



Universitat de Girona

# PÈPTIDS BIARÍLICS A PARTIR DE 4-IODOFENILALANINA O 3- IODOTIROSINA PER BORILACIÓ I REACCIÓ DE SUZUKI- MIYaura EN FASE SÒLIDA. AVALUACIÓ DE L'ACTIVITAT ANTIMICROBIANA

**Ana AFONSO AFONSO**

**Dipòsit legal: GI-I307-2011**

<http://hdl.handle.net/10803/38882>

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

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

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



Universitat de Girona

Tesi doctoral

**PÈPTIDS BIARÍLICS A PARTIR DE  
4-IODOFENILALANINA O 3-IODOTIROSINA PER  
BORILACIÓ I REACCIÓ DE SUZUKI-MIYaura EN FASE  
SÒLIDA. AVALUACIÓ DE L'ACTIVITAT  
ANTIMICROBIANA**

Ana Afonso Afonso

2011

Programa de doctorat en Ciències Experimentals i Sostenibilitat

Directores de tesi:  
Dra. Marta Planas Grabuleda  
Dra. Lidia Feliu Soley

Memòria presentada per optar al títol de Doctora per la Universitat de Girona

Les doctores Marta Planas Grabuleda i Lidia Feliu Soley, professores de l'àrea de Química Orgànica de la Universitat de Girona,

CERTIFIQUEM:

Que aquest treball, titulat "*Pèptids biarílics a partir de 4-iodofenilalanina o 3-iodotirosina per borilació i reacció de Suzuki-Miyaura en fase sòlida. Avaluació de l'activitat antimicrobiana*", que presenta la Sra. Ana Afonso Afonso per a l'obtenció del títol de Doctora, ha estat realitzat sota la nostra direcció i que constitueix la seva memòria de Tesi Doctoral.

Signatura

Dra Marta Planas Grabuleda

Dra Lidia Feliu Soley

Girona, 25 de Maig de 2011

*Als meus pares i a la Pili*



## **AGRAÏMENTS**

*Després de cinc anys de feina i dedicació intenses voldria expressar la meva gratitud cap a tots aquells que han fet possible la realització d'aquest treball. Espero no deixar-me ningú...*

*En primer lloc, voldria donar les gràcies a les meves directores de tesi, la Dra. Marta Planas i la Dra. Lidia Feliu, per haver confiat en mi des del primer dia i haver-me donat l'oportunitat de formar-me al seu costat. Els voldria agrair també l'ajuda que m'han proporcionat en tot moment i els coneixements que m'han aportat.*

*També m'agradaria donar les gràcies al Dr. Eduard Bardají, per permetre i facilitar la meva incorporació al grup LIPPSO i a la Dra. Montse Heras, pel suport i bons consells que m'ha donat en tot el temps que he estat aquí.*

*En segon lloc, m'agradaria donar les gràcies a totes les persones que integren els Serveis Tècnics de Recerca, especialment a la Dra. Lluïsa Matas per la seva ajuda amb el microones i les ressonàncies i a l'Anna Costa per la seva ajuda amb l'ESI-MS.*

*També m'agradaria donar les gràcies a tots els companys de grup, pel seu suport incondicional i desinteressat.*

*En primer lloc, a la Cristina R., a l'Olaf i a la Sílvia, que amb alegria, entusiasme i dedicació han contribuït a la confecció d'aquesta tesi amb els seus treballs experimentals i acadèmicament dirigits.*

*A la Vane, per haver-me ensenyat gairebé tot el que sé a l'hora de treballar al laboratori, des que encara era estudiant, i per haver-me ajudat en tot moment, especialment durant el primer any que vaig arribar al grup.*

*A l'Imma, a l'Íteng, i a la Cristina R. i a la Sílvia (un altre cop) pels valuosos consells, suport i ajuda que he rebut de cadascuna d'elles. A mesura que ha anat passant el temps, i sobretot en l'etapa final d'aquesta tesi, ens hem convertit en molt més que companyes de feina.*

*A la Marta D. i a la Montse T. que, tot i estar al parc científic, sempre troben un moment per compartir amb nosaltres i fer-nos sentir una mica millor.*

*A en Rafel, que amb el seu sentit de l'humor ens distreu i ens fa a tots el dia més fàcil de suportar.*

*A l'Abdelatif i a l'Anna D. que, tot i que darrerament hem passat menys estones junts al laboratori, sempre estan disposats a donar-te un cop de mà quan ho necessites.*

*Finalment, no vull obligar-me dels companys de laboratori que ja no hi són, la Cristina C., en Marc, la Gemma i la Laura C., per tantes estones que hem passat junts i per tantes vivències que hem compartit.*

*Voldria, també, donar les gràcies a tots els companys del Departament de Química, especialment a en Pep, a la Sandra, a l'Anna D., a la Lidia, a la Magda i a la Mònica.*

*Per acabar, voldria agrair a les persones que em donen suport dia a dia en tot el que faig, els meus pares i la meva germana. Els vull donar les gràcies per la seva paciència i per haver-me fet costat en els moments difícils que han acompanyat totes les etapes d'aquesta tesi. Sense ells no sé si hagués tingut forces per ensortir-me'n.*

## ABREVIATURES

Ac	Acetil
AcOEt	Acetat d'etil
Al	Al·lil
anh	Anhidre
aq	Aquós
Ar	Aril o heteroaril
Bn	Benzil
Boc	<i>tert</i> -Butiloxicarbonil
Boc <sub>2</sub> O	Di- <i>tert</i> -butil-dicarbonat
Boc-ON	2-( <i>tert</i> -Butiloxicarboniloxiimino)-2-fenilacetonitril
BPA	4-Boronofenilalanina
BPin	Ester pinacolborònic
B <sub>2</sub> Pin <sub>2</sub>	Bis(pinacolato)diboron
<i>t</i> Bu	<i>tert</i> -Butil
Cbz	Benziloxicarbonil
CCF	Cromatografia en capa fina
CFU	Unitat formadora de colònies
CMI	Concentració mínima inhibidora
COMU	Hexafluorofosfat de 1-[(1-(ciano-2-etoxi-2-oxoetilideneamino)oxi)dimetilaminomorfolino]]uroni
d	Doblet
dba	Dibenzilidenacetona o 1,5-difenil-1,4-pentadien-3-ona
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
dd	Doble doblet
DIEA	<i>N,N</i> -Diisopropiletilamina
DIPCDI	<i>N,N</i> -Diisopropilcarbodiimida
DME	1,2-Dimetoxietà
DMF	<i>N,N'</i> -Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfòxid
dppf	1,1'-Bis(difenilfosfino)ferrocè
EDC	Hidroclorur d'1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida
EDTA	Àcid etilendiaminotetraacètic
eq	Equivalents
ESI-MS	Espectrometria de masses amb ionització per electrospri
Et <sub>3</sub> N	Trietilamina
Et	Etil
FDPP	Difenilfosfinat de pentafluorofenil
Fmoc	9-Fluorenilmetoxicarbonil
FmocOSu	Carbonat de 9-fluorenilmetil i <i>N</i> -succinimidil

J	Constant d'acoblament
HATU	Hexafluorofosfat d'O-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluroni
HBTU	Hexafluorofosfat d'O-(benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluroni
HCTU	Hexafluorofosfat d'O-(6-clorobenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluroni
HMBC	Espectroscòpia de correlació múltiple heteronuclear a llarga distància
HOBt	1-Hidroxibenzotriazole
HPLC	Cromatografia líquida d'alta resolució
HRMS	Espectrometria de masses d'alta resolució
HSQC	Espectroscòpia de correlació quàntica simple
IR	Espectroscòpia d'infraroig
LC-MS	Cromatografia líquida-Espectrometria de masses
M	Molar
m	Multiplet
<i>m/z</i>	Relació massa/càrrega
MBHA	Metilbenzhidrilamina
Me	Metil
mmol	Mil·limols
MW	Microones
NBS	<i>N</i> -Bromosuccinimida
NMM	<i>N</i> -Metilmorfolina
NMP	<i>N</i> -Metil-2-pirrolidinona
NOESY	Espectroscòpia d'efecte nuclear Overhauser
Pf	Punt de fusió
Ph	Fenil
Phth	Ftaloïl
PS	Poliestirè
Rdt	Rendiment
Rf	Factor de retenció
Rink	Àcid 4'-{[ <i>R,S</i> ]- $\alpha$ -1-amino-2,4-dimetoxibenzil}-fenoxiacètic
RMN	Ressonància magnètica nuclear
s	Singlet
sa	Singlet ample
SEM	2-(Trimetilsilil)etoximetil
t	Triplet
t.a.	Temperatura ambient
TBAB	Bromur de tetrabutilamoni
TFA	Àcid trifluoroacètic
THF	Tetrahidrofur
TIS	Triisopropilsilà

TMSOTf	Trifluorometansulfonat de trimetilsilil
$t_R$	Temps de retenció
Trt	Tritil
TSB	Brou de tripticasa de soja
UV	Ultravioleta
$\delta$	Desplaçament químic
$\lambda$	Longitud d'ona
$\nu$	Freqüència d'absorció

## AMINOÀCIDS

Nom	Codi 3 lletres	Codi 1 lletra
Àcid aspàrtic	Asp	D
Àcid glutàmic	Glu	E
Alanina	Ala	A
Arginina	Arg	R
Asparagina	Asn	N
Cisteïna	Cys	C
Fenilalanina	Phe	F
Glicina	Gly	G
Glutamina	Gln	Q
Histidina	His	H
Isoleucina	Ile	I
Leucina	Leu	L
Lisina	Lys	K
Metionina	Met	M
Prolina	Pro	P
Serina	Ser	S
Tirosina	Tyr	Y
Treonina	Thr	T
Triptòfan	Trp	W
Valina	Val	V

# ÍNDIX

<b>1. INTRODUCCIÓ .....</b>	<b>1</b>
1.1. Pèptids antimicrobians.....	3
1.2. Pèptids biarílics .....	7
1.2.1. Els pèptids biarílics: importància i utilitat.....	7
1.2.2. Mètodes generals per a la síntesi de compostos biarílics.....	10
1.2.3. La reacció de Suzuki-Miyaura .....	11
1.2.3.1. Reaccions de Suzuki-Miyaura sota irradiació de microones .....	13
1.2.3.2. Síntesi d'aminoàcids i pèptids biarílics per reacció de Suzuki-Miyaura...	16
1.2.3.3. Síntesi de pèptids cíclics per reacció de Suzuki-Miyaura .....	21
1.3. Síntesi d'àcids i esters arilborònics .....	25
1.3.1. Àcids i esters arilborònics: importància i utilitat .....	25
1.3.2. Mètodes generals per a la síntesi d'àcids i esters arilborònics.....	26
1.3.3. Síntesi d'àcids i esters arilborònics d'aminoàcids utilitzant la reacció de Miyaura.....	28
1.4. Síntesi de pèptids en fase sòlida.....	30
1.4.1. Suport sòlid .....	31
1.4.2. <i>Linker</i> .....	31
1.4.3. Reactius d'acoblament .....	32
1.4.4. Grups protectors .....	33
<b>2. OBJECTIUS.....</b>	<b>35</b>
<b>3. BORILACIÓ EN FASE SÒLIDA DE RESIDUS DE FENILALANINA I TIROSINA .....</b>	<b>39</b>
3.1. Borilació en fase sòlida d'un residu de fenilalanina.....	41
3.1.1. Síntesi de Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (1) per acoblament de Boc-Phe(4-BPin)-OH (5) a un suport sòlid .....	42
3.1.1.1. Síntesi de Boc-Phe(4-BPin)-OH (5) .....	42
3.1.1.2. Síntesi de Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (1) .....	45

3.1.2. Síntesi de Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (1) per borilació en fase sòlida d'una 4-iodofenilalanina .....	47
3.1.2.1. Síntesi de Boc-Phe(4-I)-Leu-Leu-Rink-MBHA (3) .....	47
3.1.2.2. Borilació de Boc-Phe(4-I)-Leu-Leu-Rink-MBHA (3) .....	48
3.2. Borilació en fase sòlida d'un residu de tirosina .....	51
3.2.1. Síntesi de Boc-Tyr(3-I,R)-Leu-Leu-Rink-MBHA (19).....	52
3.2.2. Borilació de Boc-Tyr(3-I,R)-Leu-Leu-Rink-MBHA (19).....	55
3.2.2.1. Síntesi de Boc-Tyr(3-BPin,Me)-Leu-Leu-Rink-MBHA (2a) .....	56
3.2.2.2. Síntesi de Boc-Tyr(3-BPin,H)-Leu-Leu-Rink-MBHA (2d).....	57
3.2.2.3. Síntesi de Boc-Tyr(3-BPin,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (2c).....	58
<b>4. SÍNTESI EN FASE SÒLIDA DE PÈPTIDS BIARÍLICS LINEALS PER ARILACIÓ D'UNA BORONOFENILALANINA O UNA BORONOTIROSINA .....</b>	<b>61</b>
4.1. Síntesi de pèptids biarílics lineals per arilació d'una boronofenilalanina ....	63
4.1.1. Arilació de Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (1) amb halurs d'aril.....	64
4.1.1.1. Arilació sota escalfament convencional.....	64
4.1.1.2. Arilació sota irradiació de microones .....	67
4.1.2. Arilació de Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (1) amb haloaminoàcids...	72
4.1.2.1. Estudis d'epimerització .....	76
4.2. Síntesi de pèptids biarílics lineals per arilació d'una boronotirosina .....	77
4.2.1. Arilació de Boc-Tyr(3-BPin,R)-Leu-Leu-Rink-MBHA (2) amb iodobenzè.....	77
4.2.2. Arilació de Boc-Tyr(3-BPin,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (2c) amb haloaminoàcids .....	79
<b>5. SÍNTESI EN FASE SÒLIDA DE PÈPTIDS BIARÍLICS CÍCLICS .....</b>	<b>83</b>
5.1. Síntesi en fase sòlida de pèptids cíclics per formació d'un enllaç biarílic....	86
5.1.1. Síntesi de pèptids biarílics cíclics de 5 aminoàcids.....	86
5.1.1.1. Pèptids cíclics contenint un enllaç biarílic entre dos residus de fenilalanina .....	87
5.1.1.2. Pèptids cíclics contenint un enllaç biarílic entre un residu de tirosina (N-terminal) i un de fenilalanina (C-terminal) .....	94
5.1.1.3. Pèptids cíclics contenint un enllaç biarílic entre dos residus de tirosina .	97

5.1.1.4. Pèptids cíclics contenint un enllaç biarílic entre un residu de fenilalanina (N-terminal) i un de tirosina (C-terminal).....	101
5.1.2. Síntesi de pèptids biarílics cíclics de 3 a 10 aminoàcids.....	103
5.2. Síntesi del pèptid biarílic BPC454 per arilació d'un residu de 4-boronofenilalanina .....	108
5.2.1. Estratègia A.....	109
5.2.2. Estratègia B.....	110
<b>6. AVALUACIÓ DE L'ACTIVITAT BIOLÒGICA.....</b>	<b>115</b>
6.1. Avaluació de l'activitat antimicrobiana .....	117
6.2. Avaluació de l'activitat hemolítica.....	122
<b>7. CONCLUSIONS .....</b>	<b>123</b>
<b>8. PROCEDIMENT EXPERIMENTAL .....</b>	<b>127</b>
8.1. Materials i mètodes.....	129
8.1.1. Materials.....	129
8.1.1.1. Reactius generals i dissolvents .....	129
8.1.1.2. Test de ninhidrina o test de Kaiser.....	129
8.1.2. Instrumentació general .....	130
8.2. Síntesi de derivats d' aminoàcids i d'imidazole en dissolució.....	132
8.2.1. Derivats de fenilalanina .....	132
8.2.1.1. 4-Iodo-L-fenilalanina (7) .....	132
8.2.1.2. <i>N</i> -( <i>tert</i> -Butiloxicarbonil)-4-iodo-L-fenilalanina (8) .....	132
8.2.1.3. <i>N</i> -( <i>tert</i> -Butiloxicarbonil)-4-iodo-L-fenilalaninat de metil (9) .....	133
8.2.1.4. <i>N</i> -( <i>tert</i> -Butiloxicarbonil)-4-pinacolatoborono-L-fenilalaninat de metil (10) .....	134
8.2.1.5. <i>N</i> -( <i>tert</i> -Butiloxicarbonil)-4-pinacolatoborono-L-fenilalanina (5).....	134
8.2.1.6. <i>N</i> -(9-Fluorenilmetoxicarbonil)-4-iodo-L-fenilalanina (54) .....	135
8.2.2. Derivats de tirosina .....	136
8.2.2.1. 3-Iodo-L-tirosina (21).....	136
8.2.2.2. <i>N</i> -( <i>tert</i> -Butiloxicarbonil)-3-iodo-L-tirosinat de metil (22).....	136



8.2.2.3. <i>N</i> -( <i>tert</i> -Butiloxicarbonil)-3-iodo-4-metoxi-L-tirosinat de metil ( <b>23a</b> ).....	137
8.2.2.4. <i>N</i> -( <i>tert</i> -Butiloxicarbonil)-3-iodo-4-al·liloxi-L-tirosinat de metil ( <b>23b</b> ) .....	138
8.2.2.5. <i>N</i> -( <i>tert</i> -Butiloxicarbonil)-3-iodo-4-[2-(trimetilsilil)etoximetoxi]-L-tirosinat de metil ( <b>23c</b> ) .....	138
8.2.2.6. <i>N</i> -( <i>tert</i> -Butiloxicarbonil)-3-iodo-4-metoxi-L-tirosina ( <b>20a</b> ).....	139
8.2.2.7. <i>N</i> -( <i>tert</i> -Butiloxicarbonil)-3-iodo-4-al·liloxi-L-tirosina ( <b>20b</b> ) .....	140
8.2.2.8. <i>N</i> -( <i>tert</i> -Butiloxicarbonil)-3-iodo-4-[2-(trimetilsilil)etoximetoxi]-L-tirosina ( <b>20c</b> ) .....	140
8.2.2.9. <i>N</i> -( <i>tert</i> -Butiloxicarbonil)-3-pinacolatoborono-4-[2-trimetilsilil)etoximetoxi]-L-tirosina ( <b>29</b> ) .....	141
8.2.3. Derivats d'histidina .....	142
8.2.3.1. 5-Bromo- <i>N</i> ( $\alpha$ )-(tert-butiloxicarbonil)-L-histidinat de metil.....	142
8.2.3.2. 5-Bromo- <i>N</i> ( $\alpha$ )-(tert-butiloxicarbonil)- <i>N</i> ( $\pi$ )-[2-(trimetilsilil)-etoximetil]-L-histidinat de metil ( <b>32a</b> ) i 5-bromo- <i>N</i> ( $\alpha$ )-(tert-butiloxicarbonil)- <i>N</i> ( $\tau$ )-[2-(trimetilsilil)etoximetil]-L-histidinat de metil ( <b>32b</b> ).....	143
8.2.4. Derivats d'imidazole.....	144
8.2.4.1. 4(5)-Bromo-5(4)-metilimidazole.....	144
8.2.4.2. 1-[2-(Trimetilsilil)etoximetil]-5-bromo-4-metilimidazole ( <b>31a</b> ) 1-[2-(trimetilsilil)etoximetil]-4-bromo-5-metilimidazole ( <b>31b</b> ) .....	144
8.3. Síntesi de pèptids en fase sòlida.....	145
8.3.1. Mètode general per a la síntesi de pèptids en fase sòlida .....	145
8.3.1.1. Fmoc-Leu-Leu-Rink-MBHA .....	146
8.3.1.2. Boc-Phe(4-I)-Leu-Leu-Rink-MBHA ( <b>3</b> ).....	146
8.3.1.3. Boc-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Leu-Rink-MBHA ( <b>15</b> ) .....	146
8.3.1.4. Boc-Phe(4-I)-Ser(tBu)-Leu-Rink-MBHA ( <b>16</b> ) .....	146
8.3.1.5. Boc-Tyr(3-I,Me)-Leu-Leu-Rink-MBHA ( <b>19a</b> ).....	146
8.3.1.6. Boc-Tyr(3-I,Al)-Leu-Leu-Rink-MBHA ( <b>19b</b> ) .....	147
8.3.1.7. Boc-Tyr(3-I,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA ( <b>19c</b> ).....	147
8.4. Síntesi d'esters borònics en fase sòlida.....	147
8.4.1. Mètode general de borilació de Miyaura en fase sòlida .....	147
8.4.1.1. H-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> ( <b>4</b> ) .....	147
8.4.1.2. H-Phe(4-BPin)-Lys-Leu-NH <sub>2</sub> ( <b>17</b> ).....	148
8.4.1.3. H-Phe(4-BPin)-Ser-Leu-NH <sub>2</sub> ( <b>18</b> ) .....	149

8.4.1.4. H-Tyr(3-BPin,Me)-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> ( <b>25a</b> ) .....	150
8.4.1.5. H-Tyr(3-BPin)-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> ( <b>25b</b> ) .....	150
8.5. Síntesi de pèptids biarílics lineals en fase sòlida .....	151
8.5.1. Mètodes generals per a la reacció de Suzuki-Miyaura en fase sòlida .....	151
8.5.1.1. Pèptid biarílic BP255.....	152
8.5.1.2. Pèptid biarílic BP256.....	153
8.5.1.3. Pèptid biarílic BP257.....	153
8.5.1.4. Pèptid biarílic BP258.....	154
8.5.1.5. Pèptid biarílic BP259.....	155
8.5.1.6. Pèptid biarílic BP260.....	155
8.5.1.7. Pèptid biarílic BP261.....	156
8.5.1.8. Pèptid biarílic BP262.....	157
8.5.1.9. Pèptid biarílic BP263.....	158
8.5.1.10. Pèptid biarílic BP264 .....	159
8.5.1.11. Pèptid biarílic BP265 .....	160
8.5.1.12. Pèptid biarílic BP266 .....	160
8.5.1.13. Pèptid biarílic BP267 .....	161
8.5.1.14. Pèptid biarílic BP268 .....	162
8.6. Síntesi de pèptids biarílics cíclics en fase sòlida.....	163
8.6.1. Mètode general per a la síntesi de iodopèptids .....	163
8.6.1.1. Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-I)-Leu-Leu-Rink-MBHA ( <b>38</b> ) .....	164
8.6.1.2. Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-I)-Rink-MBHA .....	164
8.6.1.3. Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-I,Me)-Leu-Leu-Rink-MBHA .....	164
8.6.1.4. Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-I,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA .....	164
8.6.1.5. Trt-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-I)-Rink-MBHA .....	164
8.6.1.6. Trt-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-I)-Rink-MBHA .....	165
8.6.1.7. Trt-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-I)-Rink-MBHA .....	165
8.6.1.8. Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-I)-Rink-MBHA .....	165
8.6.1.9. Trt-Leu-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-I)-Rink- MBHA .....	165
8.6.1.10. Trt-Lys(Boc)-Leu-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu- Phe(4-I)-Rink-MBHA.....	165
8.6.2. Mètode general per a la borilació de Miyaura.....	166

8.6.2.1. Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA ( <b>40</b> ).....	166
8.6.2.2. Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA ( <b>45</b> ) .....	166
8.6.2.3. Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-BPin,Me)-Leu-Leu-Rink-MBHA ( <b>49a</b> ) .....	167
8.6.2.4. Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-BPin,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA ( <b>49b</b> ) .....	167
8.6.2.5. Trt-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA .....	167
8.6.2.6. Trt-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA .....	168
8.6.2.7. Trt-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA ....	168
8.6.2.8. Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink- MBHA .....	168
8.6.2.9. Trt-Leu-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)- Rink-MBHA .....	169
8.6.2.10. Trt-Lys(Boc)-Leu-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4- BPin)-Rink-MBHA .....	169
8.6.3. Mètode general per a la síntesi de precursors lineals contenint un grup iodo i un grup borono.....	169
8.6.3.1. Boc-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA ( <b>37</b> ) .....	170
8.6.3.2. Boc-Tyr(3-I,Me)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink- MBHA ( <b>43a</b> ) .....	170
8.6.3.3. Boc-Tyr(3-I,SEM)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink- MBHA ( <b>43b</b> ) .....	170
8.6.3.4. Boc-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA ( <b>41</b> ) ....	171
8.6.3.5. Boc-Tyr(3-I,Me)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA ( <b>44a</b> ) .....	171
8.6.3.6. Boc-Tyr(3-I,SEM)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA ( <b>44b</b> ) .....	171
8.6.3.7. Boc-Tyr(3-I,Me)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-BPin,Me)-Leu-Leu-Rink- MBHA ( <b>47a</b> ) .....	172
8.6.3.8. Boc-Tyr(3-I,SEM)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-BPin,SEM)-Leu-Leu- Rink-MBHA ( <b>47b</b> ).....	172
8.6.3.9. Boc-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-BPin,Me)-Leu-Leu-Rink- MBHA ( <b>53a</b> ) .....	172
8.6.3.10. Boc-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-BPin,SEM)-Leu-Leu-Rink- MBHA ( <b>53b</b> ) .....	173

8.6.3.11. Boc-Phe(4-I)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA .....	173
8.6.3.12. Boc-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA .....	173
8.6.3.13. Boc-Phe(4-I)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA..	174
8.6.3.14. Boc-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink- MBHA .....	174
8.6.3.15. Boc-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4- BPin)-Rink-MBHA .....	174
8.6.3.16. Boc-Phe(4-I)-Leu-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu- Phe(4-BPin)-Rink-MBHA .....	175
8.6.3.17. Boc-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Leu-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)- Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA.....	175
8.6.4. Mètode general de ciclació per reacció de Suzuki-Miyaura en fase sòlida....	175
8.6.4.1. Pèptid biarílics cíclic BPC432.....	176
8.6.4.2. Pèptid biarílic cíclic BPC434.....	177
8.6.4.3. Pèptid biarílic cíclic BPC436.....	178
8.6.4.4. Pèptid biarílic cíclic 52a .....	179
8.6.4.5. Pèptid biarílic cíclic BPC438.....	179
8.6.4.6. Pèptid biarílic cíclic BPC440.....	180
8.6.4.7. Pèptid biarílic cíclic BPC442.....	181
8.6.4.8. Pèptid biarílic cíclic BPC428.....	181
8.6.4.9. Pèptid biarílic cíclic BPC430.....	182
8.6.4.10. Pèptid biarílic cíclic BPC444.....	182
8.6.4.11. Pèptid biarílic cíclic BPC446.....	182
8.6.4.12. Pèptid biarílic cíclic BPC448.....	183
8.6.4.13. Pèptid biarílic cíclic BPC450.....	183
8.6.4.14. Pèptid biarílic cíclic BPC452.....	184
8.6.5. Síntesi de pèptids biarílics lineals contenint una 3-ariltirosina .....	184
8.6.5.1. H-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-Ph,Me)-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> ( <b>51a</b> ) .....	184
8.6.5.2. H-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-Ph)-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> ( <b>51b</b> ) .....	185
8.6.6. Síntesi del pèptid biarílic BPC454.....	185
8.6.6.1. Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe(4-I)-Lys(Boc)- Lys(Boc)-Leu-Glu(Rink-MBHA)-OAl.....	185
8.6.6.2. Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe(4-BPin)-Lys(Boc)- Lys(Boc)-Leu-Glu(Rink-MBHA)-OH ( <b>58</b> ).....	185

8.6.6.3. Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe(4-Ph)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Glu(Rink-MBHA)-OH ( <b>60</b> ).....	186
8.6.6.4. Pèptid BPC454 .....	186
8.7. Proves biològiques.....	187
8.7.1. Soques bacterianes i condicions de creixement .....	187
8.7.2. Determinació de l'activitat antimicrobiana.....	187
8.7.3. Determinació de l'activitat hemolítica .....	188
8.8. Dades espectroscòpiques dels pèptids sintetitzats.....	188
<b>9. BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>207</b>

## RESUM GENERAL

Els pèptids antimicrobians formen part dels sistemes de defensa de pràcticament tots els organismes vius, des de bacteris fins a plantes, incloent els mamífers. Generalment, es caracteritzen per ser catiónics i amfipàtics, i es creu que actuen incrementant la permeabilitat de la membrana bacteriana. Aquests pèptids són excel·lents candidats per al desenvolupament de nous agents terapèutics antibacterians perquè, contràriament als antibiòtics convencionals, és difícil que indueixin l'aparició de soques resistents. Un altre avantatge dels pèptids antimicrobians és la selectivitat per la membrana bacteriana enfront la de les cèl·lules eucariotes, cosa que fa que siguin poc tòxics.

Els pèptids antimicrobians naturals, però, presenten seqüències molt llargues, tenen una baixa biodisponibilitat i són propensos a la degradació per proteases. Per reduir aquestes limitacions existeixen diverses estratègies, una de les quals consisteix en la introducció d'aminoàcids biarílics per reduir-ne la flexibilitat conformacional.

S'han descrit diversos mètodes per a la preparació d'aminoàcids biarílics. Entre ells, destaca l'acoblament creuat de Suzuki-Miyaura, el qual ha estat aplicat amb èxit en la formació en dissolució de pèptids biarílics cíclics naturals, com les arilomicines o les bifenomícines. Fins al moment, la síntesi en fase sòlida de pèptids biarílics estava restringida a la preparació de seqüències lineals per acoblament entre un aminoàcid aromàtic halogenat unit al suport sòlid i un arilboronat en solució.

Com a alternativa, en aquesta tesi doctoral es va estudiar la preparació de pèptids biarílics a través de la borilació en fase sòlida de residus de fenilalanina i tirosina seguit d'una etapa d'arilació a través d'una reacció de Suzuki-Miyaura. Aquesta aproximació presenta l'avantatge d'evitar la síntesi en dissolució i la purificació del boronoaminoàcid. A més, permet la preparació d'una àmplia diversitat de pèptids biarílics a partir d'un únic boronopèptid.

La borilació de residus de fenilalanina i tirosina presents en una seqüència peptídica es va realitzar directament sobre el suport sòlid a través d'una reacció de Miyaura, la qual requereix unes condicions molt suaus i és compatible amb una àmplia diversitat de grups funcionals. Es varen preparar per primera vegada en fase sòlida esters pinacolborònics de residus de fenilalanina i tirosina, concretament les boronopeptidil resines Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**) i Boc-Tyr(3-BPin,R)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2**), on R era un grup protector metil o 2-(trimetilsilil)etoximetil (SEM).

Un cop preparades aquestes boronopeptidil resines, es va assajar l'arilació de les cadenes aromàtiques dels residus de fenilalanina i tirosina directament sobre el suport sòlid a través d'una reacció de Suzuki-Miyaura sota irradiació de microones. L'arilació de

la resina Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**) amb 4-iodobenzè, 2-iodofenol, *p*-iodonitrobenzè, 4-iodoanisol, 2-iodoanisol, 4-iodotoluè i 1-(SEM-4(5)-bromo-5(4)-metilimidazole (**31**) va proporcionar els tripèptids biarílics corresponents amb pureses del 57 al 91%. És especialment rellevant l'obtenció del producte derivat de l'imidazole, ja que és el primer exemple de síntesi en fase sòlida d'un pèptid contenint una unitat biarílica del tipus 4-imidazolilfenilalanina. Anàlogament, l'arilació de la resina Boc-Tyr(3-BPin,R)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2**) (R = metil, SEM) amb 4-iodobenzè va proporcionar els tripèptids biarílics corresponents amb unes pureses del 92 i 80%, respectivament.

En vista dels bons resultats obtinguts, es va decidir estendre aquesta metodologia a la preparació de pèptids biarílics lineals i cíclics per reacció de Suzuki-Miyaura entre les cadenes laterals de dos aminoàcids aromàtics.

En primer lloc, l'arilació de la boronopeptidil resina Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**) amb els aminoàcids Boc-Phe(4-I)-OMe (**9**), Boc-Tyr(3-I,SEM)-OMe (**23c**) i una mescla de Boc-His(5-Br,3-SEM)-OMe (**32a**) i Boc-His(5-Br,1-SEM)-OMe (**32b**) va proporcionar els tetrapèptids biarílics corresponents amb unes pureses del 40 al 91%. És especialment rellevant l'obtenció del producte contenint un residu d'histidina, ja que, fins al moment, és el primer exemple d'acoblament creuat entre un residu de fenilalanina i un d'histidina. Anàlogament, l'arilació de la boronopeptidil resina Boc-Tyr(3-BPin,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2c**) amb els aminoàcids aromàtics Boc-Phe(4-I)-OMe (**9**) i Boc-Tyr(3-I,SEM)-OMe (**23c**) va proporcionar els tetrapèptids biarílics corresponents amb unes pureses del 64 i 61%, respectivament. En aquest cas, no es va obtenir el producte biarílic contenint histidina.

A continuació, aquesta metodologia es va aplicar a la síntesi en fase sòlida de macrocicles contenint un enllaç biarílic. Es va dissenyar una estratègia de síntesi en fase sòlida que consistia en la síntesi de la seqüència lineal seguint una estratègia Fmoc/*t*Bu, la substitució del grup Fmoc de l'extrem *N*-terminal per un grup tritil, la síntesi del corresponent ester pinacolborònic, l'eliminació del grup tritil, l'acoblament d'un iodoaminoàcid i la macrociclació de la seqüència a través d'una reacció de Suzuki-Miyaura intramolecular. D'aquesta manera, es varen preparar pèptids cíclics de cinc aminoàcids que contenien un enllaç biarílic format per la unió de dos residus de fenilalanina o un residu de fenilalanina i un de tirosina, amb pureses del 72 al 79%. També es varen preparar pèptids cíclics de tres a deu aminoàcids que contenien un enllaç biarílic format per la unió de dos residus de fenilalanina, amb pureses del 30 al 84%.

Paral·lelament, es va dissenyar una ruta sintètica per a la preparació d'un anàleg del pèptid antimicrobià BPC194 contenint una 4-arilfenilalanina. Aquesta ruta consistia en la síntesi de la seqüència lineal seguint una estratègia Fmoc/tBu/Al, la substitució del grup Fmoc de l'extrem *N*-terminal per un grup tritil, la síntesi del corresponent ester pinacolborònic (que provoca l'eliminació del grup al·lil), l'arilació amb 4-iodobenzè, l'eliminació del grup tritil, i la macrociclació de la seqüència a través d'una reacció de lactamització. D'aquesta manera es va obtenir el pèptid biarílic cíclic c(Lys-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe(4-Ph)-Lys-Lys-Leu-Gln).

Finalment, tots els pèptids sintetitzats en aquesta tesi doctoral es varen avaluar com a agents antimicrobians enfront dels bacteris *Erwinia amylovora*, *Xanthomonas vesicatoria*, i *Pseudomonas syringae*, que són responsables de malalties greus en plantes d'interès econòmic com pereres i pomeres. Els pèptids que varen donar millor perfil d'activitat varen ser BPC444, BPC446 i BPC448, que contenen 6, 7 i 8 aminoàcids. També es va determinar l'activitat hemolítica dels pèptids més actius, observant-se una baixa toxicitat a les cèl·lules eucariotes. Tots els assajos es varen realitzar al Centre d'Innovació i Desenvolupament en Sanitat Vegetal (CIDSAV).



## GENERAL ABSTRACT

Antimicrobial peptides play an important role in the host defence system of the majority of species ranging from bacteria to plants, including mammals. Most of them are cationic and have the ability to adopt an amphiphatic conformation. Moreover, it is believed that their mode of action involves membrane permeation. These peptides have emerged as excellent candidates to the development of new antibacterial agents because they are unlikely to cause rapid emergence of resistance. Another advantage of antimicrobial peptides is the selectivity towards the bacterial membrane versus the eukaryotic cell membrane, which made them nontoxic.

However, natural antimicrobial peptides present long sequences, poor bioavailability and low stability towards protease degradation. Thus, many strategies have been reported to enhance their properties, including the introduction of biaryl amino acids which may reduce the conformational flexibility of their structure.

One of the most efficient methods for the synthesis of biaryl amino acids is the Suzuki-Miyaura cross-coupling, which has been applied to the synthesis of natural biaryl cyclic peptides such as arylomycins or biphenomycins. However, up to now, the solid-phase synthesis of biaryl peptides has been scarcely reported and is restricted to the preparation of linear sequences involving the coupling of a polymer-bound halogenated aromatic amino acid and an arylboron in solution.

As an alternative, the present PhD study focused on the preparation of biaryl peptides involving the borylation on solid support of phenylalanine or tyrosine peptides and their subsequent arylation by a Suzuki-Miyaura cross-coupling. This strategy is advantageous because it avoids the synthesis and purification of amino acid boronates in solution. Moreover, it allows the preparation of a large diversity of biaryl peptides from a single boronopeptide intermediate.

The borylation of phenylalanine and tyrosine residues was performed on solid-phase by a Miyaura reaction, which involves mild reaction conditions compatible with a variety of functional groups. Thus, it constitutes the first example of the solid-phase synthesis of phenylalanine and tyrosine pinacolboronic esters, in particular of the boronopeptidyl resins Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**) and Boc-Tyr(3-BPin,R)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2**), where R was a methyl or a [2-(trimethylsilyl)ethoxy]methyl (SEM) protecting group.

With these boronopeptidyl resins in hand, the arylation of phenylalanine and tyrosine aromatic side-chains was performed on solid-support by a Suzuki-Miyaura reaction under microwave irradiation. The arylation of the resin Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA

(1) with the aryl halides 4-iodobenzene, 2-iodophenol, *p*-iodonitrobenzene, 4-iodoanisole, 2-iodoanisole, 4-iodotoluene, and 1-(2-SEM)-4(5)-bromo-5(4)-methylimidazole (31) afforded the corresponding biaryl tripeptides in 57-91% purity. The synthesis of the imidazole containing compound is especially noteworthy because it is the first example of the solid-phase synthesis of a 4-imidazolylphenylalanine peptide. Similarly, the arylation of the resin Boc-Tyr(3-BPin,R)-Leu-Leu-Rink-MBHA (2) (R = methyl, SEM) with 4-iodobenzene afforded the corresponding biaryl tripeptides in 92 and 80% purity, respectively.

In view of the excellent results obtained, this methodology was applied to the synthesis of linear and cyclic biaryl peptides by a Suzuki-Miyaura reaction between the side-chains of two aromatic amino acids.

First, the arylation of the boronopeptidyl resin Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (1) with the amino acids Boc-Phe(4-I)-OMe (9), Boc-Tyr(3-I,SEM)-OMe (23c) and a mixture of Boc-His(5-Br,3-SEM)-OMe (32a) and Boc-His(5-Br,1-SEM)-OMe (32b) afforded the corresponding tetrapeptides in 40-91% purity. The synthesis of the histidine-containing peptide is especially noteworthy because it is the first example of a cross-coupling involving a phenylalanine and a histidine residue. Similarly, the arylation of the resin Boc-Tyr(3-BPin,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (2c) with the aromatic amino acids Boc-Phe(4-I)-OMe (9) and Boc-Tyr(3-I,SEM)-OMe (23c) afforded the corresponding biaryl tetrapeptides in 64 and 61% purity, respectively. In this case, the biaryl product containing a histidine could not be obtained.

Next, this methodology was applied to the solid-phase synthesis of biaryl cyclic peptides. The synthetic strategy involved the preparation of the linear sequence following a Fmoc/*t*Bu protocol, replacement of the *N*-terminal Fmoc group by a trityl group, formation of the pinacol boronic ester, trityl group removal, coupling of the corresponding iodo amino acid and macrocyclization via an intramolecular Suzuki-Miyaura reaction. Thus, cyclic peptides of 5 amino acids containing a biaryl bond linking two residues of phenylalanine or one residue of phenylalanine and one of tyrosine were obtained in 72-79% purity. Cyclic peptides of 3 to 10 amino acids containing a biaryl bond between two phenylalanine residues were also obtained in 30-84% purity.

Moreover, a synthetic strategy for the preparation of a BPC194 derivative containing a 4-arylphenylalanine was designed. This strategy involved the synthesis of the linear precursor following a Fmoc/*t*Bu/Al protocol, replacement of the *N*-terminal Fmoc group by a trityl group, formation of the corresponding boronic ester (which caused allyl group removal), arylation with 4-iodobenzene, trityl group removal, and final lactamization. This

strategy afforded the biaryl cyclic peptide c(Lys-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe(4-Ph)-Lys-Lys-Leu-Gln).

Finally, all these linear and cyclic biaryl peptides were tested as antimicrobial agents against the economically important plant pathogenic bacteria *Erwinia amylovora*, *Xanthomonas vesicatoria*, and *Pseudomonas syringae*. The cyclic biaryl peptides BPC444, BPC446 and BPC448, containing 6, 7 and 8 amino acids, showed the best activity profile. Hemolytic activity of the most active peptides was also determined, and they were not toxic against eukaryotic cells. All biological assays were carried out at the Centre d'Innovació i Desenvolupament en Sanitat Vegetal (CIDSAV).

# 1. INTRODUCCIÓ

---



## 1.1. Pèptids antimicrobians

El 1902 Fischer i Hofmeizer varen proposar independentment que les proteïnes consisteixen en cadenes d' $\alpha$ -aminoàcids units per enllaços amida entre els grups  $\alpha$ -amino i  $\alpha$ -carboxil. El paper dels pèptids en els processos vitals, però, no es va conèixer fins als anys cinquanta, quan Du Vigneaud va aïllar, caracteritzar i sintetitzar les hormones peptídiques oxitocina i vasopressina; i Sanger va elucidar la seqüència de la insulina bovina (Gutte, 1995). Actualment, se sap que els pèptids participen en tots els processos fisiològics actuant com a neurotransmissors, neuromoduladors, hormones, antibiòtics o factors de creixement, entre d'altres.

Un tipus de pèptid que ha despertat un gran interès científic en els darrers anys són els pèptids antimicrobians. Als anys vuitanta Steiner va aïllar els primers pèptids antimicrobians de l'hemolinfa d'insectes (Steiner et al., 1981). De fet, aquest tipus de pèptids formen part dels sistemes de defensa de pràcticament tots els organismes vius, des de bacteris fins a plantes, incloent els mamífers. Generalment, presenten activitat antimicrobiana contra bacteris, fongs, paràsits i virus.

Els pèptids antimicrobians es caracteritzen per tenir una mida de 12 a 50 residus, el 50% dels quals són hidrofòbics, i per presentar càrrega positiva. A més, poden adoptar una estructura secundària definida, principalment d' $\alpha$ -hèlix o de làmina  $\beta$ . A més, aquestes estructures generalment són amfipàtiques, presentant una cara amb una gran proporció d'aminoàcids polars i la cara oposada contenint majoritàriament residus hidrofòbics. Un grup de pèptids que presenta una estructura  $\alpha$ -hèlix són la magainina, secretada a la pell de les granotes; la melitina, present en el verí de les abelles; o les cecropines, que són pèptids de defensa dels insectes. Una gran família de pèptids amb una estructura de làmina  $\beta$  són les defensines entre les quals es troben l' $\alpha$ -defensina i la  $\beta$ -defensina, presents en mamífers (Taula 1.1) (Zasloff, 2002; Hancock et al., 2006a; Jensen et al., 2006).

**Taula 1.1** – Exemples de pèptids antimicrobians naturals

Estructura	Pèptid	Seqüència <sup>a</sup>
$\alpha$ -Hèlix	Cecropina A	KWKLFFKKIEKVGQNIRDGIIKAGPAVAVVGQATQIAK-NH <sub>2</sub>
	Magainina 2	GIGKFLHSAKKFGKAFVGEIMNS
	Melitina	GIGAVLKVLTGLPALISWIKRKRQQ-NH <sub>2</sub>
Làmina $\beta$	$\alpha$ -Defensina (HNP3)	DC <sub>1</sub> YC <sub>2</sub> RIPAC <sub>3</sub> IAGERRYGTC <sub>2</sub> IYQGRLWAFCC <sub>3</sub> C <sub>1</sub>
	$\beta$ -Defensina (TAP)	NPVSC <sub>1</sub> VRNKGIC <sub>2</sub> VPIRC <sub>3</sub> PGSMKQIGTC <sub>2</sub> VGRAVKC <sub>1</sub> C <sub>3</sub> RKK

<sup>a</sup>Els subíndexs indiquen aminoàcids units per ponts disulfur

Tot i que el mecanisme d'acció dels pèptids antimicrobians no està totalment elucidat, s'ha proposat que la seva càrrega neta positiva interacciona amb la càrrega negativa dels fosfolípids de la membrana bacteriana, mentre que l'estructura amfipàtica que presenten afavoreix la seva inserció. Això provoca la disrupció de la membrana, formant-se petits porus que poden conduir a la pèrdua del gradient electroquímico transmembrana o a la sortida del contingut intracel·lular, causant la mort cel·lular.

Aquests pèptids són excel·lents candidats per al desenvolupament de nous agents terapèutics antibacterians perquè, contràriament als antibiòtics convencionals, és difícil que induïxin l'aparició de soques resistents, ja que es requeriria una alteració significativa de la composició lipídica de la membrana bacteriana i no és fàcil que succeeixi (Yeaman i Yount, 2003).

Un altre avantatge dels pèptids antimicrobians és la selectivitat per la membrana bacteriana enfront la membrana de les cèl·lules eucariotes. Aquesta selectivitat es basa en la naturalesa catiónica d'aquests pèptids i en la diferència de càrrega entre les membranes d'aquests dos tipus de cèl·lules. Mentre la membrana citoplasmàtica bacteriana presenta una alta concentració de lípids carregats negativament, la membrana eucariota conté lípids no carregats a pH neutre (McPhee i Hancock, 2005).

Els pèptids antimicrobians naturals presenten seqüències molt llargues, tenen una baixa biodisponibilitat i són propensos a la degradació per proteases. Per reduir aquestes limitacions, a partir de la seva seqüència s'ha estudiat el disseny i la síntesi de pèptids més curts que mantinguin l'activitat, que tinguin una baixa toxicitat i que siguin estables. Un exemple d'aquesta metodologia és l'estudi dels híbrids cecropina A-melitina (Cavallarin et al., 1998; Hancock i Sahl, 2006b; Zhang i Falla, 2006). També s'han dissenyat pèptids per modificació de la seqüència natural per optimitzar-ne les propietats biològiques. Per exemple, un mètode per millorar l'estabilitat de seqüències lineals consisteix en la seva ciclació. Les estructures cíclics són menys flexibles que els seus anàlegs lineals, la qual cosa dificulta l'accessibilitat a les proteases. A més, s'ha observat que els pèptids cíclics són més actius i menys tòxics que les seqüències lineals corresponents (Oren i Shai, 2000; Dathe et al., 2004). Una altra estratègia per augmentar l'activitat i l'estabilitat dels pèptids antimicrobians consisteix en la introducció d'aminoàcids biarílics, els quals redueixen la flexibilitat conformacional de les seqüències peptídiques. També s'ha descrit que la introducció d'aminoàcids aromàtics hidrofòbics i voluminosos com la fenilalanina o la tirosina pot proporcionar una superfície lipofílica que afavoreix que els pèptids travessin les membranes bacterianes, al mateix temps que n'augmenten l'estabilitat a la degradació per proteases (Sitaram, 2006).

Una de les línies de recerca del Laboratori d'Innovació en Processos i Productes de Síntesi Orgànica (LIPPSO), realitzada en col·laboració amb el grup de Patologia Vegetal de la UdG, se centra en l'estudi de l'aplicació de pèptids d'origen natural o dissenyats *de novo* com a agents antimicrobians enfront de malalties de plantes d'importància econòmica causades pels bacteris *Erwinia amylovora*, *Xanthomonas vesicatoria* i *Pseudomonas syringae*. *E. amylovora* és el causant del foc bacterià, malaltia greu que afecta principalment a pereres i pomeres; *X. vesicatoria* i *P. syringae* són responsables de la bacteriosi de la tomata i del pebrot, respectivament. Fins al moment, no existeixen tractaments suficientment efectius per combatre aquestes malalties.

En el grup LIPPSO s'han sintetitzat un total de 309 pèptids corresponents a dues famílies diferents i s'han identificat seqüències *lead* amb activitat antimicrobiana important, que a més són estables a la degradació per proteases i són poc tòxics. La primera família correspon a undecapèptids lineals híbrids cecropina A-melitina. El primer *lead* que es va identificar va ser H-K<sup>1</sup>KLFKKILKF<sup>10</sup>L-NH<sub>2</sub> (BP76), que era actiu *in vitro* enfront *E. amylovora*, *X. vesicatoria* i *P. syringae*, amb una concentració mínima inhibidora (CMI) compresa entre 2.5-5.0 µM. A més aquest pèptid era poc tòxic, hemòlisi de 3% a 50 µM, i presentava una baixa susceptibilitat a la degradació per proteases (Ferre et al., 2006). A continuació, es va preparar una quimioteca de 125 undecapèptids derivats de BP76, incorporant diferents aminoàcids a les posicions 1, 10 i N-terminal. Com a regla general es va observar que els pèptids més actius contenien un residu aromàtic a la posició 10, la posició N-terminal bàsica i la posició C-terminal hidrofòbica. Es varen identificar 7 pèptids amb un bon balanç entre l'activitat antibacteriana i l'hemolítica (Taula 1.2). Entre ells, BP100 va mostrar un perfil biològic *in vitro* òptim, així com la millor activitat *in vivo* (Badosa et al., 2007), inhibint infeccions de fruits immadurs i de flors causades pels patògens anteriors.



**Taula 1.2** - Undecapèptids híbrids cecropina A-melitina

Codi	Pèptid Seqüència	Intervals de CMI <sup>a</sup> (µM)			Hemòlisi (%) <sup>b</sup>	
		<i>Ps</i> <sup>c</sup>	<i>Xv</i> <sup>c</sup>	<i>Ea</i> <sup>c</sup>	50 µM	150 µM
BP76	H-KKLFKKILKFL-NH <sub>2</sub>	2.5-5.0	2.5-50	2.5-50	3 ± 1	34 ± 2.1
BP66	H-FKLFKKILKFL-NH <sub>2</sub>	5.0-7.5	2.5-5.0	2.5-5.0	9 ± 2.2	63 ± 5.9
BP77	Ac-KKLFKKILKFL-NH <sub>2</sub>	5.0-7.5	< 2.5	5.0-7.5	6 ± 0.6	40 ± 3.8
BP81	H-LKLFKKILKFL-NH <sub>2</sub>	2.5-5.0	< 2.5	2.5-5.0	10 ± 1.3	65 ± 1.5
BP100	H-KKLFKKILKYL-NH <sub>2</sub>	2.5-5.0	5.0-7.5	2.5-5.0	3 ± 0.1	22 ± 2.8
BP105	H-LKLFKKILKYL-NH <sub>2</sub>	5.0-7.5	2.5-5.0	5.0-7.5	14 ± 1.6	91 ± 6.2
BP125	Ts-YKLFKKILKKL-NH <sub>2</sub>	2.5-5.0	2.5-5.0	> 7.5	2 ± 0.7	8 ± 1.6
BP126	Bz-KKLFKKILKKL-NH <sub>2</sub>	2.5-5.0	2.5-5.0	5.0-7.5	2 ± 0.4	14 ± 2.9

<sup>a</sup>Concentració mínima inhibidora<sup>b</sup>Percentatge d'hemòlisi a 50 i 150 µM més l'interval de confiança ( $\alpha = 0.05$ )<sup>c</sup>*Ps*: *P. syringae*; *Xv*: *X. vesicatoria*; *Ea*: *E. amylovora*

La segona família de pèptids estudiada al grup LIPPSO està centrada en decapeptids cíclics dissenyats *de novo* i de fórmula general c(X<sub>5</sub>-F-X<sub>3</sub>-Q) on X és leucina o lisina. En primer lloc, es va preparar una quimioteca de 56 pèptids, dels quals els més actius i menys hemolítics varen resultar ser els de seqüència c(X<sup>1</sup>X<sup>2</sup>X<sup>3</sup>X<sup>4</sup>K<sup>5</sup>FKKLQ<sup>10</sup>), essent X leucina o lisina. Per tal de determinar els residus de les posicions 1 a 4 que conduïen a un perfil biològic òptim es va sintetitzar una segona quimioteca, la qual contenia els 16 pèptids resultants de totes les possibles combinacions de lisina i leucina a les posicions 1 a 4. D'aquest estudi es va concloure que els pèptids que tenien una millor activitat antimicrobiana i una menor toxicitat eren els que complien X<sup>2</sup>≠X<sup>3</sup> i X<sup>4</sup>=K. Els pèptids que varen resultar ser més actius enfront *E. amylovora*, *P. syringae* i *X. vesicatoria* varen ser BPC88, BPC96, BPC98, BPC194 i BPC198 (Taula 1.3). Entre ells, el BPC194 va ser el que va presentar un millor perfil biològic (Monroc et al., 2006a).

**Taula 1.3** - Ciclopeptids dissenyats de novo

Codi	Pèptid Seqüència	Intervals de CMI (µM) <sup>a</sup>			Hemòlisi (%) <sup>b</sup>
		<i>Ps</i> <sup>c</sup>	<i>Xv</i> <sup>c</sup>	<i>Ea</i> <sup>c</sup>	375 µM
BPC10L	c(KLKLKFKLKQ)	12.5-25	6.2-12.5	>100	84 ± 6.9
BPC88	c(KKLLKFKKLQ)	6.2-12.5	1.6-3.1	25-50	33 ± 3.3
BPC96	c(LKLLKFKKLQ)	6.2-12.5	3.1-6.2	12.5-25	24 ± 4.3
BPC98	c(LLKKKFKKLQ)	6.2-12.5	1.6-3.1	12.5-25	28 ± 2.4
BPC194	c(KKLLKFKKLQ)	3.1-6.2	3.1-6.2	6.2-12.5	17 ± 1.7
BPC198	c(KLKKKFKKLQ)	3.1-6.2	3.1-6.2	12.5-25	14 ± 1.4

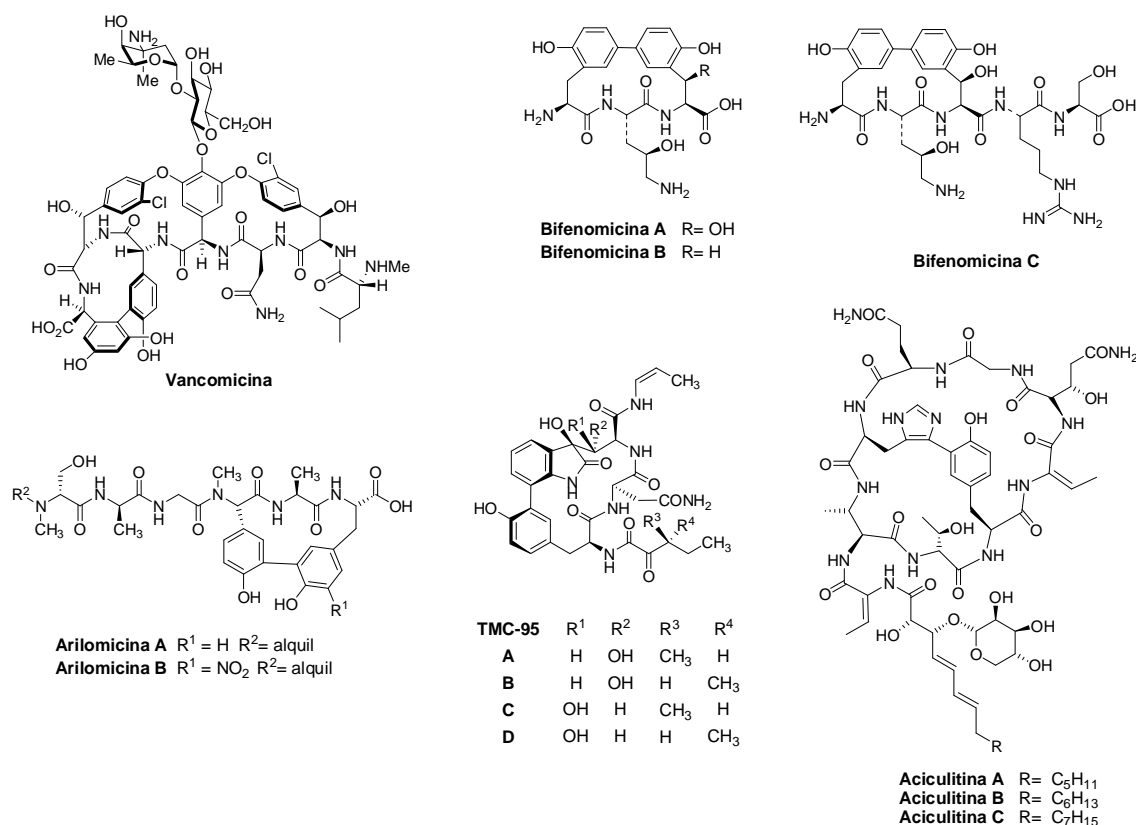
<sup>a</sup>Concentració mínima inhibidora<sup>b</sup>Percentatge d'hemòlisi a 375 µM més interval de confiança ( $\alpha = 0.05$ )<sup>c</sup>*Ps*: *P. syringae*; *Xv*: *X. vesicatoria*; *Ea*: *E. amylovora*

Així doncs, els pèptids BP100 i BPC194 són bons candidats per ser utilitzats com a punt de partida per al disseny de nous pèptids antimicrobians.

## 1.2. Pèptids biarílics

### 1.2.1. Els pèptids biarílics: importància i utilitat

A la natura existeixen una gran varietat de pèptids cíclics que presenten propietats biològiques destacables i que contenen a la seva estructura unitats biaríliques formades per la interacció entre les cadenes laterals de dos aminoàcids aromàtics. Entre ells destaquen la vancomicina, les bifenomícines A-C, les arilomícines A-B, els TMCs-95A-D i les aciculitines A-C (Figura 1.1) (Feliu i Planas, 2005).



**Figura 1.1** – Pèptids biarílics cíclics naturals

La vancomicina és un antibiòtic glicopeptídic format per una unitat glicosídica i un aglicó, que consisteix en un esquelet heptapeptídic que inclou enllaços biaril i biaril èter que uneixen les cadenes laterals d'aminoàcids aromàtics presents a la seqüència. Actualment, la vancomicina s'utilitza per al tractament d'infeccions causades per bacteris gram-positius en pacients al·lèrgics als antibiòtics β-lactàmics (Harris i Harris, 1982; Van Bambeke, 2004).

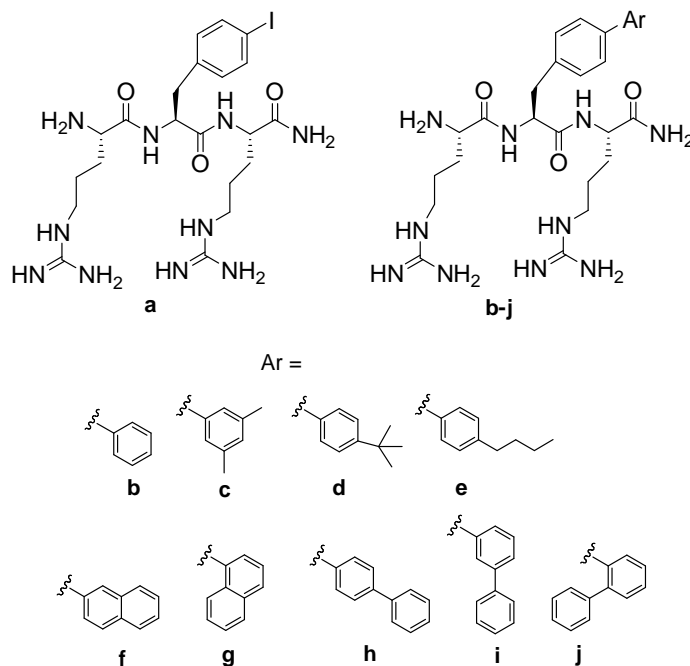
Les bifenomicines A-C són pèptids cíclics formats per un anell de 15 membres, que conté un enllaç biarílic entre dos residus de tirosina o entre un de tirosina i un d'hidroxitirosina. Aquests pèptids mostren activitat antimicrobiana enfront fongs i bacteris gram-positius com *Staphylococcus aureus* 2508 i 2485 (Ezaki et al., 1985 i 1993; Uchida et al., 1985; Kannan et al., 1987; Brown et al., 1989).

Les arilomicines A i B són dues famílies de compostos formats per un macrocicle tripeptídic amb un enllaç biarílic entre un residu d'hidroxifenilglicina i un residu de tirosina. Aquest macrocicle està unit al tripèptid D-MeSer-D-Ala-Gly, que està derivatitzat a l'extrem N-terminal amb una cadena lipopeptídica. Les arilomicines presenten activitat antibacteriana enfront bacteris gram-positius i antifúngica enfront de *Mucor hiemalis* Tü 179/180 (Schimana et al., 2002; Höltzel et al., 2002).

Els pèptids cíclics TMC-95A-D estan formats per un anell de tres aminoàcids, en el qual el sistema biarílic està format per la unió de les cadenes laterals d'un residu d'L-tirosina i d'un residu d'L-triptòfan oxidat. Aquests pèptids són inhibidors selectius del proteasoma, per la qual cosa es consideren agents terapèutics potencials per al tractament de nombroses patologies com el càncer, inflamacions o malalties immunes (Koguchi et al., 2000; Kohno et al., 2000).

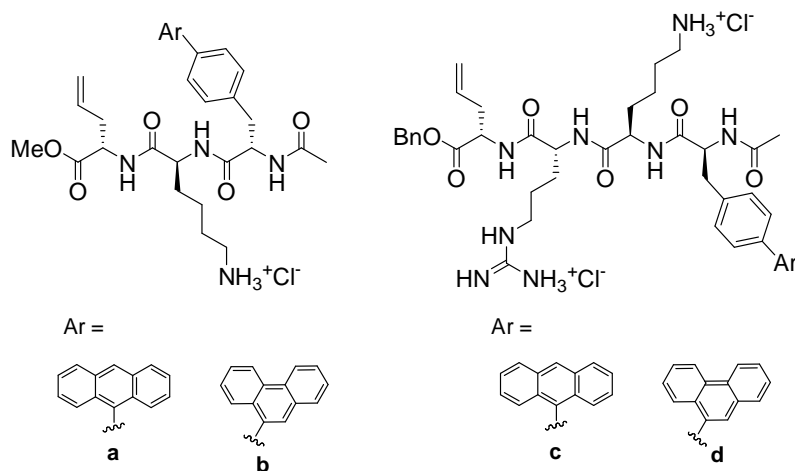
Les aciculitines A-C són pèptids marins formats per un bicicle de 8 aminoàcids que conté una combinació inusual de residus de tirosina i histidina units a través de la posició 3' de la tirosina i 5' de la histidina. Les aciculitines són citotòxiques enfront la línia cel·lular tumoral HCT-116 de càncer de còlon humà i inhibeixen el creixement del fong *Candida albicans* (Bewley et al., 1996).

Les importants activitats biològiques que presenten aquests pèptids biarílics naturals han portat al desenvolupament de seqüències sintètiques. En un estudi recent, Haug i col·laboradors varen preparar els tripèptids biarílics **b-j** (Figura 1.2) i en varen assajar l'activitat antimicrobiana enfront dels bacteris *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *S. aureus* resistent a meticil·lina (MRSA) i *S. epidermidis* resistent a meticil·lina (MRSE). Varen observar un augment significatiu de l'activitat antimicrobiana de tots els pèptids comparat amb la del pèptid control **a**. Els pèptids **e** i **h** varen ser els més actius (Haug et al., 2007).



**Figura 1.2** - Tripèptids biarílics sintetitzats per Haug (Haug et al., 2007)

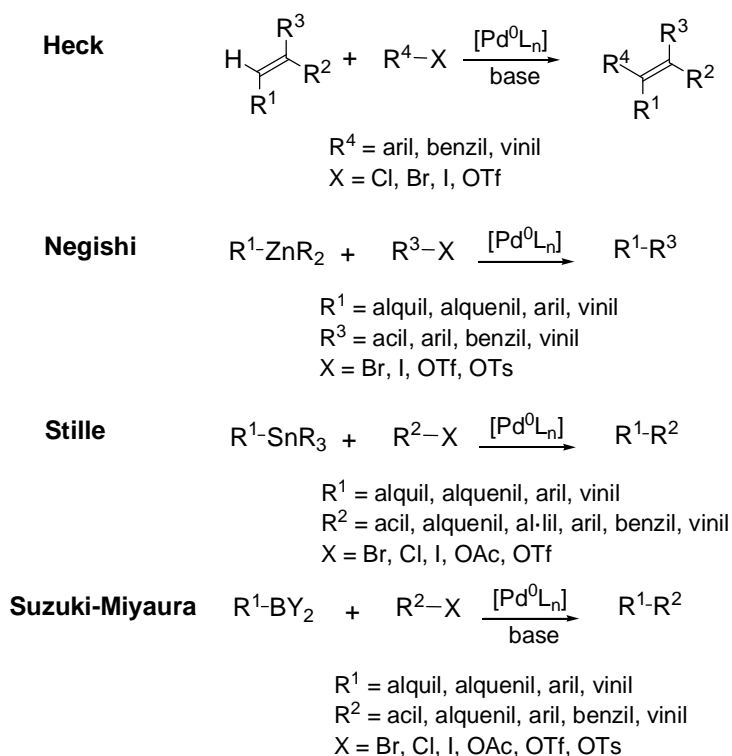
En un altre estudi, Bremner i col·laboradors varen preparar *N*-acetil-4-arilfenilalanines i posteriorment les varen incorporar a les seqüències peptídiques corresponents obtenint els pèptids **a-d** (Figura 1.3) (Boyle et al., 2009). Aquests pèptids varen resultar ser actius enfront del bacteri gram-positiu *Staphylococcus aureus* (ATCC6538) amb valors de CMI de 31.3, 15.6, 15.6 i 7.8 mg/mL, respectivament. Es va utilitzar com a control positiu la vancomicina, que va mostrar un valor d'1.95 mg/mL. Així doncs, es va observar que els pèptids **b** i **d** eren més actius que els seus anàlegs **a** i **c**, que contenien un grup aril menys voluminós. També es va observar que els pèptids dicatiónics **c** i **d** eren més actius que els seus anàlegs monocatiónics **a** i **b**. Aquests resultats corroboren la importància de la hidrofobicitat i de la càrrega positiva en l'activitat dels pèptids antimicrobians.



**Figura 1.3** – Pèptids biarílics sintetitzats per Bremner (Boyle et al., 2009)

### 1.2.2. Mètodes generals per a la síntesi de compostos biarílics

Un dels procediments més generals per a la formació d'enllaços C-C són les reaccions catalitzades per metalls de transició. En particular, cal destacar els acoblaments catalitzats per pal·ladi com la reacció de Heck, Negishi, Stille o Suzuki (Esquema 1.1). Aquestes reaccions han permès la preparació d'una gran varietat de productes del tipus alquenil-alquenil, alquenil-aril, alquenil-heteroaril, aril-aril o heteroaril-aril, difícils d'obtenir a través d'altres mètodes. Així doncs, aquestes reaccions han suposat un gran avenç en la síntesi de molècules complexes, la qual cosa ofereix noves oportunitats en la síntesi total, en la química mèdica i biològica, i en l'àmbit de la nanotecnologia (Nicolaou et al., 2005). Per aquest motiu els científics Richard F. Heck, Ei-ichi Negishi i Akira Suzuki varen ser guardonats amb el Premi Nobel de Química 2010.



**Esquema 1.1** – Reaccions d'acoblament catalitzades per pal·ladi

La reacció de Heck és una de les reaccions més rellevants de formació d'enllaços C-C i ha estat àmpliament utilitzada des de la seva primera publicació l'any 1972 (Heck i Nolley, 1972). Consisteix en l'acoblament catalitzat per pal·ladi d'un halur o triflat d'alquenil o aril amb un alquè en presència d'una base. Actualment, és un mètode robust i eficient per a la formació de macrocicles.

La reacció de Negishi consisteix en l'acoblament creuat d'electròfils orgànics amb organozincats. Cal destacar que va ser la primera reacció que va permetre l'obtenció de productes biarílics amb bons rendiments.

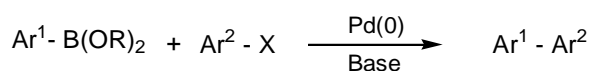
En la reacció d'Stille, l'acoblament creuat catalitzat per pal·ladi té lloc entre electròfils orgànics i derivats d'estany. Actualment, és una de les reaccions catalitzades per pal·ladi més aplicades, ja que es realitza en condicions suaus, els reactius són fàcils de preparar i és compatible amb una àmplia diversitat de grups funcionals.

La reacció de Suzuki-Miyaura involucra l'acoblament creuat d'electròfils orgànics, com halurs d'alquenil o aril, amb organoborans en presència d'una base. Aquesta reacció és una de les estratègies més eficients i més àmpliament utilitzades per a la construcció de compostos biarílics simètrics i no simètrics a causa de la facilitat de preparació i de l'estabilitat dels organoborans. A més, la reacció transcorre amb unes condicions suaus i els subproductes que es formen no són tòxics.

### 1.2.3. La reacció de Suzuki-Miyaura

En els darrers anys, la reacció de Suzuki-Miyaura ha estat àmpliament utilitzada en la síntesi total de diversos productes biarílics naturals i no naturals, com són aminoàcids i pèptids, i s'ha adaptat a la síntesi en fase sòlida.

L'aplicació de la reacció de Suzuki-Miyaura per a la preparació de sistemes biarílics implica la reacció d'un àcid arilborònic ( $\text{Ar-B(OH)}_2$ ), un ester arilborònic ( $\text{Ar-B(OR)}_2$ ) o un ariltrifluoroborat ( $\text{ArBF}_3^-$ ) amb un halur o sulfonat d'aril o una sal de diazoni arílica, en presència d'una base i d'un catalitzador de pal·ladi (0) (Esquema 1.2) (Cepanec, 2004).



$\text{Ar}^1, \text{Ar}^2 =$  aril o heteroaril  
 $\text{X} = \text{I, Br, Cl, OTf, OTs, OMs, N}_2^+\text{BF}_4^-$   
 $\text{R} = \text{H}$  o alquil

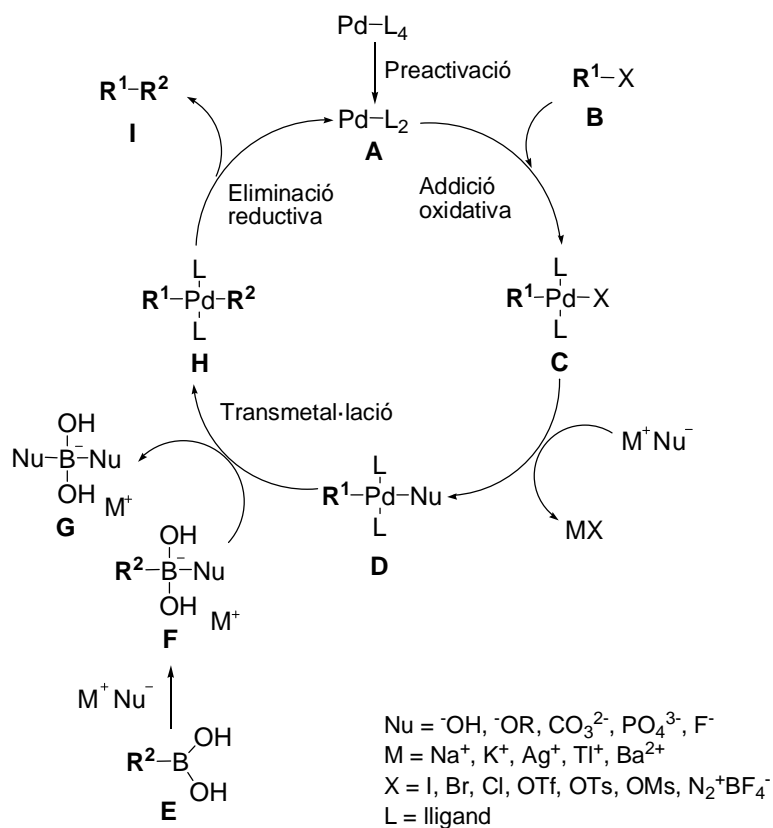
**Esquema 1.2** - Reacció de Suzuki-Miyaura

La base que generalment condueix a millors resultats és  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , però aquesta reacció també es realitza en presència de  $\text{Ba(OH)}_2$ ,  $\text{K}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{TIOH}$ ,  $\text{KF}$  o  $\text{NaOH}$ . El catalitzador més utilitzat és  $\text{Pd(PPh}_3)_4$ , però també se'n poden emprar d'altres com  $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)$ ,  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  o  $\text{Pd(OAc)}_2$ , en presència de lligands de tipus fosfina per establir les espècies de pal·ladi (Miyaura i Suzuki, 1995; Suzuki, 1999; Kotha et al., 2002). Pel que fa a la reactivitat dels halurs o sulfonats d'aril, s'ha observat que se

segueix l'ordre següent: I>OTf>Br>>Cl. A més, els halurs d'aril substituïts amb grups electroatraients són més reactius que aquells que presenten grups electrodonadors.

Aquesta reacció presenta diversos avantatges sobre els altres mètodes d'acoblament creuat. Les condicions suaus en què es realitza la fan compatible amb una gran varietat de grups funcionals. A més, generalment, és regio- i estereoselectiva. D'altra banda, els productes de partida són assequibles comercialment o fàcils de preparar, i els subproductes inorgànics que es formen no són tòxics i poden ser fàcilment eliminats del cru de reacció. És una reacció que tolera la presència d'aigua, cosa que permet portar-la a terme en sistemes bifàsics formats per barreges d'aigua i dissolvents immiscibles, com toluè, ciclohexà o 1,2-dicloroetà. Alternativament, es pot realitzar en medi homogeni utilitzant dissolvents miscibles en aigua, com per exemple *N,N'*-dimetilformamida (DMF), CH<sub>3</sub>CN, *N*-metil-2-pirrolidinona (NMP), dimetilsulfòxid (DMSO), 1,2-dimetoxietà (DME), etanol, metanol, 1,4-dioxà o les seves barreges corresponents (Alonso et al., 2008).

La reacció de Suzuki-Miyaura transcorre a través del cicle catalític que es representa a l'Esquema 1.3 (Miyaura i Suzuki, 1995; Suzuki, 1999). En primer lloc es produeix la dissociació de dos lligands del catalitzador de pal·ladi de partida i es forma el complex **A** de 14 electrons. A continuació, té lloc una addició oxidativa, que és l'etapa determinant del cicle catalític i que consisteix en l'addició de l'halur **B** sobre el complex de pal·ladi (0) **A** per formar un complex de pal·ladi (II) **C** de 16 electrons. Aquesta etapa explica la major reactivitat dels halurs d'aril substituïts amb grups electroatraients. Tot seguit, la base desplaça l'halur del complex de pal·ladi **C** per formar l'intermedi **D**. La base també reacciona amb l'àcid arilborònic **E** per generar el complex de bor corresponent **F**, el qual reacciona amb **D** via un procés de transmetal·lació. D'aquesta manera, s'obté el complex de pal·ladi **H**. Finalment, una eliminació reductiva d'**H** dona lloc a la formació d'un enllaç C-C, obtenint-se el producte biarílic **I** i regenerant-se el complex inicial de pal·ladi (0) **A**, al mateix temps que es tanca el cicle catalític.



Esquema 1.3 – Mecanisme de la reacció de Suzuki-Miyaura

### 1.2.3.1. Reaccions de Suzuki-Miyaura sota irradiació de microones

La síntesi orgànica assistida per microones és una tècnica relativament recent, l'ús de la qual ha experimentat un creixement significatiu en els darrers anys tant al món acadèmic com a la indústria (Appukkuttan i Van der Eycken, 2008). La irradiació de microones accelera les reaccions i també augmenta el rendiment i la puresa dels productes finals. La reducció del temps de reacció s'explica a partir del procés d'escalfament.

L'escalfament conductiu tradicional amb una font de calor externa, per exemple un bany d'oli, és un mètode lent i ineficient de transmissió d'energia al sistema. Depèn de la conductivitat tèrmica dels diversos materials que han de ser travessats, cosa que provoca una temperatura més elevada al recipient que a la barreja de reacció. En canvi, la irradiació per microones produeix un escalfament intern eficient per interacció de l'energia de les microones amb els dissolvents, reactius o catalitzadors presents a la barreja de reacció. Atès que els reactors utilitzats solen estar fets de materials transparents a les microones, com quars o tefló, aquest tipus d'irradiacions provoquen un augment de la temperatura de tot el volum simultàniament (Kappe, 2004).

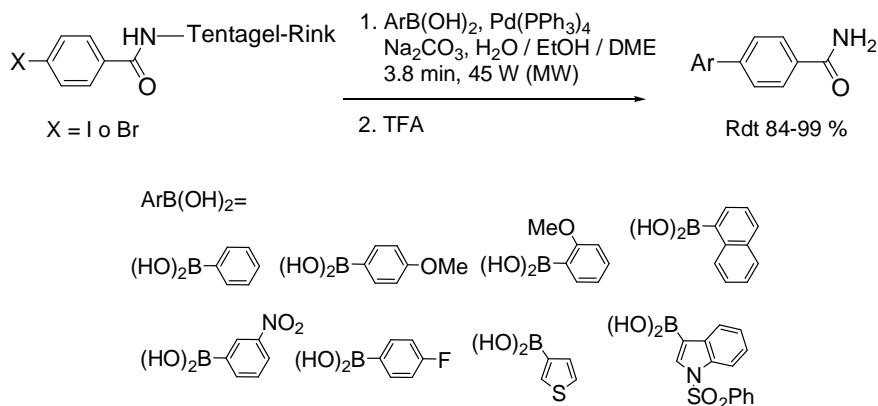


L'acceleració de les reaccions orgàniques també s'explica a nivell microscòpic. La irradiació de microones consisteix en un camp elèctric i magnètic oscil·lant d'elevada freqüència. Generalment, els sistemes de laboratori treballen a 2.45 GHz. Quan s'irradien molècules que presenten un dipol permanent, aquestes tendeixen a alinear-se amb el camp aplicat. Com que el camp oscil·la  $4.9 \times 10^9$  vegades per segon, les molècules s'estan alineant i realineant amb aquest camp contínuament. Aquest moviment ràpid provoca un escalfament intern elevat que augmenta la temperatura fins a 10 °C per segon. Aquesta elevada velocitat d'escalfament és l'origen de l'acceleració observada en les reaccions orgàniques realitzades utilitzant microones (Loupy, 2002).

En la síntesi assistida per microones és possible utilitzar dissolvents amb menor punt d'ebullició que els usuals en síntesi orgànica sota escalfament convencional, atès que els aparells de microones permeten l'escalfament dels dissolvents fins a temperatures superiors al seu punt d'ebullició. D'aquesta manera, es faciliten els *work-ups* posteriors. A més a més, aquest tipus d'aparells possibiliten la definició acurada de les condicions de reacció, com pressió i temperatura (Kappe i Dallinger, 2006).

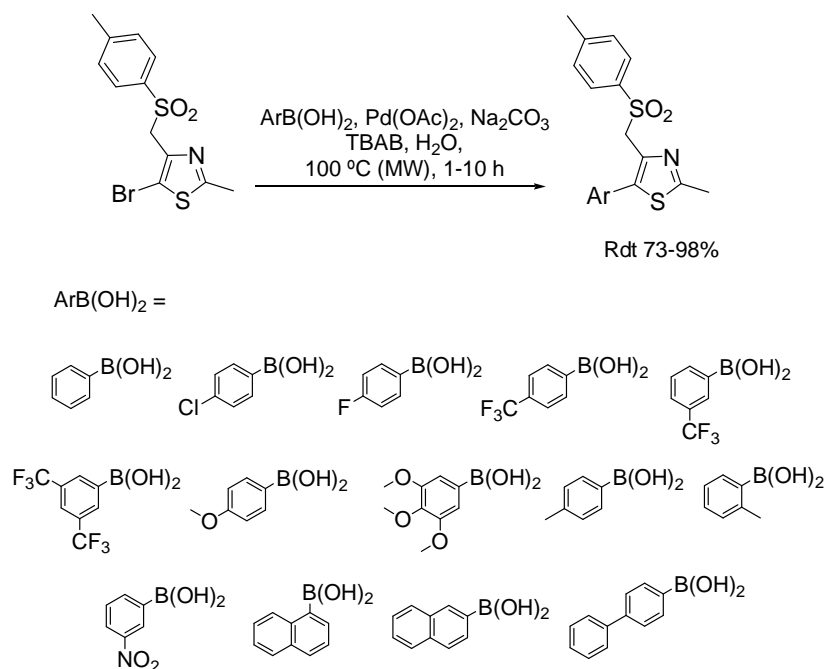
Les reaccions de formació d'enllaços C-C catalitzades per metalls de transició, les quals solen necessitar temps de reacció relativament llargs, representen una de les reaccions més importants i més ben estudiades per irradiació de microones. En aquests casos, la irradiació per microones porta a un increment del temps de vida del catalitzador metàl·lic de manera que els acoblaments creuats tenen lloc amb rendiments i pureses més elevats.

Concretament, en els darrers anys s'ha dut a terme un nombre molt elevat de reaccions de Suzuki-Miyaura sota irradiació de microones, tant en dissolució com en fase sòlida, i se n'han aïllat els productes amb bons rendiments. El 1996, per exemple, es va publicar una de les primeres aplicacions d'escalfament per microones a una reacció de Suzuki-Miyaura en fase sòlida. Utilitzant aquesta metodologia es varen preparar diversos compostos biarílics per reacció d'iodo i bromobenzamides amb diferents àcids arilborònics en un temps de reacció d'uns 4 minuts (Esquema 1.4) (Larhed et al., 1996).



**Esquema 1.4** - Reacció de Suzuki-Miyaura en fase sòlida per escalfament de microones (Larhed et al., 1996)

Recentment, s'han posat a punt mètodes de síntesi més sostenibles ambientalment, on s'utilitza l'escalfament eficient de les microones per reduir el temps de les reaccions. El 2009, per exemple, Vanelle i col·laboradors varen sintetitzar diversos derivats biarílics de tiazole mitjançant una reacció de Suzuki-Miyaura utilitzant  $\text{H}_2\text{O}$  com a dissolvent (Esquema 1.5) (Cohen et al., 2009).

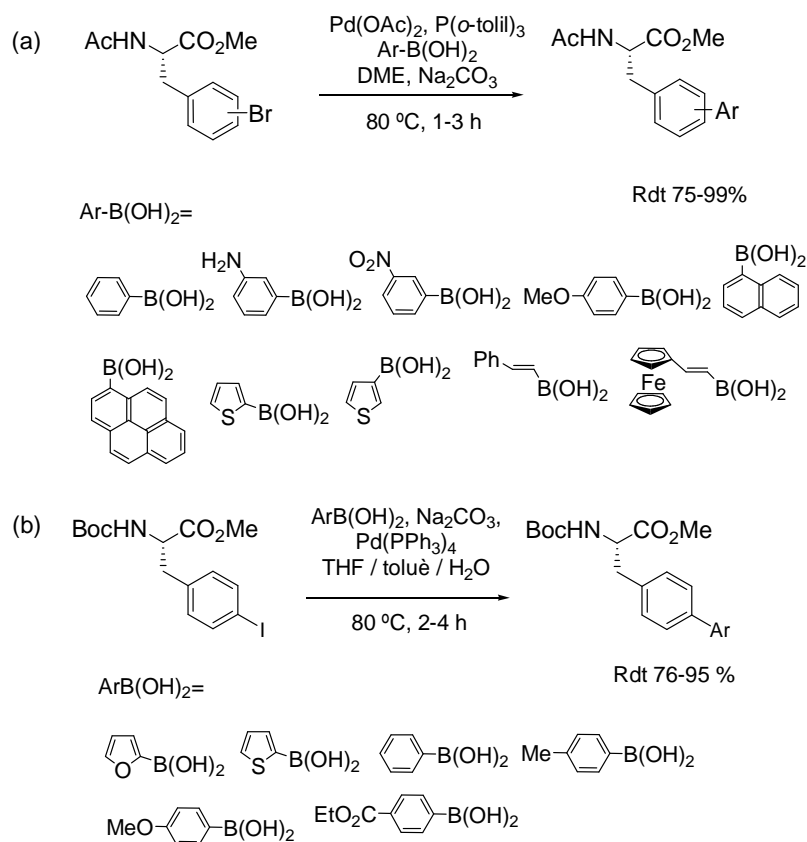


**Esquema 1.5** – Reacció de Suzuki-Miyaura per escalfament de microones en  $\text{H}_2\text{O}$  (Cohen et al., 2009)

### 1.2.3.2. Síntesi d'aminoàcids i pèptids biarílics per reacció de Suzuki-Miyaura

El fet que la reacció de Suzuki-Miyaura transcorri en condicions suaus i sigui compatible amb un ampli espectre de grups funcionals ha permès la seva aplicació a la síntesi d'aminoàcids i pèptids biarílics. En aquest sentit, s'ha utilitzat per a l'arilació de la cadena lateral aromàtica de la fenilalanina o la tirosina, tant en dissolució com en fase sòlida, emprant bé escalfament convencional o bé irradiació de microones.

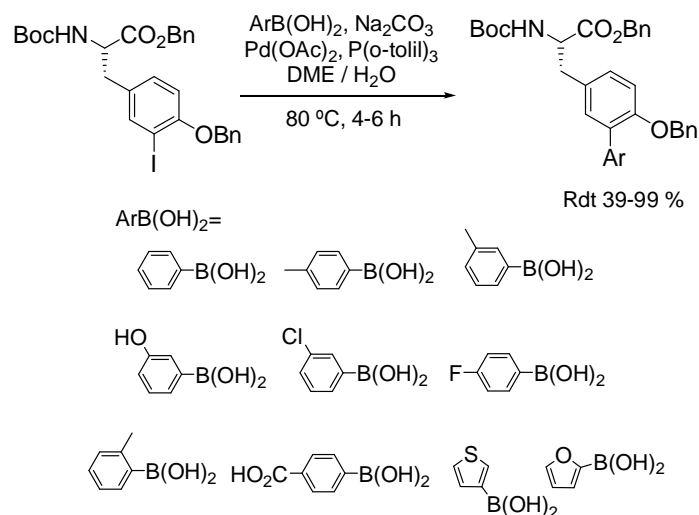
Pel que fa a la preparació d'aminoàcids biarílics en dissolució, a la literatura es troben nombrosos exemples on es parteix de l'halur de l'aminoàcid corresponent i es tracta amb àcids borònics. El 1994 Burk i col·laboradors varen publicar un dels primers exemples d'aquesta metodologia. Varen descriure la preparació de 2-, 3- i 4-aryl-L-fenilalanines a partir de la bromofenilalanina convenientment protegida (Esquema 1.6-a) (Burk et al., 1994). Més recentment, Kotha i Lahiri han preparat diverses 4-aryl-L-fenilalanines a partir de la 4-iodo-L-fenilalanina i diversos àcids borònics (Esquema 1.6-b) (Kotha i Lahiri, 2001).



**Esquema 1.6** – Síntesi d'arilfenilalanines en dissolució:

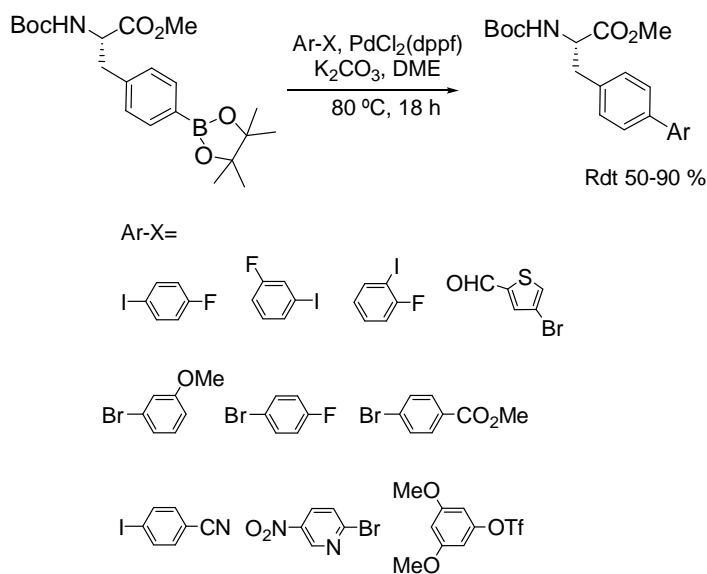
a) Burk et al. 1994; b) Kotha i Lahiri, 2001

Aquesta estratègia sintètica també s'ha aplicat per a la preparació d'ariltirosines. Així, per exemple, s'han sintetitzat 3-aryl-L-tirosines a partir d'una 3-iodo-L-tirosina, convenientment protegida, i diversos àcids borònics (Esquema 1.7) (Knör et al., 2006).



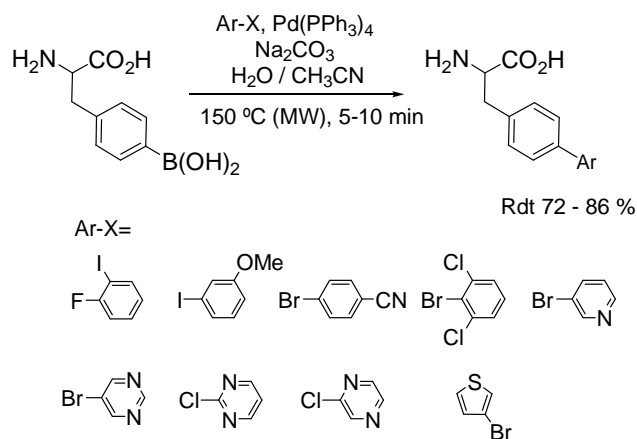
**Esquema 1.7** - Síntesi de 3-aryl-L-tirosines en dissolució (Knör et al., 2006)

Alternativament, els aminoàcids biarílics es poden preparar en dissolució a partir de l'àcid o l'ester borònic de l'aminoàcid corresponent i diversos halurs d'aril. Un dels primers exemples utilitzant aquesta estratègia, va consistir en la síntesi de 4-aryl-L-fenilalanines a través de l'acoblament creuat d'una 4-pinacolborono-L-fenilalanina, convenientment protegida, i diversos halurs i triflats d'aril (Esquema 1.8) (Firooznia et al., 1999).



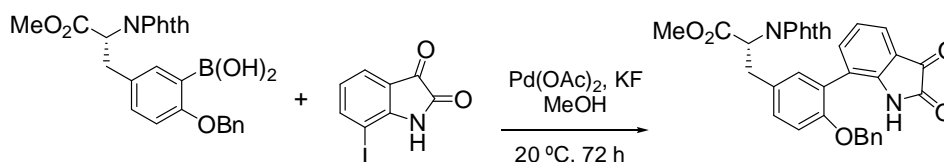
**Esquema 1.8** – Síntesi de 4-aryl-L-fenilalanines en dissolució (Firooznia et al., 1999)

En un exemple més recent, Gong i He varen descriure la síntesi de 4-arilfenilalanines racèmiques mitjançant una reacció de Suzuki-Miyaura assistida per microones. El temps de reacció era de 5-10 minuts a una temperatura de 150 °C (Esquema 1.9) (Gong i He, 2002).



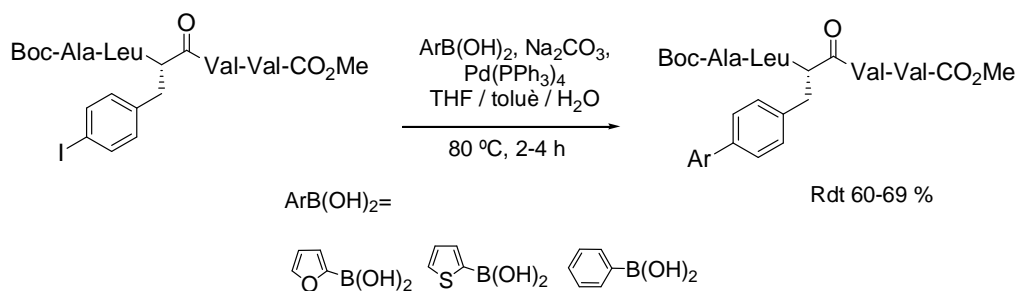
**Esquema 1.9** – Síntesi de 4-L-arilfenilalanines racèmiques en dissolució (Gong i He, 2002)

Anàlogament, Ma i Wu varen publicar la síntesi de la unitat biarílica del producte natural TMC-95 a través de l'acoblament de l'àcid borònic d'una L-tirosina, convenientment protegida, i 7-iodoisatina (Esquema 1.10) (Ma i Wu, 2001).



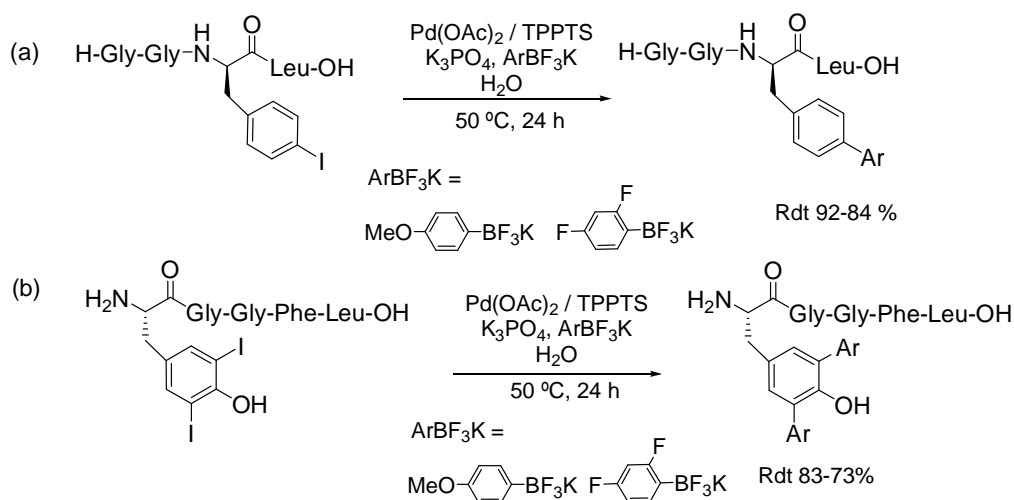
**Esquema 1.10** – Síntesi d'una 3-aril-L-tirosina en dissolució (Ma i Wu, 2001)

Pel que fa a la preparació de pèptids biarílics, cal destacar que els primers exemples d'aplicació de la reacció de Suzuki-Miyaura per a la modificació de seqüències peptídiques són en dissolució. Kotha i Lahiri varen preparar pèptids biarílics contenint un residu de 4-arilfenilalanina per reacció de la seqüència peptídica corresponent, que contenia un residu de 4-iodofenilalanina, amb diversos àcids borònics. Varen utilitzar les condicions descrites prèviament per a l'arilació de l'aminoàcid 4-iodofenilalanina (Esquema 1.11) (Kotha i Lahiri, 2001; Kotha i Lahiri, 2003).



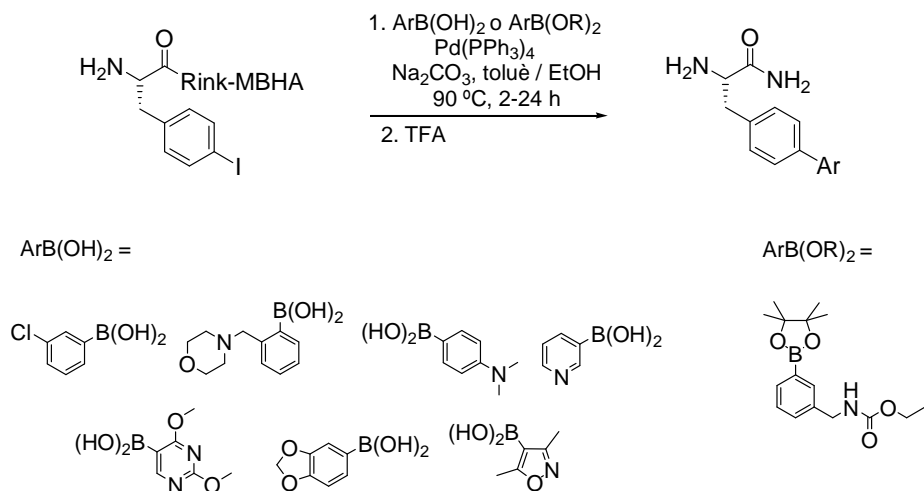
**Esquema 1.11** – Síntesi de pèptids biarílics contenint una 4-arilfenilalanina (Kotha i Lahiri, 2001 i 2003)

Més recentment, s'ha descrit la síntesi de pèptids biarílics contenint una arilfenilalanina o una ariltirosina a 50 °C i emprant aigua com a dissolvent. Aquestes condicions de reacció són compatibles amb una àmplia diversitat de pèptids, com ara seqüències hidrofíliques i termolàbils, i no es requereix la utilització de grups protectors. Concretament, es varen derivatitzar seqüències peptídiques contenint una 4-iodofenilalanina o una 3,5-diiodotirosina per reacció de Suzuki-Miyaura amb ariltrifluoroborats (Esquema 1.12) (Vilaró et al., 2008).



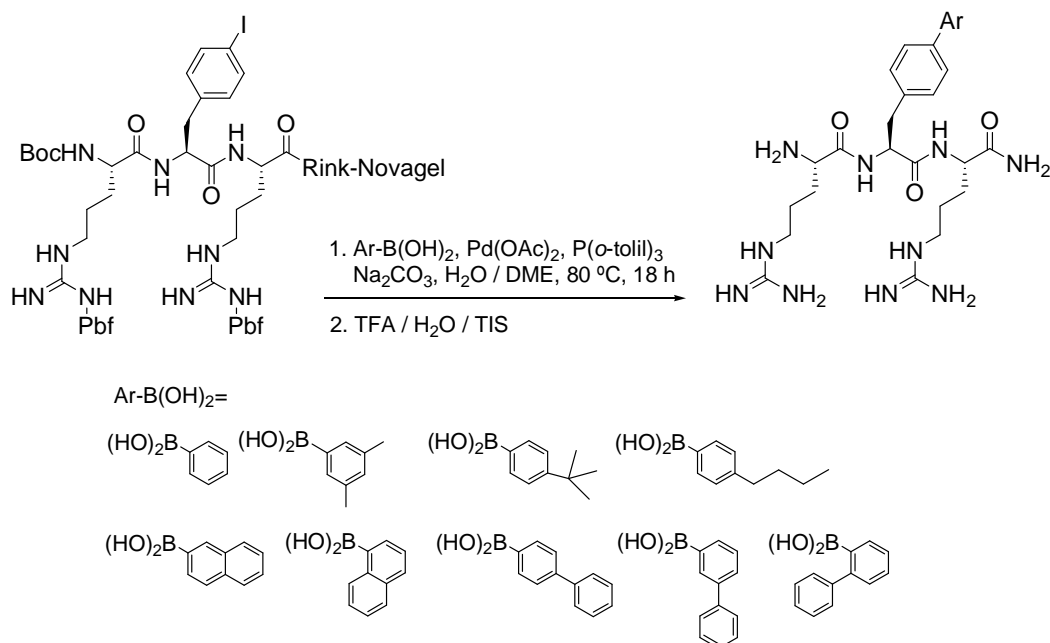
**Esquema 1.12** – Síntesi de pèptids biarílics contenint una (a) 4-arilfenilalanina o (b) una 3,5-diariltirosina (Vilaró et al., 2008)

Així mateix, la reacció de Suzuki-Miyaura s'ha adaptat a la síntesi d'aminoàcids biarílics en fase sòlida. Un bon exemple és la preparació d'una quimioteca de 4-arilfenilalanines per reacció de Suzuki-Miyaura entre 4-iodofenilalanina, ancorada a un suport sòlid, i diversos àcids o esters fenilborònics (Esquema 1.13) (Colombo et al., 2005).

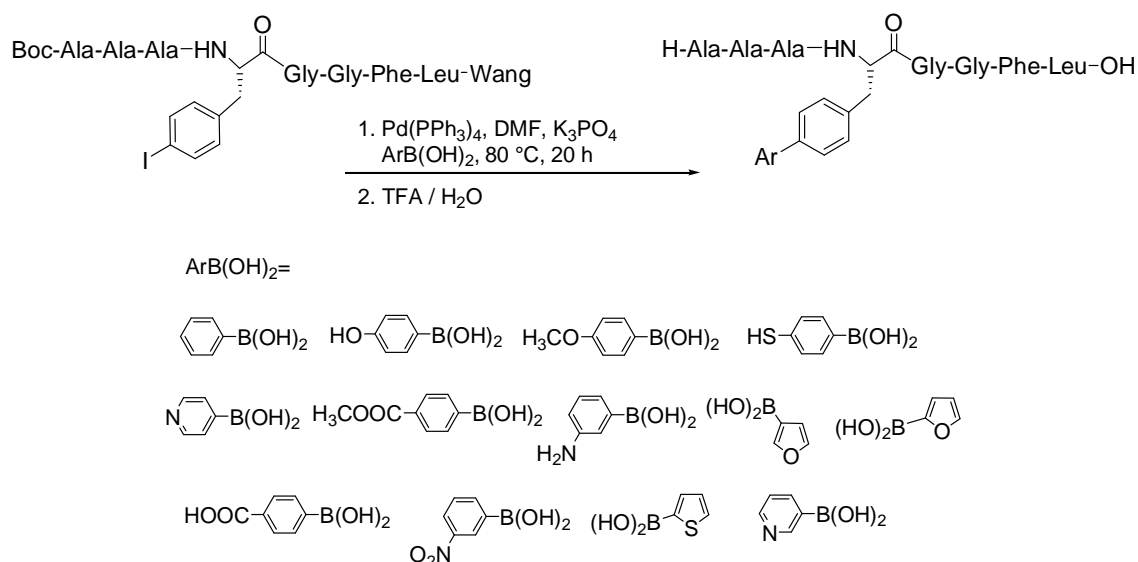


**Esquema 1.13** – Síntesi de 4-aryl-L-fenilalanines en fase sòlida (Colombo et al., 2005)

D'altra banda, tot i que el mètode més habitual per a la preparació de pèptids és la síntesi en fase sòlida, només s'han descrit dos exemples de modificacions de seqüències peptídiques a través d'una reacció de Suzuki-Miyaura en fase sòlida. Ambdós exemples impliquen la derivatització d'una 4-iodofenilalanina amb diversos àcids arilborònics (Esquema 1.14 i Esquema 1.15) (Haug et al., 2007; Doan et al., 2008).



**Esquema 1.14** – Síntesi de pèptids biarílics en fase sòlida (Haug et al., 2007).



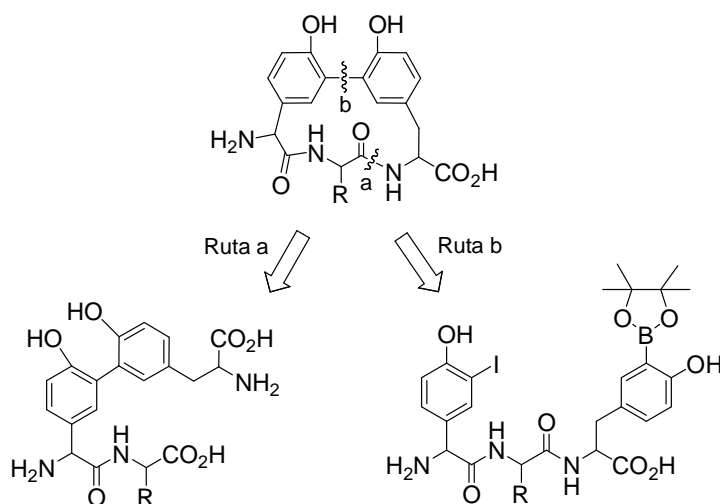
**Esquema 1.15** - Síntesi de pèptids biarílics en fase sòlida  
(Doan et al., 2008).

Cal destacar que, pel que fa a la síntesi d'aminoàcids o pèptids biarílics en fase sòlida, tots els exemples descrits fins al moment a la literatura inclouen l'arilació d'un residu de 4-halofenilalanina ancorat a un suport sòlid amb diversos àcids arilborònics i no existeixen exemples de preparació en fase sòlida de l'àcid o l'ester borònic de residus de fenilalanina o tirosina i la seva posterior arilació amb halurs d'aril.

### 1.2.3.3. Síntesi de pèptids cíclics per reacció de Suzuki-Miyaura

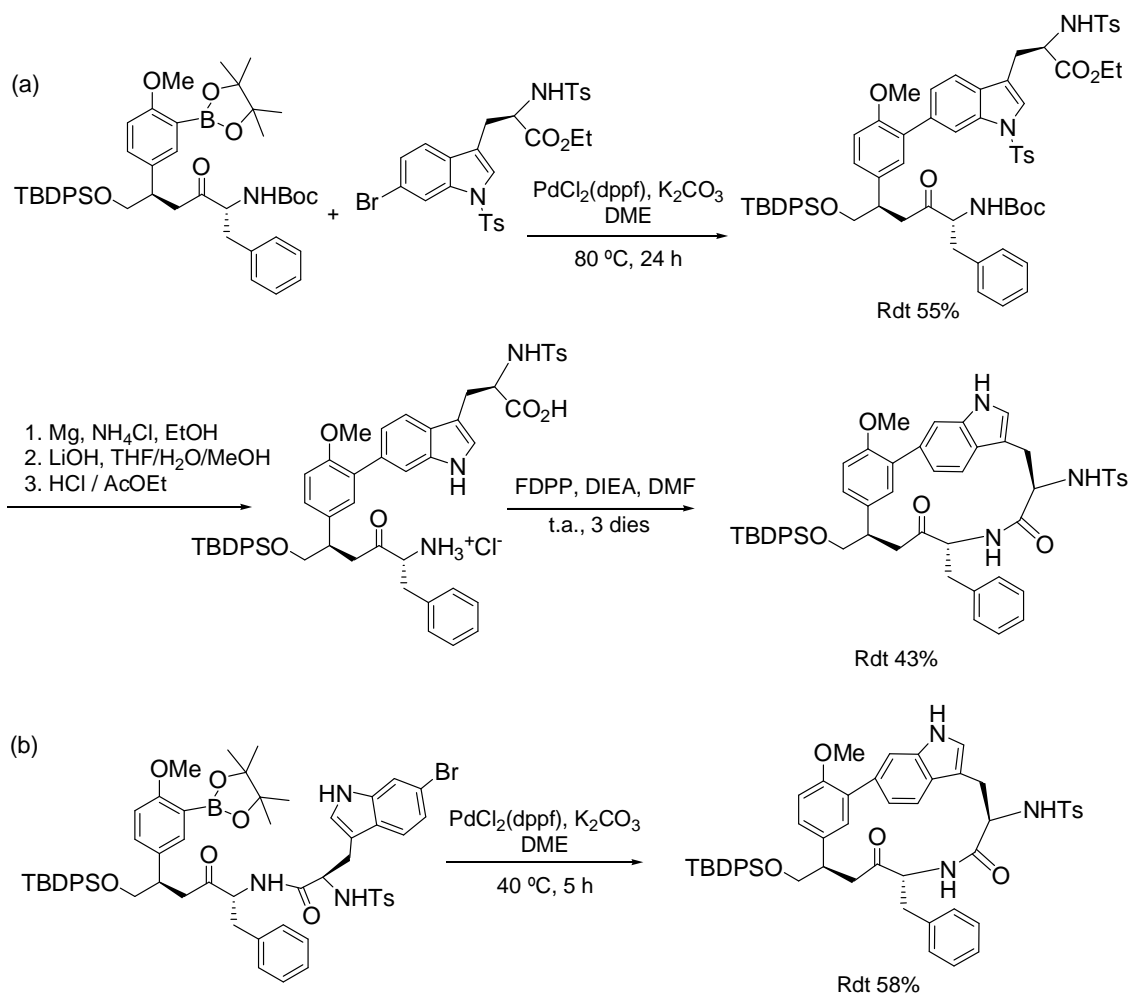
En els darrers anys s'ha dedicat una gran quantitat d'esforços a la preparació de pèptids cíclics que contenen ponts biaril entre les cadenes laterals de dos residus aromàtics. El pas clau de la síntesi d'aquests compostos és la macrociclació, per a la qual s'han plantejat dues rutes sintètiques diferents. Una d'aquestes rutes implica, en primer lloc, la formació de l'enllaç biarílic a través d'una reacció intermolecular de Suzuki-Miyaura, seguida de macrolactamització. Una ruta alternativa consisteix en la síntesi de la seqüència peptídica i posterior ciclació a través d'una reacció de Suzuki-Miyaura intramolecular (Esquema 1.16). Ambdues estratègies han estat utilitzades en la síntesi total de pèptids cíclics naturals com són la vancomicina, les arilomicines, les bifenomícines o els TMC-95.





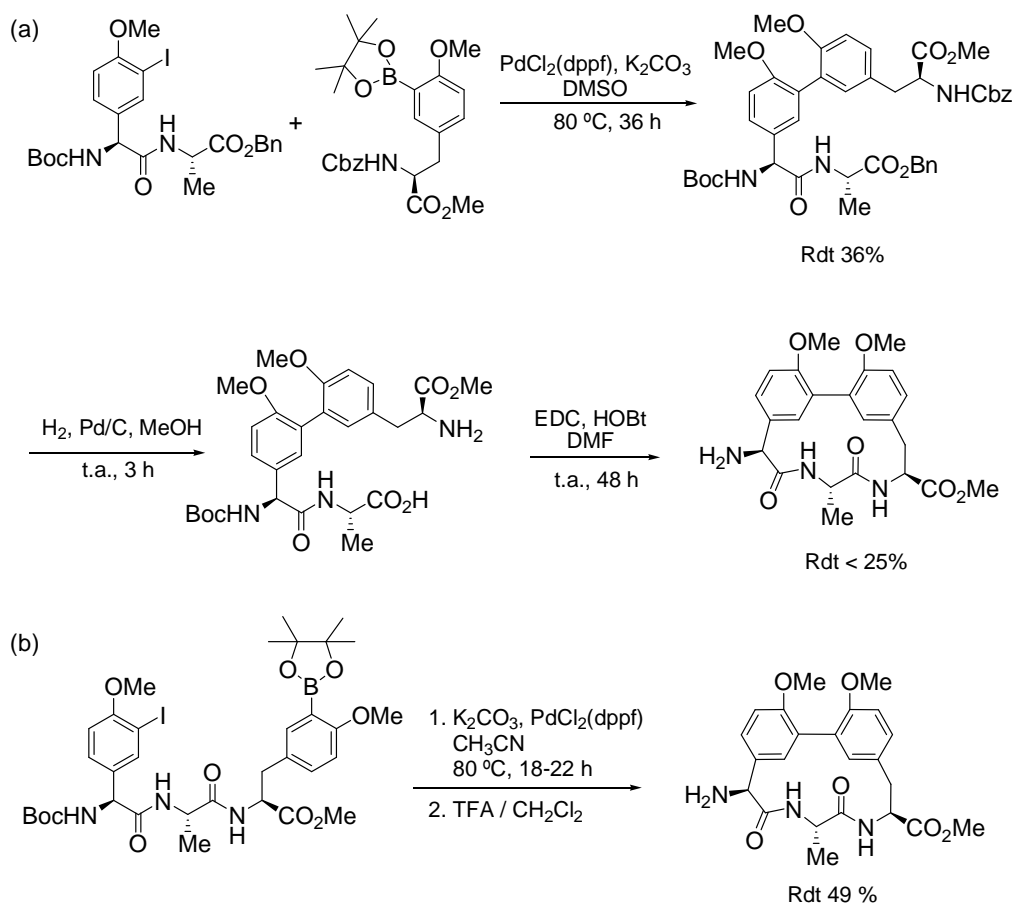
**Esquema 1.16** – Retrosíntesi per a la preparació de pèptids cíclics

En aquest sentit, Elder i Rich varen comparar aquestes dues estratègies per a la preparació del sistema biarílic de l'antibiòtic glicopeptídic complestatina (Elder i Rich, 1999). En una primera aproximació, es va realitzar l'acoblament creuat entre un boronopèptid i un 6-bromotriptòfan a través d'una reacció de Suzuki-Miyaura intermolecular utilitzant  $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$  com a catalitzador, a  $80\text{ }^\circ\text{C}$  durant 24 h. Tot seguit es varen eliminar els grups protectors dels extrems *N*- i *C*-terminal, i es va procedir a la lactamització utilitzant difenilfosfinat de pentafluorofenil (FDPP) i DIEA en DMF. D'aquesta manera, es va obtenir el producte biarílic cíclic amb un 43% de rendiment (Esquema 1.17-a). Com a alternativa, es va sintetitzar una seqüència peptídica lineal que contenia l'èster pinacolborònic i el bromoderivat, corresponents i, a continuació, es va realitzar la reacció de Suzuki-Miyaura intramolecular. La ciclació es va dur a terme també amb  $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$  a  $40\text{ }^\circ\text{C}$  durant 5 h i es va obtenir el producte cíclic amb un 58% de rendiment (Esquema 1.17-b). Aquesta estratègia va resultar ser més eficaç que l'anterior ja que la formació de l'enllaç biarílic va requerir menys temps i una temperatura inferior.



**Esquema 1.17** – Síntesi del sistema biarílic de la complestatina (Elder i Rich, 1999)

Més recentment, s'ha realitzat un estudi similar per a la preparació de l'arilomicina A<sub>2</sub> (Roberts et al., 2007). En aquest cas, en una primera aproximació es va acoblar un residu de 3-pinacolboronotirosina, convenientment protegit, amb un iododipèptid a través d'una reacció de Suzuki-Miyaura a 80 °C durant 36 h en presència de PdCl<sub>2</sub>(dppf). D'aquesta manera, es va obtenir el producte biarílic amb un 36% de rendiment. A continuació, es varen eliminar els grups protectors Cbz i Bn dels extrems N- i C-terminals, amb H<sub>2</sub> sobre Pd/C. Finalment, es va realitzar la macrolactamització utilitzant EDC i HOBt, obtenint-se el pèptid biarílic cíclic amb un rendiment inferior al 25% (Esquema 1.18-a). Com a alternativa, es va preparar un tripèptid que contenia una 3-boronotirosina i un iododerivat i es va realitzar un acoblament de Suzuki-Miyaura intramolecular. D'aquesta manera es va obtenir el producte biarílic esperat amb un 49% de rendiment (Esquema 1.18-b).

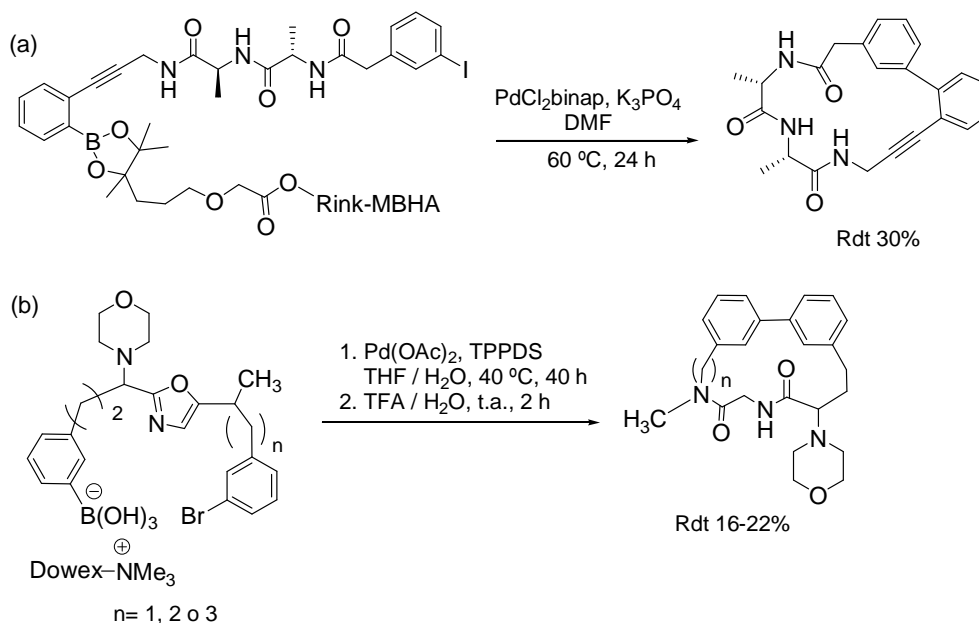


**Esquema 1.18** – Aproximacions a la síntesi de l'arilomicina A<sub>2</sub> (Roberts et al., 2007)

Així doncs, en ambdós exemples l'estratègia que implicava una macrociclació per reacció de Suzuki-Miyaura va ser més eficaç que aquella que requeria una macrolactamització, donant lloc als macrocicles biarílics amb millors rendiments i amb unes condicions de reacció més suaus. Una possible explicació d'aquest fet podria ser una preorganització dels anells aromàtics en el precursor lineal a causa de la interacció entre els dos sistemes  $\pi$ . D'aquesta manera la proximitat dels dos centres reactius facilitaria la reacció, ja sigui per simple estadística o per una disminució de l'energia d'activació (Blankenstein i Zhu, 2005).

Quant a la síntesi en fase sòlida de pèptids biarílics cíclics utilitzant una reacció de Suzuki-Miyaura, només s'han descrit dos exemples a la literatura. Burgess i col·laboradors varen preparar un compost biarílic mimètic dels girs  $\beta$  de les proteïnes (Esquema 1.19-a) (Li i Burgess, 1999). Aquests investigadors varen sintetitzar un precursor lineal que contenia el iododerivat i que estava unit al suport sòlid a través d'un ester borònic. D'aquesta manera, la macrociclació per reacció de Suzuki-Miyaura provocava el desancorament simultani del producte cíclic de la resina. De manera similar,

Vaultier i col·laboradors varen descriure la síntesi d'un macrocicle biarílic utilitzant una resina d'intercanvi iònic (Esquema 1.19-b) (Lobregat et al., 2001).



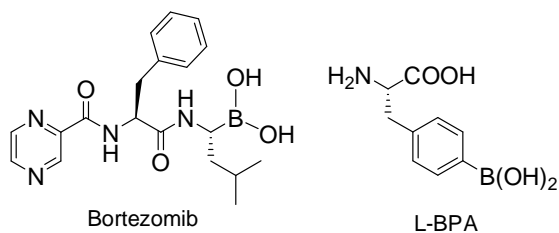
**Esquema 1.19** – Síntesi de macrocicles biarílics en fase sòlida:  
a) Li i Burgess, 1999; b) Lobregat et al., 2001

### 1.3. Síntesi d'àcids i esters arilborònics

#### 1.3.1. Àcids i esters arilborònics: importància i utilitat

Els àcids arilborònics (Ar-B(OH)<sub>2</sub>) i els esters arilborònics (Ar-B(OR)<sub>2</sub>) són els reactius més importants en les reaccions d'acoblament creuat de Suzuki-Miyaura. Aquests compostos són relativament estables a l'aire i a l'aigua, de manera que es poden sotmetre a una gran varietat de condicions de reacció. A més, són compatibles amb la presència de diversos grups funcionals i no són tòxics, ja que la seva degradació final produeix àcid bòric que no és contaminant per al medi ambient.

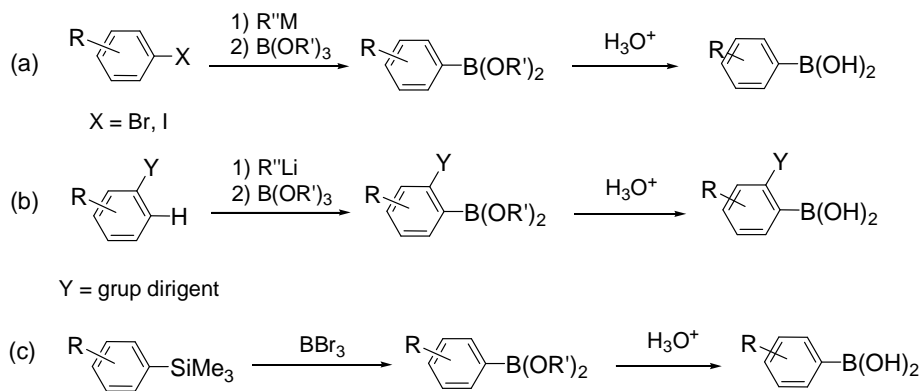
D'altra banda, els àcids borònics presenten importants propietats biològiques, actuant com a agents anticancerígens, sensors de sacàrids, mimètics d'anticossos o agents antimicrobians, entre d'altres (Yang i Gao, 2003). Cal destacar els agents anticancerígens bortezumib i L-4-boronofenilalanina (L-BPA) (Figura 1.4). El bortezumib (Velcade<sup>TM</sup>) és un dipèptid que actua com a inhibidor del proteasoma i s'utilitza per al tractament del mieloma múltiple. Aquest va ser el primer fàrmac comercialitzat que contenia un àcid borònic a la seva estructura (Adams et al.; 1998; Adams i Kauffman, 2004; Labutti, 2006). L'L-BPA és un fàrmac aprovat per al tractament clínic de tumors (Soloway et al., 1998; Sivaev, 2008).



**Figura 1.4** – Estructura del bortezomib i l'L-BPA

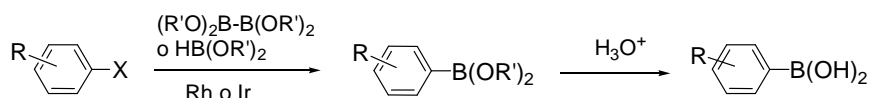
### 1.3.2. Mètodes generals per a la síntesi d'àcids i esters arilborònics

L'aproximació clàssica de preparació d'àcids arilborònics consisteix en la reacció d'un halur d'aril amb un complex organometàl·lic de magnesi o liti seguit de reacció amb un trialquilborat per donar un ester arilborònic, el qual s'hidrolitza per donar l'àcid borònic en condicions àcides suaus. Aquest és el procediment més àmpliament utilitzat a escala industrial (Esquema 1.20-a). Una alternativa a aquest mètode és l'ortometal·lació directa d'arens funcionalitzats amb grups dirigents com amines, èters, anilides, esters o amides, per donar un intermedi arilmetàl·lic que reacciona amb un trialquilborat per proporcionar el corresponent ester borònic (Esquema 1.20-b). També s'ha descrit la preparació d'esters borònics per transmetal·lació de silans i estannats amb halurs de bor (Esquema 1.20-c) (Hall, 2005).



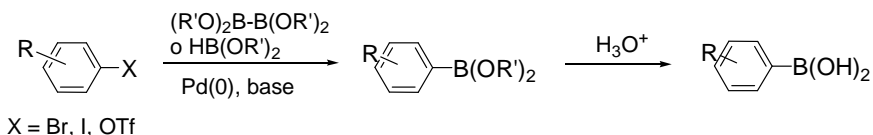
**Esquema 1.20** - Mètodes clàssics per a la síntesi d'àcids i esters borònics

Tots els mètodes anteriors es veuen limitats per la incompatibilitat de grups funcionals, com aldehids o esters, amb les espècies organometàl·liques implicades en la reacció i també per les condicions anhidres rigoroses que necessiten. Per substrats amb grups funcionals sensibles es pot utilitzar la borilació directa d'arens amb un ester diborínic com el bis(pinacolato)diboron ( $B_2Pin_2$ ) en presència d'un catalitzador de Rh o Ir (Esquema 1.21) (Hall, 2005).



**Esquema 1.21** – Preparació d'àcids i esters borònics per borilació directa

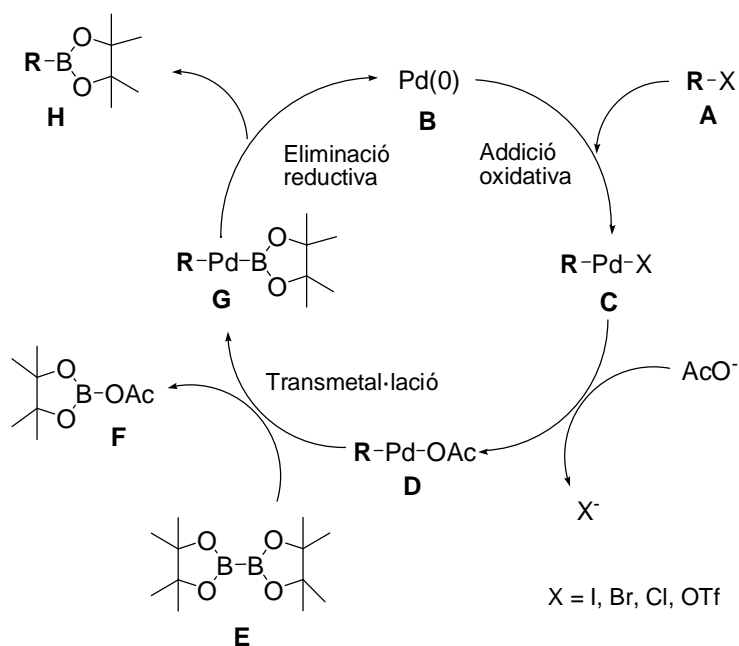
No obstant això, el mètode més utilitzat per a la preparació d'esters i àcids borònics de substrats amb grups funcionals sensibles és la reacció de Miyaura. Aquesta reacció consisteix en l'acoblament de  $B_2Pin_2$  amb un halur o triflat d'aril, en presència d'un catalitzador de pal·ladi i una base (Esquema 1.22).



**Esquema 1.22** - Preparació d'àcids i esters borònics per reacció de Miyaura

La base que dona millors resultats és KOAc. Bases més fortes com  $K_3PO_4$  i  $K_2CO_3$  provoquen la formació de productes secundaris biarílics per reacció del pinacolboronat amb l'halur d'aril de partida. El catalitzador que, en general, condueix a millors resultats és el  $PdCl_2(dppf)$ . D'altra banda, l'elecció del dissolvent també és important, ja que la reacció s'accelera en dissolvents polars seguint l'ordre  $DMSO \geq DMF > dioxà > toluè$  (Ishiyama, 1995).

La reacció de Miyaura transcorre a través d'un cycle catalític anàleg al mecanisme general de la reacció d'acoblament creuat de Suzuki-Miyaura (Esquema 1.23).

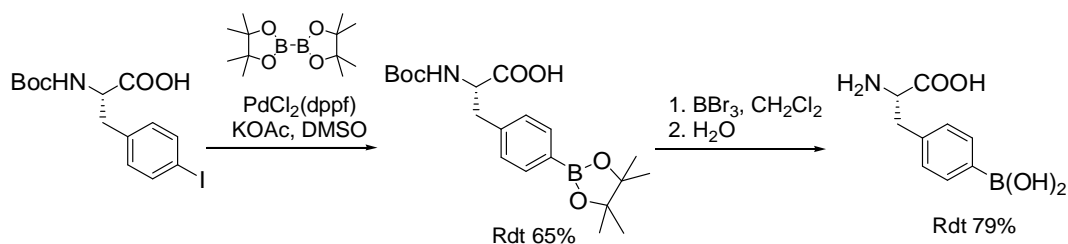


**Esquema 1.23** - Mecanisme de la reacció de Miyaura

En aquest cas, l'addició oxidativa de l'halur **A** sobre el complex de pal·ladi (0) **B** forma un complex de pal·ladi (II) **C**. Tot seguit, la base desplaça l'halur del complex de pal·ladi **C** per formar l'intermedi **D**. A continuació, una transmetal·lació entre els compostos **E** i **D** proporciona el complex de pal·ladi **G**. Finalment, l'eliminació reductiva en **G** genera el producte final **H** i regenera el complex inicial de pal·ladi **B**, al mateix temps que es tanca el cicle catalític.

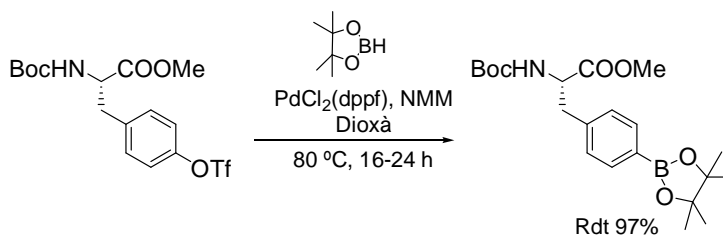
### 1.3.3. Síntesi d'àcids i esters arilborònics d'aminoàcids utilitzant la reacció de Miyaura

El fet que la reacció de Miyaura transcorre en condicions molt suaus determina la seva aplicació per a la preparació d'àcids borònics d'aminoàcids. Mitjançant aquesta metodologia s'ha preparat, per exemple, l'L-BPA. La primera síntesi d'aquest aminoàcid va consistir en l'acoblament creuat catalitzat per pal·ladi de Boc-4-iodo-L-fenilalanina amb  $B_2Pin_2$ , seguit d'eliminació del grup Boc i d'hidròlisi del boronat (Esquema 1.24) (Malan i Morin, 1998).



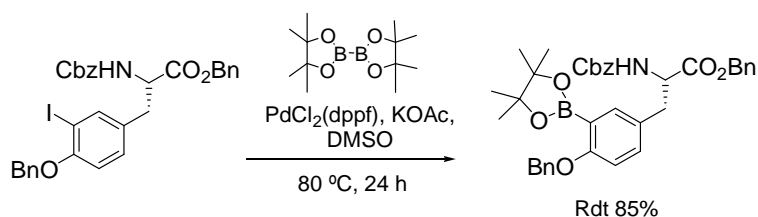
Esquema 1.24 – Síntesi de l'L-BPA (Malan i Morin, 1998)

Actualment, aquesta molècula continua despertant un gran interès i es continuen fent grans esforços per millorar-ne la síntesi. Un dels exemples més recents, descrit per Iimura i Yu, implica la síntesi d'un derivat d'L-BPA seguint les condicions de Masuda (Murata et al., 2000) per reacció del triflat d'una L-tirosina, convenientment protegida, amb pinacolborà utilitzant *N*-metilmorfolina (NMM) com a base (Esquema 1.25) (Iimura i Yu, 2010).



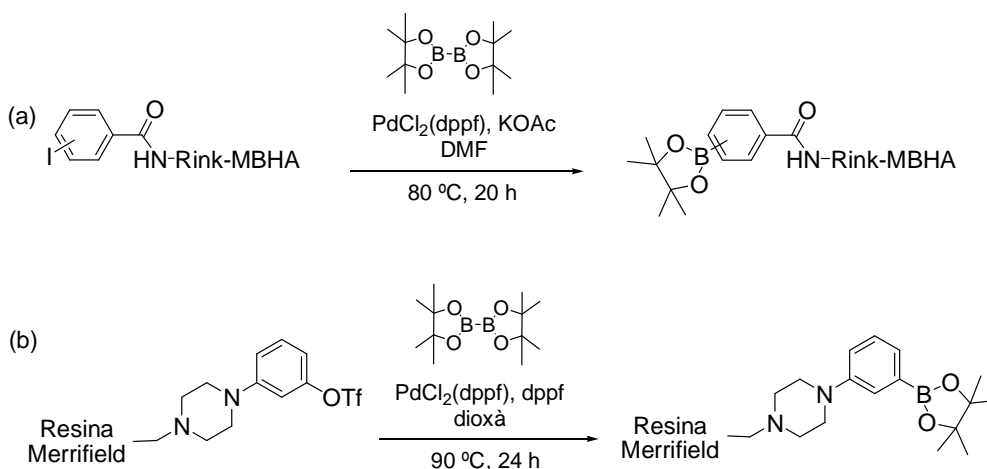
Esquema 1.25 – Síntesi de l'ester d'L-BPA protegit (Iimura i Yu, 2010)

Anàlogament, s'ha utilitzat la reacció de Miyaura per a la preparació d'esters borònics de tirosina. Així, per exemple, Hutton i col·laboradors varen sintetitzar l'ester pinacolborònic d'una tirosina amb bons rendiments (Esquema 1.26) (Skaff et al., 2005).



**Esquema 1.26** – Síntesi de l'ester pinacolborònic d'una tirosina (Skaff et al., 2005)

Tot i els avantatges de la síntesi en fase sòlida, s'han descrit pocs mètodes de preparació d'àcids i esters arilborònics ancorats a un suport sòlid i tot ells corresponen a compostos aromàtics simples. Per exemple, Piettre i Baltzer varen descriure la síntesi d'un pinacolboronat derivat de l'àcid benzoïc a partir de l'ancorament de l'àcid iodobenzoïc a un suport sòlid i posterior reacció de Miyaura (Esquema 1.27-a) (Piettre i Baltzer, 1997). Més recentment, Ruhland i col·laboradors varen descriure la reacció de Miyaura entre un aril triflat unit al suport sòlid i  $B_2Pin_2$  (Esquema 1.27-b) (Ruhland et al., 2004).



**Esquema 1.27** – Síntesi d'esters pinacolborònics en fase sòlida:

a) Piettre i Baltzer, 1997; b) Ruhland et al., 2004

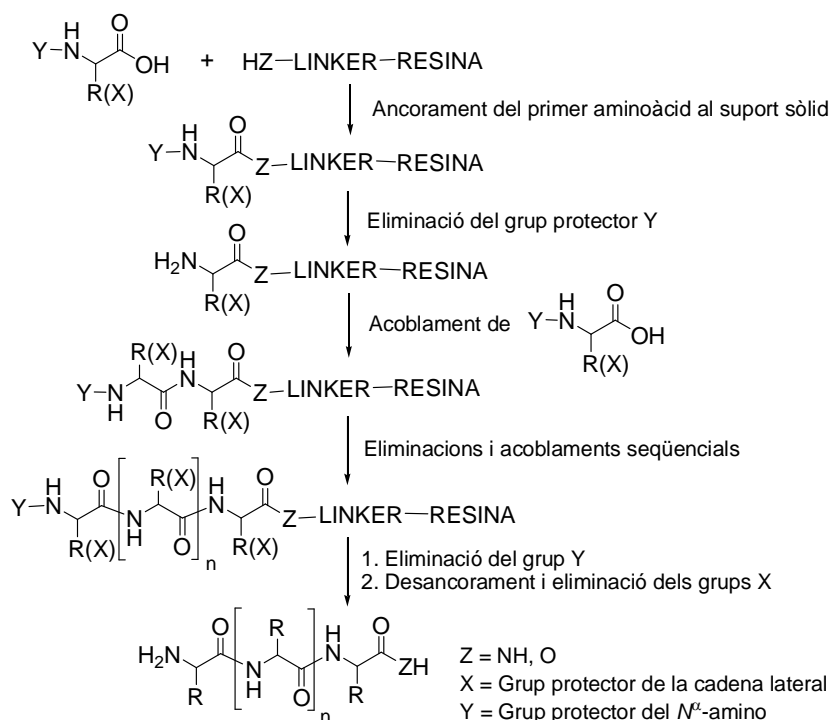
Fins al moment, no s'ha descrit la preparació d'àcids o esters borònics d'aminoàcids o pèptids per borilació d'un haloaminoàcid en fase sòlida.



## 1.4. Síntesi de pèptids en fase sòlida

Actualment la síntesi en fase sòlida s'utilitza tant per a la preparació de pèptids com de compostos orgànics de baix pes molecular. Aquesta metodologia sintètica consisteix en la unió covalent dels compostos a un suport polimèric insoluble i el desancorament posterior del compost objectiu un cop finalitzada la síntesi. Aquesta metodologia presenta diversos avantatges respecte a la síntesi en solució: es pot utilitzar un excés de reactius per tal de completar la reacció; el procés de purificació és molt senzill, ja que es basa en l'eliminació de reactius i subproductes solubles de la mescla de reacció per filtració; es poden utilitzar dissolvents amb punts d'ebullició elevats, com DMF, DMSO o NMP, sense la necessitat d'haver-los d'evaporar; i, a més, permet l'automatització de la síntesi, ja que és un procés repetitiu simple (Zaragoza-Dörwald, 2000; Grant, 1992).

Pel que fa a la preparació de pèptids en fase sòlida, la síntesi s'inicia amb l'ancorament al suport sòlid del primer aminoàcid, convenientment protegit. Aquest suport habitualment incorpora un *linker* per facilitar el desancorament al final de la síntesi. A continuació, s'elimina el grup protector del grup  $N^{\alpha}$ -amino de forma selectiva i s'ancora el següent aminoàcid. Es realitzen els cicles d'eliminació/acoblament necessaris fins a l'obtenció de la seqüència peptídica desitjada. Finalment, s'eliminen els grups protectors i es desancora el pèptid del suport sòlid (Esquema 1.28). L'èxit de la síntesi de pèptids en fase sòlida requereix l'elecció adequada del suport sòlid, el *linker*, els reactius d'acoblament i els grups protectors.



Esquema 1.28 – Esquema general de síntesi de pèptids en fase sòlida

### 1.4.1. Suport sòlid

El suport sòlid és un polímer que ha de complir una sèrie de requeriments per ser útil per a una estratègia de síntesi en fase sòlida. Ha de ser inert a les condicions utilitzades durant la síntesi, ha de tenir bona estabilitat mecànica i ha de ser completament insoluble en els dissolvents utilitzats. A més, ha de contenir grups funcionals que permetin la unió amb el primer aminoàcid de la seqüència o amb un *linker* adequat (Kates i Albericio, 2000).

Els suports més utilitzats són les resines, de les quals les més usuals són els polímers de poliestirè (PS) entrecreuats amb un 1% d'1,3-divinilbenzè i amb una funcionalització entre 0.2 i 1.0 mmol/g. Les bitlles de polímer sec tenen un diàmetre mitjà de 50 µm, i s'inflen unes 2.5-6.2 vegades en volum en els dissolvents utilitzats en la síntesi, com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> o DMF. Així doncs, la química en fase sòlida té lloc en un gel solvatat on els grups reactius són accessibles. Una de les resines de poliestirè-divinilbenzè més utilitzades per a la preparació d'amides i amines és la resina 4-metilbenzhidrilamina (MBHA) (Figura 1.5).

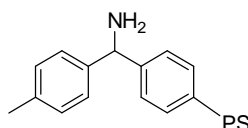
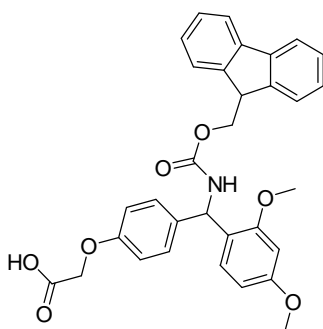


Figura 1.5 - Resina MBHA

### 1.4.2. Linker

El *linker* és un compost bifuncional que s'uneix, d'una banda, al suport sòlid polimèric i, de l'altra, al primer aminoàcid de la seqüència peptídica. La unió del *linker* amb el suport ha de ser estable a les condicions de síntesi i de desancorament (James, 1999; Guillier et al., 2000).

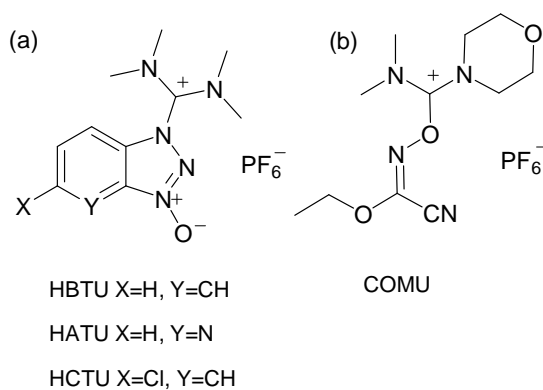
S'ha descrit una gran varietat de *linkers* i la seva elecció depèn de les condicions de desancorament que es vulguin utilitzar i del grup funcional desitjat a l'extrem C-terminal del pèptid. Per a la síntesi de pèptids amida terminal, un dels *linkers* més usuals és l'àcid 4'-{[R,S]-α-[1-(9-fluorenil)metoxicarbonilamino]-2,4-dimetoxibenzil}-fenoxiacètic o *linker* Fmoc-Rink-amida (Figura 1.6). Després de l'eliminació del grup protector 9-fluorenilmetoxicarbonil (Fmoc), l'acilació del grup amino lliure es pot realitzar mitjançant mètodes estàndard de formació d'enllaços amida. La unió del pèptid al *linker* Rink és estable en un ampli rang de condicions de reacció, però permet el desancorament del pèptid de la resina mitjançant un tractament amb àcid trifluoroacètic (TFA).



**Figura 1.6** – Linker Fmoc-Rink-amida

### 1.4.3. Reactius d'acoblament

La formació dels enllaços amida entre el grup  $\alpha$ -carboxílic d'un aminoàcid i l' $\alpha$ -amino del següent es realitza a temperatura ambient utilitzant reactius d'acoblament que activen *in situ* el grup  $\alpha$ -carboxílic. Un dels tipus de reactius més utilitzats són les sals d'amini com HBTU, HCTU o HATU, ja que donen resultats excel·lents (Figura 1.7-a) (Valeur i Bradley, 2009). Ara bé, s'ha descrit que aquests derivats de l'1-hidroxibenzotriazole són explosius (Wehrstedt et al., 2005) i poden causar reaccions al·lèrgiques com dermatitis o asma. Recentment, s'han descrit alternatives més segures com l'ús del COMU (Figura 1.7-b) (El-Faham et al., 2009).



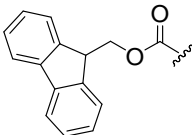
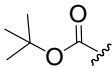

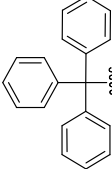
**Figura 1.7** – Reactius d'acoblament

### 1.4.4. Grups protectors

Per evitar reaccions secundàries durant l'etapa d'acoblament dels aminoàcids, cal utilitzar grups protectors temporals del grup  $N^{\alpha}$ -amino i grups protectors permanents dels grups funcionals de les cadenes laterals dels aminoàcids trifuncionals. Aquests darrers han de ser estables a les condicions d'eliminació dels grups temporals i, normalment, s'eliminen durant l'etapa de desancorament del pèptid de la resina.

Una de les estratègies ortogonals més comunes per a la síntesi de pèptids és la Fmoc/*t*Bu, en la qual el grup Fmoc protegeix el grup  $N^{\alpha}$ -amino dels aminoàcids i el grup *tert*-butil (*t*Bu) i els seus derivats com el *tert*-butiloxicarbonil (Boc), els grups funcionals de les cadenes laterals (Taula 1.4) (Isidro-Llobet et al., 2009).

**Taula 1.4** - Grups protectors habituals en l'estratègia Fmoc/*t*Bu i condicions d'eliminació

Estructura	Nom	Eliminació
	9-Fluorenilmetoxycarbonil (Fmoc)	Piperidina 30%
	<i>tert</i> -Butiloxicarbonil (Boc)	TFA 95%
	<i>tert</i> -Butil ( <i>t</i> Bu)	TFA 95%
	Tritil (Trt)	TFA 0.2%



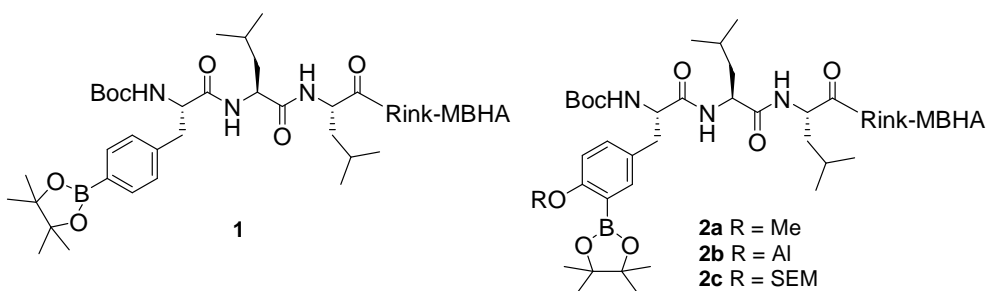
## **2. OBJECTIUS**

---

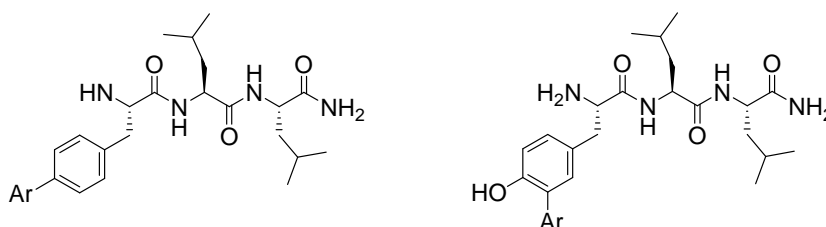


L'objectiu principal que es va proposar per aquesta tesi doctoral va ser la síntesi de pèptids biarílics per borilació en fase sòlida i posterior arilació. Concretament, els objectius plantejats varen ser:

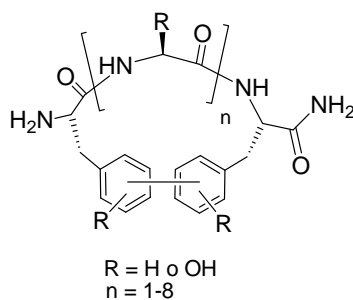
- Estudi de la borilació en fase sòlida de residus de fenilalanina i tirosina a través d'una reacció de Miyaura, utilitzant com a sistemes model les tripeptidil resines Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**) i Boc-Tyr(3-I,OR)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2**), on R correspon al grup protector metil, al·lil o SEM.



- Estudi de la síntesi de pèptids biarílics lineals per arilació en fase sòlida de residus de boronofenilalanina i boronotirosina a través d'una reacció de Suzuki-Miyaura, emprant com a sistemes model H-Phe(4-Ar)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> i H-Tyr(3-Ar)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>.



- Estudi de la síntesi en fase sòlida de pèptids biarílics cíclics de 3 a 10 aminoàcids per formació d'un enllaç biarílic entre les cadenes laterals de dos residus aromàtics.

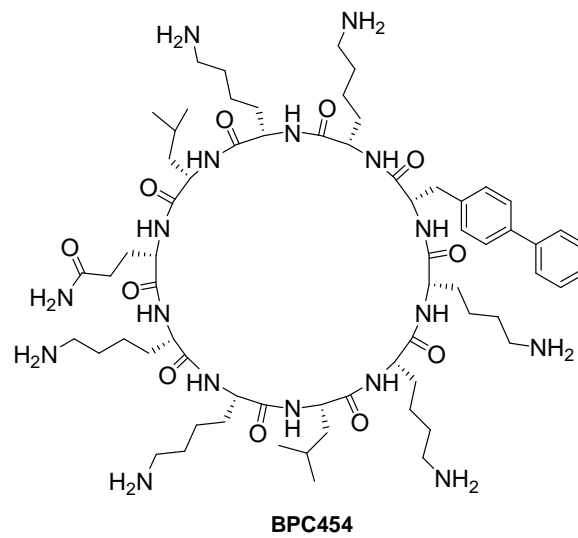




## 2. Objectius

---

- Estudi de la síntesi d'un anàleg del pèptid cíclic antimicrobià BPC194 per arilació del residu de fenilalanina.



- Avaluació de l'activitat antimicrobiana i hemolítica dels pèptids sintetitzats.

### **3. BORILACIÓ EN FASE SÒLIDA DE RESIDUS DE FENILALANINA I TIROSINA**

---



La borilació en fase sòlida de residus de fenilalanina o tirosina, i en general, de qualsevol aminoàcid aromàtic present en una seqüència peptídica, no ha estat descrita fins al moment. Aquest tipus de reacció seria una eina molt útil per a la preparació de pèptids modificats. D'una banda, proporcionaria una àmplia diversitat d'àcids borònics peptídics, els quals tenen un interès creixent com a agents farmacèutics (vegeu Apartat 1.2.1). D'altra banda, s'obtidrien pèptids borilats ancorats al suport sòlid que es podrien arilar amb una gran varietat d'halurs d'aril a través de la reacció d'acoblament creuat de Suzuki-Miyaura per donar pèptids biarílics. A més, aquesta aproximació seria més versàtil que l'acoblament entre un haloaminoàcid unit a un suport sòlid i un àcid arilborònic, ja que el nombre d'halurs d'aril comercials és més elevat que el d'àcids arilborònics.

En base a aquestes consideracions, en aquesta tesi doctoral es va plantejar estudiar la borilació en fase sòlida de residus de fenilalanina o tirosina presents en una seqüència peptídica a través d'una reacció de Miyaura. Amb aquest objectiu es varen utilitzar com a sistema model les tripeptidil resines Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**) i Boc-Tyr(3-I,R)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2**).

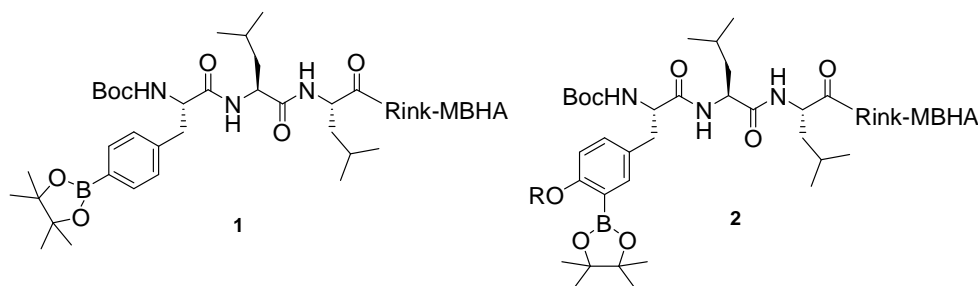
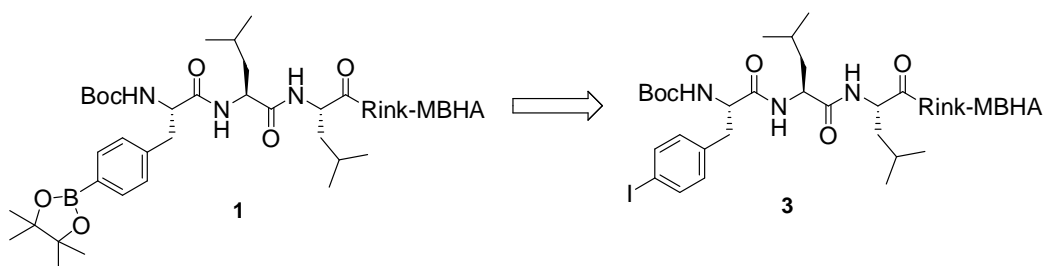


Figura 3.1 – Estructura de les tripeptidil resines **1** i **2**

### 3.1. Borilació en fase sòlida d'un residu de fenilalanina

El primer objectiu d'aquest estudi va ser la síntesi de la tripeptidil resina Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**). L'estratègia sintètica plantejada va consistir en la preparació de Boc-Phe(4-I)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**3**) i posterior borilació de Miyaura (Esquema 3.1).



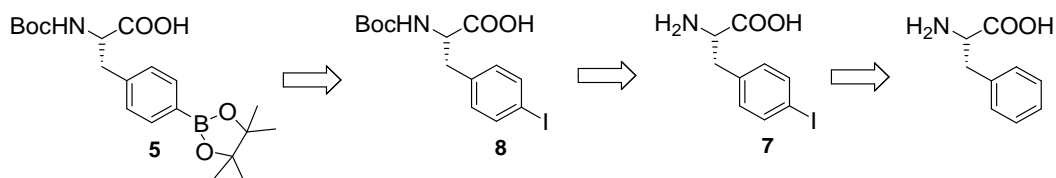
Esquema 3.1 – Retrosíntesi per a la preparació de Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**)

### 3.1.1. Síntesi de Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (1) per acoblament de Boc-Phe(4-BPin)-OH (5) a un suport sòlid

Per tal de disposar de H-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (4) com a referència per aquest estudi, en primer lloc, es va plantejar la preparació de Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (1) per acoblament de Boc-Phe(4-BPin)-OH (5) a la dipeptidil resina H-Leu-Leu-Rink-MBHA (6).

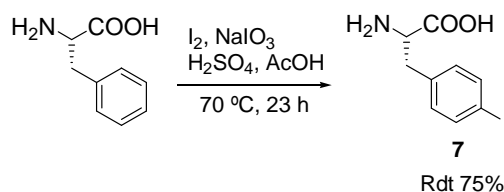
#### 3.1.1.1. Síntesi de Boc-Phe(4-BPin)-OH (5)

Per a la síntesi de Boc-Phe(4-BPin)-OH (5) es va proposar la ruta retrosintètica representada a l'Esquema 3.2. Aquesta ruta implicava la iodació de la posició 4 de l'anell de benzè de la fenilalanina, la protecció del grup N<sup>α</sup>-amino i, finalment, la formació del boronat.



**Esquema 3.2** - Esquema retrosintètic per a la preparació de Boc-Phe(4-BPin)-OH (5)

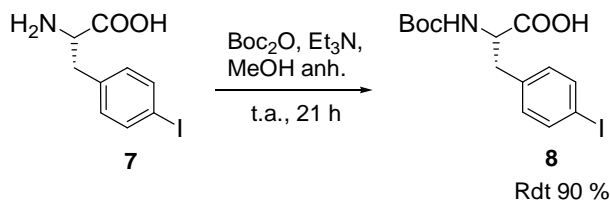
La iodació de la posició 4 de l'anell aromàtic de la fenilalanina es va realitzar utilitzant les condicions descrites per Lei. Es va tractar la fenilalanina amb I<sub>2</sub>, NaIO<sub>3</sub> i H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en AcOH, a 70 °C durant 23 hores (Lei et al., 1994). D'aquesta manera es va obtenir H-Phe(4-I)-OH (7) amb un rendiment del 75% (Esquema 3.3).



**Esquema 3.3** – Síntesi de H-Phe(4-I)-OH (7)

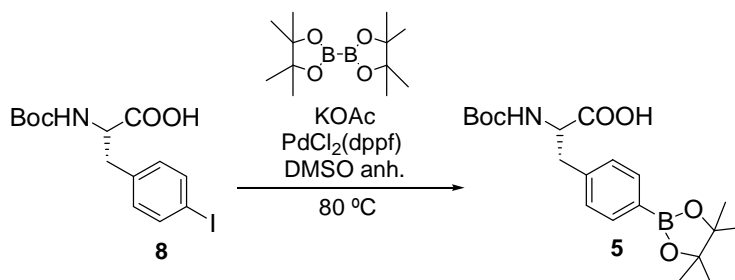
A continuació, el grup N<sup>α</sup>-amino de H-Phe(4-I)-OH (7) es va protegir amb el grup *tert*-butiloxicarbonil (Boc). Es va triar aquest grup protector perquè és compatible amb les condicions bàsiques que requereix la formació del boronat i perquè es pot eliminar fàcilment en medi àcid en l'etapa de desancorament del pèptid del suport sòlid. La introducció del grup Boc es va realitzar tractant H-Phe(4-I)-OH (7) amb Et<sub>3</sub>N i (Boc)<sub>2</sub>O en

MeOH anhidre, a temperatura ambient durant 21 hores. El producte desitjat Boc-Phe(4-I)-OH (**8**) es va obtenir amb un 90% de rendiment (Esquema 3.4).



**Esquema 3.4** – Síntesi de Boc-Phe(4-I)-OH (**8**)

En aquest moment, es va procedir a estudiar la preparació de l'ester pinacolborònic de la fenilalanina, segons les condicions de Malan i Morin. Es va tractar Boc-Phe(4-I)-OH (**8**) amb bis(pinacolato)diboron ( $\text{B}_2\text{Pin}_2$ ),  $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$  i KOAc, en DMSO anhidre a 80 °C durant 24 hores i es va obtenir **5** amb un 20% de rendiment, tot i que a l'article original s'obtenia amb un 65% de rendiment (Esquema 3.5) (Malan i Morin, 1998). Es varen assajar diverses condicions de reacció augmentant els equivalents de  $\text{B}_2\text{Pin}_2$  i  $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ , i incrementant el temps de reacció. Malauradament, els rendiments obtinguts en aquesta reacció no varen millorar (25-30%, Taula 3.1).



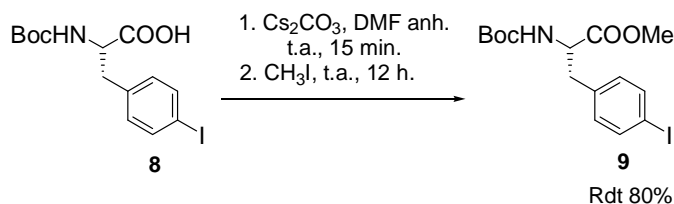
**Esquema 3.5** - Síntesi de Boc-Phe(4-BPin)-OH (**5**)

**Taula 3.1** – Condicions assajades per a la preparació de Boc-Phe(4-BPin)-OH (**5**)

Prova	$\text{B}_2\text{Pin}_2$ (eq)	$\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (eq)	KOAc (eq)	Temps (h)	Rdt (%)
1	1.15	0.03	4	24	20
2	1.65	0.03	4	24	25
3	2.15	0.06	4	48	30

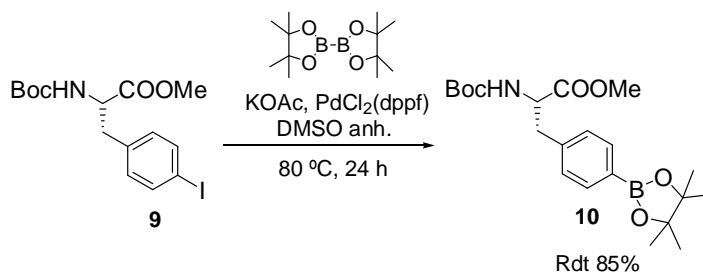
Davant d'aquests resultats, es va decidir protegir l'àcid carboxílic en forma de metil ester, ja que la majoria d'exemples de síntesi d'esters pinacolborònics solen realitzar-se amb els àcids carboxílics protegits. Amb aquesta finalitat, es va tractar Boc-Phe(4-I)-OH (**8**) amb  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  en DMF anhidre a temperatura ambient durant 15 minuts. Posteriorment, es

va addicionar  $\text{CH}_3\text{I}$  i la mescla resultant es va agitar a temperatura ambient durant 12 hores. Es va obtenir Boc-Phe(4-I)-OMe (**9**) amb un 80% de rendiment (Esquema 3.6).



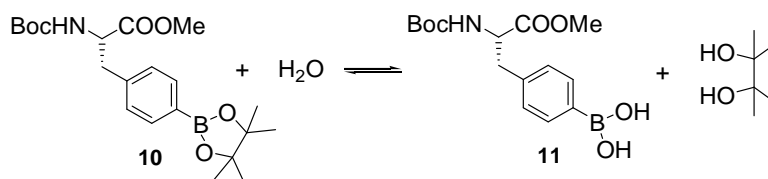
**Esquema 3.6** – Síntesi de Boc-Phe(4-I)-OMe (**9**)

Tot seguit, es va procedir a la síntesi de l'ester pinacolborònic corresponent tractant Boc-Phe(4-I)-OMe (**9**) amb  $\text{B}_2\text{Pin}_2$  (2 eq),  $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$  (0.06 eq) i KOAc (4 eq) en DMSO anhidre, a 80 °C durant 24 hores (Skaff et al., 2005). Aquestes condicions varen conduir al producte desitjat **10** amb un 85% de rendiment (Esquema 3.7).

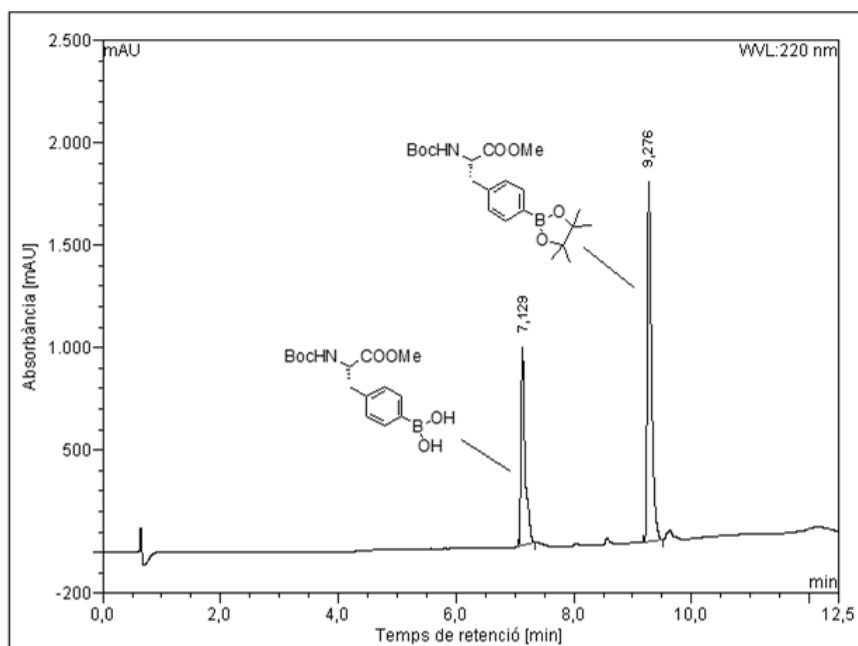


**Esquema 3.7** - Síntesi de Boc-Phe(4-BPin)-OMe (**10**)

El compost Boc-Phe(4-BPin)-OMe (**10**) es va caracteritzar per  $^1\text{H}$ -RMN,  $^{13}\text{C}$ -RMN i ESI-MS. Quan es va analitzar per HPLC es varen observar dos pics a temps de retenció 7.1 i 9.3 min, que es varen assignar a l'àcid borònic **11** i al boronat **10**, respectivament (Figura 3.2, Esquema 3.8). La presència de l'àcid borònic **11** es va atribuir a la hidròlisi parcial de l'ester pinacolborònic **10** durant l'anàlisi per HPLC (Schulz et al., 2004), ja que es va realitzar en fase reversa emprant com a fase mòbil mesclades d' $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$  en presència de TFA. De fet, s'ha descrit que la hidròlisi dels esters borònics és un equilibri amb els corresponents àcid borònic i alcohol (Hall, 2005).

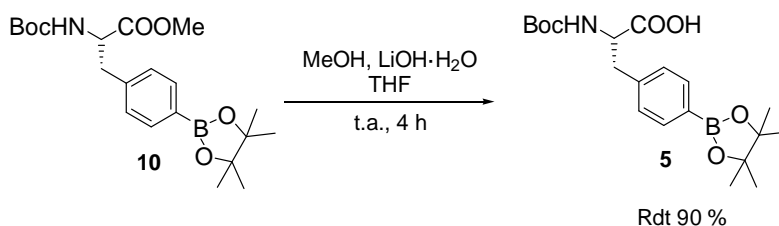


**Esquema 3.8** – Hidròlisi de l'ester pinacolborònic **10**



**Figura 3.2** – HPLC del cru de síntesi de Boc-Phe(4-BPin)-OMe (**10**)

Finalment, per poder ancorar l'aminoàcid a la resina a través de la seva funció àcid carboxílic, es va hidrolitzar l'ester metàilic de **10** per tractament amb LiOH·H<sub>2</sub>O en MeOH i THF, a temperatura ambient durant 4 hores. Es va obtenir Boc-Phe(4-BPin)-OH (**5**) amb un 90% de rendiment (Esquema 3.9). Aquest compost es va caracteritzar per <sup>1</sup>H-RMN, <sup>13</sup>C-RMN i ESI-MS. Anàlogament al cas anterior, es varen observar dos pics per HPLC: l'un a un temps de retenció de 8.6 min, corresponent al boronat; i l'altre a 6.5 min, corresponent a l'àcid borònic resultant de la hidròlisi parcial de **5**.



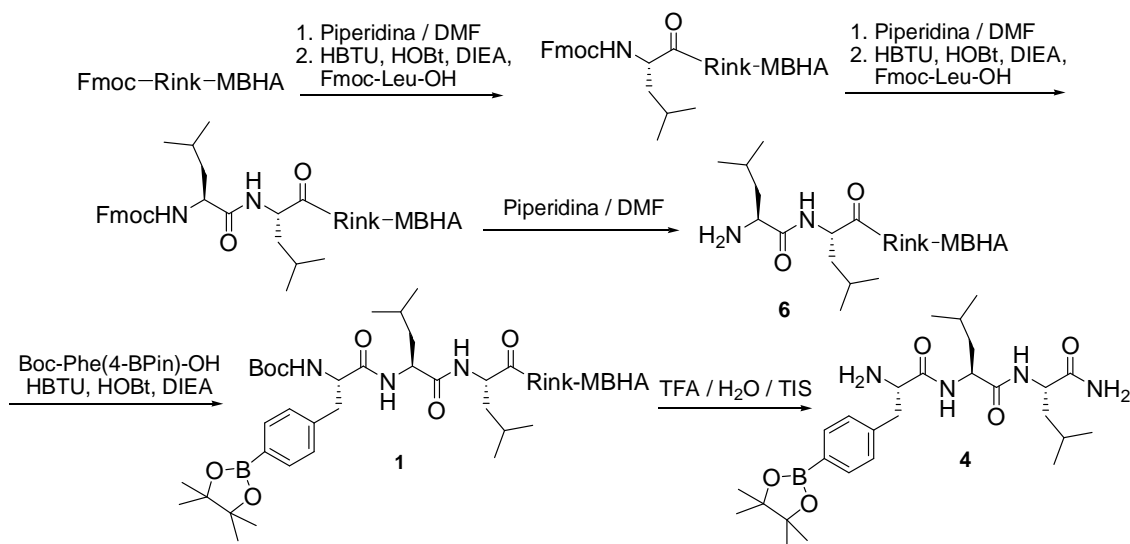
**Esquema 3.9** – Síntesi de Boc-Phe(4-BPin)-OH (**5**)

### 3.1.1.2. Síntesi de Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**)

Per a l'obtenció de Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**) va ser necessari, en primer lloc, preparar la dipeptidil resina H-Leu-Leu-Rink-MBHA (**6**). Aquesta dipeptidil resina es va preparar seguint una estratègia Fmoc/*t*Bu. Com a suport sòlid es va utilitzar una resina MBHA comercial que porta incorporat el *linker* Fmoc-Rink-amida. Després de l'eliminació del grup Fmoc per tractament amb piperidina en DMF es va acoblar Fmoc-Leu-OH utilitzant HBTU, HOBt i DIEA. A continuació, es va eliminar el grup Fmoc i es va acoblar

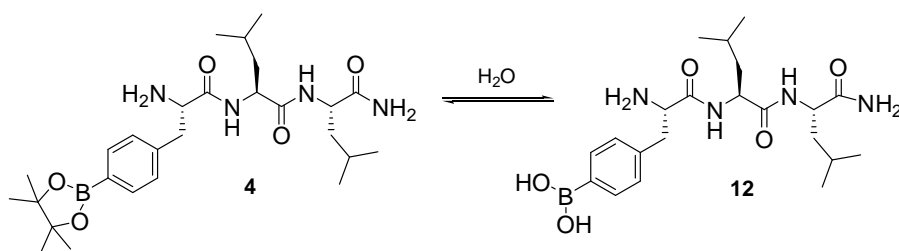


el segon residu de Fmoc-Leu-OH seguint el mateix procediment. Una alíquota de la resina resultant es va tractar amb TFA/H<sub>2</sub>O/TIS proporcionant Fmoc-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>, que es va analitzar per HPLC (98% puresa, t<sub>R</sub> = 8.8 min). La resta de resina es va tractar amb piperidina/DMF per obtenir H-Leu-Leu-Rink-MBHA (**6**). A continuació, es va ancorar l'aminoàcid Boc-Phe(4-BPin)-OH (**5**) a la resina **6** seguint el mateix procediment. D'aquesta manera es va obtenir la tripeptidil resina Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**) (Esquema 3.10).



**Esquema 3.10** – Síntesi de Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**)

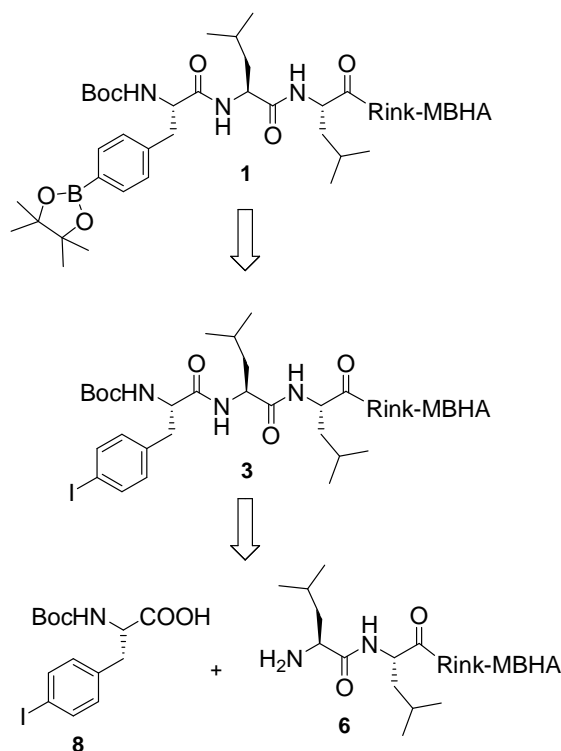
Per tal de verificar que aquest darrer acoblament s'havia donat correctament, una alíquota de la resina **1** es va tractar amb TFA/H<sub>2</sub>O/TIS i el cru resultant es va analitzar per ESI-MS i HPLC. Tot i que l'anàlisi d'ESI-MS va mostrar únicament la massa corresponent al tripèptid desitjat H-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (**4**), al cromatograma d'HPLC es varen observar dos pics a temps de retenció de 6.0 min i 7.2 min que, anàlogament als casos anteriors, es varen atribuir a la hidròlisi parcial del boronat durant l'anàlisi per HPLC, proporcionant l'èster pinacolborònic **4** juntament amb l'àcid borònic **12** (Esquema 3.11). De fet, quan el cru de reacció es va dissoldre i seguidament es va analitzar per espectrometria de masses, només es va observar el boronat **4**.



**Esquema 3.11** – Hidròlisi de l'èster pinacolborònic de **4**

### 3.1.2. Síntesi de Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (1) per borilació en fase sòlida d'una 4-iodofenilalanina

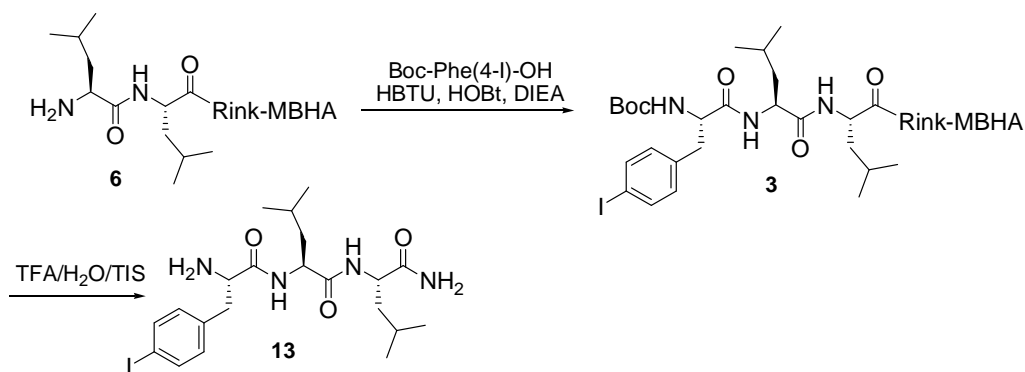
En aquesta estratègia es va plantejar la síntesi de Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (1) per borilació en fase sòlida de la iodopeptidil resina Boc-Phe(4-I)-Leu-Leu-Rink-MBHA (3), que provindria de l'acoblament de Boc-Phe(4-I)-OH (8) a la dipeptidil resina H-Leu-Leu-Rink-MBHA (6) (Esquema 3.12).



Esquema 3.12 - Esquema retrosintètic per a la preparació d'1

#### 3.1.2.1. Síntesi de Boc-Phe(4-I)-Leu-Leu-Rink-MBHA (3)

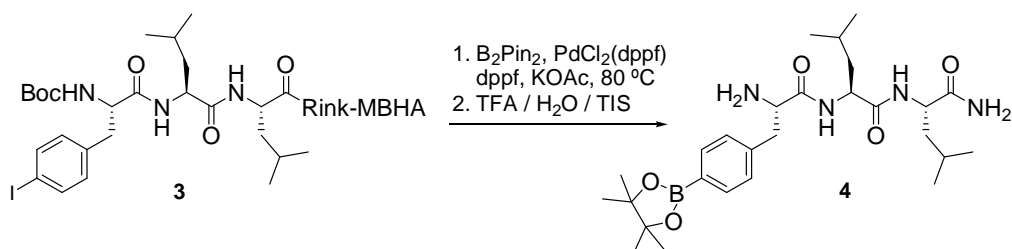
La iodopeptidil resina Boc-Phe(4-I)-Leu-Leu-Rink-MBHA (3) es va preparar per ancorament de l'aminoàcid Boc-Phe(4-I)-OH (8) a H-Leu-Leu-Rink-MBHA (6), utilitzant les condicions habituals per a la síntesi de pèptids en fase sòlida. Una alíquota de la resina obtinguda es va tractar amb TFA/H<sub>2</sub>O/TIS i el cru resultant es va analitzar per HPLC (95% de puresa, t<sub>R</sub> = 6.9 min). L'estructura de H-Phe(4-I)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (13) es va confirmar per ESI-MS (Esquema 3.13).



Esquema 3.13 – Síntesi de Boc-Phe(4-I)-Leu-Leu-Rink-MBHA (3)

### 3.1.2.2. Borilació de Boc-Phe(4-I)-Leu-Leu-Rink-MBHA (3)

Un cop preparada la resina Boc-Phe(4-I)-Leu-Leu-Rink-MBHA (3) es va procedir a estudiar la formació del boronat mitjançant les condicions de Miyaura, que impliquen la utilització de B<sub>2</sub>Pin<sub>2</sub>, PdCl<sub>2</sub>(dppf) i KOAc (Esquema 3.14). Es varen assajar diverses condicions de reacció variant el dissolvent, el temps de reacció, els equivalents de reactius i l'addició del lligand 1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocè (dppf) a una temperatura de 80 °C (Taula 3.2). Després de cada experiment els tripèptids resultants es varen desancorar de la resina per tractament en medi àcid i es varen analitzar per HPLC i ESI-MS.

Esquema 3.14 – Síntesi d'H-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (4)

**Taula 3.2** - Borilació de Boc-Phe(4-I)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**3**) a través d'una reacció de Miyaura

Prova	B <sub>2</sub> Pin <sub>2</sub> (eq)	KOAc (eq)	PdCl <sub>2</sub> (dppf) (eq)	dppf (eq)	Dissolvent	Temps (h)	<b>12</b> <sup>a</sup> (%) <sup>e</sup>	<b>4</b> <sup>b</sup> (%)	<b>13</b> <sup>c</sup> (%)	<b>14</b> <sup>d</sup> (%)
1	2	3	0.09	0	DMF	16	32	0	43	25
2	2	3	0.09	0	DMF	24	43	0	30	25
3	4	6	0.18	0	DMF	24	48	3	26	8
4	4	6	0.18	0	DMF	48	8	3	0	19
5	4	6	0.18	0.09	DMF	24	25	15	0	28
6	4	6	0.18	0	Dioxà	24	7	4	76	3
7	4	6	0.18	0	DMSO	24	38	0	55	7
8	4	6	0.18	0	DMSO	48	24	54	17	0
9	4	6	0.18	0.09	DMSO	24	21	63	0	4
10	8	12	0.36	0.18	DMSO	12	22	24	5	4
11 <sup>f</sup>	4	6	0.18	0.09	DMSO	24	28	71	0	0

<sup>a</sup>H-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>, t<sub>R</sub> = 6.0 min.

<sup>b</sup>H-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>, t<sub>R</sub> = 7.2 min.

<sup>c</sup>H-Phe(4-I)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>, t<sub>R</sub> = 6.9 min.

<sup>d</sup>H-Phe-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>, t<sub>R</sub> = 6.1 min.

<sup>e</sup>Percentatge de puresa obtingut de l'anàlisi del cru de reacció per HPLC (220 nm).

<sup>f</sup>Aquest experiment es va realitzar utilitzant 600 mg de resina.

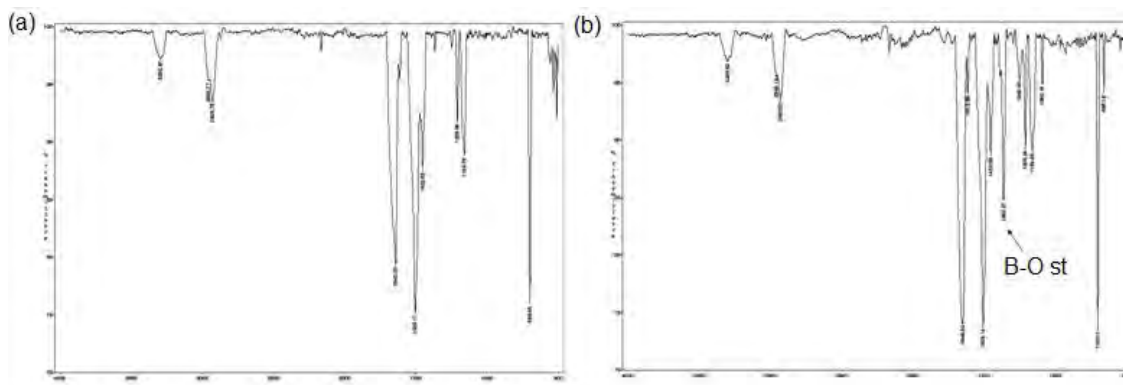
En primer lloc, es va tractar la resina **3** (5-10 mg) amb B<sub>2</sub>Pin<sub>2</sub> (2 eq), PdCl<sub>2</sub>(dppf) (0.09 eq), KOAc (3 eq) en DMF a 80 °C durant 16 hores (Taula 3.2, Prova 1) i 24 hores (Taula 3.2, Prova 2). En ambdós casos, quan es va analitzar per HPLC el cru resultant del desancorament es varen observar tres productes. Aquests compostos varen ser identificats per espectrometria de masses com el pèptid contenint l'àcid borònic **12** (32-43%), el iodotripèptid H-Phe(4-I)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (**13**, 30-43%), i H-Phe-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (25%) resultant de la protodeborilació de **14**. Anàlogament als casos anteriors, l'àcid borònic **12** provenia de la hidròlisi del boronat **4** durant l'anàlisi per HPLC.

Augmentant els equivalents dels reactius de borilació es va aconseguir una disminució de la formació de H-Phe-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (**14**, 8%), però no va millorar el rendiment de la reacció (Taula 3.2, Prova 3). Un augment del temps de reacció fins a 48 hores o l'addició del lligand dppf no va millorar els resultats (Taula 3.2, Proves 4 i 5). A continuació, es va analitzar l'ús de dioxà i DMSO com a dissolvents (Taula 3.2, Proves 6 i 7). Mentre que el dioxà no va donar bons resultats, amb DMSO es va obtenir el producte **12** amb un 38% de puresa. De fet, amb DMSO, la borilació es va veure afavorida significativament en augmentar el temps de reacció fins a 48 hores (**12** + **4**, 78%, Taula 3.2, Prova 8). A continuació es va assajar l'addició de dppf, ja que a la literatura s'ha descrit que l'addició

d'aquest lligand en les reaccions de Miyaura on s'utilitza PdCl<sub>2</sub>(dppf) com a catalitzador compensa la seva descomposició i permet que la reacció es dugui a terme amb bon rendiment (Ishiyama, 1997). D'aquesta manera es va obtenir un 84% de producte borilat (**12** + **4**) i només un 4% de **14** (Taula 3.2, Prova 9). Un augment de la quantitat de reactius no va millorar la reacció (Taula 3.2, Prova 10).

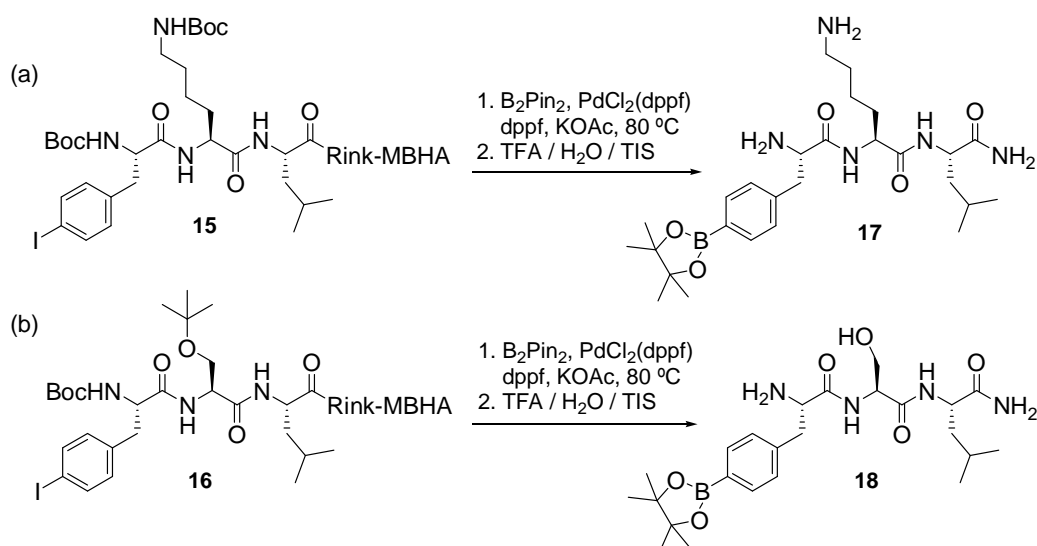
Aquesta reacció es va escalar fins a 600 mg de resina **3** utilitzant les millors condicions de reacció (Prova 9), proporcionant els productes borilats **12** i **4** amb una puresa del 99% (Taula 3.2, Prova 11).

La formació del boronat es va monitoritzar enregistrant un espectre d'IR de la resina obtinguda després de cada experiment. En formar-se el boronat s'observava l'aparició d'una nova banda a 1362 cm<sup>-1</sup>, característica de l'enllaç B-O (Figura 3.3). Després de desancorar-lo del suport, el boronat **4** es va caracteritzar per <sup>1</sup>H-RMN, <sup>13</sup>C-RMN i espectrometria de masses. A més, la hidròlisi parcial del boronat **4** es va confirmar per LC-MS.



**Figura 3.3** – Espectre d'IR corresponent a: a) Boc-Phe(4-I)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**3**);  
(b) Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**).

A continuació, es va verificar la compatibilitat de les condicions òptimes de borilació de la 4-iodofenilalanina amb els grups protectors utilitzats en la síntesi de pèptids en fase sòlida seguint una estratègia Fmoc/*t*Bu. Així, es va assajar la seva aplicació a seqüències peptídiques contenint un residu de lisina o serina protegits amb els grups Boc o *t*Bu, respectivament. Es varen preparar les iodopeptidil resines Boc-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Leu-Rink-MBHA (**15**) i Boc-Phe(4-I)-Ser(*t*Bu)-Leu-Rink-MBHA (**16**) i es varen tractar amb B<sub>2</sub>Pin<sub>2</sub> (4 eq), PdCl<sub>2</sub>(dppf) (0.18 eq) i KOAc (6 eq) en DMSO a 80 °C durant 24 hores. El tractament acidolític de les resines resultants va proporcionar els boronats **17** i **18** amb un 99% de puresa (Esquema 3.15), els quals es varen caracteritzar per HPLC i ESI-MS. Anàlogament als casos anteriors, es va observar la hidròlisi parcial de l'ester pinacolborònic durant l'anàlisi per HPLC.

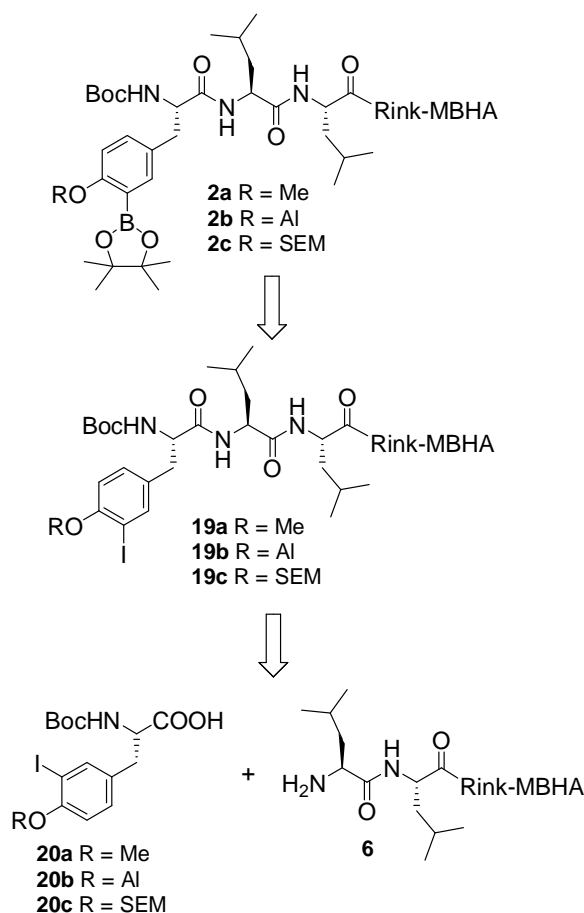


**Esquema 3.15** – Síntesi de: (a) H-Phe(4-BPin)-Lys-Leu-NH<sub>2</sub> (**17**)  
 i (b) H-Phe(4-BPin)-Ser-Leu-NH<sub>2</sub> (**18**)

### 3.2. Borilació en fase sòlida d'un residu de tirosina

Considerant els bons resultats obtinguts en la borilació d'un residu de 4-iodofenilalanina, es va decidir estendre aquest estudi a la preparació del boronat d'un residu de tirosina. En aquest cas es va prendre com a sistema model la síntesi de la resina Boc-Tyr(3-BPin,R)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2**). De manera anàloga a la preparació del boronat de fenilalanina, l'estratègia sintètica plantejada requeria la preparació de Boc-Tyr(3-I,R)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**19**). Aquesta iodopeptidil resina s'obtidria per acoblament d'un residu de 3-iodotirosina, convenientment protegit, a la dipeptidil resina H-Leu-Leu-Rink-MBHA (**6**) (Esquema 3.16).

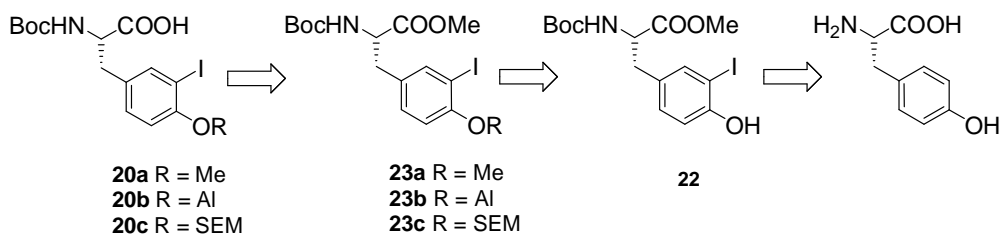
La protecció del grup hidroxil de la cadena lateral del residu de tirosina era necessària per evitar la seva acilació, a causa de la nucleofilicitat de l'ió fenòxid en condicions bàsiques (Isidro-Llobet et al., 2009). Generalment, en la síntesi de pèptids en fase sòlida s'utilitza el grup *t*Bu. Ara bé, aquest grup és molt voluminós i podria provocar impediment estèric en la formació de l'ester borònic en la posició orto. Com a alternativa, es va decidir avaluar els grups protectors metil, al·lil (Al) i 2-(trimetilsilil)etoximetil (SEM), ja que presenten una forma elongada que minimitza els impediments estèrics.



Esquema 3.16 - Esquema retrosintètic per a la preparació de **2**

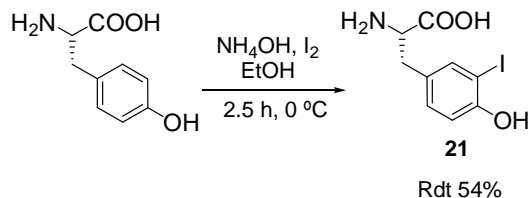
### 3.2.1. Síntesi de Boc-Tyr(3-I,R)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**19**)

Per a la preparació de la iodopeptidil resina **19** va ser necessària la síntesi prèvia de Boc-Tyr(3-I,R)-OH (**20a-c**) (Esquema 3.17). L'estratègia sintètica que es va plantejar partia de la tirosina comercial i implicava la seva iodació, l'esterificació, la protecció dels grups  $N^\alpha$ -amino i hidroxil i, finalment, la hidròlisi de l'èster.



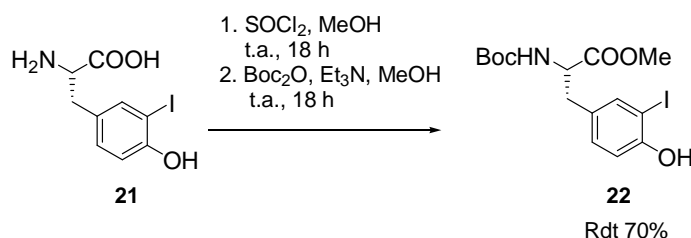
Esquema 3.17 - Esquema retrosintètic per a la preparació de Boc-Tyr(3-I,R)-OH (**20a-c**)

La iodació de la tirosina es va realitzar per tractament amb  $\text{NH}_4\text{OH}$  i  $\text{I}_2$  en EtOH a  $0\text{ }^\circ\text{C}$  durant 2.5 hores (Chiarello i Joullie, 1988). D'aquesta manera es va obtenir H-Tyr(3-I)-OH (**21**) amb un 54% de rendiment (Esquema 3.18).



**Esquema 3.18** – Síntesi de H-Tyr(3-I)-OH (**21**)

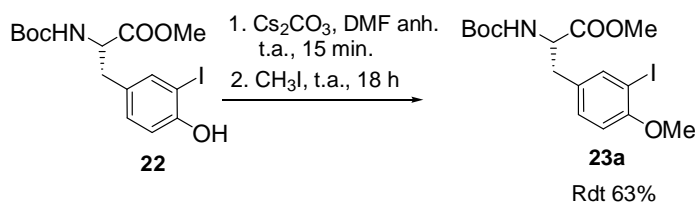
Es va protegir l'àcid carboxílic de H-Tyr(3-I)-OH (**21**) per tractament amb una dissolució de  $\text{SOCl}_2$  en MeOH anhidre sota atmosfera de nitrogen, a temperatura ambient durant tota la nit. Tot seguit, el grup  $N^H$ -amino es va protegir amb el grup Boc per tractament amb  $(\text{Boc})_2\text{O}$  i  $\text{Et}_3\text{N}$  en MeOH anhidre a temperatura ambient durant tota la nit. D'aquesta manera, es va obtenir Boc-Tyr(3-I)-OMe (**22**) amb un rendiment global del 70% (Esquema 3.19).



**Esquema 3.19** – Síntesi de Boc-Tyr(3-I)-OMe (**22**)

A continuació, es va protegir el grup hidroxil amb un grup metil, al·lil o SEM.

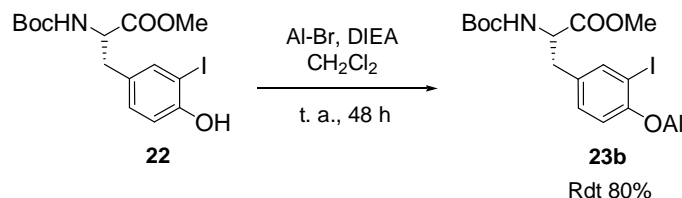
- Per a la protecció amb un grup metil, una mescla de Boc-Tyr(3-I)-OMe (**22**) i  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  en DMF anhidre es va agitar a temperatura ambient durant 15 minuts sota atmosfera de nitrogen i, a continuació, es va tractar amb  $\text{CH}_3\text{I}$  a temperatura ambient durant tota la nit. Aquest procediment va proporcionar Boc-Tyr(3-I,Me)-OMe (**23a**) amb un 63% de rendiment (Esquema 3.20).



