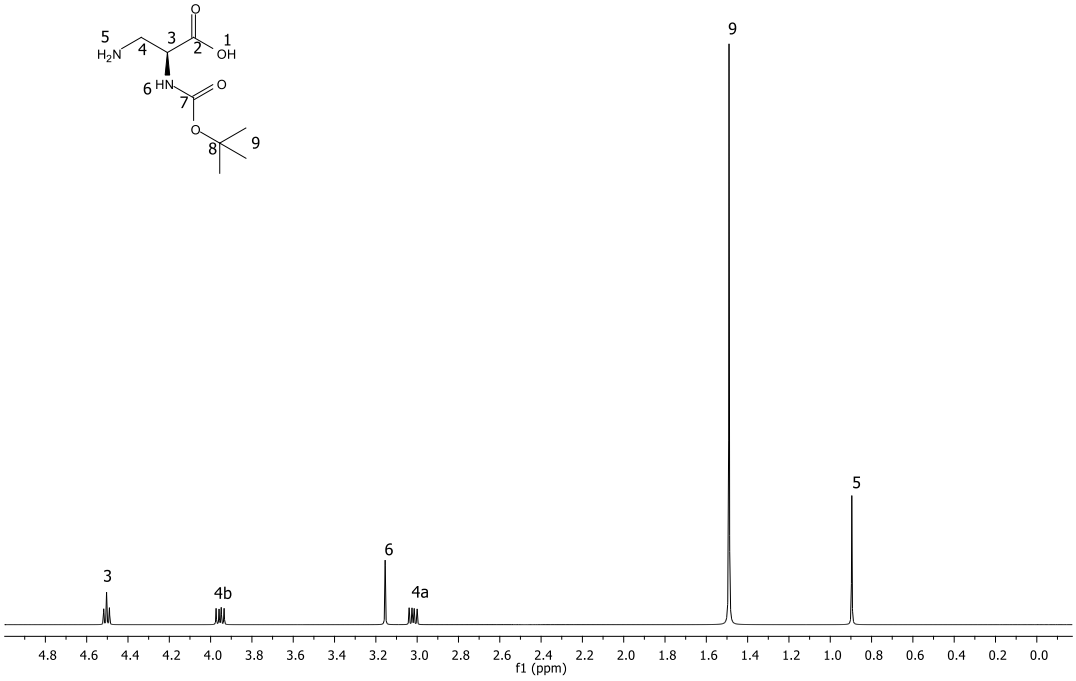
Espectro 3. RMN ^{1}H (DMSO t.a.) para (*S*)-3.

En el espectro de RMN ^{1}H (Espectro 3) se observa una señal simple a 1.40 ppm correspondiente a los metilos del grupo *ter*-butil del grupo protector. En 2.74 ppm se observan una señal doble de dobles correspondientes a uno de los hidrógenos diastereotópicos de la posición 4, con J´s de 9.41 y 11.82 Hz, y en 3.06 el segundo hidrógeno como una señal doble de dobles con J´s de 4.94 y 11.82 Hz; en 3.65 ppm se observa una señal múltiple que integra para un hidrógeno correspondiente al metino de la posición 3. En 6.08 ppm logra observarse una señal simple que integra para un hidrógeno, que corresponde al NH de la posición 6.

Tabla 3. Datos espectroscópicos de RMN ^{1}H de (*S*)-3.

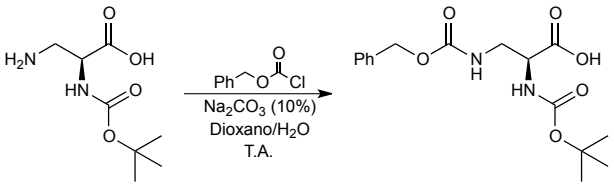
No. H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)
9	1.40	*S*	
4a	2.74	*dd*	9.41, 11.82
4b	3.06	*dd*	4.94, 11.82
3	3.65	*m*	
6	6.08	*s*	

Con el fin de corroborar las señales asignadas anteriormente, se realizó la predicción teórica del espectro de RMN ^{1}H (Espectro 3) empleando el programa MestReNova, en el cual observamos una buena correlación entre los desplazamientos experimentales y los calculados, confirmando así la asignación realizada.



Espectro 4. Predicción de RMN ^{1}H para (*S*)-3.

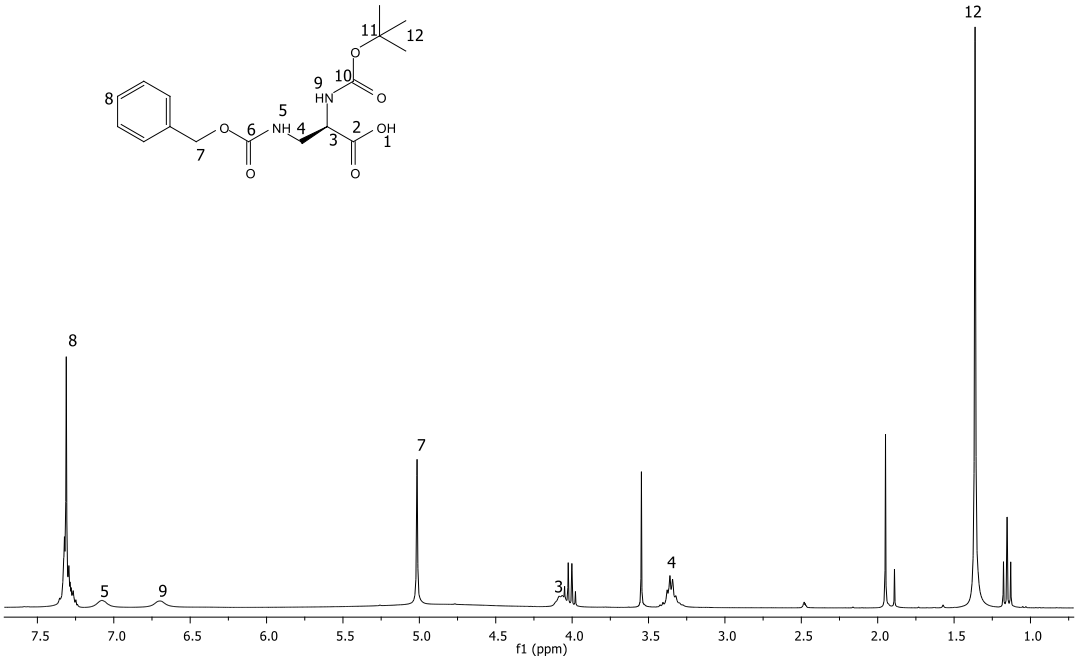
6.4. Síntesis del ácido (*S*)-3-((benciloxicarbonil) amino)-2-((terbutoxicarbonil) amino). [(*S*)-4].



Entre una gama amplia de grupos protectores para el nitrógeno, el Cbz es considerado como uno de los más útiles en síntesis orgánica. El valor de éste grupo protector se encuentra en su susceptibilidad a la eliminación en condiciones que son

ortogonales a los utilizados normalmente para desenmascarar derivados de carbamatos alternativos, en particular, los grupos Boc y Fmoc. Las condiciones típicas implican las asociadas con hidrogenación catalítica, ácidos fuertes, Na/NH_3, ácidos de Lewis, entre otras.[43]

Tomando en cuenta lo anterior, se decidió realizar la protección del grupo amino de la posición γ con el grupo protector Cbz, para evitar la interferencia de la nucleofilicidad de la amina primaria al realizar la posterior reacción de acoplamiento. Para ello el compuesto (*S*)-3 se hizo reaccionar bajo condiciones básicas (1-4-dioxano/Na_2CO_3) con cloroformiato de bencilo.



Espectro 5. RMN ^{1}H (DMSO t.a.) para (*S*)-4.

Transcurrido el tiempo de reacción se acidificó el medio hasta un pH de 3 y posteriormente se realizó una extracción con AcOEt. Los remanentes de disolventes se

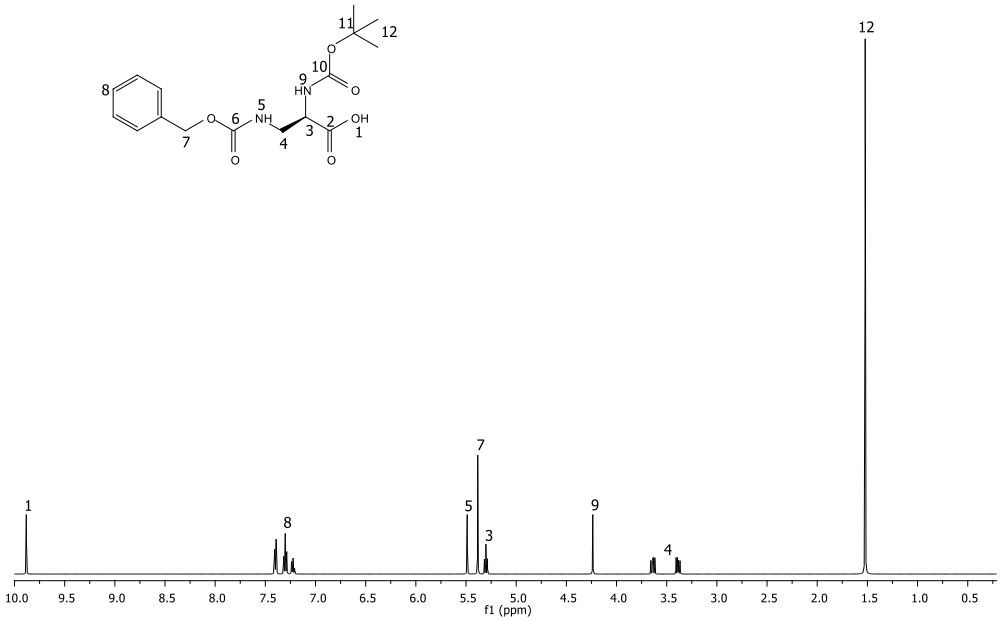
[43] Lipshutz, B. H.; Pfeiffer, S. S.; Reed, A. B. Selective cleavage of Cbz-protected amines. *Org. Lett.* **2011,** *3*(26), 4145-4148.

eliminaron al concentrar el compuesto con rotavapor al vacío y posteriormente el producto fue secado en una estufa a 60 °C, obteniéndose un compuesto viscoso de color café el cual fue sometido a un proceso de cristalización con MeOH y Hexano.

El espectro de RMN ^{1}H (Espectro 5), demuestra la incorporación del grupo Cbz a 7.31 ppm que integra para 5H esperados para el anillo aromático del grupo protector ya mencionado; en 5.01 ppm se observa una señal simple que integra para 2H asignada para el metileno de la posición 7 y que corresponde al grupo protector.

Tabla 4. Datos espectroscópicos de RMN ^{1}H de (*S*)-4.

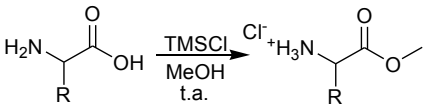
No. H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)
12	1.39	*s*	
4	3.38	*m*	
3	4.07	*a*	
7	5.01	*s*	
9	6.69	*a*	
5	7.07	*a*	
8	7.31	*m*	



Espectro 6. Predicción de RMN ^{1}H para (*S*)-4.

En la predicción realizada para (*S*)-4 (Espectro 6) se observa una similitud en las señales al compararlo con el espectro obtenido experimentalmente (Espectro 5). La multiplicidad coincide, lo que corrobora la presencia del compuesto esperado.

6.5. Síntesis de los clorhidratos de los ésteres metílicos de los α-aminoácidos.



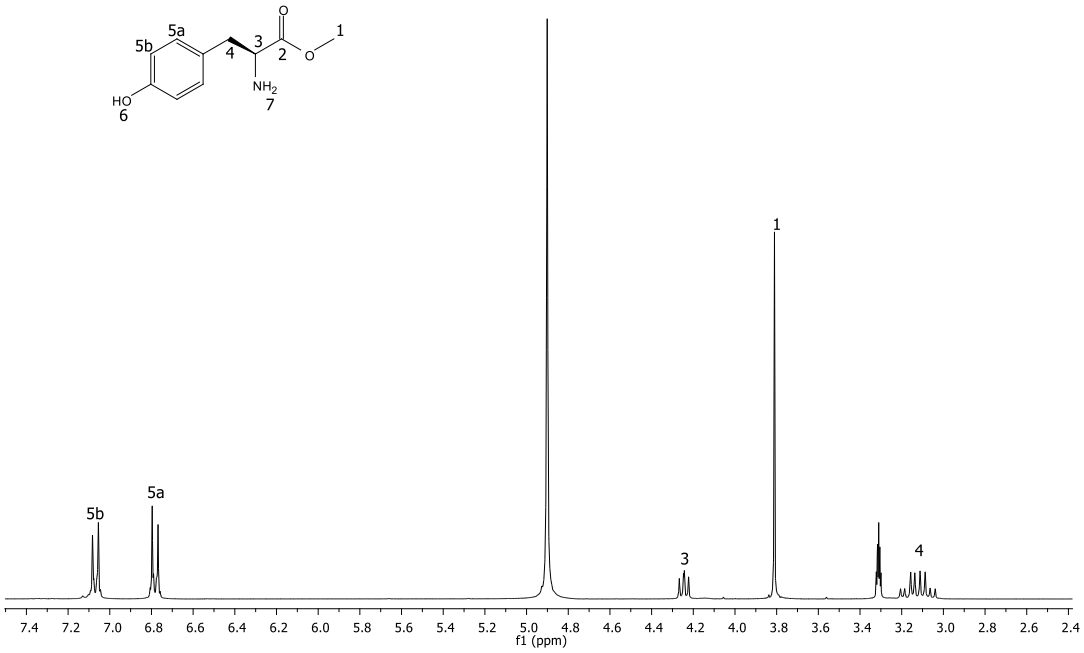
Los ésteres metílicos de los ácidos aminoácidos son intermedios importantes en la síntesis. Han sido reportados una variedad de reactivos para la transformación de los aminoácidos en ésteres metílicos de aminoácidos, que incluyen los ácidos próticos (ácido clorhídrico gaseoso, ácido sulfúrico y ácido *p*-toluenosulfónico), cloruro de tionilo, 2,2-dimetoxipropano y resinas de intercambio iónico. Hay otros métodos que requieren reacciones de varios pasos para obtener los productos, tales como la secuencia de N-protección, esterificación y desprotección. Aunque algunos de ellos son ampliamente utilizados, todavía tienen varios inconvenientes. Metanol/clorotrimetilsilano ha sido demostrado ser un sistema conveniente para la preparación de ésteres metílicos de diversos ácidos carboxílicos.[44] En comparación con los métodos mencionados anteriormente, el uso de CTMS/MeOH es más ventajoso debido a las siguientes características: fácil manejo, las condiciones de reacción suaves, tratamiento simple y de buenos a excelentes rendimientos.

