



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

SÍNTESIS DE LA ULONGAMIDA A

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

M. en C. CUAUHTÉMOC ALVARADO SÁNCHEZ



TUTOR: Dr. ÁNGEL GUZMÁN SÁNCHEZ

AÑO: 2008

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Ángel Guzmán, el gran maestro que me hizo un Químico Orgánico. Con admiración, agradecimiento y respeto.

Al Dr. Eduardo Díaz Torres por permitirme realizar la parte final de este trabajo en su laboratorio, por su tremendo apoyo y enseñanzas en la parte espectroscópica, y sobre todo, por ser una excelente persona.

A los miembros del Comité Tutorial:

La Dra. Martha Eugenia Albores Velasco y el Dr. José Alfredo Vázquez Martínez. Porque gracias a sus valiosos consejos este trabajo pudo ser concluido.

A los miembros del jurado:

Dr. Eugene Athanas Bratoeff Titeff

Dr. Luis Angel Maldonado Graniel

Dr. Gustavo Alberto García de la Mora

Dr. Luis Gerardo Zepeda Vallejo

Dr. Roberto Martínez

Dr. Moisés Romero Ortega

Dr. José Guillermo Penieres Carrillo

Quienes enriquecieron este trabajo con sus importantes comentarios y correcciones.

A todo el personal de espectroscopía del Instituto de Química de la UNAM, especialmente a la Química Rocío Patiño, quien siempre tiene una sonrisa amable.

Al CONACyT por el apoyo económico otorgado para la realización de este trabajo, con la beca doctoral con número de registro 129959.

DEDICATORIAS

A mis padres y hermanos, a Blanca mi esposa y su familia, a los amigos y compañeros, y a toda la gente que como los anteriores, han hecho feliz mi vida.

El presente trabajo se realizó en los laboratorios 1-1 y 1-5 del Instituto de Química de la UNAM, bajo la dirección del Dr. Ángel Guzmán Sánchez y con el apoyo en la parte espectroscópica del Dr. Eduardo Díaz Torres.

El presente trabajo forma parte del proyecto DGAPA-UNAM, PAPIIT-IN210405, denominado: *Síntesis de las Ulongamidas A, B y C*, a quien se agradece también por la beca otorgada para la conclusión de éste trabajo.

ABREVIATURAS.

Aminoácidos.

Aminoácido	Abreviatura	Aminoácido	Abreviatura
Ácido aspártico	Asp	Isoleucina	Ile
Ácido glutámico	Glu	Leucina	Leu
Alanina	Ala	Lisina	Lys
Arginina	Arg	Metionina	Met
Asparagina	Asn	Prolina	Pro
Cisteína	Cys	Tirosina	Tyr
Fenilalanina	Phe	Treonina	Thr
Glicina	Gly	Triptófano	Trp
Glutamina	Gln	Serina	Ser
Histidina	His	Valina	Val

Aminoácidos modificados.

Aminoácido	Abreviatura
Ornitina	Orn
Isostatina	Iso

Parte biológica.

Ácido desoxirribonucleico	ADN
Ácido ribonucleico	ARN
Adenosin trifosfato	ATP
Guanidin difosfato	GDP
Guanidin trifosfato	GTP
Células KB	Línea celular humana de carcinoma nasofaríngeo
Células LoVo	Línea celular humana de adenocarcinoma colorectal
IC₅₀	Concentración inhibitoria media

Agentes acoplantes.

Agente acoplante	Abreviatura
<i>N,N'</i> -Diciclohexilcarbodiimida	DCC
Clorhidrato de 1-[3-(dimetilamino)propil]-3-etil-carbodiimida	EDC
Hexafluorofosfato de cloro-1-iloxtiris(dimetil-amino)-fosfonio	CloP
Hexafluorofosfato de bromo-1-iloxtiris(dimetil-amino)-fosfonio	BroP
Hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxtiris(dimetil-amino)-fosfonio	BOP
Hexafluorofosfato de (7-azabenzotriazol-1-il)oxitris-(dimetil-amino)fosfonio	AOP
Hexafluorofosfato de <i>O</i> -(benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio	HBTU
Tetrafluoroborato de <i>O</i> -benzotriazol-1-il-1,1,3,3-tetrametiluronio	TBTU
Hexafluorofosfato de <i>O</i> -(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio	HATU
Tetrafluoroborato de <i>O</i> -(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio	TATU
Hexacloroantimonato de 1-(1 <i>H</i> -benzotriazol-1-iloxi)fenil-metilen pirrolidinio	BPMP
Hexacloroantimonato de 5-(succinimidiloxi)-3,4-dihidro-1-metil 2 <i>H</i> pirrolio	SOMP
Hexafluorofosfato de 2-(benzotriazol-1-il)oxi-1,3-dimetil-imidazolidinio	BOI
Hexafluorofosfato de 2-cloro-1,3-dimetilimidazolidinio	CIP
Tetrafluoroborato de 2-cloro-1,3-dimetilimidazolidinio	CIB
Aziduro de difenilfosforilo	DPPA
Cloruro del ácido <i>N,N'</i> -bis(2-oxo-3-oxazolidinil)-fosfínico	BOP-CI
Hexafluorofosfato de tetrametilfluoroformamidinio	TFFH

Aditivos.

Aditivo	Abreviatura
1-Hidroxibenzotriazol	HOBt
1-Hidroxí-7-azabenzotriazol	HOAt
3,4-Dihidro-3-hidroxi-4-oxo-1,2,3-benzotriazina	HODhbt
Etil-1-hidroxi-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-carboxilato	HOEt

Grupos protectores.

Grupo protector	Abreviatura
9-Fluorometoxicarbonil	Fmoc
Benciloxicarbonil	Z
Terbutoxicarbonil	Boc o t-Boc

Disolventes.

Disolvente	Abreviatura
Dimetilformamida	DMF
Dimetoxietano	DME
Etanol	EtOH
Metanol	MeOH
Tetrahidrofurano	THF

Otros reactivos.

Reactivo	Abreviatura
Ácido trifluoroacético	TFA
Aziduro de tetrametilguanidinio	TGA
Bromopiruvato de etilo	EBP
n-Butil litio	n-BuLi
<i>N,N'</i> -Diisopropiletilamina	EDIPA
<i>N,N'</i> -Dimetilaminopiridina	DMAP
Trietilamina	Et₃N
Trifenilfosfina	PPh₃
Triflato de dibutilboro	DBBT

Espectroscopía.

Técnica	Abreviatura
Distortionless Enhancement by Polarization Transfer (Disminución de la Distorsión por Transferencia de Polarización)	DEPT
Correlated Spectroscopy (Espectroscopía de Correlación Homonuclear de Hidrógeno)	COSY
Heteronuclear Single Quantum Coherence (Coherencia Heteronuclear Cuántica Simple)	HSQC
Heteronuclear Multiple Bond Correlation (Conectividad Heteronuclear de Enlaces Múltiples)	HMBC
Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy (Espectroscopía del Efecto Nuclear de Overhauser)	NOESY
Exchange Spectroscopy (Espectroscopía de Intercambio)	EXSY
Partes por millón	ppm
Hertz	Hz
Temperatura de coalescencia	T_c
Fast Atomic Bombardement Mass Spectroscopy	FAB⁺ MS
Espectrometría de Masas por Impacto Electrónico	EM IE
Unidades de masa atómica	uma

ÍNDICE

	Pág
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Cianobacterias.....	3
2.1.1. Hábitat.....	4
2.1.2. Clasificación	4
2.1.3. Morfología Celular	5
2.1.3.1. Tilacoides	6
2.1.3.2. Ficobilisomas.....	6
2.1.3.2.1. Grupos Prostéticos Bilina.....	7
2.1.3.3. Inclusiones Citoplásmicas.....	8
2.1.3.3.1. Glicógeno.....	8
2.1.3.3.2. Cianoficinas.....	8
2.1.3.3.3. Gránulos de Polifosfato.....	8
2.1.3.3.4. Carboxisomas.....	8
2.1.3.3.5. Vacuolas Gaseosas.....	9
2.1.4. Biosíntesis de Depsipéptidos por Cianobacterias. Complejos Proteíno- Enzimáticos.....	10
2.1.4.1. Mecanismo Multienzimático del Tiomolde.....	11
2.2. Depsipéptidos.....	15
2.2.1. Toxicidad.....	16
2.2.2. Depsipéptidos y Cáncer.....	17
2.2.3. Mecanismo de Acción Molecular de los Depsipéptidos Anticancerígenos.....	17
2.3. Síntesis Química de Depsipéptidos.....	20
2.3.1. Grupos Protectores.....	22
2.3.2. Acoplamiento.....	23
2.3.3. Macrociclación.....	26

3.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	31
4.	OBJETIVOS	33
5.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	36
5.1.	Ulongamida A (1) y unidades componentes.....	36
5.2.	Análisis retrosintético y diseño de síntesis de la ulongamida A (1).....	37
5.3.	Síntesis del depsitripéptido 28 . Ácido (S)-2-[1-(Boc-amino)etil]tiazol - 4 - carboxi-(2R,3R)-3-amino-2-metilhexanoil-L-láctico.....	40
5.3.1.	Síntesis del éster bencílico del ácido L-láctico 35a	40
5.3.2.	Síntesis del ácido (2R, 3R)-3-(Boc-amino)-2-metilhexanoico 33a	41
5.3.3.	Síntesis del ácido (S)-2-[1-(Boc-amino)etil]tiazol-4-carboxílico 34a	45
5.3.4.	Acoplamiento de 33a , 34a y 35a y obtención del depsitripéptido 28	49
5.4.	Síntesis de los dipéptidos: <i>N</i> -Metil-L-Phe- <i>N</i> -metil-L-valinato de bencilo 29 , <i>N</i> -Metil-L-Phe- <i>N</i> -metil-L-Val [<i>N</i> '-(Boc)]-hidrazida 79 y <i>N</i> -Metil-L-Phe- <i>N</i> -metil- L-valinato de <i>tert</i> butilo 80	51
5.4.1.	Síntesis del dipéptido 29	51
5.4.2.	Síntesis del dipéptido 79	56
5.4.3.	Síntesis del dipéptido 80	58
5.5.	Acoplamiento del dipéptido 79 con el depsitripéptido 28 y pruebas de ciclación mediante el método de la azida.....	61
5.6.	Acoplamiento del dipéptido 80 con el depsitripéptido 28 y obtención de la ulongamida A (1).....	62
5.7.	Derivados.....	64

5.8.	Espectroscopía.....	65
5.8.1.	Espectroscopía del dipéptido <i>N</i> -metil- <i>Z</i> - <i>L</i> -Phe- <i>N</i> -metil- <i>L</i> -valinato de <i>tert</i> -butilo (80a).....	65
5.8.1.1.	Estructuras Canónicas Bipolares.....	69
5.8.1.2.	Temperatura de coalescencia (<i>T_c</i>).....	70
5.8.2.	Espectroscopía de la ulongamida A (1).....	72
5.8.3.	Espectroscopía de Infrarrojo de la ulongamida A (1)	80
5.8.4.	Espectrometría de Masas y Análisis Elemental de la ulongamida A (1)	80
6.	CONCLUSIONES	81
7.	PERSPECTIVAS	83
8.	PARTE EXPERIMENTAL	84
8.1.	Métodos Generales.....	84
8.2.	Métodos de preparación.....	85
9.	REFERENCIAS	112
10.	APÉNDICE	120

1. INTRODUCCIÓN.

Las cianobacterias o algas marinas verde-azul han llamado poderosamente la atención en los últimos años, debido a que producen un elaborado e impresionante conjunto de metabolitos, los cuales exhiben un amplio espectro de bioactividad,¹ y aunque algunos de ellos son tóxicos,² las cianobacterias son una fuente reconocida de sustancias con actividad farmacológica.

Entre los metabolitos biosintetizados por las cianobacterias, se encuentran los compuestos conocidos como depsipéptidos. Estas moléculas están formadas por cadenas cíclicas o abiertas de aminoácidos (generalmente el estereoisómero L), o bien por aminoácidos modificados y otros ácidos orgánicos. La actividad biológica más importante de estas sustancias ha sido documentada como anticancerígena. Como ejemplo de ello, se tiene que existen en la actualidad cuatro depsipéptidos que en pruebas clínicas demostraron excelente actividad como anticancerígenos en humanos. Éstos se han denominado didemnina B, deshidrodidemnina B, dolastatina 10 y el compuesto denominado como FR901228.³

Las ulongamidas A-F son depsipéptidos cíclicos obtenidos recientemente de la cianobacteria marina *Lyngbia* sp. Estas sustancias demostraron tener actividad citotóxica contra células KB (línea celular humana de carcinoma nasofaríngeo) y células LoVo (línea celular humana de adenocarcinoma colorectal).⁴ Las estructuras químicas de las ulongamidas A-F son bastante parecidas entre sí y debido a que su actividad anticancerígena se encuentra aún en fase de estudio y a lo laborioso que es la obtención de las muestras biológicas a partir del alga marina, nos pareció relevante realizar la síntesis total del producto natural conocido como "Ulongamida A" (1).⁵

2. MARCO TEÓRICO.

2.1. CIANOBACTERIAS.

Los microorganismos fotosintéticos más antiguos que pueblan todas las aguas del planeta y que son conocidos como cianobacterias, tienen una larga historia evolutiva. La mayoría de geólogos y geoquímicos concuerdan en que su origen se extiende unos 3500 millones de años atrás, dentro de la Era Proterozoica, conocida también como Era de las Cianobacterias.⁶ Se especula que fueron los primeros seres vivos que poblaron el planeta y que a partir de ellas se desarrollaron otros seres vivientes tales como las plantas, ya que el cloroplasto es considerado como una célula cianobacteriana viviendo en endosimbiosis dentro de una célula eucariota. Las cianobacterias han tenido un efecto muy importante en la evolución y los cambios ecológicos a través de la historia de la tierra debido a que la atmósfera de la cual dependemos fue generada por ellas durante las Eras Arqueana y Proterozoica, y actualmente son importantes proveedoras de amoníaco, insustituible en el cultivo de arroz, frijoles y otras gramíneas.

Las cianobacterias son parte del fitoplancton y se encuentran, por lo tanto, en el inicio de la cadena alimenticia, forman grandes colonias, principalmente en cuerpos de agua con altos niveles tróficos y se consideran ligadas a procariotes y eucariotes fotosintéticos, ya que poseen la capacidad de sintetizar clorofila. Como característica particular se ha identificado su habilidad para sintetizar los pigmentos ficobilina y ficocianina, que en altas concentraciones les confieren el color característico que ha dado lugar a su denominación como algas verde-azules o cianobacterias.

2.1.1 Hábitat.

Las cianobacterias se aprecian a simple vista como manchas incrustadas sobre la superficie húmeda de las rocas (*C. fuscus*), del suelo o de los árboles; pueden ser de color verde azuladas, pardas o negras y presentarse en forma de almohadillas macroscópicas o en capas viscosas. Pueden vivir en casi cualquier hábitat incluyendo ambientes extremos tales como desiertos o géiseres, siendo el límite máximo de temperatura de 73 – 74 °C (*Phormidium laminosum*, *Synechococcus* sp), también en los casquetes polares o bien en ambientes acuáticos hipersalinos (como el alga *Spirulina* en el lago de Texcoco). Sin embargo, la mayor parte de las especies se han encontrado hasta ahora en ríos o lagunas de agua dulce que tienen temperaturas moderadas, entre 15 – 30 °C.⁷

2.1.2 Clasificación.⁸

Según su morfología las cianobacterias se clasifican en 5 órdenes: *Chroococcales*, *Pleurocapsales*, *Oscillatoriales*, *Nostocales* y *Stigonematales*. Las cianobacterias de todos los órdenes antes mencionados poseen la forma de esferas o cocos.

Las cianobacterias *Chroococcales* son unicelulares y usualmente forman colonias. Las células del orden *Pleurocapsales* tienen la habilidad de formar esporas internas (baeocitos). Los tres órdenes restantes incluyen especies que forman colonias filamentosas. En el orden *Oscillatoriales* no hay formación de células especializadas, tales como aquinetos o heterocistos (Figura 4). En los órdenes *Nostocales* y *Stigonematales* las células poseen la habilidad para desarrollar heterocistos bajo condiciones especiales. A diferencia del orden *Stigonematales*, el orden *Nostocales* incluye especies con colonias de formas ramificadas (*Anabaena*).

La clasificación de las cianobacterias aún no ha sido totalmente validada por el Código Internacional de Nomenclatura Bacteriana. Existen diferentes clasificaciones, por lo cual puede haber errores en el manejo de la información.

2.1.3 Morfología Celular.⁹

Las cianobacterias o algas verde-azules son células procariotas, por lo cual no poseen organelos reconocibles o delimitados por una membrana. La gran mayoría de las cianobacterias poseen una estructura distintiva, la cual se representa esquemáticamente en la Figura 1.

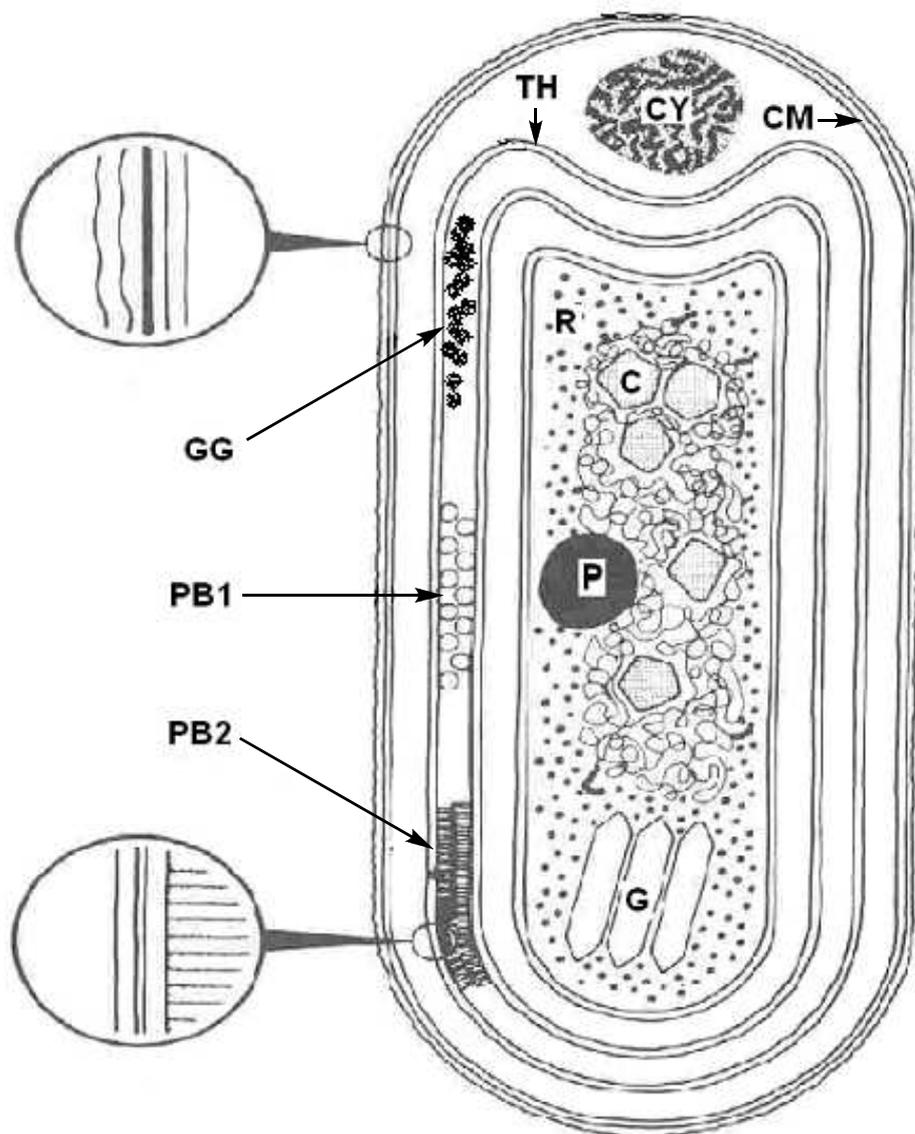


Figura 1. Estructura de una Célula Cianobacteriana.⁹ CM Membrana celular; TH, Tilacoide; PB1 y PB2, vistas frontal y lateral de ficobilisomas unidos a los tilacoides adyacentes; GG, gránulos de glicógeno; CY, gránulos de cianoficina; P, gránulos de polifosfato; C, carboxisoma; R, ribosomas; G, vesículas gaseosas.

Las células cianobacterianas se encuentran rodeadas por envolturas celulares consistentes en la membrana citoplásmica, la pared celular (membrana externa más peptidoglicano) y en muchos casos, una envoltura externa o vaina.¹⁰ La pared celular varía en espesor entre 5-10 nm pero en ocasiones puede ser considerablemente más gruesa, particularmente en algunas especies de *Oscillatoria* sp, como por ejemplo el peptidoglicano PCC 6407 componente de la pared celular es de aproximadamente 25 nm de espesor, mientras que en *Oscillatoria princeps* es de 200-250 nm. Muchos grupos de cianobacterias sintetizan capas de paredes externas adicionales.

2.1.3.1. Tilacoides (TH). El protoplasto está delimitado por una membrana citoplásmica, cuyos elementos más notorios son los tilacoides, los cuales se encuentran paralelos unos con otros, pero separados por un espacio de aproximadamente 60-70 nm. Cada tilacoide está formado por dos membranas íntimamente unidas, las cuales son los elementos básicos para la fotosíntesis oxigénica y contienen los complejos proteína-clorofila, carotenoides, los cuales forman parte de los centros de reacción fotosintética y el sistema de transporte electrónico. Generalmente la célula posee entre 3 y 6 tilacoides ordenados paralela y concéntricamente entre sí.

2.1.3.2. Ficobilisomas (PB). Los ficobilisomas se localizan entre los espacios intertilacoidales (Figura 2) y están constituidos por complejos multimoleculares de ficobiliproteínas,¹¹ que son las proteínas de mayor presencia en las cianobacterias ya que pueden representar más del 24 % en peso seco de la célula y más de la mitad del peso de las proteínas solubles.¹² La morfología de los ficobilisomas varía según el organismo de origen. Sin embargo, en todos los casos consisten de varas hechas de discos apilados que radian de un núcleo, poseen pesos moleculares que varían de 7.0×10^6 a 15.0×10^6 daltons, contienen de 300 a 800 cromóforos de bilina y absorben luz que proviene de gran parte del espectro visible. La energía absorbida por cualquiera de estos cromóforos es transmitida eficientemente a aceptores terminales de energía.¹³

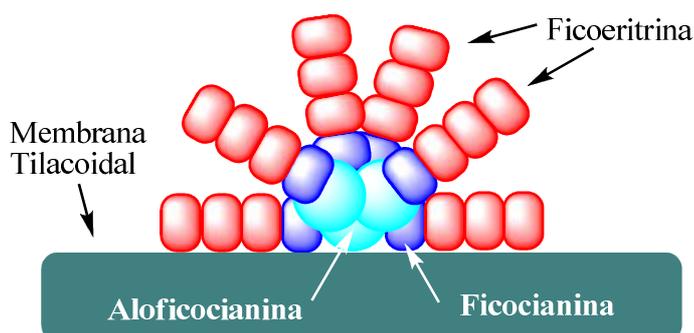


Figura 2. Ficolisoma.

2.1.3.2.1 Grupos Prostéticos Bilina. Cuatro diferentes tipos de tetrapirroles isoméricos funcionan como cromóforos en las ficobiliproteínas: las ficocianobilinas **2**, las ficobiliviolinas **3**, las ficoeritrobilinas **4**, y las ficourobilinas **5**; éstos tetrapirroles son los que les proporcionan sus colores brillantes. Sus estructuras y modos de unión a las cadenas polipeptídicas se muestran en la Figura 3.

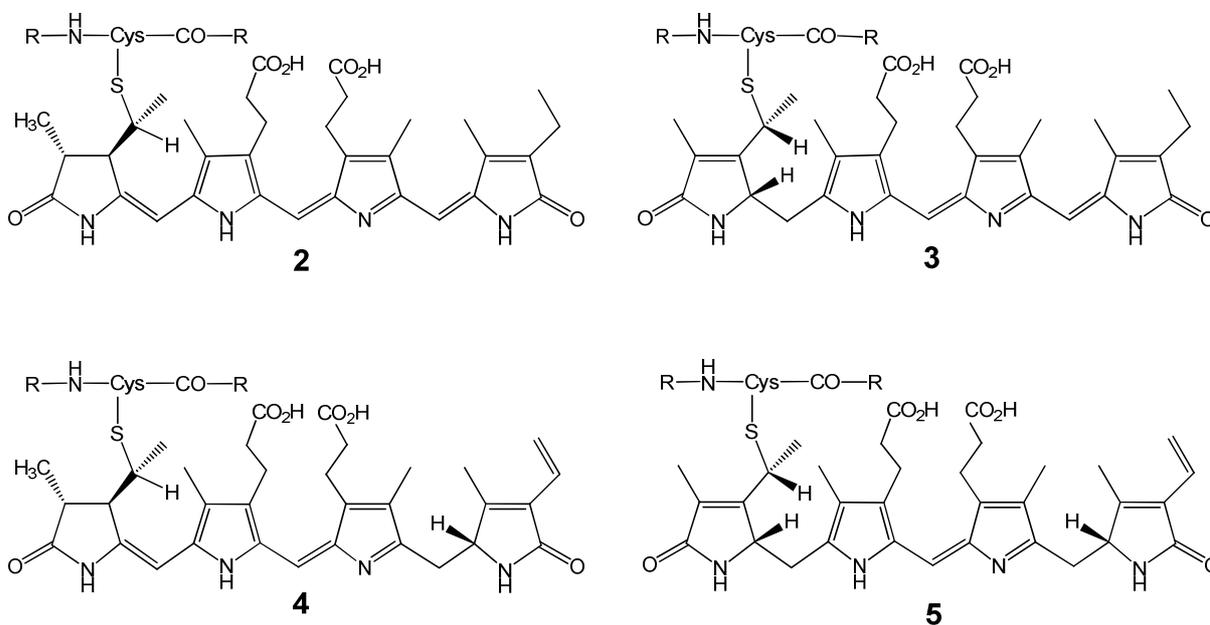


Figura 3. Grupos Prostéticos Bilina.¹⁴

La ficocianobilina **2** tiene su máximo de absorción en aproximadamente 600 nm. Las biliproteínas que contienen ficobiliviolina **3** (también llamada criptoviolina) poseen un máximo de absorción a 568 nm, mientras que aquellas que contienen la ficoeritrobilina **4**, tienen un máximo de absorción entre 535 y 567 nm. Las biliproteínas que contienen la ficourobilona **5**, muestran un pico de absorción máxima en aproximadamente 495 nm.

2.1.3.3 Inclusiones Citoplásmicas. Dentro del citoplasma se encuentran, además del material genético, glicógeno, cianoficinas, gránulos de polifosfato, carboxisomas, vacuolas gaseosas, ribosomas y complejos proteíno-enzimáticos mediante los cuales las cianobacterias fabrican una gran cantidad de metabolitos secundarios. Cada uno de estos elementos sirve a la célula cianobacteriana para un fin determinado.

2.1.3.3.1 Glicógeno (GG). El glicógeno es un carbohidrato usado como material general de reserva por las cianobacterias. Se localiza generalmente entre los tilacoides y de forma prominente en células fotosintéticas con bajo suplemento de nitrógeno. Su presencia puede ser detectada mediante la reacción de Thiéry,¹⁵ usando una tinción de plata especial para detectar carbohidratos.

2.1.3.3.2 Cianoficinas (CY).¹⁶ Son reservas orgánicas de nitrógeno específicas de las cianobacterias, están compuestas de largas cadenas polipeptídicas de ácido multi-L-arginil –poli (L-aspártico).

2.1.3.3.3 Gránulos de Polifosfato (P).¹⁷ Su función principal parece ser el almacenamiento de fosfato, aunque también podría funcionar como regulador de las concentraciones intracelulares de ATP, ADP, otros nucleótidos y pirofosfato. El gránulo polimérico de polifosfato también representa una valiosa fuente de fósforo activado que puede ser utilizado en diversos procesos metabólicos.

2.1.3.3.4 Carboxisomas (C).¹⁸ Todas las cianobacterias contienen carboxisomas (de 3 a 12 carboxisomas como media), los cuales son agregados pseudocristalinos de la enzima clave para la fijación del CO₂, ribulosa 1,5-bifosfato-carboxilasa (RuBisCOasa). Los

carboxisomas tienen la forma de poliedros, por lo cual se les ha dado también el nombre de cuerpos poliédricos.

2.1.3.3.5 Vacuolas Gaseosas (G).¹⁹ Ayudan a la flotación de la célula y se encuentran en especies de géneros muy diferentes.

Algunas cianobacterias han desarrollado células especializadas tales como los baeocitos, hormogonias, aquinetos y heterocistos (Figura 4). Las dos primeras clases pueden ser o no móviles y están relacionadas con la dispersión y reproducción de la especie.²⁰ Los aquinetos son células sin movimiento y resistentes, comparables a las esporas que poseen grandes cantidades de cianoficina, lo que les confiere una apariencia granulosa, y se desarrollan únicamente en cianobacterias que forman heterocistos.²¹ En estos últimos el N_2 atmosférico es convertido a NH_3 mediante la enzima nitrogenasa.²²

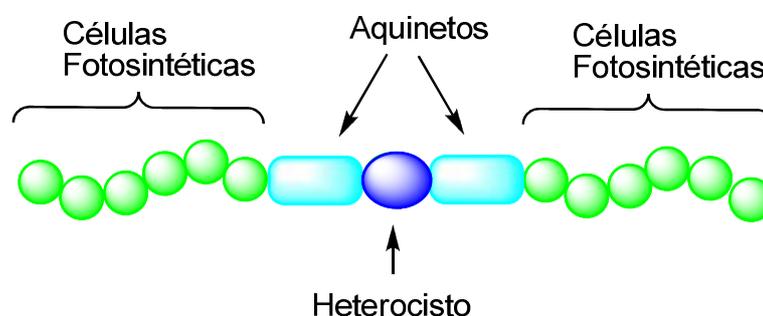


Figura 4. Especialización Celular en Cianobacterias.

2.1.4 BIOSÍNTESIS DE DEPSIPÉPTIDOS POR CIANOBACTERIAS. Complejos Proteíno-Enzimáticos.²³

Las cianobacterias producen una amplia variedad de metabolitos secundarios siendo los depsipéptidos los principales. No se conoce cual es exactamente el papel fisiológico de los depsipéptidos en el metabolismo de las cianobacterias, pero se cree que pueden actuar como coordinadores en el crecimiento y la diferenciación celular,²⁴ quizás sean fallas del metabolismo celular²⁵ o armas de defensa contra otros microorganismos competidores.²⁶

El mecanismo biosintético de formación de los depsipéptidos en las cianobacterias es interesante pues no se encuentran involucrados ribosomas o ARN mensajero en él, sino que es mediado únicamente por complejos polienzimáticos denominados como péptidosintetasas.²⁷ Los casos mejor estudiados son los de los decapeptidos cíclicos tirocidina y gramicidina S 6,³ producidos por diferentes especies de *Bacillus brevis* (Figura 8).

El hecho de que no haya ARN involucrado en la síntesis de los depsipéptidos permite que éstos tengan una gran diversidad estructural, pues están formados por aminoácidos naturales, aminoácidos modificados, hidroxiaácidos y diversas moléculas orgánicas (Figura 9).²⁸

2.1.4.1 Mecanismo Multienzimático del Tiomolde (Multienzyme Thiotemplate Mechanism). El mecanismo por el cual los depsipéptidos son sintetizados en el interior del citoplasma cianobacteriano es conocido como: Mecanismo Multienzimático del Tiomolde. El primer paso del mecanismo es la activación de los aminoácidos sustrato por hidrólisis del ATP a los correspondientes adenilatos (Figura 5).

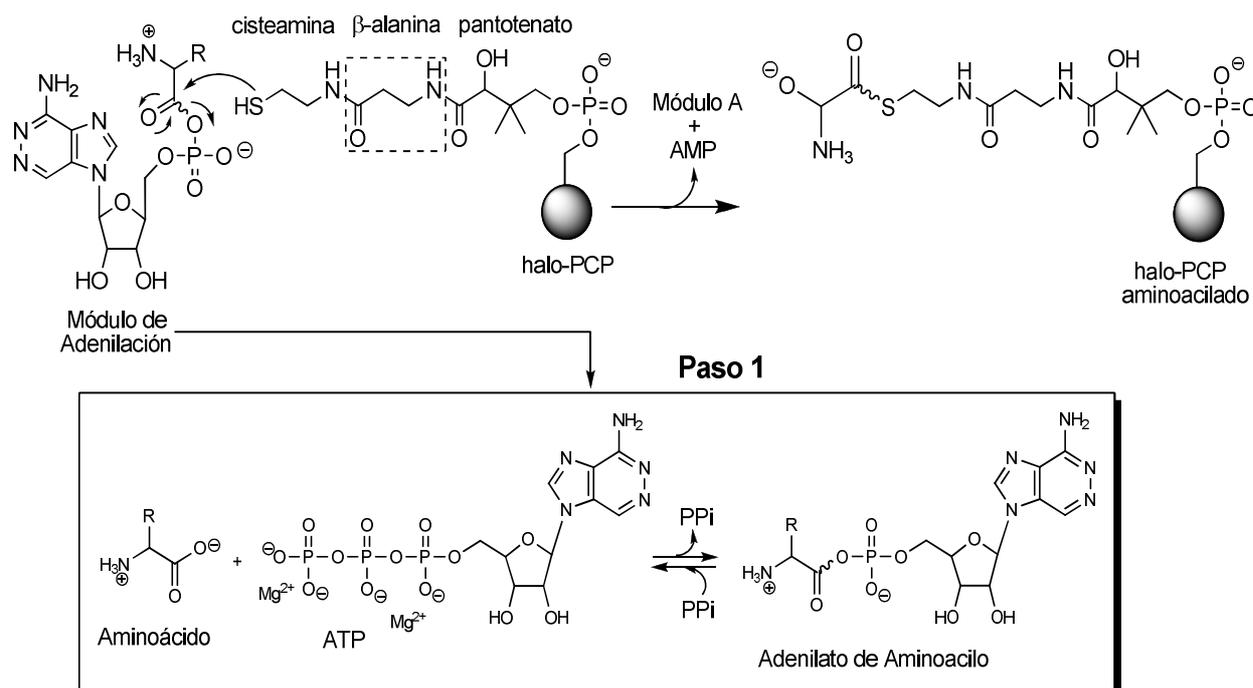


Figura 5. Activación de los aminoácidos.

Estos intermediarios inestables son después transferidos a otro sitio del complejo multienzimático, donde son unidos como tioésteres al grupo cisteamina de una enzima que tiene como cofactor el grupo 4'-fosfopanteteinilo.^{23d,29}

Se ha demostrado que las peptidosintetasas requieren modificaciones post-transcripcionales para volverse catalíticamente activas (Figura 6).^{23b,30} Las apoproteínas inactivas son convertidas a sus haloformas activas mediante la transferencia post-translacional de la parte 4'-PP de la coenzima A, a la cadena lateral de un residuo de serina localizado en la

región C-terminal de cada unidad activante de sustrato, una región definida recientemente como la región de acilación o tiolación.

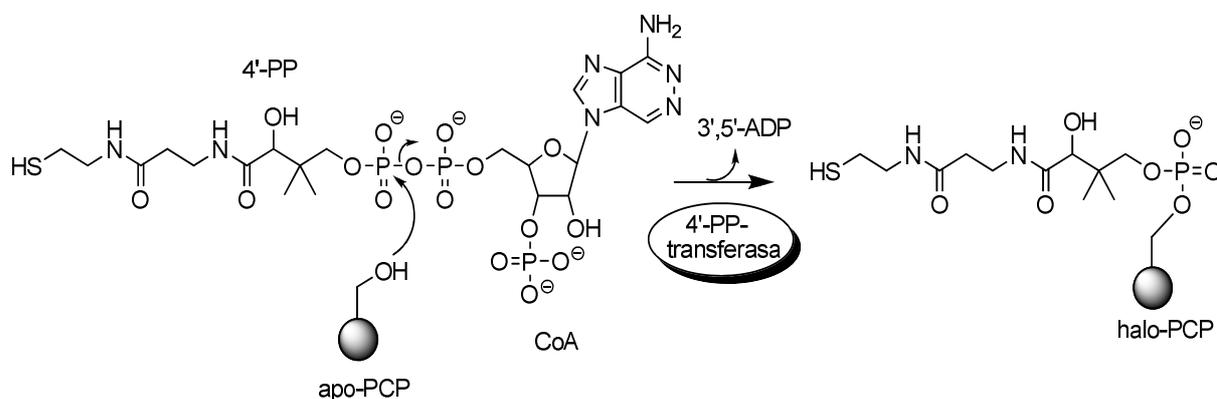


Figura 6. Fosfopanteteinilación Post-Translacional.

En este paso, los sustratos tiol-activados pueden sufrir modificaciones tales como epimerización o *N*-metilación.^{23a,31}

Los aminoácidos tioesterificados son entonces integrados dentro del péptido a través de una elongación concertada mediante reacciones de transpeptidación en serie (Figura 7).²³ Estas reacciones ocurren por la transferencia de los grupos carbonilo activados como tioésteres de un residuo a un grupo amino adyacente del siguiente aminoácido, efectuándose de esta forma el ensamblamiento concertado *C-N* del péptido. Durante este proceso de condensación todos los intermediarios se encuentran unidos covalentemente al complejo multienzimático.

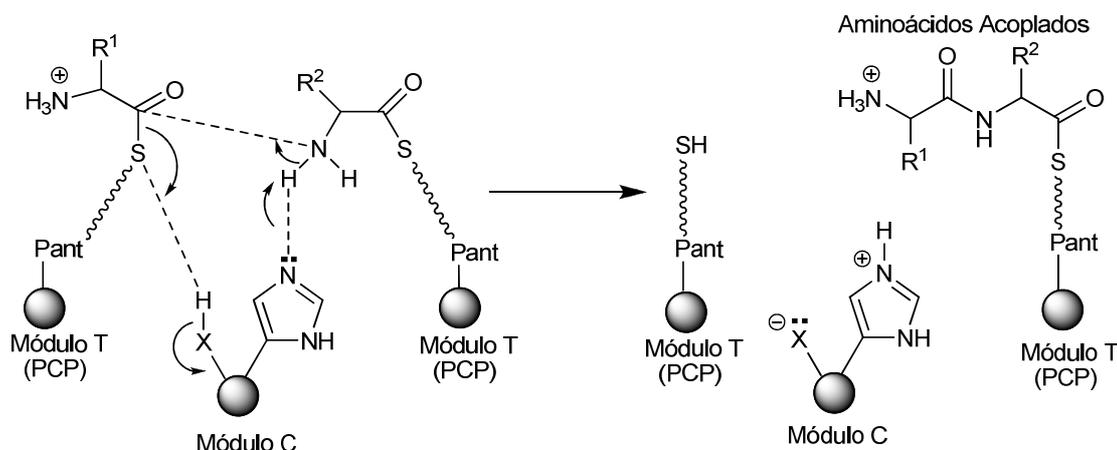
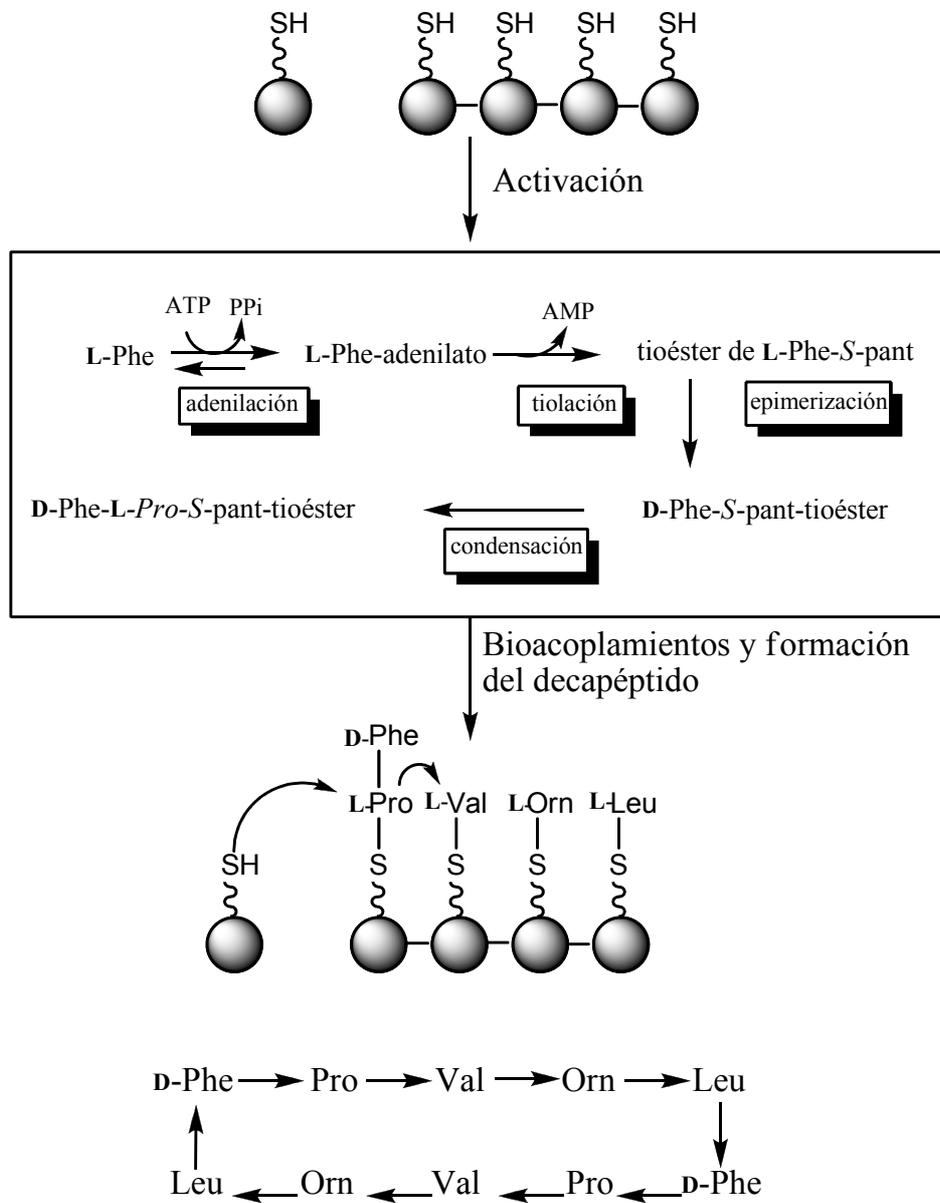


Figura 7. Acoplamientos peptídicos.

Los cofactores 4'-PP facilitan la transferencia ordenada de los sustratos tioéster carboxi-activados entre las unidades activas que constituyen las péptidosintetasas, lo cual resulta en la formación de un péptido con secuencia definida.

Los estudios químicos en proteínas, así como los progresos actuales en la clonación y secuenciación de genes que codifican las péptidosintetasas proveen pruebas valiosas acerca de la arquitectura molecular de estas enzimas. Se cree que los complejos multienzimáticos poseen una estructura modular (Figura 8), en la cual las unidades sustrato activantes / modificadoras están alineadas en una secuencia que es colineal con la secuencia de aminoácidos del péptido a sintetizar.^{23a,b,d,32}



Gramicidina S 6

Figura 8. Biosíntesis de la gramicidina S 6 por *Bacillus brevis*, mediante el mecanismo del tiomolde. Primer mecanismo biosintético elucidado.

Con base en la comparación de secuencias de ADN que codifican diversas péptidosintetasas^{27c,33} y en estudios recientes de fragmentos de ADN que codifican proteínas, las cuales activan aminoácidos individuales, los módulos fueron definidos como unidades semiautónomas dentro de las péptidosintetasas que poseen toda la información necesaria para el reconocimiento, la activación y la modificación de un sustrato. Esto significa que el número de módulos y su orden dentro de una péptidosintetasa define la secuencia y la longitud del péptido sintetizado. Aunque se ha propuesto que los módulos actúan independientemente el uno del otro, no obstante estos deben trabajar de forma concertada durante la elongación del péptido.

2.2. Depsipeptidos.

Los depsipeptidos son moléculas cíclicas o lineales compuestas por aminoácidos naturales, aminoácidos modificados, hidroxiácidos y diversas moléculas orgánicas (ver Figuras 9, 10 y 14). Poseen un fuerte potencial como agentes terapéuticos debido a que tienen propiedades biológicas excepcionales y variadas, por ejemplo: anticancerígena, antibacteriana, antifúngica, antiviral, antiinflamatoria, etc...;³³⁻⁴² sin embargo, destaca su mayor potencial terapéutico como agentes anticancerígenos (ver Figuras 9 y 10).^{3,43-47}

El interés por estudiar este tipo de compuestos, así como también elucidar sus estructuras químicas, comenzó debido a su alta toxicidad. El primer informe científico acerca de la toxicidad de las toxinas cianobacterianas fue realizado por George Francis en 1878, pero éstas sólo se habían asociado con la muerte de animales domésticos.³⁴ Sin embargo, en 1999 en Brasil la muerte de 88 personas y el daño renal en 50 pacientes que requirieron hemodiálisis, se asoció con la presencia de cianotoxinas en el agua de consumo humano.³⁵

2.2.1 Toxicidad. La cianobacterias producen una gran cantidad de toxinas las cuales pueden ser dañinas dependiendo de su concentración y su capacidad para originar efectos agudos y crónicos en el hombre, animales y vegetales.³⁶ La mayoría de las especies y cepas toxigénicas pertenecen a géneros filamentosos multicelulares: *Anabaena*, *Oscillatoria*, *Nostoc*, *Aphanizomenon* y *Cylindrospermopsis*.³⁷

Las principales fuentes de exposición son lagos y ríos durante su uso recreativo (ruta oral o dérmica) y el consumo de agua potable y tabletas alimenticias de concentrados de algas (ruta oral). Los síntomas observados en las personas que sufren intoxicación por microcistinas incluyen irritación de piel y ojos, disnea, fatiga, dolor abdominal, náusea, vómito, diarrea, dolor faringeo, tos seca, dolor de cabeza, úlceras en la boca y gastroenteritis aguda. Otro aspecto importante es su efecto cancerígeno debido al efecto de inhibición de las proteín-fosfatasa.

Las especies de cianobacterias unicelulares *Microcystis* causan la mayoría de los problemas de toxicidad, probablemente por ser la más cosmopolita de las cianobacterias. Bishop³⁸ realizó el primer informe de una hepatotoxina de la cepa NRC-1 de *Microcystis aeruginosa* identificada como un depsipéptido. Esta toxina fue denominada microcistina por Konst et al (Figura 9).³⁹ Posteriormente se realizaron otros aislamientos de microcistinas a partir de la misma cianobacteria⁴⁰ en Sudáfrica y Australia.⁴¹ Hoy en día se conocen aproximadamente 60 diferentes microcistinas.⁴²

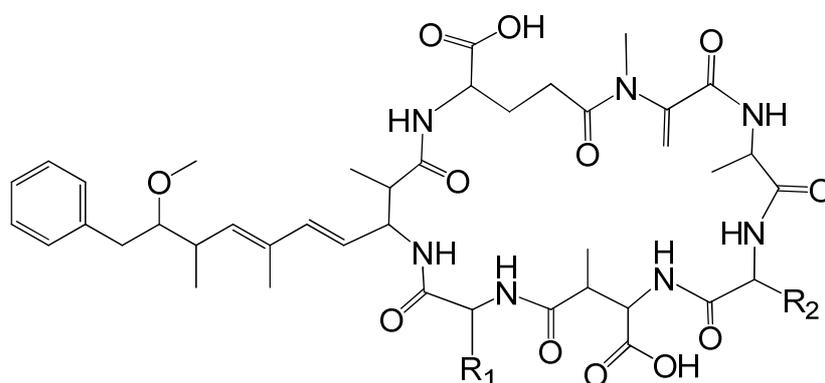


Figura 9. Estructura general de las microcistinas. Las microcistinas son un grupo de heptadepsipéptidos hepatotóxicos. En las posiciones R_1 y R_2 se pueden encontrar diferentes aminoácidos.

2.2.2. Depsipéptidos y Cáncer.³ Existen en la actualidad cuatro depsipéptidos en pruebas clínicas como anticancerígenos en humanos (Figura 10); la didemnina B **7**, la deshidrodidemnina B **8**, la dolastatina **9** y el compuesto FR901228 **10**. La didemnina B **7** entró en pruebas clínicas de fase II y presentó una gran eficacia, pero debido a su cardiotoxicidad, estos estudios fueron suspendidos. El compuesto **8** muestra las mismas propiedades que la didemnina B **7**, pero sin su cardiotoxicidad. El compuesto **9** es uno de los agentes antineoplásicos más potentes que se conocen y el compuesto **10** se encuentra en estudios clínicos de fase I.

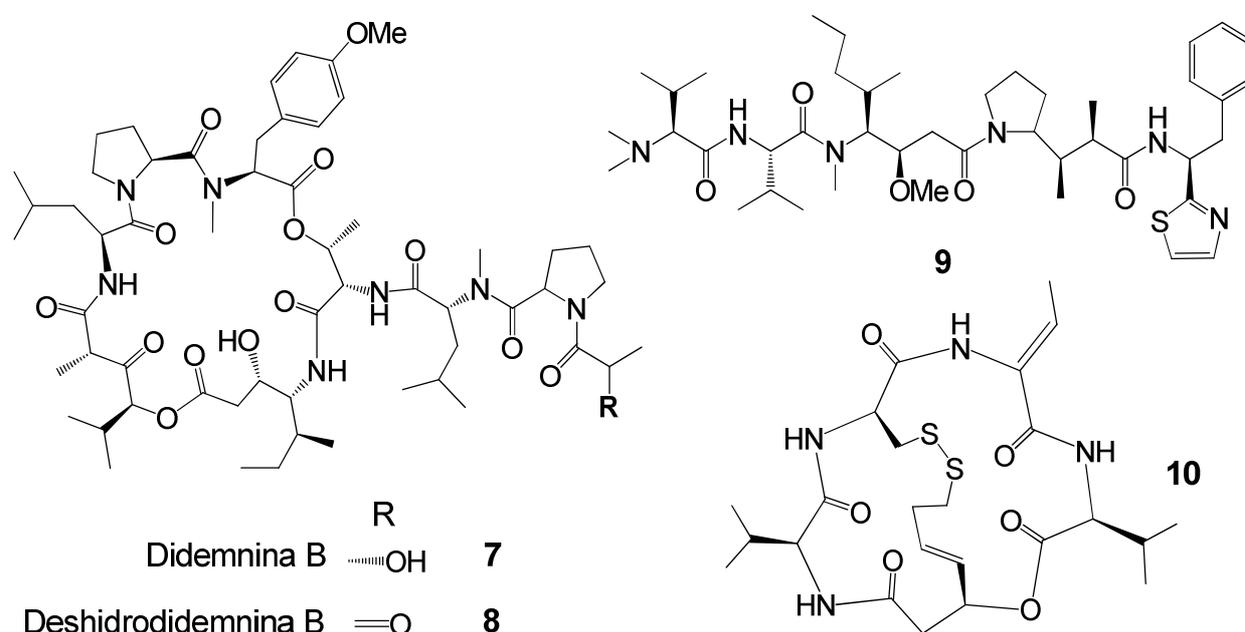


Figura 10. Depsipéptidos anticancerígenos.

2.2.3. Mecanismo de Acción Molecular de los depsipéptidos anticancerígenos. Un extenso trabajo bioquímico ha demostrado que los depsipéptidos en general poseen una actividad anticancerígena similar a la de los fármacos vinblastina y vincristina.⁴³ Estos fármacos actúan sobre los llamados microtúbulos.

Los microtúbulos son estructuras tubulares constituidas por unidades de tubulina (ver Figuras 11 y 12), su diámetro promedio es de 25 nm y tienen diversas funciones en el

interior de la célula tales como, mantener y desarrollar la forma del cuerpo celular, regular el movimiento y disposición de los organelos celulares como el aparato de Golgi, el transporte intracelular de moléculas y el desplazamiento de centriolos y cromosomas; también forman parte y participan en el movimiento de cilios y flagelos.⁴⁴

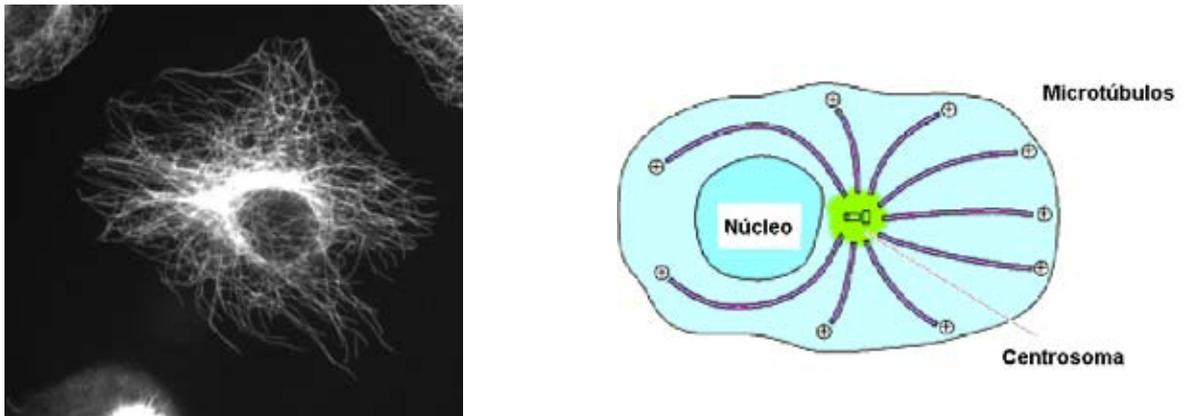


Figura 11. Células rodeadas por microtúbulos.

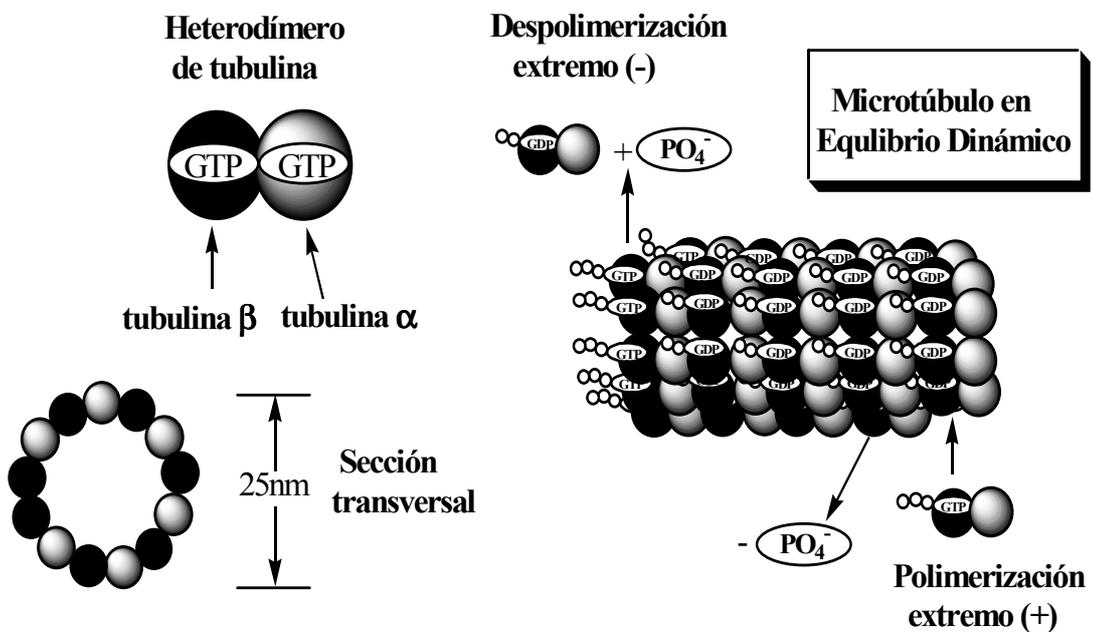


Figura 12. Microtúbulo. Composición y equilibrio dinámico.

Los microtúbulos están constituidos generalmente por 13 subunidades globulares de tubulina (Figura 12). La tubulina es una proteína heterodimérica de aproximadamente 120,000 daltons y cada dímero de tubulina está formado a su vez por dos polipéptidos denominados tubulinas α y β .

Los microtúbulos no son organelos estables, se encuentran en un equilibrio dinámico (Figura 13), pueden ensamblarse y desensamblarse rápidamente dependiendo de factores físicos y/o químicos tales como temperatura, presión, concentración de iones de Ca^{2+} , fármacos, pH, etc. Su polimerización procede por el extremo (+), requiere de la hidrólisis de GTP en la tubulina β , además de una concentración crítica del dímero de la tubulina y de un centro organizador de microtúbulos (centrosoma) a partir del cual se ha de producir. También la despolimerización requiere de la hidrólisis del GTP pero esta procede por el extremo (-) del microtúbulo.

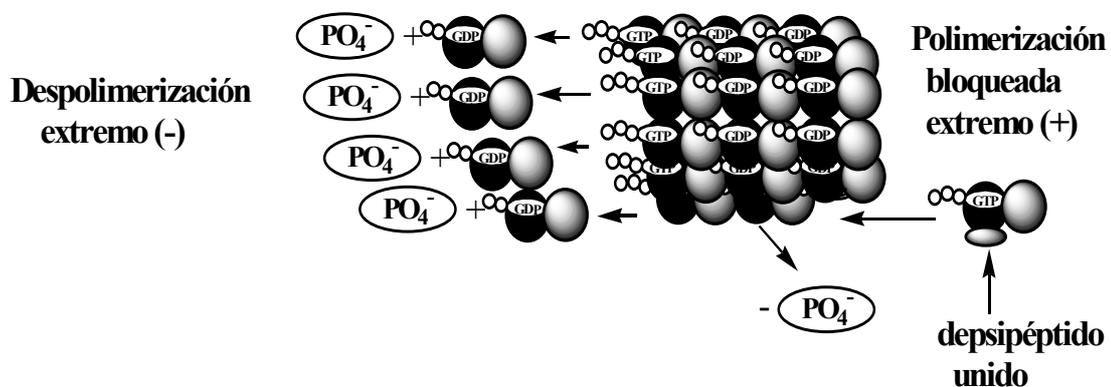


Figura 13. Despolimerización de un microtúbulo por unión de depsipéptidos.