**Esquema 3.20** – Síntesi de Boc-Tyr(3-I,Me)-OMe (**23a**)

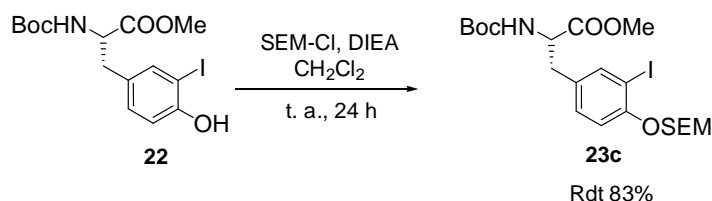


- Per a la protecció amb un grup al·lil, Boc-Tyr(3-I)-OMe (**22**) es va tractar amb bromur d'al·lil i DIEA en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> a temperatura ambient durant 48 hores. Es va obtenir Boc-Tyr(3-I,Al)-OMe (**23b**) amb un 80% de rendiment (Esquema 3.21).



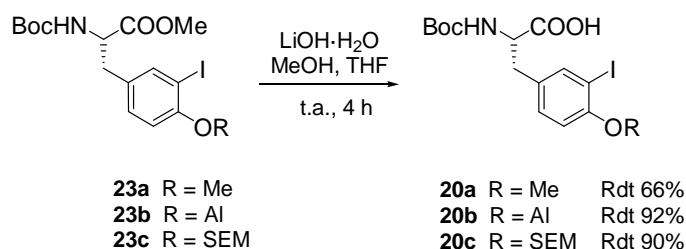
**Esquema 3.21** – Síntesi de Boc-Tyr(3-I,Al)-OMe (**23b**)

- Per a la protecció amb un grup SEM, Boc-Tyr(3-I)-OMe (**22**) es va tractar amb SEM-Cl i DIEA en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> a temperatura ambient durant 24 hores. Es va obtenir Boc-Tyr(3-I,SEM)-OMe (**23c**) amb un 83% de rendiment (Esquema 3.22).



**Esquema 3.22** – Síntesi de Boc-Tyr(3-I,SEM)-OMe (**23c**)

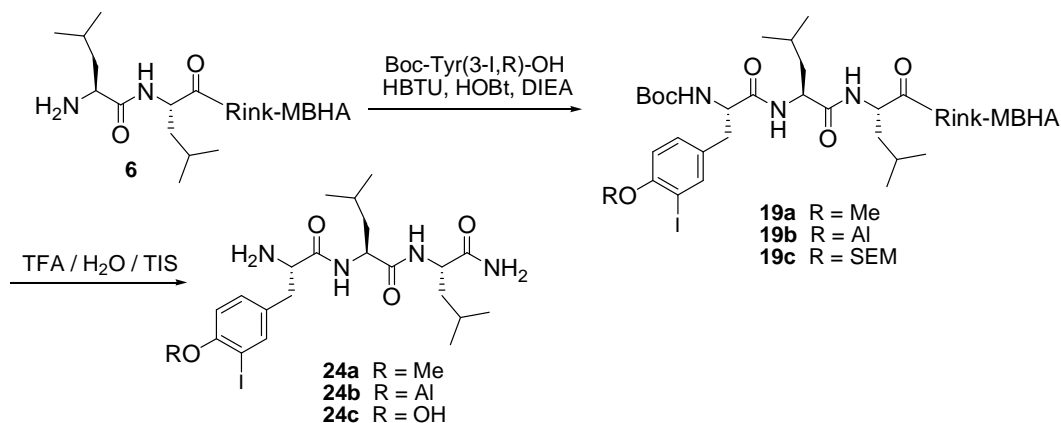
L'ester metílic de Boc-Tyr(3-I,R)-OMe (**23a-c**) es va hidrolitzar per tractament amb LiOH·H<sub>2</sub>O en MeOH/THF a temperatura ambient durant 4 hores, obtenint-se Boc-Tyr(3-I,R)-OH (**20a-c**) amb un 66-92% de rendiment (Esquema 3.23).



**Esquema 3.23** – Hidròlisi del metilester de Boc-Tyr(3-I,R)-OMe (**23a-c**)

Finalment, es va preparar la tripeptidil resina Boc-Tyr(3-I,R)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**19a-c**) per ancorament de la corresponent Boc-Tyr(3-I,R)-OH (**20a-c**) a la dipeptidil resina H-Leu-Leu-Rink-MBHA (**6**), utilitzant les condicions habituals per a la síntesi de pèptids en fase sòlida. Per tal de verificar que aquest acoblament s'havia donat correctament, una alíquota de cadascuna de les resines es va tractar amb TFA/H<sub>2</sub>O/TIS i el cru

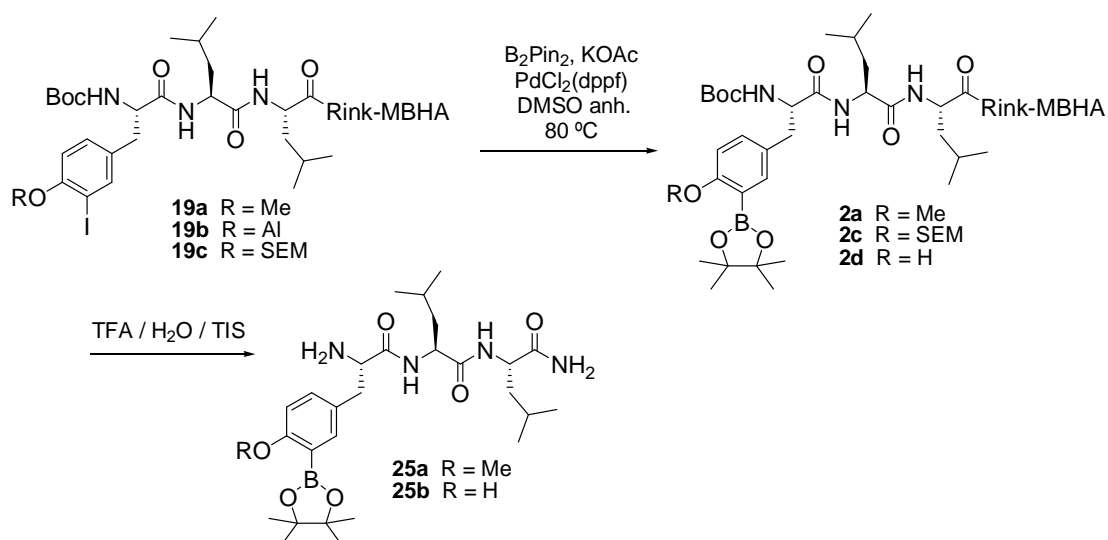
resultant es va analitzar per ESI-MS i HPLC (Esquema 3.24). D'aquesta manera es varen obtenir les iodotripeptidil resines H-Tyr(3-I,Me)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (**24a**, 92% puresa, t<sub>R</sub> = 6.9 min), H-Tyr(3-I,Al)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (**24b**, 85% puresa, t<sub>R</sub> = 7.2 min) i H-Tyr(3-I,SEM)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (**24c**, 97% puresa, t<sub>R</sub> = 6.5 min ).



Esquema 3.24 – Síntesi de Boc-Tyr(3-I,R)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**19a-c**)

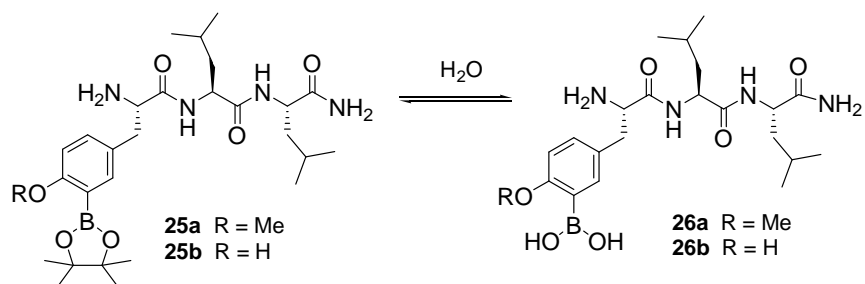
### 3.2.2. Borilació de Boc-Tyr(3-I,R)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**19**)

La reacció de borilació en fase sòlida d'una iodotirosina es va optimitzar a partir de les condicions descrites anteriorment per a la preparació de boronats de fenilalanina (Apartat 3.2.1). Cadascuna de les resines **19a-c** es va tractar amb B<sub>2</sub>Pin<sub>2</sub>, PdCl<sub>2</sub>(dppf), dppf i KOAc en DMSO a 80 °C (Esquema 3.25). Després de cada reacció, les resines es varen tractar amb TFA/H<sub>2</sub>O/TIS i el cru es va analitzar per HPLC i ESI-MS.



Esquema 3.25 – Síntesi de Boc-Tyr(3-BPin,R)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2**)

Anàlogament als casos anteriors, l'anàlisi per HPLC va mostrar que els esters pinacolborònics **25a-b** s'obtenien juntament amb els àcids borònics corresponents **26a-b** (Esquema 3.26).

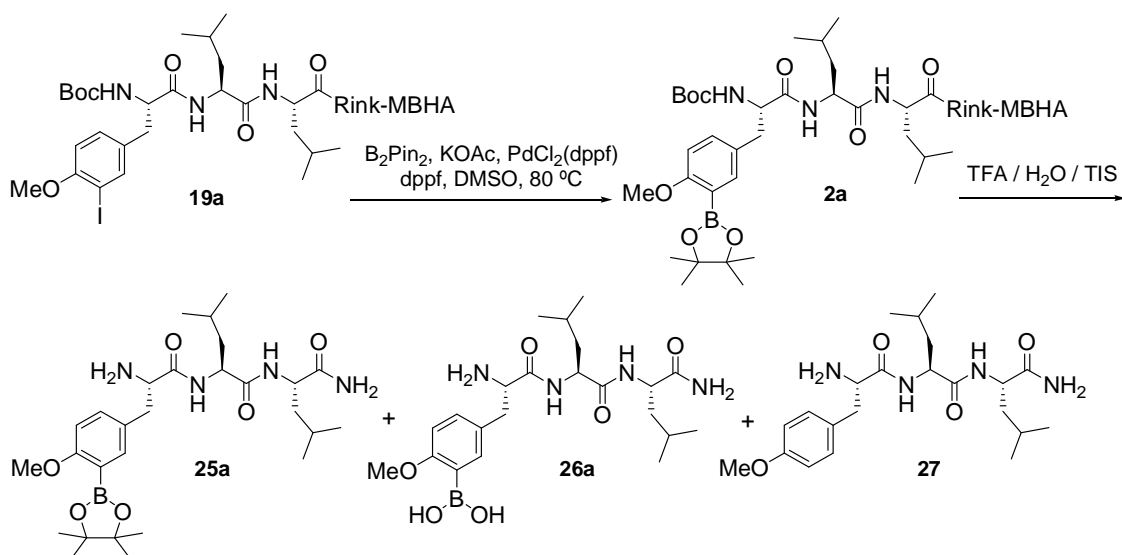


**Esquema 3.26** - Hidròlisi de l'ester pinacolborònic de **25a-b**

A continuació es discuteixen els resultats obtinguts per a cadascun dels grups protectors.

### 3.2.2.1. Síntesi de Boc-Tyr(3-BPin,Me)-Leu-Leu-Rink-MBHA (2a)

La resina Boc-Tyr(3-I,Me)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**19a**) es va tractar amb  $\text{B}_2\text{Pin}_2$  (4 eq),  $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$  (0.18 eq), dppf (0.09) i KOAc (6) en DMSO a 80 °C durant 24 hores (Esquema 3.27). Aquestes condicions de reacció varen proporcionar l'àcid borònic **26a** amb un 41% de puresa, juntament amb un 34% de H-Tyr(Me)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> **27** provinent de la protodeborilació de l'ester pinacolborònic (Taula 3.3, Prova 1). De fet, els productes protodeborilats són els contaminants més habituals d'aquest tipus de reaccions. S'ha descrit que la seva formació es veu afavorida per la presència de metalls de transició, com el pal·ladi, per escalfaments prolongats, i per la presència de substituents en orto (Hall, 2005). De fet, en augmentar la quantitat de catalitzador i de lligand es va obtenir el producte de protodeborilació **27** de forma majoritària (55%, Taula 3.3, Prova 2). La disminució del temps de reacció fins a 8 hores va conduir a una mescla de l'ester pinacolborònic (**25a**, 29%) i de l'àcid borònic (**26a**, 49%) (Taula 3.3, Prova 3).

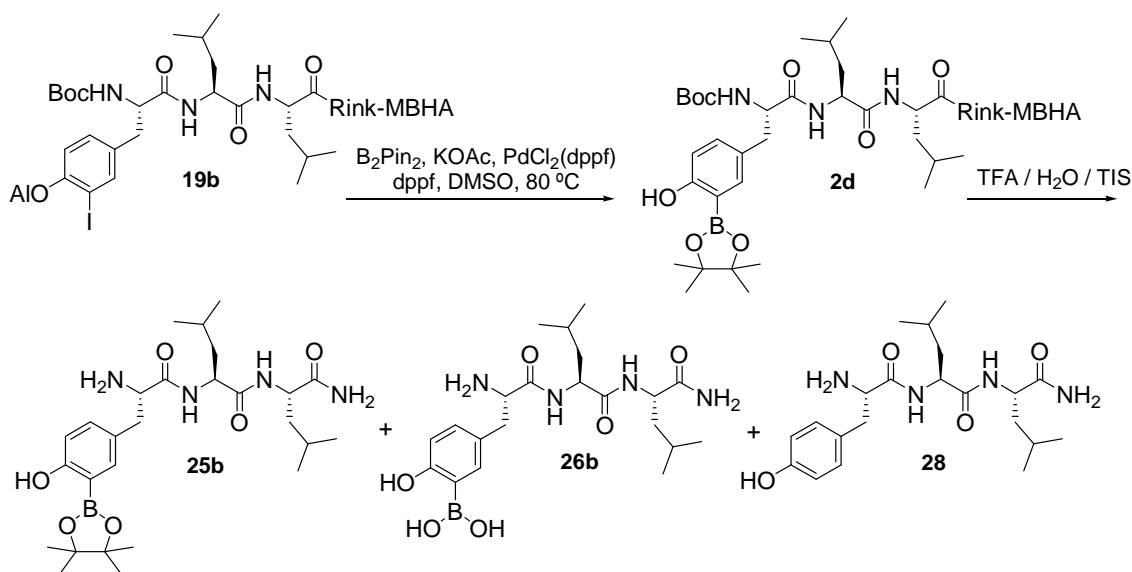
Esquema 3.27 - Síntesi de Boc-Tyr(3-BPin,Me)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2a**)Taula 3.3 – Borilació de Boc-Tyr(3-I,Me)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**19a**)

Prova	B <sub>2</sub> Pin <sub>2</sub> (eq)	KOAc (eq)	PdCl <sub>2</sub> (dppf) (eq)	dppf (eq)	Temps (h)	<b>26a</b> <sup>a</sup> (%) <sup>d</sup>	<b>27</b> <sup>b</sup> (%)	<b>25a</b> <sup>c</sup> (%)
1	4	6	0.18	0.09	24	41	34	0
2	8	12	0.36	0.18	24	0	55	0
3	4	6	0.18	0.09	8	49	11	29

<sup>a</sup>H-Tyr(3-B(OH)<sub>2</sub>,Me)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>, t<sub>R</sub> = 6.3 min.<sup>b</sup>H-Tyr(Me)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>, t<sub>R</sub> = 6.7 min.<sup>c</sup>H-Tyr(3-BPin,Me)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>, t<sub>R</sub> = 7.1 min.<sup>d</sup>Percentatge de puresa obtingut de l'anàlisi del cru de reacció per HPLC (220 nm)

### 3.2.2.2. Síntesi de Boc-Tyr(3-BPin,H)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2d**)

La resina Boc-Tyr(3-I,Al)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**19b**) es va tractar amb B<sub>2</sub>Pin<sub>2</sub> (4 eq), PdCl<sub>2</sub>(dppf) (0.18 eq), dppf (0.09) i KOAc (6 eq) en DMSO a 80 °C durant 24 i 8 hores (Esquema 3.28). En ambdós casos es va obtenir el producte esperat amb pureses similars (51-56%), com una mescla de l'àcid (**26b**) i l'ester borònic (**25b**), juntament amb el producte protodeborilat **28** i un 33-35% d'un producte no identificat.

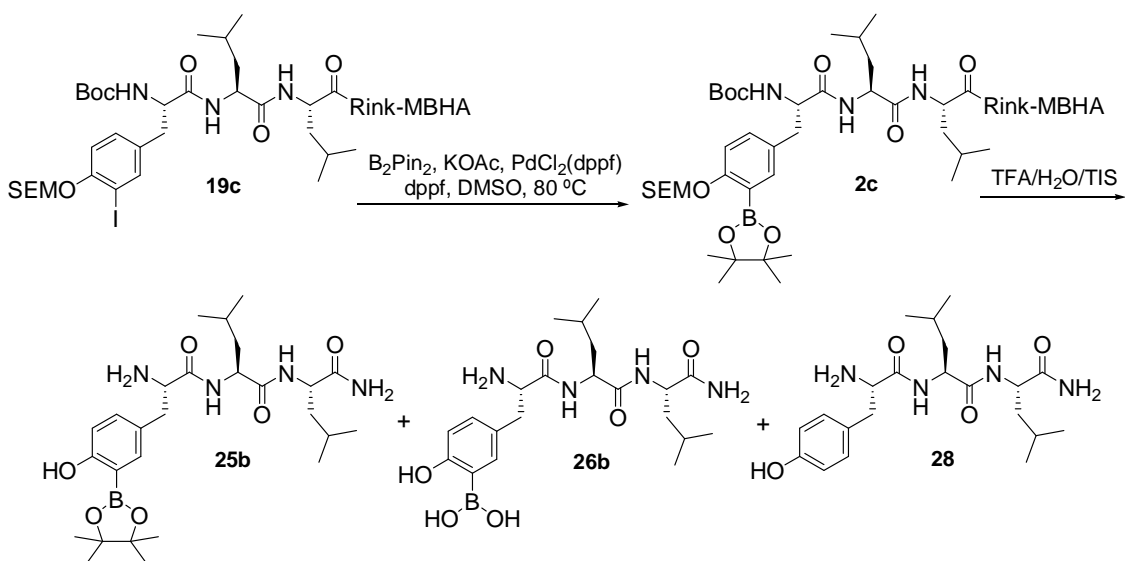


**Esquema 3.28** - Síntesi de Boc-Tyr(3-BPin,H)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2d**)

Cal destacar, que tots aquests productes presentaven l'hidroxil de la cadena lateral de la tirosina lliure. De fet, s'ha descrit que el grup al·lil s'elimina amb  $Pd(PPh_3)_4$  (3 a 5 eq) (Tholey i Hoffmann, 1997; Cros et al., 2004). En el nostre cas, les condicions de Miyaura utilitzant  $PdCl_2(dppf)$  (0.18 eq) varen produir l'eliminació completa d'aquest grup.

### 3.2.2.3. Síntesi de Boc-Tyr(3-BPin,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2c**)

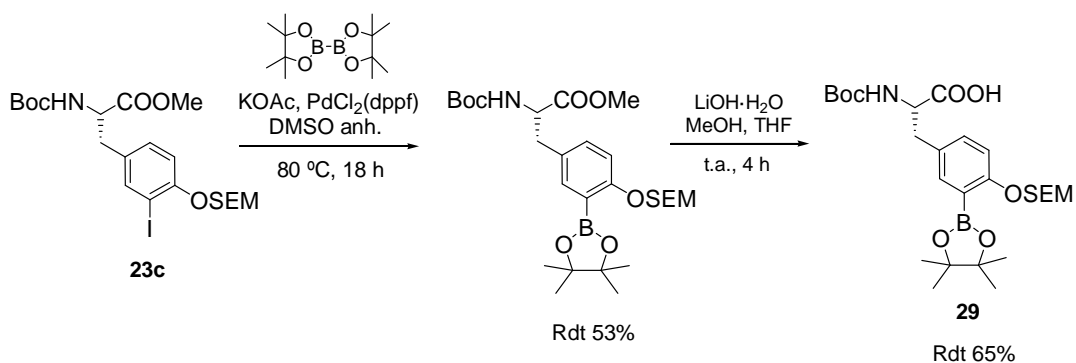
Anàlogament als casos anteriors, la resina Boc-Tyr(3-I,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**19c**) es va tractar amb  $B_2Pin_2$  (4 eq),  $PdCl_2(dppf)$  (0.18 eq), dppf (0.09) i KOAc (6 eq) en DMSO a  $80^\circ C$  durant 24 i 8 hores (Esquema 3.29).



**Esquema 3.29** - Síntesi de Boc-Tyr(3-BPin,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2c**)

L'anàlisi per HPLC del cru de reacció obtingut després del tractament acidolític de la resina resultant de les dues proves realitzades va mostrar resultats similars obtenint-se dos pics majoritaris (50-60%) que es varen atribuir a l'àcid borònic **26b** ( $t_R = 6.1$  min) i al boronat **25b** ( $t_R = 7.1$  min). En canvi, per ESI-MS també es va detectar la presència del producte protodeborilat H-Tyr-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (**28**), que no s'observava en el cromatograma d'HPLC atès que apareixia al mateix temps de retenció que l'àcid borònic **26b**. El pic corresponent a aquest subproducte era menys intens en la prova realitzada durant 8 hores que en la de 24 hores.

Per tal de comprovar que **26b** i **28** coelueïen, d'una banda, es va preparar Boc-Tyr(*t*Bu)-Leu-Leu-Rink-MBHA seguint l'estratègia habitual de síntesi de pèptids en fase sòlida. D'altra banda, es va sintetitzar Boc-Tyr(3-BPin,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2c**) per acoblament de Boc-Tyr(3-BPin, SEM)-OH (**29**), preparat en dissolució, a H-Leu-Leu-Rink-MBHA (**6**). Per a la preparació d'aquest aminoàcid **29**, la iodotirosina **23c** es va tractar amb B<sub>2</sub>Pin<sub>2</sub>, KOAc, PdCl<sub>2</sub>(dppf) en DMSO anhidre a 80 °C durant 18 hores (Skaff et al., 2005) i posteriorment es va hidrolitzar el metil ester (Esquema 3.30). Es va obtenir **29** amb 34% de rendiment global de les dues etapes.



**Esquema 3.30** – Síntesi de Boc-Tyr(3-BPin,SEM)-OH (**29**)

Les resines Boc-Tyr(*t*Bu)-Leu-Leu-Rink-MBHA i Boc-Tyr(3-BPin,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2c**) es varen sotmetre a un tractament acidolític i el cru de reacció obtingut es va analitzar per HPLC. En ambdós casos es va observar un pic a un temps de retenció de 6.1 minuts, cosa que confirmava que el producte protodeborilat **28** i l'àcid borònic **26b** coelueïen per HPLC.



**4. SÍNTESI EN FASE SÒLIDA DE PÈPTIDS  
BIARÍLICS LINEALS PER ARILACIÓ D'UNA  
BORONOFENILALANINA O UNA  
BORONOTIROSINA**

---





Un dels problemes associats a l'aplicació dels pèptids *in vivo* és la seva baixa biodisponibilitat i estabilitat enfront de la degradació enzimàtica. Existeixen diverses estratègies per millorar aquestes propietats, una de les quals consisteix en la introducció d'aminoàcids biarílics per limitar-ne la flexibilitat conformacional. A més, aquest tipus d'unions biaríliques són especialment rellevants atès que estan presents en nombrosos productes naturals, tals com la vancomicina, les bifenomicines o les arilomicines, que presenten propietats biològiques destacables.

El mètode sintètic més versàtil per a la formació de biarils asimètrics és la reacció de Suzuki-Miyaura, la qual consisteix en l'acoblament creuat d'un halur d'aril i un àcid o ester arilborònic catalitzat per un complex de pal·ladi (0). En la primera part d'aquesta tesi es va posar a punt la preparació de boronats derivats de fenilalanina o tirosina. Així doncs, en la segona part s'ha estudiat l'arilació en fase sòlida d'aquests boronats per a l'obtenció de pèptids biarílics lineals. Amb aquest objectiu s'han utilitzat els tripèptids H-Phe(4-Ar)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> i H-Tyr(3-Ar)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> com a sistemes model.

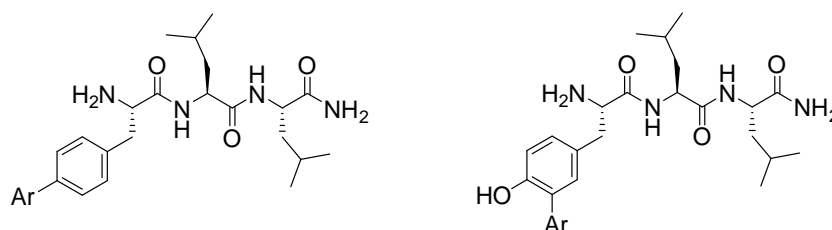
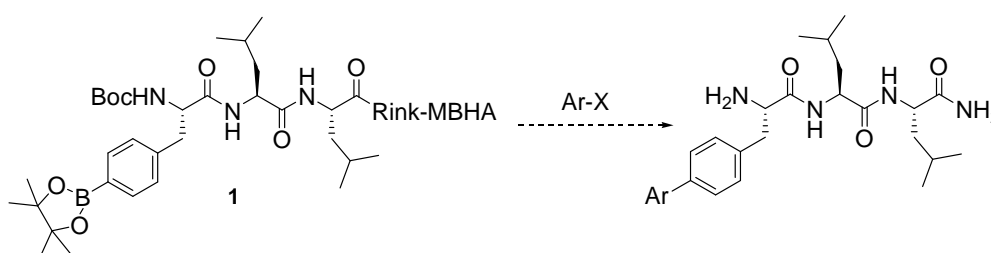


Figura 4.1 – H-Phe(4-Ar)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> i H-Tyr(3-Ar)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>

#### 4.1. Síntesi de pèptids biarílics lineals per arilació d'una boronofenilalanina

En primer lloc es va estudiar l'arilació de Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (**1**) utilitzant les condicions de Suzuki-Miyaura per tal d'obtenir pèptids biarílics del tipus H-Phe(4-Ar)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>. Es va plantejar l'arilació d'**1** amb diversos halurs d'aril utilitzant escalfament convencional o microones, per estendre posteriorment la metodologia a l'arilació amb haloaminoàcids (Esquema 4.1).

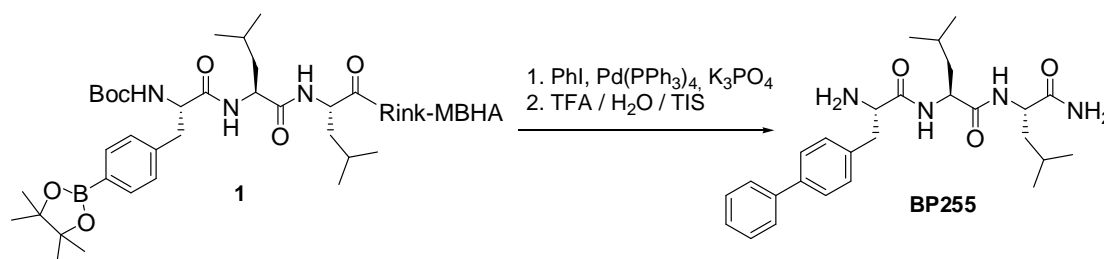


Esquema 4.1 – Arilació de Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**)

#### 4.1.1. Arilació de Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (1) amb halurs d'aril

##### 4.1.1.1. Arilació sota escalfament convencional

L'arilació de Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (1) en les condicions de Suzuki-Miyaura es va optimitzar utilitzant 4-iodobenzè com a halur d'aril. En primer lloc, es va tractar 1 amb aquest halur d'aril (5 eq) utilitzant Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0.05 eq) com a catalitzador i K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 2M (5 eq) com a base (Esquema 4.2), sota escalfament convencional, ja que aquestes són les condicions habituals en què es realitza aquesta reacció (Piettre i Baltzer, 1997; Doan et al., 2008). Es varen dur a terme diverses proves variant el dissolvent, el temps de reacció o la temperatura (Taula 4.1). Després de cada experiment, la resina es va tractar amb TFA/H<sub>2</sub>O/TIS i el cru obtingut es va analitzar per HPLC i ESI-MS.



Esquema 4.2 – Arilació d'1 amb 4-iodobenzè sota escalfament convencional

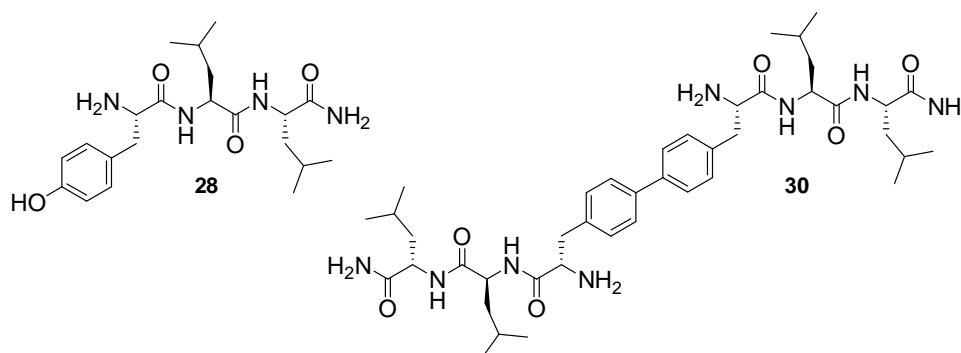
Els resultats varen mostrar que quan s'utilitzava DMF com a dissolvent a 80 °C durant 24 hores, la formació del compost biarílic BP255 era baixa (26%) i es va detectar una gran quantitat d'àcid borònic de partida (58%) (Prova 1, Taula 4.1). Aquest fet es va atribuir a la baixa solubilitat de K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> en DMF. A continuació, es va assajar la utilització d'una mescla de DME/EtOH/H<sub>2</sub>O (9:9:2) com a dissolvent (Prova 2, Taula 4.1). S'ha descrit que la presència d'aigua promou la hidròlisi de l'èster arilborònic a àcid arilborònic, la qual cosa facilita l'etapa de transmetal·lació i, com a conseqüència, l'acoblament creuat de Suzuki-Miyaura (Lépine, 2005). En aquestes condicions, es va observar un augment de la formació de BP255 (49%) i una disminució de la quantitat de producte de partida restant (14%). En aquests assajos es produïa una evaporació ràpida del dissolvent a causa del baix volum utilitzat (0.3 mL), del llarg temps de reacció (24 h) i de l'elevada temperatura (80 °C). Per aquest motiu, es va realitzar una tercera prova disminuint la temperatura de reacció fins a 60 °C i augmentant el temps fins a 48 hores (Prova 3, Taula 4.1). Aquestes condicions varen proporcionar el millor resultat, obtenint-se el pèptid biarílic H-Phe(4-Ph)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (BP255) amb un 70% de puresa.

**Taula 4.1** – Síntesi de BP255 per reacció de Suzuki-Miyaura sota escalfament convencional

Prova	Dissolvent	Temps (h)	Temperatura (°C)	<b>12</b> <sup>a</sup> (%) <sup>d</sup>	<b>28 + 30</b> <sup>b</sup> (%)	BP255 <sup>c</sup> (%)
1	DMF	24	80	58	6	26
2	DME/EtOH/H <sub>2</sub> O	24	80	14	14	49
3	DME/EtOH/H <sub>2</sub> O	48	60	13	8	70

<sup>a</sup>H-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>, t<sub>R</sub> = 6.0 min.<sup>b</sup>Subproductes d'*homocoupling* i fenol, que coelueixen, t<sub>R</sub> = 6.1 min.<sup>c</sup>H-Phe(4-Ph)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>, t<sub>R</sub> = 7.2 min.<sup>d</sup>Percentatge de puresa obtingut de l'anàlisi del cru de reacció per HPLC (220 nm).

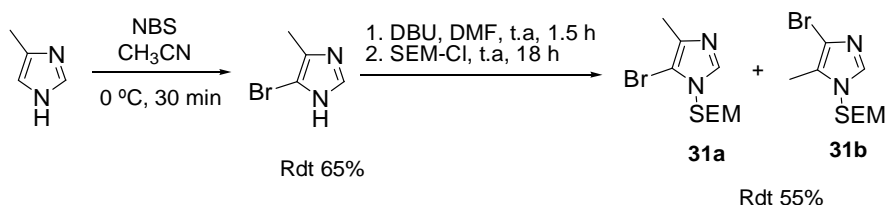
Cal destacar que l'anàlisi per LC-MS del cru de reacció dels assajos anteriors va mostrar la presència del compost biarílic **30** i del fenol **28** (6-14%), que coelueixen (Figura 4.2). Aquests compostos deriven de reaccions laterals típiques de la reacció de Suzuki-Miyaura. El compost **30** prové d'una reacció d'*homocoupling*, és a dir, de l'acoblament de dues molècules de l'àcid borònic. D'altra banda, el fenol **28** prové de l'oxidació del boronat a hidroxil. S'ha descrit que ambdós productes provenen de mecanismes oxidatius que es donen paral·lelament a l'acoblament creuat. Per això és essencial que aquestes reaccions es duguin a terme en condicions inerts sota atmosfera de nitrogen i utilitzant dissolvents desgasats, per evitar la presència de l'oxigen que puguin tenir dissolt (Moreno-Mañas et al., 1996; Aramendía et al., 1999).

**Figura 4.2** – Estructures dels subproductes **28** i **30**

Les millors condicions es varen aplicar a l'arilació de Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**) amb els halurs d'aril comercials 2-iodofenol, *p*-iodonitrobenzè, 4-iodoanisole, 2-iodoanisole i 4-iodotoluè, i amb 1-(SEM)-4(5)-bromo-5(4)-metilimidazole (**31**) preparat utilitzant les condicions prèviament descrites al grup LIPPSO (Esquema 4.3) (Cerezo et al., 2007).

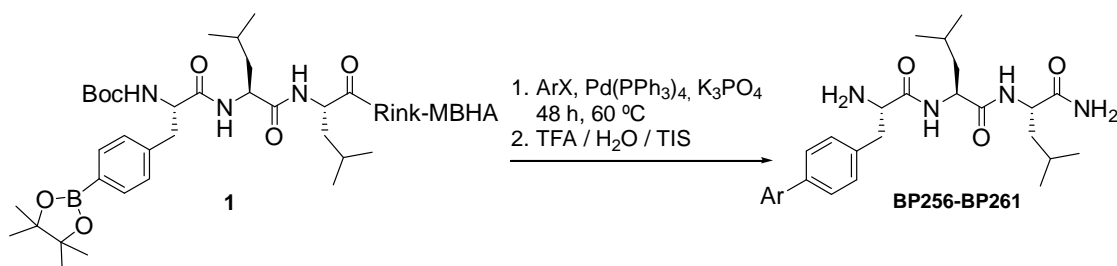
El primer pas de la síntesi dels bromoimidazoles **31** va consistir en la bromació de 4(5)-metilimidazole comercial per tractament de 4(5)-metilimidazole amb

*N*-bromosuccinimida (NBS), obtenint-se 4(5)-bromo-5(4)-metilimidazole amb un 65% de rendiment. La bromació es dona majoritàriament en la posició 5 de l'anell d'imidazole, ja que aquesta és la posició més favorable per a l'atac electròfil a través d'una reacció de substitució electròfila aromàtica. A continuació, es va protegir l'anell d'imidazole amb el grup SEM per tractament amb DBU i posterior addició de SEM-Cl. Es va obtenir la barreja de regioisòmers **31a** i **31b** amb un 55% de rendiment. Aquesta mescla es va utilitzar per a les reaccions d'arilació posteriors.



**Esquema 4.3** – Síntesi dels bromoimidazoles **31**

L'arilació de la resina **1** amb els halurs d'aril anteriors es va realitzar per tractament amb  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  (0.05 eq),  $\text{K}_3\text{PO}_4$  2M (5 eq) i l'halur d'aril corresponent (5 eq) en DME/EtOH/ $\text{H}_2\text{O}$  (9:9:2), durant 48 hores a 60 °C. Després de cada experiment, la resina es va sotmetre a un tractament acidolític amb TFA/ $\text{H}_2\text{O}$ /TIS i el cru obtingut es va analitzar per HPLC i ESI-MS (Esquema 4.4).



Pèptid	BP256	BP257	BP258	BP259	BP260	BP261
Ar						
X	I	I	I	I	I	Br

**Esquema 4.4** – Síntesi dels pèptids biarílics BP256-BP261 sota escalfament convencional

**Taula 4.2** – Síntesi dels pèptids biarílics BP256-BP261 sota escalfament convencional

Prova	ArX	12 <sup>a</sup> (%) <sup>c</sup>	28 + 30 <sup>b</sup> (%)	Pèptids biarílics		
				Pèptid	Puresa (%) <sup>c</sup>	t <sub>R</sub> (min) <sup>d</sup>
1	4-iodotoluè	43	14	BP256	35	7.5
2	2-iodoanisol	4	12	BP257	83	7.2
3	4-iodoanisol	0	20	BP258	54	7.2
4	<i>p</i> -iodonitrobenzè	0	3	BP259	87	7.2
5	2-iodofenol	0	26	BP260	52	6.9
6	bromoimidazoles ( <b>31</b> )	0	20	BP261	36	5.7

<sup>a</sup>H-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>, t<sub>R</sub> = 6.0 min.

<sup>b</sup>Subproductes d'*homocoupling* i fenol, que coelueixen, t<sub>R</sub> = 6.1 min.

<sup>c</sup>Percentatge de puresa obtingut de l'anàlisi del cru de reacció per HPLC (220 nm).

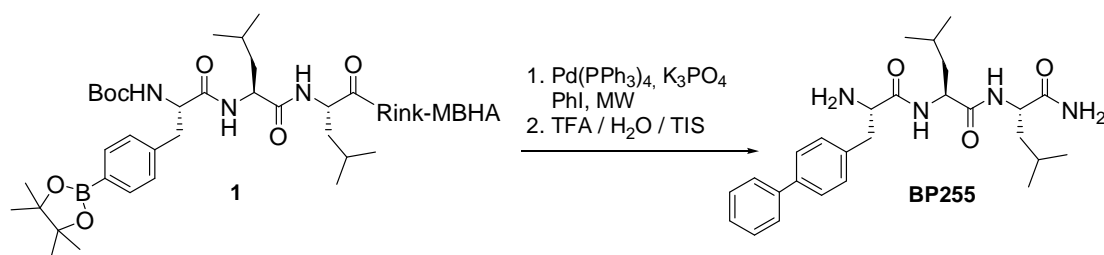
<sup>d</sup>Temps de retenció per HPLC (220 nm)

En tots els casos es varen obtenir els pèptids biarílics esperats. Els millors resultats es varen assolir per a l'arilació amb 2-iodoanisol i *p*-iodonitrobenzè, els quals varen proporcionar els pèptids biarílics esperats BP257 i BP259 amb pureses elevades (83-87%, Proves 2 i 4, Taula 4.2). D'altra banda, els acoblaments creuats amb 4-iodotoluè i els bromoimidazoles **31** varen proporcionar els pèptids biarílics BP256 i BP261 amb els percentatges de puresa més baixos (35-36%, Proves 1 i 6, Taula 4.2). Cal destacar, que en tots els casos, els pèptids biarílics es varen obtenir juntament amb el subproducte provinent de l'*homocoupling* **30** i amb el fenol **28** (3-26%).

#### 4.1.1.2. Arilació sota irradiació de microones

Per tal de reduir el temps de l'arilació de Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**), aquesta reacció es va assajar sota irradiació de microones, ja que aquesta tècnica ha estat àmpliament utilitzada per accelerar la velocitat de les reaccions d'acoblament creuat (Apartat 1.2.3.1).

En primer lloc, l'arilació es va optimitzar emprant 4-iodobenzè com a halur d'aril (Esquema 4.5). Amb aquesta finalitat, es va tractar **1** amb 4-iodobenzè (5 eq), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0.05 eq), K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 2M (5 eq) en DME/EtOH/H<sub>2</sub>O (9:9:2) desgasat, sota irradiació de microones a diferents temps i temperatures (Taula 4.3). Després de cada experiment, la resina resultant es va sotmetre a un tractament àcid amb TFA/H<sub>2</sub>O/TIS i el cru obtingut es va analitzar per HPLC i ESI-MS.



**Esquema 4.5** – Síntesi de BP255 per reacció de Suzuki-Miyaura sota irradiació de microones

Quan la reacció es va realitzar durant 15 minuts a 60 °C o a 80 °C es va observar la presència d'àcid borònic de partida (**12**, Proves 1 i 2, Taula 4.3), el qual es va aconseguir disminuir realitzant la reacció a 80 °C i augmentant el temps de reacció fins a 30 minuts (Prova 3, Taula 4.3). El millor resultat, però, es va obtenir quan la reacció es va dur a terme a 120 °C durant 30 min, cosa que va proporcionar el pèptid biarílic BP255 amb un 62% de puresa, tot i que es va obtenir juntament amb un 9% del producte d'*homocoupling* **30** o del fenol **28** (Prova 4, Taula 4.3). Un augment de la temperatura fins a 140 °C va conduir a un increment d'aquests subproductes **28** i **30** (15%, Prova 5, Taula 4.3).

**Taula 4.3** – Síntesi de BP255 per reacció de Suzuki-Miyaura sota irradiació de microones

Prova	Temps (min)	T (°C)	<b>12</b> <sup>a</sup> (%) <sup>d</sup>	<b>28</b> + <b>30</b> <sup>b</sup> (%)	BP255 <sup>c</sup> (%)
1	15	60	15	10	51
2	15	80	12	11	47
3	30	80	9	8	63
4	30	120	0	9	62
5	30	140	2	15	59

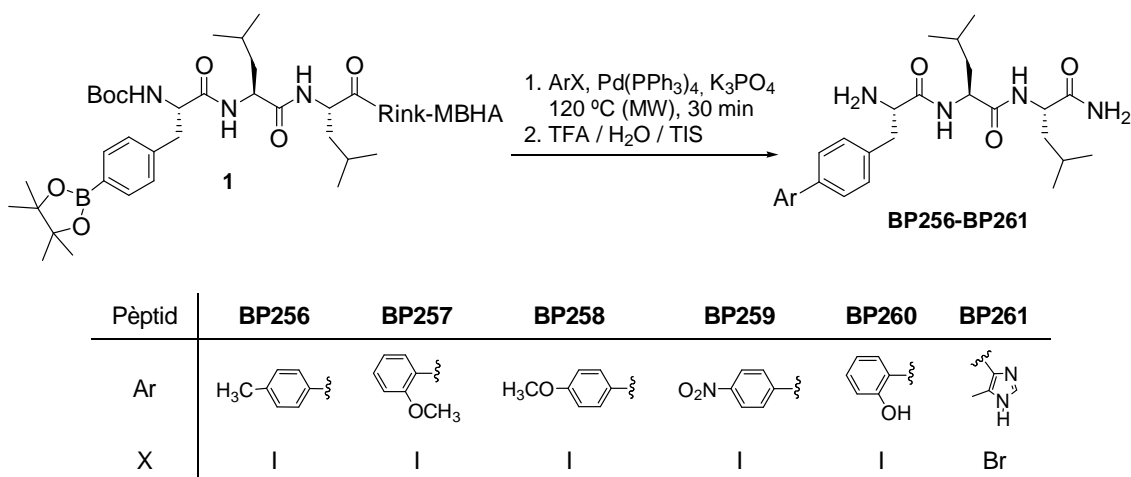
<sup>a</sup>H-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>, t<sub>R</sub> = 6.0 min.

<sup>b</sup>Subproductes d'*homocoupling* i fenol, que coelueixen, t<sub>R</sub> = 6.1 min.

<sup>c</sup>H-Phe(4-Ph)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>, t<sub>R</sub> = 7.2 min.

<sup>d</sup>Percentatge de puresa obtingut de l'anàlisi del cru de reacció per HPLC (220 nm).

A continuació, es varen aplicar les millors condicions anteriors per a l'arilació de Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**) amb els halurs d'aril utilitzats anteriorment: 2-iodofenol, *p*-iodonitrobenzè, 4-iodoanisole, 2-iodoanisole, 4-iodotoluenè i 1-[2-(trimetilsilil)etoximetil]-4(5)-bromo-5(4)-metilimidazole (**31**) (Esquema 4.6).



**Esquema 4.6** – Síntesi dels pèptids biarílics BP256-261 sota irradiació de microones

En primer lloc, la resina **1** es va tractar amb l'halur d'aril corresponent (5 eq) i K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 2M (5 eq) en DME/EtOH/H<sub>2</sub>O (9:9:2) utilitzant Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0.05 eq) com a catalitzador, sota irradiació de microones a 120 °C durant 30 minuts (Taula 4.4). Després de cada experiment, la resina es va sotmetre a un tractament amb TFA/H<sub>2</sub>O/TIS i el cru obtingut es va analitzar per HPLC i ESI-MS.

**Taula 4.4-** Síntesi dels pèptids biarílics BP256-261 sota irradiació de microones

Prova	ArX	12 <sup>a</sup> (%) <sup>c</sup>	28 + 30 <sup>b</sup> (%)	Pèptids biarílics		
				Pèptid	Puresa (%) <sup>c</sup>	t <sub>R</sub> (min) <sup>d</sup>
1	4-iodotoluè	0	15	BP256	69	7.5
2	2-iodoanísol	0	5	BP257	91	7.2
3	4-iodoanísol	0	14	BP258	73	7.2
4	<i>p</i> -iodonitrobenzè	4	6	BP259	80	7.2
5	2-iodofenol	0	4	BP260	88	6.9
6	bromoimidazoles ( <b>31</b> )	0	49	BP261	22	5.7

<sup>a</sup>H-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>, t<sub>R</sub> = 6.0 min.

<sup>b</sup>Subproductes d'*homocoupling* i fenol, que coelueixen, t<sub>R</sub> = 6.1 min.

<sup>c</sup>Percentatge de puresa obtingut de l'anàlisi del cru de reacció per HPLC (220 nm).

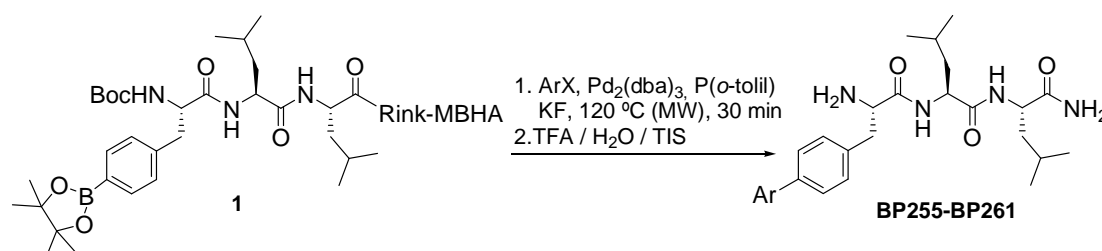
<sup>d</sup>Temps de retenció per HPLC (220 nm)

En tots els casos es varen obtenir els pèptids biarílics esperats. Els millors resultats es varen assolir per a l'arilació amb 2-iodoanísol, *p*-iodonitrobenzè i 2-iodofenol, obtenint-se els pèptids biarílics esperats BP257, BP259 i BP260 amb pureses elevades (80-91%, Proves 2, 4 i 5, Taula 4.4). Cal destacar, que la puresa dels productes biarílics procedents de l'acoblament creuat amb 4-iodotoluè, 4-iodoanísol i 2-iodofenol va augmentar significativament. L'acoblament creuat amb els bromoimidazoles **31** va ser el



més difícil, proporcionant el pèptid biarílic BP261 amb un percentatge de puresa molt baix (22%, Prova 6, Taula 4.4). En tots els casos, els pèptids biarílics es varen obtenir juntament amb el producte d'*homocoupling* **30** i amb el fenol **28**.

A continuació, es va assajar l'ús de  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  com a catalitzador ja que s'havia mostrat efectiu per a l'arilació en fase sòlida de 5-bromohistidines (Cerezo et al., 2008). D'aquesta manera, la reacció es va realitzar en presència de  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  (0.2 eq), P(*o*-tolil) (0.4 eq), KF (4 eq) i l'halur d'aril corresponent (5 eq), en DME/EtOH/ $\text{H}_2\text{O}$  (9:9:2) a 120 °C durant 30 minuts, sota escalfament per irradiació de microones (Esquema 4.7, Taula 4.5).



Pèptid	BP255	BP256	BP257	BP258	BP259	BP260	BP261
Ar							
X	I	I	I	I	I	I	Br

**Esquema 4.7** – Síntesi dels pèptids biarílics BP255-261 sota irradiació de microones

En tots els casos es varen obtenir els pèptids biarílics desitjats, amb pureses comparables a les obtingudes amb  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  (73-91%, Proves 1-5, Taula 4.5), excepte en el cas del 2-iodofenol, que el pèptid biarílic BP260 es va obtenir amb una puresa menor (60%, Prova 6, Taula 4.5). Cal destacar que amb aquestes condicions de reacció es va obtenir el producte BP261 amb un 57% de puresa (Prova 7, Taula 4.5). Aquest fet és especialment rellevant perquè suposa el primer exemple de síntesi en fase sòlida d'un pèptid contenint un sistema biarílic del tipus 4-imidazolilfenilalanina.

**Taula 4.5** - Síntesi dels pèptids biarílics BP255-261 sota irradiació de microones

Prova	ArX	12 <sup>a</sup> (%) <sup>c</sup>	28 + 30 <sup>b</sup> (%)	Pèptid biarílic			
				Pèptid	Puresa (%) <sup>c</sup>	t <sub>R</sub> (min) <sup>d</sup>	Rendiment (%) <sup>e</sup>
1	4-iodobenzè	0	8	BP255	73	7.2	27
2	4-iodotoluè	0	6	BP256	79	7.5	26
3	2-iodoanisole	0	0	BP257	91	7.2	63
4	4-iodoanisole	8	8	BP258	77	7.2	35
5	<i>p</i> -iodonitrobenzè	5	6	BP259	86	7.2	49
6	2-iodofenol	0	12	BP260	60	6.9	37
7	bromoimidazoles (31)	0	5	BP261	57	5.7	10

<sup>a</sup>H-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>, t<sub>R</sub> = 6.0 min.

<sup>b</sup>Subproductes d'*homocoupling* i fenol, que coelueixen, t<sub>R</sub> = 6.1 min.

<sup>c</sup>Percentatge de puresa obtingut de l'anàlisi del cru de reacció per HPLC (220 nm).

<sup>d</sup>Temps de retenció per HPLC (220 nm)

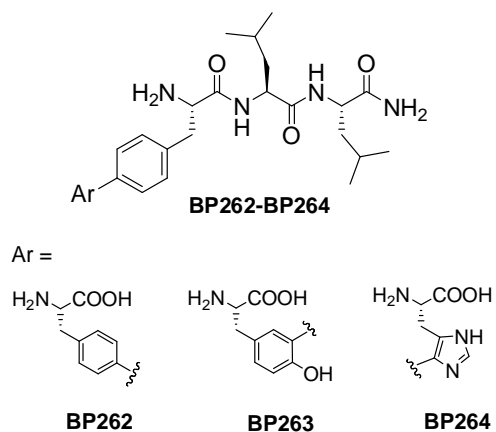
<sup>e</sup>Rendiment després de purificació.

Finalment, els crus de reacció resultants es varen purificar per cromatografia en columna en fase reversa utilitzant H<sub>2</sub>O/MeOH/TFA com a eluent. D'aquesta manera, es varen obtenir els pèptids biarílics esperats amb uns rendiments del 10-63%. Tots aquests productes varen ser caracteritzats per HRMS, <sup>1</sup>H-RMN i <sup>13</sup>C-RMN, i es varen fer experiments bidimensionals COSY, HSQC i HMBC del compost BP259 per assignar completament tots els senyals de protó i carboni.

D'aquest estudi es pot concloure que l'ús de microones permet reduir considerablement el temps de reacció de l'arilació de la boronopeptidilresina **1** amb iodobenzens (BP255-260) de 48 hores a 30 minuts; i obtenir els pèptids biarílics corresponents amb pureses del mateix ordre o lleugerament superiors als obtinguts per escalfament convencional. A més, la irradiació de microones juntament amb el catalitzador Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> permet l'arilació d'**1** amb els bromoimidazoles **31**. D'altra banda, d'acord amb la literatura, d'aquest estudi es desprèn que en qualsevol dels dos mètodes d'escalfament, les propietats electròniques dels substituents presents a l'anell aromàtic no justifiquen la diferent reactivitat dels halurs d'aril emprats; i, en general, la reacció es dona de forma similar tant amb halurs amb grups electrodonadors com amb halurs amb grups electroatracients (Doan et al., 2008).

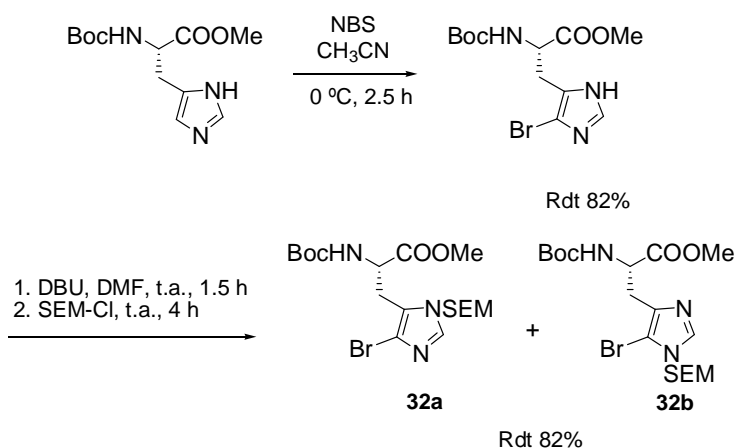
#### 4.1.2. Arilació de Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (1) amb haloaminoàcids

Tenint en compte els bons resultats obtinguts per a l'arilació de la resina **1** amb halurs aromàtics, es va decidir assajar l'arilació d'**1** amb residus de fenilalanina, tirosina i histidina, per tal d'obtenir els tetrapèptids biarílics BP262-264 (Figura 4.3).



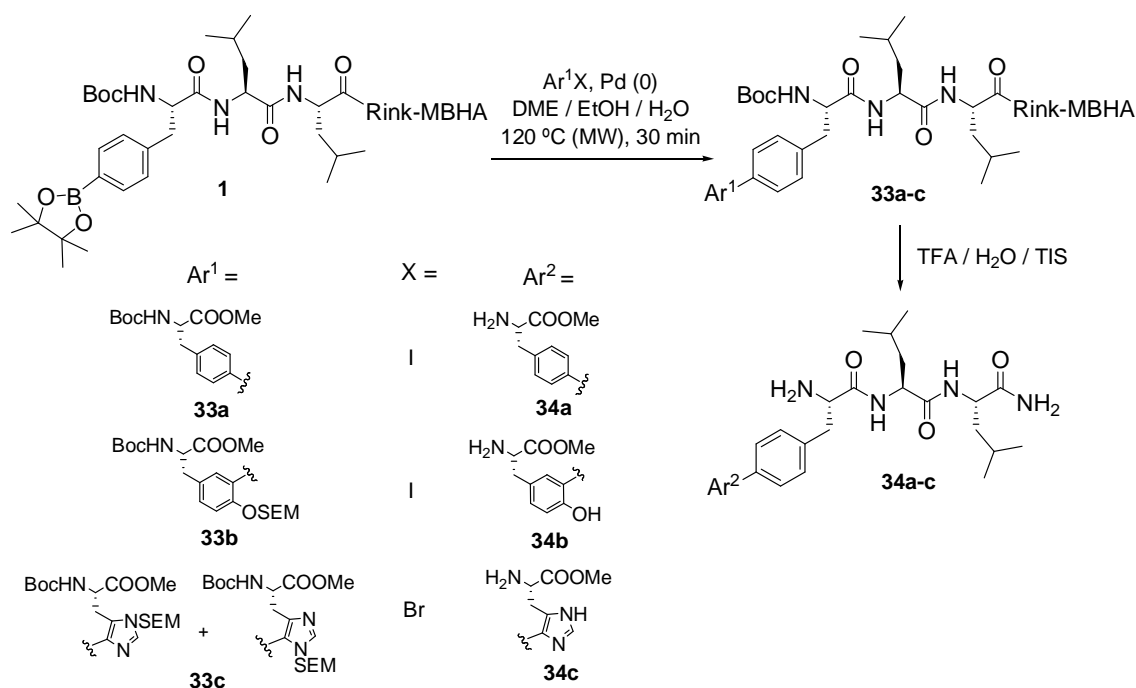
**Figura 4.3** – Tetrapèptids biarílics BP262-264

En primer lloc, va ser necessari preparar les 5-bromohistidines convenientment protegides **32**, seguint una estratègia descrita anteriorment al grup LIPPSO (Cerezo et al., 2008). La síntesi va consistir en la bromació de l'anell d'imidazole de Boc-His-OMe i en la protecció d'aquest anell amb el grup SEM. D'aquesta manera, es varen obtenir les 5-bromohistidines **32** com una mescla regioisomèrica amb un 67% de rendiment global de les dues etapes (Esquema 4.8).



**Esquema 4.8** – Síntesi de les 5-bromohistidines **32**

A continuació, es va estudiar l'arilació de la resina Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**) amb Boc-Phe(I)-OMe (**9**), Boc-Tyr(3-I,SEM)-OMe (**23c**) i les 5-bromohistidines **32** (Esquema 4.9).



**Esquema 4.9** – Arilació d'**1** amb haloaminoàcids sota irradiació de microones

D'una banda, es va realitzar l'arilació d'**1** amb els haloaminoàcids corresponents utilitzant Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> com a catalitzador sota les condicions de preparació dels tripèptids biarílics BP255-BP261. Després de cada experiment, una alíquota de cadascuna de les resines resultants **33a-c** es va tractar amb TFA/H<sub>2</sub>O/TIS i els crús obtinguts es varen analitzar per HPLC i ESI-MS (Proves 1-3, Taula 4.6). Quan es va utilitzar Boc-Phe(4-I)-OMe (**9**) es va formar un 77% de producte biarílic (Prova 1, Taula 4.6). Aquest percentatge corresponia a una mescla de l'èster metílic esperat **34a** (9%) amb el seu anàleg en forma d'àcid carboxílic BP262 (54%) provinent de la hidròlisi del metil ester, i amb el producte en forma d'èster etílic (14%) procedent de la transesterificació de **34a** amb etanol. De manera similar, quan es va realitzar l'acoblament creuat d'**1** amb Boc-Tyr(3-I,SEM)-OMe (**23c**) es va formar un 69% de producte biarílic que també corresponia a una mescla de **34b** (33%) amb l'àcid BP263 (21%) i amb l'èster etílic (15%) (Prova 2, Taula 4.6). En el cas d'utilitzar les 5-bromohistidines **32** no es va observar la formació del producte biarílic **34c**.

**Taula 4.6** – Síntesi de **34a-c** per reacció de Suzuki-Miyaura sota irradiació de microones

Prova	ArX	28 + 30 <sup>a</sup> (%) <sup>b</sup>	Pèptids biarílics		
			Pèptid	Puresa (%) <sup>b</sup>	t <sub>R</sub> (min) <sup>c</sup>
1 <sup>d</sup>	Boc-Phe(4-I)-OMe	0	<b>34a</b>	77 <sup>e</sup>	17.3
2 <sup>d</sup>	Boc-Tyr(3-I,SEM)-OMe	21	<b>34b</b>	69 <sup>e</sup>	16.4
3 <sup>d</sup>	Boc-His(5-Br,1-SEM)-OMe Boc-His(5-Br,3-SEM)-OMe	-	<b>34c</b>	-	-
4 <sup>f</sup>	Boc-Phe(4-I)-OMe	0	<b>34a</b>	88	17.2
5 <sup>f</sup>	Boc-Tyr(3-I,SEM)-OMe	12	<b>34b</b>	77	16.4
6 <sup>f</sup>	Boc-His(5-Br,1-SEM)-OMe Boc-His(5-Br,3-SEM)-OMe	8	<b>34c</b>	37	14.7

<sup>a</sup>Subproductes d'*homocoupling* i fenol, que coelueixen, t<sub>R</sub> = 16.6 min.

<sup>b</sup>Percentatge de puresa obtingut de l'anàlisi del cru de reacció per HPLC (220 nm).

<sup>c</sup>Temps de retenció obtingut de l'anàlisi del cru de reacció per HPLC (220 nm)

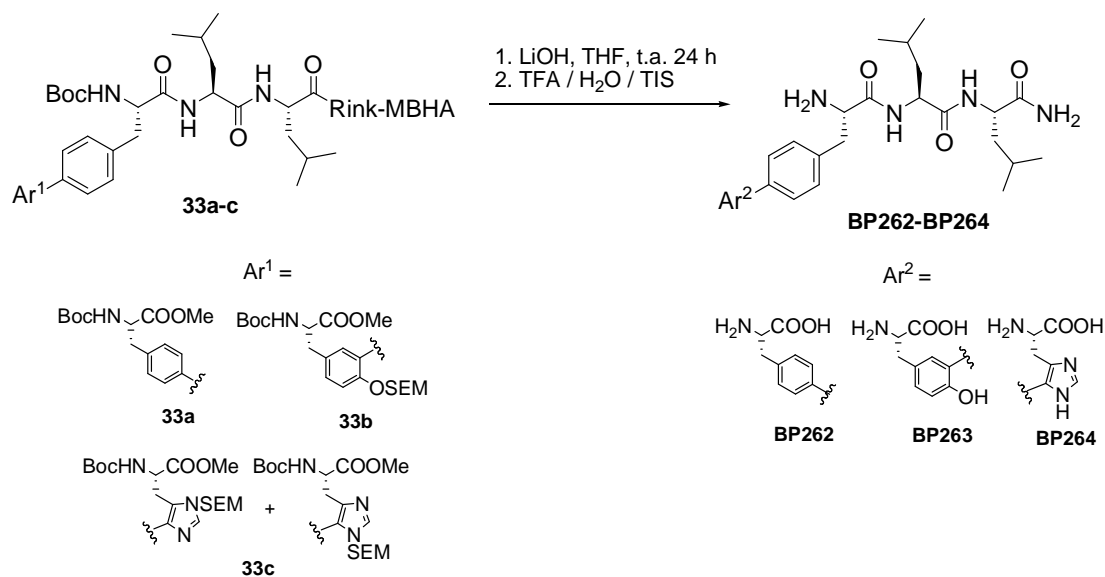
<sup>d</sup>Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0.05 eq), K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 2M (5 eq), ArX (5 eq).

<sup>e</sup>Suma dels percentatges dels productes biarílics obtinguts.

<sup>f</sup>Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (0.2 eq), P(*o*-tolil) (0.4 eq), KF (4 eq), ArX (5 eq).

Paral·lelament, es va assajar la reacció utilitzant Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> com a catalitzador en les mateixes condicions descrites anteriorment per a l'arilació d'**1** amb halurs d'aril. En els tres casos es varen obtenir els productes biarílics esperats amb pureses del 37-88% (Proves 4-6, Taula 4.6). El millor resultat es va observar per a l'acoblament creuat amb Boc-Phe(4-I)-OMe (**9**), proporcionant el pèptid **34a** amb una puresa del 88% (Prova 4, Taula 4.6). És especialment rellevant l'obtenció del producte **34c** (37%, Prova 6), el qual correspon a l'acoblament creuat d'**1** amb les 5-bromohistidines **32**, ja que és el primer exemple d'acoblament creuat entre un residu de fenilalanina i un d'histidina. Cal destacar, que en aquestes tres reaccions no es va observar hidròlisi ni transesterificació del metilester amb el dissolvent.

Tot seguit, es va realitzar la hidròlisi de l'ester metílic dels tres tetrapèptids anteriors. Amb aquesta finalitat es varen tractar les resines **33a-c** amb LiOH·H<sub>2</sub>O (5 eq) en THF/H<sub>2</sub>O (7:1) a temperatura ambient durant 24 hores. Després de cada experiment, les resines resultants es varen tractar amb TFA/H<sub>2</sub>O/TIS a temperatura ambient durant 2 hores (Esquema 4.10, Taula 4.7). D'aquesta manera es varen obtenir els pèptids biarílics esperats, totalment desprotegits, amb pureses del 42 al 92%.



**Esquema 4.10 – Hidròlisi de les peptidil resines 33a-c**

Finalment, els crus resultants de les proves 1-3 (Taula 4.7) es varen purificar per cromatografia en columna en fase reversa utilitzant H<sub>2</sub>O/MeOH/TFA com a eluent. D'aquesta manera, es varen obtenir els pèptids biarílics esperats amb uns rendiments del 12-62%. Tots aquests productes varen ser caracteritzats per HRMS, <sup>1</sup>H-RMN i <sup>13</sup>C-RMN, i es varen fer els experiments bidimensionals COSY, HSQC i HMBC per assignar completament tots els senyals de protó i carboni.

En tots els casos, els espectres de RMN varen mostrar la presència d'un únic estereoisòmer, revelant que durant la borilació i la posterior reacció de Suzuki-Miyaura no es produeix epimerització. En el cas de BP262, però, el corresponent cromatograma d'HPLC presentava dos pics. Aquest fet es pot atribuir a la formació de dos confòrmers, ja que quan es va realitzar l'anàlisi per HPLC a 15 °C i a 60 °C es va observar que la proporció dels pics variava. L'anàlisi corresponent per <sup>1</sup>H-RMN a baixa temperatura en MeOH-d<sub>4</sub> ho va corroborar, perquè s'observava coalescència dels senyals.

**Taula 4.7 – Hidròlisi de les peptidil resines 33a-c**

Prova	Pèptid	t <sub>R</sub> (min) <sup>a</sup>	Puresa (%) <sup>b</sup>	Rendiment (%) <sup>c</sup>
1	BP262	16.6 <sup>d</sup>	92	62
2	BP263	15.9	79	48
3	BP264	14.6	42	12

<sup>a</sup>Temps de retenció per HPLC (220 nm).

<sup>b</sup>Percentatge de puresa obtingut del cru de reacció per HPLC (220 nm).

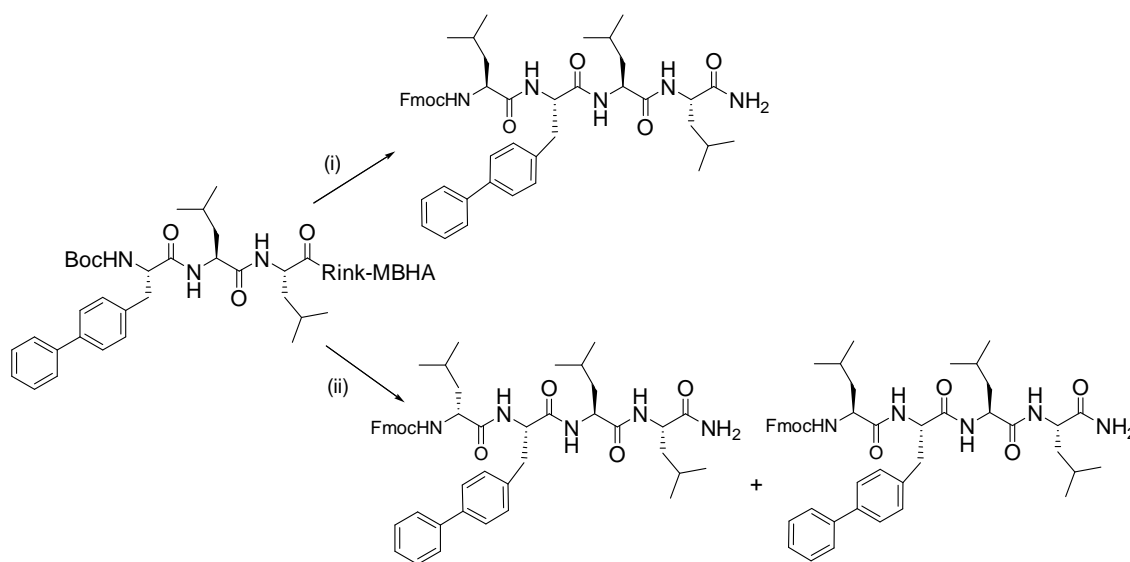
<sup>c</sup>Rendiment després de purificació.

<sup>d</sup>Es veu el senyal desdoblant

#### 4.1.2.1. Estudis d'epimerització

Per tal de confirmar que no es produïa epimerització durant la borilació i l'arilació, es va partir de la resina Boc-Phe(4-Ph)-Leu-Leu-Rink-MBHA, procedent d'utilitzar les millors condicions de reacció anteriors (Esquema 4.11). Es va eliminar selectivament el grup Boc d'aquesta resina per tractament amb TMSOTf i 2,6-lutidina (Zhang et al., 1998) i, a continuació, es va acoblar Fmoc-L-Leu-OH. L'anàlisi del cru de reacció després del desancorament va mostrar un únic pic, indicant que no s'havia produït epimerització.

En canvi quan, després d'eliminar el grup Boc, la resina resultant es va tractar amb la mescla racèmica Fmoc-L-Leu-OH i Fmoc-D-Leu-OH, l'anàlisi per HPLC del cru de reacció va mostrar dos pics que corresponien als dos diastereoisòmers (Esquema 4.11).

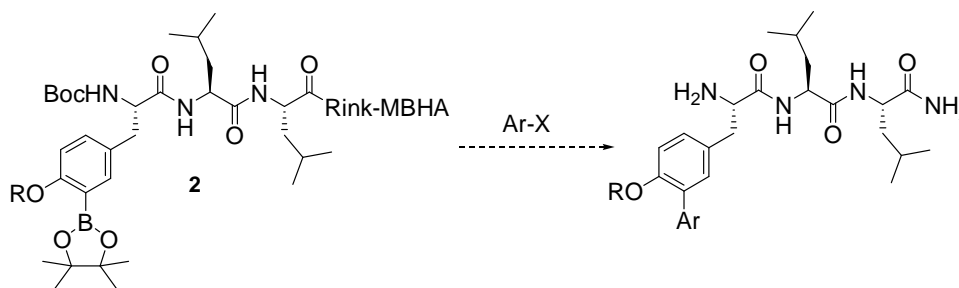


- (i) a) TMSOTf, 2,6-lutidina, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, t.a., 1 h. b) Fmoc-L-Leu-OH, HBTU, DIEA, DMF, t.a., 3 h.  
 c) TFA / H<sub>2</sub>O / TIS (95:2.5:2.5), t.a., 2 h.  
 (ii) a) TMSOTf, 2,6-lutidina, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, t.a., 1 h. b) Fmoc-L-Leu-OH i Fmoc-D-Leu-OH, HBTU, DIEA, DMF, t.a., 3 h.  
 c) TFA / H<sub>2</sub>O / TIS (95:2.5:2.5), t.a., 2 h.

**Esquema 4.11** – Estudis d'epimerització de Boc-Phe(4-Ph)-Leu-Leu-Rink-MBHA

## 4.2. Síntesi de pèptids biarílics lineals per arilació d'una boronotirosina

Aquesta part de la tesi doctoral, es va centrar en l'extensió de la metodologia posada a punt per a l'arilació d'una boronofenilalanina a la síntesi de pèptids biarílics contenint 3-ariltirosines. Així es va plantejar la preparació de pèptids del tipus H-Tyr(3-Ar,R)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> a partir de les boronopeptidil resines Boc-Tyr(3-BPin,R)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2**) preparades segons s'ha descrit al capítol anterior (Esquema 4.12).



**Esquema 4.12** – Arilació de Boc-Tyr(3-BPin,R)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2**)

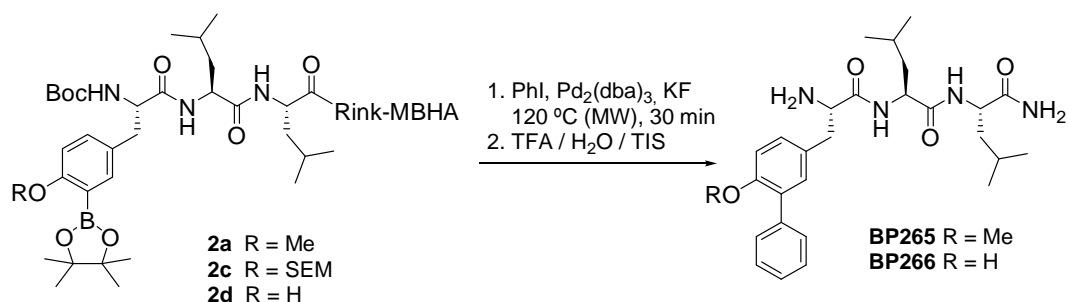
En primer lloc es va estudiar l'arilació de les resines **2** amb 4-iodobenzè per determinar-ne les condicions òptimes i posteriorment es va estendre la metodologia a l'arilació amb haloaminàcids.

### 4.2.1. Arilació de Boc-Tyr(3-BPin,R)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2**) amb iodobenzè

L'arilació de l'anell de benzè d'un residu de tirosina mitjançant una reacció de Suzuki-Miyaura requereix la protecció del grup hidroxil de la cadena lateral (Knörr et al., 2006). Per aquest motiu, es va estudiar la compatibilitat dels grups protectors metil, al·lil i SEM a les condicions d'arilació en fase sòlida de boronofenilalanines.

Així doncs, les resines Boc-Tyr(3-BPin,R)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2**) es varen tractar amb Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (0.2 eq), P(*o*-tolil) (0.4 eq) i KF (4 eq) en DME/EtOH/H<sub>2</sub>O (9:9:2) a 120 °C durant 30 minuts, sota escalfament per irradiació de microones, utilitzant 4-iodobenzè (5 eq) com a halur d'aril. Després de cada experiment, una alíquota de cada resina es va tractar amb TFA/H<sub>2</sub>O/TIS i el cru obtingut es va analitzar per HPLC i ESI-MS (Esquema 4.13).



Esquema 4.13 – Arilació de **2** sota irradiació de microones

Taula 4.8 – Síntesi de BPC265 i BP266 per reacció de Suzuki-Miyaura sota irradiació de microones

Prova	Grup protector	Pèptid	$t_R$ (min) <sup>a</sup>	Puresa (%) <sup>b</sup>	Rendiment (%) <sup>c</sup>
1	Me	BP265	7.3	92	38
2	Al <sup>d</sup>	BP266	6.9	48	-
3	SEM	BP266	6.9	80	34

<sup>a</sup>Temps de retenció per HPLC (220 nm).

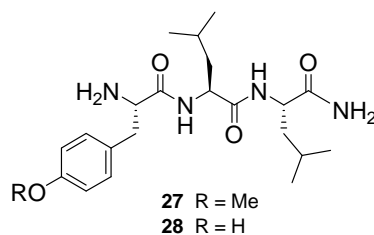
<sup>b</sup>Percentatge de puresa obtingut per HPLC en el cru de reacció (220 nm).

<sup>c</sup>Rendiment després de purificació.

<sup>d</sup>El grup Al es va eliminar durant l'etapa de borilació

Les tres resines **2** varen proporcionar els pèptids biarílics esperats BP265 i BP266 amb pureses de 48-92%. El millor resultat es va obtenir a partir de la resina **2a** que presentava el metil com a grup protector, conduint al pèptid BP265 amb una puresa del 92% (Prova 1, Taula 4.8). Tot i que s'havia comprovat que el grup al·lil s'eliminava durant la formació de l'ester pinacolborònic, es va assajar l'arilació de la resina **2d**. En aquest cas, el producte biarílic esperat es va obtenir amb un 48% de puresa (Prova 2, Taula 4.8). Finalment, es va observar que la resina **2c** protegida amb el grup SEM proporcionava el producte biarílic BP266 amb una puresa acceptable (80%, Prova 3, Taula 4.8). A més, aquest grup s'eliminava fàcilment durant el tractament àcid de l'etapa de desancorament dels pèptids de la resina.

En les tres proves es va obtenir un 8-9% del subproducte H-Tyr(R)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (**27** o **28**), on R era Me o H, el qual procedeix d'una reacció de protodeborilació que competeix amb l'acoblament creuat (Figura 4.4). Aquesta reacció lateral consisteix en la hidròlisi de l'enllaç B-C i es veu afavorida per la presència de bases i substituents en orto (Miyaura, 2002; Hall, 2005).



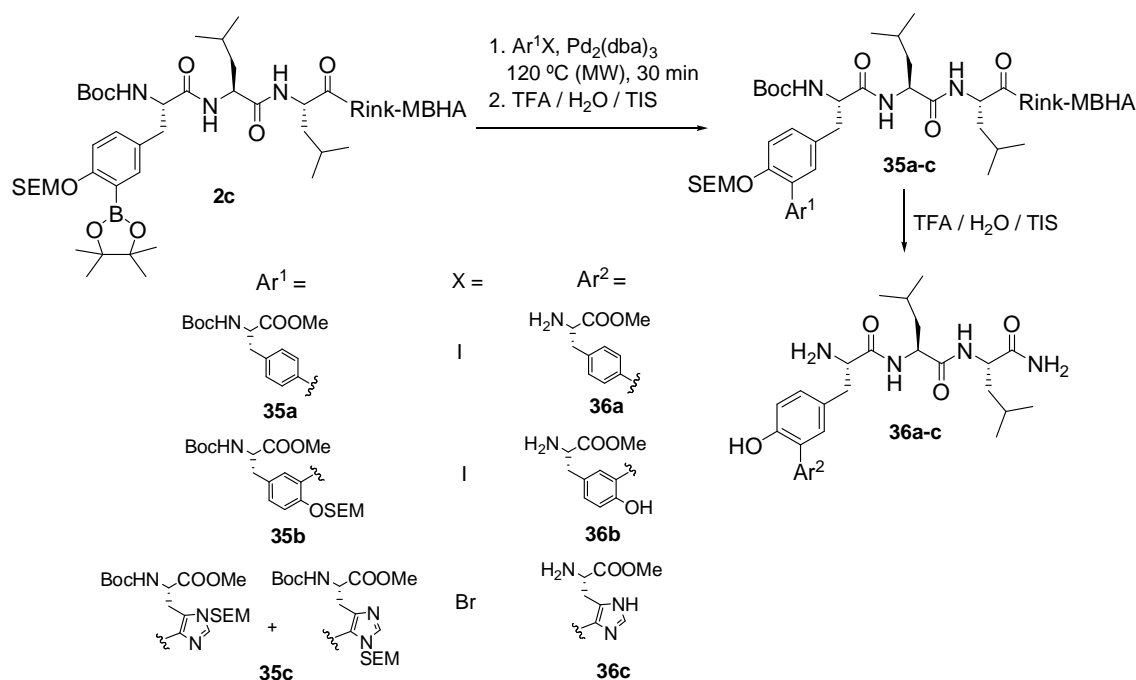
**Figura 4.4** – Estructura de **27** i **28**

Finalment, els crús de reacció resultants de les proves 1 i 3 es varen purificar per cromatografia en columna en fase reversa utilitzant H<sub>2</sub>O/MeOH/TFA com a eluent. D'aquesta manera, es varen obtenir els pèptids biarílics esperats BP265 i BP266 amb uns rendiments del 34-38% (Taula 4.8). Tots aquests productes varen ser caracteritzats per HRMS, <sup>1</sup>H-RMN i <sup>13</sup>C-RMN, i es varen fer experiments bidimensionals COSY, HSQC i HMBC per assignar completament tots els senyals de protó i carboni.

Així doncs, els grups metil i SEM varen resultar ser uns grups protectors adients de l'hidroxil dels residus de tirosina en les reaccions d'arilació de Suzuki-Miyaura.

#### 4.2.2. Arilació de Boc-Tyr(3-BPin,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2c**) amb haloaminoàcids

En base als resultats anteriors es va estudiar l'arilació de la resina Boc-Tyr(3-BPin,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2c**) amb els aminoàcids Boc-Phe(4-I)-OMe (**9**), Boc-Tyr(3-I,SEM)-OMe (**23c**) i les 5-bromohistidines **32**, sota les condicions descrites. Després de cada experiment, una alíquota de cadascuna de les resines resultants **35a-c** es va tractar amb TFA/H<sub>2</sub>O/TIS i els crús obtinguts es varen analitzar per HPLC i ESI-MS (Esquema 4.14, Taula 4.9).



**Esquema 4.14** – Arilació de **2c** amb haloaminoàcids sota irradiació de microones

Es varen obtenir els pèptids biarílics esperats per arilació de **2c** amb una 4-iodofenilalanina i una 3-iodotirosina amb bones pureses (70-61%, Proves 1 i 2, Taula 4.9). En el cas de l'arilació amb les 5-bromohistidines **32** es va observar per HPLC la formació d'una barreja de productes corresponent als subproductes de protodeborilació **28** (34%) i d'*homocoupling* (31%), i a un subproducte no identificat (15%). Per ESI-MS es va detectar la formació de traces del producte biarílic esperat (Prova 3, Taula 4.9).

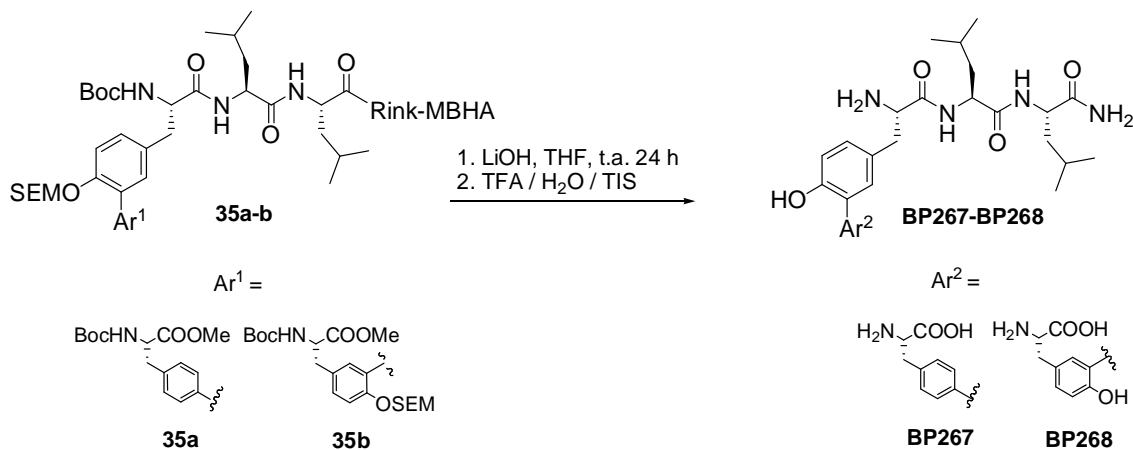
**Taula 4.9** – Arilació de **2c** sota irradiació de microones

Prova	ArX	Pèptid	t <sub>R</sub> (min) <sup>a</sup>	Puresa (%) <sup>b</sup>
1	Boc-Phe(4-I)-OMe	<b>36a</b>	6.2	70
2	Boc-Tyr(3-I,SEM)-OMe	<b>36b</b>	6.0	61
3	Boc-His(5-Br,1-SEM)-OMe i Boc-His(5-Br,3-SEM)-OMe	<b>36c</b>	-	-

<sup>a</sup>Temps de retenció per HPLC (220 nm).

<sup>b</sup>Percentatge de puresa obtingut de l'anàlisi del cru de reacció per HPLC (220 nm).

Tot seguit, es va realitzar la hidròlisi de l'èster metílic de les peptidil resines **35a-b** per tractament amb LiOH·H<sub>2</sub>O (5 eq) en THF/H<sub>2</sub>O (7:1) a temperatura ambient durant 24 hores. Després de cada experiment, les resines resultants es varen tractar amb TFA/H<sub>2</sub>O/TIS a temperatura ambient durant 2 hores (Esquema 4.15). Els pèptids biarílics esperats BP267 i BP268, que contenen una unió tirosina-fenilalanina i tirosina-tirosina, es varen obtenir amb unes pureses del 64 i del 61%, respectivament.



**Esquema 4.15** – Hidròlisi de l'èster metílic de les peptidil resines **35a-b**

Aquest pèptids biarílics es varen purificar per cromatografia en columna en fase reversa utilitzant H<sub>2</sub>O/MeOH/TFA com a eluent. Els espectres de <sup>1</sup>H-RMN dels productes obtinguts varen revelar la presència d'una petita quantitat del subproducte de protodeborilació H-Tyr-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (**28**). La seva separació es va aconseguir mitjançant una purificació utilitzant una cromatografia en columna en fase normal utilitzant CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/AcOH com a eluent. D'aquesta manera, es varen obtenir els pèptids biarílics esperats BP267 i BP268 amb un rendiment del 44 i del 55%, respectivament. Aquests productes varen ser caracteritzats per HRMS, <sup>1</sup>H-RMN i <sup>13</sup>C-RMN, i es varen fer experiments bidimensionals COSY, HSQC i HMBC per assignar completament tots els senyals de protó i carboni.

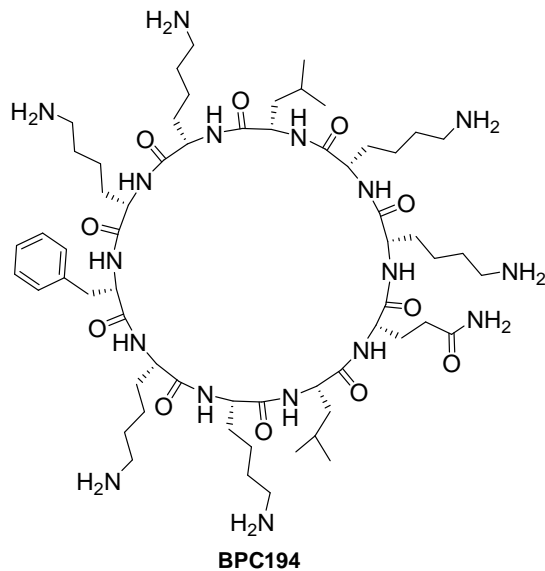


## **5. SÍNTESI EN FASE SÒLIDA DE PÈPTIDS BIARÍLICS CÍCLICS**

---



Una de les línies de recerca del grup LIPPSO se centra en l'estudi de pèptids cíclics dissenyats *de novo* amb activitat antimicrobiana. Un dels pèptids *lead* identificats és el BPC194 que mostra una bona activitat enfront dels bacteris *Erwinia amylovora*, *Xanthomonas vesicatoria* i *Pseudomonas syringae*, i una baixa hemòlisi (Figura 5.1). Aquest pèptid es pot comparar en termes d'activitat a antibiòtics com l'estreptomicina, que s'utilitza en agricultura per al control de malalties bacterianes (Monroc et al., 2006a).



**Figura 5.1** – Estructura del pèptid BPC194

Com que a la natura existeix una gran varietat de pèptids cíclics que contenen a la seva estructura unitats biaríliques i que presenten una activitat biològica destacable, es va decidir estendre la metodologia de síntesi de pèptids biarílics lineals a l'obtenció de pèptids biarílics cíclics derivats de BPC194. En primer lloc, es va estudiar la síntesi de pèptids cíclics per formació d'un enllaç biarílic entre les cadenes laterals de dos aminoàcids aromàtics (Figura 5.2-a). D'altra banda, es va estudiar la preparació d'un anàleg de BPC194, per arilació del residu de fenilalanina (Figura 5.2-b).



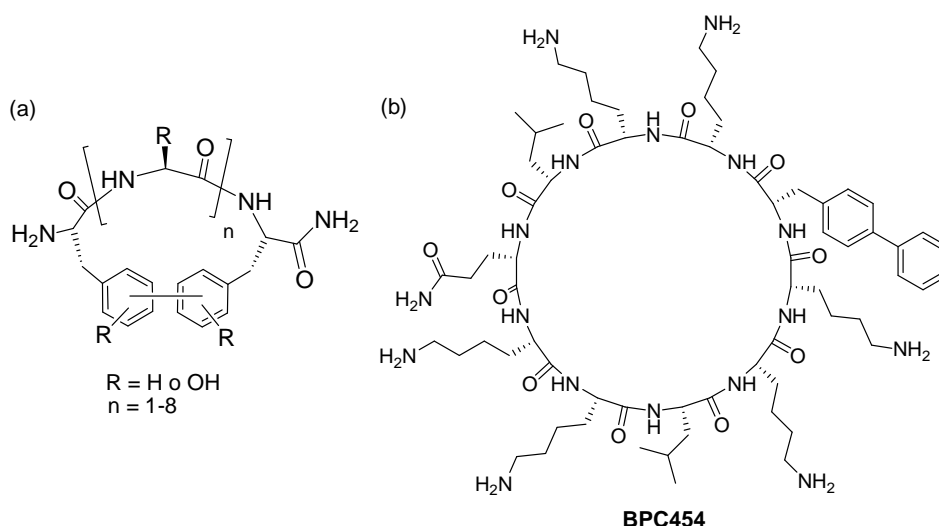


Figura 5.2 – Pèptids biarílics cíclics

## 5.1. Síntesi en fase sòlida de pèptids cíclics per formació d'un enllaç biarílic

La primera part d'aquest estudi va consistir en posar a punt un mètode per a l'obtenció de pèptids cíclics de 5 aminoàcids per formació d'un enllaç biarílic entre les cadenes laterals de dos aminoàcids aromàtics mitjançant una reacció de Suzuki-Miyaura intramolecular. En la segona part, aquest mètode es va aplicar per a la síntesi de pèptids biarílics cíclics de 3 a 10 aminoàcids.

### 5.1.1. Síntesi de pèptids biarílics cíclics de 5 aminoàcids

Els pèptids biarílics cíclics de 5 aminoàcids es varen dissenyar a partir de BPC194, tenint en compte que la subestructura Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Gln és crucial per a l'activitat d'aquest pèptid (Monroc et al., 2006a). Amb aquesta finalitat, es va plantejar substituir el residu de glutamina per un residu de fenilalanina o tirosina. També es va considerar incloure un residu de tirosina a la posició de la fenilalanina present en aquesta subestructura. D'aquesta manera, la formació de l'enllaç biarílic es realitzaria entre dos residus de fenilalanina, un residu de fenilalanina i un de tirosina o dos de tirosina (Figura 5.3).

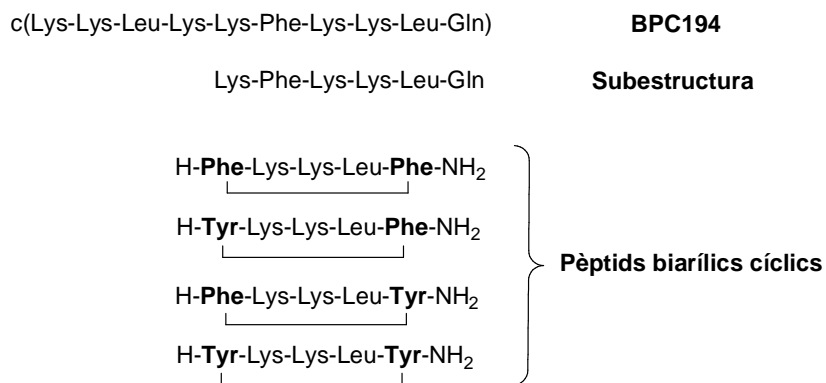
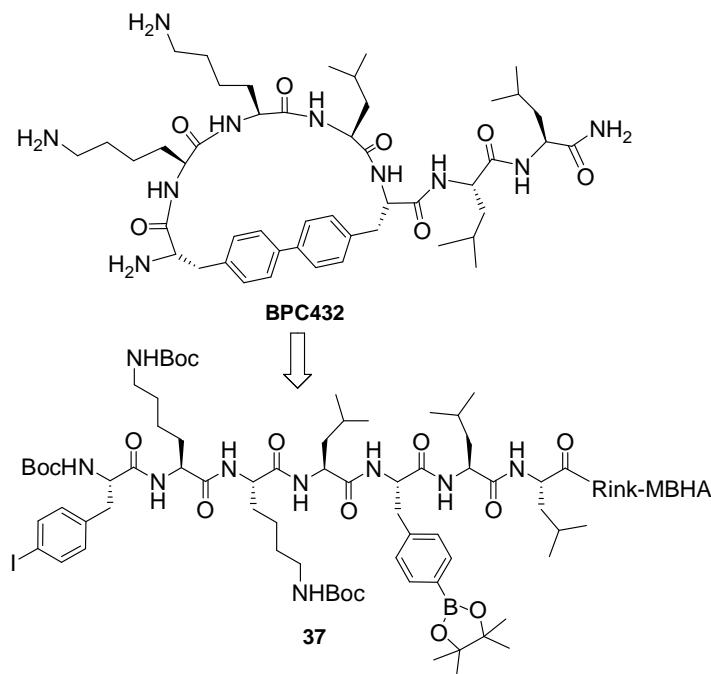


Figura 5.3 – Disseny de pèptids biarílics cíclics

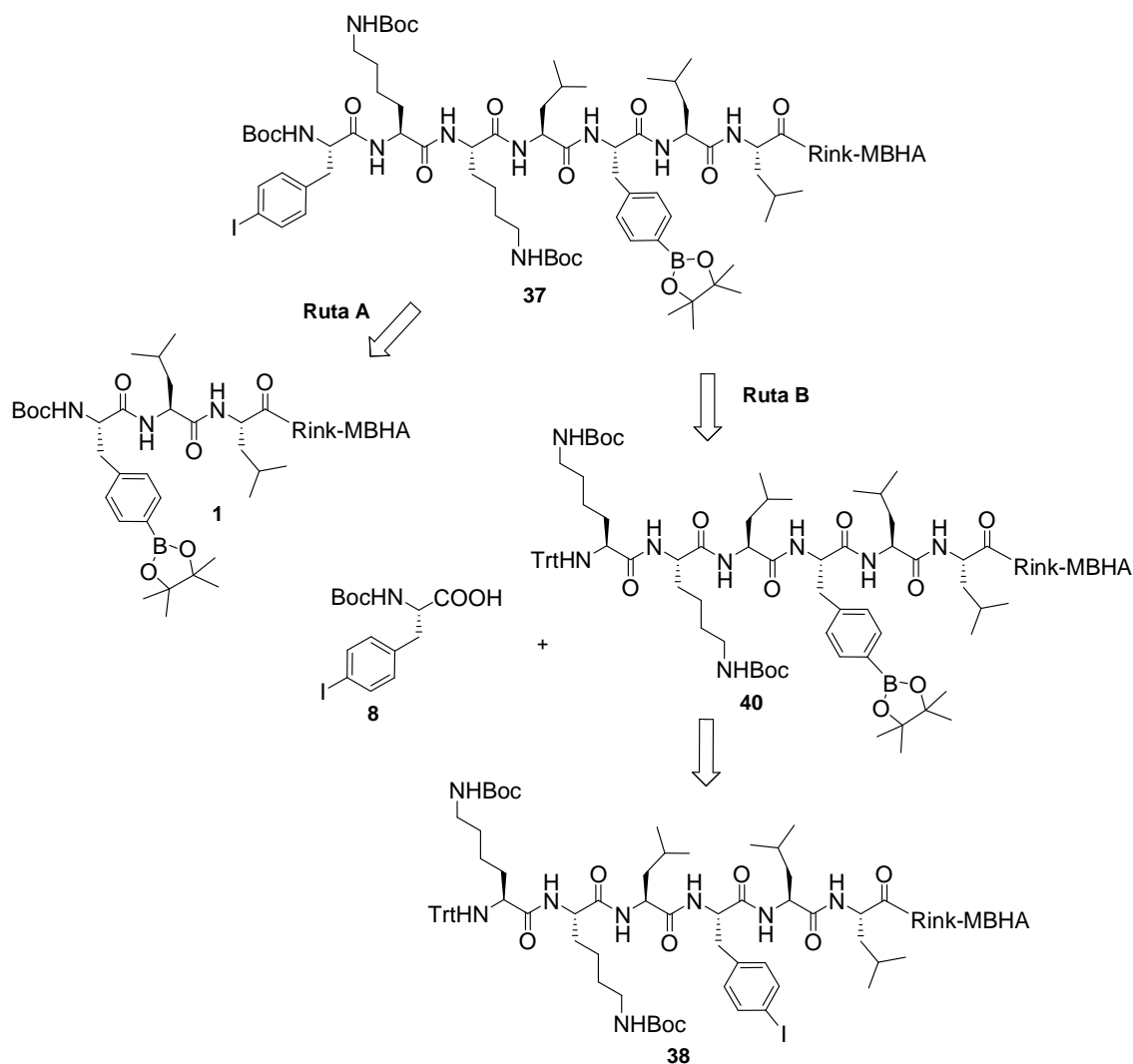
### 5.1.1.1. Pèptids cíclics contenint un enllaç biarílic entre dos residus de fenilalanina

La síntesi del pèptid cíclic BPC432 contenint un enllaç biarílic entre dos residus de fenilalanina es va plantejar a través d'una reacció intramolecular de Suzuki-Miyaura a partir del precursor lineal Boc-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**37**), el qual presentava tant l'halur d'aril com l'ester pinacolborònic a la seva seqüència (Esquema 5.1).



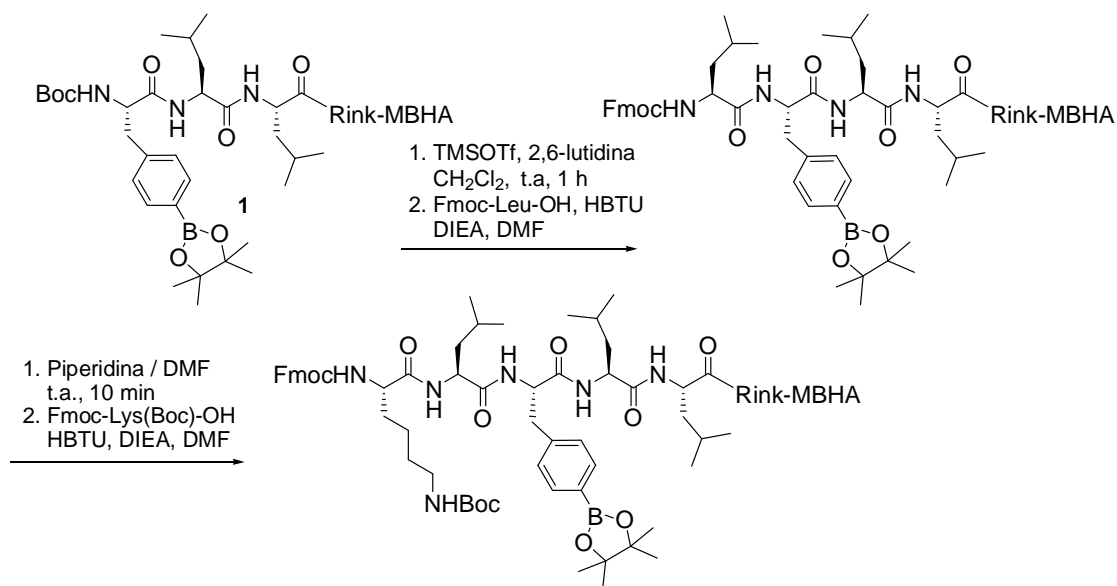
Esquema 5.1 – Retrosíntesi per a la preparació de BPC432

Per a la preparació del precursor lineal **37** es varen plantejar dues rutes sintètiques. Com a primera aproximació es va proposar partir de la boronopeptidil resina Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**), preparada anteriorment, i elongar la seqüència (Ruta A, Esquema 5.2). Com a alternativa, es va plantejar una segona estratègia que consistia en la síntesi de la iodopeptidil resina **38**, formació del boronat i posterior acoblament de la Boc-Phe(4-I)-OH (**8**) (Ruta B, Esquema 5.2).



**Esquema 5.2** – Retrosíntesi per a la preparació de **37**

Pel que fa a la primera estratègia, es va eliminar de manera selectiva el grup protector Boc de la resina Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**), utilitzant TMSOTf i 2,6-lutidina en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (Zhang et al., 1998). A continuació, es va realitzar l'elongació de la cadena per mitjà d'acoblaments successius dels aminoàcids corresponents (Esquema 5.3).



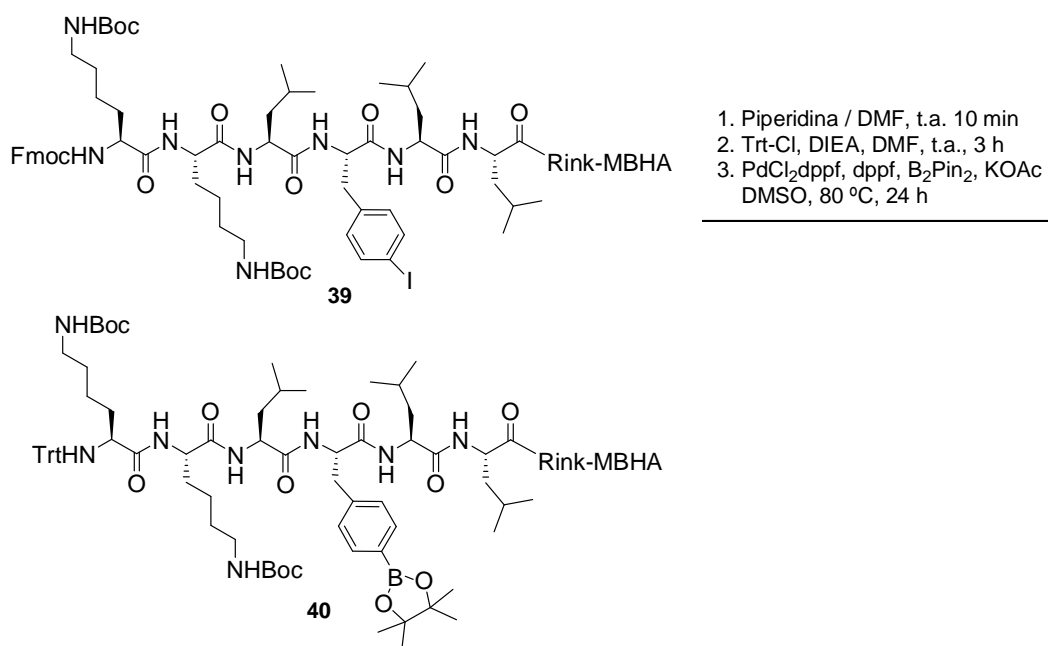
Esquema 5.3 – Elongació de la cadena peptídica d'1

En un primer assaig, es varen utilitzar les condicions habituals d'acoblament que consistien en tractar la resina amb l'aminoàcid corresponent (4 eq), HBTU (3.8 eq), HOBt (4 eq) i DIEA (7.8 eq) en DMF durant 1 hora. Després de cada acoblament es va tractar una alíquota de la resina amb TFA/H<sub>2</sub>O/TIS (95:2.5:2.5) durant 2 hores i el cru resultant es va analitzar per HPLC i ESI-MS. Es va observar que després del primer acoblament el boronat es descomposava i s'obtenia un 23% del compost fenòlic corresponent. Després del segon acoblament, aquest percentatge augmentava fins al 35% i després del tercer s'obtenia un cromatograma amb una gran quantitat de senyals que no es varen poder identificar.

Per intentar millorar aquest resultat, es va repetir la síntesi utilitzant l'aminoàcid corresponent (3 eq), HBTU (3 eq) i DIEA (3 eq) durant tota la nit. Sota aquestes condicions la quantitat del compost fenòlic va disminuir en els dos primers acoblaments (17%, 25%, respectivament). Malauradament, després del tercer acoblament únicament es va observar la presència de derivat fenòlic (75%). Reduint el temps d'acoblament fins a 3 hores només es va observar un 4% de compost fenòlic després del primer acoblament. Ara bé, després de realitzar tres acoblaments també es va obtenir un elevat percentatge de compost fenòlic (72%).

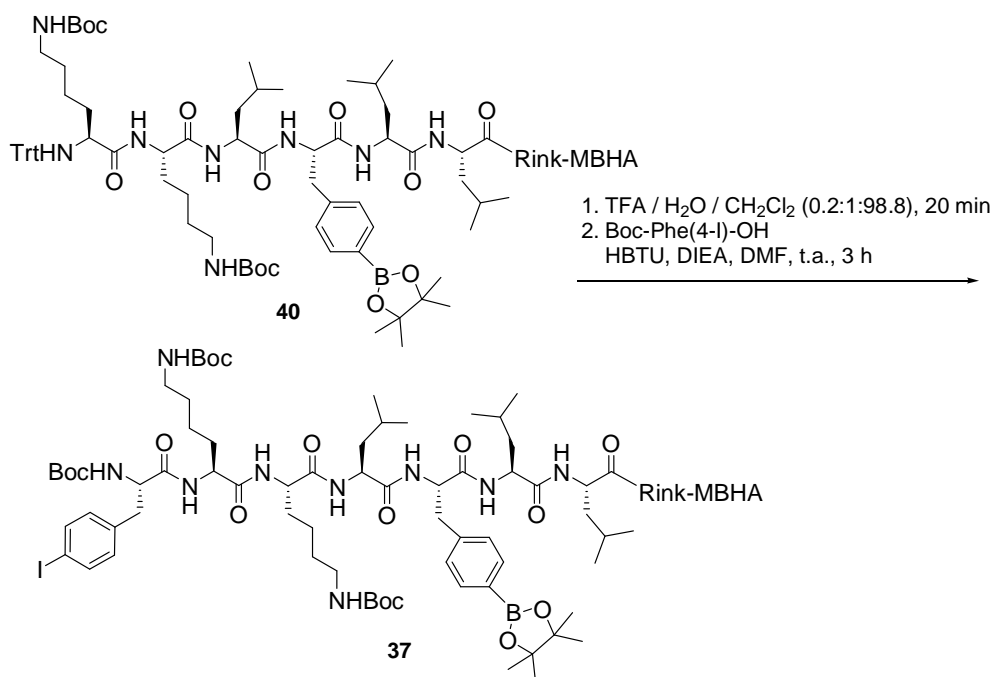
Pel que fa a la segona aproximació, es va preparar la seqüència lineal Fmoc-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-I)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**39**) seguint una estratègia Fmoc/*t*Bu. Després d'eliminar el grup Fmoc, el desancorament d'una alíquota de la resina resultant va proporcionar el pèptid H-Lys-Lys-Leu-Phe(4-I)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> amb un 73% de puresa (*t*<sub>R</sub> = 6.7 min). Per tal de preparar l'èster pinacolborònic de la fenilalanina, va ser

necessària la substitució del grup Fmoc per un grup trítill (Trt), ja que el grup Fmoc no és estable a les condicions bàsiques que requereix aquesta reacció (Doan et al., 2008). Per tant, **39** es va sotmetre a un tractament amb piperidina/DMF (3:7) seguit d'un amb TrtCl i DIEA en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. A continuació, es va realitzar la borilació utilitzant les condicions descrites anteriorment: B<sub>2</sub>Pin<sub>2</sub> (4 eq), KOAc (6 eq), PdCl<sub>2</sub>dppf (0.18 eq), dppf (0.09 eq) en DMSO durant 24 hores a 80 °C (Esquema 5.4). El desancorament d'una alíquota de la resina resultant **40** va proporcionar el pèptid H-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> amb un 56% puresa (t<sub>R</sub> = 6.8 min) juntament amb l'àcid borònic H-Lys-Lys-Leu-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (23% puresa, t<sub>R</sub> = 6.1 min) provinent de la hidròlisi del boronat.



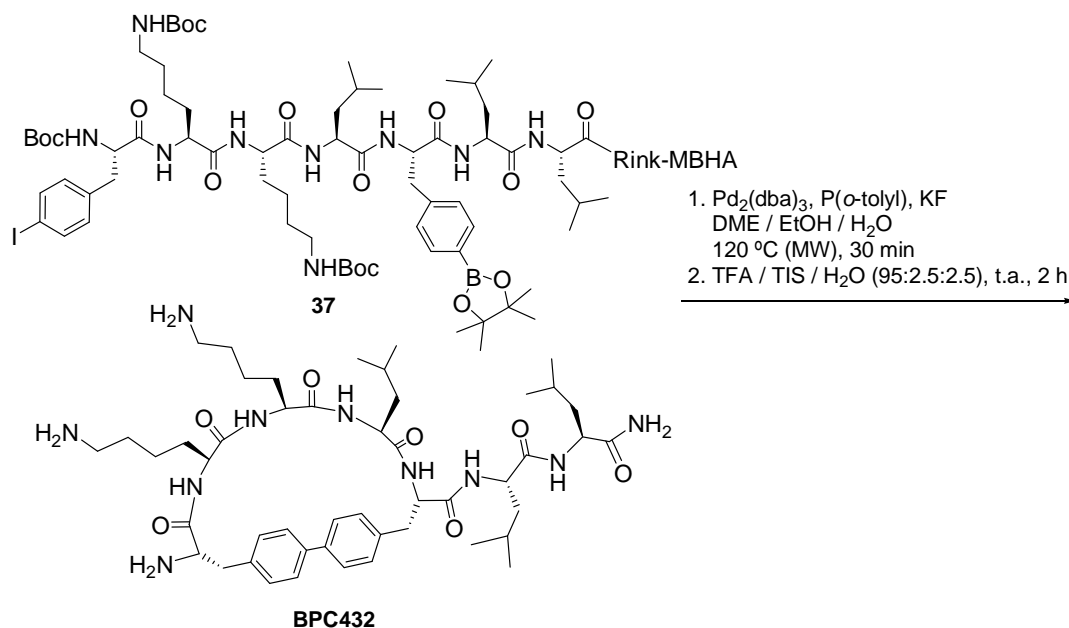
**Esquema 5.4** – Formació de la boronopeptidil resina **40**

Tot seguit, es va eliminar el grup protector Trt de **40** per tractament amb TFA/H<sub>2</sub>O/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.2:1:98.8) durant 20 minuts i es va acoblar l'aminoàcid Boc-Phe(4-I)-OH (**8**), utilitzant HBTU i DIEA en DMF durant 3 hores (Esquema 5.5). El desancorament d'una alíquota de la resina va proporcionar H-Phe(4-I)-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> amb un 52% de puresa (t<sub>R</sub> = 7.3 min) juntament amb l'àcid borònic H-Phe(4-I)-Lys-Lys-Leu-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (25% puresa, t<sub>R</sub> = 6.7 min) provinent de la hidròlisi del boronat.



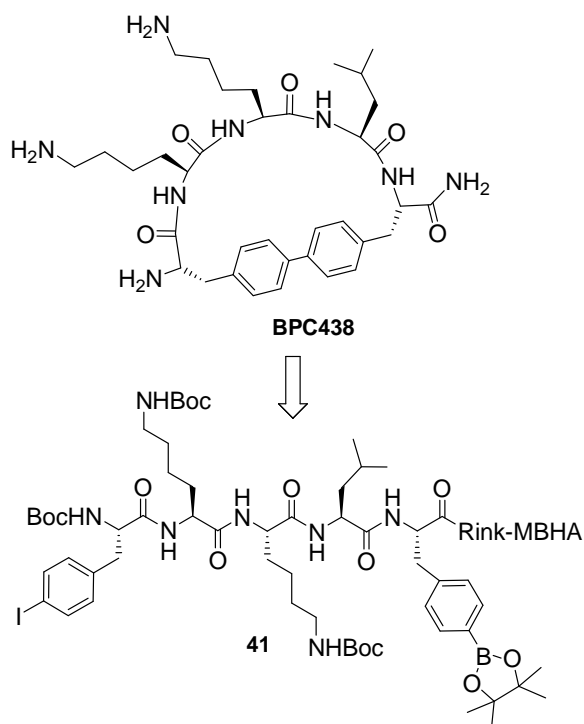
Esquema 5.5 – Síntesi de la peptidil resina 37

Finalment, es va realitzar la reacció d'acoblament creuat de Suzuki-Miyaura intramolecular utilitzant les condicions descrites per a l'obtenció dels pèptids biarílics lineals: Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (0.2 eq), P(*o*-tolil) (0.4 eq) i KF (4 eq) en DME/EtOH/H<sub>2</sub>O (9:9:2) a 120 °C durant 30 minuts, sota escalfament per irradiació de microones. Un cop finalitzada la reacció, la resina es va tractar amb TFA/H<sub>2</sub>O/TIS (95:2,5:2,5) durant 2 hores i es va obtenir el pèptid cíclic BPC432 amb un 74% de puresa (*t<sub>R</sub>* = 17.5 min) (Esquema 5.6). El cru de reacció es va purificar per cromatografia en columna en fase reversa utilitzant H<sub>2</sub>O/MeOH/TFA com a eluent, obtenint-se el pèptid biarílic esperat amb un rendiment del 28%, el qual es va caracteritzar per HRMS i <sup>1</sup>H-RMN. Es varen realitzar experiments bidimensionals COSY i HSQC per assignar completament tots els senyals de protó. La formació de l'enllaç biarílic es va confirmar per la presència a l'espectre de <sup>1</sup>H-RMN de dos doblets a la zona dels aromàtics, amb una integració de quatre protons cadascun, característics d'una substitució en *para*.



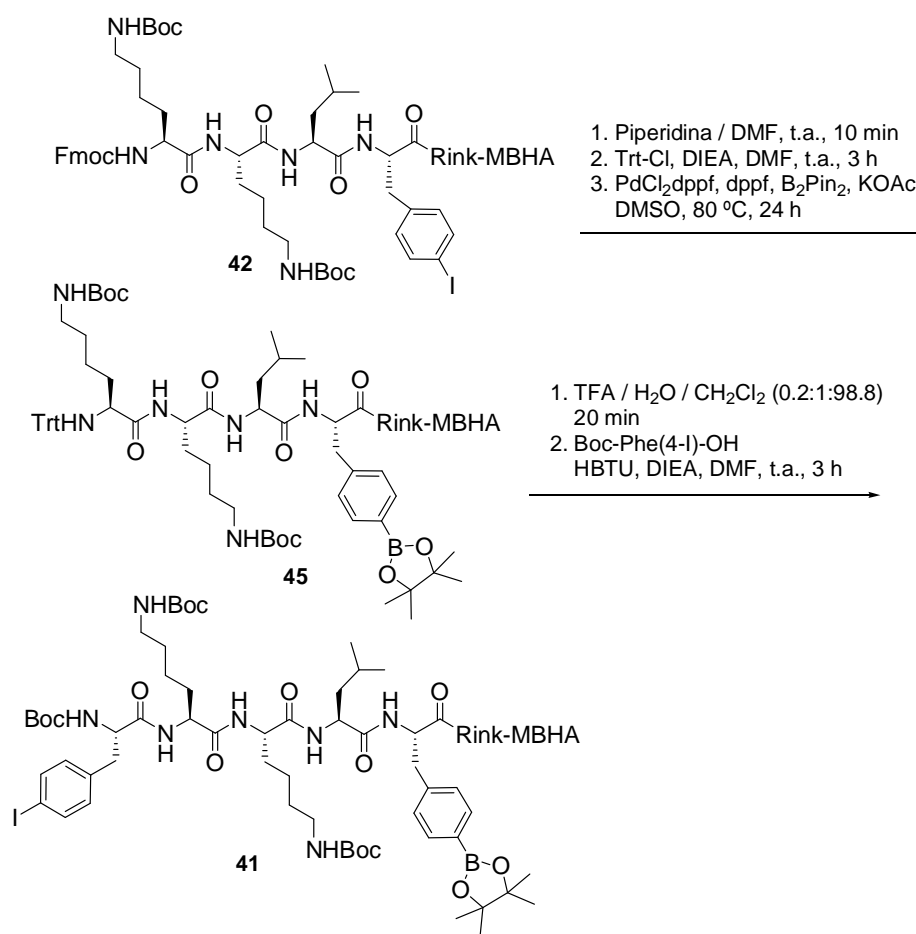
**Esquema 5.6** – Síntesi del pèptid cíclic BPC432

Tot seguit es varen aplicar les condicions de reacció trobades anteriorment per a la síntesi del pèptid biarílic cíclic BPC438, el qual és anàleg a l'anterior però sense els dos residus de leucina a l'extrem C-terminal (Esquema 5.7).



**Esquema 5.7** – Retrosíntesi per a la preparació de BPC438

Per a la síntesi de BPC438, en primer lloc, es va preparar la seqüència lineal Boc-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-I)-Rink-MBHA (**41**) seguint el procediment descrit per al pèptid biarílic cíclic BPC432, consistent en la preparació de Fmoc-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-I)-Rink-MBHA (**42**), substitució del grup Fmoc pel grup Trt, borilació del residu de fenilalanina, eliminació selectiva del grup Trt i acoblament de Boc-Phe(4-I)-OH (**8**) (Esquema 5.8). El desancorament d'un alíquota de la resina resultant va proporcionar H-Phe(4-I)-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub> amb una puresa del 54% ( $t_R = 6.7$  min) juntament amb l'àcid borònic H-Phe(4-I)-Lys-Lys-Leu-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub> (22% puresa,  $t_R = 5.8$  min), provinent de la hidròlisi del boronat.

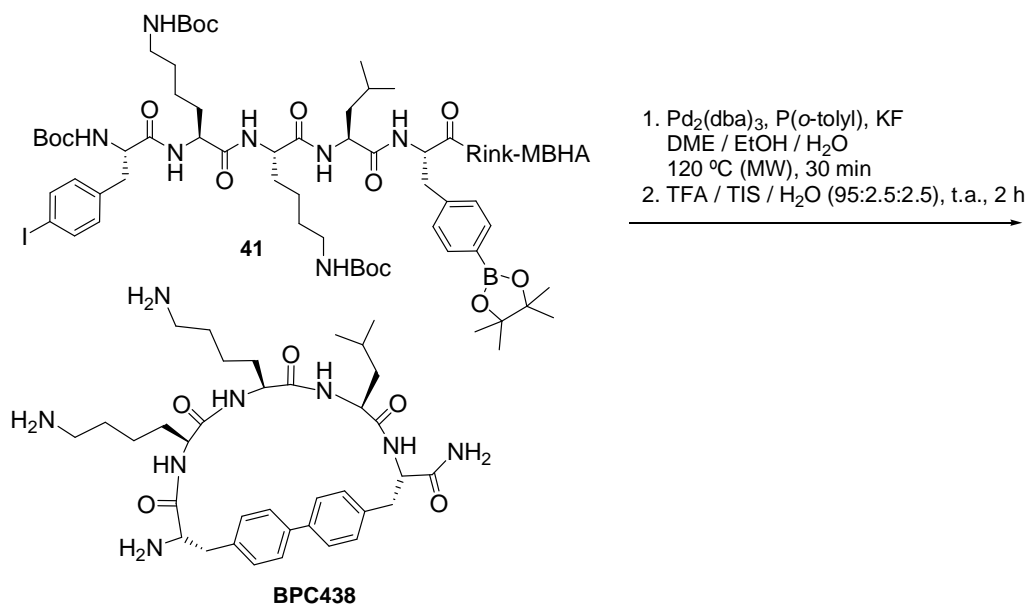


**Esquema 5.8** – Síntesi de la peptidil resina **41**

Finalment, la resina **41** es va ciclar mitjançant una reacció d'acoblament creuat de Suzuki-Miyaura intramolecular utilitzant les condicions descrites per al pèptid biarílic BPC432. El tractament àcid final va proporcionar el pèptid cíclic BPC438 (76% puresa,  $t_R = 14.6$  min) (Esquema 5.9). El cru de reacció es va purificar per cromatografia en columna en fase reversa utilitzant H<sub>2</sub>O/MeOH/TFA com a eluent, obtenint-se el pèptid pur BPC438 amb un rendiment del 25%, que es va caracteritzar per HRMS, <sup>1</sup>H-RMN i



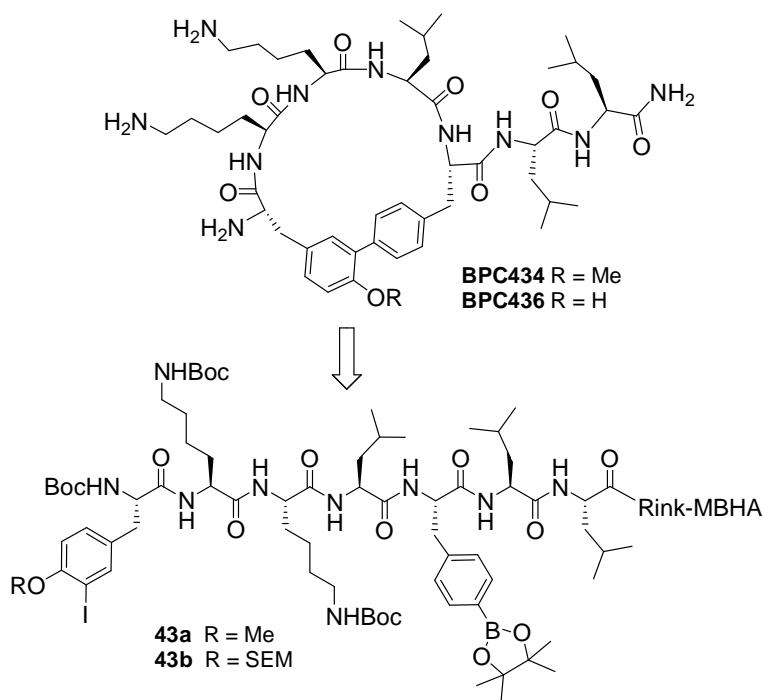
$^{13}\text{C}$ -RMN. Es varen realitzar experiments bidimensionals COSY i HSQC per assignar completament tots els senyals de protó i carboni. La formació de l'enllaç biarílic es va confirmar per la presència a l'espectre de  $^1\text{H}$ -RMN de dos doblets a la zona dels aromàtics, amb una integració de quatre protons cadascun, característics d'una substitució en *para*.



Esquema 5.9 – Síntesi del pèptid biarílic cíclic BPC438

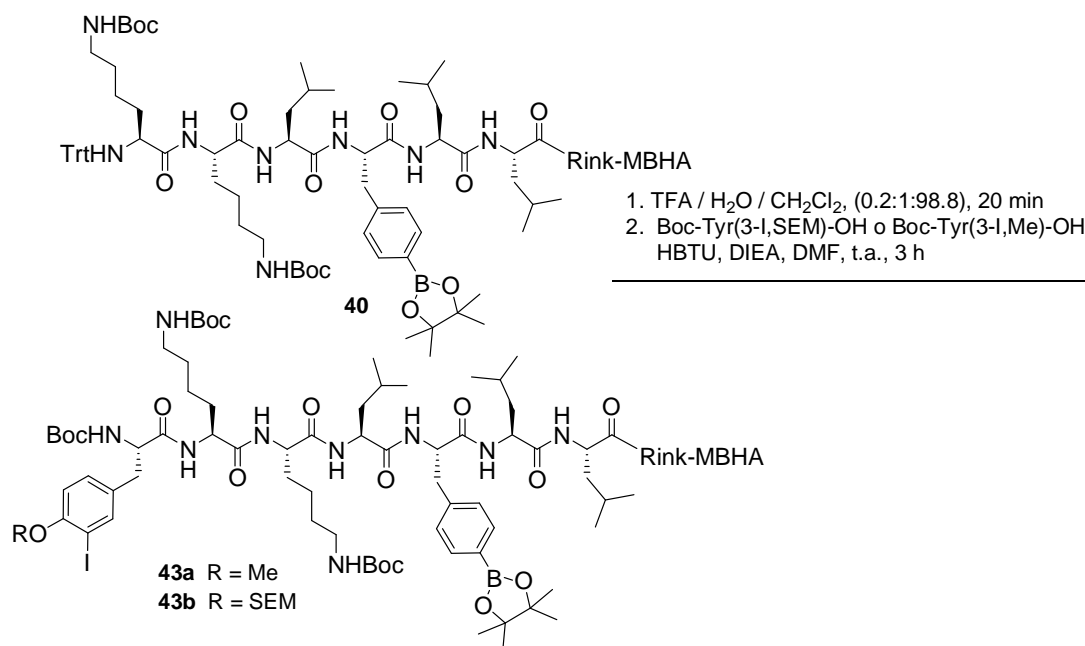
### 5.1.1.2. Pèptids cíclics contenint un enllaç biarílic entre un residu de tirosina (*N*-terminal) i un de fenilalanina (*C*-terminal)

La síntesi dels pèptids cíclics BPC434 i BPC436 contenint un enllaç biarílic entre un residu de tirosina a l'extrem *N*-terminal i un de fenilalanina a l'extrem *C*-terminal es va plantejar de forma anàloga a la de BPC432, a través d'una reacció intramolecular de Suzuki-Miyaura partint dels precursors lineals Boc-Tyr(3-*I*,*R*)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**43a-b**) (Esquema 5.10). Com a grups protectors del grup hidroxil de la tirosina es varen utilitzar el metil i el SEM.



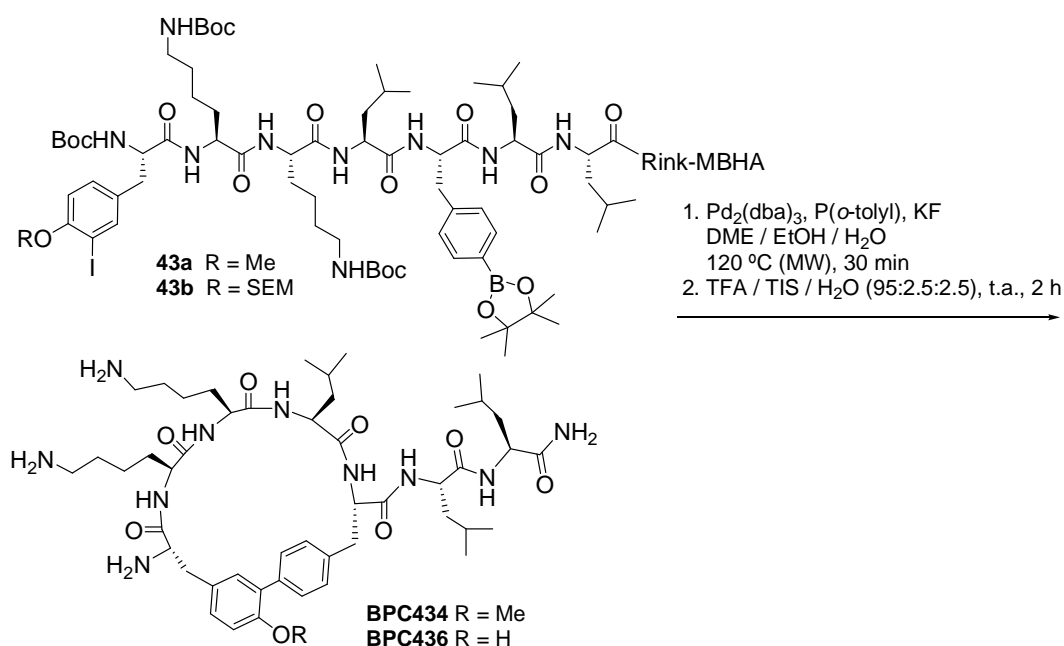
**Esquema 5.10** – Retrosíntesi per a la preparació de BPC434 i BPC436

En aquest cas, es va partir de la boronopeptidil resina Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**40**), preparada anteriorment, es va eliminar el grup Trt i es varen ancorar els aminoàcids Boc-Tyr(3-I,Me)-OH (**20a**) o Boc-Tyr(3-I,SEM)-OH (**20c**) (Esquema 5.11). El desancorament d'una alíquota d'aquestes resines va proporcionar els boronopèptids corresponents amb pureses del 80%, com una mescla de boronat i d'àcid borònic.



**Esquema 5.11** – Síntesi dels precursors lineal **43a** i **43b**

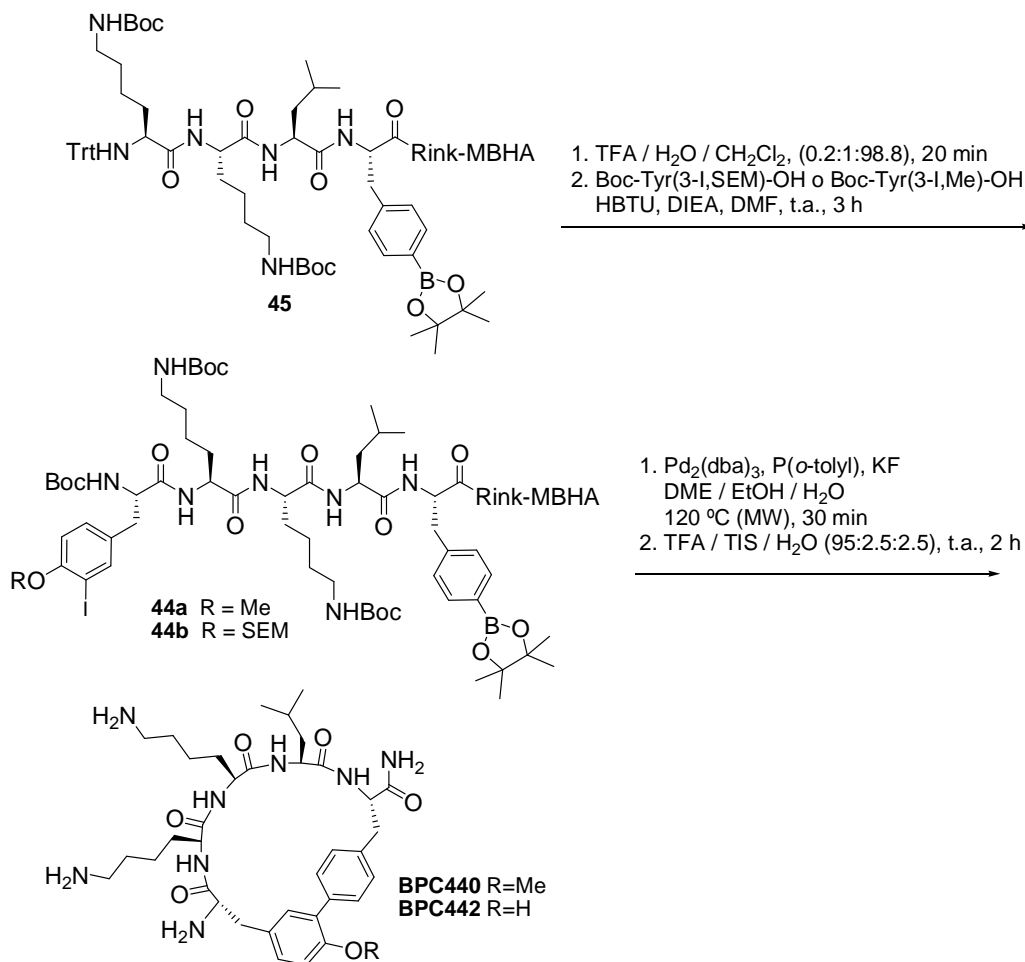
En aquest cas, la ciclació de les resines **43a** i **43b** a través d'una reacció de Suzuki-Miyaura va proporcionar els pèptids biarílics BPC434 i BPC436 amb pureses del 72 i 79%, respectivament (Esquema 5.12). Aquests pèptids es varen purificar per cromatografia en columna en fase reversa obtenint-se BPC434 i BPC436 amb rendiments del 23-35%, els quals es varen caracteritzar per HRMS i RMN. La formació de l'enllaç biarílic es va confirmar per la presència a l'espectre de  $^1\text{H}$ -RMN de dos doblats, que integren dos protons cadascun, corresponents a l'anell aromàtic de la fenilalanina, i un doblet, un doblet i un singlet, que integren un protó cadascun, corresponents a l'anell aromàtic de la tirosina.



**Esquema 5.12** – Síntesi dels pèptids biarílics cíclics BPC434 i BPC436

En aquest cas també es varen preparar els anàlegs BPC440 i BPC442 que no presenten els dos residus de leucina a l'extrem C-terminal. Els precursors lineals Boc-Tyr(3-I,R)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA (**44a-b**) es varen preparar a partir de la boronopeptidil resina Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA (**45**), per eliminació del grup Trt i acoblament de Boc-Tyr(3-I,Me)-OH (**20a**) o Boc-Tyr(3-I,SEM)-OH (**20c**). La ciclació a través d'una reacció de Suzuki-Miyaura intramolecular seguida d'un tractament amb TFA/ $\text{H}_2\text{O}$ /TIS (95:2.5:2.5) va conduir als pèptids cíclics esperats BPC440 i BPC442 amb pureses del 75% (Esquema 5.13). La purificació per cromatografia en columna en fase reversa del cru de reacció va proporcionar els pèptids biarílics cíclics BPC440 i BPC442 amb rendiments del 30%. Aquests pèptids es varen caracteritzar per HRMS i RMN. La formació de l'enllaç biarílic es va confirmar per la presència a l'espectre

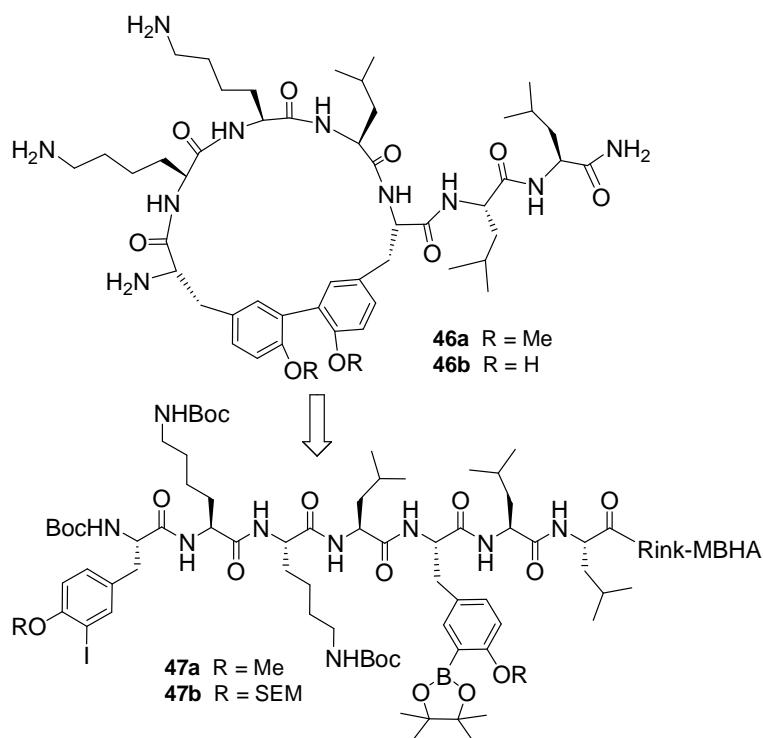
de  $^1\text{H}$ -RMN de dos doblats, que integren dos protons cadascun, corresponents a l'anell aromàtic de la fenilalanina i un doblat, un doble doblat i un singlet, que integren un protó cadascun, corresponents a l'anell aromàtic de la tirosina.



Esquema 5.13 – Síntesi dels pèptids cíclics BPC440 i BPC442

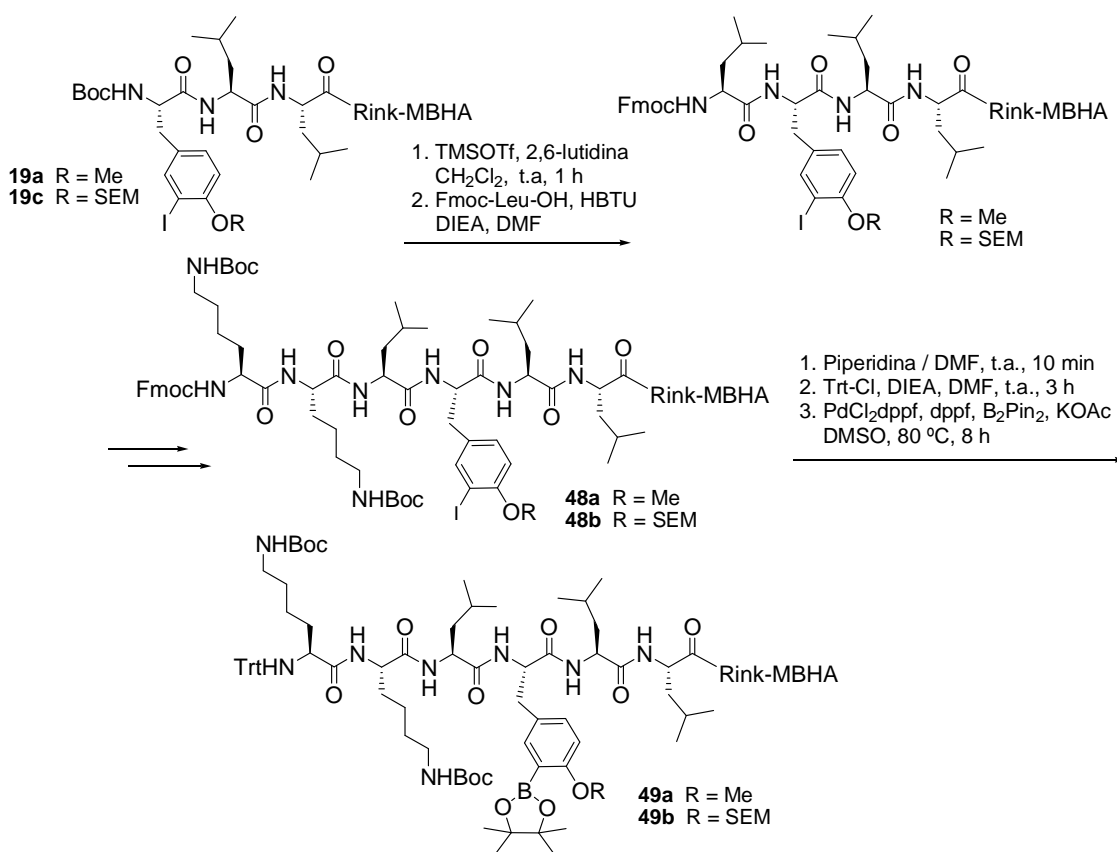
### 5.1.1.3. Pèptids cíclics contenint un enllaç biarílic entre dos residus de tirosina

Els pèptids cíclics **46a** i **46b** que contenen un enllaç biarílic entre dos residus de tirosina es representen a l'Esquema 5.14. Anàlogament als casos anteriors, la seva síntesi va implicar la preparació dels precursors lineals Boc-Tyr(3-I,R)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-BPin,R)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**47a** i **47b**), en els quals els residus de tirosina es varen protegir amb un grup metil o un grup SEM.

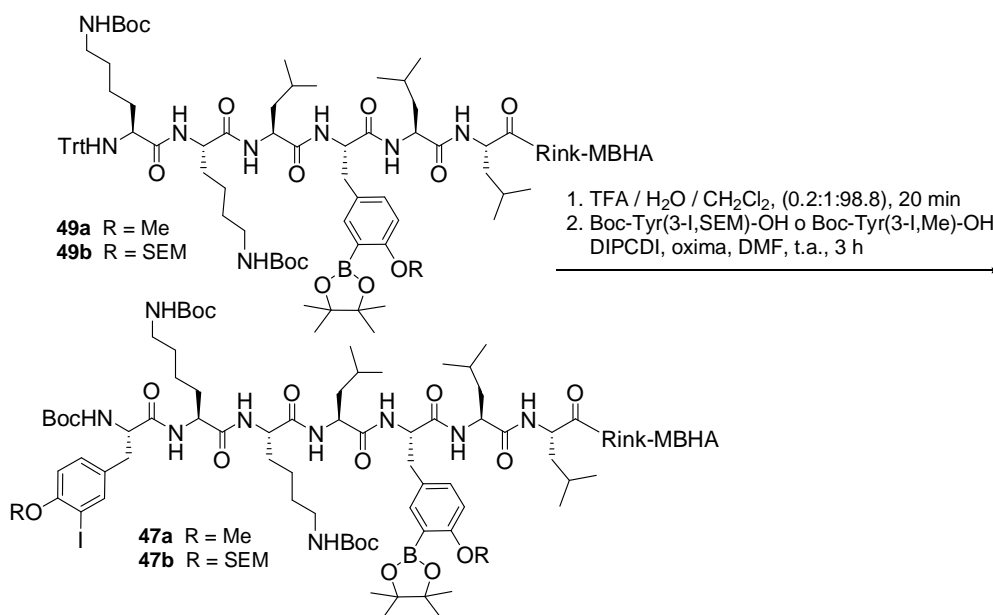
Esquema 5.14 – Retrosíntesi per a la preparació de **46a** i **46b**

Les seqüències lineals Fmoc-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-I,R)-Leu-leu-Rink-MBHA (**47a** i **47b**) (R = Me, SEM) es varen preparar a partir de Boc-Tyr(3-I,Me)-Leu-leu-Rink-MBHA (**19a**) i Boc-Tyr(3-I,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**19c**), sintetitzades anteriorment. Amb aquest objectiu, es va eliminar selectivament el grup Boc d'aquestes resines i, a continuació, es varen acoblar els residus de leucina i lisina corresponents. El desancorament d'una alíquota de cada resina Fmoc-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-I,R)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**48a** i **48b**, R = Me, SEM), prèvia desprotecció del grup Fmoc, va proporcionar els pèptids H-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-I,Me)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> i H-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-I)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> amb pureses del 73% i del 68%, respectivament.

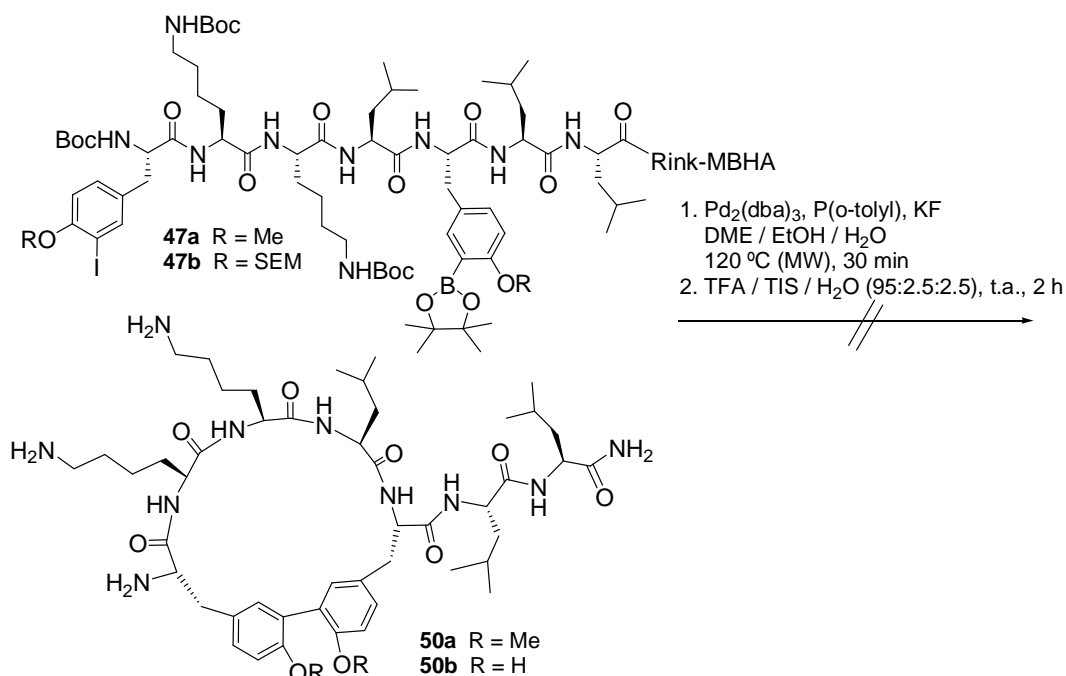
A continuació, es va substituir el grup Fmoc de les iodopeptidil resines **48a** i **48b** per un grup Trt, i es va realitzar la borilació de les resines resultants utilitzant B<sub>2</sub>Pin<sub>2</sub> (4 eq), KOAc (6 eq), PdCl<sub>2</sub>dppf (0.18 eq), dppf (0.09 eq) en DMSO durant 8 hores a 80 °C (Esquema 5.15). El desancorament d'una alíquota de les resines **49a** i **49b** va proporcionar els pèptids borilats corresponents amb unes pureses del 41-60%.

Esquema 5.15 – Síntesi de les boronopeptidil resines **49a** i **49b**

Després d'eliminar el grup protector Trt de les resines **49a** i **49b**, es varen acoblar els aminoàcids Boc-Tyr(3-I,Me)-OH (**20a**) o Boc-Tyr(3-I,SEM)-OH (**20c**) (Esquema 5.16). El desancorament d'una alíquota de cada resina va proporcionar els pèptids esperats amb unes pureses del 45-62%.

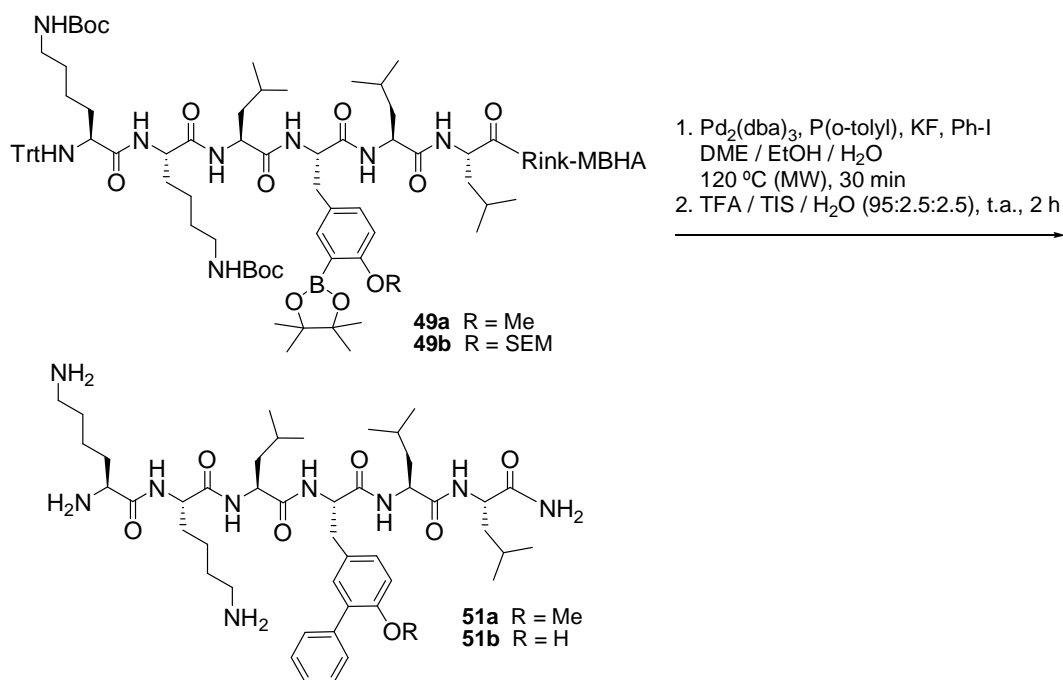
Esquema 5.16 – Síntesi dels precursors lineals **47a** i **47b**

La reacció d'acoblament creuat de Suzuki-Miyaura intramolecular de les seqüències **47a** i **47b** en les condicions descrites anteriorment no va portar a la formació dels pèptids biarílics cíclics esperats **50a** i **50b** (Esquema 5.17). En ambdós casos es va obtenir únicament el pèptid resultant de la protodeborilació i desiodació de la seqüència lineal.



**Esquema 5.17** – Intent de síntesi dels pèptids cíclics **50a** i **50b**

Davant d'aquest resultat, i per tal de comprovar l'estabilitat dels esters pinacolborònics derivats de tirosina en les condicions d'acoblament creuat utilitzades, es va decidir assajar l'arilació de les resines **49a** i **49b** amb iodobenzè. Després del desancorament amb TFA/H<sub>2</sub>O/TIS (95:2.5:2.5) es varen obtenir els pèptids biarílics H-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-Ph,Me)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (**51a**, 57% de puresa, t<sub>R</sub> = 20.9 min) i H-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-Ph)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (**51b**, 53% de puresa, t<sub>R</sub> = 18.8 min) (Esquema 5.18).

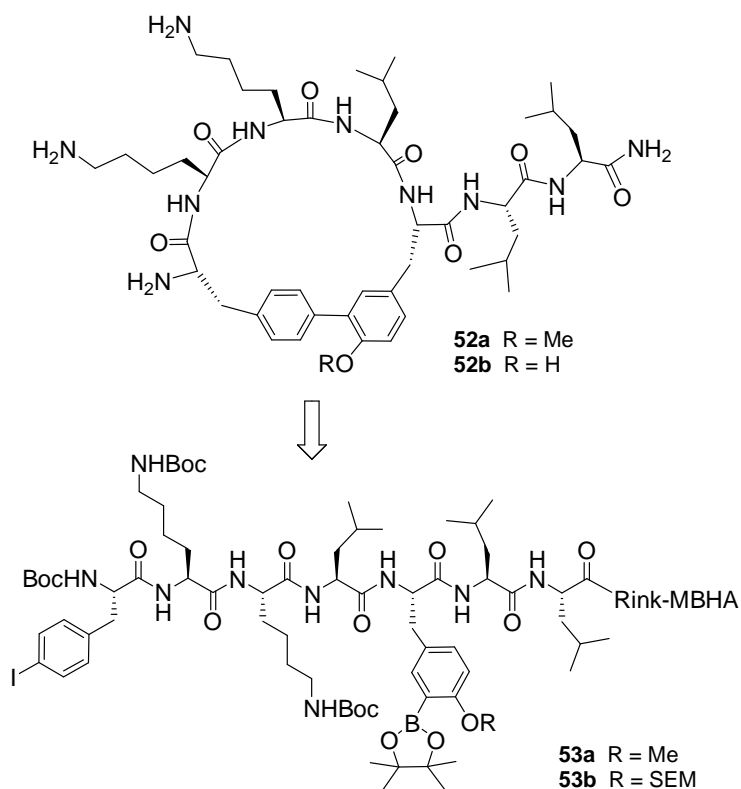
Esquema 5.18 – Síntesi del pèptids biarílics **51a** i **51b**

Aquest resultat indica que es varen obtenir de manera eficient els boronats de les seqüències lineals que contienien un residu de tirosina, tant amb el grup protector Me com amb el grup SEM. També, demostra que aquests són estables a les condicions de reacció de Suzuki-Miyaura utilitzades, ja que varen donar lloc a derivats bifenílics lineals amb pureses acceptables. Així doncs, per a l'obtenció dels productes biarílics cíclics corresponents caldria una reoptimització de les condicions de reacció de Suzuki-Miyaura.

#### 5.1.1.4. Pèptids cíclics contenint un enllaç biarílic entre un residu de fenilalanina (*N*-terminal) i un de tirosina (*C*-terminal)

La síntesi dels pèptids cíclics **52a** i **52b** contenint un enllaç biarílic entre un residu de fenilalanina a l'extrem *N*-terminal i un de tirosina a l'extrem *C*-terminal es va plantejar de forma anàloga als casos anteriors a través d'una reacció intramolecular de Suzuki-Miyaura partint dels precursors lineals Boc-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-BPin,R)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**53a** i **53b**). Com a grups protectors del grup hidroxil de la tirosina es varen utilitzar el SEM i el metil (Esquema 5.19).

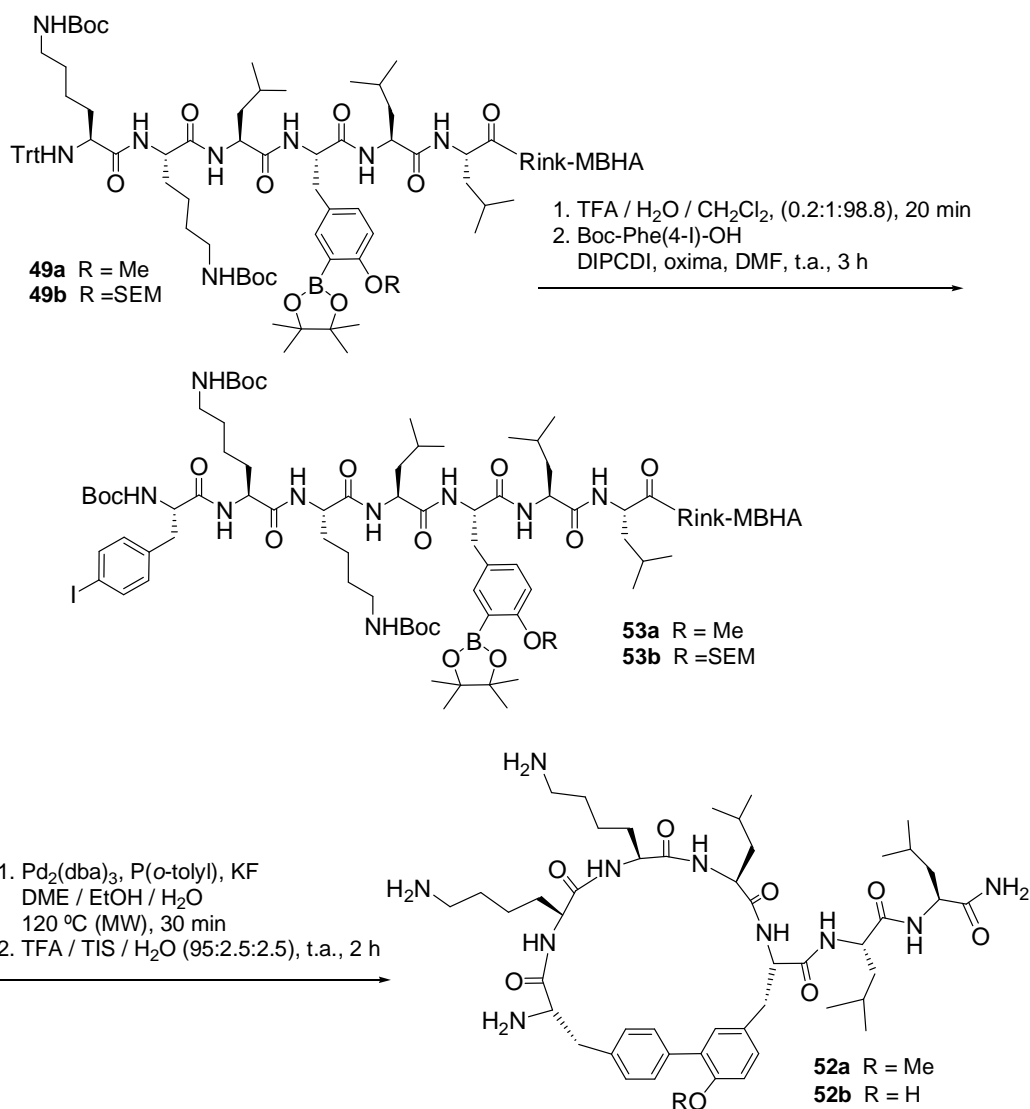




**Esquema 5.19** – Retrosíntesi per a la preparació de **52a** i **52b**

En aquest cas, es va partir de les boronopeptidil resines Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-I,R)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**49a** i **49b**) (R = Me, SEM) a les quals es va ancorar l'aminoàcid Boc-Phe(4-I)-OH (**8**). El desancorament d'una alíquota d'aquestes resines va proporcionar els boronopèptids corresponents amb unes pureses del 30 i 50%, respectivament, com una mescla de boronat, àcid borònic i el subproducte de protodeborilació.

En aquest cas, la ciclació de la resina **53a** a través d'una reacció de Suzuki-Miyaura va proporcionar el pèptid biarílic cíclic **52a** amb baixa puresa, juntament amb el subproducte de protodeborilació i un subproducte provinent de la protodeborilació i desiodació simultànies. Quan a la ciclació de la resina **53b**, es va obtenir únicament el pèptid resultant de la protodeborilació i desiodació de la seqüència lineal (Esquema 5.20).

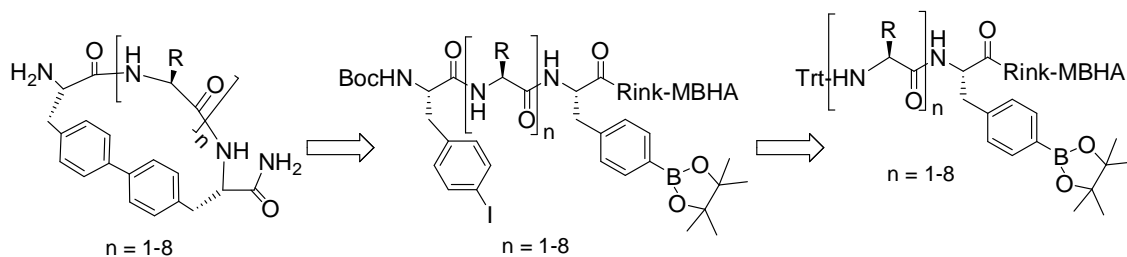


**Esquema 5.20** – Intent de síntesi dels pèptids cíclics **52a** i **52b**

En resum, l'acoblament creuat de Suzuki-Miyaura intramolecular entre un residu de fenilalanina i un de tirosina dona bons resultats quan el residu de l'extrem C-terminal és una fenilalanina. En canvi, quan és una tirosina, s'obtenen majoritàriament els productes de protodeborilació i deshalogenació de la seqüència lineal. Així doncs, per a l'obtenció dels pèptids biarílics cíclics corresponents caldria una reoptimització de les condicions de reacció de Suzuki-Miyaura.

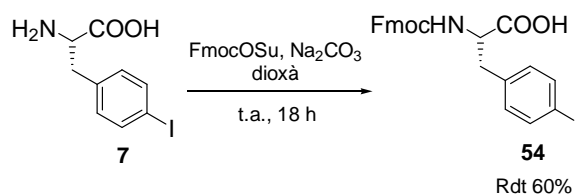
### 5.1.2. Síntesi de pèptids biarílics cíclics de 3 a 10 aminoàcids

Amb l'objectiu de comprovar l'aplicabilitat de la macrociclació de Suzuki-Miyaura en la preparació de pèptids cíclics de diferent mida, es varen assajar les condicions d'arilació intramolecular, descrites anteriorment, per a l'obtenció de pèptids biarílics de 3 a 10 aminoàcids, basats en la seqüència del BPC194 (Esquema 5.21).



**Esquema 5.21** – Retrosíntesi per a la preparació de pèptids biarílics cíclics de 3 a 10 aminoàcids

En primer lloc es varen preparar les seqüències lineals corresponents. Aquesta síntesi va requerir la preparació de Fmoc-Phe(4-I)-OH (**54**), per protecció del grup  $N^\alpha$ -amino de H-Phe(4-I)-OH (**7**) utilitzant FmocOSu i  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  en dioxà. D'aquesta manera es va obtenir **54** amb un 60% de rendiment (Esquema 5.22).



**Esquema 5.22** – Síntesi de Fmoc-Phe(4-I)-OH (**54**)

L'aminoàcid Fmoc-Phe(4-I)-OH (**54**) es va acoblar al suport i es va continuar la síntesi seguint una estratègia Fmoc/*t*Bu habitual per a la síntesi de pèptids en fase sòlida (Esquema 5.23). L'eliminació del grup Fmoc i el posterior desancorament d'una alíquota de cada iodopeptidil resina **55a-g** va proporcionar els pèptids iodats **56a-g** (Taula 5.1).

**Taula 5.1** – Síntesi dels pèptids iodats **56a-g**

Peptidil resina de partida	Pèptid iodat	$t_R$	Puresa (%) <sup>b</sup>
<b>55a</b>	H-Leu-Phe(4-I)-NH <sub>2</sub> ( <b>56a</b> )	-	- <sup>c</sup>
<b>55b</b>	H-Lys-Leu-Phe(4-I)-NH <sub>2</sub> ( <b>56b</b> )	17.9	62
<b>55c</b>	H-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-I)-NH <sub>2</sub> ( <b>56c</b> )	17.7	84
<b>55d</b>	H-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-I)-NH <sub>2</sub> ( <b>56d</b> )	17.6	56
<b>55e</b>	H-Lys-Lys-Phe(4-I)-Lys-Lys-Leu-Phe(4-I)-NH <sub>2</sub> ( <b>56e</b> )	17.1	77
<b>55f</b>	H-Leu-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-I)-NH <sub>2</sub> ( <b>56f</b> )	17.3	69
<b>55g</b>	H-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-I)-NH <sub>2</sub> ( <b>56g</b> )	17.2	76

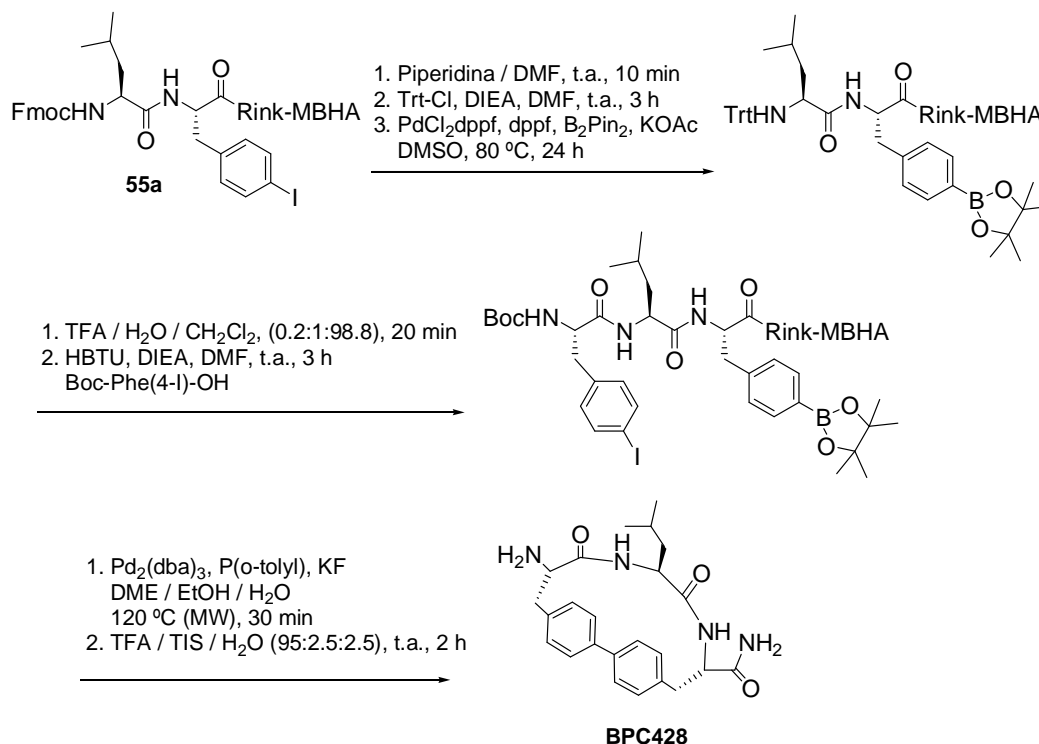
<sup>a</sup>Temps de retenció per HPLC (220 nm).

<sup>b</sup>Percentatge de puresa obtingut per HPLC en el cru de reacció (220 nm).

<sup>c</sup>No es va detectar per HPLC.



A continuació, a cadascuna de les iodopeptidil resines **55a-g** es va substituir el grup Fmoc pel grup Trt i, posteriorment, es va procedir a la seva borilació i a l'acoblament de Boc-Phe(4-I)-OH (**8**). Finalment, es va realitzar la reacció d'acoblament creuat de Suzuki-Miyaura intramolecular. Després del tractament acidolític de cadascuna de les peptidil resines resultants es varen obtenir els pèptids biarílics BPC428, BPC430 i BPC444-BPC452 (Figura 5.4). Aquest procediment es representa a l'Esquema 5.24 per al pèptid biarílic BPC428. Els resultats obtinguts es mostren a la Taula 5.2.

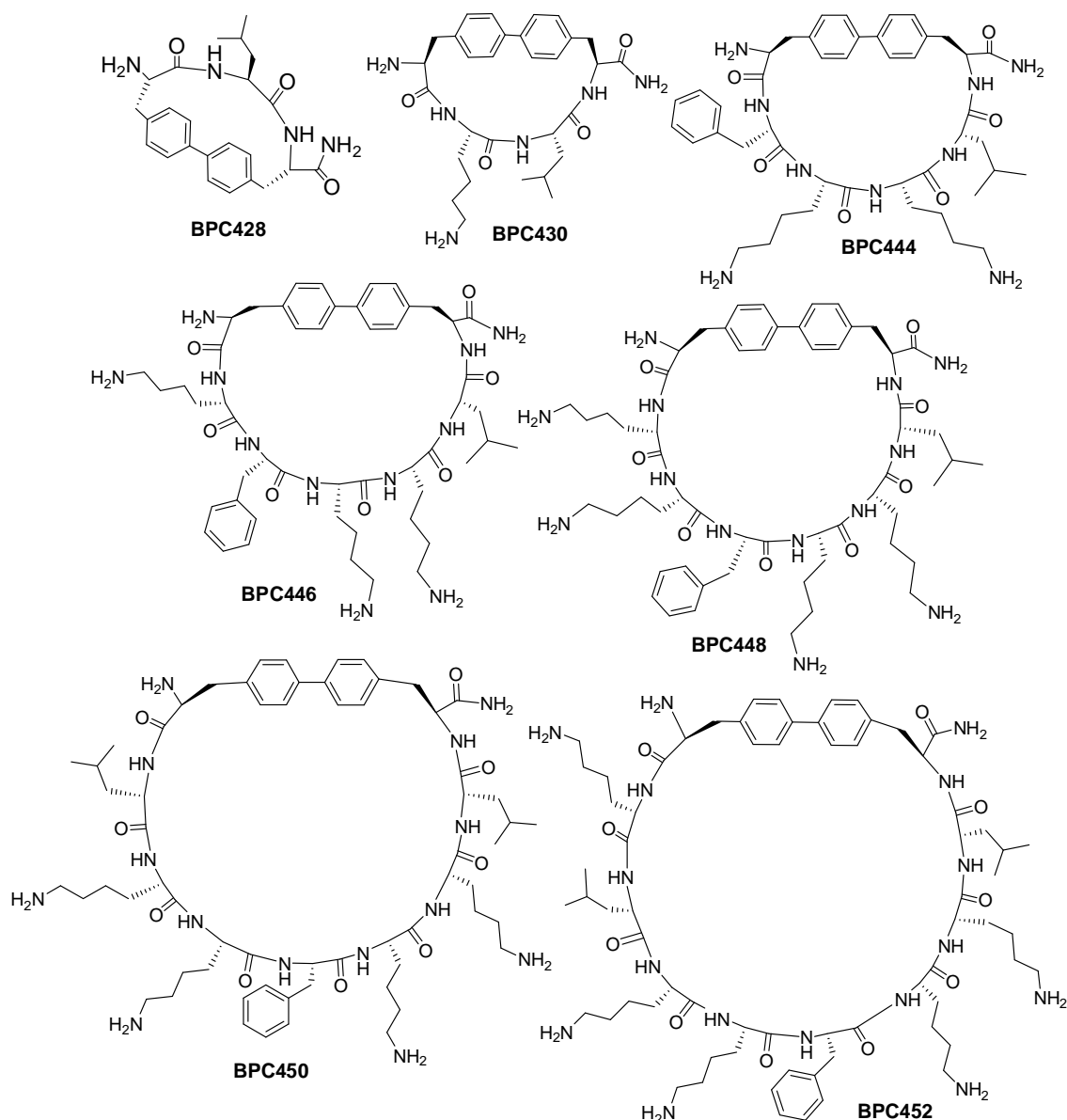


**Esquema 5.24** – Síntesi del pèptid biarílic cíclic BPC428

**Taula 5.2** – Síntesi dels pèptids biarílics cíclics BPC428-BPC452

Pèptid	Número d'aminoàcids	t <sub>R</sub> (min)	Puresa (%) <sup>a</sup>
BPC428	3	17.2	71
BPC430	4	16.7	70
BPC444	6	15.2	36
BPC446	7	16.1	84
BPC448	8	15.2	77
BPC450	9	16.2	<30
BPC452	10	15.9	<40

<sup>a</sup>Percentatge de puresa obtingut per HPLC en el cru de reacció (220 nm).

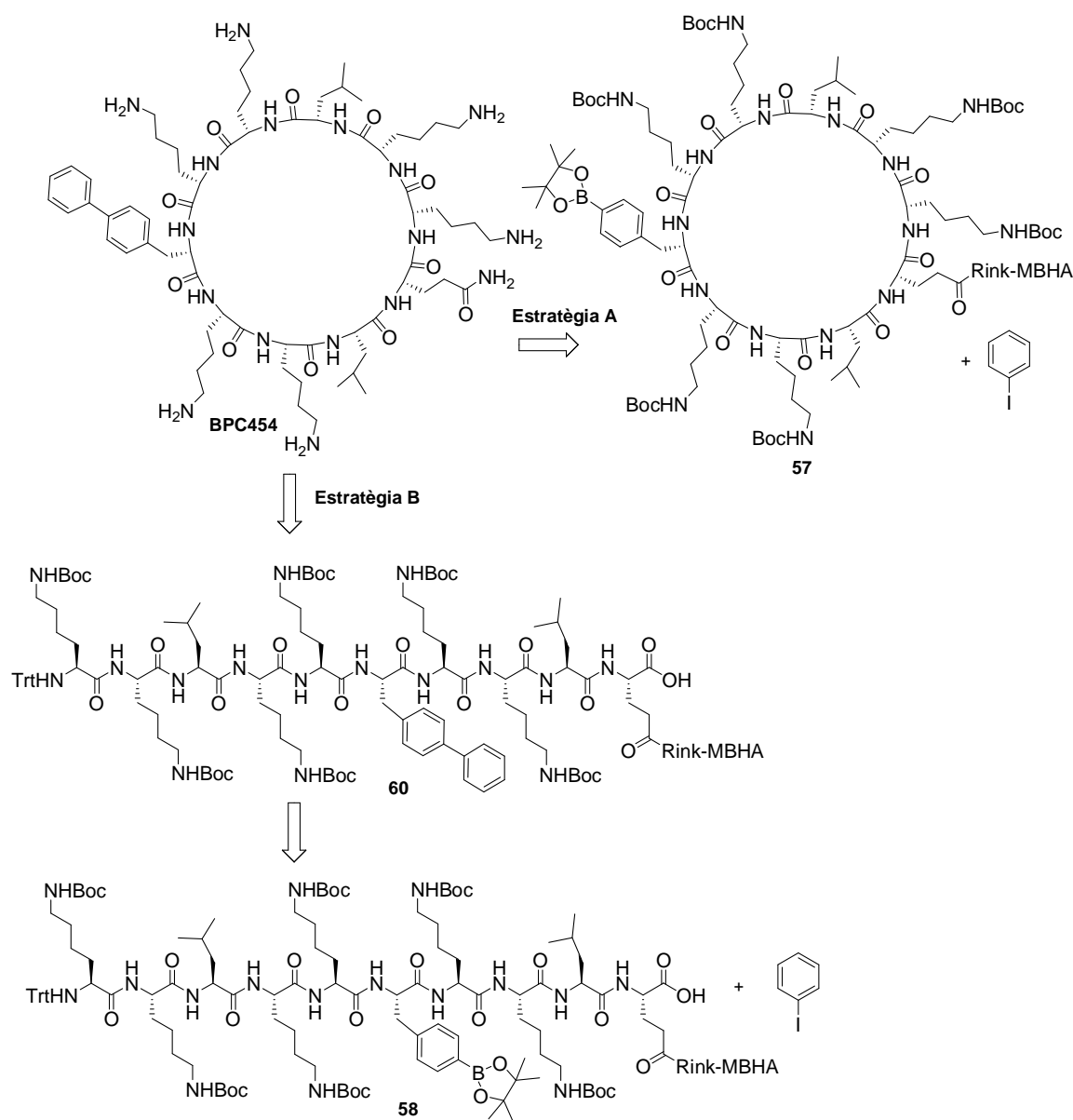


**Figura 5.4** - Pèptids biarílics cíclics BPC428-BPC452

Els millors resultats es varen aconseguir per als pèptids de 3, 4, 7 i 8 aminoàcids (BPC428, BPC430, BPC446 i BPC448), que es varen obtenir amb unes pureses de 71, 70, 84 i 77%, respectivament. El pèptid de 6 residus, BPC444, es va obtenir amb una puresa del 36% acompanyat d'una barreja de subproductes que no es varen poder identificar. Pel que fa als pèptids de 9 i 10 aminoàcids, BPC450 i BPC452, es varen obtenir amb una baixa puresa, observant-se per ESI-MS la formació de subproductes de desiodació i de compostos fenòlics. L'estructura dels pèptids biarílics cíclics BPC428-BPC452 es va confirmar per HRMS.

## 5.2. Síntesi del pèptid biarílic BPC454 per arilació d'un residu de 4-boronofenilalanina

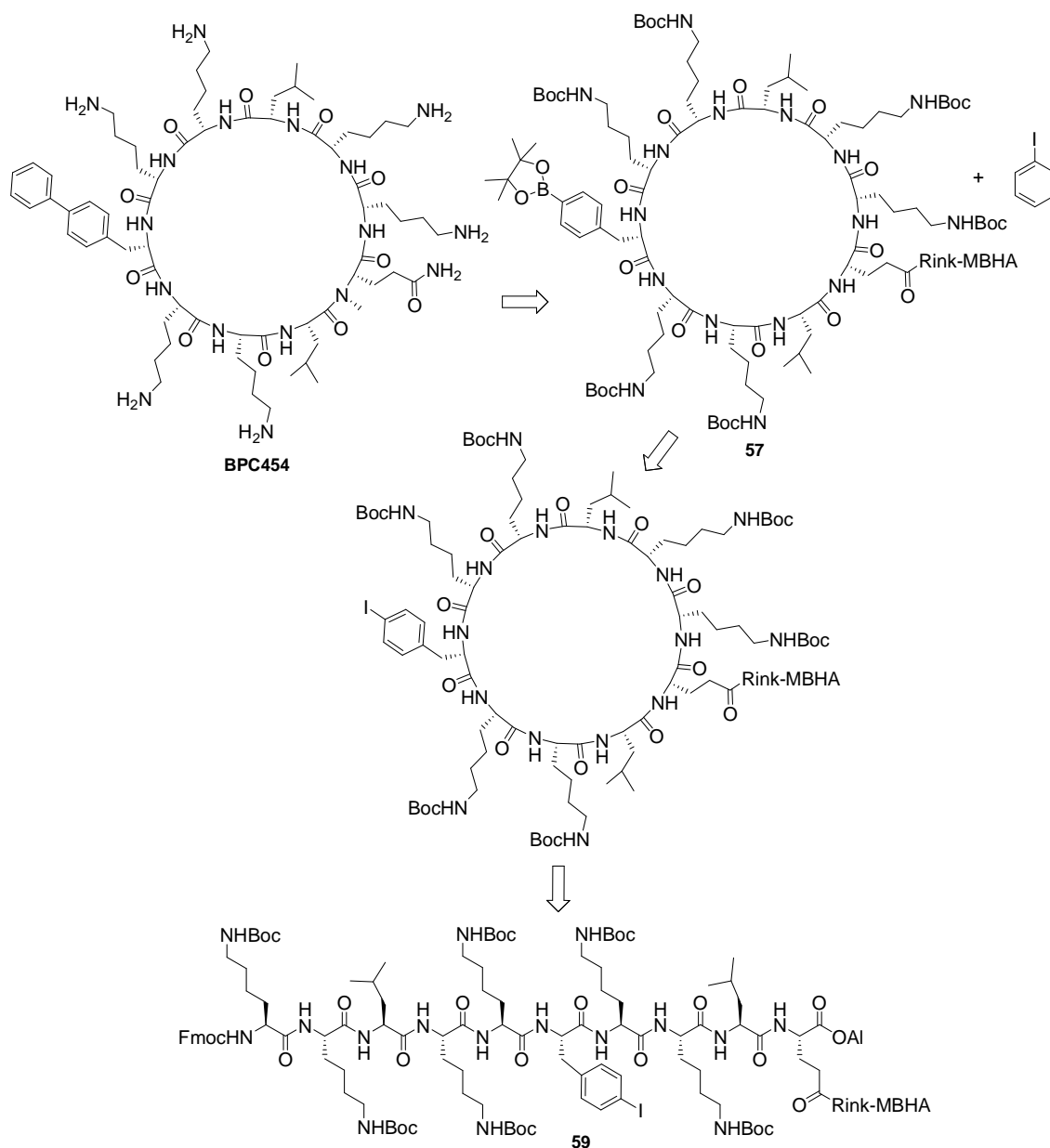
La segona part d'aquest estudi, es va centrar en la síntesi en fase sòlida de BPC454, anàleg biarílic de BPC194 contenint una 4-arilfenilalanina. Per a la preparació de BPC454 es varen plantejar dues rutes sintètiques. En la primera aproximació, es va proposar l'arilació de la boronofenilalanina de l'estructura cíclica **57** amb 4-iodobenzè (Estratègia A, Esquema 5.25). En una segona estratègia, es va plantejar l'arilació de la boronofenilalanina de la seqüència lineal **58** seguit de lactamització (Estratègia B, Esquema 5.25).



Esquema 5.25 – Retrosíntesi per a la preparació de BPC454

### 5.2.1. Estratègia A

L'estratègia A implicava la preparació de la iodopeptidil resina lineal **59**, ciclació, borilació i posterior reacció de Suzuki-Miyaura amb iodobenzè (Esquema 5.26).



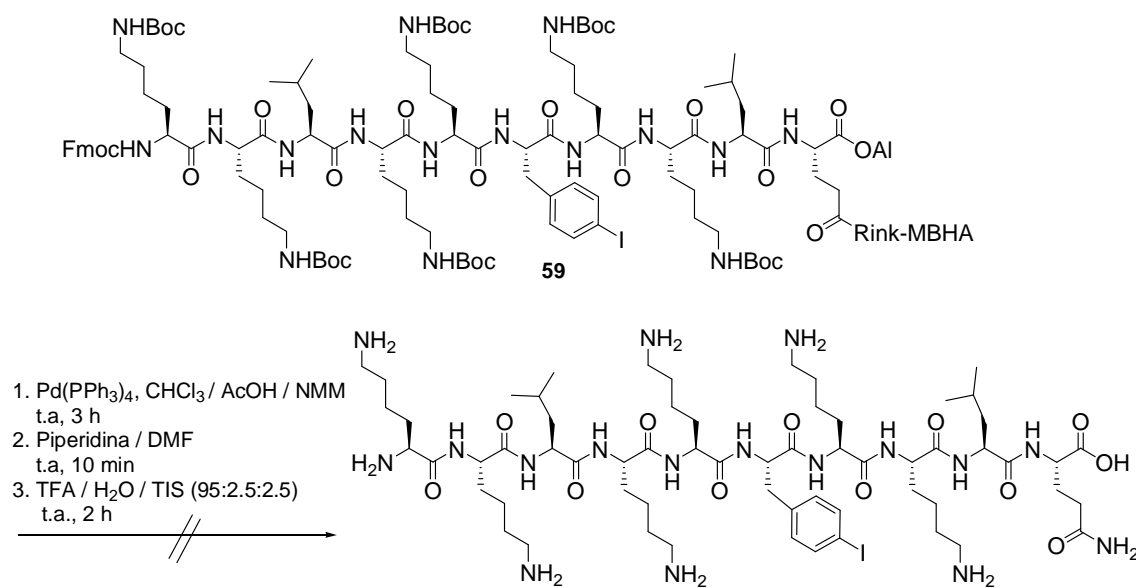
**Esquema 5.26** – Retrosíntesi per a la preparació de BPC454 segons l'estratègia A

La seqüència lineal Fmoc-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Glu(Rink-MBHA)-OAI (**59**) es va preparar seguint una estratègia Fmoc/*t*Bu/AI. La síntesi es va iniciar amb l'ancorament d'un residu d'àcid glutàmic, convenientment protegit (Fmoc-Glu-OAI) al suport sòlid a través de la seva cadena lateral el qual es transformava en glutamina (Gln) després del desancorament del pèptid de la resina. El grup AI és ortogonal a la resta de grups protectors, de manera que es pot



eliminar selectivament abans de la lactamització del pèptid (Monroc, 2006). A una alíquota de la resina resultant, se li va eliminar el grup Fmoc i es va desancorar, proporcionant el pèptid H-Lys-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe(4-I)-Lys-Lys-Leu-Gln-OAl amb un 75% de puresa ( $t_R = 15.8$  min).

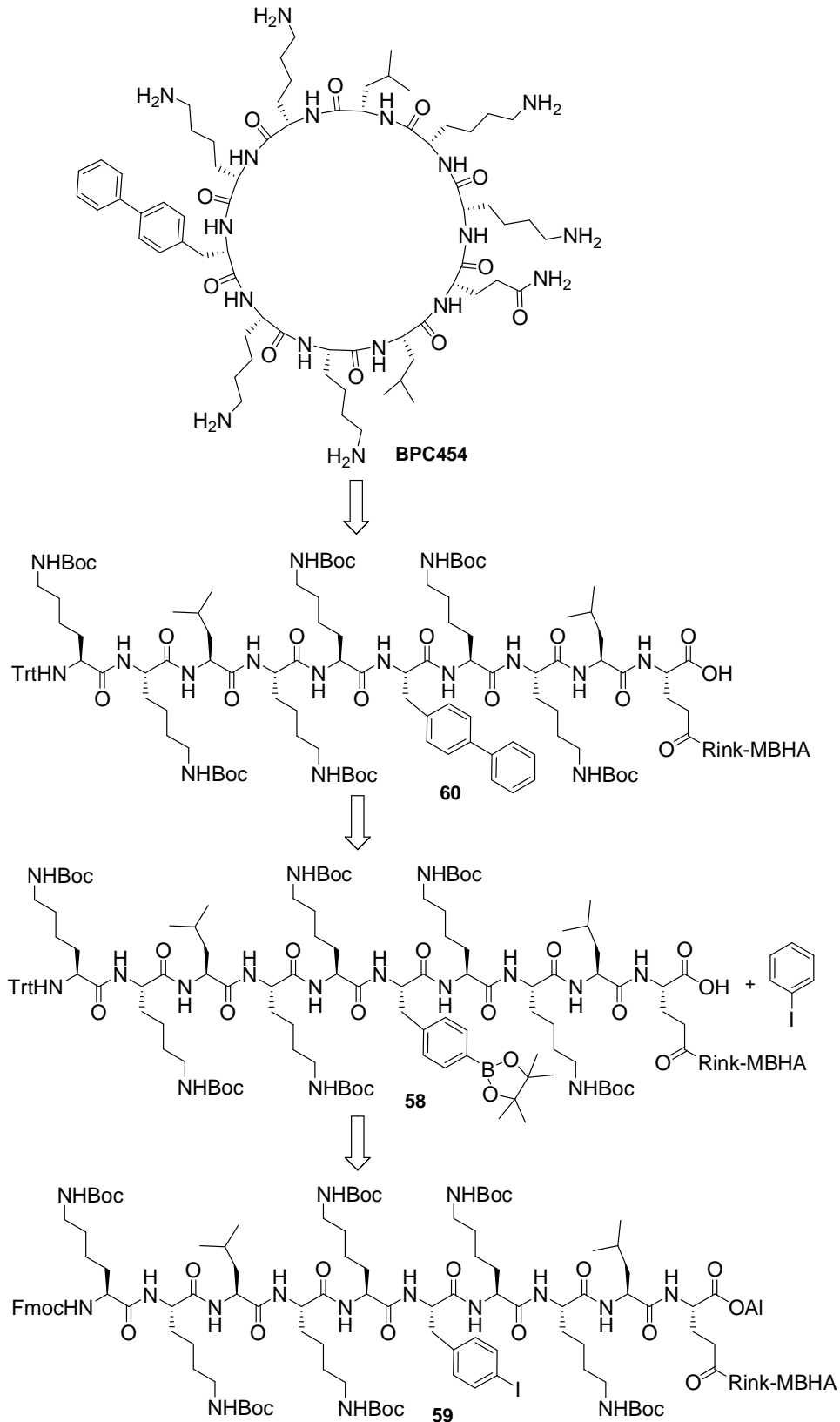
A continuació, es va assajar l'eliminació del grup al·lil de la resina **59**. Amb aquest objectiu, **59** es va sotmetre a les condicions habituals d'eliminació d'al·lil esters, Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> en CHCl<sub>3</sub>/AcOH/*N*-metilmorfolina (NMM) (37:2:1) a temperatura ambient durant 3 hores (Cros et al., 2004). Posteriorment, es va sotmetre a un tractament bàsic amb piperidina/DMF (3:7) per eliminar el grup Fmoc i es va desancorar de la resina (Esquema 5.27). Malauradament es va observar que en eliminar el grup Al, també es provocava la desiodació. De fet, la deshalogenació d'halurs d'aril en presència de catalitzadors de pal·ladi ha estat prèviament descrita a la literatura (Viciu et al., 2001; Navarro et al., 2004). Davant d'aquests resultats es va decidir abandonar aquesta estratègia.



**Esquema 5.27** – Desprotecció dels grups protectors Al i Fmoc del pèptid **59**

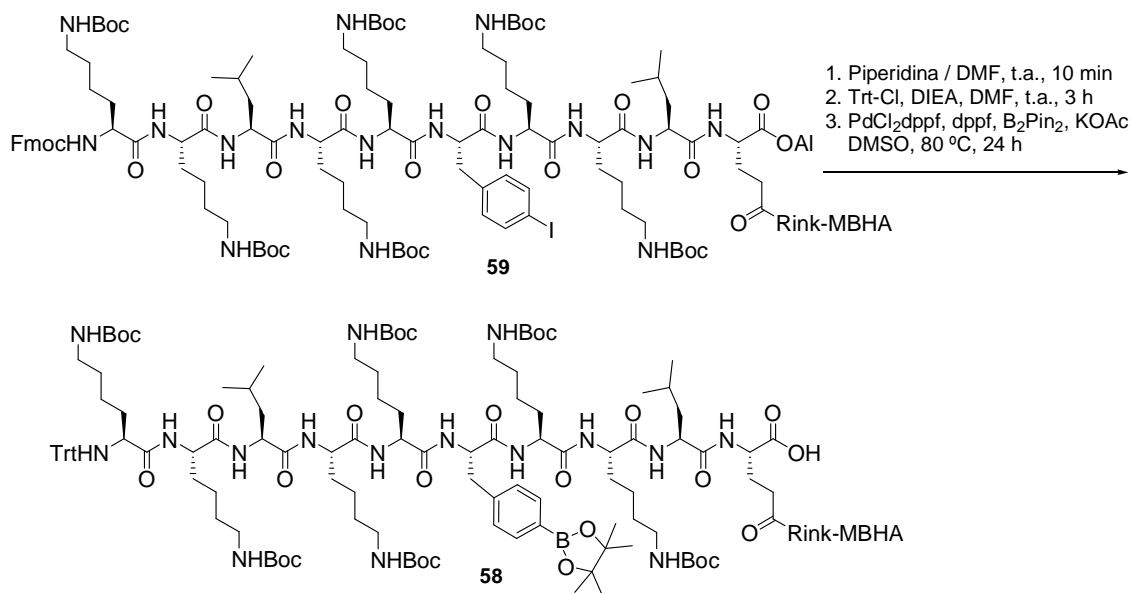
### 5.2.2. Estratègia B

Com a alternativa a la ruta anterior es va plantejar una segona estratègia sintètica que consistia en la ciclació de la peptidil resina **60** com a últim pas sintètic. Aquesta peptidil resina es prepararia a partir d'una reacció de Suzuki-Miyaura entre 4-iodobenzè i la boronopeptidil resina **58** provinent de la borilació de la iodopeptidil resina **59** (Esquema 5.28).



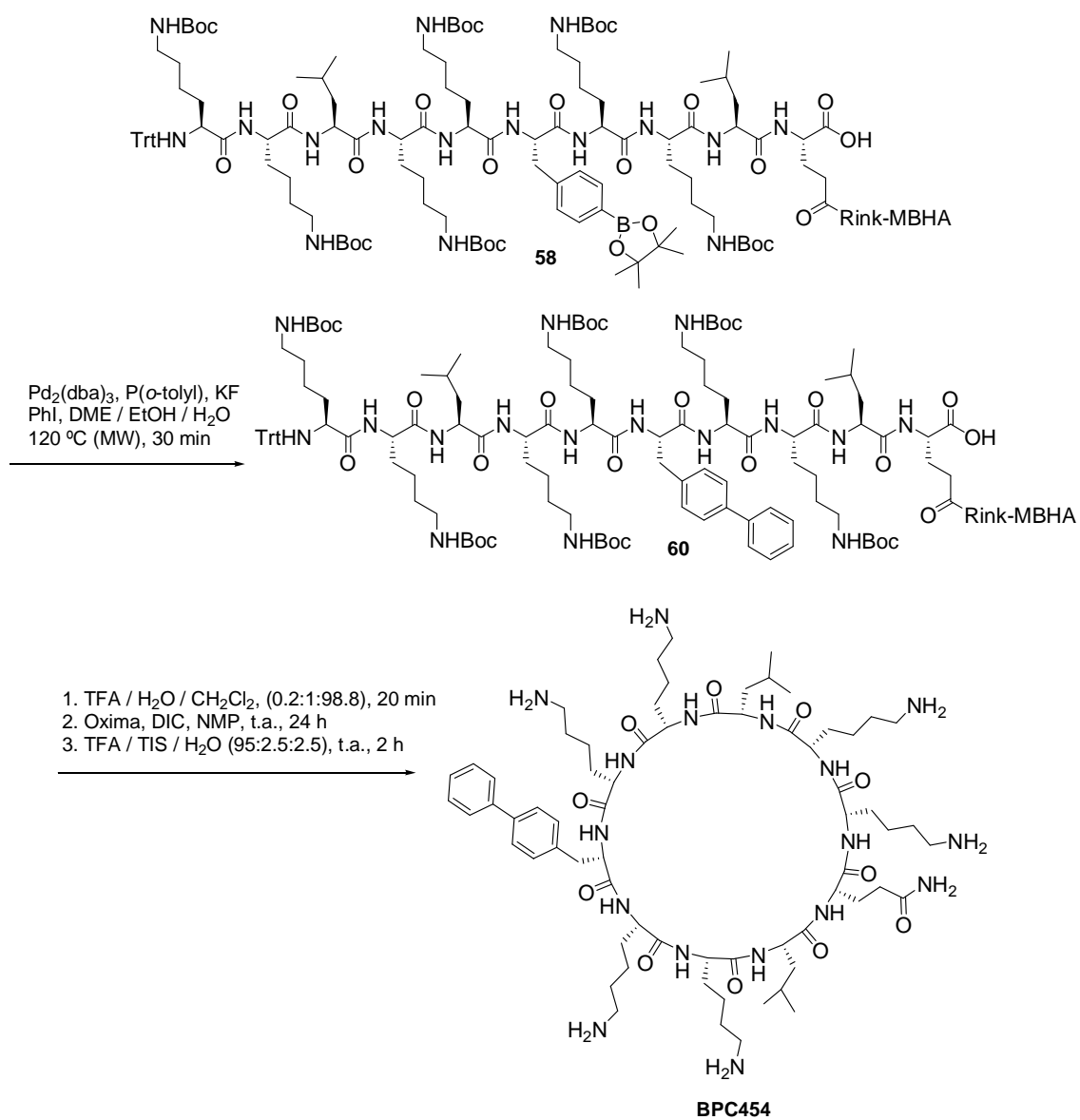
**Esquema 5.28** – Retrosíntesi per a la preparació de BPC454 segons l'estratègia B

A la iodopeptidil resina **59**, preparada anteriorment, se li va substituir el grup Fmoc per un grup Trt i, posteriorment, es va borilar en les condicions habituals (Esquema 5.29). El desancorament d'una alíquota de la resina resultant va proporcionar el boronat H-Lys-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe(4-BPin)-Lys-Lys-Leu-Gln-OH (45% puresa,  $t_R = 15.3$  min) i l'àcid borònic H-Lys-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-Lys-Lys-Leu-Gln-OH (31% puresa,  $t_R = 13.2$  min). Cal destacar que les condicions de reacció de la borilació també provocaven l'eliminació del grup Al (Vegeu apartat 3.2.2.2).