6.5.1. Síntesis del clorhidrato del éster metílico de *L*-Tirosina. [(*L*)-6].

Para la obtención de éste compuesto se hizo reaccionar L-tirosina con MeOH y CTMS, durante 24 horas. Transcurrido el tiempo de reacción el disolvente fue eliminado, quedando un sólido blanco que fue secado al vacío.

[44] Li, J.; Sha, Y. A convenient synthesis of amino acid methy esters. *Molecules* **2008**, *13*, 1111-1119.

El espectro de RMN ^{1}H (Espectro 7) mostró las siguientes señales: en 3.12 ppm se observa una señal múltiple que fue asignada para el metileno de la posición 4, la multiplicidad es debida a la presencia de los hidrógenos diasterotópicos del metileno; en 3.81 ppm se observa una señal simple, que integra para 3H y que fue asignada para los hidrógenos del grupo metóxi el cual confirma la obtención del compuesto deseado; la señal triple que aparece en 4.24 ppm fue asignada para el metino de la posición 3 que integra para 1H; de 6.77-7.06 se observa un sistema AA´BB´ que integra para 4H, con J de 8.38 Hz, y fue asignada al anillo aromático que es característico de la Tirosina.

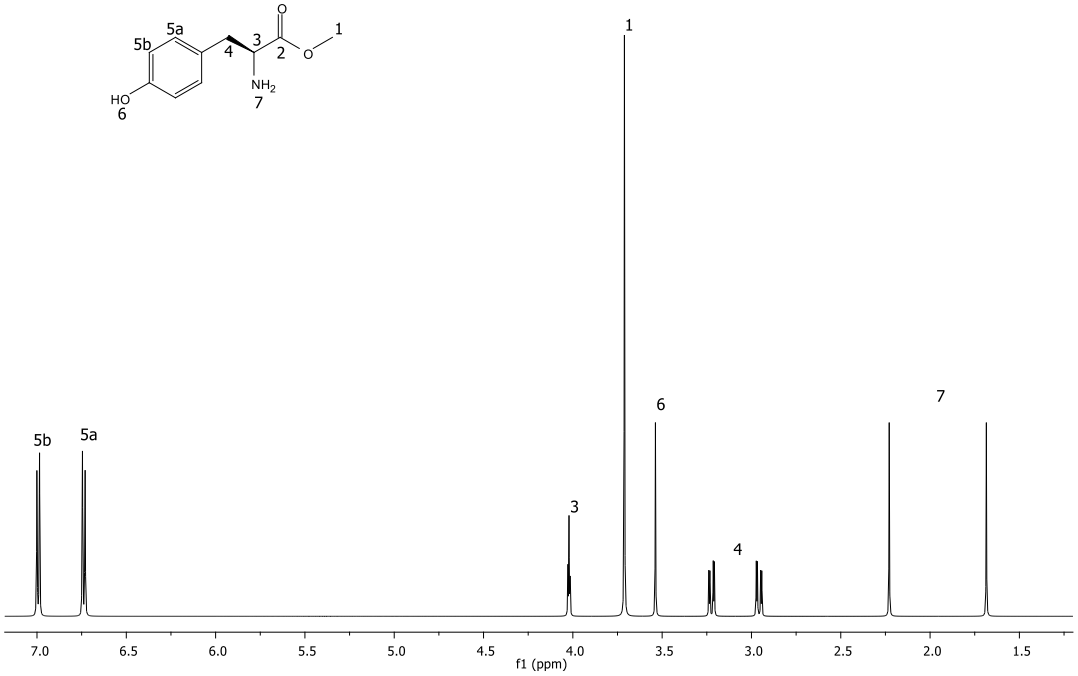


Espectro 7. RMN ^{1}H (CD_3OD) para (*L*)-6.

Tabla 5. Datos espectroscópicos de RMN ^{1}H de (*L*)-6.

No. H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)
4	3.12	*m*	
1	3.81	*s*	
3	4.24	*t*	1.37
5a	6.77	*dd*	8.38
5b	7.06	*dd*	8.38

Con el fin de corroborar las señales asignadas anteriormente, se realizó la predicción teórica del espectro de RMN ^{1}H (Espectro 8) empleando el programa MestReNova, en el cual observamos una buena correlación entre los desplazamientos experimentales y los calculados, confirmando así la asignación realizada. Al observar la predicción corroboramos la similitud de la señal doble de dobles característica del anillo aromático de Tirosina, así como también se observa la presencia de las demás señales asignadas en el espectro obtenido experimentalmente (Espectro 7).

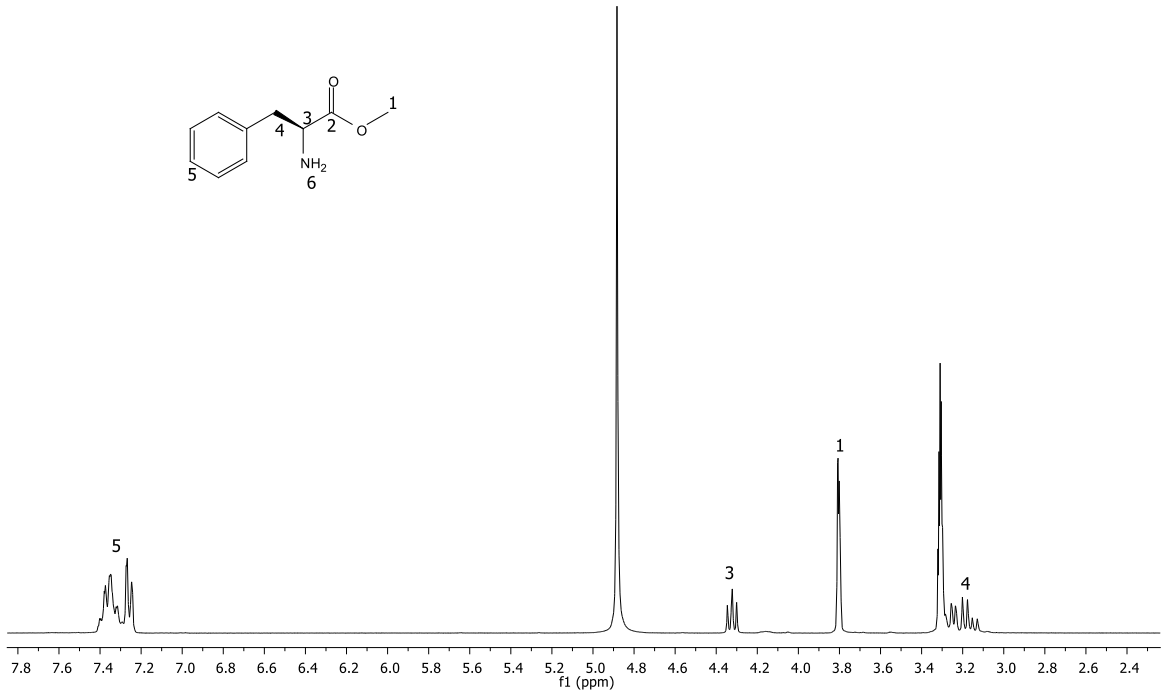


Espectro 8. Predicción de RMN ^{1}H para (*L*)-6.

6.5.2. Síntesis del clorhidrato del éster metílico de *L*-Fenilalanina. [(*L*)-8].

Para la obtención de éste compuesto se siguió el mismo procedimiento descrito anteriormente, obteniéndose un sólido blando. El espectro de RMN ^{1}H mostró las siguientes señales: a 3.22 ppm se observa una señal múltiple que integra para 2H, asignada a los protones diasterotópicos de la posición 4; en 3.80 ppm se observa una

señal simple que integra para 3 hidrógenos que fue asignada a los protones del grupo metoxilo, el cual confirma la presencia del compuesto esperado; en 4.32 ppm se observa una señal triple que integra para 1H la cual fue asignada para el protón del metino de la posición 3 y entre 7.24 y 7.40 ppm se observa una señal múltiple correspondiente al anillo aromático monosustituido de la posición 5.

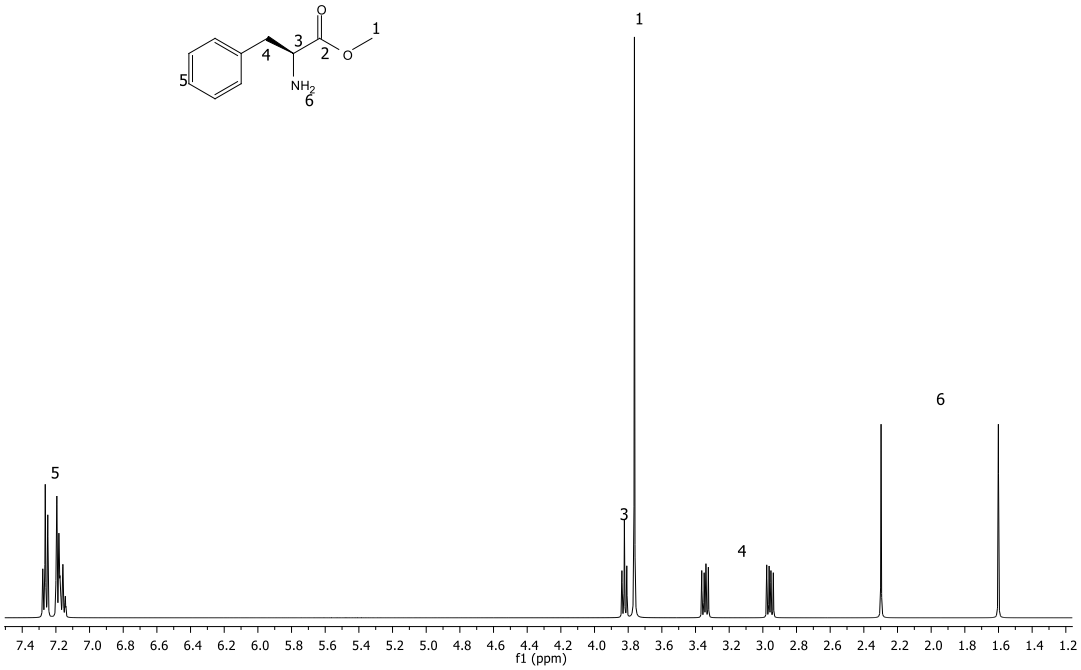


Espectro 9. RMN ^{1}H (CD_3OD) para (*L*)-8

Tabla 6. Datos espectroscópicos de RMN ^{1}H de (*L*)-8.

No. H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)
4	3.22	*m*	
1	3.80	*s*	
3	4.32	*t*	7.14, 6.32
5	7.24-7.40	*m*	

Con el fin de corroborar las señales asignadas anteriormente, se realizó la predicción teórica del espectro de RMN ^{1}H (Espectro 8), en el cual observamos una buena correlación entre los desplazamientos experimentales y los calculados, confirmando así la asignación realizada.



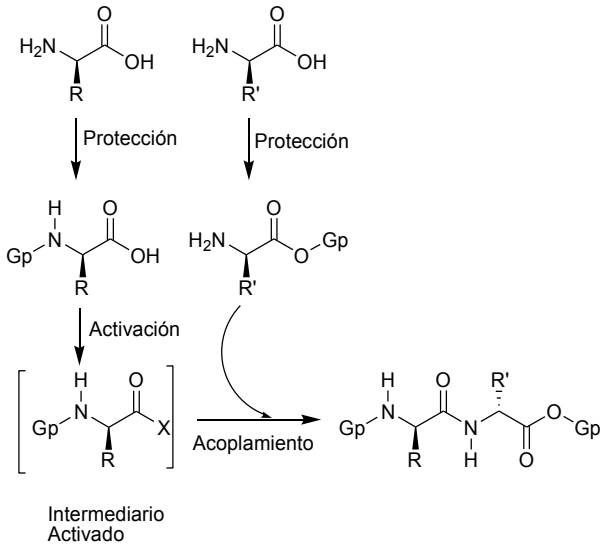
Espectro 10. Predicción de RMN ^{1}H para (*L*)-8.

6.6. Síntesis de dipéptidos constituidos por el ácido (*S*)-2,3-diaminopropiónico y los ésteres metílicos de los α-aminoácidos.

Los enlaces amida juegan un papel importante en la elaboración y la composición de los sistemas biológicos, lo que representa, por ejemplo, los principales enlaces químicos que unen los bloques de construcción de aminoácidos juntos para dar proteínas. Los enlaces amida no se limitan a los sistemas biológicos y están de hecho presentes en una enorme variedad de moléculas, incluyendo los principales fármacos comercializados.

Los enlaces amida típicamente se sintetizan a partir de la unión de los ácidos carboxílicos y aminas, sin embargo, la unificación de estos dos grupos funcionales no se produce de forma espontánea a temperatura ambiente, si no que se requieren de temperaturas altas para la eliminación del agua, condiciones que son perjudiciales para la integridad de la mayoría de los sustratos. Por esta razón, es necesario activar primero el ácido carboxílico, un proceso que por lo general se lleva a cabo mediante la conversión del OH del ácido en un buen grupo saliente antes del tratamiento con la amina.

Con el fin de activar ácidos carboxílicos, uno puede usar los llamados reactivos de acoplamiento, que actúan como reactivos independientes para generar compuestos tales como cloruros de ácido, anhídridos (mixtos), anhídridos carbónicos o ésteres activos.[45]



Esquema 2. Ruta general para un acoplamiento.