La mitosis celular está involucrada en la distribución del material genético y su funcionamiento preciso es requerido para la continuidad genética de cada individuo. Los depsipéptidos son moléculas que alteran la mitosis celular al unirse a la tubulina. Los detalles de las interacciones depsipéptido-tubulina no son conocidos, pero se cree que el sitio de unión está compuesto por los residuos Ser172, Lys174, Val175, Asp177, Asn204,

Glu205, Tyr208, Asp209, Phe212, Pro220 y Tyr222 de la tubulina β .⁴⁵ El sitio de unión está cercano al sitio de intercambio de GTP (Figura 13) por lo cual, al parecer su hidrólisis se ve inhibida por impedimento estérico. Al inhibirse la hidrólisis de GTP se inhibe también el intercambio de tubulina y como consecuencia hay una despolimerización de los microtúbulos ya formados e inhibición de la formación de nuevos microtúbulos.^{43,45,46} Algunos depsipéptidos inducen a la tubulina a formar anillos o espirales. Se sabe por ejemplo que la dolastatina **10 9** (Figura 10) forma anillos de 45 nm de diámetro que contienen 14 dímeros de tubulina.⁴⁷

Al afectarse la mitosis se causa una distribución irregular de los cromosomas, en las células en interfase los dipéptidos causan un desarreglo de la red microtubular que afecta la forma y otras funciones de la célula, lo cual conduce a la muerte celular por apoptosis. Las células cancerosas son células en mitosis continua, por lo que se ven afectadas principalmente por este tipo de compuestos, de tal manera que los depsipéptidos muestran excelente actividad contra cáncer mamario y adenocarcinomas pancreáticos.

2.3. Síntesis Química de Depsipéptidos.

La síntesis de depsipéptidos es similar a la de los péptidos y requiere de los pasos de protección-acoplamiento-desprotección y, de ser el caso, ciclación. El reto mayor se presenta debido a la diversidad estructural y gran cantidad de centros estereogénicos de los compuestos modificados componentes de éstos. Esta variedad ofrece el desafío para la explotación y desarrollo de nuevos métodos sintéticos, reacciones y reactivos, por lo que es un campo fértil y en pleno crecimiento.⁴⁸ Como ejemplo, se presentan en la Figura 14 las estructuras de los depsipéptidos largamida A **11** y apratoxina A **12**.

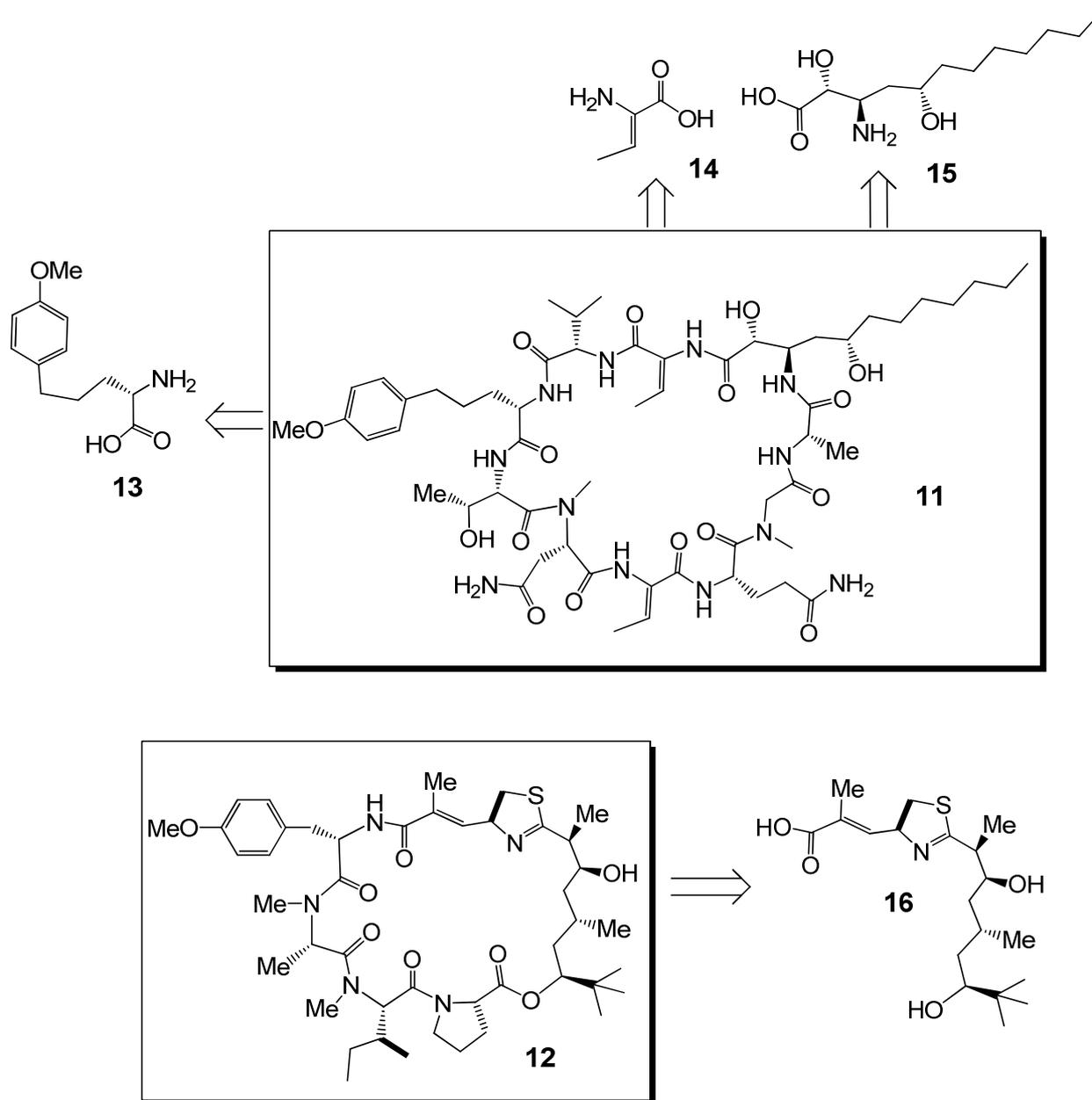


Figura 14. Estructuras de la largamida A 11 y la apratoxina A 12.

La largamida A 11 fue obtenida en el año 2006 de la cianobacteria *Oscillatoria* sp,⁴⁹ posee como características especiales una tirosina modificada 13 y dos aminoácidos no naturales, el ácido (2Z)-2-aminobutenóico 14 y el β-aminoácido, ácido (2R,3R,5S)-3-amino-2,5-dihidroxidodecanóico 15. La apratoxina A 12 fue obtenida en 2001 de la cianobacteria *Lyngbia* sp,^{1,50} posee como característica especial una larga molécula

orgánica **16** con 4 centros estereogénicos y un doble enlace con geometría (*E*). La síntesis total de **12** fue descrita en 2002.⁵¹

2.3.1 Grupos Protectores. Los aminoácidos o hidroxiaácidos poseen dos funcionalidades reactivas por lo que cuando se acoplan dos de ellos es necesario protegerlos selectivamente. Uno de ellos debe protegerse en el grupo funcional carboxílico (también conocido como extremo C-terminal en péptidos), y el otro en el amino o hidroxilo (extremo N-terminal), según sea el caso.

Existe una gran diversidad de agentes protectores tanto para el grupo carboxilo como para el grupo amino, siendo el requisito más importante que deben cumplir; su fácil remoción, la cual no afecte la estructura del péptido formado.⁵²

Cuando los aminoácidos o péptidos son acoplados en solución, los grupos protectores más utilizados para el grupo amino son sin duda el *tert*-butoxicarbonilo (Boc o *t*-Boc), o bien el benziloxicarbonilo (Z). En fase sólida se utiliza generalmente el 9-fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc, Figura 15). Estos grupos protectores son conocidos también como supresores de racemización.

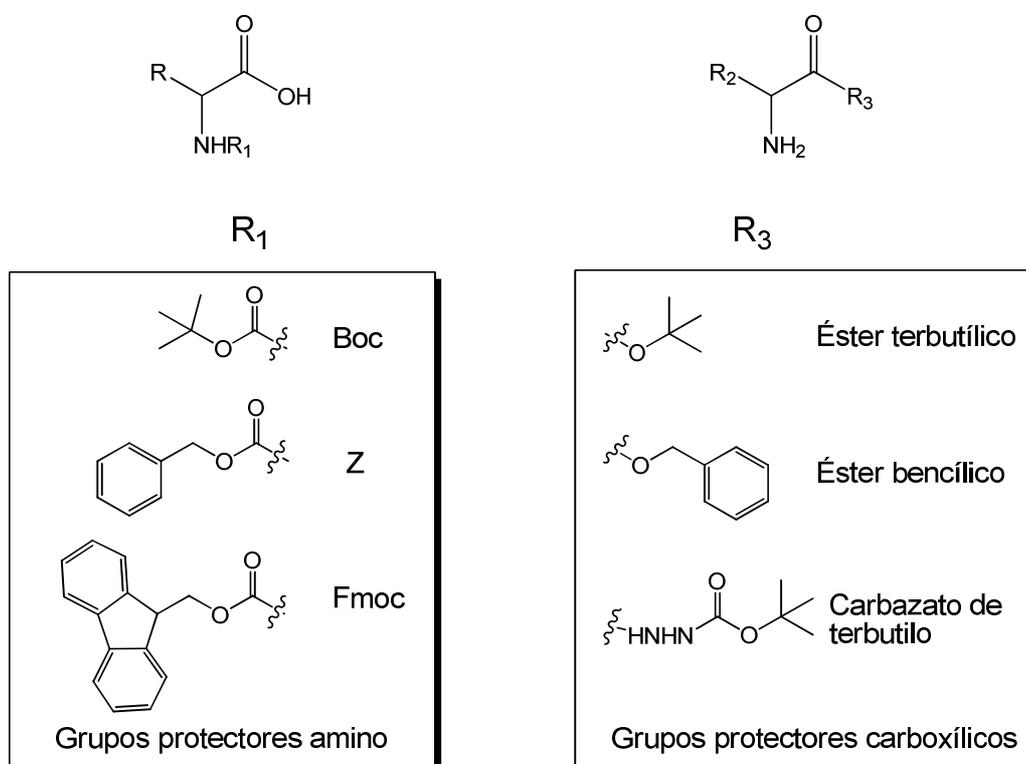


Figura 15. Grupos protectores más comunes en síntesis de depsipéptidos.

Generalmente la parte C-terminal es protegida como un éster, aunque puede también transformarse a una Bocidrazida o bien a un derivado de la misma. La gran mayoría de los ésteres no son buenos grupos protectores, por lo que se debe ser cuidadoso en su uso y selección. Los grupos protectores más utilizados son el *tert*-butilo, el bencilo y el carbazato de *tert*-butilo, debido a que son fácilmente removibles. Los grupos *tert*-butilo y carbazato de *tert*-butilo tienen además la ventaja de que son resistentes al ataque por nucleófilos, no así el bencilo (Figura 15).⁵³

2.3.2 Acoplamiento. Una vez que se tienen los aminoácidos protegidos, el siguiente paso es su acoplamiento. Este paso sintético es muy importante pues el no realizarlo en las condiciones adecuadas puede dar lugar a la formación de subproductos o a la pérdida de pureza quiral en el péptido resultante.

Existen diferentes técnicas para acoplar aminoácidos tales como la del cloruro de ácido, la del éster activo, la del anhídrido mixto y el método de la azida. No obstante, el acoplamiento se hace más comúnmente mediante el uso de agentes acoplantes especiales con los cuales pueden eliminarse o disminuirse las inconveniencias de los primeros métodos.

La técnica del cloruro de ácido fue propuesta originalmente por Emil Fischer,⁵⁴ y aunque es poco utilizada debido a que generalmente existe racemización de los aminoácidos, con la invención de nuevos agentes halogenantes esta técnica ha resurgido (Figura 16). La técnica del éster activo es poco usada en la actualidad para acoplar aminoácidos, pero es ampliamente usada para realizar macrociclaciones (ver Figuras 18 y 19). Una técnica de acoplamiento más comúnmente usada es la del anhídrido mixto donde generalmente estos son formados y utilizados inmediatamente, ya que aunque son estables a bajas temperaturas, en solución presentan el problema de que con el tiempo descomponen formando oxazolonas y uretanos. La cantidad de uretanos formados puede aumentar hasta un 10 % cuando el aminoácido activado es voluminoso (Val, Ile). Benoiton recomienda el uso del cloroformiato de isopropilo para el acoplamiento de aminoácidos sin

pérdida de pureza quiral.⁵⁵ El método de la azida también tiene un uso limitado porque con éste generalmente se producen isocianatos o carbamatos, productos de la transposición de Curtius. En la actualidad este método es ampliamente usado para realizar macrociclaciones peptídicas.

La síntesis de depsipéptidos ha ayudado en gran medida al desarrollo de la química relacionada con los agentes acoplantes debido a que muchas de las moléculas componentes son de gran tamaño y a que muchos de los aminoácidos componentes se encuentran *N*-metilados, lo cual causa un alto impedimento estérico al momento del acoplamiento.

Los agentes acoplantes más comunes pueden clasificarse según su estructura en siete tipos: carbodiimidias, sales de fosfonio, uronio, imonio e imidazolio, organofosforados y agentes halogenantes. La Figura 16 muestra algunos ejemplos de los agentes acoplantes más comúnmente usados.⁵⁶

Las carbodiimidias se han usado ampliamente en la síntesis de péptidos debido a que son económicas y a que su actividad es moderada. La dicitclohexilcarbodiimida **17** (DCC) fue la primera carbodiimida descrita (Sheehan 1955),⁵⁷ y de hecho fue también el primer agente acoplante informado, estructuralmente diferente a los agentes halogenantes. El principal problema de las carbodiimidias como agentes acoplantes es que sus subproductos son derivados de urea, y su cantidad aumenta con el impedimento estérico de los aminoácidos a acoplar. También el impedimento estérico da lugar a la formación de oxazolonas, con la consecuente pérdida de pureza quiral.

En 1970 König y Geiger utilizaron con éxito la mezcla DCC-Hidroxibenzotriazol (HOBt) para la síntesis de péptidos, eliminando en gran parte los inconvenientes de la DCC como agente acoplante.⁵⁸ El HOBt **18** fue el primer aditivo utilizado en síntesis de péptidos y a través del tiempo muchos más han sido desarrollados (Figura 16). Los aditivos se utilizan con la finalidad de aumentar la velocidad de reacción de las carbodiimidias y reducir la racemización de los aminoácidos. La búsqueda de agentes acoplantes con mejores

propiedades basados en la DCC 17 condujo posteriormente al desarrollo de los agentes de imidazolio,⁵⁹ los cuales fueron modificados a su vez por Xu, quien introdujo los agentes de imonio.⁶⁰

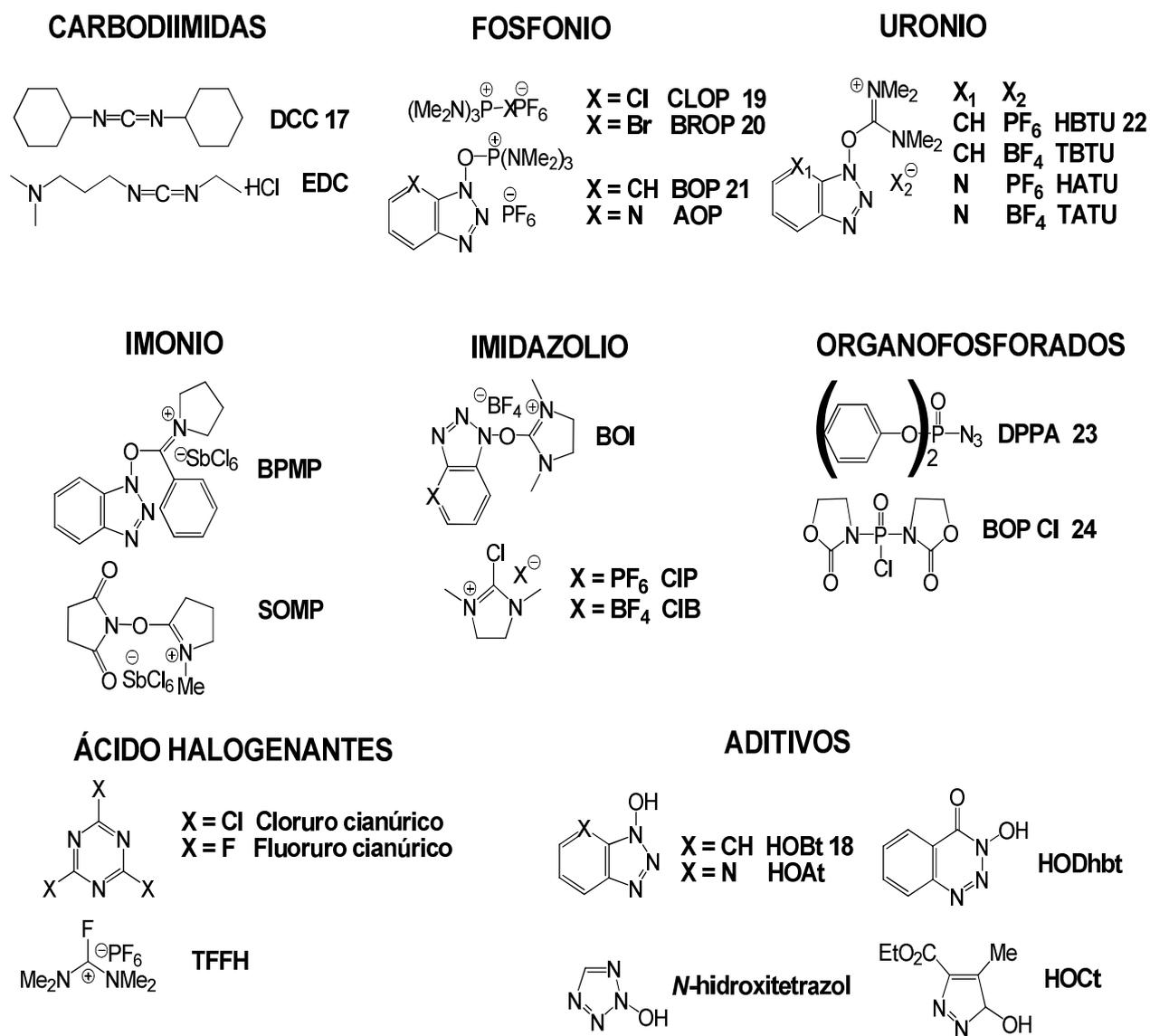


Figura 16. Agentes acoplantes y aditivos.

A principios de los 70's Castro introdujo los compuestos conocidos como Clop **19** y BroP **20** utilizados también como agentes acoplantes,⁶¹ pero desafortunadamente estos causaban racemización. Después del descubrimiento del HOBt **18**, éste se combinó con **19** produciéndose el BOP **21**, el cual fue introducido en 1975.⁶² Gross presentó en 1978 al agente acoplante conocido como HBTU **22** y desde entonces Knorr ha publicado la preparación de varios derivados de reactivos con sales de uronio.⁶³

Por otro lado, Yamada propuso en 1972 el primer agente organofosforado usado especialmente para la síntesis de péptidos, el azido fosfonato de difenilo **23** (DPPA),⁶⁴ y desde entonces varios derivados más han sido desarrollados. El BOP-Cl **24** fue desarrollado por Palomo-Coll en 1980 y pronto se volvió el más popular debido a que posee gran poder para acoplar aminoácidos *N*-alquilados.⁶⁵

2.3.3 Macrociclación. Un depsipéptido puede hacerse crecer en el número de unidades peptídicas hasta el tamaño deseado mediante los procedimientos ya mencionados de protección-acoplamiento-desprotección. Una vez que se obtiene el depsipéptido lineal con la longitud deseada, éste debe ciclarse. La ciclación puede también realizarse mediante cualquiera de las técnicas antes mencionadas para acoplar aminoácidos en la sección 2.3.2, o bien mediante el uso de agentes acoplantes.

Aunque las técnicas son diferentes entre sí, hay varios factores en común que deben tomarse en cuenta al momento de realizar una macrociclación.^{52a}

- a) Tamaño del depsipéptido a ciclar. Generalmente es más fácil ciclar depsipéptidos que poseen 6 o más aminoácidos. Tri, tetra y pentadepsipéptidos tienen tendencia a ciclodimerizar, es decir, a formar anillos del doble del tamaño al obtenido en ciclaciones simples; tal fenómeno fue notado en la síntesis de la gramicidina S **6**.⁶⁶ La mejor explicación para este fenómeno es la formación de un arreglo antiparalelo (lámina β) inducida por puentes de hidrógeno entre dos cadenas peptídicas antes de que ocurra la ciclación (Figura 17).

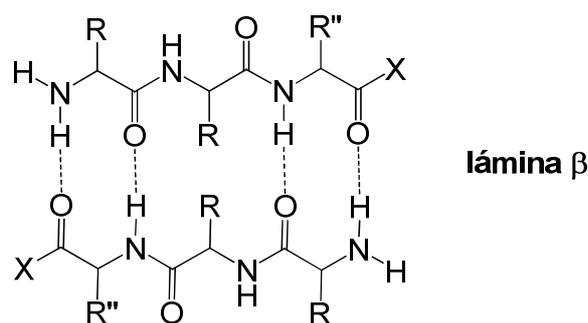


Figura 17. Ciclodimerización por formación de lámina β .

- b) Método de acoplamiento. La ciclodimerización es menos factible cuando la macrociclación se lleva a cabo mediante el método de la azida, en comparación con otros procedimientos.⁶⁷
- c) Principio de dilución. A altas concentraciones del péptido activado las reacciones de ciclodimerización y polimerización emergen como serios competidores de la intramacrociclación. La síntesis de la gramicidina S **6** sirve para explicar este principio.⁶⁸ El pentapéptido **25** componente de **6** fue ciclado como su éster activo de *p*-nitrofenol bajo dos diferentes condiciones de dilución: 3.0×10^{-3} molar y 3.0×10^{-4} molar (ver Figuras 8 y 18). En ambos casos se obtienen dos compuestos, el ciclodecapéptido consistente en la gramicidina S **6** y un ciclopentapéptido obtenido como subproducto **26**. Cuando la dilución usada fue de 3.0×10^{-3} molar (mayor concentración), se observó que aproximadamente 30 % del total era el subproducto **26**; en tanto que cuando se diluyó a 3.0×10^{-4} molar (menor concentración), la cantidad de **26** aumentó a aproximadamente 50 %.

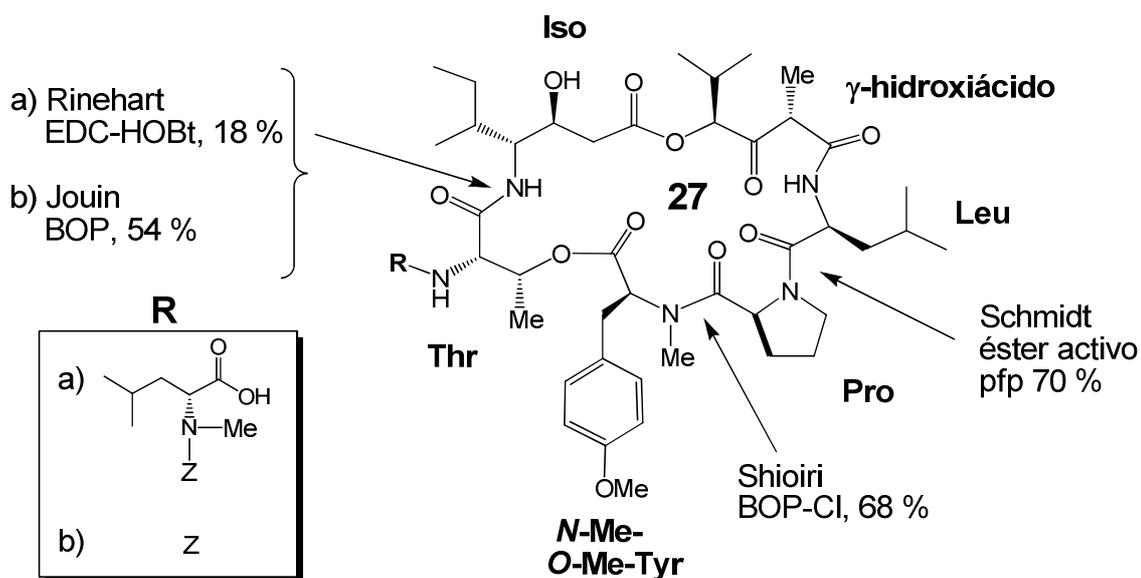


Figura 19. Didemnina A **27**. Diferentes sitios de macrociclación.

El sitio elegido por Rinehart⁶⁹ para la ciclación se encuentra entre la isostatina (Iso) y la treonina (Thr). La combinación del grupo voluminoso *sec*-butilo de la isostatina y el hecho de que haya una leucina (Leu) unida a la treonina causan sin duda un gran impedimento estérico, pues el rendimiento de producto ciclado fue apenas del 18 %. Jouin⁷⁰ logró aumentar el rendimiento hasta 54 % al realizar la ciclación con BOP **21** en ausencia de leucina (**R** = Z).

Con el fin de evitar la cercanía de la isostatina voluminosa, Shioiri⁷¹ eligió el sitio comprendido entre la *O*-metil-*N*-metiltirosina y la prolina (Pro) para llevar a cabo la ciclación, la cual procedió en 68 % de rendimiento después de tres días de reacción con BOP-Cl **24**, a pesar de que la tirosina se encontraba *N*-metilada.

Finalmente, Schmidt ⁷² consigue el mejor rendimiento (70 %) al elegir ciclar la molécula entre la prolina y la leucina, con esta elección pudo eliminar los problemas estéricos asociados con la isostatina y la N-metiltirosina. La ciclación se llevó a cabo mediante la técnica del éster activo utilizando pentafluorofenol (pfp).

e) Configuración. La ciclación procede más rápidamente cuando los aminoácidos que participan en ella tienen configuraciones alternadas, por ejemplo: si en un polipéptido lineal a ciclar el aminoácido en el extremo C-terminal posee configuración **D**, y el aminoácido en el extremo N-terminal posee configuración **L**,⁷³ o viceversa.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La gran variedad de depsipéptidos con estructuras químicas interesantes y actividad biológica diversa e importante que han sido obtenidos a partir de cianobacterias es enorme y se incrementa constantemente. Desafortunadamente, la cantidad de muestra que puede obtenerse de las fuentes naturales es muy baja, debido a factores tales como: a) las cianobacterias solamente producen los depsipéptidos en baja concentración; b) las dificultades en la recolección de las cianobacterias, ya que muchas de ellas tales como *Lyngbia sp* solamente pueden ser recolectadas durante un mes del año; y c) lo difícil que es el cultivo de las cianobacterias en el laboratorio.

La síntesis de depsipéptidos surge entonces como algo necesario e importante para la obtención de una mayor cantidad de muestra, pues en muchas ocasiones no es posible realizar una determinación estructural precisa, o detallar adecuadamente la actividad biológica del depsipéptido bajo estudio, debido a la baja cantidad en que ésta es obtenida. De hecho, las estructuras propuestas para muchos depsipéptidos obtenidos naturalmente han tenido que ser verificadas por vía sintética. Otro de los problemas que surgen con los depsipéptidos obtenidos naturalmente es que son altamente tóxicos, por lo tanto, su síntesis también es importante para la realización de estudios de relación estructura-actividad, ya que un conocimiento más profundo sobre este tema daría la pauta para mejorar sus propiedades biológicas mediante modificaciones químico-estructurales.

Luesch, et al.,⁴ informaron en el año 2002 la obtención de 6 nuevos depsipéptidos a partir de los extractos lipofílicos de la cianobacteria *Lyngbia sp* a los cuales denominaron ulongamidas A-F. La cianobacteria *Lyngbia sp* fue colectada en Palau, Micronesia durante abril de 1999 y abril de 2000. Es la cianobacteria más abundante en los mares de Hawai y pertenece al orden de los *Oscillatoriales*, por lo cual forma colonias filamentosas y se caracteriza por no poseer células especializadas que regulen su comportamiento biológico (Figura 20).

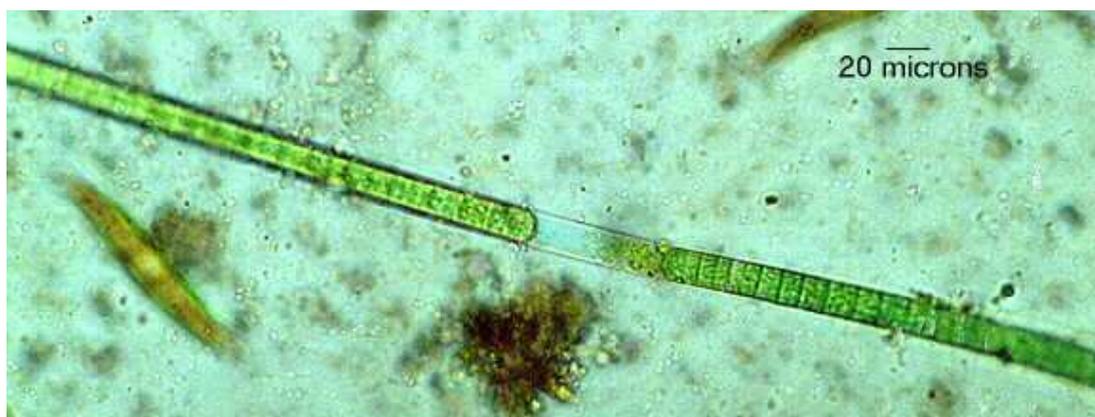


Figura 20. Lyngbia sp.

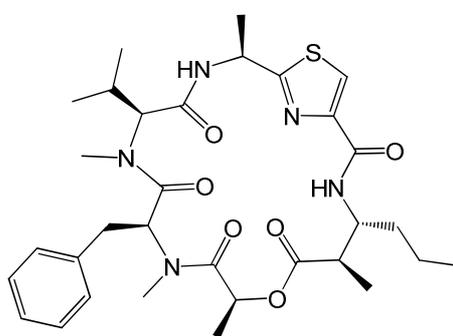
Las ulongamidas poseen estructuras químicas interesantes y demostraron ser activas contra células KB o de cáncer humano nasofaríngeo con una $IC_{50} = 5\mu M$, así como contra células LoVo de cáncer colorectal con una $IC_{50} = 5\mu M$. De aquí que el realizar la síntesis total de la ulongamida A (**1**), nos pareció importante.

Sin embargo, el diseño de la síntesis total de la ulongamida A (**1**) no será detallado en esta parte sino que, para hacerlo más didáctico se analizará posteriormente en la discusión de resultados.

4. OBJETIVOS.

GENERAL

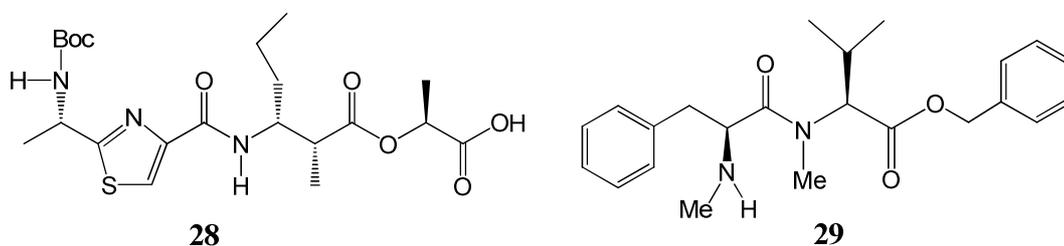
Sintetizar el producto natural ulongamida A (**1**), utilizando para ello una estrategia convergente.



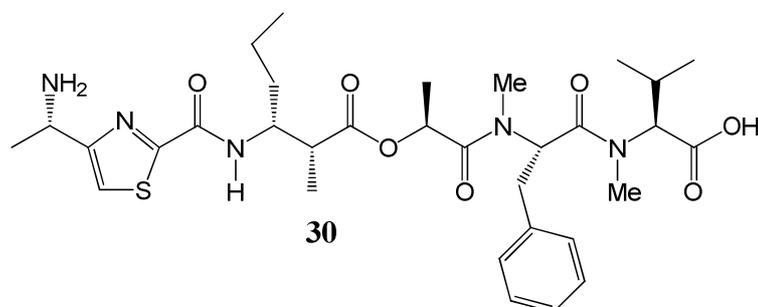
Ulongamida A (**1**).

PARTICULARES

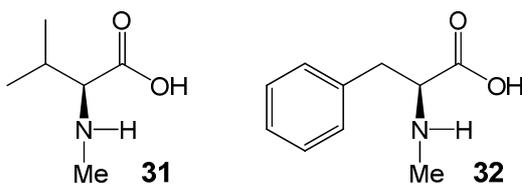
1. Sintetizar por separado y de manera lineal los fragmentos convergentes de la ulongamida A (**1**): el depsitripéptido **28** y el dipéptido **29**.



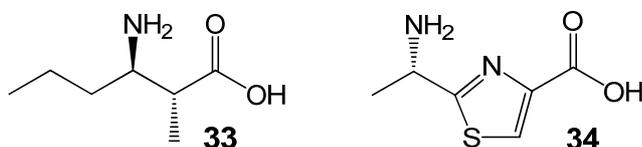
2. Realizar la ciclación final de la ulongamida A (**1**) mediante DCC **17**, a partir del depsipentapéptido lineal **30** obtenido de la unión convergente de los fragmentos **28** y **29**.



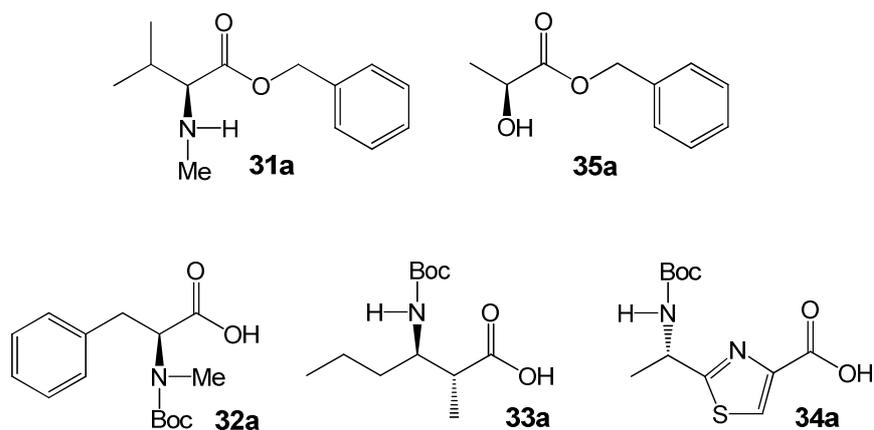
3. Obtener los aminoácidos *N*-metil-L-valina **31** y *N*-metil-L-fenilalanina **32** necesarios para la síntesis del dipéptido **29**.



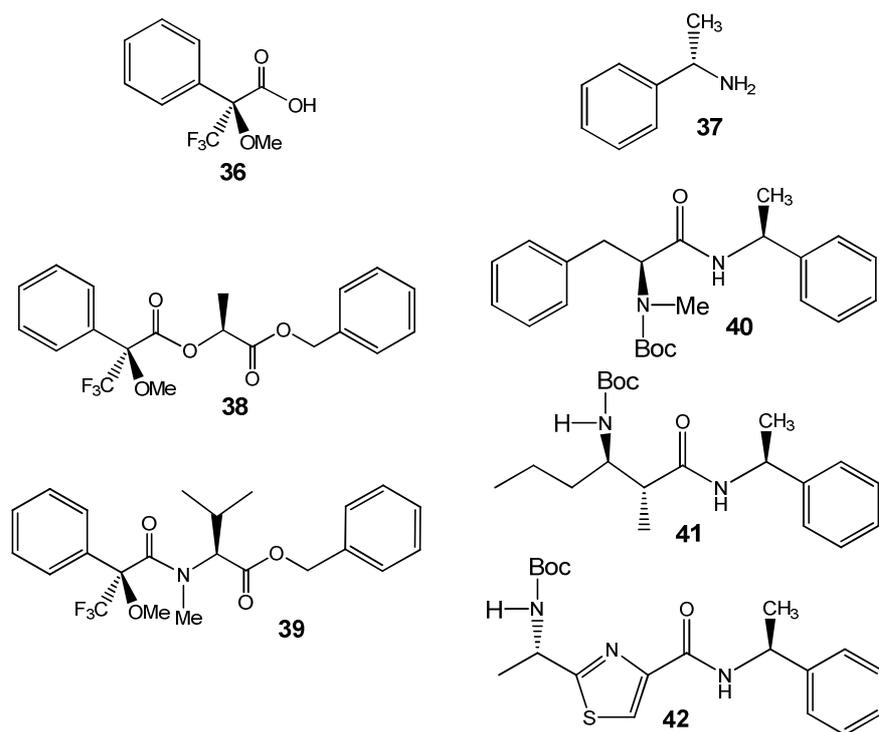
4. Sintetizar los aminoácidos (2*R*,3*R*)-3-amino-2-metilhexanóico **33** y el (*S*)-2-aminoetil-tiazolcarboxílico **34**, necesarios para la síntesis del fragmento convergente **28**.



5. Sintetizar los ésteres bencílicos **31a** y **35a**, y proteger los aminoácidos **32**, **33** y **34** con el *t*-Boc en su extremo amino para obtener **32a**, **33a** y **34a**, antes de ser acoplados en sus fragmentos correspondientes.



6. Sintetizar los derivados **38** y **39** con el reactivo de Mosher **36**,⁹⁵ [ácido (S)-(-)-metoxi- α -(trifluorometil) fenilacético]; y **40**, **41** y **42** con la (S)-(-)-metilbencilamina **37**, para comprobar la pureza quiral de los fragmentos componentes de la ulongamida A (**1**).



7. Caracterizar los compuestos obtenidos por las técnicas espectroscópicas ya conocidas (IR, RO, EM, RMN ^1H , RMN ^{13}C y RMN 2D).

5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

5.1. Ulongamida A (1) y unidades componentes. La ulongamida A (1) (Figura 21) es un depsipentapéptido cíclico que posee cinco unidades estructurales: dos aminoácidos naturales *N*-metilados: la *N*-metil-L-valina **31** y la *N*-metil-L-fenilalanina **32**; un α -hidroxiácido: el ácido L-láctico **35**; y dos aminoácidos no naturales: el ácido (2*R*,3*R*)-3-amino-2-metilhexanóico **33** y el ácido (S)-2-[1-(amino)etil]tiazol-4-carboxílico **34**.

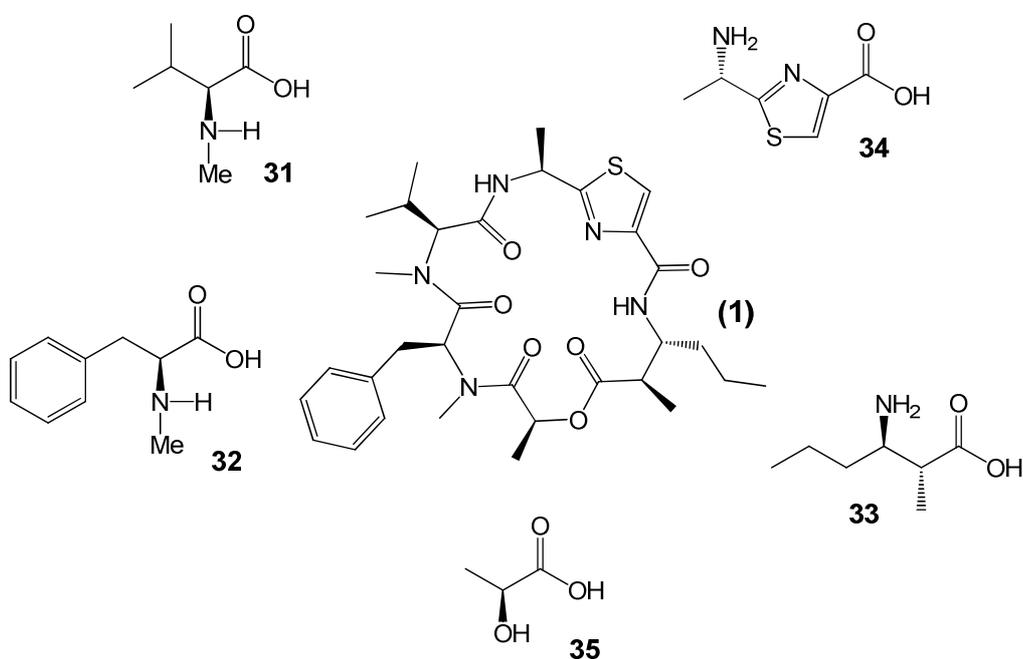


Figura 21. Ulongamida A (1) y unidades componentes.

Para obtener los compuestos **31** y **32**, los aminoácidos comerciales L-valina y L-fenilalanina tuvieron que ser *N*-metilados, mientras que los aminoácidos no naturales **33** y **34** fueron sintetizados en el laboratorio, por lo cual una buena parte de la discusión se dedicará al proceso de obtención de estas unidades.

5.2. Análisis retrosintético y diseño de síntesis de la ulongamida A (1). El diseño de síntesis de la ulongamida A (1) surgió de la observación de que el depsitripéptido **28a** es común en las ulongamidas A (1), B (43) y C (44) (Figura 22). Esta observación es importante porque de tenerse éxito con la síntesis convergente de la ulongamida A (1) a continuación planteada, se podría aplicar el mismo esquema sintético para la síntesis de las ulongamidas B y C.

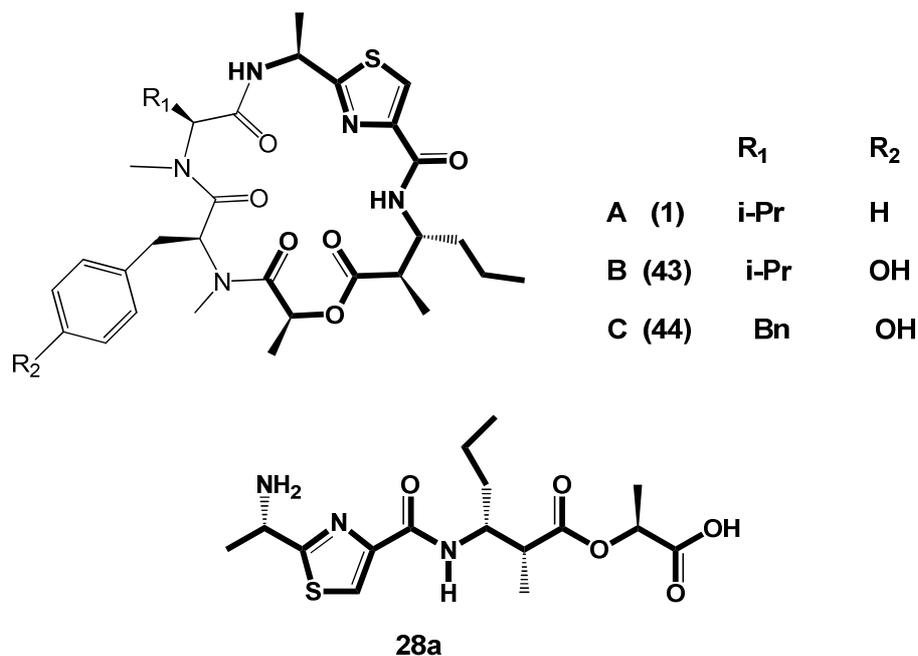


Figura 22. Ulongamidas A (1), B (43) y C (44).

La ulongamida A (1) se dividió en dos fragmentos (Figura 23), uno correspondiente al depsitripéptido **35** y otro al dipéptido **29** (sin O-protección). Para realizar la primera fragmentación se tienen entonces dos sitios (*sitios a y b*); esta primera fragmentación es importante porque es a su vez el sitio por el cual la molécula será finalmente ciclada. Se consideró que la fragmentación por el *sitio a* es la más conveniente debido a que el nitrógeno no se encuentra *N*-metilado y por lo tanto el impedimento estérico es menor, esta fragmentación produce el depsipentapéptido lineal **30**, que se encuentra desprotegido en sus dos extremos y proviene del diprotectado **45**, en el cual el extremo *N*-terminal del fragmento tiazólico está protegido con Boc y el extremo C-terminal del fragmento del ácido láctico como su éster bencílico. Inicialmente el Boc y el éster bencílico serían los dos únicos grupos protectores utilizados durante la síntesis.

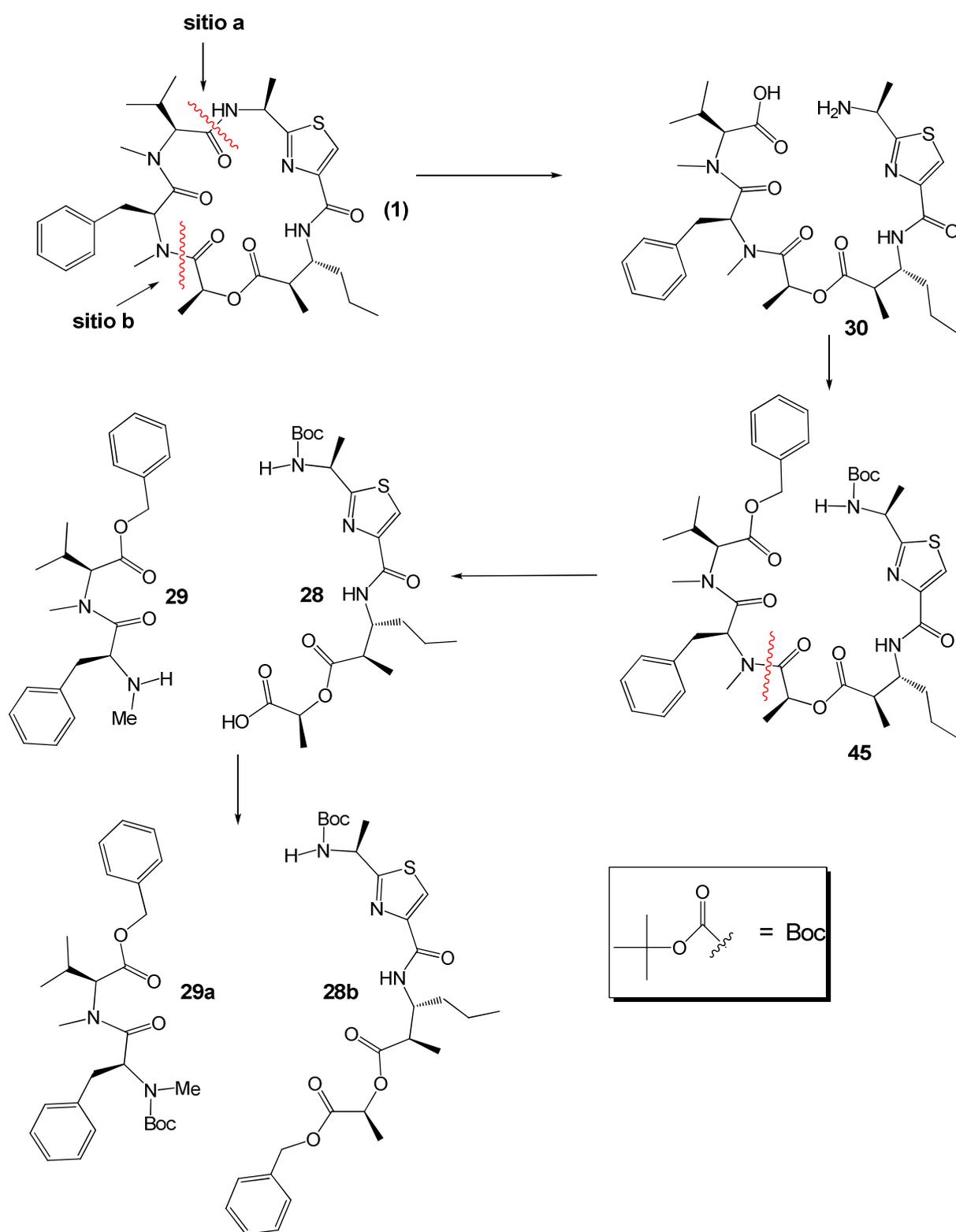


Figura 23. Análisis retrosintético del diseño de síntesis de la ulongamida A (1).

La segunda fragmentación de la molécula, por el *sitio b*, produce el depsitripéptido objetivo **28**, y el dipéptido **29**. Finalmente, el extremo *N*-terminal desprotegido del dipéptido **29** proviene del dipéptido diprotegido **29a** en el cual éste se encuentra protegido con Boc y el depsitripéptido **28** del depsitripéptido diprotegido **28b** cuyo extremo *C*-terminal se encuentra protegido como su éster bencílico.

Con base en el análisis retrosintético hecho anteriormente, se planeó inicialmente sintetizar por un lado el depsitripéptido **28** protegido con Boc en su extremo *N*-terminal y por otro el dipéptido **29** protegido en su extremo *C*-terminal como éster bencílico (Figura 24), una vez sintetizados se harían converger obteniéndose el depsipentapéptido lineal **45** que finalmente sería desprotegido y ciclado para obtener la ulongamida A (**1**). El agente acoplante utilizado en todos los casos sería la DCC **17**.

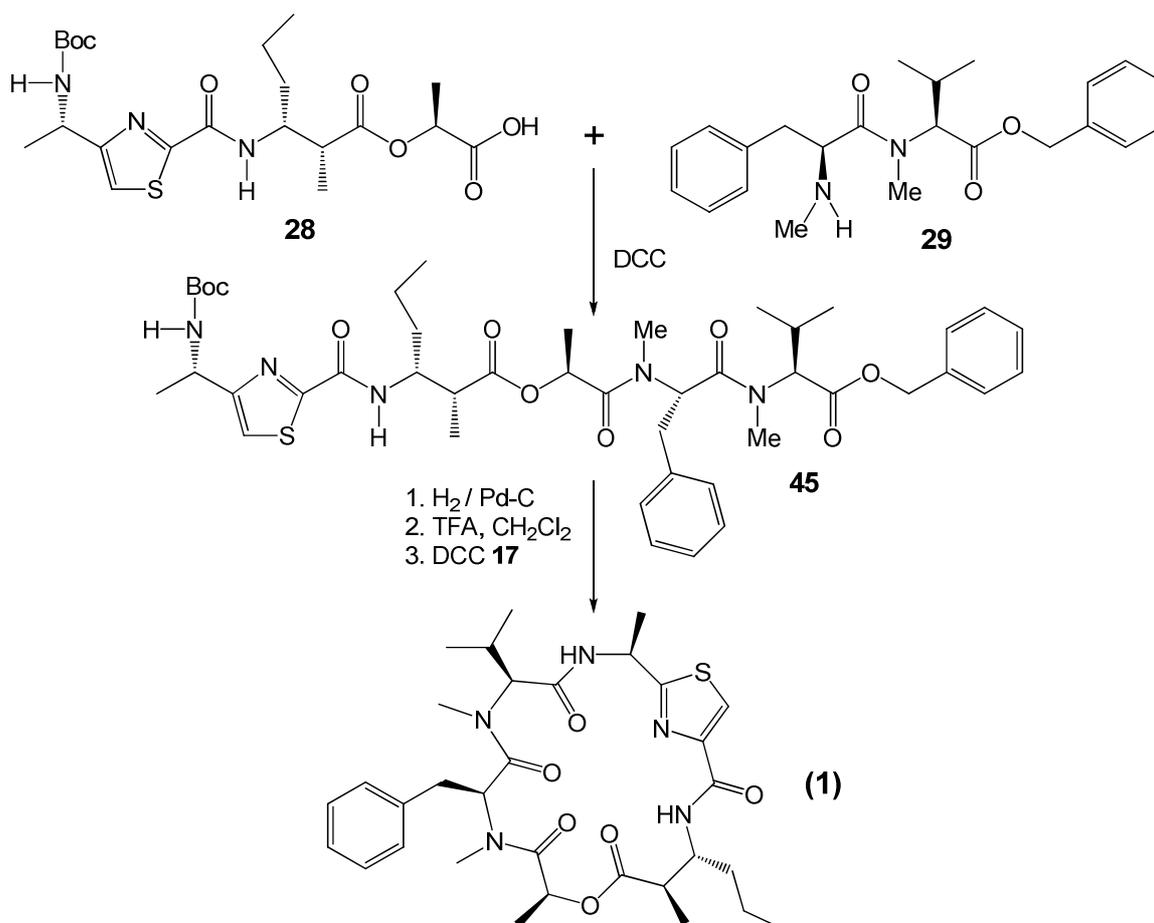


Figura 24. Diseño de síntesis de la ulongamida A (**1**).

5.3. Síntesis del depsitripéptido 28. El depsitripéptido **28** está compuesto por el ácido L-láctico **35**, el β -aminoácido **33** y el aminoácido tiazólico **34**, pero para poder ser acoplados primero tuvieron que ser protegidos adecuadamente. El ácido L-láctico comercial **35** se protegió como su éster bencílico **35a**, mientras que los compuestos **33** y **34** se protegieron con Boc en extremo *N*-terminal produciendo **33a** y **34a** (Figura 25). A continuación se detalla la síntesis de los compuestos protegidos **33a**, **34a** y **35a** y su acoplamiento para formar el depsitripéptido **28**.

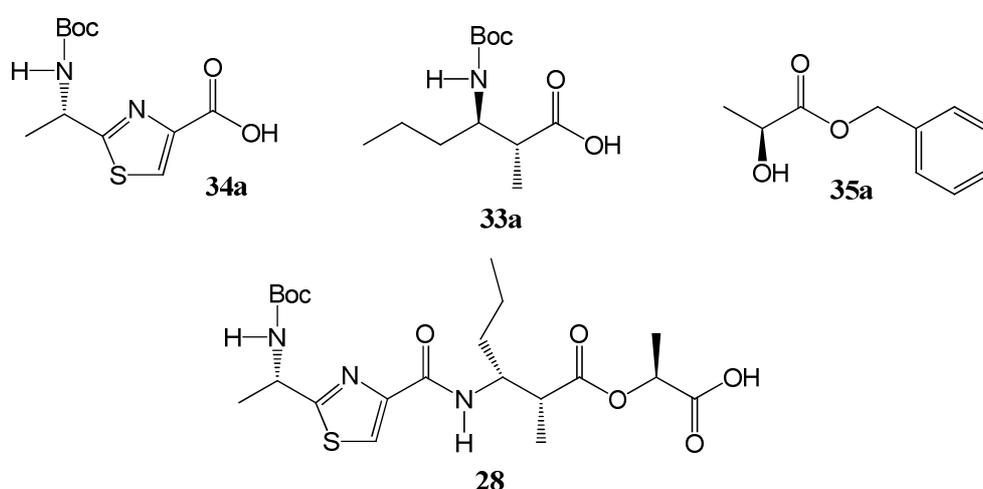
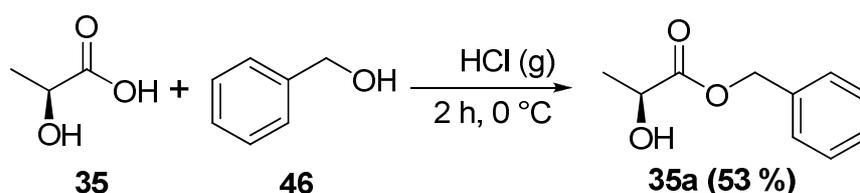


Figura 25. Depsitripéptido **28** y unidades componentes.

5.3.1. Síntesis del éster bencílico del ácido L-láctico 35a.⁷⁴ Es conocido que la hidrogenólisis del grupo bencilo no causa racemización alguna,⁹ por lo cual el éster bencílico del ácido L-láctico **35a** fue preparado para usarse como el extremo C-terminal del depsitripéptido **28**.¹⁰ Para la esterificación, el ácido L-láctico **35** se disolvió en alcohol bencílico **46** (Esquema 1), la mezcla se enfrió a 0 °C y se burbujeó HCl gaseoso hasta saturación, después de lo cual se agitó a temperatura ambiente por 1 hora. El éster bencílico del ácido L-láctico **35a**, primer componente del depsitripéptido **28**, se obtuvo por destilación en 53 % de rendimiento. La rotación óptica encontrada fue $[\alpha]_D^{20} = -14.3^\circ$ ($c = 2.8$, EtOH), que esta de acuerdo con lo descrito en la literatura (lit.⁷⁴ $[\alpha]_D^{20} = -14.7^\circ$; ($c = 2.8$, EtOH)).

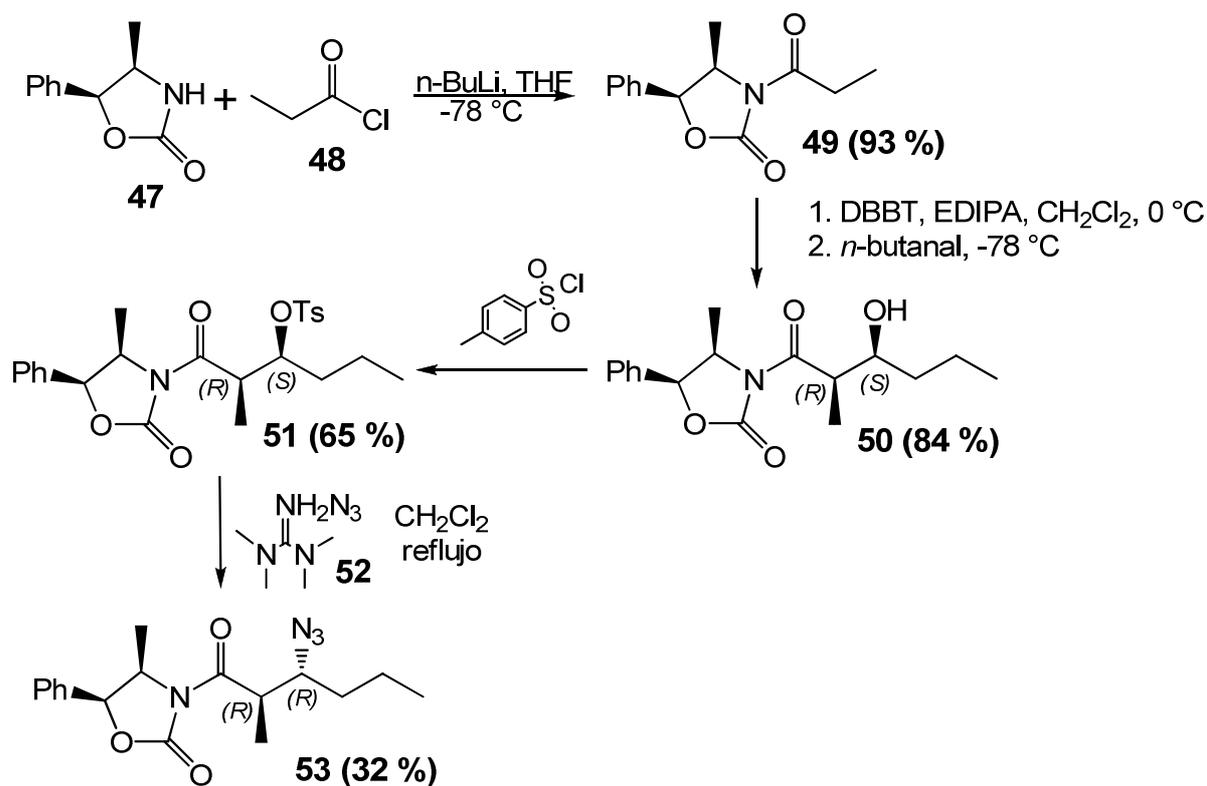


Esquema 1. Síntesis del éster bencílico del ácido L-láctico **35a**.