**Esquema 5.29** – Síntesi de la boronopeptidil resina **58**

Tot seguit, es va realitzar la reacció d'acoblament creuat de Suzuki-Miyaura entre la resina **58** i 4-iodobenzè, utilitzant les condicions descrites en els apartats anteriors. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant va proporcionar el pèptid H-Lys-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe(4-Ph)-Lys-Lys-Leu-Gln-OH amb un 70% de puresa ( $t_R = 15.3$  min). Finalment, es va procedir a la ciclació del pèptid a través de la lactamització de la seqüència lineal **60**. En primer lloc, es va eliminar el grup Trt per mitjà d'un tractament àcid amb TFA/H<sub>2</sub>O/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> i, a continuació, es va tractar la resina amb COMU, oxima i DIEA. El tractament acidolític final va permetre obtenir el pèptid biarílic cíclic c(Lys-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe(4-Ph)-Lys-Lys-Leu-Gln) (BPC454) ( $t_R = 15.9$  min) (Esquema 5.30).



Esquema 5.30 – Síntesi del pèptid cíclic BPC454



## **6. AVALUACIÓ DE L'ACTIVITAT BIOLÒGICA**

---



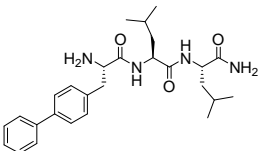
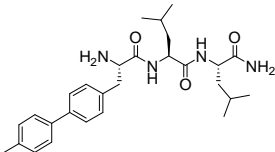
Per als pèptids sintetitzats en aquesta tesi doctoral es va avaluar l'activitat antimicrobiana i es va determinar la toxicitat a les cèl·lules eucariotes. Tots els assajos es varen realitzar al Centre d'Innovació i Desenvolupament en Sanitat Vegetal (CIDSAV) de la UdG.

## 6.1. Avaluació de l'activitat antimicrobiana

L'activitat antibacteriana dels pèptids sintetitzats es va avaluar enfront dels bacteris *Erwinia amylovora*, *Xanthomonas vesicatoria* i *Pseudomonas syringae*, els quals són responsables de malalties greus com el foc bacterià o la bacteriosi, que afecten pereres, pomeres, tomateres i pebroteres. Les concentracions dels pèptids assajats varen ser 1.56, 3.125, 6.25, 12.5, 25 i 50  $\mu\text{M}$ . Els resultats obtinguts s'expressen com a concentració mínima inhibidora (CMI), que és la concentració mínima de pèptid necessària per inhibir completament el creixement bacterià.

En primer lloc, es va determinar l'activitat dels pèptids lineals i es va comparar amb el pèptid antimicrobià BP100 (Taula 6.1). Els resultats mostren que els pèptids lineals assajats presenten una activitat antibacteriana inferior al pèptid antimicrobià BP100, amb valors de CMI superiors a 50  $\mu\text{M}$ . Aquesta reducció de l'activitat es podria atribuir a que aquestes seqüències presenten una mida considerablement menor que BP100.

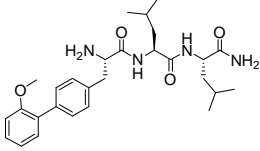
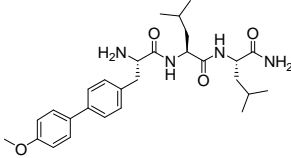
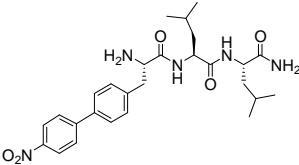
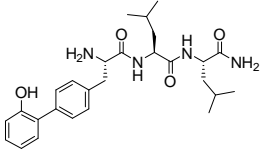
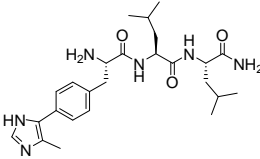
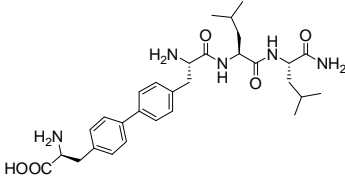
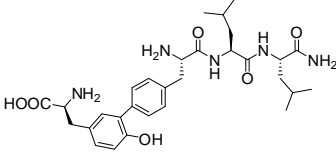
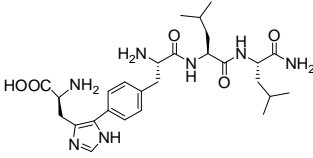
**Taula 6.1** – Activitat antibacteriana (CMI) dels pèptids biarílics lineals

Pèptid	Estructura	CMI <sup>a</sup> ( $\mu\text{M}$ )		
		<i>E. amylovora</i>	<i>P. syringae</i>	<i>X. vesicatoria</i>
BP100	H-KKLFKKILKYL-NH <sub>2</sub>	1,56-3,25	1,56-3,25	1,56-3,25
BP255		>50	>50	>50
BP256		>50	>50	>50

<sup>a</sup>CMI: Concentració mínima inhibidora

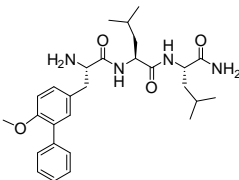
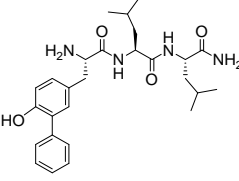
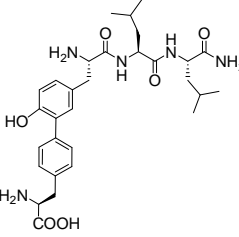
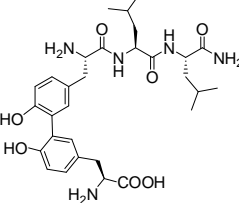


Taula 6.1 – Continuació

Pèptid	Estructura	CMI <sup>a</sup> (µM)		
		<i>E. amylovora</i>	<i>P. syringae</i>	<i>X. vesicatoria</i>
BP257		>50	>50	>50
BP258		>50	>50	>50
BP259		>50	>50	>50
BP260		>50	>50	>50
BP261		>50	>50	>50
BP262		>50	>50	>50
BP263		>50	>50	>50
BP264		>50	>50	>50

<sup>a</sup>CMI: Concentració mínima inhibidora

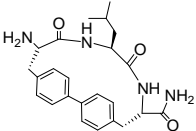
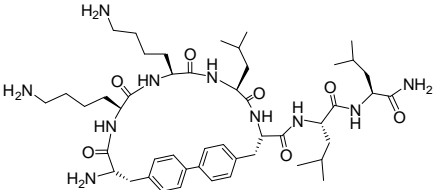
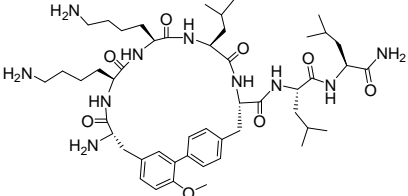
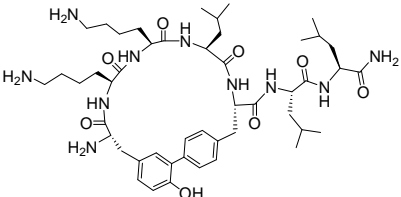
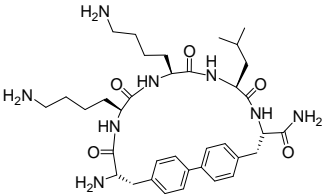
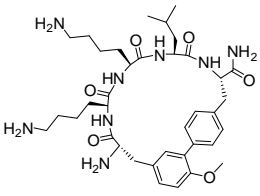
Taula 6.1 – Continuació

Pèptid	Estructura	CMI <sup>a</sup> (µM)		
		<i>E. amylovora</i>	<i>P. syringae</i>	<i>X. vesicatoria</i>
BP265		>50	>50	>50
BP266		>50	>50	>50
BP267		>50	>50	>50
BP268		>50	>50	>50

<sup>a</sup>CMI: Concentració mínima inhibidora

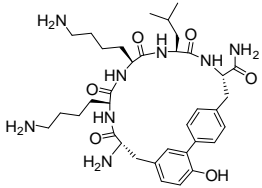
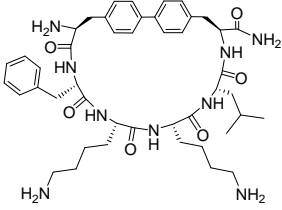
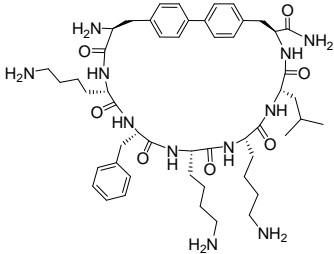
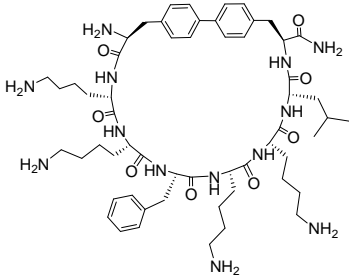
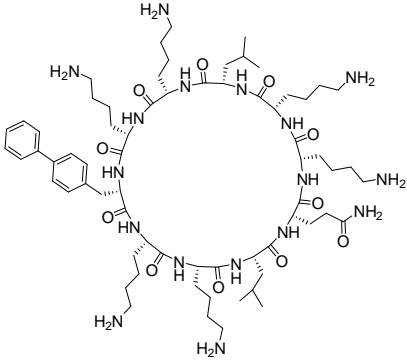
També es va determinar l'activitat dels pèptids biarílics cíclics i es va comparar amb la de BPC194 (Taula 6.2). Es va observar que tots aquests pèptids presenten una activitat antibacteriana inferior a BPC194. A més, pel que fa als pèptids cíclics que contenen un sistema biarílic intramolecular, l'activitat depèn de la mida de l'anell. Així, aquells que presenten un anell de 3 a 5 aminoàcids no mostren activitat antimicrobiana. Els pèptids amb un anell de 6 a 8 aminoàcids són lleugerament actius amb valors de CMI similars, essent BPC446 el més actiu (CMI 12.5-25 enfront de *X. vesicatoria* i *P. syringae*). D'altra banda, el pèptid cíclic BPC454, que conté un residu de 4-arilfenilalanina, presenta valors de CMI iguals que BPC446.

**Taula 6.2** - Activitat antibacteriana (CMI) dels pèptids biarílics cíclics

Pèptid	Estructura	CMI <sup>a</sup> (µM)		
		<i>E. amylovora</i>	<i>P. syringae</i>	<i>X. vesicatoria</i>
BPC194	c(KKLLKFKKLLQ)	25-50	6,2-12,5	3,2-6,25
BPC428		>50	>50	>50
BPC432		>50	>50	>50
BPC434		>50	>50	>50
BPC436		>50	>50	>50
BPC438		>50	>50	>50
BPC440		>50	>50	>50

<sup>a</sup>CMI: Concentració mínima inhibidora

Taula 6.2 - Continuació

Pèptid	Estructura	CMI <sup>a</sup> (µM)		
		<i>E. amylovora</i>	<i>P. syringae</i>	<i>X. vesicatoria</i>
BPC442		>50	>50	>50
BPC444		>50	25-50	12,5-25
BPC446		>50	12,5-25	12,5-25
BPC448		>50	12,5-25	25-50
BPC454		>50	12,5-25	12,5-25

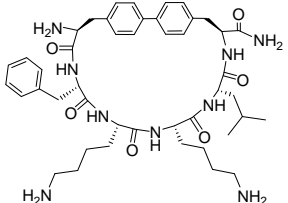
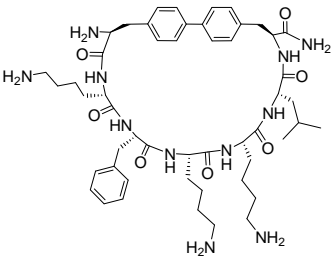
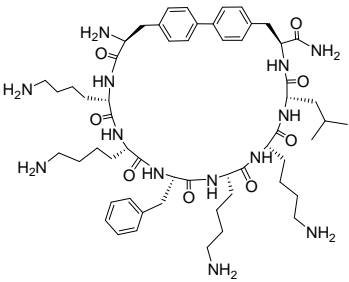
<sup>a</sup>CMI: Concentració mínima inhibidora

## 6.2. Avaluació de l'activitat hemolítica

L'avaluació de l'activitat hemolítica és una mesura de la toxicitat dels pèptids a cèl·lules eucariotes. Consisteix en determinar la capacitat de lisi d'eritròcits humans que presenta un determinat pèptid.

Es va avaluar l'activitat hemolítica dels pèptids actius BPC444, BPC446 i BPC448. Els resultats obtinguts s'expressen com a percentatge d'hemòlisi a una concentració de pèptid de 125, 250 i 375  $\mu\text{M}$  (Taula 6.3).

**Taula 6.3** – Activitat hemolítica dels pèptids BPC444, BPC446 i BPC448

Pèptid	Estructura	Hemòlisi (%) <sup>a</sup>		
		125 $\mu\text{M}$	250 $\mu\text{M}$	375 $\mu\text{M}$
BPC194	$\alpha(\text{KKLKKFKLQ})$	13.0 $\pm$ 1.7	13.2 $\pm$ 3.0	17 $\pm$ 1.7
BPC444		2.5 $\pm$ 0.8	8.8 $\pm$ 0.8	12.8 $\pm$ 0.8
BPC446		1.5 $\pm$ 0.3	4.1 $\pm$ 0.4	5.5 $\pm$ 0.9
BPC448		2.5 $\pm$ 0.7	6.0 $\pm$ 0.2	7.1 $\pm$ 0.5

<sup>a</sup>Percentatge d'hemòlisi a 125, 250 i 375  $\mu\text{M}$  més l'interval de confiança ( $\alpha=0.05$ )

Dels resultats anteriors es dedueix que la introducció d'unions biaríliques als pèptids cíclics provoca una disminució de l'hemòlisi, essent el pèptid BPC446 el menys hemolític, a les tres concentracions assajades.

## **7. CONCLUSIONS**

---



- S'ha preparat per primera vegada l'ester pinacolborònic d'un residu de fenilalanina directament sobre el suport sòlid, cosa que ha proporcionat el tripèptid boronat H-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (**4**) amb un 99% de puresa. Les millors condicions de reacció trobades per a la seva formació són B<sub>2</sub>Pin<sub>2</sub> (4 eq), KOAc (6 eq), PdCl<sub>2</sub>dppf (0.18 eq), dppf (0.09 eq) en DMSO durant 24 hores a 80 °C.
- S'ha comprovat la compatibilitat de les condicions de reacció de formació d'esters pinacolborònics amb els grups protectors habituals en la síntesi de pèptids en fase sòlida com Boc i tBu. S'ha obtingut H-Phe(4-BPin)-Lys-Leu-NH<sub>2</sub> (**17**) i H-Phe(4-BPin)-Ser-Leu-NH<sub>2</sub> (**18**) amb un 99% de puresa.
- S'ha preparat per primera vegada l'ester pinacolborònic d'un residu de tirosina directament sobre el suport sòlid. S'han aplicat les condicions de borilació d'un residu de fenilalanina disminuint el temps de reacció fins a 8 hores. S'ha preparat H-Tyr(3-BPin,R)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (R = Me o H) amb pureses entre 56-78% emprant un residu de tirosina protegit amb el grup metil, al·lil o 2-(trimetilsilil)etoximetil (SEM). Aquestes condicions han provocat l'eliminació del grup al·lil.
- L'arilació de Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**) amb halurs d'aril per mitjà d'una reacció de Suzuki-Miyaura utilitzant Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> com a catalitzador ha conduït a resultats similars tant sota escalfament convencional com sota irradiació de microones. La irradiació de microones ha permès reduir considerablement el temps de reacció de 48 hores a 30 minuts.
- L'ús de Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> com a sistema catalític també ha mostrat ser útil per a l'arilació de Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**) amb halurs d'aril sota irradiació de microones i ha facilitat l'obtenció de l'imidazolilfenilalanina BP261.
- Les condicions d'arilació de Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**) amb halurs d'aril han permès la síntesi de tetrapèptids biarílics lineals BP262-BP264 (42-92% de puresa) per reacció de **1** amb els aminoàcids aromàtics Boc-Phe(4-I)-OMe (**9**), Boc-Tyr(3-I,SEM)-OMe (**23c**), i Boc-His(5-Br,3-SEM)-OMe (**32a**) i Boc-His(5-Br,1-SEM)-OMe (**32b**) i posterior hidròlisi.
- S'ha assolit l'arilació de Boc-Tyr(3-BPin,R)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2**) amb 4-iodobenzè i amb els aminoàcids aromàtics Boc-Phe(4-I)-OMe (**9**) i Boc-Tyr(3-I,SEM)-OMe (**23c**), utilitzant Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> sota irradiació de microones. Com a grups protectors del residu de tirosina s'han emprat els grups metil i SEM. Amb aquestes condicions no s'ha pogut obtenir el producte biarílic provinent de la reacció de la resina **2c** amb Boc-His(5-Br,3-SEM)-OMe (**32a**) i Boc-His(5-Br,1-SEM)-OMe (**32b**).



- S'ha dissenyat una estratègia per a la síntesi de pèptids biarílics cíclics en fase sòlida que consisteix en la síntesi de la seqüència lineal seguint una estratègia Fmoc/*t*Bu, la substitució del grup Fmoc de l'extrem *N*-terminal per un grup protector Trt, la síntesi del corresponent ester pinacolborònic, l'eliminació del grup Trt, l'acoblament d'un iodoaminoàcid i la macrociclació de la seqüència a través d'una reacció de Suzuki-Miyaura intramolecular.
- Seguint l'estratègia anterior s'han preparat pèptids cíclics de 3 a 10 aminoàcids que contenen un enllaç biarílic format per la unió de dos residus de fenilalanina, amb pureses del 30 al 84%. No s'ha aconseguit preparar pèptids cíclics de 5 aminoàcids que contenen un enllaç biarílic format per la unió de dos residus de tirosina. La síntesi dels pèptids cíclics per formació d'un enllaç entre un residu de fenilalanina i un de tirosina ha estat més favorable quan el residu de tirosina es trobava a l'extrem *N*-terminal i el de fenilalanina a l'extrem *C*-terminal.
- S'ha dissenyat una ruta sintètica per a la preparació del pèptid BPC454 incorporant una 4-arylphenilalanina que consistia en la síntesi de la seqüència lineal seguint una estratègia Fmoc/*t*Bu/Al, la substitució del grup Fmoc de l'extrem *N*-terminal per un grup protector Trt, la síntesi del corresponent ester pinacolborònic (que provoca l'eliminació del grup Al), l'arilació amb 4-iodobenzè utilitzant una reacció de Suzuki-Miyaura, l'eliminació del grup Trt i la macrociclació de la seqüència a través d'una reacció de lactamització.
- S'ha avaluat l'activitat antimicrobiana dels pèptids biarílics sintetitzats enfront de *Erwinia amylovora*, *Xanthomonas vesicatoria* i *Pseudomonas syringae*. Els pèptids biarílics lineals no han resultat ser actius, mentre que dels pèptids biarílics cíclics avaluats, el pèptid BPC446, de 8 aminoàcids, ha resultat ser el més actiu i el menys hemolític.

## **8. PROCEDIMENT EXPERIMENTAL**

---



## 8.1. Materials i mètodes

### 8.1.1. Materials

#### 8.1.1.1. Reactius generals i dissolvents

Els reactius generals es varen adquirir a Aldrich, Fluka i Panreac i es varen utilitzar sense purificar, excepte la NBS (*N*-bromosuccinimida) (Fluka) que es va purificar per cristallització en aigua (Perrin, 1980).

Els aminoàcids utilitzats, els reactius d'acoblament i la resina Fmoc-Rink-MBHA s'han adquirit a Iris Biotech, Bionova i VWR internacional.

Els dissolvents habituals es varen adquirir a Aldrich, Sharlau o VWR internacional i es varen purificar i anhidritzar passant-los a través d'un sistema de purificació amb alumina activada (MBraun SPS-800) o per tècniques de destil·lació convencionals (Perrin, 1980). Els dissolvents deuterats es varen adquirir a SDS.

L'H<sub>2</sub>O es va desionitzar i filtrar utilitzant un sistema COT Millipore Q-gradient (COT<3ppb) amb una resistivitat de 18 MΩ cm<sup>-1</sup>.

#### 8.1.1.2. Test de ninhidrina o test de Kaiser

El test de ninhidrina o test de Kaiser (Kaiser et al., 1970) és un test qualitatiu colorimètric per detectar la presència o absència de grups amino primaris lliures. S'utilitza per comprovar si els acoblaments dels aminoàcids en la síntesi de pèptids en fase sòlida s'ha completat amb èxit.

Per realitzar el test, es transfereix una porció de resina del cru de reacció a un eppendorf i s'afegeixen tres gotes de cadascuna de les tres dissolucions següents. A continuació, es barreja la suspensió i s'escalfa durant tres minuts a 100 °C. Si la resina i la dissolució es tornen de color blau intens indica que hi ha amines primàries lliures. En canvi, si el color de la resina es manté i la solució esdevé groga indica que no hi ha amines primàries lliures, és a dir, que l'acoblament s'ha completat amb èxit.

- Dissolució A: ninhidrina (500 mg) en etanol absolut (10 mL).
- Dissolució B: fenol (100 mg) en etanol absolut (25 mL).
- Dissolució C: 1 mL d'una solució de NaCN (1 mM) en 49 mL de piridina.

### 8.1.2. Instrumentació general

**Espectroscòpia d'infraroig (IR):** Els espectres d'infraroig (IR) s'han enregistrat a la Universitat de Girona en un espectrofotòmetre model Mattson-Galaxy Satellite FT-IR amb transformada de Fourier, utilitzant un sistema de reflexió únic ATR com a accessori de mostreig. Els valors d'absorció s'indiquen en  $\text{cm}^{-1}$ .

**Espectroscòpia de ressonància magnètica nuclear (RMN):** Els espectres de ressonància magnètica nuclear (RMN) s'han enregistrat als Serveis Tècnics de Recerca de la Universitat de Girona (STR-UdG). S'ha utilitzat un aparell Bruker model DPX200 Avance (4.7 T) ( $^1\text{H}$  (200 MHz) i  $^{13}\text{C}$  (50 MHz)), equipat amb una sonda BBX i una unitat de control de temperatura (BVT2000); un aparell Bruker DPX300 Avance (7.05T) ( $^1\text{H}$  (300 MHz) i  $^{13}\text{C}$  (75 MHz)), equipat amb una sonda QNI i una unitat de control de temperatura (BVT2000); i un aparell Bruker Avance III 400 (9,40T) ( $^1\text{H}$  (400 MHz) i  $^{13}\text{C}$  (100 MHz)), equipat amb una sonda BBI i una unitat de control de temperatura (BCU Xtreme). Com a dissolvents deuterats s'han utilitzat  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\text{MeOD-}d_4$  o  $\text{CD}_3\text{CN-}d_3$ . Els desplaçaments químics s'indiquen com a valors  $\delta$  (ppm) referenciats directament amb el senyal del dissolvent.

**Espectrometria de masses amb ionització per electrospai:** Els espectres de masses amb ionització per electrospai (ESI-MS) s'han enregistrat als Serveis Tècnics de Recerca de la Universitat de Girona (STR-UdG) en un espectròmetre de masses Esquire 6000 ESI ion Trap LC-MS (Bruker Daltonics) equipat amb una font d'ionització d'electrospai. S'ha treballat en mode d'ionització positiu ESI(+). Les mostres s'introdueixen a la font d'ionització de l'espectròmetre de masses a través d'un injector automàtic d'HPLC del model 1100 Series Agilent, utilitzant un volum de mostra de  $5 \mu\text{L}$ . El flux de la fase mòbil és de  $100 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$  de  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  80:20 vol/vol. S'utilitza nitrogen com a gas nebulitzant i assecant; i àcid fòrmic per protonar les mostres.

**Espectrometria de masses d'alta resolució:** Els espectres de masses d'alta resolució (HRMS) s'han enregistrat a l'Institut de Ciencias de los Materiales de Aragón de la Universidad de Zaragoza per ionització d'electrospai (ESI) en un espectròmetre de masses de Bruker MicroTof-Q amb un analitzador híbrid quadrupol-temps de vol. La introducció de mostres es realitza utilitzant un injector automàtic de HPLC del model 1100 Series Agilent i es calibra externament utilitzant format de sodi. S'ha treballat en mode d'ionització positiu ESI(+) i negatiu ESI(-).

**Cromatografia en capa fina:** La cromatografia en capa fina s'ha realitzat utilitzant cromatofolis de sílica gel 60F<sub>254</sub> de Merck de 20x20 cm i amb un gruix de 0.20 mm. Com a revelador s'ha utilitzat llum ultravioleta (UV  $\lambda$ = 254 nm) i una dissolució aquosa de permanganat potàssic 1.5%.

**Cromatografia en columna:** Les cromatografies en columna en fase normal s'han realitzat emprant sílica gel 60 (0.040-0.063 mm) de Merck. Les cromatografies en fase reversa s'han realitzat utilitzant sílica gel de fase reversa 100 C<sub>18</sub> (> 400 mesh, Fluka).

**Cromatografia líquida d'alta resolució:** La cromatografia líquida d'alta resolució (HPLC) s'ha realitzat en un equip de cromatografia líquida Dionex amb un detector espectrofotomètric UV/VIS Dionex UVD170U de longitud d'ona variable, una bomba binària P680 de Dionex, i un injector automàtic ASI-100 de Dionex. El software utilitzat és el programa Chromeleon™ versió 6.60. Com a fase mòbil s'ha emprat 0.1% TFA en H<sub>2</sub>O (Dissolvent A) i 0.1% TFA en CH<sub>3</sub>CN (Dissolvent B) amb un flux d'1 mL/min. La detecció s'ha realitzat a una longitud d'ona de 220 nm. Per a l'anàlisi de les mostres s'han utilitzat diversos mètodes:

- Mètode A: S'ha emprat una columna Kromasil 100 C<sub>18</sub> (250 mm x 4.6 mm x 3.5  $\mu$ m) amb un gradient lineal de 2-100% del dissolvent B en 28 min.
- Mètode B: S'ha emprat una columna Kromasil 100 C<sub>18</sub> (40 mm x 4.6 mm x 3.5  $\mu$ m) amb un gradient lineal de 2-100% del dissolvent B en 7 min.

Alternativament s'ha utilitzat un equip de cromatografia líquida Agilent Technologies 1200 Series.

- Mètode C: S'ha emprat una columna Kromasil 100 C<sub>18</sub> (250 mm x 4.6 mm x 3.5  $\mu$ m) amb un gradient lineal de 2-100% del dissolvent B en 28 min.

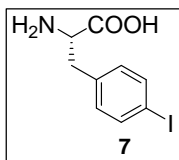
**Punt de fusió:** Els punts de fusió s'han determinat en tubs capil·lars oberts en un aparell Electrothermal IA9000 SERIES i s'expressen en graus centígrads.

**Microones:** L'escalfament per irradiació de microones s'ha realitzat als Serveis Tècnics de Recerca de la Universitat de Girona (STR-UdG) utilitzant un microones Ethos SEL labstation de Milestone equipat amb un sistema dual magnetró (1600 W). El temps, la temperatura i la potència de l'experiment es controlen amb el software EasyControl. La temperatura es monitoritza a través d'una sonda automàtica de fibra òptica ATC-400FO. Aquest equip regula la potència per mantenir constant la temperatura seleccionada.

## 8.2. Síntesi de derivats d' aminoàcids i d'imidazole en dissolució

### 8.2.1. Derivats de fenilalanina

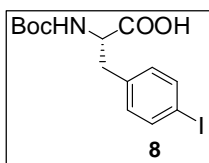
#### 8.2.1.1. 4-Iodo-L-fenilalanina (7)



A una dissolució de L-fenilalanina (4 g, 24.21 mmol, 1 eq) i H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (3 mL, 54 mmol, 2.23 eq) en AcOH glacial (22 mL) s'afegeix successivament I<sub>2</sub> (2.5 g, 9.68 mmol, 0.4 eq) i NaIO<sub>3</sub> (1 g, 4.84 mmol, 0.2 eq). La mescla de reacció s'escalfa lentament fins a 70 °C i s'agita durant 23 h. Quan la reacció s'acaba s'observa que el cru de reacció esdevé de color taronja clar. Tot seguit, s'evapora l'AcOH a pressió reduïda i s'afegeix H<sub>2</sub>O (40 mL). Aquesta dissolució es renta amb CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2x5 mL) i èter dietílic (2x5 mL). A continuació es neutralitza la fase aquosa amb NaOH sòlid fins a pH 3, formant-se un precipitat blanc que es filtra i es renta amb H<sub>2</sub>O freda (40 mL) i EtOH (30 mL). El sòlid blanc aïllat correspon a la 4-iodo-L-fenilalanina (7) (5.3 g, 75%).

**Pf:** 134.9-139.2 °C. **CCF:** R<sub>f</sub> = 0.33, AcOEt/MeOH/NH<sub>3</sub> (5:1:1). **IR** (neat)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3026 (C<sub>ar</sub>-H st), 2940 (CH<sub>st</sub>), 1583 (C=Ost), 1520, 1396, 1318, 1109, 1010, 800, 639, 615. **<sup>1</sup>H-RMN** (200 MHz, D<sub>2</sub>O + DCl)  $\delta$  (ppm): 3.06 (d, *J* = 7.6, 14.6 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>- $\beta$ ), 3.21 (d, *J* = 5.8, 14.6 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>- $\beta$ ), 4.27 (dd, *J* = 5.8, 7.6 Hz, 1H, CH- $\alpha$ ), 7.01 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-2 i CH<sub>arom</sub>-6), 7.69 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5). **<sup>13</sup>C-RMN** (50 MHz, D<sub>2</sub>O + DCl)  $\delta$  (ppm): 33.15 (CH- $\alpha$ ), 51.76 (CH<sub>2</sub>- $\beta$ ), 91.16 (C-4<sub>arom</sub>), 129.46 (CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6), 131.66 (C<sub>arom</sub>-1), 136.20 (CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5), 166.08 (COOH). **HRMS (ESI)** *m/z*: Calculat per a C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>INO<sub>2</sub> 289.9683, experimental 289.9692.

#### 8.2.1.2. N-(*tert*-Butiloxicarbonil)-4-iodo-L-fenilalanina (8)

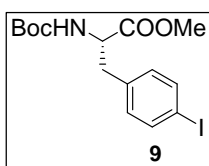


A una dissolució de 4-iodo-L-fenilalanina (7) (2 g, 6.87 mmol, 1 eq) en MeOH anhidre (21 mL, 3 mL/mmol) s'addiciona trietilamina (1.1 mL, 7.56 mmol, 1.1 eq) sota atmosfera de nitrogen. Aquesta dissolució es refreda fins a 0 °C i s'hi addiciona Boc<sub>2</sub>O (1.8 g, 8.24 mmol, 1.2 eq) dissolt en MeOH (17 mL, 2 mL/mmol). La mescla de reacció s'agita a temperatura ambient durant 21 h. A continuació, s'elimina el dissolvent a pressió reduïda, i el cru obtingut es dissol amb 200 mL d'H<sub>2</sub>O, donant lloc a una dissolució que s'ajusta a pH 4-5 amb AcOH glacial i s'extreu amb AcOEt (4x60 mL). La fase orgànica es renta amb una dissolució saturada de NaCl, s'asseca amb MgSO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'evapora a pressió reduïda. Finalment, una digestió del cru resultant amb pentà (20 mL) durant 2 h

proporciona un sòlid blanc corresponent a *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-4-iodo-L-fenilalanina (**8**) (2.4 g, 90%).

**Pf:** 134.9-139.2 °C. **CCF:** Rf = 0.44, AcOEt/MeOH/NH<sub>3</sub> (5:1:1). **IR** (neat)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3347 (NHst), 2981 (CHst), 1684 (C=Ost), 1515, 1366, 1247 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>γ), 1161 (C-Ost), 1051 (C-Ost sim), 1007, 813. **<sup>1</sup>H-RMN** (200 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 1.41 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.82-3.12 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-β), 4.12 (sa, 1H, CH-α), 6.81 (sa, 1H, NH), 7.13 (d, *J* = 8 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6), 7.697 (d, *J* = 8 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5). **<sup>13</sup>C-RMN** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 28.13 ((CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C), 37.31 (CH<sub>2</sub>-β), 54.67 (CH-α), 79.99 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 92.08 (C<sub>arom</sub>-4), 131.38 (CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6), 136.21 (C<sub>arom</sub>-1), 137.29 (CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5), 155.39 (CONH), 175.78 (COOH). **HRMS (ESI)** *m/z* Calculat per a C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>INNaO<sub>4</sub> 414.0173, experimental 414.0189.

### 8.2.1.3. *N*-(*tert*-Butiloxicarbonil)-4-iodo-L-fenilalaninat de metil (**9**)



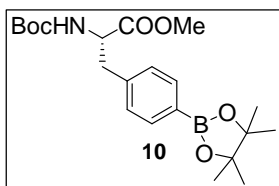
A una dissolució de Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2.4 g, 7.40 mmol, 1.5 eq) en DMF anhidre (25 mL) s'afegeix *N*-*tert*-butiloxicarbonil-4-iodo-L-fenilalanina (**8**) (1.9 g, 4.93 mmol, 1 eq) sota atmosfera de nitrogen i s'agita a temperatura ambient durant 15 minuts. A continuació, s'addiciona CH<sub>3</sub>I (0.38 mL,

5.916 mmol, 1.2 eq) i la mescla s'agita a temperatura ambient durant tota la nit. Tot seguit s'elimina el dissolvent a pressió reduïda i el cru es dissol en 150 mL d'H<sub>2</sub>O. La dissolució resultant es neutralitza amb AcOH glacial i s'extreu amb AcOEt (4x50 mL). La fase orgànica es renta amb una dissolució saturada de NaCl, s'asseca amb MgSO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'evapora a pressió reduïda. Tot seguit es purifica per cromatografia en columna sobre gel de sílice. Eluint amb una barreja hexà/AcOEt (15:1) s'obté *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-4-iodo-L-fenilalaninat de metil (**9**) com un sòlid blanc (1.5 g, 80%).

**Pf:** 68.3-70.2 °C. **CCF:** Rf = 0.72, hexà/AcOEt (1:1). **IR** (neat)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3343 (NHst), 1736, 1685 (C=Ost), 1523, 1252 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>γ), 1160 (C-Ost), 1006, 803. **<sup>1</sup>H-RMN** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 1.45 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.99 (dd, *J* = 7.4, 13.8 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>-β), 3.11 (dd, *J* = 6.0, 13.8 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>-β), 3.75 (s, 3H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4.58 (sa, 1H, CH-α), 4.98 (sa, 1H, NH), 6.91 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6), 7.65 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5). **<sup>13</sup>C-RMN** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 28.16 ((CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C), 37.82 (CH<sub>2</sub>β), 52.18 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 54.10 (CH-α), 79.97 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 92.37 (CH<sub>arom</sub>-4), 131.20 (CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6), 135.65 (C<sub>arom</sub>-1), 137.47 (CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5), 154.85 (CONH), 171.90 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). **HRMS (ESI)** *m/z* Calculat per a C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>INNaO<sub>4</sub> 428.0329, experimental 428.0342.



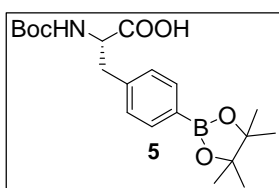
### 8.2.1.4. *N*-(*tert*-Butiloxicarbonil)-4-pinacolatoborono-L-fenilalaninat de metil (10)



A una dissolució de bis(pinacolato)diboron (1.0 g, 3.95 mmol, 2 eq), PdCl<sub>2</sub>(dppf) (97 mg, 0.12 mmol, 0.06 eq) i KOAc (783 mg, 7.90 mmol, 4 eq) en DMSO anhidre (12.6 mL) s'addiciona *N*-*tert*-butiloxicarbonil-4-iodo-L-fenilalaninat de metil (**9**) (800 mg, 1.98 mmol, 1 eq) sota atmosfera de nitrogen i s'agita a 80 °C durant 24 h. Passat aquest temps, s'addicionen 50 mL H<sub>2</sub>O i s'extreu amb AcOEt (3x30 mL). La fase orgànica es renta amb una dissolució saturada de NaCl (3x25 mL), s'asseca amb MgSO<sub>4</sub> i s'evapora a pressió reduïda. Tot seguit el residu obtingut es purifica per cromatografia en columna sobre gel de sílice. Eluint amb una barreja hexà/AcOEt (20:1) s'obté *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-4-pinacolatoborono-L-fenilalaninat de metil (**10**) com un oli incolor (680 mg, 85%).

**CCF:** R<sub>f</sub> = 0.33, hexà/AcOEt (5:1). **IR** (neat)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 2978 (CH<sub>st</sub>), 1713 (C=O<sub>st</sub>), 1357 (B-O<sub>st</sub>), 1250 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>γ), 1163, 1143 (C-O<sub>st</sub>), 1088. **<sup>1</sup>H-RMN** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 1.37 (s, 12H, (CH<sub>3</sub>)<sub>BPin</sub>), 1.45 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 3.13-3.15 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-β), 3.73 (s, 3H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4.60 (sa, 1H, CH-α), 4.96 (sa, 1H, NH), 7.16 (d, *J* = 8 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6), 7.78 (d, *J* = 8 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5). **<sup>13</sup>C-RMN** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 24.80 ((CH<sub>3</sub>)<sub>BPin</sub>), 28.22 ((CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C), 38.37 (CH<sub>2</sub>-β), 52.12 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 54.30 (CH-α), 79.86 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 83.71 (C<sub>BPin</sub>), 128.63 (CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6), 134.95 (CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5), 139.16 (C<sub>arom</sub>-1), 154.98 (CONH), 172.30 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), (C-B no s'observa). **HRMS (ESI)** *m/z*: Calculat per a C<sub>21</sub>H<sub>32</sub>BNNaO<sub>6</sub> 428.2215, experimental 428.2236.

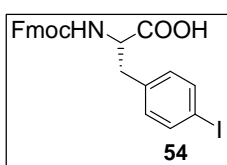
### 8.2.1.5. *N*-(*tert*-Butiloxicarbonil)-4-pinacolatoborono-L-fenilalanina (5)



A una dissolució de *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-4-pinacolatoborono-L-fenilalaninat de metil (**10**) (624 mg, 1.54 mmol, 1 eq) en MeOH/THF (1:1, 5.4 mL) s'addiciona una dissolució aquosa de LiOH·H<sub>2</sub>O 1.7 M (2.7 mL, 4.62 mmol, 3 eq). La mescla de reacció s'agita a temperatura ambient durant 5 h. Tot seguit, s'elimina el dissolvent a pressió reduïda i s'addicionen 150 mL d'H<sub>2</sub>O. La dissolució resultant s'ajusta a pH 5 amb AcOH glacial i s'extreu amb AcOEt (4x40 mL). La fase orgànica es renta amb una dissolució saturada de NaCl, s'asseca amb MgSO<sub>4</sub> anhidre i s'evapora a pressió reduïda. S'obté *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-4-pinacolatoborono-L-fenilalanina (**5**) com un sòlid blanc (547 mg, 90%).

**Pf:** 133.7-137.4 °C. **CCF:** Rf = 0.07, AcOEt/MeOH/NH<sub>3</sub> (5:1:1). **IR** (neat)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 2978 (CHst), 2928, 1713 (C=Ost), 1395 (B-Ost), 1359, 1258 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>γ), 1161, 1143 (C-Ost), 1088, 858, 657. **<sup>1</sup>H-RMN** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 1.38 (2, 12H, (CH<sub>3</sub>)<sub>BPin</sub>), 1.45 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 3.12-3.31 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-β), 4.61 (sa, 1H, CH-α), 4.94 (sa, 1H, NH), 7.23 (d, *J* = 8 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6), 7.79 (d, *J* = 8 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5). **<sup>13</sup>C-RMN** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 24.89 ((CH<sub>3</sub>)<sub>BPin</sub>), 28.31 ((CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C), 37.87 (CH<sub>2</sub>-β), 54.26 (CH-α), 80.35 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 83.91 (C<sub>BPin</sub>), 128.87 (CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6), 135.14 (CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5), 139.23 (C<sub>arom</sub>-1), 155.49 (CONH), 175.61 (CO<sub>2</sub>H). **MS (ESI)** *m/z*: 391.1 [M+H]<sup>+</sup>.

### 8.2.1.6. *N*-(9-Fluorenilmetoxicarbonil)-4-iodo-L-fenilalanina (**54**)



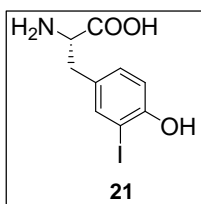
Una dissolució de 4-iodo-L-fenilalanina (**7**) (1 g, 3.44 mmol, 1 eq) en dioxà (10 mL) s'ajusta a pH=7 utilitzant una dissolució al 5% de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> i s'addiciona FmocOSu (1.24 g, 3.68 mmol, 1.05 eq). La mescla de reacció s'agita a temperatura ambient durant tota la nit. A

continuació, s'elimina el dissolvent a pressió reduïda i es dilueix amb AcOEt (30 mL). Tot seguit es renta amb 1M HCl (20 mL) i H<sub>2</sub>O (3x20mL). La fase aquosa s'ajusta a pH=1 i s'extreu amb AcOEt (3x20mL). S'ajunten les fases orgàniques i es renta amb una dissolució saturada de NaCl, s'asseca amb MgSO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'evapora a pressió reduïda. Finalment, una digestió del cru resultant amb una barreja de pentà i èter dietílic (1:1) durant 2 h proporciona un sòlid blanc corresponent a *N*-(9-fluorenilmetoxicarbonil)-4-iodo-L-fenilalanina (**54**) (1.03 g, 60%).

**CCF:** Rf = 0.6, AcOEt/MeOH/NH<sub>3</sub> (5:2:1). **IR** (neat)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3312, 3061, 3021, 2972 (CHst), 1736, 1691 (C=Ost), 1536, 1486, 1448, 1251, 1206, 1106, 1083, 1044, 1008, 758, 739. **<sup>1</sup>H-RMN** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 2.81 (dd, *J* = 11, 14 Hz, 1 H, CH<sub>2</sub>-β), 3.03 (dd, *J* = 5, 14 Hz, 1 H, CH<sub>2</sub>-β), 4.11-4.21 (m, 4 H, CH-α, CH<sub>2</sub>-Fmoc, CH-Fmoc), 7.08 (d, *J* = 8 Hz, 2 H, CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6), 7.26-7.33 (m, 2 H, CH<sub>arom</sub>-Fmoc), 7.41 (dt, *J* = 1.6, 7.2 Hz, 2 H, CH<sub>arom</sub>-Fmoc), 7.61-7.66 (m, 4 H, CH<sub>arom</sub>), 7.88 (d, *J* = 8 Hz, 2 H, CH<sub>arom</sub>, CH<sub>arom</sub>). **<sup>13</sup>C-RMN** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 35.86 (CH<sub>2</sub>-β), 46.54 (CH-Fmoc), 55.19 (CH-α), 65.57 (CH<sub>2</sub>-Fmoc), 92.32 (C<sub>arom</sub>-4), 120.10, 125.23, 127.05, 127.61 (CH<sub>arom</sub>-Fmoc), 131.59 (CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6), 136.89 (CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5), 137.81, 140.71, 143.73 (C<sub>arom</sub>), 155.91 (CONH), 173.13 (COOH).

## 8.2.2. Derivats de tirosina

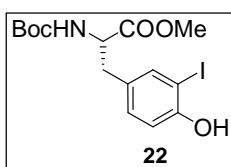
### 8.2.2.1. 3-Iodo-L-tirosina (21)



A una dissolució de L-tirosina (2 g, 11.04 mmol, 1 eq) en  $\text{NH}_4\text{OH}$  (200 mL) a 0 °C s'afegeix, gota a gota, una dissolució de  $\text{I}_2$  (2.8 g, 11.04 mmol, 1 eq) en EtOH absolut (30 mL). La mescla de reacció s'agita a 0 °C durant 2.5 h i, passat aquest temps, es concentra al rotavapor fins que s'observa la formació d'un sòlid. En aquest moment s'acidifica fins a pH = 4-5 amb HCl 10%. A continuació es filtra i el sòlid obtingut s'agita en acetona (30 mL) a 0 °C durant 2 h. Finalment, el sòlid es filtra i es deixa tota la nit al dessecador amb  $\text{P}_2\text{O}_5$ , obtenint-se 3-iodo-L-tirosina (**21**) com un sòlid blanc (1.8 g, 54%).

**Pf:** 197.5-198.9 °C. **CCF:** Rf = 0.2,  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{AcOH}$  (5:3:1). **IR** (neat)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3236 (OHst), 1583 (C=Ost), 1504, 1410 (C-O-H $\delta$ ), 1352, 1325, 1277, 1227, 831.  **$^1\text{H-RMN}$**  (200 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$  + DCI)  $\delta$  (ppm): 3.11 (dd,  $J$  = 7.4, 14.8 Hz, 1H,  $\text{CH}_2$ - $\beta$ ), 3.24 (dd,  $J$  = 5.8, 14.8 Hz, 1H,  $\text{CH}_2$ - $\beta$ ), 4.31 (dd,  $J$  = 5.8, 7.2 Hz, 1H, CH- $\alpha$ ), 6.93 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom-5}}$ ), 7.18 (dd,  $J$  = 2.0, 8.4 Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom-6}}$ ), 7.66 (d,  $J$  = 2.0 Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom-2}}$ ).  **$^{13}\text{C-RMN}$**  (50 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$  + DCI)  $\delta$  (ppm): 37.08 ( $\text{CH}_2$ - $\beta$ ), 56.86 (CH- $\alpha$ ), 86.89 ( $\text{C}_{\text{arom-3}}$ ), 118.38 ( $\text{CH}_{\text{arom-5}}$ ), 130.48 ( $\text{C}_{\text{arom-1}}$ ), 133.78 ( $\text{CH}_{\text{arom-6}}$ ), 142.84 ( $\text{CH}_{\text{arom-2}}$ ), 157.69 ( $\text{C}_{\text{arom-4}}$ ), 173.98 ( $\text{CO}_2\text{H}$ ). **HRMS (ESI)**  $m/z$ : Calculat per a  $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{INO}_3$  307.9778, experimental 307.9780.

### 8.2.2.2. *N*-(*tert*-Butiloxicarbonil)-3-iodo-L-tirosinat de metil (22)

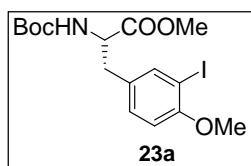


A 12 mL de MeOH anhidre sota atmosfera de nitrogen a 0 °C s'afegeix gota a gota  $\text{SOCl}_2$  (0.9 mL, 11.88 mmol, 2 eq). Tot seguit, s'addiciona la 3-iodo-L-tirosina (**21**) (1.8 g, 5.94 mmol, 1 eq) i la mescla de reacció s'agita a temperatura ambient durant tota la nit. A continuació, s'elimina el dissolvent a pressió reduïda, s'afegeix  $\text{H}_2\text{O}$  (20 mL), la dissolució obtinguda s'ajusta a pH 7-8 amb  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  sòlid i s'extreu amb  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3x20 mL). La fase orgànica es renta amb una dissolució saturada de NaCl (10 mL), s'asseca amb  $\text{MgSO}_4$  anhidre, es filtra i s'evapora el dissolvent a pressió reduïda. Tot seguit, el cru es dissol en MeOH anhidre (15.5 mL) i s'addiciona trietilamina (0.8 mL, 5.68 mmol, 1.1 eq) sota atmosfera de nitrogen. La solució resultant es refreda a 0 °C i s'hi addiciona  $\text{Boc}_2\text{O}$  (1.4 g, 6.19 mmol, 1.2 eq) dissolt en MeOH (12.4 mL). La mescla de reacció s'agita a temperatura ambient durant tota la nit. A continuació, s'elimina el dissolvent a pressió reduïda, es dissol el cru amb  $\text{H}_2\text{O}$  (160 mL), la dissolució s'ajusta a pH 6 amb AcOH glacial i s'extreu amb AcOEt (4x40 mL). La fase orgànica s'asseca amb  $\text{MgSO}_4$  anhidre, es filtra i s'evapora a pressió reduïda. Finalment, el cru es purifica per cromatografia en

columna sobre gel de sílice. Eluint amb una barreja hexà/AcOEt (4:1) s'obté *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-3-iodo-L-tirosinat de metil (**22**) com un sòlid blanc (1.7 g, 70%).

**Pf:** 104.6-104.8 °C. **CCF:** Rf = 0.65, AcOEt/MeOH/NH<sub>3</sub> (5:1:1). **IR** (neat)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3332 (OHst), 1715, 1685 (C=Ost), 1507, 1419, 1393, 1368, 1347, 1289, 1252, 1150, 1125, 1051, 1002, 822. **<sup>1</sup>H-RMN** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 1.45 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.94 (dd, *J* = 6.2, 14.0 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>- $\beta$ ), 3.05 (dd, *J* = 5.8, 14.0 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>- $\beta$ ), 3.75 (s, 3H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4.50-4.56 (m, 1H, CH- $\alpha$ ), 5.04 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H, NH), 5.69 (sa, 1H, OH), 6.88 (d, *J* = 8.2 Hz, CH<sub>arom</sub>-5), 7.01 (dd, *J* = 2, 8.2 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>-6), 7.44 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>-2). **<sup>13</sup>C-RMN** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 28.22 ((CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C), 36.90 (CH<sub>2</sub>- $\beta$ ), 52.28 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 54.44 (CH- $\alpha$ ), 80.23 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 85.03 (C<sub>arom</sub>-3), 114.98 (CH<sub>arom</sub>-5), 129.72 (C<sub>arom</sub>-1), 130.72 (CH<sub>arom</sub>-6), 139.05 (CH<sub>arom</sub>-2), 154.31 (C<sub>arom</sub>-4), 155.11 (CONH), 172.17 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). **HRMS (ESI)** *m/z*: Calculat per a C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>INNaO<sub>5</sub> 444.0278, experimental 444.0269.

### 8.2.2.3. *N*-(*tert*-Butiloxicarbonil)-3-iodo-4-metoxi-L-tirosinat de metil (**23a**)

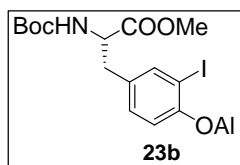


A una dissolució de Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.2 g, 3.69 mmol, 1.5 eq) en DMF anhidre (12 mL) s'afegeix *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-3-iodo-L-tirosinat de metil (**22**) (1 g, 2.3 mmol, 1 eq) sota atmosfera de nitrogen i s'agita a temperatura ambient durant 15 minuts. A continuació, s'afegeix CH<sub>3</sub>I (0.4 mL, 5.99 mmol, 2.4 eq) i s'agita a temperatura ambient durant tota la nit. Tot seguit s'elimina el dissolvent a pressió reduïda, es dissol el cru en H<sub>2</sub>O (15 mL), s'addiciona AcOH glacial fins a pH 5-6 i s'extreu amb AcOEt (4×10 mL). La fase orgànica es renta amb una dissolució saturada de NaCl, s'asseca amb MgSO<sub>4</sub> anhidre, es filtra i s'evapora a pressió reduïda. Tot seguit el cru resultant es purifica per cromatografia en columna sobre gel de sílice. Eluint amb una barreja hexà/AcOEt (10:1) s'obté *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-3-iodo-4-metoxi-L-tirosinat de metil (**23a**) com un sòlid blanc (63%).

**CCF:** Rf = 0.59, hexà/AcOEt (1:1). **IR** (neat)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3391, 2976 (CHst), 1742, 1709 (C=Ost), 1490 (C-O-Hst), 1279 (C<sub>ar</sub>-OH), 1252 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>γ), 1162, 1049. **<sup>1</sup>H-RMN** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 1.46 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.96 (dd, *J* = 5.8, 14.0 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>- $\beta$ ), 3.08 (dd, *J* = 5.6, 14.0 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>- $\beta$ ), 3.76 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.88 (s, 3H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4.54 (sa, 1H, CH- $\alpha$ ), 5.02 (sa, 1H, NH), 6.77 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>-5), 7.10 (dd, *J* = 2.2, 8.4 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>-6), 7.57 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>-2). **<sup>13</sup>C-RMN** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 28.97 ((CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C), 37.64 (CH<sub>2</sub>- $\beta$ ), 52.92 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 55.17 (CH- $\alpha$ ), 57.03 (OCH<sub>3</sub>), 80.71 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 86.61 (C<sub>arom</sub>-3), 111.54 (CH<sub>arom</sub>-5), 130.93 (C<sub>arom</sub>-1), 130.95 (CH<sub>arom</sub>-6) 140.91

(CH<sub>arom</sub>-2), 155.65 (CONH), 157.94 (C<sub>arom</sub>-4), 172.77 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). **HRMS (ESI) *m/z***: Calculat per a C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>INNaO<sub>5</sub> 458.0435, experimental 458.0425.

#### 8.2.2.4. *N*-(*tert*-Butiloxicarbonil)-3-iodo-4-*al*-liloxi-L-tirosinat de metil (**23b**)

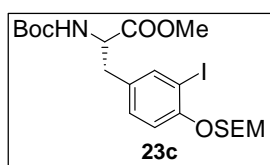


A una dissolució d'*N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-3-iodo-L-tirosinat de metil (**22**) (400 mg, 0.95 mmol, 1 eq) i DIEA (0.8 mL, 4.74 mmol, 5 eq) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5.6 mL) a 0 °C s'afegeix bromur d'*al*-lil (0.2 mL, 2.84 mmol, 3 eq). La mescla de reacció s'agita a temperatura ambient durant 48 h.

Passat aquest temps, s'elimina el dissolvent a pressió reduïda i el residu es purifica per cromatografia en columna sobre gel de sílice. Eluint amb una barreja hexà/AcOEt (13:1) s'obté *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-3-iodo-4-*al*-liloxi-L-tirosinat de metil (**23b**) com un oli incolor (350 mg, 80%).

**CCF**: R<sub>f</sub> = 0.68, hexà/AcOEt (1:1). **IR** (neat)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3368, 2979 (CH<sub>st</sub>), 2927, 1759, 1738, 1685 (C=O<sub>st</sub>), 1517, 1489, 1367, 1295, 1282, 1250, 1221, 1154, 1044, 1014, 998, 920, 799. **<sup>1</sup>H-RMN** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 1.46 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.90-3.12 (m, 2H, CH<sub>2</sub>- $\beta$ ), 3.75 (s, 3H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4.56 (sa, 1H, CH- $\alpha$ ), 4.60 (d, *J* = 4.8 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>), 5.03 (sa, 1H, NH), 5.33 (dd, *J* = 1.5, 10.6 Hz, 1H, =CH<sub>2</sub>), 5.53 (dd, *J* = 1.5, 17.2 Hz, 1H, =CH<sub>2</sub>), 6.08 (ddd, *J* = 4.8, 10.6, 17.2 Hz, 1H, CH=), 6.75 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>-5), 7.07 (dd, *J* = 1.8, 8.2 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>-6), 7.57 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>-2). **<sup>13</sup>C-RMN** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 28.13 ((CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C), 36.82 (CH<sub>2</sub>- $\beta$ ), 52.10 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 54.30 (CH- $\alpha$ ), 69.60 (OCH<sub>2</sub>), 79.87 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 86.46 (C<sub>arom</sub>-3), 112.16 (CH<sub>arom</sub>-5), 117.45 (=CH<sub>2</sub>), 129.98 (C<sub>arom</sub>-1), 130.24 (CH<sub>arom</sub>-6), 132.37 (CH=), 140.08 (CH<sub>arom</sub>-2), 154.81 (C<sub>arom</sub>-4), 156.12 (CONH), 171.94 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). **HRMS (ESI) *m/z***: Calculat per a C<sub>18</sub>H<sub>24</sub>INNaO<sub>5</sub> 484.0591, experimental 484.0615.

#### 8.2.2.5. *N*-(*tert*-Butiloxicarbonil)-3-iodo-4-[2-(trimetilsilil)etoximetoxi]-L-tirosinat de metil (**23c**)

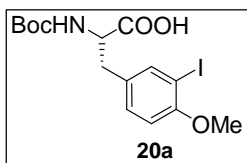


A una dissolució d'*N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-3-iodo-L-tirosinat de metil (**22**) (200 mg, 0.47 mmol, 1 eq) i DIEA (0.4 mL, 2.37 mmol, 5 eq) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2.8 mL) a 0 °C s'afegeix SEM-Cl (0.3 mL, 1.42 mmol, 3 eq). La mescla de reacció s'agita a temperatura ambient

durant 24 h. A continuació, s'elimina el dissolvent a pressió reduïda i el residu resultant es purifica per cromatografia en columna sobre gel de sílice. Eluint amb una barreja hexà/AcOEt (15:1) s'obté *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-3-iodo-4-[2-(trimetilsilil)etoximetoxi]-L-tirosinat de metil (**23c**) com un oli incolor (216 mg, 83%).

**CCF:**  $R_f = 0.81$ , hexà/AcOEt (1:1). **IR** (neat)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3357, 2953 (CHst), 2903, 1744, 1713 (C=Ost), 1488, 1365, 1237, 1214, 1162, 1094, 1038, 987, 858, 835, 631.  **$^1\text{H-RMN}$**  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 0.04 (s, 9H,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ ), 0.95-1.03 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{Si}$ ), 1.47 (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 2.92-3.13 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{-}\beta$ ), 3.76 (s, 3H,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 3.77-3.79 (m, 2H,  $\text{OCH}_2$ ), 4.57 (sa, 1H,  $\text{CH-}\alpha$ ), 4.99 (sa, 1H, NH), 5.29 (s, 2H,  $\text{OCH}_2\text{O}$ ), 7.04-7.06 (m, 2H,  $\text{CH}_{\text{arom-5+6}}$ ), 7.57 (d,  $J = 1.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom-2}}$ ).  **$^{13}\text{C-RMN}$**  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): -1.47 ( $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ ), 17.90 ( $\text{CH}_2\text{Si}$ ), 28.17 ( $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ ), 36.85 ( $\text{CH}_2\text{-}\beta$ ), 52.19 ( $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 54.35 ( $\text{CH-}\alpha$ ), 66.58 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ), 79.97 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 87.11 ( $\text{C}_{\text{arom-3}}$ ), 93.34 ( $\text{OCH}_2\text{O}$ ), 114.67 ( $\text{CH}_{\text{arom-5}}$ ), 130.18 ( $\text{CH}_{\text{arom-6}}$ ), 131.20 ( $\text{C}_{\text{arom-1}}$ ), 140.05 ( $\text{CH}_{\text{arom-2}}$ ), 154.91 ( $\text{C}_{\text{arom-4}}$ ), 155.29 (CONH), 172.00 ( $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ). **HRMS (ESI)**  $m/z$ . Calculat per a  $\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{INNaO}_6\text{Si}$  574.1092, experimental 574.1104.

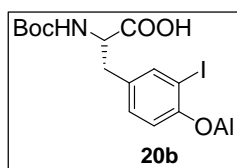
### 8.2.2.6. *N*-(*tert*-Butiloxicarbonil)-3-iodo-4-metoxi-L-tirosina (**20a**)



A una dissolució de *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-3-iodo-4-metoxi-L-tirosinat de metil (**23a**) (500 mg, 1.15 mmol, 1 eq) en MeOH/THF (1:1, 4 mL) s'addiciona una dissolució aquosa de  $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$  1.7M (2 mL, 3.4 mmol, 3 eq). La mescla de reacció s'agita a temperatura ambient durant 5 h. Tot seguit, s'elimina el dissolvent a pressió reduïda, s'addiciona  $\text{H}_2\text{O}$  (50 mL), la dissolució s'ajusta a pH 4-5 amb AcOH glacial i s'extreu amb AcOEt (4x25 mL). La fase orgànica es renta amb una dissolució saturada de NaCl, s'asseca amb  $\text{MgSO}_4$  anhidre i s'evapora a pressió reduïda. Tot seguit el cru obtingut es purifica per cromatografia en columna sobre gel de sílice. Eluint amb una barreja hexà/AcOEt (4:1) s'obté *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-3-iodo-4-metoxi-L-tirosina (**20a**) com un sòlid blanc (317 mg, 66%).

**Pf:** 57.3- 59.2 °C. **CCF:**  $R_f = 0.39$ , AcOEt/MeOH/ $\text{NH}_3$  (5:1:1). **IR** (neat)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 2977 (CHst), 1709 (C=Ost), 1490, 1278 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3\gamma$ ), 1252 (C-O-C st as), 1157 (C-O st), 1049 (C-O-C st sim).  **$^1\text{H-RMN}$**  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 1.46 (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 3.03-3.18 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{-}\beta$ ), 3.89 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 4.56 (sa, 1H,  $\text{CH-}\alpha$ ), 4.97 (sa, 1H, NH), 6.79 (d,  $J = 8.4$  Hz,  $\text{CH}_{\text{arom-5}}$ ), 7.17 (dd,  $J = 2.2, 8.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom-6}}$ ), 7.63 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom-2}}$ ).  **$^{13}\text{C-RMN}$**  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 28.14 ( $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ ), 36.31 ( $\text{CH}_2\text{-}\beta$ ), 54.16 ( $\text{CH-}\alpha$ ), 55.88 ( $\text{OCH}_3$ ), 80.26 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 85.83 ( $\text{C}_{\text{arom-3}}$ ), 110.77 ( $\text{CH}_{\text{arom-5}}$ ), 130.26 ( $\text{C}_{\text{arom-1}}$ ,  $\text{CH}_{\text{arom-6}}$ ), 140.11 ( $\text{CH}_{\text{arom-2}}$ ), 155.20 (CONH), 157.07 ( $\text{C}_{\text{arom-4}}$ ), 175.58 ( $\text{CO}_2\text{H}$ ). **HRMS (ESI)**  $m/z$ . Calculat per a  $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{INNaO}_5$  444.0278, experimental 444.0260.

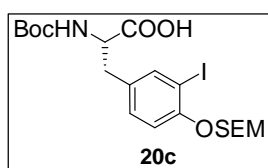
### 8.2.2.7. *N*-(*tert*-Butiloxicarbonil)-3-iodo-4-al·liloxi-L-tirosina (**20b**)



A una dissolució d'*N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-3-iodo-4-al·liloxi-L-tirosinat de metil (**23b**) (350 mg, 0.76 mmol, 1 eq) en MeOH/THF (1:1, 2.8 mL) s'addiciona una dissolució aquosa de LiOH·H<sub>2</sub>O 1.7M (1.4 mL, 2.27 mmol, 3 eq). La mescla de reacció s'agita 4 h a temperatura ambient. Tot seguit, s'elimina el dissolvent a pressió reduïda, s'addiciona H<sub>2</sub>O (10 mL), la dissolució s'ajusta a pH 4-5 amb AcOH glacial i s'extreu amb AcOEt (4×10 mL). La fase orgànica es renta amb una dissolució saturada de NaCl (10 mL), s'asseca amb MgSO<sub>4</sub> anhidre i s'evapora a pressió reduïda obtenint-se *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-3-iodo-4-al·liloxi-L-tirosina (**20b**) com un oli incolor (313 mg, 92%).

**CCF:** R<sub>f</sub> = 0.46, AcOEt/MeOH/NH<sub>3</sub> (5:1:1). **IR** (neat)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 2969 (CHst), 2928, 1709 (C=Ost), 1488, 1394, 1367, 1280, 1254, 1157, 1041, 1018, 995, 805. **<sup>1</sup>H-RMN** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 1.45 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.83-3.19 (m, 2H, CH<sub>2</sub>- $\beta$ ), 4.59 (sa, 1H, CH- $\alpha$ ), 4.59 (d, *J* = 4.8 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>), 4.98 (sa, 1H, NH), 5.33 (dd, *J* = 1.5, 10.4 Hz, 1H, =CH<sub>2</sub>), 5.53 (dd, *J* = 1.5, 17.4 Hz, 1H, =CH<sub>2</sub>), 6.05 (ddd, *J* = 4.8, 10.4, 17.4 Hz, 1H, CH=), 6.76 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>-5), 7.13 (dd, *J* = 2, 8.4 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>-6), 7.63 (sa, 1H, CH<sub>arom</sub>-2). **<sup>13</sup>C-RMN** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 28.23 ((CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C), 36.37 (CH<sub>2</sub>- $\beta$ ), 54.26 (CH- $\alpha$ ), 69.64 (OCH<sub>2</sub>), 80.20 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 86.50 (C<sub>arom</sub>-3), 112.22 (CH<sub>arom</sub>-5), 117.53 (=CH<sub>2</sub>), 130.34 (CH<sub>arom</sub>-6), 130.91 (C<sub>arom</sub>-1), 132.45 (CH=), 140.22 (CH<sub>arom</sub>-2), 155.23 (C<sub>arom</sub>-4), 156.10 (CONH), 175.35 (CO<sub>2</sub>H). **HRMS (ESI)** *m/z*: Calculat per a C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>INNaO<sub>5</sub> 470.0435, experimental 470.0451.

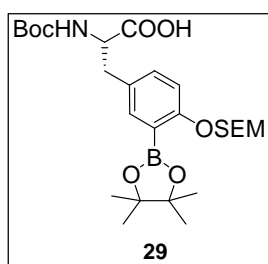
### 8.2.2.8. *N*-(*tert*-Butiloxicarbonil)-3-iodo-4-[2-(trimetilsilil)etoximetoxi]-L-tirosina (**20c**)



A una dissolució de *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-3-iodo-4-[2-(trimetilsilil)etoximetoxi]-L-tirosinat de metil (**23c**) (216 mg, 0.39 mmol, 1 eq) en MeOH/THF (1:1, 1.4 mL) s'addiciona una dissolució aquosa de LiOH·H<sub>2</sub>O 1.7M (0.7 mL, 1.17 mmol, 3 eq). La mescla de reacció s'agita a temperatura ambient durant 4 h. Tot seguit, s'elimina el dissolvent a pressió reduïda, s'addiciona H<sub>2</sub>O (10 mL), la dissolució s'ajusta a pH 4-5 amb AcOH glacial i s'extreu amb AcOEt (4×10 mL). La fase orgànica es renta amb una dissolució saturada de NaCl (10 mL), s'asseca amb MgSO<sub>4</sub> anhidre i s'evapora a pressió reduïda obtenint-se *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-3-iodo-4-[2-(trimetilsilil)etoximetoxi]-L-tirosina (**20c**) com un oli incolor (189 mg, 90%).

**CCF:**  $R_f = 0.53$ , AcOEt/MeOH/NH<sub>3</sub> (5:1:1). **IR** (neat)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 2954 (CHst), 2901, 1713 (C=Ost), 1488, 1395, 1367, 1236, 1160, 1093, 1038, 987, 857, 834. **<sup>1</sup>H-RMN** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 0.05 (s, 9H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.96-1.04 (m, 2H, CH<sub>2</sub>Si), 1.47 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.94-3.21 (m, 2H, CH<sub>2</sub>- $\beta$ ), 3.79-3.88 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>), 4.56 (sa, 1H, CH- $\alpha$ ), 5.00 (sa, 1H, NH), 5.30 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>O), 7.04 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>-5), 7.15 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>-6), 7.64 (s, 1H, CH<sub>arom</sub>-2). **<sup>13</sup>C-RMN** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): -1.45 (Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 17.91 (CH<sub>2</sub>Si), 28.25 ((CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C), 36.40 (CH<sub>2</sub>- $\beta$ ), 54.24 (CH- $\alpha$ ), 66.63 (CH<sub>2</sub>O), 80.29 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 87.23 (C<sub>arom</sub>-3), 93.30 (OCH<sub>2</sub>O), 114.81 (CH<sub>arom</sub>-5), 130.36 (CH<sub>arom</sub>-6), 131.31 (C<sub>arom</sub>-1), 140.15 (CH<sub>arom</sub>-2), 155.24 (CONH), 175.39 (CO<sub>2</sub>H). **HRMS (ESI)**  $m/z$ : Calculat per a C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>INNaO<sub>6</sub>Si 560.0936, experimental 560.0957.

### 8.2.2.9. *N*-(*tert*-Butiloxicarbonil)-3-pinacolatoborono-4-[2-(trimetilsilil)etoximetoxi]-L-tirosina (29)



A una dissolució de bis(pinacolato)diboron (83.5 mg, 0.32 mmol, 2 eq), PdCl<sub>2</sub>(dppf) (7.9 mg, 0.01 mmol, 0.06 eq) i KOAc (63.85 mg, 0.64 mmol, 4 eq) en DMSO anhidre (1 mL) s'addiciona *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-3-iodo-4-[2-(trimetilsilil)etoximetoxi]-L-tirosinat de metil (**23c**) (89 mg, 0.16 mmol, 1 eq) sota atmosfera de nitrogen i s'agita a 80 °C durant 18 h. Passat aquest temps, s'elimina el dissolvent a pressió reduïda, s'addiciona H<sub>2</sub>O (5 mL) i s'extreu amb AcOEt (3x5 mL). La fase orgànica es renta amb una dissolució saturada de NaCl (3x5 mL), s'asseca amb MgSO<sub>4</sub> i s'evapora a pressió reduïda. Tot seguit el residu obtingut es purifica per cromatografia en columna sobre gel de sílice. Eluint amb una barreja hexà/AcOEt (6:1) s'obté *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-3-pinacolatoborono-4-[2-(trimetilsilil)etoximetoxi]-L-tirosinat de metil (47 mg, 53%).

**CCF:**  $R_f = 0.48$ , Hexà/AcOEt (3:1). **<sup>1</sup>H-RMN** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 0.02 (s, 9H, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 0.96-1.00 (m, 2H, CH<sub>2</sub>Si), 1.26 (s), 1.29 (s), 1.36 (s) ((CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C), (CH<sub>3</sub>)<sub>BPin</sub>, 2.99-3.10 (m, 2H, CH<sub>2</sub>- $\beta$ ), 3.73 (s, 3H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.78-3.82 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>), 4.52-4.57 (m, 1H, CH- $\alpha$ ), 4.98 (d,  $J = 8$  Hz, 1H, NH), 5.23 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>O), 6.98 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>-5), 7.14 (dd,  $J = 2.0, 8.4$  Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>-6), 7.44 (sa, 1H, CH<sub>arom</sub>-2).

A continuació, a una dissolució de *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-3-pinacolatoborono-4-[2-(trimetilsilil)etoximetoxi]-L-tirosinat de metil (47 mg, 0.085 mmol, 1 eq) en MeOH/THF (1:1, 0.3 mL) s'addiciona una dissolució aquosa de LiOH·H<sub>2</sub>O 1.7 M (0.15 mL, 0.26 mmol, 3 eq). La mescla de reacció s'agita a temperatura ambient durant 4 h. Tot seguit, s'elimina el dissolvent a pressió reduïda i s'addiciona H<sub>2</sub>O (10 mL). La dissolució resultant s'ajusta

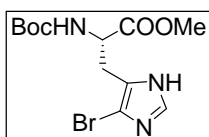


a pH=5 amb AcOH glacial i s'extreu amb AcOEt (4x5 mL). La fase orgànica es renta amb una dissolució saturada de NaCl, s'asseca amb MgSO<sub>4</sub> anhidre i s'evapora a pressió reduïda. S'obté *N*-(*tert*-butiloxicarbonil)-3-pinacolatoborono-4-[2-(trimetilsilil)etoximetoxi]-L-tirosina (**29**) com un sòlid blanc (29.2 mg, 65%).

**CCF:** R<sub>f</sub> = 0.66, AcOEt/MeOH (5:2). **IR** (neat)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 2977, 2930, 1712, 1492, 1421, 1368, 1350, 1248, 1212, 1162, 1144, 1064, 993, 967, 856, 834. **ESI-MS** *m/z* 555.4 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 560.3 [M+Na]<sup>+</sup>.

### 8.2.3. Derivats d'histidina

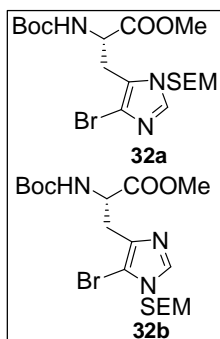
#### 8.2.3.1. 5-Bromo-*N*( $\alpha$ )-(tert-butiloxicarbonil)-L-histidinat de metil



En un matràs es dissol *N*( $\alpha$ )-(tert-butiloxicarbonil)-L-histidinat de metil (3.8 g, 14.11 mmol, 1 eq) en CH<sub>3</sub>CN anhidre (60 mL) a 0 °C. A continuació, s'addiciona NBS (1.97 g, 11.1 mmol, 0.79 eq) i s'agita a 0 °C sota atmosfera de nitrogen durant 2.5 h. Tot seguit, s'afegeix piridina (24  $\mu$ L) i la mescla es concentra a pressió reduïda. Al residu obtingut s'addiciona trietilamina (2.4 mL) i s'evapora el dissolvent a pressió reduïda. El cru resultant es purifica per cromatografia en columna utilitzant com eluent hexà/AcOEt (1:4). S'obté 5-Bromo-*N*( $\alpha$ )-(tert-butiloxicarbonil)-L-histidinat de metil (3.17 g, 82%) com un sòlid blanc.

**Pf:** 156-158 °C. **CCF:** R<sub>f</sub> = 0.70, AcOEt/MeOH (5:1). **IR** (neat)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3359, 3079, 1693, 1526, 1434, 1323, 1244, 1166. **<sup>1</sup>H-RMN** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 1.37 (s, 9H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C), 2.94 (dd, *J* = 6.6, 15.4 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>- $\beta$ ), 3.13 (dd, *J* = 5.4, 15.4 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>- $\beta$ ), 3.71 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.43-4.46 (m, 1H, CH- $\alpha$ ), 5.28 (sa, 1H, NH-Boc), 7.43 (s, 1H, CH<sub>imid</sub>-2), 10.43 (sa, 1H, NH<sub>imid</sub>). **<sup>13</sup>C-RMN** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 28.94 ((CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C), 30.31 (CH<sub>2</sub>- $\beta$ ), 53.52 (OCH<sub>3</sub>), 53.66 (CH- $\alpha$ ), 81.56 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 115.62 (C<sub>imid</sub>-5), 124.03, (C<sub>imid</sub>-4), 135.55 (CH<sub>imid</sub>-2), 156.30 (CONH), 172.67 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). **ESI-MS** *m/z* 348.0, 350.0 [M+H]<sup>+</sup>, 695.1, 697.1, 699.1 [2M+H]<sup>+</sup>. **HRMS (ESI)** *m/z* : calculat per a C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>BrN<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 348.0553, 350.0522; experimental 348.0544, 350.0521. Calculat per a C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>BrN<sub>3</sub>NaO<sub>4</sub> 370.0373, 372.0352; experimental 370.0362, 372.0351.

### 8.2.3.2. 5-Bromo-*N*( $\alpha$ )-(tert-butiloxicarbonil)-*N*( $\pi$ )-[2-(trimetilsilil)-etoximetil]-L-histidinat de metil (**32a**) i 5-bromo-*N*( $\alpha$ )-(tert-butiloxicarbonil)-*N*( $\tau$ )-[2-(trimetilsilil)etoximetil]-L-histidinat de metil (**32b**)



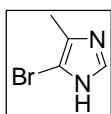
A una solució de 5-bromo-*N*( $\alpha$ )-(tert-butiloxicarbonil)-L-histidinat de metil (2.97 g, 8.51 mmol, 1 eq) en DMF anhidre (24 mL) a 0 °C, s'afegeix DBU (1.92 mL, 12.75 mmol, 1.5 eq). La mescla de reacció s'agita a aquesta temperatura sota atmosfera de nitrogen durant 1.5 h. Passat aquest temps, s'addiciona SEMCl (2.26 mL, 12.75 mmol, 1.5 eq) i la mescla s'agita durant 4 h a temperatura ambient. El cru de reacció s'aboca sobre d'H<sub>2</sub>O (200 mL) i el producte s'extreu amb una

mescla de toluè/AcOEt (1:1, 4x60 mL). La fase orgànica es renta amb una dissolució saturada de NaCl (50 mL), s'asseca amb MgSO<sub>4</sub> anhidre i s'evapora a pressió reduïda. S'obté un oli groguenc que es purifica per cromatografia en columna utilitzant com a eluent hexà/AcOEt (7:3). La mescla de regioisòmers **32a** i **32b** (3.32 g, 82%) s'obté com un oli incolor.

**CCF:** *R*<sub>f</sub> = 0.74 i 0.80, AcOEt/MeOH (9:1) **IR** (neat)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 2953, 1713, 1489, 1364, 1248, 1207, 1164, 1090, 834. **<sup>1</sup>H-RMN** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 0.03 (s, 9 H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>Si), 0.89–0.97 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>Si), 1.42 (s, 6.8H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C), 1.46 (s, 2.2H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C), 3.04 (dd, *J* = 8.4, 15.2 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>- $\beta$ ), 3.18 (dd, *J* = 6.2, 15.2 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>- $\beta$ ), 3.50–3.58 (m, 2H, CH<sub>2</sub>O), 3.74 (s, 0.8H, OCH<sub>3</sub>), 3.78 (s, 2.2H, OCH<sub>3</sub>), 4.57–4.68 (m, 1H, CH- $\alpha$ ), 5.26–5.32 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>O), 5.86 (sa, 1H, CONH), 7.48 (s, 0.8H, CH<sub>imid</sub>-2), 7.65 (s, 0.2H, CH<sub>imid</sub>-2). **<sup>13</sup>C-RMN** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 0.79 ((CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>Si), 18.26 (CH<sub>2</sub>Si), 27.74, 29.94 (CH<sub>2</sub>- $\beta$ ), 28.92, 29.02 ((CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C), 52.89, 53.36 (CH- $\alpha$  i OCH<sub>3</sub>), 67.15, 68.04 (CH<sub>2</sub>O), 75.46, 75.59 (NCH<sub>2</sub>O), 80.27, 80.79 ((CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C), 102.76, 118.38 (C<sub>imid</sub>-5), 125.06, 137.28 (C<sub>imid</sub>-4), 137.76, 138.82 (CH<sub>imid</sub>-2), 155.60, 155.63 (CONH), 172.43, 172.87 (CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). **HRMS (ESI)** *m/z*. Calculat per a C<sub>18</sub>H<sub>33</sub>BrN<sub>3</sub>O<sub>5</sub>Si 478.1367, 480.1345; experimental 478.1375, 480.1352. Calculat per a C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>BrN<sub>3</sub>NaO<sub>5</sub>Si 500.1187, 502.1190; experimental 500.1199, 502.1197.

## 8.2.4. Derivats d'imidazole

### 8.2.4.1. 4(5)-Bromo-5(4)-metilimidazole

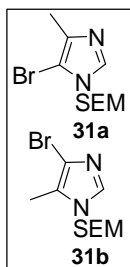


A una dissolució de 4(5)-metilimidazole (502 mg, 5.99 mmol, 1 eq) en CH<sub>3</sub>CN anhidre (25 mL) a 0 °C s'addiciona NBS (1.1 g, 6.02 mmol, 1 eq) sota atmosfera de nitrogen i la mescla de reacció s'agita durant 30 minuts. Passat aquest temps, s'addiciona piridina (4 µL), la solució es concentra a pressió reduïda, s'hi addiciona trietilamina (0.4 mL) i s'elimina el dissolvent a pressió reduïda. El cru resultant es purifica per cromatografia en columna sobre gel de sílice. Eluint amb una barreja hexà/AcOEt (1:1) s'obté 4(5)-bromo-5(4)-metilimidazole com un sòlid blanc (620 mg, 65%).

**Pf:** 137-139 °C. **CCF:** R<sub>f</sub> = 0.3, AcOEt/MeOH (98:2). **IR** (neat)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3071 (CH<sub>arom</sub> st), 2952 (CH<sub>st</sub>), 1690, 1599, 1452, 1199 (C-Br st), 952 ( $\gamma$  C-N-C), 809 ( $\delta$ oop arom).

**<sup>1</sup>H-RMN** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 2.18 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 7.37 (s, 1H, CH<sub>imid-2</sub>), 10.98 (sa, 1H, NH<sub>imid</sub>). **<sup>13</sup>C-RMN** (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 8.89 (CH<sub>3</sub>), 123.43 (C<sub>imid-5</sub>), 132.52 (C<sub>imid-4</sub>, CH<sub>imid-2</sub>). **ESI-MS** *m/z*: 160.9, 162.9 [M+H]<sup>+</sup>.

### 8.2.4.2. 1-[2-(Trimetilsilil)etoximetil]-5-bromo-4-metilimidazole (31a) 1-[2-(trimetilsilil)etoximetil]-4-bromo-5-metilimidazole (31b)



A una dissolució de 4(5)-bromo-5(4)-metilimidazole (1.6 g, 9.63 mmols, 1 eq) en DMF anhidre (93 mL) a 0 °C s'addiciona DBU (2.9 mL, 19.25 mmol, 2 eq) i la mescla de reacció s'agita a aquesta temperatura sota atmosfera de nitrogen durant 1.5 h. A continuació, s'addiciona 2-(clorometoxi)etiltrimetilsilà (2.7 mL, 15.41 mmol, 1.6 eq) i la mescla de reacció s'agita a 0 °C sota atmosfera de nitrogen durant 18 h. Tot seguit, el cru de reacció s'addiciona a H<sub>2</sub>O/gel (370 mL) i s'extreu amb toluè/AcOEt (1:1, 4x70 mL). La fase orgànica es renta amb una dissolució saturada de NaCl (100 mL), s'asseca amb MgSO<sub>4</sub> anhidre i s'evapora a pressió reduïda. L'oli obtingut es purifica per cromatografia en columna sobre gel de sílice. Eluint amb una barreja hexà/AcOEt (4:1) s'obté una barreja de 1-[2-(Trimetilsilil)etoximetil]-5-bromo-4-metilimidazole (**31a**) 1-[2-(trimetilsilil)etoximetil]-4-bromo-5-metilimidazole (**31b**) com un oli incolor (1.5 g, 55%).

Dades de la mescla de l'isòmer **a** i **b**:

**IR** (neat)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 2953 (CH<sub>st</sub>), 1248, 1230, 1201, 1087 (C-Br st), 937, 857, 833 ( $\delta$ oop arom), 759. **HRMS (ESI)** *m/z*: Calculat per a C<sub>10</sub>H<sub>20</sub>BrN<sub>2</sub>OSi [M+H]<sup>+</sup> 291.0523, 293.0503, experimental 291.0513, 293.0491.

Dades de l'isòmer **a**:

**CCF**:  $R_f = 0.69$ , AcOEt/MeOH (99:2).  **$^1\text{H-RMN}$**  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 0.01 (s, 9H,  $(\text{CH}_3)_3\text{Si}$ ), 0.91 (t,  $J = 8$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{Si}$ ), 2.25 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.49 (t,  $J = 8$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2$ ), 5.20 (s, 2H,  $\text{NCH}_2\text{O}$ ), 7.43 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{imid-2}}$ ).  **$^{13}\text{C-RMN}$**  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): -1.63 ( $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ ), 8.55 ( $\text{CH}_3$ ), 17.45 ( $\text{CH}_2\text{Si}$ ), 65.93 ( $\text{CH}_2\text{-O}$ ), 74.63 ( $\text{N-CH}_2\text{-O}$ ), 114.90 ( $\text{C}_{\text{imid}}$ ), 125.17 ( $\text{C}_{\text{imid}}$ ), 137.25 ( $\text{CH}_{\text{imid-2}}$ ).

Dades de l'isòmer **b** extretes de la mescla amb l'isòmer **a**:

**CCF**:  $R_f = 0.45$ , AcOEt/MeOH (99:2).  **$^1\text{H-RMN}$**  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 0.02 (s, 9H,  $(\text{CH}_3)_3\text{Si}$ ), 0.95 (t,  $J = 8.2$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{Si}$ ), 2.27 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.56 (t,  $J = 8.2$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2$ ), 5.26 (s, 2H,  $\text{NCH}_2\text{O}$ ), 7.64 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{imid-2}}$ ).  **$^{13}\text{C-RMN}$**  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): -1.63 ( $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ ), 12.79 ( $\text{CH}_3$ ), 17.45 ( $\text{CH}_2\text{Si}$ ), 66.15 ( $\text{CH}_2\text{-O}$ ), 74.49 ( $\text{N-CH}_2\text{-O}$ ), 91.56 ( $\text{C}_{\text{imid}}$ ), 100.23 ( $\text{C}_{\text{imid}}$ ), 135.90 ( $\text{CH}_{\text{imid-2}}$ ).

### 8.3. Síntesi de pèptids en fase sòlida

#### 8.3.1. Mètode general per a la síntesi de pèptids en fase sòlida

Els pèptids es preparen manualment en fase sòlida utilitzant una estratègia Fmoc/*t*Bu. En una xeringa de polipropilè de 5 mL, a la qual s'ha adaptat un filtre de polietilè porós, es pesa la quantitat necessària de resina Fmoc-Rink-MBHA (0.56 mmol/g) i s'hi addiciona  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1×20 min) i DMF (1×20 min). L'eliminació del grup Fmoc, es realitza per tractament amb una dissolució de piperidina/DMF (3:7, 2 + 10 min). L'acoblament dels aminoàcids es realitza per tractament de la resina amb HBTU (3.8 eq), HOBt (4 eq), DIEA (7.8 eq) i l'aminoàcid corresponent (4 eq) en DMF, a temperatura ambient durant 1 hora. Després de cada etapa d'eliminació i acoblament es renta la resina amb DMF (6×1 min) i  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3×1 min). El seguiment de les reaccions es monitoritza a través del test de Kaiser (Kaiser et al., 1970). Quan s'ha completat la seqüència desitjada, una alíquota de la resina resultant es tracta amb TFA/ $\text{H}_2\text{O}$ /TIS (95:2.5:2.5) durant 2 h. Tot seguit es recull la mescla àcida i s'evapora a sequedat sota un corrent de nitrogen. Al cru resultant s'afegeix èter dietílic i se centrifuga durant 5 min, repetint-se aquesta operació tres vegades. L'èter dietílic es decanta i una alíquota del residu es dissol en  $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$  per ser analitzat per HPLC. Així mateix, el pèptid es caracteritza per espectrometria de masses.

#### 8.3.1.1. Fmoc-Leu-Leu-Rink-MBHA

Aquesta peptidil resina es prepara utilitzant el mètode general per a la síntesi de pèptids en fase sòlida. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona Fmoc-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (98% puresa).

$t_R = 8.76$  min

#### 8.3.1.2. Boc-Phe(4-I)-Leu-Leu-Rink-MBHA (3)

Aquesta peptidil resina es prepara utilitzant el mètode general per a la síntesi de pèptids en fase sòlida. El desancorament d'una alíquota de la resina **3** proporciona H-Phe(4-I)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (**13**) (95% puresa).

$t_R = 6.93$  min (Mètode B). **ESI-MS**  $m/z$ : 516.9 [M+H]<sup>+</sup>, 538.9 [M+Na]<sup>+</sup>, 554.9 [M+K]<sup>+</sup>.

**HRMS (ESI)**  $m/z$ : Calculat per a C<sub>21</sub>H<sub>34</sub>IN<sub>4</sub>O<sub>3</sub> 517.1670, experimental 517.1693; calculat per a C<sub>21</sub>H<sub>34</sub>IN<sub>4</sub>NaO<sub>3</sub> 539.1490, experimental 539.1512.

#### 8.3.1.3. Boc-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Leu-Rink-MBHA (15)

Aquesta peptidil resina es prepara utilitzant el mètode general per a la síntesi de pèptids en fase sòlida. El desancorament d'una alíquota de la resina **15** proporciona H-Phe(4-I)-Lys-Leu-NH<sub>2</sub> (76% puresa).

$t_R = 6.33$  min (Mètode B).

#### 8.3.1.4. Boc-Phe(4-I)-Ser(tBu)-Leu-Rink-MBHA (16)

Aquesta peptidil resina es prepara utilitzant el mètode general per a la síntesi de pèptids en fase sòlida. El desancorament d'una alíquota de la resina **16** proporciona H-Phe(4-I)-Ser-Leu-NH<sub>2</sub> (75% puresa).

$t_R = 6.51$  min (Mètode B).

#### 8.3.1.5. Boc-Tyr(3-I,Me)-Leu-Leu-Rink-MBHA (19a)

Aquesta peptidil resina es prepara utilitzant el mètode general per a la síntesi de pèptids en fase sòlida. El desancorament d'una alíquota de la resina **19a** proporciona H-Tyr(3-I,Me)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (**24a**, 92% puresa).

$t_R = 6.86$  min (Mètode B). **ESI-MS**  $m/z$ : 547.0 [M+H]<sup>+</sup>, 569.0 [M+Na]<sup>+</sup>, 585.0 [M+K]<sup>+</sup>.

### 8.3.1.6. Boc-Tyr(3-I,Al)-Leu-Leu-Rink-MBHA (19b)

Aquesta peptidil resina es prepara utilitzant el mètode general per a la síntesi de pèptids en fase sòlida. El desancorament d'una alíquota de la resina **19b** proporciona H-Tyr(3-I,Al)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (**24b**, 85% puresa).

$t_R = 7.22$  min (Mètode B). **ESI-MS**  $m/z$ : 595.1 [M+Na]<sup>+</sup>, 611.1 [M+K]<sup>+</sup>.

### 8.3.1.7. Boc-Tyr(3-I,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (19c)

Aquesta peptidil resina es prepara utilitzant el mètode general per a la síntesi de pèptids en fase sòlida. El desancorament d'una alíquota de la resina **19c** proporciona H-Tyr(3-I)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (**24c**, 97% puresa).

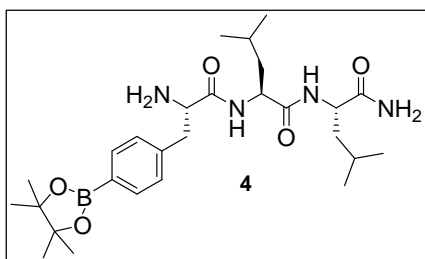
$t_R = 6.49$  min (Mètode B). **ESI-MS**  $m/z$ : 533.0 [M+H]<sup>+</sup>, 555.0 [M+Na]<sup>+</sup>.

## 8.4. Síntesi d'esters borònics en fase sòlida

### 8.4.1. Mètode general de borilació de Miyaura en fase sòlida

En un baló de 25 mL es pesa la iodopeptidil resina corresponent, bis(pinacolato)diboron (4 eq), PdCl<sub>2</sub>(dppf) (0.18 eq) i 1,1'-bis(difenilfosfanil)ferrocè (dppf) (0.09 eq) i s'hi addiciona una dissolució de KOAc (6 eq) en DMSO anhidre desgasat (20 µL/mg de resina), la qual s'ha agitat prèviament a l'ultrasons durant dos minuts. La mescla de reacció s'escalfa a 80 °C durant el temps requerit. A continuació, es renta amb DMSO (6x1 min), MeOH (6x1 min), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (6x1 min) i èter dietílic (3x1 min). Una alíquota de la boronopeptidil resina resultant es desancora utilitzant TFA/H<sub>2</sub>O/TIS (95:2.5:2.5) durant 2 h a temperatura ambient. A continuació, s'evapora el TFA i s'extreu amb èter dietílic, el cru de reacció es dissol en H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN, es liofilitza i s'analitza per HPLC, i es caracteritza per espectrometria de masses.

#### 8.4.1.1. H-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (4)



Es parteix de la resina Boc-Phe(4-I)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**3**) (600 mg) i se segueix el mètode general per a la borilació de Miyaura en fase sòlida escalfant la mescla de reacció durant 24 h a 80 °C. D'aquesta manera s'obté la resina Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**).

**IR** (resina, neat)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3316, 2953, 2928, 1650, 1505, 1453, 1362, 1209, 1159, 699.

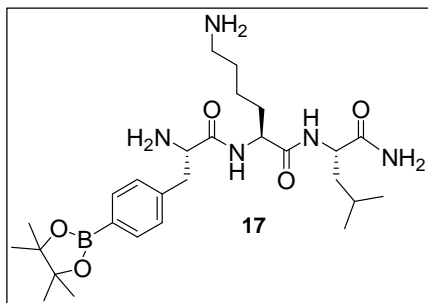
El desancorament d'una alíquota de la resina proporciona l'èster pinacolborònic H-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (**4**, 99% puresa).

$t_R = 7.23$  min (Mètode B). **<sup>1</sup>H-RMN** (400 MHz, CD<sub>3</sub>CN)  $\delta$  (ppm): 0.85–0.94 (m, 12H, 4xCH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu), 1.31 (s, 12H, 4x(CH<sub>3</sub>)<sub>BPin</sub>), 1.55–1.65 (m, 6H, 2xCH( $\gamma$ )-Leu, 2xCH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Leu), 3.09–3.11 (m, 1H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe), 3.26–3.29 (m, 1H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe), 4.31–4.35 (m, 3H, 2xCH( $\alpha$ )-Leu, CH( $\alpha$ )-Phe), 5.90 (s, 1H, CONH<sub>2</sub>), 6.64 (s, 1H, CONH<sub>2</sub>), 7.24 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H, CONH), 7.28 (d,  $J = 7.0$  Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6), 7.65 (d,  $J = 7.0$  Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5), 7.97 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H, CONH). **<sup>13</sup>C-RMN** (100 MHz, CD<sub>3</sub>CN)  $\delta$  (ppm): 21.85 (2xCH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu), 23.17 (2xCH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu), 25.09 ((CH<sub>3</sub>)<sub>BPin</sub>), 25.24, 25.49 (2xCH( $\gamma$ )-Leu), 37.72 (CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe), 41.52, 41.67 (2xCH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Leu), 52.44, 53.36, 55.29 (3xCH( $\alpha$ )), 84.76 (C-BPin), 129.72 (C<sub>arom</sub>-4), 130.08 (CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6), 135.81 (CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5), 138.59 (C<sub>arom</sub>-1), 169.46, 172.66, 175.42 (3xCO). **HRMS (ESI)**: calculat per a C<sub>27</sub>H<sub>46</sub>BN<sub>4</sub>O<sub>5</sub> 517.3556, experimental 517.3559; calculat per a C<sub>21</sub>H<sub>45</sub>BN<sub>4</sub>NaO<sub>5</sub> 539.3375, experimental 539.3375.

L'anàlisi per HPLC provoca la hidròlisi parcial de l'èster pinacolborònic a l'àcid borònic H-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>.

$t_R = 6.07$  min (mètode B).

#### 8.4.1.2. H-Phe(4-BPin)-Lys-Leu-NH<sub>2</sub> (**17**)



Es parteix de la resina Boc-Phe(4-I)-Lys-Leu-Rink-MBHA (**15**) (100 mg) i se segueix el mètode general per a la borilació de Miyaura en fase sòlida escalfant la mescla de reacció durant 24 h a 80 °C. D'aquesta manera s'obté la resina Boc-Phe(4-BPin)-Lys-Leu-Rink-MBHA.

**IR** (resina, neat)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3298, 2925, 1669, 1641, 1505, 1452, 1364, 1209, 1167.

El desancorament d'una alíquota d'aquesta resina proporciona l'èster pinacolborònic H-Phe(4-BPin)-Lys-Leu-NH<sub>2</sub> (**17**, 99% puresa).

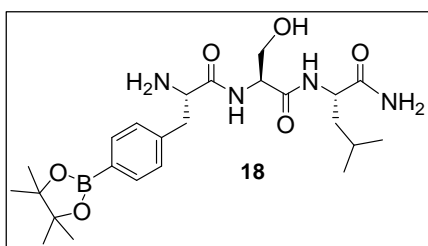
$t_R = 6.62$  min (Mètode B). **<sup>1</sup>H-RMN** (400 MHz, CD<sub>3</sub>CN)  $\delta$  (ppm): 0.89–0.93 (m, 6H, 2xCH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu), 1.30 (s, 12H, 4x(CH<sub>3</sub>)<sub>BPin</sub>), 1.58–1.65 (m, 9H, CH( $\gamma$ )-Leu, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Leu, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Lys, CH<sub>2</sub>( $\gamma$ )-Lys, CH<sub>2</sub>( $\delta$ )-Lys), 2.88–2.92 (m, 2H, CH<sub>2</sub>( $\epsilon$ )-Lys), 3.06–3.09 (m, 1H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe), 3.23–3.32 (m, 1H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe), 4.32–4.48 (m, 3H, CH( $\alpha$ )-Leu, CH( $\alpha$ )-Lys, CH( $\alpha$ )-Phe), 6.11 (s, 1H, CONH<sub>2</sub>), 6.98 (s, 1H, CONH<sub>2</sub>), 7.24 (d,  $J = 7.0$  Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-2,

CH<sub>arom</sub>-6), 7.56 (s, 1H, CONH), 7.62 (d,  $J = 7.0$  Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5), 8.27 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H, CONH). <sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, CD<sub>3</sub>CN)  $\delta$  (ppm): 21.95 (2xCH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu), 23.36 (CH<sub>2</sub>( $\gamma$ )-Lys), 25.19 (CH<sub>3</sub>-BPin), 25.65 (CH( $\gamma$ )-Leu), 32.58 (CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Lys, CH<sub>2</sub>( $\delta$ )-Lys), 37.97 (CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe), 40.47 (CH<sub>2</sub>( $\epsilon$ )-Lys), 41.54 (CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Leu), 52.96, 53.58, 55.18 (3xCH( $\alpha$ )), 84.88 (C-BPin), 129.81 (C<sub>arom</sub>-4), 130.20 (CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6), 135.90 (CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5), 138.53 (C<sub>arom</sub>-1), 172.73, 175.02, 176.35 (3xCO). **ESI-MS**  $m/z$ : 532.3 [M<sub>BPin</sub>+H]<sup>+</sup>. **HRMS (ESI)**  $m/z$ : Calculat per a C<sub>27</sub>H<sub>47</sub>BN<sub>5</sub>O<sub>5</sub> 532.3669, experimental 532.3664; calculat per a C<sub>27</sub>H<sub>46</sub>BN<sub>5</sub>NaO<sub>5</sub> 554.3489, experimental 554.3500.

L'anàlisi per HPLC provoca la hidròlisi parcial de l'èster pinacolborònic a l'àcid borònic H-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-Lys-Leu-NH<sub>2</sub>.

$t_R = 5.50$  min (mètode B).

#### 8.4.1.3. H-Phe(4-BPin)-Ser-Leu-NH<sub>2</sub> (18)



Es parteix de la resina Boc-Phe(4-I)-Ser-Leu-Rink-MBHA (**16**) (100 mg) i se segueix el mètode general per a la borilació de Miyaura en fase sòlida escalfant la mescla de reacció durant 24 h a 80 °C. D'aquesta manera s'obté la resina Boc-Phe(4-BPin)-Ser-Leu-Rink-MBHA.

**IR** (resina, neat)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3309, 2927, 1664, 1644, 1504, 1452, 1363, 1209, 1160.

El desancorament d'una alíquota d'aquesta resina proporciona l'èster pinacolborònic H-Phe(4-BPin)-Ser-Leu-NH<sub>2</sub> (**18**, 99% puresa).

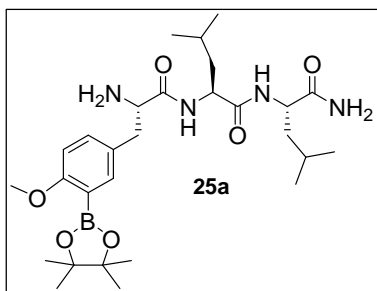
$t_R = 6.81$  min (Mètode B). <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CD<sub>3</sub>CN)  $\delta$  (ppm): 0.85–0.99 (m, 6H, 2xCH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu), 1.31 (s, 12H, 4x(CH<sub>3</sub>)<sub>BPin</sub>), 1.58–1.70 (m, 3H, CH( $\gamma$ )-Leu, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Leu), 3.09–3.11 (m, 1H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe), 3.26–3.28 (m, 1H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe), 3.68–3.79 (m, 2H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Ser), 4.28–4.42 (m, 3H, CH( $\alpha$ )-Phe, CH( $\alpha$ )-Leu, CH( $\alpha$ )-Ser), 5.86 (s, 1H, CONH<sub>2</sub>), 6.71 (s, 1H, CONH<sub>2</sub>), 7.04 (s, 1H, CONH), 7.31 (d,  $J = 6.8$  Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6), 7.67 (d,  $J = 6.8$  Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5), 7.75 (s, 1H, CONH). <sup>13</sup>C-RMN (75 MHz, CD<sub>3</sub>CN)  $\delta$  (ppm): 22.47 (2xCH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu), 24.62 (CH<sub>3</sub>-BPin), 24.65 (CH( $\gamma$ )-Leu), 36.79 (CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe), 40.28 (CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Leu), 54.37, 54.88, 55.45 (3xCH( $\alpha$ )), 40.39 (CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Ser), 83.93 (C-BPin), 128.91 (C<sub>arom</sub>-4), 129.19 (CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6), 134.98 (CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5), 137.52 (C<sub>arom</sub>-1). **ESI-MS**  $m/z$  : 491.2 [M<sub>BPin</sub>+H]<sup>+</sup>. **HRMS (ESI)**  $m/z$ : Calculat per a C<sub>24</sub>H<sub>40</sub>BN<sub>4</sub>O<sub>6</sub> 491.3040, experimental 491.3035; calculat per a C<sub>24</sub>H<sub>39</sub>BN<sub>4</sub>NaO<sub>6</sub> 513.2859, experimental 513.2854.



L'anàlisi per HPLC provoca la hidròlisi parcial de l'èster pinacolborònic a l'àcid borònic H-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-Ser-Leu-NH<sub>2</sub>.

$t_R = 5.53$  min (mètode B).

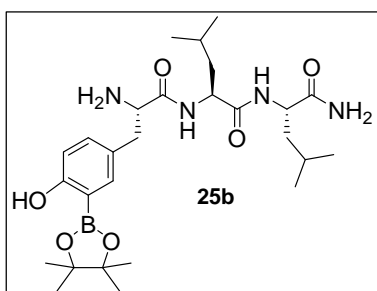
#### 8.4.1.4. H-Tyr(3-BPin,Me)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (25a)



Es parteix de la resina Boc-Tyr(3-I,Me)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**19a**) (380 mg) i se segueix el mètode general per a la borilació de Miyaura en fase sòlida escalfant la mescla de reacció durant 8 h. D'aquesta manera s'obté la resina Boc-Tyr(3-BPin,Me)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2a**). El desancorament d'una alíquota d'aquesta resina proporciona l'èster pinacolborònic H-Tyr(3-BPin,Me)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (**25a**, 29% puresa) i l'àcid borònic H-Tyr(3-B(OH)<sub>2</sub>,Me)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (**26a**, 49% puresa), que prové de la hidròlisi parcial de l'èster pinacolborònic durant l'anàlisi per HPLC.

$t_R = 6.28$  min (àcid borònic), 7.06 min (èster pinacolborònic) (Mètode B). **ESI-MS**  $m/z$ : 465.2 [M<sub>B(OH)<sub>2</sub></sub>+H]<sup>+</sup>, 547.3 [M<sub>BPin</sub>+H]<sup>+</sup>. **HRMS (ESI)**  $m/z$ . Calculat per a C<sub>22</sub>H<sub>38</sub>BN<sub>4</sub>O<sub>6</sub> 465.2879, experimental 465.2897; calculat per a C<sub>28</sub>H<sub>48</sub>BN<sub>4</sub>O<sub>6</sub> 547.3666, experimental 547.3683; calculat per a C<sub>28</sub>H<sub>47</sub>BN<sub>4</sub>NaO<sub>6</sub> 569.3486, experimental 569.3485.

#### 8.4.1.5. H-Tyr(3-BPin)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (25b)



Es parteix de la resina Boc-Tyr(3-I,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**19c**) (600 mg) i se segueix el mètode general per a la borilació de Miyaura en fase sòlida escalfant la mescla de reacció durant 8 h a 80 °C. D'aquesta manera s'obté la resina Boc-Tyr(3-BPin,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2c**). El desancorament d'una alíquota d'aquesta resina proporciona l'èster pinacolborònic H-Tyr(3-BPin)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (**25b**, 23% puresa) i l'àcid borònic H-Tyr(3-B(OH)<sub>2</sub>)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (**26b**, 37% puresa), que prové de la hidròlisi parcial de l'èster pinacolborònic durant l'anàlisi per HPLC.

$t_R = 6.11$  min (àcid borònic), 7.12 min (èster pinacolborònic) (Mètode B). **HRMS (ESI)**  $m/z$ . Calculat per a C<sub>21</sub>H<sub>36</sub>BN<sub>4</sub>O<sub>6</sub> 451.2726, experimental 451.2729; calculat per a C<sub>27</sub>H<sub>46</sub>BN<sub>4</sub>O<sub>6</sub> 533.3510, experimental 533.3511.

Alternativament, es parteix de la resina Boc-Tyr(3-I,Al)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**19b**) (30 mg) i se segueix el mètode general per a la borilació de Miyaura en fase sòlida escalfant

la mescla de reacció durant 8 h. D'aquesta manera s'obté la resina Boc-Tyr(3-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2d**). El desancorament d'una alíquota d'aquesta resina proporciona l'ester pinacolborònic H-Tyr(3-BPin,OH)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (**25b**, 37% puresa) i l'àcid borònic H-Tyr(3-B(OH)<sub>2</sub>,OH)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (**26b**, 14% puresa), que prové de la hidròlisi parcial de l'ester pinacolborònic durant l'anàlisi per HPLC. Les condicions de reacció provoquen l'eliminació de l'al·lil.

$t_R$  = 6.14 min (àcid borònic), 6.92 min (ester pinacolborònic) (Mètode B).

**ESI-MS**  $m/z$ : 451.2 [M<sub>B(OH)<sub>2</sub></sub>+H]<sup>+</sup>, 533.1 [M<sub>BPin</sub>+H]<sup>+</sup>, 595.2 [M<sub>BPin</sub>+Na]<sup>+</sup>.

## 8.5. Síntesi de pèptids biarílics lineals en fase sòlida

### 8.5.1. Mètodes generals per a la reacció de Suzuki-Miyaura en fase sòlida

- **Reacció de Suzuki-Miyaura sota escalfament convencional**

En un baló de 1 mL es pesa la boronopeptidil resina corresponent (5–10 mg) i s'addiciona sota atmosfera de nitrogen una barreja desgasada de DME/EtOH/H<sub>2</sub>O (9:9:2, 0.3 mL). A continuació, s'afegeix l'halur d'aril corresponent (5 eq), una dissolució de 0.017 mmol/mL de Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0.05 eq) en DME/EtOH/H<sub>2</sub>O (9:9:2), i una dissolució aquosa desgasada de 2M K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (5 eq). La mescla de reacció s'escalfa a 60 °C durant 48 h. Després d'aquest temps, la resina es renta amb DMF (6×1 min), EtOH (6×1 min), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (6×1 min) i èter dietílic (3×1 min). El pèptid corresponent es desancora del suport sòlid per mitjà d'un tractament àcid amb TFA/H<sub>2</sub>O/TIS (95:2.5:2.5) durant 2 h a temperatura ambient. Tot seguit s'evapora el TFA i es realitza una extracció amb èter dietílic. El cru de reacció es dissol en H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN, s'analitza per HPLC i es caracteritza per espectrometria de masses.

- **Reacció de Suzuki-Miyaura sota irradiació de microones: protocol A**

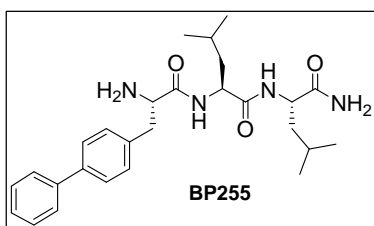
En un vial de quars de 5 mL es pesa la boronopeptidil resina corresponent i s'afegeix sota atmosfera de nitrogen una barreja desgasada de DME/EtOH/H<sub>2</sub>O (9:9:2, 0.3 mL). A continuació, s'afegeix el corresponent halur d'aril (5 eq), una solució de 0.017 mmol/mL de Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0.05 eq) en DME/EtOH/H<sub>2</sub>O (9:9:2), i una dissolució aquosa desgasada de 2M K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (5 eq). La mescla de reacció s'escalfa a 120 °C sota irradiació de microones durant 30 min. Després d'aquest temps, la resina es renta amb DMF (6×1 min), EtOH (6×1 min), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (6×1 min) i èter dietílic (3×1 min). El pèptid corresponent es desancora del suport sòlid per mitjà d'un tractament àcid amb TFA/H<sub>2</sub>O/TIS (95:2.5:2.5) durant 2 h a temperatura ambient. Tot seguit s'evapora el TFA i es realitza una extracció amb èter

dietílic. El cru de reacció es dissol en H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN, s'analitza per HPLC i es caracteritza per espectrometria de masses.

- **Reacció de Suzuki-Miyaura sota irradiació de microones: protocol B**

En un vial de quars de 5 mL es pesa la boronopeptidil resina corresponent, l'halur d'aril corresponent (5 eq), Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (0.2 eq), P(*o*-tolil)<sub>3</sub> (0.4 eq) i KF (4 eq). A continuació, s'afegeix sota atmosfera de nitrogen una barreja desgasada de DME/EtOH/H<sub>2</sub>O (9:9:2, 1-1.5 mL). La mescla de reacció s'escalfa a 120 °C sota irradiació de microones durant 30 min. Després d'aquest temps, la resina es renta amb DMF (6×1 min), EtOH (6×1 min), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (6×1 min) i èter dietílic (3×1 min). El pèptid corresponent es desancora del suport sòlid per mitjà d'un tractament àcid amb TFA/H<sub>2</sub>O/TIS (95:2.5:2.5) durant 2 h a temperatura ambient. A continuació s'evapora el TFA i es realitza una extracció amb èter dietílic. El cru de reacció es dissol en H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN, es liofilitza, s'analitza per HPLC, i es purifica per cromatografia en columna en fase reversa. Els pèptids biarílics es caracteritzen per RMN i espectrometria de masses.

### 8.5.1.1. Pèptid biarílic BP255

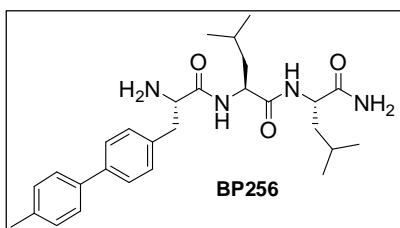


Es parteix de la resina Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**, 50 mg), i se segueix el mètode general per a la reacció de Suzuki-Miyaura sota irradiació de microones (Protocol B), utilitzant 4-iodobenzè com a halur d'aril. Després del desancorament, el pèptid biarílic BP255

s'obté amb un 73% de puresa. Aquest pèptid es purifica utilitzant H<sub>2</sub>O/MeOH/TFA (50:50:0.2) com a eluent, proporcionant el pèptid pur BP255 (3 mg, 27%).

$t_R$  = 21.13 min (Mètode A), 7.25 min (Mètode B). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CD<sub>3</sub>CN + D<sub>2</sub>O)  $\delta$  (ppm): 0.87–0.92 (m, 12H, 4×CH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu), 1.52–1.64 (m, 6H, 2×CH( $\gamma$ )-Leu, 2×CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Leu), 3.11 (dd,  $J$  = 7.6, 14.4 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe), 3.30 (dd,  $J$  = 6.0, 14.4 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe), 4.23–4.34 (m, 3H, 2×CH( $\alpha$ )-Leu, CH( $\alpha$ )-Phe), 7.35–7.39 (m, 3H, CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6, CH<sub>arom</sub>-4'), 7.46 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-3', CH<sub>arom</sub>-5'), 7.61 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5), 7.64 (dt,  $J$  = 1.2, 7.4 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-2', CH<sub>arom</sub>-6'). <sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, CD<sub>3</sub>CN + D<sub>2</sub>O)  $\delta$  (ppm): 21.60, 21.63, 23.03, 23.09 (4×CH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu), 25.12, 25.32 (2×CH( $\gamma$ )-Leu), 36.81 (CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe), 41.21, 41.29 (2×CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Leu), 52.12, 53.25, 54.97 (3×CH( $\alpha$ )), 127.56, 128.09 (CH<sub>arom</sub>-2', CH<sub>arom</sub>-6', CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5), 128.33 (CH<sub>arom</sub>-4'), 129.72 (CH<sub>arom</sub>-3', CH<sub>arom</sub>-5'), 130.96 (CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6), 134.08 (C<sub>arom</sub>-4), 140.90, 140.97 (C<sub>arom</sub>-1, C<sub>arom</sub>-1'), 168.54, 172.61, 175.48 (3×CO). **HRMS (ESI)**  $m/z$ : Calculat per a C<sub>27</sub>H<sub>39</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub> 467.3017, experimental 467.3016.

### 8.5.1.2. Pèptid biarílic BP256

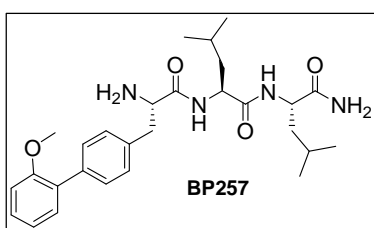


Es parteix de la resina Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**, 80 mg), i se segueix el mètode general per a la reacció de Suzuki-Miyaura sota irradiació de microones (Protocol B), utilitzant 4-iodotoluè com a halur d'aril. Després del desancorament, el pèptid

biarílic BP256 s'obté amb un 79% de puresa. Aquest pèptid es purifica utilitzant H<sub>2</sub>O/MeOH/TFA (50:50:0.2) com a eluent, proporcionant el pèptid pur BP256 (4.7 mg, 26%).

$t_R$  = 22.07 min (Mètode A), 7.47 min (Mètode B). **<sup>1</sup>H-RMN** (400 MHz, CD<sub>3</sub>CN + D<sub>2</sub>O)  $\delta$  (ppm): 0.85–0.88 (m, 12H, 4xCH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu), 1.48–1.56 (m, 6H, 2xCH( $\gamma$ )-Leu, 2xCH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Leu), 2.33 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.07 (dd,  $J$  = 8.0, 14.4 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe), 3.26 (dd,  $J$  = 5.6, 14.4 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe), 4.18–4.30 (m, 3H, 2xCH( $\alpha$ )-Leu, CH( $\alpha$ )-Phe), 7.24 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-3', CH<sub>arom</sub>-5'), 7.31 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6), 7.50 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-2', CH<sub>arom</sub>-6'), 7.56 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5). **<sup>13</sup>C-RMN** (100 MHz, CD<sub>3</sub>CN + D<sub>2</sub>O)  $\delta$  (ppm): 20.71 (CH<sub>3</sub>), 21.47, 21.50, 22.89, 22.95 (4xCH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu), 24.97, 25.18 (2xCH( $\gamma$ )-Leu), 36.68 (CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe), 40.98, 41.11 (2xCH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Leu), 52.00, 53.13, 54.79 (3x CH( $\alpha$ )), 127.29 (CH<sub>arom</sub>-2', CH<sub>arom</sub>-6'), 127.72 (CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5), 130.21 (CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6), 130.78 (CH<sub>arom</sub>-3', CH<sub>arom</sub>-5'), 133.72, 137.91, 138.14, 140.68 (C<sub>arom</sub>-1, C<sub>arom</sub>-4, C<sub>arom</sub>-1', C<sub>arom</sub>-4'), 168.62, 172.70 (3xCO). **HRMS (ESI)  $m/z$** : Calculat per a C<sub>28</sub>H<sub>41</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub> 481.3173, experimental 481.3155; calculat per a C<sub>28</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>3</sub> 503.2993, experimental 503.2973.

### 8.5.1.3. Pèptid biarílic BP257



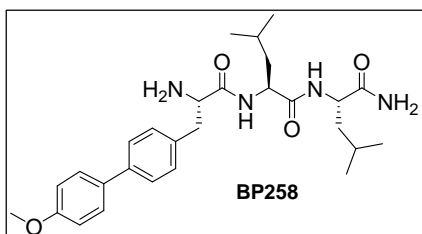
Es parteix de la resina Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**, 60 mg), i se segueix el mètode general per a la reacció de Suzuki-Miyaura sota irradiació de microones (Protocol B), utilitzant 2-iodoanisole com a halur d'aril.

Després del desancorament, el pèptid biarílic BP257 s'obté amb un 91% de puresa. Aquest pèptid es purifica utilitzant H<sub>2</sub>O/MeOH/TFA (60:40:0.2) com a eluent, proporcionant el pèptid pur BP257 (8.8 mg, 63%).

$t_R$  = 21.16 min (Mètode A), 7.19 min (Mètode B). **<sup>1</sup>H-RMN** (400 MHz, CD<sub>3</sub>CN + D<sub>2</sub>O)  $\delta$  (ppm): 0.86–0.92 (m, 12H, 4xCH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu), 1.51–1.66 (m, 6H, 2xCH( $\gamma$ )-Leu, 2xCH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Leu), 3.07–3.15 (m, 1H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe), 3.32 (dd,  $J$  = 3.6, 12.4 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe), 3.78

(s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.30–4.39 (m, 3H, 2×CH(α)-Leu, CH(α)-Phe), 7.03 (td, *J* = 0.8, 8.0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>-5'), 7.08 (dd, *J* = 0.8, 8.0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>-3'), 7.30 (td, *J* = 1.7, 8.0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>-4'), 7.30 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6), 7.35 (dd, *J* = 1.7, 8.0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>-6'), 7.47 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5). **<sup>13</sup>C-RMN** (100 MHz, CD<sub>3</sub>CN + D<sub>2</sub>O) δ (ppm): 21.66, 22.91 (4×CH<sub>3</sub>(δ)-Leu), 25.14, 25.33 (2×CH(γ)-Leu), 36.91 (CH<sub>2</sub>(β)-Phe), 41.26, 41.34 (2×CH<sub>2</sub>(β)-Leu), 52.21, 53.25, 55.03 (3×CH(α)), 55.91 (OCH<sub>3</sub>), 112.34 (CH<sub>arom</sub>-3'), 121.61 (CH<sub>arom</sub>-5'), 129.77 (CH<sub>arom</sub>-4'), 130.06 (CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5), 130.46 (C<sub>arom</sub>-1'), 130.64 (CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6), 131.31 (CH<sub>arom</sub>-6'), 133.55 (C<sub>arom</sub>-4), 138.71 (C<sub>arom</sub>-1), 157.19 (C<sub>arom</sub>-2'), 168.57, 172.59, 175.44 (3×CO). **HRMS (ESI) *m/z***. Calculat per a C<sub>28</sub>H<sub>41</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> 497.3122, experimental 497.3125.

#### 8.5.1.4. Pèptid biarílic BP258

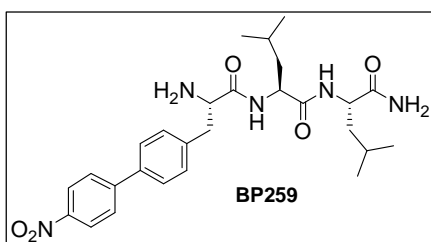


Es parteix de la resina Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (1, 80 mg), i se segueix el mètode general per a la reacció de Suzuki-Miyaura sota irradiació de microones (Protocol B), utilitzant 4-iodoanisole com a halur d'aril. Després del desancorament, el pèptid

biarílic BP258 s'obté amb un 77% de puresa. Aquest pèptid es purifica utilitzant H<sub>2</sub>O/MeOH/TFA (60:40:0.2) com a eluent, proporcionant el pèptid pur BP258 (6.5 mg, 35%).

*t<sub>R</sub>* = 20.99 min (Mètode A), 7.20 min (Mètode B). **<sup>1</sup>H-RMN** (300 MHz, CD<sub>3</sub>CN + D<sub>2</sub>O) δ (ppm): 0.85–0.90 (m, 12H, 4×CH<sub>3</sub>(δ)-Leu), 1.51–1.55 (m, 6H, 2×CH(γ)-Leu, 2×CH<sub>2</sub>(β)-Leu), 3.08 (dd, *J* = 7.8, 14.1 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>(β)-Phe), 3.28 (dd, *J* = 9.0, 14.1 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>(β)-Phe), 3.80 (s, 3H OCH<sub>3</sub>), 4.19–4.32 (m, 3H, 2×CH(α)-Leu, CH(α)-Phe), 7.01 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-3', CH<sub>arom</sub>-5'), 7.32 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6), 7.56 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5), 7.58 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-2', CH<sub>arom</sub>-6'). **<sup>13</sup>C-RMN** (75 MHz, CD<sub>3</sub>CN + D<sub>2</sub>O) δ (ppm): 21.88, 21.91, 23.28, 23.36 (4×CH<sub>3</sub>(δ)-Leu), 25.38, 25.60 (2×CH(γ)-Leu), 37.07 (CH<sub>2</sub>(β)-Phe), 41.40, 41.52 (2×CH<sub>2</sub>(β)-Leu), 52.43, 53.57, 55.24 (3×CH(α)), 56.06 (OCH<sub>3</sub>), 115.36 (CH<sub>arom</sub>-3', CH<sub>arom</sub>-5'), 127.86 (CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5), 128.93 (CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6), 129.10 (C<sub>arom</sub>-1'), 131.16 (CH<sub>arom</sub>-2', CH<sub>arom</sub>-6'), 133.58 (C<sub>arom</sub>-4), 140.79 (C<sub>arom</sub>-1), 160.49 (C<sub>arom</sub>-4'), 168.78, 172.89, 175.79 (3×CO). **HRMS (ESI) *m/z***. Calculat per a C<sub>28</sub>H<sub>41</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> 497.3122, experimental 497.3101; calculat per a C<sub>28</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>4</sub> 519.2942, experimental 519.2927.

### 8.5.1.5. Pèptid biarílic BP259

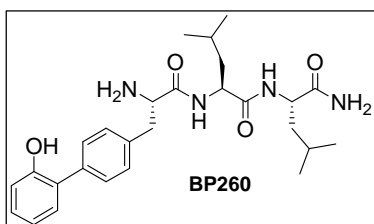


Es parteix de la resina Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**, 60 mg), i se segueix el mètode general per a la reacció de Suzuki-Miyaura sota irradiació de microones (Protocol B), utilitzant *p*-iodonitrobenzè com a halur d'aril. Després del

desancorament, el pèptid biarílic BP259 s'obté amb un 86% de puresa. Aquest pèptid es purifica utilitzant H<sub>2</sub>O/MeOH/TFA (60:40:0.2) com a eluent, proporcionant el pèptid pur BP259 (7 mg, 49%).

$t_R$  = 21.09 min (Mètode A), 7.22 min (Mètode B). **<sup>1</sup>H-RMN** (400 MHz, CD<sub>3</sub>CN + D<sub>2</sub>O)  $\delta$  (ppm): 0.81–0.88 (m, 12H, 4xCH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu), 1.49–1.58 (m, 6H, 2xCH( $\gamma$ )-Leu, 2xCH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Leu), 3.09–3.14 (m, 1H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe), 3.28–3.33 (m, 1H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe), 4.23–4.31 (m, 3H, 2xCH( $\alpha$ )-Leu, CH( $\alpha$ )-Phe), 7.39 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6), 7.65 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5), 7.82 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-2', CH<sub>arom</sub>-6'), 8.25 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-3', CH<sub>arom</sub>-5'). **<sup>13</sup>C-RMN** (100 MHz, CD<sub>3</sub>CN + D<sub>2</sub>O)  $\delta$  (ppm): 21.87, 21.89, 23.28, 23.34 (4xCH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu), 25.37, 25.57 (2xCH( $\gamma$ )-Leu), 37.30 (CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe), 41.35, 41.48 (2xCH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Leu), 52.41, 53.49, 55.11 (3xCH( $\alpha$ )), 125.12 (CH<sub>arom</sub>-3', CH<sub>arom</sub>-5'), 128.85 (CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5, CH<sub>arom</sub>-2', CH<sub>arom</sub>-6'), 131.49 (CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6), 136.30 (C<sub>arom</sub>-4), 138.75 (C<sub>arom</sub>-1), 147.72 (C<sub>arom</sub>-1'), 148.30 (C<sub>arom</sub>-4'), 169.38, 172.92, 175.86 (3xCO). **HRMS (ESI)  $m/z$** . Calculat per a C<sub>27</sub>H<sub>38</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub> 512.2867, experimental 512.2846; calculat per a C<sub>27</sub>H<sub>37</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>5</sub> 534.2687, experimental 534.2674.

### 8.5.1.6. Pèptid biarílic BP260



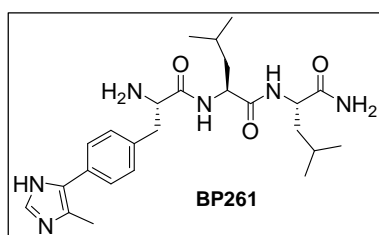
Es parteix de la resina Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**, 60 mg), i se segueix el mètode general per a la reacció de Suzuki-Miyaura sota irradiació de microones (Protocol B), utilitzant 2-iodofenol com a halur d'aril.

Després del desancorament, el pèptid biarílic BP260 s'obté amb un 60% de puresa. Aquest pèptid es purifica utilitzant H<sub>2</sub>O/MeOH/TFA (60:40:0.2) com a eluent, proporcionant el pèptid pur BP260 (5 mg, 37%).

$t_R$  = 19.84 min (Mètode A), 6.91 min (Mètode B). **<sup>1</sup>H-RMN** (300 MHz, CD<sub>3</sub>CN + D<sub>2</sub>O)  $\delta$  (ppm): 0.83–0.91 (m, 12H, 4xCH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu), 1.49–1.60 (m, 6H, 2xCH( $\gamma$ )-Leu, 2xCH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Leu), 3.09 (dd,  $J$  = 7.8, 14.1 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe), 3.21–3.28 (m, 1H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe), 4.16–4.35 (m, 3H, 2xCH( $\alpha$ )-Leu, CH( $\alpha$ )-Phe), 6.91–6.95 (m, 2H, CH<sub>arom</sub>-3', CH<sub>arom</sub>-5'), 7.17–

7.35 (m, 4H, CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6, CH<sub>arom</sub>-4', CH<sub>arom</sub>-6'), 7.49 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5). <sup>13</sup>C-RMN (75 MHz, CD<sub>3</sub>CN + D<sub>2</sub>O) δ (ppm): 21.88, 23.25 (4xCH<sub>3</sub>(δ)-Leu), 25.32, 25.54 (2xCH(γ)-Leu), 37.27 (CH<sub>2</sub>(β)-Phe), 41.41 (2xCH<sub>2</sub>(β)-Leu), 52.37, 53.20, 55.21 (3xCH(α)), 117.13 (CH<sub>arom</sub>-3'), 121.18 (CH<sub>arom</sub>-5'), 128.27 (CH<sub>arom</sub>-4'), 129.90, 130.41, 130.79, 131.47 (CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6, CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5, C<sub>arom</sub>-1', CH<sub>arom</sub>-6'), 133.65 (C<sub>arom</sub>-4), 138.97 (C<sub>arom</sub>-1), 154.69 (C<sub>arom</sub>-2'), 168.72, 172.96, 180.39 (3xCO). **HRMS (ESI)** *m/z*. Calculat per a C<sub>27</sub>H<sub>39</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> 483.2966, experimental 483.2951; calculat per a C<sub>27</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>4</sub> 505.2785, experimental 505.2775.

### 8.5.1.7. Pèptid biarílic BP261

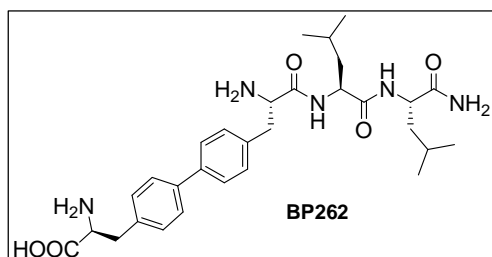


Es parteix de la resina Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**, 80 mg), i se segueix el mètode general per a la reacció de Suzuki-Miyaura sota irradiació de microones (Protocol B), utilitzant 1-[2-(trimetilsilil)etoximetil]-4(5)-bromo-5(4)-metilimidazole (**31**) com a halur d'aril.

Després del desancorament, el pèptid biarílic BP261 s'obté amb un 57% de puresa. Aquest pèptid es purifica utilitzant H<sub>2</sub>O/MeOH/TFA (80:20:0.2) com a eluent, proporcionant el pèptid pur BP261 (1.7 mg, 10%).

*t<sub>R</sub>* = 15.70 min (Mètode A), 5.96 min (Mètode B). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CD<sub>3</sub>CN + D<sub>2</sub>O) δ (ppm): 0.86–0.88 (m, 12H, 4xCH<sub>3</sub>(δ)-Leu), 1.45–1.57 (m, 6H, 2xCH(γ)-Leu, 2xCH<sub>2</sub>(β)-Leu), 2.40 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.11 (dd, *J* = 7.6, 14.6 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>(β)-Phe), 3.24 (dd, *J* = 6.8, 14.6 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>(β)-Phe), 4.16–4.21 (m, 3H, 2xCH(α)-Leu, CH(α)-Phe), 7.37 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6), 7.47 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5), 8.50 (s, 1H, CH<sub>imid</sub>). <sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, CD<sub>3</sub>CN + D<sub>2</sub>O) δ (ppm): 10.44 (CH<sub>3</sub>), 21.82, 21.87, 23.21, 23.25 (4xCH<sub>3</sub>(δ)-Leu), 25.29, 25.51 (2xCH(γ)-Leu), 37.26 (CH<sub>2</sub>(β)-Phe), 41.33 (2xCH<sub>2</sub>(β)-Leu), 52.85, 53.49, 55.02 (3xCH(α)), 129.00 (CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5), 131.42 (CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6), 136.27 (CH<sub>imid</sub>). **HRMS (ESI)** *m/z*. Calculat per a C<sub>25</sub>H<sub>39</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub> 471.3078, experimental 471.3073; calculat per a C<sub>25</sub>H<sub>38</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>3</sub> 493.2898, experimental 493.2890.

## 8.5.1.8. Pèptid biarílic BP262



Es parteix de la resina Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**, 100 mg) i se segueix el mètode general per a la reacció de Suzuki-Miyaura sota irradiació de microones (Protocol B), utilitzant Boc-Phe(4-I)-OMe (**9**) com a halur d'aril. Després del temps de reacció, el

desancorament d'una alíquota de la resina proporciona el pèptid biarílic corresponent en forma de metilester (**34a**) amb un 87% de puresa.

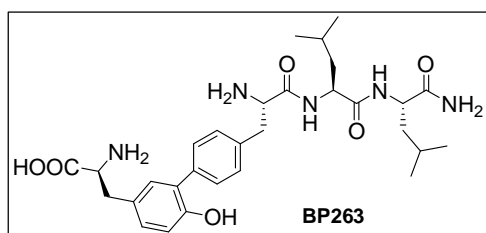
$t_R = 16.84$  and  $17.20$  min (Mètode A). **ESI-MS**  $m/z$ : 568.3  $[M+H]^+$ , 590.3  $[M+Na]^+$ .

La peptidil resina resultant s'hidrolitza per tractament amb LiOH (5 eq) en THF/H<sub>2</sub>O (7:1) a temperatura ambient durant 24 h. Després d'aquest temps, s'elimina el dissolvent i es renta la resina amb DMF (3×1 min), MeOH (2×1 min), H<sub>2</sub>O (2×1 min), DMF (3×1 min) i CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×1 min). Després del desancorament, el pèptid biarílic BP262 s'obté amb un 92% de puresa. Aquest pèptid es purifica utilitzant H<sub>2</sub>O/MeOH/TFA (80:20:0.2) com a eluent, proporcionant el pèptid pur BP262 (15.9 mg, 62%).

$t_R = 16.28$  i  $16.64$  min (Mètode A). **<sup>1</sup>H-RMN** (400 MHz, CD<sub>3</sub>CN + D<sub>2</sub>O)  $\delta$  (ppm): 0.84-0.90 [m, 12H, 4×CH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu], 1.50-1.60 [m, 6H, 2×CH( $\gamma$ )-Leu, 2×CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Leu], 3.16-3.32 [m, 4H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe], 4.17-4.32 [m, 4H, 2×CH( $\alpha$ )-Leu, 2×CH( $\alpha$ )-Phe], 7.33-7.37 [m, 4H, CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6, CH<sub>arom</sub>-3', CH<sub>arom</sub>-5'], 7.60-7.64 [m, 4H, CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5, CH<sub>arom</sub>-2', CH<sub>arom</sub>-6]. **<sup>1</sup>H-RMN** (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  (ppm): 0.91-1.00 [m, 12H, 4×CH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu], 1.56-1.75 [m, 6H, 2×CH( $\gamma$ )-Leu, 2×CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Leu], 3.06 [dd,  $J = 8.8, 14.0$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe], 3.15 [dd,  $J = 8.0, 14.4$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe], 3.32-3.39 [m, 2H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe], 4.03 [dd,  $J = 5.2, 8.0$  Hz, 1H, CH( $\alpha$ )-Phe], 4.17 [dd,  $J = 5.2, 8.8$  Hz, 1H, CH( $\alpha$ )-Phe], 4.41-4.52 [m, 2H, 2×CH( $\alpha$ )-Leu], 7.39 [m, 4H, CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6, CH<sub>arom</sub>-3', CH<sub>arom</sub>-5'], 7.62 [d,  $J = 8.0$  Hz, 4H, CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5, CH<sub>arom</sub>-2', CH<sub>arom</sub>-6]. **<sup>13</sup>C-RMN** (100 MHz, CD<sub>3</sub>CN + D<sub>2</sub>O)  $\delta$  (ppm): 21.90, 23.25, 23.33 [4×CH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu], 25.33, 25.56 [2×CH( $\gamma$ )-Leu], 36.28, 37.16 [2×CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe], 41.23, 41.36 [2×CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Leu], 52.56, 53.44 [2×CH( $\alpha$ )-Leu], 55.06 [2×CH( $\alpha$ )-Phe], 128.28 [CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5, CH<sub>arom</sub>-2', CH<sub>arom</sub>-6], 131.15, 131.22 [CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6, CH<sub>arom</sub>-3', CH<sub>arom</sub>-5'], 134.43, 134.83 [C<sub>arom</sub>-1, C<sub>arom</sub>-4'], 140.48 [C<sub>arom</sub>-4, C<sub>arom</sub>-1'], 168.95, 173.19, 176.31 [4×CO]. **ESI-MS**  $m/z$ : 554.3  $[M+H]^+$ . **HRMS (ESI)**  $m/z$ : Calculat per a C<sub>30</sub>H<sub>44</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub> 554.3337, experimental 554.3362.



## 8.5.1.9. Pèptid biarílic BP263



Es parteix de la resina Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**, 100 mg), i se segueix el mètode general per a la reacció de Suzuki-Miyaura sota irradiació de microones (Protocol B), utilitzant Boc-Tyr(3-I,SEM)-OMe (**23c**) com a halur d'aril.

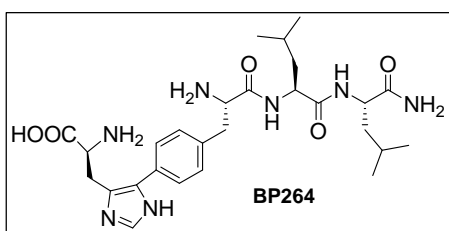
Després del temps de reacció, el desancorament d'una alíquota de la resina proporciona el pèptid biarílic corresponent en forma de metil ester (**34b**) amb un 82% de puresa.

$t_R$  = 16.47 min (Mètode A). **ESI-MS**  $m/z$ : 584.3  $[M+H]^+$ .

La peptidil resina resultant s'hidrolitza per tractament amb LiOH (5 eq) en THF/H<sub>2</sub>O (7:1) a temperatura ambient durant 24 h. Després d'aquest temps, s'elimina el dissolvent i es renta la resina amb DMF (3×1 min), MeOH (2×1 min), H<sub>2</sub>O (2×1 min), DMF (3×1 min) i CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×1 min). Després del desancorament, el pèptid biarílic BP263 s'obté amb un 79% de puresa. Aquest pèptid es purifica utilitzant H<sub>2</sub>O/MeOH/TFA (70:30:0.2) com a eluent, proporcionant el pèptid pur BP263 (12.5 mg, 48%).

$t_R$  = 15.96 min (Mètode A). **<sup>1</sup>H-RMN** (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  (ppm): 0.94-0.98 [m, 12H, 4×CH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu], 1.57-1.73 [m, 6H, 2×CH( $\gamma$ )-Leu, 2×CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Leu], 2.99-3.30 [m, 4H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Tyr, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe], 4.04-4.27 [m, 2H, CH( $\alpha$ )-Phe, CH( $\alpha$ )-Tyr], 4.39-4.51 [m, 2H, 2×CH( $\alpha$ )-Leu], 6.90 [d,  $J$  = 7.8 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>-3'], 7.10 [d,  $J$  = 7.8 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>-4'], 7.21 [s, 1 H, CH<sub>arom</sub>-6'], 7.33 [d,  $J$  = 7.8 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6], 7.56 [d,  $J$  = 7.8, 2H, CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5]. **<sup>13</sup>C-RMN** (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  (ppm): 21.91, 21.98, 23.32, 23.40 [4×CH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu], 25.73, 25.84 [2×CH( $\gamma$ )-Leu], 38.21 [CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Tyr, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe], 41.81, 42.06 [2×CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Leu], 53.31 [CH( $\alpha$ )-Leu], 55.45 [CH( $\alpha$ )-Tyr, CH( $\alpha$ )-Phe], 117.38 [CH<sub>arom</sub>-3'], 126.88 [C<sub>arom</sub>-5'], 129.74 [C<sub>arom</sub>-1'], 130.21 [CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6], 130.68 [CH<sub>arom</sub>-4'], 131.07 [CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5], 132.53 [CH<sub>arom</sub>-6'], 133.98 [C<sub>arom</sub>-1], 139.39 [C<sub>arom</sub>-4], 155.07 [C<sub>arom</sub>-2'], 169.58, 174.04 [4×CO]. **ESI-MS**  $m/z$ : 570.3  $[M+H]^+$ . **HRMS (ESI)**  $m/z$ : Calculat per a C<sub>30</sub>H<sub>44</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub> 570.3286, experimental 570.3306; calculat per a C<sub>30</sub>H<sub>43</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>6</sub> 592.3106, experimental 592.3110.

## 8.5.1.10. Pèptid biarílic BP264



Es parteix de la resina Boc-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**1**, 100 mg), i se segueix el mètode general per a la reacció de Suzuki-Miyaura sota irradiació de microones (Protocol B), utilitzant Boc-His(5-Br,3-SEM)-OMe (**32a**) i Boc-His(5-Br,1-SEM)-

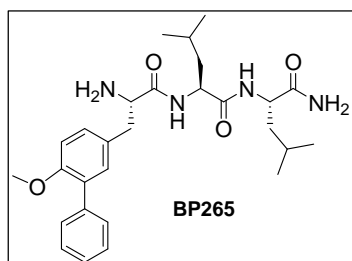
OMe (**32b**) com a halur d'aril. Després del temps de reacció, el desancorament d'una alíquota de la resina proporciona el pèptid biarílic corresponent en forma de metil ester (**34c**) amb un 37% de puresa.

$t_R$  = 14.68 min (Mètode A).

La peptidil resina resultant s'hidrolitza per tractament amb LiOH (5 eq) en THF/H<sub>2</sub>O (7:1) a temperatura ambient durant 24 h. Després d'aquest temps, s'elimina el dissolvent i es renta la resina amb DMF (3×1 min), MeOH (2×1 min), H<sub>2</sub>O (2×1 min), DMF (3×1 min) i CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×1 min). Després del desancorament, el pèptid biarílic BP264 s'obté amb un 42% de puresa. Aquest pèptid es purifica utilitzant H<sub>2</sub>O/MeOH/TFA (90:10:0.2) com a eluent, proporcionant el pèptid pur BP264 (3 mg, 12%).

$t_R$  = 14.59 min (Mètode A). **<sup>1</sup>H-RMN** (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  (ppm): 0.94-0.99 [m, 12H, 4×CH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu], 1.57-1.73 [m, 6H, 2×CH( $\gamma$ )-Leu, 2×CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Leu], 3.08-3.13 [m, 1H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe], 3.27-3.35 [m, 1H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe], 3.43-3.48 [m, 2H, CH( $\beta$ )-His], 4.03-4.09 [m, 1H, CH( $\alpha$ )-His], 4.14-4.17 [m, 1H, CH( $\alpha$ )-Phe], 4.34 [dd,  $J$  = 5.2, 9.6 Hz, 1H, CH( $\alpha$ )-Leu], 4.47 [m, 1H, CH( $\alpha$ )-Leu], 7.44 [d,  $J$  = 7.6 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6], 7.54 [d,  $J$  = 7.6 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5], 7.58 [s, 1H, CH<sub>imid</sub>], 8.74 [sa, 1 H, NH]. **<sup>13</sup>C-RMN** (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  (ppm): 23.30, 23.39, 23.49 [4×CH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu], 25.74, 25.94 [2×CH( $\gamma$ )-Leu, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-His], 38.35 [CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe], 41.68, 41.89 [CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Leu], 53.40 [2×CH( $\alpha$ )-Leu], 55.28 [CH( $\alpha$ )-Phe, CH( $\alpha$ )-His], 129.76 [CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5], 131.58 [CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6], 169.41, 174.01 [4×CO]. **ESI-MS**  $m/z$ : 544.2 [M+H]<sup>+</sup>. **HRMS (ESI)**  $m/z$ : Calculat per a C<sub>27</sub>H<sub>42</sub>N<sub>7</sub>O<sub>5</sub> 544.3242, experimental 544.3242; calculat per a C<sub>27</sub>H<sub>41</sub>N<sub>7</sub>NaO<sub>5</sub> 566.3061, experimental 566.3046.

## 8.5.1.11. Pèptid biarílic BP265

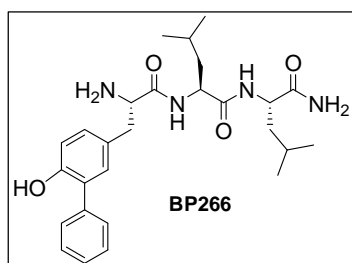


Es parteix de la resina Boc-Tyr(3-BPin,Me)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2a**, 150 mg), i se segueix el mètode general per a la reacció de Suzuki-Miyaura sota irradiació de microones (Protocol B), utilitzant 4-iodobenzè com a halur d'aril. Després del desancorament, el pèptid biarílic BP265 s'obté amb un 92% de puresa. Aquest pèptid es purifica utilitzant

H<sub>2</sub>O/MeOH/TFA (60:40:0.2) com a eluent, proporcionant el pèptid pur BP265 (12.5 mg, 38%).

$t_R$  = 7.31 min (Mètode B). **<sup>1</sup>H-RMN** (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  (ppm): 0.92-0.99 [m, 12H, 4 $\times$ CH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu], 1.53-1.75 [m, 6H, 2 $\times$ CH( $\gamma$ )-Leu, 2 $\times$ CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Leu], 2.95 [dd,  $J$  = 9.2, 14.4 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Tyr], 3.25-3.34 [m, 1H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Tyr], 3.80 [s, 3H, OCH<sub>3</sub>], 4.12 [dd,  $J$  = 4.4, 9.2 Hz, 1H, CH( $\alpha$ )-Tyr], 4.41 [dd,  $J$  = 5.2, 9.6 Hz, 1H, CH( $\alpha$ )-Leu], 4.48 [dd,  $J$  = 6.4, 8.4 Hz, 1H, CH( $\alpha$ )-Leu], 7.06 [d,  $J$  = 8.2 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>-5], 7.26 [dd,  $J$  = 2.4, 8.2 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>-6], 7.28-7.32 [m, 2H, CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-4'], 7.38 [t,  $J$  = 8 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-3', CH<sub>arom</sub>-5'], 7.51 [dt,  $J$  = 1.6, 8.4 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-2', CH<sub>arom</sub>-6']. **<sup>13</sup>C-RMN** (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  (ppm): 21.95, 22.08, 23.44, 23.49 [4 $\times$ CH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu], 25.86, 25.91 [2 $\times$ CH( $\gamma$ )-Leu], 37.92 [CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Tyr], 41.90, 42.22 [2 $\times$ CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Leu], 52.76, 53.36 [2 $\times$ CH( $\alpha$ )-Leu], 55.73 [CH( $\alpha$ )-Tyr], 56.13 [OCH<sub>3</sub>], 113.18 [CH<sub>arom</sub>-5], 127.63 [C<sub>arom</sub>-1], 128.04 [CH<sub>arom</sub>-4'], 128.94 [CH<sub>arom</sub>-3', CH<sub>arom</sub>-5'], 130.58 [CH<sub>arom</sub>-2', CH<sub>arom</sub>-6'], 130.76 [CH<sub>arom</sub>-6], 132.65 [C<sub>arom</sub>-3], 132.83 [CH<sub>arom</sub>-2], 139.74 [C<sub>arom</sub>-1'], 157.65 [C<sub>arom</sub>-4], 169.77 [CO-Tyr], 174.12, 177.20 [2 $\times$ CO-Leu]. **ESI-MS**  $m/z$ : 497.2 [M+H]<sup>+</sup>. **HRMS (ESI)**  $m/z$ : Calculat per a C<sub>28</sub>H<sub>41</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> 497.3122, experimental 497.3118.

## 8.5.1.12. Pèptid biarílic BP266

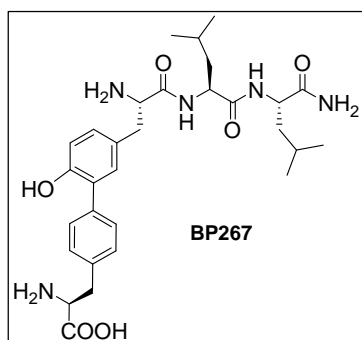


Es parteix de la resina Boc-Tyr(3-BPin,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2c**, 100 mg), i se segueix el mètode general per a la reacció de Suzuki-Miyaura sota irradiació de microones (Protocol B), utilitzant 4-iodobenzè com a halur d'aril. Després del desancorament, el pèptid biarílic BP266 s'obté amb un 80% de puresa. Aquest pèptid es purifica utilitzant

H<sub>2</sub>O/MeOH/TFA (80:20:0.2) com a eluent, proporcionant el pèptid pur BP266 (7.5 mg, 34%).

$t_R$  = 6.86 min (Mètode B).  **$^1\text{H-RMN}$**  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm): 0.92-0.99 [m, 12H,  $4\times\text{CH}_3(\delta)\text{-Leu}$ ], 1.53-1.74 [m, 6H,  $2\times\text{CH}(\gamma)\text{-Leu}$ ,  $2\times\text{CH}_2(\beta)\text{-Leu}$ ], 2.88-2.94 [m, 1H,  $\text{CH}_2(\beta)\text{-Tyr}$ ], 3.25-3.34 [m, 1H,  $\text{CH}_2(\beta)\text{-Tyr}$ ], 4.08 [dd,  $J = 4.4, 9.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}(\alpha)\text{-Tyr}$ ], 4.41 [dd,  $J = 5.6, 10.0$  Hz, 1H,  $\text{CH}(\alpha)\text{-Leu}$ ], 4.48 [dd,  $J = 6.4, 9.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}(\alpha)\text{-Leu}$ ], 6.90 [d,  $J = 8.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-5}$ ], 7.10 [dd,  $J = 2.2, 8.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-6}$ ], 7.26 [d,  $J = 2.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-2}$ ], 7.29 [tt,  $J = 1.4, 8.4$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-4}'$ ], 7.39 [t,  $J = 8.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-3}'$ ,  $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-5}'$ ], 7.58 [dt,  $J = 1.4, 8.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-2}'$ ,  $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-6}'$ ].  **$^{13}\text{C-RMN}$**  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm): 21.96, 22.06, 23.42, 23.47 [ $4\times\text{CH}_3(\delta)\text{-Leu}$ ], 25.85, 25.91 [ $2\times\text{CH}(\gamma)\text{-Leu}$ ], 37.97 [ $\text{CH}_2(\beta)\text{-Tyr}$ ], 41.88, 42.21 [ $2\times\text{CH}_2(\beta)\text{-Leu}$ ], 52.79, 53.41 [ $2\times\text{CH}(\alpha)\text{-Leu}$ ], 55.79 [ $\text{CH}(\alpha)\text{-Tyr}$ ], 117.68 [ $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-5}$ ], 126.51 [ $\text{C}_{\text{arom}}\text{-1}$ ], 127.89 [ $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-4}'$ ], 129.02 [ $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-3}'$ ,  $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-5}'$ ], 130.42 [ $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-2}'$ ,  $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-6}'$ ], 130.48 [ $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-6}$ ], 130.54 [ $\text{C}_{\text{arom}}\text{-3}$ ], 132.83 [ $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-2}$ ], 139.86 [ $\text{C}_{\text{arom}}\text{-1}'$ ], 155.24 [ $\text{C}_{\text{arom}}\text{-4}$ ], 169.88 [ $\text{CO-Tyr}$ ], 174.10, 177.21 [ $2\times\text{CO-Leu}$ ]. **ESI-MS**  $m/z$ : 483.1 [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ . **HRMS (ESI)**  $m/z$ : Calculat per a  $\text{C}_{27}\text{H}_{39}\text{N}_4\text{O}_4$  483.2966, experimental 483.2978; calculat per a  $\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{NaO}_4$  505.2785, experimental 505.2797.

### 8.5.1.13. Pèptid biarílic BP267



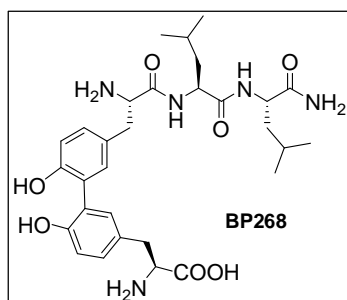
Es parteix de la resina Boc-Tyr(3-BPin,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2c**, 120 mg), i se segueix el mètode general per a la reacció de Suzuki-Miyaura sota irradiació de microones (Protocol B), utilitzant Boc-Phe(4-I)-OMe (**9**) com a halur d'aril. Després del temps de reacció, el desancorament d'una alíquota de la resina proporciona el pèptid biarílic corresponent en forma de metil ester (**36a**) amb un 70% de puresa.

$t_R$  = 6.17 min (Mètode B). **ESI-MS**  $m/z$ : 584.3 [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ .

La peptidil resina resultant s'hidrolitza per tractament amb LiOH (5 eq) en THF/ $\text{H}_2\text{O}$  (7:1) a temperatura ambient durant 24 h. Després d'aquest temps, s'elimina el dissolvent i es renta la resina amb DMF (3x1 min), MeOH (2x1 min),  $\text{H}_2\text{O}$  (2x1 min), DMF (3x1 min) i  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3x1 min). Després del desancorament, el pèptid biarílic BP267 s'obté amb un 64% de puresa. Aquest pèptid es purifica utilitzant  $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}/\text{TFA}$  (90:10:0.2) com a eluent. A continuació, es realitza una segona purificació per cromatografia en columna en fase normal utilitzant  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{AcOH}$  (5:3:1) com a eluent, proporcionant el pèptid pur BP267 (14.4 mg, 50%)

$t_R$  = 6.04 min (Mètode B).  **$^1\text{H-RMN}$**  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm): 0.89-0.95 [m, 12H,  $4\times\text{CH}_3(\delta)\text{-Leu}$ ], 1.54-1.70 [m, 6H,  $2\times\text{CH}(\gamma)\text{-Leu}$ ,  $2\times\text{CH}_2(\beta)\text{-Leu}$ ], 2.80-2.93 [m, 1H,  $\text{CH}_2(\beta)$ ], 3.13-3.19 [m, 1H,  $\text{CH}_2(\beta)$ ], 3.19-3.30 [m, 2H,  $\text{CH}_2(\beta)$ ], 4.01-4.11 [m, 2H,  $\text{CH}(\alpha)\text{-Tyr}$ ,  $\text{CH}(\alpha)\text{-Phe}$ ], 4.34-4.45 [m, 2H,  $2\times\text{CH}(\alpha)\text{-Leu}$ ], 6.86 [d,  $J = 8.0$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-5}$ ], 7.06-7.09 [m, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-6}$ ], 7.22 [d,  $J = 1.6$  Hz, 1H,  $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-2}$ ], 7.31 [d,  $J = 8.0$  Hz, 2H,  $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-3'}$ ,  $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-5'}$ ], 7.57 [d,  $J = 8.0$  Hz, 2H,  $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-2'}$ ,  $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-6'}$ ].  **$^{13}\text{C-RMN}$**  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm): 20.51, 20.59, 21.97, 22.06 [ $4\times\text{CH}_3(\delta)\text{-Leu}$ ], 24.40, 24.48 [ $2\times\text{CH}(\gamma)\text{-Leu}$ ], 35.87, 36.46 [ $\text{CH}_2(\beta)\text{-Phe}$ ,  $\text{CH}_2(\beta)\text{-Tyr}$ ], 40.40, 40.73 [ $2\times\text{CH}_2(\beta)\text{-Leu}$ ], 52.08 [ $\text{CH}(\alpha)\text{-Leu}$ ], 54.25 [ $\text{CH}(\alpha)\text{-Phe} + \text{CH}(\alpha)\text{-Tyr}$ ], 116.12 [ $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-5}$ ], 125.17 [ $\text{C}_{\text{arom}}\text{-1}$ ], 128.42 [ $\text{C}_{\text{arom}}\text{-3}$ ], 128.75 [ $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-3'}$ ,  $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-5'}$ ], 129.33 [ $\text{C}_{\text{arom}}\text{-4'}$ ], 129.74 [ $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-2'}$ ,  $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-6'}$ ], 130.22 [ $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-6}$ ], 131.24 [ $\text{CH}_{\text{arom}}\text{-2}$ ], 138.05 [ $\text{C}_{\text{arom}}\text{-1'}$ ], 153.80 [ $\text{C}_{\text{arom}}\text{-4}$ ], 168.49, 170.30, 173.04 [ $4\times\text{CO}$ ]. **ESI-MS**  $m/z$ : 570.3 [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ . **HRMS (ESI)**  $m/z$ : Calculat per a  $\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{N}_5\text{O}_6$  570.3286, experimental 570.3277.

#### 8.5.1.14. Pèptid biarílic BP268



Es parteix de la resina Boc-Tyr(3-BPin,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**2c**, 120 mg), i se segueix el mètode general per a la reacció de Suzuki-Miyaura sota irradiació de microones (Protocol B), utilitzant Boc-Tyr(3-I,SEM)-OMe (**23c**) com a halur d'aril. Després del temps de reacció, el desancorament d'una alíquota de la resina proporciona el pèptid biarílic corresponent en forma de metil ester (**36b**) amb un 61% de puresa.

$t_R$  = 6.08 min (Mètode B). **ESI-MS**:  $m/z = 600.3$  [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ .

La peptidil resina resultant s'hidrolitza per tractament amb LiOH (5 eq) en THF/ $\text{H}_2\text{O}$  (7:1) a temperatura ambient durant 24 h. Després d'aquest temps, s'elimina el dissolvent i es renta la resina amb DMF (3 $\times$ 1 min), MeOH (2 $\times$ 1 min),  $\text{H}_2\text{O}$  (2 $\times$ 1 min), DMF (3 $\times$ 1 min) i  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 $\times$ 1 min). Després del desancorament, el pèptid biarílic BP268 s'obté amb un 61% de puresa. Aquest pèptid es purifica utilitzant  $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}/\text{TFA}$  (90:10:0.2) com a eluent. A continuació, es realitza una segona purificació per cromatografia en columna en fase normal utilitzant  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{AcOH}$  (5:3:1) com a eluent, proporcionant el pèptid pur BP268 (12.8 mg, 44%)

$t_R$  = 5.96 min (Mètode B).  **$^1\text{H-RMN}$**  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm): 0.92-0.98 [m, 12H,  $4\times\text{CH}_3(\delta)\text{-Leu}$ ], 1.55-1.75 [m, 6H,  $2\times\text{CH}(\gamma)\text{-Leu}$ ,  $2\times\text{CH}_2(\beta)\text{-Leu}$ ], 2.89-2.95 [m, 1H,  $\text{CH}_2(\beta)\text{-Tyr}$ ], 3.11 [dd,  $J = 8.4, 14.8$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2(\beta)\text{-Tyr}$ ], 3.25-3.37 [m, 2H,  $\text{CH}_2(\beta)\text{-Tyr}$ ], 4.10 [dd,  $J$

= 4.4, 9.2 Hz, 1H, CH( $\alpha$ )-Tyr], 4.18-4.21 [m, 1H, CH( $\alpha$ )-Tyr], 4.39 [dd,  $J$  = 5.2, 10.0 Hz, 1H, CH( $\alpha$ )-Leu], 4.47 [t,  $J$  = 7.6 Hz, 1H, CH( $\alpha$ )-Leu], 6.93 [dd,  $J$  = 5.2, 8.8 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-3', CH<sub>arom</sub>-5], 7.16 [m, 4H, CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6, CH<sub>arom</sub>-4', CH<sub>arom</sub>-6']. **<sup>13</sup>C-RMN** (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  (ppm): 21.95, 22.05, 23.41, 23.52 [4 $\times$ CH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu], 25.85, 25.94 [2 $\times$ CH( $\gamma$ )-Leu], 36.57, 37.86 [2 $\times$ CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Tyr], 41.86, 42.20 [2 $\times$ CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Leu], 52.86, 53.44 [CH( $\alpha$ )-Leu], 55.82 [2 $\times$ CH( $\alpha$ )-Tyr], 117.50, 117.57 [CH<sub>arom</sub>-5, CH<sub>arom</sub>-3'], 126.85, 127.43, 127.48 [C<sub>arom</sub>], 131.65 [CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6, CH<sub>arom</sub>-4', CH<sub>arom</sub>-6'], 133.56 [C<sub>arom</sub>], 155.20 [C<sub>arom</sub>-2', C<sub>arom</sub>-4], 170.10, 174.45 [CO]. **ESI-MS**  $m/z$ : 586.3 [M+H]<sup>+</sup>. **HRMS (ESI)**  $m/z$ : Calculat per a C<sub>30</sub>H<sub>44</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub> 586.3235, experimental 586.3220.

## 8.6. Síntesi de pèptids biarílics cíclics en fase sòlida

### 8.6.1. Mètode general per a la síntesi de iodopèptids

Els pèptids es preparen manualment en fase sòlida utilitzant una estratègia Fmoc/tBu. En una xeringa de polipropilè de 5 mL, a la qual s'ha adaptat un filtre de polietilè porós, es pesa la quantitat necessària de resina Fmoc-Rink-MBHA (0.56 mmol/g) i s'hi addiciona CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1 $\times$ 20 min) i DMF (1 $\times$ 20 min). L'eliminació del grup Fmoc, es realitza per tractament amb una dissolució de piperidina/DMF (3:7, 2 + 10 min). L'acoblament dels aminoàcids es realitza per tractament de la resina amb oxima (2-oximacianoglixilat d'etil) (4 eq), *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (DIPCDI) (4 eq) i l'aminoàcid corresponent (4 eq) en DMF, a temperatura ambient durant 1 hora. Després de cada etapa d'eliminació i acoblament es renta la resina amb DMF (6 $\times$ 1 min) i CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 $\times$ 1 min). El seguiment de les reaccions es monitoritza a través del test de Kaiser (Kaiser et al., 1970). Quan s'ha completat la seqüència desitjada, s'elimina el grup Fmoc i s'introdueix un grup Trt per mitjà d'un tractament amb TrtCl (10 eq) i DIEA (10 eq) en DMF a temperatura ambient durant 3 h. A continuació, la resina es renta amb DMF (6 $\times$ 1 min) i CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 $\times$ 1 min). Finalment, una alíquota de la resina resultant es tracta amb TFA/H<sub>2</sub>O/TIS (95:2.5:2.5) durant 2 h. Tot seguit es recull la mescla àcida i s'evapora a sequedat sota un corrent de nitrogen. Al cru resultant s'afegeix èter dietílic i se centrifuga durant 5 min, repetint-se aquesta operació tres vegades. L'èter dietílic es decanta i una alíquota del residu es dissol en H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN per ser analitzat per HPLC. Així mateix, el pèptid es caracteritza per espectrometria de masses.

#### **8.6.1.1. Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-I)-Leu-Leu-Rink-MBHA (38)**

Aquesta peptidil resina es prepara utilitzant el mètode general per a la síntesi de pèptids en fase sòlida. El desancorament d'una alíquota de la resina **38** proporciona H-Lys-Lys-Leu-Phe(4-I)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> amb un 73% de puresa.

$t_R = 6.69$  min (Mètode B). **ESI-MS**  $m/z$ : 443.6 [M+2H]<sup>2+</sup>, 886.4 [M+H]<sup>+</sup>.

#### **8.6.1.2. Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-I)-Rink-MBHA**

Aquesta peptidil resina es prepara utilitzant el mètode general per a la síntesi de pèptids en fase sòlida. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Lys-Lys-Leu-Phe(4-I)-NH<sub>2</sub> amb un 54% de puresa.

$t_R = 6.27$  min (Mètode B). **ESI-MS**  $m/z$ : 330.6 [M+2H]<sup>2+</sup>, 660.2 [M+H]<sup>+</sup>, 682.1 [M+Na]<sup>+</sup>.

#### **8.6.1.3. Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-I,Me)-Leu-Leu-Rink-MBHA**

Aquesta peptidil resina es prepara utilitzant el mètode general per a la síntesi de pèptids en fase sòlida. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-I,Me)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> amb un 73% de puresa.

$t_R = 18.94$  min (Mètode A).

#### **8.6.1.4. Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-I,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA**

Aquesta peptidil resina es prepara utilitzant el mètode general per a la síntesi de pèptids en fase sòlida. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-I)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> amb un 68% de puresa.

$t_R = 17.86$  min (Mètode A). **ESI-MS**  $m/z$ : 902.4 [M+H]<sup>+</sup>.

#### **8.6.1.5. Trt-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-I)-Rink-MBHA**

Aquesta peptidil resina es prepara utilitzant el mètode general per a la síntesi de pèptids en fase sòlida. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Lys-Leu-Phe(4-I)-NH<sub>2</sub> amb un 62% de puresa.

$t_R = 17.88$  min (Mètode A).

**8.6.1.6. Trt-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-I)-Rink-MBHA**

Aquesta peptidil resina es prepara utilitzant el mètode general per a la síntesi de pèptids en fase sòlida. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-I)-NH<sub>2</sub> amb un 84% de puresa.

$t_R = 17.74$  min (Mètode A).

**8.6.1.7. Trt-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-I)-Rink-MBHA**

Aquesta peptidil resina es prepara utilitzant el mètode general per a la síntesi de pèptids en fase sòlida. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-I)-NH<sub>2</sub> amb un 56% de puresa.

$t_R = 17.58$  min (Mètode A).

**8.6.1.8. Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-I)-Rink-MBHA**

Aquesta peptidil resina es prepara utilitzant el mètode general per a la síntesi de pèptids en fase sòlida. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-I)-NH<sub>2</sub> amb un 77% de puresa.

$t_R = 17.06$  min (Mètode A).

**8.6.1.9. Trt-Leu-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-I)-Rink-MBHA**

Aquesta peptidil resina es prepara utilitzant el mètode general per a la síntesi de pèptids en fase sòlida. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Leu-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-I)-NH<sub>2</sub> amb un 69% de puresa.

$t_R = 17.31$  min (Mètode A).

**8.6.1.10. Trt-Lys(Boc)-Leu-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-I)-Rink-MBHA**

Aquesta peptidil resina es prepara utilitzant el mètode general per a la síntesi de pèptids en fase sòlida. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-I)-NH<sub>2</sub> amb un 76% de puresa.

$t_R = 17.17$  min (Mètode A).



### 8.6.2. Mètode general per a la borilació de Miyaura

En un baló de 25 mL es pesa la iodopeptidil resina corresponent, bis(pinacolato)diboron (4 eq), PdCl<sub>2</sub>(dppf) (0.18 eq) i dppf (0.09 eq) i s'hi addiciona una dissolució de KOAc (6 eq) en DMSO anhidre desgasat (20 µL/mg de resina), la qual s'ha agitat prèviament a l'ultrasons durant dos minuts. La mescla de reacció s'escalfa a 80 °C durant 24 h. A continuació, es renta amb DMSO (6×1 min), MeOH (6×1 min), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (6×1 min) i èter dietílic (3×1 min). Una alíquota de la boronopeptidil resina resultant es desancora utilitzant TFA/H<sub>2</sub>O/TIS (95:2.5:2.5) durant 2 h a temperatura ambient. A continuació s'evapora el TFA i s'extreu amb èter dietílic. El cru de reacció es dissol en H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN, es liofilitza i s'analitza per HPLC, i es caracteritza per espectrometria de masses.

#### 8.6.2.1. Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (40)

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-I)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**38**, 600 mg) seguint el mètode general per a la borilació de Miyaura. El desancorament d'una alíquota de la resina **40** proporciona l'ester pinacolborònic H-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (56% puresa) i H-Lys-Lys-Leu-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (22% puresa), el qual prové de la hidròlisi parcial de l'ester pinacolborònic durant l'anàlisi per HPLC.

$t_R$  = 6.08 min (àcid borònic), 6.75 min (ester pinacolborònic) (Mètode B).

**ESI-MS**  $m/z$ : 804.5 [M<sub>B(OH)<sub>2</sub></sub>+H]<sup>+</sup>, 886.5 [M<sub>BPin</sub>+H]<sup>+</sup>, 908.5 [M<sub>BPin</sub>+Na]<sup>+</sup>.

#### 8.6.2.2. Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA (45)

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-I)-Rink-MBHA (400 mg) seguint el mètode general per a la borilació de Miyaura. El desancorament d'una alíquota de la resina **45** proporciona l'ester pinacolborònic H-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub> (67% puresa) i H-Lys-Lys-Leu-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub> (11% puresa), el qual prové de la hidròlisi parcial de l'ester pinacolborònic durant l'anàlisi per HPLC.

$t_R$  = 5.31 min (àcid borònic), 6.39 min (ester pinacolborònic) (Mètode B).

**ESI-MS**  $m/z$ : 330.7 [M<sub>BPin</sub>+2H]<sup>2+</sup>, 578.3 [M<sub>B(OH)<sub>2</sub></sub>+H]<sup>+</sup>, 660.3 [M<sub>BPin</sub>+H]<sup>+</sup>.

**8.6.2.3. Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-BPin,Me)-Leu-Leu-Rink-MBHA (49a)**

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-I,Me)-Leu-Leu-Rink-MBHA seguint el mètode general per a la borilació de Miyaura. El desancorament d'una alíquota de la resina **49a** proporciona H-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-B(OH)<sub>2</sub>,Me)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (41% puresa), el qual prové de la hidròlisi de l'èster pinacolborònic durant l'anàlisi per HPLC.

$t_R = 17.17$  (àcid borònic) (Mètode A).

**ESI-MS**  $m/z$ : 834.5 [M<sub>B(OH)<sub>2</sub></sub>+H]<sup>+</sup>, 856.5 [M<sub>B(OH)<sub>2</sub></sub>+Na]<sup>+</sup>, 916.5 [M<sub>BPin</sub>+H]<sup>+</sup>, 938.4 [M<sub>BPin</sub>+Na]<sup>+</sup>.

**8.6.2.4. Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-BPin,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (49b)**

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-I,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA seguint el mètode general per a la borilació de Miyaura. El desancorament d'una alíquota de la resina **49b** proporciona l'èster pinacolborònic H-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-BPin)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (27% puresa) i H-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-B(OH)<sub>2</sub>)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (33% puresa), el qual prové de la hidròlisi parcial de l'èster pinacolborònic durant l'anàlisi per HPLC.

$t_R = 16.80$  (àcid borònic), 20.53 (èster pinacolborònic) (Mètode A).

**ESI-MS**  $m/z$ : 820.5 [M<sub>B(OH)<sub>2</sub></sub>+H]<sup>+</sup>, 902.4 [M<sub>BPin</sub>+H]<sup>+</sup>.

**8.6.2.5. Trt-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA**

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-I)-Rink-MBHA (90 mg) seguint el mètode general per a la borilació de Miyaura. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona l'èster pinacolborònic H-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub> (23% puresa) i H-Lys-Leu-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub> (33% puresa), el qual prové de la hidròlisi parcial de l'èster pinacolborònic durant l'anàlisi per HPLC.

$t_R = 13.54$  min (àcid borònic), 18.66 (èster pinacolborònic) (Mètode A).

**ESI-MS**  $m/z$ : 450.2 [M<sub>B(OH)<sub>2</sub></sub>+H]<sup>+</sup>, 532.3 [M<sub>BPin</sub>+H]<sup>+</sup>.

**8.6.2.6. Trt-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA**

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-I)-Rink-MBHA (90 mg) seguint el mètode general per a la borilació de Miyaura. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona l'ester pinacolborònic H-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub> (37% puresa) i H-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub> (30% puresa), el qual prové de la hidròlisi parcial de l'ester pinacolborònic durant l'anàlisi per HPLC.

$t_R$  = 14.52 min (àcid borònic), 18.54 min (ester pinacolborònic) (Mètode A).

**ESI-MS**  $m/z$ : 807.5 [ $M_{BPin}+H$ ]<sup>+</sup>.

**8.6.2.7. Trt-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA**

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-I)-Rink-MBHA (65 mg) seguint el mètode general per a la borilació de Miyaura. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona l'ester pinacolborònic H-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub> (35% puresa) i H-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub> (28% puresa), el qual prové de la hidròlisi parcial de l'ester pinacolborònic durant l'anàlisi per HPLC.

$t_R$  = 14.45 min (àcid borònic), 18.12 min (ester pinacolborònic) (Mètode A).

**ESI-MS**  $m/z$ : 853.5 [ $M_{B(OH)_2}+H$ ]<sup>+</sup>, 935.5 [ $M_{BPin}+H$ ]<sup>+</sup>.

**8.6.2.8. Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA**

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-I)-Rink-MBHA (100 mg) seguint el mètode general per a la borilació de Miyaura. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona l'ester pinacolborònic H-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub> (48% puresa) i H-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub> (28% puresa), el qual prové de la hidròlisi parcial de l'ester pinacolborònic durant l'anàlisi per HPLC.

$t_R$  = 14.10 min (àcid borònic), 17.61 min (ester pinacolborònic) (Mètode A).

**ESI-MS**  $m/z$ : 1093.5 [ $M-H+TFA$ ]<sup>-</sup>, 1175.5 [ $M-H+TFA$ ]<sup>-</sup>.

### 8.6.2.9. Trt-Leu-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Leu-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-I)-Rink-MBHA seguint el mètode general per a la borilació de Miyaura. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona l'ester pinacolborònic H-Leu-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub> (26%) i H-Leu-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub> (29%), el qual prové de la hidròlisi parcial de l'ester pinacolborònic durant l'anàlisi per HPLC.

$t_R$  = 14.67 min (àcid borònic), 17.92 (ester pinacolborònic) (Mètode A).

ESI-MS  $m/z$ : 1176.5 [ $M_{BPin}+H$ ]<sup>+</sup>, 1198.5 [ $M_{BPin}+Na$ ]<sup>+</sup>.

### 8.6.2.10. Trt-Lys(Boc)-Leu-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Lys(Boc)-Leu-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-I)-Rink-MBHA seguint el mètode general per a la borilació de Miyaura. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona l'ester pinacolborònic H-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub> (30% puresa) i H-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub> (21% de puresa), el qual prové de la hidròlisi parcial de l'ester pinacolborònic durant l'anàlisi per HPLC.

$t_R$  = 14.62 min (àcid borònic), 17.67 (ester pinacolborònic) (Mètode A)

### 8.6.3. Mètode general per a la síntesi de precursors lineals contenint un grup iodo i un grup borono

Les boronopeptidil resines preparades a l'apartat anterior es tracten amb TFA/H<sub>2</sub>O/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.2:1:98.8, 2×1 min, 1×20 min), i es renten amb DMF (3×1 min), DIEA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:19) (3×1 min) i DMF (3×1 min). A continuació, s'acoblen els aminoàcids Boc-Phe(4-I)-OH (**8**), Boc-Tyr(3-I,Me)-OH (**20a**) o Boc-Tyr(3-I,SEM)-OH (**20c**) utilitzant oxima (3 eq), DIPCDI (3 eq) en DMF a temperatura ambient durant 3 h. El seguiment de la reacció es monitoritza a través del test de Kaiser (Kaiser et al., 1970). Les resines resultants es renten amb DMF (6×1 min) i CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×1 min). Finalment, una alíquota de la resina resultant es desancora del suport sòlid utilitzant TFA/H<sub>2</sub>O/TIS (95:2.5:2.5) durant 2 h. Tot seguit es recull la mescla àcida i s'evapora a sequedat sota un corrent de nitrogen. Al cru resultant s'afegeix èter dietílic i se centrifuga durant 5 min, repetint-se aquesta operació tres vegades. L'èter dietílic es decanta i una alíquota del residu es

dissol en H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN per ser analitzat per HPLC. Així mateix, el pèptid es caracteritza per espectrometria de masses.

#### **8.6.3.1. Boc-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (37)**

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**40**) seguint el mètode general i utilitzant Boc-Phe(4-I)-OH (**8**) com a aminoàcid halogenat. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Phe(4-I)-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (52% puresa) i H-Phe(4-I)-Lys-Lys-Leu-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (25% puresa), el qual prové de la hidròlisi de l'ester pinacolborònic durant l'anàlisi per HPLC.

$t_R$  = 6.67 min (àcid borònic), 7.27 min (ester pinacolborònic) (Mètode B).

**ESI-MS**  $m/z$ : 1077.4 [M<sub>B(OH)<sub>2</sub></sub>+H]<sup>+</sup>, 1159.4 [M<sub>BPin</sub>+H]<sup>+</sup>, 1181.4 [M<sub>BPin</sub>+Na]<sup>+</sup>.

#### **8.6.3.2. Boc-Tyr(3-I,Me)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (43a)**

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**40**) seguint el mètode general i utilitzant Boc-Tyr(3-I,Me)-OH (**20a**) com a aminoàcid halogenat. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Tyr(3-I,Me)-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (59% puresa) i H-Tyr(3-I,Me)-Lys-Lys-Leu-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (13% puresa), el qual prové de la hidròlisi parcial de l'ester pinacolborònic durant l'anàlisi per HPLC.

$t_R$  = 6.53 min (àcid borònic), 7.11 min (ester pinacolborònic) (Mètode B).

**ESI-MS**  $m/z$ : 595.4 [M<sub>BPin</sub>+2H]<sup>2+</sup>, 1107.4 [M<sub>B(OH)<sub>2</sub></sub>+H]<sup>+</sup>, 1189.5 [M<sub>BPin</sub>+H]<sup>+</sup>.

#### **8.6.3.3. Boc-Tyr(3-I,SEM)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (43b)**

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**40**) seguint el mètode general i utilitzant Boc-Tyr(3-I,SEM)-OH (**20c**) com a aminoàcid halogenat. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Tyr(3-I)-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (42% puresa) i H-Tyr(3-I)-Lys-Lys-Leu-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (39% puresa), el qual prové de la hidròlisi parcial de l'ester pinacolborònic durant l'anàlisi per HPLC.

$t_R = 6.47$  min (àcid borònic),  $7.13$  min (ester pinacolborònic) (Mètode B). **ESI-MS**  $m/z$ :  $1093.2 [M_{B(OH)_2}+H]^+$ ,  $1175.2 [M_{BPin}+H]^+$ .

#### 8.6.3.4. Boc-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA (41)

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA (45) seguint el mètode general i utilitzant Boc-Phe(4-I)-OH (8) com a aminoàcid halogenat. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Phe(4-I)-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub> (54% puresa) i H-Phe(I)-Lys-Lys-Leu-Phe(B(OH)<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub> (22% puresa), el qual prové de la hidròlisi parcial de l'ester pinacolborònic durant l'anàlisi per HPLC.

$t_R = 5.79$  min (àcid borònic),  $6.72$  min (ester pinacolborònic) (Mètode B).

**ESI-MS**  $m/z$ :  $851.2 [M_{B(OH)_2}+H]^+$ ,  $933.3 [M_{BPin}+H]^+$ ,  $955.3 [M_{BPin}+Na]^+$ .

#### 8.6.3.5. Boc-Tyr(3-I,Me)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA (44a)

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA (45) seguint el mètode general i utilitzant Boc-Tyr(3-I,Me)-OH (20a) com a aminoàcid halogenat. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Tyr(3-I,Me)-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub> (71% puresa) i H-Tyr(3-I,Me)-Lys-Lys-Leu-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub> (18% puresa), el qual prové de la hidròlisi parcial de l'ester pinacolborònic durant l'anàlisi per HPLC.

$t_R = 6.01$  min (àcid borònic),  $6.89$  min (ester pinacolborònic) (Mètode B).

**ESI-MS**  $m/z$ :  $881.2 [M_{B(OH)_2}+H]^+$ ,  $963.2 [M_{BPin}+H]^+$ .

#### 8.6.3.6. Boc-Tyr(3-I,SEM)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA (44b)

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA (45) seguint el mètode general i utilitzant Boc-Tyr(3-I,SEM)-OH (20c) com a aminoàcid halogenat. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Tyr(3-I)-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub> (67% puresa) i H-Tyr(3-I)-Lys-Lys-Leu-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub> (21% puresa), el qual prové de la hidròlisi de l'ester pinacolborònic durant l'anàlisi per HPLC.

$t_R = 5.76$  min (àcid borònic),  $6.72$  min (ester pinacolborònic) (Mètode B).

**ESI-MS**  $m/z$ :  $867.2 [M_{B(OH)_2}+H]^+$ ,  $949.3 [M_{BPin}+H]^+$ .

**8.6.3.7. Boc-Tyr(3-I,Me)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-BPin,Me)-Leu-Leu-Rink-MBHA (47a)**

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-BPin,Me)-Leu-Leu-Rink-MBHA (49a) seguint el mètode general i utilitzant Boc-Tyr(3-I,Me)-OH (20a) com a aminoàcid halogenat. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Tyr(3-I,Me)-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-B(OH)<sub>2</sub>,Me)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (45% puresa), el qual prové de la hidròlisi de l'ester pinacolborònic durant l'anàlisi per HPLC.

$t_R$  = 18.94 min (àcid borònic) (Mètode A).

**ESI-MS**  $m/z$ : 1137.3 [ $M_{B(OH)_2}+H$ ]<sup>+</sup>, 1219.1 [ $M_{BPin}+H$ ]<sup>+</sup>.

**8.6.3.8. Boc-Tyr(3-I,SEM)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-BPin,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (47b)**

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-BPin,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (49b) seguint el mètode general i utilitzant Boc-Tyr(3-I,SEM)-OH (20c) com a aminoàcid halogenat. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Tyr(3-I)-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-BPin)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (26% puresa) i H-Tyr(3-I)-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-B(OH)<sub>2</sub>)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (36% puresa), el qual prové de la hidròlisi parcial de l'ester pinacolborònic durant l'anàlisi per HPLC.

$t_R$  = 17.69 min (àcid borònic), 20.88 (ester pinacolborònic) (Mètode A).

**ESI-MS**  $m/z$ : 1109.3 [ $M_{B(OH)_2}+H$ ]<sup>+</sup>, 1191.3 [ $M_{BPin}+H$ ]<sup>+</sup>.

**8.6.3.9. Boc-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-BPin,Me)-Leu-Leu-Rink-MBHA (53a)**

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-BPin,Me)-Leu-Leu-Rink-MBHA (49a) seguint el mètode general i utilitzant Boc-Phe(4-I)-OH (8) com a aminoàcid halogenat. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Phe(4-I)-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-B(OH)<sub>2</sub>,Me)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (51% puresa), el qual prové de la hidròlisi de l'ester pinacolborònic durant l'anàlisi per HPLC.

$t_R$  = 15.41 min (Mètode C).

**ESI-MS**  $m/z$ : 1107.4 [ $M_{B(OH)_2}+H$ ]<sup>+</sup>, 1189.3 [ $M_{BPin}+H$ ]<sup>+</sup>.

### 8.6.3.10. Boc-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-BPin,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (53b)

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-BPin,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**49b**) seguint el mètode general i utilitzant Boc-Phe(4-I)-OH (**8**) com a aminoàcid halogenat. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Phe(4-I)-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-B(OH)<sub>2</sub>)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (30% puresa), el qual prové de la hidròlisi de l'ester pinacolborònic durant l'anàlisi per HPLC.

$t_R = 15.11$  min (Mètode C).

**ESI-MS**  $m/z$ : 1093.3 [ $M_{B(OH)_2}+H$ ]<sup>+</sup>, 1175.1 [ $M_{BPin}+H$ ]<sup>+</sup>.

### 8.6.3.11. Boc-Phe(4-I)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA seguint el mètode general i utilitzant Boc-Phe(4-I)-OH (**8**) com a aminoàcid halogenat. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona l'àcid borònic H-Phe(4-I)-Leu-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub> (39% puresa), el qual prové de la hidròlisi del corresponent ester pinacolborònic.

$t_R = 18.50$  min (àcid borònic) (Mètode A). **ESI-MS**  $m/z$ : 677.1 [ $M_{BPin}+H$ ]<sup>+</sup>.

### 8.6.3.12. Boc-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA seguint el mètode general i utilitzant Boc-Phe(4-I)-OH (**8**) com a aminoàcid halogenat. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Phe(4-I)-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub> (35% de puresa) i H-Phe(4-I)-Lys-Leu-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub> (18% de puresa).

$t_R = 17.50$  min (àcid borònic), 21.28 (ester pinacolborònic) (Mètode A).

**ESI-MS**  $m/z$ : 723.1 [ $M_{B(OH)_2}+H$ ]<sup>+</sup>, 805.2 [ $M_{BPin}+H$ ]<sup>+</sup>.



**8.6.3.13. Boc-Phe(4-I)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA**

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA seguint el mètode general i utilitzant Boc-Phe(4-I)-OH (**8**) com a aminoàcid halogenat. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Phe(4-I)-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub> (31% puresa) i H-Phe(4-I)-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub> (18% de puresa), el qual prové de la hidròlisi parcial de l'ester pinacolborònic durant l'anàlisi per HPLC.

$t_R$  = 16.78 min (àcid borònic), 19.91 (ester pinacolborònic) (Mètode A).

**ESI-MS**  $m/z$ : 998.3 [ $M_{B(OH)_2}+H$ ]<sup>+</sup>, 1080.3 [ $M_{BPin}+H$ ]<sup>+</sup>.

**8.6.3.14. Boc-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA**

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA seguint el mètode general i utilitzant Boc-Phe(4-I)-OH (**8**) com a aminoàcid halogenat. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Phe(4-I)-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub> (38% puresa) i H-Phe(4-I)-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub> (23% puresa), el qual prové de la hidròlisi parcial de l'ester pinacolborònic durant l'anàlisi per HPLC.

$t_R$  = 16.81 min (àcid borònic), 19.62 min (ester pinacolborònic) (Mètode A).

**ESI-MS**  $m/z$ : 1126.3 [ $M_{B(OH)_2}+H$ ]<sup>+</sup>, 1208.3 [ $M_{BPin}+H$ ]<sup>+</sup>, 1230.2 [ $M_{BPin}+Na$ ]<sup>+</sup>.

**8.6.3.15. Boc-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA**

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA seguint el mètode general i utilitzant Boc-Phe(4-I)-OH (**8**) com a aminoàcid halogenat. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Phe(4-I)-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub> (45% puresa) i H-Phe(4-I)-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub> (29% puresa), el qual prové de la hidròlisi parcial de l'ester pinacolborònic durant l'anàlisi per HPLC.

$t_R$  = 15.83 min (àcid borònic), 18.58 min (ester pinacolborònic) (Mètode A).

**ESI-MS**  $m/z$ : 627.8 [ $M_{B(OH)_2}+2H$ ]<sup>2+</sup>, 1254.4 [ $M_{B(OH)_2}+H$ ]<sup>+</sup>.

### 8.6.3.16. Boc-Phe(4-I)-Leu-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Leu-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA seguint el mètode general i utilitzant Boc-Phe(4-I)-OH (**8**) com a aminoàcid halogenat. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Phe(4-I)-Leu-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub> (36% puresa) i H-Phe(4-I)-Leu-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub> (35% puresa), el qual prové de la hidròlisi parcial de l'èster pinacolborònic.

$t_R$  = 13.07 min (àcid borònic), 15.83 min (èster pinacolborònic) (Mètode C).

**ESI-MS**  $m/z$ : 684.3 [M<sub>B(OH)2</sub>+2H]<sup>2+</sup>, 725.3 [M<sub>BPin</sub>+2H]<sup>2+</sup>, 1367.4 [M<sub>B(OH)2</sub>+H]<sup>+</sup>, 1449.4 [M<sub>BPin</sub>+H]<sup>+</sup>.

### 8.6.3.17. Boc-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Leu-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Lys(Boc)-Leu-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA seguint el mètode general i utilitzant Boc-Phe(4-I)-OH (**8**) com a aminoàcid halogenat. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Phe(4-I)-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub> (45% de puresa) i H-Phe(4-I)-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-NH<sub>2</sub> (19% de puresa), el qual prové de la hidròlisi parcial de l'èster pinacolborònic.

$t_R$  = 13.06 min (àcid borònic), 15.51 min (èster pinacolborònic) (Mètode C).

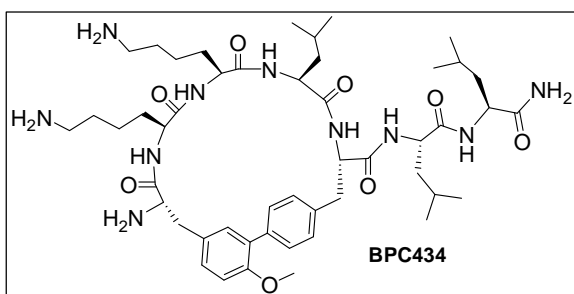
**ESI-MS**  $m/z$ : 1577.6 [M<sub>BPin</sub>+H]<sup>+</sup>, 1599.5 [M<sub>BPin</sub>+Na]<sup>+</sup>.

## 8.6.4. Mètode general de ciclació per reacció de Suzuki-Miyaura en fase sòlida

En un vial de quars de 5 mL es pesa la peptidil resina lineal corresponent incorporant els grups borono i iodo, Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (0.2 eq), P(*o*-tolil)<sub>3</sub> (0.4 eq) i KF (4 eq). A continuació, s'afegeix sota atmosfera de nitrogen una barreja desgasada de DME/EtOH/H<sub>2</sub>O (9:9:2, 1-1.9 mL). La mescla de reacció s'escalfa a 120 °C sota irradiació de microones durant 30 min. Després d'aquest temps, la resina es renta amb DMF (6×1 min), EtOH (6×1 min), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (6×1 min) i èter dietílic (3×1 min). Finalment, el pèptid corresponent es desancora del suport sòlid per mitjà d'un tractament àcid amb TFA/H<sub>2</sub>O/TIS (95:2.5:2.5) durant 2 h a temperatura ambient. A continuació, s'evapora el TFA i es fa una extracció amb èter



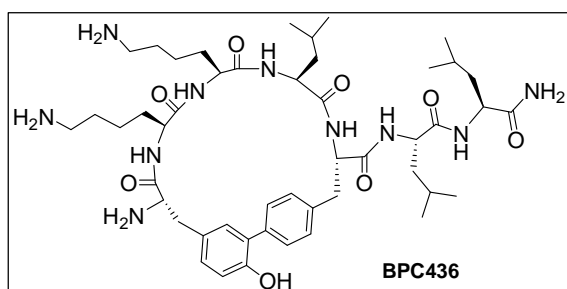
## 8.6.4.2. Pèptid biarílic cíclic BPC434



Aquest pèptid es prepara a partir de la resina Boc-Tyr(3-I,Me)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**43a**, 182 mg) utilitzant el mètode general de ciclació per reacció de Suzuki-Miyaura. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona el pèptid biarílic cíclic BPC434 amb un 72% de puresa. La purificació utilitzant com a eluent H<sub>2</sub>O/MeOH/TFA (70:30:0.2) proporciona el pèptid pur BPC434 (12.7 mg, 23%).

$t_R$  = 17.63 min (Mètode A). **<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  (ppm): 0.91-0.98 [m, 18H, 6xCH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu], 1.16-1.71 [m, 21H, 3xCH( $\gamma$ )-Leu, 3xCH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Leu, 2xCH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Lys, 2xCH<sub>2</sub>( $\gamma$ )-Lys, 2xCH<sub>2</sub>( $\delta$ )-Lys], 2.70-2.72 [m, 2H CH<sub>2</sub>( $\epsilon$ )-Lys], 2.83-2.93 [m, 3H, CH<sub>2</sub>( $\epsilon$ )-Lys, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe], 3.13-3.19 [m, 3H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Tyr], 3.78 [s, 3H, OCH<sub>3</sub>], 4.09-4.15 [m, 2H, CH( $\alpha$ )-Tyr, CH( $\alpha$ )-Lys], 4.18-4.49 [m, 3H, 3xCH( $\alpha$ )-Leu], 4.57-4.64 [m, 2H, CH( $\alpha$ )-Phe, CH( $\alpha$ )-Lys], 7.05 [d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>-3'], 7.22 [s, 1H, CH<sub>arom</sub>-6'], 7.24 [dd,  $J$  = 2.4, 8.6 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>-4'], 7.32 [d,  $J$  = 8.2 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6], 7.49 [d,  $J$  = 8.2 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5]. **ESI-MS**  $m/z$ : 468.3 [M+2H]<sup>2+</sup>, 935.6 [M+H]<sup>+</sup>, 957.5 [M+Na]<sup>+</sup>. **HRMS (ESI)**  $m/z$ : Calculat per a C<sub>49</sub>H<sub>80</sub>N<sub>10</sub>O<sub>8</sub> 468.3075, experimental 468.3098; calculat per a C<sub>49</sub>H<sub>79</sub>N<sub>10</sub>O<sub>8</sub> 935.6077, experimental 935.6057; calculat per a C<sub>49</sub>H<sub>78</sub>N<sub>10</sub>NaO<sub>8</sub> 957.5896, experimental 957.5875.