La síntesis de péptidos descrita en el Esquema 2 exige introducir un control quimioselectivo para evitar la mezcla de péptidos, para ello se cuenta con diferentes grupos protectores. La primera etapa de la síntesis peptídica son las reacciones de protección de los grupos amino y carboxílico de los aminoácidos donde los grupos amino

[45] Valeur, E.; Bradley, M. Amide bond formation: beyond the myth of coupling reagents. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 606-631.

suelen protegerse a través de sus carbamatos o uretanos, en tanto que los grupos carboxílicos se protegen como sus ésteres. Posteriormente se encuentra la etapa más importante, que es el acoplamiento de ambos aminoácidos, la cual se realiza a través de la activación del grupo carboxílico libre haciendo uso de una carbodiimida o reactivos más eficientes como los anhídridos mixtos o las sales de uronio, y así obtener el nuevo enlace peptídico.[46]

En la siguiente tabla se muestran algunos grupos protectores y activantes en la síntesis de dipéptidos.

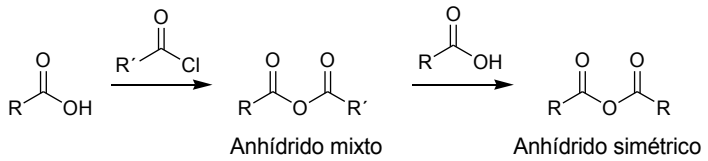
Tabla 7. Reactivos importantes en síntesis de dipéptidos.

Protectores del grupo $-NH_2$	Protectores del grupo $-CO_2H$	Grupos activantes
Cbz	CH_3O-	Carbodiimidas
Boc		Cloroformiato de alquilo
Fmoc		C_6F_5OH Pentafluorofenol
		TBTU Sales de uronio

La formación de anhídridos mixtos es un método clásico para la formación del enlace amida. Es importante tener en cuenta que muchos anhídridos mixtos se pueden generar utilizando algunos de los reactivos de acoplamiento mencionados en la tabla anterior. El método del anhídrido mixto describe que el éxito de la formación del enlace

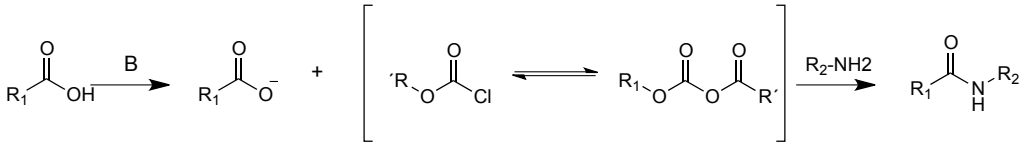
[46] Cervera Villanueva J. Síntesis eficiente y práctica de nuevos fosfonopéptidos conformacionalmente restringidos. Tesis de Maestría. México: Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Facultad de Ciencias. **2012**.

amida se rige por un efecto estérico e inductivo. El uso de cloroformiatos para la formación del enlace amida era reportado primero por Vaughan, y se basó en el método del anhídrido mixto (Esquema 3).



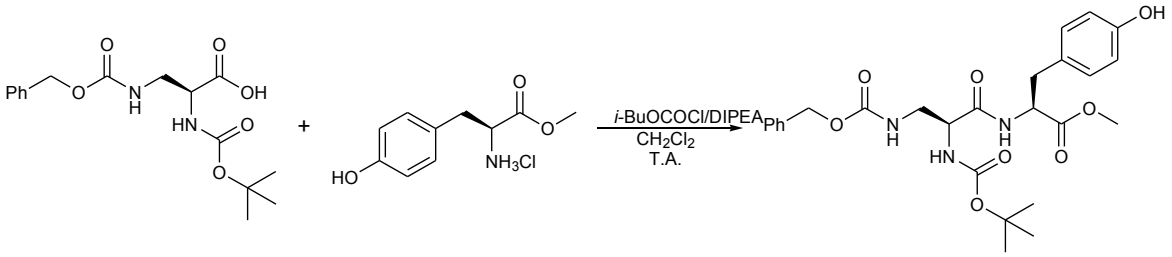
Esquema 3. Resultado de la desproporción con el método de anhídridos mixtos.

En la presencia de una base, la reacción entre un carboxilato y un cloroformiato produce un anhídrido mixto carbónico, el cual reacciona rápidamente con aminas para formar amidas. Vaughan probó varios cloroformatos diferentes, y cuya conclusiones sugirieron que era el reactivo más eficiente era el cloroformiato de isobutilo (Esquema 4).



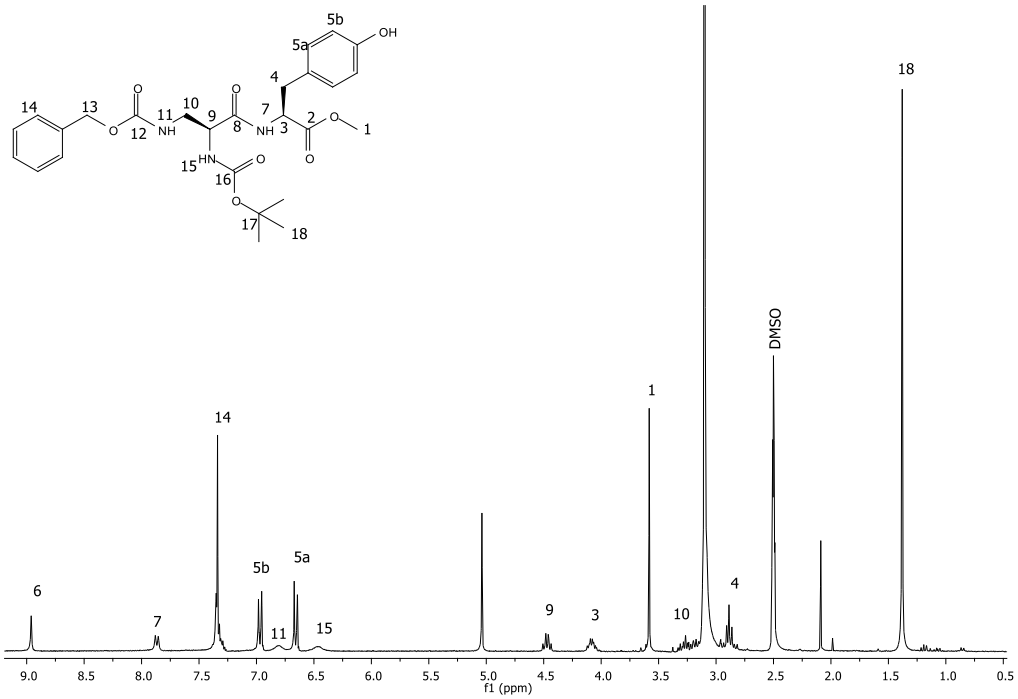
Esquema 4. Representación general del mecanismo para la formación del enlace amida, utilizando cloroformiato de alquilo.

6.6.1. Acoplamiento del ácido (*S*)-2,3-diamino propiónico y el éster de (L)-Tirosina. [(*S,S*)-9].



En el espectro de RMN ^{1}H (Espectro 11) se observa una señal simple a 1.39 ppm que integra para 9H, correspondiente a los protones de los metilos del grupo protector; en 2.89 ppm se observa una señal múltiple correspondiente a los protones del metileno

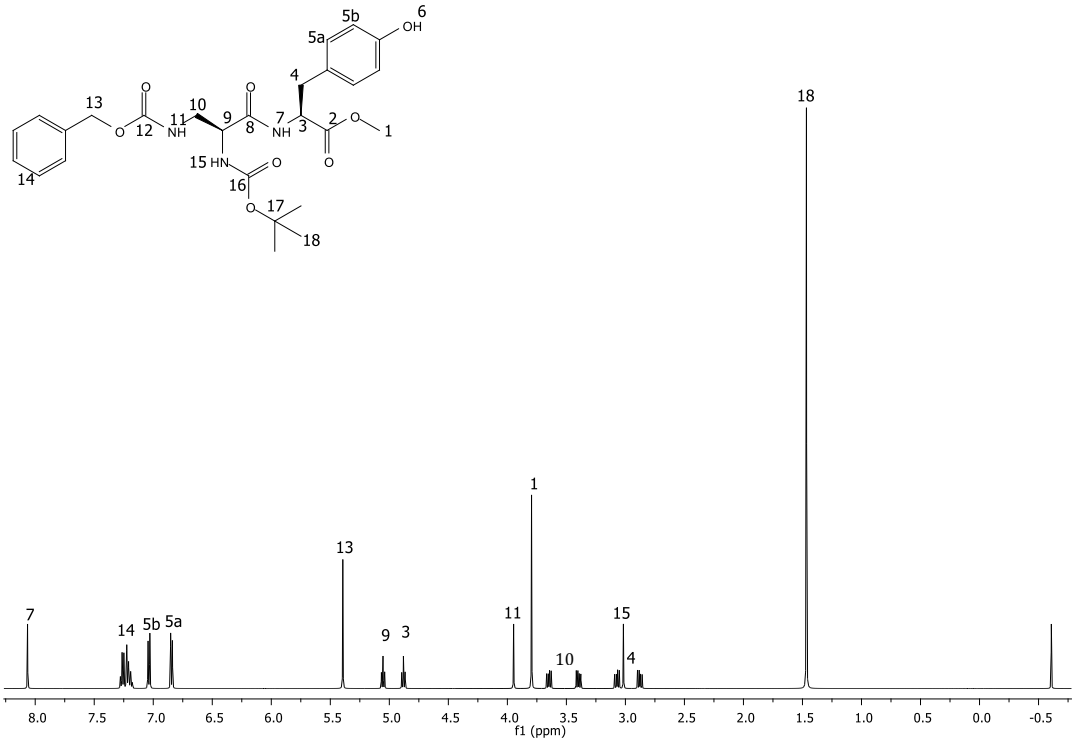
de la posición 4, los cuales son diasterotópicos y debido a eso se observa la multiplicidad. En 3.26 ppm se observa una señal múltiple que corresponde a los protones diasterotópicos de la posición 10, en 3.58 ppm se observa una señal simple que integra para 3H correspondientes a los protones del OMe de la posición 1, en 4.08 ppm se observa una señal ancha que corresponde al protón del metino de la posición 3, se observa una señal doble de dobles en 4.45 ppm correspondiente al metino de la posición α el cual se acopla con los protones diasterotópicos de la posición 10, en 5.03 ppm se observa una señal simple que corresponde al metileno del grupo protector, en 6.47 ppm se observa una señal simple y ancha que corresponde al NH de la posición 15, de 6.71 a 6.98 ppm se observan dos señales dobles que corresponden a los protones del anillo aromático de Tirosina, en 6.65 ppm se observa una señal ancha que se asignó para el NH de la posición 11, en 7.33 ppm se observa una señal múltiple que corresponde a los protones del anillo aromático del grupo Cbz, en 7.86 se observa una señal ancha correspondiente al NH de la posición 7 y finalmente se observa en 8.96 una señal simple que se asignó para el protón del OH del anillo aromático de Tirosina.



Espectro 11. RMN ^{1}H (DMSO) para (*S,S*)-9.

Tabla 8. Datos espectroscópicos de RMN ^{1}H de (*S,S*)-9.

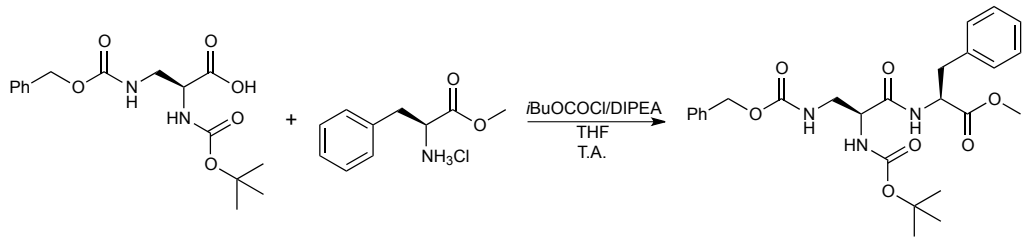
No. H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)
18	1.39	*s*	
4	2.89	*m*	13.7, 13.7
10	3.26	*m*	
1	3.58	*s*	
3	4.08	*a*	
9	4.45	*dd*	13.7, 14.0
13	5.03	*s*	
15	6.47	*s*	
5a	6.71	*d*	8.5
5b	6.98	*d*	8.5
14	7.33	*s*	
15	6.47	*a*	
11	6.65	*a*	
7	7.86	*a*	
6	8.96	*s*	

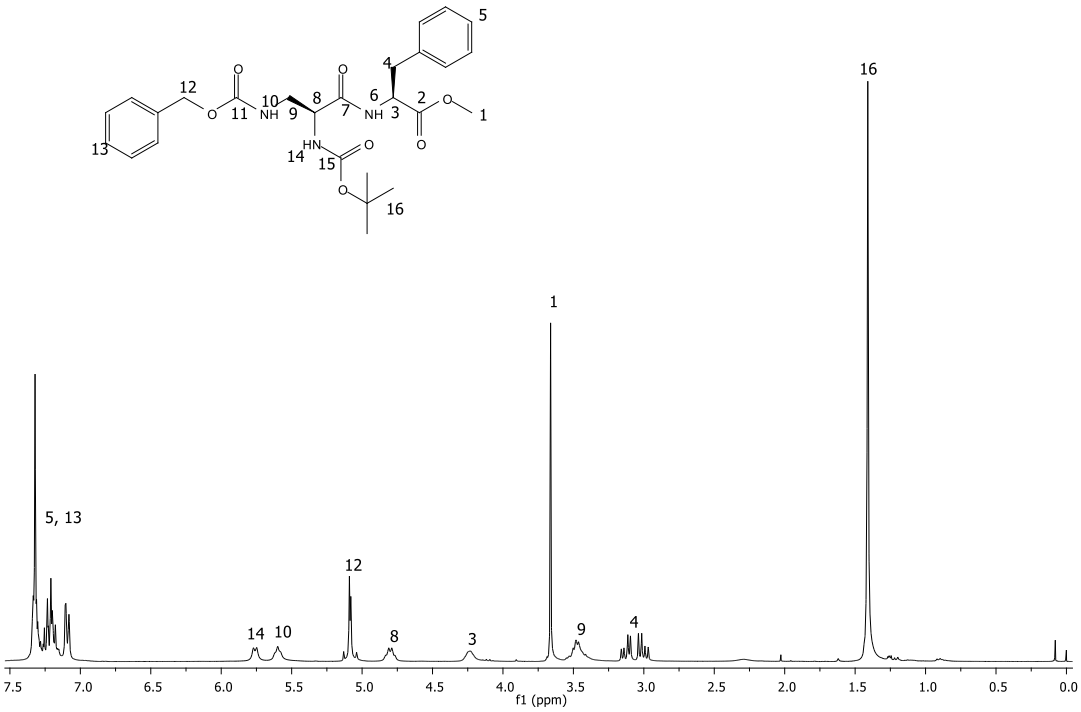


Espectro 12. Predicción de RMN ^{1}H para (*S,S*)-9.