5.3.2. Síntesis del ácido (2*R*,3*R*)-3-(Boc-amino)-2-metilhexanóico **33a.** Debido a que la síntesis de **33** ya se había informado por Kimura et al.,⁷⁵ pocos cambios tuvieron que hacerse al diseño de síntesis original que se basó en la misma referencia (Esquema 2).

La síntesis del compuesto **33** es químicamente interesante pues es un β-aminoácido con 2 centros quirales con configuración (*R*). Para lograr la configuración deseada es necesario recurrir al uso de un auxiliar quiral, que en nuestro caso fue la oxazolidinona **47**, una de las oxazolidinonas descritas por Evans. La cadena carbonada de 6 miembros de **33** se obtuvo en dos pasos; en el primero de ellos el cloruro de *n*-propionilo **48** se aciló mediante litiación a la oxazolidinona **47**, y se obtuvo la *N*-propioniloxazolidinona **49** (93 %).⁷⁶

En el segundo paso se llevó a cabo una reacción de condensación aldólica asimétrica entre el butiraldehído y la oxazolidinona **49**, obteniéndose el aldol **50** en 84 %. El aldol **50** posee la configuración deseada (*R*) en el carbono α al carbonilo, pero la configuración del carbono β base del hidroxilo es (*S*), por lo que fue necesario invertir este último. Kimura et al.,⁷⁵ lograron este objetivo mediante transformación del hidroxilo en **50** al tosilato **51** (65 %) y su posterior sustitución nucleofílica con aziduro de tetrametilguanidinio **52** (TGA, 1.25 equivalentes), en solución de diclorometano a temperatura de reflujo, obteniéndose la β-azida **53** con la configuración deseada (*R*) en 32 % de rendimiento.

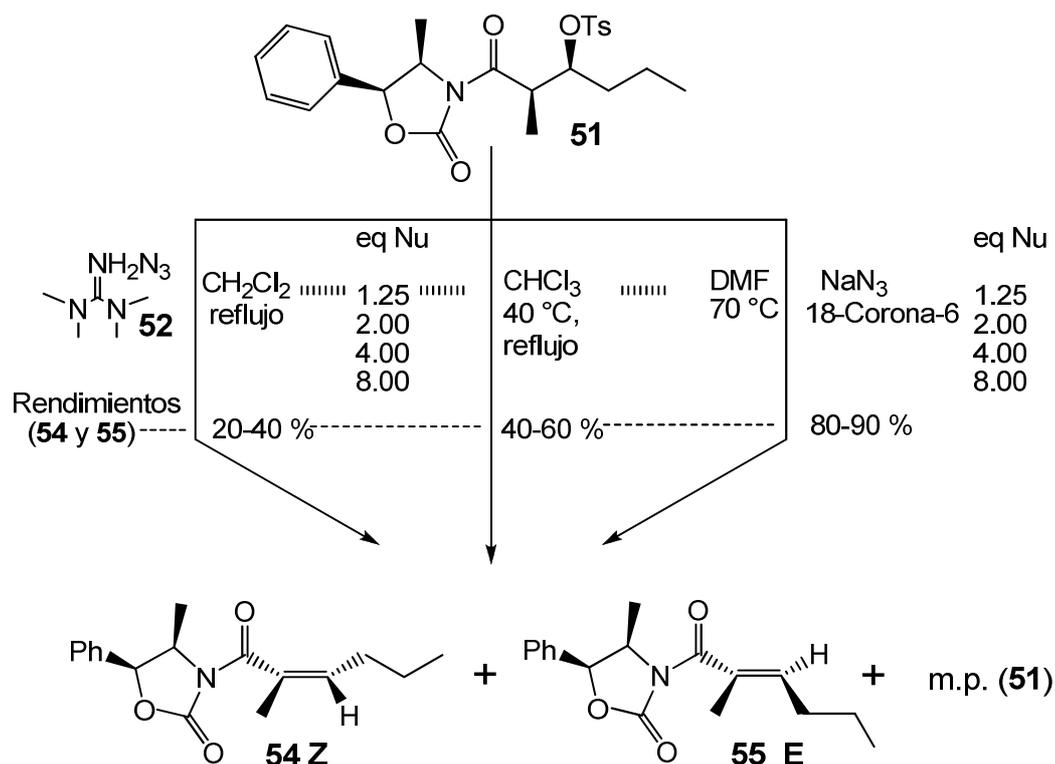


Esquema 2. Primera parte de la síntesis del ácido (2*R*,3*R*)-3-(Boc-amino)-2-metilhexanóico **33a**.

Sin embargo, en nuestro caso este esquema de reacción (Esquema 2) solo pudo ser reproducido sin problemas hasta la obtención del compuesto **50**, ya que bajo las condiciones experimentales informadas no nos fue posible llegar hasta el compuesto **53**, lo único que detectamos fueron los productos de eliminación **54** y **55**, así como la recuperación de la materia prima sin reaccionar **51** (Esquema 3).

Por lo tanto para poder obtener **53** se hicieron diversos cambios al procedimiento original (Esquema 3). El primero de ellos fue aumentar la cantidad de nucleófilo y además de 1.25 equivalentes como indica la técnica original se probaron también 2, 4 y 8 equivalentes. Desafortunadamente, al aumentar la cantidad de nucleófilo también aumentó la cantidad de productos de eliminación. Se realizaron entonces otras tres series de reacciones con aumento de temperatura: cloroformo a 40 °C, cloroformo a temperatura de reflujo y DMF

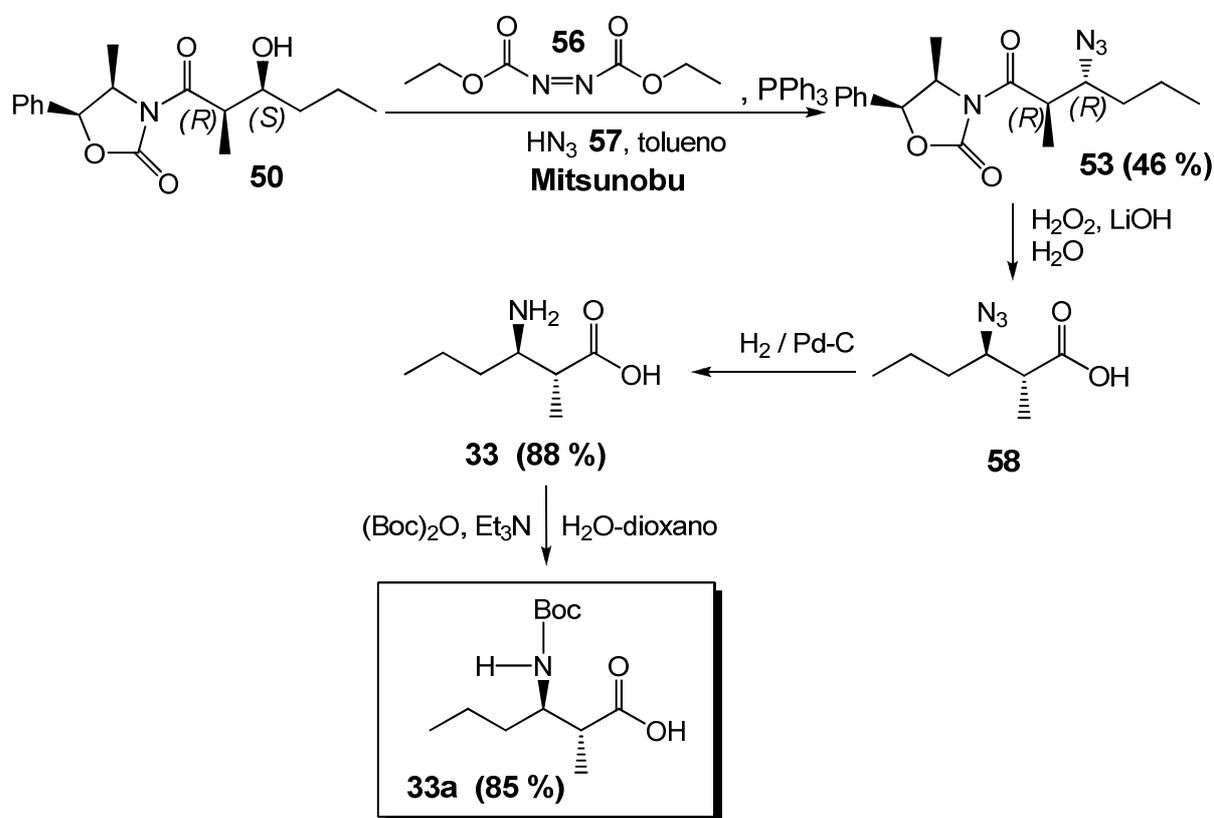
a 70 °C. En los tres casos también se probaron diferentes cantidades de nucleófilo (1.25, 2, 4 y 8 equivalentes) y se encontró nuevamente que al aumentarse la temperatura de la reacción también aumentó la cantidad de productos de eliminación. Lo mismo sucedió cuando se utilizó azida de sodio (NaN_3) como nucleófilo en presencia de 18-corona-6.



Esquema 3. Productos de eliminación encontrados **54** y **55**.

Debido a los resultados negativos obtenidos con el tosilato **51** como sustrato, se decidió intentar la sustitución por el grupo azido directamente sobre el aldol **50** mediante la reacción de Mitsunobu (Esquema 4).^{75,77,78} La reacción de Mitsunobu utiliza como reactivos típicos el azodicarboxilato de dietilo **56** y la trifenilfosfina (PPh_3) así como un ácido (orgánico o inorgánico) el cual efectúa la sustitución sobre el alcohol. El ácido empleado en nuestro caso fue el ácido hidrazóico **57** (HN_3). El uso de la reacción de Mitsunobu permitió realizar dos mejoras al método de Kimura et al., por un lado se ahorró un paso sintético pues no fue necesario preparar el tosilato **51**, y por otro, el rendimiento

de **53** se aumentó de 32 a 46 %. La rotación óptica encontrada para **53** fue $[\alpha]_D^{20} = +6.9^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3), (lit.⁷⁵ $[\alpha]_D^{20} = +7.0^\circ$, $c = 1.0$, CHCl_3).



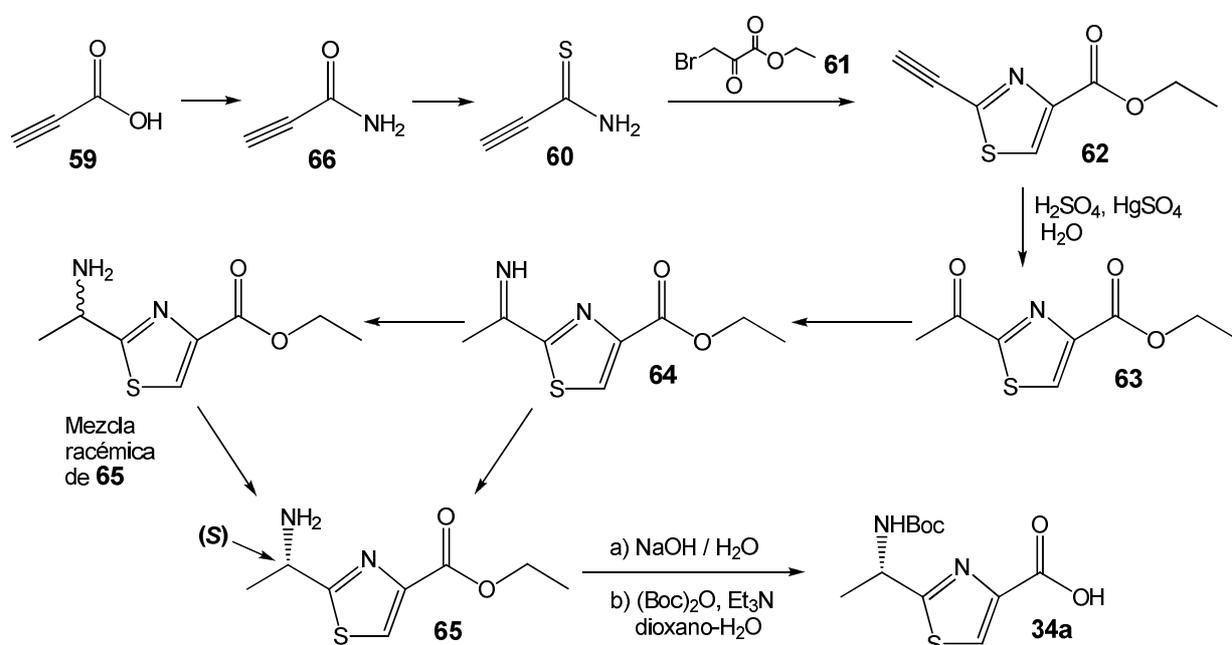
Esquema 4. Segunda parte de la síntesis del ácido (2*R*,3*R*)-3-(Boc-amino)-2-metilhexanoico **33a**.

Una vez obtenido **53**, se pudo continuar con el esquema de síntesis original para **33a**. El ácido azido **58** fue liberado de **53** en medio acuoso mediante peróxido de hidrógeno alcalino, liberándose al mismo tiempo la oxazolidinona **47**, la cual puede ser recuperada y purificada para ser usada nuevamente. El ácido azido **58** crudo así obtenido, fue sometido a reducción catalítica con Pd - C al 10 % en solución de ácido acético-agua (3:1), con lo cual se obtuvo el β -aminoácido **33** en 88 % de rendimiento. El paso final de la síntesis fue la protección del extremo *N*-terminal en **33** con Boc, lo cual se hizo a temperatura ambiente usando una mezcla de dioxano-agua (50:50) como disolvente. El β -aminoácido

N-protegido **33a**, segundo componente del depsitripéptido **28**, se obtuvo en 85 % de rendimiento, $[\alpha]_D^{20} = +20^\circ$ ($c = 0.2$ CHCl₃).

5.3.3. Síntesis del ácido (S)-2-[1-(Boc-amino)etil]tiazol-4-carboxílico **34a**.⁷⁸

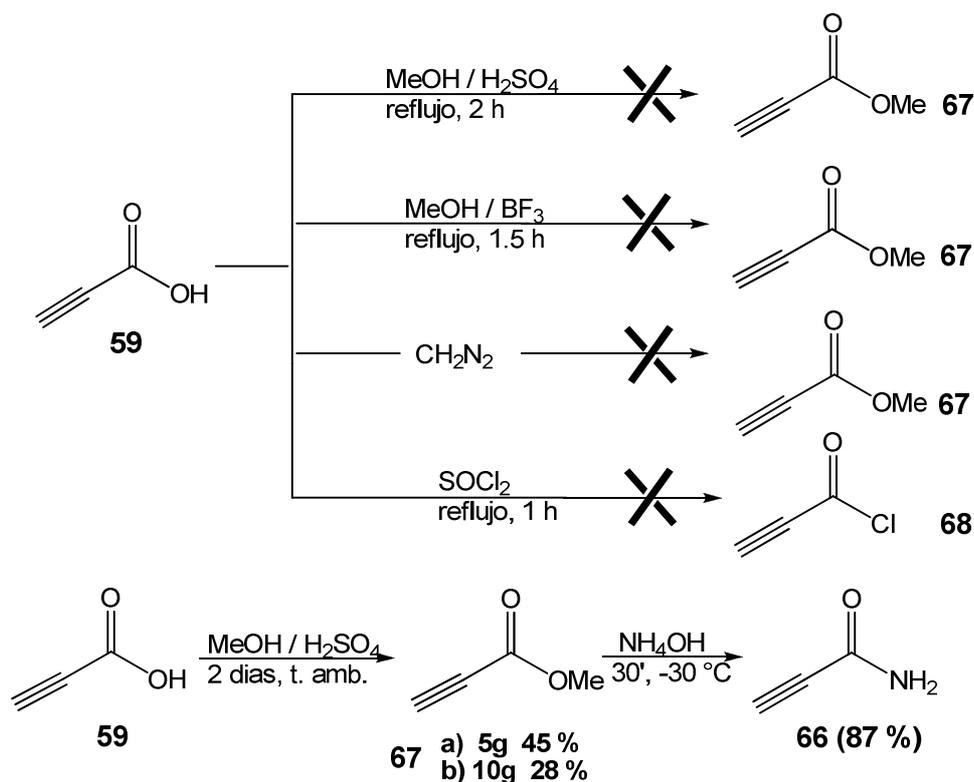
Originalmente se planeó iniciar la síntesis de este fragmento a partir del ácido propiólico **59** (Esquema 5), que mediante sucesivas transformaciones químicas podría convertirse a la propioltioamida **60**, la cual sería condensada con bromopiruvato de etilo **61** (EBP) para producir el anillo tiazólico componente del tiazol **62**. Este procedimiento es conocido como la síntesis de tiazoles de Hantzsch. El siguiente paso consistiría en introducir el grupo amino a la molécula del tiazol y para lograrlo, el alquino en **62** sería transformado a la metilcetona **63** la cual a su vez sería transformada a la imina **64**. Sobre la imina **64** se pensó llevar a cabo una reducción enantioselectiva para obtener directamente el compuesto **65** con el carbono base de la amina en configuración (S), en caso de no poder lograrlo, se trataría de realizar una resolución química sobre la mezcla racémica de **65**. Los pasos finales para la obtención de **34a** serían la saponificación y la protección del grupo amino con Boc.



Esquema 5. Diseño de síntesis original para el aminoácido tiazólico **34a**.

Se conoce que para poder transformar el ácido propiólico **59** a la amida **66**, es necesario convertirlo inicialmente a su éster metílico **67** (Esquema 6);⁷⁹ sin embargo, lograr esta transformación fue un tanto complicado. Se intentaron diferentes condiciones de reacción, por ejemplo: metanol a reflujo usando como catalizadores ácido sulfúrico o trifluoruro de boro,^{79a,b,c} y también se trató de preparar el éster con diazometano a través del cloruro de ácido **68**, pero en los cuatro casos lo único que se pudo detectar fue un oligómero de estructura desconocida.

Después de probar varias alternativas, se encontró que las condiciones adecuadas para preparar el éster **67** fueron utilizar como catalizador ácido sulfúrico en metanol, pero esta vez a temperatura ambiente.^{79d,e} Una vez obtenido el compuesto **67**, éste se adicionó lentamente sobre una solución de hidróxido de amonio previamente enfriada a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$, y se obtuvo la propiolamida **66** en 87 % de rendimiento.^{79c}

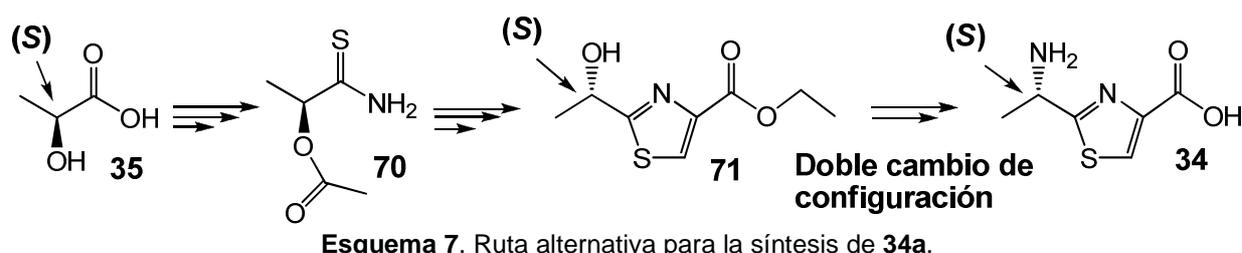


Esquema 6. Síntesis de la propiolamida **66**.

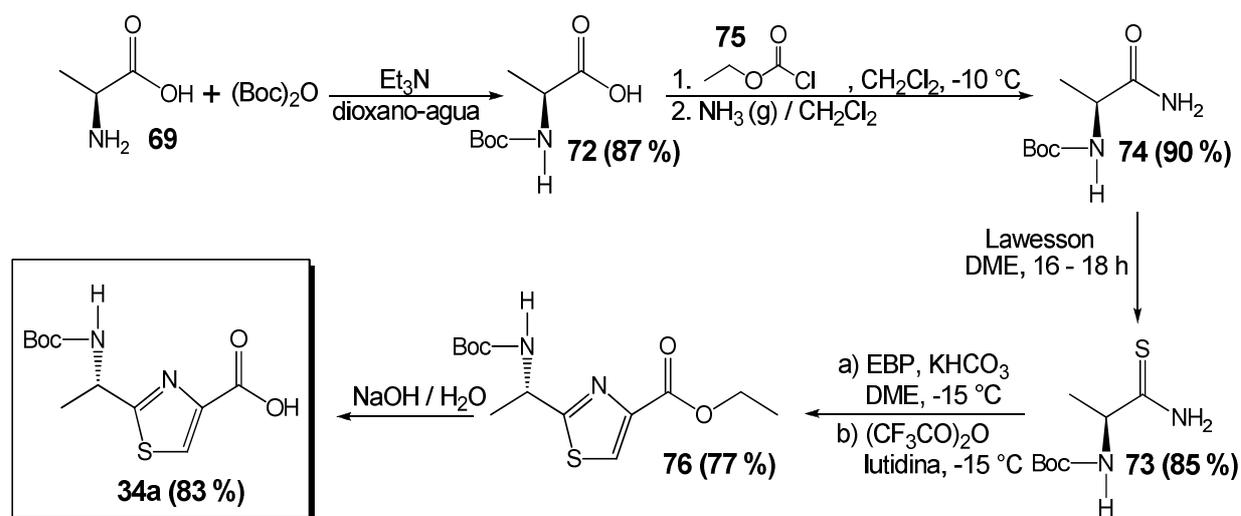
La reacción de esterificación presentó dos grandes problemas, el primero de ellos es el tiempo de reacción, ya que se necesitan siete días para obtener el éster **67**; el segundo inconveniente fueron los bajos rendimientos obtenidos. El rendimiento promedio de diferentes lotes de 5 g fue de 45 %, en tanto que al escalar la reacción a 10 g el rendimiento fue de tan solo 28 %.

Debido a los problemas presentados con la obtención de **67** en el esquema de síntesis original, se intentaron otras dos rutas de síntesis para el aminoácido tiazólico **34a**. En la primera de ellas⁷⁸ se partió del ácido L-láctico **35**, aprovechando el hecho de que se contaba con él. En la segunda ruta se partió de la L-alanina **69**, que es un aminoácido disponible comercialmente.

Por la primera ruta se avanzó hasta la obtención de la tioamida **70** (Esquema 7). Este compuesto **70** sería posteriormente condensado con EBP **61** según la síntesis de tiazoles de Hantzsch y el grupo hidroxilo sería desprotegido para obtener **71**, con el centro quiral en configuración (S). El compuesto deseado **34** tiene una amina en configuración (S) sobre el centro quiral; por lo tanto, para obtener el compuesto **34** a partir de **71**, hubiera sido necesario realizar un indeseable doble cambio de configuración.



Ahora bien, mediante la segunda ruta alternativa basada en la síntesis de Xia y Smith⁸⁰ para el enantiómero (R) de **34** (Esquema 8), el compuesto **34a** pudo ser sintetizado y resultó la más conveniente de las tres, debido a que al partir de la L-alanina **69**, es más corta y se evitan los problemas de hacer resolución química, cambiar de configuración o introducir grupos amino. Además el grupo protector (Boc) es introducido en la molécula desde el inicio de la síntesis.



Esquema 8. Síntesis del ácido (S)-2-[1-(Boc-amino)etil]tiazol-4-carboxílico **34a**.

El primer paso en la síntesis fue la protección del grupo amino de la L-alanina **69** con Boc, con lo cual se obtuvo la N-Boc-L-alanina **72** en 87 % de rendimiento. Al igual que en los dos intentos de síntesis anteriores, para poder obtener el anillo tiazólico, el compuesto **72** se convirtió a la tioamida **73** y para lograr este objetivo, la N-Boc-L-alanina **72** se convirtió inicialmente a la amida **74** mediante la técnica del anhídrido mixto. Para la formación del anhídrido mixto se utilizó el cloroformiato de etilo **75** y la amida **74** se obtuvo en 90 % de rendimiento. La transformación de **74** a su tioamida **73** se realizó en 85 % de rendimiento mediante el reactivo de Lawesson.

Una vez obtenida la tioamida **73** se condensó con EBP **61** según la técnica de Hantzsch, con lo cual se obtuvo el éster etílico **76** en 77 % de rendimiento, la rotación óptica encontrada fue $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -40.0^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3), (lit. ^{80b} $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -39.7^\circ$, $c = 1.0$, CHCl_3). El compuesto **76** posee el anillo tiazólico y el centro quiral con la amina protegida en la configuración deseada, por lo cual el último paso de la síntesis fue la saponificación del grupo éster, la cual se realizó en etanol con 3 equivalentes de hidróxido de sodio (solución 0.5 N). El aminoácido tiazólico **34a** tercer componente del depsitripéptido **28** en ser sintetizado, se obtuvo en 83 % de rendimiento, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -26.5^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3).

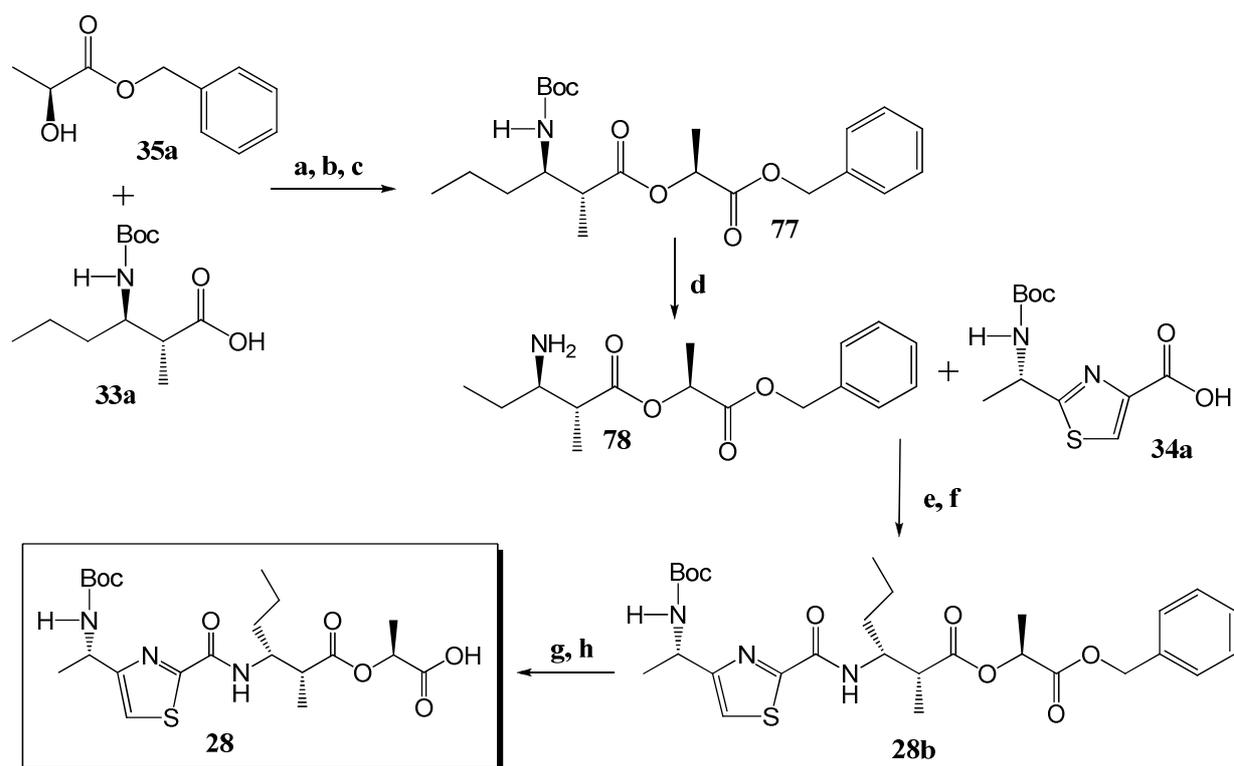
5.3.4. Acoplamiento de 33a, 34a y 35a y obtención del depsitripéptido 28. Debido a que los fragmentos estructurales de **28** pudieron ser acoplados sin grandes problemas, no fue necesario realizar ningún cambio al esquema de síntesis original. Durante el desarrollo de la síntesis para hacer los acoplamientos de los fragmentos componentes de la ulongamida A (**1**) se usaron dos agentes acoplantes: la diciclohexilcarbodiimida (DCC, **17**) y el hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxi-tris-(dimetilamino)-fosfonio (BOP, **21**), y el aditivo hidroxibenzotriazol (HOBt, **18**). La DCC **17** fue utilizada en presencia de 4-dimetilaminopiridina (DMAP) o con el aditivo HOBt **18**.

El depsitripéptido **28** fue ensamblado de su extremo C-terminal, empezándose la síntesis a partir del éster bencílico del ácido L-láctico **35a** (Esquema 9). Tres diferentes condiciones de acoplamiento fueron probadas para lograr la unión del éster **35a** con el β -aminoácido **33a**: (a) BOP-Et₃N, (b) DCC-HOBt y (c) DCC-DMAP (DMAP en cantidades catalíticas), en las tres se utilizó diclorometano como disolvente y se realizaron a temperatura ambiente.

La mezcla acoplante que dio los mejores rendimientos (70 %) para la obtención del depsidipéptido **77** fue la "c" DCC-DMAP.⁸¹ El extremo N-terminal de **77** fue desprotegido a temperatura ambiente mediante una mezcla de ácido trifluoroacético-diclorometano (50:50) (d), obteniéndose el compuesto N-desprotegido **78** en 88 % de rendimiento.

El compuesto **78** fue entonces unido al β -aminoácido **34a**, usando dos mezclas acoplantes (e) y (f) y nuevamente la mezcla DCC-DMAP fue la que proporcionó los mejores rendimientos del depsitripéptido **28b** (70 %).

El paso final en la síntesis de **28** fue la desprotección del extremo C-terminal en **28b**, que se encontraba protegida como éster bencílico; y se eliminó en condiciones suaves y con ausencia de racemización mediante hidrogenólisis.



Esquema 9. Acoplamiento de **33a**, **34a** y **35a** y obtención del decapeptido **28**. Condiciones de reacción: (a) BOP, Et₃N, CH₂Cl₂, 50 %; (b) DCC-HOBT, CH₂Cl₂, 55 %; (c) DCC-DMAP, CH₂Cl₂, 70 %; (d) TFA-CH₂Cl₂, 88 %; (e) DCC-HOBT, CH₂Cl₂, 67 %; (f) DCC-DMAP, CH₂Cl₂, 70 %; (g) Pd - C, MeOH, 0 %; (h) Pd - C, AcOEt, 87 %.

La elección del disolvente para la hidrogenólisis es importante, pues cuando ésta se realizó en metanol (g) no se pudo detectar el ácido libre, sino únicamente el éster metílico producto de la transesterificación; pero cuando se utilizó acetato de etilo (h) se obtuvo el decapeptido **28**, primer fragmento convergente para la síntesis de la ulongamida A (**1**) en 87 % de rendimiento, $[\alpha]_D^{20} = + 3.3^\circ$ ($c = 0.3$, CHCl₃).

5.4. Síntesis de los dipéptidos 29, 79 y 80.

En el esquema de síntesis original de la ulongamida A (**1**) se planteó sintetizar y usar el dipéptido **29**; sin embargo, debido a problemas experimentales durante el desarrollo de la síntesis, se tuvieron que sintetizar otros dos dipéptidos **79** y **80** (Figura 26).

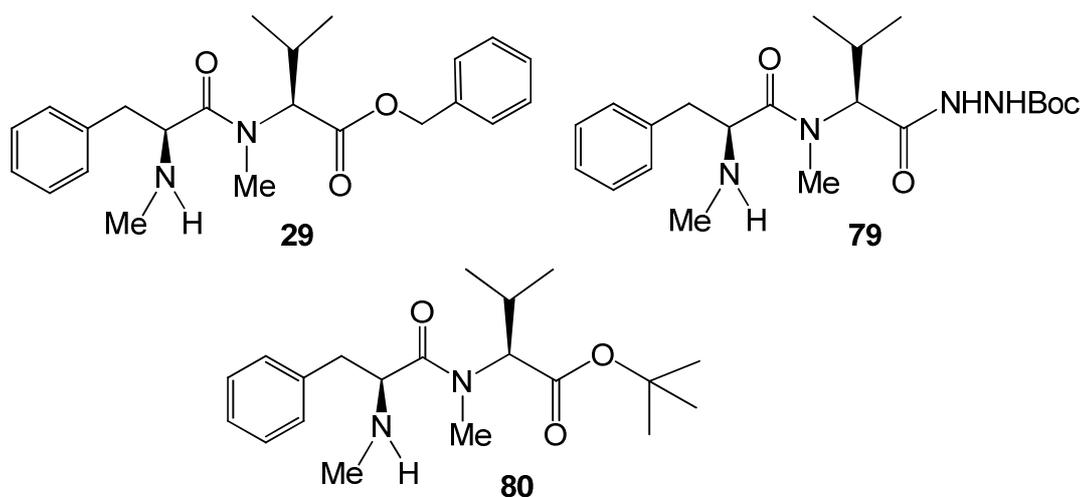
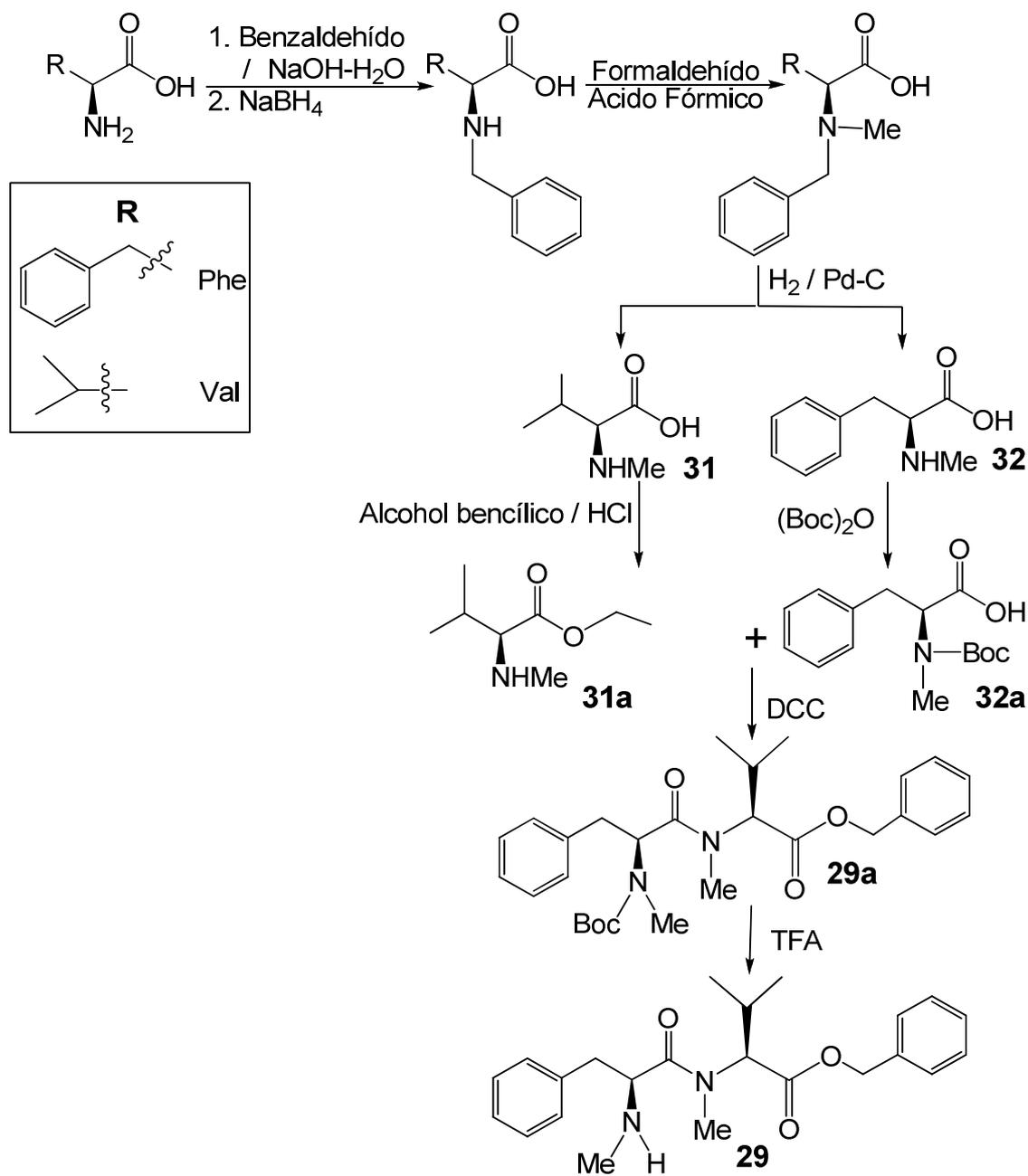


Figura 26. Dipéptidos sintetizados para la obtención de la ulongamida A (**1**).

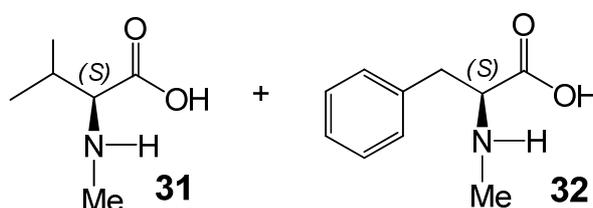
5.4.1. Síntesis del dipéptido 29. El primer paso del diseño de síntesis fue la metilación del grupo amino de los aminoácidos L-Phe y L-Val (Esquema 10), lo cual se consideró llevar a cabo mediante la técnica de Quit.⁸² Esta técnica consiste de tres pasos: en el primero, los grupos amino de la L-Phe y L-Val se monobencilan; en el segundo se metilan con formaldehído en ácido fórmico y finalmente se hidrogenoliza el grupo protector *N*-bencilo, obteniéndose los compuestos *N*-metilados **31** y **32**.



Esquema 10. Diseño de síntesis del dipéptido **29**.

Una vez obtenidos **31** y **32**, el extremo C-terminal de **31** sería protegido como su éster bencílico, mientras que el extremo N-terminal de **32** sería protegido con Boc para obtener

31a y **32a**, respectivamente. Estos últimos serían acoplados con DCC **17** para obtener el dipéptido **29a**, que finalmente sería desprotegido con ácido trifluoroacético para obtener **29**. Sin embargo, este diseño de síntesis se siguió únicamente hasta la síntesis de los aminoácidos *N*-metilados **31** y **32** debido a que se encontró alta racemización de los mismos durante la metilación con la técnica de Quit (Figura 27).^{82,83} En el caso del compuesto **32** se obtuvo un 89% del enantiómero (*S*) deseado, pero en el caso del compuesto **31** la cantidad del enantiómero deseado (*S*) disminuyó hasta el 74 %.

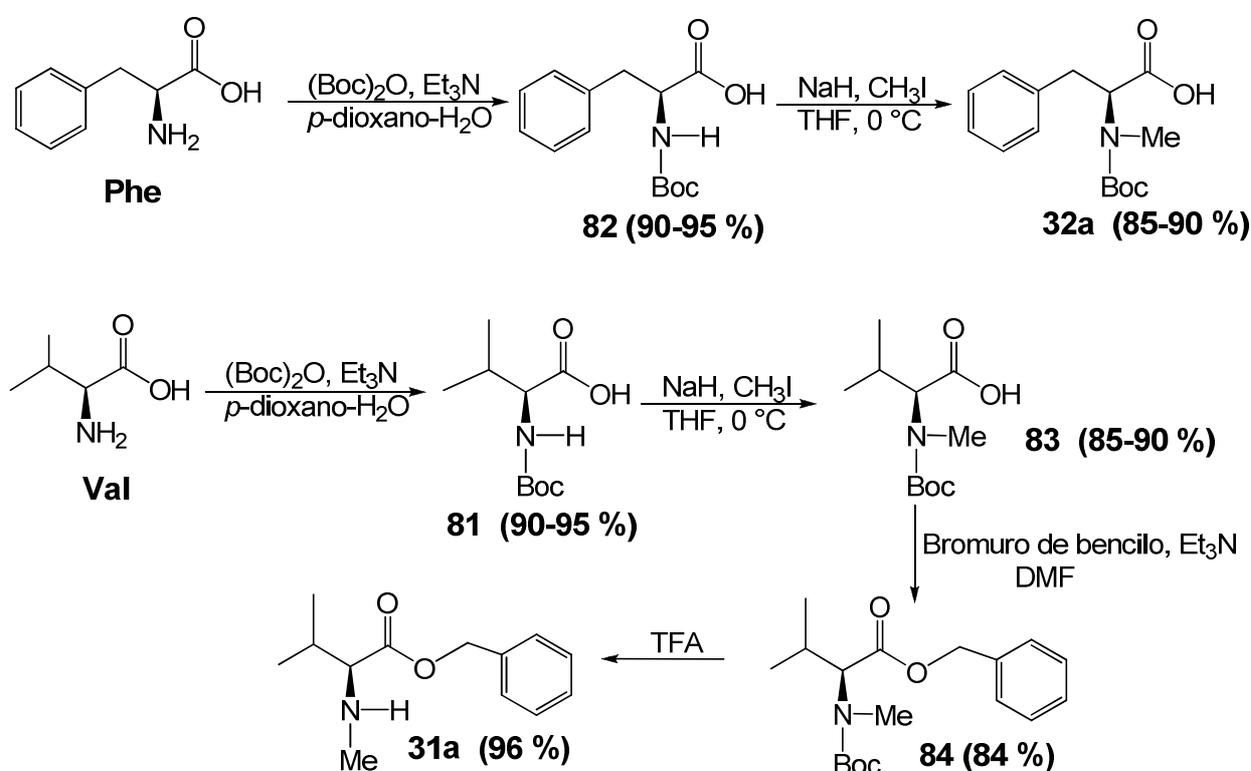


	Conc.	RO $[\alpha]^{20}_D$ Inf. ^{82,83}	RO $[\alpha]^{20}_D$ Exp.	% (<i>S</i>)	% (<i>R</i>)
31	c = 1.0, NaOH 1N	+33.1	+24.5	74	26
32	c = 1.0, NaOH 1N	+26.6, +49.3	+23.7	89	11

Figura 27. Pérdida de pureza quiral en los aminoácidos *N*-metilados **31** y **32** usando la técnica de Quit.

La *N*-metilación de los aminoácidos Phe y Val se realizó sin isomerización importante mediante la técnica de Benoiton (Esquema 11)⁸³ y para ello los aminoácidos L-Phe y L-Val tuvieron que ser protegidos en su extremo *N*-terminal con Boc antes de ser *N*-metilados.⁸⁴ Es ampliamente aceptado que la protección con (Boc)₂O es un método general que se realiza fácilmente a temperatura ambiente utilizando como disolvente una mezcla de dioxano-agua, aunque la reacción ocupa aproximadamente de 16 a 18 horas para completarse. Los rendimientos de esta reacción son excelentes, pues experimentalmente fueron de 90 a 95 % para los compuestos *N*-protegidos **81** y **82**.

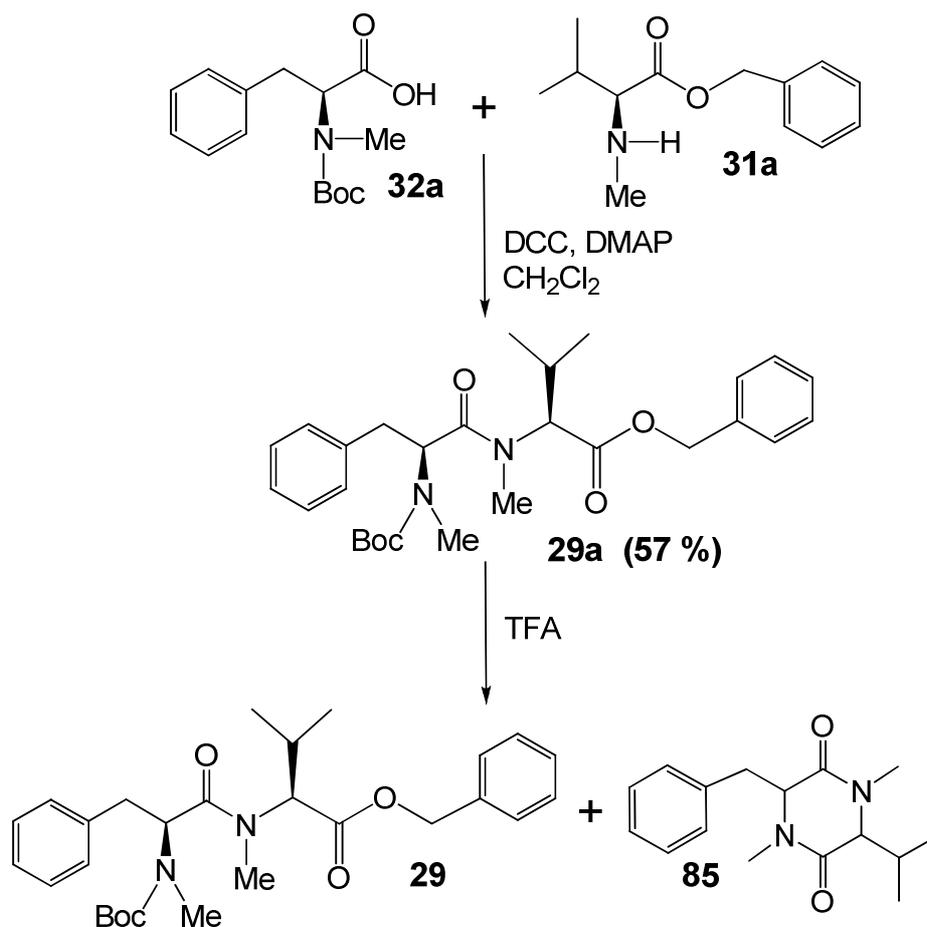
La *N*-metilación de **81** y **82** se realizó en tetrahidrofurano anhidro, utilizando 8 equivalentes de yoduro de metilo y de 3.5 a 4 equivalentes de hidruro de sodio. La temperatura de reacción debe mantenerse entre 0 – 5 °C durante la adición del hidruro de sodio (el cual debe ser adicionado en varias porciones), para evitar la formación de los ésteres metílicos correspondientes y el consiguiente riesgo de la pérdida de pureza quiral a través de los enolatos. Los compuestos *N*-metilados **32a** y **83** se obtienen de esta forma en rendimientos similares que van de 85 a 90 %. La rotación óptica experimental para **32a** fue $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -67.2^\circ$ ($c = 2.15$, CHCl_3), (lit.⁸⁵ $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -67.5^\circ$, $c = 2.15$, CHCl_3).



Esquema 11. Síntesis de los compuestos **31a** y **32a**, componentes del dipéptido **29**.

El derivado *N*-metilado de la *N*-Boc-L-valina **83** fue sometido a esterificación con bromuro de bencilo, con lo cual se obtuvo el éster **84** en 84 % de rendimiento.⁸⁶ Finalmente el grupo amino en **84** fue desprotegido con TFA obteniéndose el éster bencílico de la *N*-metil-L-valina **31a** en 96 % de rendimiento. La rotación óptica experimental para **31a** fue $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -5.08^\circ$ ($c = 1.18$, CHCl_3), (lit.⁸⁷ $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -5.13^\circ$, $c = 1.18$, CHCl_3).

Una vez obtenidos **31a** y **32a** se procedió a acoplarlos con DCC **17** en presencia de DMAP, obteniéndose el dipéptido diprotegido **29a** en 57 % de rendimiento (Esquema 12). Con la intención de obtener el dipéptido *N*-desprotegido **29**, el extremo *N*-terminal de **29a** se desprotegió con TFA pero desafortunadamente **29** resultó ser muy reactivo, ya que se cicló muy rápidamente a la dicetopiperazina **85**.^{53a,b,d,88}

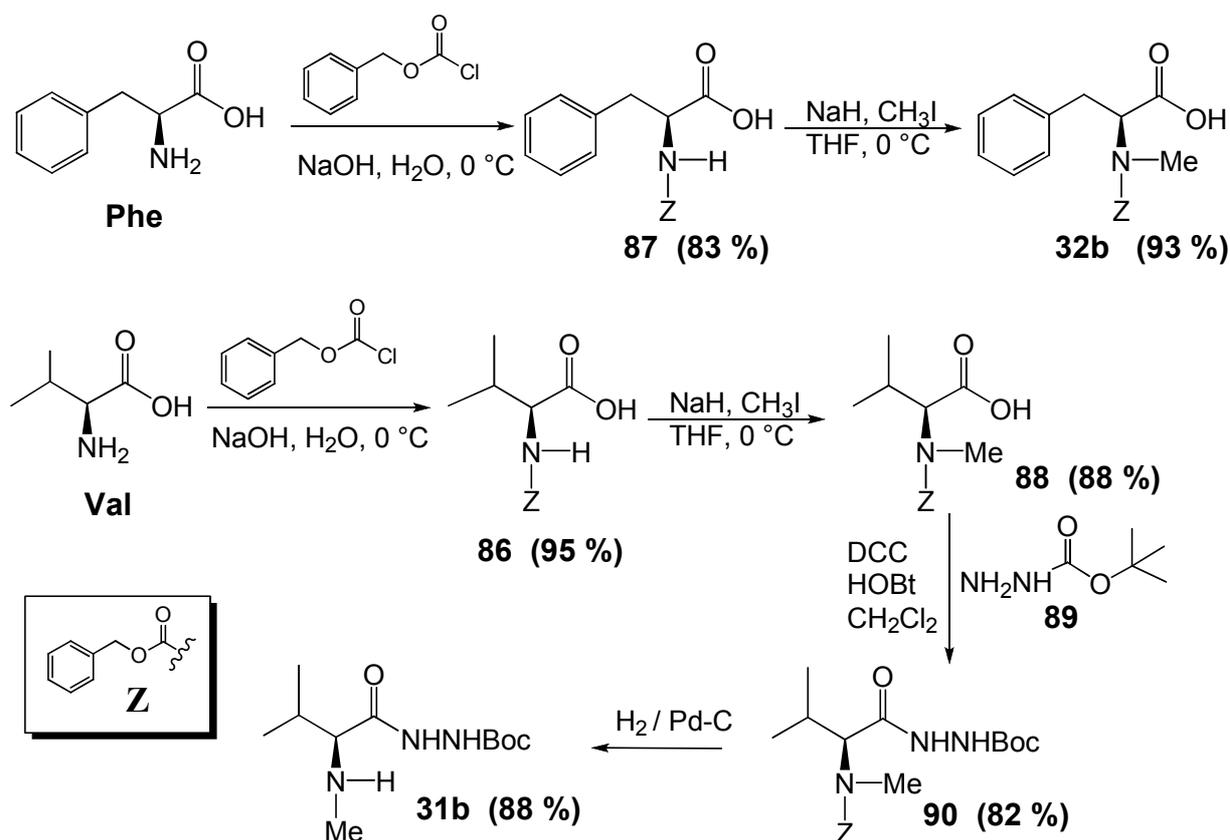


Esquema 12. Síntesis del dipéptido **29** y formación de la dicetopiperazina **85**.

Esta alta reactividad de **29** impidió hacer el acoplamiento con el deptsitripéptido **28** y también mostró la necesidad de sintetizar otros dipéptidos cuyo extremo C-terminal fuera más resistente al ataque intramolecular por nucleófilos. Para tal efecto se sintetizaron los dipéptidos protegidos con el carbazato de *tert*-butilo **79**, y con el éster *tert*-butílico **80** (Figura 26).^{53a,b,d,88}

5.4.2. Síntesis del dipéptido 79. Puesto que se pensó proteger el extremo C-terminal del dipéptido **79** (ver Figura 26 y Esquema 14) con el carbazato de terbutilo **89**, fue necesario utilizar otro grupo protector para su extremo N-terminal. La elección más obvia era el benciloxicarbonilo (Z), pues éste es fácilmente removido mediante hidrogenación catalítica,⁸⁹ mientras que el grupo Boc del carbazato de terbutilo se remueve mediante TFA liberando una acilhidrazina, o hidrazida.

Se protegió por lo tanto el extremo N-terminal de ambos aminoácidos con el grupo Z y a continuación se realizó la N-metilación mediante el procedimiento de Benoiton (Esquema 13).



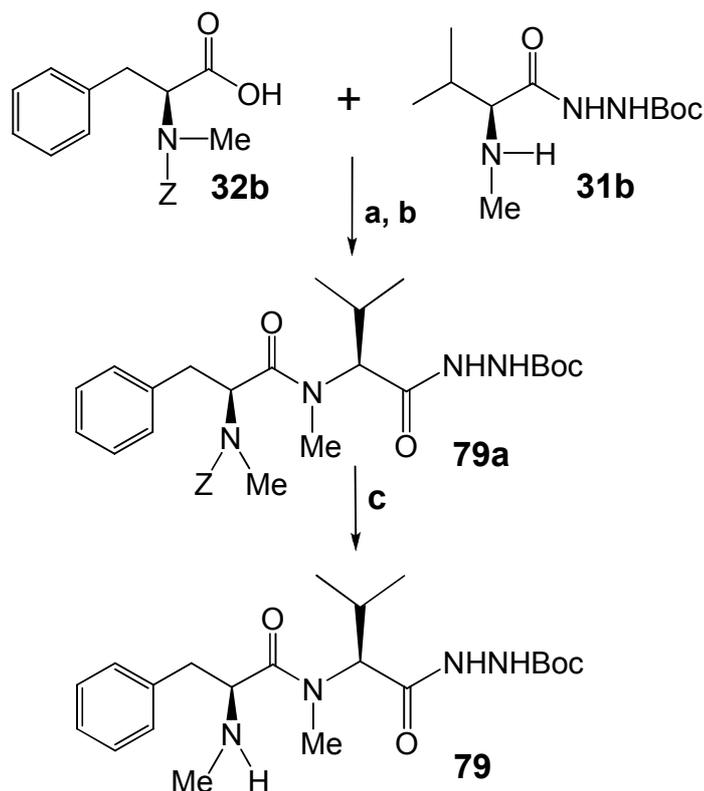
Esquema 13. Síntesis de los compuestos **31b** y **32b** componentes del dipéptido **79**.

El procedimiento de la protección con Z es prácticamente igual al procedimiento clásico de Schotten-Baumann: "esto es, el aminoácido se disuelve en agua con ayuda de hidróxido de sodio (1 equivalente), la temperatura se controla de 0 a 5 °C y lentamente se van adicionando el cloruro de benziloxycarbonilo y una cantidad equivalente de hidróxido de sodio, después de lo cual la mezcla de reacción se deja en agitación por 16 – 18 horas a temperatura ambiente". De esta forma se obtuvieron los *N*-Z-aminoácidos, Z-L-Val **86** y Z-L-Phe **87** en 95 % y 83 % de rendimiento, respectivamente. Para la reacción de *N*-metilación se siguió el procedimiento descrito para los derivados *N*-Boc **81** y **82** (Esquema 11), obteniéndose los *N*-metil-L-Z-aminoácidos **32b** y **88** en 93 % y 88 % de rendimiento, respectivamente. La rotación óptica encontrada para **32b** fue $[\alpha]_D^{20} = -65.9^\circ$ ($c = 1.8$, EtOH), (lit.⁹⁰. $[\alpha]_D^{20} = -67.0^\circ$, $c = 1.8$ en EtOH). Para **88** la rotación óptica experimental fue $[\alpha]_D^{20} = -83.6^\circ$ ($c = 1.0$, EtOH), (lit.⁸³ $[\alpha]_D^{20} = -82.6^\circ$, $c = 1.0$, EtOH).

A continuación la *N*-metil-Z-L-valina **88** fue convertida a su Bochidrazida por reacción con carbazato de terbutilo **89** en diclorometano usando como agente de acoplamiento la DCC **17** y el HOBt **18** como aditivo.^{53d,89a,91} La valina diprottegida **90** se obtuvo en 82 % de rendimiento y se sometió a hidrogenólisis para liberar el extremo *N*-terminal, obteniéndose la *N*-metil-L-valin [*N*'-(Boc)]-hidrazida **31b** en 88 % de rendimiento lista para ser acoplado con **32b**. La rotación óptica experimental para **31b** fue $[\alpha]_D^{20} = -59.5^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl₃).

Para el acoplamiento de **31b** y **32b** se probaron dos diferentes condiciones (Esquema 14): (a) DCC-HOBt y (b) BOP, encontrándose que la mezcla acoplante DCC-HOBt produjo el mejor rendimiento del dipéptido diprottegido **79a** (57 %). La rotación óptica encontrada para **79a** fue $[\alpha]_D^{20} = -157.7^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl₃).

Aunque el dipéptido *N*-desprotegido **79** resultó más estable que **29**, también tiene la tendencia a descomponer cuando se desprotege. Por lo tanto, para hacer el acoplamiento con el deptsitripéptido **28** cada vez se desprotegía la cantidad necesaria de **79a** mediante hidrogenólisis (generalmente 1.5 equivalentes), y el acoplamiento se realizaba inmediatamente.