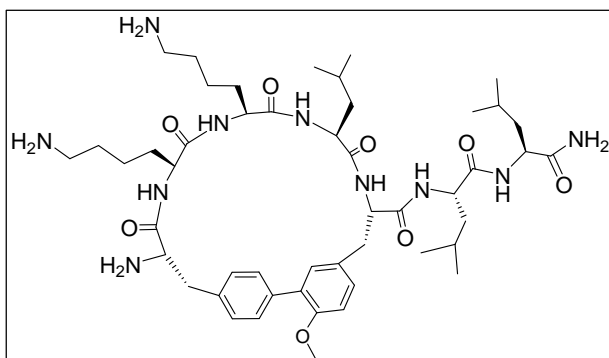
## 8.6.4.3. Pèptid biarílic cíclic BPC436



Aquest pèptid es prepara a partir de la resina Boc-Tyr(3-I,SEM)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**43b**, 195 mg) utilitzant el mètode general de ciclació per reacció de Suzuki-Miyaura. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona el pèptid biarílic cíclic BPC436 amb un 79% de puresa. La purificació utilitzant com a eluent H<sub>2</sub>O/MeOH/TFA (70:30:0.2) proporciona el pèptid pur BPC436 (20.5 mg, 35%).

$t_R$  = 17.18 min (Mètode A). **<sup>1</sup>H-RMN** (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  (ppm): 0.87-0.97 [m, 18H, 6xCH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu], 1.45-1.70 [m, 21H, 3xCH( $\gamma$ )-Leu, 3xCH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Leu, 2xCH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Lys, 2xCH<sub>2</sub>( $\gamma$ )-Lys, 2xCH<sub>2</sub>( $\delta$ )-Lys], 2.66-2.73 [m, 2H, CH<sub>2</sub>( $\epsilon$ )-Lys], 2.81-2.91 [m, 3H, CH<sub>2</sub>( $\epsilon$ )-Lys, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe], 3.07-3.18 [m, 3H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Tyr, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe], 4.07-4.14 [m, 2H, CH( $\alpha$ )-Tyr, CH( $\alpha$ )-Lys], 4.27-4.54 [m, 3H, 3xCH( $\alpha$ )-Leu], 4.57-4.61 [m, 2H, CH( $\alpha$ )-Phe, CH( $\alpha$ )-Lys], 6.88 [d,  $J$  = 8.0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>-3'], 7.09 [dd,  $J$  = 2.0, 8.0 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>-4'], 7.24-7.25 [m, 1H, CH<sub>arom</sub>-6'], 7.32 [d,  $J$  = 8.2 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6], 7.60 [d,  $J$  = 8.2 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5]. **ESI-MS**  $m/z$ : 921.6 [M+H]<sup>+</sup>. **HRMS (ESI)**  $m/z$ : Calculat per a C<sub>48</sub>H<sub>78</sub>N<sub>10</sub>O<sub>8</sub> 461.2997, experimental 461.3017; calculat per a C<sub>48</sub>H<sub>77</sub>N<sub>10</sub>O<sub>8</sub> 921.5920, experimental 921.5900; calculat per a C<sub>48</sub>H<sub>76</sub>N<sub>10</sub>NaO<sub>8</sub> 943.5740, experimental 943.5713.

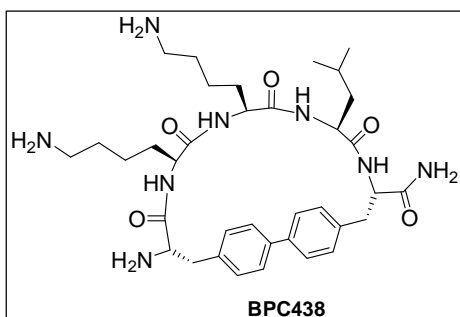
#### 8.6.4.4. Pèptid biarílic cíclic 52a



Aquest pèptid es prepara a partir de la resina Boc-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-BPin,Me)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**53a**, 20 mg) utilitzant el mètode general de ciclació per reacció de Suzuki-Miyaura. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona el pèptid biarílic cíclic **52a**.

ESI-MS  $m/z$ : 935.5 [M+H]<sup>+</sup>.

#### 8.6.4.5. Pèptid biarílic cíclic BPC438



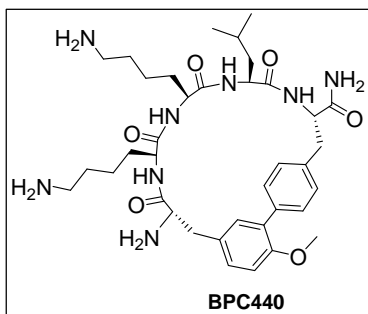
Aquest pèptid es prepara a partir de la resina Boc-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA (**41**, 135 mg) utilitzant el mètode general de ciclació per reacció de Suzuki-Miyaura. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona el pèptid biarílic cíclic BPC438 amb un 76% puresa. La purificació

utilitzant com a eluent H<sub>2</sub>O/MeOH/TFA (90:10:0.2) proporciona el pèptid pur BPC438 (8.3 mg, 25%).

$t_R$  = 14.60 min (Mètode A). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  (ppm): 0.85-0.90 [m, 6H, 2xCH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu], 1.20-1.62 [m, 15H, CH( $\gamma$ )-Leu, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Leu, 2xCH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Lys, 2xCH<sub>2</sub>( $\gamma$ )-Lys, 2xCH<sub>2</sub>( $\delta$ )-Lys], 2.84-3.02 [m, 6H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe, 2xCH<sub>2</sub>( $\epsilon$ )-Lys], 3.22-3.39 [m, 2H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe], 4.03 [dd,  $J$  = 5.2, 12.0 Hz, 1H, CH( $\alpha$ )-Phe], 4.11-4.14 [m, 1H, 2xCH( $\alpha$ )-Lys], 4.348-4.40 [m, 1H, CH( $\alpha$ )-Leu], 4.67-4.72 [m, 1H, CH( $\alpha$ )-Phe], 7.26 [d, 8.2 Hz, 4H, CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6, CH<sub>arom</sub>-3', CH<sub>arom</sub>-5'], 7.67 [d,  $J$  = 8.2 Hz, 4H, CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5, CH<sub>arom</sub>-2', CH<sub>arom</sub>-6']. <sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  (ppm): 21.49 [CH<sub>2</sub>( $\gamma$ )-Lys], 23.50, 23.69 [2xCH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu], 25.66 [CH( $\gamma$ )-Leu], 28.24 [CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Lys, CH<sub>2</sub>( $\delta$ )-Lys], 38.15 [CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe], 38.69 [CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe], 40.43 [2xCH<sub>2</sub>( $\epsilon$ )-Lys], 41.39 [CH( $\beta$ )-Leu], 51.94 [CH( $\alpha$ )-Leu], 54.32 [CH( $\alpha$ )-Phe, CH( $\alpha$ )-Lys], 55.77 [CH( $\alpha$ )-Phe], 127.83, 127.95 [CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5, CH<sub>arom</sub>-

2', CH<sub>arom</sub>-6'], 130.88 [CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6, CH<sub>arom</sub>-3', CH<sub>arom</sub>-5'], 131.38 [C<sub>arom</sub>], 134.53 [C<sub>arom</sub>], 137.56 [C<sub>arom</sub>], 140.90 [C<sub>arom</sub>], 168.81, 175.91 [CO]. **ESI-MS** *m/z*: 679.4 [M+H]<sup>+</sup>. **HRMS (ESI)** *m/z*: Calculat per a C<sub>36</sub>H<sub>56</sub>N<sub>8</sub>O<sub>5</sub> 340.2181, experimental 340.2167; calculat per a C<sub>36</sub>H<sub>55</sub>N<sub>8</sub>O<sub>5</sub> 679.4290, experimental 679.4273; calculat per a C<sub>36</sub>H<sub>54</sub>N<sub>8</sub>NaO<sub>5</sub> 701.4109, experimental 701.4086.

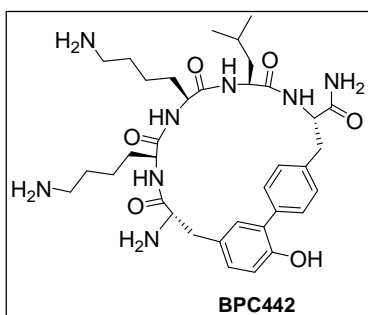
#### 8.6.4.6. Pèptid biarílic cíclic BPC440



Aquest pèptid es prepara a partir de la resina Boc-Tyr(3-I,Me)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA (**44a**, 167 mg) utilitzant el mètode general de ciclació per reacció de Suzuki-Miyaura. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona el pèptid biarílic cíclic BPC440 amb un 75% de puresa. La purificació utilitzant com a eluent H<sub>2</sub>O/MeOH/TFA (90:10:0.2) proporciona el pèptid pur BPC440 (12.6 mg, 30%).

*t<sub>R</sub>* = 14.56 min (Mètode A). **<sup>1</sup>H-RMN** (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm): 0.92-0.96 [m, 6H, 2×CH<sub>3</sub>(δ)-Leu], 1.18-1.61 [m, 15H, CH(γ)-Leu, CH<sub>2</sub>(β)-Leu, 2×CH<sub>2</sub>(β)-Lys, 2×CH<sub>2</sub>(γ)-Lys, 2×CH<sub>2</sub>(δ)-Lys], 2.69-2.76 [m, 2H, CH<sub>2</sub>(ε)-Lys], 2.83-2.99 [m, 3H, CH<sub>2</sub>(ε)-Lys, CH<sub>2</sub>(β)-Phe], 3.14-3.16 [m, 2H, CH<sub>2</sub>(β)-Tyr], 3.21 [dd, *J* = 2.8, 14.0 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>(β)-Phe], 3.78 [s, 3H, OCH<sub>3</sub>], 4.06-4.10 [m, 2H, CH(α)-Tyr, CH(α)-Lys], 4.33-4.36 [m, 1H, CH(α)-Leu], 4.53 [dd, *J* = 5.8, 8.6 Hz, 1H, CH(α)-Lys], 4.59 [dd, *J* = 2.8, 12.0 Hz, 1H, CH(α)-Phe], 7.05 [d, *J* = 8.4 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>-3'], 7.23-7.26 [m, 2H, CH<sub>arom</sub>-4', CH<sub>arom</sub>-6'], 7.30 [d, *J* = 8.2 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6], 7.48 [d, *J* = 8.2 Hz, 2H, CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5]. **ESI-MS** *m/z*: 709.4 [M+H]<sup>+</sup>. **HRMS (ESI)** *m/z*: Calculat per a C<sub>37</sub>H<sub>58</sub>N<sub>8</sub>O<sub>6</sub> 355.2234, experimental 355.2232; calculat per a C<sub>37</sub>H<sub>57</sub>N<sub>8</sub>O<sub>6</sub> 709.4396, experimental 709.4372; calculat per a C<sub>37</sub>H<sub>56</sub>N<sub>8</sub>NaO<sub>6</sub> 731.4215, experimental 731.4188.

### 8.6.4.7. Pèptid biarílic cíclic BPC442

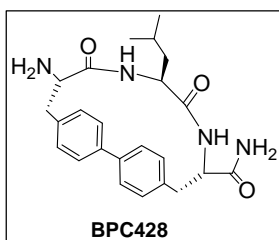


Aquest pèptid es prepara a partir de la resina Boc-Tyr(3-I,SEM)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA (**44b**, 185 mg) utilitzant el mètode general de ciclació per reacció de Suzuki-Miyaura. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona el pèptid biarílic cíclic BPC442 amb un 76% de puresa. La purificació utilitzant com a eluent H<sub>2</sub>O/MeOH/TFA (90:10:0.2)

proporciona el pèptid pur BPC442 (13 mg, 30%).

$t_R$  = 13.59 min (Mètode A). **<sup>1</sup>H-RMN** (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  (ppm): 0.92-0.97 [m, 6H, 2xCH<sub>3</sub>( $\delta$ )-Leu], 1.18-1.67 [m, 15H, CH( $\gamma$ )-Leu, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Leu, 2xCH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Lys, 2xCH<sub>2</sub>( $\gamma$ )-Lys, 2xCH<sub>2</sub>( $\delta$ )-Lys], 2.61-2.75 [m, 2H, CH<sub>2</sub>( $\epsilon$ )-Lys], 2.80-2.94 [m, 3H, CH<sub>2</sub>( $\epsilon$ )-Lys, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe], 3.12-3.13 [m, 2H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Tyr], 3.21 [dd,  $J$  = 2.8, 14.0 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>( $\beta$ )-Phe], 4.06-4.10 [m, 2H, CH( $\alpha$ )-Lys, CH( $\alpha$ )-Tyr], 4.37-4.40 [m, 1H, CH( $\alpha$ )-Leu], 4.52-4.58 [m, 2H, CH( $\alpha$ )-Lys, CH( $\alpha$ )-Phe], 6.89 [d,  $J$  = 8.2 Hz, 1H, CH<sub>arom</sub>-3'], 7.09 [dd, 1H,  $J$  = 2.4, 8.2 Hz, CH<sub>arom</sub>-4'], 7.31 [d, 2H,  $J$  = 8.2 Hz, CH<sub>arom</sub>-2, CH<sub>arom</sub>-6], 7.53 [sa, 1H, CH<sub>arom</sub>-6'], 7.59 [d, 2H,  $J$  = 8.2 Hz, CH<sub>arom</sub>-3, CH<sub>arom</sub>-5]. **ESI-MS**  $m/z$ : 695.4 [M+H]<sup>+</sup>. **HRMS (ESI)**  $m/z$ : Calculat per a C<sub>36</sub>H<sub>56</sub>N<sub>8</sub>O<sub>6</sub> 348.2156, experimental 348.2145; calculat per a C<sub>36</sub>H<sub>55</sub>N<sub>8</sub>O<sub>6</sub> 695.4239, experimental 695.4225; calculat per a C<sub>36</sub>H<sub>54</sub>N<sub>8</sub>NaO<sub>6</sub> 717.4059, experimental 717.4047.

### 8.6.4.8. Pèptid biarílic cíclic BPC428

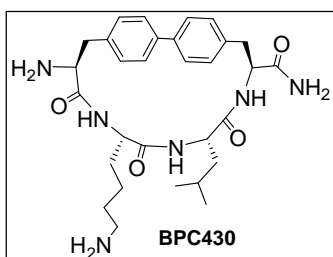


Aquest pèptid es prepara a partir de la resina Boc-Phe(4-I)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA (21 mg) utilitzant el mètode general de ciclació per reacció de Suzuki-Miyaura. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona el pèptid biarílic cíclic BPC428, el qual es dissol en H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN, es liofilitza i s'analitza per HPLC (71% puresa).

$t_R$  = 17.22 min (Mètode A). **ESI-MS**  $m/z$ : 423.2 [M+H]<sup>+</sup>. **HRMS (ESI)**  $m/z$ : Calculat per a C<sub>24</sub>H<sub>31</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub> 423.2391, experimental 423.2391.



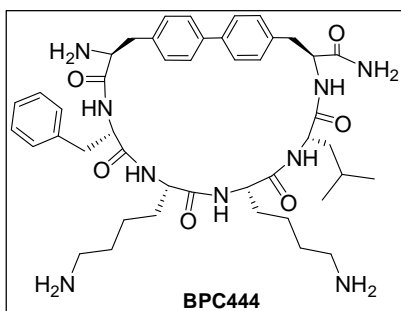
## 8.6.4.9. Pèptid biarílic cíclic BPC430



Aquest pèptid es prepara a partir de la resina Boc-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA (60 mg) utilitzant el mètode general de ciclació per reacció de Suzuki-Miyaura. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona el pèptid biarílic cíclic BPC430, el qual es dissol en H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN, es liofilitza i s'analitza per HPLC (70% puresa).

$t_R$  = 16.72 min (Mètode A). **ESI-MS**  $m/z$ : 276.1 [M+2H]<sup>2+</sup>, 551.2 [M+H]<sup>+</sup>. **HRMS (ESI)**  $m/z$ : Calculat per a C<sub>30</sub>H<sub>43</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub> 551.3340, experimental 551.3330.

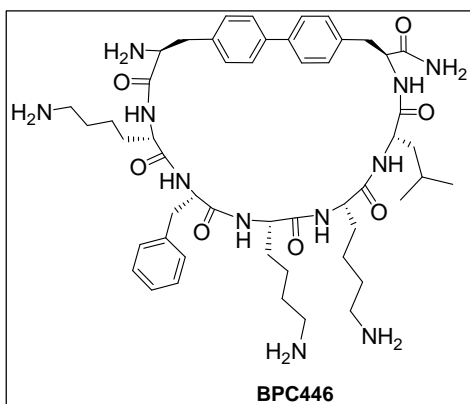
## 8.6.4.10. Pèptid biarílic cíclic BPC444



Aquest pèptid es prepara a partir de la resina Boc-Phe(4-I)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA (65 mg) utilitzant el mètode general de ciclació per reacció de Suzuki-Miyaura. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona el pèptid biarílic cíclic BPC444, el qual es dissol en H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN, es liofilitza i s'analitza per HPLC (36% puresa).

$t_R$  = 15.23 min (Mètode A). **ESI-MS**  $m/z$ : 413.7 [M+2H]<sup>2+</sup>, 826.4 [M+H]<sup>+</sup>. **HRMS (ESI)**  $m/z$ : Calculat per a C<sub>45</sub>H<sub>65</sub>N<sub>9</sub>O<sub>6</sub> 413.7523, experimental 413.7530.

## 8.6.4.11. Pèptid biarílic cíclic BPC446

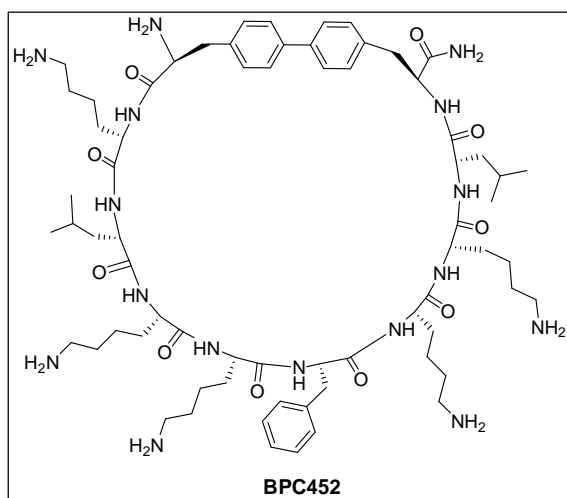


Aquest pèptid es prepara a partir de la resina Boc-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA (38 mg) utilitzant el mètode general de ciclació per reacció de Suzuki-Miyaura. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona el pèptid biarílic cíclic BPC446, el qual es dissol en H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN, es liofilitza i s'analitza per HPLC (84% puresa).

$t_R$  = 16.05 min (Mètode A). **ESI-MS**  $m/z$ : 477.7 [M+2H]<sup>2+</sup>, 954.5 [M+H]<sup>+</sup>. **HRMS (ESI)**  $m/z$ : Calculat per a C<sub>51</sub>H<sub>77</sub>N<sub>11</sub>O<sub>7</sub> 477.7998, experimental 477.8007; calculat per a C<sub>51</sub>H<sub>76</sub>N<sub>11</sub>O<sub>7</sub> 954.5924, experimental 954.5876.



### 8.6.4.14. Pèptid biarílic cíclic BPC452



Aquest pèptid es prepara a partir de la resina Boc-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Leu-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Phe(4-BPin)-Rink-MBHA (40 mg) utilitzant el mètode general de ciclació per reacció de Suzuki-Miyaura. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona el pèptid biarílic cíclic BPC452, el qual es dissol en H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN, es liofilitza i s'analitza per HPLC (40% puresa).

$t_R$  = 15.85 min (Mètode A). **HRMS (ESI)**  $m/z$ : Calculat per a C<sub>69</sub>H<sub>113</sub>N<sub>16</sub>O<sub>10</sub> 441.9603, experimental 441.9611; calculat per a C<sub>69</sub>H<sub>112</sub>N<sub>16</sub>O<sub>10</sub> 662.4368, experimental 662.4353; calculat per a C<sub>69</sub>H<sub>111</sub>N<sub>16</sub>O<sub>10</sub> 1323.8664, experimental 1323.8600.

### 8.6.5. Síntesi de pèptids biarílics lineals contenint una 3-ariltirosina

#### 8.6.5.1. H-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-Ph,Me)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (51a)

Aquest pèptid es prepara a partir de la resina Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-BPin,Me)-Leu-Leu-Rink-MBHA (49a) utilitzant les condicions generals per a la reacció de Suzuki-Miyaura sota irradiació de microones (Apartat 8.5.1), utilitzant 4-iodobenzè com a halur d'aril. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-Ph,Me)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (51a) amb un 57% de puresa.

$t_R$  = 20.98 (Mètode A). **ESI-MS**  $m/z$ : 866.5 [M+H]<sup>+</sup>, 888.4 [M+Na]<sup>+</sup>.

### 8.6.5.2. H-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-Ph)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (51b)

Aquest pèptid es prepara a partir de la resina Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Tyr(3-BPin,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (49b) utilitzant les condicions generals per a la reacció de Suzuki-Miyaura (Apartat 7.4.1), utilitzant 4-iodobenzè com a halur d'aril. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-Ph)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (51b) amb un 53% de puresa.

$t_R$  = 18.80 (Mètode A). **ESI-MS**  $m/z$ : 852.5 [M+H]<sup>+</sup>.

### 8.6.6. Síntesi del pèptid biarílic BPC454

#### 8.6.6.1. Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Glu(Rink-MBHA)-OAI

Aquesta peptidil resina es prepara utilitzant el mètode general per a la síntesi de pèptids en fase sòlida (Apartat 8.6.1), utilitzant com a suport sòlid una resina Fmoc-Rink-MBHA (0.3 mmol/g). El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Lys-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe(4-I)-Lys-Lys-Leu-Gln-OAI amb un 75% de puresa.

$t_R$  = 15.80 min (Mètode A). **ESI-MS**  $m/z$ : 727.8 [M+2H]<sup>2+</sup>, 1454.6 [M+H]<sup>+</sup>, 1476.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

#### 8.6.6.2. Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe(4-BPin)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Glu(Rink-MBHA)-OH (58)

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe(4-I)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Glu(Rink-MBHA)-OAI (268 mg) seguint el mètode general per a la borilació de Miyaura (Apartat 7.4.1), utilitzant B<sub>2</sub>Pin<sub>2</sub> (83 mg, 0.32 mmol, 4 eq), KOAc (48 mg, 0.48 mmol, 6 eq), PdCl<sub>2</sub>(dppf) (12 mg, 0.01 mmol, 0.18 eq), dppf (4 mg, 0.007 mmol) en DMSO (5.4 mL). El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona l'ester pinacolborònic H-Lys-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe(4-BPin)-Lys-Lys-Leu-Gln-OH (45% puresa) i l'àcid borònic H-Lys-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe(4-B(OH)<sub>2</sub>)-Lys-Lys-Leu-Gln-OH (31% puresa), el qual prové de la hidròlisi parcial de l'ester pinacolborònic durant l'anàlisi per HPLC.

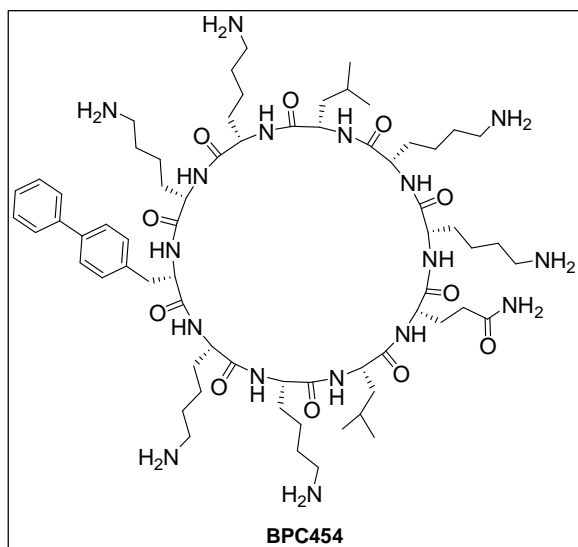
$t_R$  = 13.20 min (àcid borònic), 15.34 min (ester pinacolborònic) (Mètode A). **ESI-MS**  $m/z$ : 708.0 [M+2H]<sup>2+</sup>, 1414.8 [M<sub>BPin</sub>+H]<sup>+</sup>. **HRMS (ESI)**  $m/z$  Calculat per a C<sub>68</sub>H<sub>127</sub>BN<sub>17</sub>O<sub>14</sub> 472.3279, experimental 472.3292; calculat per a C<sub>68</sub>H<sub>126</sub>BN<sub>17</sub>O<sub>14</sub> 707.9882, experimental 707.9873.

### 8.6.6.3. Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe(4-Ph)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Glu(Rink-MBHA)-OH (60)

Aquesta peptidil resina es prepara a partir de la resina Trt-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Phe(4-BPin)-Lys(Boc)-Lys(Boc)-Leu-Glu(Rink-MBHA)-OH (**58**, 200 mg) seguint el mètode general per a la reacció de Suzuki-Miyaura (Apartat 8.5.1) utilitzant  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  (11 mg, 0.01 mmol, 0.2 eq),  $\text{P}(\text{o-tolil})_3$  (7.3 mg, 0.02 mmol, 0.4 eq), 4-iodobenzè (34  $\mu\text{L}$ , 0.3 mmol, 5 eq) i KF (14 mg, 0.24 mmol, 4 eq) en DME/EtOH/ $\text{H}_2\text{O}$  (9:9:2, 2 mL) a 120 °C durant 30 minuts, sota escalfament per irradiació de microones. El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona H-Lys-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe(4-Ph)-Lys-Lys-Leu-Gln-OH amb un 70% de puresa.

$t_{\text{R}} = 15.25$  (70%, Mètode A). **ESI-MS**  $m/z$ : 1364.7  $[\text{M}+\text{H}]^+$ . **HRMS (ESI)**  $m/z$ : Calculat per a  $\text{C}_{68}\text{H}_{120}\text{N}_{17}\text{O}_{12}$  455.6429, experimental 455.6446; calculat per a  $\text{C}_{68}\text{H}_{119}\text{N}_{17}\text{O}_{12}$  682.9607, experimental 682.9617.

### 8.6.6.4. Peptid BPC454



Es parteix de la resina **60** (170 mg) i s'elimina el grup Trt per mitjà d'un tractament àcid amb TFA/ $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0.2:1:98.8) (0.2:1:98.8, 2x1 min, 1x20 min), i es renta amb DMF (3x1 min), DIEA/DCM (1:19) (3x1 min) i NMP (3x1 min). A continuació es tracta amb oxima (5 eq), COMU (5 eq) i DIEA (10 eq), en NMP (4 mL) a temperatura ambient durant 24 h i es renta amb NMP (6x1 min) i  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (6x1 min). El desancorament d'una alíquota de la resina resultant proporciona c(Lys-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe(4-Ph)-Lys-Lys-Leu-Gln) (BPC454).

$t_R = 15.95$  min (Mètode A). **ESI-MS**  $m/z$ : 1346.7  $[M+H]^+$ , 1368.7  $[M+Na]^+$ . **HRMS (ESI)**  $m/z$ : Calculat per a  $C_{68}H_{118}N_{17}O_{11}$  449.6393, experimental 449.6411; calculat per a  $C_{68}H_{117}N_{17}O_{11}$  673.9554, experimental 673.9552.

## 8.7. Proves biològiques

Les proves biològiques es varen realitzar al Centre d'Innovació i Desenvolupament en Sanitat Vegetal (CIDSAV) per la Dra Esther Badosa.

### 8.7.1. Soques bacterianes i condicions de creixement

Com a patògens vegetals s'utilitzen les soques bacterianes *Erwinia amylovora* PMV6076, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* EPS94 i *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* 2133-2. Tots els bacteris es troben emmagatzemats en medi de cultiu líquid Luria Bertani (LB) suplementat amb glicerol (20%) a  $-80$  °C. Les soques bacterianes s'incuben en plaques d'agar LB a  $25$  °C, durant 24 h en el cas d'*E. amylovora* i *P. syringae*, i durant 48 h en el cas de *X. vesicatoria*. A continuació, el material cel·lular s'extreu de les plaques i s'utilitza per preparar una suspensió de  $10^8$  CFU  $ml^{-1}$  en aigua estèril.

### 8.7.2. Determinació de l'activitat antimicrobiana

A partir de cadascun dels pèptids liofilitzats es preparen solucions de concentració  $1000$   $\mu M$  utilitzant aigua Milli-Q estèril i es filtren a  $0.22$   $\mu M$ . Cadascuna d'aquestes solucions s'utilitza per preparar dilucions de concentració 1.56, 3.125, 6.25, 12.5, 25 i  $50\mu M$ . A continuació, a cada pou d'una microplaca es barregen  $20$   $\mu L$  de la suspensió corresponent de l'indicador bacterià a  $10^8$  CFU  $ml^{-1}$ ,  $20$   $\mu L$  de la dissolució corresponent de pèptid i  $160$   $\mu L$  de brou de tripticasa de soja (TSB) (BioMèrieux, França) fins a un volum total de  $200$   $\mu L$ . Es realitzen tres replicats per cada soca bacteriana, pèptid i concentració. També es realitzen controls positius contenint aigua enlloc de pèptid i controls negatius contenint pèptid sense suspensió bacteriana.

La concentració mínima inhibidora (CMI) es determina com la mínima concentració de pèptid en què no hi ha creixement al final de l'experiment. El creixement bacterià es determina automàticament mitjançant mesures de densitat òptica a  $600$  nm (Bioscreen C, LabSystem, Finlàndia). Les microplaques s'incuben a  $25$  °C i es realitzen mesures d'absorbància cada hora durant 48 h. Les mostres s'agiten durant 20 segons, abans de cada mesura. Cada experiment es repeteix dues vegades.

### 8.7.3. Determinació de l'activitat hemolítica

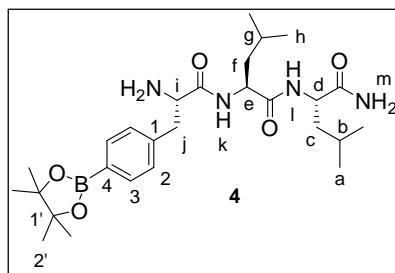
L'activitat hemolítica dels pèptids s'avalua mitjançant la determinació de l'hemoglobina alliberada de suspensions d'eritròcits de sang humana fresca (5%, vol/vol). La sang es recull de manera asèptica utilitzant un BD vacutainer K2E System amb EDTA (Belliver Industrial State, Plymouth, U.K.) i s'emmagatzema durant menys de 2 h a 4 °C. La sang se centrifuga a 6000 × g durant 5 min, es renta tres vegades amb tampó TRIS (10 mM TRIS, 150 mM NaCl, pH 7.2) i es dilueix deu vegades amb el mateix tampó.

Es preparen dissolucions de concentració 500 μM dels pèptids corresponents en tampó TRIS. En una placa de 96 pous es barregen 65 μL de cada dissolució de pèptid i 65 μL d'eritròcits de sang humana (concentració final de 250 μM) i s'incuba sota agitació contínua durant 1 h a 37 °C. A continuació, les plaques se centrifuguen a 3500 g durant 10 min. Tot seguit, es transfereixen 80 μL del sobrenedant a microplaques de 100 pous i es dilueix amb 80 μL d'aigua destil·lada estèril. Es realitzen tres replicats per cada pèptid.

L'hemòlisi es mesura com l'absorbància a 540 nm amb un lector de microplaques. Com a control positiu de 100% d'hemòlisi s'utilitza una dissolució de melitina en tampó TRIS a una concentració de 200 μM (Sigma-Aldrich Corporation, Spain). El percentatge d'hemòlisi (*H*) es calcula utilitzant l'equació:  $H = 100 \times [(Op - Ob)/(Om - Ob)]$ , on *Op* és la densitat d'una concentració de pèptid donada, *Ob* la densitat del tampó i *Om* la densitat del control positiu de melitina.

### 8.8. Dades espectroscòpiques dels pèptids sintetitzats

L'elucidació estructural dels pèptids sintetitzats es va realitzar mitjançant espectrometria de masses i experiments de <sup>1</sup>H- i <sup>13</sup>C-RMN. Per tal d'assignar correctament tots els senyals de protó i carboni, es varen realitzar experiments de RMN de correlació <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H (2D-COSY), <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C (HSQC) i <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C a llarga distància (HMBC). A continuació, es mostra la caracterització d'aquests compostos. Els corresponents espectres es troben a l'annex inclòs en el CD que acompanya aquesta tesi doctoral. Aquest CD també conté els cromatogrames d'HPLC i les anàlisis d'IR i espectrometria de masses.

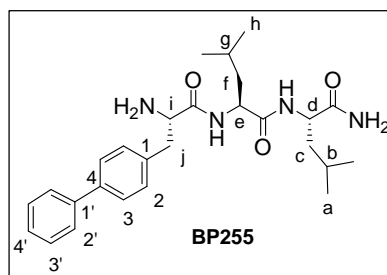


Àtom	$^1\text{H-RMN}$ $\delta$ (ppm) <sup>a,b</sup>	$^{13}\text{C-RMN}$ $\delta$ (ppm)	COSY $^1\text{H} \rightarrow ^1\text{H}$	HSQC $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$
CH <sub>3</sub> (a,h)	0.85–0.94 (m)	21.85, 23.17	H (b,g)	C (a,h)
CH (b,g)	1.55–1.65 (m)	25.24, 25.49	H (a,h)	C (b,g)
CH <sub>2</sub> (c,f)				
CH (d,e,i)	4.31–4.35 (m)	52.44, 53.36, 55.29	H (c,f,j,k,l)	C (d,e,i)
CH <sub>2</sub> (j)	3.09–3.11 (m)	37.72	H (i)	C (j)
	3.26–3.29 (m)		H (j)	
NH (k,l)	7.24 (d, 8.0) 7.97 (d, 8.0)	-	H (d,e)	-
NH <sub>2</sub> (m)	5.90 (s)	-	-	-
	6.64 (s)			
C <sub>arom</sub> (1)	-	138.59	-	-
CH <sub>arom</sub> (2)	7.28 (d, 7.0)	130.08	H <sub>arom</sub> (3)	C <sub>arom</sub> (2)
CH <sub>arom</sub> (3)	7.65 (d, 7.0)	135.81	H <sub>arom</sub> (2)	C <sub>arom</sub> (3)
C <sub>arom</sub> (4)	-	129.72	-	-
C <sub>BPin</sub> (1')	-	84.76	-	-
CH <sub>3</sub> (2')	1.31 (s)	25.09	-	C (2')
CO	-	169.46, 172.66, 175.42	-	-

<sup>a</sup>Entre parèntesi s'indica la multiplicitat i la constant d'acoblament en Hz.

<sup>b</sup>Espectres enregistrats en CD<sub>3</sub>CN.



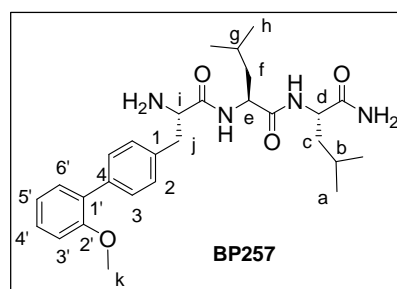


Àtom	$^1\text{H-RMN}$ $\delta$ (ppm) <sup>a,b</sup>	$^{13}\text{C-RMN}$ $\delta$ (ppm)	HSQC $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$
CH <sub>3</sub> (a,h)	0.87–0.92 (m)	21.60, 21.63, 23.03, 23.09	C (a,h)
CH (b,g)	1.52–1.64 (m)	25.12, 25.32	C (b,g)
CH <sub>2</sub> (c,f)		41.21, 41.29	C (c,f)
CH (d,e,i)	4.23–4.34 (m)	52.12, 53.25, 54.97	C (d,e,i)
CH <sub>2</sub> (j)	3.11 (dd, 7.6 i 14.4) 3.30 (dd, 6.0 i 14.4)	36.81	C (j)
C <sub>arom</sub> (1) C <sub>arom</sub> (1')	-	140.90, 140.97	-
CH <sub>arom</sub> (2)	7.35–7.39 (m)	130.96	C <sub>arom</sub> (2)
CH <sub>arom</sub> (4')		128.33	C <sub>arom</sub> (4')
CH <sub>arom</sub> (3)	7.61 (d, 8.2)	127.56, 128.09 <sup>c</sup>	C <sub>arom</sub> (3)
CH <sub>arom</sub> (2')	7.64 (dt, 1.2 i 7.4)		C <sub>arom</sub> (2')
C <sub>arom</sub> (4)	-	134.08	-
CH <sub>arom</sub> (3')	7.46 (t, 7.4)	129.72	C <sub>arom</sub> (3')
CO	-	168.54, 172.61, 175.48	-

<sup>a</sup>Entre parèntesi s'indica la multiplicitat i la constant d'acoblament en Hz.

<sup>b</sup>Espectres enregistrats en CD<sub>3</sub>CN i D<sub>2</sub>O.

<sup>c</sup>Els carbonis no s'han pogut assignar.

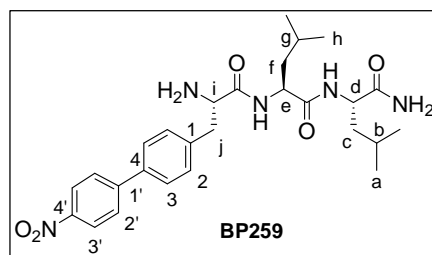


Àtom	$^1\text{H-RMN}$ $\delta$ (ppm) <sup>a,b</sup>	$^{13}\text{C-RMN}$ $\delta$ (ppm)	HSQC $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$
CH <sub>3</sub> (a,h)	0.86–0.92 (m)	21.66, 22.91	C (a,h)
CH (b,g)	1.51–1.66 (m)	25.14, 25.33	C (b,g)
CH <sub>2</sub> (c,f)		41.26, 41.34	C (c,f)
CH (d,e,i)	4.30–4.39 (m)	52.21, 53.25, 55.03	C (d,e,i)
CH <sub>2</sub> (j)	3.07–3.15 (m) 3.32 (dd, 3.6 i 12.4)	36.91	C (j)
CH <sub>3</sub> (k)	3.78 (s)	55.91	C (k)
C <sub>arom</sub> (1)	-	138.71	-
CH <sub>arom</sub> (2)	7.30 (d, 8.0)	130.64	C <sub>arom</sub> (2)
CH <sub>arom</sub> (4')	7.30 (td, 1.7 i 8.0)	129.77	C <sub>arom</sub> (4')
CH <sub>arom</sub> (3)	7.47 (d, 8.0)	130.06	C <sub>arom</sub> (3)
C <sub>arom</sub> (4)	-	133.55	-
C <sub>arom</sub> (1')	-	130.46	-
C <sub>arom</sub> (2')	-	157.19	-
CH <sub>arom</sub> (6')	7.35 (dd, 1.7 i 8.0)	131.31	C <sub>arom</sub> (6')
CH <sub>arom</sub> (3')	7.08 (dd, 0.8 i 8.0)	112.34	C <sub>arom</sub> (3')
CH <sub>arom</sub> (5')	7.03 (td, 0.8 i 8.0)	121.61	C <sub>arom</sub> (5')
CO	-	168.57, 172.59, 175.44	-

<sup>a</sup>Entre parèntesi s'indica la multiplicitat i la constant d'acoblament en Hz.

<sup>b</sup>Espectres enregistrats en CD<sub>3</sub>CN i D<sub>2</sub>O.

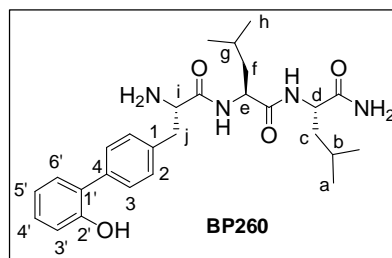
## 8. Procediment experimental



Àtom	<sup>1</sup> H-RMN δ (ppm) <sup>a,b</sup>	<sup>13</sup> C-RMN δ (ppm)	COSY <sup>1</sup> H→ <sup>1</sup> H	HSQC <sup>1</sup> H→ <sup>13</sup> C	HMBC <sup>1</sup> H→ <sup>13</sup> C
CH <sub>3</sub> (a,h)	0.81–0.88 (m)	21.87, 21.89, 23.28, 23.34	H (b,g)	C (a,h)	C (a,h) C (b,g) C (c,f)
CH (b,g)		25.37, 25.57	H (a,h)	C (b,g)	C (a,h) C (c,f)
CH <sub>2</sub> (c,f)	1.49–1.58 (m)	41.35, 41.48	H (d,e)	C (c,f)	C (a,h) C (b,g) C (d,e)
CH (d,e,i)	4.23–4.31 (m)	52.41, 53.49, 55.11	H (c,f,j)	C (d,e,i)	C (c,f) CO
CH <sub>2</sub> (j)	3.09–3.14 (m) 3.28–3.33 (m)	37.30	H (i) H (j)	C (j)	-
C <sub>arom</sub> (1)	-	138.75	-	-	-
CH <sub>arom</sub> (2)	7.39 (d, 7.8)	131.49	H <sub>arom</sub> (3)	C <sub>arom</sub> (2)	C (j) C <sub>arom</sub> (2) C <sub>arom</sub> (1)
CH <sub>arom</sub> (3)	7.65 (d, 7.8)		H <sub>arom</sub> (2)	C <sub>arom</sub> (3)	C <sub>arom</sub> (3) C <sub>arom</sub> (4) C <sub>arom</sub> (1')
		128.85			
CH <sub>arom</sub> (2')	7.82 (d, 8.8)		H <sub>arom</sub> (3')	C <sub>arom</sub> (2')	C <sub>arom</sub> (2') C <sub>arom</sub> (3') C <sub>arom</sub> (1')
C <sub>arom</sub> (4)	-	136.30	-	-	-
C <sub>arom</sub> (1')	-	147.72	-	-	-
CH <sub>arom</sub> (3')	8.25 (d, 8.8)	125.12	H <sub>arom</sub> (2')	C <sub>arom</sub> (3')	C <sub>arom</sub> (3') C <sub>arom</sub> (1') C <sub>arom</sub> (4')
C <sub>arom</sub> (4')	-	148.30	-	-	-
CO	-	169.38, 172.92, 175.86	-	-	-

<sup>a</sup>Entre parèntesi s'indica la multiplicitat i la constant d'acoblament en Hz.

<sup>b</sup>Espectres enregistrats en CD<sub>3</sub>CN i D<sub>2</sub>O.

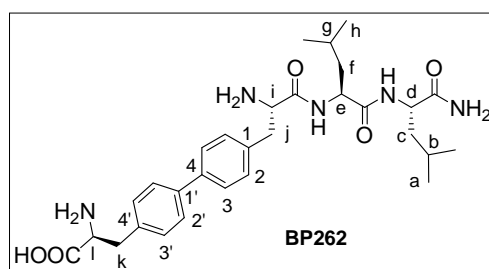


Àtom	$^1\text{H-RMN}$ $\delta$ (ppm) <sup>a,b</sup>	$^{13}\text{C-RMN}$ $\delta$ (ppm)	HSQC $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$
CH <sub>3</sub> (a,h)	0.83–0.91 (m)	21.88, 23.25	C (a,h)
CH (b,g)	1.49–1.60 (m)	25.32, 25.54	C (b,g)
CH <sub>2</sub> (c,f)		41.41	C (c,f)
CH (d,e,i)	4.16–4.35 (m)	52.37, 53.20, 55.21	C (d,e,i)
CH <sub>2</sub> (j)	3.09 (dd, 7.8 i 14.1) 3.21–3.28 (m)	37.27	C (j)
C <sub>arom</sub> (1)	-	138.97	-
CH <sub>arom</sub> (2) CH <sub>arom</sub> (6')	7.17–7.35 (m)	129.90, 130.41, 130.79,	C <sub>arom</sub> (2) C <sub>arom</sub> (6')
CH <sub>arom</sub> (3)			7.49 (d, 8.1)
C <sub>arom</sub> (1')	-		-
C <sub>arom</sub> (4)	-	133.65	-
C <sub>arom</sub> (2')	-	154.69	-
CH <sub>arom</sub> (3')	6.91–6.95 (m)	117.13	C <sub>arom</sub> (3')
CH <sub>arom</sub> (5')		121.18	C <sub>arom</sub> (5')
CH <sub>arom</sub> (4')	7.17–7.35 (m)	128.27	-
CO	-	168.72, 172.96, 180.39	-

<sup>a</sup>Entre parèntesi s'indica la multiplicitat i la constant d'acoblament en Hz.

<sup>b</sup>Espectres enregistrats en CD<sub>3</sub>CN i D<sub>2</sub>O.

<sup>c</sup>Els carbonis no s'han pogut assignar.

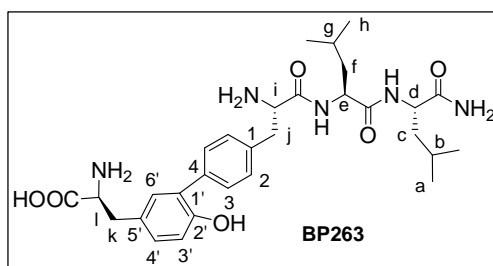


Àtom	<sup>1</sup> H-RMN δ (ppm) <sup>a,b</sup>	<sup>13</sup> C-RMN δ (ppm)	COSY <sup>1</sup> H→ <sup>1</sup> H	HSQC <sup>1</sup> H→ <sup>13</sup> C	HMBC <sup>1</sup> H→ <sup>13</sup> C
CH <sub>3</sub> (a,h)	0.84-0.90 (m)	21.90, 23.25, 23.33	H (b,g)	C (a,h)	C (a,h) C (b,g) C (c,f)
CH (b,g)		25.33, 25.56	H (a,h)	C (b,g)	C (a,h) C (c,f)
CH <sub>2</sub> (c,f)	1.50-1.60 (m)	41.23, 41.36	H (d,e)	C (c,f)	C (a,h) C (b,g) C (d,e)
CH (d,e)		52.56, 53.44	H (c,f)	C (d,e)	C (c,f) CO <sub>Leu</sub>
CH (i,l)	4.17-4.32 (m) <sup>c</sup>	55.06	H (j,k)	C (i,l)	C (j,k) C <sub>arom</sub> (1) C <sub>arom</sub> (4') CO <sub>Phe</sub>
CH <sub>2</sub> (j,k)	3.16-3.32 (m)	36.28, 37.16	H (i,l)	C (j,k)	C (i,l) C <sub>arom</sub> (1) C <sub>arom</sub> (4') C <sub>arom</sub> (2) C <sub>arom</sub> (3')
C <sub>arom</sub> (1) C <sub>arom</sub> (4')	-	134.43, 134.83 <sup>c</sup>	-	-	-
CH <sub>arom</sub> (2) CH <sub>arom</sub> (3')	7.33-7.37 (m)	131.15, 131.22	CH <sub>arom</sub> (3) CH <sub>arom</sub> (2')	C <sub>arom</sub> (2) C <sub>arom</sub> (3')	C (j,k) C <sub>arom</sub> (2) C <sub>arom</sub> (3') C <sub>arom</sub> (1') C <sub>arom</sub> (4)
CH <sub>arom</sub> (3) CH <sub>arom</sub> (2')	7.60-7.64 (m)	128.28	CH <sub>arom</sub> (2) CH <sub>arom</sub> (3')	C <sub>arom</sub> (3) C <sub>arom</sub> (2')	C <sub>arom</sub> (3) C <sub>arom</sub> (2') C <sub>arom</sub> (1) C <sub>arom</sub> (4') C <sub>arom</sub> (1') C <sub>arom</sub> (4)
C <sub>arom</sub> (4) C <sub>arom</sub> (1')	-	140.48	-	-	-
CO <sub>Phe</sub>	-	168.95	-	-	-
CO <sub>Leu</sub>	-	173.19, 176.31	-	-	-

<sup>a</sup>Entre parèntesi s'indica la multiplicitat i la constant d'acoblament en Hz.

<sup>b</sup>Espectres enregistrats en CD<sub>3</sub>CN i D<sub>2</sub>O.

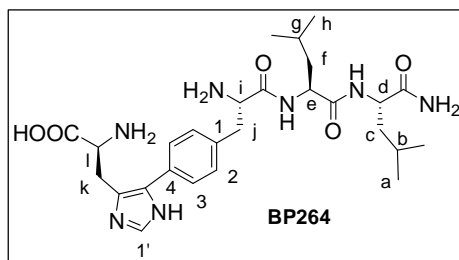
<sup>c</sup>Els carbonis no s'han pogut assignar.



Àtom	<sup>1</sup> H-RMN δ (ppm) <sup>a,b</sup>	<sup>13</sup> C-RMN δ (ppm)	COSY <sup>1</sup> H→ <sup>1</sup> H	HSQC <sup>1</sup> H→ <sup>13</sup> C	HMBC <sup>1</sup> H→ <sup>13</sup> C
CH <sub>3</sub> (a,h)	0.94-0.98 (m)	21.91, 21.98, 23.32, 23.40	H (b,g)	C (a,h)	C (a,h) C (b,g) C (c,f)
CH (b,g)		25.73, 25.84	H (a,h)	C (b,g)	C (a,h) C (c,f)
CH <sub>2</sub> (c,f)	1.57-1.73 (m)	41.81, 42.06	H (d,e)	C (c,f)	C (a,h) C (b,g) C (d,e)
CH (d,e)	4.39-4.51 (m)	53.31	H (c,f)	C (d,e)	C (b,g) C (c,f) CO
CH (i,l)	4.04-4.27 (m)	55.45	H (j,k)	C (i,l)	C (j,k) CO
CH <sub>2</sub> (j,k)	2.99-3.30 (m)	38.21	H (j,k) H (i,l)	C (j,k)	C (i,l) C <sub>arom</sub> (2) C <sub>arom</sub> (1)
C <sub>arom</sub> (1)	-	133.98	-	-	-
CH <sub>arom</sub> (2)	7.33 (d, 7.8)	130.21	C <sub>arom</sub> (3)	C <sub>arom</sub> (2)	C <sub>arom</sub> (2) C <sub>arom</sub> (3) C <sub>arom</sub> (4)
CH <sub>arom</sub> (3)	7.56 (d, 7.8)	131.07	C <sub>arom</sub> (2)	C <sub>arom</sub> (3)	C <sub>arom</sub> (1') C <sub>arom</sub> (3) C <sub>arom</sub> (1)
C <sub>arom</sub> (4)	-	139.39	-	-	-
C <sub>arom</sub> (1')	-	129.74	-	-	-
C <sub>arom</sub> (2')	-	155.07	-	-	-
CH <sub>arom</sub> (3')	6.90 (d, 7.8)	117.38	C <sub>arom</sub> (4')	C <sub>arom</sub> (3')	C <sub>arom</sub> (1') C <sub>arom</sub> (5')
CH <sub>arom</sub> (4')	7.10 (d, 7.8)	130.68	C <sub>arom</sub> (3')	C <sub>arom</sub> (4')	C <sub>arom</sub> (6') C <sub>arom</sub> (2')
C <sub>arom</sub> (5')	-	126.88	-	-	-
CH <sub>arom</sub> (6')	7.21 (s)	132.53	-	C <sub>arom</sub> (6')	C <sub>arom</sub> (4') C <sub>arom</sub> (4) C <sub>arom</sub> (2')
CO	-	169.58, 174.04	-	-	-

<sup>a</sup>Entre parèntesi s'indica la multiplicitat i la constant d'acoblament en Hz.

<sup>b</sup>Espectres enregistrats en CD<sub>3</sub>OD.

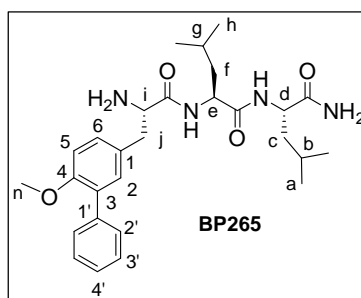


Àtom	$^1\text{H-RMN}$ $\delta$ (ppm) <sup>a,b</sup>	$^{13}\text{C-RMN}$ $\delta$ (ppm)	COSY $^1\text{H} \rightarrow ^1\text{H}$	HSQC $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$
$\text{CH}_3$ (a,h)	0.94-0.99 (m)	23.30, 23.39, 23.49	H (b,g)	C (a,h)
$\text{CH}_2$ (c,f)	1.57-1.73 (m)	41.68, 41.89	H (d,e)	C (c,f)
CH (b,g)		25.74, 25.94 <sup>c</sup>	H (a,h)	C (b,g)
$\text{CH}_2$ (k)	3.43-3.48 (m)		H (l)	C (k)
CH (d,e)	4.34 (dd, 5.2 i 9.6) 4.47 (m)	53.40	H (c,f)	C (d,e)
CH (i)	4.14-4.17 (m)	55.28	H (j)	C (i)
CH (l)	4.03-4.09 (m)		H (k)	C (l)
$\text{CH}_2$ (j)	3.08-3.13 (m) 3.27-3.35 (m)	38.35	H(j) H (i)	C (j)
$\text{CH}_{\text{arom}}$ (2)	7.44 (d, 7.6)	131.58	$\text{C}_{\text{arom}}$ (3)	$\text{C}_{\text{arom}}$ (2)
$\text{CH}_{\text{arom}}$ (3)	7.54 (d, 7.6)	129.76	$\text{CH}_{\text{arom}}$ (2)	$\text{C}_{\text{arom}}$ (3)
$\text{CH}_{\text{imid}}$ (1')	7.58 (s)	-	-	-
NH	8.74 (sa)	-	-	-
CO	-	169.41, 174.01	-	-

<sup>a</sup>Entre parèntesi s'indica la multiplicitat i la constant d'acoblament en Hz.

<sup>b</sup>Espectres enregistrats en  $\text{CD}_3\text{OD}$ .

<sup>c</sup>Els carbonis no s'han pogut assignar.



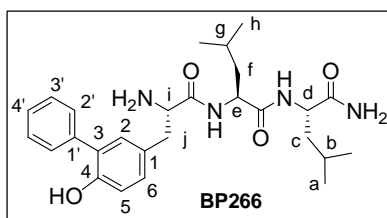
Àtom	<sup>1</sup> H-RMN δ (ppm) <sup>a,b</sup>	<sup>13</sup> C-RMN δ (ppm)	COSY <sup>1</sup> H→ <sup>1</sup> H	HSQC <sup>1</sup> H→ <sup>13</sup> C
CH <sub>3</sub> (a,h)	0.92-0.99 (m)	21.95, 22.08, 23.44, 23.49	H (b,g)	C (a,h)
CH (b,g)	1.53-1.75 (m)	25.86, 25.91	H (a,h)	C (b,g)
CH <sub>2</sub> (c,f)				
CH (d,e)	4.41 (dd, 5.2 i 9.6) 4.48 (dd, 6.4 i 8.4)	52.76, 53.36	H (c,f)	C (d,e)
CH (i)	4.12 (dd, 4.4 i 9.2)	55.73	H (j)	C (i)
CH <sub>2</sub> (j)	2.95 (dd, 9.2 i 14.4) 3.25-3.34 (m)	37.92	H (j) H (i)	C (j)
CH <sub>3</sub> (n)	3.80 (s)	56.13	-	C (n)
C <sub>arom</sub> (1)	-	127.63	-	-
CH <sub>arom</sub> (2)	7.28-7.32 (m)	132.83	-	C <sub>arom</sub> (2)
CH <sub>arom</sub> (4')		128.04	H <sub>arom</sub> (3')	C <sub>arom</sub> (4')
C <sub>arom</sub> (3)	-	132.65	-	-
C <sub>arom</sub> (4)	-	157.65	-	-
CH <sub>arom</sub> (5)	7.06 (d, 8.2)	113.18	H <sub>arom</sub> (6)	C <sub>arom</sub> (5)
CH <sub>arom</sub> (6)	7.26 (dd, 2.4 i 8.2)	130.76	H <sub>arom</sub> (5)	C <sub>arom</sub> (6)
C <sub>arom</sub> (1')	-	139.74	-	-
CH <sub>arom</sub> (2')	7.51 (dt, 1.6 i 8.4)	130.58	H <sub>arom</sub> (3')	C <sub>arom</sub> (2')
CH <sub>arom</sub> (3')	7.38 (t, 8)	128.94	H <sub>arom</sub> (2') H <sub>arom</sub> (4')	C <sub>arom</sub> (3')
CO <sub>Tyr</sub>	-	169.77	-	-
CO <sub>Leu</sub>	-	174.12, 177.20	-	-

<sup>a</sup>Entre parèntesi s'indica la multiplicitat i la constant d'acoblament en Hz.

<sup>b</sup>Espectres enregistrats en CD<sub>3</sub>OD.



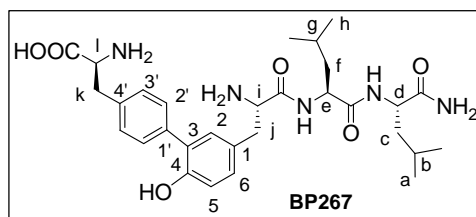
## 8. Procediment experimental



Àtom	<sup>1</sup> H-RMN δ (ppm) <sup>a,b</sup>	<sup>13</sup> C-RMN δ (ppm)	COSY <sup>1</sup> H→ <sup>1</sup> H	HSQC <sup>1</sup> H→ <sup>13</sup> C	HMBC <sup>1</sup> H→ <sup>13</sup> C
CH <sub>3</sub> (a,h)	0.92-0.99 (m)	21.96, 22.06, 23.42, 23.47	H (b,g)	C (a,h)	C (a,h) C (b,g) C (c,f)
CH (b,g)		25.85, 25.91	H (a,h)	C (b,g)	C (a,h) C (c,f)
CH <sub>2</sub> (c,f)	1.53-1.74 (m)	41.88, 42.21	H (d,e)	C (c,f)	C (a,h) C (b,g) C (d,e) CO
CH (d,e)	4.41 (dd, 5.6 i 10.0) 4.48 (dd, 6.4 i 9.2)	52.79, 53.41	H (c,f)	C (d,e)	C (b,g) C (c,f) CO
CH (i)	4.08 (dd, 4.4 i 9.2)	55.79	H (j)	C (i)	C (j) C <sub>arom</sub> (1) CO
CH <sub>2</sub> (j)	2.88-2.94 (m) 3.25-3.34 (m)	37.97	H (j) H (i)	C (j)	C(i) C <sub>arom</sub> (1) C <sub>arom</sub> (2) C <sub>arom</sub> (6)
C <sub>arom</sub> (1)	-	126.51	-	-	-
CH <sub>arom</sub> (2)	7.26 (d, 2.2)	132.83	H <sub>arom</sub> (6)	C <sub>arom</sub> (2)	C <sub>arom</sub> (4) C <sub>arom</sub> (6) C <sub>arom</sub> (1')
C <sub>arom</sub> (3)	-	130.54	-	-	-
C <sub>arom</sub> (4)	-	155.24	-	-	-
CH <sub>arom</sub> (5)	6.90 (d, 8.2)	117.68	H <sub>arom</sub> (6)	C <sub>arom</sub> (5)	C <sub>arom</sub> (1) C <sub>arom</sub> (4) C <sub>arom</sub> (6)
CH <sub>arom</sub> -6	7.10 (dd, 2.2 i 8.2)	130.48	H <sub>arom</sub> (5) H <sub>arom</sub> (2)	C <sub>arom</sub> (6)	C <sub>arom</sub> (2) C <sub>arom</sub> (4) C <sub>arom</sub> (5)
C <sub>arom</sub> (1')	-	139.86	-	-	-
CH <sub>arom</sub> (2')	7.58 (dt, 1.4 i 8.4)	130.42	H <sub>arom</sub> (3')	C <sub>arom</sub> (2')	C <sub>arom</sub> (2') C <sub>arom</sub> (3') C <sub>arom</sub> (4')
CH <sub>arom</sub> (3')	7.39 (t, 8.4)	129.02	H <sub>arom</sub> (2') H <sub>arom</sub> (4')	C <sub>arom</sub> (3')	C <sub>arom</sub> (1') C <sub>arom</sub> (2') C <sub>arom</sub> (3')
CH <sub>arom</sub> (4')	7.29 (tt, 1.4 i 8.4)	127.89	H <sub>arom</sub> (2') H <sub>arom</sub> (3')	C <sub>arom</sub> (4')	C <sub>arom</sub> (2')
CO <sub>Tyr</sub>	-	169.88	-	-	-
CO <sub>Leu</sub>	-	174.10, 177.21	-	-	-

<sup>a</sup>Entre parèntesi s'indica la multiplicitat i la constant d'acoblament en Hz.

<sup>b</sup>Espectres enregistrats en CD<sub>3</sub>OD.

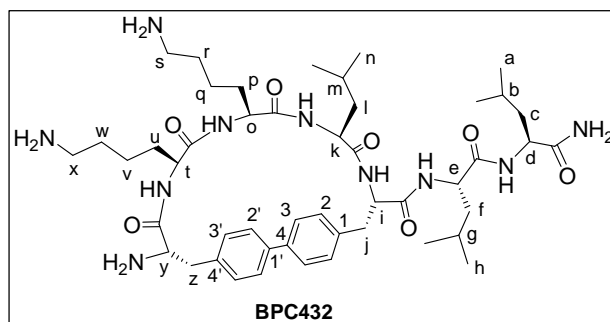


Àtom	$^1\text{H-RMN}$ $\delta$ (ppm) <sup>a,b</sup>	$^{13}\text{C-RMN}$ $\delta$ (ppm)	COSY $^1\text{H} \rightarrow ^1\text{H}$	HSQC $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$	HMBC $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$
CH <sub>3</sub> (a,h)	0.89-0.95 (m)	20.51, 20.59, 21.97, 22.06	H (b,g)	C (a,h)	C (a,h) C (b,g) C (c,f)
CH (b,g)		24.40, 24.48	H (a,h)	C (b,g)	C (a,h) C (c,f)
CH <sub>2</sub> (c,f)	1.54-1.70 (m)	40.40, 40.73	H (d,e)	C (c,f)	C (a,h) C (b,g) C (d,e) CO
CH (d,e)	4.34-4.45 (m)	52.08	H (c,f)	C (d,e)	C (b,g) C (c,f) CO
CH (i,l)	4.01-4.11 (m)	54.25	H (j,k)	C (i,l)	CO
CH <sub>2</sub> (j,k)	2.80-2.93 (m) 3.13-3.19 (m) 3.19-3.30 (m)	35.87, 36.46	H (j,k) H (i,l)	C (j,k)	C (i,l) C <sub>arom</sub> (1) C <sub>arom</sub> (4')
C <sub>arom</sub> (1)	-	125.17	-	-	-
CH <sub>arom</sub> (2)	7.22 (d, 1.6)	131.24	-	C <sub>arom</sub> (2)	C (j) C <sub>arom</sub> (4) C <sub>arom</sub> -(1')
C <sub>arom</sub> (3)	-	128.42	-	-	-
C <sub>arom</sub> (4)	-	153.80	-	-	-
CH <sub>arom</sub> (5)	6.86 (d, 8.0)	116.12	C <sub>arom</sub> (6)	C <sub>arom</sub> (5)	C <sub>arom</sub> (1) C <sub>arom</sub> (3) C <sub>arom</sub> (4)
CH <sub>arom</sub> (6)	7.06-7.09 (m)	130.22	C <sub>arom</sub> (5)	C <sub>arom</sub> (6)	C (j) C <sub>arom</sub> (2) C <sub>arom</sub> (4)
C <sub>arom</sub> (1')	-	138.05	-	-	-
CH <sub>arom</sub> (2')	7.57 (d, 8.0)	129.74	C <sub>arom</sub> (3')	C <sub>arom</sub> (2')	C <sub>arom</sub> (3) C <sub>arom</sub> (2')
CH <sub>arom</sub> (3')	7.31 (d, 8.0)	128.75	C <sub>arom</sub> (2')	C <sub>arom</sub> (3')	C (k) C <sub>arom</sub> (1') C <sub>arom</sub> (3')
C <sub>arom</sub> (4')	-	129.33	-	-	-
CO	-	168.49, 170.30, 173.04	-	-	-

<sup>a</sup>Entre parèntesi s'indica la multiplicitat i la constant d'acoblament en Hz.

<sup>b</sup>Espectres enregistrats en CD<sub>3</sub>OD.

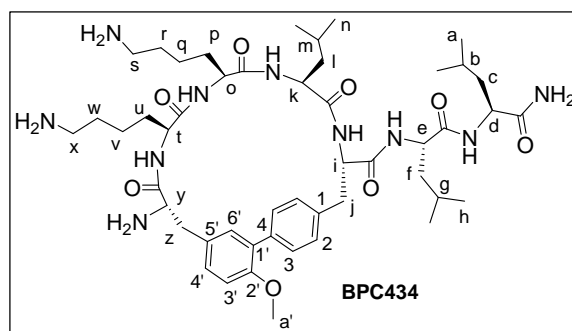




Àtom	<sup>1</sup> H-RMN δ (ppm) <sup>a,b</sup>	COSY <sup>1</sup> H→ <sup>1</sup> H
CH <sub>3</sub> (a,h,n)	0.93-0.98 (m)	H (b,g,m)
CH (b,g,m)		H (a,h,n)
CH <sub>2</sub> (c,f,l)		H (d,e,k)
CH <sub>2</sub> (p,u)	1.20-1.74 (m)	H (o,t)
CH <sub>2</sub> (q,v)		H (s,x)
CH <sub>2</sub> (r,w)		
CH (d,e,k)	4.34-4.46 (m)	H (c,f,l)
CH (o,t)		H (p,u)
CH (i,y)	4.05-4.11 (m) 4.69-4.72 (m)	H (j,z)
CH <sub>2</sub> (j,z)	3.25-3.33 (m) 2.84-2.93 (m)	H (i,y)
CH <sub>2</sub> (s,x)	2.84-2.93 (m)	H (r,w)
CH <sub>arom</sub> (2)	7.29 (d, 8.0)	H <sub>arom</sub> (3)
CH <sub>arom</sub> (3')		H <sub>arom</sub> (2')
CH <sub>arom</sub> (3)	7.67 (d, 8.0)	H <sub>arom</sub> (2)
CH <sub>arom</sub> (2')		H <sub>arom</sub> (3')

<sup>a</sup>Entre parèntesi s'indica la multiplicitat i la constant d'acoblament en Hz.

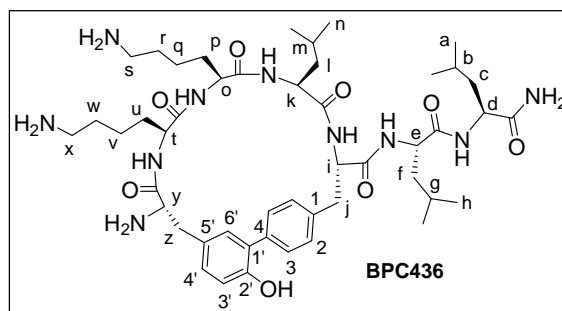
<sup>b</sup>Espectres enregistrats en CD<sub>3</sub>OD.



Àtom	<sup>1</sup> H-RMN δ (ppm) <sup>a,b</sup>	COSY <sup>1</sup> H→ <sup>1</sup> H
CH <sub>3</sub> (a,h,n)	0.91-0.98 (m)	H (b,g,m)
CH (b,g,m)		H (a,h,n)
CH <sub>2</sub> (c,f,l)		H (d,e,k)
CH <sub>2</sub> (p,u)	1.16-1.71 (m)	H (t,o)
CH <sub>2</sub> (q,v)		H (s,x)
CH <sub>2</sub> (r,w)		
CH (d,e,k)	4.18-4.49 (m)	H (c,f,l)
CH (y)	4.09-4.15 (m)	H (z)
CH (o,t)	4.09-4.15 (m) 4.57-4.64 (m)	H (p,u)
CH (i)	4.57-4.64 (m)	H (j)
CH <sub>2</sub> (s,x)	2.70-2.72 (m) 2.83-2.93 (m)	H (r,w)
CH <sub>2</sub> (j)	2.83-2.93 (m) 3.13-3.19 (m)	H (j) H (i)
CH <sub>2</sub> (z)	3.13-3.19 (m) <sup>f</sup>	H (z) H (y)
CH <sub>3</sub> (a')	3.78 (s)	-
CH <sub>arom</sub> (2)	7.32 (d, 8.2)	H <sub>arom</sub> (3)
CH <sub>arom</sub> (3)	7.49 (d, 8.2)	H <sub>arom</sub> (2)
CH <sub>arom</sub> (3')	7.05 (d, 8.6)	H <sub>arom</sub> (4')
CH <sub>arom</sub> (4')	7.24 (dd, 2.4 i 8.6)	H <sub>arom</sub> (3')
CH <sub>arom</sub> (6')	7.22 (s)	-

<sup>a</sup>Entre parèntesi s'indica la multiplicitat i la constant d'acoblament en Hz.

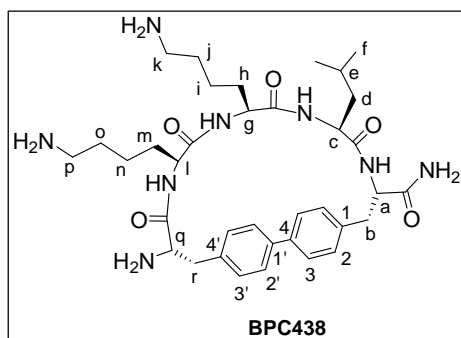
<sup>b</sup>Espectres enregistrats en CD<sub>3</sub>OD.



Àtom	<sup>1</sup> H-RMN δ (ppm) <sup>a,b</sup>	COSY <sup>1</sup> H→ <sup>1</sup> H
CH <sub>3</sub> (a,h,n)	0.87-0.97 (m)	H (b,g,m)
CH (b,g,m)		H (a,h,n)
CH <sub>2</sub> (c,f,l)		H (d,e,k)
CH <sub>2</sub> (p,u)	1.45-1.70 (m)	H (t,o)
CH <sub>2</sub> (q,v)		H (s,x)
CH <sub>2</sub> (r,w)		
CH (d,e,k)	4.27-4.54 (m)	H (c,f,l)
CH (y)	4.07-4.14 (m)	H (z)
CH (o,t)	4.07-4.14 (m) 4.57-4.61 (m)	H (p,u)
CH (i)	4.57-4.61 (m)	H (j)
CH <sub>2</sub> (s,x)	2.66-2.73 (m) 2.81-2.91 (m)	H (r,w)
CH <sub>2</sub> (j)	2.81-2.91 (m) 3.07-3.18 (m)	H (j) H (i)
CH <sub>2</sub> (z)	3.07-3.18 (m)	H (z) H (y)
CH <sub>arom</sub> (2)	7.32 (d, 8.2)	H <sub>arom</sub> (3)
CH <sub>arom</sub> (3)	7.60 (d, 8.2)	H <sub>arom</sub> (2)
CH <sub>arom</sub> (3')	6.88 (d, 8.0)	H <sub>arom</sub> (4')
CH <sub>arom</sub> (4')	7.09 (dd, 2.0 i 8.0)	H <sub>arom</sub> (3')
CH <sub>arom</sub> (6')	7.24-7.25 (m)	-

<sup>a</sup>Entre parèntesi s'indica la multiplicitat i la constant d'acoblament en Hz.

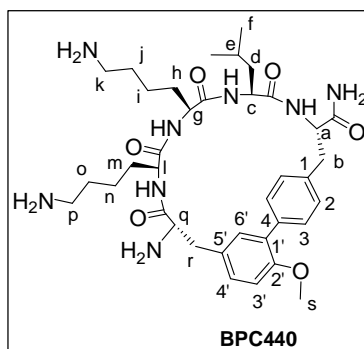
<sup>b</sup>Espectres enregistrats en CD<sub>3</sub>OD.



Àtom	<sup>1</sup> H-RMN δ (ppm) <sup>a,b</sup>	<sup>13</sup> C-RMN δ (ppm)	COSY <sup>1</sup> H→ <sup>1</sup> H	HSQC <sup>1</sup> H→ <sup>13</sup> C
CH (a,q)	4.67-4.72 (m) 4.03 (dd, 5.2 i 12.0)	54.32, 55.77	H (b,r)	C (a,q)
CH <sub>2</sub> (k,p)	2.84-3.02 (m)	40.43	H (j,o)	C (k,p)
CH <sub>2</sub> (b,r)	2.84-3.02 (m) 3.22-3.39 (m)	38.15, 38.69	H (a,q) H (b,r)	C (b,r)
CH (c)	4.348-4.40 (m)	51.94	H (d)	C (c)
CH <sub>2</sub> (d)		41.39	H (c)	C (d)
CH (e)		25.66	H (f)	C (e)
CH <sub>2</sub> (h,m) CH <sub>2</sub> (j,o)	1.20-1.62 (m) <sup>d</sup>	28.24	H (g,l) H (i,n) H (k,p)	C (h,m) C (j,o)
CH <sub>2</sub> (i,n)		21.49	H (h,m) H (j,o)	C (g,l)
CH <sub>3</sub> (f)	0.85-0.90 (m)	23.50, 23.69	H (e)	C (f)
CH (g,l)	4.11-4.14 (m)	54.32	H (h,m)	C (g,l)
CH <sub>arom</sub> (2) CH <sub>arom</sub> (3')	7.26 (d, 8.2)	130.88	H <sub>arom</sub> (3) H <sub>arom</sub> (2')	C <sub>arom</sub> (2) C <sub>arom</sub> (3')
CH <sub>arom</sub> (3) CH <sub>arom</sub> (2')	7.67 (d, 8.2)	127.83, 127.95	H <sub>arom</sub> (2) H <sub>arom</sub> (3')	C <sub>arom</sub> (3) C <sub>arom</sub> (2')
C <sub>arom</sub> (1) C <sub>arom</sub> (4) C <sub>arom</sub> (1') C <sub>arom</sub> (4')	-	131.38, 134.53, 137.56, 140.90	-	-
CO	-	168.81, 175.91	-	-

<sup>a</sup>Entre parèntesi s'indica la multiplicitat i la constant d'acoblament en Hz.

<sup>b</sup>Espectres enregistrats en CD<sub>3</sub>OD.

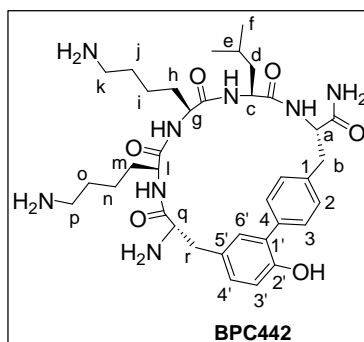


Àtom	$^1\text{H-RMN}$ $\delta$ (ppm) <sup>a,b</sup>	COSY $^1\text{H} \rightarrow ^1\text{H}$
CH (a)	4.59 (dd, 2.8 i 12.0)	H (b)
CH <sub>2</sub> (b)	3.21 (dd, 2.8 i 14.0) 2.83-2.99 (m)	H (b) H (a)
CH <sub>2</sub> (k,p)	2.83-2.99 (m) 2.69-2.76 (m)	H (j,o)
CH (c)	4.33-4.36 (m)	H (d)
CH <sub>2</sub> (d)		H (c)
CH (e)		H (f)
CH <sub>2</sub> (h,m)	1.18-1.61 (m)	H (g,l)
CH <sub>2</sub> (i,n)		H (k,p)
CH <sub>2</sub> (j,o)		
CH <sub>3</sub> (f)	0.92-0.96 (m)	H (e)
CH (g,l)	4.53 (dd, 5.8 i 8.6) 4.06-4.10 (m)	H (h,m)
CH (q)	4.06-4.10 (m)	H (r)
CH <sub>2</sub> (r)	3.14-3.16 (m)	H (q)
CH <sub>3</sub> (s)	3.78 (s)	-
CH <sub>arom</sub> (2)	7.30 (d, 8.2)	H <sub>arom</sub> (3)
CH <sub>arom</sub> (3)	7.48 (d, 8.2)	H <sub>arom</sub> (2)
CH <sub>arom</sub> (3')	7.05 (d, 8.4)	H <sub>arom</sub> (4')
CH <sub>arom</sub> (4')		H <sub>arom</sub> (3')
CH <sub>arom</sub> (6')	7.23-7.26 (m)	

<sup>a</sup>Entre parèntesi s'indica la multiplicitat i la constant d'acoblament en Hz.

<sup>b</sup>Espectres enregistrats en CD<sub>3</sub>OD.





Àtom	<sup>1</sup> H-RMN δ (ppm) <sup>a,b</sup>	COSY <sup>1</sup> H→ <sup>1</sup> H
CH (a)	4.52-4.58 (m)	H (b)
CH (g,l)	4.52-4.58 (m) 4.06-4.10 (m)	H (h,m)
CH (q)	4.06-4.10 (m)	H (r)
CH <sub>2</sub> (b)	3.21 (dd, 2.8 i 14.0) 2.80-2.94 (m)	H (a) H (b)
CH <sub>2</sub> (k,p)	2.80-2.94 (m) 2.61-2.75 (m)	H (j,o)
CH (c)	4.37-4.40 (m)	H (d)
CH <sub>2</sub> (d)		H (c)
CH (e)		H (f)
CH <sub>2</sub> (h,m)	1.18-1.67 (m)	H (g,l)
CH <sub>2</sub> (i,n)		H (k,p)
CH <sub>2</sub> (j,o)		
CH <sub>3</sub> (f)	0.92-0.97 (m)	H (e)
CH <sub>2</sub> (r)	3.12-3.13 (m)	H (q)
CH <sub>arom</sub> (2)	7.31 (d, 8.2)	H <sub>arom</sub> (3)
CH <sub>arom</sub> (3)	7.59 (d, 8.2)	H <sub>arom</sub> (2)
CH <sub>arom</sub> (3')	6.89 (d, 8.2)	H <sub>arom</sub> (4')
CH <sub>arom</sub> (4')	7.09 (dd, 2.4 i 8.2)	H <sub>arom</sub> (3')
CH <sub>arom</sub> (6')	7.53 (sa)	-

<sup>a</sup>Entre parèntesi s'indica la multiplicitat i la constant d'acoblament en Hz.

<sup>b</sup>Espectres enregistrats en CD<sub>3</sub>OD.

## **9. BIBLIOGRAFIA**

---



- Adams, J.; Behnke, M.; Chen, S.; Cruickshank, A. A.; Dick, L. R.; Grenier, L.; Klunder, J. M.; Ma, Y.; Plamondon, L.; Stein, R. L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1998**, *8*, 333-338.
- Adams, A.; Kauffman, M. *Cancer Invest.* **2004**, *22*, 304-311.
- Alonso, F.; Beletskaya, I.P.; Yus, M., *Tetrahedron* **2008**, *64*, 3047-3101.
- Appukkuttan, P.; Van der Eycken, E. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 1133-1155.
- Aramendía, M. A.; Lafont, F.; Moreno-Mañas, M.; Pleixats, R.; Roglans, A. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 3592-3594.
- Badosa, E.; Ferre, R.; Planas, M.; Feliu, L.; Besalú, E.; Cabrefiga, J.; Bardají, E.; Montesinos, E. *Peptides* **2007**, *28*, 2276-2285.
- Bewley, C. A.; He, H.; Williams, D. H.; Faulkner, D. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 4314-4321.
- Blankenstein, J.; Zhu, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 1949-1964.
- Boyle, T. P.; Bremner, J. B.; Coates, J. A.; Deadman, J.; Keller, P. A.; Pyne, S. G.; Somphol, K. *Eur. J. Med. Chem.*, **2009**, *44*, 1001-1009.
- Brown, F. K.; Hempel, J. C.; Dixon, J. S.; Amato, S., Mueller, L.; Jeffs, P. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 7328-7333.
- Burk, M. J.; Lee, J. R.; Martínez, J. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 10847-10848.
- Cavallarin, L. Andreu, D.; San Segundo, B.; *Mol. Plant-Microbe Interact.* **1998**, *11*, 218-227.
- Cepanec, L. *Synthesis of biaryls*; Elsevier: Amsterdam, 2004.
- Cerezo, V.; Afonso, A.; Planas, M.; Feliu, L. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 10445-10453.
- Cerezo, V.; Amblard, M.; Martínez, J.; Verdié, P.; Planas, M.; Feliu, L. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 10538-10545.
- Chiarello, J.; Joullie, M. M., *Synth. Commun.* **1988**, *18*, 2211-2223.
- Cironi, P.; Cuevas, C.; Albericio, F.; Álvarez, M. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 8669-8675.
- Cohen, A.; Crozet, M. D.; Rathelot, P.; Vanelle, P. *Green Chem.* **2009**, *11*, 1736-1742.
- Colombo, A.; Fernández, J.C.; Figuera, N.; Fernández-Forner, D.; Forns, P.; Albericio, F. *QSAR Comb.Sci.* **2005**, *24*, 913-922.
- Coulson, D. R. *Inorg. Synth.* **1990**, *28*, 107-109.
- Cros, E.; Planas, M.; Barany, G.; Bardají, E. *Eur. J. Org.Chem.* **2004**, 3633-3642.

- Dathe, M.; Nikolenko, H. Klose, G. Bienert, M. *Biochemistry* **2004**, *43*, 9140-9150.
- Doan, N. D.; Bourgault, S.; Létourneau, M.; Fournier, A. *J. Comb. Chem.* **2008**, *10*, 44-51.
- Elder, A. M.; Rich, D. H. *Org. Lett.* **1999**, *1*, 1443-1446.
- El-Faham, A.; Subirós-Funosas, R.; Prohens, R.; Albericio, F. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 9404-9416.
- Ezaki, M.; Iwami, M.; Yamashita, M.; Hashimoto, S.; Komori, T.; Umehara, K.; Mine, Y.; Kohsaka, M.; Aoki, H.; Imanaka, H. *J. Antibiot.* **1985**, *38*, 1453-1461.
- Ezaki, M.; Shigematsu, N.; Yamashita, M.; Komori, T.; Umehara, K.; Imanaka, H. *J. Antibiot.* **1993**, *46*, 135-140.
- Feliu, L.; Planas, M. *Int. J. Pept. Res. Ther.* **2005**, *11*, 53-97.
- Ferre, R.; Badosa, E.; Feliu, L.; Planas, M.; Montesinos, E.; Bardají, E. *Appl. Environ. Microb.* **2006**, *72*, 3302-3308.
- Firooznia, F.; Gude, G.; Chan, K.; Marcopulos, N.; Satoh, Y. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 213-216.
- Grant, G. A. *Synthetic Peptides. A User's Guide.*; W.H. Freeman and Company: New York, 1992.
- Gong, Y.; He, W. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3803-3805.
- Guillier, F.; Orain, D.; Bradley, M. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 2091-2157.
- Gutte, B. *Peptides. Synthesis, Structures and Applications.* Academic Press, Inc.: Londres, 1995.
- Hall, D. G. *Boronic acids.* Wiley-VCH Verlag: Weinheim, 2005.
- Hancock, R. E. W.; Brown, K. L.; Mookherjee, N. *Immunobiology* **2006a**, *211*, 315-322.
- Hancock, R. E. W.; Sahl, H. G. *Nat. Biotechnol.* **2006b**, *24*, 1551-1557.
- Harris, C. M.; Harris, T. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 4293-4295.
- Haug, B. E.; Stensen, W.; Svendesen, J. S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 2361-2364.
- Heck, R. F.; Nolley, J. P. *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 2320-2322.
- Höltzel, A.; Schmid, D. G.; Nicholson, G. J.; Stevanovic, S.; Schimana, J.; Geghardt, K.; Fiedler, H. P.; Jung, G. *J. Antibiot.* **2002**, *55*, 571-577.
- Iimura, S.; Wu, W. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 1353-1355.

- Inaba, T.; Umezawa, I.; Yuasa, M.; Inoue, T.; Mihashi, S.; Itokawa, H.; Ogura, K. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2958-2960.
- Ishiyama, T.; Murata, M.; Miyaura, N. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7508-7510.
- Ishiyama, T.; Itoh, Y.; Kitano, T.; Miyaura, N. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 3447-3450.
- Isidro-Llobet, A.; Álvarez, M.; Albericio, F. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 2455–2504.
- James, I. W. *Tetrahedron*, **1999**, *55*, 4855-4946.
- Jenssen, H.; Hamill, P.; Hancock, R. E. W. *Clin. Microbiol. Rev.* **2006**, *19*, 491–511.
- Joule, J. A.; Mills, K. *Heterocyclic Chemistry*. Blackwell Publishing: Oxford, 2000.
- Kaiser, E.; Colescott, R. L.; Bossinger, C. D.; Cook, P. *Anal. Biochem.* **1970**, *34*, 595-598.
- Kannan, R.; Williams, D. H. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 5435-5437.
- Kappe, C. O. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6250-6284.
- Kappe, C. O.; Dallinger, D. *Nature Rev. Drug Discov.* **2006**, *5*, 51-63.
- Kates, A. S.; Albericio, F. *Solid-Phase Synthesis. A Practical Guide*. Marcel Dekker, inc.: New York, 2000.
- Knör, S.; Laufer, B.; Kessler, H. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 5625-5630.
- Koguchi, Y.; Kohno, J.; Nishio, M.; Takahashi, K.; Okuda, T.; Ohnuki, T.; Komatsubara, S. *J. Antibiot.* **2000**, *53*, 105-109.
- Kohno, J.; Koguchi, Y.; Nishio, M.; Nakao, K.; Kuroda, M.; Shimizu, R.; Ohnuki, T.; Komatsubara, S. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 990-995.
- Kotha, S.; Lahiri, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 2887-2890.
- Kotha, S.; Lahiri, K.; Kashinath, D. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 9633-9695.
- Kotha, S.; Lahiri, K. *Biopolymers* **2003**, *69*, 517-528.
- Labutti, J.; Parsons, I.; Huang, R.; Miwa, G.; Gan, L.; Daniels, J. S. *Chem. Res. Toxicol.* **2006**, *19*, 539-546.
- Larhed, M.; Lindeberg, G.; Hallberg, A. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 8219-8222.
- Lei, H.; Stoakes, M. S.; Herath, K.; Lee, J.; Schwabacher, A. W. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 4206-4210.
- Lépine, R.; Zhu, J. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 2981-2984.
- Li, W.; Burgess, K. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 6527-6530.

- Lobrégat, V.; Alcaraz, G.; Bienaymé, H.; Vaultier, M. *Chem. Commun.*, **2001**, 817–818
- Loupy, A. *Microwaves in organic synthesis*; Wiley-VCH Verlag: Weinheim, 2002.
- Ma, D.; Wu, Q. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 5279-5281.
- Malan, C.; Morin, C. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 8019-8020.
- McPhee, J. B.; Hancock, R. E. W. *J. Peptide Sci.* **2005**, *11*, 677-687.
- Miyaura, N.; Suzuki, A. *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2457-2483.
- Miyaura, N. *Top. Curr. Chem.* **2002**, *219*, 11-59.
- Monroc, S.; Badosa, E.; Besalú, E.; Planas, M.; Bardají, E.; Montesinos, E.; Feliu, L. *Peptides*, **2006a**, *27*, 2575-2584.
- Monroc, S.; Badosa, E.; Feliu, L.; Planas, M.; Montesinos, E.; Bardají, E. *Peptides*, **2006b**, *27*, 2567-2574.
- Moreno-Mañas, M.; Pérez, M.; Pleixats, R. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 2346-2351.
- Murata, M.; Oyama, O.; Watanabe, S.; Masuda, Y. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 164-168.
- Navarro, O.; Kaur, H.; Mahjoor, P.; Nolan, S.P. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 3173-3180.
- Nicolaou, K. C.; Bulger, P. G.; David Sarlah, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 4442-4489
- Oren, Z.; Shai, Y. *Biochemistry* **2000**, *39*, 6103-6114.
- Perrin, D. D.; Armarego, W. L. F.; Perrin, D. W. *Purification of Laboratory Chemicals*, 2nd ed. Pergamon Press: Oxford, 1980.
- Piettre, S. R.; Baltzer, S. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 1197-1200.
- Roberts, T. C.; Smith, P. A.; Cirz, R. T.; Romesberg, F. E. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 15830-15838.
- Ruhland, T.; Svejgaard, L.; Rasmussen, L. K.; Andersen, K. *J. Comb. Chem.* **2004**, *6*, 934-941.
- Schimana, J.; Geghardt, K.; Hölzel, A.; Schmid, D. G.; Süssmuth, R.; Müller, J.; Pukall, R.; Fiedler, H.P. *J. Antibiot.* **2002**, *55*, 565-570.
- Schulz, M. J.; Coats, S. J.; Hlasta, D. J. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3265-3268.
- Sitaram, N. *Curr. Med. Chem.*, **2006**, *13*, 679-696.
- Sivaev, I. B.; Bregadze, V. I. *Arkivoc* **2008**, 47-61.
- Skaff, O.; Jolliffe, K. A.; Hutton, C. A. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 7353-7363.

- Soloway, A. H.; Tjarks, W.; Barnum, B. A.; Rong, F.; Barth, R. F.; Codogni, I. M.; Wilson, J. G. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1515-1562.
- Steiner, H.; Hultmark, D.; Engstrom, A.; Bennich, H.; Boman, H. G. *Nature*, **1981**, *292*, 246-248.
- Suzuki, A. *J. Organomet. Chem.* **1999**, *576*, 147-168.
- Tholey, A.; Hoffmann, R., *J. Pept. Sci.* **1997**, *3*, 186-192.
- Uchida, I.; Shigematsu, N.; Ezaki, M.; Hashimoto, M.; Aoki, H.; Imanaka, H. *J. Antibiot.* **1985**, *38*, 1462-1468.
- Ukai, T.; Kawazura, H.; Ishii, Y. Bonnet J. J.; Ibers, J. A. *J. Organomet. Chem.* 1974, *65*, 253-266.
- Valeur, E.; Bradley, M. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 606-631.
- Van Bambeke, F.; Van Laethem, Y.; Courvalin, P.; Tulkens, P.M. *Drugs*, 2004, *64*, 913-936.
- Viciu, M. S.; Grasa, G. A.; Nolan, S. P. *Organometallics* **2001**, *20*, 3607-3612.
- Vilaró, M.; Arsequell, G.; Valencia, G.; Ballesteros, A.; Barlouenga, J. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 3243-3245.
- Wehrstedt, K. D.; Wandrey, P.A.; Heitkamp, D. *J. Hazard. Mater.* **2005**, *A126*, 1-7.
- Weissman, S. A.; Zewge, D. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 7833-7863.
- Yang, W.; Gao, X.; Wang, B. *Med. Res. Rev.* **2003**, *23*, 346-368.
- Yeaman M. R.; Yount N. Y. *Pharmacol. Rev.* **2003**, *55*, 27-55.
- Zhang, A. J.; Russell, D. H.; Zhu, J. P.; Burgess, K. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 7439-7442.
- Zhang, L. J.; Falla, T. J. *Expert. Opin. Pharmacother.* **2006**, *7*, 653-663.
- Zaragoza-Dörwald, F. *Organic Synthesis on solid phase: supports, linkers, reactions.*; Wiley-VCH Verlag: Weinheim, 2000.
- Zasloff, M. *Nature*, **2002**, *415*, 389-395.



## **ANNEX: Espectres i cromatogrames**

# ÍNDIX

<b>SÍNTESI DE DERIVATS D'AMINOÀCIDS I D'IMIDAZOLE EN DISSOLUCIÓ .....</b>	<b>9</b>
4-Iodo-L-fenilalanina (7).....	11
<i>N</i> -( <i>tert</i> -Butiloxicarbonil)-4-iodo-L-fenilalanina (8) .....	13
<i>N</i> -( <i>tert</i> -Butiloxicarbonil)-4-iodo-L-fenilalaninat de metil (9) .....	15
<i>N</i> -( <i>tert</i> -Butiloxicarbonil)-4-pinacolatoborono-L-fenilalaninat de metil (10) .....	17
<i>N</i> -( <i>tert</i> -Butiloxicarbonil)-4-pinacolatoborono-L-fenilalanina (5) .....	20
<i>N</i> -(9-Fluorenilmetoxicarbonil)-4-iodo-L-fenilalanina (54) .....	23
3-Iodo-L-tirosina (21) .....	25
<i>N</i> -( <i>tert</i> -Butiloxicarbonil)-3-iodo-L-tirosinat de metil (22).....	27
<i>N</i> -( <i>tert</i> -Butiloxicarbonil)-3-iodo-4-metoxi-L-tirosinat de metil (23a) .....	29
<i>N</i> -( <i>tert</i> -Butiloxicarbonil)-3-iodo-4-al·liloxi-L-tirosinat de metil (23b).....	31
<i>N</i> -( <i>tert</i> -Butiloxicarbonil)-3-iodo-4-[2-(trimetilsilil)etoximetoxi]-L-tirosinat de metil (23c) .....	33
<i>N</i> -( <i>tert</i> -Butiloxicarbonil)-3-iodo-4- metoxi-L-tirosina (20a) .....	35
<i>N</i> -( <i>tert</i> -Butiloxicarbonil)-3-iodo-4-al·liloxi-L-tirosina (20b).....	37
<i>N</i> -( <i>tert</i> -Butiloxicarbonil)-3-iodo-4-[2-(trimetilsilil)etoximetoxi]-L-tirosina (20c).....	39
<i>N</i> -( <i>tert</i> -Butiloxicarbonil)-3-pinacolatoborono-4-[2-(trimetilsilil)etoximetoxi]-L-tirosinat de metil 41	
<i>N</i> -( <i>tert</i> -Butiloxicarbonil)-3-pinacolatoborono-4-[2-(trimetilsilil)etoximetoxi]-L-tirosina (29) .....	42
5-Bromo- <i>N</i> ( $\alpha$ )-( <i>tert</i> -butiloxicarbonil)-L-histidinat de metil .....	43
5-Bromo- <i>N</i> ( $\alpha$ )-( <i>tert</i> -butiloxicarbonil)- <i>N</i> ( $\pi$ )-[2-(trimetilsilil)-etoximetil]-L-histidinat de metil (32a)	
.....	45
5-Bromo- <i>N</i> ( $\alpha$ )-( <i>tert</i> -butiloxicarbonil)- <i>N</i> ( $\tau$ )-[2-(trimetilsilil)-etoximetil]-L-histidinat de metil (32b)	
.....	45
4(5)-Bromo-5(4)-metilimidazole .....	47
1-[2-(Trimetilsilil)etoximetil]-5-bromo-4-metilimidazole (31a) .....	49
1-[2-(Trimetilsilil)etoximetil]-4-bromo-5-metilimidazole (31b) .....	49
<b>SÍNTESI DE PÈPTIDS EN FASE SÒLIDA.....</b>	<b>53</b>
Fmoc-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> .....	55
H-Phe(4-I)-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> (13) .....	56

H-Phe(4-I)-Lys-Leu-NH <sub>2</sub> .....	58
H-Phe(4-I)-Ser-Leu-NH <sub>2</sub> .....	59
H-Tyr(3-I,Me)-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> ( <b>24a</b> ) .....	60
H-Tyr(3-I,Al)-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> ( <b>24b</b> ) .....	61
H-Tyr(3-I)-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> ( <b>24c</b> ).....	62
<b>SÍNTESI D'ESTERS BORÒNICS EN FASE SÒLIDA .....</b>	<b>63</b>
H-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> ( <b>4</b> ) .....	65
H-Phe(4-BPin)-Lys-Leu-NH <sub>2</sub> ( <b>17</b> ) .....	70
H-Phe(4-BPin)-Ser-Leu-NH <sub>2</sub> ( <b>18</b> ).....	73
H-Tyr(3-BPin,Me)-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> ( <b>25a</b> ).....	76
H-Tyr(3-BPin)-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> ( <b>25b</b> ) .....	78
H-Tyr(3-BPin)-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> ( <b>25b</b> ) .....	79
<b>SÍNTESI DE PÈPTIDS BIARÍLICS LINEALS EN FASE SÒLIDA .....</b>	<b>81</b>
Pèptid biarílic BP255.....	83
Pèptid biarílic BP256.....	89
Pèptid biarílic BP257 .....	94
Pèptid biarílic BP258.....	100
Pèptid biarílic BP259.....	105
Pèptid biarílic BP260.....	112
Pèptid biarílic BP261 .....	118
Pèptid biarílic <b>34a</b> .....	121
Pèptid biarílic BP262.....	122
Pèptid biarílic <b>34b</b> .....	127
Pèptid biarílic BP263.....	128
Pèptid biarílic <b>34c</b> .....	132
Pèptid biarílic BP264.....	133
Pèptid biarílic BP265.....	137
Pèptid biarílic BP266.....	141
Pèptid biarílic <b>36a</b> .....	145

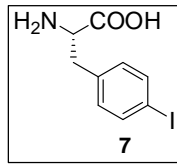
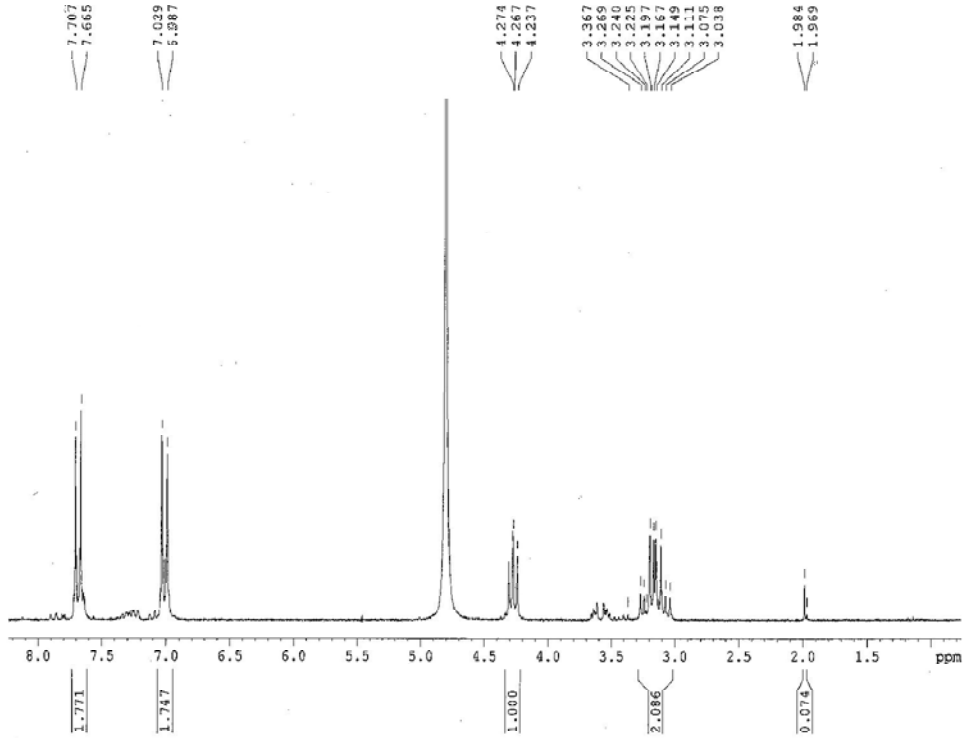
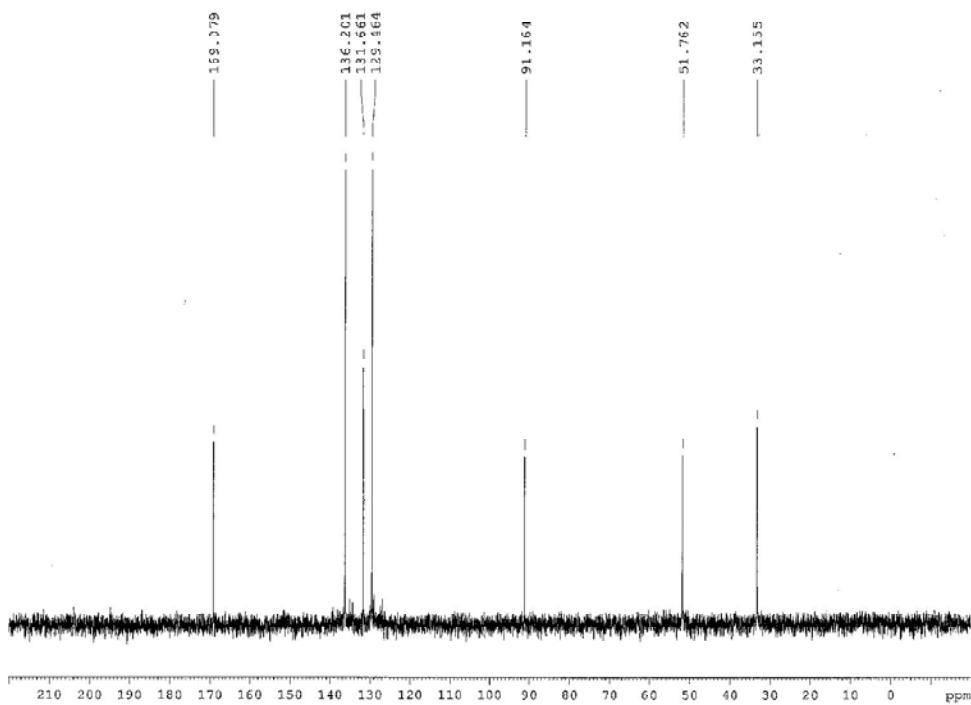
Pèptid biarílic BP267 .....	146
Pèptid biarílic <b>36b</b> .....	150
Pèptid biarílic BP268 .....	151
<b>SÍNTESI DE PÈPTIDS BIARÍLICS CÍCLICS EN FASE SÒLIDA .....</b>	<b>155</b>
H-Lys-Lys-Leu-Phe(4-I)-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> .....	157
H-Lys-Lys-Leu-Phe(4-I)-NH <sub>2</sub> .....	158
H-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-I,Me)-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> .....	159
H-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-I)-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> .....	160
H-Lys-Leu-Phe(4-I)-NH <sub>2</sub> .....	161
H-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-I)-NH <sub>2</sub> .....	162
H-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-I)-NH <sub>2</sub> .....	163
H-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-I)-NH <sub>2</sub> .....	164
H-Leu-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-I)-NH <sub>2</sub> .....	165
H-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-I)-NH <sub>2</sub> .....	166
H-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> .....	167
H-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH <sub>2</sub> .....	168
H-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-BPin,Me)-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> .....	169
H-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-BPin)-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> .....	170
H-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH <sub>2</sub> .....	171
H-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH <sub>2</sub> .....	172
H-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH <sub>2</sub> .....	173
H-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH <sub>2</sub> .....	174
H-Leu-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH <sub>2</sub> .....	175
H-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH <sub>2</sub> .....	176
H-Phe(4-I)-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> .....	177
H-Tyr(3-I,Me)-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> .....	178
H-Tyr(3-I)-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> .....	179
H-Phe(4-I)-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH <sub>2</sub> .....	180
H-Tyr(3-I,Me)-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH <sub>2</sub> .....	181

H-Tyr(3-I)-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH <sub>2</sub> .....	182
H-Tyr(3-I,Me)-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-BPin,Me)-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> .....	183
H-Tyr(3-I)-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-BPin)-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> .....	184
H-Phe(4-I)-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-BPin,Me)-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> .....	185
H-Phe(4-I)-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-BPin)-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> .....	186
H-Phe(4-I)-Leu-Phe(4-BPin)-NH <sub>2</sub> .....	187
H-Phe(4-I)-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH <sub>2</sub> .....	188
H-Phe(4-I)-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH <sub>2</sub> .....	189
H-Phe(4-I)-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH <sub>2</sub> .....	190
H-Phe(4-I)-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH <sub>2</sub> .....	191
H-Phe(4-I)-Leu-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH <sub>2</sub> .....	192
H-Phe(4-I)-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH <sub>2</sub> .....	193
Pèptid biarílic cíclic BPC432.....	194
Pèptid biarílic cíclic BPC434.....	197
Pèptid biarílic cíclic BPC436.....	200
Pèptid biarílic cíclic <b>52a</b> .....	203
Pèptid biarílic cíclic BPC438.....	204
Pèptid biarílic cíclic BPC440.....	208
Pèptid biarílic cíclic BPC442.....	211
Pèptid biarílic cíclic BPC428.....	215
Pèptid biarílic cíclic BPC430.....	217
Pèptid biarílic cíclic BPC444.....	219
Pèptid biarílic cíclic BPC446.....	221
Pèptid biarílic cíclic BPC448.....	223
Pèptid biarílic cíclic BPC450.....	225
Pèptid biarílic cíclic BPC452.....	226
H-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-Ph,Me)-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> ( <b>51a</b> ).....	227
H-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-Ph)-Leu-Leu-NH <sub>2</sub> ( <b>51b</b> ).....	228
H-Lys-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe(4-I)-Lys-Lys-Leu-Gln-OAl.....	229
H-Lys-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe(4-BPin)-Lys-Lys-Leu-Gln-OH.....	230

H-Lys-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe(4-Ph)-Lys-Lys-Leu-Gln-OH .....	232
Pèptid cíclic BPC454.....	234

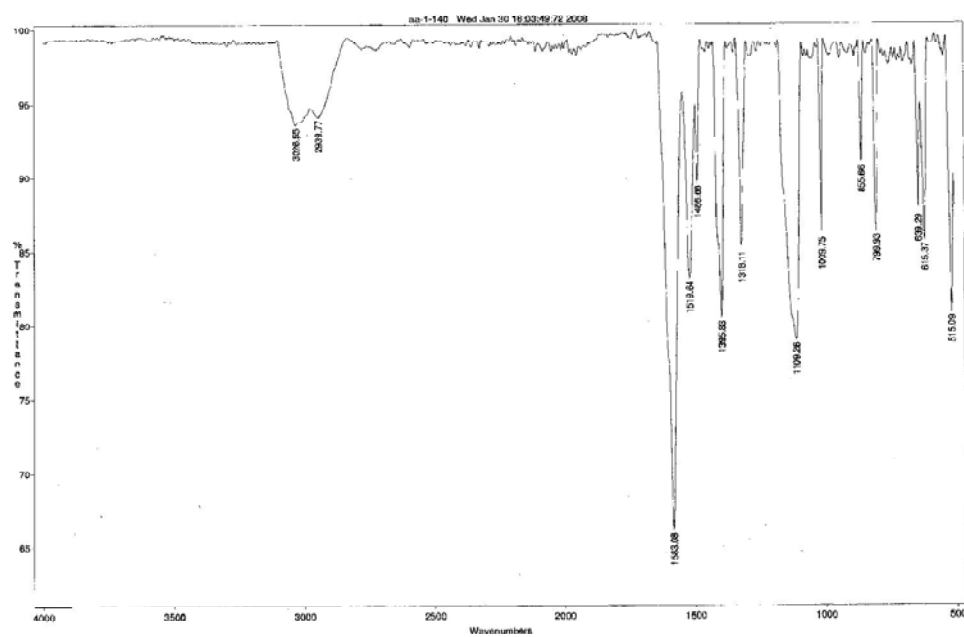
**SÍNTESI DE DERIVATS D'AMINOÀCIDS I  
D'IMIDAZOLE EN DISSOLUCIÓ**

---

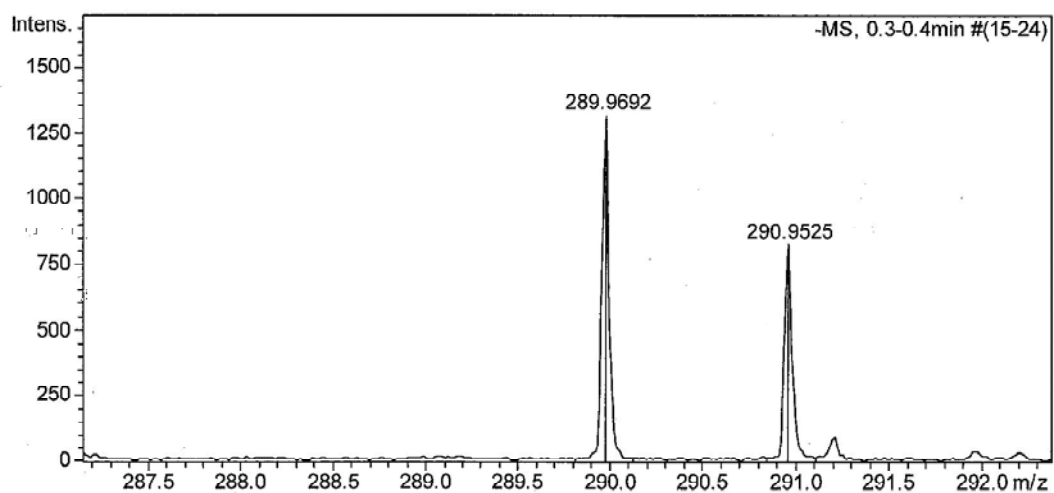
**4-Iodo-L-fenilalanina (7)**<sup>1</sup>H-RMN (200 MHz, D<sub>2</sub>O + DCI) δ (ppm)<sup>13</sup>C-RMN (50 MHz, D<sub>2</sub>O + DCI) δ (ppm)

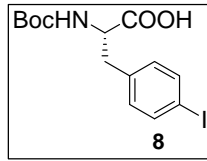
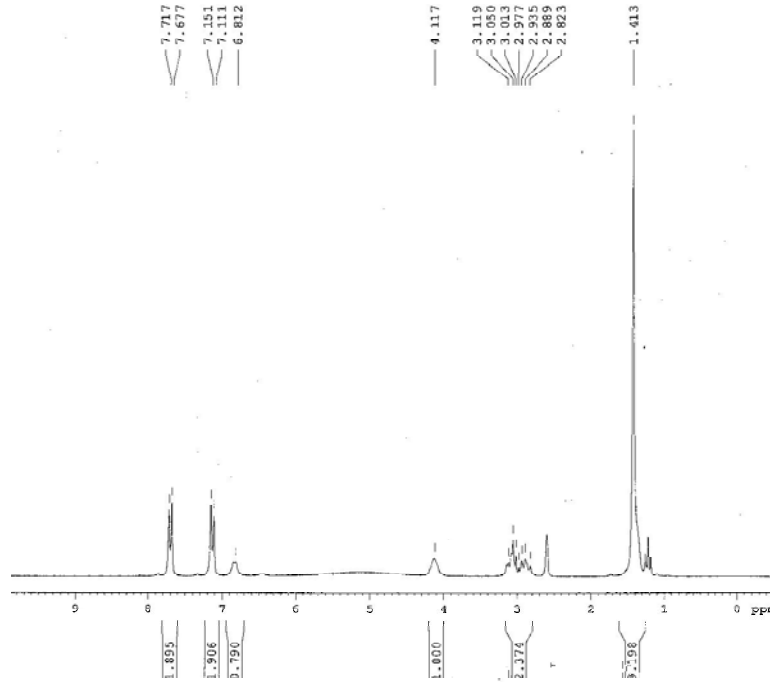
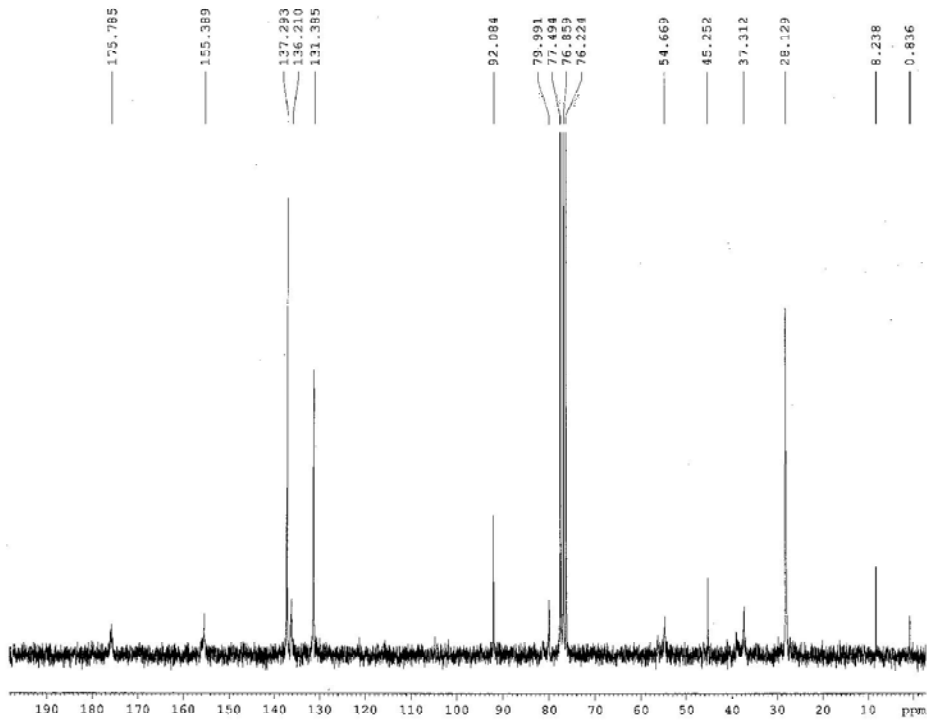


IR (neat)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )

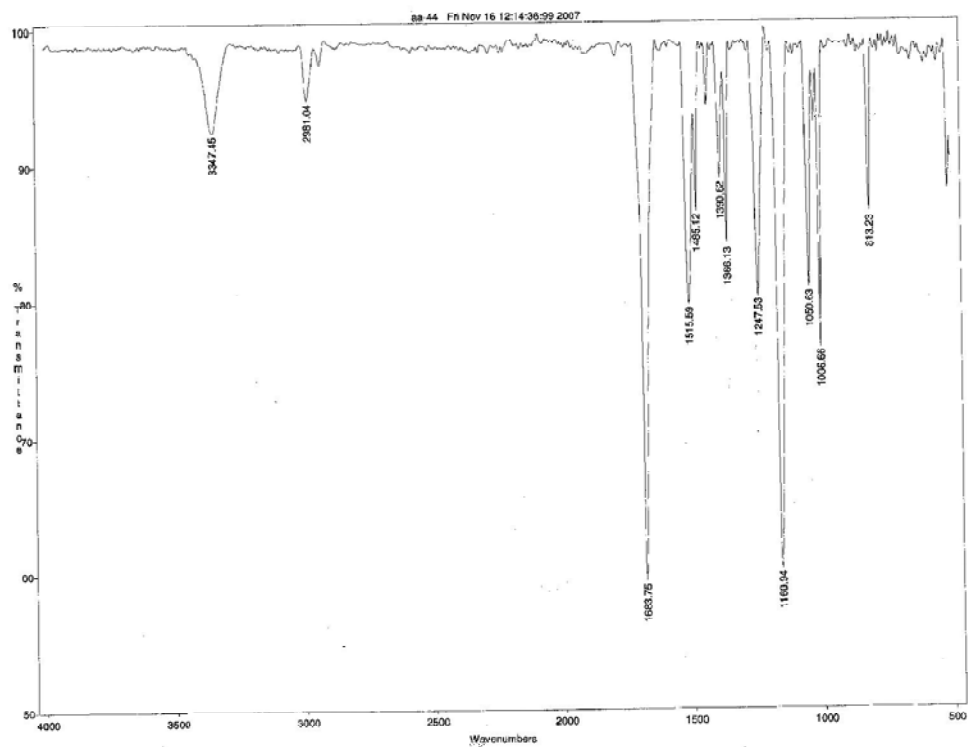


HRMS (ESI)  $m/z$

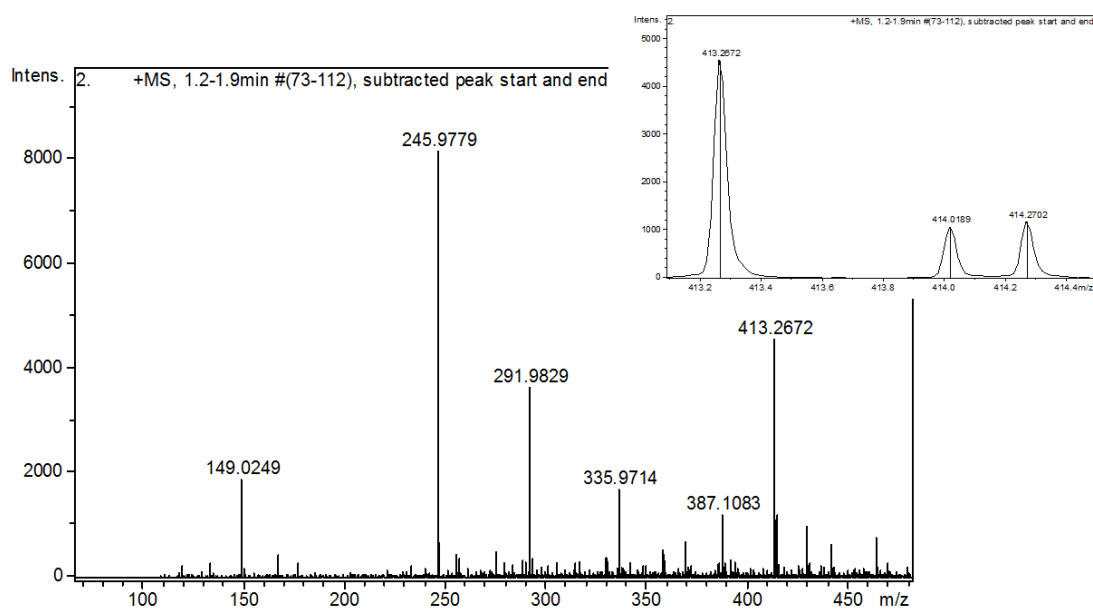


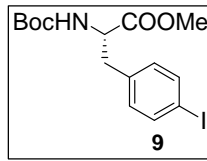
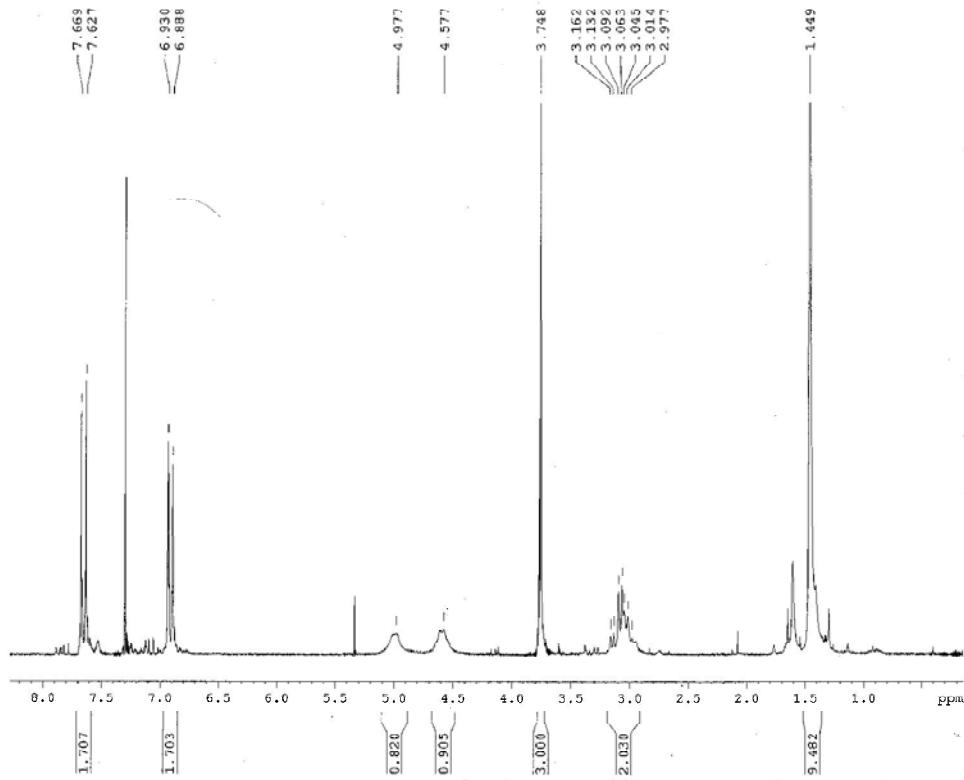
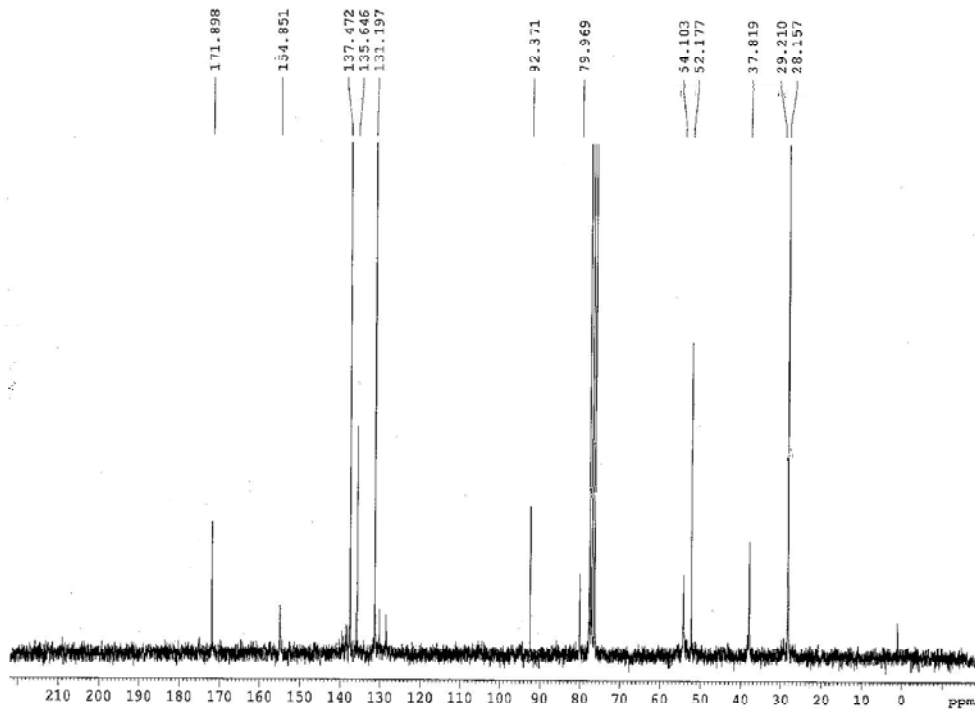
**N-(tert-Butiloxicarbonil)-4-iodo-L-fenilalanina (8)**<sup>1</sup>H-RMN (200 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ (ppm)<sup>13</sup>C-RMN (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)

IR (neat)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )

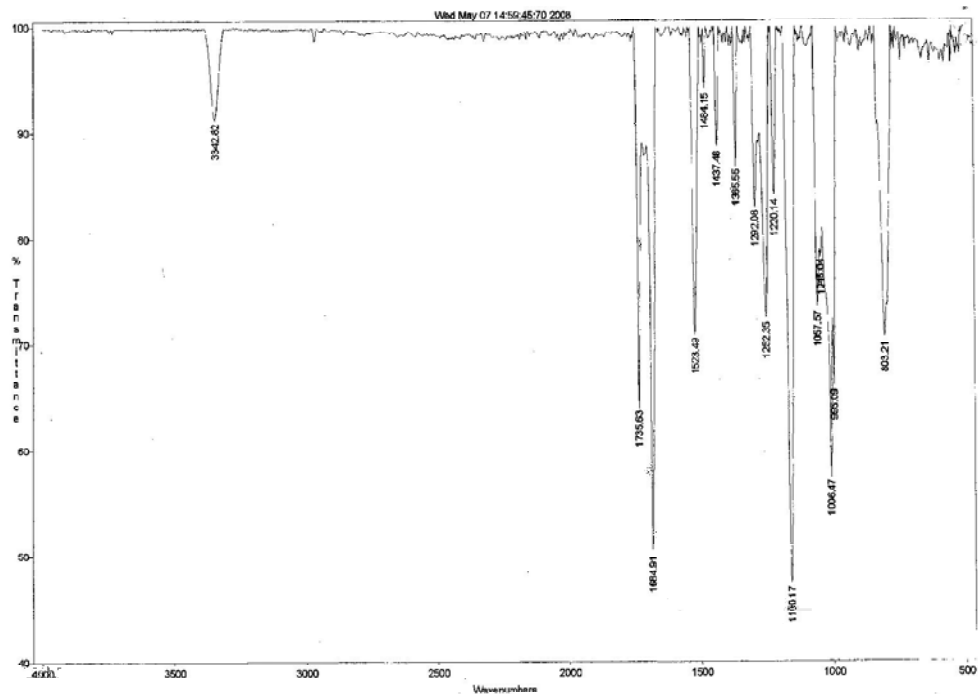


HRMS (ESI)  $m/z$

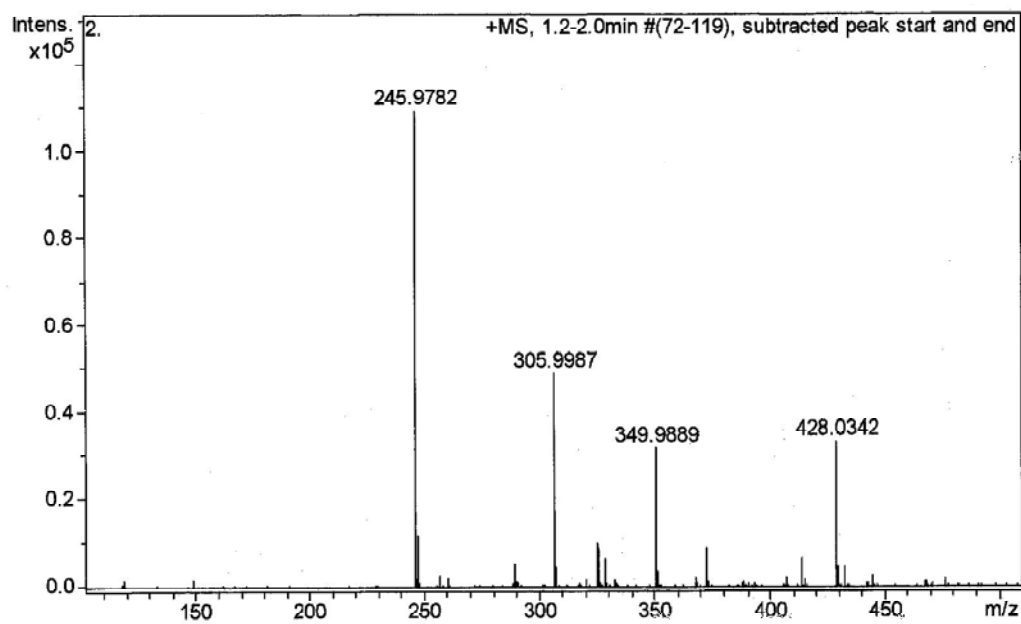


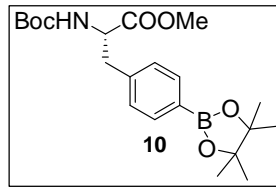
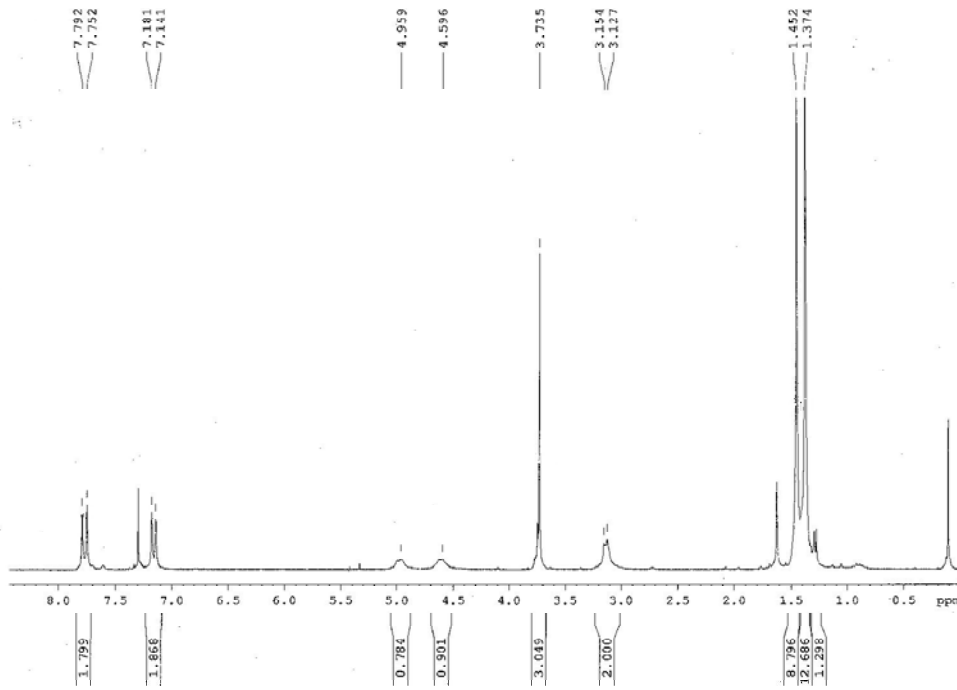
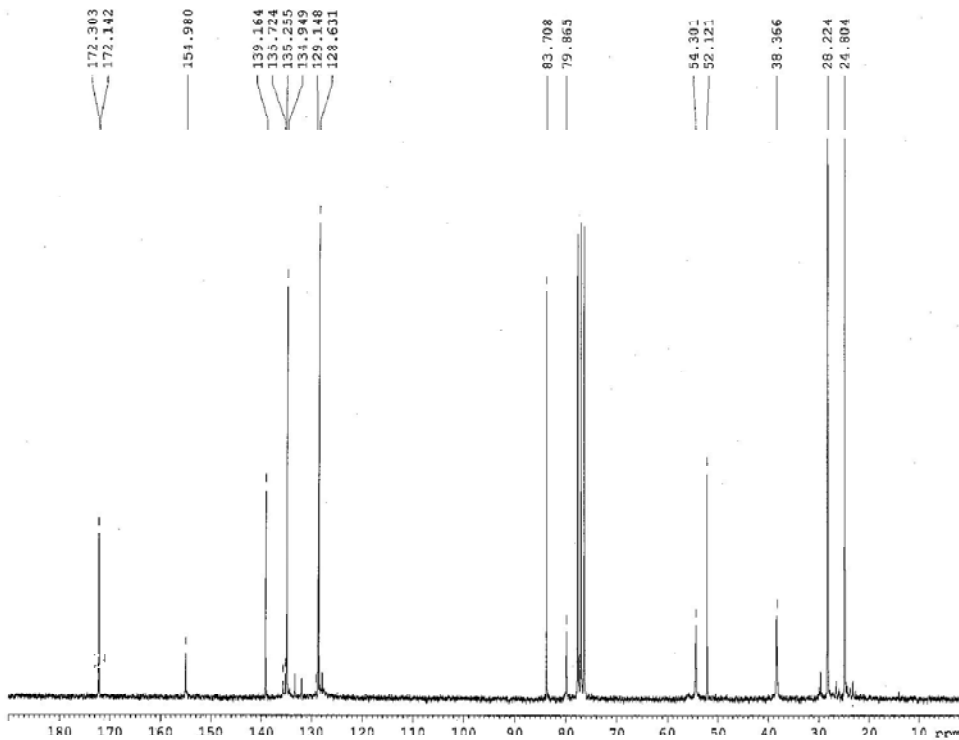
**N-(tert-Butiloxicarbonil)-4-iodo-L-fenilalaninat de metil (9)**<sup>1</sup>H-RMN (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)<sup>13</sup>C-RMN (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)

IR (neat)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )

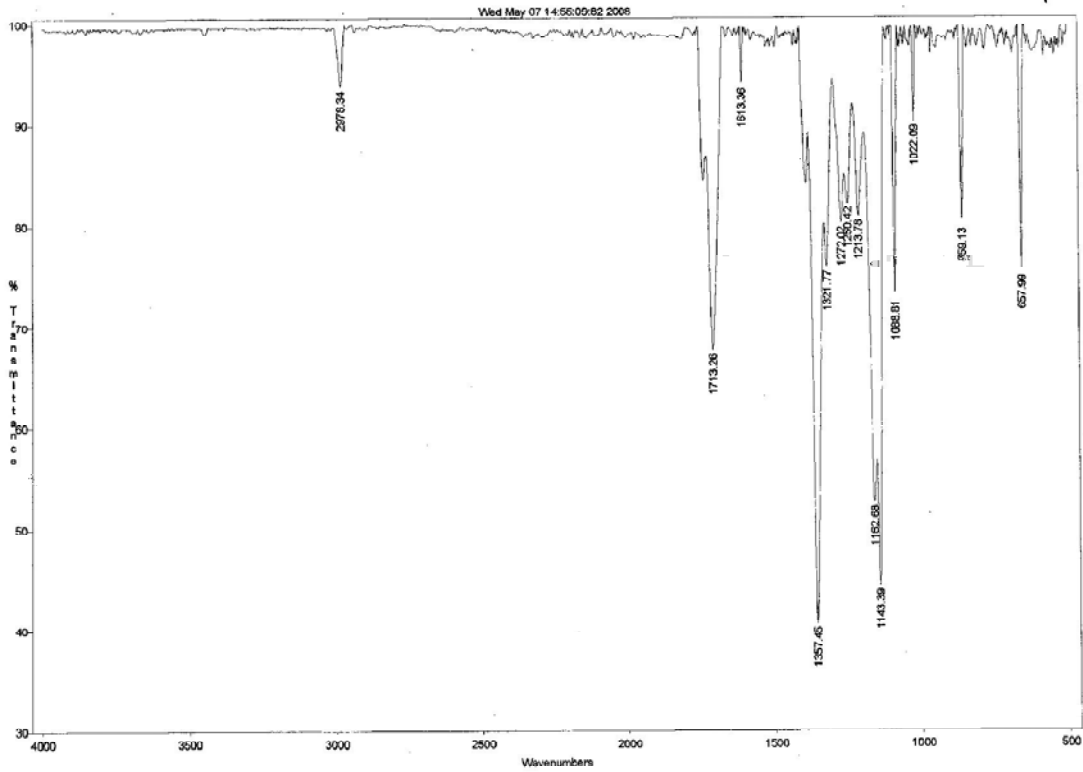


HRMS (ESI)  $m/z$

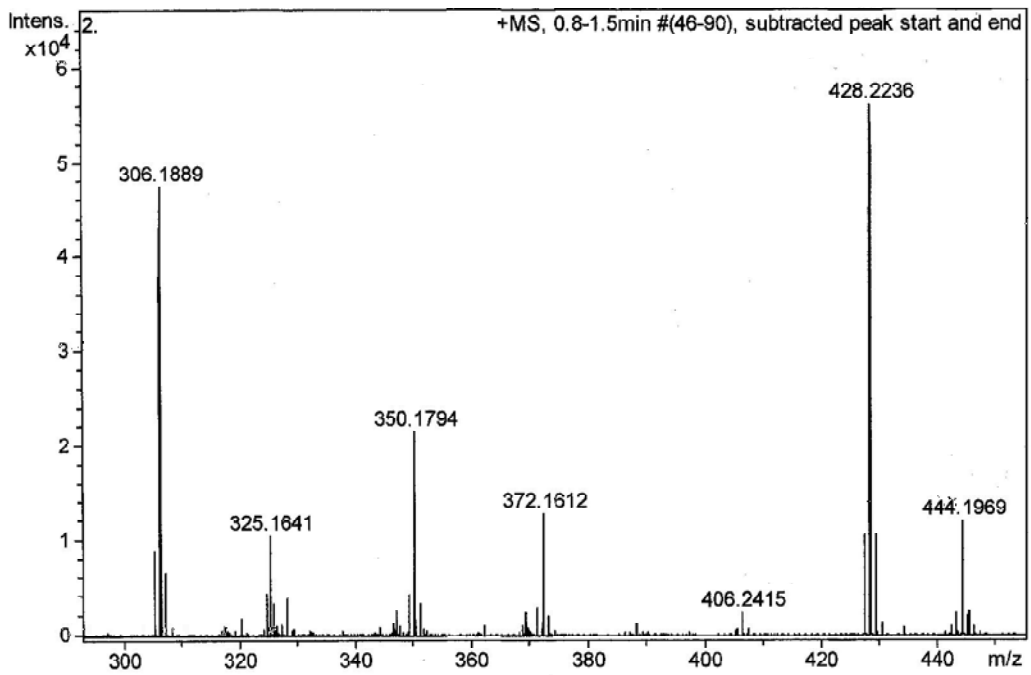


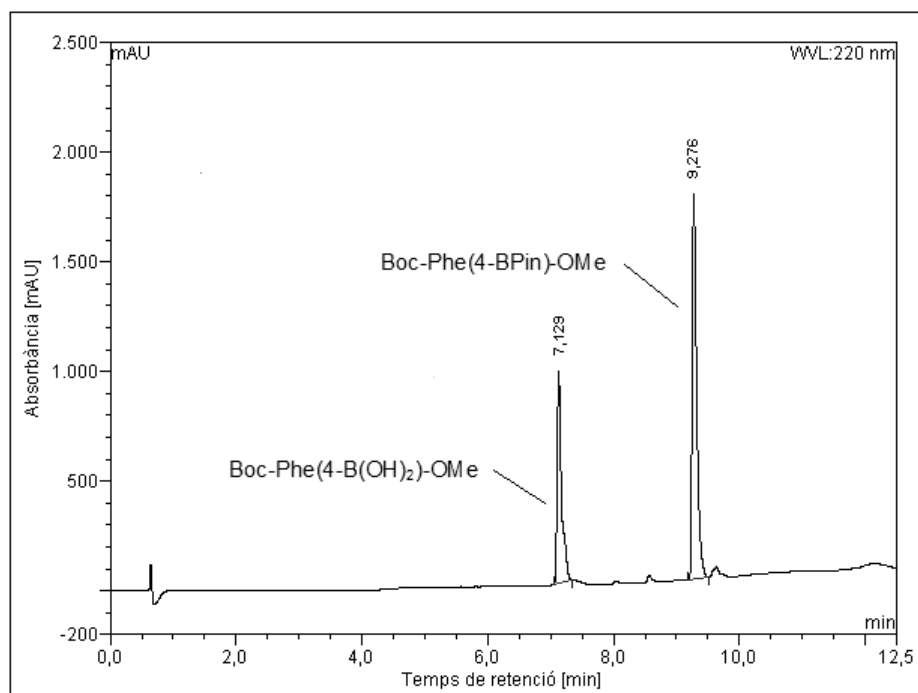
**N-(tert-Butiloxicarbonil)-4-pinacolatoborono-L-fenilalaninat de metil (10)**<sup>1</sup>H-RMN (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)<sup>13</sup>C-RMN (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)

IR (neat)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )



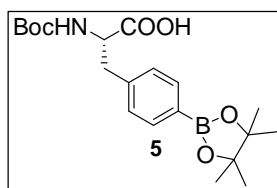
HRMS (ESI)  $m/z$



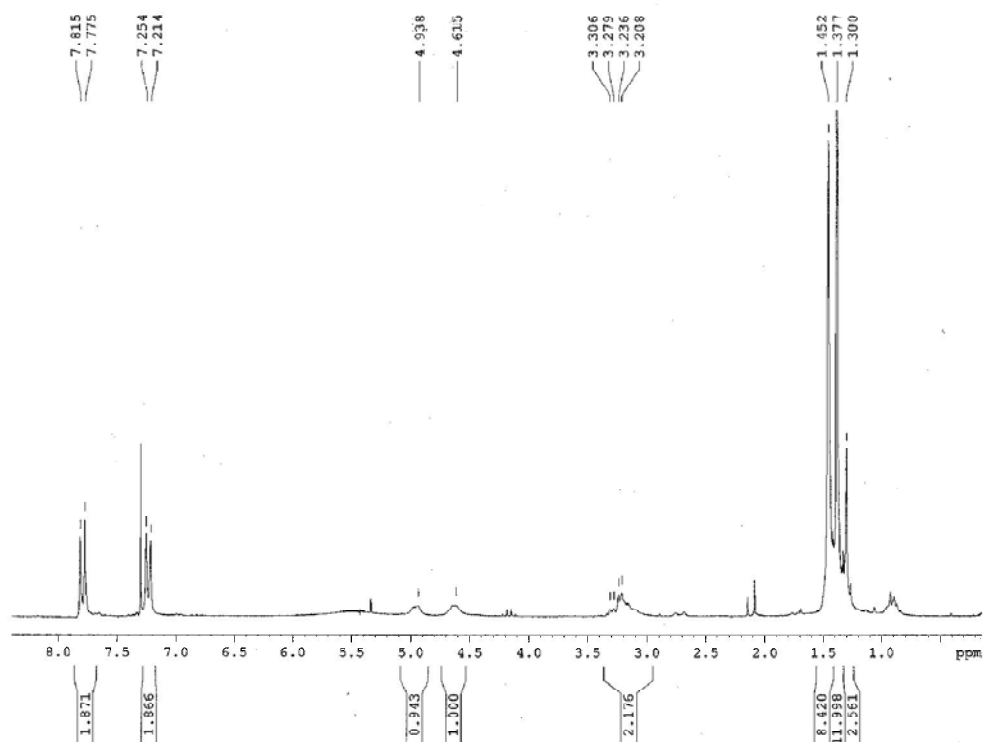
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )



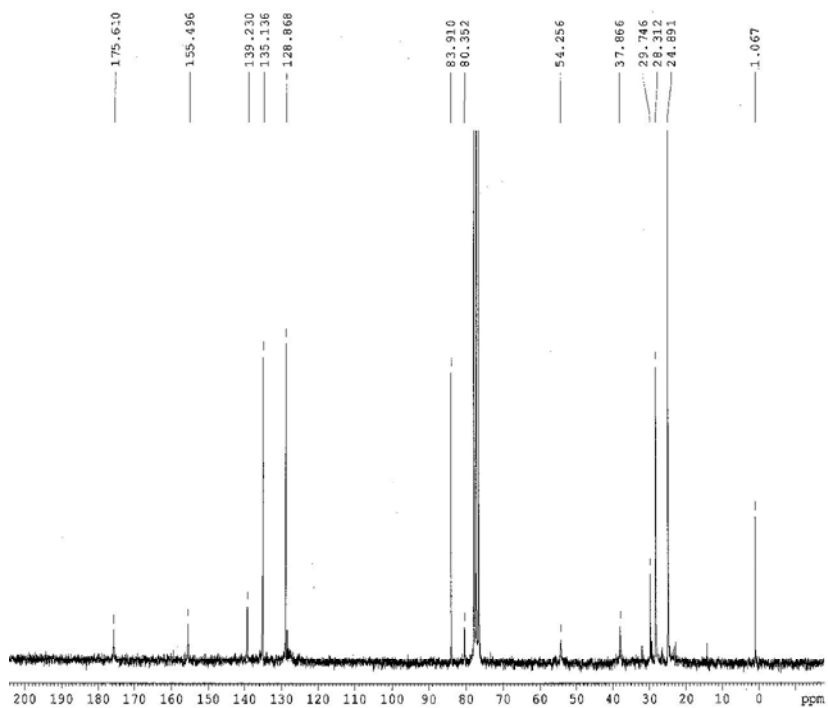
**N-(tert-Butiloxicarbonil)-4-pinacolatoborono-L-fenilalanina (5)**



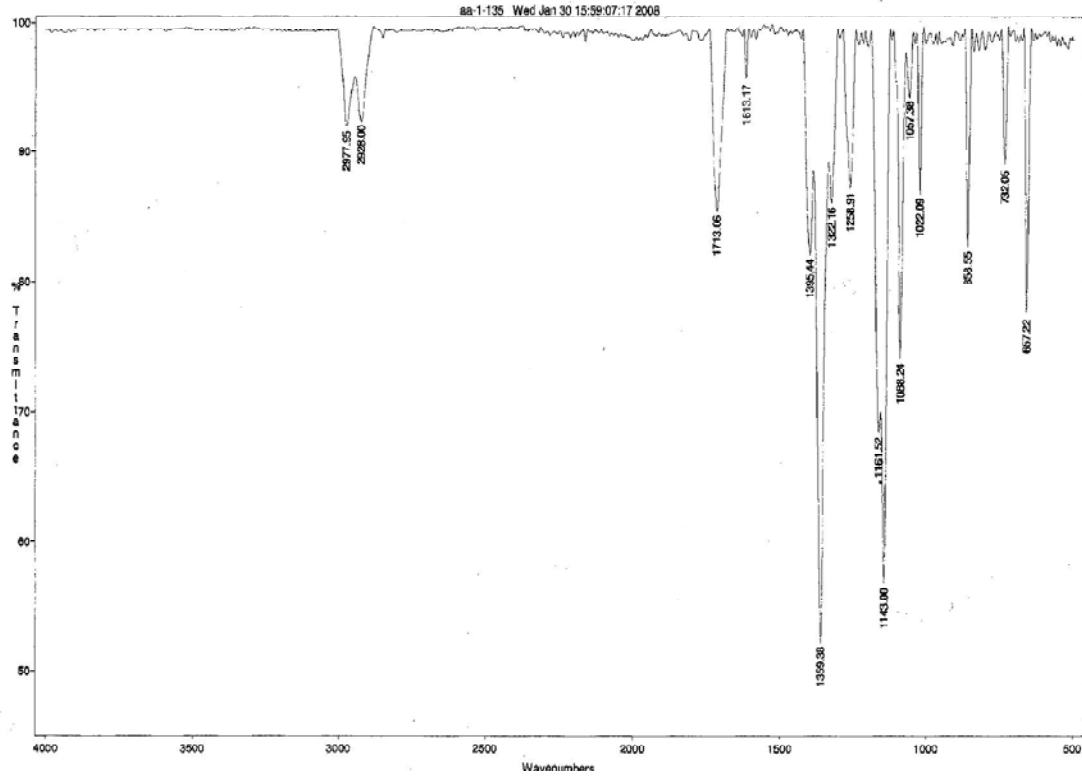
$^1\text{H-RMN}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm)



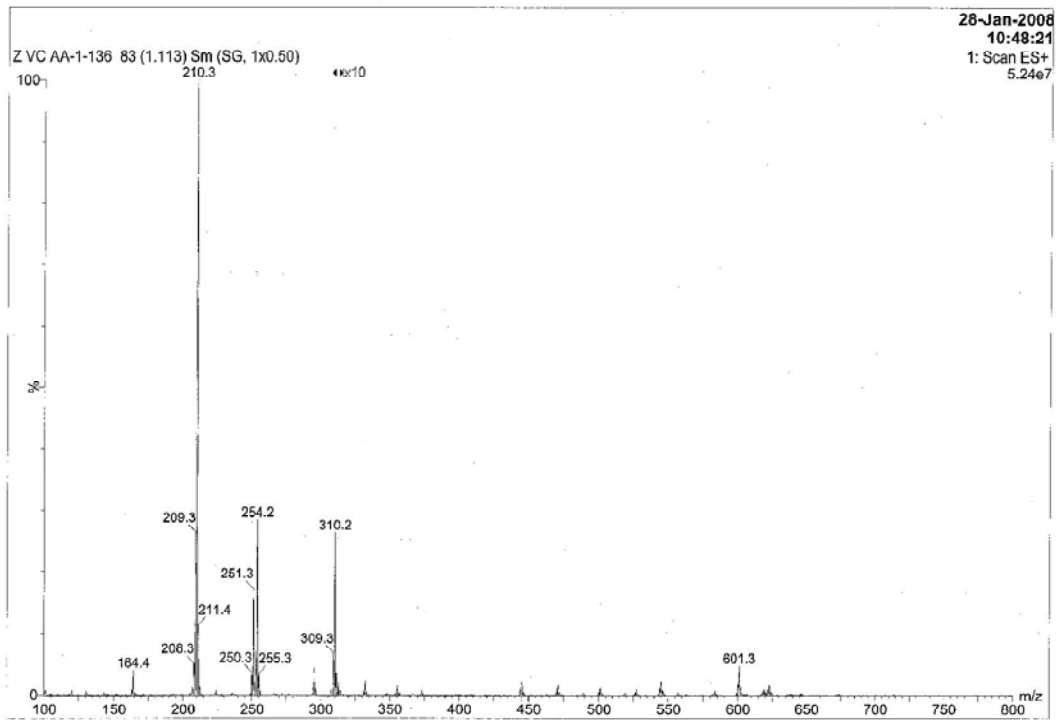
$^{13}\text{C-RMN}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm)



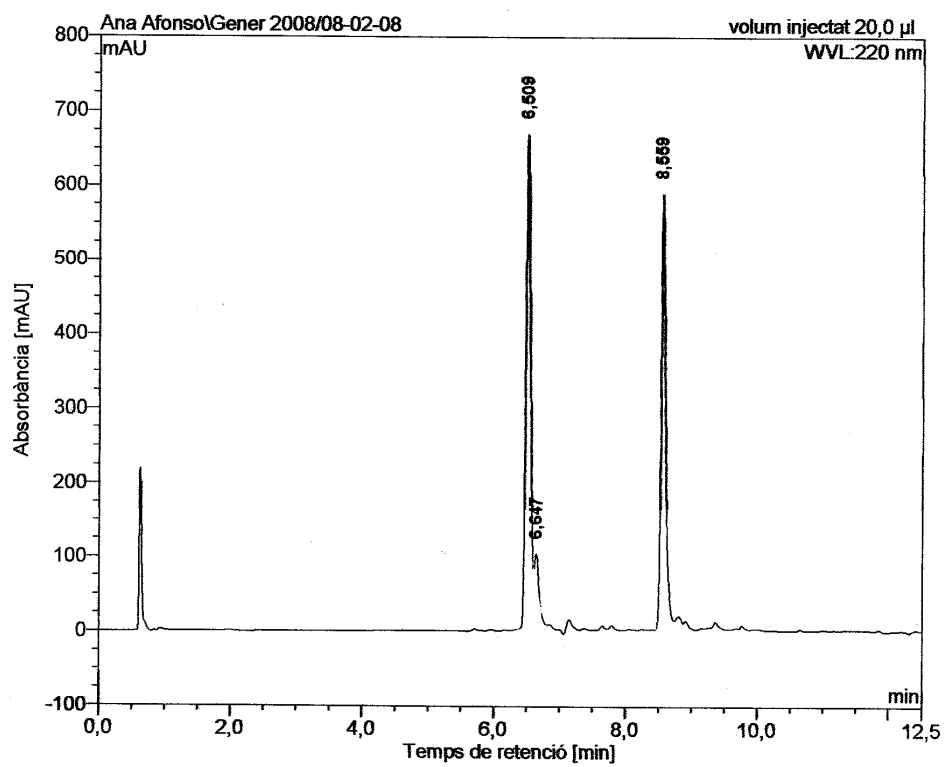
IR (neat)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )

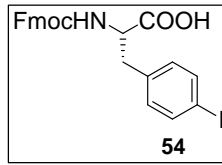
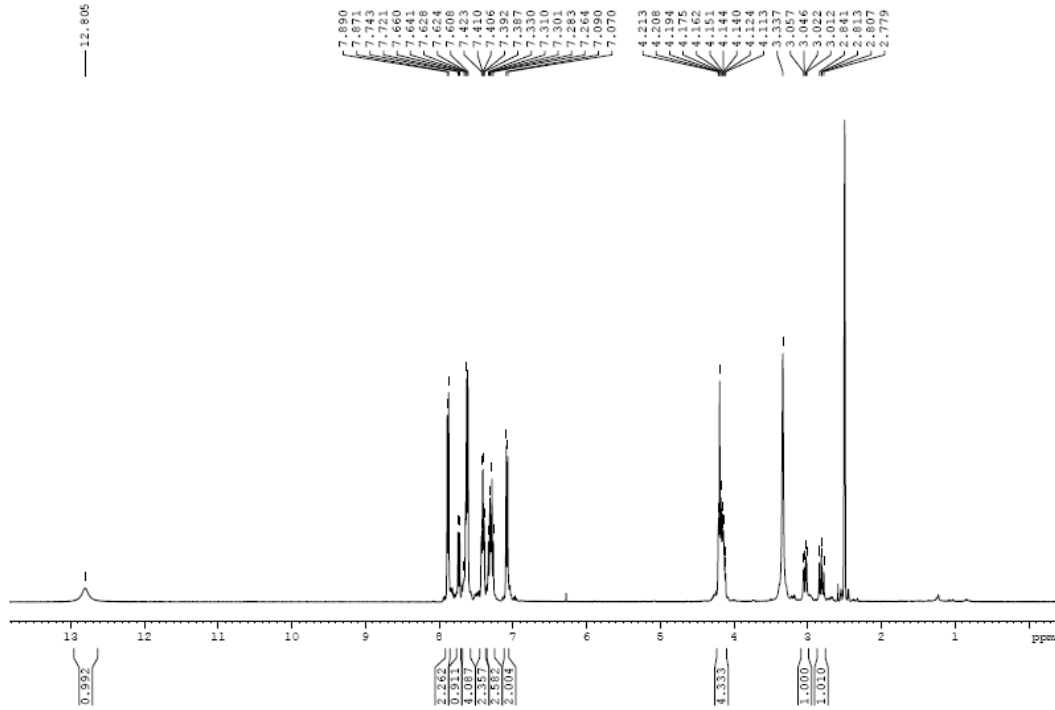
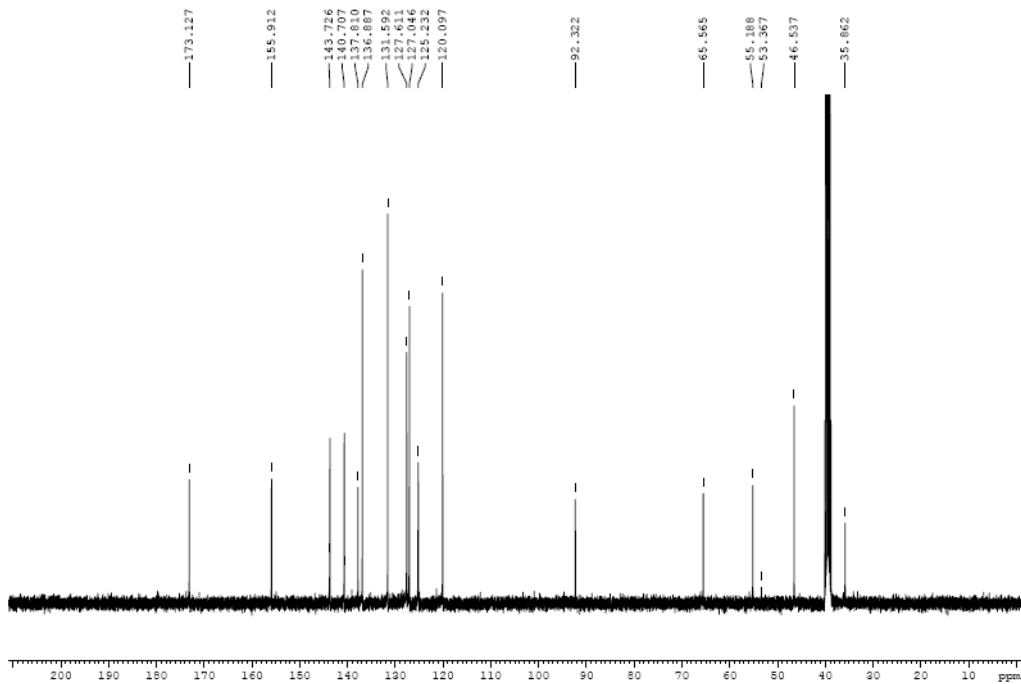


ESI-MS  $m/z$

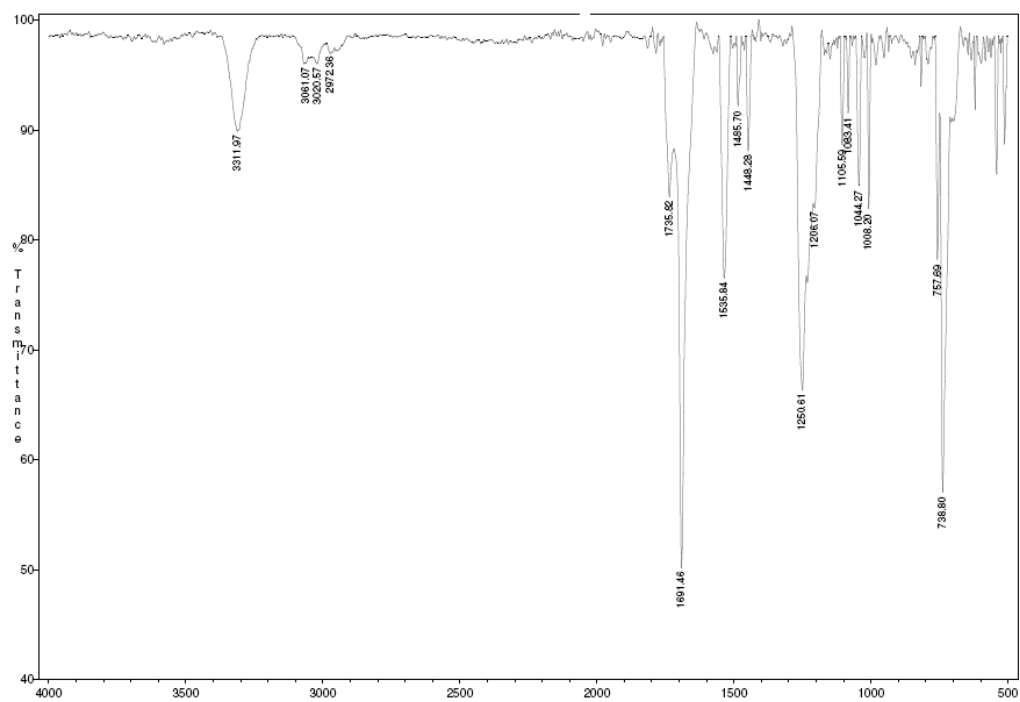


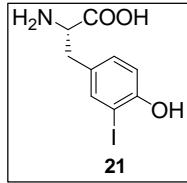
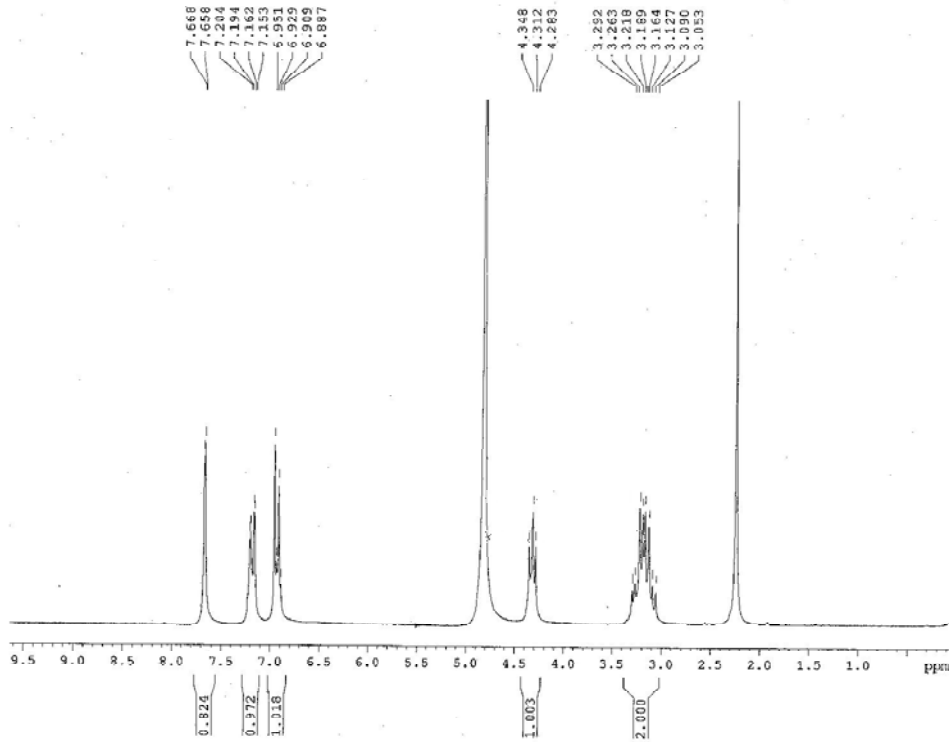
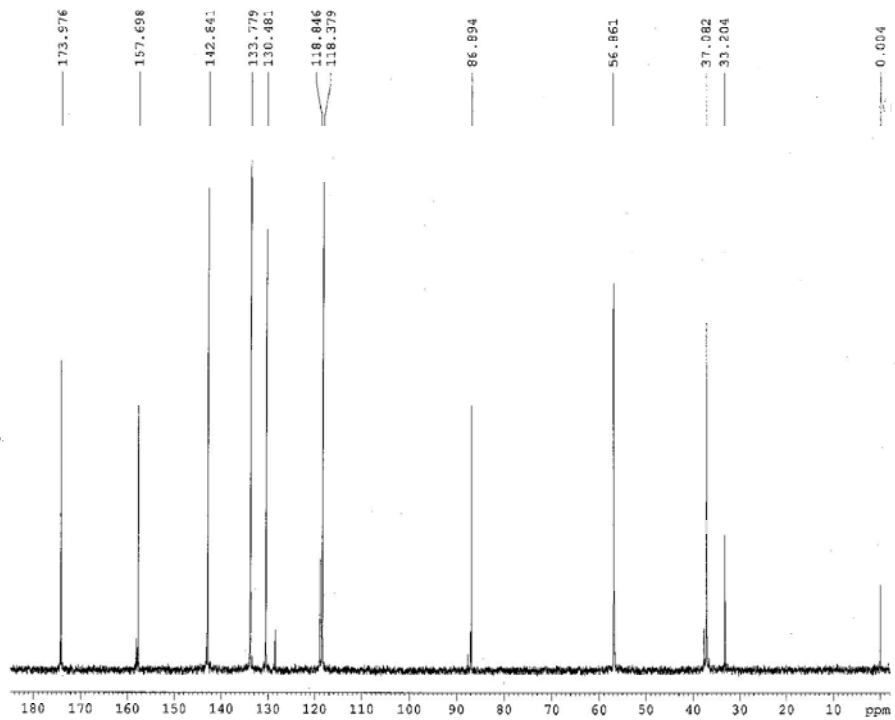
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )



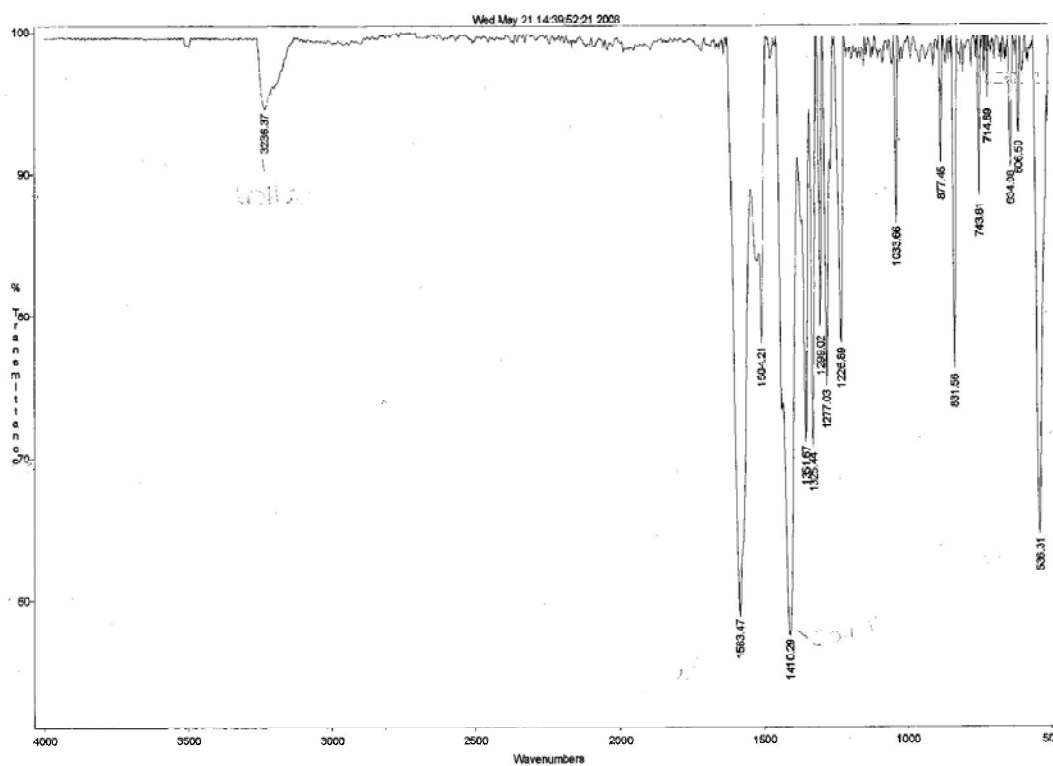
**N-(9-Fluorenilmetoxicarbonil)-4-iodo-L-fenilalanina (54)**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ (ppm)<sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ (ppm)

IR (neat)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )

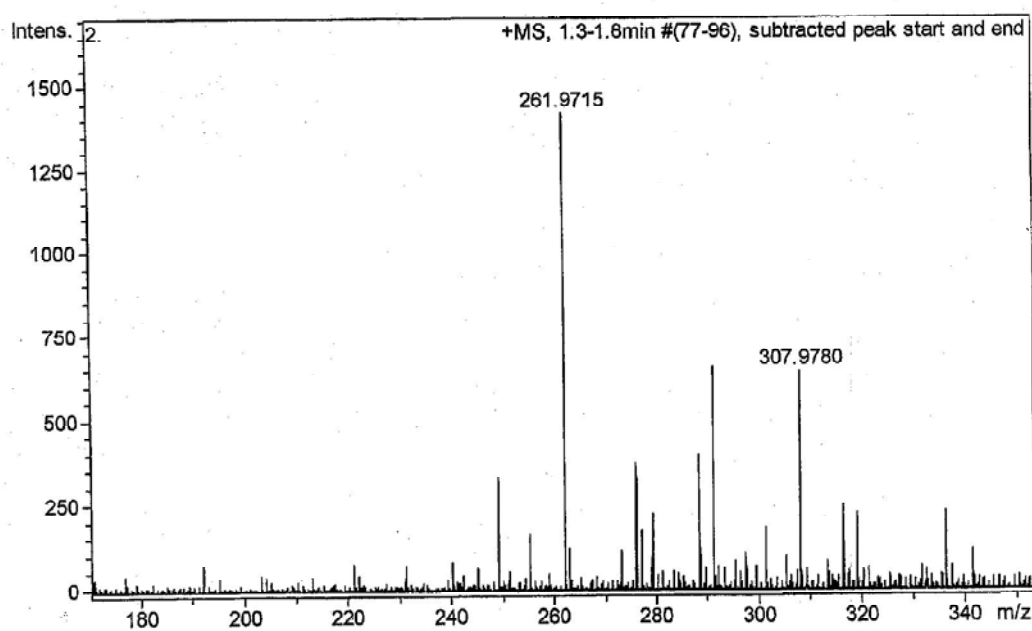


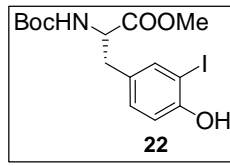
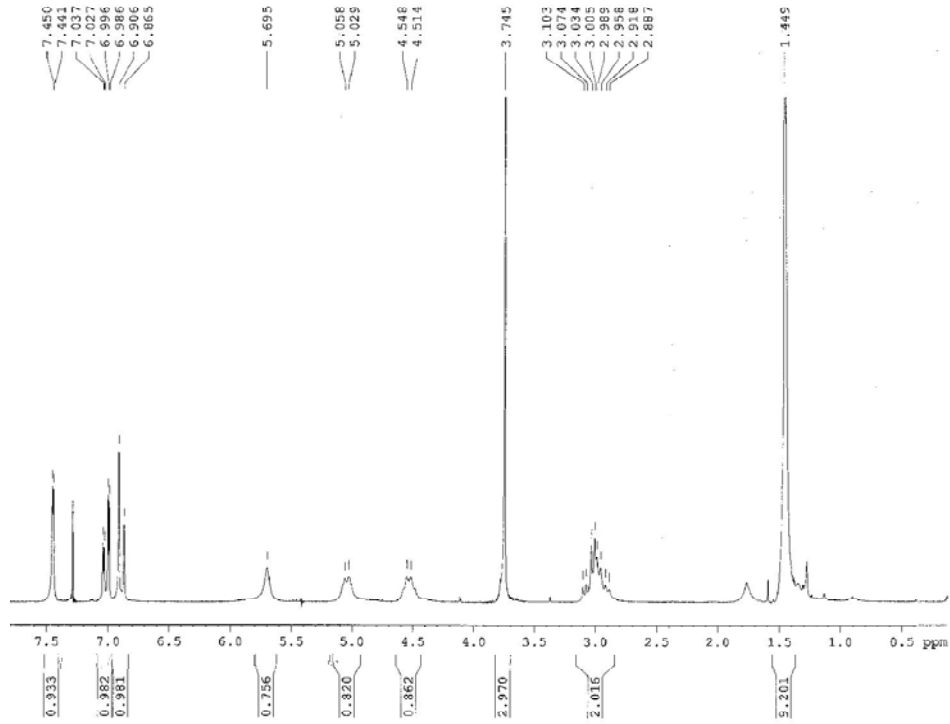
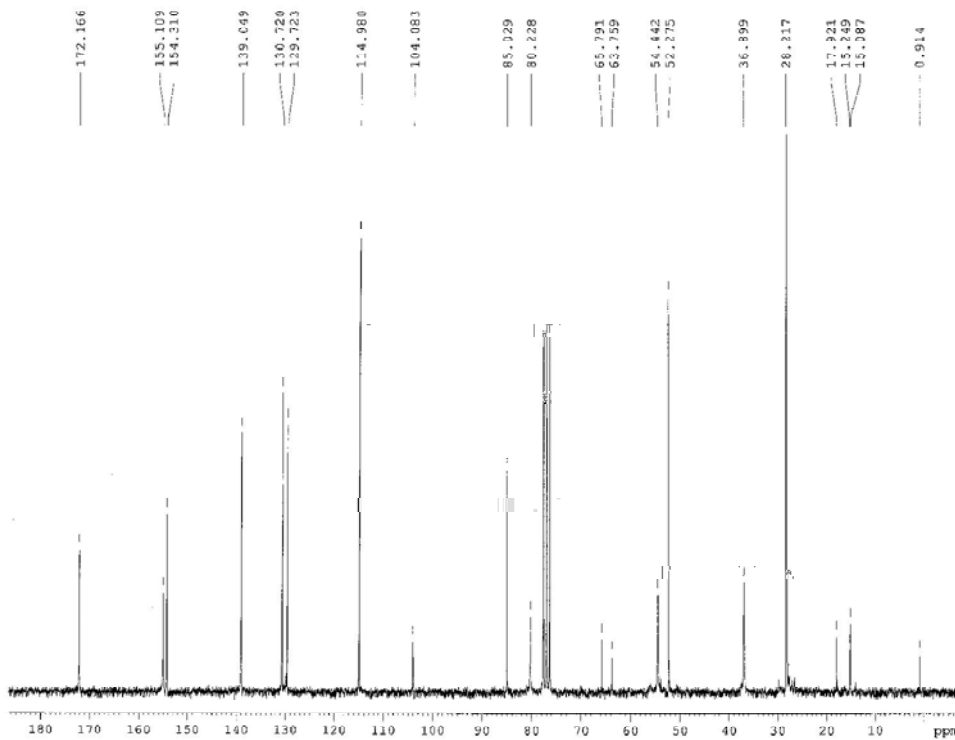
**3-Iodo-L-tirosina (21)**<sup>1</sup>H-RMN (200 MHz, D<sub>2</sub>O + DCl) δ (ppm)<sup>13</sup>C-RMN (50 MHz, D<sub>2</sub>O + DCl) δ (ppm)

IR (neat)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )



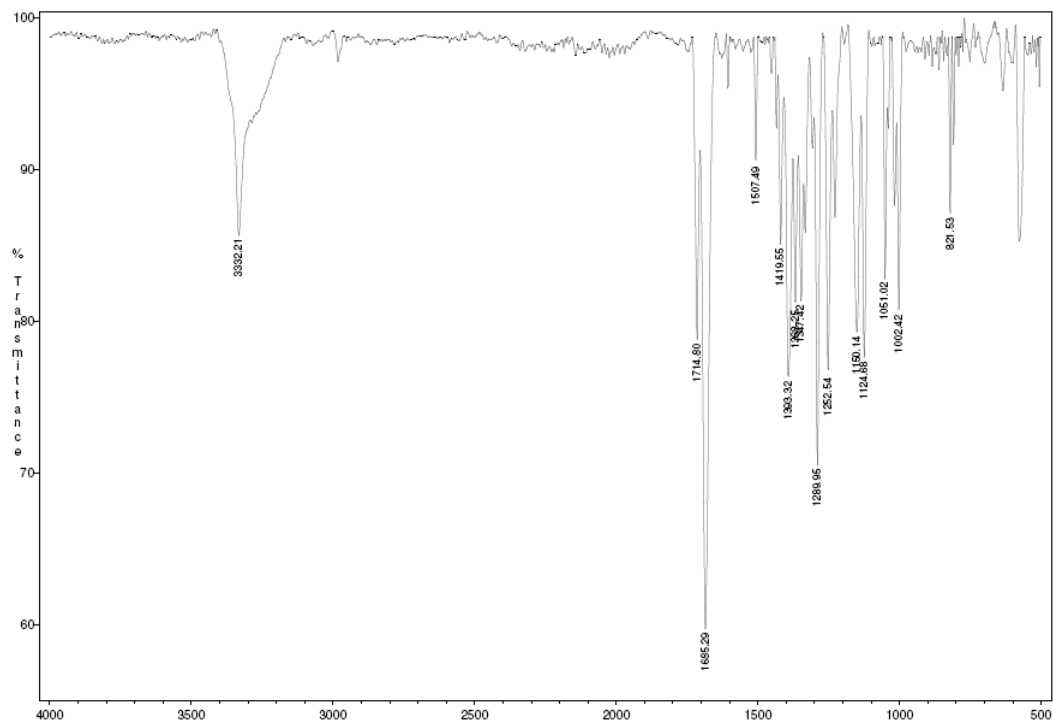
HRMS (ESI)  $m/z$



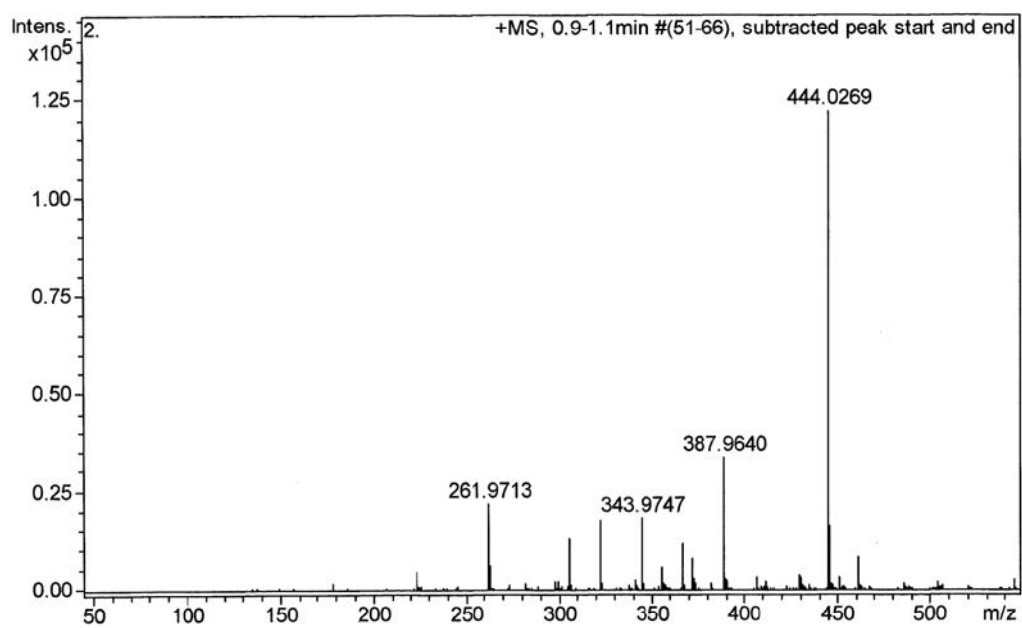
**N-(tert-Butiloxycarbonil)-3-iodo-L-tirosinat de metil (22)**<sup>1</sup>H-RMN (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)<sup>13</sup>C-RMN (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)

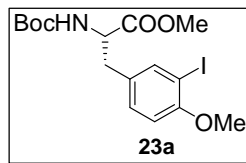
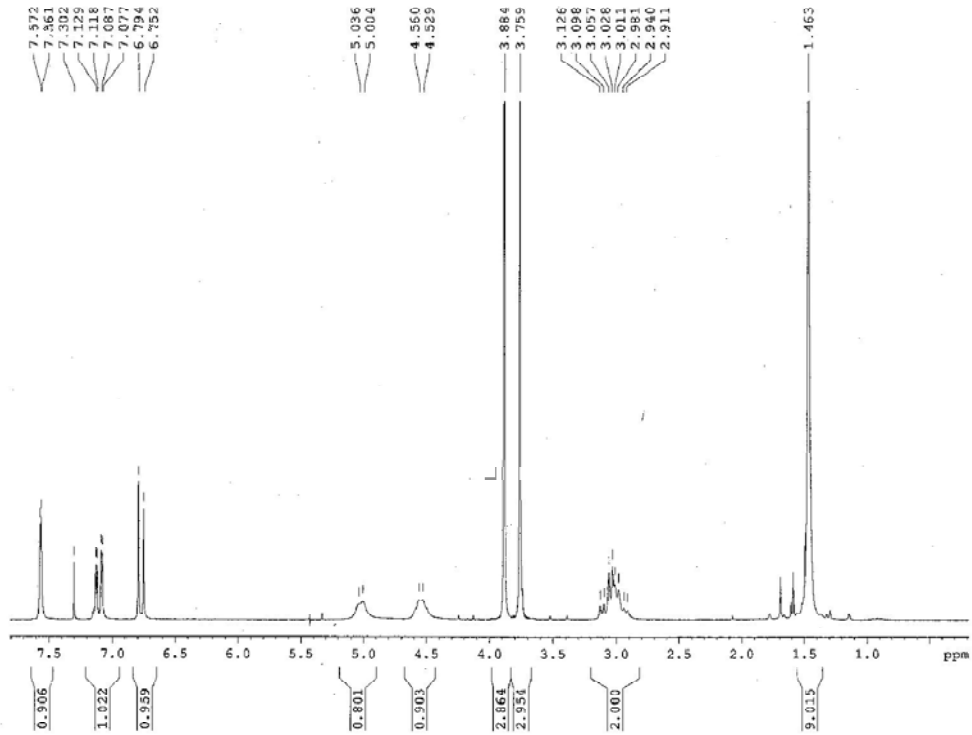
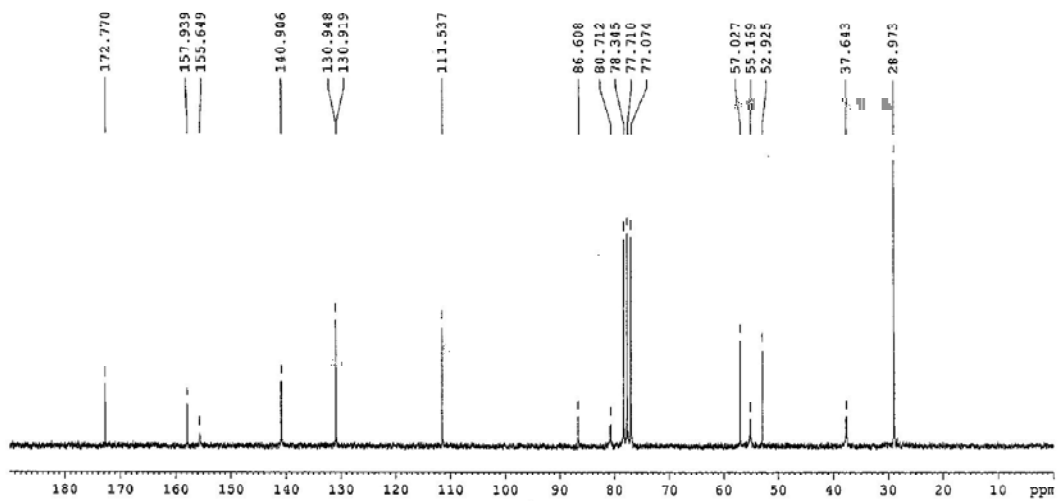


IR (neat)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )

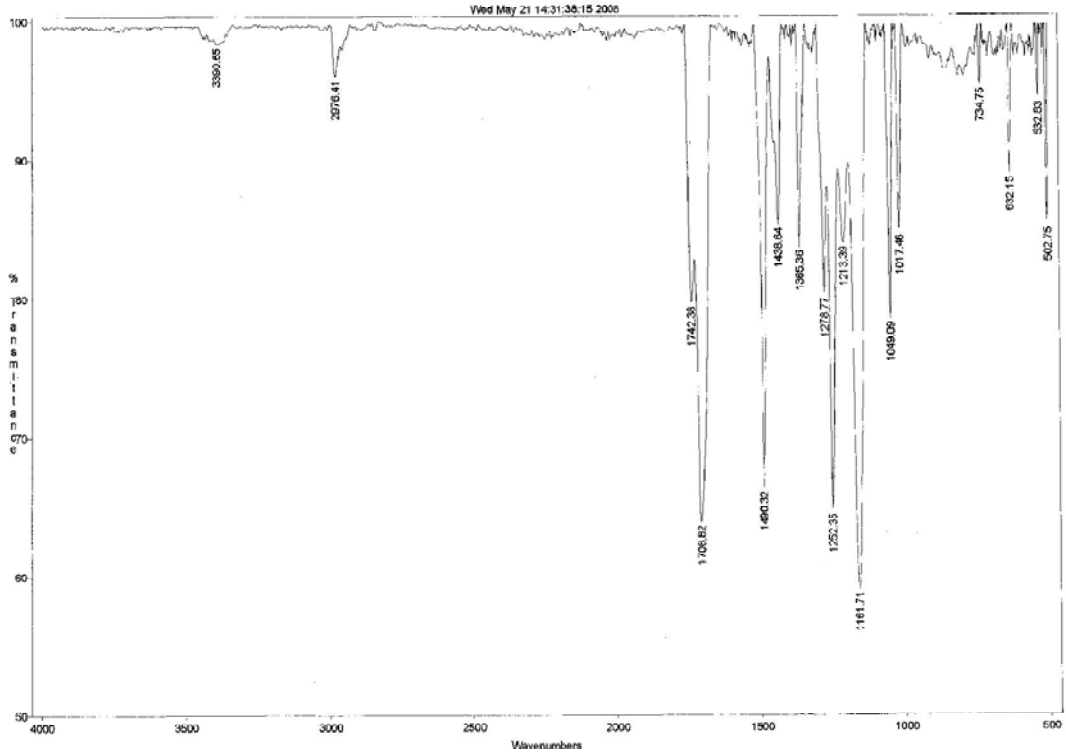


HRMS (ESI)  $m/z$

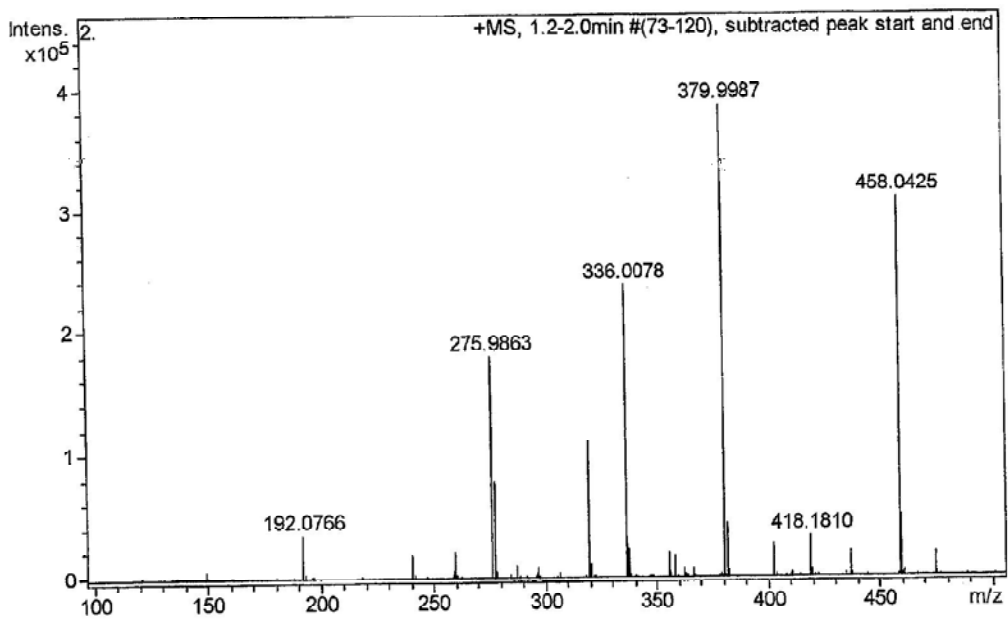


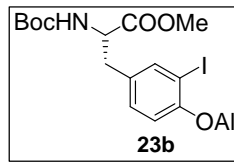
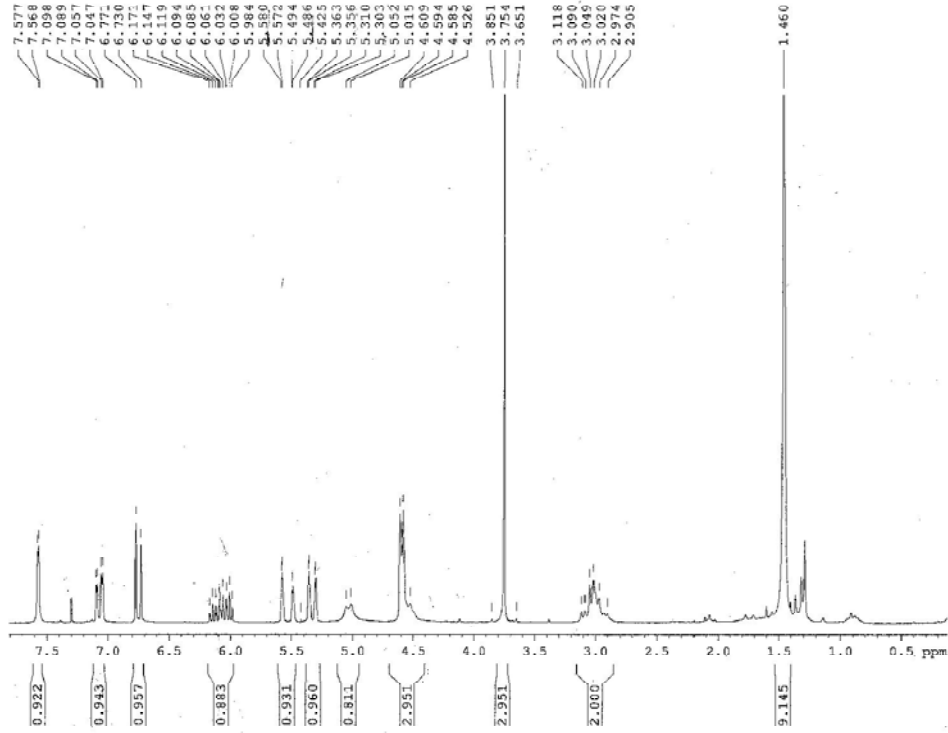
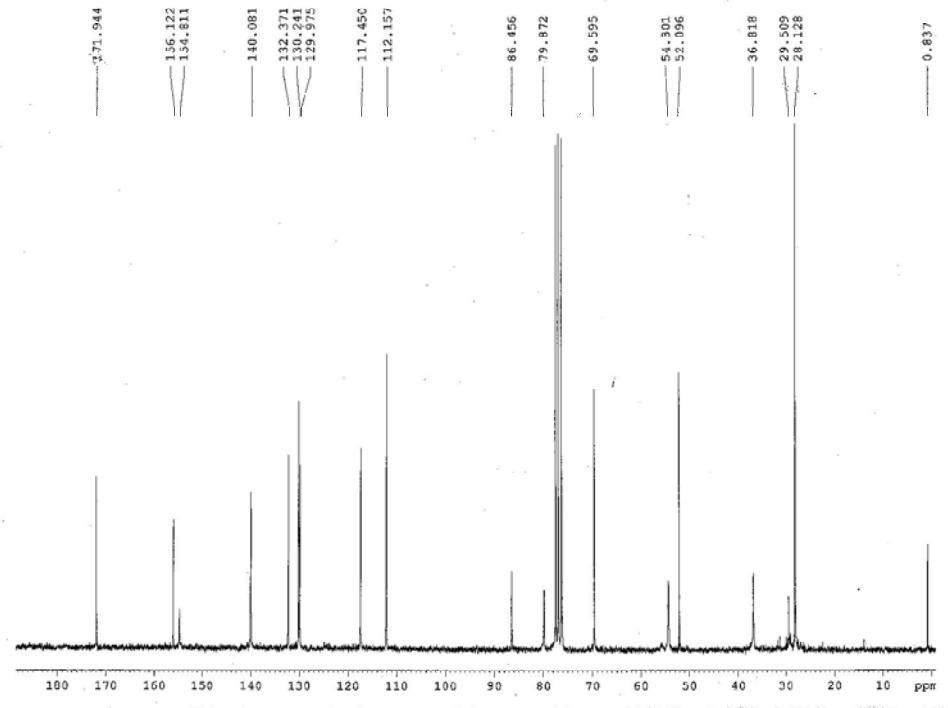
**N-(tert-Butiloxycarbonil)-3-iodo-4-metoxi-L-tirosinat de metil (23a)**<sup>1</sup>H-RMN (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)<sup>13</sup>C-RMN (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)

IR (neat)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )

