



ESCUELA DE DOCTORADO
INTERNACIONAL DE LA USC

David
Reza Ramos

Tesis doctoral

Síntesis, estudio estructural y propiedades de péptidos y de N-alquilamidas de β - y γ -aminoácidos derivados del ácido ciclohexenocarboxílico y del ácido (-)-shikímico

Santiago de Compostela, 2023

Programa de doctorado en Ciencia y Tecnología Química



TESIS DE DOCTORADO

**SÍNTESIS, ESTUDIO ESTRUCTURAL Y
PROPIEDADES DE PÉPTIDOS Y DE
N-ALQUILAMIDAS DE β - Y
 γ -AMINOÁCIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO
CICLOHEXENOCARBOXÍLICO Y DEL ÁCIDO
(-)-SHIKÍMICO**

David Reza Ramos

ESCUELA DE DOCTORADO INTERNACIONAL
PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA QUÍMICA

SANTIAGO DE COMPOSTELA

2023



DECLARACIÓN DEL AUTOR DE LA TESIS

SÍNTESIS, ESTUDIO ESTRUCTURAL Y PROPIEDADES DE PÉPTIDOS Y DE N-ALQUILAMIDAS DE β - Y γ -AMINOÁCIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO CICLOHEXENOCARBOXÍLICO Y DEL ÁCIDO (-)-SHIKÍMICO

D. David Reza Ramos

Presento mi tesis, siguiendo el procedimiento adecuado al Reglamento, y declaro que:

- 1) La tesis abarca los resultados de la elaboración de mi trabajo.*
- 2) En su caso, en la tesis se hace referencia a las colaboraciones que tuvo este trabajo.*
- 3) La tesis es la versión definitiva presentada para su defensa y coincide con la versión enviada en formato electrónico.*
- 4) Confirmando que la tesis no incurre en ningún tipo de plagio de otros autores ni de trabajos presentados por mí para la obtención de otros títulos.*

En Santiago de Compostela, el 30 de enero de 2023.

AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR / TUTOR DE LA TESIS

D. Juan Carlos Estévez Cabanas y D. Ramón José Estévez Cabanas,

En condición de directores (y de tutor el primero):

Título de la Tesis: **Síntesis, estudio estructural y propiedades de péptidos y de *N*-alquilamidas de β - y γ -aminoácidos derivados del ácido ciclohexenocarboxílico y del ácido (-)-shikímico**

INFORMAN:

Que la presente Tesis se corresponde con el trabajo realizado por Don **David Reza Ramos**, bajo nuestra dirección/tutorización, por lo que autorizamos su presentación, considerando que reúne los requisitos exigidos en el Reglamento de Estudios de Doctorado de la USC y que como directores/tutores de ésta no incurrimos en las causas de abstención establecidas en la Ley 40/2015.

En **Santiago de Compostela, 30 de enero de 2023.**

Viaje antes que destino

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer, en primer lugar, a mi director de tesis, **Prof. Dr. D. Juan Carlos Estévez Cabanas** y a mi codirector, el **Prof. Dr. D. Ramón Estévez Cabanas** por ofrecerme la oportunidad de formar parte del grupo de investigación y por sus enseñanzas, dedicación, confianza, paciencia, esfuerzo, y especialmente, por el apoyo a lo largo del proceso de investigación y redacción de esta tesis.

Al **Prof. Dr. D. Martin Smith**, por acogerme en su grupo de investigación durante mi estancia predoctoral en el departamento de química de la Universidad de Oxford.

Al **Prof. Dr. D. Víctor Sánchez Pedregal** por su ayuda y enseñanzas en el campo de la RMN, y por su valiosa contribución en la interpretación de los resultados.

Al **Dr. D. Pau Nolis Fañanás**, por su colaboración en esta tesis con los experimentos de RMN.

Al **Dr. D. Bruno Dacuña Mariño**, por colaboración en esta tesis con los experimentos de rayos X y su ayuda en la interpretación de los resultados.

A la **Profa. Rebeca García Fandiño**, por su colaboración en esta tesis con sus cálculos de dinámica molecular.

A los **técnicos del CIQUS** y del **CACTUS**, especialmente a Arcadio Guerra, M^a Carmen Mosquera, Manuel Martín y Raquel Mosquera, por su apoyo y horas compartidas.

A **D. Enrique Roca Bordello**, **D. Marcos Diéguez Aranda** y a la empresa **Repsol** por el suministro de muestras de petróleo.

También quería agradecer á **Xunta de Galicia** y al **Ministerio de Educación, Ciencia y Deportes** por las bolsas concedidas.

A todos mis compañeros y amigos del P2L2, con los que he compartido largas horas de trabajo, en especial:

A mis tres mentores dentro del laboratorio:

A María Campos, por su paciencia al enseñarme, en mis inicios, cómo funciona y cómo se trabaja en un laboratorio de síntesis orgánica. Pero sobre todo por sus valores y amistad, gracias a los cuales ahora soy mejor persona. A Alberto por ser un compañero de laboratorio excepcional junto con quien he aprendido mucho y quien ahora considero un gran amigo. A Lino por compartir sus conocimientos y su ética de trabajo, aunque coincidimos poco tiempo, sus aportaciones me han hecho mucho mejor químico.

A mis compañeros de laboratorio con los que he compartido la mayoría de las jornadas de trabajo y estudio:

A Pablo por hacer el laboratorio más divertido con su bromas y memes, y las tardes compartidas jugando al baloncesto. A Capi, por no volcarme las cosas ni romperme ningún hueso con un mataleón, bueno al menos no mucho. A Jorge, porque, aunque su paso por el laboratorio fue breve, dejó huella y es una persona a la que siempre puedo acudir para desbloquear mi móvil.

A las últimas incorporaciones:

A Sara por aportar siempre una sonrisa, aunque los resultados no acompañen y gritos, muchos gritos. A María, mi última “pupila” por hacerlo todo tan fácil cuyos valores y ética de trabajo son extraordinarios.


A todos mis amigos que siempre me han apoyado durante este camino, en especial a Sergio, por poder contar siempre contigo y por todos los momentos compartidos durante estos años.

A mi familia, a mis abuelos (Pepe y Pilar) a mis tías y tíos (Esther, Raquel, Antonio y Ernesto) a mis primos (Pablo, Jorge, Ángela y Guille), gracias por todos los momentos compartidos en la sierra y por permitirme desconectar y por vuestro respaldo.

A mi madre por cuidarme y criarme, que ya es suficiente, pero también por enseñarme valores, lucha y fuerza. A mi padre por inculcarme su cultura, sus gustos musicales y cinematográficos, pero sobre todo por inculcarme el gusto por la ciencia a través de su pasión por la biología y por proporcionarme toda su sabiduría y sus enseñanzas en el campo, sabiendo cada animal, ave y planta. A mis hermanos, Iván por ayudarme siempre que te lo pido, por nuestras charlas, que me aportan mucho, y compartir tu cultura, que es mucha, conmigo; A Laura, por su caótica y diferente manera de ver la vida, aunque nuestros “horarios” no coincidan mucho se que siempre puedo contar contigo si lo necesito.

A Cris, por acompañarme a cada momento, por calmar mi ansiedad, por las risas, por las lágrimas, por permitirme descubrir mundo contigo; por cada experiencia compartida. Tu apoyo incondicional es el combustible que me ha permitido seguir adelante en cada momento difícil y levantarme en cada caída. Me hace muy feliz que hayas recorrido este camino a mi lado.

Abreviaturas y acrónimos

a	Ancho
ACHC	Ácido 2-aminociclohexanocarboxílico
ACPC	Ácido 2-aminociclopentanocarboxílico
AFM	Microscopía de fuerza atómica
Aib	Ácido 2-aminoisobutírico
<i>ap</i>	Antiperiplanar
Ar	Aromático
Bn	Bencilo
Boc	<i>tert</i> -Butoxicarbonilo
Cbz	Benciloxicarbonilo
ccf	Cromatografía en capa fina
CD	Dicroísmo Circular
DBS	Dibencilsorbitol
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
DCM	Diclorometano
DIC	<i>N,N</i> -Diisopropilcarbodiimida
DIEA	Diisopropiletilamina
DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DSC	Calorimetría diferencial de barrido
EDC	1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida
ee	Exceso enantiomérico
EMAR	Espectrometría de masas de alta resolución
ESI ⁺	Ionización por electroespray
GABA	Ácido γ -aminobutírico
Hex	Hexano
HOBt	1-Hidroxibenzotriazol
HPLC-UV	Cromatografía líquida de alta resolución con detector de ultravioleta-visible
IR	Infrarrojo
LMWG	Gelificante de bajo peso molecular
 v	Número de onda
NOE	Nuclear Overhauser Effect

Mm	Masa molecular
ORTEP	Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot
p.f.	Punto de fusión
ppm	Partes por millón
PPF	Pentafluorofenol
PXRD	Difracción de rayos X de polvo cristalino
RAE	Real Academia Española
R _f	Factor de retención
RMN	Resonancia magnética nuclear
SEM	Microscopía electrónica de barrido
<i>sp</i>	Sinperiplanar
t.a.	Temperatura ambiente
TBAF	Fluoruro de tetrabutilamonio
TBS	<i>tert</i> -butildimetilsililo
TFA	Ácido trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano
UV-Vis	Ultravioleta-visible
XRD	Difracción de Rayos X
Z	Benciloxicarbonilo (Cbz)

ÍNDICE

SUMMARY.....	I
1 INTRODUCCIÓN.....	9
1.1 α -AMINOÁCIDOS.....	11
1.2 β -AMINOÁCIDOS.....	12
1.3 γ -AMINOÁCIDOS.....	16
1.4 PÉPTIDOS DE β -AMINOÁCIDOS.....	19
1.5 HETEROOLIGÓMEROS DE β -AMINOÁCIDOS: α,β -PÉPTIDOS.....	24
1.6 PÉPTIDOS DE γ -AMINOÁCIDOS.....	28
1.7 HETEROOLIGÓMEROS DE γ -AMINOÁCIDOS: α,γ -PÉPTIDOS.....	32
2 OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO.....	35
2.1 SÍNTESIS Y ESTUDIO ESTRUCTURAL DE PÉPTIDOS DE β - Y γ -AMINOÁCIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO CICLOHEXENOCARBOXÍLICO Y DEL ÁCIDO (-) SHIKÍMICO	37
2.1.1 Objetivo específico nº 1:.....	37
2.1.2 Objetivo específico nº 2:.....	40
2.1.3 Objetivo específico nº 3:.....	42
2.2 SÍNTESIS, ESTUDIO ESTRUCTURAL Y DE GELIFICACIÓN DE <i>N</i> -ALQUILAMIDAS DERIVADAS DEL ÁCIDO 2-AMINOCICLOHEXANOCARBOXÍLICO Y DEL ÁCIDO (-)-SHIKÍMICO.....	45
2.2.1 Objetivo específico nº 4:.....	45
2.2.2 Objetivo específico nº 5:.....	47
3 DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	49
3.1 β -PÉPTIDOS DE ÁCIDOS 2-AMINOCICLOHEXANOCARBOXÍLICOS.....	51
3.1.1 Síntesis de los pentapéptidos 70a , 70b y 70c	51
3.1.2 Estudio estructural de los pentapéptidos 70a , 70b y 70c	53
3.2 HETEROOLIGÓMEROS DE α -AMINOÁCIDOS Y ÁCIDOS 2-AMINOCICLOHEXANOCAR- BOXÍLICOS.....	75
3.2.1 Síntesis de los pentapéptidos 75a , 75b y 75c	75
3.2.2 Estudio estructural de los pentapéptidos 75a , 75b y 75c	78
3.3 HETEROOLIGÓMEROS DE α -AMINOÁCIDOS Y ÁCIDOS 2-AMINOMETILCICLOHEXA- NOCARBOXÍLICOS.....	87
3.3.1 Síntesis de los hexapéptidos 81a , 81b y 81c	87
3.3.2 Estudio estructural de los hexapéptidos 81a , 81b y 81c	91

3.4	SÍNTESIS, ESTUDIO DE GELIFICACIÓN Y APLICACIONES DE <i>N</i> -ALQUILAMIDAS DERIVADAS DEL ÁCIDO 2-AMINOCICLOHEXENOCARBOXÍLICO Y DEL ÁCIDO (-)-SHIKÍMICO	107
3.4.1	Geles: Aspectos generales	107
3.4.2	Síntesis, estudio de gelificación y aplicaciones de <i>N</i> -alquilamidas derivadas del ácido 2-aminociclohexenocarboxílico	122
3.4.3	Síntesis, estudio de gelificación y propiedades de <i>N</i> -alquilamidas derivadas del ácido (-)-shikímico	154
4	CONCLUSIONS	167
5	PARTE EXPERIMENTAL	171
5.1	TÉCNICAS EXPERIMENTALES	173
5.2	SÍNTESIS DE LOS β-PÉPTIDOS 70a , 70b Y 70c	174
5.2.1	Síntesis del ácido (1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-((1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-((<i>tert</i> -butoxicarbonil)amino)ciclohexanocarboxamida)ciclohexanocarboxílico (68b).....	174
5.2.2	Síntesis del (1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-((1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-aminociclohexanocarboxamida)ciclohexanocarboxilato de bencilo (68c).....	174
5.2.3	Síntesis del (3 <i>aR</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,7 <i>R</i> ,7 <i>aR</i>)-4-((1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-((1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-((<i>tert</i> -butoxicarbonil)amino)ciclohexano-1-carboxamida)ciclohexano-1-carboxamida)-7-((<i>tert</i> -butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-carboxilato de metilo (69a)	175
5.2.4	Síntesis del ácido (3 <i>aR</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,7 <i>R</i> ,7 <i>aR</i>)-4-((1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-((1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-((<i>tert</i> -butoxicarbonil)amino)ciclohexano-1-carboxamida)ciclohexano-1-carboxamida)-7-((<i>tert</i> -butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-carboxílico (69b)	177
5.2.5	Síntesis del (1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-((1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-((3 <i>aR</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,7 <i>R</i> ,7 <i>aR</i>)-4-((1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-((1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-((<i>tert</i> -butoxicarbonil)amino)ciclohexano-1-carboxamida)ciclohexano-1-carboxamida)-7-((<i>tert</i> -butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-carboxamida)ciclohexano-1-carboxamida)ciclohexano-1-carboxilato de bencilo (70a)	178
5.2.6	Síntesis del (1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-((1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-((3 <i>aR</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,7 <i>R</i> ,7 <i>aS</i>)-4-((1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-((1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-((<i>tert</i> -butoxicarbonil)amino)ciclohexano-1-carboxamida)ciclohexano-1-carboxamida)-7-hidroxi-2,2-dimetilhexahidrobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-carboxamida)ciclohexano-1-carboxamida)ciclohexano-1-carboxilato de bencilo (70b).....	179
5.2.7	Síntesis del (1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-((1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-((3 <i>aR</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,7 <i>R</i> ,7 <i>aS</i>)-4-((1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-((1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-((<i>tert</i> -butoxicarbonil)amino)ciclohexano-1-carboxamida)ciclohexano-1-carboxamida)-7-hidroxi-2,2-dimetilhexahidrobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-carboxamida)ciclohexano-1-carboxamida)ciclohexano-1-carboxilato de bencilo (70c)	180
5.3	ANÁLISIS ESTRUCTURAL DE LOS PENTAPÉPTIDOS 70a , 70b Y 70c	181
5.3.1	Estudio de Infrarrojo de los péptidos 68a , 69a , 70a , 70b y 70c	181
5.3.2	Espectroscopía de Dicroísmo Circular de los péptidos 68a , 69a , 70a , 70b y 70c	184

5.3.3	Espectroscopía de RMN del péptido 70a en DMSO- <i>d</i> ₆	187
5.3.4	Espectroscopía de RMN del péptido 70b en DMSO- <i>d</i> ₆	198
5.3.5	Espectroscopía de RMN del péptido 70c en DMSO- <i>d</i> ₆	206
5.3.6	Espectroscopía de RMN del péptido 70c en metanol- <i>d</i> ₃	216
5.3.7	Espectroscopía de RMN: Tablas	224
5.4	SÍNTESIS DE LOS A,B-PÉPTIDOS 75a , 75b , Y 75c	232
5.4.1	((3a <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,7 <i>R</i> ,7a <i>R</i>)-4-(((Aliloxi)carbonil)amino)-7-((<i>terc</i> -butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-carbonil)- <i>L</i> -alaninato de metilo (73a)	232
5.4.2	((3a <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,7 <i>R</i> ,7a <i>R</i>)-4-(((Aliloxi)carbonil)amino)-7-((<i>terc</i> -butil-dimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-carbonil)- <i>L</i> -alanina (73b)	234
5.4.3	((3a <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,7 <i>R</i> ,7a <i>R</i>)-4-Amino-7-((<i>terc</i> -butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-carbonil)- <i>L</i> -alaninato de metilo (73c)	234
5.4.4	(<i>R</i>)-2-((3a <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,7 <i>R</i> ,7a <i>R</i>)-4-((<i>R</i>)-2-((3a <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,7 <i>R</i> ,7a <i>R</i>)-4-(((Aliloxi)carbonil)amino)-7-((<i>terc</i> -butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-carboxamido)propanamido)-7-((<i>terc</i> -butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-carboxamido)propanoato de metilo (74a).....	235
5.4.5	(<i>R</i>)-2-((3a <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,7 <i>R</i> ,7a <i>R</i>)-4-((<i>R</i>)-2-((3a <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,7 <i>R</i> ,7a <i>R</i>)-4-Amino-7-((<i>terc</i> -butil-dimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-carboxamido)propanamido)-7-((<i>terc</i> -butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-carboxamido) propanoato de metilo (74b)	238
5.4.6	(<i>R</i>)-2-((3a <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,7 <i>R</i> ,7a <i>R</i>)-4-((<i>R</i>)-2-((3a <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,7 <i>R</i> ,7a <i>R</i>)-4-((<i>R</i>)-2-(((Benciloxi)carbonil)amino)propanamido)-7-((<i>terc</i> -butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-carboxamido)propanamido)-7-((<i>terc</i> -butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-carboxamido) propanoato de metilo (75a)	238
5.4.7	(<i>R</i>)-2-((3a <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,7 <i>R</i> ,7a <i>S</i>)-4-((<i>R</i>)-2-((3a <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,7 <i>R</i> ,7a <i>S</i>)-4-((<i>R</i>)-2-(((Benciloxi)carbonil)amino)propanamido)-7-hidroxi-2,2-dimetilhexahidrobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-carboxamido)propanamido)-7-hidroxi-2,2-dimetilhexahidrobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-carboxamido) propanoato de metilo (75b).....	241
5.4.8	(<i>R</i>)-2-((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-2-((<i>R</i>)-2-((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-2-((<i>R</i>)-2-(((Benciloxi)carbonil)amino)propanamido)-3,4,5-trihidroxiciclohexanocarboxamida)propanamido)-3,4,5-trihidroxiciclohexanocarboxamido) propanoato de metilo (75c)	243
5.5	ANÁLISIS ESTRUCTURAL DE LOS PENTAPÉPTIDOS 75a , 75b Y 75c	246
5.5.1	Espectroscopía de Dicroísmo Circular de los péptidos 75a , 75b y 75c	246
5.5.2	Espectroscopía de RMN del pentapéptido 75c en CD ₃ CN	249
5.5.3	Espectroscopía de RMN del pentapéptido 75c en CD ₃ OH.....	256
5.6	SÍNTESIS DE LOS HEXAPÉPTIDOS 81a , 81b Y 81c	260
5.6.1	Síntesis de la sal de ácido trifluoroacético de la (<i>S</i>)-2-amino- <i>N</i> -((<i>S</i>)-1-(metilamino)-1-oxopropan-2-il) propanamida (78b)	260

5.6.2	Síntesis del (3aR,4R,5R,7R,7aR)-7-((<i>terc</i> -butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetil-4-(nitro-metil)hexahidrobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxolo-5-carboxilato de pentafluorofenol (37d)	260
5.6.3	Síntesis de la (3aR,4R,5R,7R,7aR)-7-((<i>terc</i> -butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetil- <i>N</i> -((<i>S</i>)-1-(metilamino)-1-oxopropan-2-il)-4-(nitrometil)hexahidrobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-carboxamida (79a).....	262
5.6.4	Síntesis de la (3aR,4R,5R,7R,7aR)-4-(aminometil)-7-((<i>terc</i> -butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetil- <i>N</i> -((<i>S</i>)-1-(((<i>S</i>)-1-(metilamino)-1-oxopropan-2-yl)amino)-1-oxopropan-2-il)hexahidrobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-carboxamida (79b)	264
5.6.5	Síntesis del (3aR,4R,5S,7R,7aR)-7-((<i>terc</i> -butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetil-4-(nitrometil)hexahidrobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxolo-5-carboxilato de pentafluorofenol (37d)	265
5.6.6	Síntesis de la (3aR,4R,5R,7R,7aR)-7-((<i>terc</i> -butildimetilsilil)oxi)-4-(((3aR,4R,5S,7R,7aR)-7-((<i>terc</i> -butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetil-4-(nitrometil)hexahidrobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-carboxamido)metil)-2,2-dimetil- <i>N</i> -((<i>S</i>)-1-(metilamino)-1-oxopropan-2-il)hexahidrobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-carboxamida (80a).....	267
5.6.7	Síntesis de la (3aR,4R,5S,7R,7aR)-4-(aminometil)-7-((<i>terc</i> -butildimetilsilil)oxi)- <i>N</i> -(((3aR,4R,5R,7R,7aR)-7-((<i>terc</i> -butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetil-5-(((<i>S</i>)-1-(((<i>S</i>)-1-(metilamino)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)carbamoil)hexahidrobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-4-il)metil)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-carboxamida (80b).....	270
5.6.8	Síntesis del (<i>S</i>)-2-acetamido- <i>N</i> -((<i>S</i>)-1-((difluorofosfaneil)oxi)-1-oxopropan-2-il) propanamida (78d).....	271
5.6.9	Síntesis de la (3aR,4R,5S,7R,7aR)-4-(((<i>S</i>)-2-((<i>S</i>)-2-acetamidopropanamido)propanamido)metil)-7-((<i>terc</i> -butildimetilsilil)oxi)- <i>N</i> -(((3aR,4R,5R,7R,7aR)-7-((<i>terc</i> -butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetil-5-(((<i>S</i>)-1-(((<i>S</i>)-1-(metilamino)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)carbamoil)hexahidrobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-4-il)metil)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-carboxamida (81a)	272
5.6.10	Síntesis de la (3aR,4R,5S,7R,7aR)-4-(((<i>S</i>)-2-acetamidopropanamido)metil)-7-hidroxi- <i>N</i> -(((3aR,4R,5R,7R,7aR)-7-hidroxi-2,2-dimetil-5-(((<i>S</i>)-1-(metilamino)-1-oxopropan-2-il)carbamoil)hexahidrobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-4-il)metil)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-carboxamida (81b).....	274
5.6.11	Síntesis de la (1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-2-(((<i>S</i>)-2-((<i>S</i>)-2-acetamidopropanamido)propanamido)metil)-3,4,5-trihidroxi- <i>N</i> -(((1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>R</i> ,6 <i>R</i>)-2,3,4-trihidroxi-6-(((<i>S</i>)-1-(((<i>S</i>)-1-(metilamino)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)carbamoil)ciclohexil)metil)ciclohexan-1-carboxamida (81c)	276
5.7	ANÁLISIS ESTRUCTURAL DE LOS HEXAPÉPTIDOS 81a , 81b Y 81c	278
5.7.1	Espectroscopía de infrarrojo de los hexapéptidos 81a , 81b y 81c	278
5.7.2	Espectroscopía de Dicroísmo Circular de los hexapéptidos 81a , 81b y 81c ..	280
5.7.3	Espectroscopía de RMN del hexapéptido 81a en CDCl ₃	283

5.7.4	Espectroscopía de RMN del hexapéptido 81b en acetonitrilo- <i>d</i> ₃	291
5.8	PROCEDIMIENTOS GENERALES	301
5.9	SÍNTESIS DE <i>N</i> -ALQUILAMIDAS CICLOHEXÁNICAS	302
5.9.1	Síntesis del ((1 <i>R</i> ,2 <i>S</i>)-2-(octilcarbamoil)ciclohexil)carbamato de <i>tert</i> -butilo (125)	302
5.9.2	Síntesis del ((1 <i>R</i> ,2 <i>S</i>)-2-(hexadecilcarbamoil)ciclohexil)carbamato <i>tert</i> -butilo (126)	304
5.9.3	Síntesis del ((1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-(butilcarbamoil)ciclohexil)carbamato de <i>tert</i> -butilo (127)	306
5.9.4	Síntesis del ((1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-(octilcarbamoil)ciclohexil)carbamato de <i>tert</i> -butilo ((1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)- 128)	308
5.9.5	Síntesis del ((1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-(hexadecilcarbamoil)ciclohexil)carbamato de <i>tert</i> -butilo ((1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)- 129)	310
5.9.6	Síntesis del ((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-2-(octilcarbamoil)ciclohexil)carbamato <i>tert</i> -butilo ((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)- 128) y del ((1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-(octilcarbamoil)ciclohexil)carbamato de <i>tert</i> -butilo ((1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)- 128) (<i>rac</i> - 128)	312
5.9.7	Síntesis del ((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-2-(hexadecilcarbamoil)ciclohexil)carbamato <i>tert</i> -butilo ((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)- 129) y del ((1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-(hexadecilcarbamoil)ciclohexil)carbamato de <i>tert</i> -butilo((1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)- 129) (<i>rac</i> - 129)	312
5.10	ANÁLISIS ESTRUCTURAL DE LAS <i>N</i> -ALQUILAMIDAS Gc8 , Gc16 , Gt8 , Gt16 , rGt8 Y rGt16	313
5.10.1	Estudio de infrarrojo de las <i>N</i> -alquilamidas Gc8 , Gc16 , Gt8 , Gt16 , rGt8 y rGt16	313
5.10.2	Micrografías de SEM de las <i>N</i> -alquilamidas Gc8 , Gc16 , Gt8 , Gt16 , rGt8 y rGt16	317
5.10.3	Microscopía de Fuerza Atómica (AFM)	323
5.10.4	Espectroscopía de Rayos X	324
5.11	SÍNTESIS DE <i>N</i> -ALQUILAMIDAS DEL ÁCIDO (-)-SHIKÍMICO	330
5.11.1	Síntesis del (3 <i>aR</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,7 <i>R</i> ,7 <i>aR</i>)-4-((<i>tert</i> -butoxicarbonil)amino)-7-((<i>tert</i> -butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenczo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-carboxilato de metilo (21e)	330
5.11.2	Síntesis del (3 <i>aR</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,7 <i>R</i> ,7 <i>aR</i>)-4-((<i>tert</i> -butoxicarbonil)amino)-7-((<i>tert</i> -butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenczo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-carboxilato de metilo (22e)	332
5.11.3	Síntesis del ácido (3 <i>aR</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,7 <i>R</i> ,7 <i>aR</i>)-4-((<i>tert</i> -butoxicarbonil)amino)-7-((<i>tert</i> -butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenczo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-carboxílico (21f) .	334
5.11.4	Síntesis del ácido (3 <i>aR</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,7 <i>R</i> ,7 <i>aR</i>)-4-((<i>tert</i> -butoxicarbonil)amino)-7-((<i>tert</i> -butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenczo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-carboxílico (22f) .	336

5.11.5 Síntesis del ((3aR,4S,5S,7R,7aR)-7-((<i>terc</i> -butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetil-5-(octilcarbamoil)hexahidrobenczo[<i>d</i>][1,3]dioxol-4-il)carbamato de <i>terc</i> -butilo (131).....	338
5.11.6 ((3aR,4S,5S,7R,7aR)-7-((<i>terc</i> -butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetil-5-(hexadecilcarbamoil)hexahidrobenczo[<i>d</i>][1,3]dioxol-4-il)carbamato de <i>terc</i> -butilo (132) ...	340
5.11.7 Síntesis del ((3aR,4S,5R,7R,7aR)-7-((<i>terc</i> -butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetil-5-(octilcarbamoil)hexahidrobenczo[<i>d</i>][1,3]dioxol-4-il)carbamato de <i>terc</i> -butilo (133).....	342
5.11.8 Síntesis del (3aR,4S,5R,7R,7aR)-7-((<i>terc</i> -butildimetilsilil)oxi)-5-(hexadecilcarbamoil)-2,2-dimetilhexahidrobenczo[<i>d</i>][1,3]dioxol-4-il)carbamato de <i>terc</i> -butilo (134)	344
5.11.9 Síntesis del ((3aR,4S,5S,7R,7aS)-7-hidroxi-2,2-dimetil-5-(octilcarbamoil)hexahidrobenczo[<i>d</i>][1,3]dioxol-4-il)carbamato de <i>terc</i> -butilo (135)	346
5.11.10 Síntesis del ((3aR,4S,5S,7R,7aS)-7-hidroxi-2,2-dimetil-5-(hexadecilcarbamoil)hexahidrobenczo[<i>d</i>][1,3]dioxol-4-il)carbamato de <i>terc</i> -butilo (136) ...	348
5.11.11 Síntesis del ((3aR,4S,5R,7R,7aS)-7-hidroxi-2,2-dimetil-5-(octilcarbamoil)hexahidrobenczo[<i>d</i>][1,3]dioxol-4-il)carbamato de <i>terc</i> -butilo (137)	350
5.11.12 Síntesis del ((3aR,4S,5R,7R,7aS)-5-(hexadecilcarbamoil)-7-hidroxi-2,2-dimetilhexahidrobenczo[<i>d</i>][1,3]dioxol-4-il)carbamato de <i>terc</i> -butilo (138).....	352
5.11.13 Síntesis del ((1S,2R,3S,4R,6R)-2,3,4-trihidroxi-6-(octilcarbamoil)ciclohexil)carbamato de <i>terc</i> -butilo (139)	354
5.11.14 Síntesis del ((1S,2R,3S,4R,6S)-6-(hexadecilcarbamoil)-2,3,4-trihidroxíciclohexil)car-bamato de <i>terc</i> -butilo (140).....	356
5.11.15 Síntesis del ((1S,2R,3S,4R,6S)-2,3,4-trihidroxi-6-(octilcarbamoil)ciclohexil)carbamato de <i>terc</i> -butilo (141)	358
5.11.16 Síntesis del ((1S,2R,3S,4R,6R)-6-(hexadecilcarbamoil)2,3,4-trihidroxíciclohexil) carbamato de <i>terc</i> -butilo (142)	360
6 REFERENCIAS.....	363

SUMMARY

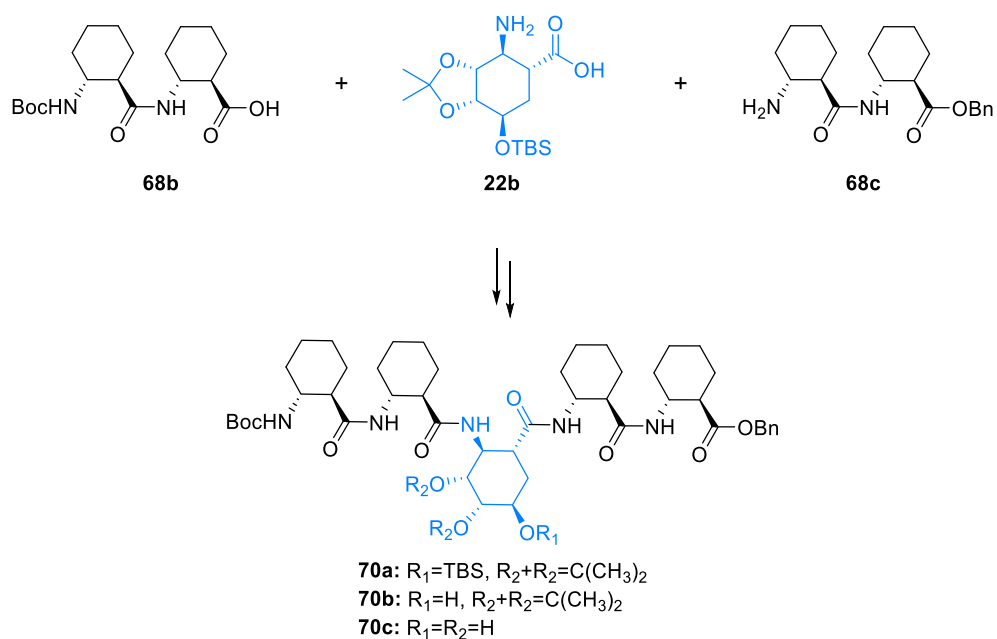
This doctoral thesis unveils some unexplored possibilities of cyclohexane- β - and γ -amino acids derived from cyclohexanecarboxylic acid and (-)-shikimic acid, with the aim to:

- Generate new peptides with the ability to fold into secondary structures of modulable polarity.
- To access new alkyl amides of modulable polarity, with the ability to self-assemble in a wide variety of solvents and to gel them.

This has been organised in the following several sections, as follows:

2-AMINECICLOHEXANECARBOXYLIC ACID β -PEPTIDES

The first chapter of this doctoral thesis describes the synthesis of the new β -pentapeptide **70a** and its derivatives **70b** and **70c**. They consist of a central trisubstituted cyclohexane β -amino acid residue which is attached to two cyclohexane β -amino acid dipeptides. They have been prepared as shown in Scheme 1, starting from the known dipeptides **68b** and **68c** and the trisubstituted cyclohexane β -amino acid **22b**, the latter previously prepared from (-)-shikimic acid by our research group.



Scheme 1. Synthesis of pentapeptides **70a**, **70b** and **70c**.

Structural studies of these pentapeptides in solution, using FTIR, CD, NMR and DFT calculations, showed that they fold as 14-helices (Figure 1). This is especially relevant, as these 14-helices have three residues per turn, stacking the substituent outside the helix. This structural property opens up opportunities for accessing amphiphilic β -peptides of interest in biological chemistry and molecular materials.

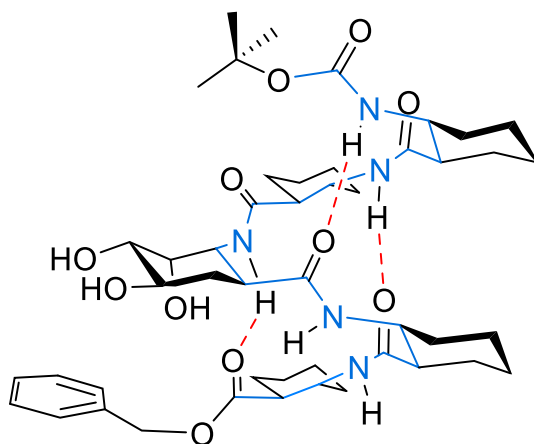
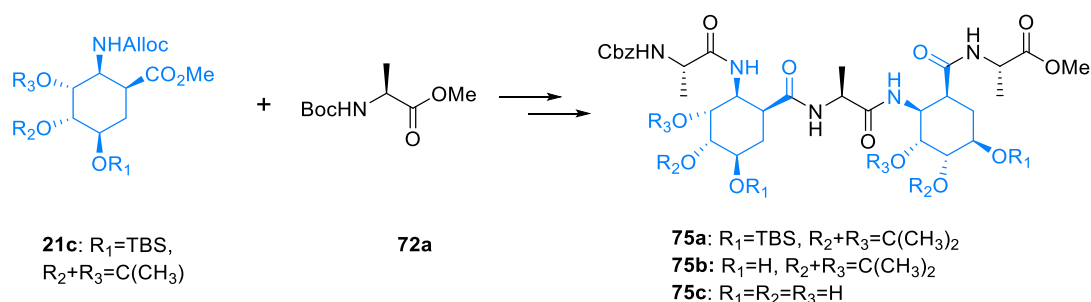


Figure 1. 14-helix structure of peptide **70c**.

HETEROOLIGOMERS OF α -AMINO ACIDS AND 2-AMINOCYCLOHEXANECARBOXYLIC ACIDS

The second chapter of this PhD thesis reports the synthesis of the three new α,β -peptides, **75a**, **75b** and **75c**. These peptides were synthesized as shown in Scheme 2, alternating L-alanine units and the trisubstituted β -amino acid derived from (-)-shikimic acid **21c**, previously synthesized in our research group.

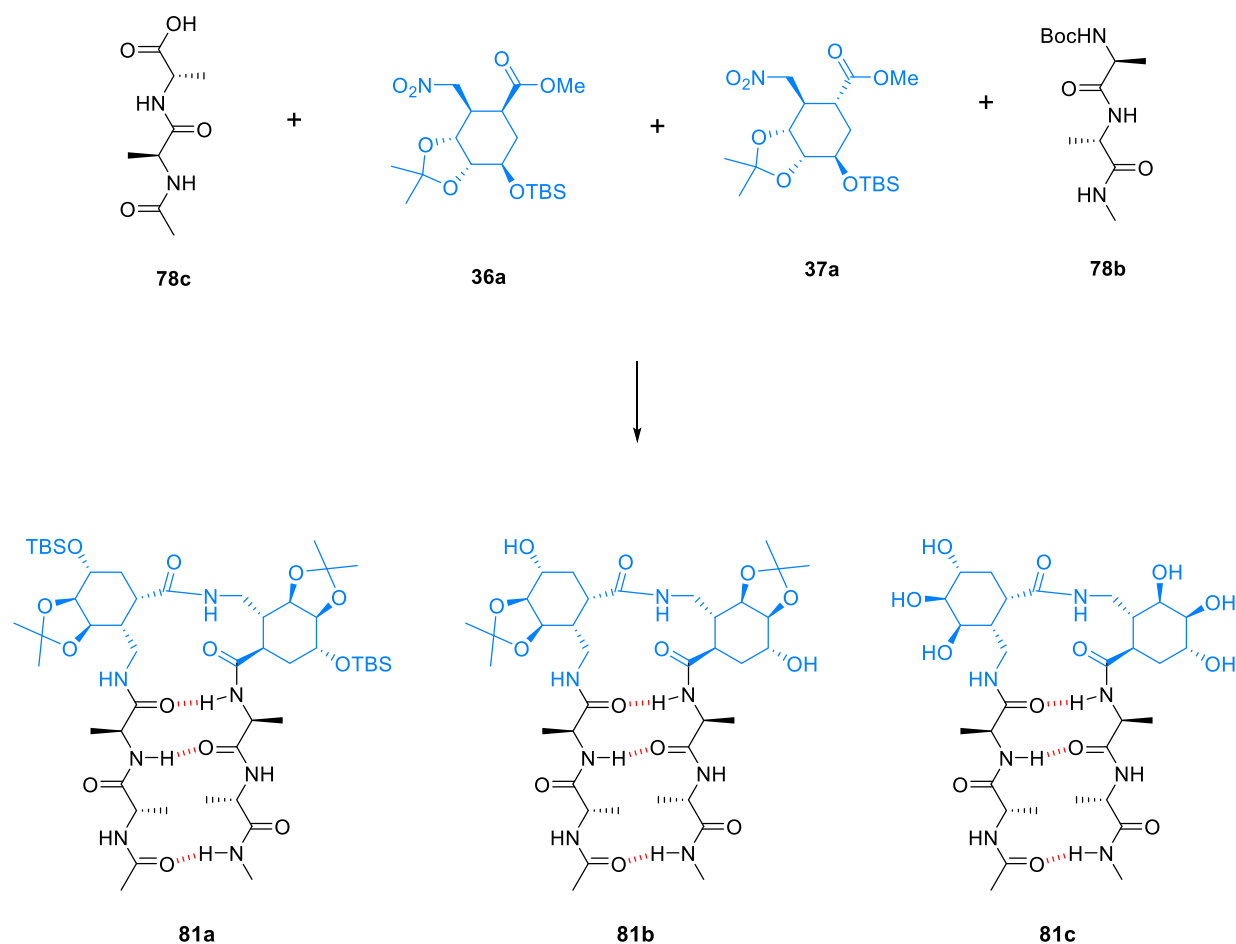


Scheme 2. Synthesis of pentapeptides **75a**, **75b** and **75c**.

The structural properties of these three pentapeptides **75a**, **75b** and **75c** in solution have been studied by various spectroscopic techniques, such as FTIR, CD and one- and two-dimensional NMR. CD spectra suggest that only compound **75c** appears to fold into an 11/9-helix in acetonitrile solution. However, the NOE patterns of this compound in acetonitrile do not in agreement with this folding pattern, suggesting that it folds into a more extended conformation.

HETEROOLIGOMERS OF α -AMINO ACIDS AND 2-AMINOMETHYLCYCLOHEXANE-CARBOXYLIC ACIDS

The third chapter of this PhD thesis describes the synthesis and structural studies of the new hexapeptides **81a**, **81b** and **81c**. These hexapeptides consisted of a central γ -dipeptide of *trans* and *cis* polyhydroxylated γ -cyclohexane amino acids **37a** and **36a**, which were previously synthesized by our research group from (-)-shikimic acid. This dipeptide is linked to two L-alanine based α -dipeptides (Scheme 3).



Scheme 3. Synthesis of pentapeptides **81a**, **81b** and **81c**.

The structural properties of these three α,γ -hexapeptides **81a**, **81b** and **81c** in solution were studied using various spectroscopic techniques (FTIR, CD and mono and bidimensional NMR) and X-ray diffraction. This allowed us to establish that:

- Hexapeptide **81a** adopts a β -turn folding in CHCl_3 solution (Figure 2).
- Hexapeptide **81b**, with two free hydroxyl groups, folds as an α,β -turn in acetonitrile (Figure 2) and as an extended conformation in water (Figure 2).

Hexapeptide **81c**, with three hydroxy substituents, adopts an extended conformation in aqueous solution (Figure 2).

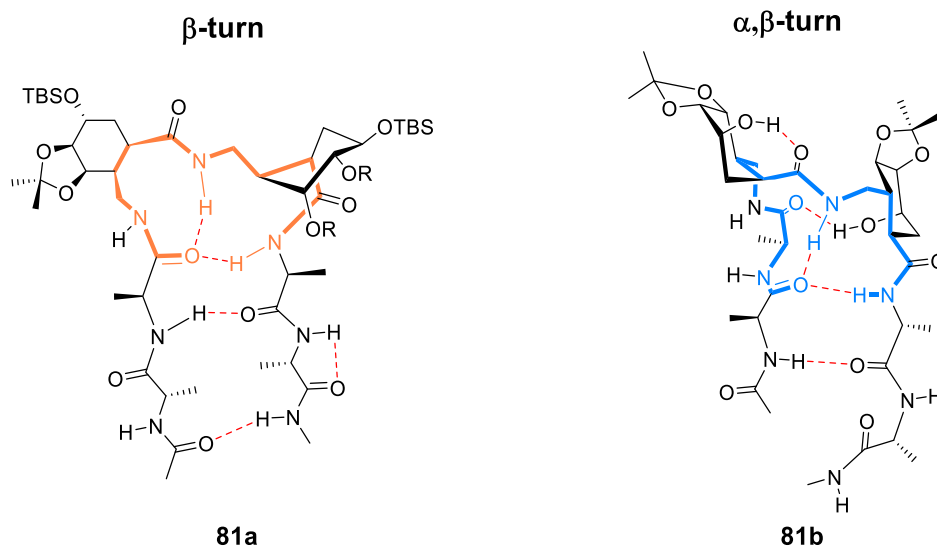
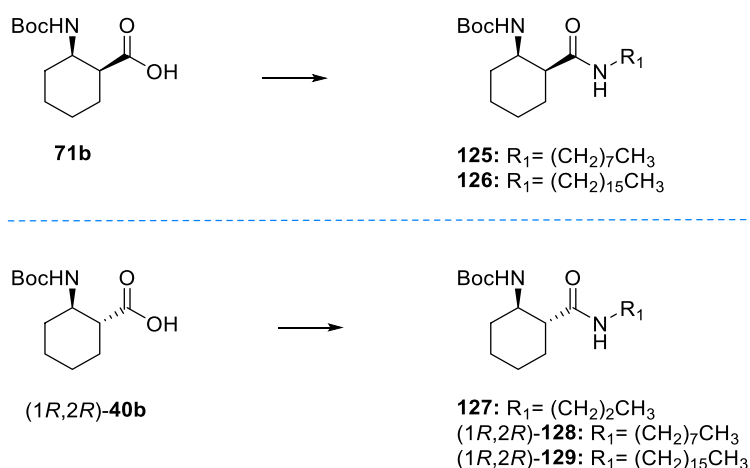


Figure 2. β -turn structure of **81a** and α,β -turn structure of peptide **81b**.

SYNTHESIS, GELATION STUDY AND APPLICATIONS OF *N*-ALKYL AMIDES DERIVED FROM 2-AMINOCYCLOHEXENECARBOXYLIC ACID

The fourth part of this PhD thesis presents the synthesis of *cis* and *trans* *N*-alkyl amides **125-129** derived from unprotected (1*S*,2*R*)-2-aminocyclohexanecarboxylic acid **71b** and (1*R*,2*R*)-2-aminocyclohexanecarboxylic acid **40b** (Scheme 4).

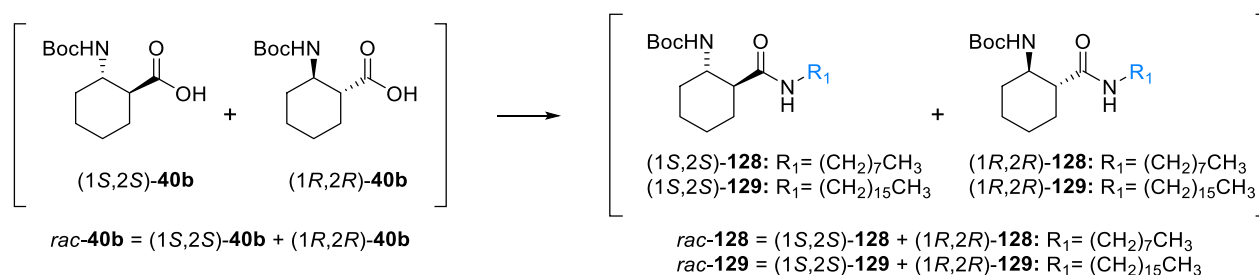
Evaluation of the gelling properties of these compounds (Table 1) showed that the gelling capacity depends on both the stereochemistry and the length of the alkyl chain. The *trans* and longer chain derivatives proved to be much better gelling agents.



Scheme 4. Synthesis *N*-alkyl amides derived from 2-aminocyclohexanecarboxylic acid **125-129**.

The most effective gelling agents (1*R*,2*R*)-**128** and (1*R*,2*R*)-**129** were also synthesized as their racemic form (*rac*-**128** and *rac*-**129**) from racemic cyclohexanecarboxylic acid **40b** (Scheme 5) and subsequently evaluated for their gelling ability. As shown in Table 1, the racemic mixture of *N*-octyl chain *rac*-**128** showed a substantial decrease in gelling properties,

whereas the racemic mixture of *N*-hexadecyl *rac*-**129** exhibited improved gelling properties, compared to its enantiomeric counterparts ((*1R,2R*)-**128** and (*1R,2R*)-**129**).



Scheme 5. Synthesis racemic *N*-alkyl amides derived from 2-aminocyclohexanecarboxylic acid *rac*-**128** and *rac*-**129**.

Solvent	125	126	127	(<i>1R,2R</i>)- 128	(<i>1R,2R</i>)- 129	<i>rac</i> - 128	<i>rac</i> - 129
Hexane	17	15	–	0.5	1	28.5	5
Toluene	25	–	–	–	50	–	6.25
Ether	17	–	–	10	20	–	5
DCM	–	25	–	51	35	–	16.7
CHCl ₃	–	–	–	–	–	–	–
THF	–	50	–	–	50	–	50
<i>i</i> PrOH	–	50	–	50	13	–	25
EtOAc	–	5	–	16	10	51	8.3
Dioxane	50	–	–	25	17	7	12.5
Acetone	25	25	–	20	3	25	2.5
EtOH	50	50	–	50	5	–	16.7
MeCN	10	0.7	–	10	2	25	5
MeOH	–	12.5	–	–	12	–	10

Table 1. Values of *mgc* (mg/mL) of the *N*-alkylamides **125**–**129** in 13 solvents of different polarity.

The self-assembling process of the molecular gels of the compounds (*1R,2R*)-**128** and (*1R,2R*)-**129** and their racemic mixtures *rac*-**128** and *rac*-**129** has been studied at various levels of structuration. X-ray diffraction studies reveal that these molecules are grouped at the molecular level by establishing unidirectional hydrogen bonds between the amide groups of the molecules. Packing of aliphatic chains through Van der Waals interactions and hydrophobic interactions is also observed.

At the nano-scale, SEM micrographs reveal that these compounds self-assemble into fibers and sheets in the case of (*1R,2R*)-**128** and (*1R,2R*)-**129**, and twisted fiber structures for *rac*-**128** and *rac*-**129**. Additionally, the self-assembling process from the isotropic solution of the gelling agent to the macroscopic gel structure was followed by a variable temperature CD study in heptane, for the two chiral gelling agent (*1R,2R*)-**128** and (*1R,2R*)-**129**.

It was observed that at high temperatures there was an isotropic solution in both cases and upon decreasing the temperature, a single type of aggregates was formed leading directly to gelation in the case of (*1R,2R*)-**128**. In the case of the isotropic solution of (*1R,2R*)-**129**, it

is transformed into chiral supramolecular aggregates that do not have sufficient critical mass to gel the solvent and, below 20 °C, these aggregates are packed into fibers that intertwine to gel the solvent (Figure 3).

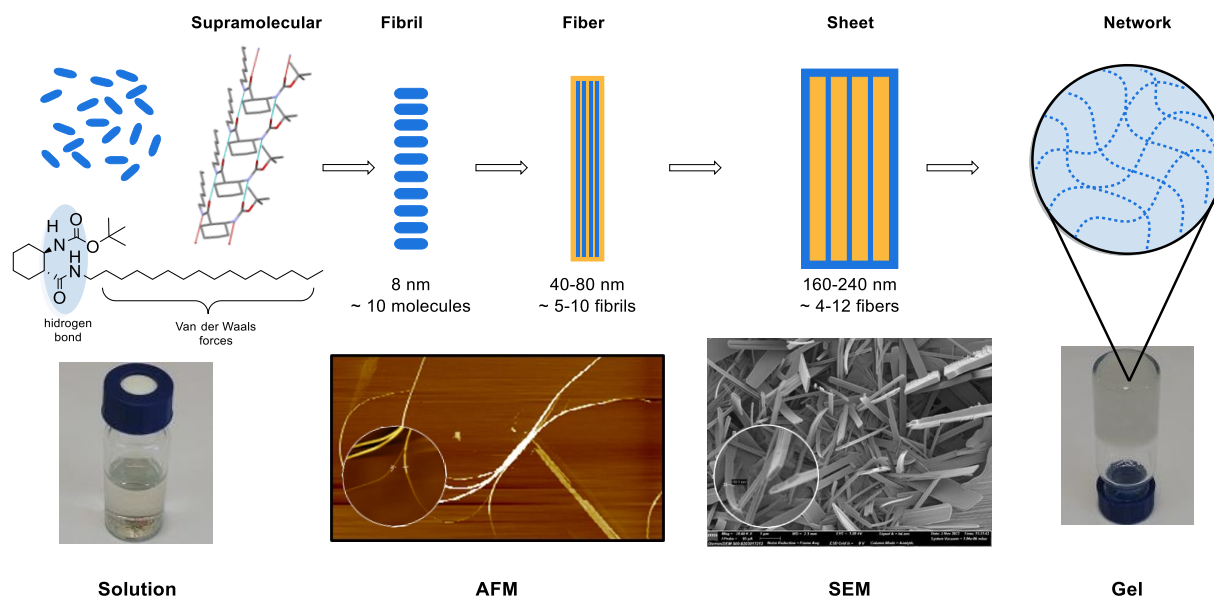


Figure 3. Schematic representation of the hierarchical structuration of *N*-alkyl amide (1*R*,2*R*)-**128** based gelling agents in hexane.

Finally, the ability of these four gelling agents on industrial oils were also tested. The results showed that (1*R*,2*R*)-**128** was a very good gelling agent for four of the five tested oils and has potential for use in marine oil spill remediation, while (1*R*,2*R*)-**129** was only able to gel one of the tested oils, suggesting that the length of the alkyl chain plays a significant role in the oil gelling process. The study also explored the gelling properties of racemic *N*-alkyl amides, *rac*-**128** and *rac*-**129**, in the same oils and, surprisingly, were excellent gelling agents for them, significantly improving the results from their enantiomeric counterparts (as shown in Table 2).

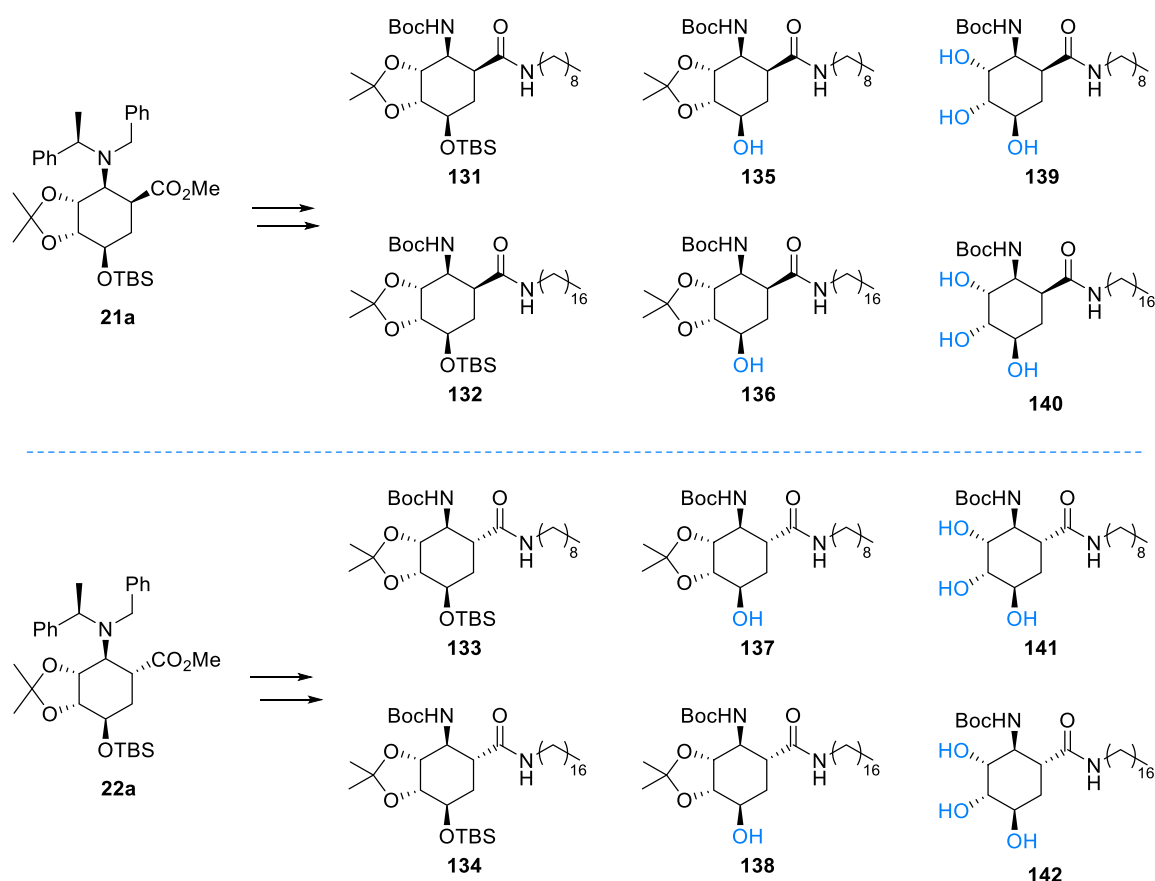
Compound	Olive Oil	Repsol Brand Ship Oil	Vaseline	Petrolleum 806	Petrolleum 2806	Hexane
(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)- 128	5	1	3.3	5	–	0.5
(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)- 129	–	10	–	–	–	1
<i>rac</i> - 128	3.3	1	1.1	5	10	28.5
<i>rac</i> - 129	2.5	5	2.5	10	5	5

Table 2. *mgc* (mg/mL) values of *N*-alkyl amides (1*R*,2*R*)-**128**, (1*R*,2*R*)-**129**, *rac*-**128** and *rac*-**129** in olive oil, Repsol brand ship oil, vaseline, petrolleum 806, petrolleum 2806, and hexane.

Both gelling agents *rac*-**128** and *rac*-**129** were also able to selectively gel oil in oil/water mixtures, suggesting potentiality for them as selective oil gelators and their application in oil spill remediation. These findings open up the possibility of using these gelators in various situations where it is necessary to separate oils and petrolleums from water and other liquids, in order to minimize their environmental impact.

SYNTHESIS, GELATION STUDY, AND PROPERTIES OF *N*-ALKYL AMIDES DERIVED FROM (–)-SHIKIMIC ACID

In this final chapter, a library of twelve (–)-shikimic acid derived *N*-alkyl amides **131–142** was synthesized, in which the relative *cis/trans* stereochemistry of its amide and urethane subunits, the length of the alkyl chain attached to the *C*-terminal of the β -amino acid precursor, and its polarity were varied (Scheme 6).



Scheme 6. Synthesis of twelve *N*-alkyl amides derived from (–) shikimic acid (**131–142**).

The gelling properties of these alkyl amide library were thoroughly evaluated in twelve solvents of different polarity, as well as in ethanol/water mixtures, finding that only alkyl amides **141** and **142** showed gelling activity (Table 1).

Results obtained from this study indicate that the *cis/trans* stereochemistry of the amide and urethane subunits is a crucial factor in the gelling process, with only two of the *trans* candidates being able to form a gel. The degree of protection of the hydroxyl groups on the cyclohexane ring was also found to be a determining factor in the gelling ability of these

molecules, as only those compounds with three free hydroxyl groups were found to be effective gellants. However, the length of the alkyl chain was found to have less impact on the gelling process, but it does affect the efficiency of gelling in polar solvents, in which a longer alkyl chain was found to perform better.

Solvent	141	142
Toluene	4.7	2.5
Ether	–	7.7
DCM	5.7	1.4
CHCl ₃	2.5	2
THF	–	–
ⁱ PrOH	–	–
AcOEt	12	13.3
Dioxane	–	25
Acetone	–	17
EtOH	–	8.3
MeCN	15	5.3
MeOH	–	8.3
H ₂ O/EtOH	0.7	4.7

Tabla 1. *mgc* (mg/mL) values of **141** and **142** *N*-alkyl amides in twelve solvents of different polarities and H₂O/EtOH mixtures.

Considering that **141** (**GS8**) and **142** (**GS16**) can be considered as hydrogels, their potential use as drug delivery systems, encapsulating and releasing naproxen, was tested. Both **GS8** and **GS16** demonstrated excellent properties as drug delivery systems, displaying similar encapsulation and release capacity, but distinctly different release kinetics. Further variations of the alkyl chain or the *N*-terminal protective group could affect the of drug release kinetics and, therefore, expand the range of scenarios in which they could be applied.

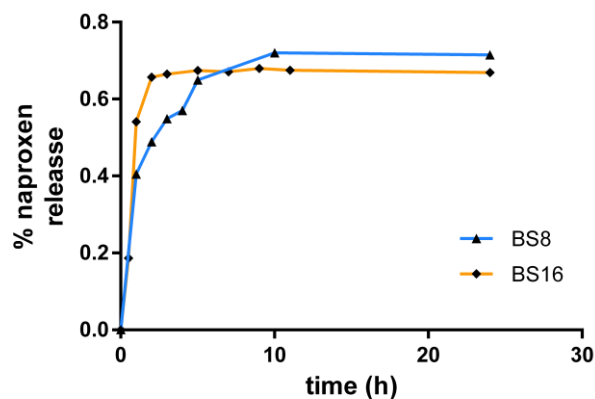
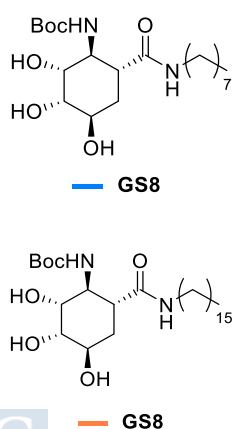


Figure 4. Naproxen release kinetics for naproxen-BS8 (blue) and naproxen-BS16 (orange) hydrogels.

1 INTRODUCCIÓN

1.1 α -AMINOÁCIDOS

Los α -aminoácidos son moléculas bifuncionales en las que un grupo CO_2H y un grupo NH_2 están unidos a un mismo átomo de carbono, denominado carbono α ($\text{C}\alpha$). Los diferentes sustituyentes unidos al este carbono se denominan cadenas laterales o grupos R. Todos los α -aminoácidos pueden considerarse derivados de la glicina en los que el $\text{C}\alpha$ puede estar mono o disustituido.

Todas las proteínas naturales están formadas por solo 19 aminoácidos monosustituidos de la serie L, y la glicina que no está sustituida y por lo tanto es aquiral. La secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica se denomina estructura primaria. La estructura secundaria de la misma es el plegado tridimensional de esta cadena polipeptídica, que depende de estructura primaria.

La estructura secundaria de las proteínas naturales juega un papel fundamental en la actividad biológica de las mismas. Es por ello por lo que se han realizado grandes esfuerzos para entender los factores que determinan el plegamiento de las proteínas en estructuras secundarias estables, así como en el diseño de cadenas polipeptídicas no naturales con las mismas capacidades de plegado que los péptidos naturales.¹⁻⁴

En los últimos años se han descubierto péptidos cortos con importantes aplicaciones biológicas, desde neurotransmisores, hasta hormonas o inhibidores enzimáticos.⁵ Estas actividades están relacionadas con las interacciones proteína-proteína, que a su vez dependen de la estructura de las mismas. De hecho, la distorsión de estas interacciones está asociada con numerosas enfermedades, por lo que los péptidos capaces de modular estas interacciones pueden constituir dianas terapéuticas.

Tradicionalmente se han utilizado moléculas pequeñas para el tratamiento de estas enfermedades, como pueden ser el nutilina-3 (**1**) o la benzodiazepinidona **2** (Figura 1), aunque de manera ineficiente, debido a la alta área superficial de contacto que requieren estas interacciones. Es por ello por lo que, el desarrollo de péptidos de tamaño intermedio es de gran interés, ya que presentan una mayor afinidad y selectividad sobre las amplias superficies de las proteínas.

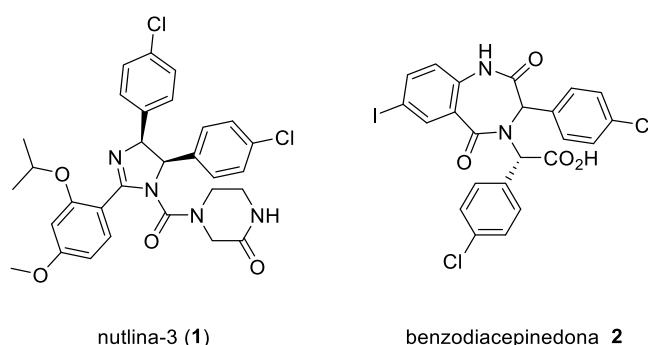


Figura 1. Ejemplos de moléculas pequeñas que inhiben las interacciones proteína-proteína.

Un ejemplo de estos péptidos cortos con gran actividad biológica es la somatostatina (**3**, Figura 2), una hormona peptídica que interviene directamente en la regulación de la glucemia, inhibiendo la secreción de insulina y glucagón.⁶ Se pueden desarrollar nuevos péptidos derivados de α -aminoácidos proteinogénicos como antagonistas efectivos de las

interacciones proteína-proteína, pero los péptidos formados por los α -aminoácidos proteinogénicos tienen limitaciones para su aplicación *in vivo*, debido a su rápida degradación por proteasas. Además, la mayoría de estos péptidos no traspasan de manera eficiente las membranas celulares y/o son poco solubles en agua.

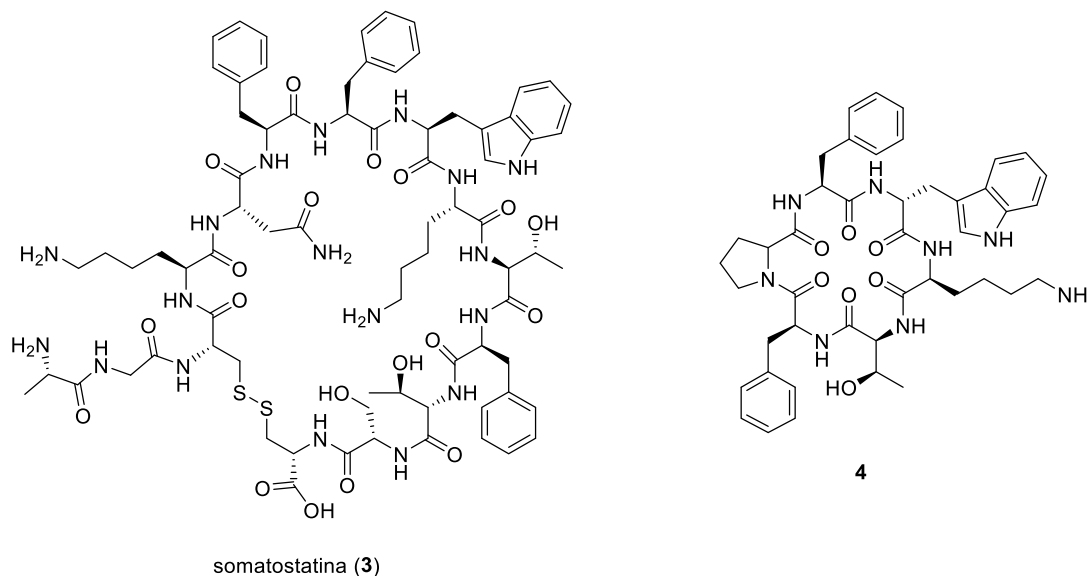


Figura 2. Estructura química de la somatostatina (3) y su peptidomimético 4.

Una solución a este problema es la síntesis de peptidomiméticos, mediante la sustitución de uno o varios residuos de α -aminoácidos de un α -péptido por otras moléculas, generalmente β - o γ -aminoácidos.⁷ Los péptidos resultantes presentan una gran tendencia a plegarse en estructuras secundarias estables, incluso con pocos residuos, con la ventaja añadida de una mayor resistencia a la proteólisis. Un ejemplo de ello es el peptidomimético de la somatostatina 4 (Figura 2).

1.2 β -AMINOÁCIDOS

Los β -aminoácidos son un tipo de aminoácidos no proteinogénicos que difieren de sus análogos naturales, los α -aminoácidos, en que tienen dos átomos de carbono insertados entre el grupo amino y el grupo carboxilo. Cada uno de estos átomos de carbono puede estar funcionalizado, lo que se traduce en una mayor diversidad estructural que la presente en el caso de los α -aminoácidos.

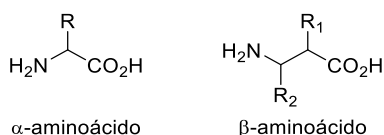


Figura 3. Estructuras químicas de un α -aminoácido y un β -aminoácido.

Los β -aminoácidos se encuentran presentes en la naturaleza y son los precursores biológicos de diferentes compuestos bioactivos, como el taxol (6),⁸ que tiene una potente

actividad antitumoral, o la emeriamina (**5**),⁹ que inhibe la oxidación de ácidos grasos de cadena larga. Además, encontramos también subunidades de β -aminoácidos en forma de β -lactamas en compuestos con una gran actividad antibiótica como la penicilina (**8**) o la cefalosporina (**9**). También están presentes en péptidos naturales como la jasplakinolida (**7**), con actividad antifúngica y la bestatina (**10**), inhibidor de las aminopeptidasas (Figura 4).¹⁰ Sin embargo, la mayor parte de los β -aminoácidos conocidos son de origen sintético.

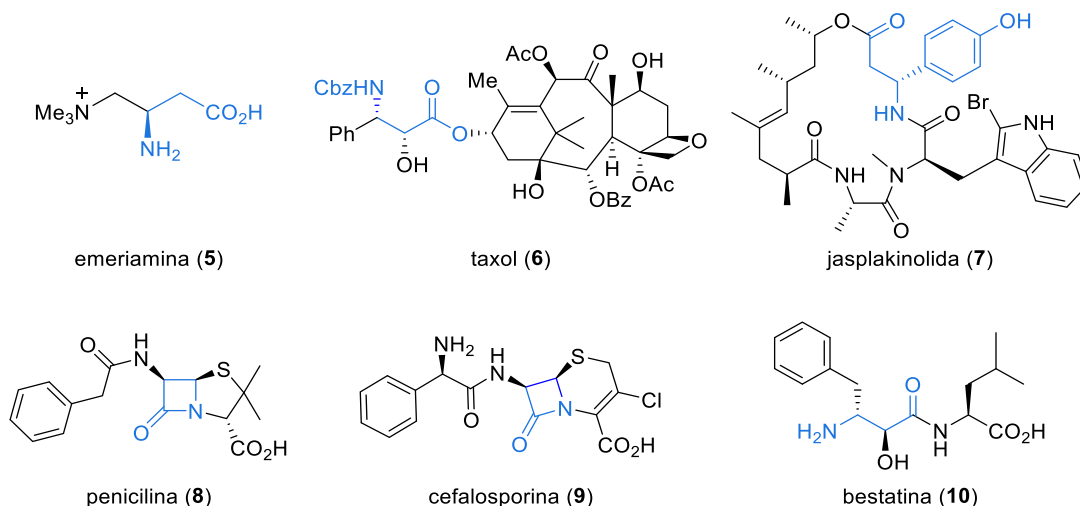


Figura 4. β -aminoácidos naturales, resaltados en azul, que forman parte de moléculas con actividad biológica.

Desde el punto de vista estructural, los β -aminoácidos pueden subdividirse en varios tipos, según el grado de sustitución de los átomos de carbono α y β . Entre ellos figuran los β^2 , β^3 y $\beta^{2,3}$ -aminoácidos (Figura 5), dependiendo de la posición de la cadena o cadenas laterales en su subunidad básica de ácido 2-aminopropanoico. Además, existen β -aminoácidos cíclicos en los que el grupo amino está integrado en un anillo, como es el caso de la β -prolina, y β -aminoácidos cicloalcanicos en los que los dos grupos amino y ácido carboxílico forman parte de un mismo ciclo, como los ácidos 2-aminociclohexanocarboxílicos.¹¹ Los distintos tipos de β -aminoácidos y sus aplicaciones han sido ampliamente estudiados.¹²

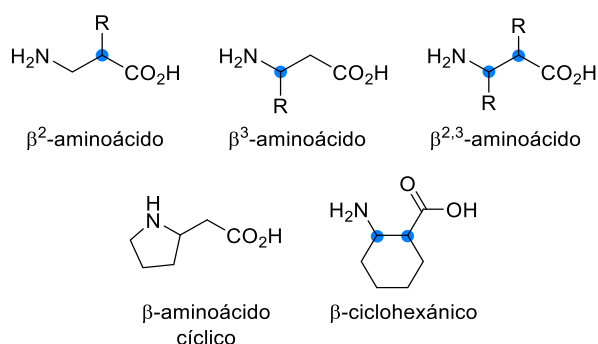


Figura 5. Estructura química de los diferentes tipos de β -aminoácidos.

Esta tesis doctoral está centrada en un subgrupo particular de los $\beta^{2,3}$ -aminoácidos, los β -aminoácidos ciclohexánicos. Estos y demás β -aminoácidos cicloalcanicos han adquirido gran interés en los últimos años, debido a su rigidez conformacional, que hace que su

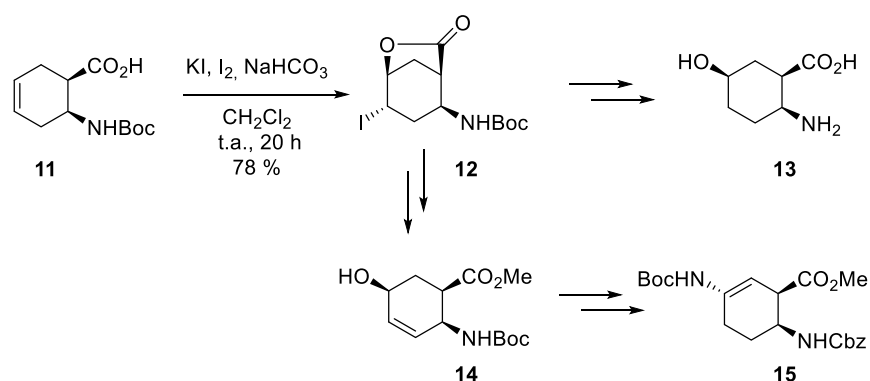
incorporación en péptidos genere peptidomiméticos de gran estabilidad conformacional. Por lo que estos β -aminoácidos tienen un elevado potencial en la química biológica y en la ciencia de materiales, como se verá más adelante en esta tesis.

Se han desarrollado numerosos métodos de síntesis de β -aminoácidos ciclohexánicos no sustituidos (carbocíclicos y heterocíclicos), tanto en su forma racémica, como enantioselectiva.¹³⁻¹⁵

La introducción de grupos funcionales en el carbociclo es de gran interés, ya que puede influenciar enormemente en la actividad biológica y farmacológica de sus péptidos. Sin embargo, se han descrito pocos ejemplos, debido principalmente a la dificultad de este tipo de síntesis,^{16,17} de los cuales vamos a destacar, por el interés para esta tesis doctoral, la síntesis de aquellos que presentan grupos hidroxilo en su anillo.

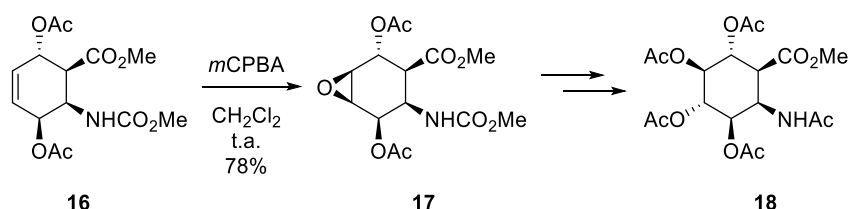
La mayoría de los ejemplos descritos para la preparación de estos compuestos consisten en la síntesis y funcionalización selectiva del doble enlace de β -aminoácidos ciclohexénicos.¹⁸

La funcionalización de este doble enlace endocíclico puede llevarse a cabo a través de una reacción de iodolactonización y posterior apertura controlada de la lactona formada. Es el caso del β -aminoácido ciclohexénico **11**, que pudo ser transformado de esta forma en los β -aminoácidos monohidroxilados **13** y **14** del Esquema 1.^{19,20}



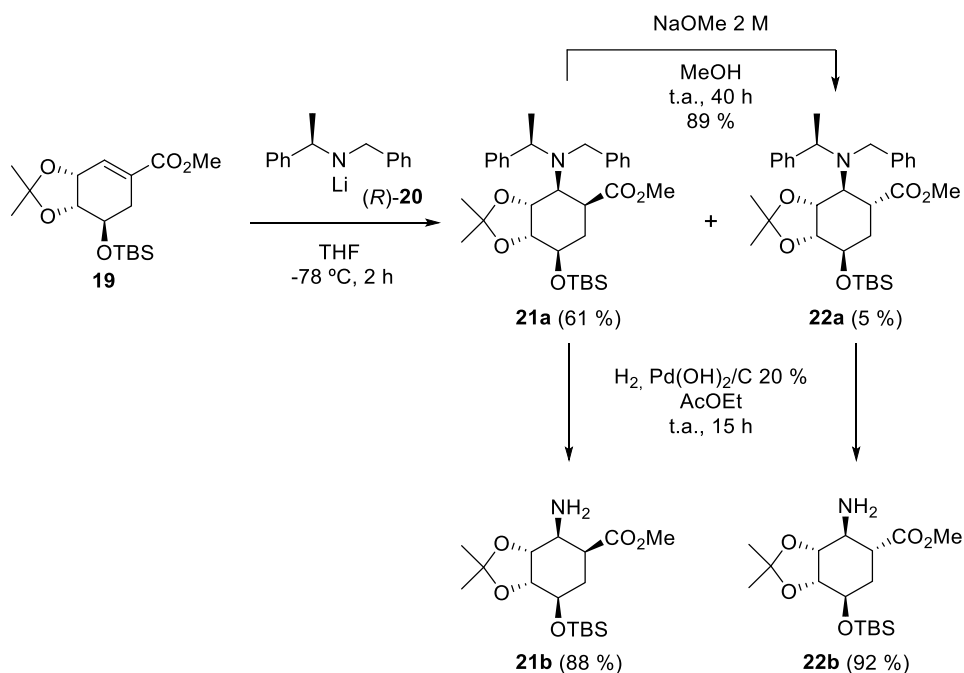
Esquema 1. Síntesis del 5-hidroxi-aminoácido **13** y el 2,5-diaminoácido **15** mediante iodolactonización.

Otro método que se ha utilizado para la funcionalización del doble enlace endocíclico de β -aminoácidos ciclohexénicos es la epoxidación estereoselectiva, seguida por una apertura regioselectiva del epóxido. Este método fue utilizado para la transformación del β -aminoácido ciclohexénico **16** en su derivado polihidroxilado **18** (Esquema 2).²¹



Esquema 2. Síntesis del β -aminoácido ciclohexánico polihidroxilado **18** a partir del β -aminoácido ciclohexénico **16**.

En nuestro grupo de investigación hemos desarrollado recientemente un método de síntesis eficiente de los β -aminoácidos ciclohexánicos trihidroxilados **21b** y **22b** con configuración *cis* y *trans* respectivamente, partiendo del derivado **19** del ácido (-)-shikímico comercial, haciendo uso para ello del protocolo de adición de Michael de amiduros de litio del Prof. Davies.^{22,23} Este método de síntesis aparece recogido en el Esquema 3.²⁴



Esquema 3. Síntesis enantioselectiva de *cis* o *trans*- β -aminoácidos ciclohexánicos trihidroxilados **21b** y **22b**.

Nuestro método permite la síntesis de β -aminoácidos ciclohexánicos trihidroxilados en su configuración *cis* y *trans*, con excelentes rendimientos y excesos diastereoméricos.

1.3 γ -AMINOÁCIDOS

Los γ -aminoácidos son aminoácidos no proteínogénicos que presentan tres átomos de carbono insertados entre el grupo amino y el grupo carboxilo (Figura 6), pueden considerarse derivados del ácido 4-aminobutírico o GABA (**23**).

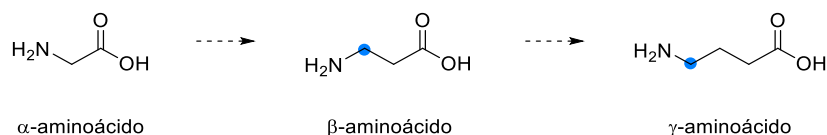


Figura 6. Esquema general de la estructura química de α -, β - y γ -aminoácidos

El GABA es el γ -aminoácido natural de mayor interés en Química Médica. Se trata del principal neurotransmisor inhibitorio del sistema nervioso central y uno de los más abundantes en los mamíferos.²⁵ Actúa sobre tres receptores GABA_A, GABA_B y GABA_C. De ellos GABA_A y GABA_C son canales iónicos responsables de la transmisión sináptica rápida, mientras que GABA_B es un receptor ligado a proteína G, que regula la transmisión sináptica a través de sistemas de efectores intracelulares.²⁶ La deficiencia de GABA está asociada a diferentes patologías como pueden ser la epilepsia, las enfermedades de Parkinson y de Huntington y otros desordenes como la ansiedad y el dolor, por lo que sus receptores son una de las dianas terapéuticas más estudiadas en Química Médica.²⁷ Algunos ejemplos de análogos de GABA con actividad farmacológica pueden ser la γ -vinil GABA, la (*S*)-vigabatrina (**24**), que se utiliza para tratar convulsiones,²⁸ o el (*R*)-baclofeno (**25**), un medicamento con prometedores resultados para el tratamiento de la neuralgia (Figura 7).

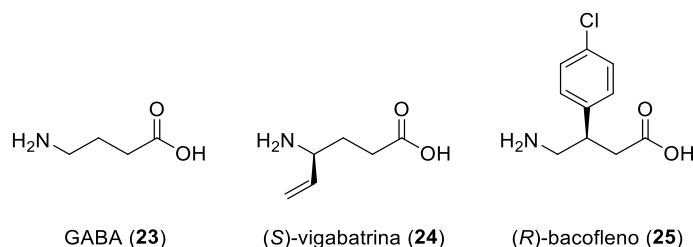


Figura 7. Estructura química del GABA (**23**) y de sus análogos biológicos (*S*)-vigabatrina (**24**) y (*R*)-baclofeno (**25**).

Los péptidos que incluyen γ -aminoácidos en su estructura son también de enorme interés. En la Naturaleza podemos encontrar γ -aminoácidos en péptidos con potentes actividades biológicas. Un ejemplo es la norstatina (**27**, Figura 8), un β -hidroxi- γ -aminoácido que constituye el principal componente de la pepstatina (**26**), un hexapéptido natural con propiedades antibióticas, que actúa como inhibidor de la proteasa del ácido aspártico.²⁹ El mal funcionamiento de esta proteasa está relacionado con muchas enfermedades, como pueden ser el SIDA, la hipertensión, la malaria y la enfermedad de Alzheimer.

En la Figura 8 se incluyen también la norstatina (**27**), ciclohexilstatina (**28**), isostatina (**29**) y la dolaprolina (**30**), que son ejemplos de γ -aminoácidos usados para la síntesis de péptidos cortos con potenciales actividades farmacológicas, como puede ser por ejemplo la dolostatina (**31**) o la hapalosina (**32**).

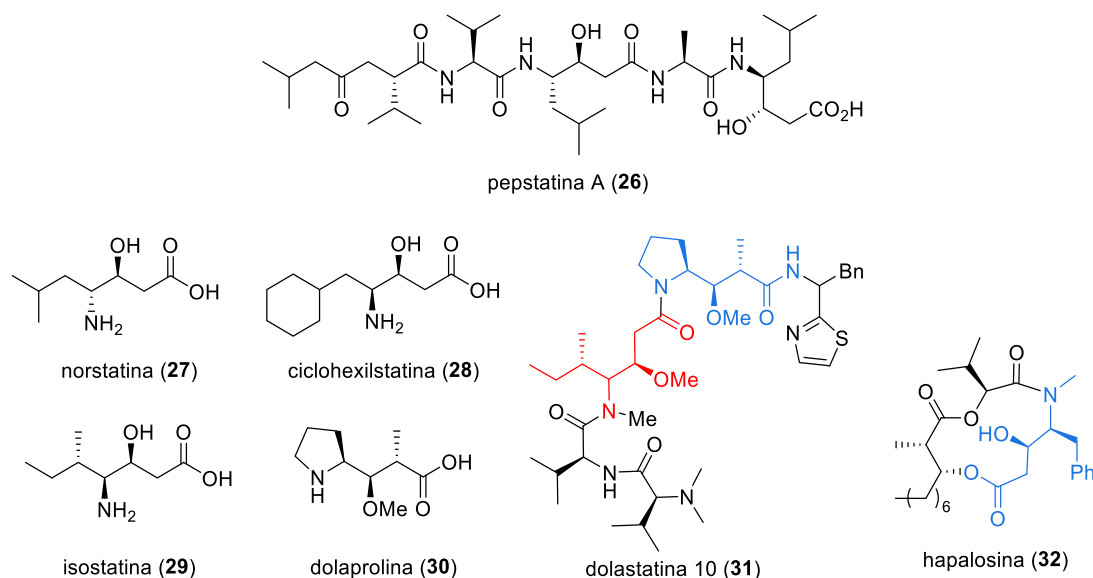


Figura 8. Ejemplos de γ -aminoácidos naturales y su presencia en péptidos con actividad biológica.

De igual manera que para los β -aminoácidos, desde un punto de vista estructural podemos distinguir diferentes tipos de γ -aminoácidos en función del patrón de sustitución de sus carbonos α , β y γ , los más representativos aparecen recogidos en la Figura 9.

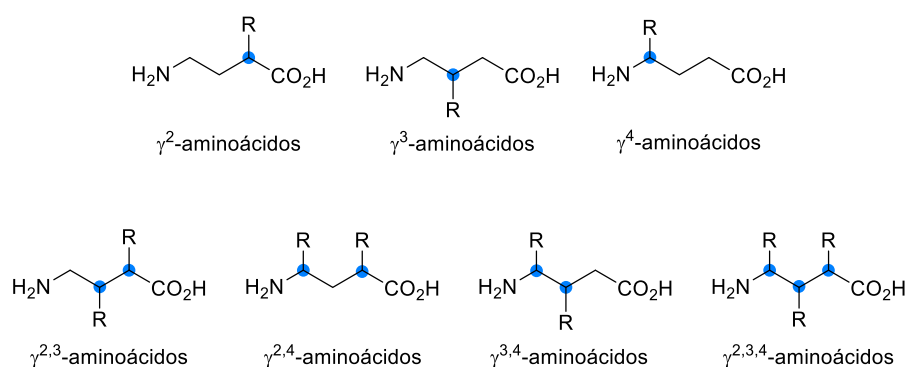


Figura 9. Selección de tipos de γ -aminoácidos mono, di y trisustituídos.

La inserción de un nuevo átomo de carbono en un β -aminoácido añade mucha mayor diversidad estructural a los γ -aminoácidos que para el caso de los β -aminoácidos. Esto, a su vez, añade una mayor diversidad de γ -aminoácidos cicloalcanicos, en función de la posición en la que se inserta este carbono con respecto a la estructura cíclica. Específicamente, en la Figura 10 se representan los tres tipos de γ -aminoácidos ciclohexánicos que resultan de la inserción de este átomo de carbono en β -aminoácidos ciclohexánicos: inserción en el enlace C_3-NH_2 (Tipo I), o en el enlace C_2-CO_2H (Tipo II) o en el enlace C_2-C_3 (Tipo III).

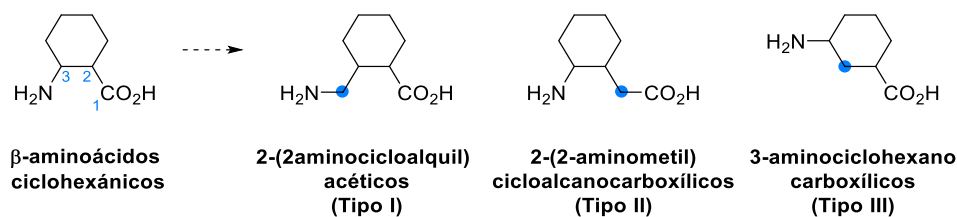
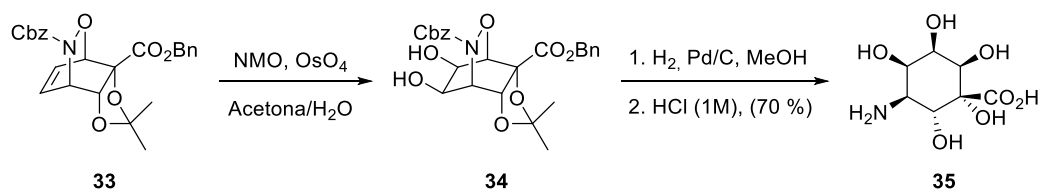


Figura 10. Tipos de γ -aminoácidos ciclohexánicos.

En esta tesis doctoral nos centraremos en los γ -aminoácidos ciclohexánicos del tipo I, los ácidos 2-(2-aminometil)ciclohexanocarboxílicos.

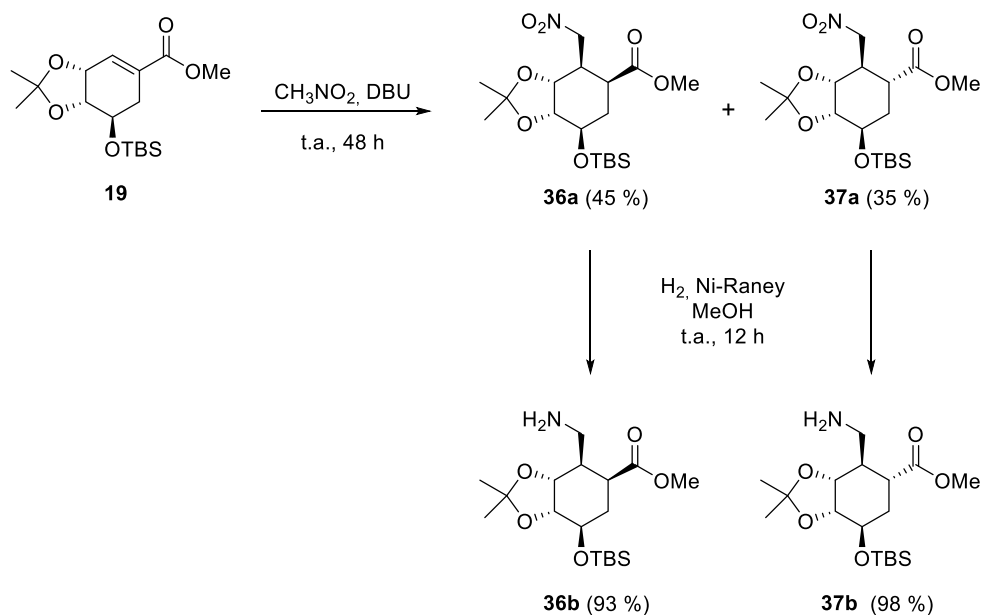
La química de los γ -aminoácidos ha sido también ampliamente explorada, debido sobre todo al gran interés que suscita la síntesis de análogos del GABA.^{30,31} Sin embargo, se ha prestado mucha menos atención a la síntesis de γ -aminoácidos cicloalcanicos, a pesar de su potencialidad para la síntesis de peptidomiméticos. En esta tesis doctoral vamos a describir únicamente la síntesis de γ -aminoácidos ciclohexánicos sustituidos,³² dado nuestro interés en los γ -aminoácidos ciclohexánicos hidroxilados.

Un ejemplo de ello es la síntesis de inositol-amino ácidos realizada por el profesor Lewis.³³ Esta síntesis consiste en la oxidación del compuesto bicíclico **33** (obtenido en tres pasos a partir del ácido benzoico) para obtener **34**, que al ser tratado con HCl (1M) da lugar al γ -aminoácido ciclohexánico tipo III **35** (Esquema 4).



Esquema 4. Síntesis del γ -aminoácido ciclohexánico polihidroxlado tipo III **35**.

Recientemente en nuestro grupo de investigación ha desarrollado la síntesis eficiente de γ -aminoácidos ciclohexánicos trihidroxilados tipo I recogida en el Esquema 5, partiendo del éster **19** obtenido a partir del ácido (-)-shikímico. Una reacción de adición de Michael de nitrometano sobre el éster α,β -insaturado **19** da lugar a una mezcla de los compuestos **36a** y **37a**, los cuales se transformaron fácilmente en los γ -aminoácidos ciclohexánicos trihidroxilados **36b** y **37b**.³⁴



Esquema 5. Síntesis de γ -aminoácidos ciclohexánicos polihidroxisados **36b** y **37b** a partir del ácido (-)-shikímico.

1.4 PÉPTIDOS DE β -AMINOÁCIDOS

Una de las principales aplicaciones de los β -aminoácidos es su incorporación en péptidos, para generar peptidomiméticos que mantengan las propiedades de plegado de los α -aminoácidos, pero con el valor añadido de una mayor diversidad estructural y de resistencia a la degradación por proteasas. Como hemos visto, la presencia de un átomo de carbono adicional aumenta de forma considerable la diversidad estructural de los β -aminoácidos con respecto a los α -aminoácidos, ya que aparece la posibilidad de generar regio- y estereoisómeros, además de una mayor sustitución.

Se podría pensar que la presencia de un nuevo enlace carbono-carbono aumentaría la flexibilidad conformacional de β -aminoácidos y por lo tanto debería disminuir la capacidad de plegado de los β -péptidos con respecto a los α -péptidos. Sin embargo, se ha descubierto que en la progresión desde los α - a los β -péptidos, la estabilidad de las hélices que forman aumenta a pesar de que disminuye el número de dadores y aceptores de hidrógeno por cadena, uno por cada tres átomos en los α -aminoácidos y uno cada cuatro átomos en los β -aminoácidos. Esto se debe a que la correcta elección de los sustituyentes en las posiciones C_2 y C_3 en los β -aminoácidos puede favorecer conformaciones *gauche* que inducen la formación de hélices y giros o la conformación *anti*, que favorecen estructuras extendidas como las láminas (Figura 11).¹¹

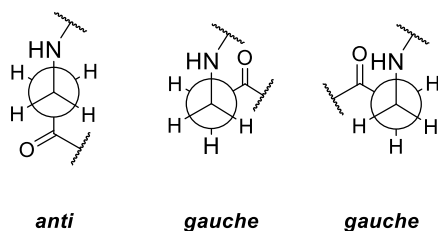


Figura 11. Rotámeros de β -aminoácidos vistos a través del enlace C_2-C_3 en una proyección de Newman.

Las conformaciones de los β -péptidos pueden ser analizadas a través de los ángulos de torsión ω , ϕ , θ y ψ (Figura 12), según la convención de Balaram.³⁵ Los plegados en forma de hélices o giros requieren una conformación *gauche* en torno al enlace C_2-C_3 . Los rotámeros con conformación *anti* dan lugar a conformaciones extendidas o de “*random coil*”. La influencia de la posición de los sustituyentes en las tendencias de plegado de β -péptidos ha sido ampliamente investigada, tanto experimental³⁶⁻³⁹ como teóricamente.^{40,41} Estos efectos de los sustituyentes están resumidos en la Figura 12.

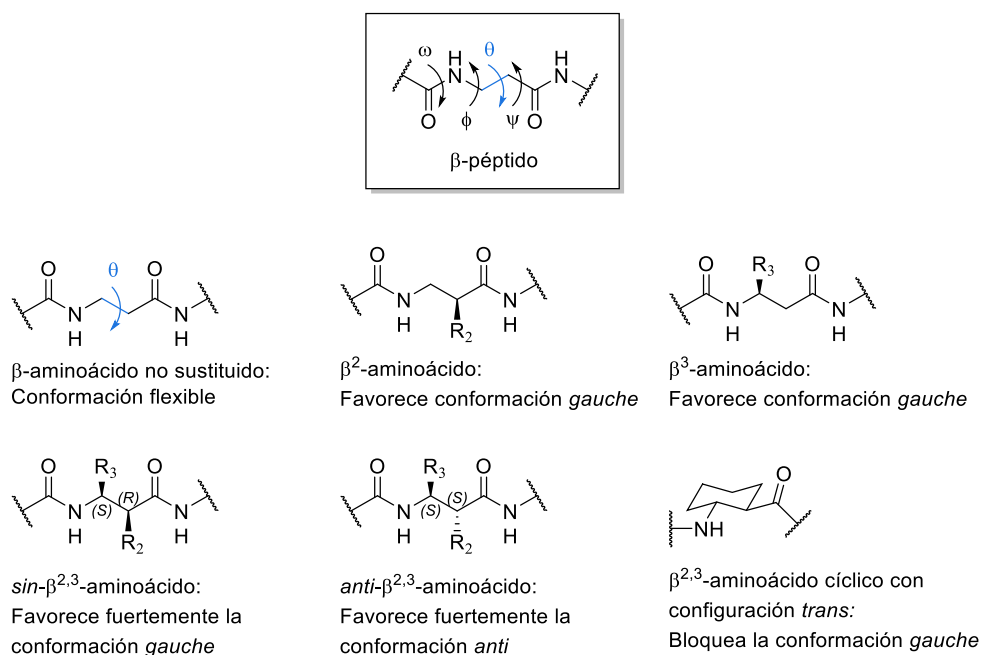


Figura 12. Efecto de las sustituciones en el ángulo de torsión θ .

La β -alanina es el único β -aminoácido no sustituido y por tanto sin una preferencia energética por la conformación *gauche*, lo que la hace altamente flexible. La presencia de sustituyentes a las posiciones C_2 (β^2 -aminácidos) y C_3 (β^3 -aminácidos) favorece la conformación *gauche* en torno al enlace C_2-C_3 (ángulo θ).³⁶ Mientras que los β -aminoácidos con dos cadenas laterales, una en la posición C_2 y otra en el C_3 ($\beta^{2,3}$ -aminoácidos) están conformacionalmente más restringidos y por tanto la conformación *gauche* es aún más estable que en el caso de los β^2 - y β^3 -aminoácidos, cuando la disposición de los sustituyentes es *sin* (($2R,3S$)- o ($2S,3R$)- $\beta^{2,3}$ -aminoácidos).

Cuando los sustituyentes en C_2 y C_3 están en disposición *anti* (($2S,3S$)- o ($2R,3R$)- $\beta^{2,3}$ -aminoácidos), se favorece una conformación del rotámero *antiperiplanar* en torno al enlace C_2-C_3 , lo que favorece la formación de estructuras tipo lámina.^{36,37,42}

En el caso de los β -aminoácidos cicloalcanicos (un subtipo de $\beta^{2,3}$ -aminácidos) la conformación *gauche* está aún más estabilizada, ya que el ciclo impide la libertad de rotación en torno al enlace C_2-C_3 , lo que favorece su estructuración en hélices muy estables.⁴²⁻⁴⁵ El tamaño del ciclo de estos β -aminoácidos cicloalcanicos influye en el ángulo exacto de torsión θ y por tanto en el tipo de hélice que pueden formar sus oligómeros.⁴⁶

Lo anteriormente expuesto justifica los cinco tipos de hélices descritas hasta el momento para β -péptidos: hélices-14, -12, -10 y -8, estabilizadas por enlaces de hidrógeno que forman anillos de 14, 12, 10 y 8 miembros, respectivamente. Un tipo adicional de hélices son las hélices-12/10, que están estabilizadas por la formación de enlaces de hidrógeno a 12 y 10 átomos, pero en sentido inverso (Figura 13).

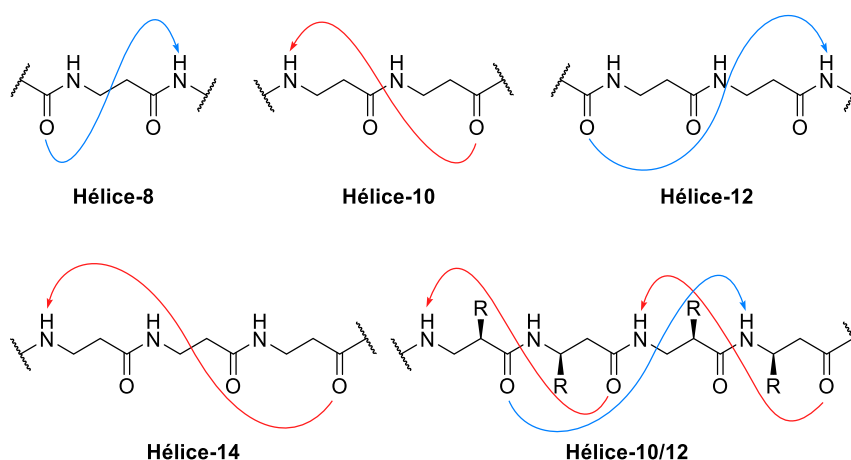


Figura 13. 5 tipos de hélices de β -aminoácidos con sus enlaces de hidrógeno. Dirección de los enlaces de hidrógeno: Rojo, $N_{term.} \leftarrow C_{term.}$; Azul, $N_{term.} \rightarrow C_{term.}$.

Estas estructuras helicoidales están especialmente promovidas por los β -aminoácidos cicloalcanicos en los que, como acabamos de comentar, la conformación *gauche* está especialmente favorecida. El grupo del Prof. Gellman publicó que los péptidos de los β -aminoácidos cicloalcanicos se pliegan en hélices estables topológicamente similares a las hélices- α , incluso en secuencias peptídicas tan cortas como cuatro residuos, mientras que para una hélice- α son necesarios al menos 12 residuos.¹¹

El profesor Gellman ha descrito una hélice-12 para el caso del β -péptido 39 constituido por unidades del ácido *trans*-2-aminociclopentanocarboxílico((1*R*,2*R*)-ACPC, 38). Esta hélice se caracteriza por la formación de enlaces de hidrógeno entre el grupo $C=O$ del residuo i y el grupo $N-H$ del residuo $(i+3)$, con un paso de hélice de 12 átomos (Figura 14).⁴⁶

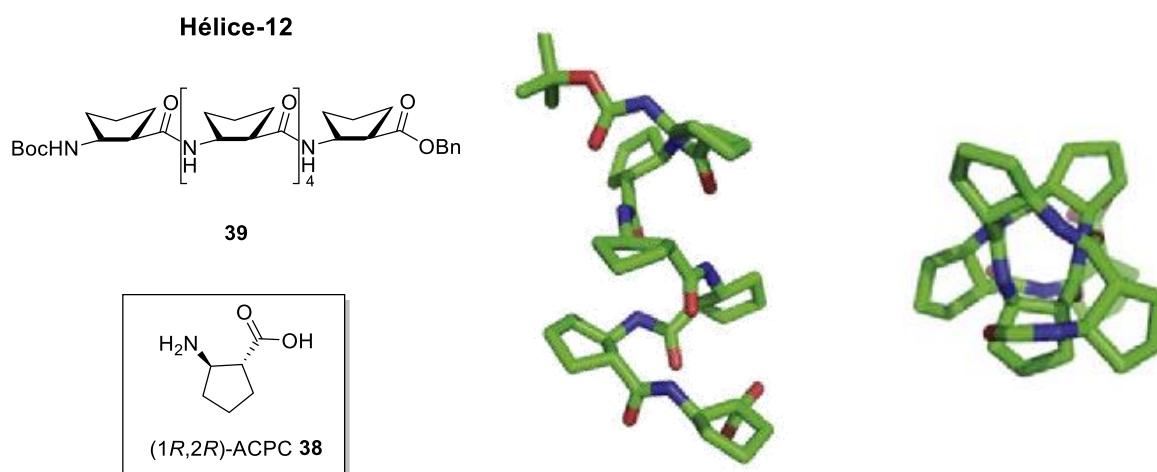


Figura 14. Estructura química del ácido (1R,2R)-2-aminociclopentanocarboxílico **38** y de su hexapéptido **39**, izquierda. Estructura secundaria de hélice-12: vista longitudinal y transversalmente, derecha.

También el profesor Gellman ha descrito una hélice-14 para el caso del β -péptido **41** formado por unidades del ácido *trans*-2-aminociclohexánicarboxílico ((1R,2R)-ACHC, **40c**)⁴³ que se estabiliza por la formación de enlaces de hidrógeno entre el C=O del residuo *i* y el N-H del residuo (*i*-2), a 14 átomos de distancia. Esta estructura posee un paso de hélice de tres residuos, lo que orienta las cadenas laterales de cada tercer residuo una encima de la otra (Figura 15).¹¹ La estructura de hélice-14 difiere de sus análogos de α -aminoácidos (hélice- α y hélice-3₁₀) en que ésta tiene un mayor radio y es más achatada. Además, como en el caso anterior, es más estable que la hélice- α , pudiendo formarse con tan solo cuatro residuos.

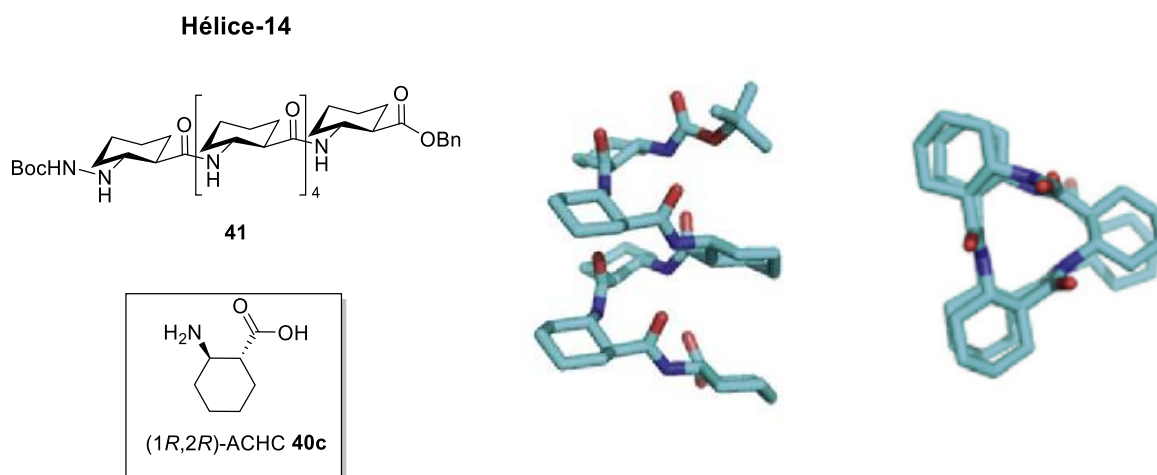


Figura 15. Estructura química del ácido (1R,2R)-2-aminociclohexanocarboxílico **40c** y de su hexapéptido **41**, izquierda. Estructura secundaria de hélice-14: vista longitudinal y transversalmente, derecha.

Además de las estructuras helicoidales descritas, los β -péptidos, al igual que los α -péptidos, pueden dar lugar a estructuras extendidas, como las láminas- β . Éstas pueden disponerse tanto de manera paralela como antiparalela.^{3,47,48} En las láminas paralelas las dos cadenas polipeptídicas están enfrentadas una con respecto a la otra, ambas en dirección *N*-terminal a *C*-terminal. En el caso de las láminas antiparalelas, las cadenas están en

direcciones opuestas. Además, en este caso podemos distinguir entre láminas tipo I, si la conformación del enlace C_2-C_3 es *anti* y tipo II si es *gauche* (Figura 16).

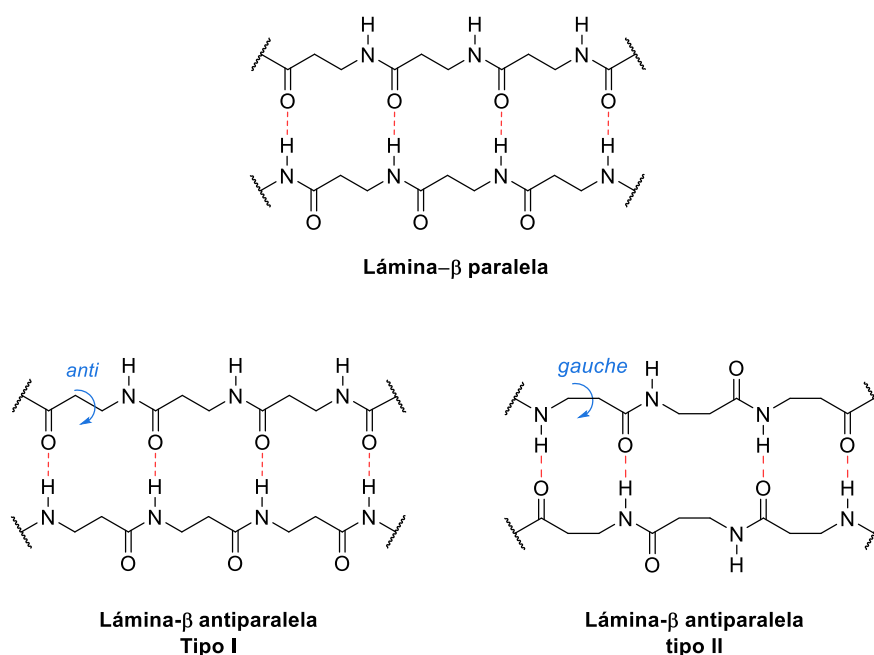


Figura 16. Estructuras de lámina- β en β -peptidos.

Las estructuras laminares están altamente promovidas por $\beta^{2,3}$ -aminoácidos dialquilados cuando su configuración es $(2R,3S)$ - o $(2S,3R)$ -, ya que en estos casos se favorece una estructuración antiperiplanar de las unidades de amida y, por tanto, configuraciones extendidas, como ya se ha comentado. Un claro ejemplo es el tripéptido **42**, el cual se agrega para dar lugar a estructuras secundarias de lámina- β (Figura 17).^{42,49}

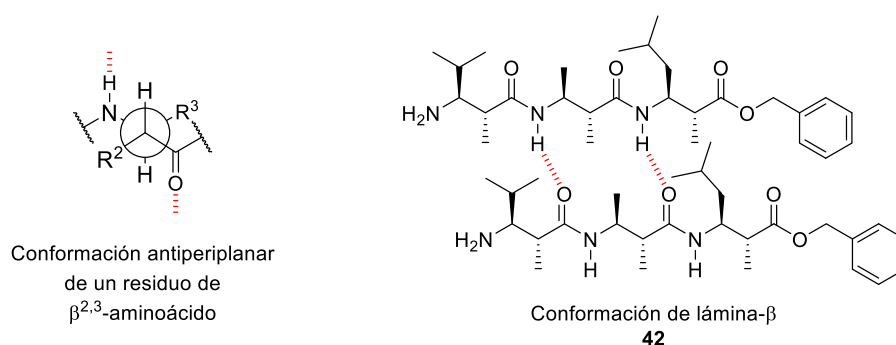


Figura 17. Proyección de Newman de un residuo de $(2R,3S)$ - $\beta^{2,3}$ -aminoácido. Estructura de lámina- β del tripéptido **42** formado por tres unidades de $(2R,3S)$ - $\beta^{2,3}$ -aminoácidos.

Una manera de prevenir la formación de láminas es la dialquilación geminal de la posición C_2 ($\beta^{2,2}$ -aminoácidos), ya que esta sustitución impide que se establezcan enlaces de hidrógeno entre cadenas peptídicas, como es el caso del heptapéptido **43**, que da lugar a estructuras extendidas que no se agregan como láminas- β , debido, como hemos indicado, a los impedimentos estéricos producidos por la dialquilación geminal (Figura 18).⁵⁰

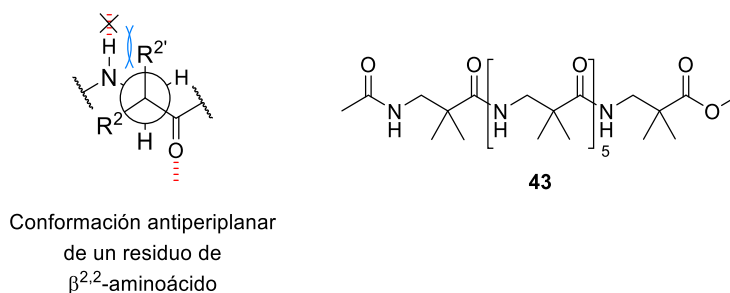


Figura 18. Proyección de Newman de un residuo de $\beta^{2,2}$ -aminoácido. Estructura del heptapéptido **43** formado por siete residuos de $\beta^{2,2}$ -aminoácidos.

Esta dialquilación geminal tanto en el C₂ como en el C₃ promueve la formación de giros peptídicos,^{51,52} al contrario de lo que sucede al dialquilar α -aminoácidos, en los que promueve la formación de estructuras helicoidales como es el caso del ácido α -amino-isobutírico.⁵³ También se pueden formar estructuras de giro peptídico añadiendo β -aminoácidos inductores de giros unidos a estructuras que favorecen láminas como es el caso del compuesto **44** desarrollado por Gellman (Figura 19). Otra aproximación para la formación de giros peptídicos es la propuesta por Seebach en la que aprovecha la predisposición de β^2/β^3 -dipéptidos a formar giros peptídicos unidos mediante enlaces de hidrógeno a 10 átomos de distancia, como es el caso de la estructura del compuesto **45**.

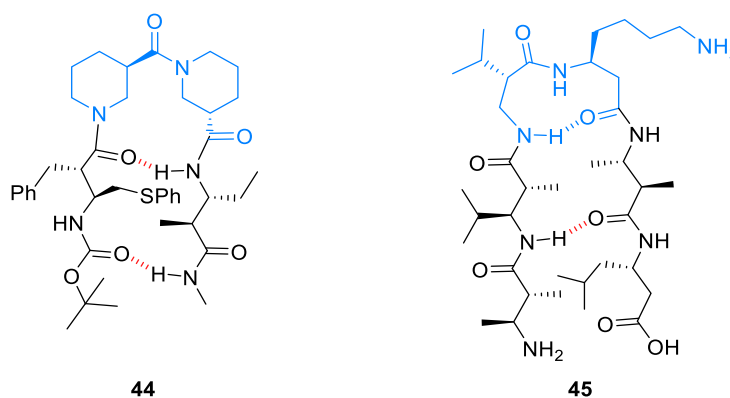


Figura 19. Giro peptídico estabilizado por un enlace de hidrógeno a 12 átomos inducido por un dímero R/S del ácido nipecótico **44**. Giro peptídico inducido por un β^2/β^3 -dipéptido **45**, estabilizado por un enlace de hidrógeno a 10 átomos de distancia.

1.5 HETEROOLIGÓMEROS DE β -AMINOÁCIDOS: α,β -PÉPTIDOS

La manera más sencilla de aumentar la diversidad estructural y química de los β -péptidos es la síntesis de péptidos mixtos que combinen β -aminoácidos con otros aminoácidos, generalmente α -aminoácidos. El número de estructuras posibles se amplía de forma considerable al formar cadenas heterogéneas en lugar de homogéneas. Existen diversas combinaciones periódicas de α - y β -aminoácidos, en las que se pueden variar las proporciones de cada tipo de residuo (como, por ejemplo: $\alpha\text{-}\beta\text{-}\alpha\text{-}\beta$, $\alpha\alpha\text{-}\beta\text{-}\alpha\alpha\text{-}\beta$, $\alpha\text{-}\beta\beta\text{-}\alpha\text{-}\beta\beta$, $\alpha\alpha\text{-}\beta\beta$ etc...). Cada una de estas cadenas heterogéneas puede dar lugar a estructuras secundarias características con una distribución espacial de sus cadenas laterales única. Esto hace que el

desarrollo de nuevos heterooligómeros de α,β -aminoácidos haya recibido un gran interés por parte de los científicos, por sus aplicaciones en la Química Médica y en la Ciencia de Materiales.⁵⁴

A la hora de diseñar α,β -péptidos con capacidad de plegado se han descrito dos aproximaciones. La primera (aproximación de bloques) consiste en unir diferentes bloques o motivos peptídicos conocidos, para establecer una determinada estructura secundaria. La segunda (aproximación de cadenas regulares) consiste en construir cadenas heterooligoméricas con patrones regulares. Como veremos a continuación estas dos aproximaciones se pueden combinar de varias maneras.

La aproximación de bloques se utilizó por primera vez para el diseño de horquillas. Como ya se ha descrito anteriormente, las estructuras de horquilla combinan un motivo de lámina- β unido por un giro peptídico. Esto hace que sea la estructura secundaria ideal para esta aproximación. Se pueden diseñar horquillas en las que un bloque esté constituido por α -aminoácidos inductores de giros- β y otro bloque por β -aminoácidos estabilizadores de láminas- β o *vice versa*.

Un ejemplo de α,β -péptido diseñado con la aproximación de bloques es el tetrapéptido **46**, capaz de plegarse como una horquilla- β en disolución. Para su diseño se utilizó un α -dímero Pro-Gly (resaltado en azul en la Figura 20), conocido por ser inductor de giros peptídicos en la Naturaleza, y en los extremos se colocaron residuos de (2*S*,3*R*)- $\beta^{2,3}$ -aminoácidos, con tendencia a formar láminas.^{37,55} También se sintetizó la horquilla complementaria en la que el giro es inducido por un β -dipéptido y la lámina está formada por residuos de α -aminoácidos como es el caso del compuesto **47** de la Figura 20.⁵⁶

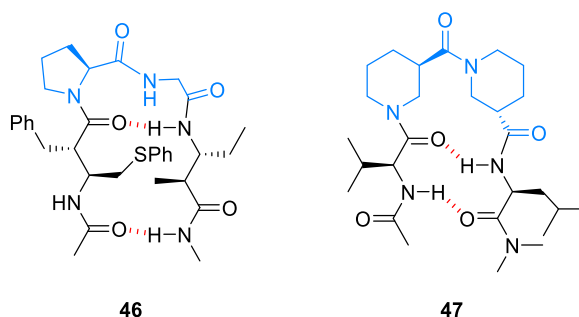


Figura 20. Estructura química de las horquillas de α,β -péptidos en las que el giro está inducido por un α -dímero **46** o un β -dímero **47**.

Esta aproximación de bloques se ha utilizado para reemplazar un giro peptídico de una ribonucleasa por un giro peptídico formado por un β -dímero, sin la pérdida de sus propiedades catalíticas, lo que denota el alto potencial de este tipo de estructuras heterooligoméricas.⁵⁷

La segunda aproximación se ha utilizado para el diseño de un gran número de heterooligómeros con propiedades estructurales novedosas. Pero, a pesar de la gran variedad de combinaciones posibles, los heterooligómeros 1:1 en los que se alternan α - y β -residuos han sido los más estudiados. Para el diseño de estos α,β -péptidos se suelen utilizar β -aminoácidos conformacionalmente restringidos (principalmente β -aminoácidos cicloalcánicos), para aumentar la estabilidad conformacional de estos heterooligómeros, mientras que los α -aminoácidos suelen ser los que aportan funcionalidad a la cadena.

Los numerosos trabajos de síntesis y estudio estructural de α,β -péptidos 1:1 publicados en las tres últimas décadas mostraron que estos heterooligómeros son capaces de plegarse también en una gran variedad de estructuras helicoidales. Hasta la fecha se han descrito α,β -péptidos 1:1 capaces de plegarse en estructuras de hélice-11, -13 y hélices mixtas como las hélice-14/15, -11/9 o -9/11, que aparecen representadas en la Figura 21.⁵⁴

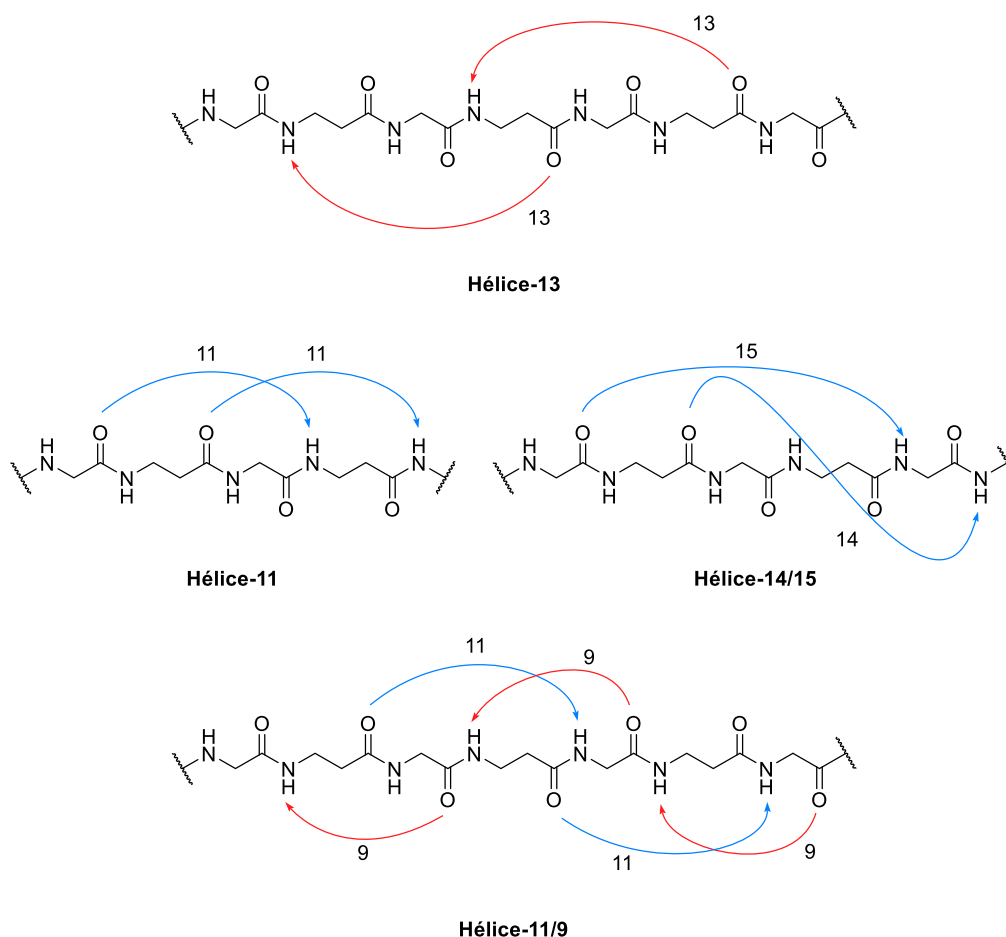


Figura 21. Patrones de enlaces de hidrógeno que estabilizan las diferentes hélices de los α,β -péptidos. Hélice-13, hélice-11, hélice-14/15 y hélice-9/11. Dirección de los enlaces de hidrógeno: Rojo, $N_{term.} \leftarrow C_{term.}$; Azul, $N_{term.} \rightarrow C_{term.}$

Uno de los primeros ejemplos de α,β -péptidos con capacidad de plegado fue reportado por el Prof. Reiser.^{58,59} En su grupo se sintetizó el α,β -heptapéptido **48**, que alterna residuos de L-alanina con residuos del ácido *cis*-2-aminociclopropanoico. A través de un análisis de RMN bidimensional fueron capaces de establecer que **48** se pliega como una hélice-13 estabilizada por la formación de enlaces de hidrógeno $C=O \cdots HN$ entre los residuos $i \rightarrow (i-2)$ (Figura 22).

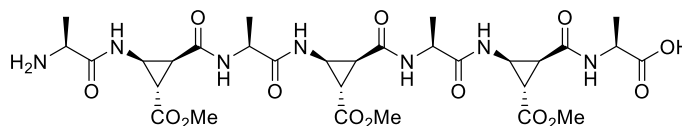
Hélice-13
48

Figura 22. Estructura química del α,β -heptapéptido **48**, el cual se pliega como hélice-13 en metanol.

Gellman y sus colaboradores prepararon α,β -péptidos utilizando residuos de ACHC y ACPC, cuyos homooligómeros habían demostrado una gran tendencia a plegarse en forma de hélices estables (Figura 14 y Figura 15, página 22).¹¹

Estos autores prepararon hexámeros y octámeros que alternan residuos de (1*S*,2*S*)-ACPC o (1*S*,2*S*)-ACHC con residuos de L- o D- α -aminoácidos. Únicamente el α,β -hexapéptido **49**, formado alternando (1*S*,2*S*)-ACPC y L- α -aminoácidos se pliega en metanol en una estructura secundaria estable (Figura 23). Los NOEs inter-residuo muestran la formación de enlaces de hidrógeno simultáneos entre los residuos $i \rightarrow (i+3)$ y los residuos $i \rightarrow (i+4)$.⁶⁰ Esta estructura de NOEs es consecuente con una rápida interconversión entre las estructuras de hélice-11 y de hélice-14/15 en la escala de tiempos de RMN, de forma similar a la interconversión entre hélice-3₁₀ y hélices- α en los α -péptidos naturales.⁶¹

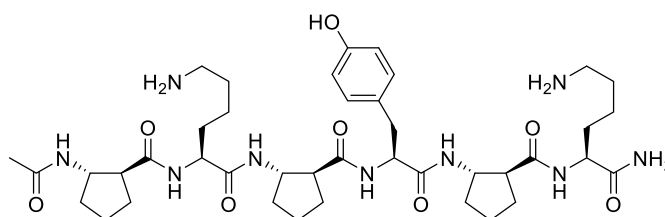
Hélice-11 + Hélice-14/15
49

Figura 23. Estructura del α,β -hexapéptido **49**, que se pliega en estructuras de hélice-11 y hélice-14/15 en rápida interconversión en metanol.

Los profesores Sharma y Kunwar ampliaron la variedad de las estructuras secundarias de los α,β -péptidos 1:1, al reportar que el péptido **50** se pliega en una hélice mixta 9/11 (Figura 24). Esta hélice se caracteriza por estar estabilizada por dos tipos de enlaces de hidrógeno en direcciones opuestas, uno a 9 y otro a 11 átomos de distancia respectivamente.⁶²

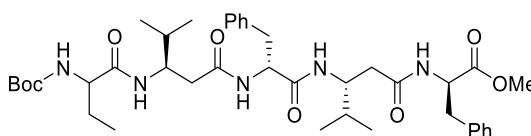
Hélice-9/11
50

Figura 24. Estructura del α,β -péptido **50**, que se pliega en forma de hélice-9/11 en disolución.

Cabe resaltar que también han sido estudiados otros patrones de cadenas heterooligoméricas, además de las α/β 1:1. La descripción de cada una de ellas está fuera del

alcance de esta tesis. Sin embargo, dos ejemplos representativos son los heterooligómeros con patrones α/β 2:1 y 1:2, ya que se ha demostrado su tendencia a formar hélices estables también en secuencias peptídicas muy cortas. Tal es el caso de los péptidos **51** y **52**, ambos capaces de plegarse en estructuras de hélice-11 en disolución (Figura 25).⁶³

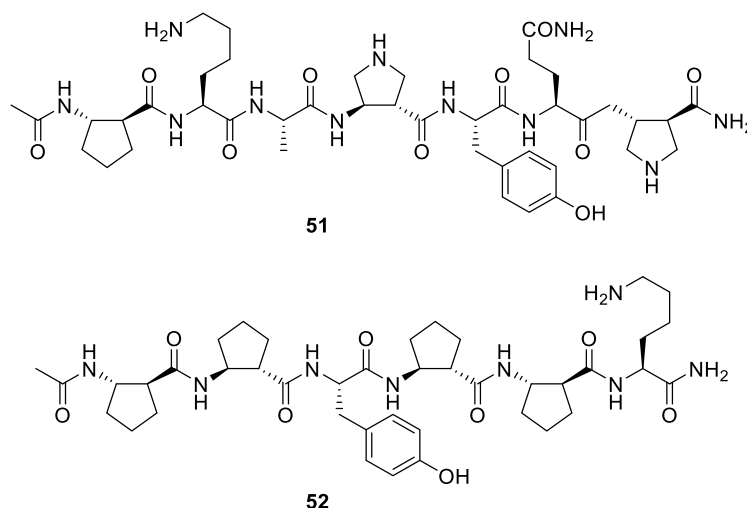


Figura 25. Ejemplos de α,β -péptidos con relación $\alpha:\beta$ 2:1 **51** y 1:2 **52**, ambas capaces de plegarse como hélices-11 en disolución.

Los resultados publicados hasta la fecha apuntan a que los oligómeros de α,β -péptidos tienen una gran tendencia a estabilizarse en estructuras secundarias helicoidales a través de enlaces de hidrógeno $C=O \cdots HN$ entre residuos $i \rightarrow (i+3)$ (hélice-11 y hélice-11/9) y entre los residuos $i \rightarrow (i+4)$ (hélice-14/15), independientemente de la relación $\alpha:\beta$ y su secuencia.

Estos patrones de enlaces de hidrógeno son muy importantes, ya que son los presentes en la Naturaleza para las estructuras de hélice- 3_{10} y hélice- α , respectivamente.⁶¹ Lo cual convierte a los α,β -péptidos en moléculas con un gran potencial para simular las superficies estructurales de las proteínas y puede llevar al desarrollo de inhibidores de las interacciones proteína-proteína más eficientes.

1.6 PÉPTIDOS DE γ -AMINOÁCIDOS

Los péptidos de γ -aminoácidos han suscitado un menor interés que los de los β -aminoácidos, a pesar de que la adición de un nuevo carbono amplía de forma considerable la variedad estructural. Este menor interés se debe probablemente a que la adición del nuevo enlace C_3-C_4 amplía la flexibilidad conformacional de su esqueleto carbonado que ahora tiene tres enlaces C-C y un enlace C-N con libertad de giro a través de sus correspondientes cuatro ángulos diedros: ϕ , θ_1 , θ_2 y ψ (Figura 26).

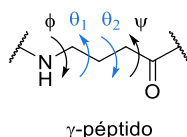


Figura 26. Ángulos diedros de un γ -péptido.

Sin embargo, en los últimos años se ha descrito que también los γ -péptidos son capaces de ordenarse en estructuras secundarias estables de hélices, giros y láminas, aunque para ello es necesaria la correcta elección del patrón de sustitución de sus carbonos C_2 , C_3 y C_4 , como se verá a continuación.³²

Para conocer los efectos del patrón de sustitución de los γ -aminoácidos en la estructura secundaria de los γ -péptidos, Hofmann realizó cálculos teóricos utilizando γ -péptidos no sustituidos y monosustituidos con el grupo metilo en las posiciones α , β y γ , utilizando la teoría de orbitales moleculares *ab initio* a varios niveles de aproximación.^{64,65} Estos cálculos mostraron que las estructuras de hélice-14 y hélice-9 son las más estables en γ -péptidos. También mostraron que eran posibles hélices mixtas, de las cuales las más estables son la hélice-24/22 y la hélice-14/12, en las que la dirección de enlaces de hidrógeno se orienta en direcciones opuestas (Figura 27).

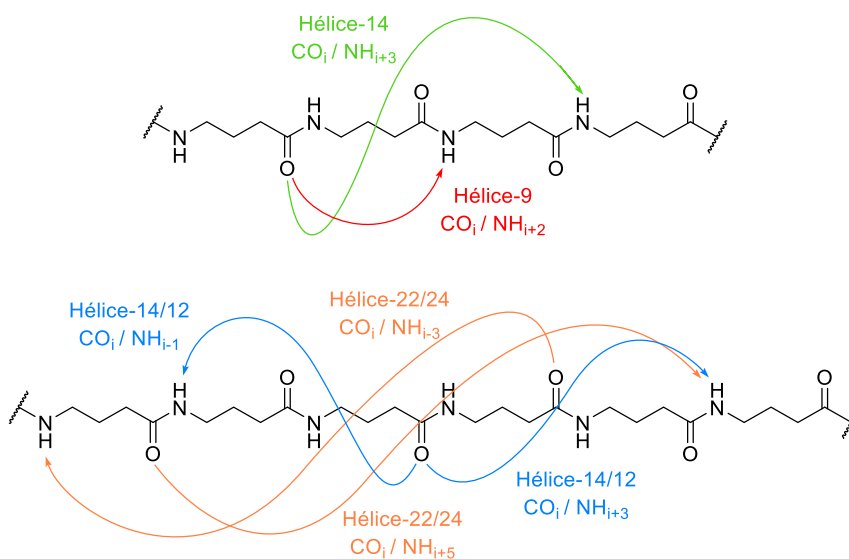


Figura 27. Estructura de enlaces de hidrógeno para una hélice-14 (verde) o hélice-9 (rojo) y una hélice mixta 14/12 (azul) o 24/22 (naranja).

Estos estudios teóricos se han visto corroborados por publicaciones posteriores. Así, la hélice-9 calculada por Hofmann ha sido reportada en la bibliografía por varios grupos de investigación. Un ejemplo de ello es el γ -péptido monosustituido **53**,⁶² que incorpora un γ -aminoácido derivado de D-glucosa y que presenta una estructura de hélice-9. Así mismo, Balaram reportó varios péptidos que incorporan el residuo aquiral de gabapentina (**55**) como el tetrámero **54**,⁶⁶ que también se pliega adoptando una estructura de hélice-9 en disolución (Figura 28).

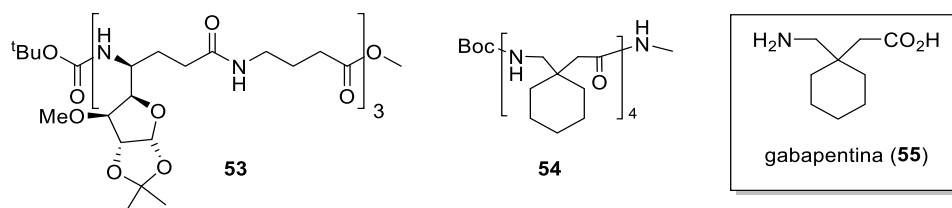


Figura 28. Ejemplos de γ -péptidos con estructura de hélice-9 (**53** y **54**). A la derecha estructura de la gabapentina (**55**).

También se ha demostrado que los γ^4 -péptidos monosustituidos en la posición C₄ tienen una gran tendencia a formar hélices-14, debido a que solo cinco de las nueve conformaciones posibles generadas al rotar los enlaces C₂-C₃ y C₃-C₄ están permitidas, dando lugar a interacciones *sin*-pentano desfavorables. Gellman y Hanessian reportaron simultáneamente que el γ^4 -hexapéptido **56** es capaz de formar hélices estables en disolución.^{36,67} Éste se estructura en forma de hélice-14, estabilizada por la formación de enlaces de hidrógeno entre el grupo C=O del residuo *i* y el N-H del residuo (*i*+3) (Figura 29). Por otro lado, los γ^2 - y γ^3 -péptidos monosustituidos no dan lugar a estructuras secundarias estables como demostró Seebach para los péptidos **57** y **58** (Figura 29).⁶⁸

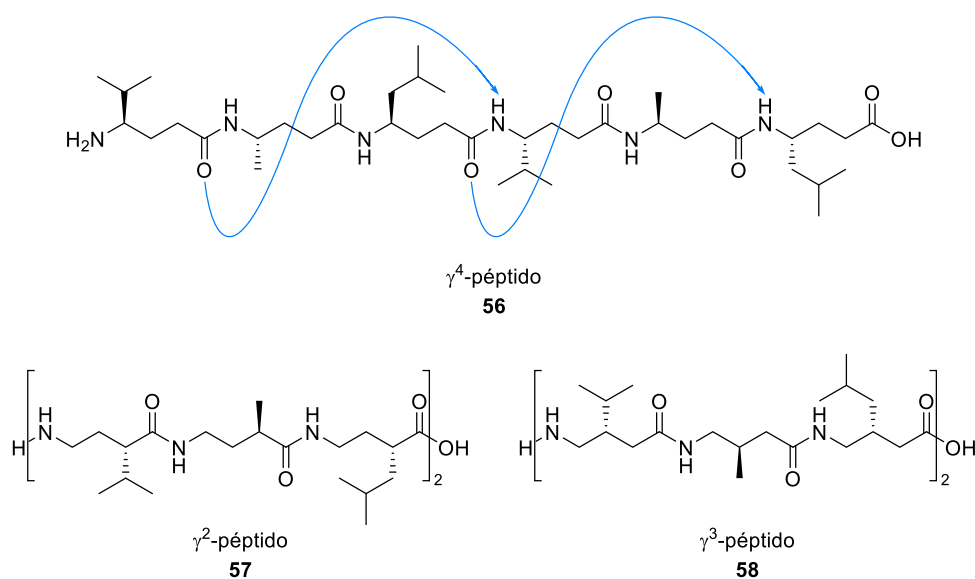


Figura 29. γ^4 -péptido **56** que da lugar a una estructura de hélice-14 y γ^2 -péptido **57** y γ^3 -péptido **58** que no dan lugar a ninguna estructura secundaria. Flecha azul señala los enlaces de Hidrógeno C=O...H-N característicos de una hélice-14 (*i* → (*i*+3)).

Las preferencias conformacionales de los $\gamma^{2,4}$ -péptidos se deben principalmente a que la mayoría de las conformaciones están desfavorecidas por interacciones *sin*-pentano que surgen en los diferentes rotámeros al girar los enlaces C₂-C₃ y C₃-C₄. Así, para diseñar γ -péptidos capaces de plegarse en estructuras estables es necesario minimizar el número de conformaciones en las que no se produzcan interacciones *sin*-pentano, para que haya el menor número de conformaciones estables en competencia y que estas conformaciones estables sean promotoras de estructuras secundarias. De hecho, está comprobado que este efecto juega un papel fundamental en la fijación de la estructura secundaria de productos naturales que contienen γ -aminoácidos, como es el caso de la bleomicina A₂.¹⁰

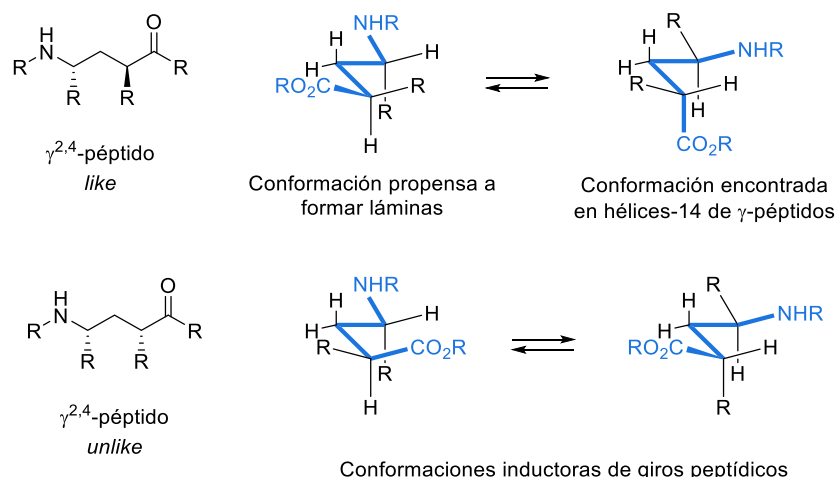


Figura 30. Conformaciones libres de interacción *sin-pentano* para $\gamma^{2,4}$ -péptidos.

La tendencia a estabilizar estructuras secundarias es mayor para los $\gamma^{2,4}$ -péptidos, en los que solo dos de las nueve conformaciones están libres de interacciones *cis-pentano*. Si la disposición relativa de los sustituyentes es *like*, una de las dos conformaciones posibles promueve su estructuración como hélice-14 y la otra como lámina. Mientras que, si la disposición relativa es *unlike*, ambas conformaciones promueven un plegamiento en forma de giro (Figura 30).⁶⁹⁻⁷¹ Reiser y sus colaboradores demostraron esto para el caso del tripéptido **59** de la Figura 31, en el que la disposición *like* de sus sustituyentes da lugar a una hélice-14. Mientras que el dipéptido **60**, con disposición *unlike* de sus sustituyentes, se estructura en forma de giro peptídico (Figura 31).^{58,72}

El $\gamma^{2,3,4}$ -péptido **61** con una misma configuración relativa de las posiciones C₂ y C₄ que el $\gamma^{2,4}$ -péptido **59** también ha sido estudiado y se pliega como hélice-14 en disolución, lo cual evidencia que la adición de una sustitución adicional no provoca suficientes impedimentos estéricos para desestabilizar la estructura helicoidal de estos péptidos.^{68,73}

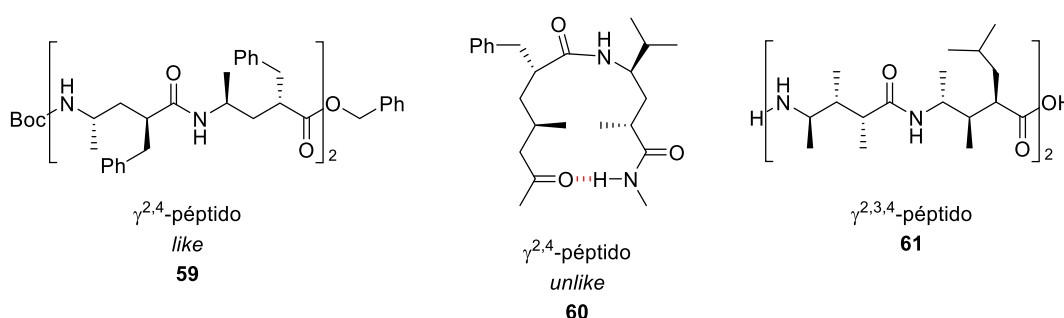


Figura 31. $\gamma^{2,4}$ -péptido **59** que da lugar a una estructura de hélice-14, $\gamma^{2,4}$ -péptido **60** que da lugar a una estructura de giro peptídico y $\gamma^{2,3,4}$ -péptido **61** que da lugar a una estructura de hélice-14.

Las conformaciones de giros peptídicos inducidos por γ -péptidos son muy similares a los giros- β tipo II' de los α -péptidos naturales, lo que sugiere que fragmentos cortos de γ -péptidos con la correcta sustitución podrían dar lugar a peptidomiméticos muy útiles para el diseño de fármacos.

Los γ -péptidos también pueden generar oligómeros con estructura secundaria tipo lámina- β . Esto fue confirmado a través de la síntesis del oligómero **62** (formado por ácidos *trans*- y *cis*-2-aminometilciclopropanocarboxílicos),⁷⁴ que da lugar a una estructura tipo lámina- β paralela en estado sólido (Figura 32). Estudios posteriores mostraron que la unión de estos oligómeros a moléculas inductoras de giros- β da lugar a horquillas muy estables en disolución, como es el caso del compuesto **63**.⁷⁵

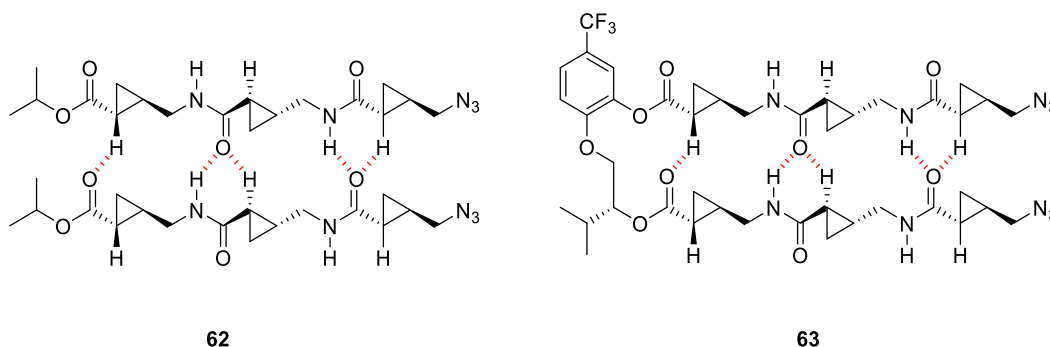


Figura 32. Oligómeros de ácidos *trans*- y *cis*-2-aminometilciclopropanocarboxílicos con estructura tipo lámina- β **62** y horquilla **63**.

1.7 HETEROOLIGÓMEROS DE α,γ -AMINOÁCIDOS: α,γ -PÉPTIDOS

La combinación de α - y γ -aminoácidos también aumenta considerablemente las posibilidades estructurales de estos péptidos. Gellman demostró que la incorporación de un γ -aminoácido ciclohexánico, conformacionalmente restringido, junto a α -aminoácidos para generar los tetra- y hexapéptidos **64** y **65** da lugar a estructuras que se pliegan como hélices-12 en disolución (Figura 33). En ambos casos se formaron el máximo número posible de enlaces de hidrógeno entre el C=O del residuo i y el N-H del residuo $(i+3)$.⁷⁶

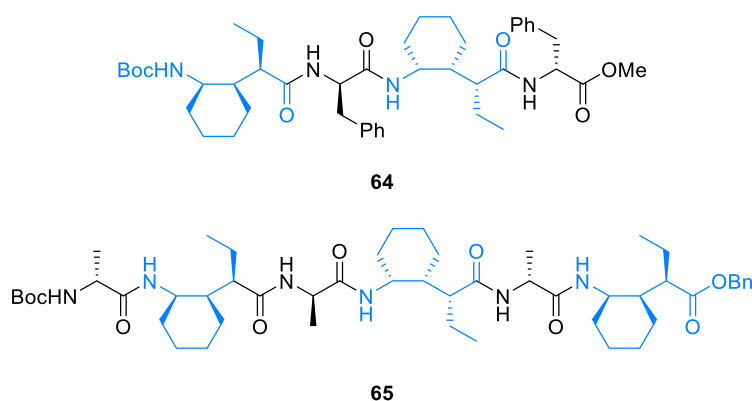


Figura 33. Estructura química del tetrapéptido **64** y el hexapéptido **65**, que se pliegan como hélice-12 en disolución.

Los heterooligómeros de α,γ -aminoácidos también pueden dar lugar a estructuras de horquillas, en los que el γ -aminoácido puede formar parte de la lámina o ser el inductor del giro. Un ejemplo del primer caso es el $\alpha,\alpha,\alpha,\alpha,\gamma,\alpha,\alpha,\alpha$ -octapéptido de Boc-Leu-Phe-Val-Aib-

Gpn-Leu-Phe-Val-OMe **66**, que mostró en estudios cristalográficos que se pliega como una horquilla altamente estabilizada por enlaces de hidrógeno entre los dos segmentos del α -tripéptido Leu-Phe-Val (Figura 34). En este caso el dipéptido Aib-Gpn (resaltado en azul) actúa como inductor del giro a través de un enlace de hidrógeno a 12 átomos.⁷⁷

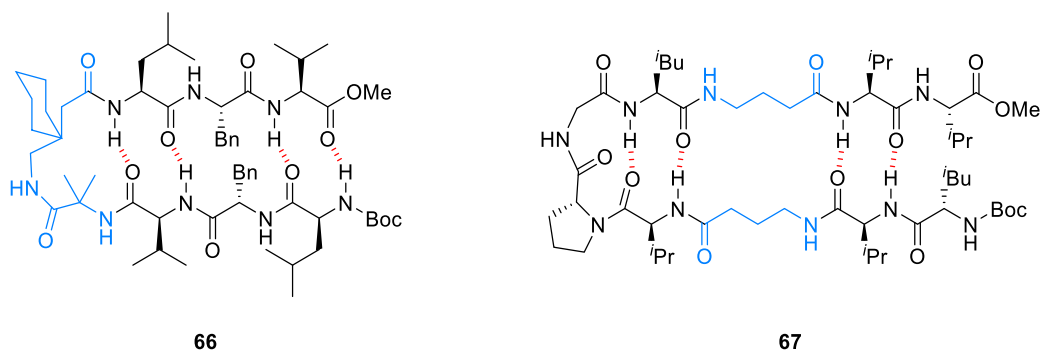


Figura 34. Estructura de horquilla inducida por el α,γ -dímero Aib-Gpn **66** y de horquilla formada por el péptido **67**.

Un ejemplo del segundo caso fue publicado por Balaram, quien demostró que el péptido Boc-Leu-Val- γ Abu-Val-DPro-Gly-Leu- γ Abu-Val-Val-OMe **67** forma horquillas en las que los γ -aminoácidos no son los inductores del giro, sino que estabilizan la estructura de lámina- β , mientras que el giro es inducido por el dímero DPro-Gly (Figura 34).⁷⁸

2 OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

2.1 SÍNTESIS Y ESTUDIO ESTRUCTURAL DE PÉPTIDOS DE β - Y γ -AMINOÁCIDOS DERIVADOS DEL ÁCIDO CICLOHEXENOCARBOXÍLICO Y DEL ÁCIDO (-) SHIKÍMICO

El enorme interés que han generado los homo- y heterooligómeros de β - y γ -aminoácidos en las última dos décadas, descrito someramente en la introducción de esta tesis doctoral, deja al descubierto las grandes carencias que los estudios realizados hasta la fecha tienen en cuanto a diversidad estructural de los aminoácidos constituyentes de estos oligómeros. Los casos descritos casi siempre están constituidos por aminoácidos sencillos que, o bien no tienen sustituyentes, o en el caso de tenerlos, estos son casi siempre apolares. Seguramente motivado por la complejidad que entraña la síntesis de aminoácidos polisustituídos y/o altamente funcionalizados.

Esto restringe no sólo la variedad estructural posible de los aminoácidos constituyentes sino también la posibilidad de modular la polaridad y las posibles interacciones de los péptidos resultantes.

Estas carencias son notables en el caso de los aminoácidos cicloalcanicos, donde los estudios realizados se basan casi siempre en los constituyentes con estereoquímicas *cis* o *trans*, pero con los anillos cicloalcanicos no sustituidos. Siendo los casos de los aminoácidos cicloalcanicos sustituidos anecdótico⁷⁹ y nulo en el caso de los aminoácidos cicloalcanicos hidroxilados, cuya síntesis se ha descrito, pero no así su incorporación en péptidos, a pesar del enorme interés que entrañan por la diversidad estructural y, más importante aún, por la posibilidad de acceder a péptidos lipó o hidrosolubles, mediante la protección o desprotección de sus grupos hidroxilo.¹⁴

Teniendo esto en cuenta y también que nuestro grupo de investigación llevó a cabo la síntesis de aminoácidos cicloalcanicos polihidroxilados, partiendo de azúcares y otros productos naturales polihidroxilados,^{34,80,81} nos planteamos como objetivo de este capítulo de la Tesis Doctoral la incorporación en péptidos de nuestros β - y γ -aminoácidos ciclohexánicos polihidroxilados, obtenidos a partir del ácido (-)-shikímico, con una doble finalidad de:

1. Conseguir una mayor diversidad estructural, por el hecho de que estos aminoácidos están polisustituídos y también porque sus grupos hidroxilo pueden estar protegidos de formas muy diversas o bien libres.
2. Conseguir cambios en las propiedades fisicoquímicas de los péptidos formados dependiendo de que los grupos hidroxilo estén protegidos o libres.

Este objetivo general se concreta en los siguientes objetivos específicos:

2.1.1 Objetivo específico nº 1:

Se tomó como referencia el hexapéptido **41**, estudiado por el Prof. Gellman, un homooligómero, constituido por el (1*R*,2*R*)-ACHC **40c** y que demostró plegarse en una estructura de hélice-14 estable en disolución (Figura 35).⁴³

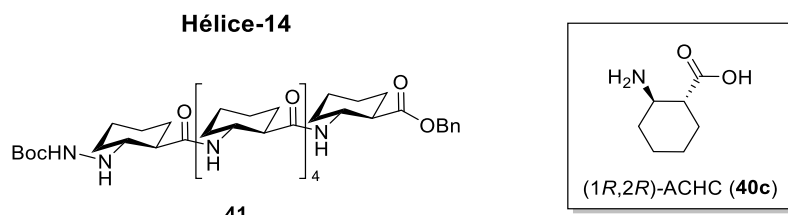


Figura 35. Estructura química del ácido (1R,2R)-2-aminociclohexanocarboxílico **40c** y su hexapéptido **41**.

Planteamos como un objetivo la síntesis y estudio estructural del péptido **70a**, que mantiene la secuencia básica β -aminoácidos ciclohexánicos del oligómero **41** e incorpora como residuo central el β -aminoácido trihidroxilado **22b** derivado del ácido (-)-shikímico (Figura 36), sintetizado en nuestro grupo de investigación como ya se indicó en la introducción.

Se pretende con ello, en primer lugar, desarrollar un protocolo de incorporación de β -aminoácidos ciclohexánicos polihidroxilados en secuencias peptídicas, cuando sus grupos hidroxilo están totalmente protegidos.

Una vez conseguido este subobjetivo, se procederá a desproteger parcial o totalmente los grupos hidroxilo del β -aminoácido central, lo que debería conducirnos a los péptidos **70b** y **70c**. Con ello pretendemos demostrar que el empleo de aminoácidos polihidroxilados permite aumentar la diversidad estructural de las cadenas peptídicas de β -aminoácidos ciclohexánicos, mediante operaciones tan simples como son la desprotección de sus grupos hidroxilo.

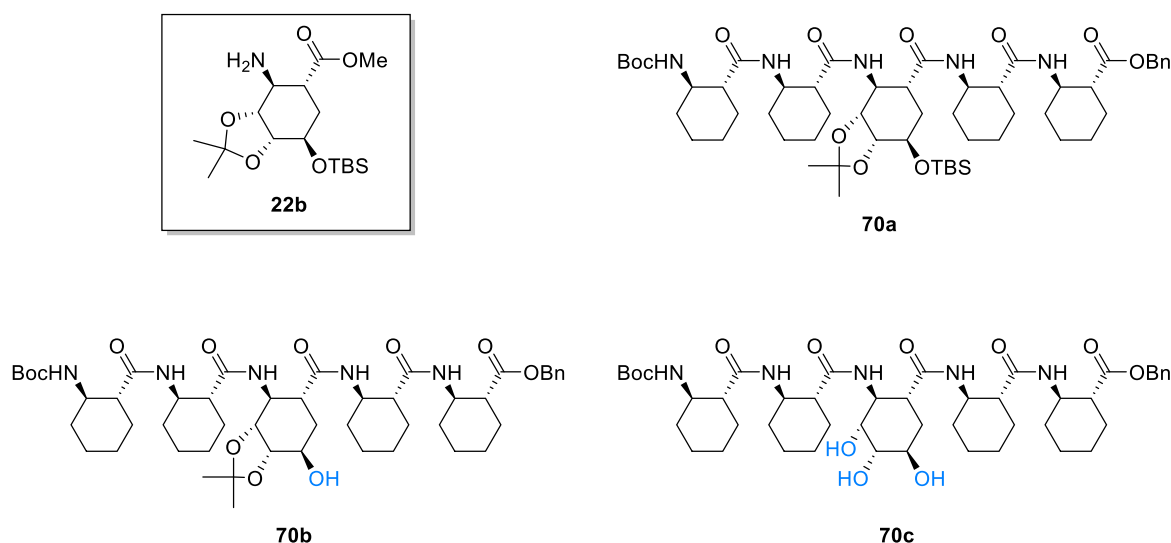


Figura 36. Estructura del β -aminoácido trihidroxilado derivado del ácido (-)-shikímico **22b** y de los tres β -pentapéptidos **70a**, **70b** y **70c**, que lo incorporan, con diferente grado de protección de sus grupos hidroxilo.

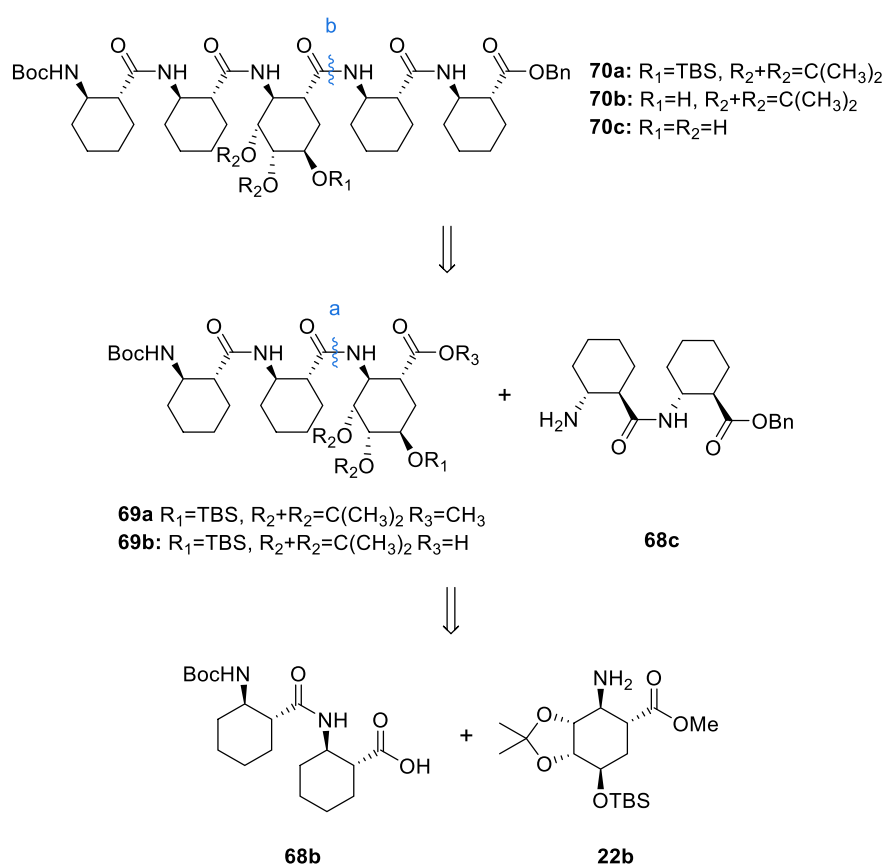
Pero más importante todavía es que estos cambios tan sencillos deberían conducir a estructuras con propiedades lipofílicas o hidrofílicas cuando los grupos hidroxilo estén protegidos o libres (diferente polaridad, posibilidades de diferentes interacciones con los disolventes o con los receptores naturales, etc). Como primer paso, cara este ambicioso objetivo, en esta tesis estudiaremos como afectan estructuralmente los cambios en el sistema

trihidroxilado a la estructura secundaria de los péptidos **70a-c**. Para ello se llevarán a cabo estudios estructurales de FTIR, CD, RMN y cálculos de DFT.

Es especialmente relevante en este caso comprobar si los tres péptidos mantienen la estructura de hélice-14 del péptido modelo **41**. Esto es de enorme importancia, ya que la estructura de hélice-14 se caracteriza por tener un paso de hélice de tres residuos por vuelta, lo que situaría los grupos hidroxilo de nuestros péptidos **70a-c** en la cara externa de la hélice, abriendo la posibilidad de acceder a nuevos péptidos anfifílicos, con la trascendencia científica que ello implicaría.

El plan de trabajo que se propone contempla en primer lugar la síntesis de los péptidos **69a-70c** que, de acuerdo con el Esquema 6 implicaría las siguientes operaciones:

1. Acoplamiento del dímero ACHC **68b** con el β -aminoácido **22b** desprotegido en su extremo *N*-terminal, para formar el enlace estratégico "a" del tripéptido **69a**.
2. Acoplamiento del tripéptido **69b** con el dímero del ACHC **68c** desprotegido en su extremo *N*-terminal, para formar el enlace estratégico "b" del pentapéptido **70a** objetivo.
3. Desprotección selectiva del grupo OH del pentapéptido **70a**, protegido como TBS, para generar el pentapéptido monohidroxilado **70b**.
4. Desprotección total de los grupos OH del pentapéptido **70b**, protegidos como acetónido, para dar lugar al pentapéptido trihidroxilado **70c**.



Esquema 6. Análisis retrosintético de la síntesis de los pentapéptidos **70a**, **70b** y **70c**.

Una vez sintetizados estos pentámeros objetivos **70a-c** se llevará a cabo un estudio estructural para elucidar el tipo de plegamiento que adoptan en disolución. Para ello se utilizará una combinación de técnicas espectroscópicas (FTIR, CD y RMN) y cálculos teóricos.

2.1.2 Objetivo específico nº 2:

Siguiendo con el interés en la incorporación de nuestros β -aminoácidos trihidroxilados en cadenas peptídicas, para conocer el efecto que esto tiene en la generación de diversidad estructural y/o funcional de los péptidos resultantes. Fijamos nuestro interés en el péptido **72** que alterna unidades del β -aminoácido ciclohexánico ((1*R*,2*R*)-ACHC, **71c**) con unidades del α -aminoácido proteínogénico alanina, sintetizado por el Prof. Choi y que demostró presentar una estructura secundaria de hélice mixta 11/9 en disolución (Figura 37).⁷⁹

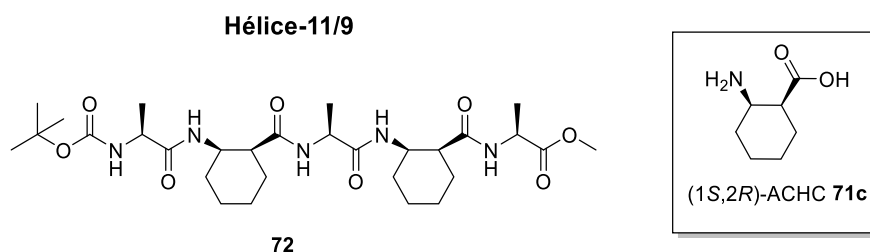


Figura 37. Estructura química del ácido (1*S*,2*R*)-2-aminociclohexanocarboxílico **71c** y el α,β -pentapéptido **72**, que lo incorpora.

Planteamos por lo tanto como segundo objetivo la sustitución de las dos unidades del ácido (1*R*,2*R*)-ACHC **71c** que forman parte del péptido **72** por unidades de nuestro aminoácido trihidroxilado **21d**, lo que daría lugar a los tres péptidos **75a-75c** dependiendo del grado de protección o desprotección de sus grupos hidroxilo.

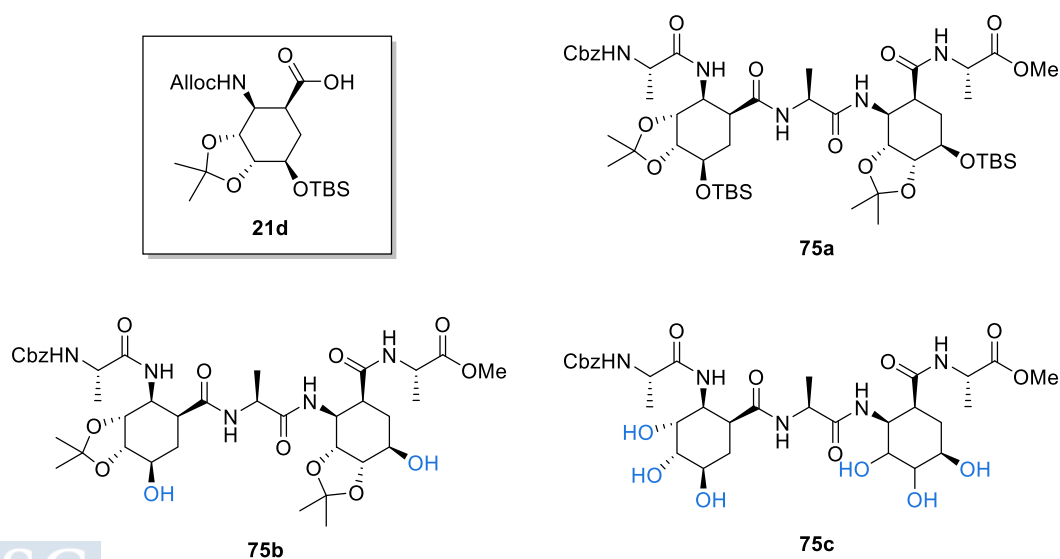
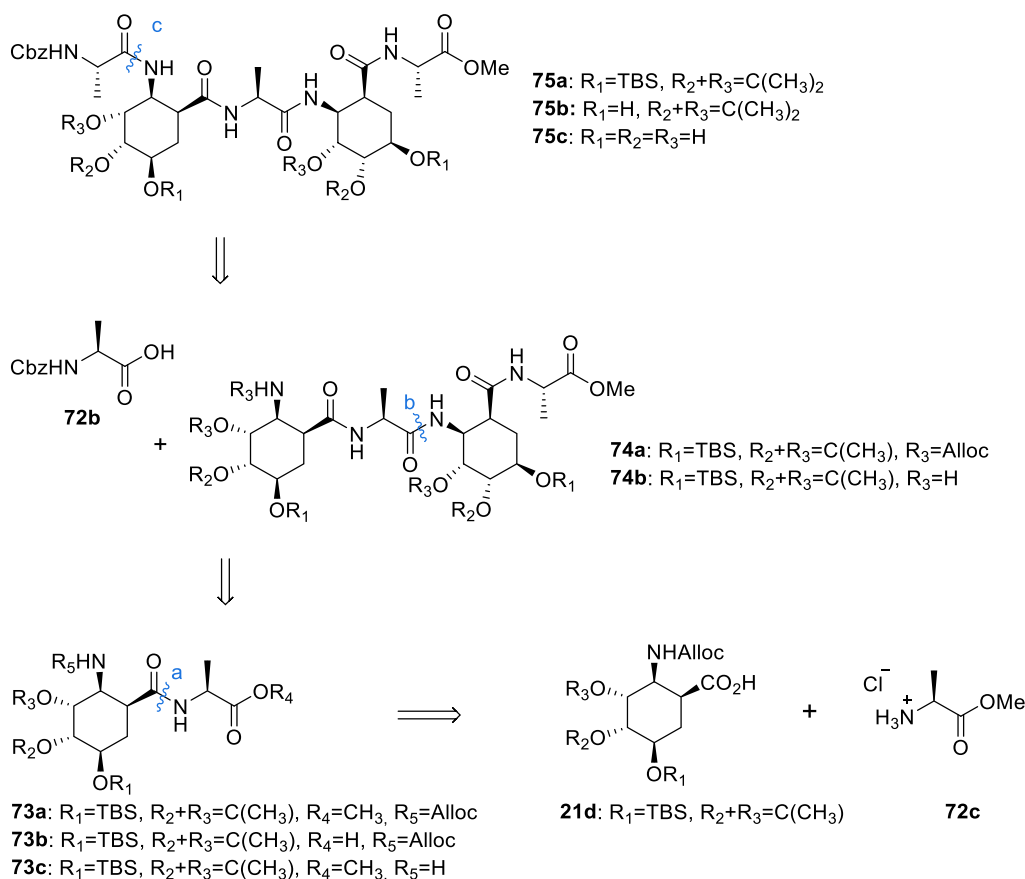


Figura 38. Estructura del β -aminoácido trihidroxilado derivado del ácido (-)-shikímico **21d** y de los tres α,β -pentapéptidos **75a**, **75b** y **75c**, que lo incorporan, con diferente grado de protección de sus hidroxilos.