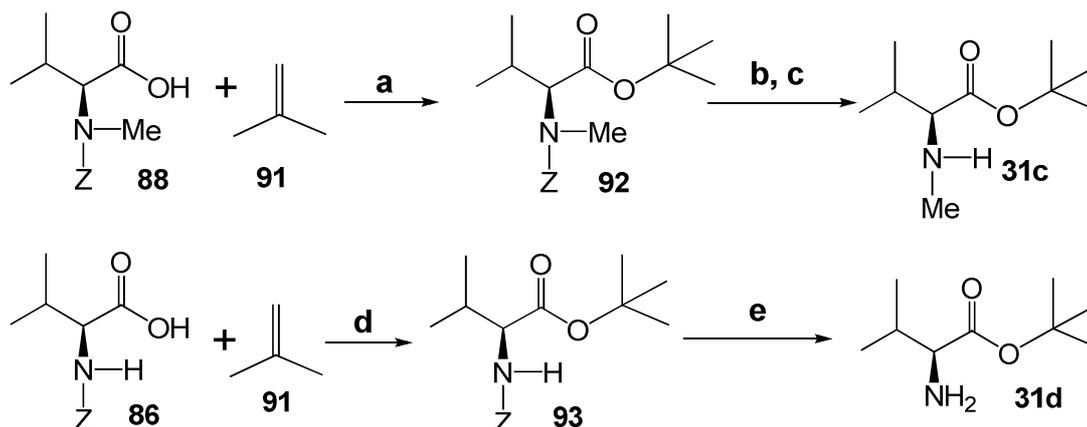
Esquema 14. Síntesis del dipéptido **79**. Condiciones de reacción: (a) DCC-HOBt, CH₂Cl₂, 57 %; (b) BOP, Et₃N, CH₂Cl₂, 48 %; (c) H₂ / Pd-C, MeOH.

5.4.3. Síntesis del dipéptido 80. El dipéptido **80** fue sintetizado mediante dos rutas diferentes (Esquema 16), para lo cual se prepararon los ésteres terbutílicos de la *N*-metil-L-valina^{88b,d,92} **31c** (ruta I) y de la L-valina^{92a,b,93} **31d** (ruta II) (Esquema 15).

La síntesis de **31c** se realizó en dos pasos (Esquema 15); en el primero el compuesto **88** se esterificó con 2-metilpropeno (isobuteno o isobutileno) **91** utilizando ácido sulfúrico como catalizador. La reacción se llevó a cabo usando como disolvente diclorometano y aunque tiene la desventaja de que son necesarios siete días para que concluya, el éster terbutílico **92** se obtuvo en 77 % de rendimiento. Finalmente el compuesto **31c** fue obtenido en 72 % de rendimiento al desproteger el extremo *N*-terminal de **92** por hidrogenación catalítica utilizando como disolvente acetato de etilo. Cuando se utilizó alcohol isopropílico como disolvente el rendimiento disminuyó a 27 %. La rotación óptica

experimental para **31c** fue $[\alpha]_D^{20} = +3.7^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3), (lit.^{88b} $[\alpha]_D^{20} = +4.4^\circ$; $c = 1.0$, CHCl_3).

El valor de la rotación óptica del éster **31c** no coincide exactamente con lo informado, posiblemente por la presencia de disolvente residual en la muestra que se sabe afecta estas determinaciones.

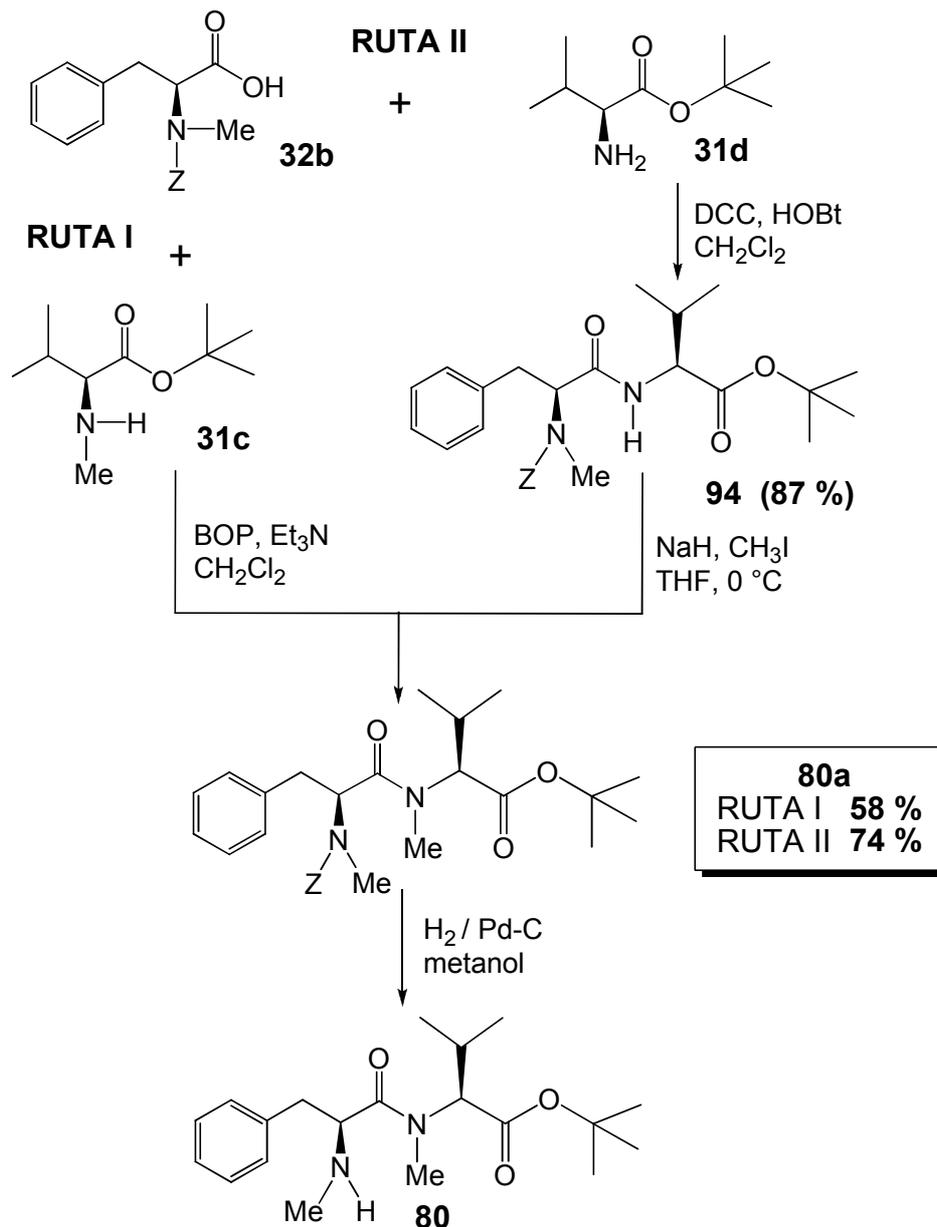


Esquema 15. Síntesis de los ésteres tert-butílicos **31c** y **31d**. Condiciones de reacción: (a) H_2SO_4 , CH_2Cl_2 , 7 días, 77 %; (b) H_2 / Pd-C, alcohol isopropílico, 27 %; (c) H_2 / Pd-C, AcOEt, 72 %; (d) H_2SO_4 , CH_2Cl_2 , 7 días, 72 %; (e) H_2 / Pd-C, AcOEt, 77 %.

La síntesis de **31d** se realizó de la misma manera que **31c** con la única diferencia que se partió de la Z-L-valina **86**. El éster tert-butílico de la Z-L-valina **93** se obtuvo en 72 % y el éster tert-butílico de la L-valina **31** se obtuvo en 77 % de rendimiento. La rotación óptica obtenida para **31d** fue la misma que la informada en la literatura⁹³ $[\alpha]_D^{20} = +20.6^\circ$ ($c = 5.3$, AcOEt).

En la ruta I de síntesis del dipéptido **80** (Esquema 16), se acoplaron mediante BOP los aminoácidos N-metil-Z-L-fenilalanina **32b** y el éster tert-butílico de la N-metil-L-valina **31c**, con lo cual se obtuvo el dipéptido diprotectado **80a** en 58 % de rendimiento. En la ruta II se acoplaron mediante DCC / HOBT el compuesto **32b** y el éster tert-butílico de la L-valina **31d**, con lo que se obtuvo el dipéptido **94** en 87 % de rendimiento. Posteriormente el grupo amino del fragmento de la valina en **94** se metiló bajo las condiciones de Benoiton y

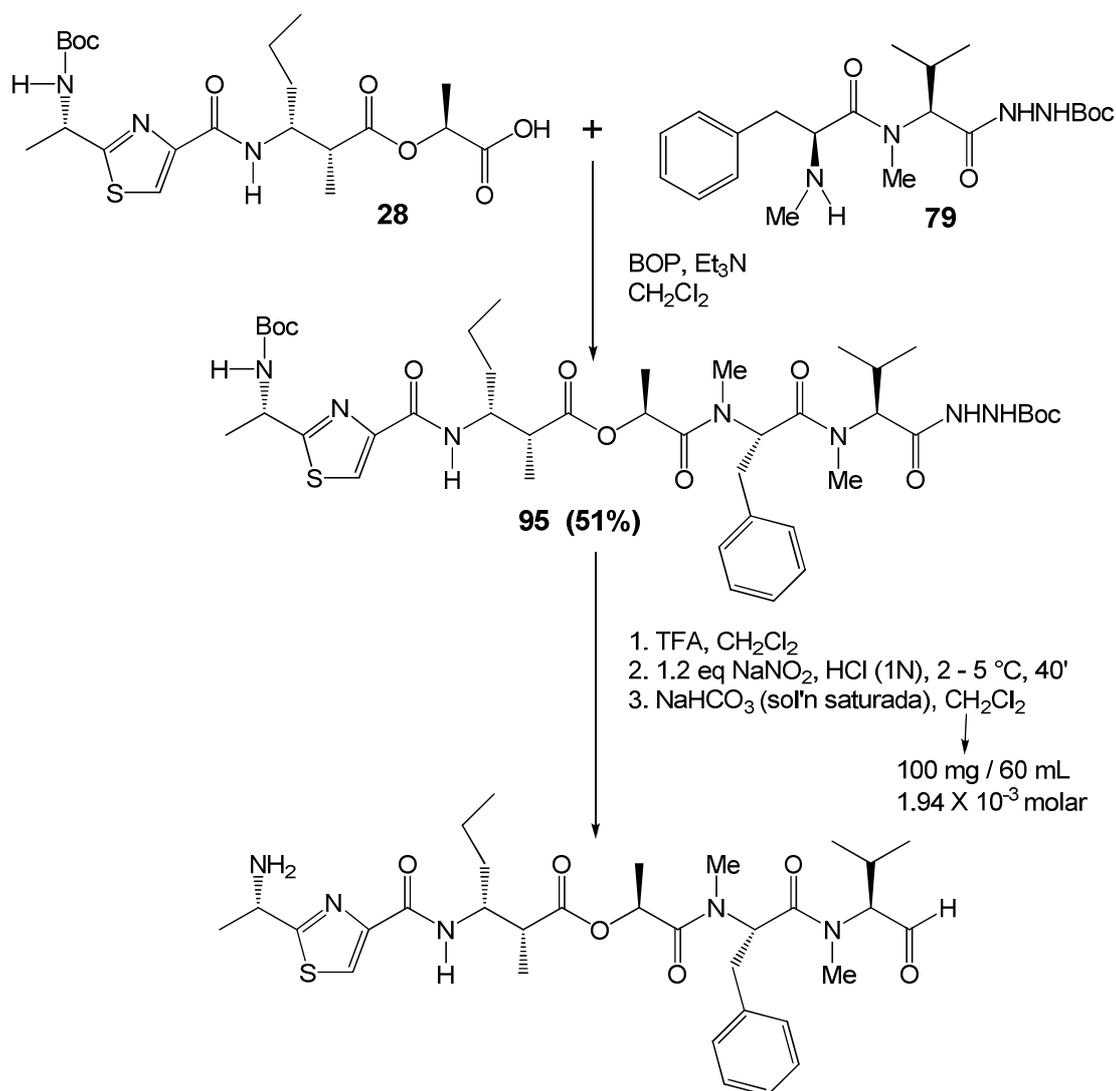
se obtuvo **80a** en 85 % de rendimiento. Aunque la ruta I tiene la ventaja de que el dipéptido **80a** se obtiene en un solo paso, en la ruta II el rendimiento global o total del mismo se aumenta del 58 al 74 %. La rotación óptica encontrada para **80a** fue $[\alpha]_D^{20} = -145.1^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3). El dipéptido *N*-desprotegido **80** (al igual que **29** y **79**) tiene tendencia a descomponer, por lo que solamente se desprotegió la cantidad necesaria para ser acoplada con el depsitripéptido **28**.



Esquema 16. Síntesis del dipéptido **80**.

5.5. Acoplamiento del dipéptido **79** con el depsitripéptido **28** y pruebas de ciclación mediante el método de la azida.

Para completar la síntesis, el dipéptido **79** (1.5 equivalentes, recién desprotegido y libre de disolventes) y el depsitripéptido **28** fueron acoplados con BOP **21** en diclorometano y de esta forma se obtuvo el depsipentapéptido **95** en 51 % de rendimiento (Esquema 17). La rotación óptica experimental para **95** fue $[\alpha]_D^{20} = -11.9^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3).



Estructura tentativa del producto mayoritario.
depsipentapéptido **96**, MEZCLA (32 %)

Esquema 17. Acoplamiento de los fragmentos **28** y **79** y pruebas de ciclación mediante el método de la azida.

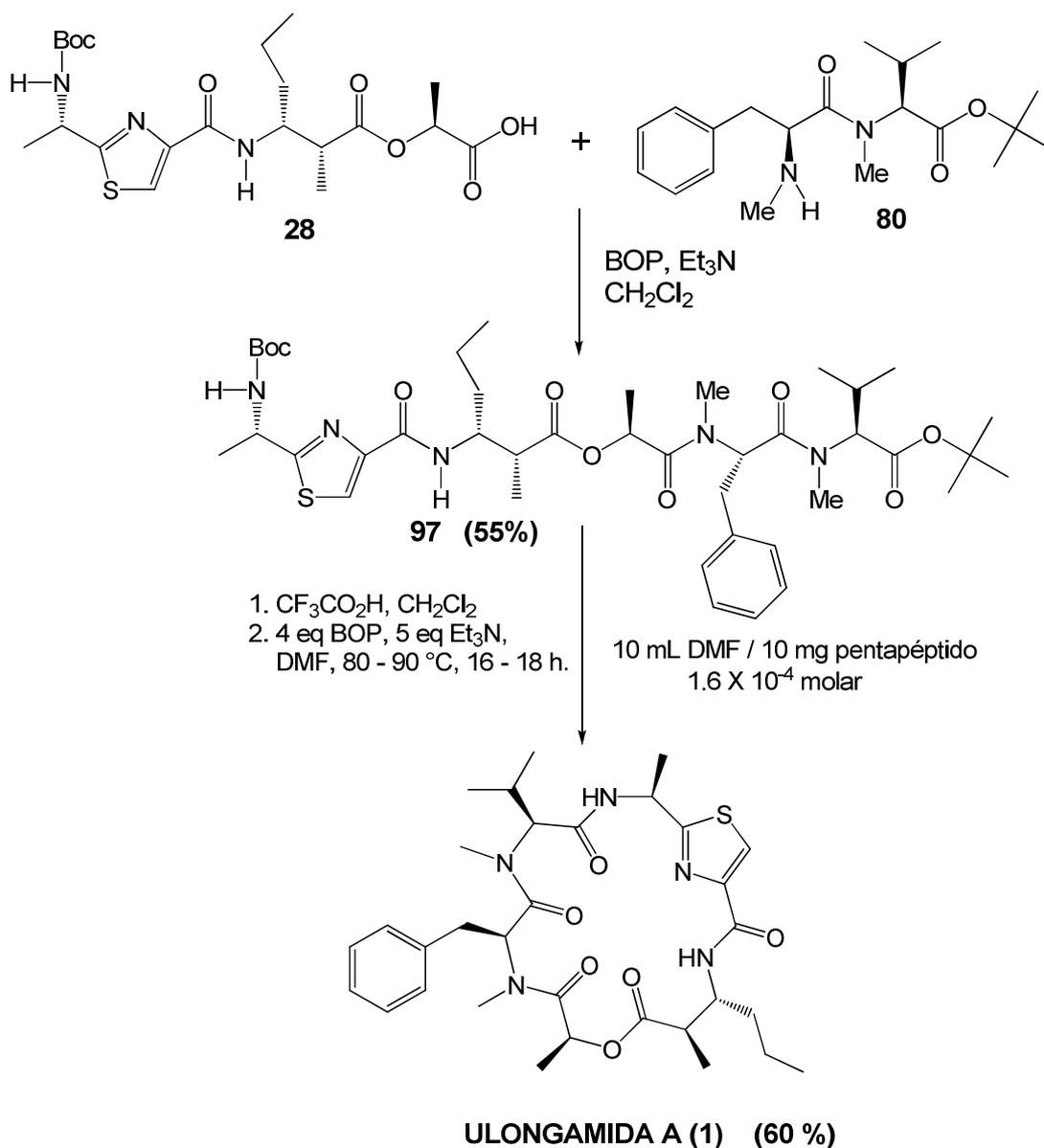
El intento de ciclación a partir de **95** se realizó en tres pasos consecutivos.^{53d} El primero fue la remoción de los grupos *tert*-butilo con TFA, obteniéndose una amina libre, y una hidrazida en el extremo C-terminal. La reacción de desprotección no tomó más de 30 minutos, después de lo cual se evaporó el disolvente y el sólido residual se secó a presión reducida para eliminar el exceso de TFA. En el segundo paso se transformó la hidrazida a la acilazida para lo cual al sólido residual se le adicionó ácido clorhídrico acuoso (1N), la mezcla se enfrió entre 0 – 5 °C, adicionándose posteriormente durante un periodo de 20 minutos una solución de nitrito de sodio (1.2 equivalentes). El tercer paso fue el intento de ciclación y para esto, la mezcla anterior se diluyó con diclorometano de tal forma que la concentración final de la solución fuera 1.94×10^{-3} molar. Sin permitir que la temperatura subiera de 5 °C se adicionó solución saturada de bicarbonato de sodio y la mezcla de reacción se dejó en agitación por 16 – 18 horas. Después de trabajar la reacción y purificar, se observó por RMN ¹H que el producto principal consistía de una mezcla compuesta por la ulongamida A (**1**) en muy baja concentración y que el compuesto principal era el depsipentapéptido **96** en el cual al parecer el extremo C-terminal se había reducido al aldehído.

Las señales clave para sospechar la formación del aldehído son: en RMN ¹H un singulete en 9.64 ppm y en ¹³C un carbonilo en 205 ppm, en tanto que en infrarrojo se observan las señales de 2720 cm^{-1} de intensidad media correspondiente al estiramiento del enlace C-H y otra en 1730 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del enlace C=O.

5.6. Acoplamiento del dipéptido **80** con el depsitripéptido **28** y obtención de la ulongamida A (**1**).

Debido a que por el método de la azida no fue posible obtener pura y en buen rendimiento la ulongamida A (**1**), se intentó hacerlo mediante el uso del agente acoplante BOP **21** (Esquema 18).⁹⁴ Para ello primero se acoplaron el dipéptido **80** (1.5 equivalentes) y el depsitripéptido **28** con BOP **21** en diclorometano, obteniéndose el depsipentapéptido **97** en 55 % de rendimiento. La rotación óptica experimental para **97** fue $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -18^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3). Los dos extremos de **97** se liberaron entonces mediante el uso de TFA y el disolvente residual se evaporó a sequedad. El sólido resultante se diluyó con DMF de tal

forma que la concentración de la solución fuera de 1.6×10^{-4} molar y se adicionaron 5 miliequivalentes de trietilamina y 4 miliequivalentes de BOP **21**. La temperatura se elevó a aproximadamente $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ y la mezcla de reacción se agitó a esa temperatura por 16 – 18 horas con lo que exitosamente se obtuvo la ulongamida A (**1**) en 60 % de rendimiento. La rotación óptica encontrada para (**1**) fue la misma que la informada⁴ $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +12^{\circ}$ ($c = 0.73$, MeOH).



Esquema 18. Acoplamiento convergente de los fragmentos **28** y **80**, y obtención de la ulongamida A (**1**).

5.7. Derivados.

Dado que tanto la ulongamida A (**1**) como sus componentes son compuestos con quiralidad definida, una parte muy importante de este trabajo de investigación fue el asegurar que éstos tuvieran la estereoquímica deseada. La comprobación de la estereoquímica de las moléculas componentes de la ulongamida A (**1**), antes de ser acopladas se realizó de dos formas: a) Mediante la medición y comparación de las rotaciones ópticas cuando el compuesto a comparar era conocido. b) Mediante la formación de derivados con el reactivo de Mosher **36**,⁹⁵ [ácido (S)-(-)-metoxi - α -(trifluorometil)- fenilacetico], cuando el compuesto a acoplar se encontraba libre en su grupo amino o hidroxilo como fue el caso de los compuestos **31d** y **35a**, o con la (S)-(-)-metilbencilamina **37** cuando el grupo ácido carboxílico del compuesto a acoplar se encontraba libre como en los compuestos **32b**, **33a** y **34a** (Figura 28). En todos los casos los acoplamientos fueron realizados mediante DCC **17** y cabe destacar que no se detectaron los enantiómeros de configuración opuesta que demostraran la pérdida de pureza quiral en las moléculas a acoplar (ver apéndice, Figuras 67-71).

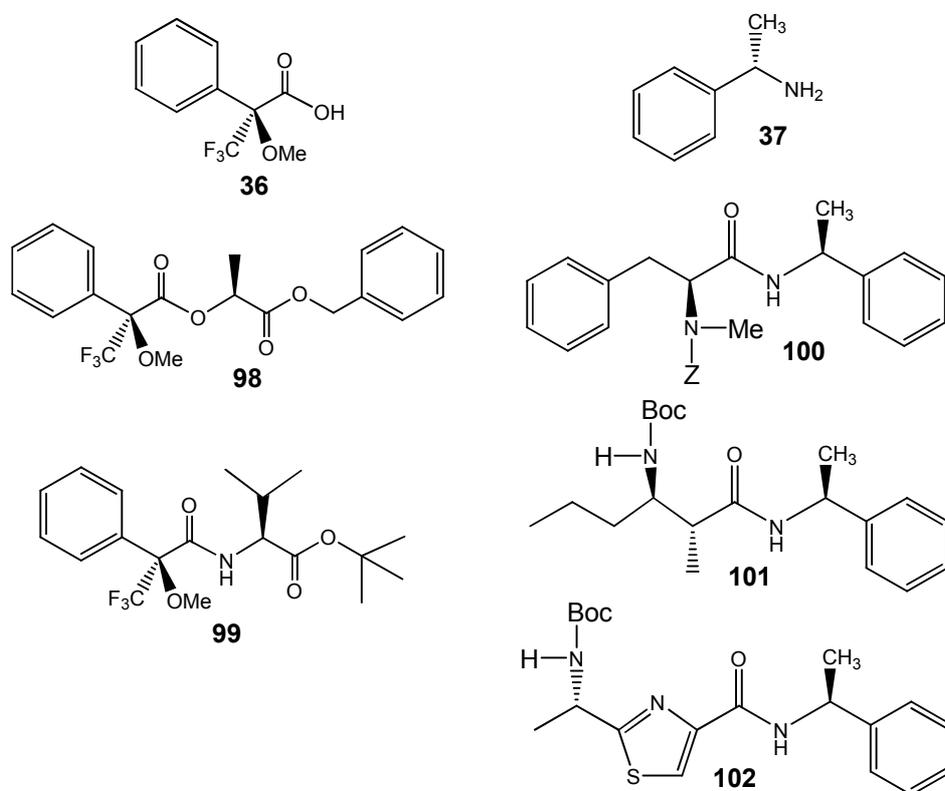


Figura 28. Derivados de los componentes de la ulongamida A (**1**).

5.8. Espectroscopía.

La espectroscopía completa de cada producto se puede consultar en la parte experimental. En esta sección se discutirán únicamente las espectroscopías del producto final, la ulongamida A (**1**) y la del dipéptido **80a**, que como se verá a continuación, resultó muy interesante.

5.8.1 Espectroscopía del dipéptido *N*-metil-*Z*-L-Phe-*N*-metil-L-valinato de terbutilo (**80a**).

Debido a que el espectro de RMN ^1H de **80a** muestra gran multiplicidad en sus señales, al principio se sospechó que tanto la Val como la Phe se habían isomerizado durante su conversión química, y en lugar de haberse obtenido únicamente el dipéptido **80a** con configuración (*S*) en sus dos centros quirales, se tenía la mezcla de los cuatro diastereómeros posibles (Figura 29); **80a** (*S,S*); **103** (*S,R*), **104** (*R,R*) y **105** (*R,S*). Cabe mencionar que el diastereómero **104** también posee una relación enantiomérica con **75a**.

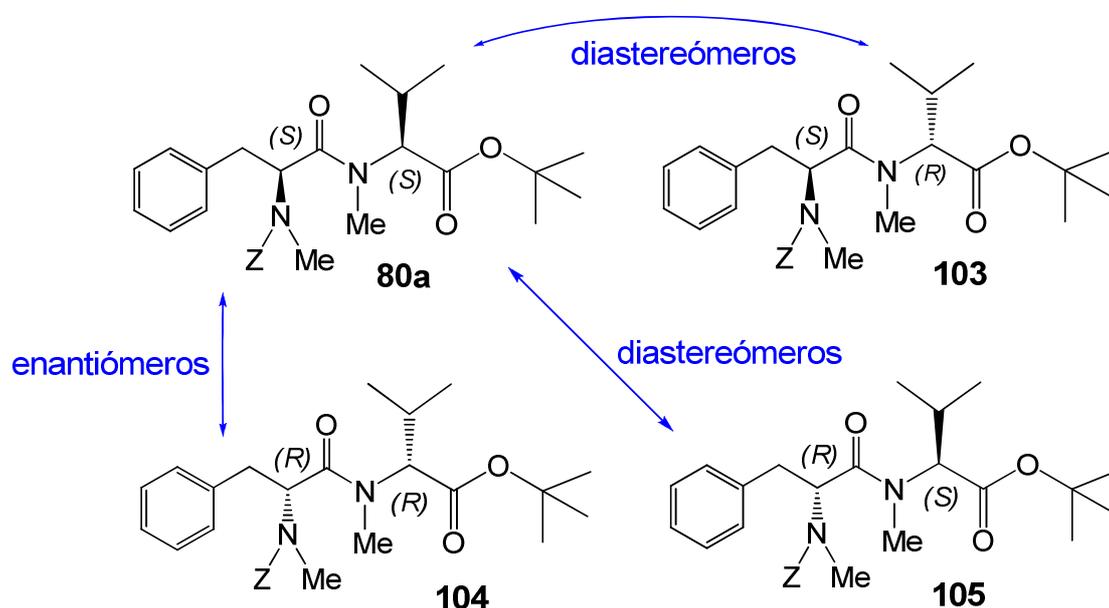


Figura 29. Posibles diastereómeros de **80a**.

Sin embargo, mediante cromatografía en capa fina analítica y preparativa no se detectó ningún indicio que sugiriera la presencia de otros diastereómeros **103** o **105** (lo cual era improbable a menos que nuestro compuesto fuera una mezcla diastereomérica). Al buscar los orígenes de la multiplicidad se encontró en la literatura⁹⁶ que el dipéptido **106** isómero de **80a**, se presenta en un equilibrio dinámico de cuatro rotámeros (Figura 30), de los cuales los autores que obtuvieron el compuesto solamente informan las señales de RMN ¹H del mayoritario.

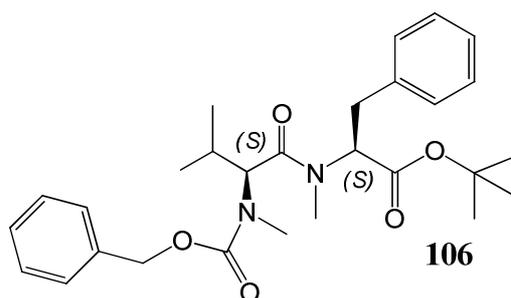


Figura 30. Dipéptido **106**, isómero de **80a**.

Los desplazamientos químicos de las señales presentes en el espectro de RMN ¹H para el dipéptido **80a** son las mostradas en la Tabla 1 (ver también Figura 31), donde se puede observar que con excepción del protón del isopropilo (4), todas las otras señales de los protones se presentan por cuadruplicado. Esto indica claramente la presencia de cuatro rotámeros, tal como sucede para el dipéptido isomérico **106**.

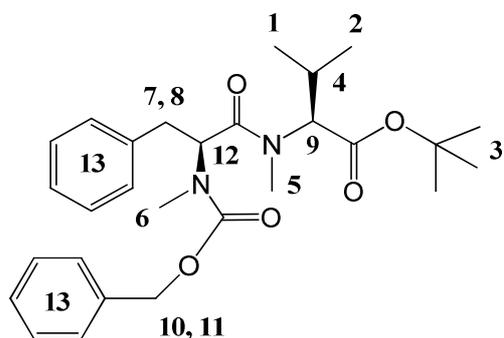


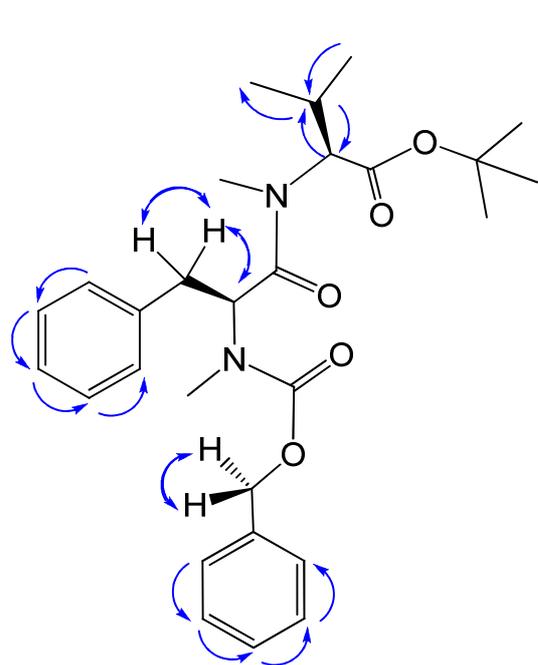
Figura 31. Numeración empleada en el dipéptido **80a** para los datos de RMN ¹H mostrados en la Tabla 1.

Cabe mencionar que el soporte espectroscópico para la propuesta de equilibrio dinámico de los cuatro rotámeros proviene de las observaciones hechas en RMN ^1H , especialmente por la información proporcionada por los experimentos NOESY y EXSY.

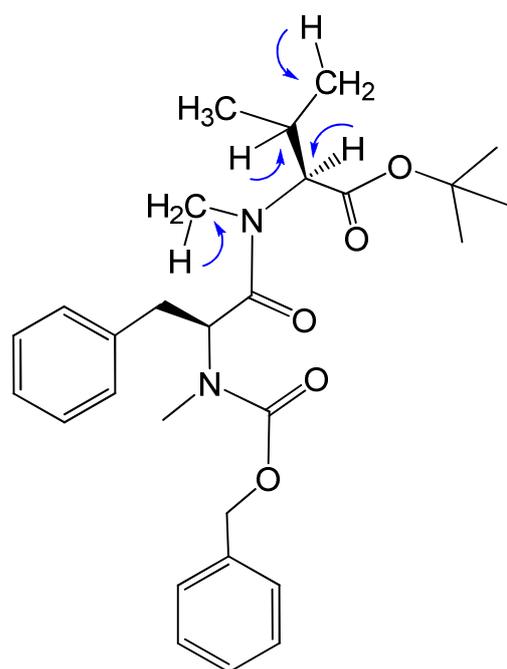
Rotámero \Rightarrow Protón No. \Downarrow	A (35%) δ ppm	B (24%) δ ppm	C (22%) δ ppm	D (19%) δ ppm	Multiplicidad Constantes J
1	0.64	0.64	0.76	0.57	d, 3H, $J= 6.9$
2	0.99	0.97	0.97	0.79	d, 3H, $J= 7.0$
3	1.36	1.37	1.42	1.39	s, 9H
4	2.12	2.12	2.12	2.12	m, 1H
5	2.88	2.80	2.81	2.80	s, 3H
6	2.92	2.89	2.87	2.87	s, 3H
7	2.94	2.95	2.95	2.98	dd, 1H, $J= 15.0, 9.5$
8	3.28	3.12	3.15	3.25	dd, 1H, $J= 15.0, 9.5$
9	4.70	4.16	4.69	3.85	d, 1H, $J= 11.0$
10	5.06	4.94	4.72	4.58	d, 1H, $J_{gem}= - 12.5$
11	5.08	5.17	5.03	4.98	d, 1H, $J_{gem}= - 12.5$
12	5.39	5.34	5.10	5.04	dd, 1H, $J= 9.5, 5.5$
13	7.1-7.4	7.1-7.4	7.1-7.4	7.1-7.4	m, 10H

Tabla 1. Desplazamientos químicos de RMN ^1H (500 MHz, $\text{CDCl}_2\text{CDCl}_2$, δ ppm) para los cuatro rotámeros del dipéptido **80a**.

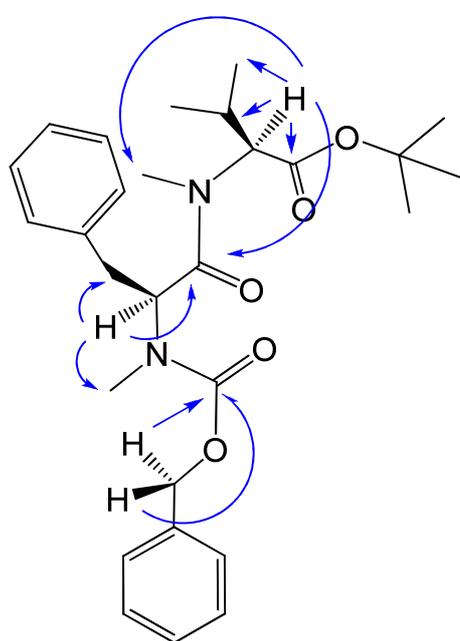
La asignación de los desplazamientos químicos de los diferentes conformeros se realizó con ayuda de los espectros de RMN ^{13}C y RMN ^1H (500 MHz), así como las técnicas bidimensionales de DEPT, COSY,⁹⁷ HSQC,⁹⁸ HMBC⁹⁹ y NOESY¹⁰⁰ (Figura 32).



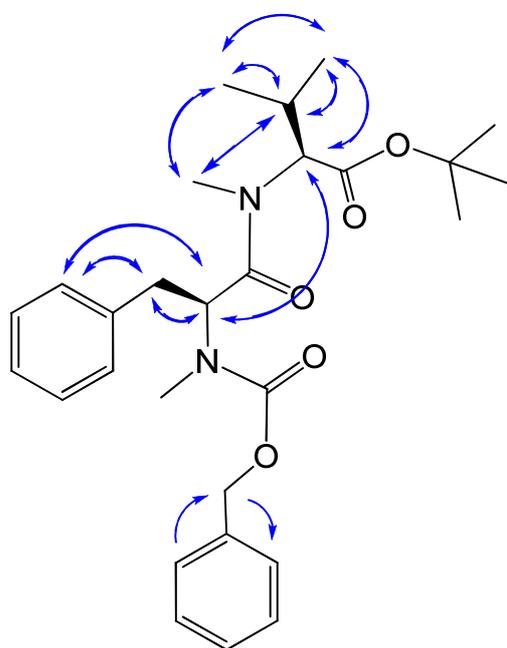
COSY $^2J_{HH}$, $^3J_{HH}$



HSQC $^1J_{CH}$



HMBC $^2J_{CH}$, $^3J_{CH}$



NOESY

Figura 32. RMN bidimensional del dipéptido 80a.

5.8.1.1. Estructuras Canónicas Bipolares.¹⁰¹ El par electrónico libre del nitrógeno en los grupos funcionales amida (y otros como las tioamidas, enaminoacetona, p-aminofenilcetonas, carbamatos, etc), tiende a entrar en resonancia con el carbono del carbonilo, el cual es un ácido de Lewis; lo que crea un doble enlace temporal entre el nitrógeno y el carbono que impide la libre rotación. Al impedirse la libre rotación del enlace se crean las *estructuras canónicas bipolares* ya que poseen en su estructura dos cargas: una positiva y otra negativa. Estas estructuras canónicas son isómeros geométricos *Z*, *E* que en el equilibrio dan origen a los diferentes rotámeros.

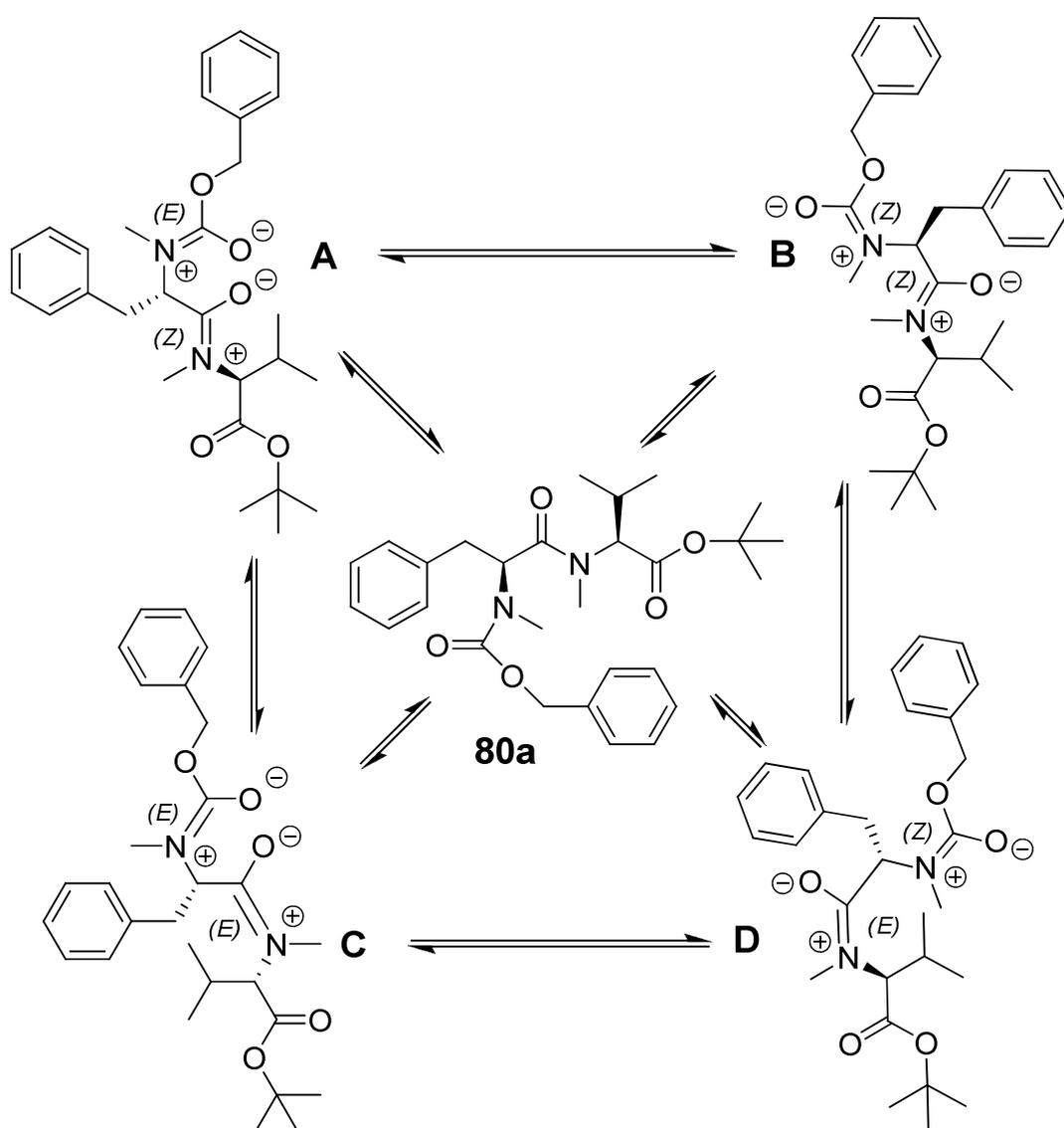


Figura 33. Estructuras canónicas bipolares del dipéptido **80a**.

El dipéptido **80a** posee un grupo funcional amida y un carbamato, cada uno de los cuales produce dos isómeros geométricos (*Z* y *E*, Figura 33), la combinación de los cuatro produce también cuatro estructuras canónicas, que en el equilibrio producen los cuatro rotámeros propuestos A, B, C y D. El rotámero más abundante corresponde a la forma canónica A, en la cual la molécula adopta la conformación que presenta la menor energía.

5.8.1.2. Temperatura de coalescencia (T_c). Una forma espectroscópica de uso ampliamente aceptado para identificar a los rotámeros en RMN ¹H dinámica, es mediante la determinación espectral a diferentes temperaturas hasta determinar la T_c. En la Figura 34 se muestran los espectros de RMN ¹H a diferentes temperaturas para el dipéptido **80a** (ver también apéndice, Figuras 43-48). Es posible observar cómo a medida que la temperatura va aumentando de 25 °C a 100 °C, los diferentes desplazamientos químicos de los cuatro rotámeros se van promediando hasta lograr observarse uno solo, de tal forma que el espectro va perdiendo complejidad.

Las señales en las que resulta más claro observar las coalescencias son los protones 5 y 6 de los *N*-metilos (ver Figuras 31 y 34). Así por ejemplo, a 25 °C el protón 5 presenta tres diferentes señales (2.80, 2.81 y 2.88 ppm), las cuales colapsan en 2.88 ppm a 100 °C. Lo mismo sucede con el grupo *ter*butilo (3) que a 25 °C presenta cuatro diferentes desplazamientos químicos (1.36, 1.37, 1.39 y 1.42 ppm) en tanto que a 100 °C estas señales coalescen en 1.42 ppm. Otra señal importante es la del doblete del protón 9, el cual presenta a 25 °C cuatro desplazamientos químicos muy dispersos entre sí (3.80, 4.10, 4.69 y 4.70 ppm), los cuales coalescen en 4.72 ppm a 100 °C.

También para las otras señales que corresponden a los diferentes tipos de protones presentes en **80a** puede observarse el mismo fenómeno en el espectro a 100 °C. Por lo tanto, para el dipéptido **80a** la T_c es de 100 °C y estos experimentos indicaron que únicamente se había obtenido el diastereómero deseado (*S,S*).

5.8.2. Espectroscopía de la ulongamida A (1).

La estructura de la ulongamida A (1) sintética, se comprobó completamente mediante las diferentes técnicas espectroscópicas. En RMN se realizaron experimentos de ^1H , ^{13}C , DEPT, COSY,⁹⁷ HSQC,⁹⁸ HMBC⁹⁹ y NOESY;¹⁰⁰ los cuales se describirán más adelante. También se realizaron espectroscopía de infrarrojo, análisis elemental y espectrometría de masas de alta resolución mediante la técnica de FAB⁺. En todos los casos los valores encontrados concordaron con los descritos para el producto natural (ver apéndice, Figuras 51-66).

Los espectros de RMN ^1H y ^{13}C para la ulongamida A (1) (Figura 35), mostraron las señales descritas en la Tabla 2 en donde se muestran los valores de los desplazamientos químicos de RMN ^1H y de ^{13}C para la ulongamida A (1). Los datos contienen la información tanto para el producto natural⁴ como para el sintético, siendo los valores prácticamente los mismos.

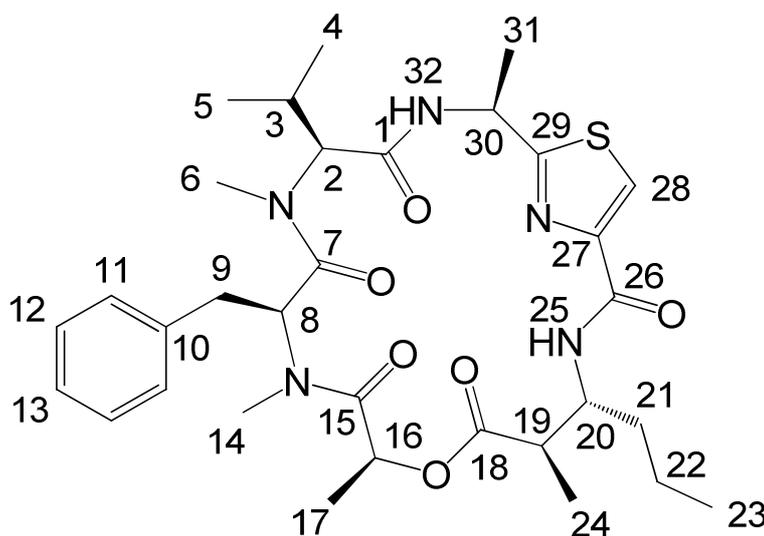


Figura 35. Numeración empleada en la ulongamida A (1) para los datos de RMN ^1H y ^{13}C mostrados en la Tabla 2.

Fragmento	C/H no.	Inf. ^1H (J in Hz)	Exp.	Inf. ^{13}C	Exp.	
<i>N</i> -Met-L-Val (31)	1			167.9	167.9	
	2	4.50, d (10.8)	4.51, d (11.0)	66.2	66.4	
	3	2.33, m	2.33, m	27.2	27.3	
	4	0.59, d (7.0)	0.60, d (7.0)	18.3	18.3	
	5	0.84, d (6.6)	0.85, d (6.4)	19.3	19.3	
	6 <i>N</i> -CH ₃	2.99, s	2.99, s	29.0	29.0	
<i>N</i> -Met-L-Phe (32)	7			170.3	170.4	
	8	6.08, dd (9.4, 5.5)	6.08, dd (9.5, 5.5)	50.7	50.7	
	9a	3.14, dd (-15.2, 5.5)	3.16, dd (-15.0, 5.5)	35.3	35.4	
	9b	3.26, dd (-15.2, 9.4)	3.27, dd (-15.0, 9.5)			
	10			136.1	136.0	
	11	7.16, d (7.2)	7.17, d (7.0)	128.6	128.5	
	12	7.29, m	7.29, t	128.8	128.8	
	13	7.25, m	7.24, t	127.0	127.0	
	14	3.20, s	3.21, s	30.0	30.0	
	<i>N</i> -CH ₃					
	Ácido-L-láctico (35)	15			172.8	172.9
		16	5.15, q (6.6)	5.17, q (7.0)	66.9	67.0
		17	1.33, d (6.6)	1.33, d (6.8)	16.1	16.2
	β -Aminoácido (33)	18			171.9	171.9
19		2.68, dq	2.70, dq	45.2	45.0	
20		4.31, m	4.31, m	51.0	51.0	
21		1.43, m	1.43, m	35.7	35.5	
21		1.54, m				
22		1.43, m	1.43, m	19.6	19.6	
23		0.97, t (7.0)	0.97, t (7.0)	14.0	14.0	
24		1.22, d (6.9)	1.23, d (7.2)	14.6	14.5	
25 NH		8.95, d (10.8)	8.94, d (10.5)			
Aminoácido Tiazólico (34)	26			160.8	160.8	
	27			148.9	149.1	
	28	8.04, s	8.04, s	123.0	122.0	
	29			169.5	169.6	
	30	5.33, quint (6.6)	5.34, quint (6.5)	47.6	47.7	
	31	1.45, d (6.6)	1.46, d (6.8)	24.5	24.5	
	32 NH	8.17, d (6.6)	8.17, d (7.0)			

Tabla 2. Comparación entre las señales informadas para la ulongamida A (1) natural⁴ y la sintética en RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 , δ ppm) y ^{13}C (125 MHz, CDCl_3 , δ ppm).

Las señales debidas al fragmento de la *N*-metil-L-valina (31) son las siguientes (Tabla 2): Los dos metilos estereotópicos del grupo isopropilo se encuentran en δ (ppm) = 0.60 (4) y δ (ppm) = 0.85 (5), se observan como dobletes e integran para tres hidrógenos cada uno. El hidrógeno del carbono base del grupo isopropilo se observa como un multiplete en δ (ppm) = 2.33 (3), y el protón del carbono anomérico se observa como un doblete en δ (ppm) = 4.51 (2); mientras que el *N*-metilo se observa como un singulete en δ (ppm) = 2.99 (6).

Las señales que caracterizan al fragmento de la *N*-metil-L-fenilalanina (32) son las siguientes: La señal en δ (ppm) = 3.21 (14) corresponde a los tres protones del *N*-metilo, los cuales se observan como un singulete. Las señales en δ (ppm) = 3.16 (9a) y δ (ppm) = 3.27 (9b) corresponden a los dos protones bencílicos, estos protones se distinguen porque presentan un sistema ABX con acoplamiento gem y una constante de -15.0 Hz. El protón del carbono anomérico se observa como un doblete de doblete en δ (ppm) = 6.08 (8) ($J = 9.4, 5.5$). Las señales en δ (ppm) = 7.17 (11), δ (ppm) = 7.24 (13) y δ (ppm) = 7.29 (12) corresponden a los dos protones *orto*, al protón *para* y a los dos protones *meta*, respectivamente de la parte aromática.

Las señales debidas al penúltimo fragmento, correspondientes al β -aminoácido (33) son: la señal en δ (ppm) = 0.97 (23) es un triplete que integra para tres hidrógenos y corresponde al grupo metilo terminal de la cadena hidrocarbonada. En δ (ppm) = 1.23 (24) se observa un doblete que integra para tres hidrógenos y corresponde al grupo metilo que se encuentra en el carbono α al grupo carbonilo. La señal en δ (ppm) = 1.43 (21, 22) se observa como un multiplete que integra para cuatro hidrógenos y corresponde a los dos grupos metileno de la cadena hidrocarbonada. La señal en δ (ppm) = 2.70 (19) se observa como un cuadruplete dobleteado que integra para un protón y corresponde al protón α al grupo carbonilo. La señal en δ (ppm) = 4.31 (20) se observa como un multiplete que integra para un hidrógeno y corresponde al protón β al grupo carbonilo, y finalmente la señal en δ (ppm) = 8.94 (25) se observa como un doblete ancho que integra para dos protones y corresponde al hidrógeno de la amida.

Finalmente, las señales correspondientes al fragmento del aminoácido tiazólico (34) se caracterizaron de la siguiente manera: La señal en δ (ppm) = 1.46 (31) es un doblete que integra para tres hidrógenos y corresponde al grupo metilo. La señal en δ (ppm) = 5.34 (30) es un quintuplete que integra para un protón y corresponde al hidrógeno del carbono anomérico. La señal en δ (ppm) = 8.04 (28) es un singulete que integra para un protón y corresponde al hidrógeno del anillo tiazólico, y la señal en δ (ppm) = 8.17 (32) es un doblete ancho que integra para un protón y pertenece al hidrógeno de la amida.

Las señales correspondientes al fragmento del ácido L-láctico (35) son las siguientes: la señal en δ (ppm) = 1.33 (17) es un doblete que integra para tres hidrógenos y corresponde al grupo metilo; y la señal en δ (ppm) = 5.17 (16) se observa como un cuadruplete que integra para un hidrógeno y corresponde al protón del carbono anomérico.

La certeza de las asignaciones anteriores quedó confirmada a través de los experimentos cuya información se representa en las figuras 36-39.

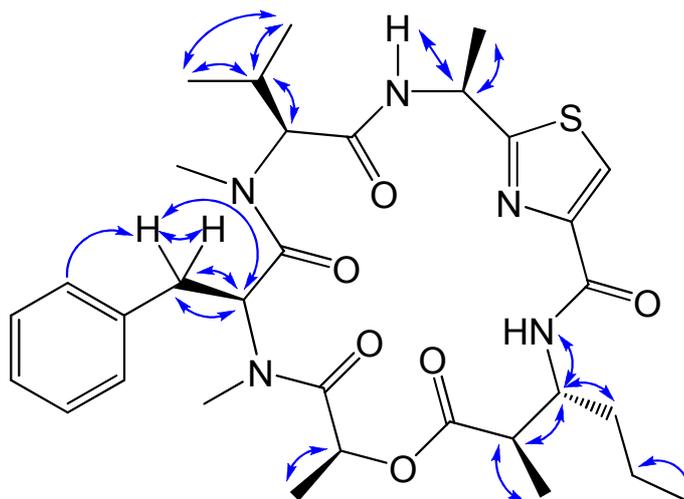
COSY $^3J_{H-H}$ 

Figura 36. COSY de la ulongamida A (1).

El COSY es un experimento bidimensional que correlaciona interacciones homonucleares y que permite observar conectividades protón-protón a dos y tres enlaces. Las flechas mostradas en la Figura 36 representan las interacciones hidrógeno-hidrógeno detectadas mediante este experimento; tales interacciones indican los protones vecinos acoplados que permiten asignar su posición en la molécula.

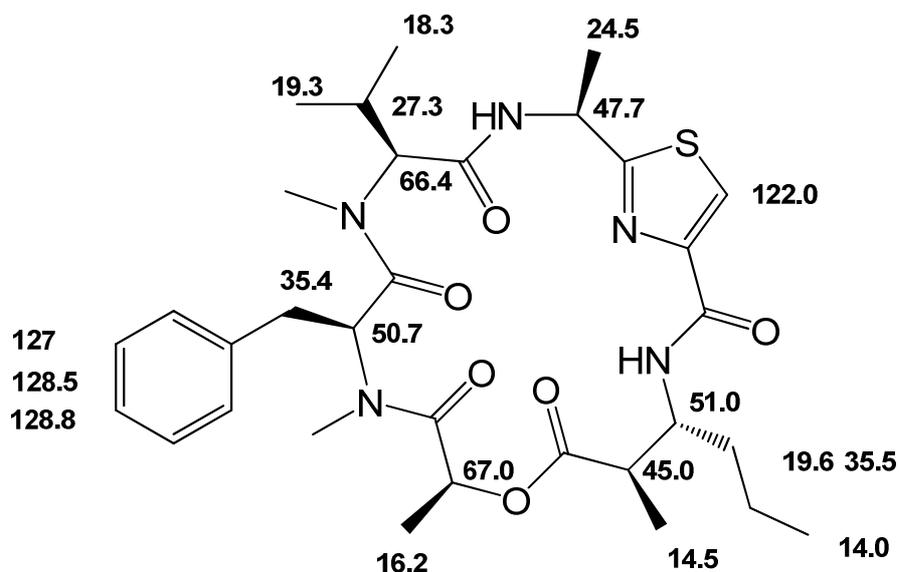
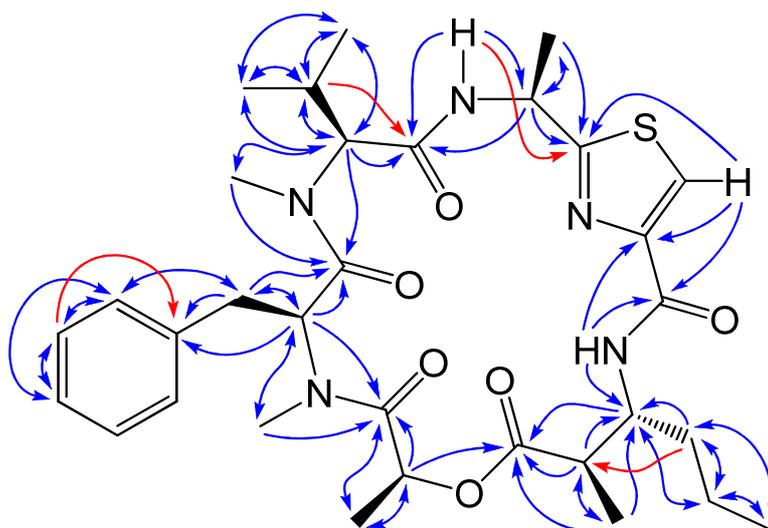
HSQC $^1J_{C-H}$ 

Figura 37. HSQC de la ulongamida A (1).

El HSQC es un experimento heteronuclear bidimensional que permite observar las interacciones carbono-hidrógeno a un enlace de distancia ($^1J_{C-H}$); es decir, permite determinar qué carbonos e hidrógenos se encuentran directamente unidos. Su ventaja es que permite determinar el grado de protonación de cada uno de los carbonos de la molécula. Los carbonos cuaternarios son detectados por comparación con el espectro original obtenido por *Proton Noise decoupling*, aunque no es posible asignarles una posición dentro de la molécula mediante esta técnica. Los carbonos marcados en la Figura 37 son los que este experimento permitió asignar por su interacción con los protones correspondientes.

HMBC ${}^2J_{C-H}$, ${}^3J_{C-H}$ **Figura 38.** HMBC de la ulongamida A (1)

El HMBC es un experimento heteronuclear bidimensional, que permite observar las interacciones carbono-hidrógeno a dos y tres enlaces de distancia (${}^2J_{C-H}$, ${}^3J_{C-H}$). Es un experimento complementario del HSQC, pero es más poderoso, pues es posible asignar la posición de los carbonos cuaternarios o carbonílicos de una molécula, dado que permite hacer conectividades entre los carbonos y los protones presentes en la molécula. En nuestro caso, el experimento HMBC nos permitió también asignar sin ambigüedad la posición de los protones unidos directamente a los átomos de nitrógeno.

NOESY

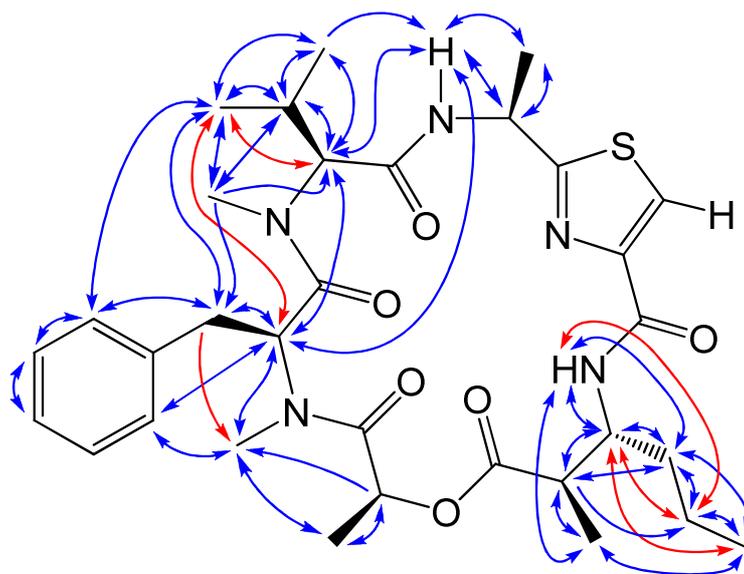


Figura 39. NOESY de la ulongamida A (1).