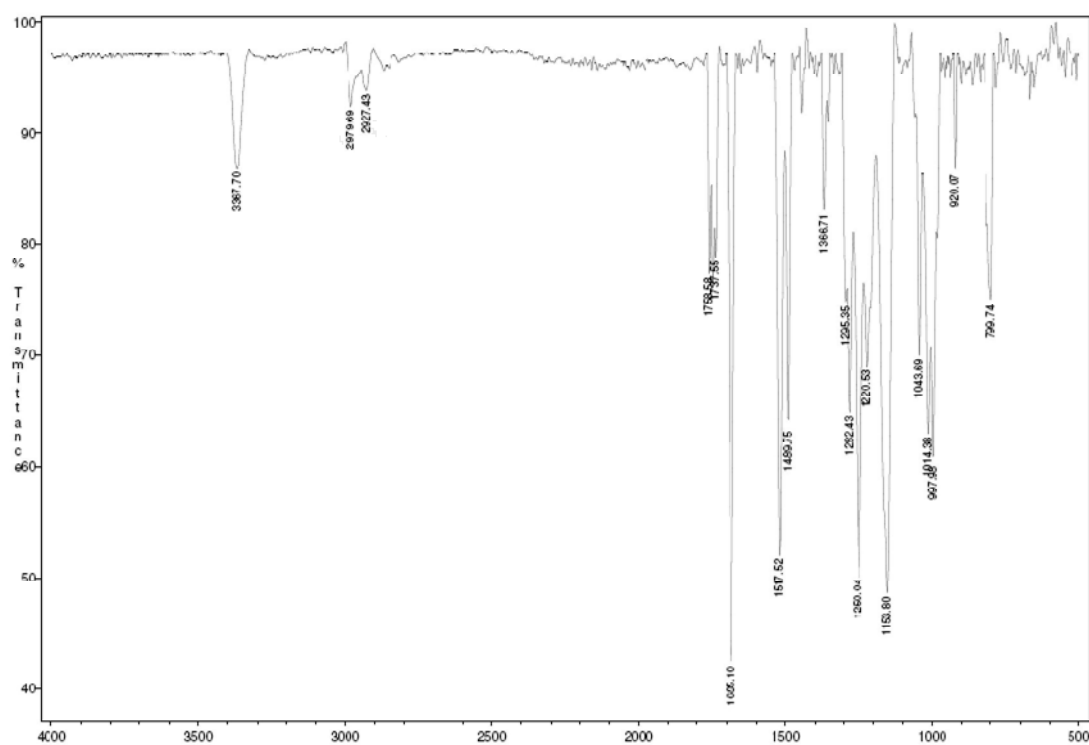


HRMS (ESI)  $m/z$

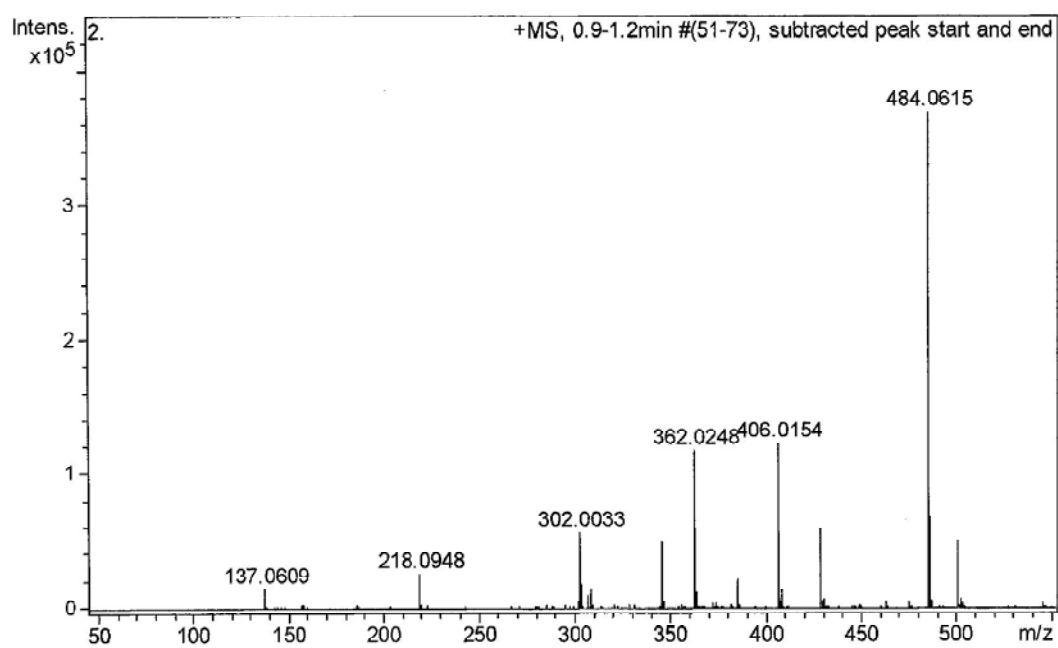


**N-(tert-Butiloxycarbonil)-3-iodo-4-*l*-liloxi-L-tirosinat de metil (23b)**<sup>1</sup>H-RMN (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)<sup>13</sup>C-RMN (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)

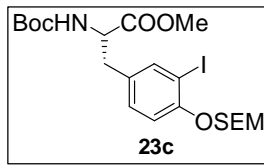
IR (neat)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )



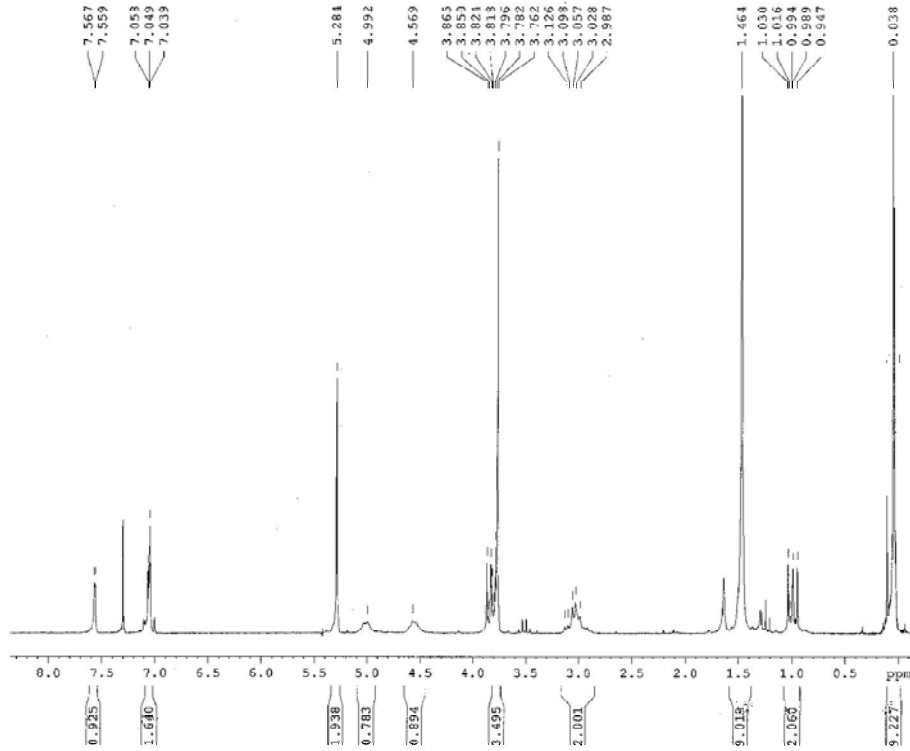
HRMS (ESI)  $m/z$



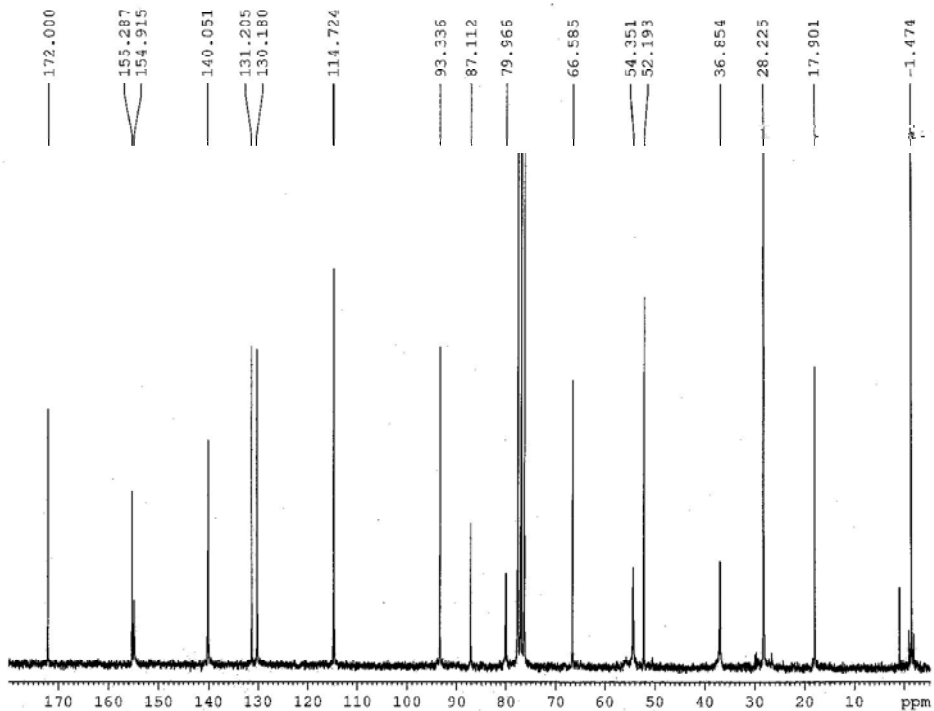
**N-(tert-Butiloxicarbonil)-3-iodo-4-[2-(trimetilsilil)etoximetoxi]-L-tirosinat de metil (23c)**



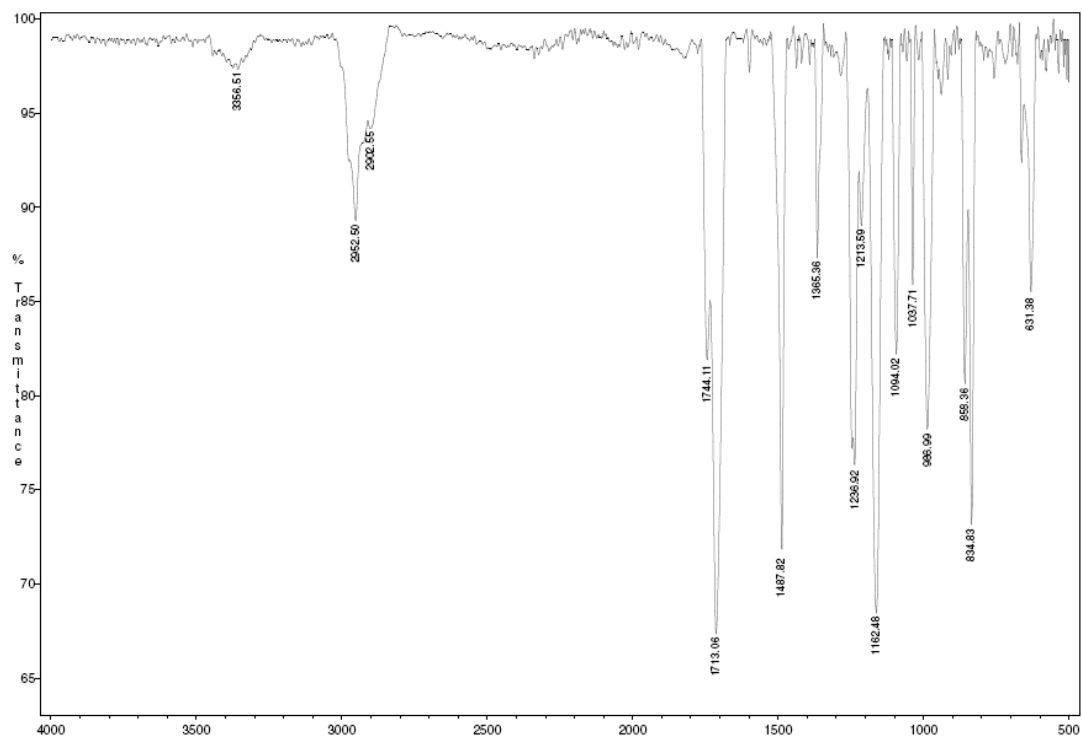
$^1\text{H-RMN}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm)



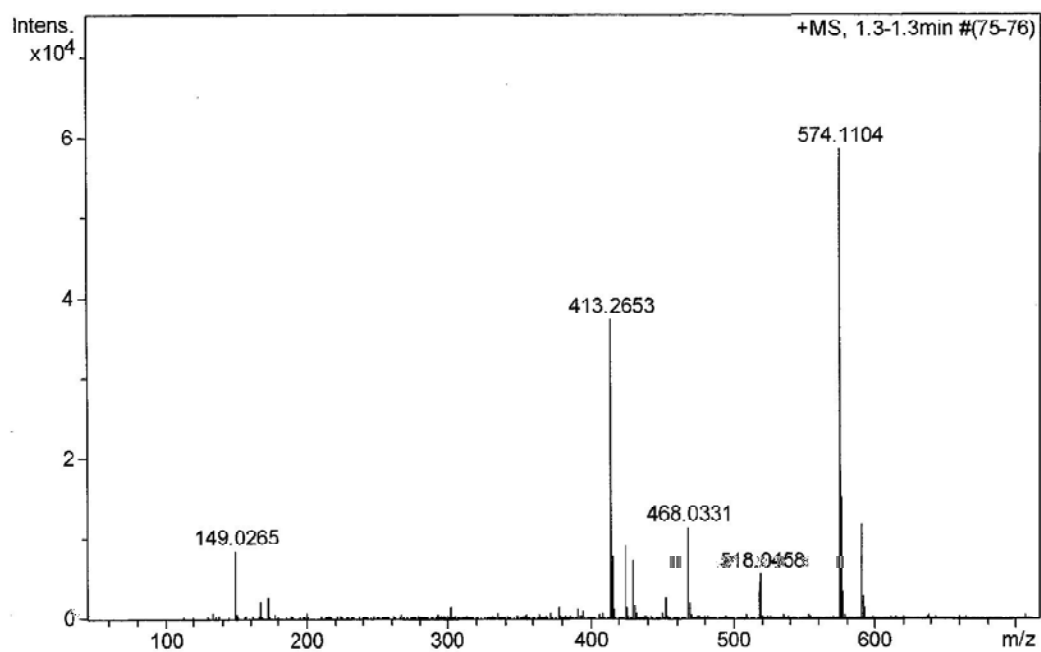
$^{13}\text{C-RMN}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm)

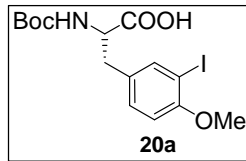
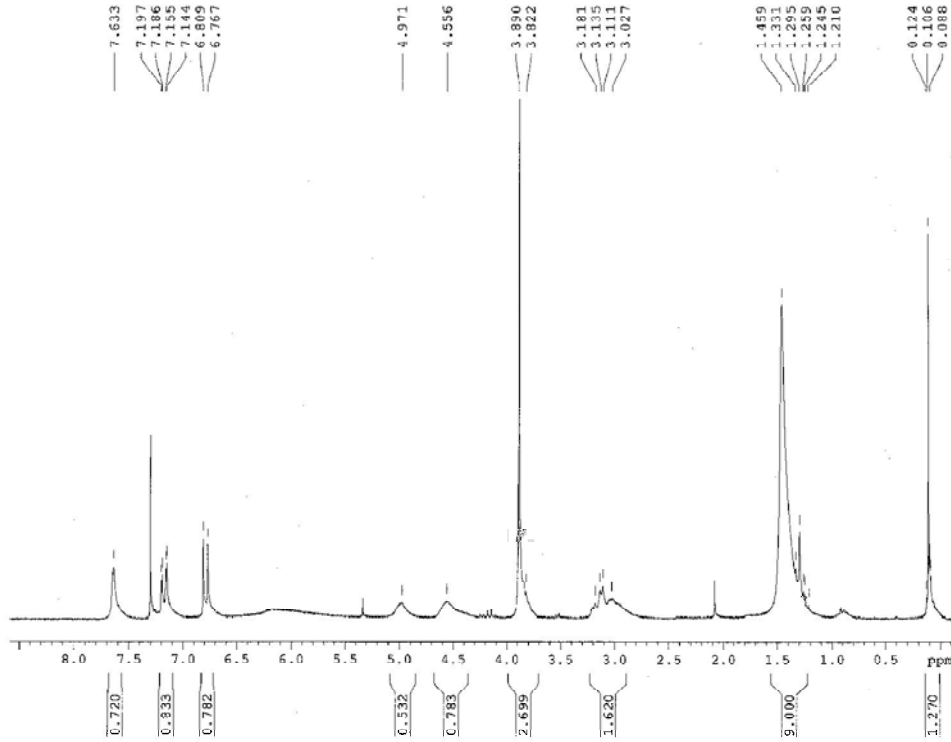
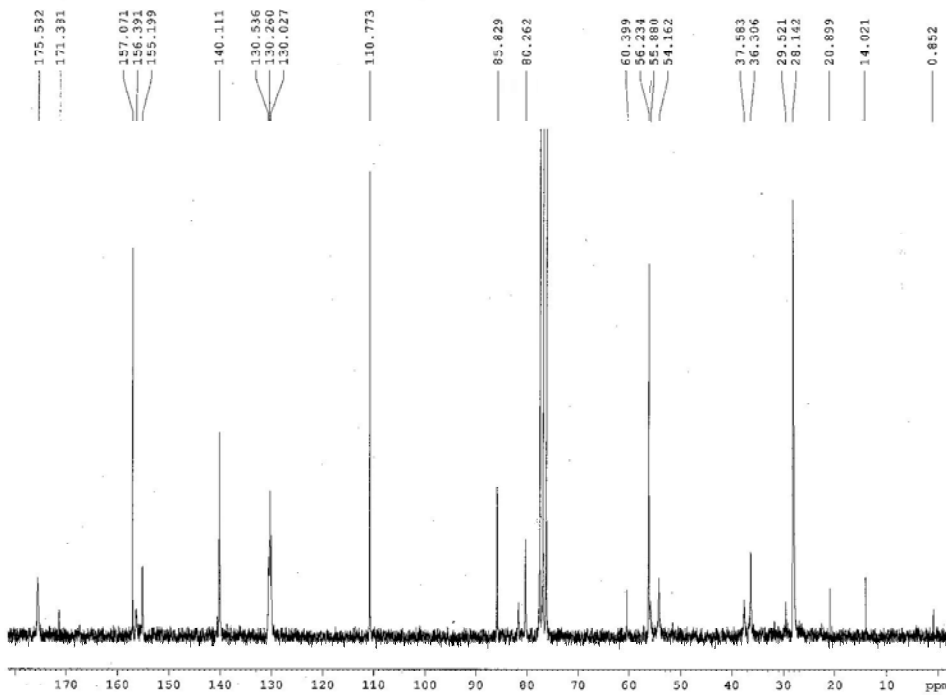


IR (neat)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )



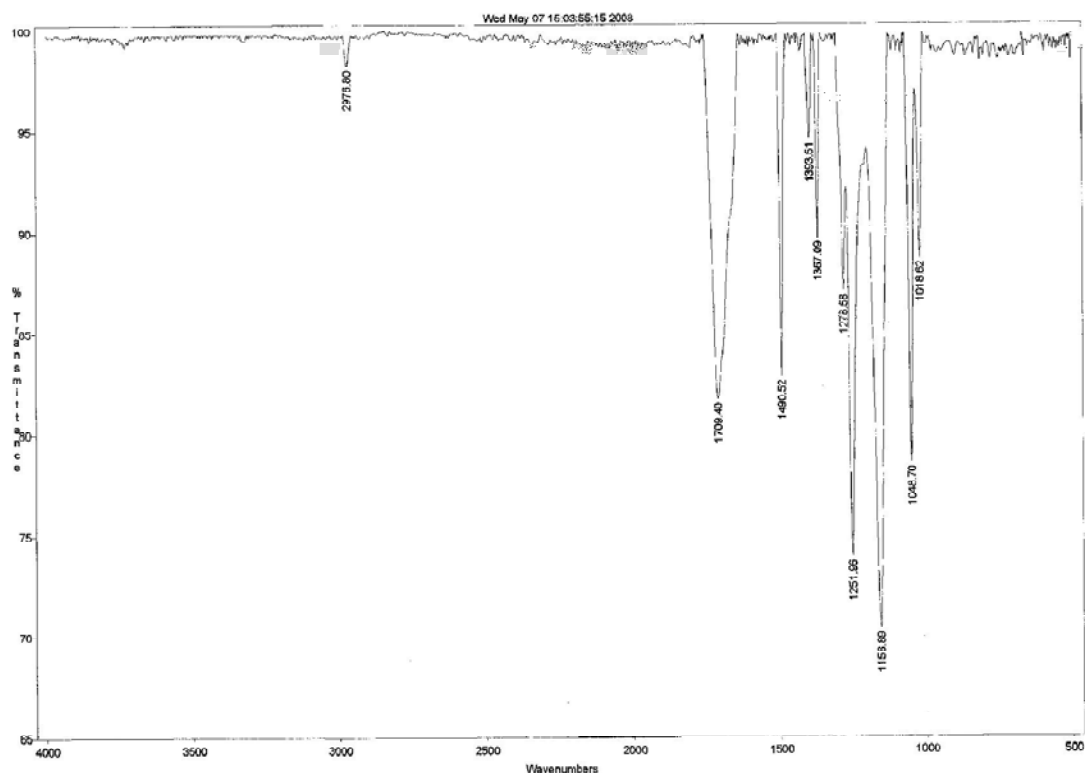
HRMS (ESI)  $m/z$



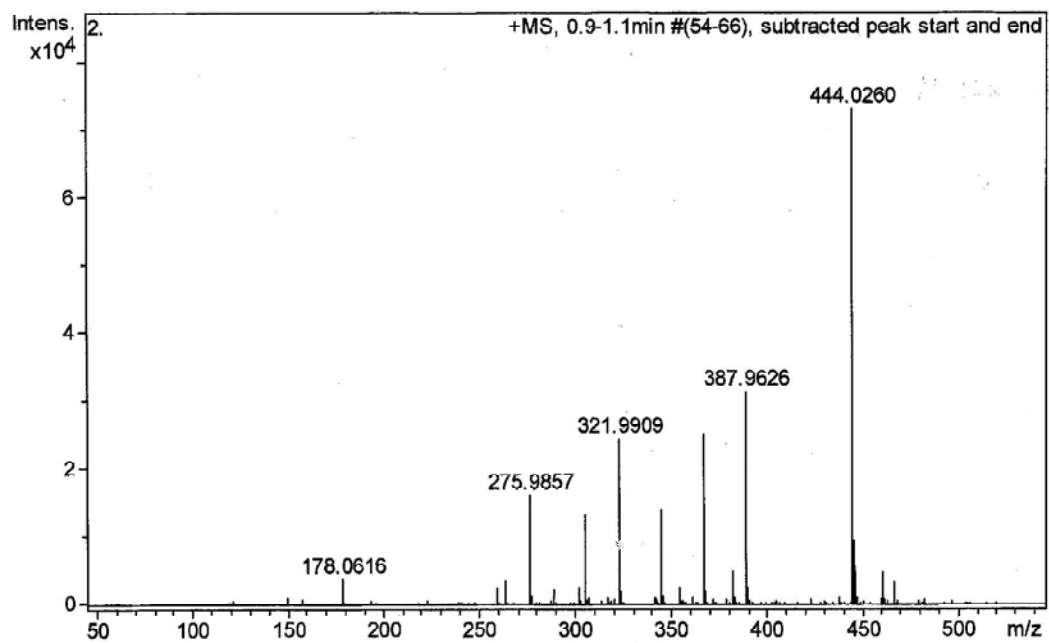
**N-(tert-Butiloxycarbonil)-3-iodo-4- metoxi-L-tirosina (20a)**<sup>1</sup>H-RMN (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)<sup>13</sup>C-RMN (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)

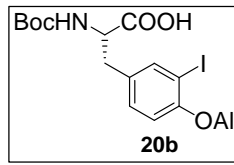
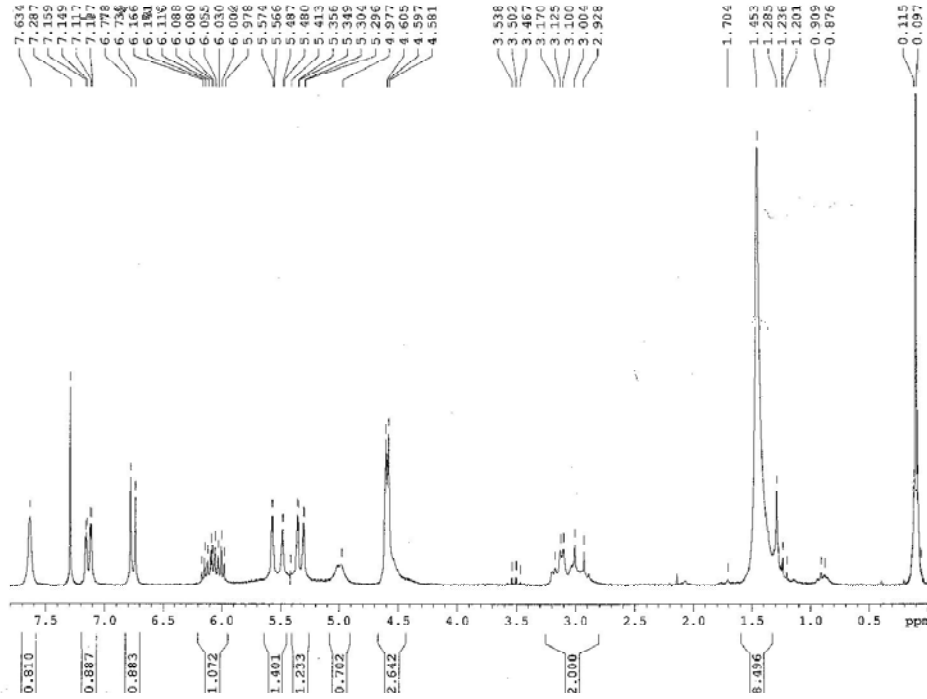
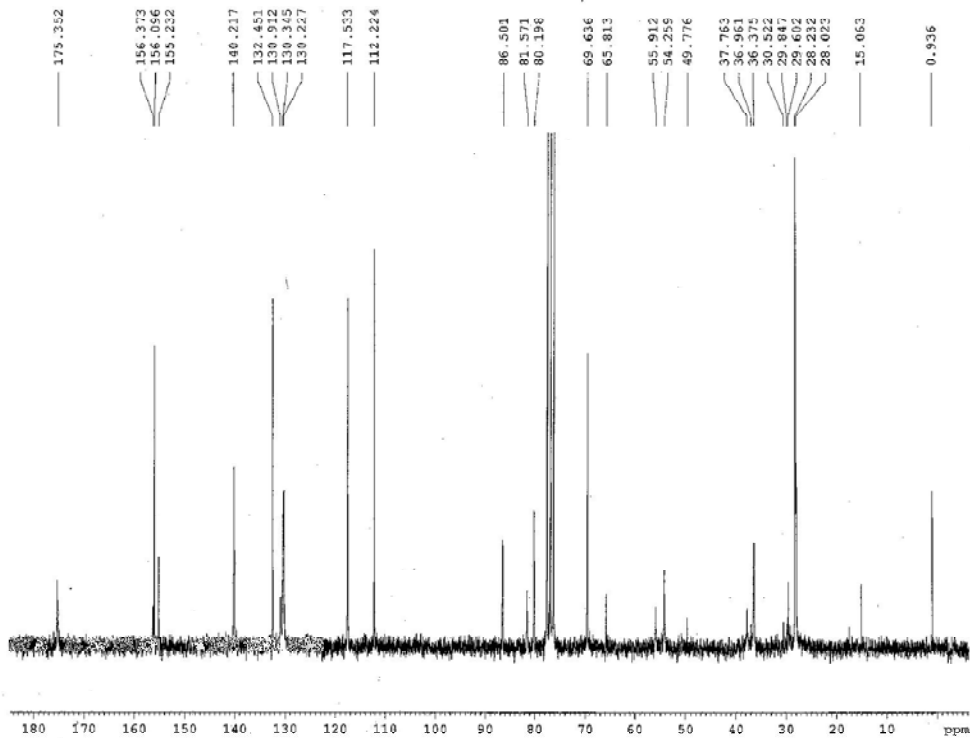


IR (neat)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )

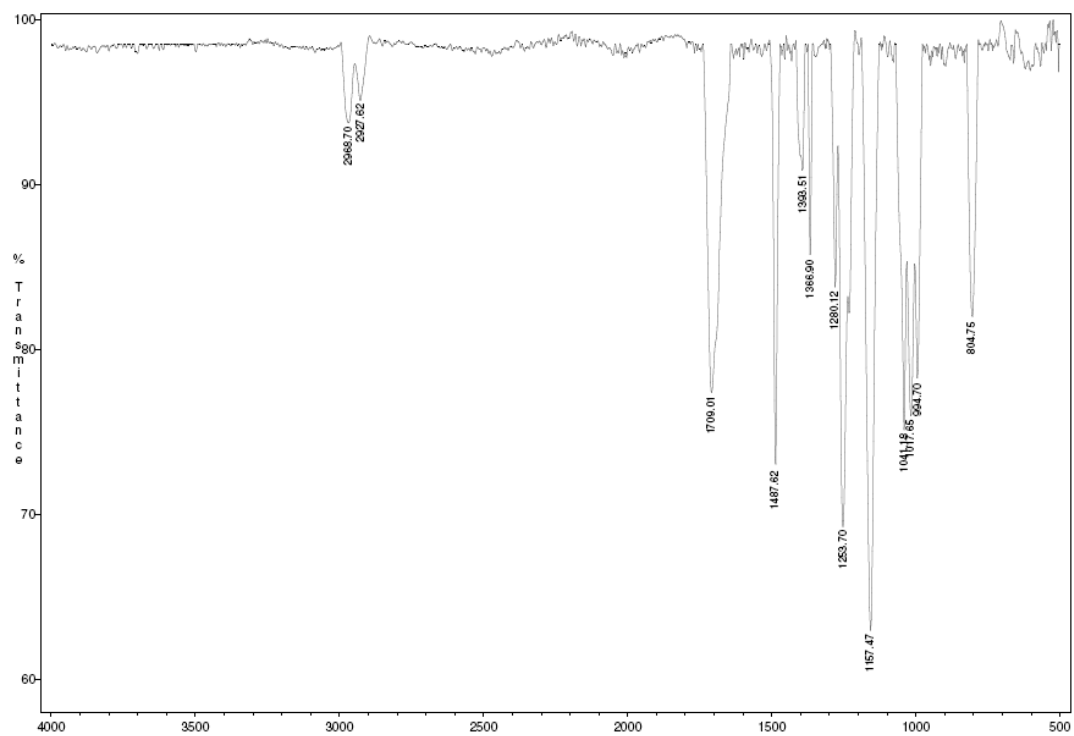


HRMS (ESI)  $m/z$

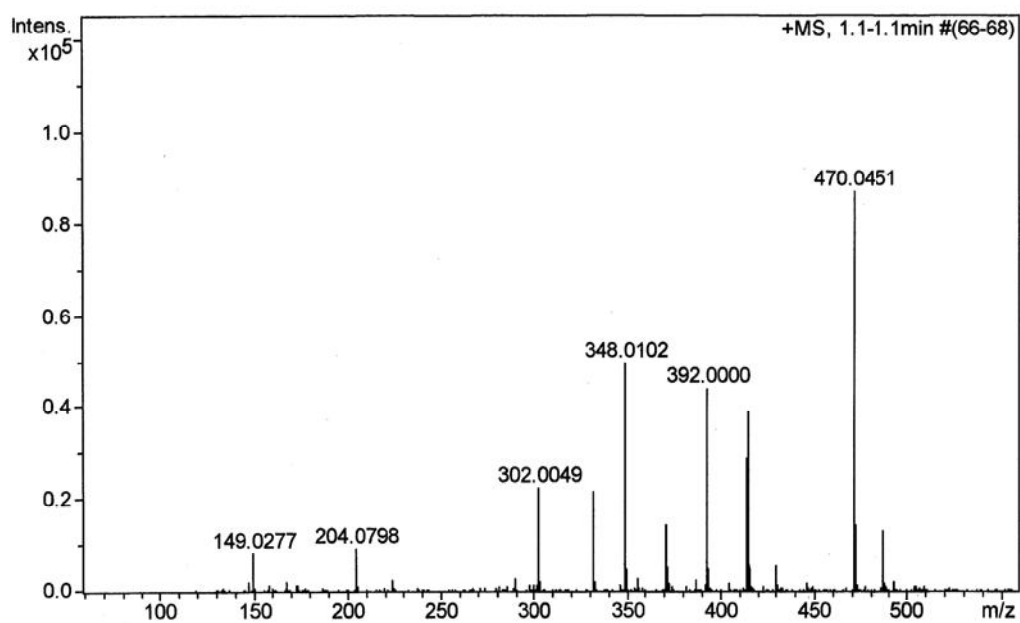


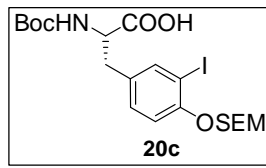
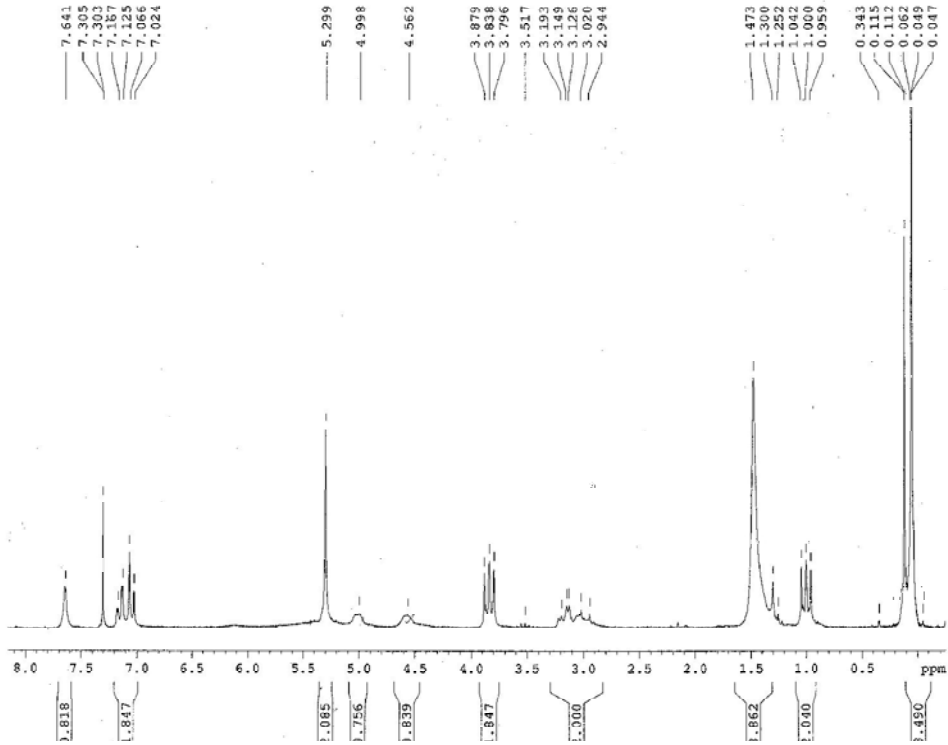
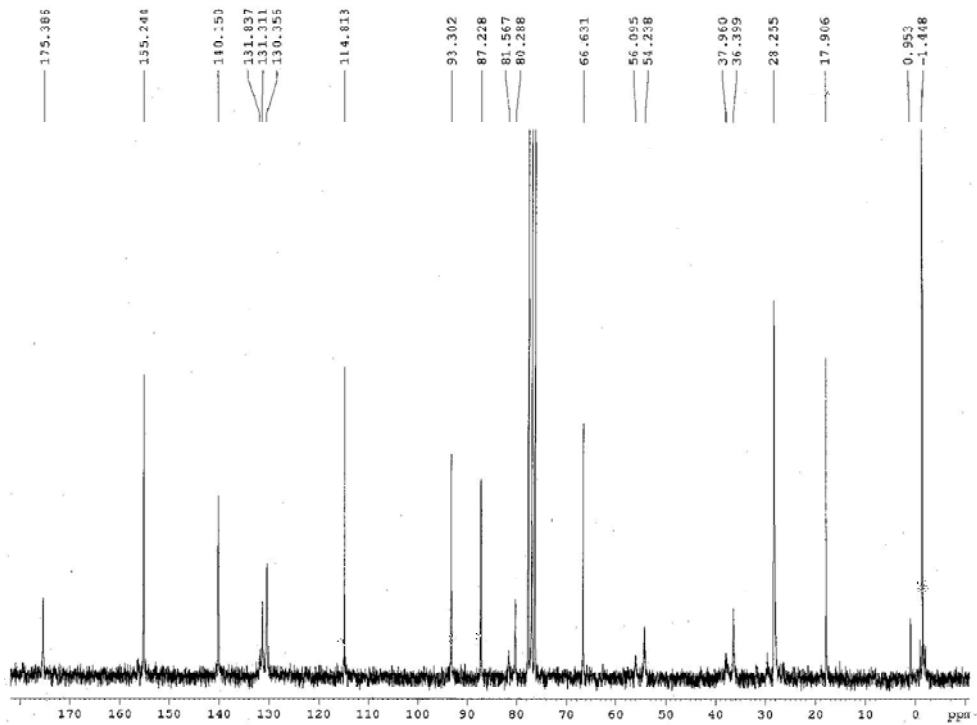
**N-(tert-Butiloxicarbonil)-3-iodo-4-al·liloxi-L-tirosina (20b)**<sup>1</sup>H-RMN (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)<sup>13</sup>C-RMN (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)

IR (neat)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )

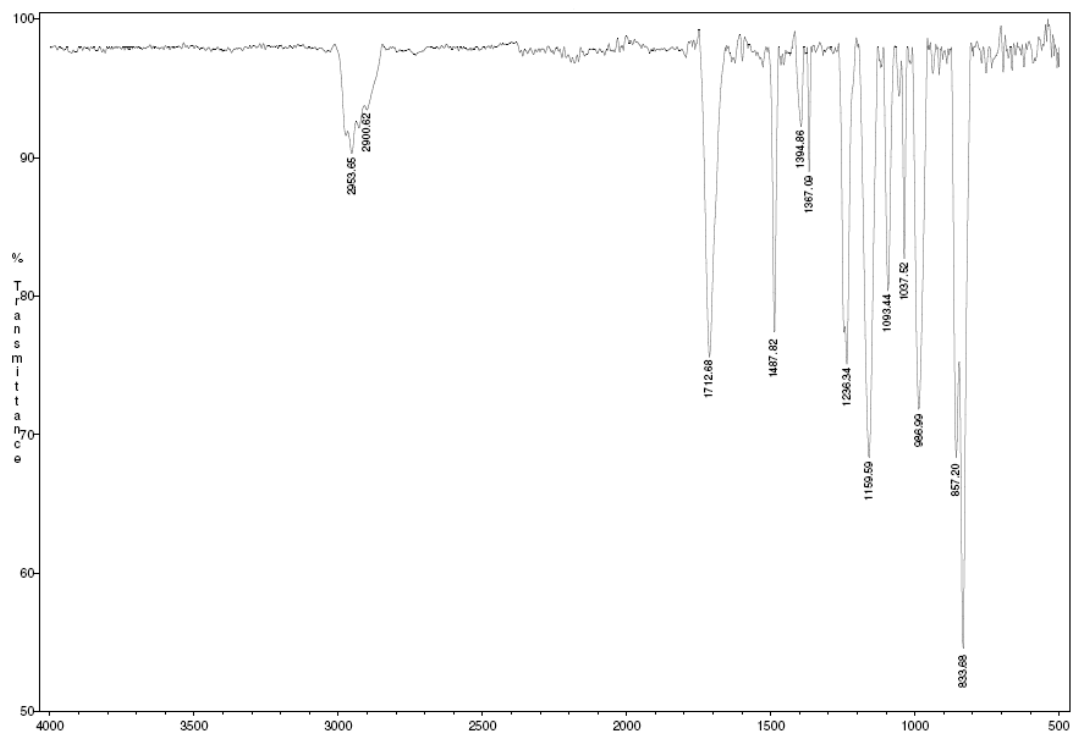


HRMS (ESI)  $m/z$

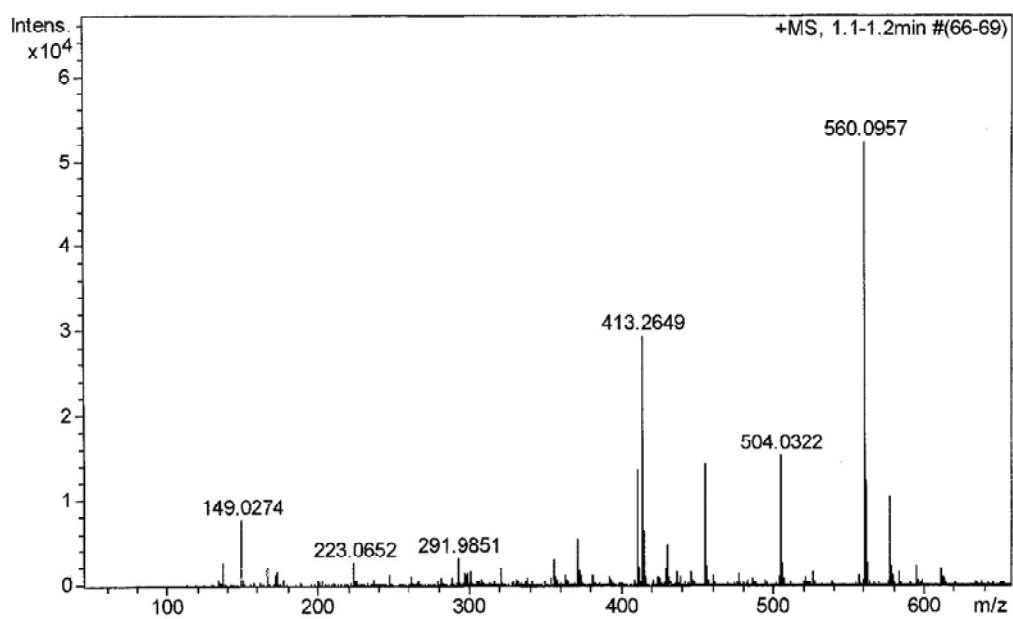


**N-(tert-Butiloxicarbonil)-3-iodo-4-[2-(trimetilsilil)etoximetoxi]-L-tirosina (20c)**<sup>1</sup>H-RMN (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)<sup>13</sup>C-RMN (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)

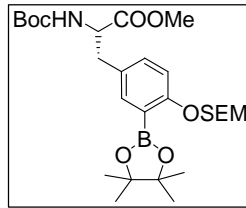
IR (neat)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )



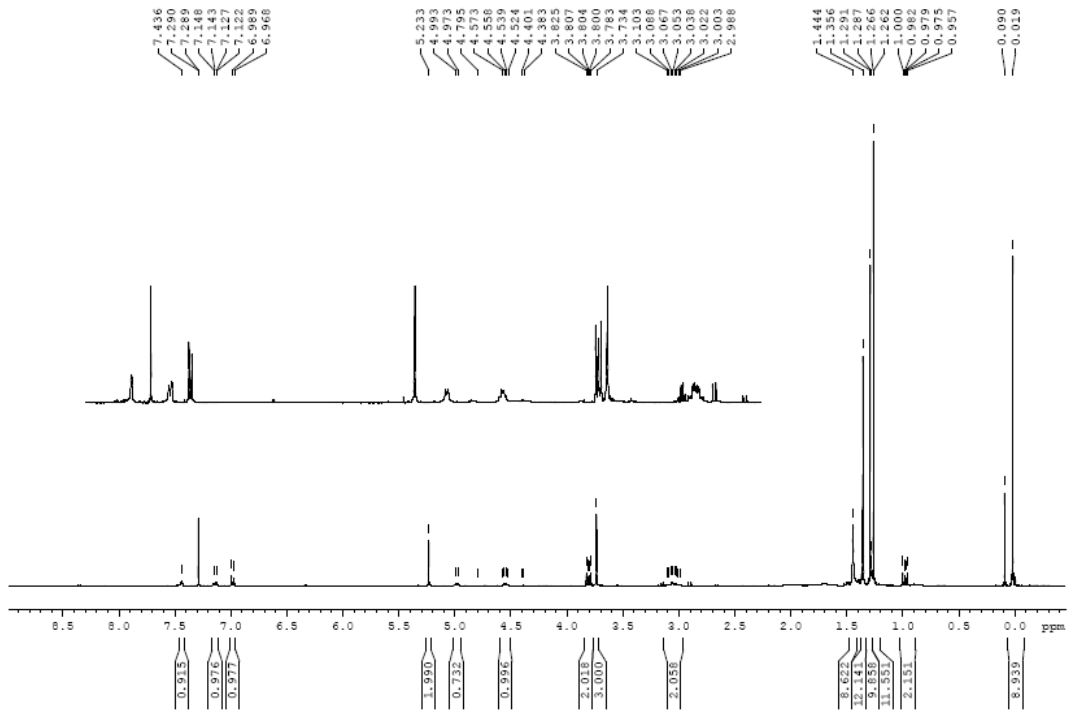
HRMS (ESI)  $m/z$



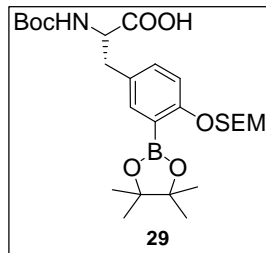
**N-(tert-Butiloxicarbonil)-3-pinacolatoborono-4-[2-(trimetilsilil)etoximetoxi]-L-tirosinat de metil**



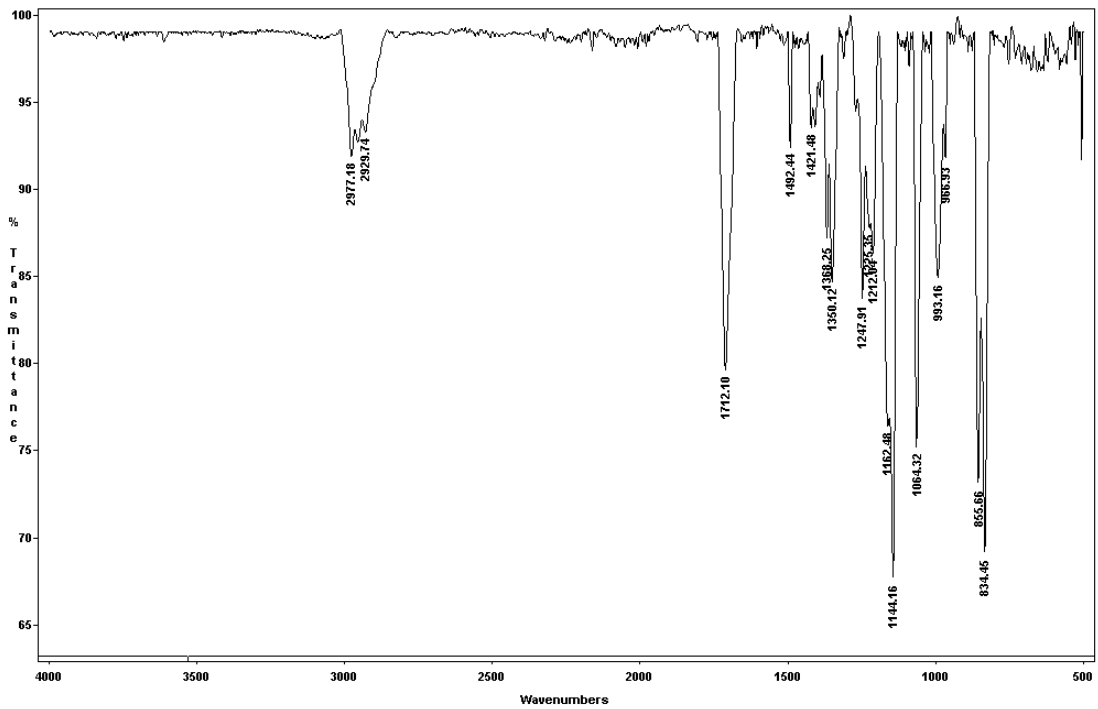
<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)



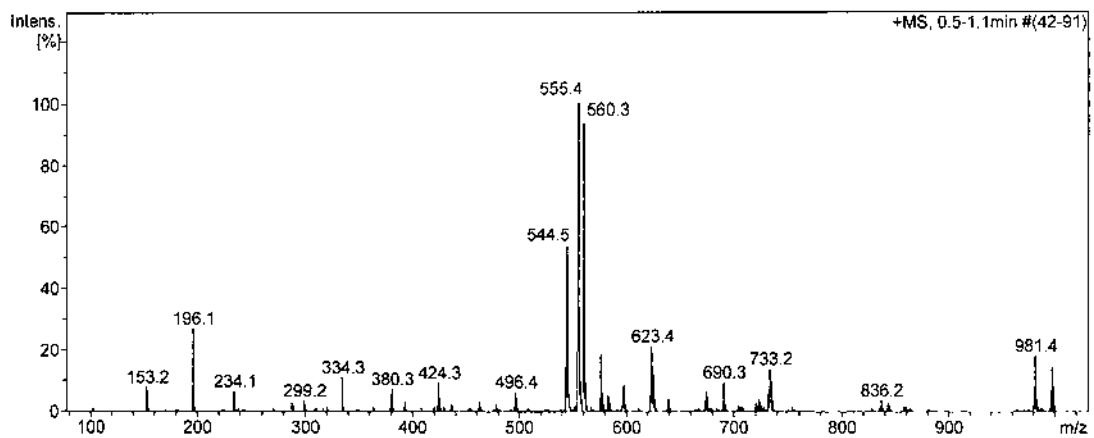
**N-(tert-Butiloxicarbonil)-3-pinacolatoborono-4-[2-(trimetilsilil)etoximetoxi]-L-tirosina (29)**

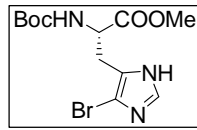
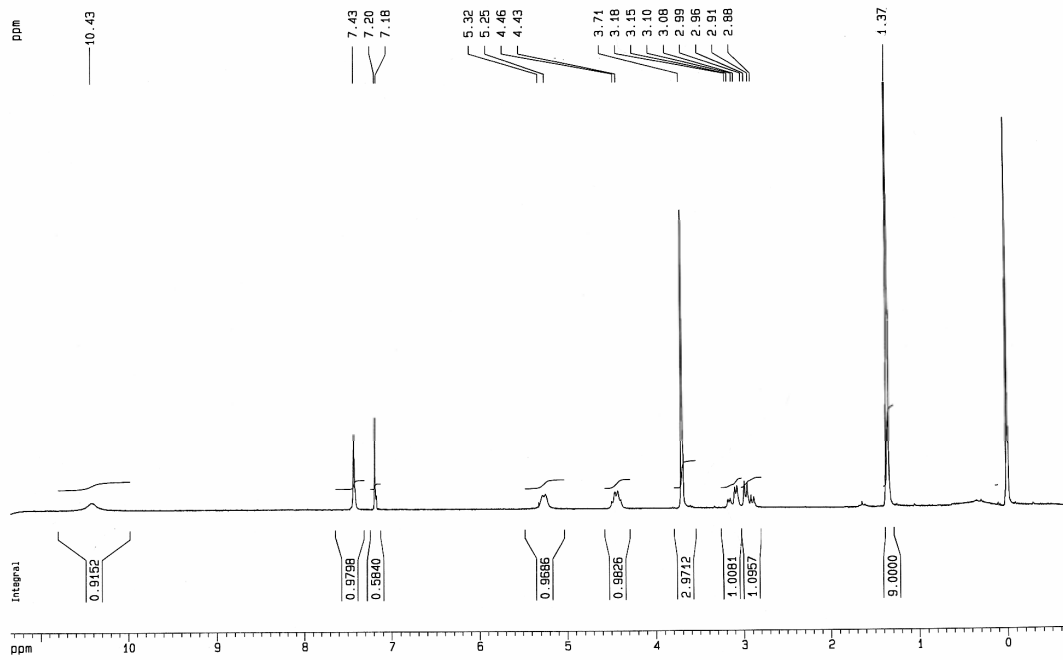
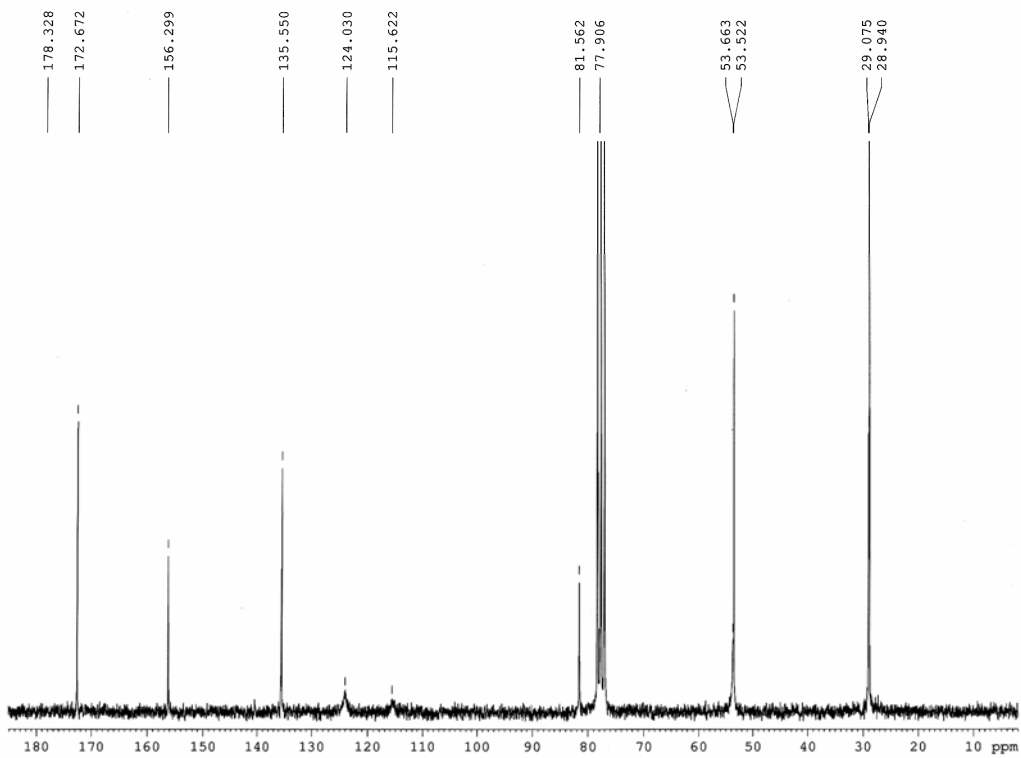


IR (neat)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)



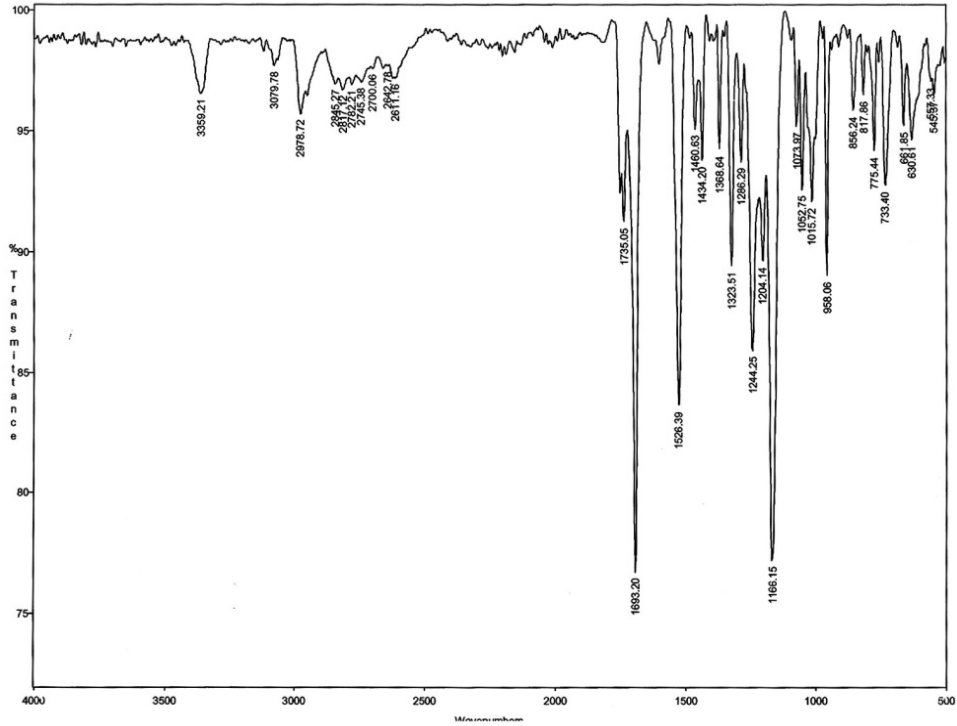
ESI-MS  $m/z$



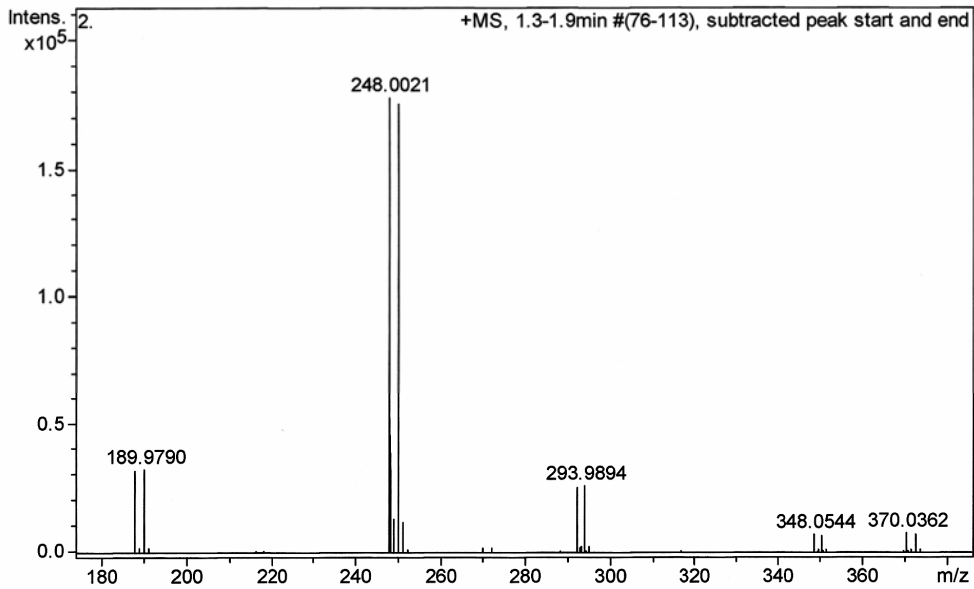
**5-Bromo-N( $\alpha$ )-(tert-butiloxycarbonil)-L-histidinat de metil**<sup>1</sup>H-RMN (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm)<sup>13</sup>C-RMN (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm)

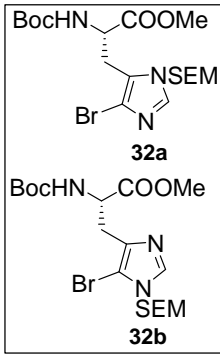


IR (neat)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )



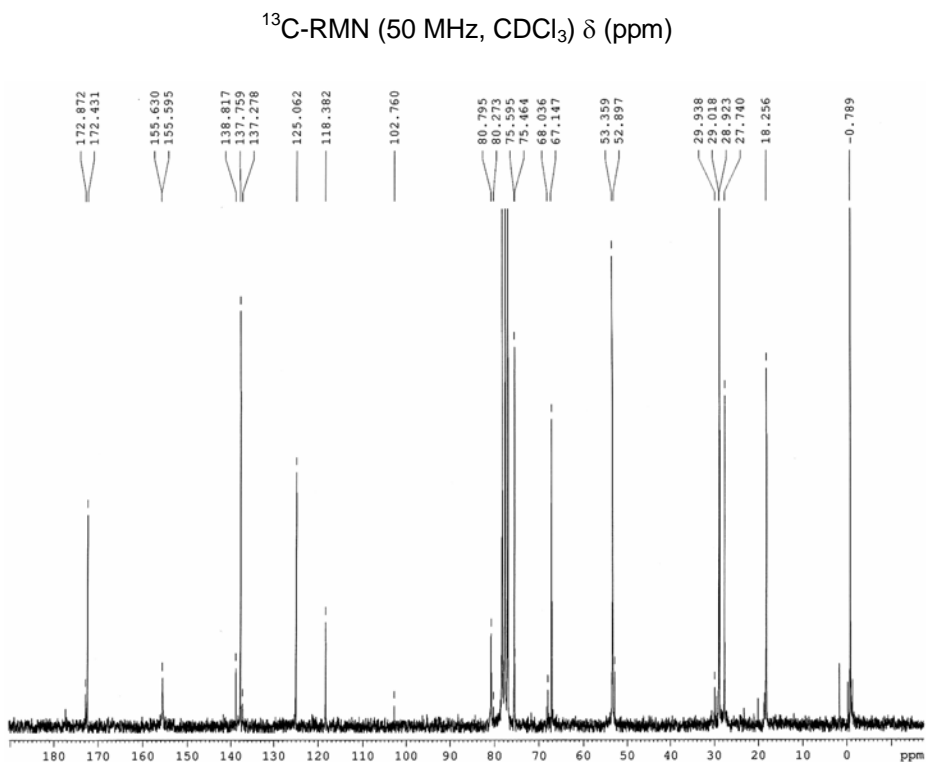
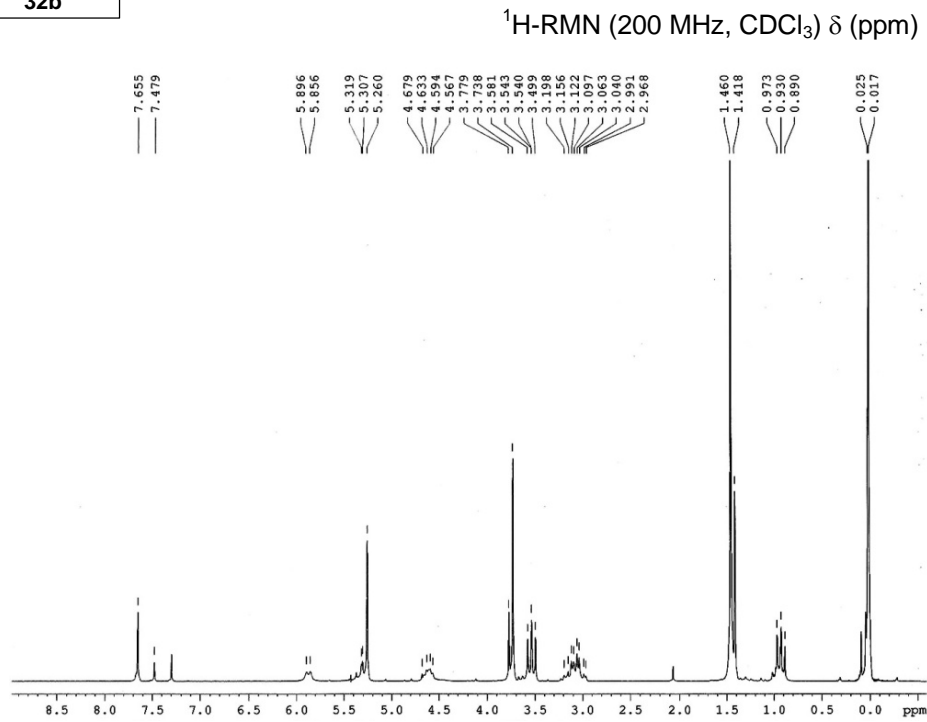
HRMS (ESI)  $m/z$



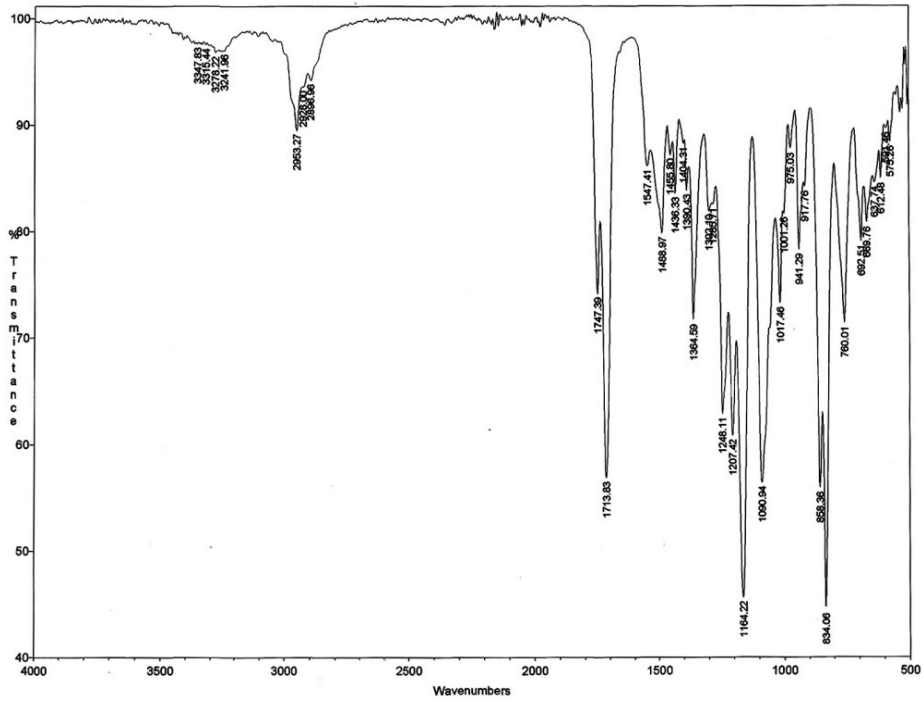


**5-Bromo- $N(\alpha)$ -(*tert*-butiloxycarbonil)- $N(\pi)$ -[2-(trimetilsilil)-etoximetil]-L-histidinat de metil (32a)**

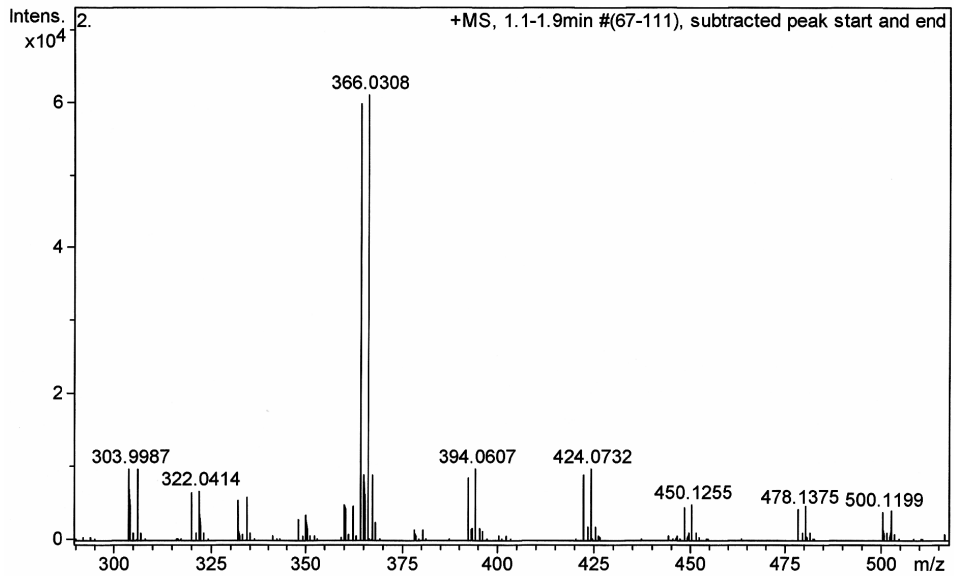
**5-Bromo- $N(\alpha)$ -(*tert*-butiloxycarbonil)- $N(\tau)$ -[2-(trimetilsilil)-etoximetil]-L-histidinat de metil (32b)**

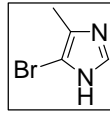
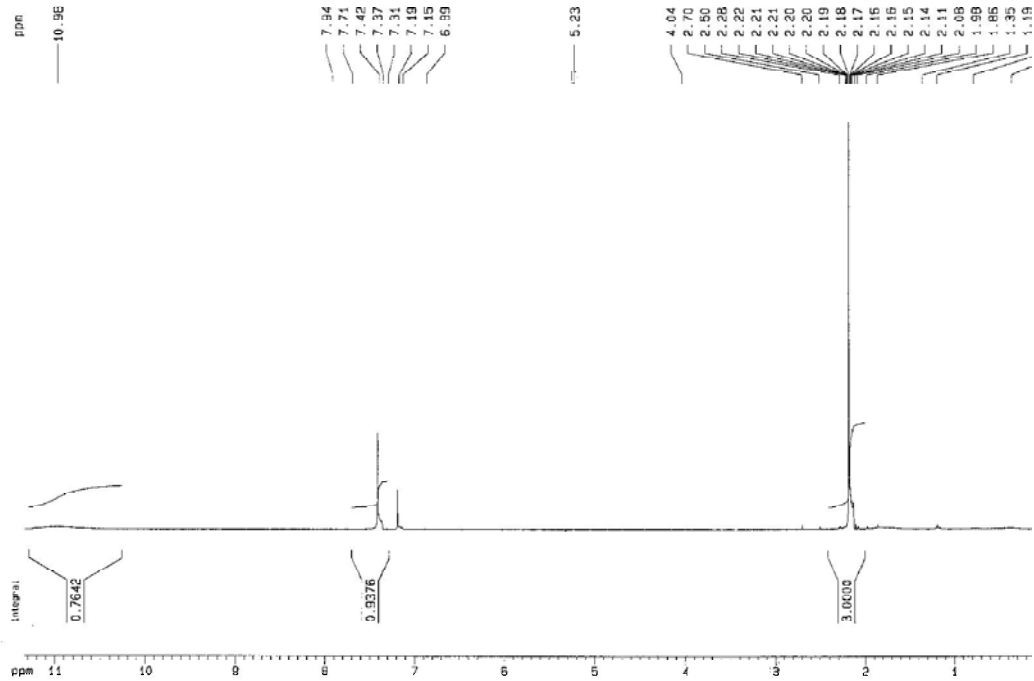
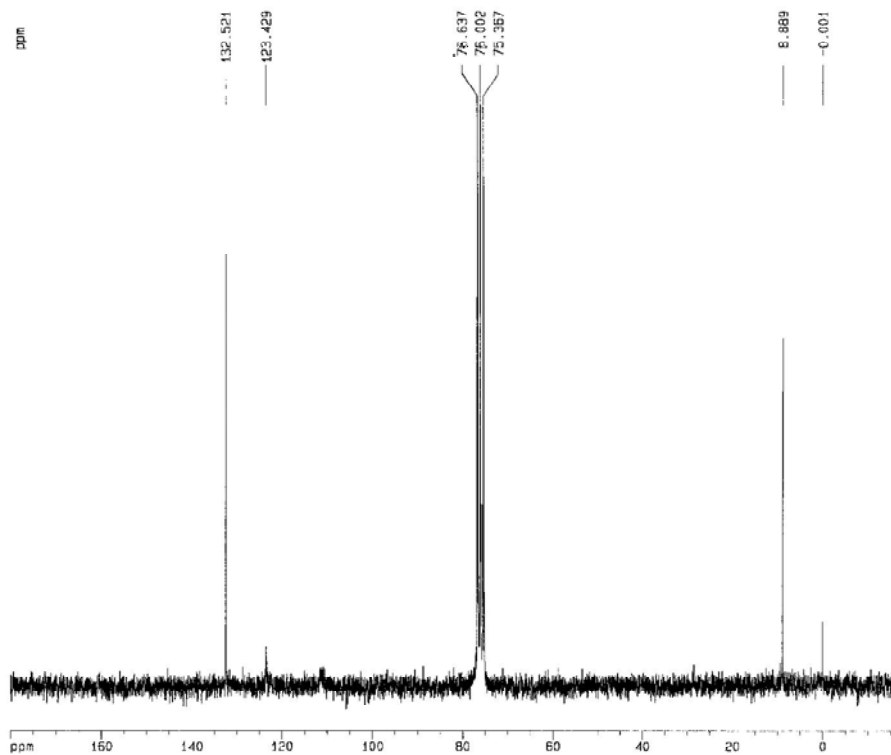


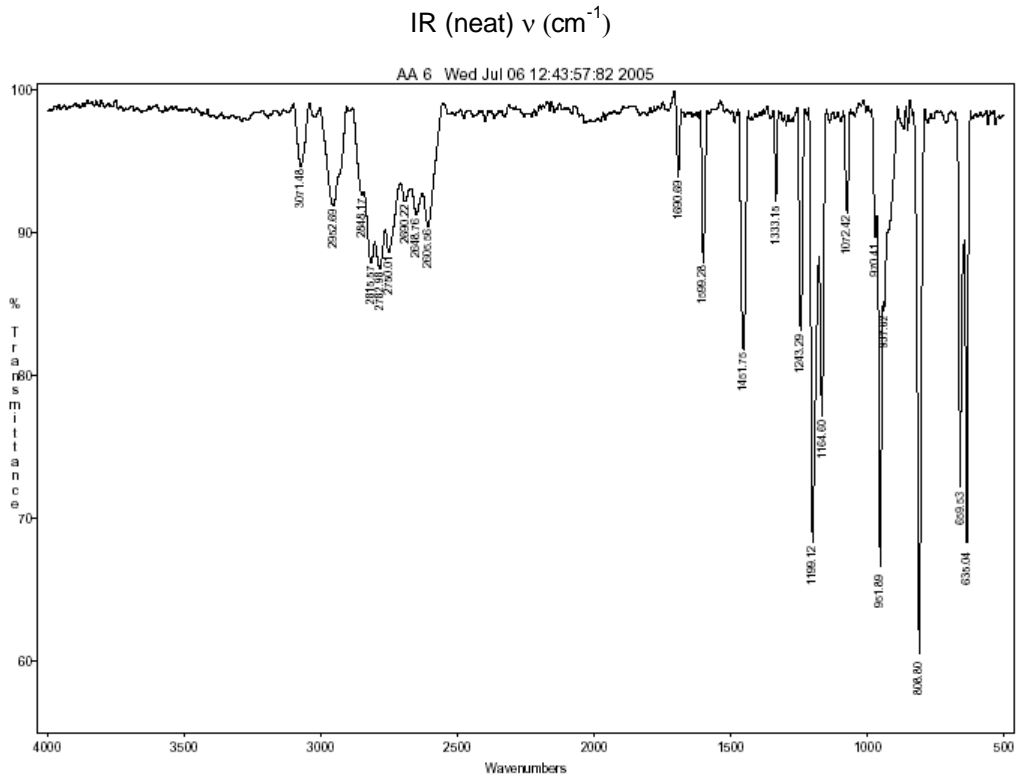
IR (neat)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )



HRMS (ESI)  $m/z$

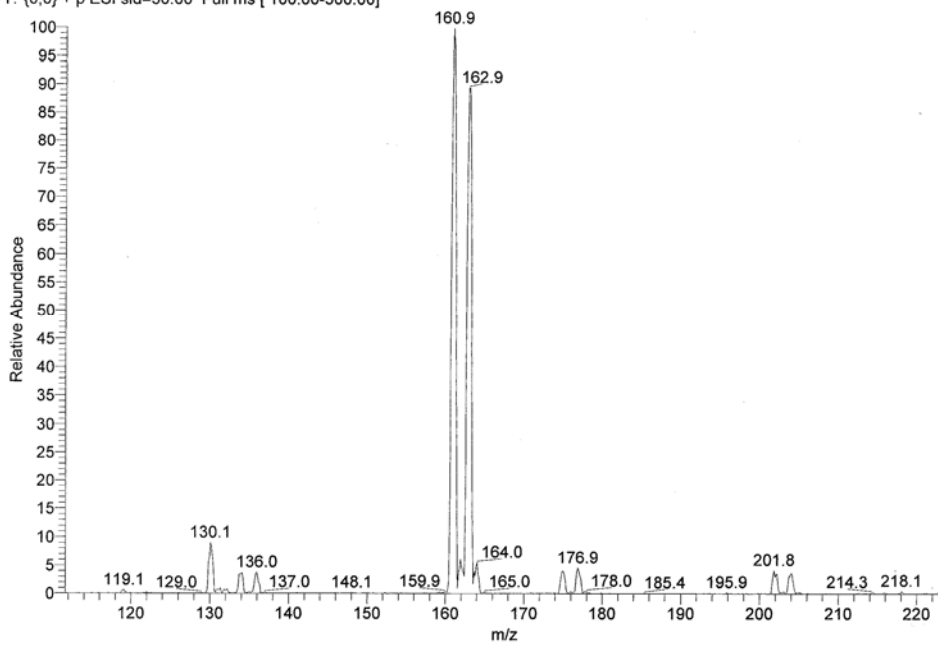


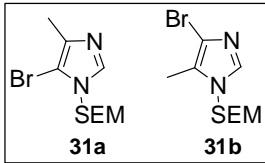
**4(5)-Bromo-5(4)-metilimidazole**<sup>1</sup>H-RMN (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)<sup>13</sup>C-RMN (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)



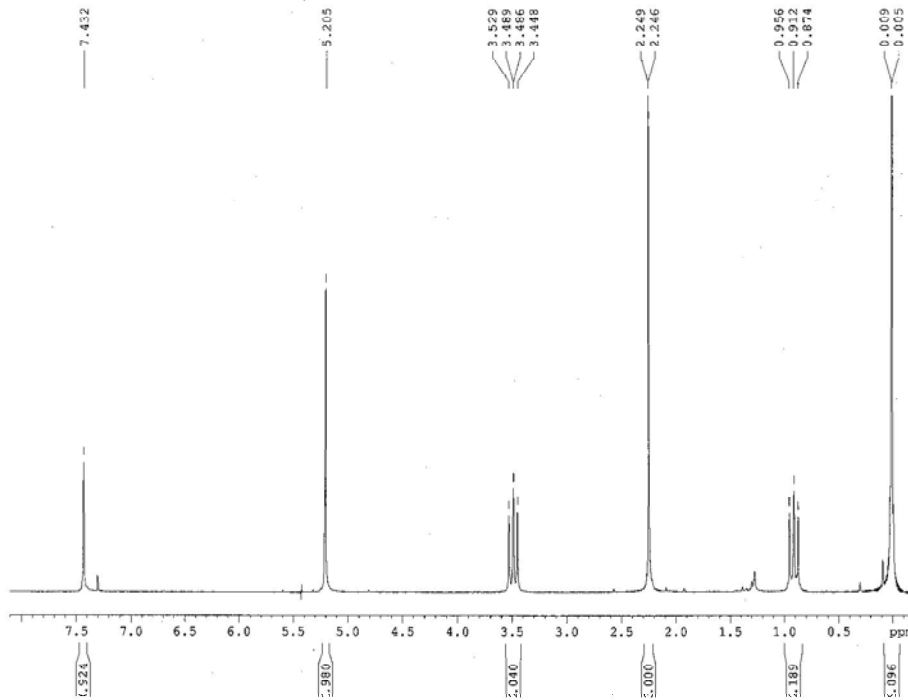
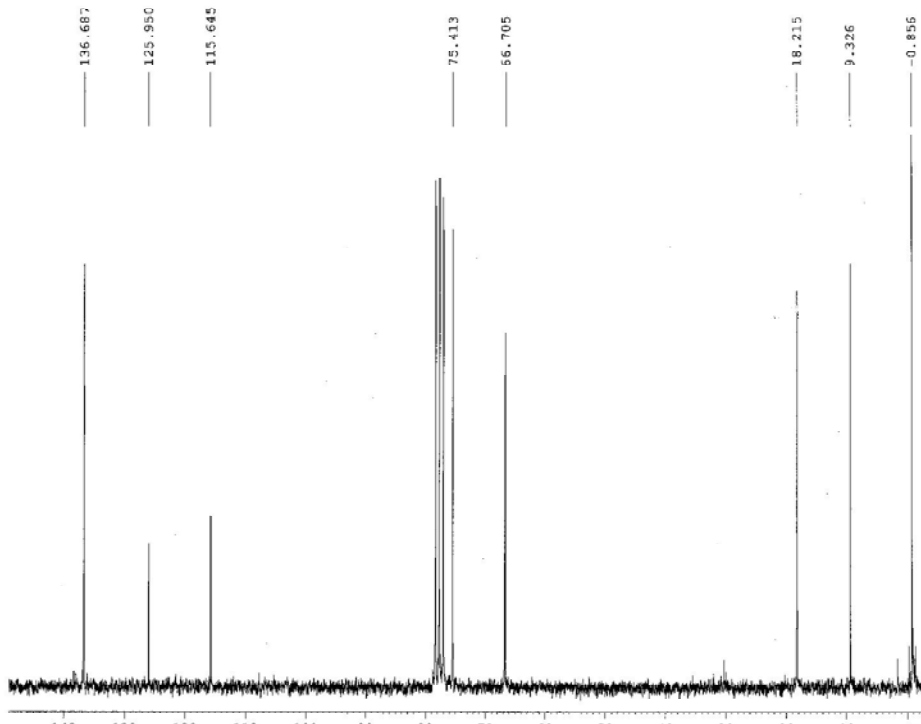
ESI-MS  $m/z$

060425AA17\_01#58-59 RT: 0.87-0.88 AV: 2 NL: 2.62E7  
T: {0,0} + p ESI sid=30.00 Full ms [ 100.00-500.00]



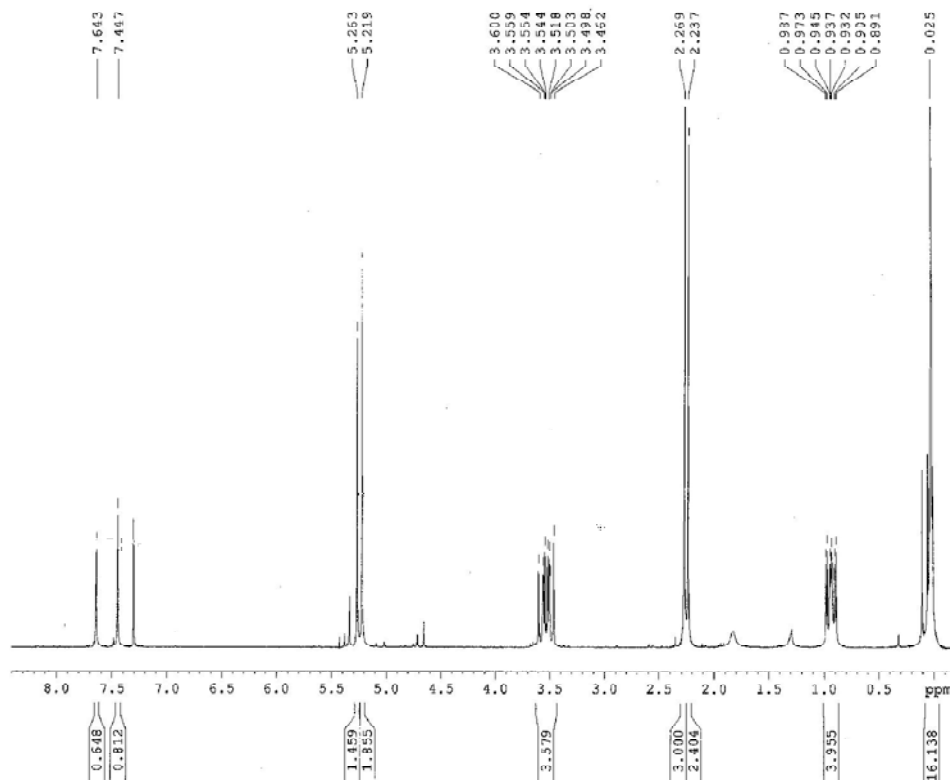
**1-[2-(Trimetilsilil)etoximetil]-5-bromo-4-metilimidazole (31a)****1-[2-(Trimetilsilil)etoximetil]-4-bromo-5-metilimidazole (31b)**

Isòmer a:

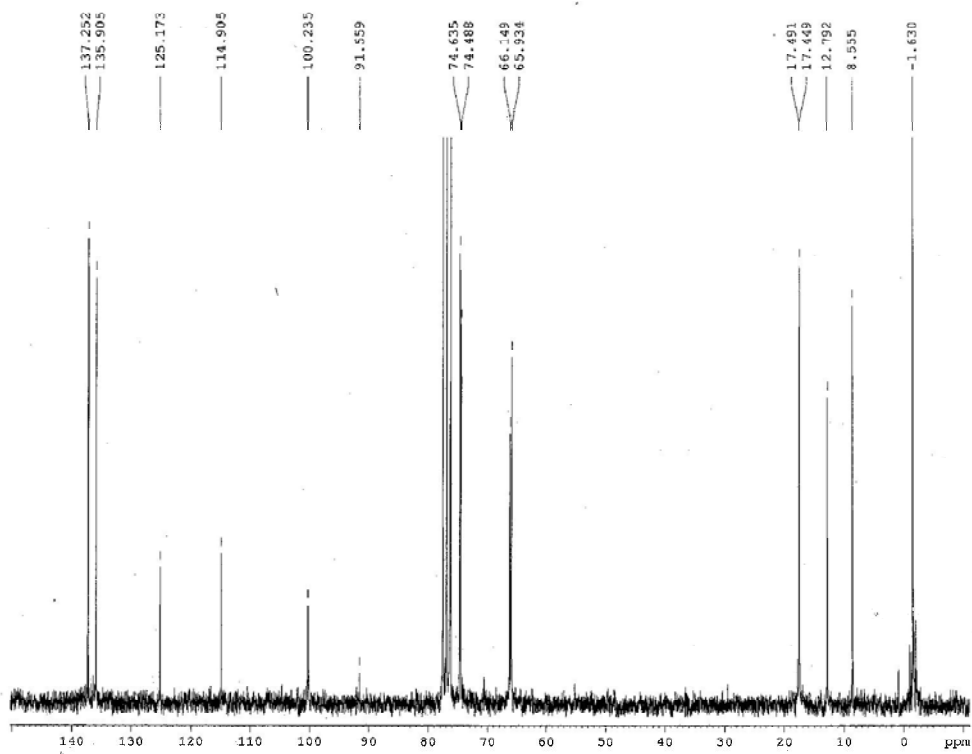
 $^1\text{H-RMN}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) $^{13}\text{C-RMN}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm)

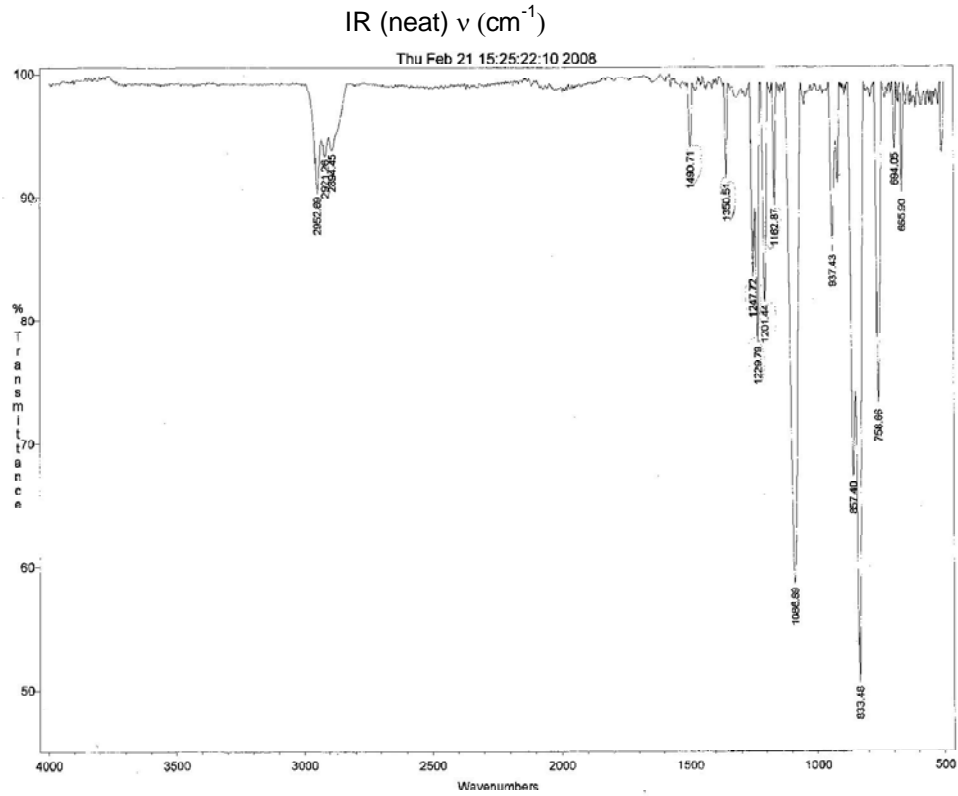
Barreja isòmer a i b:

$^1\text{H-RMN}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm)

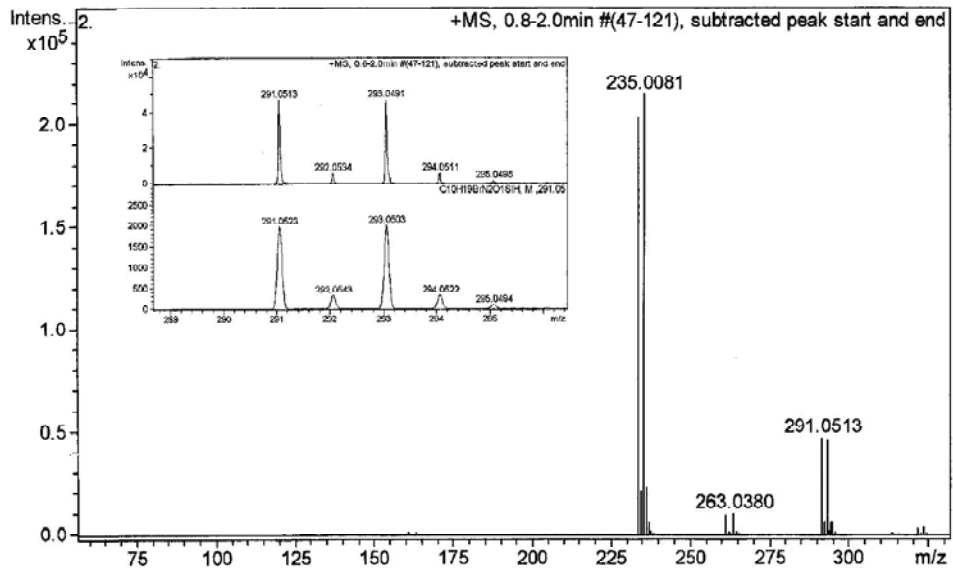


$^{13}\text{C-RMN}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm)





HRMS (ESI)  $m/z$



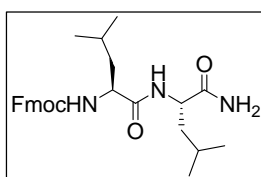
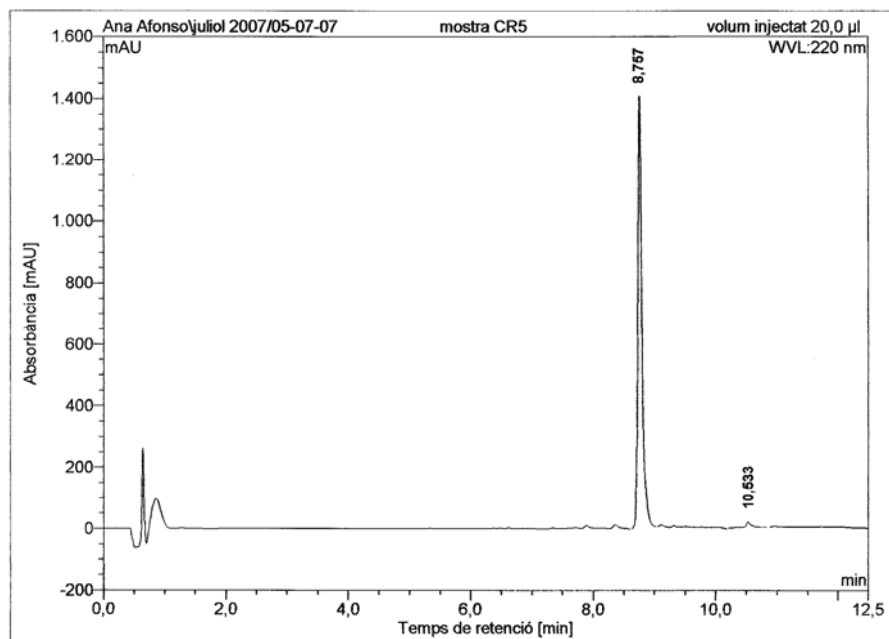


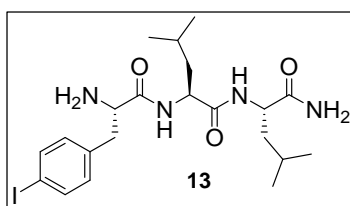
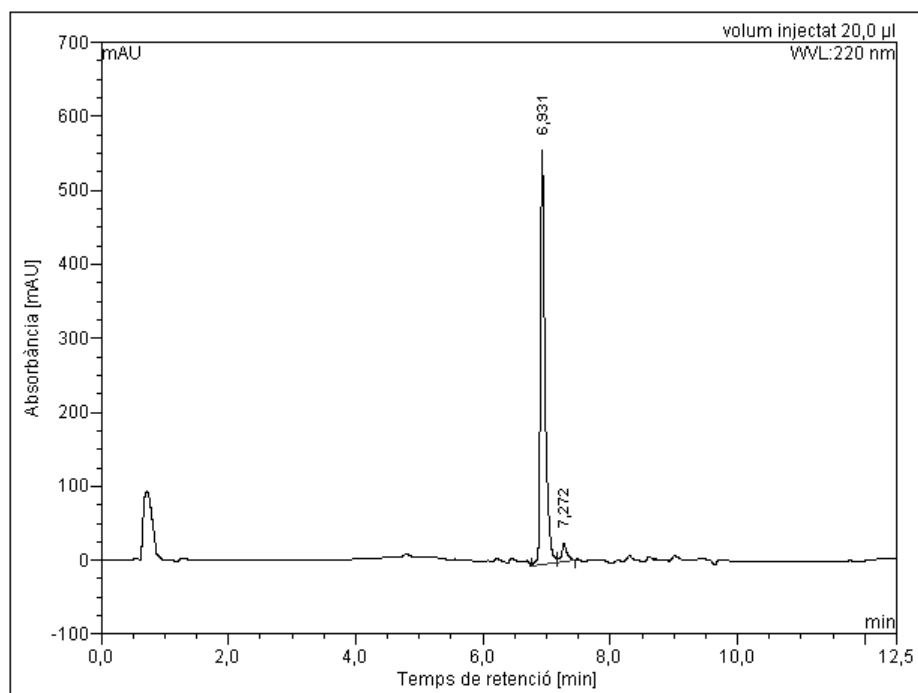


# **SÍNTESI DE PÈPTIDS EN FASE SÒLIDA**

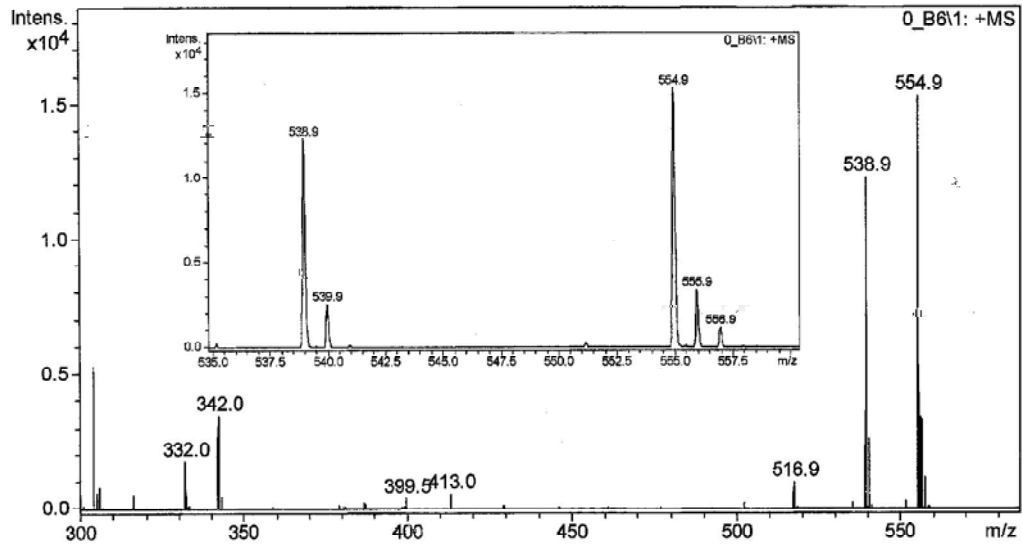
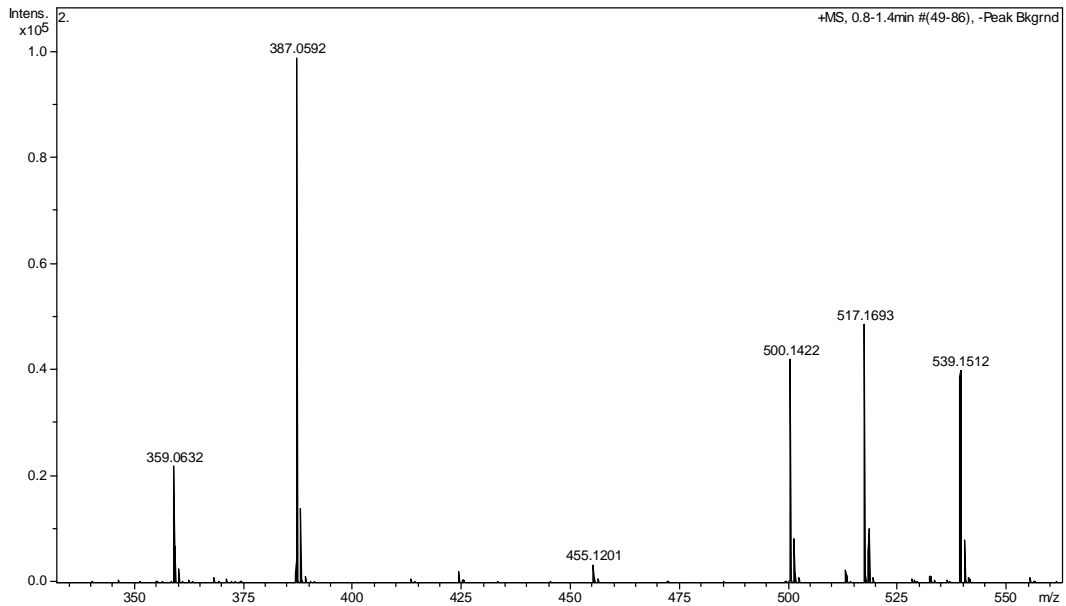
---

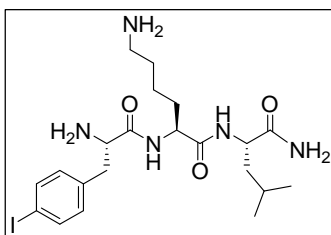
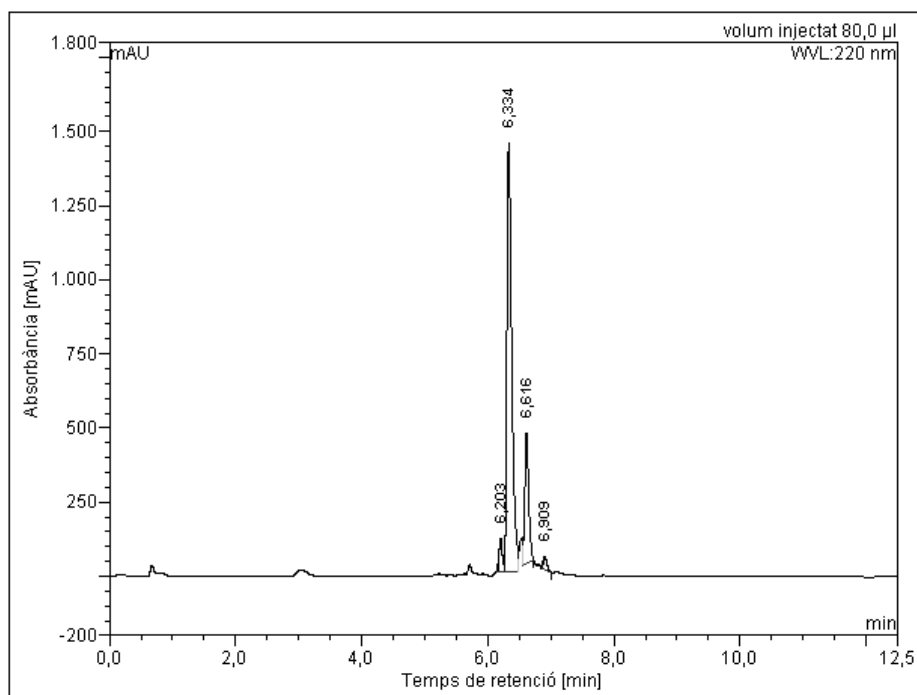


**Fmoc-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>**HPLC ( $\lambda = 220$  nm)

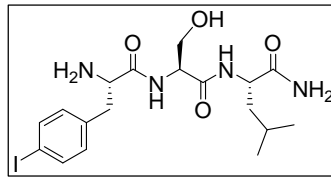
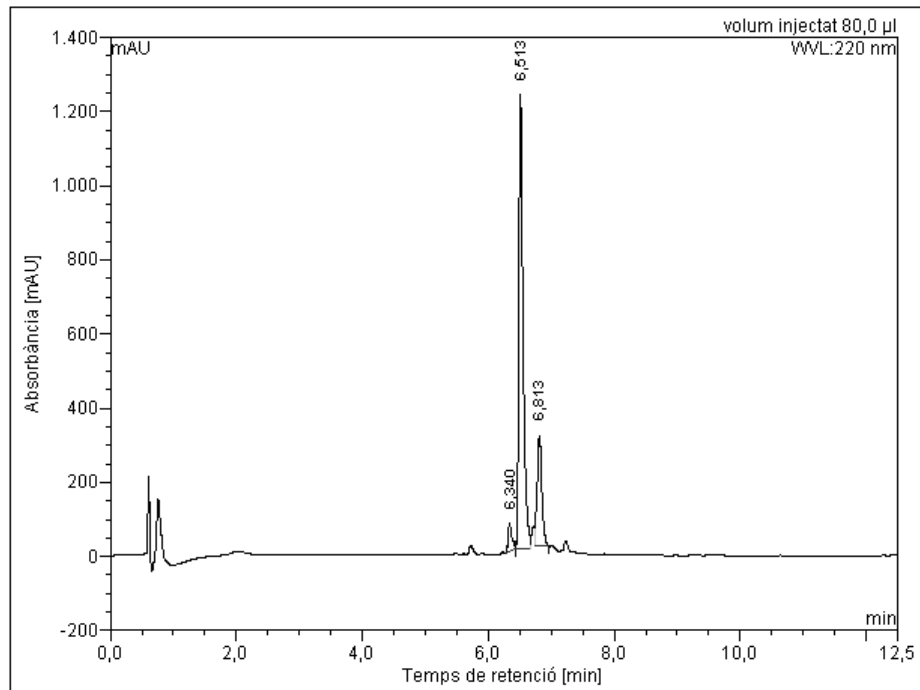
**H-Phe(4-I)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (13)**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	6,93	560,848	46,944	95,20
2	7,27	25,165	2,367	4,80
Total:		586,013	49,310	100,00

ESI-MS  $m/z$ HRMS (ESI)  $m/z$ 

**H-Phe(4-I)-Lys-Leu-NH<sub>2</sub>**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

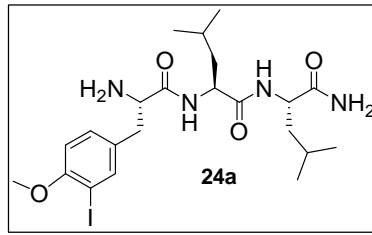
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	6,20	112,744	6,318	3,72
2	6,33	1447,850	129,176	76,02
3	6,62	440,624	31,587	18,59
4	6,91	47,000	2,846	1,67
Total:		2048,218	169,927	100,00

**H-Phe(4-I)-Ser-Leu-NH<sub>2</sub>**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

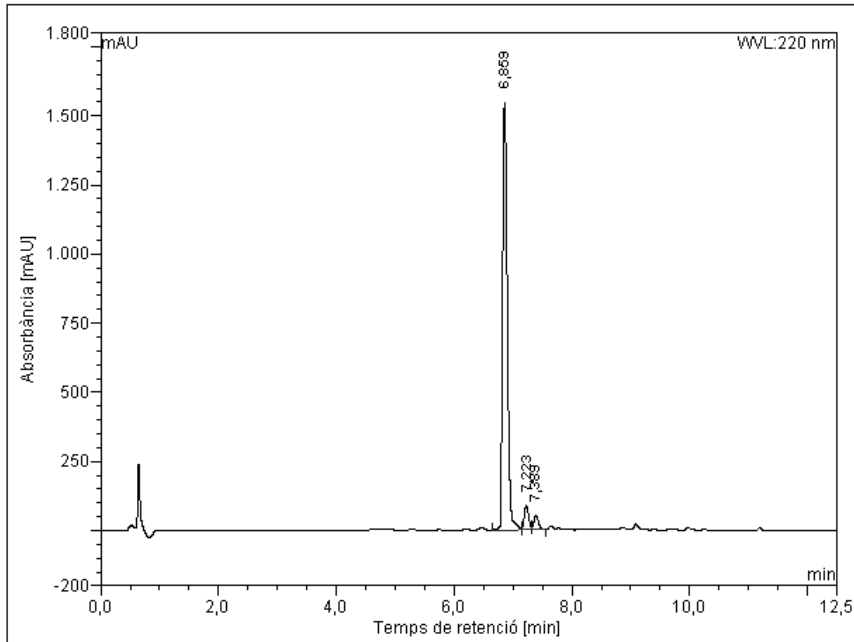
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	6,34	76,806	5,151	4,07
2	6,51	1224,157	95,120	75,23
3	6,81	297,401	26,162	20,69
Total:		1598,364	126,433	100,00



**H-Tyr(3-I,Me)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (24a)**

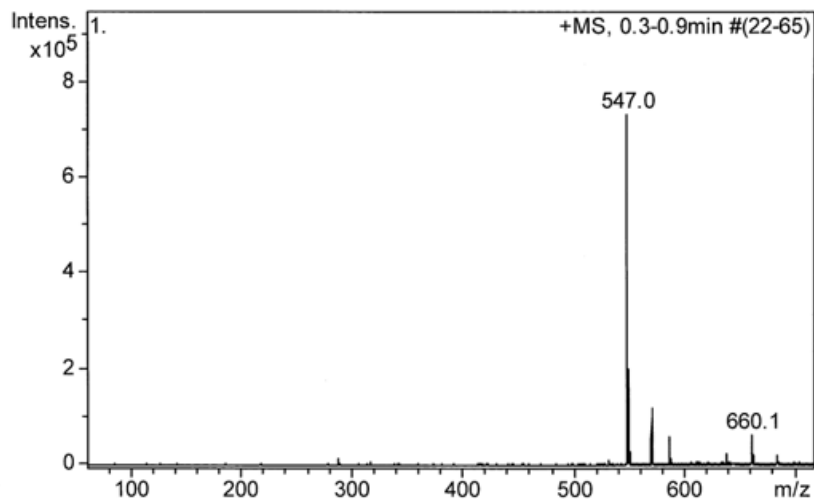


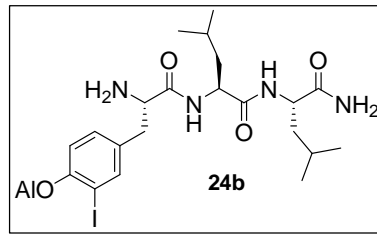
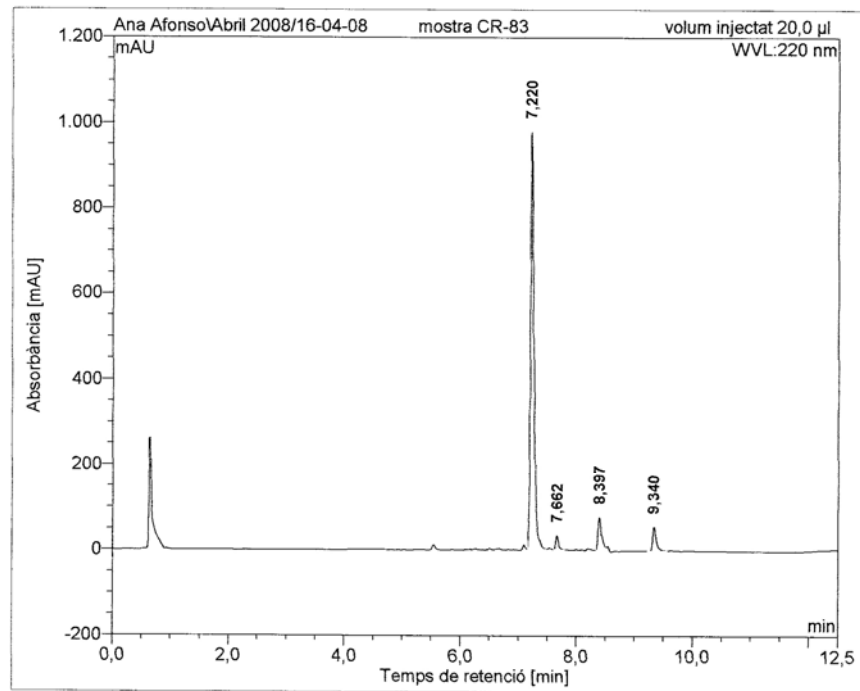
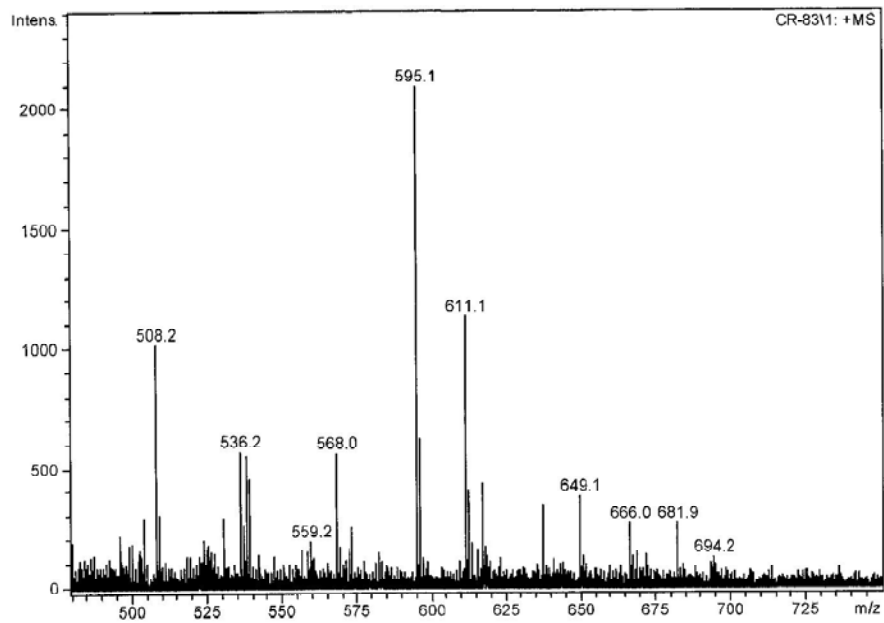
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )



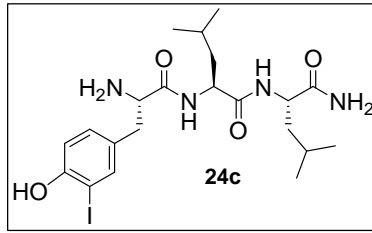
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU <sup>2</sup> min	Rel.Area %
1	6,86	1545,669	143,211	92,34
2	7,22	86,479	7,429	4,79
3	7,39	49,791	4,451	2,87
Total:		1681,939	155,091	100,00

ESI-MS  $m/z$

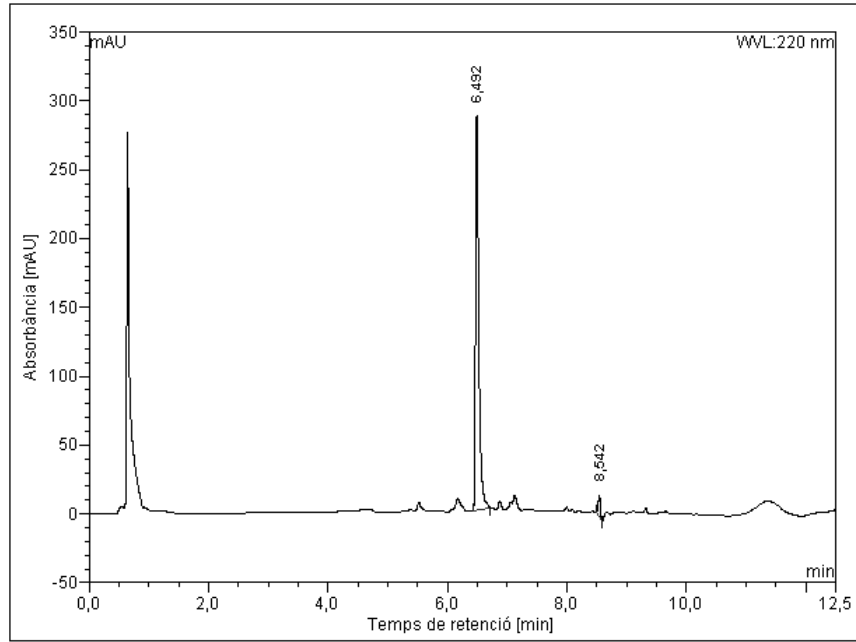


**H-Tyr(3-I,Al)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (24b)**HPLC ( $\lambda = 220$  nm)ESI-MS  $m/z$ 

**H-Tyr(3-I)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (24c)**

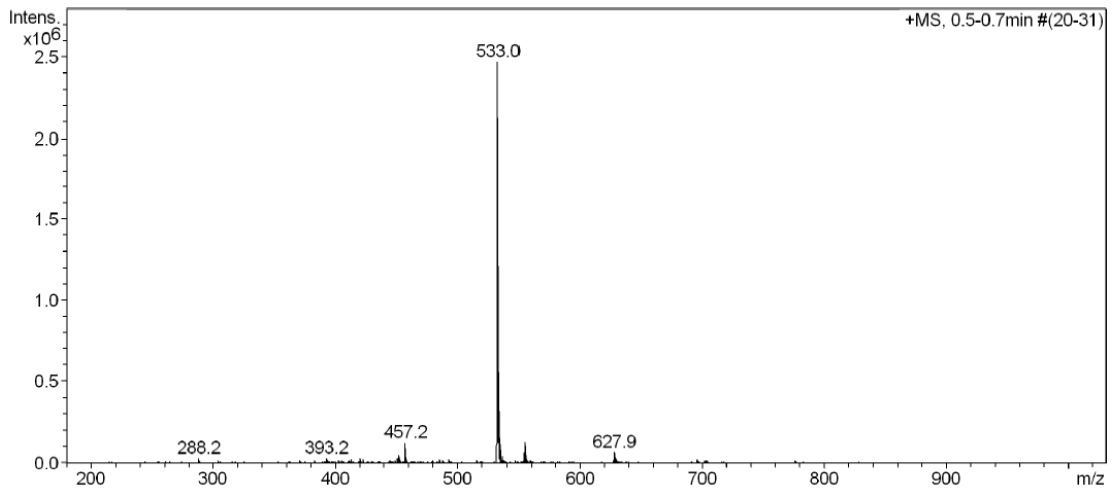


HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )



No.	Ret. Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel. Area %
1	6,49	286,607	18,130	96,66
2	8,54	14,940	0,627	3,34
Total:		301,547	18,758	100,00

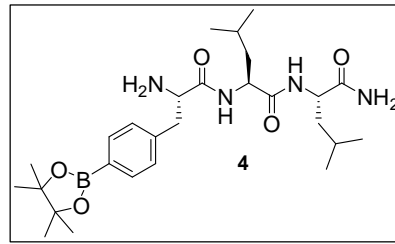
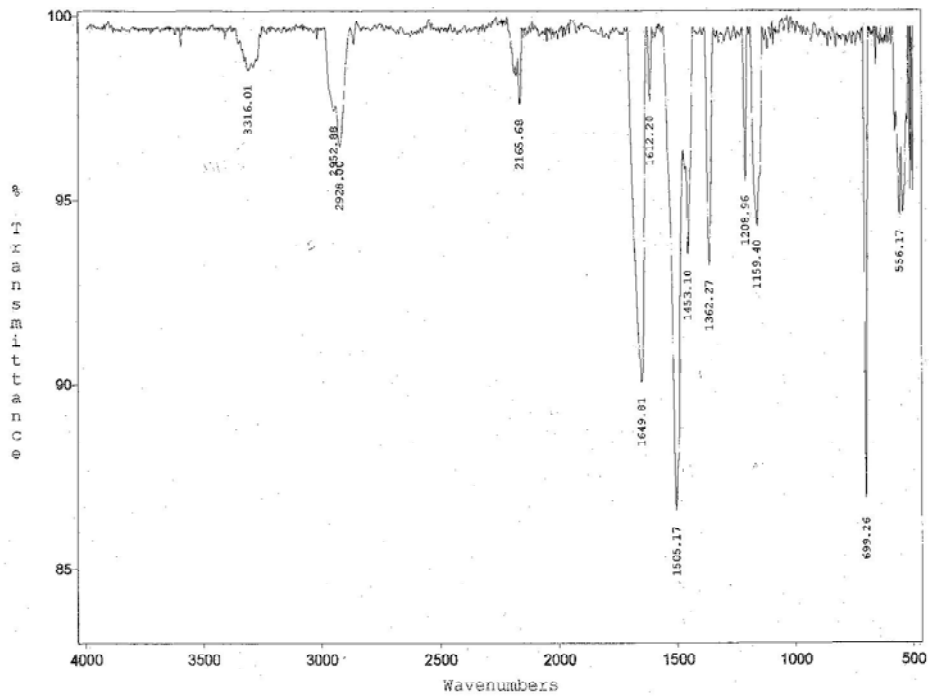
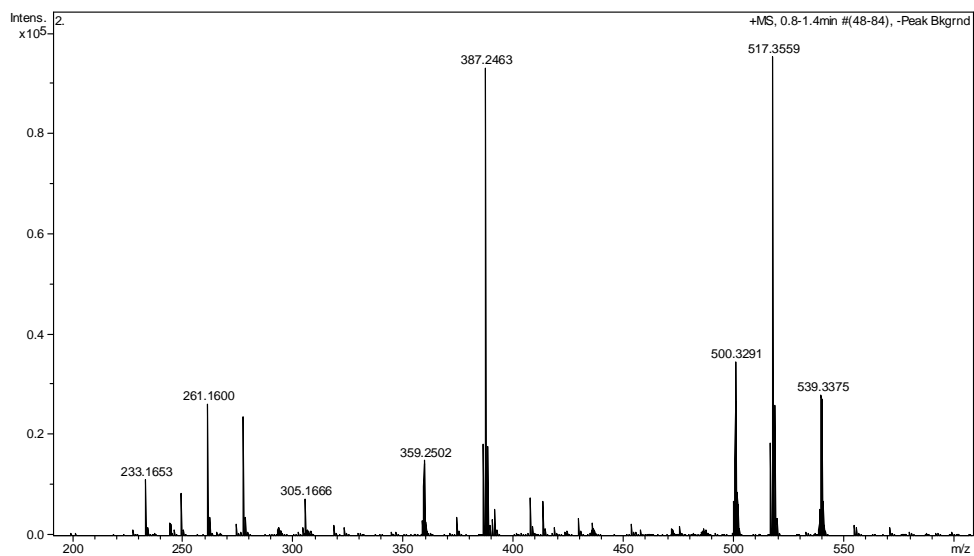
ESI-MS  $m/z$



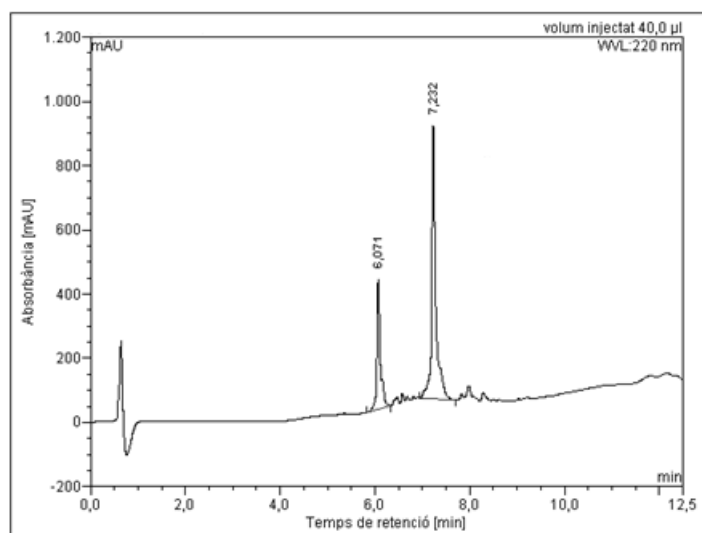
# **SÍNTESI D'ESTERS BORÒNICS EN FASE SÒLIDA**

---



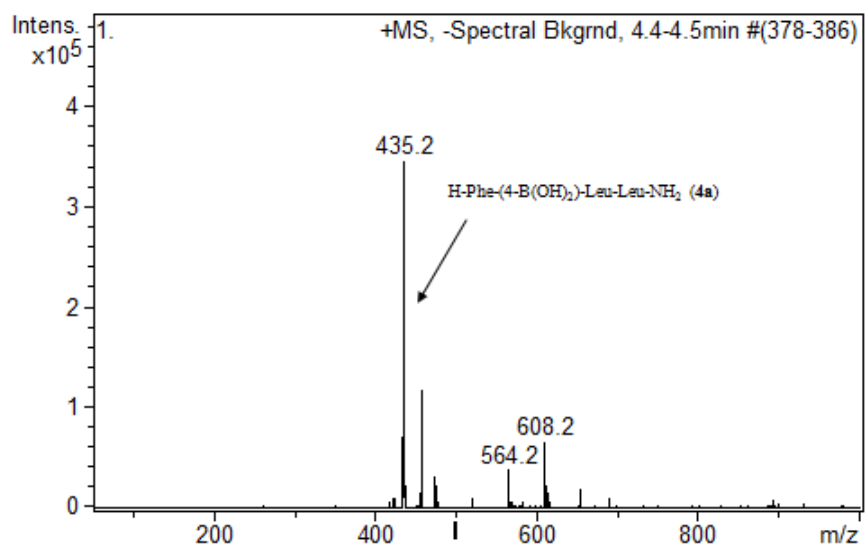
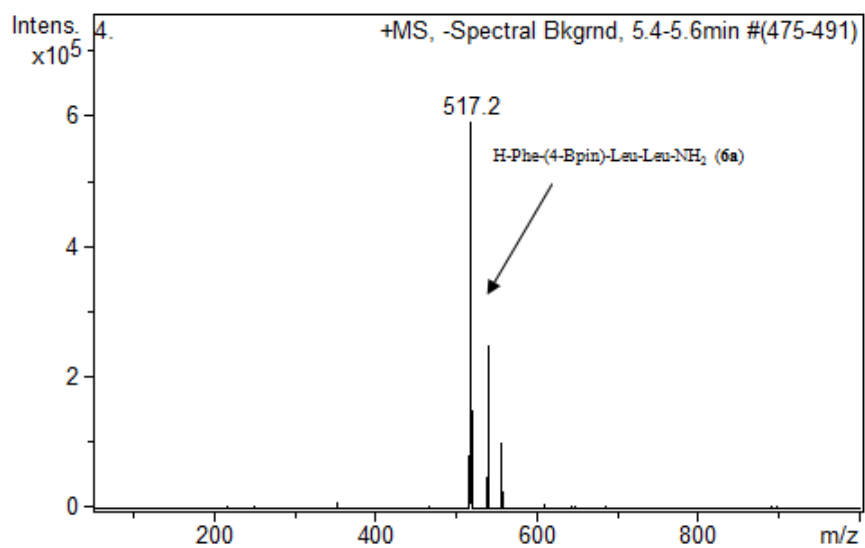
**H-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (4)**IR (neat)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)HRMS (ESI)  $m/z$ 

HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

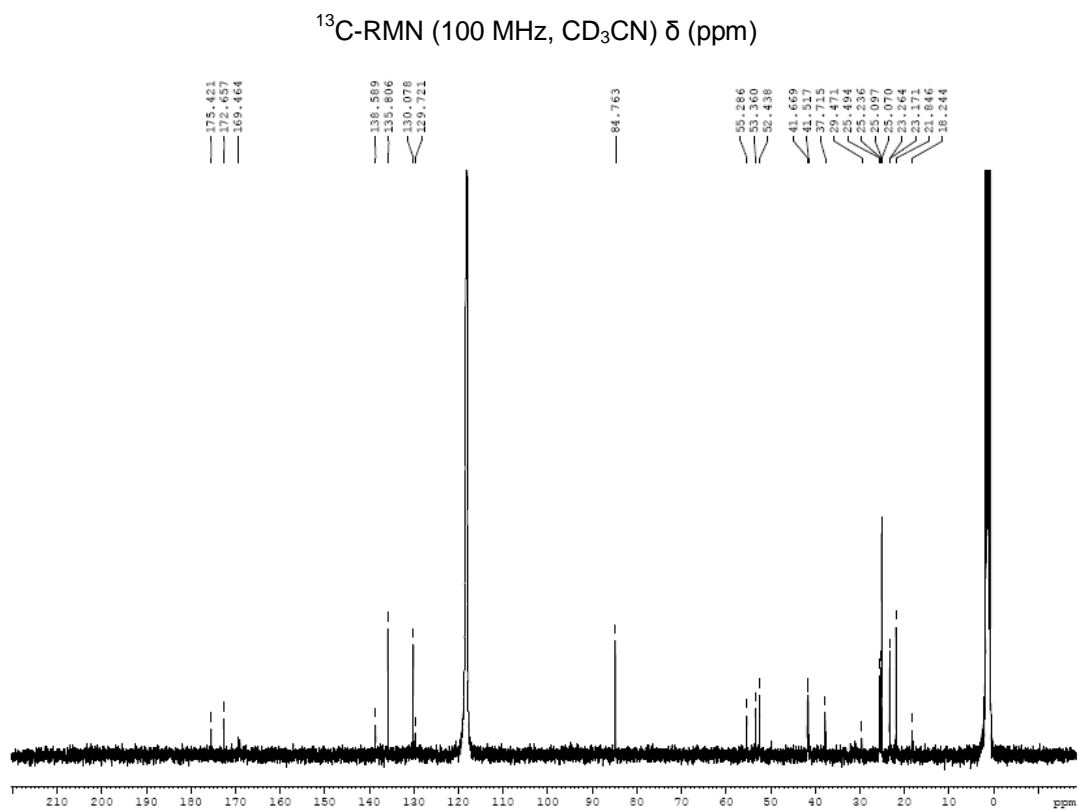
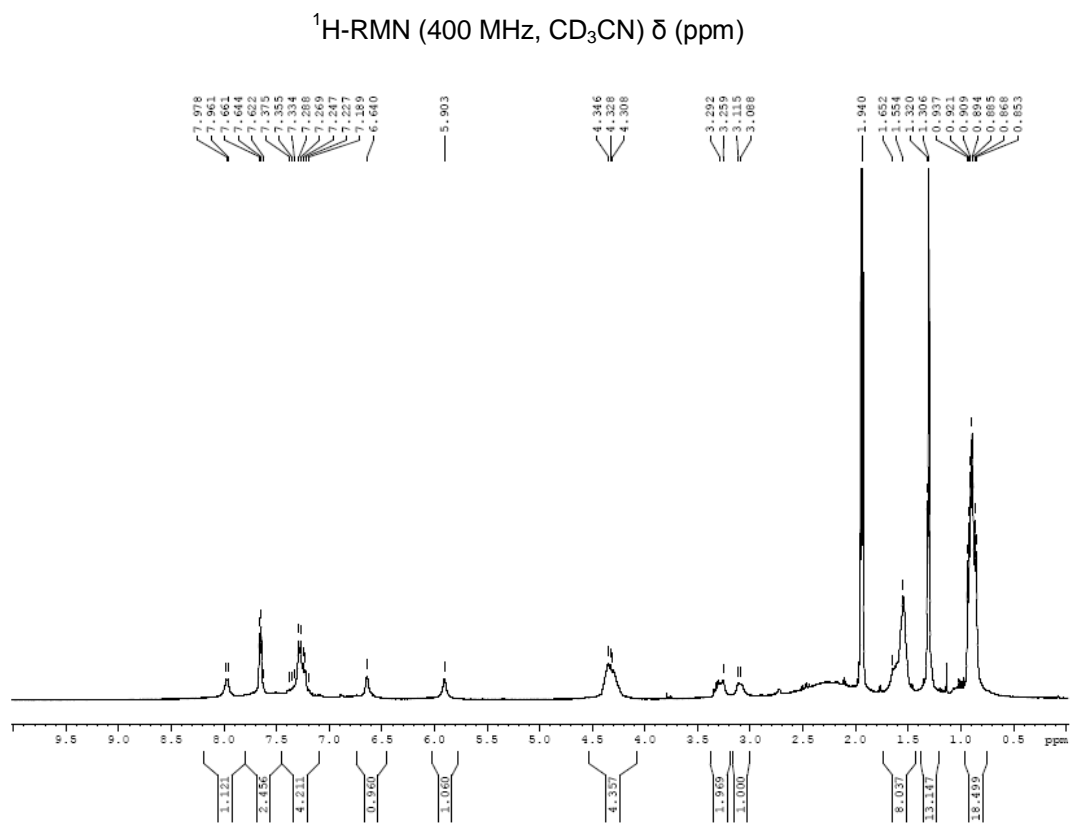


No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	6,07	403,086	34,059	28,64
2	7,23	848,536	84,862	71,36
Total:		1251,622	118,921	100,00

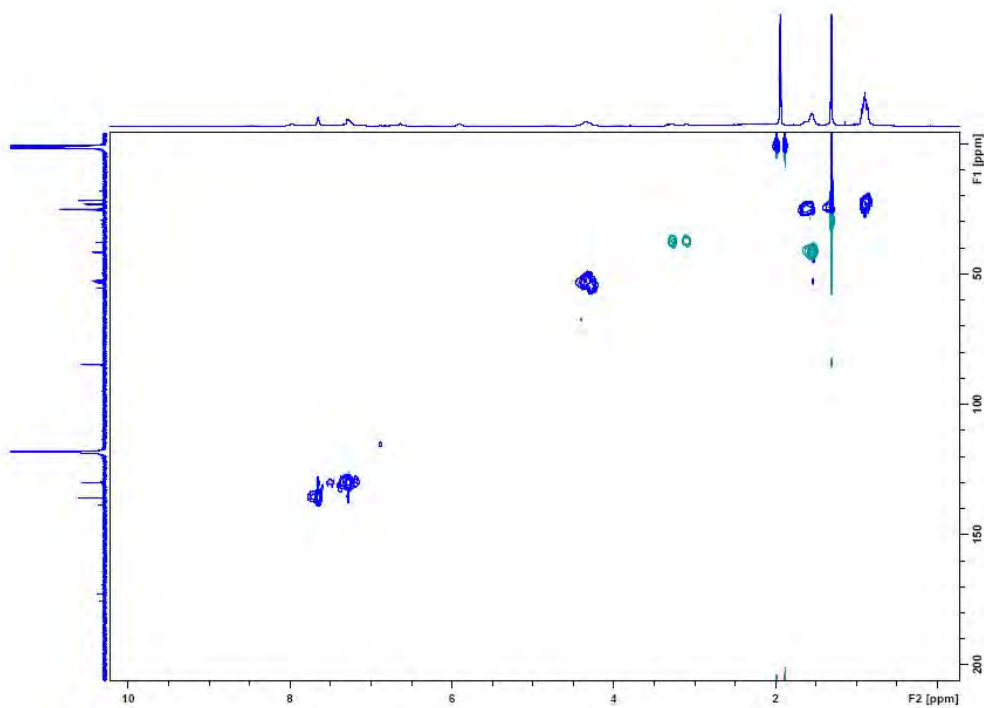
## LC- MS m/z



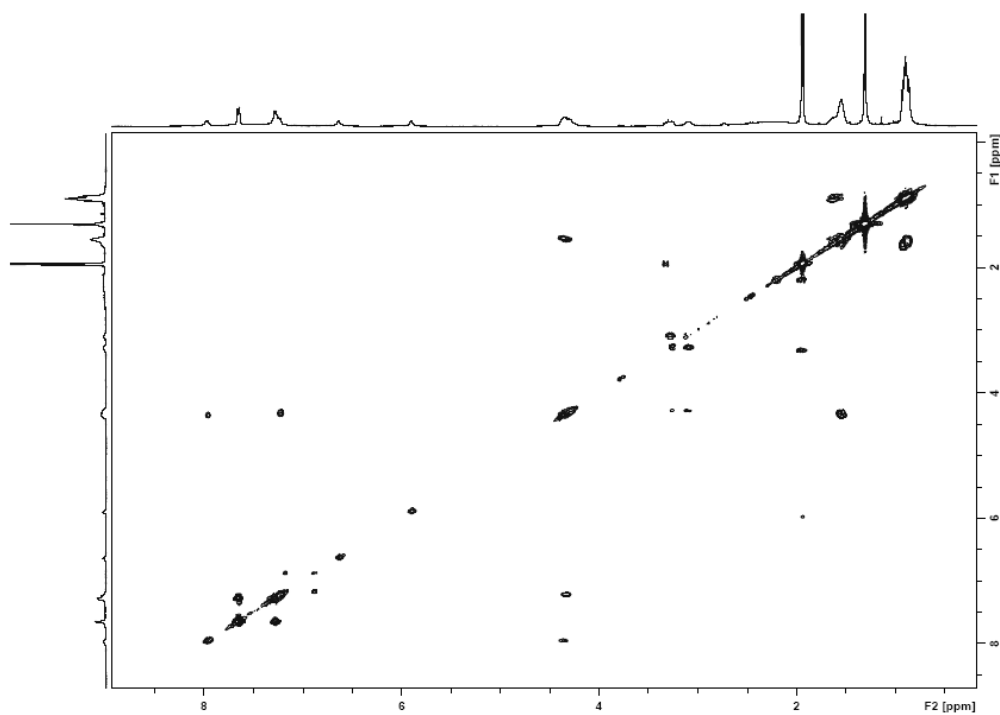




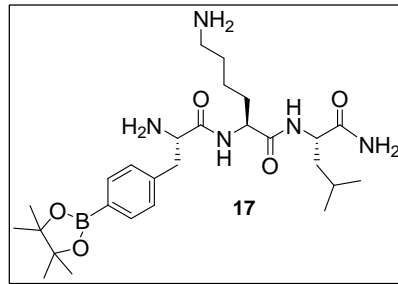
HSQC edited (CD<sub>3</sub>CN) δ (ppm)



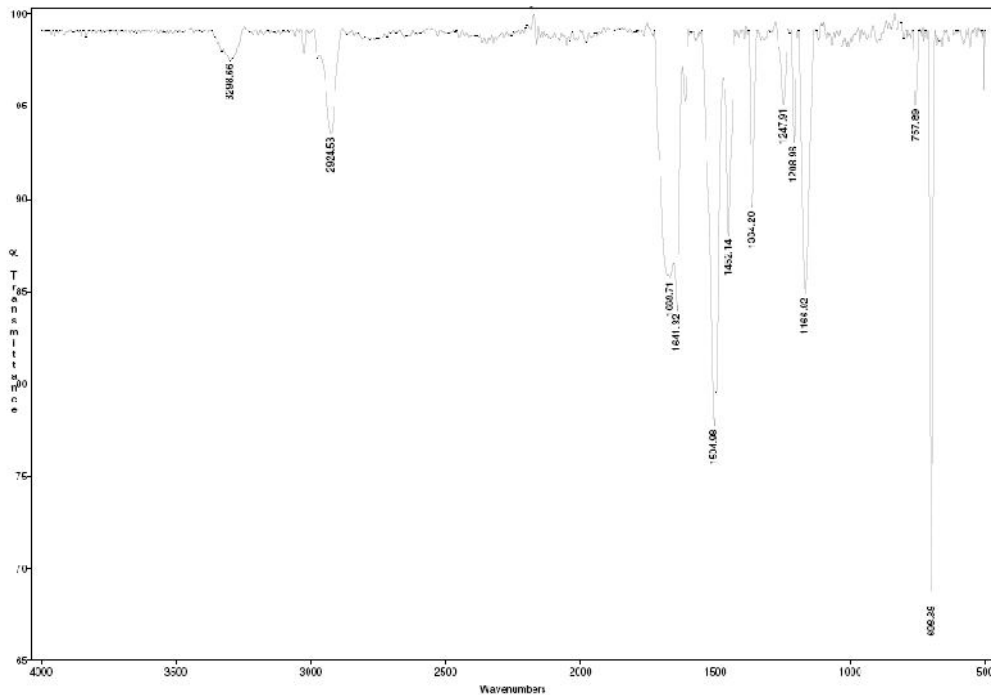
COSY (CD<sub>3</sub>CN) δ (ppm)



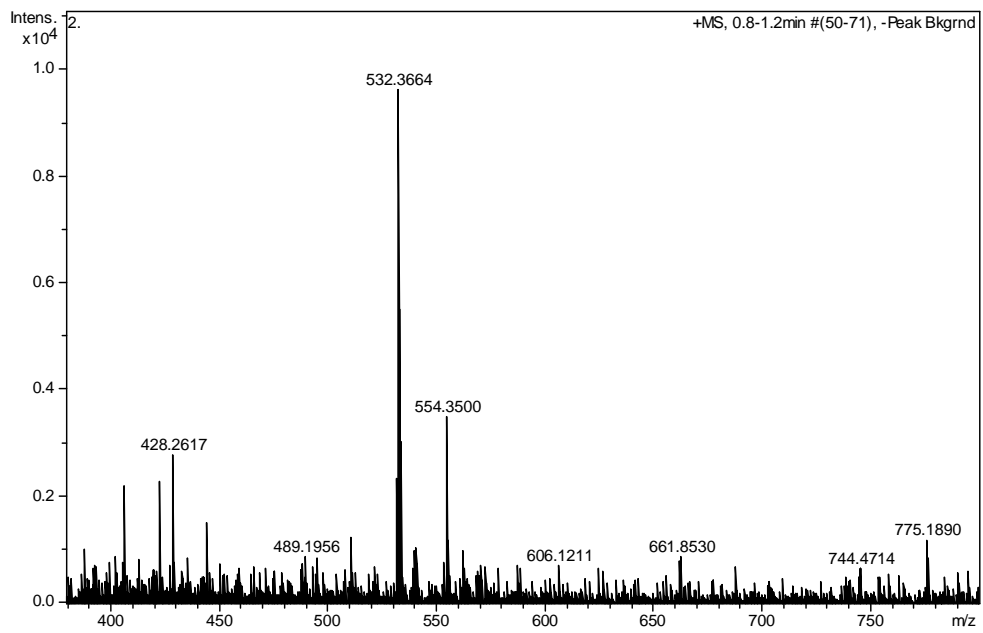
**H-Phe(4-BPin)-Lys-Leu-NH<sub>2</sub> (17)**

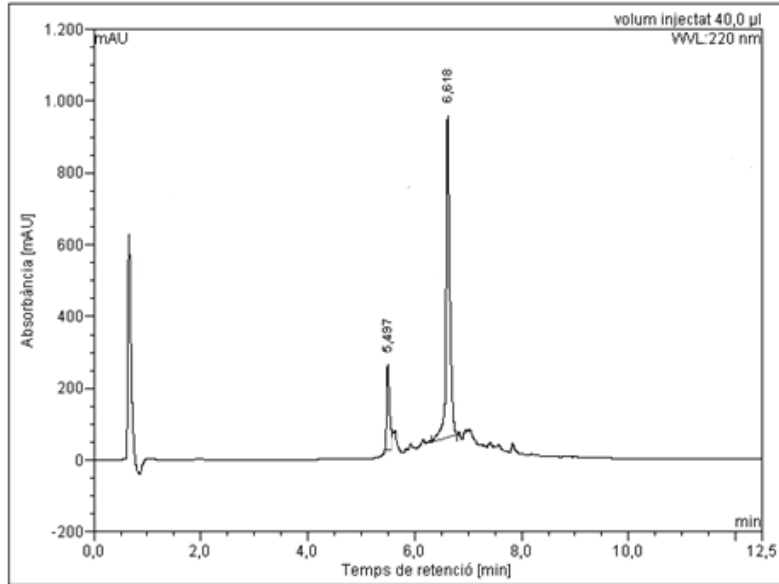


IR (neat)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)

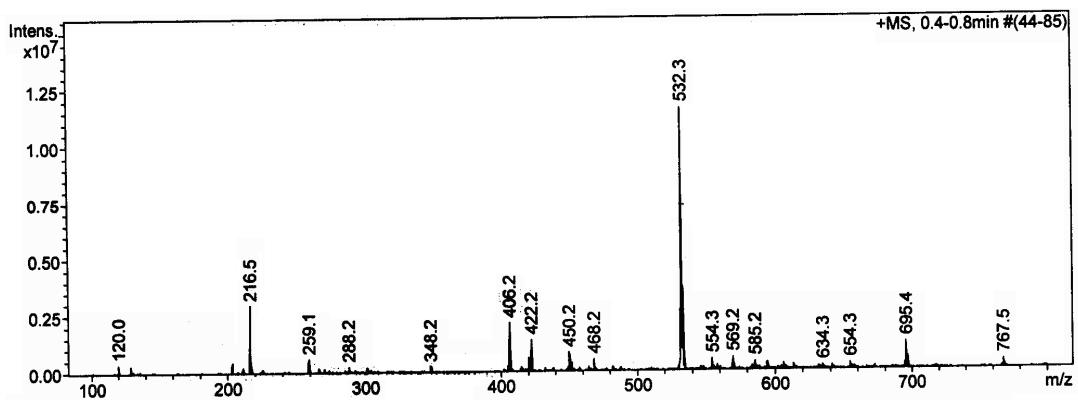


HRMS (ESI)  $m/z$

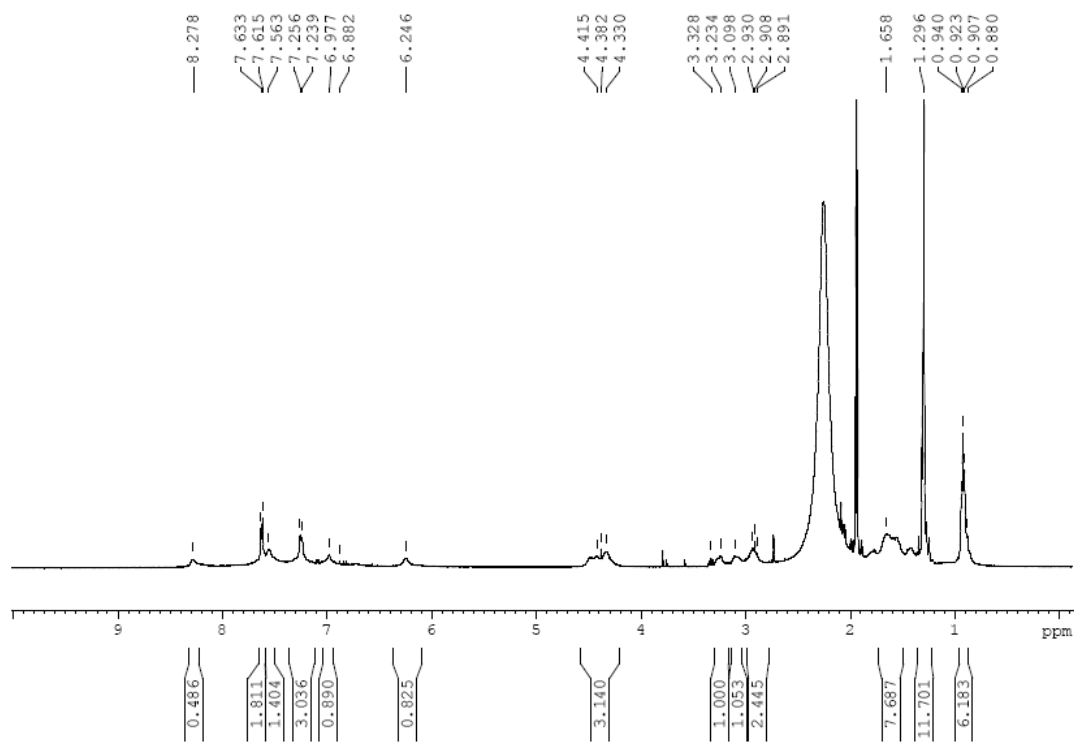


HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

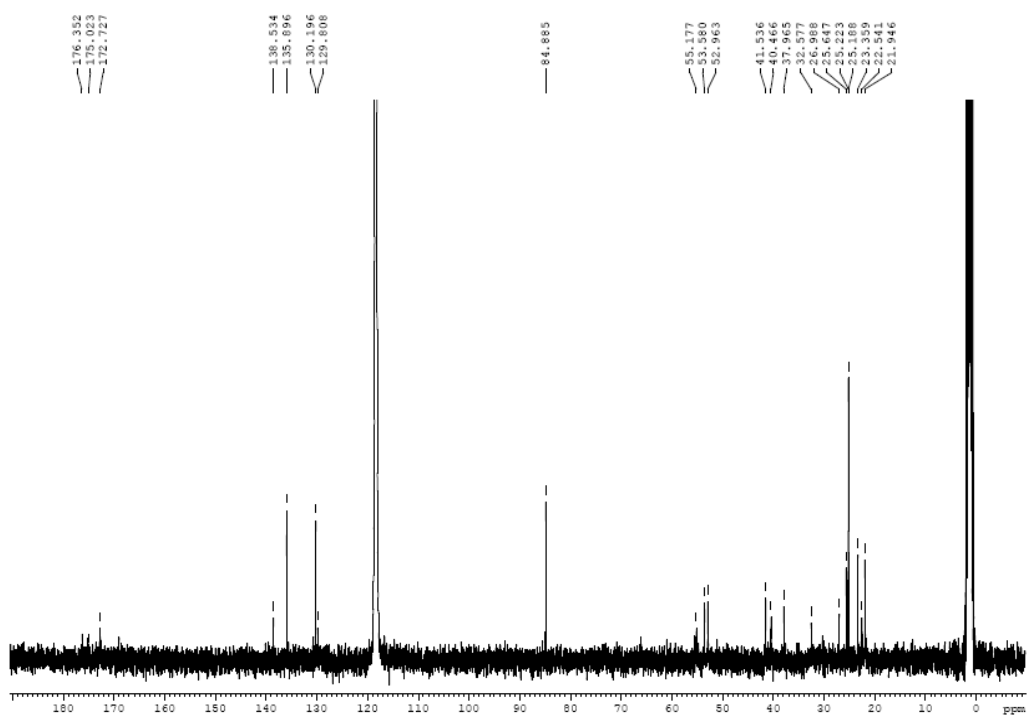
No.	Ret. Time (detected) min	Height mAU	Area mAU <sup>2</sup> min	Rel. Area %
1	5,50	236,491	14,738	17,03
2	6,62	896,217	71,821	82,97
Total:		1132,708	86,559	100,00

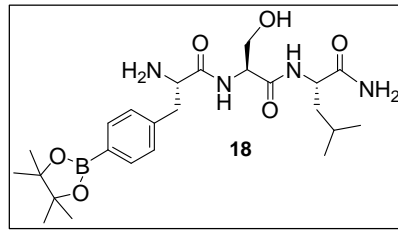
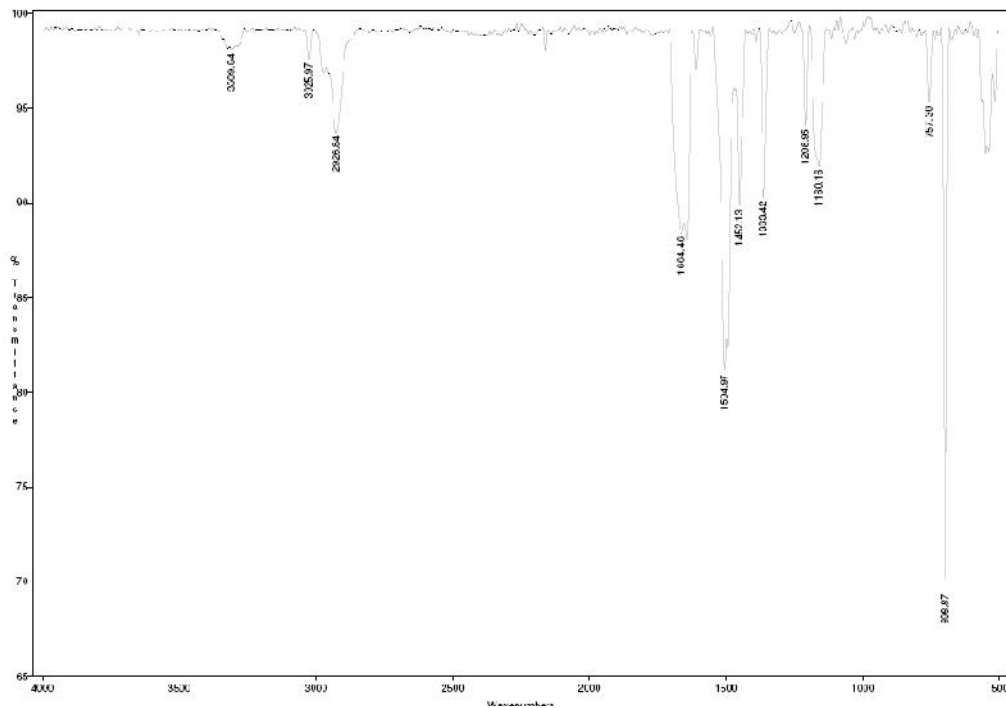
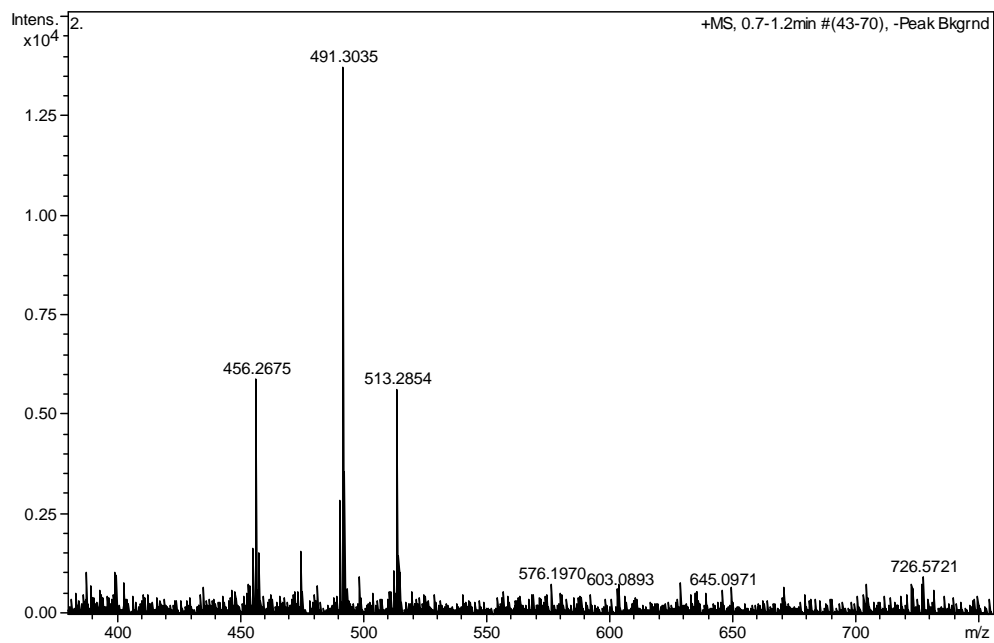
ESI-MS  $m/z$ 

$^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ )  $\delta$  (ppm)

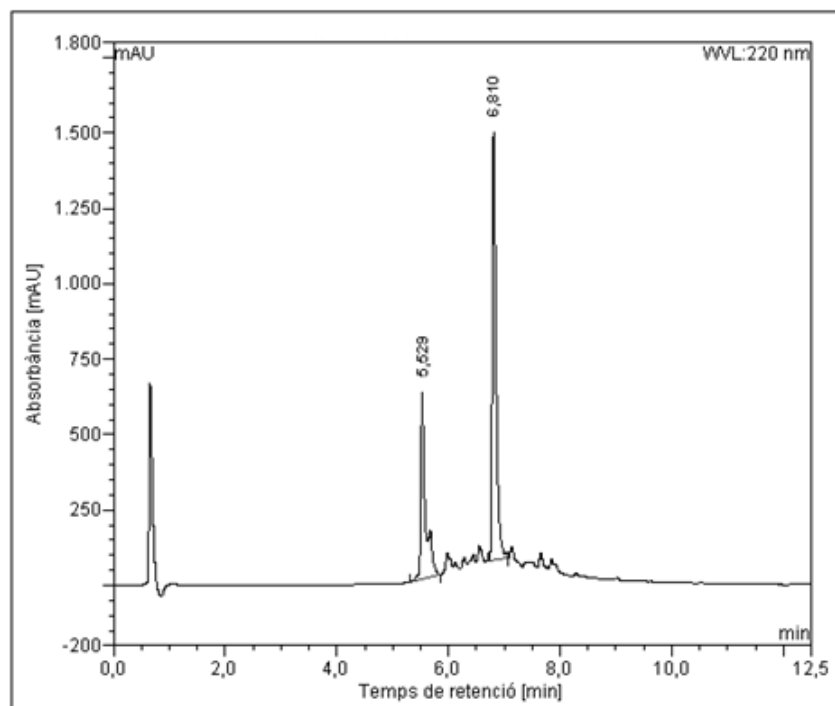


$^{13}\text{C-RMN}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ )  $\delta$  (ppm)

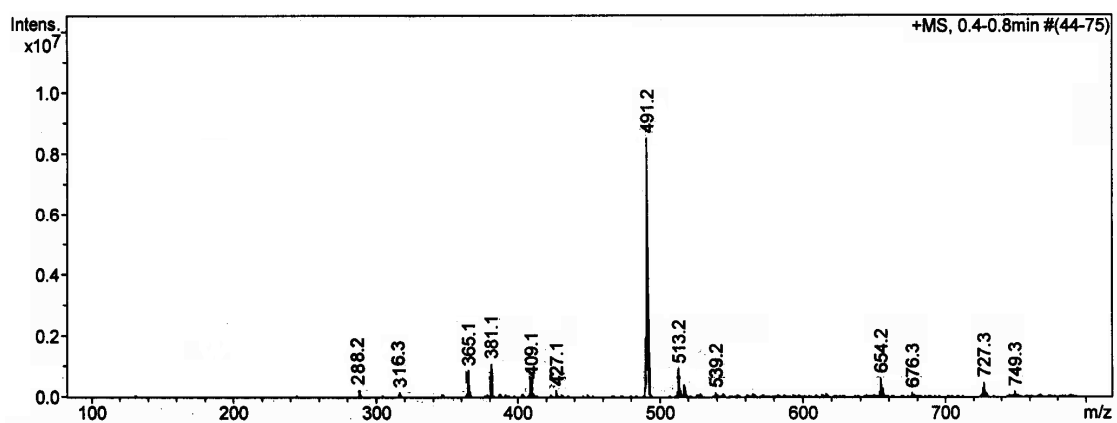


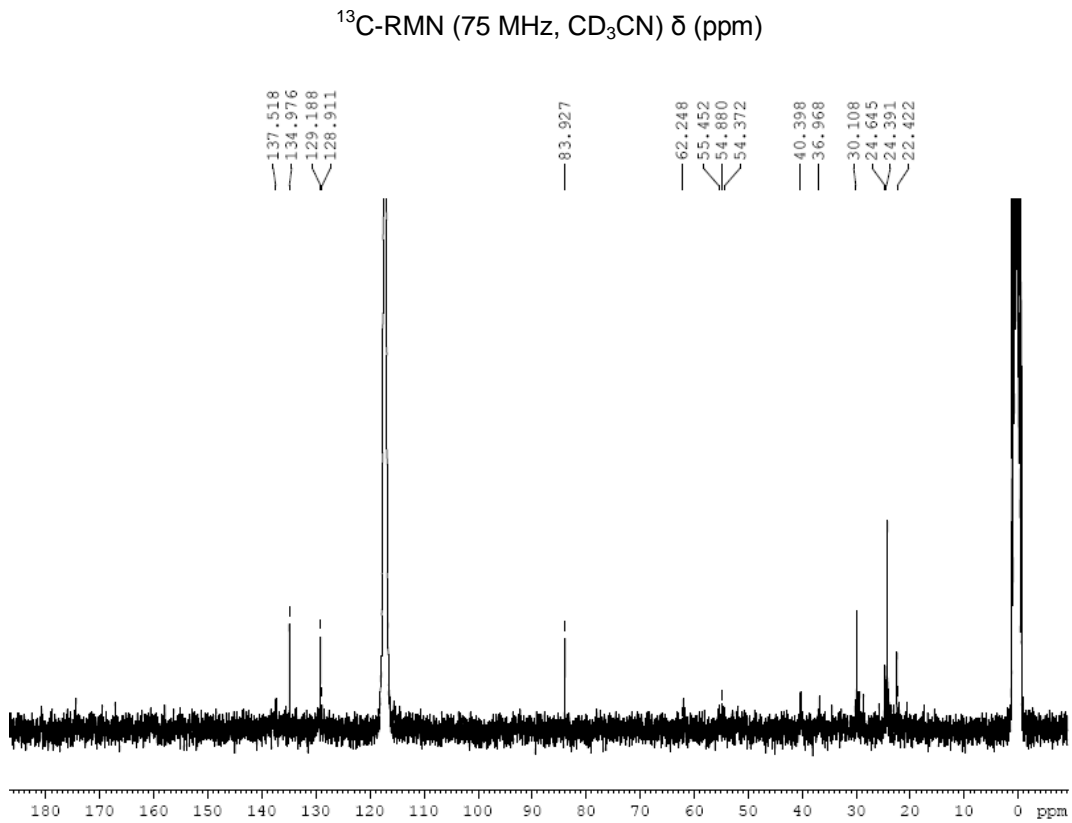
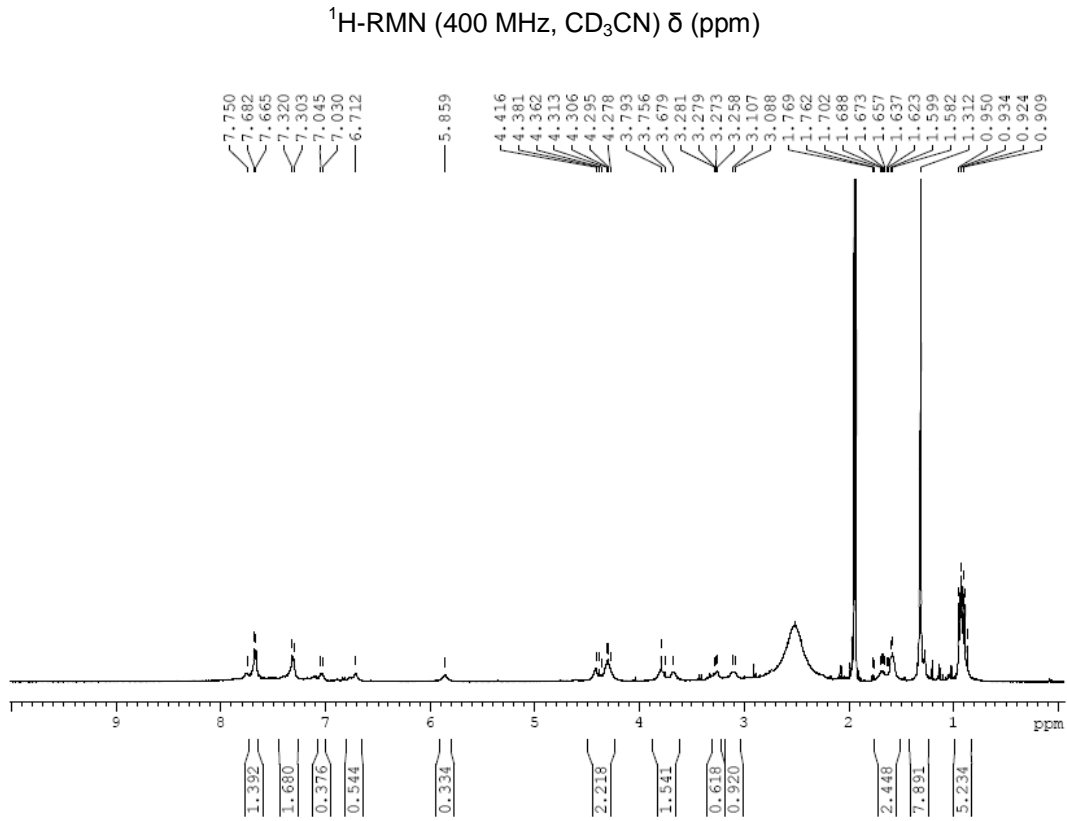
**H-Phe(4-BPin)-Ser-Leu-NH<sub>2</sub> (18)**IR (neat)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>)HRMS (ESI)  $m/z$ 

HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )



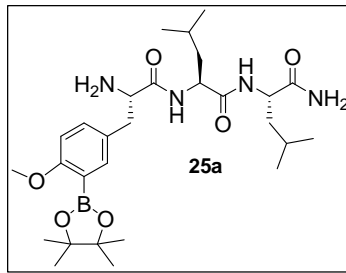
ESI-MS  $m/z$



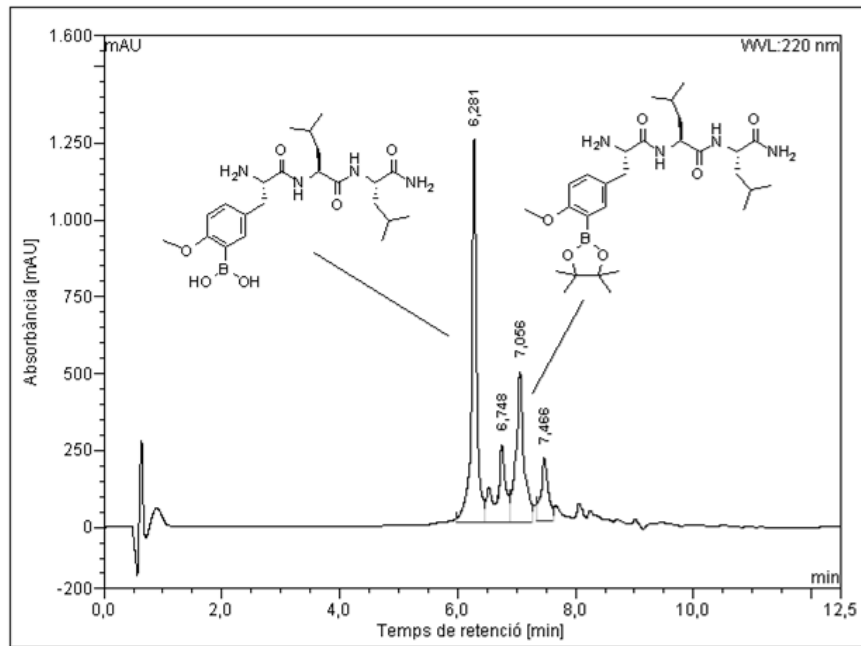




**H-Tyr(3-BPin,Me)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (25a)**

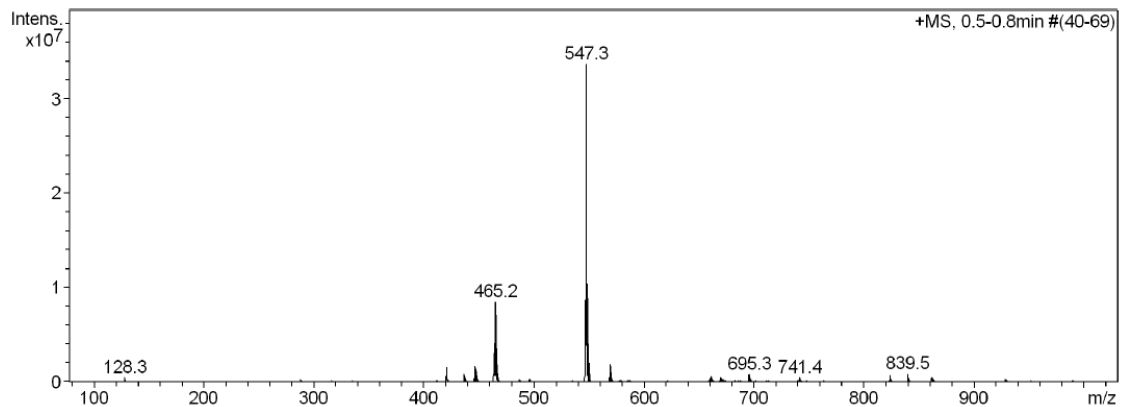


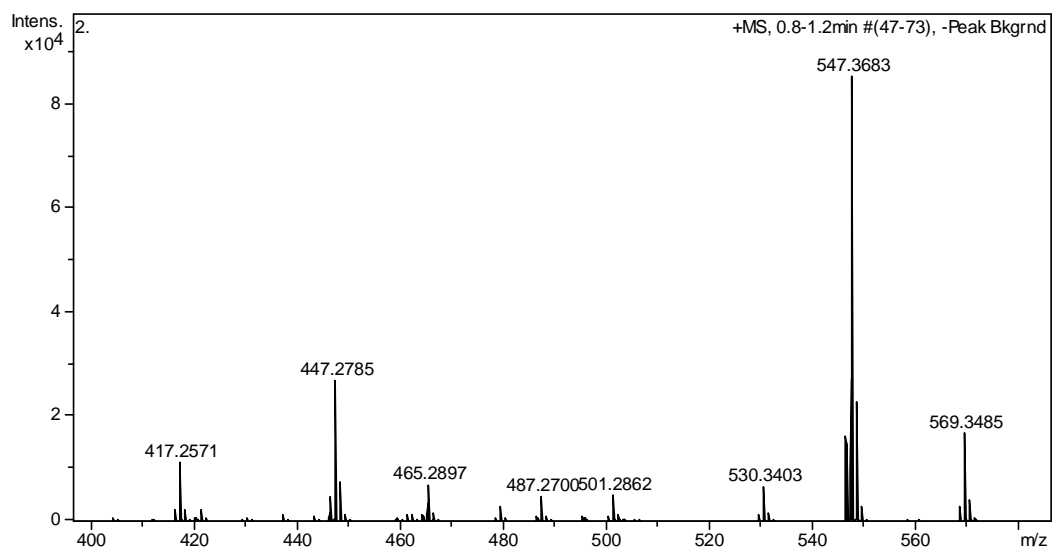
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )



No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	6,28	1244,697	127,674	48,51
2	6,75	248,990	29,422	11,18
3	7,06	487,272	76,872	29,21
4	7,47	206,212	29,228	11,10
Total:		2187,171	263,196	100,00

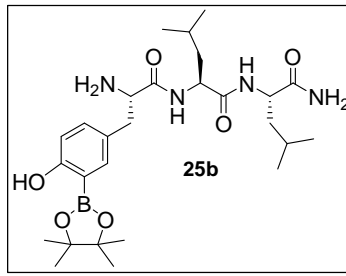
ESI-MS  $m/z$



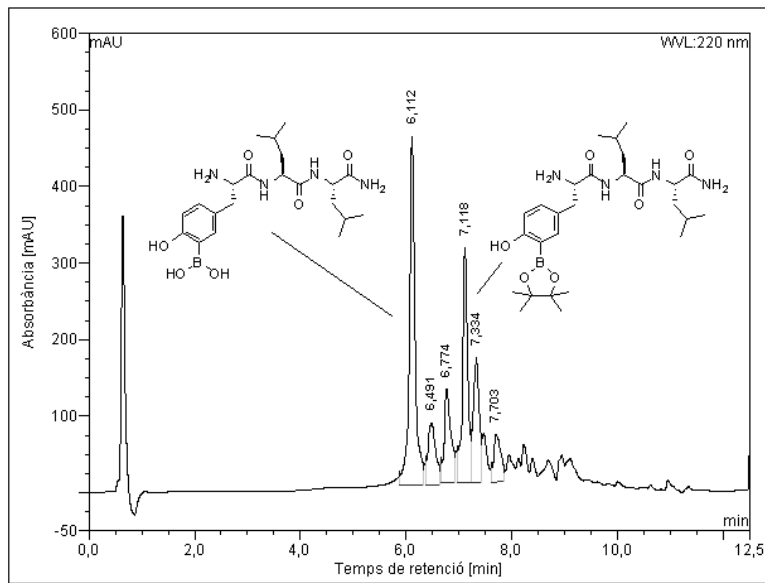
HRMS (ESI)  $m/z$ 

**H-Tyr(3-BPin)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (25b)**

(Obtingut a partir de la resina 2c)

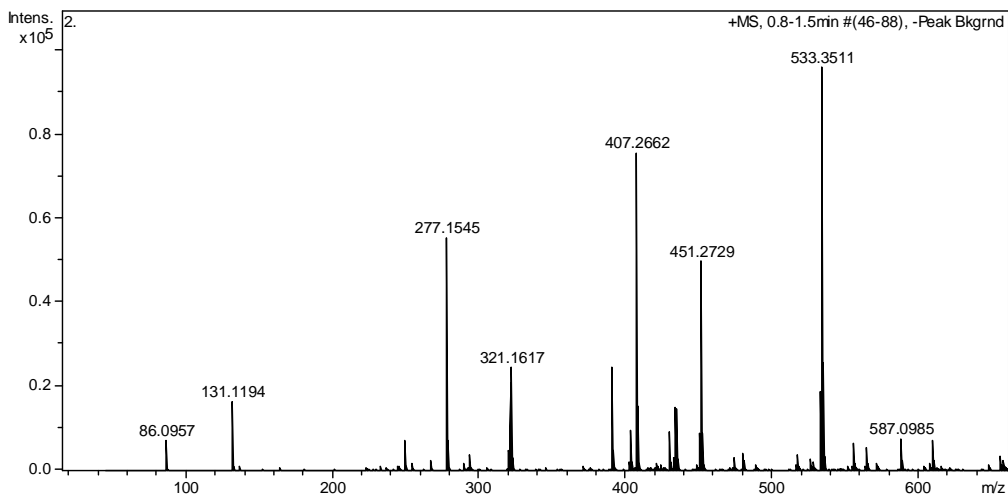


HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )



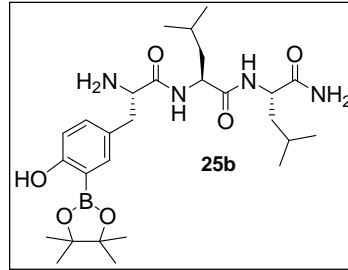
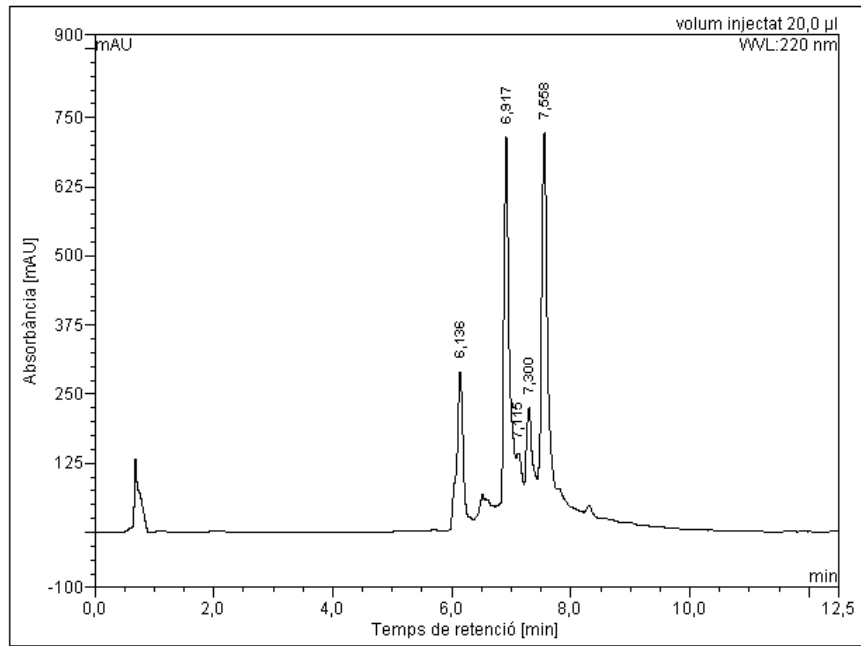
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	6,11	455,434	56,573	36,58
2	6,49	81,346	13,737	8,88
3	6,77	120,633	17,348	11,22
4	7,12	306,383	35,753	23,12
5	7,33	162,804	21,834	14,12
6	7,70	61,706	9,421	6,09
Total:		1188,306	154,666	100,00

HRMS (ESI)  $m/z$

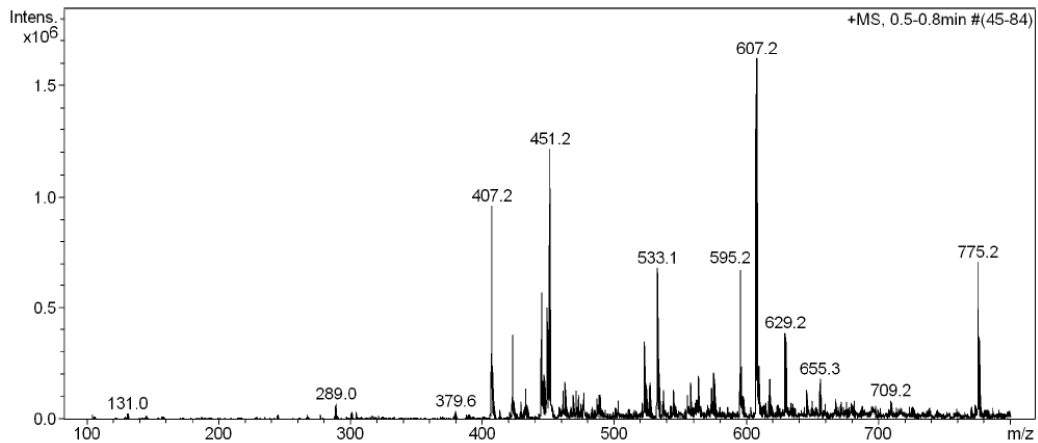


**H-Tyr(3-BPin)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (25b)**

(Obtingut a partir de la resina 2d)

HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	6,14	276,792	33,701	16,81
2	6,92	661,765	76,158	37,98
3	7,11	22,595	1,801	0,90
4	7,30	161,340	18,236	9,09
5	7,56	650,498	70,609	35,22
Total:		1772,991	200,505	100,00

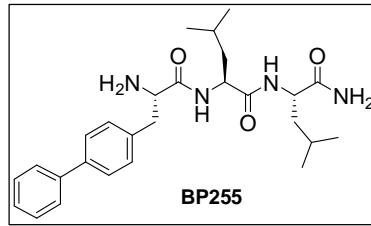
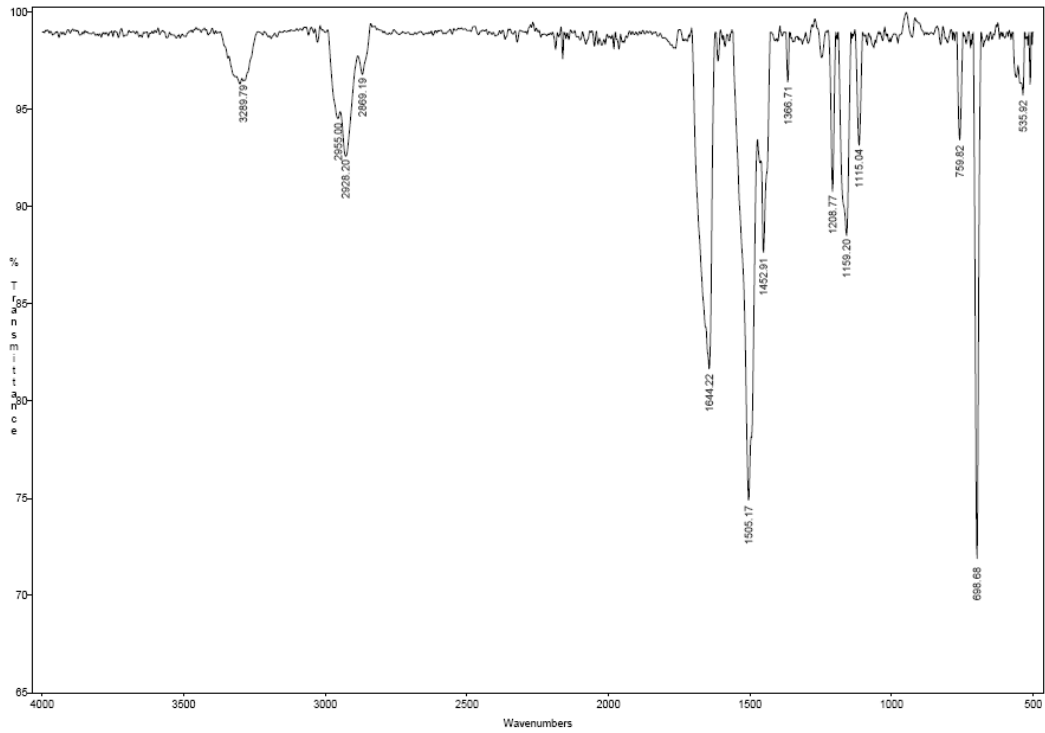
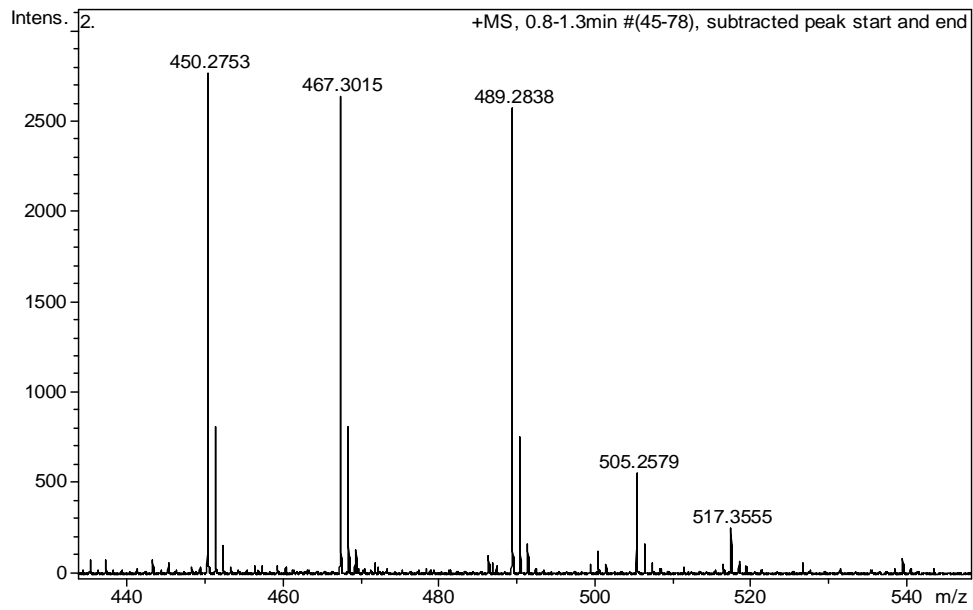
ESI-MS  $m/z$ 



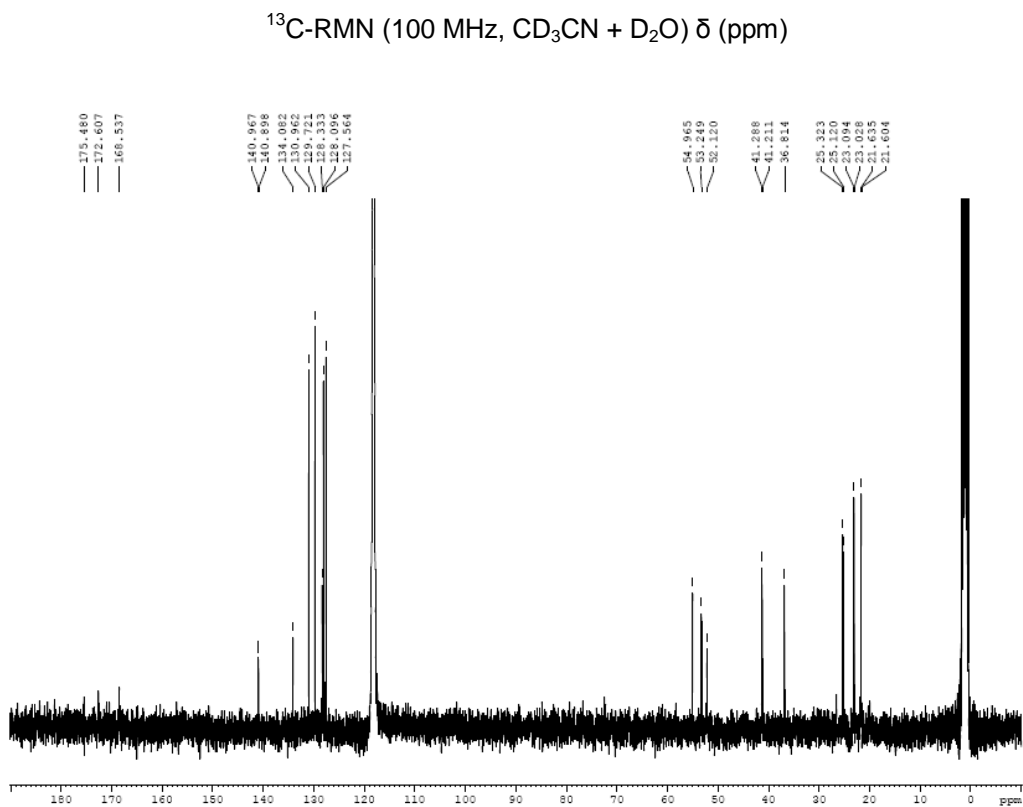
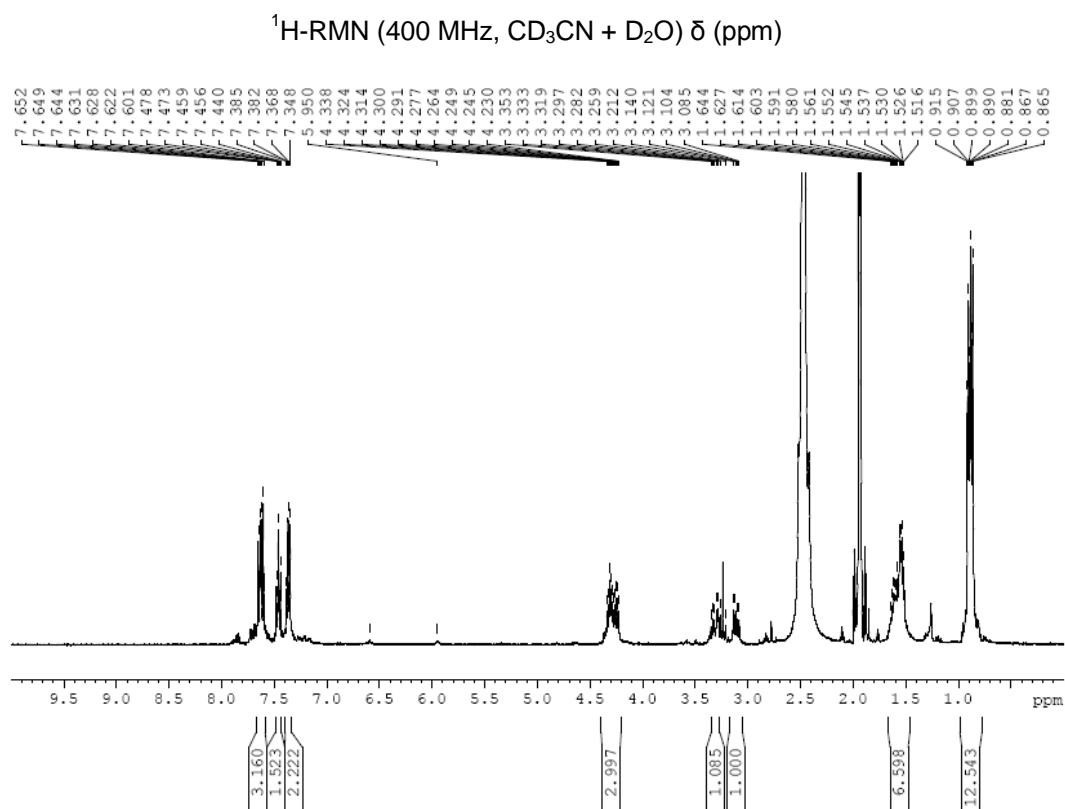
**SÍNTESI DE PÈPTIDS BIARÍLICS LINEALS  
EN FASE SÒLIDA**

---

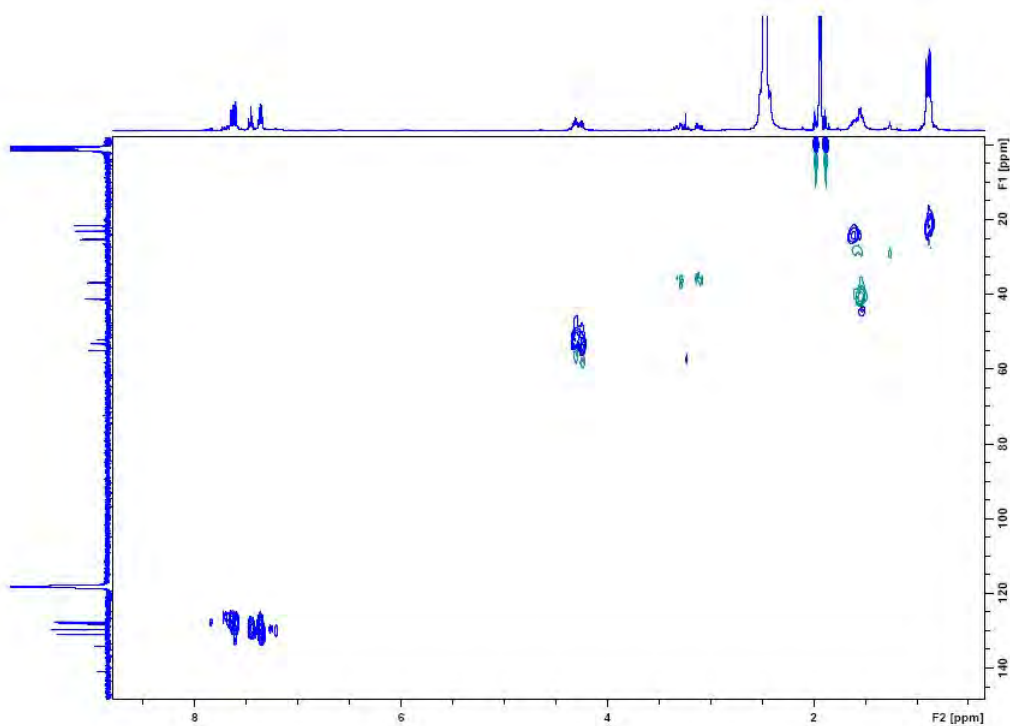


**Pèptid biarílic BP255**IR (neat)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )HRMS (ESI)  $m/z$ 



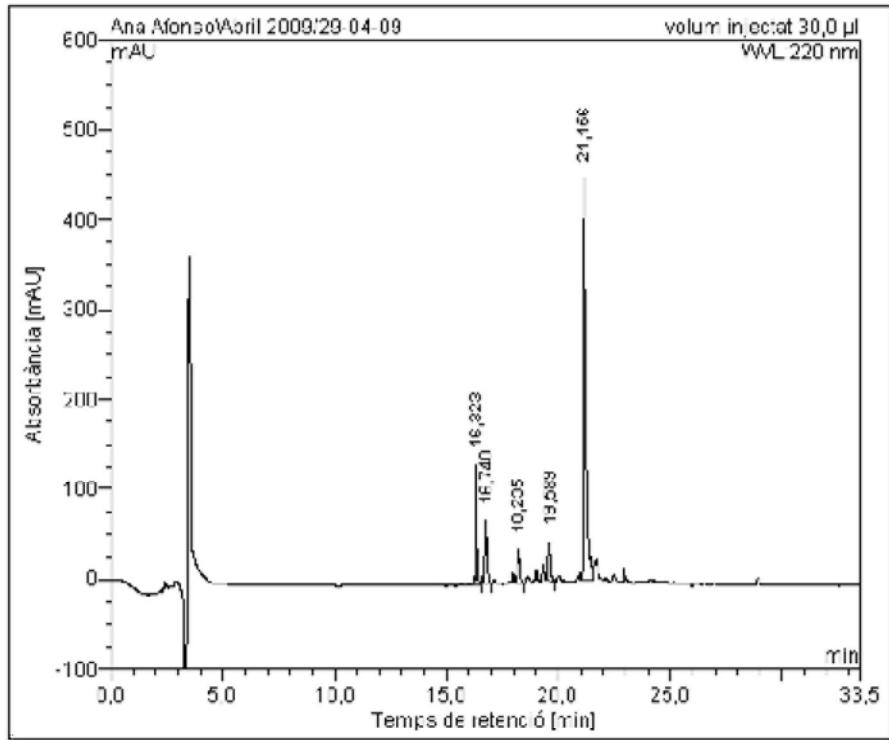


HSQC edited (CD<sub>3</sub>CN + D<sub>2</sub>O) δ (ppm)



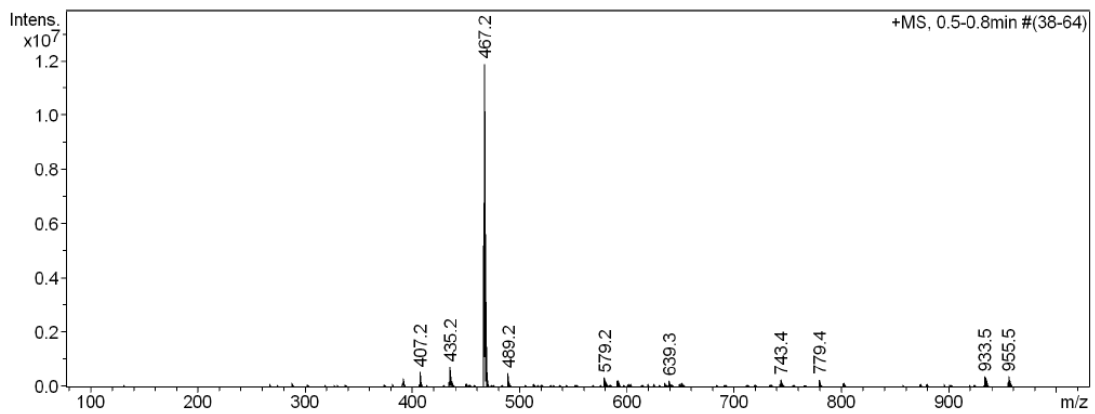
Escalfament convencional

HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

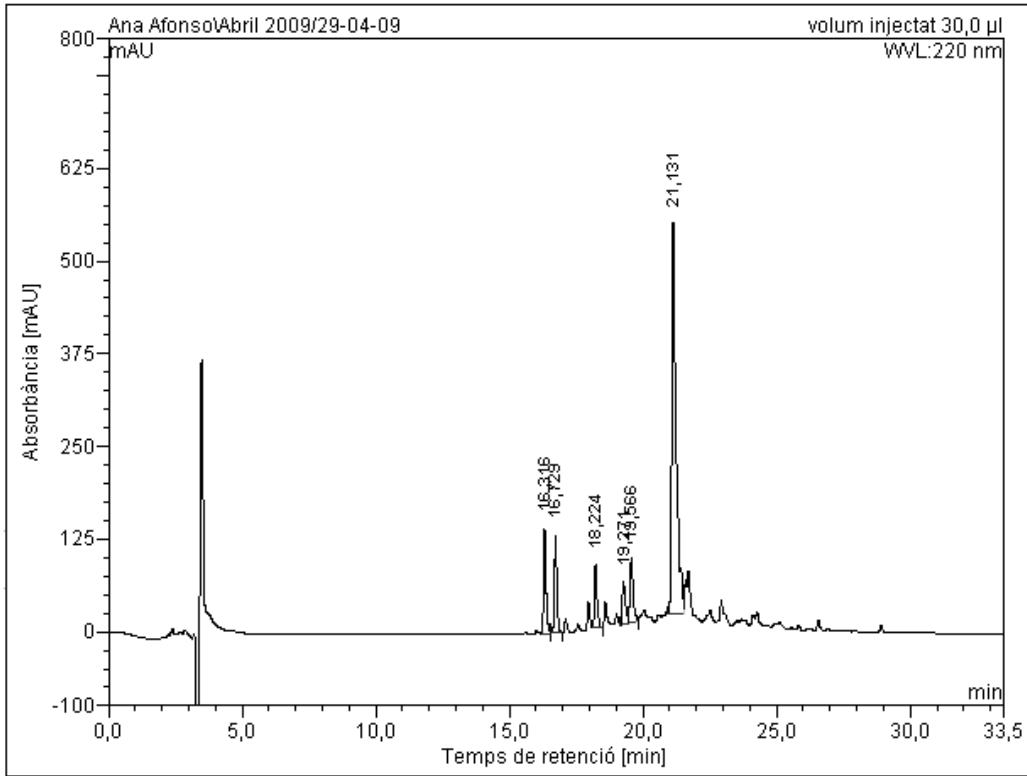


No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	16,32	134,121	13,220	13,25
2	16,74	63,379	7,679	7,70
3	18,23	33,032	4,110	4,12
4	19,59	41,720	4,614	4,63
5	21,16	446,862	70,116	70,30
Total:		730,114	99,740	100,00