Una vez sintetizados estos tres péptidos, se llevarán a cabo también con ellos estudios estructurales para ver cómo afecta el sistema trihidroxilado a su estructura secundaria.

El plan de trabajo que se propone es por lo tanto similar al del objetivo 1 e implicará llevar a cabo las siguientes transformaciones recogidas en el Esquema 7:

1. Acoplamiento del β -aminoácido derivado del ácido (-)-shikímico **21d** con la alanina comercial **72c**, formando así el enlace estratégico "a" del dímero **73a**.
2. Acoplamiento del dímero **73b** desprotegido en su extremo C-terminal con el dímero **73c** desprotegido en su extremo N-terminal para formar el enlace estratégico "b" y dar lugar al tetrámero **74a**.
3. Acoplamiento del tetrámero **74b**, con la alanina comercial **72b**, para formar el enlace estratégico "c" y generar así el primero de nuestros pentámeros objetivo **75a**.
4. Desprotección selectiva de los dos grupos hidroxilo protegidos como TBS del pentámero **75a**, para generar el pentapéptido **75b**.
5. Desprotección de los restantes grupos hidroxilos protegidos como acetónidos de **75b** para dar lugar al pentapéptido **75c**.



Esquema 7. Análisis retrosintético de la síntesis de los pentapéptidos **75a**, **75b** y **75c**.

Una vez sintetizados los péptidos **75a-c**, se llevará a cabo un estudio estructural para elucidar si se plegan en disolución, y, de ser así, si su plegado sigue el patrón del péptido

modelo **72** (hélice mixta 11/9) o si este se ve modificado por los cambios introducidos en la estructura. Para ello se utilizará una combinación de técnicas espectroscópicas (FTIR, CD y RMN) y cálculos teóricos.

2.1.3 Objetivo específico nº 3:

En nuestro grupo de investigación, además de sintetizar los β -aminoácidos polihidroxilados **21b** y **22b** (Esquema 3, página 15), también se prepararon los γ -aminoácidos ciclohexánicos trihidroxilados **36b** y **37b** (Esquema 5, página 19), partiendo del ácido (-)-shikímico comercial. Esto nos hizo prestar atención a los trabajos teóricos realizados por el Prof. Kang,⁸² en los que muestra que dipéptidos de γ -aminoácidos ciclohexánicos tipo I **76** y **77**, con configuraciones (1*S*,2*R*) y (1*R*,2*R*) respectivamente, inducen giros peptídicos al ser incorporados a cadenas de α -péptidos, como es el caso del hexapéptido **82** (Figura 39).

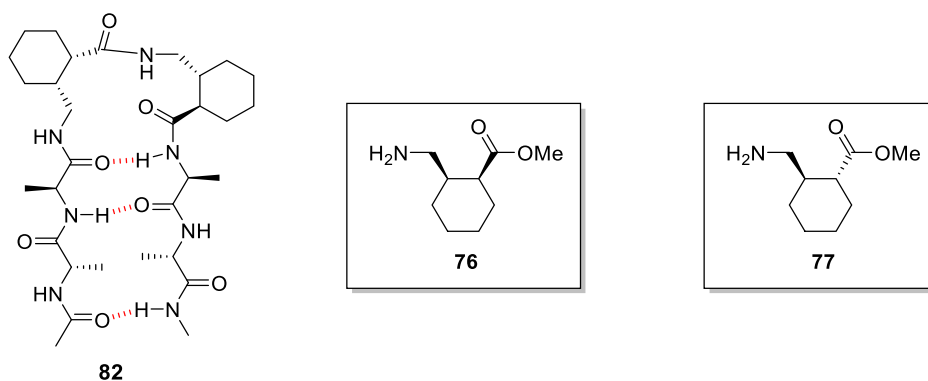


Figura 39. Estructura química del ácido (1*S*,2*R*)-2-aminometilciclohexanocarboxílico **76** y del ácido (1*R*,2*R*)-2-aminometilciclohexanocarboxílico **77** y del hexapéptido **82**, que los incorpora.

Teniendo en cuenta que la estereoquímica de los γ -aminoácidos inductores del giro propuesto por el Prof. Kang para el hexámero **82** es la misma que las funciones amino y ácido de los γ -nitroácidos **36a** y **37a** sintetizados en nuestro grupo como se propone tercer objetivo de esta tesis doctoral la síntesis y estudio estructural de los tres hexapéptidos **81a**, **81b** y **81c** recogidos en la Figura 40.

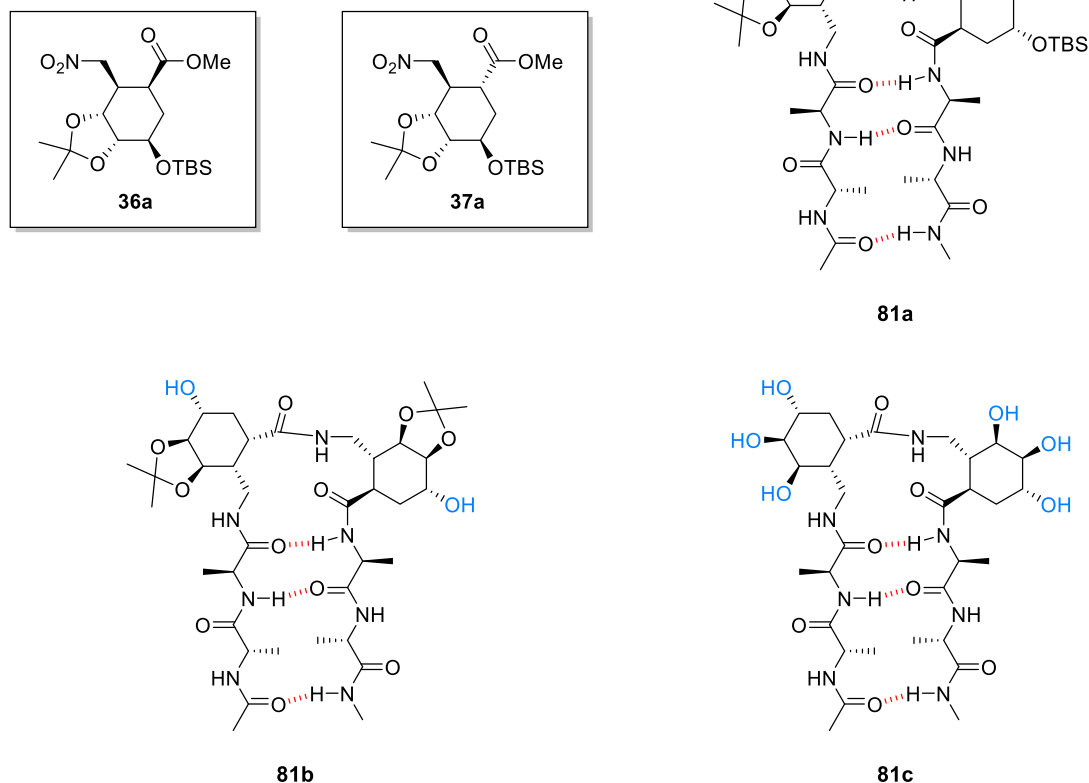


Figura 40. Estructura de los γ -aminoácido trihidroxilado derivados del ácido (-)-shikímico **36a** y **37a** y de los tres $\alpha,\alpha,\gamma,\gamma,\alpha,\alpha$ -hexapéptidos **81a**, **81b** y **81c**, que lo incorporan, con diferente grado de protección de sus hidroxilos.

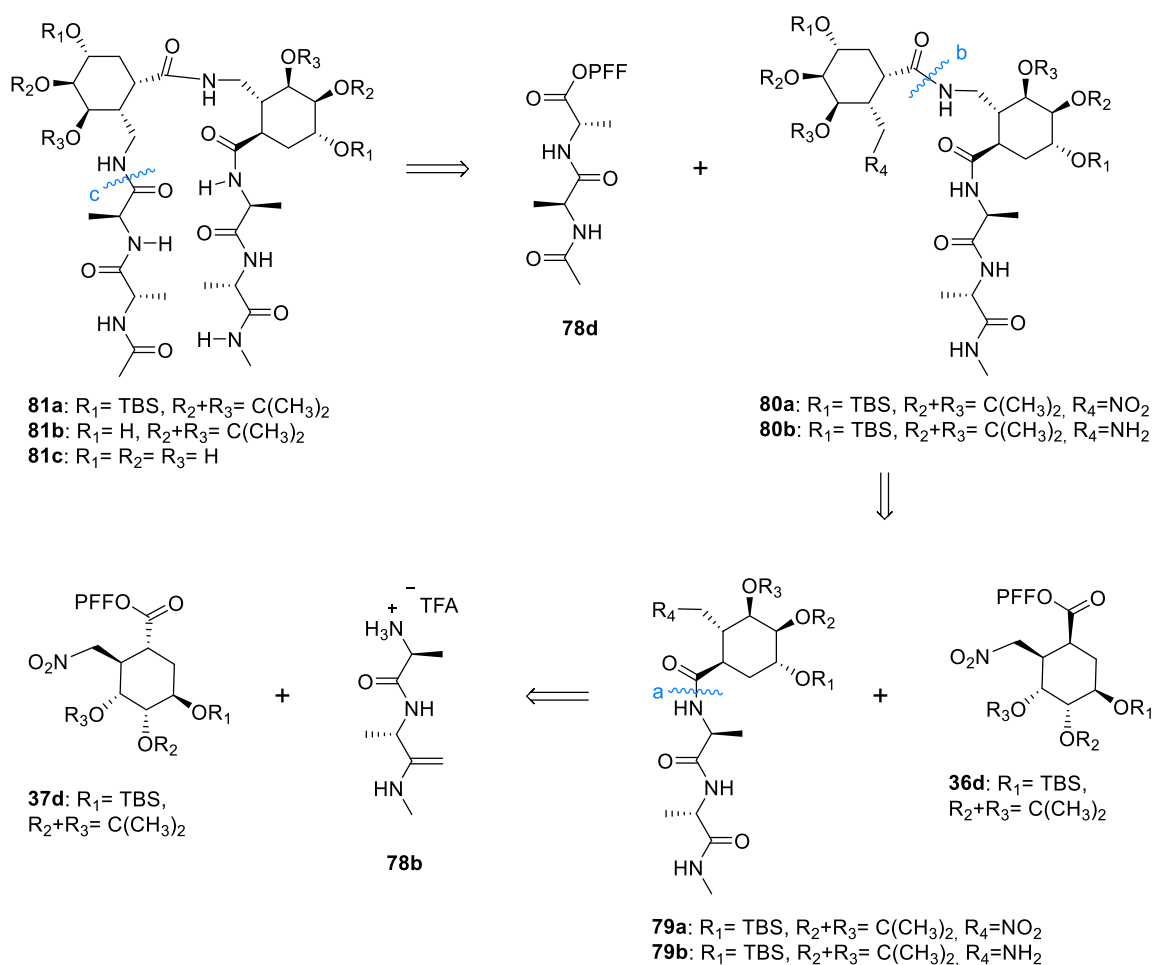
La propuesta se plantea con objeto de:

- Estudiar desde el punto de vista sintético si las predicciones teóricas del Prof. Kang son correctas y, por tanto, confirmar que sus métodos computacionales tienen capacidad predictiva.
- Comprobar cómo afecta el grado de desprotección de los grupos OH de nuestros péptidos modelo a su plegamiento como giros peptídicos, dada la importancia que tendría disponer de motivos peptídicos capaces de generar giros modulables en su polaridad y en su interacción con los receptores naturales.

Proponemos como plan de trabajo de este tercer llevar a cabo la síntesis de estos tres péptidos **81a-c** siguiendo para ello el protocolo descrito en el Esquema 8, en el que se plantean las siguientes operaciones:

1. Acoplamiento del dímero $\text{H}_2\text{NAlaAla}$ **78b** con el *trans*- γ -nitroácido derivado del ácido (-)-shikímico **37d** (*trans*- γ -Shi) para formar el enlace estratégico "a" del tripéptido **79a**.
2. Acoplamiento del tripéptido **79b** con el *cis*- γ -nitroácido derivado del ácido (-)-shikímico **36d** (*cis*- γ -Shi) para dar lugar al enlace estratégico "b" del tetrapéptido **80a**.

3. Acoplamiento del dímero AcN-AlaAla-OPPF **78d** con el tetrapéptido **80b** para dar lugar al enlace estratégico “c” del hexapéptido **81a**.
4. Desprotección selectiva de los grupos OH (protegidos como éter de silicio) del hexapéptido **81a**, para dar lugar al hexapéptido dihidroxilado **81b**.
5. Desprotección de los grupos OH protegidos como acetónido del hexapéptido del péptido **81b**, para generar el hexapéptido polihidroxilado **81c**.



Esquema 8. Análisis retrosintético de los compuestos **81a**, **81b** y **81c**.

De forma similar a los dos apartados anteriores, una vez sintetizados los tres hexapéptidos objetivo **81a**, **81b** y **81c** llevaremos a cabo estudios estructurales de FTIR, CD y RMN mono y bidimensional, así como estudios tóricos, para determinar su plegamiento en disolución.

2.2 SÍNTESIS, ESTUDIO ESTRUCTURAL Y DE GELIFICACIÓN DE *N*-ALQUILAMIDAS DERIVADAS DEL ÁCIDO 2-AMINOCICLOHEXANOCARBOXÍLICO Y DEL ÁCIDO (-)-SHIKÍMICO

El diseño de nuevos agentes gelificantes moleculares (LMWGs), con propiedades mejoradas o nuevas con respecto a los ya existentes ha sido un tema de investigación al que se ha dedicado un gran esfuerzo científico en los últimos años, como ya comentamos en la introducción de este apartado de la Tesis Doctoral.

Dentro de este campo de investigación, los LMWGs constituidos por anillos ciclohexánicos 1,2-disustituidos han recibido una especial atención. De ellos, las dialquilamidas derivadas de 1,2-diaminociclohexanos resultaron ser excelentes agentes gelificantes, mientras que las dialquilamidas derivadas de ácidos 1,2-ciclohexanodicarboxílicos mostraron unas propiedades gelificantes mucho más moderadas, como se expuso previamente.

Sorprendentemente, las alquilamidas derivadas de ácidos 2-aminociclohexanocarboxílicos (β -aminoácidos ciclohexánicos o ACHC) no han recibido prácticamente atención hasta la fecha, a pesar de que:

- deberían presentar buenas propiedades gelificantes.
- presentan más versatilidad sintética.
- sus agregados podrían tener propiedades más parecidas a los polímeros naturales y/o mayor biocompatibilidad.

Es por ello por lo que en esta segunda parte de esta tesis doctoral nos planteamos como objetivo general el estudio de nuevos LMWGs basados en β -aminoácidos ciclohexánicos (ACHC) concretamente de *N*-alquilamidas derivadas éstos.

Este objetivo general se concreta en los dos siguientes objetivos específicos:

2.2.1 Objetivo específico nº 4:

Teniendo en cuenta que los β -aminoácidos ciclohexánicos (ACHC) no sustituidos son comerciales en todas sus estereoquímicas y que la capacidad gelificante de líquidos aquirales no varía entre dos moléculas enantioméricas, decidimos iniciar nuestro estudio con la *N*-octil- y *N*-hexadecilamida **125** y **126**, derivadas del ácido (1*S*,2*R*)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)ciclohexano-1-carboxílico (**71b**) y la *N*-butil-, *N*-octil- y *N*-hexadecilamida **127**, (1*R*,2*R*)-**128** y (1*R*,2*R*)-**129**, derivadas del ácido (1*R*,2*R*)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)ciclohexano-1-carboxílico ((1*R*,2*R*)-**40b**) (Figura 41).

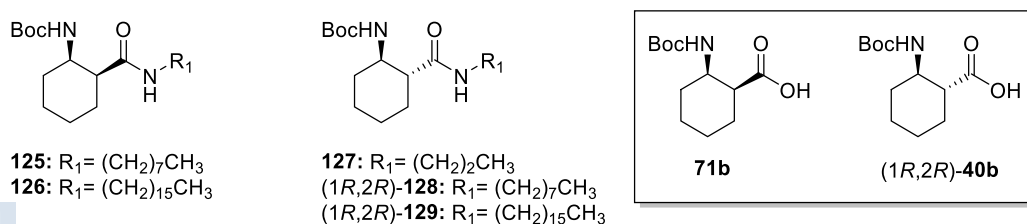


Figura 41. Estructura química de las *cis*-alquilamidas **125-126** derivadas del β -aminoácido **71b** y las *trans*-alquilamidas **127-129** derivadas del β -aminoácido (1*R*,2*R*)-**40b**.

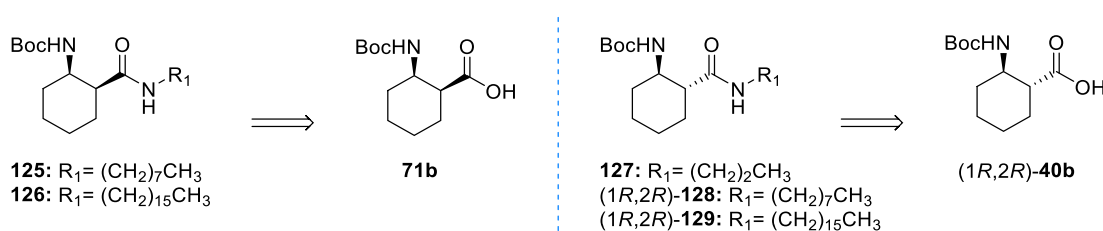
Pretendemos con ello conocer la capacidad gelificante que pueden mostrar este tipo de estructuras anfífilas derivadas de los ACHC en función de sus dos variables más importantes:

- la longitud de su cadena alquílica.
- la estereoquímica relativa de los sustituyentes de su anillo ciclohexánico.

En el caso de que estas estructuras presenten propiedades gelificantes importantes en su forma enantioméricamente pura, estudiaremos también las propiedades gelificantes de sus mezclas racémicas por la importancia que su mayor accesibilidad sintética puede tener para sus posibles aplicaciones.

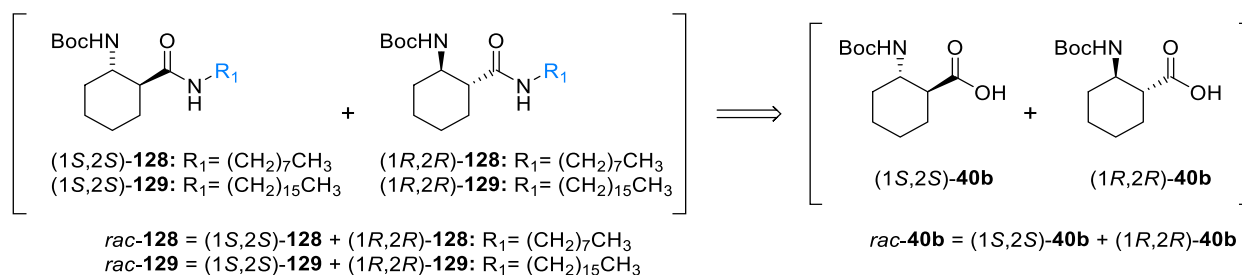
El plan de trabajo que se propone para este objetivo incluye:

- La síntesis y estudio de gelificación de la *N*-octilamida **125** y la *N*-hexadecilamida **126** del ácido (1*S*,2*R*)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)ciclohexano-1-carboxílico (**71b**), por reacción de amidación de éste con *n*-octilamina y *N*-hexadecilamina respectivamente, todos ellos productos comerciales (Esquema 9).
- La síntesis y estudio de gelificación de la *N*-butilamida **127**, *N*-octilamida (1*R*,2*R*)-**128** y la *N*-hexadecilamida (1*R*,2*R*)-**129** del ácido (1*S*,2*R*)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)ciclohexano-1-carboxílico ((1*R*,2*R*)-**40b**), por reacción de amidación de éste con *n*-butilamina, *n*-octilamina y *N*-hexadecilamina respectivamente, todos ellos también productos comerciales (Esquema 9).



Esquema 9. Plan de trabajo para la síntesis de las *N*-octil- y *N*-hexadecilamidas **125**, **126**, **127**, (1*R*,2*R*)-**128** y (1*R*,2*R*)-**129** de los *cis*-ACHC **71b** y *trans*-ACHC (1*R*,2*R*)-**40b**.

- La síntesis y estudio de gelificación de la mezcla racémica de la *N*-octilamida (1*R*,2*R*)-**128** y (1*S*,2*S*)-**128** (*rac*-**128**) y de la *N*-hexadecilamida (1*R*,2*R*)-**129** y (1*S*,2*S*)-**129** (*rac*-**129**), obtenidas a partir del ácido racémico *trans*-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)ciclohexano-1-carboxílico (*rac*-**40b**), por reacción de amidación de éste con la *n*-octilamina y la *n*-hexadecilamina comerciales respectivamente (Esquema 10).



Esquema 10. Plan de trabajo para la síntesis de los racematos de N-octil- y N-hexadecilamidas *rac*-128 y *rac*-129 del *rac*-40b.

- Estudio estructural de los agregados formados por aquellas *N*-alquilamidas sintetizadas que muestren buenas propiedades organogelantes, utilizando para ello un conjunto de técnicas espectroscópicas (IR, CD), microscópicas (SEM, AFM) y de difracción de Rayos X.
- Para aquellas *N*-alquilamidas que resulten ser buenos agentes gelificantes de disolventes apolares, especialmente alcanos, estudiaremos también su aplicación en la gelificación de aceites industriales y/o petróleo.

2.2.2 Objetivo específico nº 5:

Dado que nuestro grupo de investigación llevó a cabo una síntesis eficiente de los β -aminoácidos ciclohexánicos trihidroxilados **21a** y **22a** a partir del ácido (-)-shikímico comercial (página 15), nos planteamos como siguiente objetivo de esta tesis doctoral la síntesis y el estudio de la capacidad gelificante de sus *N*-octil- y *N*-hexadecilamidas **131-142** (Esquema 11).

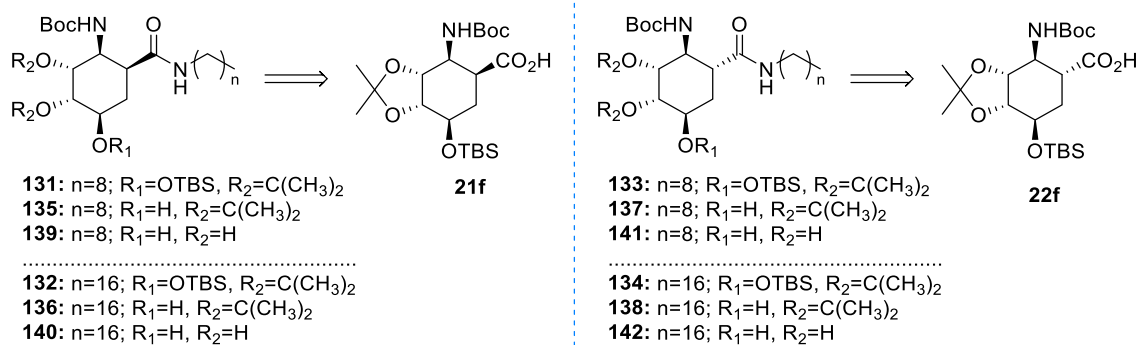
Estas *N*-alquilamidas, que mantienen las características estructurales de las alquilamidas del apartado anterior (cadenas alquílicas y estereoquímica de sus grupos β -aminoácido), difieren sin embargo de ellas por la presencia en sus anillos ciclohexánicos de sustituyentes hidroxilo. Este cambio no sólo modifica radicalmente su polaridad y por lo tanto sus características de solubilidad cuando los grupos hidroxilo estén libres, sino que permiten modular esta polaridad en función del grado de protección o desprotección de estos grupos, dando lugar así a *N*-alquilamidas con polaridad intermedia.

Pretendemos con ello estudiar la capacidad de estas nuevas alquilamidas para gelificar disolventes polares, especialmente agua, lo que debería conducir a nuevos agentes hidrogelantes.

El plan de trabajo que proponemos para este objetivo es el siguiente:

- La síntesis y estudio de gelificación de las *N*-octilamidas **131** y **133** la *N*-hexadecilamidas **132** y **134** con sus grupos hidroxilo totalmente protegidos, por amidación con la *n*-octilamina y la *n*-hexadecilamina comerciales con los β -aminoácidos **21f** y **22f** sintetizados previamente en nuestro grupo de investigación, para estudiar luego sus propiedades de gelificación (Esquema 11).

- Transformación de las alquilamidas **135-138** en las alquilamidas **139-142**, con todos sus grupos hidroxilo libres, por desprotección de su grupo acetónido, para estudiar luego sus propiedades de gelificación.



Esquema 11. Plan de trabajo para la síntesis de las *N*-octil- y *N*-hexadecilamidas derivadas del ácido (-)-shikímico (**131-142**).

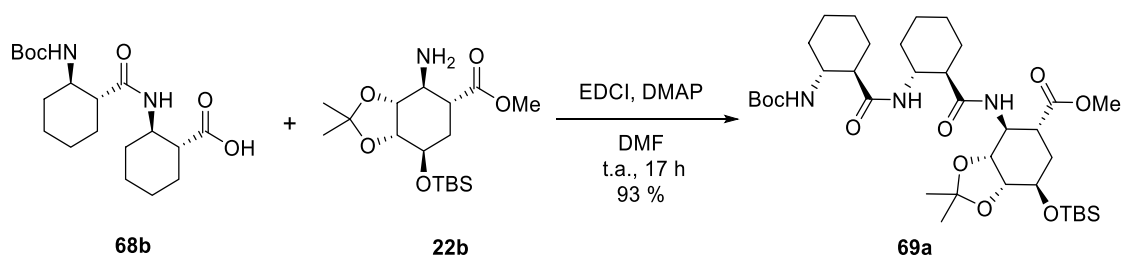
- Para aquellas alquilamidas que resulten ser buenos agentes gelificantes de disolventes polares, especialmente agua, estudiaremos también su aplicación para la encapsulación de sustancias apolares y su posterior liberación en medios polares; concretamente se estudiará el caso del agente antiinflamatorio naproxeno.

3 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3.1 β -PÉPTIDOS DE ÁCIDOS 2-AMINOCICLOHEXANOCARBOXÍlicos

3.1.1 Síntesis de los pentapéptidos **70a**, **70b** y **70c**

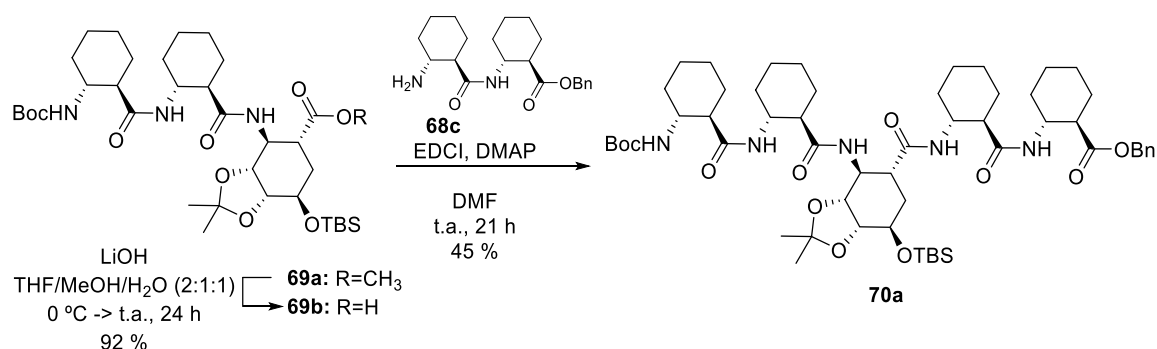
De acuerdo con el plan de trabajo establecido, se comenzó la síntesis de los oligómeros de β -aminoácidos ciclohexánicos **70a**, **70b** y **70c** llevando a cabo un acoplamiento peptídico entre el ácido **68b**, obtenido de acuerdo con la bibliografía,⁸³ y la amina **22b**, preparada con anterioridad en nuestro grupo de investigación⁸⁴ (Esquema 12). Para ello se usó EDCI·HCl como agente acoplante y DMAP como base lo que condujo al tripéptido **69a** con un 93 % de rendimiento. La obtención de este compuesto fue corroborada gracias a sus propiedades espectroscópicas y espectrométricas. Su espectro de RMN-¹H muestra tres señales a 5.83, 6.13 y 7.01 ppm, correspondientes a los tres grupos NH de la molécula. Además, destacan un singlete a 1.40 ppm, correspondiente al grupo protector Boc de su extremo *N*-terminal, así como un singlete a 3.59 ppm, correspondiente al grupo éster metílico de su extremo *C*-terminal. En su espectro de RMN-¹³C aparecen las señales de sus cuatro grupos carbonilo, a 156.18 (C=O, carbamato), 173.26 (2xC=O, amida) y 174.99 (C=O, éster). Su espectro de masas de alta resolución muestra una señal con una relación $m/z = 710.4406$ (m/z teórico = 710.4405) correspondiente al ion $[M+H]^+$. Por último, en su espectro de IR se observa las bandas de sus grupos carbonilo a 1679.77 y 1736.29 cm^{-1} y una banda ancha a 3327.38 cm^{-1} , debida a sus grupos NH.



Esquema 12. Síntesis del tripéptido **69a**.

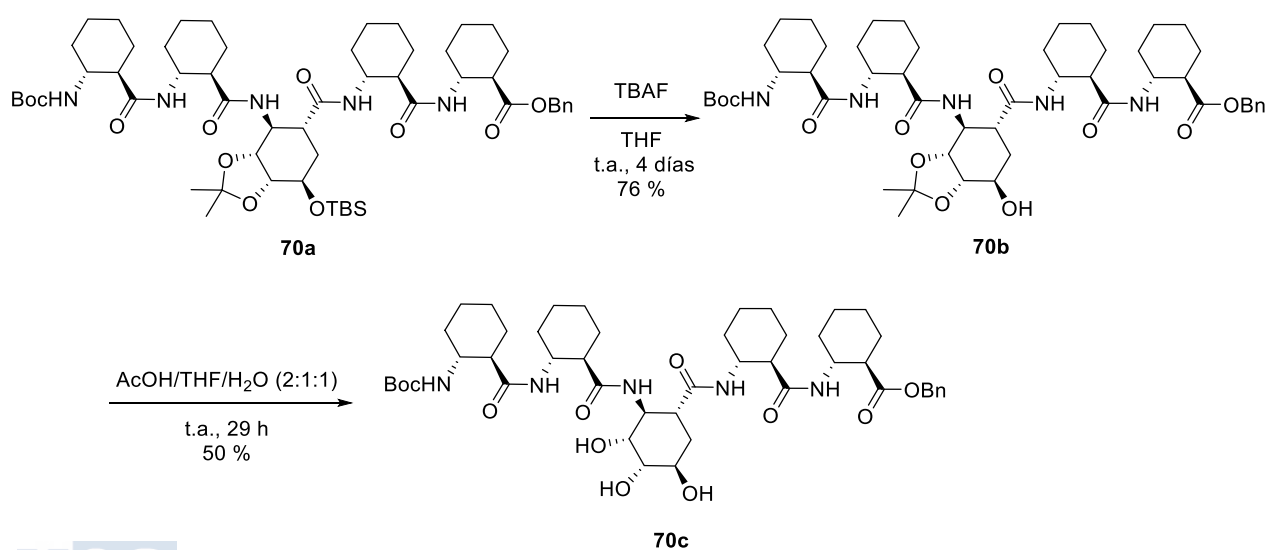
Para llevar a cabo el siguiente acoplamiento peptídico previsto en nuestro plan de trabajo, procediendo como se indica en el Esquema 13, primero se desprotegió el extremo *C*-terminal del tripéptido **69a**, usando LiOH en una mezcla THF/MeOH/H₂O (2:1:1), lo que dio lugar al ácido **69b** con un 92 % de rendimiento. A continuación, se acopló este ácido con la amina **68c**, obtenida de acuerdo con la bibliografía,⁸³ usando EDCI·HCl como agente acoplante y DMAP como base, obteniendo así el pentapéptido objetivo **70a** con un 45 % de rendimiento. En su espectro de RMN-¹H destacan dos singletes a 0.03 y 0.04 ppm, que integran por tres protones cada uno, que corresponden a los dos grupos CH₃ unidos al Si del TBS, así como un singlete a 0.08 ppm, que integra por nueve y que corresponde al grupo *tert*-butilo unido al Si. Aparecen, además, un singlete a 1.35 ppm correspondiente al grupo *tert*-butilo del grupo protector Boc de su extremo *N*-terminal, un quartete ABq a 5.12 ppm (²*J*_{CH} = 12.5 Hz) correspondiente al CH₂ del Cbz y las señales a 6.77, 6.83, 7.40, 7.49 y 7.82 ppm; debidas a sus cinco protones de los grupos NH de amida. Su espectro de masas de alta resolución muestra una señal con relación $m/z = 1058.6220$ $[M+Na]^+$ (valor teórico $m/z = 1058.6218$), lo que confirmó la fórmula molecular C₅₆H₈₉N₅O₁₁Si del compuesto. Por último, su espectro de IR muestra una banda a 1644.93 cm^{-1} correspondientes a sus carbonilos de amida, una banda a

1721.22 cm^{-1} correspondiente a su carbonilo de éster y una banda ancha a 3281.07 cm^{-1} correspondiente a sus grupos NH.



Esquema 13. Síntesis del pentapéptido **70a**.

Finalmente, los grupos OH del pentapéptido **70a** fueron desprotegidos secuencialmente, como se indica en el Esquema 14. Primero, usando TBAF en THF seco, para dar **70b** con un único OH libre, con un 76 % de rendimiento. La estructura de este pentapéptido fue confirmada a partir de su espectro de RMN-¹H por la ausencia de las señales características del grupo protector TBS (señales a 0.03, 0.04 y 0.08 ppm en el espectro de RMN-¹H de su precursor **70a**), así como por la presencia de una señal a 1.35 ppm correspondientes a los metilos de su grupo protector Boc, una señal a 5.28 (²J_{CH} = 12.8 Hz) del sistema ABq correspondiente al CH₂ del grupo protector Cbz de su extremos C-terminal y las señales a 6.72, 6.92, 7.49, 7.53 y 7.91 ppm correspondientes a los protones de sus grupos NH de amida. Además, su espectro de masas de alta resolución muestra una señal con una relación m/z = 944.5355 [M+Na]⁺ (valor teórico m/z = 944.5359), que confirma su fórmula molecular C₅₀H₇₅N₅O₁₁. Su espectro de IR muestra una banda a 1649.42 cm^{-1} correspondiente a sus carbonilos de amida, una señal a 1721.09 cm^{-1} correspondiente a su carbonilo de éster y una señal ancha a 3369.60 cm^{-1} correspondientes a los grupos NH de amida.



La desprotección del grupo acetónido del compuesto **70b** se llevó a cabo utilizando una mezcla AcOH/THF/H₂O a temperatura ambiente durante 29 h, lo que condujo al compuesto **70c** con un 50 % de rendimiento (Esquema 14). Se confirmó la obtención de este compuesto a partir de su espectro de RMN-¹H por la ausencia de las señales de los metilos del grupo acetónido, (singletes a 1.20 y 1.48 ppm en el espectro de RMN-¹H de su precursor **70b**). Destacan también las señales a 1.35 ppm correspondiente al *tert*-butilo del grupo protector Boc de su extremo *N*-terminal, el quartete ABq a 5.25 (²*J*_{CH} = 12.9 Hz) correspondiente al metileno del grupo protector Cbz de su extremo *C*-terminal y las señales a 6.80, 6.89, 7.49, 7.61 y 7.97 ppm correspondientes a los protones de sus grupos NH de amida. Además, su espectro de masas de alta resolución muestra una señal con una relación *m/z* = 904.5153 [M+Na]⁺ (valor teórico *m/z* = 904.5150), que confirma su fórmula molecular C₄₇H₇₁N₅O₁₁. Su espectro de IR muestra una señal a 1649.50 cm⁻¹ correspondiente a sus grupos carbonilo de amida, una señal a 1723.10 cm⁻¹ correspondiente a su carbonilo de éster y una banda ancha a 3269.40 cm⁻¹ correspondiente a sus grupos NH de amida.

3.1.2 Estudio estructural de los pentapéptidos **70a**, **70b** y **70c**

Una vez sintetizados los pentapéptidos **70a**, **70b** y **70c**, se procedió a estudiar su estructura secundaria en disolución. Para ello llevamos a cabo estudios FTIR, CD, RMN y DFT.

3.1.2.1 Estudio de Infrarrojo

La Espectroscopía de Infrarrojo es una técnica muy utilizada en la química de péptidos para determinación de la formación de enlaces de hidrógeno. El grupo amida tiene tres bandas de vibración principales: una banda de vibración de tensión del enlace N-H, que aparece aproximadamente a 3500 cm⁻¹ (Amida A), una banda de vibración de tensión del enlace carbonilo de amida entre 1600-1700 cm⁻¹ (Amida I) y una banda de flexión del enlace C-N de amida entre 1510-1580 cm⁻¹ (Amida II). La formación de enlaces de hidrógeno da lugar a un desplazamiento de las bandas de tensión a menor número de onda (Amida A y Amida I) (efecto batocrómico o desplazamiento hacia el rojo) y un desplazamiento de la banda de flexión a mayor número de onda (Amida II) (efecto hipsocrómico o desplazamiento hacia el azul).

Se midieron espectros de ATR-FTIR del dímero **68a**, trímero **69a** y los pentámeros **70a-c**. Para ello se depositó una disolución 1 mM de cada uno de los compuestos sobre un accesorio de ATR de un espectrómetro FTIR. Los máximos de las bandas de vibración de grupo amida de los espectros de FTIR de los cinco péptidos aparecen recogidos en la Tabla 2.

Se observa una clara disminución del número de onda de la banda de Amida A de los pentámeros **70a** (3281 cm⁻¹) y **70c** (3269 cm⁻¹), con respecto al dímero **68a** (3297 cm⁻¹) y al trímero **69a** (3327 cm⁻¹). Mientras que para la vibración de la banda de Amida II se observa un incremento en el número de onda al crecer la cadena, desde el dímero **68a** (1533 cm⁻¹) y trímero **69a** (1528 cm⁻¹) hasta los pentámeros **70a** (1536 cm⁻¹), **70b** (1547 cm⁻¹) y **70c** (1547 cm⁻¹) (Figura 42). No se aprecian diferencias significativas en la banda de Amida I para los cinco péptidos.

Estructura	Compuesto	Amida A	Amida I	Amida II
	68a	3297.27	1646.47	1533.44
	69a	3327.38	1679.77	1527.80
	70a	3281.07	1644.93	1535.61
	70b	3369.60	1649.42	1547.16
	70c	3269.40	1649.50	1546.80

Tabla 2. Máximo (cm^{-1}) de las bandas características de Amida A, Amida I y Amida II para los compuestos **68a**, **69a**, **70a**, **70b** y **70c**.

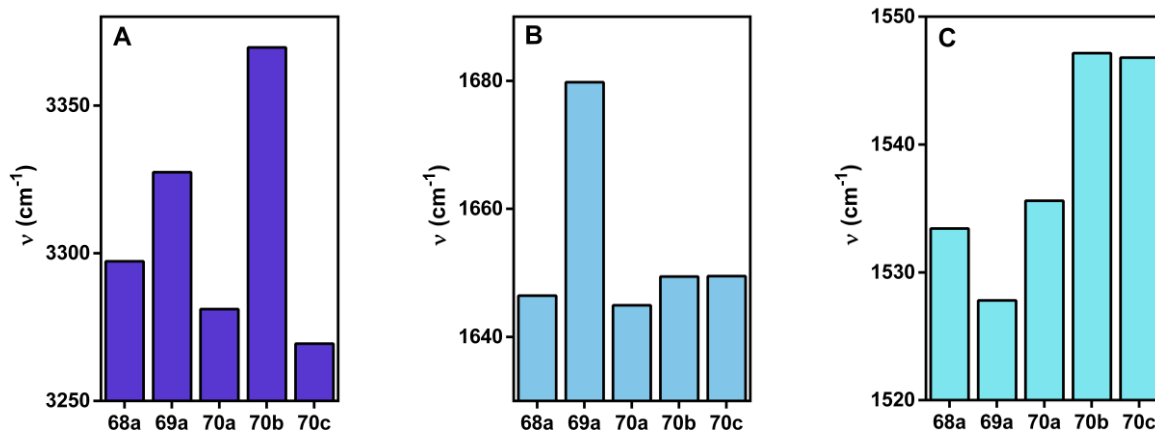
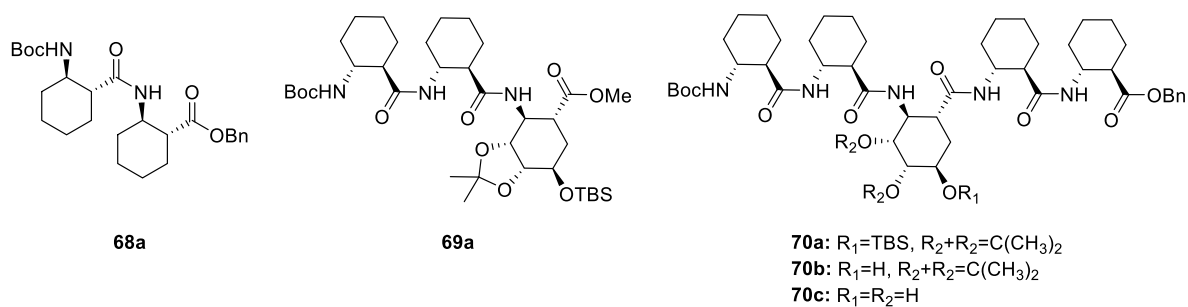


Figura 42. ν_{max} del espectro de ATR-FTIR de los péptidos **68a**, **69a**, **70a**, **70b** and **70c** en la región de: A. Amida A, B. Amida I y C. Amida II.

El desplazamiento batocrómico de la banda de Amida A e hipsocrómico de la Amida II son compatibles con un incremento del número de enlaces de hidrógeno a medida que la cadena polipeptídica crece, lo que sugiere una mayor estructuración en los pentámeros con respecto al dímero y al trímero. Sin embargo, no podemos determinar el tipo de estructuración secundaria de estos pentámeros de manera concluyente únicamente con los datos de IR.^{85,86}

3.1.2.2 Estudio de Dicroísmo Circular

La Espectroscopía de Dicroísmo Circular (CD) es una de las técnicas más rápidas para establecer la estructura secundaria de una cadena polipeptídica, ya que cada tipo de estructura secundaria da lugar a un espectro de CD característico en la región de ultravioleta cercano.

Para seguir obteniendo información sobre la estructura de nuestros pentámeros **70a**, **70b** y **70c** en disolución, decidimos llevar a cabo un estudio de la variación del espectro de CD a medida que crece la cadena polipeptídica de éstos desde el dímero hasta el pentámero. Para ello se midieron espectros de CD de **68a**, **69a** y **70a** en metanol a 1 mM y temperatura ambiente (Figura 43).

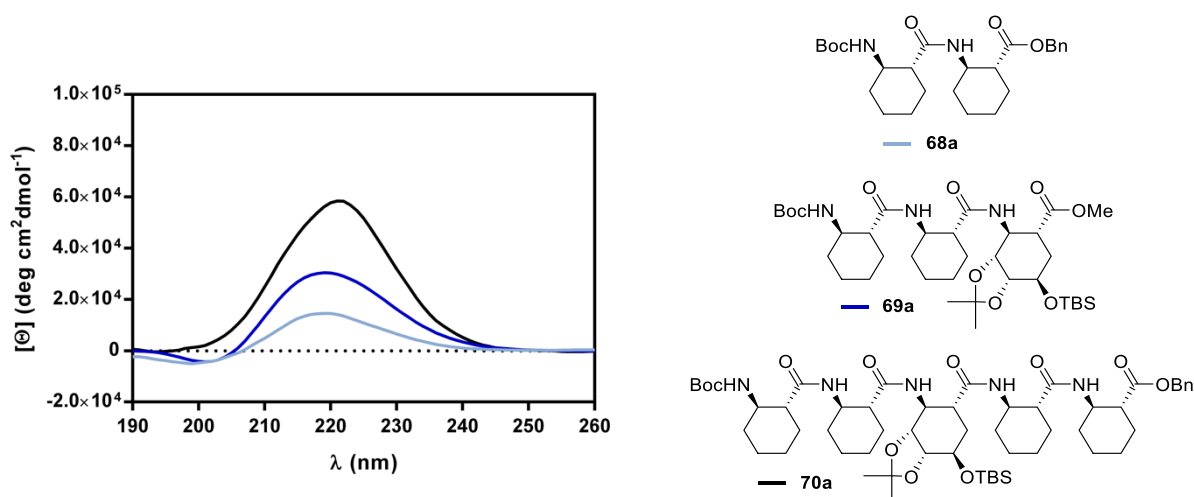


Figura 43. Espectro de Dicroísmo Circular de los péptidos **68a**, **69a** y **70a** en metanol (1 mM, a 25 °C).

El dímero **68a** muestra un efecto Cotton positivo a 219 nm y un efecto Cotton negativo de menor intensidad a 201 nm. La introducción de nuestro residuo *trans*- β -Shi **22b** para formar el trímero **69a** no altera el espectro con respecto al dímero, pero sí aumenta la intensidad de la banda a 219 nm. La formación del pentámero **70a**, provoca un cambio apreciable en el espectro de CD con respecto al dímero **68a** y al trímero **69a**. El espectro de **70a** muestra un único efecto Cotton positivo ancho a 222 nm (corrimiento al rojo con respecto a **68a** y **69a**) y no se observa el efecto Cotton negativo a 201 nm.

Así pues, a medida que aumenta el número de residuos de la cadena polipeptídica, del dímero al pentámero aumenta la intensidad del efecto Cotton positivo en torno a 220 nm y desaparece el efecto Cotton negativo. Este comportamiento también fue observado por Gellman cuando describió la hélice-14 del homooligómero del ácido (1*R*,2*R*)-ACHC **42c** (pentapéptido **41**, página 22).⁴³

A continuación, se realizaron medidas de CD de los dos pentapéptidos **70b** y **70c**, con diferente grado de desprotección de los grupos hidroxilo, también en metanol a 1 mM y a temperatura ambiente. La superposición de los espectros de los tres pentapéptidos se muestra en la Figura 44.

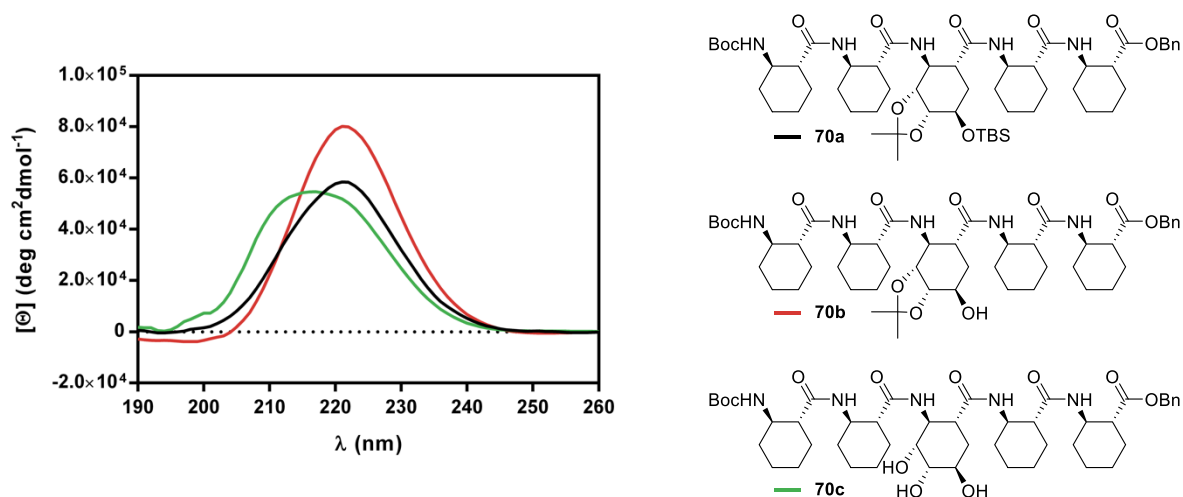


Figura 44. Espectro de Dicroísmo Circular de los péptidos **70a**, **70b** y **70c** en metanol (1 mM, 25 °C).

Los pentapéptidos **70a** y **70b** muestran un espectro muy similar con un máximo de absorción a 222 nm. Sin embargo, la desprotección total de los sustituyentes OH, para dar lugar a **70c**, provoca un cambio considerable en el espectro. El efecto Cotton positivo de **70c** es menos intenso y más ancho, además aparece desplazado al azul (con respecto a **70a** y **70b**), hasta los 217 nm. Un valor idéntico al observado para el hexámero **41** descrito por Gellman (página 22).

Estos cambios pequeños en la θ_{\max} para los tres pentámeros pueden ser atribuidos a diferentes ratios entre las poblaciones de hélice-14 y confórmeros minoritarios presentes en la disolución,^{14,87} o bien a que la estructura cambia ligeramente a medida que se van desprotegiendo los grupos hidroxilo.

La Espectroscopía de Dicroísmo Circular también es muy útil a la hora de determinar la agregación de un compuesto en disolución. Basta con realizar una dilución seriada de una disolución del pentámero y medir el espectro a varias concentraciones. Si no se observa un cambio significativo en su espectro de CD se puede asumir que no hay agregación en ese rango de concentraciones.

Con este fin, se preparó una dilución seriada del pentapéptido **70a** en metanol a temperatura ambiente, tomando medidas a 1 mM, 0.75 mM y 0.5 mM (Figura 45). Al superponer los espectros a las tres concentraciones probadas no se observa prácticamente ninguna variación al cambiar la concentración. Por lo tanto, en ese rango de concentraciones podemos suponer que no se produce agregación de este pentapéptido.

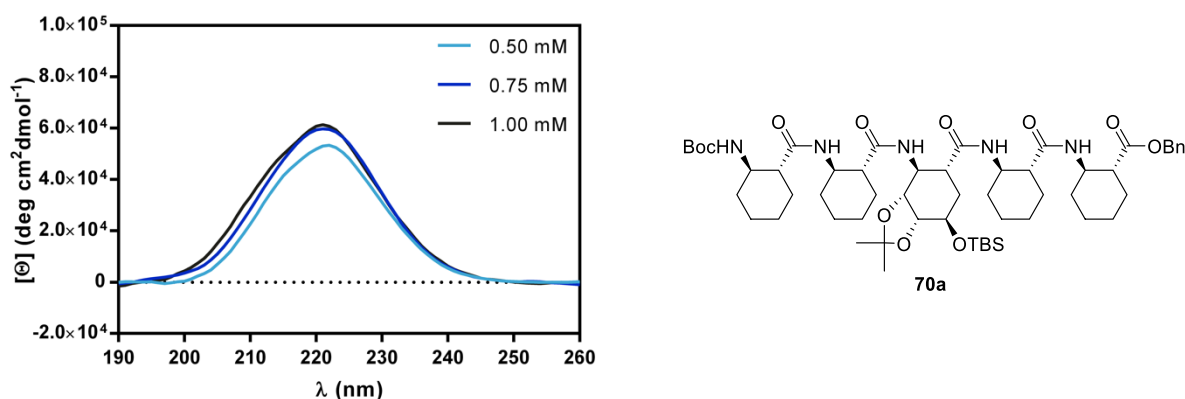


Figura 45. Espectro de Dicroísmo Circular del pentapéptido **70a** en metanol (0.5 mM, 0.75 mM y 1 mM a 25 °C).

Finalmente, se midió la estabilidad de la estructura secundaria del pentapéptido **70a** al variar la temperatura. Para ello se realizaron medidas de CD de **70a** en metanol a 1 mM y temperaturas de 0 °C, 15 °C y 25 °C. En la Figura 46, en la que se muestra la superposición de estos tres espectros, se observa una invarianza del espectro con respecto a la temperatura. Esto es compatible con una estructura secundaria estable en este rango de temperaturas.

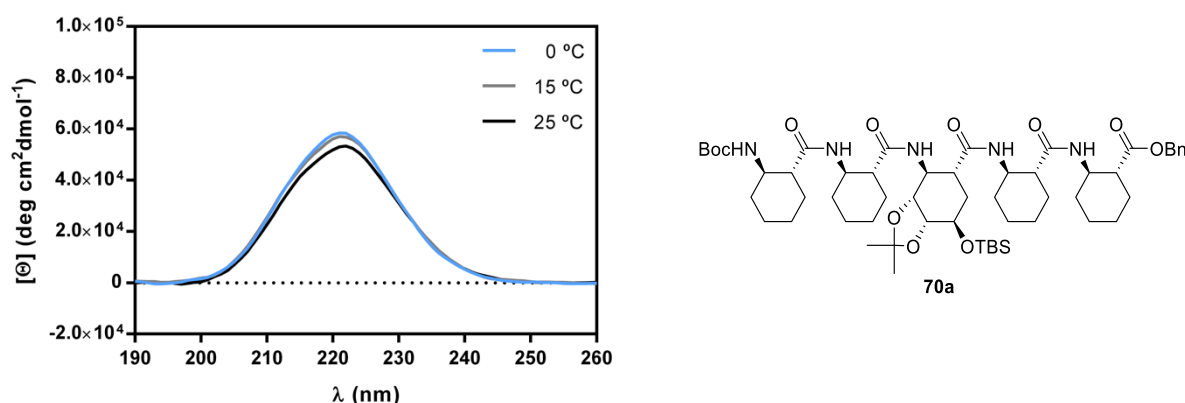


Figura 46. Espectro de Dicroísmo Circular del pentapéptido **70a** en metanol (1 mM, a 0 °C, 15 °C y 25 °C).

Los datos obtenidos de estos estudios de FTIR y CD aportan información relevante sobre las propiedades conformacionales de nuestros pentapéptidos. Estos parecen adoptar una estructura secundaria en disolución que da lugar a un espectro de Dicroísmo Circular muy similar al del homooligómero **41** (página 22), para el que el Prof. Gellman propuso una estructura de hélice-14. Esta estructura secundaria parece estar soportada por la formación de enlaces de hidrógeno entre sus grupos de amida, como sugieren los datos de FTIR.

3.1.2.3 Estudio de RMN de los pentapéptidos **70a**, **70b** y **70c**

Para la determinación inequívoca del tipo de estructura secundaria adoptada por nuestros tres pentapéptidos en disolución se llevó a cabo un estudio de RMN, el cual se describe a continuación.

En primer lugar, se realizó un estudio de RMN- ^1H monodimensional de los tres pentapéptidos en CDCl_3 . Desafortunadamente no se obtuvo ningún dato que apoye que estos péptidos adopten una estructura secundaria estable en CHCl_3 , sino más bien una estructura de *random coil*, toda vez que los espectros dieron señales muy anchas, lo que es un claro signo de agregación. Además, la disolución del compuesto **70c** en CHCl_3 dio lugar al cabo de pocos minutos a un gel estable a la inversión, otro signo claro de agregación.

Decidimos entonces realizar el estudio de RMN en $\text{DMSO-}d_6$. Comenzamos este estudio realizando un RMN- ^1H monodimensional de los tres pentapéptidos, cuyos resultados se discuten a continuación.

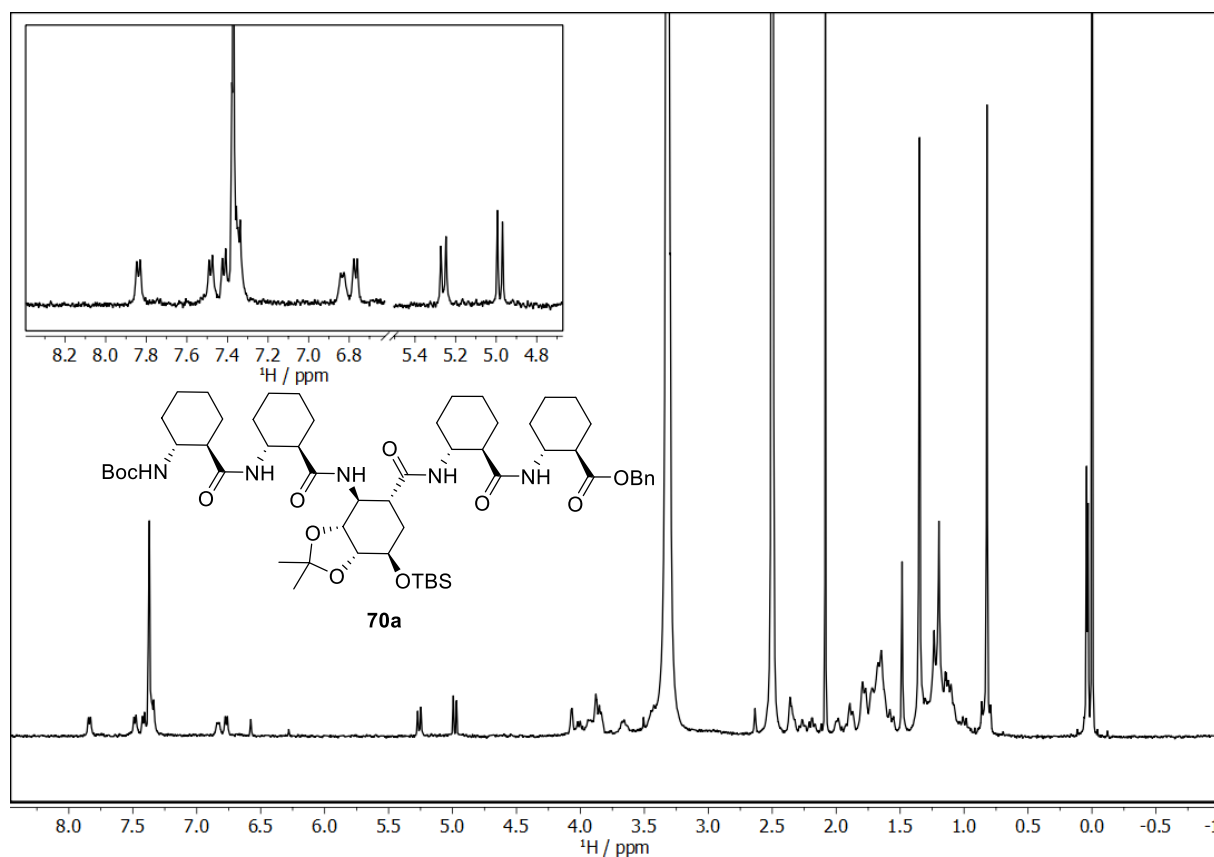


Figura 47. RMN- ^1H del péptido **70a**, 0.5 mM en $\text{DMSO-}d_6$ (500 MHz).

El pentámero **70a** presenta un RMN- ^1H con un único conjunto de señales de NH de amida, lo cual indica una única conformación. Además, la dispersión de estas señales, junto con su desplazamiento a campo bajo, parece indicar la presencia de enlaces de hidrógeno (Figura 47). Esto concuerda con los resultados obtenidos de los estudios de FTIR y CD.

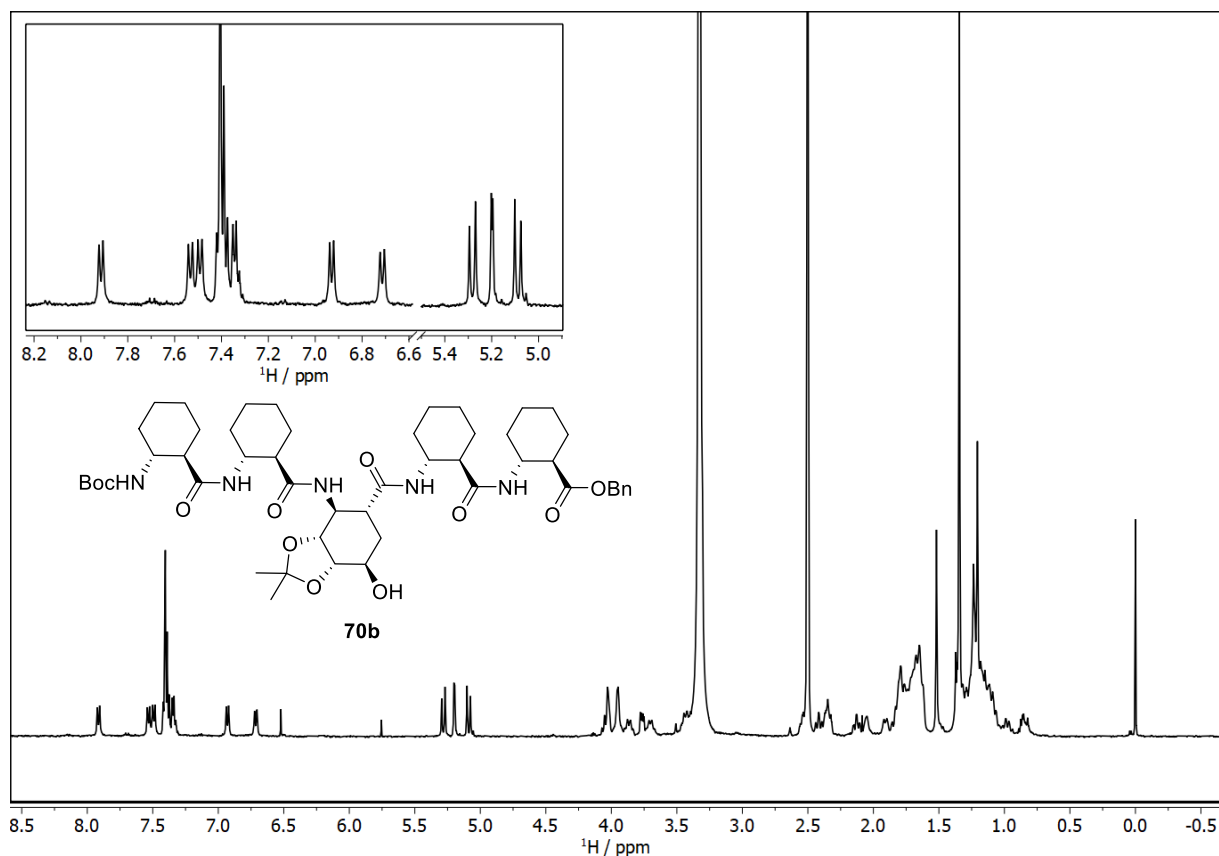


Figura 48. RMN- ^1H del péptido **70b**, 2 mM en DMSO- d_6 (500 MHz).

El pentámero **70b** presenta un patrón muy similar a **70a** en sus NH de amida. En su espectro de RMN- ^1H se observa un único conjunto de señales y una buena dispersión de éstas, lo que indica una alta población de una única estructura secundaria en disolución (Figura 48). Además, se puede observar la señal de protón de OH a campo bajo (5.20 ppm), por lo que podría estar participando en la formación de un enlace de hidrógeno. Esto concuerda con los datos de FTIR y CD.

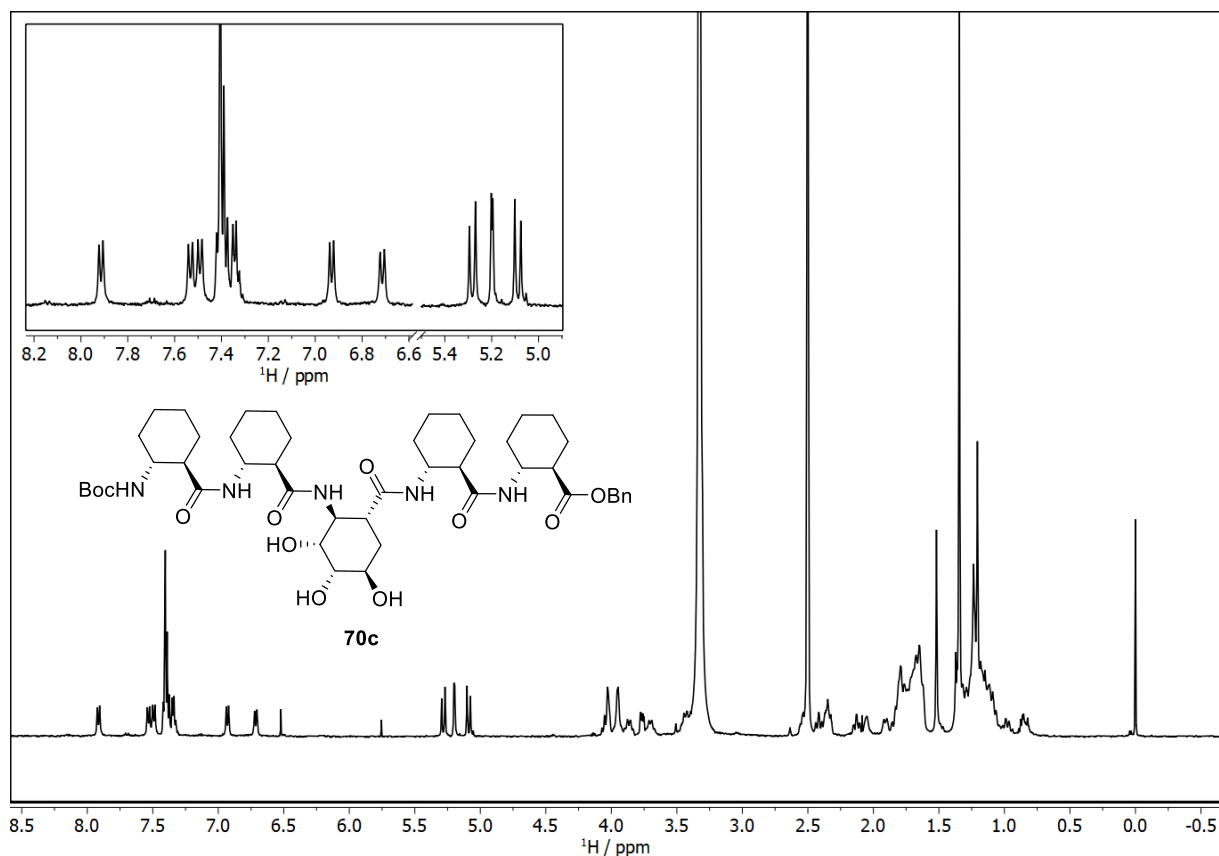


Figura 49. RMN- ^1H del péptido **70c**, 1.8 mM en $\text{DMSO-}d_6$ (500 MHz).

Finalmente, en el espectro RMN- ^1H del pentapéptido **70c**, con los tres grupos hidroxilo libres (Figura 49), se observa también una buena dispersión de los NH de amida que además salen a campo bajo. Este resultado también es compatible con los datos de IR y CD y nos confirma que los tres pentapéptidos presentan una alta población de una única estructura secundaria en $\text{DMSO-}d_6$.

A la vista de los resultados obtenidos se decidió estudiar en mayor profundidad la estructura secundaria de los tres pentapéptidos. Para ello se asignaron las señales del espectro de RMN- ^1H , utilizando un conjunto de experimentos de RMN bidimensional (TOCSY, COSY y ROESY). Una vez asignadas las señales, un estudio de coeficientes de temperatura y un estudio de NOE nos permitieron determinar el tipo de plegamiento secundario adoptado por cada pentapéptido. El resultado de este estudio se presenta de manera individual para cada uno de los pentapéptidos **70a-c** en los siguientes tres apartados.

3.1.2.3.1 Estudio de RMN del pentapéptido **70a**

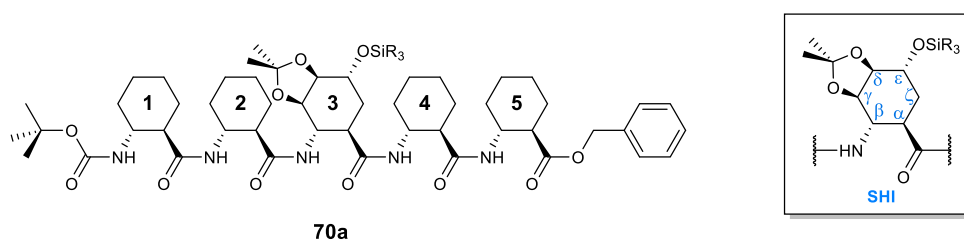


Figura 50. Pentapéptido **70a** con los residuos numerados del 1-5 desde el extremo N-terminal al C-terminal (izquierda). Nomenclatura para los protones utilizada para la asignación (derecha).

En primer lugar, se asignaron las señales de NH, H α y H β utilizando una combinación de COSY, TOCSY y ROESY, que aparecen recogidas en la Tabla 3.

residuo	HN	H β	H α	otros
^t Bu	—	—	—	1.35
1	6.77	3.45	2.27	0.98, 1.01, 1.11, 1.20, 1.31, 1.34, 1.43, 1.65, 1.86
2	7.49	3.67	2.35	1.07, 1.10, 1.12, 1.14, 1.21, 1.30, 1.64, 1.67, 1.77, 1.80
3	6.83	4.02	2.34	0.03 (Si-CH ₃), 0.04 (Si-CH ₃), 0.08 (Si- ^t Bu), 1.20 (CH ₃), 1.48 (CH ₃), 1.57 y 1.89 (H ζ^*), 3.83-3.87 (H γ , H δ , H ϵ)
4	7.40	3.87	2.18	1.10, 1.12, 1.16, 1.30, 1.71, 1.76, 1.78
5	7.82	3.93	2.52	1.19, 1.21, 1.23, 1.68, 1.72, 1.79, 1.88, 1.98
-O-CH ₂ -Ph	—	—	—	4.98 y 5.26 (CH ₂), 7.32-7.39 (Ph)

Tabla 3. Asignaciones del péptido **70a** en DMSO-*d*₆ (T = 298 K). El espectro fue referenciado a la resonancia del TMS ($\delta = 0.00$ ppm).

Una vez asignadas las señales se realizó un estudio de coeficientes de temperatura y de ROESY para determinar la estructura secundaria de este pentapéptido **70a**.

- Coeficientes de temperatura (T-coef) del pentapéptido **70a**.

Uno de los indicadores más ampliamente utilizados para determinar la formación de enlaces de hidrógeno en péptidos son los coeficientes de temperatura de amida (T-coef: $\Delta\delta/\Delta T$). Éstos son los cambios producidos en el desplazamiento químico de los protones NH de amida al cambiar la temperatura y se miden en $\text{ppb}\cdot\text{K}^{-1}$.^{14,88} Al realizar este experimento se suelen distinguir dos clases de situaciones en función del resultado: **a)** NH de amida expuestos, que son aquellos con un T-coef más negativo que $-4 \text{ ppb}\cdot\text{K}^{-1}$ y **b)** NH de amida secuestrados, que son aquellos con un T-coef más positivo que $-4 \text{ ppb}\cdot\text{K}^{-1}$.^{89,89,90}

El estudio del compuesto **70a** se llevó a cabo en DMSO-*d*₆ a $c = 1.5 \text{ mM}$ y en un rango de temperaturas desde 25 a 65 °C, tomando una medida cada intervalo de 10 °C (Figura 51).

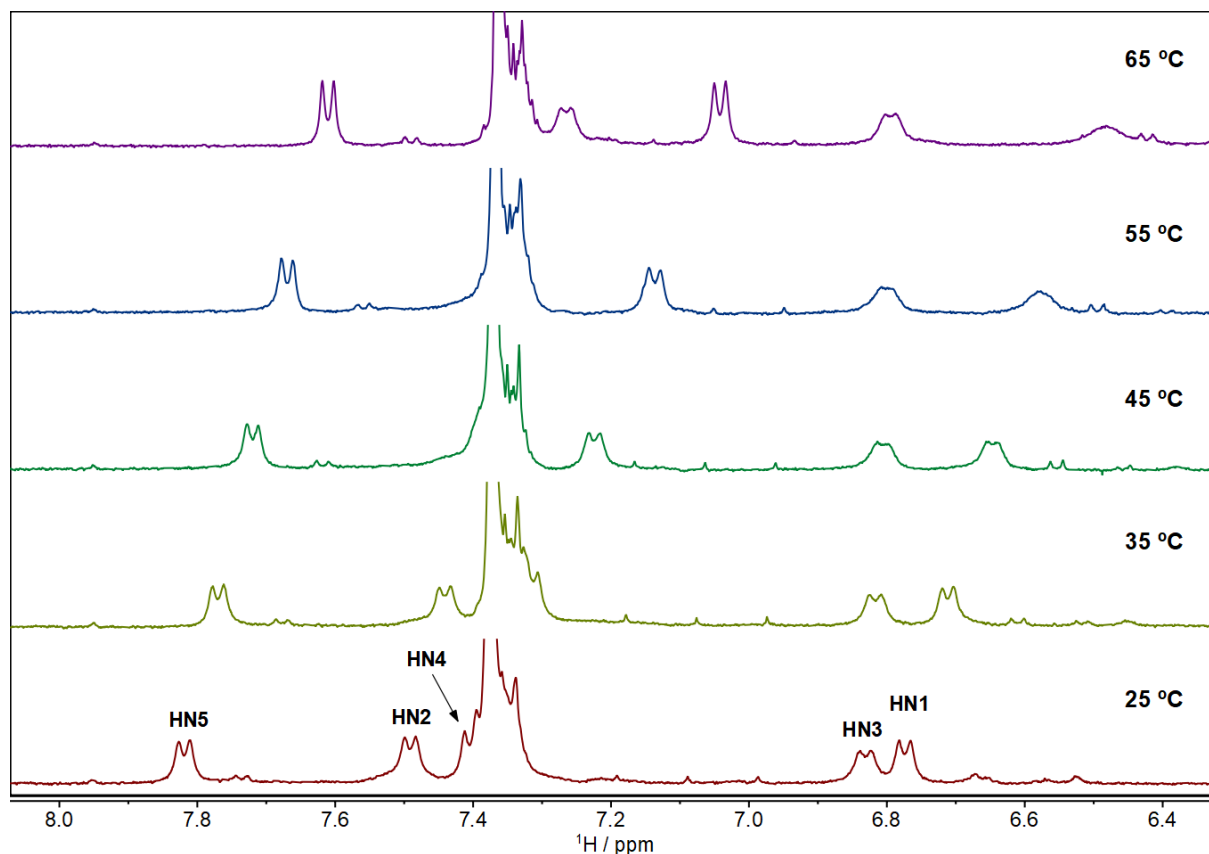


Figura 51. Espectro de RMN-TV del pentapéptido **70a** en DMSO- d_6 (500 MHz). Temperaturas, de abajo hacia arriba, desde 25 hasta 65 °C en intervalos de 10 °C.

Los datos obtenidos de estos experimentos junto con los T-coef de NH de amida calculados para el compuesto **70a** aparecen recogidos en la Tabla 4. Solo el NH3 (-1.0) tiene un T-coef más positivo que $-4 \text{ ppb}\cdot\text{K}^{-1}$ lo que evidencia que está formando un enlace de hidrógeno. Tanto NH2 (-5.8) como NH5 (-5.3) podrían estar secuestrados parcialmente ya que tienen valores cercanos a $-4 \text{ ppb}\cdot\text{K}^{-1}$, mientras que tanto NH1 (-7.3) como NH4 (-9.3) parecen estar expuestos al disolvente, ya que poseen valores muy negativos de T-coef (Figura 52).

HN	δ_{max} (65 °C) / ppm	δ_{min} (25 °C) / ppm	Rango T / K	T-coef / $\text{ppb}\cdot\text{K}^{-1}$
H1	6.48	6.77	40	-7.3
H2	7.26	7.49	40	-5.8
H3	6.79	6.83	40	-1.0
H4	7.04	7.41	40	-9.3
H5	7.61	7.82	40	-5.3

Tabla 4. Coeficientes de temperatura del compuesto **70a**.

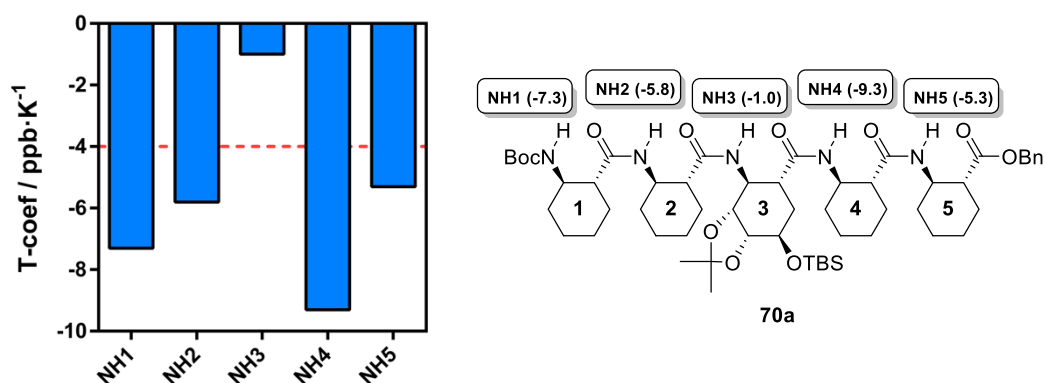


Figura 52. Valores de los T-coef de los NH del compuesto **70a**.

- Estudio de ROESY del pentapéptido **70a**

Para estudiar la estructura secundaria de nuestros pentapéptidos realizamos un estudio de ROESY, que nos permita determinar los contactos NOE a larga distancia (Figura 53). Los contactos relevantes para este trabajo son aquellos contactos típicos de una hélice-14: un NOE fuerte a larga distancia entre $H\alpha(i)/H\beta(i+3)$ junto con el NOE entre $H\alpha(i)/HN(i+1)$, que corresponderían a distancias de $\approx 2.6 \text{ \AA}$ en una hélice-14.^{45,91} También se podrían observar picos de cruce entre $HN(i)/H\beta(i+2)$ y $HN(i)/H\beta(i+3)$, que serían de intensidad media y corresponderían a distancias de 3.0-3.5 \AA . (Para más información consultar las tablas de la parte experimental).

El estudio de ROESY del pentapéptido **70a** se llevó a cabo en DMSO-*d*₆, a 1.5 mM y 25 °C. Una ampliación del espectro de ROESY se muestra en la Figura 54. En esta se pueden ver varios de los NOE característicos de una hélice-14:

- $H\alpha(i)/H\beta(i+3)$: Señal fuerte entre $H\alpha 1/H\beta 4$ y $H\alpha 2/H\beta 5$.
- $H\alpha(i)/HN(i+1)$: Señal fuerte entre $H\alpha 1/HN 2$, $H\alpha 3/HN 4$ y $H\alpha 4/HN 5$.
- $HN(i)/H\beta(i+3)$: Señal media entre $HN 1/H\beta 4$ y $HN 2/H\beta 5$.
- $HN(i)/H\beta(i-1)$: Señal débil entre $HN 2/H\beta 1$ y $HN 4/H\beta 3$.

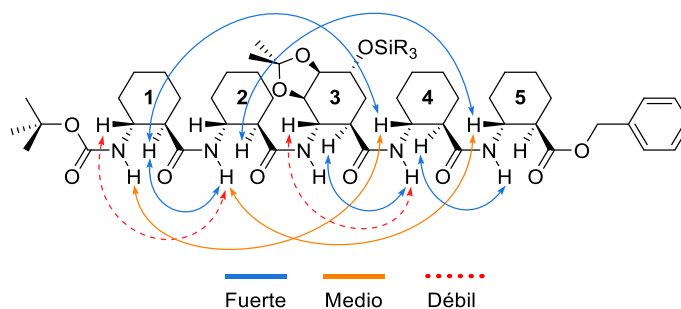


Figura 53. NOEs del compuesto **70a** típicos de una hélice-14.

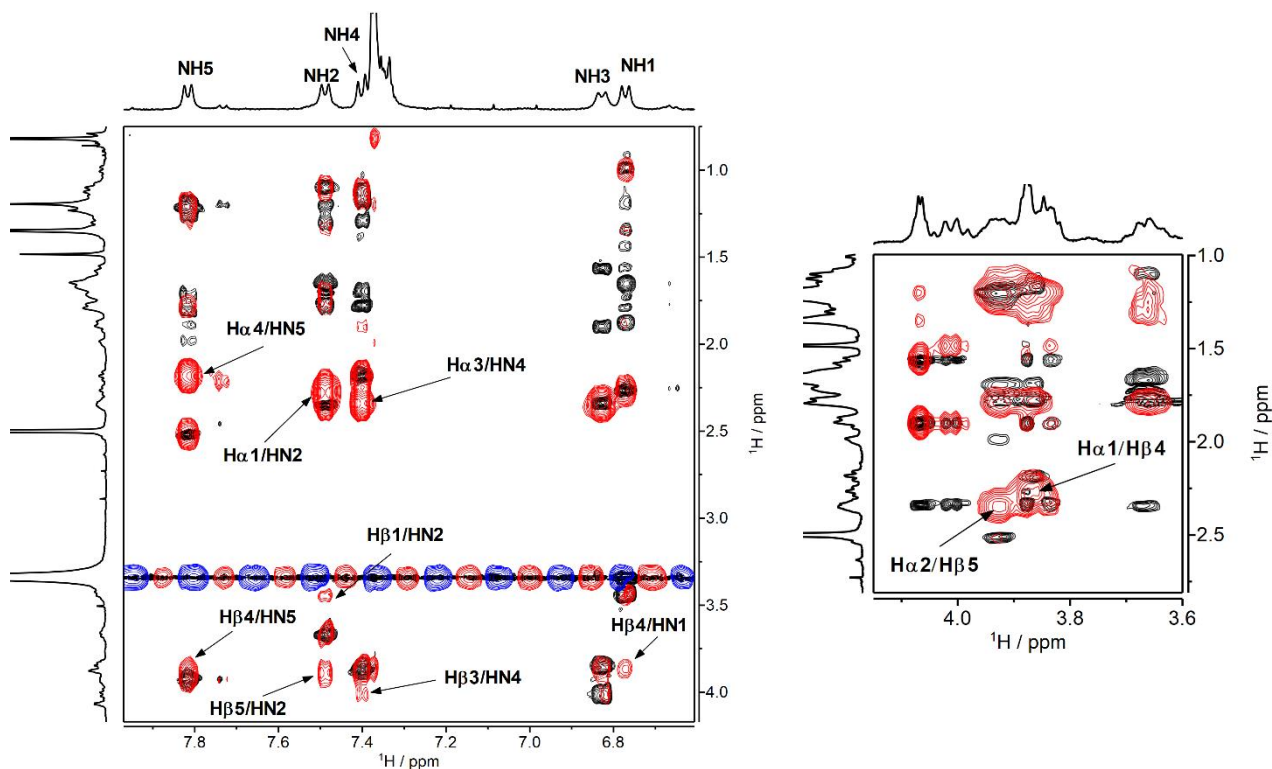


Figura 54. Superposición del espectro de ROESY (rojo/azul, t_{mix} 120 ms) y de TOCSY (negro, t_{mix} 70 ms) del péptido **70a** ($DMSO-d_6$, 500 MHz, 298 K). Expansión de la región i) ($H\alpha+H\beta$)/HN y ii) $H\alpha/H\beta$.

De las señales expuestas en la Figura 54 son especialmente relevantes los contactos entre $H\alpha 1/H\beta 4$ y $HN 1/H\beta 4$ que indican la proximidad en el espacio de los residuos 1 y 4. Además, los contactos $H\alpha 2/H\beta 5$ y $HN 2/H\beta 5$ indican la proximidad en el espacio de los residuos 2 y 5 (a 3 residuos de distancia). Estos datos, junto con los ya aportados de IR y CD, confirman que nuestro pentapéptido **70a** se estructura en dilución de $DMSO-d_6$ como una hélice-14.

3.1.2.3.2 Estudio de RMN del pentapéptido **70b**

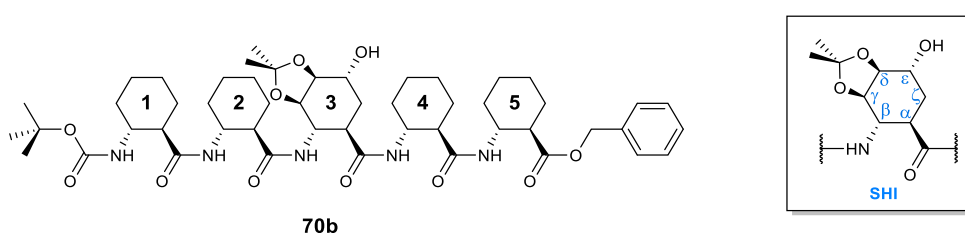


Figura 55. Pentapéptido **70b** con los residuos numerados del 1-5 desde el extremo N-terminal al C-terminal (izquierda). Nomenclatura para los protones utilizada para la asignación (derecha).

Siguiendo la misma metodología que la usada para estudiar el pentapéptido **70a**, primero se asignaron las señales de NH, $H\alpha$ y $H\beta$ del péptido **70b** utilizando una combinación de COSY, TOCSY y ROESY. Estos datos están recogidos en la Tabla 5.

residuos	HN	H β	H α	Otros
^t Bu	—	—	—	1.35
1	6.92	3.44	2.35	0.99, 1.32, 1.66, 1.91
2	7.49	3.70	2.36	1.09, 1.27, 1.65, 1.76
3	6.72	4.05	2.44	1.21 (CH ₃), 1.52 (CH ₃), 1.63 and 1.83 (H ζ^*), 3.77 (H ν), 3.96 (H δ), 4.02 (H ϵ), 5.20 (HO- ϵ)
4	7.53	3.87	2.13	1.12, 1.26, 1.79
5	7.91	3.95	2.54	1.17, 1.24, 1.80
-O-CH ₂ -Ph	—	—	—	5.09 y 5.28 (CH ₂), 7.29-7.44 (Ph)

Tabla 5. Asignaciones del péptido **70b** en DMSO-*d*₆ (*T* = 298 K). El espectro fue referenciado a la resonancia del TMS ($\delta = 0.00$ ppm).

También para la determinación de la estructura secundaria del péptido **70b** se realizó un estudio de coeficientes de temperatura y de ROESY, de forma similar al caso anterior.

- Coeficientes de Temperatura (T-coef) del pentapéptido **70b**

El estudio de RMN de temperatura variable del compuesto **70b** se llevó a cabo en DMSO-*d*₆ a *c* = 2 mM, tomando un espectro de RMN-¹H cada 10 °C desde 25 hasta 85 °C. Los espectros obtenidos pueden verse en la Figura 56 y los coeficientes de temperatura en la Tabla 6.

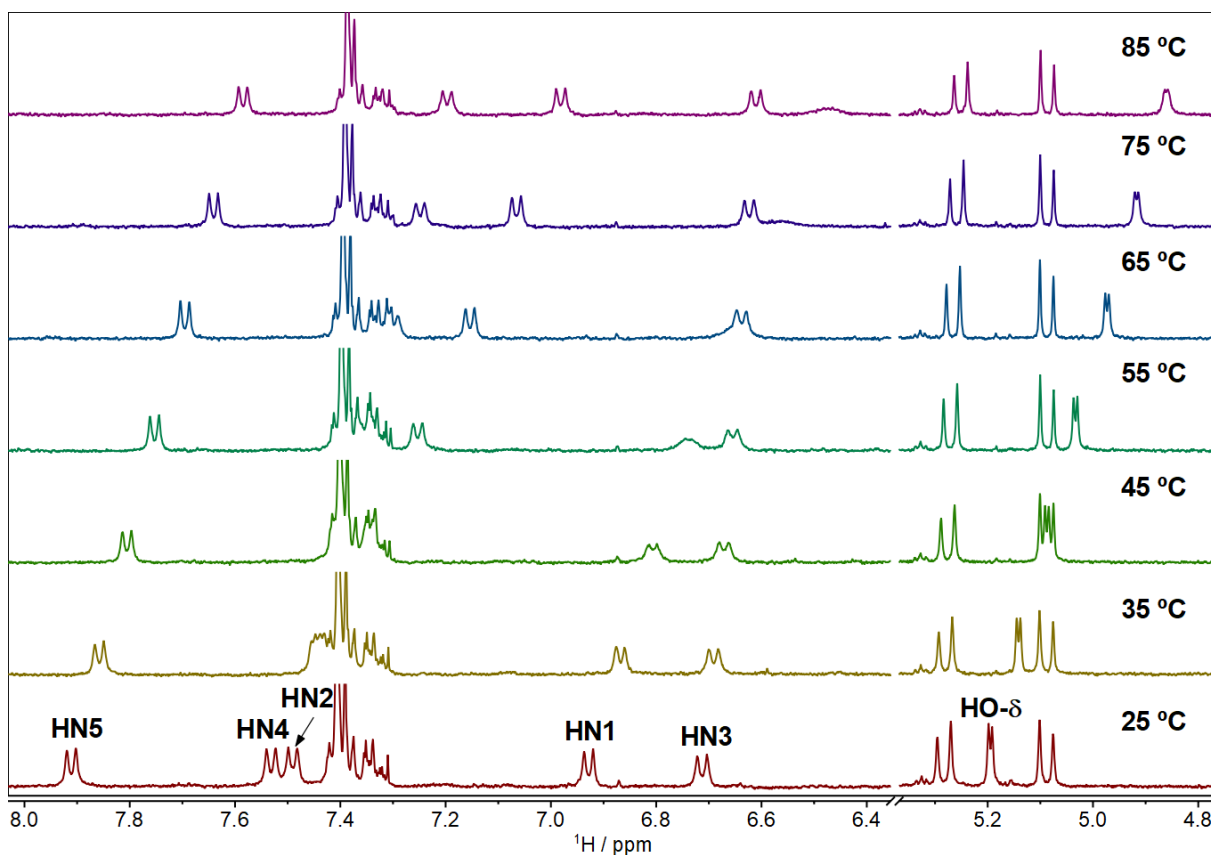
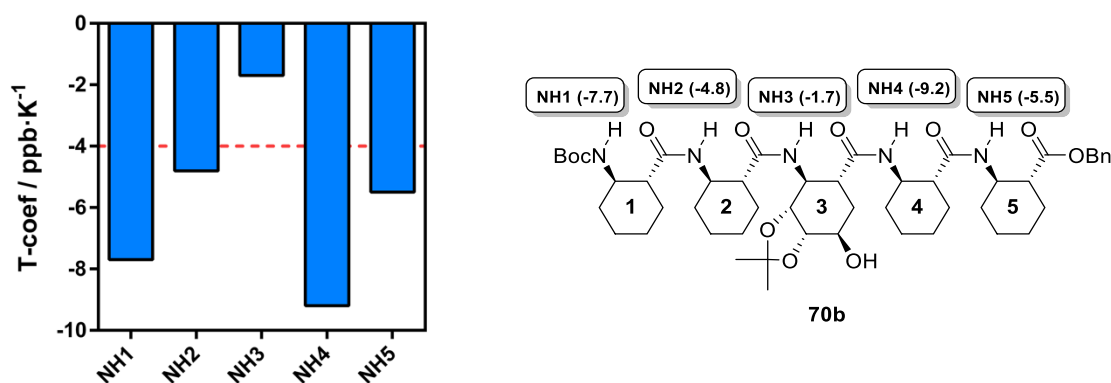


Figura 56. Espectro de RMN-TV del pentapéptido **70b** en DMSO-*d*₆ (500 MHz). Temperaturas, de abajo hacia arriba, desde 25 hasta 85 °C en pasos de 10 °C.

HN	δ_{\max} (85 °C) / ppm	δ_{\min} (25 °C) / ppm	Rango T / K	T coef / ppb·K ⁻¹
H1	6.47	6.93	60	-7.7
H2	7.20	7.49	60	-4.8
H3	6.61	6.71	60	-1.7
H4	6.98	7.53	60	-9.2
H5	7.58	7.91	60	-5.5

Tabla 6. Coeficientes de temperatura del compuesto **70b**.

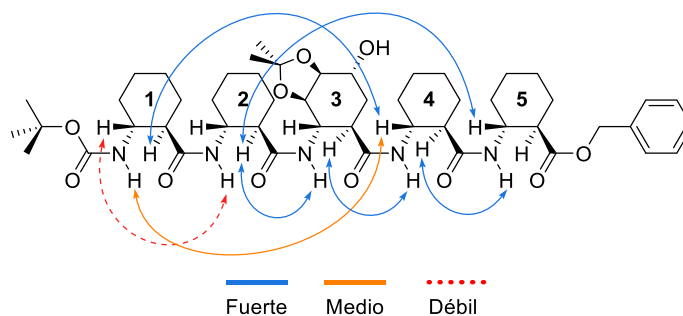
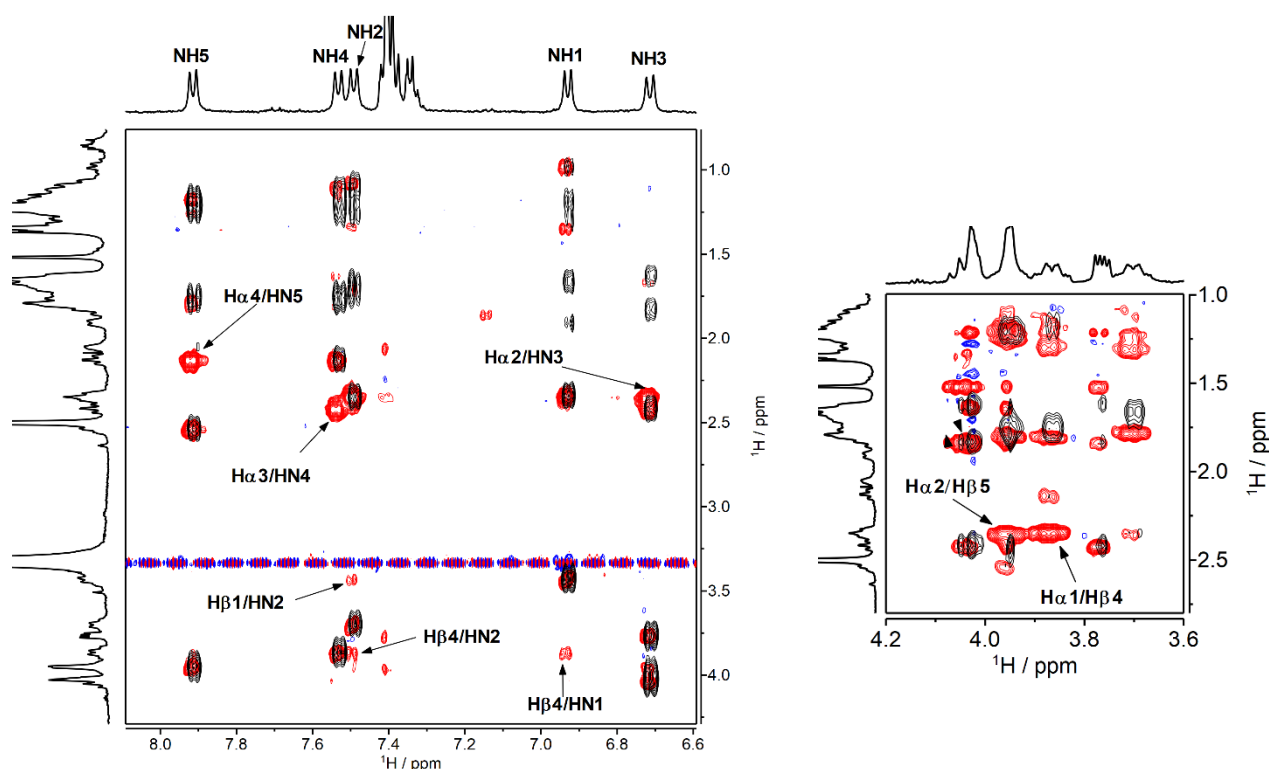
Como puede observarse, NH2 (-4.8) y NH3 (-1.7) presentan los valores de T-coef menos negativos, lo que indica que deberían estar formando enlaces de hidrógeno. Por otro lado, tanto NH4 (-9.2) como NH5 (-5.5) son los que presentan valores de T-coef más negativos, por lo que deberían estar expuestos al disolvente. Aunque NH1 (-7.7) debería estar formando parte de un enlace de hidrógeno, este está situado en un residuo terminal por lo que está más expuesto al disolvente, lo que explica el valor tan negativo de su T-coef. Estos resultados obtenidos para el pentapéptido **70b** son también los esperables para una estructuración de este, en disolución de DMSO, como una hélice-14.

Figura 57. Valores de los T-coef de los NH del compuesto **70b**.

- Estudio de ROESY del pentapéptido **70b**

Se llevó a cabo también un estudio de ROESY del compuesto **70b** en DMSO-*d*₆, a 2 mM y 25 °C. En la Figura 59 se muestran ampliaciones de las regiones (H α +H β)/HN y H α /H β . Aparecen destacadas las interacciones NOE características de una hélice-14 (Figura 57), las cuales son:

- H α (*i*)/H β (*i*+3): Señal fuerte entre H α 1/H β 4 y H α 2/H β 5.
- H α (*i*)/HN (*i*+1): Señal fuerte entre H α 2/HN3, H α 3/HN4 y H α 4/HN5.
- HN (*i*)/H β (*i*+3): Señal media entre HN1/H β 4.
- HN (*i*)/H β (*i*-1): Señal débil HN2/H β 1.


 Figura 58. NOEs del compuesto **70b** típicos de una hélice-14.

 Figura 59. Superposición del espectro de ROESY (rojo/azul, t_{mix} 200 ms) y de TOCSY (negro, t_{mix} 70 ms) del péptido **70b** ($DMSO-d_6$, 500 MHz, 298 K). Expansión de la región i) ($H\alpha+H\beta$)/HN y ii) $H\alpha$ /H β .

De estas señales son especialmente relevantes los contactos entre $H\alpha 1/H\beta 4$ y $HN 1/H\beta 4$ que indican la proximidad en el espacio entre los residuos 1 y 4, así como el contacto $H\alpha 2/H\beta 5$ que indican la proximidad en el espacio de los residuos 2 y 5. Todos ellos son compatibles con una estructuración de hélice-14, con tres residuos por vuelta. Estos datos son compatibles con los datos de T-coef de protón de amida: **a)** del $HN 3$ (-1.7), que indica que está formando un enlace de hidrógeno fuerte juntando así los residuos 2 y 5. **b)** del $HN 2$ (-4.8), que indica que está formando un enlace de hidrógeno estable y por tanto acerca los residuos 1 y 4 (Figura 60).

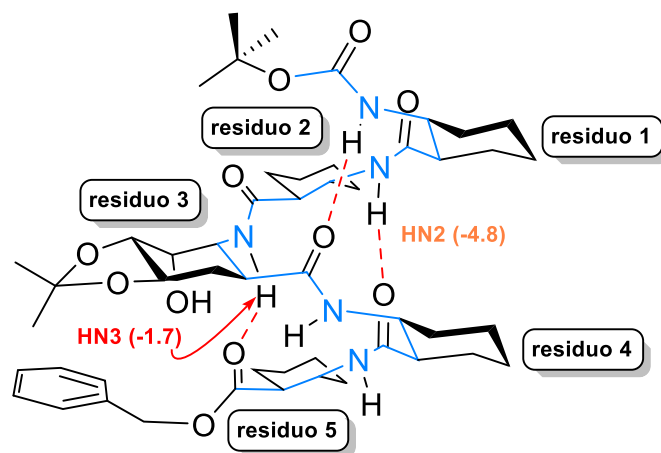


Figura 60. Plegamiento en disolución del compuesto **70b**.

Todos los datos indican de manera inequívoca que el pentapéptido **70b** se pliega en disolución de DMSO- d_6 como una hélice-14.

3.1.2.3.3 Estudio de RMN del pentapéptido **70c**

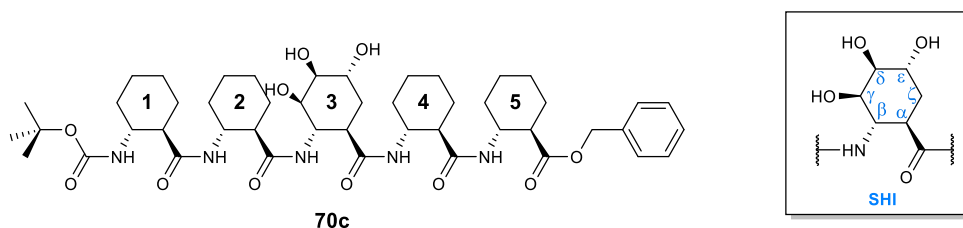


Figura 61. Pentapéptido **70c** con los residuos numerados del 1-5 desde el extremo N-terminal al C-terminal (izquierda). Nomenclatura para los protones utilizada para la asignación (derecha).

En último lugar se estudió la estructura secundaria del pentapéptido **70c**. Para ello en primer lugar se asignaron las señales de NH, H α y H β , utilizando una combinación de COSY TOCSY y ROESY. Éstas están recogidas en la Tabla 7.

residuos	HN	H β	H α	otros
^t Bu	—	—	—	1.35
1	6.80	3.46	2.44	1.06, 1.19, 1.32, 1.67, 1.86
2	7.49	3.62	2.41	1.03, 1.08, 1.24, 1.38, 1.62, 1.85
3	6.89	4.19	2.54	1.47 and 1.88 (2xH ζ), 3.56 (H γ), 3.60 (H δ), 3.76 (H ϵ), 4.25 (HO- γ), 4.47 (HO- δ), 4.89 (HO- ϵ)
4	7.61	3.93	2.13	1.09, 1.10, 1.19, 1.30, 1.73, 1.80
5	7.97	3.97	2.50	1.18, 1.21, 1.71, 1.75
-O-CH $_2$ -Ph	—	—	—	5.10 y 5.25 (CH $_2$), 7.31-7.44 (Ph)

Tabla 7. Asignaciones del péptido **70c** en DMSO- d_6 ($T = 298$ K). El espectro fue referenciado a la resonancia del TMS ($\delta = 0.00$ ppm).

Una vez asignadas estas señales, se procedió a realizar un estudio de la presencia de enlaces de hidrógeno (VT-NMR) y otro de la estructura secundaria a través de las interacciones de NOE a larga distancia (midiendo un ROESY).

- Coeficientes de Temperatura (T-coef) del pentapéptido **70c**

La presencia de enlaces de hidrógeno interresiduo se estimó utilizando un RMN-VT. Estas medidas se llevaron a cabo disolviendo el compuesto **70c** en DMSO- d_6 a $c = 1.8$ mM, tomando un espectro de RMN- ^1H cada intervalo de 10°C , desde los 25°C hasta los 75°C . En la Figura 62 puede verse la ampliación de la zona de NH a temperatura variable. Mientras que los desplazamientos de las señales de NH y sus coeficientes de temperatura aparecen recogidos en la Tabla 8.

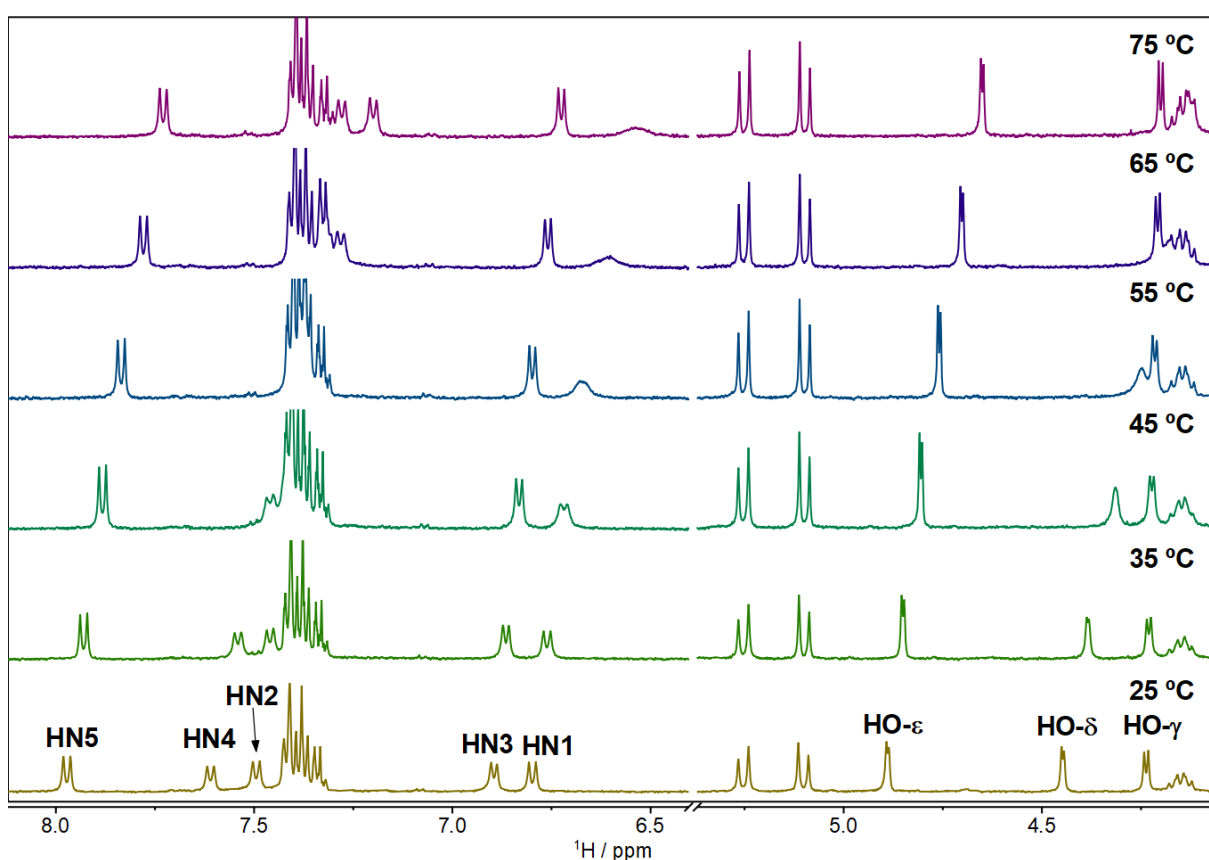
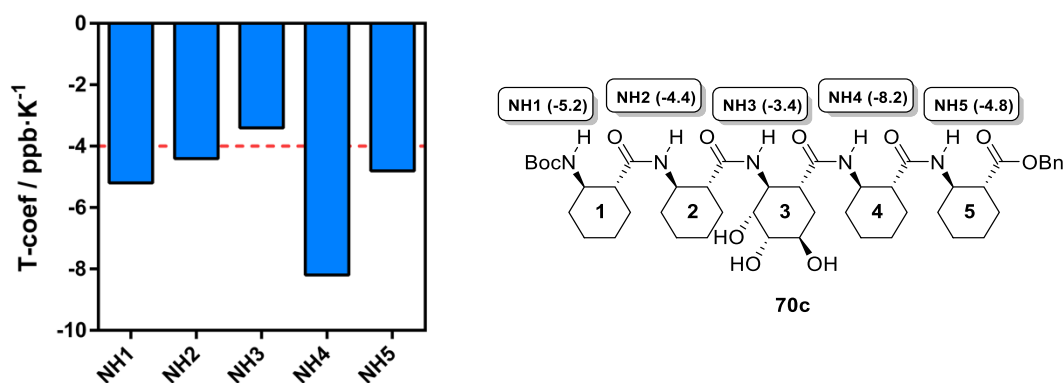


Figura 62. Espectro de RMN-TV del pentapéptido **70c** en DMSO- d_6 (500 MHz). Temperaturas, de abajo hacia arriba, desde 25°C hasta 75°C en pasos de 10°C .

HN	δ_{\max} (75 °C) / ppm	δ_{\min} (25 °C) / ppm	Rango T / K	T coef / ppb·K ⁻¹
H1	6.54	6.80	50	-5.2
H2	7.28	7.50	50	-4.4
H3	6.73	6.90	50	-3.4
H4	7.20	7.61	50	-8.2
H5	7.73	7.97	50	-4.8

Tabla 8. Coeficientes de temperatura del compuesto **70c**.

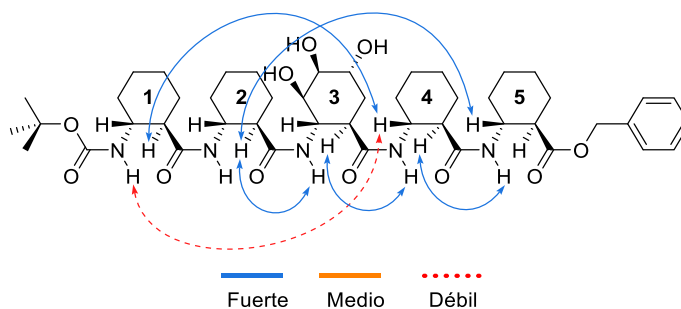
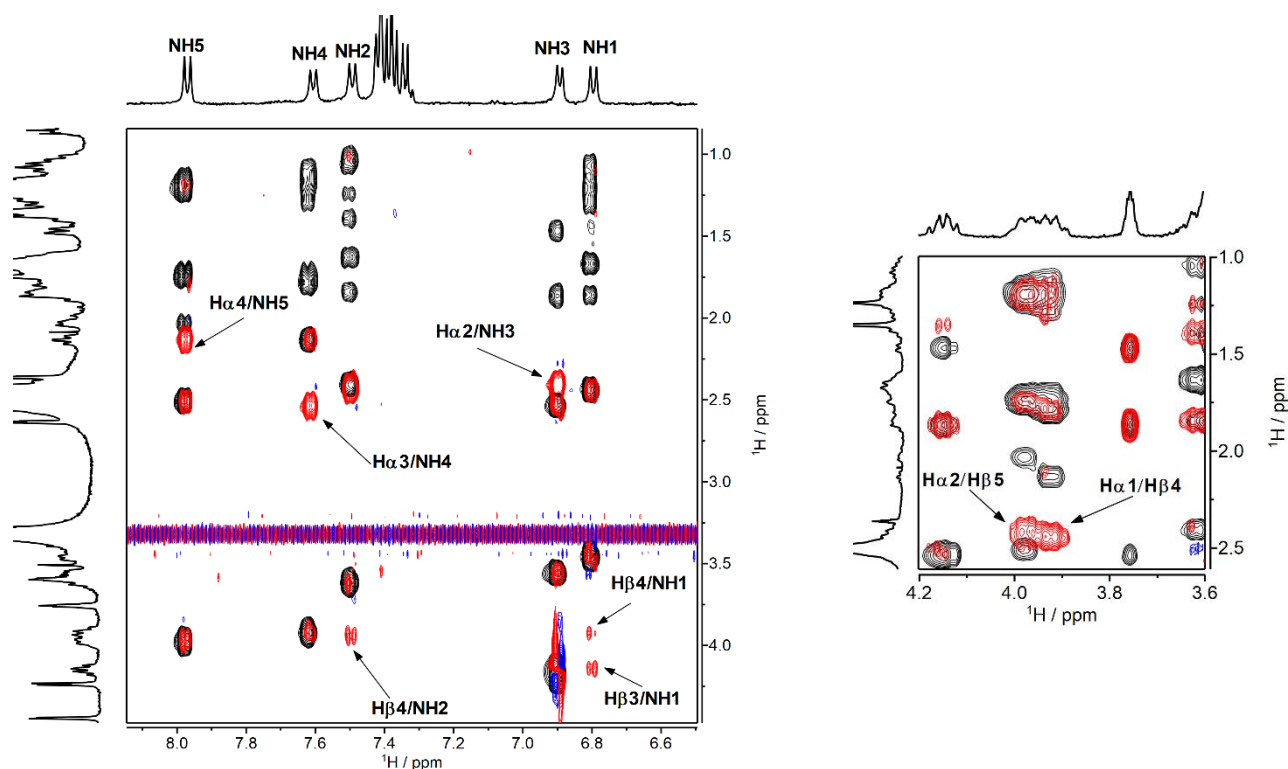
Los datos de T-coef de los protones de amida de NH1 (-5.2), NH2 (-4.4), NH3 (-3.4) y NH5 (-4.8) son todos muy cercanos a -4 ppb/K, lo que indica que no están expuestos a disolvente y podrían estar formando enlaces de hidrógeno. Sin embargo, para el NH4 (-8.2) se observó un valor muy negativo de T-coef, lo que indica que está expuesto al disolvente y por tanto no debería estar formando enlace de hidrógeno. Estos datos son compatibles con un plegamiento del compuesto **70c** en forma de hélice-14, en donde NH1-NH3 debería estar formando enlaces de hidrógeno intramoleculares y NH4-NH5 no deberían formar enlaces de hidrógeno intramoleculares.

Figura 63. Valores de los T-coef de los NH del compuesto **70c**.

- Estudio de ROESY del pentapéptido **70c**

Se llevó a cabo un estudio de ROESY del compuesto **70c** en DMSO-*d*₆, a 1.8 mM y 25 °C. En la Figura 65 se muestran ampliaciones de las regiones (H α +H β)/HN y H α /H β . Aparecen destacados las interacciones NOE características de una hélice-14 (Figura 63), las cuales son:

- H α (*i*)/H β (*i*+3): Señal fuerte entre H α 1/H β 4 y H α 2/H β 5.
- H α (*i*)/HN (*i*+1): Señal fuerte entre H α 2/HN3, H α 3/HN4 y H α 4/HN5.
- HN (*i*)/H β (*i*+3): Señal débil entre HN1/H β 4.
- HN (*i*)/H β (*i*-1): No se observan.


 Figura 64. NOEs del compuesto **70c** típicos de una hélice-14.

 Figura 65. Superposición del espectro de ROESY (rojo/azul, t_{mix} 200 ms) y de TOCSY (negro, t_{mix} 80 ms) del péptido **70c** ($DMSO-d_6$, 500 MHz, 298 K). Expansión de la región i) ($H\alpha+H\beta$)/HN y ii) $H\alpha/H\beta$.

De estas señales son especialmente relevantes los contactos entre $H\alpha 1/H\beta 4$ y $HN 1/H\beta 4$ que indican la proximidad en el espacio entre los residuos 1 y 4, así como el contacto $H\alpha 2/H\beta 5$ que indica la proximidad en el espacio de los residuos 2 y 5, todos ellos compatibles con una estructuración de hélice-14, con tres residuos por vuelta. Estos datos son compatibles con los datos de T-coef de protón de amida: **a)** del $HN 3$ (-3.4) que indica que está formando un enlace de hidrógeno fuerte juntando así los residuos 2 y 5. **b)** del $HN 2$ (-4.4) que indica que está formando un enlace de hidrógeno estable y por tanto acerca los residuos 1 y 4.

El conjunto de datos de FTIR, CD y RMN demuestran que los tres pentapéptidos sintetizados **70a-c** se pliegan en estructuras de hélice-14 en disolución de $DMSO-d_6$.

3.1.2.4 Estudio de Dinámica Molecular

Una vez que se ha establecido que nuestros péptidos **70a-c** se pliegan como hélices-14 en disolución de DMSO, se llevó a cabo un estudio de DFT, para explicar las diferencias entre las hélices-14 de los tres compuestos, cuyas evidencias comentamos en el estudio de Dicroísmo Circular. Se utilizaron los propios datos de NOE para los cálculos de dinámica molecular.

Estos cálculos se llevaron a cabo con el programa de determinación estructural XPLOR-NIH⁹². Al utilizar los datos de NOE y de acoplamiento escalar obtenidos en nuestro estudio de RMN, se obtuvieron estructuras de hélice-14 para los péptidos **70a-c**, que fueron posteriormente optimizadas, dando lugar a las hélices-14 de la Figura 66. Esta optimización se llevó a cabo usando cálculos DFT (M05-2X/6.31+G(d))⁹³ con el programa Gaussian 09 y utilizando los datos de la (Tabla 9).⁹⁴

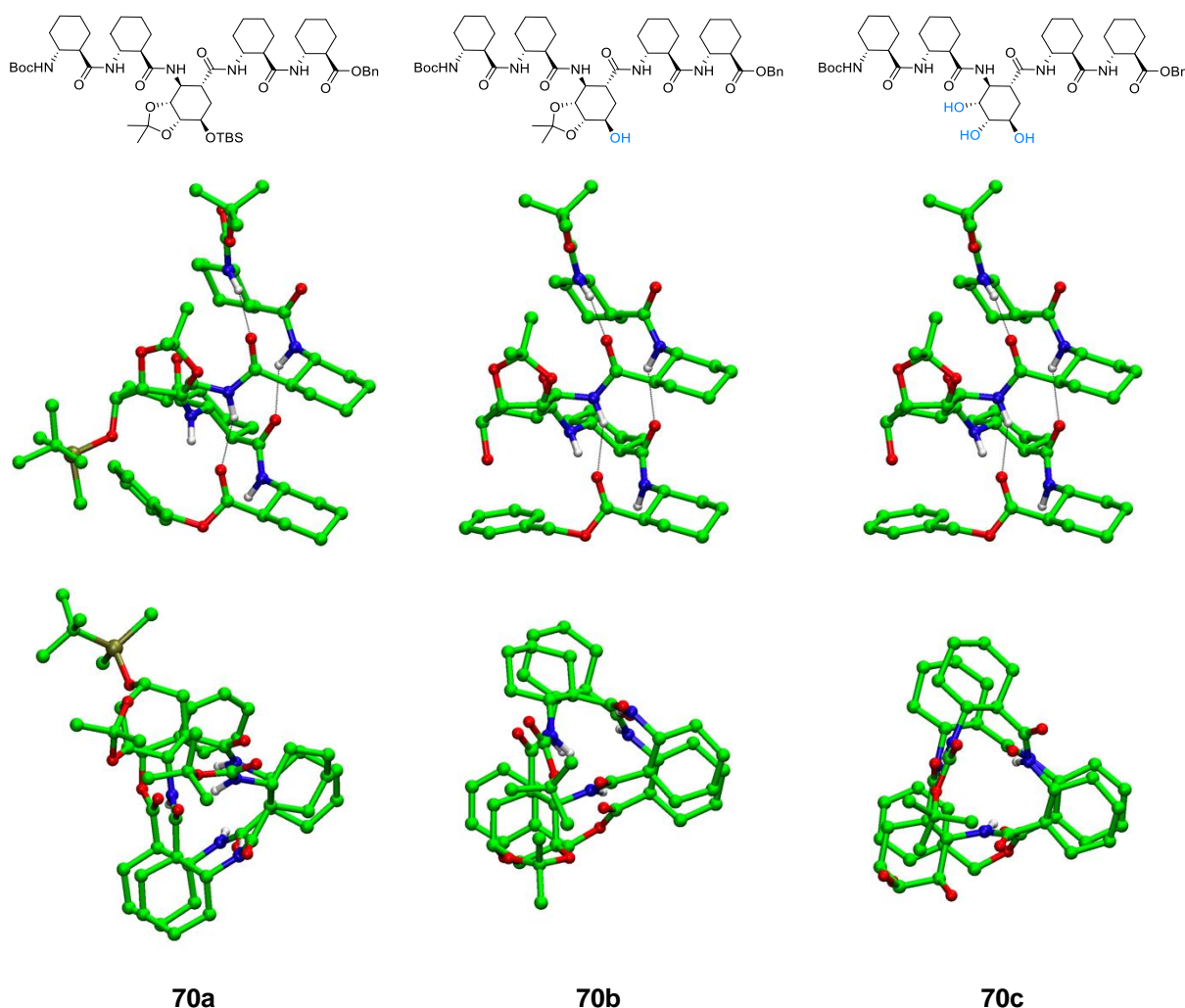


Figura 66. Geometría de los péptidos **70a-70c**, optimizadas usando cálculos de DFT a nivel M052X/6-31G(d). Colores: C verde, O rojo y N azul.

Las estructuras obtenidas permiten visualizar las diferencias entre la hélice-14 del péptido **70c** (sin el grupo acetónido) y las de los péptidos **70a** y **70b** (con el grupo acetónido), que habíamos observado en sus espectros de Dicroísmo Circular (páginas 55-57). Así, la estructura obtenida para el pentapéptido **70c**, muy similar a la estructura cristalográfica del

hexámero de **41** (página 22) sintetizado por Gellman, difiere únicamente de éste en que las distancias O...N y O...H son ligeramente más cortas y los ángulos C=O...H son más amplios.

Péptido	O...N	O...H	O...N-H	C=O...H
70a	3.06	2.07	165.68	140.10
	3.04	2.16	143.86	149.42
	3.02	2.08	153.56	154.37
70b	3.05	2.06	165.28	141.36
	3.10	2.23	142.18	144.95
	2.99	2.07	151.20	155.27
70c	2.92	1.96	156.59	154.26
	2.95	2.01	153.52	174.87
	2.96	2.03	153.09	162.77

Tabla 9. Distancias (Å) y ángulos de enlace de Hidrógeno para los péptidos **70a-c**, optimizados usando cálculos de DFT al nivel M052X/6-31G(d).

Por el contrario, las estructuras obtenidas para los pentapéptidos **70a** y **70b**, a pesar de mantener la estructura de hélice-14, debido a las restricciones estéricas impuestas por los sustituyentes en las posiciones γ , δ y ϵ del residuo 3, muestran una distorsión con respecto a la del péptido **70c** (Figura 67). Esto coincide con los datos de CD registrados en metanol (Figura 44, página 56), donde la elipticidad máxima de los péptidos **70a** (222 nm) y **70b** (222 nm) se desvía unos pocos nm de los valores del homohexámero del *trans*-ACHC **41** (217 nm) que sí coincide con la del péptido **70c** (217 nm).

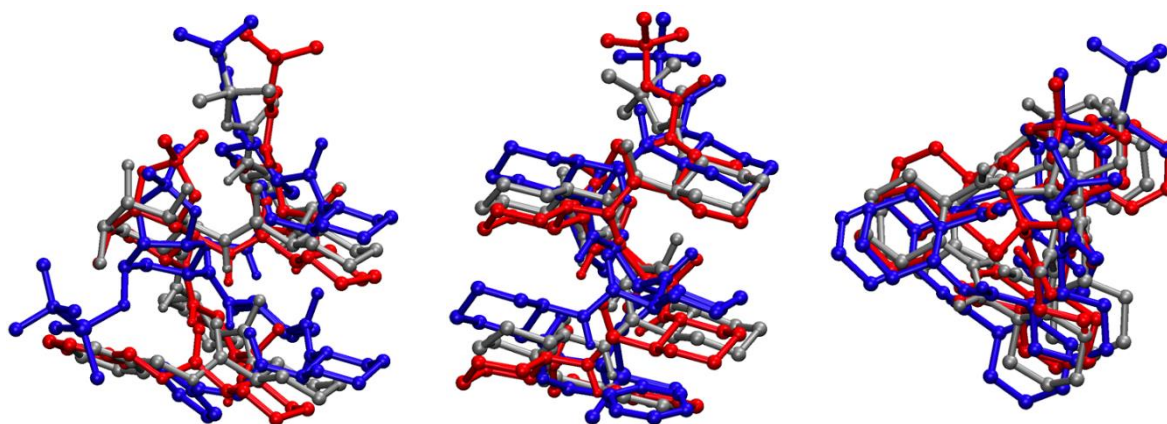
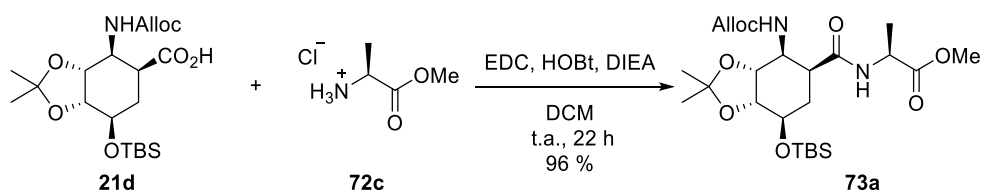


Figura 67. Superposición de los modelos de los péptidos **70a-70c** calculados a partir de los datos de RMN y optimizados con cálculos DFT (M05-2X/6.31+G(d)). Colores: Azul **70a**, rojo **70b**, gris **70c**.

3.2 HETEROOLIGÓMEROS DE α -AMINOÁCIDOS Y ÁCIDOS 2-AMINOCICLOHEXANOCARBOXÍLICOS

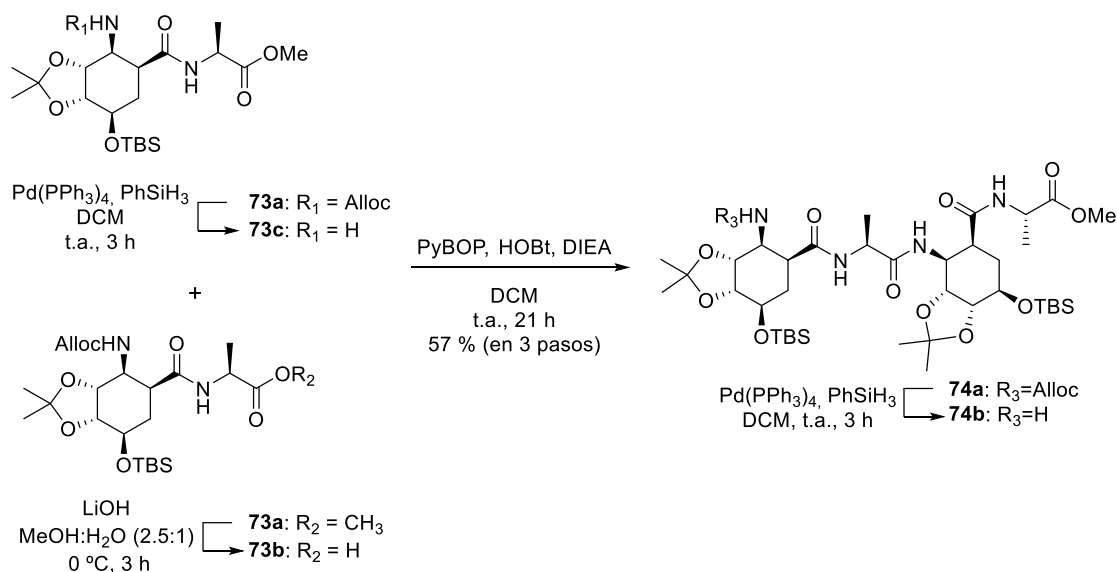
3.2.1 Síntesis de los pentapéptidos **75a**, **75b** y **75c**

Siguiendo el plan de trabajo descrito en el objetivo 2 de esta tesis doctoral, se comenzó la síntesis de pentapéptido **75a** llevando a cabo un acoplamiento peptídico entre el hidrocloreto de la alanina-OMe comercial **72c** y el β -aminoácido **21d**, derivado del ácido (-)-shikímico y sintetizado previamente en el grupo de investigación como ya se indicó,⁹⁵ para obtener el dipéptido **73a** con un 96 % de rendimiento (Esquema 15). Este compuesto fue caracterizado a partir de sus propiedades espectroscópicas y espectrométricas. En su espectro de RMN-¹H encontramos señales a 6.14 y 6.56 ppm, debidas a los protones sus dos grupos NH de amida. Destacan también el doblete a 1.37 ppm, debido al grupo CH₃ unido al carbono- α de la L-alanina-OMe así como el singlete a 3.68 ppm perteneciente al éster de metilo del extremo C-terminal. En su espectro de RMN-¹³C se identificaron las señales a 156.3, 172.4, 173.1 ppm como las pertenecientes a los tres grupos carbonilo de la molécula. Su espectro de masas de alta resolución muestra una señal con una relación m/z = 537.2602 (m/z teórico = 537.2603) correspondiente al ion [M+Na]⁺, que confirmó su fórmula molecular como C₂₄H₄₂N₂O₈Si. En su espectro de FTIR se observan las bandas a 1534, 1653 y 1723 cm⁻¹ debidas a sus grupos carbonilo y una banda ancha a 3323 cm⁻¹ debida a los grupos NH.



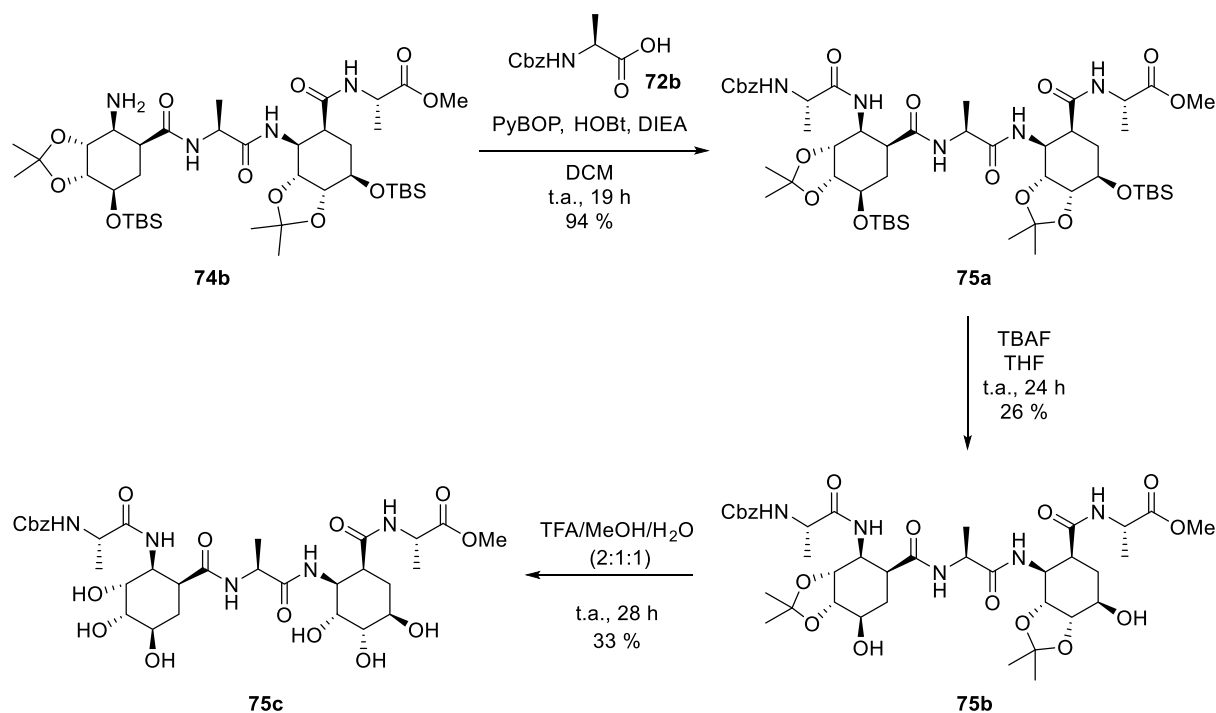
Esquema 15. Síntesis del dímero **73a**.

Para sintetizar el tetrámero **79a** se desprotegió el compuesto **73a**, en su extremo C-terminal con LiOH en una mezcla de metanol y agua y también en su extremo N-terminal con Pd(PPh₃)₄, en DCM. Esto dio lugar al ácido **73b** y a la amina **73c**, respectivamente, que se utilizaron en la siguiente reacción sin purificación adicional (Esquema 16). A continuación, se llevó a cabo un acoplamiento peptídico entre **73b** y **73c**, utilizando PyBop/HOBt como agente activante y DIEA como base. Esto dio lugar al tetrapéptido **74a** con un 57 % de rendimiento global (tres pasos). Este compuesto pudo ser caracterizado a partir de sus propiedades espectroscópicas y espectrométricas entre las que destacan en su espectro de RMN-¹H las señales 6.46, 6.88, 7.35, 7.65 ppm, atribuidas a sus cuatro protones NH de amida y un singlete a 3.73 ppm, correspondiente al grupo éster metílico del extremo C-terminal. Su espectro de RMN-¹³C muestra señales características a 156.4 ppm, debida al carbonilo de la carbamida y a 173.0, 173.0, 173.3, 175.2 ppm, debidas a los otros cuatro carbonos carbonílicos de la molécula. La fórmula molecular C₄₃H₇₆N₄O₁₃Si₂ fue confirmada mediante su espectro de masas de alta resolución, que muestra una señal con una relación m/z = 935.4839 (m/z teórico = 935.4840) correspondiente al ion [M+Na]⁺. Su espectro de FTIR muestra señales a 1536, 1650 y 1729 cm⁻¹ correspondientes a los grupos carbonilo de la molécula y una banda ancha a 3313 cm⁻¹ que se atribuyó a los grupos NH.



Esquema 16. Síntesis del tetrapéptido **74a** y desprotección del extremo *N*-terminal para dar lugar a la amina **74b**.

Prosiguiendo con nuestro plan, se desprotegió el extremo *N*-terminal del tetrapéptido **74a** mediante una reacción de hidrogenación catalítica, usando Pd(PPh₃)₄, lo que dio lugar al compuesto **74b** con el grupo NH₂ terminal libre, para realizar el último acoplamiento peptídico, conducente a nuestro pentámero **75a** (Esquema 16), que supuso la incorporación de un monómero de Cbz-*N*-alanina comercial al extremo *N*-terminal libre de **74b**, utilizando como agente activante PyBop/HOBt y DIEA como base (Esquema 14). Esto dio lugar al primero de nuestros pentapéptidos objetivo **75a** con un 94 % de rendimiento, que se caracterizó a partir de sus propiedades espectroscópicas y espectrométricas. En su espectro de RMN-¹H muestra cinco señales a 5.61, 7.53, 7.74, 7.89 y 7.98 ppm atribuidas a los cinco protones de sus grupos NH de amida y uretano. También muestra un sistema ABq a 5.06 ppm (²J_{CH} = 12.3 Hz) y un multiplete a 7.31 ppm, que integra por cinco protones, los cuales son atribuidos al grupo Cbz de la molécula. En su espectro de RMN-¹³C destacan las señales debidas a sus cinco grupos carbonilo, a 156.4 (C=O, carbamato), 173.0 (C=O, amida), 173.1 (C=O, amida), 173.3 (C=O, amida) y 175.2 (C=O, éster). Su espectro de masas de alta resolución muestra una señal con una relación m/z = 1056.5370 (m/z teórico = 1056.5367) correspondiente al ion [M+Na]⁺, lo cual confirma la fórmula molecular del compuesto (C₅₀H₈₃N₅O₁₄Si₂). Por último, en su espectro de FTIR se observa las bandas de sus grupos carbonilo a 1536, 1650 y 1727 cm⁻¹ y una banda ancha a 3315 cm⁻¹ debida a sus grupos NH.

Esquema 17. Síntesis de los pentapéptidos **75a**, **75b** y **75c**.

Una vez obtenido el primero de nuestros pentapéptidos **75a** se desprotegeron secuencialmente sus grupos hidroxilo. Para ello se hizo reaccionar el compuesto **75a** con TBAF en THF seco durante 24 h para obtener el pentapéptido **75b** con un rendimiento del 26 % (Esquema 17). Se confirmó la estructura de este compuesto **75b** por la ausencia en su espectro de RMN-¹H de las señales características de los metilos de los grupos TBS, que aparecen a 0.05 y 0.87 ppm en el espectro de RMN-¹H de su precursor, lo que demuestra la ausencia de este grupo protector. Además, destacan: la señal a 3.78 ppm correspondiente al grupo éster metílico de su extremo C-terminal; un sistema ABq a 5.05 ppm (²J_{CH} = 12.2 Hz) que junto con el multiplete a 7.33 ppm conforman el grupo protector Cbz de su extremo N-terminal y las señales a 5.36, 7.01, 7.10, 7.59 (x2), 8.15 y 8.20 ppm correspondientes a los cinco protones NH de amida y los dos grupos OH libres de la molécula. Además, en su espectro de RMN-¹³C destacan las señales a 156.6 (C=O, carbamato), 173.8 (C=O, amida), 174.5 (C=O, amida), 174.7 (C=O, amida), 175.8 (C=O, amida) y 176.0 (C=O, éster) ppm debidos a los seis grupos carbonilo de la molécula. Su espectro de masas de alta resolución muestra una señal con una relación m/z = 828.3638 (m/z teórico = 828.3638) correspondiente al ion [M+Na]⁺, lo que nos permitió confirmar su fórmula molecular C₃₈H₅₅N₅O₁₄. Finalmente, en su espectro de FTIR se observan las bandas de flexión de amida a 1546 cm⁻¹, de extensión de éster 1647 cm⁻¹ y de amida 1720 cm⁻¹ y de extensión de NH y OH a 3311 cm⁻¹.

Finalmente, se desprotegeron los grupos acetónido del compuesto **75b**. Para ello se disolvió este compuesto en una mezcla TFA/MeOH/H₂O (2:1:1) y se agitó a t.a. durante 28 h. De esta manera se obtuvo el compuesto **75c** con un 33 % de rendimiento (Esquema 17).

La estructura del pentapéptido **75c** también pudo ser confirmada a partir de sus propiedades espectroscópicas y espectrométricas. En su espectro RMN-¹H destacan las señales a 6.48, 7.54, 7.73, 7.93 y 8.12 ppm correspondientes a los protones de sus NH de

amida y la señal a 3.78 ppm correspondiente al grupo éster metílico de su extremo C-terminal. En el espectro de RMN-¹³C destaca la ausencia de la señal característica del carbono cuaternario del grupo acetónido, que aparecen a 108 ppm en el espectro de RMN-¹³C de su precursor. También destacan las señales entre 127.6-133.9 ppm, debidas a los C-H aromáticos del grupo Cbz, además de las señales a 156.7 (C=O, carbamato), 174.3 (2xC=O, amida), 174.9 (2x C=O, amida) y 175.1 (C=O, éster) ppm debidas a los seis grupos carbonilo de la molécula. Su espectro de masas de alta resolución muestra una señal con una relación m/z = 748.3010 [M+Na]⁺ (valor teórico m/z = 748.3012), que confirmó su fórmula molecular C₃₂H₄₇N₅O₁₄. Su espectro de FTIR muestra las señales a 1548, 1654 y 1724 cm⁻¹ debidas a los grupos carbonilo de la molécula, además de una banda ancha a 3310 cm⁻¹ que corresponde a sus grupos NH e hidroxilo.

3.2.2 Estudio estructural de los pentapéptidos 75a, 75b y 75c

Una vez sintetizados los pentapéptidos **75a**, **75b** y **75c** se realizó un estudio de su estructura secundaria en disolución, utilizando para ello las técnicas espectroscópicas de FTIR, CD y RMN.

3.2.2.1 Estudio de Infrarrojo

Se midieron espectros de ATR-FTIR del dímero **73a**, el tetrámero **74a** y los pentámeros **75a**, **75b** y **75c**. Para ello se depositó una disolución 1 mM de cada uno de estos compuestos sobre un accesorio de ATR de un espectrómetro FTIR. Los máximos de las bandas de vibración de grupo amida de los cinco péptidos aparecen resumidos en la Tabla 10.

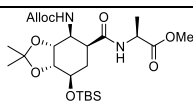
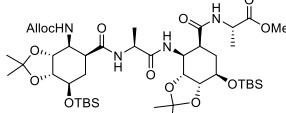
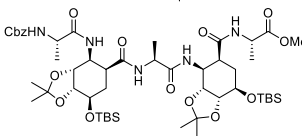
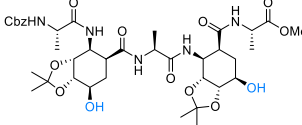
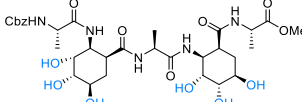
Estructura	Compuesto	Amida A	Amida I	Amida II
	73a	3323	1653	1534
	74a	3313	1650	1536
	75a	3315	1648	1535
	75b	3311	1647	1546
	75c	3310	1654	1548

Tabla 10. Máximo (cm⁻¹) de las bandas características de Amida A, Amida I y Amida II para los compuestos **73a**, **74a**, **75a**, **75b** y **75c**.

Se observa una disminución del número de onda de la banda de Amida A en el tetramero **74a** (3315 cm^{-1}) y los pentámeros **75a** (3315 cm^{-1}), **75b** (3311 cm^{-1}) y **75c** (3310 cm^{-1}), con respecto al dímero **73a** (3323 cm^{-1}). Para la banda de Amida I se ve también una disminución del número de onda desde el dímero **73a** (1653 cm^{-1}) al tetramero **74a** (1650 cm^{-1}) y los pentámeros **75a** (1648 cm^{-1}) y **75b** (1647 cm^{-1}), con una clara excepción para el pentámero con los tres hidroxilos libres **75c** (1654 cm^{-1}). Finalmente, se observa también un incremento en el máximo del número de onda de la banda de Amida II desde el dímero **73a** (1534 cm^{-1}), el tetramero **74a** (1536 cm^{-1}) y el pentámero **75a** (1535 cm^{-1}) hasta los pentámeros **75b** (1546 cm^{-1}) y **75c** (1548 cm^{-1}) (Figura 68).

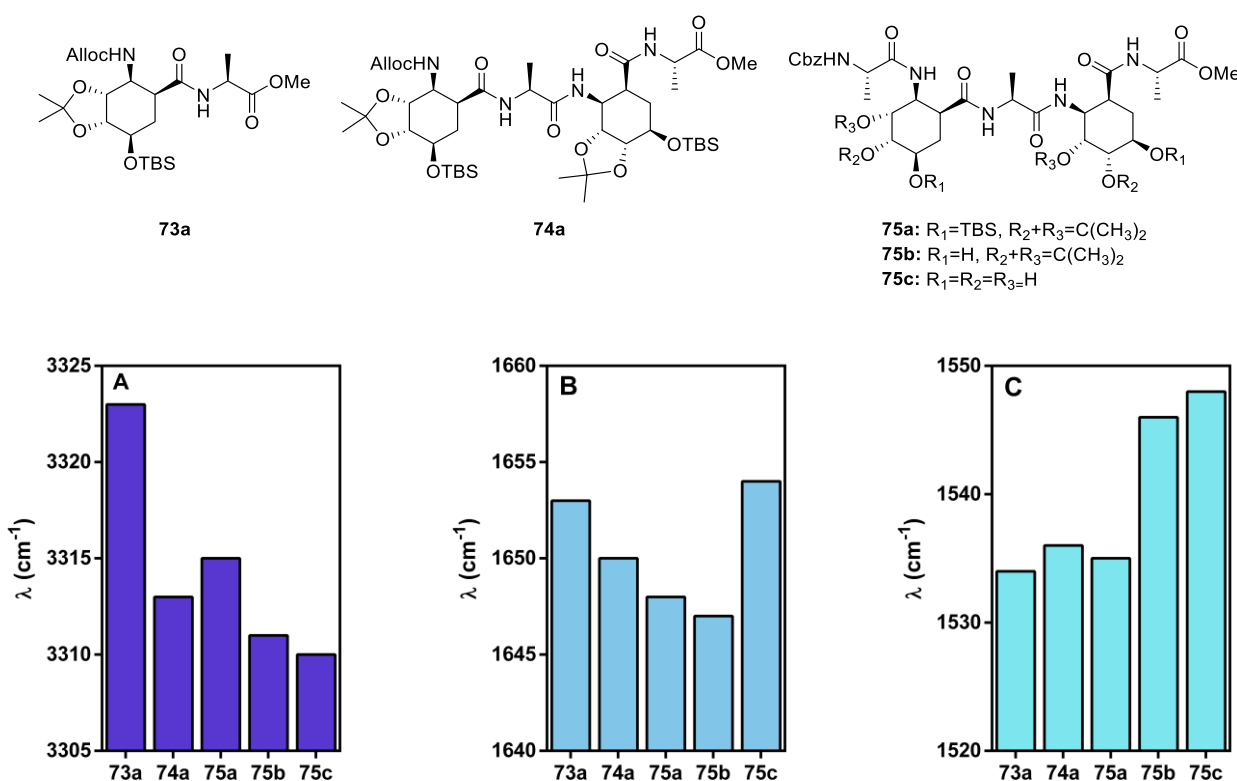


Figura 68. $\bar{\nu}_{max}$ del espectro de ATR-FTIR de los péptidos **73a**, **74a**, **75a**, **75b** y **75c** en la región de: A. Amida A, B. Amida I y C. Amida II.

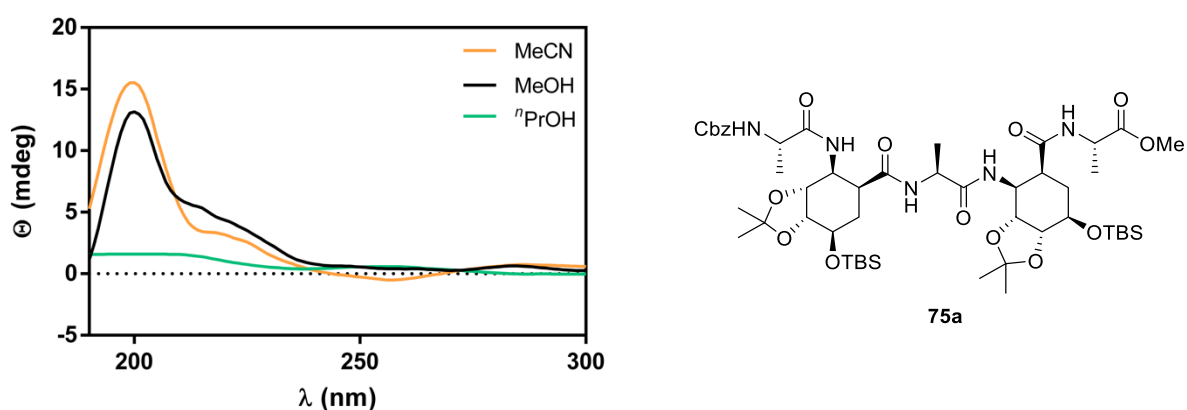
Estos datos son indicativos de un aumento en el número de enlaces de hidrógeno a medida que aumenta la longitud de la cadena peptídica desde el dímero al pentámero y al aumentar el número de OH libres en los pentámeros. Lo que sugiere una mayor tendencia a formar algún tipo de estructura secundaria a medida que aumenta la longitud de cadena del péptido y el número de OH libres.

Estos datos, que muestran un efecto batocrómico para las señales de Amida A y Amida I e hipsocrómico para a señales de Amida II a medida que aumenta el tamaño de la cadena peptídica, son todos ellos indicativos de la presencia de enlaces de hidrógeno y por lo tanto de estructuración secundaria de nuestros pentámeros, **75a**, **75b** y **75c**.

3.2.2.2 Estudio de Dicroísmo Circular

La siguiente aproximación para determinar la estructura de nuestros tres pentapéptidos fue realizar un estudio de Dicroísmo Circular, para lo cual empezamos estudiando el pentapéptido **75a** con todos sus hidroxilos protegidos:

Se midió el espectro de CD del pentapéptido **75a** en tres disolventes polares: t PrOH, MeOH y MeCN a temperatura ambiente y a una concentración de 100 μ M (Figura 69). Tanto en disolución de MeOH como en MeCN presenta un máximo positivo a 200 nm y un hombro entre 210-220 nm. Por el contrario, en n PrOH posee un dicroísmo nulo. Esto sugiere que en MeOH y MeCN el pentapéptido **75a** presenta la misma estructura secundaria que da lugar a un espectro de CD muy similar al presente en la hélice-11/9 del péptido **72**, descrita por el Prof. Choi (Figura 37, página 40). Mientras que en n PrOH esta estructura parece desmoronarse.



Se continuó el estudio de CD con el pentapéptido **75b**, con dos OH libres, utilizando para ello los tres disolventes polares del experimento anterior (t PrOH, MeOH y MeCN) a temperatura ambiente y a una concentración de 100 μ M (Figura 70). El comportamiento del péptido es ligeramente distinto al de **75a**, mostrando en MeOH una banda positiva a 200 nm y un hombro entre 210-220 nm, en MeCN una banda positiva a 201 nm y una negativa a 230 nm y en n PrOH ningún efecto Cotton significativo. Estos resultados muestran que el pentapéptido **75b** únicamente presenta en MeOH un espectro de CD compatible con la hélice-11/9 de Choi.

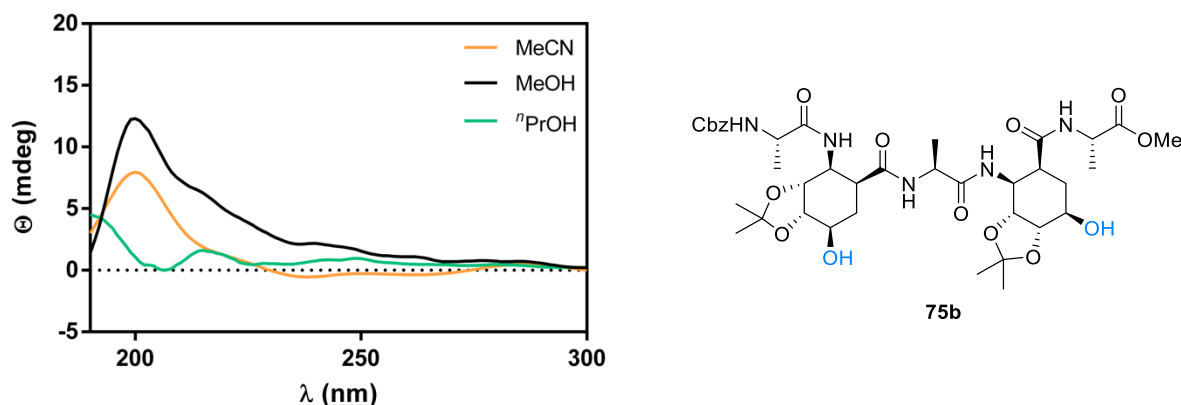


Figura 70. Dicroísmo Circular del péptido **75b**, en MeOH (azul), MeCN (naranja) y n PrOH (verde) a una temperatura de 20 °C y a una concentración 100 μ M.

Por último, se estudió el pentapéptido **75c**, con todos sus grupos hidroxilo libres, utilizando también ahora los tres disolventes polares de los experimentos anteriores (n PrOH, MeOH y MeCN) a temperatura ambiente y a una concentración de 100 μ M. Éste compuesto además es soluble en agua, por lo que se estudió también su CD en este disolvente (Figura 71). Se observaron dos tipos de CD diferentes en función del disolvente: en MeOH y MeCN se observan un efecto Cotton positivo a 202 nm y un hombro entre 210-220 nm (típico de hélices-11/9) y en n PrOH y H₂O se observa un efecto Cotton negativo a 200 nm y un efecto Cotton positivo a 220 nm y 217 nm respectivamente (típico de estructuras extendidas “random coil”).

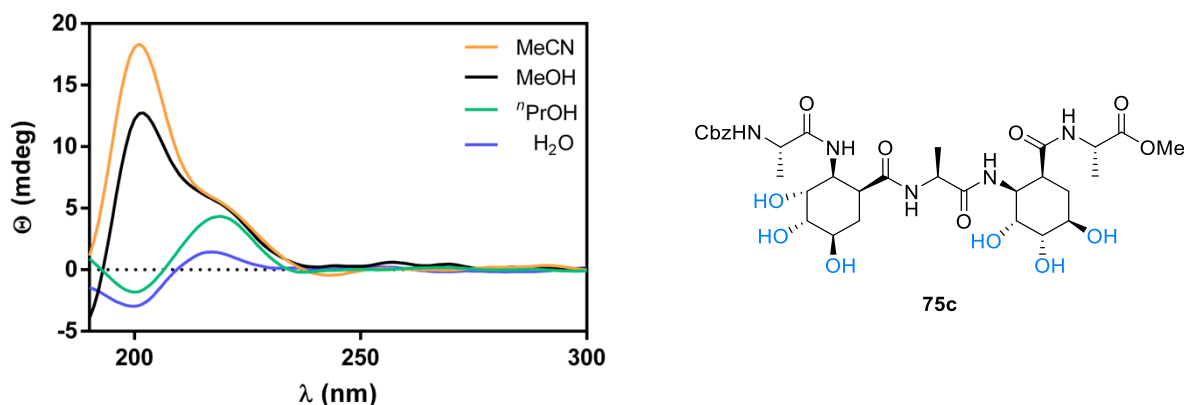


Figura 71. Dicroísmo Circular del péptido **75c**, en MeOH (rojo), MeCN (verde), n PrOH (naranja) y agua (azul) a una temperatura de 20 °C y a una concentración 100 μ M.

Vistos los resultados de CD que presentaba el compuesto **75c** en disolución metanólica en la cual parece plegarse en una estructura secundaria, posiblemente de hélice-11/9, así como en disolución acuosa en la que parece tener una estructura de “ramdom coil”, decidimos llevar a cabo una valoración añadiendo agua sobre una disolución de **75c** en MeOH. Se observó claramente (Figura 72) la pérdida paulatina de intensidad de la banda principal a 200 nm y de su hombro a 217 nm al aumentar la proporción de agua. Esto es compatible con una pérdida

de la estructura secundaria adoptada por **75c** en disolución metanólica a medida que añadimos un competidor por los enlaces de hidrógeno (el agua), que la desestabiliza.

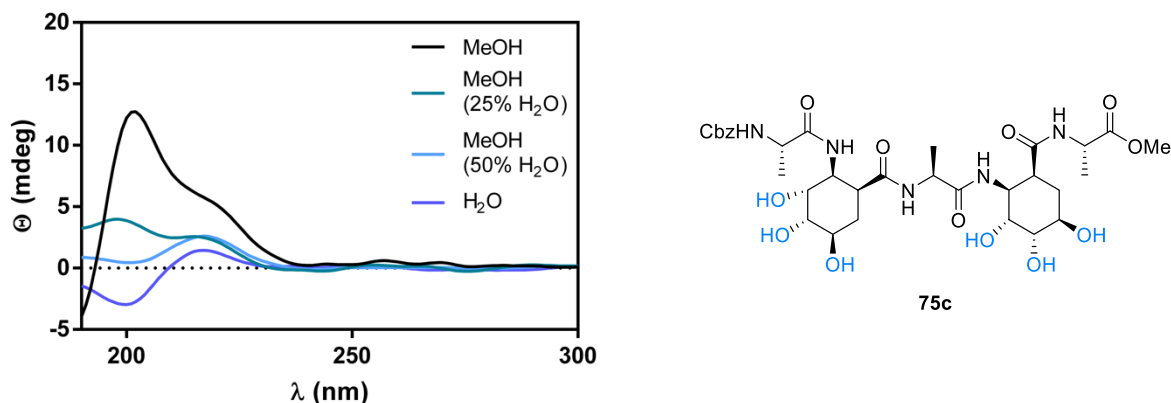


Figura 72. Dicroísmo Circular del péptido **75c**, en MeOH, MeOH (25 % H₂O), MeOH (50 % H₂O) y H₂O (azul) a una temperatura de 20 °C y a una concentración 100 μM.

Estos resultados de CD ponen de manifiesto que los tres pentapéptidos **75a-c** se estructuran en MeOH y MeCN en una misma estructura secundaria, marcada por un CD muy similar al reportado por Choi para su pentapéptido **72** (Figura 37, página 40), y que pierden esta estructuración al ser disueltos en ⁿPrOH o agua.

3.2.2.3 Estudio de RMN

Una vez estudiados los tres pentapéptidos **75a**, **75b** y **75c** por FTIR y CD, decidimos estudiar por RMN el compuesto **75c** para poder confirmar o descartar nuestra hipótesis sobre su estructuración en forma de hélice-11/9. La elección del péptido **75c**, la basamos en que es el que presenta mayores indicios de estructuración de los tres sintetizados. Elegimos para este estudio los dos disolventes en los que parece estar más estructurado: MeCN-*d*₃ y MeOH-*d*₃.

Para ello, se comenzó con un estudio de RMN-¹H monodimensional usando MeCN-*d*₃ como disolvente, a una concentración de 1.5 mM y a temperatura ambiente. Este espectro muestra un único conjunto de señales de amida con una baja dispersión, indicativo de que el péptido está en una conformación en la que no existen diferencias entre sus entornos químicos, es decir, en una conformación extendida. Al bajar la temperatura observamos una mayor dispersión de los NH, junto con un desplazamiento a campo mayor, lo que puede indicar la formación de enlaces de hidrógeno y por tanto el plegamiento del péptido **75c** en una estructura secundaria (Figura 73).

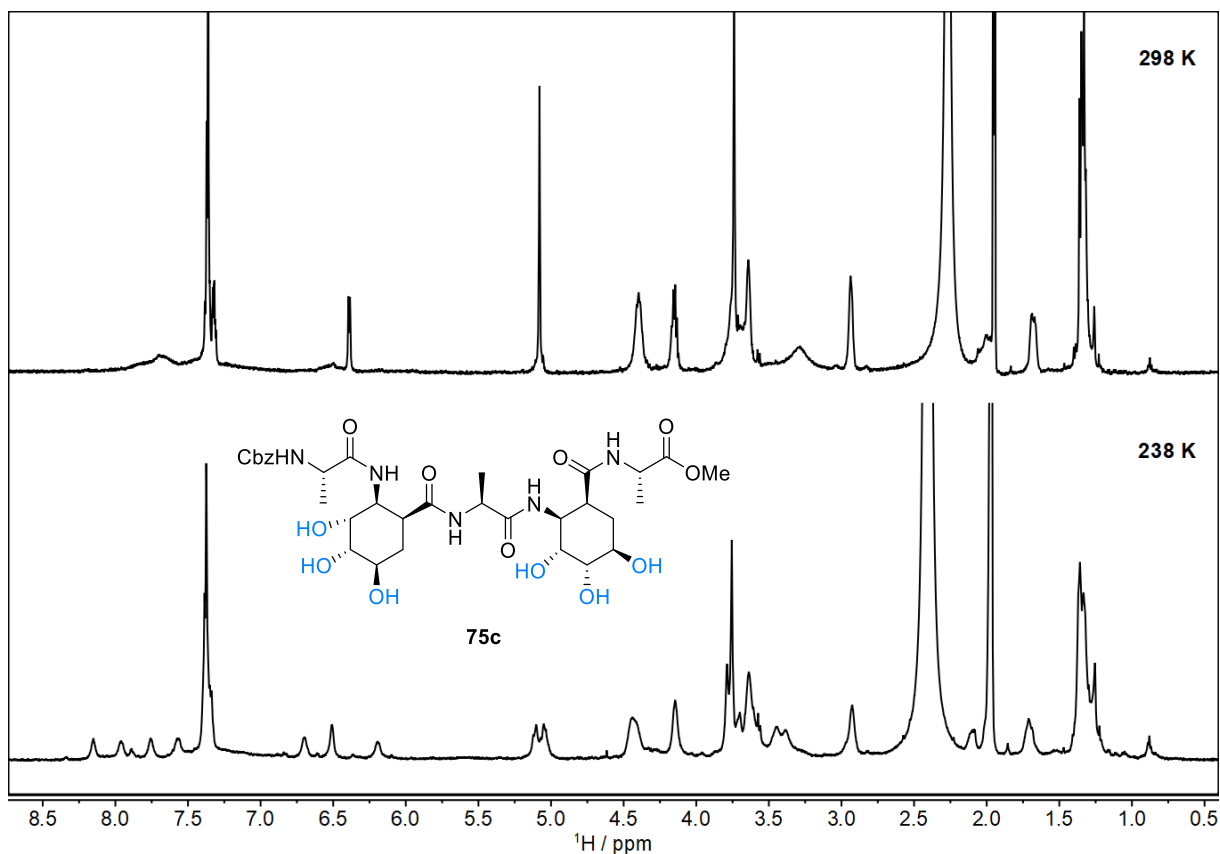


Figura 73. RMN- ^1H monodimensional del pentapéptido **75c** en MeCN-d_3 a 298 K (arriba) y 238 K (abajo).

El apilamiento de los NH en el espectro monodimensional a temperatura ambiente hace inviable el estudio de los coeficientes de temperatura, por lo que se decidió realizar directamente un estudio de los NOEs presentes en disolución a 238 K.

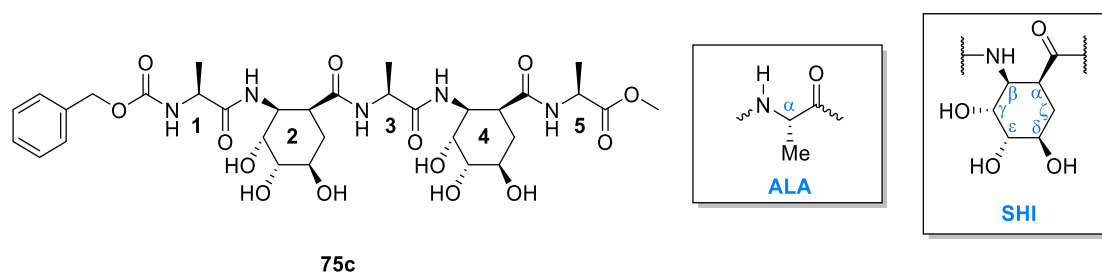


Figura 74. Pentapéptido **75c** con los residuos numerados del 1-5 desde el extremo N-terminal al C-terminal (izquierda). Nomenclatura para los protones utilizada para la asignación (derecha).