El NOESY es un experimento homonuclear bidimensional que nos permite observar las interacciones hidrógeno-hidrógeno en el espacio. Para que pueda existir una interacción los protones deben encontrarse a una distancia máxima de entre 2.5-2.8 Å entre sí. Este experimento es muy valioso pues además de corroborar los experimentos COSY y HMBC, permite también establecer o asignar un acomodamiento espacial a la molécula, lo que para una proteína equivaldría a la estructura terciaria, o la estructura tridimensional de menor energía.

5.8.3. Espectroscopía de Infrarrojo. La espectroscopía de infrarrojo mostró prácticamente las mismas señales que el compuesto natural, con la única excepción de la banda en 1672 cm^{-1} . Es posible que esto se deba a una mejor resolución del espectro, pues esta señal corresponde a los grupos carbonilo de amida. La banda en 3321 cm^{-1} es una banda ancha de intensidad media y corresponde a los protones unidos a nitrógeno (N-H). Las bandas en 3118 y 1048 cm^{-1} corresponden al enlace C-H del anillo tiazólico. Las bandas en 2962 , 2934 y 2872 cm^{-1} corresponden a los enlaces C-H. La banda de intensidad alta en 1734 cm^{-1} corresponde al grupo carbonilo del éster y las bandas en 1672 y en 1633 cm^{-1} corresponden a los grupos carbonilo de las amidas. La banda en 1372 cm^{-1} corresponde a los dobles enlaces C=C y C=N y la banda en 856 cm^{-1} corresponde al enlace C-S del anillo tiazólico.

5.8.4. Espectrometría de Masas de Alta Resolución y Análisis Elemental. La espectrometría de masas de alta resolución y el análisis elemental de la ulongamida A (1) sintética también estuvo de acuerdo con la estructura (Figuras 40). Estos experimentos fueron realizados mediante la técnica de FAB⁺ y el ión molecular se encuentra en 628 uma.

[Elemental Composition] Page: 1

Data : Dr-E-Diaz221 Date : 19-Sep-2006 19:04

Sample: 1103 CAS-253

Note : Luis-Velasco

Inlet : Direct Ion Mode : FAB+

RT : 1.24 min Scan#: 7

Elements : C 40/0, H 48/0, O 7/3, N 6/3, S 2/1

Mass Tolerance : 3mmu

Unsaturation (U.S.) : 9.0 - 14.0

Observed m/z	Int%	U.S.	C	H	O	N	S
628.3179	100.0						
Estimated m/z	Error [ppm]						
628.3169	+1.6	13.5	32	46	6	5	1

Informado: HRFABMS m/z [M+H]⁺ 628.3195 (calc for C₃₂H₄₆N₅O₆S, 628.3169)

Figura 40. Análisis Elemental de la ulongamida A (1).

6. CONCLUSIONES.

1. Aunque durante el trabajo experimental se realizaron diversos cambios al diseño de síntesis, éste fue exitoso, pues se obtuvieron los fragmentos planeados, el depsitripéptido **28** y un derivado del dipéptido **29**, el dipéptido **80**, que se unieron de manera convergente y produjeron el depsipentapéptido lineal **97**, el cual al ser desprotegido produjo el depsipentapéptido **30** también planeado, con el cual se logró la ciclación y obtención de la ulongamida A (**1**). El éxito en la ciclación indicó también que el sitio ubicado entre los fragmentos de la valina y el aminoácido tiazólico elegido para llevarla a cabo, fue adecuado.

2. Los cambios más importantes en el diseño de síntesis se hicieron sobre el dipéptido **29**, el primero de ellos fue la *N*-metilación de sus fragmentos componentes la Val y la Phe, que al inicio se realizó mediante el método de Quitt con pérdida de pureza quiral; cambiándose por el método de Benoiton con resultados excelentes. Es importante mencionar que el método de Benoiton se ha convertido actualmente en la forma clásica de *N*-metilación de aminoácidos. El segundo cambio se realizó en los grupos protectores: el dipéptido **29**, segundo fragmento convergente, no pudo ser acoplado con **28** debido a su alta reactividad, esto indicó que la elección del bencilo como grupo protector no había sido la adecuada. Afortunadamente, el cambio del bencilo por el *tert*-butilcarbazato o el éster bencílico produjo los dipéptidos estables **79** y **80** que al ser acoplados con **28**, permitieron obtener los depsipentapéptidos **95** y **97**.

3. En general, la síntesis del depsitripéptido **28** no causó muchos problemas, con excepción de la síntesis del fragmento correspondiente al aminoácido tiazólico **34**, la cual se simplificó al sustituir el ácido propiólico por la L-alanina como material de partida para su síntesis; en tanto que para la síntesis del β -aminoácido **33**, la reacción de Mitsunobu permitió introducir un grupo azido con inversión de la configuración y mejorar la síntesis reportada. Una vez obtenidos los fragmentos componentes, se acoplaron sin grandes problemas mediante DCC, tal como se había planteado en el esquema de síntesis original.

4. La elección del método de ciclación es importante: la ciclación mediante el método de la azida produjo malos resultados, conduciendo principalmente a la reducción del carbonilo en el extremo carboxilo del depsipentapéptido **90** al aldehído **91**. La ciclación y obtención de la ulongamida A (**1**) fue exitosa al cambiar el disolvente por DMF, aumentar la temperatura (80 – 90 °C) y utilizar un agente acoplante, el BOP (**23**), lo cual sugirió la necesidad de proporcionar a la molécula mayor energía y poder nucleofílico para poder ser ciclada. El agente acoplante BOP, resultó ser adecuado para realizar la ciclación final y obtención de la ulongamida A (**1**).
5. Los métodos elegidos para la determinación de la pureza quiral: la rotación óptica y la preparación de derivados fueron una herramienta muy útil e importante, ya que permitieron identificar a la ulongamida A (**1**) con sus centros quirales en la configuración deseada.
6. Se obtuvieron los compuestos **31b**, **33a** y **34a**; los dipéptidos **29a**, **79a** y **80a**; los depsidipéptidos **77** y **78**; los deptsitripéptidos **28** y **28b**; los depsipentapéptidos **95** y **97** y los derivados **98**, **99**, **100**, **101** y **102** no descritos anteriormente y se caracterizaron completamente.
7. La estructura de la ulongamida A (**1**) sintética, se comprobó completamente mediante las diferentes técnicas espectroscópicas. En RMN se realizaron experimentos de ^1H , ^{13}C , DEPT, COSY, HSQC, HMBC y NOESY. También se realizaron espectroscopía de infrarrojo, análisis elemental y espectrometría de masas de alta resolución mediante la técnica de FAB⁺. En todos los casos los valores encontrados concordaron con los descritos para el producto natural.
8. Se caracterizó de forma completa el dipéptido **80a** por RMN 2D, su estructura se presenta en cuatro formas canónicas en solución ($\text{CDCl}_2\text{CDCl}_2$), hecho apoyado por los estudios de RMN ^1H a diferentes temperaturas hasta la coalescencia de las diferentes señales de los protones.

7. PERSPECTIVAS.

El éxito en la síntesis convergente de la ulongamida A (**1**) facilita el camino para la síntesis de las ulongamidas B (**43**) y C (**44**), que podrían ser obtenidas utilizando el mismo diseño sintético.

La síntesis química de depsipéptidos es un campo fértil y en pleno desarrollo que debe ser continuado, ya que muchos de estos compuestos poseen actividades biológicas muy importantes; y por lo tanto, potencial poder farmacológico.

Debido a la importante actividad anticancerígena que presentan algunos depsipéptidos, la modificación y/o síntesis química de éstos, seguida por estudios de la relación estructura actividad, representan un campo de estudio promisorio.

8. PARTE EXPERIMENTAL.

8.1 Métodos Generales.

El progreso de todas las reacciones fue monitoreado por cromatografía en capa fina (CCF), usando como adsorbente gel de sílice 60F₂₅₄ de 0.2 mm de espesor de Merck o Macherey-Nagel. Se usaron como reveladores vapores de yodo y/o lámpara de luz ultravioleta.

Los aminoácidos L-fenilalanina, L-valina, L-alanina **69** y el ácido L-láctico **35** se consiguieron comercialmente de la compañía Aldrich.

La purificación de los productos se hizo por:

- a) Cromatografía en columna utilizando gel de sílice (malla 230-400), como adsorbente, en cantidades de 20 a 50 g de sílice por gramo de compuesto.
- b) Cromatografía en placa preparativa, usando placas preparativas del gel de sílice 60F₂₅₄ de 20 X 20 X 0.2 cm de Merck o Macherey-Nagel.
- c) Cristalización. Las cristalizaciones se realizaron en los disolventes indicados en las técnicas correspondientes.
- d) Destilación a presión normal ó presión reducida.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno (RMN ¹H) se determinaron en un espectrómetro Varian-Gemini a 200 MHz, en un espectrómetro Varian-Unity a 300 MHz ó en un espectrómetro Varian-Inova a 500 MHz. Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de carbono 13 (RMN ¹³C) fueron obtenidos en un espectrómetro Varian-Unity a 125 ó 200 MHz. Los experimentos de Resonancia Magnética en dos dimensiones se determinaron a 500 MHz en un espectrómetro Varian-Inova. Como estándar interno se utilizó tetrametilsilano (TMS); el disolvente utilizado en la mayoría de los casos fue cloroformo deuterado (CDCl₃), a menos que se indique otro en las técnicas respectivas.

Los espectros de masas de baja resolución se determinaron por impacto electrónico a 70 eV. Los de alta resolución y el análisis elemental se realizaron mediante la técnica de FAB⁺. El equipo utilizado para impacto electrónico fue JEOL modelo AX505HA; en tanto que el utilizado para FAB⁺ y análisis elemental fue JEOL modelo JMS-SX102A. El valor del ión molecular se da como M⁺ (m/z) en impacto electrónico y como HRFABMS m/z [M+H]⁺ con la técnica de FAB⁺.

Los espectros de infrarrojo (IR), se determinaron en un espectrofotómetro Nicolet, modelo Magna 750, en película o en pastilla de bromuro de potasio (KBr), utilizando poliestireno para la calibración.

Las rotaciones ópticas fueron determinadas en un polarímetro Perkin Elmer 343 utilizando celdas de 1 decímetro. Para la medición se utilizó la línea D del sodio (589 nm), a la temperatura de 20 °C. Las rotaciones específicas se indican junto con la concentración de la muestra en g/100 mL, así como el disolvente empleado.

Los puntos de fusión se determinaron en un instrumento Büchi 510, y no están corregidos.

Las mediciones de *pH* se realizaron con un potenciómetro MeterLab PHM210 equipado con electrodo de vidrio.

8.2. Métodos de preparación.

Preparación del depsitripéptido (28). Ácido (S)-2-[1-(Boc-amino)etil]tiazol - 4-carboxi-(2R,3R)-3-amino-2-metilhexanoil-L-láctico.

Éster bencílico del ácido L-láctico (35a). En un matraz de fondo redondo de 250 mL equipado con agitador magnético y refrigerante, que contenía ácido L-láctico **35** (23.5 mL, solución al 85 % w/w) se le eliminó el agua a presión reducida, a una temperatura no mayor de 30 °C. Se le adicionó alcohol bencílico **46** (125 mL) y se secó sobre sulfato de

sodio anhidro durante dos horas. Se filtró, se enfrió a 5 – 10 °C, se saturó con HCl (g) y se dejó agitando por dos horas. Se diluyó con CH₂Cl₂ (65 mL), se lavó con solución saturada de NaHCO₃ (2X50 mL) y con agua (100 mL). Se secó con sulfato de sodio anhidro y se destiló a presión reducida reuniendo la fracción con p. eb. 139 – 141 °C / 14 mmHg, obteniéndose un aceite incoloro (21.3 g, 53.2 %), $[\alpha]_D^{20} = -14.3^\circ$ ($c = 2.80$, EtOH), (lit.⁷⁴ $[\alpha]_D^{20} = -14.7^\circ$, $c = 2.80$, EtOH). **IR** (película) ν_{\max} (cm⁻¹) 3449, 2985, 1739, 1455, 1211, 1129, 747. **RMN ¹H** (CDCl₃, 200 MHz) δ (ppm): 1.43 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz); 4.32 (q, 1H, $J = 7.2$ Hz); 5.21 (s, 2H); 7.36 (m, 5H). **EM (IE)** m/z 180 M⁺ (10 %), 91 (100 %).

Ácido (2R,3R)-3-(Boc-amino)-2-metilhexanóico (33a).

(4R,5S)-5-Fenil-4-metil-3-propanoil-2-oxazolidinona (49). En un matraz de fondo redondo de 3 bocas de 250 mL equipado con tubo con drierita, termómetro y septum, se disolvió la (4R,5S)-(+)-4-metil-5-fenil-2-oxazolidinona **47** (22.4 g, 126.4 mmol) en THF seco (150 mL). Se enfrió a -78 °C bajo atmósfera de argón y mientras se agitaba se adicionó lentamente una solución 1.4 molar de n-BuLi (95 mL, 133 mmol). Después de 30 minutos se adicionó lentamente cloruro de propanoilo **48** (12.3 g, 11.5 mL, 133 mmol), se continuó agitando a -78 °C por 30 minutos y después una hora a temperatura ambiente. Se evaporó el THF, se diluyó con acetato de etilo (250 mL) y se lavó con solución saturada de NaHCO₃ (2X50 mL) y con agua (100 mL). Se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente, obteniéndose 27.42 g (93 %) de **49** como un aceite amarillo. $[\alpha]_D^{20} = +43^\circ$ ($c = 2.0$, CH₂Cl₂), (lit.⁷⁶ $[\alpha]_D^{20} = +43^\circ$, $c = 2.0$, CH₂Cl₂). **IR** (película) ν_{\max} (cm⁻¹) 2984, 1782, 1705, 1370, 1200. **RMN ¹H** (CDCl₃, 200 MHz) δ (ppm): 0.90 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz); 1.19 (t, 3H, $J = 7.4$ Hz); 2.96 (m, 2H); 4.77 (quint, 1H, $J = 6.6$ Hz); 5.67 (d, 1H, $J = 7.2$ Hz); 7.2-7.5 (m, 5H). **EM (IE)** m/z 233 M⁺ (45 %), 57 (100 %), 107 (85 %).

(4R,5S)-3-[(2R,3S)-3-Hidroxi-2-metilhexanoil]-5-fenil-4-metil-2-oxazolidinona (50). En un matraz de fondo redondo de 1000 mL equipado con tubo con drierita, termómetro y septum, se disolvió la (4R,5S)-5-fenil-4-metil-3-propanoil-2-oxazolidinona **49** (24.9 g, 106.9 mmol) en 300 mL de diclorometano anhidro. Se enfrió a 0 °C con agitación y bajo atmósfera de argón, se adicionó lentamente solución 1 M de triflato de dibutilboro en

diclorometano (118 mL, 32.23 g, 117.6 mmol) y diisopropiletilamina (DIPEA) (16.57 g, 22.4 mL, 128.3 mmol). Después de 30 minutos se enfrió a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se adicionó lentamente butiraldehído (8.48 g, 10.6 mL, 117.6 mmol). Se mantuvo agitando a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 30 minutos y después por 90 minutos a temperatura ambiente. Se enfrió a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, se adicionó solución 1 N de buffer $\text{pH} = 7$ de fosfatos (250 mL), y luego lentamente solución de metanol-peróxido de hidrógeno (150 mL de H_2O_2 al 50 % y 150 mL de CH_3OH). Se agitó a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ por una hora y se extrajo con acetato de etilo (3X150 mL). Se reunieron los extractos orgánicos y se lavaron consecutivamente con solución saturada de NaHCO_3 (2X100 mL), solución saturada de bisulfito de sodio (2X100 mL) y salmuera (100 mL). Después de secar con sulfato de sodio anhidro y evaporar el disolvente, el residuo se purificó por cromatografía en columna "flash" utilizando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo (80:20). Se obtuvieron 27.38 g (84 %) de **50** como un aceite amarillo. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +1.7^{\circ}$ ($c = 2.0$, CHCl_3), (lit.⁷⁵ $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +1.9^{\circ}$, $c = 2.0$, CHCl_3). IR (película) ν_{max} (cm^{-1}) 3496, 2961, 2937, 2105, 1783, 1696, 1457, 1345, 1237, 1198, 1124, 767. RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm): 0.89 (d, 3H, $J = 6.7$ Hz); 0.95 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz); 1.24 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz); 1.37 (m, 2H); 1.56 (m, 2H); 2.9 (sa, 1H); 3.8 (dq, 1H, $J = 7.0, 2.6$ Hz); 4.0 (m, 1H); 4.8 (quint, 1H, $J = 6.4$ Hz); 5.7 (d, 1H, $J = 7.3$ Hz); 7.2-7.5 (m, 5H). EM (IE) m/z 305 M^+ (10 %), 233 (100 %), 118 (48 %).

Buffer de fosfatos 1 N, $\text{pH} = 7$. En un vaso de precipitados de 1000 mL equipado con agitador magnético se disolvió fosfato diácido de potasio (22.7 g) en agua (900 mL) destilada, la solución se agitó y el pH se ajustó a 7.0 con solución de HCl al 10 % y mediante un potenciómetro. El volumen se completó a 1000 mL con agua destilada.

(4R,5S)-3-[(2R,3R)-3-Azido-2-metilhexanoil]-5-fenil-4-metil-2-oxazolidinona (53). En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 100 mL equipado con tubo con drierita y septum se mezclaron el aldol **50** (4.8 g, 15.74 mmol), tolueno anhidro (30 mL), solución 0.5 N de ácido hidrazóico **57** (35 mL, 17.3 mmol) y trifenilfosfina (4.54 g, 17.3 mmol). Se adicionó lentamente azodicarboxilato de dietilo **56** (3.015 g, 2.75 mL, 17.3 mmol), se agitó por 16 – 18 horas a temperatura ambiente, se filtró y se evaporó el tolueno. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice 230-400), utilizando como eluyente

una mezcla de hexano-acetato de etilo (95:5), obteniéndose 2.24 g (43 %) de **53** como un aceite amarillo pálido. $[\alpha]_D^{20} = +6.9^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3), (lit.⁷⁵ $[\alpha]_D^{20} = +7.0^\circ$, $c = 1.0$, CHCl_3). **IR** (película) ν_{max} (cm^{-1}) 2962, 2937, 2875, 2103, 1784, 1699, 1457, 1344, 1197, 1122, 767. **RMN ^1H** (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm): 0.9 (d, 3H, $J = 6.4$ Hz); 0.98 (t, 3H, $J = 6.7$ Hz); 1.2 (d, 3H, $J = 6.7$ Hz); 1.45 (m, 2H); 1.65 (m, 2H); 3.71 (dt, 1H, $J = 8.8, 3.2$ Hz); 3.85 (m, 1H); 4.83 (quint, 1H, $J = 6.7$ Hz); 5.72 (d, 1H, $J = 7.0$ Hz); 7.2-7.5 (m, 5H). **EM (IE)** m/z 330 M^+ (5 %), 233 (100 %), 118 (90 %).

Solución de ácido hidrazóico 0.5 N.¹⁰² En un matraz de fondo redondo de 3 bocas de 1000 mL equipado con embudo de adición, termómetro y un tubo para salida de gases se colocaron azida de sodio (65 g, 1 mol) y agua tibia (65 mL). La mezcla se agitó hasta formar una pasta, se adicionaron 400 mL de tolueno y se enfrió entre 0 – 5 °C. Se adicionó lentamente ácido sulfúrico concentrado (31 mL, 0.5 mol) sin permitir que la temperatura rebasara los 5 °C. Las fases fueron separadas, la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se tituló con solución de hidróxido de sodio 0.5 N y se guardó en un frasco ámbar bien sellado.

Ácido (2R,3R)-3-amino-2-metilhexanóico (33). En un matraz de fondo redondo se disolvió la oxazolidinona **53** (5 g, 15.15 mmol) en una mezcla de tetrahidrofurano-agua (3:1, 180 mL). Se enfrió a 0 °C y se adicionó lentamente una solución de peróxido de hidrógeno (4 mL al 48 %), seguido de hidróxido de litio monohidratado (1.2 g, 30.3 mmol). Se dejó agitando a 0 °C durante 1 hora, se adicionó solución de bicarbonato de sodio (120 mL, 0.5 molar) y solución de bisulfito de sodio (100 mL, 0.73 molar) y se dejó agitando durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se extrajo con diclorometano (3X50 mL), se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó. El aceite amarillo resultante sin purificar se disolvió en una mezcla de ácido acético-agua (3:1, 20 mL), se le adicionó catalizador de Pd-C al 10 % (450 mg) y se hidrogenizó por 16 – 18 horas. Se filtró a través de celita y se evaporó a sequedad. El producto crudo se purificó por cristalización de acetona-agua obteniéndose 1.93 g (88 %) de **33** como un polvo blanco, p.f. 199 – 200 °C. $[\alpha]_D^{20} = -3.1^\circ$ ($c = 0.23$, H_2O), (lit.⁷⁵ $[\alpha]_D^{20} = -3.1^\circ$, $c = 0.23$, H_2O). **IR** (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 2969, 2923, 2873, 2795, 2661, 2166, 1631, 1583, 1549, 1482, 1388, 1364, 1193,

861. **RMN ¹H** (CD₃OD, 200 MHz) δ (ppm): 0.97 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz), 1.25 (d, 3H, $J = 7.2$ Hz); 1.46 (m, 2H); 1.64 (m, 2H); 2.43 (dq, 1H, $J = 7.4, 5.6$ Hz); 3.1 (q, 1H, $J = 6.8$ Hz). **EM (IE)** m/z 145 M⁺ (8 %), 72 (100 %), 102 (82 %).

Ácido (2R,3R)-3-(Boc-amino)-2-metilhexanóico (33a). En un matraz de fondo redondo de 50 mL se disolvió el β -aminoácido **33** (1.45 g, 10 mmol) en agua (12 mL), y se agregó trietilamina (1.7 mL, 12 mmol). Se adicionó (Boc)₂O (2.18 g, 12 mmol), disuelto en *p*-dioxano (12 mL) y se agitó durante 16 – 18 horas a temperatura ambiente. Se extrajo con diclorometano (2X15 mL), la fase acuosa se aciduló a *pH* de 2-3 con HCl 1 N y se extrajo con diclorometano (4X15 mL). Después de secar con sulfato de sodio anhidro y evaporar el diclorometano, el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice 230-400), utilizando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo (80:20). Se obtuvieron 2.08 g (85 %) de **33a** como un polvo blanco, p.f. 106 – 107 °C. $[\alpha]_D^{20} = +20$ ($c = 0.20$, CHCl₃). **IR** (KBr) ν_{max} (cm⁻¹) 3379, 3207, 2964, 1722, 1689, 1521, 1246, 1171. **RMN ¹H** (CDCl₃, 200 MHz) δ (ppm): 0.92 (t, 3H, $J = 6.8$ Hz), 1.25 (d, 3H, $J = 7.2$ Hz); 1.44 (s, 9H); 1.3-1.55 (m, 4H); 2.7 (m, 1H); 3.75 (m, 1H); 5.05 (da, 1H). **EM (IE)** m/z : 245 M⁺ (1 %), 57 (100 %), 72 (60 %).

Ácido (S)-2-[1-(Boc-amino)etil]tiazol-4-carboxílico (34a).

N-Boc-L-Alanina (72). En un matraz de fondo redondo de 500 mL, se disolvió la L-alanina **69** (10 g, 0.112 mol) en agua (150 mL) y trietilamina (12.5 g, 17.2 mL, 0.123 mol). Se adicionó (Boc)₂O (26.94 g, 0.123 mol), disuelto en *p*-dioxano (150 mL) y se agitó por 16 – 18 horas a temperatura ambiente. Se extrajo con diclorometano (2X50 mL), se aciduló la fase acuosa a *pH* 2-3 con HCl al 10 % y se extrajo con diclorometano (3X50 mL). Se secó la fase orgánica con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente. El producto crudo se purificó por cristalización de diclorometano-hexano, obteniéndose 18.04 g (87 %) de **72** como un polvo blanco, p.f. 78 – 80 °C. $[\alpha]_D^{20} = -1.2$ ($c = 1.0$, CHCl₃). **IR** (KBr) ν_{max} (cm⁻¹) 3545, 3401, 2992, 2945, 1738, 1692, 1665, 1514, 1233, 1163, 864, 788. **RMN ¹H** (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 1.42 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz), 1.45 (s, 9H); 4.34 (m, 1H); 6.6 (sa, 1H). **EM (IE)** m/z : 144 (20 %), 57 (100 %), 44 (62 %), 88 (35 %).

N-Boc-L-Alaninamida (74). En un matraz de fondo redondo de 100 mL, se disolvió la *N*-Boc-L-alanina **72** (5 g, 26.45 mmol) en diclorometano (35 mL). Se enfrió entre -15 – -10 °C, se adicionó trietilamina (1.09 g, 1.5 mL, 29.1 mmol) y se dejó agitando durante 10 minutos. Se adicionó lentamente cloroformiato de etilo (3 mL, 29.1 mmol), se dejó agitando durante 20 – 30 minutos y se filtró. Al filtrado se le adicionó lentamente una solución saturada de amoniaco en diclorometano (70 mL). Se evaporó el disolvente, se diluyó con acetato de etilo (100 mL) y se filtró la amida cruda, la cual se purificó por recristalización con una mezcla de acetato de etilo-hexano. Se obtuvieron 4.5 g (90 %) de **74** como un polvo blanco, p.f. 120 – 122 °C. $[\alpha]_D^{20} = -2.7^\circ$ ($c = 1.0$, EtOH). IR (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 3392, 3555, 3199, 2981, 1685, 1646, 1525, 1254, 1168, 866, 777. RMN ^1H (CD_3OD , 200 MHz) δ (ppm): 1.30 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz), 1.43 (s, 9H); 4.03 (m, 1H, $J = 7.0$ Hz); 6.75 (sa, 2H). EM (IE) m/z : 144 M^+ (53 %), 57 (100 %), 44 (73 %), 86 (43 %).

Tioamida de la N-Boc-L-alanina (73). En un matraz de fondo redondo de 250 mL se disolvieron la *N*-Boc-L-alaninamida **74** (5 g, 26.6 mmol) y el reactivo de Lawesson (4.8 g, 13.75 mmol) en dimetoxietano seco (100 mL). Se agitó a temperatura ambiente durante 16 – 18 horas, se eliminó el disolvente, se diluyó con diclorometano (250 mL) y se lavó con solución acuosa de NaOH al 1 % (100 mL). La fase acuosa se extrajo con diclorometano (2X50 mL), los extractos orgánicos se reunieron, se secaron con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente, El residuo se purificó por cromatografía en columna “flash”, utilizando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo (70:30), obteniéndose 4.6 g (85 %) de **73** como un polvo amarillo pálido, p.f. = descompone entre 180 – 200 °C. $[\alpha]_D^{20} = -62.8^\circ$ ($c = 0.5$, CHCl_3). IR (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 3397, 3313, 3192, 2979, 1662, 1606, 1526, 1252, 1161, 899. RMN ^1H (CD_3OD , 200 MHz) δ (ppm): 1.37 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz); 1.43 (s, 9H); 3.8 (m, 1H). EM (IE) m/z 204 M^+ (67 %), 57 (100 %), 144 (85 %), 44 (78 %).

(S)-2-[1-(Boc-Amino)etil]tiazol-4-carboxilato de etilo (76). En un matraz de fondo redondo de 250 mL se disolvió la tioamida de la *N*-Boc-L-alanina **73** (4.08 g, 20 mmol) en dimetoxietano seco (150 mL). Se enfrió entre -15 – -10 °C, se adicionó bicarbonato de potasio (17.3 g, 173 mmol) y se agitó vigorosamente durante 20 minutos. Se adicionó entonces lentamente bromopiruvato de etilo **61** (8.4 mL, 66.6 mmol) bajo atmósfera de

argón y se dejó agitando durante 30 minutos entre -15 – -10 °C y después durante 60 minutos a temperatura ambiente. Se enfrió nuevamente a -15 – -10 °C y se adicionó anhídrido trifluoroacético (12.6 mL, 89 mmol) y 2,6-lutidina (21.6 mL, 185.5 mmol) disuelta en dimetoxietano (35 mL). Se agitó durante 20 minutos a -15 – -10 °C, y después a temperatura ambiente por 16 – 18 horas. Se evaporó el disolvente, se agregó agua (300 mL) y se extrajo con diclorometano (3X100 mL). La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se evaporó el disolvente y el residuo se purificó por cromatografía en columna “flash”, utilizando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo (80:20). Se obtuvieron 4.62 g (77 %) de **76** como un polvo blanco, p.f. 88 – 89 °C. $[\alpha]_D^{20} = -40.0^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3), (lit.^{80b} $[\alpha]_D^{20} = -39.7^\circ$, $c = 1.0$, CHCl_3). IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3350, 3120, 2980, 2935, 1716, 1514, 1369, 1295, 1243, 1171, 1097, 1058, 1022, 860, 760. RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) δ (ppm): 1.40 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz); 1.45 (s, 9H); 1.63 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz); 4.41 (q, 2H, $J = 7.0$ Hz); 5.1 (m, 1H); 5.18 (sa, 1H); 8.08 (s, 1H). EM (IE) m/z 300 M^+ (3 %), 244 (100 %), 57 (58 %), 199 (34 %).

Ácido (S)-2-[1-(Boc-amino)etil]tiazol-4-carboxílico (34a). En un matraz de fondo redondo de 100 mL se disolvió el (S)-2-[1-(Boc-amino)etil]tiazol-4-carboxilato de etilo **76** (6 g, 20 mmol) en etanol (50 mL). La solución se agitó magnéticamente y se adicionó lentamente solución de hidróxido de sodio 10 N (4 mL, 40 mmol) continuando la agitación por 10 – 15 minutos después de terminadas las adiciones. Se evaporó el etanol y se diluyó con agua (60 mL). Se aciduló con solución 1 N de ácido clorhídrico, se extrajo con diclorometano (3X50 mL), se secó con sulfato de sodio anhidro y se filtró. La solución se decoloró con carbón activo (10 % w/w), se evaporó el disolvente y el residuo se cristalizó de una mezcla de acetato de etilo-hexano obteniéndose 4.51 g (83 %), de **34a** como cristales blancos, p.f. 121 – 122 °C. $[\alpha]_D^{20} = -26.5$ ($c = 1.0$, CHCl_3). IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3360, 2980, 2934, 1693, 1518, 1247, 1173, 1060, 748. RMN- ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) δ (ppm): 1.45 (s, 9H); 1.64 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz); 5.12 (m, 1H); 5.23 (sa, 1H); 8.22 (s, 1H). EM (IE) m/z 272 M^+ (2 %), 216 (100 %), 57 (77 %), 199 (43 %).

Acoplamiento de los fragmentos (33a), (34a) y (35a). Obtención del depsitripéptido (28), primer fragmento convergente de la ulongamida A (1).

Acoplamiento de (35a) con (33a). Obtención del depsidipéptido *N*-desprotegido (78).

(2*R*,3*R*)-3-(Boc-Amino)-2-metilhexanoil-L-lactato de bencilo (77). En un matraz de fondo redondo de 100 mL equipado con tubo con drierita, se disolvieron el β-aminoácido **33a** (2.45 g, 10 mmol), el L-lactato de bencilo **35a** (2 g, 11 mmol) y 4-DMAP (0.12 g, 1 mmol) en diclorometano (50 mL). Se adicionó en una porción DCC **17** (2.24 g, 11 mmol), se agitó por 16 – 18 horas a temperatura ambiente, se filtró y se evaporó el disolvente. Se diluyó con acetato de etilo (100 mL) y se lavó con ácido clorhídrico al 10 % (2X20 mL), con solución saturada de bicarbonato de sodio (2X20 mL) y finalmente con salmuera (50 mL). Se secó la fase orgánica con sulfato de sodio anhidro, se evaporó el disolvente y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice 230-400), utilizando como eluyente una mezcla de acetato de etilo-hexano (90:10). Se obtuvieron 2.85 g (70 %) de **77** como un sólido blanco, p.f. 54 – 56 °C. $[\alpha]_D^{20} = +4.2^\circ$ ($c = 0.5$, CHCl₃). IR (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3377, 2979, 2957, 1744, 1683, 1524, 1458, 1187, 1133, 1100. RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) δ (ppm): 0.89 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz); 1.21 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz); 1.30-1.44 (m, 4H); 1.44 (s, 9H); 1.51 (d, 3H, $J = 7.2$ Hz); 2.72 (m, 1H), 3.72 (m, 1H); 5.15 (q, 1H, $J = 7.4$ Hz); 5.16 (s, 2H); 5.26 (sa, 1H); 7.25-7.35 (m, 5H). EM (IE) m/z 407 M⁺ (1 %), 91 (100 %), 116 (63 %), 57 (60 %).

(2*R*,3*R*)-3-Amino-2-metilhexanoil-L-lactato de bencilo (78). En un matraz de fondo redondo de 50 mL, se disolvió el compuesto **77** (4.07 g, 10 mmol) en diclorometano (30 mL). Se adicionó ácido trifluoroacético (6 mL, 80 mmol) en una sola porción y se agitó por 1 hora a temperatura ambiente. Se evaporó el disolvente, se diluyó con acetato de etilo (100 mL) y se lavó con solución saturada de bicarbonato de sodio (2X20 mL) y con salmuera (50 mL). Se secó la fase orgánica con sulfato de sodio anhidro, se evaporó el disolvente y el residuo se purificó por cromatografía en columna “flash”, utilizando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo-trietilamina (49.5:50:0.5). Se obtuvieron 2.76 g (88 %), de **78** como un polvo blanco amorfo. $[\alpha]_D^{20} = -26.7^\circ$ ($c = 0.3$, CHCl₃). IR

(KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 3380, 2960, 2937, 1738, 1684, 1457, 1202, 1132, 1099. **RMN ^1H** (CDCl_3 , 200 MHz) δ (ppm): 0.94 (t, 3H, $J = 6.7$ Hz); 1.39 (d, 3H, $J = 7.2$ Hz); 1.52 (d, 3H, $J = 7.2$ Hz); 1.40-1.90 (m, 4H); 3.1 (m, 1H); 3.6 (m, 1H), 5.1-5.3 (m, 3H); 7.2-7.5 (m, 5H); 8.52 (sa, 2H). **EM (IE)** m/z 307 M^+ (5 %), 72 (100 %), 91 (62 %), 264 (13 %).

Acoplamiento del depsidipéptido *N*-desprotegido (78) con (34a).

(S)-2-[1-(Boc-Amino)etil]tiazol-4-carboxi - (2R,3R)-3-amino-2-metilhexanoil-L-lactato de bencilo (28b). En un matraz de fondo redondo de 100 mL equipado con tubo con drierita, se disolvieron el depsidipéptido *N*-desprotegido **78** (3.07 g, 10 mmol), el aminoácido tiazólico **34a** (2.99 g, 11 mmol) y 4-DMAP (120 mg, 1 mmol) en diclorometano (30 mL). Se agregó la DCC **17** (2.24 g, 11 mmol) en una sola porción y se dejó agitando por 16 – 18 horas a temperatura ambiente. Se filtró y evaporó el disolvente, el residuo se diluyó con acetato de etilo (100 mL) y se lavó sucesivamente con solución 1 N de ácido clorhídrico (2X20 mL), con solución saturada de bicarbonato de sodio (2X20 mL) y con salmuera (50 mL). Después de secar con sulfato de sodio anhidro y evaporar el disolvente, el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice 230-400), utilizando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo (70:30). Se obtuvieron 3.93 g (70 %) de **28b** como un sólido blanco amorfo. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -7.0^\circ$ ($c = 0.5$, AcOEt). **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 3307, 2977, 2936, 1738, 1715, 1660, 1542, 1496, 1455, 1368, 1249, 1175, 1132, 1098, 1056, 755. **RMN ^1H** (CDCl_3 , 200 MHz) δ (ppm): 0.90 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz); 1.23 (d, 3H, $J = 7.2$ Hz); 1.3-1.7 (m, 4H); 1.45 (m, 9H); 1.53 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz); 1.57 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz); 2.84 (dq, 1H, $J = 7.4, 3.8$ Hz); 4.31 (m, 1H), 5.05 (m, 1H); 5.10-5.30 (m, 4H); 7.33 (m, 5H); 7.9 (sa, 1H); 8.01 (s, 1H). **EM (IE)** m/z 561 M^+ (10 %), 270 (100 %), 326 (60 %), 91 (40 %).

Ácido (S)-2-[1-(Boc-amino)etil]tiazol-4-carboxi - (2R,3R)-3-amino-2-metilhexanoil-L-láctico (28). Se siguieron las condiciones de hidrogenólisis antes descritas usando un matraz de hidrogenación de 125 mL, el depsitripéptido **28b** (5.6 g, 10 mmol), acetato de etilo (50 mL) y catalizador de Pd-C al 10 % (0.84 g) durante 16 – 18 horas. Después de filtrar sobre celita y evaporar el disolvente, se obtuvieron 4.09 g (87 %), de **28** como polvo blanco amorfo. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +3.3^\circ$ ($c = 0.3$, CHCl_3). **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 3315, 3119, 2978,

2937, 1727, 1655, 1549, 1498, 1249, 1215, 1175, 1099, 757. **RMN ^1H** (CDCl_3 , 200 MHz) δ (ppm): 0.91 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz); 1.29 (d, 3H, $J = 7.2$ Hz); 1.3-1.8 (m, 4H); 1.51 (s, 9H); 1.57 (d, 3H, $J = 7.2$ Hz); 1.61 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz), 2.86 (dq, 1H, $J = 7.2, 3.8$ Hz); 4.32 (m, 1H); 4.93 (quint, 1H, $J = 6.0$ Hz); 5.34 (q, 1H, $J = 7.0$ Hz); 7.9 (sa, 1H); 8.1 (s, 1H); 8.38 (sa, 1H). **EM (IE)** m/z 471 M^+ (2 %), 20 (100 %), 326 (60 %), 252 (37 %).

Preparación de los dipéptidos (29), (79) y (80).

Dipéptido (29a). *N*-Metil-Boc-L-Phe-*N*-metil-L-valinato de bencilo.

N-Metil-L-valinato de bencilo (31a).

***N*-Boc-L-Valina (81).** En un matraz de fondo redondo de 1000 mL, se disolvieron la L-valina (20 g, 0.171 mol) y trietilamina (16.2 mL, 188.1 mmol) en agua (200 mL). Se adicionó $(\text{Boc})_2\text{O}$ (44.8 g, 188.1 mmol) disuelto en *p*-dioxano (200 mL) y se agitó durante 16 – 18 horas. Se concentró en un rotavapor a aproximadamente la mitad del volumen, se acidificó con HCl al 10 % a un *pH* de 2-3 y se extrajo con acetato de etilo (3X150 mL). Los extractos orgánicos se lavaron con salmuera (100 mL), se secaron con sulfato de sodio anhidro y el disolvente se evaporó. Se obtuvieron 33.5 g (90.5 %) de **81** como un aceite amarillo pálido. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -5.2^\circ$ ($c = 0.94$, EtOH), (lit.⁸⁶ $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -5.3^\circ$, $c = 0.94$, EtOH). **IR** (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3309, 3105, 2977, 2937, 2888, 1711, 1648, 1408, 1277, 1163. **RMN ^1H** (CDCl_3 , 200 MHz) δ (ppm): 0.94 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz); 1.00 (d, 3H, $J = 7.2$ Hz); 1.45 (s, 9H), 2.1-2.3 (m, 1H); 4.26 (dd, 1H, $J = 9.0, 4.6$ Hz); 5.02 (sa, 1H, $J = 9.0$ Hz); 9.38 (sa, 1H). **HRFABMS** m/z 218 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 162 (100 %), 116 (43 %), 57 (40 %).

***N*-Metil-Boc-L-valina (83).** En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 250 mL equipado con septum, termómetro y tubo con drierita, se disolvió la *N*-Boc-L-valina **81** (20 g, 92.16 mmol) en THF seco (120 mL) y se agregó yoduro de metilo (48 mL, 737 mmol). Se enfrió entre 0 – 5 °C y se adicionó hidru ro de sodio (11.1 g al 60 % en aceite mineral, 0.276 mol) en porciones, sin permitir que la temperatura rebase los 5 °C, se agitó

entre 0 – 5 °C por una hora y después por 16 – 18 h horas a temperatura ambiente. Se filtró, se evaporó el THF, se diluyó con agua (200 mL) y se extrajo con diclorometano (2X100 mL). Se aciduló la fase acuosa a *pH* 2-3 con HCl al 10 % y se extrajo nuevamente con diclorometano (3X100 mL). Se reunieron los extractos orgánicos ácidos, se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente, obteniéndose 19 g (89.0 %) de *N*-metil-Boc-L-valina **83** como un aceite amarillo. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -85^{\circ}$ ($c = 0.5$, EtOH), (lit.¹⁰³ $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -85^{\circ}$, $c = 0.5$, EtOH). IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3161, 2973, 2936, 2878, 1742, 1700, 1670, 1479, 1369, 1154. RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) δ (ppm): 0.93 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz); 1.05 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz); 1.46 (s, 9H), 2.1-2.3 (m, 1H); 2.84 (s, 3H); 4.03, 4.29 (d, 1H, $J = 6.8$ Hz). HRFABMS *m/z* 232 [M+H]⁺, 176 (100 %), 131 (43 %), 57 (40 %).

***N*-Metil-Boc-L-valinato de bencilo (84)**. En un matraz de fondo redondo de 500 mL se disolvieron la *N*-metil-Boc-L-valina **83** (20 g, 86.6 mmol) y trietilamina (48.3 mL, 346 mmol) en dimetilformamida (190 mL). Se enfrió entre 0 – 5 °C, se adicionó bromuro de bencilo (32 mL, 259.8 mmol) y se agitó durante 16 – 18 horas. Se adiciono agua destilada (300 mL), se filtró y se extrajo con acetato de etilo (3X100 mL). La fase orgánica se lavó con HCl al 10 % (2X100 mL), con agua (2X100 mL) y con salmuera (100 mL). Se secó la fase orgánica con sulfato de sodio anhidro y el disolvente se evaporó. El producto se purificó por cromatografía en columna “flash” utilizando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo (90:10), obteniéndose 23.34 g (84 %) de **84** como un aceite amarillo pálido. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -81.3^{\circ}$ ($c = 0.5$, EtOH). IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 2971, 2934, 2877, 1740, 1698, 1454, 1391, 1369, 1312, 1257, 1146. RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) δ (ppm): 0.89 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz); 0.95 (d, 3H, $J = 6.4$ Hz); 1.42,1.44 (s, 9H); 2.1-2.3 (m, 1H); 2.76, 2.83 (s, 3H); 4.15, 4.50 (d, 1H, $J = 10.4$ Hz); 5.16 (s, 2H); 7.34 (m, 5H). HRFABMS *m/z* 322 [M+H]⁺, 91 (100 %), 222 (91 %), 266 (58 %), 130 (52 %), 57 (40 %).

***N*-Metil-L-valinato de bencilo (31a)**. En un matraz de fondo redondo de 100 mL se disolvió el *N*-metil-Boc-L-valinato de bencilo **84** (10 g, 31.15 mmol) en diclorometano (50 mL). Se enfrió entre 0 – 5 °C, se adicionó ácido trifluoroacético y se agitó a temperatura ambiente por 30 minutos. Se evaporó el disolvente y el exceso de ácido trifluoroacético, se adicionó agua con hielo (250 mL), se basificó con solución saturada de bicarbonato de

sodio hasta un *pH* de 8-9 y se extrajo con diclorometano (3X100 mL). La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y el disolvente se evaporó. Se obtuvieron 6.6 g (96 %) de **31a** como un aceite amarillo pálido. $[\alpha]_D^{20} = -5.08^\circ$ ($c = 1.18$, CHCl_3), (lit.⁸⁷ $[\alpha]_D^{20} = -5.13^\circ$, $c = 1.18$, CHCl_3). **IR** (película) ν_{max} (cm^{-1}) 3031, 2965, 2715, 2470, 2366, 1741, 1469, 1391, 1212, 993. **RMN ^1H** (CDCl_3 , 200 MHz) δ (ppm): 0.92 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz); 0.96 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz); 1.9-2.1 (m, 1H); 2.38 (s, 3H); 3.00 (d, 1H, $J = 10.2$ Hz); 5.18 (s, 2H); 7.1-7.3 (m, 5H). **EM (IE)** m/z 221 M^+ , 44 (100 %), 86 (37 %), 129 (14 %).

N-Metil-Boc-L-fenilalanina (32a).

N-Boc-L-Fenilalanina (82). En un matraz de fondo redondo de 1000 mL, se disolvieron la L-fenilalanina (20 g, 121.2 mmol) y trietilamina (11.5 mL, 133.3 mmol) en agua (200 mL). Se adicionó $(\text{Boc})_2\text{O}$ (31.75 g, 133.3 mmol) disuelto en dioxano (200 mL) y se agitó durante 16 – 18 horas. Se concentró en rotavapor a aproximadamente la mitad del volumen, se acidificó con HCl al 10 % a un *pH* de 2-3 y se extrajo con acetato de etilo (3X200 mL). Los extractos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron con sulfato de sodio anhidro y el disolvente se evaporó. El producto crudo se purificó por cristalización de una mezcla de acetato de etilo-hexano, obteniéndose 29.87 g (93 %) de **82** como polvo blanco, p.f. 85 – 87 °C (lit.¹⁰⁴ p.f. 85 – 87 °C). $[\alpha]_D^{20} = +25.3^\circ$ ($c = 1.0$, EtOH), (lit.¹⁰⁵ $[\alpha]_D^{20} = +25.2^\circ$, $c = 1.0$, EtOH). **IR** (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3432, 3321, 3065, 3030, 2980, 2933, 1716, 1499, 1396, 1368, 1252, 1166, 757, 701. **RMN ^1H** (CDCl_3 , 200 MHz) δ (ppm): 1.42 (s, 9H); 2.80-3.30 (m, 2H); 4.60, 4.94 (d, 1H, $J = 6.6$ Hz); 6.40 (sa, 1H); 7.1-7.4 (m, 5H); 8.85 (sa, 1H). **EM (IE)** m/z 265 M^+ (1 %), 148 (100 %), 57 (90 %), 91 (55 %).

N-Metil-Boc-L-fenilalanina (32a). En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 500 mL equipado con septum, termómetro y tubo con drierita, se disolvió la N-Boc-L-fenilalanina **82** (10 g, 37.73 mmol) en THF seco (100 mL) y se agregó yoduro de metilo (82.7 mL, 1.27 mol). Se enfrió entre 0 – 5 °C y se adicionó hidruro de sodio (19.1 g al 60 % en aceite mineral, 0.477 mol) en porciones, sin permitir que la temperatura rebasara los 5 °C, se agitó entre 0 – 5 °C por una hora y de spués por 16 – 18 horas a temperatura ambiente. Se filtró, se evaporó el THF, se diluyó con agua (300 mL) y se extrajo con

diclorometano (2X100 mL). Se aciduló la fase acuosa a *pH* 2-3 con HCl al 10 % y se extrajo nuevamente con diclorometano (3X100 mL). Se reunieron los extractos orgánicos ácidos, se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente. La purificación se hizo por cristalización de una mezcla de acetato de etilo-hexano, obteniéndose 37.04 g (87.7 %) de *N*-metil-Boc-*L*-fenilalanina **32a** como un sólido blanco, p.f. 167 – 168 °C (lit.¹⁰⁶ p.f. 168 – 170 °C). $[\alpha]_D^{20} = -67.2^\circ$ ($c = 2.15$, CHCl₃), (lit.⁸⁵ $[\alpha]_D^{20} = -67.5^\circ$, $c = 2.15$, CHCl₃). **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3063, 3028, 2984, 2943, 1741, 1650, 1447, 1395, 1341, 1258, 1227, 1157. **RMN** ¹H (CDCl₃, 200 MHz) δ (ppm): 1.34, 1.40 (s, 9H); 2.68, 2.75 (s, 3H); 2.90-3.40 (m, 2H); 4.63, 4.81 (dd, 1H, $J = 11, 4.6$ Hz); 5.9 (sa, 1H); 7.10-7.40 (m, 5H). **EM (IE)** m/z 279 M⁺ (1 %), 57 (100 %), 88 (85 %), 178 (35 %).

Acoplamiento de los fragmentos (31a) y (32a). Obtención del dipéptido (29a).

***N*-Metil-Boc-*L*-Phe-*N*-metil-*L*-valinato de bencilo (29a).** En un matraz de fondo redondo de 100 mL equipado con tubo con drierita, se disolvieron el éster bencílico de la *N*-metil-*L*-valina **31a** (2.21 g, 10 mmol), la *N*-metil-Boc-*L*-fenilalanina **32a** (2.79 g, 10 mmol) y la DMAP (122 mg, 0.1 mmol) en diclorometano (50 mL). Se adicionó la dicitclohexilcarbodiimida **17** (2.27 g, 11 mmol), en una porción. Se agitó por 16 – 18 horas a temperatura ambiente. Se filtró, se evaporó el disolvente y se diluyó con acetato de etilo (100 mL). Se lavó con solución 1 N de HCl (2 X 20 mL), con solución saturada de bicarbonato de sodio (2X20 mL) y con salmuera (50 mL). Se secó la fase orgánica con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice 230-400), utilizando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo (70:30). Se obtuvieron 3.6 g (57 %) de **29a** como un aceite amarillo pálido. $[\alpha]_D^{20} = -149.2^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl₃). **IR** (película) ν_{\max} (cm⁻¹) 2939, 1740, 1714, 1645, 1458, 1388, 1363, 1315, 1157, 1139, 752, 710. **RMN** ¹H (CDCl₃, 200 MHz) δ (ppm): 0.44, 0.81 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz); 0.79, 0.98 (d, 3H, $J = 7.2$ Hz); 1.40, 1.44 (s, 9H); 2.10-2.30 (m, 1H); 2.85 (s, 3H); 2.91 (s, 3H); 2.90-3.50 (m, 2H); 4.51, 4.59 (d, 1H, $J = 10.8$ Hz); 5.03, 5.10 (s, 2H); 5.38, 5.51 (dd, 1H, $J = 9.0, 5.4$ Hz); 7.10-7.40 (m, 10H). **HRFABMS** m/z 482 [M+H]⁺, 91 (100 %), 375 (85 %).

Dipéptido (79). *N*-Metil-L-Phe-*N*-metil-L-Val [*N'*-(Boc)]-hidrazida.***N*-Metil-Z-L-fenilalanina (31b).**

***N*-Z-L-Fenilalanina (87).** En un matraz de fondo redondo de 3 bocas de 500 mL, equipado con embudo de adición y termómetro, se disolvió la L-fenilalanina (20 g, 0.121 mol) en solución acuosa de hidróxido de sodio 2 N (60.5 mL, 0.121 mol). Se enfrió entre 0 – 5 °C y se adicionaron simultáneamente de forma lenta y con una jeringa, cloroformiato de bencilo (19.8 mL, 0.133 mol); y mediante un embudo de adición y también de forma lenta, una solución acuosa de hidróxido de sodio 2 N (66.6 mL, 0.133 mol). Se agitó entre 0 – 5 °C por 30 minutos y después por 16 – 18 horas a temperatura ambiente. Se extrajo con diclorometano (2X50 mL), se aciduló la fase acuosa a *pH* 2-3 con HCl al 10 % y se extrajo nuevamente con diclorometano (3X100 mL). Se reunieron los extractos orgánicos, se secó con sulfato de sodio anhidro, se evaporó el disolvente y el residuo se purificó por cristalización de una mezcla de acetato de etilo-hexano. Se obtuvieron 31.40 g (83 %) de *N*-Z-L-fenilalanina **87** como un sólido blanco, p.f. 86 – 88 °C (lit.¹⁰⁷ p.f. 87 – 88 °C). $[\alpha]_D^{20} = +5.05^\circ$ ($c = 5$, AcOH), (lit.^{108b} $[\alpha]_D^{20} = +5.05^\circ$, $c = 5$, AcOH). IR (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3412, 3320, 3064, 3031, 1718, 1518, 1453, 1346, 1259, 1218, 1056, 755, 699. RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) δ (ppm): 3.07 (dd, 2H, $J_{AX} = 5.0$ Hz, $J_{BX} = 7.2$ Hz, $J_{\text{gem}} = -13.8$ Hz); 4.57 (m, 1H); 4.99 (d, 1H, $J_{\text{gem}} = -12.2$ Hz); 4.3 (sa, 1H); 7.0-7.4 (m, 10H); 8.42 (sa, 1H). EM (IE) m/z 299 M⁺ (1 %), 91 (100 %), 148 (20 %), 181 (10 %).

***N*-Metil-Z-L-fenilalanina (32b).** En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 500 mL equipado con septum, termómetro y tubo con drierita, se disolvió la *N*-Z-L-fenilalanina **87** (29.9 g, 0.10 mol) en THF seco (200 mL) y se agregó yoduro de metilo (65 mL, 0.8 mol). Se enfrió entre 0 – 5 °C y se agregó en porciones hidruro de sodio (12 g al 60 % en aceite mineral, 0.3 mol), sin permitir que la temperatura rebase los 5 °C. Se agitó por una hora y después por 16 – 18 horas a temperatura ambiente. Se filtró y evaporó el THF, se diluyó con agua (300 mL) y se extrajo con diclorometano (2X100 mL). La fase acuosa se aciduló a *pH* 2-3 con HCl al 10 % y se extrajo con diclorometano (3X100 mL). Se reunieron los extractos orgánicos, se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente. El

residuo se purificó por cristalización de acetato de etilo-hexano obteniéndose 29.2 g (93 %) de la *N*-metil-*Z*-*L*-fenilalanina **32b** como un aceite amarillo pálido. $[\alpha]_D^{20} = -65.9^\circ$ ($c = 1.8$, EtOH), (lit.⁹⁰. $[\alpha]_D^{20} = -67.0^\circ$, $c = 1.8$, EtOH). IR (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 3325, 3062, 3032, 1694, 1530, 1297, 1262, 1228, 1051, 736, 699. RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 2.78 (s, 3H); 2.90-3.50 (m, 2H); 4.90 (m, 1H); 5.06 (d, 2H, $J_{\text{gem}} = -12.3$ Hz); 7.10-7.40 (m, 10H); 9.16 (sa, 1H). EM (IE) m/z 313 M⁺ (1 %), 91 (100 %), 165 (17 %), 178 (15 %).

***N*-Metil-*L*-valin [*N*'-(Boc)]-hidrazida (31b).**

***N*-*Z*-*L*-Valina (86).** En un matraz de fondo redondo de 3 bocas de 500 mL equipado con embudo de adición y termómetro, se disolvió la *L*-valina (20 g, 0.171 mol) en solución acuosa de hidróxido de sodio 2 N (85.4 mL, 0.171 mol). Se enfrió entre 0 – 5 °C y se adicionaron simultáneamente por una de las bocas del matraz, de forma lenta y con una jeringa, cloroformiato de bencilo (26.6 mL, 0.179 mol); y por otra de las bocas, mediante un embudo de adición y también de forma lenta, una solución acuosa de hidróxido de sodio 2 N (90 mL, 0.179 mol). Se agitó entre 0 – 5 °C por 30 minutos y después por 16 – 18 horas a temperatura ambiente. Se extrajo con diclorometano (2X50 mL), se aciduló la fase acuosa a *pH* 2-3 con HCl al 10 % y se extrajo nuevamente con diclorometano (3X100 mL). Los extractos orgánicos se reunieron, se secaron con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente. El residuo se purificó por cristalización de una mezcla de acetato de etilo-hexano, obteniéndose 40.70 g (95 %) de *N*-*Z*-*L*-valina **86** como un sólido blanco, p.f. 62 – 64 °C (lit.¹⁰⁹ 60 – 62 °C). $[\alpha]_D^{20} = +6.3^\circ$ ($c = 4.0$, CHCl₃), (lit.^{108a} $[\alpha]_D^{20} = +6.5^\circ$ ($c = 4.0$, CHCl₃)). IR (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 3452, 3160, 2979, 2936, 1742, 1700, 1670, 1392, 1154. RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) δ (ppm): 0.93 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz); 1.05 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz); 2.1-2.4 (m, 1H); 4.34 (d, 1H, $J = 10.6$ Hz); 5.18 (s, 2H); 7.2-7.5 (m, 5H). EM (IE) m/z 251 M⁺ (3 %), 91 (100 %), 71 (43 %), 114 (14 %).

***N*-Metil-*Z*-*L*-valina (88).** En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 500 mL equipado con septum, termómetro y tubo con drierita, se disolvió la *N*-*Z*-*L*-valina **86** (40 g, 0.159 mol) en THF seco (200 mL) y se agregó yoduro de metilo (82.7 mL, 1.27 mol). Se enfrió entre 0 – 5 °C y se adicionó hidruro de sodio (19.1 g al 60 % en aceite mineral,

0.477 mol) en porciones, sin permitir que la temperatura rebasara los 5 °C, se agitó entre 0 – 5 °C por una hora y después por 16 – 18 horas a temperatura ambiente. Se filtró, se evaporó el THF, se diluyó con agua (300 mL) y se extrajo con diclorometano (2X100 mL). Se aciduló la fase acuosa a *pH* 2-3 con HCl al 10 % y se extrajo nuevamente con diclorometano (3X100 mL). Se reunieron los extractos orgánicos, se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente. La purificación se hizo por cristalización de una mezcla de acetato de etilo-hexano, obteniéndose 37.04 g (87.7 %) de *N*-metil-Z-L-valina **88** como un sólido blanco, p.f. 67 – 68 °C (lit.⁸³ 68 – 69 °C). $[\alpha]_D^{20} = -83.6^\circ$ ($c = 1.0$, EtOH), (lit.⁸³ $[\alpha]_D^{20} = -82.6^\circ$; $c = 1.0$, EtOH). IR (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3160, 2972, 2936, 1742, 1700, 1670, 1392, 1154. RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) δ (ppm): 0.93 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz); 1.05 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz); 2.1-2.4 (m, 1H); 2.98 (s, 3H); 4.34 (d, 1H, $J = 10.2$ Hz); 5.18 (s, 2H); 7.2-7.5 (m, 5H). EM (IE) m/z 265 M⁺ (5 %), 91 (100 %), 86 (45 %), 129 (15 %).