ESI-MS  $m/z$

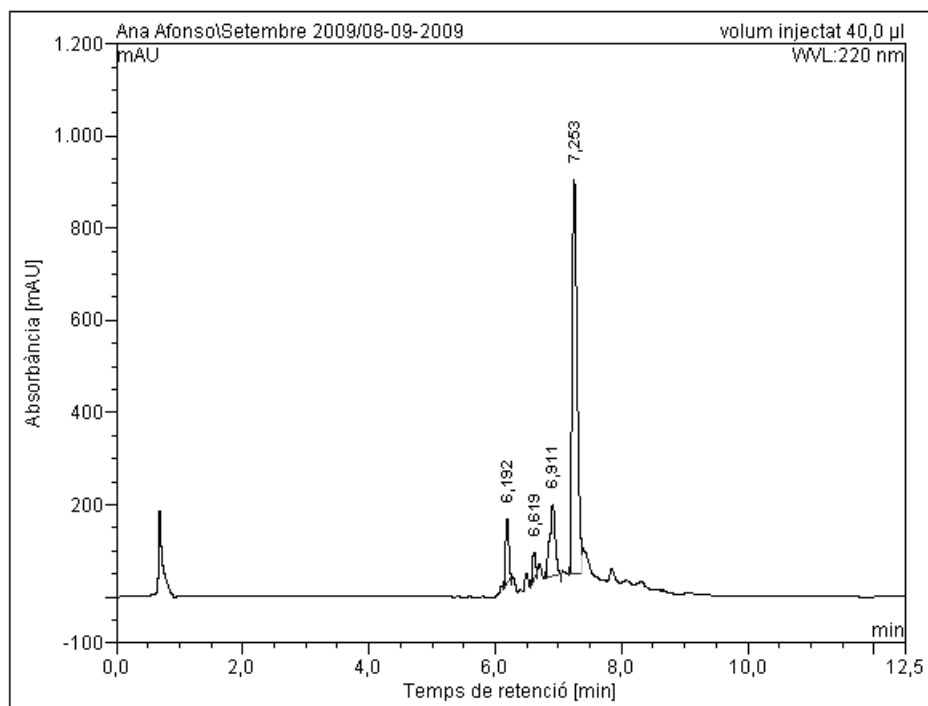


Escalfament per irradiació de microones, protocol A

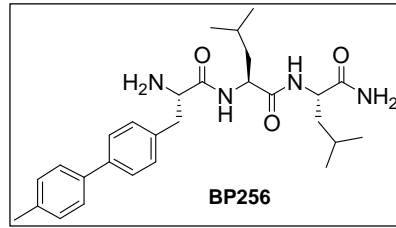
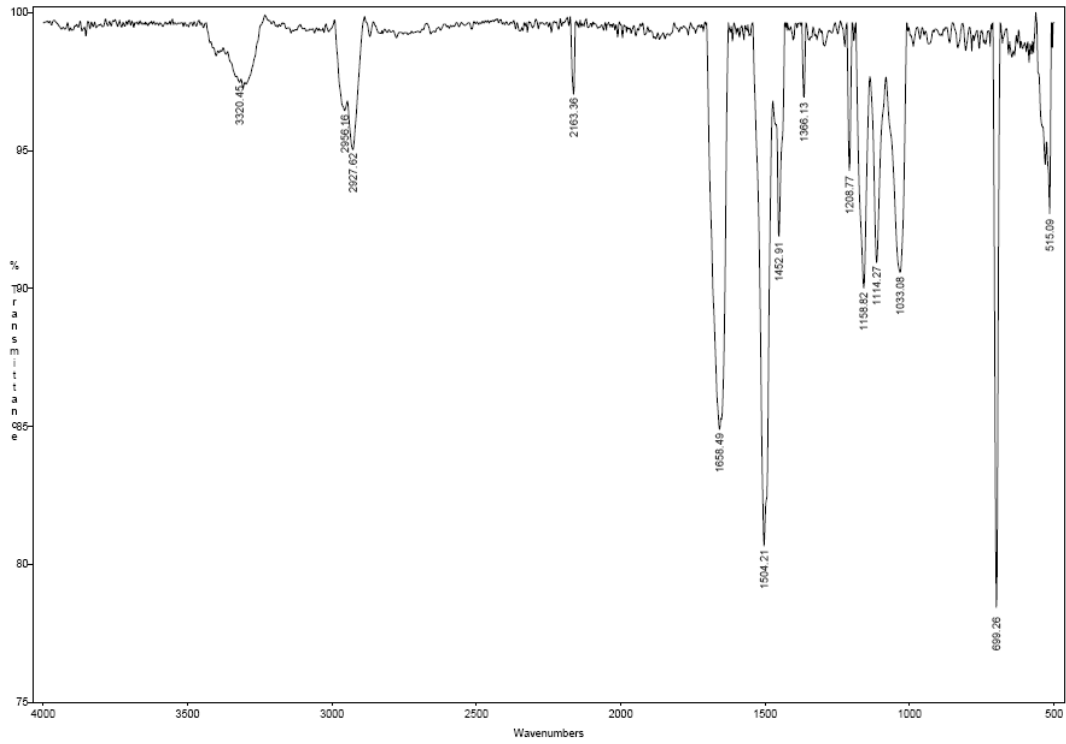
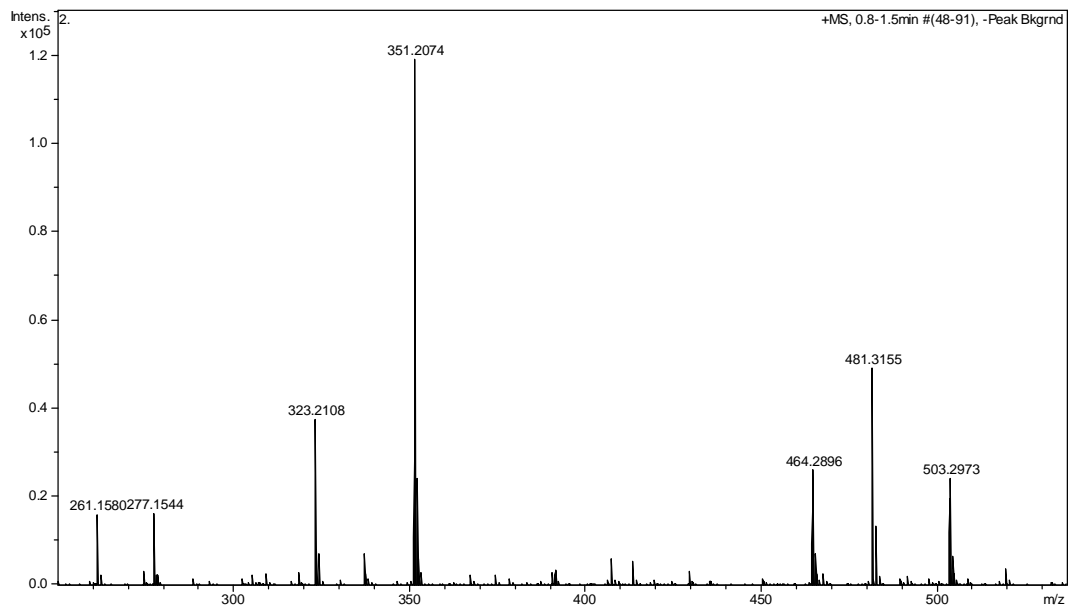
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	16,32	141,069	15,020	9,65
2	16,73	130,652	13,816	8,87
3	18,22	84,474	9,422	6,05
4	19,27	57,311	7,712	4,95
5	19,57	87,587	12,446	7,99
6	21,13	527,621	97,282	62,48
Total:		1028,714	155,697	100,00

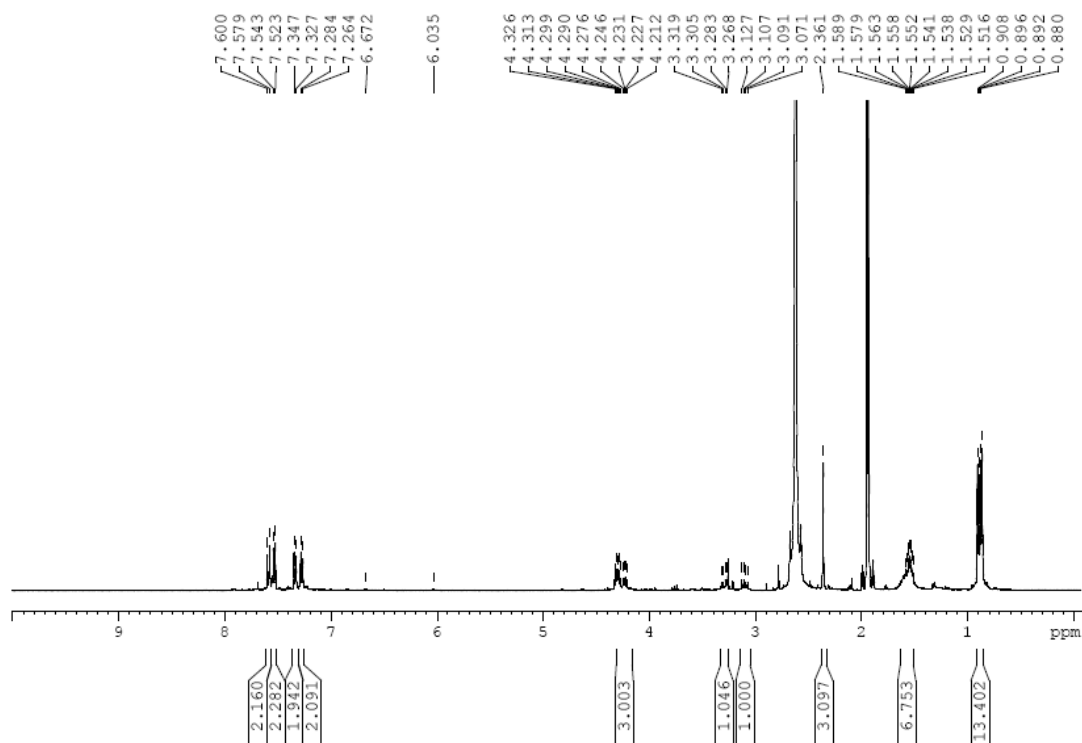
Escalfament per irradiació de microones, protocol B

HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

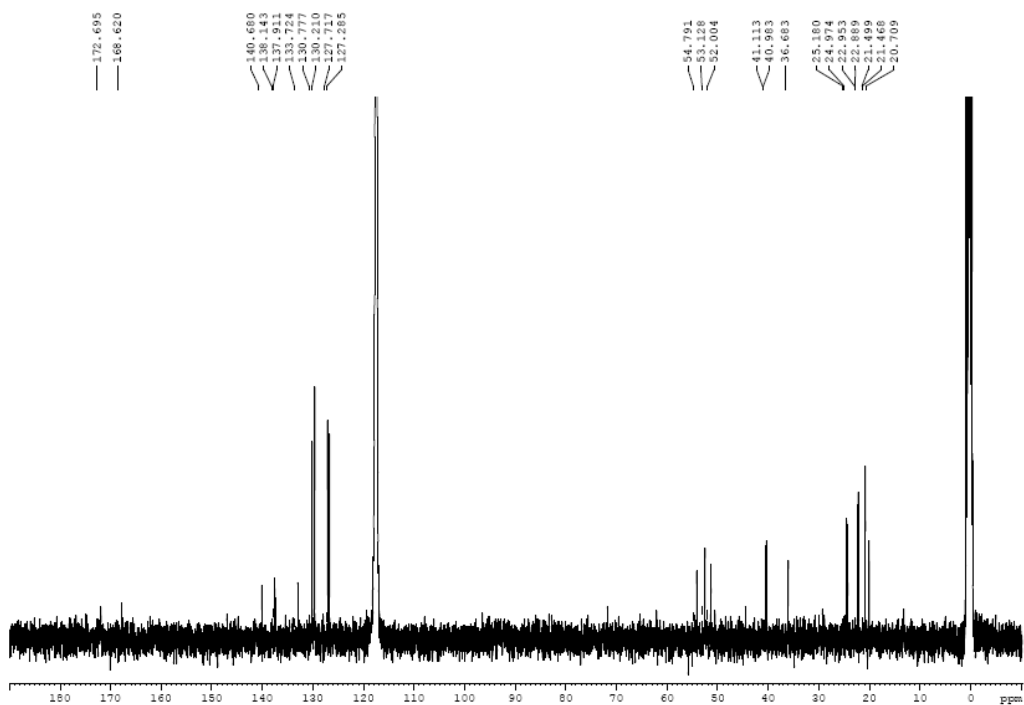
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	6,19	141,219	8,413	7,81
2	6,62	58,044	3,402	3,16
3	6,91	155,494	16,348	15,18
4	7,25	856,467	79,515	73,85
Total:		1211,223	107,677	100,00

**Pèptid biarílic BP256**IR (neat)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )HRMS (ESI)  $m/z$ 

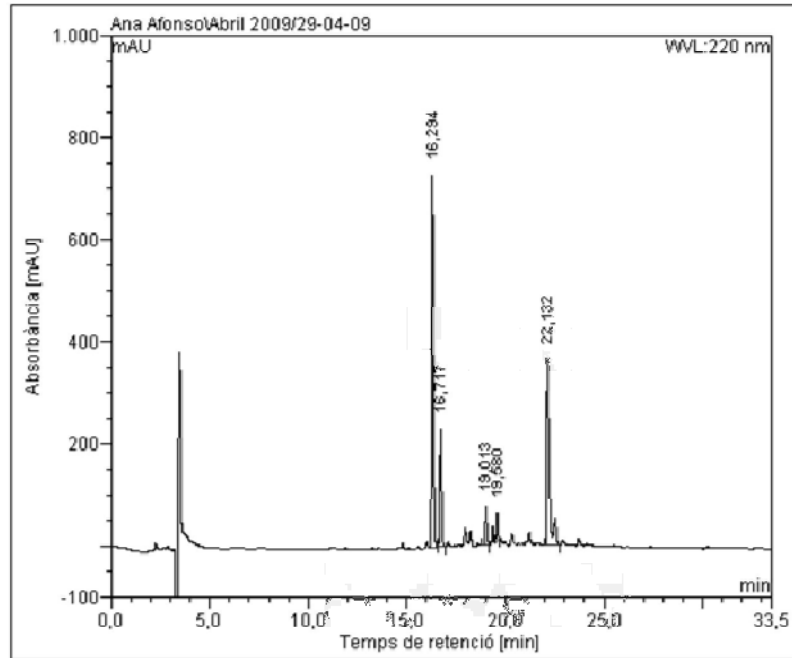
$^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN} + \text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  (ppm)



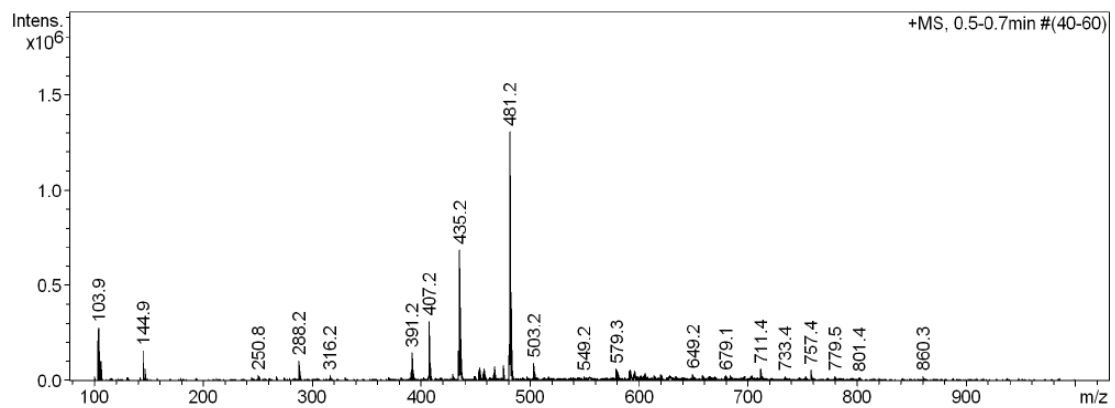
$^{13}\text{C-RMN}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN} + \text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  (ppm)



Escalfament convencional

HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

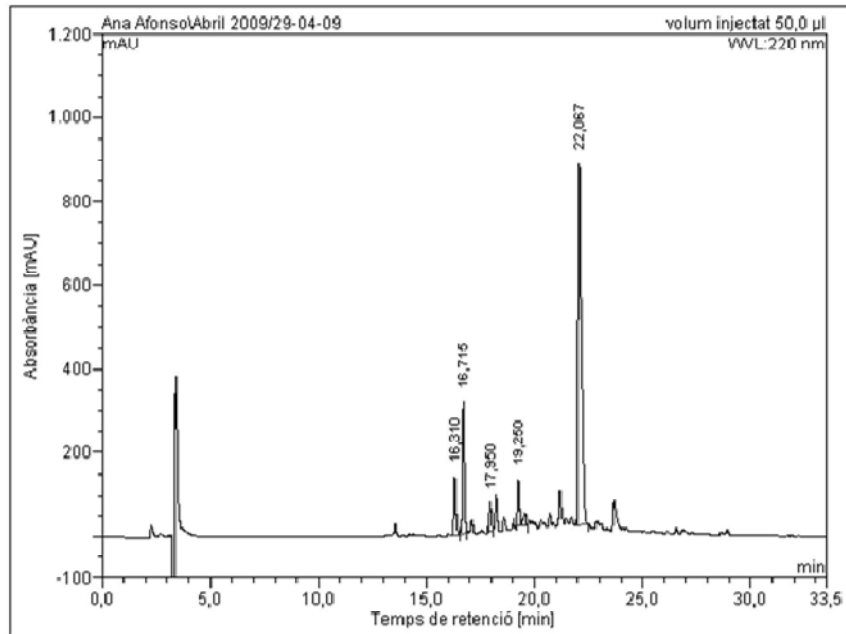
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	16,29	729,055	70,547	42,92
2	16,72	231,118	22,938	13,96
3	19,01	74,653	7,800	4,75
4	19,58	55,568	5,048	3,07
5	22,13	364,815	58,028	35,31
Total:		1455,210	164,362	100,00

ESI-MS  $m/z$ 



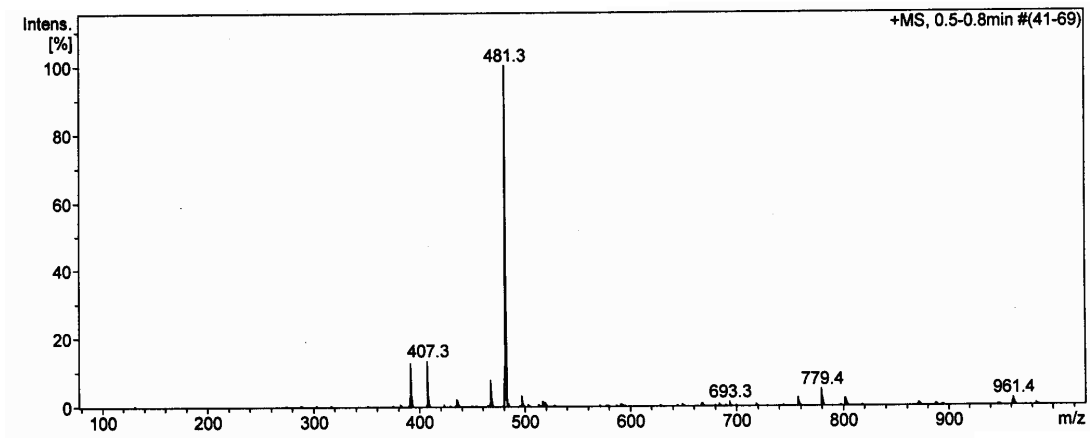
Escalfament per irradiació de microones, protocol A

HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

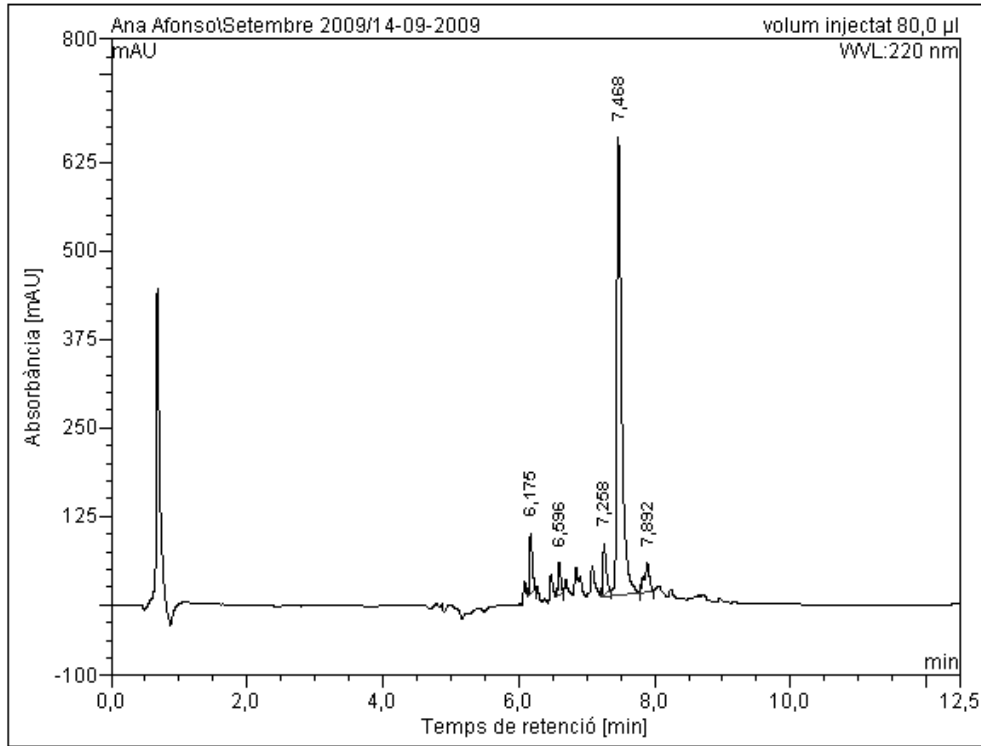


No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	16,31	139,272	14,855	6,69
2	16,72	313,723	32,957	14,85
3	17,95	70,197	7,080	3,19
4	19,25	109,902	14,565	6,56
5	22,07	865,126	152,492	68,71
Total:		1498,219	221,949	100,00

ESI-MS  $m/z$

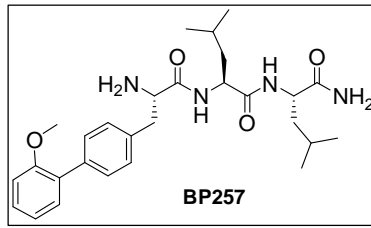


Escalfament per irradiació de microones, protocol B

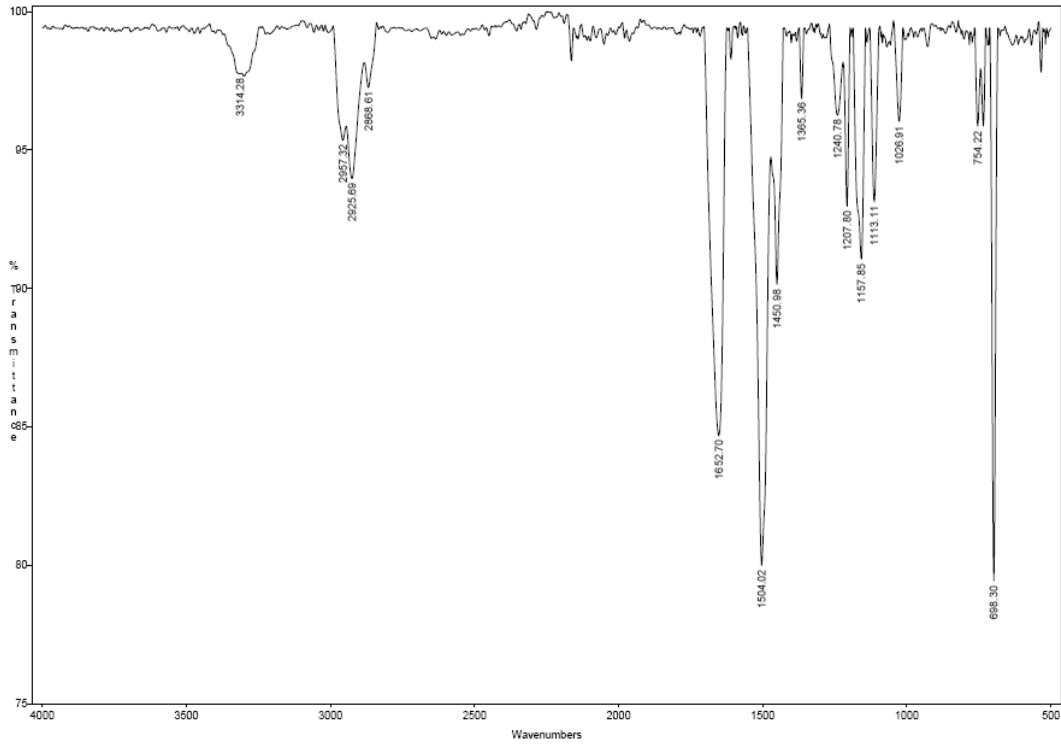
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	6,18	86,227	4,094	5,97
2	6,60	45,327	2,032	2,96
3	7,26	73,056	4,121	6,01
4	7,47	646,676	54,780	79,89
5	7,89	40,060	3,541	5,16
Total:		891,345	68,568	100,00

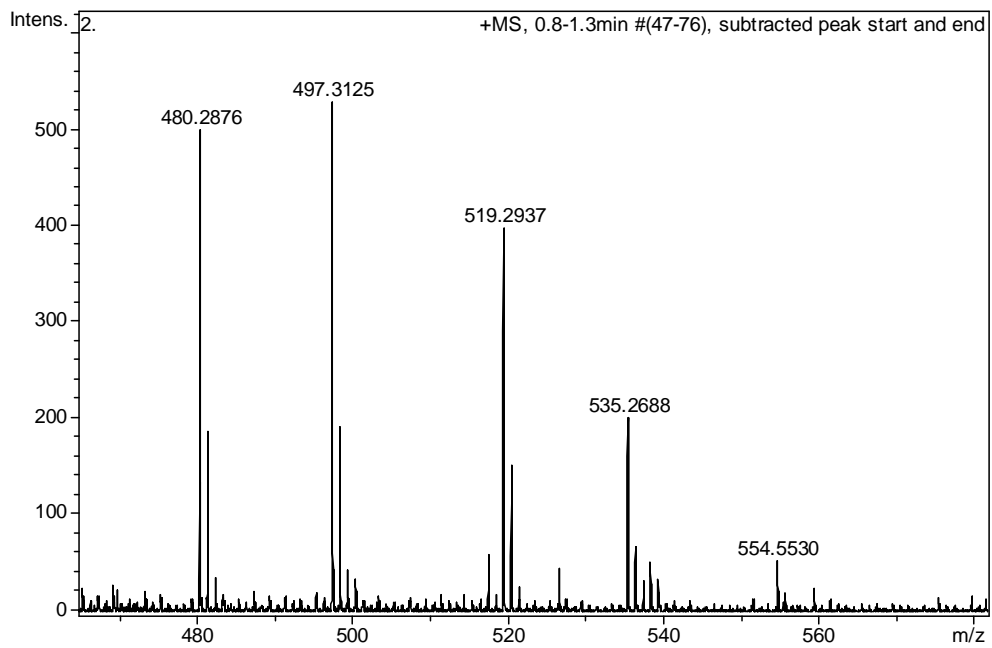
**Pèptid biarílic BP257**

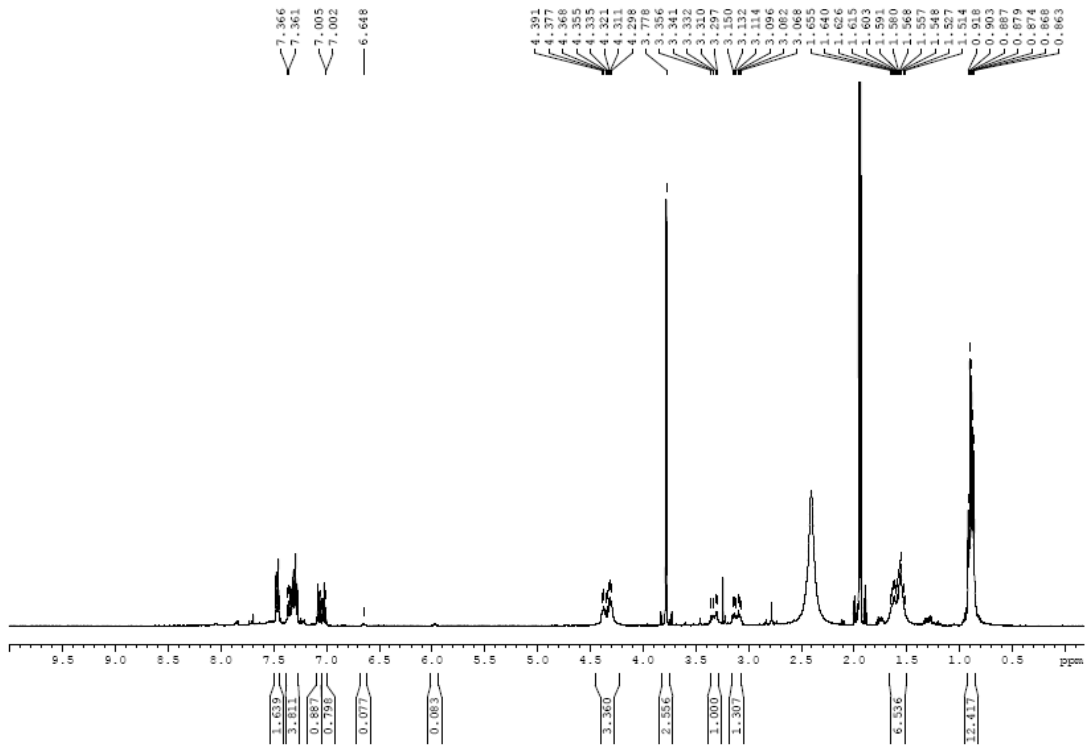
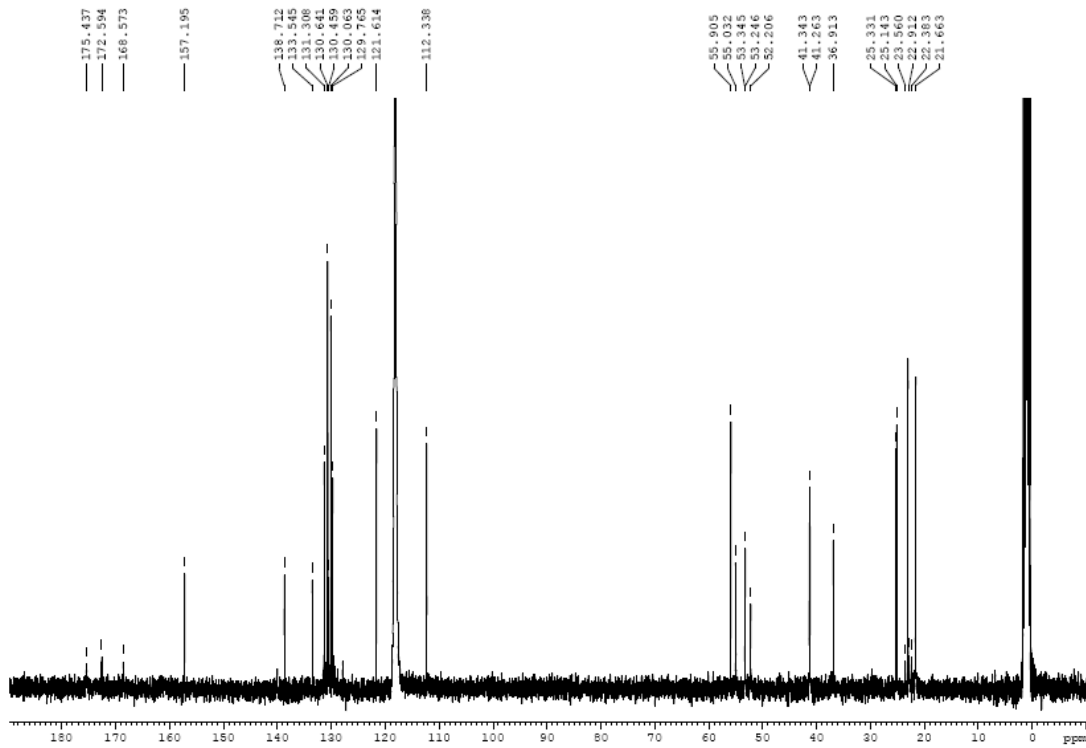


IR (neat)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )

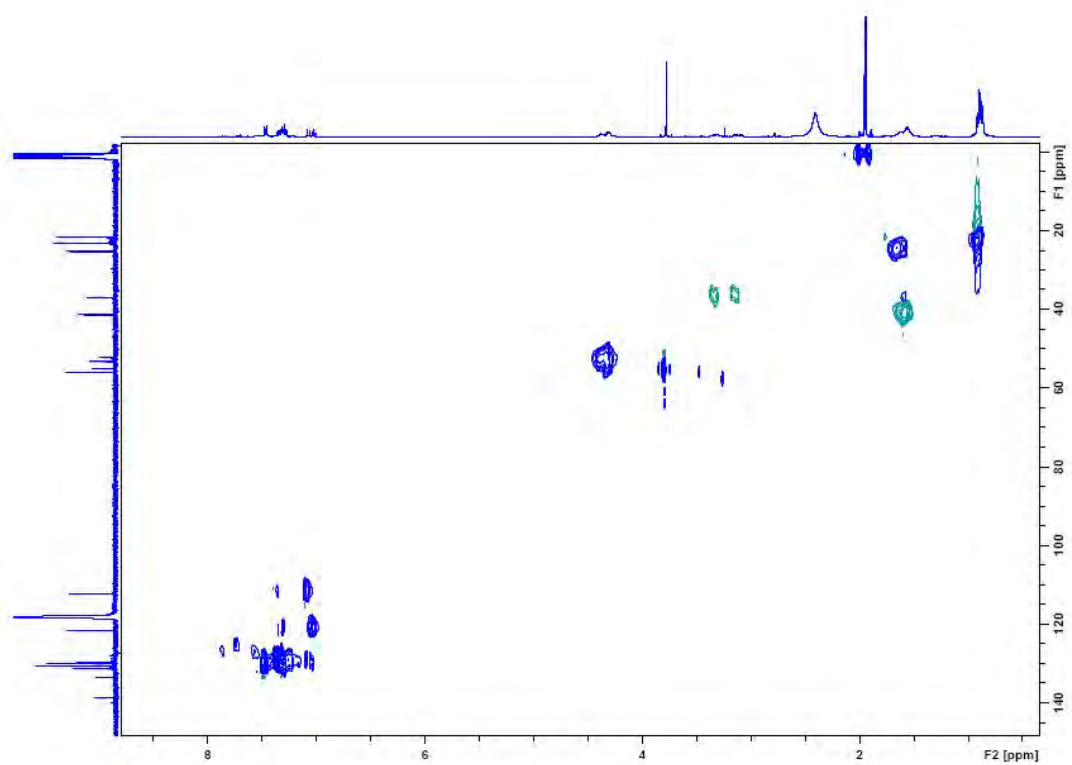


HRMS (ESI)  $m/z$

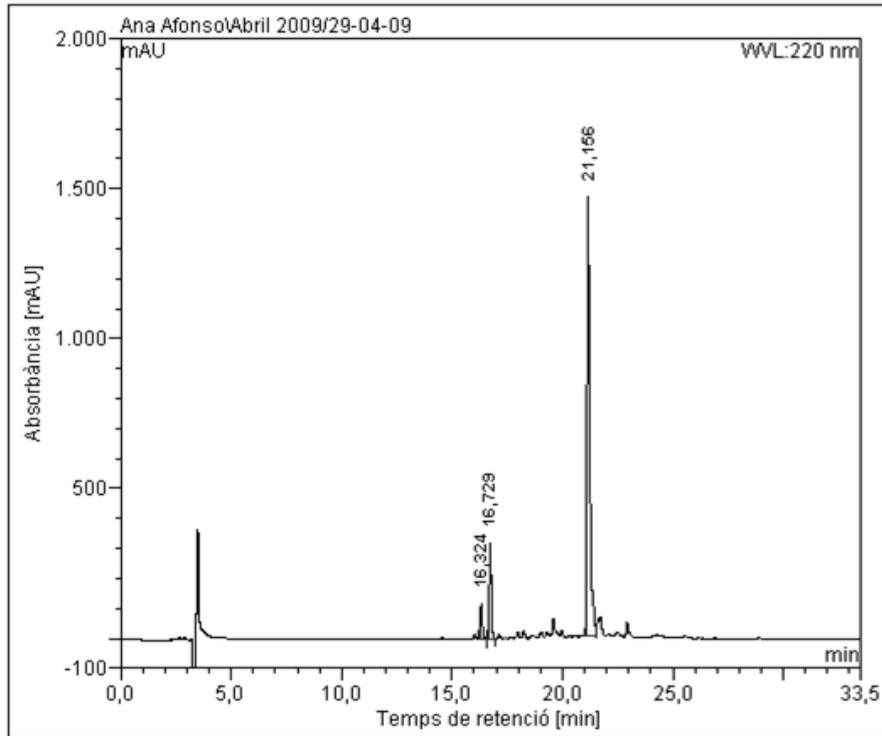


$^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN} + \text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  (ppm) $^{13}\text{C-RMN}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN} + \text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  (ppm)

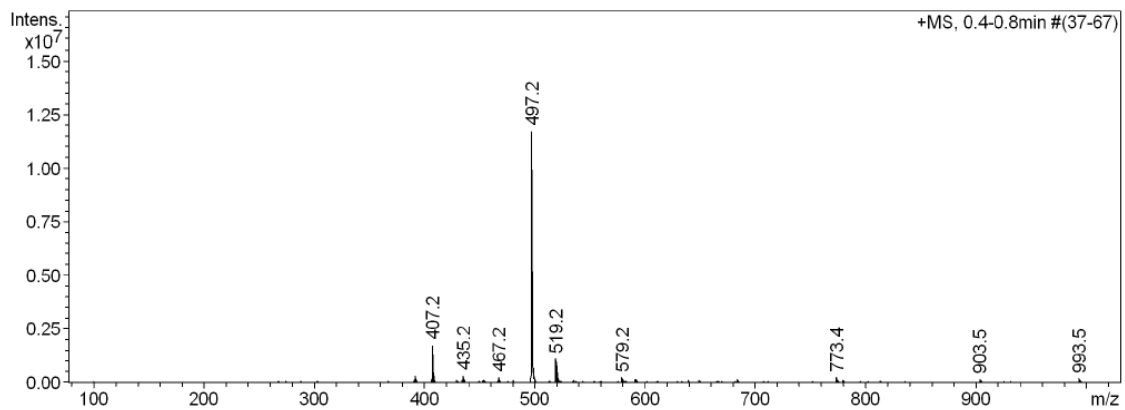
HSQC edited (CD<sub>3</sub>CN + D<sub>2</sub>O) δ (ppm)



Escala convencional

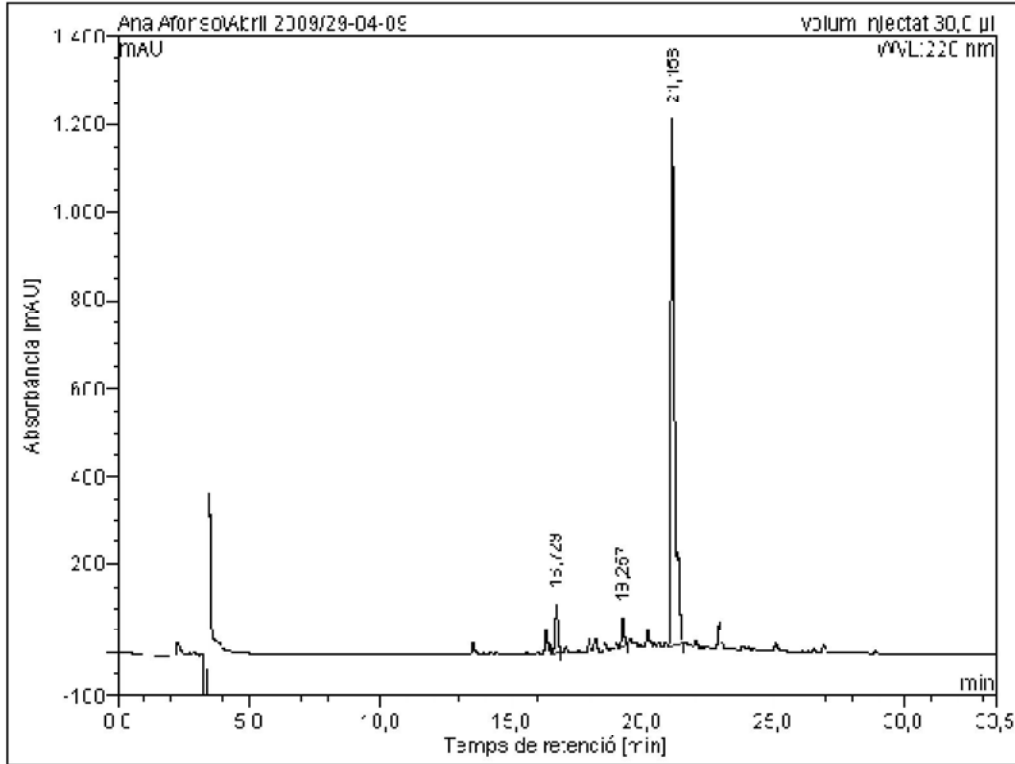
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	16,32	115,298	11,433	4,47
2	16,73	317,768	32,188	12,59
3	21,16	1465,608	211,997	82,94
Total:		1898,674	255,618	100,00

ESI-MS  $m/z$ 

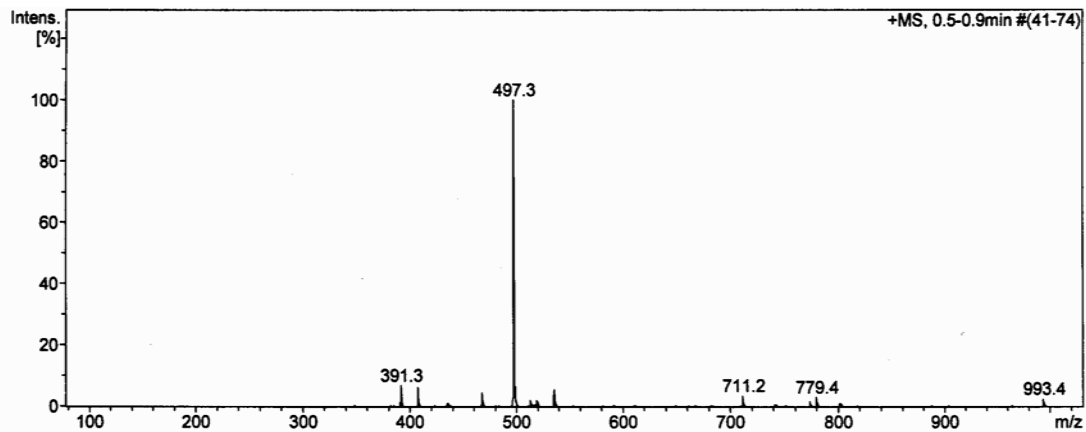
Escalfament per irradiació de microones, protocol A

HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

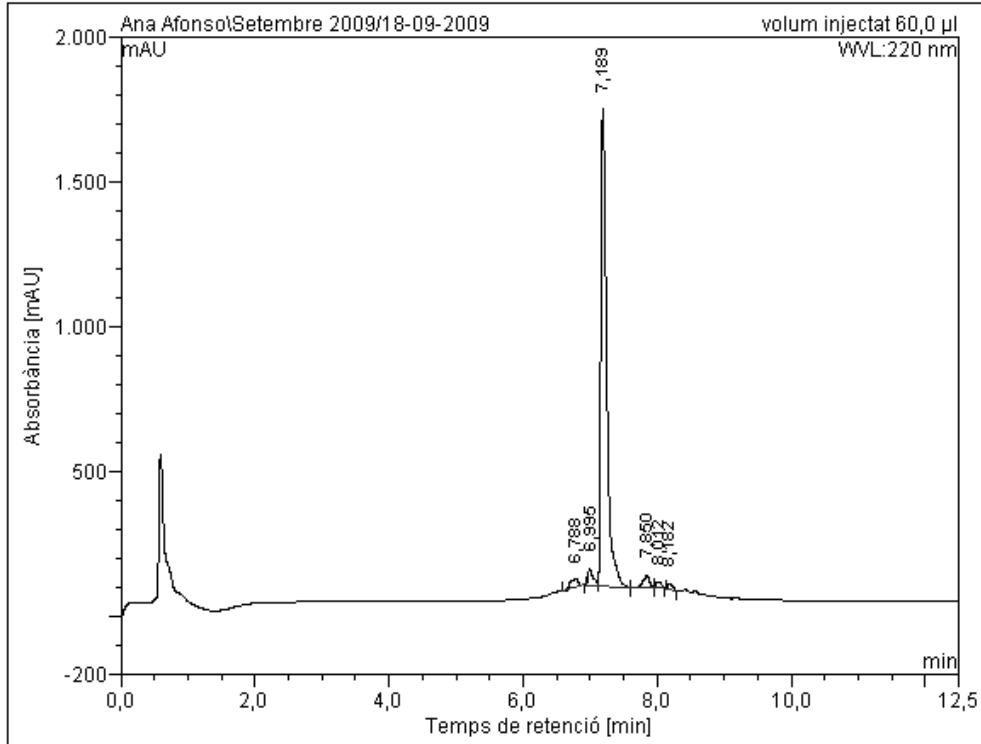


No.	Ret. Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel. Area %
1	16,73	110,511	11,747	5,50
2	19,26	67,177	6,718	3,21
3	21,16	1200,329	187,397	91,19
Total:		1377,817	205,862	100,00

ESI-MS  $m/z$



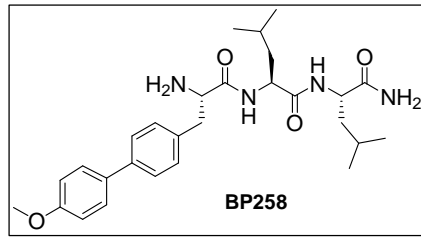
Escalfament per irradiació de microones, protocol B

HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

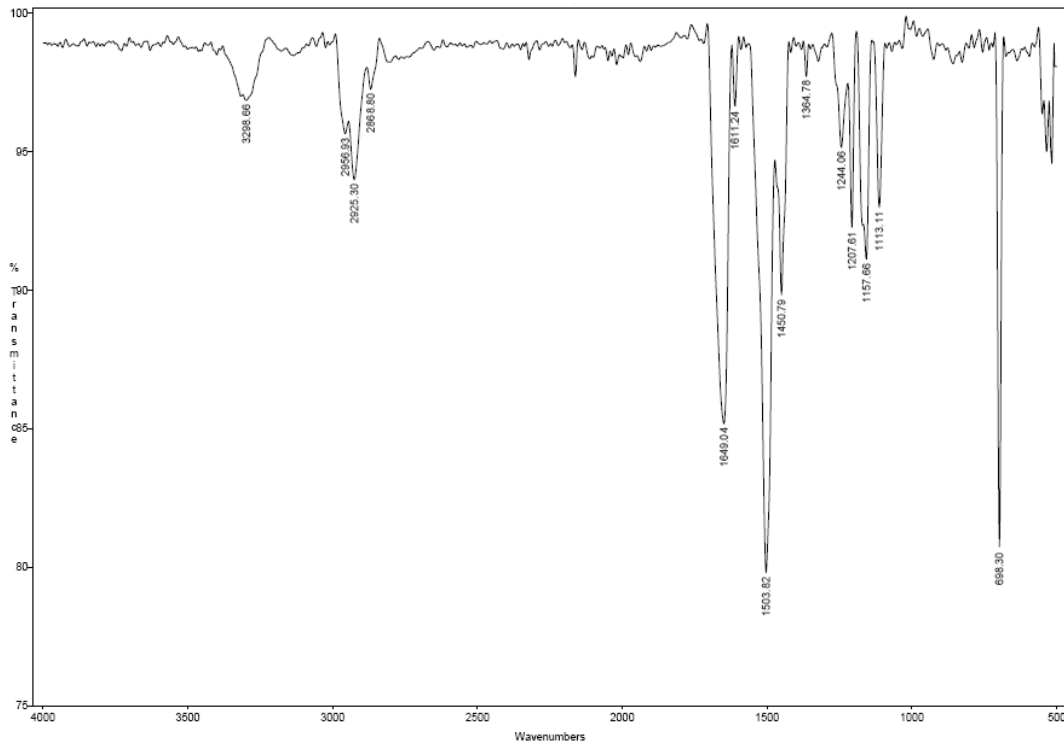
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	6,79	27,176	3,702	2,01
2	6,99	59,348	5,354	2,91
3	7,19	1645,514	166,710	90,69
4	7,85	42,452	4,630	2,52
5	8,01	18,278	1,762	0,96
6	8,18	19,598	1,666	0,91



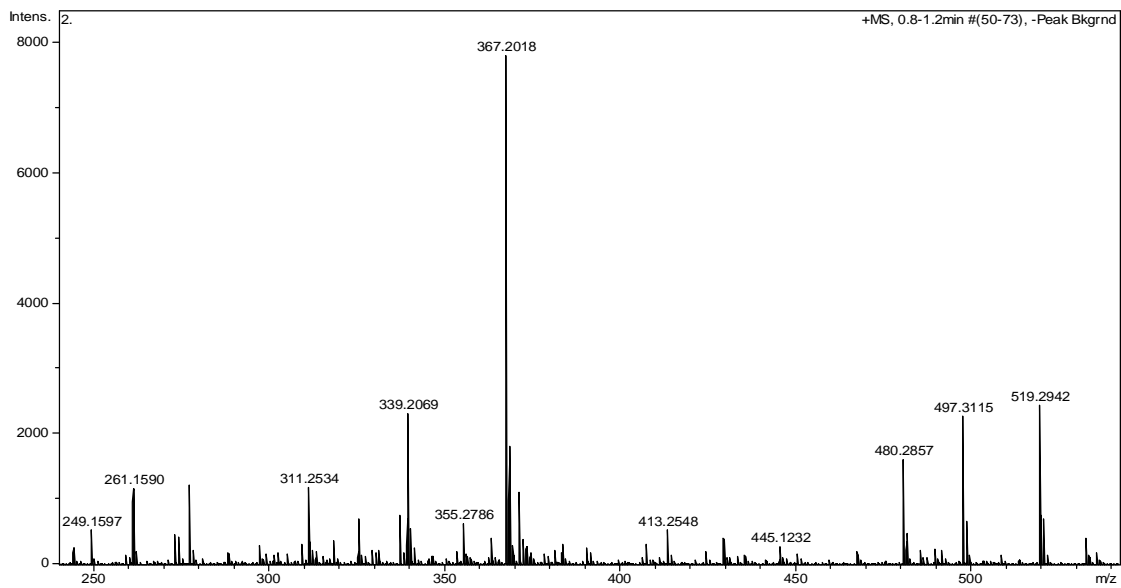
**Pèptid biarílic BP258**

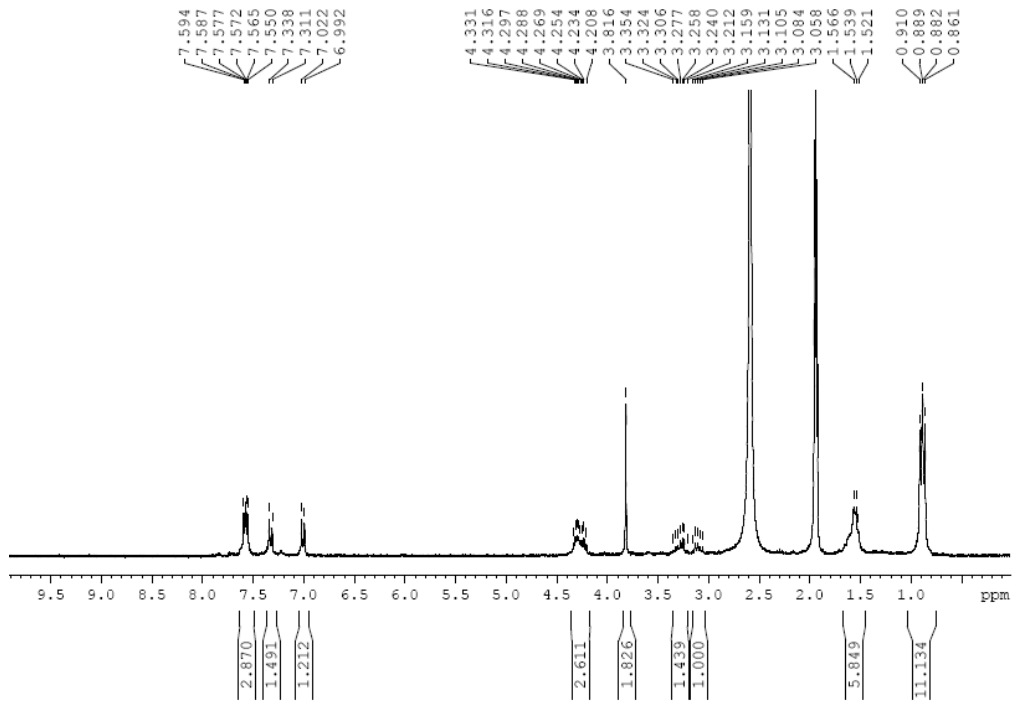
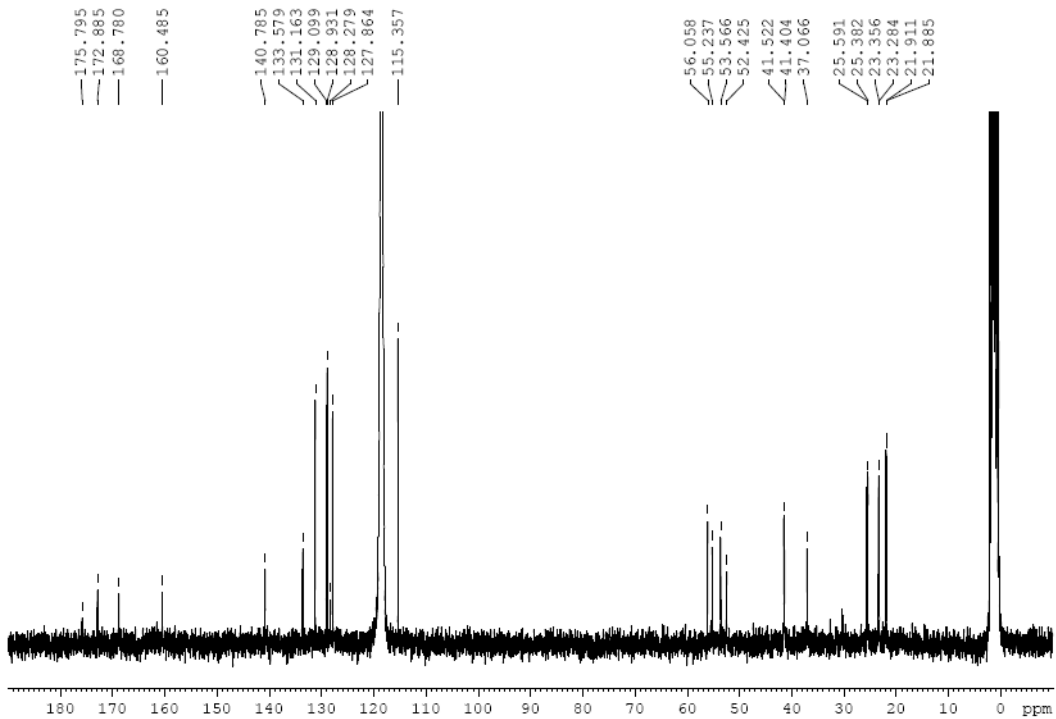


IR (neat)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )



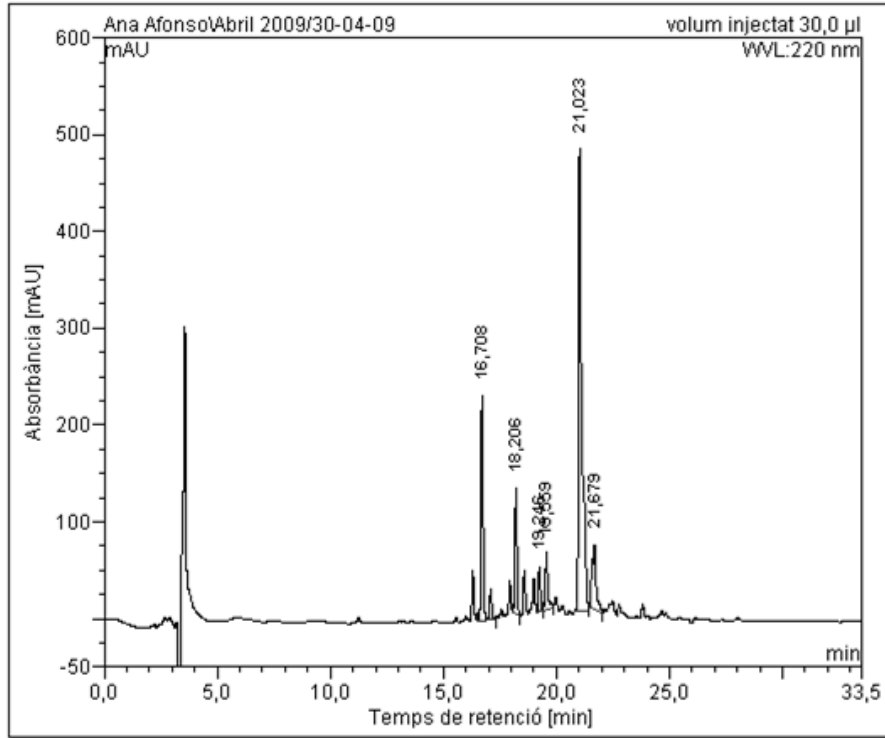
HRMS (ESI)  $m/z$



$^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN} + \text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  (ppm) $^{13}\text{C}$ -RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN} + \text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  (ppm)

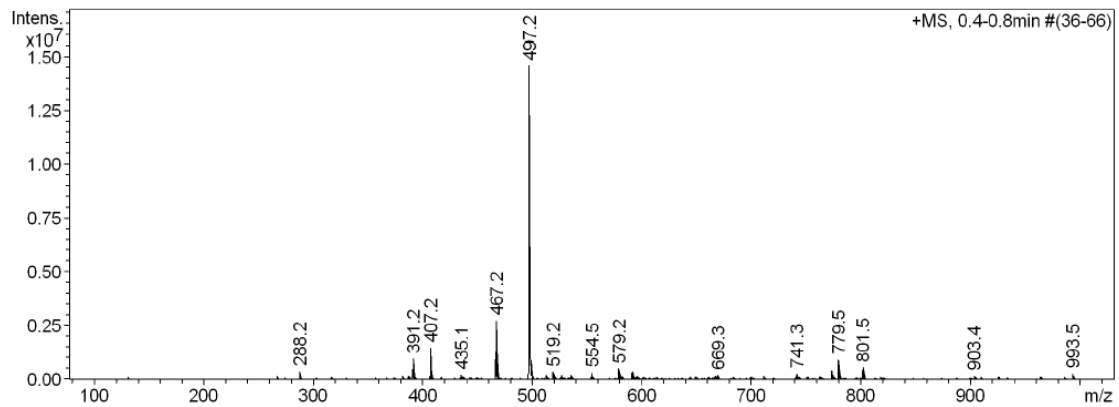
Escala fament convencional

HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

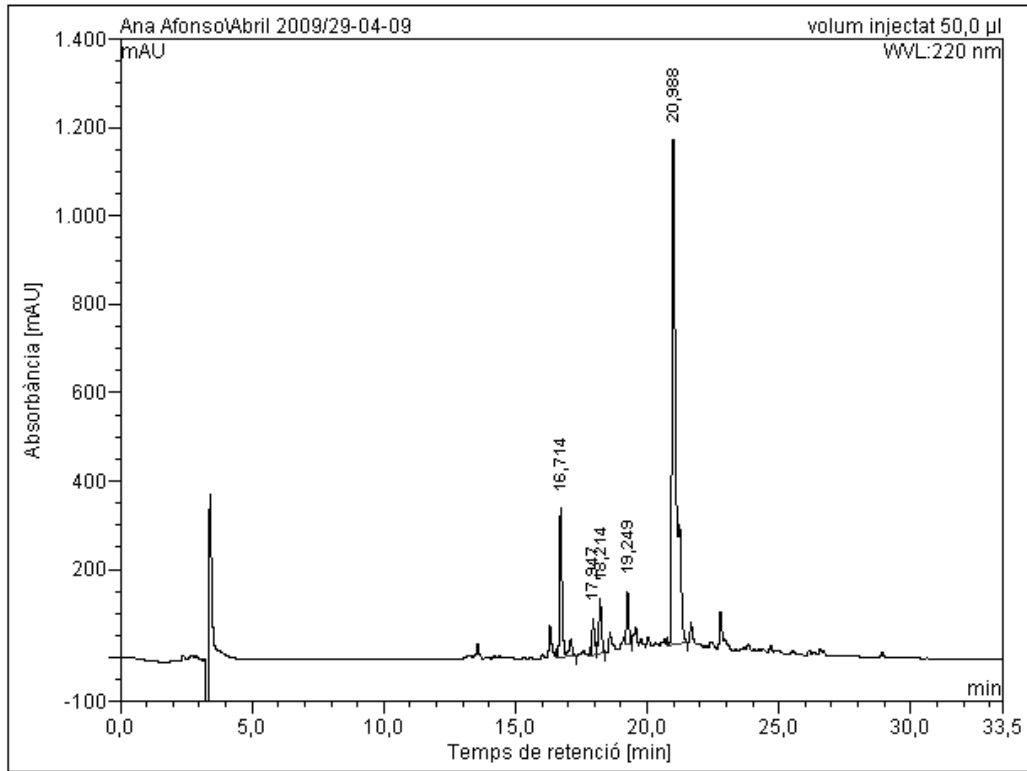


No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	16,71	231,302	27,516	18,56
2	18,21	129,504	13,781	9,29
3	19,25	46,502	4,822	3,25
4	19,56	58,905	7,465	5,03
5	21,02	476,029	80,580	54,34
6	21,68	67,135	14,125	9,53
Total:		1009,376	148,288	100,00

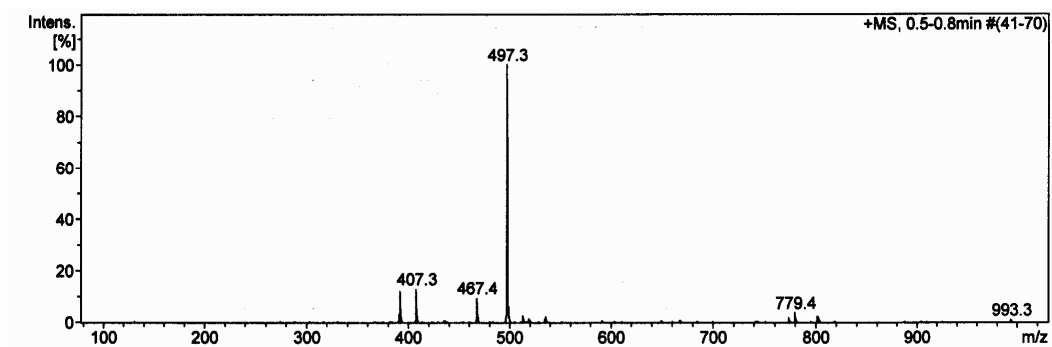
ESI-MS  $m/z$



Escala fament per irradiació de microones, protocol A

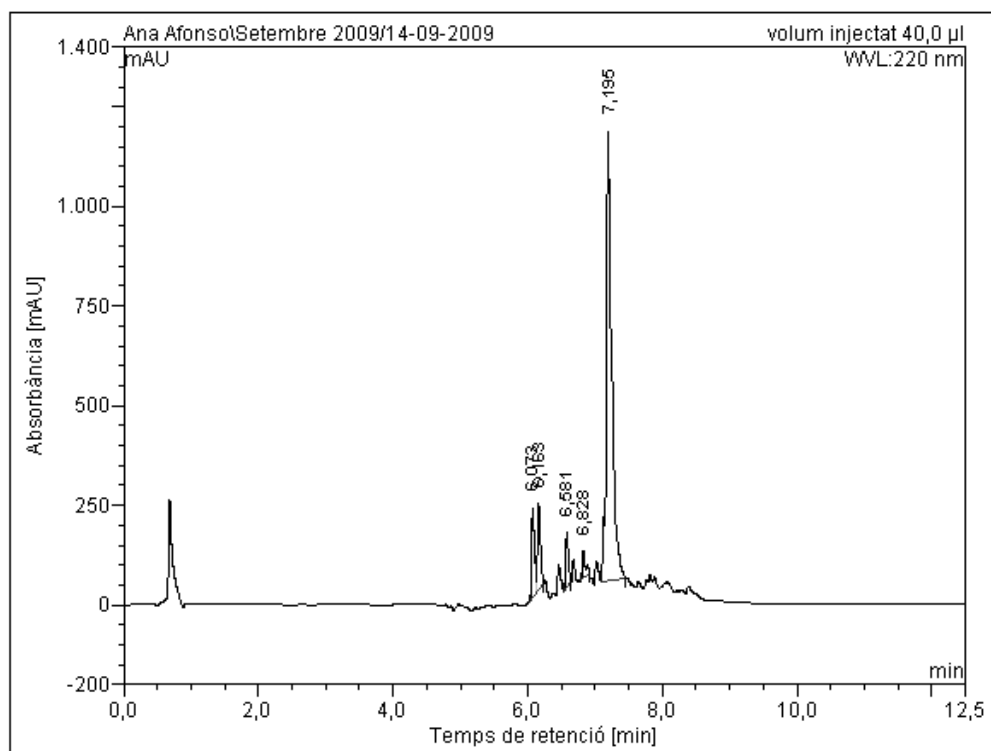
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	16,71	336,388	40,181	14,23
2	17,95	82,460	8,700	3,08
3	18,21	125,445	14,858	5,26
4	19,25	117,366	11,330	4,01
5	20,99	1144,411	207,219	73,41
Total:		1806,071	282,289	100,00

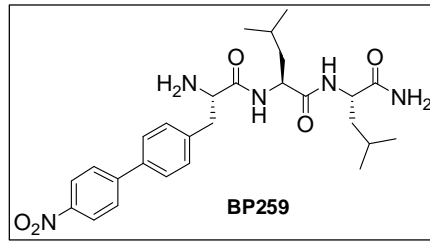
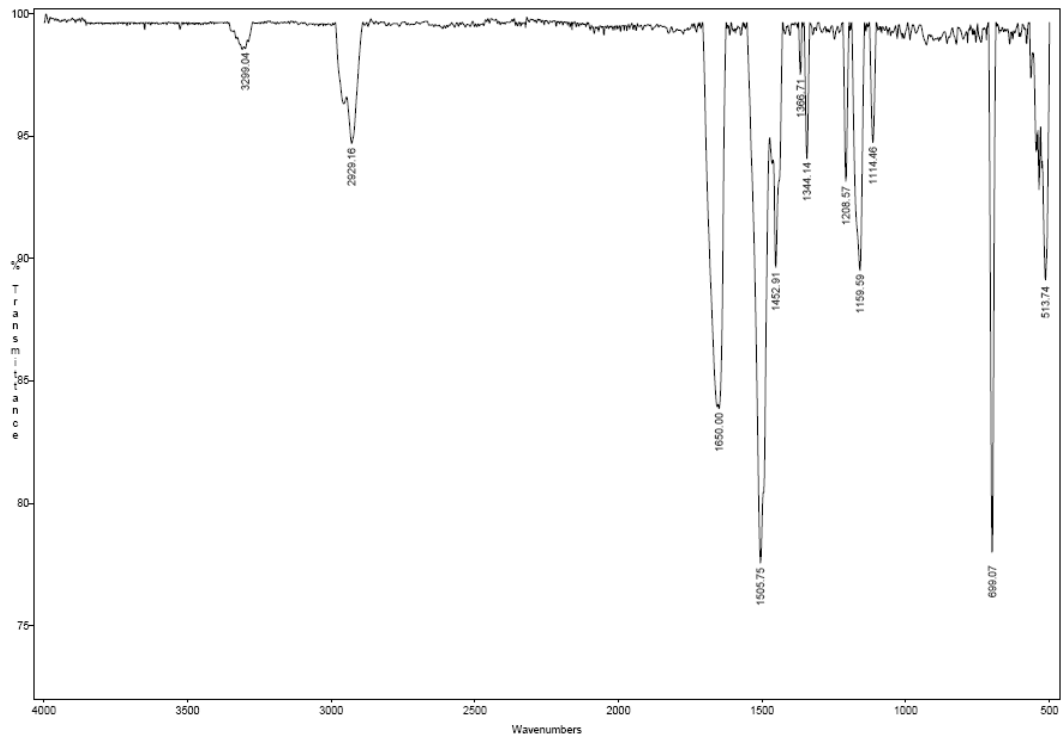
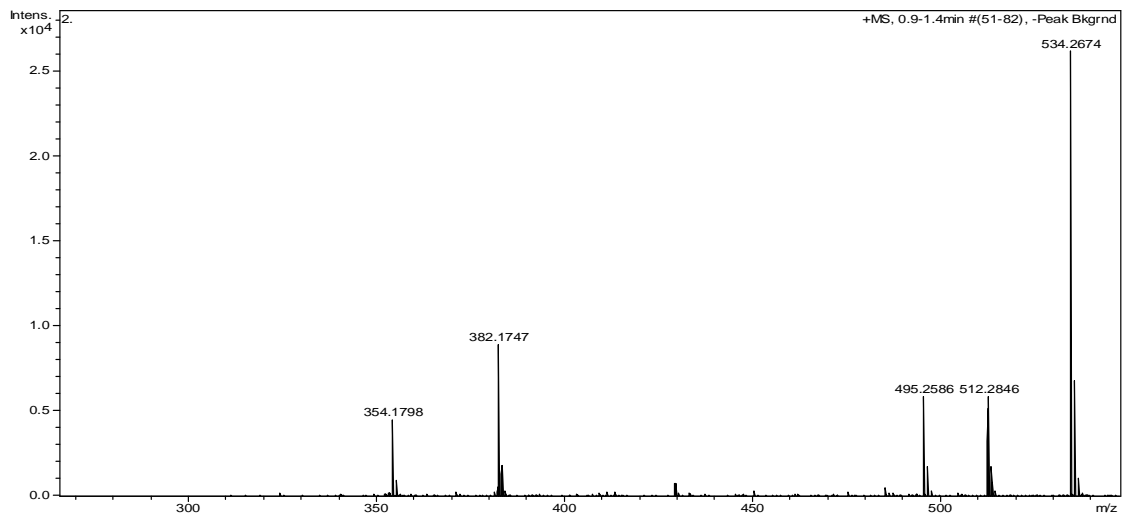
ESI-MS  $m/z$ 

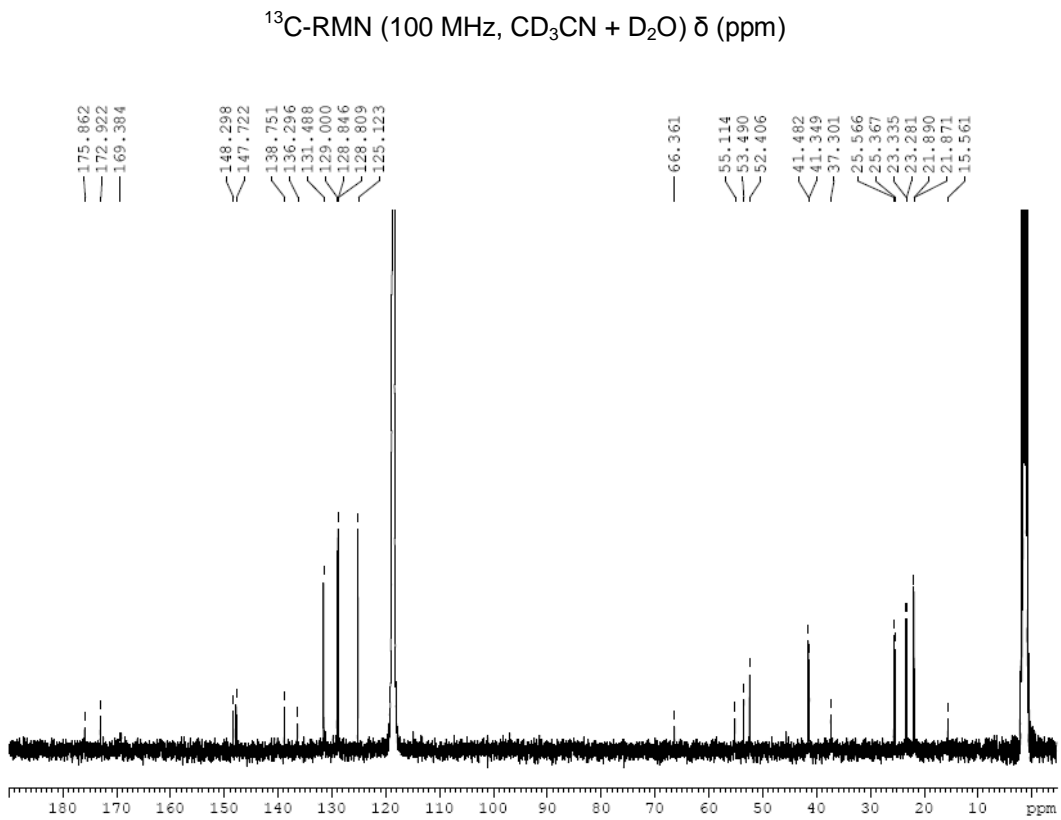
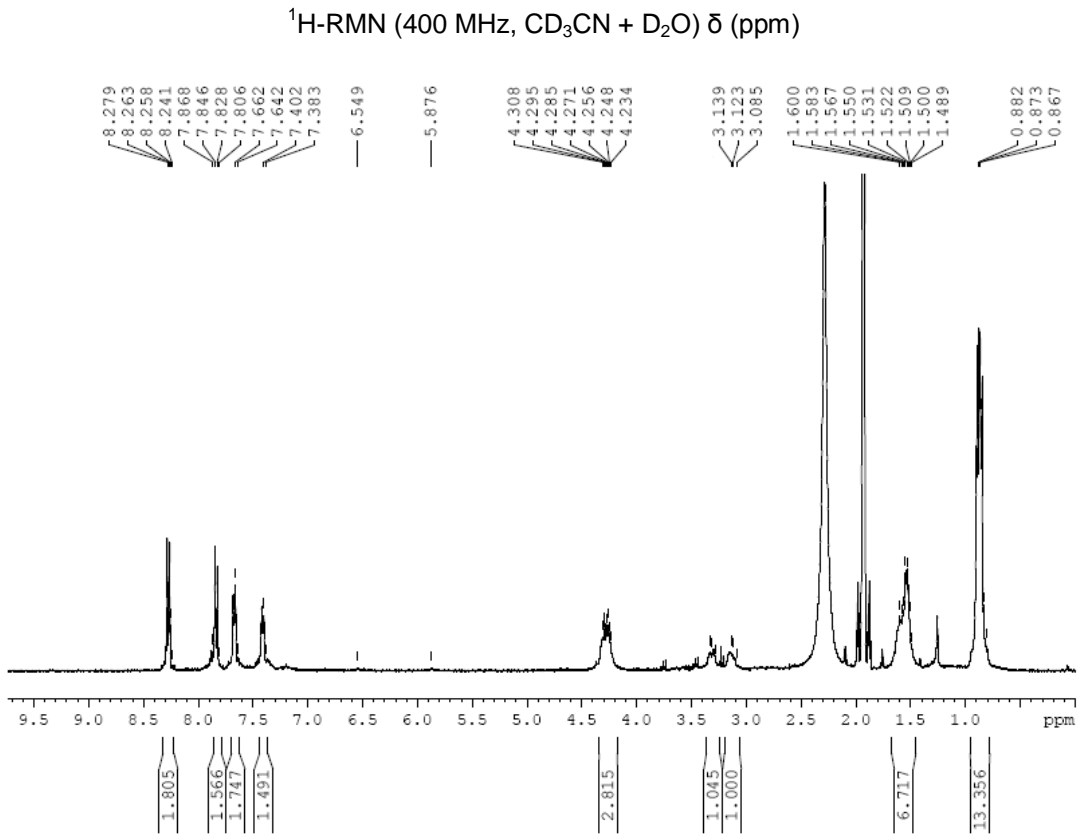
Escalfament per irradiació de microones, protocol B

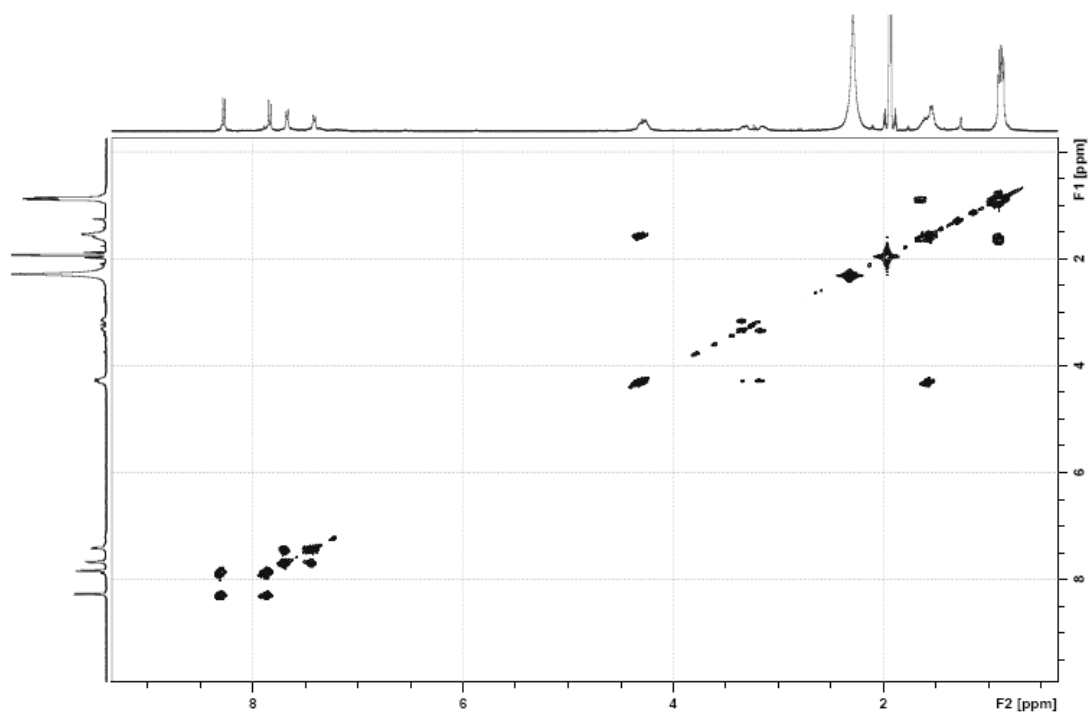
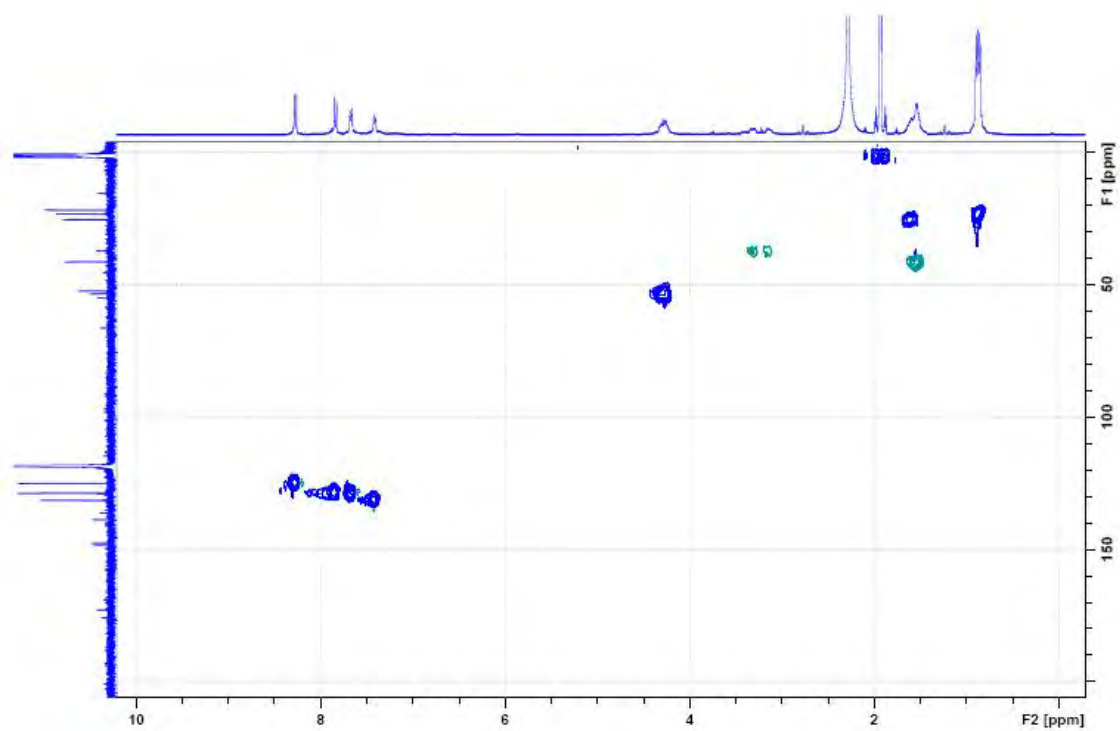
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )



No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	6,07	227,868	11,699	8,45
2	6,16	217,593	11,253	8,12
3	6,58	138,022	6,304	4,55
4	6,83	67,702	3,466	2,50
5	7,20	1127,227	105,802	76,38
Total:		1778,412	138,524	100,00

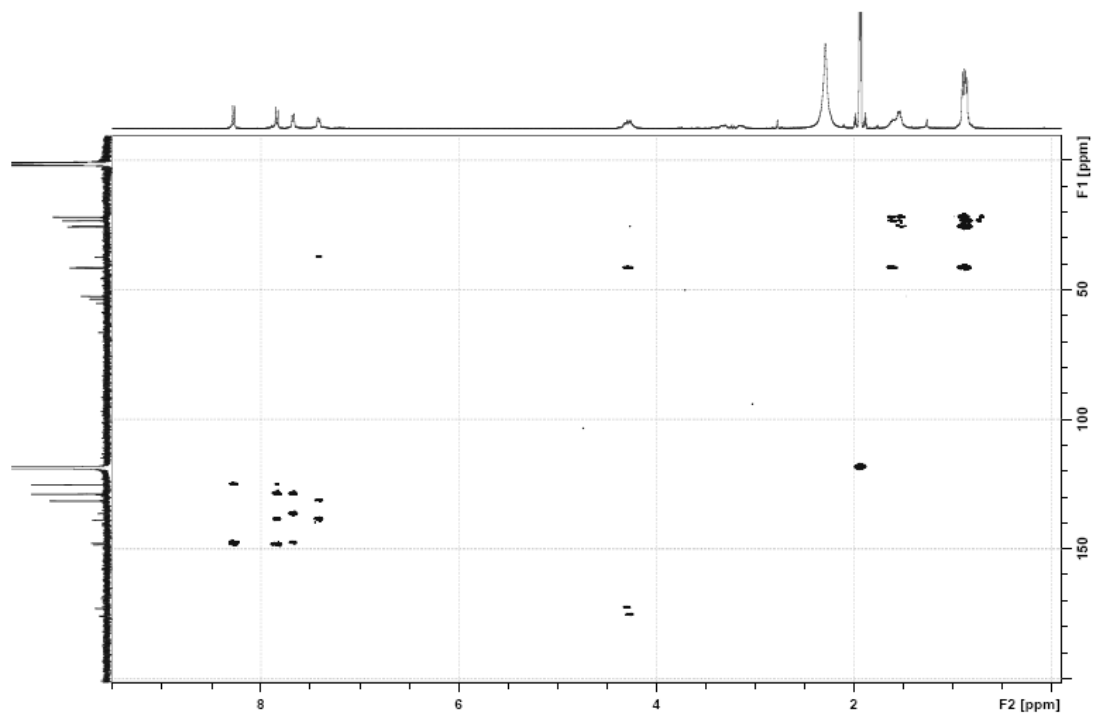
**Pèptid biarílic BP259**IR (neat)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )HRMS (ESI)  $m/z$ 



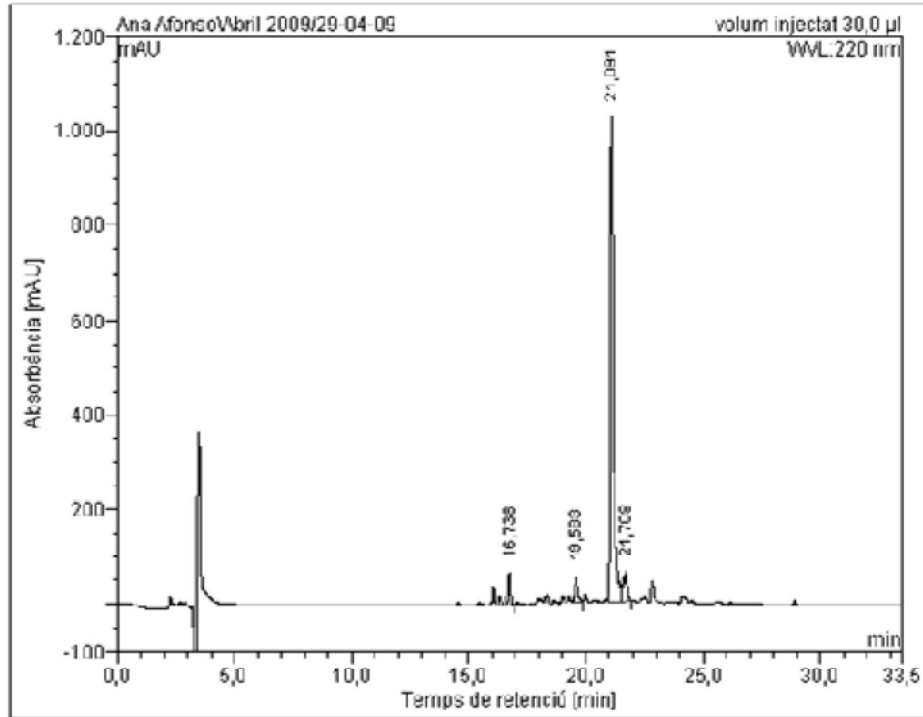
COSY ( $\text{CD}_3\text{CN} + \text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  (ppm)HSQC edited ( $\text{CD}_3\text{CN} + \text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  (ppm)



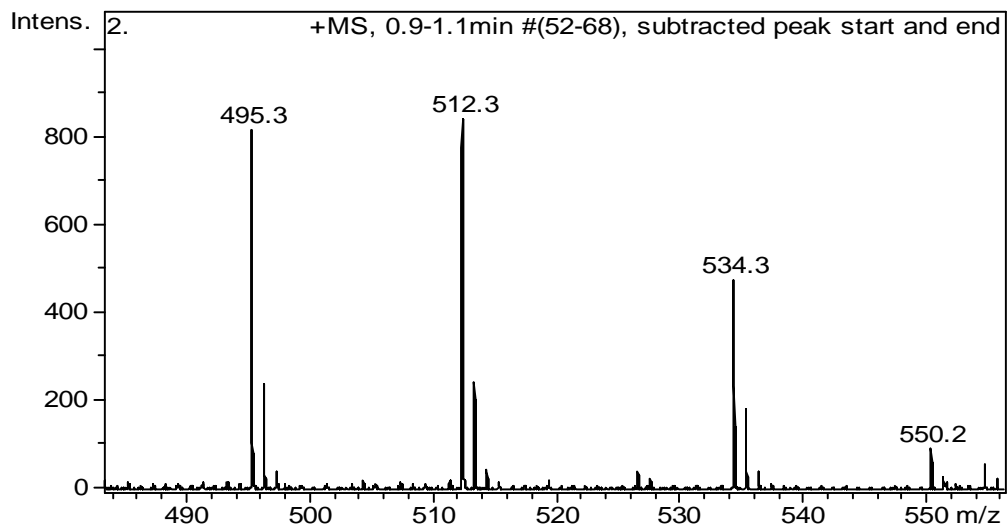
HMBC (CD<sub>3</sub>CN + D<sub>2</sub>O) δ (ppm)



Escalfament convencional

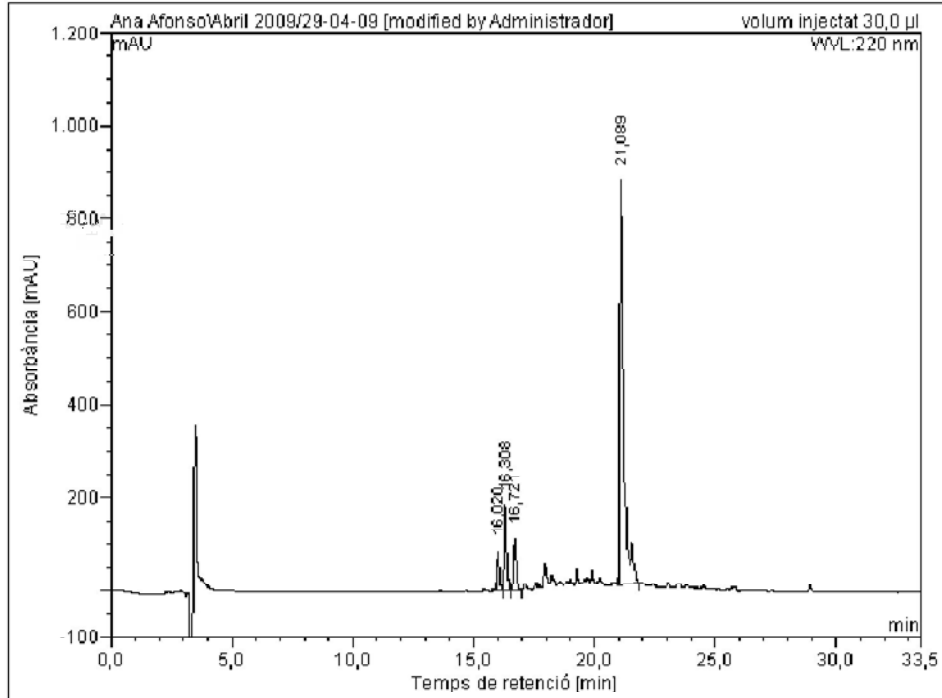
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	16,74	66,001	6,454	3,41
2	19,53	52,702	6,633	3,51
3	21,09	1025,771	163,965	85,70
4	21,71	61,547	12,050	6,37
Total:		1206,100	109,106	100,00

ESI-MS  $m/z$ 

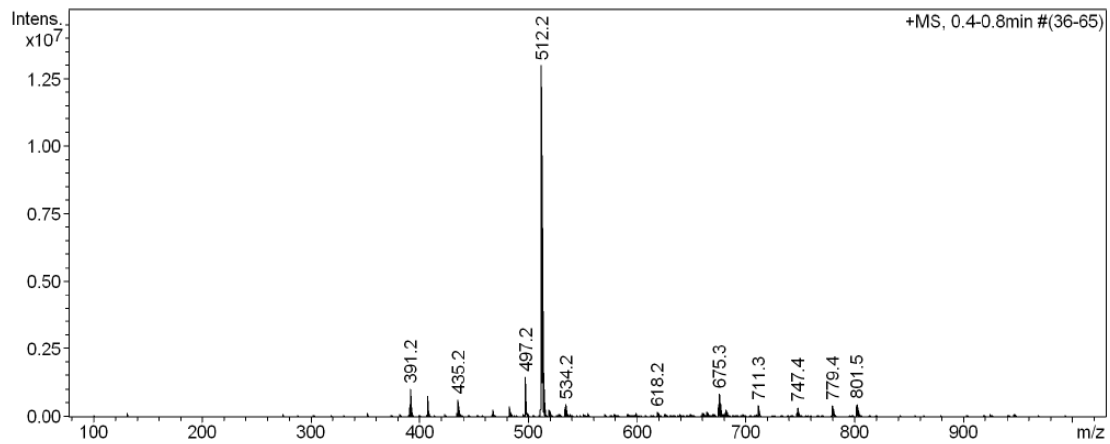
Escalfament per irradiació de microones, protocol A

HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

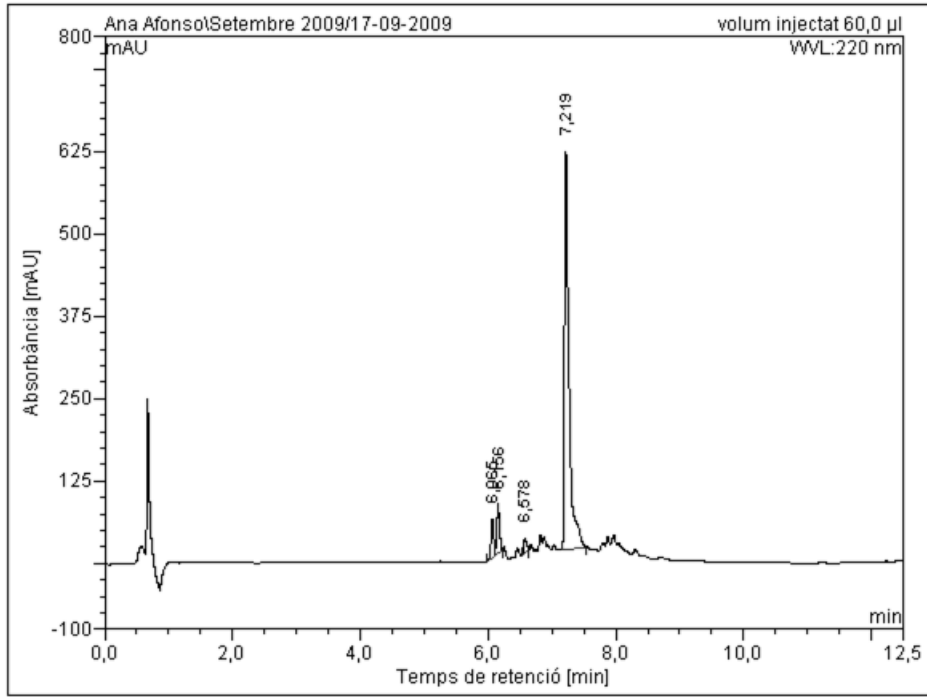


No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	16,02	83,458	7,891	3,85
2	16,31	183,481	20,975	10,23
3	16,72	110,227	11,945	5,83
4	21,09	871,915	164,185	80,09
Total:		1249,081	204,997	100,00

ESI-MS  $m/z$

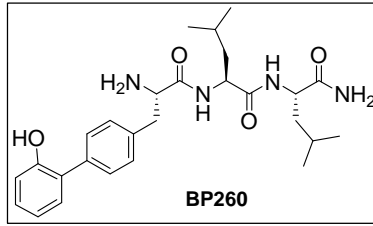


Escalfament per irradiació de microones, protocol B

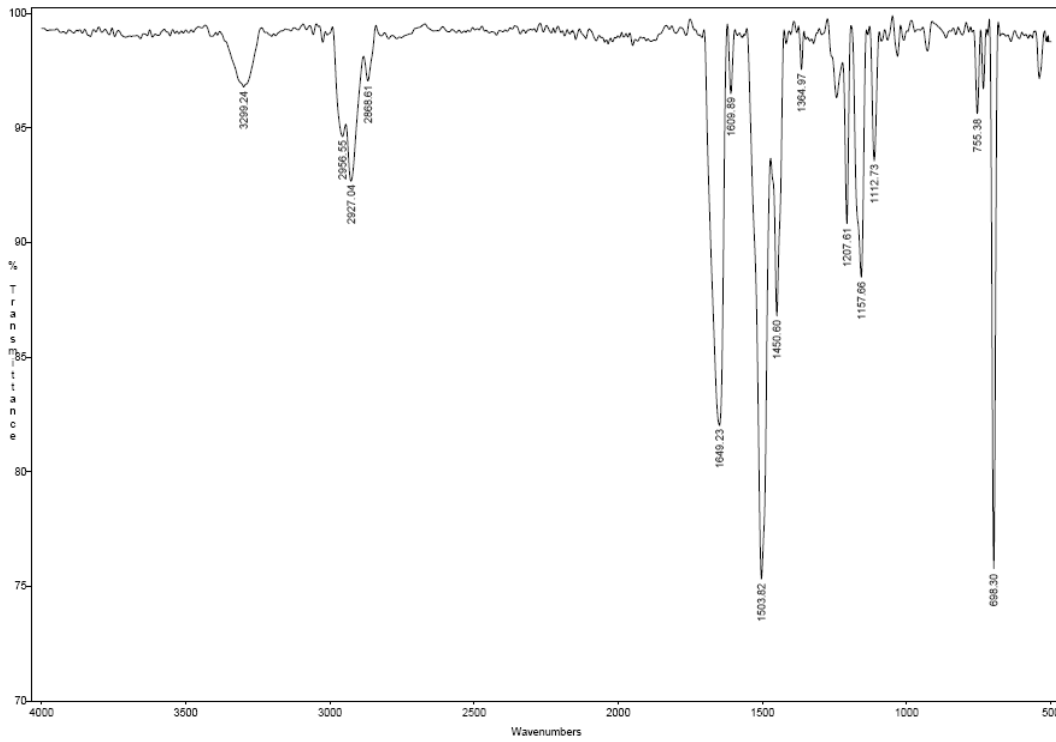
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	6,06	58,509	2,861	5,07
2	6,16	74,908	3,549	6,29
3	6,58	23,465	1,180	2,09
4	7,22	603,662	48,867	86,56
Total:		760,544	56,457	100,00

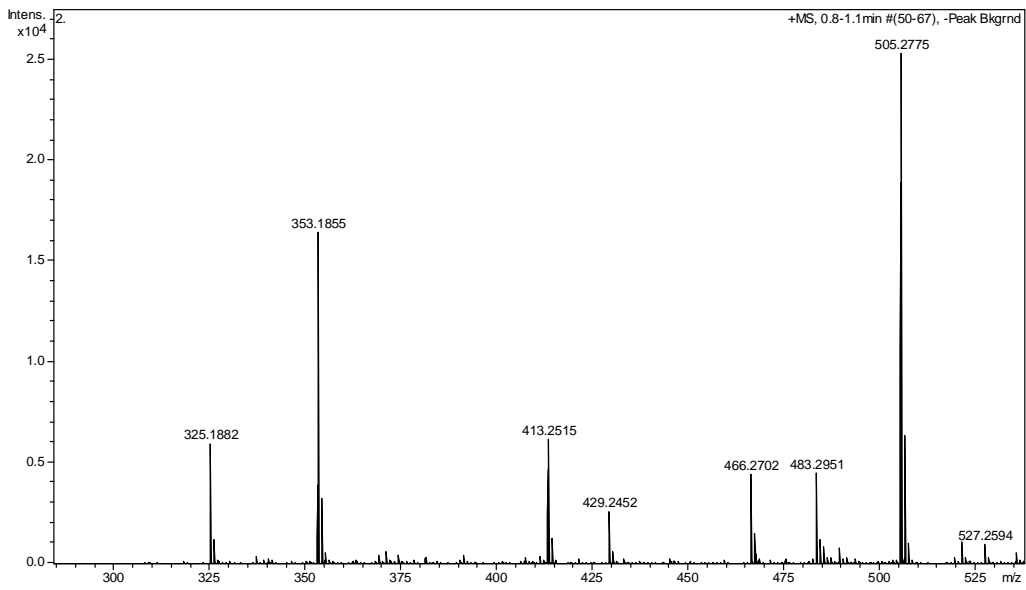
**Pèptid biarílic BP260**

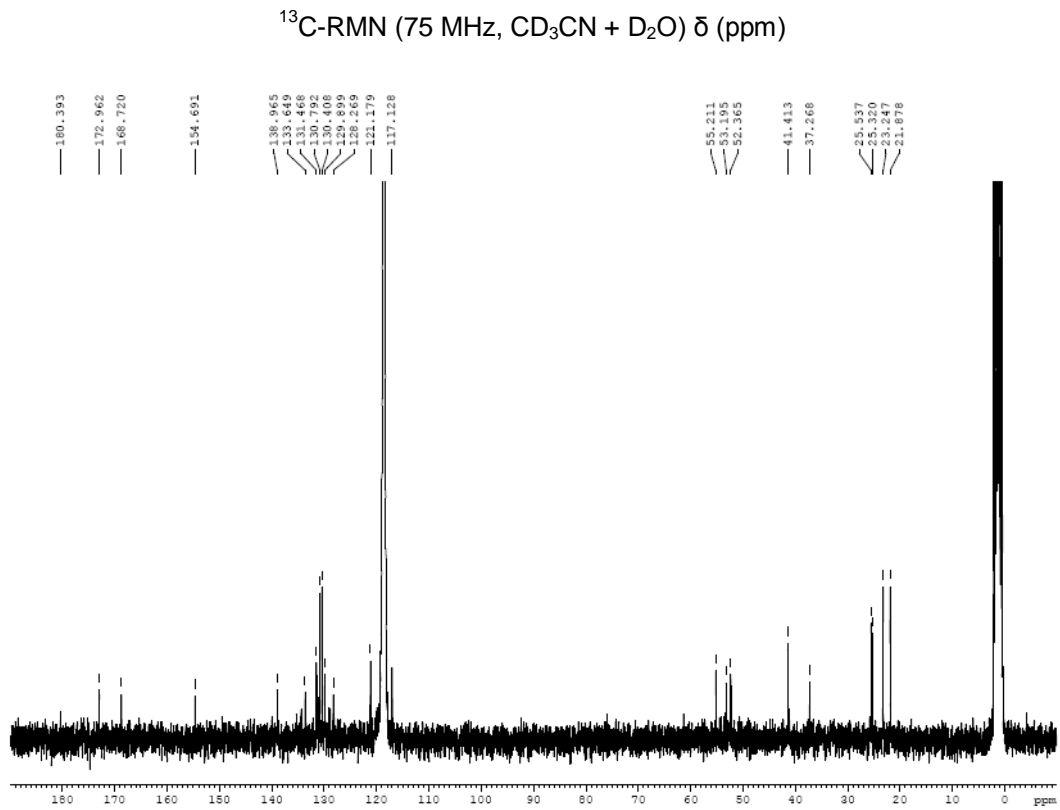
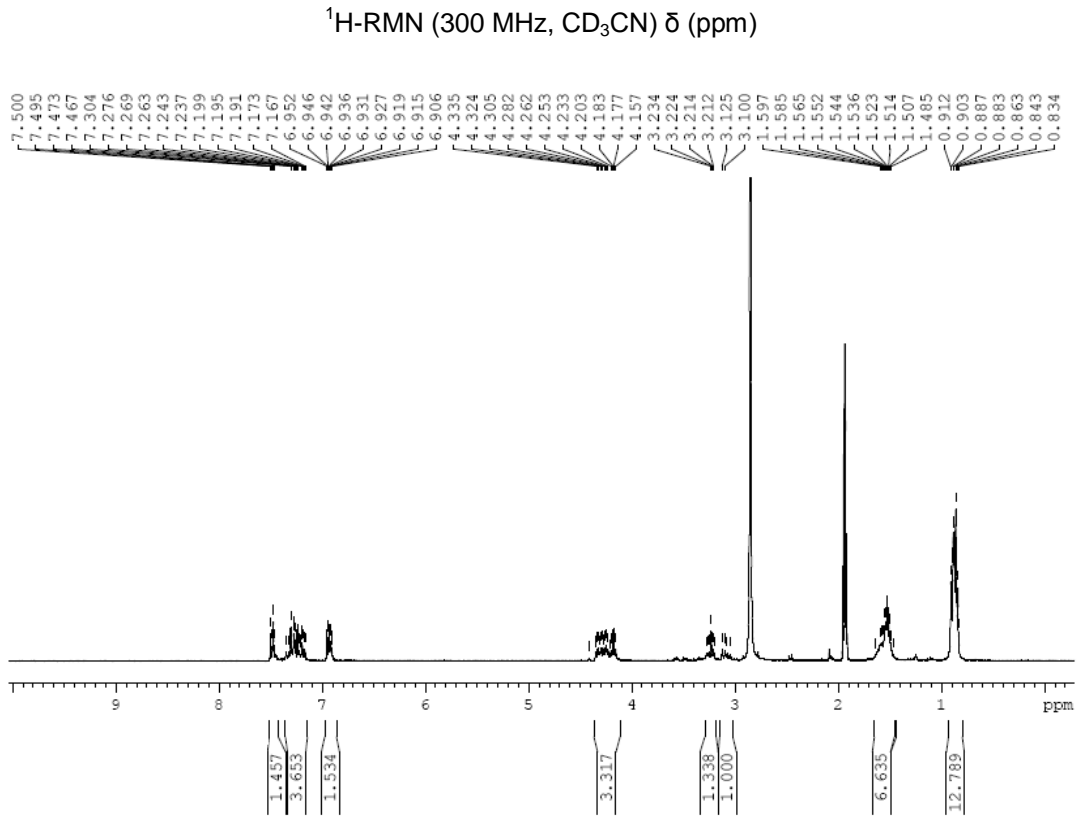


IR (neat)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )

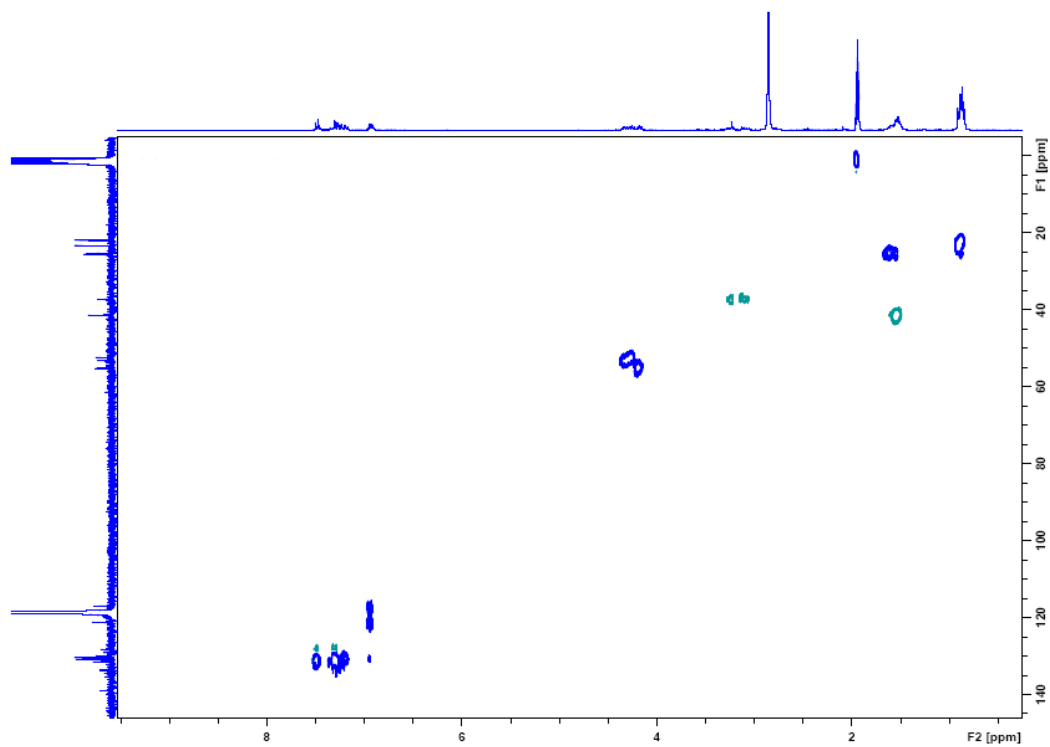


HRMS (ESI)  $m/z$

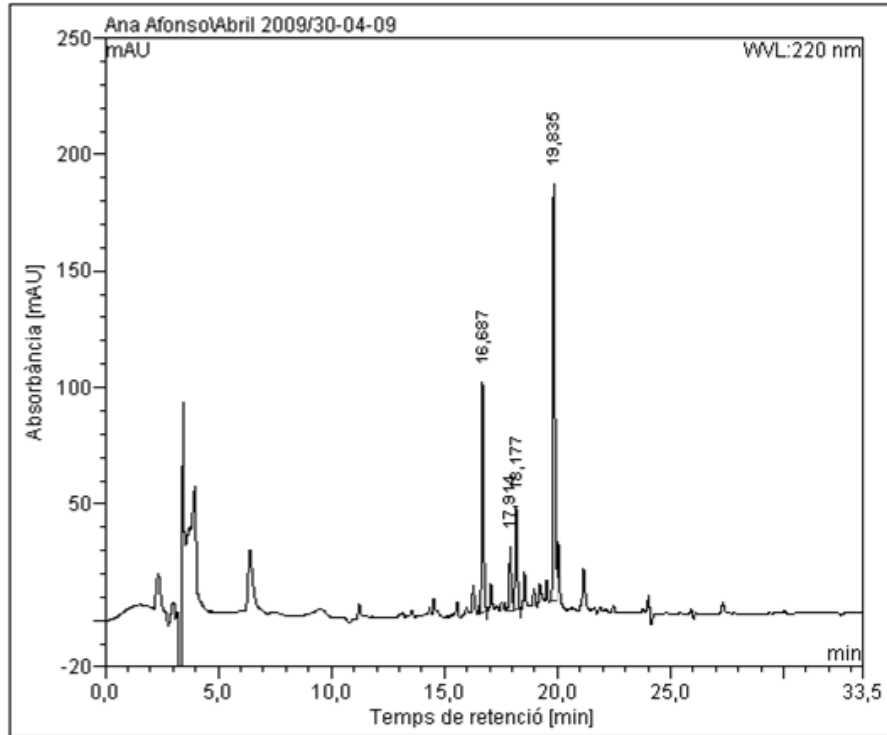




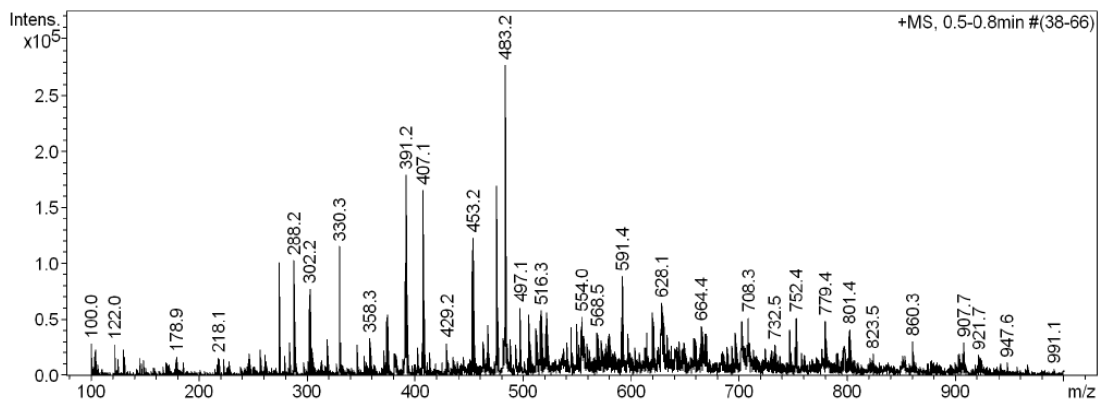
HSQC edited (CD<sub>3</sub>CN + D<sub>2</sub>O) δ (ppm)



## Escalfament convencional

HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

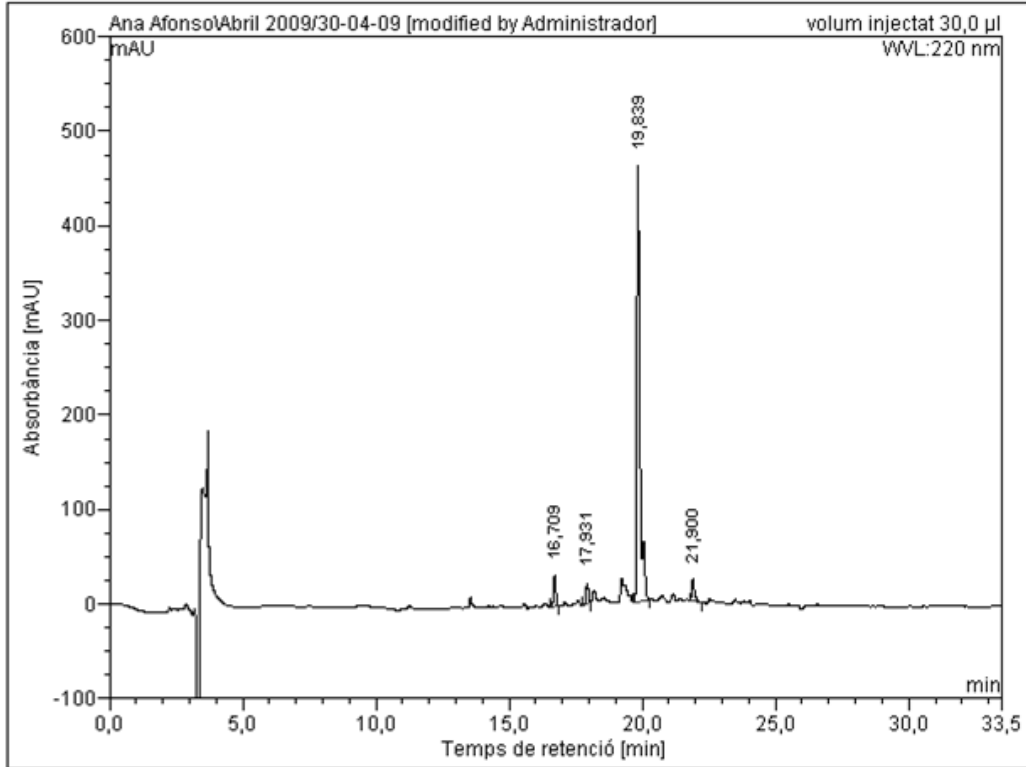
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	16,69	98,955	9,747	26,48
2	17,91	27,498	2,983	8,10
3	18,18	43,975	4,876	13,25
4	19,83	179,478	19,206	52,17
Total:		349,906	36,812	100,00

ESI-MS  $m/z$ 



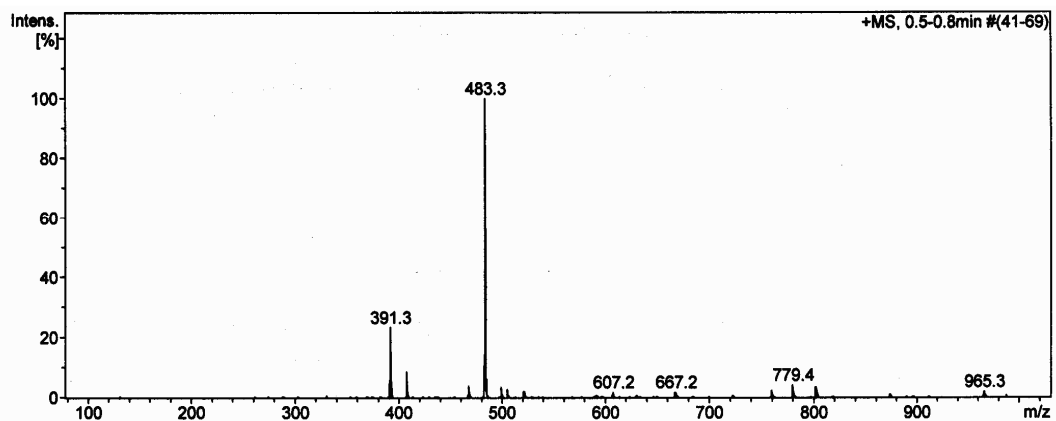
Escalfament per irradiació de microones, protocol A

HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

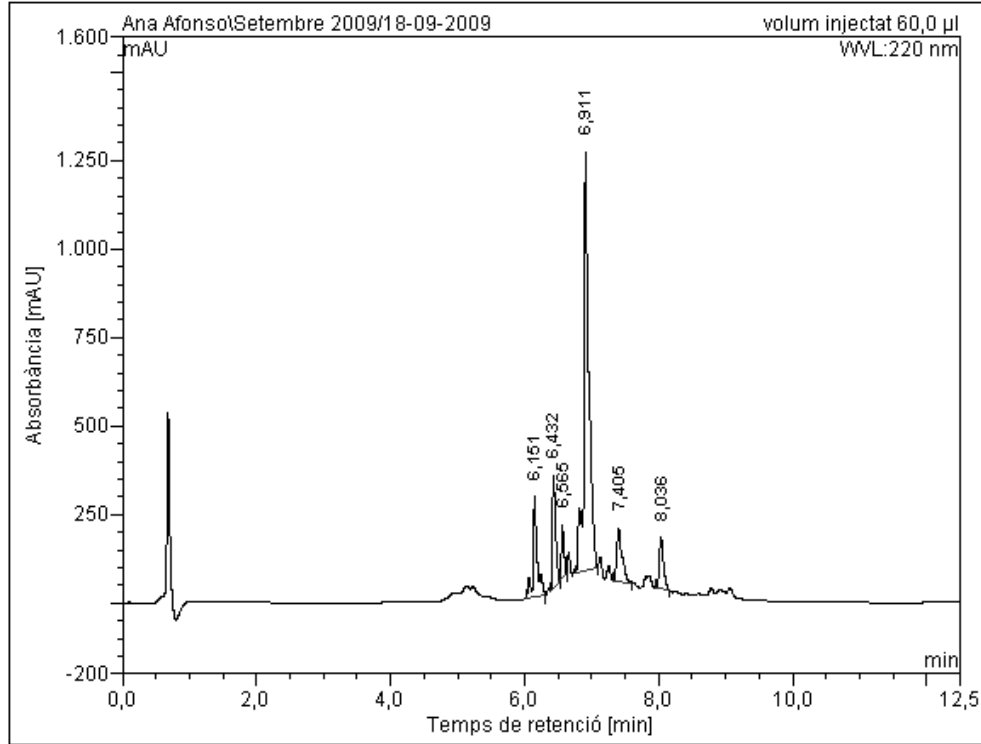


No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	16,71	32,216	3,217	4,54
2	17,93	21,349	1,998	2,82
3	19,84	459,995	62,614	88,46
4	21,90	23,078	2,951	4,17
Total:		536,637	70,780	100,00

ESI-MS  $m/z$

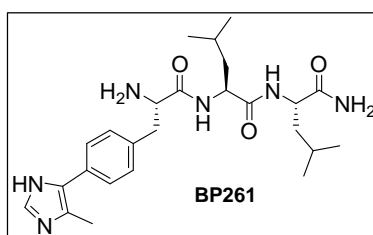


Escalfament per irradiació de microones, protocol B

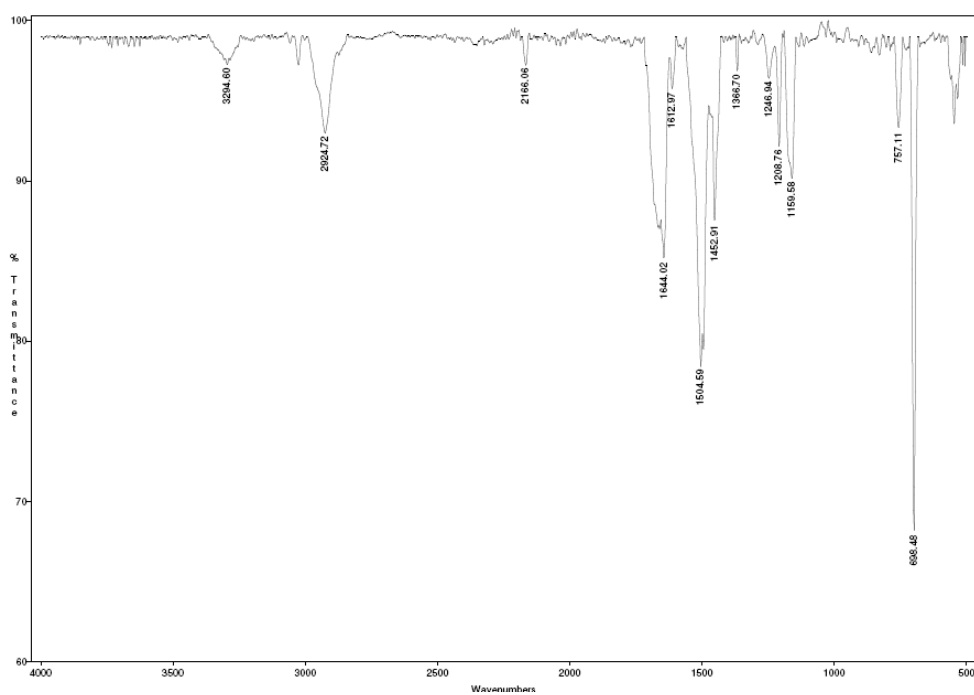
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	6,15	282,313	20,287	11,91
2	6,43	319,009	17,736	10,41
3	6,56	149,477	6,639	3,90
4	6,91	1181,359	101,656	59,69
5	7,41	151,492	13,762	8,08
6	8,04	144,474	10,242	6,01
Total:		2228,124	170,321	100,00

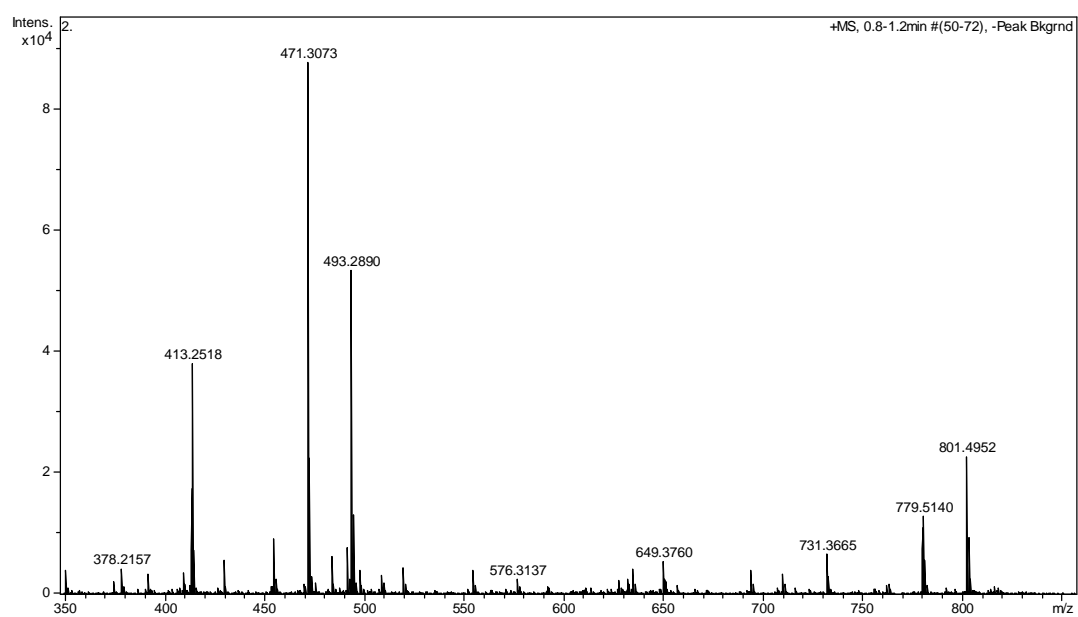
### Pèptid biarílic BP261

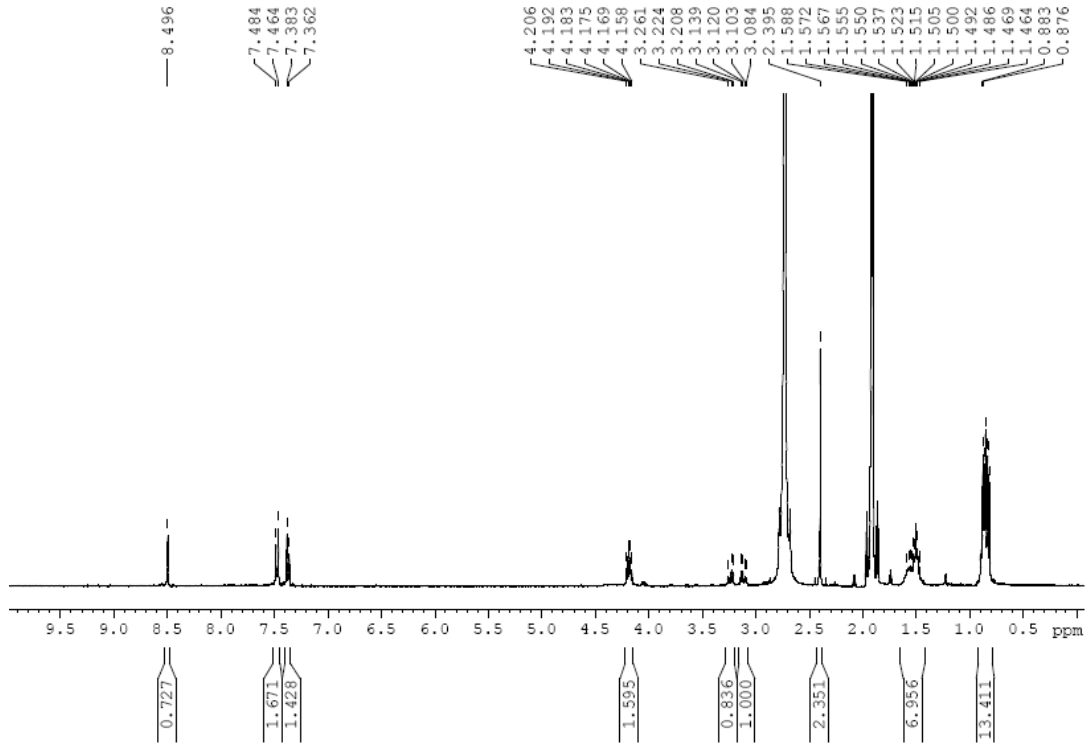
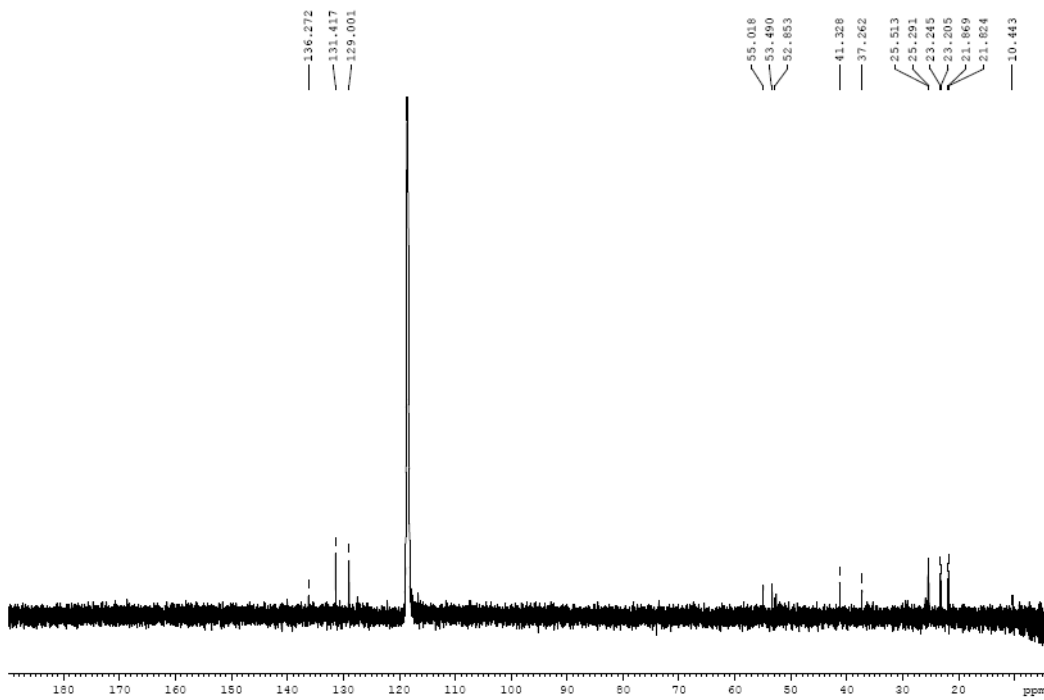


IR (neat)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ )



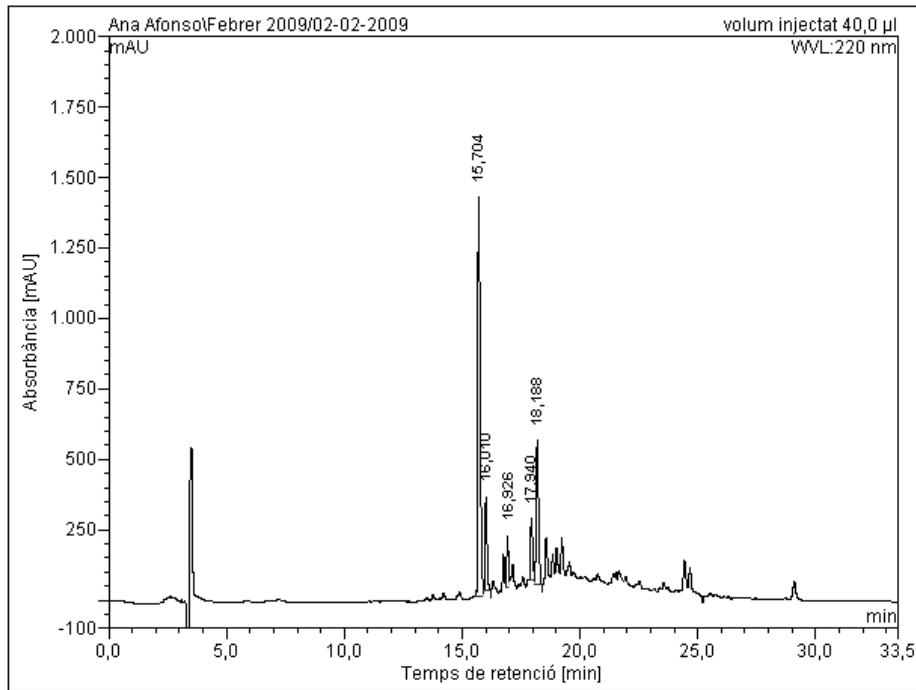
HRMS (ESI)  $m/z$



$^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN} + \text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  (ppm) $^{13}\text{C}$ -RMN (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN} + \text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  (ppm)

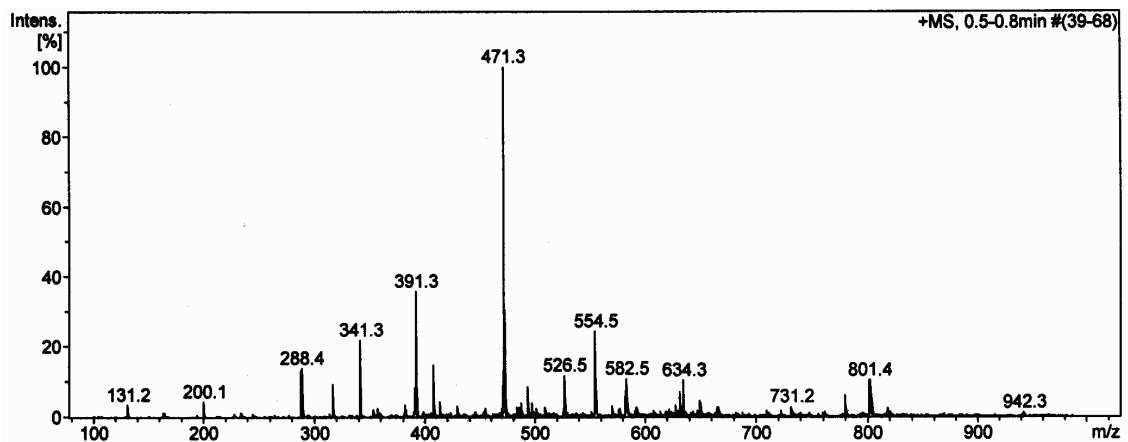
Escalfament per irradiació de microones, protocol B

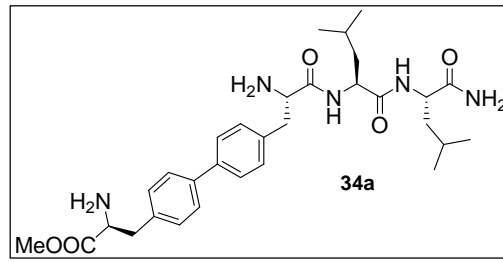
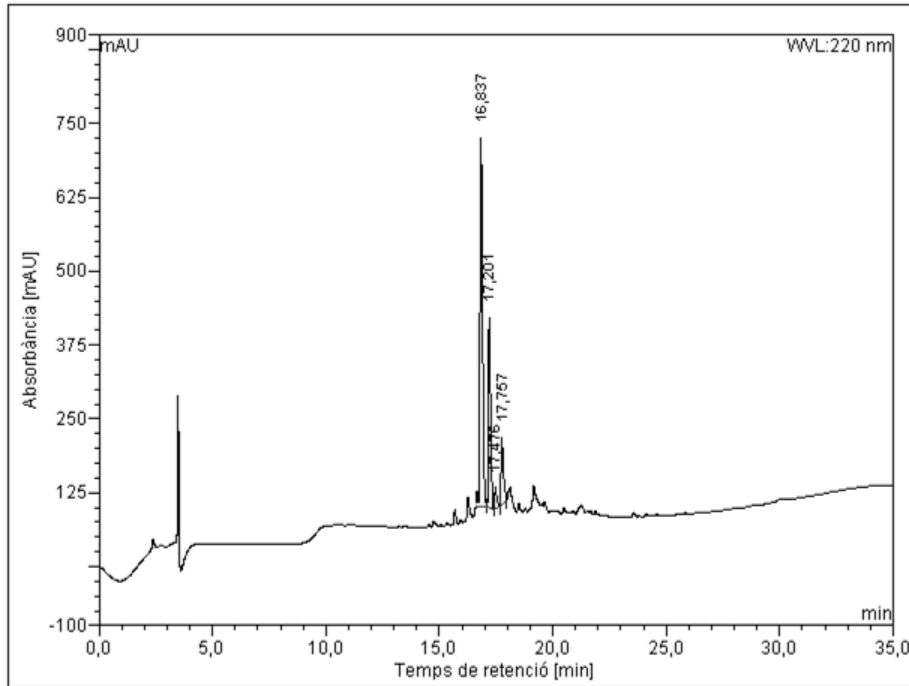
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )



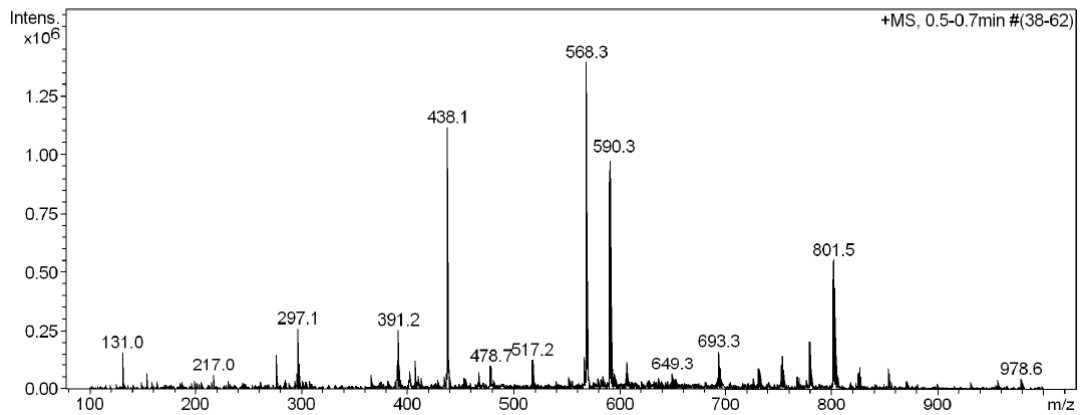
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	15,70	1417,740	176,117	57,18
2	16,01	330,124	31,085	10,09
3	16,93	182,837	15,381	4,99
4	17,94	216,012	23,584	7,66
5	18,19	511,552	61,825	20,07
Total:		2658,265	307,992	100,00

ESI-MS  $m/z$

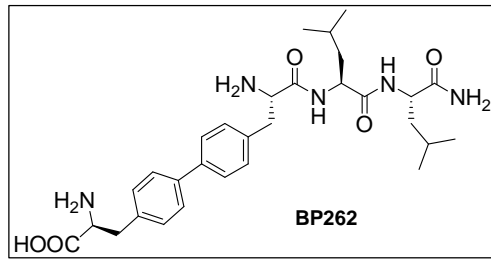


**Pèptid biarílic 34a**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

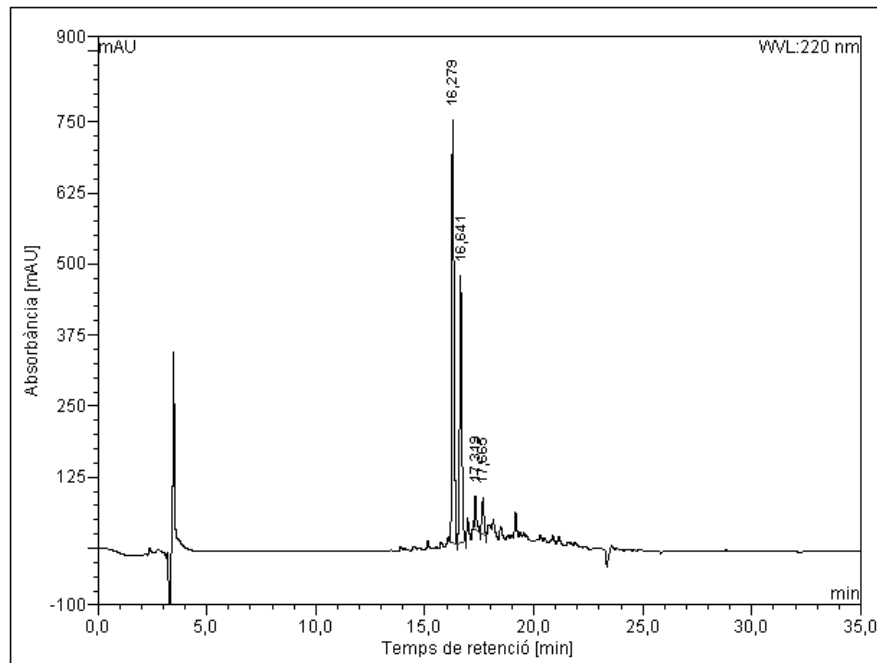
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	16,84	623,244	80,230	60,01
2	17,20	320,644	35,988	26,92
3	17,48	35,672	3,824	2,86
4	17,76	114,720	13,659	10,22
Total:		1094,281	133,702	100,00

ESI-MS  $m/z$ 

**Pèptid biarílic BP262**

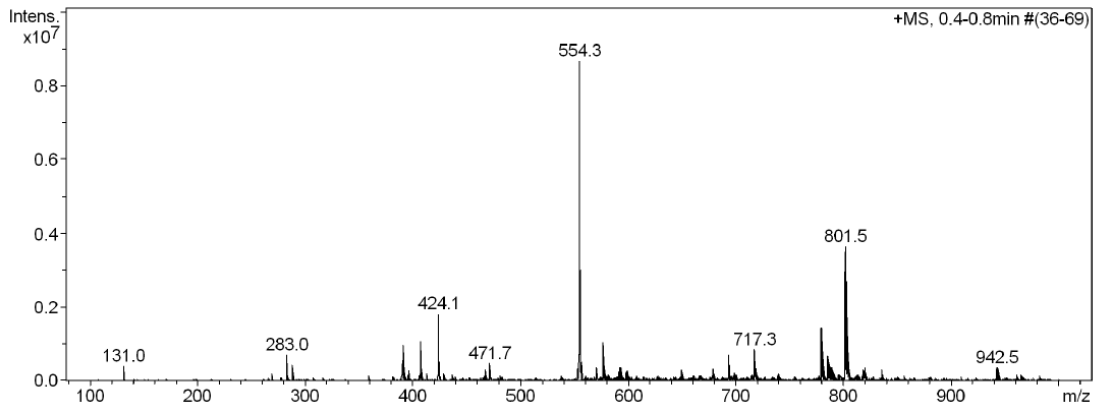


HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

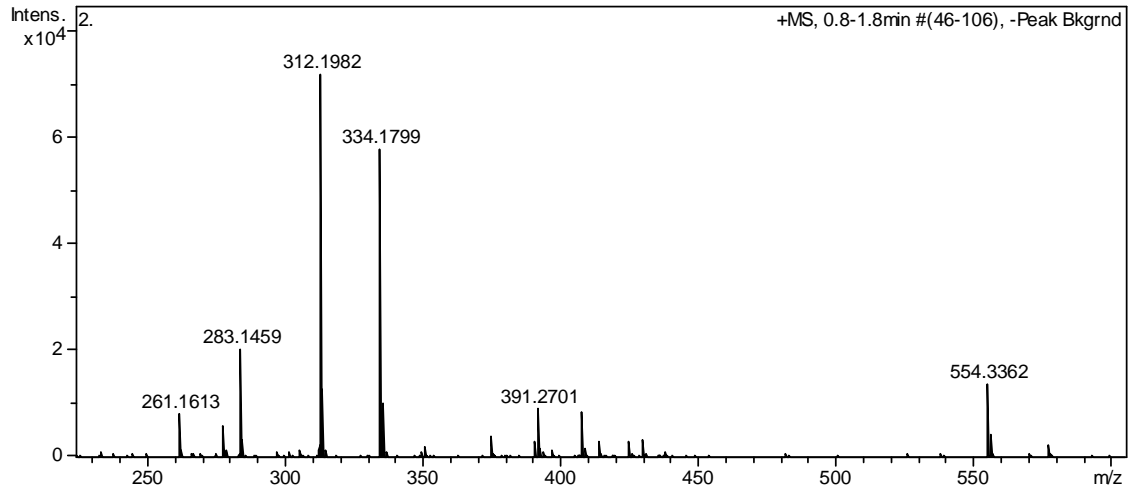


No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	16,28	742,137	86,441	56,55
2	16,64	468,207	53,591	35,06
3	17,32	58,268	5,741	3,76
4	17,67	62,176	7,075	4,63
Total:		1330,789	152,848	100,00

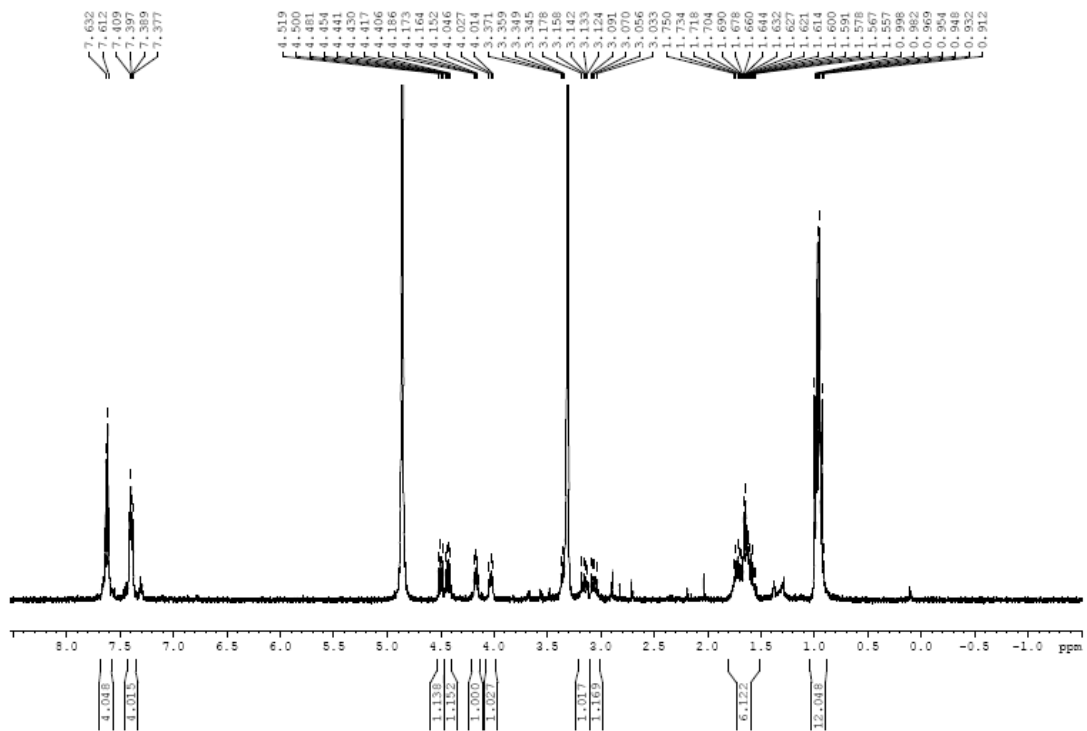
ESI-MS  $m/z$



HRMS (ESI)  $m/z$

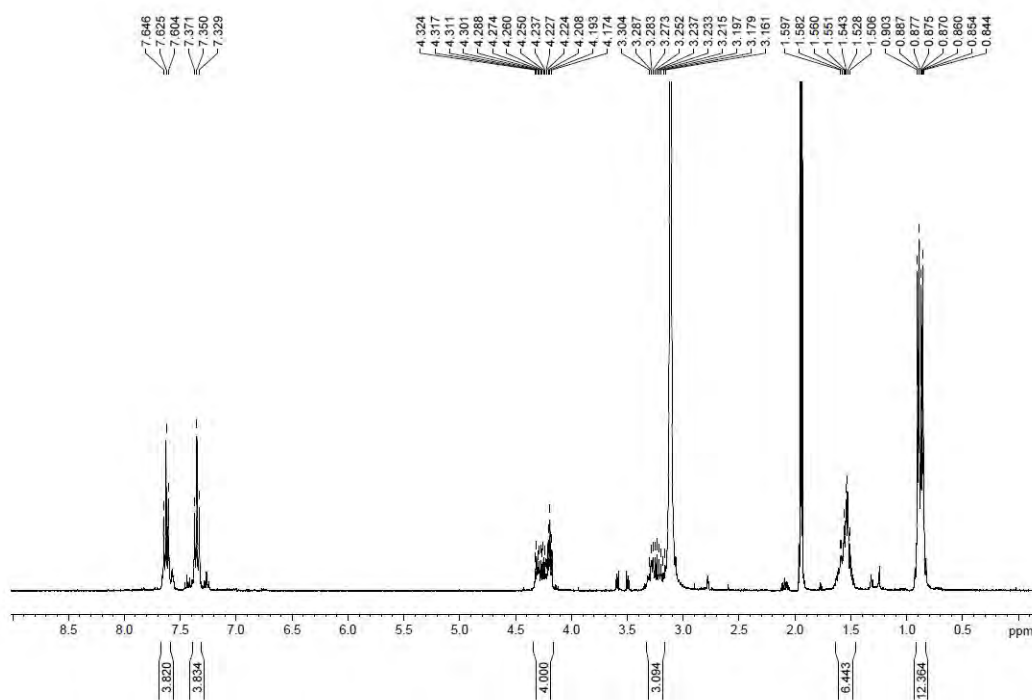


<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  (ppm)

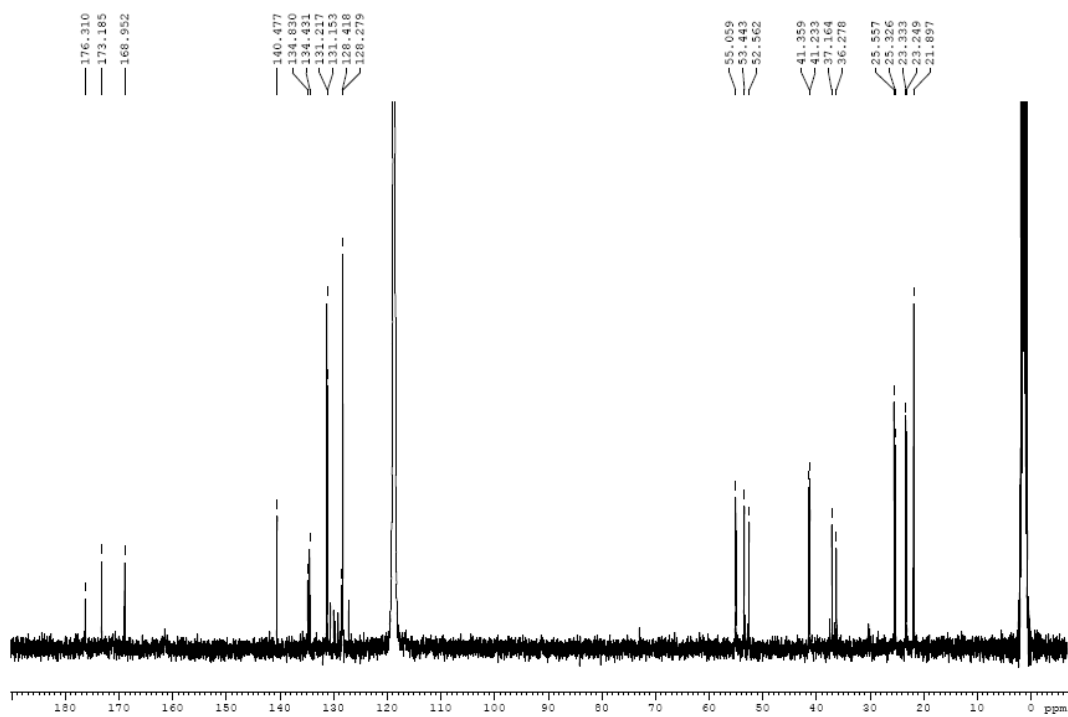


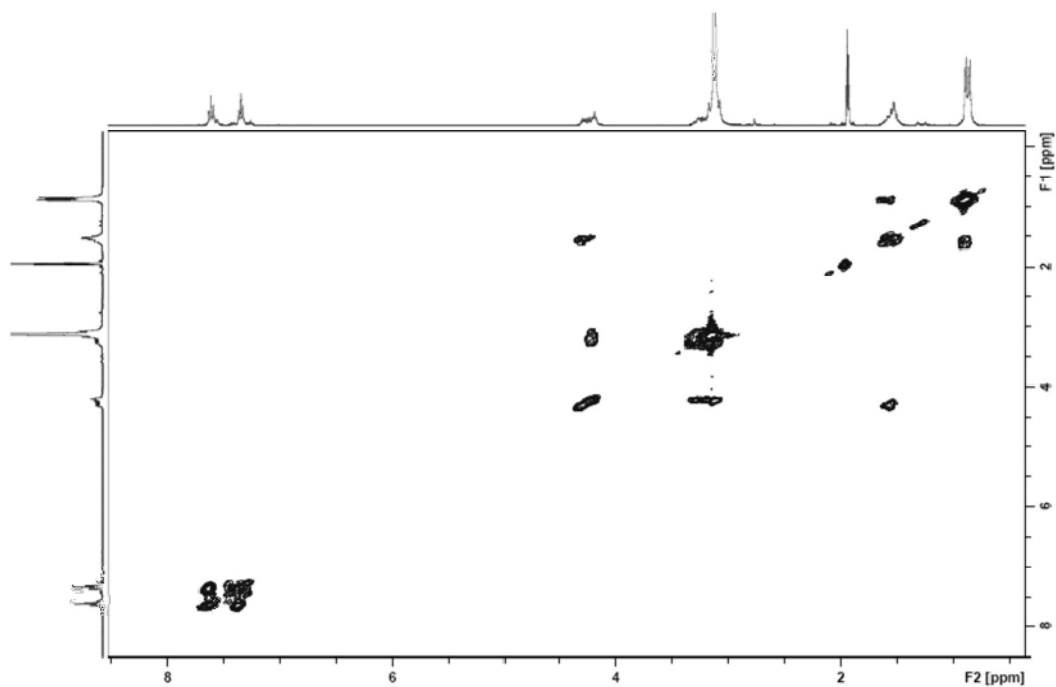
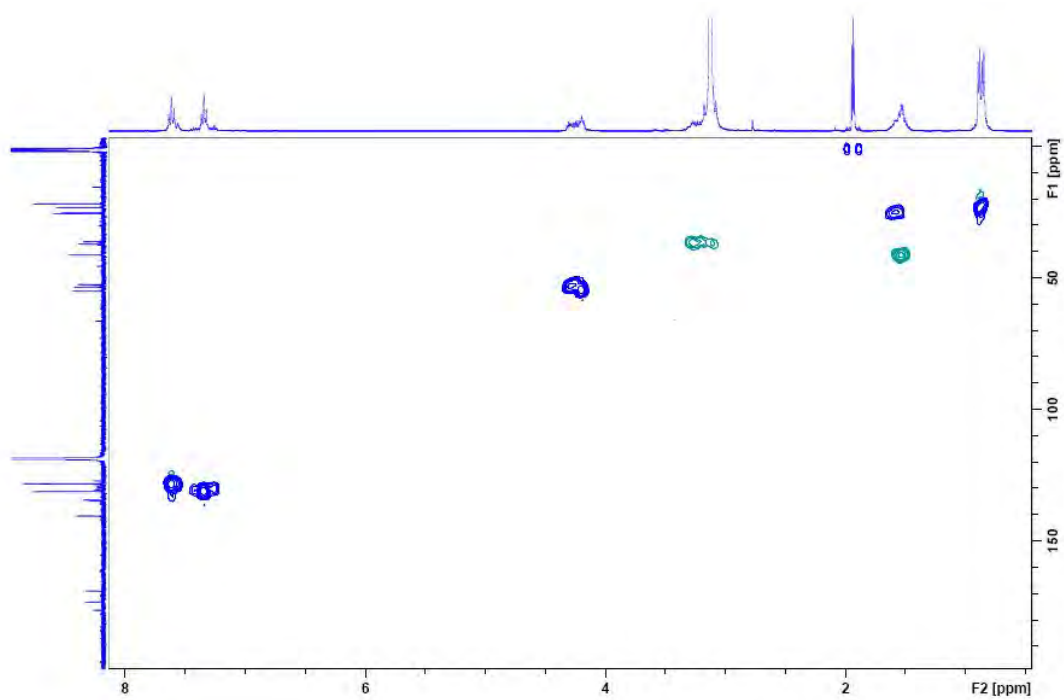


$^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN} + \text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  (ppm)

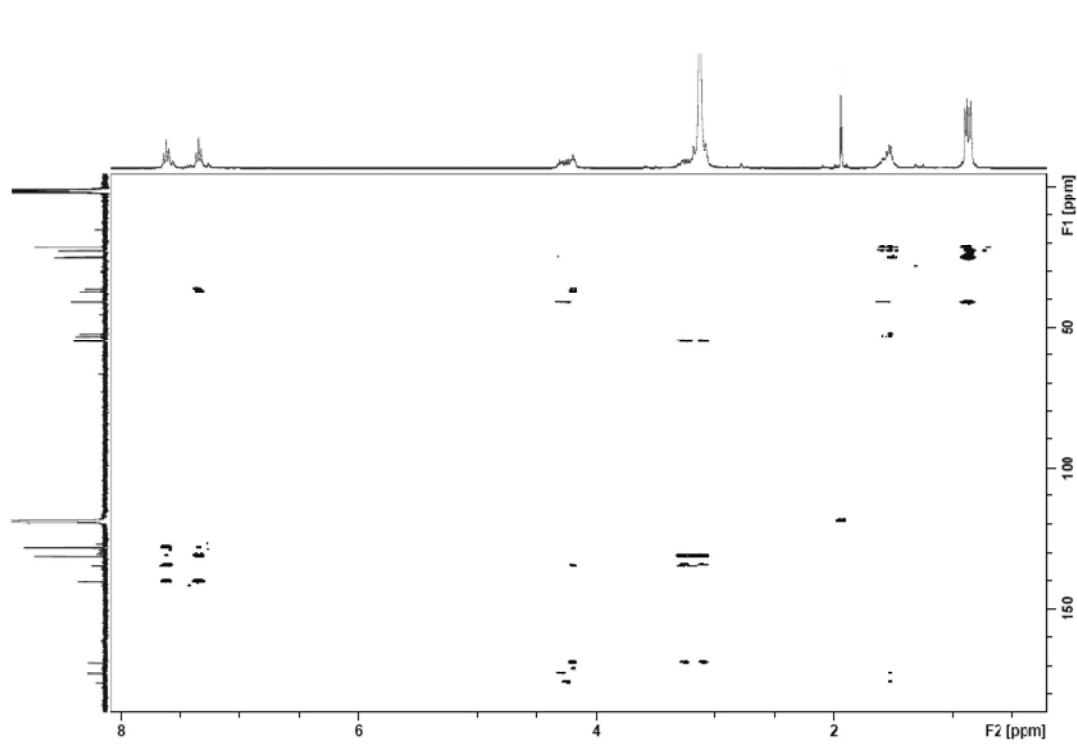


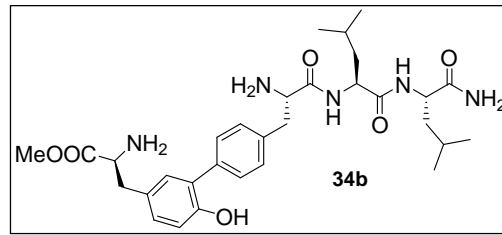
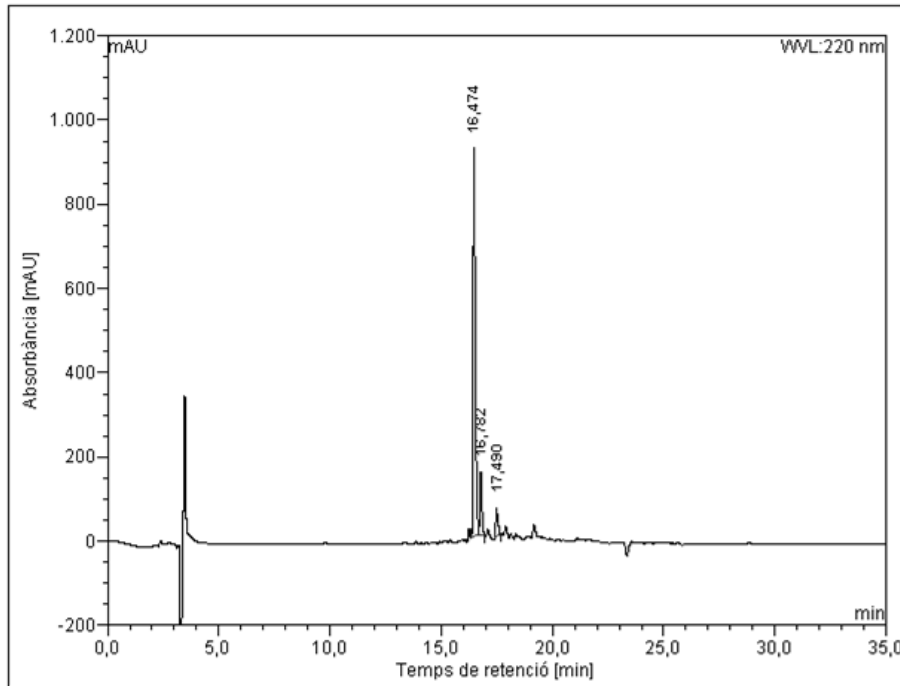
$^{13}\text{C-RMN}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN} + \text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  (ppm)



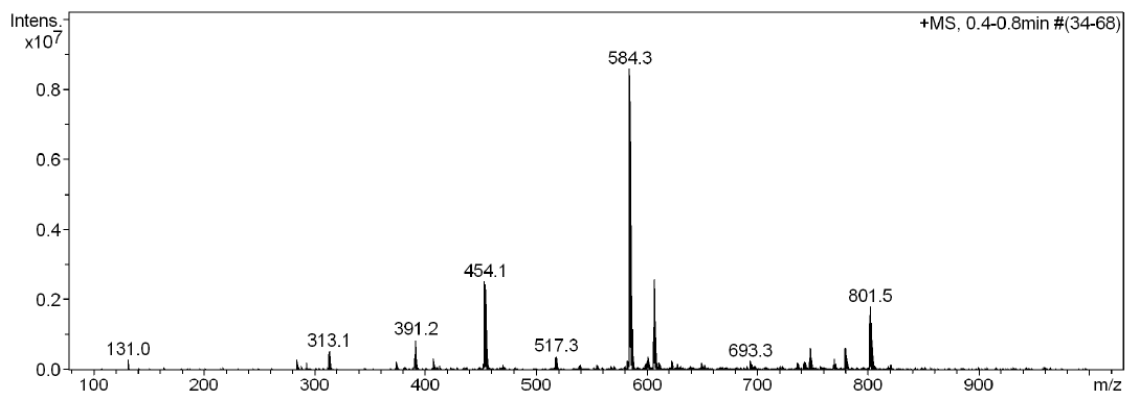
COSY ( $\text{CD}_3\text{CN} + \text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  (ppm)HSQC edited ( $\text{CD}_3\text{CN} + \text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  (ppm)

HMBC ( $\text{CD}_3\text{CN} + \text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  (ppm)

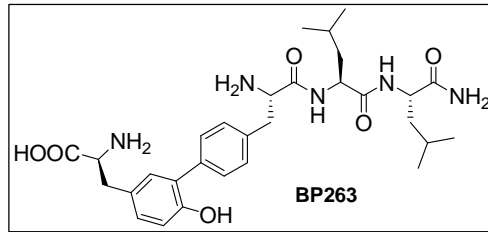


**Pèptid biarílic 34b**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

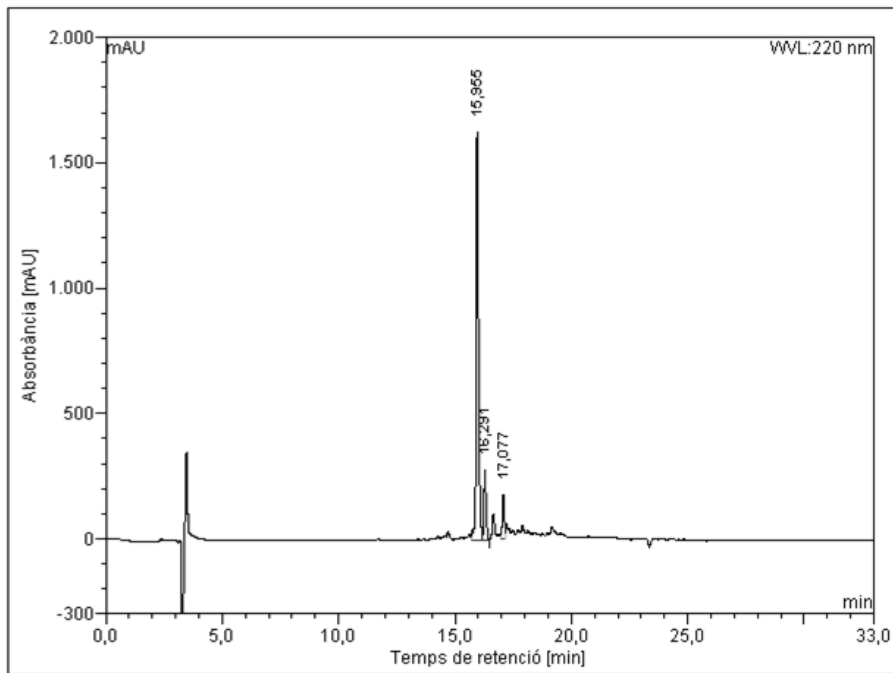
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	16,47	920,638	105,061	82,09
2	16,78	150,421	15,302	11,96
3	17,49	69,421	7,619	5,95
Total:		1140,480	127,982	100,00

ESI-MS  $m/z$ 

**Pèptid biarílic BP263**

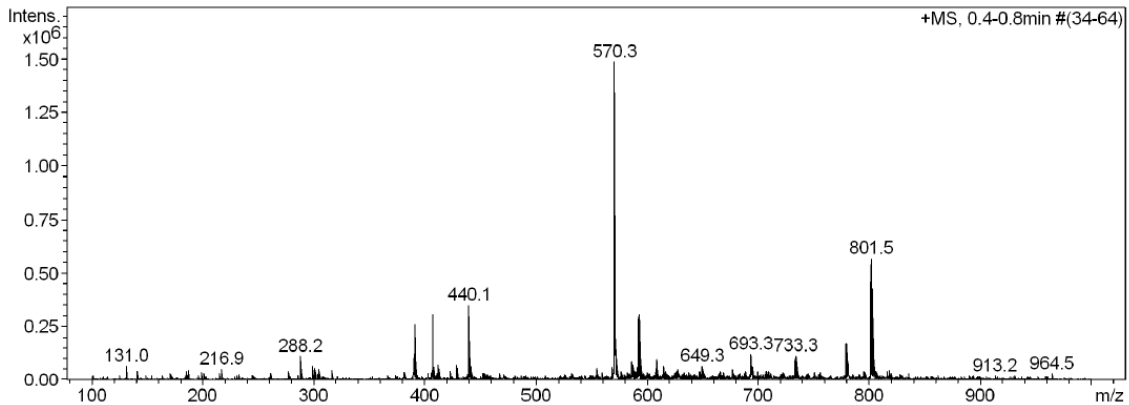


HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

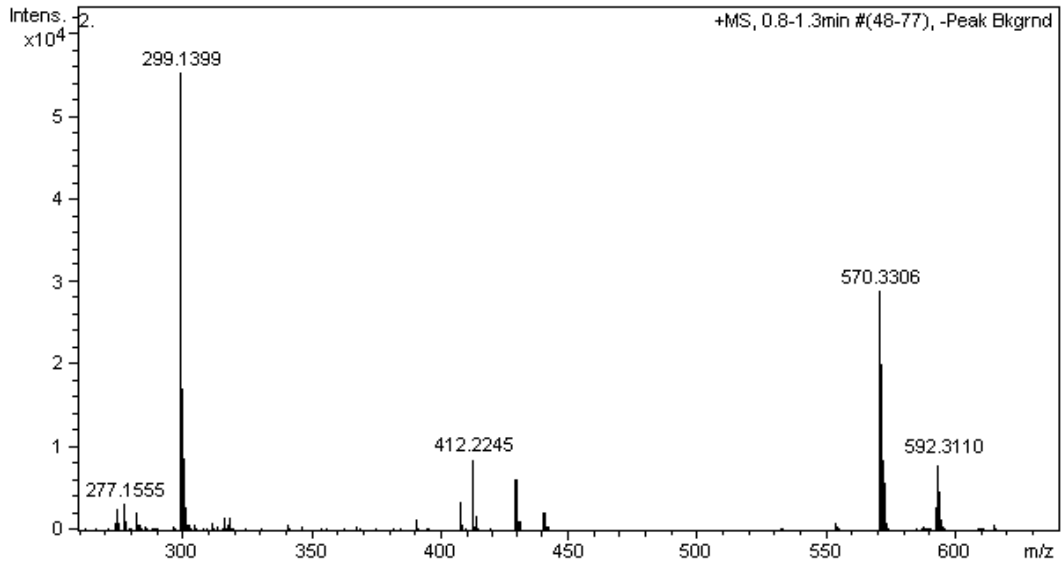


No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	15,95	1632,210	196,625	79,53
2	16,29	284,737	30,411	12,30
3	17,08	178,370	20,195	8,17
Total:		2095,316	247,230	100,00

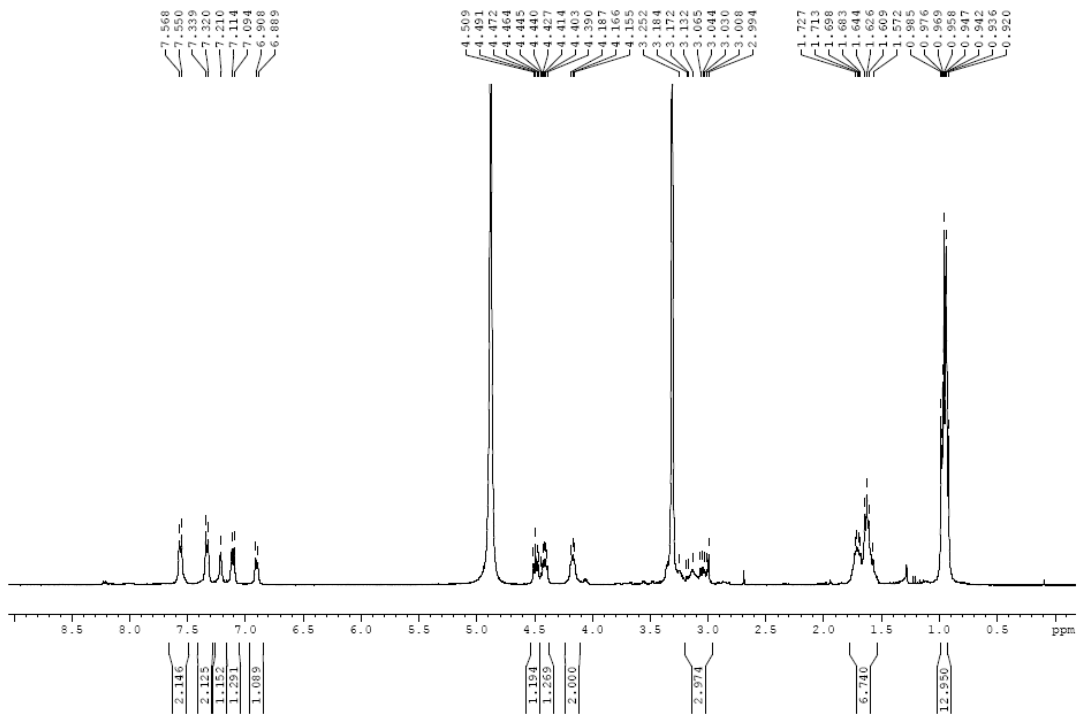
ESI-MS  $m/z$



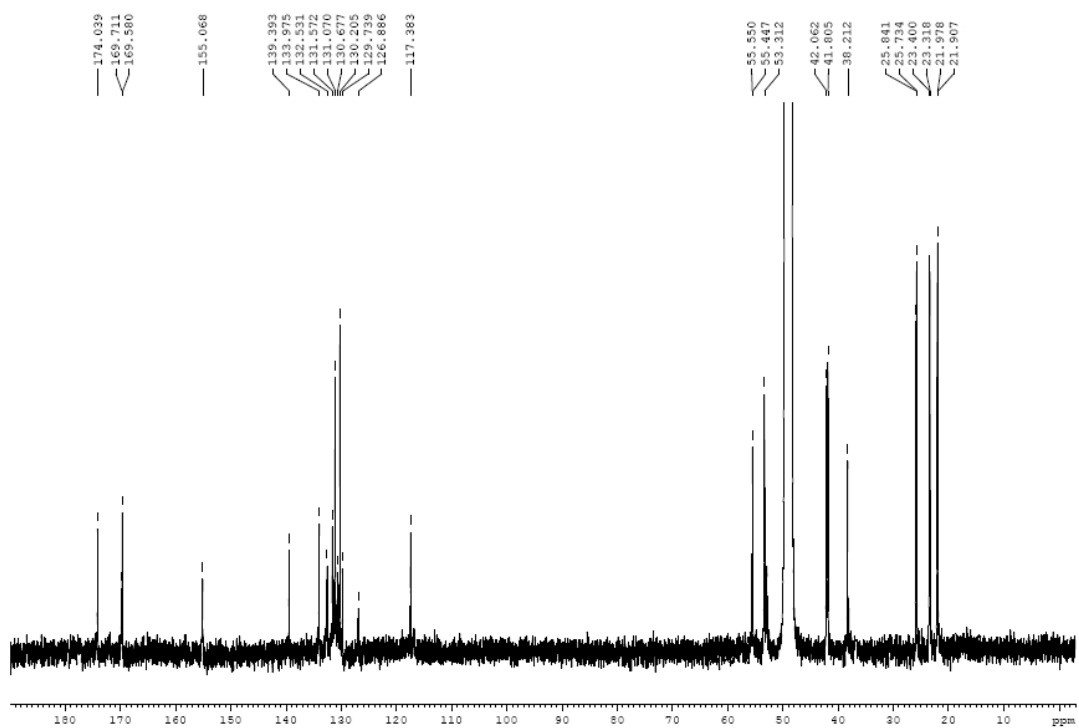
HRMS (ESI)  $m/z$



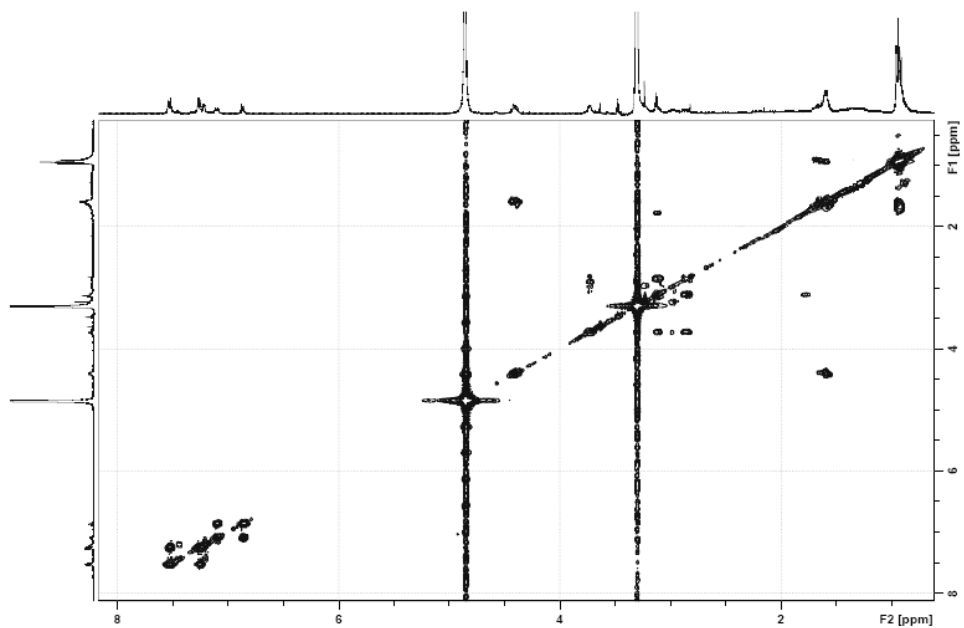
<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  (ppm)

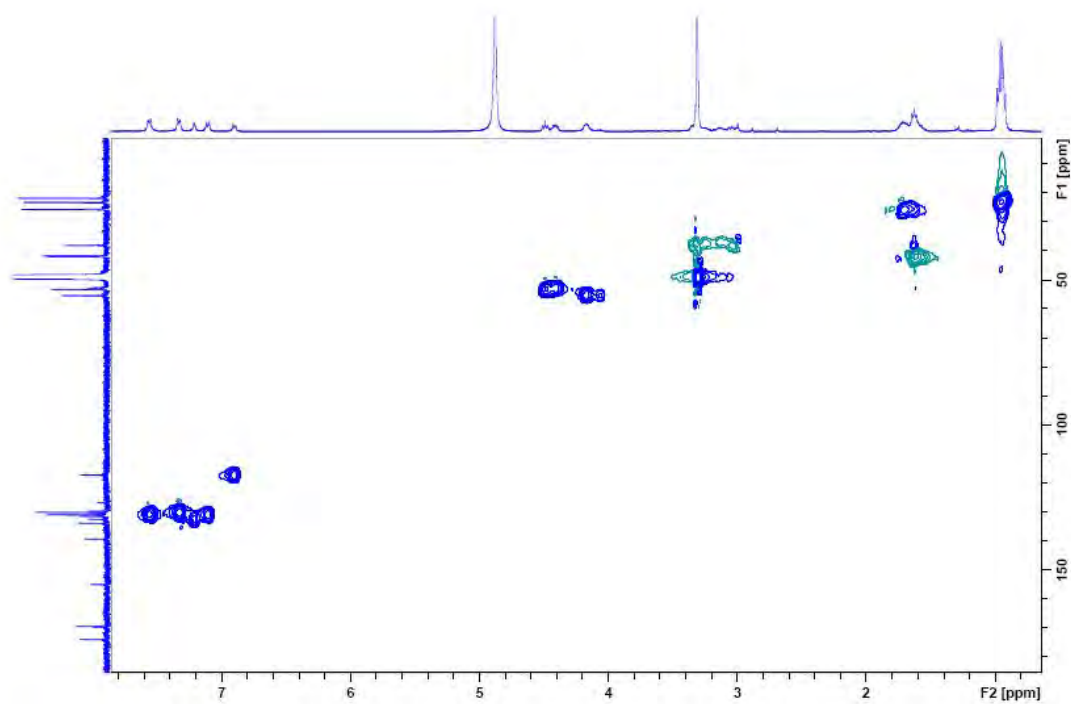
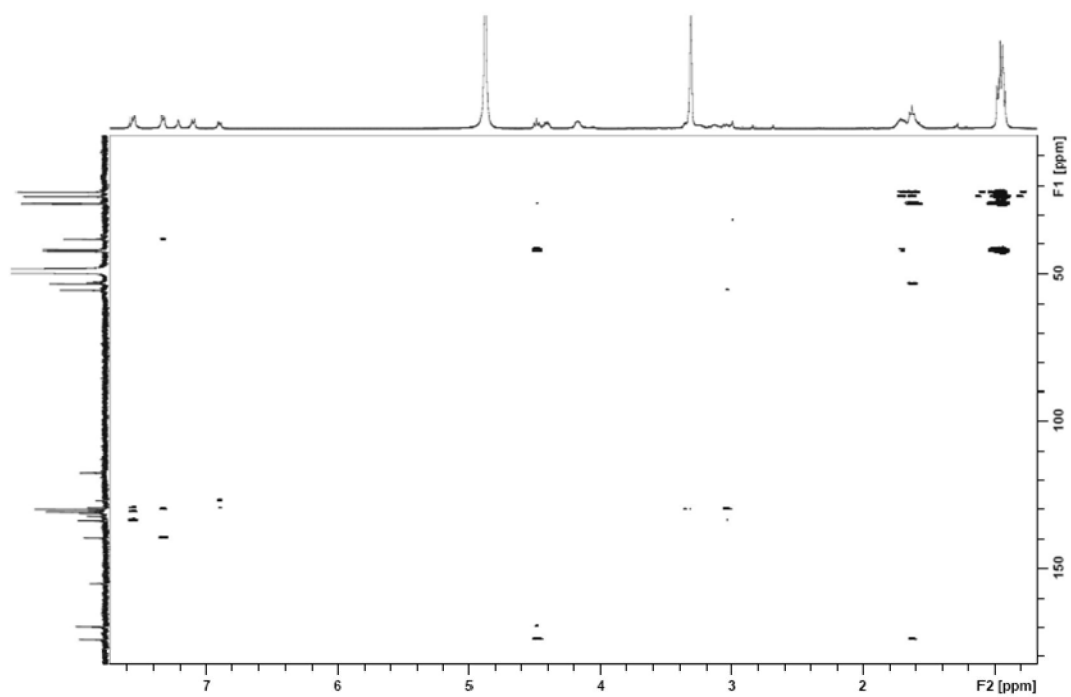


$^{13}\text{C}$ -RMN (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{CD}$ )  $\delta$  (ppm)

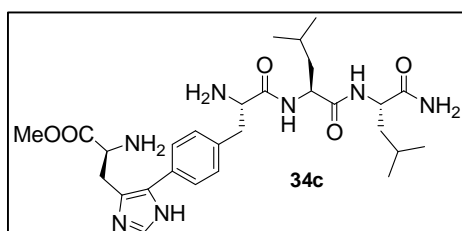
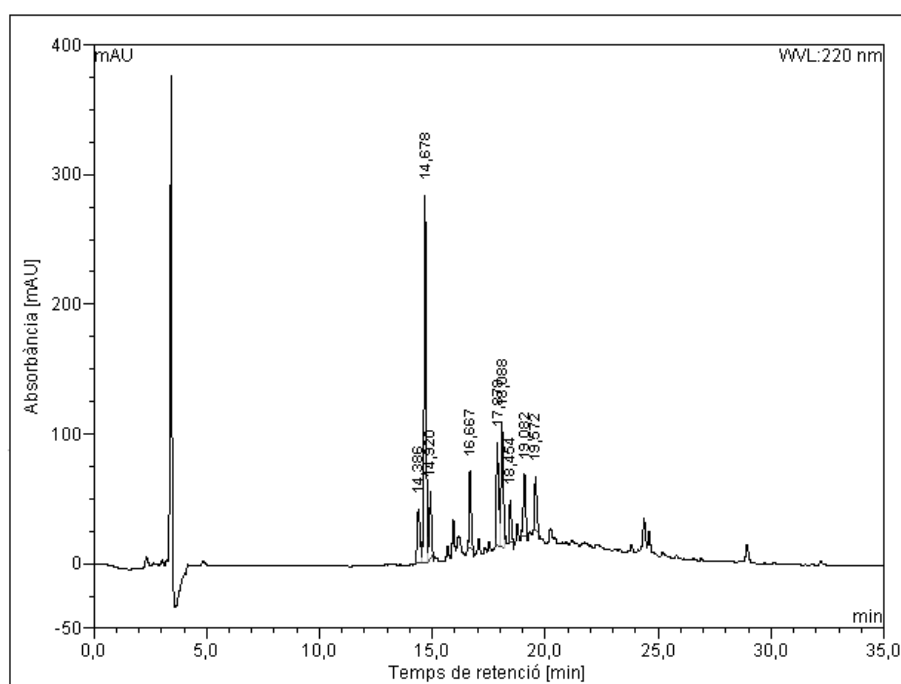


COSY ( $\text{CD}_3\text{CN} + \text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  (ppm)

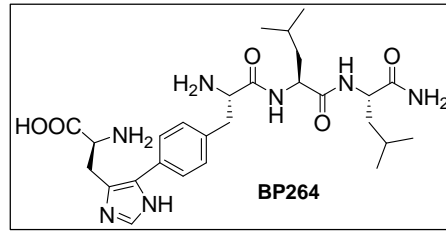
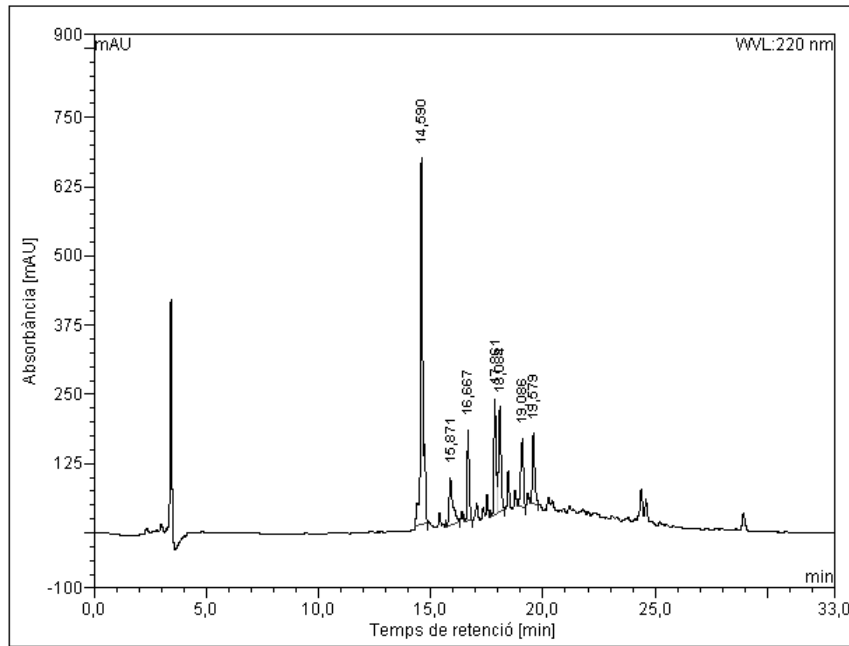


HSQC edited ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm)HMBC ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm)

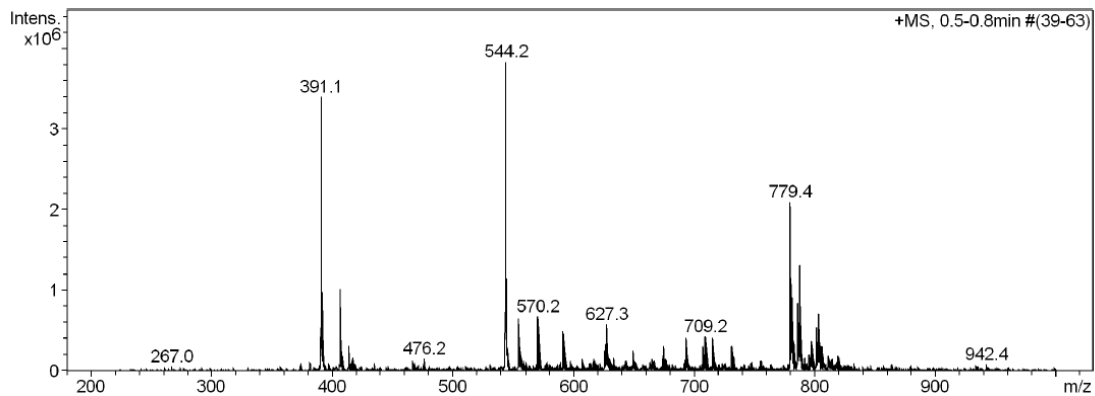


**Pèptid biarílic 34c**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

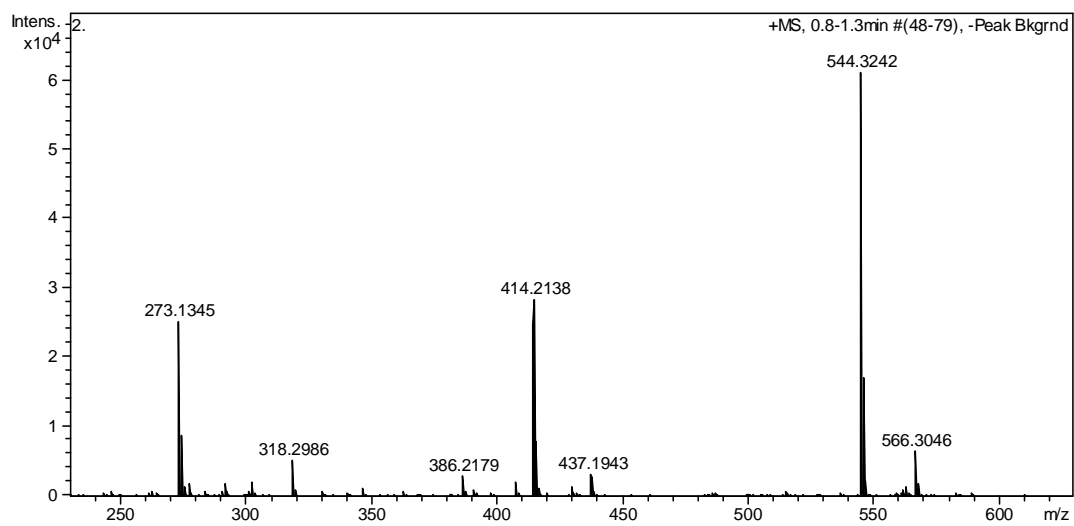
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	14,39	41,555	5,958	7,24
2	14,68	284,120	30,067	36,52
3	14,92	51,344	5,579	6,78
4	16,67	59,325	6,192	7,52
5	17,88	79,997	9,521	11,56
6	18,09	96,726	11,638	14,14
7	18,45	32,589	3,177	3,86
8	19,08	48,046	5,749	6,98
9	19,57	41,534	4,448	5,40
Total:		735,237	82,329	100,00

**Pèptid biarílic BP264**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

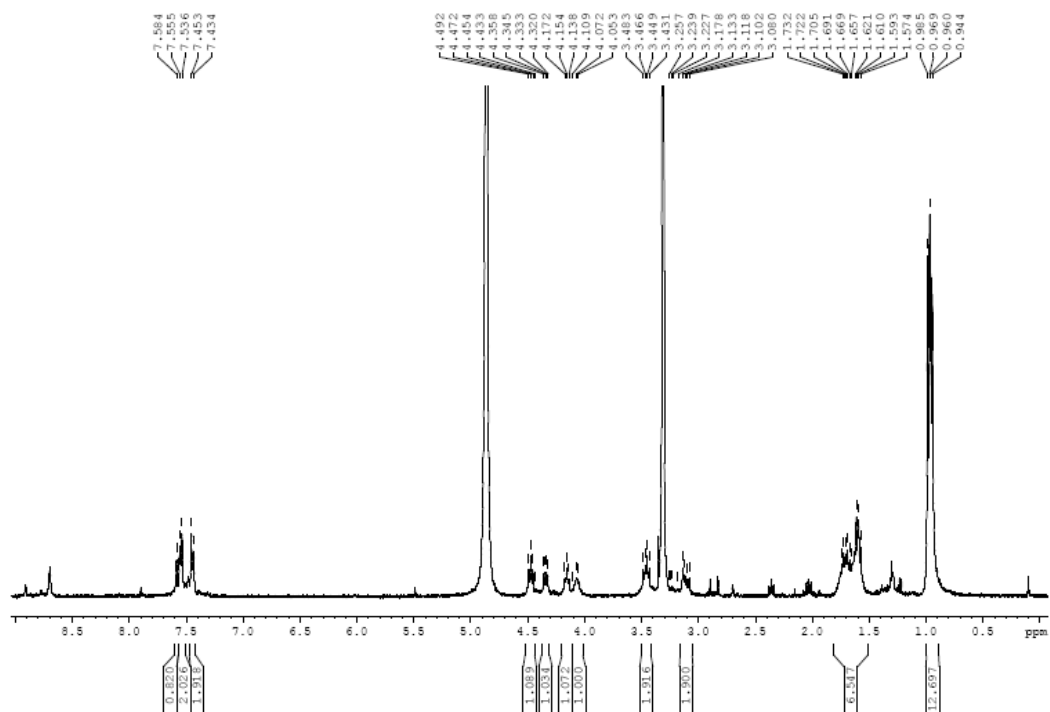
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	14,59	660,841	83,201	42,30
2	15,87	85,100	15,553	7,91
3	16,67	163,396	16,549	8,41
4	17,86	209,739	24,386	12,40
5	18,08	190,335	24,730	12,57
6	19,09	124,513	17,149	8,72
7	19,58	126,994	15,140	7,70
Total:		1560,916	196,707	100,00