Para ello, en primer lugar, asignamos las señales de NH, H_α y H_β (Figura 74) utilizando una combinación de TOCSY, HSQC y ROESY. Éstas están recogidas en la Tabla 11.

residuo	HN	H β	H α	H γ	H ϵ	H δ	H ζ 1-H ζ 2
1	6.51	1.36 (CH ₃)	4.15	—	—	—	—
2	7.96	4.48	2.92	3.71	3.78	2.40	2.10-1.68
3	8.15	1.32 (CH ₃)	4.15	—	—	—	—
4	7.56	4.43	2.95	3.62	3.79	2.40	2.00-1.71
5	7.76	1.34 (CH ₃)	4.44	—	—	—	—

Tabla 11. Asignaciones del péptido **75c** en acetonitrilo- d_3 ($T = 238$ K).

Una vez asignadas las señales de RMN del compuesto **75c**, se llevó a cabo un experimento ROESY para poder determinar las señales de NOE presentes. Lamentablemente en el ROESY solo se observan picos de cruce correspondientes a interacciones intraresiduo, lo cual hizo descartar cualquier tipo de estructuración secundaria de **75c** en MeCN (Figura 75).

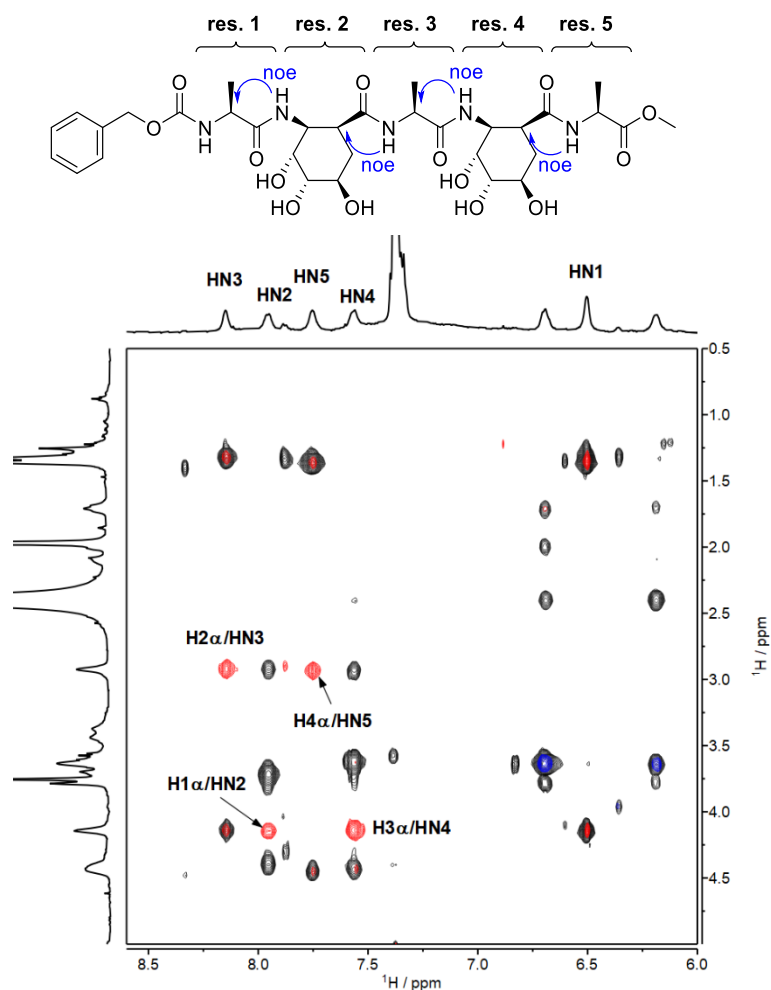


Figura 75. Superposición de los espectros ROESY (rojo/azul, t_{mix} 400 ms) y TOCSY (negro, t_{mix} 60 ms) del péptido **75c** (CD_3CN , 600 MHz, 238 K). Expansión de la región (H α +H β)/HN.

La falta de evidencias de una estructuración secundaria del compuesto **75c** en MeCN nos llevó a realizar un estudio de RMN de este en MeOH- d_3 . De manera similar al caso anterior, en primer lugar, se asignaron las señales usando una combinación de TOCSY y ROESY, lo que aparece recogido en la Tabla 12. Estas medidas se realizaron a 45 °C ya que es la temperatura a la cual se encontró una mayor dispersión las señales de NH de amida.

residuo	HN	H β	H α	H γ	H ϵ	H δ	H ζ_1 -H ζ_2
1	7.18	1.37 (CH $_3$)	4.22	—	—	—	—
2	7.93	4.48	3.05	3.93	3.79	3.70	2.08-1.79
3	8.17	1.38 (CH $_3$)	4.33	—	—	—	—
4	7.58	4.46	3.08	3.95	3.77	3.70	2.09-1.80
5	8.22	1.41 (CH $_3$)	4.44	—	—	—	—

Tabla 12. Asignaciones del péptido **75c** en metanol- d_3 ($T = 318$ K).

De igual manera que en el caso anterior, una vez asignadas las señales de RMN del compuesto **75c** en MeOH- d_3 se llevó a cabo un experimento NOESY para poder determinar las señales de NOE presentes. De nuevo en el espectro de NOESY (Figura 76) únicamente se observan NOE intraresiduo, lo que descarta una estructuración como hélice-11/9 del pentapéptido **75c** en metanol.

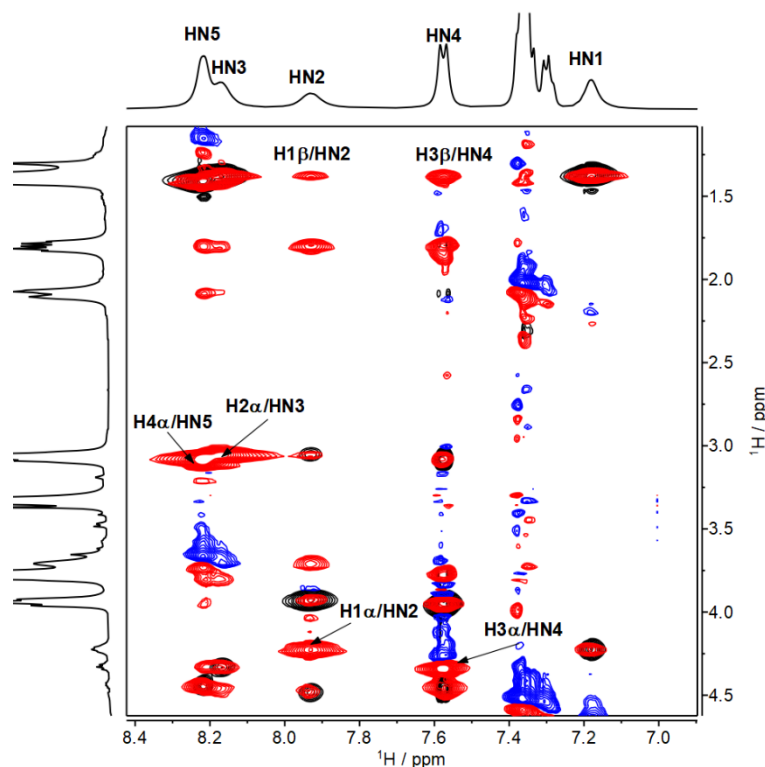


Figura 76. Superposición del espectro de NOESY (rojo/azul, t_{mix} 500 ms) y de TOCSY (negro, t_{mix} 60 ms) del péptido **75c** (MeOH- d_3 , 500 MHz, 318 K). Expansión de la región (H α +H β)/HN.

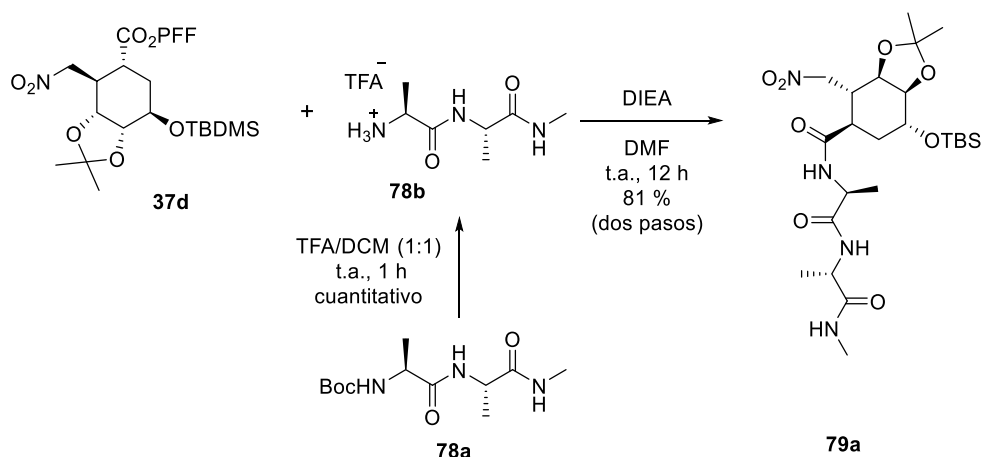
La ausencia de señales NOE interresiduo puede llevarnos a la conclusión de que tal vez la dispersión de las señales de los NH de amida en el espectro monodimensional de RMN- 1H

pueda deberse a una conformación de hélice extendida que no da un patrón de NOE típico de hélice 11/9, ni de ninguna otra estructura. Esto, además, permitiría explicar los datos sobre una posible estructuración secundaria obtenidos en los experimentos de FTIR y de CD.

3.3 HETEROOLIGÓMEROS DE α -AMINOÁCIDOS Y ÁCIDOS 2-AMINOMETILCICLOHEXANO-CARBOXÍLICOS

3.3.1 Síntesis de los hexapéptidos **81a**, **81b** y **81c**

De acuerdo con el plan de trabajo de este objetivo de la tesis doctoral, se abordó en primer lugar la síntesis de los hexapéptidos **81a**, **81b** y **81c**. Para ello se llevó a cabo un acoplamiento peptídico del dímero de alanina **78b** con el éster de pentafluorofenol del *trans*- γ -Shi **37d** (Esquema 18). Para ello se retiró el grupo *tert*-butoxicarbonilo *N*-terminal del dímero de BocHN-AlaAla-NHMe comercial **78a** al tratarlo con una mezcla TFA/H₂O (1:1). La sal de TFA obtenida se acopló con el éster de pentafluorofenol **37d**, obtenido previamente en nuestro grupo de investigación,³⁴ lo que condujo al tripéptido **79a** con un 81 % de rendimiento.

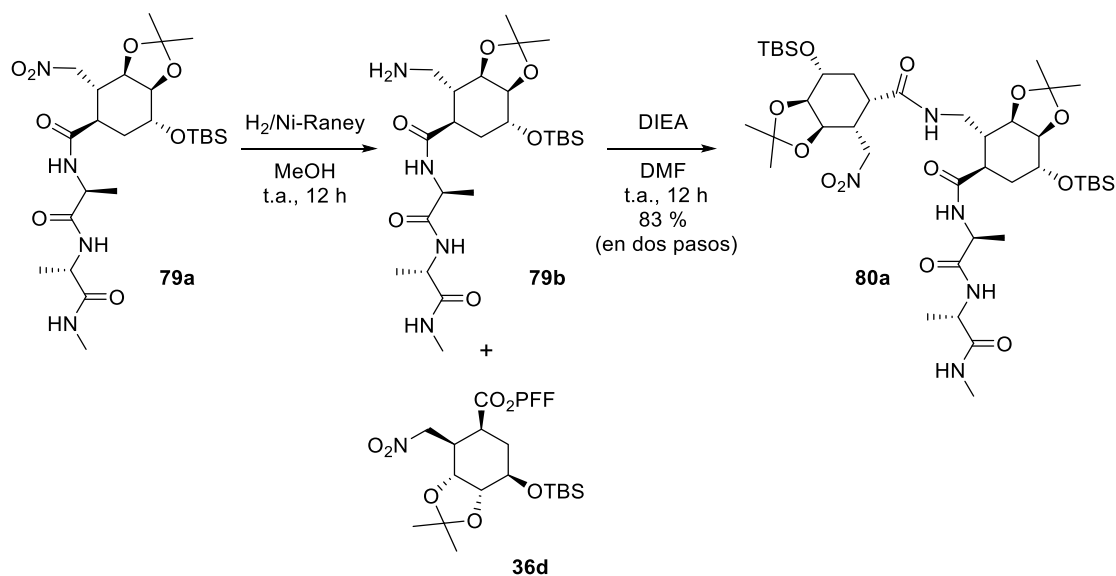


Esquema 18. Síntesis del tripéptido **79a**.

Este compuesto se pudo identificar fácilmente gracias a sus propiedades espectroscópicas y espectrométricas. Destacan en su espectro de RMN-¹H dos singletes a 0.09 ppm y 0.89 ppm, debidos a los grupos Si(CH₃)₂ y SiC(CH₃)₃, respectivamente, así como, un doblete a 2.82 ppm correspondiente al grupo NCH₃, un singlete a 6.10 ppm y dos dobletes a 6.32 y 6.65 ppm, debidos a los protones de sus grupos NH de amida. En su espectro de RMN-¹³C se observan una señal a 18.0 ppm correspondiente al C cuaternario del grupo *tert*-butilo y las dos señales a 172.0 y 172.8 ppm correspondientes a los tres grupos carbonilo de amida. Su espectro de masas de alta resolución muestra una señal con relación m/z = 545.3014 [M+H]⁺ (valor teórico, m/z = 545.2972), que confirmó su fórmula molecular C₂₄H₄₄N₄O₈Si. Por último, su espectro de IR muestra bandas a 1531, 1660, 1687 y 1734 cm⁻¹ correspondientes los grupos carbonilo y una banda ancha a 3306 cm⁻¹ correspondiente a sus grupos NH.

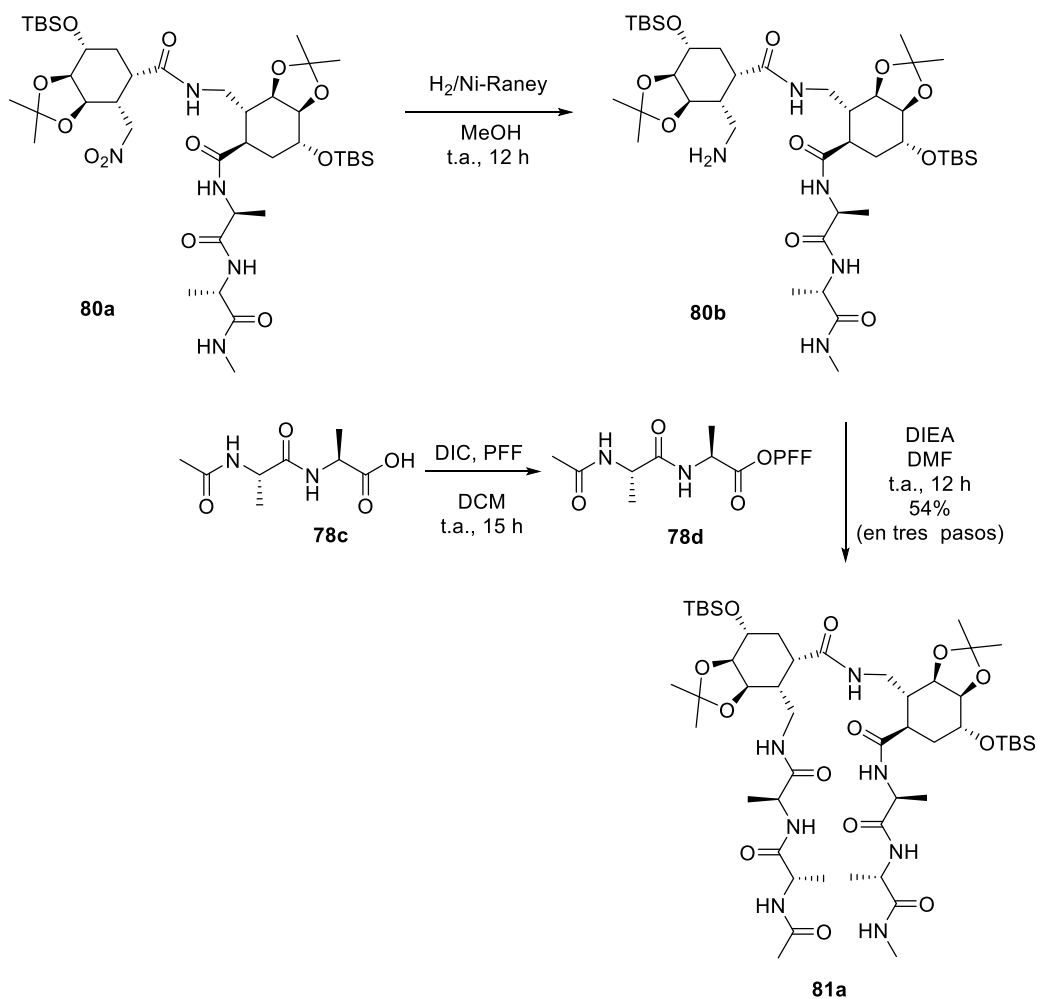
El siguiente paso de la síntesis, recogido en el Esquema 19, consistió en el acoplamiento de una unidad del éster de pentafluorofenol *cis*- γ -Shi **36d** (preparado anteriormente en nuestro grupo de investigación) al extremo *N*-terminal del tripéptido **79a**.

Para ello el grupo nitro del tripéptido **79a** se sometió a una reacción de hidrogenación catalítica, utilizando Ni-Raney como catalizador, para dar lugar a la amina **79b**, que se hizo reaccionar directamente con el éster de pentafluorofenol **36d** en las condiciones del Esquema 19, permitiendo esto obtener el tetrapéptido **80a** con un rendimiento del 83%.

Esquema 19. Síntesis del terapéutico **80a**.

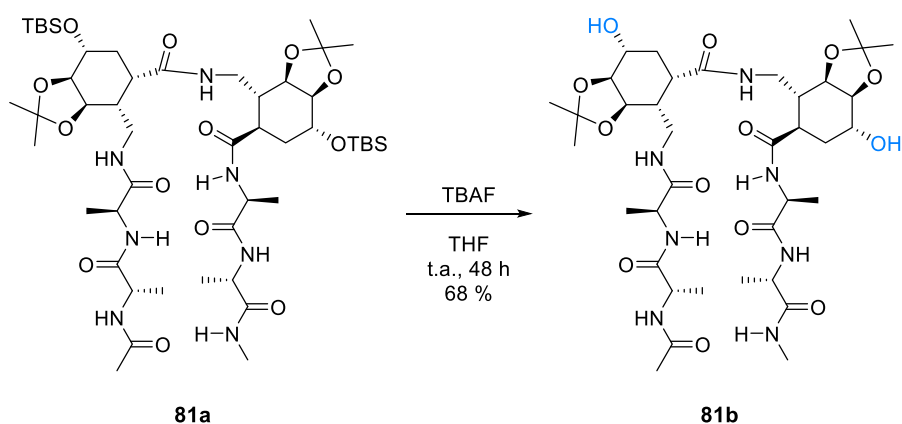
El tetrapéptido **80a** también se caracterizó de acuerdo con sus propiedades espectroscópicas y espectrométricas. En su espectro de $\text{RMN-}^1\text{H}$, destacan cuatro señales correspondientes a los grupos metilo de los éteres de silicio del grupo protector TBS a 0.05, 0.08, 0.09 y 0.11 ppm y dos señales de sus grupos *terc*-butilos unidos al silicio de los grupos TBS a 0.86 y 0.89 ppm. También cuatro señales a campo bajo pertenecientes a los cuatro protones de sus grupos NH de amida, un singlete a 6.82 ppm y tres dobletes a 6.85, 6.99 y 7.52 ppm. En su espectro de $\text{RMN-}^{13}\text{C}$ se pueden observar las señales correspondientes a los carbonos cuaternarios de sus grupos *terc*-butilo a 18.1 y 18.2 ppm, así como las cuatro señales correspondientes a los cuatro grupos carbonilo de amida a 172.1, 172.8, 173.3 y 174.7 ppm. La fórmula molecular del tetrapéptido $\text{C}_{41}\text{H}_{75}\text{N}_5\text{O}_{12}\text{Si}_2$ fue confirmada a través de su espectro de masas de alta resolución, que muestra una señal con relación $m/z = 886.5024$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ (valor teórico $m/z = 886.5020$). En su espectro de IR muestra bandas a 1553 y 1630 cm^{-1} , correspondiente a sus grupos carbonilo, y una señal ancha a 3301 cm^{-1} correspondiente a los grupos NH de la molécula.

Para obtener el primero de los hexámeros deseados (**81a**) se llevó a cabo un último acoplamiento peptídico entre el éster de pentafluorofenol de la AcN-AlaAla comercial **78d** y la amina **80b** (obtenida mediante hidrogenación catalítica del tetrapéptido **80a** utilizando Ni-Raney como catalizador) utilizando DIC como agente acoplante y DIEA como base. De esta manera se obtuvo el hexapéptido **81a** con un 54 % de rendimiento que pudo ser caracterizado por sus propiedades espectroscópicas y espectrométricas. En su espectro de $\text{RMN-}^1\text{H}$ destacan las señales a 7.31, 7.70, 7.83, 8.01, 8.18, 8.27 y 8.84 ppm que corresponden a los siete NH de amida. Su espectro de masas de alta resolución muestra una señal con relación $m/z = 1062.5949$. $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (valor teórico $m/z = 1062.5948$), lo cual confirma la fórmula molecular del compuesto como $\text{C}_{49}\text{H}_{89}\text{N}_7\text{NaO}_{13}\text{Si}_2$. Su espectro de FTIR muestra unas bandas a 1535, 1547 y 1633 cm^{-1} correspondientes a los grupos carbonilo de la molécula y una banda ancha a 3288 cm^{-1} correspondiente a sus grupos NH.



Esquema 20. Síntesis del hexapéptido **81a**.

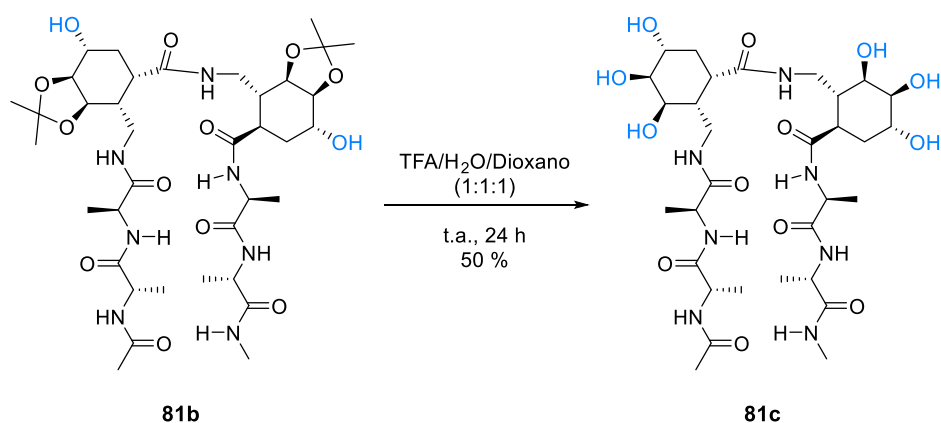
La desprotección selectiva de los grupos hidroxilo de **81a** protegidos como TBS se llevó a cabo tratando este hexapéptido con TBAF en THF seco durante 48 h a temperatura ambiente (Esquema 21). Se obtuvo de esta manera el hexapéptido **81b** con un rendimiento del 68 %.



Esquema 21. Síntesis del hexapéptidos **81b**.

Este compuesto pudo caracterizarse a partir de sus propiedades espectroscópicas y espectrométricas, entre las que destaca en su espectro de RMN-¹H la ausencia de las señales a campo alto de los grupos TBS (que parecían entre 0–0.12 ppm en el espectro de RMN-¹H de su precursor **81a**) y las señales a 6.67, 6.96, 6.98, 7.05, 7.10, 7.39 y 7.69 ppm que corresponden a sus siete NH de amida. Su fórmula molecular C₃₇H₆₁N₇O₁₃ se confirmó a través de su espectro de masas de alta resolución que muestra una relación m/z = 834.4220 [M+Na]⁺ (valor teórico m/z = 834.4241). Su espectro de IR muestra bandas a 1543 y 1647 cm⁻¹ correspondientes a sus grupos carbonilo y una banda ancha a 3302 cm⁻¹ correspondiente a los grupos NH de la molécula.

Finalmente se llevó a cabo la desprotección de los grupos hidroxilos restantes de **81b**, protegidos como acetónidos (Esquema 22). Ésta se llevó a cabo tratando este hexapéptido con TFA/H₂O/Diox (1:1:1) a temperatura ambiente durante 24 h, lo que nos condujo al hexapéptido **81c** con los seis grupos OH desprotegidos, con un rendimiento del 50 %.



Esquema 22. Síntesis del hexapéptidos **81c**.

Este compuesto también pudo ser caracterizado de acuerdo con sus propiedades espectroscópicas y espectrométricas. En su espectro de RMN-¹H destacan las señales a 7.57 (NH), 7.73 (2xNH), 7.94 (2xNH), 8.05 (2xNH) ppm, correspondientes a sus siete NH de amida. Su fórmula molecular C₃₁H₅₄N₇O₁₃ se confirmó a través de su espectro de masas de alta resolución que muestra una relación m/z = 732.3774 [M+Na]⁺ (valor teórico m/z = 732.3776). Su espectro de IR muestra bandas a 1541 y 1624 cm⁻¹ correspondientes a sus grupos carbonilo y una banda ancha a 3278 cm⁻¹ correspondiente a los grupos NH de la molécula.

3.3.2 Estudio estructural de los hexapéptidos **81a**, **81b** y **81c**

Siguiendo con nuestro plan de trabajo, después de sintetizar los tres hexapéptidos **81a**, **81b** y **81c**, se procedió realizar un estudio estructural, para determinar sus estructuras secundarias.

3.3.2.1 Estudio de Infrarrojo

Se midieron los espectros de FTIR de los tres hexapéptidos **81a** (CHCl₃), **81b** (MeCN y agua) y **81c** (agua). Los máximos de las bandas principales de vibración de amida para los tres pentapéptidos aparecen recogidos en la Tabla 13.

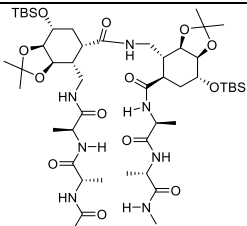
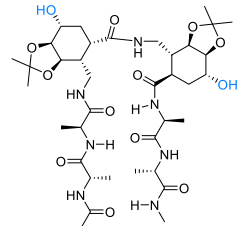
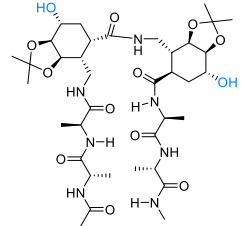
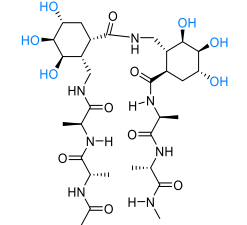
Estructura	Compuesto	Amida A	Amida I	Amida II
 <p>81a</p>	81a (CHCl ₃)	3287	1633	1542
 <p>81b</p>	81b (MeCN)	3302	1648	1544
 <p>81b</p>	81b (H ₂ O)	3288	1643	1538
 <p>81c</p>	81c (H ₂ O)	3343	1657	1555

Tabla 13. Máximo (cm⁻¹) de las bandas características de Amida A, Amida I y Amida II para los compuestos **81a**, **81b** y **81c**.



El espectro IR del péptido **81a** en CHCl₃ muestra grandes desplazamientos hacia el rojo de las bandas Amida A y Amida I, y un desplazamiento hacia el azul de la banda Amida II en

relación con el péptido **81c**. Esto concuerda con la presencia de fuertes enlaces de hidrógeno intramoleculares en el péptido **81a** y la ausencia de tales enlaces de hidrógeno en el péptido **81c** (Tabla 10 y Figura 76). El compuesto **81b** se estudió en acetonitrilo y en agua, pero el desplazamiento de frecuencia de sus bandas es menos concluyente en cuanto a la presencia de enlaces de hidrógeno.

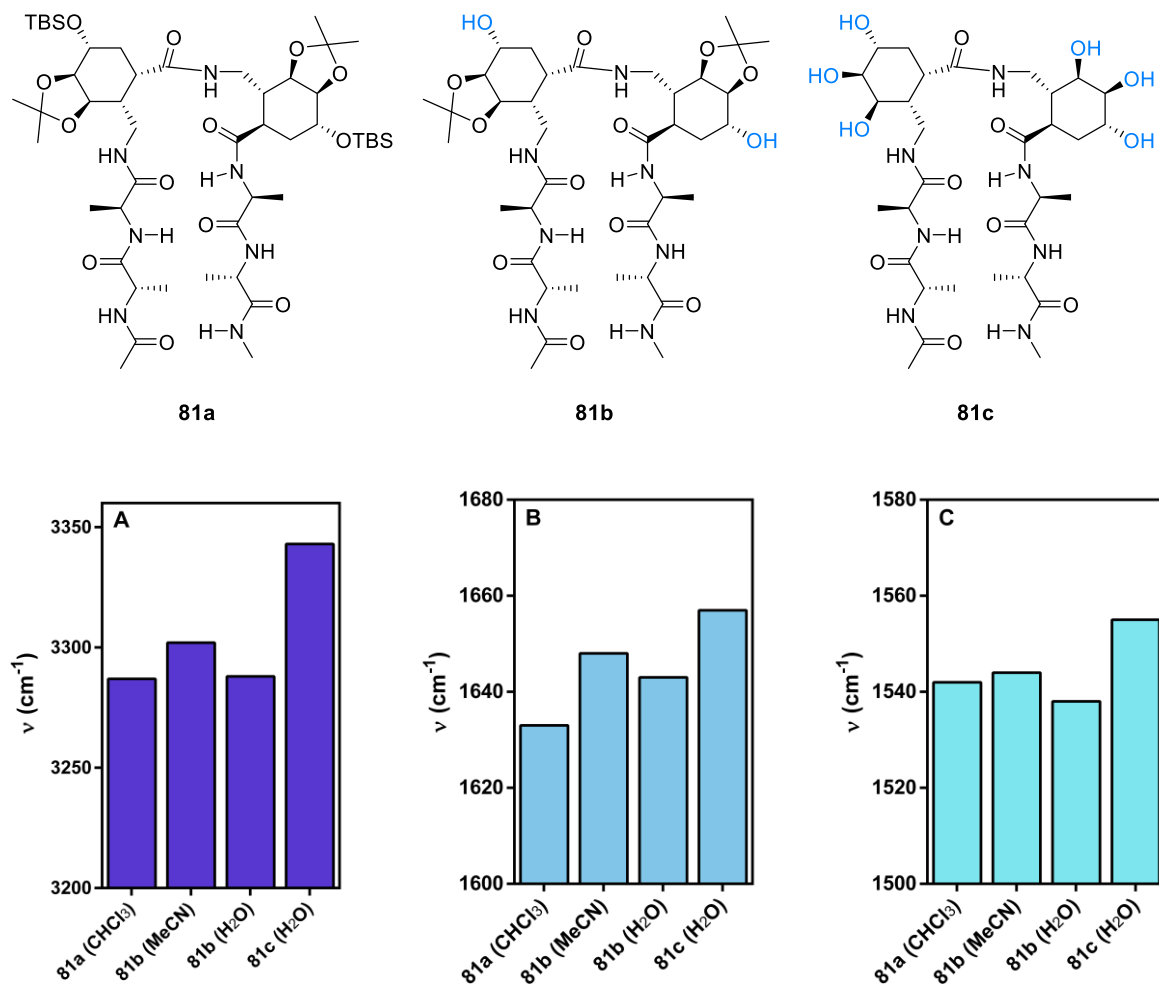


Figura 77. $\bar{\nu}_{max}$ del espectro de FTIR de los péptidos **81a** (CHCl_3), **81b** (MeCN y H_2O), y **81c** (H_2O) en la región de: A. Amida A, B. Amida I y C. Amida II.

3.3.2.2 Estudio de Dicroísmo Circular

A continuación, se llevó a cabo un estudio de Dicroísmo Circular de los tres hexapéptidos en tres disolventes diferentes: MeOH, MeCN y H₂O.

En MeOH los tres hexapéptidos presentan un espectro de CD muy similar, con dos bandas negativas una a 208 y otra a 227 nm para **81a** y **81c**, y una a 213 y otra 226 nm para **81b** (Figura 78), lo que parece indicar que en los tres hexapéptidos comparten una estructura secundaria común en este disolvente.

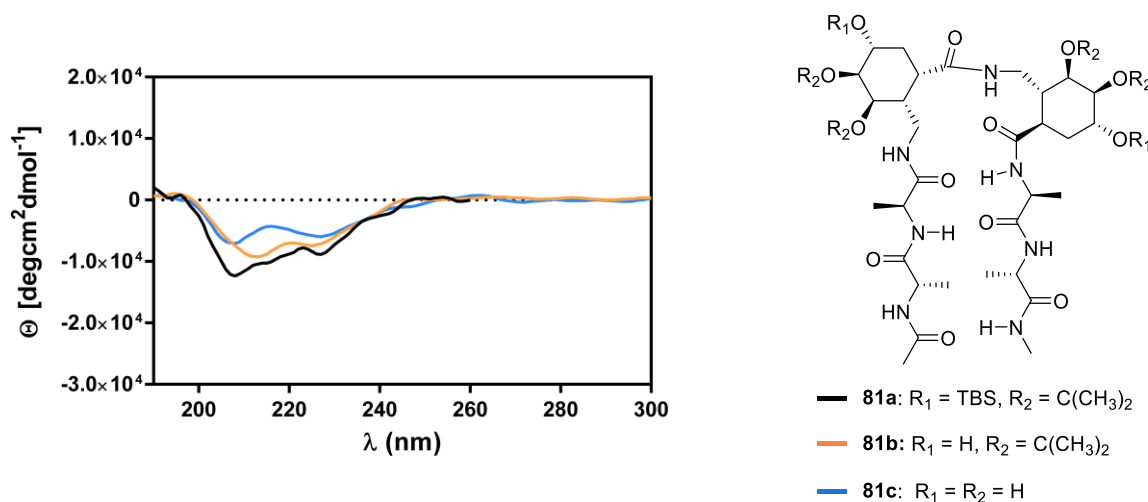


Figura 78. Espectro de Dicroísmo Circular de los péptidos **81a**, **81b** y **81c** (1 mM, 25 °C) en metanol.

Los espectros de CD de los compuestos **81a** y **81b** en acetonitrilo (**81c** es insoluble en acetonitrilo) muestran una banda positiva a 190 nm y una banda negativa más intensa a 220 nm, que es característica de péptidos con estructura secundaria de horquilla (Figura 79).⁹⁶

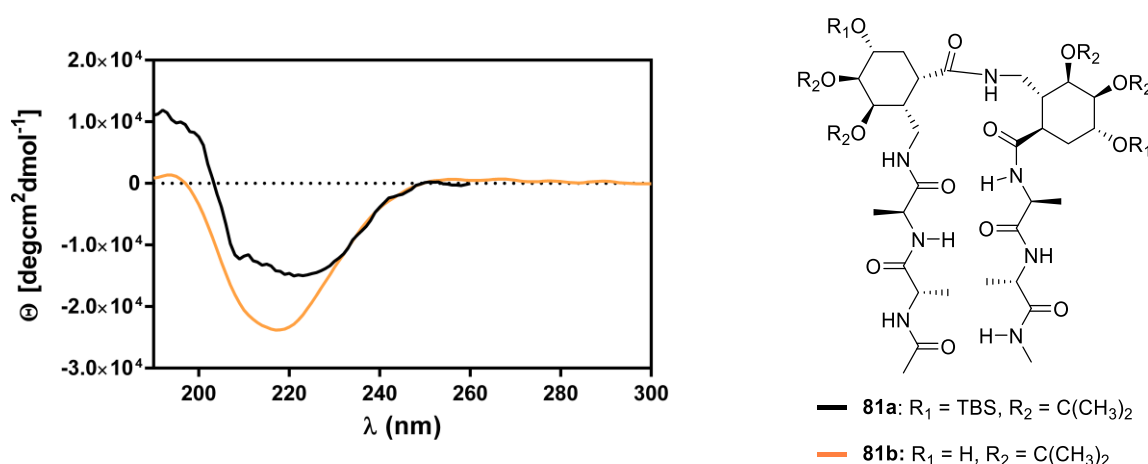


Figura 79. Espectro de Dicroísmo Circular de los péptidos **81a** y **81b** (1 mM, 25 °C) en acetonitrilo.

Por último, se realizó un estudio de **81b** y **81c** en H₂O (**81a** es insoluble en H₂O) observándose que tanto **81b** como el **81c** presentan espectros de CD muy similares. El

hexapéptido **81b**, con dos OH libres, presenta una banda positiva a 220 nm y una negativa a 205 nm a 1 mM, mientras que el hexapéptido **81c**, con todos sus OH libres, presenta una banda positiva a 220 nm y una negativa a 204 nm a 1 mM (Figura 80). Ambos espectros típicos de péptidos con una estructura secundaria extendida.

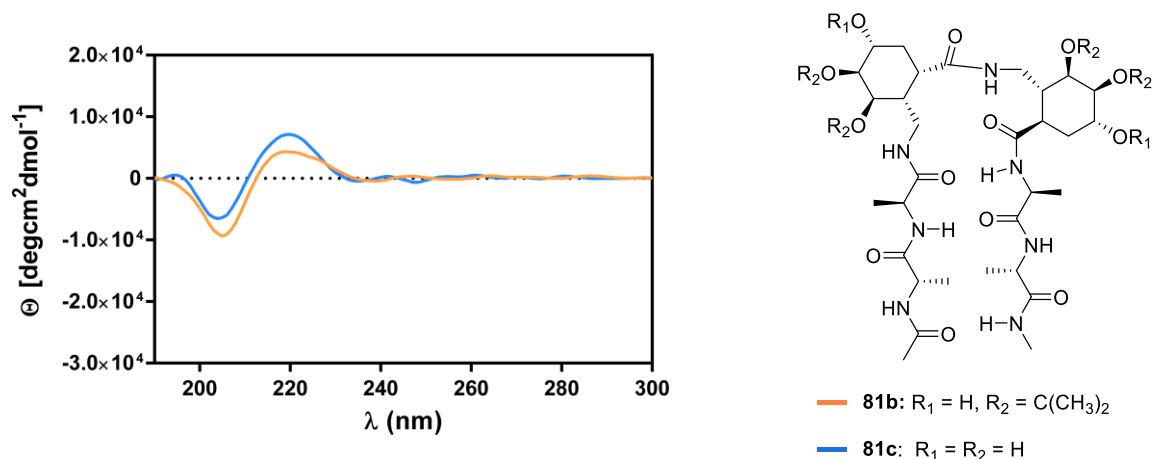


Figura 80. Espectro de Dicroísmo Circular de los péptidos **81b** y **81c** (1 mM, 25 °C) en agua.

A la vista de los resultados obtenidos en el estudio de CD, parece claro que nuestros péptidos se estructuran en forma de giro peptídico en acetonitrilo, pero que esta estructura desaparece en agua.

Para poder confirmar esta observación llevamos a cabo un estudio de RMN de los tres hexapéptidos **81a**, **81b** y **81c** cuyos resultados mostramos a continuación.

3.3.2.3 Estudio de RMN de los péptidos **81a**, **81b** y **81c**

En primer lugar, se llevó a cabo un estudio de RMN- ^1H monodimensional de los tres hexapéptidos **81a** en CDCl_3 , **81b** en CD_3CN y **81c** en $\text{DMSO}-d_6$:

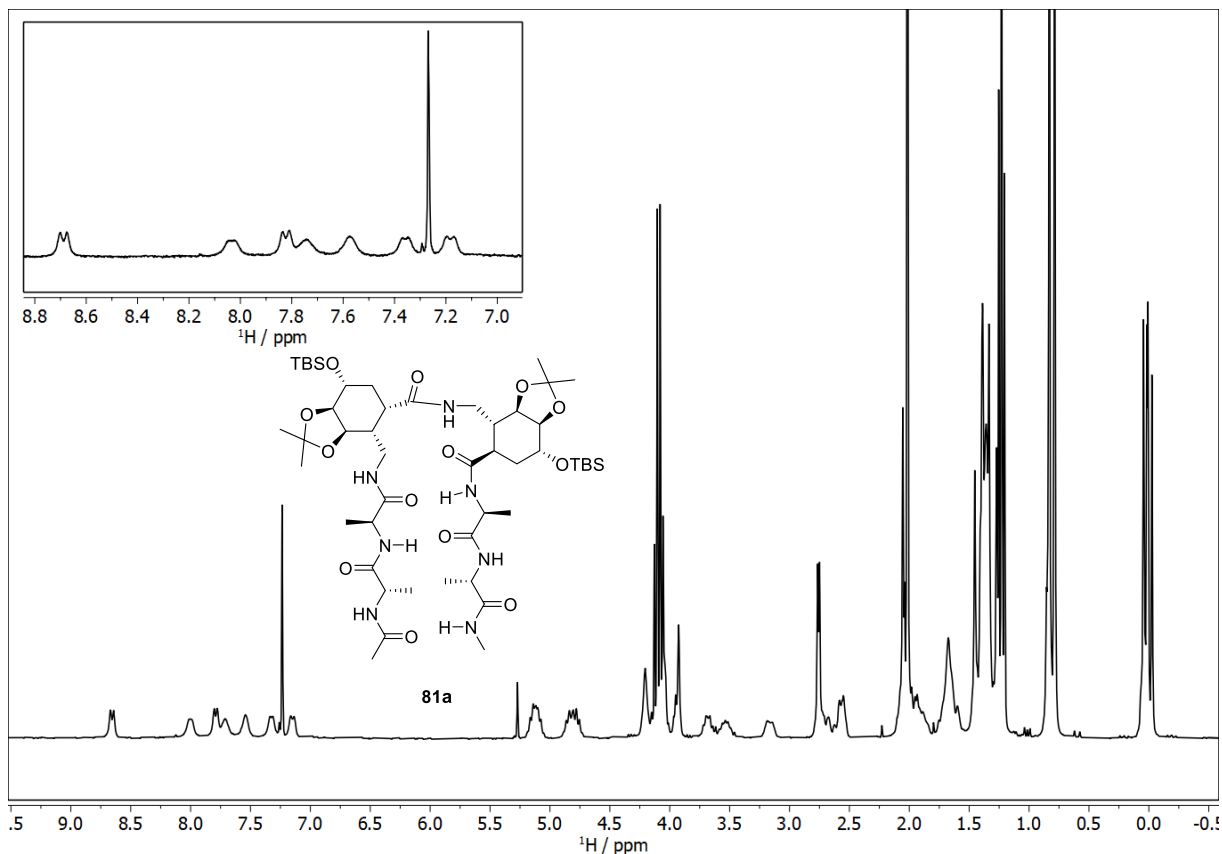


Figura 81. RMN- ^1H del péptido **81a**, 1 mM en CDCl_3 (500 MHz).

Como puede observarse en la Figura 81, el hexámero **81a** presenta un único conjunto de señales de NH de amida en su espectro RMN- ^1H en CDCl_3 , lo cual es un indicativo de la presencia de una única estructura secundaria en disolución. Además, la dispersión de las señales de amida, junto con el desplazamiento de estas a campo bajo parece indicar la presencia de enlaces de hidrógeno, lo que concuerda con los resultados obtenidos de los estudios de FTIR y CD.

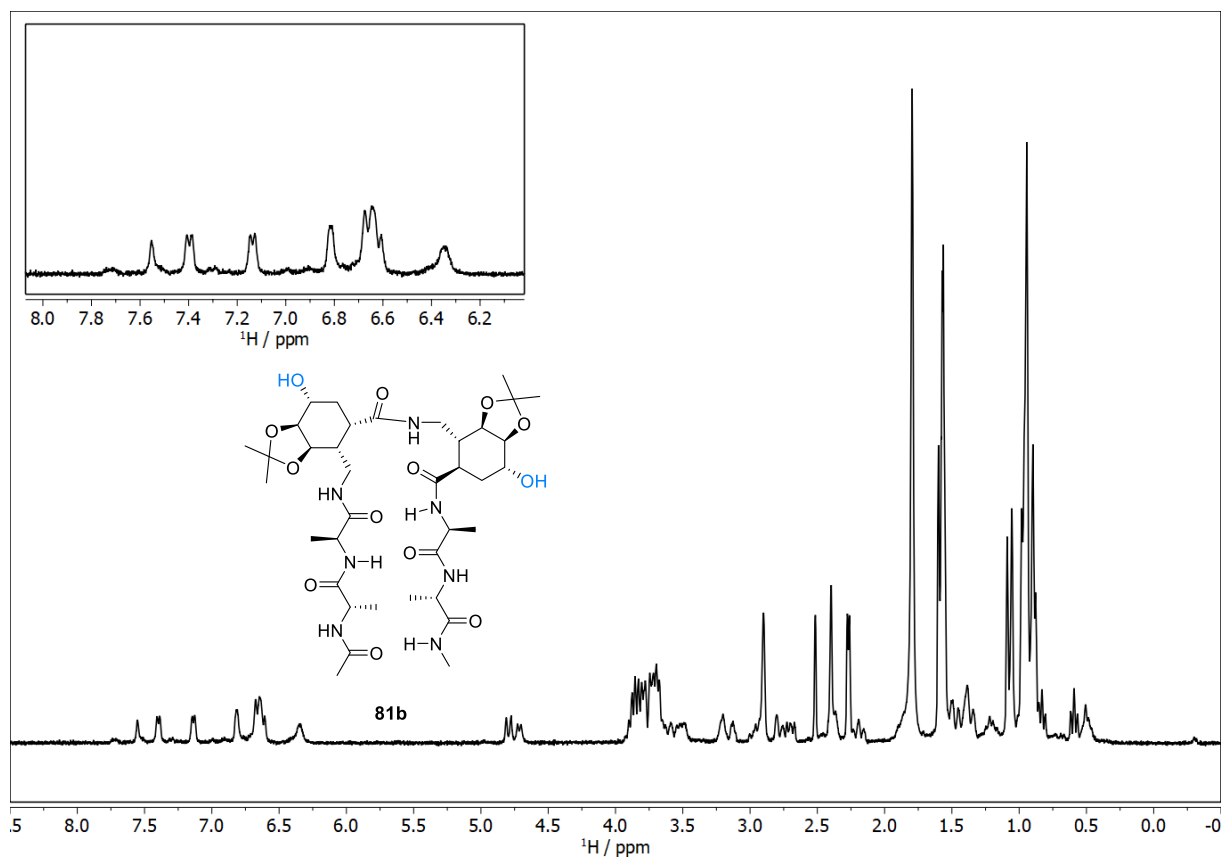


Figura 82. RMN- ^1H del péptido **81b**, 1 mM en CD_3CN (500 MHz).

En el caso del compuesto **81b** (Figura 82), vemos en su espectro de RMN- ^1H muestra una buena dispersión de las señales de amida y su desplazamiento a campo bajo, por lo que probablemente tenga una estructura secundaria estable en disolución. Lo cual también concuerda con los datos de FTIR y CD anteriormente expuestos.

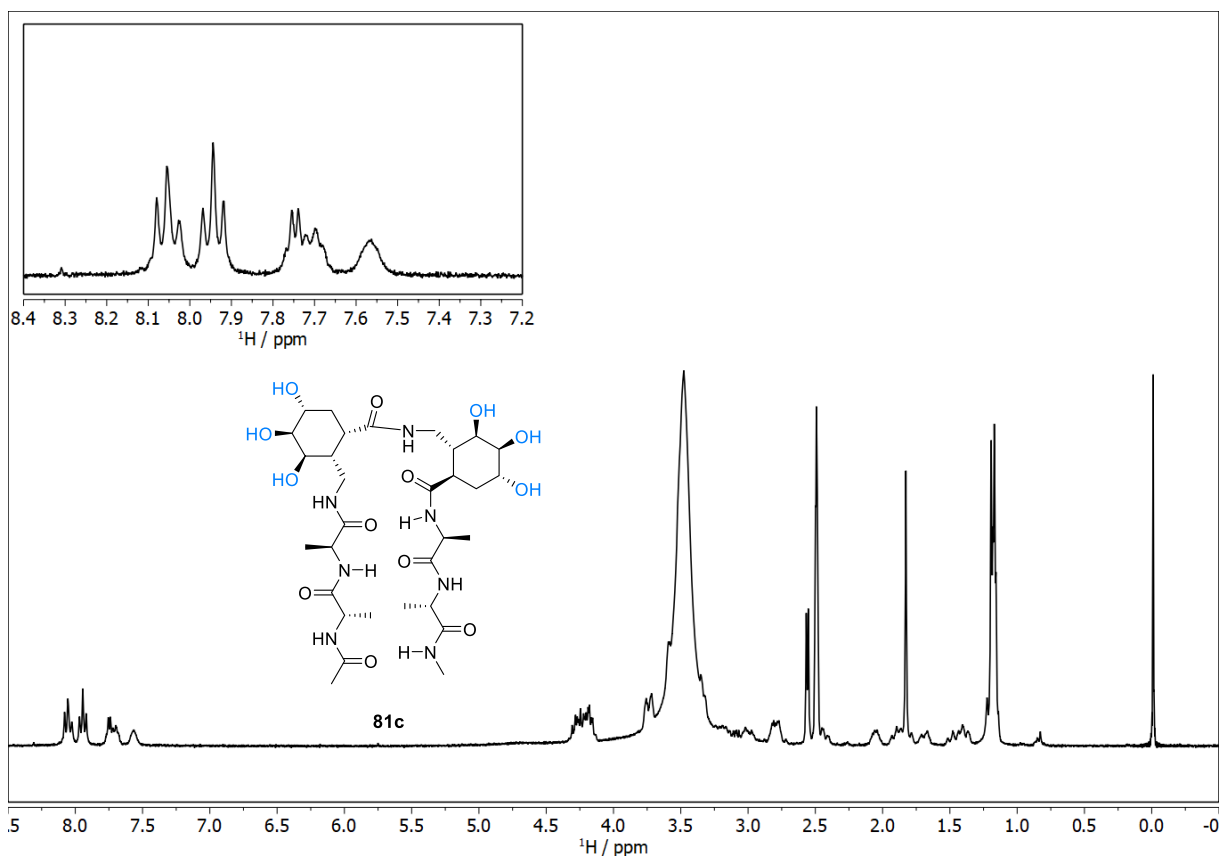


Figura 83. RMN- ^1H del péptido **81c**, 1 mM en DMSO- d_6 (500 MHz).

El caso del hexapéptido **81c** (Figura 83) es diferente al de **81a** y **81b** ya que también presenta un espectro de RMN- ^1H con un único conjunto de señales, pero estas aparecen solapadas. Esto puede indicar que el entorno químico de todos sus NH es muy similar, lo cual es un claro signo de la ausencia de estructuración en disolución.

Los resultados de los estudios de FTIR, CD y RMN monodimensional concuerdan con una estructura secundaria en disolución de los hexapéptidos **81a** y **81b**. Mientras que la desprotección total de los grupos hidroxilo parece desestabilizar la estructura secundaria de estos péptidos. De manera que, para poder confirmar estos resultados y determinar el tipo de plegado de estos péptidos se llevó a cabo un estudio de RMN más exhaustivo, el cual se describe a continuación para cada uno de los tres hexapéptidos.

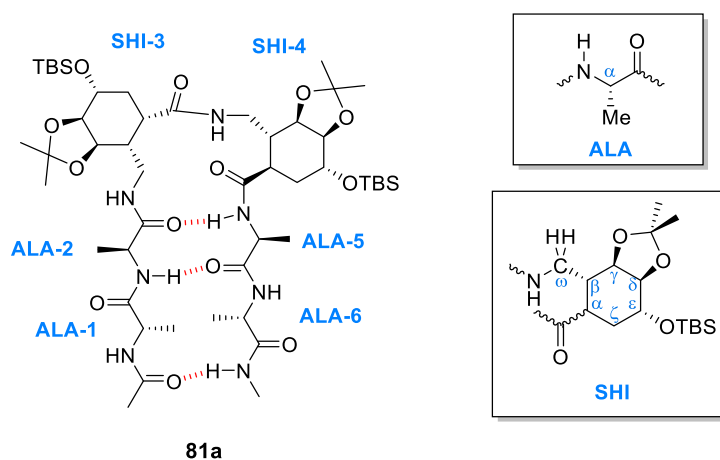
3.3.2.3.1 Estudio de RMN del hexapéptido **81a**

Figura 84. Hexapéptido **81a** con los residuos numerados del 1-6 desde el extremo N-terminal al C-terminal (izquierda). Nomenclatura para los protones utilizada para la asignación (derecha).

En primer lugar, se asignaron las señales de NH, H α y H β utilizando una combinación de TOCSY, ROESY, HSQC y HMBC, lo que aparece recogido en la Tabla 14.

residuo	HN	H γ (ω)	H β	H α	otros
-COCH ₃	—	—	—	—	2.13 (CH ₃)
1	7.70	—	—	5.28	1.38 (CH ₃)
2	8.84	—	—	5.05	1.45 (CH ₃)
3	8.18	3.64/3.16	2.10	2.61/1.75	1.31 (CH ₃), 1.43 (CH ₃), 1.66/2.06 (H ζ), 3.98 (H ϵ), 4.06 (H γ) 4.26 (H δ)
4	7.31	4.28/2.76	1.95	2.71	1.39 (CH ₃), 1.51(CH ₃), 1.75/2.04 (H ζ), 3.74 (H ϵ), 3.98 (H γ) 4.17 (H δ)
5	8.27	—	—	5.26	1.39 (CH ₃)
6	8.01	—	—	4.95	1.44 (CH ₃)
-HN-CH ₃	7.83	—	—	—	2.81(CH ₃)
OTBS	—	—	—	—	0–0.12 (Si(CH ₃) ₃), 0.89/0.83 (C(CH ₃) ₃)

Tabla 14. Asignaciones de las señales del péptido **81a** en CDCl₃ (T = 298 K).

Una vez asignadas las señales se realizó un estudio de coeficientes de temperatura y de ROESY para determinar la estructura secundaria de este pentapéptido **81a**.

- Coeficientes de Temperatura (T-coef) del pentapéptido **81a**

El estudio del compuesto **81a** se llevó a cabo en CDCl₃ a c = 1 mM, en un rango de temperaturas desde 5 a 35 °C tomando una medida cada intervalo de 5 °C (Figura 85). Los datos obtenidos de estos experimentos junto con los T-coef de NH de amida aparecen recogidos en la Tabla 15.

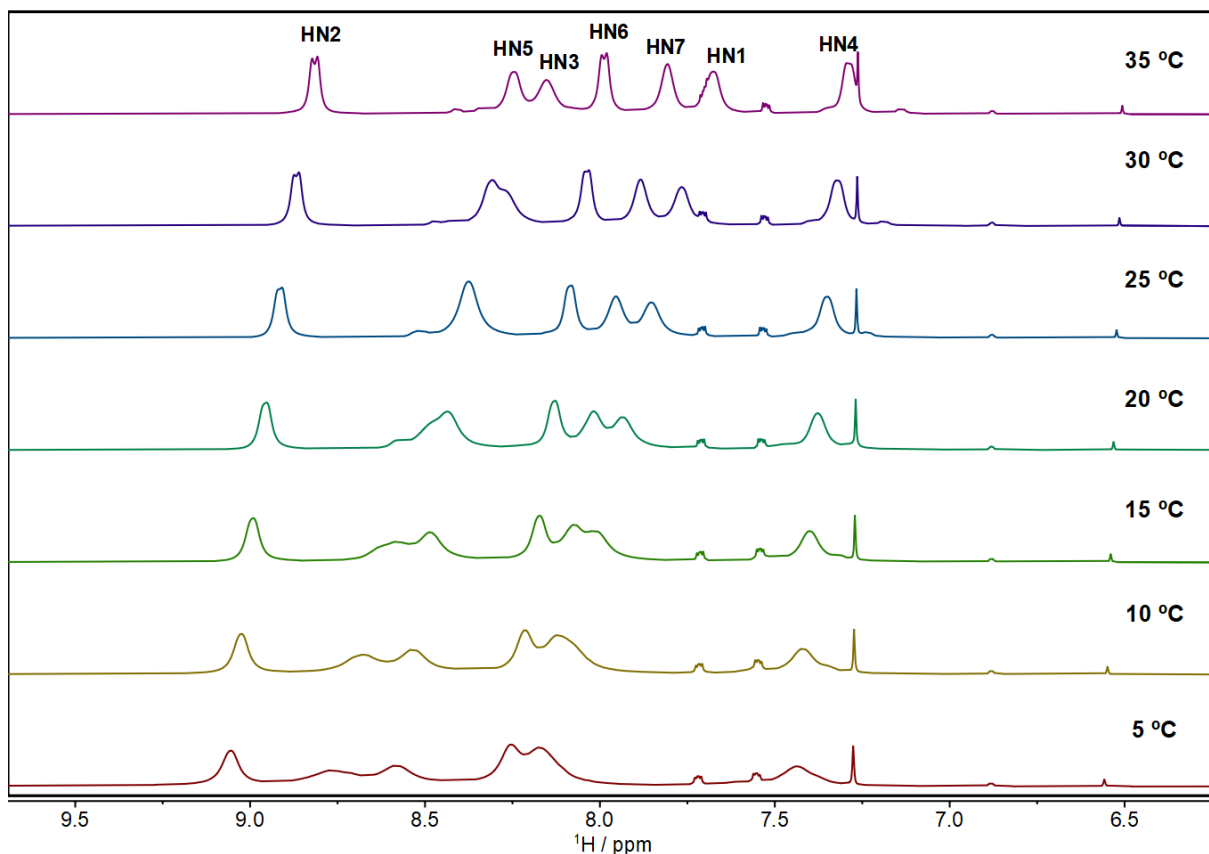


Figura 85. Espectro de RMN-TV del hexapéptido **81a** en CDCl_3 (500 MHz). Temperaturas, de abajo hacia arriba, desde 5 hasta 35 °C en intervalos de 5 °C.

HN	δ_{max} (35 °C) / ppm	δ_{min} (5 °C) / ppm	Rango T / K	T-coef / ppb·K ⁻¹
H1	7.67	8.17	30	-16.7
H2	8.81	9.06	30	-8.3
H3	8.15	8.76	30	-20.3
H4	7.29	7.43	30	-4.7
H5	8.25	8.58	30	-11.0
H6	7.99	8.25	30	-8.7
H7	7.80	8.17	30	-12.3

Tabla 15. Coeficientes de temperatura del compuesto **81a**.

El único coeficiente de temperatura cercano a $-4 \text{ ppb}\cdot\text{K}^{-1}$ es el del NH4, lo que evidencia que está formando un enlace de hidrógeno. Mientras que el resto de NHs de amida parecen estar expuestos al disolvente.

Para poder determinar con más precisión la estructura secundaria se llevó a cabo un estudio de NOESY. El espectro de NOESY en CDCl_3 muestra contactos NOE entre NH_2/NH_5 , NH_4/NH_5 y $\text{H}\alpha_6/\text{NH}_2$, ambos compatibles con una estructura de giro- β (Figura 86 y Figura 87).

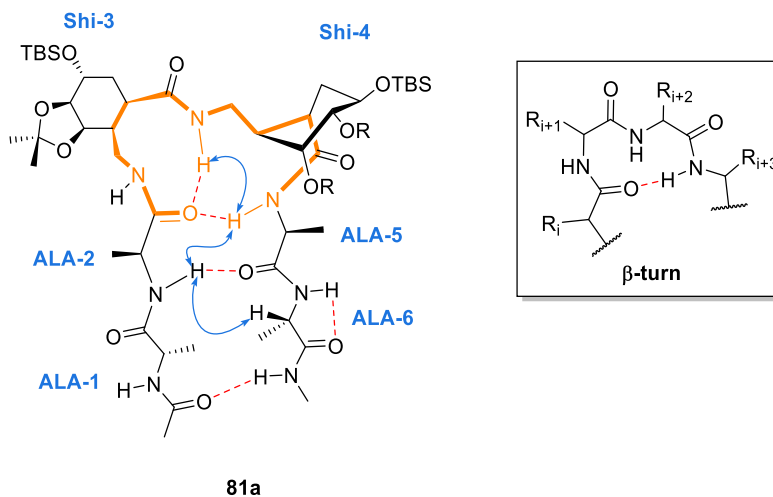


Figura 86. Estructura de giro- β del péptido 81a y sus interacciones de NOE.

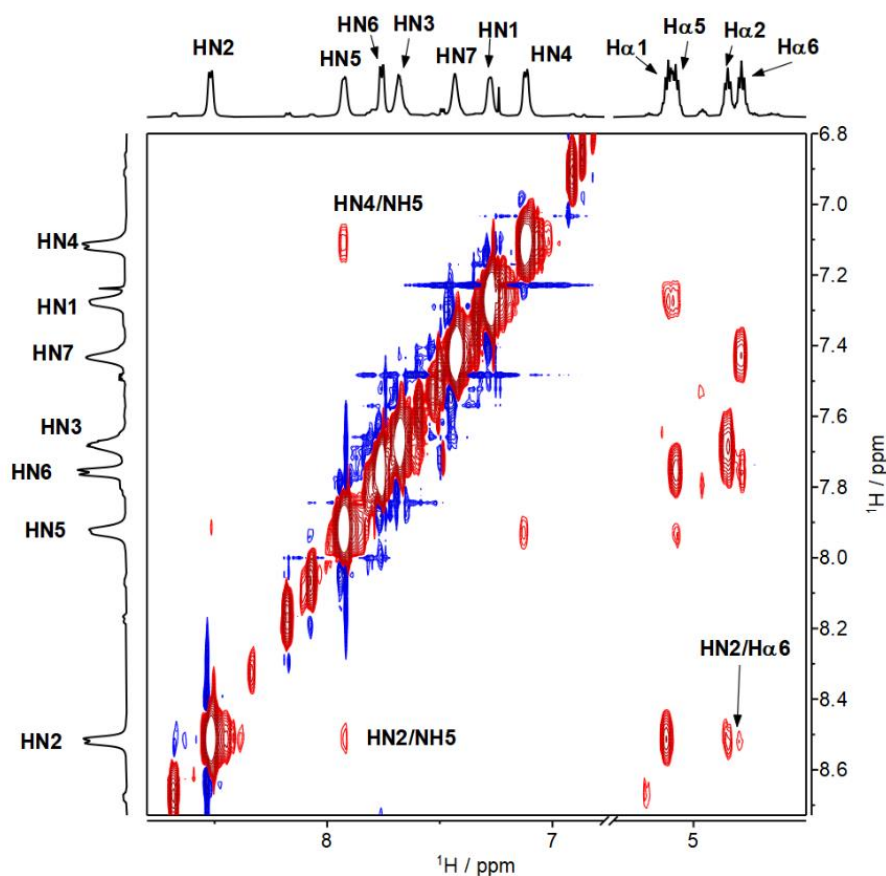


Figura 87. Ampliación de la región de NH de amida y Ha del péptido 81a ($t_{\text{mix}} = 400$ ms, CDCl_3 , 328 K, 600 MHz). Contactos NOE: NH_2/NH_5 , NH_4/NH_5 y $\text{NH}_2/\text{H}\alpha_6$.

3.3.2.3.2 Estudio de RMN del pentapéptido **81b**

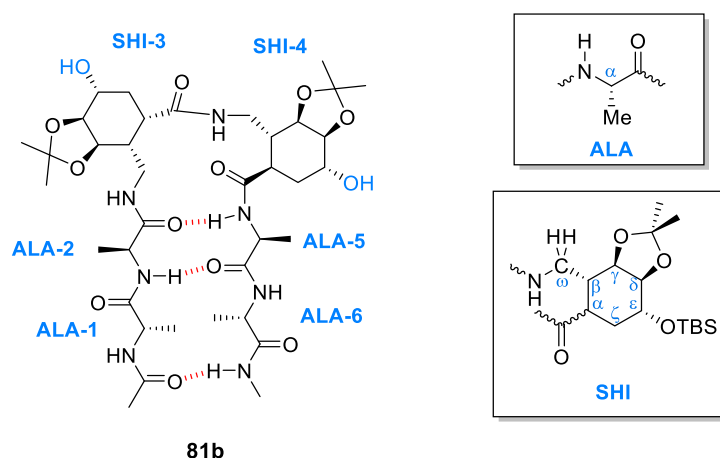


Figura 88. Hexapéptido **81b** con los residuos numerados del 1-6 desde el extremo N-terminal al C-terminal (izquierda). Nomenclatura para los protones utilizada para la asignación (derecha).

Los espectros de RMN del péptido **81b** se llevaron a cabo en disolución de acetonitrilo- d_3 (dada su baja solubilidad en $CDCl_3$) y se registraron a 500 y 750 MHz. Las resonancias se asignaron a partir de un conjunto de espectros homonucleares 1D y 2D (TOCSY, CLIP-COSY, ROESY y NOESY). Éstas aparecen recogidas en la Tabla 16.

residuo	HN	H ω	H β	H α	otros
-COCH ₃	—	—	—	—	1,97 (CH ₃)
1	7.10	—	—	4.21	1.34 (CH ₃)
2	7.39	—	—	4.25	1.34 (CH ₃)
3	6.98	3.16/3.31	2.21	2.75	1.73/1.89 (H ζ). 3.87 (H ϵ). 4.10 (H γ) 4.15 (H δ). 5.04 (OH)
4	7.05	2.8/3.91	1.81	2.56	1.73/1.89 (H ζ). 4.07 (H ϵ). 4.10 (H δ). 4.16 (H γ). 4.83 (OH)
5	7.69	—	—	4.25	1.32 (CH ₃)
6	6.96	—	—	4.08	1.26 (CH ₃)
-HN-CH ₃	6.67	—	—	—	2.64 (CH ₃)
OTBS	—	—	—	—	—

Tabla 16. Asignaciones del péptido **81b** en acetonitrilo- d_3 ($T = 298 K$).

- Coeficientes de Temperatura (T-coef) del pentapéptido **81b**

Los coeficientes de temperatura de amida de **81b** se determinaron también en disolución de acetonitrilo- d_3 entre 273 y 343 K, en intervalos de 10 K a 500 MHz (Figura 89). Los datos obtenidos de estos experimentos, junto con los T-coef de NH de amida calculados, aparecen recogidos en la Tabla 17.

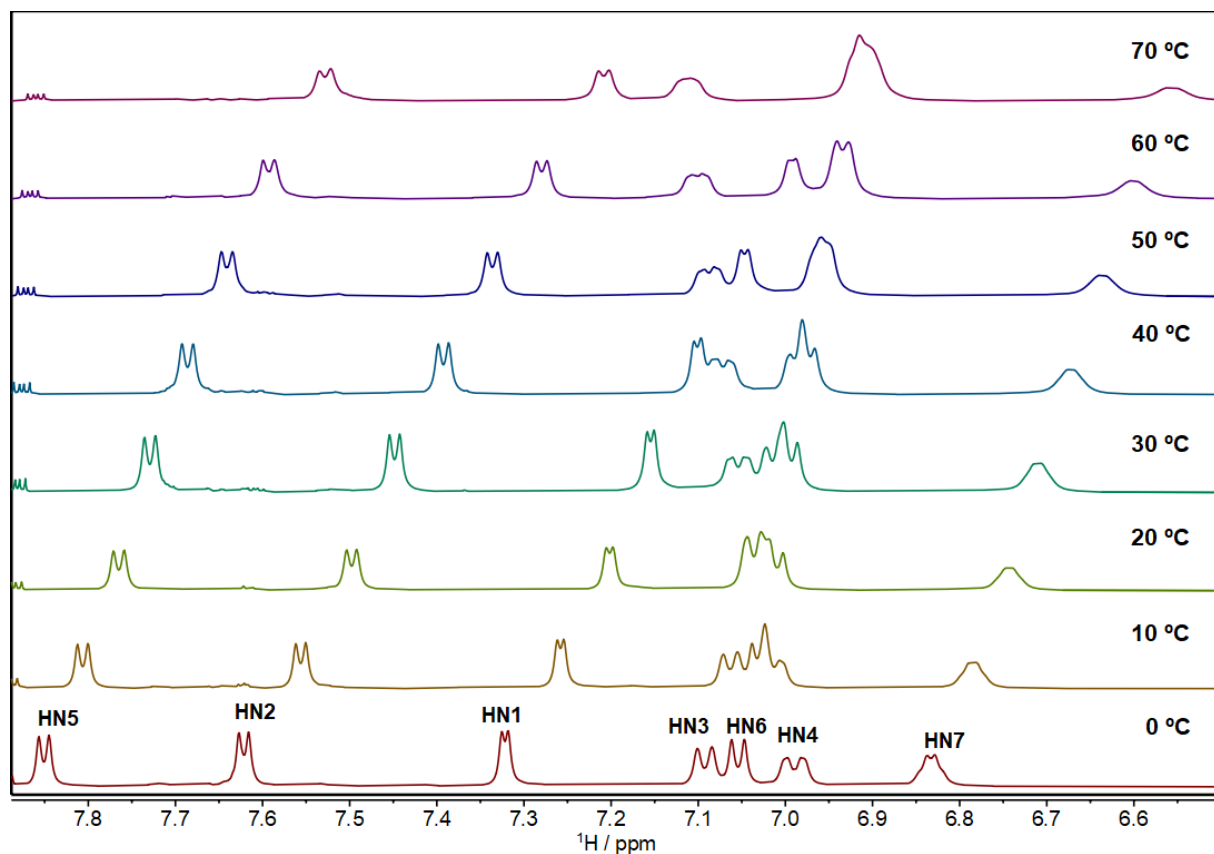


Figura 89. Espectro de RMN-TV del hexapéptido **81b** en CD_3CN (500 MHz). Temperaturas, de abajo hacia arriba, desde 0 hasta 70 °C en intervalos de 10 °C.

HN	δ_{\max} (70 °C) / ppm	δ_{\min} (0°C) / ppm	Rango T / K	T-coef / ppb·K ⁻¹
H1	6.92	7.32	70	-5.7
H2	7.21	7.62	70	-5.9
H3	6.9	7.1	70	-2.9
H4	7.11	6.99	70	1.7
H5	7.53	7.85	70	-4.6
H6	6.9	7.05	70	-2.1
H7	6.56	6.83	70	-3.9

Tabla 17. Coeficientes de temperatura del compuesto **81b**.

Vemos que, a diferencia del compuesto **81a**, el compuesto **81b** tiene todos sus grupos NH de amida secuestrados. Lo que está confirmado por los valores tan positivos de sus T-coef de NH de amida, entre los que destaca el NH4 (1.7). Mientras que los protones de amida más expuestos al disolvente parecen ser el NH1 (-5.7) y el NH2 (-5.9).

Para realizar un análisis más exhaustivo de la estructura secundaria de este compuesto se llevó a cabo un estudio de NOESY en MeCN- d_3 . Además, se obtuvieron cristales individuales de **81b**, por evaporación lenta de su disolución en acetonitrilo. La celda unitaria contiene dos moléculas del péptido en conformación de horquilla, con geometrías ligeramente diferentes, en una orientación antiparalela (Figura 90).

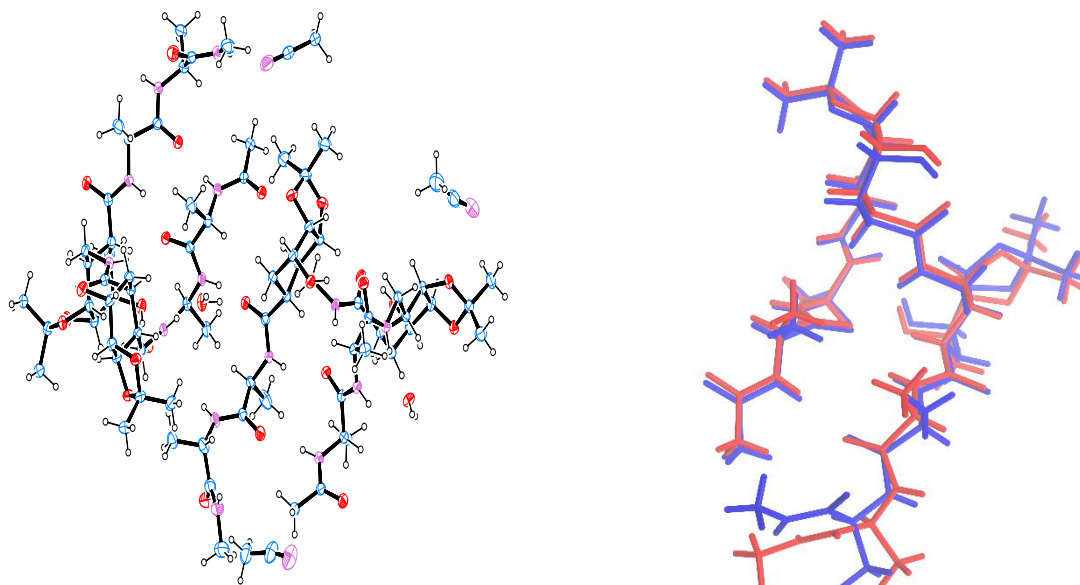


Figura 90. Izquierda: diagrama ORTEP de la celda unitaria que contiene dos moléculas del péptido **81b**. Derecha: superposición de las dos moléculas de la celda unitaria (RMSD = 0.610 Å).

Cada molécula peptídica forma cinco enlaces de hidrógeno intramoleculares y varios intermoleculares con moléculas vecinas en el cristal. Los enlaces de hidrógeno intramoleculares definen un doble giro- α,β debido a un enlace de hidrógeno bifurcado del oxígeno carbonílico del residuo Ala1 con los NH de los residuos Shi4 y Ala5 (Figura 91 y Tabla 18).

Donante (D)	Aceptor (A)	D—H (Å)	H...A (Å)	D...A (Å)	\angle D—H...A (°)	Tipo de enlace de hidrógeno
HN1	Ala5:O	0.88	2.15	3.010(6)	167	C20
HOy3	Shi3:O	0.84	1.86	2.654(5)	157	
HN4	Ala1:O	0.88	2.24	3.107(6)	166	C12
HOy4	Ala2:O	0.84	1.91	2.745(5)	173	
HN5	Ala1:O	0.88	2.12	2.935(6)	153	C17

Tabla 18. Parámetros de los enlaces de hidrógeno de la estructura cristalina del péptido **81b** (Å, °).

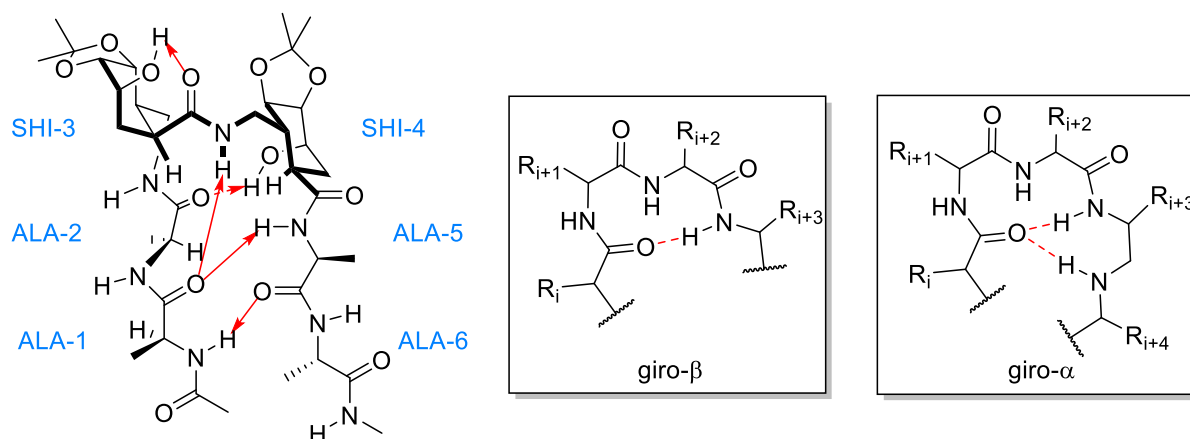


Figura 91. Resumen de los enlaces de hidrógeno intramoleculares (flechas rojas) identificados en la estructura cristalina del péptido **81b**.

Más concretamente los enlaces que definen la estructura de giro son los siguientes:

- El enlace de hidrógeno Ala1:O → Ala5:HN corresponde a un giro- α $i \rightarrow (i+4)$ formando un anillo de 17 miembros.
- El enlace de hidrógeno Ala1:O → Shi4:HN establece un giro- β $i \rightarrow (i+3)$ formando un anillo de 12 miembros.

La estructura se estabiliza aún más por un $C=O \cdots HN$ adicional (Ala5:O → Ala1:HN) y dos enlaces de hidrógeno $C=O \cdots HO$: Shi3:O → Shi3:HO ϵ , y Ala2:O → Shi4:HO ϵ . Los dos últimos enlaces de hidrógeno no son posibles en el péptido **81a**, ya que sus dos grupos ϵ -hidroxilo están protegidos como TBS.

Los anillos de ciclohexano de los dos γ -aminoácidos están en conformaciones de silla, sólo ligeramente distorsionados. Cabe destacar que los dímeros AlaAla que flanquean los γ -aminoácidos del núcleo no están totalmente extendidos en la horquilla, sino que adoptan una curvatura en forma de C, que aproxima algunos átomos para establecer interacciones intramoleculares (Figura 92).

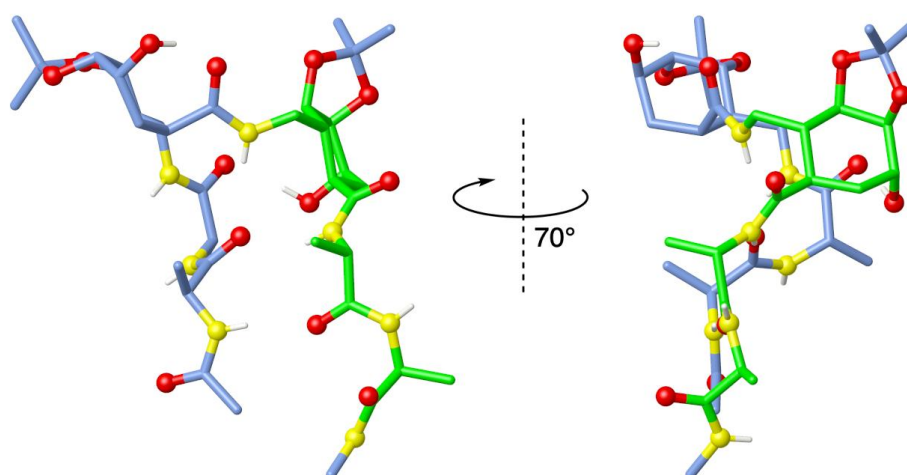


Figura 92. Geometría del péptido **81b** en el cristal. En azul los residuos 1-3, en verde los residuos 4-6 (O, rojo, N en amarillo y H_N en blanco, los otros átomos no se muestran por claridad).

Antes de llevar a cabo el estudio de NOESY del compuesto **81b** realizamos un estudio de agregación a través de experimento de DOSY. Los espectros DOSY se registraron a dos concentraciones (1 y 10 mM, 298 K, 750 MHz) y confirmaron que el péptido **81b** es monomérico en disolución a estas concentraciones.

A continuación, medimos el espectro NOESY (t_{mix} 600 ms) a una temperatura de 308 K y 750 MHz, para minimizar el solapamiento de picos en la región HN de la amida. El análisis de los datos NOE es totalmente coherente con la geometría encontrada en el cristal, es decir, con la conformación de doble giro- α,β (Figura 93 y Figura 94).

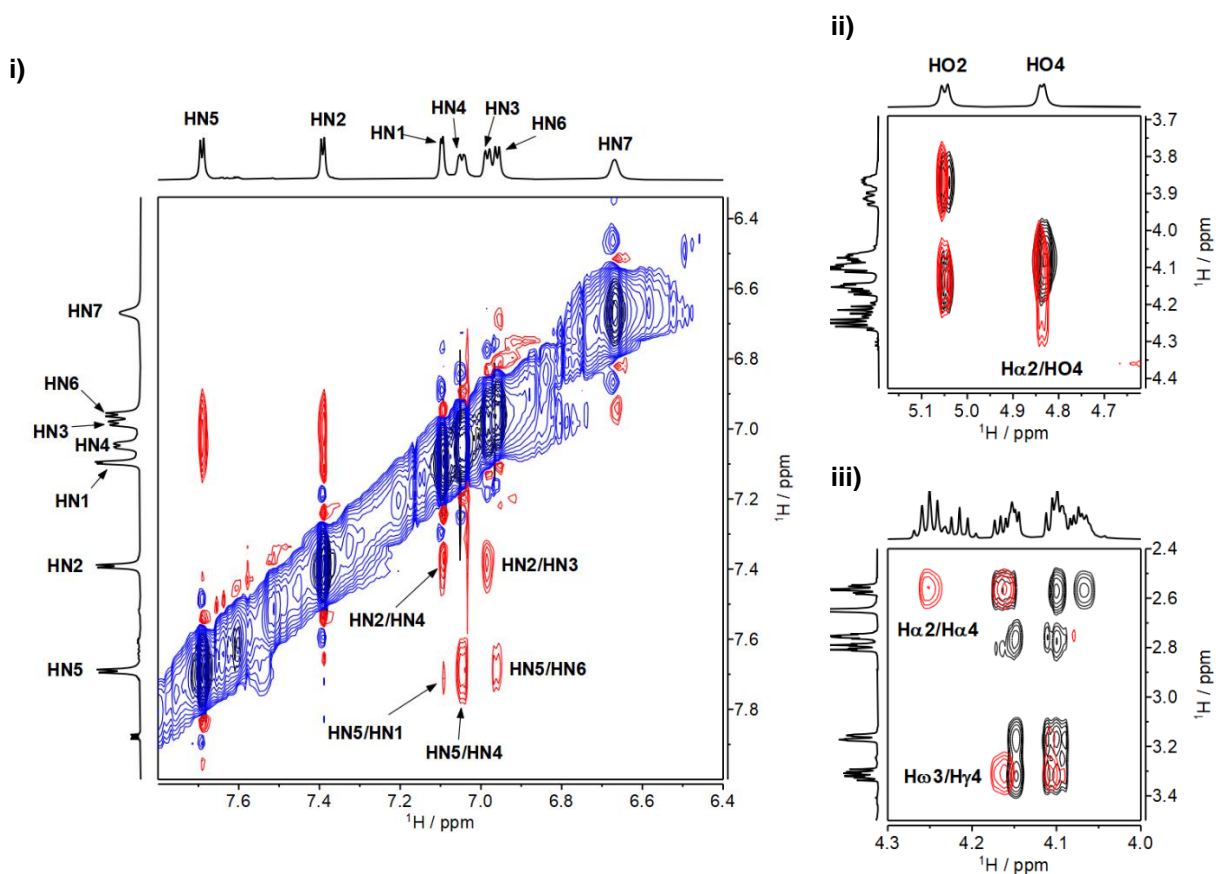


Figura 93. Superposición del espectro de NOESY (rojo/azul, t_{mix} 600 ms) y de TOCSY (negro, t_{mix} 80 ms) del péptido **81b** (MeCN-d_3 , 750 MHz, 308 K). Expansión de la región i) HN/HN, ii) H α /HO y iii) (H α + H ω)/(H α + H γ).

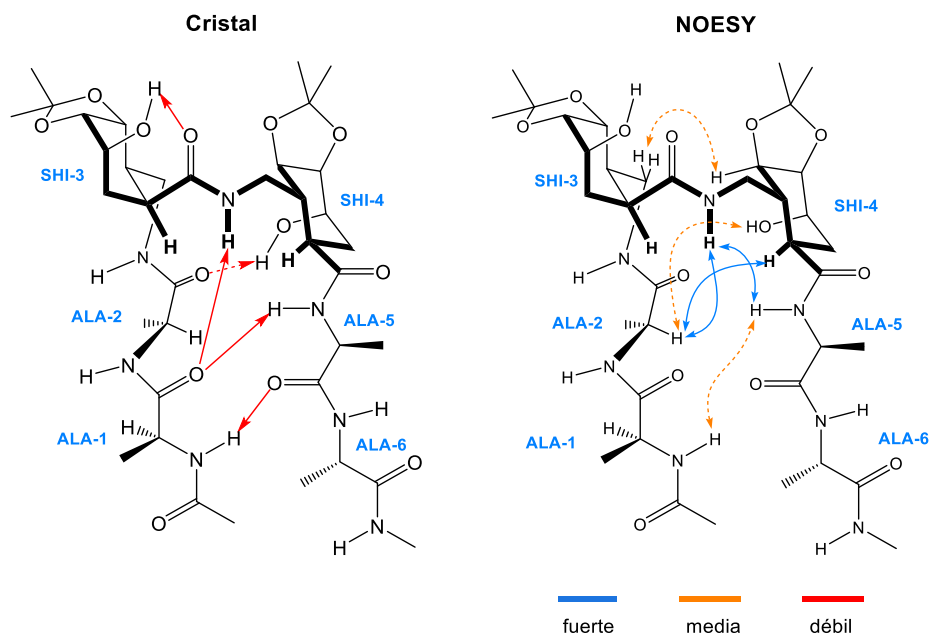


Figura 94. Resumen de los contactos NOE intrarresiduo del péptido **81b** en MeCN-d_3 ($t_{\text{mix}} = 600$ ms, $T = 308$ K, 750 MHz). La intensidad de los contactos NOE está clasificada en fuerte (azul) medio (naranja) y débil (rojo).

El hecho de que los picos de cruce del NOESY sean negativos (signo opuesto a la diagonal) apoya aún más que la molécula se encuentra en el régimen de intercambio rápido entre dos conformaciones ($M_{\text{m}} \text{ del monómero} = 811$ g/mol). Aunque se espera cierta dinámica para un péptido tan pequeño en disolución, el hecho de que los contactos NOE observados sean coherentes con la geometría determinada por el análisis de difracción apoya que éste está muy estructurado en disolución. Esto concuerda bien con el espectro CD registrado en disolución de acetonitrilo (Figura 79, página 93), que presenta el máximo (aprox. 192 nm) y el mínimo (≈ 215 nm) característicos de un giro peptídico.

3.3.2.3.3 Estudio de RMN del hexapéptido **81c**

La solubilidad del péptido **81c** totalmente desprotegido en acetonitrilo es baja, por lo que sus espectros de RMN se midieron en solución acuosa (90 % H_2O / 10 % D_2O). (298 K, 600 MHz). Sólo se detectaron NOEs de corto alcance o secuenciales (por ejemplo, Ala2:HN/Shi3:HN y Ala6:HN/NMe7:HN). Los NOEs de largo alcance Ala2:HN/Ala5:HN y Ala5:HN/Shi4:HN que apoyan la conformación de giro- β para el compuesto **81a** en disolución CDCl_3 no se detectan en el espectro de **81c** en disolución acuosa. Esto indica que el péptido **81c** no está estructurado en su mayor parte, lo que también concuerda con sus espectros CD e IR.

3.4 SÍNTESIS, ESTUDIO DE GELIFICACIÓN Y APLICACIONES DE *N*-ALQUILAMIDAS DERIVADAS DEL ÁCIDO 2-AMINOCICLOHEXENOCARBOXÍLICO Y DEL ÁCIDO (-)-SHIKÍMICO

3.4.1 Geles: Aspectos generales

Los geles son materiales que encontramos en nuestra vida diaria en productos como lubricantes, adhesivos, jabones, cosméticos, implantes médicos y explosivos (Figura 95).⁹⁷ La diversidad y el amplio abanico de aplicaciones de los geles pueden atribuirse a sus propiedades físicas únicas: al igual que los sólidos convencionales, los geles son capaces de soportar el peso y mantener su forma, pero presentan un comportamiento similar al de los fluidos bajo tensión y pueden moldearse, imprimirse e inyectarse según sea necesario. Estas propiedades los convierte en materiales muy interesantes en campos como la Medicina, la Biología o la Electrónica.



Figura 95. Gel de agar para el cultivo de bacterias, capsulas de gel para la encapsulación de medicamentos y gel de agar agar para la industria alimentaria.

Un gel es más fácil de reconocer que de definir. Sin embargo, una definición bastante intuitiva de lo que es un gel es la dada por la RAE: “estado que adopta una materia en dispersión coloidal cuando flocula o se coagula”. Una definición científica del mismo resulta menos intuitiva, debido principalmente a la diversidad química que da lugar a estos sistemas.

La primera definición completa que aúna el punto de vista microscópico y macroscópico fue proporcionada por Flory (Nobel de Química en 1974).⁹⁸ Según Flory un gel es un sistema coloidal que cumple con dos requisitos:

- Poseer una estructura microscópica continua, con dimensiones macroscópicas, que sea permanente en la escala de tiempo de un experimento analítico.
- Presentar propiedades de sólido en su comportamiento reológico, a pesar de ser un líquido su componente mayoritario.

Una definición científica actual de un gel sería la siguiente: un estado de la materia condensada metaestable,⁹⁹ en el que coexiste una estructura sólida reticular, que se denomina fase continua, dentro de un líquido que se denomina fase dispersa. Los geles se comportan como un sólido elástico a valores pequeños de tensión mecánica y se transforman en líquidos viscosos por encima de esta.

Vale la pena señalar que la definición de un gel no requiere que un material se identifique comúnmente como tal. De hecho, esta familia de materiales abarca incluso sistemas

biológicos complejos que carecen de la apariencia arquetípica de un gel, como citoesqueletos, coágulos de sangre, colonias microbianas y tejidos celulares inflamados.¹⁰⁰

En los geles sólo es necesaria una pequeña cantidad de la red sólida para gelificar un volumen relativamente grande de disolvente (típicamente, <1% wt/vol). El disolvente, aunque tiene movilidad a nivel molecular, no es capaz de moverse a nivel macroscópico, ya que está atrapado en los huecos de la red del gelificante mediante una combinación de fuerzas de capilaridad e interacciones con la propia red.

Los geles pueden clasificarse atendiendo a su constitución, al tipo de interacción que da lugar a la red tridimensional o al medio en el que se han formado (Figura 96).¹⁰¹ Según la naturaleza de las interacciones que dan lugar al gel podemos clasificarlos en:

- **Geles poliméricos:** Como su nombre indica están constituidos por polímeros (naturales o sintéticos) con pesos moleculares entre 3.000 y 50.000 Dalton. Estos polímeros están formados por una red de enlaces covalentes, lo que hace que el proceso de gelificación no sea reversible, es decir, no pueden redisolverse.
- **Geles moleculares:** Están formados por moléculas orgánicas o inorgánicas discretas y de bajo peso molecular, entre 200 y 400 Dalton. Las fuerzas de enlace que mantienen la estructura tridimensional del gel son de tipo débil (enlaces de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals, interacciones tipo π - π , interacciones solvofóbicas, enlaces de coordinación con metales, etc...). La naturaleza débil de estas interacciones hace que el proceso de gelificación sea reversible. Pueden redisolverse.

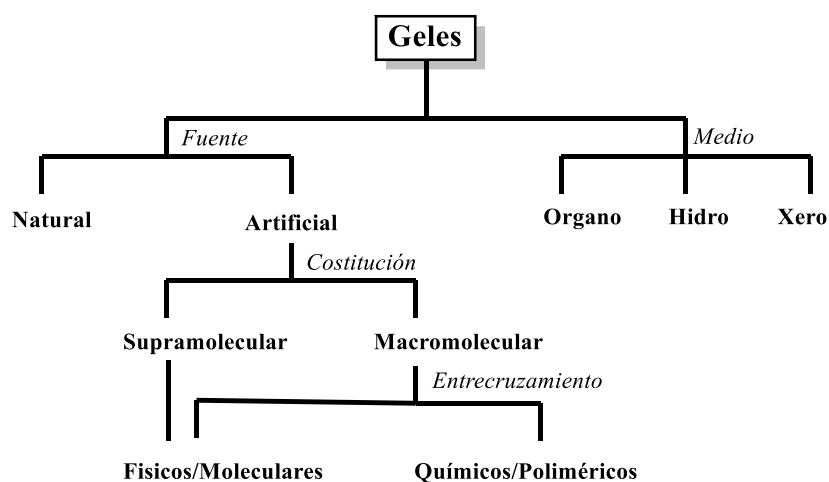


Figura 96. Diagrama de árbol con las diferentes clasificaciones de los geles.

También pueden clasificarse atendiendo a su fase dispersa en **hidrogeles**, en los que ésta es agua (o mezclas de agua y otro disolvente en las que más del 50 % es agua) y **organogeles**, en los que ésta es un disolvente orgánico. Todos ellos se transforman en **xerogeles** cuando se les extrae la fase dispersa.

A partir de ahora nos referiremos solo a los geles moleculares por ser estos el objeto de estudio de este apartado de la tesis doctoral.

Los agentes gelificantes de bajo peso molecular (LMWG, por sus siglas en inglés) son moléculas pequeñas capaces de auto-ensamblarse en estructuras unidimensionales que se agregan y entrecruzan para dar lugar a redes tridimensionales capaces de inmovilizar el

disolvente a través de fuerzas de capilaridad y de tensión superficial, provocando con ello la formación del gel.¹⁰²⁻¹⁰⁶

Las propiedades del gel son controladas por la anchura de las fibras, su distribución espacial y el número de entrecruzamientos. Estos gelificantes tienen una sorprendente capacidad de gelificación que puede llegar a valores tan bajos de concentración de agente gelificantes como 0.1 wt%.

Los LMWG ofrecen varias ventajas frente a los geles poliméricos, debido a su reversibilidad y su mayor biocompatibilidad. Por ejemplo, en aplicaciones biológicas sigue siendo un desafío encontrar geles poliméricos biodegradables. Muchos geles moleculares pueden estar formados por moléculas biocompatibles, lo que los hacen fácilmente procesables por el organismo. Mientras que la naturaleza reversible de sus enlaces los convierte en potenciales materiales funcionales,¹⁰⁷ capaces de responder reversiblemente a estímulos externos tales como la temperatura, la luz, cambios de pH, a ultrasonidos, etc.

Además de las aplicaciones industriales,¹⁰⁸ se han descrito numerosos avances y usos para la utilización de geles moleculares: Como vehículos en el transporte y distribución de fármacos,^{109,110} como herramienta en la descontaminación de aguas (contaminadas con hidrocarburos, tintes u otros materiales nocivos),¹¹¹ como moldes para la fabricación de materiales porosos,¹¹² para el diseño de dispositivos electrónicos,⁷⁵ para el cultivo celular¹¹³ y un largo etcétera (Figura 97).

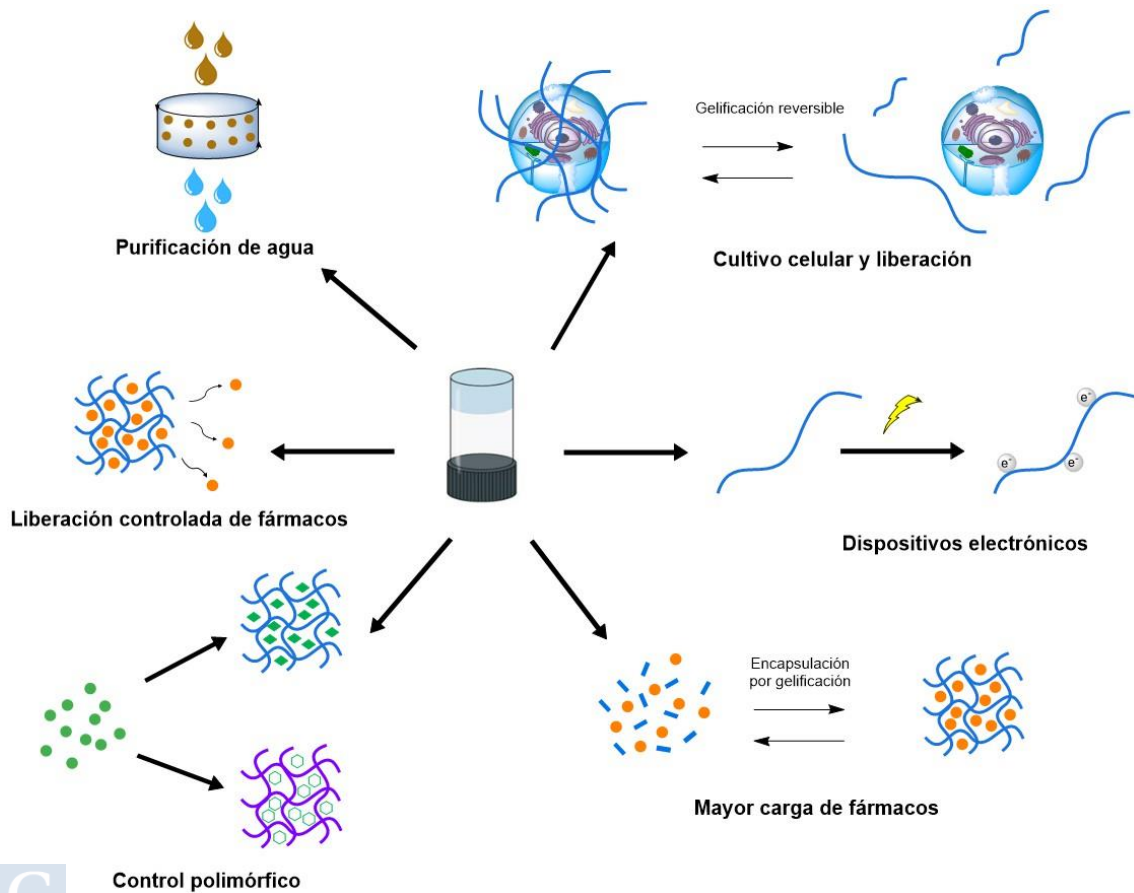
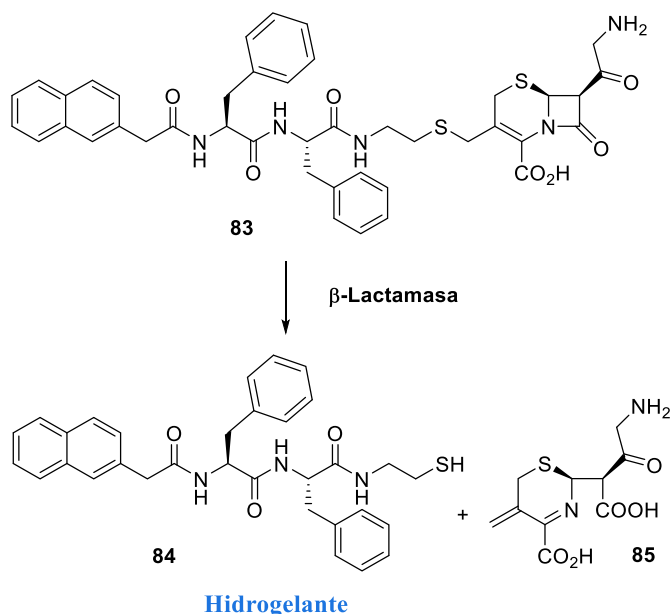


Figura 97. Esquema con las diferentes aplicaciones de los geles moleculares.

Como ejemplo notable en el campo de la Medicina se han desarrollado compuestos no gelificantes que al reaccionar con enzimas liberan un potente agente hidrogelante.¹¹⁴ Este es el caso del compuesto **83**, que al reaccionar con la enzima β -lactamasa, presente en las bacterias resistentes a la cefalosporina, genera un gel que engloba la bacteria y permite visualizarla (Esquema 23). Además, este compuesto es biocompatible y puede utilizarse directamente sobre la piel y otros tejidos presentes en el organismo humano sin causar daños.



Esquema 23. Sonda para la detección de cefalosporina basada en la molécula **83** que se transforma en el gelificante **84** por acción de la β -lactamasa.

Las propiedades de los geles moleculares (materiales sencillos, fácilmente modulables, con alta compatibilidad con disolventes de diferentes polaridades y muy porosos) los convierte en sistemas con un alto potencial para resolver algunos problemas medioambientales relacionados con vertidos de compuestos nocivos al agua.¹¹¹ Se han descrito gelificantes moleculares capaces de purificar aguas contaminadas con tintes,¹¹⁵ nanopartículas metálicas,¹¹⁶ metales de transición¹¹⁷ o incluso neurotoxinas¹¹⁸. Una de las aplicaciones de remediación ambiental más estudiadas es la capacidad de algunos gelificantes de gelificar selectivamente mezclas de aceite-agua, porque los aceites y principalmente el petróleo son un problema de contaminación del agua recurrente.

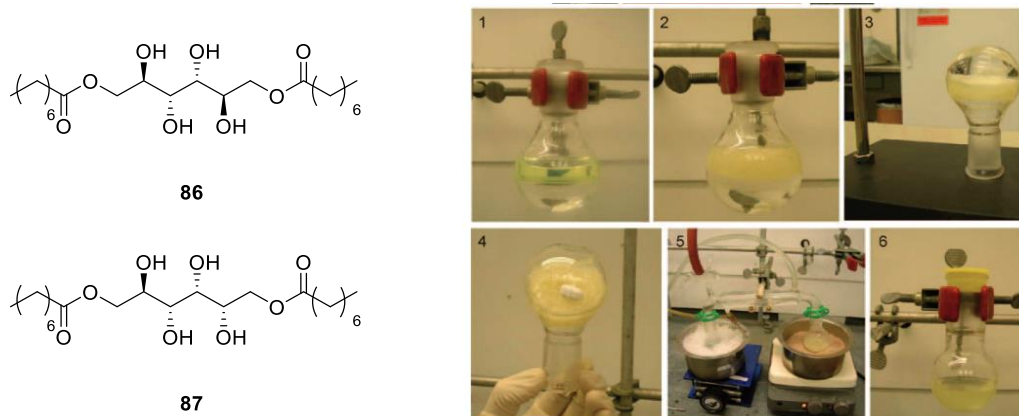


Figura 98. Estructura química de los organogelantes **86** y **87**. Proceso de gelificación selectiva de aceite en una mezcla aceite-agua y recuperación del aceite por destilación.

Como ejemplo de ello podemos destacar el elegante trabajo del profesor John, donde demostró que los gelificantes moleculares basados en los monosacáridos **86** y **87** son capaces de gelificar selectivamente gasóleo, aceite mineral, aceite de silicona, fracciones de petróleo crudo (alcanos con $n > 9$ átomos de carbono) e hidrocarburos mixtos (aromáticos y alifáticos) mezclados con agua y así poder separarlos de ésta (Figura 98).¹¹⁹ El proceso se basa en añadir una solución del agente gelificante en etanol a una mezcla aceite/agua (1:1). El gelificante gelifica selectivamente el aceite dejando el agua líquida, lo cual permite separar el aceite del agua. La destilación posterior del gel permite recuperar este aceite y reutilizar el agente gelificante.

La gelificación de cristales líquidos (LC por sus siglas en inglés) por medio de LMOG es otra de las aplicaciones de estos materiales de gran interés tecnológico, debido a las propiedades únicas y favorables que los acompañan. Es decir, un alto orden molecular y un estado dinámico que puede ser influenciado por campos eléctricos o magnéticos. Un ejemplo de ello es el trabajo publicado por el grupo del profesor Smith que ha desarrollado films compuestos por un LC nemático comercial (LC-7) gelificado por el organogelante derivado del sorbitol **88**. Demostrando que las células electro-ópticamente activas formadas por este gel físico de LC son conmutables entre un estado transparente y uno opaco mediante la aplicación de campos eléctricos de corriente alterna (AC) (Figura 99).

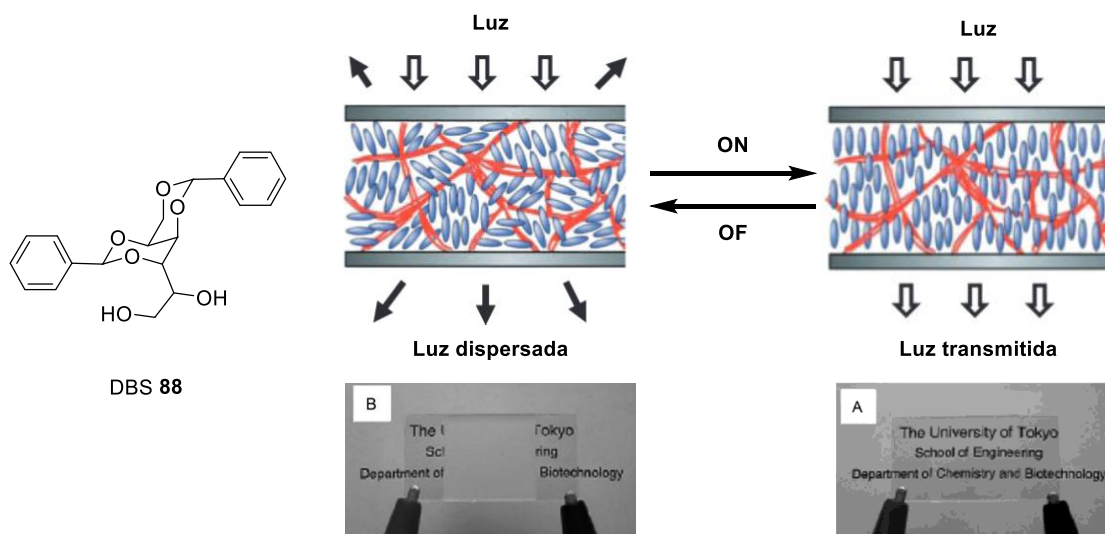


Figura 99. Estructura química del DBS 88. Esquema de la conmutación entre un estado opaco y un estado transparente en un gel de DBS de un cristal líquido nemático.

3.4.1.1 Proceso de ensamblado de los geles moleculares

Como hemos descrito anteriormente, en los geles moleculares, a diferencia de los geles poliméricos, la estructura tridimensional del gel no está soportada por enlaces covalentes, sino por enlaces débiles reversibles, por lo que el proceso de ensamblado es de gran importancia para las propiedades finales de estos materiales.

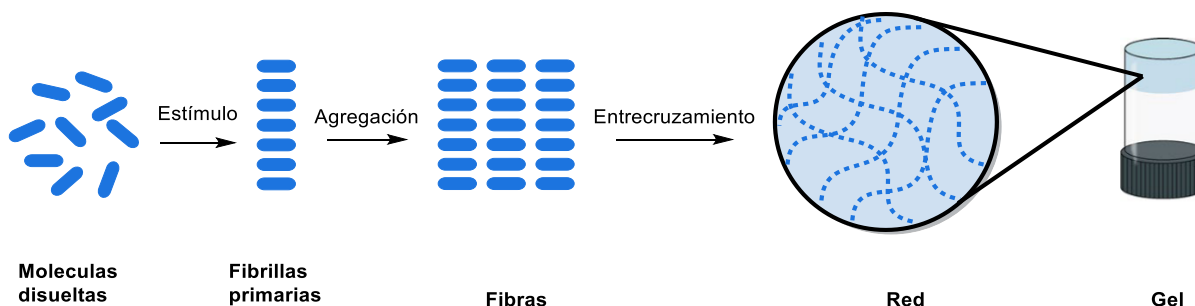


Figura 100. Mecanismo de formación de un gel molecular.

El mecanismo de formación de un gel molecular transcurre mediante un proceso de ensamblado jerarquizado de sus moléculas individuales,^{120,121} a través de varias escalas de magnitud. Este proceso consta de los siguientes pasos (Figura 100):

1. El primero de los procesos tiene lugar a escala molecular. A esta escala las **moléculas** se autoensamblan a través de múltiples interacciones no covalentes (enlaces de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals, apilamientos π - π , etc...), para dar lugar a polímeros supramoleculares denominados **fibrillas**.
2. El siguiente paso ocurre a escala nanométrica. En esta escala las fibrillas tienden a asociarse en haces denominados **fibras**, aunque también es posible la formación de otros agregados de diferente morfología (micelas, vesículas, tirabuzones, discos, túbulos o láminas) (Figura 101).

3. Finalmente, las **fibras** se entrecruzan e interaccionan entre sí para formar una **red** sólida autosoportada, que abarca toda la muestra. Esta red es la que sostiene el **gel**, impidiendo el flujo de disolvente a nivel macroscópico (aunque no a nivel molecular).

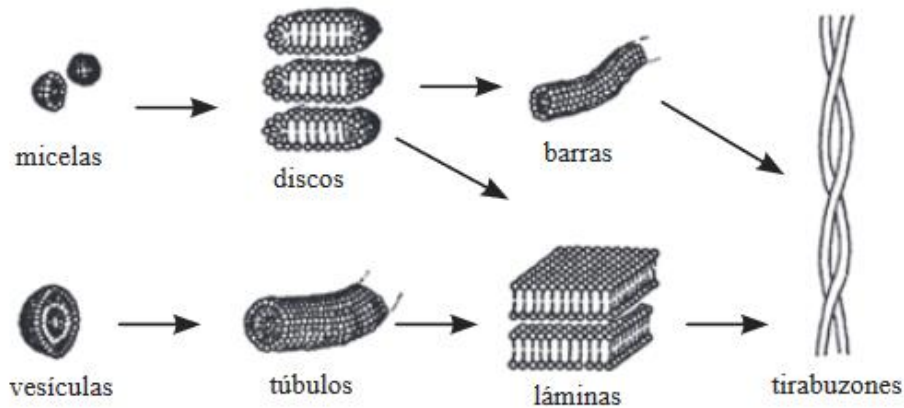


Figura 101. Tipos de estructuras secundarias de un gel molecular.

Algunos autores también definen el proceso de gelificación como una cristalización frustrada.¹²² Tanto la gelificación como la cristalización se basan en el autoensamblado de las moléculas en una disolución homogénea al ser calentada y luego enfriada. La diferencia es que durante la cristalización las moléculas se empaquetan en las tres direcciones del espacio de forma isotrópica. Mientras que en la gelificación una de las tres dimensiones está más favorecida que las otras dos, dando lugar a un crecimiento anisotrópico que provoca la formación de estructuras fibrilares con capacidad de formar una red que atrape el disolvente (Figura 102).

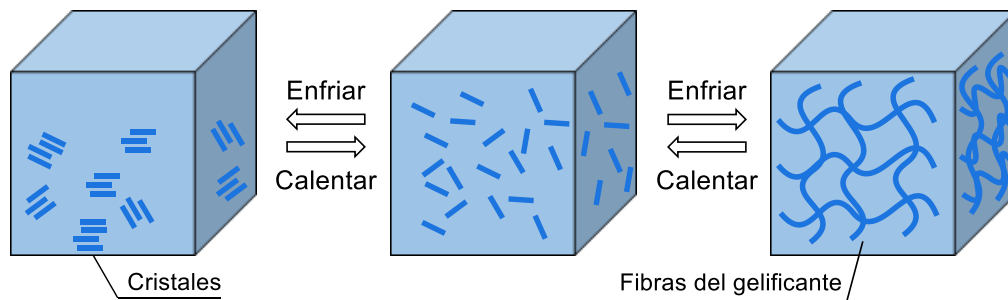


Figura 102. Comparativa entre el proceso de cristalización y de gelificación.

Sin embargo, no está nada claro que exista un vínculo entre el proceso de cristalización y gelificación. De hecho, aunque varios autores asumen que este vínculo existe, hay una serie de ejemplos que muestran que el empaquetamiento es diferente en el gel y en los cristales, incluso si crecen en el mismo disolvente.¹²³⁻¹²⁵ Un ejemplo específico es el dado por el Prof. Adams, en el que muestra que los datos de difracción de Rayos X de fibras de un gel no coinciden con los datos de la estructura cristalina del mismo compuesto, cuyos cristales crecieron en el propio gel.¹²⁶

Una característica muy importante de los agentes gelificantes es la cantidad mínima requerida para formar un gel en un disolvente dado. A esta cantidad mínima se le denomina concentración mínima de gelificación (*cmg*).

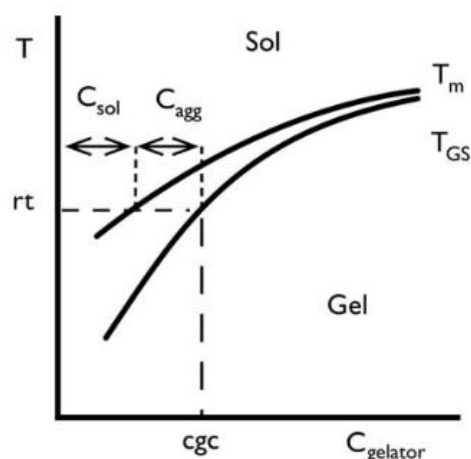


Figura 103. Diagrama de fases de un gel molecular.

Como puede observarse en el diagrama de fases de la Figura 103, la formación de las fibras de un gel depende de la temperatura y la concentración. A altas concentraciones el equilibrio del proceso de gelificación está decantado hacia el producto de autoensamblado. Por otro lado, las altas temperaturas generalmente hacen más desfavorable el proceso de ensamblado, ya que la entropía se vuelve dominante, favoreciendo estados desordenados y la solubilización del agente gelificante. La temperatura a la cual un gel pierde su integridad se denomina temperatura de transición gel-sol (T_{gel}), esta depende de la naturaleza y concentración del agente gelificante, así como del disolvente usado.

3.4.1.2 Diseño de nuevos agentes gelificantes

Hasta la fecha se han empleado numerosas estructuras diferentes como gelificantes moleculares, todas ellas tienen la característica común de que su autoensamblado da lugar a estructuras fibrosas y éstas se producen por interacciones no covalentes de tipo Van der Waals, enlaces de hidrógeno, interacciones dipolares, interacciones tipo- π y/o interacciones de Coulomb.¹⁰¹ Los efectos solvofóbicos también juegan un papel importante en el proceso de gelificación. Estos efectos se producen cuando la molécula presenta grupos funcionales altamente insolubles en el disolvente que va a ser gelificado.

Un amplio grupo de agentes gelificantes son **moléculas anfifílicas**. De hecho, uno de los tipos de gelificantes supramoleculares más antiguos que se conocen son los jabones metálicos, como la sal de litio del ácido 3-hidroxi esteárico **89** (Figura 104).^{127,128} Esta sal se agrega a través de fuerzas de Van der Waals de la cadena alifática, interacciones iónicas de los metales y enlaces de hidrógeno entre los grupos hidroxilo. Otro tipo de agente gelificante muy usado en la industria son los surfactantes catiónicos como la sal de amonio **90**. El proceso de agregación en este segundo caso está principalmente fomentado por fuerzas de Coulomb,

hidrógeno entre sus grupos ácido carboxílico, pero también un fuerte efecto hidrofóbico de los grupos bencilo, así como el apilamiento de éstos por interacciones π - π .

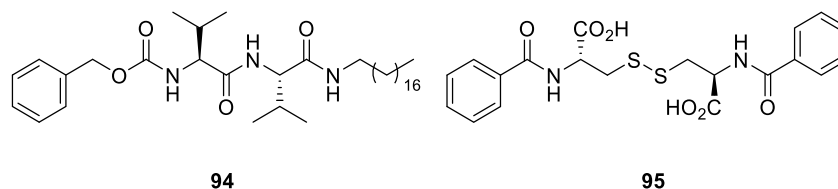


Figura 106. Estructura química de los gelificantes moleculares **94** y **95**.

Como se puede ver hay una gran diversidad de estructuras moleculares capaces de formar geles moleculares en una gran variedad de disolventes. Se ha comprobado que para que una estructura tenga buenas propiedades como gelificante molecular, necesita ser capaz de establecer múltiples interacciones no covalentes, que han de ser complementarias. Esto lleva que algunos grupos funcionales suelen estar presentes en este tipo de moléculas, entre los que destacan:

1. Amidas (RCONHR') y ureas (RNHCONHR'), que pueden formar interacciones de enlace de hidrógeno autocomplementarias (C=O \cdots H-N).
2. Carbohidratos, que contienen múltiples grupos O-H capaces de unirse mediante enlaces de hidrógeno.
3. Esteroides y sales biliares, que tienen superficies rígidas e hidrófobas.
4. Bases nucleótidas, que pueden formar enlaces de hidrógeno e interacciones de apilamiento π - π .
5. Alcanos de cadena larga, que pueden generar fuerzas de Van der Waals significativas e interacciones solvofóbicas.

A pesar de todo lo expuesto, el diseño de nuevos LMWG sigue siendo un desafío, ya que se ha demostrado que incluso pequeños cambios estructurales en una molécula pueden llevar a un comportamiento de gelificación totalmente diferente.

Impulsados por las numerosas aplicaciones potenciales de los geles supramoleculares se han desarrollado diferentes enfoques a lo largo de los años para el diseño de nuevos LMWG con propiedades mejoradas o funcionalidades añadidas como el reconocimiento y la capacidad de respuesta.

Los primeros estudios sobre gelificantes moleculares se basaron en lo que podría llamarse un enfoque de “**diseño basado en las propiedades**”. Éste consistía en realizar modificaciones sistemáticas en la estructura de un gelificante molecular para así poder identificar las características estructurales que contribuyen al proceso de gelificación. De esta manera fue posible desarrollar nuevos gelificantes con propiedades o funciones completamente nuevas.

Un ejemplo excelente de este método de diseño de nuevos gelificantes moleculares es el elegante estudio de relación estructura-propiedades del antranil butirato de colesterol o CAB (**96**), realizado por el profesor Weiss (Figura 107).¹³⁰ En este estudio se realizaron

modificaciones sistemáticas del CAB, el cual es un excelente gelificante de un gran número de disolvente, y observaron que solo toleraba un cierto número de modificaciones sin perder su capacidad gelificante. Para su gelificación son clave la estructura rígida de los anillos del colesterol, la cadena alquílica en C17 y la parte aromática unida por un linker, que debe tener un tamaño mínimo.

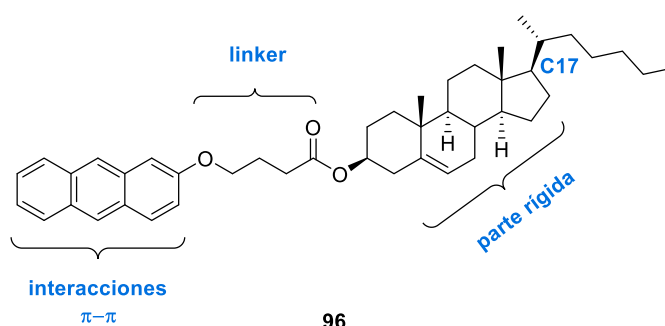


Figura 107. Estructura química del antranilbutirato de colesterol (96).

Estos estudios sirvieron de base para la síntesis de los derivados del CAB **97** y **98** por el grupo del profesor Shinkai (Figura 108).¹³⁴ En el caso del compuesto **97** el grupo antrano del CAB es sustituido por una azobenceno unido a un éter corona. Esta modificación hace que sea posible su unión a metales dando lugar así a metalogeles con propiedades diferentes al CAB, incrementándose además su T_{gel} . El otro derivado del CAB, el compuesto **98**, da lugar a un gel fotosensible gracias a la subunidad de azobenceno, ya que la isomerización *cis-trans* de esta subunidad permite conmutar entre el estado gel y el estado sol.

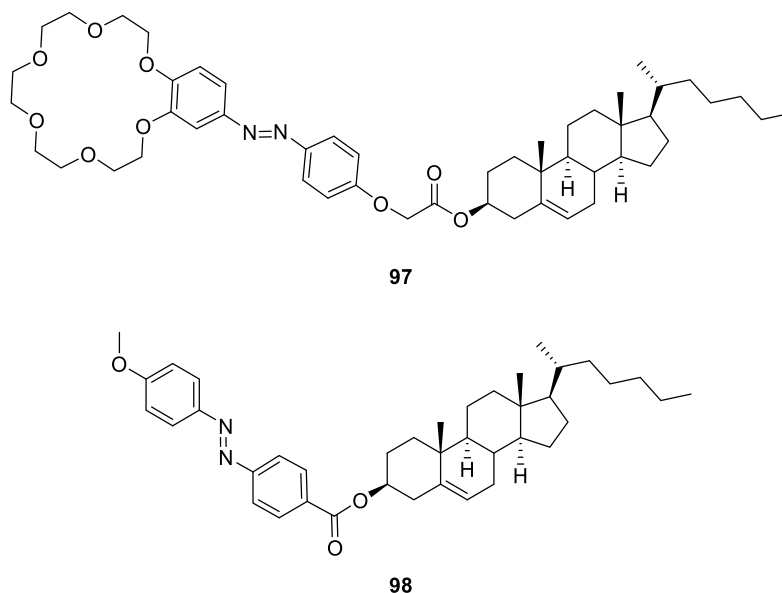


Figura 108. Estructuras químicas de los gelificantes moleculares basadas en el colesterol **97** y **98**.

Otra posibilidad para descubrir nuevos agentes gelificantes moleculares es el **cribado de quimiotecas** de potenciales gelificantes. Esta metodología consiste en la síntesis de una quimioteca de compuestos que comparten una propiedad o estructura común cuya capacidad gelificante ya ha sido comprobada. Una vez sintetizadas todas las moléculas constituyentes de esta quimioteca se realiza un estudio de gelificación de cada uno de sus componentes, para

determinar cuáles son las modificaciones que favorecen la gelificación. Este método fue utilizado por el profesor Shinkai haciendo reaccionar diferentes monosacáridos con benzaldehído, para generar una quimioteca de gelificantes derivados de azúcares **99-103**, varios de los cuales fueron capaces de gelificar un gran número de disolventes (Figura 109).¹³⁵

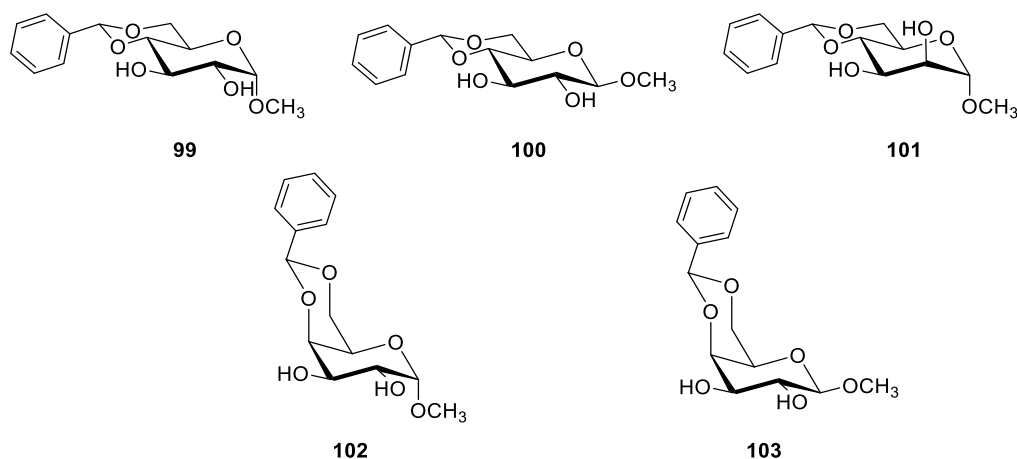


Figura 109. Biblioteca de derivados del dibencilsorbitol (**99-103**) como potenciales geles moleculares desarrollada por Shinkai.

Las dos metodologías anteriormente expuestas (**diseño basado en las propiedades y cribado de bibliotecas**) resultan útiles para el descubrimiento de nuevos agentes gelificantes con nuevas propiedades, partiendo de una estructura cuya capacidad como gelificante haya sido probada. Sin embargo, son metodologías altamente dependientes de las pruebas de ensayo y error, en las que solo una pequeña proporción de las moléculas diseñadas posee las propiedades deseadas, mientras que la mayoría de los derivados sintetizados fallan como agentes gelificantes. Estos fracasos evidencian, una vez más, que la capacidad de gelificación es muy sensible a la estructura molecular.

Al aumentar la cantidad de estructuras conocidas capaces de formar geles moleculares, fue aumentando el conocimiento de la relación entre la estructura de una determinada molécula y su capacidad como gelificante. De esta manera se pudieron formular criterios para el diseño de nuevos agentes gelificantes basados en la estructura química de éstos, lo que se conoce como “**diseño basado en la estructura química**”. En términos generales, se pueden establecer las siguientes consideraciones sobre la estructura modelo de un buen agente gelificante:

1. La molécula debe de ser parcialmente soluble en el disolvente (pero no muy soluble, sino simplemente se disuelve).
2. La molécula debe de ser parcialmente insoluble en el disolvente (pero no completamente insoluble, si no precipita).
3. La molécula debe de ser capaz de formar interacciones no covalentes consigo misma (enlaces de hidrógeno, interacciones π - π , fuerzas de Van der Waals, interacciones de Coulomb, etc.).

4. Las interacciones no covalentes deben de ser direccionales, dando lugar al ensamblaje de fibras anisotrópicas a nanoescala.

Un ejemplo de agentes gelificantes diseñados aplicando estos criterios son las alquilbisamidas derivadas de *trans*-1,2-diaminociclohexánanos y *cis*-1,2-diaminociclohexános **104**, **105** y **106**, desarrolladas por el profesor Hanabusa (Figura 110).¹³⁶

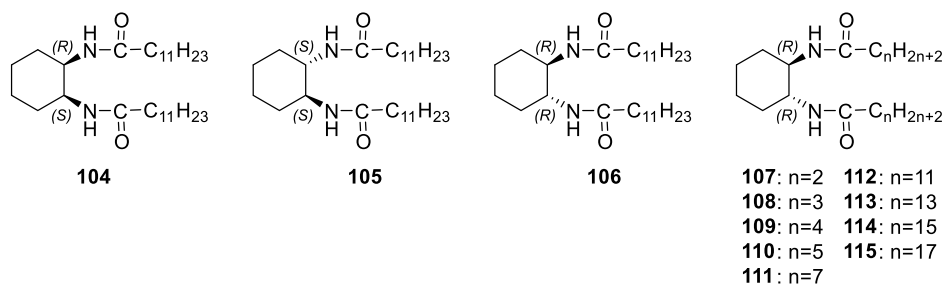


Figura 110. Bisamidas ciclohexánicas derivadas del 1,2-diaminociclohexano (**104-115**).

Los compuestos **105** y **106** son capaces de gelificar una gran variedad de disolventes de diferente polaridad y sus geles fueron estables durante al menos 6 meses. El racemato de **105** y **106** solo dio lugar a geles inestables con tendencia a cristalizar a las pocas horas en varios de los disolventes probados. Por otro lado, las *cis*-bisamidas **104** fueron incapaces de gelificar ninguno de los disolventes probados. Además, al acortar la cadena alquílica de los compuestos **105** y **106** la capacidad gelificante disminuye hasta que cadenas de cuatro carbonos dan lugar a moléculas incapaces de formar geles en ninguno de los disolventes. Por lo tanto, la capacidad gelificante de estas moléculas depende tanto de la disposición espacial de los sustituyentes (*trans* da lugar a geles estables y *cis* da lugar a moléculas no gelificantes) como la longitud de las cadenas alquílicas (cadenas de cuatro átomos de carbono dan lugar a moléculas no gelantes).

La influencia de las dos principales fuerzas de enlace en la formación de estos geles de bisamidas (enlace de hidrógeno entre los grupos amida y fuerzas de Van del Waals entre las cadenas alquílicas) fue estudiada por los profesores Esch y Feringa. Para ello sintetizaron las bisamidas **107-115** con diferente longitud de cadena (Figura 110). De tal manera que en cadenas cortas la única fuerza que mantiene el gel serían las de enlaces de hidrógeno, mientras que al aumentar la cadena van ganando peso las fuerzas de Van der Waals.

En este estudio observaron que la capacidad de gelificación de estas *N*-alquilamidas para gelificar disolventes apolares varía muy poco al cambiar el número de átomos de la cadena alquílica. Lo que demuestra que los enlaces de hidrógeno son las principales fuerzas de interacción para el auto-ensamblado de los geles en disolventes apolares. Mientras que en el caso de los disolventes polares la longitud de la cadena fue clave para la gelificación, lo que pone de relieve que las fuerzas de Van der Waals son las interacciones dominantes en los disolventes polares.¹³⁷ Esto es así, ya que los disolventes polares compiten por los enlaces de hidrógeno de las moléculas de gelificante, desestabilizando la estructura del gel.¹³⁸

Las alquilbisamidas derivadas de los ácidos 1,2-ciclohexanodicarboxílicos también fueron estudiadas conjuntamente por nuestro grupo de investigación y el de la profesora Rosa Ortuño, de la Universidad Autónoma de Barcelona (Figura 111).¹³⁹

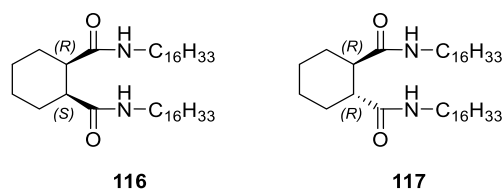


Figura 111. Estructura química de las bisamidas derivadas de ácidos ciclohexano-1,2-dicarboxílicos **116** y **117**.

De forma similar al caso de las alquilbismaidas de los 1,2-diaminociclohexáneos la quiralidad de estos compuestos juega un papel fundamental en su capacidad gelificante. Así la forma meso (*R,S*)-**116** es un mal gelificante de casi todos los disolventes probados, mientras que el compuesto quiral (*R,R*)-**117** es muy buen gelificante de disolventes como 1,4-dioxano y tolueno. Si bien la capacidad gelificante de estas bisamidas de ácidos 1,2-ciclohexanodicarboxílicos resultó ser muy inferior al de las bisamidas de los 1,2-diaminociclohexáneos.

El efecto que la introducción de grupos hidroxilo en el anillo ciclohexánico tiene en la capacidad gelificante de estas bisamidas también fue estudiado, por nuestro grupo de investigación en colaboración con la profesora Rosa Ortuño.^{34,140}

Para ello se sintetizaron las bisamidas **120-124**, con tres grupos hidroxilo en el anillo ciclohexánico y diferentes grados de protección de éstos, partiendo para ello de los 1,2-diácidos **118** y **119**, preparados en nuestro grupo de investigación a partir del ácido (-)-shikímico (Figura 112).

Estas amidas mostraron una relación entre su capacidad de gelificación y el patrón de sustitución de sus grupos hidroxilo. Mientras que los compuestos con grupos hidroxilo totalmente protegidos **120** y **121** son buenos organogelantes para los alcoholes (metanol, etanol, isopropanol), los organogelantes con uno o dos grupos hidroxilos libres **122** y **123** presentan una capacidad ambivalente para gelificar tanto disolventes apolares como polares.

El compuesto con tres grupos hidroxilos libres **124**, sorprendentemente, es insoluble en agua y en disolventes polares, incluidos los alcoholes, pero es capaz de gelificar disolventes de baja polaridad. Este comportamiento aparentemente aleatorio pudo racionalizarse asumiendo que los compuestos con grupos hidroxilo totalmente protegidos adoptan un orden jerárquico basado en la formación de enlaces de hidrógeno entre los grupos amida de las moléculas del organogelante. Mientras que los compuestos de grupos hidroxilo parcial o totalmente desprotegidos pueden adoptar la estructura anterior o una completamente distinta basada en la formación de enlaces de hidrógeno entre sus grupos hidroxilo libres, dependiendo de la polaridad del disolvente.

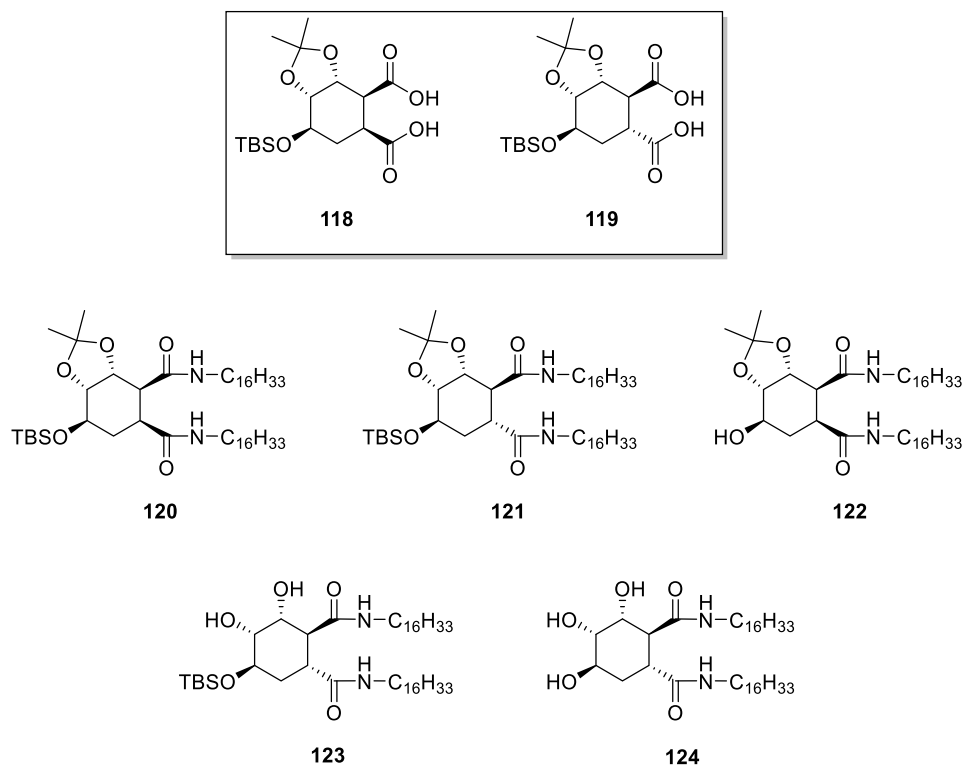


Figura 112. Estructura química de los organogelantes **120-124** basados en bisamidas de ciclohexanos polihidroxilados (**118** y **119**).

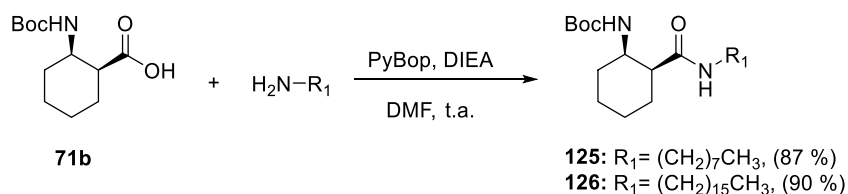
Por lo tanto, estas *N*-alquilamidas derivadas de 1,2-diaminociclohexánanos y de ácidos 1,2-ciclohexanodicarboxílicos ponen de manifiesto que el anillo ciclohexánico es un motivo estructural recurrente en agentes gelificantes moleculares. Esto se debe a que la rigidez del anillo permite predecir de forma bastante precisa la disposición espacial de sus sustituyentes, lo cual es clave para el diseño de moléculas capaces de formar enlaces débiles unidireccionales.

Sin embargo, a pesar de los evidentes beneficios del uso de anillos ciclohexánicos para el diseño de *N*-alquilamidas como agentes gelificantes moleculares, no hay estudios de la capacidad gelificante de β -aminoácidos ciclohexánicos hasta el momento. Por tanto, la síntesis de β -aminoácidos ciclohexánicos y el estudio de sus propiedades gelificantes es de gran interés para la química de materiales y una de las principales motivaciones de esta tesis.

3.4.2 Síntesis, estudio de gelificación y aplicaciones de *N*-alquilamidas derivadas del ácido 2-aminociclohexenocarboxílico

3.4.2.1 Síntesis y estudio de gelificación de la *N*-octilamida **125** y la *N*-hexadecilamida **126** del ácido (1*S*,2*R*)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)ciclohexano-1-carboxílico (**71b**)

La preparación de la *N*-octilamida **125** y la *N*-hexadecilamida **126** se llevó a cabo partiendo del ácido (1*S*,2*R*)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)ciclohexanocarboxílico (**71b**) comercial, protegido como Boc en su extremo *N*-terminal. La reacción de amidación este ácido con la *n*-octilamina comercial, utilizando PyBop como agente acoplante y DIEA como base, en DMF, dio lugar a la *N*-alquilamida deseada **125**, con un 87 % de rendimiento. Mientras que la reacción del mismo ácido con la *n*-hexadecilamina comercial, en idénticas condiciones, dio lugar a la *N*-alquilamida correspondiente **126**, con un 90 % de rendimiento (Esquema 24).



Esquema 24. Síntesis de la *N*-octilamida **125** y la *N*-hexadecilamida **126**.

Ambas *N*-alquilamidas pudieron ser caracterizados gracias a sus propiedades espectroscópicas y espectrométricas:

Para el compuesto **125** destaca en su espectro de RMN-¹H una señal a 0.87 ppm, correspondiente al CH₃ de la cadena alquílica, otra a 1.41 ppm correspondiente al grupo protector Boc y las señales 4.70 y 6.22 ppm, correspondientes a los grupos NH de amida y de uretano, respectivamente. En su espectro de RMN-¹³C destaca la señal a 14.19 ppm correspondiente al CH₃ terminal de la cadena alquílica, la señal a 28.46 ppm correspondiente a los tres grupos metilo del grupo protector Boc y las señales a 155.93 y 174.28 ppm correspondientes a sus dos grupos C=O. Además, en su espectro de masas de alta resolución aparece una señal con una relación m/z = 355.2955 (m/z teórico = 355.2966) correspondiente al ion [M+H]⁺. En su espectro de IR destacan las señales a 1529, 1644 y 1685 cm⁻¹, correspondientes a sus dos grupos carbonilo y una señal ancha a 3324 cm⁻¹, correspondiente a sus dos grupos NH.

Para el compuesto **126** destaca en su espectro de RMN-¹H la señal entre 0.74–1.01 ppm, correspondiente al CH₃ de la cadena alquílica, la señal a 1.44 ppm correspondiente al grupo protector Boc y las señales a 4.69 y 6.28 ppm, correspondientes a los grupos NH de amida y uretano, respectivamente. En su espectro de RMN-¹³C destaca la señal a 14.24 ppm, correspondiente al CH₃ terminal de la cadena alquílica, la señal a 28.54 ppm, correspondiente a los tres grupos metilo del Boc y las señales a 155.97 y 174.34 ppm, correspondientes a sus dos grupos C=O. Además, su espectro de masas de alta resolución muestra una señal con una relación m/z = 467.4207 (m/z teórico = 467.4201) correspondiente al ion [M+H]⁺. En su espectro de IR destacan las señales a 1535, 1644 y 1684 cm⁻¹, correspondientes a sus dos grupos carbonilo y una señal ancha a 3329 cm⁻¹, correspondiente a sus dos grupos NH.

Una vez sintetizadas estas dos primeras *N*-alquilamidas **125** y **126**, que llamaremos a partir de ahora **Gc8** y **Gc16** para facilitar la descripción de sus propiedades, se procedió a

realizar estudios de gelificación en un conjunto de trece disolventes de distinta constante dieléctrica (hexano, tolueno, éter etílico, DCM, CHCl₃, THF, ⁱPrOH, AcOEt, dioxano, acetona, EtOH, MeCN y MeOH).

La concentración mínima de gelificación (*cmg* en mg/mL) en cada disolvente se determinó mediante el **método del test de inversión**. El procedimiento típico consiste en la adición de 10 mg de compuesto y 0.2 mL de disolvente (50 mg/mL) a un vial de 1.5 mL con tapa. La mezcla se calienta en una placa hasta disolver el compuesto. A continuación, se deja enfriar en un baño de hielo/agua durante un periodo de tiempo variable que va desde los pocos segundos hasta varios minutos. El compuesto se considera un gel si no se observa ningún flujo de disolvente tras mantener el vial invertido durante al menos 30 segundos.

Si se forma el gel, se añaden pequeños incrementos de 0.05 mL de disolvente y se repite el ciclo hasta observar un flujo de disolvente en la prueba de inversión, anotando entonces esa concentración como la *cmg*.

Los resultados obtenidos en el test de gelificación para los compuestos **Gc8** y **Gc16** en los trece disolventes antes mencionados aparecen recogidos en la Tabla 19.

Disolvente	Gc8	Gc16
Hexano	17	15
Tolueno	25	—
Éter	17	—
DCM	—	25
CHCl ₃	—	—
THF	—	50
ⁱ PrOH	—	50
AcOEt	—	5
Dioxano	50	—
Acetona	25	25
EtOH	50	50
MeCN	10	0.7
MeOH	—	12.5

Tabla 19. Valores de *cmg* (mg/mL) de las *N*-alquilamidas **Gc8** y **Gc16** en trece disolventes de distinta polaridad.

Se considera que una molécula es buen agente gelificante de un determinado disolvente si su *cmg* es igual o inferior a 20 mg/mL, muy buen agente gelificante si su *cmg* es igual o inferior a 10 mg/mL y un “super-gelificante” si su *cmg* es igual o inferior a 1 mg/mL.

En la Figura 113 están representadas en forma de gráfico de barras las *cmg* de los dos compuestos **Gc8** y **Gc16** en los trece disolventes mencionados. **Gc8** es un buen agente gelificante de tres de los trece disolventes utilizados, mientras que **Gc16** es un es buen agente gelificante de cuatro de los trece disolventes. De estos resultados de gelificación, que

podemos considerar moderados, cabe destacar sin embargo que **Gc16** es un super-gelificante de MeCN ($cmg = 0.7 \text{ mg/mL}$).

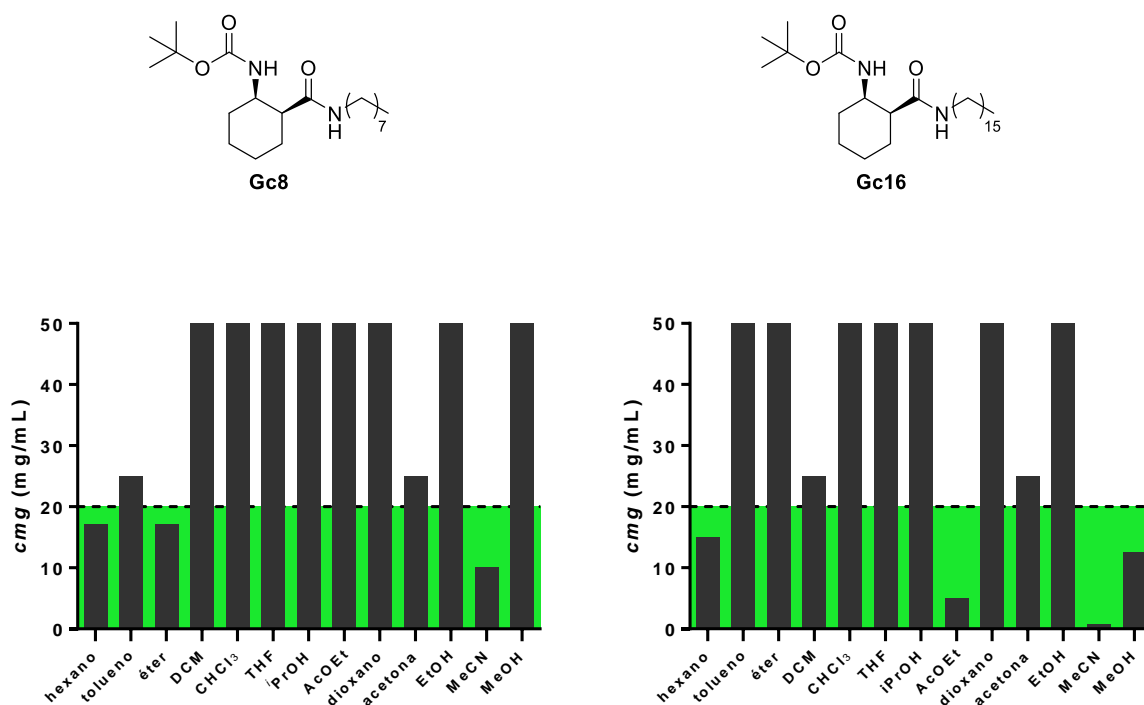


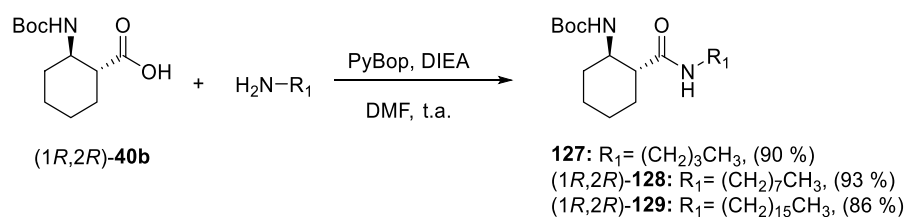
Figura 113. Valores de cmg en los 13 disolventes estudiados para los gelificantes **Gc8** y **Gc16**, en formato de gráfico de barras.

Para el caso de estos dos compuestos observamos que la longitud de la cadena alquímica es determinante en su capacidad gelificante. Siendo el compuesto de cadena de 16 átomos de carbono (**Gc16**) ligeramente mejor gelificante en disolventes polares comparado con el compuesto de 8 átomos de carbono (**Gc8**).

Tanto **Gc16**, como **Gc8** son gelificantes moderados de los disolventes estudiados, como era de esperar para un derivado ciclohexánico con una disposición relativa 1,2-*cis* de sus sustituyentes.^{139,140} Por lo que nos propusimos modificar la otra de las variables objetivo, la estereoquímica de los sustituyentes del anillo ciclohexánico, sintetizando los derivados 1,2-*trans*. Éstos deberían aumentar la capacidad gelificante de sus *N*-alquilamidas y así corroborar que existe una gran influencia de la estereoquímica relativa de este tipo de ciclohexanos 1,2-sustituidos en su capacidad gelificante.

3.4.2.2 Síntesis y estudio de gelificación de la *N*-butilamida **127**, la *N*-octilamida (1*R*,2*R*)-**128** y la *N*-hexadecilamida (1*R*,2*R*)-**129** del ácido (1*R*,2*R*)-2-aminociclohexano-1-carboxílico ((1*R*,2*R*)-**40b**)

La síntesis de los derivados de *N*-alquilamidas con configuración *trans* (**127-129**) se llevó a cabo utilizando un procedimiento similar al del caso previo. Partiendo del ácido (1*R*, 2*R*)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)ciclohexanocarboxílico ((1*R*,2*R*)-**40b**), protegido como Boc en su extremo *N*-terminal y haciéndolo reaccionar con la *n*-butilamina, la *n*-octilamina y la *n*-hexadecilamina comerciales, utilizando PyBop como agente acoplante y DIEA como base (Esquema 25). Esto condujo a las *N*-alquilamidas esperadas **127**, (1*R*,2*R*)-**128** y (1*R*,2*R*)-**129** con rendimientos del 90 %, 93 % y 86 %, respectivamente.



Esquema 25. Síntesis de la *N*-butilamida **127**, la *N*-octilamida (1*R*,2*R*)-**128** y la *N*-hexadecilamida (1*R*,2*R*)-**129**.

Las amidas así sintetizadas se caracterizaron a partir de sus propiedades espectroscópicas y espectrométricas. Así, para el compuesto **127** destaca en su espectro de RMN-¹H un triplete a 0.91 ppm correspondiente a CH₃ terminal de la cadena alquílica, un singlete a 1.45 ppm correspondiente al grupo protector Boc de su extremo *N*-terminal y las señales a 6.02 y 6.90 ppm debidas a los dos NH de amida de la molécula. En su espectro de RMN-¹³C destaca la señal a 13.67 ppm correspondiente al metilo terminal de la cadena alquílica, la señal a 28.35 ppm correspondiente a los tres metilos del grupo protector Boc y las señales a 155.48 y 172.16 ppm correspondientes a sus dos grupos C=O. Además, su espectro de masas de alta resolución muestra una señal con una relación m/z = 299.2258 (m/z teórico = 299.2256) correspondiente al ion [M+H]⁺. En su espectro de IR destacan las señales a 1565, 1650 y 1689 cm⁻¹ correspondientes a sus dos grupos carbonilo y una señal ancha a 3243 cm⁻¹, correspondiente a sus dos grupos NH.

Para el compuesto (1*R*,2*R*)-**128** destaca en su espectro de RMN-¹H la señal a 0.87 ppm correspondiente al CH₃ de la cadena alquílica, la señal a 1.58 ppm correspondiente al grupo protector Boc y las señales 4.63 y 6.14 ppm, correspondientes a sus grupos NH de amida y de uretano. En su espectro de RMN-¹³C destaca la señal a 14.21 ppm correspondiente al CH₃ terminal de la cadena alquílica, la señal a 28.48 ppm correspondiente a los tres grupos metilo del grupo protector Boc y las señales a 156.04 y 174.53 ppm correspondientes a sus dos grupos C=O. Además, en su espectro de masas de alta resolución muestra una señal con una relación m/z = 355.2955 (m/z teórico = 355.2956) correspondiente al ion [M+H]⁺. En su espectro de IR destacan las señales a 1534, 1647 y 1683 cm⁻¹ correspondientes a sus dos grupos carbonilo y una señal ancha a 3331 cm⁻¹, correspondiente a sus dos grupos NH.

De forma similar a los dos casos anteriores, para el compuesto (1*R*,2*R*)-**129** podemos destacar en su espectro de RMN-¹H la señal a 0.89 ppm correspondiente al CH₃ de la cadena alquílica, la señal a 1.46 ppm correspondiente al grupo protector Boc y las señales a 6.02 y 6.91 ppm correspondientes a los grupos NH de amida y de uretano. En su espectro de RMN-¹³C destaca la señal a 14.21 ppm correspondiente al CH₃ terminal de la cadena alquílica

y la señal a 80.49 ppm correspondiente al carbono cuaternario del grupo protector Boc. Además, en su espectro de masas de alta resolución muestra una señal con una relación $m/z = 467.4207$ (m/z teórico = 467.4207) correspondiente al ion $[M+H]^+$. En su espectro de IR destacan las señales a 1540, 1645 y 1684 cm^{-1} correspondientes a sus dos grupos carbonilo y una señal ancha a 3333 cm^{-1} , correspondiente a sus dos grupos NH.

A continuación, se llevó a cabo el estudio de gelificación de las tres *N*-alquilamidas sintetizadas **127**, (1*R*,2*R*)-**128** y (1*R*,2*R*)-**129** que, de forma similar al caso anterior, a partir de ahora los llamaremos **Gt4**, **Gt8** y **Gt16**, para facilitar la descripción de sus propiedades. Se utilizó el método del test de inversión, descrito en la página 122, en los mismos trece disolventes, cuyos resultados parecen recogidos en la Tabla 20 por orden creciente de polaridad.

Disolvente	Gt4	Gt8	Gt16
Hexano	—	0.5	1
Tolueno	—	—	50
Éter	—	10	20
DCM	—	51	35
CHCl ₃	—	—	—
THF	—	—	50
<i>i</i> PrOH	—	50	13
AcOEt	—	16	10
Dioxano	—	25	17
Acetona	—	20	3
EtOH	—	50	5
MeCN	—	10	2
MeOH	—	—	12

Tabla 20. Valores de *cmg* (mg/mL) de las *N*-alquilamidas **Gt4**, **Gt8** y **Gt16** en 13 disolventes de distinta polaridad.

Como puede observarse en la Tabla 20, la *N*-alquilamida con cadena de cuatro átomos de carbono **Gt4** es incapaz de gelificar ninguno de los disolventes utilizados en el test de gelificación, seguramente debido a la baja anfifilia que le confiere al compuesto una cadena alquílica tan corta.

El compuesto **Gt8** es buen agente gelificante de cinco de los trece disolventes utilizados para el test de gelificación. Destaca como un buen gelificante de éter (10 mg/mL) y MeCN (10 mg/mL), y de forma muy especial como un super-gelificante¹ de hexano (0.5 mg/mL).

Mejores resultados se obtuvieron para el compuesto **Gt16** que resultó ser buen agente organogelante de nueve de los trece disolventes utilizados. Destaca como un muy buen agente gelificante de disolventes polares, como acetona (3 mg/mL), EtOH (5 mg/mL), MeCN (2 mg/mL) y MeOH (12 mg/mL). Además, sigue siendo es un super-gelificante de hexano (1 mg/mL), con una *cmg* superior a **Gt8**.

¹ Se consideran super-gelificante de un disolvente si es capaz de gelificar ese disolvente a $cmg \leq 1 \text{ mg/mL}$.

De los resultados obtenidos es particularmente interesante que tanto **Gt8** como **Gt16** son super-gelificantes de hexano con *cmg* de 0.5 y de 1 mg/mL respectivamente. El resultado es espectacular en el caso de **Gt8**, con los valores de gelificación de hexano más bajos reportados hasta la fecha. Este resultado convierte a estos dos agente gelificantes en candidatos ideales para estudiar su aplicación en la recuperación de vertidos de aceites industriales y/o petróleo.

Todos los geles formados por **Gt8** y **Gt16** resultaron ser reversibles. Para comprobar la reversibilidad de estos geles a concentraciones \geq *cmg* se calentaron hasta llevarlos a la temperatura de ebullición del disolvente y se volvieron a dejar enfriar a temperatura ambiente. Observamos que al realizar este ciclo siempre se obtiene de nuevo el gel en todos los disolventes probados. Estos ciclos de calentamiento y enfriamiento se repitieron de manera consecutiva al menos tres veces sin que cambie el resultado. Esto demuestra que los geles de los compuestos **Gt8** y **Gt16** son termorreversibles en todos los disolventes que son capaces de gelificar. Además, los geles **Gt8** y **Gt16** en hexano fueron estables durante un periodo de al menos un año.

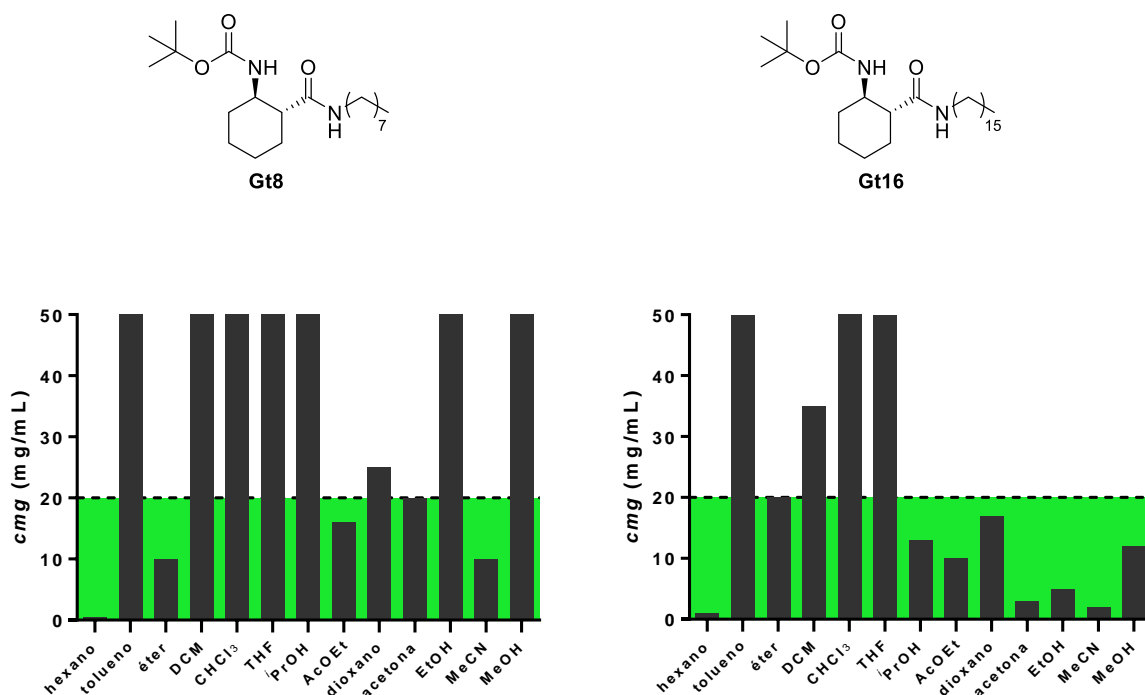


Figura 114. Valores de *cmg* en los 13 disolventes estudiados para los gelificantes **Gt8** y **Gt16**, en formato de gráfico de barras.

En la Figura 114 se pueden observar los resultados de gelificación de **Gt8** y **Gt16** de la Tabla 20 en forma de gráfico de barras para una mejor visualización de los resultados. Vemos que la longitud de cadena es también en este caso un factor determinante de la capacidad gelificante de estos compuestos. El compuesto de cadena de dieciséis gelifica un mayor número de disolventes y con *cmg* menores que el de cadena de ocho. La diferencia en las *cmg* de **Gt8** y **Gt16** es especialmente relevante para los disolventes más polares. En **Gt16** se ve una clara tendencia de disminución de la *cmg* a medida que aumenta la polaridad de los disolventes, mientras que para **Gt8** no hay una tendencia clara, siendo capaz de gelificar solo alguno de los disolventes polares.

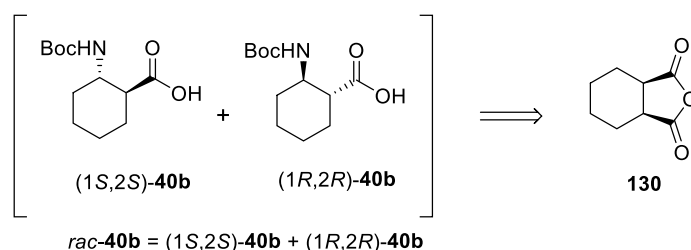
Esto indica que la estabilización de los agregados supramoleculares mediante fuerzas de Van der Waals es más importante en disolventes polares que en apolares, como es lógico, ya que estos últimos debilitan los enlaces e hidrógeno. Mientras que en disolventes apolares no vemos un cambio significativo en la capacidad gelificante al variar la longitud de cadena. De hecho, se obtienen menores *cmg* para **Gt8** que para **Gt16** en disolventes apolares.

3.4.2.3 Síntesis y estudio de gelificación de los racematos de la *N*-octilamida *rac*-**128** y la *N*-hexadecilamida *rac*-**129** del ácido *trans*-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)ciclohexano-1-carboxílico ((+/-)-*trans*-ACHC) (*rac*-**40b**)

Debido a los buenos resultados obtenidos en los test de gelificación de estos compuestos, particularmente en hexano, decidimos sintetizar y estudiar también la capacidad de gelificación del racemato de la amida (1*R*,2*R*)-**128** y su enantiómero (1*S*,2*S*)-**128** (que llamaremos *rac*-**128**) y por el racemato de la amida (1*R*,2*R*)-**129** y su enantiómero (1*S*,2*S*)-**129** (que llamaremos *rac*-**129**).

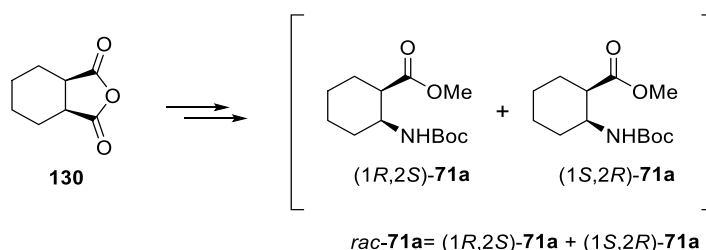
La razón es que si estas mezclas racémicas *rac*-**128** y *rac*-**129** presentan también las buenas propiedades de gelificación de sus componentes enantioméricamente puros ((1*R*,2*R*)-**128** y (1*R*,2*R*)-**129**), serían mejores candidatos para la búsqueda de una aplicación industrial, al resultar más asequibles sintéticamente y por lo tanto económicamente.

Para la síntesis de estas *N*-alquilamidas racémicas *rac*-**128** y *rac*-**129** nos planteamos en primer lugar buscar un método de síntesis sencillo, que nos permita sintetizar de forma económica, a escala de multigrano, su precursor, el ácido *trans*-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)ciclohexanocarboxílico (*rac*-**40b**). Se optó por partir del anhídrido hexahidroftálico **130** comercial (Esquema 26).



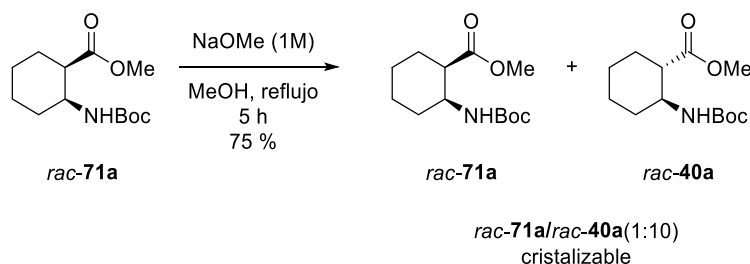
Esquema 26. Mezcla racémica *rac*-**40b** y su anhídrido precursor **130**.

En primer lugar, se sintetizó el *cis*-aminoéster racémico *rac*-**71a** protegido en su extremo *N*-terminal como *tert*-butoxicarbonil siguiendo el procedimiento descrito en la bibliografía (Esquema 27).¹⁴¹



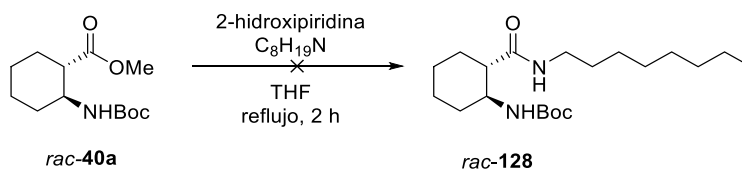
Esquema 27. Síntesis del *cis*-aminoéster racémico *rac*-**71a**.

A continuación, el β -amino éster *rac*-**71a** se sometió a una reacción de epimerización utilizando NaOMe en MeOH a reflujo, lo que dio lugar a una mezcla del racemato del *trans*- β -amino éster *rac*-**40a** y del racemato de partida, en una proporción 10 a 1, con un rendimiento del 75 % (Esquema 28). El racemato mayoritario *rac*-**40a** pudo ser aislado mediante la cristalización de esta mezcla.



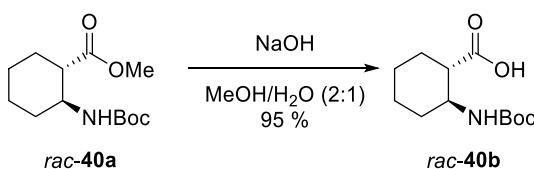
Esquema 28. Epimerización del racemato del *cis*- β -aminoéster *rac*-**71a** al *trans*- β -aminoéster *rac*-**40a**.

Una vez obtenido el *trans*- β -aminoéster racémico *rac*-**40a** puro se estudió su reacción de acoplamiento con la *n*-octilamina para obtener la *N*-alquilamida racémica *rac*-**128**, para lo que fue necesario ensayar varias condiciones de reacción. En un primer lugar se intentó la reacción de amidación directa del éster con la *n*-butilamina en THF a reflujo, utilizando como catalizador 2-hidroxipiridina (Esquema 29). En estas condiciones se recuperó únicamente el producto de partida, lo que indica que la amidación directa del éster no resulta viable en este caso.



Esquema 29. Condiciones de síntesis de *rac*-**128** a partir de *rac*-**40a**, utilizando la 2-hidroxipiridina como catalizador.