***N*-Metil-Z-L-valin [*N'*-(Boc)]-hidrazida (90).** En un matraz de fondo redondo de 100 mL se disolvió la *N*-metil-Z-L-valina **88** (5.3 g, 20 mmol), el hidroxibenzotriazol **18** (2.7 g, 20 mmol) y el carbazato de *tert*-butilo **89** (2.64 g, 20 mmol) en diclorometano (60 mL). Se enfrió entre 0 – 5 °C y se adicionó la dicitclohexilcarbodiimida **17** (4.3 g, 20 mmol), disuelta en diclorometano (15 mL), en tres porciones, con intervalos de 10 minutos entre cada una. Se agitó por 30 minutos entre 0 – 5 °C y después por 16 – 18 horas a temperatura ambiente. Se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo se disolvió en acetato de etilo (100 mL), se lavó con solución 1 N de HCl (2X20 mL), con solución saturada de bicarbonato de sodio (2X20 mL) y finalmente con agua (40 mL). Se secó la fase orgánica con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente. El producto se purificó por cristalización de una mezcla de acetato de etilo-hexano, obteniéndose 5.72 g (82 %) de la *N*-metil-Z-L-valin [*N'*-(Boc)]-hidrazida **90** como cristales blancos, p.f. = 91 – 93 °C. $[\alpha]_D^{20} = -82.3^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl₃). IR (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3281, 3038, 2968, 1730, 1681, 1665, 1456, 1367, 1180, 1160. RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) δ (ppm): 0.89 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz); 0.99 (d, 3H, $J = 6.4$ Hz); 1.45 (s, 9H); 2.32 (m, 1H); 2.92 (s, 3H); 4.16 (d, 1H, $J = 11.0$ Hz); 5.17 (s, 2H); 6.32 (sa, 1H); 7.35 (m, 5H); 7.94 (sa, 1H). EM (IE) m/z 248 (31 %), 91 (100 %), 176 (26 %), 57 (27 %).

N-Metil-L-valin [*N*'-(Boc)]-hidrazida (31b). En un matraz de hidrogenación de 125 mL, se disolvió la *N*-metil-Z-L-valin [*N*'-(Boc)]-hidrazida **90** (7.6 g, 20 mmol) en metanol (30 mL) y se le agregó catalizador de Pd-C al 10 % (1.14 g). La reacción de hidrogenólisis tardó 16 – 18 horas. Se filtró a través de celita y se evaporó el disolvente. El producto se purificó por cristalización de una mezcla de acetato de etilo-hexano obteniéndose 4.32 g (88 %), de **31b** como polvo blanco, p.f. 143 – 144 °C. $[\alpha]_D^{20} = -60.8^\circ$ ($c = 0.5$, CHCl₃). IR (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3331, 3248, 2980, 2938, 1741, 1670, 1529, 1369, 1293, 1279, 1242, 1167. RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) δ (ppm): 0.96 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz); 1.02 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz); 1.48 (s, 9H); 2.10 (m, 1H); 2.46 (s, 3H); 2.9 (d, 1H, $J = 4.8$ Hz); 6.42 (sa, 1H); 8.65 (sa, 1H). EM (IE) m/z 245 M⁺ (3 %), 86 (100 %), 57 (15 %), 146 (8 %).

Acoplamiento de los fragmentos (31b) y (32b). Obtención del dipéptido (79).

N-Metil-Z-L-Phe-N-metil-L-Val [*N*'-(Boc)]-hidrazida (79a). En un matraz de fondo redondo de 100 mL equipado con tubo con drierita, se disolvieron la *N*-Metil-L-valin [*N*'-(Boc)]-hidrazida **31b** (2.45 g, 10 mmol), la *N*-metil-Z-L-fenilalanina **32b** (3.44 g, 11 mmol) y HOBt **18** (1.49 g, 11 mmol) en diclorometano (50 mL). Se enfrió entre 0 – 5 °C y se adicionó la dicitclohexilcarbodiimida **17** (2.27 g, 11 mmol), disuelta en diclorometano (15 mL); en tres porciones, con intervalos de 10 minutos entre cada una. Se agitó por 30 minutos a 0 – 5 °C y después por 16 – 18 horas a temperatura ambiente. Se filtró, se evaporó el disolvente y se diluyó con acetato de etilo (100 mL). Se lavó con solución 1 N de HCl (2X20 mL), con solución saturada de bicarbonato de sodio (2X20 mL) y con salmuera (50 mL). Se secó la fase orgánica con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice 230-400), utilizando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo (70:30). Se obtuvieron 1.78 g (57 %) de **79a** como un aceite amarillo pálido. $[\alpha]_D^{20} = -157.7^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl₃). IR (película) ν_{\max} (cm⁻¹) 3284, 2967, 2935, 1739, 1699, 1632, 1476, 1456, 1162, 751. RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) δ (ppm): 0.42, 0.78 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz); 0.77, 0.97 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz); 1.43, 1.45 (s, 9H); 2.26 (m, 1H); 2.86 (s, 3H); 2.90 (s, 3H); 2.90-3.40 (m, 2H); 4.52, 4.58 (d, 1H, $J = 12.2$ Hz); 5.04, 5.11 (s, 2H); 5.40, 5.53 (t, 1H, $J = 7.2$ Hz); 6.17 (sa, 1H); 7.10-7.40

(m, 10H); 7.60-7.68 (da, 1H, $J = 3.0$ Hz). **HRFABMS** m/z 541 $[M+H]^+$, 91 (100 %), 409 (92 %).

***N*-Metil-L-Phe-*N*-metil-L-Val [N[′]-(Boc)]-hidrazida (79) y *N*-metil-L-Phe-*N*-metil-L-valinato de terbutilo (80).** Como se menciona en la discusión de resultados, los compuestos **79** y **80** una vez obtenidos eran acoplados inmediatamente con el depsitripéptido **28** por lo cual no se obtuvieron sus constantes físicas y espectroscópicas. Para la reacción de acoplamiento los compuestos **79** y **80** se utilizaron en un exceso de 0.5 equivalentes.

En un matraz de hidrogenación de 100 mL se disolvió el dipéptido *N*-protegido **79a** o **80a** (5 mmol) en metanol (30 mL) y se agregó el catalizador de Pd-C al 10 % (260 mg). La hidrogenólisis fue completa en aproximadamente 1 – 1.5 horas (seguir la reacción por CCF). Se filtró a través de celita y se evaporó el disolvente a sequedad, dejando el residuo obtenido al menos por una hora en la bomba de alto vacío antes de utilizarlo en la siguiente reacción.

Dipéptido (80). *N*-Metil-L-Phe-*N*-metil-L-valinato de terbutilo.

RUTA I.

***N*-Metil-Z-L-valinato de terbutilo (92).** En un matraz de fondo redondo de 250 mL enfriado a -78 °C (baño de hielo seco-acetona) que contenía una mezcla de la *N*-metil-Z-L-valina **88** (5.30 g, 20 mmol) y 12 gotas de H₂SO₄ concentrado en diclorometano (25 mL), se condensaron 60 mL de 2-metilpropeno **91**. El matraz se selló perfectamente con un tapón de vidrio o teflón para evitar la pérdida del alqueno, y se agitó a temperatura ambiente durante 7 días. Antes de abrir el matraz, éste se enfrió nuevamente en un baño de hielo seco-acetona por aproximadamente 10 minutos y se vació el contenido sobre una solución 1 N de bicarbonato de sodio (70 mL). Se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo con diclorometano (2X50 mL). Se reunieron los extractos orgánicos, se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente. El residuo se purificó por

cromatografía en columna (gel de sílice 230-400) utilizando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo (95:5). Se obtuvieron 4.94 g (77 %) de **92** como un aceite amarillo pálido. $[\alpha]_D^{20} = -78.5^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3), (lit.^{88b} $[\alpha]_D^{20} = -78.6^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3)). **IR** (película) ν_{max} (cm^{-1}) 2971, 1731, 1706, 1453, 1399, 1369, 1307, 1216, 1166, 1143, 985, 698. **RMN ^1H** (CDCl_3 , 200 MHz) δ (ppm): 0.86, 0.89 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz); 0.96, 1.01 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz); 1.43, 1.45 (s, 9H); 2.16 (m, 1H); 2.91 (s, 3H); 4.19, 4.37 (d, 1H, $J = 10.7$ Hz); 5.17 (s, 2H); 7.35 (m, 5H). **EM (IE)** m/z 321 M^+ (6 %), 57 (100 %), 91 (80 %).

N-Metil-L-valinato de terbutilo (31c). En un matraz de hidrogenación de 125 mL, se disolvió el éster terbutílico de *N*-metil-Z-L-valina **92** (6.42 g, 20 mmol) en metanol (30 mL) y se agregó catalizador de Pd-C al 10 % (0.963 g). La reacción de hidrogenólisis tardó 16 – 18 horas. Se filtró a través de celita y se evaporó el disolvente a una temperatura no mayor de 30 °C y una presión no menor de 20 mmHg durante 20 minutos debido a que el éster es muy volátil. Se obtuvieron 2.7 g (72 %) de **31c** como un líquido incoloro. $[\alpha]_D^{20} = +3.7^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3), (lit.^{92b} $[\alpha]_D^{20} = +4.4^\circ$, $c = 1.0$, CHCl_3). **IR** (película) ν_{max} (cm^{-1}) 3344, 2970, 2936, 1727, 1477, 1457, 1368, 1252, 1155, 798. **RMN ^1H** (CDCl_3 , 200 MHz) δ (ppm): 0.93 (d, 3H, $J = 7.0$); 0.97 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz); 1.49 (s, 9H); 1.87 (m, 1H); 2.37 (s, 3H); 2.77 (d, 1H, $J = 6.2$ Hz). **HRFABMS m/z** 188 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 73 (100 %), 136 (81 %), 57 (31 %).

*NOTA: Debido a su alta volatilidad este compuesto no se pudo purificar adecuadamente, por lo que la cantidad de disolvente residual de un lote a otro puede variar y consecuentemente los valores de la rotación óptica y el rendimiento.

Acoplamiento de los fragmentos (31c) y (32b). Obtención del dipéptido (80).

N-Metil-Z-L-Phe-N-metil-L-valinato de terbutilo (80a). En un matraz de fondo redondo de 100 mL, se disolvieron la *N*-metil-Z-L-fenilalanina **32b** (3.13 g, 10 mmol), el *N*-metil-L-valinato de terbutilo **31c** (1.9 g, 11 mmol) y trietilamina (1.5 mL, 1.11 g, 11 mmol) en diclorometano (50 mL). Se enfrió entre 0 – 5 °C y se adicionó BOP **21** (4.86 g, 11 mmol), en tres porciones con intervalos de 10 minutos entre cada una. Se agitó entre 0 – 5 °C por

30 minutos y después a temperatura ambiente por 16 – 18 horas. Se evaporó el disolvente y el semisólido resultante se redisolvió en acetato de etilo (100 mL). Se lavó con solución 1 N de ácido clorhídrico (2X20 mL), con solución saturada de bicarbonato de sodio (2X20 mL) y con salmuera (40 mL). Se secó la fase orgánica con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna utilizando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo (70:30). Se obtuvieron 2.80 g (58 %) de **80a** como un aceite amarillo pálido. $[\alpha]_D^{20} = -145.1^\circ$ ($c = 1.0$ CHCl₃). IR (película) ν_{\max} (cm⁻¹) 2969, 2935, 1730, 1704, 1655, 1453, 1398, 1369, 1305, 1157, 1134, 752, 700. RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) δ (ppm): 0.57, 0.64, 0.76 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz); 0.79, 0.97, 0.99 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz); 1.36, 1.37, 1.39, 1.42 (s, 9H); 2.12 (m, 1H); 2.80, 2.81, 2.88 (s, 3H); 2.87, 2.89, 2.92 (s, 3H); 2.94, 2.95, 2.98 (dd, 1H, $J = -13.5, 7.0$ Hz); 3.12, 3.15, 3.25, 3.28 (dd, 1H, $J = -13.5, 7.0$ Hz); 3.85, 4.16, 4.70, 4.72 (m, 1H); 4.58, 4.69, 4.94, 5.06 (d, 1H, $J = -12.0$ Hz), 4.98, 5.03, 5.08, 5.17 (d, 1H, $J = -12.0$ Hz); 5.04, 5.10, 5.34, 5.39 (dd, 1H, $J = 8.5, 5.5$ Hz); 7.10-7.40 (m, 10H). ¹³C (CDCl₃, 125 MHz) δ (ppm): (18.39, 18.80, 18.83, 19.08); (19.20, 19.60, 19.79, 19.86); (27.20, 27.58, 27.62, 27.92); (27.92, 27.97); (29.32, 29.55, 29.73, 30.10); (29.55, 31.02); (35.50, 35.70, 37.56); (56.40, 56.80, 57.65, 57.78); (62.80, 65.30, 65.38); (67.32, 67.36, 67.60, 67.70); (81.27, 81.50, 82.20); (127.68, 128.22); (136.00, 136.50, 136.60); (137.20, 137.60); (154.60, 155.50, 155.86, 156.28); (169.16, 169.30, 169.70, 169.75); (169.90, 170.20, 170.60). HRFABMS m/z 483 [M+H]⁺, 57 (100 %), 223 (34 %), 296 (30 %).

RUTA II.

N-Z-L-Valinato de terbutilo (93). En un matraz de fondo redondo de 250 mL enfriado a -78 °C (baño de hielo seco-acetona) que contenía la mezcla de la N-Z-L-valina **86** (5.02 g, 20 mmol) y 12 gotas de H₂SO₄ concentrado en diclorometano (25 mL), se condensaron 60 mL de 2-metilpropeno **91**. El matraz se selló perfectamente con un tapón de vidrio o teflón para evitar la pérdida del alqueno y se agitó a temperatura ambiente por 7 días. Antes de abrir el matraz, éste se enfría en el baño de hielo seco-acetona por aproximadamente 10 minutos y se vacía su contenido en una solución 1 N de bicarbonato de sodio (70 mL). Se

separaron las fases y la acuosa se extrajo nuevamente con diclorometano (2X50 mL). Se reunieron los extractos orgánicos, se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice 230-400) utilizando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo (95:5). Se obtuvieron 4.42 g (72 %) de **93** como un aceite amarillo pálido. $[\alpha]_D^{20} = -16.9^\circ$ ($c = 1.2$, EtOH). **IR** (película) ν_{\max} (cm^{-1}) 3350, 2970, 2935, 1721, 1524, 1369, 1222, 1156, 1093, 1028, 698. **RMN ^1H** (CDCl_3 , 200 MHz) δ (ppm): 0.89 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz); 0.96 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz); 1.46 (s, 9H); 2.15 (m, 1H); 4.19 (dd, 1H, $J = 9.0, 4.2$ Hz); 5.11 (s, 2H); 5.27 (da, 1H); 7.36 (m, 5H). **HRFABMS m/z** 308 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 91 (100 %), 252 (81 %), 208 (23 %).

L-Valinato de terbutilo (31d). Se siguió la técnica ya descrita para **31c** usando un matraz de hidrogenación de 125 mL, el éster terbutílico de la *N*-Z-L-valina **93** (6.14 g, 20 mmol), metanol (30 mL) y catalizador de Pd-C al 10 % (0.92 g) por 16 – 18 horas. Se filtró sobre celita y se evaporó el disolvente a una temperatura no mayor de 30 °C y una presión no menor de 20 mmHg durante 20 minutos debido a que el éster es muy volátil. Se obtuvieron 2.66 g (77 %) de **31d** como un líquido incoloro. $[\alpha]_D^{20} = +20.6^\circ$ ($c = 5.3$, AcOEt), (lit.⁹³ $[\alpha]_D^{20} = +20.6^\circ$, $c = 5.3$, AcOEt). **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 3271, 2964, 2877, 1734, 1640, 1551, 1371, 1150. **RMN ^1H** (CDCl_3 , 200 MHz) δ (ppm): 0.88 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz); 0.96 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz); 1.45 (s, 9H); 2.00 (m, 1H); 3.17 (d, 1H, $J = 4.8$ Hz). **EM (IE) m/z** 173 M^+ (1 %), 57 (100 %), 97 (70 %), 73 (42 %).

*NOTA: Ver nota en la preparación de **31c**.

Acoplamiento de los fragmentos (31d) y (32b). Obtención del dipéptido (80).

N-Metil-Z-L-Phe-L-valinato de terbutilo (94). En un matraz de fondo redondo de 100 mL, se disolvieron la *N*-metil-Z-L-fenilalanina **32b** (6.26 g, 20 mmol), el hidroxibenzotriazol **18** (2.7 g, 20 mmol) y el L-valinato de terbutilo **31d** (3.46 g, 20 mmol) en diclorometano (60 mL). Se enfrió entre 0 – 5 °C y se adicionó la dicitclohexilcarbodiimida **17** (4.3 g, 20 mmol) disuelta en diclorometano (15 mL) en tres porciones, con intervalos de 10 minutos entre cada adición. Se agitó por 30 minutos entre 0 – 5 °C y después por 16 – 18 horas a

temperatura ambiente. Se filtró, se evaporó el disolvente y se diluyó con acetato de etilo (100 mL). Se lavó con solución 1 N de HCl (2X20 mL), con solución saturada de bicarbonato de sodio (2X20 mL) y finalmente con salmuera (50 mL). Se secó la fase orgánica con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente para dar 8.14 g (87 %) de **94** como un aceite amarillo pálido. $[\alpha]_D^{20} = -48.0^\circ$ ($c = 0.2$, CHCl_3). IR (película) ν_{max} (cm^{-1}) 3339, 2969, 2935, 1731, 1689, 1500, 1454, 1395, 1369, 1313, 1217, 1145, 750, 699. RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) δ (ppm): 0.81 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz); 0.89 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz); 2.11 (m, 1H); 2.80 (s, 3H); 3.00-3.40 (m, 2H); 4.40 (d, 1H, $J = 10.4$ Hz); 4.80-5.20 (m, 3H); 6.54 (da, 1H, $J = 3.4$ Hz); 7.10-7.40 (m, 10H). EM (IE) m/z 468 M+ (1 %), 91 (100 %), 224 (65 %), 298 (20 %).

N-Metil-Z-L-Phe-N-metil-L-valinato de terbutilo (80a). En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 100 mL equipado con septum, termómetro y tubo con drierita, se disolvió el dipéptido **94** (4.7 g, 10 mmol) en THF seco (50 mL) y se agregó yoduro de metilo (5.2 mL, 80 mmol). Se enfrió entre 0 – 5 °C y se adicionó hidruro de sodio (1.4 g al 60 % en aceite mineral, 35 mmol) en porciones, sin permitir que la temperatura rebasara los 5 °C. Se agitó entre 0 – 5 °C por una hora y después por 16 – 18 h horas a temperatura ambiente. Se filtró y se evaporó el THF; se disolvió el residuo en acetato de etilo (100 mL) y se lavó con solución 1 N de HCl (2X20 mL), con solución saturada de bisulfito de sodio (2X20 mL) y con salmuera (40 mL). Se secó la fase orgánica con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente para dar 4.1 g (85 %) de **80a** como un aceite amarillo pálido.

Acoplamiento del depsitripéptido (28) con los dipéptidos (79) y (80). Obtención de la ulongamida A (1).

Depsipentapéptido (95). En un matraz de fondo redondo de 10 mL, se disolvieron el depsitripéptido **28** (236 mg, 0.5 mmol), el dipéptido *N*-desprotegido **79** (305 mg, 0.75 mmol) y la trietilamina (77 μL , 56 mg, 0.55 mmol) en diclorometano (5 mL). Se enfrió a 0 °C y se adicionó el BOP **21** (244 mg, 0.55 mmol), en tres porciones con intervalos de 10 minutos entre cada una. Se agitó entre 0 – 5 °C por 30 minutos y después a temperatura

ambiente por 16 – 18 horas. Se evaporó el disolvente y el semisólido resultante se redisolvió en acetato de etilo (20 mL). Se lavó con solución 1 N de ácido clorhídrico (2X5 mL), con solución saturada de bicarbonato de sodio (2X5 mL) y con salmuera (5 mL). Se secó la fase orgánica con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente. El producto se purificó por cromatografía en placa preparativa utilizando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo (70:30), obteniéndose 220 mg (51 %) de **95** como un sólido blanco amorfo. $[\alpha]_D^{20} = -11.9^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3). IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3299, 2974, 2935, 1716, 1652, 1541, 1493, 1246, 1168, 1079. RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 0.35, 0.96 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz); 0.75, 0.90 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz); 0.92 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz); 1.20, 1.22 (d, 3H, $J = 7.2$ Hz); 1.37, 1.43 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz); 1.42 (m, 2H); 1.44 (s, 9H); 1.45 (s, 9H); 1.55 (m, 2H); 1.57 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz); 2.26, 2.28 (m, 1H); 2.80 (m, 1H); 2.82, 2.90 (s, 3H); 3.02, 3.34, 2.85, 3.34 (m, 2H); 3.08, 3.17 (s, 3H); 4.32 (m, 1H); 4.20, 4.49 (d, 1H, $J = 11.0$ Hz); 5.05 (m, 1H); 5.30 (m, 1H); 5.75, 5.92 (m, 1H); 7.20 (m, 5H); 8.03 (s, 1H). RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 13.80, 16.50, 18.40, 19.50, 19.58, 21.40, 25.40, 28.00, 28.30, 30.60, 34.90, 35.70, 48.70, 50.80, 54.50, 64.13, 67.00, 80.30, 81.57, 123.10, 126.60, 128.40, 129.30, 136.80, 150.30, 154.70, 154.90, 161.00, 169.70, 170.60, 171.80, 174.00. HRFABMS m/z 859 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 274 (100 %), 270 (65 %), 326 (50 %).

Depsipentapéptido (97). En un matraz de fondo redondo de 10 mL, se disolvieron el depsitripéptido **28** (236 mg, 0.5 mmol), el dipéptido *N*-desprotegido **80** (261 mg, 0.75 mmol) y la trietilamina (77 μL , 56 mg, 0.55 mmol) en diclorometano (5 mL). Se enfrió a 0 $^\circ\text{C}$ y se adicionó el BOP **21** (244 mg, 0.55mmol), en tres porciones con intervalos de 10 minutos entre cada una. Se agitó entre 0 – 5 $^\circ\text{C}$ por 30 minutos y después a temperatura ambiente por 16 – 18 horas. Se evaporó el disolvente y el semisólido resultante se redisolvió en acetato de etilo (20 mL). Se lavó con solución 1 N de ácido clorhídrico (2X5 mL), con solución saturada de bicarbonato de sodio (2X5 mL) y con salmuera (5 mL). Se secó la fase orgánica con sulfato de sodio anhidro, se evaporó el disolvente y se purificó el compuesto por cromatografía en placa preparativa utilizando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo (70:30). Se obtuvieron 221 mg (55 %) de **97** como un sólido blanco amorfo. $[\alpha]_D^{20} = -18^\circ$ ($c = 1.0$, CHCl_3). IR (película) ν_{max} (cm^{-1}) 3318, 2966, 2931, 1730, 1651, 1543, 1494, 1456, 1368, 1271, 1250, 1170, 1079, 1057, 862, 755. RMN ^1H

(500 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 0.34, 0.96 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz); 0.75, 0.91 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz); 0.92 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz); 1.20, 1.24 (d, 3H, $J = 7.2$ Hz); 1.37, 1.43 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz); 1.42 (m, 2H); 1.44 (s, 9H); 1.46 (s, 9H); 1.54 (m, 2H); 1.56 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz); 2.26, 2.28 (m, 1H); 2.80 (m, 1H); 2.82, 2.90 (s, 3H); 3.02, 3.34, 2.85, 3.34 (m, 2H); 3.07, 3.17 (s, 3H); 4.31 (m, 1H); 4.19, 4.49 (d, 1H, $J = 11.0$ Hz); 5.05 (m, 1H); 5.33 (m, 1H); 5.75, 5.92 (m, 1H); 7.20 (m, 5H); 8.02 (s, 1H). **RMN ^{13}C** (125 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 13.88, 16.48, 18.36, 19.54, 19.57, 21.42, 25.39, 28.01, 28.31, 30.59, 34.90, 35.75, 48.75, 50.82, 54.47, 64.12, 67.05, 80.34, 81.35, 123.00, 126.50, 128.40, 129.30, 136.84, 150.19, 154.70, 154.85, 161.20, 169.62, 170.66, 171.83, 174.13. **EM (IE)** m/z 801 M^+ (2 %), 216 (100 %), 487 (72 %), 270 (70 %).

Ulongamida A (1). En un matraz de fondo redondo de 10 mL se disolvió el depsipentapéptido **97** (160 mg, 0.2 mmol) en diclorometano (3 mL) y se le agregó ácido trifluoroacético (1 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por una hora y se evaporó el disolvente a sequedad, primero en el rotavapor y después se dejó por una hora en bomba de alto vacío. El sólido resultante se disolvió en un matraz de fondo redondo de tres bocas de 250 mL equipado con refrigerante, termómetro y septum, con DMF anhidra (160 mL) y se le adicionó trietilamina (140 μL , 0.101 g, 1 mmol) y BOP **21** (353 mg, 0.8 mmol). La temperatura de la reacción se ajustó a 80 – 90 $^\circ\text{C}$ y se dejó agitando por 16 – 18 horas. Se evaporó el disolvente a sequedad, se diluyó con acetato de etilo (20 mL) y se lavó sucesivamente con solución 1 N de HCl (2x5 mL), con solución saturada de bicarbonato de sodio (2x5 mL) y con salmuera (5 mL). Se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente. El residuo se purificó por cromatografía en placa preparativa utilizando como eluyente una mezcla de acetona-hexano (70:30). Se obtuvieron 75 mg (60 %) de ulongamida A (**1**) como un polvo blanco (espuma), p.f. (aproximado) 85 $^\circ\text{C}$. $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +12^\circ$ ($c = 0.73$, MeOH), (lit.⁴ $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +12^\circ$, $c = 0.73$, MeOH). **IR** (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3321, 2962, 2934, 2872, 1734, 1672, 1633, 1553, 1522, 1497, 1462, 1271, 1216, 1078, 1048. **RMN ^1H** (CDCl_3 , 500 MHz) δ (ppm): 8.94 (d, 1H, $J = 10.5$ Hz); 8.17 (d, 1H, $J = 7.0$ Hz); 8.04 (s, 1H); 7.29 (t, 2H); 7.24 (t, 1H); 7.17 (d, 2H); 6.08 (dd, 1H, $J = 9.5, 5.5$ Hz); 5.34 (q, 1H, $J = 6.5$ Hz); 5.17 (q, 1H, $J = 7.0$ Hz); 4.51 (d, 1H, $J = 11.0$ Hz); 4.31 (m, 1H, $J = 10.6, 9.0, 5.0, 2.5$ Hz); 3.27 (dd, 1H, $J = 9.5, 15.0$ Hz); 3.21 (s, 3H);

3.16 (dd, 1H, $J = 5.5, 15.0$ Hz); 2.99 (s, 3H), 2.70 (dq, 1H, $J = 7.0, 2.5$ Hz); 2.33 (m, 1H); 1.46 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz); 1.43 (m, 4H); 1.33 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz); 1.23 (d, 3H, $J = 7.2$ Hz); 0.97 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz); 0.85 (d, 3H, $J = 6.4$ Hz); 0.60 (d, 3H, $J = 7.0$ Hz). **RMN ^{13}C** (125 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 14.0, 14.5, 16.2, 18.3, 19.3, 19.6, 24.5, 27.3, 29.0, 30.0, 35.4, 35.5, 45.0, 47.7, 50.7, 51.0, 66.4, 67.0, 122.0, 127.0, 128.5, 128.8, 136.0, 149.1, 160.8, 167.9, 169.6, 170.4, 171.9, 172.9; **HRFABMS** m/z 628.3179 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calc. para $\text{C}_{32}\text{H}_{46}\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$, 628.3169).

DERIVADOS.

Todos los derivados de Mosher y con (S)-metilbencilamina **37** se obtuvieron mediante acoplamiento con DCC-DMAP, por las técnicas generales que se indican a continuación.

Técnica I. Derivados obtenidos mediante reacción con el ácido de Mosher **36**.

S-(-)-metoxi - α - (trifluorometil)- fenilacetil- L- lactato de bencilo **98** y S- (-)- metoxi- α - (trifluorometil)-fenilacetil-L-valinato de terbutilo **99**.

En un matraz de fondo redondo de 10 mL se disolvieron **31d** o **35a** (1 mmol), el ácido de Mosher **36** (1 mmol) y la DMAP (12 mg, 0.1 mmol) en diclorometano (5 mL). Se enfrió a 0 °C y se adicionó la DCC **17** (227 mg, 1.1 mmol). Se agitó por 30 minutos a 0 °C y después por 16 – 18 horas a temperatura ambiente. Se filtró, se evaporó el disolvente y se diluyó con acetato de etilo (20 mL). Se lavó con solución 1 N de HCl (2X5 mL), con solución saturada de bicarbonato de sodio (2X5 mL) y con salmuera (5 mL). Se secó la fase orgánica con sulfato de sodio anhidro, se evaporó el disolvente y se purificó el producto por cromatografía en placa preparativa.

Constantes del compuesto 98.

El compuesto **98** se obtuvo como un aceite amarillo pálido. $[\alpha]_D^{20} = -60^\circ$ ($c = 0.5$, CHCl_3).

IR (película) ν_{max} (cm^{-1}) 2993, 2950, 2854, 1752, 1454, 1270, 1188, 1124, 1093, 1045, 1015, 721, 699. **RMN ^1H** (CDCl_3 , 200 MHz) δ (ppm): 1.52 (d, 3H, $J = 7.2$ Hz); 3.59 (q, 3H, $J = 1.3$ Hz, H-F); 5.21 (d, 2H, $J_{\text{gem}} = -12.2$ Hz); 5.31 (q, 1H, $J = 7.2$ Hz); 7.30-7.60 (m, 10H).

EM (IE) m/z 396 M^+ (1 %), 189 (100 %), 91 (60 %), 162 (40 %).

Constantes del compuesto 99.

El compuesto **99** se obtuvo como cristales blancos, p.f. 61 – 63 °C. $[\alpha]_D^{20} = -20.6^\circ$ ($c = 0.5$, CHCl_3).

IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3409, 2974, 2850, 1736, 1699, 1524, 1372, 1315, 1276, 1181, 1120, 1062, 846, 732, 721. **RMN ^1H** (CDCl_3 , 200 MHz) δ (ppm): 0.81 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz); 0.86 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz); 1.48 (s, 9H), 2.18 (m, 1H); 3.55 (q, 3H, $J = 1.7$ Hz); 4.49 (dd, 1H, $J = 9.0, 4.6$ Hz); 7.06 (sa, 1H, $J = 8.2$ Hz); 7.3-7.7 (m, 5H).

EM (IE) m/z 316 (10 %), 57 (100 %), 189 (92 %), 288 (75 %).

Técnica II. Derivados obtenidos mediante reacción con la S-(-)- metilbencilamina **37**. La N –metil –Z –L –Phe –(S) –metilbencilamina **100**, la (2R, 3R)- 3 –metil -2-N-Boc-amino-hexanoil- (S)- metilbencilamina **101** y la (S) – 2 - (1- N- Boc- amino) - etiltiazol - 4- carboxil - (S)-metilbencilamina **102**.

En un matraz de fondo redondo de 10 mL se disolvieron **100**, **101** o **102** (1 mmol), la S-(-)-metilbencilamina **37** (1 mmol) y la DMAP (12 mg, 0.1 mmol) en diclorometano (5 mL). Se enfrió a 0 °C y se adicionó la DCC **17** (227 mg, 1.1 mmol). Se agitó por 30 minutos a 0 °C y después por 16 – 18 horas a temperatura ambiente. Se filtró, se evaporó el disolvente y se diluyó con acetato de etilo (20 mL). Se lavó con solución 1 N de HCl (2X5 mL), con solución saturada de bicarbonato de sodio (2X5 mL) y con salmuera (5 mL). Se secó la fase orgánica con sulfato de sodio anhidro, se evaporó el disolvente y el producto se purificó por cromatografía en placa preparativa.

Constantes del compuesto 100.

El compuesto **100** se obtuvo como un aceite amarillo pálido. $[\alpha]_D^{20} = -68^\circ$ ($c = 0.2$, CHCl_3).

IR (película) ν_{max} (cm^{-1}) 3319, 3030, 2973, 2933, 1689, 1669, 1534, 1496, 1452, 1313, 1141, 750, 699. **RMN ^1H** (CDCl_3 , 200 MHz) δ (ppm): 1.38 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz); 2.90 (s, 3H); 2.97 (dd, 1H, $J = -14.8, 7.2$ Hz); 3.30 (dd, 1H, $J = -14.8, 7.2$ Hz); 4.87 (m, 1H); 5.05 (m, 1H); 5.11 (s, 2H); 6.27 (sa, 1H); 7.0-7.4 (m, 15H). **EM (IE)** m/z 416 M^+ (3 %), 91 (100 %), 224 (90 %), 251 (60 %).

Constantes del compuesto 101.

El compuesto **101** se obtuvo como cristales blancos, p.f. 169 – 171 °C. $[\alpha]_D^{20} = -58.3^\circ$ ($c = 0.3$, CHCl_3).

IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3341, 2962, 2933, 1687, 1646, 1537, 1254, 1170, 705, 639. **RMN ^1H** (CDCl_3 , 200 MHz) δ (ppm): 0.92 (t, 3H, $J = 6.6$ Hz); 1.17 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz); 1.20-1.80 (m, 4H); 1.42 (s, 9H); 1.49 (d, 3H, $J = 6.8$ Hz); 2.38 (m, 1H); 3.60 (m, 1H); 5.09 (quint, 1H, $J = 7.0$ Hz); 5.67 (da, 1H, $J = 9.0$ Hz); 5.80 (da, 1H, $J = 7.2$ Hz); 7.20-7.40 (m, 5H). **EM (IE)** m/z 348 M^+ (6 %), 177 (100 %), 105 (86 %), 57 (59 %).

Constantes del compuesto 102.

El compuesto **102** se obtuvo como cristales blancos, p.f. 124 – 125 °C. $[\alpha]_D^{20} = -30^\circ$ ($c = 0.2$, CHCl_3).

IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3360, 3249, 3119, 2977, 2932, 1702, 1638, 1539, 1484, 1250, 1164, 1050, 765, 701. **RMN ^1H** (CDCl_3 , 500 MHz) δ (ppm): 1.45 (m, 9H); 1.58 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz); 1.61 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz); 5.06 (m, 1H); 5.11 (sa, 1H); 5.31 (q, 1H, $J = 7.0$ Hz); 7.25-7.42 (m, 5H); 7.52 (sa, 1H); 8.00 (s, 1H). **EM (IE)** m/z 375 M^+ (10 %), 120 (100 %), 319 (56 %), 57 (16 %).

9. REFERENCIAS.

1. Luesch, H.; Yoshida, W. Y.; Moore, R. E.; Paul, V. J.; Corbett, T. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5418.
2. Yasumoto, T.; Murata, M. *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 1897.
3. Ballard, C. E.; Yu, H.; Wang, B. *Curr. Med. Chem.* **2002**, *9*, 471.
4. Luesch, H.; Williams, P. G.; Yoshida, W. Y.; Moore, R. E.; Paul, V. J. *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 996.
5. Alvarado, C.; Díaz, E.; Guzmán, A. *Tet. Lett.* **2007**, *48*, 603.
6. Schopf, J. W.; Walter, M. R. *Origin and Early Evolution of Cyanobacteria*. Blackwell Scientific Publications, **1982**, pp. 543.
7. Scagel, R. F.; Rouse, G. E.; Stein, J. R.; Bandoni, R. J.; Schofield, W. B.; Taylor, T. M. C. *El Reino Vegetal. Los Grupos de las Plantas y sus Relaciones Evolutivas*, 3ª edición. Ediciones Omega S. A., Barcelona, 1980.
8. Boone, D. R.; Castenholz, R. W.; Garrity G. M. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd edition, (vol 1 *The Archaea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria*). Springer-Verlag, New York, **2001**.
9. (a) Stanier, R. Y.; Cohen-Bazire, G. *Annu. Rev. Microbiol.* **1977**, *31*, 225. (b) Packer, L.; Glazer, A. N.; *Methods in Enzymology. Cyanobacteria.*, Academic Press Inc. San Diego, California, **1988**, *167*, 159.
10. Drews, G.; Weckeser, J. *The Biology of Cyanobacteria.*, Blackwell, Oxford, England, **1982**.
11. Manodori, A.; Melis, A. *FEBS Lett.* **1985**, *79*, 181.
12. (a) Myers, J.; Kratz, W. A. *Gen Physiol.* **1955**, *39*, 11. (b) Bennett, A.; Bogorad, L. *J. Cell. Biol.* **1973**, *58*, 419.
13. Gantt, E.; Conti, S. F. *Brookhaven Symp Biol.* **1966**, *19*, 393.
14. (a) Lagarias, J. C.; Glazer, A. N.; Rapoport, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 5030. (b) Schoenleber, R. W.; Lunfell, D. J.; Glazer, A. N.; Rapoport, H. *J. Biol. Chem.* **1984**, *259*, 5481. (c) Schoenleber, R. W.; Lunfell, D. J.; Glazer, A. N.; Rapoport, H. *J. Biol. Chem.* **1984**, *259*, 5485. (d) Nagy, O.; Bishop, J. E.; Klotz, A. V.; Glazer, A.

- N.; Rapoport, H. *J. Biol. Chem.* **1985**, *260*, 4864. (e) Bishop, J. E.; Rapoport, H.; Klotz, A. V.; Chan, C. F.; Glazer, A. N.; Füglistaller, P.; Zuber, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 875.
15. Thiéry, J. C. *J. Microsc.* **1967**, *6*, 987.
16. Simon, R. D. *Biochim. Biophys. Acta.* **1976**, *422*, 407.
17. (a) Okamoto, N.; Tei, H.; Murata, K.; Kimura, A. *J. Gen. Microbiol.* **1986**, *132*, 1519. (b) Harold, F. M. *Bacteriol. Rev.* **1966**, *30*, 772. (c) Kulaev, I. S.; Vadabov, V. M. *Adv. Microbiol. Physiol.* **1983**, *24*, 83.
18. (a) Codd, G. A.; Marsden, W. J. N. *Biol. Rev.* **1984**, *9*, 389. (b) Stewart, W. P. D.; Codd, G. A. *Br. Phycol. J.* **1975**, *10*, 273.
19. Walsby, A. E. *Bacterial Rev.* **1972**, *36*, 1.
20. (a) Waterbury, J. B.; Stanier, R. Y. *Microbiol. Rev.* **1978**, *42*, 2.
21. (a) Nichols, J. M.; Carr, N. G. *Spores*. American Society of Microbiology. Washington D. C., **1978**, *7*, pp 335. (b) Nichols J. M. *The Biology of Cyanobacteria*. Blackwell, Oxford, **1982**, pp 387. (c) Herdman, M. *The Cyanobacteria: A Comprehensive Review*. Elsevier, Amsterdam, **1987**, pp 227.
22. (a) Haselkorn, R. *Annu. Rev. Plant. Physiol.* **1978**, *29*, 319. (b) Stewart, W. P. D. *Annu. Rev. Microbiol.* **1980**, *34*, 497. (c) Herrero, A., Muro-Pastor, A. M., Flores, E. *J. Bacteriol.* **2001**, *183*, 411.
23. (a) Kleinkauf, H.; von Doren, H. *Eur. J. Biochem.* **1996**, *236*, 335. (b) Stachelhaus, T.; Schneider, A.; Marahiel, M. A. *Biochem. Pharmacol.* **1996**, *52*, 177. (c) Zocher, R.; Séller, U. *Adv. Microbiol. Physiol.* **1997**, *38*, 85. (d) Stein, T.; Vater, J.; Kruft, V.; Wittmann-Liebold, B.; Franke, P.; Panico, M.; McDowell, R.; Morris, H. R. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 15428.
24. (a) Schaeffer, P. *Bacteriol. Rev.* **1969**, *33*, 48. (b) Marahiel, M. A.; Danders, W.; Krause, M.; Kleinkauf, H. *Eur. J. Biochem.* **1979**, *99*, 49. (c) Horinouchi, S.; Beppu, T. *Crit. Rev. Biotechnol.* **1990**, *10*, 191. (d) Hahn, J.; Dubnau, D.; *J. Bacteriol.* **1991**, *173*, 7275.
25. Davies, J. *Mol. Microbiol.* **1990**, *4*, 1227.

26. (a) Joullié, M. M.; Leonard, M. S.; Portonovo, P.; Liang, V.; Ding, X.; La Clair, J. J. *Bioconjugate Chem.* **2003**, *14*, 30. (b) Vining, L. C. *Annu. Rev. Microbiol.* **1990**, *44*, 395.
27. (a) Barry, J. M.; Ichihara, E. *Nature.* **1958**, *181*, 1274. (b) Winnick, R. E.; Lis, H.; Winnick, T. *Biochem. Biophys. Acta.* **1961**, *49*, 451. (c) Laland, S. G.; Zimmer, T. L.; Froyshov, O. *Bioactive Peptides Produced by Microorganisms*. John Wiley & Sons Inc, New York, **1978**, pp 7-34.
28. (a) Kurahashi, K. *Ann. Rev. Biochem.* **1974**, *43*, 445. (b) Lipmann, F.; Gevers, W.; Kleinkauf, H.; Roskoski, R. *Adv. Enzymol.* **1971**, *35*, 1. (c) Laland, S. G.; Zimmer, T. L. *Essays in Biochemistry.* **1973**, *9*, 31. (d) Katz, E.; Demain, A. L. *Bact. Rev.* **1977**, *41*, 449.
29. (a) Stachelhaus, T.; Schneider, A.; Marahiel, M. A.; *Biochem. Pharmacol.* **1996**, *52*, 177. (b) Stein, T.; Vater, J.; Kruff, V.; Wittmann-Liebold, B.; Franke, P.; Panico, M.; McDowell, R.; Morris, H. R. *FEBS Lett.* **1994**, *340*, 39. (c) Stachelhaus, T.; Hüser, A.; Marahiel, M. A. *Chem. Biol.* **1996**, *3*, 913.
30. (a) Lambalot, R. H.; Gehring, A. M.; Flugel, R. S.; Zuber, P.; LaCelle, M.; Marahiel, M. A.; Reid, R.; Khosla, C.; Walsh, C. T. *Chem. Biol.* **1996**, *3*, 923. (b) Pfeifer, E.; Pavela-Vrancic, M.; von Doren, H.; Kleinkauf, H.; *Biochemistry.* **1995**, *34*, 7450.
31. (a) Stein, T.; Kluge, B.; Vater, J.; Franke, P.; Otto, A.; Wittmann-Liebold, B. *Biochemistry.* **1995**, *34*, 4633. (b) Haese, A.; Pieper, R.; von Ostrowski, T.; Zocher, R. *J. Mol. Biol.* **1994**, *243*, 116.
32. (a) Stachelhaus, T.; Marahiel, M. A. *FEMS Microbiol. Lett.* **1995**, *125*, 3. (b) Katz, L.; Donadio, S. *Annu. Rev. Microbiol.* **1993**, *47*, 875.
33. (a) Rouhianen, L.; Paulin, L.; Suomalainen, S.; Hytiainen, H.; Buikema, W.; Haselkorn, R.; Sivonen, K. *Molecular Microbiology.* **2000**, *37*, 156. (b) Fujii, K.; Sivonen, K.; Nakano, T.; Harada, K-I. *Tetrahedron.* **2002**, *58*, 6863. (c) Tillett, D.; Dittmann, E.; Erhard, M.; von Dören, H.; Börner, T.; Neilan, B. A. *Chemistry & Biology.* **2000**, *7*, 753. (d) Marahiel, M. A.; Stachelhaus, T.; Mootz, H. D. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 2651. (e) von Dören, H.; Keller, U.; Vater, J.; Zocher, R. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 2675.
34. Francis, G. *Nature.* **1878**, *18*, 11.

-
35. (a) Pouria, S.; de Andrade, A.; Barbosa, J.; Cavalcanti, R.; Barreto, V.; Ward, C.; Preiser, W.; Poon, G.; Neild, G.; Codd, G. *Lancet*, **1998**, 325, 21. (b) Metcalf, J. S., Bell, S. G.; Codd, G. A. *Applied. Environ. Microbiol.* **2000**, 67, 904.
36. Skulberg, O. M.; Carmichael, W. W.; Codd, G. A.; Skulberg, R. *Algal Toxins in Seafood and Drinking Water*. Academic Press. London, 1993.
37. Oudra, B.; Loudiki, M.; Vasconcelos, V.; Sabour, B.; Sbiyyaa, B.; Oufdou, K.; Mez Rioui, N. *Environ. Toxicol.* **2002**, 17: 32.
38. Bishop, C. T.; Anet, E. F. L. J.; Gorham, P. R. *Can. J. Biochem. Physiol.* **1959**, 37, 453.
39. Konst, H.; McKercher, P. D.; Gorham, P. R.; Robertson, A.; Howell, J. *Can J. Comp. Med. Vet. Sci.* **1965**, 29, 221.
40. (a) Murthy, J. R.; Capindale, J. B. *Can. J. Biochem.* **1970**, 48, 508. (b) Rabin, P.; Darbre, A. *Biochem. Soc. Trans.* **1975**, 3, 428.
41. Elleman, T. C.; Falconer, I. R.; Jackson, A. R. B.; Runnegar, M. T. *Austr. J. Biol. Sci.* **1978**, 31, 209.
42. Rinehart, K. L.; Harada, K.; Namikoshi, M.; Chen, C.; Harvis, C. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 8557.
43. Bai, R. L.; Pettit, G. R.; Hamel, E. *J. Biol. Chem.* **1990**, 265, 17141.
44. Jimenez, G. L. F.; Merchant, L. H. *Biología Celular y Molecular*. Pearson Education. México, **2003**, pp 284-290.
45. Mitra, A.; Sept, D. *Biochemistry.* **2004**, 43, 13955.
46. Bai, R.; Schwartz, R. E.; Kepler, J. A.; Petit, G. R.; Hamel, E. *Cancer Res.* **1996**, 56, 4398.
47. Bai, R.; Durso, N. A.; Sackett, D. L.; Hamel, E.; *Biochemistry.* **1999**, 38, 14302.
48. Hamada, Y.; Shiori, T. *Chem. Rev.* **2005**, 105, 4441.
49. Plaza, A.; Bewley, C. A. *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 6898.
50. Luesch, H.; Yoshida, W. Y.; Moore, R. E.; Paul, V. J.; Corbett, T. H. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, 10, 1973.
51. Chen, J.; Forsyth, C. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 8734.

- 52.(a) Bodanszky, M. *Principles of Peptide Synthesis*. Springer-Verlag. New York, **1984**, pp 59-118. (b) Benoiton, N. L. *Chemistry of Peptide Synthesis*. Taylor & Francis; Boca Ratón, Florida; **2006**, pp 157-194.
- 53.(a) Wenger, R. M.; *Helv. Chim. Acta.* **1983**, *66*, 2672. (b) Mc Dermott, J. R.; Benoiton, N. L. *Can. J. Chem.* **1973**, *51*, 2562. (c) Humphrey, J. M.; Chamberlin, R. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 2243. (d) Ward, D. E.; Gai, Y.; Lazny, R.; Pedras, M. S. C. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 7832.
54. Fischer, E. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1902**, *35*, 3226.
55. Chen, F. M. F.; Benoiton, N. L. *Can. J. Chem.* **1987**, *65*, 619.
56. Han, S-Y.; Kim Y-A. *Tetrahedron.* **2004**, *60*, 2447.
57. Sheehan, J. C.; Hess, G. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 1067.
58. König, W.; Geiger, R. *Chem. Ber.* **1970**, *103*, 788
59. Anderson, G. W.; Paul, R. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 4423.
- 60.(a) Li, P.; Xu, J. C. *Tetrahedron.* **2000**, *41*, 721. (b) Li, P.; Xu, J. C. *Chem. Lett.* **1999**, 1163. (c) Li, P.; Xu, J. C. *Tet. Lett.* **1999**, *40*, 3605.
- 61.(a) Castro, B.; Dormoy, J. R. *Tet. Lett.* **1972**, 4747. (b) Castro, B.; Dormoy, J. R. *Tet. Lett.* **1973**, 3243. (c) Coste, J.; Dufour, M-N.; Pantaloni, A.; Castro, B. *Tet. Lett.* **1990**, *31*, 669.
- 62.(a) Castro, B.; Dormoy, J-R.; Evin, G.; Selve, C. *Tet. Lett.* **1975**, 1219. (b) Castro, B.; Dormoy, J-R.; Dourtoglou, B.; Evin, G.; Selve, C.; Ziebler, J-C. *Synthesis.* **1976**, 751. (c) Dormoy, J-R.; Castro, B. *Tet. Lett.* **1979**, 3321. (d) Le-Nguyen, D.; Heitz, A.; Castro, B. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1.* **1987**, 1915.
- 63.(a) Dourtoglou, V.; Ziegler, J-C.; Gross, B. *Tet. Lett.* **1978**, 1269. (b) Dourtoglou, V.; Ziegler, J-C.; Gross, B. *Synthesis.* **1984**, 572. (c) Knorr, R.; Trzeciak, A.; Bannwarth, W.; Gillissen, D. *Tet. Lett.* **1989**, *30*, 1927.
- 64.(a) Shioiri, T.; Ninomiya, K.; Yamada, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 6203. (b) Shioiri, T.; Yamada, S-I. *Chem. Pharm. Bull.* **1974**, *22*, 849.
- 65.(a) Diago-Messeguer, J.; Palomo-Coll, A. L. *Synthesis.* **1980**, 547-551. (b) Tung, R. D.; Rich, D. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 4342. (c) Scherkenbeck, J.; Plant, A.; Harder, A.; Mencke, N. *Tetrahedron.* **1995**, *51*, 8459.

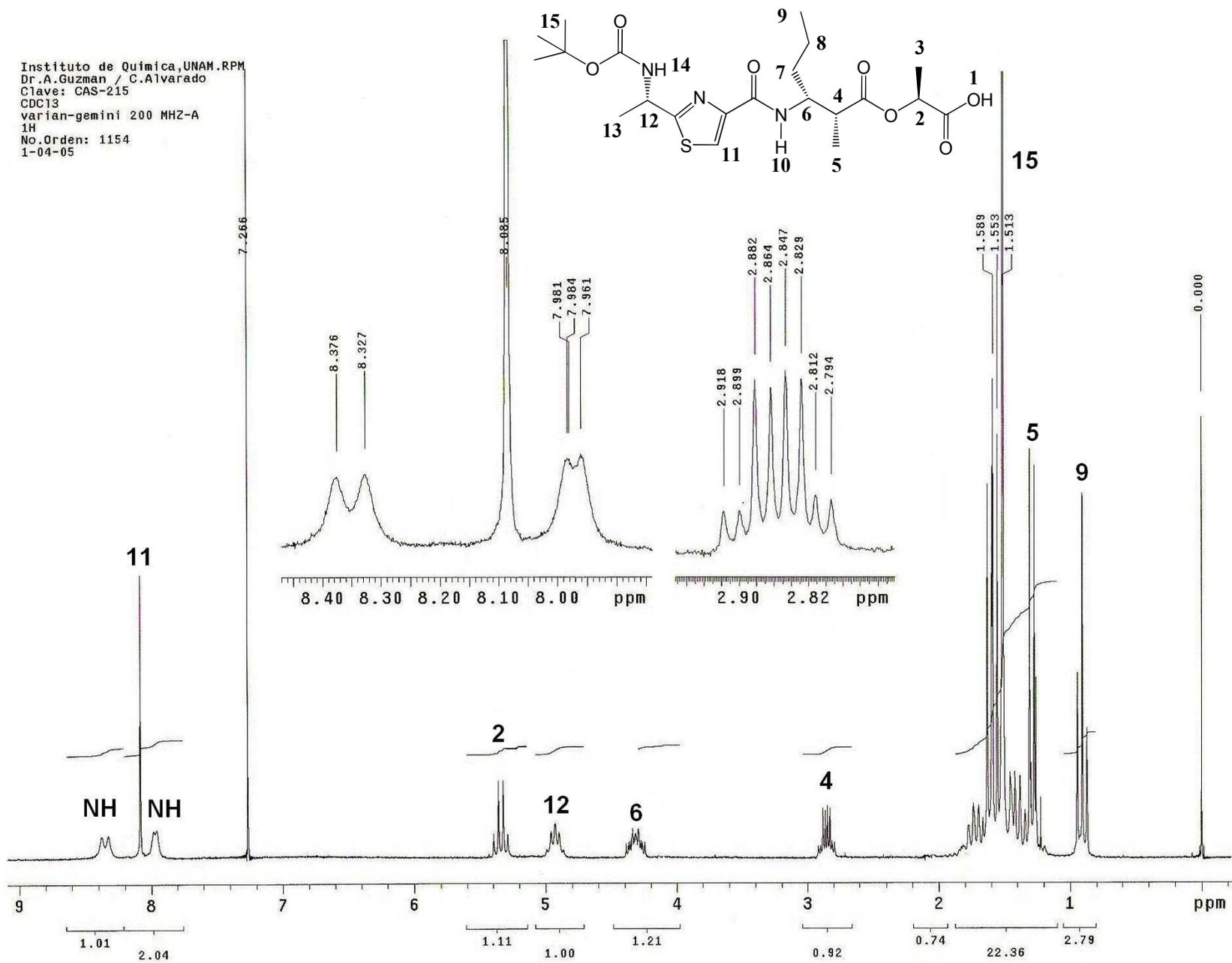
- 66.(a) Schwyzer, R.; Sieber, P. *Helv. Chim. Acta.* **1958**, *41*, 2186. (b) Schwyzer, R.; Sieber, P. *Helv. Chim. Acta.* **1957**, *40*, 624.
67. Ruttenberg, M. A.; Mach, B. *Biochemistry.* **1966**, *5*, 2864.
68. Waki, M.; Izumiya, N. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 1278.
69. Rinehart, K. L.; Kishore, V.; Nagarajan, S.; Lake, R. J.; Gloer, J. B.; Bozich, F. A.; Li, K. M.; Maleczka, R. E.; Jr. Todsén, W. L.; Munro, M. H. G.; Sullins, D. W.; Sakai, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 6846.
70. Jouin, P.; Poncet, J.; Dufour, M-N.; Pantaloni, A.; Castro, B. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 617.
71. Schmidt, U.; Kroner, M.; Griesser, H. *Tet. Lett.* **1988**, *29*, 3057.
72. Hamada, Y.; Kondo, Y.; Shibata, M.; Shioiri, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 669.
73. Brady, S. F.; Varga, S. L.; Freidinger, R. M.; Schwenk, D. A.; Mendlowski, M.; Holly, F.W.; Veber, D. F. *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 3101.
74. Gissin, B. F.; Merrifield, R. B.; Tosteson, D. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 2691.
75. Kimura, J.; Takada, Y.; Inayoshi, T.; Goetz, G.; Yoshida, W.; Scheuer, P. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 1760.
- 76.(a) Evans, D. A.; Bartroli, J.; Shih, T. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 2127. (b) Evans, D. A.; Britton, T. C.; Ellman, J. A.; Dorow, R. L. *J. Am. Chem. Soc.*; **1990**; *112*; 4011.
- 77.(a) Kurihara, T.; Nakajima, Y.; Mitsunobu, O. *Tet. Lett.* **1976**, *17*, 2455. (b) Review: Mitsunobu, O. *Synthesis*, **1981**, 1.
78. Schmidt, U.; Gleich, P.; Griesser, H.; Utz, R. *Synthesis.* **1986**, 992.
- 79.(a) Rinhesmith, H. S. *J. Org. Chem.* **1975**, *40*, 1773. (b) Baldwin, J. E.; Black, K. A.; *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 1029. (c) Jung, M. E.; Buszek, K. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 3965. (d) Wei-Der Lee, Ching-Chen Chiu, Hua-Lin Hsu, Kwunmin Chen. *Tetrahedron.* **2004**, *60*, 6665. (e) Acheson, R. M.; Verlander, M. S. *J. Chem. Soc. Sect C.* **1969**, 2311.
- 80.(a) Xia, Z.; Smith, C. D. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 3459. (b) Bagley, M. C.; Bashford, K. E.; Hesketh, C. L.; Moody, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 3301.
81. Bodanszky, M.; Bodanszky, A. *The Practice of Peptide Synthesis.* Springer-Verlag: Berlin, 1984, pp143.