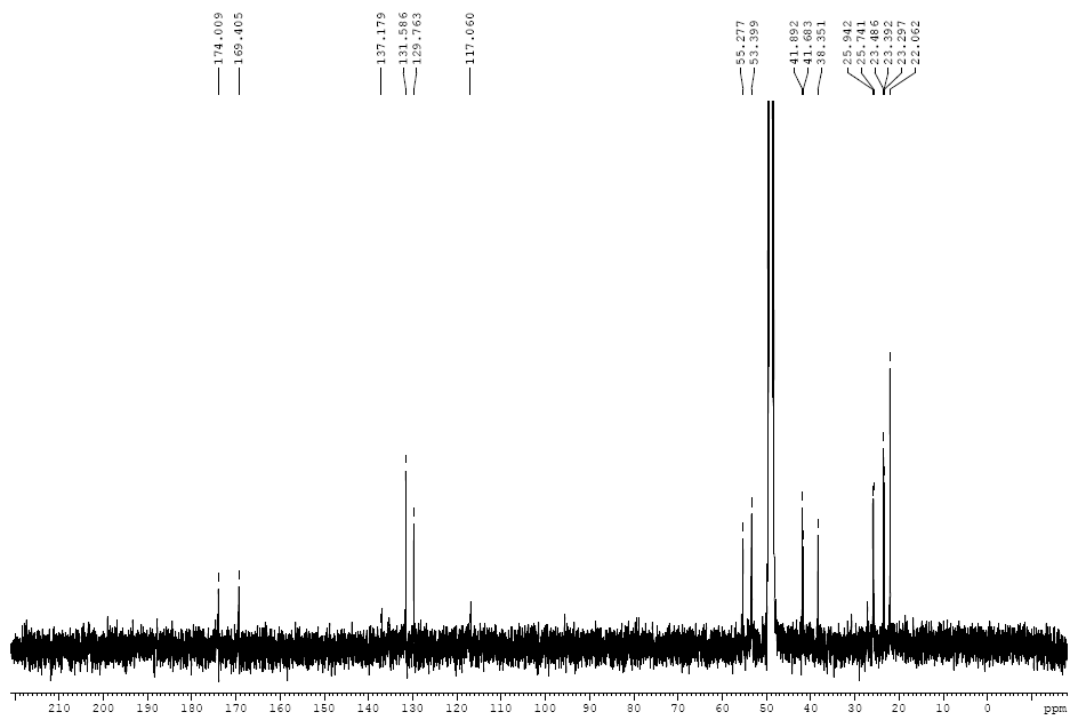
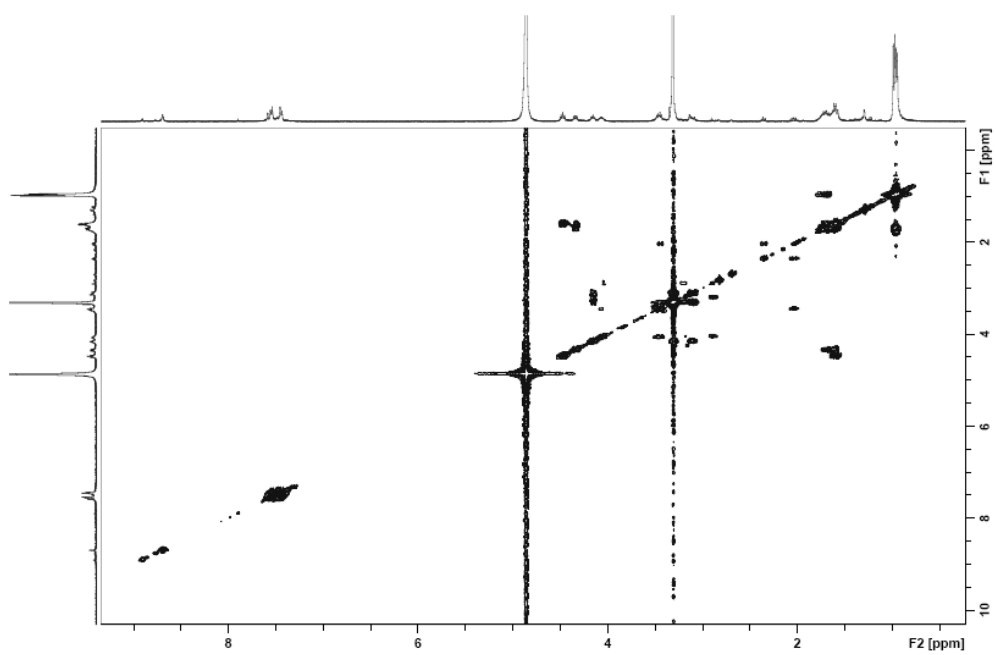
ESI-MS  $m/z$ 

HRMS (ESI)  $m/z$

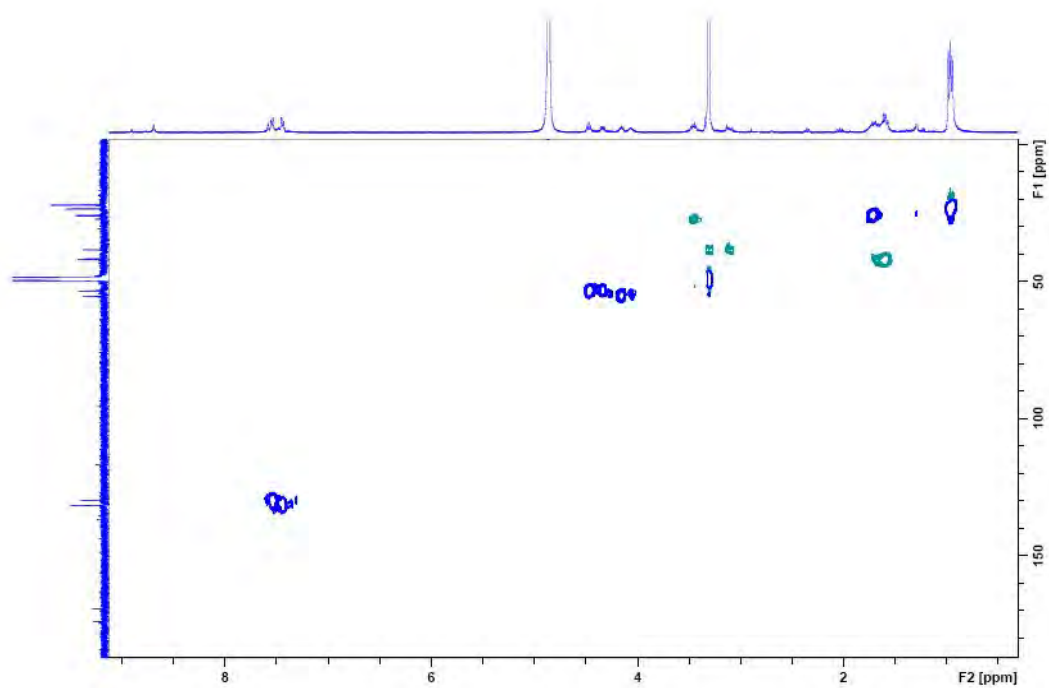


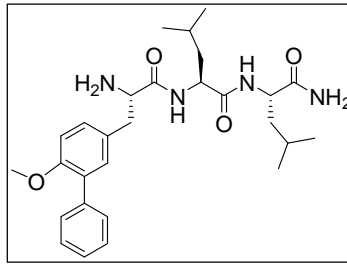
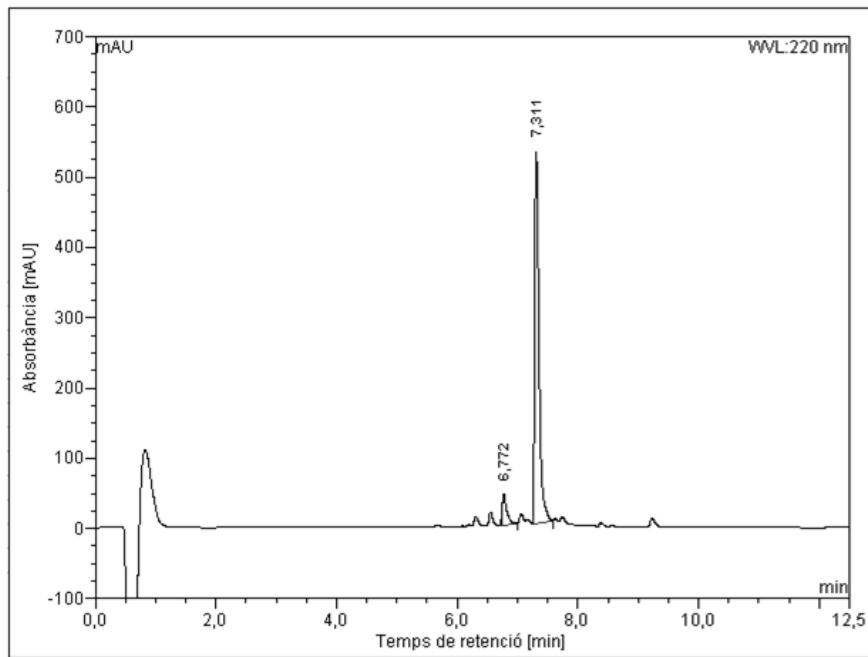
<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  (ppm)



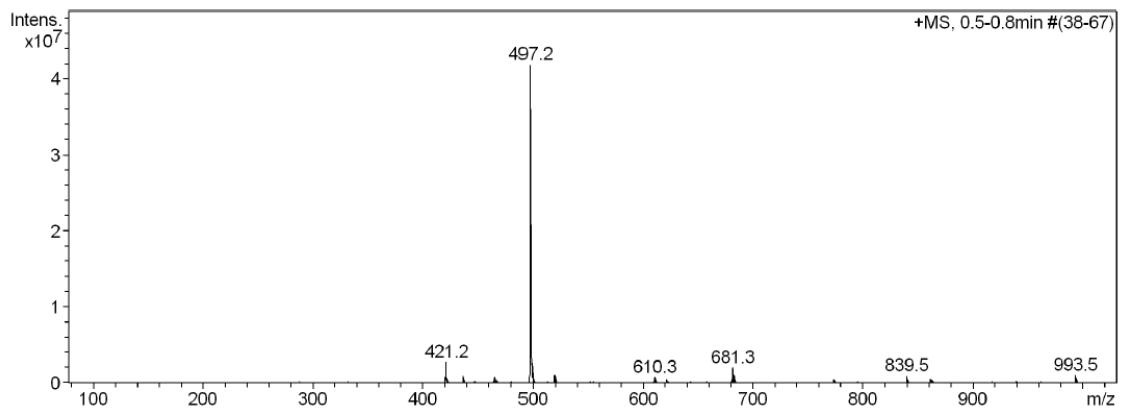
$^{13}\text{C}$ -RMN (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm)COSY ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm)

HSQC edited ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm)

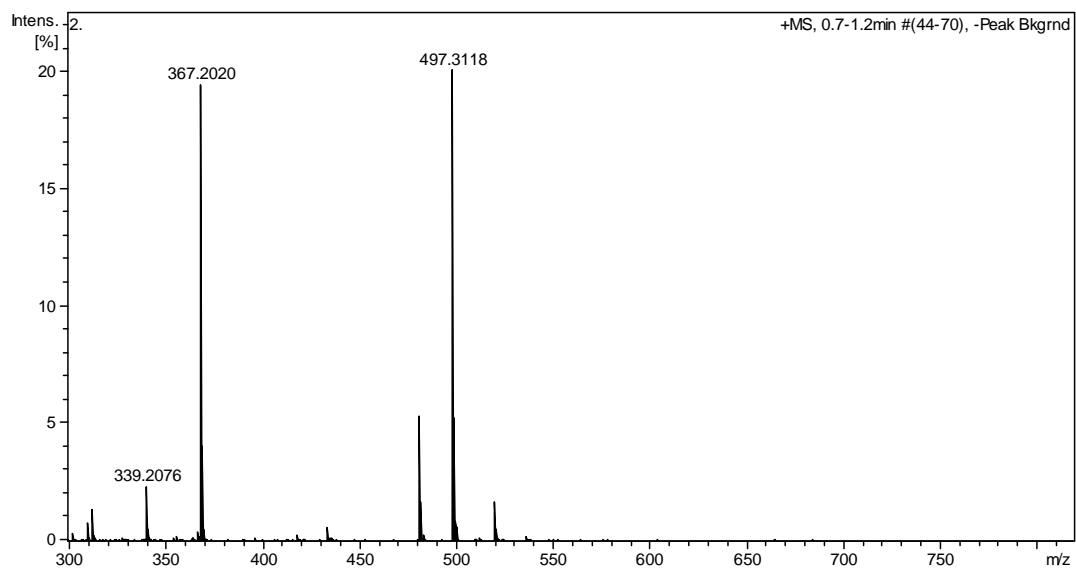


**Pèptid biarílic BP265**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

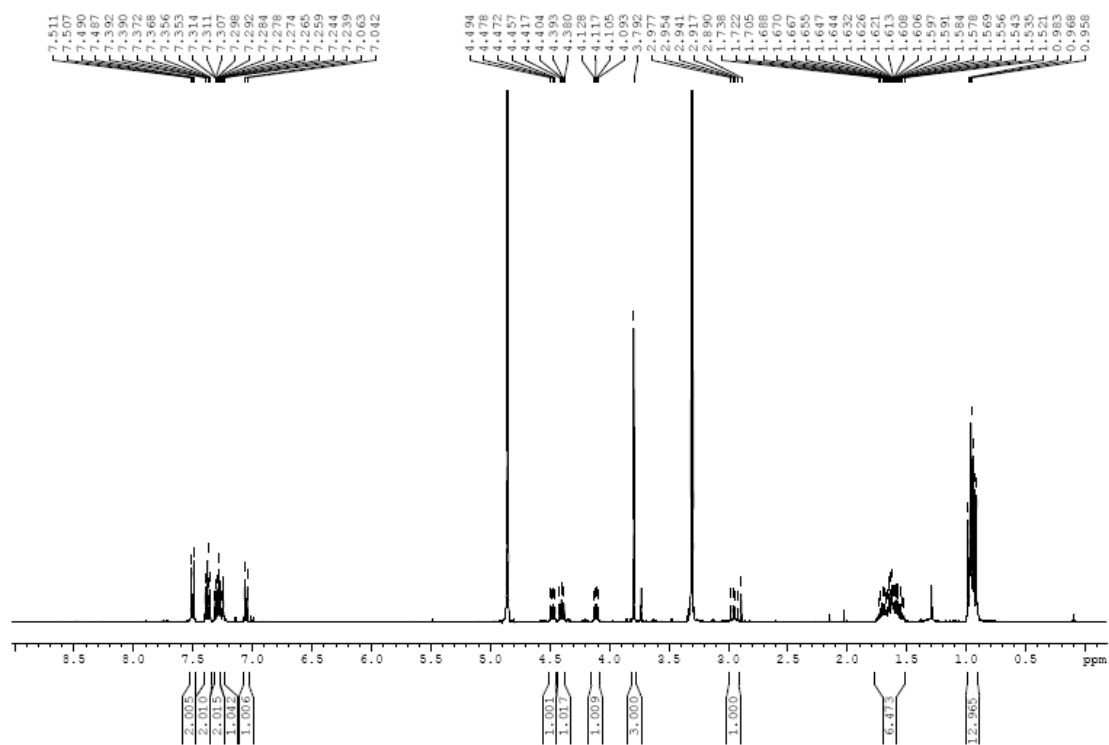
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	6,77	44,098	3,806	8,00
2	7,31	528,456	43,771	92,00
Total:		572,553	47,577	100,00

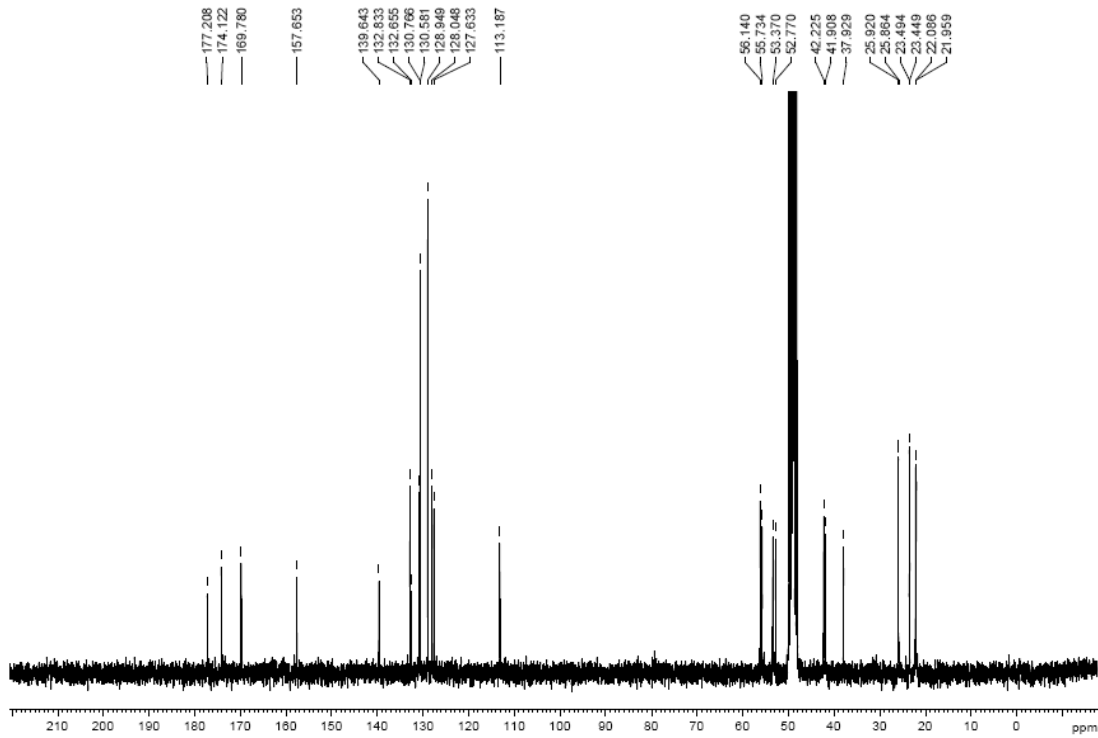
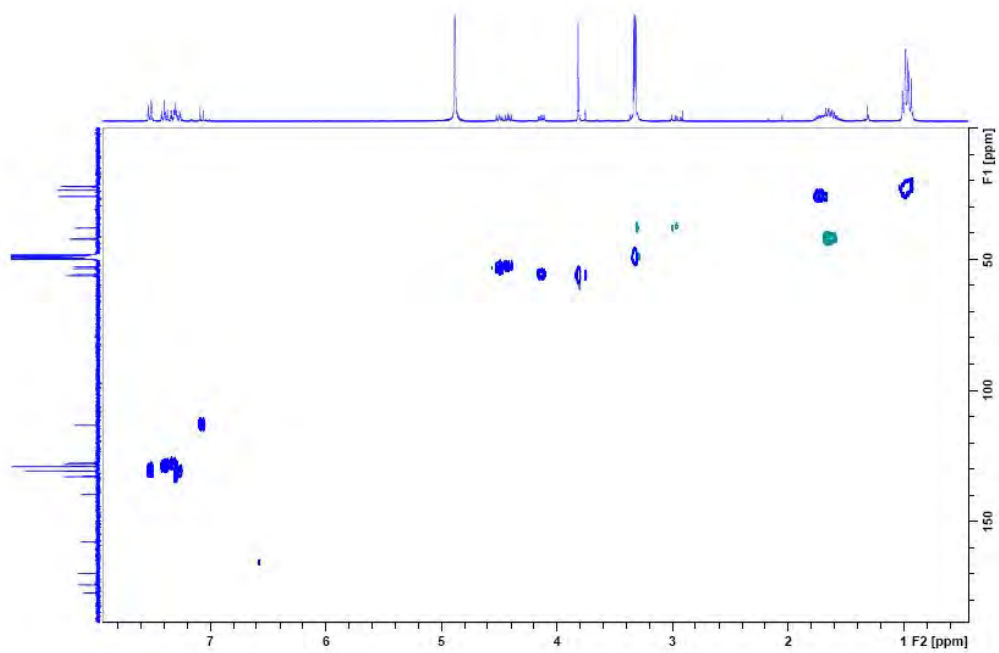
ESI-MS  $m/z$ 

HRMS (ESI)  $m/z$



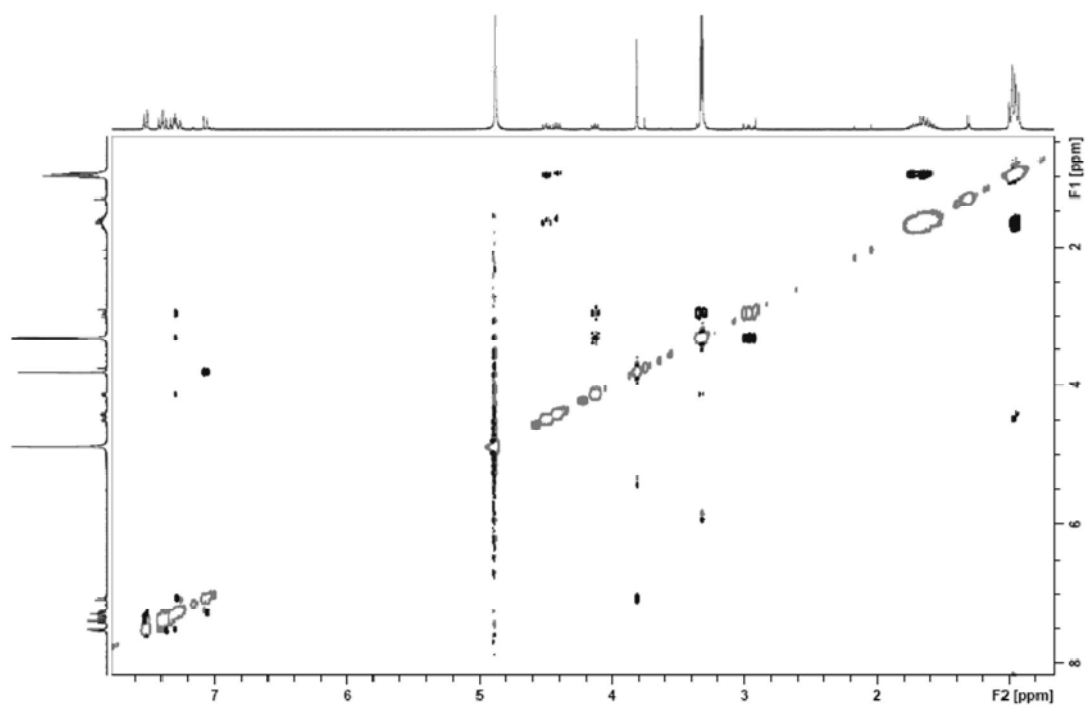
$^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm)



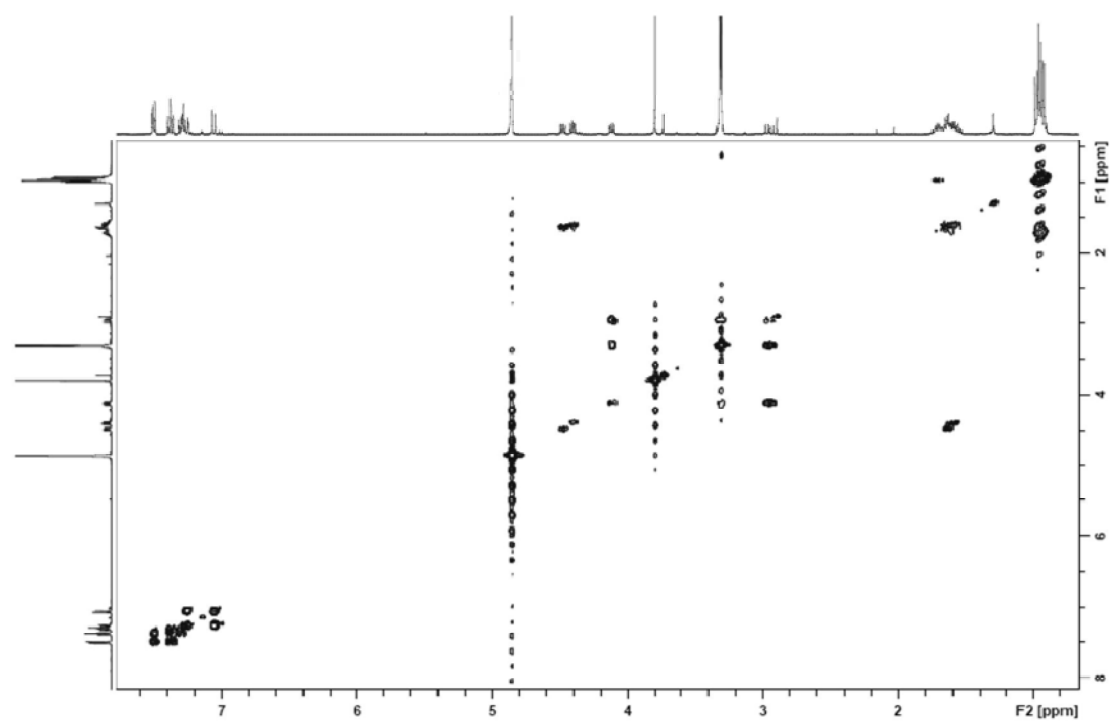
$^{13}\text{C}$ -RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{CD}$ )  $\delta$  (ppm)HSQC edited ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm)

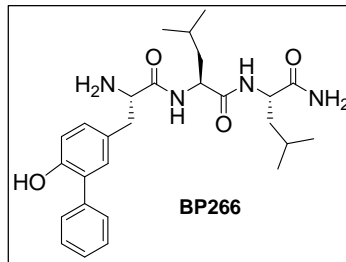
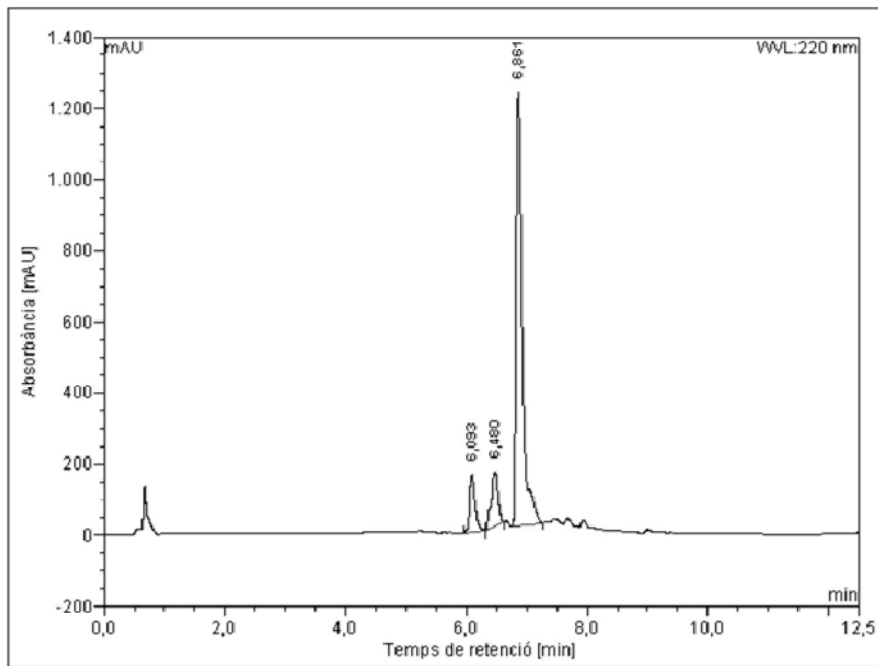


NOESY (CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm)

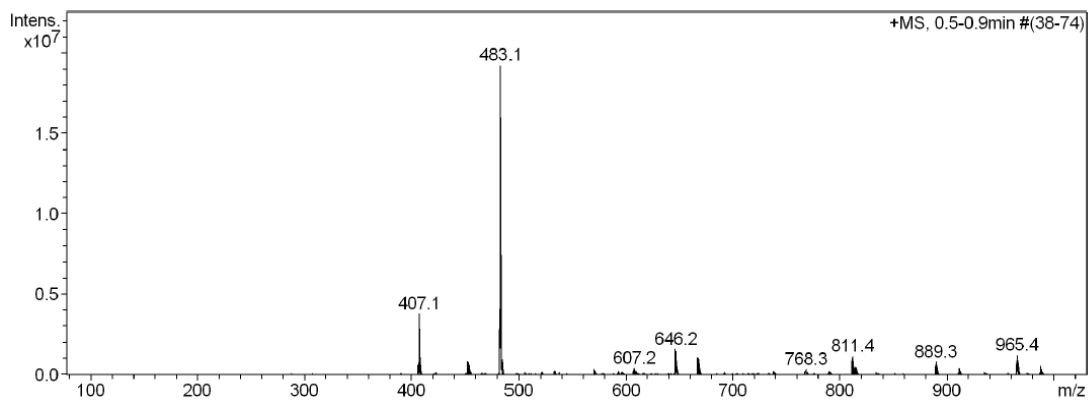


COSY (CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm)

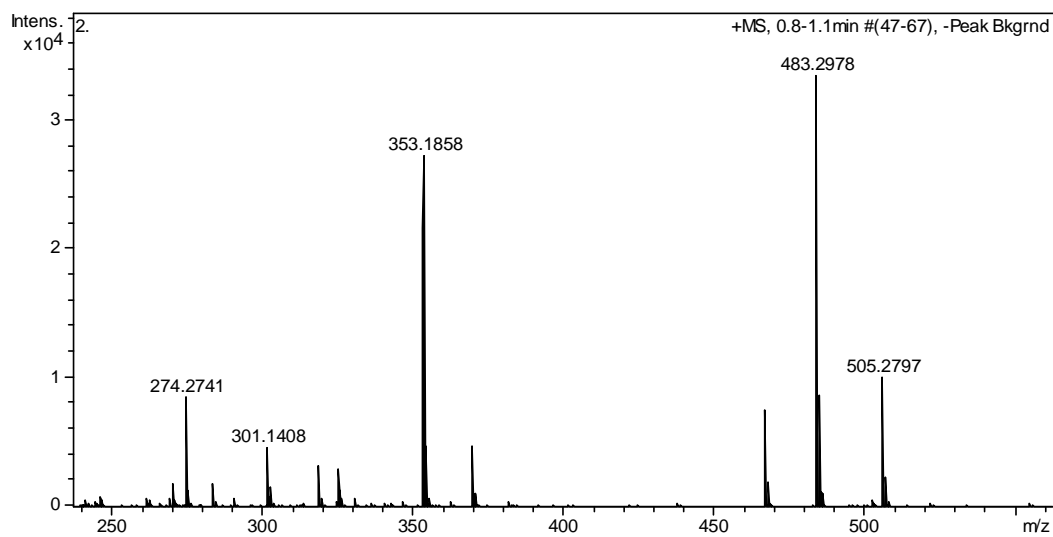


**Pèptid biarílic BP266**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

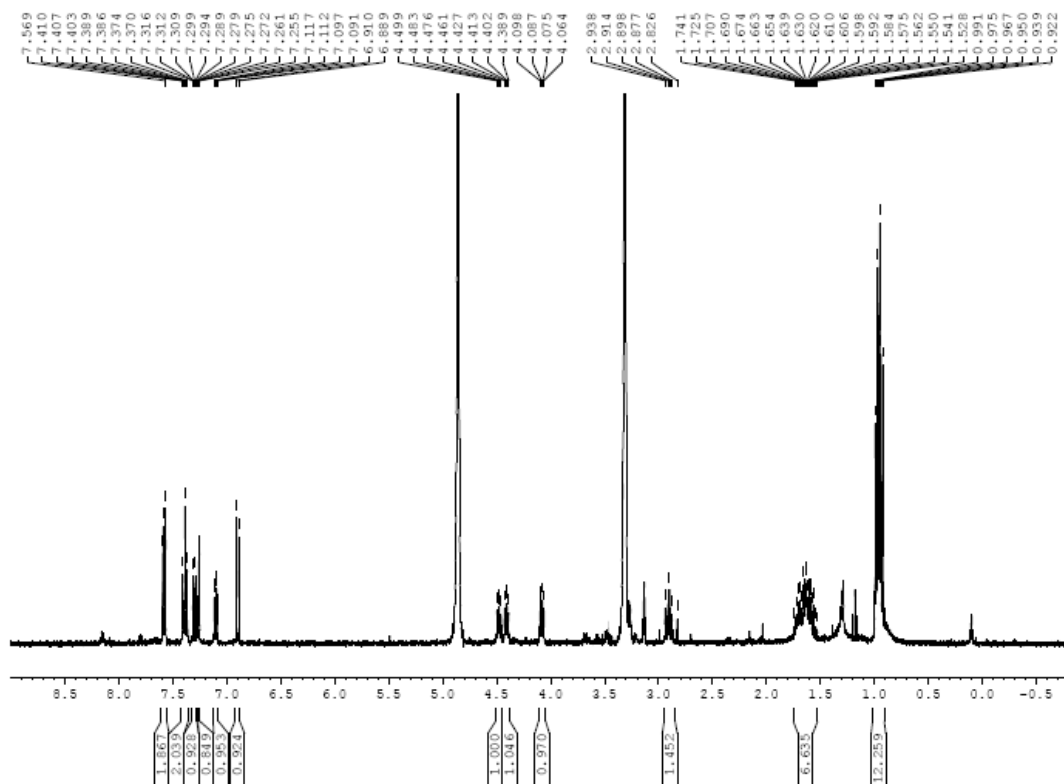
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	6,09	160,959	16,947	9,25
2	6,48	151,827	19,911	10,87
3	6,86	1219,946	146,391	79,89
Total:		1532,732	183,249	100,00

ESI-MS  $m/z$ 

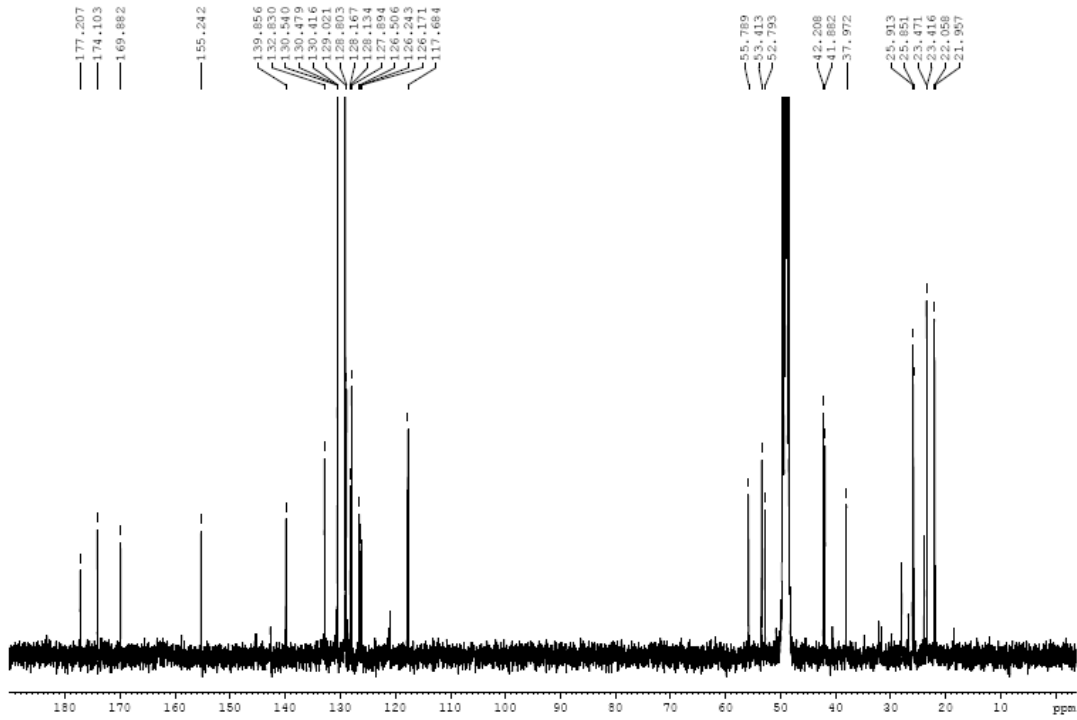
HRMS (ESI)  $m/z$



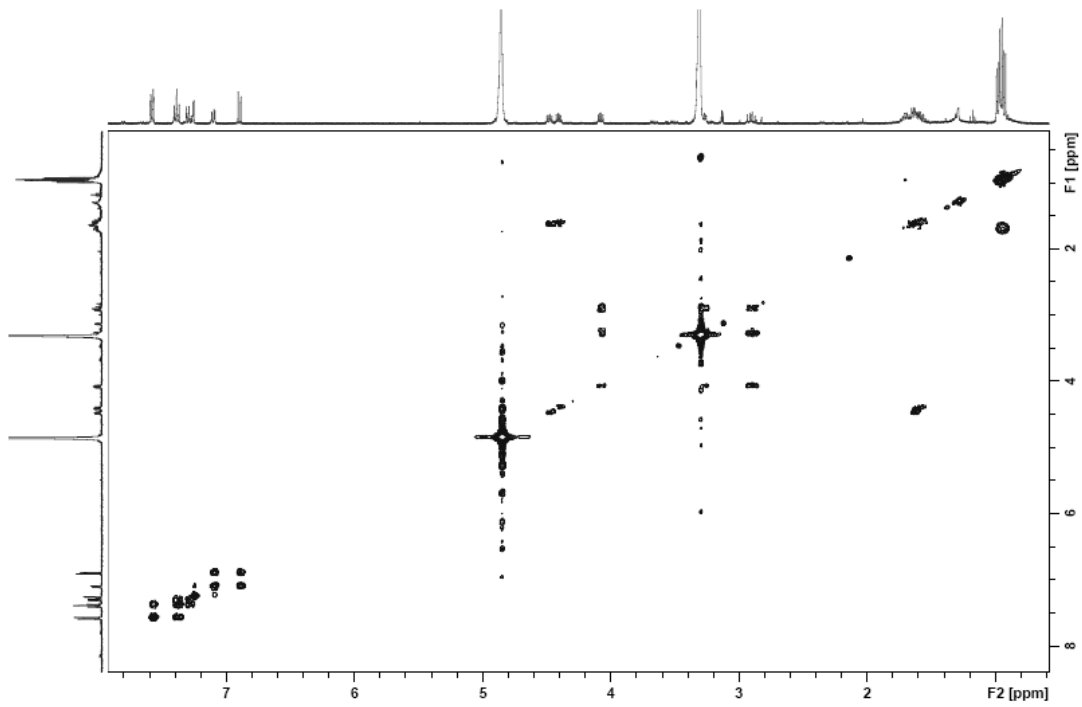
<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  (ppm)



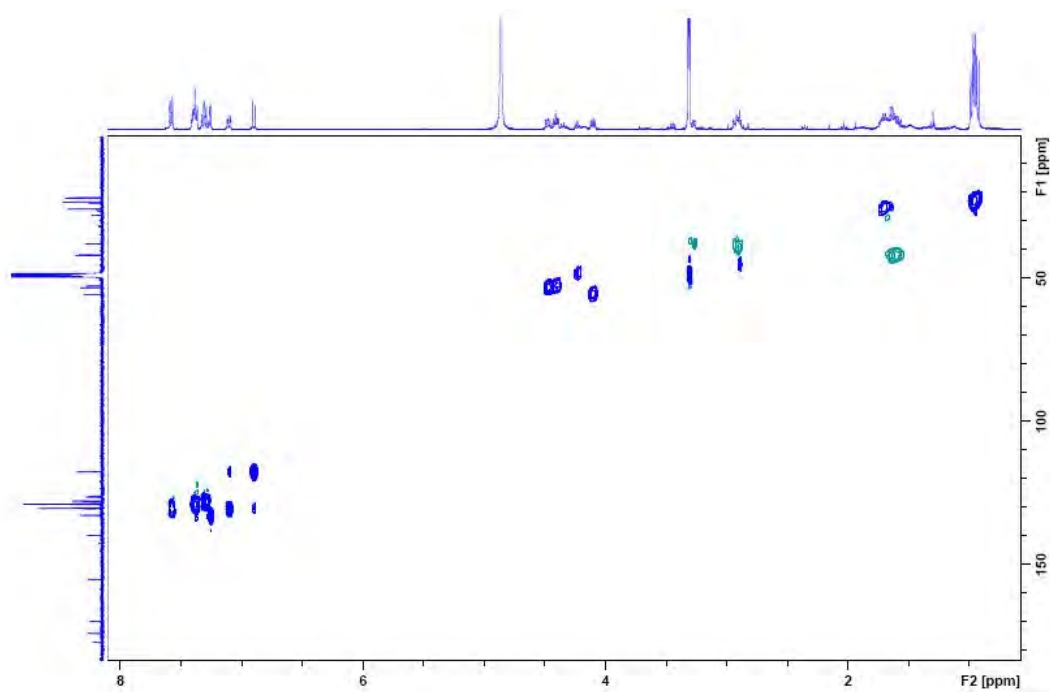
$^{13}\text{C}$ -RMN (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{CD}$ )  $\delta$  (ppm)



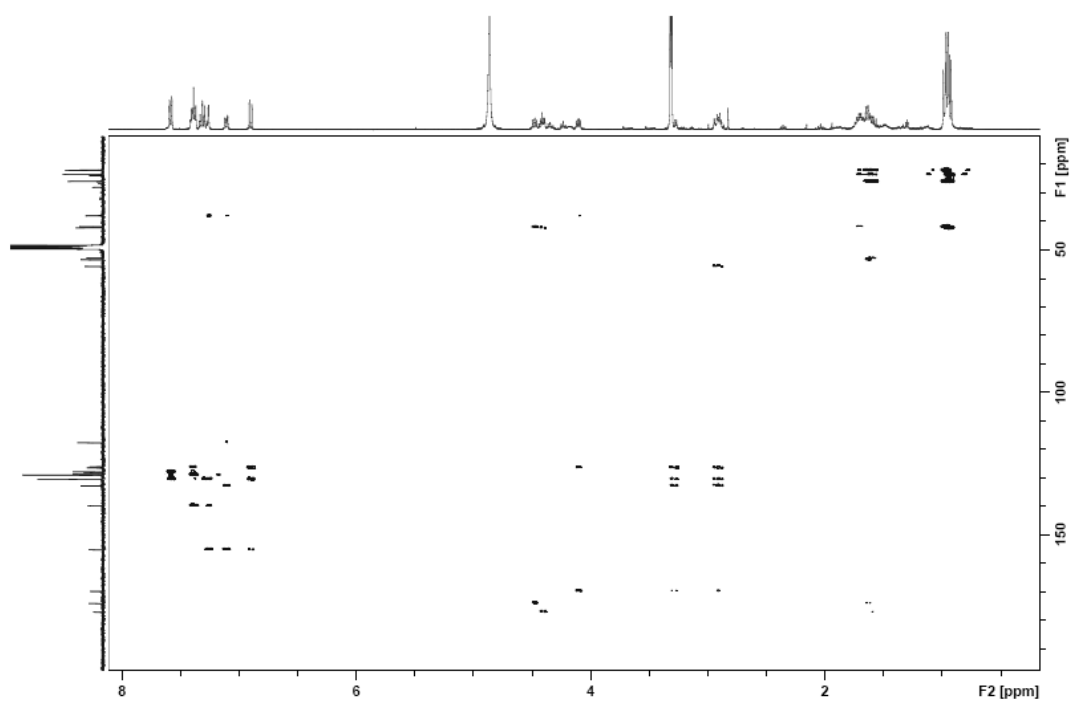
COSY ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm)



HSQC edited ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm)

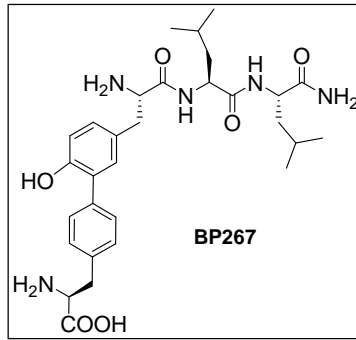


HMBC ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm)

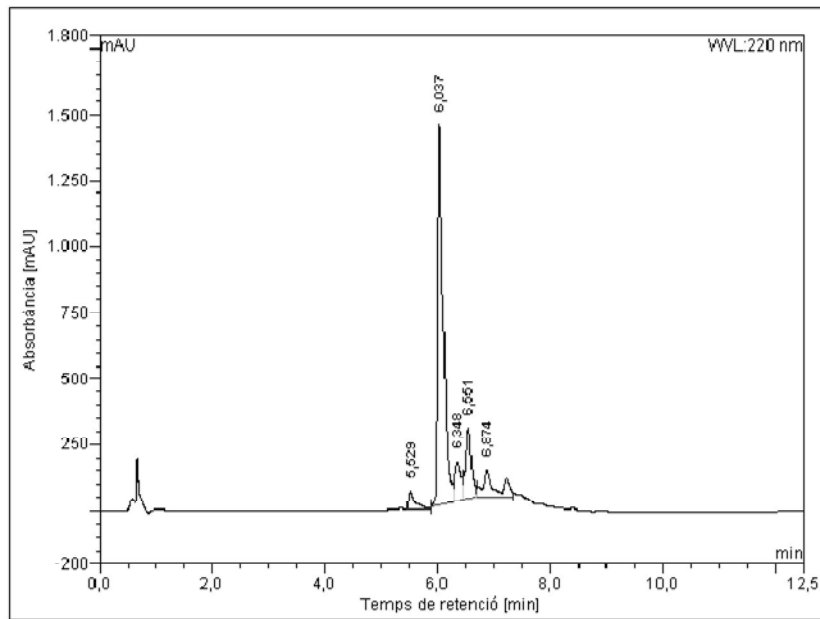




**Pèptid biarílic BP267**

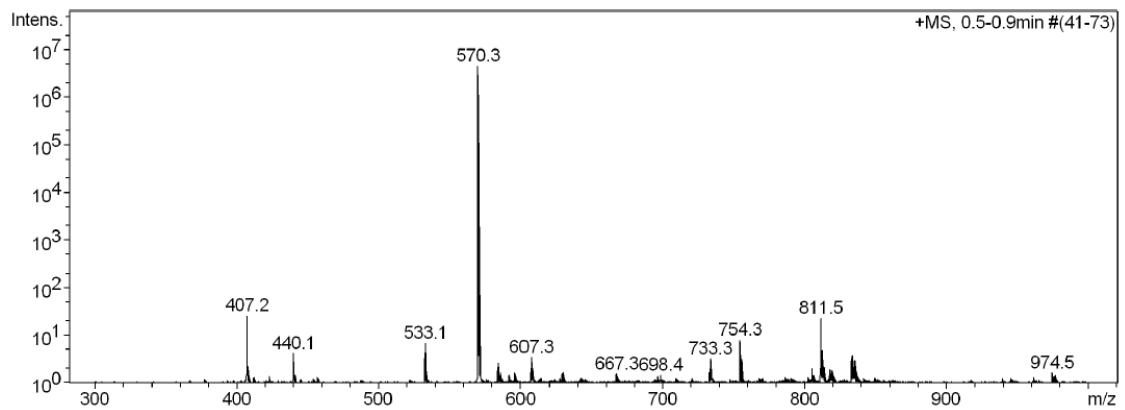


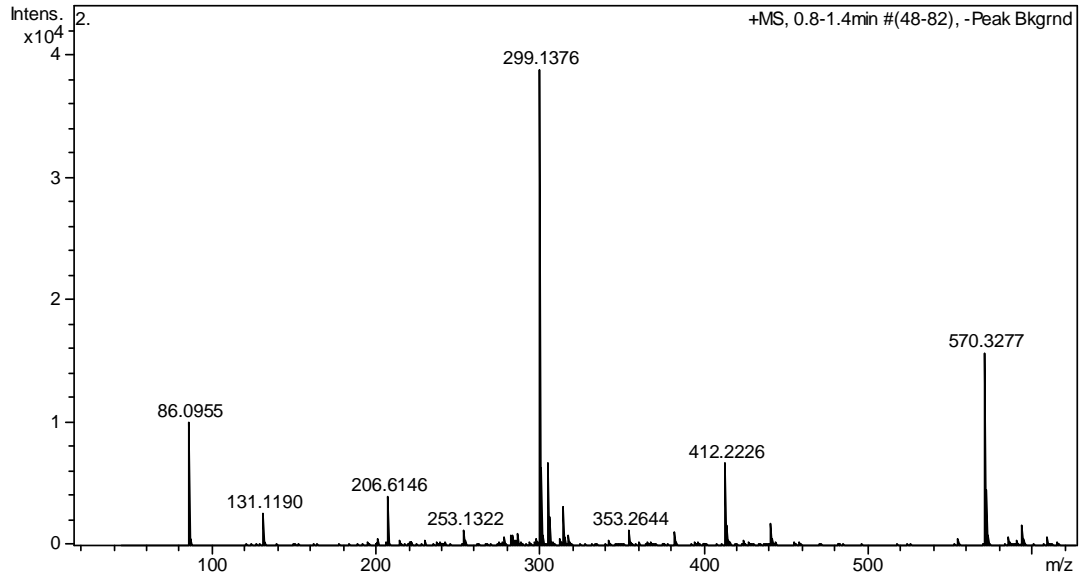
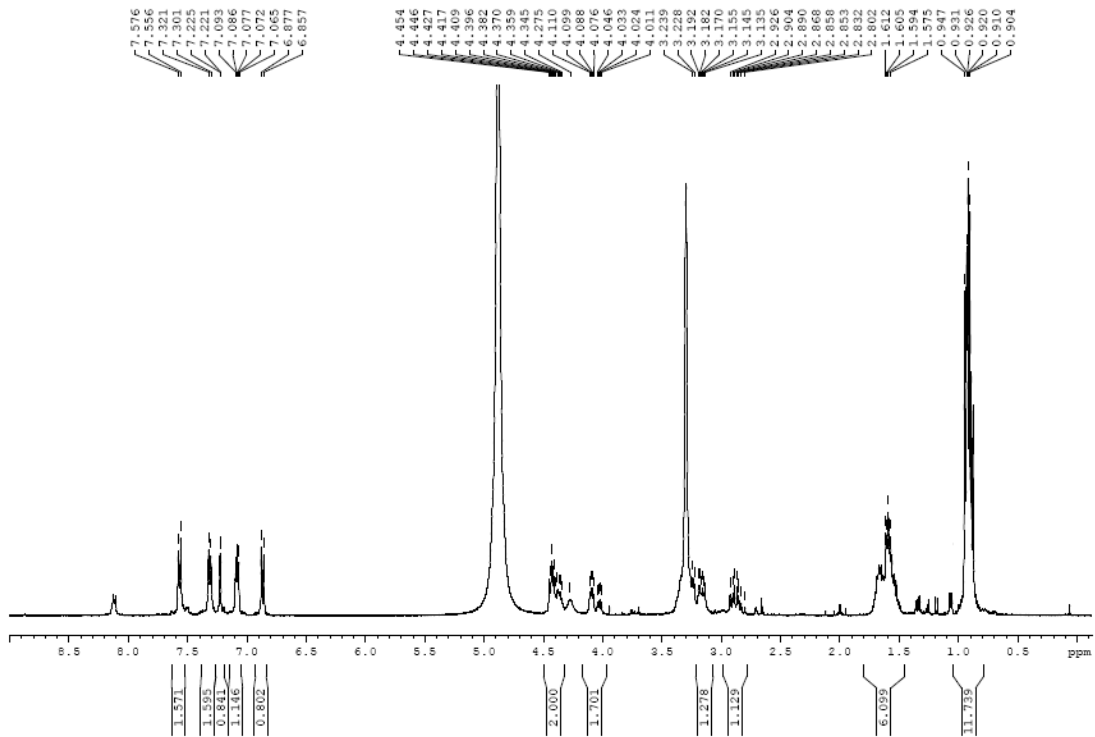
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )



No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	5,53	66,137	7,947	3,23
2	6,04	1443,889	158,400	64,31
3	6,35	149,333	19,417	7,88
4	6,55	268,261	30,942	12,56
5	6,87	102,820	29,596	12,02
Total:		2030,440	246,303	100,00

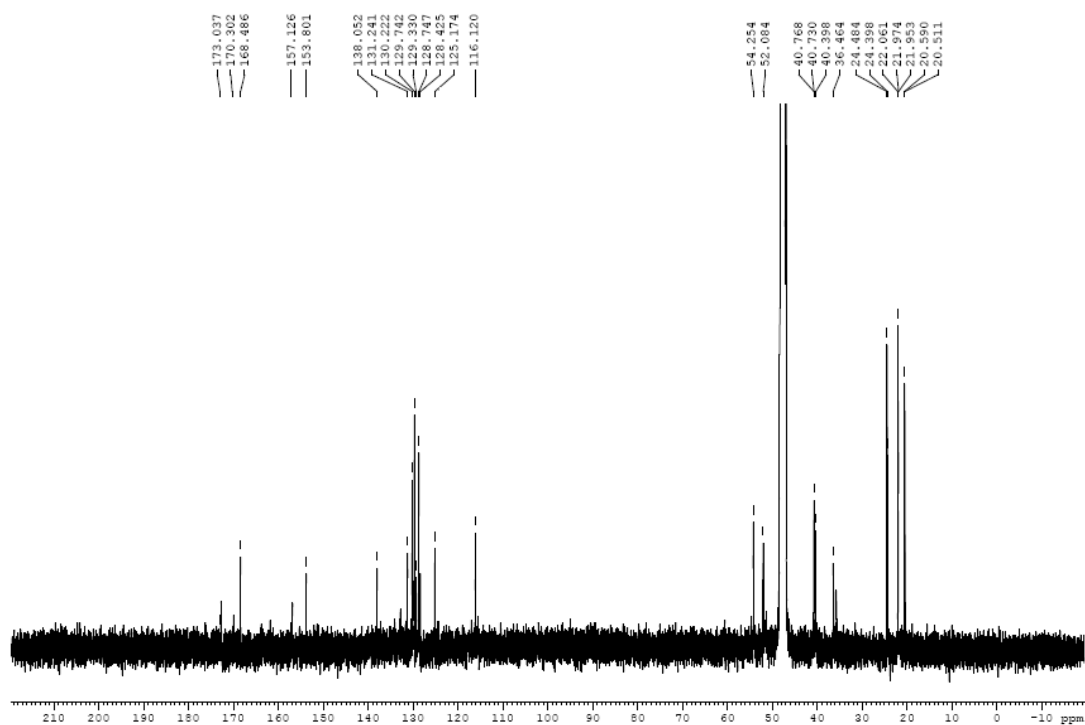
ESI-MS  $m/z$



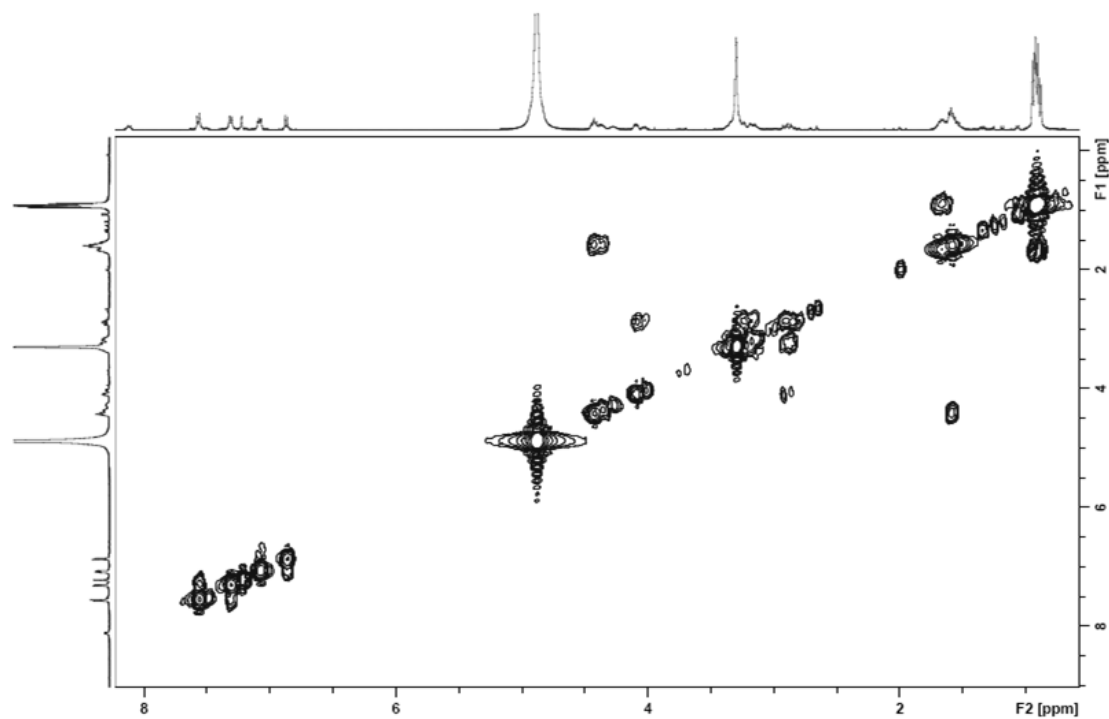
HRMS (ESI)  $m/z$  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm)

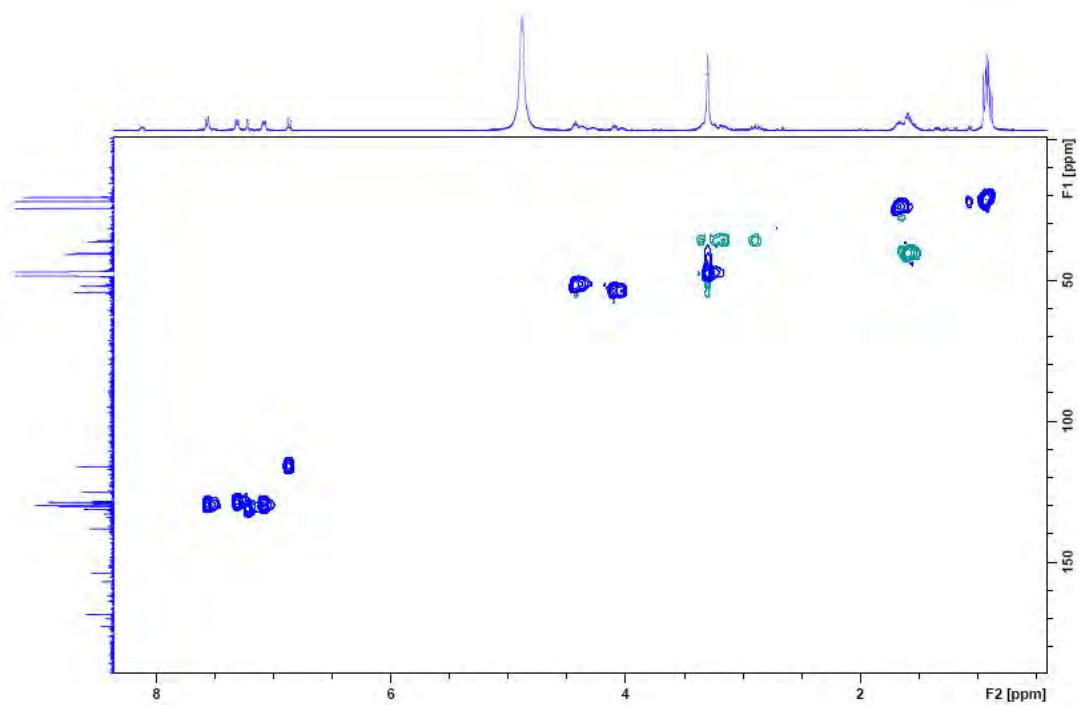
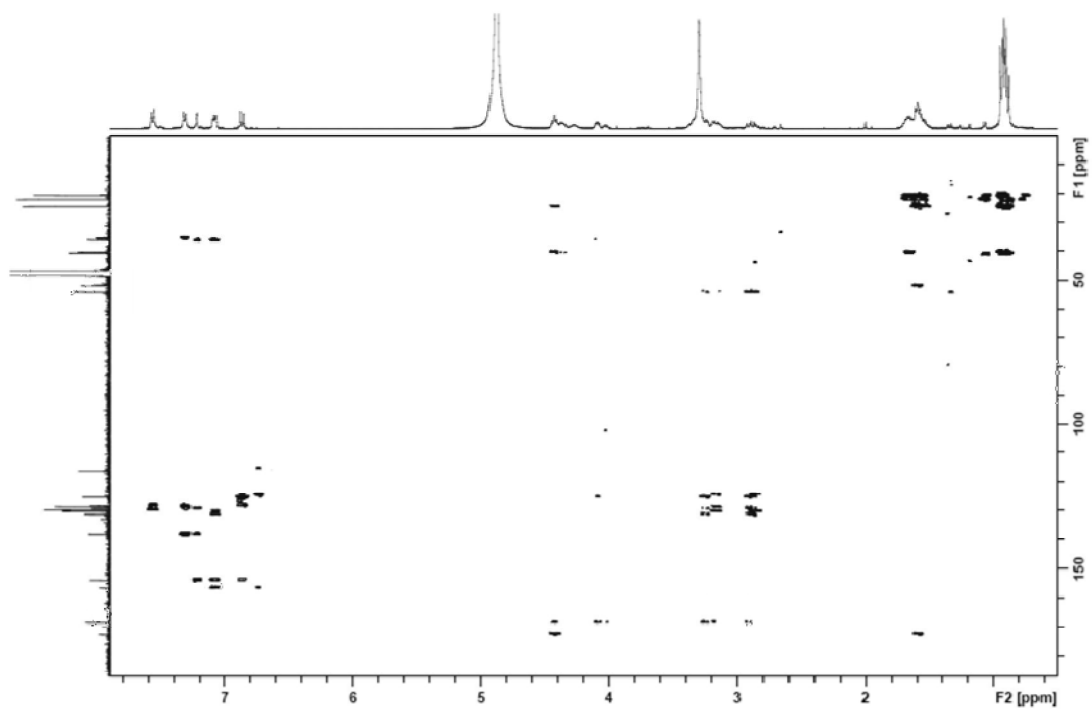


$^{13}\text{C}$ -RMN (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{CD}$ )  $\delta$  (ppm)

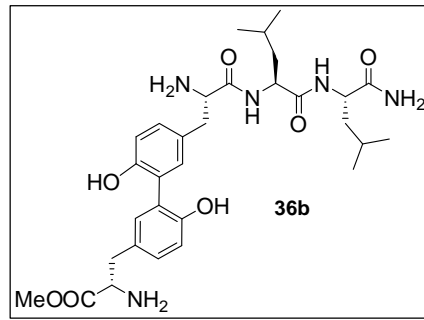


COSY ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm)

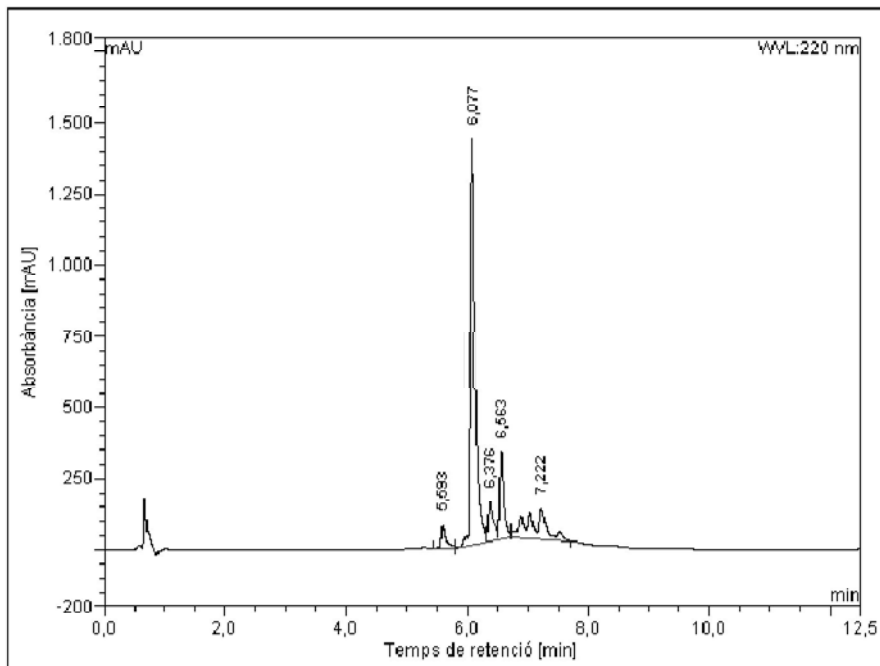


HSQC edited (CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  (ppm)HMBC (CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  (ppm)

**Pèptid biarílic 36b**

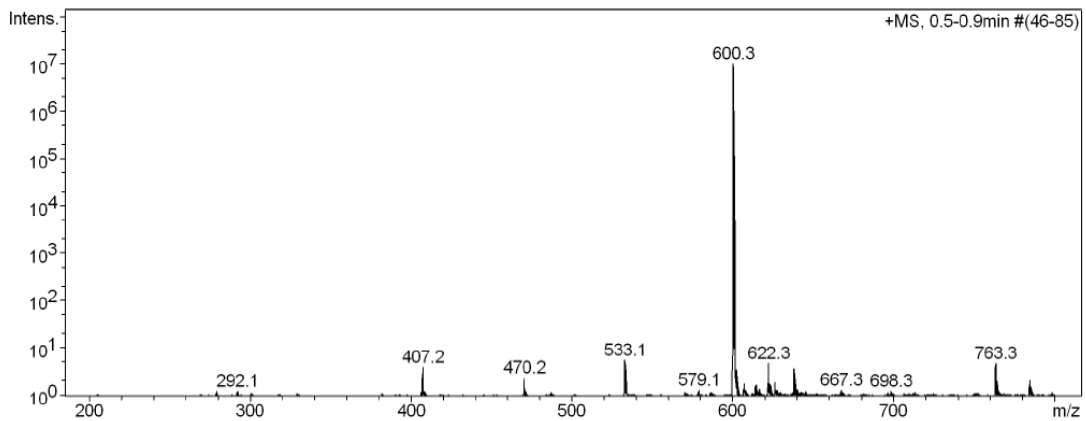


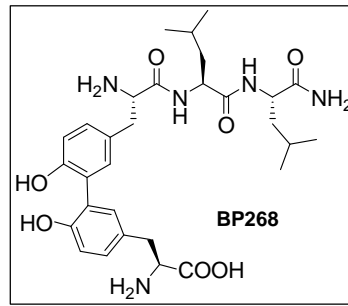
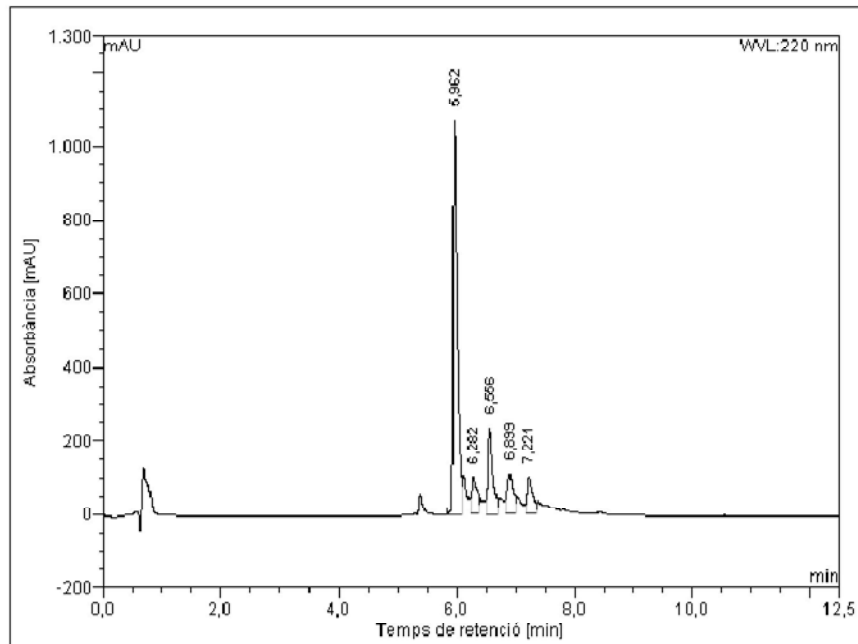
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )



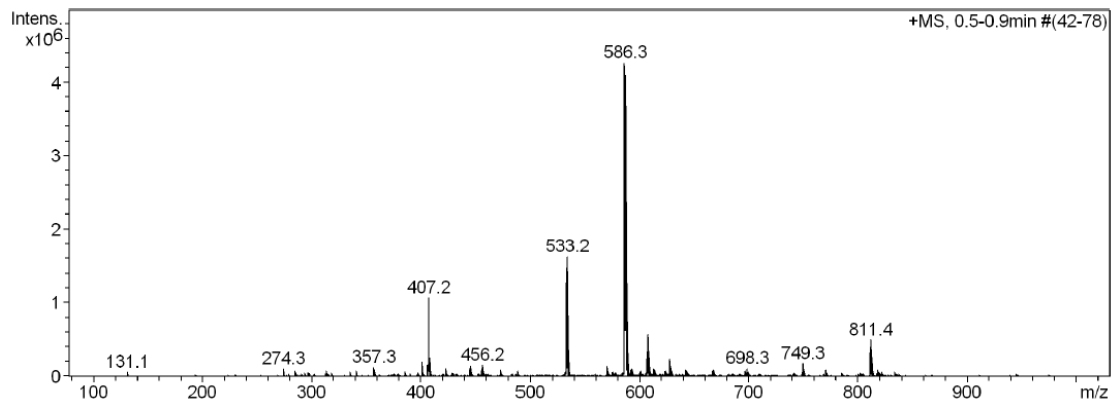
No.	Ret. Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel. Area %
1	5.59	81,018	7,731	3,64
2	6.08	1426,377	130,086	61,26
3	6.38	138,746	14,187	6,68
4	6.56	304,417	25,199	11,87
5	7.22	106,315	35,135	16,55
Total:		2056,872	212,338	100,00

ESI-MS  $m/z$

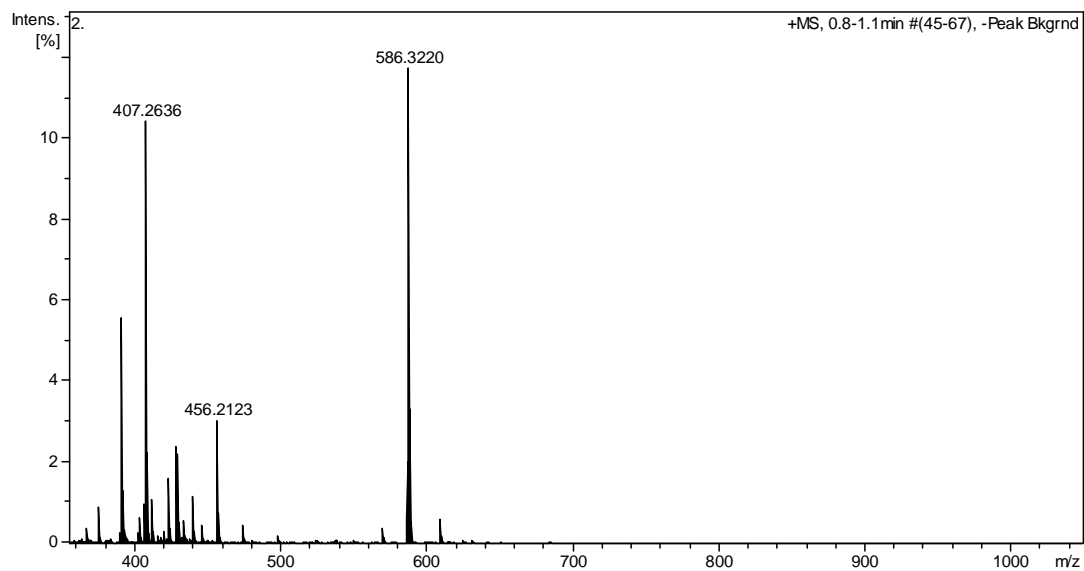


**Pèptid biarílic BP268**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

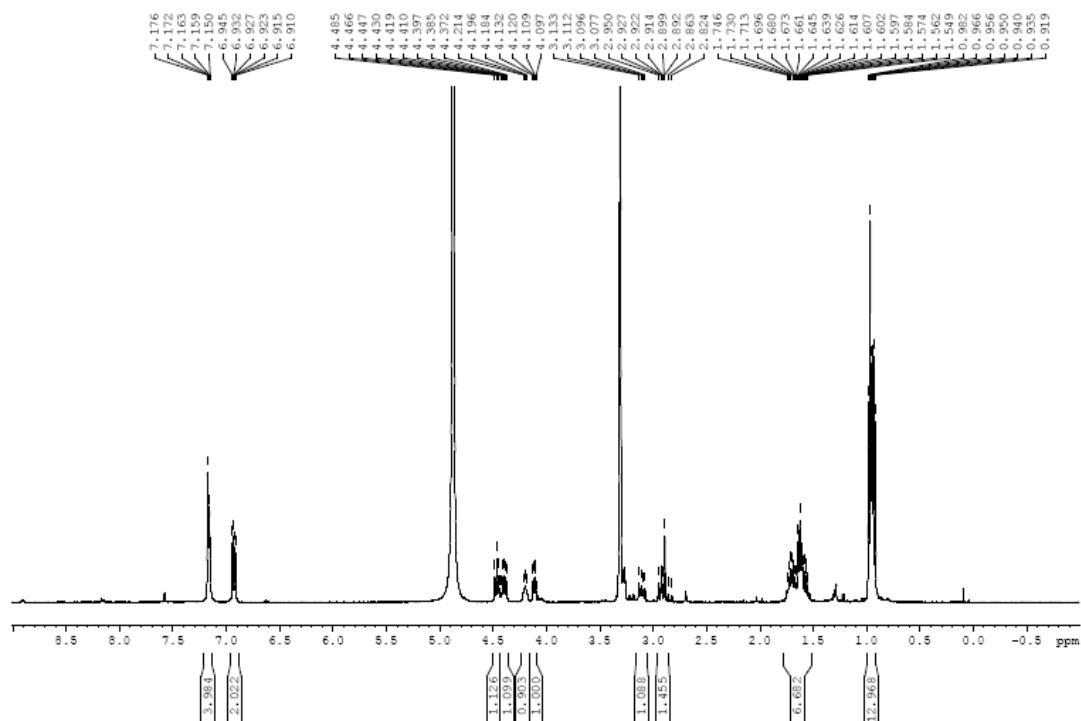
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	5,96	1069,906	88,537	60,61
2	6,28	96,720	11,280	7,72
3	6,56	236,253	22,438	15,36
4	6,90	108,349	12,302	8,42
5	7,22	99,122	11,508	7,88
Total:		1612,351	146,065	100,00

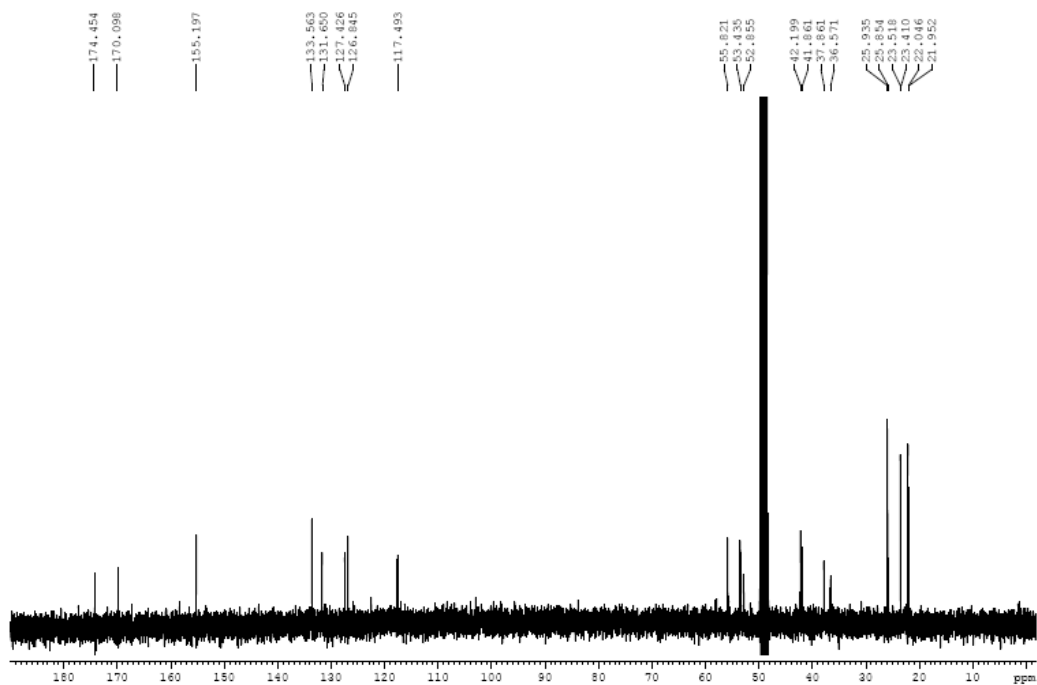
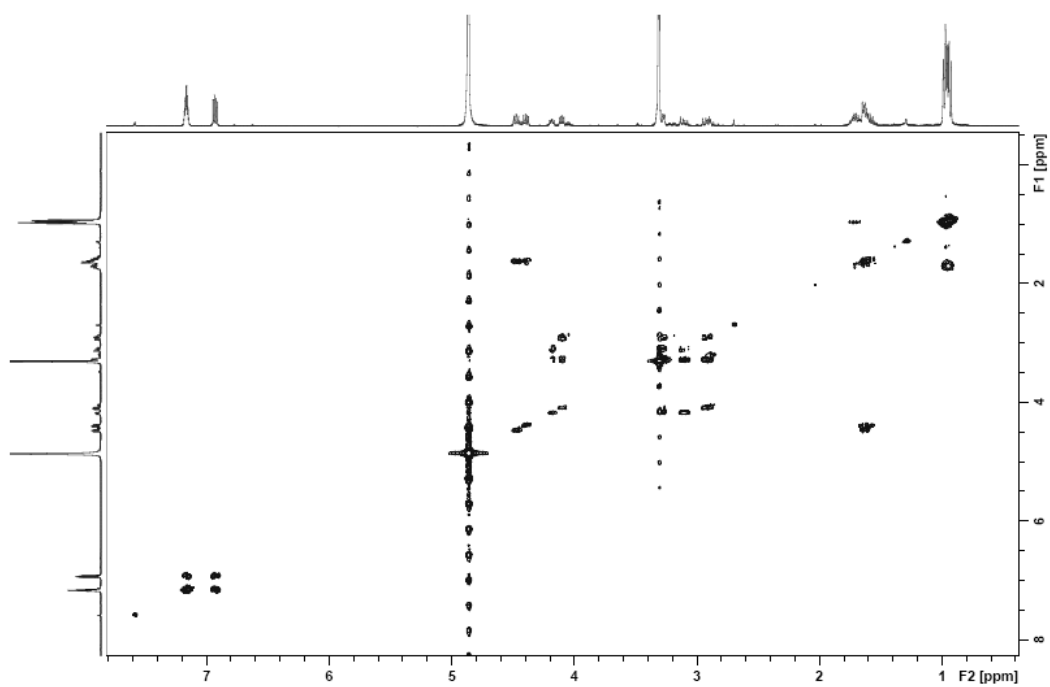
ESI-MS  $m/z$ 

HRMS (ESI)  $m/z$

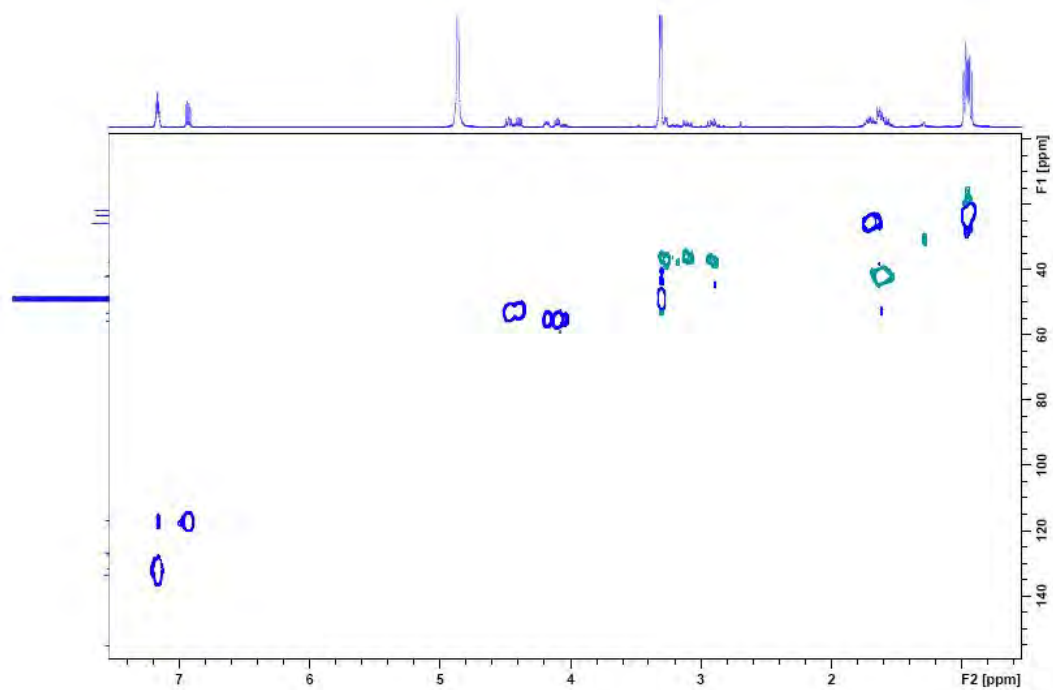


$^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm)



$^{13}\text{C}$ -RMN (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{CD}$ )  $\delta$  (ppm)COSY ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm)

HSQC edited (CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm)

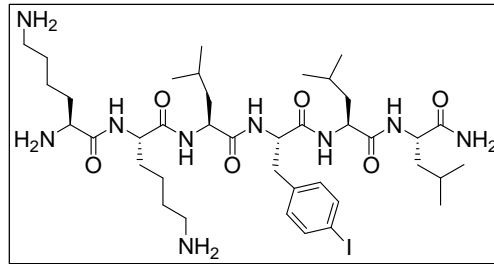
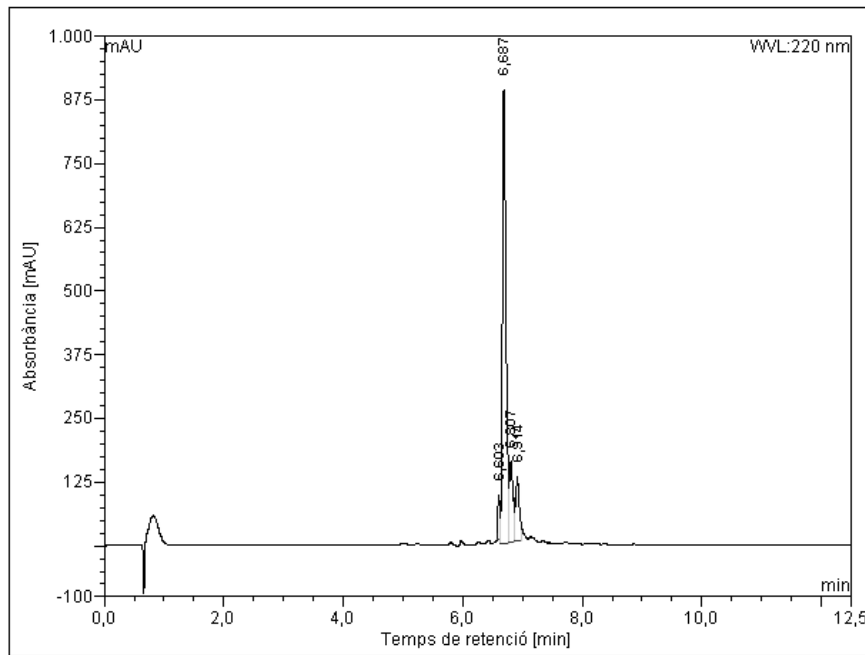


**SÍNTESI DE PÈPTIDS BIARÍLICS CÍCLICS  
EN FASE SÒLIDA**

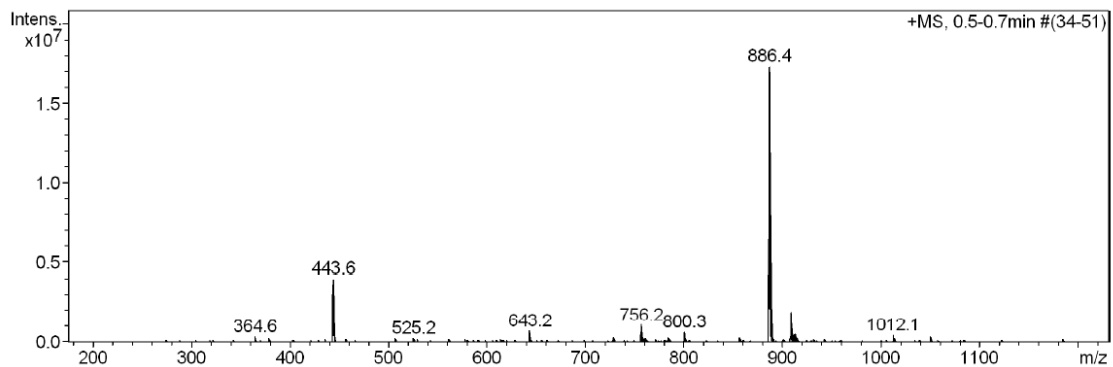
---



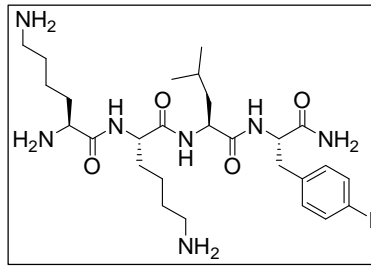


**H-Lys-Lys-Leu-Phe(4-I)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

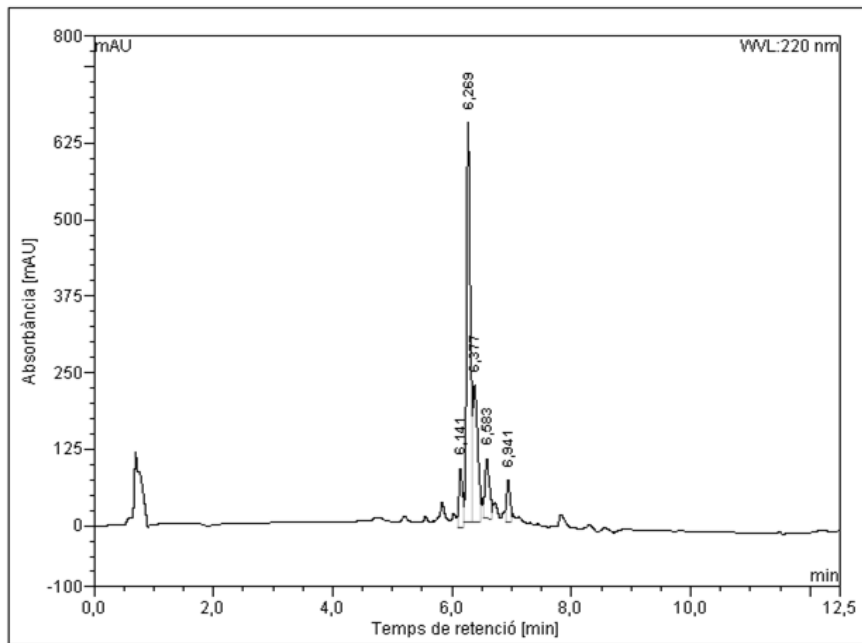
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	6,60	87,643	3,890	4,57
2	6,69	891,326	62,098	72,88
3	6,81	156,422	9,692	11,38
4	6,91	125,885	9,520	11,17
Total:		1261,276	85,201	100,00

ESI-MS  $m/z$ 

**H-Lys-Lys-Leu-Phe(4-I)-NH<sub>2</sub>**

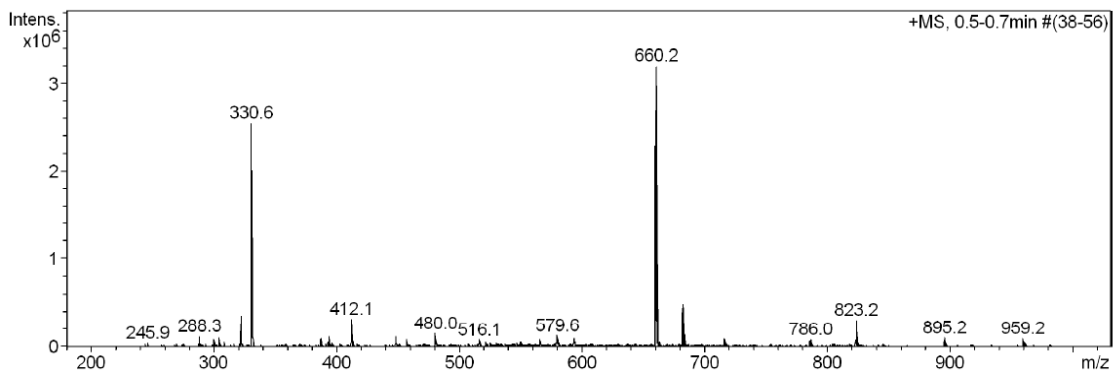


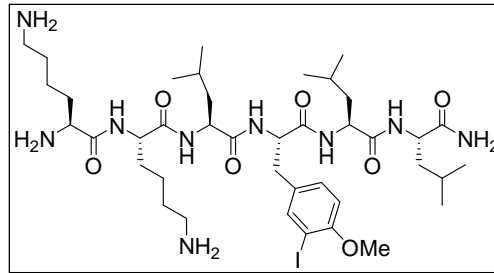
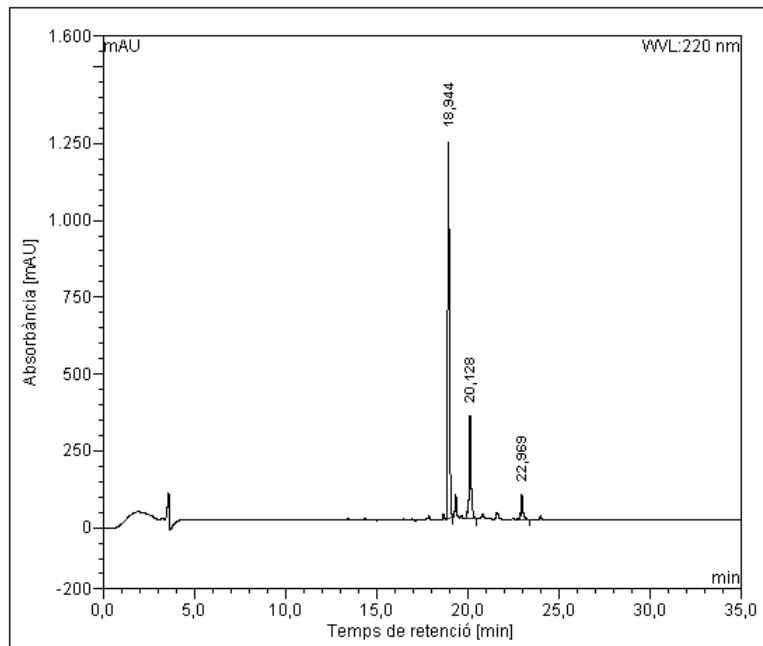
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )



No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	6,14	96,829	7,090	7,84
2	6,27	651,967	49,209	54,40
3	6,38	223,097	20,575	22,74
4	6,58	98,460	8,887	9,82
5	6,94	67,298	4,702	5,20
Total:		1137,650	90,464	100,00

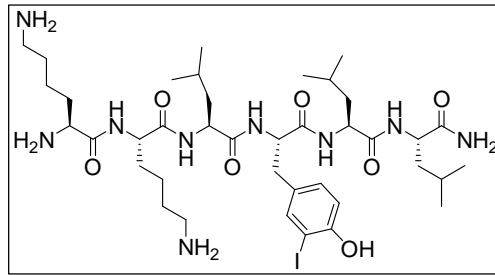
ESI-MS  $m/z$



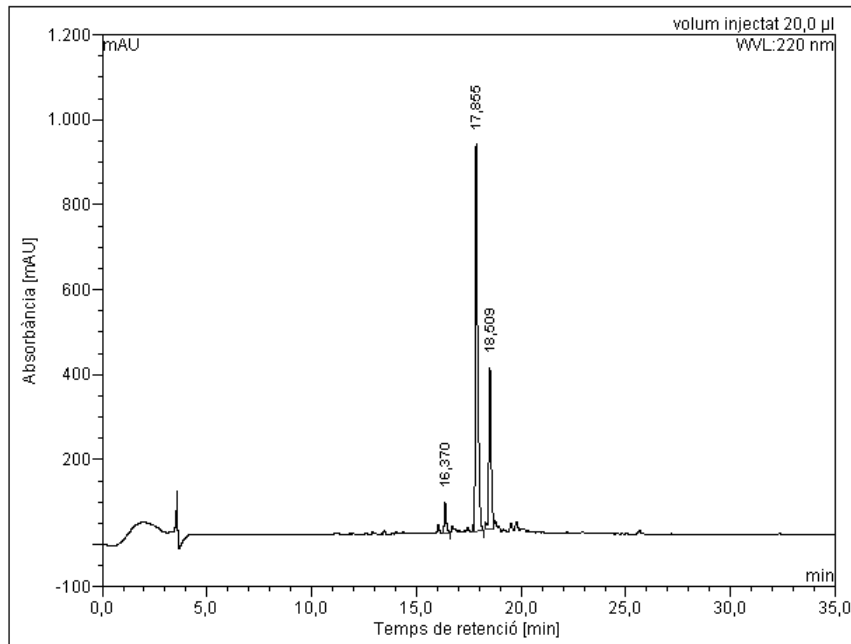
**H-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-I,Me)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

No.	Ret.Time min	Height mAU	Area mAU <sup>2</sup> min	Rel.Area %
1	18,94	1224,371	135,709	72,68
2	20,13	333,016	41,394	22,17
3	22,97	79,094	9,628	5,16
Total:		1636,480	186,731	100,00

**H-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-I)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>**

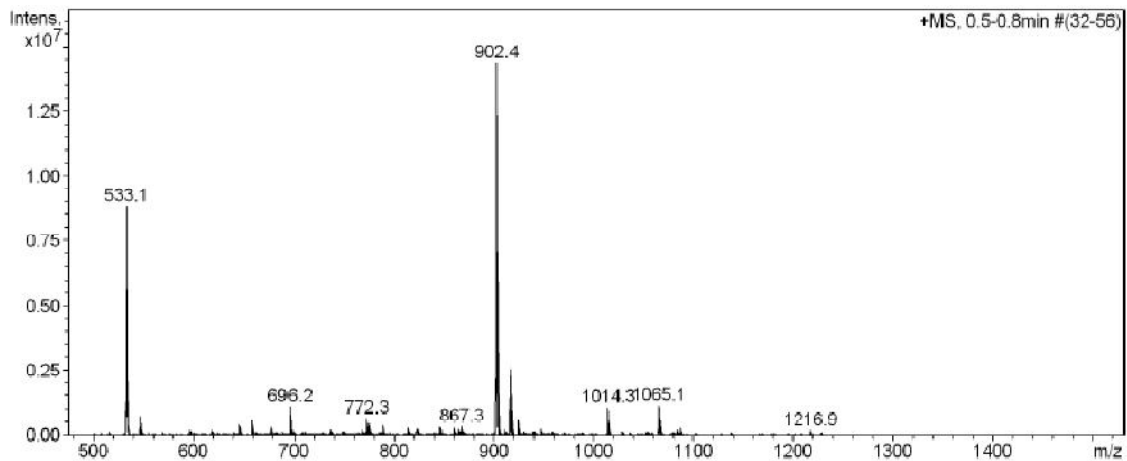


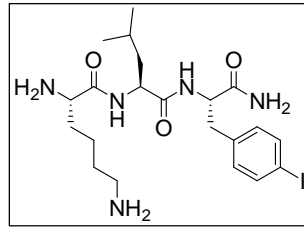
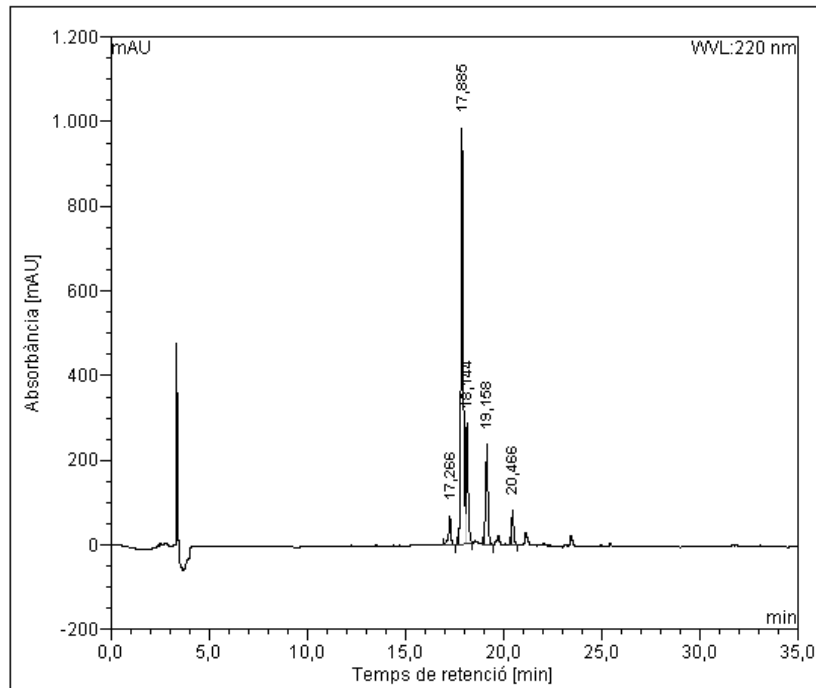
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )



No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	16,37	73,253	7,985	4,52
2	17,86	911,636	119,385	67,63
3	18,51	380,673	49,169	27,85
Total:		1365,562	176,539	100,00

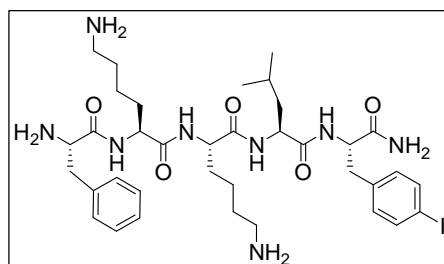
ESI-MS  $m/z$



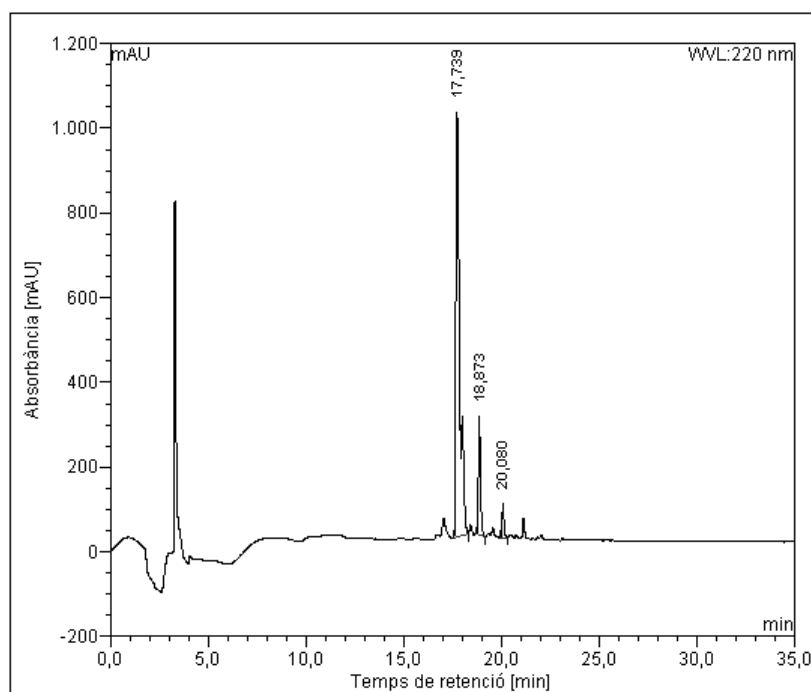
**H-Lys-Leu-Phe(4-I)-NH<sub>2</sub>**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

No.	mpos retenc min	alçada mAU	Area mAU*min	Area relativa %
1	17,27	69,071	9,171	4,28
2	17,88	983,058	131,971	61,52
3	18,14	283,344	34,207	15,95
4	19,16	236,869	30,535	14,23
5	20,47	81,576	8,632	4,02
Total:		1653,918	214,516	100,00

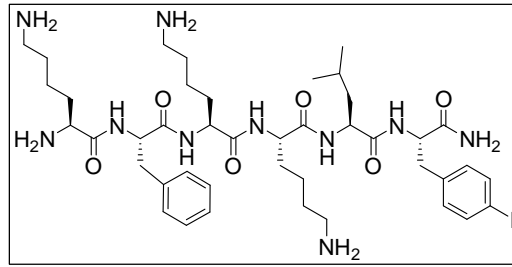
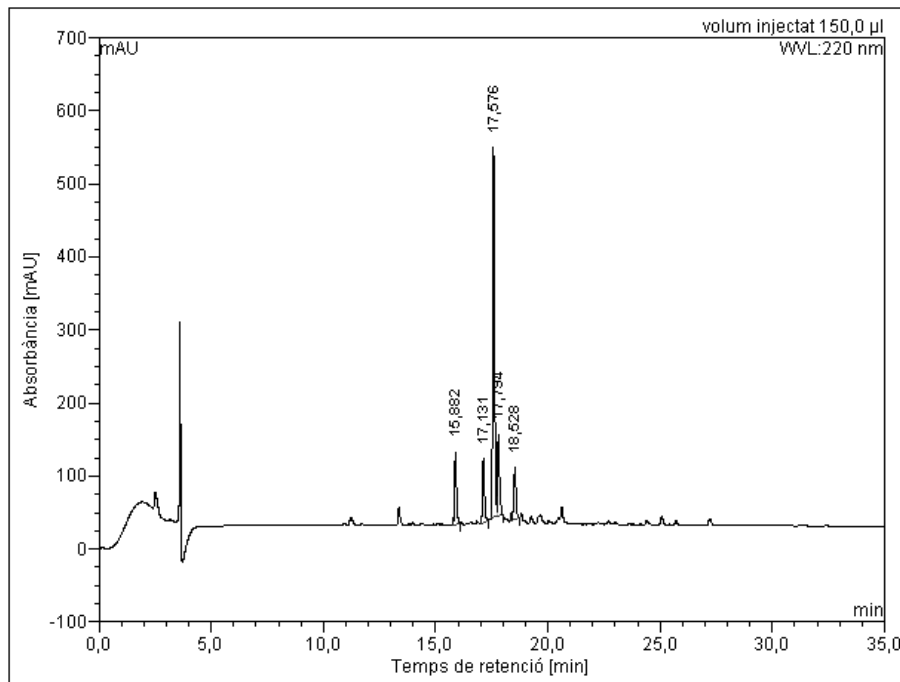
**H-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-I)-NH<sub>2</sub>**



HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

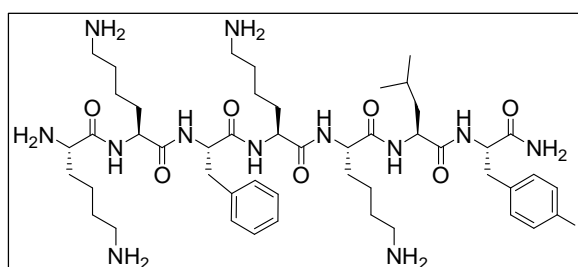
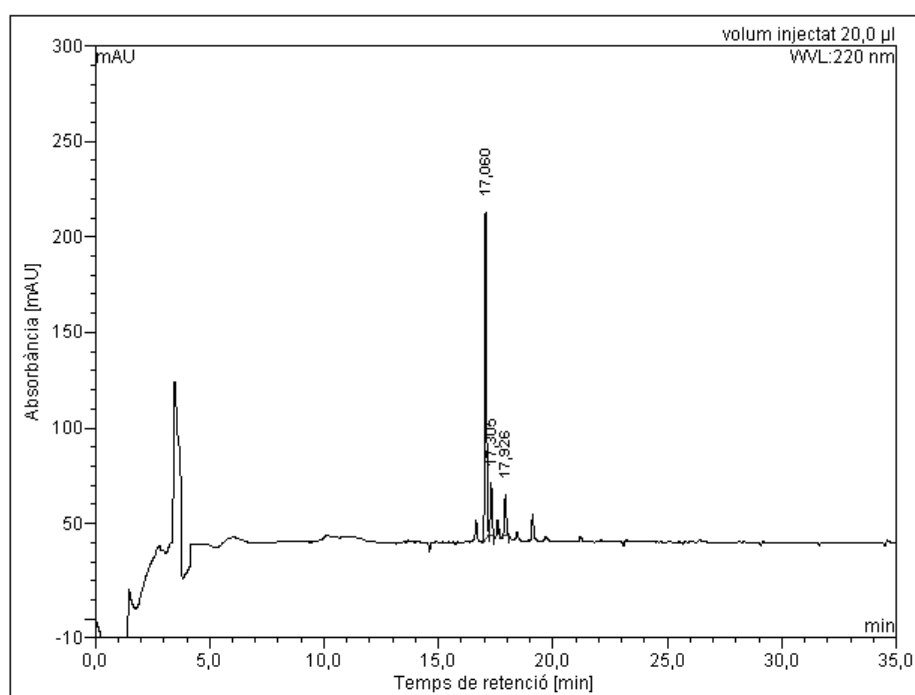


No.	mps retenc min	alçada mAU	Area mAU*min	Area relativa %
1	17,74	1000,896	228,540	84,13
2	18,87	278,489	34,811	12,82
3	20,08	79,757	8,288	3,05
Total:		1359,142	271,640	100,00

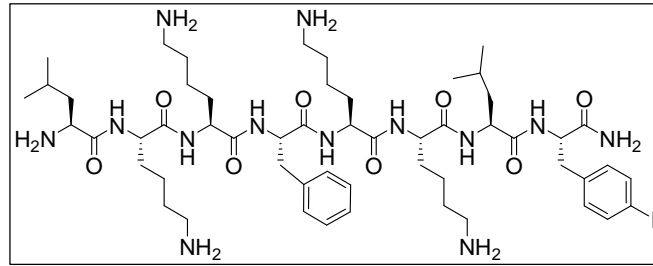
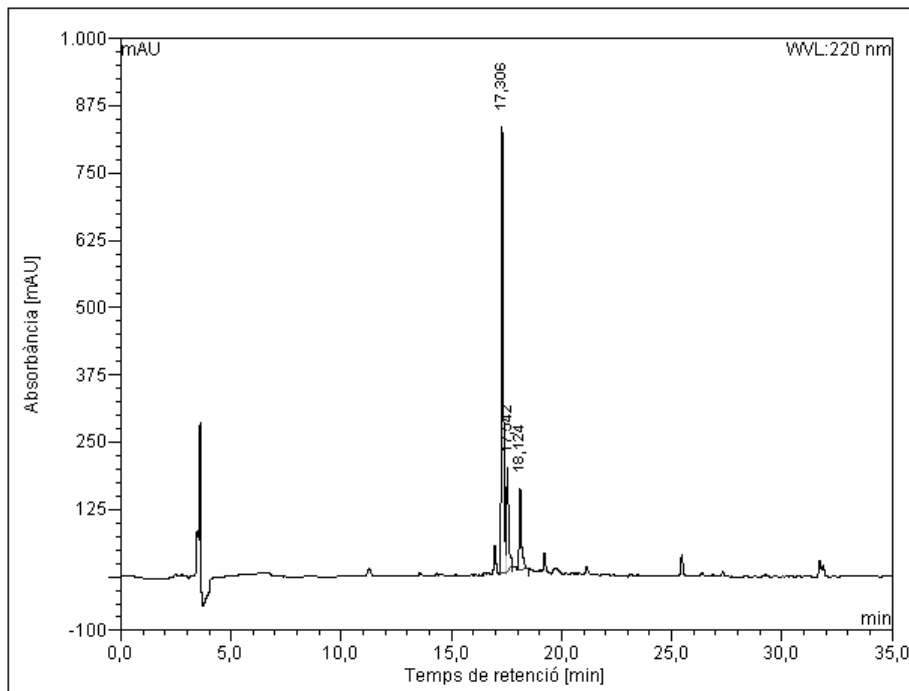
**H-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-I)-NH<sub>2</sub>**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	15,88	99,214	10,163	11,65
2	17,13	86,416	8,692	9,96
3	17,58	505,268	48,766	55,88
4	17,79	111,941	11,560	13,25
5	18,53	70,449	8,090	9,27
Total:		873,288	87,271	100,00

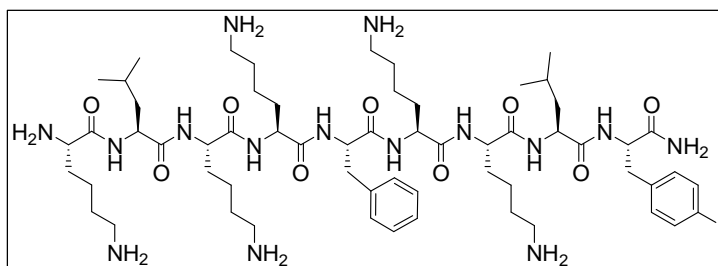
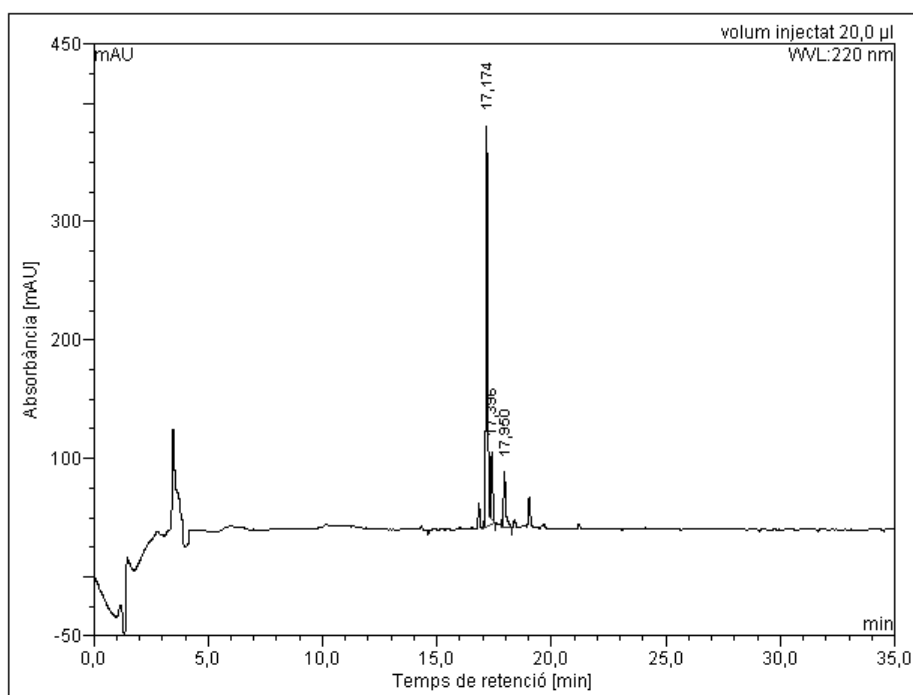


**H-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-I)-NH<sub>2</sub>**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

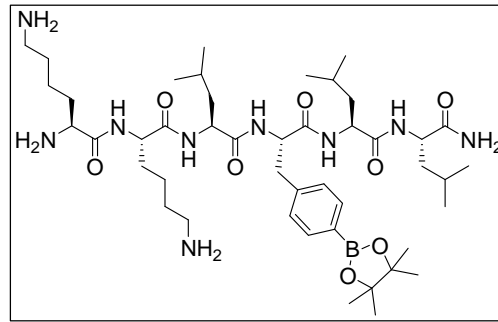
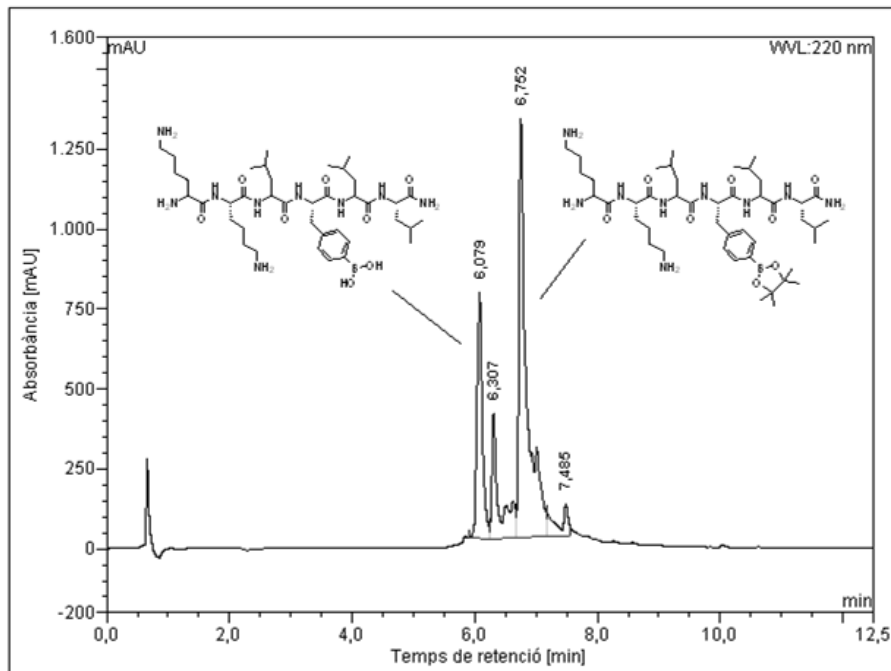
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	17,06	170,904	15,114	77,46
2	17,30	27,572	2,472	12,67
3	17,93	21,650	1,926	9,87
Total:		220,126	19,512	100,00

**H-Leu-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-I)-NH<sub>2</sub>**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

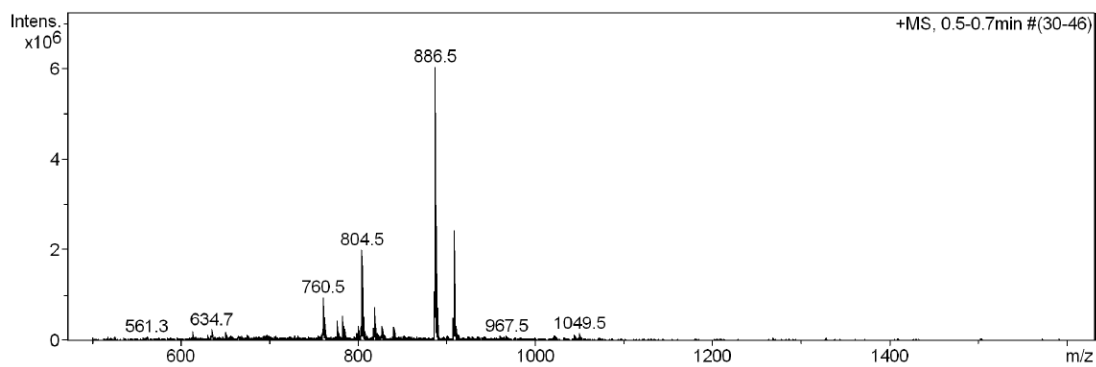
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	17,31	830,834	89,315	69,16
2	17,54	191,783	22,017	17,05
3	18,12	151,231	17,807	13,79
Total:		1173,848	129,139	100,00

**H-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-I)-NH<sub>2</sub>**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

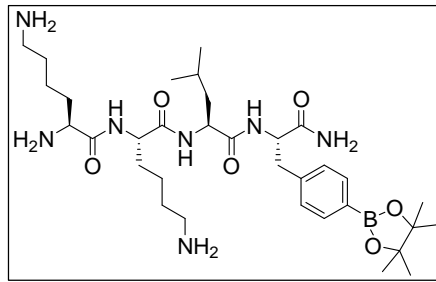
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	17,17	338,948	32,317	76,22
2	17,40	57,047	5,004	11,80
3	17,95	46,624	5,076	11,97
Total:		442,618	42,397	100,00

**H-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

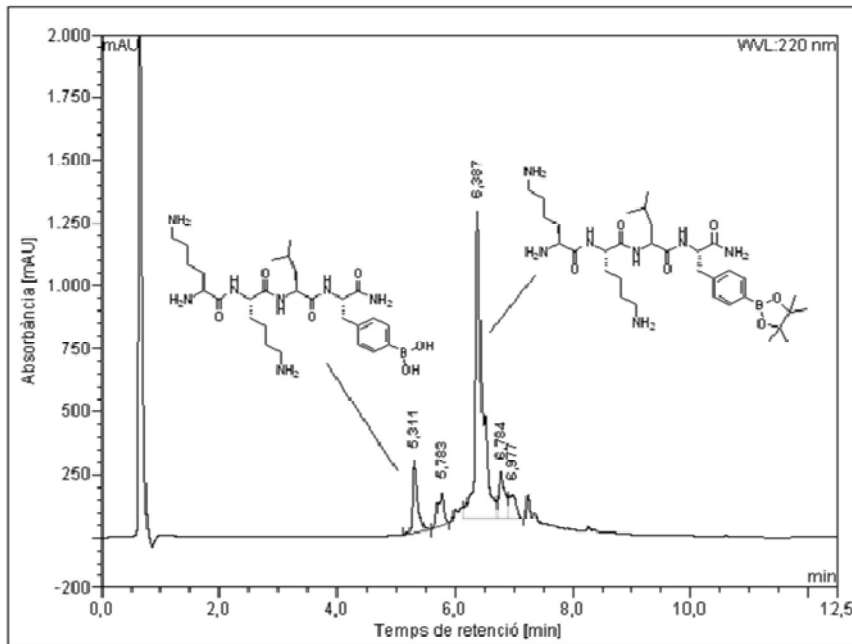
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	6,08	769,246	77,751	22,53
2	6,31	391,537	54,088	15,67
3	6,75	1309,566	193,844	56,17
4	7,48	101,569	19,412	5,63
Total:		2571,918	345,096	100,00

ESI-MS  $m/z$ 

**H-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub>**

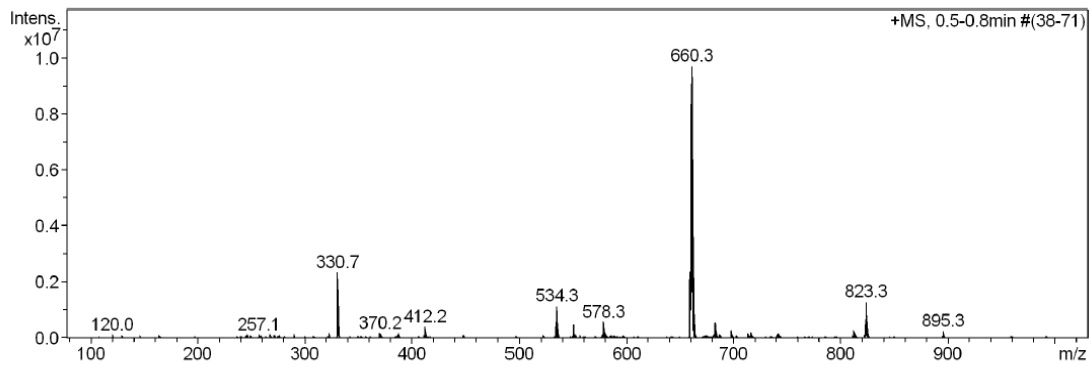


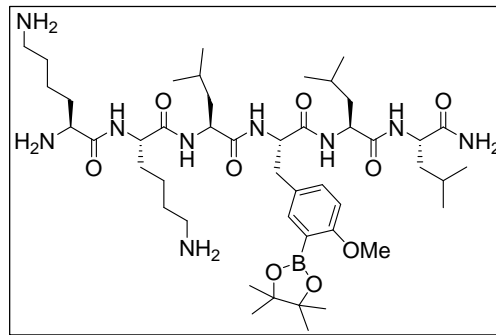
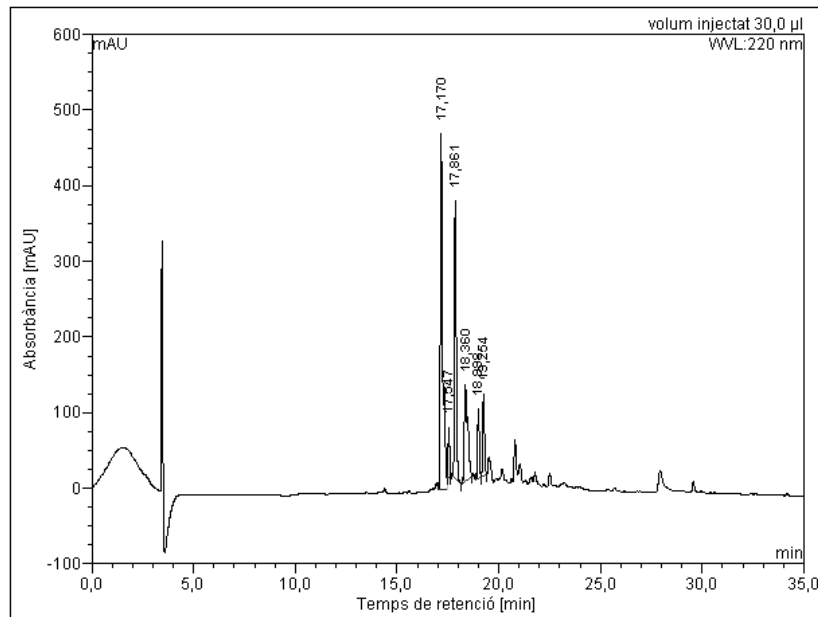
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )



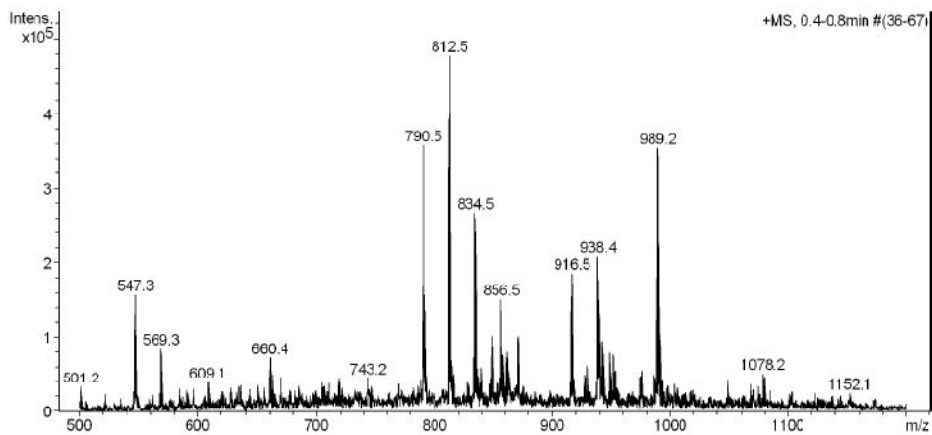
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	5,31	283,503	28,482	11,32
2	5,78	130,506	16,233	6,45
3	6,39	1223,590	168,996	67,19
4	6,78	185,037	24,826	9,87
5	6,98	99,383	12,987	5,16
Total:		1922,020	251,523	100,00

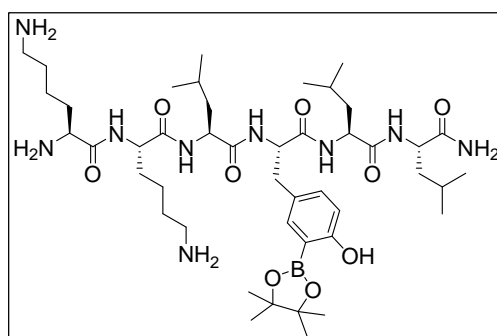
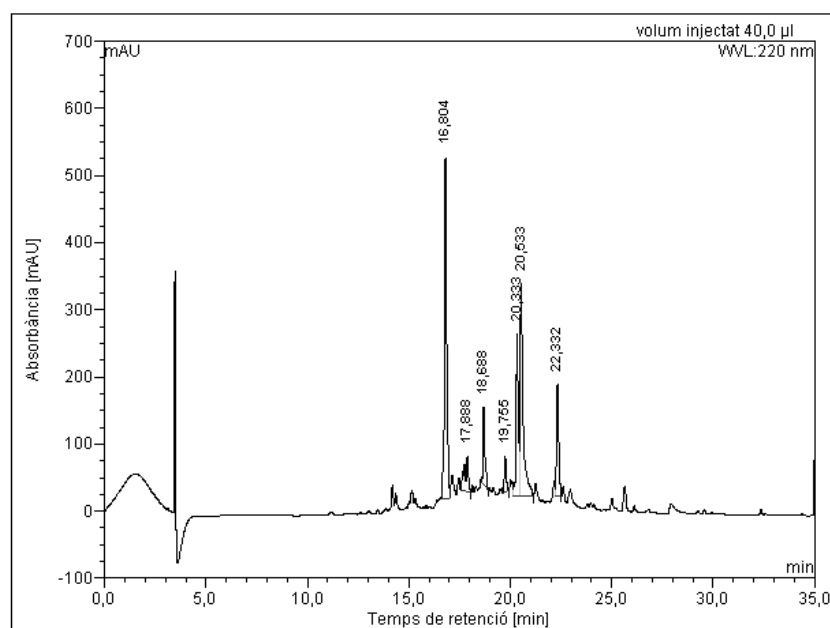
ESI-MS  $m/z$



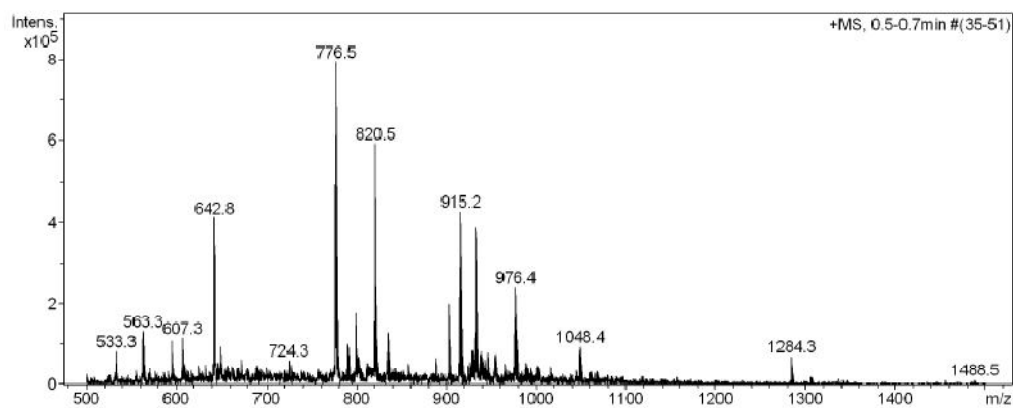
**H-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-BPin,Me)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

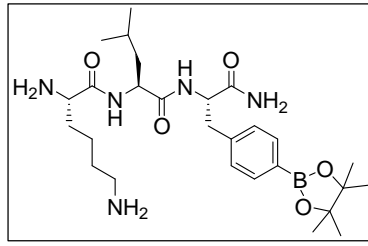
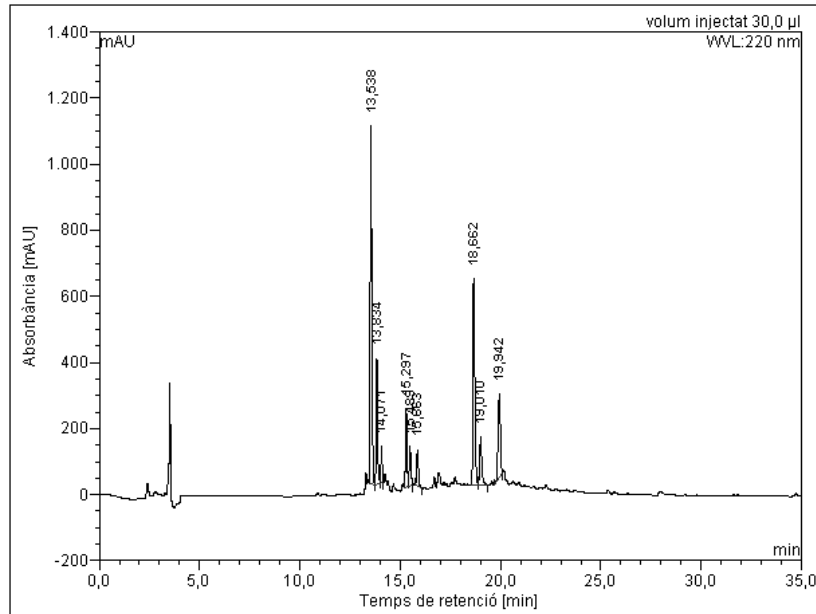
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	17,17	469,682	64,511	41,80
2	17,55	67,155	5,698	3,69
3	17,86	366,610	38,677	25,06
4	18,36	127,243	24,714	16,01
5	19,00	92,206	9,435	6,11
6	19,25	109,547	11,281	7,31
Total:		1232,443	154,316	100,00

ESI-MS  $m/z$ 

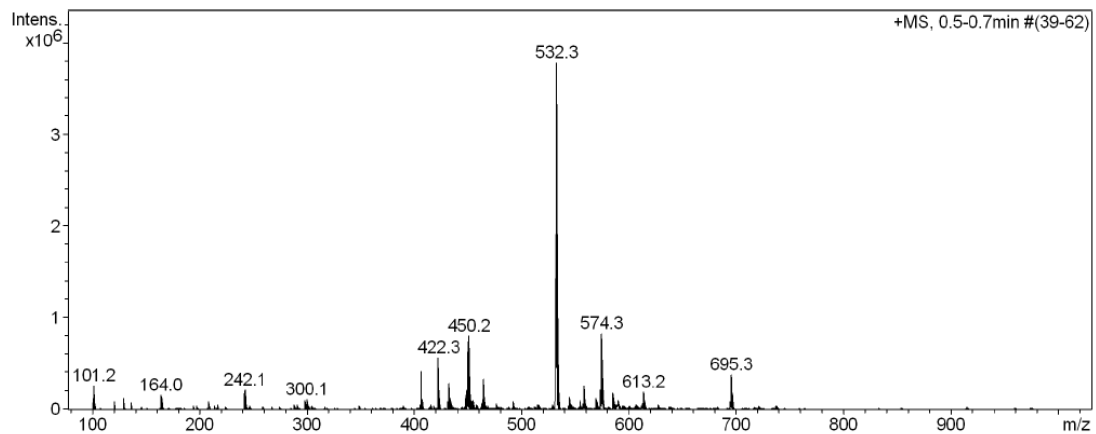
**H-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-BPin)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>**HPLC ( $\lambda = 220$  nm)

No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	16,80	507,133	65,722	32,99
2	17,89	51,842	11,586	5,82
3	18,69	114,311	12,715	6,38
4	19,76	52,345	5,878	2,95
5	20,33	241,002	29,514	14,82
6	20,53	315,449	53,106	26,66
7	22,33	165,859	20,680	10,38
Total:		1447,942	199,199	100,00

ESI-MS  $m/z$ 

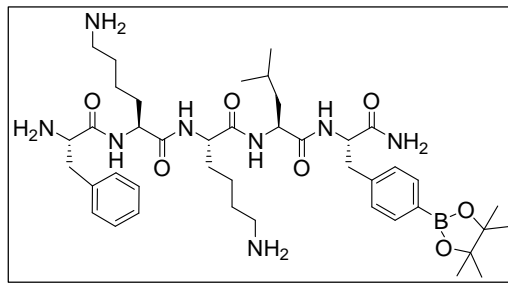
**H-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub>**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	13,54	1083,231	100,840	33,03
2	13,83	380,460	31,879	10,44
3	14,07	109,779	8,329	2,73
4	15,30	234,641	21,269	6,97
5	15,49	118,851	11,696	3,83
6	15,86	109,579	11,095	3,63
7	18,66	624,919	69,876	22,89
8	19,01	145,653	17,696	5,80
9	19,94	252,733	32,620	10,68
Total:		3059,846	305,300	100,00

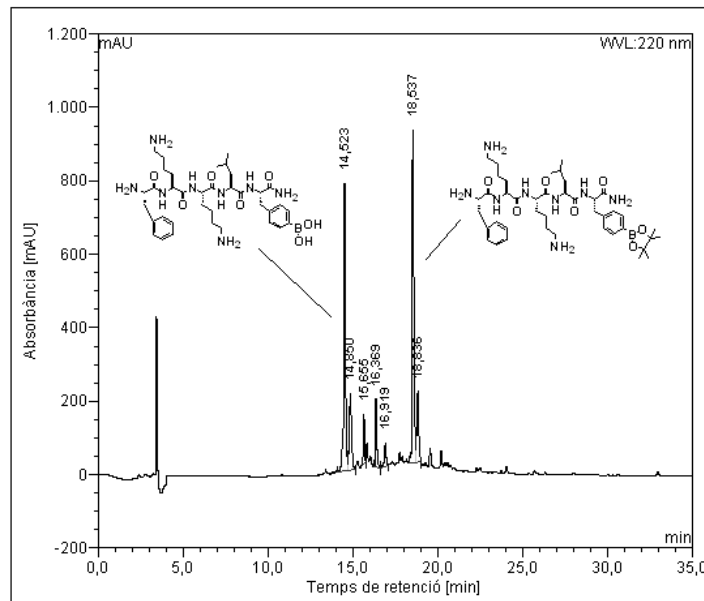
ESI-MS  $m/z$ 



**H-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub>**

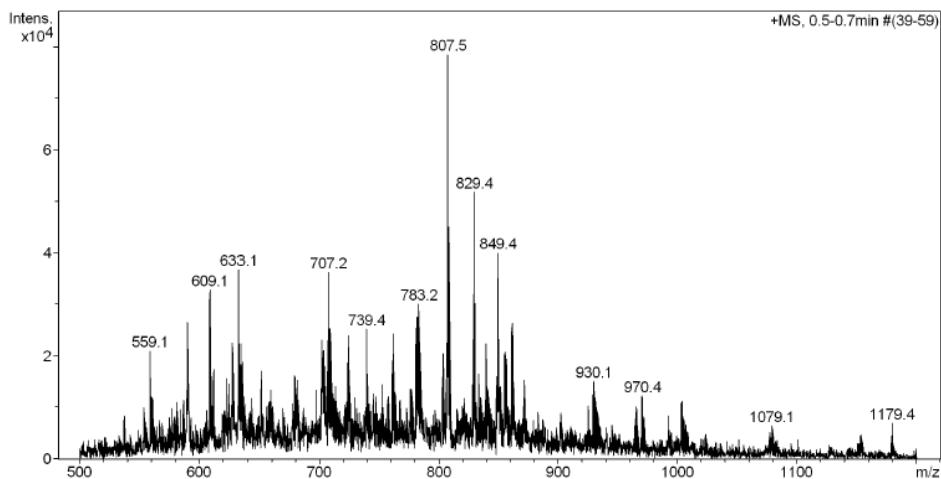


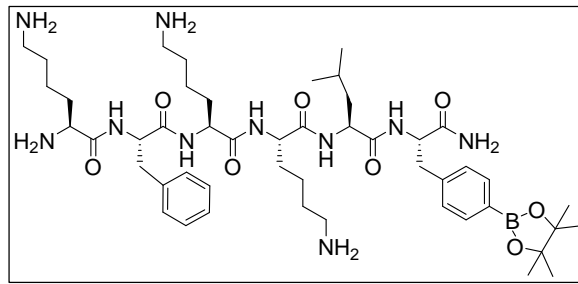
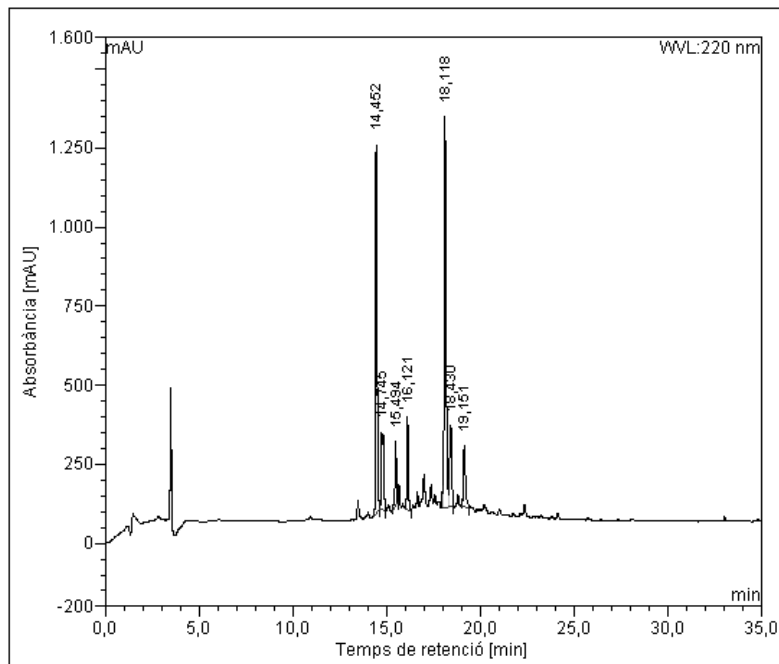
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )



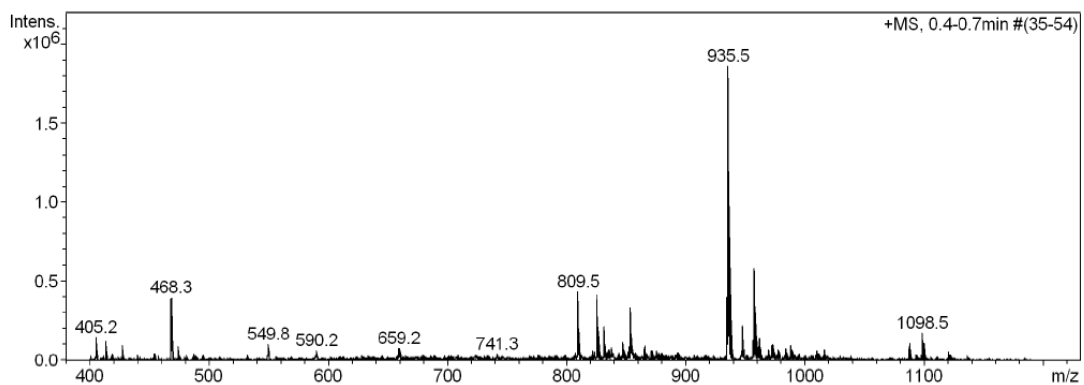
No.	Ret.Time min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	14,52	782,820	88,474	30,32
2	14,85	207,599	32,378	11,10
3	15,65	135,392	11,604	3,98
4	16,37	185,383	18,090	6,20
5	16,92	62,329	7,212	2,47
6	18,54	904,297	108,368	37,13
7	18,84	193,218	25,697	8,81
Total:		2471,038	291,822	100,00

ESI-MS  $m/z$

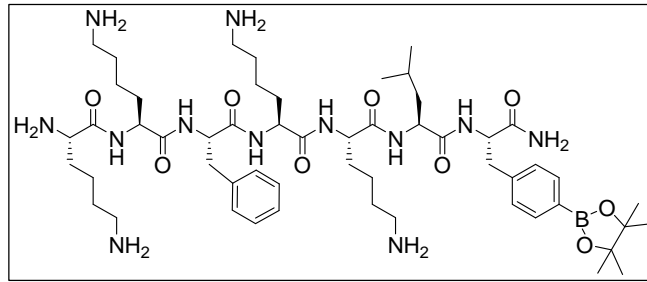


**H-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub>**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

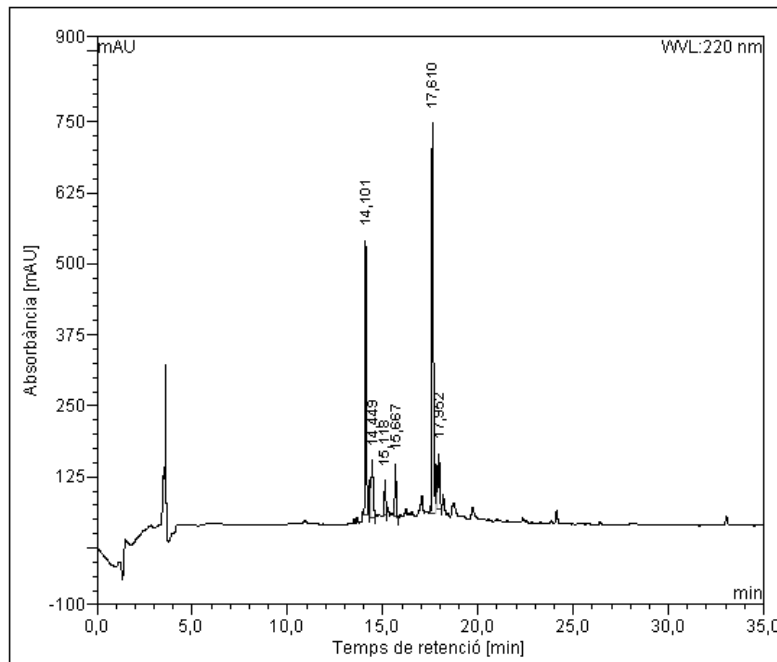
No.	Ret.Time min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	14,45	1167,380	114,093	28,37
2	14,75	243,822	39,207	9,75
3	15,49	202,643	18,823	4,68
4	16,12	293,445	26,146	6,50
5	18,12	1234,265	141,705	35,24
6	18,43	254,268	36,893	9,17
7	19,15	193,017	25,272	6,28
Total:		3588,840	402,139	100,00

ESI-MS  $m/z$ 

**H-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub>**

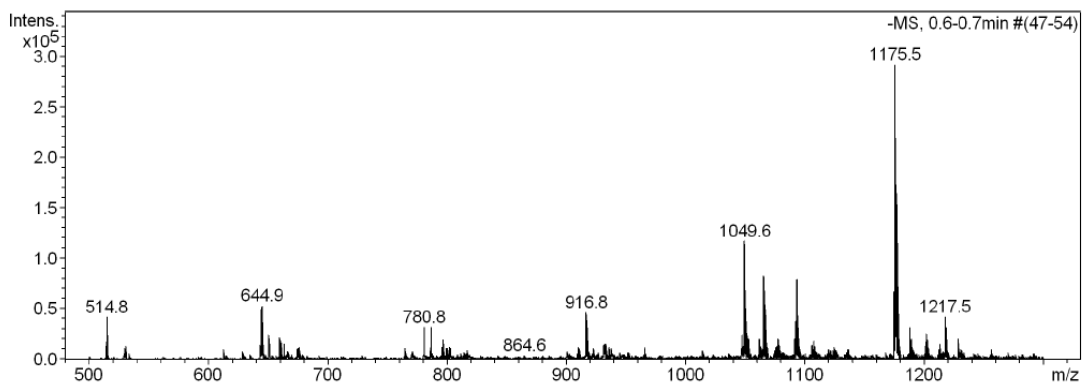


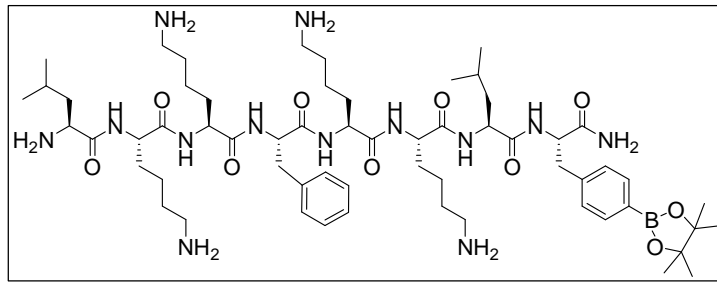
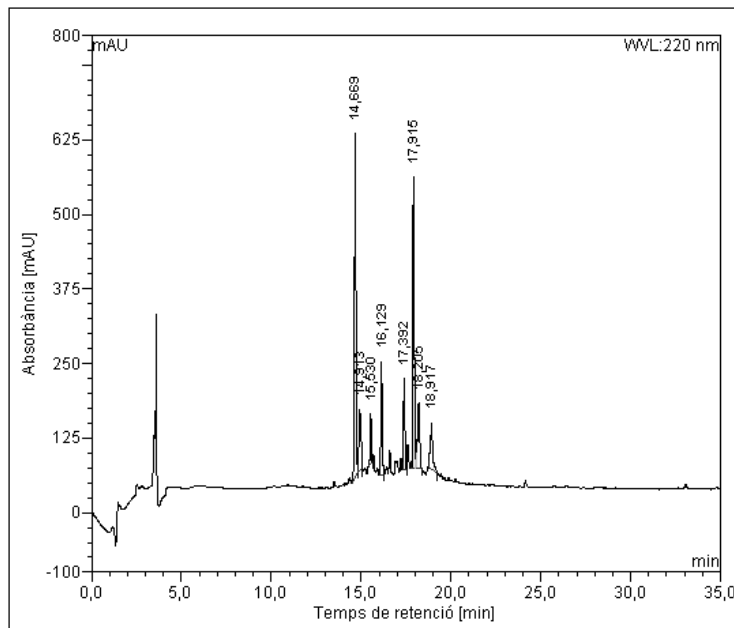
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )



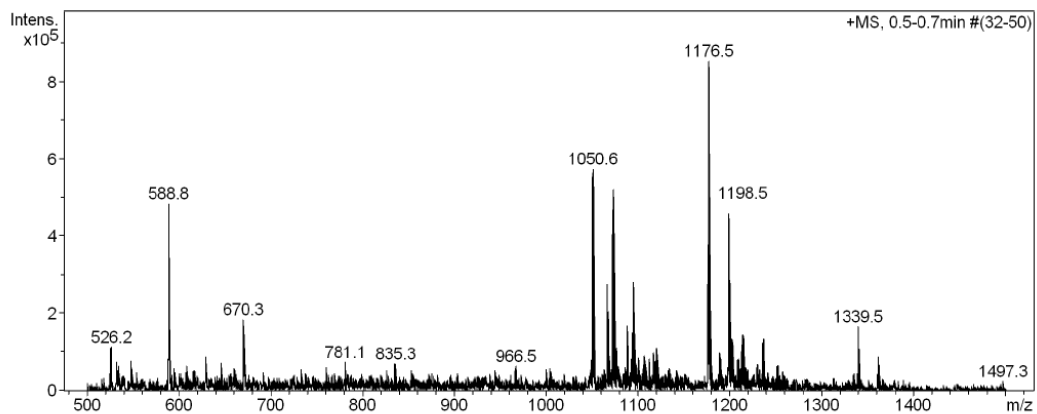
No.	Ret.Time min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	14,10	482,453	39,392	28,25
2	14,45	99,233	10,951	7,85
3	15,12	60,971	4,803	3,44
4	15,67	92,025	7,738	5,55
5	17,61	685,751	67,194	48,18
6	17,95	95,587	9,379	6,73
Total:		1516,019	139,456	100,00

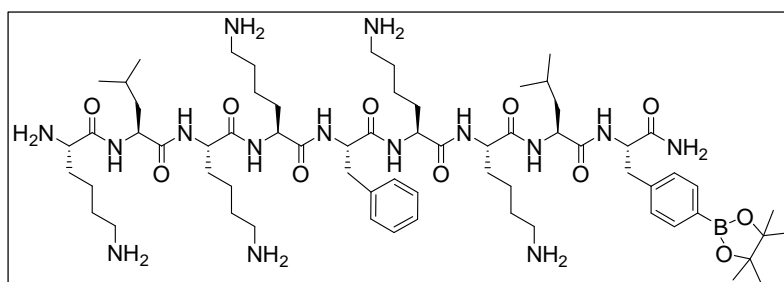
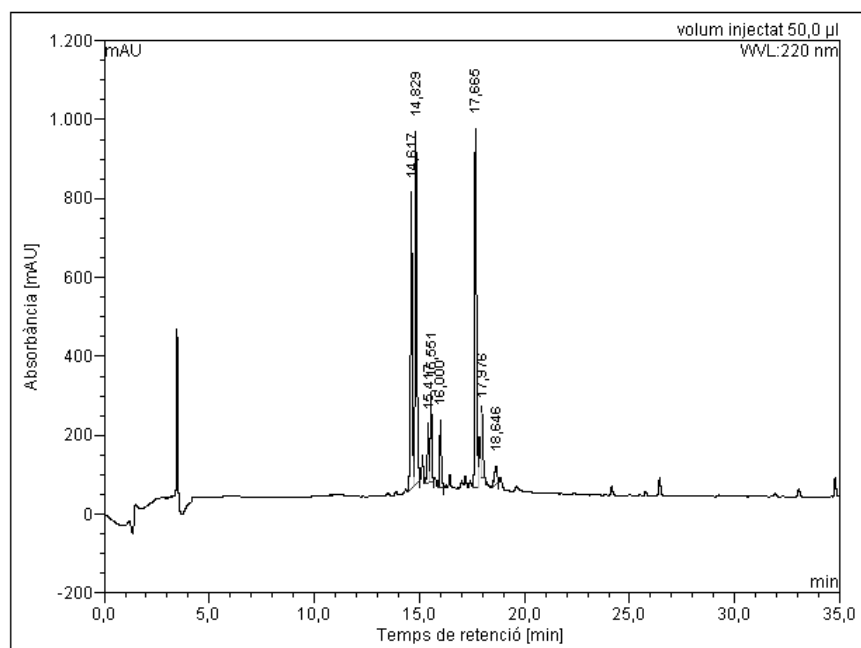
ESI-MS  $m/z$



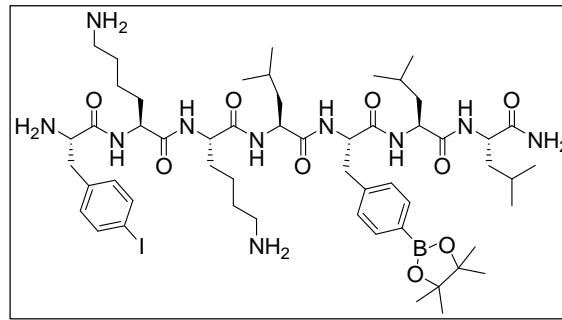
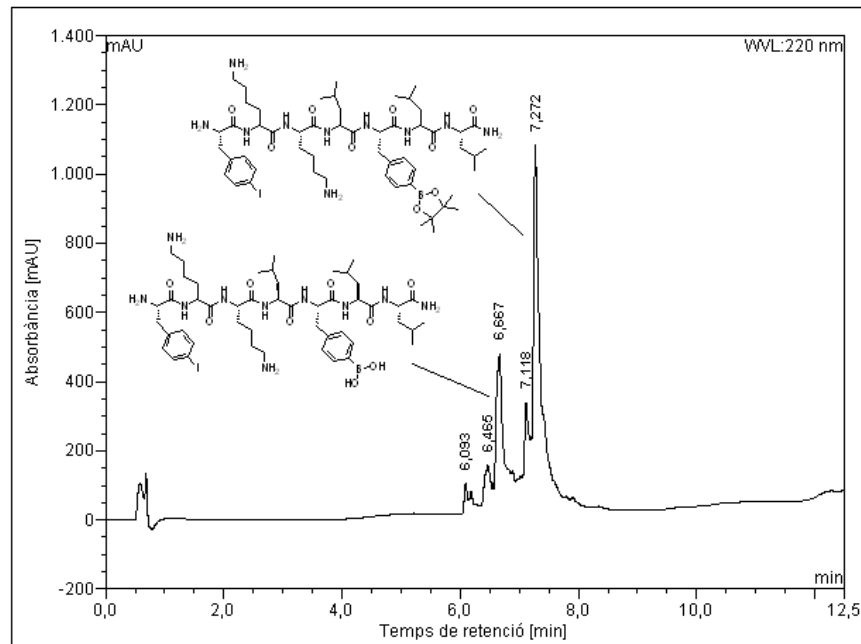
**H-Leu-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub>**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

No.	Ret.Time min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	14,67	574,617	53,040	29,26
2	14,91	103,063	14,612	8,06
3	15,53	83,557	6,739	3,72
4	16,13	189,531	17,588	9,70
5	17,39	151,630	13,440	7,41
6	17,91	488,072	47,875	26,41
7	18,20	108,199	15,915	8,78
8	18,92	78,370	12,063	6,65
Total:		1777,039	181,273	100,00

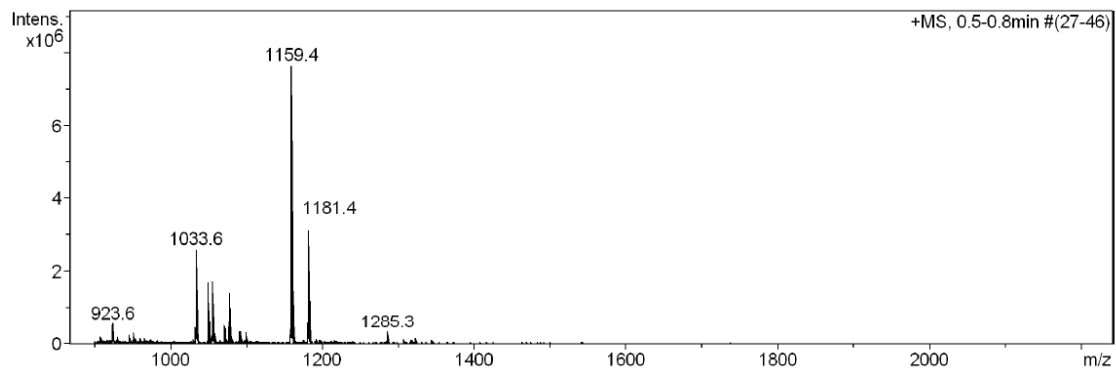
ESI-MS  $m/z$ 

**H-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub>**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

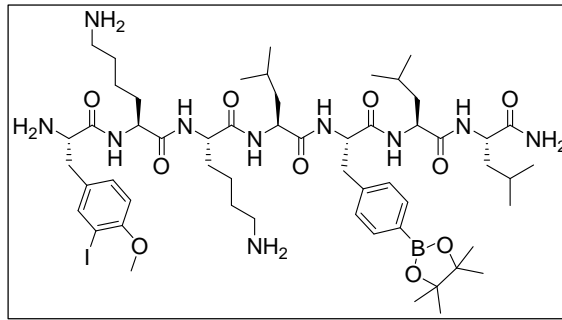
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU <sup>2</sup> min	Rel.Area %
1	14,62	749,742	70,977	22,44
2	14,83	895,011	87,458	27,65
3	15,42	149,842	13,087	4,14
4	15,55	229,182	19,653	6,21
5	16,00	170,096	14,879	4,70
6	17,67	907,695	93,881	29,68
7	17,98	167,404	9,269	2,93
8	18,65	47,325	7,114	2,25
Total:		3316,297	316,319	100,00

**H-Phe(4-I)-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

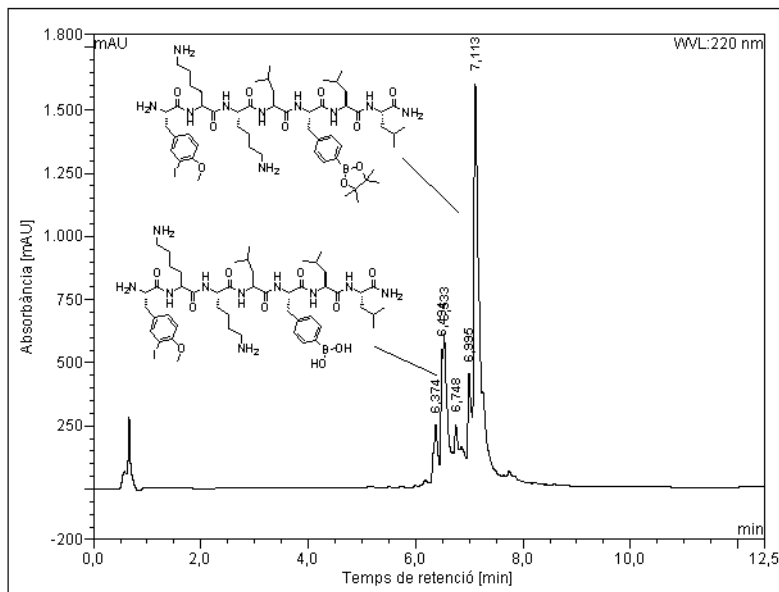
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU <sup>2</sup> min	Rel.Area %
1	6,09	117,272	8,853	2,95
2	6,46	164,946	24,098	8,03
3	6,67	487,973	76,471	25,48
4	7,12	343,599	34,467	11,49
5	7,27	1087,930	156,179	52,05
Total:		2201,720	300,068	100,00

ESI-MS  $m/z$ 

**H-Tyr(3-I,Me)-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>**

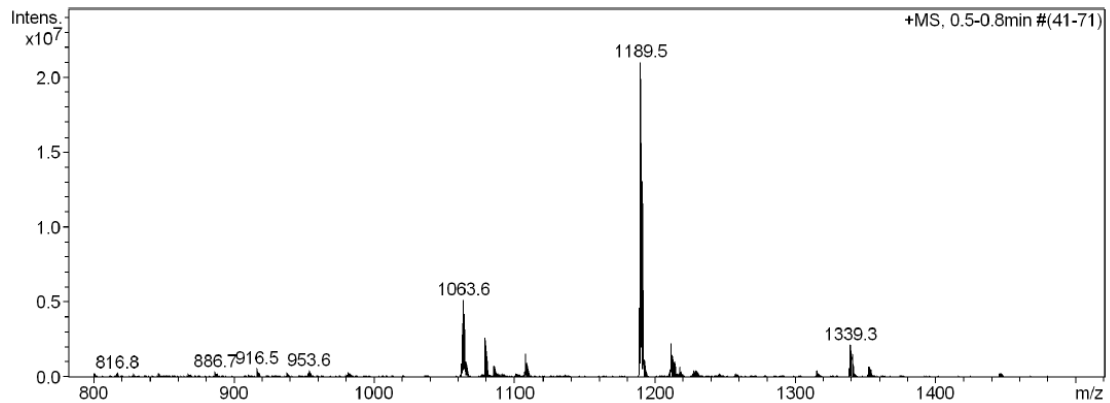


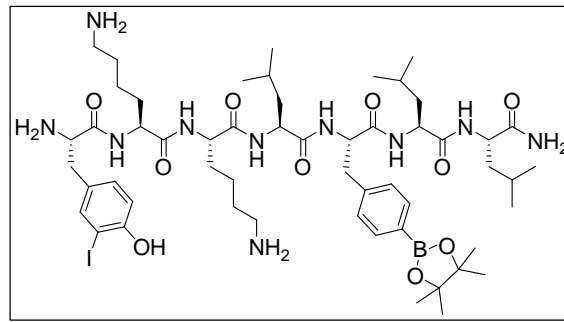
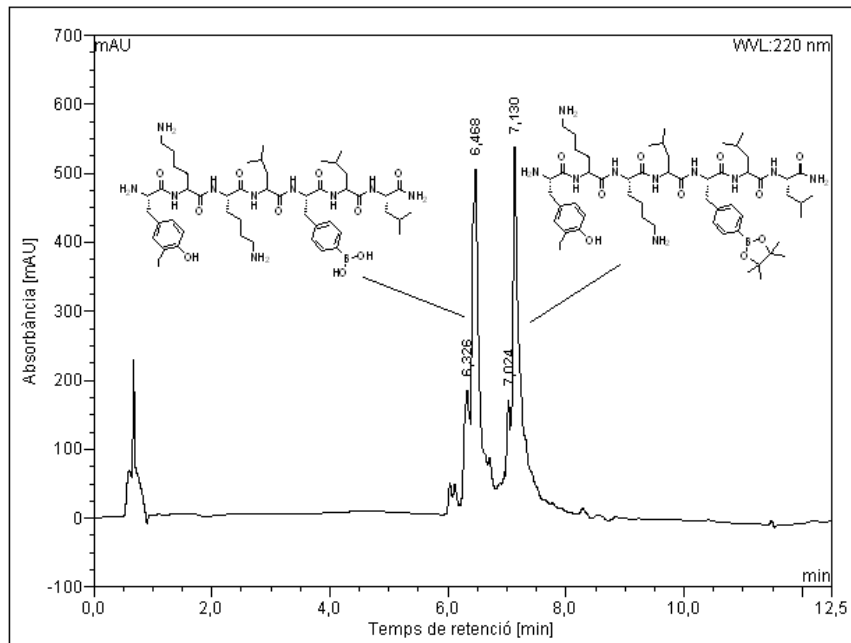
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )



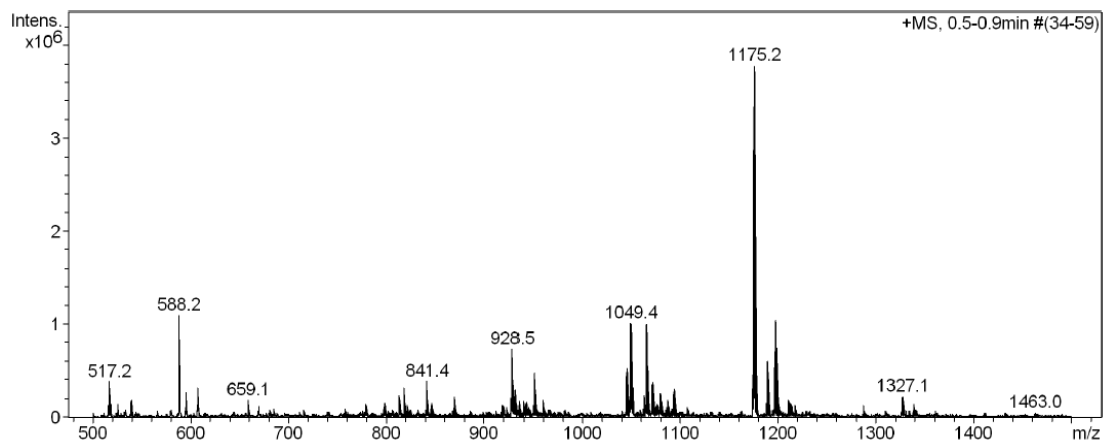
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	6,37	221,345	19,095	5,93
2	6,49	505,904	18,921	5,88
3	6,53	565,918	42,147	13,09
4	6,75	234,686	20,516	6,37
5	7,00	430,627	32,124	9,98
6	7,11	1578,115	189,083	58,74
Total:		3536,596	321,887	100,00

ESI-MS  $m/z$



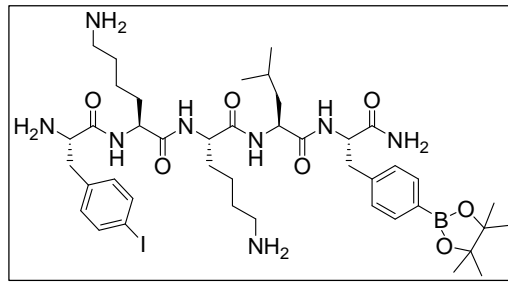
**H-Tyr(3-I)-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	6,33	184,390	18,491	11,02
2	6,47	504,904	66,155	39,42
3	7,02	167,825	13,055	7,78
4	7,13	534,632	70,133	41,79
Total:		1391,752	167,834	100,00

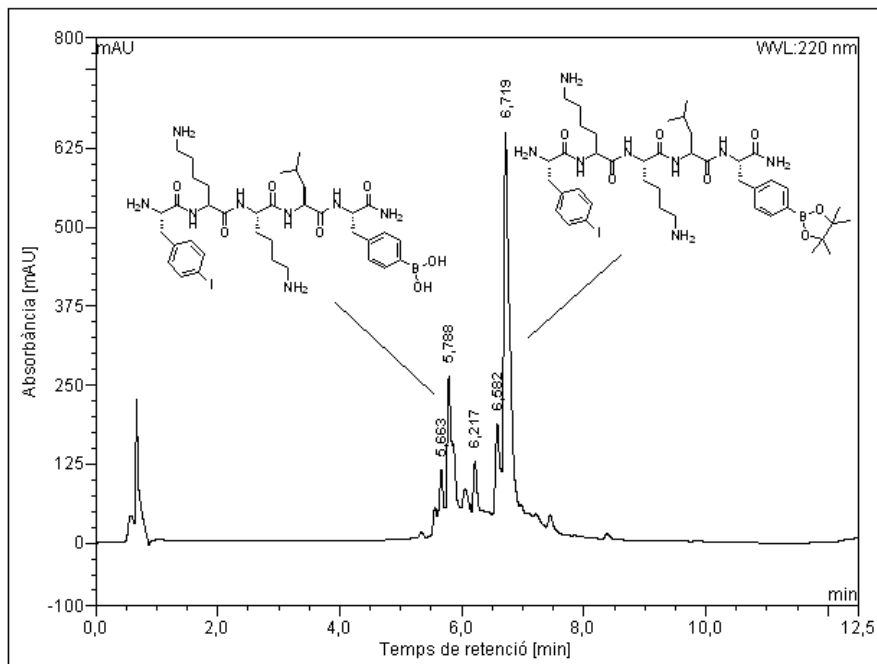
ESI-MS  $m/z$ 



**H-Phe(4-I)-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub>**

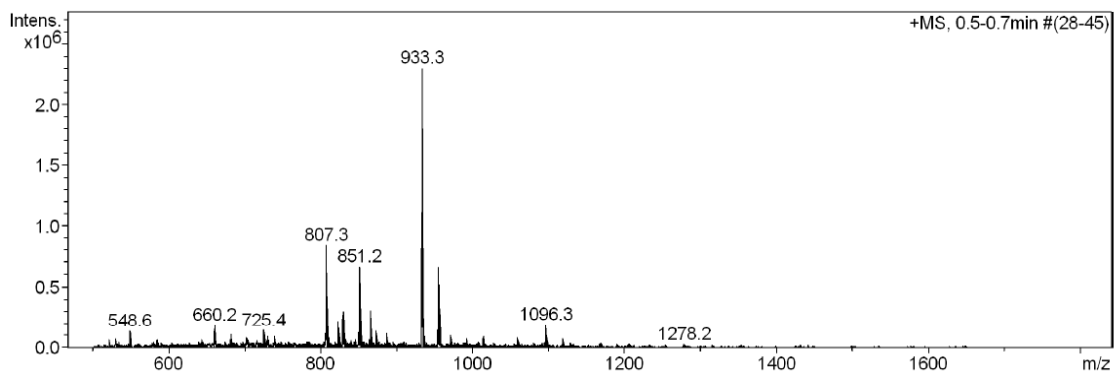


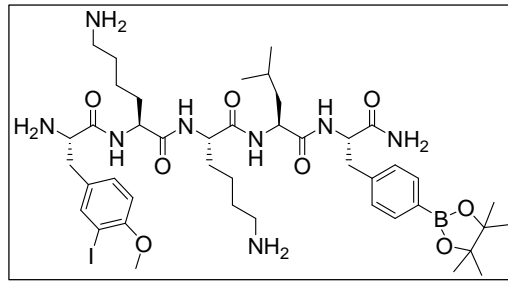
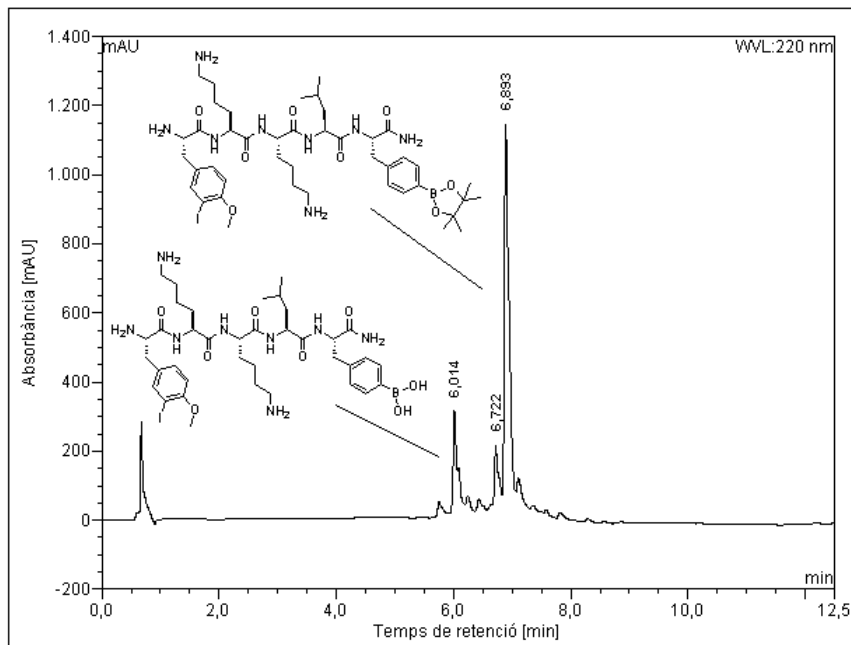
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )



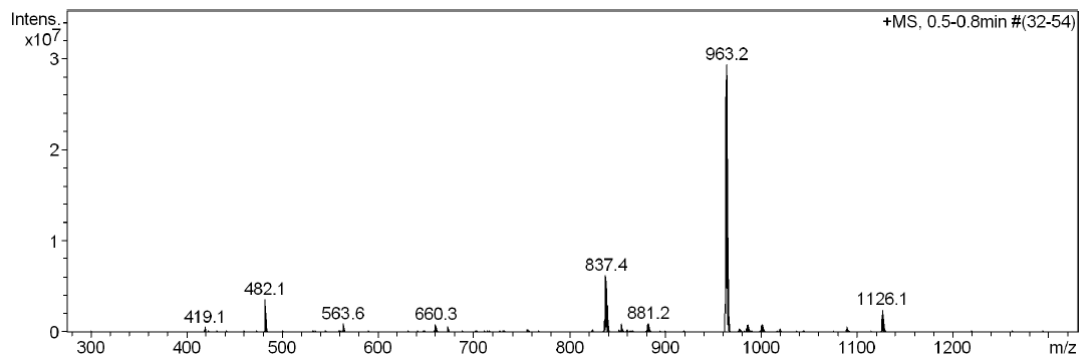
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	5,66	103,295	7,920	5,62
2	5,79	252,218	30,883	21,93
3	6,22	117,940	10,885	7,73
4	6,58	175,161	15,532	11,03
5	6,72	638,390	75,605	53,69
Total:		1287,004	140,825	100,00

ESI-MS  $m/z$

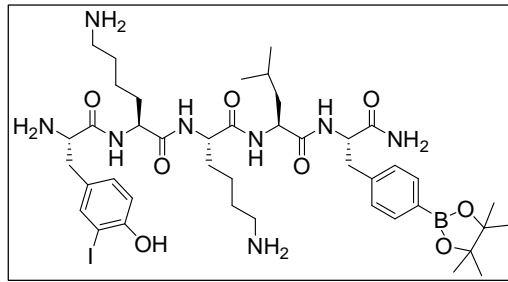


**H-Tyr(3-I,Me)-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub>**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

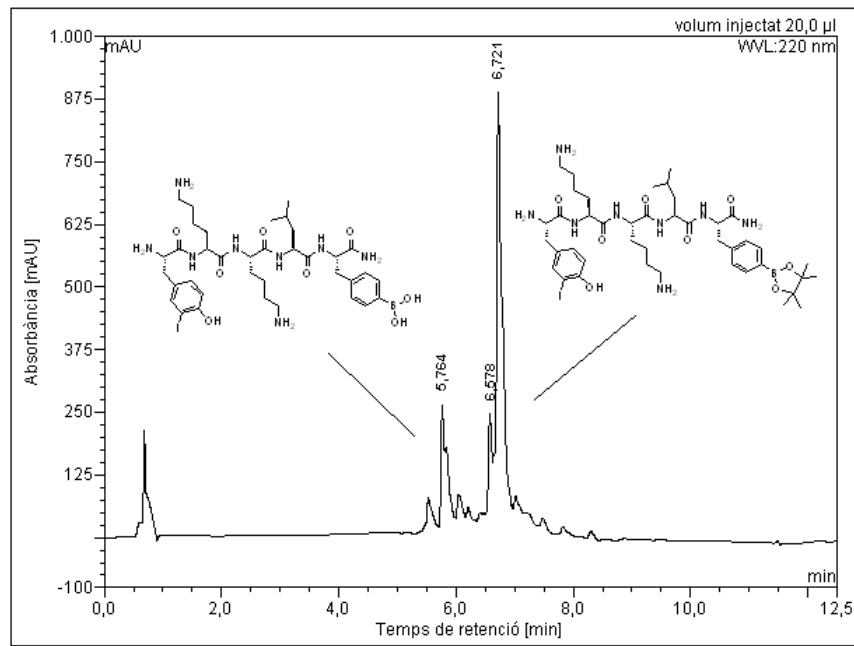
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	6,01	293,693	25,966	17,79
2	6,72	191,265	16,616	11,39
3	6,89	1118,129	103,348	70,82
Total:		1603,086	145,929	100,00

ESI-MS  $m/z$ 

**H-Tyr(3-I)-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub>**

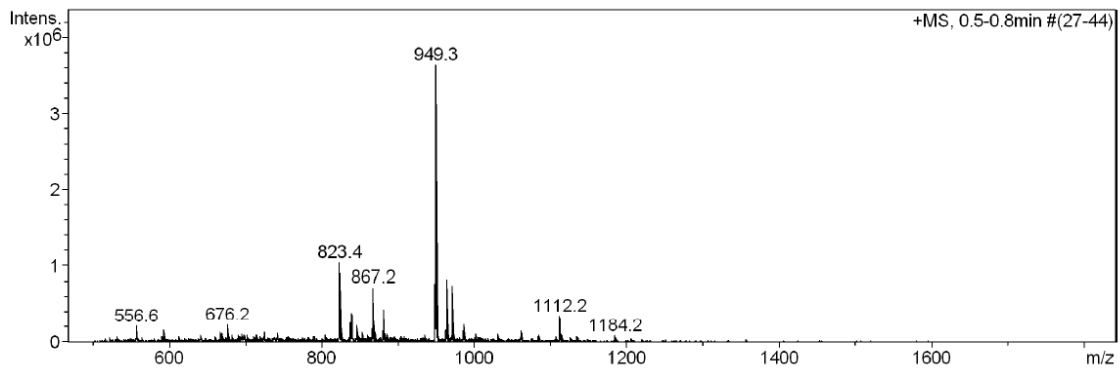


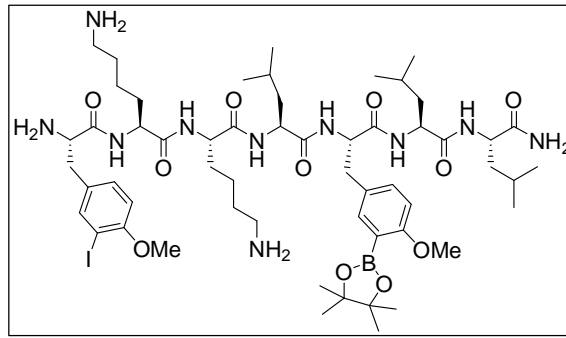
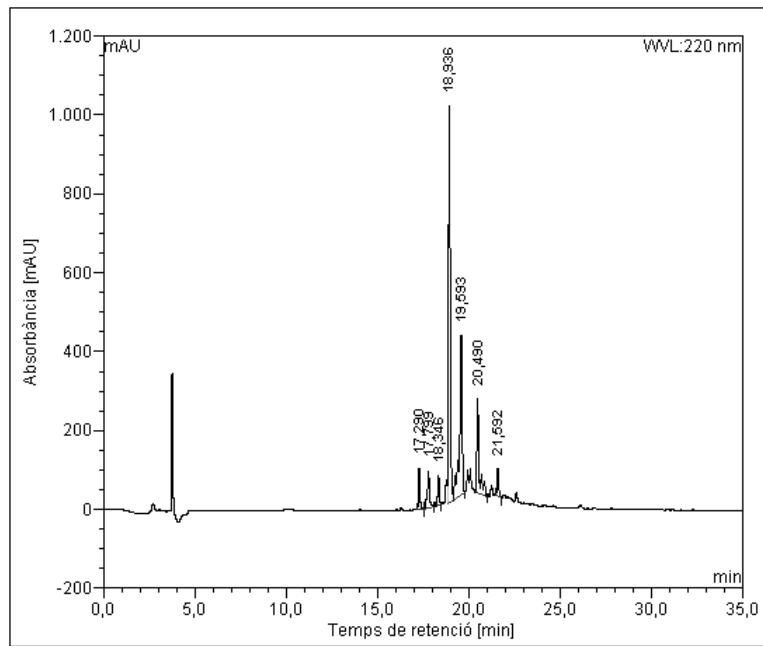
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )



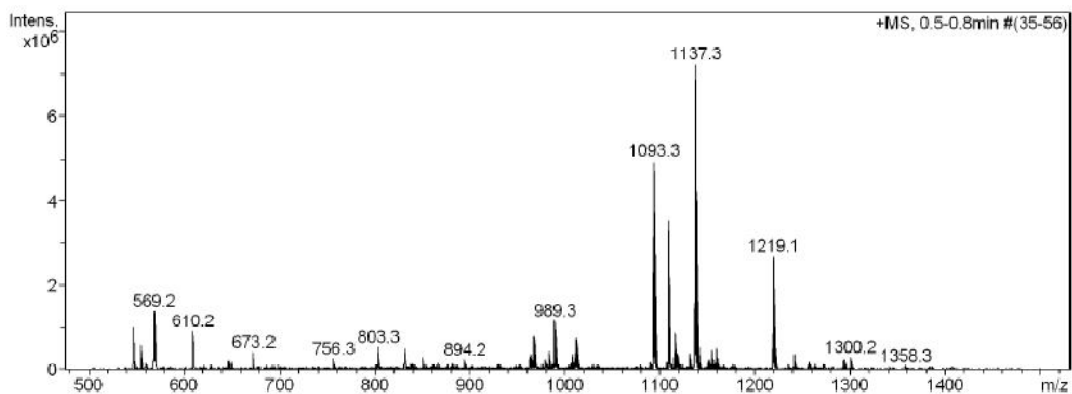
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	5,76	263,542	34,367	21,54
2	6,58	247,003	18,652	11,69
3	6,72	889,378	106,553	66,77
Total:		1399,923	159,573	100,00

ESI-MS  $m/z$

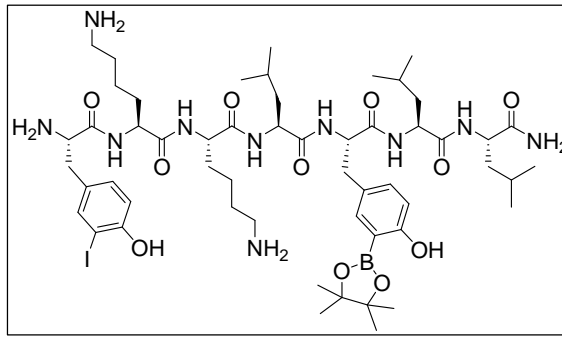


**H-Tyr(3-I,Me)-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-BPin,Me)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

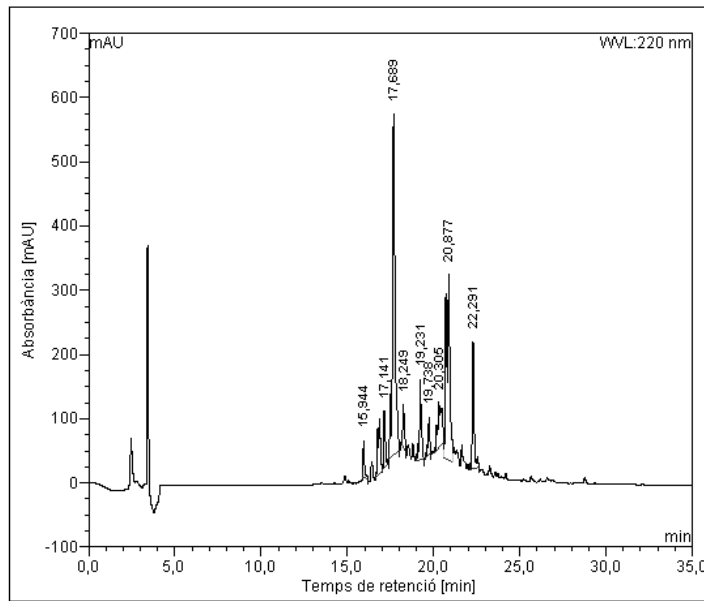
No.	Ret.Time min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	17,29	104,472	10,124	4,01
2	17,80	92,056	12,654	5,02
3	18,35	76,160	7,595	3,01
4	18,94	1003,644	112,775	44,72
5	19,59	400,776	66,792	26,49
6	20,49	240,020	35,025	13,89
7	21,59	68,145	7,218	2,86
Total:		1985,273	252,184	100,00

ESI-MS  $m/z$ 

**H-Tyr(3-I)-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-BPin)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>**

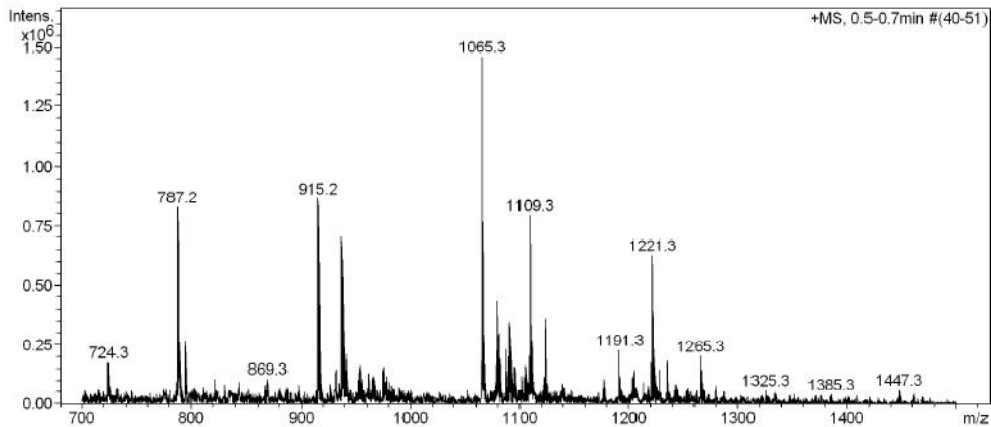


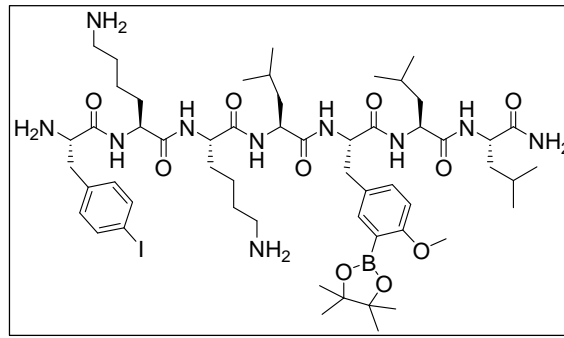
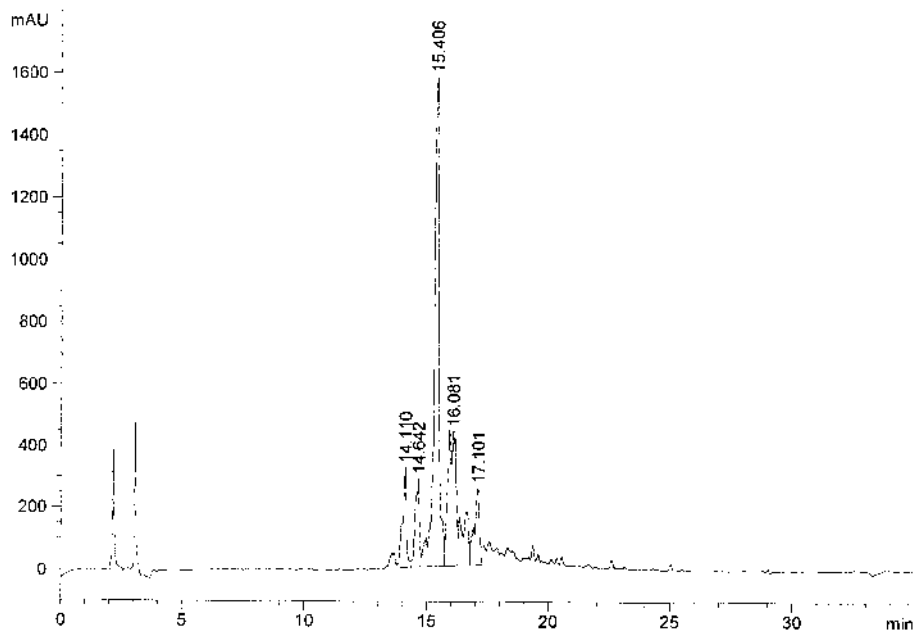
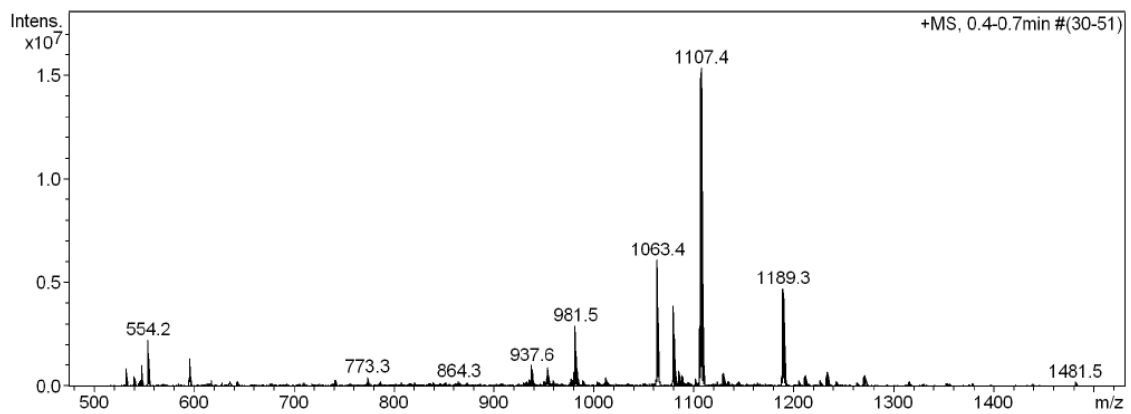
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )



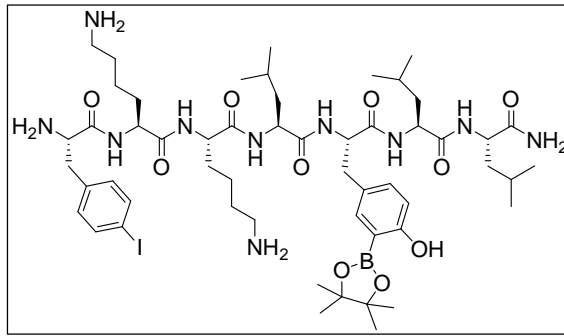
No.	Ret.Time min	Height mAU	Area mAU <sup>2</sup> min	Rel.Area %
1	15,94	58,053	5,768	2,12
2	17,14	87,538	24,985	9,17
3	17,69	531,100	97,366	35,73
4	18,25	64,303	7,579	2,78
5	19,23	124,762	15,962	5,86
6	19,74	58,566	6,505	2,39
7	20,31	72,007	20,521	7,53
8	20,88	287,857	69,967	25,67
9	22,29	197,777	23,889	8,77
Total:		1481,964	272,542	100,00

ESI-MS  $m/z$

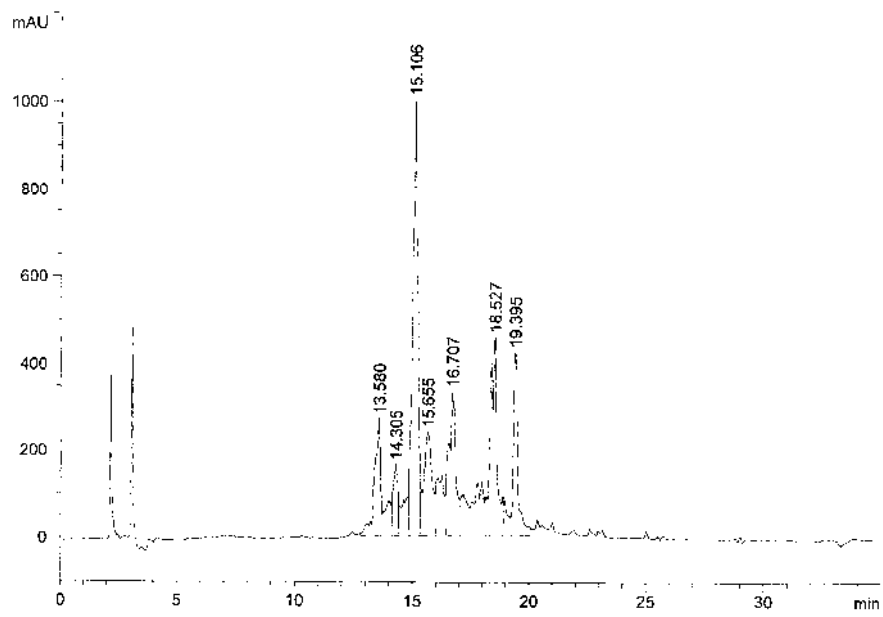


**H-Phe(4-I)-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-BPin,Me)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )ESI-MS  $m/z$ 