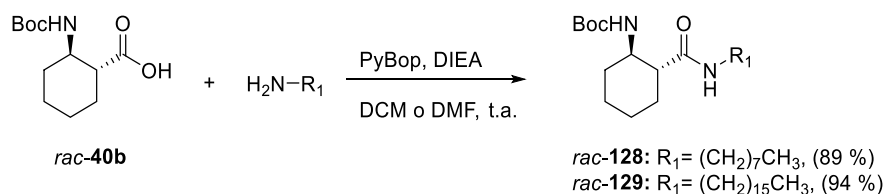
Fue necesario hidrolizar el éster *rac*-**40a**, utilizando NaOH en una mezcla MeOH/H₂O (2:1), lo que condujo al ácido *trans*-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)ciclohexano-1-carboxílico (*rac*-**40b**) con un rendimiento del 95 % (Esquema 30). Sus propiedades físicas y espectroscópicas resultaron ser idénticos a los de su componente enantioméricamente puro (1*R*,2*R*)-**40b**, salvo su rotación óptica que fue, obviamente “0”.



Esquema 30. Síntesis del ácido *trans*-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)ciclohexano-1-carboxílico (*rac*-**40b**).

Por último, se llevó a cabo el acoplamiento peptídico entre el ácido *rac*-**40b** y *n*-octilamina utilizando PyBop como agente acoplante y DIEA como base en DMF, lo que dio

lugar a la *N*-alquilamida deseada *rac*-**128** con un 89 % de rendimiento. De forma totalmente similar se realizó el acoplamiento del ácido *rac*-**40b** con la *n*-hexadecilamina, lo que nos condujo a la *N*-alquilamida *rac*-**129** esperada, que se obtuvo con un 94 % de rendimiento (Esquema 31).



Esquema 31. Síntesis de las *N*-alquilamidas racémicas *rac*-**128** y *rac*-**129**.

Una vez sintetizadas ambas *N*-alquilamidas racémicas *rac*-**128** y *rac*-**129**, que llamaremos a partir de ahora **rGt8** y **rGt16**, para facilitar la descripción de sus propiedades, se procedió a realizar estudios de gelificación, procediendo de forma similar a los dos casos anteriormente descritos, en el conjunto usual de trece disolventes de distinta constante dieléctrica (hexano, tolueno, éter etílico, DCM, CHCl₃, THF, ⁱPrOH, AcOEt, dioxano, acetona, EtOH, MeCN y MeOH).

Los resultados obtenidos en este estudio, expresados con el dato de la *cmg* (mg/mL), aparecen recogidos en la Tabla 21.

Disolvente	rGt8	rGt16
Hexano	28.5	5
Tolueno	—	6.25
Éter	—	5
DCM	—	16.7
CHCl₃	—	—
THF	—	50
ⁱPrOH	—	25
AcOEt	51	8.3
Dioxano	7	12.5
Acetona	25	2.5
EtOH	—	16.7
MeCN	25	5
MeOH	—	10

Tabla 21. Valores de *cmg* (mg/mL) de las *N*-alquilamidas **rGt8** y **rGt16** en 13 disolventes de distinta polaridad.

En el caso del racemato **rGt8**, los resultados de gelificación son claramente peores que para su análogo enantioméricamente puro **Gt8** e incluso peores que los de su análogo con configuración *cis* **Gc8**. Solo es capaz de gelificar MeCN (7 mg/mL) por debajo de 20 mg/mL. Por lo tanto, debemos considerarlo como un mal agente gelificante.

Sin embargo, como se muestra en la Tabla 21, los resultados obtenidos para el racemato **rGt16** fueron diametralmente opuestos al del racemato **rGt8**, resultando ser un buen agente

organogelante de diez de los trece disolventes ensayados, superando incluso a su análogo enantioméricamente puro **Gt16**. Resultó ser capaz de mantener la buena capacidad de éste para gelificar disolventes polares, mejorándola para gelificar disolventes apolares, como tolueno (6.25 mg/mL), éter (5 mg/mL) o DCM (16.7 mg/mL). Además, sigue siendo muy buen agente gelificante de hexano (5 mg/mL).

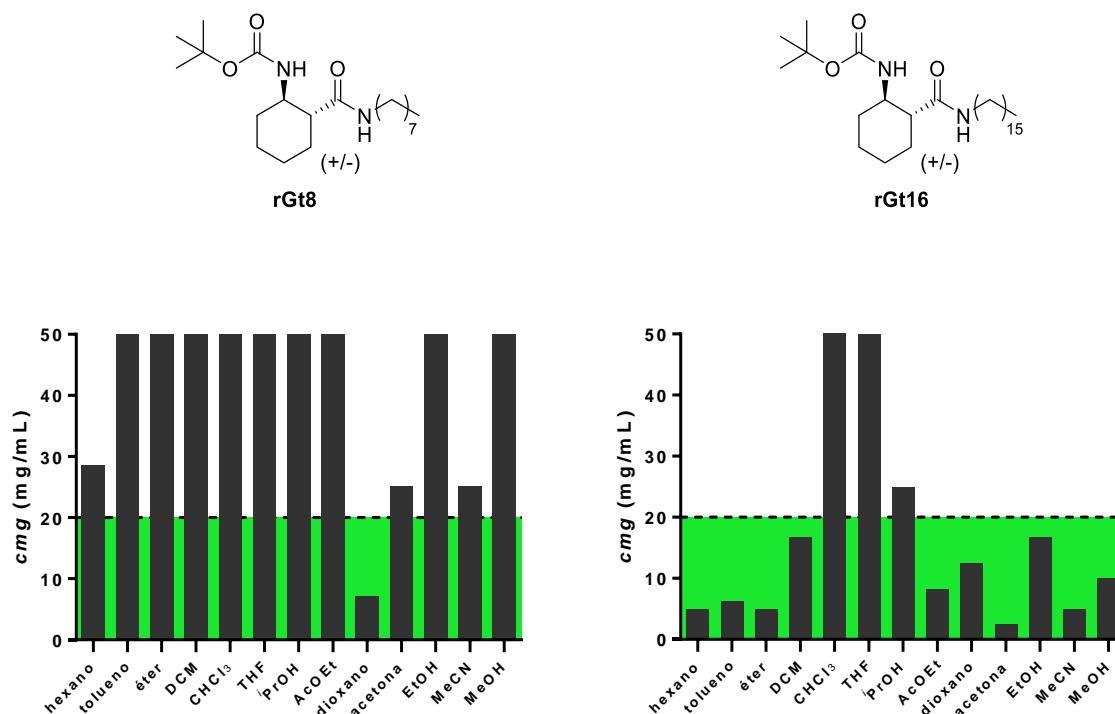


Figura 115. Valores de cmg en los 13 disolventes estudiados para los gelificantes **rGt8** y **rGt16**, en formato de gráfico de barras.

En la Figura 115 se presentan los resultados de gelificación de **rGt8** y **rGt16** en forma de código de barras. Destaca con claridad **rGt16** como un excelente agente gelificante, capaz de gelificar tanto disolventes polares como apolares, siendo peores los resultados para disolventes de polaridad intermedia. Esto puede ser racionalizado asumiendo que:

- Los disolventes polares solo interfieren las asociaciones del gelificante por enlaces de hidrógeno entre sus grupos C=O y NH, no afectando a las interacciones de las cadenas alquílicas por fuerzas de Van der Waals.
- Los disolventes apolares solo interfieren las asociaciones de las cadenas alquílicas por fuerzas de Van der Waals, no afectando a las interacciones por enlaces de hidrógeno entre sus grupos C=O y NH del gelificante.
- Los disolventes de polaridad media interfieren ambas asociaciones del gelificante (enlaces de hidrógeno entre sus grupos C=O y NH y asociaciones de las cadenas alquílicas por fuerzas de Van der Waals), dificultando o incluso imposibilitando el proceso de gelificación.

3.4.2.4 Estudios estructurales de las *N*-alquilamidas **Gt8**, **Gt16**, **rGt8** y **rGt16**

Los geles moleculares se forman a través de un proceso de autoensamblado jerarquizado cuyo mecanismo, descrito en la introducción de esta segunda parte de la tesis doctoral, sigue los siguientes pasos:¹⁴²

- En primer lugar, las moléculas discretas del gelificante se ordenan mediante interacciones moleculares no covalentes que dan lugar a la formación de polímeros supramoleculares llamados fibrillas o **Nivel 1**.
- A continuación, estas fibrillas se unen entre sí para formar haces de fibrillas, que denominaremos fibras o **Nivel 2**.
- Finalmente, estas fibras interaccionan entre si entrecruzándose para dar lugar a una red tridimensional que es la que sostiene el gel en su forma macroscópica o **Nivel 3**.

Para conocer cómo ocurre el proceso anteriormente descrito en el caso de nuestros gelificantes (**Gt8**, **Gt16**, **rGt8** y **rGt16**) decidimos llevar a cabo un estudio estructural de sus geles en hexano, por ser éste un disolvente que son capaces de gelificar todos ellos y del que dos de ellos son agentes super-gelificantes (**Gt8**, **Gt16**).

Para determinar el tipo de estructuración de nuestros geles, desde la escala microscópica a la macroscópica, así como el mecanismo de la gelificación, se llevaron a cabo estudios que incluyeron técnicas espectroscópicas (FTIR y CD), microscópicas (SEM y TEM) y de difracción de Rayos X.

3.4.2.4.1 Espectroscopía de Infrarrojo (IR)

La Espectroscopía de IR puede utilizarse también para caracterizar el proceso de formación de geles supramoleculares. Proporciona información sobre el ensamblaje de los bloques de construcción a escala molecular y permite determinar las interacciones no covalentes responsables de la gelificación.

Esta técnica es especialmente efectiva para caracterizar aquellos gelificantes en los que la principal fuerza impulsora en la formación del gel es la interacción por medio de enlaces de hidrógeno intermoleculares. Si durante la gelificación se forman enlaces de hidrógeno debería observarse un efecto batocrómico para las señales de NH y C=O y un efecto hipsocrómico para la señal C=N, con respecto a las señales en disolución.

Para observar estos efectos en la estructura supramolecular del gelificante es necesario realizar al menos dos espectros, uno del agente gelificante en disolución y otro del gel/xerogel.

Para determinar la presencia de enlaces de hidrógeno en los geles formados en hexano por nuestros cuatro agentes gelificantes (**Gt8**, **Gt16**, **rGt8** y **rGt16**) se realizaron medidas de IR para cada uno ellos: IR del compuesto en disolución de MeOH/DCM 1:10 e IR del xerogel en hexano (gel al que se le retira el disolvente a vacío manteniendo la estructura supramolecular del gel) ambos la *cmg* correspondiente en hexano a cada uno de los compuestos (Tabla 20, página 126 y Tabla 21, página 130). Los resultados de este estudio se exponen a continuación, presentando las frecuencias a las que aparecen las señales de tensión de los enlaces N-H y C=O (Tabla 22).

Compuesto	NH		C=O	
	Xerogel	Disolución	Xerogel	Disolución
Gt8	3324	3331	1644	1647
			1685	1683
Gt16	3329	3333	1644	1645
			1684	1684

Tabla 22. Datos de IR para las bandas de NH y de CO de amida de los dos compuestos **Gt8** y **Gt16** para su xerogel en hexano y su disolución en una mezcla de MeOH/CH₂Cl₂.

Para el compuesto **Gt8**, las bandas características de tensión de NH y C=O de amida en disolución aparecen a 3331 y 1647/1683 cm⁻¹, respectivamente. Tras la gelificación estas bandas se desplazan a 3324 y 1644/1685 cm⁻¹, respectivamente. Se produce un efecto batocrómico de ambas señales tras la gelificación, lo que sugiere una participación del NH y C=O de amida en enlaces de hidrógeno.

Para la disolución de **Gt16** las dos bandas características de las vibraciones de tensión de NH y C=O en la amida aparecen a 3333 y 1645/1684 cm⁻¹, respectivamente (Tabla 22). Después de la gelificación las bandas de los xerogeles se desplazan (efecto batocrómico) a 3329 y 1644/1684 cm⁻¹, respectivamente. Esto sugiere también una participación del NH y C=O de amida en enlaces de hidrógeno, lo que indica que en ambos casos la formación de enlaces de hidrógeno intermoleculares es un factor clave para la gelificación.

Por lo tanto, la diferencia de desplazamiento observada en las señales de NH para estos gelificantes en disolución y en el gel (estado sólido o el xerogel), indican que el mecanismo de la gelificación se ve favorecido por la formación de enlaces de hidrógeno intermoleculares entre los grupos C=O de amida de una molécula con el grupo NH de la siguiente.

Los datos de los gelificantes en forma de racematos **rGt8** y **rGt16** se presenta en la Tabla 23.

Compuesto	NH		C=O	
	Xerogel	Disolución	Xerogel	Disolución
rGt8	3332	3334	1685	1687
			1646	1647
rGt16	3328	3328	1684	1686
			1644	1645

Tabla 23. Datos de IR para las bandas de NH y de CO de amida de los dos compuestos **rGt8** y **rGt16** para su xerogel y su disolución de MeOH/CH₂Cl₂.

Las bandas características de tensión de NH y C=O de amida para el compuesto **rGt16** en disolución aparecen a 3328 y 1645/1686 cm⁻¹, respectivamente. Tras la gelificación estas bandas se desplazan a 3328 y 1644/1684 cm⁻¹.

Para el racemato **rGt8** también se observa este efecto batocrómico tras la gelificación. Las bandas características de tensión de NH y C=O de amida en disolución aparecen a 3334 y 1647/1687 cm^{-1} , respectivamente. Tras la gelificación estas bandas se desplazan a 3332 y 1646/1685 cm^{-1} , respectivamente.

Podemos por lo tanto concluir que las pequeñas diferencias de desplazamiento observadas para las señales de NH y C=O de amida para estos cuatro sistemas gelificantes en disolución y en el xerogel, parecen indicar que el mecanismo de la gelificación se ve favorecido por la formación de enlaces de hidrógeno intermoleculares entre los grupos amida y uretano de estos compuestos.

3.4.2.4.2 Espectroscopía de Dicroísmo Circular (CD)

La espectroscopia de CD es una de las mejores técnicas para establecer la estructuración supramolecular en general. Además, en el caso de los geles su responsividad térmica hace que la espectroscopia de CD a temperatura variable constituya una técnica ideal para seguir la formación del gel desde la escala nanométrica hasta la macroscópica. Permite también determinar la temperatura de transición sol/gel como aquella en la que se observa un cambio apreciable en el espectro de CD del sistema.

Con el objeto de observar los cambios en el Dicroísmo Circular de nuestros gelificantes entre el estado de disolución y el gel, se disolvieron en heptano, calentando hasta los 90 °C y luego con una pipeta (previamente calentada en la estufa) se trasvasaron las disoluciones resultantes a una cubeta de cuarzo de 1 mm. A continuación, se tomaron medidas de Dicroísmo Circular a diferentes temperaturas (de 90 °C a 10 °C), con un “*scan speed*” de 200 nm/min y una rampa de 5 °C/min, estabilizando la temperatura de medida durante 5 min y acumulando tres veces.

Se eligió heptano como disolvente para la prueba, por ser el disolvente más parecido al hexano que cumplía los requerimientos que necesitábamos: no absorbe en el rango de longitudes de onda de absorción de los grupos amida (entre 190 nm y 300 nm) y tiene una T_{eb} suficientemente alta como para poder hacer una buena rampa de temperaturas.

- Estudio de CD del compuesto **Gt4**

Se comenzó el estudio de CD con la *N*-alquilamida enantioméricamente pura y de cadena más corta **Gt4**, ya que esta no gelifica en ninguno de los disolventes estudiados y nos sirve de referencia para ver el espectro de dicroísmo de una disolución isotrópica y por tanto de las moléculas individuales en todo el rango de temperaturas. Se realizaron medidas de CD en heptano (1 mg/mL) a tres temperaturas diferentes 10, 25 y 90 °C. Los resultados obtenidos aparecen recogidos en la Figura 116.

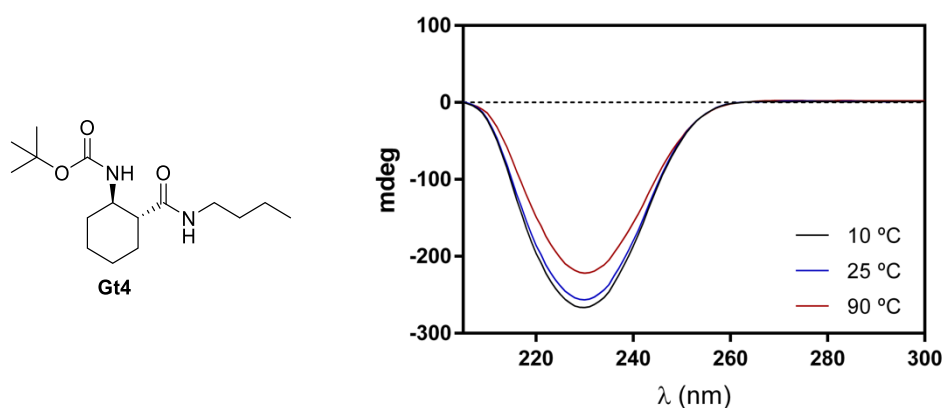


Figura 116. Espectro de CD a temperatura variable (de 90 a 10 °C) del compuesto **Gt4** a una concentración de 1 mgmL⁻¹ en heptano.

Las medidas de CD de **Gt4** muestran un efecto Cotton negativo a 230 nm, que es prácticamente independiente de la temperatura. El hecho de que el espectro de CD no cambie al variar la temperatura sugiere que la señal obtenida es debida a una perturbación asimétrica del cromóforo, en este caso los grupos amida de la molécula (efecto Cotton de la especie a nivel molecular y no macromolecular).¹⁴³ Este resultado nos da información de cómo debería de ser el espectro de CD de nuestras *N*-alquilamidas en estado sol.

- Estudio de CD del compuesto **Gt8**

Utilizando el procedimiento descrito en el apartado anterior tomamos medidas de CD del compuesto **Gt8** también disuelto en heptano (1 mg/mL) entre 0 °C y 90 °C y con intervalos de 10 °C. Estas medidas se tomaron en sentido ascendente y descendente para comprobar la reversibilidad del proceso.

Las medidas en sentido descendente se tomaron enfriando de 90 °C a 0 °C (**A.** Figura 117). Se observan dos bandas negativas a 204 nm (más intensa) y 221 nm. Entre 90 y 60 °C no se observa ninguna variación en el espectro. A 50 °C se observa una disminución en la intensidad de la banda a 204 nm. A 40 °C se observa una inversión del espectro, manteniendo una banda negativa en torno a 200 nm, una banda positiva a 210 nm y un hombro a 220 nm. Por lo que podemos situar la temperatura, de transición sol-gel entre 50-40 °C. A medida que bajamos la temperatura la banda negativa disminuye en intensidad y las positivas aumentan en intensidad hasta los 0 °C.

Las medidas en sentido ascendente se tomaron calentando de 0 °C a 90 °C (**B.** Figura 117). Se observa el proceso inverso al caso anterior: una disminución de la intensidad de las dos bandas positivas a 210 y 220 nm, hasta la inversión del espectro al pasar de 40 °C a 50 °C y la formación de dos bandas negativas a 204 y 220 nm desde 50-90 °C. Esto demuestra que el proceso de gelificación para este agente gelificante es totalmente reversible, sin histéresis en la temperatura de transición sol-gel, con respecto a la temperatura de transición gel-sol.

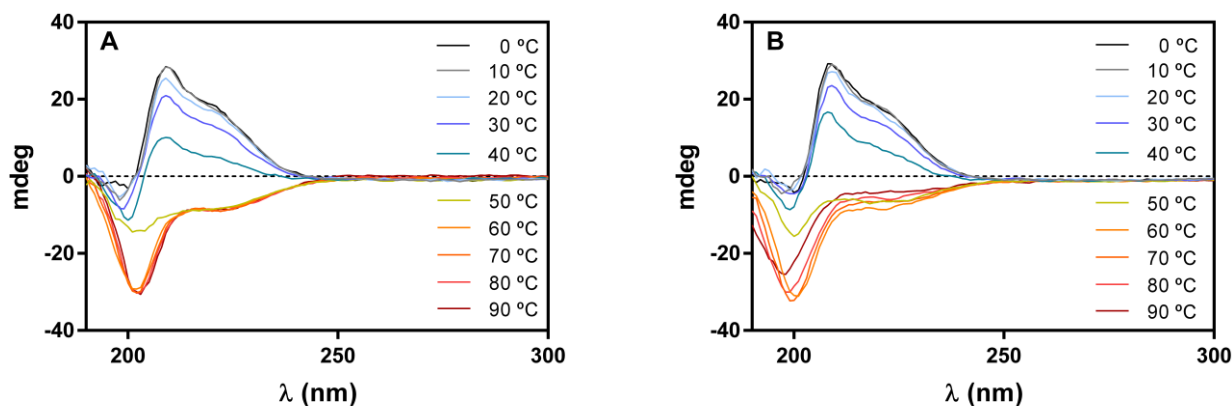
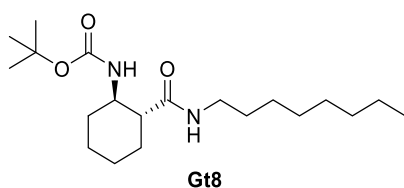


Figura 117. Espectros de CD a Temperatura variable de **Gt8** a una concentración de 2 mg mL^{-1} en heptano. A. enfriando de 90 a 10 °C. B. calentando de 10 a 90 °C.

Estos datos concuerdan con un proceso de autoensamblado de las moléculas de **Gt8** a medida que se enfría una disolución isotrópica del mismo en heptano. Al bajar de 50 °C hay una población mayor de polímeros supramoleculares, con respecto a las moléculas individuales disueltas, lo que se refleja en una inversión del espectro de CD, que no se observaba para **Gt4**. A medida que seguimos bajando la temperatura estos polímeros supramoleculares siguen creciendo, lo que se refleja en un aumento de la intensidad del espectro. Hasta que alcanzan una masa crítica que gelifica el disolvente y el espectro de CD no varía prácticamente desde los 20 °C hasta los 0 °C.

- Estudio de CD del compuesto **Gt16**

Para el compuesto **Gt16** también se tomaron medidas de CD del mismo disuelto en heptano (1 mg/mL) entre 0 °C y 90 °C y con intervalos de 10 °C, en sentido ascendente y descendente.

Los resultados obtenidos, que pueden verse en la Figura 118, muestran un comportamiento diferente al caso anterior, apareciendo ahora tres situaciones diferentes que parecen indicar tres niveles de estructuración.

Para la medida en sentido de temperatura descendente, enfriando desde 90 °C hasta -10 °C (Figura 118, A):

- De 90 °C a 50 °C: se observan dos bandas negativas, una a 203 nm (más intensa) y otra a 218 nm (hombro). Estos espectros corresponderían al estado de sol (molécula completamente disuelta).

- De 40 °C a 20 °C: Al bajar de 50 °C se observa una inversión de la banda de 203 nm mientras que la banda a 218 nm se mantiene igual. En esta región de

temperaturas ya se empieza a formar el gel (se pueden ver la formación de agregados en el disolvente. Sin embargo, aún hay flujo de disolvente al voltear la cubeta) por lo que no se puede considerar un gel sino más bien una dispersión coloidal de **Gt16** en heptano.

- De **20 °C a -10 °C**: A 10 °C se observa otra inversión del espectro, dando esta vez una banda nueva y negativa a 208 nm de más del doble de intensidad que el resto de las bandas con un hombro a 240 nm. En esta región ya tenemos un gel perfectamente formado. Al continuar bajando la temperatura se produce un desplazamiento al rojo de la banda más intensa desde los 205 nm hasta los 207 nm (a -10 °C).

Para la medida en sentido ascendente, calentando desde -10 °C hasta 90 °C (Figura 118, **B**):

- De **-10 °C a 40 °C**: Se ve una banda negativa intensa a 208 nm con un hombro a 240 nm, totalmente similar al caso del experimento anterior.
- De **50 °C a 60 °C**: Se ve una inversión del espectro apareciendo ahora una banda con un máximo aproximadamente a 220 nm, completamente desplazada con respecto a la que veíamos en experimento anterior en ese rango de temperaturas.
- De **70 °C a 90 °C**: A partir de 70 °C se produce una nueva inversión del espectro apareciendo ahora dos bandas negativas, una a 203 nm (más intensa) y otra a 218 nm (hombro), de nuevo un comportamiento similar al experimento anterior.

En este caso sí se observa histéresis en el proceso de transición sol-gel.

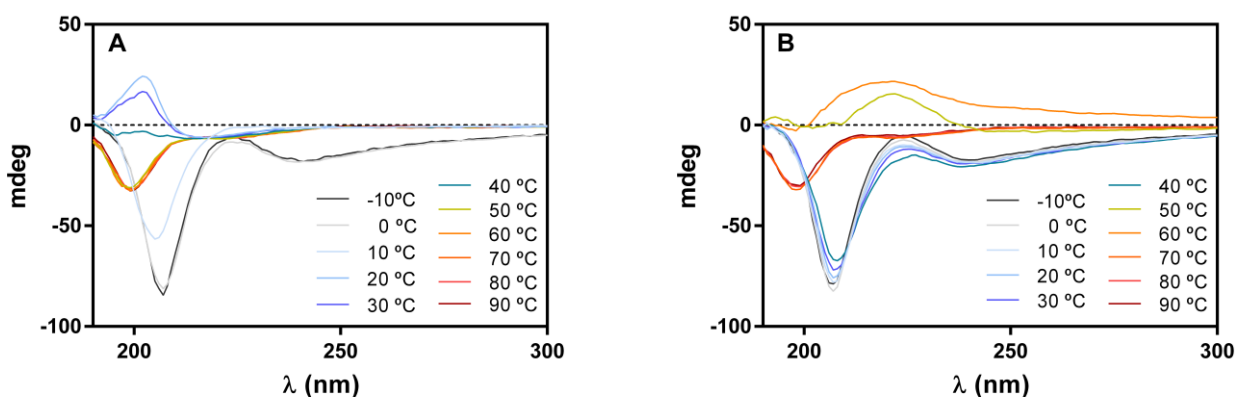
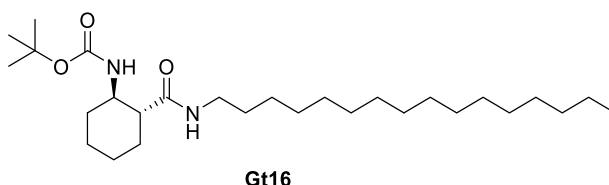


Figura 118. Espectros de CD a Temperatura variable de **Gt16** a una concentración de 1 mgmL⁻¹ en heptano. A. enfriando de 90 a -10 °C. B. calentando de -10 °C a 90 °C.

Para intentar entender el comportamiento de CD que presentan nuestro gelificante **Gt16**, se realizó un nuevo experimento de CD de este compuesto a una concentración de 0.5 mg/mL, menor que su *cmg* (1 mg/mL), en el mismo disolvente y en el mismo rango de temperaturas. Los resultados aparecen reflejados en la Figura 119.

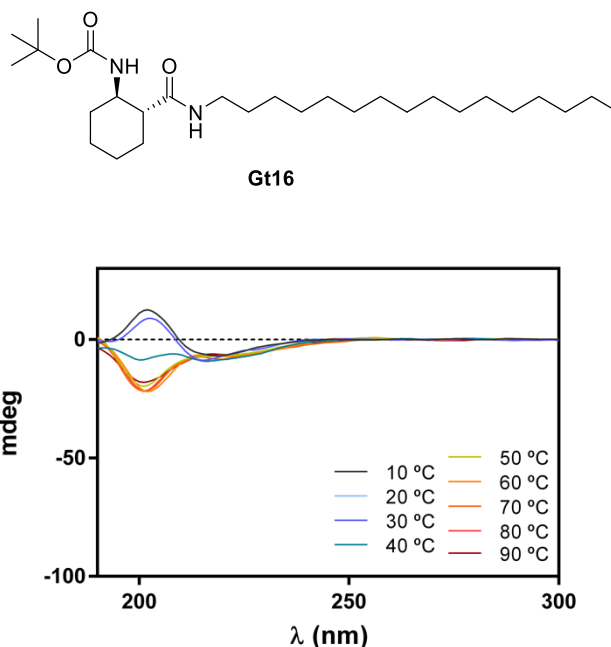


Figura 119. Espectro de CD a Temperatura variable (de 90 a 10 °C) del compuesto **Gt16** a una concentración <math> < 1 \text{ mg mL}^{-1}</math>.

En este caso se observan sólo dos espectros de CD diferentes en el rango temperaturas estudiado.

- De 90 °C a 50 °C: Se observa el mismo espectro que a $c = 1 \text{ mg/mL}$: dos bandas negativas, una a 207 nm y un hombro a 224 nm.
- De 40 °C a 10 °C: A 40 °C se observan las dos mismas bandas, pero de igual intensidad. De 30 a 10 °C se observa una banda positiva a 207 nm y otra negativa a 220 nm, igual que en el caso a $c = 1 \text{ mg/mL}$.

Estableciendo una comparativa entre los experimentos de CD enfriando una disolución de **Gt16** en heptano a su *cmg* (1 mg/mL) y a una concentración menor que su *cmg* (0.5 mg/mL), se puede interpretar que la región de 90 a 50 °C se corresponde con el estado sol (moléculas disueltas, Nivel 0), cuyo espectro de CD es independiente de la concentración (Figura 120).

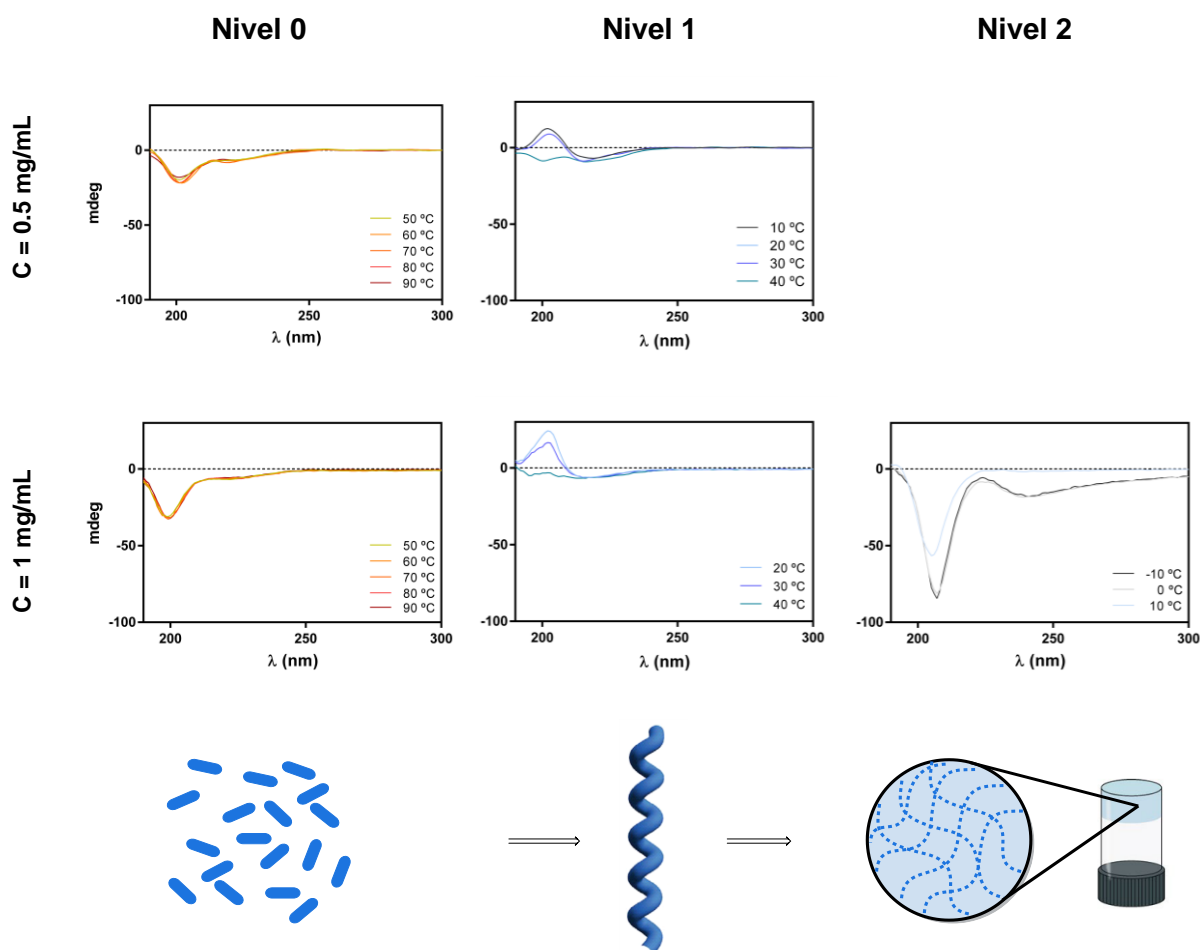


Figura 120. Comparación de los espectros de CD de *Gt16* a $c = 0.5 \text{ mg/mL}$ y $c = 1 \text{ mg/mL}$. **Nivel 0:** Espectros de CD a $c = 0.5$ y $c = 1 \text{ mg/mL}$ idénticos (disolución isotrópica). **Nivel 1:** Espectros de CD a $c = 0.5$ y $c = 1 \text{ mg/mL}$ idénticos (fibrillas u otros agregados supramoleculares quirales). **Nivel 2:** Solo se observa al gelificar a $c = 1 \text{ mg/mL}$ (fibras del gel).

La región entre 30 y 10 °C, con el mismo espectro, tanto para $c = 1 \text{ mg/mL}$ (cmg) como para $c = 0.5 \text{ mg/mL}$ ($< cmg$) corresponde a un nivel de agregación supramolecular que no tiene capacidad para formar un gel (fibrillas, **Nivel 1**).

A partir de 10 °C vemos un espectro de CD completamente diferente. Esto sugiere que la formación de una estructura primaria quiral da paso a una estructura secundaria también quiral y diferente a la primera, una vez se alcanza una masa crítica necesaria para formar el gel (**Nivel 2**) (Figura 120).

Por último, llevamos a cabo estudios de CD de los racematos de nuestras *N*-alquilamidas **rGt8** y **rGt16**, también en hexano y en el mismo rango de temperaturas, cuyos resultados aparecen reflejados en la Figura 121.

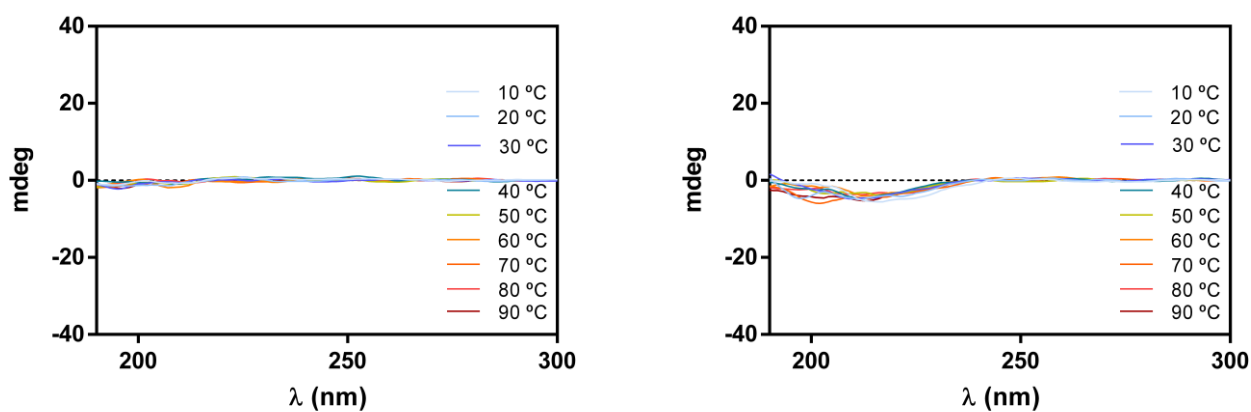


Figura 121. Espectro de CD a temperatura variable (de 90 a 10 °C) de las mezclas racémicas **rGt8** (derecha) y **rGt16** (izquierda) a su cmg en heptano.

Como puede verse no se observa diferencia entre la disolución y el gel, lo que demuestra que los geles de **rGt8** y **rGt16** en heptano son aquirales, como sus disoluciones.

3.4.2.4.3 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

También llevamos a cabo experimentos de microscopía electrónica de barrido de nuestros geles en hexano, con el objetivo de poder obtener más información sobre su estructura microscópica. Para ello se prepararon los geles de los compuestos **Gt8** y **Gt16** en hexano y se secaron a vacío para retirar el disolvente y así obtener los xerogeles correspondientes, que fueron metalizados con iridio para aumentar su conductividad.

Las micrografías del xerogel de estos dos compuestos muestran que **Gt8** se agrega en fibras con una anchura entre 170–400 nm de grosor, mientras que **Gt16** se agrega en fibras claramente más pequeñas, de entre 45 y 90 nm (Figura 122).

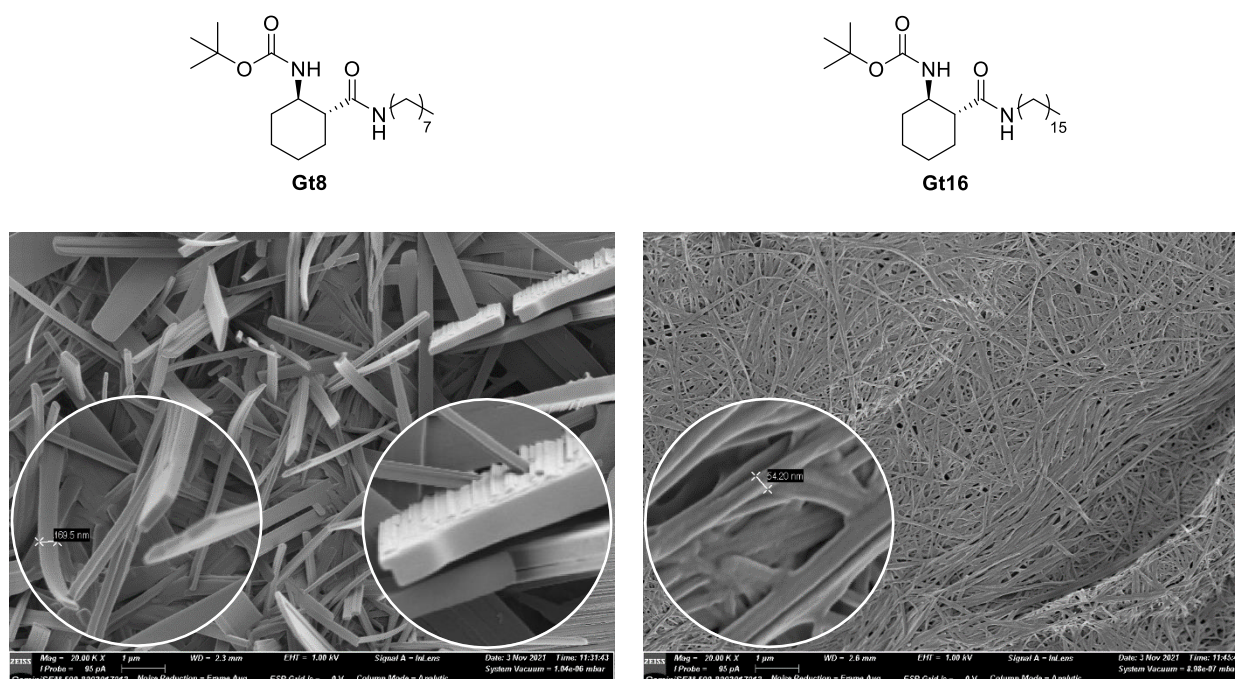


Figura 122. Imágenes de SEM de los compuestos: **Gt8** (20K X y ampliación a 50K X) **Gt16** (20K X y ampliación 150K X).

Comparando ambas imágenes, se puede ver que el compuesto con la cadena alquílica de mayor longitud (**Gt16**) se estructura en fibras más finas y ramificadas que el compuesto con la cadena alquílica de menor longitud (**Gt8**), que forma fibras más anchas y ordenadas. Esto demuestra que la longitud de la cadena alquílica juega un papel importante en el proceso de formación del gel.

También se realizaron medidas de SEM para los geles formados por las mezclas racémicas **rGt8** y **rGt16** en hexano. En este caso puede observarse que el compuesto **rGt8** se agrega en fibras torsionadas con una anchura de entre 150–300 nm de grosor, con una clara torsión a derechas, mientras que el compuesto **rGt16** muestra estructuras fibrilares más pequeñas, de entre 40–50 nm de anchura, en las que también se pudo apreciar una ligera tendencia a la torsión (Figura 123).

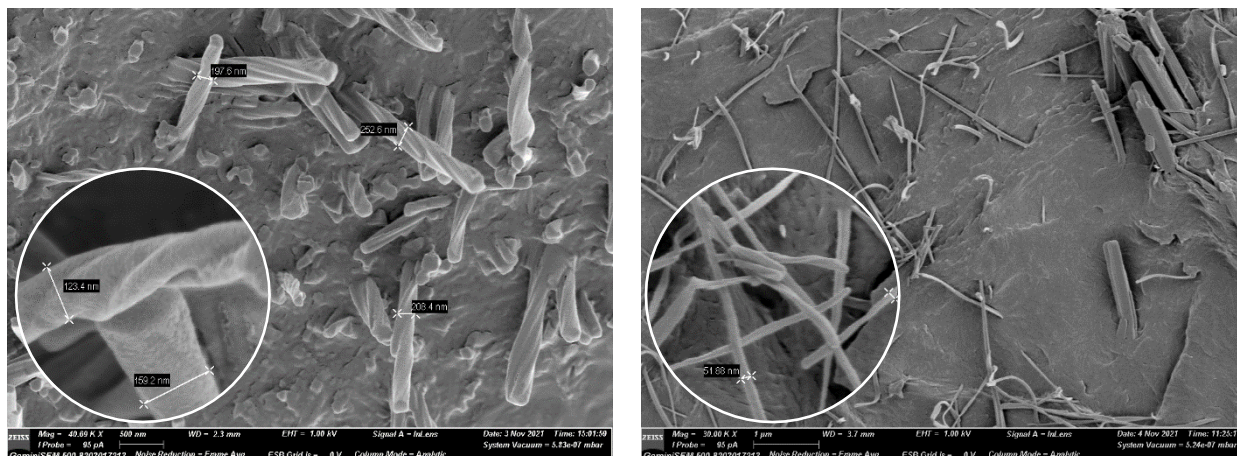
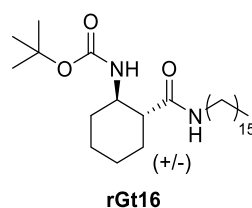
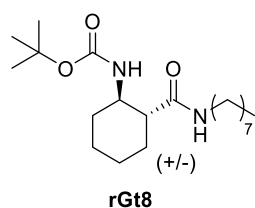


Figura 123. Imágenes de SEM de los compuestos: **rGt8** (40K X y ampliación a 200K X) **rGt16** (30K X y ampliación 100K X).

En la Tabla 24 aparece recogido un resumen de la morfología y características de los agregados supramoleculares de estos cuatro agentes gelificantes. Se ve una clara dependencia del grosor de las estructuras supramoleculares con la longitud de cadena de la *N*-alquilamida. Las *N*-alquilamidas con cadena de ocho átomos de carbono (**Gt8** y **rGt8**) dan lugar a fibras más anchas de entre 150–400 nm, mientras que las *N*-alquilamidas con cadenas de dieciséis átomos de carbono (**Gt16** y **rGt16**) dan lugar a fibras más finas de entre 40–90 nm. También puede observarse una diferencia en la morfología de los sistemas enantioméricamente puros (**Gt16** y **Gt8**) y los racémicos (**rGt16** y **rGt8**). Los enantioméricamente puros dan lugar a fibras o láminas planas mientras que las estructuras de los racémicos están claramente torsionadas.

Compuesto	Tamaño de fibra (nm)	Morfología
Gt8	170–400	Láminas o cintas
Gt16	45–90	Láminas o fibras
rGt8	150–300	Fibras torsionadas
rGt16	40–50	Fibras torsionadas

Tabla 24. Comparativa de las morfologías encontradas en las micrografías de los compuestos **Gt8**, **Gt16**, **rGt8** y **rGt16**.

3.4.2.4.4 Microscopía de fuerza atómica (AFM)

Para poder obtener información más detallada sobre el proceso de estructuración de nuestros agentes gelificantes, decidimos ver su estructura a una escala menor que la de los experimentos de SEM. Para ello se llevó a cabo un experimento de microscopía de fuerza atómica para el gel que mostró una estructura más ordenada en los experimentos de SEM, el gel de **Gt8** en hexano.

Para preparar la muestra se disolvió **Gt8** en MeOH/DCM (1:9) a una $c = 0.01\text{--}0.1$ mg/mL. Esta disolución se depositó sobre un soporte de mica, utilizando el método del *spin coating*. Este método consiste en depositar la disolución sobre un sustrato que está girando a altas revoluciones. La fuerza centrípeta y la tensión superficial del líquido crean una capa uniforme. Una vez evaporado el disolvente sobrante, se obtiene una película fina de entre unos nanómetros y unas micras de grosor.

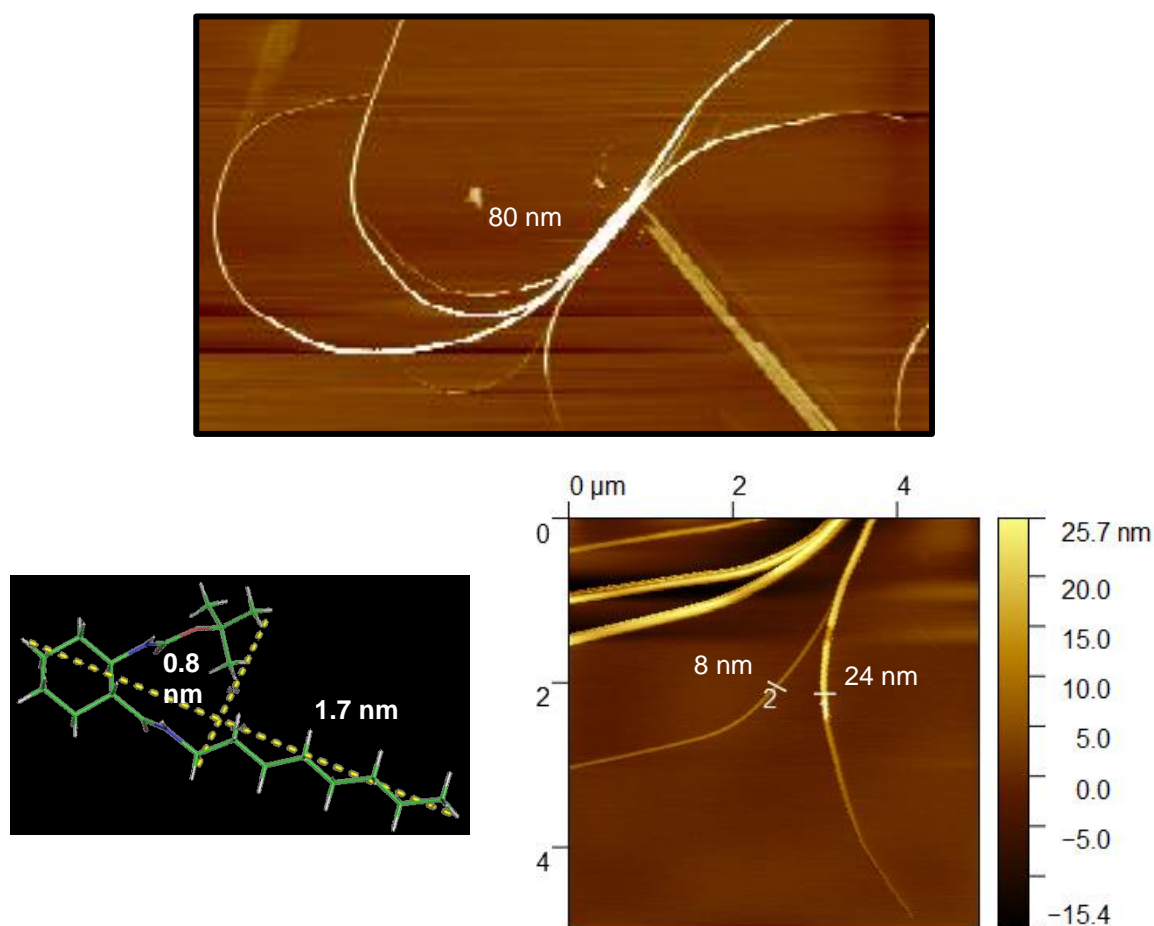


Figura 124. Imágenes de AFM del xerogel de **Gt8**.

Tal y como se esperaba, este experimento nos permitió obtener más información sobre el proceso de gelificación de nuestro sistema. Se observan claramente fibrillas de 8 nm de grosor que podrían corresponderse con la unión transversal de 10 moléculas de **Gt8**. Estas fibrillas se agregan longitudinalmente para dar lugar haces de fibrillas de unos 24 nm que, a su vez, se agregan en fibras de hasta 80 nm (Figura 124). Lo que constituye una prueba del proceso de

agregación jerarquizado de este tipo de gelificantes, en el que primero se forman fibras a escala nanométrica que van creciendo y uniéndose a otras fibrillas para dar lugar finalmente a las fibras micrométricas. Su entrecruzamiento genera el andamio que soporta al disolvente, cuyo conjunto vemos macroscópicamente como el gel.

3.4.2.4.5 Espectroscopía de Rayos X

Llegados a este punto, parece claro que nuestros gelificantes se agregan en un apilamiento jerarquizado y direccional, pero para poder tener una información de cómo ocurre realmente este proceso a nivel molecular, decidimos hacer experimentos de Rayos X de nuestras estructuras. Para ello se investigó primero si era posible cristalizar nuestros sistemas moleculares, para obtener la estructura de sus monocristales y luego poder comparar su ordenamiento con un estudio de Rayos X de sus xerogeles.

Se pudieron conseguir monocristales de suficiente calidad como para poder obtener y refinar la estructura cristalina de **Gt8**, **Gt16** y **rGt8**, al disolver estos compuestos en mezclas EtOH/H₂O a 80 °C y dejarlas enfriar hasta temperatura ambiente. Las imágenes de Rayos X del compuesto **Gt8** muestran un empaquetamiento de las cadenas alquílicas de la molécula a través de fuerzas de Van der Waals e interacciones hidrofóbicas. Además, estas estructuras están estabilizadas por la formación de dos enlaces de hidrógeno intermoleculares NH (1)⋯CO (3) a 2.19 Å (enlace fuerte) y NH (2)⋯CO (2) a 2.05 Å (enlace fuerte). Ambos enlaces de hidrógeno están orientados en la misma dirección dando lugar a una orientación paralela de los grupos carbonilo y, por tanto, a un macro dipolo permanente en la estructura supramolecular, lo cual puede influir en su interacción en disolventes polares (Figura 125).

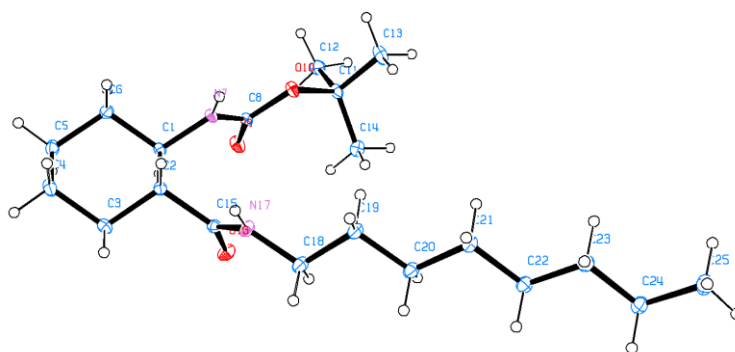


Figura 125. Imagen ORTEP del compuesto **Gt8** y empaquetamiento de este.

Las imágenes de Rayos X del compuesto **Gt16** muestran un empaquetamiento de las cadenas alquílicas de la molécula a través de fuerzas de Van der Waals e interacciones hidrofóbicas. Además, estas estructuras están estabilizadas por la formación de dos enlaces de hidrógeno intermoleculares entre el NH (2)⋯CO (3) a 2.17 Å (enlace fuerte) y entre el NH (1)⋯CO (1) a 2.05 Å (enlace fuerte). Ambos enlaces de hidrógeno están orientados en la misma dirección dando lugar a una orientación paralela de los grupos carbonilo y, por tanto, también a un macro dipolo permanente en la estructura supramolecular, que puede influir en su interacción con disolventes polares (Figura 126). Todo ello totalmente análogo al caso de **Gt8**.

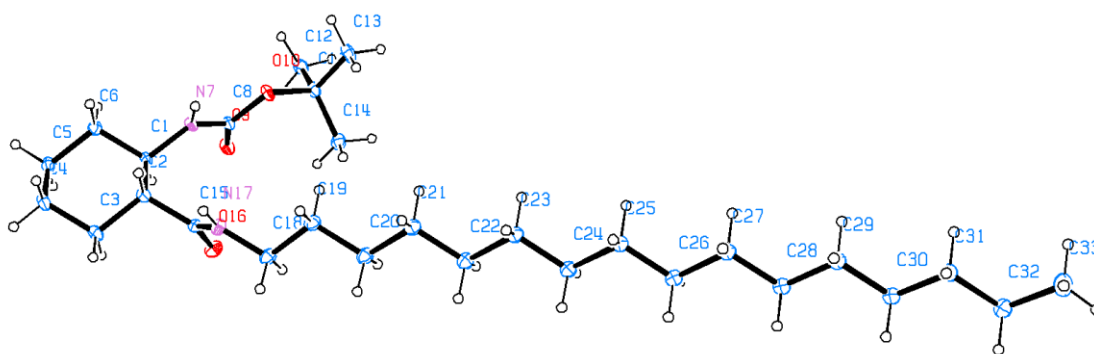


Figura 126. Imagen ORTEP del compuesto **Gt16** y empaquetamiento de este.

Las imágenes de Rayos X de la mezcla racémica **rGt8** muestran un comportamiento similar a los dos casos anteriores, en cuanto al tipo de interacciones que estabilizan la estructura (fuerzas de van der Waals y enlaces de H), pero diferente en cuanto al ordenamiento de las cadenas alquílicas de la molécula que ahora aparece ligeramente plegadas. Las estructuras están estabilizadas por la formación de dos enlaces de hidrógeno intermoleculares entre el NH (7)···CO (9) a 2.19 Å (enlace fuerte) y entre el NH (17)···CO (16) a 2.05 Å (enlace fuerte). Ambos enlaces de hidrógeno están orientados en la misma dirección dando lugar a una orientación paralela de los grupos carbonilo y, por tanto, también a un macro dipolo permanente en la estructura supramolecular (Figura 127).

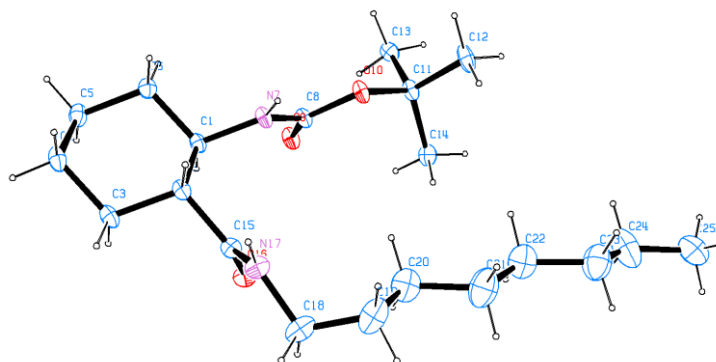


Figura 127. Imagen ORTEP del compuesto **rGt8** y empaquetamiento de este.

La Tabla 17 muestran los parámetros geométricos más relevantes de los enlaces de hidrógeno que podemos observar de cada modelo obtenido.

El análisis de las tres estructuras cristalinas muestra que en todos los casos el empaquetamiento ocurre:

- A través de la formación de enlaces de hidrógeno fuertes entre los dos grupos amida de la molécula, en los cuales los grupos carbonilo están orientados en la misma dirección.

Un empaquetamiento de las cadenas alquílicas de la molécula a través de fuerzas de Van der Waals e interacciones hidrofóbicas.

Compuesto	D-H	A	d (H...A)	ang (D...H...A)
Gt16	N1-H2	O1	2.05(4)	153(3)
	N2-H3	O3	2.17(4)	171(3)
Gt8	N1-H1N	O3	2.19(3)	171(2)
	N2-H2N	O2	2.05(3)	156(2)
rGt8	N7-H7	O9	2.11(3)	159(2)
	N17-H17	O16	2.14(3)	161(2)

Tabla 25. Geometría de los enlaces de hidrógeno de los monocristales de **Gt8**, **rGt8** y **Gt16**.

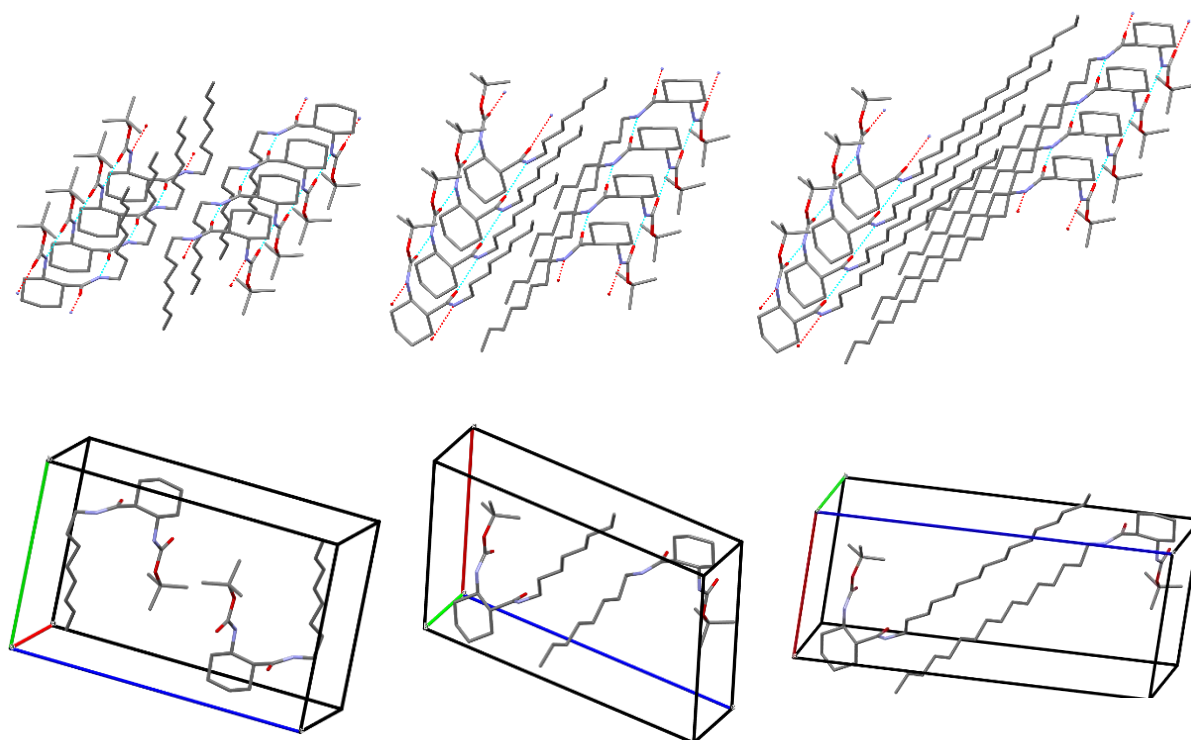


Figura 128. Empaquetamiento de los compuestos **rGt8**, **Gt8** y **Gt16** en sus monocristales.

Sin embargo, mientras que en el empaquetamiento de los compuestos enantioméricamente puros **Gt8** y **Gt16** muestra una orientación única de los grupos carbonilo de las dos moléculas de la celda unidad, el empaquetamiento de la mezcla racémica **rGt8** muestra dos orientaciones una por cada uno de los enantiómeros que son antiparalelas entre sí (Figura 128).

El análisis de la red de contactos de las estructuras cristalinas a través de la superficie de Hirshfeld recogidos en la Tabla 26, nos confirma lo anteriormente expuesto. Para las tres estructuras analizadas los contactos C=O...H-N (enlaces de hidrógeno) son los que proporcionan el mayor acercamiento intramolecular. Además, hay un alto porcentaje de

interacciones de tipo Van del Waals (contactos “H-H”). Observando con más detalle la proporción de contactos H-H, podemos decir que la estructura cristalina del compuesto **Gt16** presenta una mayor proporción de contactos tipo H-H, lo que se traduce en que es un mejor candidato para producir geles ya que, aun conservando los contactos fuertes de tipo enlaces de hidrógeno, este tipo de interacciones no-covalentes se ha reportado que favorece la inmovilización de las moléculas de disolvente.

	Gt8	Gt16	rGt8
	internal	internal	internal
H-All	93.2	95	93.5
C-All	0.5	0.3	0.3
N-All	0.3	0.2	0.3
O-All	6.1	4.5	5.9
H-H	87.8	90.5	87.5

Tabla 26. Contactos Hirschfeld.

Finalmente realizamos medidas de difracción de polvo cristalino de los xerogeles de nuestros sistemas gelificantes **rGt8**, **Gt8**, **rGt16** y **Gt16**. Para ello generamos cuatro xerogeles de cada sistema: dos xerogeles a la *cmg* y al doble de la *cmg* ($2x\ cmg$) en hexano y dos xerogeles a la *cmg* y al doble de la *cmg* en MeCN. Estos xerogeles fueron elegidos para poder obtener información sobre su estructuración de nuestros sistemas en dos disolventes, uno apolar (hexano) y otro polar (MeCN), y a dos concentraciones (*cmg* y $2x\ cmg$). La información obtenida nos permitirá comparar el empaquetamiento de los cuatro gelificantes entre sí y con los datos obtenidos de los monocristales.

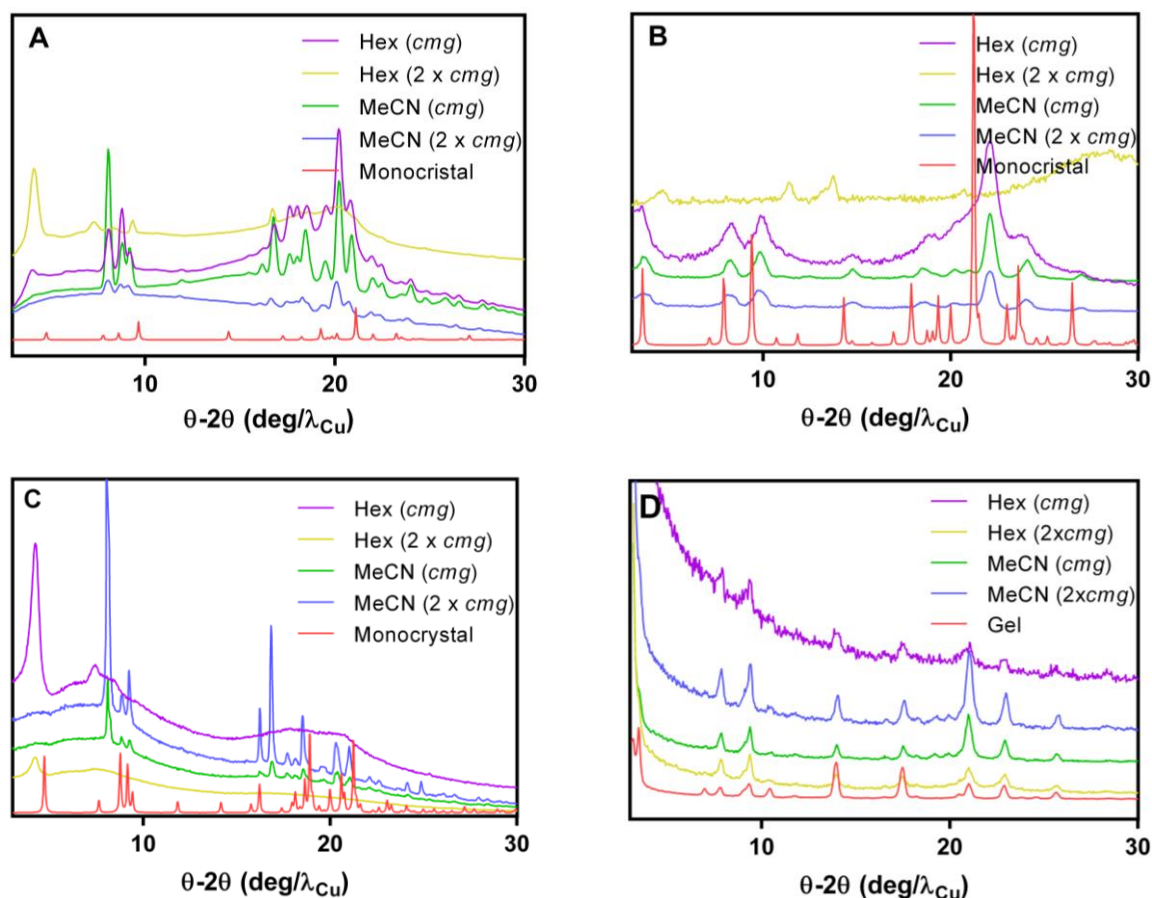


Figura 129. Análisis de difracción de rayos X (PXRD) de los xerogeles, en hexano y CH_3CN , de las cuatro *N*-alquilamidas a concentraciones de cmg y 2x cmg. Compuestos: A. **Gt8**, B. **Gt16**, C. **rGt8** y D. **rGt16**. Difracción de rayos X del gel de **rGt16** en hexano (D, línea roja). PXRD simulado de monocristales para **Gt8** (A, línea roja), **Gt16** (B, línea roja), **rGt8** (C, línea roja).

La Figura 129 muestra los difractogramas de polvo cristalino de los xerogeles de **Gt8**, **rGt8**, **Gt16** y **rGt16** y las simulaciones de los difractogramas de polvo cristalino obtenidos de las estructuras monocristalinas.

Como puede observarse **rGt16** y **Gt16** apenas varían ni al cambiar el disolvente ni al cambiar la concentración. Además, sus difractogramas coincide con la estructura cristalina para el compuesto **Gt16**. Esto quiere decir que a nivel molecular los geles se empaquetan de manera similar al cristal. Sin embargo, los difractogramas de los geles y xerogeles de los compuestos **rGt8** y **Gt8** sufren mayores modificaciones al variar el disolvente y la concentración. Además, difieren ligeramente de la estructura monocristalina obtenida. Por lo que estamos claramente ante estructuras más rígidas a medida que aumenta la longitud de la cadena alquílica, en concordancia con los resultados obtenidos en las pruebas de gelificación.

Este comportamiento puede indicar que el mayor poder gelificante de **rGt16** se debe a un alto grado de redes de contacto (de enlaces de hidrógeno y Van der Waals) para esta estructura.

3.4.2.5 Aplicación de las *N*-octilamidas y *N*-hexadecilamidas derivadas del ácido 2-aminociclohexanocarboxílico como gelificantes selectivos de aceites y petróleo

La contaminación del medio ambiente, principalmente de las aguas, debida a la manipulación de aceites y petróleo, es un problema social recurrente tanto por su impacto en la economía como en la salud a través del consumo de alimentos previamente contaminados. Pero también por su efecto en el clima debido a la acumulación en la atmósfera de los hidrocarburos volátiles o por los daños devastadores que causa en los delicados ecosistemas, especialmente en el marino.¹⁴⁴

Los métodos convencionales para remediar los vertidos de aceites y crudo incluyen la absorción, dispersión, biorremediación y solidificación.^{145,146} Sin embargo, estas aproximaciones son ineficientes y económicamente inviables a gran escala, o pueden dejar tras de sí residuos tóxicos que se bio-acumulan en los alimentos.

Los LMWGs tienen la aplicación potencial de cogelificar los vertidos de aceites en aguade forma selectiva y así poder separarlos de ésta.¹⁴⁷ Esta aplicación es de especial relevancia para remediar los vertidos de crudo en el mar.

Se ha propuesto que un sistema gelificante es adecuado para la remediación de vertidos de crudo en el mar, en el caso particular en que el agente gelificante cumpla los siguientes puntos clave:

1. Síntesis simple y de bajo coste
2. Compatibilidad medioambiental
3. Termo reversibilidad que permita la recuperación del aceite.
4. Reciclabilidad y reusabilidad.

Los excelentes resultados de gelificación de hexano de nuestros agentes gelificantes **Gt8**, **Gt16**, **rGt8** y **rGt16**, que acabamos de exponer, nos llevaron a plantearnos su aplicación en la remediación de vertidos de aceites en agua.

Para ello llevamos a cabo una primera prueba que consistió en comprobar la capacidad de nuestros sistemas para gelificar aceites industriales a través del método del test de inversión, descrito anteriormente en este capítulo. Elegimos para nuestro experimento cinco aceites con propiedades diferentes: un aceite de oliva para cocinar, un aceite de barco de la marca Repsol, una vaselina, y dos petróleos de diferente densidad: petróleo 806 y petróleo 2806.

Los resultados del estudio de gelificación para las *N*-alquilamidas **Gt8** y **Gt16** aparecen recogidos en la Tabla 27. Como puede observarse, **Gt16** solo es capaz de gelificar uno de los aceites probados, el aceite de barco (10 mg/mL). Mientras que **Gt8** es muy buen gelificante de cuatro de los cinco aceites probados: muy buen gelificante de aceite de oliva (5 mg/mL), vaselina (3.3 mg/mL) y petróleo 2804 (5 mg/mL) y un super-gelificante de aceite de barco (1 mg/mL).

Comp.	Aceite de oliva	Aceite de barco Repsol	Vaselina	Petróleo 806	Petróleo 2806	Hexano
Bt8	5	1	3.3	5	-	0.5
Bt16	-	10	-	-	-	1

Tabla 27. Valores de cmg de las *N*-alquilamidas **Gt8** y **Gt16** en aceite de oliva, aceite de barco Repsol, Vaselina, petróleo 806, petróleo 2806 y hexano.

Hay una clara influencia de la longitud de la cadena alquílica en la capacidad de gelificar estos aceites y petróleos (Figura 130). La *N*-octilamida **Gt8**, es un excelente gelificante de cuatro de los cinco aceites probados y por tanto tiene un gran potencial para su uso en la remediación de vertidos al mar. Por otro lado, la *N*-hexadecilamida **Gt16**, solo ha sido capaz de gelificar el aceite de barco, por lo que será de menor aplicabilidad, aunque puede presentar interés para remediar los vertidos de este aceite en los puertos.

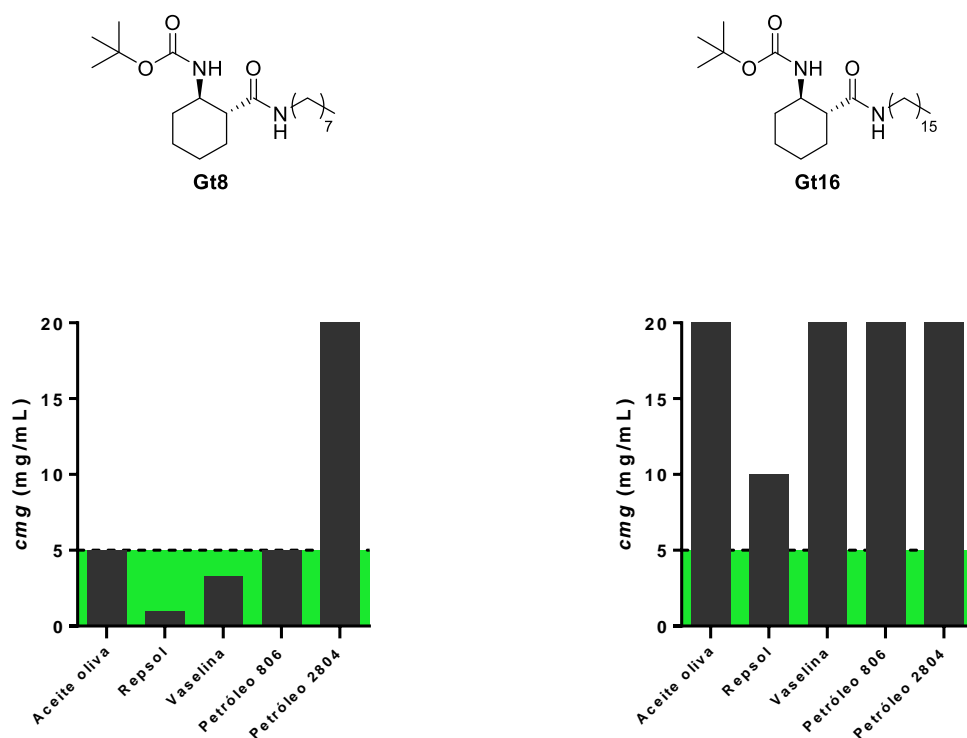


Figura 130. Valores de cmg en aceite de oliva, Repsol, Vaselina, Petróleo 806 y Petróleo 2804 para los gelificantes **Gt8** y **Gt16**, en formato de gráfico de barras.

Estos geles fueron estables a temperatura ambiente durante varias semanas y son reversibles por encima de su cmg lo que se demostró al calentarlos hasta deshacer el gel y dejándolos enfriar hasta regenerar el gel. Este ciclo de calentamiento/enfriamiento pudo llevarse a cabo al menos tres veces, sin que se pierda la capacidad gelificante. Se demostró que se puede recuperar el gelificante añadiendo hexano sobre el lipogel y agitando la mezcla para precipitar el gelificante. Una vez precipitado se puede recuperar por filtración. El gelificante recuperado pudo volver a ser usado para la gelificación de otra porción de aceite

sin pérdidas en su capacidad gelificante, lo que demuestra su reciclabilidad. Finalmente, el aceite también pudo ser recuperado de la mezcla aceite/hexano por destilación fraccionada, dando lugar al aceite puro.

Los excelentes resultados de gelificación mostrados por el compuesto **Gt8** nos llevaron a probar la capacidad de gelificación las *N*-alquilamidas racémicas **rGt8** y **rGt16** en los mismos aceites y petróleos, para comprobar si mantienen o mejoran la capacidad gelificante de sus análogos enantioméricamente puros. De ser así estos gelificantes racémicos constituirían una alternativa barata a sus análogos enantiopuros y ampliarían el rango de aplicaciones de estos sistemas, ya que no se ha descrito ningún sistema racémico con una alta capacidad para la gelificación de aceites y petróleo.

Para ello se llevó a cabo un estudio de gelificación de los sistemas racémicos **rGt8** y **rGt16** en los cinco aceites y petróleos utilizados en el experimento anterior. Los resultados obtenidos aparecen recogidos en la Tabla 28.

Comp.	Aceite de oliva	Aceite de barco Repsol	Vaselina	Petróleo 806	Petróleo 2806	Hexano
rGt8	3.3	1	1.1	5	10	28.5
rGt16	2.5	5	2.5	10	5	5

Tabla 28. Valores de *cmg* de las *N*-alquilamidas **rGt8** y **rGt16** en aceite de oliva, aceite de barco Repsol, Vaselina, petróleo 806, petróleo 2806 y hexano.

Como puede observarse ambas mezclas racémicas **rGt8** y **rGt16** son excelentes gelificantes de los tres aceites industriales y dos petróleos probados. Destaca la *cmg* en aceite de oliva (2.5 mg/mL) y en la vaselina (2.5 mg/mL) para **rGt16** y en vaselina (1.1 mg/mL) y aceite de barco (1 mg/mL) para **rGt8**.

Sorprendentemente se obtienen mejores resultados para estos racematos **rGt8** y **rGt16** que para sus análogos enantioméricamente puros **Gt8** y **Gt16**, siendo esto especialmente relevante para el caso de **rGt16**, teniendo en cuenta que **Gt16** no era un buen gelificante de aceites y petróleos, como se vio en el apartado anterior. Además, en el caso de los racematos, no parece tan determinante la longitud de la cadena alquílica, siendo ambos compuestos excelentes gelificantes de los tres aceites y dos petróleos (Figura 131). Aunque, cabe destacar que los resultados son ligeramente mejores para el compuesto de cadena de ocho átomos de carbono.

Estos geles también fueron estables a temperatura ambiente durante varias semanas. Su termorreversibilidad por encima de su *cmg* fue comprobada realizando varios ciclos de calentamiento hasta disolución completa del gelificante y enfriamiento a temperatura ambiente y en todos los casos se recupera el gel. También son reciclables de igual forma que los compuestos enantiopuros. Una vez formado el gel se puede recuperar el gelificante precipitándolo con hexano y filtrándolo. Este gelificante pudo volver a ser usado para la gelificación de otra porción de aceite sin pérdidas en su capacidad gelificante. El aceite pudo ser recuperado de la mezcla aceite hexano por destilación fraccionada.

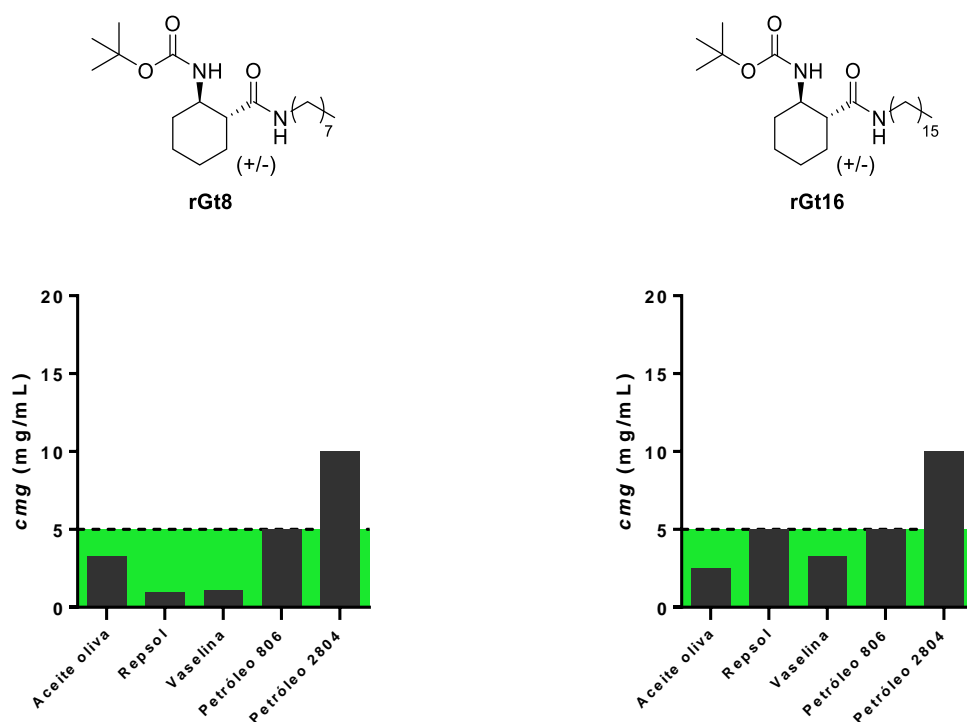


Figura 131. Valores de cmg en aceite de oliva, Repsol, Vaselina, Petróleo 806 y Petróleo 2804 para los gelificantes rGt8 y rGt16, en formato de gráfico de barras.

Para investigar la posible aplicación de los aceites y petróleos en la gelificación, decidimos estudiar su capacidad de formar geles en mezclas con agua. Esto nos permitiría simular un sistema más real.

Existen varios procedimientos descritos en la bibliografía para llevar a cabo esta gelificación selectiva de mezclas aceite/agua:

Gelificación utilizando *carriers* hidrófobos: Esta estrategia consiste en disolver el LMWG en un pequeño volumen de gasolina comercial/diésel/Éter y rociar ésta disolución por vía aérea sobre la mezcla bifásica de aceite-agua, de modo que tanto el disolvente portador como el aceite son inmovilizados por el gel (por tanto, no se vierten nuevos disolventes nocivos al agua).¹⁴⁸⁻¹⁵⁴

Gelificación utilizando *carriers* hidrófilos: Esta estrategia es la misma que la anterior pero sustituyendo el Carrier hidrófobo por un Carrier hidrófilo como por ejemplo etanol, mucho más benigno para el medioambiente.^{119,155,156}

Gelificación utilizando el gelificante como un polvo seco: Consiste en añadir el gelificante en polvo sobre la mezcla aceite/agua con agitación constante y dejar que gelifique con el tiempo. Normalmente tardan horas o incluso días y son muy escasos los gelificantes capaces de actuar por este método.^{157,158}

Nuestros gelificantes han demostrado ser capaces de gelificar selectivamente aceites de mezclas aceite/agua mediante el primer método probado. Esto sugiere un gran potencial de estos gelificantes como gelificantes selectivos de aceites y su aplicación en la remediación de vertidos de aceites a las aguas. Estos resultados abren la posibilidad de utilizar estos

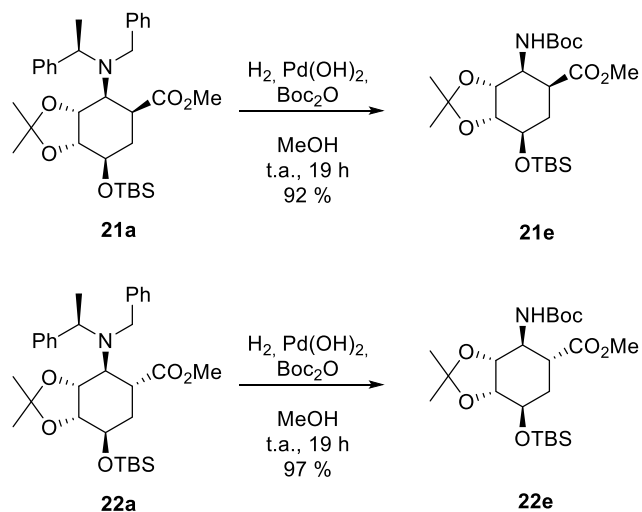
gelificantes en diversas situaciones en las que sea necesario separar aceites y petróleos de agua y otros líquidos, con el fin de minimizar su impacto ambiental.

3.4.3 Síntesis, estudio de gelificación y propiedades de *N*-alquilamidas derivadas del ácido (-)-shikímico

3.4.3.1 Síntesis de las *N*-octilamidas **131** y **133** y las *N*-hexadecilamidas **132** y **134** con sus grupos hidroxilo totalmente protegidos

Como hemos descrito en el capítulo anterior, las *N*-alquilamidas derivadas del ácido 2-aminociclohexenocarboxílico (**Gt8** y **Gt16**) son excelentes agentes gelificantes de un gran número de disolventes orgánicos con distinta constante dieléctrica. Sin embargo, por su estructura, no son solubles en agua a ninguna temperatura y, por lo tanto, son incapaces de gelificarla. Para intentar resolver el problema de solubilidad en agua de estas *N*-alquilamidas decidimos utilizar el conocimiento previo de nuestro grupo de investigación β -aminoácidos derivados del ácido (-)-shikímico. La alquilación de estos β -aminoácidos en su función ácido carboxílico debería dar acceso a *N*-alquilamidas con una estructura similar a las anteriormente expuestas, pero con la posibilidad de modular su polaridad en función del diferente grado de protección o desprotección de sus grupos hidroxilo. Esto debería permitir la obtención de agentes hidrogelantes, como ya se indicó en el apartado de objetivos de este apartado II de esta tesis doctoral.

De acuerdo con este objetivo, comenzamos la síntesis las *N*-alquilamidas objetivo **131-142** llevando a cabo una reacción de hidrogenación y protección con Boc del extremo *N*-terminal de los amino ésteres **21a** y **22a** previamente descritos en la página 15. Esta reacción se realizó utilizando como catalizador Pd(OH)₂ bajo atmósfera de H₂ y en presencia de Boc₂O, lo que dio lugar los β -amino ésteres **21e** y **22e** protegidos como Boc en su extremo *N*-terminal, con un 92 % y un 97 % de rendimiento, respectivamente (Esquema 32).



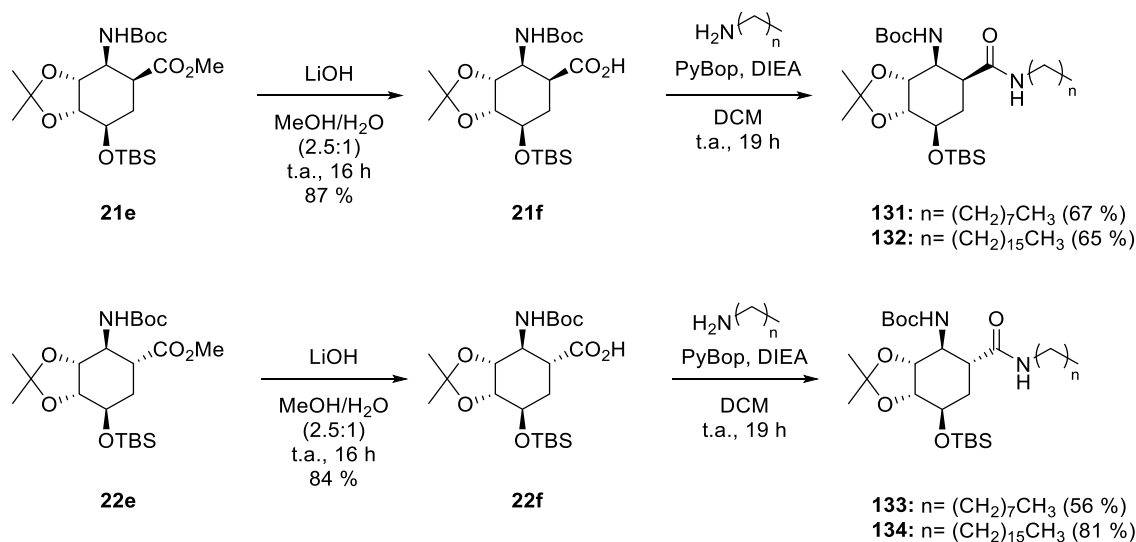
Esquema 32. Síntesis de los Boc-amino ésteres **21e** y **22e**.

Estos compuestos pudieron ser caracterizados mediante con sus propiedades espectroscópica y espectrométrica. Así, para el compuesto **21e** destaca en su espectro de RMN-¹H un singlete de nueve protones a 1.39 ppm, atribuido al grupo protector Boc del extremo *N*-terminal, así como un singlete a 3.65 ppm que integra por tres protones, atribuido a su grupo protector éster metílico del extremo *C*-terminal y un doblete a 5.79 ppm correspondiente al grupo NH de amida de la molécula. Además, su espectro de RMN-¹³C muestra señales características a 67.82, 75.77 y 76.85 ppm correspondientes a sus tres

carbonos ciclohexánicos unidos a oxígeno (-HCO-) y las señales a 155.42 (C=O, Boc) y 174.07 (C=O, éster) correspondientes a los dos grupos carbonilo de la molécula. La fórmula molecular $C_{22}H_{42}NO_7Si$ fue confirmada mediante su espectro de masas de alta resolución, que muestra una señal con una relación $m/z = 460.2725$ (m/z teórico = 460.2738) correspondiente al ion $[M+H]^+$. Finalmente, su espectro de IR muestra señales a 1514 y 1727 cm^{-1} correspondientes a los grupos C=O de la molécula y una banda ancha a 3330 cm^{-1} que se atribuyó al grupo NH de uretano.

Para el compuesto **22e** destaca en su espectro de RMN- 1H un singlete a 1.42 ppm que integra por nueve protones, atribuido al grupo protector Boc del extremo *N*-terminal, un singlete a 3.69 ppm que integra por tres protones, atribuido a su éster metílico y un doblete a 5.14 ppm correspondiente al grupo NH de amida. Su espectro de RMN- ^{13}C muestra señales características a 67.55, 77.25 y 79.38 ppm, correspondientes a sus tres carbonos ciclohexánicos unidos a oxígeno (-HCO-) y las señales a 155.15 ppm (C=O, Boc) y 173.80 ppm (C=O, éster) correspondientes a los dos grupos carbonilo de la molécula. La fórmula molecular $C_{22}H_{41}NO_7Si$ fue confirmada también mediante su espectro de masas de alta resolución, que muestra una señal con una relación $m/z = 482.2544$ (m/z teórico = 482.2540) correspondiente al ion $[M+Na]^+$. Además, su espectro de IR muestra señales a 1522, 1719 y 1735 cm^{-1} correspondientes a los grupos C=O de la molécula y una banda ancha a 3365 cm^{-1} que se atribuyó al grupo NH de uretano.

A continuación, se desprotegió el extremo *C*-terminal de los compuestos **21e** y **22e** llevando a cabo sobre ellos una reacción de hidrólisis con LiOH, lo que condujo a los ácidos **21f** y **22f**, con un rendimiento del 87 % y 84 % respectivamente (Esquema 33). Sobre cada uno de estos ácidos se realizó una reacción de acoplamiento peptídico con la *n*-octilamina y la *n*-hexadecilamina comerciales, para dar lugar a nuestras *N*-alquilamidas objetivo: **131**, **132**, **133** y **134**, con rendimientos del 67 %, 65 %, 56 % y 81 % respectivamente.



Esquema 33. Síntesis de las *N*-alquilamidas derivadas del ácido (-)-Shikímico **131-134**.

Las cuatro *N*-alquilamidas obtenidas pudieron ser caracterizadas también de acuerdo con sus propiedades espectroscópicas y espectrométricas:

Para el compuesto **131** destaca en su espectro de RMN-¹H una señal a 0.13 ppm correspondiente a los dos metilos unidos al silicio del grupo protector TBS, una señal entre 0.82–1.02 ppm, que integra por doce protones, que corresponde a los tres grupos metilo del grupo ^tBu del TBS, que aparece solapado con el grupo metilo de la cadena alquílica. Además, aparece un singlete a 1.42 ppm correspondiente al grupo protector Boc y las señales 6.06 y 6.31 ppm correspondientes a los dos grupos NH de la molécula. En su espectro de RMN-¹³C destacan la señal a –4.92 ppm correspondiente al grupo Si(CH₃)₂ del grupo protector TBS, la señal a 28.48 ppm correspondiente al grupo protector Boc del extremo *N*-terminal y las señales a 156.24 (C=O, uretano) y 172.62 (C=O, amida) ppm correspondientes a los dos grupos carbonilo de la molécula. Su espectro de masas de alta resolución muestra una señal con una relación *m/z* = 557.3980 (*m/z* teórico = 557.3978) correspondiente al ion [M+H]⁺ que confirma su fórmula molecular C₂₉H₅₇N₂O₆Si. Por último, en su espectro de IR destacan las señales a 1527, 1647 y 1696 cm⁻¹, correspondientes a los grupos C=O y una señal ancha a 3312 cm⁻¹ que corresponde a los grupos NH de la molécula.

Para el compuesto **132** podemos destacar en su espectro de RMN-¹H una señal a 0.10 ppm correspondiente a los dos metilos unidos al silicio del grupo protector TBS, una señal entre 0.71–0.96 ppm, que integra por 12 protones, correspondiente a los tres grupos metilo del grupo ^tBu del TBS, que de nuevo se solapa con el grupo metilo de la cadena alquílica, un singlete a 1.40 ppm correspondiente al grupo protector Boc y las señales 6.08 y 6.31 ppm correspondientes a los dos grupos NH de amida. En su espectro de RMN-¹³C destacan la señal a –4.97 ppm correspondiente al grupo Si(CH₃)₂ del grupo protector TBS, la señal a 28.44 ppm correspondiente al grupo protector Boc del extremo *N*-terminal y las señales a 156.19 (C=O, uretano) y 172.58 (C=O, amida) ppm correspondientes a los dos grupos C=O de la molécula. Además, su espectro de masas de alta resolución muestra una señal con una relación *m/z* = 669.5232 (*m/z* teórico = 669.5230) correspondiente al ion [M+H]⁺ que confirma su fórmula molecular como C₃₇H₇₃N₂O₆Si. Su espectro de IR muestra señales a 1533, 1634 y 1693 cm⁻¹ correspondientes a los grupos C=O de la molécula y una señal ancha a 3319 cm⁻¹ que corresponde a los NH.

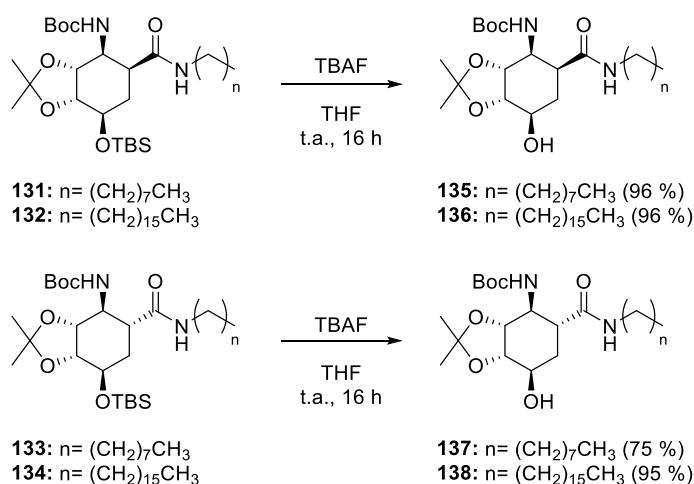
Para el compuesto **133** encontramos en su espectro de RMN-¹H una señal a 0.11 ppm correspondiente a los dos metilos unidos al silicio del grupo protector TBS, un triplete a 0.86 ppm correspondiente al CH₃ de la cadena alquílica, un singlete que integra por nueve protones a 0.91 ppm, que se corresponde con el grupo ^tBu del TBS, un singlete a 1.42 ppm correspondiente al grupo protector Boc y las señales a 5.43 y 6.58 ppm correspondientes a los dos grupos NH de la molécula. En su espectro de RMN-¹³C destacan las señales a –4.86 y –5.04 ppm correspondiente a los grupos SiCH₃ del grupo protector TBS, la señal a 25.90 ppm correspondiente al grupo protector Boc del extremo *N*-terminal y las señales a 155.74 (C=O, uretano) y 173.97 (C=O, amida) ppm correspondientes a los dos grupos C=O de la molécula. Además, su espectro de masas de alta resolución muestra una señal con una relación *m/z* = 557.3980 (*m/z* teórico = 557.3983) correspondiente al ion [M+H]⁺ que confirma su fórmula molecular como C₂₉H₅₇N₂O₆Si. En su espectro de IR destacan las señales a 1531, 1638 y 1687 cm⁻¹ correspondientes a los grupos C=O y una señal ancha a 3287 cm⁻¹ que corresponde a los NH de la molécula.

Para el compuesto **134** podemos ver en su espectro de RMN-¹H una señal a 0.11 ppm correspondiente a los dos metilos unidos al silicio del grupo protector TBS, un multiplete a 0.91 ppm que integra por doce protones donde se solapan la señal del ^tBuSi del grupo protector TBS y la señal del grupo metilo de la cadena alquílica, un singlete a 1.42 ppm correspondiente al grupo protector Boc y las señales 5.43 y 6.58 ppm correspondientes a los

dos grupos NH de la molécula. En su espectro de RMN-¹³C destacan las señales a -5.16 y -4.97 ppm correspondiente a los grupos SiCH₃ del grupo protector TBS, la señal a 28.35 ppm correspondiente al grupo protector Boc del extremo *N*-terminal y las señales a 155.61 (C=O, uretano) y 173.82 (C=O, amida) ppm correspondientes a los dos grupos C=O de la molécula. Además, su espectro de masas de alta resolución muestra una señal con una relación m/z = 669.5232 (m/z teórico = 669.5228) correspondiente al ion [M+H]⁺ que confirma su fórmula molecular como C₃₇H₇₃N₂O₆Si. Finalmente, en su espectro de IR destacan las señales a 1532, 1638 y 1688 cm⁻¹ correspondientes a los grupos C=O y una señal ancha a 3298 cm⁻¹ que corresponde a los NH de la molécula.

3.4.3.2 Síntesis de las *N*-octilamidas **135** y **137** y las *N*-hexadecilamidas **136** y **138** con sus grupos hidroxilo parcialmente desprotegidos

A continuación, siguiendo el plan de trabajo planteado, las *N*-alquilamidas **131-134** fueron desprotegidas secuencialmente, sometiéndolas primero a una reacción de hidrólisis de sus grupos éter de silicio, tratándolas con TBAF en THF seco, lo que condujo a las *N*-octilamidas **135** y **137** y las *N*-hexadecilamidas **136** y **138** con sus grupos hidroxilo parcialmente desprotegidos, habiendo sido obtenidas con rendimientos del 96 %, 75 %, 96 % y 95 % respectivamente (Esquema 34).



Esquema 34. Hidrólisis selectiva del grupo protector TBS de las *N*-alquilamidas derivadas del ácido (-)-shikímico **131-134** para obtener las *N*-alquilamidas monohidroxiladas **135-138**.

Estas *N*-alquilamidas **135-138**, también pudieron ser caracterizadas de acuerdo con sus propiedades espectroscópicas y espectrométricas:

Para el compuesto **135** destaca la ausencia de las señales características de los metilos del TBS, que aparecían a 0.13 ppm en el espectro de RMN-¹H de su precursor **131**, lo cual demuestra la desaparición de este grupo protector. Además, destacan también: la señal entre 0.84–0.93 ppm correspondiente al grupo metilo de la cadena alquílica y las señales a 5.03 y 5.94 ppm correspondientes a los dos grupos NH de la molécula. En su espectro RMN-¹³C podemos ver una señal a 28.83 ppm correspondiente a su grupo protector Boc del extremo *N*-terminal y las señales a 157.56 (C=O, uretano) y 175.33 (C=O, amida) ppm debidas a los dos grupos carbonilo de la molécula. Su espectro de masas de alta resolución muestra una señal con una relación m/z = 465.2925 (m/z teórico = 465.2928) correspondiente al ion

$[M+H]^+$, lo que nos permitió confirmar su fórmula molecular $C_{23}H_{42}N_2O_6$. Finalmente, en su espectro de IR se observan las bandas a 1532, 1688 y 1691 cm^{-1} correspondientes a los grupos C=O y una banda ancha a 3319 cm^{-1} que se atribuyó a los dos grupos NH e hidroxilo de la molécula.

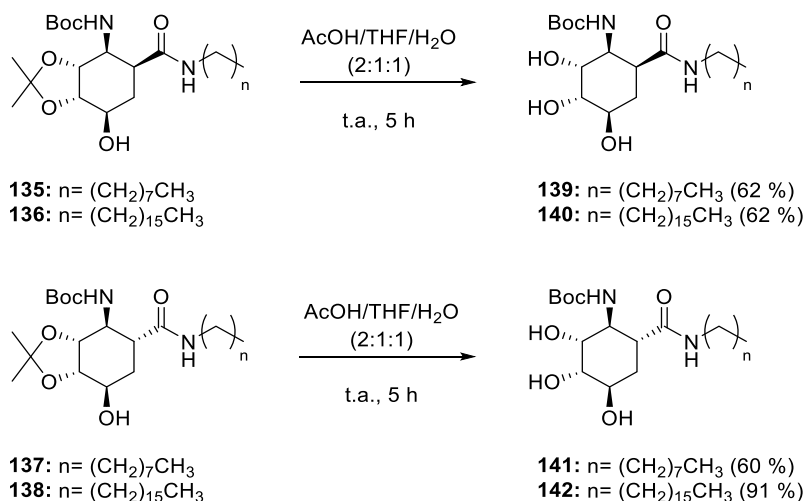
Para el compuesto **136** destaca también la ausencia de las señales características de los metilos del TBS, que aparecían a 0.10 ppm en el espectro de RMN- 1H de su precursor **132**, lo cual demuestra la desaparición de este grupo protector. Además, en su espectro de RMN- 1H destacan también: la señal entre 0.81–0.94 ppm correspondiente al grupo metilo de la cadena alquílica, junto con las señales a 5.06 y 5.99 ppm correspondientes a los dos grupos NH de la molécula. En su espectro RMN- ^{13}C se puede ver una señal a 28.48 ppm correspondiente a su grupo protector Boc del extremo *N*-terminal, junto con las señales a 156.28 (C=O, uretano) y 174.26 (C=O, amida) ppm debidas a los dos grupos carbonilo. Su espectro de masas de alta resolución muestra una señal con una relación $m/z = 555.4367$ (m/z teórico = 555.4368) correspondiente al ion $[M+H]^+$, lo que nos permitió confirmar su fórmula molecular $C_{31}H_{58}N_2O_6$. Finalmente, en su espectro de IR se observan las bandas a 1535, 1647 y 1692 cm^{-1} correspondientes a los grupos C=O y una banda ancha a 3319 cm^{-1} que se atribuyó a los dos grupos NH y al grupo hidroxilo de la molécula.

Confirmamos la estructura del compuesto **137** por la ausencia de las señales características de los metilos del grupo protector TBS, que aparecían a 0.11 ppm en el espectro de RMN- 1H de su precursor **133**, lo cual demuestra la desaparición de este grupo protector. Además, destacan: la señal a 0.77–0.94 ppm correspondiente al grupo metilo de la cadena alquílica y las señales a 5.39 y 6.64 ppm correspondientes a los dos grupos NH. Su espectro de RMN- ^{13}C muestra una señal a 28.36 ppm correspondiente a su grupo protector Boc del extremo *N*-terminal y las señales a 156.33 (C=O, uretano) y 173.52 (C=O, amida) ppm debidas a los dos grupos carbonilo de la molécula. Su espectro de masas de alta resolución muestra una señal con una relación $m/z = 465.2923$ (m/z teórico = 465.2928) correspondiente al ion $[M+Na]^+$, lo que nos permitió confirmar su fórmula molecular $C_{23}H_{42}N_2O_6$. Finalmente, en su espectro de IR se observan las bandas a 1536 y 1687 cm^{-1} correspondientes a los grupos C=O y una banda ancha a 3331 cm^{-1} que se atribuyó a los dos grupos NH e hidroxilo de la molécula.

La estructura del compuesto **138** la confirmamos por la ausencia de señales características de los metilos de los grupos TBS, que aparecían a 0.11 ppm en el espectro de RMN- 1H de su precursor **134**, lo cual demuestra la desaparición de este grupo protector. Además, en su espectro de RMN- 1H destacan: la señal a 0.88 ppm correspondiente al CH_3 de la cadena alquílica y las señales a 5.11 y 6.24 ppm correspondientes a los dos grupos NH de la molécula. Además, en su espectro de RMN- ^{13}C destaca la señal a 28.46 ppm correspondiente a su grupo protector Boc del extremo *N*-terminal y las señales a 156.51 (C=O, uretano) y 173.77 (C=O, amida) ppm debidas a los dos grupos C=O de la molécula. Su espectro de masas de alta resolución muestra una señal con una relación $m/z = 555.4365$ (m/z teórico = 555.4368) correspondiente al ion $[M+H]^+$, lo que nos permitió confirmar su fórmula molecular $C_{31}H_{59}N_2O_6$. Finalmente, en su espectro de IR se observan las bandas a 1550, 1689 y 1691 cm^{-1} correspondientes a los grupos C=O y una banda ancha a 3320 cm^{-1} , que se atribuyó a los dos grupos NH e hidroxilo de la molécula.

3.4.3.3 Síntesis de las *N*-octilamidas **139** y **141** y de las *N*-hexadecilamidas **140** y **142**, con sus grupos hidroxilo totalmente desprotegidos

Finalmente, las *N*-octilamidas **135** y **137** y las *N*-hexadecilamidas **136** y **138**, con sus grupos hidroxilo parcialmente desprotegidos, fueron sometidas a una reacción de hidrólisis de su grupo acetónido, tratándolas con ácido acético en una mezcla de THF y H₂O, lo que condujo a las *N*-octilamidas **139** y **141** y las *N*-hexadecilamidas **140** y **142**, con sus grupos hidroxilo totalmente desprotegidos, que se obtuvieron con unos rendimientos del 62 %, 60 %, 62 % y 91 %, respectivamente (Esquema 35).



Esquema 35. Hidrólisis del grupo acetónido de las *N*-alquilamidas monohidroxiladas **135-138** para obtener las *N*-alquilamidas trihidroxiladas **139-142**.

Las cuatro *N*-alquilamidas **139-142**, último de los objetivos sintéticos de esta tesis, pudieron ser caracterizadas también gracias a sus propiedades espectroscópicas y espectrométricas, entre las que destacan:

Para el compuesto **139** su espectro de RMN-¹H muestra una señal a 0.77–0.99 ppm correspondiente al grupo metilo de la cadena alquílica, otra señal a 1.44 ppm correspondiente al grupo protector Boc del extremo *N*-terminal y las señales a 5.57 y 6.73 ppm correspondientes a los dos grupos NH de amida de la molécula. En su espectro de RMN-¹³C destaca la señal a 14.18 ppm que se atribuyó al metilo de la cadena alquílica junto con las señales a 156.63 y 173.34 ppm que se atribuyeron a los dos grupos C=O. Su fórmula molecular, C₂₀H₃₉N₂O₆, pudo ser confirmada gracias a su espectro de masas de alta resolución, que muestra una señal con una relación m/z = 403.2802 (m/z teórico = 403.2789) correspondiente al ion [M+H]⁺. Finalmente, en su espectro de IR se observan las bandas a 1536, 1648 y 1691 cm⁻¹ correspondientes a los grupos C=O y una banda ancha a 3313 cm⁻¹ que se atribuyó a los dos grupos NH e hidroxilo de la molécula.

Para el compuesto **140**, de forma similar al acaso anterior, podemos destacar en su espectro de RMN-¹H la señal a 0.88 ppm correspondiente al grupo metilo de la cadena alquílica, la señal a 1.42 ppm correspondiente al grupo protector Boc del extremo *N*-terminal y las señales a 5.58 y 6.75 ppm correspondientes a los dos grupos NH de la molécula. En su espectro de RMN-¹³C destaca la señal a 14.15 ppm que se atribuyó al metilo de la cadena alquílica y las señales a 156.58 y 173.32 ppm que se atribuyeron a los dos grupos C=O de la molécula. Su fórmula molecular, C₂₈H₅₅N₂O₆, pudo ser confirmada gracias a su espectro de

masas de alta resolución, que muestra una señal con una relación $m/z = 515.4055$ (m/z teórico = 515.4073) correspondiente al ion $[M+H]^+$. Finalmente, en su espectro de IR se observan las bandas a 1554, 1689 y 1700 cm^{-1} correspondientes a los grupos C=O y una banda ancha a 3352 cm^{-1} que se atribuyó a los dos grupos NH e hidroxilo de la molécula.

Para el compuesto **141** destacan, en su espectro de RMN- ^1H la señal a 0.90 ppm correspondiente al grupo metilo de la cadena alquílica, así como la señal a 1.42 ppm correspondiente al grupo protector Boc del extremo *N*-terminal. En su espectro de RMN- ^{13}C destaca la señal a 14.43 que se atribuyó al metilo de la cadena alquílica y las señales a 158.46 y 175.64 ppm que se atribuyeron a los dos grupos carbonilo de la molécula. Su fórmula molecular, $\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_6$, pudo ser confirmada gracias a su espectro de masas de alta resolución, que muestra una señal con una relación $m/z = 403.2803$ (m/z teórico = 403.2795) correspondiente al ion $[M+H]^+$. Finalmente, en su espectro de IR se observan bandas a 1534, 1650 y 1682 cm^{-1} correspondientes a los grupos C=O y una banda ancha a 3317 cm^{-1} que se atribuyó a los dos grupos NH e hidroxilo de la molécula.

Para el compuesto **142** en su espectro de RMN- ^1H aparece una señal entre 0.74–0.96 ppm correspondiente al grupo metilo de la cadena alquílica, la señal a 1.38 ppm correspondiente al grupo protector Boc del extremo *N*-terminal y las señales a 6.17 y 7.25 ppm correspondientes a los dos NH de la molécula. En su espectro de RMN- ^{13}C destaca la señal a 13.88 ppm que se atribuyó al metilo de la cadena alquílica y las señales a 155.57 y 172.47 ppm que se atribuyeron a los dos grupos carbonilo de la molécula. Su fórmula molecular, $\text{C}_{28}\text{H}_{55}\text{N}_2\text{O}_6$, pudo ser confirmada gracias a su espectro de masas de alta resolución, que muestra una señal con una relación $m/z = 515.4063$ (m/z teórico = 515.4073) correspondiente al ion $[M+H]^+$. Finalmente, en su espectro de IR se observan las bandas a 1533, 1651 y 1694 cm^{-1} correspondientes a los grupos C=O y una banda ancha a 3317 cm^{-1} que se atribuyó a los dos grupos NH e hidroxilo de la molécula.

En definitiva, se llevó a cabo la síntesis de una colección de doce *N*-alquilamidas del ácido (–)-shikímico (**131-142**) en las que:

- Varía la estereoquímica relativa *cis/trans* de sus subunidades amida y uretano.
- Varía la longitud de la cadena alquílica unida al extremo *C*-terminal del β -aminoácido precursor.
- Varía su polaridad modificando el grado de protección, parcial o total, de sus grupos hidroxilo.

3.4.3.4 Estudio de gelificación

Estas doce *N*-alquilamidas (Figura 132) constituyen un conjunto de compuestos anfífilos con previsible potencialidad como agentes gelificantes. Con ellos pretendemos comprobar cómo afecta la introducción de grupos hidroxilo en el anillo ciclohexánico de las *N*-alquilamidas descritas en el capítulo anterior de esta tesis doctoral. También comprobar cómo afecta el grado de protección/desprotección de estos grupos hidroxilo en su capacidad gelificante, lo que presumiblemente nos permitirá acceder a nuevos agentes hidrogelantes.

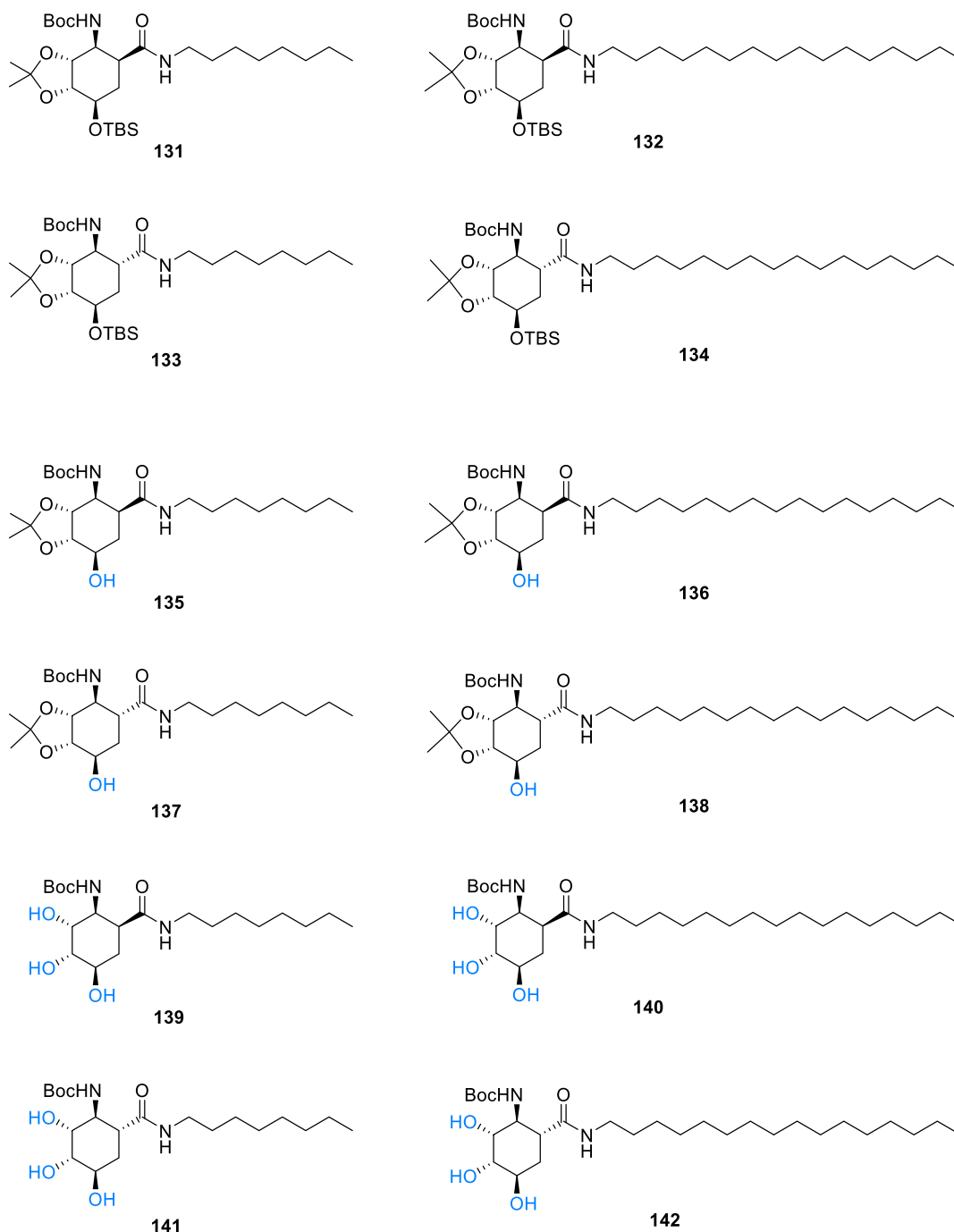


Figura 132. Quimioteca de *N*-alquilamidas derivadas del ácido (-)-shikímico (131-142).

La capacidad gelificante de estos compuestos se probó en un conjunto de doce disolventes de distinta constante dieléctrica (tolueno, éter etílico, DCM, CHCl_3 , THF, $i\text{PrOH}$, AcOEt, dioxano, acetona, EtOH, MeCN y MeOH) y en mezclas de $\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$, calculando la concentración mínima de gelificación (*cmg* en mg/mL) mediante el método del test de inversión (ver página 122).

En primer lugar, se probaron las *N*-alquilamidas con disposición relativa *cis* de sus unidades amida y uretano 131, 132, 135, 136, 139 y 140 (Figura 132). Ninguna de ellas fue capaz de gelificar ninguno de los catorce disolventes probados, por lo que decidimos

centramos en los compuestos con disposición *trans*: **133**, **134**, **137**, **138**, **141** y **142** (Figura 132).

Las *N*-alquilamidas con disposición relativa *trans* (**133**, **134**, **137** y **138**), tampoco fueron capaces de gelificar ninguno de los 14 disolventes probados. Mientras que las *N*-alquilamidas con los tres grupos OH desprotegidos (**141** y **142**) resultaron ser buenos gelificantes de la mayoría de los disolventes. Los resultados de los test de gelificación para los compuestos **141** y **142**, los cuales nombraremos a partir de ahora como **GS8** y **GS16**, aparecen recogidos en la Tabla 29.

La *N*-octilamida **GS8**, es un buen agente gelificante de seis de los doce disolventes probados. Destaca como muy buen organogelante de CHCl₃ (2.5 mg/mL), tolueno (4.7 mg/mL) y DCM (5.7 mg/mL), sin embargo, es un mal gelificante de disolventes polares. Tampoco gelifica agua H₂O, pero si mezclas H₂O/EtOH 85:15 (15 %) con una *cmg* = 0.7 mg/mL, por lo que puede considerarse un super-hidrogelante. (Se considera que un agente es hidrogelante cuando gelifica agua o mezclas de agua y otro disolvente, siempre y cuando la proporción de agua en la mezcla sea superior al 50 %).

Disolvente	GS8	GS16
Tolueno	4.7	2.5
Éter	-	7.7
DCM	5.7	1.4
CHCl ₃	2.5	2
THF	-	-
<i>i</i> PrOH	-	-
AcOEt	12	13.3
Dioxano	-	25
Acetona	-	17
EtOH	-	8.3
MeCN	15	5.3
MeOH	-	8.3
H ₂ O/EtOH	0.7	4.7

Tabla 29. Valores de *cmg* (mg/mL) de las *N*-alquilamidas **GS8** y **GS16** en doce disolventes de distinta polaridad y mezclas de H₂O/EtOH.

La *N*-hexadecilamida **GS16** tiene un perfil de gelificación más amplio y distinto al de **GS8**. Es muy buen organogelante de disolventes apolares como tolueno (2.5 mg/mL), DCM (1.4 mg/mL) o CHCl₃ (2 mg/mL) y también de disolventes polares como EtOH (8.3 mg/mL), MeCN (5.3 mg/mL), o MeOH (8.3 mg/mL). Tampoco es capaz de gelificar agua, pero si mezclas H₂O/EtOH 70:30 (30 %) con una *cmg* = 4.7 mg/mL, lo que lo convierte en un muy buen hidrogelante, aunque ligeramente inferior a **GS8**.

A continuación, presentamos los datos de la Tabla 29 en forma de gráfico de barras (Figura 133), con el objeto de hacer más visuales los resultados. Vemos que la longitud de la cadena es un factor determinante en la capacidad de gelificación de estos compuestos, que

mejora al aumentar la longitud de ésta, de igual manera que en el caso de las *N*-alquilamidas ciclohexánicas descritas en el capítulo anterior.

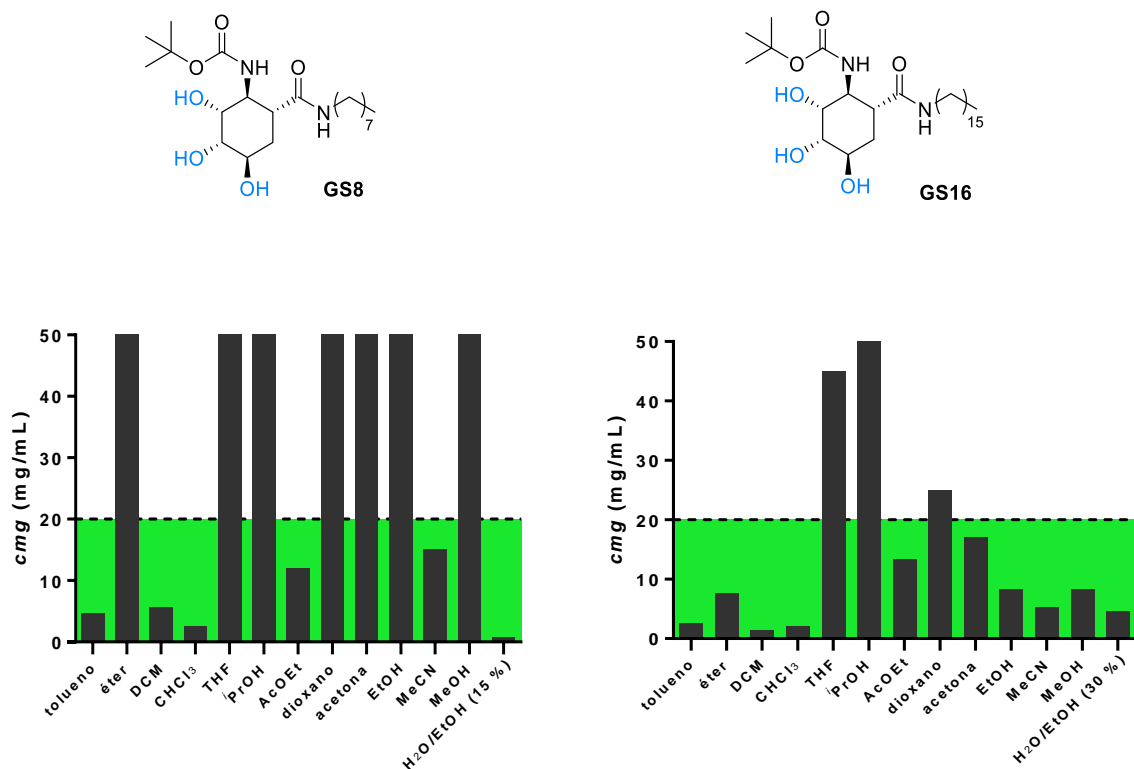


Figura 133. Valores de cmg en los 13 disolventes estudiados para los gelificantes **GS8** y **GS16**, en formato de gráfico de barras.

Para disolventes apolares ambos compuestos tienen capacidades gelificantes similares. Sin embargo, en disolventes polares la *N*-hexadecilamida **GS16** es mucho más eficaz que la *N*-octilamida **GS8**, lo que pone de relieve la importancia de las fuerzas de Van der Waals en las interacciones hidrofóbica con estos disolventes. Curiosamente, el compuesto **GS8** es mejor gelificante de mezclas de agua etanol, necesitando un menor porcentaje de EtOH para gelificarla que el compuesto **GS16**.

Podemos concluir que para esta quimioteca de *N*-alquilamidas derivadas del ácido (–)-shikímico:

- La estereoquímica *cis/trans* es crucial para el proceso de gelificación ya que ninguna de las seis *cis*-*N*-alquilamidas ha sido capaz de gelificar ninguno de los disolventes probados.
- El grado de protección de los grupos hidroxilo del anillo ciclohexánico también es un factor determinante en la capacidad de gelificación de estas moléculas ya que solo actúan como buenos gelificantes aquellos compuestos que presentan los tres grupos hidroxilo libres.

- La longitud de la cadena alquílica no es tan determinante para la gelificación, pero sí que influye en la eficiencia de ésta en disolventes polares, en los que funciona mucho mejor una cadena alquílica más larga.

3.4.3.5 Hidrogelantes derivados del ácido (-)-shikímico como sistemas de liberación de fármacos

Una gran cantidad de fármacos tienen una baja solubilidad en agua ($< 1 \text{ mg/mL}$), lo que se traduce en una menor biodisponibilidad y por tanto una mala eficiencia terapéutica.¹⁵⁹ Para superar los problemas de solubilidad de estos fármacos, se han desarrollado diferentes estrategias que incluyen, entre otras: la complejación, la dispersión sólida, el uso de co-disolventes, el uso de sistemas de partículas coloidales (por ejemplo, microemulsiones, liposomas, niosomas, nanopartículas lipídicas sólidas) y la nanoformulación (por ejemplo, la formación de nanoemulsiones, nanosuspensiones, nanopartículas, nanocristales).¹⁶⁰⁻¹⁶²

Durante la última década, los geles supramoleculares han ido ganando posiciones en este campo debido a su gran diversidad molecular y a sus propiedades modulables, así como su inyectabilidad y su capacidad de responder a estímulos.

Teniendo en cuenta la doble capacidad para formar lipogeles e hidrogeles que observamos en nuestras *N*-alquilamidas **GS8** y **GS16** derivadas del ácido (-)-shikímico, que hemos descrito en el apartado anterior, decidimos investigar si éstas eran capaces de formar también hidrogeles que encapsulen sustancias apolares y luego las liberen en medios polares; dando lugar de esta forma a hidrogeles adecuados para el desarrollo de sistemas de liberación eficiente de fármacos.

Para ello decidimos utilizar como modelo uno de los fármacos antiinflamatorios más usados en el mundo como es el naproxeno (**143**) (Figura 134), como modelo para realizar una prueba de concepto de las propiedades de nuestros hidrogelantes como sistemas de liberación controlada de fármacos.

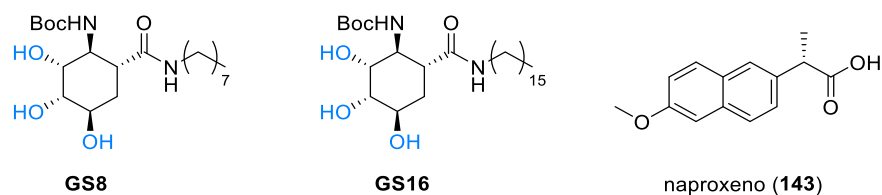


Figura 134. Estructura química de los gelificantes **GS8** y **GS16** y del fármaco antiinflamatorio naproxeno (**143**).

Para incluir el naproxeno en los hidrogeles de nuestras *N*-alquilamidas colocamos una mezcla naproxeno-gelificante (1:1) en un vial de 5 mL. Sobre este vial se vierte una mezcla de H₂O/EtOH (al 30 % para **GS6** y al 15 % para **GS8**), hasta alcanzar la *cmg* de cada gelificante. Esta mezcla se calienta hasta la disolución completa de los dos componentes y se enfría para inducir la gelificación del disolvente. Al producirse la gelificación no se observa precipitación del naproxeno, sino un gel homogéneo en ambos casos. Esto significa que el naproxeno está incluido en la estructura del gel formando un co-gel (naproxeno-gelificante).

Una vez formado el co-gel (naproxeno-gelificante) se añade sobre el mismo 3 mL de agua destilada y se deja a temperatura ambiente, sin perturbación durante $> 48 \text{ h}$, al cabo de

las cuales se presupone que el sistema ya está en equilibrio. Pasado este tiempo se toma una alícuota del sobrenadante y se mide la concentración mediante Espectroscopía UV-Vis (utilizando una recta de calibrado de naproxeno previamente obtenida). Una vez realizada la medida de la concentración se calcula el porcentaje de liberación obteniendo los resultados que aparecen reflejados en la Tabla 30.

Hidrogelante:	GS8	GS16
% de liberación de naproxeno	71 %	68 %

Tabla 30. Valores de % máximo de liberación de naproxeno para los hidrogeles de GS8 y GS16 medidos pasadas 48 h.

Vemos que la cantidad de naproxeno liberada por cada uno de los hidrogeles es muy similar y está en los rangos que definen un buen *carrier* para este fármaco, 71 % para GS8 y 68 % para GS16.

A continuación, se llevó a cabo una medida de la cinética de liberación de naproxeno en estos dos sistemas. Para ello monitorizamos la liberación de naproxeno utilizando Espectroscopía UV-Vis realizando medidas de la concentración del fármaco en el sobrenadante durante 24 h (a 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10 y 24 horas) (Figura 135).

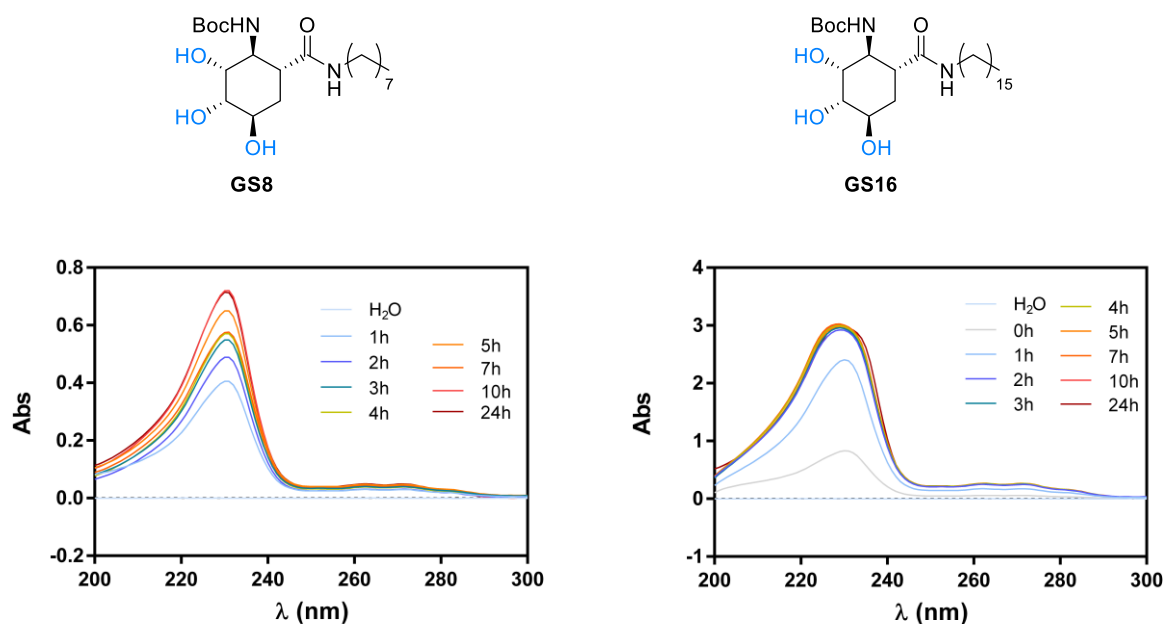


Figura 135. Espectros UV-Vis de la liberación de Naproxeno de los geles naproxeno-BS8 y naproxeno-BS16 a $t = 0-24$ h.

En la Figura 136 aparece representado el porcentaje de liberación de naproxeno en tanto por ciento, para cada una de las medidas en los hidrogeles naproxeno-GS8 y naproxeno-GS16. Como puede observarse el compuesto GS8 libera en la primera hora el 40 % del

naproxeno encapsulado y durante las 9 h siguientes va liberando naproxeno paulatinamente hasta su máximo de liberación a las 10 h (71%).

Mientras que en el caso del hidrogel naproxeno-**GS16** esta liberación es más rápida, liberándose al cabo de 1 h el 50 % del naproxeno encapsulado y alcanzando el máximo de liberación (68 %) a las 2 h.

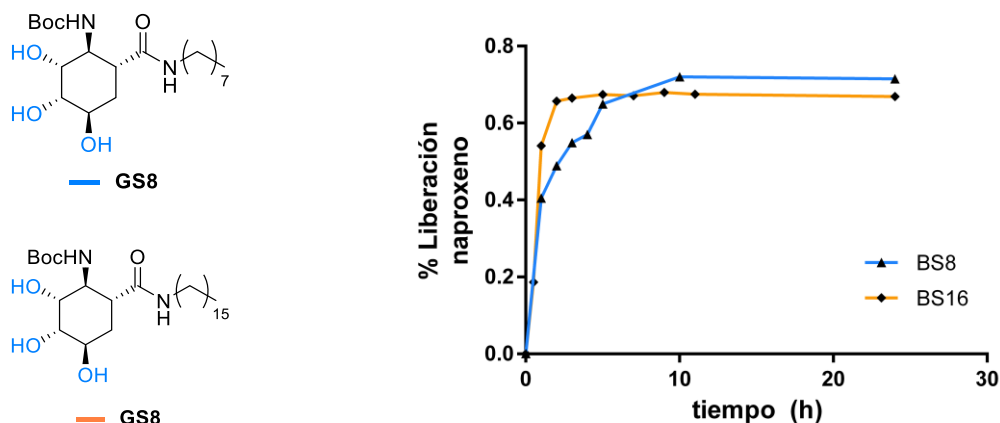


Figura 136. Cinética de la liberación de naproxeno para los hidrogeles naproxeno-**BS8** (azul) y naproxeno-**BS16** (naranja).

Por lo tanto, pudimos comprobar que la única variable estructural que barajamos para estos dos sistemas gelificantes, la longitud de la cadena alquílica no tiene una influencia significativa en la cantidad de naproxeno liberada, pero sí que influye en la cinética de esta liberación.

Como conclusión general de los experimentos realizados podemos decir que tanto **GS8** como **GS16** tienen un alto potencial para su utilización como sistemas de liberación de fármacos. Futuras variaciones de la cadena alquílica o el grupo protector del extremo *N*-terminal podrían influenciar la cinética de liberación de estos fármacos y por tanto ampliar el número de escenarios en los que se podría aplicar. Variaciones que aumenten el tiempo de liberación podrían ser interesantes para tratamientos prolongados en el tiempo.

4 CONCLUSIONS

1. The methodology to synthesize polyhydroxylated cyclohexane β -amino acids **21b** and **22b** from (–)-shikimic acid, which was previously developed at the micro-scale by our research group, has been successfully scaled up to the gram scale.
2. A synthesis protocol was developed for the pentapeptide **70a**. This peptide consists of a central residue from the polyhydroxylated β -amino acid **22b**, which is linked at its C-terminal and N-terminal ends to two dipeptides of (1*R*,2*R*)-2-aminocyclohexanecarboxylic acid **40c**. This demonstrates the possibility of incorporation of polyhydroxylated cycloalkane β -amino acids into peptides.
3. Partial and total deprotection of the hydroxyl groups of pentapeptide **70a** resulted in the novel pentapeptides **70b** and **70c**.
4. Structural studies using a combination of FTIR, CD, 1D and 2D NMR techniques, and DFT calculations have revealed that these peptides **70a**, **70b** and **70c** are able to adopt a 14-helix conformation in solution, where the helix twist occurs every three residues and substituents, when the substituents of their central cyclohexane ring are oriented on the outer face of the helix.
5. A novel α,β -pentapeptide (**75a**) was synthesized by alternating L-alanine units with units of the polysubstituted β -amino acid **21b**. Additionally, partial and total deprotection of the hydroxyl groups present on the cyclohexane rings of pentapeptide **75a** gave rise to pentapeptides **75b** and **75c**, respectively.
6. Studies of the structural properties of peptides **75a**, **75b** and **75c** by spectroscopic techniques (FTIR, CD and 1D and 2D NMR) showed that only **75c** adopts some kind of folding. Although its CD spectrum suggests an 11/9-helix folding, its pattern of NOEs in NMR studies does not support such an 11/9-helix folding, but a more extended helix in which no clear pattern of NOEs could be established.
7. The polysubstituted γ -amino acid cyclohexanes **36b** and **37b**, previously prepared by our research group from (–)-shikimic acid, were used for the preparation of the new α,γ -peptide **81a**, which structurally consists of a central dimer of **36b** and **37b**, which is linked at its N- and C- ends to L-alanine dimers. Partial or full deprotection of the hydroxy substituents on the cyclohexane rings of **81a** provided its peptide derivatives **81b** and **81c**.
8. Structural studies of these three peptides **81a**, **81b** and **81c**, using FTIR, CD, NMR (1D and 2D) and X-ray diffraction techniques, showed that hexapeptide **81a** folds in chloroform as a β -turn. Dihydroxylated hexapeptide **81b** folds as a double α/β -turn in acetonitrile and adopts an extended conformation in aqueous solution. And the polyhydroxylated hexapeptide **81c** also displays an extended conformation in aqueous solution.
9. A library consisted of following N-alkyl amides of *cis* and *trans* 2-aminocyclohexane carboxylic acids have been prepared:
 - a) **125 (Gc8)** and **126 (Gc16)**, by combination of commercial cyclohexane β -amino acid **71b** with commercial *n*-octylamine and *n*-hexadecyl amine, respectively.
 - b) (1*R*,2*R*)-**128 (Gt8)** and (1*R*,2*R*)-**129 (Gt16)**, by reaction of commercial (1*R*,2*R*)-2-aminocyclohexanecarboxylic acid **40b** with *n*-octylamine and *n*-hexadecyl amine, respectively.

- c) **rac-128 (rGt8)** and **rac-129 (rGt16)**, from racemic β -amino acid **rac-40b** and *n*-octylamine and *n*-hexadecyl amine respectively.
10. The gelation capabilities of this *N*-alkyl amide library in a set of thirteen solvents (hexane, toluene, ether, DCM, CHCl₃, THF, ⁱPrOH, EtOAc, dioxane, acetone, EtOH, MeCN and MeOH) with different dielectric constants. It was found that:
- The alkyl amides **Gc8** and **Gc16**, with *cis*-configuration on the cyclohexane ring, showed poor to moderate gelation ability in most solvents and good gelation ability in acetonitrile.
 - The *N*-alkyl amides **Gt8** and **Gt16**, with *trans* configuration on the cyclohexane ring, showed a higher gelling capacity: *N*-octyl amide **Gt8** showed a moderate gelling capacity and *N*-hexadecyl amide **Gt16** a high gelling capacity in nine of the solvents, both being super-gelling agents in hexane.
 - The racemic *N*-alkyl amides **rGt8** and **rGt16** showed unequal gelation behavior. The *N*-octyl amide **rGt8** clearly worsens the gelling ability of its enantiomerically pure analogue **Gt8**. And the *N*-hexadecyl amide racemate **rGt16** considerably improves the gelling ability of its enantiomerically pure analogue **Gt16**.
11. Structural studies [FTIR, CD, SEM, TEM and X-ray diffraction (single crystal and powdered crystalline)] of the *N*-alkyl amides **Gt8**, **Gt16**, **rGt8** and **rGt16** showed that they stack unidirectionally, forming linear stacks that then associate in the form of fibers and sheets, finally giving rise to the lattice structure of the gel.
12. The *N*-alkyl amides **Gt8**, **rGt8** and **rGt16** proved to be excellent gelling agents for hexane and also showed a high capacity to gel industrial and petroleum oils. In contrast, **Gt16** did not show this ability. The gelation results were better for the racemic mixtures, **rGt8** and **rGt16** than for the enantiomerically pure compound **Gt8**.
13. A library of twelve *N*-alkyl amides (**131-142**) was synthesized by coupling cyclohexane β -amino acids **21f** and **22f** with commercial *n*-octylamine and *n*-hexadecyl amine. Subsequent full or partial deprotection of the hydroxyl substituent gave rise to the *N*-alkyl amides **135-142**.
14. The gelation ability of these twelve *N*-alkyl amides was studied in a set of twelve solvents (toluene, ether, DCM, CHCl₃, THF, ⁱPrOH, EtOAc, dioxane, acetone, EtOH, MeCN and MeOH) with different dielectric constants and in mixtures of ethanol and water. It was observed that only *N*-alkyl amides **141 (GS8)** and **142 (GS16)**, with *trans* configuration of their amino and carboxylic acid groups and with their hydroxyl groups completely unprotected, showed gelation ability, which was found to be much better for the *N*-hexadecyl derivative than for the *N*-octyl derivative. It is especially relevant that both alkyl amides are able to gel ethanol/water mixtures with a water ratio of more than 50% and can therefore be considered as hydrogel agents.
15. **GS8** and **GS16** *N*-alkyl amide hydrogels showed the ability to encapsulate the anti-inflammatory drug naproxen and release it in a controlled manner, making them candidates for novel drug delivery agents.

5 PARTE EXPERIMENTAL

5.1 TÉCNICAS EXPERIMENTALES

Los espectros de RMN se registraron en un espectrómetro Bruker DPX-250 (250 MHz para ^1H y 62.5 MHz para ^{13}C) y Varian 300 (300 MHz para ^1H y 75 MHz para ^{13}C) en CDCl_3 , salvo que se especifique lo contrario. Se utilizó TMS como referencia interna y los desplazamientos químicos vienen dados en la escala δ (ppm).

Los espectros de RMN de ^1H , ^{13}C y DEPT que se incluyen fueron procesados con el software Mestre C y MestreNova.

Las rotaciones ópticas se midieron en un polarímetro digital JASCO P- 2000, empleando una lámpara de Na (589 nm) y una cubeta de 5 cm. El valor de la rotación óptica es la media de 10 valores tomados durante 15 seg. de integración cada uno. Los valores de concentración de la muestra se dan en g/100 mL.

Los espectros de masa de baja resolución se realizaron en un espectrómetro cuadrupolar Hewlett Packard[®] 5980a mediante inserción directa, usando la técnica de ionización química, y los espectros de masas de alta resolución se realizaron en un espectrómetro VG Autospect 20-250 mediante inserción directa, usando la técnica de electrospray.

Los espectros IR se realizaron en un espectrofotómetro PerkinElmer[®] FT- IR.

Las cromatografías en columna se hicieron sobre gel de sílice 60 Merck[®]. 230-400 mesh (flash, 0.04-0.063) y las ccf se realizaron sobre gel de sílice 60 GF₂₅₄ Merck[®].

Como reveladores se utilizaron una lámpara de UV (λ : 254 360 nm) y las mezclas Hanessian, Ninhidrina y Permanganato de potasio.

Los filtrados sobre Celita[®] se llevaron a cabo utilizando Celita 545 Coarse de Fluka.

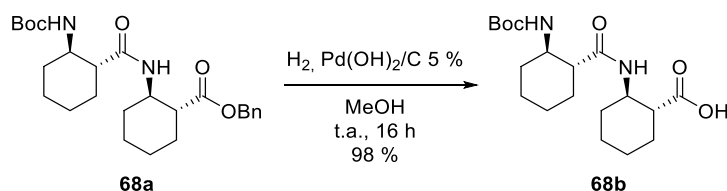
Las reacciones que se llevaron a cabo bajo atmósfera de argón fueron realizadas en matraces que previamente fueron secados a la llama con un mechero Bünchen mientras se purgaban con argón.

Tanto para las concentraciones a presión reducida como a alto vacío se empleó un rotavapor Büchi.

Los reactivos, disoluciones y disolventes secos se añadieron vía jeringa o cánula.

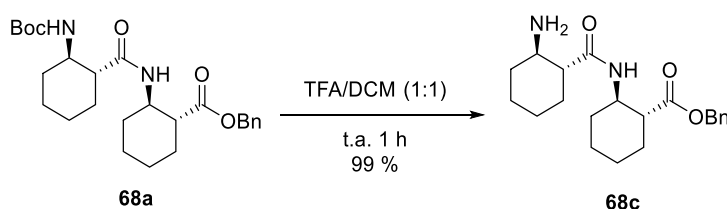
5.2 SÍNTESIS DE LOS B-PÉPTIDOS 70a, 70b Y 70c

5.2.1 Síntesis del ácido (1*R*,2*R*)-2-((1*R*,2*R*)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)ciclohexano-carboxamida)ciclohexanocarboxílico (68b)



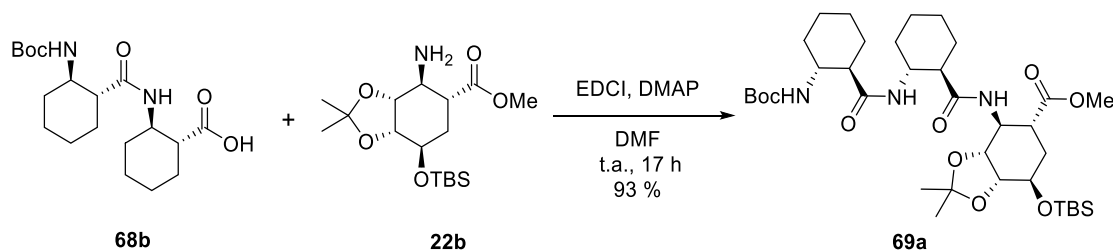
En un matraz de fondo redondo de 50 mL se disolvieron 150 mg (0.327 mmol) del compuesto **68a** en 7 mL de MeOH, la disolución se desoxigenó y sobre ella se añadieron 75 mg (50% en peso) de Pd(OH)₂ al 10%. La mezcla resultante se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (P = 1 atm) a t.a. observándose tras 16 h por ccf (AcOEt/Hex 1:1) la desaparición del producto de partida (R_f = 0.5) y la formación de uno más polar (R_f = 0.1). La mezcla de reacción se filtró a través de Celita lavando con MeOH y se concentró a sequedad en el rotavapor, obteniéndose 135 mg (98 %) del ácido (1*R*,2*R*)-2-((1*R*,2*R*)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)ciclohexano-carboxamida)ciclohexanocarboxílico (**68b**) como un sólido blanco, que se utilizó en la siguiente reacción sin mayor purificación. Las propiedades espectroscópicas y espectrométricas son acordes las de la bibliografía.⁸³

5.2.2 Síntesis del (1*R*,2*R*)-2-((1*R*,2*R*)-2-aminociclohexanocarboxamida)ciclohexanocarboxilato de bencilo (68c)



Se disuelve **68a** (216 mg, 0.472 mmol) en una mezcla TFA/H₂O 1:1 (2.4 mL) y se agitó a t.a. durante 1 h. Al cabo de ese tiempo se observó por ccf (AcOEt/Hex 1:1) la desaparición del producto de partida (R_f = 0.6) y la aparición de un producto de reacción (R_f = 0.1). La reacción se concentró a sequedad en el rotavapor, coevaporando con tolueno. Se obtuvo de esta forma el (1*R*,2*R*)-2-((1*R*,2*R*)-2-aminociclohexanocarboxamida)ciclohexanocarboxilato de bencilo (**68c**) (295 mg, 100 %) como un sólido blanco espumoso el que se usó directamente en la siguiente reacción. Las propiedades espectroscópicas y espectrométricas son acordes las de la bibliografía.⁸³

5.2.3 Síntesis del (3aR,4S,5R,7R,7aR)-4-((1R,2R)-2-((1R,2R)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)ciclohexano-1-carboxamida)ciclohexano-1-carboxamida)-7-((*tert*-butildime-tilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxilato de metilo (69a)



A una disolución de una mezcla de la amina de partida **22b** (189 mg, 0.527 mmol), el ácido **68b** (194 mg, 0.527 mmol) y DMAP (193 mg, 1.581 mmol en DMF seca (3.8 mL) se le añadió EDCI·HCl (222 mg, 1.159 mmol). La disolución resultante agitó a t.a. durante 17 h a t.a., bajo atmósfera de argón. Al cabo de este tiempo se observó por ccfc (AcOEt/Hex 1:1) la desaparición del producto de partida ($R_f = 0.1$) y la aparición de un producto de reacción de menor polaridad ($R_f = 0.3$). El disolvente se eliminó a presión reducida en el rotavapor, coevaporando varias veces con tolueno. El crudo se redisolvió en AcOEt y se lavó con tres porciones de 5 mL de HCl 1 M, disolución saturada de NaCl, disolución saturada de NaHCO_3 y nuevamente disolución saturada de NaCl. Las fases orgánicas reunidas se secaron con Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron a sequedad en el rotavapor, obteniéndose un aceite, que se purificó por cromatografía en columna, eluyendo con una mezcla de AcOEt/Hex 1:1, aislándose 347 mg (93 %) del (3aR,4S,5R,7R,7aR)-4-((1R,2R)-2-((1R,2R)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)ci-clohexano-1-carboxamida)ciclohexano-1-carboxamida)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxilato de metilo (**69a**), como un sólido blanco.

$[\alpha]_D^{20}$: +33.1 (c 10, CHCl_3).

RMN- ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, ppm): 0.08 (d, $J = 4.1$ Hz, 6H, $2x\text{SiCH}_3$), 0.89 (s, 9H, $-\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 1.06–1.37 (m, 14H, $2x\text{CH}_3 + 4x\text{CH}_2$), 1.40 (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.62–2.15 (m, 10H, $5x\text{CH}_2$), 2.62–2.79 (m, 2H, $2x\text{COCH}$), 2.99 (s, 1H, COCH), 3.59 (m, 4H, $-\text{OCH}_3 + \text{OCH}$), 3.87 (t, $J = 11.9$ Hz, 1H, OCH), 3.99–4.10 (m, 2H, NCH + OCH), 4.13–4.28 (m, 2H, $2x\text{NCH}$), 5.83 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H, NH), 6.13 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, NH), 7.01 (t, $J = 4.4$ Hz, 1H, NH).

RMN- ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz, ppm): -4.80 ($2x\text{SiCH}_3$), 18.22 (C_c), 24.72 (CH_2), 25.19 (CH_2), 25.38 (CH_2), 25.60 (CH_2), 25.96 ($3x\text{CH}_3$), 26.59 (CH_3), 28.13 (CH_3), 28.58 ($3x\text{CH}_3$), 29.01 (CH_2), 29.79 (CH_2), 31.85 ($2x\text{CH}_2$), 33.79 (CH_2), 41.83 ($\underline{\text{C}}\text{H-CO}$), 48.34 ($\underline{\text{C}}\text{H-CO}$), 49.57 ($\underline{\text{C}}\text{H-CO}$), 51.60 (OCH_3), 52.08 (CH-N), 52.64 (CH-N), 53.47 (CH-N), 67.12 (CH-O), 76.92 (CH-O), 78.30 (CH-O), 79.02 (C_c , Boc), 109.24 (C_c), 156.18 (CO , Boc), 173.26 ($2x\text{CO}$, amida), 174.99 (CO , CO_2Me).

IR (ν , cm^{-1}): 3327.38 (amida A), 1736.29 (éster), 1679.77 (amida I) y 1527.80 (amida II).

EMAR (ESI^+): Calculado para $\text{C}_{36}\text{H}_{63}\text{N}_3\text{O}_9\text{Si}$, 710.4405; encontrado 710.4406.

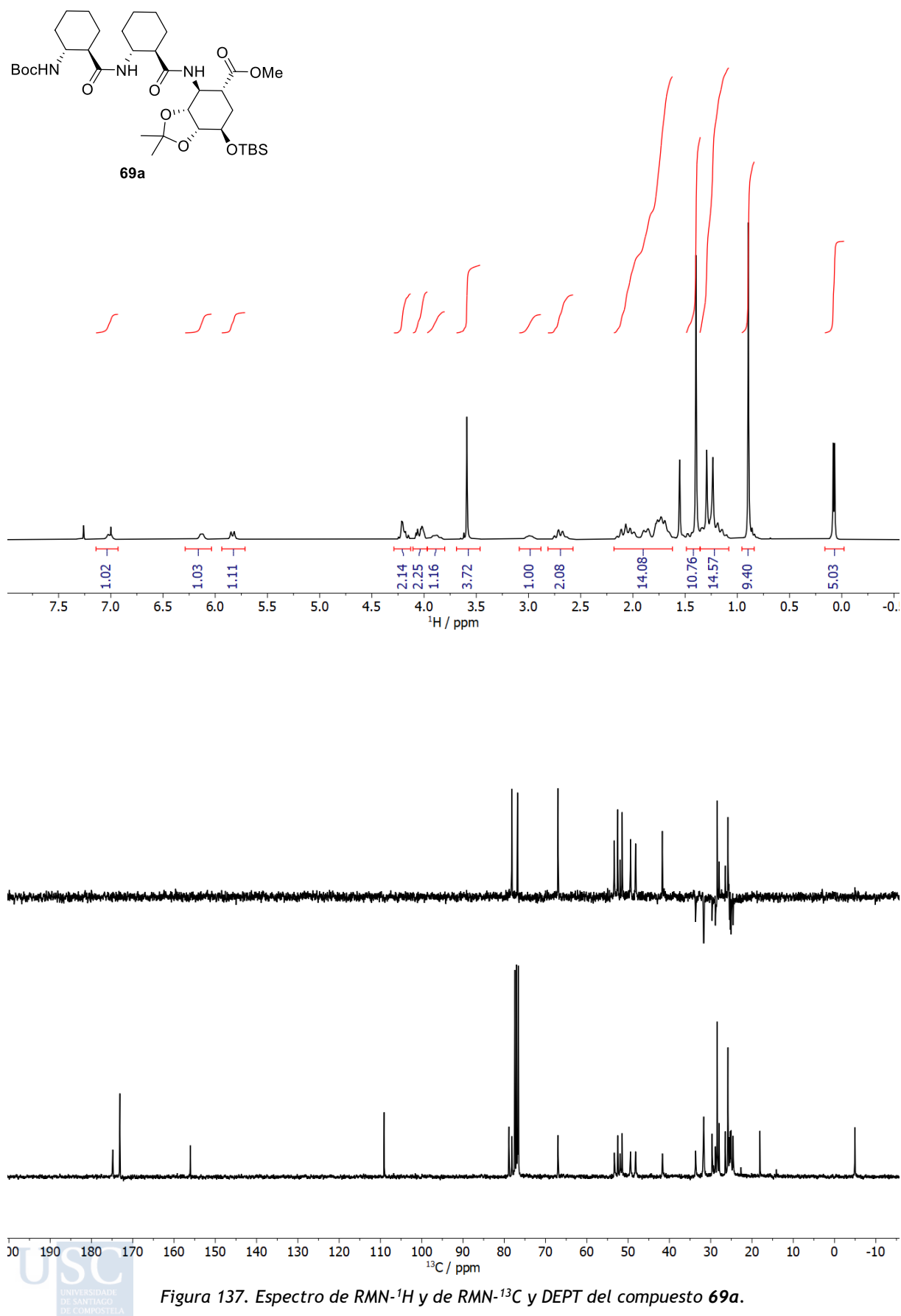
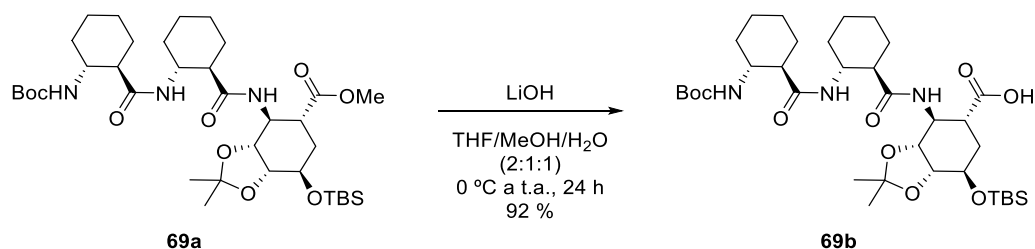


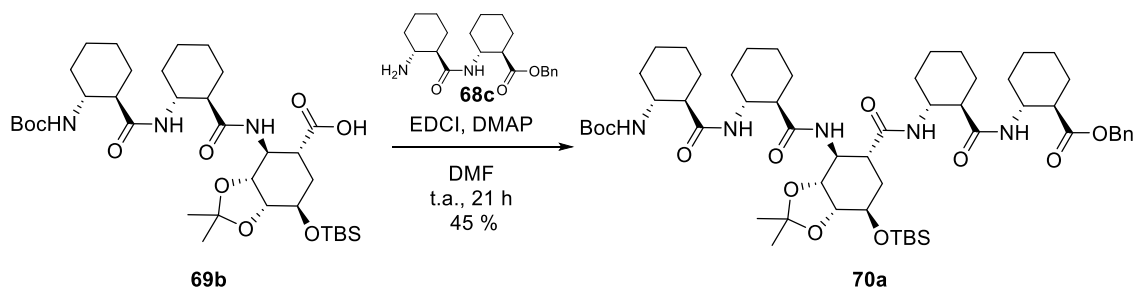
Figura 137. Espectro de RMN- ^1H y de RMN- ^{13}C y DEPT del compuesto **69a**.

5.2.4 Síntesis del ácido (3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,7*aR*)-4-((1*R*,2*R*)-2-((1*R*,2*R*)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)ciclohexano-1-carboxamida)ciclohexano-1-carboxamida)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxílico (69b)



A una disolución del éster de partida **69a** (336 mg, 0.472 mmol) en una mezcla THF/MeOH/H₂O (2:1:1) (8 mL), enfriada a 0 °C, se le añadió LiOH·H₂O (50 mg, 1.180 mmol) y la disolución resultante agitó a t.a. durante 24 h. Al cabo de ese tiempo se observó por ccf (AcOEt) la desaparición del producto de partida ($R_f = 0.8$) y la aparición de un producto de reacción más polar ($R_f = 0.1$). La mezcla de reacción se concentró entonces a sequedad, se redisolvió en agua (10 mL) y se extrajo con Et₂O (10 mL). A continuación, la fase acuosa se acidificó con ácido cítrico del 10% y se extrajo con Et₂O (2x10 mL). Las segundas fases orgánicas reunidas secaron con Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a sequedad en el rotavapor, aislándose 301 mg (92 %) del ácido (3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,7*aR*)-4-((1*R*,2*R*)-2-((1*R*,2*R*)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)ciclohexano-1-carboxamida)ciclohexano-1-carboxamida)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxílico (**69b**), como un sólido blanco que se utilizó directamente en la siguiente reacción sin mayor purificación.

5.2.5 Síntesis del (1*R*,2*R*)-2-((1*R*,2*R*)-2-((3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,7*aR*)-4-((1*R*,2*R*)-2-((1*R*,2*R*)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)ciclohexano-1-carboxamida)ciclohexano-1-carboxamida)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxamida)ciclohexano-1-carboxamida)ciclohexano-1-carboxilato de bencilo (70a)



Sobre una disolución del ácido de partida **69b** (89 mg, 0.128 mmol) en DMF seca (0.91 mL) se añadió EDCI·HCl (54 mg, 0.282 mmol) y la disolución resultante se agitó durante 15 min a t.a. bajo atmósfera de argón. Sobre esta mezcla se añadió una disolución de la amina **68c** (46 mg, 0.128 mmol) en DMF seca (0.91 mL) y DMAP (47 mg, 0.384 mmol) y se mantuvo la agitación durante 21 h. Al cabo de este tiempo se observó por ccfc (DCM/MeOH 1:20) la desaparición del producto de partida ($R_f = 0.1$) y la aparición de un producto de reacción de menor polaridad ($R_f = 0.3$). La reacción se diluyó entonces con DCM (5 mL), se lavó con una disolución acuosa de HCl 1M (5 mL), H₂O (5 mL), una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (5 mL) y H₂O (5 mL). Las fases orgánicas reunidas se secaron con Na₂SO₄ anhidro, se evaporó el disolvente a vacío y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna eluyendo con una mezcla de (DCM/MeOH 1:20) para dar lugar a 60 mg (45%) del (1*R*,2*R*)-2-((1*R*,2*R*)-2-((3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,7*aR*)-4-((1*R*,2*R*)-2-((1*R*,2*R*)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)ciclohexano-1-carboxamida)ciclohexano-1-carboxamida)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxamida)ciclohexano-1-carboxamida)ciclohexano-1-carboxilato de bencilo (**70a**) como un sólido blanco.

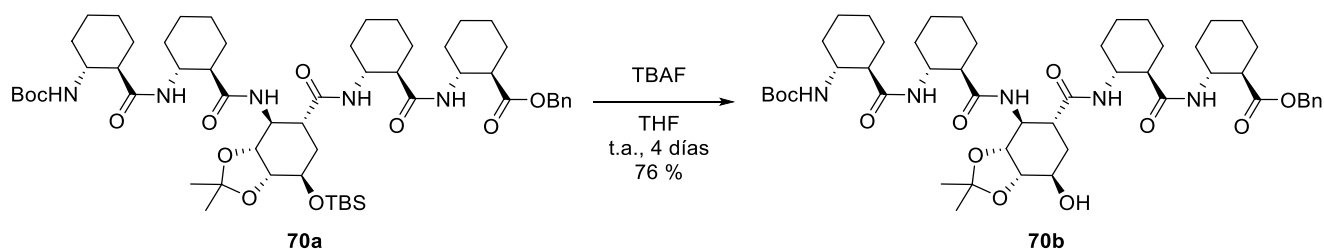
$[\alpha]_D^{23}$: +48.3 (*c*, 1, CH₂Cl₂).

RMN: Datos de RMN y asignaciones en el apartado 5.3.1 (página 181)

IR (ν , cm⁻¹): 3281.07 (amida A), 1721.22 (éster), 1644.93 (amida II) y 1535.61 (amida II).

EMAR (ESI⁺): Calculado para C₅₆H₈₉N₅O₁₁NaSi, 1058.6218; encontrado 1058.6220.

5.2.6 Síntesis del (1*R*,2*R*)-2-((1*R*,2*R*)-2-((3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,7*aS*)-4-((1*R*,2*R*)-2-((1*R*,2*R*)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)ciclohexano-1-carboxamida)ciclohexano-1-carboxamida)-7-hidroxi-2,2-dimetilhexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxamida)ciclohexano-1-carboxamida)ciclohexano-1-carboxilato de bencilo (70b)



A una disolución de **70a** (50 mg, 0.048 mmol) en THF seco (0.78 mL) se le añadió una disolución de TBAF 1M en THF (0.7 mL). La mezcla resultante se agitó a t.a. durante 4 días. Pasado ese tiempo se observó por ccf (MeOH/DCM 1:15) la desaparición del producto de partida ($R_f = 0.4$) y la aparición de un producto de reacción ($R_f = 0.3$). La mezcla de reacción se concentró a sequedad, se redisolvió en DCM (10 mL) y se lavó con HCl 1M (3x10mL) y una disolución saturada de NaCl (10 mL). La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a sequedad en el rotavapor. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna flash (MeOH/DCM 1:15), aislándose 34 mg (76%) de del (1*R*,2*R*)-2-((1*R*,2*R*)-2-((3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,7*aS*)-4-((1*R*,2*R*)-2-((1*R*,2*R*)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)ciclohexano-1-carboxamida)ciclohexano-1-carboxamida)-7-hidroxi-2,2-dimetilhexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxamida)ciclohexano-1-carboxamida)ciclohexano-1-carboxilato de bencilo (**70b**) como un sólido blanco.

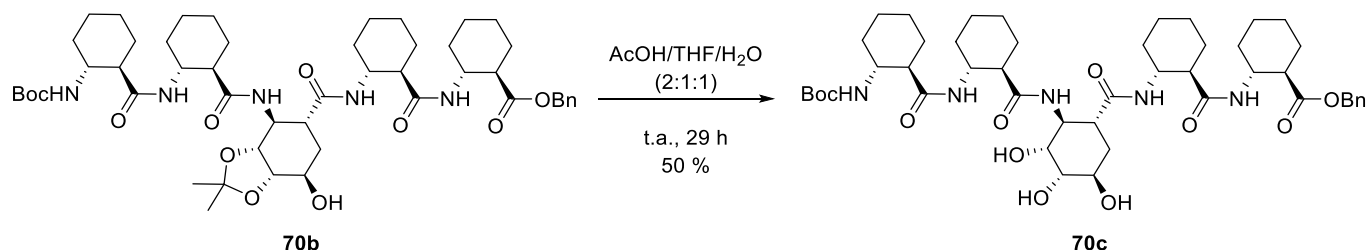
$[\alpha]_D^{23}$: +44.0 (*c*, 1, CH₂Cl₂)

RMN: Datos de RMN y asignaciones en el apartado 5.3.4 (página 198).

IR (ν, cm⁻¹): 3369.60 (amida A), 1721.09 (éster) y 1649.42 (amida I) 1547.16 (amida II).

EMAR (ESI⁺): calculado para C₅₀H₇₅N₅NaO₁₁, 944.5359; encontrado 944.5355.

5.2.7 Síntesis del (1*R*,2*R*)-2-((1*R*,2*R*)-2-((3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,7*aS*)-4-((1*R*,2*R*)-2-((1*R*,2*R*)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)ciclohexano-1-carboxamida)ciclohexano-1-carboxamida)-7-hidroxi-2,2-dimetilhexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxamida)ciclohexano-1-carboxamida)ciclohexano-1-carboxilato de bencilo (70c)



El producto de partida **70b** (18mg) se disolvió en una mezcla AcOH/THF/H₂O (0.176 mL) y se agitó a t.a. durante 29 h. Al cabo de ese tiempo se comprobó por ccf (MeOH/DCM 1:10) la desaparición del producto de partida ($R_f = 0.7$) y la aparición de un producto más polar

($R_f = 0.3$). La disolución se concentró a sequedad y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna flash (MeOH/DCM 1:10) obteniéndose 8.5 mg (50 %) del (1*R*,2*R*)-2-((1*R*,2*R*)-2-((3*aR*,4*S*,5*R*,7*R*,7*aS*)-4-((1*R*,2*R*)-2-((1*R*,2*R*)-2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)ciclohexano-1-carboxamida)ciclohexano-1-carboxamida)-7-hidroxi-2,2-dimetilhexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxamida)ciclohexano-1-carboxamida)ciclohexano-1-carboxilato de bencilo (**70c**) como un sólido blanco.

$[\alpha]_D^{23}$: +44.0 (c , 1, CH₂Cl₂)

RMN: Datos de RMN y asignaciones en los apartados 5.3.5 y 5.3.6 (página 206 y 216)

IR (ν , cm⁻¹): 3269.40 (amida A), 1723.10 (éster) y 1649.50 (amida I), 1546.80 (amida II).