Con el fin de corroborar las señales asignadas anteriormente, se realizó la predicción teórica del espectro de RMN ^{1}H (Espectro 11), en el cual observamos una buena correlación entre los desplazamientos experimentales y los calculados, confirmando así la asignación realizada.

6.6.2. Acoplamiento del ácido (S)-2,3-diamino propiónico y el éster de (L)-Fenilalanina. [(S,S)-10].





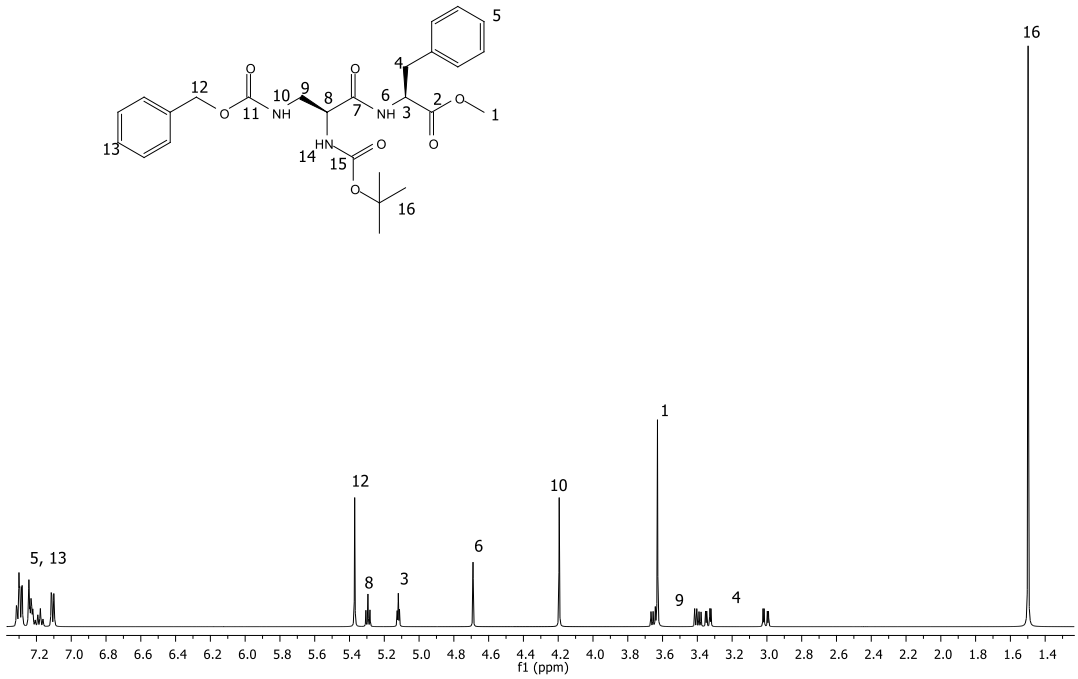
Espectro 13. RMN ^{1}H (DMSO) para (*S,S*)-10

En el espectro de RMN ^{1}H (Espectro 13) se observan las siguientes señales: en 1.39 ppm se observa una señal simple que integra para 9H y correspondiente al grupo *t*-butilo, de 2.94 a e.13 se observan dos señales dobles de dobles correspondientes al metileno de la posición 4, la multiplicidad es debido a que los protones son diasterotópicos; en 3.42 ppm se observa una señal múltiple correspondiente al metileno de la posición 9, se observa una señal simple que se asignó para los protones del OMe, en 4.17 ppm se observa una señal doble de dobles que corresponde al protón del metino de la posición 3, en 4.77 ppm se observa una señal doble de dobles correspondiente al protón del metino de la posición 8, en 5.06 ppm se observa una seña simple que corresponde a los 2 protones del metileno del grupo Cbz; en 5.39, 7.08 y 6.94 ppm se observan señales anchas correspondientes a los NH de las posiciones 10,14 y 6 respectivamente; de 7.05 a 7.28 ppm se observan los hidrógenos de los anillos aromáticos tanto del grupo protector como de Fenilalanina.

Tabla 9. Datos espectroscópicos de RMN ^{1}H de (*S,S*)-10.

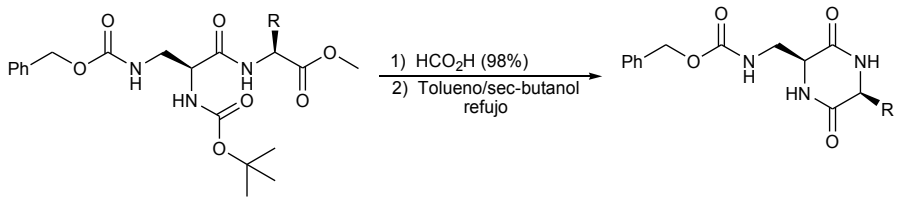
No. H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)
16	1.39	*s*	
4	2.94-3.13	*dd-dd*	13.7, 14.0
9	3.42	*m*	
1	3.63	*s*	
3	4.17	*dd*	12.0, 12.3
8	4.77	*dd*	13.4, 13.4
12	5.06	*s*	
10	5.39	*a*	
14	7.08	*a*	
6	6.94	*a*	
5, 13	7.05-7.28	*m*	

Con el fin de corroborar las señales asignadas anteriormente, se realizó la predicción teórica del espectro de RMN ^{1}H (Espectro 13), en el cual observamos una buena correlación entre los desplazamientos experimentales y los calculados, confirmando así la asignación realizada.



Espectro 14. Predicción de RMN ^{1}H para (*S,S*)-10.

6.7. Síntesis de péptidos cíclicos basados en la estructura de 2,5-Dicetopiperazina.



El siguiente paso para llegar a la 2,5-dicetopiperazina consiste en eliminar el grupo Boc y posterior a esto realizar la ciclación. El método utilizado es el descrito por Nitecki[47] y colaboradores, el cual consiste en tratar el dipéptido en condiciones ácidas y después realizar la ciclación con temperatura. Nitecki y colaboradores han demostrado ya que muchos formiatos de ésteres metílicos de dipéptidos se pueden convertir en sus derivados

[47] Nitecki, D. E.; Halpern, B.; Westley, J. W.; A simple route to sterically pure diketopiperazines. *J. Org. Chem.* **1967,** *33*, 864-866.

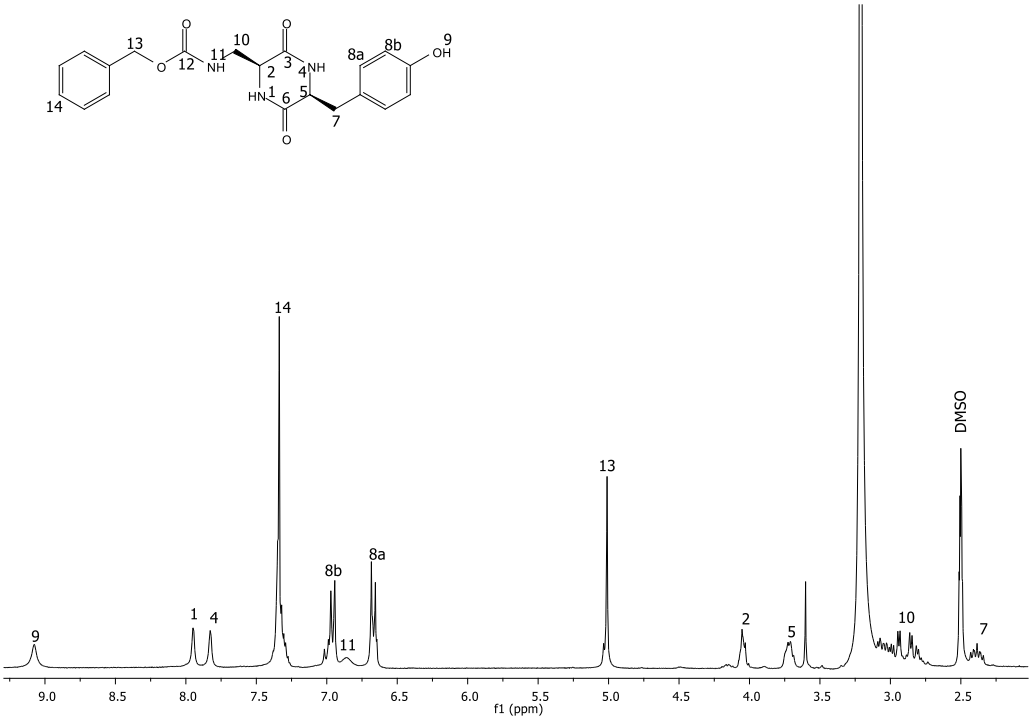
de dicetopiperazina calentando a reflujo las sales en un disolvente neutro durante varias horas. En estas condiciones, el ácido se elimina fácilmente a partir de sus sales por destilación azeotrópica y la conversión en el compuesto cíclico se lleva a cabo con buenos rendimientos. Para la desprotección del grupo Boc se llevó a cabo el descrito por Cervera 2012[41] en el cual el dipéptido es tratado con ácido trifluoroacético.

6.7.1. Síntesis de Ciclo-[(*L*)-metil-(*L*)-tirosina]. [(*S,S*)-11].

Para la obtención de éste compuesto el dipéptido lineal se sometió en agitación con TFA a temperatura ambiente durante 4 horas, posteriormente se concentró y se diluyó en agua para posteriormente aumentar el pH de 7 a 8 con $NaHCO_3$ 1N. Siguiendo el método se realizó una extracción con éter, pero en el caso de éste compuesto el formiato del dipéptido se encontraba en la fase acuosa como un aceite color marrón. Posteriormente se le agregó mezcla de *sec*-butano/tolueno (4:1) y fue puesto a reflujo durante 6 horas. Al terminar el tiempo de reacción se concentró a sequedad para después disolver el compuesto en Metano/Hexano obteniendo cristales color blanco después de un tiempo de 24 horas.

El análisis de RMN ^{1}H (Espectro 15) realizado al compuesto obtenido muestra las siguientes señales: en 2.38 ppm, una señal múltiple correspondiente al metileno de la posición 7 de Tirosina, y en 2.86 ppm, una señal múltiple asignada al metileno de la posición 10; en 3.75 ppm se observa una señal ancha que se asignó al protón del metino de la posición 5, que se acopla al metileno de la posición 10, ésta asignación se llevó a cabo con la ayuda del experimento COSY (Espectro 16) que muestra el acoplamiento entre éstos protones; en 3.72 ppm se observa también una señal ancha correspondiente al protón del metino de la posición 2, de igual forma ésta asignación también se realizó con la ayuda del experimento COSY; la señal que aparece en 5.01 ppm se asignó a los 2 protones del metileno de la posición 13; de 6.67 a 7.33 ppm aparecen las señales correspondientes a los anillos aromáticos del grupo protector y de tirosina, en 6.90 ppm se observa una señal ancha que se asignó al protón del NH de la posición 11 del grupo

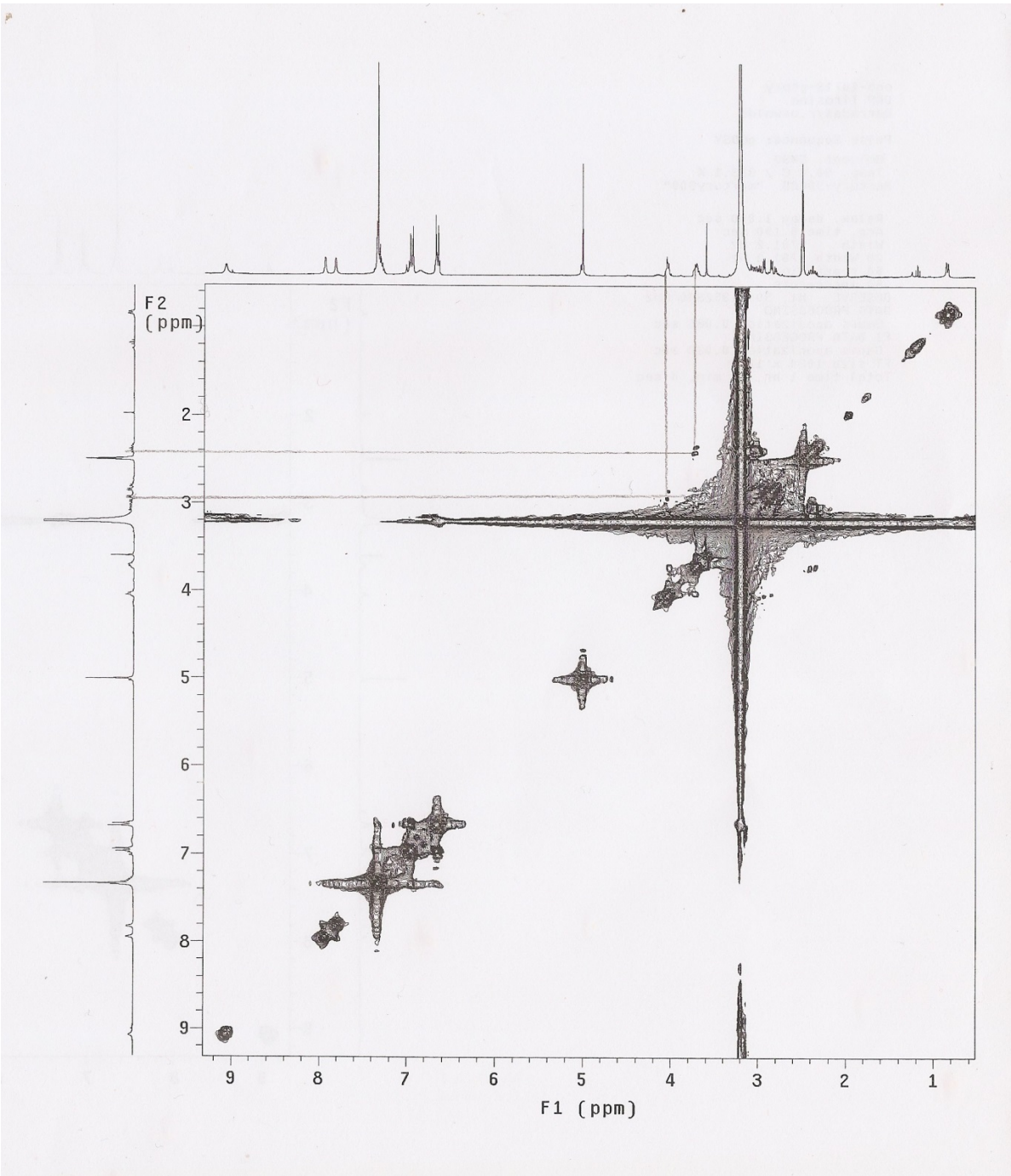
carbamato, en 7.82 ppm se observa una señal ancha que se asignó para el NH de la posición 4 del ciclo péptido, se asignó una señal que aparece en 7.95 ppm para el NH de la posición 1, finalmente se observa una señal que aparece a 9.07 ppm y que corresponde al OH del anillo de la fracción de Tirosina