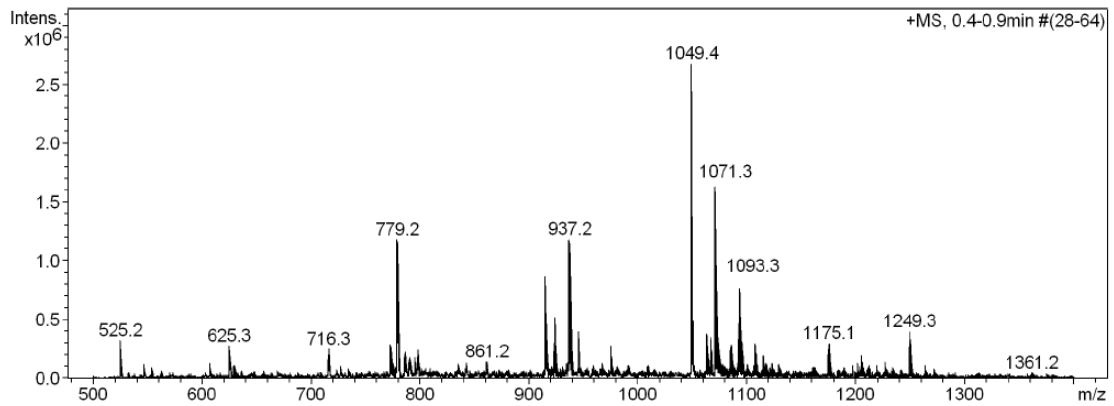
**H-Phe(4-I)-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-BPin)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub>**

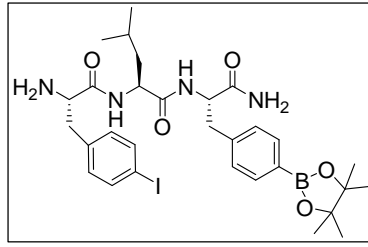
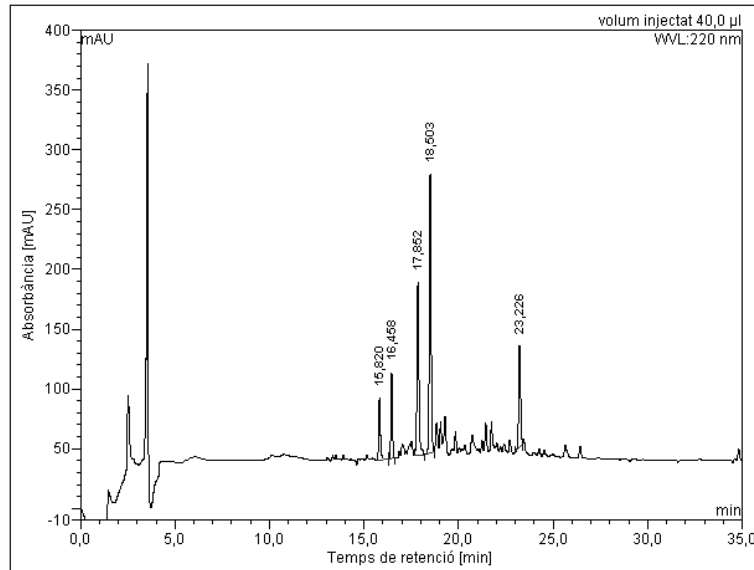


HPLC ( $\lambda = 220$  nm)

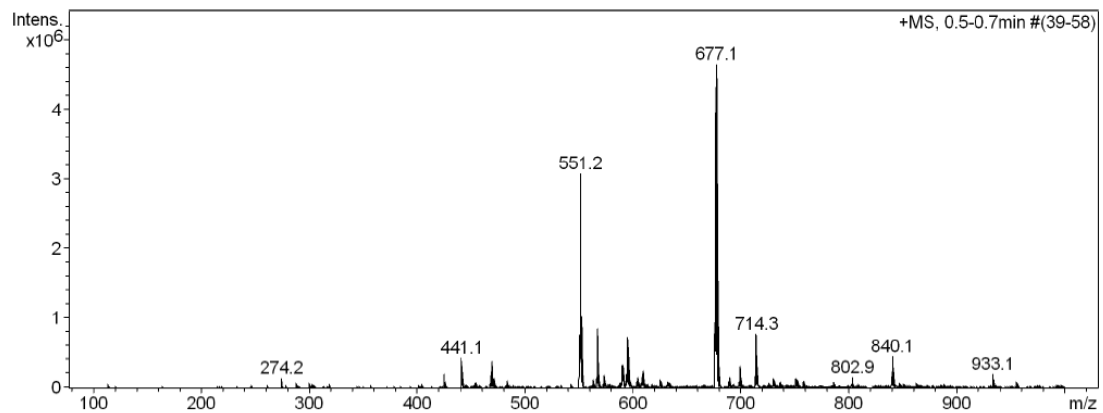


ESI-MS  $m/z$



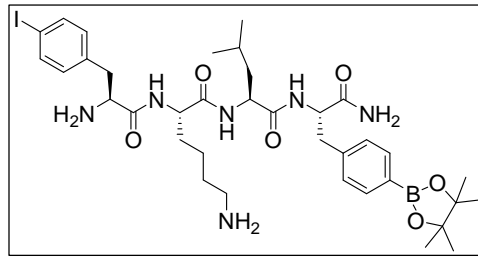
**H-Phe(4-I)-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub>**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	15,82	50,996	5,232	8,11
2	16,46	71,979	6,790	10,53
3	17,85	144,243	17,184	26,64
4	18,50	233,163	25,290	39,21
5	23,23	84,918	10,006	15,51
Total:		585,299	64,502	100,00

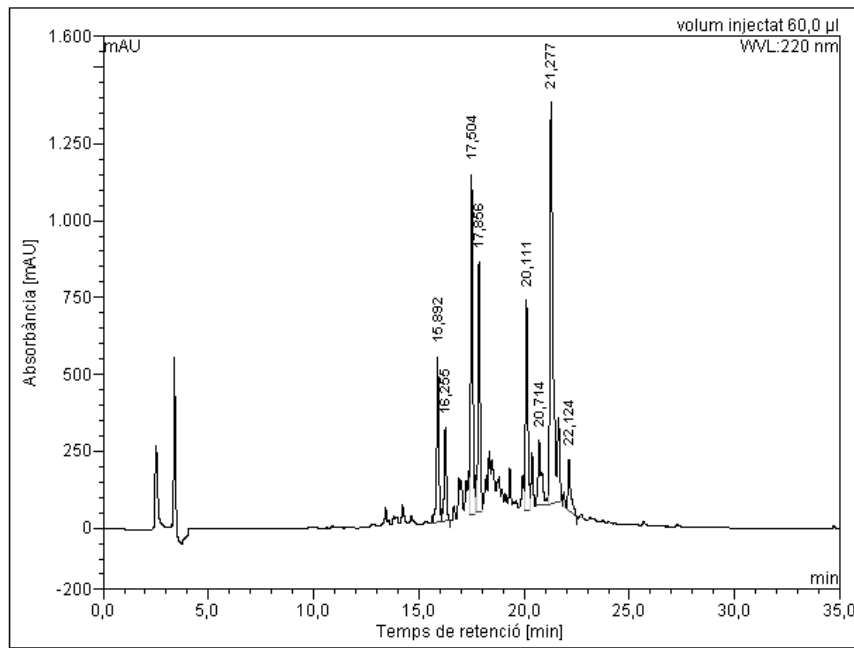
ESI-MS  $m/z$ 



**H-Phe(4-I)-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub>**

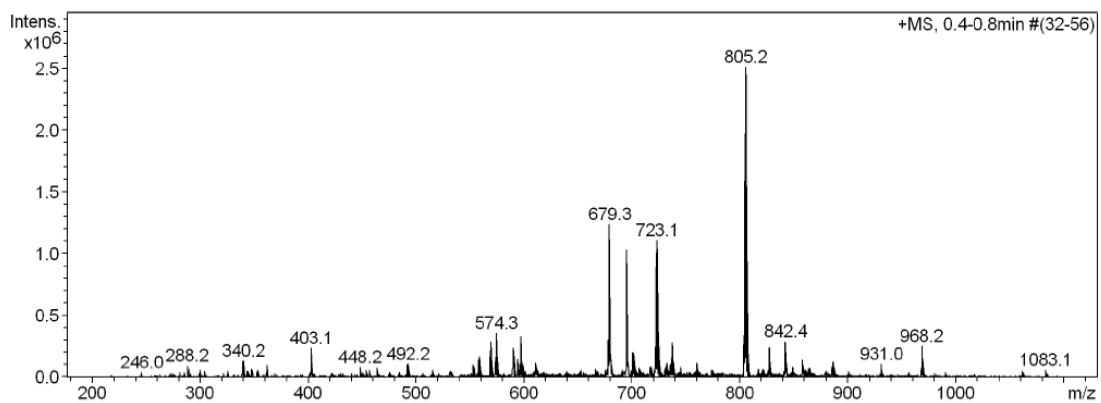


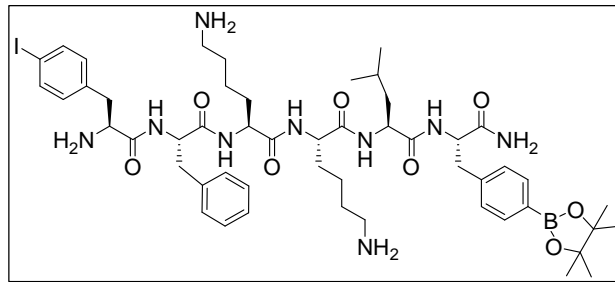
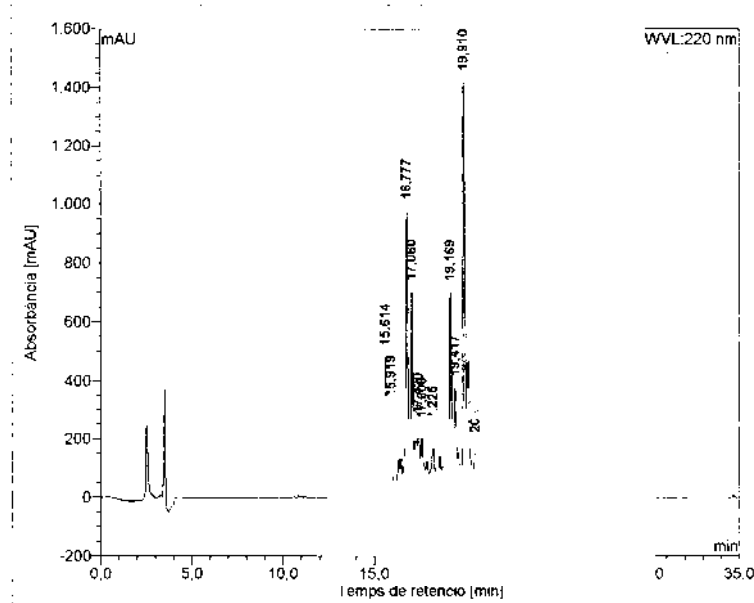
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )



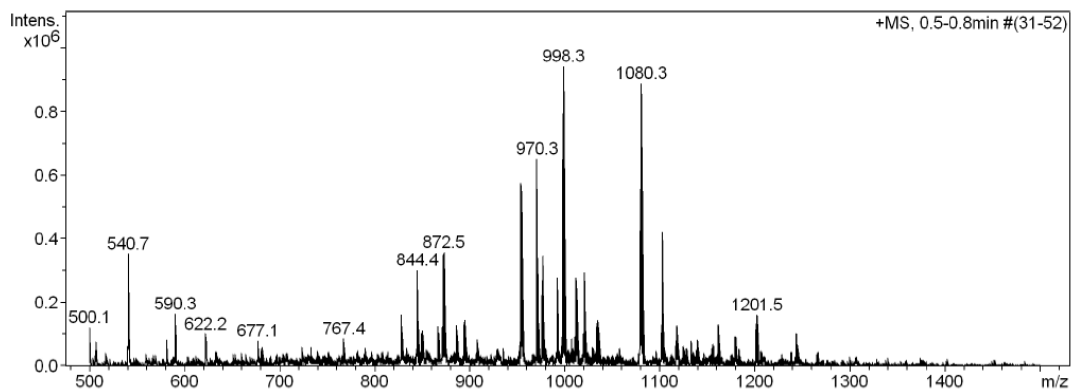
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	15,89	534,982	61,317	8,54
2	16,25	304,439	37,615	5,24
3	17,50	1104,911	127,523	17,77
4	17,86	810,576	90,254	12,57
5	20,11	682,312	86,116	12,00
6	20,71	209,522	41,041	5,72
7	21,28	1306,208	247,677	34,51
8	22,12	166,408	26,182	3,65
Total:		5119,358	717,724	100,00

ESI-MS  $m/z$

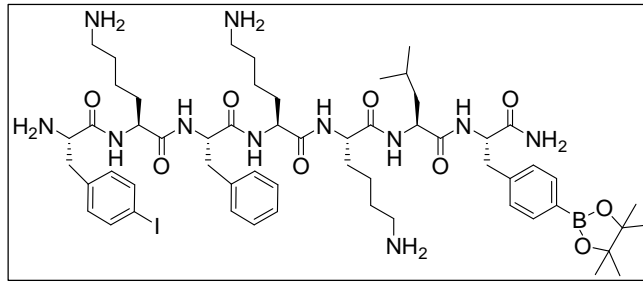


**H-Phe(4-I)-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub>**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

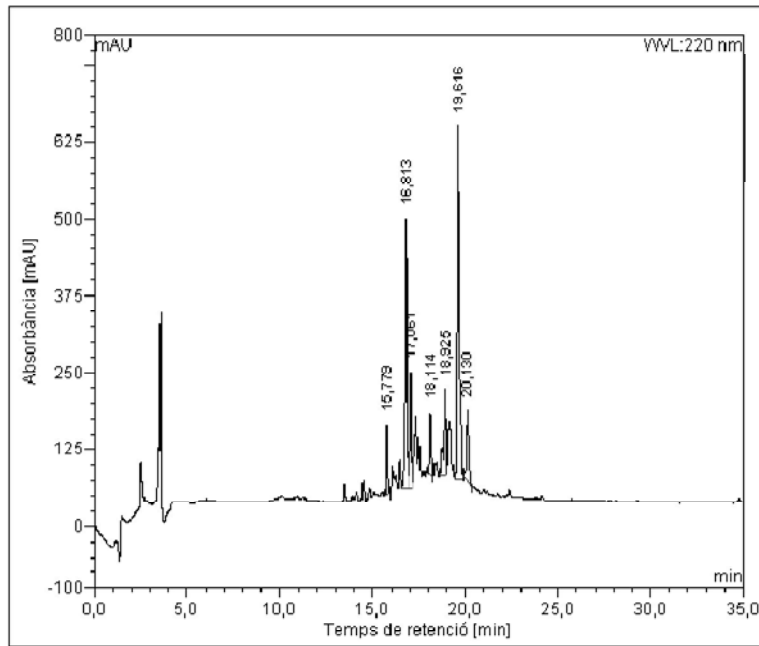
No.	mps retenc min	alçada mAU	Area mAU*min	Area relativa %
1	15,61	467,249	47,642	6,79
2	15,92	287,647	35,339	5,03
3	16,78	949,642	126,851	18,07
4	17,06	672,320	81,267	11,58
5	17,42	214,777	35,022	4,99
6	17,61	180,650	22,120	3,15
7	18,23	136,029	20,432	2,91
8	19,17	614,737	84,148	9,14
9	19,42	292,866	35,346	5,04
10	19,91	1342,474	214,406	30,55
11	20,54	115,878	19,332	2,75
Total:		5274,266	701,906	100,00

ESI-MS  $m/z$ 

**H-Phe(4-I)-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub>**

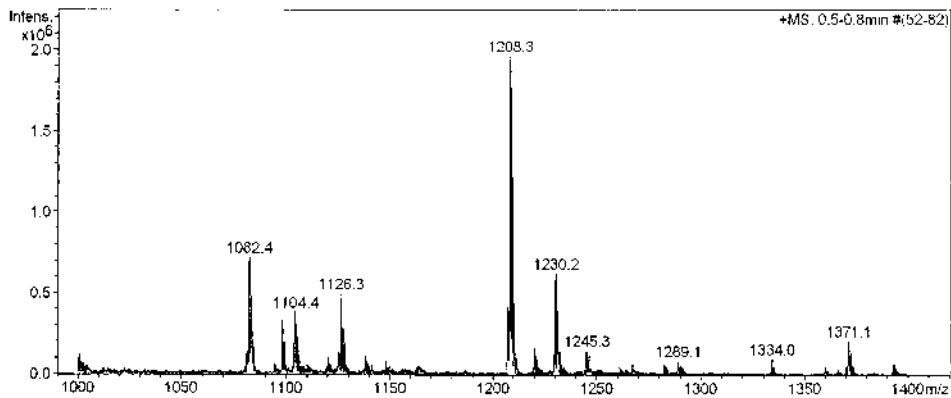


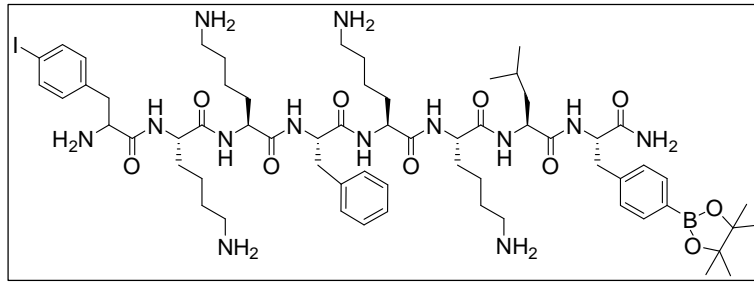
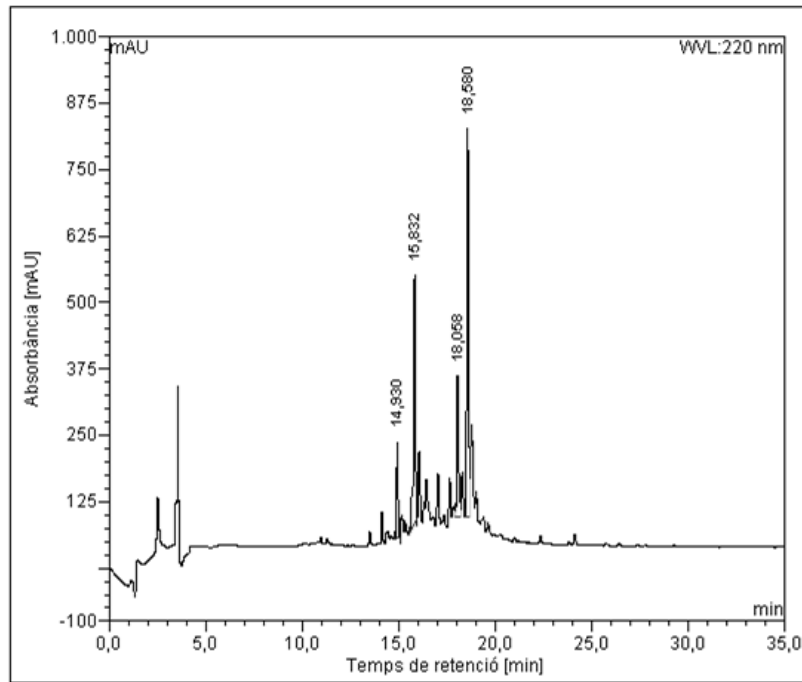
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )



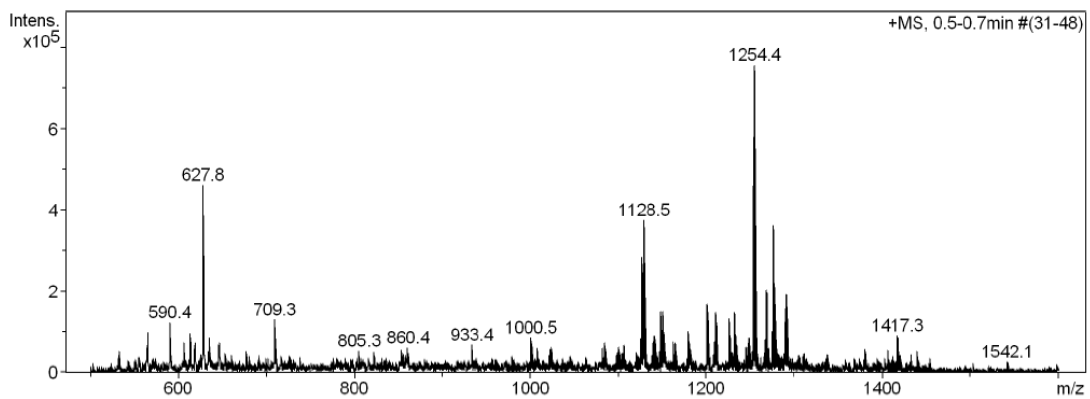
No.	Ret.Time min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	15,78	112,402	10,090	5,08
2	16,81	437,382	46,567	23,42
3	17,06	188,202	21,220	10,67
4	18,11	99,939	10,927	5,50
5	18,93	139,499	19,618	9,87
6	19,62	574,023	74,834	37,64
7	20,13	113,972	15,545	7,82
Total:		1665,421	198,802	100,00

ESI-MS  $m/z$

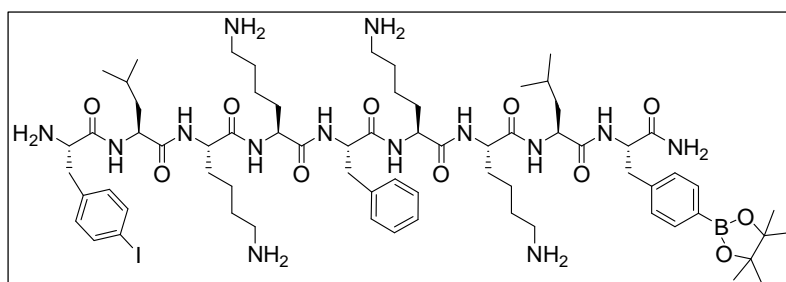


**H-Phe(4-I)-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub>**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

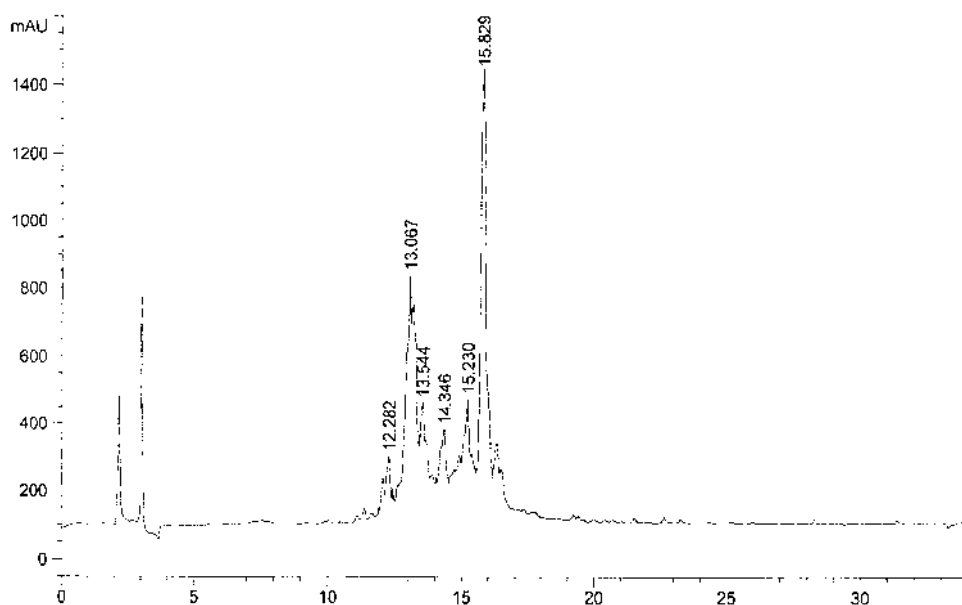
No.	Ret.Time min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	14,93	180,899	15,985	9,12
2	15,83	465,868	51,425	29,35
3	18,06	264,713	29,162	16,64
4	18,58	729,962	78,658	44,89
Total:		1641,441	175,229	100,00

ESI-MS  $m/z$ 

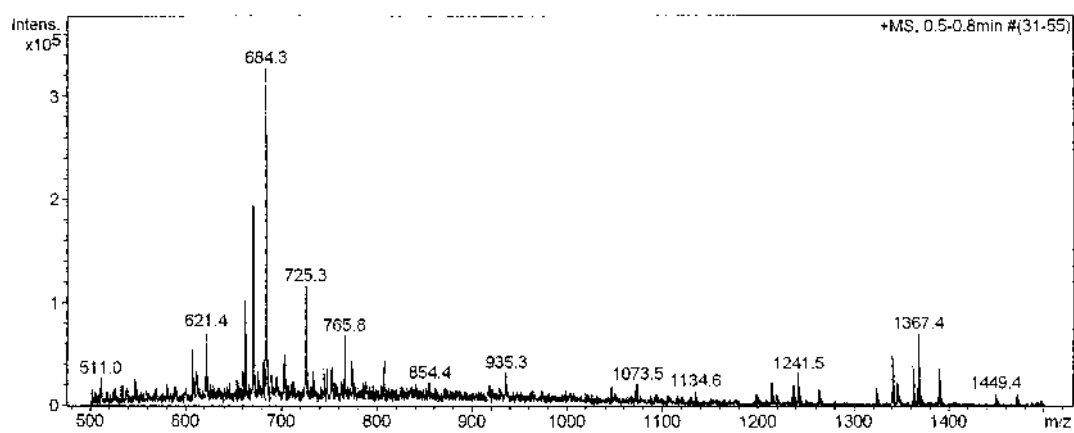
**H-Phe(4-I)-Leu-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub>**

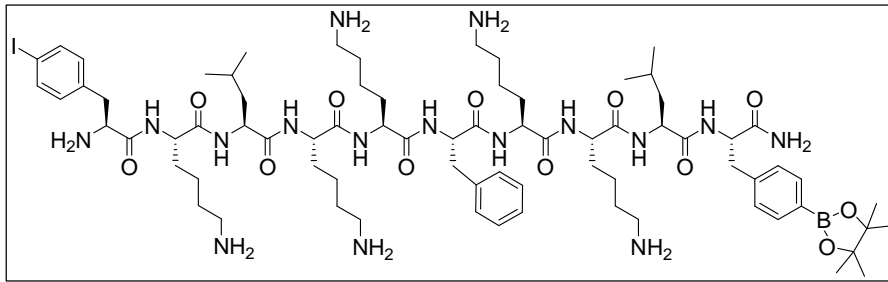
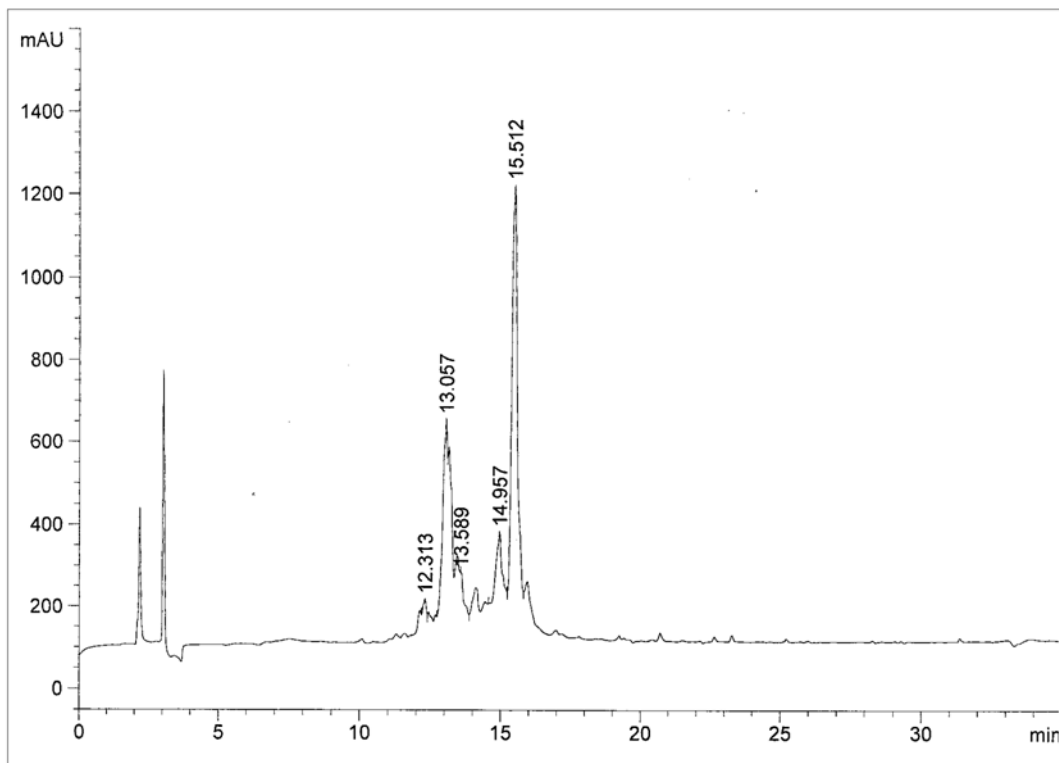
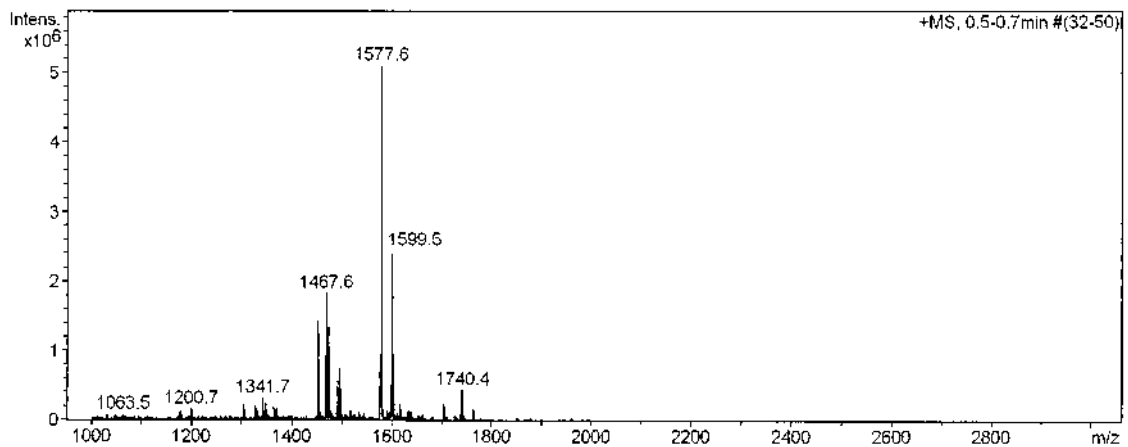


HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

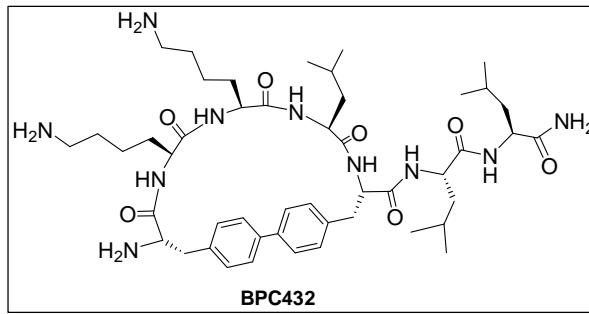


ESI-MS  $m/z$

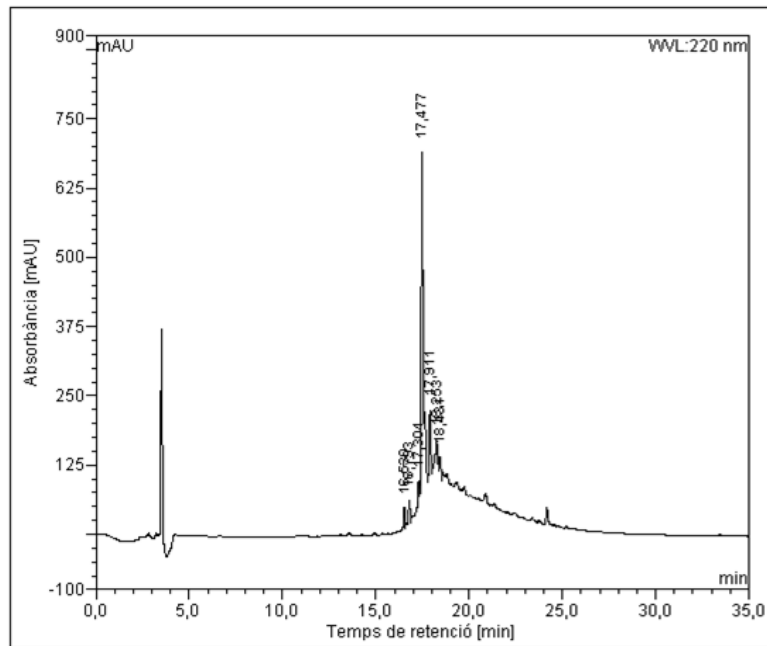


**H-Phe(4-I)-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe-Lys-Lys-Leu-Phe(4-BPin)-NH<sub>2</sub>**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )ESI-MS  $m/z$ 

**Pèptid biarílic cíclic BPC432**

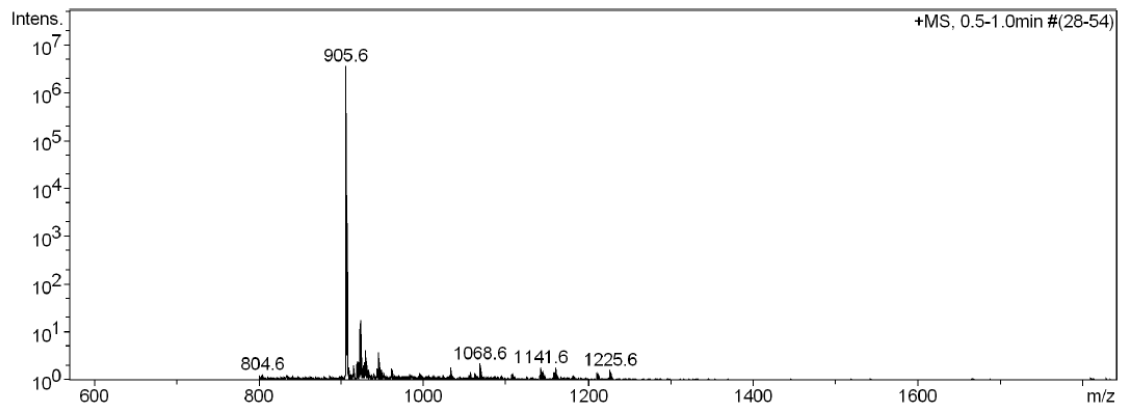


HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

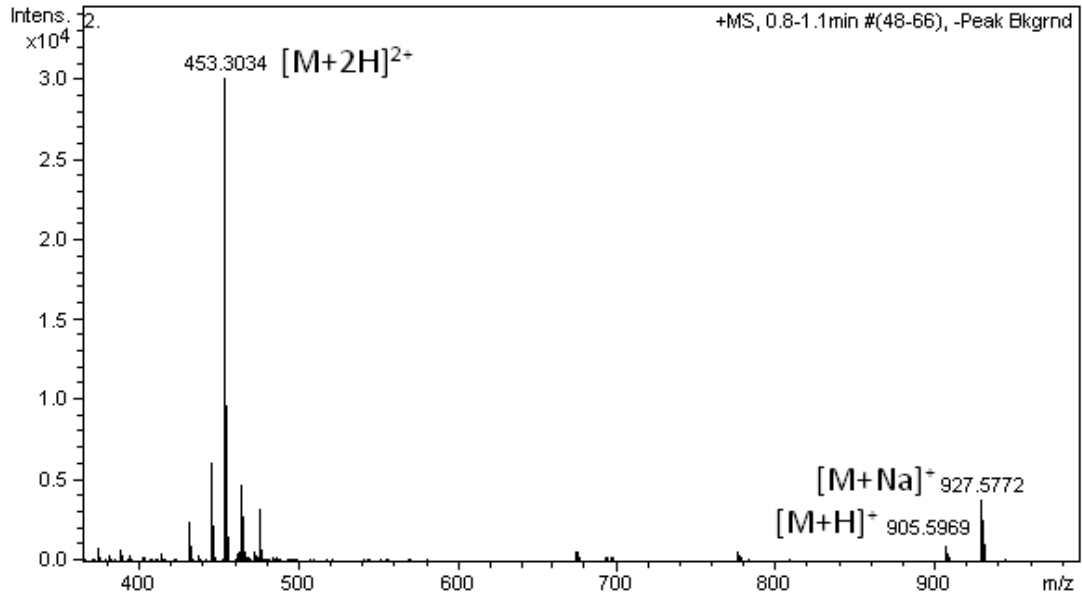


No.	Ret.Time min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	16,53	27,779	2,000	2,06
2	16,79	32,556	2,824	2,91
3	17,30	24,924	1,726	1,78
4	17,48	607,961	72,293	74,51
5	17,91	108,625	8,863	9,13
6	18,25	54,207	6,908	7,12
7	18,43	24,189	2,411	2,48
Total:		880,242	97,025	100,00

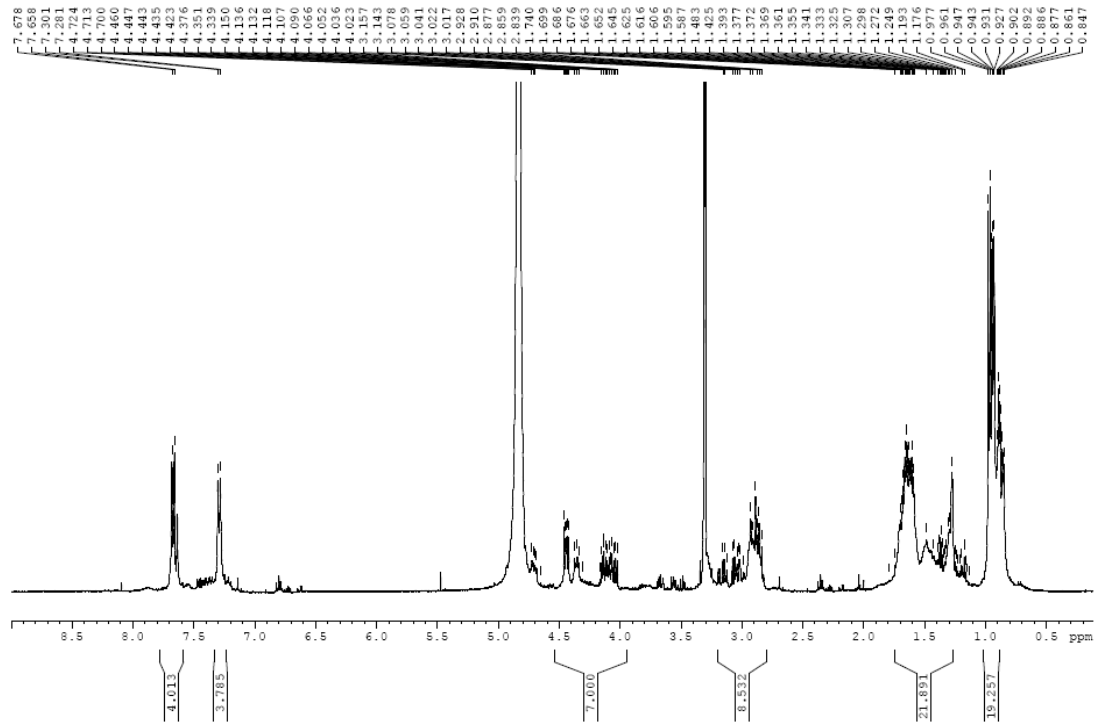
ESI-MS  $m/z$



HRMS (ESI)  $m/z$

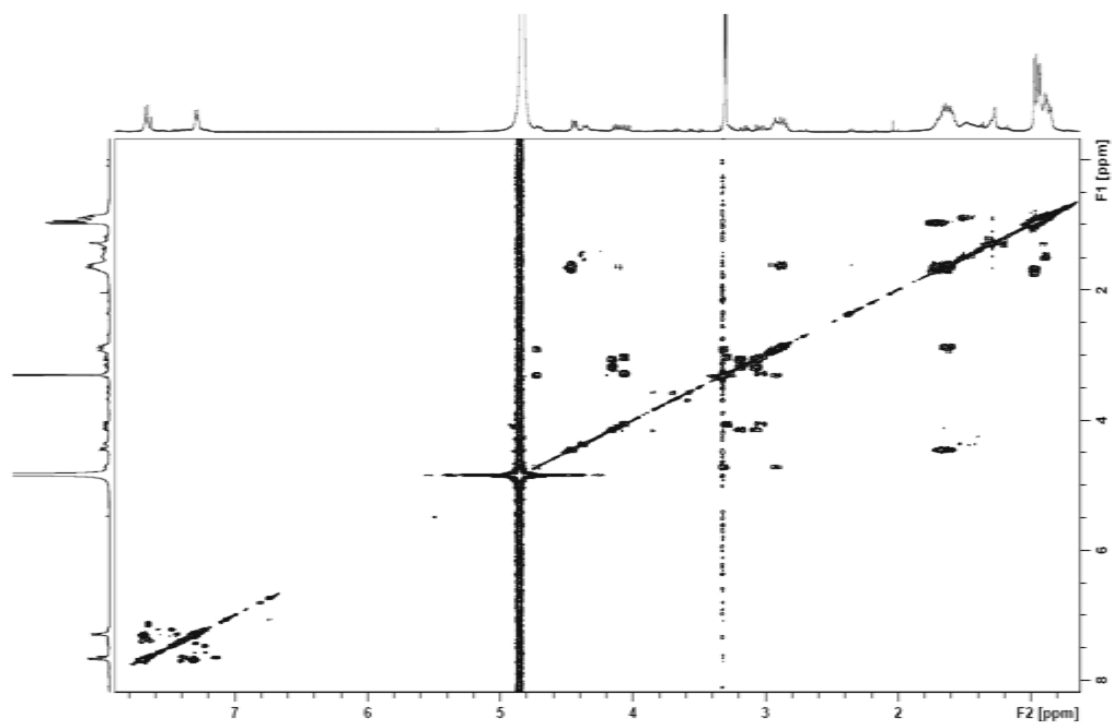


$^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm)

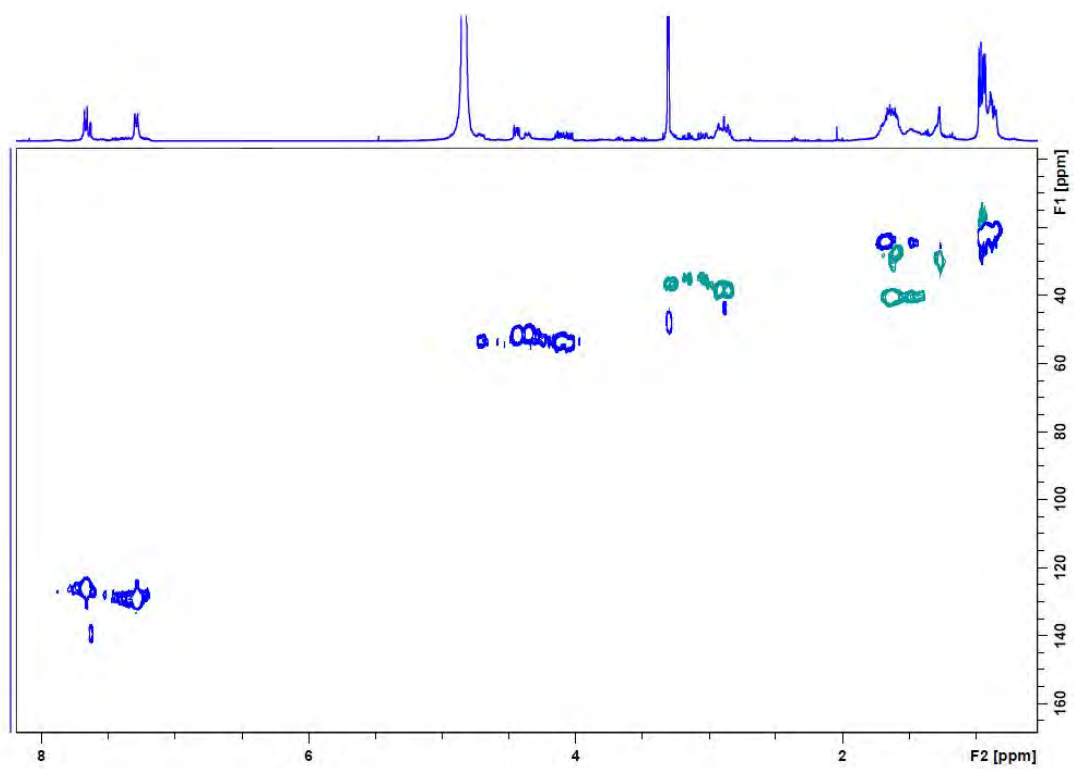


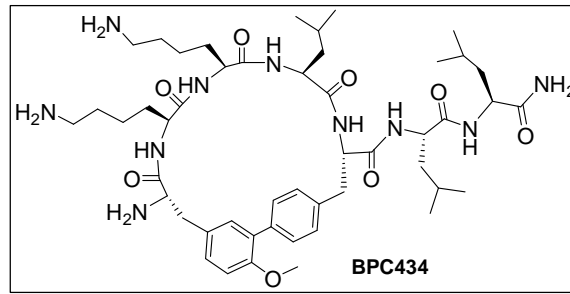
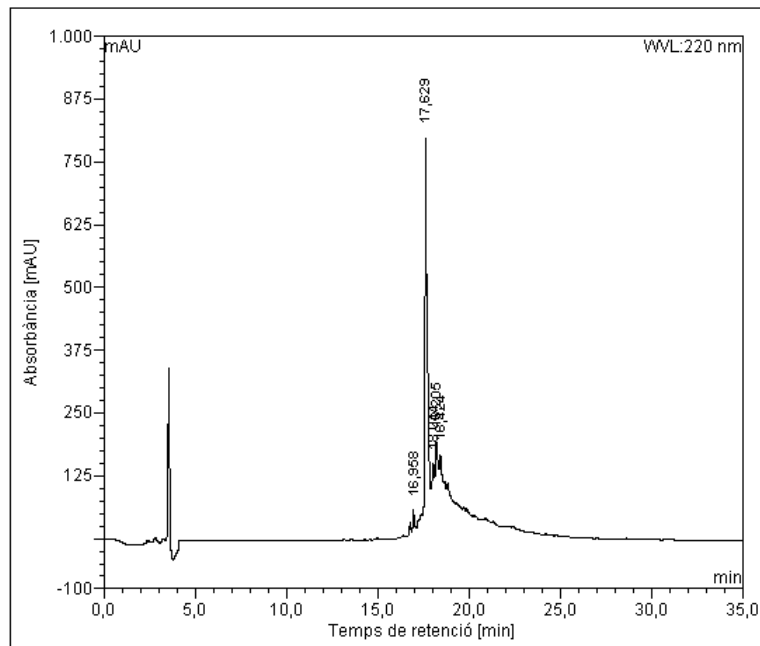


COSY (CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm)

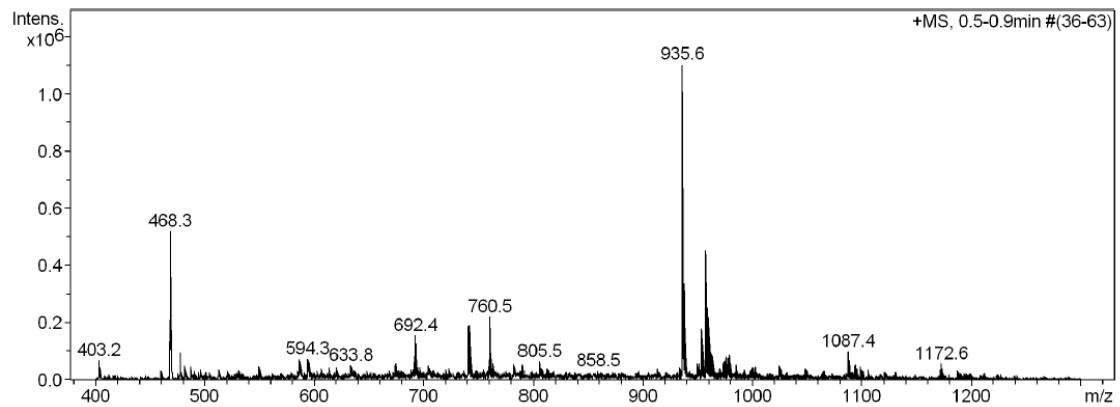


HSQC edited (CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm)

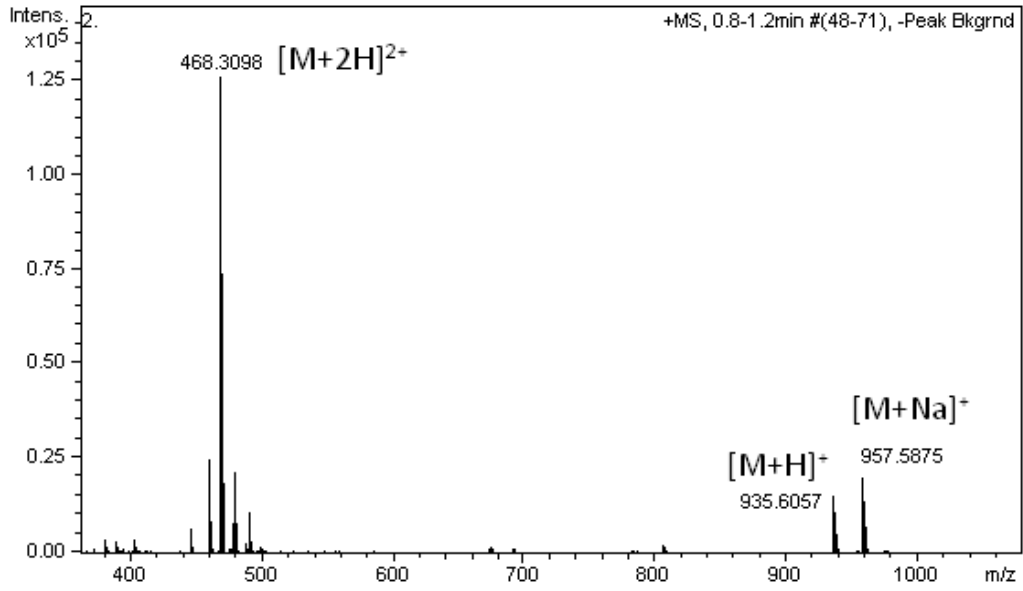


**Pèptid biarílic cíclic BPC434**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

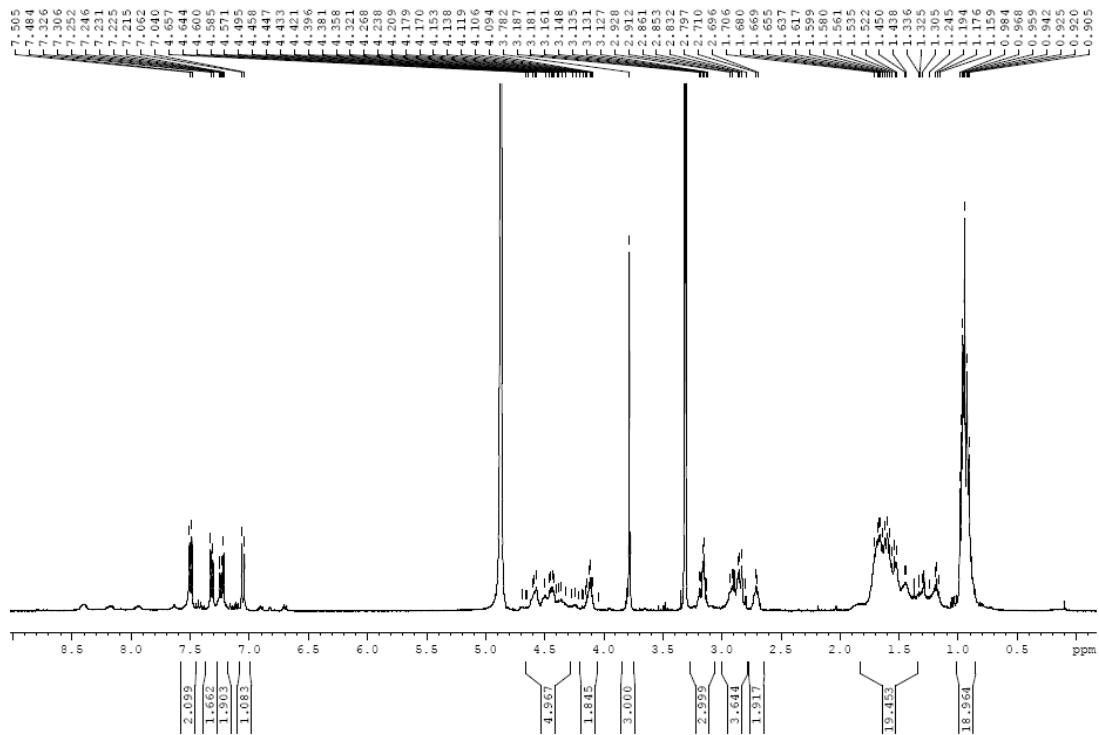
No.	Ret.Time min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	16,96	36,320	2,473	1,88
2	17,63	732,696	94,763	72,23
3	18,04	84,357	9,693	7,39
4	18,20	116,773	17,499	13,34
5	18,42	70,221	6,762	5,15
Total:		1040,367	131,190	100,00

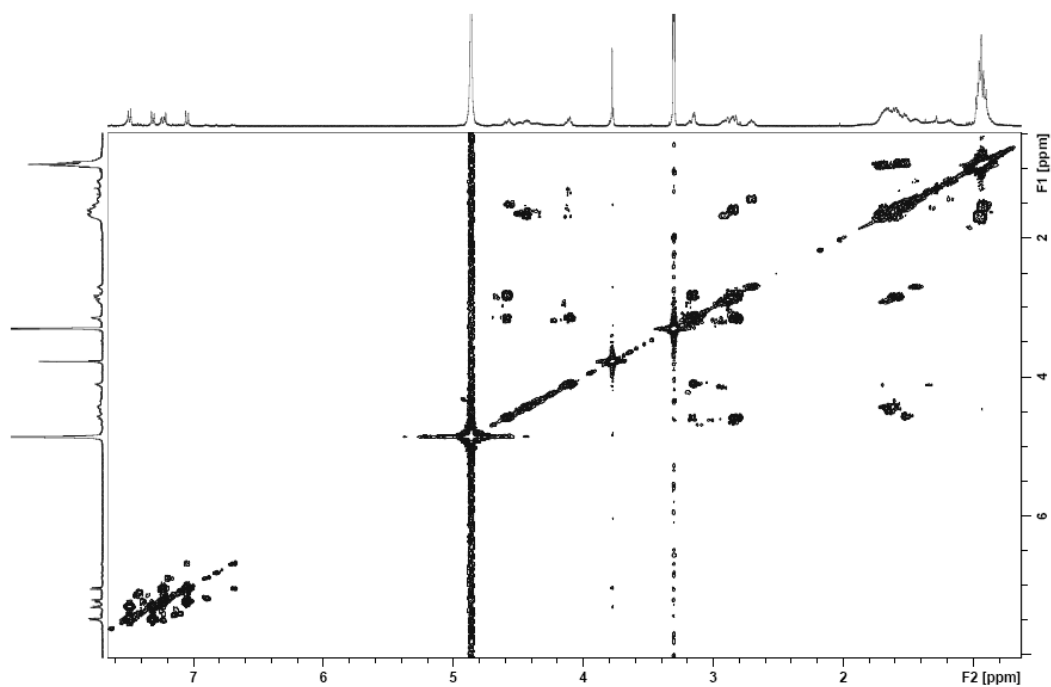
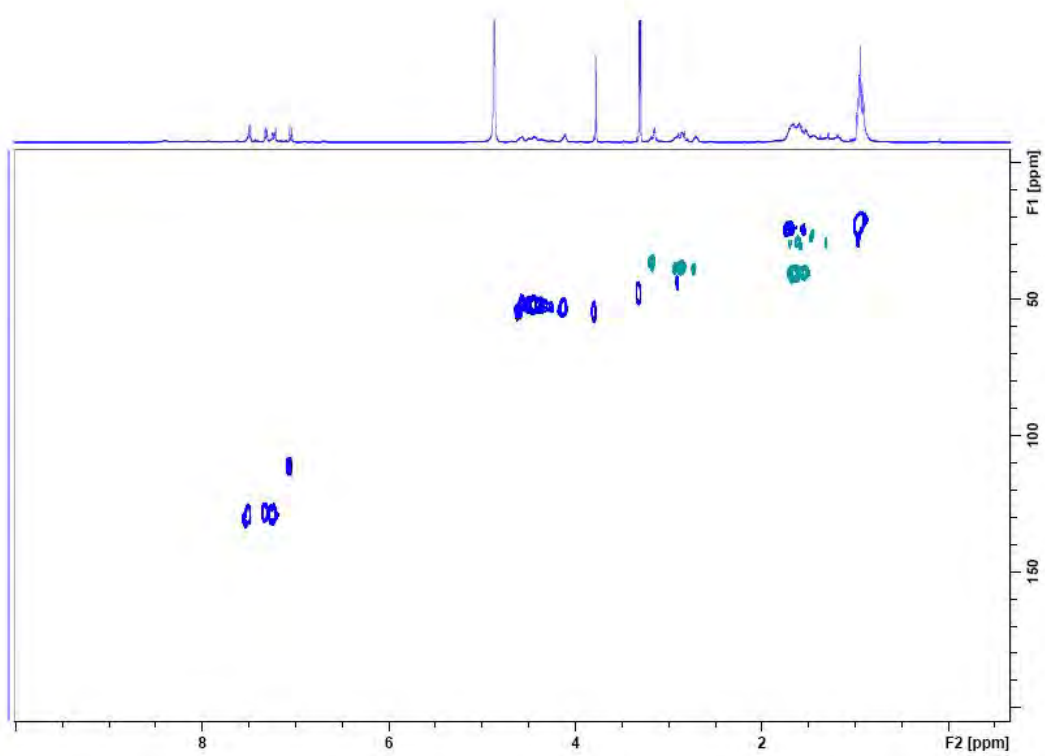
ESI-MS  $m/z$ 

HRMS (ESI)  $m/z$

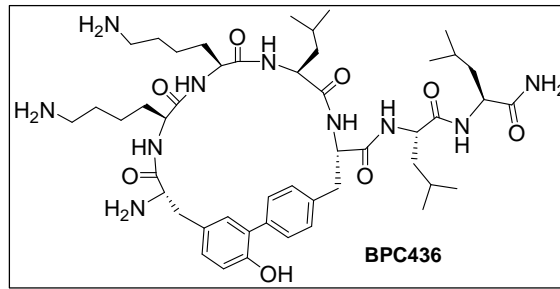


$^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm)

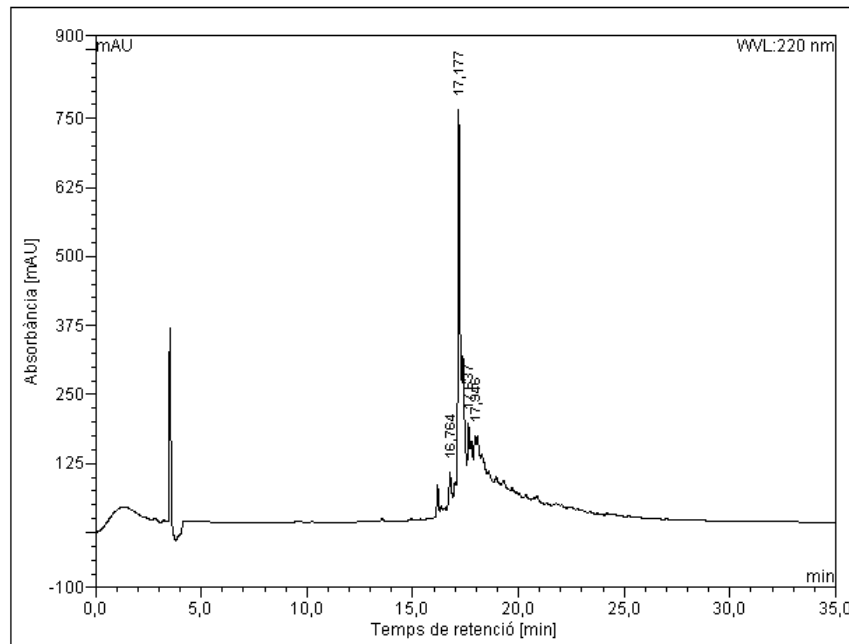


COSY (CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm)HSQC edited (CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm)

**Pèptid biarílic cíclic BPC436**

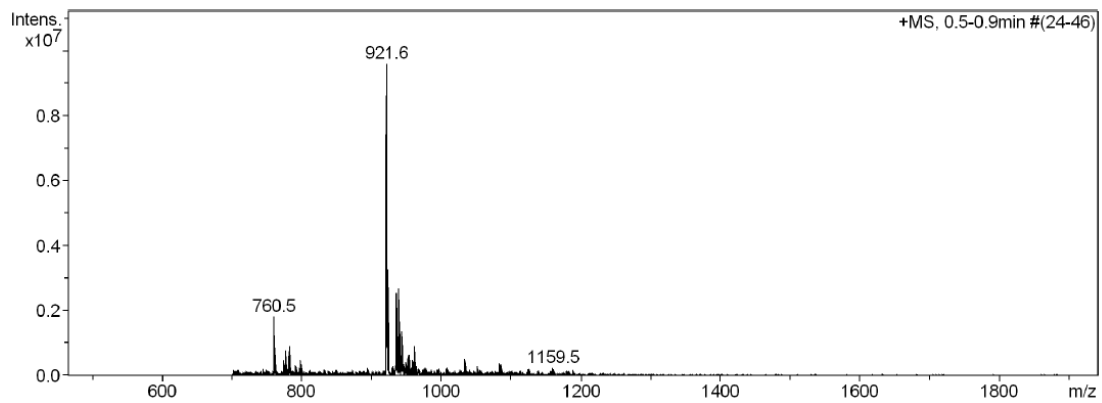


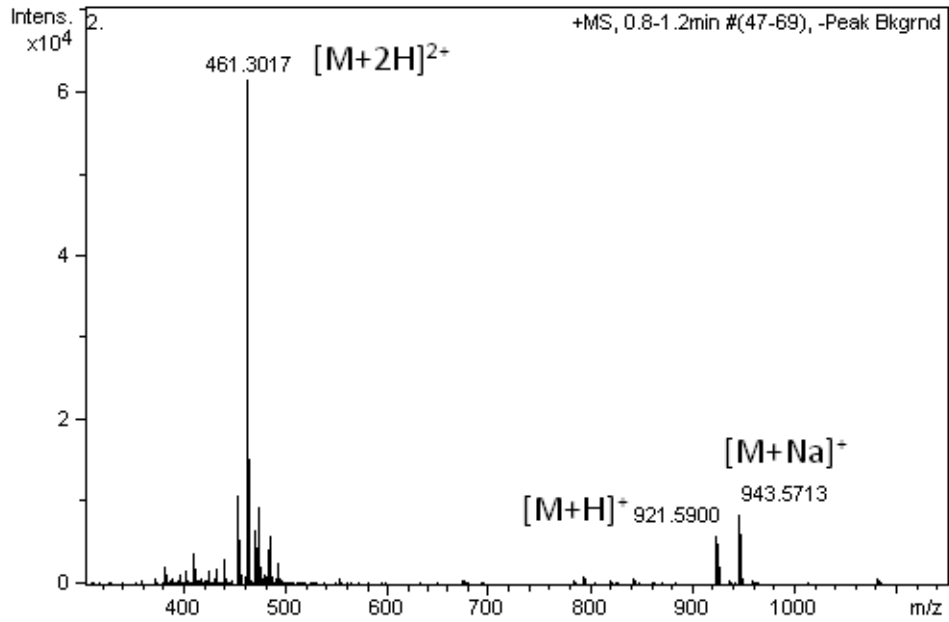
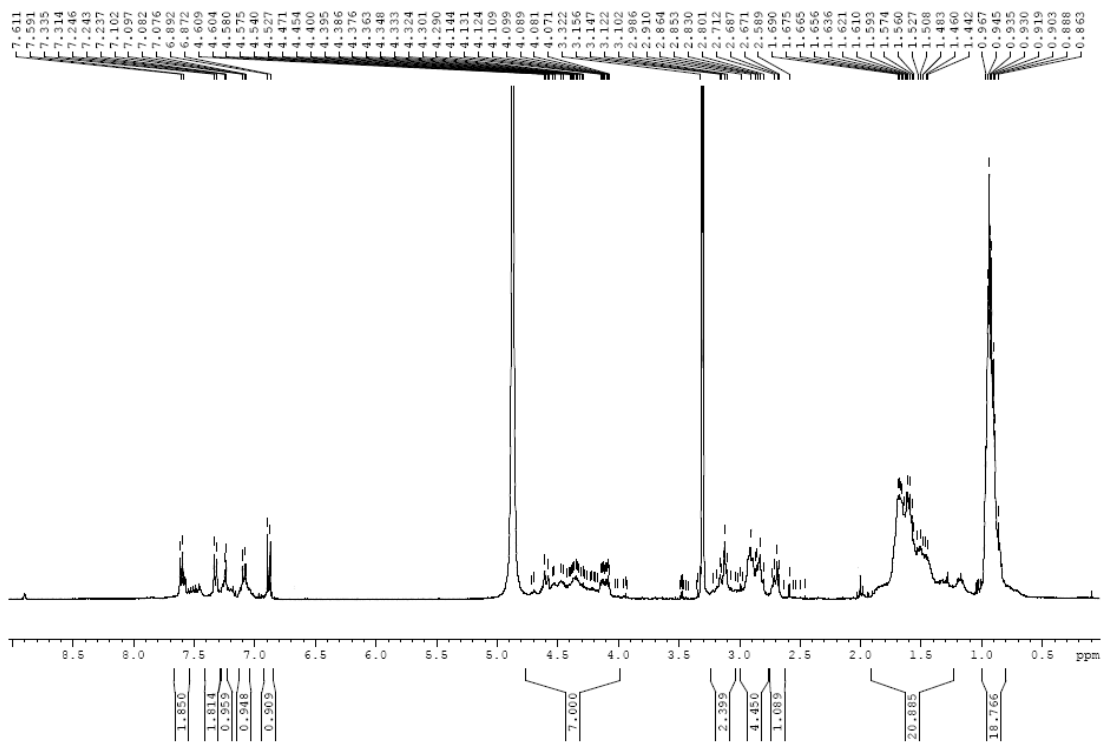
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )



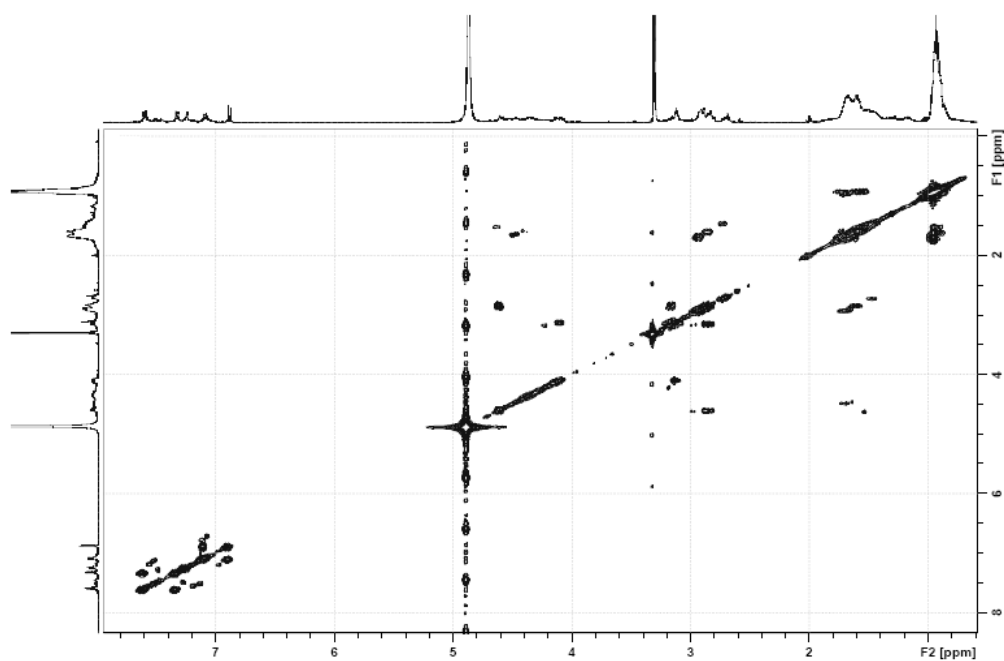
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	16,76	55,315	5,931	3,94
2	17,18	693,434	119,273	79,28
3	17,64	74,585	10,577	7,03
4	17,95	44,298	14,671	9,75
Total:		867,632	150,453	100,00

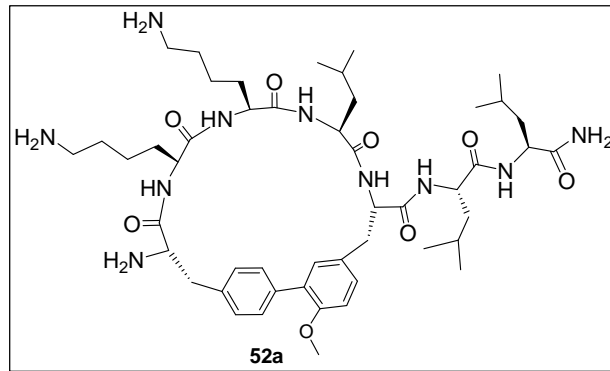
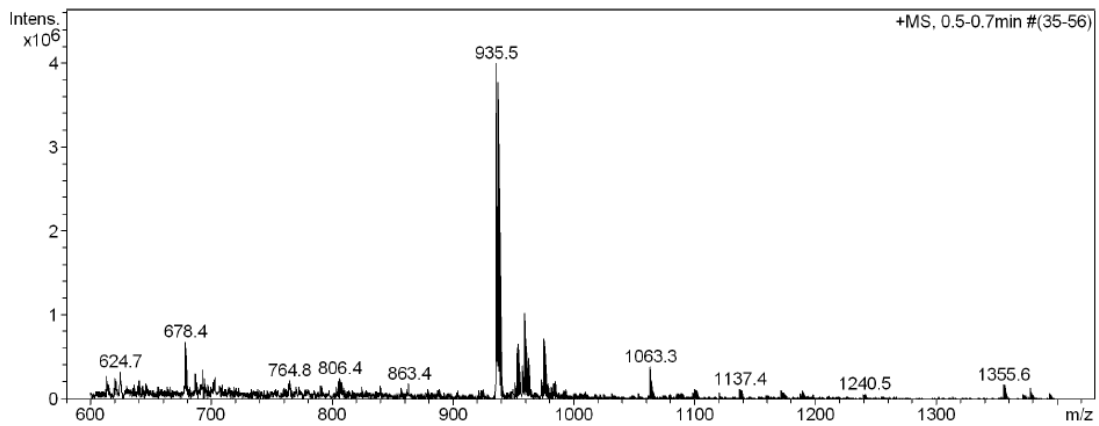
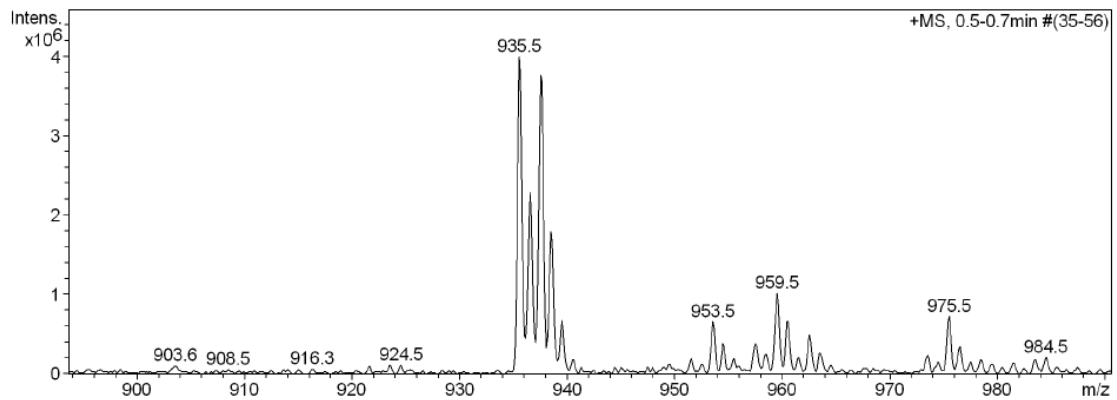
ESI-MS  $m/z$



HRMS (ESI)  $m/z$  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm)

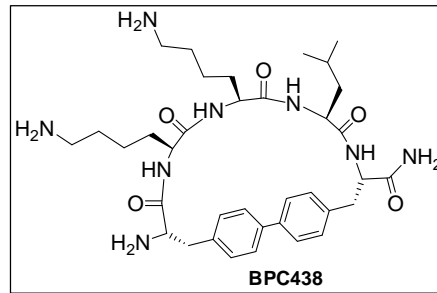
COSY (CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm)



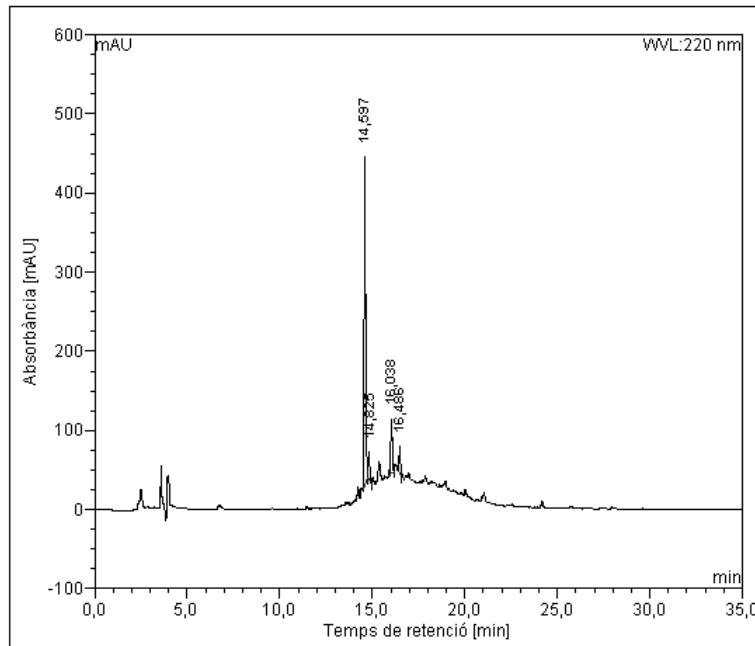
**Pèptid biarílic cíclic 52a**ESI-MS  $m/z$ ESI-MS  $m/z$ 



**Pèptid biarílic cíclic BPC438**

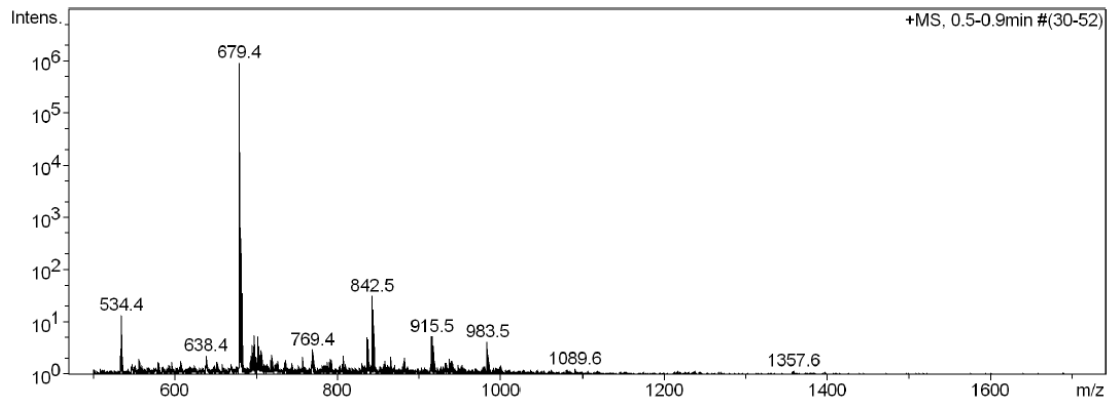


HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

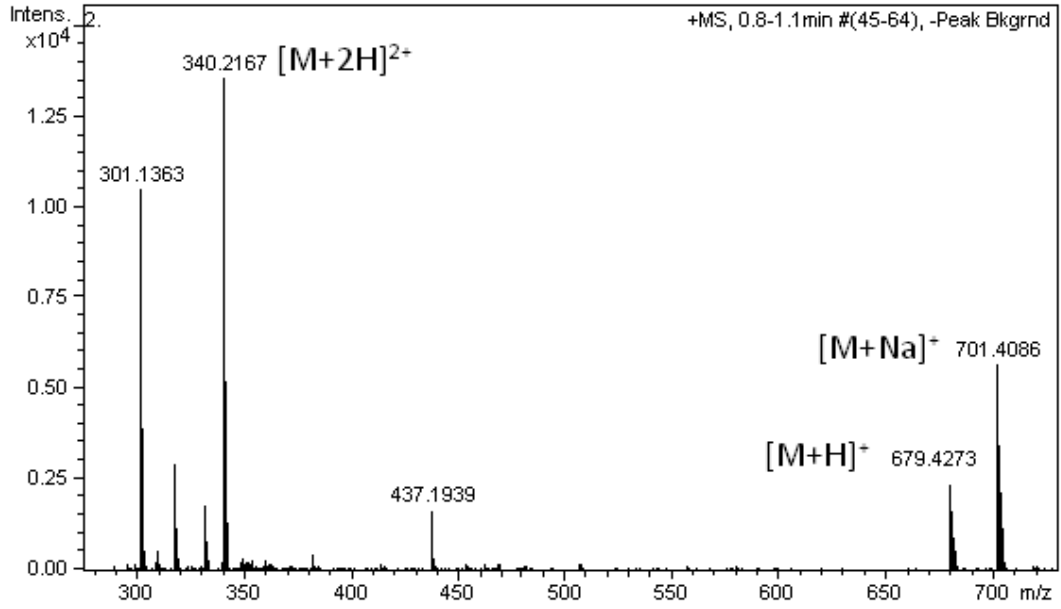


No.	Ret.Time min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	14,60	414,536	38,398	75,86
2	14,83	33,236	2,700	5,33
3	16,04	68,454	6,827	13,49
4	16,49	33,829	2,691	5,32
Total:		550,054	50,617	100,00

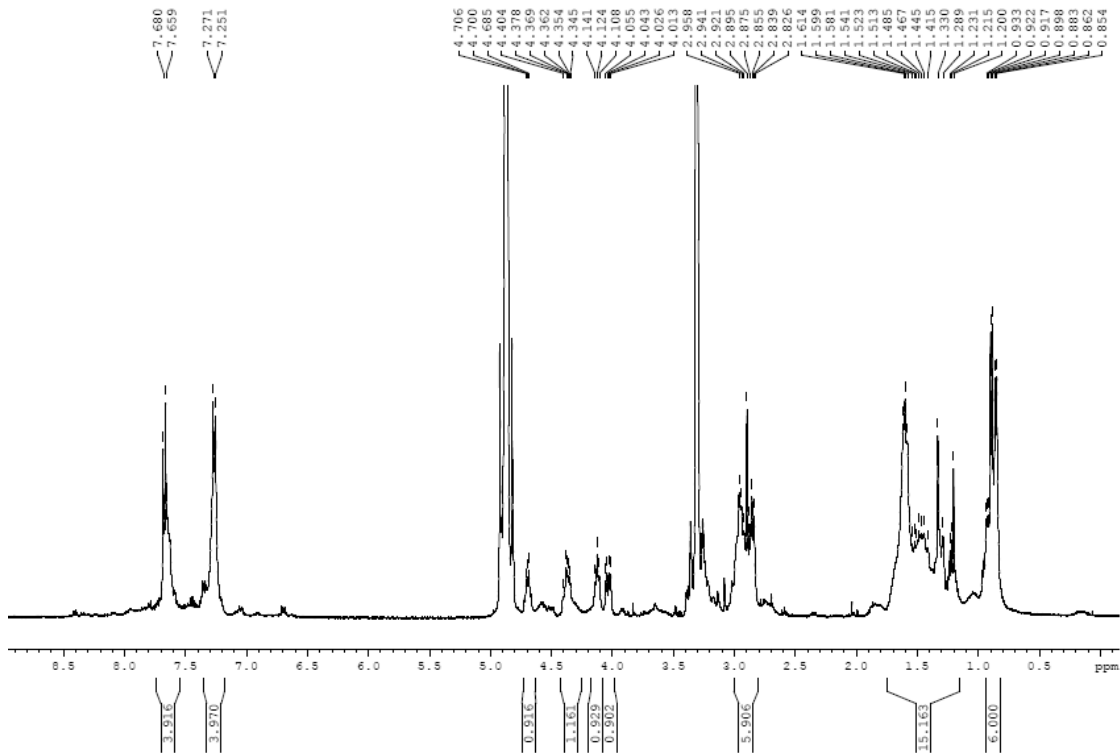
ESI-MS  $m/z$



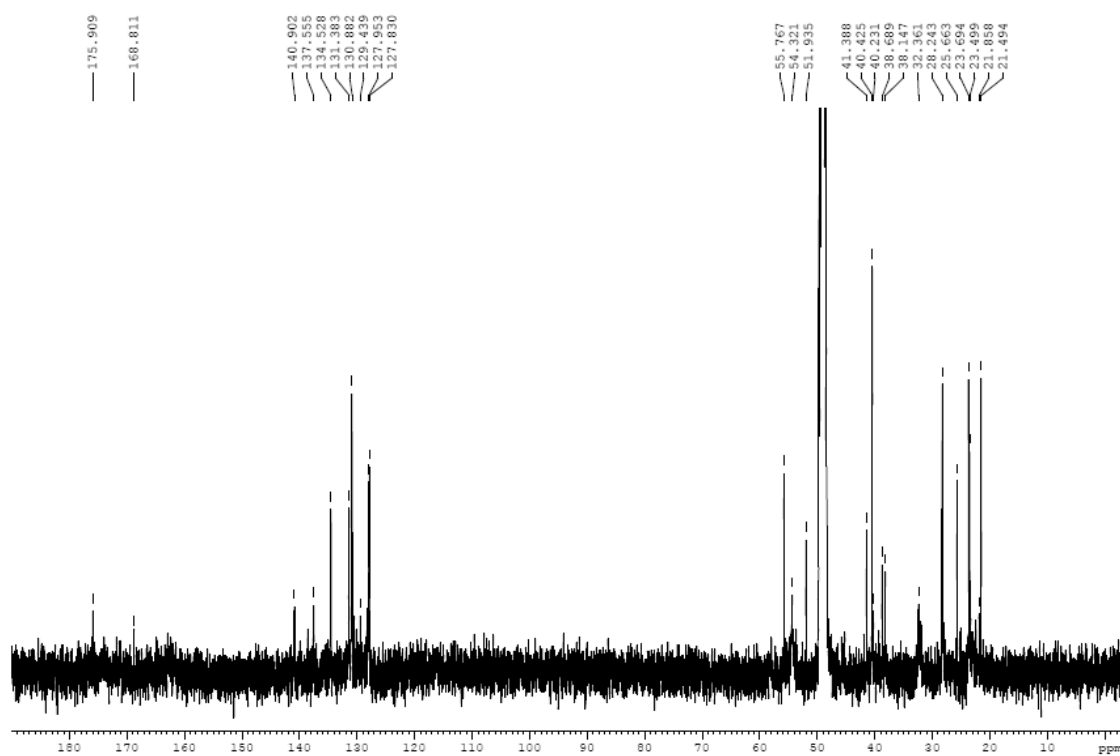
HRMS (ESI)  $m/z$



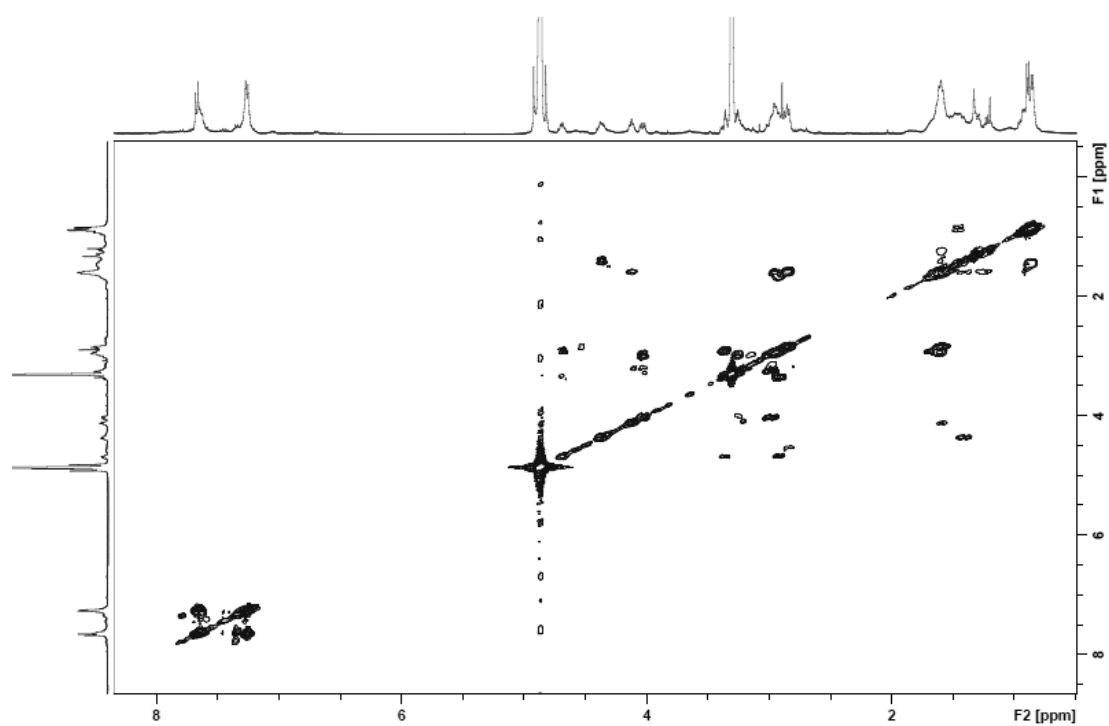
$^1H$ -RMN (400 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$  (ppm)

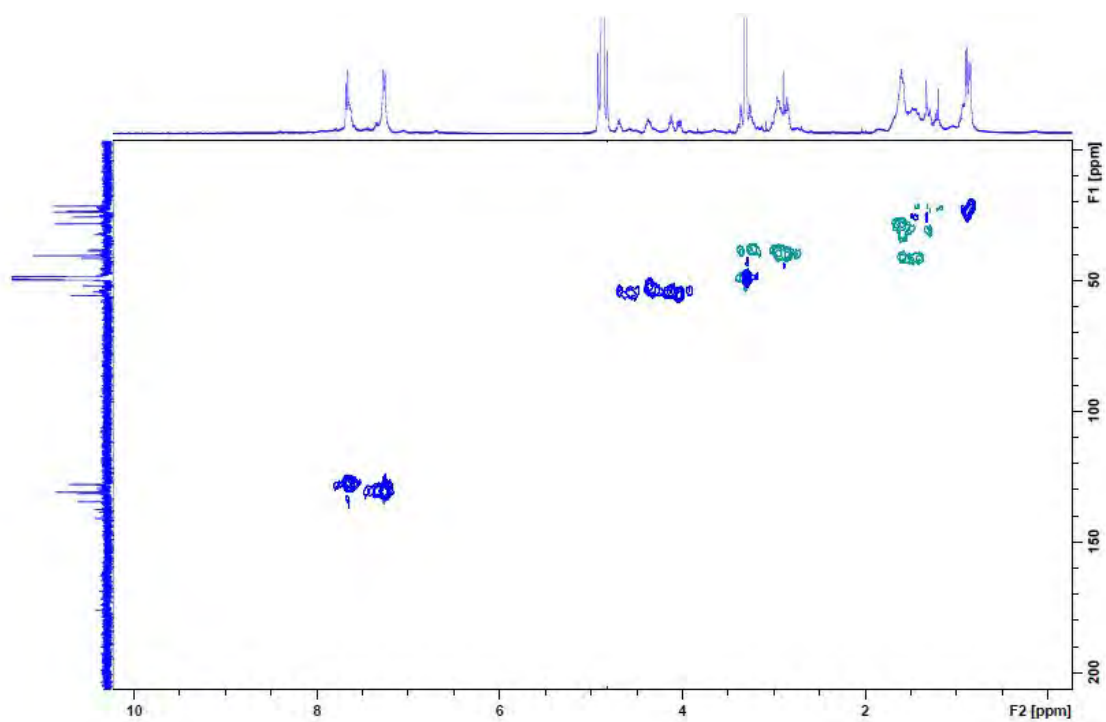


$^{13}\text{C}$ -RMN (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm)

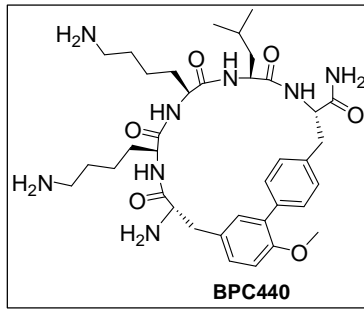


COSY ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm)

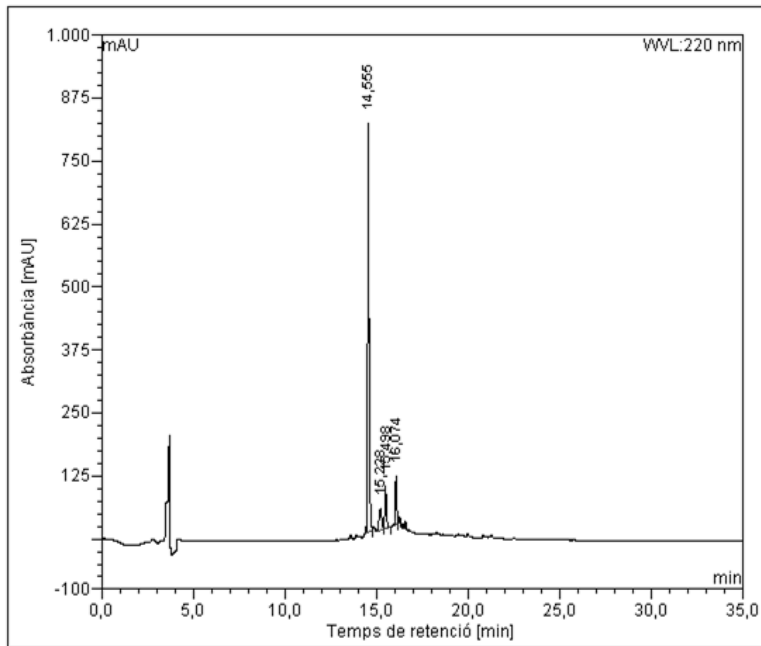


HSQC edited ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm)

**Pèptid biarílic cíclic BPC440**

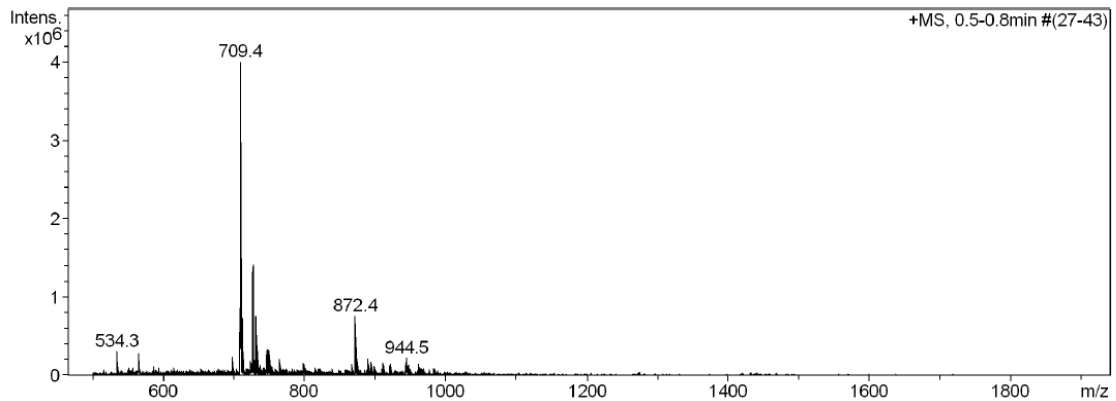


HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

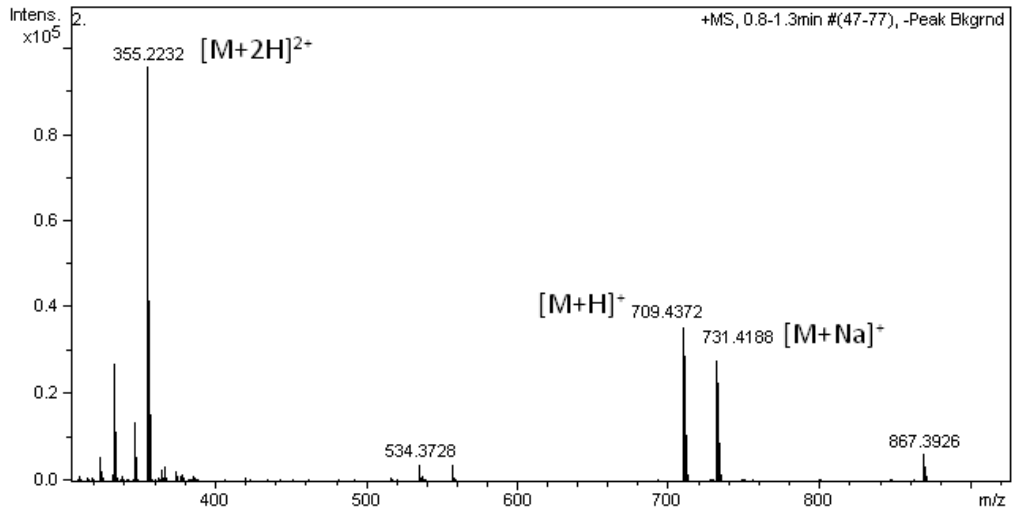


No.	Ret.Time min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	14,56	810,502	72,127	75,41
2	15,23	42,037	6,444	6,74
3	15,50	85,472	9,176	9,59
4	16,07	95,702	7,904	8,26
Total:		1033,714	95,651	100,00

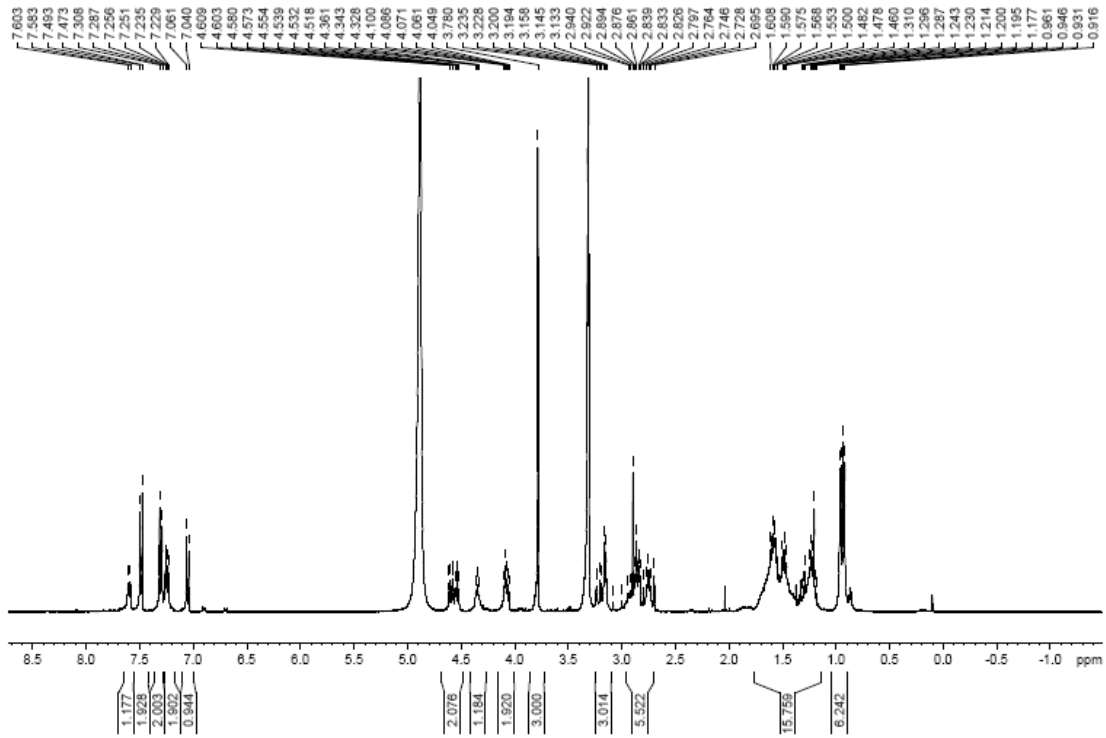
ESI-MS  $m/z$



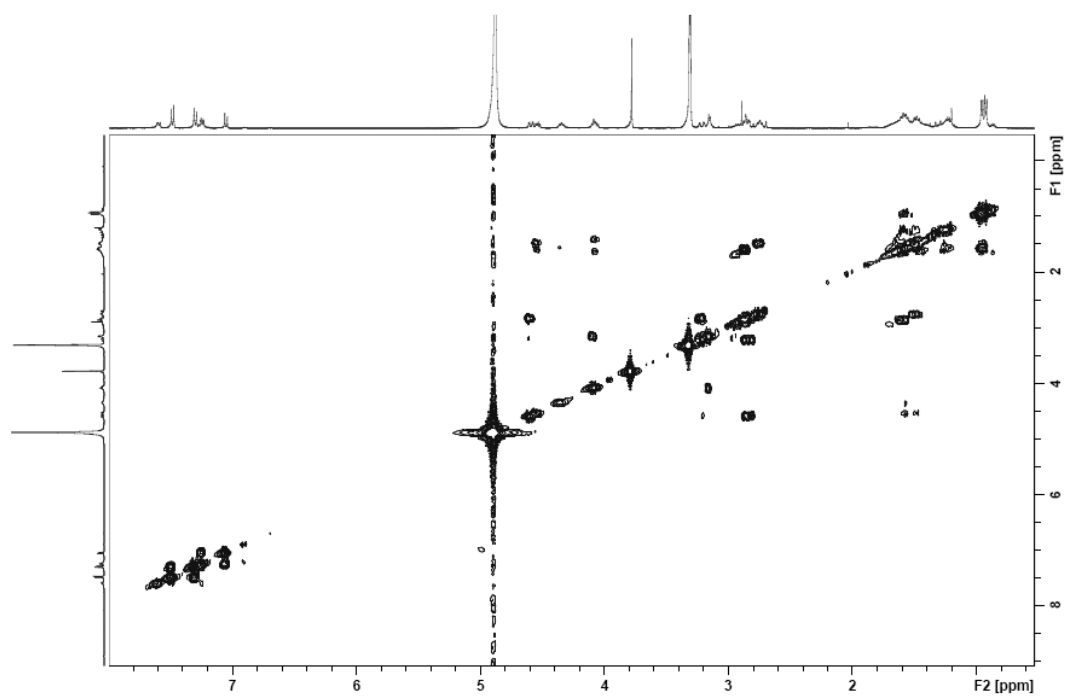
HRMS (ESI)  $m/z$



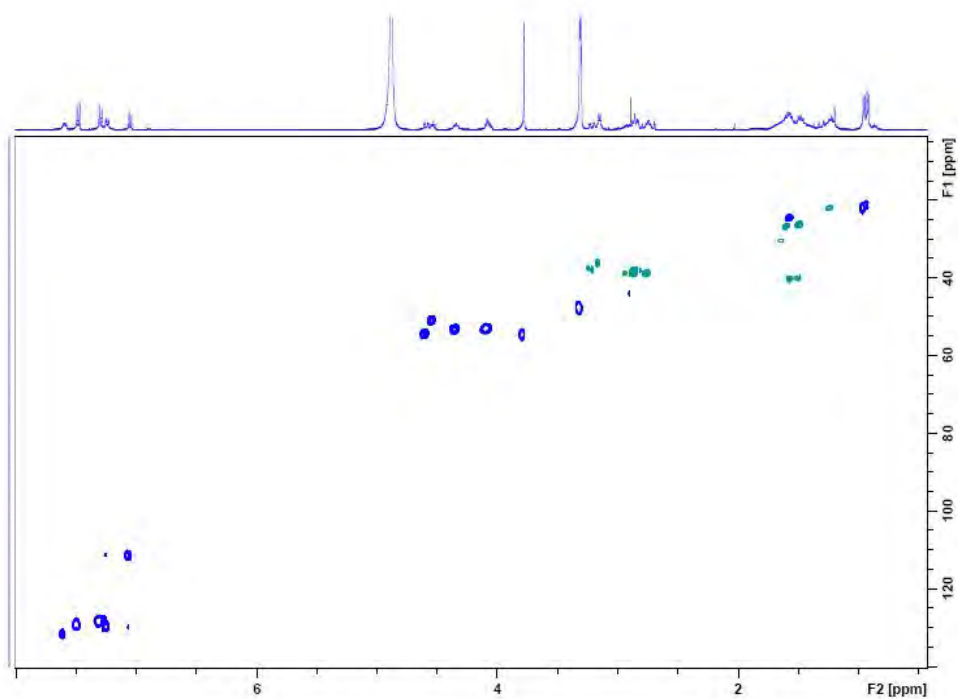
$^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm)

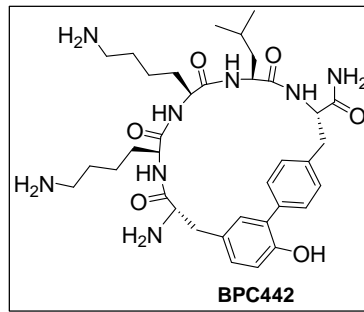
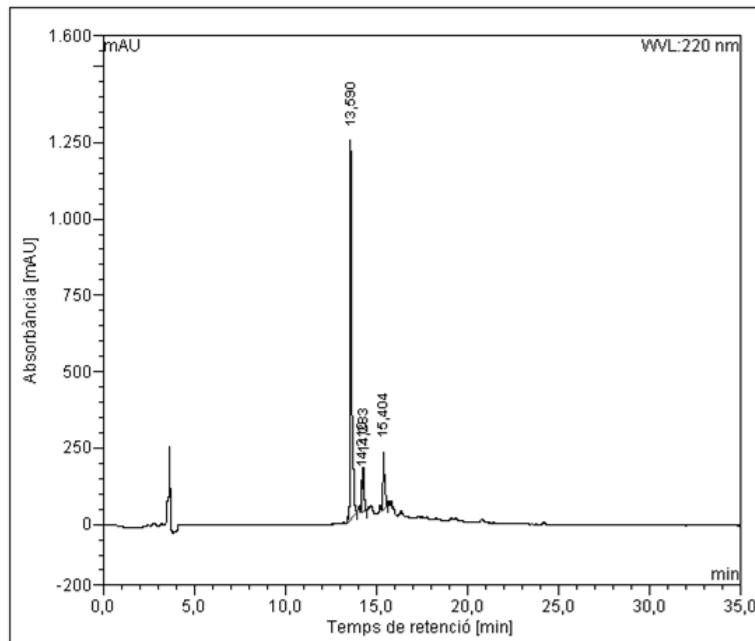


COSY (CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm)

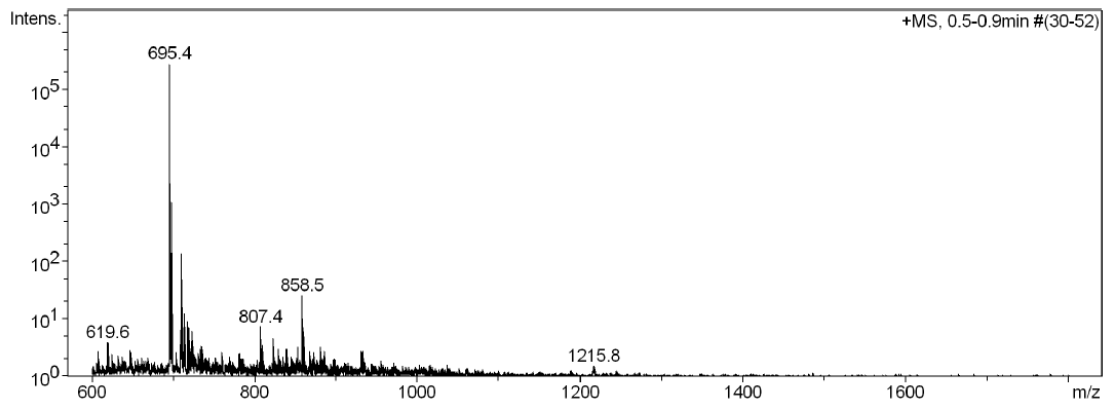


HSQC edited (CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm)



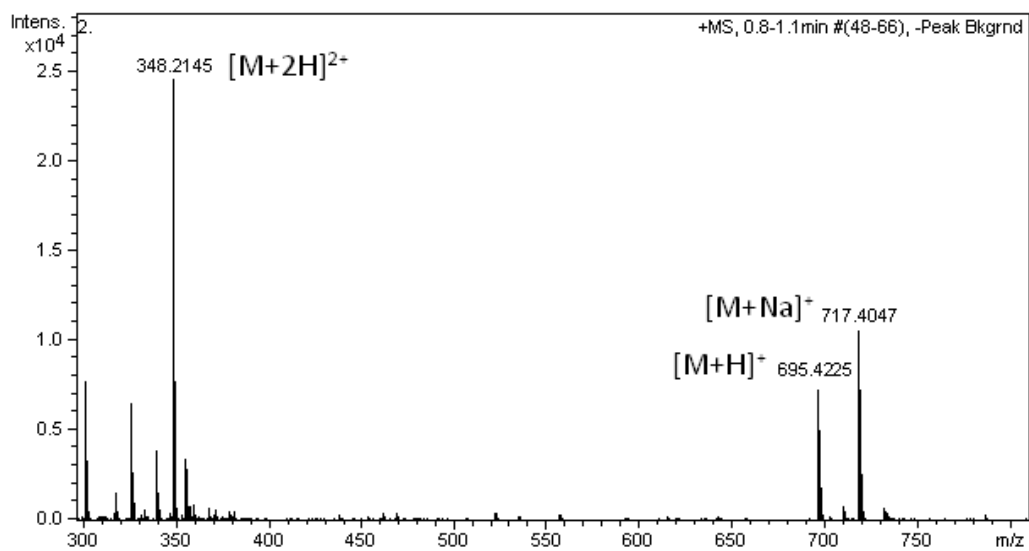
**Pèptid biarílic cíclic BPC442**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

No.	Ret.Time min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	13,59	1239,946	131,571	76,37
2	14,21	102,459	5,942	3,45
3	14,28	146,811	15,194	8,82
4	15,40	185,903	19,570	11,36
Total:		1675,119	172,278	100,00

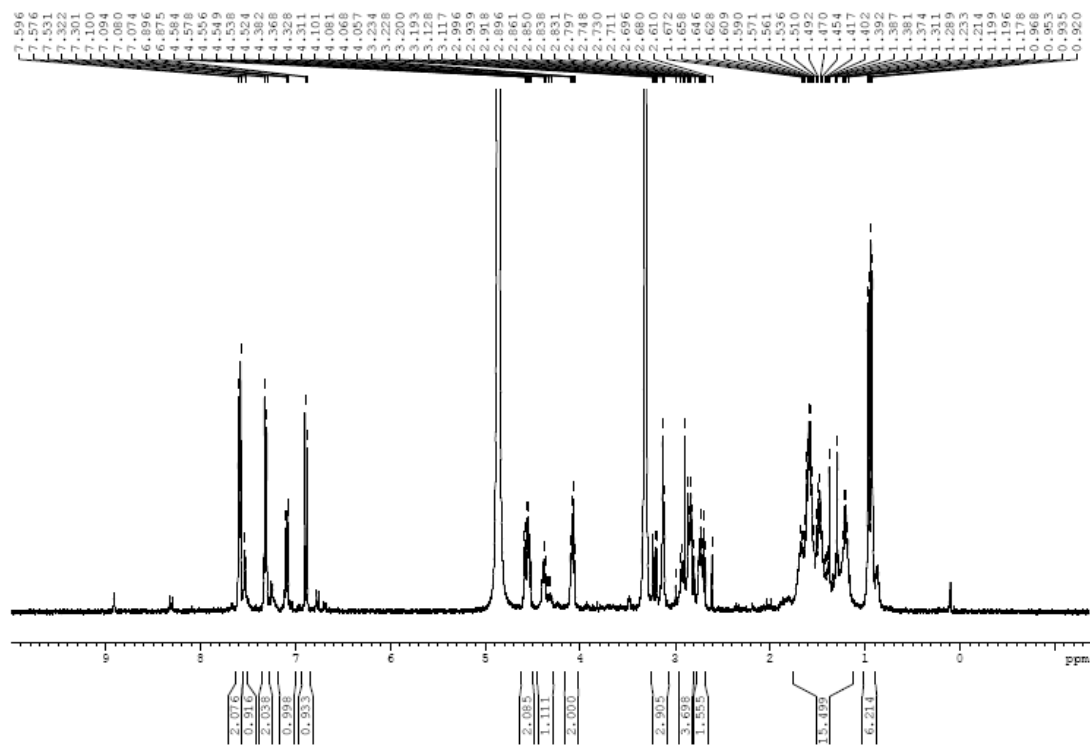
ESI-MS  $m/z$ 

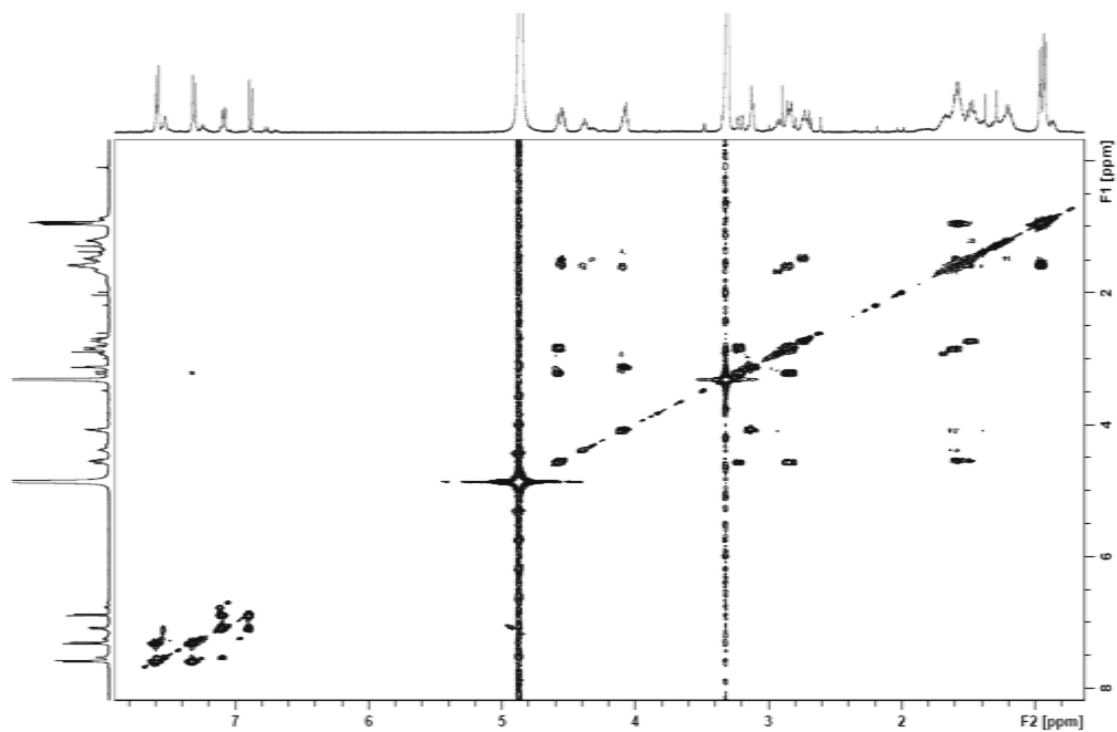
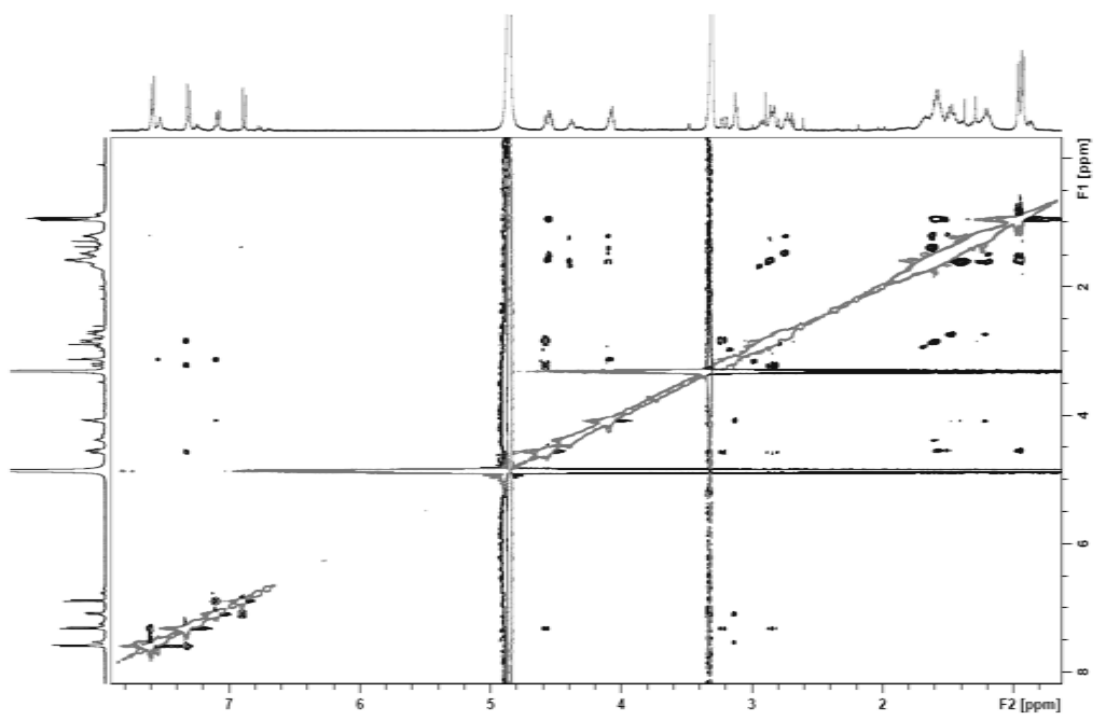


HRMS (ESI)  $m/z$

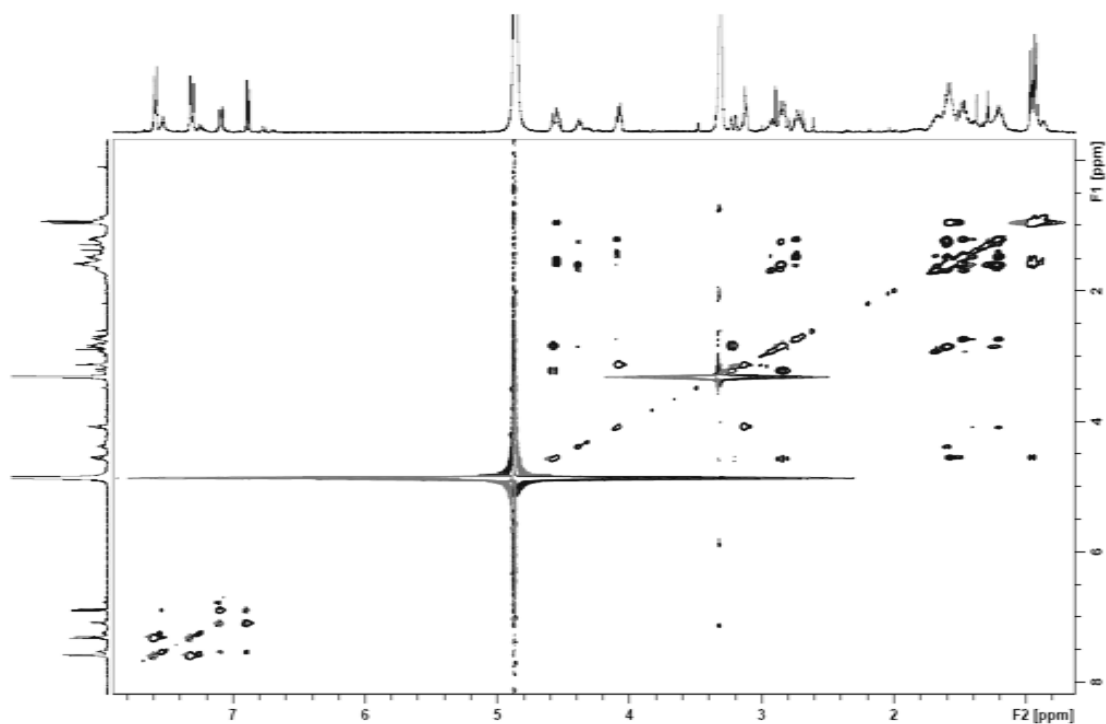


$^1\text{H-RMN}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm)

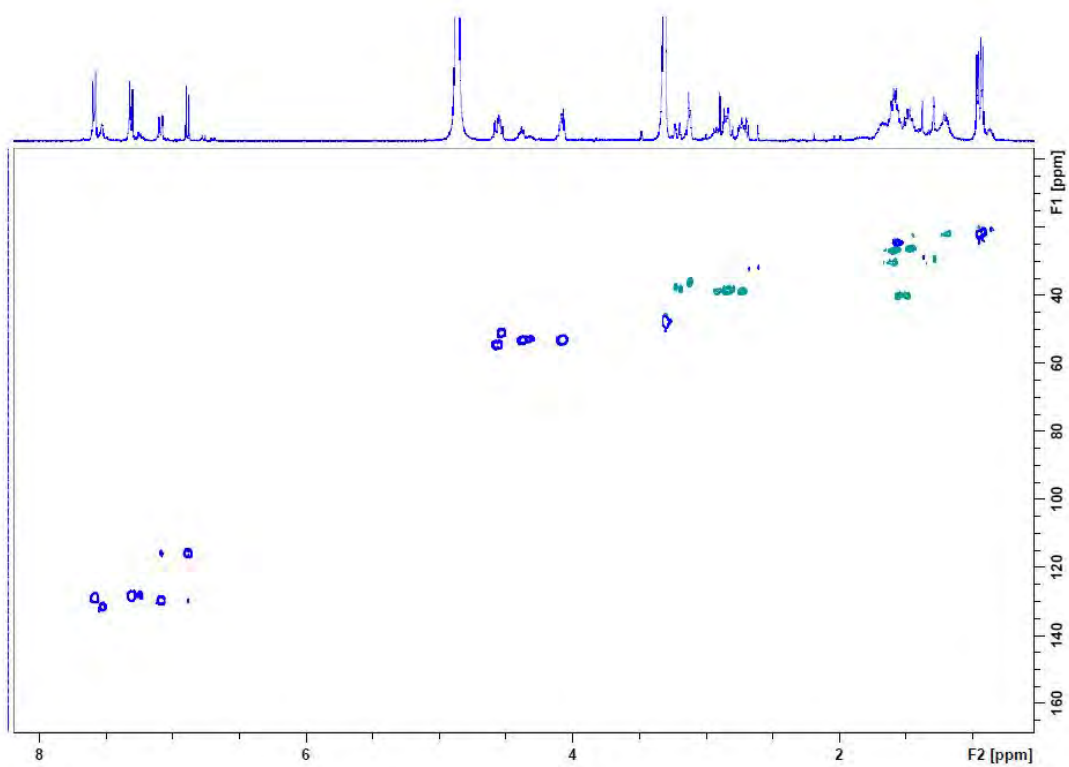


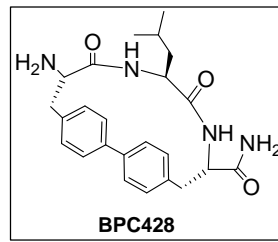
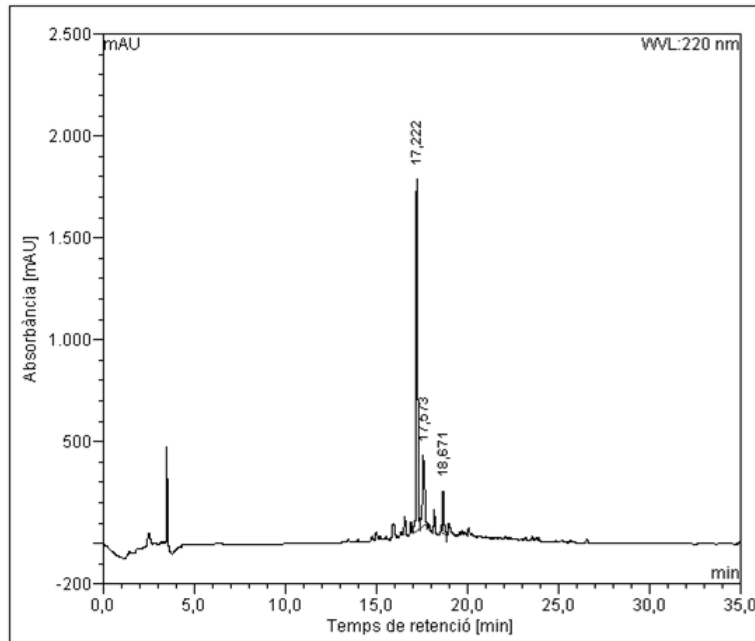
COSY (CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm)NOESY (CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm)

TOCSY (CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm)



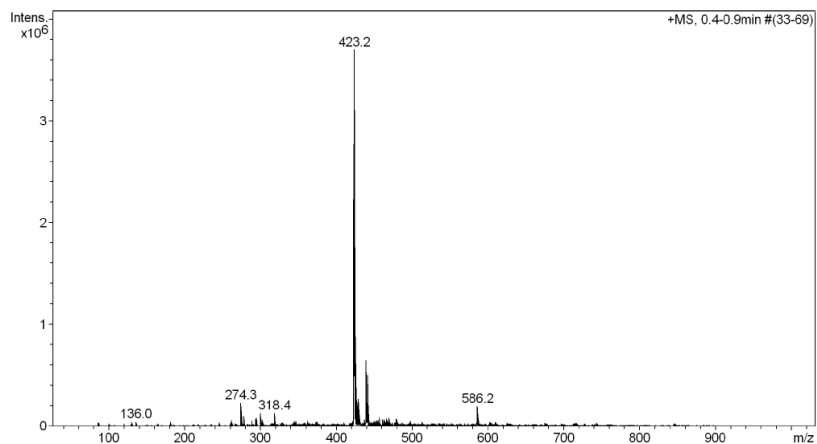
HSQC edited (CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm)



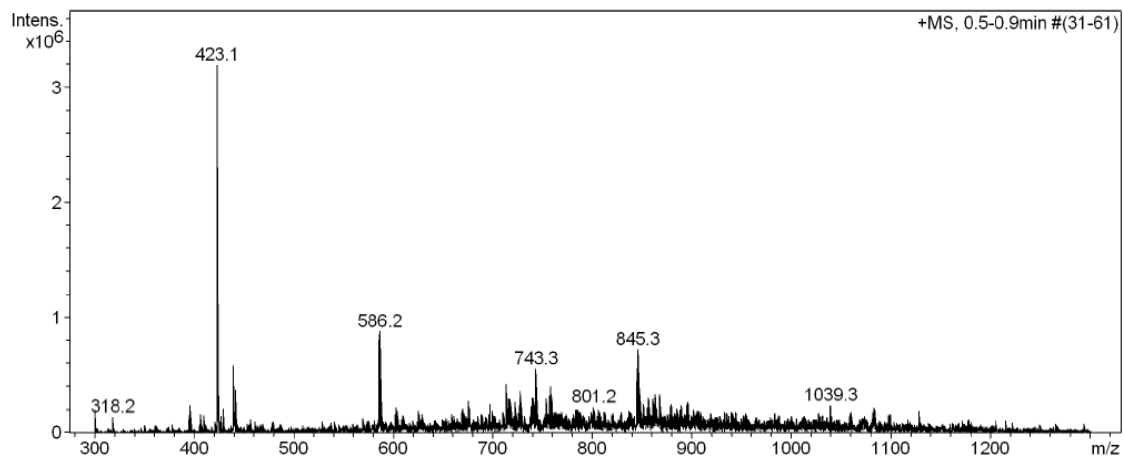
**Pèptid biarílic cíclic BPC428**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

No.	Ret.Time min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	17,22	1722,319	177,126	71,21
2	17,57	343,186	51,660	20,77
3	18,67	205,664	19,954	8,02
Total:		2271,169	248,740	100,00

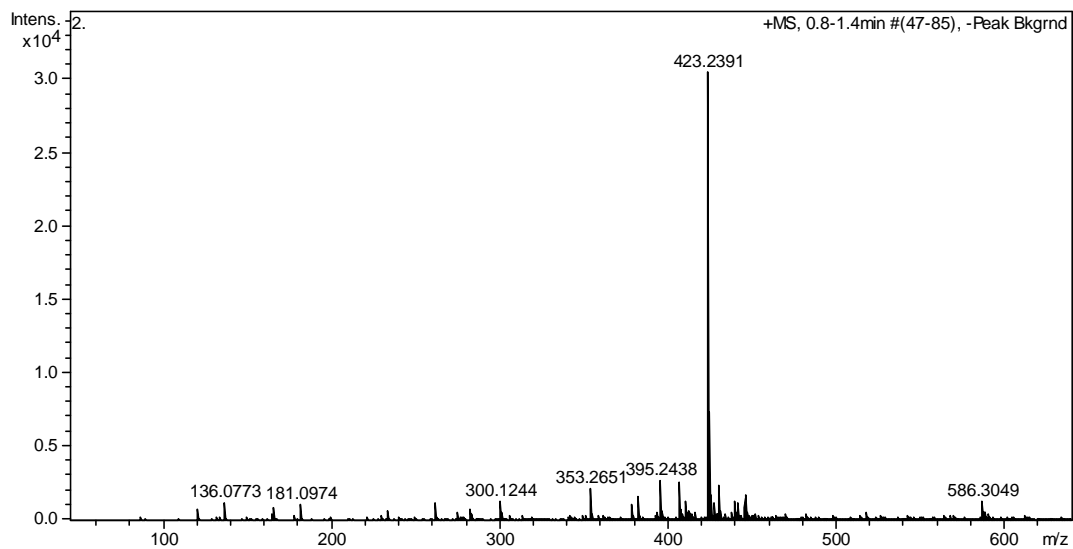
ESI-MS  $m/z$

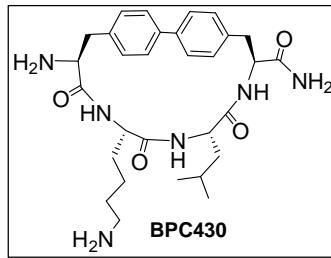
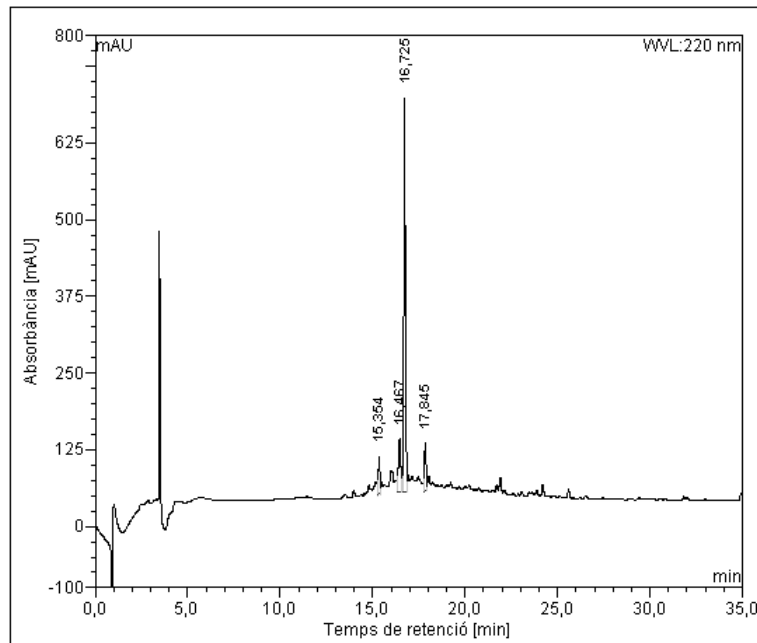


ESI-MS  $m/z$



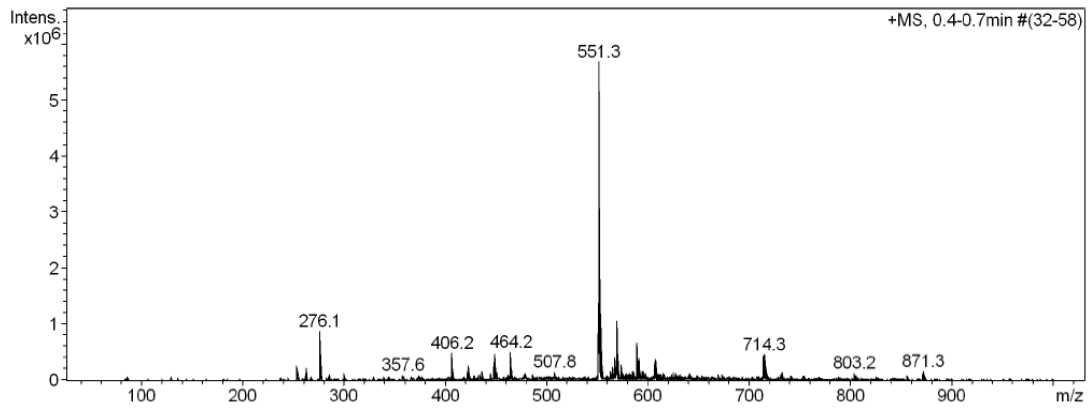
HRMS (ESI)  $m/z$



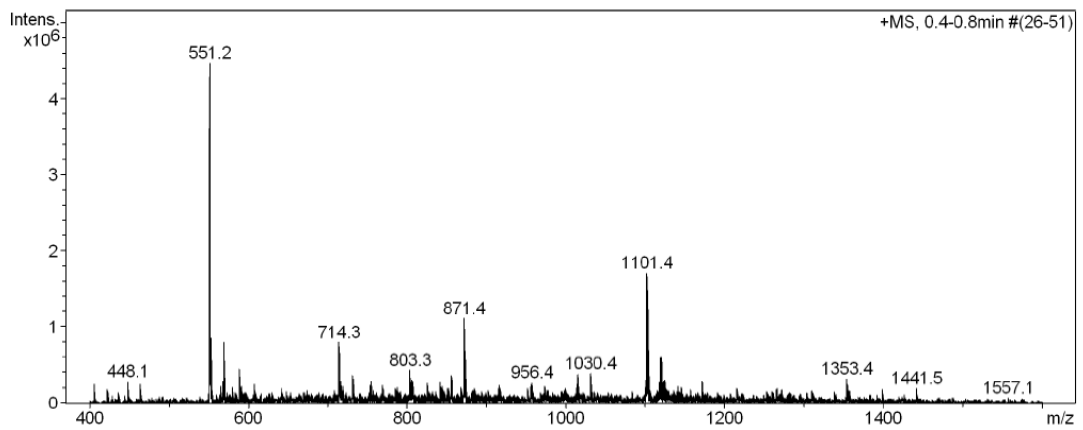
**Pèptid biarílic cíclic BPC430**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

No.	Ret.Time min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	15,35	62,344	6,428	7,30
2	16,47	86,866	11,576	13,14
3	16,72	641,032	61,762	70,11
4	17,85	78,515	8,329	9,45
Total:		868,758	88,096	100,00

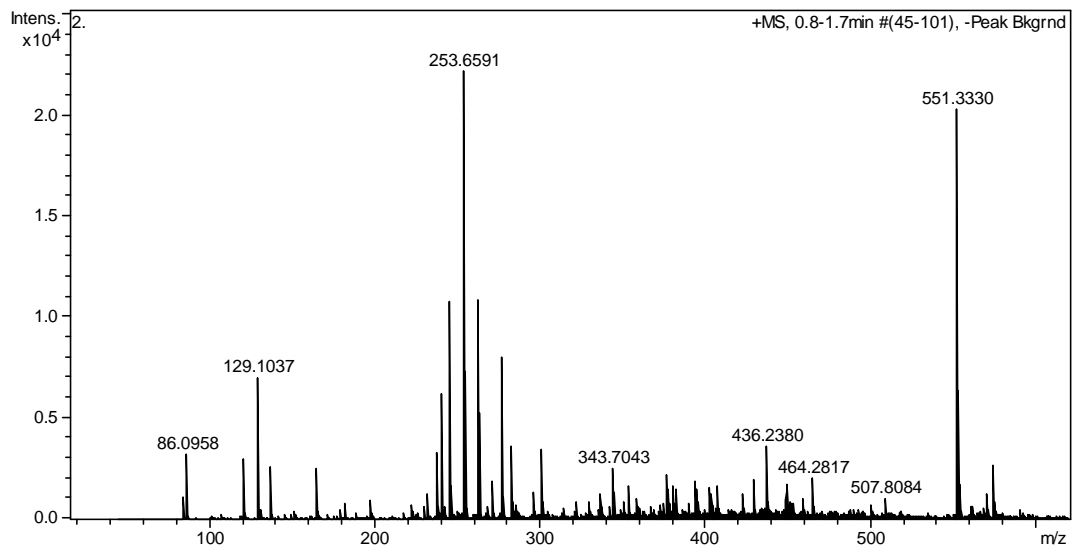
ESI-MS  $m/z$

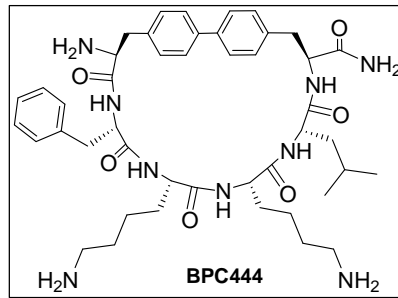
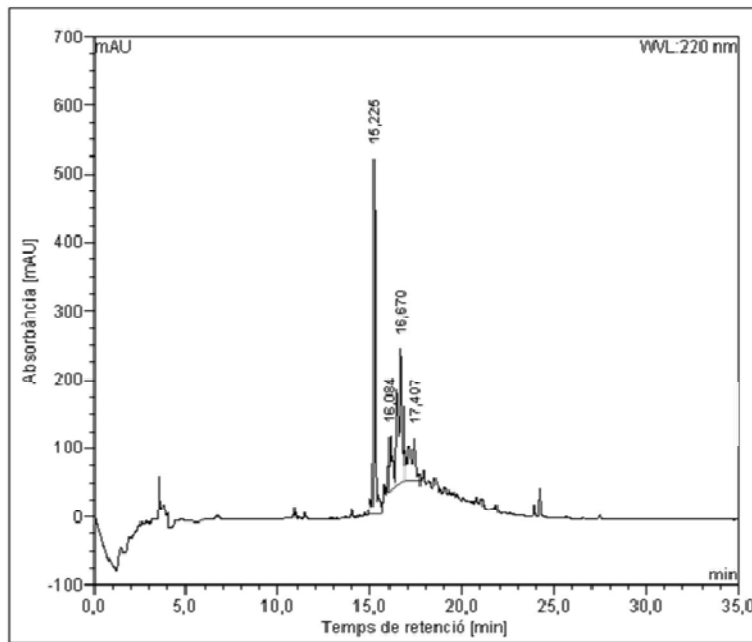


ESI-MS  $m/z$



HRMS (ESI)  $m/z$

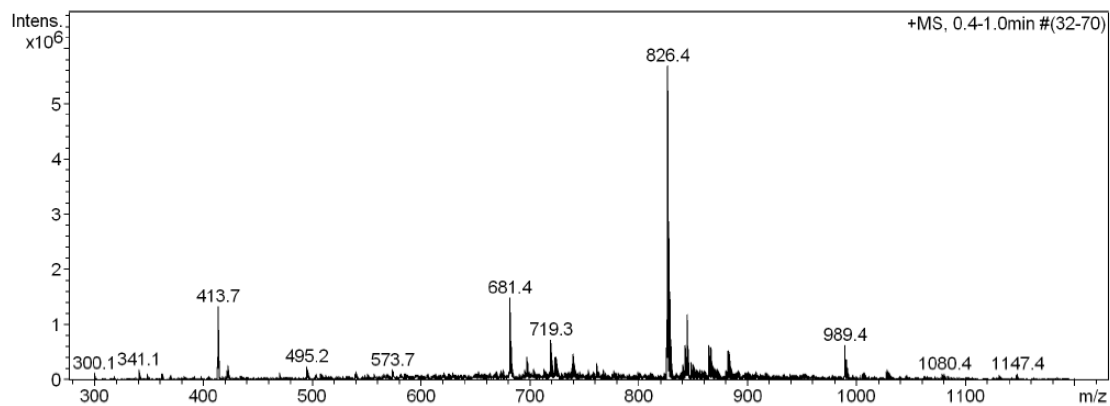


**Pèptid biarílic cíclic BPC444**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

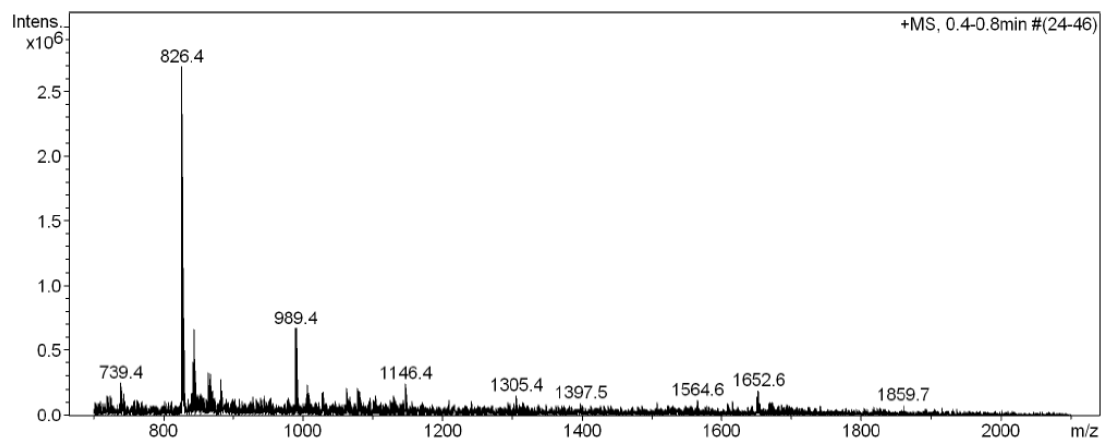
No.	Ret.Time min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	15,23	517,600	53,489	36,37
2	16,08	78,977	15,422	10,49
3	16,67	194,891	52,855	35,94
4	17,41	60,859	25,291	17,20
Total:		852,327	147,057	100,00



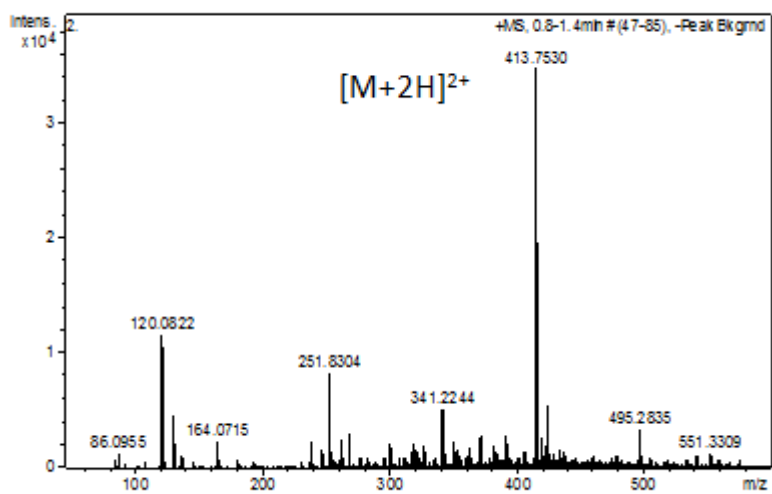
ESI-MS  $m/z$

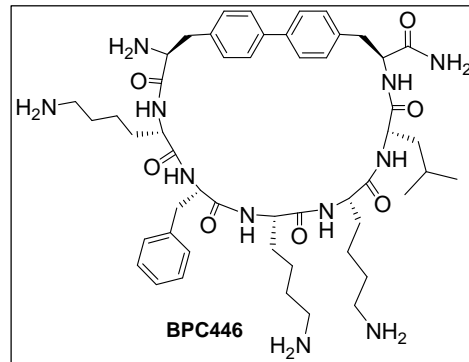
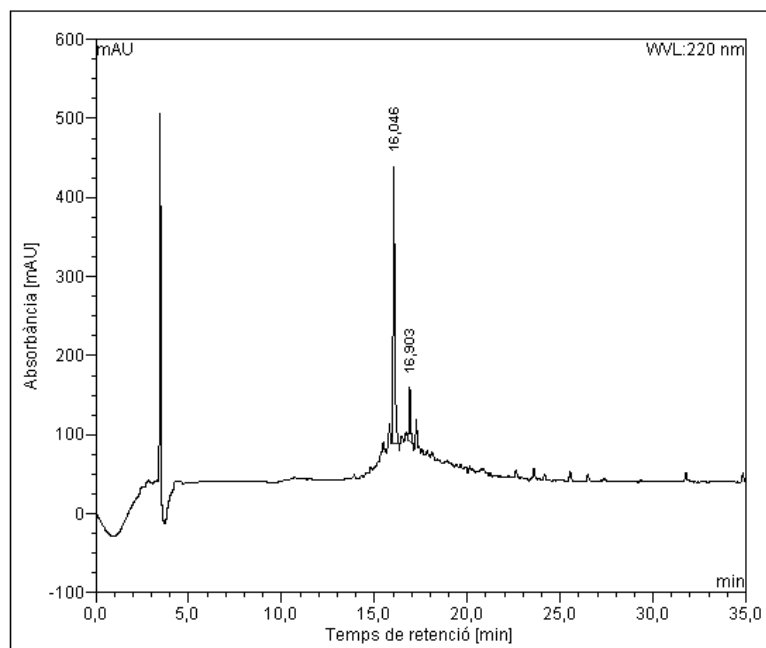


ESI-MS  $m/z$



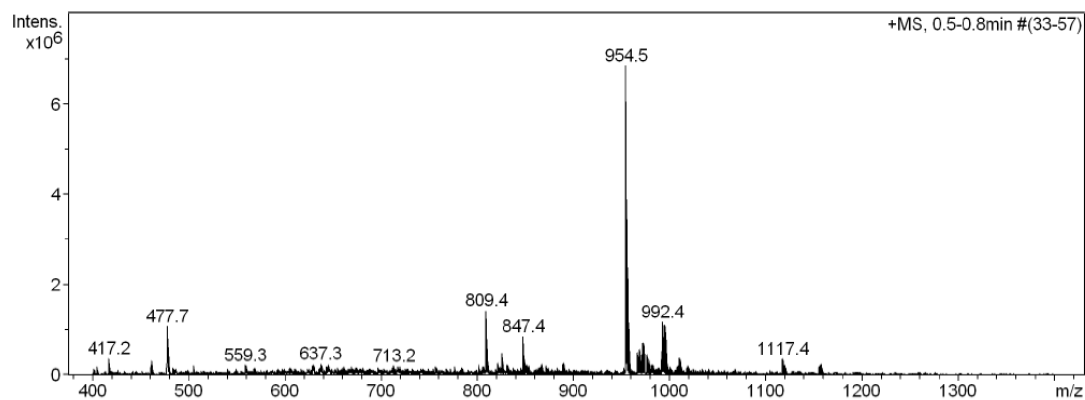
HRMS (ESI)  $m/z$



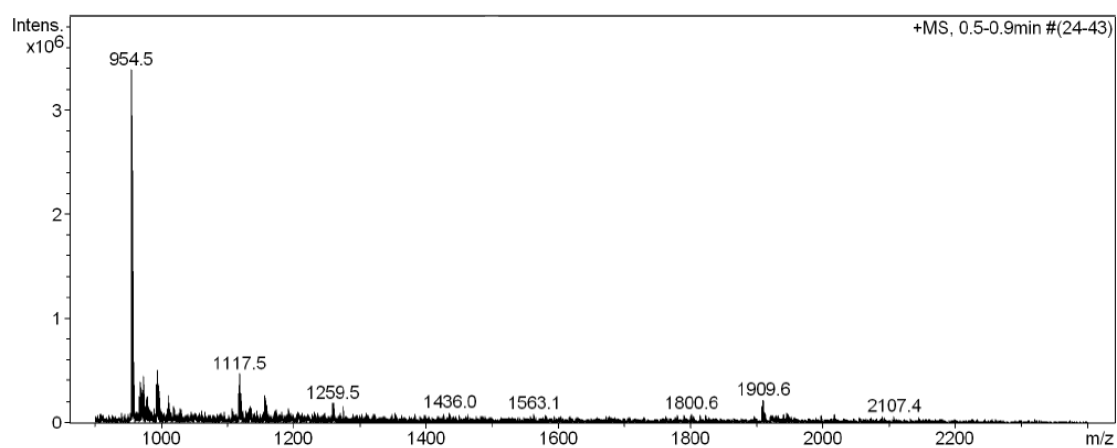
**Pèptid biarílic cíclic BPC446**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

No.	Ret. Time min	Height mAU	Area mAU <sup>2</sup> min	Rel. Area %
1	16,05	350,312	35,142	84,14
2	16,90	67,599	6,625	15,86
Total:		417,911	41,766	100,00

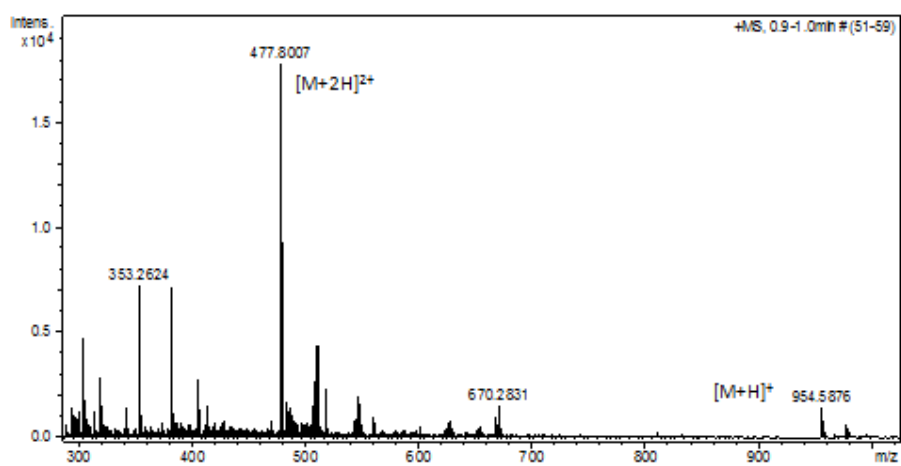
ESI-MS  $m/z$

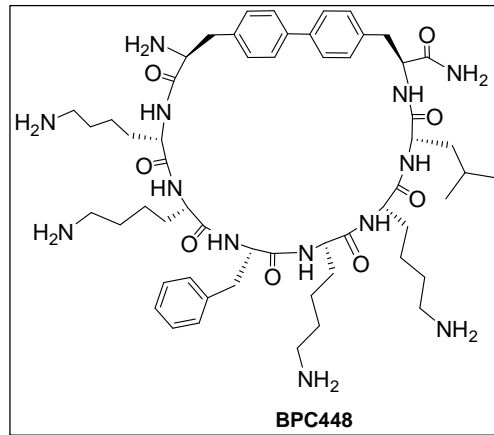
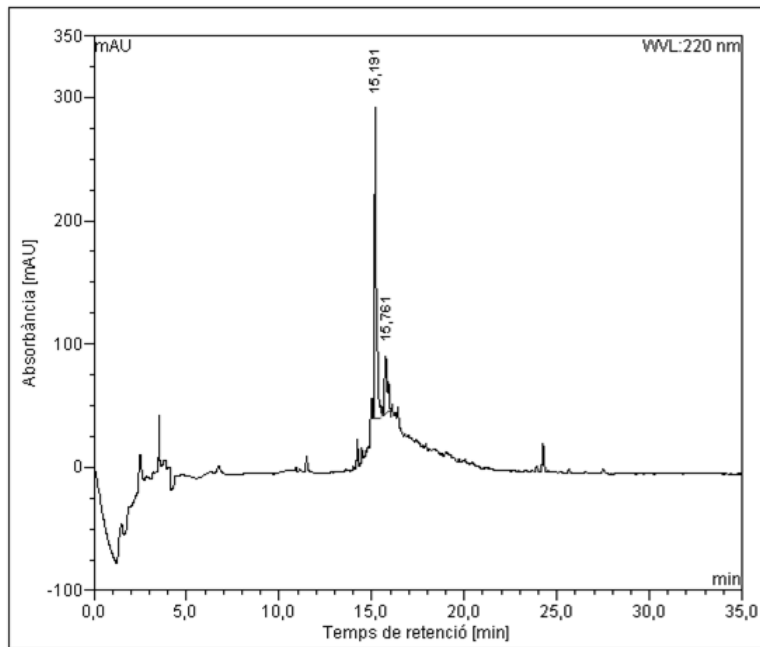


ESI-MS  $m/z$



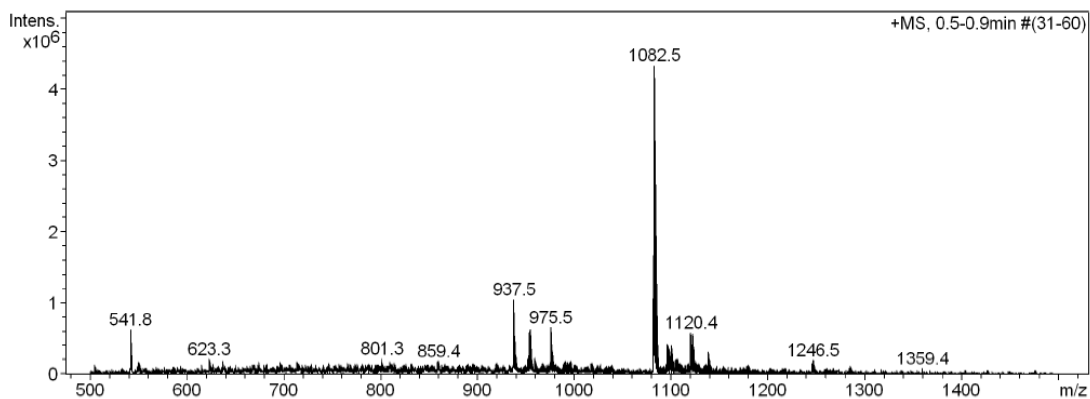
HRMS (ESI)  $m/z$



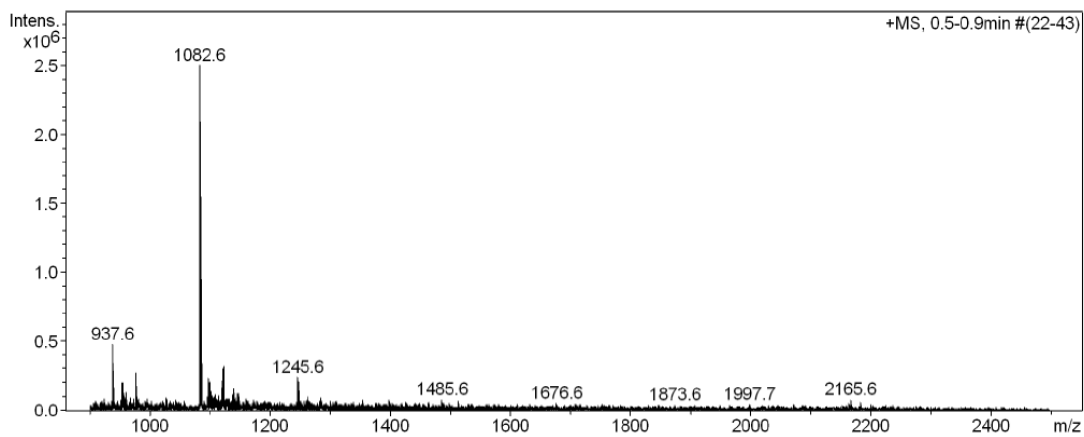
**Pèptid biarílic cíclic BPC448**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

No.	Ret.Time min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	15,19	252,429	28,244	76,96
2	15,76	47,039	8,455	23,04
Total:		299,468	36,699	100,00

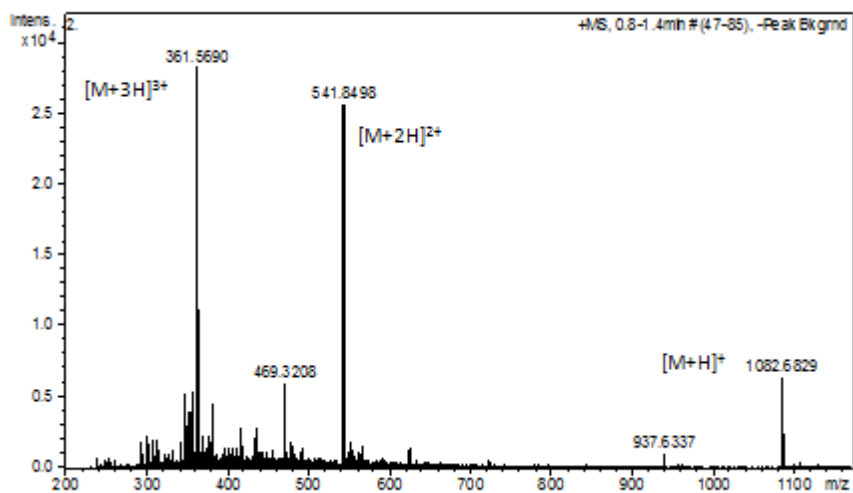
ESI-MS  $m/z$

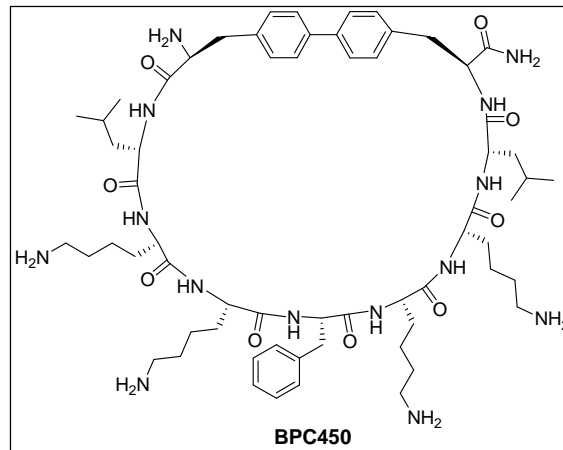
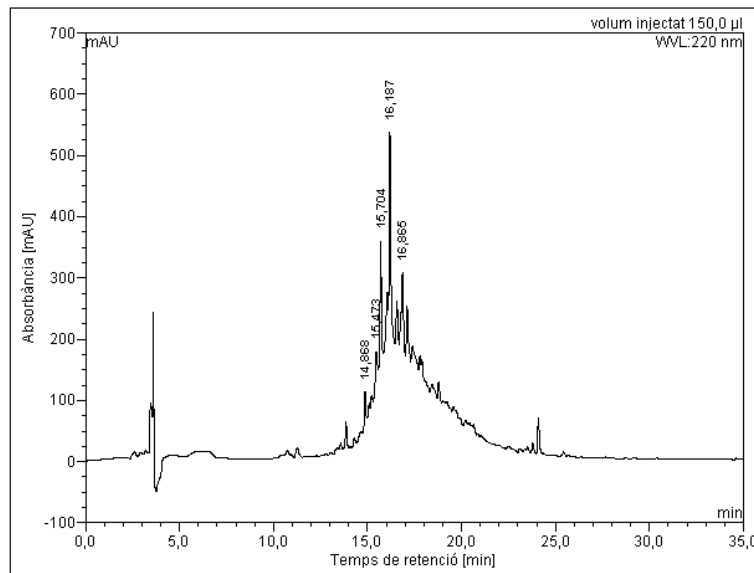


ESI-MS  $m/z$

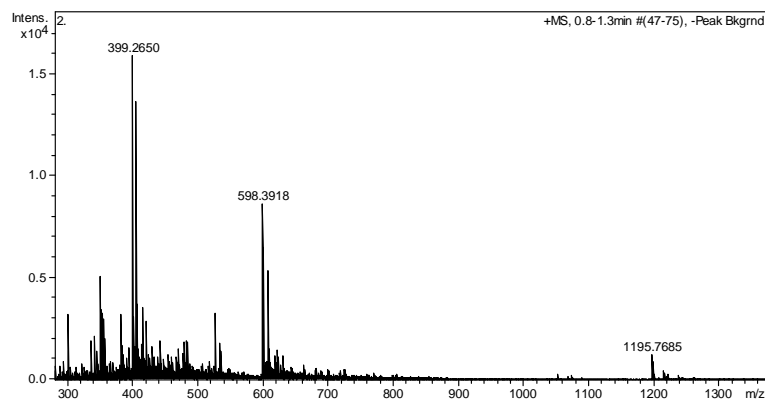


HRMS (ESI)  $m/z$

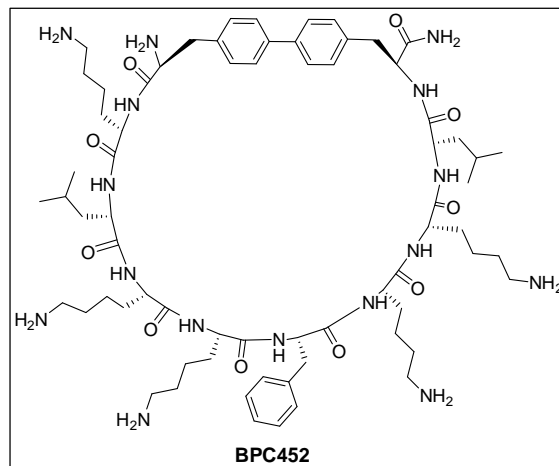


**Pèptid biarílic cíclic BPC450**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

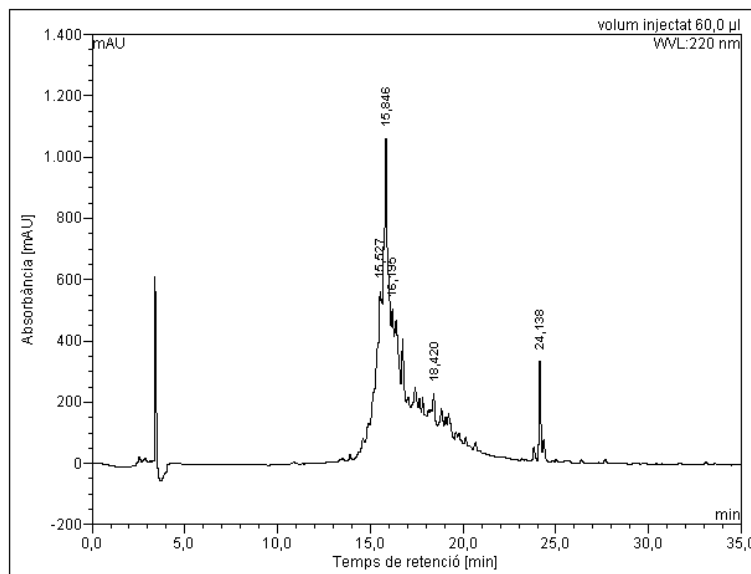
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU <sup>2</sup> min	Rel.Area %
1	14,87	65,662	23,088	6,66
2	15,47	100,471	17,877	5,15
3	15,70	268,836	39,022	11,25
4	16,19	442,596	100,394	28,95
5	16,87	209,567	166,408	47,99
Total:		1087,131	346,789	100,00

HRMS (ESI)  $m/z$ 

**Pèptid biarílic cíclic BPC452**

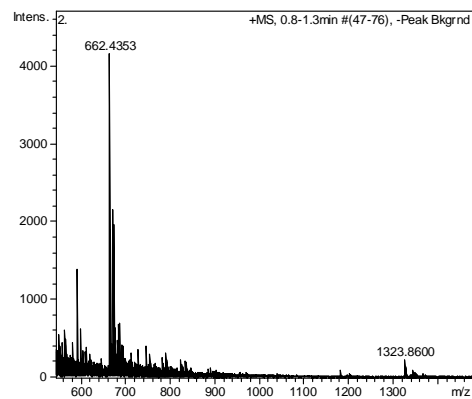
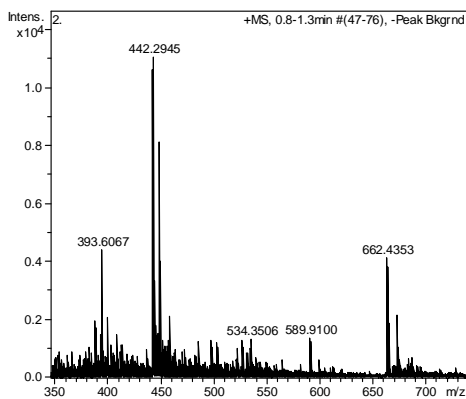


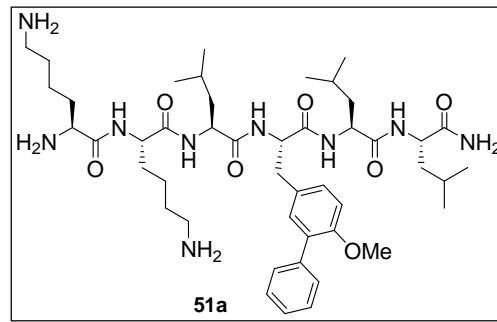
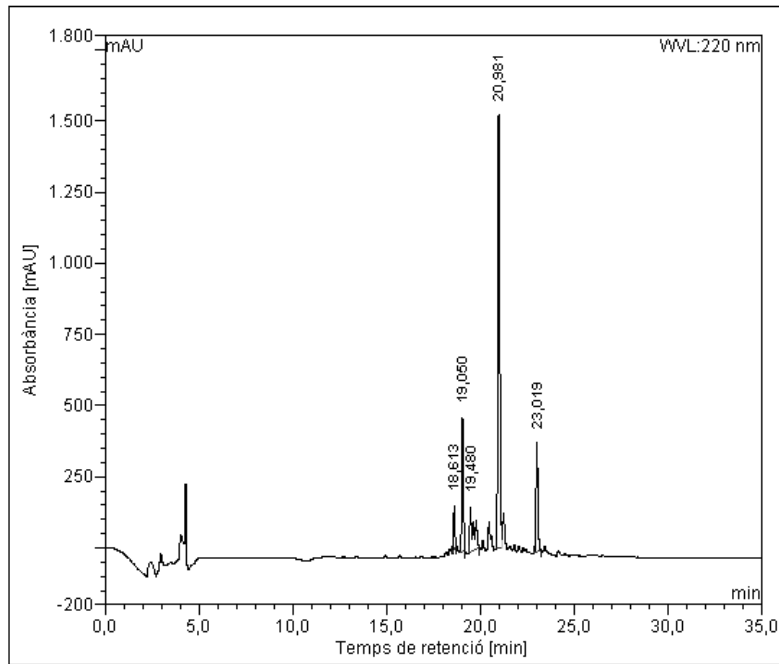
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )



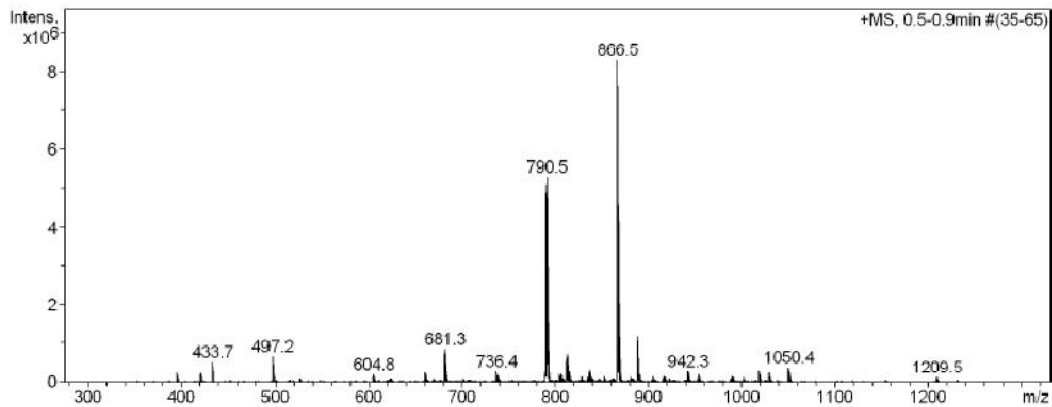
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	15,53	459,131	147,528	24,36
2	15,85	956,328	257,610	42,54
3	16,19	376,306	162,560	26,85
4	18,42	74,802	7,333	1,21
5	24,14	310,121	30,478	5,03
Total:		2176,688	605,508	100,00

HRMS (ESI)  $m/z$



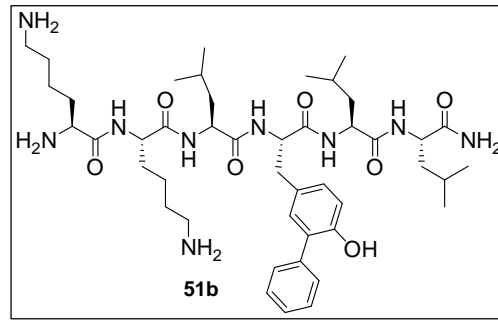
**H-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-Ph,Me)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (51a)**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

No.	Ret.Time min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	18,61	154,042	12,978	3,99
2	19,05	469,245	48,146	14,80
3	19,48	156,671	36,607	11,25
4	20,98	1520,652	183,898	56,54
5	23,02	383,075	43,638	13,42
Total:		2683,685	325,267	100,00

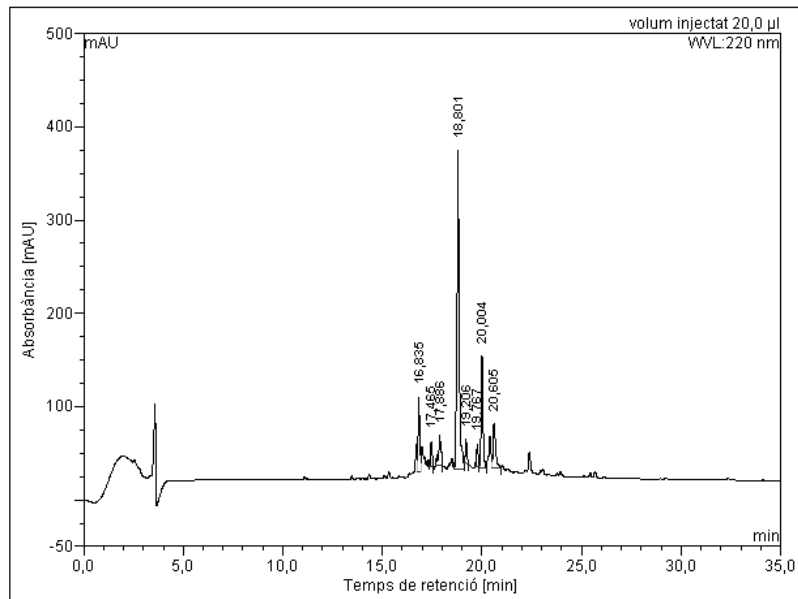
ESI-MS  $m/z$ 



**H-Lys-Lys-Leu-Tyr(3-Ph)-Leu-Leu-NH<sub>2</sub> (51b)**

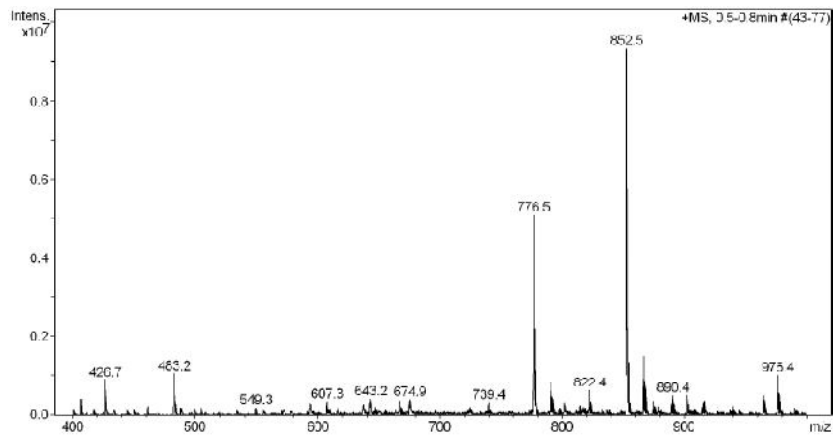


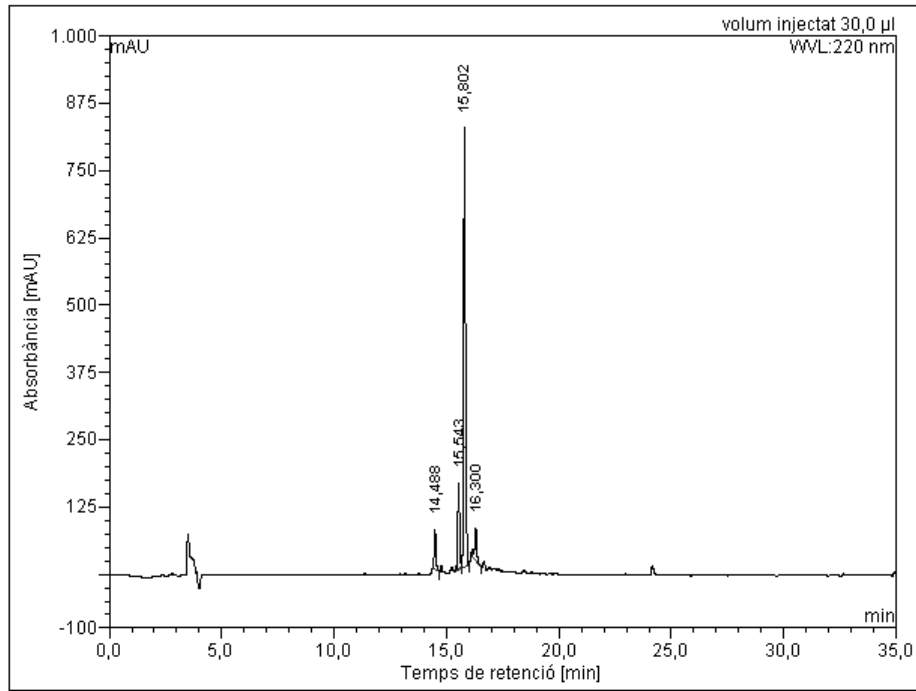
HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )



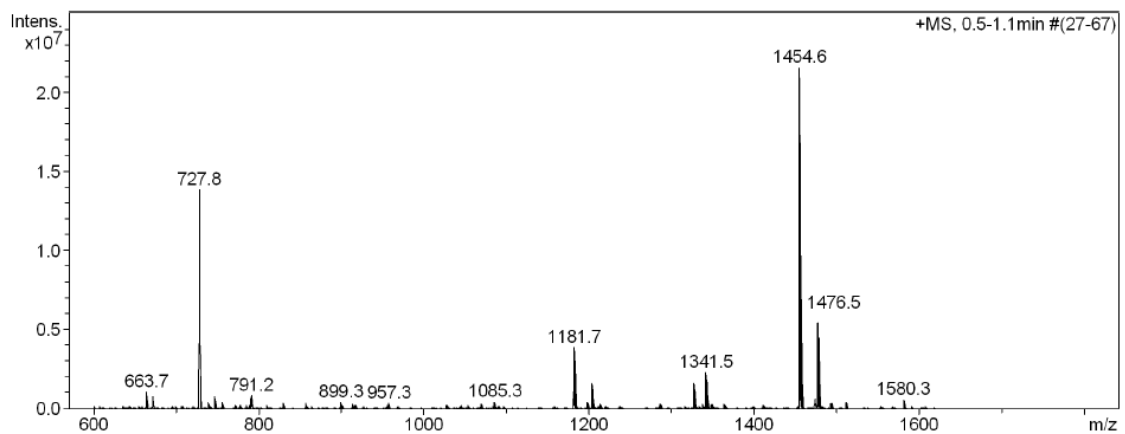
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	16,83	80,026	7,694	9,32
2	17,46	26,389	2,463	2,98
3	17,89	31,489	4,523	5,48
4	18,80	341,472	43,357	52,54
5	19,21	24,758	2,248	2,72
6	19,77	24,174	2,323	2,82
7	20,00	120,423	12,999	15,75
8	20,60	46,861	6,912	8,38
Total:		695,592	82,521	100,00

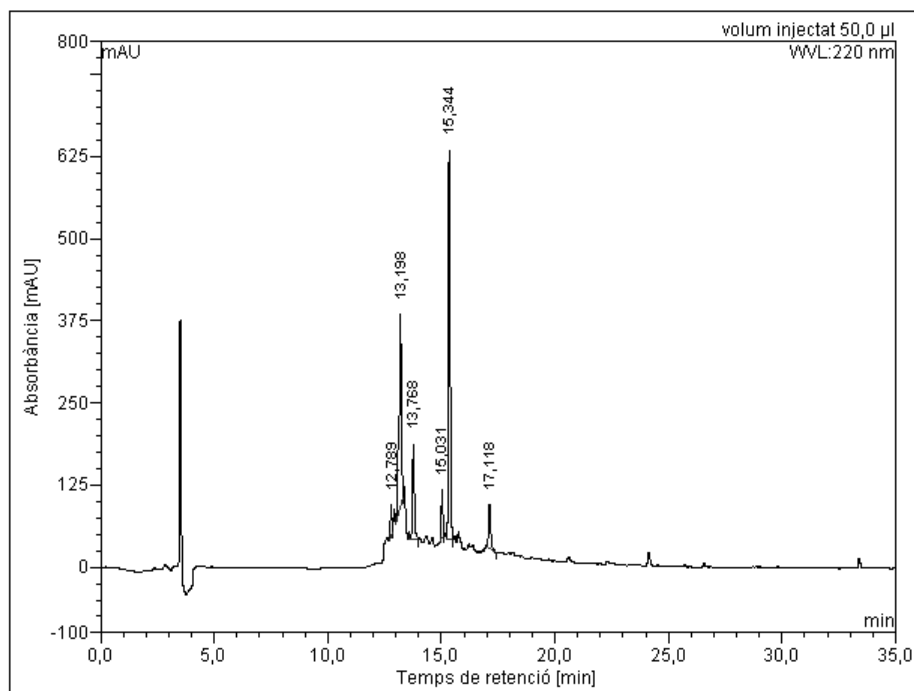
ESI-MS  $m/z$



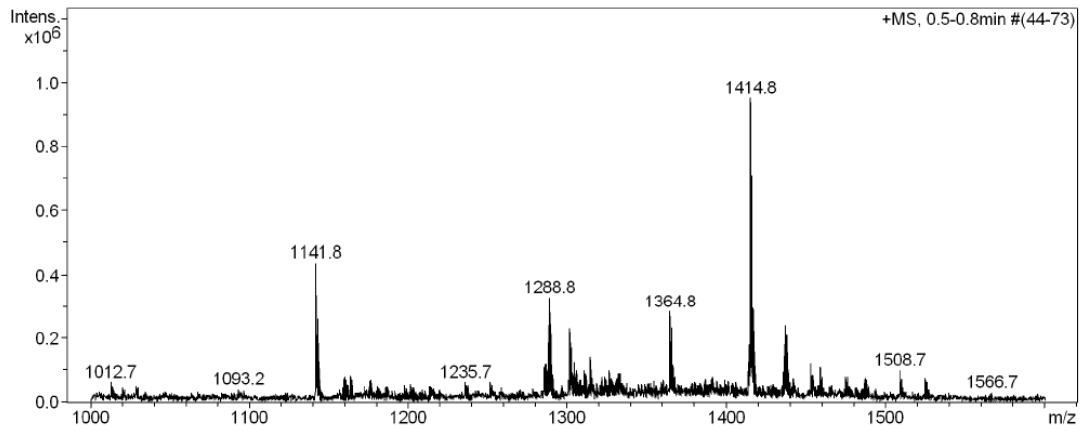
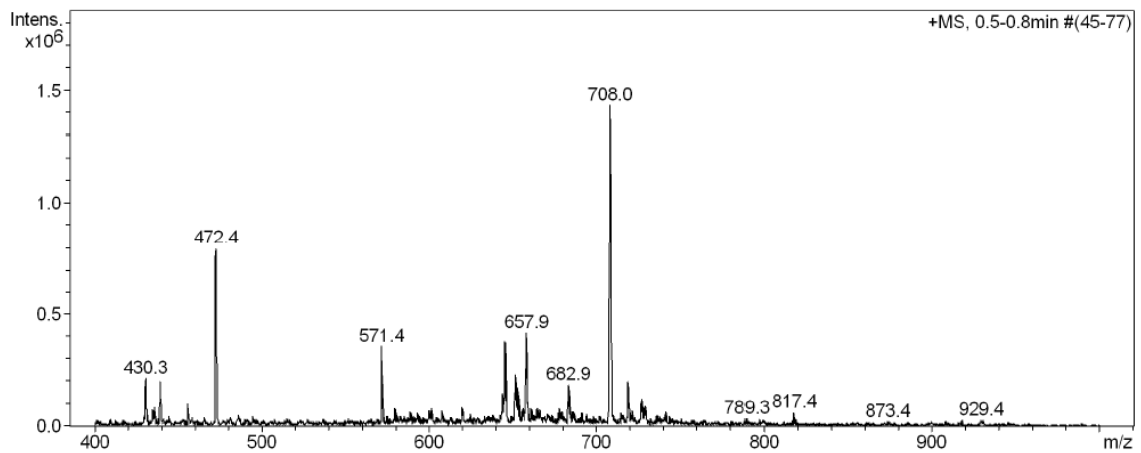
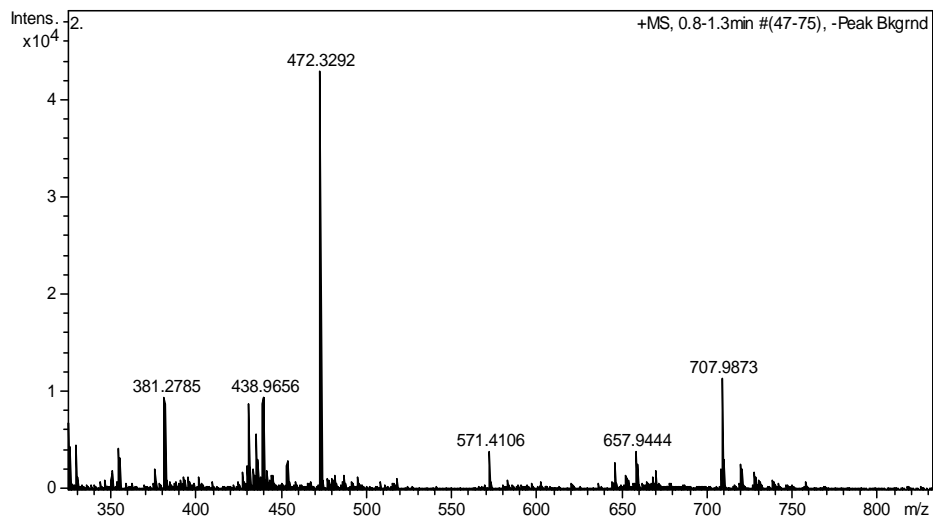
**H-Lys-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe(4-I)-Lys-Lys-Leu-Gln-OAI**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

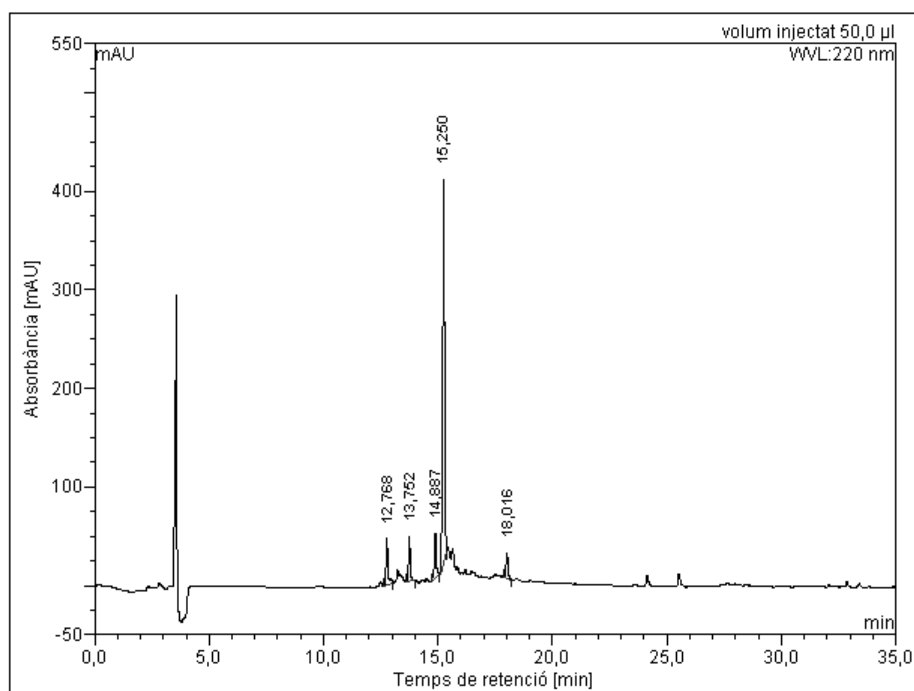
No.	Ret. Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel. Area %
1	14,49	74,112	6,522	6,05
2	15,54	160,342	14,669	13,60
3	15,80	816,637	80,439	74,59
4	16,30	60,946	6,212	5,76
Total:		1112,037	107,842	100,00

ESI-MS  $m/z$ 

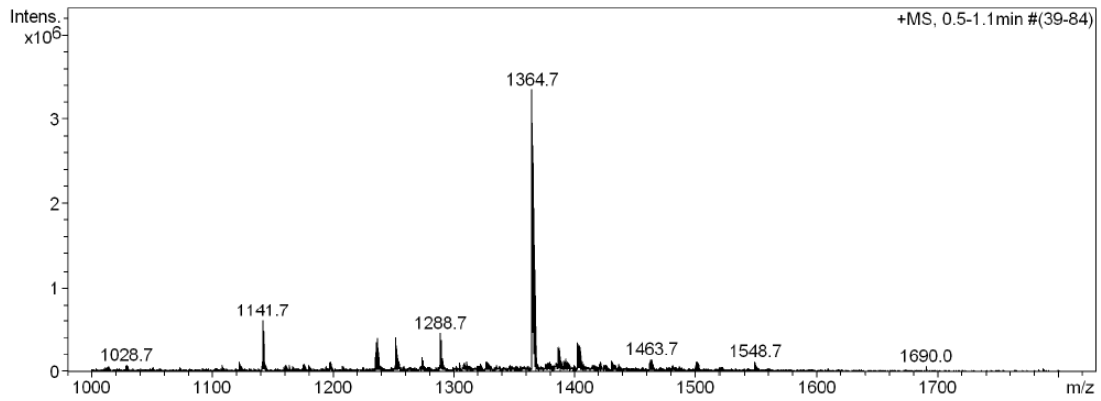
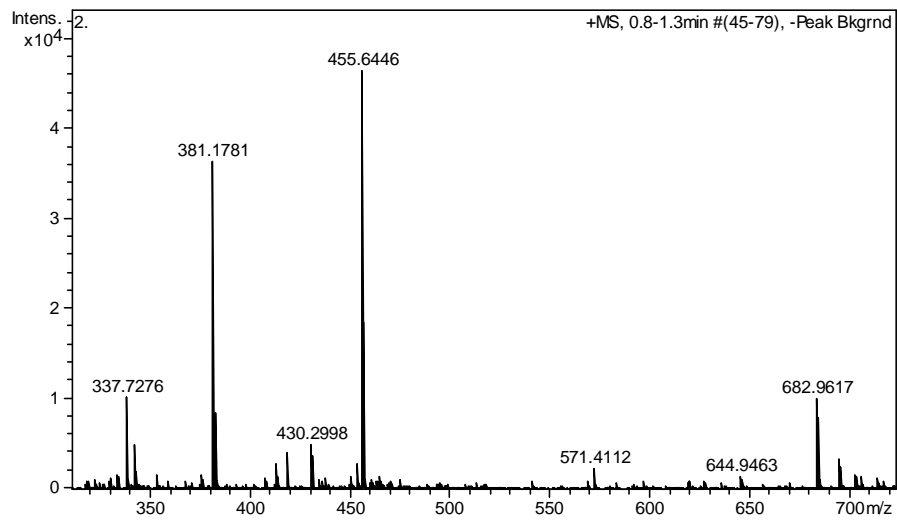
**H-Lys-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe(4-BPin)-Lys-Lys-Leu-Gln-OH**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	12,79	46,086	3,303	2,74
2	13,20	293,737	36,878	30,57
3	13,77	144,251	13,636	11,30
4	15,03	75,241	5,810	4,82
5	15,34	591,810	53,951	44,72
6	17,12	65,524	7,074	5,86
Total:		1216,649	120,653	100,00

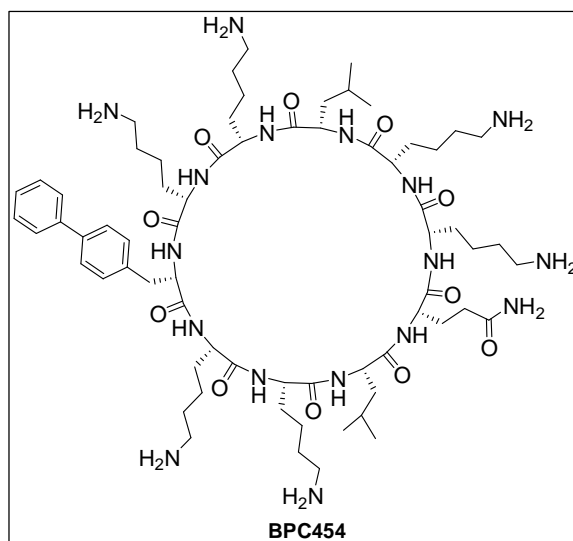
ESI-MS  $m/z$ ESI-MS  $m/z$ HRMS (ESI)  $m/z$ 

**H-Lys-Lys-Leu-Lys-Lys-Phe(4-Ph)-Lys-Lys-Leu-Gln-OH**HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )

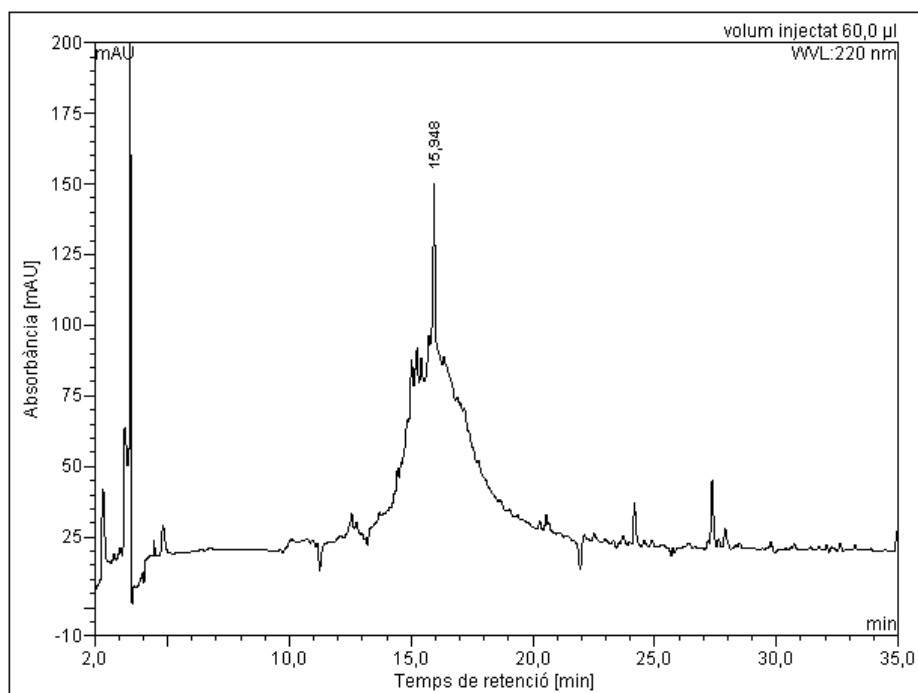
No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	12,77	47,072	4,491	8,62
2	13,75	45,011	3,805	7,30
3	14,89	45,459	4,581	8,79
4	15,25	388,711	36,647	70,35
5	18,02	25,679	2,566	4,93
Total:		551,932	52,090	100,00

ESI-MS  $m/z$ HRMS (ESI)  $m/z$ 

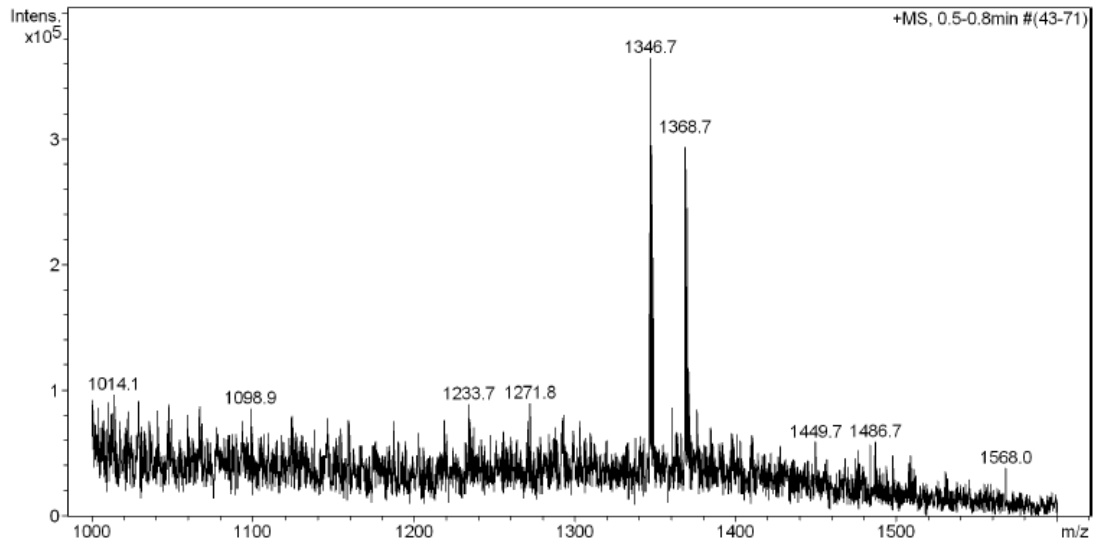
### Pèptid cíclic BPC454



HPLC ( $\lambda = 220 \text{ nm}$ )



No.	Ret.Time (detected) min	Height mAU	Area mAU*min	Rel.Area %
1	15,95	59,246	5,993	100,00
Total:		59,246	5,993	100,00

ESI-MS  $m/z$ HRMS (ESI)  $m/z$ 