EMAR (ESI⁺): calculado para C₄₇H₇₁N₅NaO₁₁, 904.5150; encontrado 904.5153.

5.3 ANÁLISIS ESTRUCTURAL DE LOS PENTAPÉPTIDOS 70a, 70b y 70c

5.3.1 Estudio de Infrarrojo de los péptidos 68a, 69a, 70a, 70b y 70c

Compuesto	Amida A	Amida I	Amida II
68a	3297.27	1646.47	1533.44
69a	3327.38	1679.77	1527.80
70a	3281.07	1644.93	1535.61
70b	3369.60	1649.42	1547.16
70c	3269.40	1649.50	1546.80

Tabla 31. Máximos (cm⁻¹) de las bandas características de Amida A, Amida I y Amida II para los compuestos 68a, 69a, 70a, 70b y 70c.

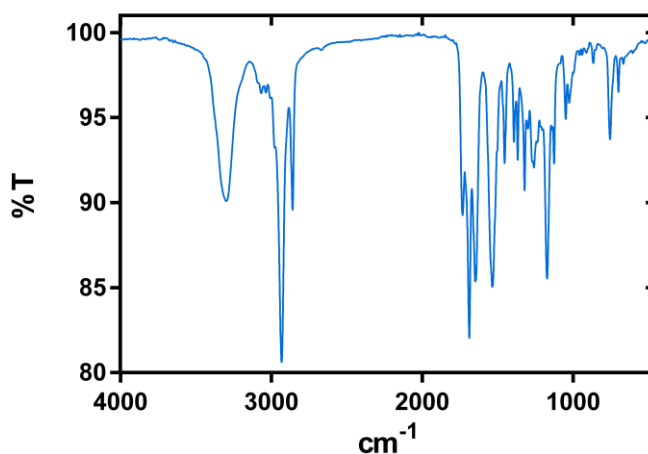
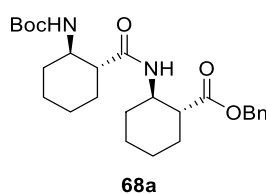
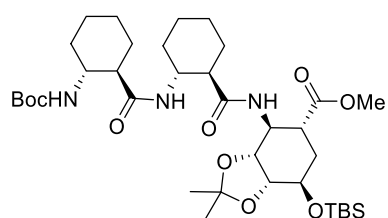


Figura 138. Espectro de FTIR del compuesto 68a.



69a

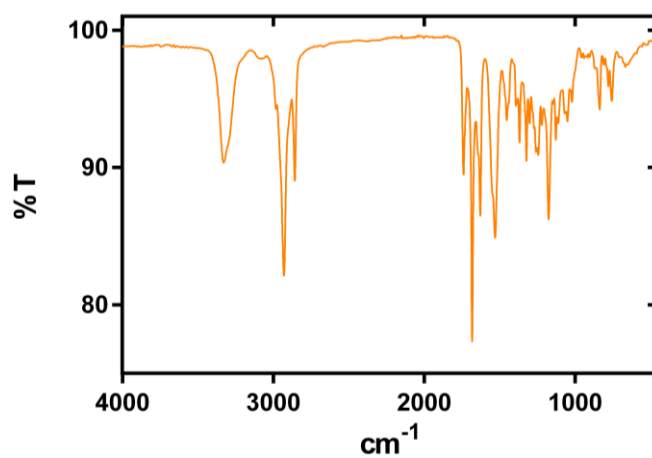
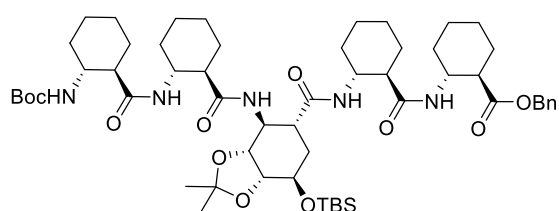


Figura 139. Espectro de FTIR del compuesto 69a.



70a

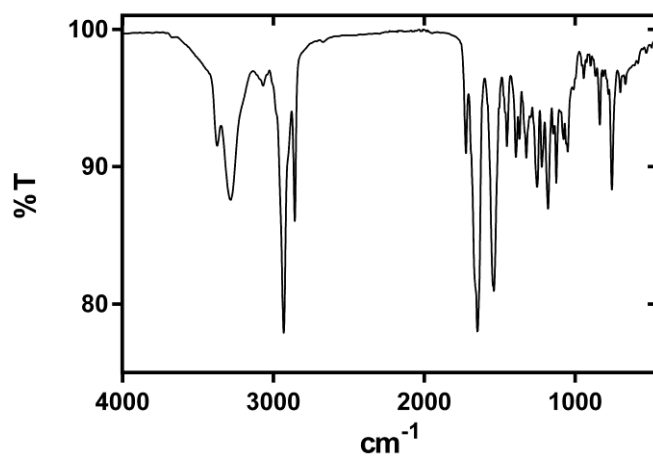


Figura 140. Espectro de FTIR del compuesto 70a.

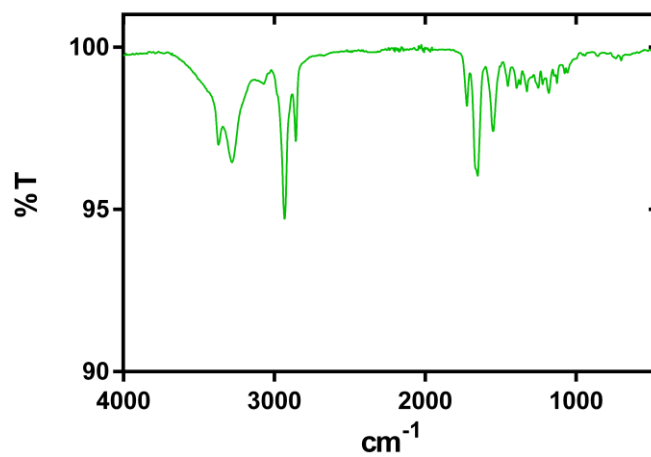
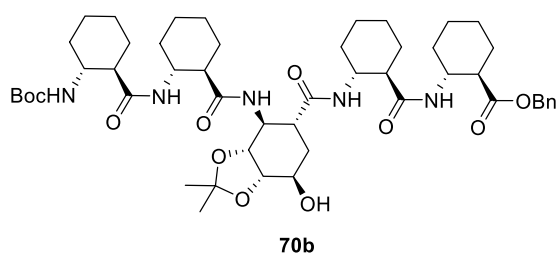


Figura 141. Espectro de FTIR del compuesto 70b.

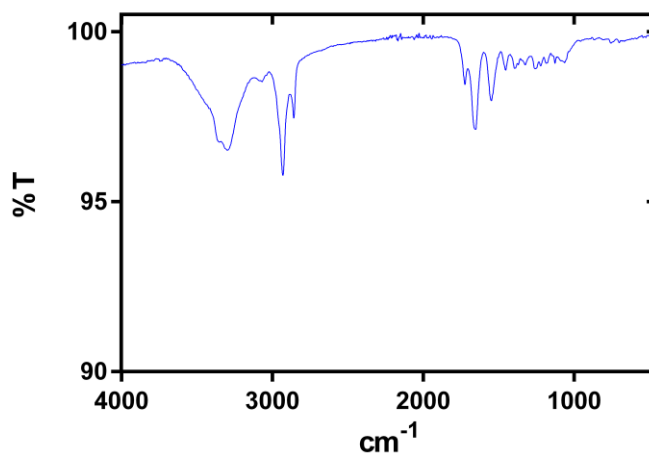
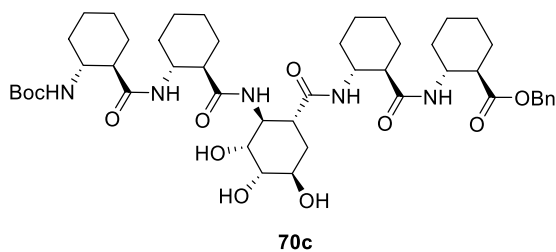


Figura 142. Espectro de FTIR del compuesto 70c.

5.3.2 Espectroscopía de Dicroísmo Circular de los péptidos 68a, 69a, 70a, 70b y 70c

Los espectros de dicroísmo circular (CD) se adquirieron a 25 °C utilizando una célula de cuarzo de 1 mm de longitud de paso (Hellma Analytics, Alemania). Se recogieron barridos de longitud de onda entre 260 y 195 nm con un ancho de banda de 1 nm, un intervalo de datos de 1 nm y una velocidad de barrido de 100 nm/min.

Para cada medida se promediaron tres barridos. Los blancos de disolvente se sustrajeron de los espectros brutos y se suavizaron sobre 17 puntos de datos antes de la normalización a elipticidad molar. La señal de CD se convirtió en elipticidad molar ($[\Theta]$, deg cm² dmol⁻¹) mediante la ecuación:

$$[\Theta] = 100 \cdot \Psi / (l \cdot c)$$

Donde Ψ es la elipticidad bruta en grados, l es la longitud del camino en decímetros y c es la concentración molar.

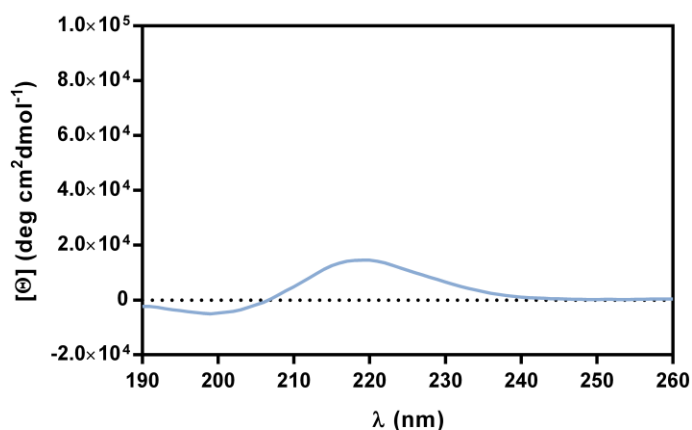
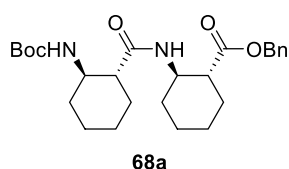


Figura 143. Espectro de Dicroísmo Circular de **68a** en metanol ($c = 1 \text{ mM}$; $T = 25 \text{ °C}$).

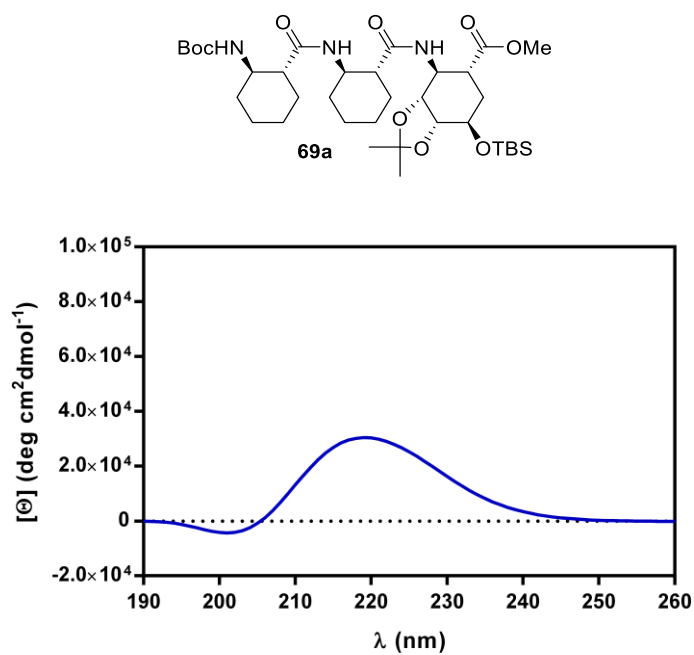


Figura 144. Espectro de Dicroísmo Circular de **69a** en metanol ($c = 1 \text{ mM}$; $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$).

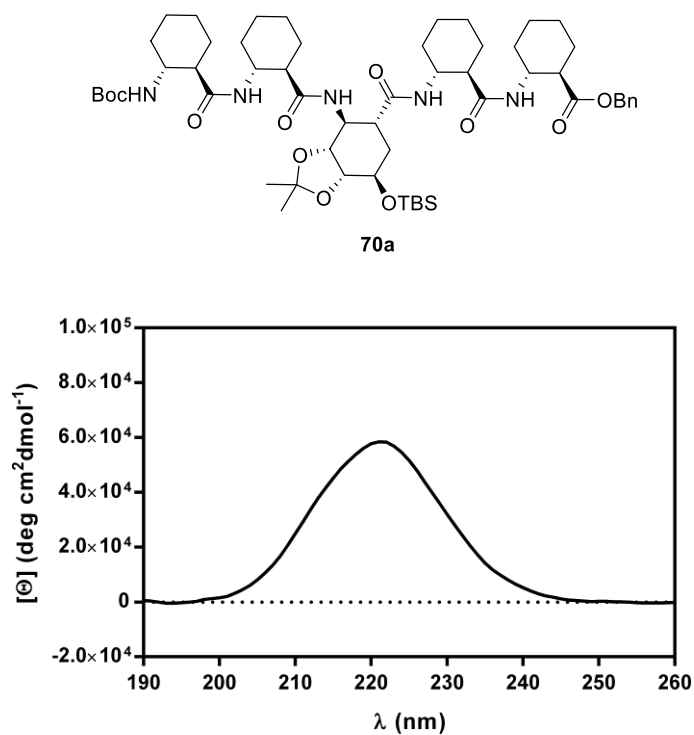


Figura 145. Espectro de Dicroísmo Circular de **70a** en metanol ($c = 1 \text{ mM}$; $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$).

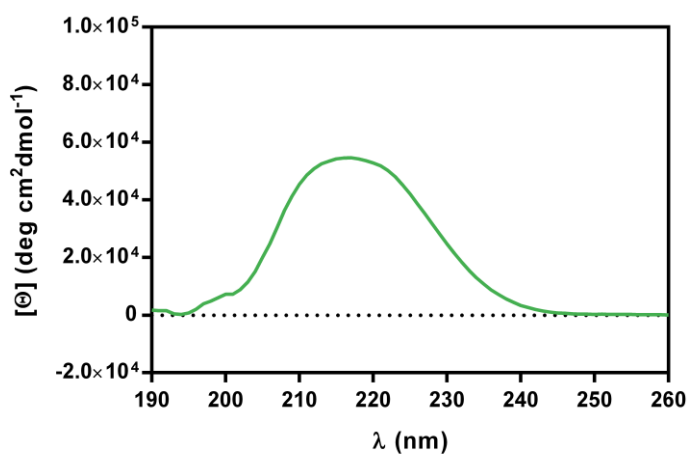
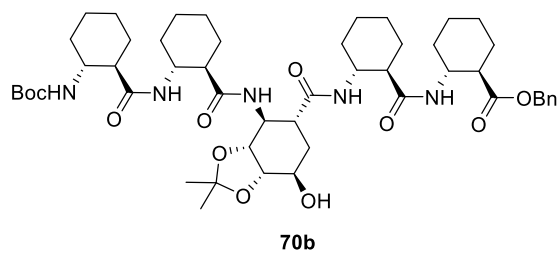


Figura 146. Espectro de Dicroísmo Circular de **70b** en metanol ($c = 1 \text{ mM}$; $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$).

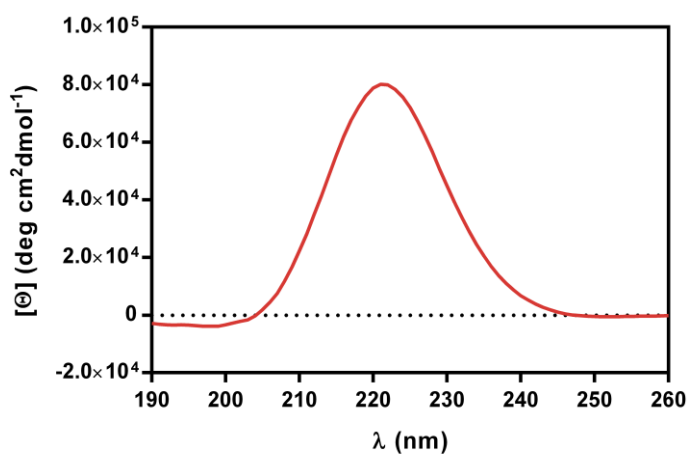
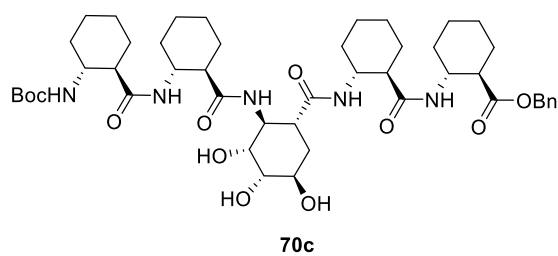


Figura 147. Espectro de Dicroísmo Circular de **70c** en metanol ($c = 1 \text{ mM}$; $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$).

5.3.3 Espectroscopía de RMN del péptido 70a en DMSO-*d*₆

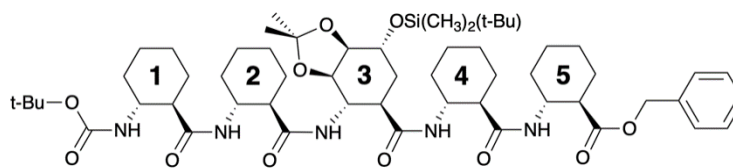


Figura 148. Estructura química del pentapéptido 70a

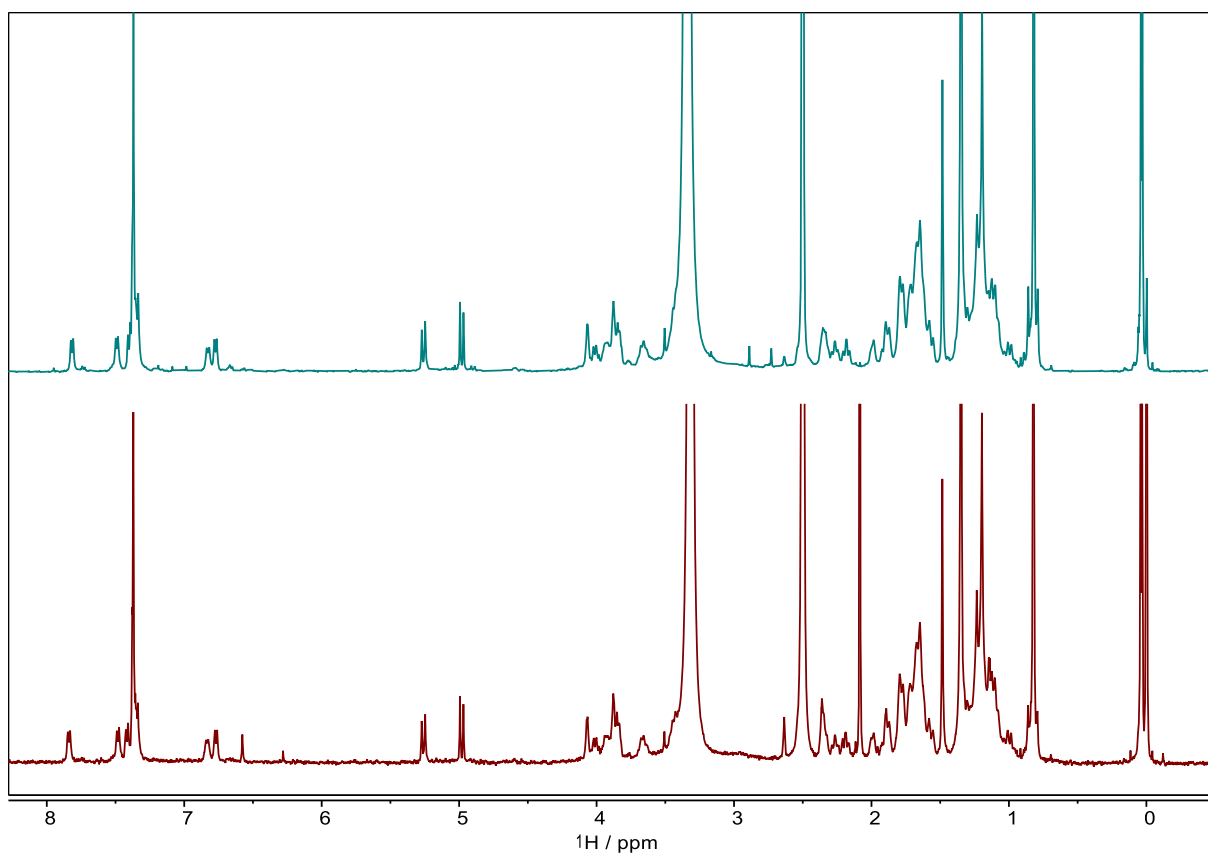


Figura 149. RMN-¹H del péptido 70a una concentración de 1.5 mM (abajo) y 0.4 mM (arriba). Condiciones: DMSO-*d*₆, 500 MHz, 298 K.

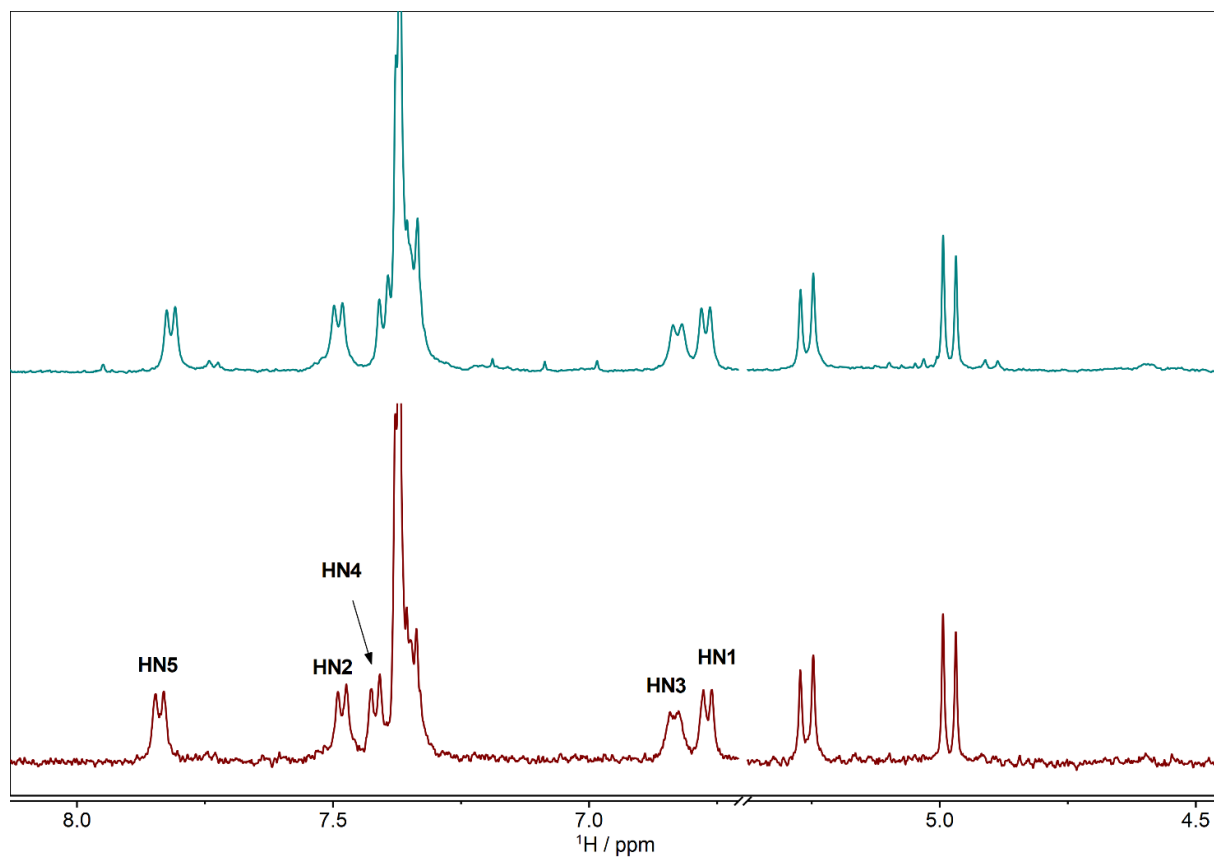


Figura 150. RMN- ^1H del péptido **70a** una concentración de 1.5 mM (abajo) y 0.4 mM (arriba): Expansión de las regiones de amida y de hidroxilo. Condiciones: $\text{DMSO-}d_6$, 500 MHz, 298 K.

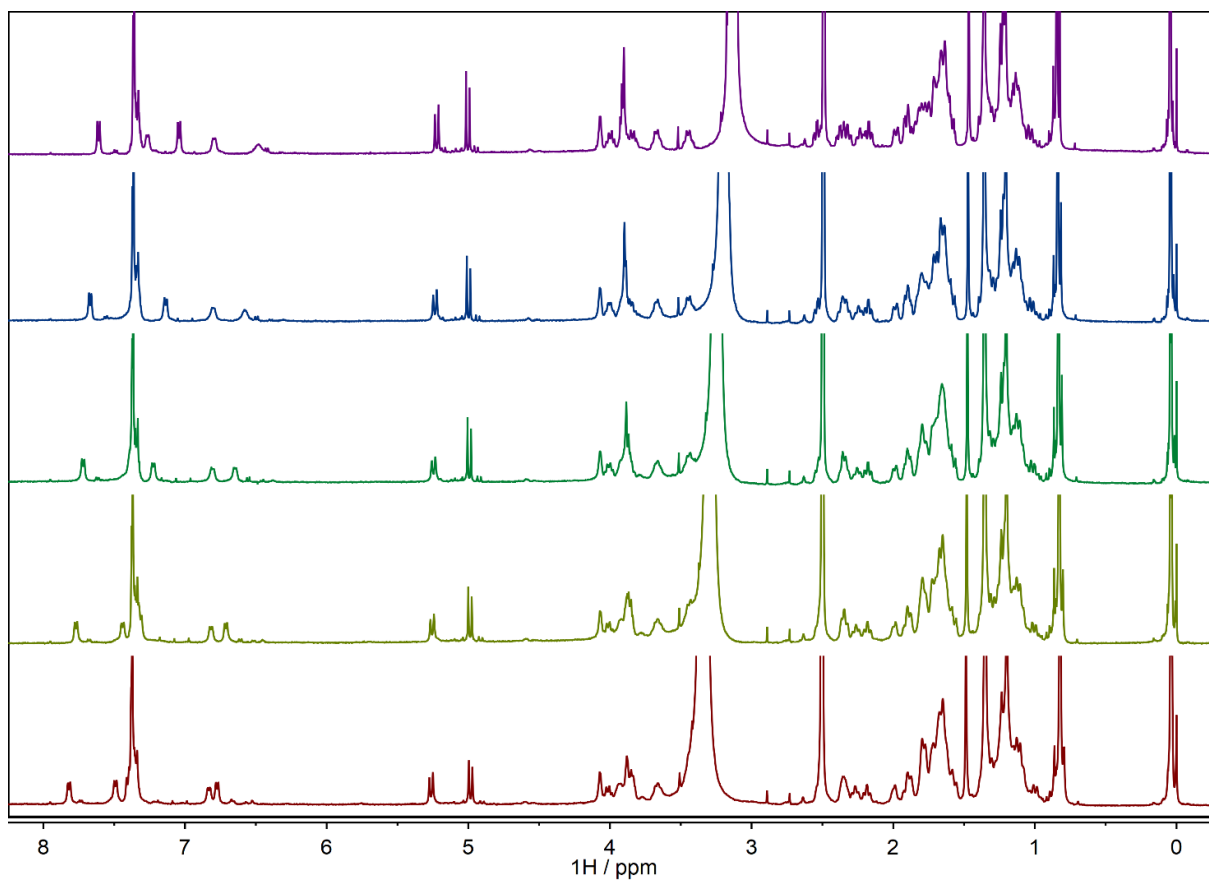


Figura 151. Espectro de RMN-TV del péptido **70a** en DMSO-*d*₆ (500 MHz). Temperaturas, de abajo hacia arriba: 298 a 358 K en pasos de 10 K.

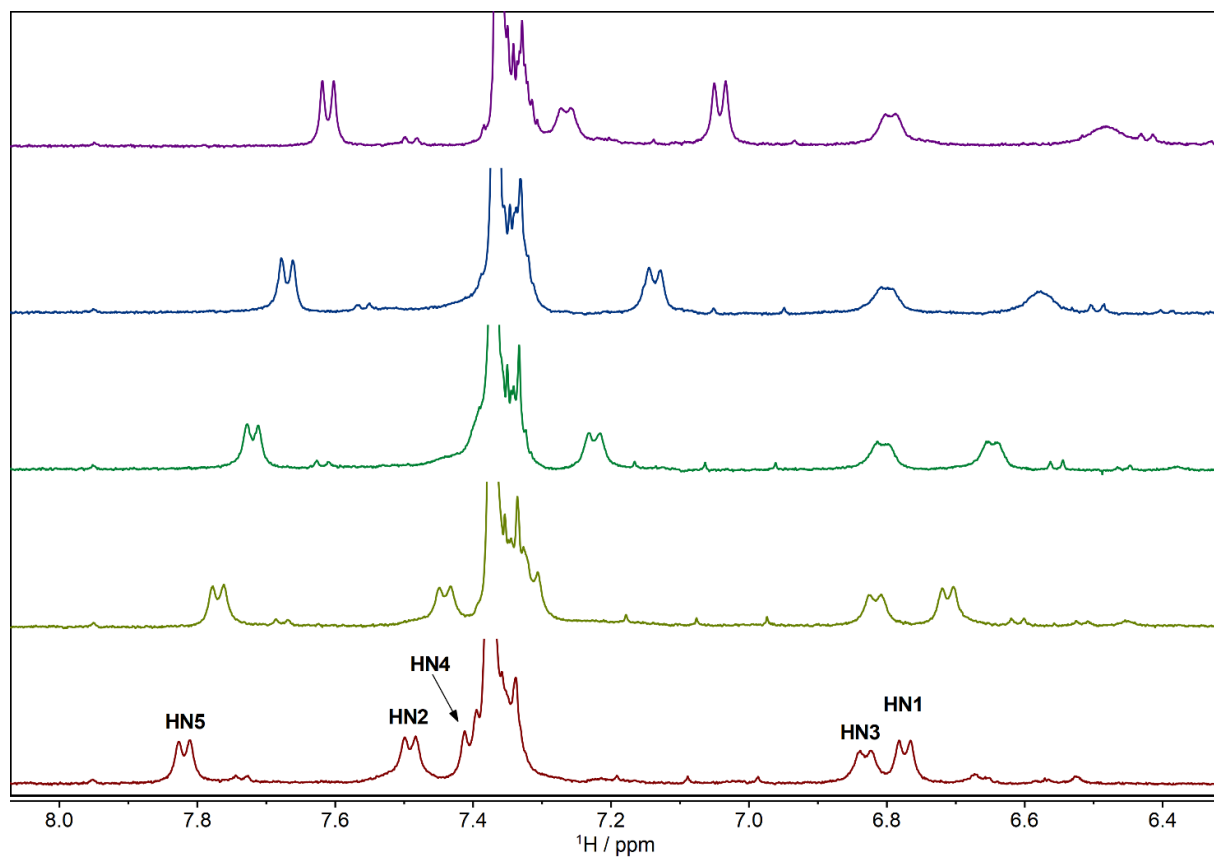


Figura 152. Expansión de la región de protón de amida del espectro de RMN-TV del péptido **70a** en DMSO-*d*₆ (500 MHz). Temperaturas, de abajo hacia arriba: 298 a 358 K en pasos de 10 K.

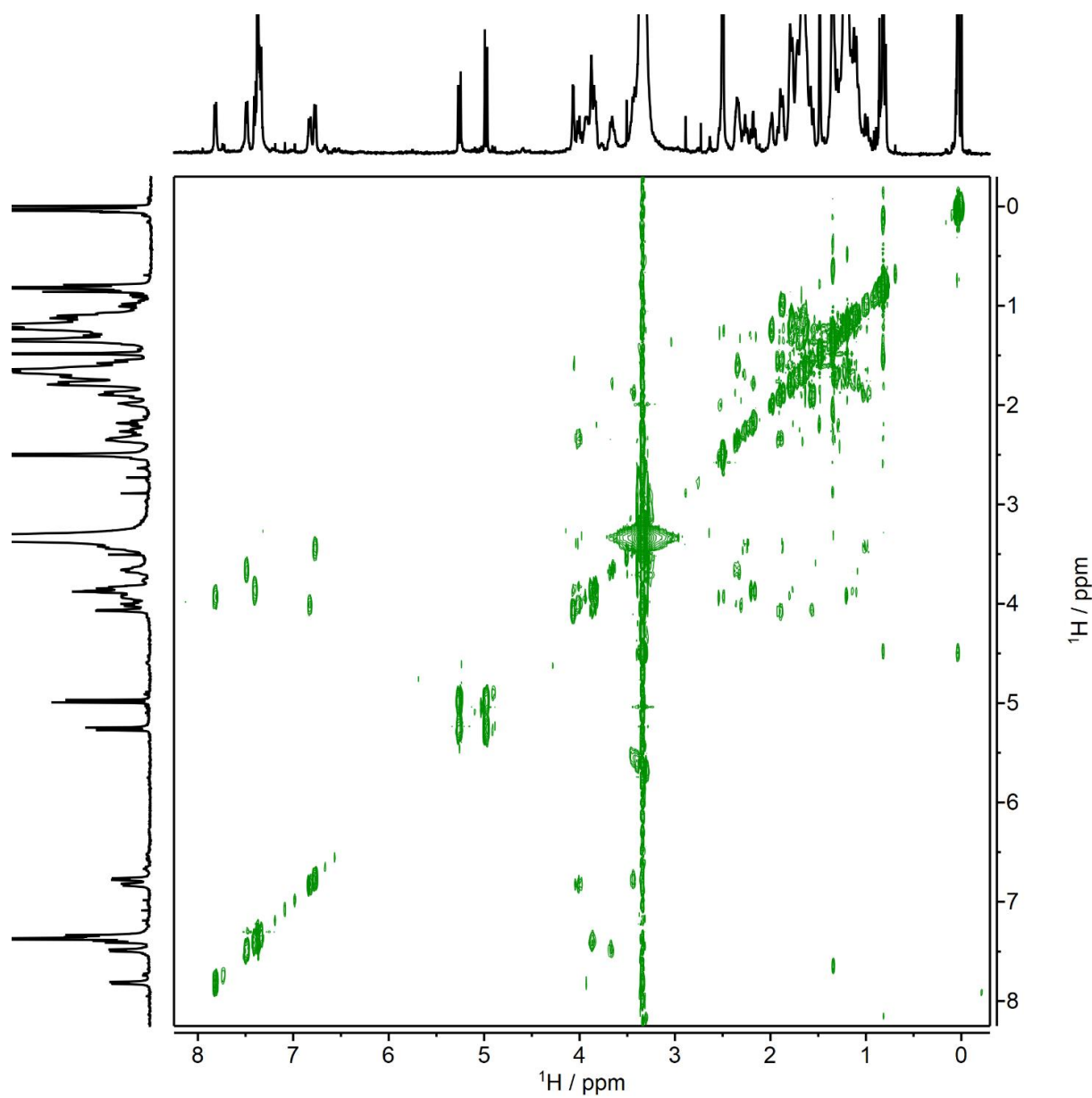


Figura 153. Espectro de COSY del péptido 70a (DMSO- d_6 , 500 MHz, 298 K).

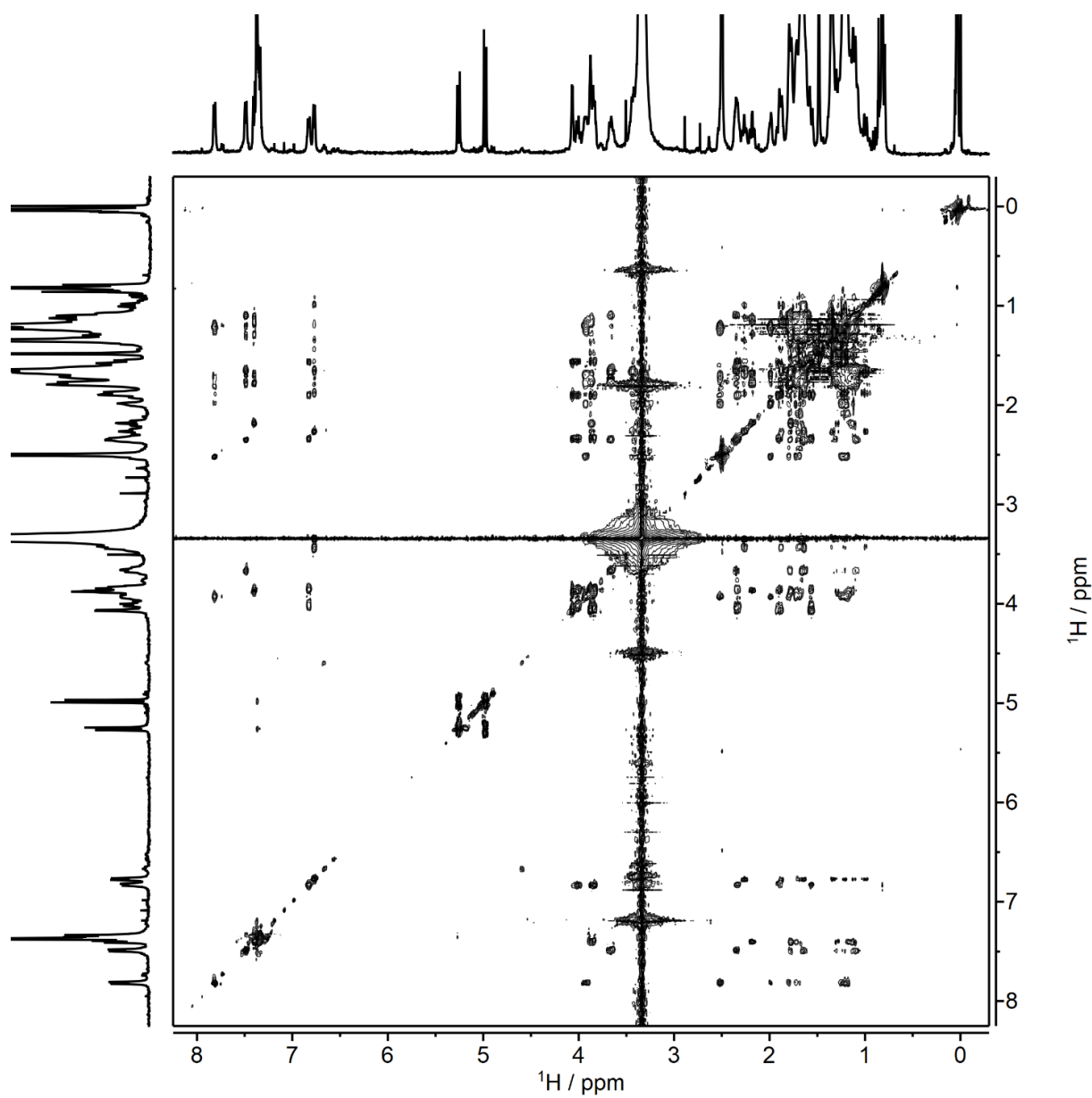


Figura 154. Espectro de TOCSY del péptido 70a, $t_{\text{mix}} = 70$ ms (DMSO- d_6 , 500 MHz, 298 K).

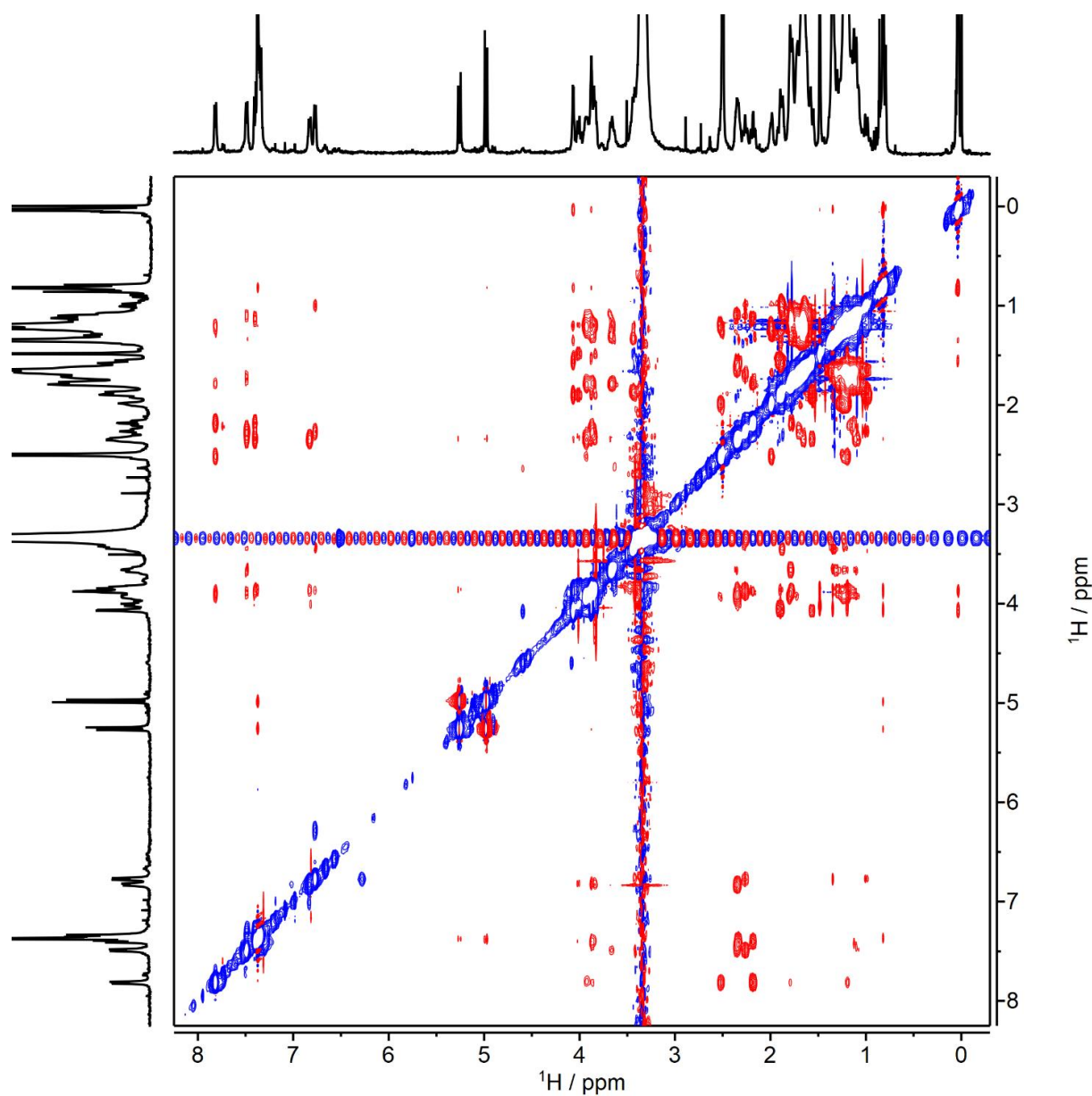


Figura 155. Espectro de ROESY del péptido **70a**, $t_{\text{mix}} = 120$ ms (DMSO- d_6 , 500 MHz, 298 K).

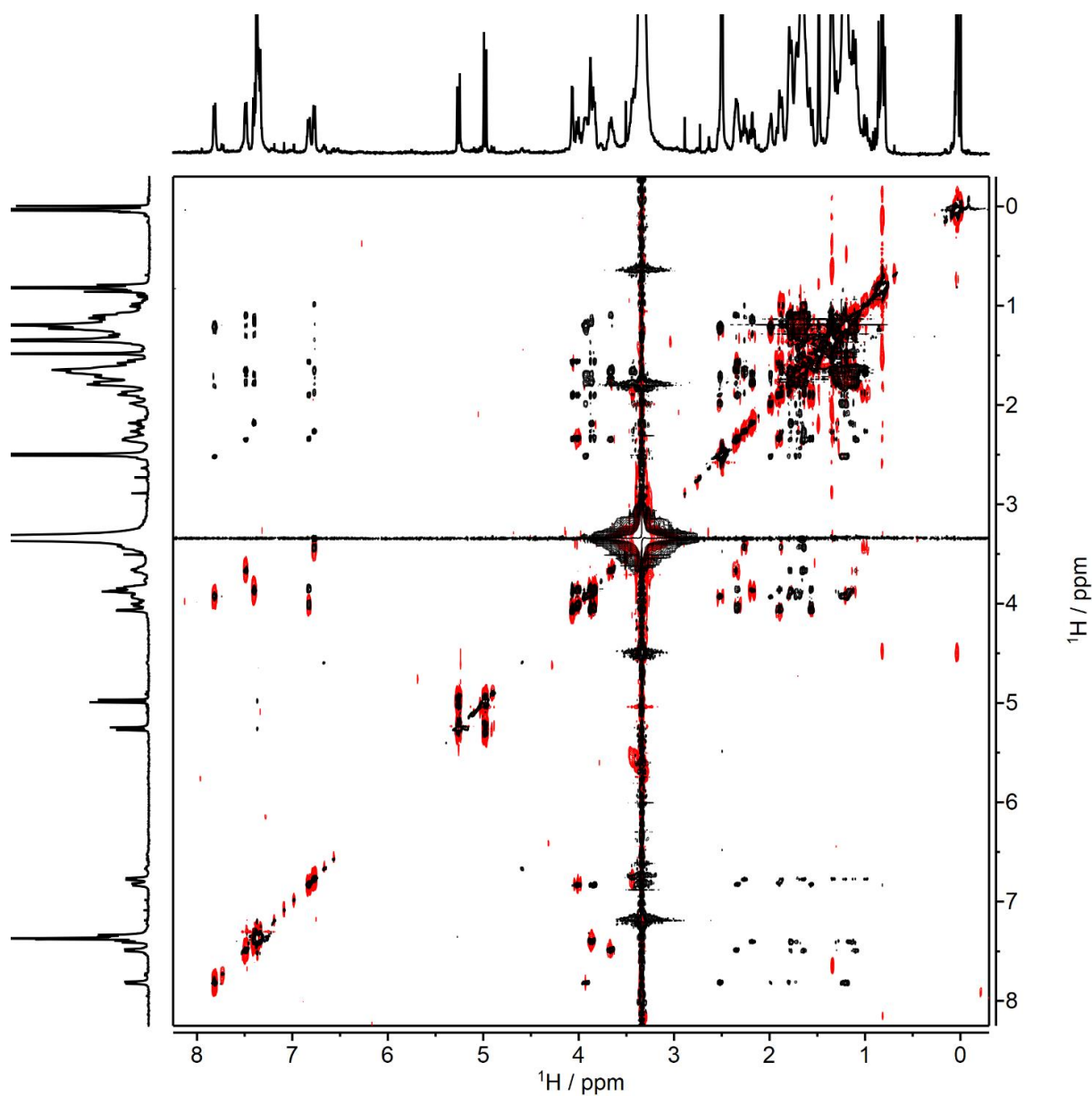


Figura 156. Superposición de los espectros COSY (rojo) y TOCSY (negro, $t_{\text{mix}} 70$ ms) del péptido 70a (DMSO- d_6 , 500 MHz, 298 K).

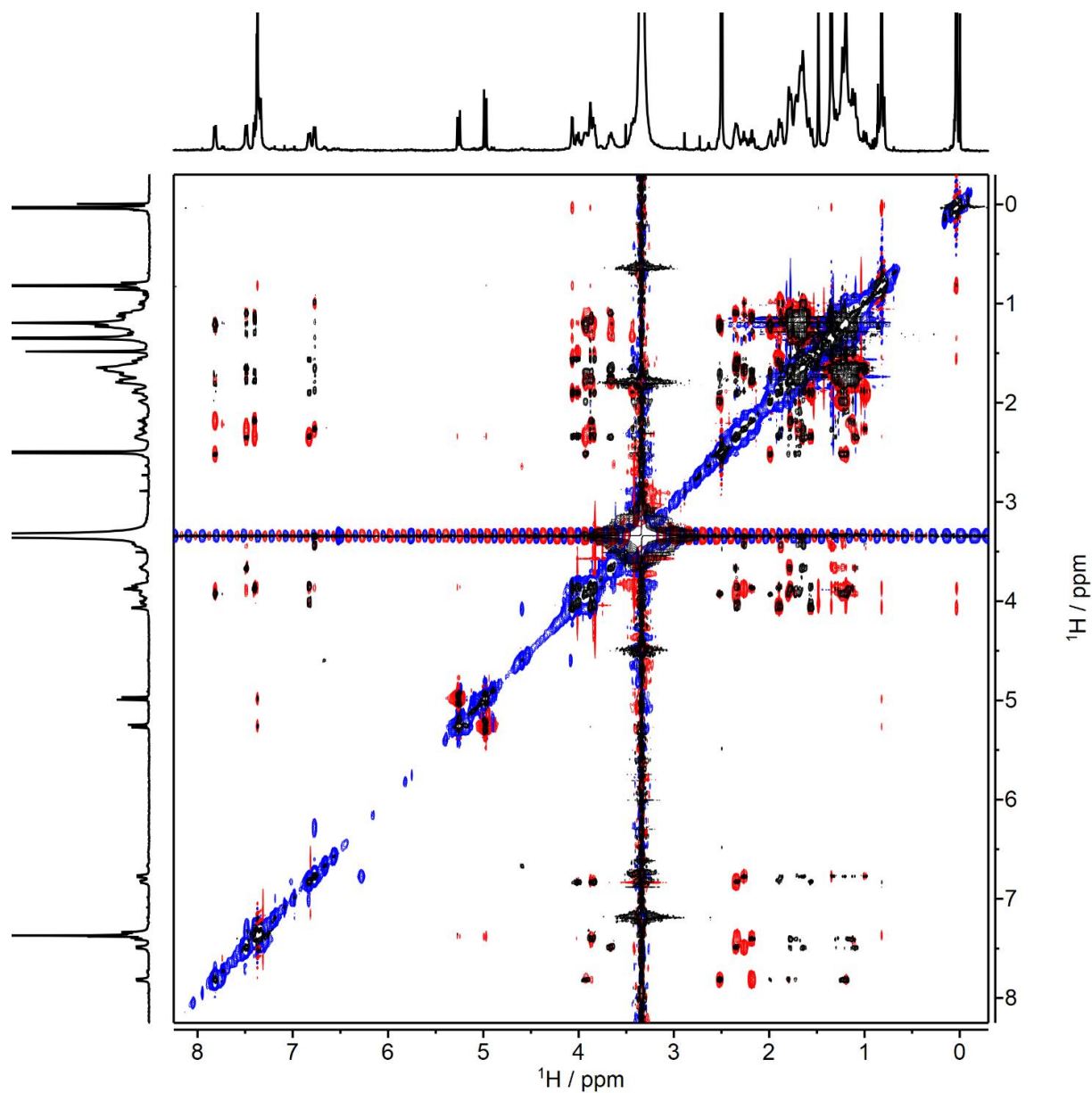


Figura 157. Superposición de los espectros ROESY (rojo/azul, t_{mix} 120 ms) y TOCSY (negro, t_{mix} 70 ms) del péptido 70a (DMSO- d_6 , 500 MHz, 298 K).

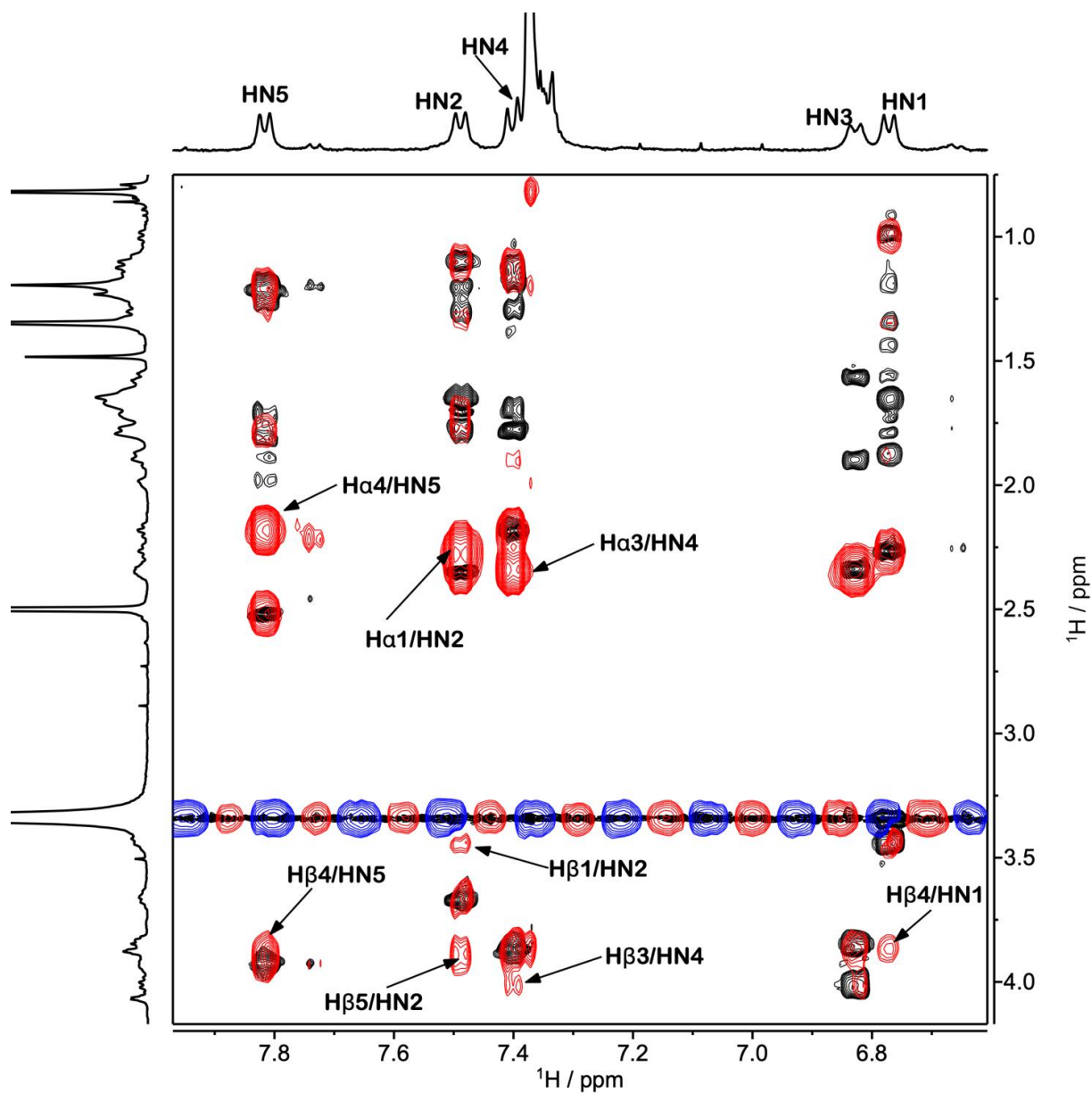


Figura 158. Superposición de los espectros ROESY (rojo/azul, t_{mix} 120 ms) y TOCSY (negro, t_{mix} 70 ms) del péptido 70a (DMSO- d_6 , 500 MHz, 298 K). Expansión de la región ($\text{H}\alpha$ + $\text{H}\beta$)/HN.

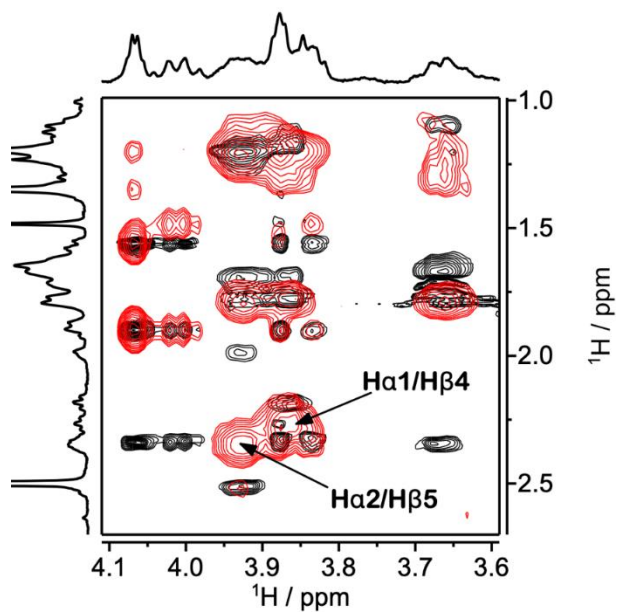


Figura 159. Superposición de los espectros ROESY (rojo/azul, t_{mix} 120 ms) y TOCSY (negro, t_{mix} 70 ms) del péptido 70a (DMSO- d_6 , 500 MHz, 298 K). Expansión de la región Ha/H β .

5.3.4 Espectroscopía de RMN del péptido 70b en DMSO-*d*₆

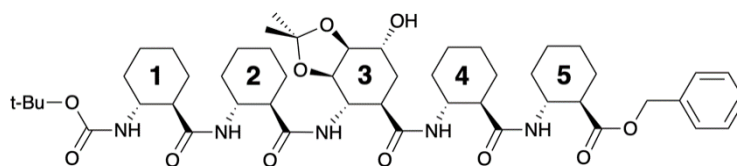


Figura 160. Estructura química del pentapéptido 70b.

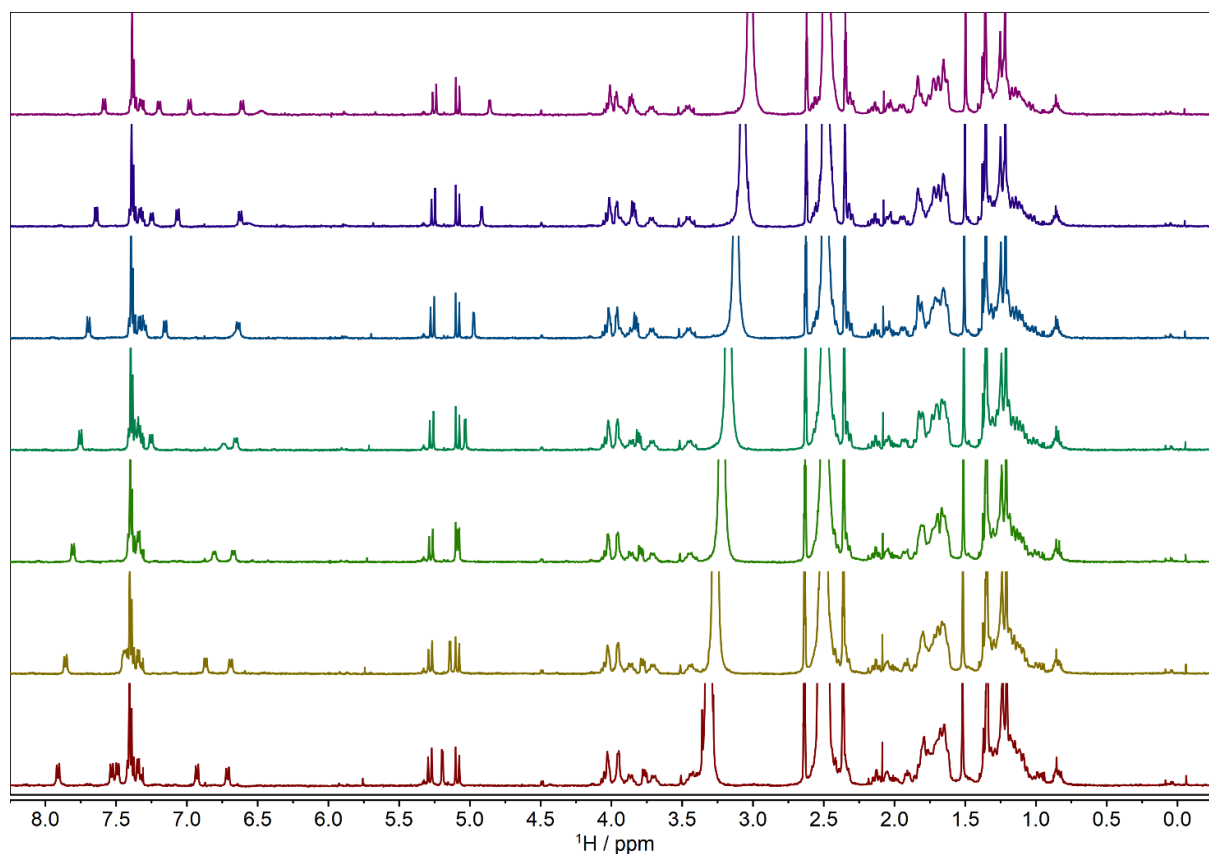


Figura 161. Espectro de RMN-TV del péptido 70b en DMSO-*d*₆ (500 MHz). Temperaturas, de abajo hacia arriba: 298 a 358 K en pasos de 10 K.

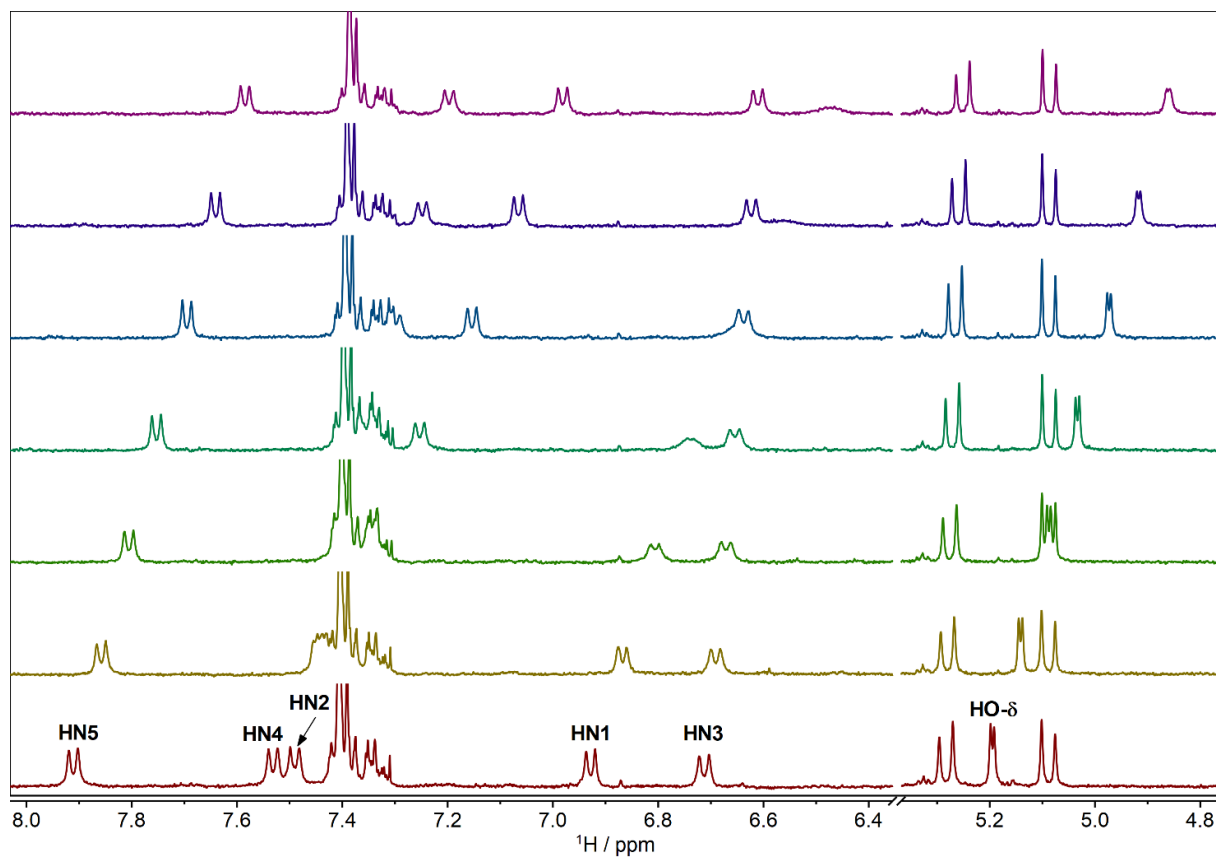


Figura 162. Expansión de la región de protón de amida del espectro de RMN-TV del péptido **70b** en DMSO-d_6 (500 MHz). Temperaturas, de abajo hacia arriba: 298 a 358 K en pasos de 10 K.

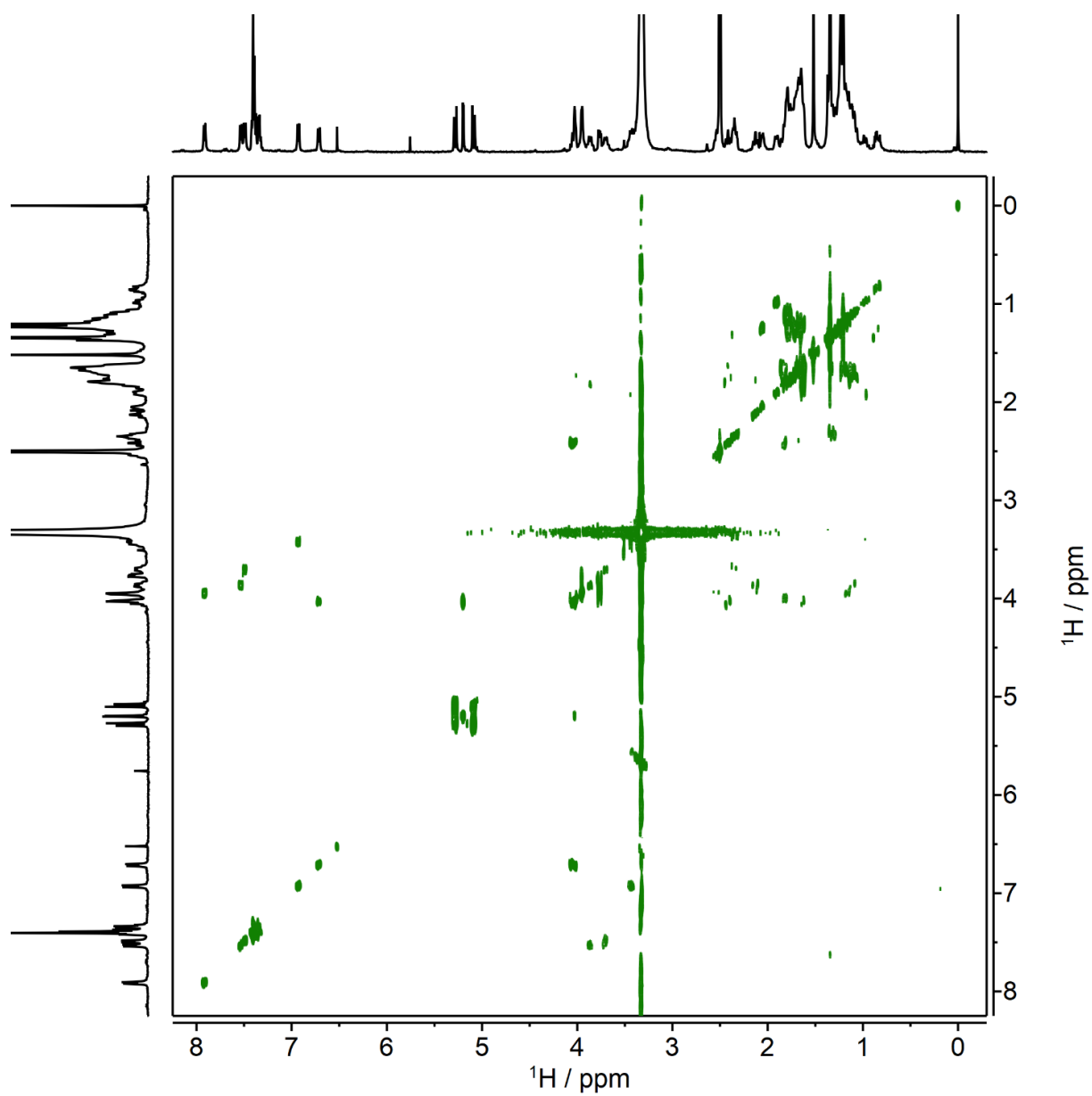


Figura 163. Espectro de COSY del péptido 70b (DMSO- d_6 , 500 MHz, 298 K).

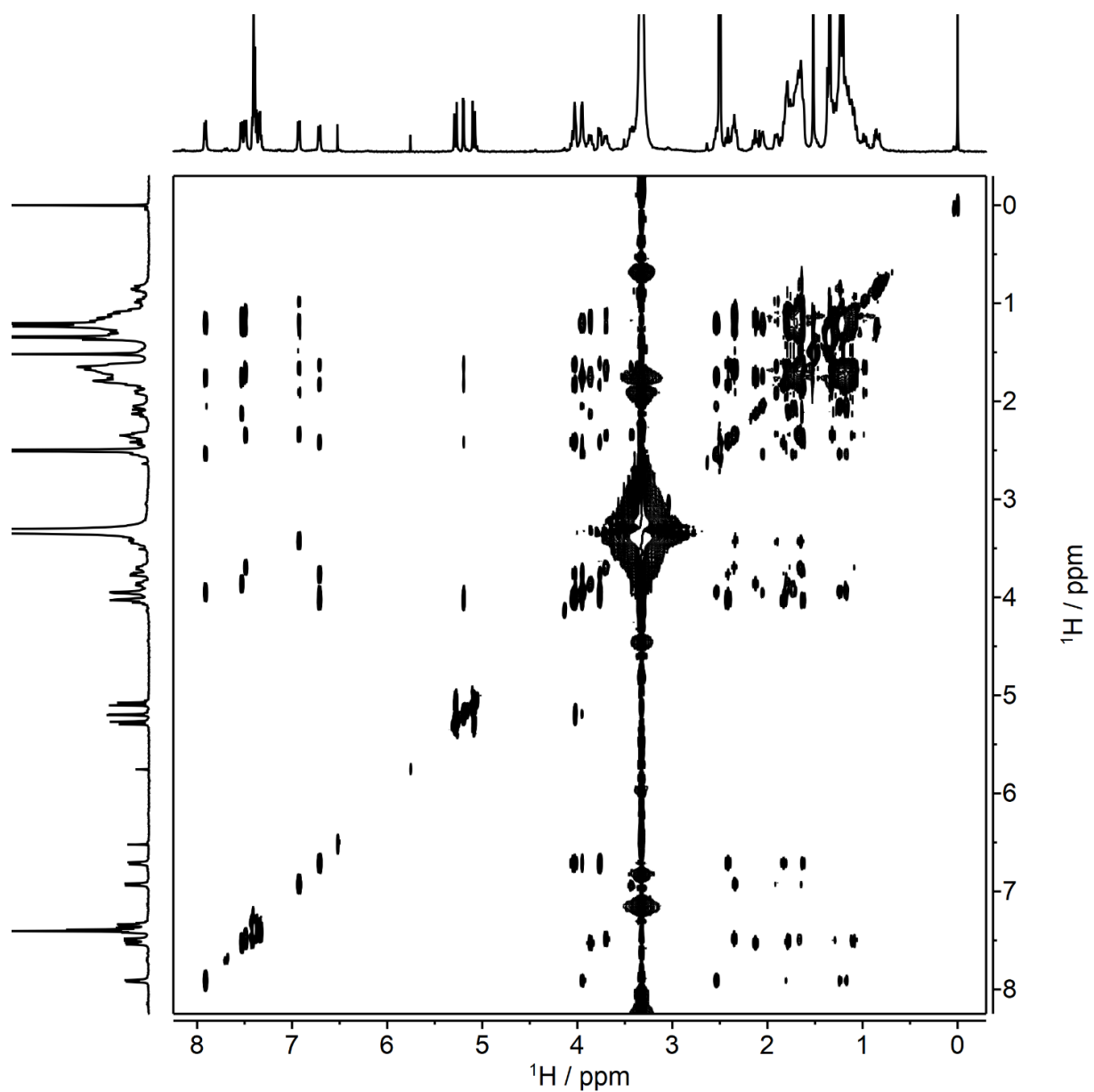


Figura 164. Espectro de TOCSY del péptido 70b, $t_{\text{mix}} = 70$ ms (DMSO- d_6 , 500 MHz, 298 K).

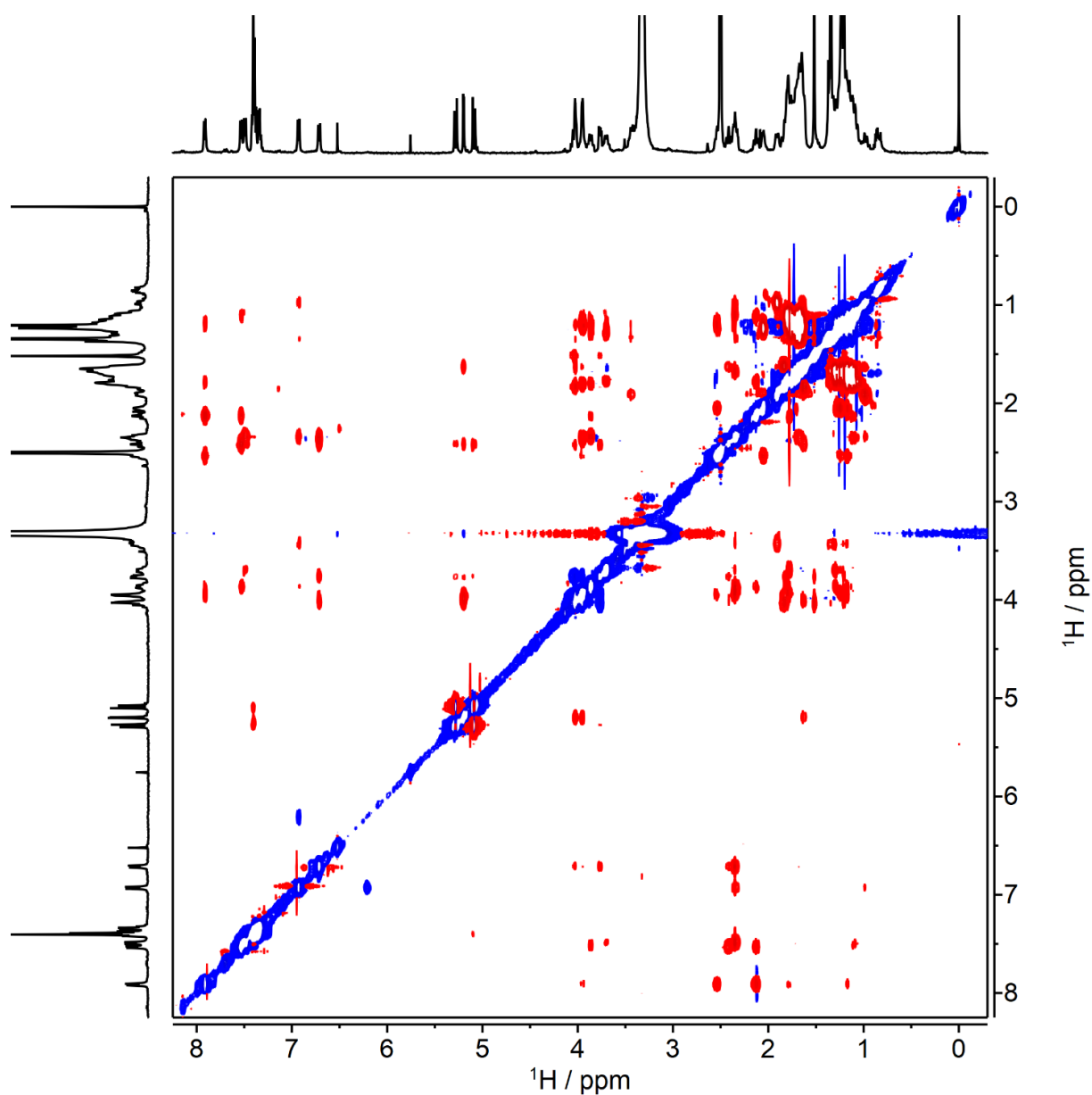


Figura 165. Espectro de ROESY del péptido 70b, $t_{\text{mix}} = 200$ ms (DMSO- d_6 , 500 MHz, 298 K).

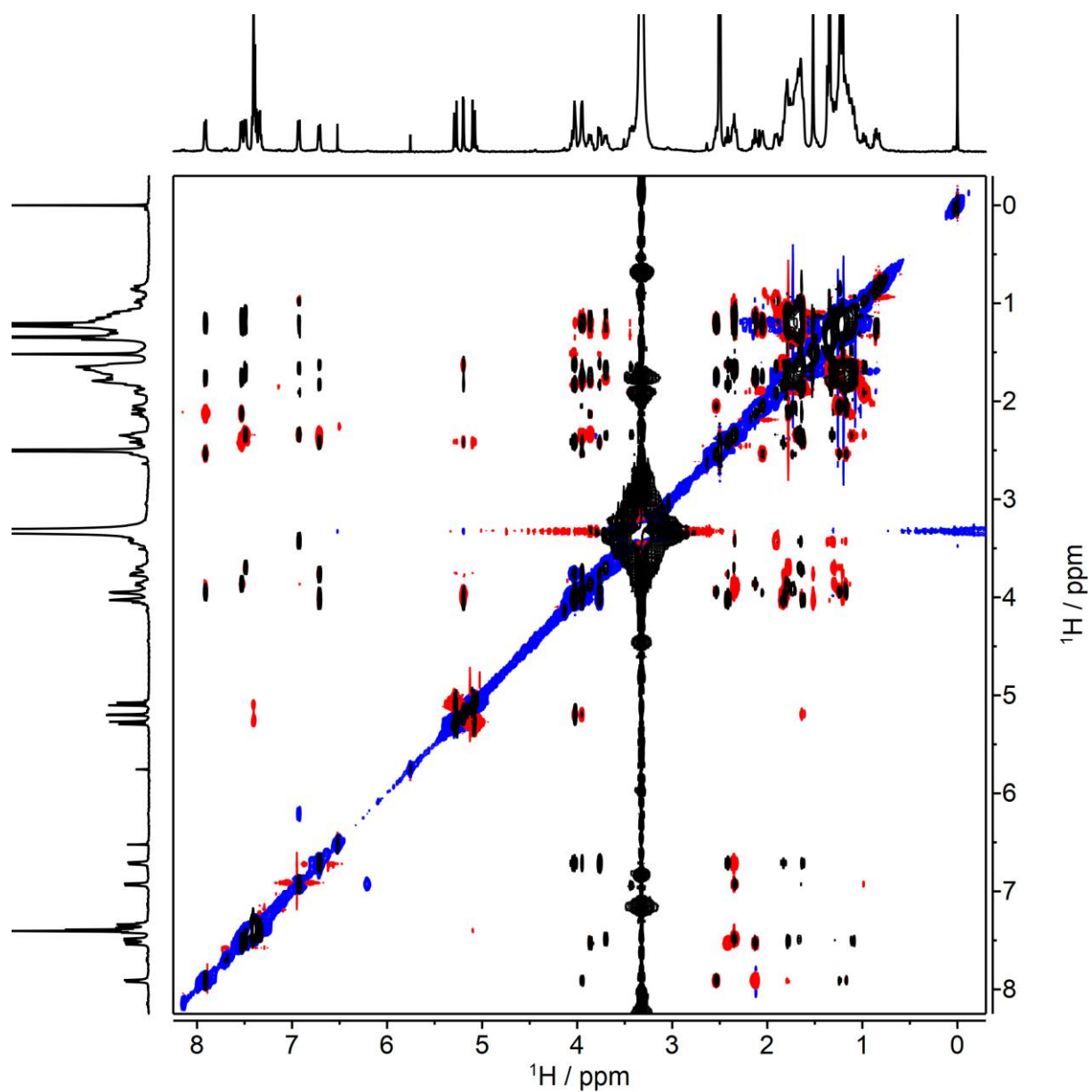


Figura 166. Superposición de los espectros ROESY (rojo/azul, t_{mix} 200 ms) y TOCSY (negro, t_{mix} 70 ms) del péptido **70b** (DMSO-d_6 , 500 MHz, 298 K).

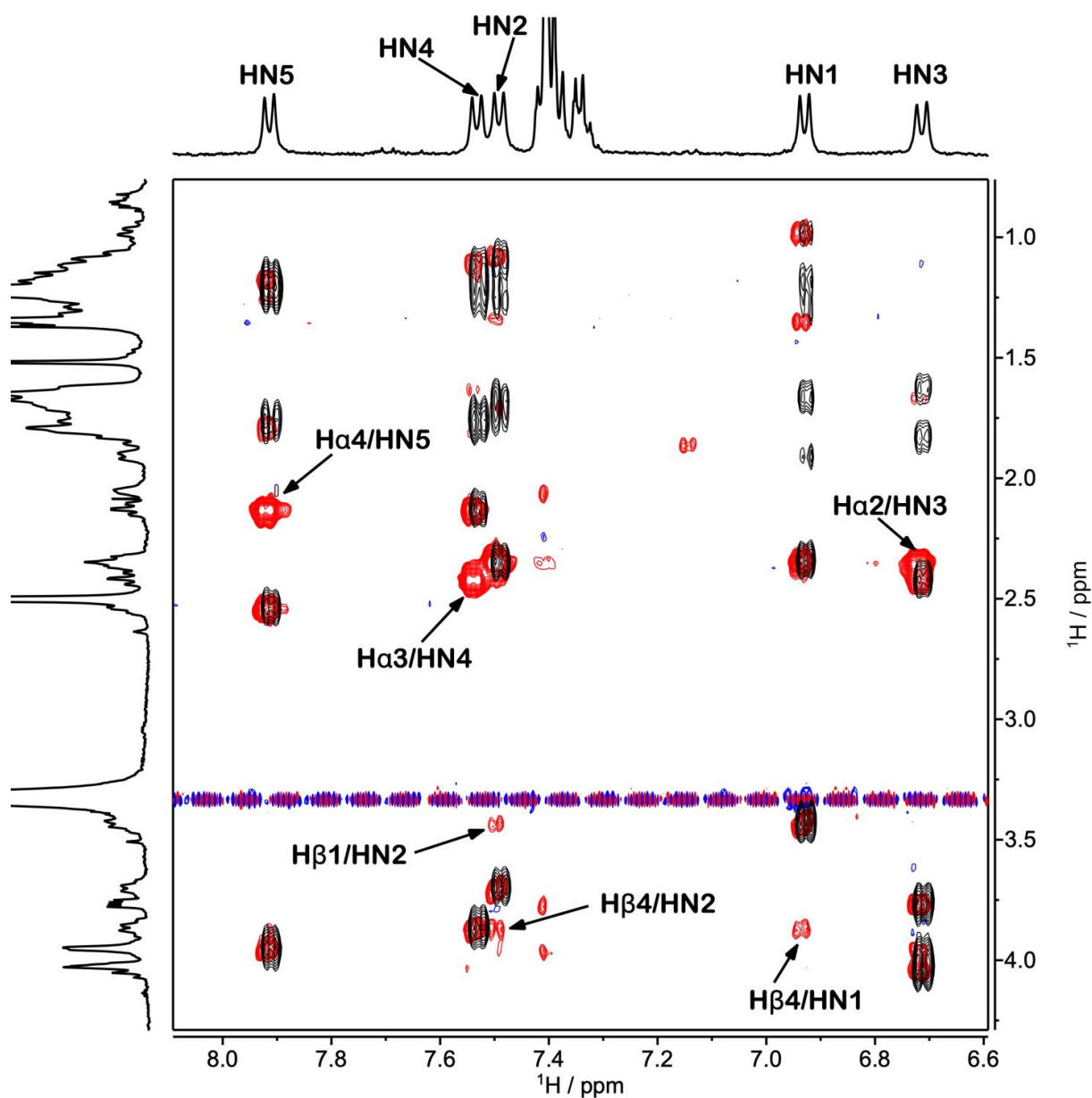


Figura 167. Superposición de los espectros ROESY (rojo/azul, t_{mix} 200 ms) y TOCSY (negro, t_{mix} 70 ms) del péptido 70b (DMSO- d_6 , 500 MHz, 298 K). Expansión de la región (H α +H β)/HN.

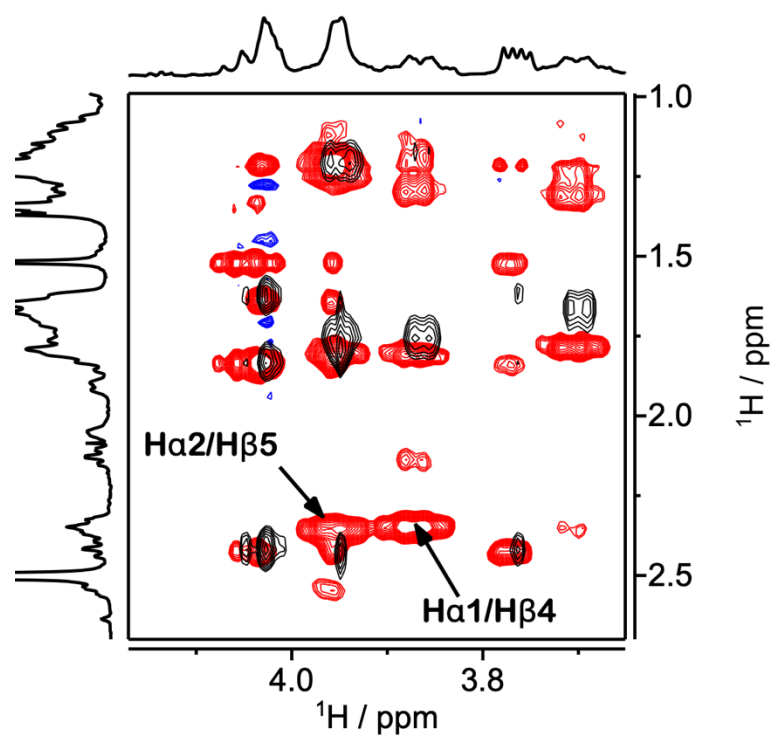


Figura 168. Superposición de los espectros ROESY (rojo/azul, t_{mix} 200 ms) y TOCSY (negro, t_{mix} 70 ms) del péptido 70b (DMSO- d_6 , 500 MHz, 298 K). Expansión de la región $\text{Ha}/\text{H}\beta$.

5.3.5 Espectroscopía de RMN del péptido 70c en DMSO-*d*₆

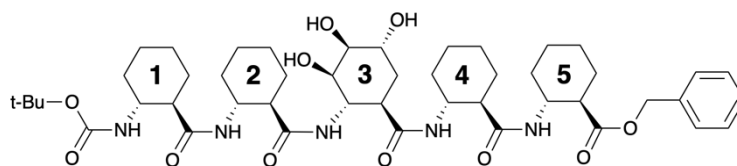


Figura 169. Estructura química del pentapéptido 70c.

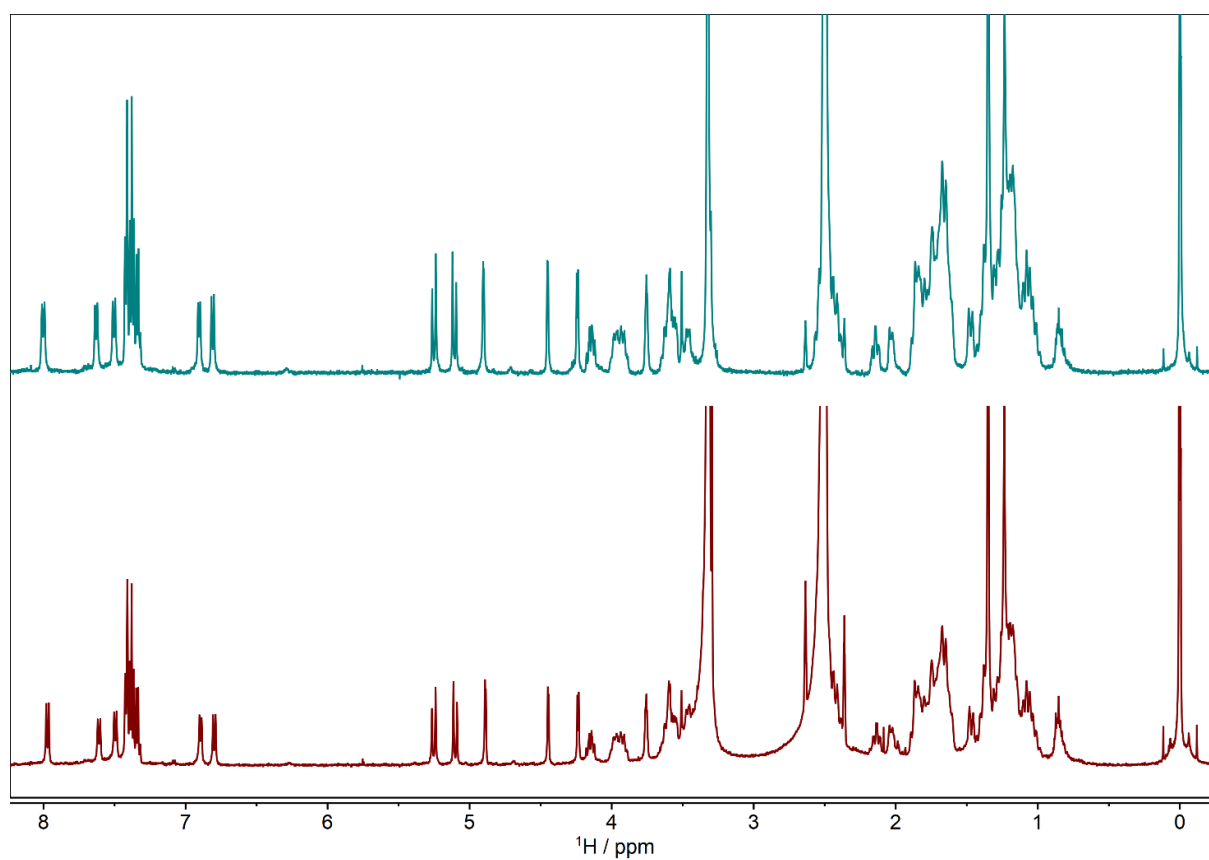


Figura 170. RMN-¹H del péptido 70c una concentración de 1.8 mM (abajo) y 10 mM (arriba). Condiciones: DMSO-*d*₆, 500 MHz, 298 K.

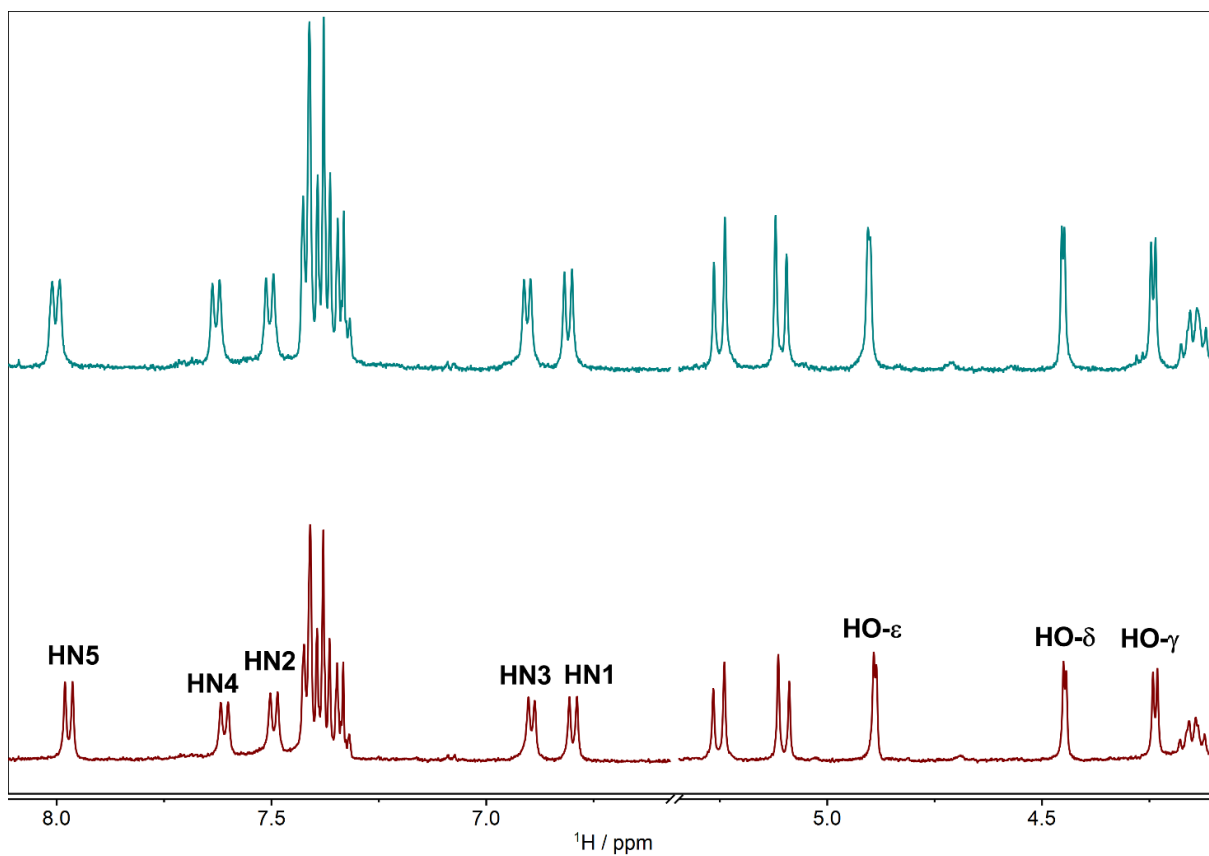


Figura 171. RMN- ^1H del péptido **70c** una concentración de 1.8 mM (abajo) y 10 mM (arriba): Expansión de las regiones de amida y de hidroxilo. Condiciones: DMSO- d_6 , 500 MHz, 298 K

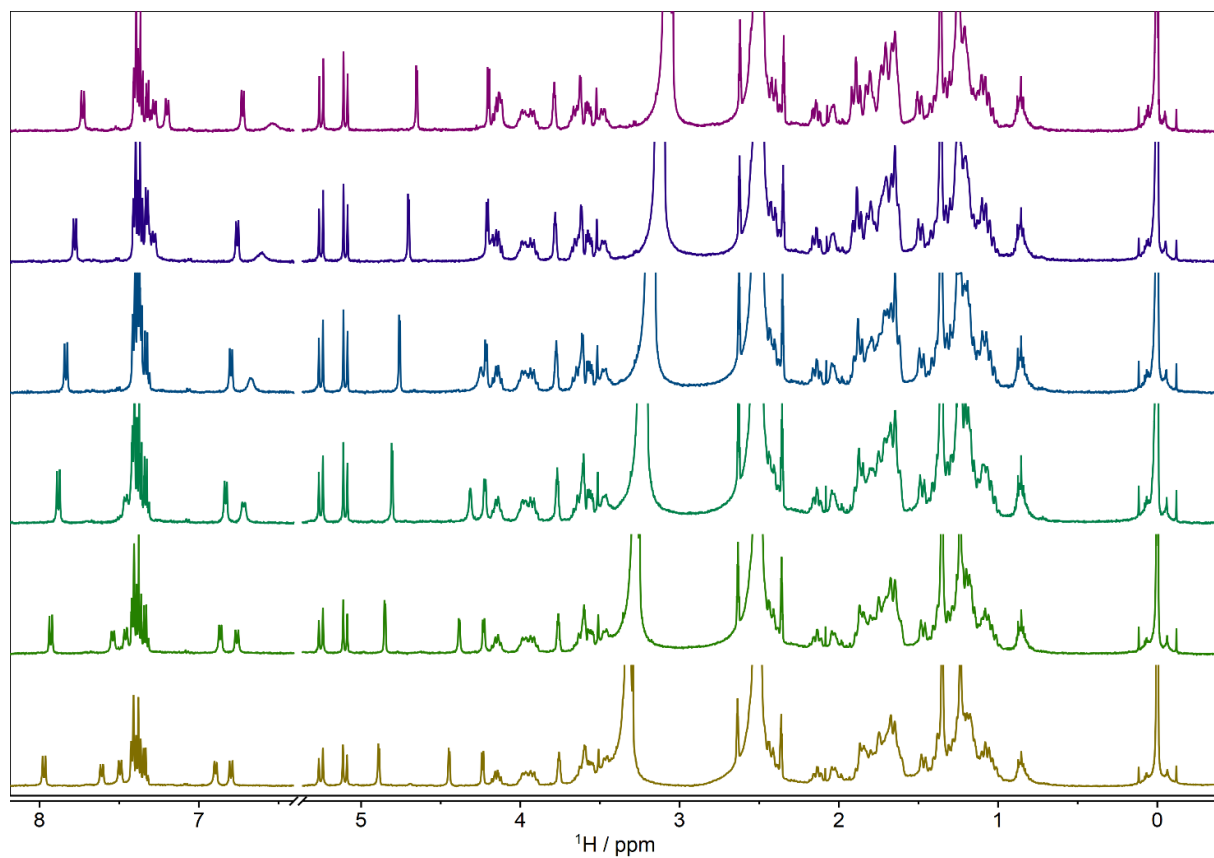


Figura 172. Espectro de RMN-TV del péptido 70c en DMSO-*d*₆ (500 MHz). Temperaturas, de abajo hacia arriba: 298 a 358 K en pasos de 10 K.

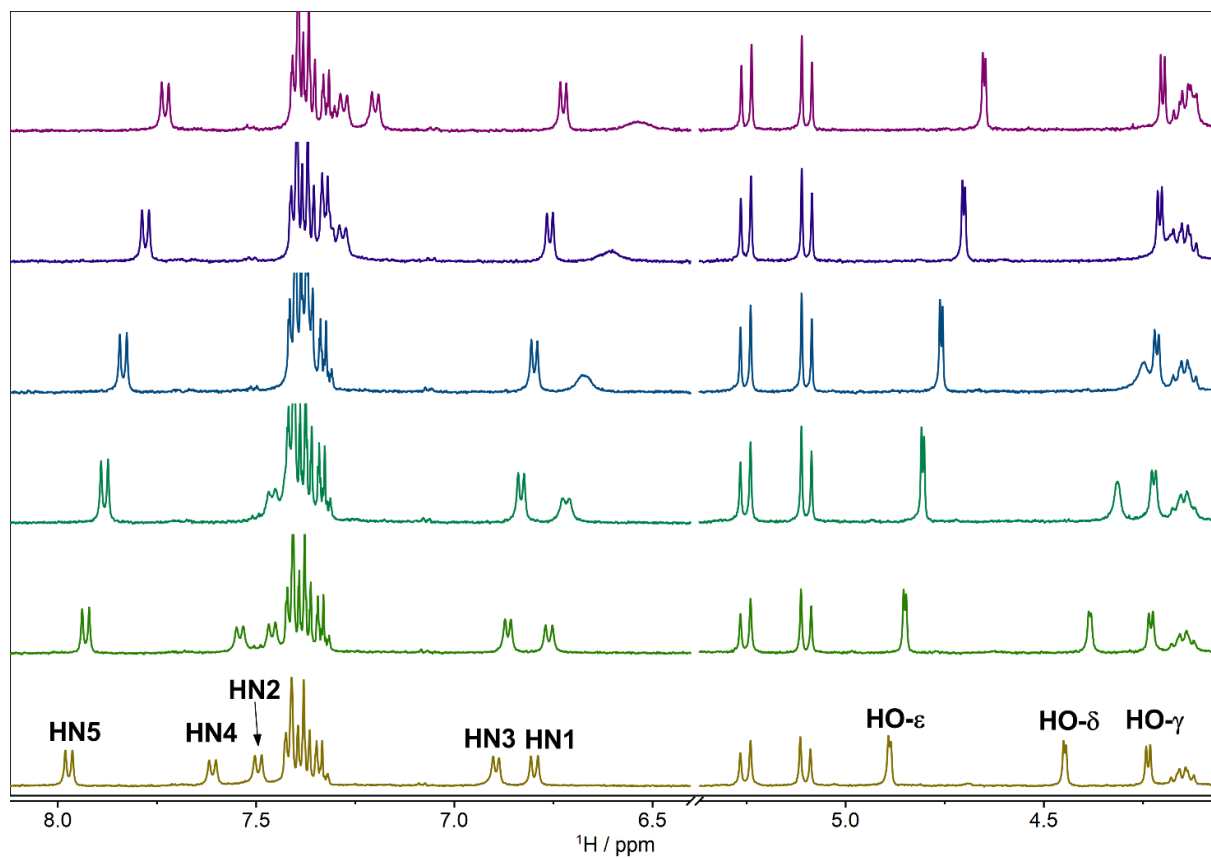


Figura 173. Expansión de la región de protón de amida del espectro de RMN-TV del péptido 70c en DMSO-d_6 (500 MHz). Temperaturas, de abajo hacia arriba: 298 a 358 K en pasos de 10 K.

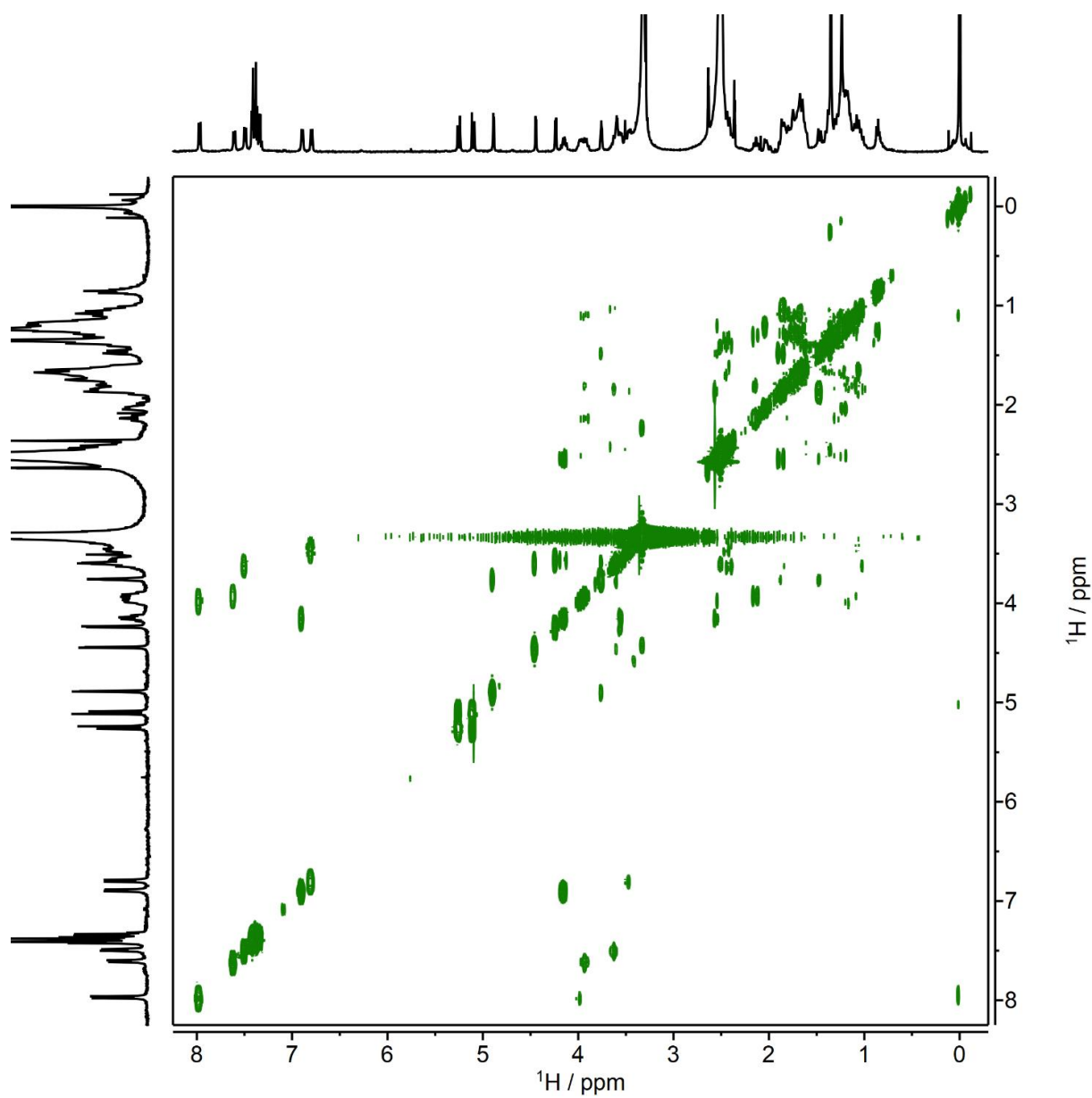


Figura 174. Espectro de COSY del péptido 70c (DMSO- d_6 , 500 MHz, 298 K).

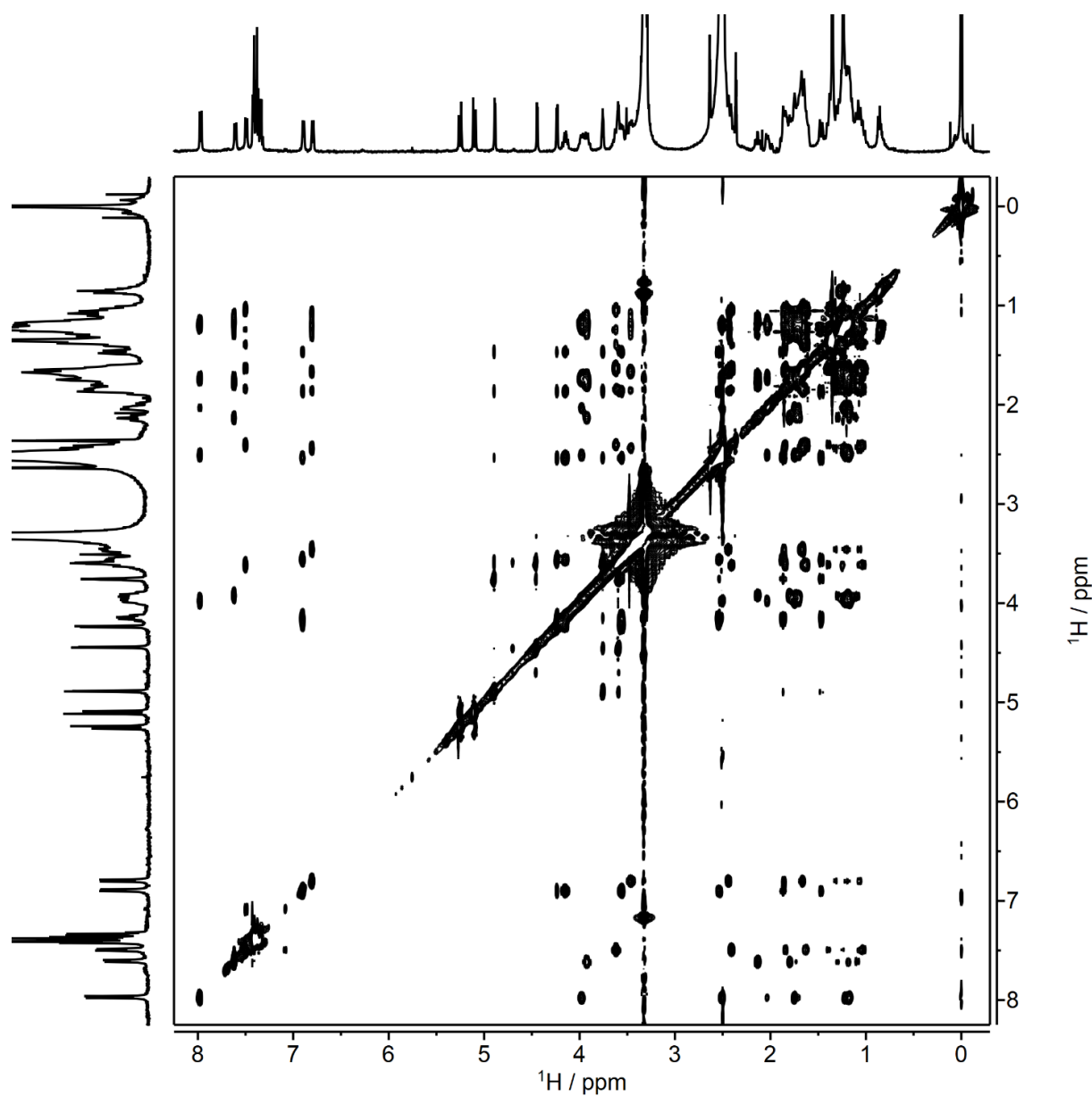


Figura 175. Espectro de TOCSY del péptido 70c, $t_{\text{mix}} = 80 \text{ ms}$ (DMSO- d_6 , 500 MHz, 298 K).

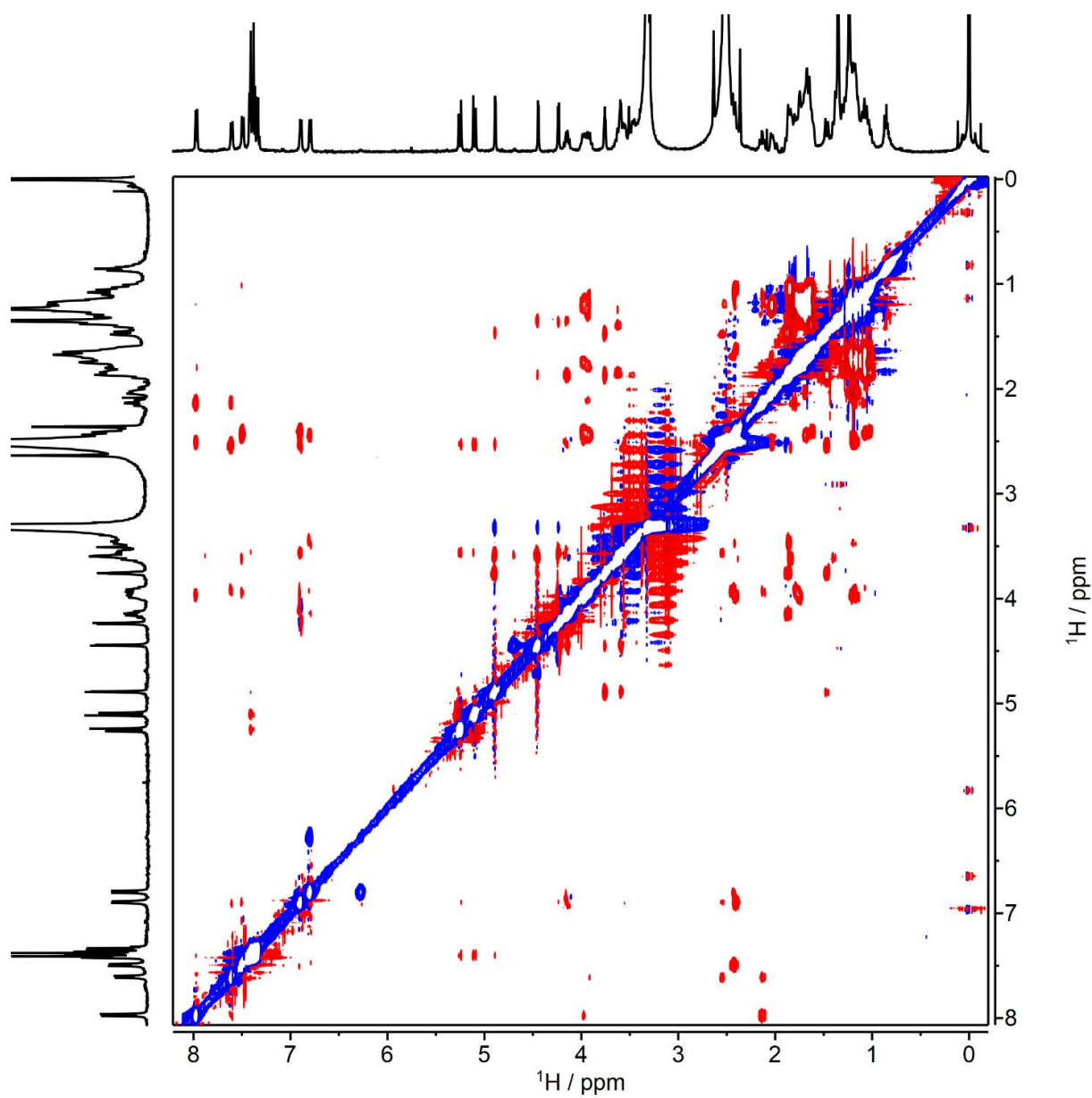


Figura 176. Espectro de ROESY del péptido 70c, $t_{\text{mix}} = 200$ ms (DMSO- d_6 , 500 MHz, 298 K).

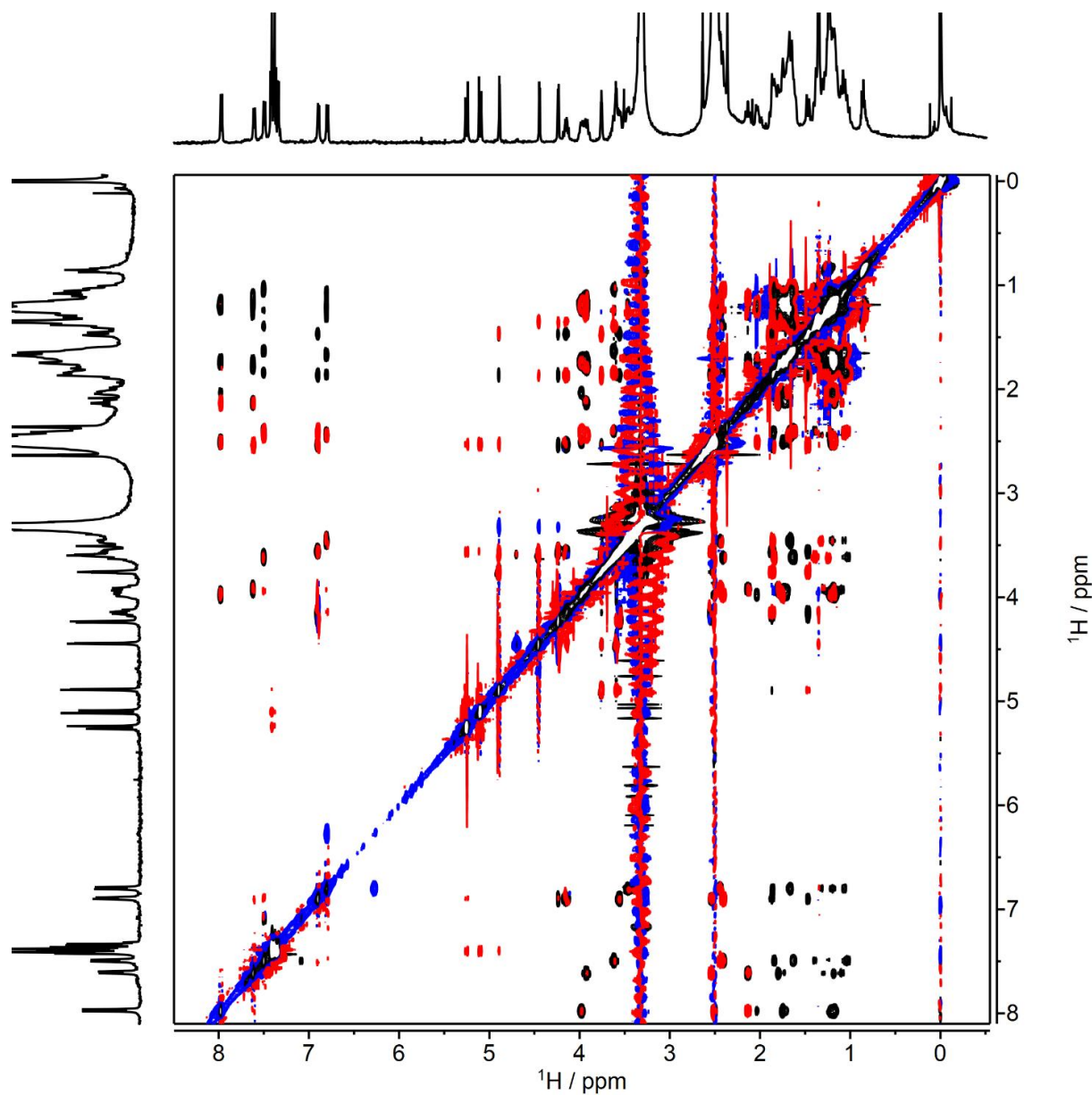


Figura 177. Superposición de los espectros ROESY (rojo/azul, $t_{\text{mix}} 200 \text{ ms}$) y TOCSY (negro, $t_{\text{mix}} 80 \text{ ms}$) del péptido 70c (DMSO- d_6 , 500 MHz, 298 K).

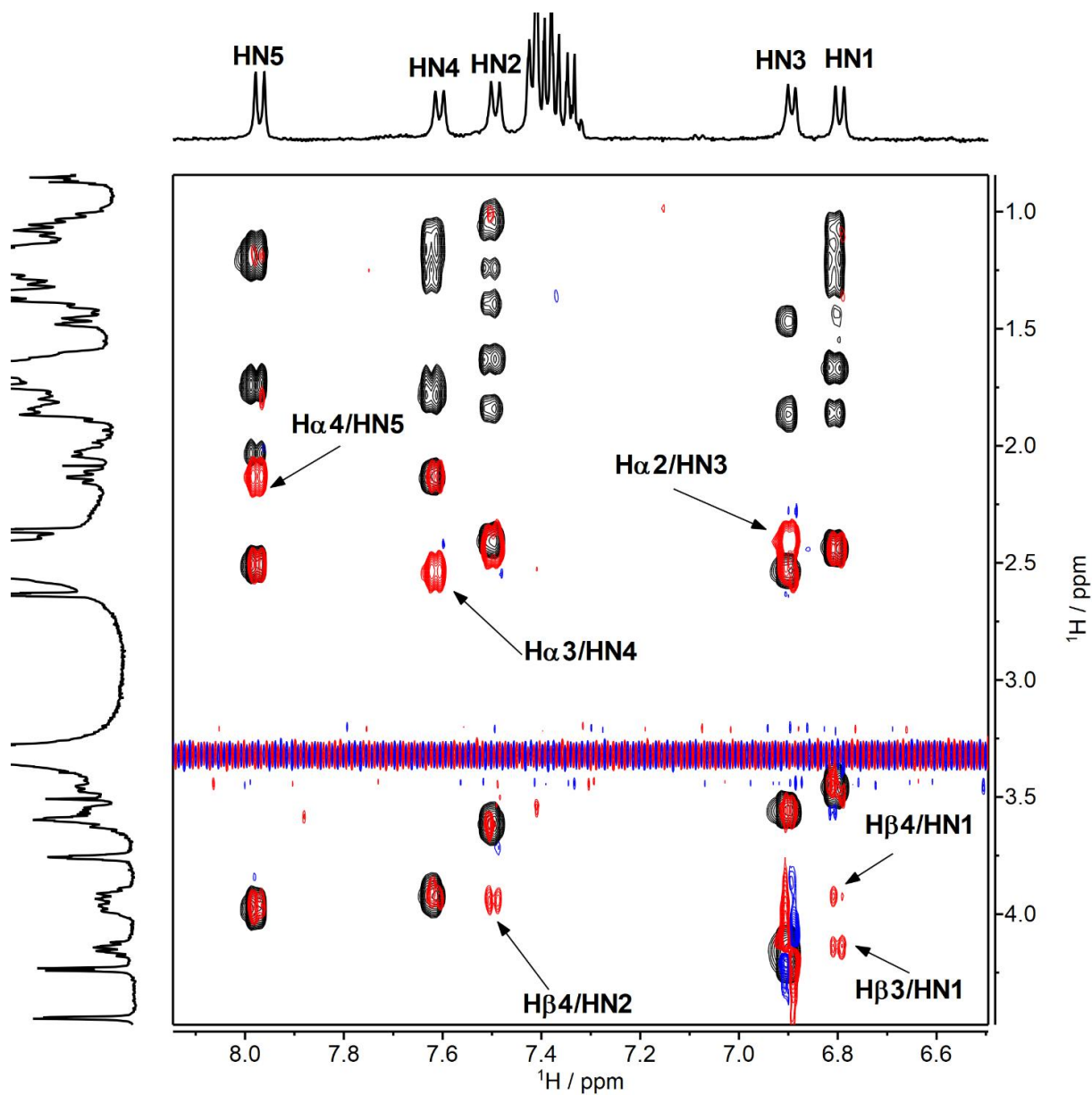


Figura 178. Superposición de los espectros ROESY (rojo/azul, t_{mix} 200 ms) y TOCSY (negro, t_{mix} 80 ms) del péptido 70c (DMSO- d_6 , 500 MHz, 298 K). Expansión de la región $(\text{H}\alpha + \text{H}\beta)/\text{HN}$.

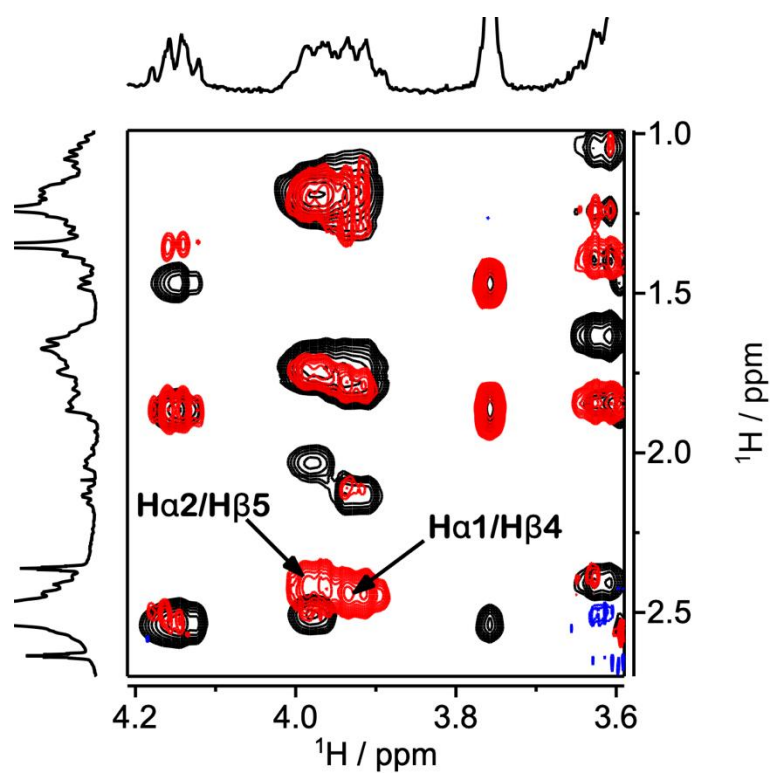


Figura 179. Superposición de los espectros ROESY (rojo/azul, t_{mix} 200 ms) y TOCSY (negro, t_{mix} 80 ms) del péptido 70c (DMSO- d_6 , 500 MHz, 298 K). Expansión de la región Ha/Hβ.

5.3.6 Espectroscopía de RMN del péptido 70c en metanol- d_3

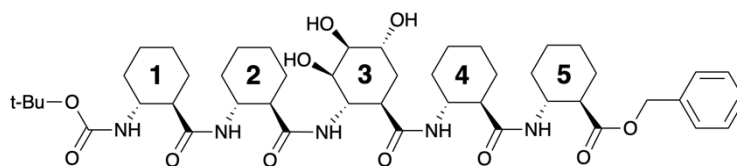


Figura 180. Estructura química del pentapéptido 70c.

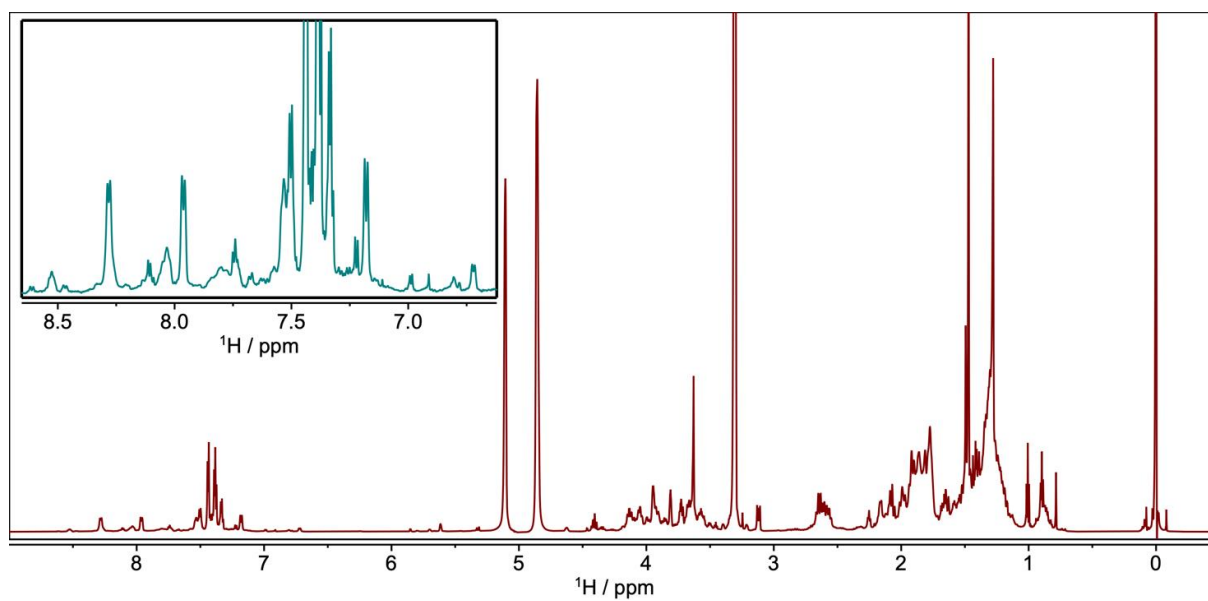


Figura 181. RMN- ^1H del péptido 70c una concentración de 1 mM (metanol- d_3 , 500 MHz, 298 K).

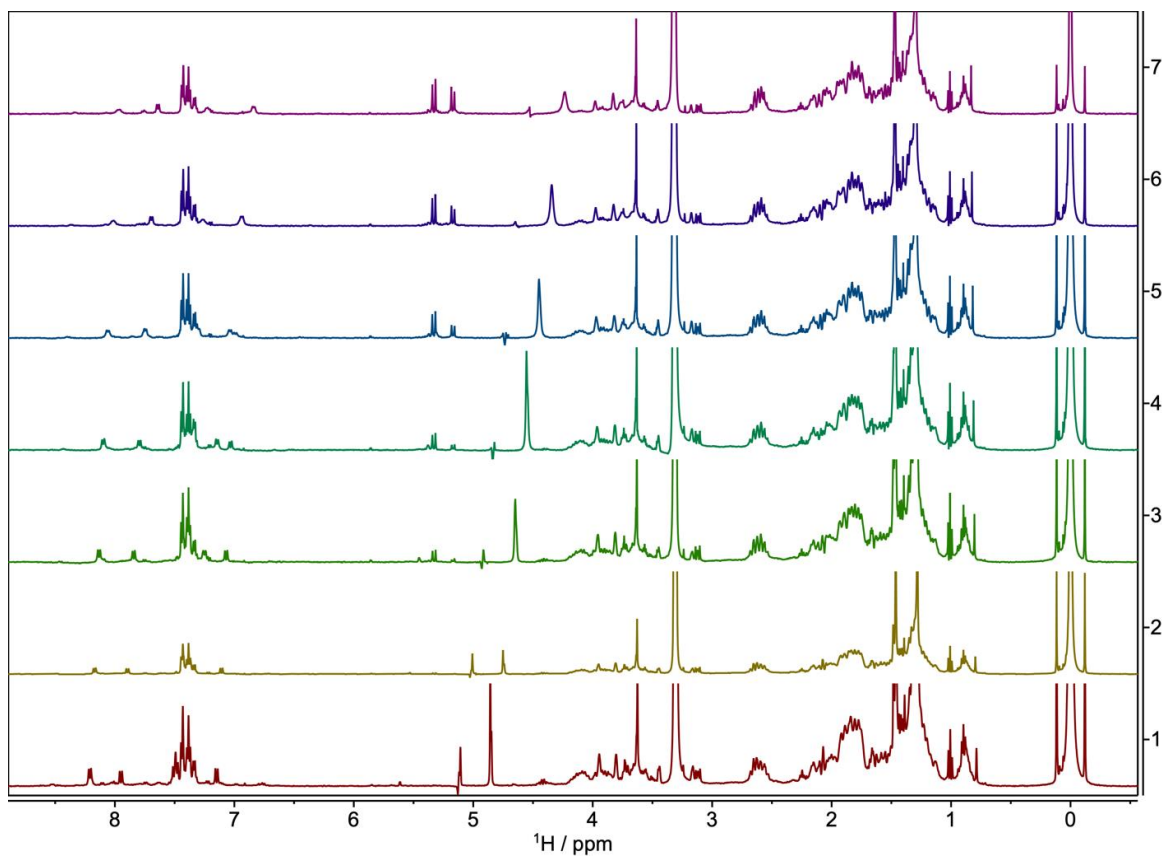


Figura 182. Espectro de RMN-TV del péptido 70c en metanol- d_3 (500 MHz). Temperaturas, de abajo hacia arriba: 273 a 333 K en pasos de 10 K. La fuerte señal de OH se ha suprimido usando el programa de pulsos zggpw5.

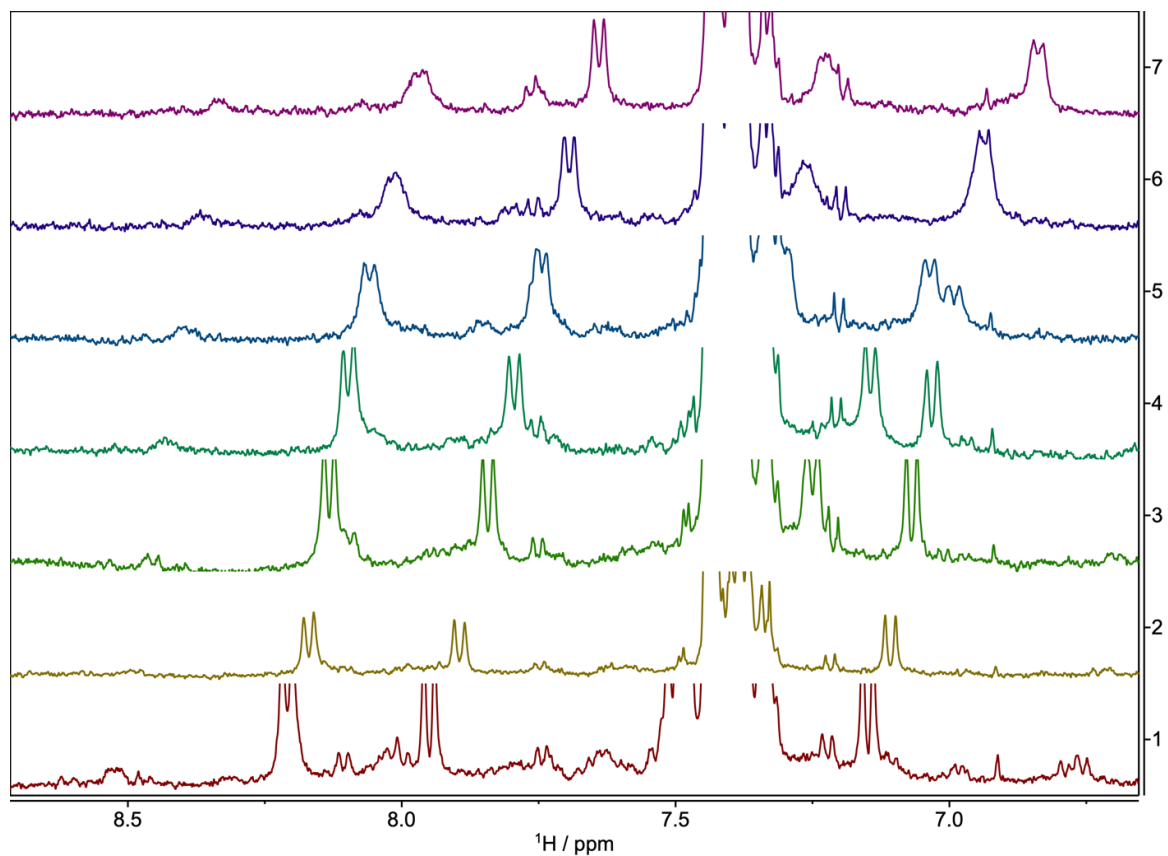


Figura 183. Expansión de la región de amida del espectro de RMN-TV del péptido **70c** en metanol-*d*₃ (500 MHz). Temperaturas, de abajo hacia arriba: 273 a 333 K en pasos de 10 K.

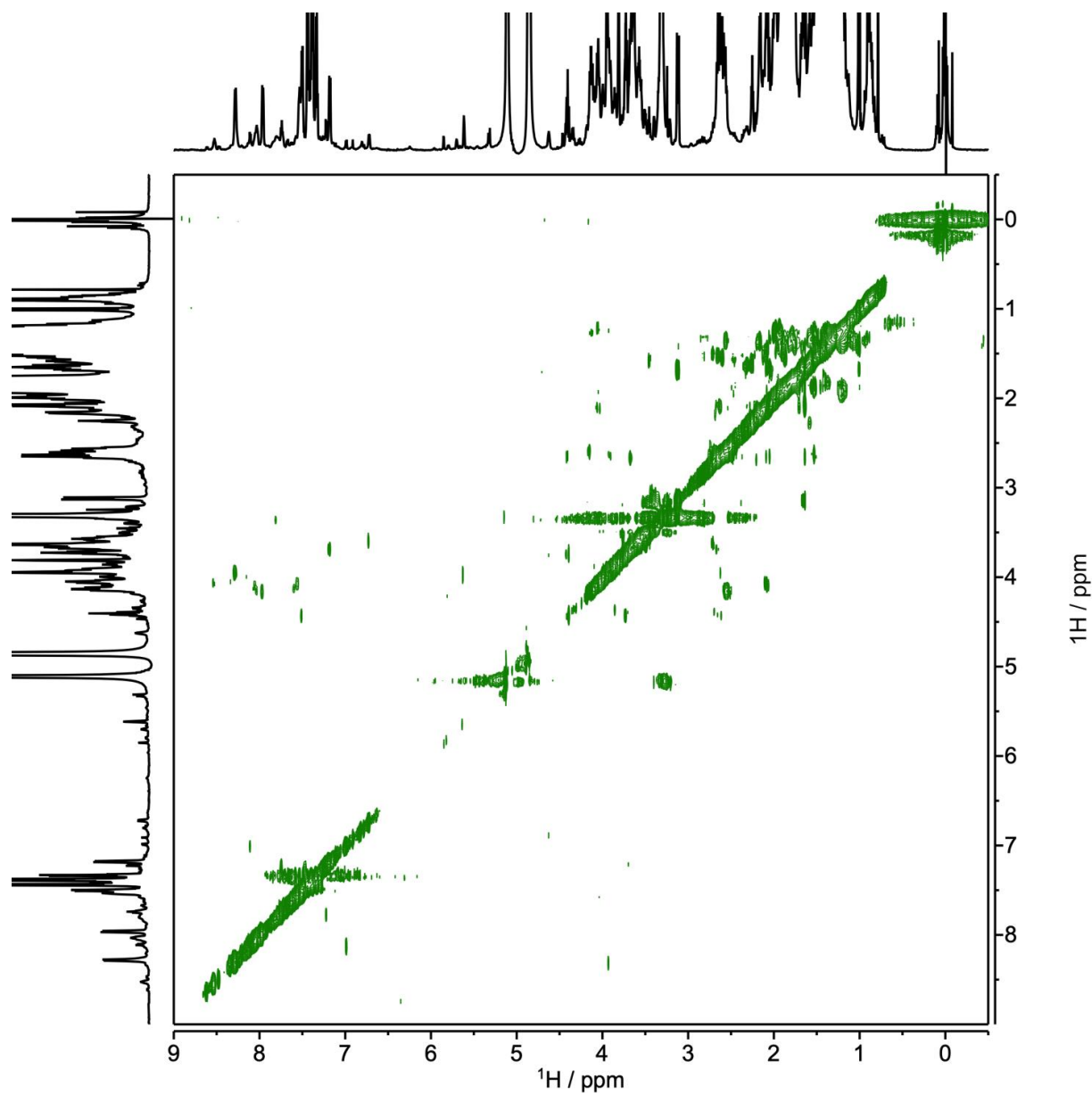


Figura 184. Espectro de CLIP-COSY del péptido 70c (metanol- d_3 , 750 MHz, 273 K).

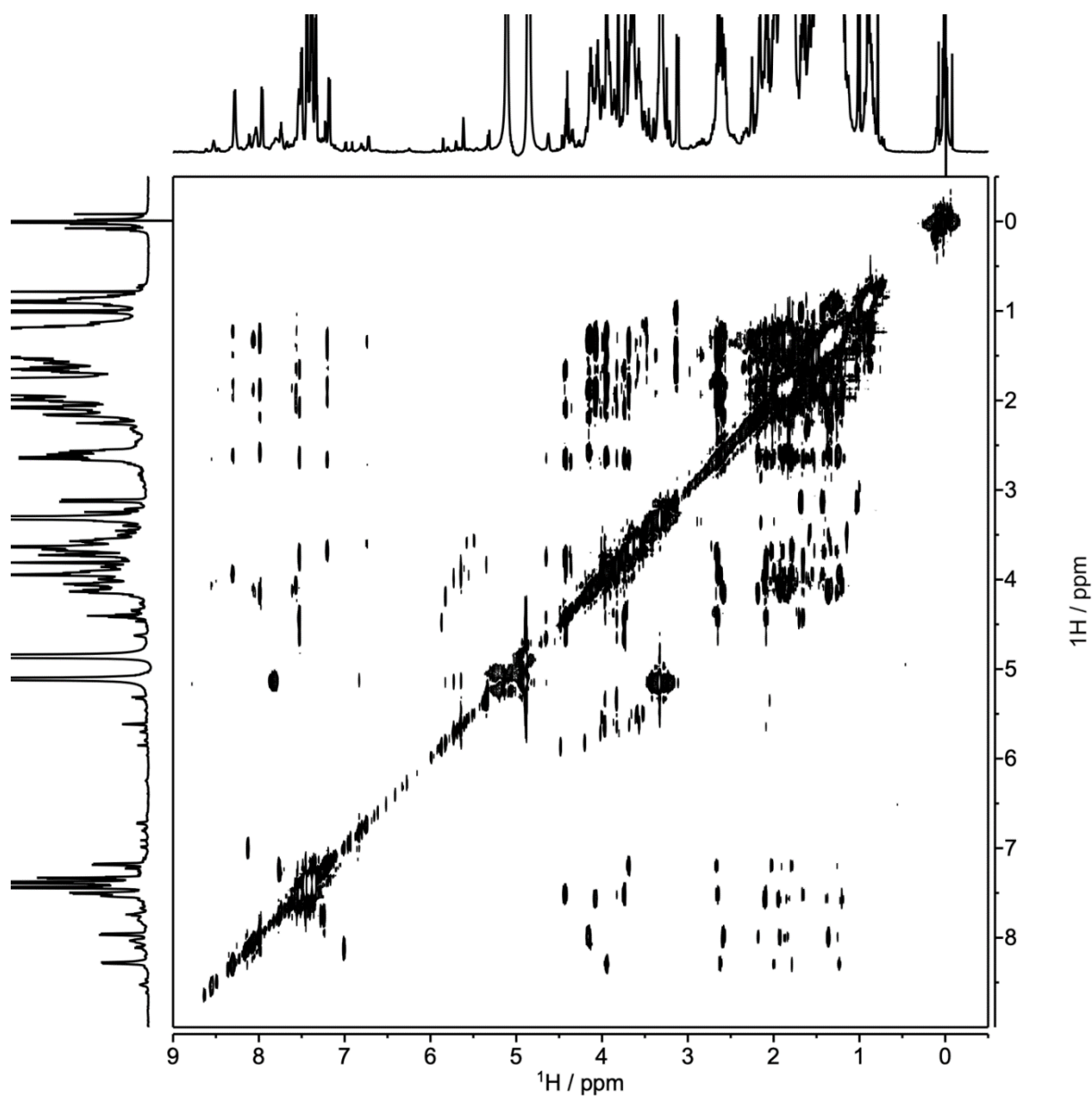


Figura 185. Espectro de TOCSY del péptido 70c, $t_{mix} = 80$ ms (metanol- d_3 , 750 MHz, 273 K).

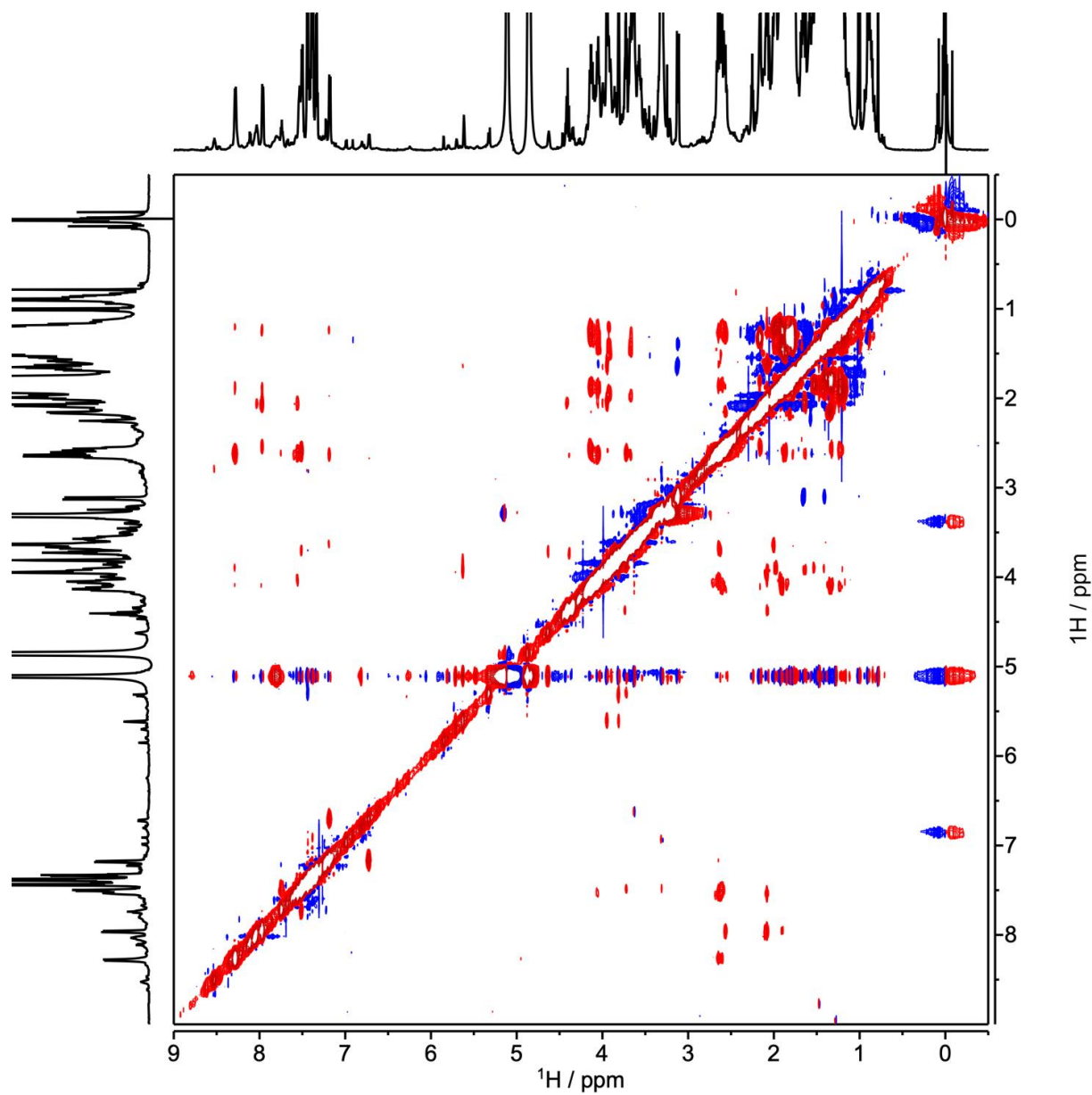


Figura 186. Espectro de ROESY del péptido 70c, $t_{\text{mix}} = 500$ ms (metanol- d_3 , 750 MHz, 273 K).

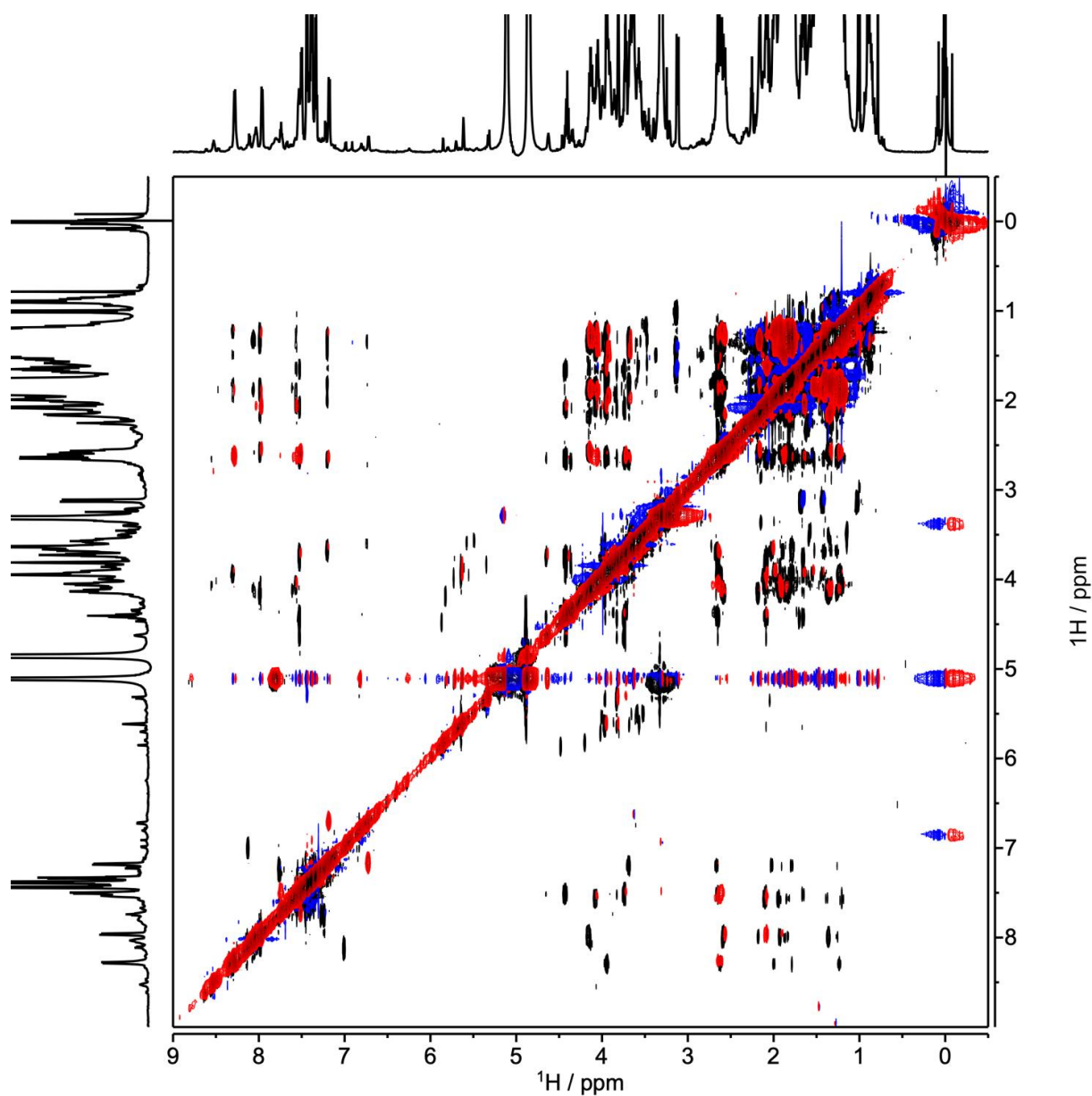


Figura 187. Superposición de los espectros NOESY (rojo/azul, t_{mix} 500 ms) y TOCSY (negro, t_{mix} 80 ms) del péptido 70c (methanol- d_3 , 750 MHz, 273 K).

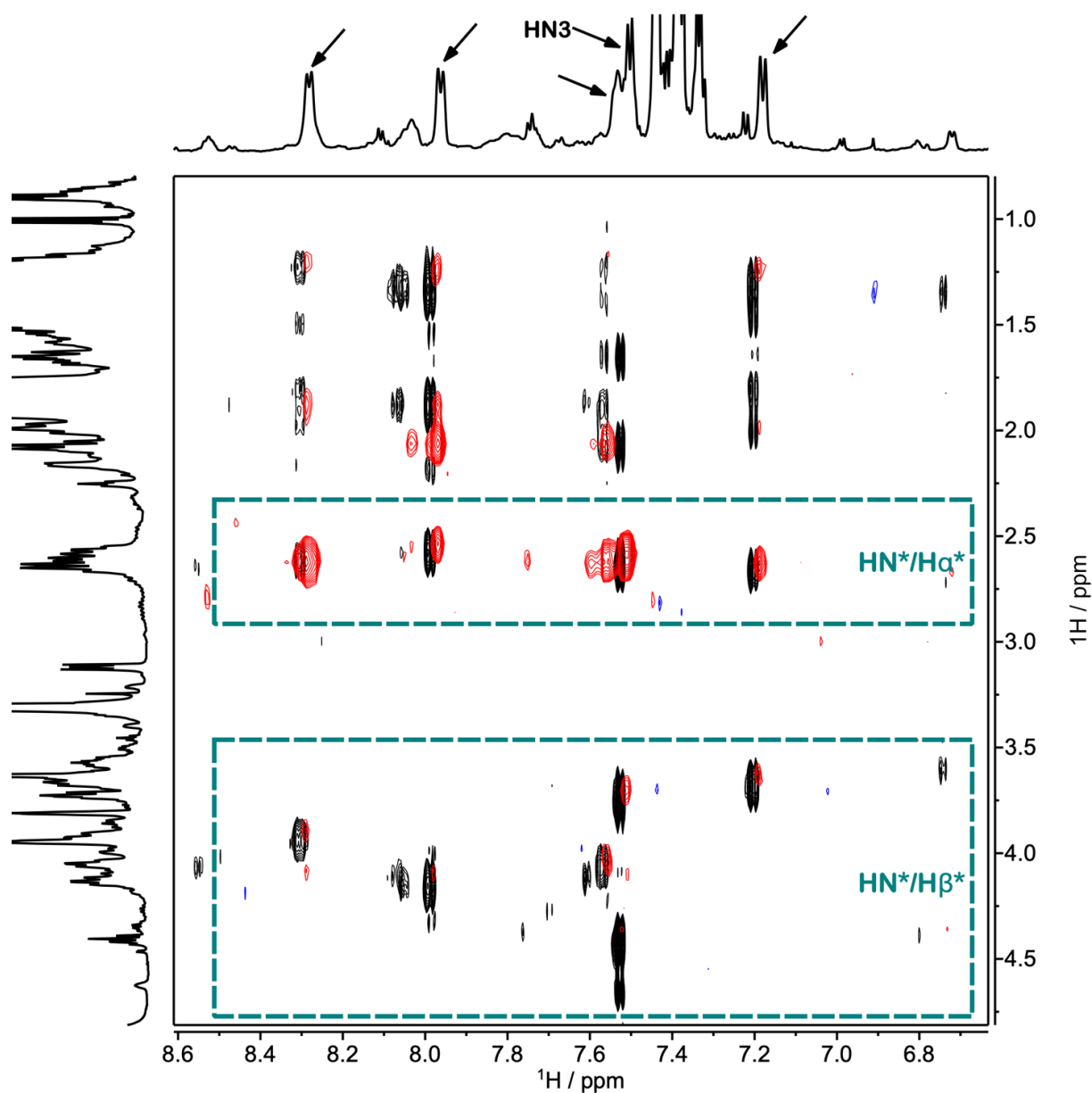


Figura 188. Superposición del espectro NOESY (rojo/azul, t_{mix} 500 ms) y TOCSY (negro, t_{mix} 80 ms) del péptido 70c (metanol- d_3 , 750 MHz, 273 K). Expansión de la región (H α +H β)/HN. Los picos de HN de la conformación mayoritaria están señalados con flechas negras.

5.3.7 Espectroscopía de RMN: Tablas

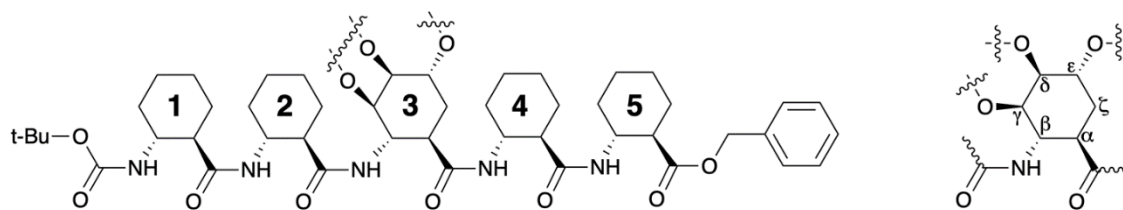


Figura 189. Residuos y nomenclatura de átomos usada en las tablas.

residuo	HN	H β	H α	Otros
t-Bu	—	—	—	1.35
1	6.77	3.45	2.27	0.98, 1.01, 1.11, 1.20, 1.31, 1.34, 1.43, 1.65, 1.86
2	7.49	3.67	2.35	1.07, 1.10, 1.12, 1.14, 1.21, 1.30, 1.64, 1.67, 1.77, 1.80
3	6.83	4.02	2.34	0.03 (Si-CH ₃), 0.04 (Si-CH ₃), 0.08 (Si-tBu), 1.20 (CH ₃), 1.48 (CH ₃), 1.57 and 1.89 (H ζ^*), 3.83-3.87 (H γ , H δ , H ϵ)
4	7.40	3.87	2.18	1.10, 1.12, 1.16, 1.30, 1.71, 1.76, 1.78
5	7.82	3.93	2.52	1.19, 1.21, 1.23, 1.68, 1.72, 1.79, 1.88, 1.98
-O-CH ₂ -Ph	—	—	—	4.98 and 5.26 (CH ₂), 7.32-7.39 (Ph)

Tabla 32. Asignaciones del pentapéptido **70a** en DMSO-*d*₆ (*T* = 298 K). Los espectros han sido referenciados a la resonancia del TMS ($\delta = 0.00$ ppm).

residuo	HN	H β	H α	Otros
t-Bu	—	—	—	1.35
1	6.92	3.44	2.35	0.99, 1.32, 1.66, 1.91
2	7.49	3.70	2.36	1.09, 1.27, 1.65, 1.76
3	6.72	4.05	2.44	1.21 (CH ₃), 1.52 (CH ₃), 1.63 and 1.83 (H ζ^*), 3.77 (H γ), 3.96 (H δ), 4.02 (H ϵ), 5.20 (HO- ϵ)
4	7.53	3.87	2.13	1.12, 1.26, 1.79
5	7.91	3.95	2.54	1.17, 1.24, 1.80
-O-CH₂-Ph	—	—	—	5.09 and 5.28 (CH ₂), 7.29-7.44 (Ph)

Tabla 33. Asignaciones del pentapéptido **70b** en DMSO-*d*₆ (T = 298 K). Los espectros han sido referenciados a la resonancia del TMS ($\delta = 0.00$ ppm).

residuo	HN	H β	H α	Otros
t-Bu	—	—	—	1.35
1	6.8 0	3.4 6	2.4 4	1.06, 1.19, 1.32, 1.67, 1.86
2	7.4 9	3.6 2	2.4 1	1.03, 1.08, 1.24, 1.38, 1.62, 1.85
3	6.8 9	4.1 9	2.5 4	1.47 and 1.88 (H ζ^*), 3.56 (H γ), 3.60 (H δ), 3.76 (H ϵ), 4.25 (HO- γ), 4.47 (HO- δ), 4.89 (HO- ϵ)
4	7.6 1	3.9 3	2.1 3	1.09, 1.10, 1.19, 1.30, 1.73, 1.80
5	7.9 7	3.9 7	2.5 0	1.18, 1.21, 1.71, 1.75
-O-CH₂-Ph	—	—	—	5.10 and 5.25 (CH ₂), 7.31-7.44 (Ph)

Tabla 34. Asignaciones del pentapéptido **70c** en DMSO-*d*₆ (T = 298 K). Los espectros han sido referenciados a la resonancia del TMS ($\delta = 0.00$ ppm).

	δ_{H} (ppm)			$^3J_{\text{HN-H}\beta}$ (Hz)			T-coef (ppb/K)		
	70a	70b	70c	70a	70b	70c	70a	70b	70c
HN1	6.77	6.92	6.80	8.3	8.5	8.8	-7.3	-7.5	-5.2
HN2	7.49	7.49	7.49	7.9	8.3	8.6	-5.6	-4.9	-4.3
HN3	6.83	6.71	6.89	8.3	9.2	7.3	-0.9	-1.7	-3.4
HN4	7.40	7.53	7.61	8.4	8.6	8.6	-9.0	-9.2	-8.2
HN5	7.82	7.91	7.97	7.9	8.6	8.9	-5.2	-5.4	-4.9

Tabla 35. Propiedades de los protones de HN de amida (DMSO- d_6 , 500 MHz). Los desplazamientos químicos y acoplamientos escalares fueron determinados a 298 K. Los coeficientes de temperatura están en unidades de ppb/K.

	δ_{H} (ppm)			$^3J_{\text{HN-H}\beta}$ (Hz)			T-coef (ppb/K)		
	70a	70b	70c	70a	70b	70c	70a	70b	70c
HO-γ	—	—	4.24	—	—	5.1	—	—	-0.7
HO-δ	—	—	4.45	—	—	3.1	—	—	-6.4
HO-ϵ	—	5.20	4.89	—	3.3	2.9	—	-5.6	-4.8

Tabla 36. Propiedades de los protones de HO del residuo 3 (DMSO- d_6 , 500 MHz). Los desplazamientos químicos y acoplamientos escalares fueron determinados a 298 K. Los coeficientes de temperatura están en unidades de ppb/K.

A. TABLAS DE NOEs

Tabla 37. Resumen de las intensidades de NOE de los espectros de ROESY de los pentapéptidos 70a, 70b y 70c (DMSO-d₆, 500 MHz, 298 K). Las intensidades de NOE se han clasificado en: *S* fuerte (strong), *M* media (medium), *W* débil (weak), *X* superpuesta. El guión (–) indica la ausencia de picos de cruce.

protón (residuo)	protón (residuo)	70a	70b	70c
Intra-residuo: HN(i) / H α (i)				
HN (1)	H α (1)	S	S	S
HN (2)	H α (2)	S	S	S
HN (3)	H α (3)	S	S	S
HN (4)	H α (4)	S	S	S
HN (5)	H α (5)	S	S	S
Intra-residuo: HN(i) / H β (i)				
HN (1)	H β (1)	M	M	M
HN (2)	H β (2)	M	M	M
HN (3)	H β (3)	M	M	M
HN (4)	H β (4)	M	M	M
HN (5)	H β (5)	M	M	M
Inter-residuo: HN(i) / H α (i–1)				
HN (2)	H α (1)	S	S	S
HN (3)	H α (2)	S	S	S
HN (4)	H α (3)	S	S	S
HN (5)	H α (4)	S	S	S
Inter-residuo: HN(i) / H β (i–1)				
HN (2)	H β (1)	W	W	–

HN (3)	H β (2)	—	—	X
HN (4)	H β (3)	W	—	—
HN (5)	H β (4)	X	—	X
Inter-residuo: HN(i) / H β (i+2)				
HN (1)	H β (3)	—	—	M
HN (2)	H β (4)	X	M	M
HN (3)	H β (5)	X	X	X
Inter-residuo: HN(i) / H β (i+3)				
HN (1)	H β (4)	M	M	W
HN (2)	H β (5)	M	—	—
Inter-residuo: H α (i) / H β (i+3)				
H α (1)	H β (4)	S	S	S
H α (2)	H β (5)	S	S	S
Inter-residuo: HN / HN				
HN (3)	HN (2)	—	—	M
HN (3)	HN (4)	—	—	W

Tabla 38. Resumen de los contactos de NOE inter-residuo del residuo 3 con el grupo t-Bu N-terminal y el grupo OBN C-terminal, medidos en los espectros de ROESY de los pentapéptidos **70a**, **70b** y **70c** (DMSO-d₆, 500 MHz, 298 K). Las intensidades de NOE se han clasificado en: *S* fuerte (strong), *M* media (medium), *W* débil (weak), *X* superpuesta. El guión (—) indica la ausencia de picos de cruce.

protón (residuo)	protón (residuo)	70a	70b	70c
Inter-residuo: t-Bu				
t-Bu (1)	H α (3)	—	—	—
t-Bu (1)	H β (3)	W	W ^[b*]	W
t-Bu (1)	H γ (3)	—	—	—
t-Bu (1)	H δ (3)	—	—	—
t-Bu (1)	H ϵ (3)	—	W ^[b*]	—
t-Bu (1)	HO- γ (3)	<i>n.e.</i>	<i>n.e.</i>	W
t-Bu (1)	HO- δ (3)	<i>n.e.</i>	<i>n.e.</i>	M
t-Bu (1)	HO- ϵ (3)	<i>n.e.</i>	—	—
Inter-residuo: CH ₂ Benzílico				
OCH ₂ -a (5)	HN (3)	—	W	W
OCH ₂ -b (5)	HN (3)	—	W	—
OCH ₂ -a (5)	H α (3)	W	M	M
OCH ₂ -b (5)	H α (3)	W	M	M
OCH ₂ -a (5)	H γ (3)	W ^[a*]	M	M ^[c]
OCH ₂ -b (5)	H γ (3)	W ^[a*]	W	W ^[c]
OCH ₂ -a (5)	H δ (3)	W ^[a*]	—	M ^[c]
OCH ₂ -b (5)	H δ (3)	W ^[a*]	—	W ^[c]
OCH ₂ -a (5)	H ϵ (3)	W ^[a*]	—	—
OCH ₂ -b (5)	H ϵ (3)	W ^[a*]	—	—
OCH ₂ -a (5)	HO- ϵ (3)	<i>n.e.</i>	—	—

OCH ₂ -b (5)	HO-ε (3)	<i>n.e.</i>	—	—
Inter-residuo: Ph Benzílico				
Ph (5)	HO-γ (3)	<i>n.e.</i>	<i>n.e.</i>	—
Ph (5)	HO-δ (3)	<i>n.e.</i>	<i>n.e.</i>	—
Ph (5)	HO-ε (3)	<i>n.e.</i>	W	W
Ph (5)	Hγ (3)	—	W	W ^[c*]
Ph (5)	Hδ (3)	—	W	W ^[c*]
Ph (5)	Hε (3)	—	—	—

O-CH₂*. Los dos protones benzílicos diastereotópicos se resolvieron, pero no se pudieron asignar de forma estereoespecífica. Las etiquetas 'a' y 'b' se refieren a las resonancias más apantallada y desapantallada, respectivamente.

n.e.: no existe, por ejemplo, uno o dos de los átomos de H no existe para este compuesto.