Espectro 15. RMN ^{1}H (DMSO) para (*S,S*)-11

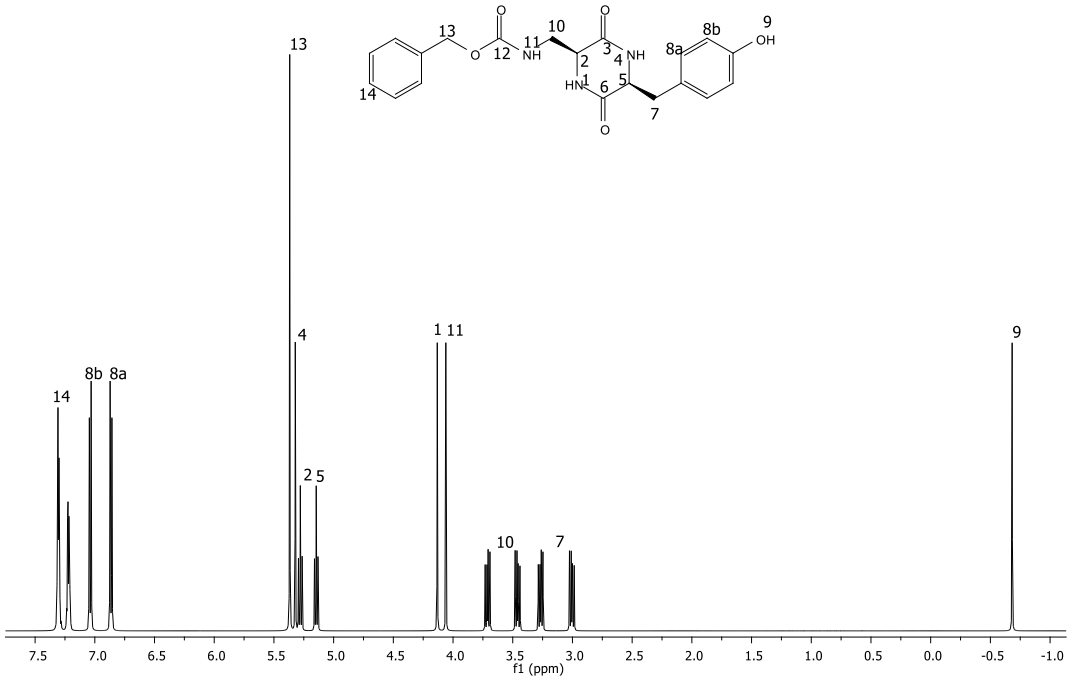
Tabla 10. Datos espectroscópicos de RMN ^{1}H de (*S,S*)-11.

No. H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)
7	2.38	*m*	
10	2.86	*m*	
5	3.70	*a*	
2	3.72	*a*	
13	5.01	*s*	
8a	6.67	*d*	8.24
11		*s*	
8b	6.96	*d*	8.52
14	6.97	*s*	
4	7.82	*a*	
1	7.95	*a*	
9	8.07	*a*	



Espectro 16. Experimento COSY (DMSO) para (*S,S*)-11.

En apoyo a esta asignación, se realizó la predicción teórica de RMN ^{1}H (Espectro 17) para corroborar las señales asignadas del espectro obtenido experimentalmente.



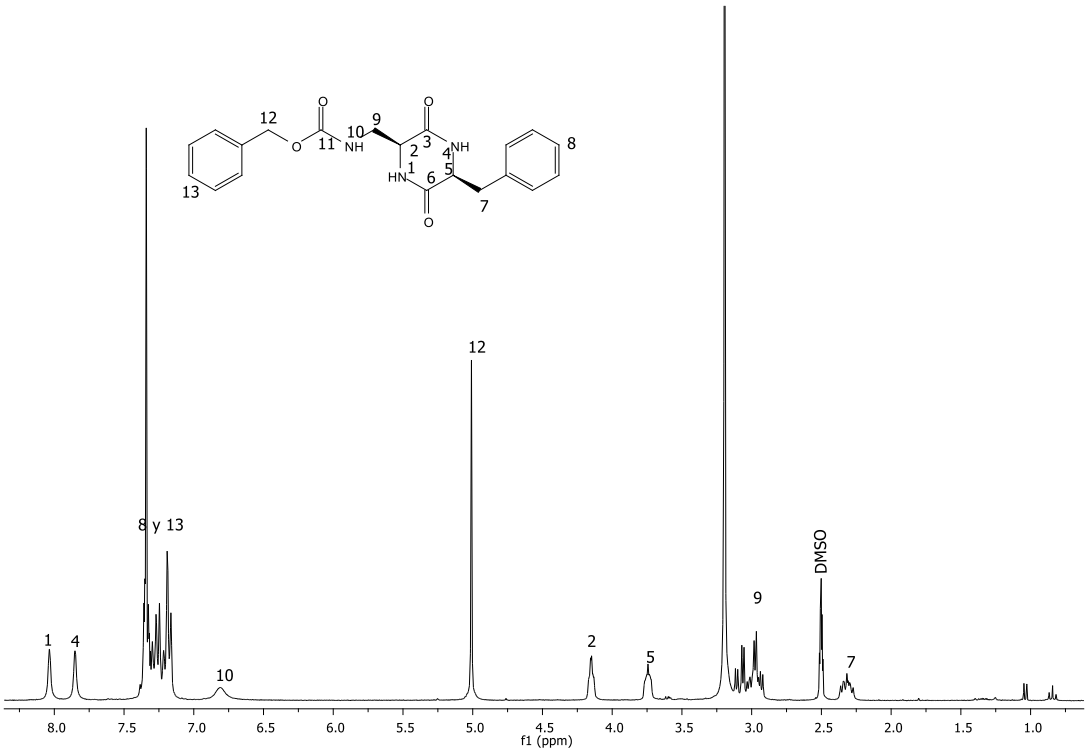
Espectro 17. Predicción RMN ^{1}H para (*S,S*)-11

6.7.2. Síntesis de Ciclo-[(*L*)-metil-(*L*)-Fenilalanina]. [(*S,S*)-12].

Para la obtención de éste compuesto se siguió la metodología descrita anteriormente, poniendo al compuesto en agitación con TFA a temperatura ambiente obteniendo el formiato del dipéptido. La relación sec-butanol/tolueno fue 4:1. Al terminar el método y reducir el volumen del s*ec*-butanol/tolueno inmediatamente se empezaron a formar cristales blancos, obteniendo por filtración el compuesto esperado.

En el espectro de RMN ^{1}H (Espectro 18) se observan las siguientes señales: en 2.31 ppm se observa una señal múltiple que corresponde al metileno de la posición 7, de 2.91 a 3.06 ppm se observa una dos señales doble de dobles correspondiente a los protones del metileno de la posición 9, se asignó una señal ancha que aparece en 3.69 ppm al protón del metino de la posición 5 y en 4.14 ppm al protón del metino de la posición 2 del ciclo péptido, éstos protones se acoplan con los protones de los metilenos 7 y 9 respectivamente, y fueron asignados con la ayuda del experimento COSY (Espectro 19); en

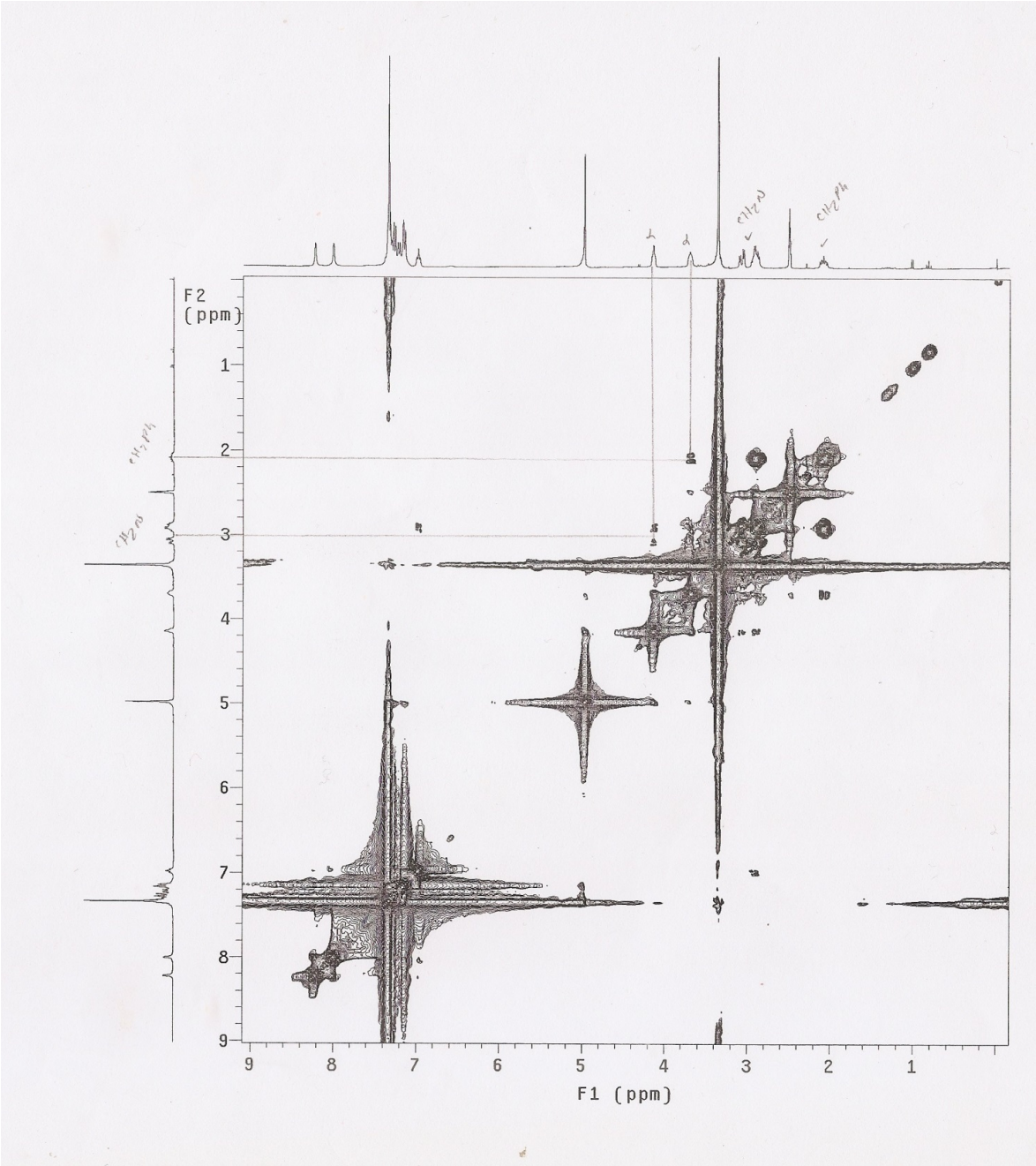
4.98 ppm se observa una señal simple correspondiente a los protones del metileno de la posición 12, en 6.97 ppm se observa una señal ancha que fue asignada para el protón del NH de la posición 10, de 7.13 a 7.33 ppm aparecen las señales correspondientes a los 2 anillo aromáticos de la molécula, en 7.99 ppm se observa una señal ancha que se asignó para el hidrógeno del NH de la posición 4 y 8.21 ppm aparece una señal ancha asignada para el protón del NH de la posición 1.



Espectro 18. RMN ^{1}H (DMSO) para (*S,S*)-12

Tabla 11. Datos espectroscópicos de RMN ^{1}H de (*S,S*)-12.