82. Quit, v. P.; Hellerback, J.; Vogler, K.; *Helv. Chim. Acta.* **1963**, *46*, 327.
83. Cheung, S. T.; Benoiton, N. L. *Can. J. Chem.* **1977**, *55*, 916.
84. Ref 81, pp 20.
85. (a) Ghosh, A. K.; Xu, X. *Organic Letters.* **2004**, *6*, 2055. (b) Laurent, F. *Organic Letters.* **2006**, *8*, 3441.
86. Sakai, M.; Okuno, T.; Hashimoto, K.; Shirahama, H. *Heterocycles.* **2003**, *59*, 623.
87. Suresh Babu, V. V.; Patil, B. S.; Vasanthakumar G-R. *Synth. Commun.* **2005**, *35*, 1795.
88. (a) Humphrey, J. M.; Chamberlin, A. R. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 2243. (b) Tung, R. D.; Dhaon, M. K.; Rich, D. H. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 3350. (c) Galpin, I. J.; Mohammed, A. K. A.; Patel, A.; Priestley, G. *Tetrahedron* **1988**, *44*, 1763. (d) Boger, D. L.; Chen, J-H.; Saionz, K. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 1629.
89. (a) Ref 81, pp 12-15. (b) Cheung, S. T.; Benoiton, N. L. *Can. J. Chem.* **1977**, *55*, 906.
90. Olsen, R. K. *J. Org. Chem.* **1970**, *55*, 1912.
91. Yamamoto, Y.; Yumoto, M.; Yamada, J-I. *Tet. Lett.* **1991**, *26*, 3079.
92. (a) Ref 81, pp 38. (b) Schmidt, U.; Potzolli, B. *Liebigs Ann. Chem.* **1987**, 935. (c) Anderson, G. W.; Callahan, F. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 3359.
93. Chen, H.; Feng, Y.; Xu, Z.; Ye, T.; *Tetrahedron.* **2005**, *61*, 11132.
94. (a) Jones, J. *The Chemical Synthesis of Peptides*; Clarendon Press: Oxford, **1994**, pp 175. (b) Wenger, R. M.; *Helv. Chim. Acta.* **1984**, *67*, 502.
95. Dale, J. A.; Mosher, H. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 512.
96. Wei Zhang.; Zhen-Wa Ma.; Duo Mei.; Chun-Xia Li.; Xiu-Li Zhang.; Ying-Xia Li. *Tetrahedron.* **2006**, *62*, 9966.
97. (a) Derome, A. E. in: *Modern NMR Techniques for Chemistry Research*. Pergamon Press, New York, 1987, p 239-240. (b) Hull, W. E. in: Croasmum, W. R. *2D NMR Spectroscopy for Chemists and Biochemists*. Carlson, R. M. K., ed. Chapter 2, VCH, N.Y., 1987.
98. (a) Bax, A.; Subramanian, S. *J. Magn. Reson.* **1986**, *67*, 565. (b) Bax, A.; Freeman, R. *J. Magn. Reson.* **1981**, *44*, 542. (c) Kessler, H.; Gehrke, M.; Griesinger, C. *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* **1988**, *27*, 490.

99. (a) Bax, A.; Summers, M. F. *J. Amer. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 2093. (b) Pearson, G. A. *J. Magn. Reson.* **1985**, *64*, 487.
100. (a) Nienhaus, D.; Williamson, M. *The Nuclear Overhauser Effect in Structural and Conformational Analysis*. VCH Publishers, N. Y., **1989**. (b) Bax, A.; Davies D. G. *J. Magn. Reson.* **1985**, *63*, 207.
101. Michinori, O. *Applications of Dynamic NMR Spectroscopy to Organic Chemistry. Methods in Stereochemical Analysis*, Vol 4. VCH Publishers, Inc. Peerfield Beach, Florida, 1985, pp 41.
102. Audrieth, L. F.; Gibbs, C. F. *Inorg. Syn.* **1939**, *11*, 1.
103. (a) Malkov, A. V.; Figlus, M.; Stončius, S.; Kočovský, P. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 1315. (b) Malkov, A. V.; Stončius, S.; MacDougall, K. N.; Mariani, A.; McGeoch, G. D.; Kočovský, P. *J. Org. Chem.* **2006**, *62*, 264.
104. Apurba, K. D.; Barnejee, Arijit.; Drew, M. G. B.; Ray, S.; Haldar, D.; Barnejee, Arindam. *Tetrahedron.* **2005**, *61*, 5027.
105. (a) De Luca, L.; Giacomelli, G.; Nieddu, G. *Journal of Organic Chemistry.* **2007**, *72*, 3955. (b) Giampaolo, G.; Porcheddu, A.; Salaris, M. *Organic Letters.* **2003**, *5*, 2715.
106. Ryszard, P. *Polish Journal of Chemistry.* **1989**, *63*, 661.
107. Wünsch, E.; Graf, W.; Keller, O.; Keller, W.; Wersin, G. *Synthesis.* **1986**, 958.
108. *Aldrich Catálogo de Productos Químicos Finos*. Sigma-Aldrich, México (**2007-2008**). a) pp. 2525, b) pp. 2524.
109. Aitken, R.A.; Karodia, N.; Massil, T.; Young, R. *J. Chem. Soc. Perkin Trans I.* **2002**, 533.

10. APÉNDICE.

Figura 41. Espectro de RMN ¹H del depsitripeptido 28.



Instituto de Química, UNAM, RPM
 Dr. A. Guzmán / C. Alvarado
 Clave: CAS-215
 CDC13
 Varian-gemini 200 MHz-A
 1H
 No. Orden: 1154
 1-04-05

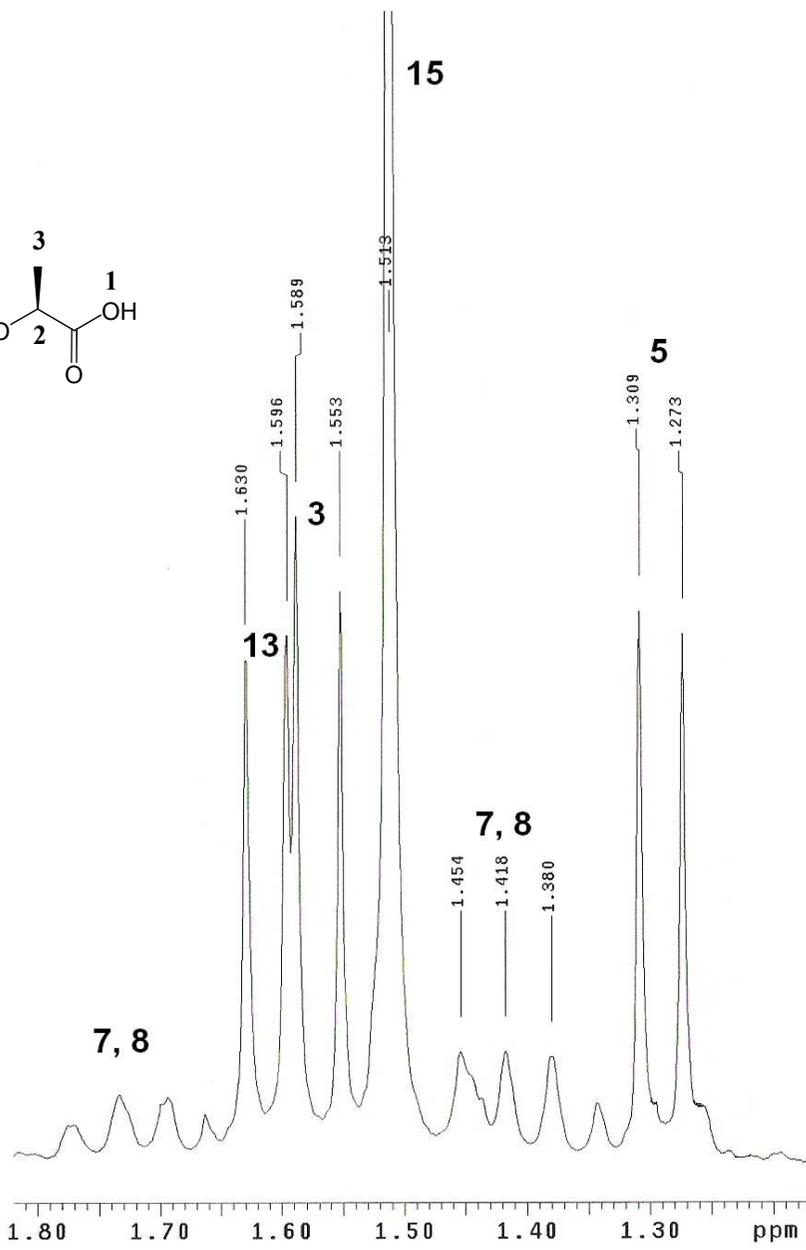
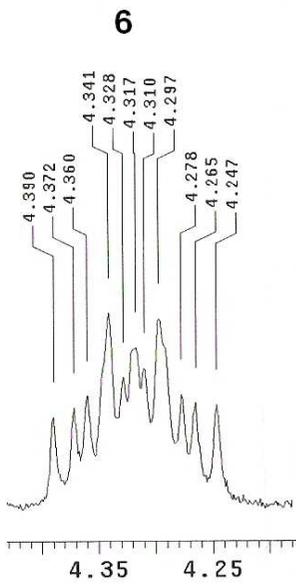
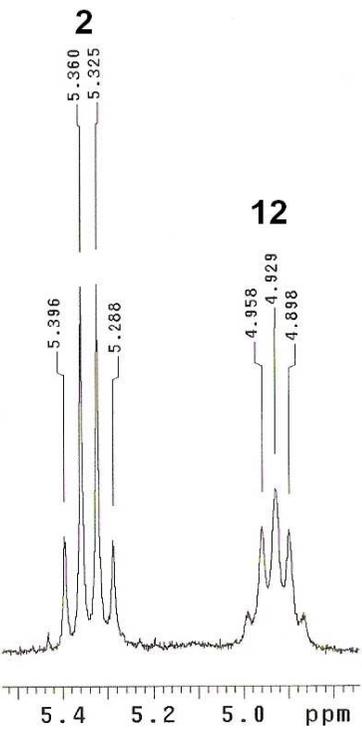
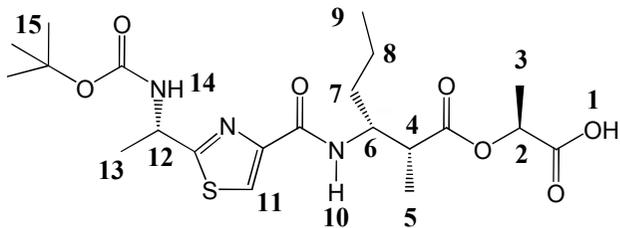


Figura 42. Ampliación del espectro de RMN ¹H del depeptitripeptido 28.

Figura 43. Espectro de RMN ¹H del dipeptido 80a a 25 °C.

Instituto de Quimica UNAM (H. Rios)
 Dr-E-Diaz
 Clave: BOP1mB
 No-registro 1278
 Experimento: Hidrogeno
 Disolvente: CDCl₂CDCl₂ (Temp=25)
 VarianUnityInova 500 MHz (G)
 Mayo-17-2007
 Pulse Sequence: s2pu1

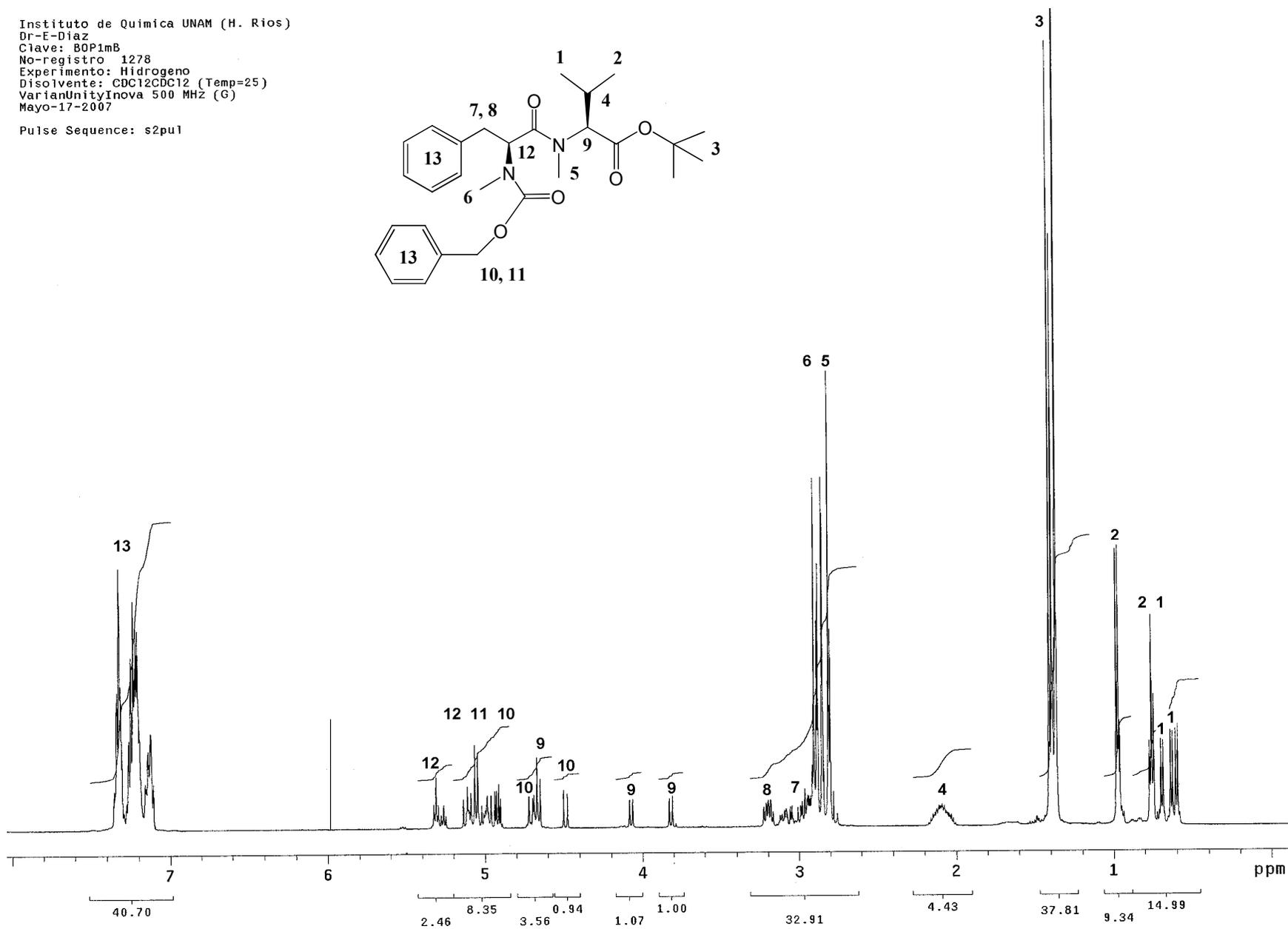
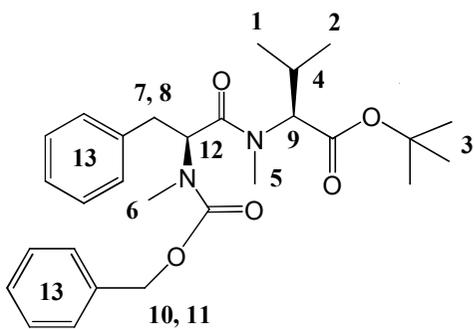


Figura 44. Espectro de RMN ¹H del dipéptido 80a a 50 °C.

Instituto de Química UNAM (H. Rios)
 Dr-E-Diaz
 Clave: BOP1mB
 No-registro: 1278
 Experimento: Hidrogeno
 Disolvente: CDCl₂CDCl₂ (Temp=50)
 VarianUnityInova 500 MHz (G)
 Mayo-17-2007

Pulse Sequence: s2pu1

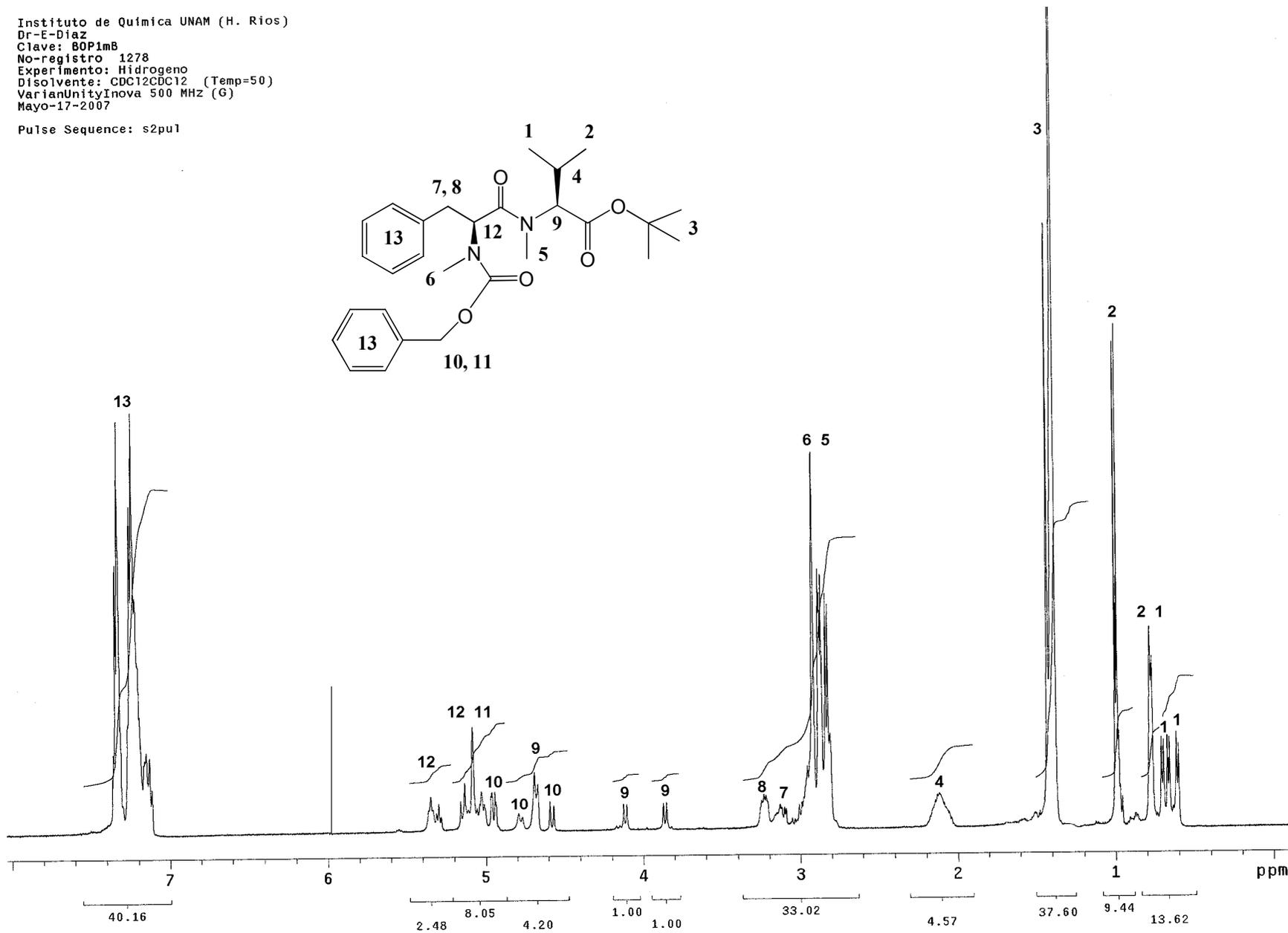
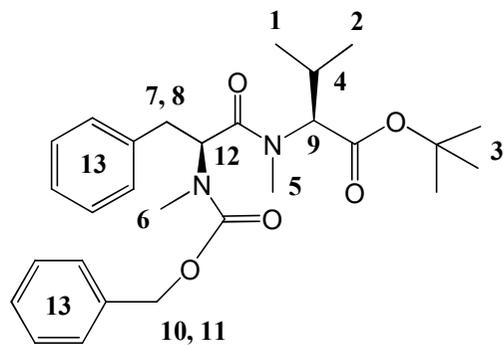


Figura 45. Espectro de RMN ¹H del dipeptido 80a a 65 °C.

Instituto de Quimica UNAM (H. Rios)
 Dr-E-Diaz
 Clave: BOP1mB
 No-registro: 1278
 Experimento: Hidrogeno
 Disolvente: CDC12CDC12 (Temp=65)
 VarianUnityInova 500 MHz (G)
 Mayo-17-2007

Pulse Sequence: s2pu1

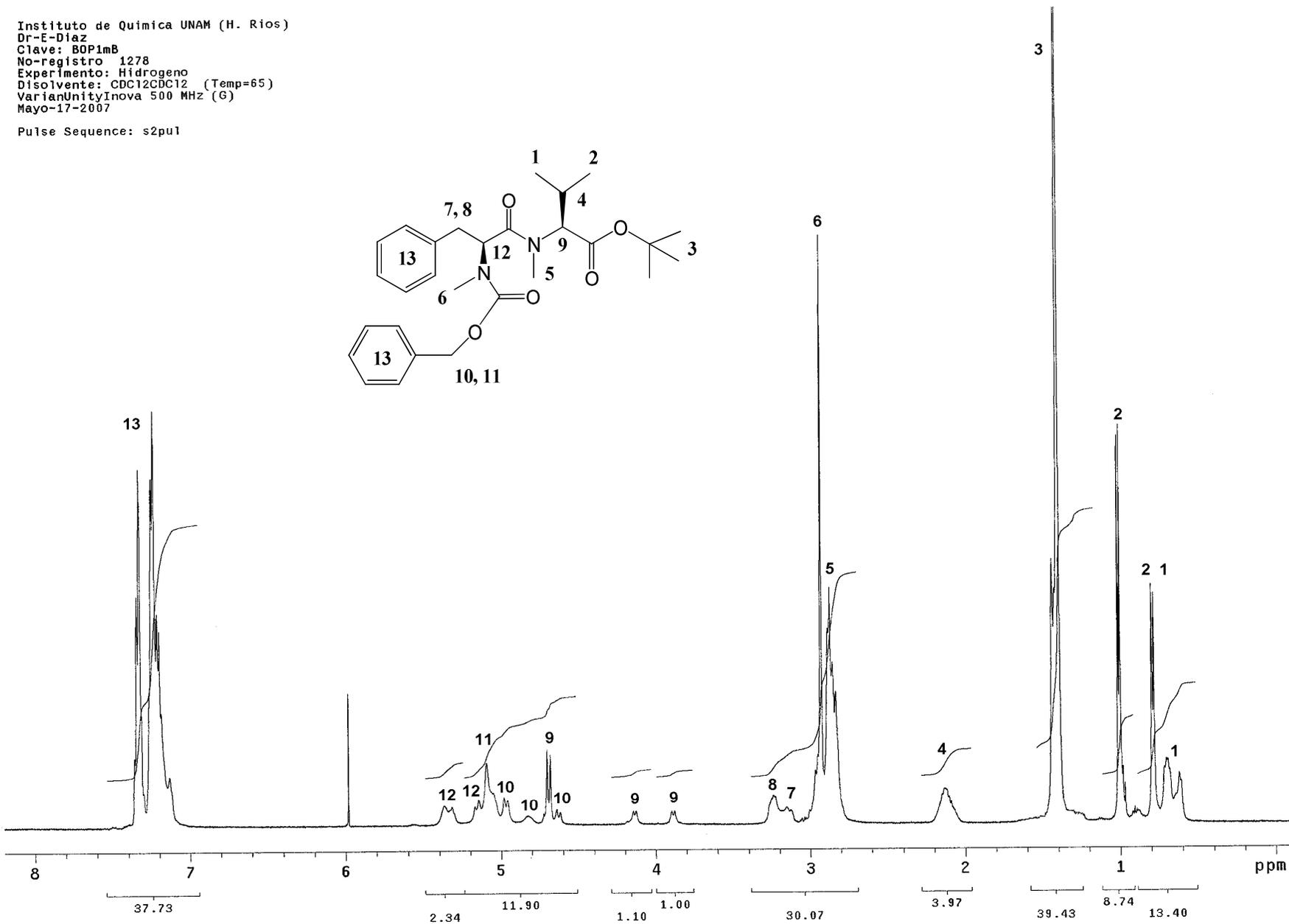
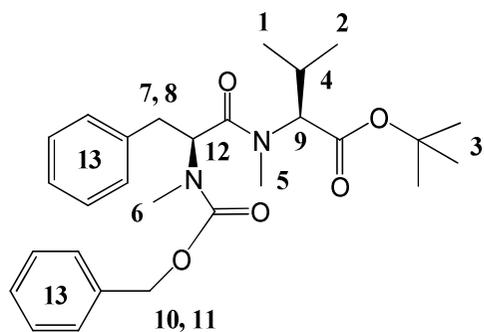


Figura 46. Espectro de RMN ¹H del dipeptido 80a a 80 °C.

Instituto de Quimica UNAM (H. Rios)
 Dr-E-Diaz
 Clave: BOP1mB
 No-registro 1278
 Experimento: Hidrogeno
 Disolvente: CDC12CDC12 (Temp=80)
 VarianUnityInova 500 MHz (G)
 Mayo-17-2007

Pulse Sequence: s2pu1

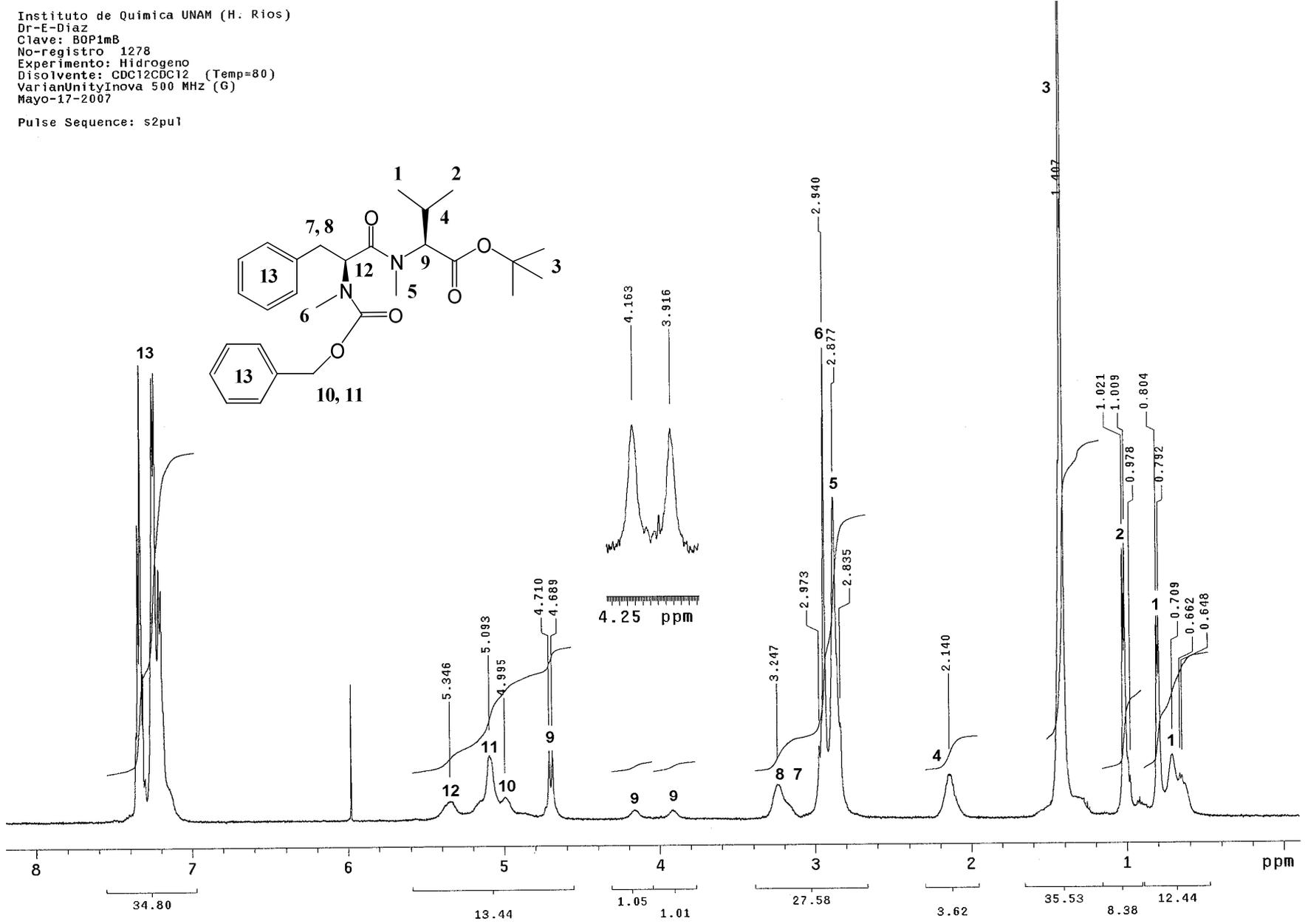


Figura 47. Espectro de RMN ¹H del dipéptido 80a a 90 °C.

Instituto de Química UNAM (H. Rios)
 Dr-E-Diaz
 Clave: BOP1mB
 No-registro: 1278
 Experimento: Hidrogeno
 Disolvente: CDC12CDC12 (Temp=90)
 VarianUnityInova 500 MHz (G)
 Mayo-17-2007

Pulse Sequence: s2pu1

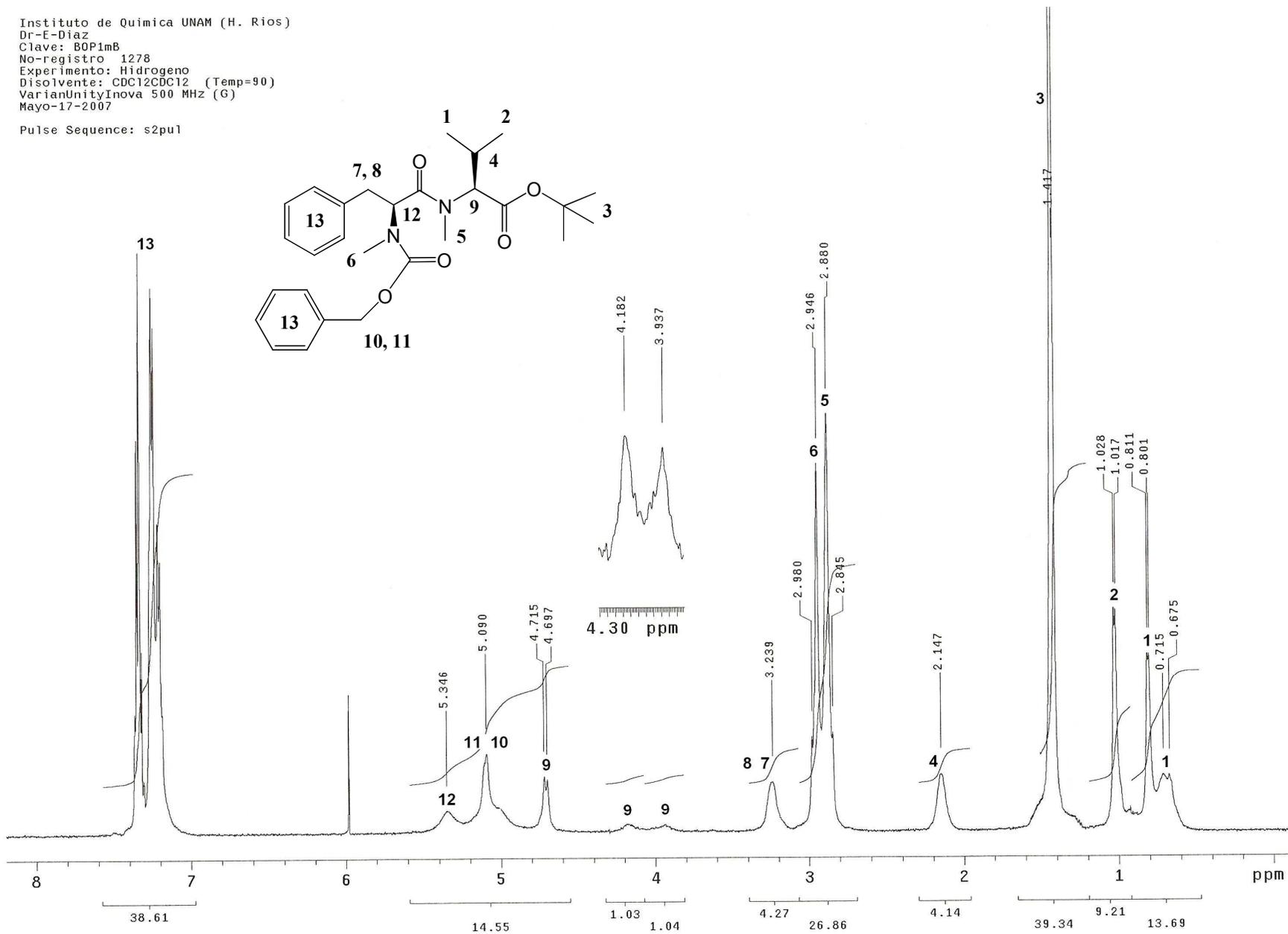


Figura 48. Espectro de RMN ¹H del dipeptido 80a a 100 °C.

Instituto de Quimica UNAM (H. Rios)
Dr-E-Diaz
Clave: B0P1mB
No-registro 1278
Experimento: Hidrogeno
Disolvente: CDC12CDC12 (Temp=100)
VarianUnityInova 500 MHz (G)
Mayo-17-2007

Pulse Sequence: s2pu1

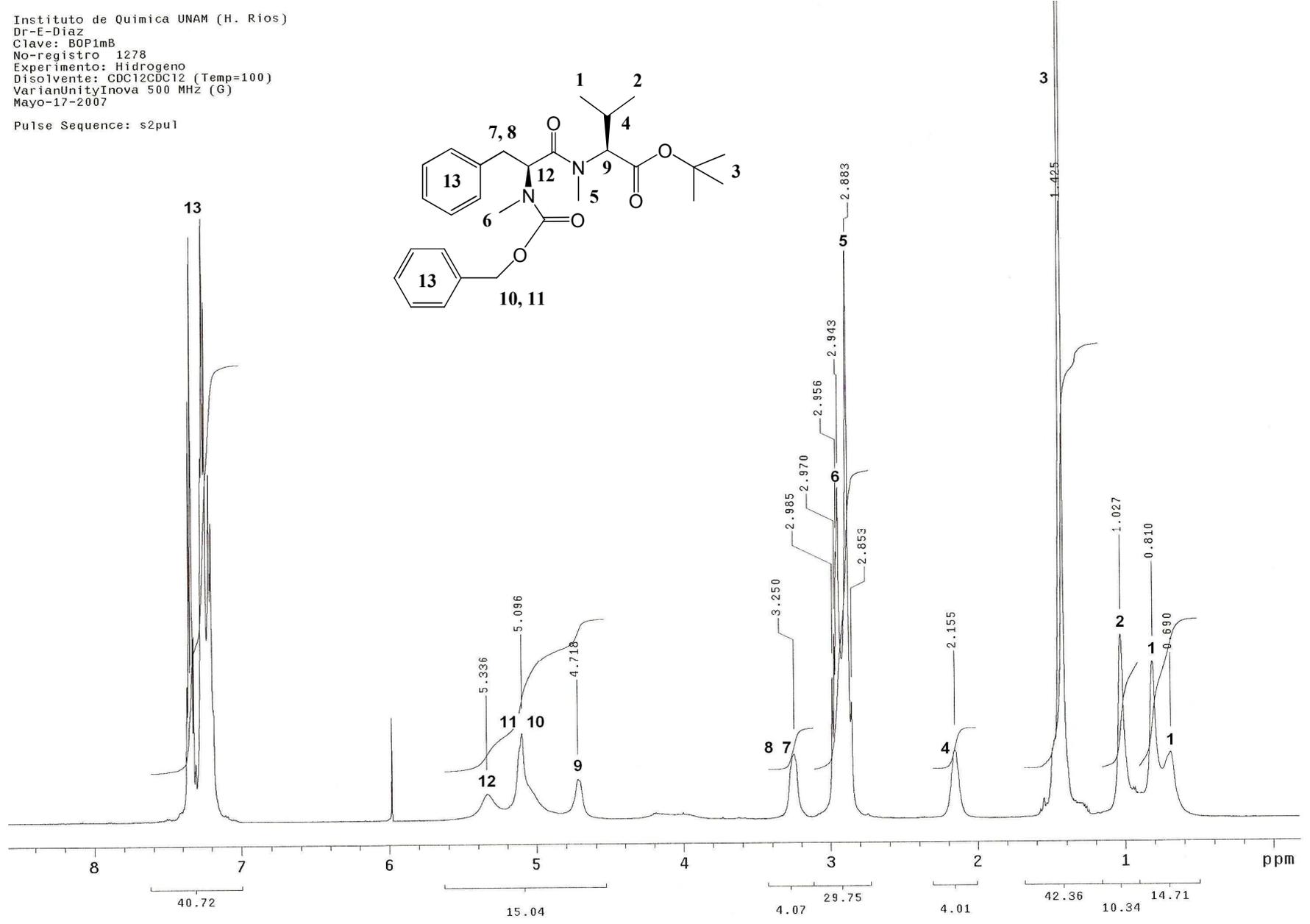


Figura 49. Espectro de RMN ¹H del depsipentapéptido 95.

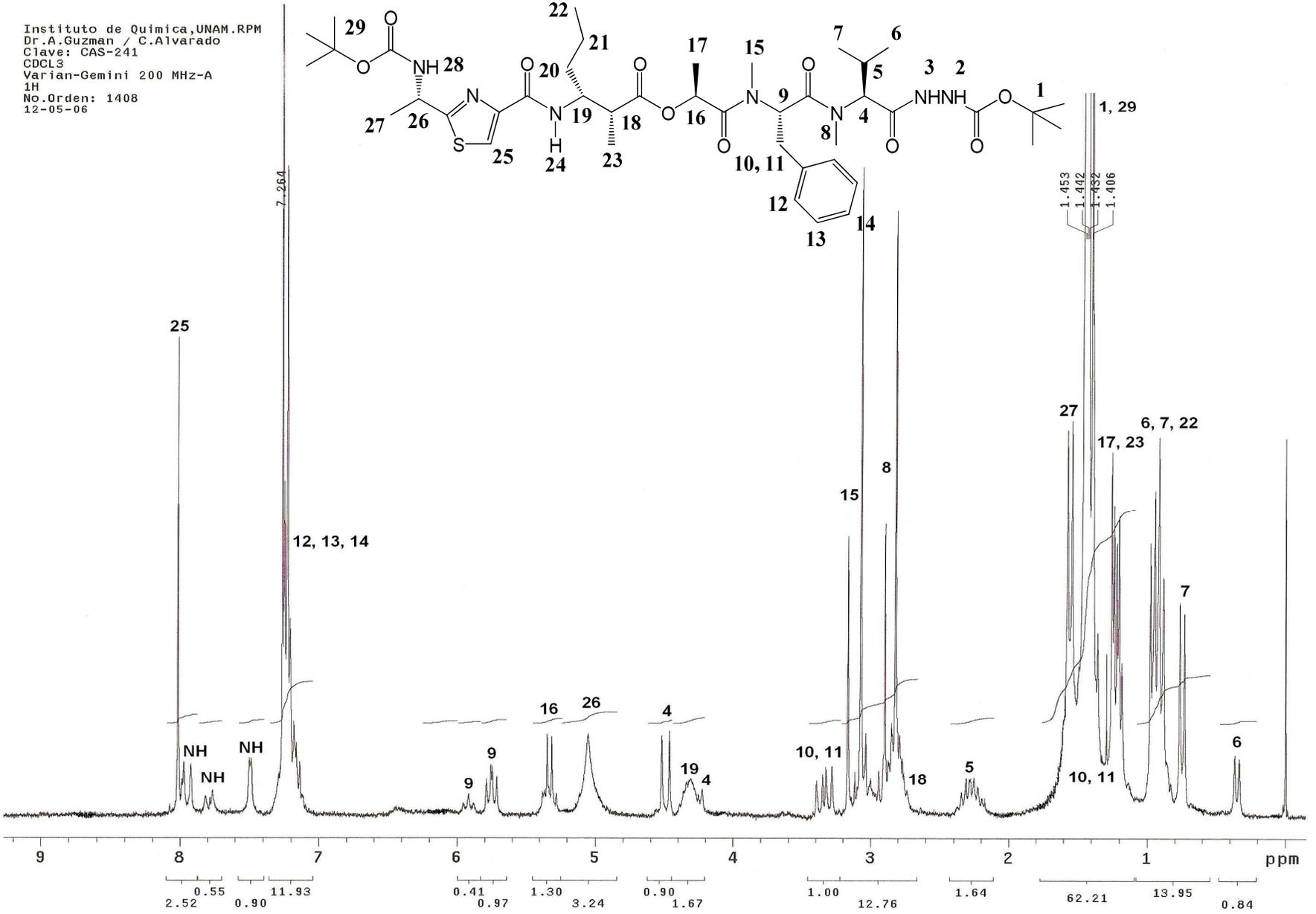


Figura 50. Espectro de RMN ¹H del depsipentapéptido 97.

U.N.A.M. Instituto de Química ICH
Dr. E. Díaz/C. Alvarado
Clave: CAS-252
Disolvente: CDC13
Experimento 1H
Varian Unity300 300 MHz
No. de registro 0043
12-01-07
Pulse Sequence: s2pu1

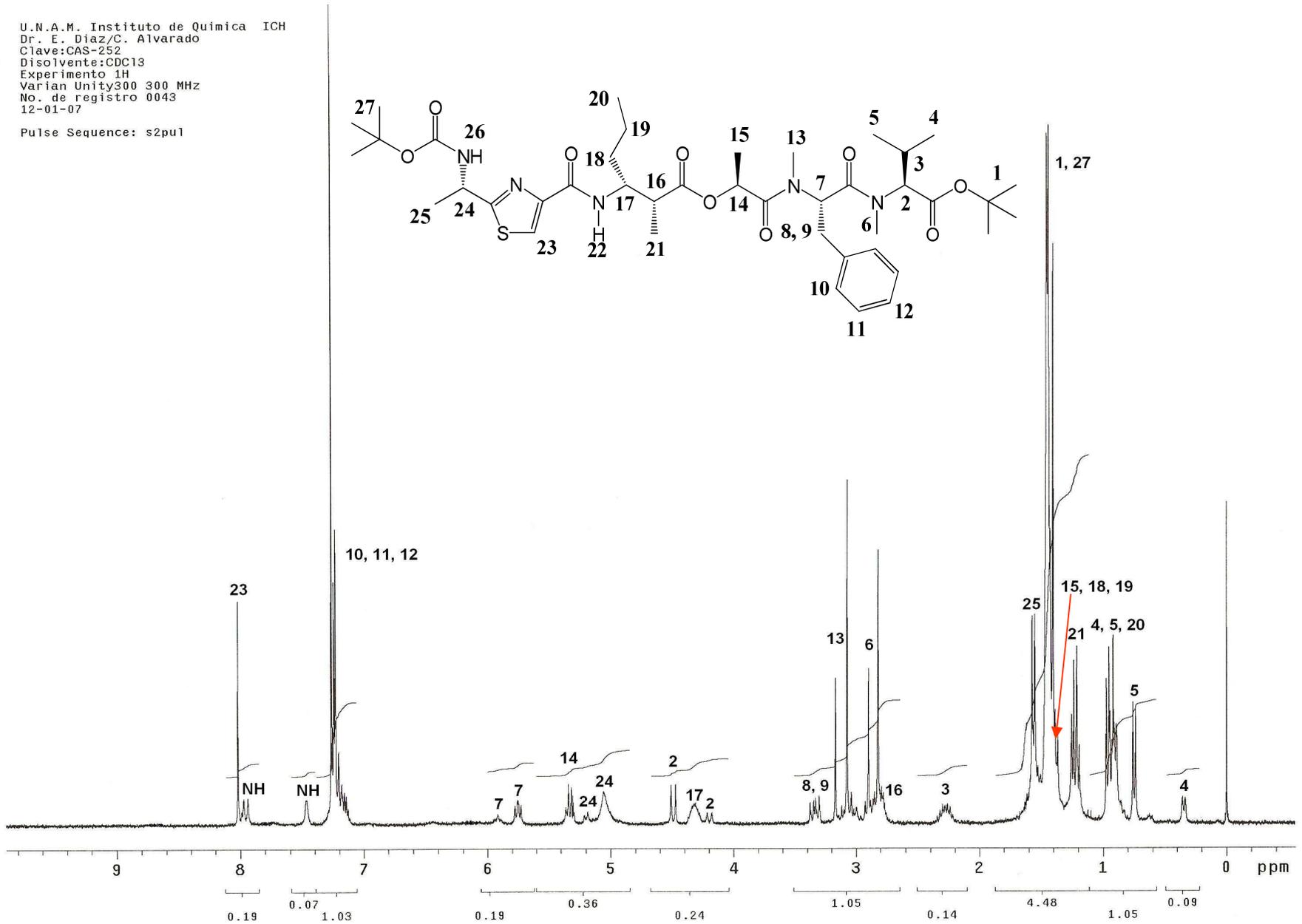
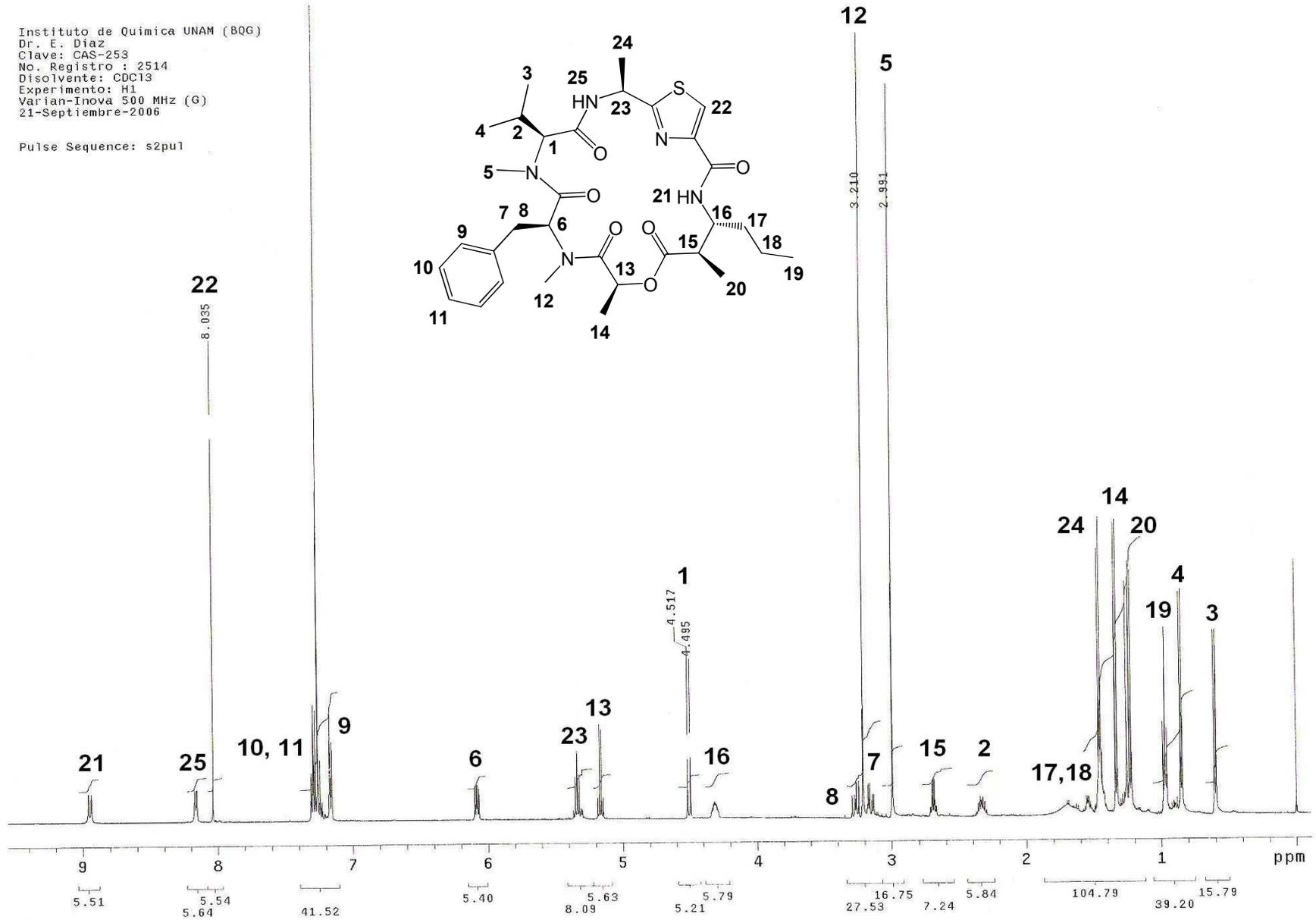


Figura 51. Espectro de RMN ¹H de la ulongamida A (1).

Instituto de Quimica UNAM (BOG)
 Dr. E. Diaz
 Clave: CAS-253
 No. Registro : 2514
 Disolvente: CDC13
 Experimento: H1
 Varian-Inova 500 MHz (G)
 21-Septiembre-2006
 Pulse Sequence: s2pu1



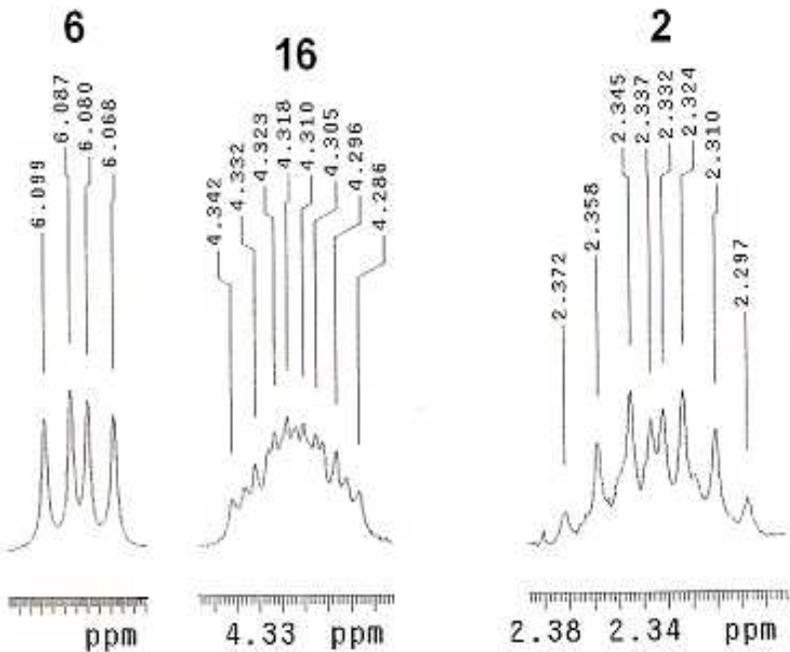
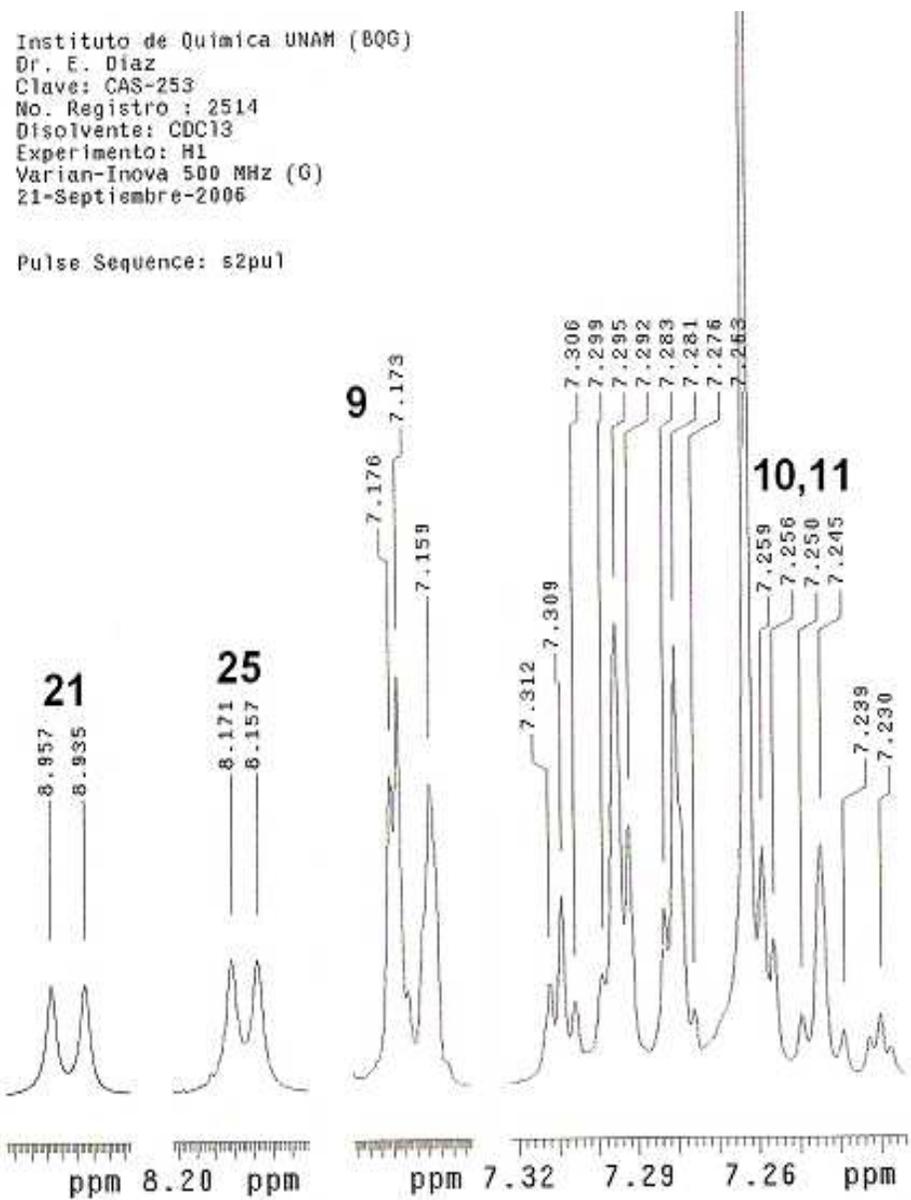
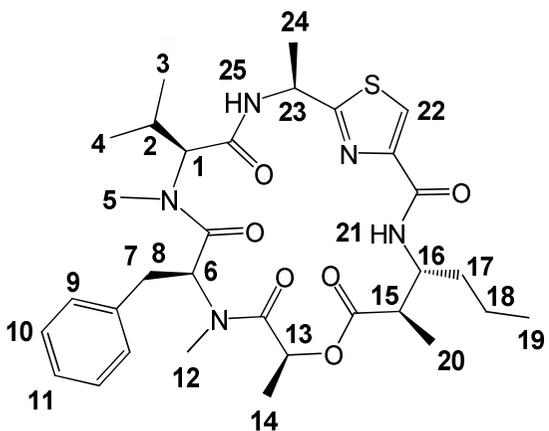


Figura 52. Ampliación del espectro de RMN ¹H de la alongamida A (1).

Figura 53. Ampliación del espectro de RMN ¹H de la ulongamida A (1).

Instituto de Química UNAM (BQI)
 Dr. E. Díaz
 Clave: CAS-253
 No. Registro : 2514
 Disolvente: CDC13
 Experimento: H1
 Varian-Inova 500 MHz (G)
 21-Septiembre-2006

Pulse Sequence: s2pu1

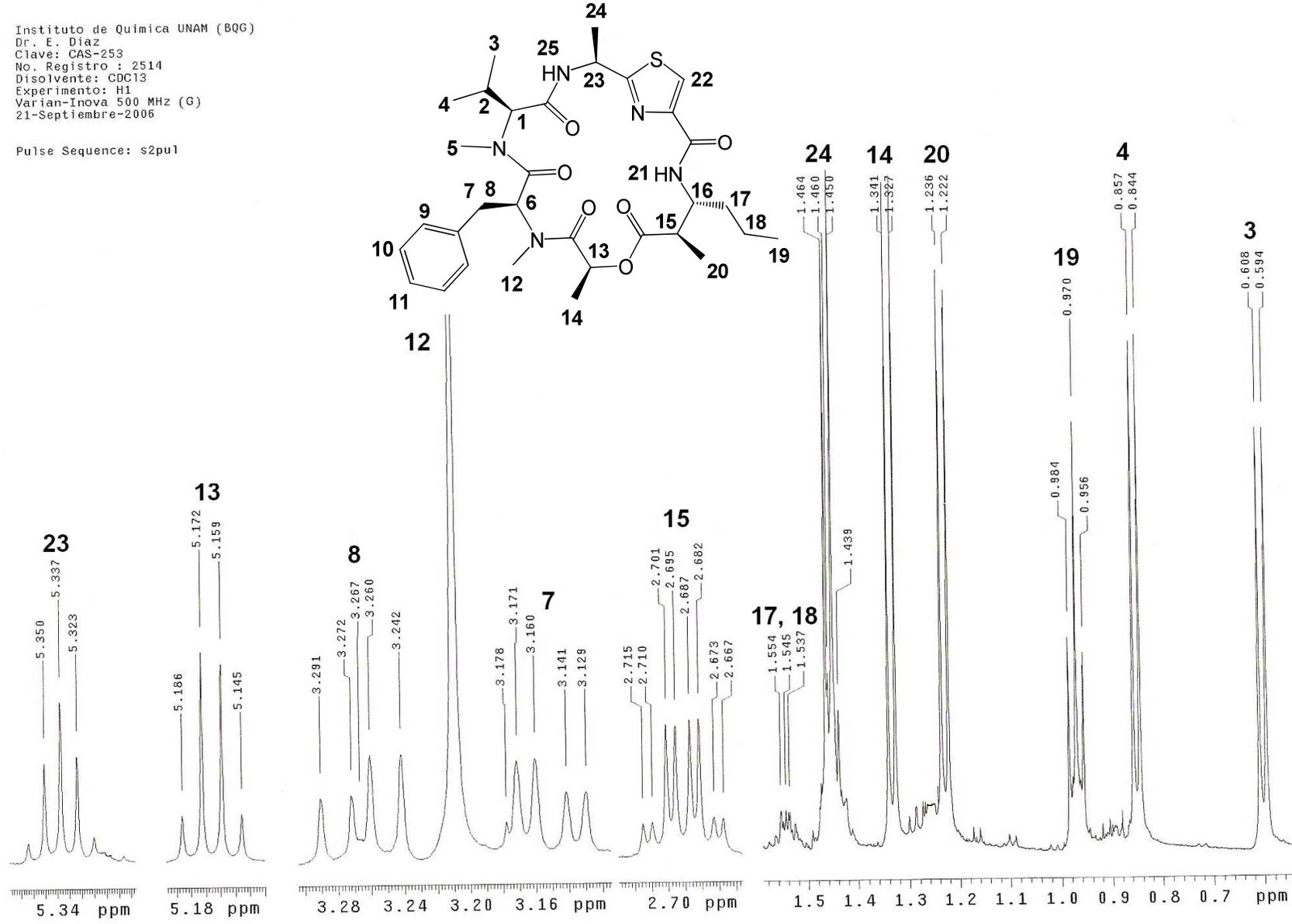


Figura 54. Espectro de RMN ¹³C de la ulongamida A (1).