[^a] Hγ(3), Hδ(3) y Hε(3) se superponen en **70a**.

[^b] Hβ(3) y Hε(3) se superponen en **70b**.

[^c] Hγ(3) y Hδ(3) se superponen en **70c**.

Tabla 39. Resumen de los contactos de NOE intra-residuo del residuo 3 medidos en los espectros de ROESY de los pentapéptidos **70a**, **70b** y **70c** (DMSO-d₆, 500 MHz, 298 K). Las intensidades de NOE se han clasificado en: **S** fuerte (strong), **M** media (medium), **W** débil (weak), **X** superpuesta. El guión (—) indica la ausencia de picos de cruce.

protón (residuo)	protón (residuo)	70a	70b	70c
Intra-residuo: hidroxilos				
HO-ε (3)	Hα (3)	<i>n.e.</i>	M	W
HO-ε (3)	Hβ (3)	<i>n.e.</i>	W	—
HO-ε (3)	Hγ (3)	<i>n.e.</i>	W	—
HO-ε (3)	Hδ (3)	<i>n.e.</i>	M	M
HO-ε (3)	Hε (3)	<i>n.e.</i>	M	S
Intra-residuo: acetónico				

Me-a (3)	H α (3)	—	—	<i>n.e.</i>
Me-b (3)	H α (3)	—	—	<i>n.e.</i>
Me-a (3)	H β (3)	S	S ^[b*]	<i>n.e.</i>
Me-b (3)	H β (3)	W	M ^[b*]	<i>n.e.</i>
Me-a (3)	H γ (3)	X ^[a*]	W	<i>n.e.</i>
Me-b (3)	H γ (3)	X ^[a*]	M	<i>n.e.</i>
Me-a (3)	H δ (3)	X ^[a*]	W	<i>n.e.</i>
Me-b (3)	H δ (3)	X ^[a*]	S	<i>n.e.</i>
Me-a (3)	H ϵ (3)	X ^[a*]	S ^[b*]	<i>n.e.</i>
Me-b (3)	H ϵ (3)	X ^[a*]	M ^[b*]	<i>n.e.</i>
Me-a (3)	HO- ϵ (3)	<i>n.e.</i>	W	<i>n.e.</i>
Me-b (3)	HO- ϵ (3)	<i>n.e.</i>	M	<i>n.e.</i>

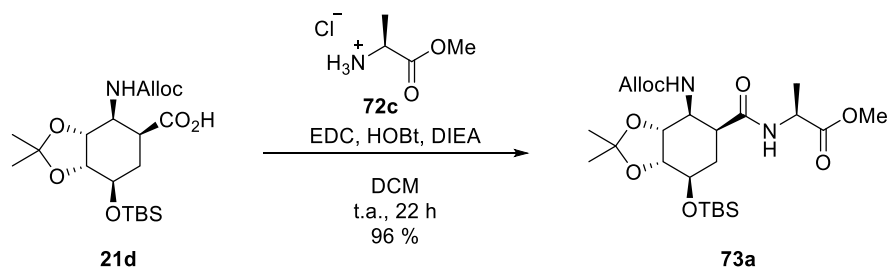
Me-a y *Me-b* se refiere a los grupos metilo del grupo protector acetónido del residuo 3. Los dos grupos metilo diastereotópicos se resolvieron, pero no se pudieron asignar. Las etiquetas 'a' y 'b' se refieren a las resonancias más desapantallada y más apantallada, respectivamente.

n.e.: no existe, por ejemplo, uno o dos de los átomos de H no existe para este compuesto.

[^{a*}] H γ (3), H δ (3) y H ϵ (3) se superponen en **70a**.

[^{b*}] H β (3) y H ϵ (3) se superponen en **70b**.

5.4 SÍNTESIS DE LOS A,B-PÉPTIDOS 75a, 75b, Y 75c

5.4.1 ((3aR,4S,5S,7R,7aR)-4-(((Aliloxi)carbonil)amino)-7-((*tert*-butildimetil-silil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carbonil)-*L*-alaninato de metilo (73a)

A una disolución del ácido de partida **21d** (41 mg, 0.97 mmol) en DCM seco (8.7 mL) se añadieron HOBT (192 mg, 1.26 mmol) y EDC (278 mg, 1.45 mmol). La reacción se agitó durante 5 min a t.a., bajo atmosfera de argón, y a continuación se le añadieron Ala-OMe (**72c**) comercial (162 mg, 1.16 mmol) y DIEA (674 μ L, 3.87 mmol). La mezcla resultante se agitó a t.a. durante 22 h, al cabo de las cuales se observó por ccf (AcOEt/Hex 1:2) la desaparición del producto de partida ($R_f = 0.1$) y la aparición de un producto de reacción de menor polaridad ($R_f = 0.4$). La reacción se diluyó entonces con DCM (10 mL) y se lavó con disolución acuosa de HCl 1M (15 mL), H₂O (15 mL), una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (15 mL) y H₂O (15 mL). Las fases orgánicas reunidas se secaron con Na₂SO₄ anhidro, se evaporó el disolvente a vacío en el rotavapor y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna flash (AcOEt/Hex 1:2) aislándose a 479 mg (96 %) del ((3aR,4S,5S,7R,7aR)-4-(((aliloxi)carbo-nil)amino)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carbo-nil)-*L*-alaninato de metilo (**73a**) como un sólido blanco.

$[\alpha]_D^{23}$: +16.0 (*c* 6.3, CHCl₃).

RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz, ppm): 0.09 (s, 6H, 2xCH₃), 0.88 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.31 (s, 3H, OC-CH₃), 1.37 (d, *J* = 7.3 Hz, 3H, CH-CH₃), 1.44 (s, 3H, OC-CH₃), 1.93 (ddd, *J* = 14.8, 8.9, 5.6 Hz, 1H, CH₂), 2.04–2.17 (m, 1H, CH₂), 2.91 (td, *J* = 8.7, 4.7 Hz, 1H, CH-CO), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 4.01 (q, *J* = 4.9, 4.4 Hz, 1H, CH-O), 4.10 (dd, *J* = 6.6, 4.5 Hz, 1H, CH-O), 4.17 (dt, *J* = 9.4, 4.6 Hz, 1H, CH-O), 4.33 (dd, *J* = 6.7, 4.6 Hz, 1H, CH-N), 4.45 (c, *J* = 7.1 Hz, 1H, NCH-CH₃), 4.52 (d, *J* = 5.4 Hz, 2H, CH₂-CO, Alloc), 5.15 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H, H-HC=C), 5.25 (d, *J* = 17.3 Hz, 1H, H-HC=C), 5.77–5.96 (m, 1H, C=CH), 6.14 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H, NH), 6.56 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H, NH).

RMN-¹³C (CDCl₃, 75 MHz, ppm): -5.1 (CH₃), -5.0 (CH₃), 17.5 (3xCH₃), 17.9 (C), 24.7 (CH₃), 25.6 (CH₃), 27.1 (CH₃), 28.3 (CH₂), 38.7 (CH), 48.2 (CH), 49.3 (CH), 52.1 (CH₃), 65.6 (CH₂), 69.0 (CH), 75.9 (CH), 77.7 (CH), 108.4 (C), 117.2 (CH₂), 132.7 (CH), 156.3 (C=O) 172.4 (C=O), 173.1 (C=O).

EMAR (ESI⁺): calculado para C₂₄H₄₂N₂NaO₈Si, 537.2603; encontrado para 537.2602.

IR (ν , cm⁻¹): 3323 (Amida A), 1723 (éster), 1653 (Amida I), 1534 (Amida II).

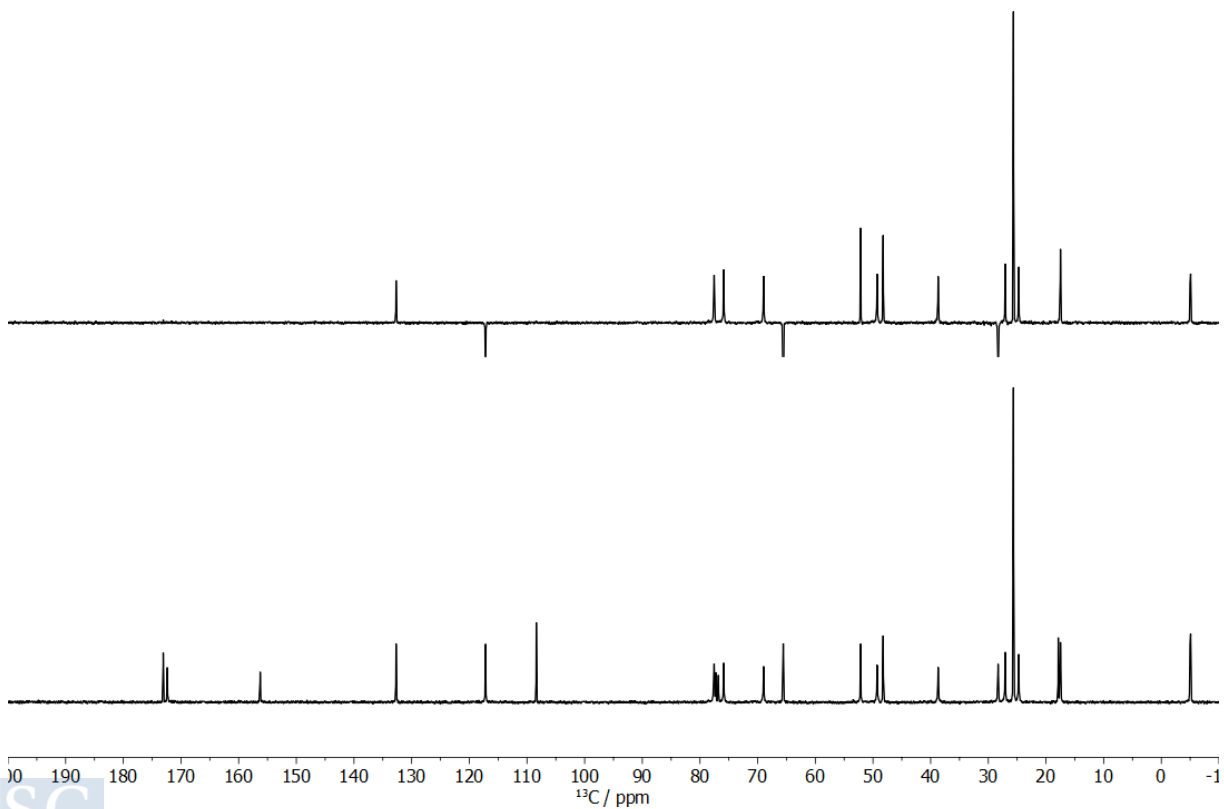
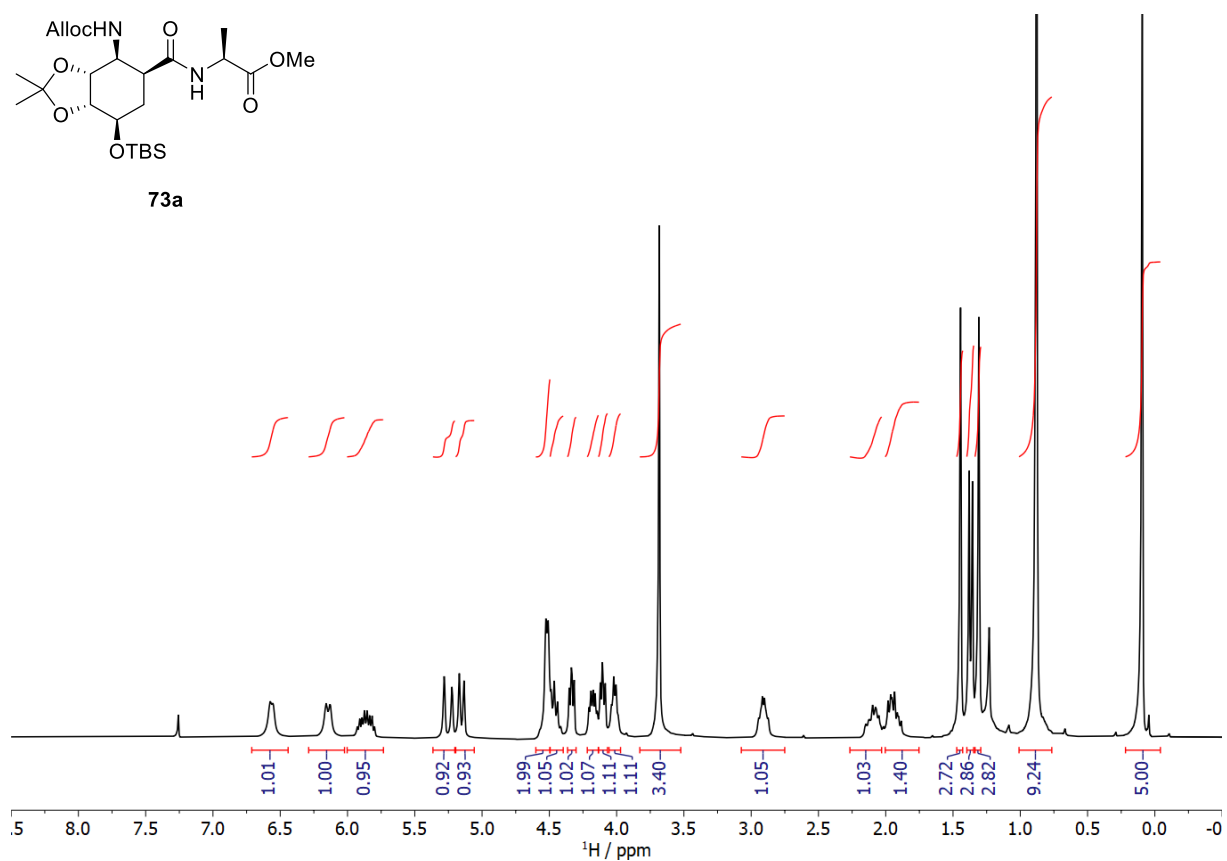
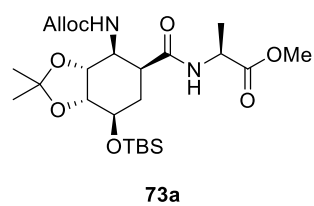
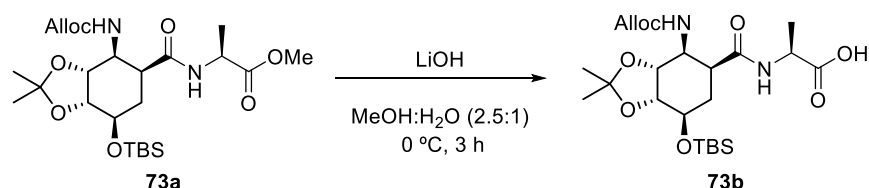


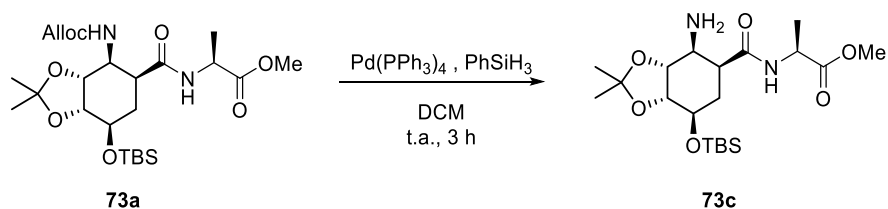
Figura 190. Espectro de RMN-¹H y de RMN-¹³C y DEPT del compuesto 73a.

5.4.2 ((3aR,4S,5S,7R,7aR)-4-(((Aliloxi)carbonil)amino)-7-((*tert*-butil-dimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carbonil)-*L*-alanina (73b)



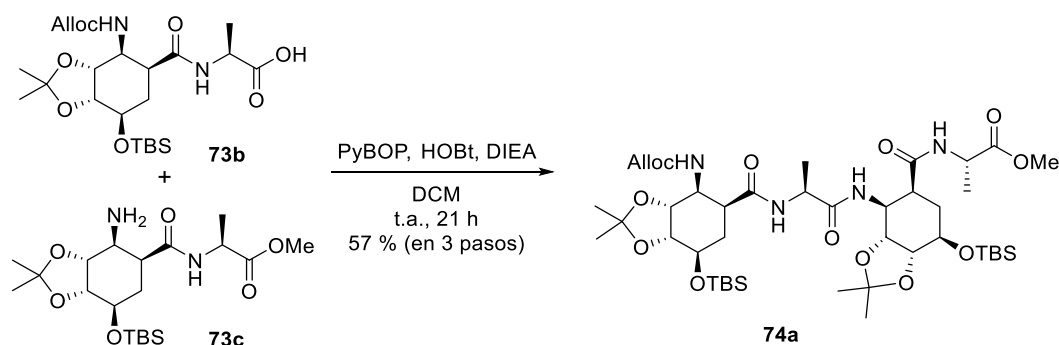
Sobre una disolución del éster de partida **73a** (50 mg, 0.10 mmol) en 2 mL de una mezcla MeOH/H₂O (2.5:1), enfriada a 0 °C, se añadió LiOH·H₂O (47.8 mg, 0.11 mmol) y la disolución resultante se agitó a t.a. durante 3 h. Al cabo de este tiempo se observó por ccf (AcOEt/Hex 1:2), la desaparición del producto de partida ($R_f = 0.4$) y la aparición de un producto de reacción de mayor polaridad ($R_f = 0.1$). Se concentró el MeOH de la mezcla de reacción, se añadió H₂O hasta un volumen de 50 mL, se acidificó hasta pH = 5 con disolución acuosa de HCl 1 M y se extrajo con DCM (6x20 mL). Las fases orgánicas reunidas se secaron con Na₂SO₄ anhidro, se concentraron a sequedad y el producto obtenido se utilizó en la reacción de formación del tetrámero **73b** sin purificación adicional.

5.4.3 ((3aR,4S,5S,7R,7aR)-4-Amino-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carbonil)-*L*-alaninato de metilo (73c)



Sobre una disolución desoxigenada del éster de partida **73a** (50 mg, 0.10 mmol) en 2 mL de DCM (seco) se añadieron PhSiH₃ (48 μL, 0.39 mmol) y 11.2 mg de Pd(PPh₃)₄ (0.01 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 6 h a t.a. bajo atmósfera de argón, al cabo de las cuales se observó por ccf (AcOEt/Hex 1:2) la desaparición del producto de partida ($R_f = 0.4$) y la aparición del producto de reacción de mayor polaridad ($R_f = 0.1$). La disolución resultante se lavó con H₂O (2x4 mL), la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se concentró a vacío y el producto obtenido se utilizó en la reacción de formación del tetrámero **73c** sin purificación adicional.

5.4.4 (R)-2-((3aR,4S,5S,7R,7aR)-4-((R)-2-((3aR,4S,5S,7R,7aR)-4-(((Aliloxi)carbonil)amino)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxamido)propanamido)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxamido)propanoato de metilo (74a)



Sobre una disolución del ácido de partida **73b** (110 mg, 0.22 mmol) en DCM seco (2.0 mL) se añadieron HOBt (36.0 mg, 0.238 mmol) y PyBOP (124 mg, 0.24 mmol) y la disolución resultante se agitó durante 5 min a t.a. bajo atmósfera de argón. Sobre esta mezcla se añadió una disolución de la amina **73c** (78.80 mg, 0.18 mmol) en DCM seco (2.0 mL) y DIEA (96 μ L, 0.55 mmol) y se mantuvo la agitación durante 21 h. Al cabo de este tiempo se observó por ccf (AcOEt/Hex 2:3) la desaparición del producto de partida ($R_f = 0.4$) y la aparición de un producto de reacción de menor polaridad ($R_f = 0.3$). La reacción se diluyó entonces con DCM (36 mL), se lavó con una disolución acuosa de HCl 1M (40 mL), H₂O (40 mL), una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (40 mL) y H₂O (40 mL). Las fases orgánicas reunidas se secaron con Na₂SO₄ anhidro, se evaporó el disolvente a vacío y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna eluyendo con una mezcla de (AcOEt/Hex 2:3) para dar lugar a 104 mg (57% en tres pasos) del (R)-2-((3aR,4S,5S,7R,7aR)-4-((R)-2-((3aR,4S,5S,7R,7aR)-4-(((aliloxi)carbonil)amino)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxamido)propanamido)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexa-hidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxamido)propanoato de metilo (**74a**) como un sólido amorfo de color blanco.

$[\alpha]_D^{23}$: +3.24 (*c* 0.8, CHCl₃).

RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz, ppm): 0.04 (s, 3H, Si-CH₃), 0.06 (s, 3H, Si-CH₃), 0.09 (s, 6H, Si-(CH₃)₂), 0.85 (s, 9H, SiC-(CH₃)₃), 0.87 (s, 9H, SiC-(CH₃)₃), 1.21–1.38 (m, 12H, 2xC-(CH₃)₂), 1.38–1.43 (m, 6H, 2x CH₃), 1.88–2.03 (m, 4H, 2xCH₂), 2.78–2.89 (m, 2H, 2x CO-CH), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 3.77–3.84 (m, 1H, N-CH), 3.96–4.02 (m, 1H, N-CH), 4.05–4.30 (m, 6H, 6x O-CH), 4.41–4.48 (m, 2H, O-CH₂), 4.48–4.56 (m, 2H, N-CH), 5.15 (d, *J* = 10.4 Hz, 1H, C=CH₂), 5.26 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H, C=CH₂), 5.86 (ddt, *J* = 16.4, 10.7, 5.7 Hz, 1H, C=CH), 6.46 (d, *J* = 9.4 Hz, 1H, NH), 6.88 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H, NH), 7.35 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H, NH), 7.65 (d, *J* = 9.4 Hz, 1H, NH).

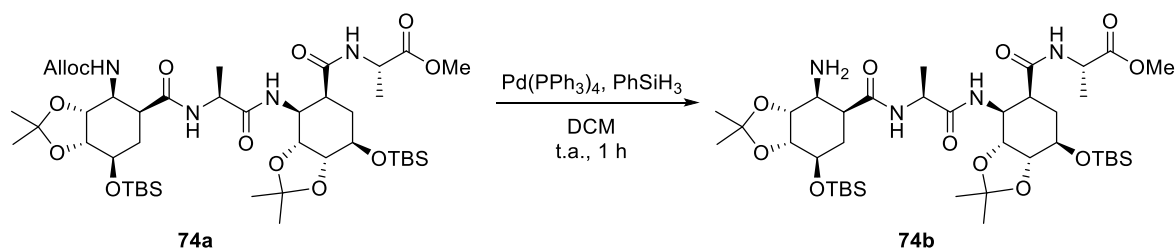
RMN-¹³C (CDCl₃, 75 MHz, ppm): -5.0 (Si-CH₃), -5.0 (Si-CH₃), -5.0 (Si-CH₃), -4.4 (Si-CH₃), 16.4 (3x CH₃), 17.3 (3x CH₃), 18.0 (SiC), 18.1 (SiC), 24.5 (CH₃), 25.3 (CH₃), 25.7 (CH₃), 25.8 (CH₃), 27.0 (CH₃), 27.6 (CH₃), 27.7 (CH₂), 29.4 (CH₂), 39.1 (CH), 41.2 (CH), 47.9 (N-CH), 48.7 (N-CH), 50.0 (N-CH), 50.2 (N-CH), 52.7 (O-CH₃), 65.8 (O-CH₂), 68.5 (O-CH), 71.1 (O-CH), 75.5 (O-CH), 75.8 (O-CH), 77.4 (O-CH), 79.7 (O-CH), 108.3 (C), 108.4

(C), 117.4 (CH₂), 132.8 (CH), 156.4 (C=O, uretano), 173.0 (C=O, amida), 173.1 (C=O, amida), 173.3 (C=O, amida), 175.2 (C=O, éster).

EMAR (ESI⁺): calculado para C₄₃H₇₆N₄NaO₁₃Si₂ 935.4840; encontrado 935.4839.

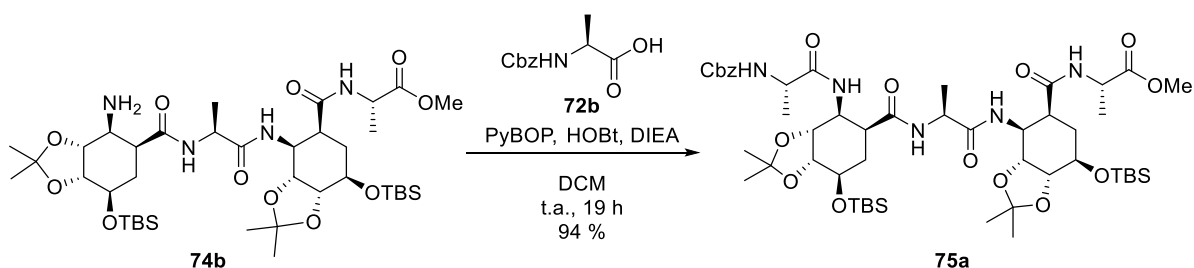
IR (v, cm⁻¹): 3313 (Amida A), 1729 (éster), 1650 (Amida I), 1536 (Amida II).

5.4.5 (R)-2-((3aR,4S,5S,7R,7aR)-4-((R)-2-((3aR,4S,5S,7R,7aR)-4-Amino-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxamido)propana-mido)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxamido) propanoato de metilo (74b)



Sobre una disolución desoxigenada del éster de partida **74a** (30 mg, 0.03 mmol) en DCM seco (1 mL) se añadieron PhSiH₃ (16 µL, 0.13 mmol) y Pd(PPh₃)₄ (4 mg, 0.003 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 6 h a t.a. bajo atmósfera de argón, al cabo de las cuales se observó por ccf (AcOEt/Hex 1:1) la desaparición del producto de partida ($R_f = 0.2$) y la aparición del producto de reacción ($R_f = 0.1$). La disolución resultante se lavó con H₂O (3x15 mL), la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se concentró a vacío y el producto obtenido se utilizó en la reacción de formación del pentámero **74b** sin purificación adicional.

5.4.6 (R)-2-((3aR,4S,5S,7R,7aR)-4-((R)-2-((3aR,4S,5S,7R,7aR)-4-((R)-2-(((*Benciloxi*)carbonil)amino)propanamido)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxamido)propanamido)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxamido) propanoato de metilo (75a)



Sobre una disolución del ácido de partida Cbz-*N*-Ala (**72b**) (8 mg, 0.03 mmol) en DCM seco (0.6 mL) se añadieron HOBT (6.0 mg, 0.04 mmol) y PyBOP (20.3 mg, 0.04 mmol), la disolución resultante se agitó durante 5 min a t.a. bajo atmósfera de argón. Sobre esta mezcla se añadió una disolución de la amina **74b** (27.4 mg, 0.03 mmol) en DCM seco (0.6 mL) y DIEA (16 µL, 0.09 mmol) y se mantuvo la agitación durante 19 h. Al cabo de las cuales se observó por ccf (AcOEt/Hex 2:3) la desaparición del producto de partida ($R_f = 0.1$) y la aparición de un producto de reacción ($R_f = 0.3$). La mezcla de reacción se diluyó entonces con DCM (20 mL), se lavó con disolución acuosa de HCl 1M (20 mL), H₂O (20 mL), disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (20 mL) y H₂O (20 mL). Las fases orgánicas reunidas se secaron con Na₂SO₄ anhidro, se evaporó el disolvente a vacío y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna, eluyendo con una mezcla de (AcOEt/Hex 2:3) para dar lugar a 29

mg (94%) del (*R*)-2-((3*aR*,4*S*,5*S*,7*R*,7*aR*)-4-((*R*)-2-((3*aR*,4*S*,5*S*,7*R*,7*aR*)-4-((*R*)-2-(((benziloxi)carbonil)ami-no)propanamido)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenczo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxamido)propanamido)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenczo[*d*][1,3] dioxol-5-carboxamido) propanoato de metilo (**75a**) como un sólido amorfo de color blanco.

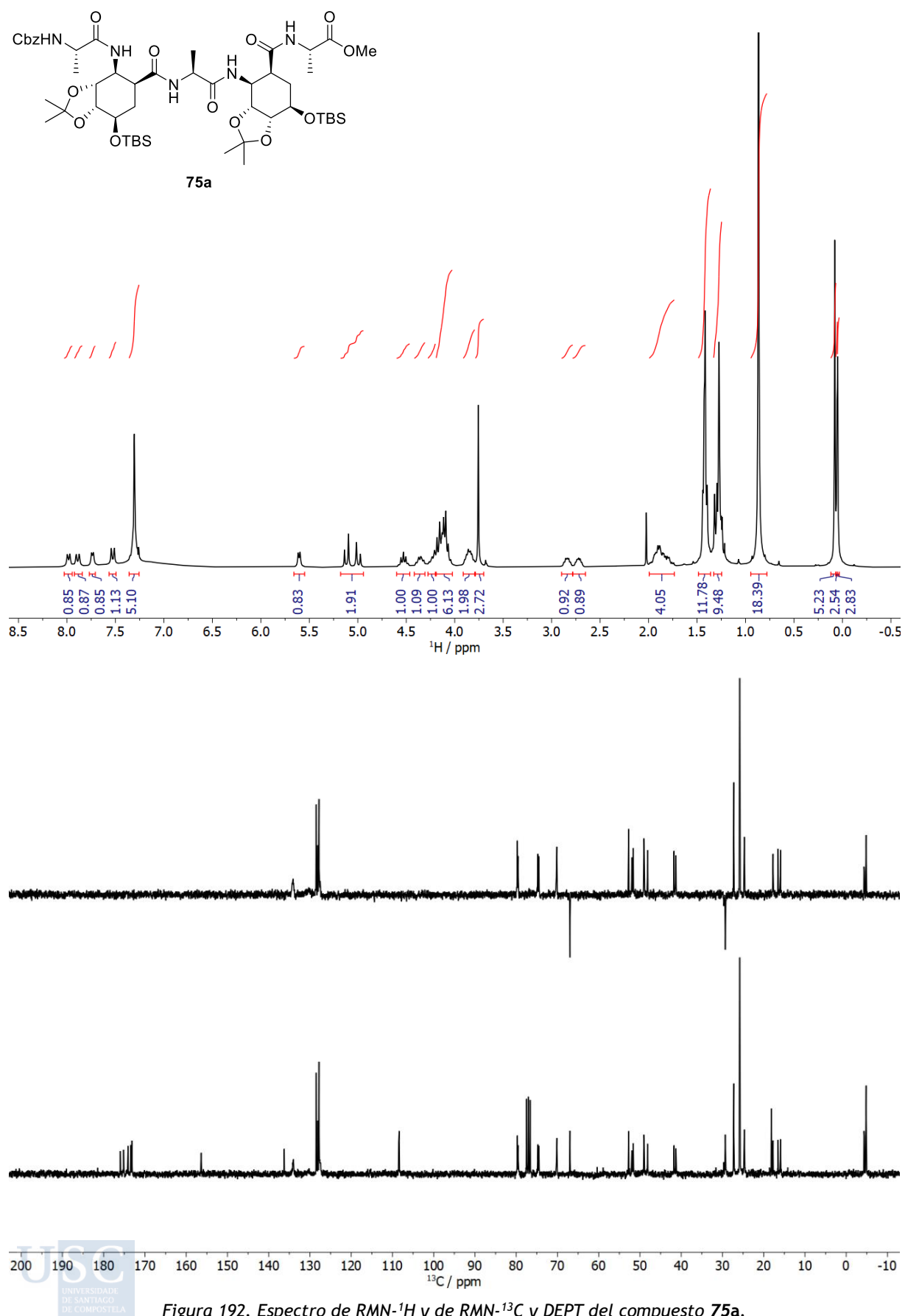
$[\alpha]_D^{23}$: +19.2 (*c* 0.6, CHCl₃)

RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz, ppm): 0.05 (s, 3H, Si-CH₃), 0.05 (s, 3H, Si-CH₃), 0.08 (s, 6H, 2xSi-CH₃), 0.87 (s, 18H, 6xSiC-CH₃), 1.33–1.23 (m, 9H, 3x CH₃), 1.46–1.38 (m, 12H, 4xCH₃), 2.00–1.73 (m, 4H, 2xCH₂), 2.77–2.68 (m, 1H, CH), 2.89–2.79 (m, 1H, CH), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 3.92–3.79 (m, 2H, 2xNCH), 4.28–4.02 (m, 6H, 6xOCH), 4.27–4.20 (m, 1H, NCH), 4.36 (dd, *J* = 14.9, 8.9 Hz, 1H, NCH), 4.53 (dt, *J* = 14.9, 7.3 Hz, 1H, NCH), 5.06 (ABq, *J* = 12.3 Hz, 2H, BnO-CH₂), 5.61 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H, NH), 7.31 (s, 5H, CH-Ar), 7.53 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, NH), 7.74 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H, NH), 7.89 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H, NH), 7.98 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H, NH).

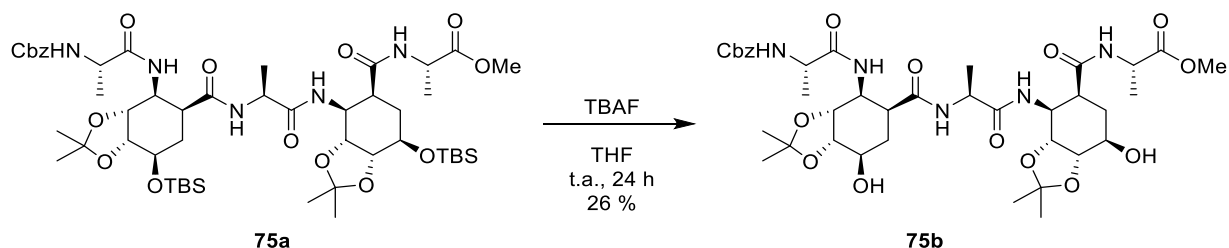
RMN-¹³C (CDCl₃, 75 MHz, ppm): -4.8 (Si-CH₃), -4.4 (Si-CH₃), -4.3 (2xSi-CH₃), 16.0 (CH₃), 16.5 (CH₃), 17.7 (CH₃), 18.1 (2xSi-C), 24.7 (CH₃), 25.1 (CH₃), 25.8 (CH₃), 27.3 (2xCH₃), 29.3 (CH₂), 29.3 (CH₂), 41.3 (CH), 41.7 (CH), 48.2 (NCH), 49.0 (2xNCH), 51.6 (NCH), 52.0 (NCH), 52.7 (OCH₃), 67.0 (OCH₂), 70.1 (OCH), 70.2 (OCH), 74.5 (OCH), 74.8 (OCH), 79.5 (OCH), 79.7 (OCH), 108.4 (C), 108.5 (C), 127.8 (CH-Ar), 128.11 (CH-Ar), 128.48 (CH-Ar), 134.00 (2xCH-Ar), 136.3 (C-Ar), 156.4 (C=O, uretano), 173.2 (C=O, amida), 173.5 (C=O, amida), 174.1 (C=O, amida), 175.2 (C=O, amida), 176.0 (C=O, éster).

EMAR (ESI⁺): calculado para C₅₀H₈₃N₅NaO₁₄Si₂ 1056.5367; encontrado, 1056.5370.

IR (ν, cm⁻¹): 3315 (Amida A), 1727 (éster), 1650 (Amida I), 1536 (Amida II).

Figura 192. Espectro de RMN- ^1H y de RMN- ^{13}C y DEPT del compuesto **75a**.

5.4.7 (R)-2-(((3aR,4S,5S,7R,7aS)-4-((R)-2-(((3aR,4S,5S,7R,7aS)-4-((R)-2-(((Benciloxi)carbonil)amino)propanamido)-7-hidroxi-2,2-dimetilhexahidro-benzo[d][1,3]dioxol-5-carboxamido)propanamido)-7-hidroxi-2,2-dimetilhexahidrobenzo[d][1,3]dioxol-5-carboxamido)propanoato de metilo (75b)



Sobre una disolución del pentapéptido de partida **75a** (40 mg, 0.04 mmol) en THF seco (585 μ L) se añadió una disolución de TBAF (1 M) en THF (81 μ L, 0.08 mmol) y la mezcla resultante se agitó a t.a. durante 24 h. Al cabo de este tiempo se observó por ccfc (AcOEt/Hex 1:1) la desaparición del producto de partida ($R_f = 0.5$) y la aparición del producto de reacción ($R_f = 0.1$). La reacción se concentró a sequedad y el residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna, eluyendo con una mezcla (AcOEt/Hex 3:1), para dar 8 mg (26 %) del (R)-2-(((3aR,4S,5S,7R,7aS)-4-((R)-2-(((3aR,4S,5S,7R,7aS)-4-((R)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)propanamido)-7-hidroxi-2,2-dimetilhexahidrobenzo[d][1,3]dioxol-5-carboxamido)propanamido)-7-hidroxi-2,2-dimetilhexahidrobenzo[d][1,3]dioxol-5-carboxamido)propanoato de metilo (**75b**) como un sólido blanco.

$[\alpha]_D^{24}$: +94.1 (*c* 0.8 CHCl₃)

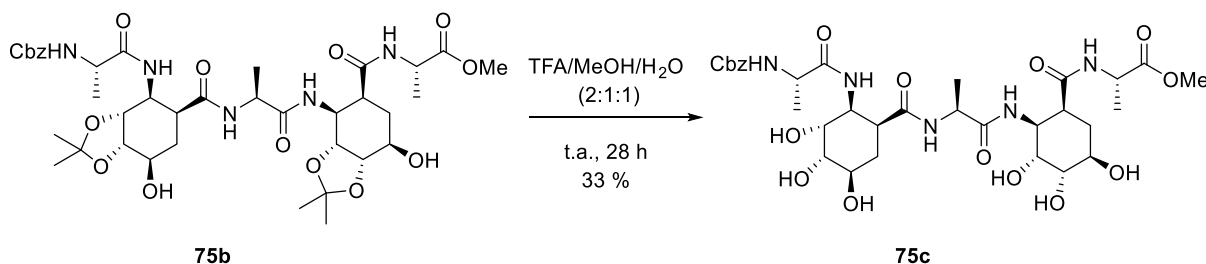
RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz, ppm): 1.25 (s, 3H, CH₃), 1.36 (s, 3H, CH₃), 1.39 (d, *J* = 7.6 Hz, 3H, CH₃), 1.41 (d, *J* = 3.0 Hz, 3H, CH₃), 1.44 (d, *J* = 3.5 Hz, 3H, CH₃), 1.47 (s, 3H, CH₃), 1.51 (s, 3H, CH₃), 1.93–2.10 (m, 2H, CH₂), 2.12–2.26 (m, 2H, CH₂), 2.73 (m, 1H, CH), 2.89 (m, 1H, CH), 3.78 (s, 3H, O-CH₃), 3.89–4.01 (m, 2H, 2xCH), 4.05–4.25 (m, 6H, 6xCH), 4.28–4.36 (m, 1H, CH), 4.37–4.45 (m, 1H, CH), 4.47–4.58 (m, 1H, CH), 5.05 (ABq, *J* = 12.3 Hz, 2H, CH₂) 5.36 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H, NH, uretano), 7.01 (m, 1H, OH o NH), 7.10 (m, 1H, OH o NH), 7.33 (m, *J* = 3.3 Hz, 5H, 5xArCH), 7.59 (m, 2H, 2xOH o 2xNH), 8.15 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H, NH), 8.20 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H, NH).

RMN-¹³C (CDCl₃, 75 MHz, ppm): 14.3 (CH₃), 16.0 (CH₃), 16.5 (CH₃), 17.5 (CH₃), 26.3 (CH₃), 28.3 (CH₃), 28.4 (CH₃), 28.8 (CH₂), 29.1 (CH₂), 29.8 (CH₂), 44.5 (2xCH-CO), 49.2 (N-CH), 49.5 (N-CH), 50.5 (N-CH), 51.9 (N-CH), 52.4 (N-CH), 53.2 (O-CH₃), 65.4 (O-CH), 65.7 (O-CH), 67.3 (CH₂), 73.3 (O-CH), 73.6 (O-CH), 79.7 (O-CH), 80.2 (O-CH), 108.5 (C), 108.8 (C), 128.0 (CH-Ar), 128.4 (CH-Ar), 128.7 (CH-Ar), 129.9 (CH-Ar), 136.2 (C), 156.6 (C=O, uretano), 173.8 (C=O, amida), 174.5 (C=O, amida), 174.7 (C=O, amida), 175.8 (C=O, amida), 176.0 (C=O, éster).

EMAR (ESI⁺): calculado para C₃₈H₅₅N₅NaO₁₄ 828.3638; encontrado 828.3638.

IR (ν, cm⁻¹): 3311 (Amida A), 1720 (éster), 1647 (Amida I), 1546 (Amida II).

5.4.8 (R)-2-((1S,2S,3R,4S,5R)-2-((R)-2-((1S,2S,3R,4S,5R)-2-((R)-2-(((Bencil-oxi)carbonil)amino)propanamido)-3,4,5-trihidroxiciclohexanocarboxamida)propanamido)-3,4,5-trihidroxiciclohexanocarboxamido) propanoato de metilo (75c)



Una disolución del pentapéptido de partida **75b** (51 mg, 0.05 mmol) en una mezcla de TFA/MeOH/H₂O 2:1:1 (8 mL) se agitó durante 28 h a t.a., al cabo de este tiempo se observó por ccf (AcOEt/Hex 2:3) la desaparición del producto de partida ($R_f = 0.4$) y la aparición de un producto de reacción de mayor polaridad ($R_f = 0.1$). La mezcla de reacción se concentró a sequedad para dar lugar a un sólido blanco que tras ser purificado por cromatografía en fase reversa (Columna C18; eluyente del 5% al 95% en 21 min. en MeCN-agua+0,1% de TFA) dio lugar a 12 mg (33% de rendimiento) del (R)-2-((1S,2S,3R,4S,5R)-2-((R)-2-((1S,2S,3R,4S,5R)-2-((R)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)propanamido)-3,4,5-trihidroxiciclohexanocarboxamido)propanamido)-3,4,5-trihidroxiciclohexanocarboxamido) propanoato de metilo (**75c**) como un sólido blanco.

$[\alpha]_D^{24}$: +48.4 (*c* 0.1, CHCl₃).

RMN-¹H (CD₃CN, 600 MHz, ppm): 1.17–1.49 (m, 9H, 3x CH₃), 1.68 (m, 2H, CH₂), 2.90 (s, 2H, CH₂), 3.36 (s, 2H, 2xCHC=O), 3.42 (s, 3H, 3xOCH), 3.59 (s, 3H, 3xOCH), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 4.12 (m, 2H, 2xNCH), 4.40 (m, 3H, 3xONCH), 5.05 (ABq, $J = 36.7$ Hz, 2H, CH₂-Ar), 6.16 (s, 1H, OH), 6.48 (s, 1H, NH), 6.67 (s, 1H, OH), 7.34 (h, $J = 7.9$ Hz, 9H, 5xCH-Ar + 4xOH), 7.54 (s, 1H, NH), 7.73 (s, 1H, NH), 7.93 (s, 1H, NH), 8.12 (s, 1H, NH).

RMN-¹³C (CDCl₃, 75 MHz, ppm): 15.8 (CH₃), 16.4 (CH₃), 17.3 (CH₃), 26.7 (CH₂), 29.58 (CH₂), 44.6 (2xCH), 48.8 (2xNCH), 51.2 (2xNCH), 52.9 (OCH₃), 66.9 (OCH₂), 68.8 (2xOCH), 73.8 (4xOCH), 127.6 (2xCH-Ar), 128.0 (CH-Ar), 128.4 (CH-Ar), 133.9(CH-Ar), 136.2 (C-Ar), 156.72 (C=O), 174.3 (2xC=O), 174.9 (2xC=O), 175.1 (2xC=O).

EMAR (ESI⁺): calculado para C₃₂H₄₇N₅NaO₁₄ 748.3012; encontrado 748.3010.

IR (ν, cm⁻¹): 3310 (Amida A), 1724 (éster), 1654 (Amida I), 1548 (Amida II).

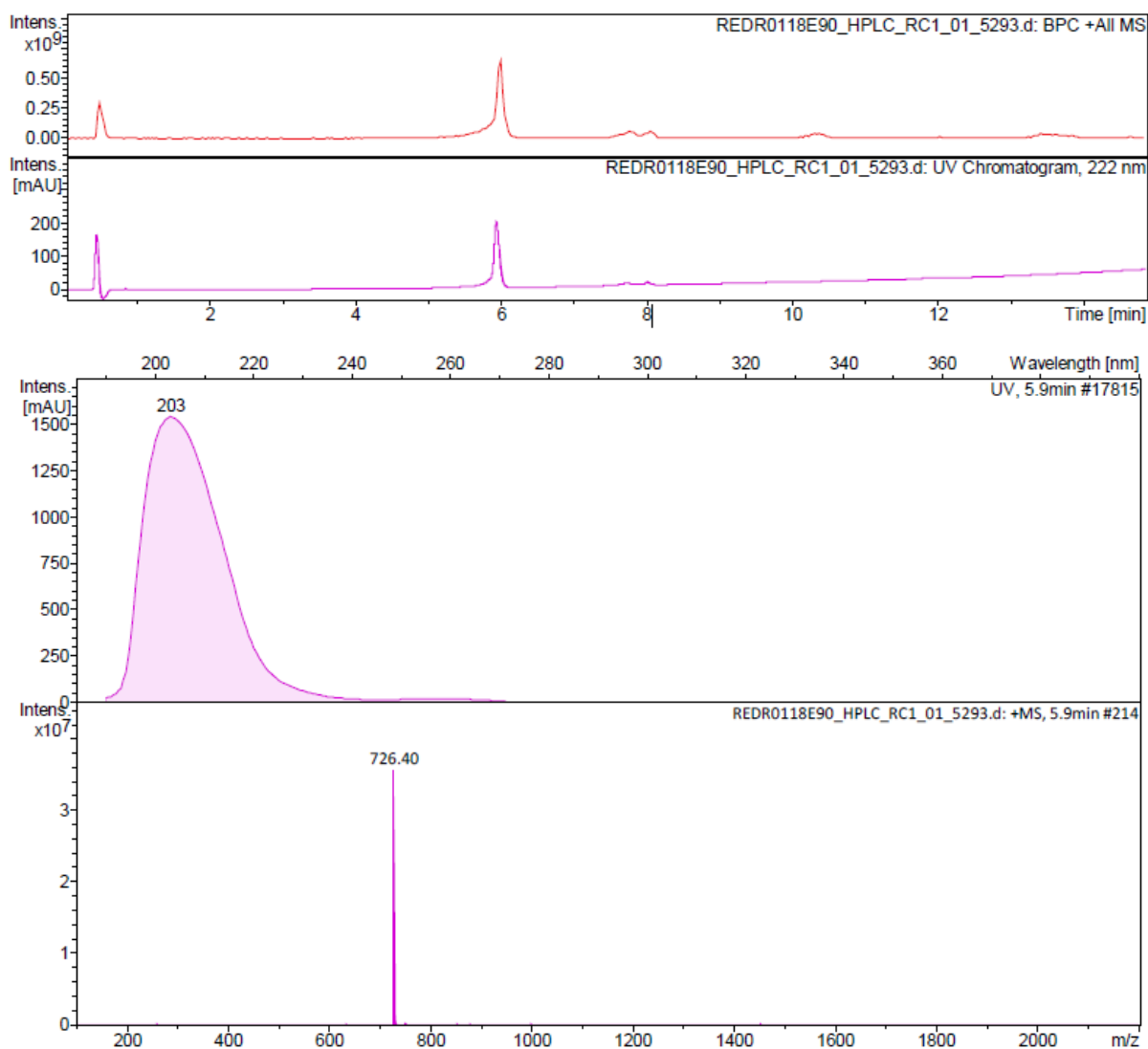


Figura 195. HPLC-MASAS del compuesto 75c.

5.5 ANÁLISIS ESTRUCTURAL DE LOS PENTAPÉPTIDOS 75a, 75b Y 75c

5.5.1 Espectroscopía de Dicroísmo Circular de los péptidos 75a, 75b y 75c

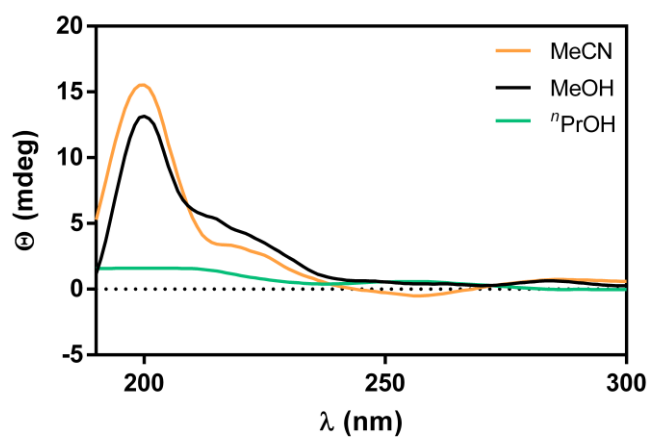
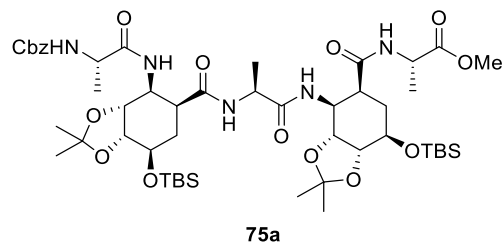


Figura 196. Dicroísmo Circular del péptido 75a, en MeOH (negro), MeCN (naranja) y ⁿPrOH (verde) a una temperatura de 20 °C y a una concentración 100 μM.

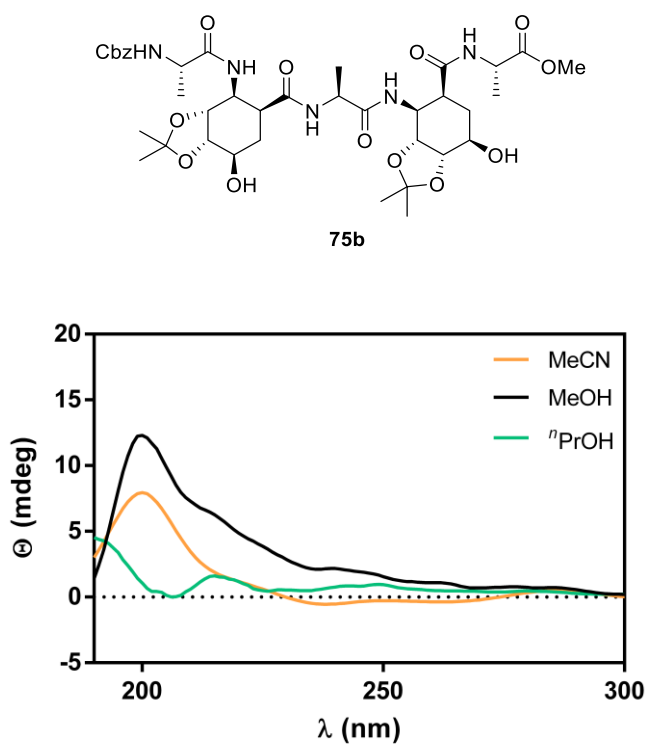


Figura 197. Dicroísmo Circular del péptido 75b, en MeOH (azul), MeCN (naranja) y n PrOH (verde) a una temperatura de 20 °C y a una concentración 100 μ M.

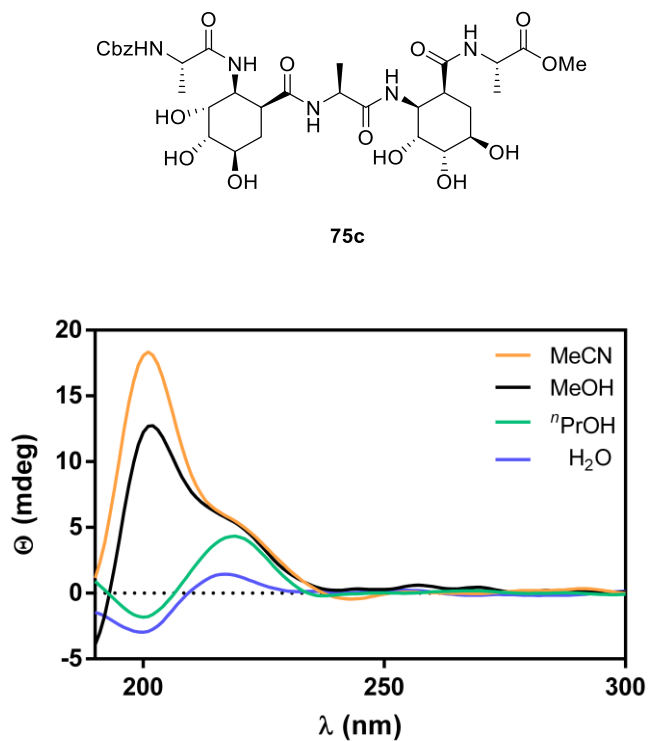


Figura 198. Dicroísmo Circular del péptido 75c, en MeOH (rojo), MeCN (verde), n PrOH (naranja) y agua (azul) a una temperatura de 20 °C y a una concentración 100 μ M.

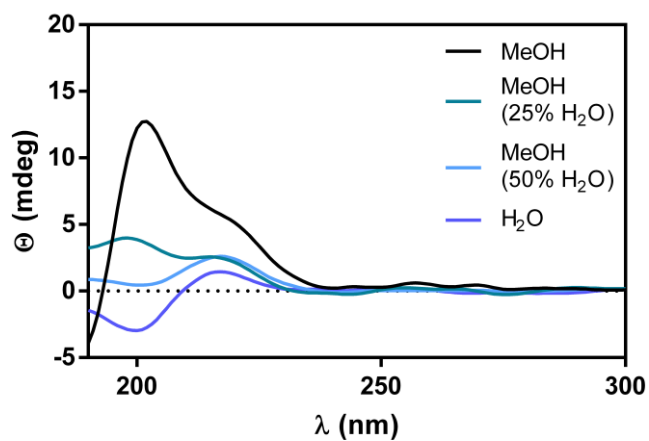
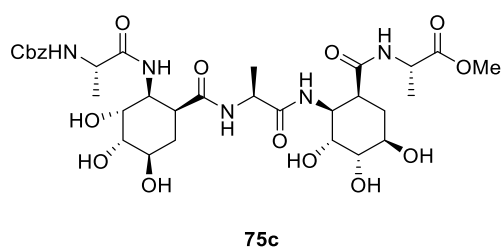


Figura 199. Dicroísmo Circular del péptido 75c, en MeOH, MeOH (25 % H₂O), MeOH (50 % H₂O) y H₂O (azul) a una temperatura de 20 °C y a una concentración 100 μ M.

5.5.2 Espectroscopía de RMN del pentapéptido 75c en CD₃CN

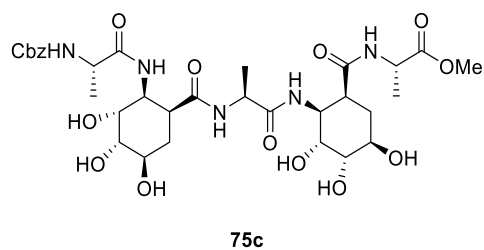


Figura 200. Estructura química del pentapéptido 75c.

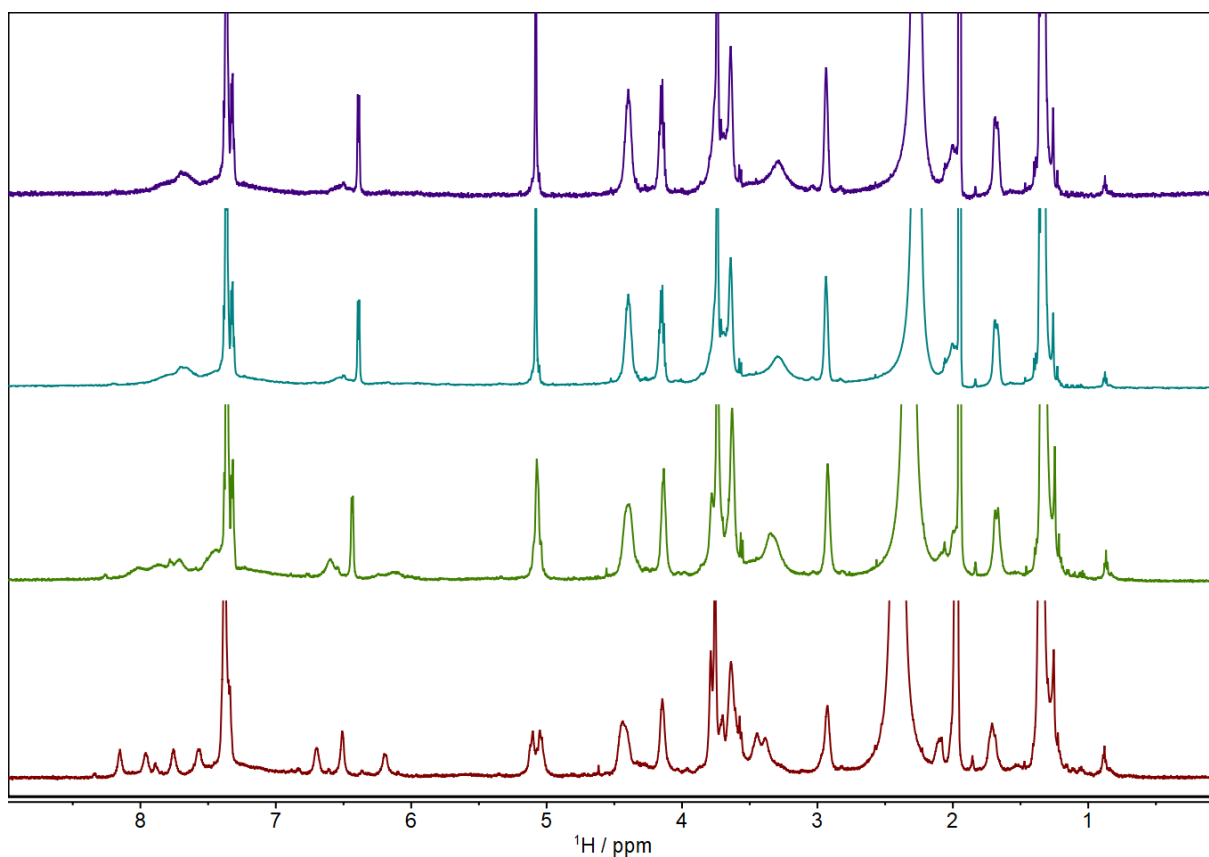


Figura 201. Espectro de RMN-TV del péptido 75c en CD₃CN (600 MHz). Temperaturas, de abajo hacia arriba: 233 a 298 K en pasos de 20 K.

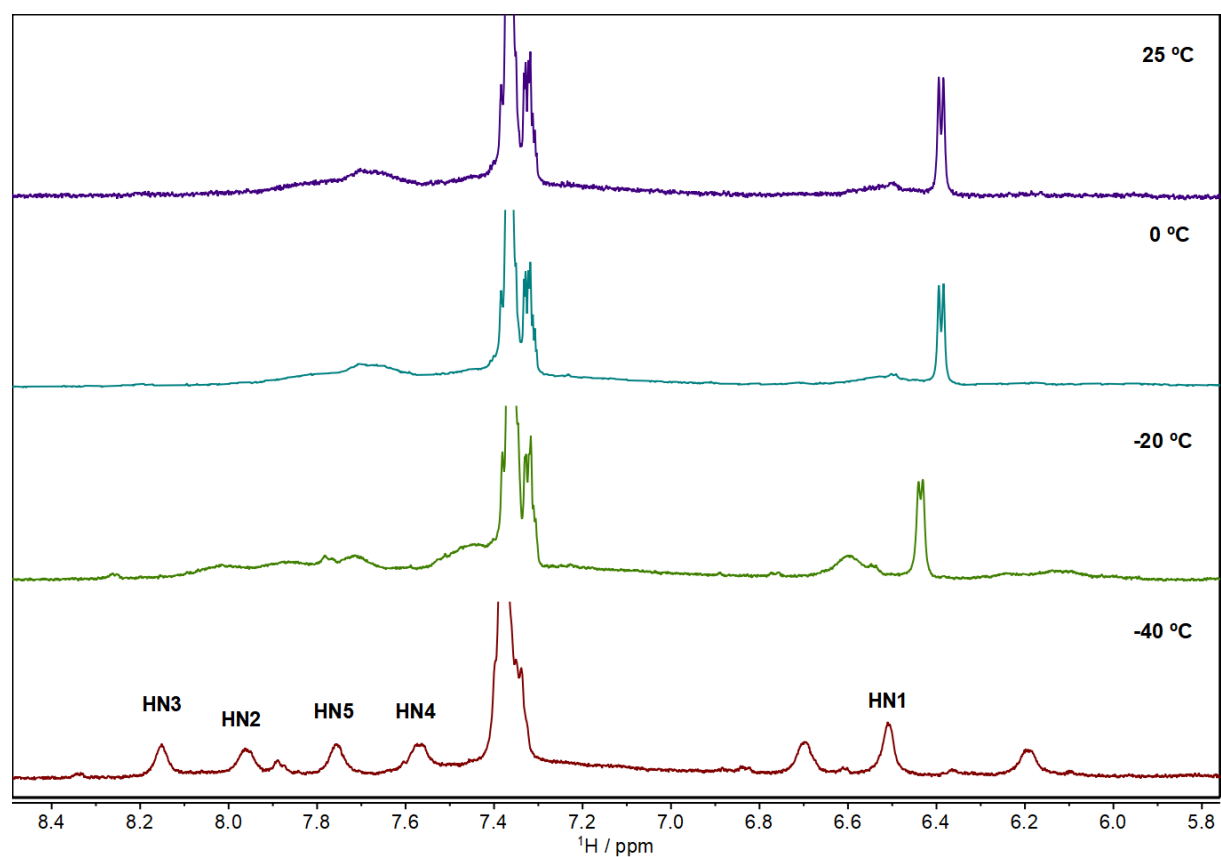


Figura 202. Expansión de la región de protón de amida del espectro de RMN-TV del péptido 75c CD_3CN (600 MHz). Temperaturas, de abajo hacia arriba: 233 a 298 K en pasos de 20 K.

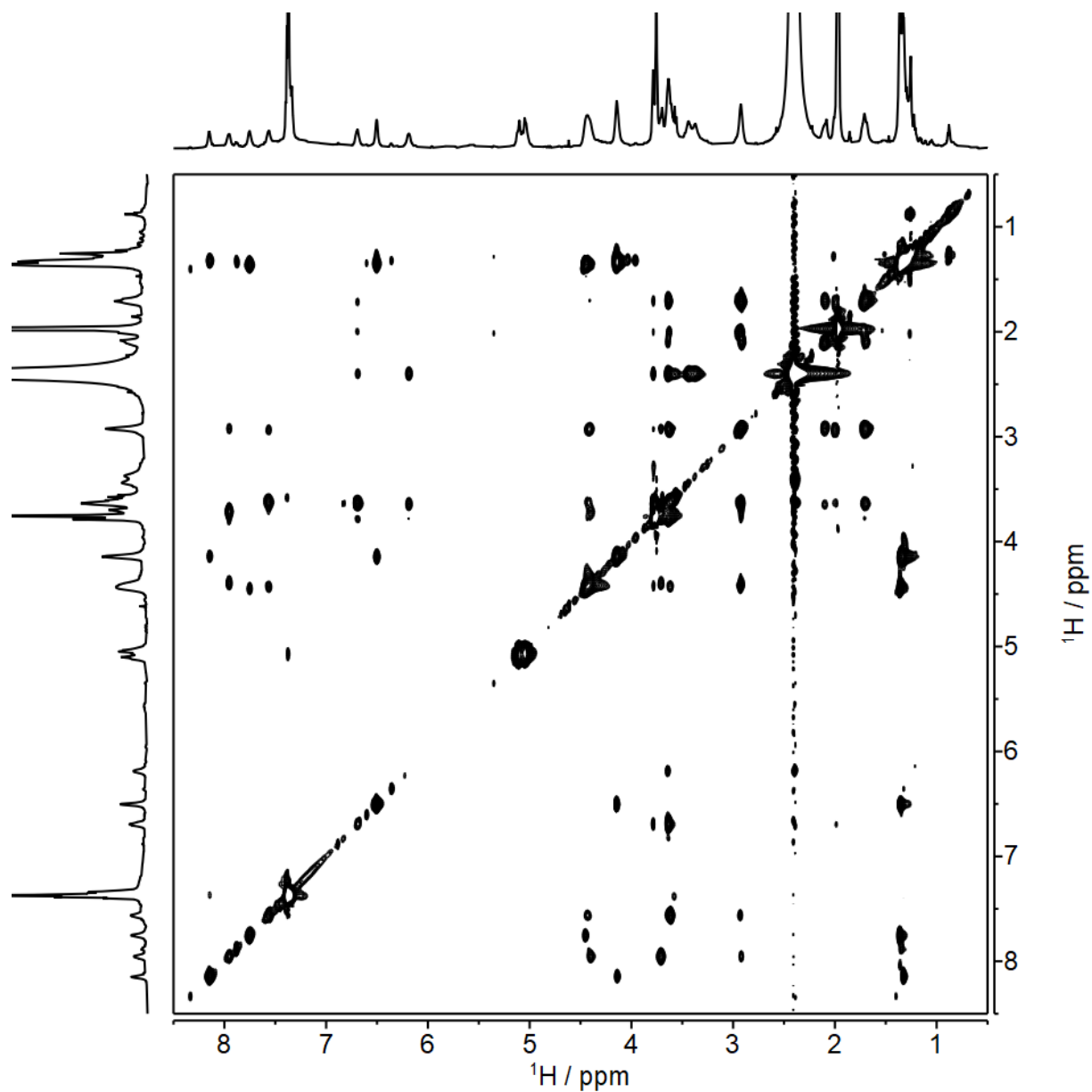


Figura 203. Espectro de TOCSY del péptido 75c, $t_{\text{mix}} = 60 \text{ ms}$ (CD_3CN , 600 MHz, 238 K).

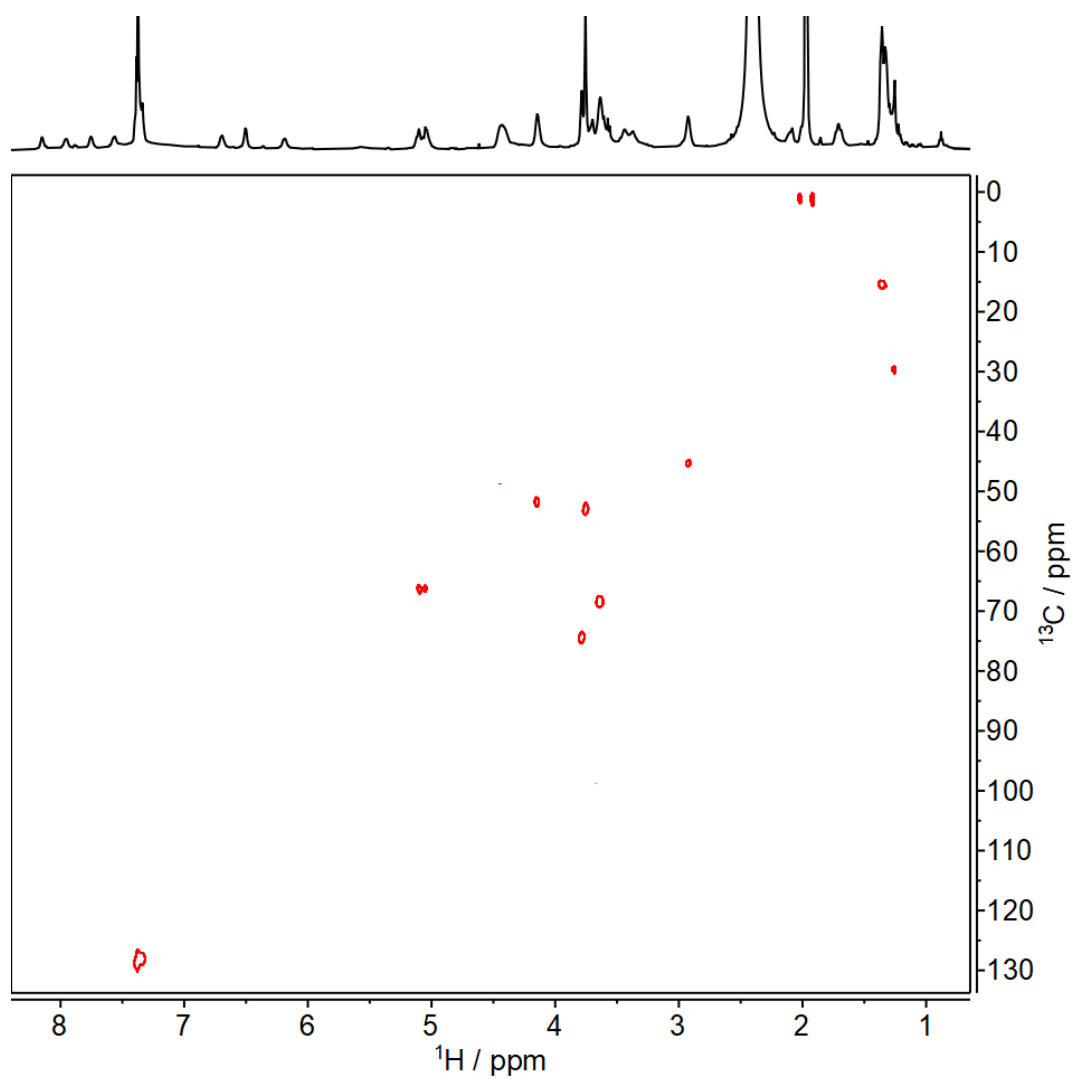


Figura 204. Espectro de HSQC del péptido 75c (CD_3CN , 600 MHz, 238 K).

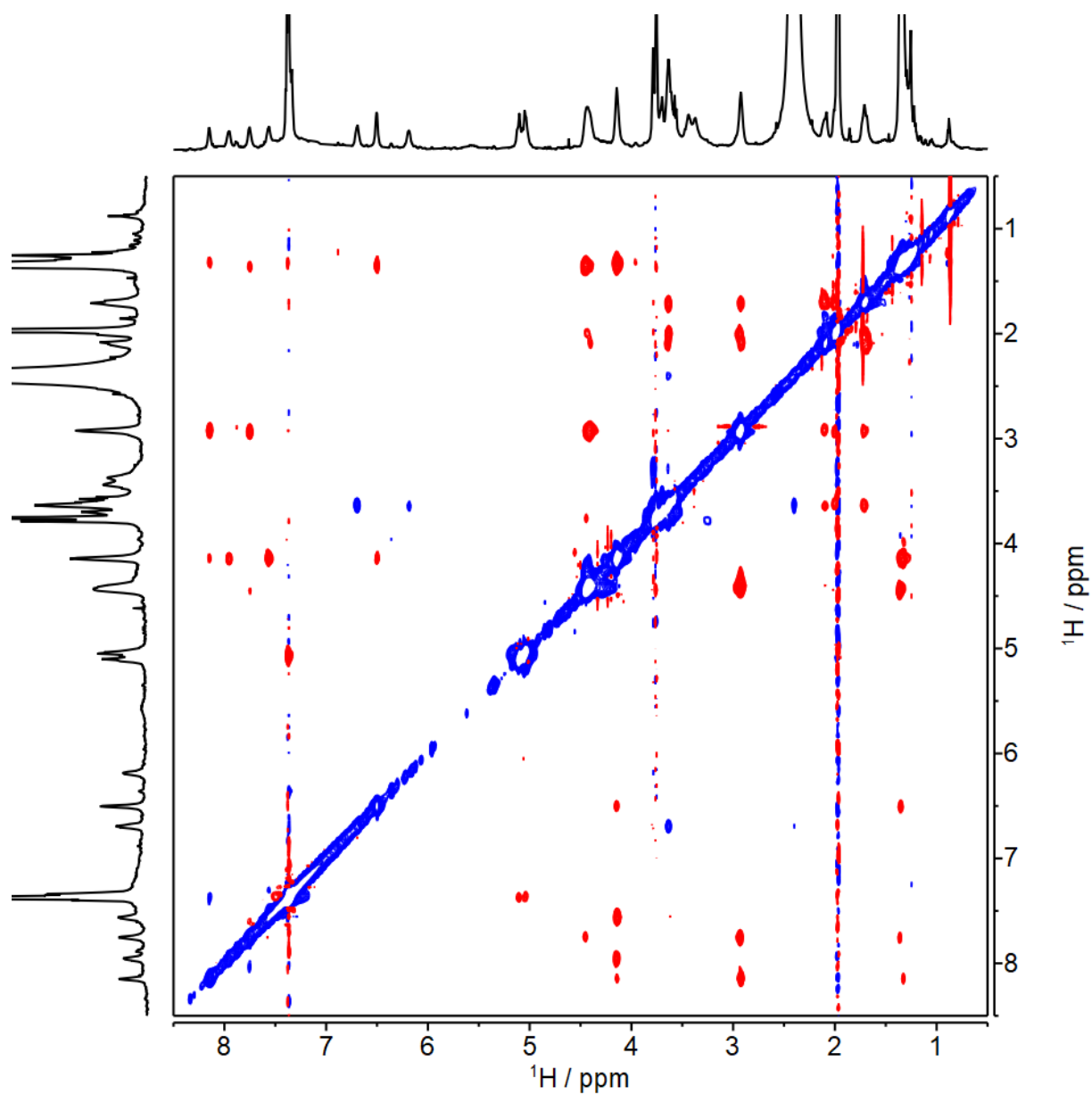


Figura 205. Espectro de ROESY del péptido **75c**, $t_{\text{mix}} = 400$ ms (CD_3CN , 600 MHz, 238 K).

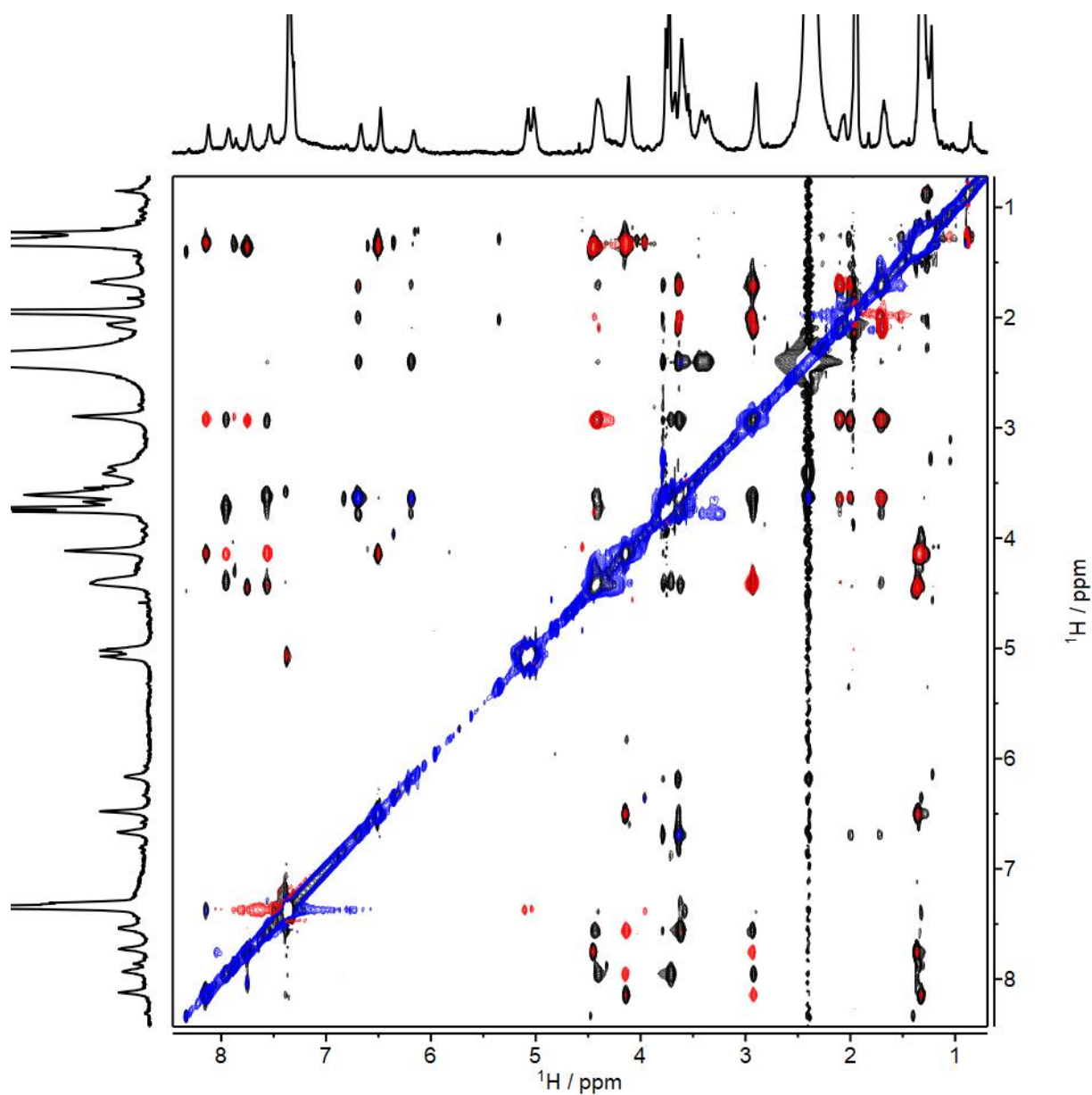


Figura 206. Superposición de los espectros ROESY (rojo/azul, t_{mix} 400 ms) y TOCSY (negro, t_{mix} 60 ms) del péptido 75c (CD_3CN , 600 MHz, 238 K).

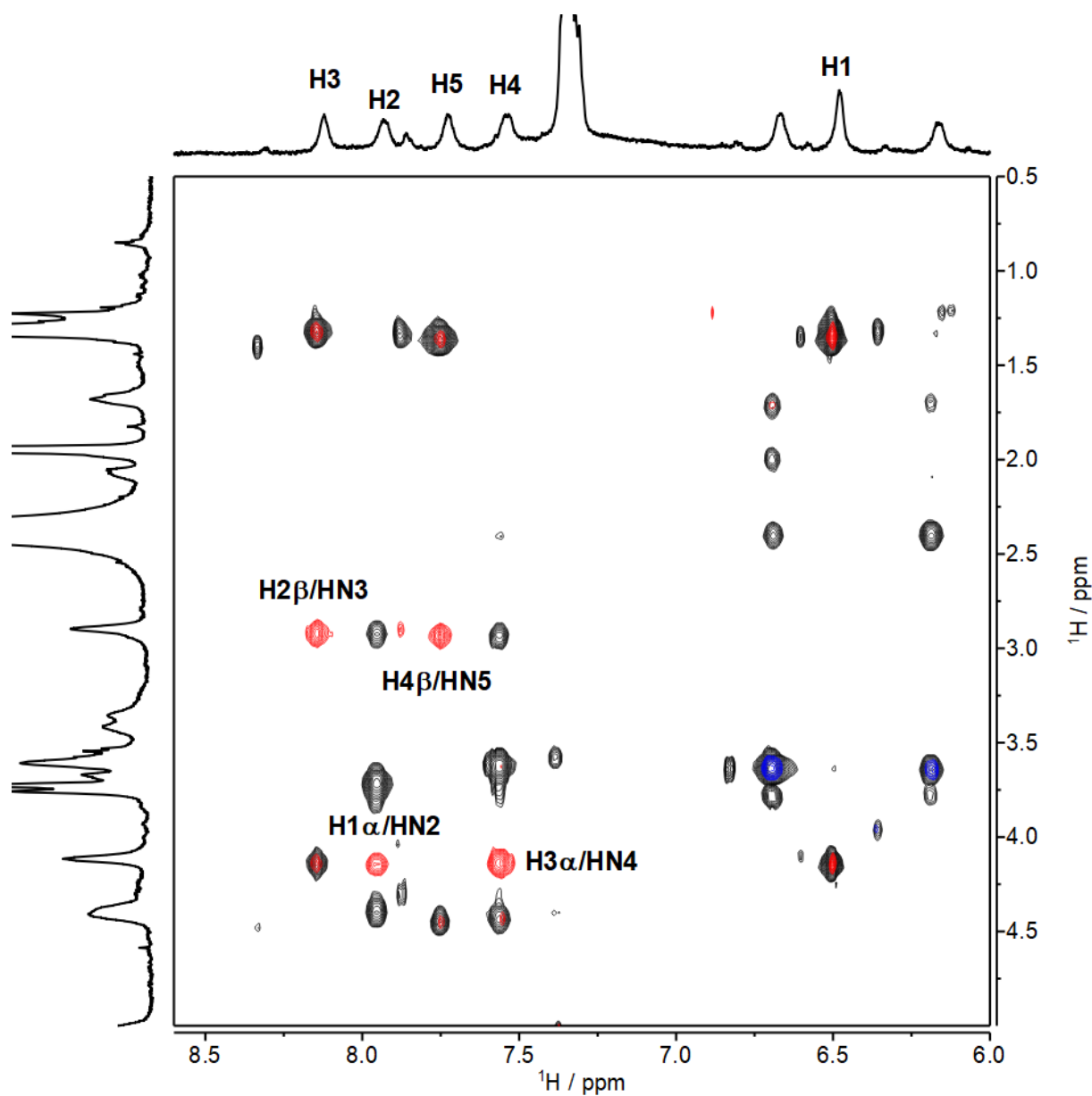


Figura 207. Superposición de los espectros ROESY (rojo/azul, t_{mix} 400 ms) y TOCSY (negro, t_{mix} 60 ms) del péptido 75c (CD_3CN , 600 MHz, 238 K). Expansión de la región ($\text{H}\alpha+\text{H}\beta$)/HN.

5.5.3 Espectroscopía de RMN del pentapéptido 75c en CD₃OH

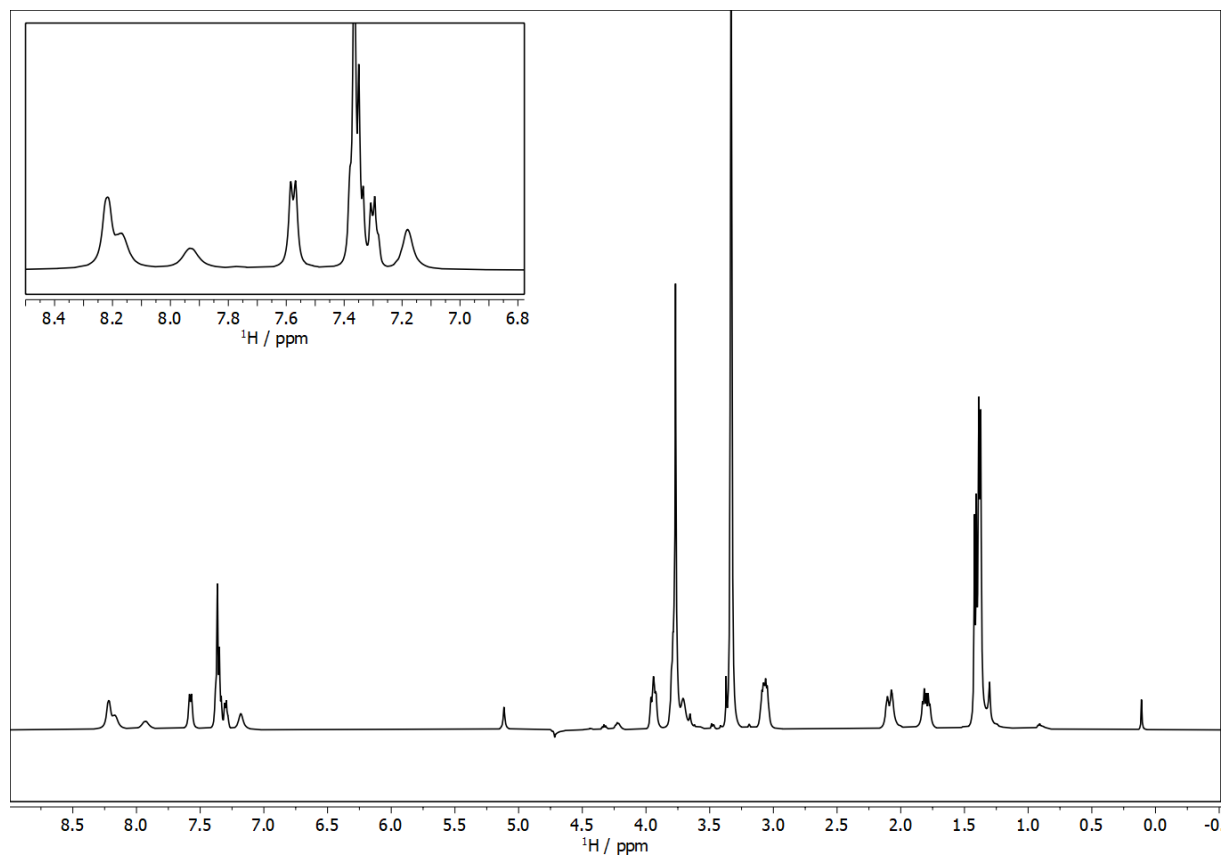


Figura 208. RMN-¹H del péptido 75c, 1 mM en CD₃OH (500 MHz).

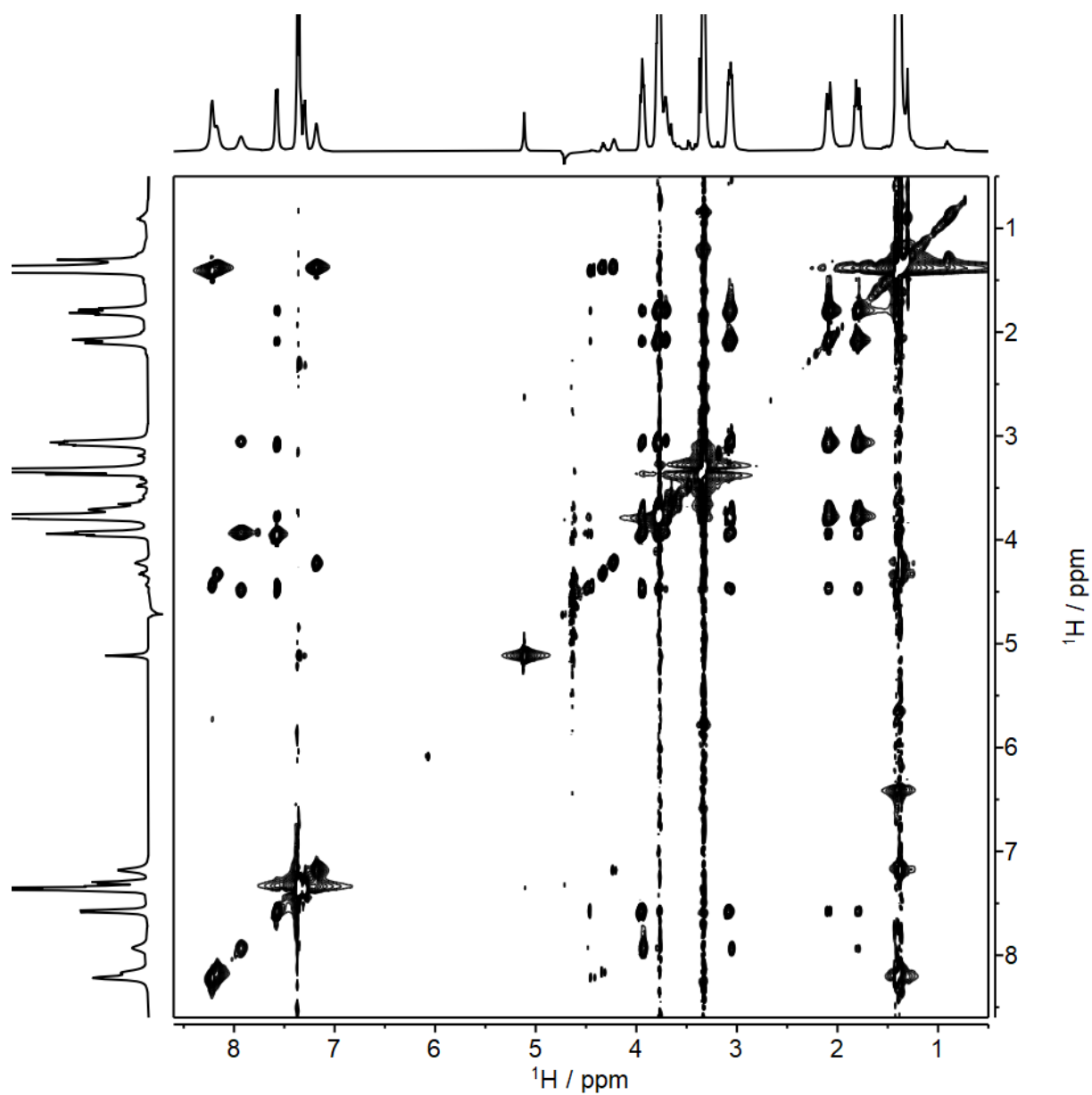


Figura 209. Espectro de TOCSY del péptido 75c, $t_{mix} = 60$ ms (CD_3OH , 500 MHz, 318 K).

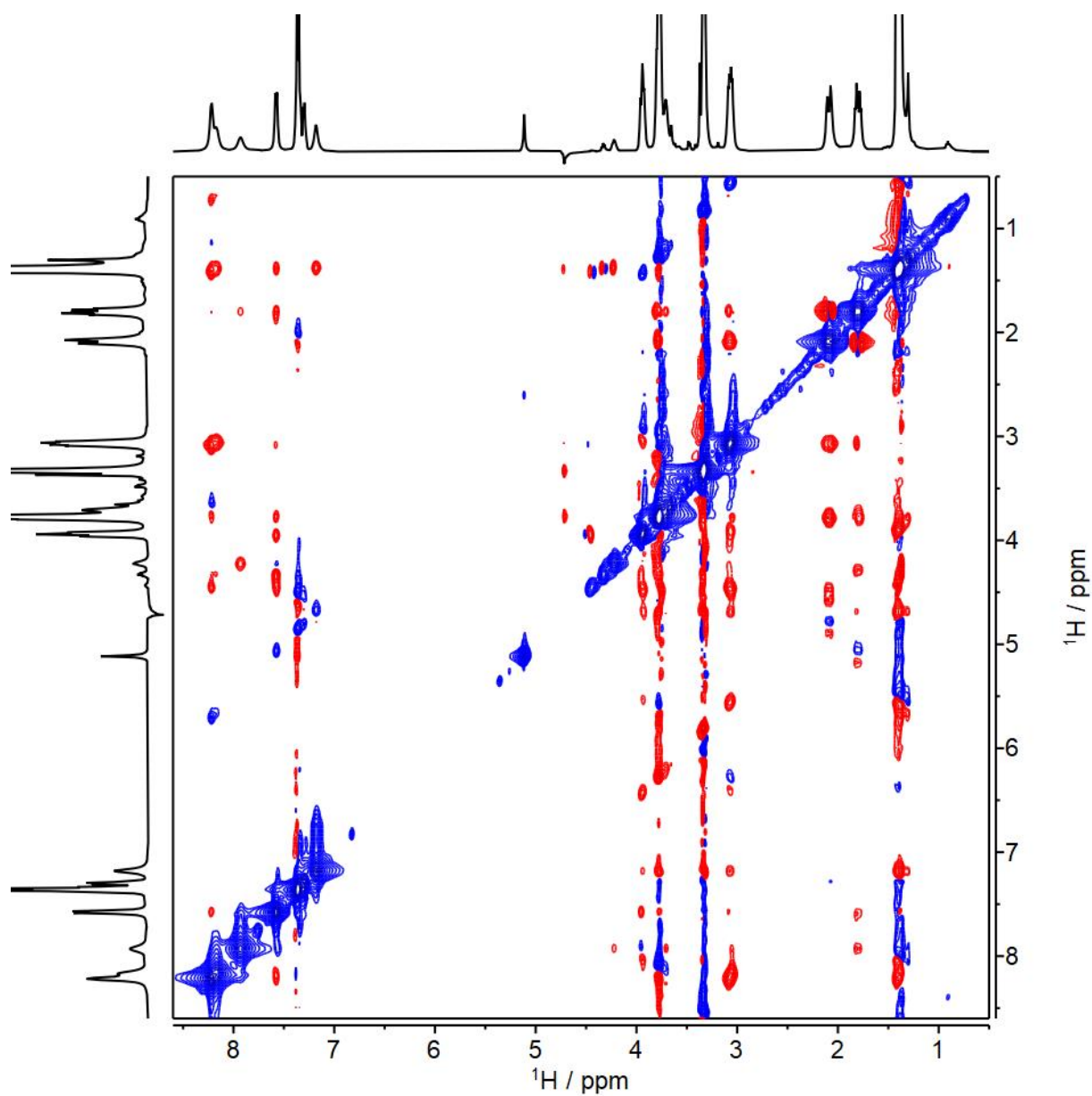


Figura 210. Espectro de NOESY del péptido 75c, $t_{\text{mix}} = 200$ ms (CD_3OH , 500 MHz, 318 K).

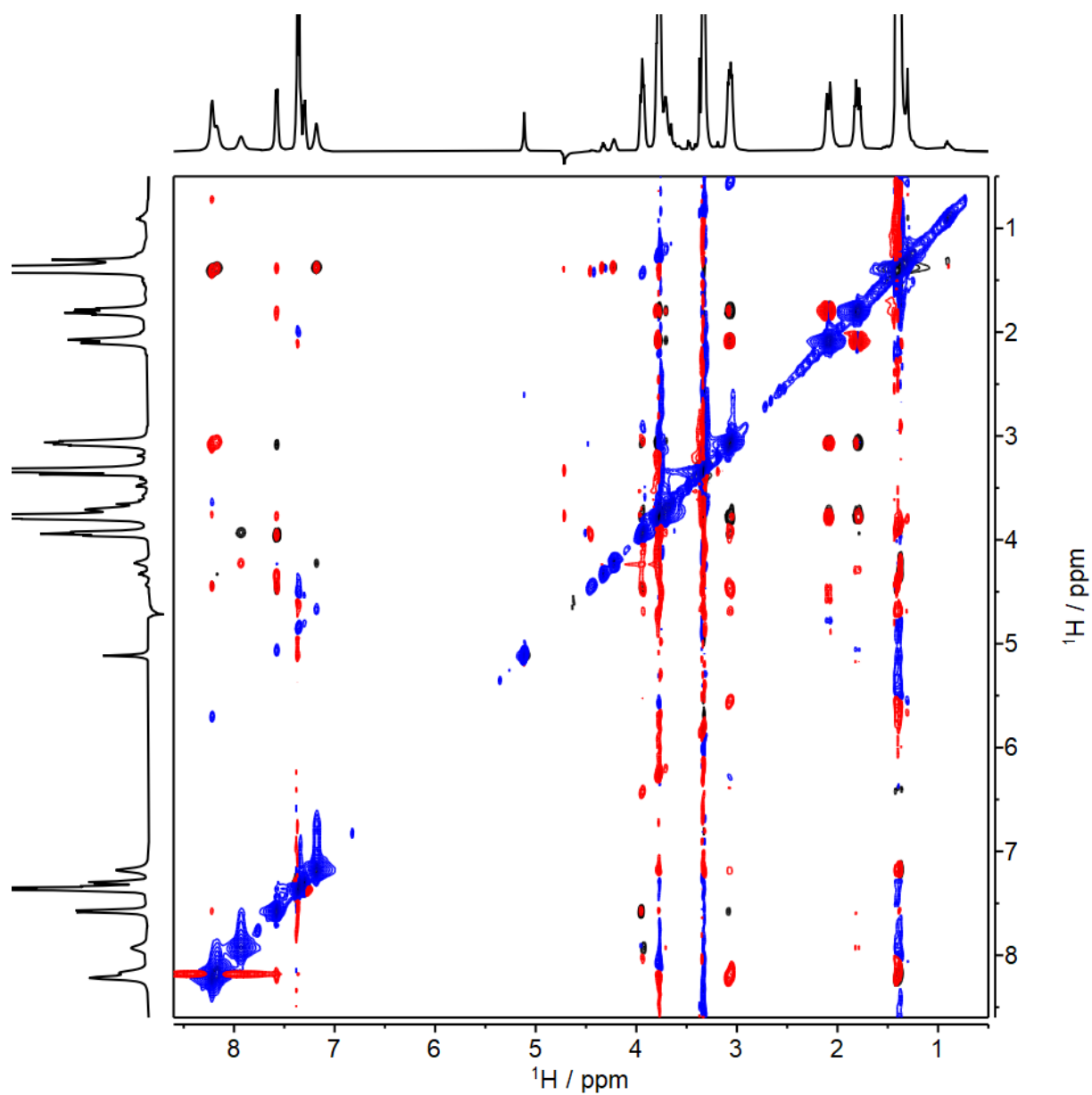
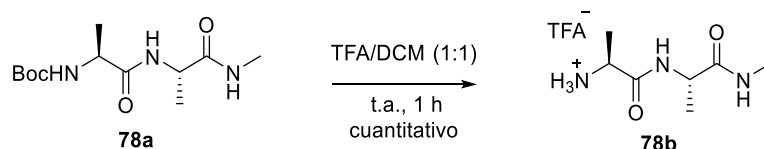


Figura 211. Superposición de los espectros NOESY (rojo/azul, t_{mix} 500 ms) y TOCSY (negro, t_{mix} 60 ms) del péptido 75c (CD_3OH , 500 MHz, 318 K).

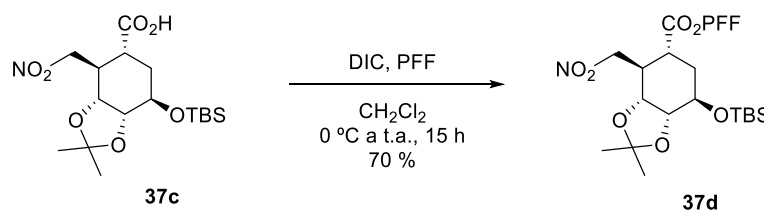
5.6 SÍNTESIS DE LOS HEXAPÉPTIDOS 81a, 81b Y 81c

5.6.1 Síntesis de la sal de ácido trifluoroacético de la (*S*)-2-amino-*N*-((*S*)-1-(metilamino)-1-oxopropan-2-il) propanamida (**78b**)



Se disuelve **78a** (300 mg, 1.10 mmol) en una mezcla TFA/H₂O 1:1 (3 mL) y se agitó a t.a. durante 1 h. Al cabo de ese tiempo se observó por ccf (AcOEt/Hex 1:2) la desaparición del producto de partida ($R_f = 0.5$) y la aparición de un producto de reacción ($R_f = 0.1$). La reacción se concentró a sequedad en el rotavapor, coevaporando con tolueno. Se obtuvo de esta forma la sal de ácido trifluoroacético de la (*S*)-2-amino-*N*-((*S*)-1-(metilamino)-1-oxopropan-2-il) propanamida (**78b**) (300 mg, 100 %) como un sólido blanco el cual se usó directamente en la siguiente reacción.

5.6.2 Síntesis del (3*aR*,4*R*,5*R*,7*R*,7*aR*)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetil-4-(nitrometil)hexahidrobenczo[*d*][1,3]dioxolo-5-carboxilato de pentafluorofenol (**37d**)



En un matraz de fondo redondo de 50 mL se disolvió el nitro ácido **37c** (0.50 g, 1.28 mmoles) en CH₂Cl₂ seco (30.0 mL). La disolución se enfrió a 0 °C y sobre ella se añadieron DIC (0.30 mL, 1.92 mmol, 1.5 eq) y PFF (0.71 g, 3.84 mmol, 3.0 eq). La reacción se agitó bajo argón durante 3 h a 0 °C y 12 h a t.a., tras las cuales se observó por ccf (AcOEt/Hex 1:2) la desaparición del producto de partida ($R_f = 0.3$) y la aparición de un producto de reacción más apolar ($R_f = 0.8$). El crudo de reacción se añadió sobre una disolución saturada de NaHCO₃ (20 mL), se decantó y la fase acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (3x15 mL). Los extractos orgánicos reunidos se secaron con Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a sequedad. Se obtuvo de este modo el (3*aR*,4*R*,5*R*,7*R*,7*aR*)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetil-4-(nitrometil)hexahidrobenczo[*d*][1,3]dioxolo-5-carboxilato de pentafluorofenol (**37d**) (0.50 g, 70%) como un sólido amorfo de aspecto blanquecino.

RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz, ppm): 0.13 (s, 6H, CH₃), 0.91 (s, 9H, (CH₃)₃), 1.38 (s, 3H, CH₃), 1.50 (s, 3H, CH₃), 2.07-2.20 (m, 2H, CH₂), 2.40-2.57 (m, 1H, CH), 3.14-3.32 (m, 1H, CH), 4.02-4.11 (m, 1H, CH), 4.24 (dd, $J = 9.2, 4.9$ Hz, 1H, CH), 4.31-4.39 (m, 1H, CH), 4.58-4.81 (m, 2H, CH₂).

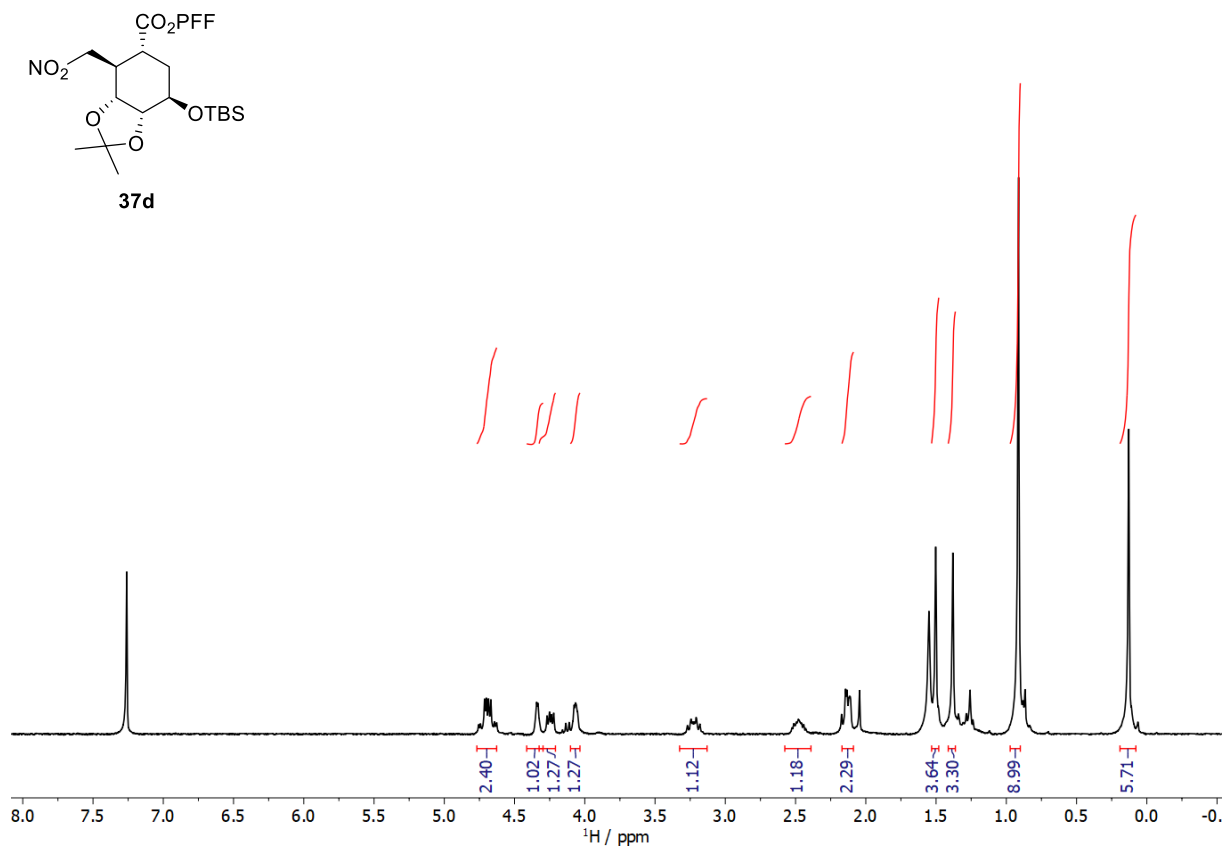
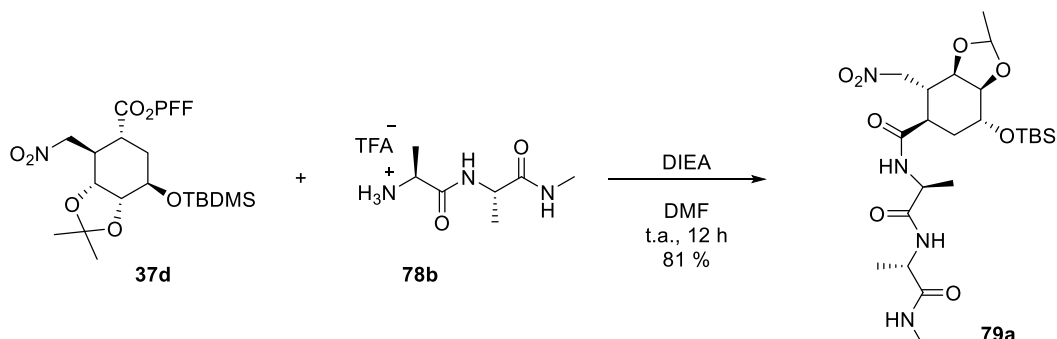


Figura 212. Espectro de RMN- ^1H del compuesto **37d**.

5.6.3 Síntesis de la (3aR,4R,5R,7R,7aR)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetil-*N*-((*S*)-1-(metilamino)-1-oxopropan-2-il)-4-(nitrometil)hexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxamida (**79a**)



En un matraz de fondo redondo de 50 mL se suspendió el trifluoroacetato **37d** (0.58 g, 1.04 mmol) en DMF seca (10 mL), se añadió DIEA (0.18 mL, 1.039 mmol, 1.1 eq) y se agitó bajo argón a t.a. hasta observar la disolución del soluto y comprobar que el pH era básico. Sobre esta disolución se añadió el compuesto **78b** (0.43 g, 0.77 mmol, 1.0 eq) y se mantuvo la agitación durante 12 h, al cabo de las cuales se comprobó por ccf (AcOEt) la desaparición del producto de partida ($R_f = 0.1$) y la aparición de un producto de reacción menos polar ($R_f = 0.4$). La mezcla resultante se añadió sobre salmuera (50 mL), se extrajo con AcOEt (3x25 mL) y las fases orgánicas reunidas se lavaron con H₂O (100 mL), se secaron con Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y concentraron a sequedad. El crudo obtenido se purificó mediante columna (AcOEt/Hex 1:2) para dar (0.46 g, 80%) de la (3aR,4R,5R,7R,7aR)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetil-*N*-((*S*)-1-(metilamino)-1-oxopropan-2-il)-4-(nitrometil)hexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxamida (**79a**) como un sólido amorfo.

$[\alpha]_D^{20}$: -2.46 (*c* 7.5, CHCl₃).

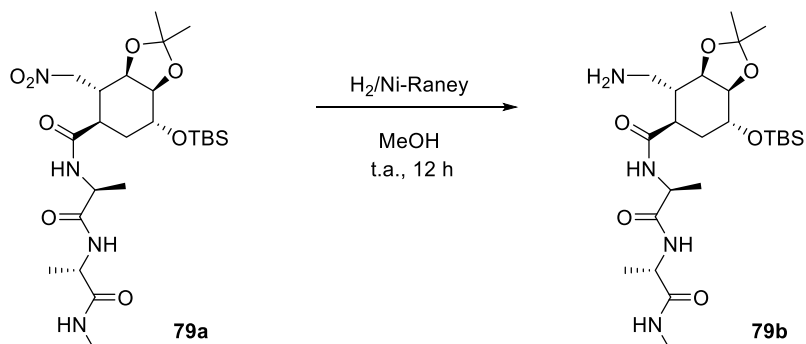
RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz, ppm): 0.09 (s, 6H, Si(CH₃)₂), 0.89 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 1.32–1.44 (m, 9H, 3xCH₃), 1.50 (s, 3H, CH₃), 1.76 (d, $J = 13.8$ Hz, 1H, CH-H), 2.03 (d, $J = 6.1$ Hz, 1H, CH-H), 2.39 (t, $J = 10.3$ Hz, 1H, CH), 2.60 (t, $J = 10.8$ Hz, 1H, CH), 2.82 (d, $J = 4.5$ Hz, 3H, NCH₃), 4.03 (m, 1H, CH-N), 4.18 (dd, $J = 9.3, 4.9$ Hz, 1H, CH-O), 4.26 (m, 1H, CH-N), 4.38–4.48 (m, 2H, CH₂-NO₂), 4.52 (dd, $J = 16.8, 8.6$ Hz, 1H, CH-O), 4.68 (dd, $J = 12.3, 4.0$ Hz, 1H, CH-O), 6.10 (s, 1H, NH), 6.32 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H, NH), 6.65 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H, NH).

RMN-¹³C (CDCl₃, 300 MHz, ppm): -5.02 (SiCH₃), -4.85 (SiCH₃), 18.01 (SiC_c), 18.96 (SiC(CH₃)₃), 19.19 (CH₃), 25.72 (C_c(CH₃)₂), 26.25 (CH₃), 26.37 (CH₃), 28.16 (NCH₃), 33.39 (CH₂), 38.59 (OCH), 41.07 (OCH), 48.88 (OCH), 67.28 (NCH), 74.07 (NCH), 75.47 (NCH₂), 77.17 (NCH), 109.51 (C_c), 172.00 (2xC=O), 172.82 (C=O).

IR (ν, cm⁻¹): 3306 (Amida A), 1734 (C=O), 1687 (C=O), 1660 (C=O) y 1531 (Amida II).

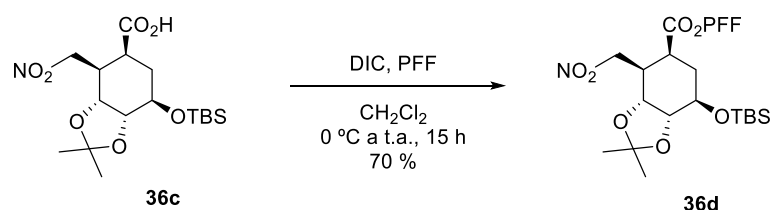
EMAR (ESI⁺): Calculado para C₂₄H₄₅N₄O₈Si [M+H]⁺, 545.2972; encontrado para 545.3014.

5.6.4 Síntesis de la (3aR,4R,5R,7R,7aR)-4-(aminometil)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetil-*N*-((*S*)-1-(((*S*)-1-(metilamino)-1-oxopropan-2-yl)amino)-1-oxopropan-2-il)hexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxamida (**79b**)



En un matraz de fondo redondo de 50 mL se disolvió el péptido **79a** (0.14 g, 0.25 mmol) en MeOH (25 mL). La disolución se desoxigenó bajo atmósfera de argón y después se añadió Ni-Raney 1% (1.25 ml, 10% en peso). La mezcla resultante se agitó bajo atmósfera de hidrógeno a t.a. durante 12 h, tras las cuales se observó por ccf (AcOEt) la desaparición del producto de partida ($R_f = 0.3$) y la aparición de un producto más polar ($R_f = 0.1$). La suspensión se filtró sobre Celita, se lavó con MeOH (3x15 mL) y el filtrado se eliminó a vacío en el rotavapor para dar lugar a la amina **79b** como un sólido blanco que se utilizó directamente en la siguiente reacción, sin mayor purificación.

5.6.5 Síntesis del (3aR,4R,5S,7R,7aR)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetil-4-(nitro-metil)hexahidrobenczo[*d*][1,3]dioxolo-5-carboxilato de pentafluorofenol (37d)



En un matraz de fondo redondo de 50 mL se disolvió el nitroéster **36c** (0.50 g, 1.28 mmoles) en CH₂Cl₂ seco (30 mL). La disolución se enfrió a 0 °C y sobre ella se añadieron DIC (0.30 mL, 1.92 mmol, 1.5 eq) y PFF (0.71 g, 3.84 mmol, 3.0 eq). La reacción se agitó bajo argón durante 3 h a 0 °C y 12 h a t.a., tras las cuales se observó por ccf (AcOEt/Hex 1:2) la desaparición del producto de partida ($R_f = 0.3$) y la aparición de un producto de reacción menos polar ($R_f = 0.8$). El crudo de reacción se añadió sobre una disolución saturada de NaHCO₃ (20 mL), se decantó y la fase acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (3x15 mL). Los extractos orgánicos reunidos se secaron con Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a sequedad. Se obtuvo de este modo el (3aR,4R,5S,7R,7aR)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetil-4-(nitro-metil)hexahidrobenczo[*d*][1,3]dioxolo-5-carboxilato de pentafluorofenol (**37d**) (0.53 g, 75%) como un sólido amorfo de color blanco.

RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz, ppm): 0.07 (s, 3H, CH₃), 0.10 (s, 3H, CH₃), 0.82 (s, 9H, (CH₃)₃), 1.36 (s, 3H, CH₃), 1.52 (s, 3H, CH₃), 2.09-2.32 (m, 2H, CH₂), 2.69-2.86 (m, 1H, CH), 3.18-3.35 (m, 1H, CH), 4.02-4.15 (m, 1H, CH), 4.14-4.27 (m, 1H, CH), 4.33-4.46 (m, 1H, CH), 4.59-4.86 (m, 2H, CH₂).

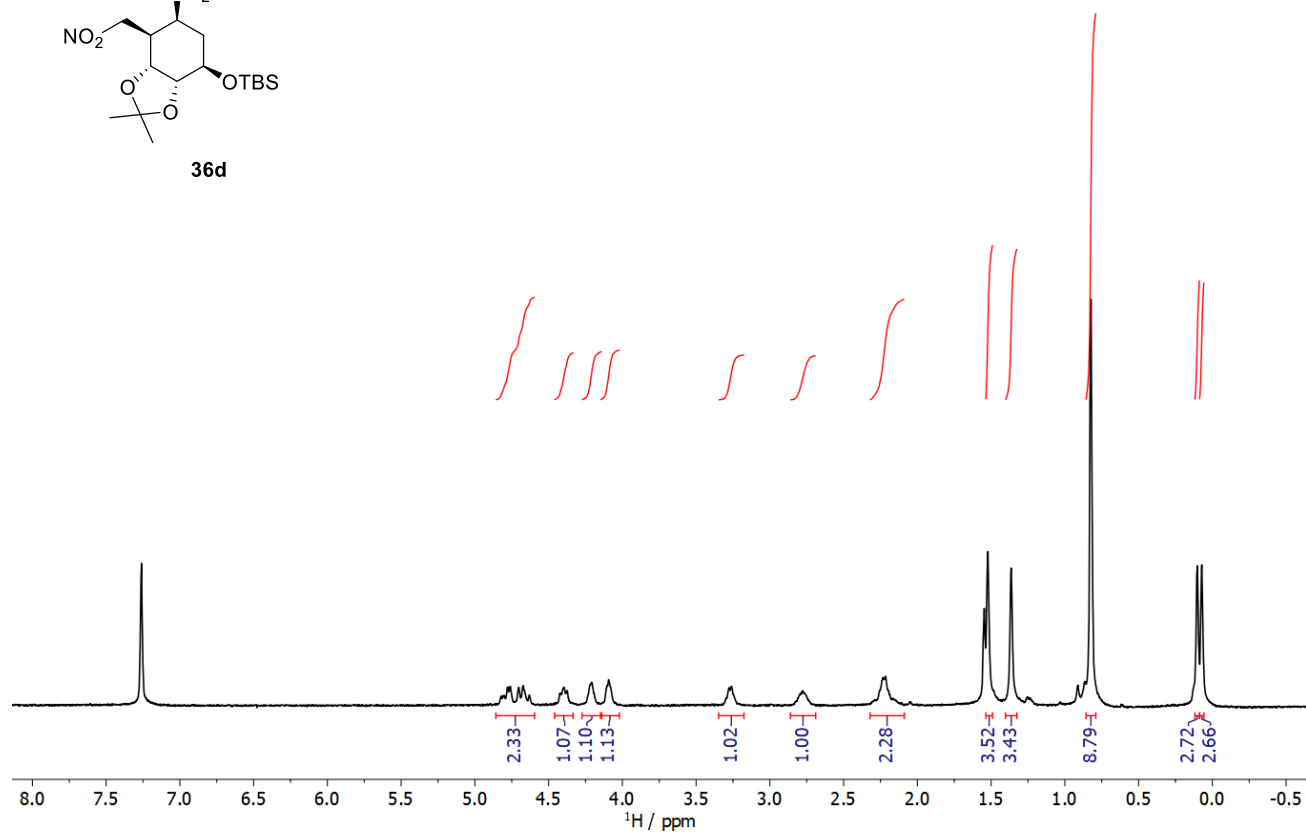
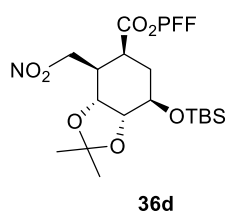
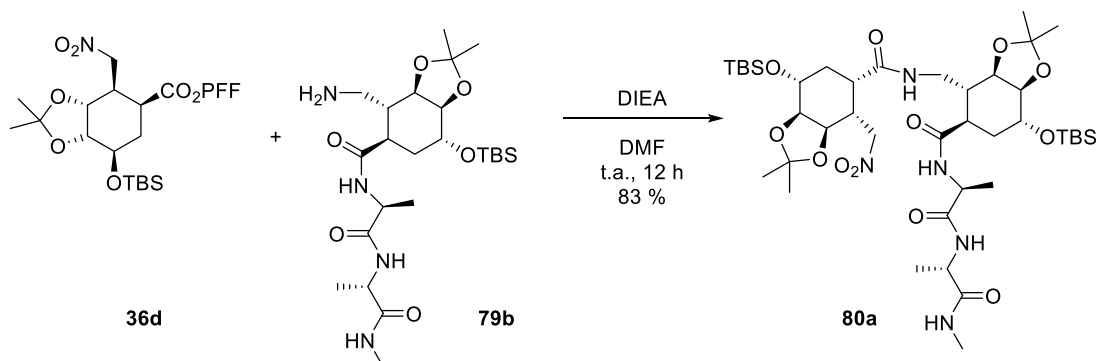


Figura 214. Espectro de RMN-¹H del compuesto 36d.

5.6.6 Síntesis de la (3aR,4R,5R,7R,7aR)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-4-(((3aR,4R,5S,7R,7aR)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetil-4-(nitrometil)hexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxamido)metil)-2,2-dimetil-*N*-((*S*)-1-(metilamino)-1-oxopropan-2-il)hexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxamida (80a)



En un matraz de fondo redondo de 25 mL se disolvió el tripéptido **79b** (0.16 g, 0.31 mmol) en DMF seca (3 mL), se añadió DIEA (0.065 mL, 0.37 mmol, 1.2 eq) y se agitó bajo argón a t.a. hasta comprobar que el pH era básico. Sobre esta disolución se añadió el compuesto **36d** (0.19 g, 0.34 mmol, 1.1 eq) y se mantuvo la agitación durante 12 h, al cabo de las cuales se comprobó por ccf (AcOEt) la desaparición del producto de partida ($R_f = 0.1$) y la aparición de un producto de reacción menos polar ($R_f = 0.3$). La mezcla resultante se diluyó con AcOEt (20 mL), se lavó con disolución acuosa saturada de cloruro amónico (2x25 mL) y con H₂O (2x75 mL). La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró y concentró a sequedad. El crudo así obtenido se purificó por cromatografía en columna (AcOEt), para dar lugar la (3aR,4R,5R,7R,7aR)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-4-(((3aR,4R,5S,7R,7aR)-7-((*tert*-butildime-tilsilil)oxi)-2,2-dimetil-4-(nitrometil)hexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxamido)metil)-2,2-dimetil-*N*-((*S*)-1-(metilamino)-1-oxopropan-2-il)hexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxamida (**80a**) (0.228 g, 83 %) como un sólido amorfo de color blanco.

$[\alpha]_D^{24}$: +10.4 (*c* 2.1, CHCl₃).

RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz, ppm): 0.05 (s, 3H, SiCH₃), 0.08 (s, 3H, SiCH₃), 0.09 (s, 3H, SiCH₃), 0.11 (s, 3H, SiCH₃), 0.86 (s, 9H, C(CH₃)₃), 0.89 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.32 (6H, 2xCH₃), 1.38 (6H, 2xCH₃), 1.46 (s, 3H, CH₃), 1.49 (3H, CH₃), 1.56–1.81 (m, 2H, CH₂), 1.96 (t, *J* = 11.5 Hz, 3H, CH₂ + CH), 2.37–2.53 (m, 1H, COCH), 2.65 (p, *J* = 7.1 Hz, 1H, COCH), 2.79 (d, *J* = 4.5 Hz, 4H, NCH₃ + CH), 3.13–3.44 (m, 2H, NCH₂), 3.82–4.15 (m, 4H, 4xCH), 4.22 (s, 1H, CH), 4.36 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, CH), 4.50 (q, *J* = 6.7 Hz, 2H, 2xCH), 4.60 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H, NCH₂), 6.82 (s, 1H, NH), 6.85 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H, NH), 6.99 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, NH), 7.52 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H, NH).

RMN-¹³C (CDCl₃, 75 MHz, ppm): -4.9 (CH₃), -4.8 (CH₃), -4.6 (CH₃), -4.5 (CH₃), 18.1 (C), 18.2 (C), 18.8 (CH₃), 19.2 (CH₃), 25.4 (CH₃), 25.9 (6xCH₃), 26.3 (CH₃), 26.4 (CH₃), 27.8 (CH₃), 28.4 (CH₃), 31.4 (CH₂), 32.5 (CH₂), 38.1 (CH), 39.3 (CH), 39.7 (2xCH), 41.4 (CH), 48.9 (NCH₂), 49.4 (CH), 67.9 (CH), 70.2 (CH), 73.6 (CH), 75.0 (NCH₂), 76.7 (CH), 77.6 (CH), 79.7 (CH), 108.9 (C), 109.2 (C), 172.1 (C=O), 172.8 (C=O), 173.3 (C=O), 174.7 (C=O).

IR (v, cm⁻¹): 3301 (Amida A), 1630 (Amida I) y 1553 (Amida II).

EMAR (ESI⁺): Calculado para C₄₁H₇₆N₅O₁₂Si₂ [M+H]⁺, 886.5020; encontrado 886.5024.

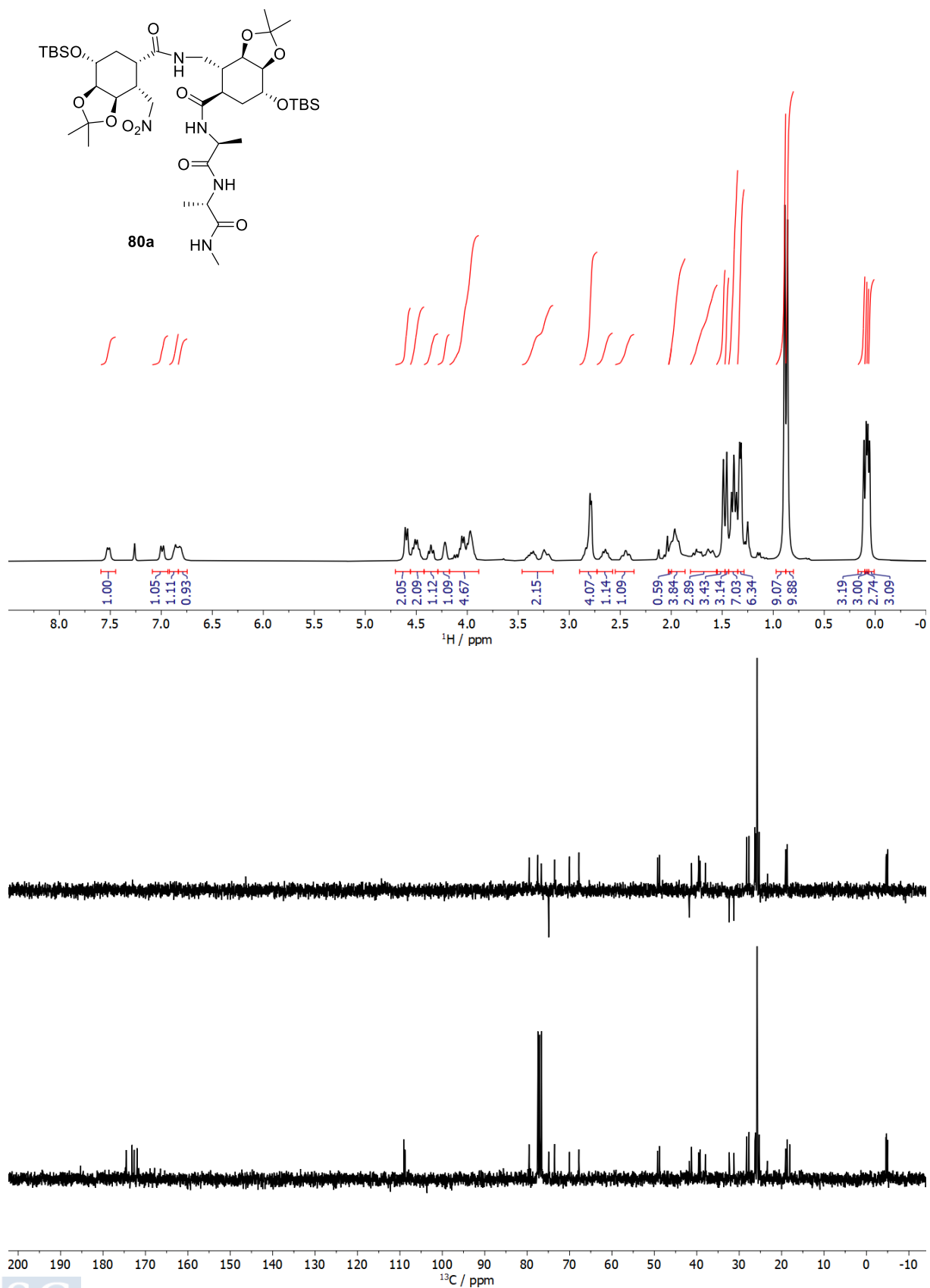
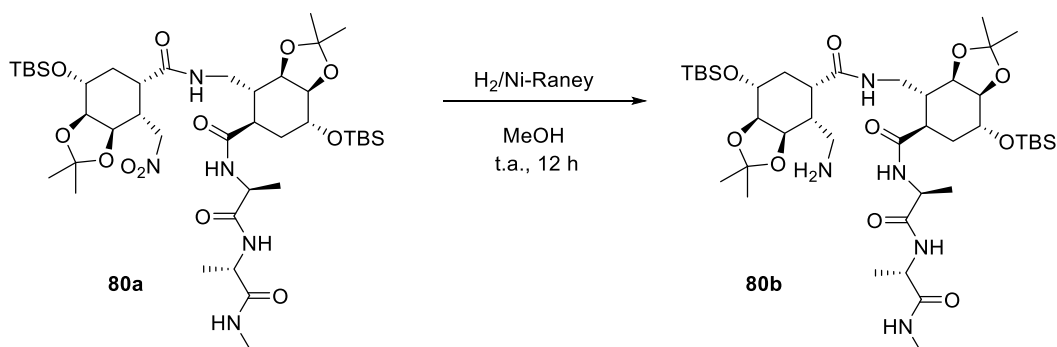


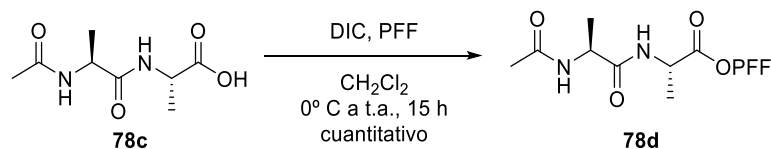
Figura 215. Espectro de RMN- ^1H y de RMN- ^{13}C y DEPT del compuesto **80a**.

5.6.7 Síntesis de la (3aR,4R,5S,7R,7aR)-4-(aminometil)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-N-(((3aR,4R,5R,7R,7aR)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetil-5-(((*S*)-1-(((*S*)-1-(metilamino)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)carbamoil)hexahidrobenczo[*d*][1,3]dioxol-4-il)metil)-2,2-dimetilhexahidrobenczo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxamida (80b)



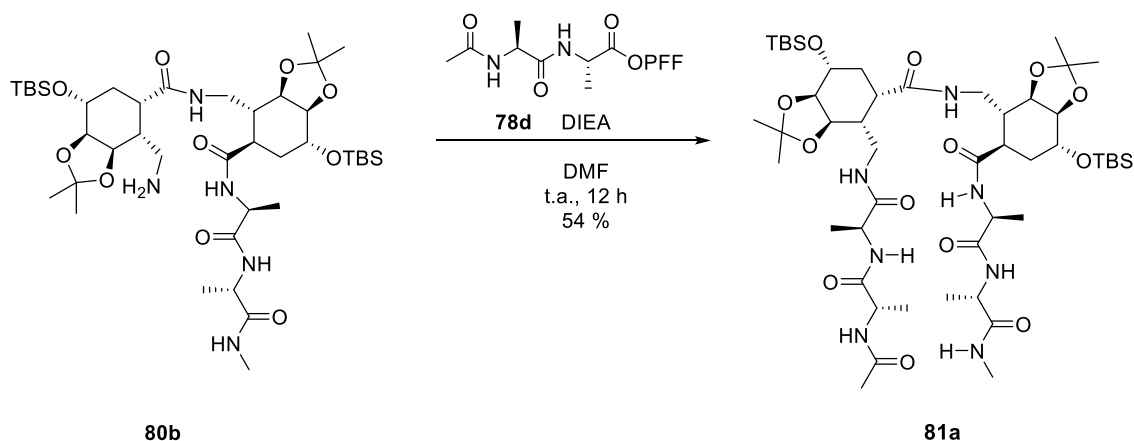
En un matraz de fondo redondo de 10 mL se disolvió el péptido **80a** (0.055 g, 0.062 mmoles) en MeOH (0.31 mL). La disolución se desoxigenó bajo atmósfera de argón y después se añadió Ni-Raney 1% (0.06 ml, 10% en peso). La mezcla resultante se agitó bajo atmósfera de hidrógeno a t.a. durante 12 h, tras las cuales se observó por ccfc (AcOEt) la desaparición del producto de partida ($R_f = 0.3$) y la aparición de un producto más polar ($R_f = 0.1$). La suspensión se filtró sobre Celita, se lavó con MeOH (3x10 mL) y el filtrado se eliminó a vacío en el rotavapor para dar lugar a la amina **80b** como un sólido blanco que se utilizó directamente en la siguiente reacción.

5.6.8 Síntesis del (*S*)-2-acetamido-*N*-((*S*)-1-((difluorofosfaneil)oxi)-1-oxopropan-2-il)propanamida (**78d**)



En un matraz de fondo redondo de 50 mL se disolvió el ácido comercial (**78c**) (0.10 g, 0.50 mmoles) en CH₂Cl₂ seco (3.9 mL), se enfrió a 0 °C y se añadieron DIC (0.12 mL, 0.742 mmol, 1.5 eq) y pentafluorofenol (0.137 g, 0.742 mmol, 1.5 eq). La reacción se agitó bajo argón 3 h a 0 °C y 12 h a t.a., tras las cuales se observó por ccf (AcOEt) la desaparición del producto de partida ($R_f = 0.1$) y la aparición de un producto de reacción menos polar ($R_f = 0.4$). El crudo de reacción se añadió sobre una disolución saturada de NaHCO₃ (40 mL), se decantó y la fase acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (3x20 mL). Las fases orgánicas reunidas se secaron con Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a sequedad para dar lugar al (*S*)-2-acetamido-*N*-((*S*)-1-((difluorofosfaneil)oxi)-1-oxopropan-2-il)propanamida (**78d**) como un sólido blanco (rendimiento cuantitativo), que se utilizó en la siguiente reacción sin mayor purificación.

5.6.9 Síntesis de la (3aR,4R,5S,7R,7aR)-4-(((S)-2-((S)-2-acetamidopropanamido)propanamido)metil)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-N-(((3aR,4R,5R,7R,7aR)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetil-5-(((S)-1-(((S)-1-(metilamino)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)carbamoil)hexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-4-il)metil)-2,2-dime-tilhexaidrobenzo[*d*][1,3]dioxole-5-carboxamida (81a**)**



En un matraz de fondo redondo de 25 mL se disolvió el tetrapéptido **80b** (150 mg, 0.18 mmol) en DMF seca (2.5 mL), se añadió DIEA (0.06 mL, 0.44 mmol, 2.5 eq) y se agitó bajo argón a t.a. hasta comprobar que el pH era básico. Sobre esta disolución se añadió el éster de pentafluorofenol **78d** (0.12 g, 0.27 mmol, 1.5 eq) y se mantuvo la agitación durante 12 h. Pasadas las cuales la mezcla resultante se diluyó con AcOEt (50 mL), se lavó con una disolución acuosa saturada de cloruro amónico (2x40 mL) y con H₂O (40 mL), se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a sequedad. El crudo de reacción así obtenido se purificó por cromatografía en columna (CH₂Cl₂/MeOH 95:5), para dar lugar la (3aR,4R,5S,7R,7aR)-4-(((S)-2-((S)-2-acetamidopropanamido)propanamido)metil)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-N-(((3aR,4R,5R,7R,7aR)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetil-5-(((S)-1-(((S)-1-(metilamino)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)carbamoil)hexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-4-il)metil)-2,2-dimetilhexaidrobenzo[*d*][1,3]dioxole-5-carboxamida **81a** (100 mg, 54 %) como un sólido blanco amorfo.

$[\alpha]_D^{20}$: +6.21 (*c* 1.0, CHCl₃).

RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz, ppm): 0–0.12 (m, 1H, Si(CH₃)₂), 0.83 (m, 1H, C(CH₃)₃), 0.89 (m, 9H, C(CH₃)₃), 1.31 (m, 3H, CH₃), 1.38 (m, 3H, CH₃), 1.39 (m, 6H, 2xCH₃), 1.43 (m, 3H, CH₃), 1.44 (m, 3H, CH₃), 1.45 (m, 3H, CH₃), 1.51 (m, 1H, CH₃), 1.66 (m, 1H, H ζ), 1.75 (m, 1H, H ζ), 2.04 (m, 1H, H ζ), 2.04 (m, 1H, H ζ), 1.95 (m, 1H, H β), 2.10 (m, 1H, H β), 2.13 (m, 3H, CH₃), 1.75 (m, 1H, H α), 2.61 (m, 1H, H α), 2.71 (m, 1H, H α), 2.76 (m, 1H, H γ (ω)), 2.81 (m, 1H, CH₃), 3.16 (m, 1H, H γ (ω)), 3.64 (m, 1H, H γ (ω)), 3.74 (m, 1H, H ϵ), 3.98 (m, 1H, H γ), 3.98 (m, 1H, H ϵ), 4.06 (m, 1H, H γ), 4.17 (m, 1H, H δ), 4.26 (m, 1H, H δ), 4.28 (m, 1H, H γ (ω)), 4.95 (m, 1H, H α), 5.05 (m, 1H, H α), 5.26 (m, 1H, H α), (m, 1H, H α), 5.28 (m, 1H, H α), 7.31 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, NH), 7.70 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, NH), 7.83 (s, 1H, NH), 8.01 (s, 1H, NH), 8.18 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, NH), 8.27 (s, 1H, NH), 8.84 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, NH).

IR (v, cm⁻¹): 3288 (Amida A), 1633 (Amida I), 1547 (Amida II) y 1535 (Amida II).

EMAR (ESI⁺): Calculado para C₄₉H₈₉N₇NaO₁₃Si₂, 1062.5948; encontrado 1062.5949.

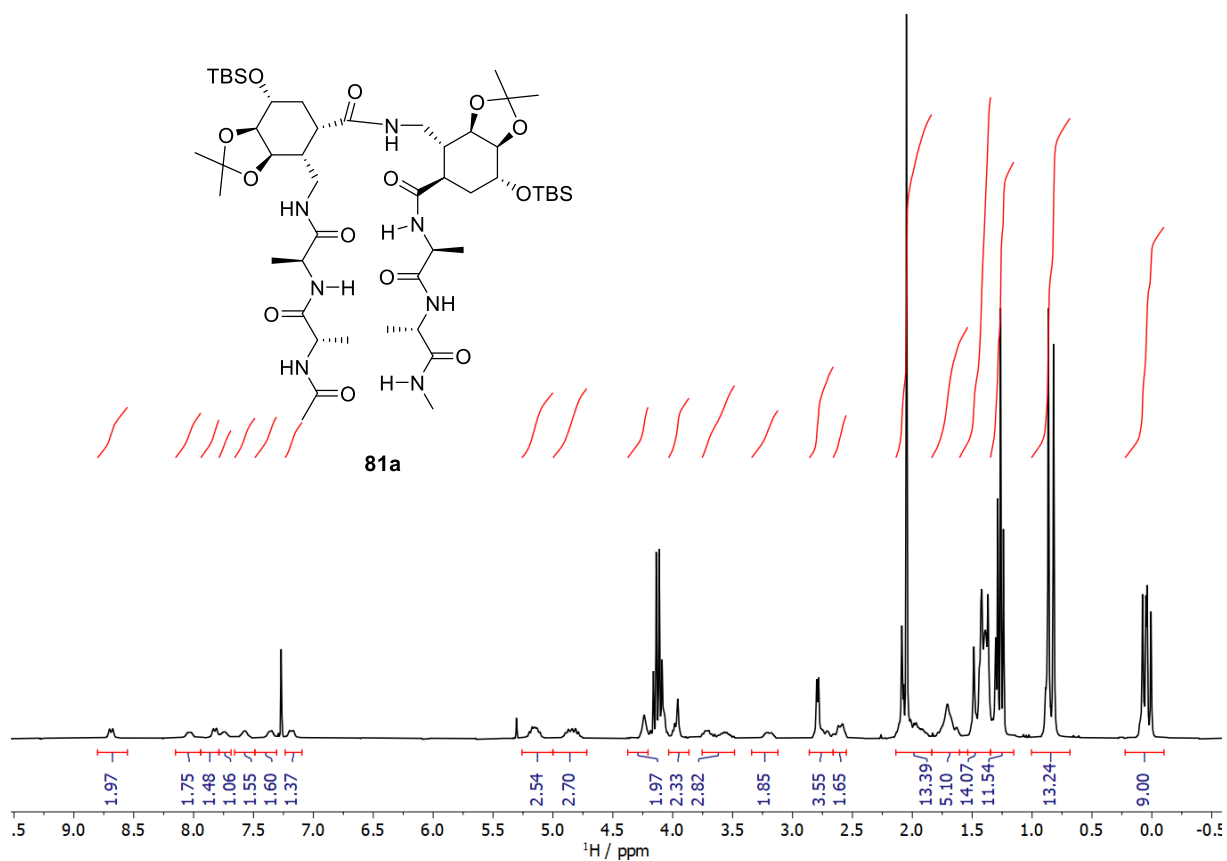
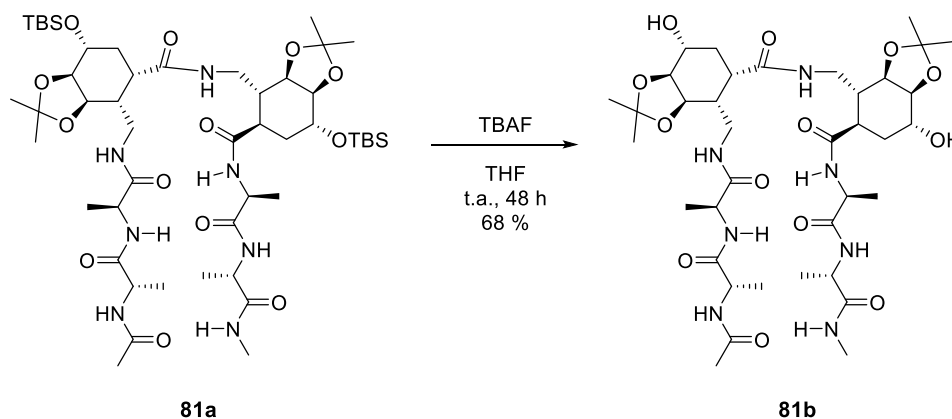


Figura 216. Espectro de RMN- ^1H del compuesto **81a**.

5.6.10 Síntesis de la (3aR,4R,5S,7R,7aS)-4-(((S)-2-acetamidopropanamido)metil)-7-hidroxi-N-(((3aR,4R,5R,7R,7aS)-7-hidroxi-2,2-dimetil-5-(((S)-1-(metilamino)-1-oxopropan-2-il)carbamoyl)hexahidrobencod[1,3]dioxol-4-il)metil)-2,2-dimetilhexahidrobencod[1,3]dioxol-5-carboxamida (81b)



En un matraz de fondo redondo de 1 mL se disolvió el tetrapéptido **81a** (0.024 g, 0.023 mmol) en THF seco (0.577 mL), se añadió TBAF (1 M en THF) (0.05 mL, 0.05 mmol, 2.2 eq) y se agitó a t.a. durante 48 h. Al cabo de este tiempo se comprobó por ccf ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 10:1) la desaparición del producto de partida ($R_f = 0.5$) y la aparición de un producto de reacción más polar ($R_f = 0.3$). La reacción se concentró a sequedad y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 10:1), obteniéndose el tetrapéptido (3aR,4R,5S,7R,7aS)-4-(((S)-2-acetamidopropanamido)metil)-7-hidroxi-N-(((3aR,4R,5R,7R,7aS)-7-hidroxi-2,2-dimetil-5-(((S)-1-(metilamino)-1-oxopropan-2-il)carbamoyl)hexahidrobencod[1,3]dioxol-4-il)metil)-2,2-dimetilhexahidrobencod[1,3]dioxol-5-carboxamida (**81b**) (0.013 g, 68 %) como un sólido blanco.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: 7.72 (c 1.0, MeCN).

RMN-¹H (CDCl_3 , 300 MHz, ppm): 1.26 (s, 3H, CH_3), 1.32 (s, 3H, CH_3), 1.34 (s, 6H, $2 \times \text{CH}_3$), 1.73 (m, 2H, $2 \times \text{H}\zeta$), 1.81 (m, 1H, $\text{H}\beta$), 1.89 (m, 2H, $2 \times \text{H}\zeta$), 1.97 (m, 3H, CH_3), 2.21 (m, 1H, $\text{H}\beta$), 2.56 (m, 1H, $\text{H}\alpha$), 2.64 (m, 3H, CH_3), 2.75 (m, 1H, $\text{H}\alpha$), 2.8 (m, 1H, $\text{H}\gamma$ (ω)), 3.16 (m, 1H, $\text{H}\gamma$ (ω)), 3.31 (m, 1H, $\text{H}\gamma$ (ω)), 3.87 (H ϵ), 3.91 (m, 1H, $\text{H}\gamma$ (ω)), 4.07 (m, 1H, H ϵ), 4.08 (m, 1H, $\text{H}\alpha$), 4.10 (m, 1H, $\text{H}\gamma$), 4.10 (m, 1H, $\text{H}\delta$), 4.15 (m, 1H, $\text{H}\delta$), 4.16 (m, 1H, $\text{H}\gamma$), 4.21 (m, 1H, $\text{H}\alpha$), 4.25 (m, 1H, $\text{H}\alpha$), 4.25 (m, 1H, $\text{H}\alpha$), 4.83 (m, 1H, OH), 5.04 (m, 1H, OH), 6.67 (s, 1H, HN), 6.96 (s, 1H, HN), 6.98 (s, 1H, HN), 7.05 (s, 1H, HN), 7.10 (s, 1H, HN), 7.39 (s, 1H, HN), 7.69 (s, 1H, HN).

IR (ν , cm^{-1}): 3302 (Amida A), 1647 (Amida I) y 1543 (Amida II).

EMAR (ESI⁺): Calculado para $\text{C}_{37}\text{H}_{61}\text{N}_7\text{NaO}_{13}$, 834.4241; encontrado 834.4220.

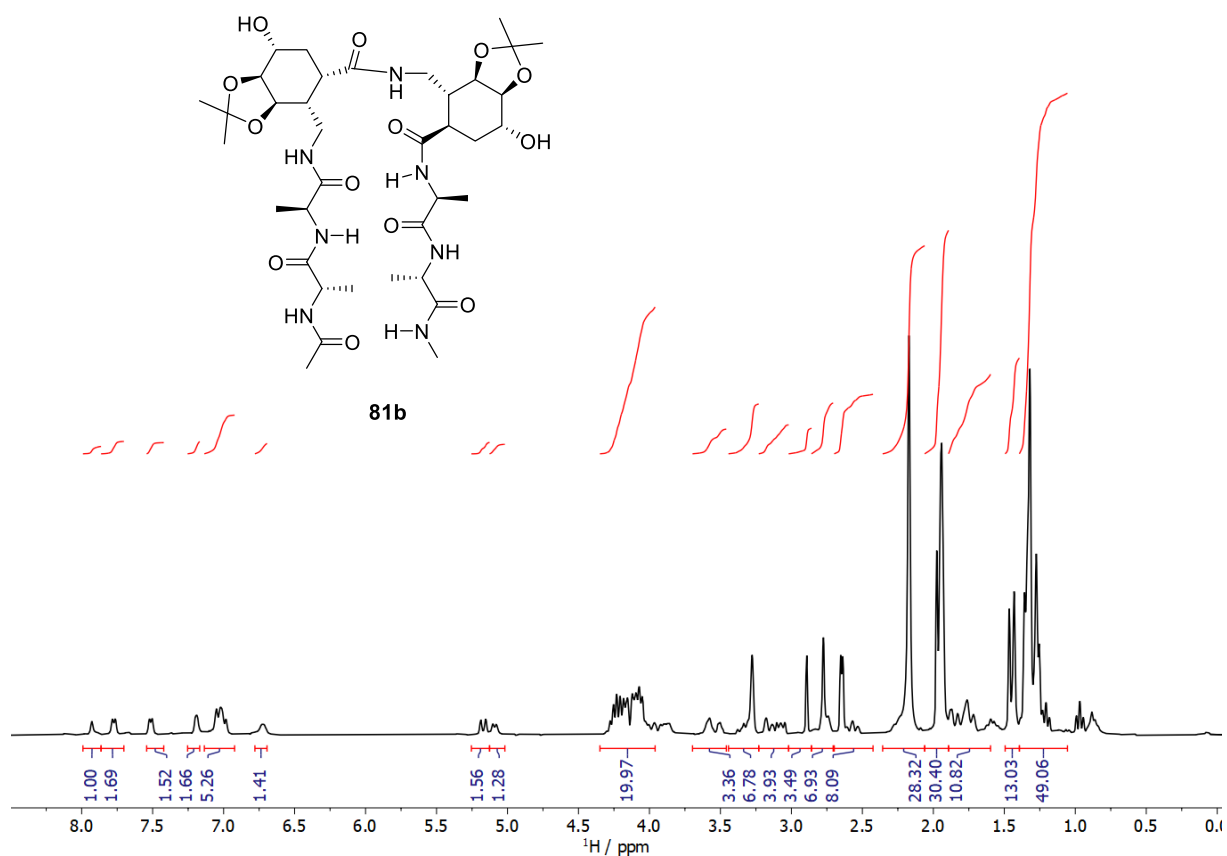
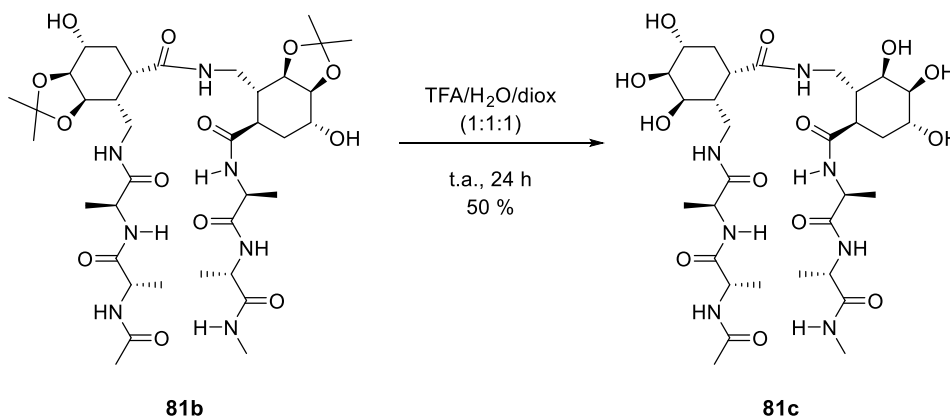


Figura 217. Espectro de RMN-¹H del compuesto **81b**.

5.6.11 Síntesis de la (1*S*,2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-2-(((*S*)-2-((*S*)-2-acetamidopropanamido)propanamido)metil)-3,4,5-trihidroxi-*N*-(((1*R*,2*R*,3*S*,4*R*,6*R*)-2,3,4-trihidroxi-6-(((*S*)-1-(((*S*)-1-(metilamino)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)carbamoil)ciclohexil)metil)ciclohexan-1-carboxamida (81c**)**



El hexapéptido **81b** (23 mg, 0.022 mmol) se disolvió en 3 mL de una mezcla TFA/H₂O/Diox (1:1:1) y se agitó a t.a. durante 24 h. Pasado este tiempo la mezcla se concentró a sequedad y el residuo obtenido se trituroó con hexano. Este residuo se purificó por HPLC para obtener 10 mg (50 % de rendimiento) de la (1*S*,2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-2-(((*S*)-2-((*S*)-2-acetamidopropanamido)propanamido)metil)-3,4,5-trihidroxi-*N*-(((1*R*,2*R*,3*S*,4*R*,6*R*)-2,3,4-trihidroxi-6-(((*S*)-1-(((*S*)-1-(metilamino)-1-oxopropan-2-il)amino)-1-oxopropan-2-il)carbamoil)ciclohexil)metil)ciclohexan-1-carboxamida (**81c**) como un sólido blanco.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: 8.24 (*c* 1.0, H₂O).

RMN-¹H (DMSO-*d*₆, 300 MHz, ppm): 1.18 (dd, *J* = 7.1, 3.8 Hz, 8H, 4xCH₃), 1.44 (dt, *J* = 21.5, 11.8 Hz, 2H, CH₂), 1.69 (d, *J* = 12.5 Hz, 2H, CH₂), 2.05 (s, 2H, COCH₃), 2.56 (d, *J* = 4.5 Hz, 2H, NCH₂), 2.79 (d, *J* = 12.2 Hz, 3H, NCH₂), 3.51 (m, 4H, 4xNCH), 3.74 (d, *J* = 11.7 Hz, 2H, 2xOCH), 4.13–4.34 (m, 4H, 4xOCH), 7.57 (s, 1H, NH), 7.73 (dd, *J* = 11.5, 6.5 Hz, 2H, NH), 7.94 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, NH), 8.05 (t, *J* = 8.2 Hz, 2H, NH).

IR (ν, cm⁻¹): 3278 (Amida A) 1624 (Amida I) y 1541 (Amida II).

EMAR (ESI⁺): Calculado para C₃₁H₅₄N₇O₁₃, 732.3776; encontrado 732.3774.

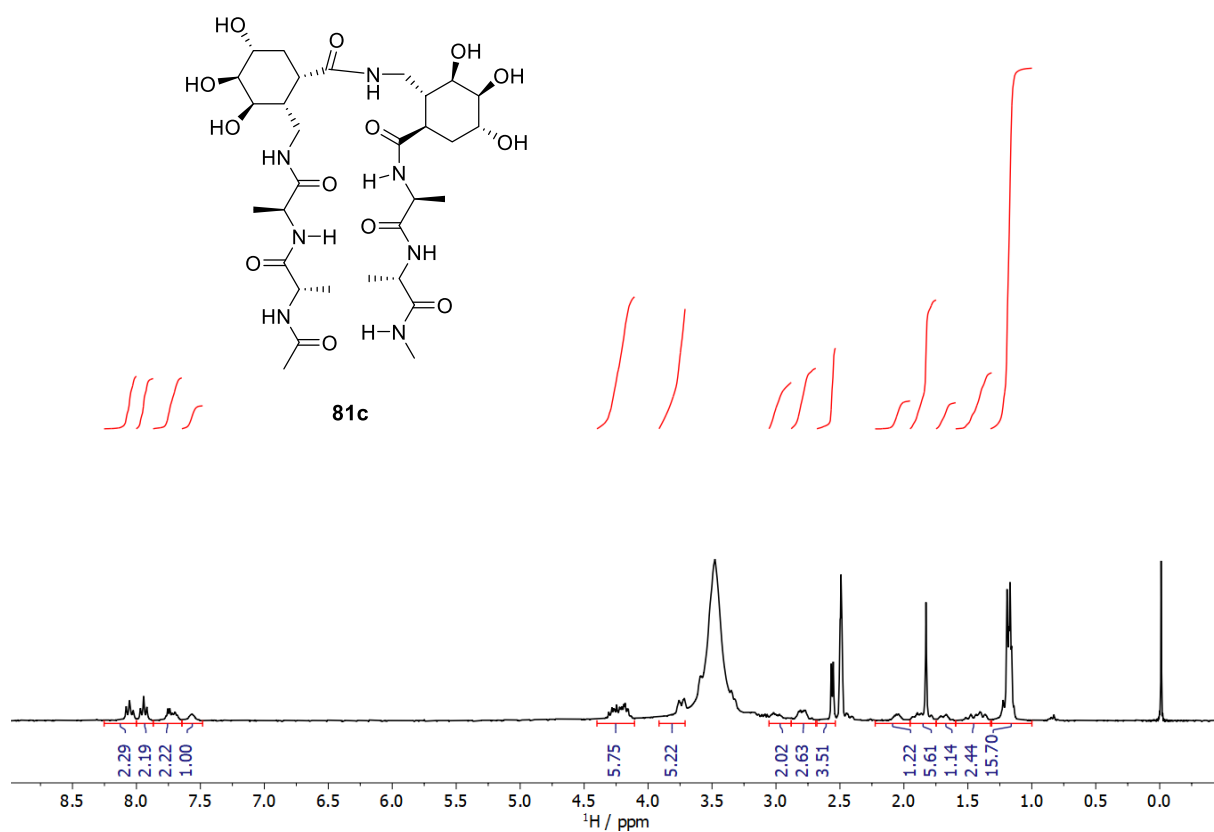


Figura 218. Espectro de RMN- ^1H del compuesto **81c**.

5.7 ANÁLISIS ESTRUCTURAL DE LOS HEXAPÉPTIDOS 81a, 81b Y 81c

5.7.1 Espectroscopía de infrarrojo de los hexapéptidos 81a, 81b y 81c

Compuesto	Amida A	Amida I	Amida II
81a (CHCl ₃)	3287	1633	1542
81b (MeCN)	3302	1648	1544
81b (H ₂ O)	3288	1643	1538
81c (H ₂ O)	3343	1657	1555

Tabla 40. Máximo (cm⁻¹) de las bandas características de Amida A, Amida I y Amida II para los compuestos 81a, 81b y 81c.

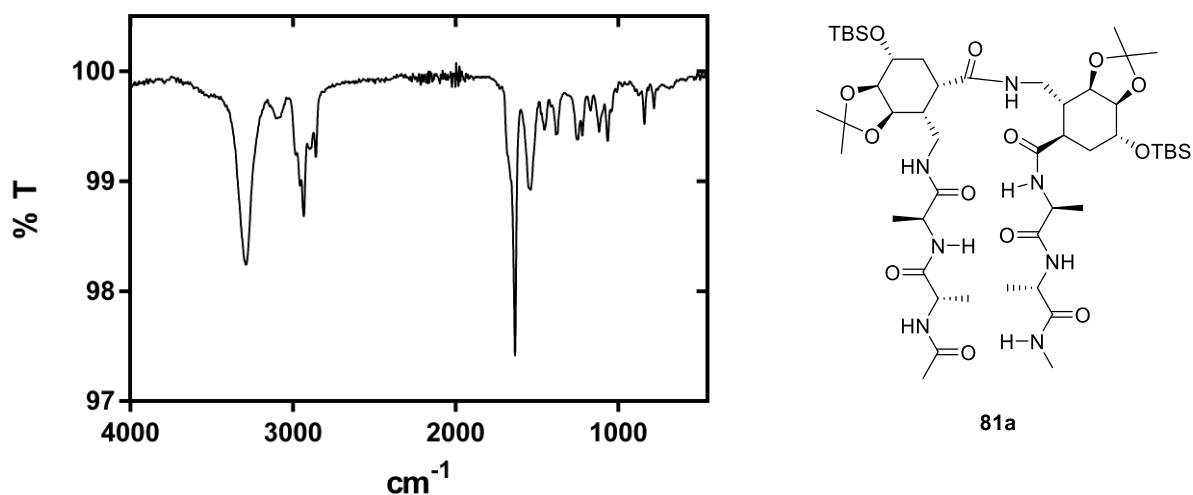


Figura 219. Espectro de FTIR del compuesto 81a en CHCl₃.

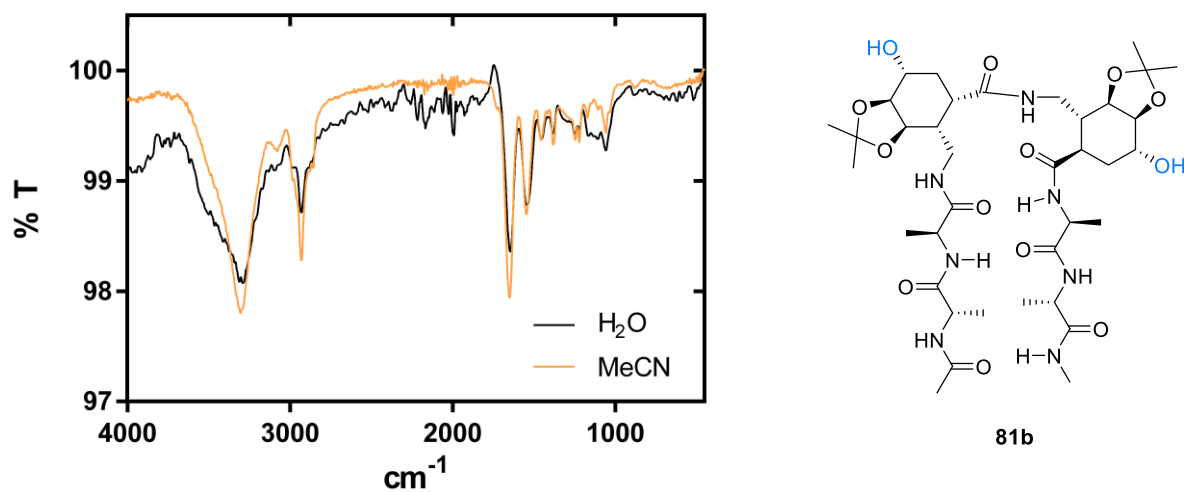


Figura 220. Espectro de FTIR del compuesto **81b** en MeCN (naranja) y H_2O (negro).

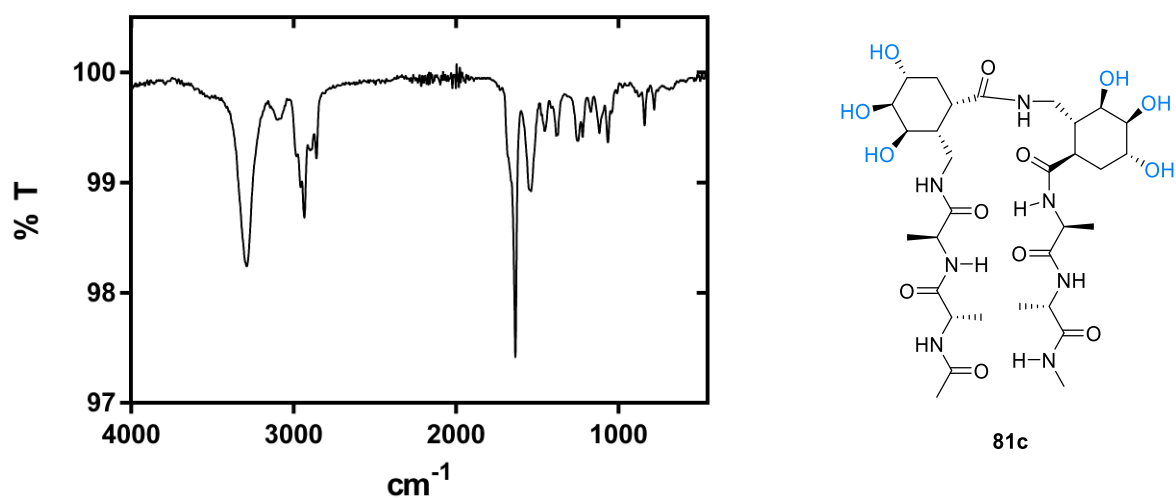
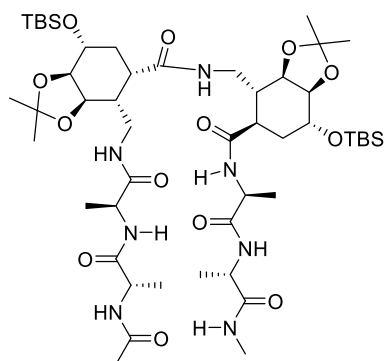


Figura 221. Espectro de FTIR del compuesto **81c** en H_2O .