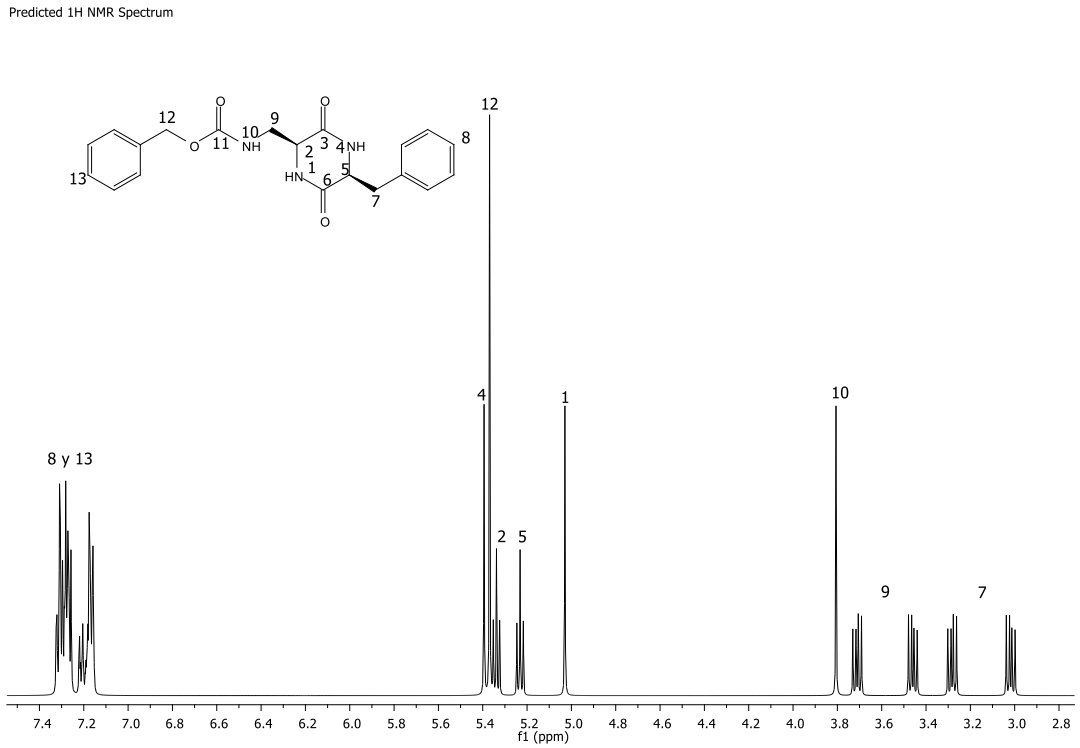
No. H	δ (ppm)	Multiplicidad	J (Hz)
7	2.50	*m*	
9	2.91-3.06	*dd*	4.3, 4.3
5	3.69	*a*	
2	4.14	*a*	
12	4.98	*s*	
10	6.97	*t*	5.7, 5.7
8, 13	7.13-7.33	*m*	
4	7.99	*a*	
1	8.21	*a*	



Espectro 19. Experimento COSY (DMSO) para (*S,S*)-12

Con el fin de corroborar las señales asignadas anteriormente, se realizó la predicción teórica del espectro de RMN ^{1}H (Espectro 20), en el cual observamos una

buena correlación entre los desplazamientos experimentales y los calculados, confirmando así la asignación realizada.



Espectro 20. Predicción de RMN ^{1}H para (*S,S*)-12

6.8. Predicción teórica de la actividad biológica y de la toxicidad de los dipéptidos lineales y cíclicos obtenidos.

6.8.1. Predicción de los espectros de actividad biológica utilizando PASS Online.

El espectro de actividad biológica de un compuesto químico es el conjunto de los diferentes tipos de actividad biológica que reflejan los resultados de la interacción del compuesto con diversas entidades biológicas. La actividad biológica se define cualitativamente, lo que sugiere que el espectro de actividad biológica representa la propiedad "intrínseca" de una sustancia que sólo depende de su estructura y características físico-químicas. Esto puede ser una generalización que ofrece la posibilidad de combinar la información de diferentes fuentes en el mismo conjunto de ensayos, y que

es necesaria porque ninguna publicación en particular recorre de forma exhaustiva todas las diversas facetas de la acción biológica de un compuesto.

PASS Online predice más de 3500 tipos de actividad biológica, incluidos los efectos farmacológicos, mecanismos de acción, efectos tóxicos y efectos adversos, la interacción con las enzimas metabólicas, de transporte, y la influencia sobre la expresión génica.

Para predecir el perfil de actividad biológica para un compuesto sólo es necesaria la fórmula estructural, por lo tanto, la predicción es posible incluso para la estructura virtual diseñada en computadora, aunque todavía no se sintetice. La predicción se basa en el análisis de la relación estructura-actividad de más de 250,000 sustancias biológicamente activas que incluyen medicamentos, candidatos a fármacos y compuestos tóxicos.

El software utiliza diversos parámetros para medir la probabilidad de que una sustancia pueda tener efecto o no en relación a una actividad biológica. En este sentido, *Pa* (Probabilidad de ser activo) estima la probabilidad de que el compuesto estudiado sea parte de una clase de compuestos activos debido a su semejanza estructural con otras moléculas biológicamente activas. Por su parte, *Pi* (Probabilidad de ser inactivo) calcula la probabilidad de que el compuesto estudiado pertenezca a una clase de compuestos inactivos con estructura semejante a la de otras moléculas inactivas.[48]

Dado que el servicio PASS ha sido utilizado por muchos años por los químicos medicinales, farmacólogos y toxicólogos,[49] existen muchas publicaciones en las que las predicciones de PASS se confirmaron posteriormente por síntesis y ensayos biológicos, validando su utilidad.

La compañía responsable de PASS es PharmaExpert, la cual estudia las relaciones entre actividad biológica, las interacciones entre los medicamentos y la orientación de múltiples compuestos químicos, proporcionando una herramienta para la selección de compuestos con un perfil de actividad biológica predefinida, incluyendo los efectos

[48] Poroikov, V.; Filimonov, D. *Probabilistic Approaches in Activity Prediction*. Institute of Biomedical Chemistry of Russian Academy of Medical Sciences 10. Rusia. **2011**, *6*, 2-4.

[49] Lagunin, A.; Stepanchikova, A.; Filimonov, D.; Poroikov, V. PASS: Prediction of activity spectra for biologically active substances. Institute of Biomedical chemistry RAMS. **2000**.

farmacoterapéuticos deseables y mecanismos bioquímicos, además de los efectos adversos y tóxicos indeseables.[2]

6.8.2. Predicción de la toxicidad y viabilidad de compuestos bioactivos mediante OSIRIS Property Explorer.

El explorador de propiedades OSIRIS es parte integral del sistema de registro de sustancias *in house* de la compañía *Actelion*. Permite calcular diversas propiedades de una sustancia bioactiva, valorando y clasificándolas por colores; propiedades con un alto riesgo de efectos no deseados tales como mutagenicidad o una absorción intestinal deficiente se muestran en color rojo. Por otra parte, el color verde indica que el comportamiento del compuesto es óptimo y no presenta riesgos considerables de toxicidad.[50]

La elaboración de la predicción se inicia dibujando una molécula para buscar los riesgos potenciales de toxicidad, siempre y cuando la estructura dibujada sea una entidad química válida. Las alertas de riesgo de toxicidad son una indicación de que la estructura analizada puede ser nociva sobre la categoría de riesgos especificados. Sin embargo, las alertas de riesgo, de ninguna manera pretenden ser una predicción de toxicidad totalmente fiable. Tampoco se debe concluir que, por la ausencia de alertas de riesgo, una sustancia está completamente libre de cualquier efecto tóxico.[51]

6.8.3. Predicción de la actividad biológica, riesgos de toxicidad y viabilidad para (*S,S*)-9 y su derivado relacionado.

Con base a lo anterior, se realizó la predicción de la actividad biológica del dipéptido lineal (*S*,*S*)-**9**, el cual fue estudiado tanto en su forma protegida como libre. Esto para evaluar el efecto de los grupos protectores de la molécula sobre las entidades biológicas, así como determinar el potencial biológico que el péptido libre puede poseer.

---

[50] Sander, T. Actelion Pharmaceuticals Ltd. Switzerland.
[51] OSIRIS. www.organic-chemistry.org/prog/peo.

PASS arrojó que el péptido (**A**) *N*,*N*-diprotegido con Cbz y Boc, respectivamente, podría presentar actividad como inhibidor de la enzima poliporopepsina (*Pa*>0.6 y *Pi*<0.05), se detectó que también presenta actividad como posible inhibidor del gen PIN-1 (*Pa*>0.5 y *Pi*<0.02) y actuar como sustrato para el complejo enzimático CYP2H (*Pa*>0.6 y *Pi*<0.06).

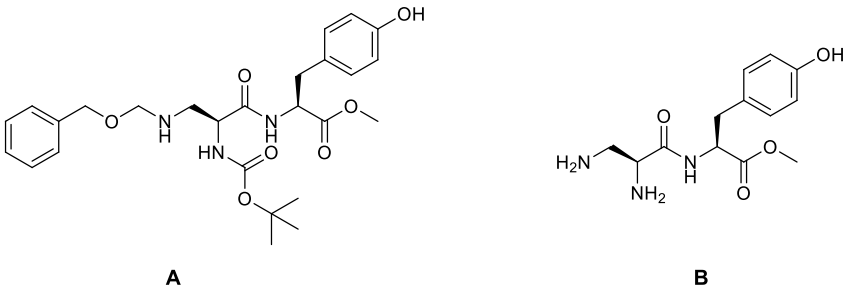


Figura 5. Péptido (*S*,*S*-**9**) en su forma protegida y el derivado sin los grupos protectores.

Para el derivado **B**, la predicción de PASS proporcionó que el compuesto presenta actividad como inhibidor de la proteína disulfato reductasa (glutatión) (*Pa*>0.9 y *Pi*<0.002), mostró actividad como tratamiento para la mucositis (*Pa*>0.9 y *Pi*<0.003) e inhibidor del péptido α-*N*-acetiltransferasa (*Pa*>0.9 y *Pi*<0.002).

Del mismo modo, la predicción de toxicidad para (*S*,*S*)-**9** y sus derivados arrojó la siguiente información:

Tabla 12. Predicción de la toxicidad de (*S*,*S*)-**9** y su derivado.

Molécula	Mutagenicidad	Tumorigenicidad	Irritante	Efecto Reproductivo
A	●	●	●	●
B	●	●	●	●

La presencia del anillo aromático del grupo protector Cbz en el derivado **A** confiere algunos factores de toxicidad a las moléculas y se ve reflejado por los riesgos de tumorigenicidad y efecto reproductivo que la predicción detecta, por lo que, en caso de

realizarse pruebas *in vitro* o *in vivo*, es necesario retirar los grupos protectores del péptido (*S*,*S*)-**9** para generar el derivado **B** libre.

En la Tabla 12 se presenta la determinación de parámetros para evaluar el potencial farmacológico de cada compuesto bajo las condiciones y algoritmos que antes se mencionaron.

Tabla 13. Predicción del potencial farmacológico de (*S*,*S*)-**9** y sus derivados**.**

Molécula	cLog P	Solubilidad (Log S)	Peso mol (g/mol)	Semejanza de fármaco	Puntuación de fármaco
A	2.34	4.22	515	713.16	0.14
B	1.66	1.09	281	0.29	0.68

El análisis de los parámetros obtenidos, revelan nuevamente que por la presencia del grupo protector Cbz en la estructura química, la molécula no resulta buen candidato para diseñar un fármaco, pues induce toxicidad. El derivado desprotegido mostró una puntuación elevada como fármaco, por lo que podría ser candidato interesante para su estudio, además de que este compuesto podría emplearse sin riesgo alguno en las pruebas biológicas pertinentes para evaluar su actividad biológica antes predicha por PASS.

6.8.4. Predicción de la actividad biológica, riesgos de toxicidad y viabilidad sobre (*S*,*S*)-10 y sus derivados relacionados.

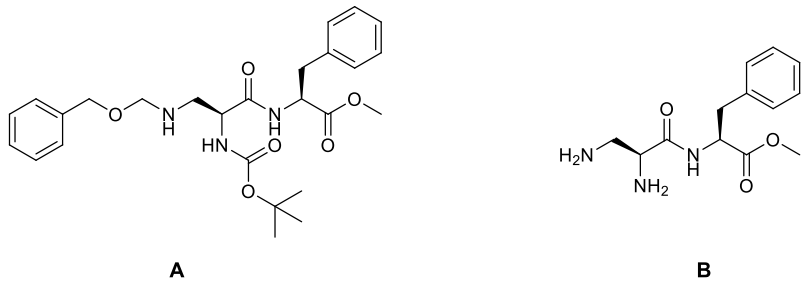


Figura 6. Péptido (*S*,*S*)-**10** en su forma protegida y su derivado desprotegido.

De la misma manera que para el caso anterior, se diseñó (*S*,*S*)-**10** y su derivado omitiendo los grupos protectores para predecir su actividad biológica y toxicidad.

PASS arrojó que el péptido **A**, presenta actividad como inhibidor de la poliporopepsina (*Pa*>0.7 y *Pi*<0.02) y como inhibidor de la acrocilindropepsina (*Pa*>0.7 y *Pi*<0.04), así como actividad inhibitoria de la quimosina (*Pa*>0.7 y *Pi*<0.04).

La predicción para el derivado **B** presentó algunas actividades biológicas similares al derivado **A** pero con una mayor probabilidad, como en el caso de la actividad como inhibidor de la poliporopepsina (*Pa*>0.9 y *Pi*<0.005) y para el tratamiento de la mucositis (*Pa*>0.9 y *Pi*<0.006).

De la predicción de toxicidad mediante OSIRIS se obtuvieron los datos observados en la Tabla 13.

Tabla 14. Predicción de la toxicidad de (*S*,*S*)-**10** y sus derivados.

Molécula	Mutagenicidad	Tumorigenicidad	Irritante	Efecto Reproductivo
A	🟢	🟠	🟢	🔴
B	🟢	🟢	🟢	🟢

El derivado **A** presentó un riesgo medio de tumorigenicidad y un riesgo elevado sobre el efecto reproductivo debido a que la estructura presenta los grupos protectores, por lo que en caso de realizarse experimentos *in vitro* o *in vivo* para evaluar actividad biológica, sería buena opción probar el derivado **B**, ya que no presenta riesgos considerables de toxicidad.

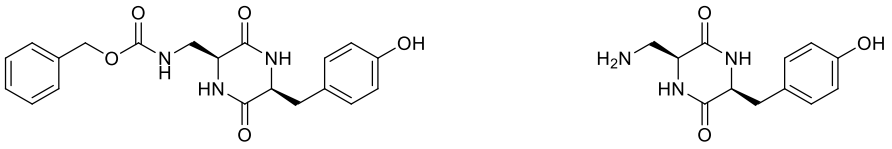
Los parámetros para determinar la evaluación del potencial farmacológico arrojaron la siguiente información de cada uno de los derivados del péptido (*S*,*S*)-**10**:

Tabla 15. Predicción del potencial farmacológico de (*S*,*S*)-**10** y sus derivados.