5.7.2 Espectroscopía de Dicroísmo Circular de los hexapéptidos 81a, 81b y 81c



81a

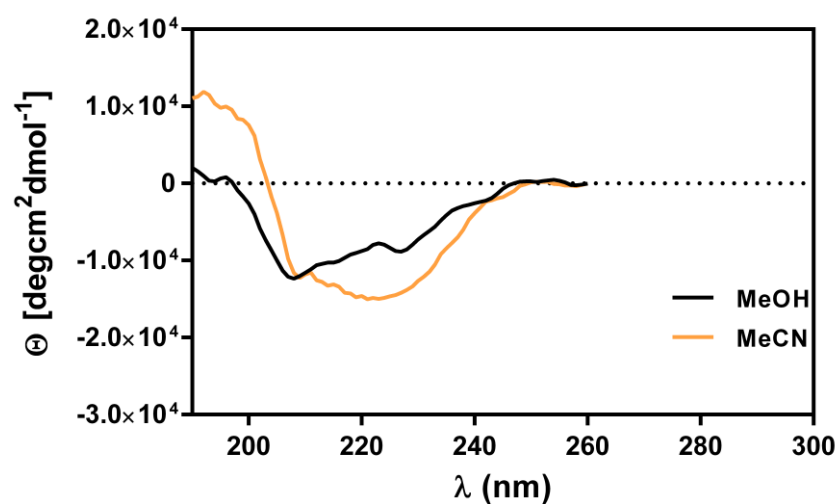
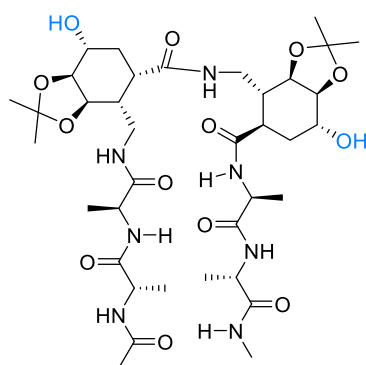


Figura 222. Dicroísmo Circular del péptido **81a**, en MeOH (negro), MeCN (naranja) a 25 °C y a una concentración 1 mM.



81b

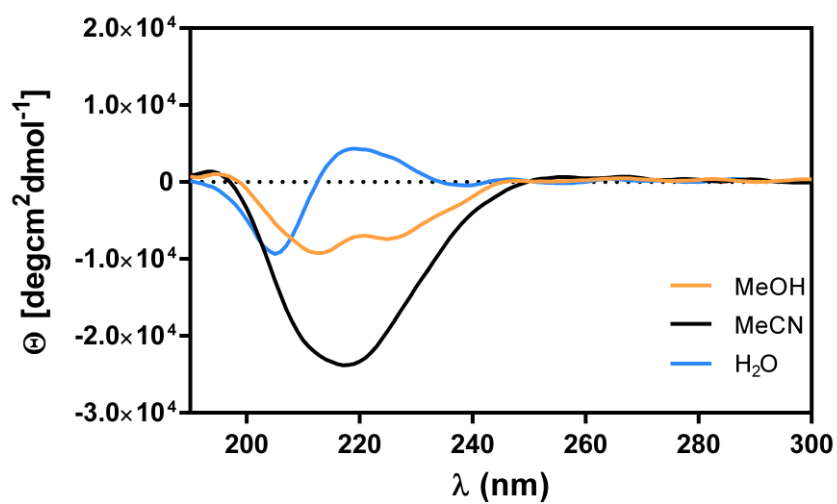
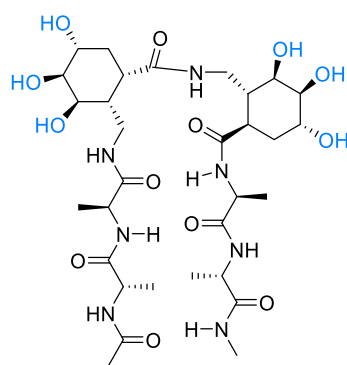


Figura 223. Dicroísmo Circular del péptido **81a**, en MeOH (naranja), MeCN (negro) y agua (azul) a 25 °C y a una concentración 1 mM.



81c

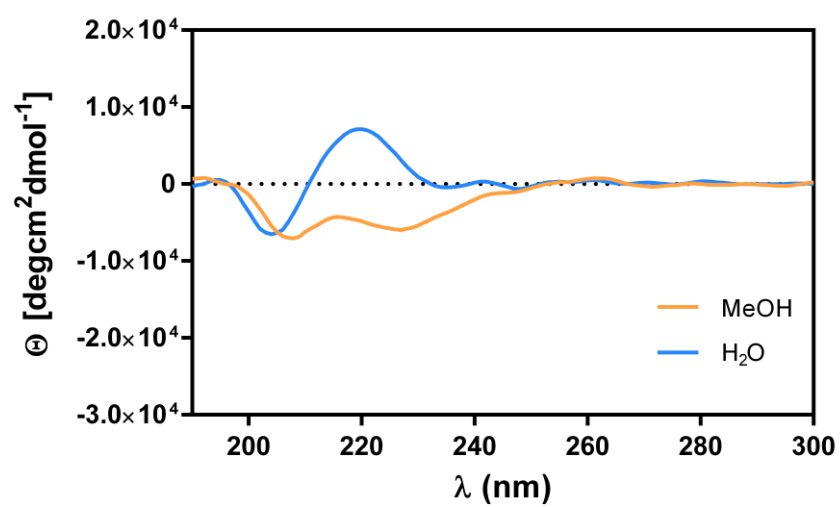


Figura 224. Dicroísmo Circular del péptido 81a, en MeOH (naranja) y agua (azul) a 25 °C y a una concentración 1 mM.

5.7.3 Espectroscopía de RMN del hexapéptido 81a en CDCl₃

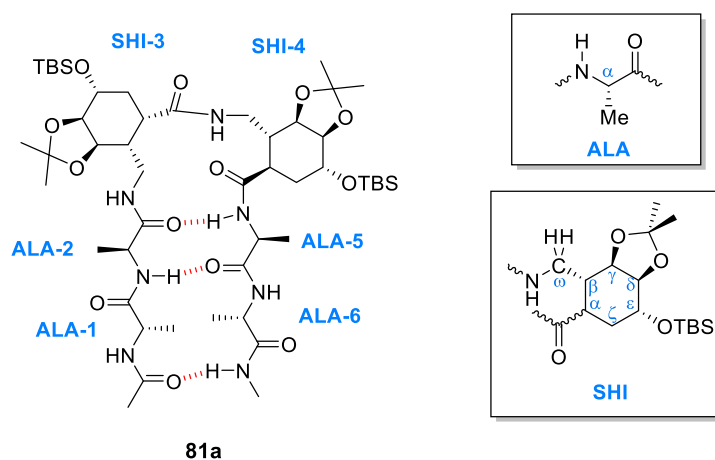


Figura 225. Hexapéptido **81a** con los residuos numerados del 1-6 desde el extremo N-terminal al C-terminal (izquierda). Nomenclatura para los protones utilizada para la asignación (derecha).

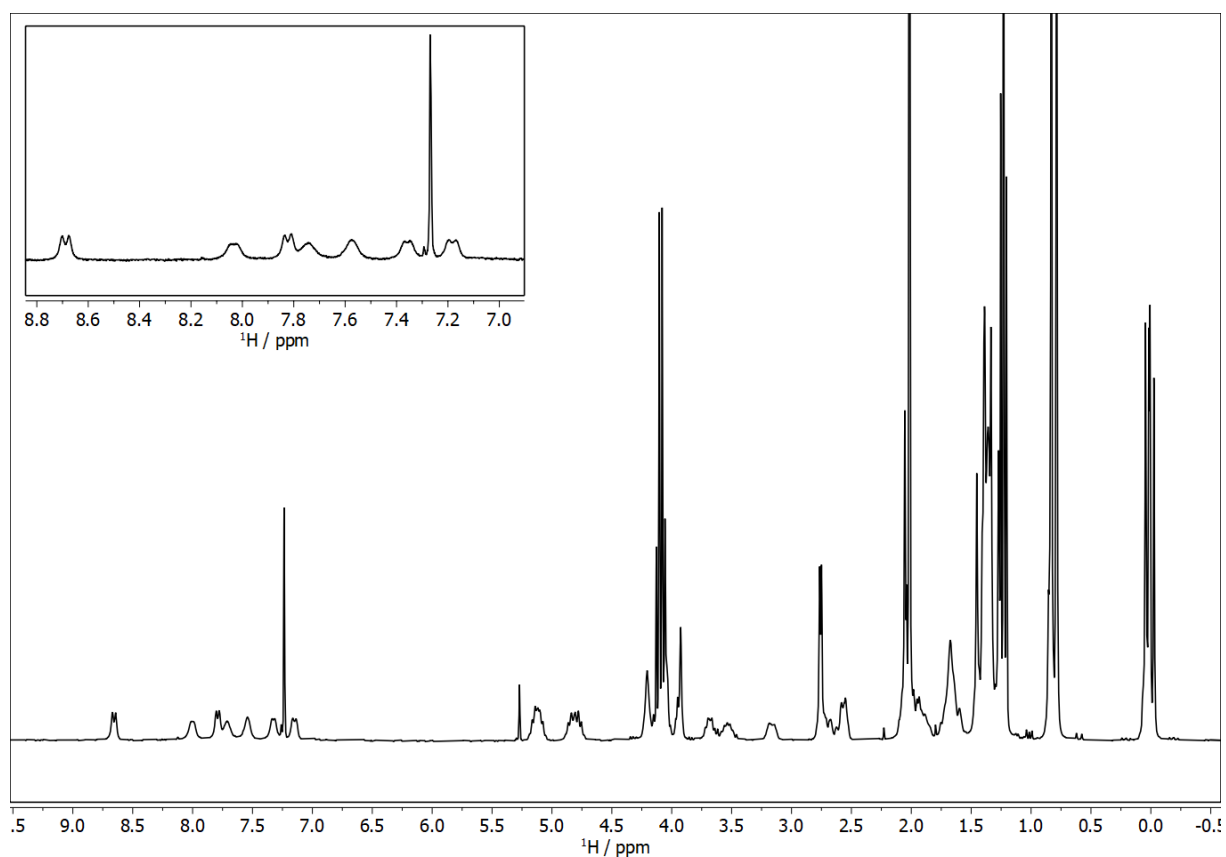


Figura 226. RMN-¹H del péptido **81a**, 1 mM en CDCl₃ (500 MHz).

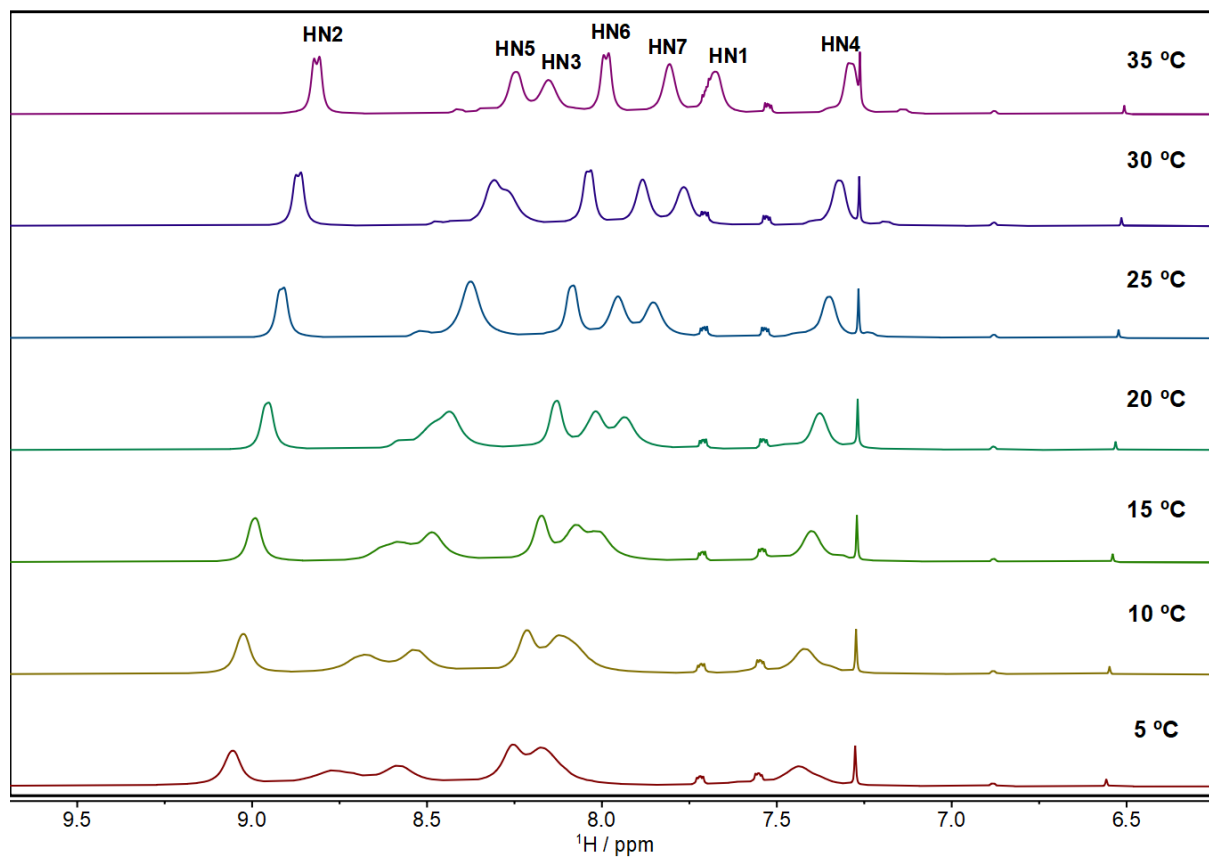


Figura 227. Espectro de RMN-TV del hexapéptido **81a** en CDCl_3 (500 MHz). Temperaturas, de abajo hacia arriba, desde 5 hasta 35 °C en intervalos de 5 °C.

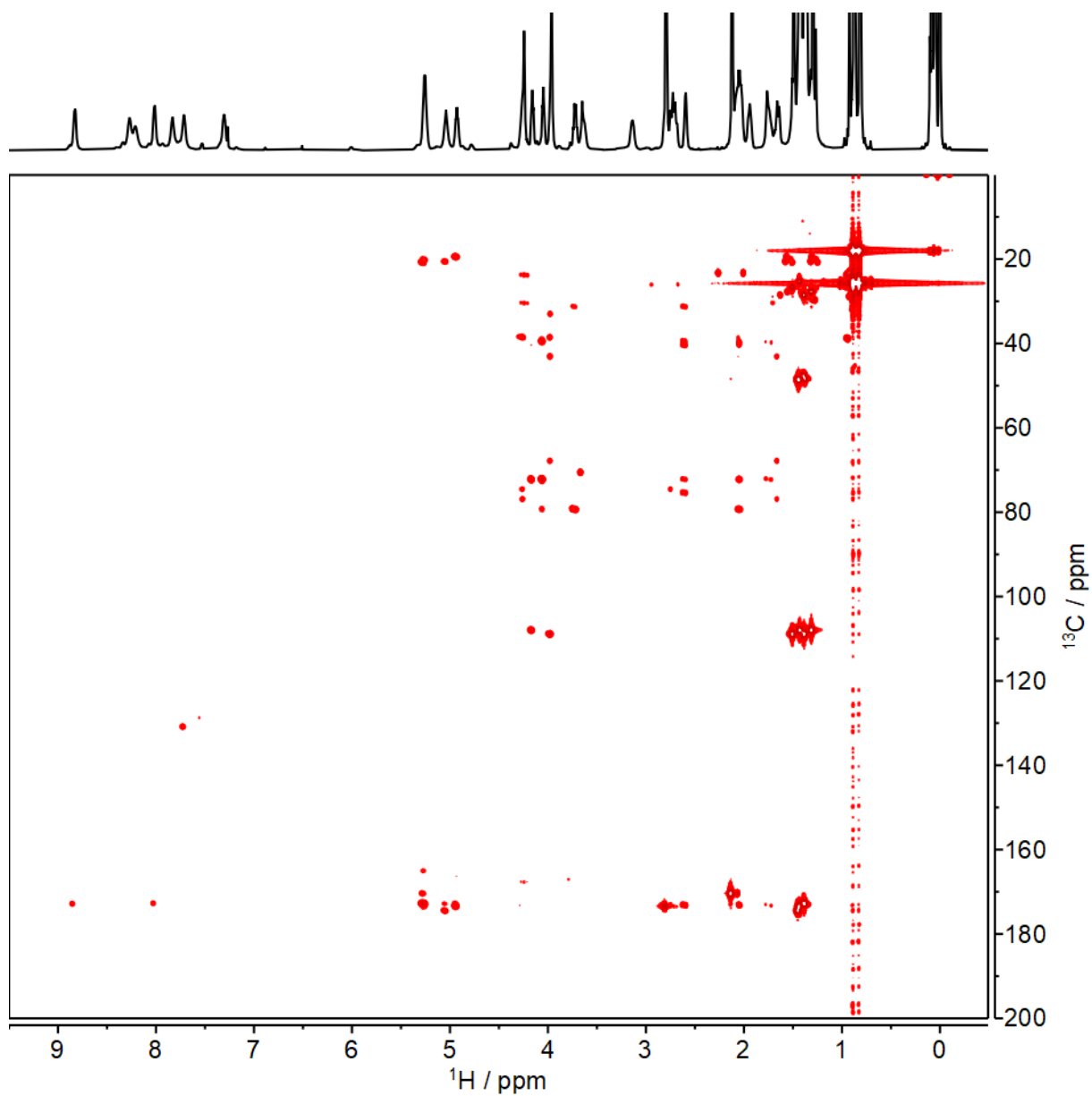


Figura 228. Espectro de HMBC del péptido **81a** (CDCl_3 , 500 MHz, 308 K).

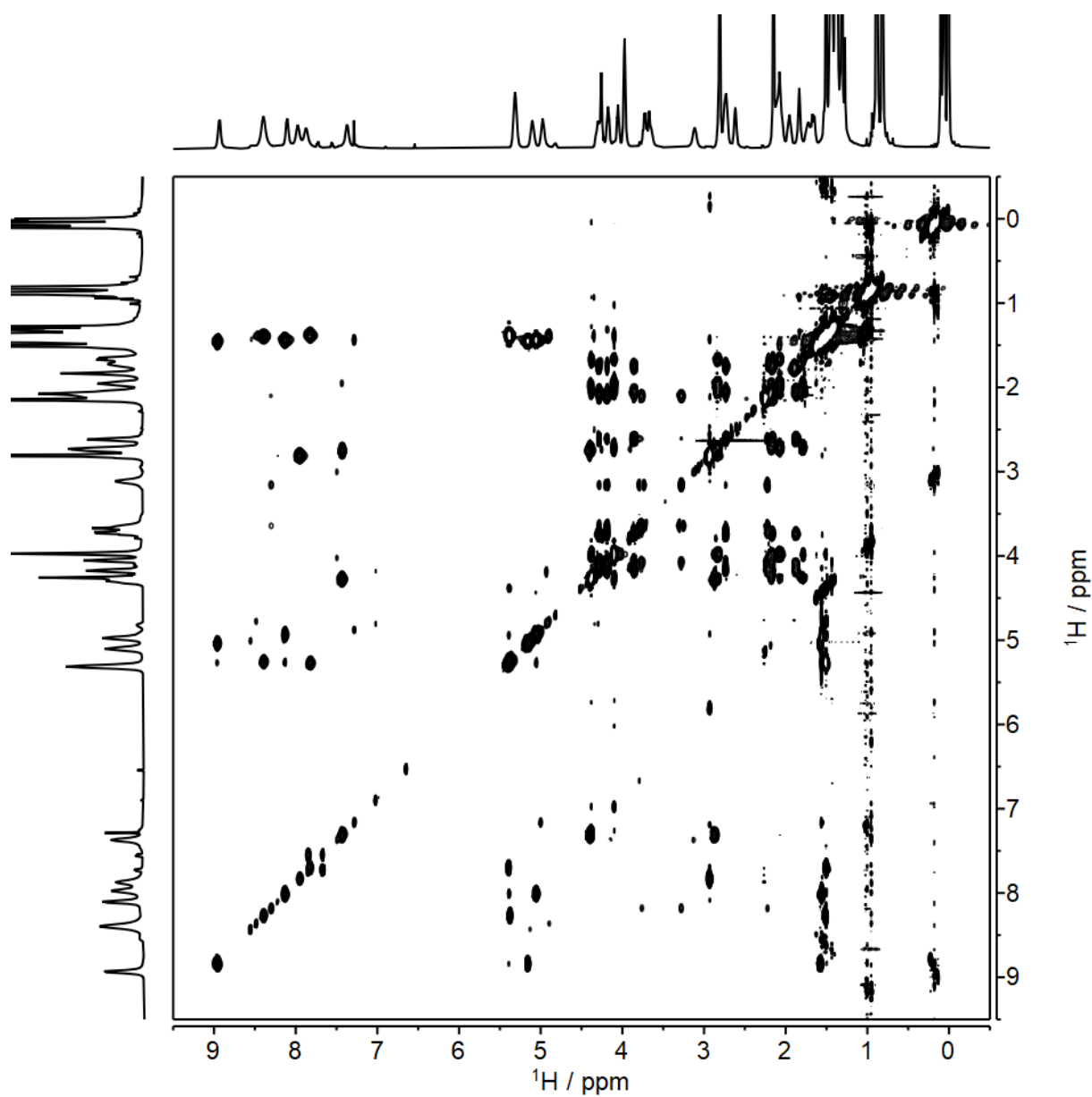


Figura 229. Espectro de TOCSY del péptido **81a**, $t_{mix} = 60$ ms ($CDCl_3$, 500 MHz, 308 K).

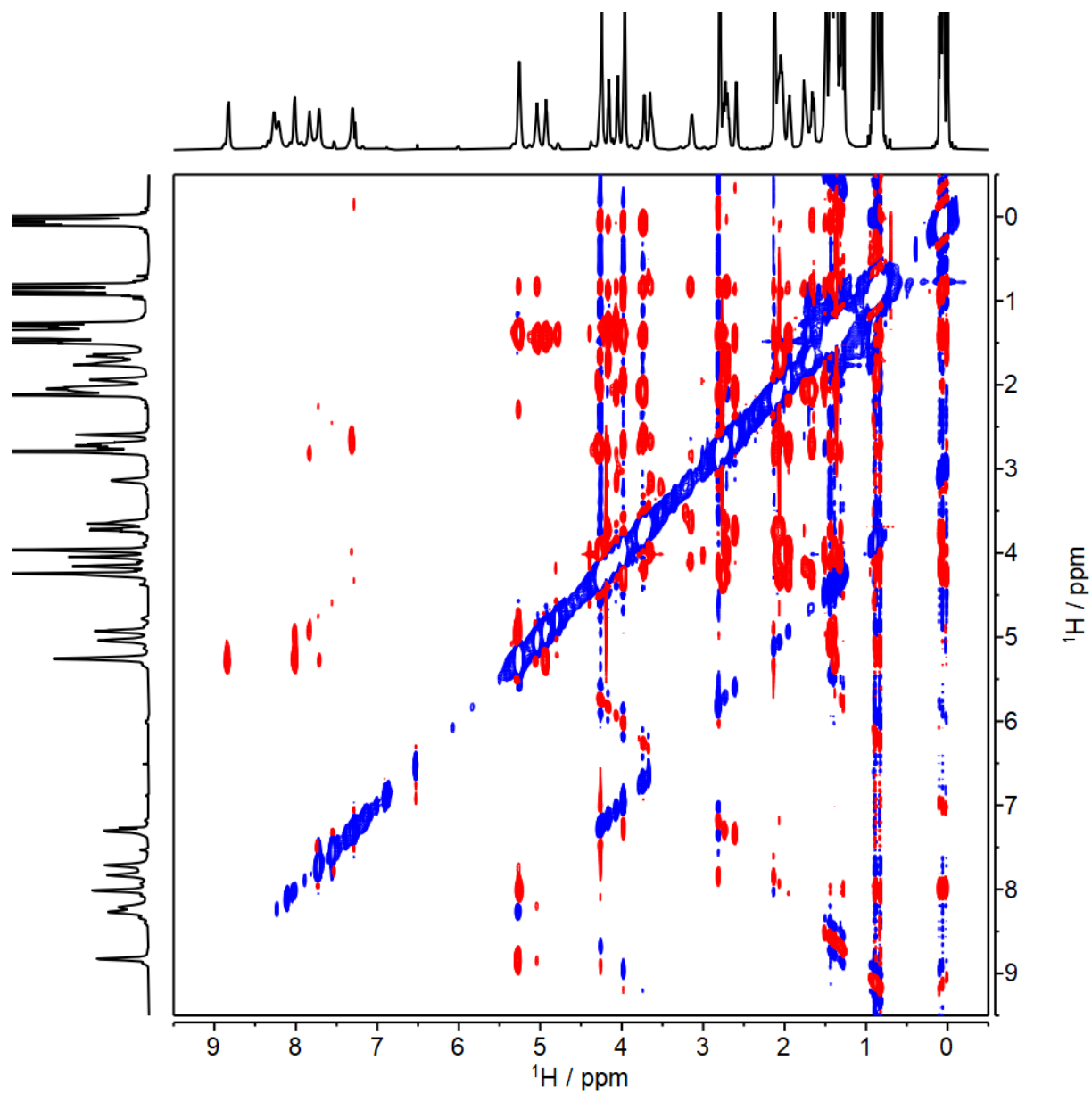


Figura 230. Espectro de ROESY del péptido **81a**, $t_{\text{mix}} = 500$ ms (CDCl_3 , 500 MHz, 308 K).

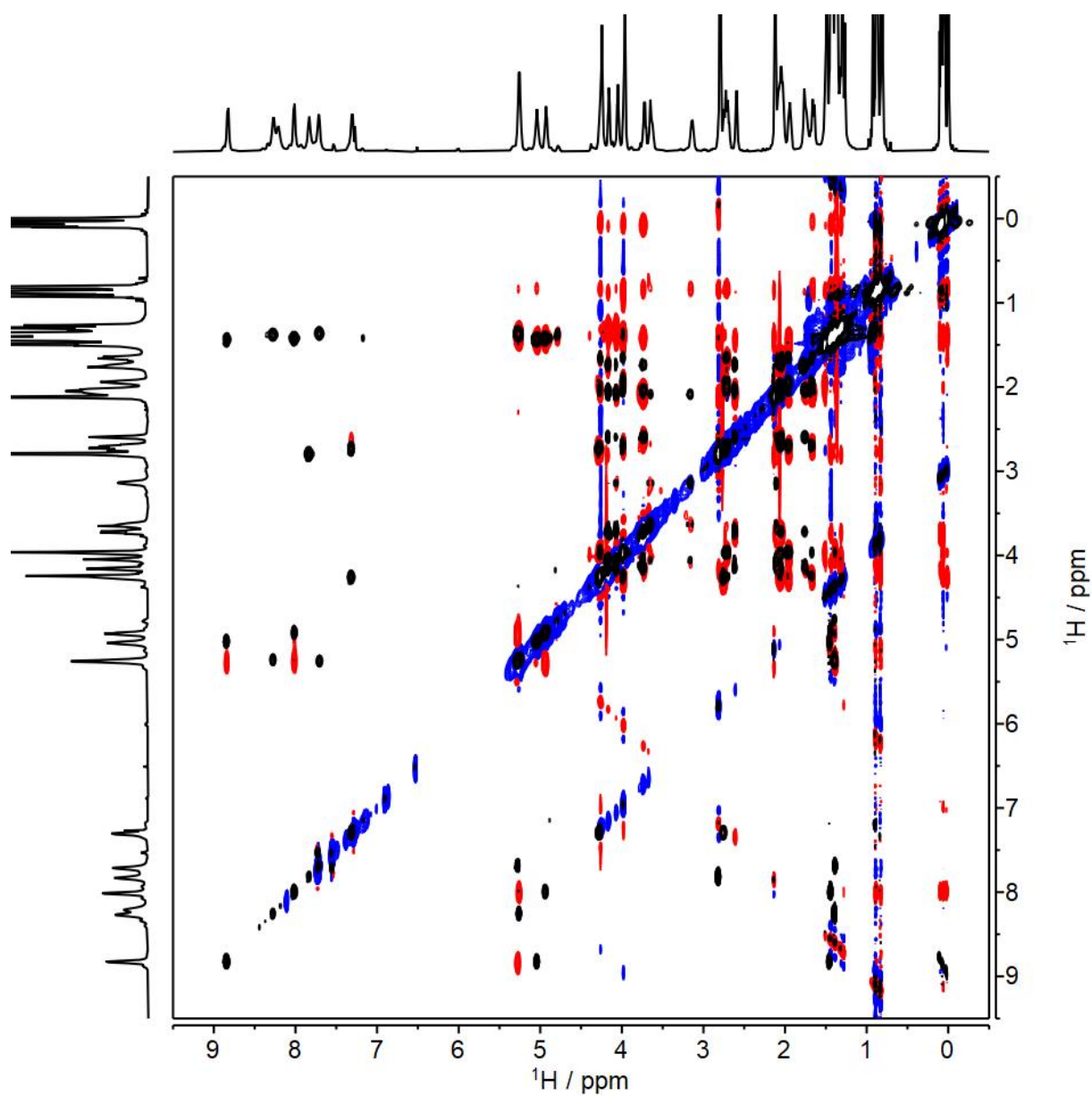


Figura 231. Superposición de los espectros ROESY (rojo/azul, t_{mix} 500 ms) y TOCSY (negro, t_{mix} 60 ms) del péptido **81a** (CDCl_3 , 500 MHz, 308 K).

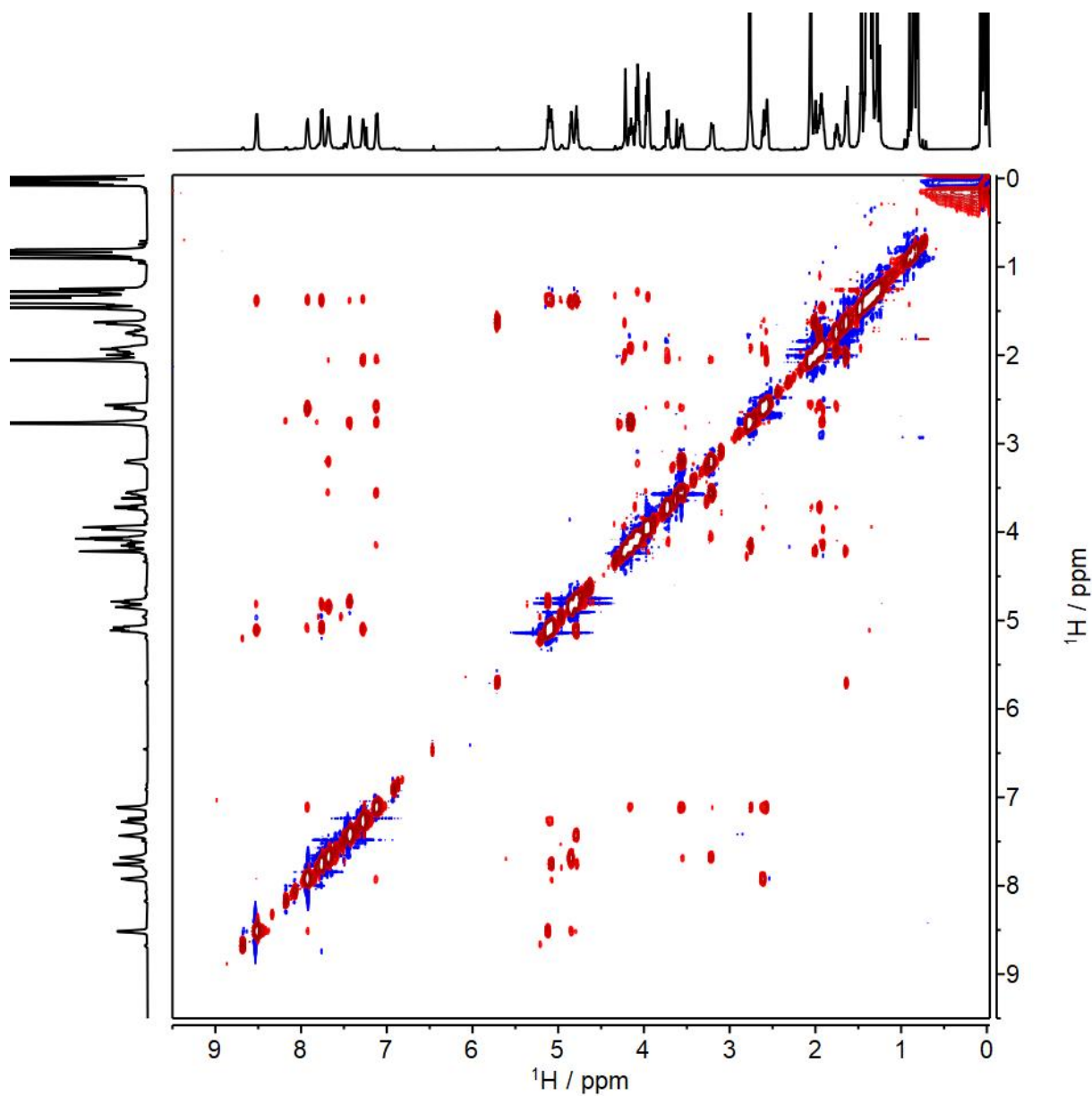


Figura 232. Espectro de NOESY del péptido **81a**, $t_{\text{mix}} = 400 \text{ ms}$ (CDCl_3 , 600 MHz, 328 K).

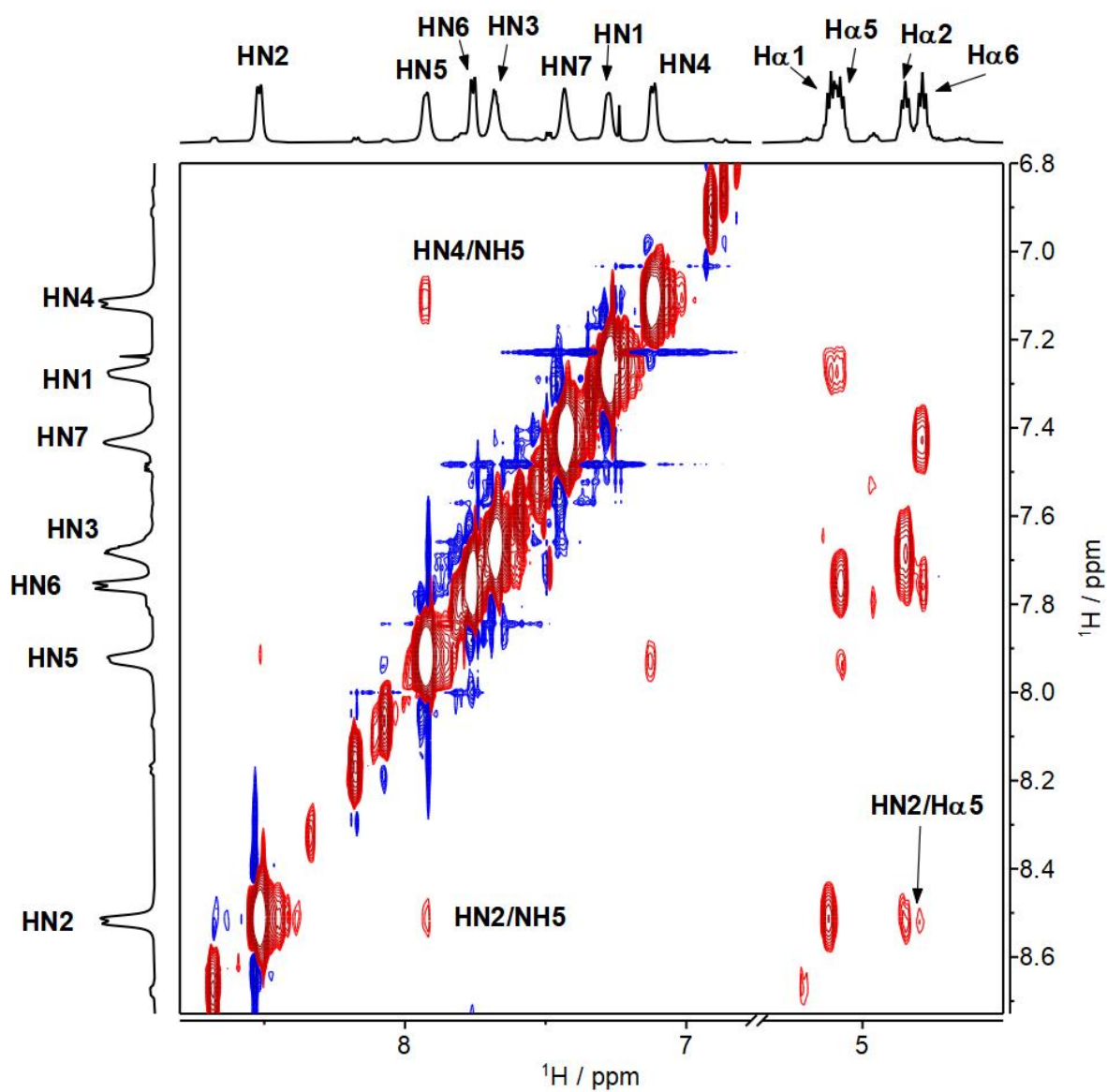


Figura 233. Ampliación de la región de NH de amida y Ha del péptido **81a** ($t_{\text{mix}} = 400$ ms, CDCl_3 , 328 K, 600 MHz). Contactos NOE: NH2/NH5, NH4/NH5 y NH2/H α 5.

5.7.4 Espectroscopía de RMN del hexapéptido **81b** en acetonitrilo- d_3

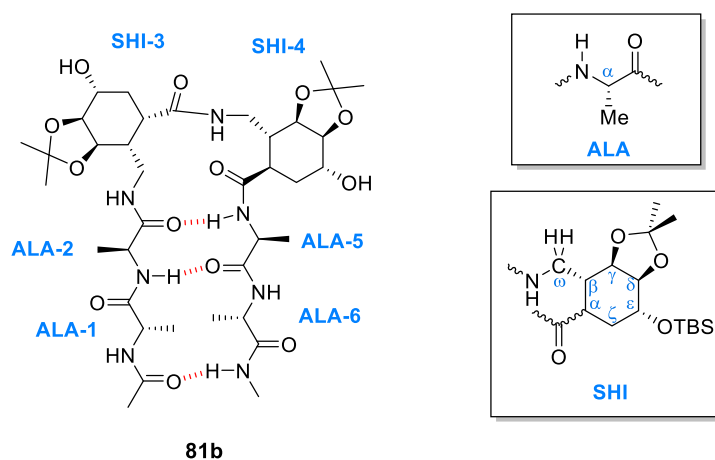


Figura 234. Hexapéptido **81b** con los residuos numerados del 1-6 desde el extremo N-terminal al C-terminal (izquierda). Nomenclatura para los protones utilizada para la asignación (derecha).

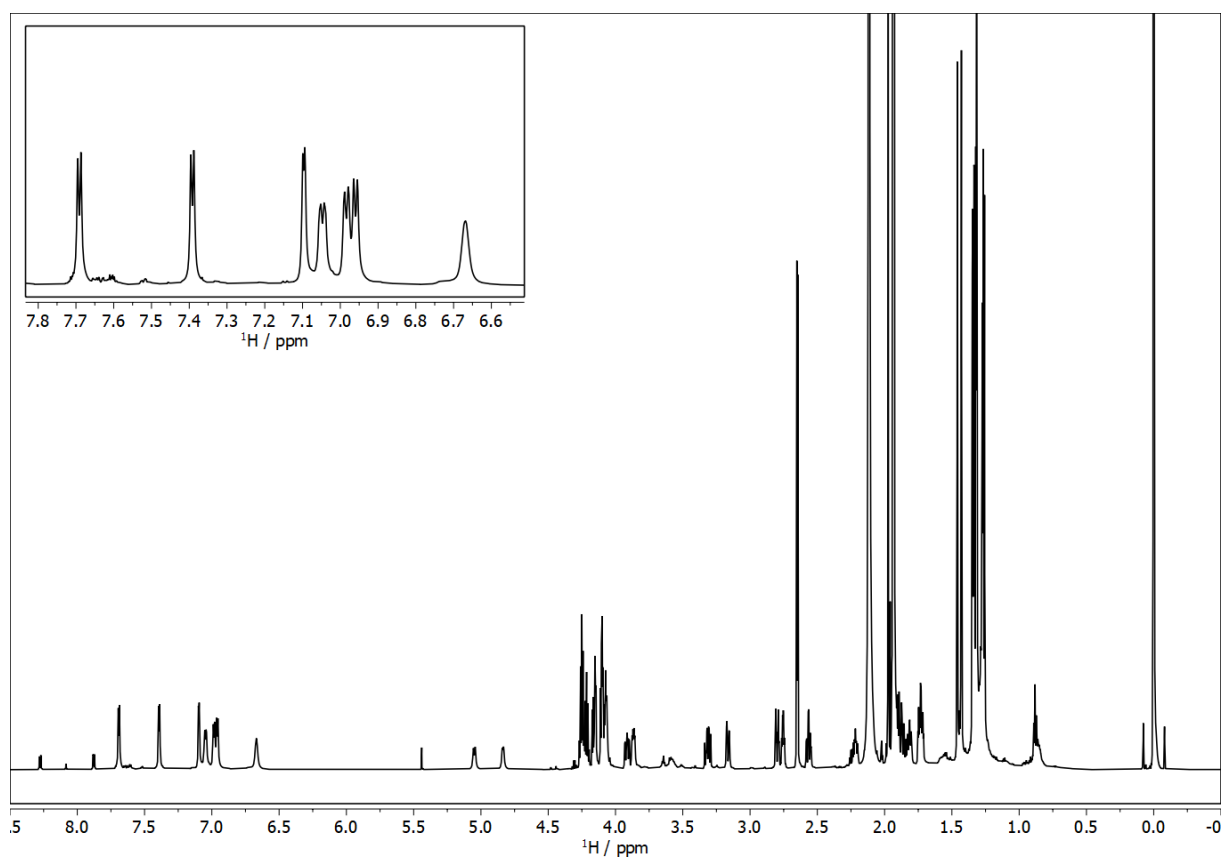


Figura 235. RMN- ^1H del péptido **81b**, 1 mM en acetonitrilo- d_3 (750 MHz, 308 K).

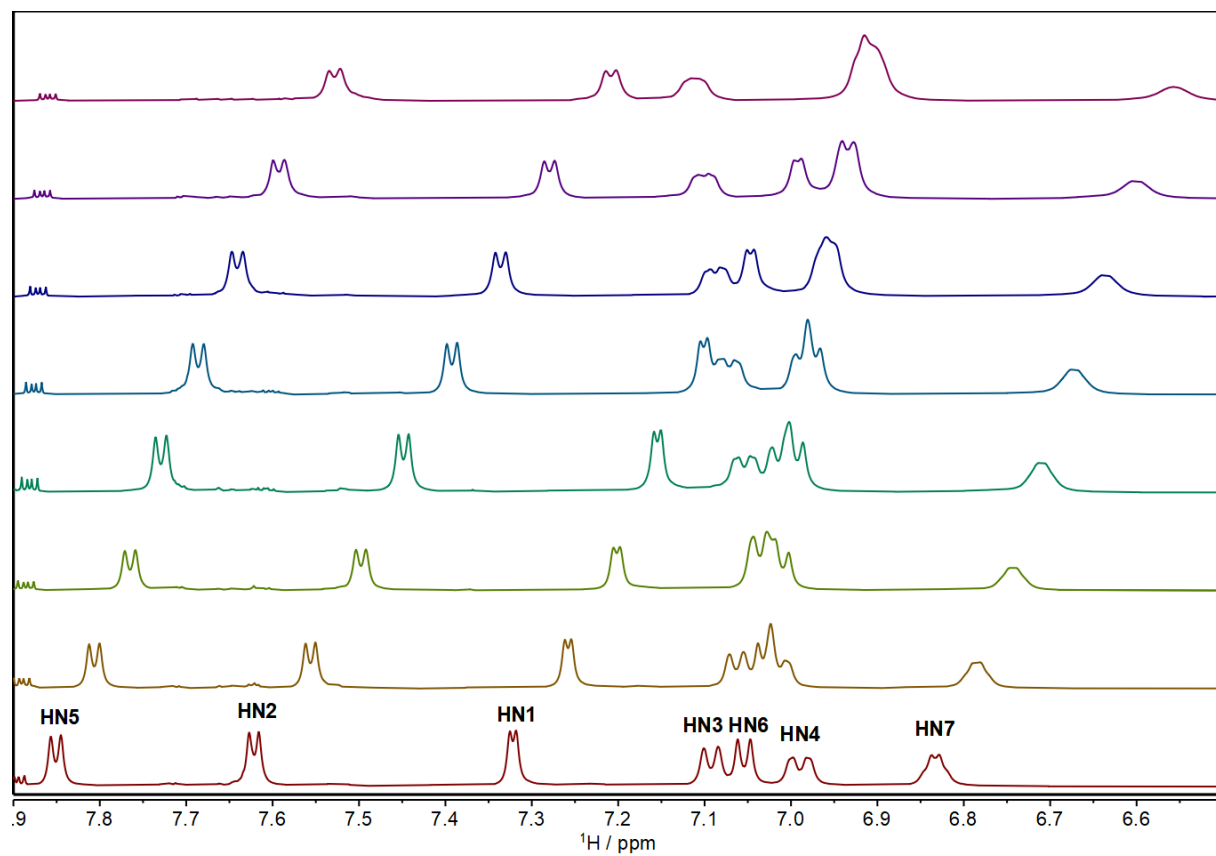


Figura 236. Espectro de RMN-TV del péptido **81b** en acetonitrilo- d_3 (500 MHz). Temperaturas, de abajo hacia arriba: 273 a 343 K en pasos de 10 K.

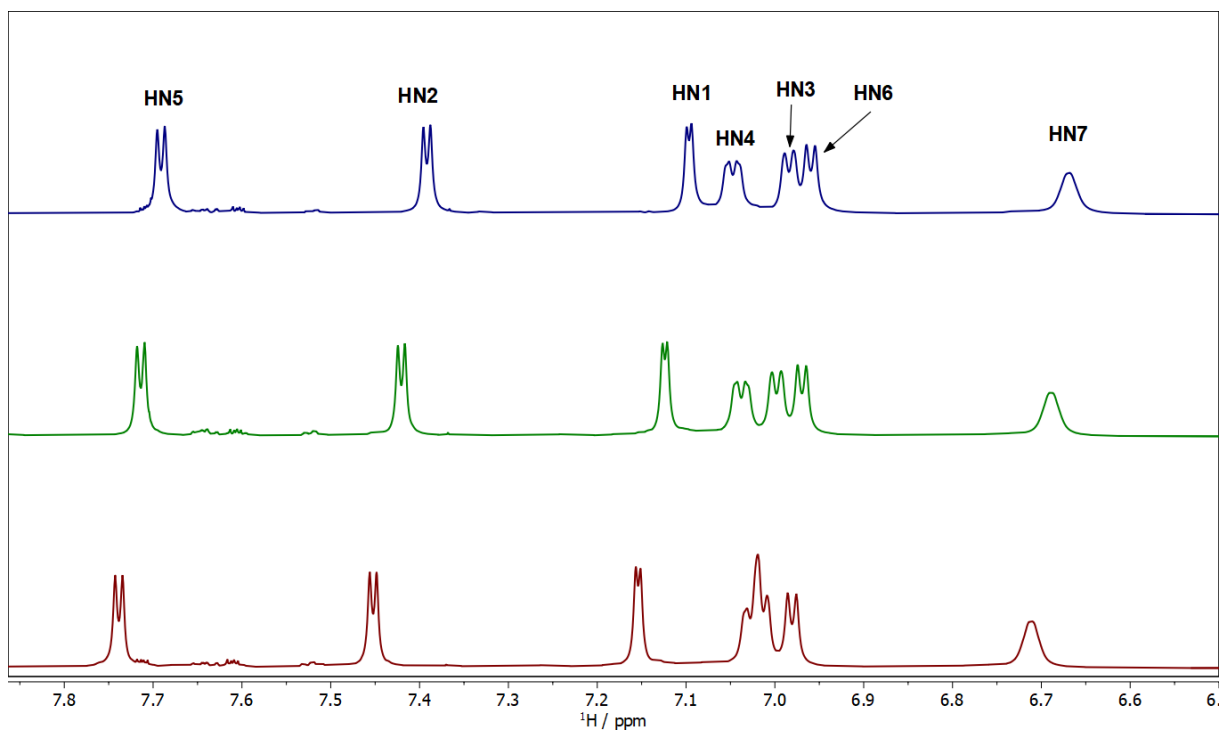


Figura 237. Espectro de RMN-TV del péptido **81b** en acetonitrilo- d_3 (750 MHz). Temperaturas, de abajo hacia arriba: 298 a 308 K en pasos de 5 K.

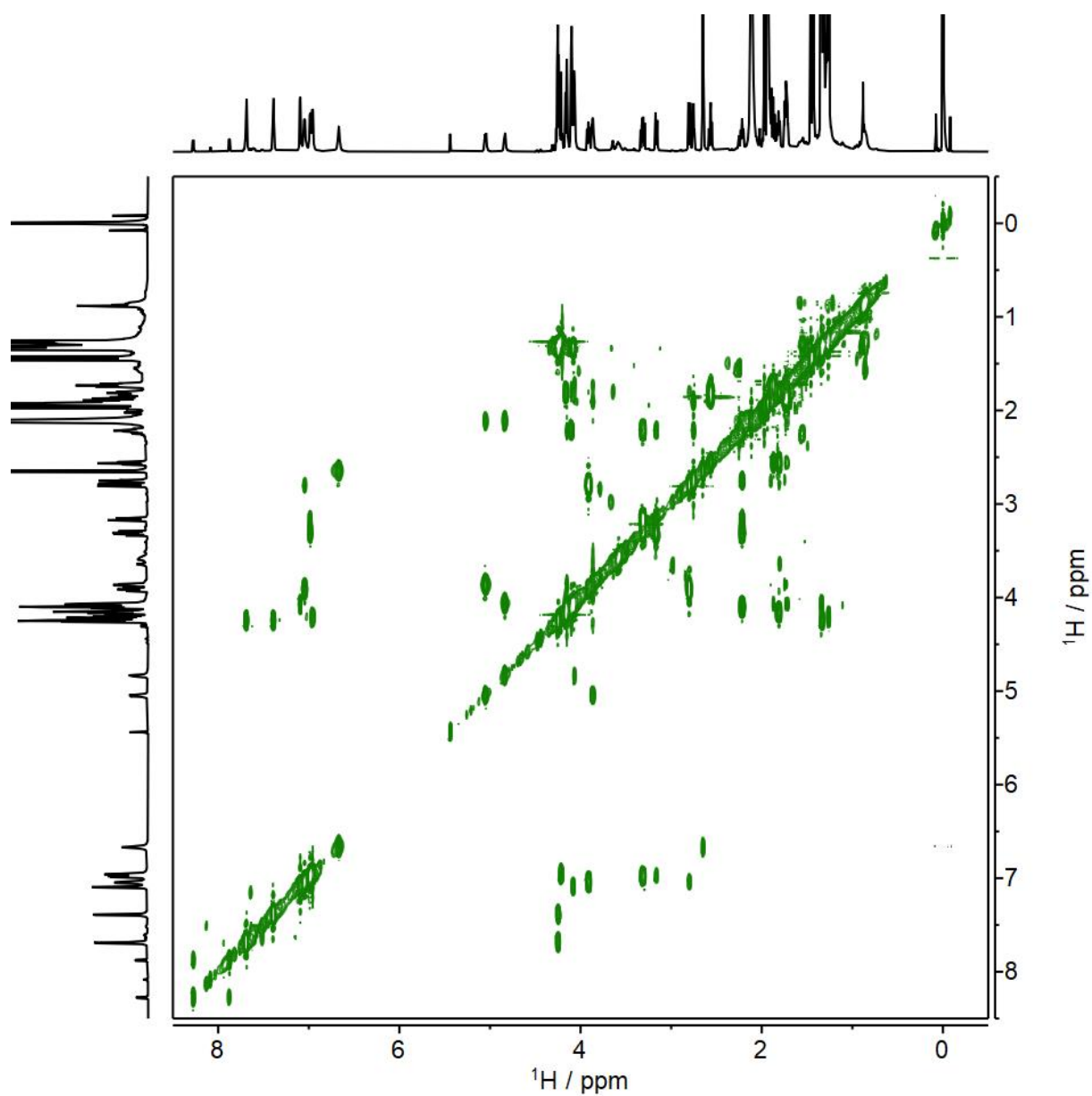


Figura 238. Espectro de COSY del péptido **81b** (acetonitrilo- d_3 , 750 MHz, 308 K).

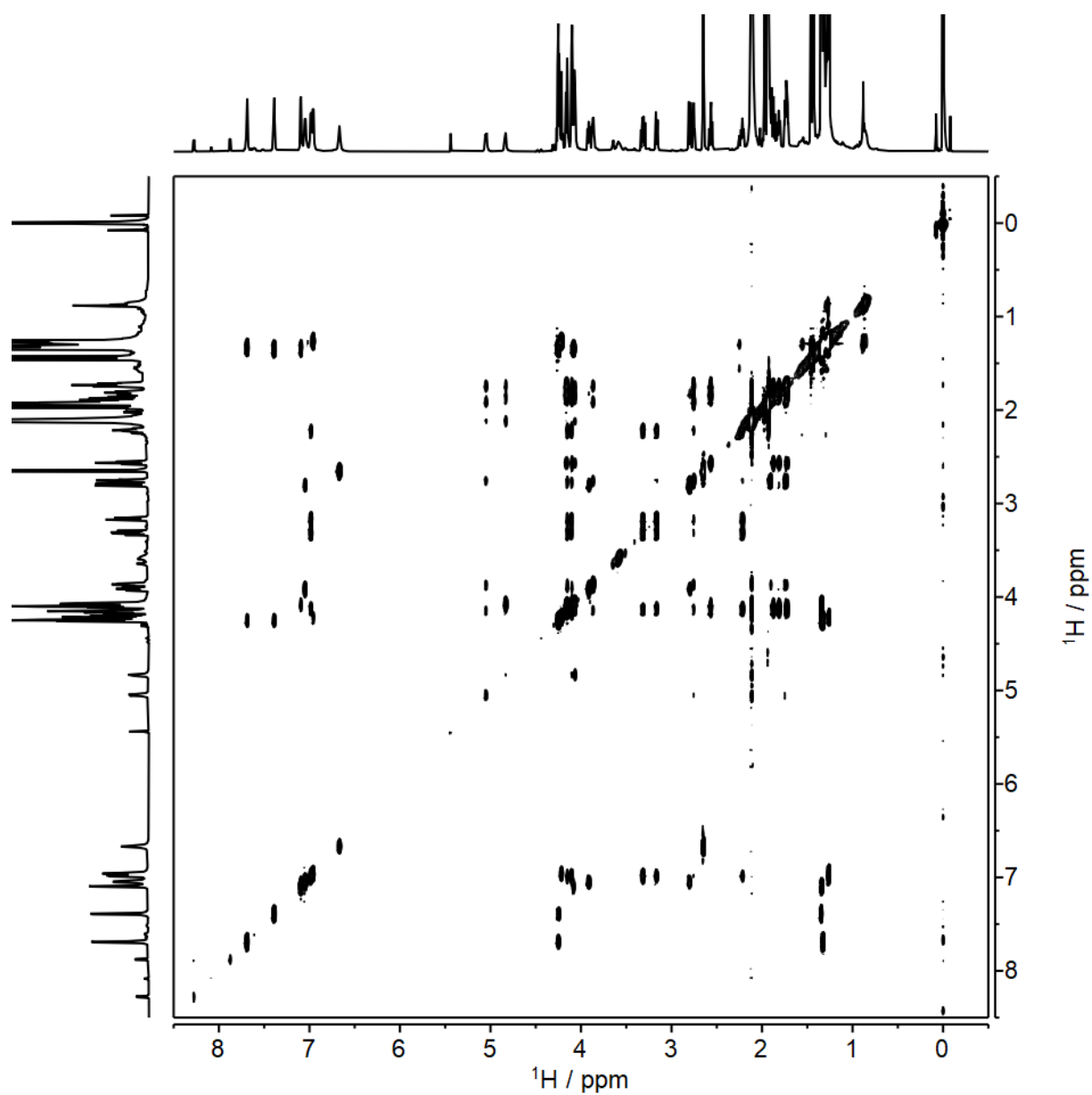


Figura 239. Espectro de TOCSY del péptido **81b**, $t_{\text{mix}} = 80$ ms (acetonitrilo- d_3 , 750 MHz, 308 K).

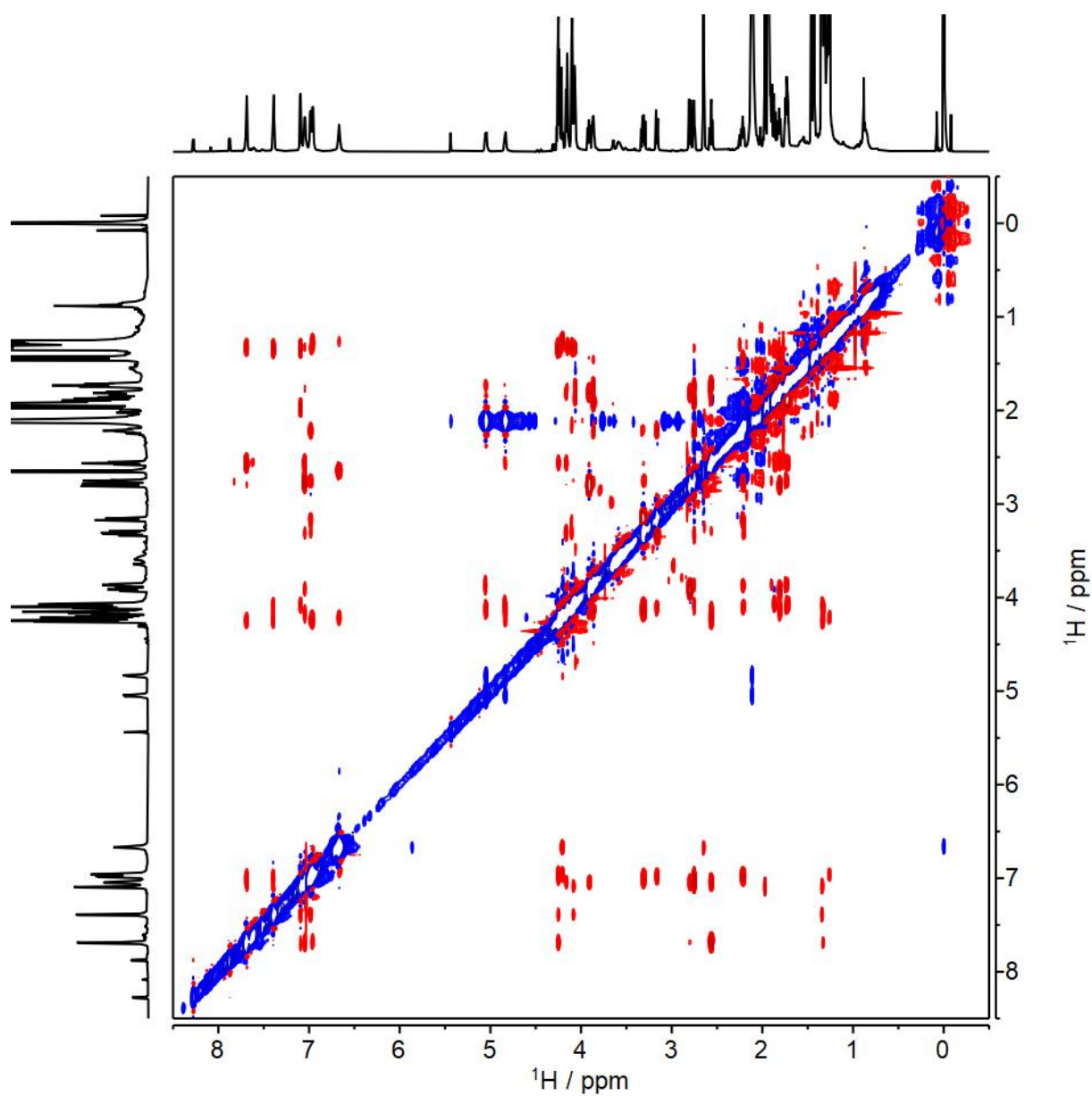


Figura 240. Espectro de NOESY del péptido **81b**, $t_{\text{mix}} = 600$ ms (acetonitrilo- d_3 , 750 MHz, 308 K).

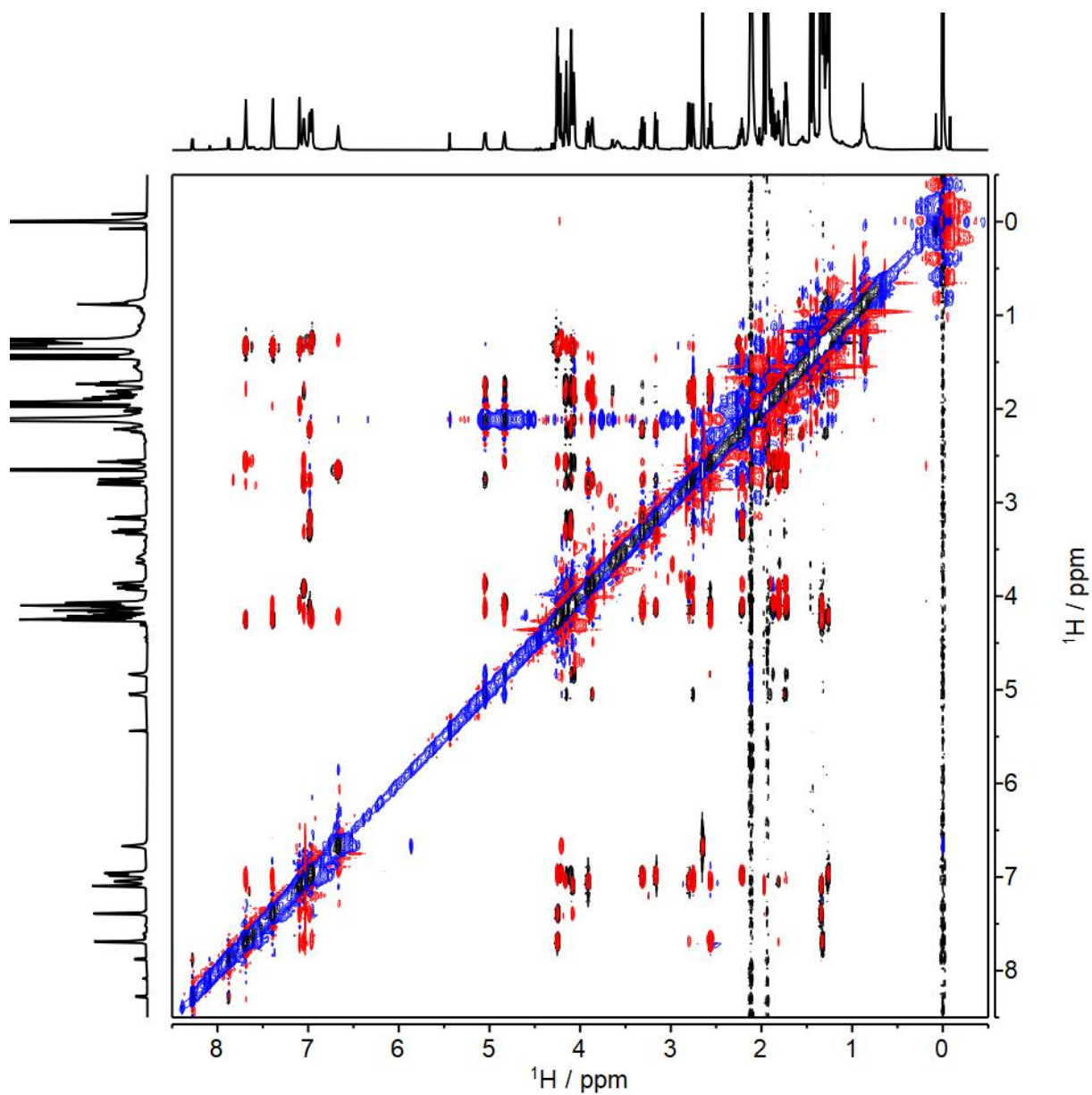


Figura 241. Superposición de los espectros NOESY (rojo/azul, t_{mix} 600 ms) y TOCSY (negro, t_{mix} 80 ms) del péptido **81b** (acetonitrilo- d_3 , 750 MHz, 308 K).

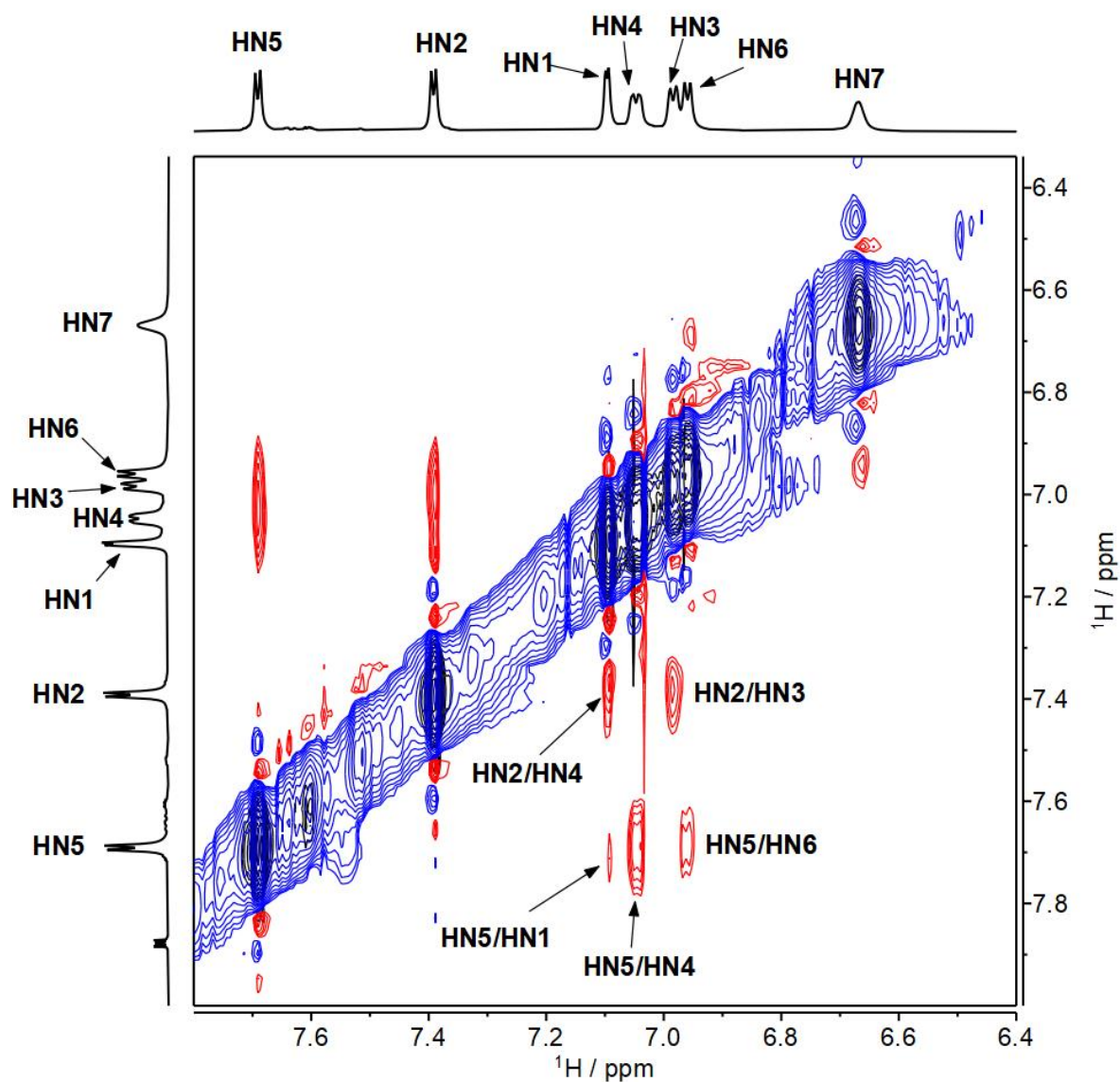


Figura 242. Superposición de los espectros NOESY (rojo/azul, t_{mix} 600 ms) y TOCSY (negro, t_{mix} 80 ms) del péptido **81b** (acetonitrilo- d_3 , 750 MHz, 308 K). Expansión de la región HN/HN.

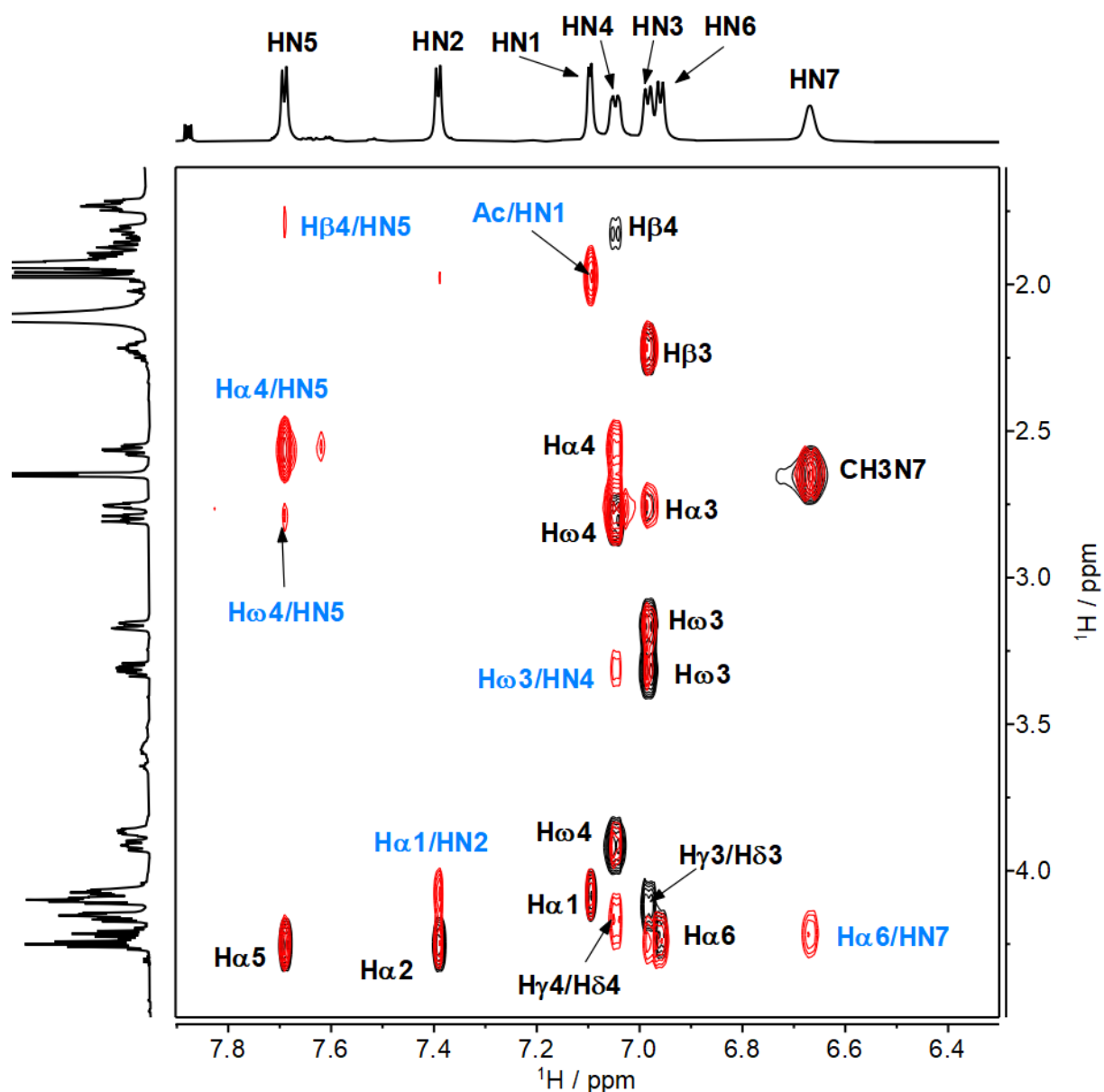


Figura 243. Superposición de los espectros NOESY (rojo/azul, t_{mix} 600 ms) y TOCSY (negro, t_{mix} 80 ms) del péptido 81b (acetonitrilo- d_3 , 750 MHz, 308 K). Expansión de la región ($H\alpha+H\beta$)/HN.

5.8 PROCEDIMIENTOS GENERALES

Procedimiento general A: Preparación de las *N*-alquilamidas.

En un balón purgado se disuelve el correspondiente *ácido* 2-aminociclohexanocarboxílico en DMF seca (0.1 M). Se añaden luego la correspondiente *n*-alquilamina (2.0 eq), DIEA (2.5 eq) y PyBop (1.5 eq), y la mezcla se agita a t.a. durante 18 h. Una vez completada la reacción, se elimina la DMF en el rotavapor, el residuo resultante se disuelve en DCM y la disolución se lava con porciones de HCl (1M), NaCl (sat), NaHCO₃ (sat) y NaCl (sat). La fase orgánica se seca con Na₂SO₄ anhidros, se filtra y se concentra a sequedad en el rotavapor. El crudo así obtenido se purifica mediante cromatografía de columna flash, para dar lugar a la correspondiente *N*-alquilamida.

Procedimiento general B: Retirada del grupo protector TBDMS.

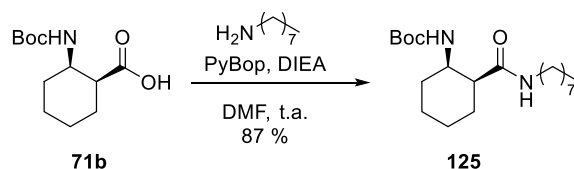
A una disolución de la *N*-alquilamida correspondiente en THF seco (0.06 mM) se le añade una disolución de TBAF 1M en THF (2.0 eq). La mezcla resultante se agita a t.a. hasta la desaparición del producto de partida. Pasado ese tiempo, la mezcla de reacción se concentra a sequedad, el residuo resultante se disuelve en DCM y se lava con HCl 1M y con una disolución saturada de NaCl. La fase orgánica se seca con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se concentra a sequedad. En el rotavapor. El residuo obtenido se purifica por cromatografía en columna flash, para dar lugar la correspondiente *N*-alquilamida con un hidroxilo desprotegido.

Procedimiento general C: Retirada del grupo protector acetónido.

Una disolución del producto de partida en una mezcla AcOH/THF/H₂O 2:1:1 (0.01 mM) y se agita a t.a. hasta la desaparición del producto de partida. Al cabo de ese tiempo la disolución se concentra a sequedad en el rotavapor y el residuo resultante se purifica por cromatografía en columna flash, para dar lugar a la correspondiente *N*-alquilamida con los tres grupos hidroxilo desprotegidos.

5.9 SÍNTESIS DE *N*-ALQUILAMIDAS CICLOHEXÁNICAS

5.9.1 Síntesis del ((1*R*,2*S*)-2-(octilcarbamoil)ciclohexil) arbamato de *terc*-butilo (**125**)



Se preparó siguiendo el **Procedimiento General A**, usando el ácido **71b** (250 mg, 1.03 mmol, 1.0 eq), DMF (10 mL), octilamina (339 μ L, 2.06 mmol, 2 eq), PyBop (802 mg, 1.54 mmol, 1.5 eq) y DIEA (447 μ L, 2.57 mmol, 2.5 eq). La cromatografía de columna (AcOEt/Hex 1:1) permitió aislar el ((1*R*,2*S*)-2-(octilcarbamoil)ciclohexil)carbamato de *terc*-butilo (**125**) (317 mg, 87 %), como un sólido blanco.

$[\alpha]_D^{20}$: -23.4 (*c* 1, CHCl₃).

RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz, ppm): 0.87 (t, *J* = 6.4 Hz, 3H, CH₃), 1.17–1.36 (m, 16H, 8xCH₂), 1.41 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.73 (d, *J* = 12.8 Hz, 2H, CH₂), 2.01 (d, *J* = 25.3 Hz, 2H, CH₂), 2.26 (s, 1H, CHCO), 3.19 (dq, *J* = 13.1, 6.7 Hz, 2H, CH₂N), 3.46 (s, 1H, CHN), 4.70 (s, 1H, NH), 6.22 (s, 1H, NH).

RMN-¹³C (CDCl₃, 75 MHz, ppm): 14.19 (CH₃), 22.73 (CH₂), 25.15 (CH₂), 25.34 (CH₂), 27.05 (3xCH₂), 28.46 (C(CH₃)₃), 29.30 (CH₂), 29.62 (CH₂), 31.91 (CH₂), 33.43 (CH₂), 39.68 (CH₂-N), 51.27 (CH-CO), 52.18 (CH-N), 79.51 (C_c, Boc), 155.93 (C=O, Boc), 174.28 (C=O, amida).

EMAR (ESI⁺): Calculado para C₂₀H₃₉N₂O₃, 355.2966; encontrado 355.2955.

IR (ν , cm⁻¹): 3324 (NH, amida A), 1685 (CO, amida I), 1644 (CO, amida I), 1529 (amida II).

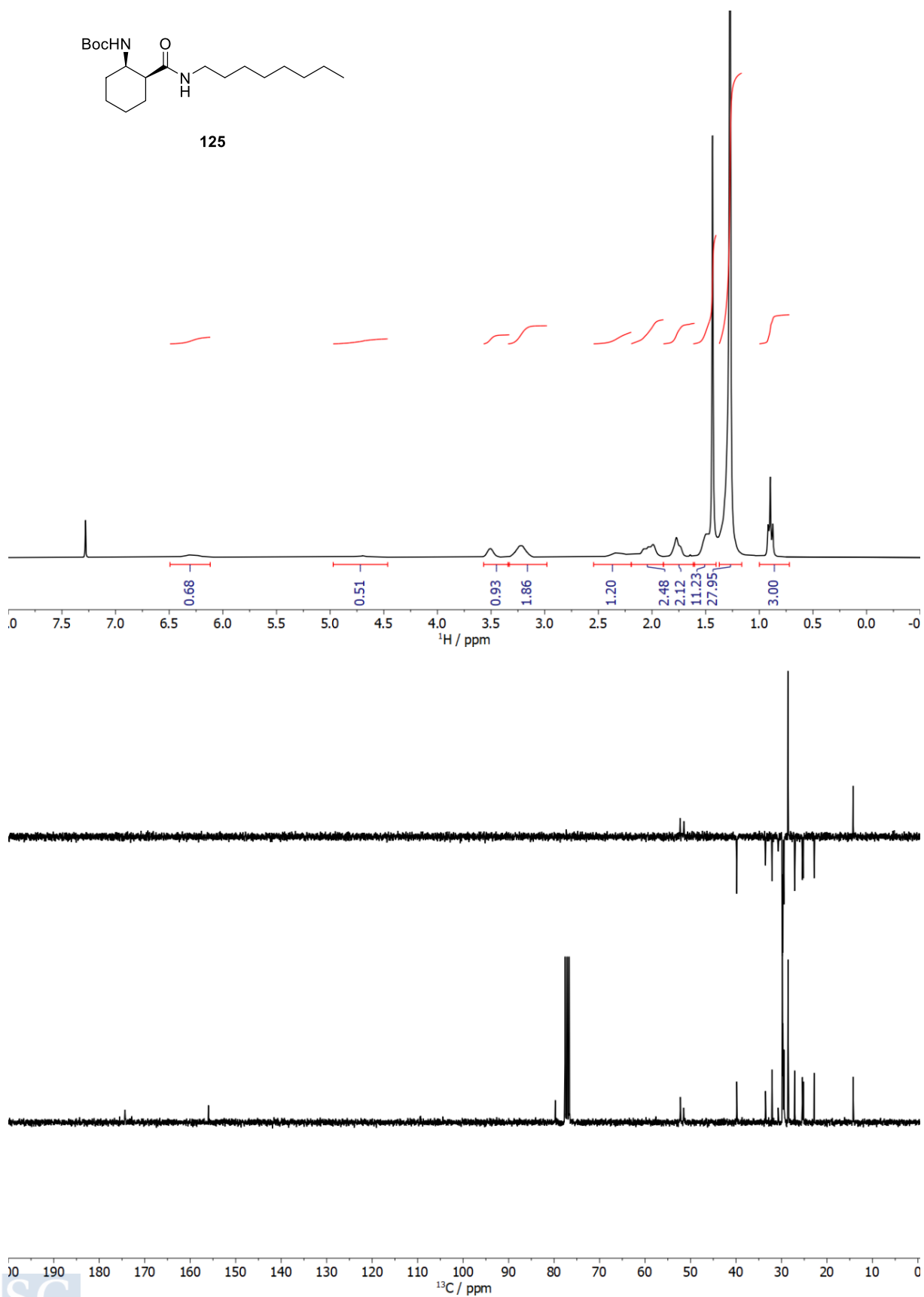
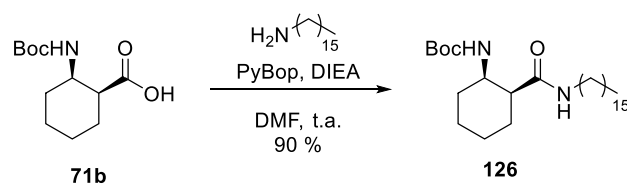


Figura 244. Espectro de RMN- ^1H y de RMN- ^{13}C y DEPT del compuesto 125.

5.9.2 Síntesis del ((1*R*,2*S*)-2-(hexadecilcarbamoil)ciclohexil)carbamato *tert*-butilo (**126**)

Se preparó siguiendo el **Procedimiento General A**, usando el ácido **71b** (300 mg, 1.23 mmol, 1.0 eq), DMF (12 mL), hexadecilamina (595 mg, 2.47 mmol, 2 eq), PyBop (963 mg, 1.85 mmol, 1.5 eq) y DIEA (537 μL , 3.09 mmol, 2.5 eq). La cromatografía de (MeOH/DCM(1:15)) dio lugar al ((1*R*,2*S*)-2-(hexadecilcarbamoil)ciclohexil)carbamato de *tert*-butilo (**126**) (520 mg, 90 %), como un sólido blanco.

$[\alpha]_{\text{D}}^{19}$: -19.4 (*c* 1, CHCl_3).

RMN-¹H (CDCl_3 , 300 MHz, ppm): 0.74–1.01 (m, 3H, CH_3), 1.27 (s, 30H, $15 \times \text{CH}_2$), 1.44 (s, 11H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3 + \text{CH}_2$), 1.77 (s, 2H, CH_2), 1.91–2.19 (m, 2H, CH_2), 2.32 (s, 1H, COCH), 3.22 (s, 2H, NCH_2), 3.51 (s, 1H, NCH), 4.69 (s, 1H, NH), 6.28 (s, 1H, NH).

RMN-¹³C (CDCl_3 , 75 MHz, ppm): 14.24 (CH_3), 22.83 (CH_2), 25.20 (CH_2), 25.41 (CH_2), 27.11 (CH_2), 28.54 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 29.46 (CH_2), 29.50 (CH_2), 29.69 (CH_2), 29.75 (CH_2), 29.81 (CH_2), 29.83 ($6 \times \text{CH}_2$), 30.71 (CH_2), 32.07 (CH_2), 33.51 (CH_2), 39.85 (CH_2N), 51.49 (CHCO), 52.23 (CHN), 79.74 (C_O), 155.97 ($\text{C}=\text{O}$, Boc), 174.34 ($\text{C}=\text{O}$, amida).

EMAR (ESI⁺): Calculado para $\text{C}_{28}\text{H}_{55}\text{N}_2\text{O}_3$, 467.4201; encontrado 467.4207.

IR (ν , cm^{-1}): 3329 (NH, amida A), 1684 (CO, amida I), 1644 (CO, amida I), 1535 (amida II).

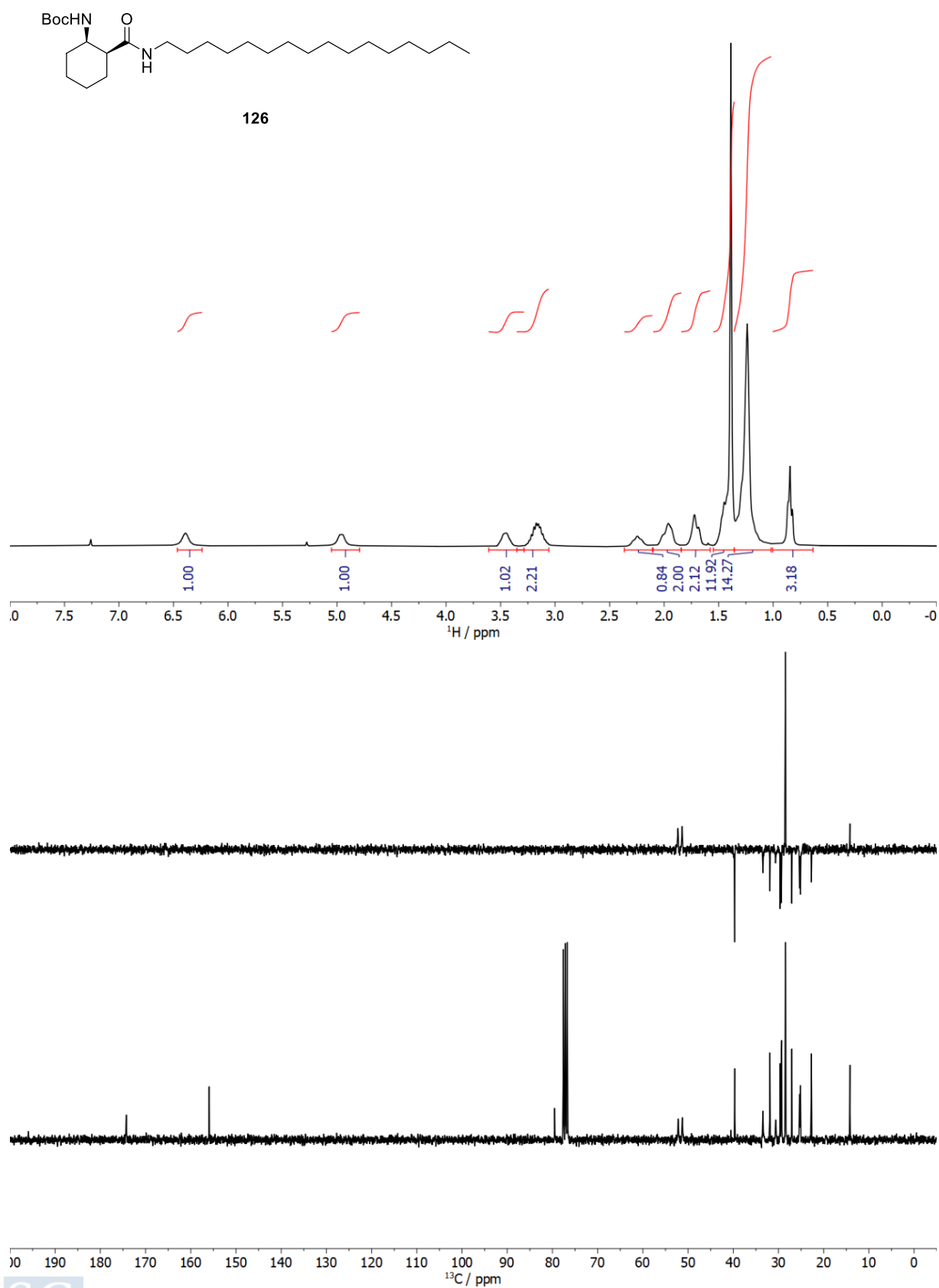
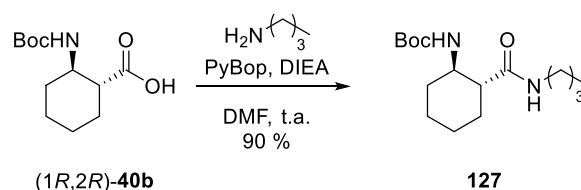


Figura 245. Espectro de RMN- ^1H y de RMN- ^{13}C y DEPT del compuesto 126.

5.9.3 Síntesis del ((1*R*,2*R*)-2-(butilcarbamoil)ciclohexil)carbamato de *tert*-butilo (**127**)

Se preparó siguiendo el **Procedimiento General A**, usando el ácido (1*R*,2*R*)-**40b** (250 mg, 1.03 mmol, 1.0 eq), DMF (10 mL), butilamina (202 μ L, 2.06 mmol, 2 eq), PyBop (802 mg, 1.54 mmol, 1.5 eq) y DIEA (447 μ L, 2.57 mmol, 2.5 eq). La cromatografía de columna (AcOEt/Hex (1:1)) proporcionó el ((1*R*,2*R*)-2-(butilcarbamoil)ciclohexil)carbamato de *tert*-butilo (**127**) (275 mg, 90 %), como un sólido blanco.

$[\alpha]_{\text{D}}^{21}$: 9.9 (*c* 1, CH₂Cl₂).

RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz, ppm): 0.91 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H, CH₃), 1.21–1.41 (m, 3H, CH₂ + CH-H), 1.45 (s, 13H, C(CH₃)₃, + 3CH₂), 1.87 (s, 3H, CH₂ + CH-H), 2.25 (m, 2H, CH₂), 3.09–3.55 (m, 1H, CHCO), 4.24 (s, 3H, NCH + NCH₂), 6.02 (s, 1H, NH), 6.90 (s, 1H, NH).

RMN-¹³C (CDCl₃, 75 MHz, ppm): 13.67 (CH₃), 19.98 (2xCH₂), 24.17 (CH₂), 28.35 (C(CH₃)₃), 31.66 (CH₂), 39.03 (2xCH₂), 47.07 (NCH₂), 60.13 (CHCO), 60.94 (CH₂N), 80.33 (C_c), 155.48 (C=O, Boc), 172.16 (C=O, amida).

EMAR (ESI⁺): Calculado para C₁₆H₃₁N₂O₃, 299.2256; encontrado 299.2258.

IR (ν , cm⁻¹): 3243 (NH, amida A), 1689 (CO, amida I), 1650 (CO, amida I), 1565 (amida II).

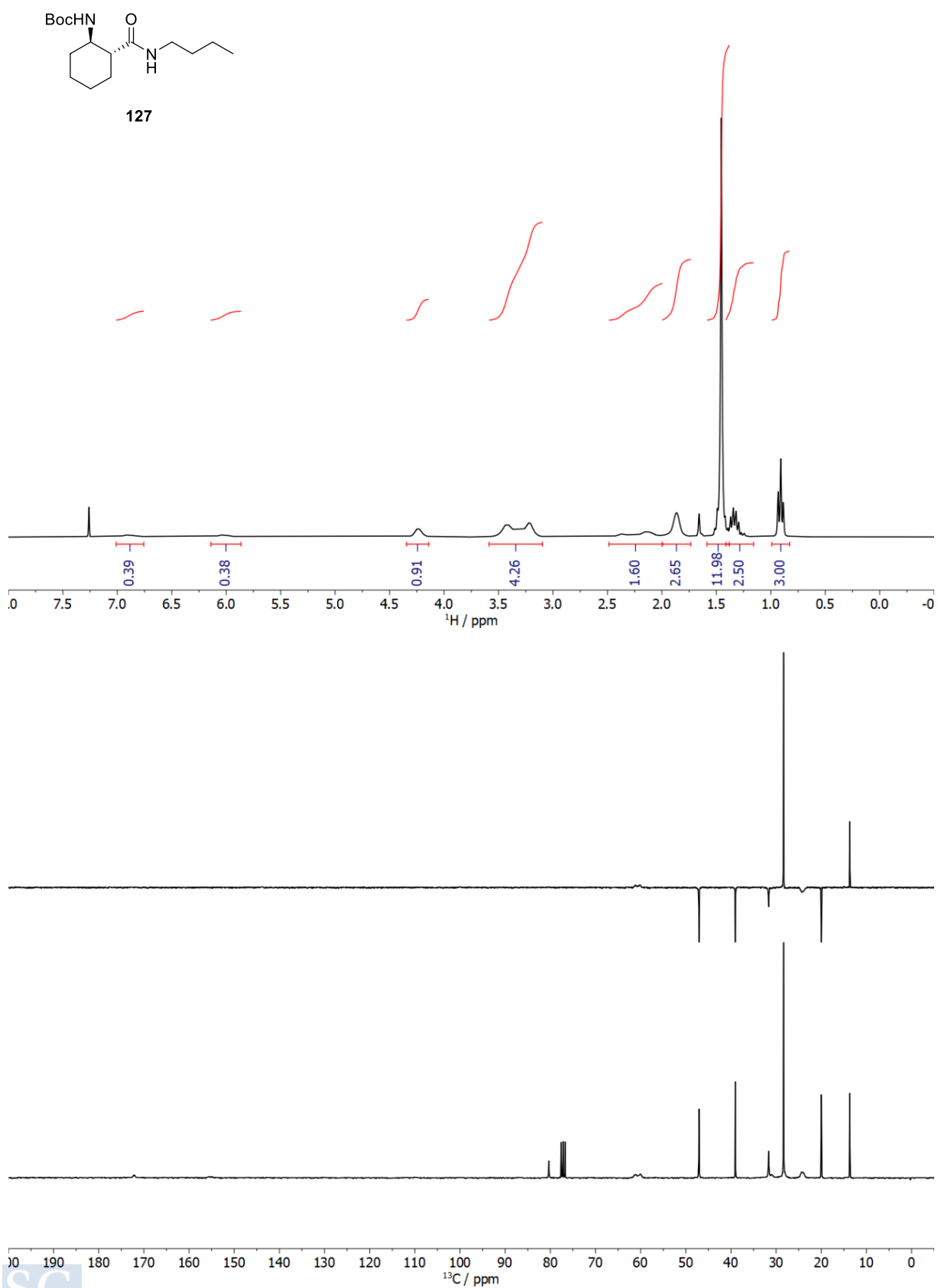
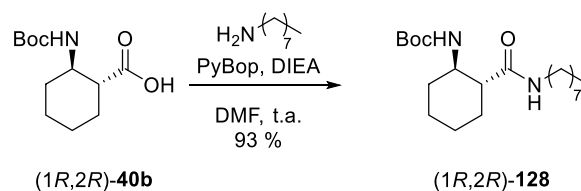


Figura 246. Espectro de RMN- ^1H y de RMN- ^{13}C y DEPT del compuesto 127.

5.9.4 Síntesis del ((1*R*,2*R*)-2-(octilcarbamoil)ciclohexil)carbamato de *tert*-butilo ((1*R*,2*R*)-128)



Se preparó siguiendo el **Procedimiento General A**, usando el ácido (1*R*,2*R*)-**40b** (250 mg, 1.03 mmol, 1.0 eq), DMF (10 mL), octilamina (339 μ L, 2.06 mmol, 2 eq), PyBop (802 mg, 1.54 mmol, 1.5 eq) y DIEA (447 μ L, 2.57 mmol, 2.5 eq). La columna cromatográfica (AcOEt/Hex (1:1)) dio lugar al ((1*R*,2*R*)-2-(octilcarbamoil) ciclohexil)carbamato de *tert*-butilo ((1*R*,2*R*)-**128**) (338 mg, 93 %) como un sólido blanco.

$[\alpha]_D^{19}$: -23,4 (*c* 1, CHCl₃).

RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz, ppm): 0.87 (t, *J* = 6.3 Hz, 3H, CH₃), 1.27 (s, 12H, 6xCH₂), 1.42 (s, 4H, 2xCH₂), 1.58 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.75 (s, 2H, CH₂), 1.98 (d, *J* = 13.8 Hz, 2H, CH₂), 2.25 (s, 1H, CHCO), 3.02–3.29 (m, 2H, NCH₂), 3.47 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H, CH-N), 4.63 (s, 1H, NH), 6.14 (s, 1H, NH).

RMN-¹³C (CDCl₃, 75 MHz, ppm): 14.17 (CH₃), 22.73 (CH₂), 25.01(CH₂), 25.36 (CH₂), 27.08 (CH₂), 28.48 (C(CH₃)₃), 29.31 (CH₂), 29.40 (CH₂), 29.61 (CH₂), 30.25 (CH₂), 31.92 (CH₂), 33.35 (CH₂), 39.72 (NCH₂), 51.39 (CHCO), 51.97 (NCH), 79.49 (C_c), 156.04 (C=O, Boc), 174.53 (C=O, amida).

EMAR (ESI⁺): Calculado para C₂₀H₃₉N₂O₃, 355.2956; encontrado 355.2955.

IR (v, cm⁻¹): 3331 (NH, amida A), 1683 (CO, amida I), 1647 (CO, amida I), 1534 (amida II).

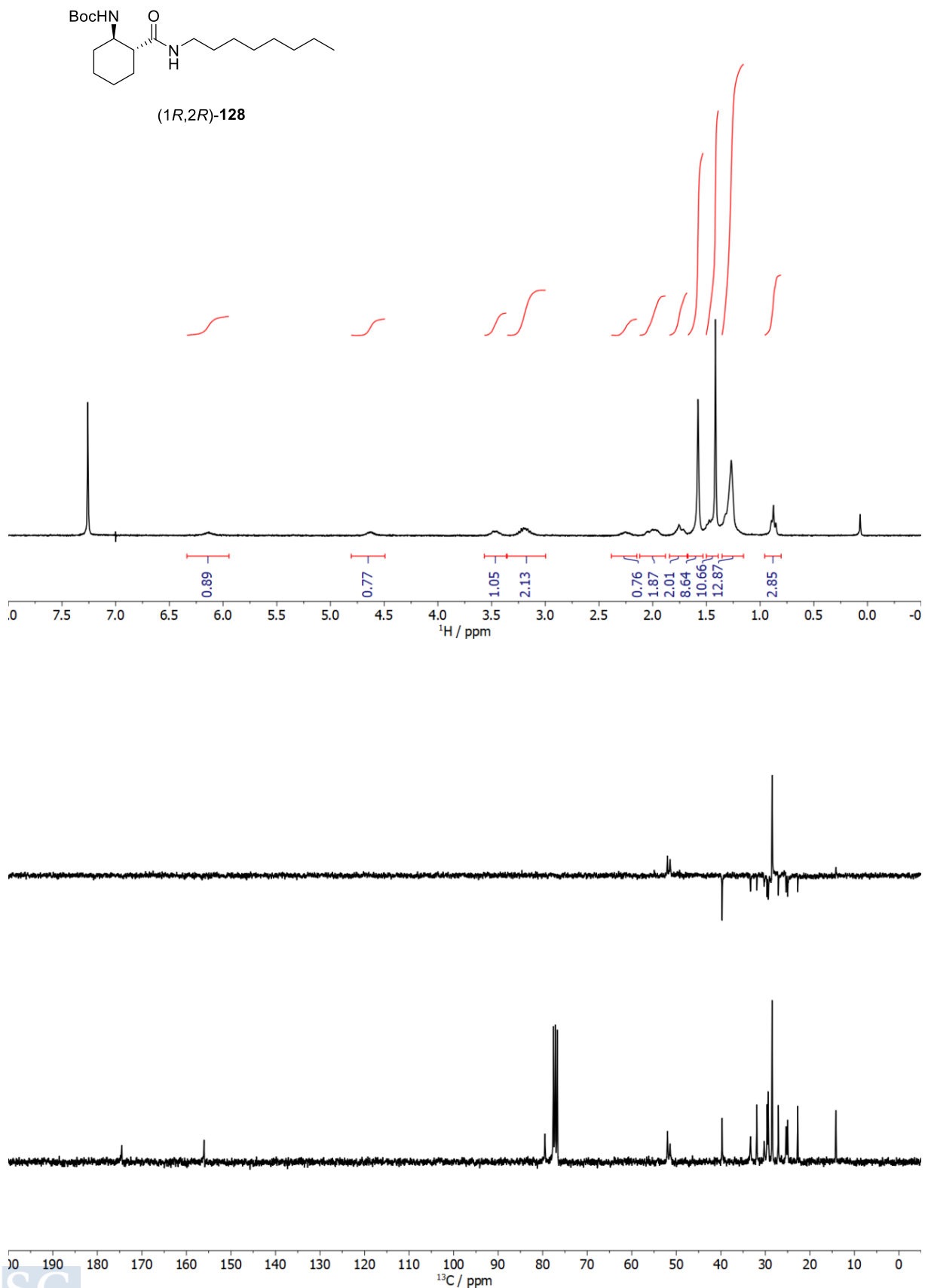
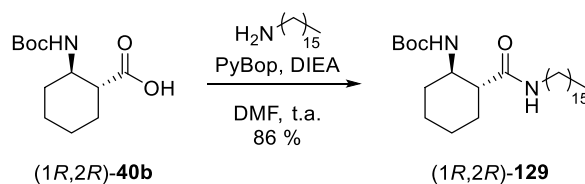


Figura 247. Espectro de RMN- ^1H y de RMN- ^{13}C y DEPT del compuesto (1*R*,2*R*)-128.

5.9.5 Síntesis del ((1*R*,2*R*)-2-(hexadecilcarbamoyl)ciclohexil)carbamato de *tert*-butilo ((1*R*,2*R*)-129)



Se preparó siguiendo el **Procedimiento General A** usando el ácido (1*R*,2*R*)-**40b** (100 mg, 0.411 mmol, 1.0 eq), DMF (4 mL), hexadecilamina (198 mg, 0.82 mmol, 2 eq), PyBop (321 mg, 0.617 mmol, 1.5 eq) y DIEA (179 μ L, 1.03 mmol, 2.5 eq). La cromatografía de columna (MeOH/DCM(1:15)) permitió obtener el ((1*R*,2*R*)-2-(hexadecilcarbamoyl)ciclohexil)carbamato *tert*-butilo ((1*R*,2*R*)-**129**) (165 mg, 86 %), como un sólido blanco.

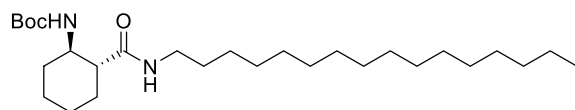
$[\alpha]_D^{20}$: -16.2 (*c* 1, CHCl₃).

RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz, ppm): 0.89 (t, *J* = 6.4 Hz, 3H, CH₃), 1.27 (s, 24H, 12xCH₂), 1.46 (s, 12H, C(CH₃)₃ + CH₂ + CH-H), 1.57 (m, 2H, CH₂), 1.87 (m, 3H, CH₂ + CH-H), 2.02–2.47 (m, 4H, 2xCH₂), 3.22 (s, 2H, NCH₂), 3.43 (s, 1H, CHCO) 4.24 (s, 1H, NCH), 6.02 (s, 1H, NH), 6.91 (s, 1H, NH).

RMN-¹³C (CDCl₃, 75 MHz, ppm): 14.21 (CH₃), 22.78 (CH₂), 26.98 (CH₂), 28.48 (C(CH₃)₃), 29.39 (CH₂), 29.45 (CH₂), 29.63 (CH₂), 29.69 (CH₂), 29.78 (10xCH₂), 32.02 (CH₂), 39.47 (CH₂), 47.19 (NCH₂), 60.20 (CHCO), 61.43 (NCH), 80.49 (C_c).

EMAR (ESI⁺): Calculado para C₂₈H₅₅N₂O₃, 467.4207; encontrado 467.4207.

IR (ν, cm⁻¹): 3333 (NH, amida A), 1684 (CO, amida I), 1645 (CO, amida I) y 1540 (amida II).



(1R,2R)-129

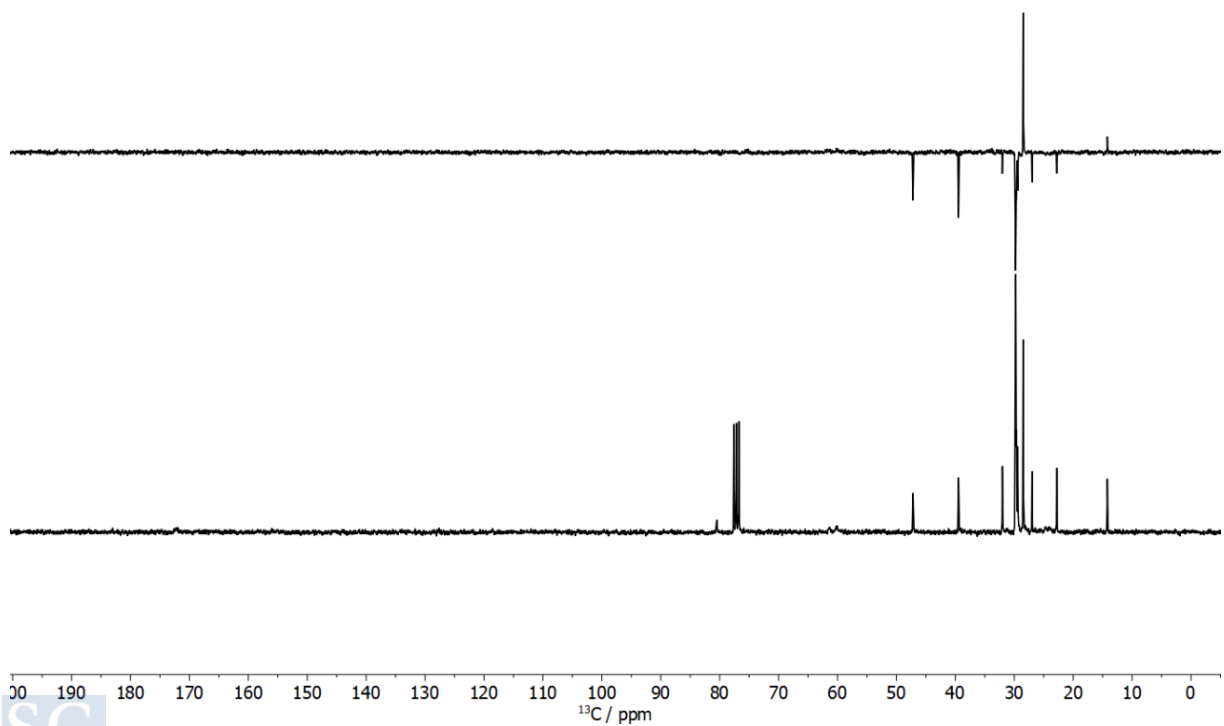
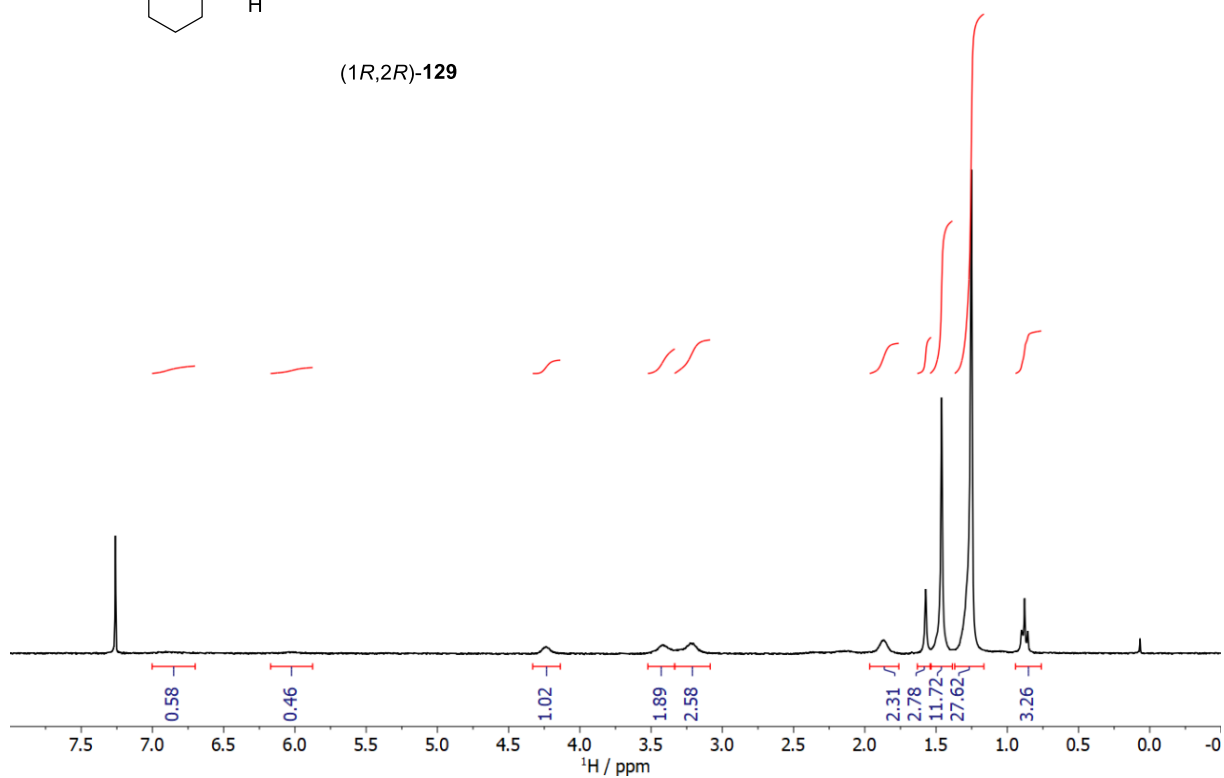
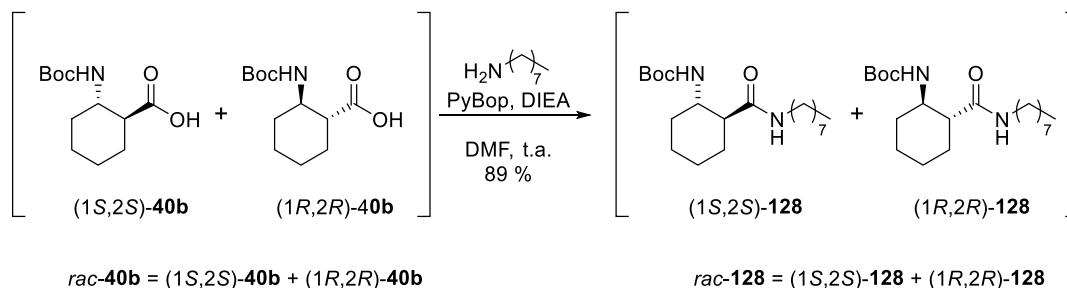


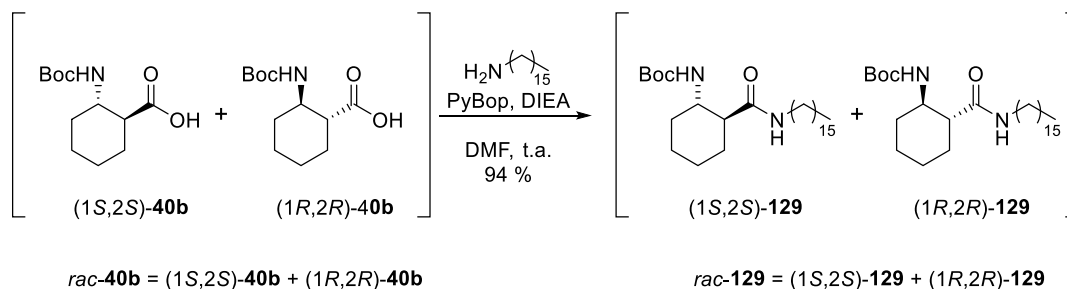
Figura 248. Espectro de RMN-¹H y de RMN-¹³C y DEPT del compuesto (1R,2R)-129.

5.9.6 Síntesis del ((1*S*,2*S*)-2-(octilcarbamoil)ciclohexil)carbamato *tert*-butilo ((1*S*,2*S*)-128) y del ((1*R*,2*R*)-2-(octilcarbamoil)ciclohexil)carbamato de *tert*-butilo ((1*R*,2*R*)-128) (*rac*-128)



Se preparó siguiendo el **Procedimiento General A**, usando el ácido *rac*-40b (462 mg, 1.90 mmol, 1.0 eq), DMF (19 mL), octilamina (627 μ L, 3.80 mmol, 2.5 eq), PyBop (1.483 g, 2.85 mmol, 1.5 eq) y DIEA (826 μ L, 4.75 mmol, 2.5 eq). La cromatografía de columna (AcOEt/Hex (1:1)) permitió aislar la mezcla racémica del ((1*S*,2*S*)-2-(octilcarbamoil)ciclohexil)carbamato y del *tert*-butilo ((1*R*,2*R*)-2-(octilcarbamoil)ciclohexil)carbamato de *tert*-butilo *rac*-128 (600 mg, 89 %), como un sólido blanco. Este racémico mostró las mismas propiedades espectroscópicas que su componente (1*R*,2*R*)-128 (página 308).

5.9.7 Síntesis del ((1*S*,2*S*)-2-(hexadecilcarbamoil)ciclohexil)carbamato *tert*-butilo ((1*S*,2*S*)-129) y del ((1*R*,2*R*)-2-(hexadecilcarbamoil)ciclohexil)carbamato de *tert*-butilo ((1*R*,2*R*)-129) (*rac*-129)



Se preparó siguiendo el **Procedimiento General A**, usando el ácido *rac*-40b (110 mg, 0.45 mmol, 1.0 eq), DMF (5 mL), hexadecilamina (197 mg, 1.13 mmol, 2 eq), PyBop (353 mg, 0.68 mmol, 1.5 eq) y DIEA (197 μ L, 1.13 mmol, 2.5 eq). La cromatografía columna (AcOEt/Hex (1:1)) permitió aislar la mezcla racémica del ((1*S*,2*S*)-2-(hexadecilcarbamoil)ciclohexil)carbamato de *tert*-butilo y del ((1*R*,2*R*)-2-(hexadecilcarbamoil)ciclohexil)carbamato de *tert*-butilo *rac*-129 (150 mg, 94 %) como un sólido blanco. Este racémico mostró las mismas propiedades espectroscópicas que su componente (1*R*,2*R*)-129 (página 310).

5.10 ANÁLISIS ESTRUCTURAL DE LAS *N*-ALQUILAMIDAS Gc8, Gc16, Gt8, Gt16, rGt8 Y rGt16

5.10.1 Estudio de infrarrojo de las *N*-alquilamidas Gc8, Gc16, Gt8, Gt16, rGt8 y rGt16

Procedimiento para la medida de FTIR de Xerogel: Se preparó un xerogel de la *N*-alquilamida a estudiar en hexano a su *cmg*. Este xerogel se depositó sobre un accesorio de ATR de un espectrómetro FTIR y se midió su espectro de FTIR.

Procedimiento para la medida de FTIR en disolución: Se preparó una disolución de 1 mg/mL de cada una de las alquilamidas a estudiar y se tomó una medida de FTIR de esta disolución.

Compuesto	NH		C=O	
	Xerogel	Disolución	Xerogel	Disolución
Gc8	3335	3340	1644	1645
			1685	1686
Gc16	3330	3330	1644	1647
			1684	1682
Gt8	3324	3331	1644	1647
			1685	1683
Gt16	3329	3333	1644	1645
			1684	1684
rGt8	3332	3334	1685	1687
			1646	1647
rGt16	3328	3328	1684	1686
			1644	1645

Tabla 41. Máximos (cm^{-1}) de las bandas características de Amida A y Amida I para los compuestos Gc8, Gc16, Gt8, Gt16, rGt8 y rGt16.

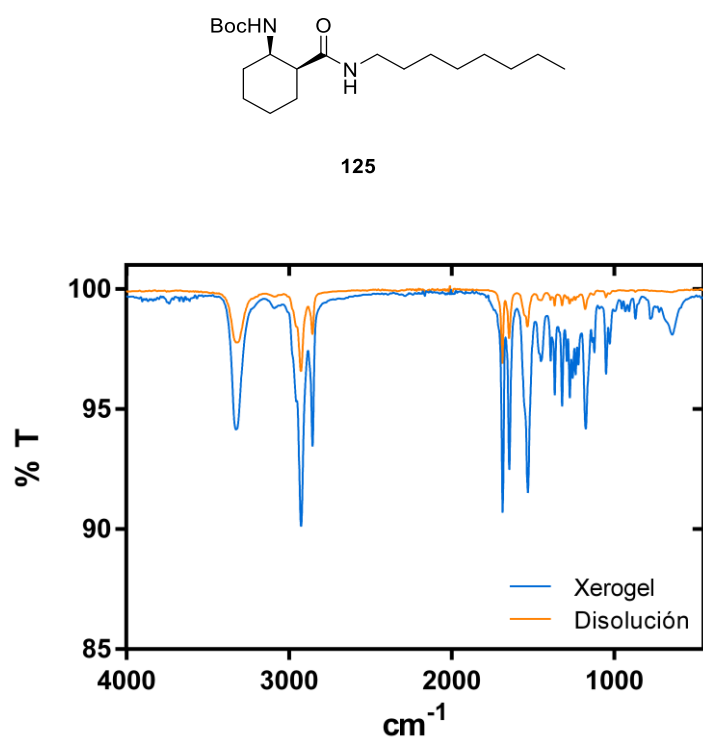


Figura 249. Espectro de FTIR del compuesto 125 en disolución de MeOH/DCM 1:10 (naranja) y en como xerogel formado en hexano (azul).

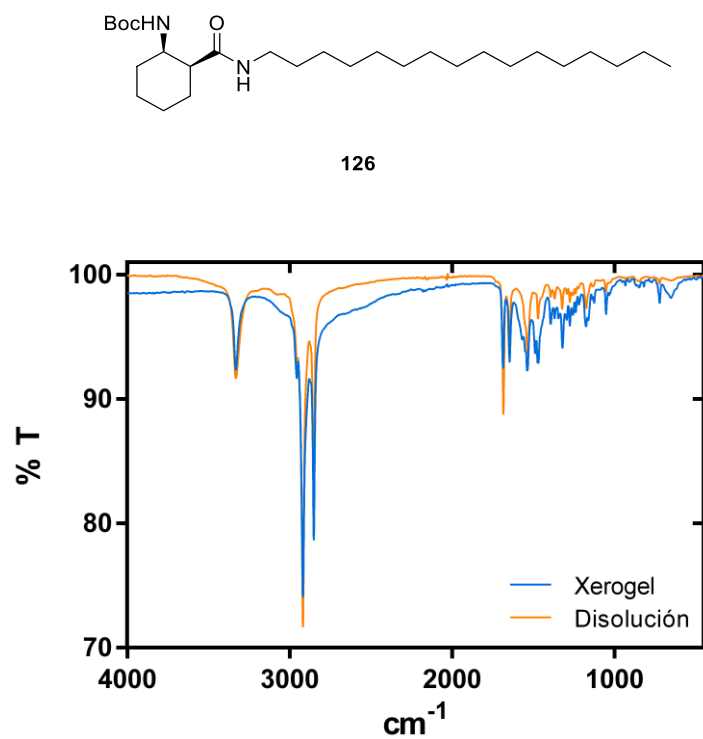
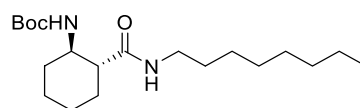


Figura 250. Espectro de FTIR del compuesto 126 en disolución de MeOH/DCM 1:10 (naranja) y en como xerogel formado en hexano (azul).



(1R,2R)-128

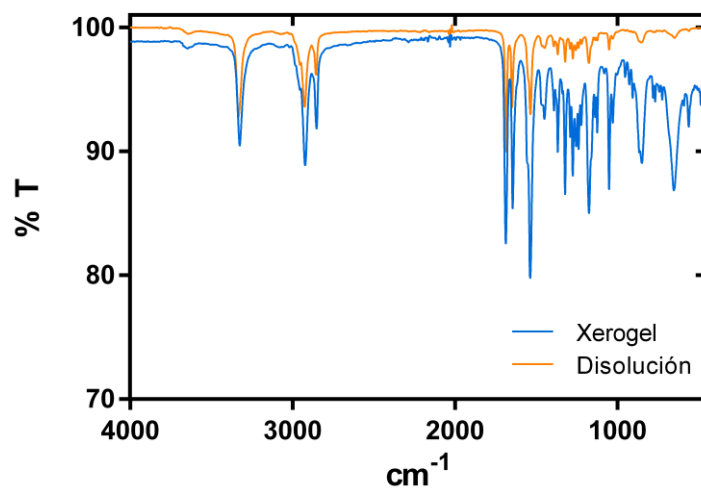
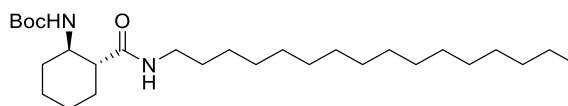


Figura 251. Espectro de FTIR del compuesto (1R,2R)-128 en disolución de MeOH/DCM 1:10 (naranja) y en como xerogel formado en hexano (azul).



(1R,2R)-129

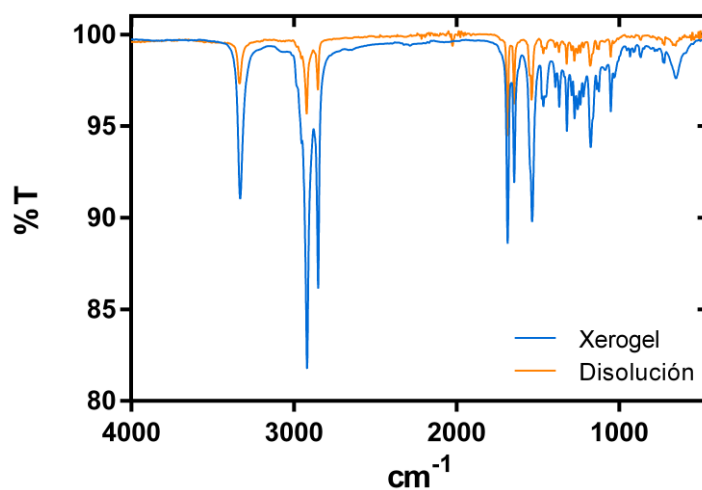


Figura 252. Espectro de FTIR del compuesto (1R,2R)-129 en disolución de MeOH/DCM 1:10 (naranja) y en como xerogel formado en hexano (azul).

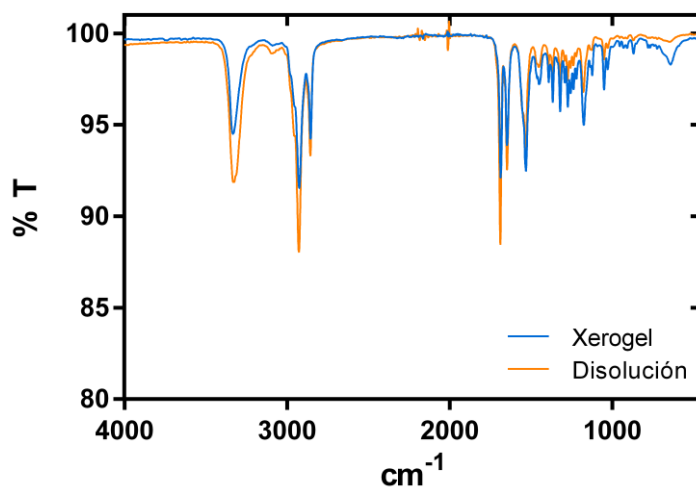
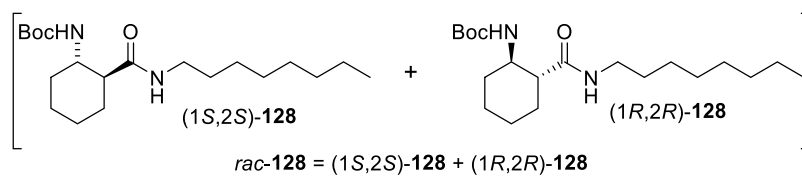


Figura 253. Espectro de FTIR del compuesto *rac-128* en disolución de MeOH/DCM 1:10 (naranja) y en como xerogel formado en hexano (azul).

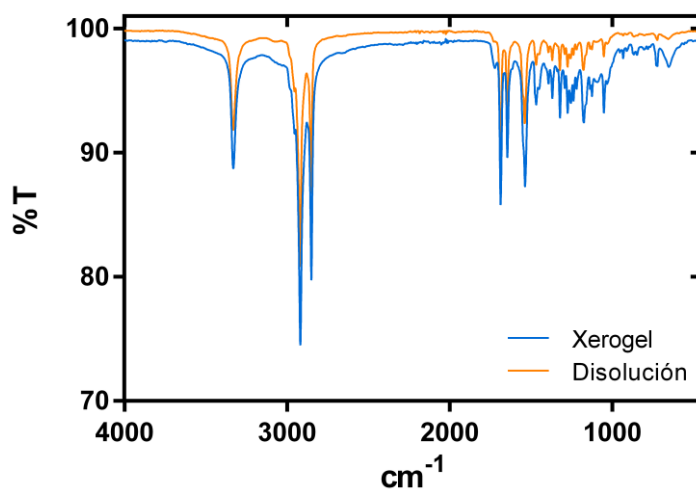
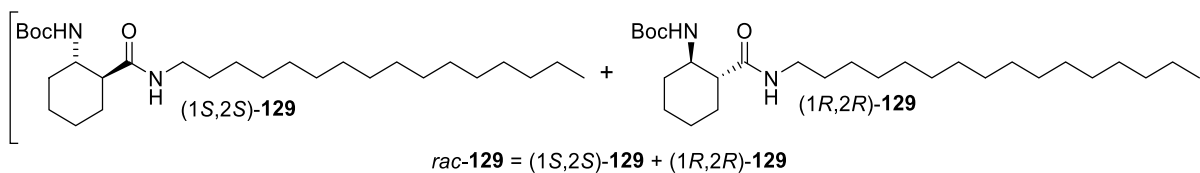
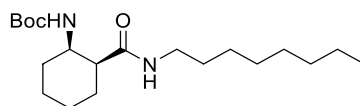


Figura 254. Espectro de FTIR del compuesto *rac-129* en disolución de MeOH/DCM 1:10 (naranja) y en como xerogel formado en hexano (azul).

5.10.2 Micrografías de SEM de las *N*-alquilamidas Gc8, Gc16, Gt8, Gt16, rGt8 y rGt16

Preparación de las muestras: Se prepara el xerogel de la *N*-alquilamida a estudiar en hexano a su *cmg*. A continuación, se deposita este xerogel sobre un soporte y se metaliza con iridio para mejorar su conductividad.



Gc8

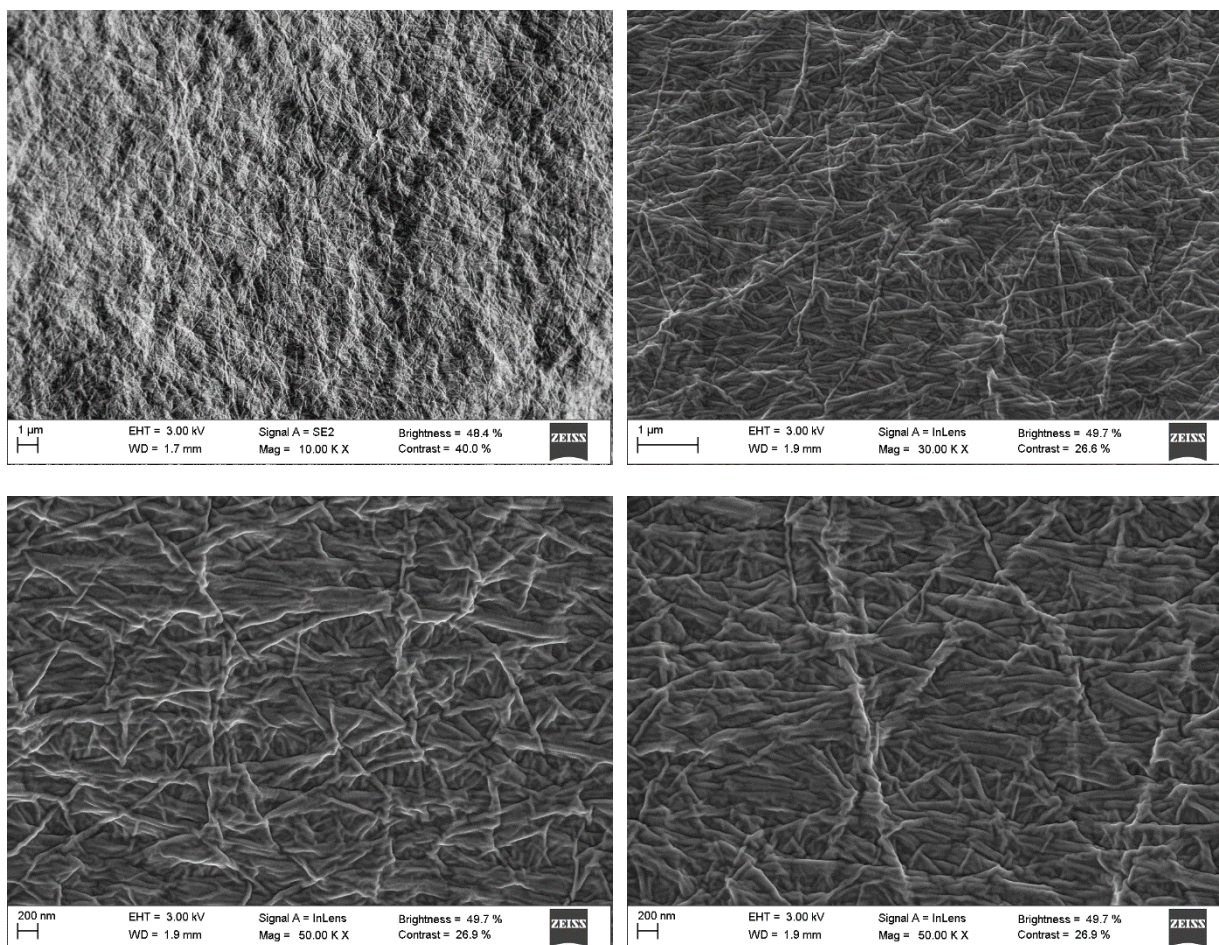
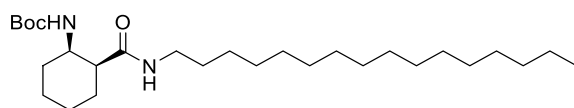


Figura 255. Selección de micrografías de SEM del xerogel de Gc8 a su *cmg* en hexano.



Gc16

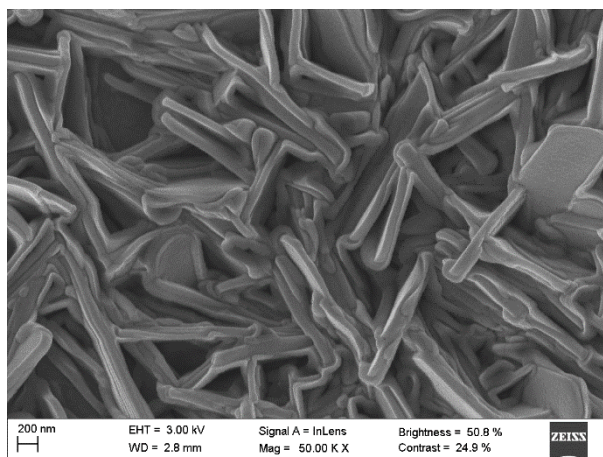
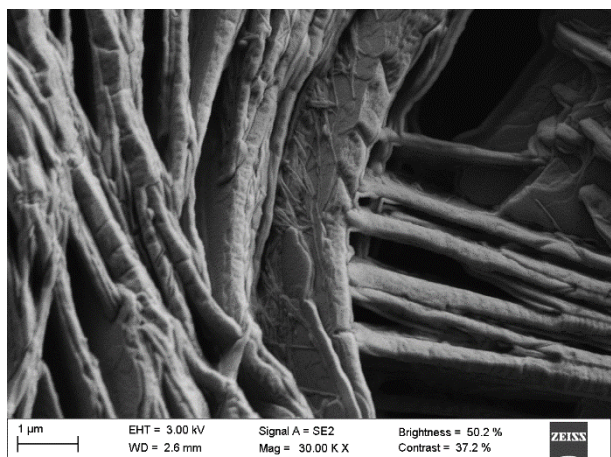
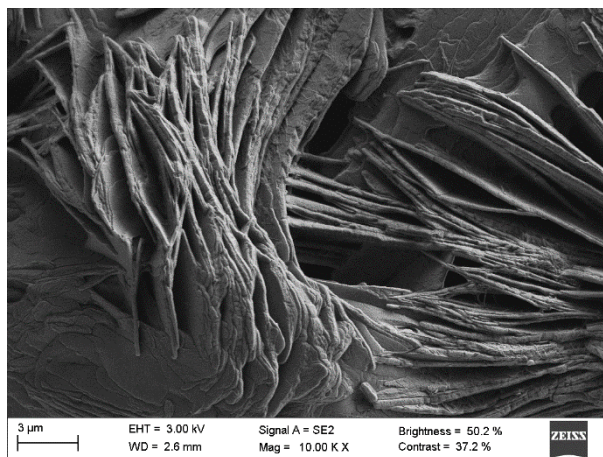
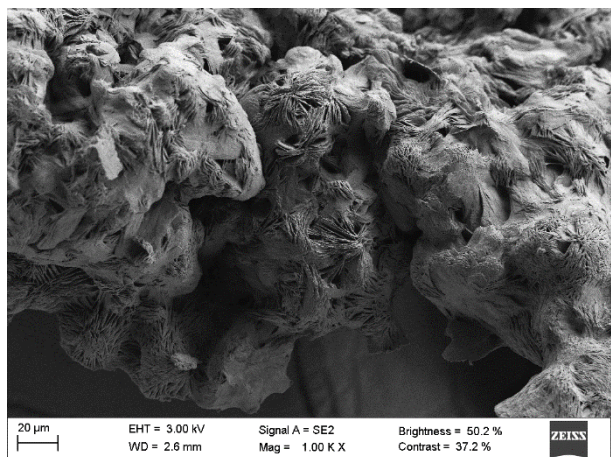
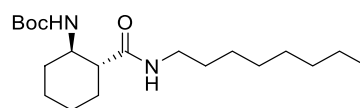


Figura 256. Selección de micrografías de SEM del xerogel de Gc16 a su cmg en hexano.



Gt8

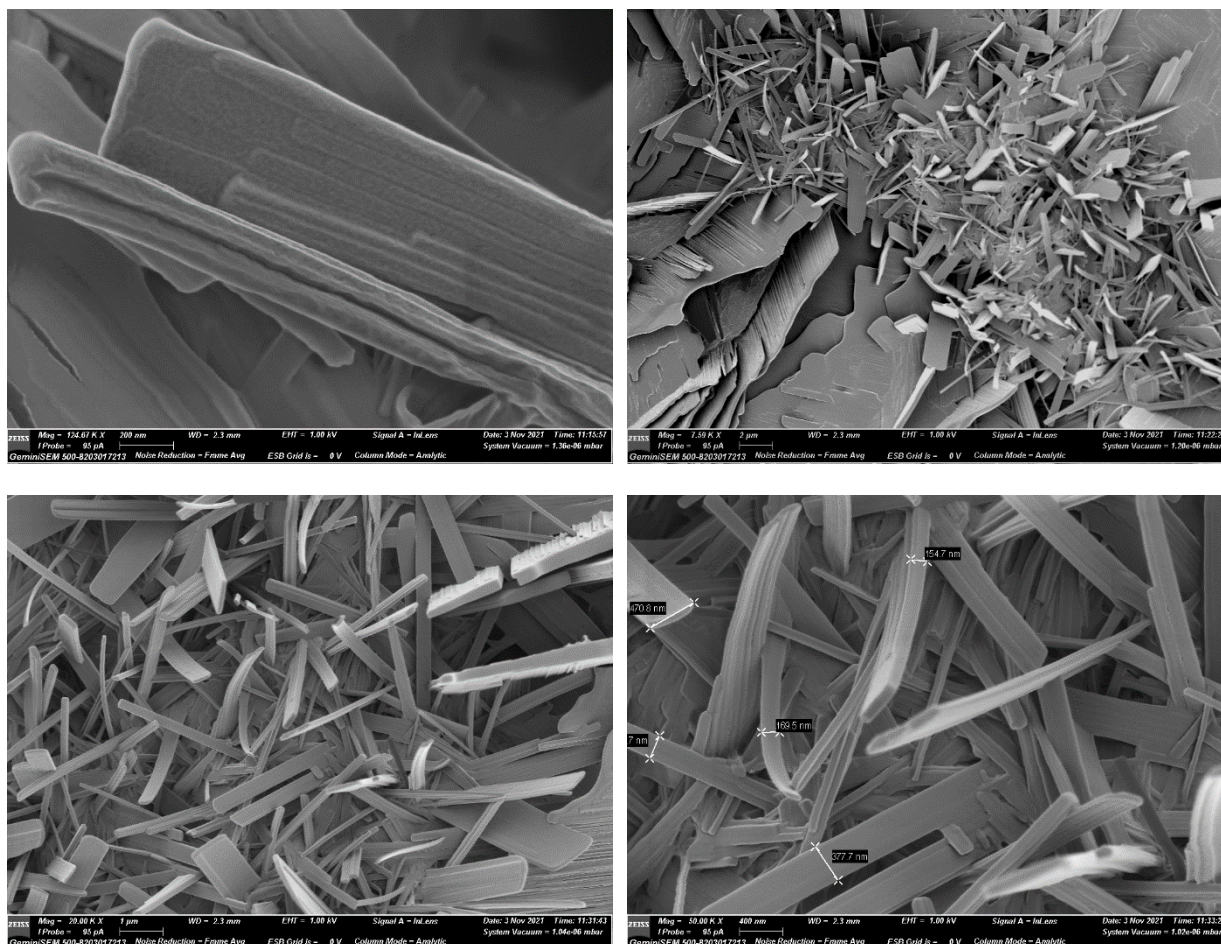
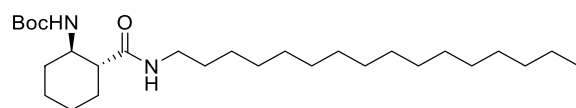


Figura 257. Selección de micrografías de SEM del xerogel de Gt8 a su cmg en hexano.



Gt16

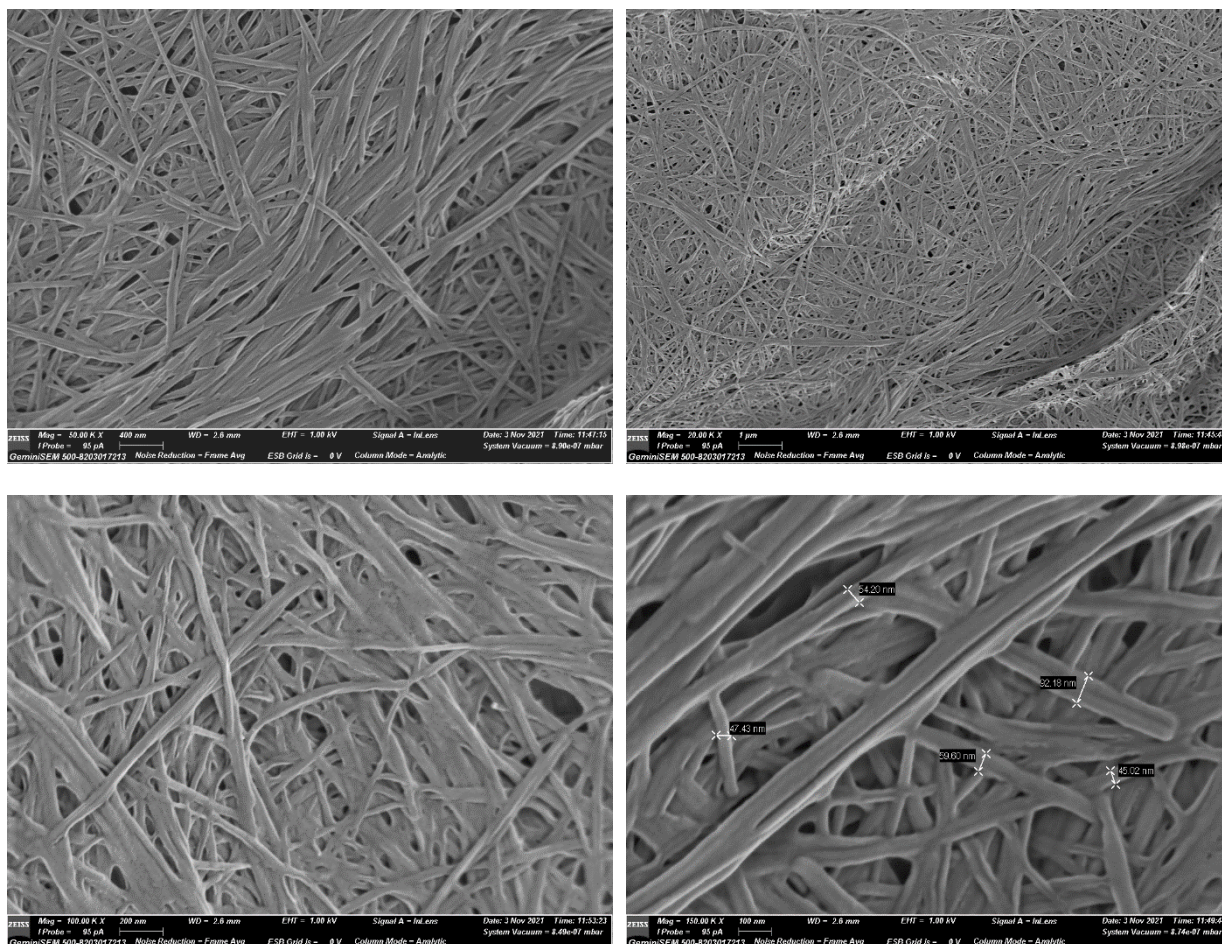


Figura 258. Selección de micrografías de SEM del xerogel de Gt16 a su cmg en hexano.

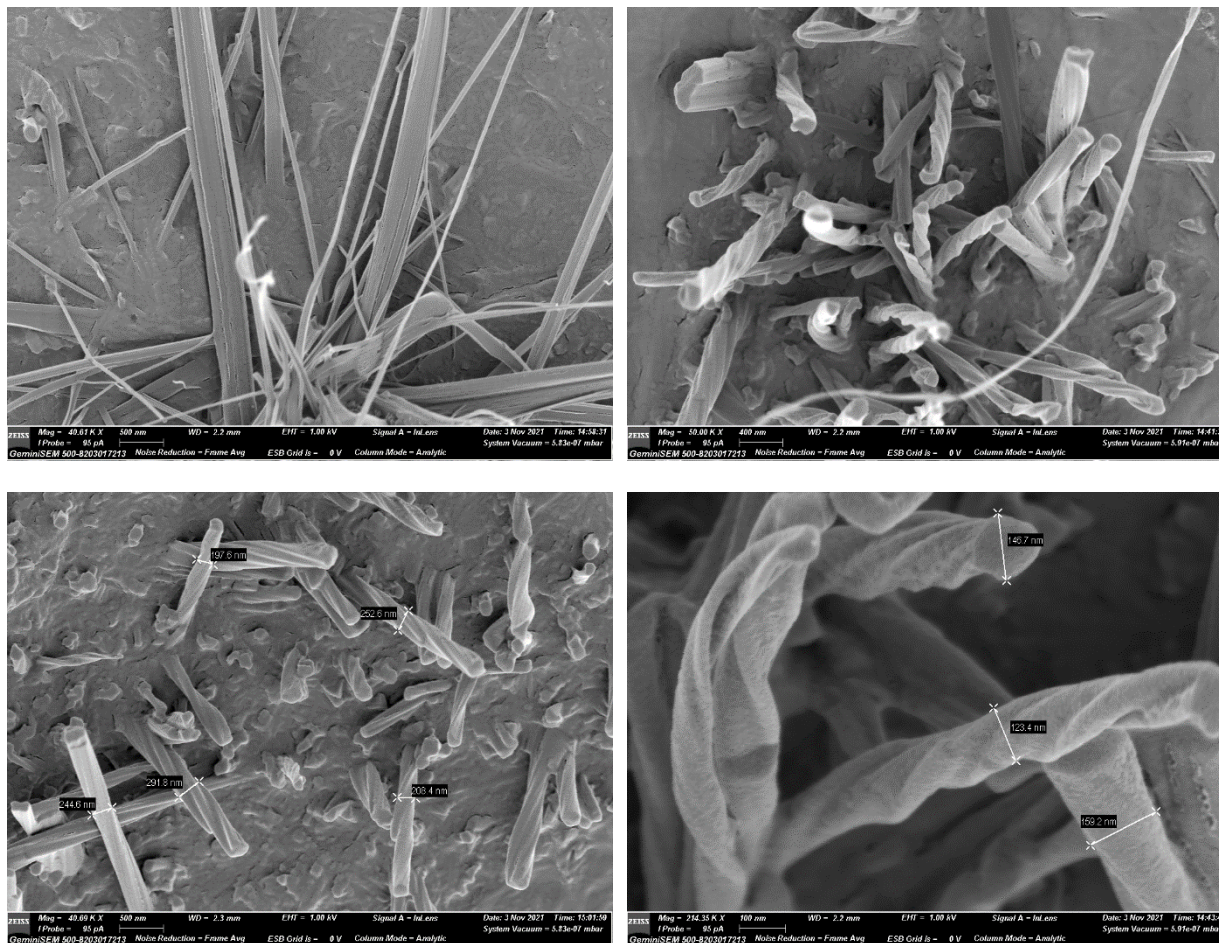
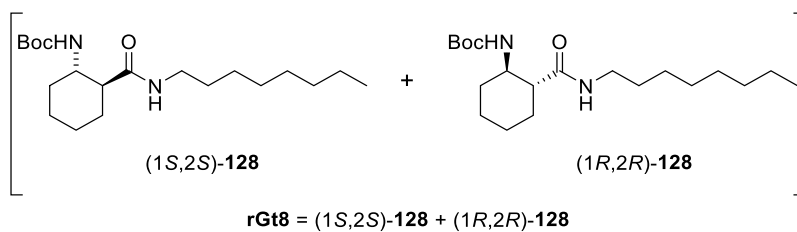
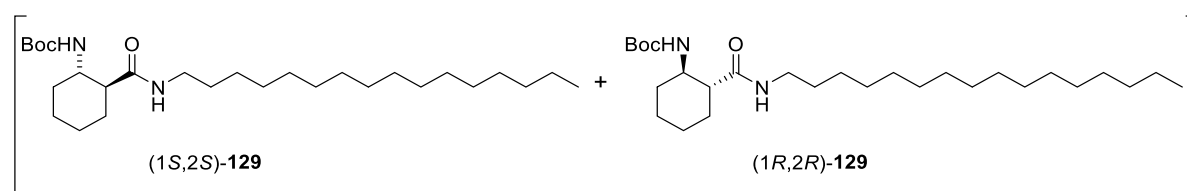


Figura 259. Selección de micrografías de SEM del xerogel de rGt8 a su cmg en hexano.



$rGt16 = (1S,2S)\text{-129} + (1R,2R)\text{-129}$

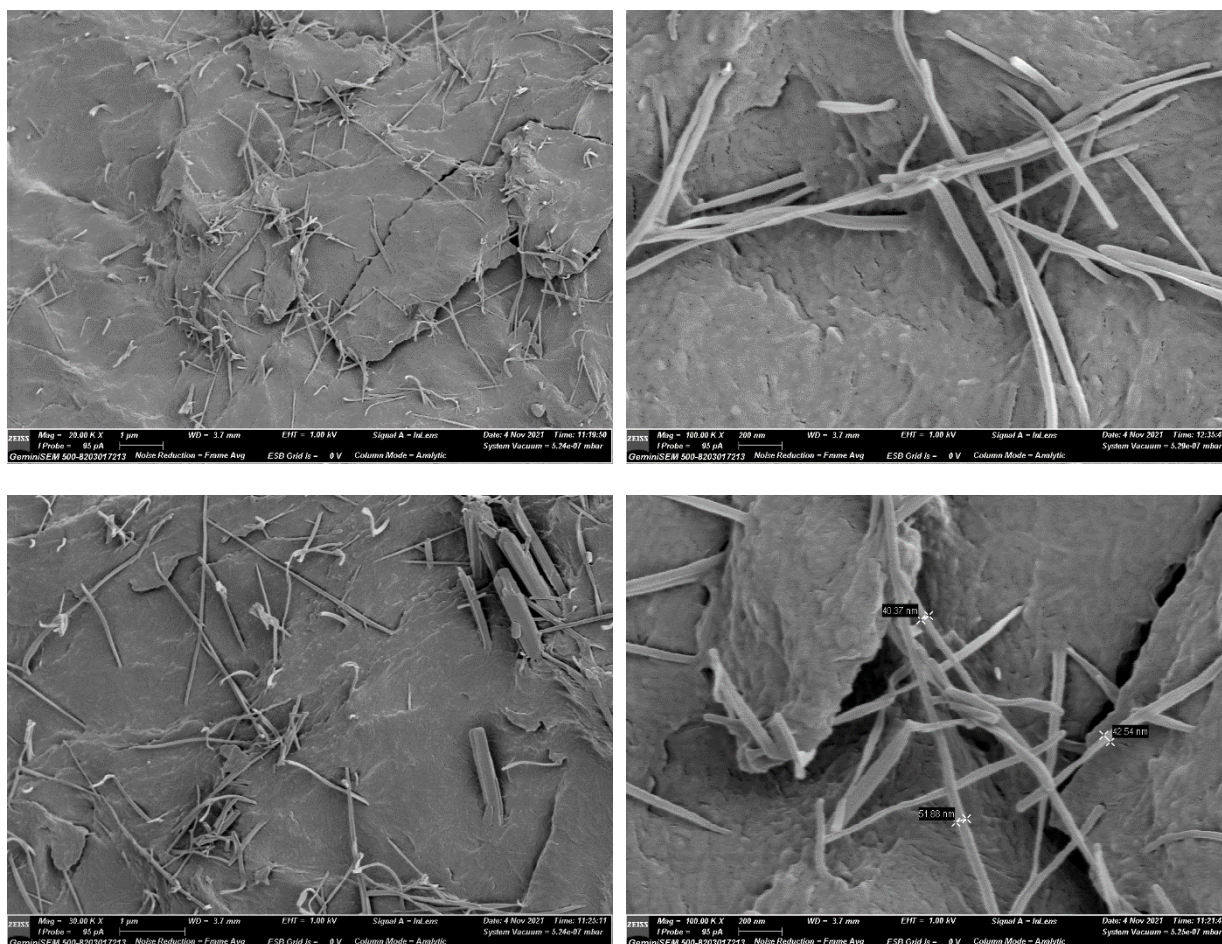
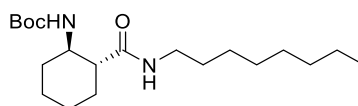


Figura 260. Selección de micrografías de SEM del xerogel de *rGt16* a su cmg en hexano.

5.10.3 Microscopía de Fuerza Atómica (AFM)

Preparación de la muestra: Se preparó una disolución de (1*R*,2*R*)-**128** en una mezcla MeOH/DCM 1:1 a una concentración de 0.01 mg/mL. Una gota de esta disolución se depositó sobre un soporte de mica inclinado 45 ° para formar una película lo más fina posible. Se dejó evaporar todo el disolvente antes de efectuar la medida.



Gt8

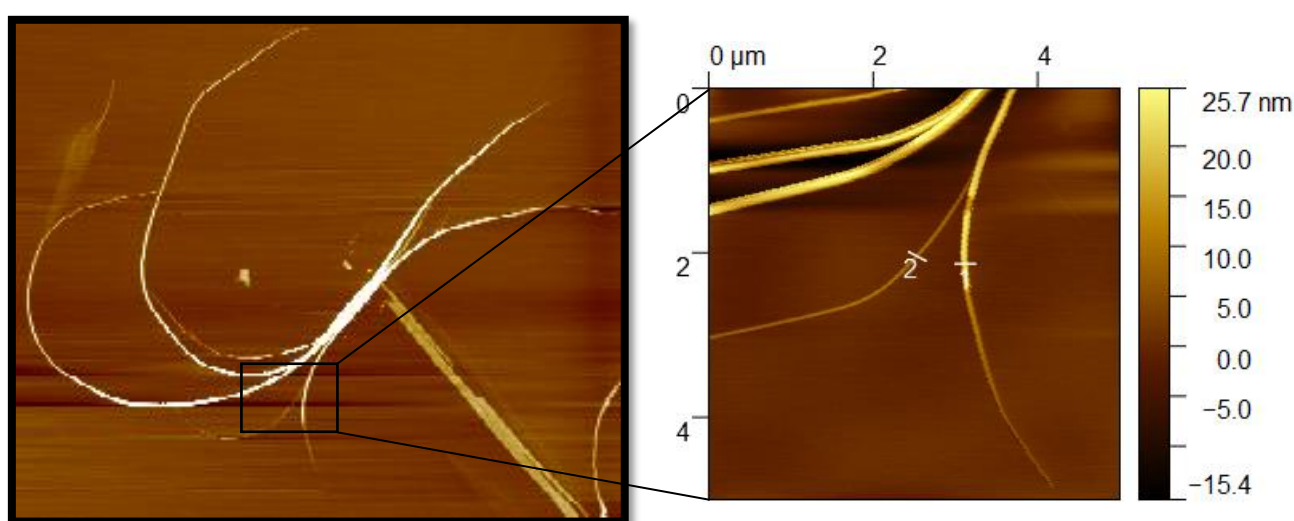


Figura 261. Imagen de AFM de Gt8 y su ampliación.

5.10.4 Espectroscopía de Rayos X

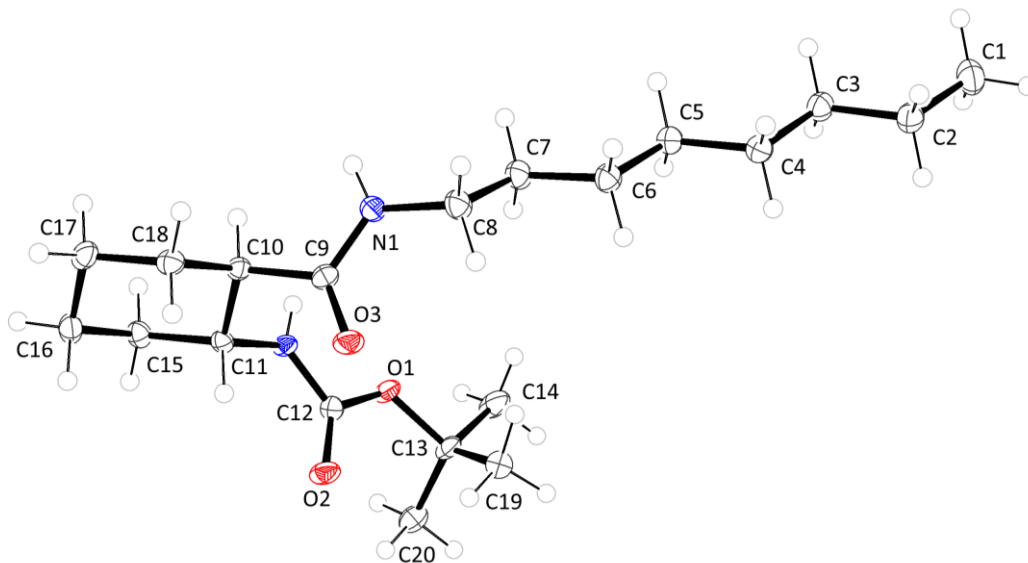


Figura 262. Rayos X del monocristal del compuesto (1R,2R)-128, con elipsoides térmicos a una probabilidad del 50 %.

$D-H\cdots A$	$D-H$	$H\cdots A$	$D\cdots A$	$D-H\cdots A$
$N1-H1N\cdots O3^i$	0.86 (3)	2.19 (3)	3.038 (2)	171 (3)
$N2-H2N\cdots O2^i$	0.82 (3)	2.05 (3)	2.819 (2)	156 (3)
$C10-H24\cdots O2^i$	1	2.66	3.403 (3)	131
$C19-H30\cdots O2$	0.98	2.45	2.993 (3)	115
$C20-H34\cdots O2$	0.98	2.45	2.993 (3)	115
$C19-H30\cdots O2$	0.98	2.45	2.993 (3)	115
$C20-H34\cdots O2$	0.98	2.45	2.993 (3)	115
$N1-H1N\cdots O3^i$	0.86 (3)	2.19 (3)	3.038 (2)	171 (3)
$N2-H2N\cdots O2^i$	0.82 (3)	2.05 (3)	2.819 (2)	156 (3)

Tabla 42. Geometría de los de los enlaces de hidrógeno (\AA , $^\circ$) para el compuesto (1R,2R)-128.

Crystal data

Chemical formula	C ₂₀ H ₃₈ N ₂ O ₃
<i>M_r</i>	354.52
Crystal system, space group	Monoclinic, <i>P</i> 2 ₁
Temperature (K)	100
<i>a</i> , <i>b</i> , <i>c</i> (Å)	11.4460 (3), 5.0342 (1), 18.5855 (5)
β (°)	97.360 (2)
<i>V</i> (Å ³)	1062.10 (5)
<i>Z</i>	2
Radiation type	Cu <i>K</i> α
μ (mm ⁻¹)	0.58
Crystal size (mm)	0.25 × 0.04 × 0.04

Data collection

Diffractometer	Bruker D8 VENTURE PHOTON III-14
Absorption correction	Multi-scan BRUKER SADABS2016/2
<i>T_{min}</i> , <i>T_{max}</i>	0.921, 0.971
No. of measured, independent and observed [<i>I</i> > 2 σ (<i>I</i>)] reflections	28622, 4287, 4004
<i>R_{int}</i>	0.053
(<i>sin</i> θ / λ) _{max} (Å ⁻¹)	0.625

Refinement

<i>R</i> [<i>F</i> ² > 2 σ (<i>F</i> ²)], <i>wR</i> (<i>F</i> ²), <i>S</i>	0.038, 0.091, 1.05
No. of reflections	4287
No. of parameters	239
No. of restraints	1
H-atom treatment	H atoms treated by a mixture of independent and constrained refinement
$\Delta\rho_{\max}$, $\Delta\rho_{\min}$ (e Å ⁻³)	0.19, -0.15
Absolute structure	Refined as an inversion twin.
Absolute structure parameter	-0.1 (2)

Tabla 43. Datos del cristal y refinamiento para el compuesto (1*R*,2*R*)-128.

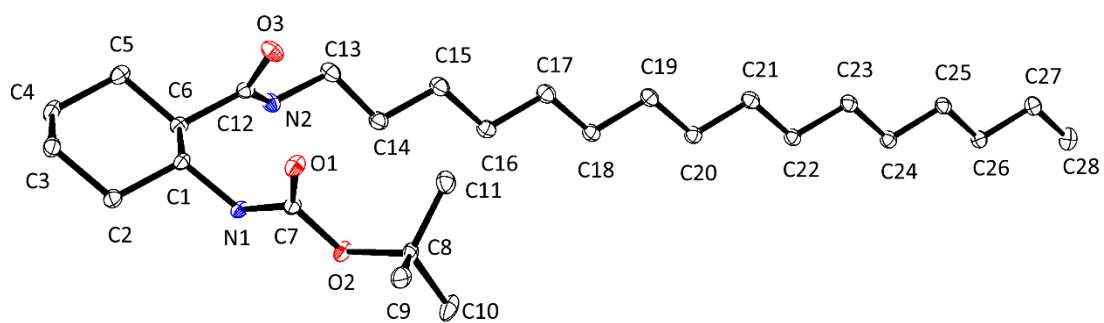


Figura 263. Rayos X del monocristal del compuesto (1R,2R)-129, con elipsoides térmicos a una probabilidad del 50 %.

Crystal data

Chemical formula	C ₂₈ H ₅₄ N ₂ O ₃
<i>M_r</i>	466.73
Crystal system, space group	Monoclinic, <i>P2</i> ₁
Temperature (K)	100
<i>a</i> , <i>b</i> , <i>c</i> (Å)	11.4850 (3), 5.0296 (1), 25.3793 (6)
β (°)	102.650 (2)
<i>V</i> (Å ³)	1430.45 (6)
<i>Z</i>	2
Radiation type	Cu K α
μ (mm ⁻¹)	0.53
Crystal size (mm)	0.17 × 0.03 × 0.02

Data collection

Diffractometer	Bruker D8 VENTURE PHOTON III-14
Absorption correction	Multi-scan BRUKER SADABS2016/2
<i>T_{min}</i> , <i>T_{max}</i>	0.823, 0.971
No. of measured, independent and observed [<i>I</i> > 2 σ (<i>I</i>)] reflections	33887, 5732, 5286
<i>R_{int}</i>	0.062
(sin θ/λ) _{max} (Å ⁻¹)	0.625

Refinement

<i>R</i> [<i>F</i> ² > 2 σ (<i>F</i> ²)], <i>wR</i> (<i>F</i> ²), <i>S</i>	0.047, 0.124, 1.04
No. of reflections	5732
No. of parameters	313
No. of restraints	1
H-atom treatment	H atoms treated by a mixture of independent and constrained refinement
$\Delta\rho_{\max}$, $\Delta\rho_{\min}$ (e Å ⁻³)	0.18, -0.19
Absolute structure	Flack <i>x</i> determined using 2064 quotients [(<i>I</i> ⁺)-(<i>I</i> ⁻)]/[(<i>I</i> ⁺)+(<i>I</i> ⁻)] (Parsons, B69 (2013) 249-259). Flack and Wagner, Acta Cryst.
Absolute structure parameter	0.1 (3)

Tabla 44. Datos del cristal y refinamiento para el compuesto (1*R*,2*R*)-129.

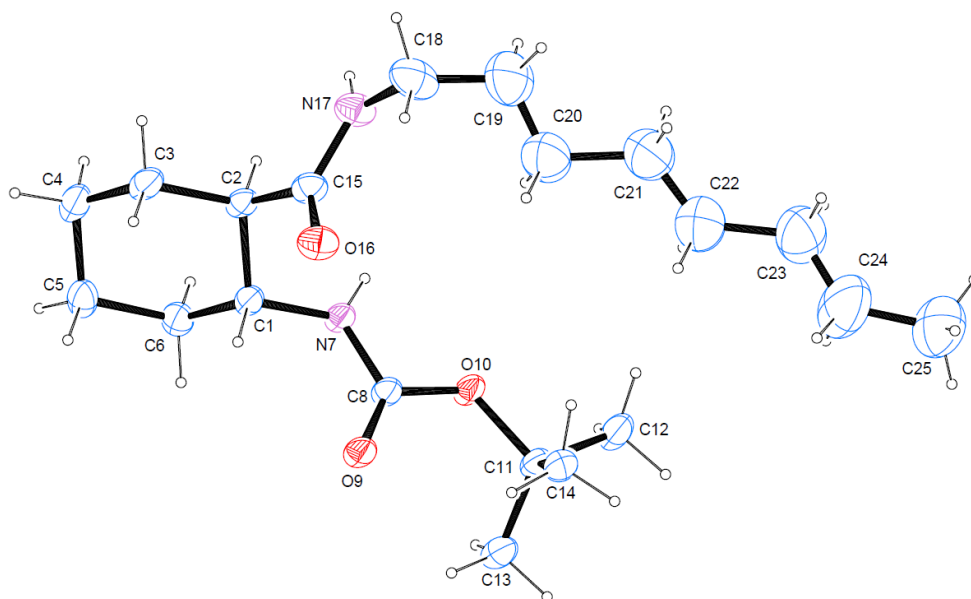


Figura 264. Rayos X del monocristal del compuesto *rac*-128, con elipsoides térmicos a una probabilidad del 50 %.

<i>D</i> —H... <i>A</i>	<i>D</i> —H	H... <i>A</i>	<i>D</i> ... <i>A</i>	<i>D</i> —H... <i>A</i>
N7—H7...O9 ⁱ	0.86	2.11	2.932 (3)	160
N17—H17...O16 ⁱ	0.86	2.14	2.961 (4)	161

Tabla 45. Geometría de los de los enlaces de hidrógeno (Å, °) para el compuesto *rac*-128.

Crystal data

Chemical formula	C ₂₀ H ₃₈ N ₂ O ₃
M_r	354.52
Crystal system, space group	Triclinic, <i>P1</i>
Temperature (K)	100
a, b, c (Å)	5.0987(2), 11.6169(3), 18.7828(7)
β (°)	88.758(2)
V (Å ³)	1109.27(7)
Z	2
Radiation type	Cu $K\alpha$
μ (mm ⁻¹)	0.56
Crystal size (mm)	0.40 × 0.12 × 0.02

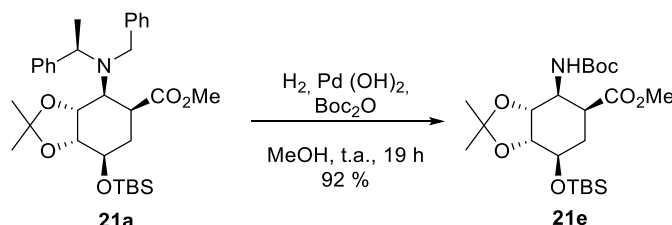
Data collection

Diffractionmeter	Bruker D8 VENTURE PHOTON III-14
Absorption correction	Multi-scan TWINABS - Bruker AXS scaling for twinned crystals - Version 2012/1
T_{min}, T_{max}	0.70, 0.99
No. of measured, independent and observed [$I > 2\sigma(I)$] reflections	50686, 3200, 0.123
R_{int}	0.124
$(\sin \theta/\lambda)_{max}$ (Å ⁻¹)	0.625

Refinement

$R[F^2 > 2\sigma(F^2)], wR(F^2), S$	0.0811, 0.267, 1.05
No. of reflections	3200
No. of parameters	232
No. of restraints	234
H-atom treatment	H atoms treated by a mixture of independent and constrained refinement
$\Delta\rho_{max}, \Delta\rho_{min}$ (e Å ⁻³)	0.20, -0.25
Absolute structure	Flack x determined using 2064 quotients [(+)-(-)]/[(+)+(-)] (Parsons, B69 (2013) 249-259). Flack and Wagner, Acta Cryst.
Absolute structure parameter	--

Tabla 46. Datos del cristal y refinamiento para el compuesto *rac*-128.

5.11 SÍNTESIS DE *N*-ALQUILAMIDAS DEL ÁCIDO (-)-SHIKÍMICO5.11.1 Síntesis del (3*aR*,4*S*,5*S*,7*R*,7*aR*)-4-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxilato de metilo (**21e**)

A una disolución desoxigenada del compuesto **21a** (1.17 g, 2.11 mmol) y Boc_2O (550 mg, 2.53 mmol, 1.2 eq) en MeOH (44 mL) se le añadió $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ del 20% (760 mg, 50% en peso). La mezcla resultante se agitó a t.a., bajo atmósfera de hidrógeno ($P=1$ atm), comprobándose al cabo de 16 h por ccf (AcOEt/Hex 1:5) la desaparición del producto de partida ($R_f = 0.8$) y la formación de uno más polar ($R_f = 0.3$). La mezcla de reacción se filtró a través de Celita, que se lavó con MeOH, concentrando a continuación el filtrado a sequedad en el rotavapor. El crudo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna, eluyendo con una mezcla AcOEt/Hex 1:5, aislándose 891 mg (1.94 mmol, 92 % de rendimiento) del 3*aR*,4*S*,5*S*,7*R*,7*aR*)-4-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxilato de metilo (**21e**) como un sólido blanco.

$[\alpha]_D^{19}$: -24.4 (*c* 1, CH_2Cl_2).

RMN-¹H (CDCl_3 , 300 MHz, ppm): 0.09 (s, 3H, SiCH_3), 0.11 (s, 3H, SiCH_3), 0.89 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 1.32 (s, 3H, CCH_3), 1.39 (s, 9H, CCH_3), 1.47 (s, 3H, CCH_3), 2.08 (ddd, $J = 19.2, 14.9, 12.0, 4.1, 3.5$ Hz, 2H, CH_2), 2.96 (q, $J = 6.5$ Hz, 1H, CH-CO), 3.65 (s, 3H, OCH_3), 4.02–4.12 (m, 2H, 2x CH-O), 4.24 (dt, $J = 9.9, 4.7$ Hz, 1H, CH-O), 4.33 (t, $J = 5.3$ Hz, 1H, CH-N), 5.79 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H, NH).

RMN-¹³C (CDCl_3 , 75 MHz, ppm): -5.02 (SiCH_3), -4.94 (SiCH_3), 18.21 (SiC_c), 25.12 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 25.91 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 27.33 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$, Boc), 27.66 (CH_2), 38.35 (OCH_3), 49.11 (CHCO), 51.93 (NCH), 67.82 (OCH), 75.77 (OCH), 76.85 (OCH), 79.27 (C_c), 108.60 (C_c), 155.42 (C=O, uretano), 174.07 (C=O, éster).

EMAR (ESI⁺): Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{42}\text{NO}_7\text{Si}$, 460.2738; encontrado 460.2725.

IR (ν , cm^{-1}): 3380.42 (NH), 1726.61 (C=O) y 1513.71 (C=O).

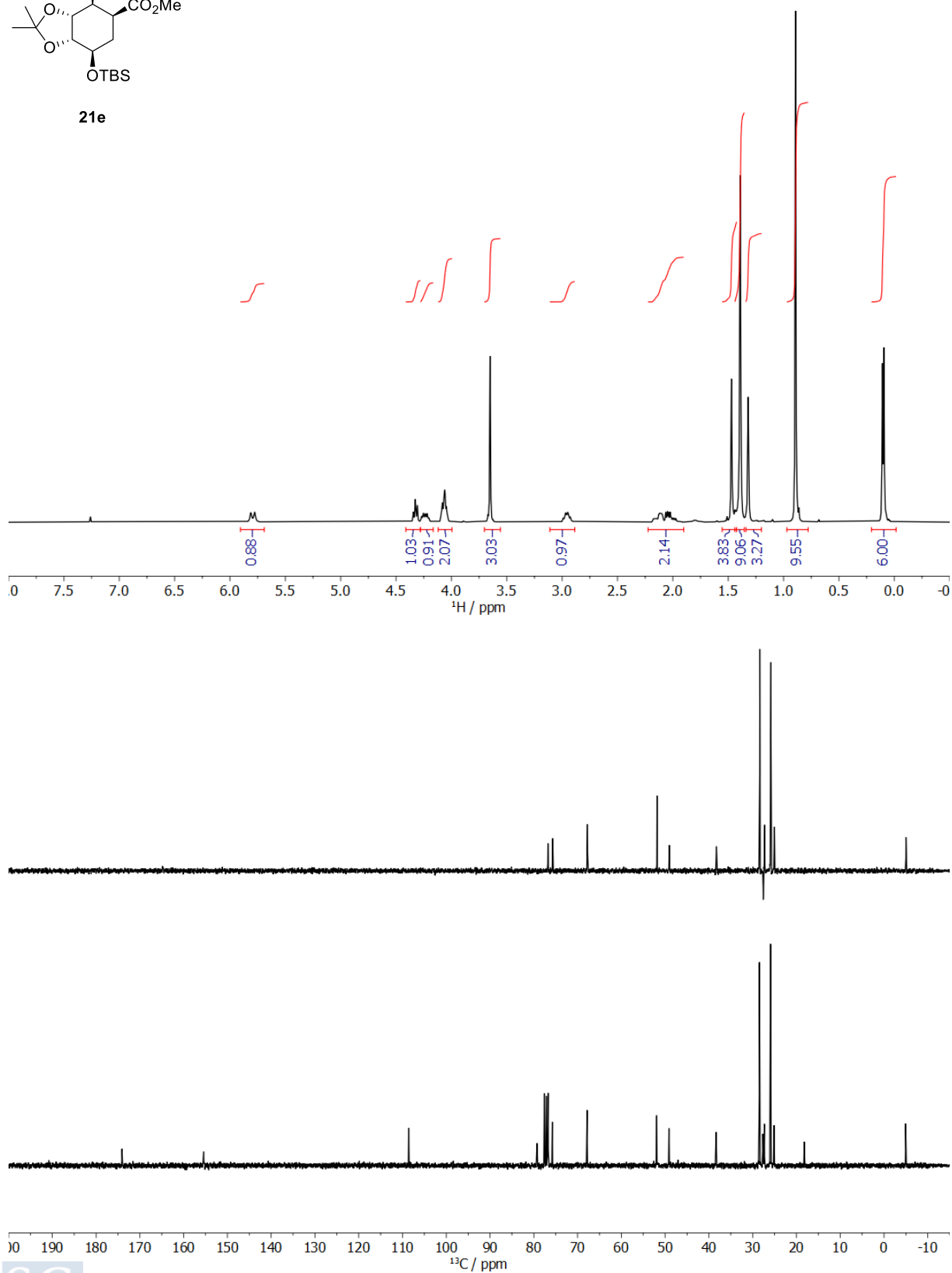
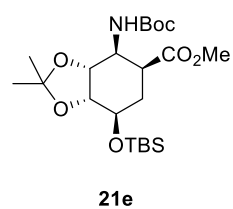
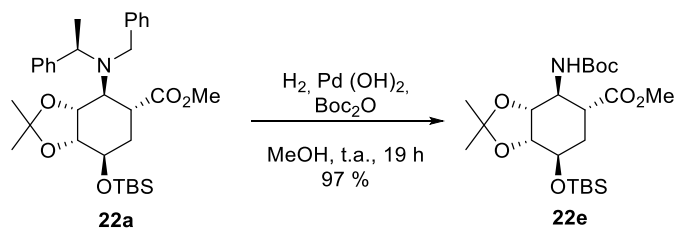


Figura 265. Espectro de RMN- ^1H y de RMN- ^{13}C y DEPT del compuesto 21e.

5.11.2 Síntesis del (3aR,4S,5R,7R,7aR)-4-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-7-((*tert*-butildime-tilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxilato de metilo (**22e**)



A una disolución desoxigenada del compuesto **22a** (1.9 g, 3.43 mmol) y Boc_2O (0.9 g, 4.11 mmol, 1.2 eq) en MeOH (190 mL) se le añadió de $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ al 20% (0.95 g, 50% en peso). La mezcla resultante se agitó a t.a., bajo atmósfera de hidrógeno ($P = 1 \text{ atm}$), hasta que al cabo de 16 h se observó por ccf (AcOEt/Hex 1:5) la desaparición del producto de partida ($R_f = 0.8$) y la formación de uno más polar ($R_f = 0.3$). La mezcla de reacción se filtró a través de Celita, lavando con MeOH y concentrando el filtrado a sequedad en el rotavapor. El crudo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna, eluyendo con una mezcla AcOEt/Hex 1:5, obteniéndose 1.51 g (53.29 mmol, 96 % de rendimiento) del (3aR,4S,5R,7R,7aR)-4-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxilato de metilo (**22e**)

$[\alpha]_{\text{D}}^{19}$: -80.3 (c 3, CH_2Cl_2).

RMN- ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, ppm): 0.10 (d, $J = 3.0 \text{ Hz}$, 6H, $2x\text{SiCH}_3$), 0.90 (s, 9H, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 1.34 (s, 3H, CCH_3), 1.42 (s, 9H, CCH_3), 1.51 (s, 3H, CCH_3), 1.83 (dt, $J = 14.3, 4.2 \text{ Hz}$, 1H, CH-H), 2.06–2.27 (m, 1H, CH-H), 2.76 (s, 1H, CHCO), 3.69 (s, 3H, OCH_3), 4.04 (s, 1H, NCH), 4.09 (d, $J = 7.6 \text{ Hz}$, 3H, $3x\text{OCH}$), 5.14 (s, 1H, NH).

RMN- ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz, ppm): -5.03 (SiCH_3), -4.92 (SiCH_3), 18.03 (SiC_c), 25.82 ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 27.48 ($\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 28.41 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$, Boc), 29.33 (CH_2), 41.23 (CHCO), 51.06 (OCH_3), 52.12 (NCH), 67.55 (OCH), 77.25 (OCH), 79.38 (OCH), 85.21 (C_c), 109.19 (C_c), 155.15 ($\text{C}=\text{O}$, uretano), 173.80 ($\text{C}=\text{O}$, éster).

EMAR (ESI $^+$): Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{41}\text{NNaO}_7\text{Si}$, 482.2540; encontrado 482.2544.

IR (v, cm^{-1}): 3365.15 (NH), 1735.23 ($\text{C}=\text{O}$, éster), 1718.69 ($\text{C}=\text{O}$ uretano) y 1522.43 ($\text{C}=\text{O}$).

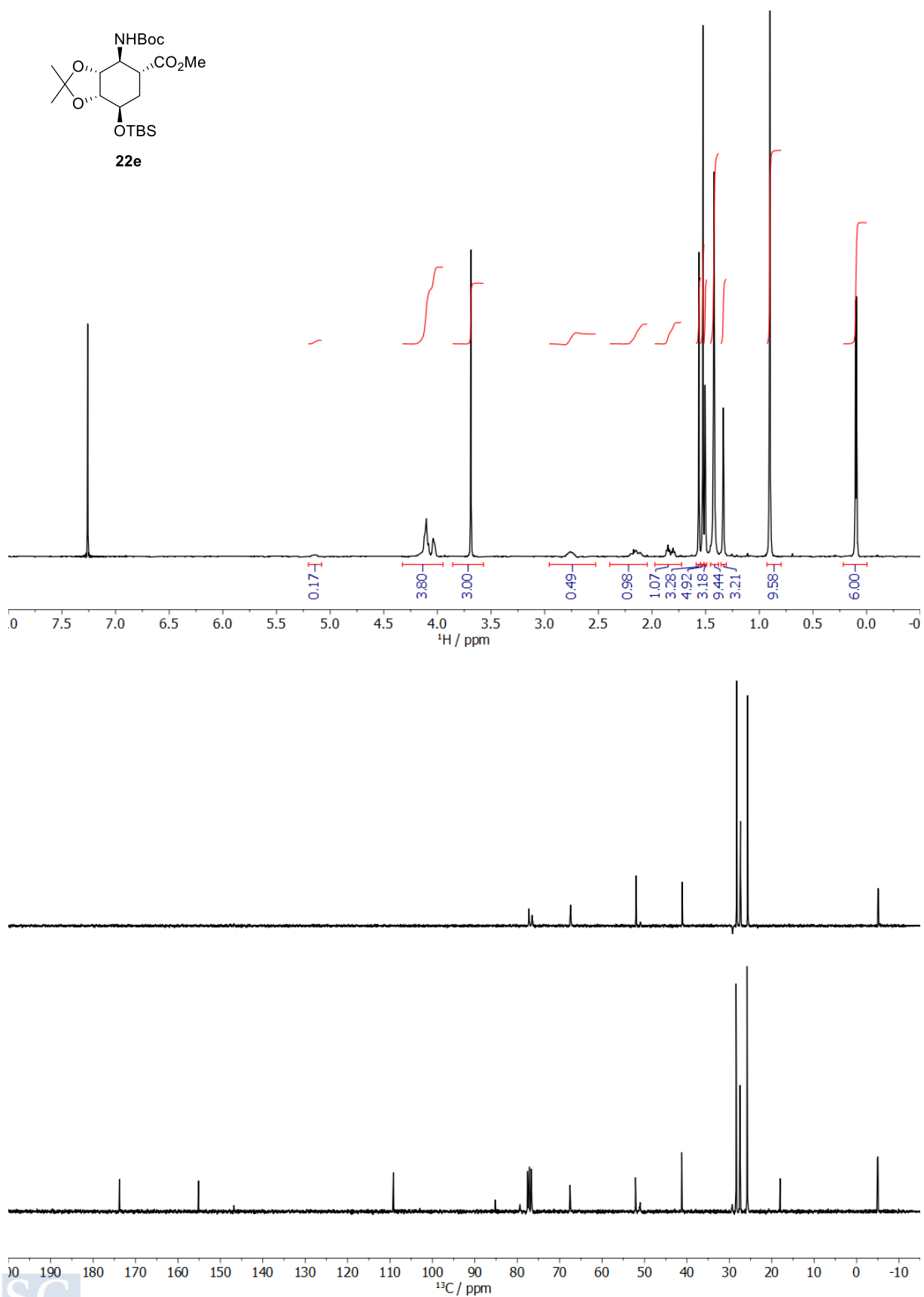
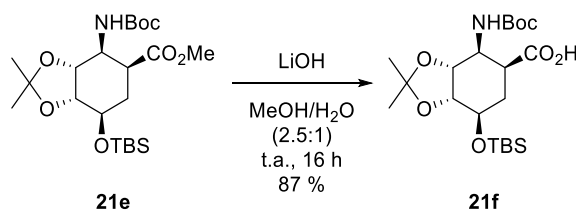


Figura 266. Espectro de RMN-¹H y de RMN-¹³C y DEPT del compuesto **22e**.

5.11.3 Síntesis del ácido (3aR,4S,5R,7R,7aR)-4-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxílico (21f)



A una disolución del producto de partida **21e** (950 mg, 2.071 mmol) en una mezcla MeOH/H₂O 2.5:1 (83 mL) se añadió LiOH·H₂O (132 mg, 3.15 mmol, 10 eq) y la mezcla resultante se agitó a t.a. durante 16 h. Al cabo de este tiempo, se comprobó por ccf (AcOEt/Hex 1:5) la desaparición del producto de partida ($R_f = 0.4$) y la formación de un producto más polar ($R_f = 0.1$). La mezcla de reacción se acidificó hasta pH = 4 con disolución acuosa de HCl 0.5 M, el MeOH se eliminó en el rotavapor y le mezcla remanente se extrajo con DCM (5x75 mL). Las fases orgánicas reunidas se secaron con sulfato sódico anhidro, se filtraron y se concentraron a sequedad en el rotavapor. El crudo resultante se purificó por cromatografía en columna, eluyendo con una mezcla AcOEt/Hex 1:2, obteniéndose 800 mg (1.798 mmol, 87 % de rendimiento) del ácido (3aR,4S,5R,7R,7aR)-4-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxílico (**21f**), como un sólido blanco.

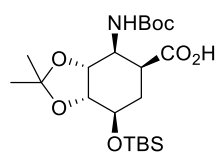
$[\alpha]_D^{20}$: -24.0° (c 1, CH₂Cl₂).

RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz, ppm): 0.09 (d, $J = 0.9$ Hz, 6H, Si(CH₃)₃), 0.89 (d, $J = 9.2$ Hz, 9H, SiC(CH₃)₃), 1.34 (s, 3H, CCH₃), 1.42 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.51 (s, 3H, CCH₃), 2.11 (d, $J = 12.9$ Hz, 2H, CH₂), 2.95 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H, CH-CO), 4.04–4.22 (m, 3H, 3xCH-O), 4.35 (t, $J = 5.9$ Hz, 1H, CH-N), 5.67 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H, NH).

RMN-¹³C (CDCl₃, 75 MHz, ppm): -5.15 (SiCH₃), -5.06 (SiCH₃), 18.10 (SiC_c), 25.84 (SiC(CH₃)₃), 27.69 (C(CH₃)₂), 28.46 (C(CH₃)₃, Boc), 29.24 (CH₂), 39.57 (CHCO), 49.66 (NCH), 67.58 (OCH), 75.64 (OCH), 77.30 (OCH), 79.55 (C_c), 108.89 (C_c), 155.74 (C=O, uretano), 179.23 (C=O, ácido).

EMAR (ESI⁺): Calculado para C₂₁H₄₀NO₇Si, 446.2564; encontrado 446.2569.

IR (ν , cm⁻¹): 3360.62 (NH), 1707.88 (C=O) y 1511.92 (C=O).



21f

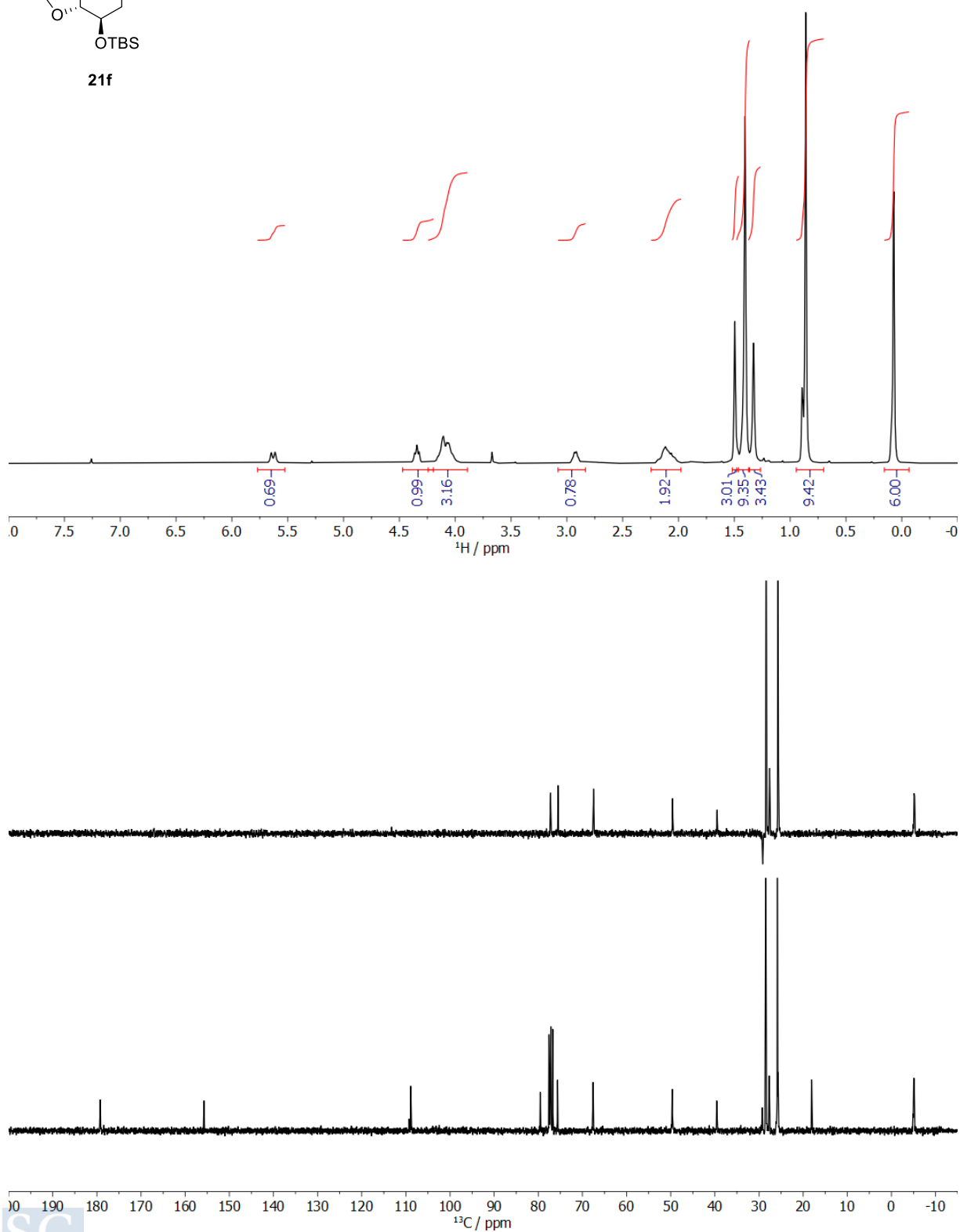


Figura 267. Espectro de RMN- ^1H y de RMN- ^{13}C y DEPT del compuesto 21f.

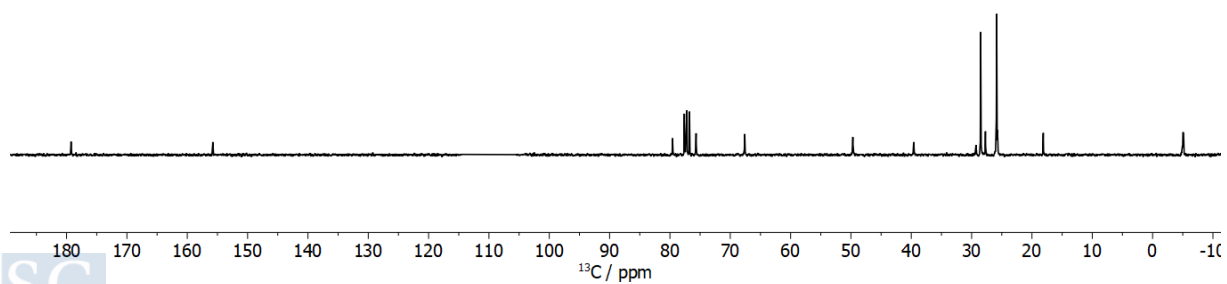
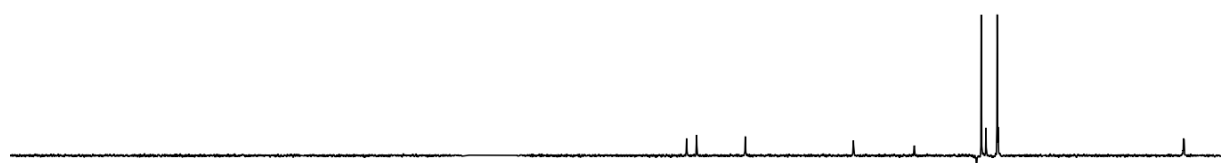
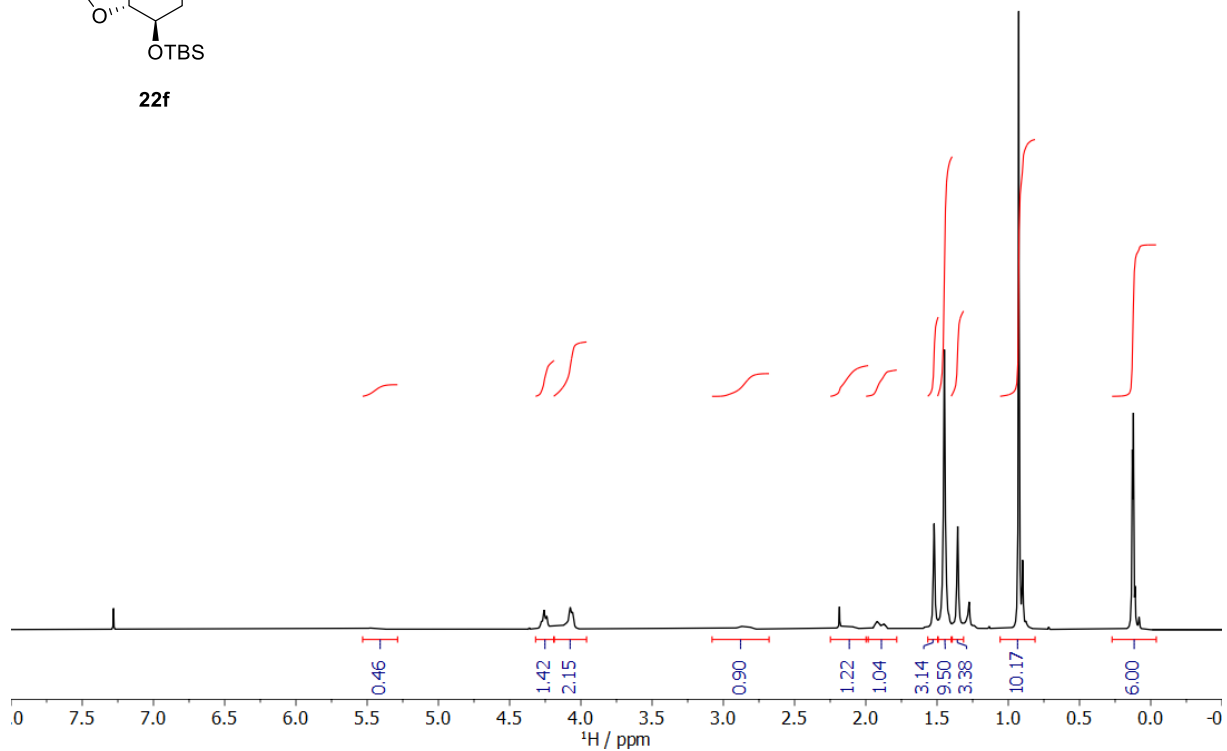
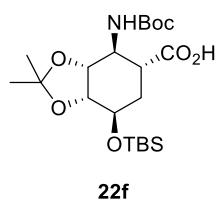
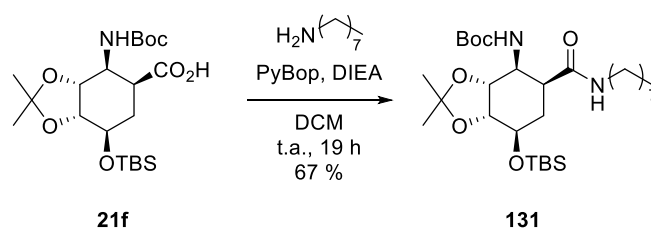


Figura 268. Espectro de RMN-¹H y de RMN-¹³C y DEPT del compuesto **22f**.

5.11.5 Síntesis del ((3*aR*,4*S*,5*S*,7*R*,7*aR*)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetil-5-(octilcarbamoil)hexahidrobenczo[*d*][1,3]dioxol-4-il)carbamato de *tert*-butilo (**131**)



Se preparó siguiendo el **Procedimiento General A**, usando el ácido **21f** (370 mg, 0.830 mmol, 1.0 eq DCM (8.3 mL), octilamina (273 μL , 1.66 mmol, 2 eq), PyBop (648 mg, 1.25 mmol, 1.5 eq) y DIEA (361 μL , 2.08 mmol, 2.5 eq). La cromatografía de columna cromatográfica (eluyente AcOEt/Hex 1:7 hasta AcOEt/Hex 1:5) permitió aislar el ((3*aR*,4*S*,5*S*,7*R*,7*aR*)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetil-5-(octilcarbamoil)hexahidrobenczo[*d*][1,3]dioxol-4-il)carbamato de *tert*-butilo (**131**) (310 mg, 67 %), como un sólido blanco.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: -19.8° (c 5, CH_2Cl_2).

RMN- ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, ppm): 0.13 (s, 6H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$), 0.82–1.02 (m, 12H, ($\text{SiC}(\text{CH}_3)_3 + \text{CH}_3$), 1.28 (s, 10H, $5\times\text{CH}_2$), 1.33 (s, 3H, CH_3), 1.42 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.44 (s, 2H, CH_2), 1.46 (s, 3H, CH_3), 1.76–2.34 (m, 2H, CH_2), 2.88 (td, $J = 8.9, 4.2$ Hz, 1H, CHCO), 3.11–3.29 (m, 2H, NCH_2), 4.11 (m, 3H, $3\times\text{OCH}$), 4.32 (dd, $J = 6.7, 3.5$ Hz, 1H, NCH), 6.06 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H, NH), 6.31 (s, 1H, NH).

RMN- ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz, ppm): -4.92 ($2\times\text{SiCH}_3$), 14.20 (CH_3), 18.08 (C_c), 22.76 (CH_2), 24.58 (CH_3), 25.92 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 26.99 (CH_2), 27.11 (CH_2), 28.05 (CH_2), 28.48 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 29.32 (CH_2), 29.40 (CH_2), 29.57 (CH_2), 31.93 (CH_2), 37.94 (COCH), 39.96 (NCH_2), 48.56 (NCH), 66.41 (OCH), 76.51 (OCH), 76.85 (OCH), 79.79 (C_c), 108.59 (C_c), 156.24 ($\text{C}=\text{O}$, uretano), 172.62 ($\text{C}=\text{O}$, amida).

EMAR (ESI $^+$): Calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{57}\text{N}_2\text{O}_6\text{Si}$, 557.3978; encontrado 557.3980.

IR (ν , cm^{-1}): 3312.33 (amida A), 1696.08 (amida I), 1647.17 (amida I) y 1527.87 (amida II).

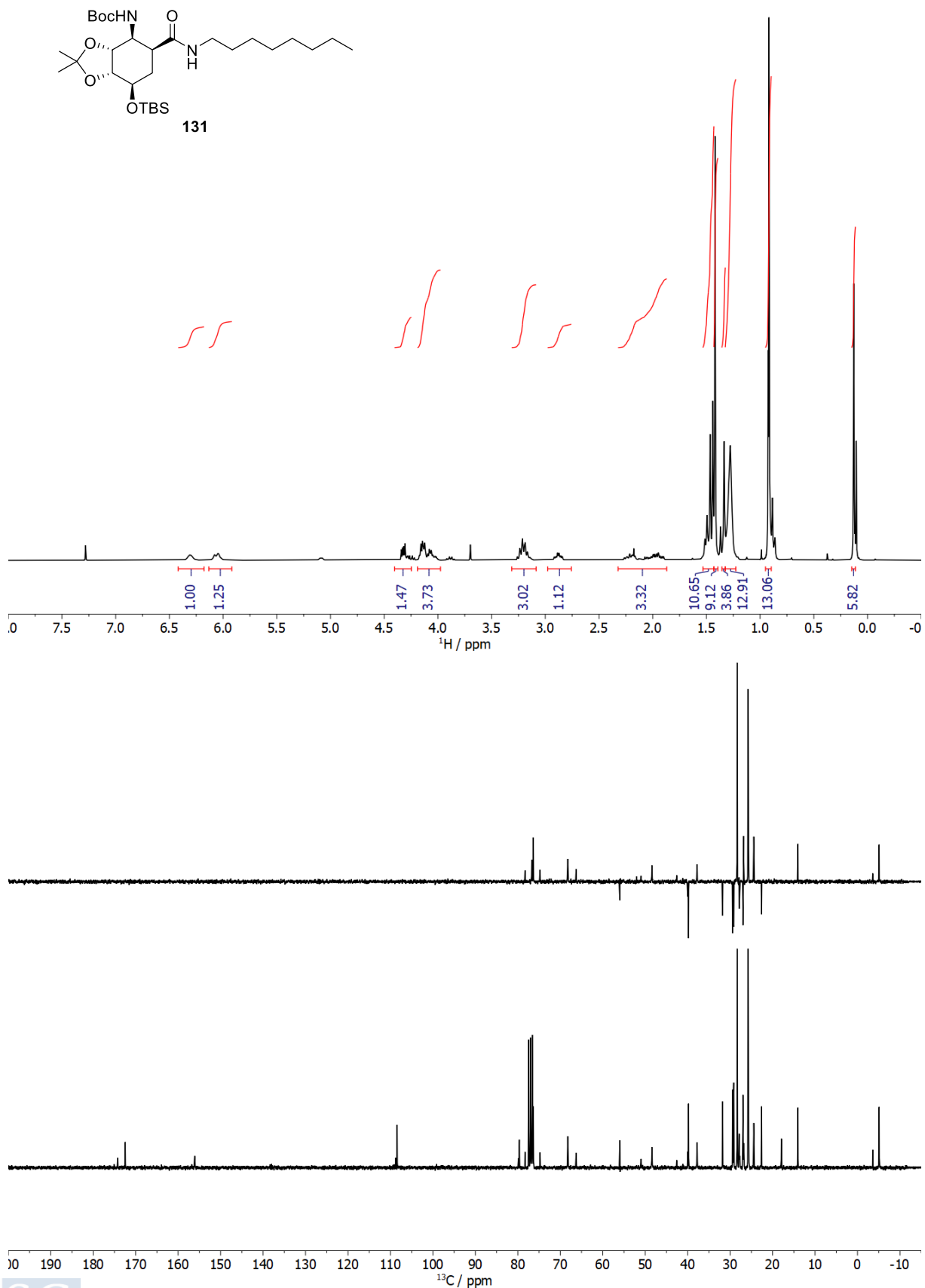
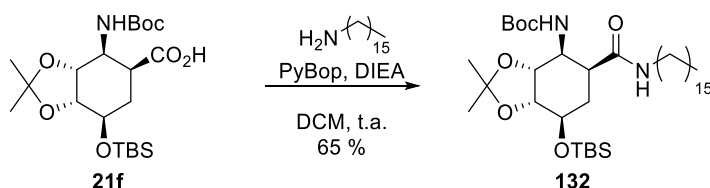


Figura 269. Espectro de RMN-¹H y de RMN-¹³C y DEPT del compuesto 131.

5.11.6 ((3aR,4S,5S,7R,7aR)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetil-5-(hexadecilcarbamoil)hexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-4-il)carbamato de *tert*-butilo (132)



Se preparó siguiendo el **Procedimiento General A**, usando el ácido **21f** (370 mg, 0.830 mmol, 1.0 eq), DCM (8.3 mL), hexadecilamina (400 mg, 1.66 mmol, 1.2 eq), PyBop (648 mg, 1.25 mmol, 1.5 eq) y DIEA (361 μ L, 2.08 mmol, 2.5 eq). La cromatografía de columna (AcOEt/Hex 1:5) proporcionó el ((3aR,4S,5S,7R,7aR)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetil-5-(hexadecilcarbamoil)hexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-4-il)carbamato de *tert*-butilo (**132**) (363 mg, 65 %), como un sólido blanco.

$[\alpha]_D^{20}$: -16.3 (*c* 1, CH₂Cl₂).

RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz, ppm): 0.10 (d, *J* = 5.5 Hz, 6H, Si(CH₃)₂), 0.71–0.96 (m, 12 H, SiC(CH₃)₃, CH₂CH₃), 1.22–1.27 (m, 28H, 14xCH₂), 1.32 (s, 3H, CCH₃), 1.40 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.45 (s, 3H, CCH₃), 1.83–2.06 (m, 1H, HCH), 2.21 (dd, *J* = 15.6, 7.6 Hz, 1H, HCH), 2.87 (td, *J* = 9.0, 3.5 Hz, 1H, COCH), 3.19 (m, 2H, NCH₂), 4.06 (s, 1H, OCH) 4.13 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H, 2xOCH), 4.31 (dd, *J* = 6.7, 3.4 Hz, 1H, NCH), 6.08 (d, *J* = 9.8 Hz, 1H, NH), 6.31 (s, 1H, NH).

RMN-¹³C (CDCl₃, 75 MHz, ppm): -4.97 (2xSiCH₃), 14.21 (CH₃), 18.02 (C_c), 22.78 (CH₂), 24.53 (CH₃), 25.87 (SiC(CH₃)₃), 26.93 (CH₃), 27.08 (CH₂), 28.44 (C(CH₃)₃), 29.16–29.74 (11xCH₂), 32.02 (2xCH₂), 37.83 (COCH), 39.91 (NCH₂), 48.46 (NCH), 68.30 (OCH), 76.45 (OCH), 76.74 (OCH), 79.72 (C_c), 108.53 (C_c), 156.19 (C=O, uretano), 172.58 (C=O, amida).

EMAR (ESI⁺): Calculado para C₃₇H₇₃N₂O₆Si, 669.5230; encontrado 669.5232.

IR (v, cm⁻¹): 3319.96 (amida A), 1693.15 y 1634.34 (amida I) y 1533.27 (amida II).

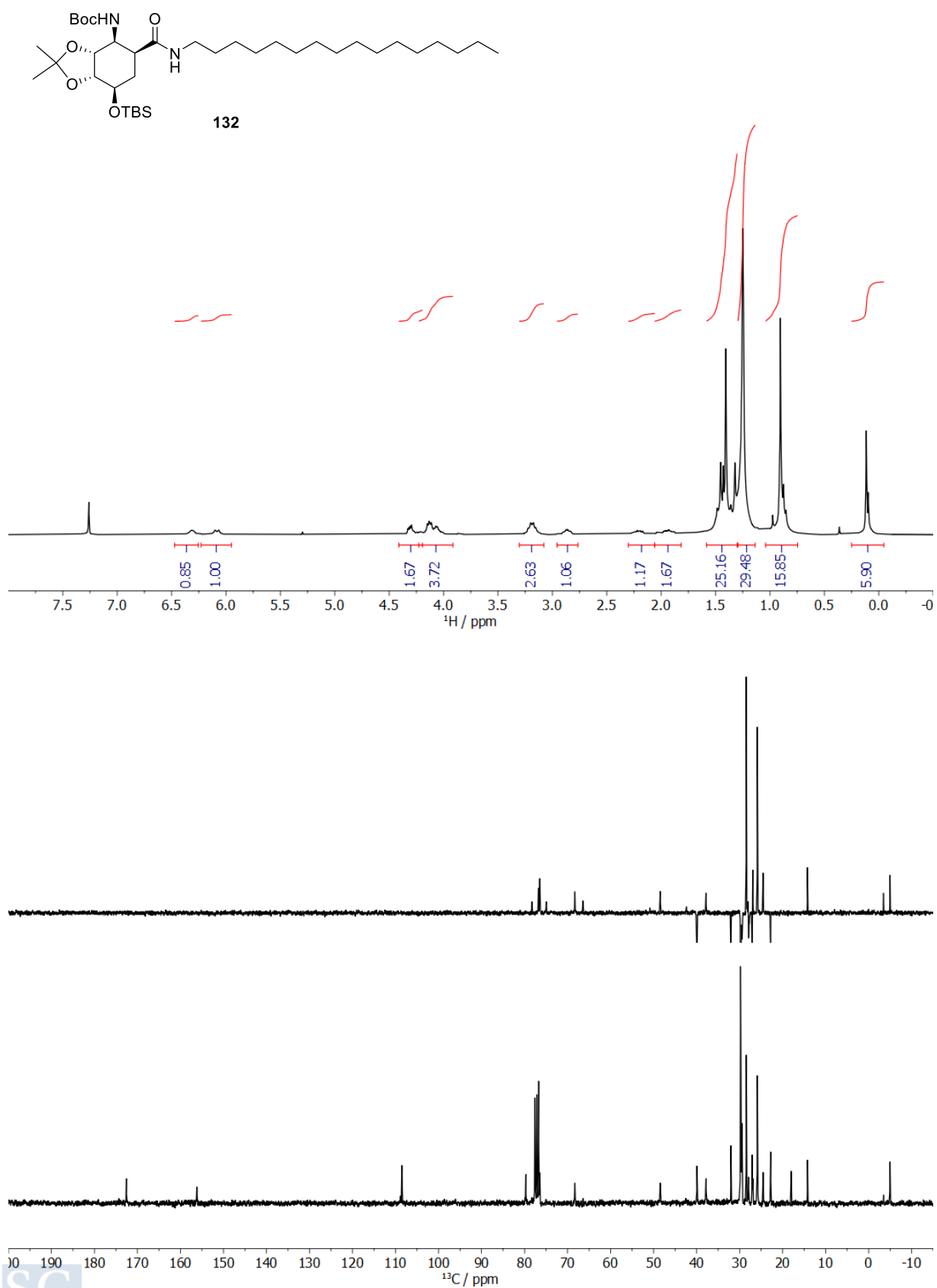
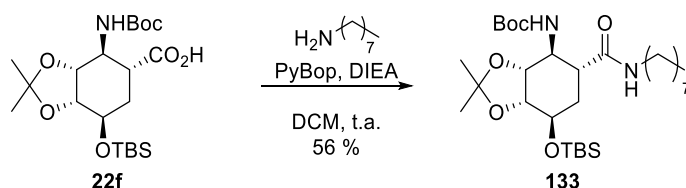


Figura 270. Espectro de RMN- ^1H y de RMN- ^{13}C y DEPT del compuesto 132.

5.11.7 Síntesis del ((3aR,4S,5R,7R,7aR)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetil-5-(octilcarbamoil)hexahidrobenczo[*d*][1,3]dioxol-4-il)carbamato de *tert*-butilo (133)



Se preparó siguiendo el **Procedimiento General A** usando el ácido **22f** (370 mg, 0.830 mmol, 1.0 eq), DCM (8.3 mL), octilamina (273 μ L, 1.66 mmol, 2 eq), PyBop (648 mg, 1.25 mmol, 1.5 eq) y DIEA (361 μ L, 2.08 mmol, 2.5 eq). La cromatografía en columna (AcOE/Hex 1:7 a AcOE/Hex 1:5) proporcionó el ((3aR,4S,5R,7R,7aR)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetil-5-(octilcarbamoil)hexahidrobenczo[*d*][1,3]dioxol-4-il)carbamato de *tert*-butilo (**133**) (257 mg, 56 %) como un aceite transparente.

$[\alpha]_D^{20}$: 0.5 (*c* 14, CH₂Cl₂).

RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz, ppm): 0.11 (d, *J* = 1.5 Hz, 6H, Si(CH₃)₂), 0.86 (t, *J* = 6.4 Hz, 3H, CH₃), 0.91 (s, 9H, (SiC(CH₃)₃)), 1.27 (s, 10H, 5xCH₂), 1.35 (s, 3H, CH₃), 1.42 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.48 (s, 2H, CH₂), 1.55 (s, 3H, CH₃), 1.97 (d, *J* = 11.7 Hz, 2H, CH₂), 2.84 (s, 1H, COCH), 3.05–3.28 (m, 2H, NCH₂), 3.85 (s, 1H, OCH), 3.95–4.14 (m, 2H, 2xOCH), 4.32 (s, 1H, NCH), 5.43 (s, 1H, NH, uretano), 6.58 (s, 1H, NH, amida).

RMN-¹³C (CDCl₃, 75 MHz, ppm): -5.04 (SiCH₃), -4.86 (SiCH₃), 14.20 (CH₃), 18.11 (C_c), 22.75 (CH₂), 25.35 (CH₃), 25.90 (C(CH₃)₃), 27.07 (CH₂), 27.33 (C(CH₃)₂), 28.46 (C(CH₃)₃), 29.32 (CH₂), 29.38 (CH₂), 29.85 (CH₂), 31.90 (CH₂), 39.74 (NCH₂), 43.28 (COCH), 50.50 (NCH), 67.95 (OCH), 75.72 (OCH), 76.99 (OCH), 79.72 (C_c), 109.02 (C_c), 155.74 (C=O, uretano), 173.97 (C=O, amida).

EMAR (ESI⁺): Calculado para C₂₉H₅₇N₂O₆Si, 557.3983; encontrado 557.3980.

IR (v, cm⁻¹): 3287.12 (amida A), 1687.49 (amida I), 1638.07 (amida I) y 1531.39 (amida II).

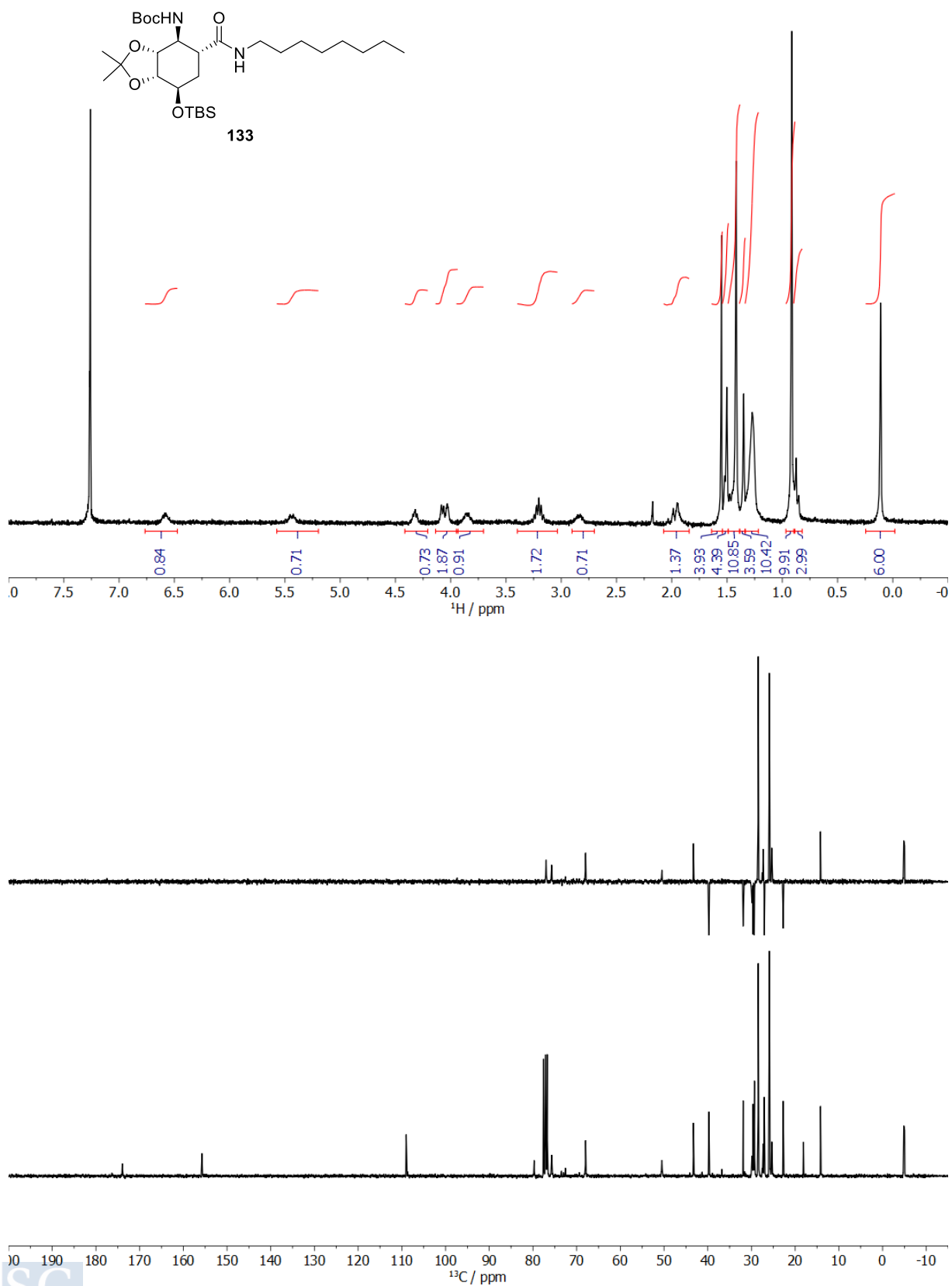
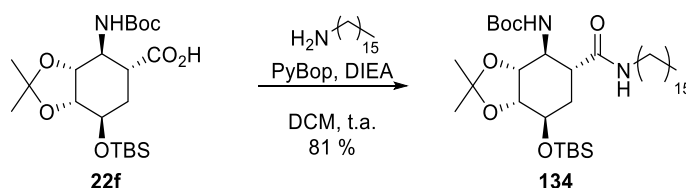


Figura 271. Espectro de RMN-¹H y de RMN-¹³C y DEPT del compuesto 133.

5.11.8 Síntesis del ((3a*R*,4*S*,5*R*,7*R*,7a*R*)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-5-(hexadecilcarbamoi)-2,2-dimetilhexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-4-il)carbamato de *tert*-butilo (134)



Se preparó siguiendo el **Procedimiento General A** usando el ácido **22f** (300 mg, 0.673 mmol, 1.0 eq), DCM (7 mL), hexadecilamina (324 mg, 1.35 mmol, 2 eq), PyBop (525 mg, 1.011 mmol, 1.5 eq) y DIEA (292 μ L, 1.68 mmol, 2.5 eq). La columna cromatográfica AcOEt/Hex (1:5) permitió aislar el ((3a*R*,4*S*,5*R*,7*R*,7a*R*)-7-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)-2,2-dimetil-5-(hexadecilcarbamoi)hexahidrobenzo[*d*][1,3]dioxol-4-il)carbamato de *tert*-butilo (**134**) (346 mg, 81 %) como un sólido blanco.

$[\alpha]_D^{20}$: 0.5 (*c* 14, CH₂Cl₂).

RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz, ppm): 0.11 (d, *J* = 1.5 Hz, 6H, Si(CH₃)₂), 0.91 (m, 12 H, SiC(CH₃)₃, CH₂CH₃), 1.25 (s, 28H, 14xCH₂), 1.35 (s, 3H, CCH₃), 1.42 (s, 6H, 9H, C(CH₃)₃), 1.50 (s, 3H, CCH₃), 1.97 (d, *J* = 11.7 Hz, 2H, CH₂), 2.84 (s, 1H, COCH), 3.20 (p, *J* = 6.6 Hz, 2H, NCH₂), 3.85 (s, 1H, OCH), 4.03 (s, 1H, OCH), 4.07 (d, *J* = 6.2 Hz, 1H, OCH), 4.32 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H, NCH), 5.43 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, NH), 6.58 (s, 1H, NH).

RMN-¹³C (CDCl₃, 75 MHz, ppm): -5.16 (SiCH₃), -4.97 (SiCH₃), 14.12 (CH₃), 17.99 (C_c), 22.69 (CH₂), 25.24 (CH₃), 25.79 (SiC(CH₃)₃), 26.97 (CH₂), 27.22 (CH₃), 28.35 (C(CH₃)₃), 29.34 (2xCH₂), 29.47–29.95 (10xCH₂), 31.92 (CH₂), 39.62 (NCH₂), 43.17 (COCH), 50.39 (NCH), 67.85 (OCH), 75.62 (OCH), 76.88 (OCH), 79.58 (C_c), 108.89 (C_c), 155.61 (C=O, Boc), 173.82 (C=O, amida).

EMAR (ESI⁺): Calculado para C₃₇H₇₃N₂O₆Si, 669.5228; encontrado 669.5232.

IR (v, cm⁻¹): 3297.67 (amida A), 1688.11 (amida I), 1638.40 (amida I) y 1532.19 (amida II).

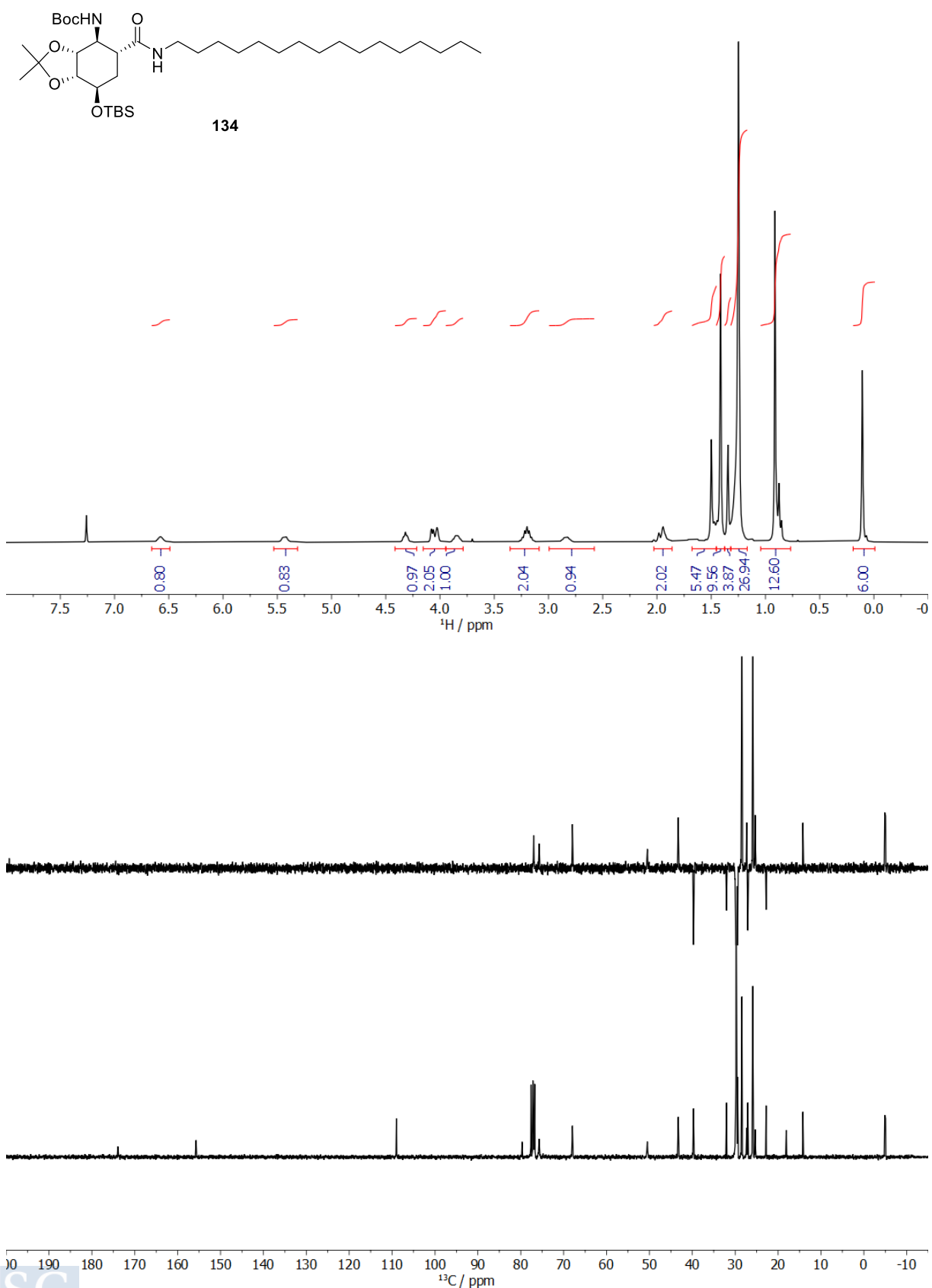
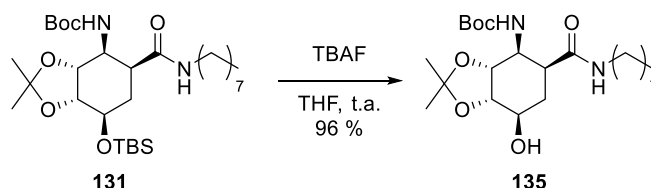


Figura 272. Espectro de RMN- ^1H y de RMN- ^{13}C y DEPT del compuesto **134**.

5.11.9 Síntesis del ((3aR,4S,5S,7R,7aS)-7-hidroxi-2,2-dimetil-5-(octilcarbamoil)hexahidro-benzo[d][1,3]dioxol-4-il)carbamato de *tert*-butilo (**135**)



Se preparó siguiendo el **Procedimiento General B**, usando la *N*-alquilamida **131** (304 mg, 0.456 mmol, 1.0 eq), THF (14 mL) y TBAF 1 M en THF (1.20 mL). La cromatografía de columna (AcOEt/Hex (1:1) permitió aislar el ((3aR,4S,5S,7R,7aS)-7-hidroxi-2,2-dimetil-5-(octilcarbamoil)hexahidrobencod[*d*][1,3]dioxol-4-il)carbamato de *tert*-butilo (**135**) (223 mg, 96 %), como un aceite transparente.

$[\alpha]_D^{20}$: -83 (*c* 2, CH₂Cl₂).

RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz, ppm): 0.84–0.93 (m, 3H, CH₃), 1.28 (d, *J* = 4.8 Hz, 12H, 6xCH₂), 1.36 (s, 3H, CH₃), 1.43 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.49 (s, 3H, CH₃), 1.92–2.20 (m, 2H, CH₂), 2.53 (s, 1H, OH), 3.08–3.18 (m, 1H, COCH), 3.22 (td, *J* = 7.3, 5.8 Hz, 2H, NCH), 3.87 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, OCH), 4.01 (td, *J* = 4.1, 2.6 Hz, 1H, OCH), 4.22 (dd, *J* = 7.6, 5.6 Hz, 1H, NCH), 4.28 (dd, *J* = 5.6, 2.6 Hz, 1H, OCH), 5.03 (s, 1H, NH), 5.94 (s, 1H, NH).

RMN-¹³C (CD₃OD, 75 MHz, ppm): 14.40 (CH₃), 23.68 (CH₂), 26.58 (2xCH₃), 28.02 (CH₂), 28.40 (CH₂), 28.83 (C(CH₃)₃), 30.33 (CH₂), 30.43 (CH₂), 30.52 (CH₂), 32.99 (CH₂), 40.58 (NCH₂), 43.06 (COCH), 54.90 (NCH), 67.07 (OCH), 78.63 (OCH₂), 79.45 (OCH₂), 79.79 (C_c), 110.15 (C_c), 157.56 (C=O, uretano), 175.33 (C=O, amida).

EMAR (ESI⁺): Calculado para C₂₃H₄₂N₂NaO₆, 465.2928; encontrado 465.2925.

IR (ν, cm⁻¹): 3319.66 (amida A), 1691.38 (amida I), 1688.00 (amida I) y 1532.91 (amida II).

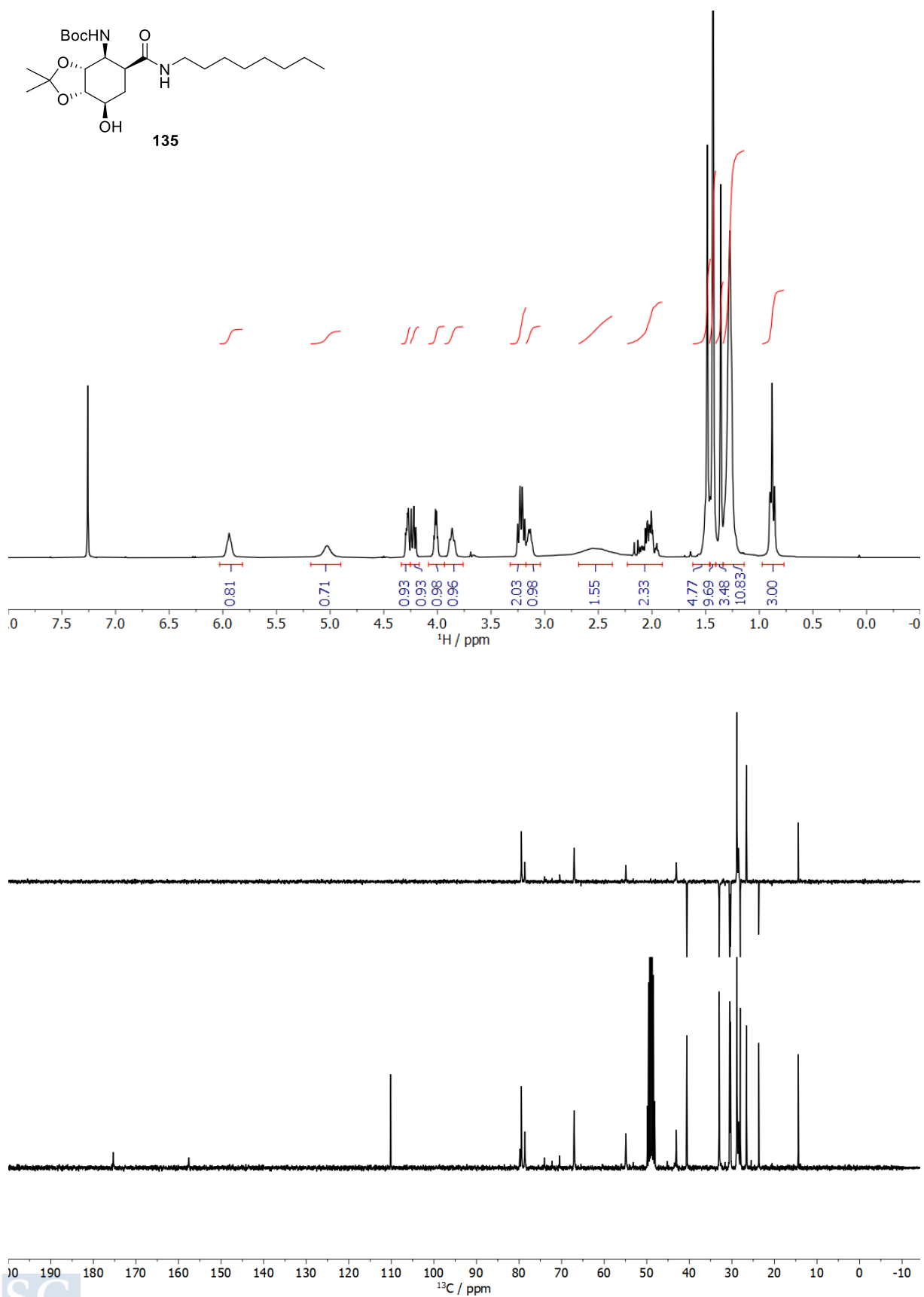
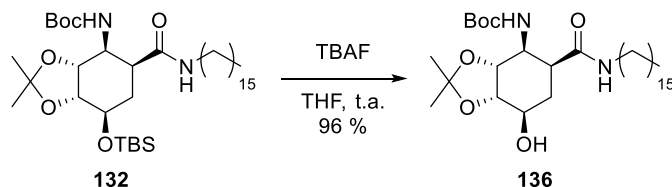


Figura 273. Espectro de RMN-¹H y de RMN-¹³C y DEPT del compuesto 135.

5.11.10 Síntesis del ((3aR,4S,5S,7R,7aS)-7-hidroxi-2,2-dimetil-5-(hexadecilcarbamoi)hexa-hidrobenzo[d][1,3]dioxol-4-il)carbamato de *tert*-butilo (136)



Se preparó siguiendo el **Procedimiento General B**, usando la *N*-alquilamida **132** (391 mg, 0.584 mmol, 1.0 eq), THF (15 mL) y TBAF 1 M en THF (1.46 mL). La cromatografía de (AcOEt/Hex 1:1) permitió aislar el ((3aR,4S,5S,7R,7aS)-7-hidroxi-2,2-dimetil-5-(hexadecilcarbamoi)hexahidrobenzo[d][1,3]dioxol-4-il)carbamato de *tert*-butilo (**136**) (312 mg, 96 %), como un aceite transparente.

$[\alpha]_D^{20}$: -44 (*c* 3, MeOH).

RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz, ppm): 0.81–0.94 (m, 3H, CH₃), 1.25 (s, 28H, 14xCH₂), 1.36 (s, 3H, CH₃), 1.43 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.48 (s, 3H, CH₃), 1.90–2.12 (m, 2H, CH₂), 3.13 (m, 2H, COCH + OH), 3.21 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H, NCH₂), 3.87 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H, OCH), 4.01 (td, *J* = 4.1, 2.6 Hz, 1H, OCH), 4.13–4.34 (m, 2H, OCH + NCH), 5.06 (s, 1H, NH), 5.99 (d, *J* = 6.2 Hz, 1H, NH).

RMN-¹³C (CDCl₃, 75 MHz, ppm): 14.23 (CH₃), 22.79 (CH₂), 25.84 (CH₃), 27.00 (CH₂), 27.12 (CH₂), 27.87 (CH₂), 28.00 (CH₃), 28.44 (CH₂), 28.48 (C(CH₃)₃), 29.38 (CH₂), 29.47 (CH₂), 29.54 (CH₂), 29.64 (CH₂), 29.79 (5xCH₂), 32.03 (CH₂), 40.11 (NCH₂), 42.48 (COCH), 50.89 (NCH), 66.56 (OCH), 75.00 (OCH), 78.33 (OCH), 79.98 (C_c), 108.90 (C_c), 156.28 (C=O, uretano), 174.26 (C=O, amida).

EMAR (ESI⁺): Calculado para C₃₁H₅₉N₂O₆, 555.4368; encontrado 555.4367.

IR (ν, cm⁻¹): 3318.58 (amida A), 1692.26 (amida I), 1647.17 (amida I) y 1535.15 (amida II).

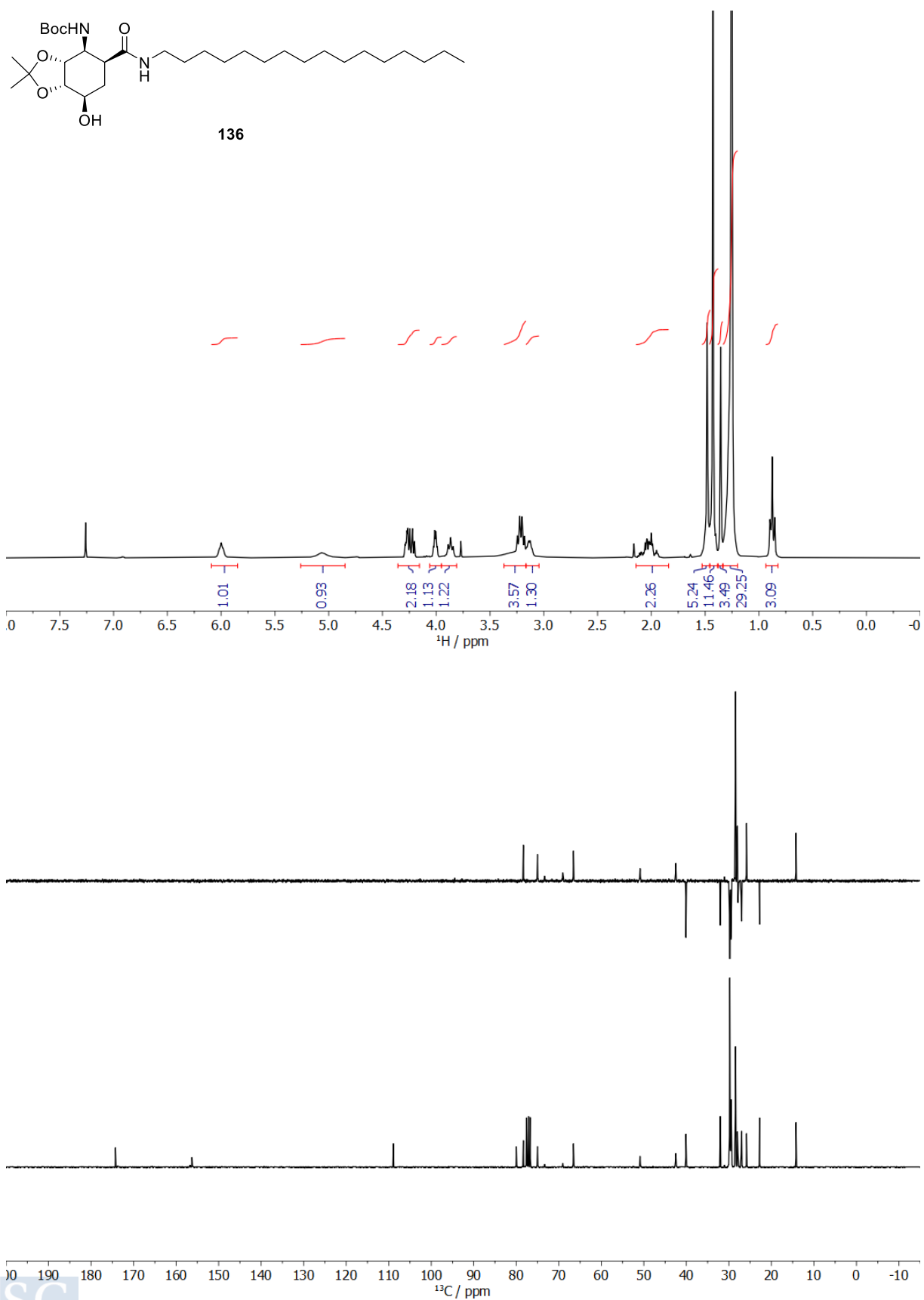
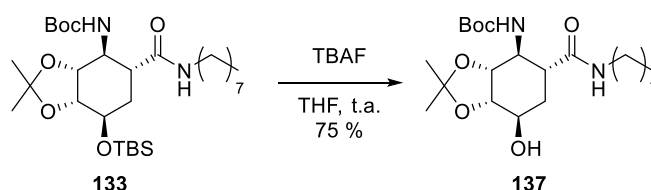


Figura 274. Espectro de RMN- ^1H y de RMN- ^{13}C y DEPT del compuesto 136.

5.11.11 Síntesis del ((3a*R*,4*S*,5*R*,7*R*,7a*S*)-7-hidroxi-2,2-dimetil-5-(octilcarbamoil)hexahidro-benzo[*d*][1,3]dioxol-4-il)carbamato de *tert*-butilo (**137**)



Se preparó siguiendo el **Procedimiento General B**, usando la *N*-alquilamida **133** (130 mg, 0.233 mmol, 1.0 eq), THF (6 mL) y TBAF 1 M en THF (514 μ L). La cromatografía de columna (AcOEt/Hex (2:1) permitió aislar el ((3a*R*,4*S*,5*R*,7*R*,7a*S*)-7-hidroxi-2,2-dimetil-5-(octilcarbamoi)hexahidrobenczo[*d*][1,3]dioxol-4-il)carbamato *tert*-butilo (**137**) (75 mg, 75 %), como un sólido blanco.

$[\alpha]_D^{23}$: 5.5 (*c* 14, CH₂Cl₂).

RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz, ppm): 0.77–0.94 (m, 3H, CH₃), 1.27 (s, 12H, 6xCH₂), 1.37 (s, 3H, CH₃), 1.43 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.53 (s, 3H, CH₃), 1.90–2.03 (m, 2H, CH₂), 2.98–3.32 (m, 4H, NCH₂ + COCH + OH), 3.49 (dd, *J* = 17.8, 8.1 Hz, 1H, NCH), 4.20 (dd, *J* = 5.2, 2.4 Hz, 1H, OCH), 4.27 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H, OCH), 4.40 (s, 1H, OCH), 5.39 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, NH), 6.64 (s, 1H, NH).

RMN-¹³C (CDCl₃, 300 MHz, ppm): 14.04 (CH₃), 22.60 (CH₂), 26.18 (CH₃), 26.94 (CH₂), 28.10 (CH₃), 28.36 (C(CH₃)₃), 29.16 (CH₂), 29.25 (CH₂), 29.49 (CH₂), 31.79 (CH₂), 32.82 (CH₂), 39.67 (NCH₂), 41.32 (CO-CH), 54.20 (NCH), 66.57 (OCH), 76.08 (OCH), 77.56 (OCH), 79.79 (C_c), 109.01 (C_c), 156.33 (C=O, uretano), 173.52 (C=O, amida).

EMAR (ESI⁺): Calculado para C₂₃H₄₂N₂NaO₆, 465.2928; encontrado 465.2923.

IR (ν, cm⁻¹): 3331.81 (NH), 1687.38 (C=O) y 1536.11 (C=O).

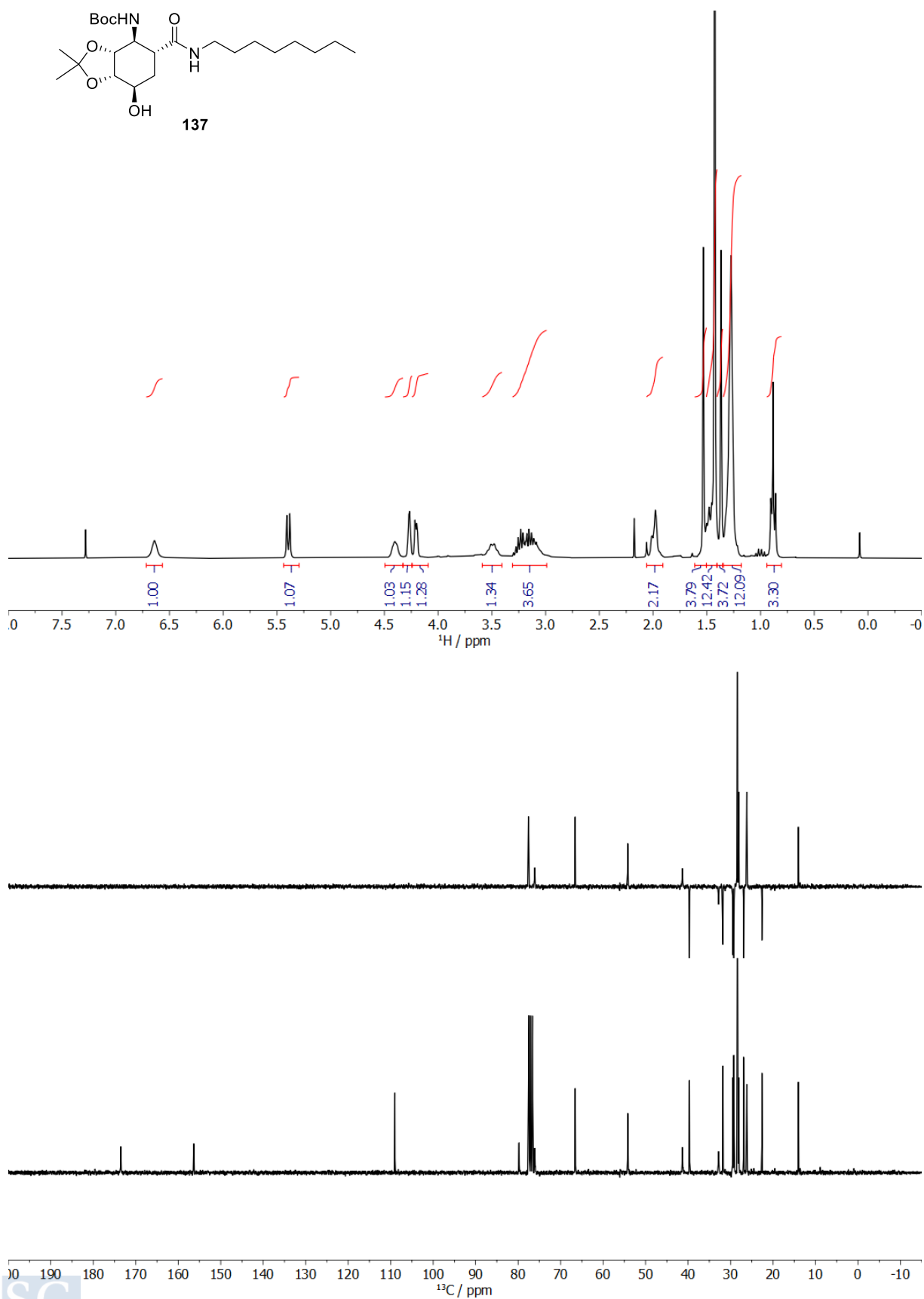
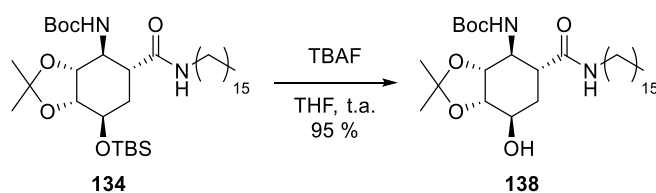


Figura 275. Espectro de RMN- ^1H y de RMN- ^{13}C y DEPT del compuesto 137.

5.11.12 Síntesis del ((3aR,4S,5R,7R,7aS)-5-(hexadecilcarbamoyl)-7-hidroxi-2,2-dimetil hexa-hidrobenzo[d][1,3]dioxol-4-il)carbamato de *tert*-butilo (138)



Se preparó siguiendo el **Procedimiento General B** usando la *N*-alquilamida **134** (160 mg, 0.239 mmol, 1.0 eq), THF (6 mL) y TBAF 1 M en THF (600 μ L). La columna cromatográfica AcOEt/Hex (2:1) permitió aislar el ((3aR,4S,5R,7R,7aS)-5-(hexadecilcarbamoyl)-7-hidroxi-2,2-dimetil hexahidrobenzo[d][1,3]dioxol-4-il)carbamato de *tert*-butilo (**138**) (126 mg, 95 %) como un sólido blanco.

$[\alpha]_D^{20}$: -87 (*c* 1, MeOH).

RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz, ppm): 0.88 (t, *J* = 6.6 Hz, 3H, CH₃), 1.25 (s, 26H, 13xCH₂), 1.36 (s, 3H, CCH₃), 1.42 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.52 (s, 3H, CCH₃), 1.67 (s, 2H, CH₂), 1.98 (dd, *J* = 33.8, 13.2 Hz, 2H, CH₂), 3.04–3.29 (m, 3H, COCH, NCH₂), 3.42 (s, 1H, NCH), 4.18 (s, 1H, OCH), 4.26 (s, 1H, OCH), 4.42 (s, 1H, OCH), 5.11 (s, 1H, NH), 6.24 (s, 1H, NH).

RMN-¹³C (CDCl₃, 75 MHz, ppm): 14.16 (CH₃), 22.75 (CH₂), 26.33 (CH₃), 28.21 (CH₃), 28.46 (C(CH₃)₃), 29.43 (CH₂), 29.76 (11xCH₂), 32.00 (CH₂), 33.00 (CH₂), 39.81 (NCH₂), 41.54 (COCH), 54.18 (NCH) 66.49 (OCH), 76.31 (OCH), 77.59 (OCH), 79.81 (C_c), 109.08 (C_c), 156.51 (C=O, uretano), 173.77 (C=O, amida).

EMAR (ESI⁺): Calculado para C₃₁H₅₉N₂O₆, 555.4368; encontrado 555.4365.

IR (v, cm⁻¹): 3319.73 (amida A), 1691.63 (amida I), 1689.06 (amida I) y 1550 (amida II).

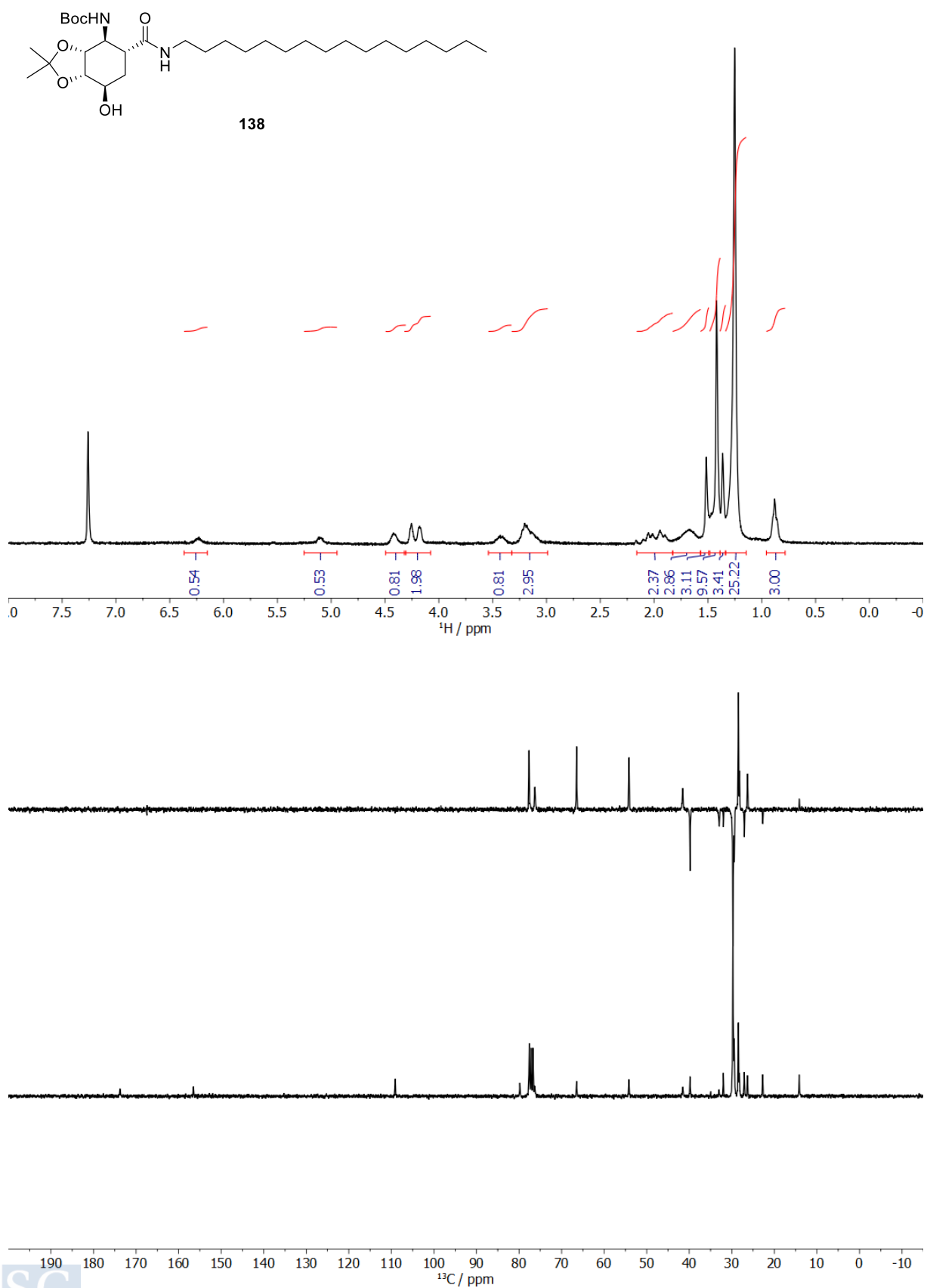
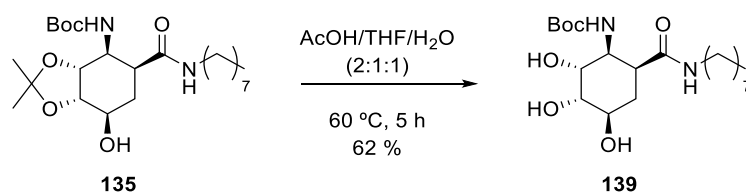


Figura 276. Espectro de RMN- ^1H y de RMN- ^{13}C y DEPT del compuesto **138**.

5.11.13 Síntesis del ((1*S*,2*R*,3*S*,4*R*,6*R*)-2,3,4-trihidroxi-6-(octilcarbamoil)ciclohexil)carbamato de *tert*-butilo (**139**)



Se preparó siguiendo el **Procedimiento General C**, usando la *N*-alquilamida **135** (180 mg, 0.687 mmol, 1.0 eq) y una mezcla AcOH/THF/H₂O 2:1:1 (4 mL). La cromatografía de columna cromatográfica MeOH/DCM (1:10) permitió aislar el ((1*S*,2*R*,3*S*,4*R*,6*R*)-2,3,4-trihidroxi-6-(octilcarbamoil)ciclohexil)carbamato de *tert*-butilo (**139**) (115 mg, 62 %), como un sólido blanco.

$[\alpha]_D^{20}$: -115.1 (*c* 2, MeOH).

RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz, ppm): 0.77–0.99 (m, 3H, CH₃), 1.29 (s, 12H, 6xCH₂), 1.44 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.83 (s, 1H, CH-H), 2.10 (s, 1H, CH-H), 2.81–3.53 (s, 6H, NCH₂ + 3xOH + CHCO), 3.87 (d, *J* = 15.5 Hz, 2H, OCH + NCH), 3.96–4.09 (m, 1H, OCH), 4.15 (s, 1H, OCH), 5.57 (s, 1H, NH), 6.73 (s, 1H, NH).

RMN-¹³C (CDCl₃, 75 MHz, ppm): 14.18 (CH₃), 22.74 (CH₂), 27.14 (CH₂), 28.48 (C(CH₃)₃), 29.38 (3xCH₂), 29.43 (CH₂), 29.55 (CH₂), 31.94 (CH₂), 39.95 (NCH₂ + COCH), 52.98 (NCH), 69.02 (2xOCH), 73.18 (OCH), 79.94 (C_c), 156.63 (C=O, uretano), 173.34 (C=O, amida).

EMAR (ESI⁺): Calculado para C₂₀H₃₉N₂O₆, 403.2789; encontrado 403.2802.

IR (ν, cm⁻¹): 3312.87 (amida A), 1691.12 y 1647.54 (amida I) y 1535.75 (amida II).

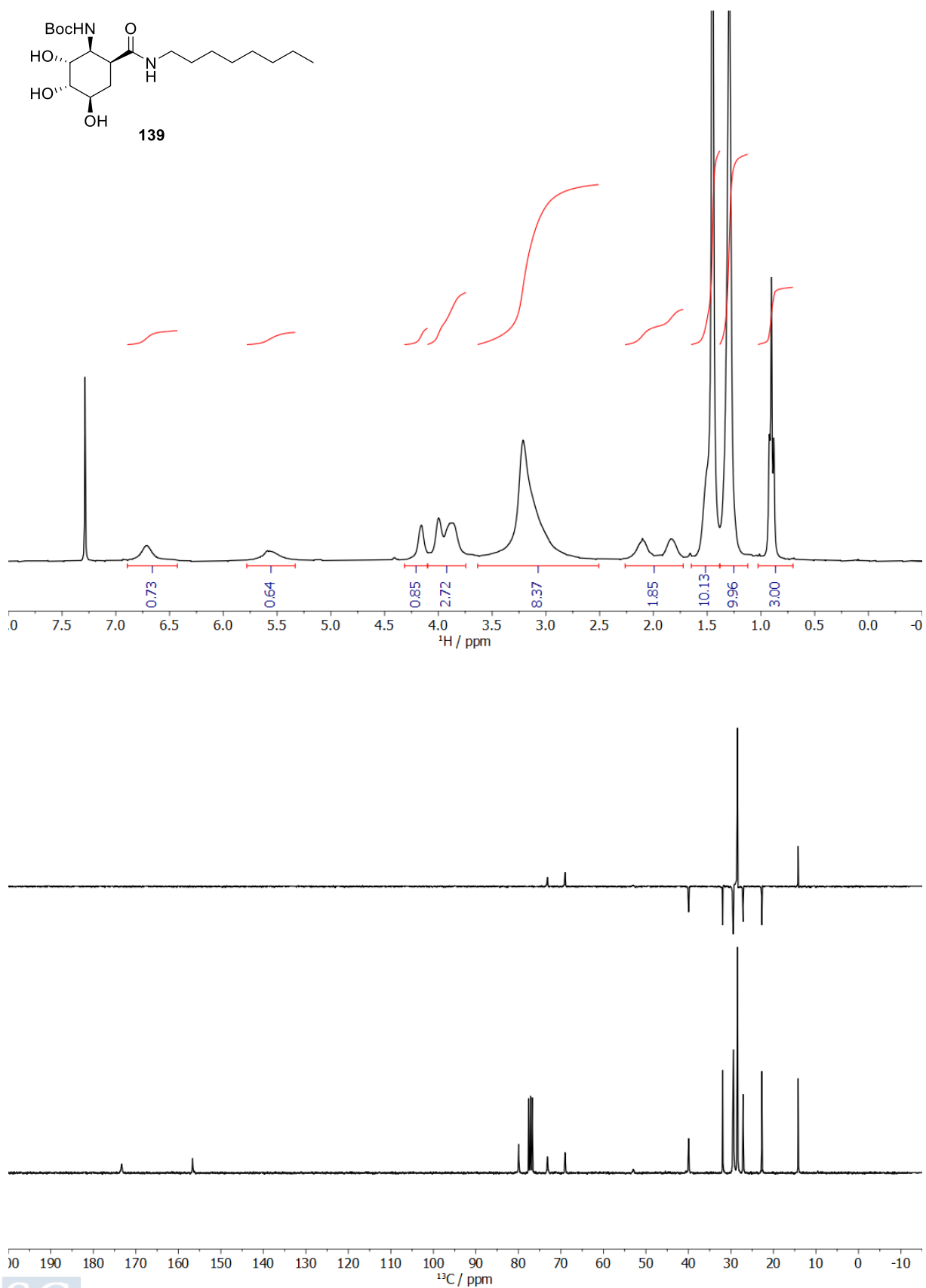
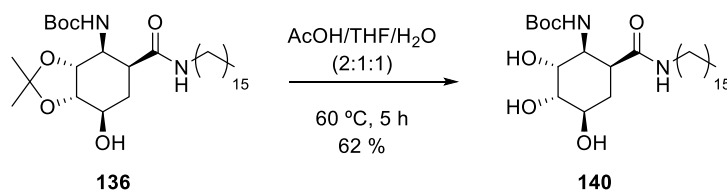


Figura 277. Espectro de RMN-¹H y de RMN-¹³C y DEPT del compuesto 139.

5.11.14 Síntesis del ((1*S*,2*R*,3*S*,4*R*,6*S*)-6-(hexadecilcarbamoyl)-2,3,4-trihidroxiciclohexil)carbamato de *tert*-butilo (140**)**



Se preparó siguiendo el **Procedimiento General C**, usando la *N*-alquilamida **136** (247 mg, 0.445 mmol, 1.0 eq) y una mezcla AcOH/THF/H₂O 2:1:1 (4 mL). La cromatografía de columna (MeOH/DCM 1:15) proporcionó el ((1*S*,2*R*,3*S*,4*R*,6*S*)-2,3,4-trihidroxi-6-(hexadecilcarbamoyl)ciclohexil)carbamato de *tert*-butilo (**140**) (179 mg, 62 %), como un sólido blanco.

$[\alpha]_D^{19}$: -8.0 (*c* 2, MeOH).

RMN-¹H (CDCl₃, 300 MHz, ppm): 0.88 (t, *J* = 6.6 Hz, 3H, CH₃), 1.25 (s, 28H, 14xCH₂), 1.42 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.80 (s, 1H, CH-H), 2.07 (s, 1H, CH-H), 3.18 (s, 3H, NCH₂ + CHCO), 3.74–3.91 (m, 5H, OCH + NCH + 3xOH), 3.98 (s, 1H, OCH), 4.13 (s, 1H, OCH), 5.58 (s, 1H, NH), 6.75 (s, 1H, NH).

RMN-¹³C (CDCl₃, 75 MHz, ppm): 14.15 (CH₃), 22.73 (CH₂), 27.13 (CH₂), 28.42 (C(CH₃)₃), 29.41 (CH₂), 29.49 (CH₂), 29.75 (11xCH₂), 31.97 (NCH₂), 39.93 (COCH), 52.43 (NCH), 68.93 (OCH), 73.07 (2xOCH), 79.92 (OC_c), 156.58 (C=O, uretano), 173.32 (C=O, amida).

EMAR (ESI⁺): Calculado para C₂₈H₅₅N₂O₆, 515.4073; encontrado 515.4055.

IR (ν, cm⁻¹): 3352.21 (amida A), 1700.38 y 1689.12 (amida I) y 1554.34 (amida II).

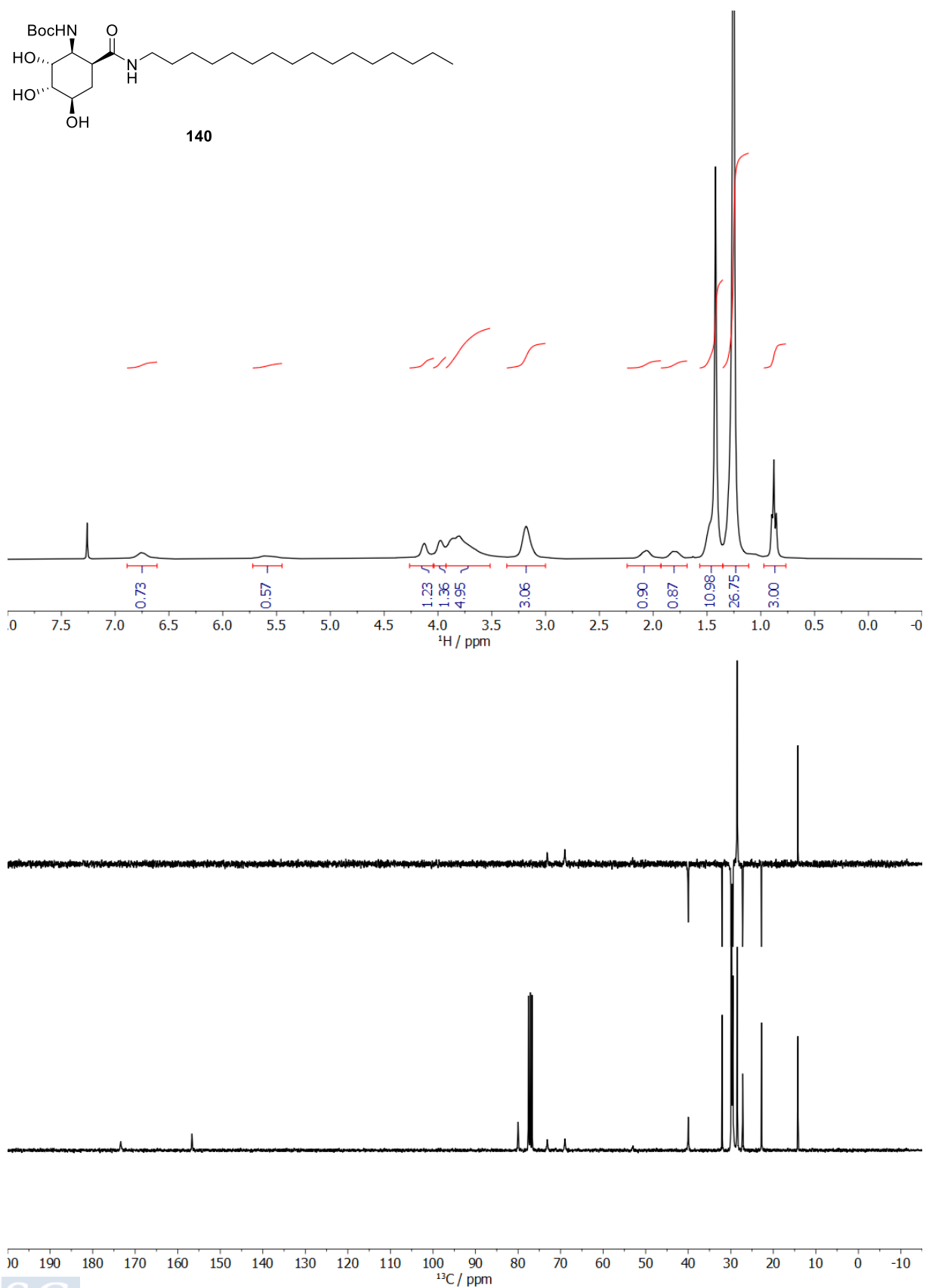
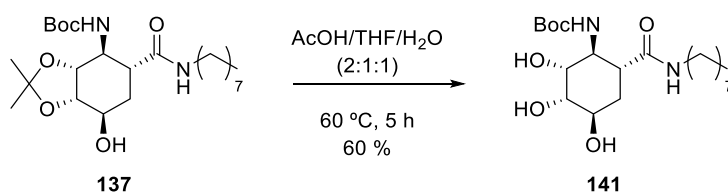


Figura 278. Espectro de RMN- ^1H y de RMN- ^{13}C y DEPT del compuesto **140**.

5.11.15 Síntesis del ((1*S*,2*R*,3*S*,4*R*,6*S*)-2,3,4-trihidroxi-6-(octilcarbamoil)ciclohexil)carbamato de *tert*-butilo (**141**)



Se preparó siguiendo el **Procedimiento General C**, usando la *N*-alquilamida **137** (69 mg, 0.156 mmol, 1.0 eq) y una mezcla AcOH/THF/H₂O 2:1:1 (140 μL). La cromatografía de columna (MeOH/DCM 1:9) permitió aislar el ((1*S*,2*R*,3*S*,4*R*,6*S*)-2,3,4-trihidroxi-6-(octilcarbamoil)ciclohexil)carbamato de *tert*-butilo (**141**) (38 mg, 60 %), como un sólido blanco.

$[\alpha]_D^{20}$: -69 (*c* 1,5, MeOH).

RMN-¹H (Metanol-*d*₄, 300 MHz, ppm): 0.90 (t, *J* = 6.5 Hz, 3H, CH₃), 1.31 (s, 12H, 6xCH₂), 1.42 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.49–1.68 (m, 2H, CH₂), 2.13 (t, *J* = 13.4 Hz, 1H, COCH), 2.59 (t, *J* = 12.1 Hz, 1H, NCH), 3.14 (dt, *J* = 14.1, 7.0 Hz, 2H, NCH₂), 3.64–3.71 (m, 1H, OCH), 3.84 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, OCH), 3.93 (s, 1H, OCH).

RMN-¹³C (CDCl₃, 75 MHz, ppm): 14.43 (CH₃), 23.71 (CH₂), 28.02 (CH₂), 28.85 (C(CH₃)₃), 30.38 (CH₂), 30.47 (CH₂), 30.52 (CH₂), 31.60 (CH₂), 33.02 (CH₂), 40.56 (NCH₂), 45.21 (COCH), 53.15 (NCH), 70.47 (OCH), 72.24 (OCH), 74.01 (OCH), 79.88 (C_c), 158.46 (C=O, uretano), 175.64 (C=O, amida).

EMAR (ESI⁺): Calculado para C₂₀H₃₉N₂O₆, 403.2795; encontrado 403.2803.

IR (ν, cm⁻¹): 3317.70 (amida A), 1682.83 (amida I), 1650.24 (amida I) y 1534.11 (amida II).

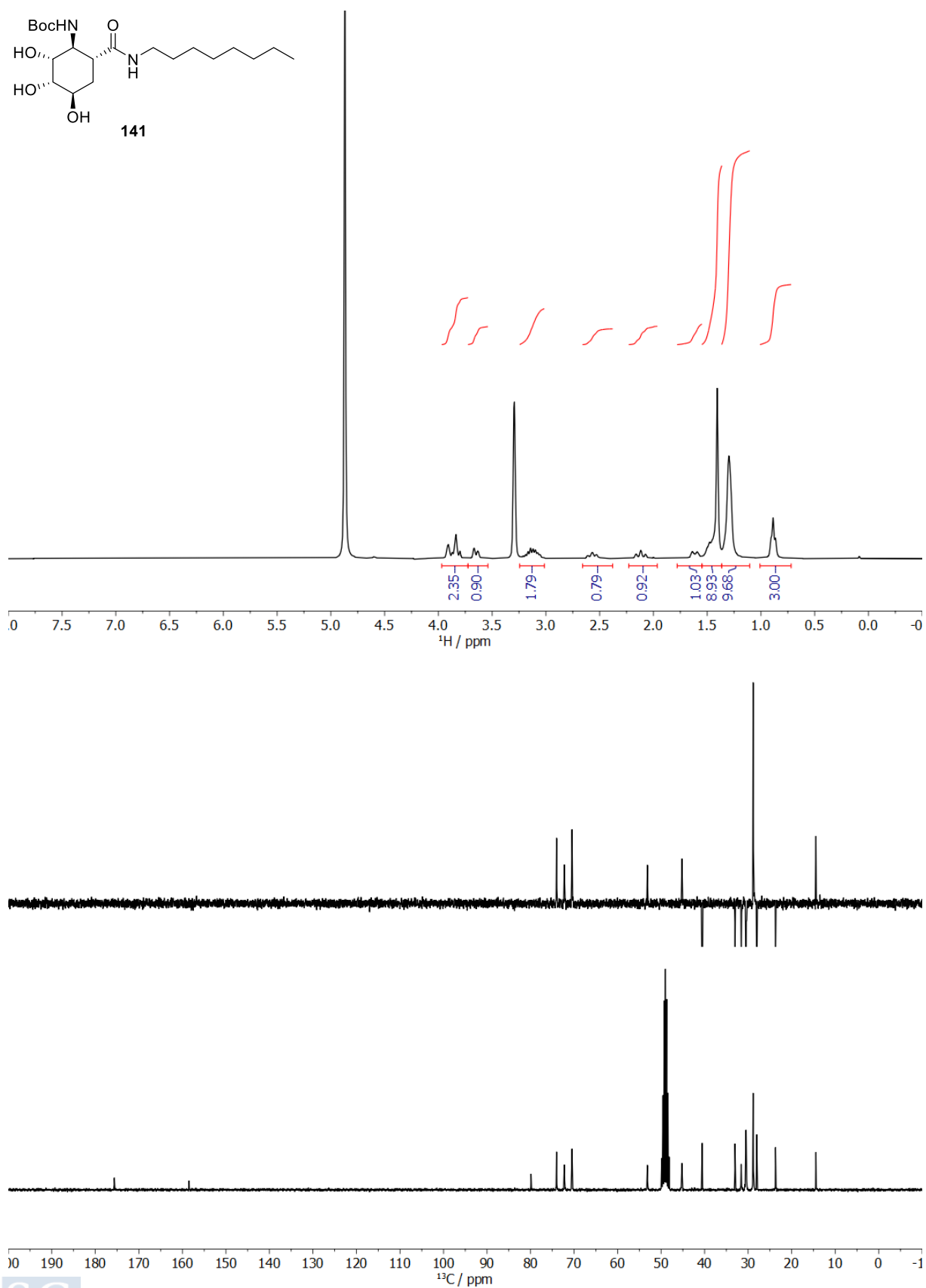
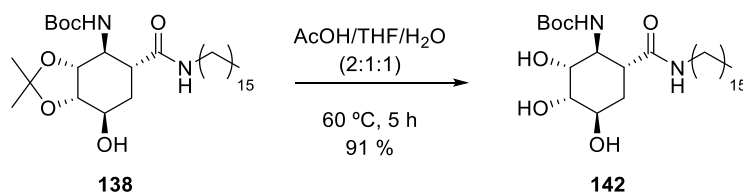


Figura 279. Espectro de RMN-¹H y de RMN-¹³C y DEPT del compuesto 141.

5.11.16 Síntesis del ((1*S*,2*R*,3*S*,4*R*,6*R*)-6-(hexadecilcarbamoil)2,3,4-trihidroxiciclohexil) carbamato de *tert*-butilo (**142**)



Se preparó siguiendo el **Procedimiento General C**, usando la *N*-alquilamida **138** (99 mg, 0.178 mmol, 1.0 eq) y una mezcla AcOH/THF/H₂O 2:1:1 (165 μ L). La cromatografía de columna (MeOH/DCM 1:9) dio el ((1*S*,2*R*,3*S*,4*R*,6*R*)-6-(hexadecilcarbamoil)2,3,4- trihidroxiciclohexil) carbamato de *tert*-butilo (**142**) (81 mg, 91 %), como un sólido blanco.

$[\alpha]_D^{19}$: -59.33 (*c* 1.5, MeOH/DCM 9:1).

RMN-¹H (DMSO-*d*₆, 300 MHz, ppm): 0.74–0.96 (m, 3H, CH₃), 1.27 (s, 28H, 14xCH₂), 1.38 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.82–2.09 (m, 1H, CH-H), 2.31–2.48 (m, 1H, CH-H), 3.01 (ddd, *J* = 25.0, 13.2, 6.7 Hz, 2H, NCH₂), 3.49 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, COCH), 3.65 (d, *J* = 3.5 Hz, 2H, 2xOCH), 3.73 (t, *J* = 3.2 Hz, 1H, NCH), 3.90 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, OCH), 4.63 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H OH), 4.75 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H, OH), 6.17 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H, NH), 7.25 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H, NH).

RMN-¹³C (DMSO-*d*₆, 75 MHz, ppm): 13.88 (CH₃), 22.03 (CH₂), 26.36 (CH₂), 28.23 (C(CH₃)₃), 28.63 (CH₂), 28.76 (CH₂), 28.96 (8xCH₂), 29.11 (CH₂), 30.37 (CH₂), 31.23 (CH₂), 38.53 (NCH₂), 42.98 (COCH), 51.65 (NCH), 68.49 (OCH), 70.59 (OCH), 72.74 (OCH), 77.03 (C_c), 155.57 (C=O, uretano), 172.47 (C=O, amida).

EMAR (ESI⁺): Calculado para C₂₈H₅₅N₂O₆, 515.4073; encontrado 515.4063.

IR (ν, cm⁻¹): 3316.74 (amida A), 1693.88 (amida I), 1650.70 (amida I) y 1533.42 (amida II).

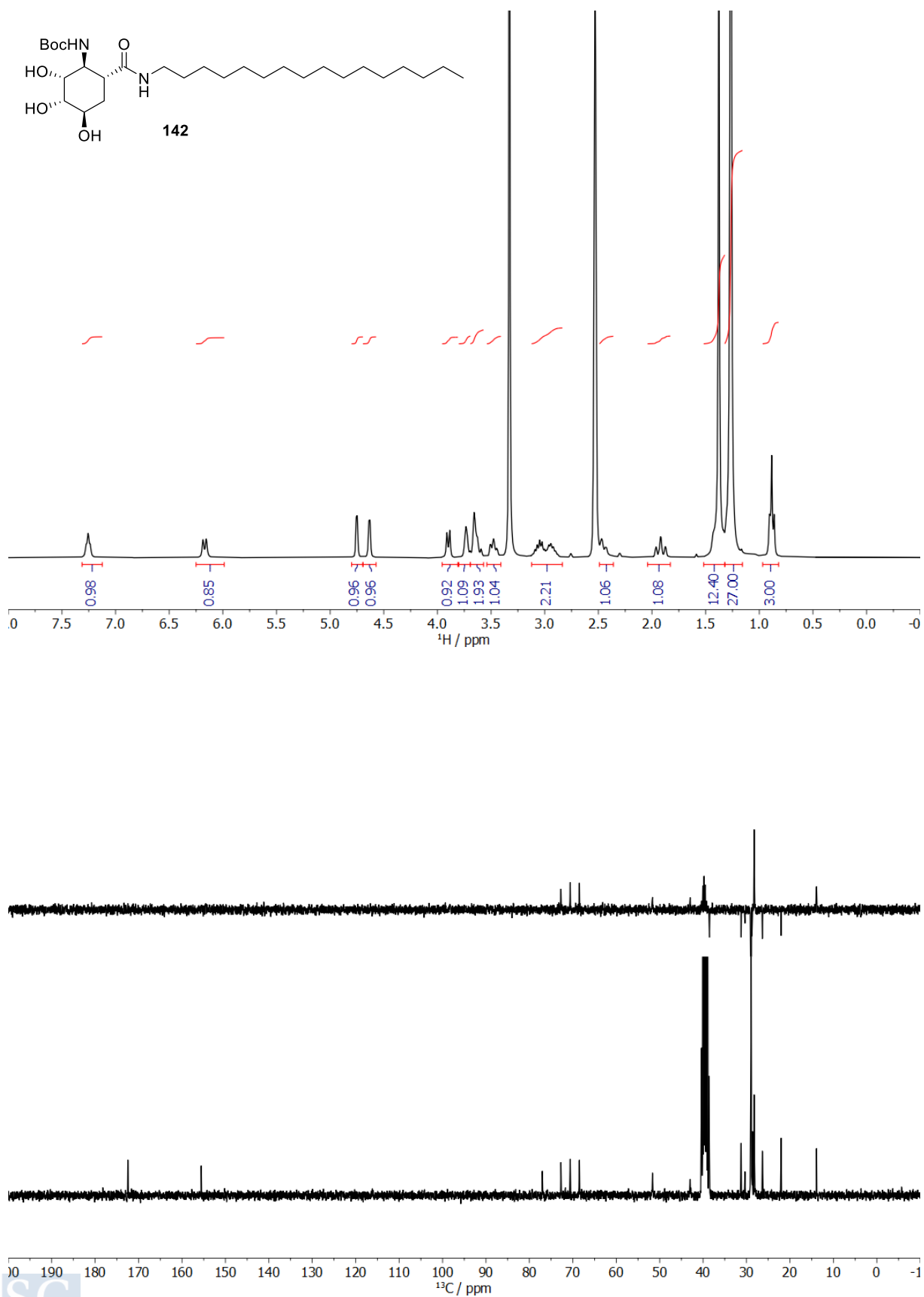


Figura 280. Espectro de RMN-¹H y de RMN-¹³C y DEPT del compuesto 142.

6 REFERENCIAS

- (1) Izumi, Y.; Chibata, I.; Itoh, T. Production and Utilization of Amino Acids. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1978**, *17* (3), 176–183. <https://doi.org/10.1002/anie.197801761>.
- (2) Toniolo, C.; Crisma, M.; Formaggio, F.; Peggion, C. Control of Peptide Conformation by the Thorpe-Ingold Effect (α -Tetrasubstitution). *Biopolymers* **2001**, *60* (6), 396–419. [https://doi.org/10.1002/1097-0282\(2001\)60:6<396::AID-BIP10184>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/1097-0282(2001)60:6<396::AID-BIP10184>3.0.CO;2-7).
- (3) Venkatraman, J.; Shankaramma, S. C.; Balaram, P. Design of Folded Peptides. *Chem. Rev.* **2001**, *101* (10), 3131–3152. <https://doi.org/10.1021/cr000053z>.
- (4) Seebach, D.; Kimmerlin, T.; Šebesta, R.; Campo, M. A.; Beck, A. K. How We Drifted into Peptide Chemistry and Where We Have Arrived At. *Tetrahedron* **2004**, *60* (35), 7455–7506. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2004.06.043>.
- (5) Olson, G. L.; Bolin, D. R.; Bonner, M. P.; Bos, M.; Cook, C. M.; Fry, D. C.; Graves, B. J.; Hatada, M.; Hill, D. E. Concepts and Progress in the Development of Peptide Mimetics. *J. Med. Chem.* **1993**, *36* (21), 3039–3049. <https://doi.org/10.1021/jm00073a001>.
- (6) MacDonald, M.; Aubé, J. Approaches to Cyclic Peptide β -Turn Mimics. *J. Curr. Org. Chem* **2001**, *5*, 417–438. <https://doi.org/10.2174/1385272013375517>.
- (7) Wu, Y.-D.; Gellman, S. Peptidomimetics. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41* (10), 1231–1232. <https://doi.org/10.1021/ar800216e>.
- (8) Guenard, D.; Gueritte-Voegelein, F.; Potier, P. Taxol and Taxotere: Discovery, Chemistry, and Structure-Activity Relationships. *Acc. Chem. Res.* **1993**, *26* (4), 160–167. <https://doi.org/10.1021/ar00028a005>.
- (9) Shinagawa, S.; Kanamaru, T.; Harada, S.; Asai, M.; Okazaki, H. Chemistry and Inhibitory Activity of Long Chain Fatty Acid Oxidation of Emeriamine and Its Analogues. *J. Med. Chem.* **1987**, *30* (8), 1458–1463.
- (10) Kudo, F.; Miyanaga, A.; Eguchi, T. Biosynthesis of Natural Products Containing β -Amino Acids. *Nat. Prod. Rep.* **2014**, *31* (8), 1056–1073. <https://doi.org/10.1039/C4NP00007B>.
- (11) Gellman, S. H. β -Peptides: From Structure to Function. *Chem. Rev.* **2001**, *101* (10), 3219–3232. <https://doi.org/10.1021/cr000045i>.
- (12) Seebach, D.; Gardiner, J. β -Peptidic Peptidomimetics. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41* (10), 1366–1375. <https://doi.org/10.1021/ar700263g>.
- (13) Fülöp, F. Application of Alicyclic β -Amino Acids in Peptide Chemistry. *Chem. Soc. Rev.* **2006**, *35* (4), 323. <https://doi.org/10.1039/b501173f>.
- (14) Fülöp, F. Synthesis of Carbocyclic and Heterocyclic β -Aminocarboxylic Acids. *Chem. Rev.* **2014**, *114* (2), 1116–1169. <https://doi.org/10.1021/cr300454h>.
- (15) Fülöp, F. The Chemistry of 2-Aminocycloalkanecarboxylic Acids. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 2181–2204. <https://doi.org/10.1021/cr000456z>.
- (16) Ozeki, M.; Ochi, S.; Hayama, N.; Hosoi, S.; Kajimoto, T.; Node, M. One-Pot Construction of Multiple Contiguous Chiral Centers Using Michael Addition of Chiral Amine. *J. Org. Chem.* **2010**, *75* (12), 4201–4211. <https://doi.org/10.1021/jo1004586>.
- (17) Szakonyi, Z.; Balázs, Á.; Martinek, T. A.; Fülöp, F. Enantioselective Addition of Diethylzinc to Aldehydes Catalyzed by γ -Amino Alcohols Derived from (+)- and (–)- α -

Pinene. *Tetrahedron Asymmetry* **2006**, *17* (2), 199–204. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2005.12.011>.

(18) Kiss, L.; Forró, E.; Fülöp, F. A New Strategy for the Regio- and Stereoselective Hydroxylation of Trans-2-Aminocyclohexenecarboxylic Acid. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47* (17), 2855–2858. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2006.02.133>.

(19) Fülöp, F.; Martinek, T. A.; Tóth, G. K. Application of Alicyclic β -Amino Acids in Peptide Chemistry. *Chem. Soc. Rev.* **2006**, *35* (4), 323. <https://doi.org/10.1039/b501173f>.

(20) Forró, E.; Schönstein, L.; Kiss, L.; Vega-Peñaloza, A.; Juaristi, E.; Fülöp, F. Direct Enzymatic Route for the Preparation of Novel Enantiomerically Enriched Hydroxylated β -Amino Ester Stereoisomers. *Molecules* **2010**, *15* (6), 3998–4010. <https://doi.org/10.3390/molecules15063998>.

(21) Chola, J.; Masesane, I. B. Stereoselective Synthesis of 3,4,5,6-Tetrahydrocyclohexyl β -Amino Acid Derivatives. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49* (39), 5680–5682. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2008.07.094>.

(22) Davies, S. G.; Smith, A. D.; Price, Paul. D. The Conjugate Addition of Enantiomerically Pure Lithium Amides as Homochiral Ammonia Equivalents: Scope, Limitations and Synthetic Applications. *Tetrahedron Asymmetry* **2005**, *16* (17), 2833–2891. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2005.08.006>.

(23) Davies, S. G.; Fletcher, A. M.; Roberts, P. M.; Thomson, J. E. The Conjugate Addition of Enantiomerically Pure Lithium Amides as Chiral Ammonia Equivalents Part II: 2005–2011. *Tetrahedron Asymmetry* **2012**, *23* (15–16), 1111–1153. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2012.08.009>.

(24) Balo, R. Aportaciones a la química de la D-glucosa, el ácido (-)-shikímico y los fenilisonitrilos. Tesis doctoral, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, 2018.

(25) Watanabe, M.; Maemura, K.; Kanbara, K.; Tamayama, T.; Hayasaki, H. GABA and GABA Receptors in the Central Nervous System and Other Organs. In *International Review of Cytology*; Elsevier, 2002; Vol. 213, pp 1–47. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(02\)13011-7](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(02)13011-7).

(26) Petroff, O. A. C. Book Review: GABA and Glutamate in the Human Brain. *The Neuroscientist* **2002**, *8* (6), 562–573. <https://doi.org/10.1177/1073858402238515>.

(27) Wall, G. M.; Baker, J. K. Metabolism of 3-(p-Chlorophenyl)Pyrrolidine. Structural Effects in Conversion of a Prototype γ -Aminobutyric Acid Prodrug to Lactam and γ -Aminobutyric Acid Type Metabolites. *J. Med. Chem.* **1989**, *32* (6), 1340–1348. <https://doi.org/10.1021/jm00126a033>.

(28) Alcón, M.; Poch, M.; Moyano, A.; Pericàs, M. A. Enantioselective Synthesis of (S)-Vigabatrin. *Tetrahedron Asymmetry* **1997**, *8* (17), 2967–2974. [https://doi.org/10.1016/S0957-4166\(97\)00346-7](https://doi.org/10.1016/S0957-4166(97)00346-7).

(29) Yoshida, H.; Okamoto, K.; Iwamoto, T.; Sakai, E.; Kanaoka, K.; Hu, J.-P.; Shibata, M.; Hotokezaka, H.; Nishishita, K.; Mizuno, A.; Kato, Y. Pepstatin A, an Aspartic Proteinase Inhibitor, Suppresses RANKL-Induced Osteoclast Differentiation. *J. Biochem. (Tokyo)* **2006**, *139* (3), 583–590. <https://doi.org/10.1093/jb/mvj066>.

- (30) Ordóñez, M.; Cativiela, C. Stereoselective Synthesis of γ -Amino Acids. *Tetrahedron Asymmetry* **2007**, *18* (1), 3–99. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2006.12.001>.
- (31) Ordóñez, M.; Cativiela, C.; Romero-Estudillo, I. An Update on the Stereoselective Synthesis of γ -Amino Acids. *Tetrahedron Asymmetry* **2016**, *27* (20–21), 999–1055. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2016.08.011>.
- (32) Bouillère, F.; Thétiot-Laurent, S.; Kouklovsky, C.; Alezra, V. Foldamers Containing γ -Amino Acid Residues or Their Analogues: Structural Features and Applications. *Amino Acids* **2011**, *41* (3), 687–707. <https://doi.org/10.1007/s00726-011-0893-3>.
- (33) Pilgrim, S.; Kociok-Köhn, G.; Lloyd, M. D.; Lewis, S. E. “Inosaminoacids”: Novel Inositol–Amino Acid Hybrid Structures Accessed by Microbial Arene Oxidation. *Chem. Commun.* **2011**, *47* (16), 4799. <https://doi.org/10.1039/c1cc10643k>.
- (34) González, M. A.; Estévez, A. M.; Campos, M.; Estévez, J. C.; Estévez, R. J. Protocol for the Incorporation of γ -Amino Acids into Peptides: Application to (–)-Shikimic Acid Based 2-Amino-Methylcyclohexanecarboxylic Acids. *J. Org. Chem.* **2018**, *83* (3), 1543–1550. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.7b02671>.
- (35) Arindam Banerjee and P. Balaram. Stereochemistry of Peptides and Polypeptides Containing Omega Amino Acids. *Curr. Sci.* **1997**, *73* (12), 1067–1077. <https://www.jstor.org/stable/24101264>.
- (36) Hintermann, T.; Gademann, K.; Jaun, B.; Seebach, D. γ -Peptides Forming More Stable Secondary Structures than α -Peptides: Synthesis and Helical NMR-Solution Structure of the γ -Hexapeptide Analog of H-(Val-Ala-Leu)₂-OH. *Helv. Chim. Acta* **1998**, *81* (5–8), 983–1002. <https://doi.org/10.1002/hlca.19980810514>.
- (37) Krauthäuser, S.; Christianson, L. A.; Powell, D. R.; Gellman, S. H. Antiparallel Sheet Formation in β -Peptide Foldamers: Effects of β -Amino Acid Substitution on Conformational Preference ¹. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119* (48), 11719–11720. <https://doi.org/10.1021/ja9730627>.
- (38) Stanger, H. E.; Gellman, S. H. Rules for Antiparallel β -Sheet Design: D -Pro-Gly Is Superior to L -Asn-Gly for β -Hairpin Nucleation ¹. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120* (17), 4236–4237. <https://doi.org/10.1021/ja973704q>.
- (39) Seebach, D.; Gademann, K.; Schreiber, J. V.; Matthews, J. L.; Hintermann, T.; Jaun, B.; Oberer, L.; Hommel, U.; Widmer, H. ‘Mixed’ β -Peptides: A Unique Helical Secondary Structure in Solution. Preliminary Communication. *Helv. Chim. Acta* **1997**, *80* (7), 2033–2038. <https://doi.org/10.1002/hlca.19970800703>.
- (40) Seebach, D.; Schreiber, J. V.; Abele, S.; Daura, X.; van Gunsteren, W. F. Structure and Conformation of β -Oligopeptide Derivatives with Simple Proteinogenic Side Chains: Circular Dichroism and Molecular Dynamics Investigations. *Helv. Chim. Acta* **2000**, *83* (1), 34–57. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1522-2675\(20000119\)83:1<34::AID-HLCA34>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/(SICI)1522-2675(20000119)83:1<34::AID-HLCA34>3.0.CO;2-B).
- (41) Appella, D. H.; Christianson, L. A.; Karle, I. L.; Powell, D. R.; Gellman, S. H. β -Peptide Foldamers: Robust Helix Formation in a New Family of β -Amino Acid Oligomers. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118* (51), 13071–13072. <https://doi.org/10.1021/ja963290l>.
- (42) Seebach, D.; Abele, S.; Gademann, K.; Jaun, B. Pleated Sheets and Turns of β -Peptides with Proteinogenic Side Chains. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38* (11), 1595–1597.

[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3773\(19990601\)38:11<1595::AID-ANIE1595>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3773(19990601)38:11<1595::AID-ANIE1595>3.0.CO;2-0).

(43) Appella, D. H.; Christianson, L. A.; Klein, D. A.; Richards, M. R.; Powell, D. R.; Gellman, S. H. Synthesis and Structural Characterization of Helix-Forming β -Peptides: *Trans* -2-Aminocyclopentanecarboxylic Acid Oligomers. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121* (33), 7574–7581. <https://doi.org/10.1021/ja991185g>.

(44) Applequist, J.; Bode, K. A.; Appella, D. H.; Christianson, L. A.; Gellman, S. H. Theoretical and Experimental Circular Dichroic Spectra of the Novel Helical Foldamer Poly[(1*R*,2*R*)-*Trans* -2-Aminocyclopentanecarboxylic Acid]. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120* (19), 4891–4892. <https://doi.org/10.1021/ja9742186>.

(45) Barchi, J. J.; Huang, X.; Appella, D. H.; Christianson, L. A.; Durell, S. R.; Gellman, S. H. Solution Conformations of Helix-Forming β -Amino Acid Homooligomers. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122* (12), 2711–2718. <https://doi.org/10.1021/ja9930014>.

(46) Appella, D. H.; Christianson, L. A.; Klein, D. A.; Powell, D. R.; Huang, X.; Jrt, J. J. B.; Gellman, S. H. Residue-Based Control of Helix Shape in β -Peptide Oligomers. *Nature* **1997**, *387*, 381–384. <https://doi.org/10.1038/387381a0>.

(47) Hughes, R. M.; Waters, M. L. Model Systems for β -Hairpins and β -Sheets. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2006**, *16* (4), 514–524. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2006.06.008>.

(48) Khakshoor, O.; Nowick, J. S. Artificial β -Sheets: Chemical Models of β -Sheets. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2008**, *12* (6), 722–729. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2008.08.009>.

(49) Daura, X.; Gademann, K.; Schäfer, H.; Jaun, B.; Seebach, D.; van Gunsteren, W. F. The β -Peptide Hairpin in Solution: Conformational Study of a β -Hexapeptide in Methanol by NMR Spectroscopy and MD Simulation. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123* (10), 2393–2404. <https://doi.org/10.1021/ja003689g>.

(50) Seebach, D.; Sifferlen, T.; Bierbaum, D. J.; Rueping, M.; Jaun, B.; Schweizer, B.; Schaefer, J.; Mehta, A. K.; O'Connor, R. D.; Meier, B. H.; Ernst, M.; Glättli, A. Isotopically Labelled and Unlabelled β -Peptides with Geminal Dimethyl Substitution in 2-Position of Each Residue: Synthesis and NMR Investigation in Solution and in the Solid State. *Helv. Chim. Acta* **2002**, *85* (9), 2877–2917. [https://doi.org/10.1002/1522-2675\(200209\)85:9<2877::AID-HLCA2877>3.0.CO;2-W](https://doi.org/10.1002/1522-2675(200209)85:9<2877::AID-HLCA2877>3.0.CO;2-W).

(51) Abele, S.; Seebach, D. Preparation of Achiral and of Enantiopure Geminally Disubstituted β -Amino Acids for β -Peptide Synthesis. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, *2000* (1), 1–15. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-0690\(200001\)2000:1<1::AID-EJOC1>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-0690(200001)2000:1<1::AID-EJOC1>3.0.CO;2-6).

(52) Seebach, D.; Abele, S.; Sifferlen, T.; Hänggi, M.; Gruner, S.; Seiler, P. Preparation and Structure of β -Peptides Consisting of Geminally Disubstituted B2,2- and B3,3-Amino Acids: A Turn Motif for β -Peptides. *Helv. Chim. Acta* **1998**, *81* (12), 2218–2243. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1522-2675\(19981216\)81:12<2218::AID-HLCA2218>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/(SICI)1522-2675(19981216)81:12<2218::AID-HLCA2218>3.0.CO;2-0).

(53) Balaram, P. De Novo Design: Backbone Conformational Constraints in Nucleating Helices and β -Hairpins: Conformational Constraints in Nucleating Helices and β -Hairpins. *J. Pept. Res.* **2008**, *54* (3), 195–199. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3011.1999.00119.x>.

- (54) Horne, W. S.; Gellman, S. H. Foldamers with Heterogeneous Backbones. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41* (10), 1399–1408. <https://doi.org/10.1021/ar800009n>.
- (55) Gopi, H. N.; Roy, R. S.; Raghothama, S. R.; Karle, I. L.; Balam, P. β -Hairpins Generated from Hybrid Peptide Sequences Containing Both α - and β -Amino Acids. *Helv. Chim. Acta* **2002**, *85* (10), 3313–3330. [https://doi.org/10.1002/1522-2675\(200210\)85:10<3313::AID-HLCA3313>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/1522-2675(200210)85:10<3313::AID-HLCA3313>3.0.CO;2-P).
- (56) Huck, B. R.; Fisk, J. D.; Gellman, S. H. Promotion of Sheet Formation in α -Peptide Strands by a β -Peptide Reverse Turn. *Org. Lett.* **2000**, *2* (17), 2607–2610. <https://doi.org/10.1021/ol006120t>.
- (57) Raguse, T. L.; Porter, E. A.; Weisblum, B.; Gellman, S. H. Structure–Activity Studies of 14-Helical Antimicrobial β -Peptides: Probing the Relationship between Conformational Stability and Antimicrobial Potency. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124* (43), 12774–12785. <https://doi.org/10.1021/ja0270423>.
- (58) De Pol, S.; Zorn, C.; Klein, C. D.; Zerbe, O.; Reiser, O. Surprisingly Stable Helical Conformations in α/β -Peptides by Incorporation of Cis- β -Aminocyclopropane Carboxylic Acids. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43* (4), 511–514. <https://doi.org/10.1002/anie.200352267>.
- (59) Beumer, R.; Bubert, C.; Cabrele, C.; Vielhauer, O.; Pietzsch, M.; Reiser, O. The Synthesis of Diastereo- and Enantiomerically Pure β -Aminocyclopropanecarboxylic Acids. *J. Org. Chem.* **2000**, *65* (26), 8960–8969. <https://doi.org/10.1021/jo0055411>.
- (60) Schmitt, M. A.; Weisblum, B.; Gellman, S. H. Unexpected Relationships between Structure and Function in α,β -Peptides: Antimicrobial Foldamers with Heterogeneous Backbones. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126* (22), 6848–6849. <https://doi.org/10.1021/ja048546z>.
- (61) Bolin, K. A.; Millhauser, G. L. α and 3_{10} : The Split Personality of Polypeptide Helices. *Acc. Chem. Res.* **1999**, *32* (12), 1027–1033. <https://doi.org/10.1021/ar980065v>.
- (62) Srinivasulu, G.; Kumar, S. K.; Sharma, G. V. M.; Kunwar, A. C. 11/9-Mixed Helices in the α/β -Peptides Derived from Alternating α - and β -Amino Acids with Proteinogenic Side Chains. *J. Org. Chem.* **2006**, *71* (22), 8395–8400. <https://doi.org/10.1021/jo0612980>.
- (63) Schmitt, M. A.; Choi, S. H.; Guzei, I. A.; Gellman, S. H. New Helical Foldamers: Heterogeneous Backbones with 1:2 and 2:1 α/β -Amino Acid Residue Patterns. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128* (14), 4538–4539. <https://doi.org/10.1021/ja060281w>.
- (64) Hoffmann-Röder, A.; Krause, N. Synthesis and Properties of Allenic Natural Products and Pharmaceuticals. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43* (10), 1196–1216. <https://doi.org/10.1002/anie.200300628>.
- (65) Baldauf, C.; Günther, R.; Hofmann, H.-J. Helix Formation and Folding in γ -Peptides and Their Vinylogues. *Helv. Chim. Acta* **2003**, *86* (7), 2573–2588. <https://doi.org/10.1002/hlca.200390208>.
- (66) Vasudev, P. G.; Shamala, N.; Ananda, K.; Balam, P. C₉ Helices and Ribbons in γ -Peptides: Crystal Structures of Gabapentin Oligomers. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44* (31), 4972–4975. <https://doi.org/10.1002/anie.200501055>.

- (67) Hanessian, S.; Luo, X.; Schaum, R.; Michnick, S. Design of Secondary Structures in Unnatural Peptides: Stable Helical γ -Tetra-, Hexa-, and Octapeptides and Consequences of α -Substitution. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120* (33), 8569–8570. <https://doi.org/10.1021/ja9814671>.
- (68) Seebach, D.; Brenner, M.; Rueping, M.; Jaun, B. Γ 2-, Γ 3-, and Γ 2,3,4-Amino Acids, Coupling Toy-Hexapeptides: CD Spectra, NMR Solution and X-Ray Crystal Structures of γ -Peptides. *Chem. - Eur. J.* **2002**, *8* (3), 573–584. [https://doi.org/10.1002/1521-3765\(20020201\)8:3<573::AID-CHEM573>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/1521-3765(20020201)8:3<573::AID-CHEM573>3.0.CO;2-H).
- (69) Hoffmann, R. W.; Lazaro, M. A.; Caturla, F.; Framery, E.; Valancogne, I.; Montalbetti, C. A. G. N. Conformational Analysis of (R,S)-4-Amido-2,4-Dimethyl-Butyric Acid Derivatives. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40* (33), 5983–5986. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(99\)01226-5](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(99)01226-5).
- (70) Hoffmann, R. W. Conformation Design of Open-Chain Compounds. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39* (12), 2054–2070. [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20000616\)39:12<2054::AID-ANIE2054>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20000616)39:12<2054::AID-ANIE2054>3.0.CO;2-Z).
- (71) Brenner, M.; Seebach, D. Design, Synthesis, NMR-Solution and X-Ray Crystal Structure Of N-Acyl- γ -Dipeptide Amides That Form A β II'-Type Turn. *Helv. Chim. Acta* **2001**, *84* (8), 2155–2166. [https://doi.org/10.1002/1522-2675\(20010815\)84:8<2155::AID-HLCA2155>3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/1522-2675(20010815)84:8<2155::AID-HLCA2155>3.0.CO;2-8).
- (72) Hanessian, S.; Luo, X.; Schaum, R. Synthesis and Folding Preferences of γ -Amino Acid Oligopeptides: Stereochemical Control in the Formation of a Reverse Turn and a Helix. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 4925–4929.
- (73) Seebach, D.; Brenner, M.; Rueping, M.; Schweizer, B.; Jaun, B. Preparation and Determination of X-Ray-Crystal and NMR-Solution Structures of Γ 2,3,4-Peptides. *Chem. Commun.* **2001**, No. 2, 207–208. <https://doi.org/10.1039/b0083771>.
- (74) Qureshi, M. K. N.; Smith, M. D. Parallel Sheet Structure in Cyclopropane γ -Peptides Stabilized by C–H \cdots O Hydrogen Bonds. *Chem Commun* **2006**, No. 48, 5006–5008. <https://doi.org/10.1039/B611882H>.
- (75) Hirst, A. R.; Escuder, B.; Miravet, J. F.; Smith, D. K. High-Tech Applications of Self-Assembling Supramolecular Nanostructured Gel-Phase Materials: From Regenerative Medicine to Electronic Devices. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47* (42), 8002–8018. <https://doi.org/10.1002/anie.200800022>.
- (76) Guo, L.; Chi, Y.; Almeida, A. M.; Guzei, I. A.; Parker, B. K.; Gellman, S. H. Stereospecific Synthesis of Conformationally Constrained γ -Amino Acids: New Foldamer Building Blocks That Support Helical Secondary Structure. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131* (44), 16018–16020. <https://doi.org/10.1021/ja907233q>.
- (77) Chatterjee, S.; Vasudev, P. G.; Raghothama, S.; Ramakrishnan, C.; Shamala, N.; Balaram, P. Expanding the Peptide β -Turn in $A\gamma$ Hybrid Sequences: 12 Atom Hydrogen Bonded Helical and Hairpin Turns. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131* (16), 5956–5965. <https://doi.org/10.1021/ja900618h>.
- (78) Roy, R. S.; Gopi, H. N.; Raghothama, S.; Karle, I. L.; Balaram, P. Hybrid Peptide Hairpins Containing α - and ω -Amino Acids: Conformational Analysis of

Decapeptides with Unsubstituted β -, γ -, and δ -Residues at Positions 3 and 8. *Chem. - Eur. J.* **2006**, *12* (12), 3295–3302. <https://doi.org/10.1002/chem.200500742>.

(79) Lee, M.; Shim, J.; Kang, P.; Choi, M.-G.; Choi, S. H. Stabilization of 11/9-Helical α/β -Peptide Foldamers in Protic Solvents. *Chem. Commun.* **2016**, *52* (35), 5950–5952. <https://doi.org/10.1039/C6CC01189F>.

(80) Soengas, R. G.; Estévez, J. C.; Estévez, R. J. Stereocontrolled Transformation of Nitrohexofuranoses into Cyclopentylamines via 2-Oxabicyclo[2.2.1]Heptanes: Incorporation of Polyhydroxylated Carbocyclic β -Amino Acids into Peptides. *Org. Lett.* **2003**, *5* (9), 1423–1425. <https://doi.org/10.1021/ol034127f>.

(81) Fernández, F.; Fernández, A. G.; Balo, R.; Sánchez-Pedregal, V. M.; Royo, M.; Soengas, R. G.; Estévez, R. J.; Estévez, J. C. Polyhydroxylated Cyclopentane β -Amino Acids Derived from D -Mannose and D -Galactose: Synthesis and Protocol for Incorporation into Peptides. *ACS Omega* **2022**, *7* (2), 2002–2014. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c05468>.

(82) Kang, Y. K.; Byun, B. J. Computationally Designed β -Turn Foldamers of γ -Peptides Based on 2-(Aminomethyl)Cyclohexanecarboxylic Acid. *Biopolymers* **2012**, *97* (12), 1018–1025. <https://doi.org/10.1002/bip.22119>.

(83) Appella, D. H.; Christianson, L. A.; Karle, I. L.; Powell, D. R.; Gellman, S. H. Synthesis and Characterization of Trans-2-Aminocyclohexanecarboxylic Acid Oligomers: An Unnatural Helical Secondary Structure and Implications for β -Peptide Tertiary Structure. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121* (26), 6206–6212. <https://doi.org/10.1021/ja990748l>.

(84) González, M. A.; Estévez, A. M.; Campos, M.; Estévez, J. C.; Estévez, R. J. Protocol for the Incorporation of γ -Amino Acids into Peptides: Application to (–)-Shikimic Acid Based 2-Amino-Methylcyclohexanecarboxylic Acids. *J. Org. Chem.* **2018**, *83* (3), 1543–1550. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.7b02671>.

(85) Montalvo, G.; Waegele, M. M.; Shandler, S.; Gai, F.; DeGrado, W. F. Infrared Signature and Folding Dynamics of a Helical β -Peptide. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132* (16), 5616–5618. <https://doi.org/10.1021/ja100459a>.

(86) Zhai, L.; Nara, M.; Otani, Y.; Ohwada, T. Unexpectedly Rigid Short Peptide Foldamers in Which NH- π and CH- π Interactions Are Preserved in Solution. *Chem. Commun.* **2021**, *57* (67), 8344–8347. <https://doi.org/10.1039/D1CC02998C>.

(87) Pomerantz, W. C.; Grygiel, T. L. R.; Lai, J. R.; Gellman, S. H. Distinctive Circular Dichroism Signature for 14-Helix-Bundle Formation by β -Peptides. *Org. Lett.* **2008**, *10* (9), 1799–1802. <https://doi.org/10.1021/ol800622e>.

(88) Baxter, N. J.; Williamson, M. P. Temperature Dependence of ^1H Chemical Shifts in Proteins. *J. Biomol. NMR* **1997**, *9*, 359–369. <https://doi.org/10.1023/A:1018334207887>.

(89) Andersen, N. H.; Neidigh, J. W.; Harris, S. M.; Lee, G. M.; Liu, Z.; Tong, H. Extracting Information from the Temperature Gradients of Polypeptide NH Chemical Shifts. 1. The Importance of Conformational Averaging. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119* (36), 8547–8561. <https://doi.org/10.1021/ja963250h>.

(90) Andersen, N. H.; Chinpan Chen; Thomas M. Marschner; Stanley R. Krystek, Jr.; Donna A. Bassolino. Conformational Isomerism of Endothelin in Acidic Aqueous Media:

A Quantitative NOESY Analysis. *Biochemistry* **1992**, *31*, 1280–1295. <https://doi.org/10.1021/bi00120a003>.

(91) Raguse, T. L.; Lai, J. R.; Gellman, S. H. Environment-Independent 14-Helix Formation in Short β -Peptides: Striking a Balance between Shape Control and Functional Diversity. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125* (19), 5592–5593. <https://doi.org/10.1021/ja0341485>.

(92) Schwieters, C. D.; Kuszewski, J. J.; Tjandra, N.; Marius Clore, G. The Xplor-NIH NMR Molecular Structure Determination Package. *J. Magn. Reson.* **2003**, *160* (1), 65–73. [https://doi.org/10.1016/S1090-7807\(02\)00014-9](https://doi.org/10.1016/S1090-7807(02)00014-9).

(93) Zhao, Y.; Truhlar, D. G. Density Functionals for Noncovalent Interaction Energies of Biological Importance. *J. Chem. Theory Comput.* **2007**, *3* (1), 289–300. <https://doi.org/10.1021/ct6002719>.

(94) Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery Jr., J. A.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J. J.; Brothers, E.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Keith, T.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, M.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, O.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J. GAussian.Pdf. *Gaussian 09 Revis. E01 2013*.

(95) Balo, R.; Jiménez, A.; Reza, D.; Estévez, R. J.; Estévez, J. C. Peptides Incorporating 3,4-Dihydroxyprolines: Synthesis and Structural Study. In *ECSOC-25*; MDPI, 2021; p 72. <https://doi.org/10.3390/ecsoc-25-11683>.

(96) Byrne, C.; Belnou, M.; Baulieu, E.; Lequin, O.; Jacquot, Y. Electronic Circular Dichroism and Nuclear Magnetic Resonance Studies of Peptides Derived from the FKBP52-interacting B-turn of the HER α Ligand-binding Domain. *Pept. Sci.* **2019**, *111* (4). <https://doi.org/10.1002/pep2.24113>.

(97) *Gels: Structures, Properties, and Functions*; Springer: Berlin Heidelberg, 2009. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-00865-8>.

(98) Velázquez, D. G. Gelificadores multifuncionales de bajo peso molecular. Propiedades y aplicaciones de arquitecturas inteligentes. *Quím* **2010**, *11*.

(99) Nishinari, K. Some Thoughts on The Definition of a Gel. In *Gels: Structures, Properties, and Functions*; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2009; pp 87–94. https://doi.org/10.1007/978-3-642-00865-8_12.

(100) Jones, C. D.; Steed, J. W. Gels with Sense: Supramolecular Materials That Respond to Heat, Light and Sound. *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45* (23), 6546–6596. <https://doi.org/10.1039/C6CS00435K>.

(101) Zweep, N.; van Esch, J. H. CHAPTER 1. The Design of Molecular Gelators. In *Soft Matter Series*; Escuder, B., Miravet, J. F., Eds.; Royal Society of Chemistry: Cambridge, 2013; pp 1–29. <https://doi.org/10.1039/9781849737371-00001>.

- (102) Estroff, L. A.; Hamilton, A. D. Water Gelation by Small Organic Molecules. *Chem. Rev.* **2004**, *104* (3), 1201–1218. <https://doi.org/10.1021/cr0302049>.
- (103) Terech, P.; Weiss, R. G. Low Molecular Mass Gelators of Organic Liquids and the Properties of Their Gels. *Chem. Rev.* **1997**, *97* (8), 3133–3160. <https://doi.org/10.1021/cr9700282>.
- (104) Du, X.; Zhou, J.; Shi, J.; Xu, B. Supramolecular Hydrogelators and Hydrogels: From Soft Matter to Molecular Biomaterials. *Chem. Rev.* **2015**, *115* (24), 13165–13307. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00299>.
- (105) Weiss, R. G. The Past, Present, and Future of Molecular Gels. What Is the Status of the Field, and Where Is It Going? *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136* (21), 7519–7530. <https://doi.org/10.1021/ja503363v>.
- (106) Sangeetha, N. M.; Maitra, U. Supramolecular Gels: Functions and Uses. *Chem. Soc. Rev.* **2005**, *34* (10), 821. <https://doi.org/10.1039/b417081b>.
- (107) Dastidar, P. Supramolecular Gelling Agents: Can They Be Designed? *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37* (12), 2699. <https://doi.org/10.1039/b807346e>.
- (108) Okesola, B. O.; Vieira, V. M. P.; Cornwell, D. J.; Whitelaw, N. K.; Smith, D. K. 1,3:2,4-Dibenzylidene- D -Sorbitol (DBS) and Its Derivatives – Efficient, Versatile and Industrially-Relevant Low-Molecular-Weight Gelators with over 100 Years of History and a Bright Future. *Soft Matter* **2015**, *11* (24), 4768–4787. <https://doi.org/10.1039/C5SM00845J>.
- (109) Miravet, J. F.; Escuder, B. CHAPTER 11. Supramolecular Gels for Pharmaceutical and Biomedical Applications. In *Monographs in Supramolecular Chemistry*; Schneider, H.-J., Ed.; Royal Society of Chemistry: Cambridge, 2013; pp 331–354. <https://doi.org/10.1039/9781849737821-00331>.
- (110) Skilling, K. J.; Citossi, F.; Bradshaw, T. D.; Ashford, M.; Kellam, B.; Marlow, M. Insights into Low Molecular Mass Organic Gelators: A Focus on Drug Delivery and Tissue Engineering Applications. *Soft Matter* **2014**, *10* (2), 237–256. <https://doi.org/10.1039/C3SM52244J>.
- (111) Okesola, B. O.; Smith, D. K. Applying Low-Molecular Weight Supramolecular Gelators in an Environmental Setting – Self-Assembled Gels as Smart Materials for Pollutant Removal. *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45* (15), 4226–4251. <https://doi.org/10.1039/C6CS00124F>.
- (112) Jung, J. H.; Shinkai, S. Gels as Templates for Nanotubes. In *Templates in Chemistry I*; Schalley, C. A., Vögtle, F., Dötz, K. H., Eds.; Topics in Current Chemistry; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2005; Vol. 248, pp 223–260. <https://doi.org/10.1007/b99915>.
- (113) Alakpa, E. V.; Jayawarna, V.; Lampel, A.; Burgess, K. V.; West, C. C.; Bakker, S. C. J.; Roy, S.; Javid, N.; Fleming, S.; Lamprou, D. A.; Yang, J.; Miller, A.; Urquhart, A. J.; Frederix, P. W. J. M.; Hunt, N. T.; Péault, B.; Ulijn, R. V.; Dalby, M. J. Tunable Supramolecular Hydrogels for Selection of Lineage-Guiding Metabolites in Stem Cell Cultures. *Chem* **2016**, *1* (2), 298–319. <https://doi.org/10.1016/j.chempr.2016.07.001>.
- (114) Yang, Z.; Ho, P.-L.; Liang, G.; Chow, K. H.; Wang, Q.; Cao, Y.; Guo, Z.; Xu, B. Using β -Lactamase to Trigger Supramolecular Hydrogelation. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129* (2), 266–267. <https://doi.org/10.1021/ja0675604>.

- (115) Okesola, B. O.; Smith, D. K. Versatile Supramolecular PH-Tolerant Hydrogels Which Demonstrate PH-Dependent Selective Adsorption of Dyes from Aqueous Solution. *Chem. Commun.* **2013**, 49 (95), 11164. <https://doi.org/10.1039/c3cc45969a>.
- (116) Ray, S.; Das, A. K.; Banerjee, A. PH-Responsive, Bolaamphiphile-Based Smart Metallo-Hydrogels as Potential Dye-Adsorbing Agents, Water Purifier, and Vitamin B₁₂ Carrier. *Chem. Mater.* **2007**, 19 (7), 1633–1639. <https://doi.org/10.1021/cm062672f>.
- (117) Knerr, P. J.; Branco, M. C.; Nagarkar, R.; Pochan, D. J.; Schneider, J. P. Heavy Metal Ion Hydrogelation of a Self-Assembling Peptideviacysteinyl Chelation. *J Mater Chem* **2012**, 22 (4), 1352–1357. <https://doi.org/10.1039/C1JM14418A>.
- (118) Kim, T. H.; Kim, D. G.; Lee, M.; Lee, T. S. Synthesis of Reversible Fluorescent Organogel Containing 2-(2'-Hydroxyphenyl)Benzoxazole: Fluorescence Enhancement upon Gelation and Detecting Property for Nerve Gas Simulant. *Tetrahedron* **2010**, 66 (9), 1667–1672. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2010.01.006>.
- (119) Jadhav, S. R.; Vemula, P. K.; Kumar, R.; Raghavan, S. R.; John, G. Sugar-Derived Phase-Selective Molecular Gelators as Model Solidifiers for Oil Spills. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49 (42), 7695–7698. <https://doi.org/10.1002/anie.201002095>.
- (120) Jonkheijm, P.; van der Schoot, P.; Schenning, A. P. H. J.; Meijer, E. W. Probing the Solvent-Assisted Nucleation Pathway in Chemical Self-Assembly. *Science* **2006**, 313 (5783), 80–83. <https://doi.org/10.1126/science.1127884>.
- (121) Valeur, E.; Bradley, M. Amide Bond Formation: Beyond the Myth of Coupling Reagents. *Chem Soc Rev* **2009**, 38 (2), 606–631. <https://doi.org/10.1039/B701677H>.
- (122) Menger, F. M.; Caran, K. L. Anatomy of a Gel. Amino Acid Derivatives That Rigidify Water at Submillimolar Concentrations. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122 (47), 11679–11691. <https://doi.org/10.1021/ja0016811>.
- (123) Houton, K. A.; Morris, K. L.; Chen, L.; Schmidtmann, M.; Jones, J. T. A.; Serpell, L. C.; Lloyd, G. O.; Adams, D. J. On Crystal versus Fiber Formation in Dipeptide Hydrogelator Systems. *Langmuir* **2012**, 28 (25), 9797–9806. <https://doi.org/10.1021/la301371q>.
- (124) Draper, E. R.; Morris, K. L.; Little, M. A.; Raeburn, J.; Colquhoun, C.; Cross, E. R.; McDonald, Tom. O.; Serpell, L. C.; Adams, D. J. Hydrogels Formed from Fmoc Amino Acids. *CrystEngComm* **2015**, 17 (42), 8047–8057. <https://doi.org/10.1039/C5CE00801H>.
- (125) Emily C. Barker, Adam D. Martin, Christopher J. Garvey, Ching Yong Goh, Franca Jones, Mauro Mocerino, Brian W. Skelton, Mark I. Ogden and Thomas Becker. Thermal Annealing Behaviour and Gel to Crystal Transition of a Low Molecular Weight Hydrogelator. *Soft Matter* **2017**, 13, 1006–1011. <https://doi.org/10.1039/C6SM02431A>.
- (126) Houton, K. A.; Morris, K. L.; Chen, L.; Schmidtmann, M.; Jones, J. T. A.; Serpell, L. C.; Lloyd, G. O.; Adams, D. J. On Crystal versus Fiber Formation in Dipeptide Hydrogelator Systems. *Langmuir* **2012**, 28 (25), 9797–9806. <https://doi.org/10.1021/la301371q>.
- (127) Pilpel, N. Properties of Organic Solutions of Heavy Metal Soaps. *Chem. Rev.* **1963**, 63 (3), 221–234. <https://doi.org/10.1021/cr60223a001>.

- (128) Terech, P.; Rodriguez, V.; Barnes, J. D.; McKenna, G. B. Organogels and Aerogels of Racemic and Chiral 12-Hydroxyoctadecanoic Acid. *Langmuir* **1994**, *10* (10), 3406–3418. <https://doi.org/10.1021/la00022a009>.
- (129) Lu, L.; Weiss, R. G. New Lyotropic Phases (Thermally-Reversible Organogels) of Simple Tertiary Amines and Related Tertiary and Quaternary Ammonium Halide Salts. *Chem Commun* **1996**, No. 2029–2030, 2. <https://doi.org/DOI> <https://doi.org/10.1039/CC9960002029>.
- (130) Lin, Y. Chyuan.; Weiss, R. G. A Novel Gelator of Organic Liquids and the Properties of Its Gels. *Macromolecules* **1987**, *20* (2), 414–417. <https://doi.org/10.1021/ma00168a031>.
- (131) Willemen, H. M.; Vermonden, T.; Marcelis, A. T. M.; Sudhölter, E. J. R. N-Cholyl Amino Acid Alkyl Esters – A Novel Class of Organogelators. *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, *2001* (12), 2329–2335. [https://doi.org/10.1002/1099-0690\(200106\)2001:12<2329::AID-EJOC2329>3.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/1099-0690(200106)2001:12<2329::AID-EJOC2329>3.0.CO;2-N).
- (132) Hanabusa, K.; Tange, J.; Taguchi, Y.; Koyama, T.; Shirai, H. Small Molecular Gelling Agents to Harden Organic Liquids: Alkylamide of N-Benzyloxycarbonyl-L-Valyl-L-Valine. *J Chem Soc Chem Commun* **1993**, *34*, 390–392.
- (133) Menger, F. M.; Yamasaki, Y.; Catlin, K. K.; Nishimi, T. X-Ray Structure of a Self-Assembled Gelating Fiber. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34* (5), 585–586. <https://doi.org/10.1002/anie.199505851>.
- (134) Murata, K.; Aoki, M.; Nishi, T.; Ikeda, A.; Shinkai, S. New Cholesterol-Based Gelators with Light- and Metal-Responsive Functions. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, No. 24, 1715. <https://doi.org/10.1039/c39910001715>.
- (135) Yoza, K.; Amanokura, N.; Ono, Y.; Akao, T.; Shinmori, H.; Takeuchi, M.; Shinkai, S.; Reinhoudt, D. N. Sugar-Integrated Gelators of Organic Solvents—Their Remarkable Diversity in Gelation Ability and Aggregate Structure. *Chem. - Eur. J.* **1999**, *5* (9), 2722–2729. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3765\(19990903\)5:9<2722::AID-CHEM2722>3.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3765(19990903)5:9<2722::AID-CHEM2722>3.0.CO;2-N).
- (136) Hanabusa, K.; Yamada, M.; Kimura, M.; Shirai, H. Prominent Gelation and Chiral Aggregation of Alkylamides Derived From trans-1,2-Diaminocyclohexane. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35* (17), 1949–1951. <https://doi.org/10.1002/anie.199619491>.
- (137) Zweep, N.; Hopkinson, A.; Meetsma, A.; Browne, W. R.; Feringa, B. L.; van Esch, J. H. Balancing Hydrogen Bonding and van Der Waals Interactions in Cyclohexane-Based Bisamide and Bisurea Organogelators. *Langmuir* **2009**, *25* (15), 8802–8809. <https://doi.org/10.1021/la9004714>.
- (138) Ortuño, R. M. Carbocycle-Based Organogelators: Influence of Chirality and Structural Features on Their Supramolecular Arrangements and Properties. *Gels* **2021**, *7* (2), 54. <https://doi.org/10.3390/gels7020054>.
- (139) Pi-Boleda, B.; Sans, M.; Campos, M.; Nolis, P.; Illa, O.; Estévez, J. C.; Branchadell, V.; Ortuño, R. M. Studies on Cycloalkane-Based Bisamide Organogelators: A New Example of Stochastic Chiral Symmetry-Breaking Induced by Sonication. *Chem. - Eur. J.* **2017**, *23* (14), 3357–3365. <https://doi.org/10.1002/chem.201604818>.

- (140) Pi-Boleda, B.; Campos, M.; Sans, M.; Basavilbaso, A.; Illa, O.; Branchadell, V.; Estévez, J.; Ortuño, R. Synthesis and Gelling Abilities of Polyfunctional Cyclohexane-1,2-Dicarboxylic Acid Bisamides: Influence of the Hydroxyl Groups. *Molecules* **2019**, *24* (2), 352. <https://doi.org/10.3390/molecules24020352>.
- (141) Berkessel, A.; Glaubitz, K.; Lex, J. Enantiomerically Pure β -Amino Acids: A Convenient Access to Both Enantiomers of Trans-2-Aminocyclohexanecarboxylic Acid. *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, *2002* (17), 2948–2952. [https://doi.org/10.1002/1099-0690\(200209\)2002:17<2948::AID-EJOC2948>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/1099-0690(200209)2002:17<2948::AID-EJOC2948>3.0.CO;2-E).
- (142) Smith, D. K. Lost in Translation? Chirality Effects in the Self-Assembly of Nanostructured Gel-Phase Materials. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38* (3), 684. <https://doi.org/10.1039/b800409a>.
- (143) Kulkarni, C.; Berrocal, J. A.; Lutz, M.; Palmans, A. R. A.; Meijer, E. W. Directing the Solid-State Organization of Racemates via Structural Mutation and Solution-State Assembly Processes. *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, *141* (15), 6302–6309. <https://doi.org/10.1021/jacs.9b00452>.
- (144) Guterman, L. Exxon Valdez Turns 20. *Science* **2009**, *323* (5921), 1558–1559. <https://doi.org/10.1126/science.323.5921.1558>.
- (145) Dave, D.; Ghaly, A. E. Remediation Technologies for Marine Oil Spills: A Critical Review and Comparative Analysis. *Am. J. Environ. Sci.* **2011**, *7* (5), 423–440. <https://doi.org/10.3844/ajessp.2011.423.440>.
- (146) Prendergast, D. P.; Gschwend, P. M. Assessing the Performance and Cost of Oil Spill Remediation Technologies. *J. Clean. Prod.* **2014**, *78*, 233–242. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.04.054>.
- (147) Liu, K.; He, P.; Fang, Y. Progress in the Studies of Low-Molecular Mass Gelators with Unusual Properties. *Sci. China Chem.* **2011**, *54* (4), 575–586. <https://doi.org/10.1007/s11426-011-4250-x>.
- (148) Kesava Raju, Ch. S.; Pramanik, B.; Kar, T.; Rao, P. V. C.; Choudary, N. V.; Ravishankar, R. Low Molecular Weight Gels: Potential in Remediation of Crude Oil Spillage and Recovery. *RSC Adv.* **2016**, *6* (58), 53415–53420. <https://doi.org/10.1039/C6RA10462B>.
- (149) Ren, C.; Ng, G. H. B.; Wu, H.; Chan, K.-H.; Shen, J.; Teh, C.; Ying, J. Y.; Zeng, H. Instant Room-Temperature Gelation of Crude Oil by Chiral Organogelators. *Chem. Mater.* **2016**, *28* (11), 4001–4008. <https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.6b01367>.
- (150) Prathap, A.; Sureshan, K. M. A Mannitol Based Phase Selective Supergelator Offers a Simple, Viable and Greener Method to Combat Marine Oil Spills. *Chem. Commun.* **2012**, *48* (43), 5250. <https://doi.org/10.1039/c2cc31631e>.
- (151) Samateh, M.; Vidyasagar, A.; Jadhav, S. R.; John, G. Sugar Based Amphiphiles: Easily Accessible and Efficient Crude Oil Spill Thickening Agents. *RSC Adv.* **2016**, *6* (109), 107598–107605. <https://doi.org/10.1039/C6RA21871G>.
- (152) Rajkamal, R.; Chatterjee, D.; Paul, A.; Banerjee, S.; Yadav, S. Enantiomeric Organogelators from D-/L-Arabinose for Phase Selective Gelation of Crude Oil and Their Gel as a Photochemical Micro-Reactor. *Chem Commun* **2014**, *50* (81), 12131–12134. <https://doi.org/10.1039/C4CC05950F>.

- (153) Rajkamal, R.; Pathak, N. P.; Chatterjee, D.; Paul, A.; Yadav, S. Arabinose Based Gelators: Rheological Characterization of the Gels and Phase Selective Organogelation of Crude-Oil. *RSC Adv.* **2016**, *6* (95), 92225–92234. <https://doi.org/10.1039/C6RA21109G>.
- (154) Mukherjee, S.; Mukhopadhyay, B. Phase Selective Carbohydrate Gelator. *RSC Adv.* **2012**, *2* (6), 2270. <https://doi.org/10.1039/c2ra00036a>.
- (155) Gao, J.; Feng, K.; Li, H.; Jiang, Y.; Zhou, L. Immobilized Lipase on Porous Ceramic Monoliths for the Production of Sugar-Derived Oil Gelling Agent. *RSC Adv.* **2015**, *5* (84), 68601–68609. <https://doi.org/10.1039/C5RA10570F>.
- (156) Mukherjee, S.; Shang, C.; Chen, X.; Chang, X.; Liu, K.; Yu, C.; Fang, Y. N-Acetylglucosamine-Based Efficient, Phase-Selective Organogelators for Oil Spill Remediation. *Chem Commun* **2014**, *50* (90), 13940–13943. <https://doi.org/10.1039/C4CC06024E>.
- (157) Prathap, A.; Sureshan, K. M. Organogelator-Cellulose Composite for Practical and Eco-Friendly Marine Oil-Spill Recovery. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56* (32), 9405–9409. <https://doi.org/10.1002/anie.201704699>.
- (158) Vibhute, A. M.; Muvvala, V.; Sureshan, K. M. A Sugar-Based Gelator for Marine Oil-Spill Recovery. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55* (27), 7782–7785. <https://doi.org/10.1002/anie.201510308>.
- (159) Mayr, J.; Saldías, C.; Díaz Díaz, D. Release of Small Bioactive Molecules from Physical Gels. *Chem. Soc. Rev.* **2018**, *47* (4), 1484–1515. <https://doi.org/10.1039/C7CS00515F>.
- (160) Song, S.; Tian, B.; Chen, F.; Zhang, W.; Pan, Y.; Zhang, Q.; Yang, X.; Pan, W. Potentials of Proniosomes for Improving the Oral Bioavailability of Poorly Water-Soluble Drugs. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **2015**, *41* (1), 51–62. <https://doi.org/10.3109/03639045.2013.845841>.
- (161) Ahmad Wani, S.; Singh, A.; Kumar, P. *Spice Bioactive Compounds: Properties, Applications, and Health Benefits*, 1st ed.; CRC Press: Boca Raton, 2022. <https://doi.org/10.1201/9781003215387>.
- (162) Lin, R.; Cui, H. Supramolecular Nanostructures as Drug Carriers. *Curr. Opin. Chem. Eng.* **2015**, *7*, 75–83. <https://doi.org/10.1016/j.coche.2014.11.005>.



La presente tesis doctoral aborda la utilización del ácido ciclohexenocarboxílico y del ácido (-)-shikímico, materiales de partida asequibles, para obtener a escala de multigramos β - y γ -aminoácidos, con los que se aborda la síntesis de β -péptidos, α,β -péptidos y α,γ -péptidos anfífilos con potenciales aplicaciones industriales y bioquímicas. También se describe el estudio estructural de estos nuevos péptidos para dilucidar su estructura secundaria. Además, los β -aminoácidos obtenidos se utilizan para la síntesis de N-alkilamidas y se estudia la capacidad gelificante de éstas en disolventes de distinta constante dieléctrica, así como sus aplicaciones para la captura de aceites industriales y para la liberación de fármacos.