Molécula	cLog P	Solubilidad (Log S)	Peso mol (g/mol)	Semejanza de fármaco	Puntuación de fármaco
A	2.64	4.52	499	72.13	0.14
B	1.36	1.38	265	0.76	0.81

Por la puntuación final de fármaco, el derivado **B** podría considerarse la mejor opción para el diseño de un fármaco basado en esta estructura y realizarse ensayos biológicos sin riesgos significativos de toxicidad, pues este compuesto el que obtuvo potencial farmacológico favorable.

6.8.5. Predicción de la actividad biológica, riesgos de toxicidad y viabilidad sobre (*S*,*S*)-11 y sus derivados relacionados.



A **B**

Figura 7. Péptido cíclico (*S*,*S*)-**11** en su forma protegida y su derivado desprotegido.

El estudio predictivo realizado mediante PASS para (*S*,*S*)-**11** se realizó también para el derivado de la DKP en su forma desprotegida; a continuación los resultados de la actividad biológica que presentaron ambos derivados:

El derivado **A** presentó actividad inhibitoria de la proteína disulfato reductasa (glutatión) (*Pa*>0.6 y *Pi*<0.03), inhibidor de la elastase pancreática (*Pa*>0.4 y *Pi*<0.04), actividad como posible inhibidor del gen PIN-1 (*Pa*>0.4 y *Pi*<0.06).

El derivado desprotegido **B**, desplegó actividad inhibitoria de la proteína disulfato reductasa (glutatión) (*Pa*>0.8 y *Pi*<0.006) y actividad como inhibidor del NADPH (*Pa*>0.7 y *Pi*<0.02).

De la predicción de toxicidad para los derivados de (*S*,*S*)-**11** mediante OSIRIS se obtuvieron los datos que se presentan en la Tabla 15:

Tabla 16. Predicción de la toxicidad de (*S*,*S*)-**11** y su derivado.

Molécula	Mutagenicidad	Tumorigenicidad	Irritante	Efecto Reproductivo
A	●	●	●	●
B	●	●	●	●

Al igual que los derivados del compuesto (*S*,*S*)-**10**, la presencia del grupo Cbz le confiere al compuesto **A** de (*S*,*S*)-**11** fragmentos de alto riesgo que inducen tumorigenicidad y efectos reproductivos negativos, lo que sugiere que se debe realizar la eliminación del grupo protector antes de evaluar la actividad biológica.

Los parámetros para determinar el potencial farmacológico de (*S*,*S*)-**11** que se obtuvieron se presentan en la Tabla 16:

Tabla 17. Predicción del potencial farmacológico de (*S*,*S*)-**11** y sus derivados.

Molécula	cLog P	Solubilidad (Log S)	Peso mol (g/mol)	Semejanza De fármaco	Puntuación de fármaco
A	0.68	3.06	383	22.23	0.2
B	1.51	1.23	249	5.52	0.96

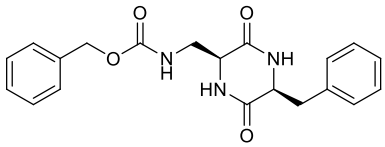
Los datos que se obtienen de cada uno de los derivados presentan un rango de diferencia bastante amplio y es evidente que el compuesto **B**, por no tener en su estructura el grupo protector Cbz, lo hace un compuesto viable para el diseño de fármacos así como para realizar pruebas biológicas y evaluar las predicciones obtenidas en PASS sin exponer a las entidades biológicas a riesgos de toxicidad o mutagenicidad.

6.8.6. Predicción de la actividad biológica, riesgos de toxicidad y viabilidad sobre (*S*,*S*)-12 y sus derivados relacionados.

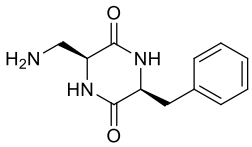
La DKP (*S*,*S*)-**12** y su derivado desprotegido fueron estudiadas teóricamente para obtener la predicción en PASS, los resultados fueron los siguientes:

El derivado **A** presentó actividad como inhibidor de la proteína disulfato reductasa (glutatión) (*Pa*>0.5 y *Pi*<0.04) y actividad como tratamiento para la dispepsia (*Pa*>0.4 y *Pi*<0.003).

El compuesto (*S*,*S*)-**12** (**B**), presentó actividad como inhibidor de la proteína disulfato reductasa (glutatión) (*Pa*>0.8 y *Pi*<0.009), antagonista del receptor nicotínico alfa 2 beta 2 (*Pa*>0.7 y *Pi*<0.02) y actividad como inhibidor del NADPH (*Pa*>0.7 y *Pi*<0.02).



A



B

Figura 8. Péptido bicíclico (*S*,*S*)-**12** en su forma protegida y desprotegida.

La predicción de toxicidad manifestó la información presentada en la Tabla 28 para ambos derivados:

Tabla 18. Predicción de la toxicidad de (*S*,*S*)-**12** y sus derivados.

Molécula	Mutagenicidad	Tumorigenicidad	Irritante	Efecto Reproductivo
A	●	●	●	●
B	●	●	●	●

Al analizar los resultados obtenidos de la predicción de riesgos de toxicidad se observa que el derivado **A** representa riesgos de tumorigenicidad, y efecto reproductivo, lo que sugiere que dicho derivado no es una sustancia bioactiva conveniente. La situación es contraria en el caso del derivado **B**, pues la predicción no arrojó valores significativos de toxicidad.

Los parámetros para determinar el potencial farmacológico arrojaron la información que se muestra en la Tabla 18 para cada uno de los derivados del péptido (*S*,*S*)-**12**:

Tabla 19. Predicción del potencial farmacológico de (*S*,*S*)-**12** y sus derivados.

Molécula	cLog P	Solubilidad (Log S)	Peso mol (g/mol)	Semejanza de fármaco	Puntuación de fármaco
A	0.98	3.36	367	22.62	0.2
B	1.21	1.52	233	5.16	0.96

Ambas moléculas presentan un *drug score* muy diferente; el derivado **B** está dentro del rango de puntación apropiada para su uso como potente fármaco, por lo que el

compuesto resulta una excelente opción para el diseño de fármacos y para realizar ensayos biológicos sin tener el riesgo de proporcionar factores de toxicidad, irritabilidad o mutagenicidad.

7. Parte Experimental

7.1. Información General

El material de vidrio, agujas, cánulas y barras de agitación, a excepción de las jeringas desechables, se utilizaron en reacciones que requieran condiciones anhidras y fueron secados en estufa a 100 °C durante 24 h antes de ser empleadas.

El acetato de etilo, metanol, hexano, acetona que se emplearon en las reacciones o para el lavado de material de vidrio, se purificaron por destilación simple. El cloruro de metileno empleado en algunas reacciones se secó empleando hidruro de calcio (en condiciones anhidras) y destilado en el momento de su uso.

Para la Cromatografía en Capa Fina (CCF) se utilizaron cromatofolios Merck de gel de sílice 60-PF_{254} sobre aluminio, utilizando luz Ultravioleta (UV), vapores de yodo o una solución de Ninhidrina al 5% en butanol como agentes reveladores. Las proporciones a utilizar como fases móviles en cada CCF fueron determinadas en función de la polaridad de las moléculas en estudio.

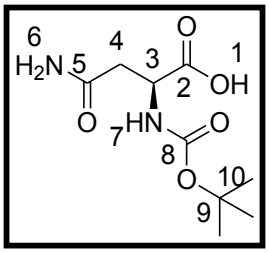
La purificación de los péptidos lineales se realizó mediante Cromatografía en Columna Rápida (CCR), utilizando columnas de distintas longitudes y diámetros según la cantidad de producto, empleando Sílica Gel 60 de Merck (200-400 mallas) y utilizando como eluyente el disolvente más apropiado, según el monitoreo previo por cromatografía en capa fina de los productos de reacción. Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de Hidrógeno-1 (^1H) fueron determinados en un espectrómetro de la marca Varian modelo *Mercury plus* a 300 y 75 MHz, respectivamente. Los desplazamientos químicos (δ) se reportaron en partes por millón (ppm) a campo bajo con respecto a la referencia

interna de tetrametilsilano (TMS). Las constantes de acoplamiento (^3J) se reportan en Hertz (Hz). Para indicar la multiplicidad de las señales se utilizaron las abreviaturas: *s*, para una señal sencilla; *d*, para una señal doble; *t*, para una señal triple; *c*, para señales cuádruples; *m*, para señales múltiples; y *a*, para señales anchas, o diferentes combinaciones de las anteriores para señales complejas.

Los disolventes empleados en las determinaciones de RMN fueron, entre otros, cloroformo deuterado ($CDCl_3$), dimetil sulfóxido deuterado (DMSO) y Metanol deuterado (CD_3OD).

7.2. Métodos de Síntesis

7.2.1. Síntesis del ácido (S)-3-amido-2-((t-butoxicarbonil) amino) propanoico. [(*S*)-2].

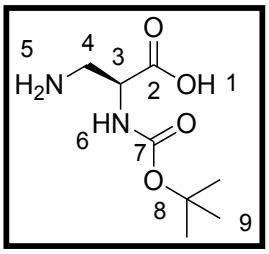


En un matraz balón de 500 ml provisto con una barra de agitación magnética, se colocaron 10 g de (S) Asparagina (1 eq, 76.369 mmoles), los cuales se hidrataron con una solución acuosa de $NaCO_3$ al 10% y 93.5 mL de dioxano. Se mantuvo en agitación con baño de hielo hasta los 0° C durante 30 minutos. Una vez enfriada las solución se adicionaron 24.7 g de *t*-Boc (1.5 eq, 113.53 mmoles), después de 30 minutos más se retiró el baño de hielo y se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 24 horas.

Transcurrido el tiempo de reacción se incrementó el volumen con 50 mL de agua, se hicieron 3 lavados con 50 mL de Et_2O (76.36 mmoles), la fase acuosa se recolectó y se acidificó lentamente con HCl 2N hasta alcanzar un pH de 3 y se observó la aparición de un precipitado blanco el cual fue recuperado por filtración y secado en un horno al vacío, obteniéndose 12.18 g (68.71 %) del ácido (*S*)-3-amido-2-((*t*-butoxicarbonil) amino) propanoico.

RMN ^1H (300 MHz, DMSO, t. a.): δ 1.35 [*s*, 9H, C(C**H**$_3$)$_3$ (10)]; 2.44 [*m*, 2H, C**H**$_2$ (4)]; 4.22 [*dd*, *J* = 7.974, 13.473, 1H, C**H** (3)]; 6.85 [*d*, *J* = 8.248, 1H, N**H** (7)]; 7.342 [*s*, 2H, N**H**$_2$ (6)].

7.2.2. Síntesis del ácido (*S*)-3-amino-2-((*t*-butoxicarbonil) amino) propanoico (reordenamiento de Hoffman). [(*S*)-3].

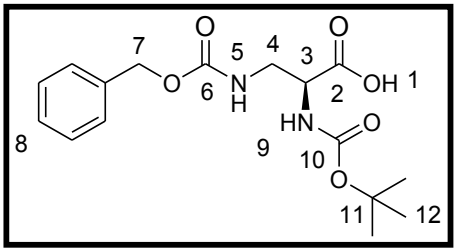


A una mezcla de *Nα-t*-Boc-(*L*)-asparagina (10 g, 76.36 mmoles), acetato de etilo (48.06 mL), acetonitrilo (48.06 mL), agua (24.03 mL) y PDIA (diacetato de yodo benceno, 16.66 g, 51.46 mmoles) fue enfriada y agitada a 16 °C por 30 minutos. La temperatura fue llevada a temperatura ambiente y agitada por 24 horas, provista con refrigerante.

La mezcla fue enfriada a 0 °C por 30 minutos y filtrada a vacío. El filtrado fue lavado con acetato de etilo, hexano. Se secó en el horno por 24 horas a 40 °C. Se obtuvieron 5.34 g (60.68 %) en forma de cristales blancos del ácido (*S*)-3-amino-2-((*t*-butoxicarbonil) amino) propanoico.

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO, t. a.): δ 1.40 [*s*, 9H, C(C**H**$_3$)$_3$ (9)]; 2.74 [*dd*, *J* = , 11.823, 11.823, 1H, C**H**$_2$ (4a)]; 2.74 [*dd*, *J* = 11.823, 11.823, 1H, C**H**$_2$ (4b)]; 3.65 [*dd*, *J* = 14.572, 14.572, 1H, C**H** (3)]; 6.08 [*a*, 1H, N**H** (6)].

7.2.3. Síntesis del ácido (*S*)-3-((benciloxicarbonil) amino)-2-((terbutoxicarbonil) amino). [(*S*)-4].



En un matraz balón de 500 mL provisto de una barra de agitación se colocaron 3.5 gramos de Nα-t-Boc-diaminoácido (17.138 mmoles), los cuales se disolvieron en 47 mL de solución acuosa al 10 % de Na_2CO_3 y 28 mL de Dioxano. Ésta mezcla fue enfriada a 0 °C. Alcanzada la temperatura se agregaron lentamente 3.66 mL de Cbz, ésta mezcla se dejó en agitación hasta completar la reacción durante 24 horas. Al terminar la reacción se hicieron lavados con Et_2O, la fase acuosa se acidificó hasta llegar a un pH de 3 (lentamente) con HCl 2M.

Posteriormente se extrajo con AcOEt, las fases orgánicas se secaron con sulfato de sodio anhidro, se filtró y el disolvente se puso en un matraz bola el cual se concentró en el

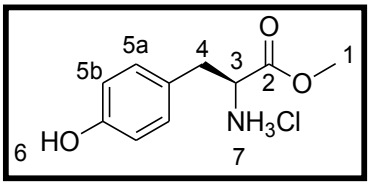
rotavapor, obteniéndose 4.32 g (74.61 %) del (*S*)-3-((benciloxicarbonil) amino)-2-((terbutoxicarbonil) amino) como un líquido viscoso color amarillento.

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO, t. a.): δ 1.39 [*s*, 9H, C(C**H**$_3$)$_3$ (12)]; 3.38 [*m*, 2H, C**H**$_2$ (4)]; 4.07 [*a*, 1H, C**H** (3)]; 5.01 [*s*, 2H, C**H**$_2$, (7)]; 6.69 [*a*, 1H, CN**H**, (9)]; 7.07 [*a*, 1H, CN**H** (5)]; 7.31 [*m*, 5H, **ph**, (8)].

7.2.4. Método General para la Preparación de Ésteres Metílicos de Amino Ácidos.

En un matraz balón de 100 mL, provisto con barra de agitación y embudo de adición, se colocó el amino ácido (1 eq) junto con 100 mL de metanol seco, el matraz se sumergió posteriormente en un baño de hielo y una vez alcanzada la temperatura de 0 °C, se adicionó lentamente clorotrimetilsilano (1.1 eq). La mezcla de reacción se mantuvo en agitación durante 24 h a temperatura ambiente. Una vez transcurrido el tiempo se eliminó el disolvente en rotavapor y el producto se secó en bomba de alto vacío.

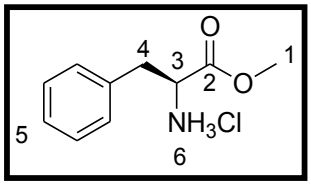
7.2.4.1. Síntesis del clorhidrato del éster metílico de *L*-Tirosina. [(*L*)-6].



Para ésta reacción se siguió la metodología general descrita anteriormente adicionando 3 g (16.46 mmoles) de *L*-Tirosina, 2.09 mL (32.92 mmoles) de clorotrimetilsilano y 16.46 mL de metanol, todo esto en agitación constante y a temperatura ambiente. La duración de la reacción fue de 24 horas. Después del tiempo de reacción el producto se concentró, se obtuvieron 4.2 g (97.67 %) como un sólido café claro.

RMN ^{1}H (300 MHz, CD$_3$OD, t. a.): δ 3.12 [*m,* 2H, C**H**$_2$ (4)]; 3.81 [*s*, 3H, OC**H**$_3$, (1)]; 4.24 [*t, J* = 1.375, 6.04, 1H, C**H**, (3)]; 6.77 [*d, J*= 8.52*,* 2H, **Ph** (5a)]; 7.06 [*d, J* = 8.25, 2H, **Ph** (5b)].

7.2.4.2. Síntesis del clorhidrato del éster metílico de *L*-Fenilalanina. [(*L*)-8].



Siguiendo el método general para la preparación de ésteres metílicos se adicionaron 3 g (18.16 mmoles) de *L*-Fenilalanina, 4.61 mL (36.32 mmoles) de Clorotrimetilsilano y 18.16 mL de

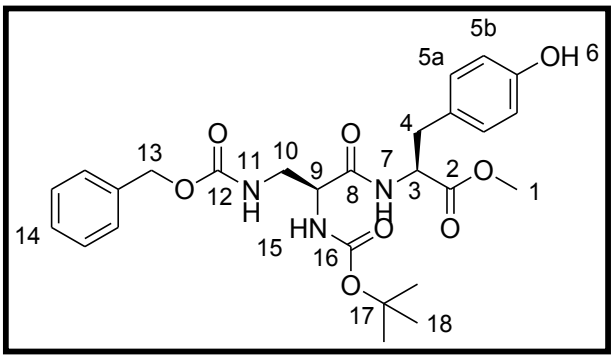
metanol, todo esto en agitación constante y a temperatura ambiente. La duración de la reacción fue de 24 horas. Después del tiempo de reacción el producto se concentró, obteniéndose 4.3 g (89.9 %) como un sólido color blanco.

RMN ^{1}H (300 MHz, CD_3OD, t. a.): δ 3.22 [*m*, 2H, C**H**$_2$, (4)]; 3.80 [*s*, 3H, OC**H**$_3$, (1)]; 4.32 [*t*, *J* = 7.148, 6.324, 1H, C**H**, (3)]; 7.24-7.40 [*m*, 5H, **Ph**, (5)].

7.2.5. Método General para el Acoplamiento de Amino Ácidos

El proceso de acoplamiento de los amino ácidos utilizando el reactivo de acoplamiento TBTU, consistió en colocar en un matraz balón bajo atmósfera de nitrógeno el clorhidrato de éster metílico de (*L*)-Triptófano y cloruro de metileno como disolvente, junto con la (*L*)-*N*-(*ter*-butoxicarbonil)-Prolina, diisopropiletilamina (DIPEA) y el reactivo de acoplamiento TBTU. La solución se agitó a temperatura ambiente y se monitoreó por CCF cada hora. En la primera hora se verificó por CCF, si había terminado de reaccionar la materia prima y se continuó con el monitoreo durante 3 h. Una vez terminada la reacción se agregó un exceso de cloruro de metileno y se lavó con una solución de cloruro de amonio. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4), se filtró y se concentró a vacío.

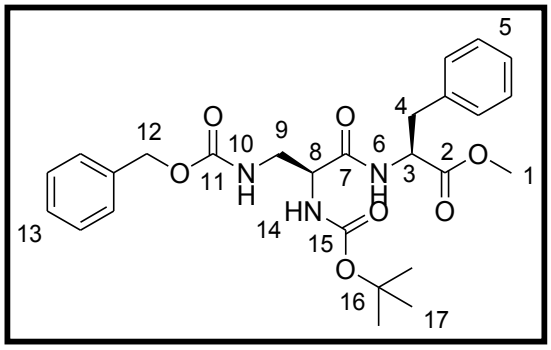
7.2.5.1. Acoplamiento del ácido (*S*)-2,3-diamino propiónico y el éster de (*L*)-Tirosina. [(*S*,*S*)-9].



Siguiendo la metodología general descrita anteriormente, se colocaron 1 g (1 eq) del diaminoácido *N*-protegido disuelto en 10 mL de THF y 0.28 ml (2 eq) de DIPEA, 0.213 mL (1.1 eq) de cloroformiato de isobutilo ($C_5H_9ClO_2$) en 10 mL de THF, 0.75 g del clorhidrato del éster disuelto en THF y puesto a 0°C, terminada la reacción se agitó durante 24 horas, obteniendo 0.97 g (63.81 %) como un sólido cristalino blanco.

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO, 80 °C): δ 1.39 [*s*, 9H, C(C**H**$_3$)$_3$ (18)]; 2.89 [*dd*, *J* = 13.748, 13.747, 2H, C**H**$_2$, (4)]; 3.26 [*m*, 2H, C**H**$_2$, (10)]; 3.58 [*s*, 3H, OC**H**$_3$, (1)]; 4.08 [*a*, 1H, C**H**, (3)]; 4.45 [*dd*, *J*= 13.748, 14.022, 1H, C**H**, (9)]; 5.03 [*s*, 2H, C**H**$_2$, (13)]; 6.71 [*d*, *J* = 8.523, 2H, **ph** (5a)]; 6.98 [*d*, *J* = 8.523, 2H, **ph** (5b)]; 7.33 [*s*, 5H, **ph**, (14)]; 6.47 [*a*, 1H, CN**H**, (15)]; 6.65 [*a*, 1H, CN**H**, (7)]; 7.86 [*a*, 1H, CN**H**, (11)]; 8.96 [*s*, 1H, O**H**, (6)].

7.2.5.2. Acoplamiento del ácido (*S*)-2,3-diamino propiónico y el éster de (*L*)-Fenilalanina. [(*S*,*S*)-10].



Siguiendo el método general para el acoplamiento de amino acidos se colocaron 1 g (1 eq) del diaminoácido *N*-protegido disuelto en 10 mL de THF, 0.28 ml (2 eq) de DIPEA, 0.213 mL (1.1 eq) de cloroformiato de isobutilo ($C_5H_9ClO_2$) en 10 mL de THF, 0.69 g del clorhidrato del éster disuelto en THF y puesto a 0°C, terminada la reacción se agitó durante 24 horas, obteniéndose 0.95 g (64.62 %) como un sólido cristalino blanco.

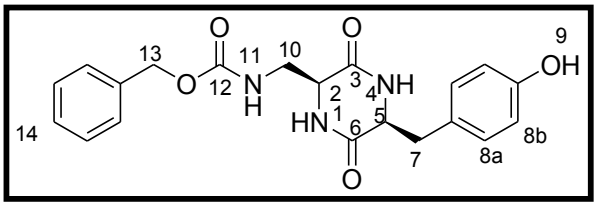
RMN ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$, 60 °C): δ 1.39 [*s*, 9H, C(C**H**$_3$)$_3$ (12)]; 2.94-3.13 [*dd-dd*, *J* = 13.748, 13.748, 14.022, 14.022, 2H, C**H**$_2$, (4)]; 3.42 [*m*, 2H, C**H**$_2$, (7)]; 3.63 [*s*, 3H, OC**H**$_3$, (1)]; 4.17 [*dd*, *J* = 12.098, 12.373, 1H, C**H**, (2)]; 4.77 [*dd*, *J* = 13.473, 13.473, 1H, C**H**, (6)]; 5.06 [*s*, 2H, C**H**$_2$, (9)]; 5.39 [*a*, 1H, CN**H**, (8)]; 7.08 [*a*, 1H, CN**H**, (11)]; 6.94 [*a*, 1H, CN**H**, (3)]; 7.05-7.28 [*m*, 5H, **Ph** (5), **Ph** (10)].

7.2.6. Método General para la Obtención de los Péptidos Bicíclicos

En un matraz balón de 50 mL, provisto con una barra de agitación, se colocan 200.0 mg del péptido y se adicionaron 20.0 mL de ácido trifluoroacetico (TFA), la solución se mantiene en agitación durante 4 h a temperatura ambiente, y posteriormente se elimina el TFA con rotavapor y vacío. Entonces, se adicionan 10-40 mL de alcohol iso-butílico y 5-20 mL de tolueno, se adapta un refrigerante y se calienta a reflujo durante 3 h.

Posteriormente, el matraz se deja reposar a 0 °C durante toda la noche. Finalmente, el producto cristalino se recupera mediante filtración a vacío.

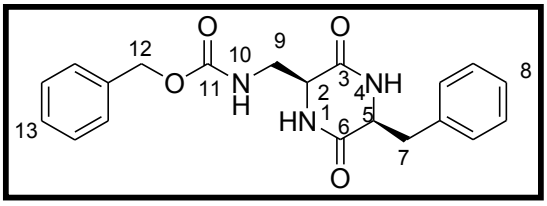
7.2.6.1. Síntesis de Ciclo-[(*S*)-metil-(*S*)-tirosina]. [(*S*,*S*)-11].



Siguiendo el método general para la formación de las 2,5-dicetopiperazinas, se emplearon 0.2 g (0.4 mmol) del éster metílico de *N*-(*ter*-butoxicarbonil)-(*L*)-Prolil-(*L*)-Tirosina, 20 mL de ácido fórmico, 20 mL de alcohol *iso*-butílico y 15 mL de tolueno, obteniéndose 0.089 g (57,41 %) de un sólido cristalino blanco.

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO, 60 °C): δ 2.38 [*m*, 2H, C**H**$_2$, (7)]; 2.86 [*m*, 2H, C**H**$_2$, (10)]; 3.70 [*a*, 1H, C**H,** (5)]; 3.72 [*a*, 1H, C**H**, (2)]; 5.01 [*s*, 2H, C**H**$_2$, (13)]; 6.67 [*d*, *J* = 8.248, 2H, **ph** (8a)]; 6.96 [*d*, *J* = 8.524, 2H, **Ph** (8b)]; 6.97 [*s*, 5H, **Ph**, (14)]; 7.82 [*a*, 1H, CN**H**, (4)]; 7.95 [*a*, 1H, CN**H**, (1)]; 8.07 [*a*, 1H, O**H**, (9)].

7.2.6.2. Síntesis de Ciclo-[(*S*)-metil-(*S*)-Fenilalanina]. [(*S*,*S*)-12].



Siguiendo el método general para la formación de las 2,5-dicetopiperazinas, se emplearon 0.2 g (0.4 mmol) del éster metílico de *N*-(*ter*-butoxicarbonil)-(*L*)-Prolil-(*L*)-Tirosina, 20 mL de ácido fórmico, 20 mL de alcohol *iso*-butílico y 15 mL de tolueno, obteniéndose 0.11 (78.57 %) de un sólido cristalino blanco.

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO, t. a.): δ 2.50 [*m*, 2H, C**H**$_2$, (7)]; 2.91-3.06 [*dd*, *J* = 4.399, 4.399, 2H, C**H**$_2$, (9)]; 3.69 [*a*, 1H, C**H,** (5)]; 4.14 [*a*, 1H, C**H**, (2)]; 4.98 [*s*, 2H, C**H**$_2$, (12)]; 6.97 [*t*, *J* = 5.774, 5.774, 1H, CN**H**, (10)]; 7.13-7.33 [*m*, 5H, **Ph** (8), **Ph** (13)]; 7.99 [*a*, 1H, CN**H**, (4)]; 8.21 [*a*, 1H, CN**H**, (1)].

8. Conclusiones

- Las reacciones para obtener ésteres metílicos empleando metanol como agente alquilante y clorotrimetilsilano como activante resultan adecuadas, ya que se obtienen buenos rendimientos, bajo condiciones de reacción muy suaves.
- El cloroformiato de isobutilo resulta ser un buen reactivo para las reacciones de acoplamiento obteniendo buenos rendimientos, superiores a los de agentes de acoplamiento previamente empleados en el grupo.
- El método para la ciclación de dipéptidos lineales resulta ser adecuado para los compuestos que se trabajaron, obteniendo buenos rendimientos y que pueden cristalizar en el mismo medio o con los disolventes adecuados.
- La técnica de Resonancia Magnética Nuclear es una buena técnica para la identificación y caracterización de las moléculas obtenidas.
- La predicción teórica de la actividad biológica a través de los predictores Pass Online y OSIRIS, demuestran que tanto los dipéptidos lineales como los cíclicos generados son potencialmente activos biológicamente, por lo que pueden ser considerados compuestos bioactivos, candidatos a estudios biológicos.