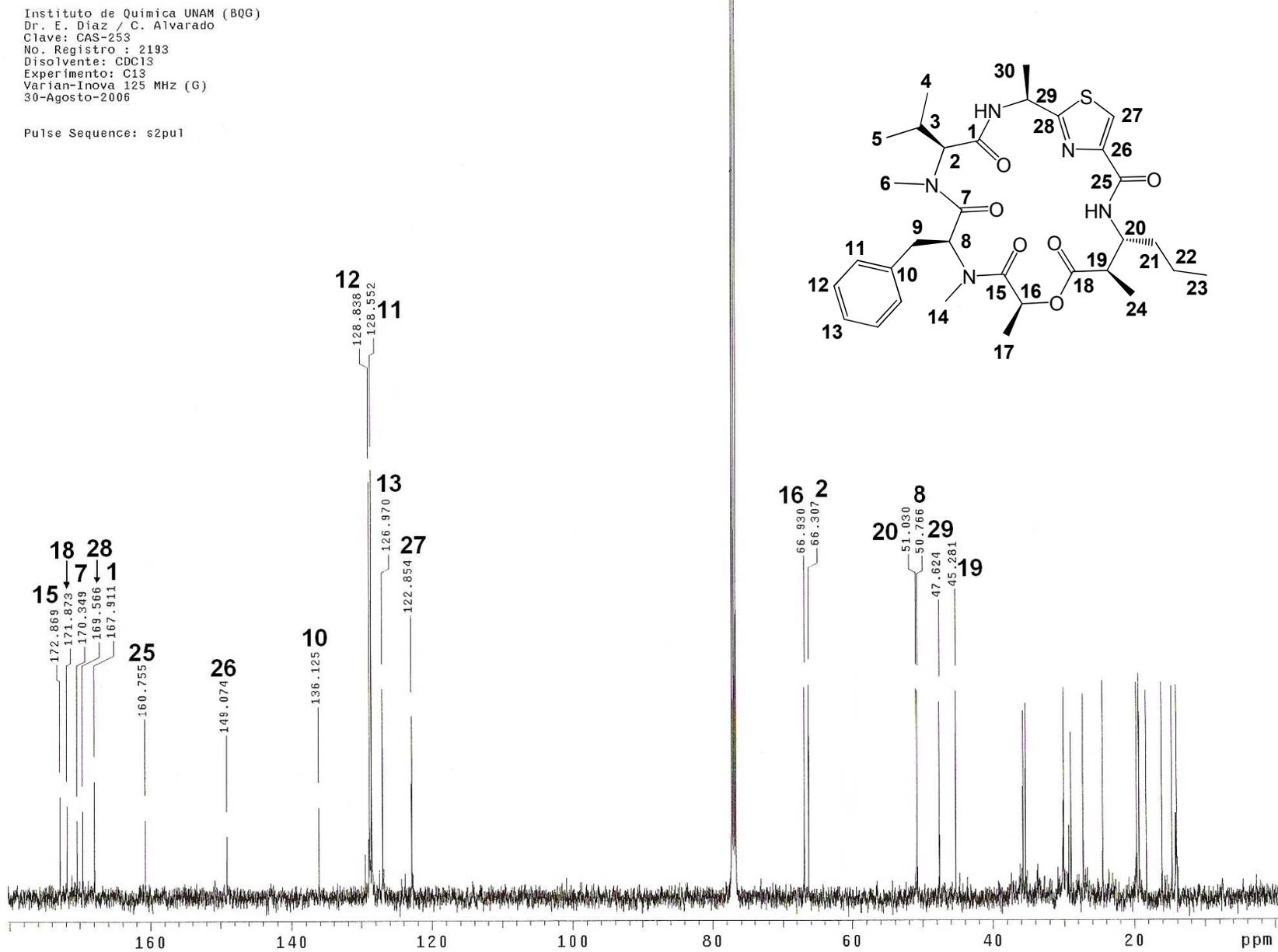
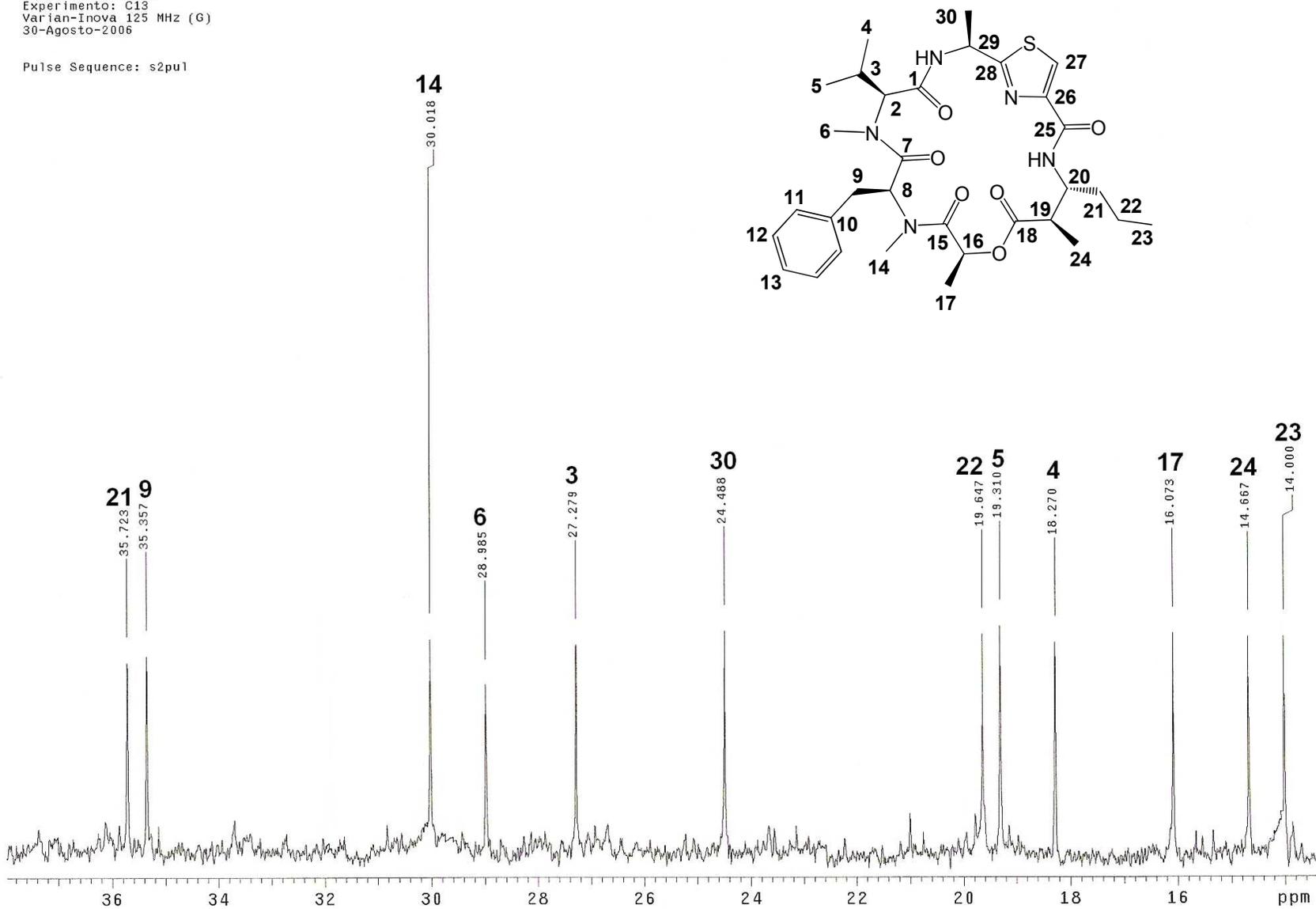


Figura 55. Ampliación del espectro de RMN ¹³C de la ulongamida A (1).

Instituto de Química UNAM (BQI)
Dr. E. Díaz / C. Alvarado
Clave: CAS-253
No. Registro: 2193
Disolvente: CDCl₃
Experimento: C13
Varian-Inova 125 MHz (G)
30-Agosto-2006

Pulse Sequence: s2pu1



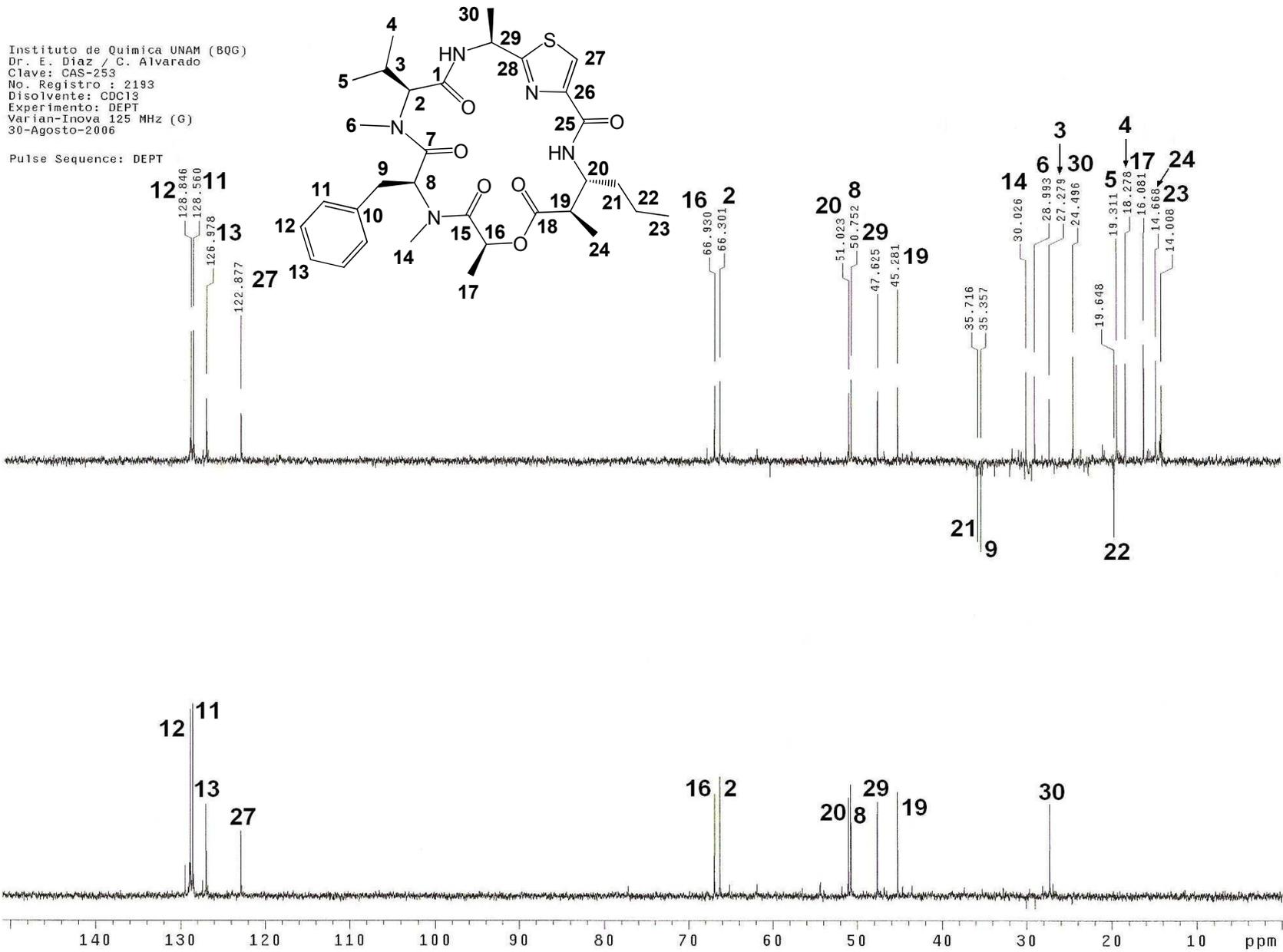


Figura 56. Espectro del experimento DEPT para la ulongamida A (1).

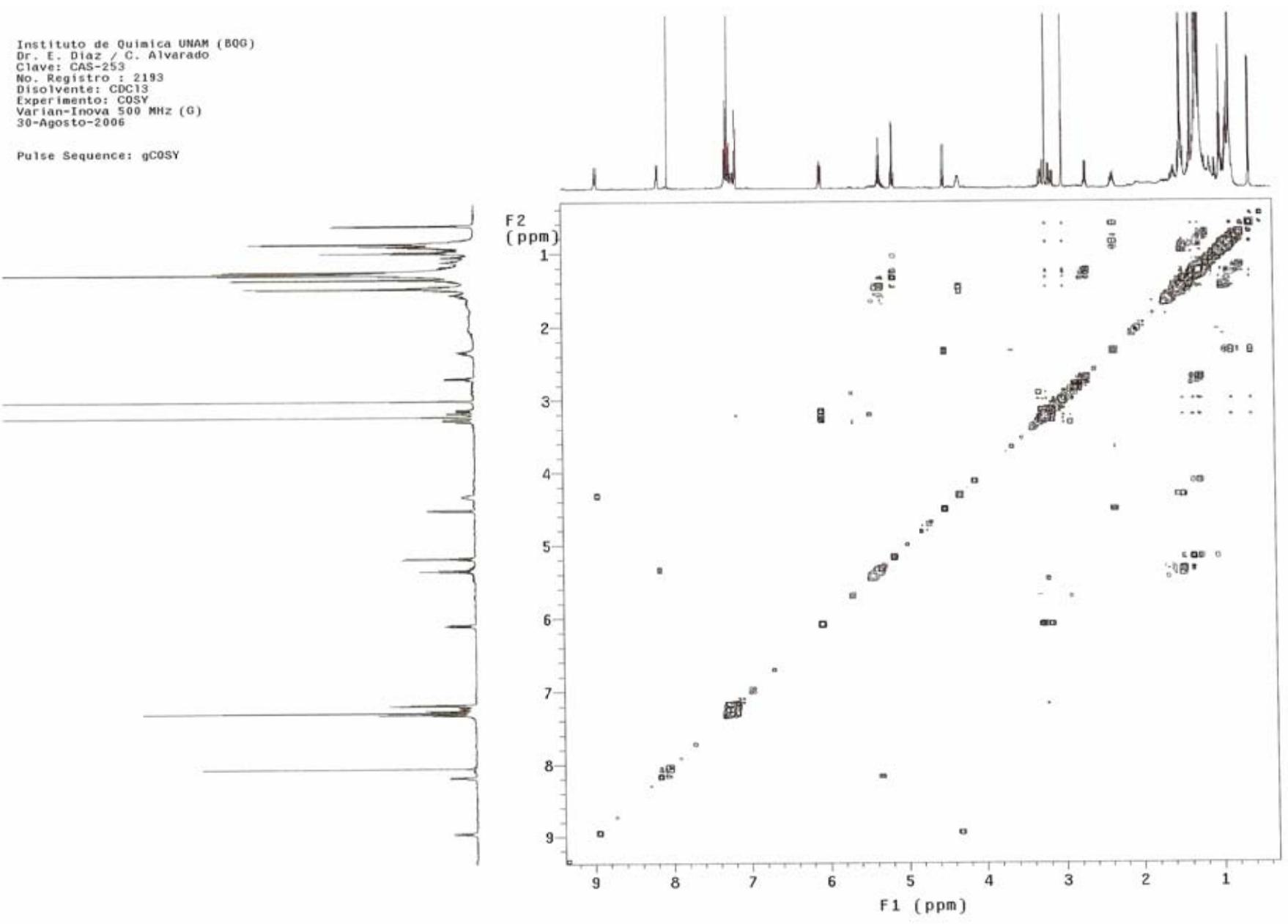


Figura 57. Espectro del experimento COSY para la ulongamida A (1).

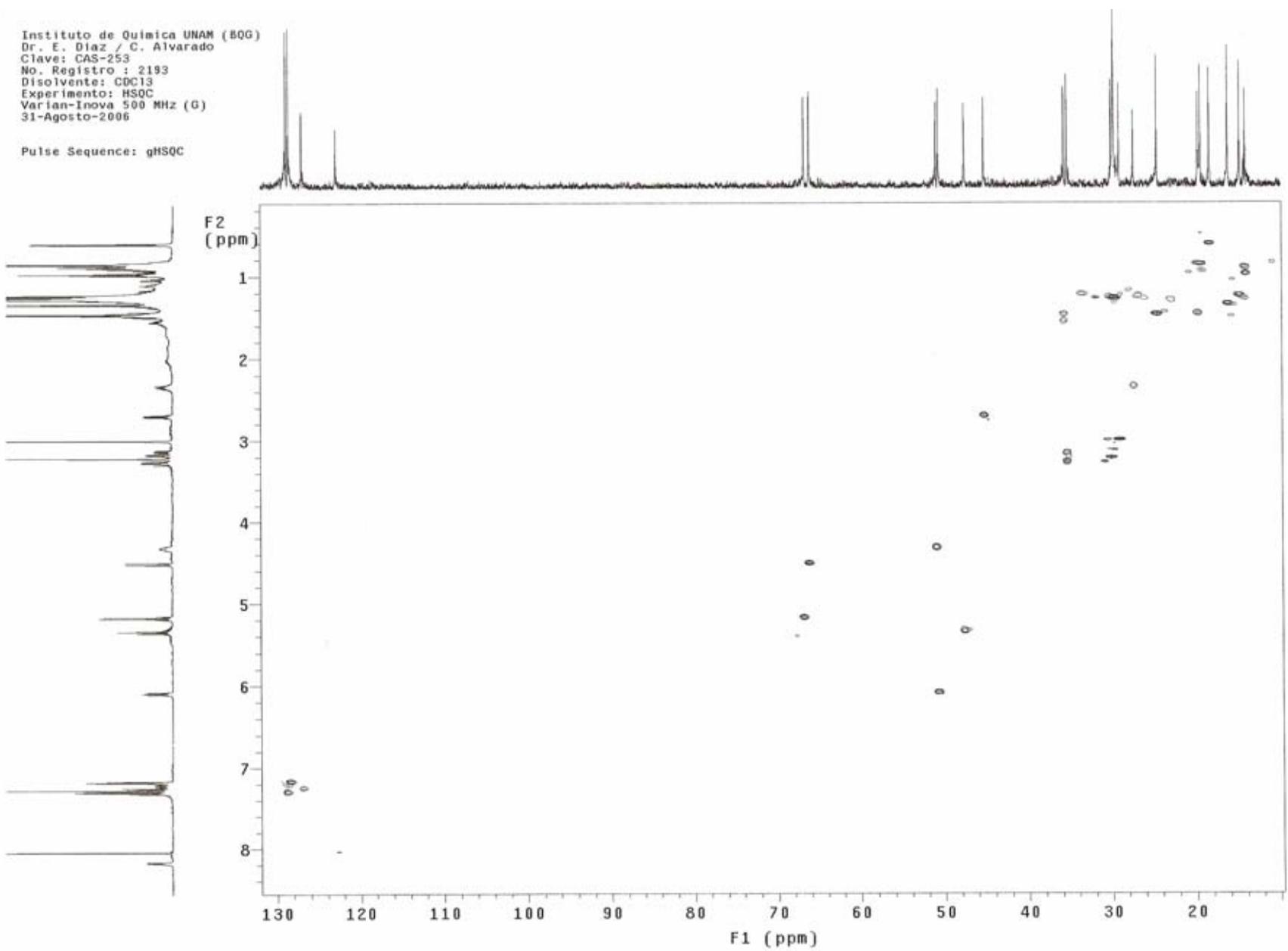


Figura 58. Espectro del experimento HSQC para la ulongamida A (1).

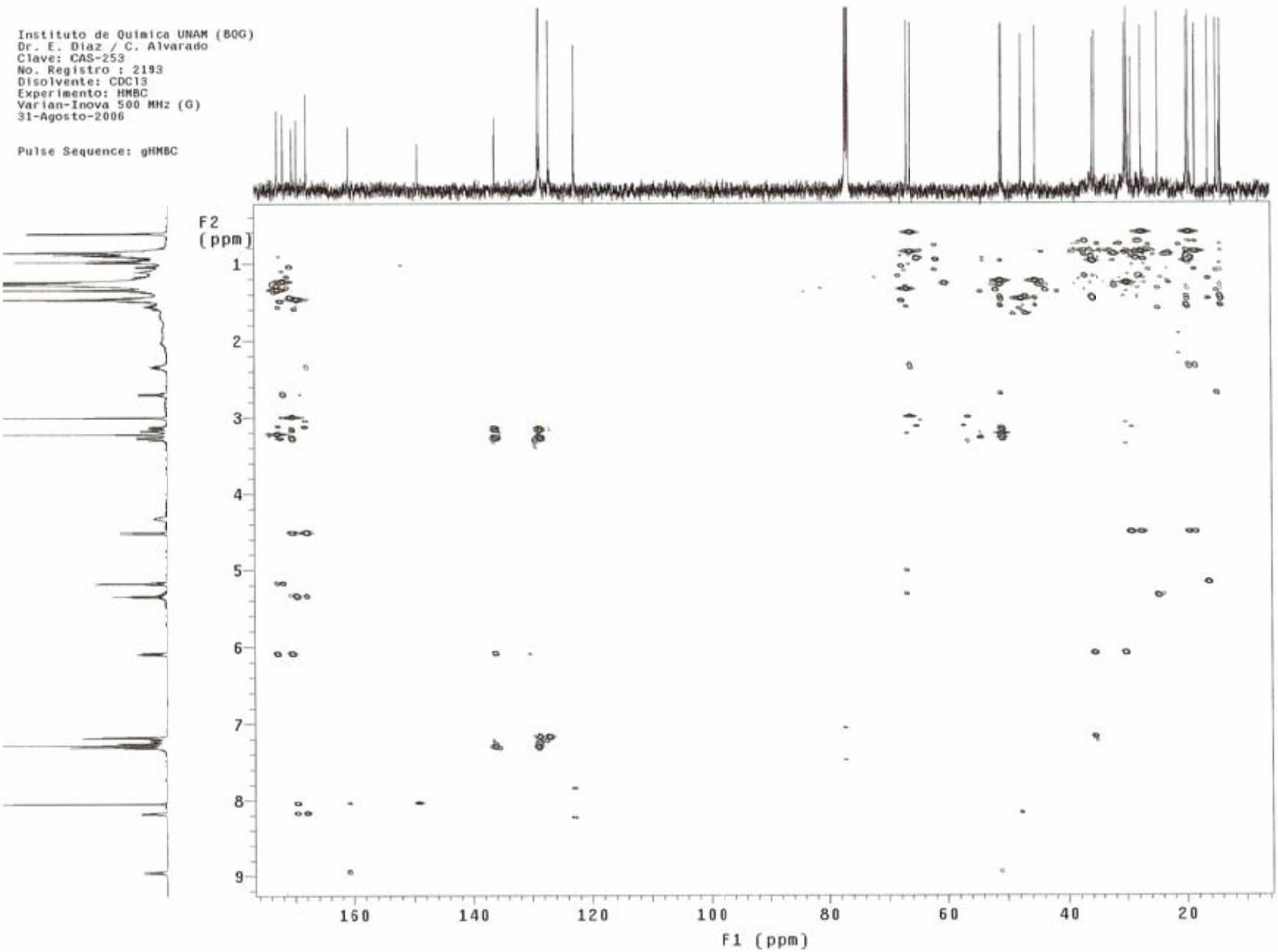


Figura 59. Espectro del experimento HMBC para la ulongamida A (1).

Instituto de Química UNAM (BQG)
 Dr. E. Díaz
 Clave: CAS-253
 No. Registro : 2514
 Disolvente: CDCl₃
 Experimento: NOESY
 Varian-Inova 500 MHz (G)
 22-Septiembre-2006

Pulse Sequence: NOESY

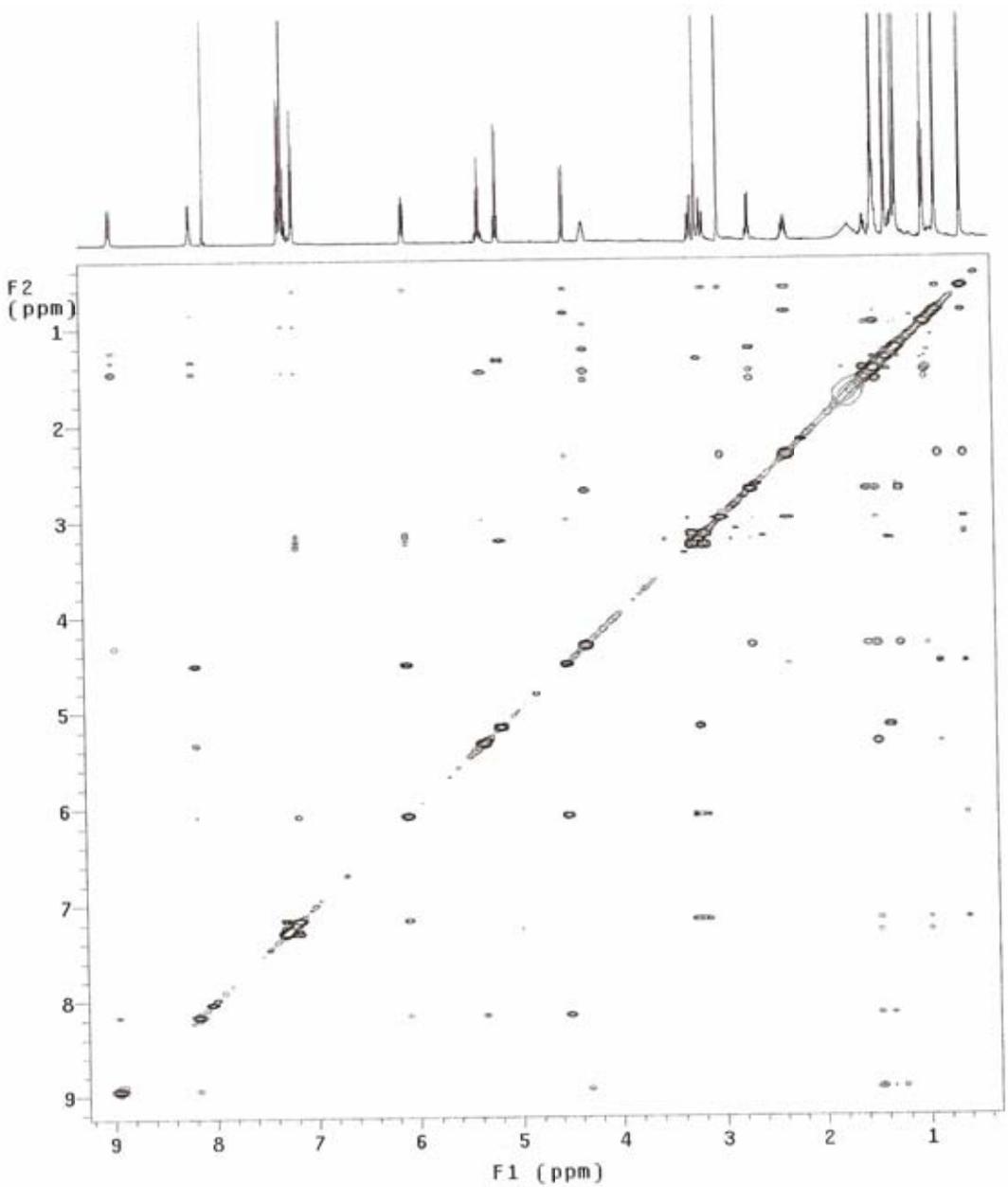


Figura 61. Espectro del experimento NOESY para la ulongamida A (1).

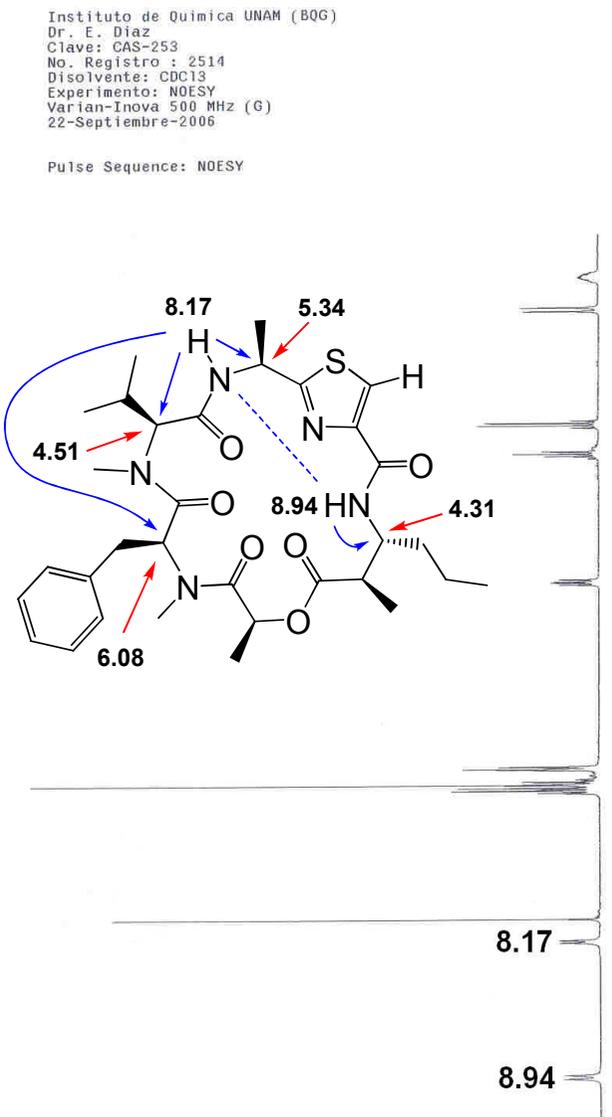
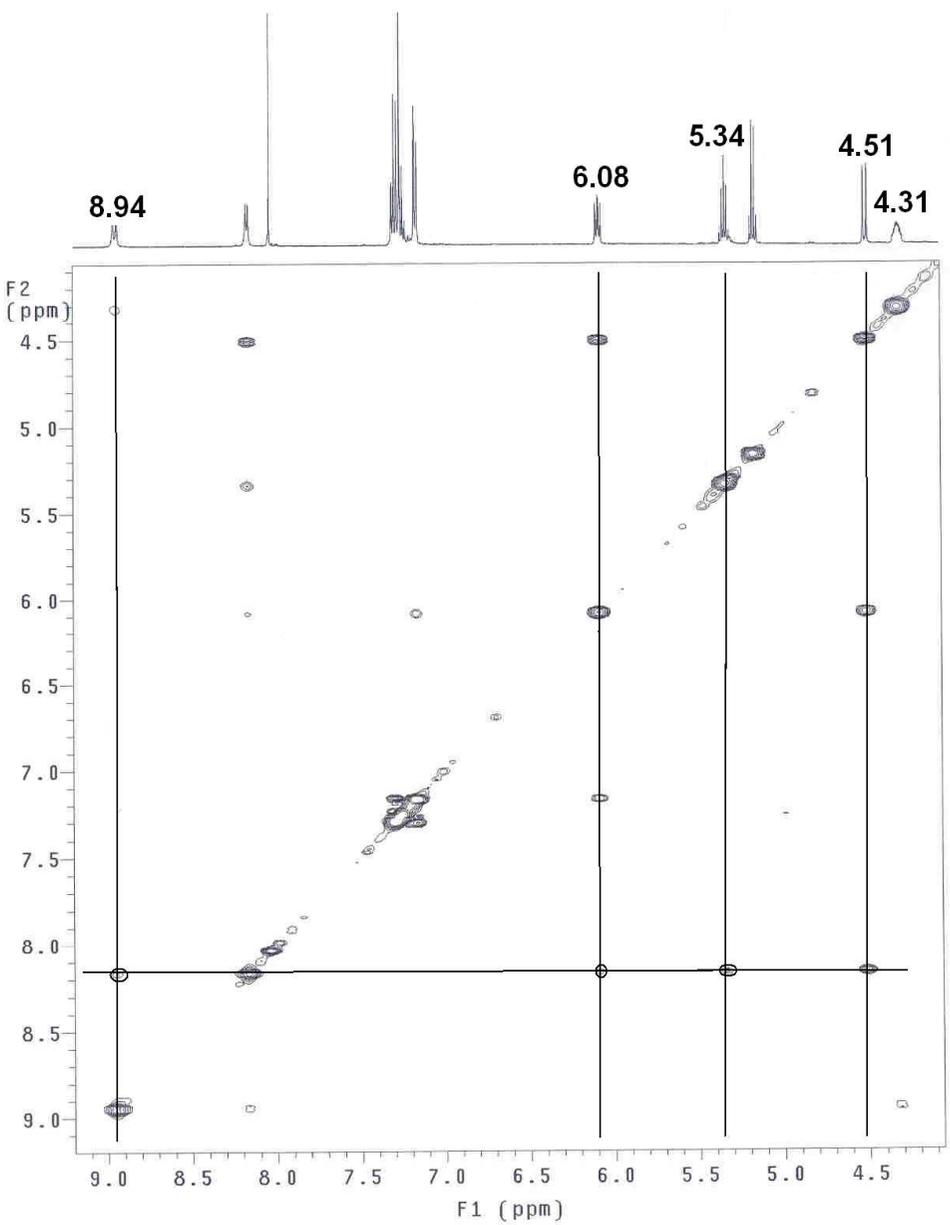


Figura 62. Ampliación del espectro del experimento NOESY para la ulongamida A (1), que muestra las diferentes interacciones del protón de la amina del aminoácido tiazólico en 8.17 ppm: con un protón del fragmento de la valina en 4.51 ppm, con un protón del fragmento del mismo aminoácido tiazólico en 5.34 ppm, con un protón del fragmento de la fenilalanina en 6.08 ppm y finalmente su interacción EXSY con el protón de la amina del fragmento del β -aminoácido en 8.94 ppm. Estas interacciones demuestran la ciclación del anillo de la ulongamida A (1).

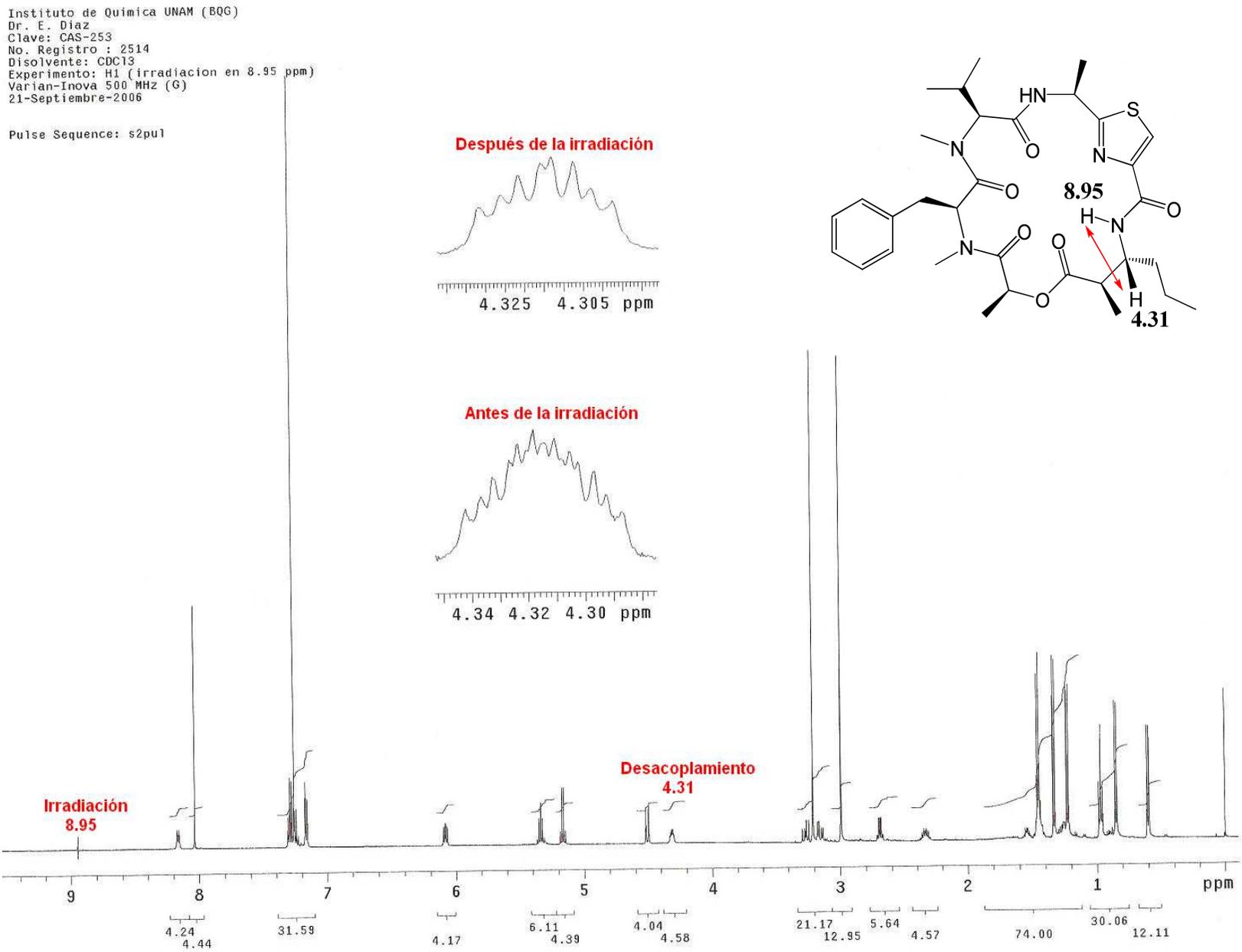


Figura 63. Experimento de irradiación sobre la ulongamida A (1). Este experimento muestra la interacción existente entre el protón de la amina del fragmento del β-aminoácido en 8.95 ppm con el protón en 4.31 ppm del mismo fragmento. Al irradiarse la señal en 8.95 ppm desaparece el acoplamiento con la señal en 4.31 ppm, que se hace menos compleja. Este experimento ayuda a fijar la posición del protón y de la amina misma en la estructura de la ulongamida A (1).

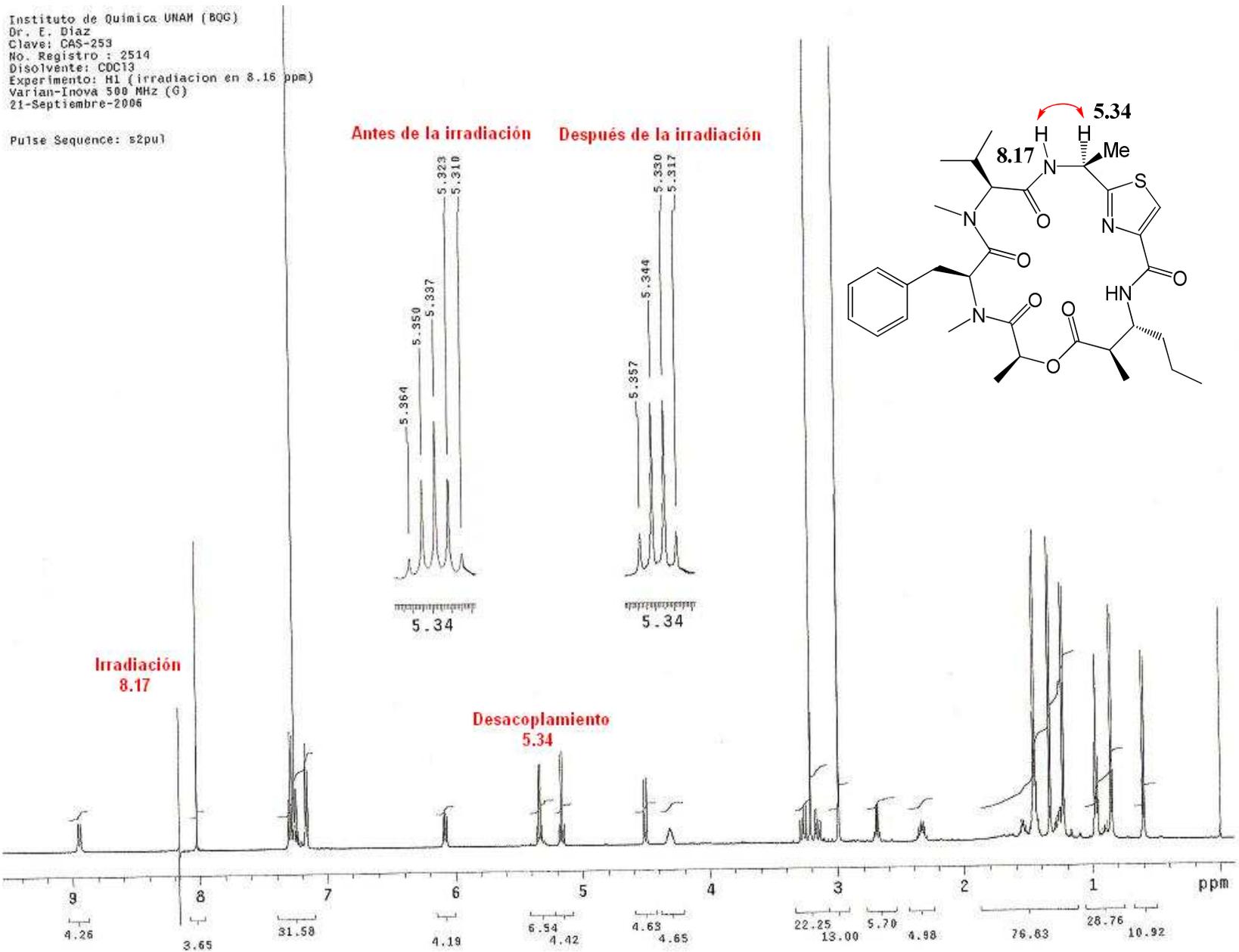
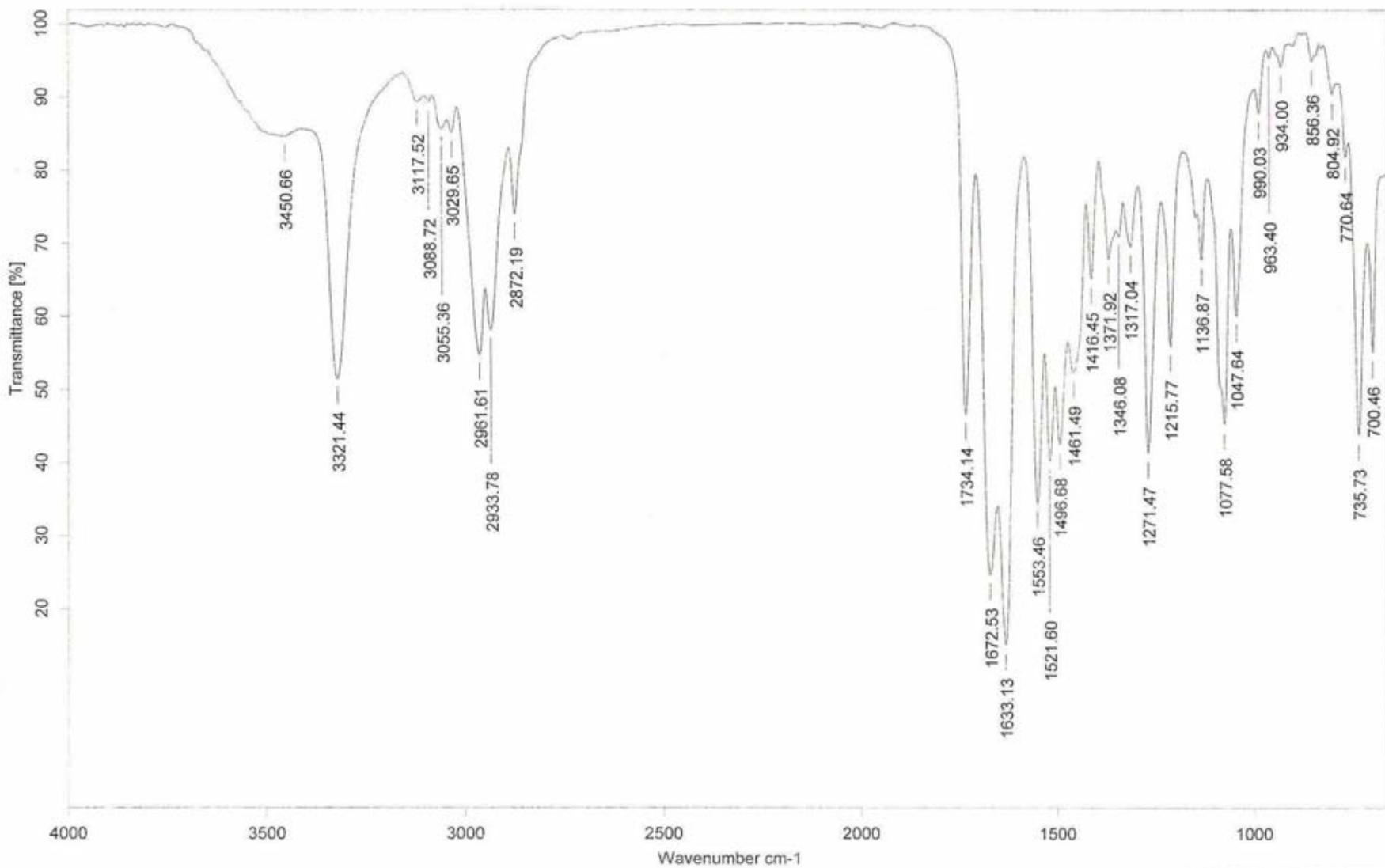


Figura 64. Experimento de irradiación sobre la ulongamida A (1). Este experimento muestra la interacción existente entre el protón de la amina del fragmento del aminoácido tiazólico en 8.17 ppm con el protón en 5.34 ppm del mismo fragmento. Al irradiarse la señal en 8.17 ppm desaparece el acoplamiento con la señal en 5.34 ppm, que se convierte en un cuadruplete. Este experimento ayuda a fijar la posición del protón y de la amina misma en la estructura de la ulongamida A (1).



C:\infrarrojo\AIR-2006\10629.0

Dr. E. Diaz

CAS-253

Película

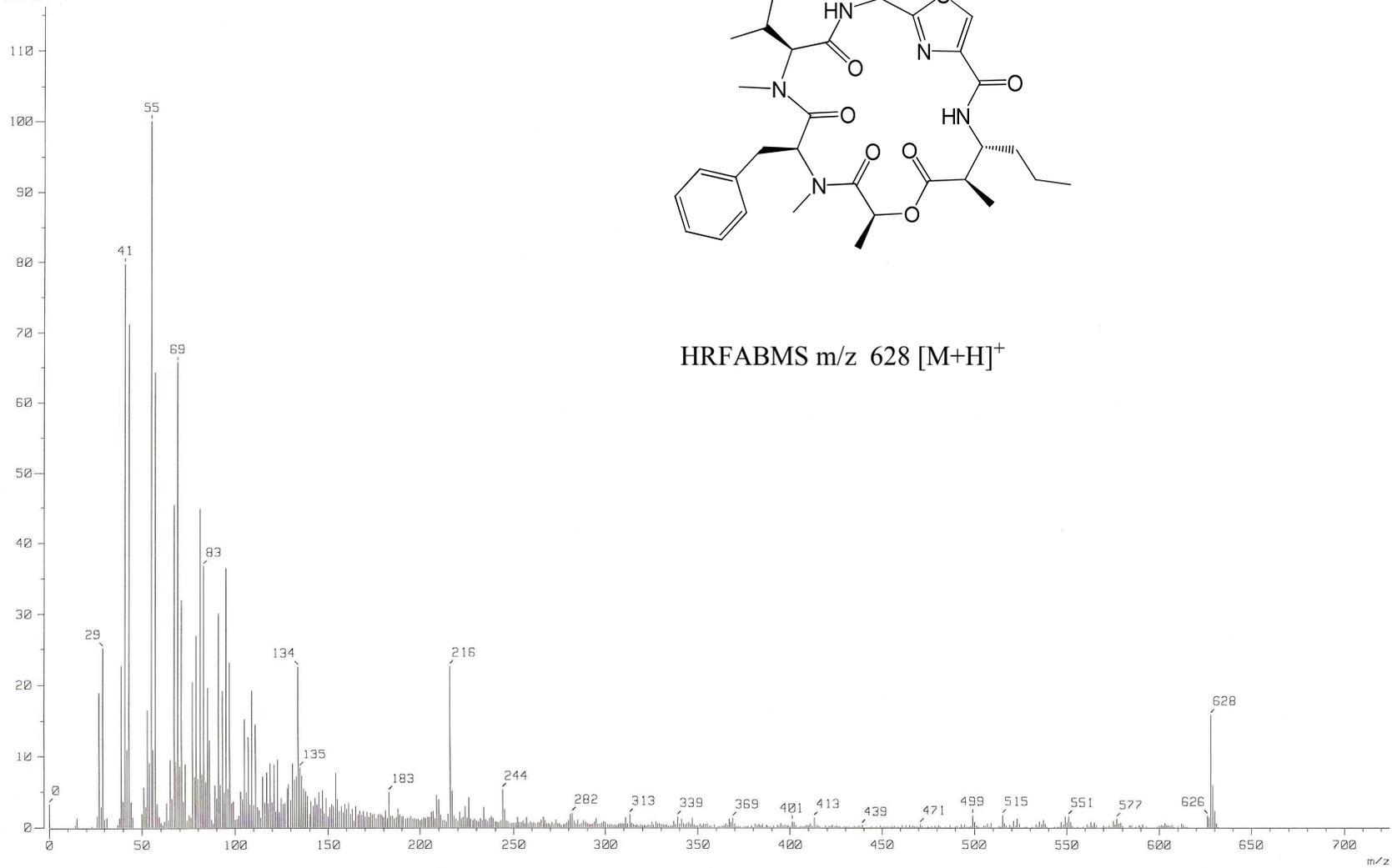
EGR

11/09/2006

Figura 65. Espectro de IR para la ulongamida A (1).

Figura 66. Espectro de masas por FAB⁺ para la ulongamida A (1).

[Mass Spectrum]
Data : Dr-E-Diaz632 Date : 08-Sep-2006 17:53
Sample: 1103 CAS-253 Jeol-102
Note : Luis-velasco
Inlet : Direct Ion Mode : FAB+
Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
RT : 2.12 min Scan# : (4,13)
BP : m/z 55.0000 Int. : 150.60
Output m/z range : 0.0000 to 724.6291 Cut Level : 0.00 %
1834717



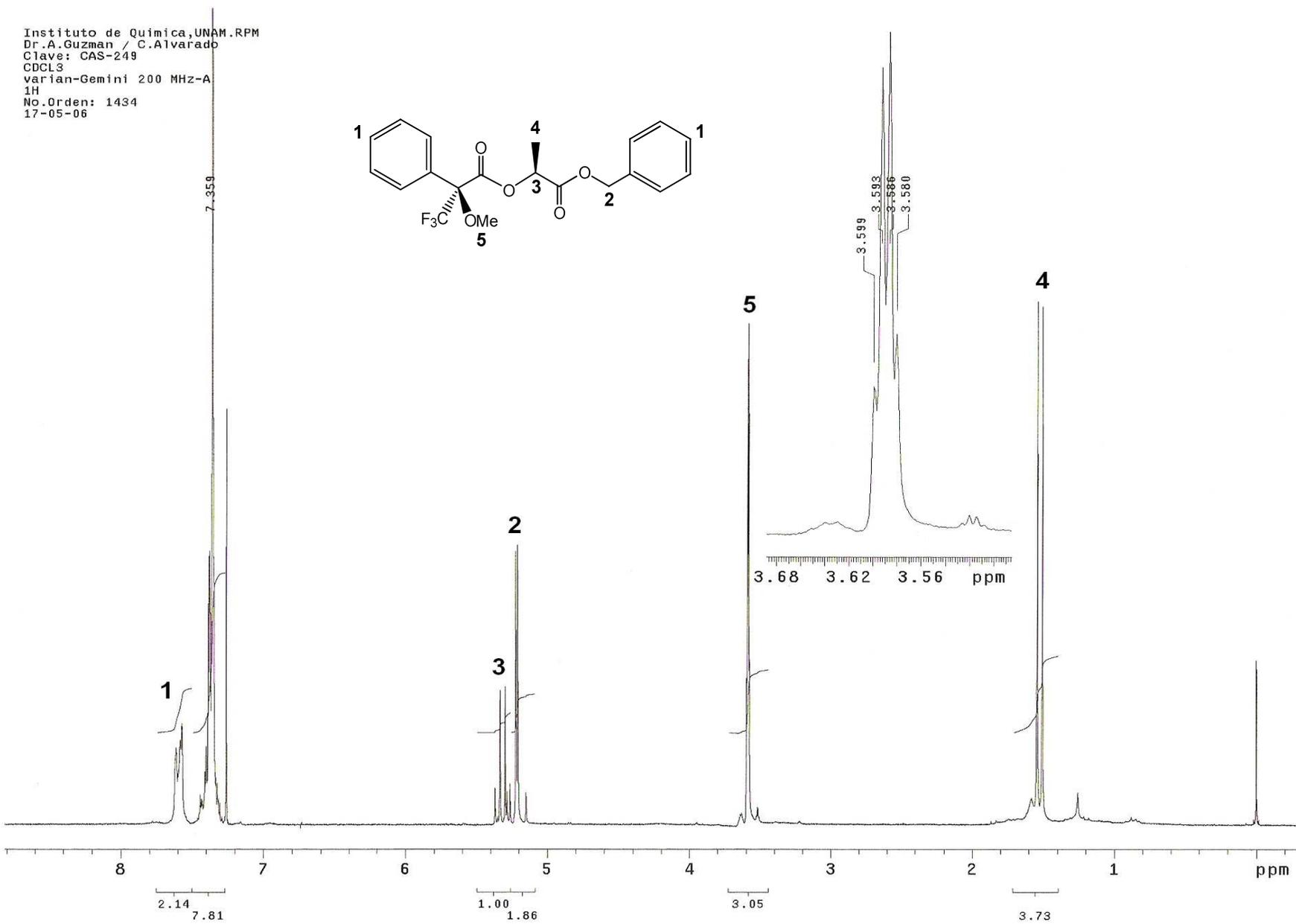


Figura 67. Espectro de RMN ¹H del derivado del éster bencílico de ácido L-láctico 98.

INSTITUTO DE QUIMICA, UNAM/ EHS
 Dr. E. Díaz/C. Alvarado
 Clave: CAS-256
 Disolvente: CDCl₃
 Hidrogeno-1
 Gemini 200 MHz (B)
 2-II-07
 No. de registro: 0298

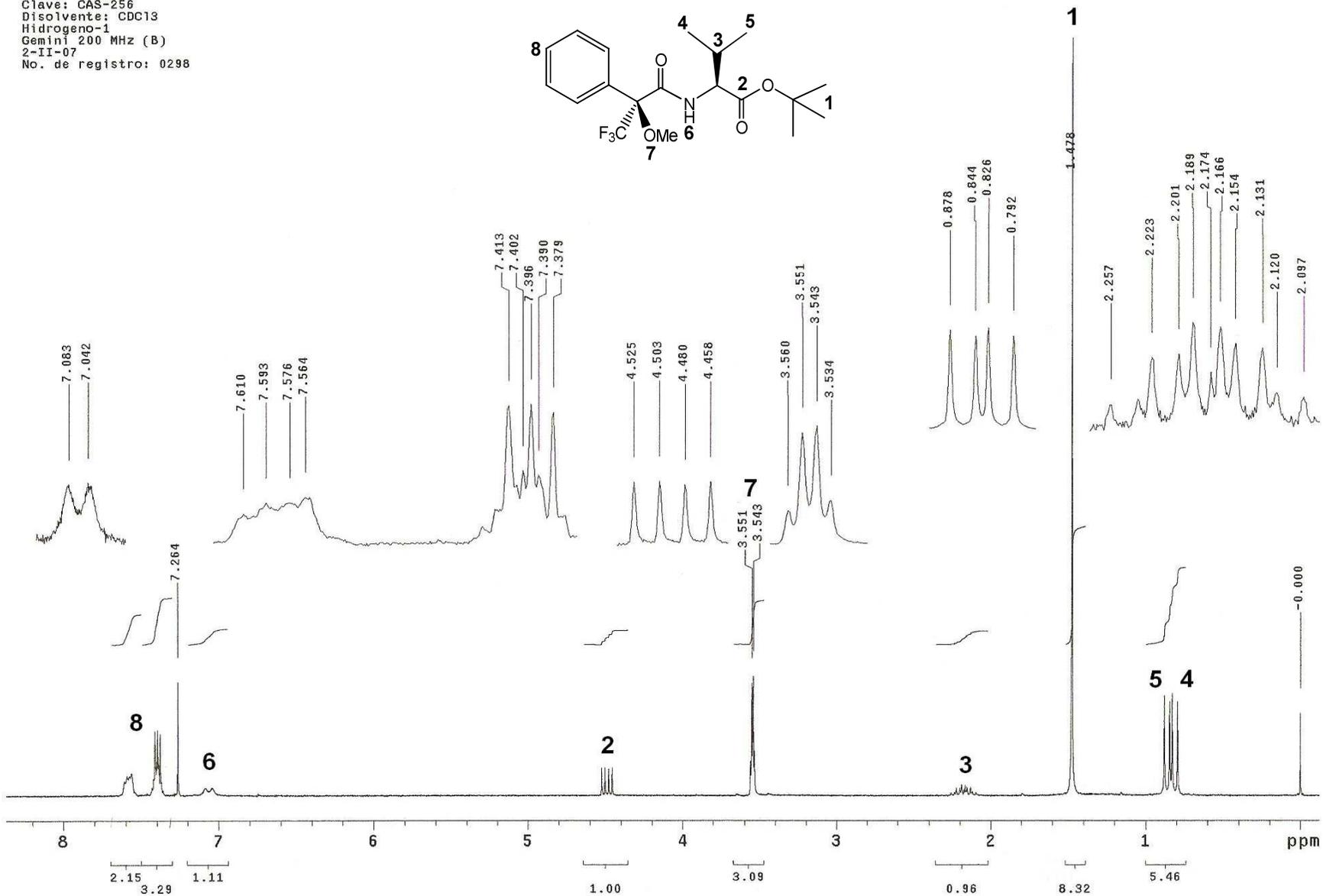


Figura 68. Espectro de RMN ¹H del derivado del éster terbutílico de la L-valina 99.

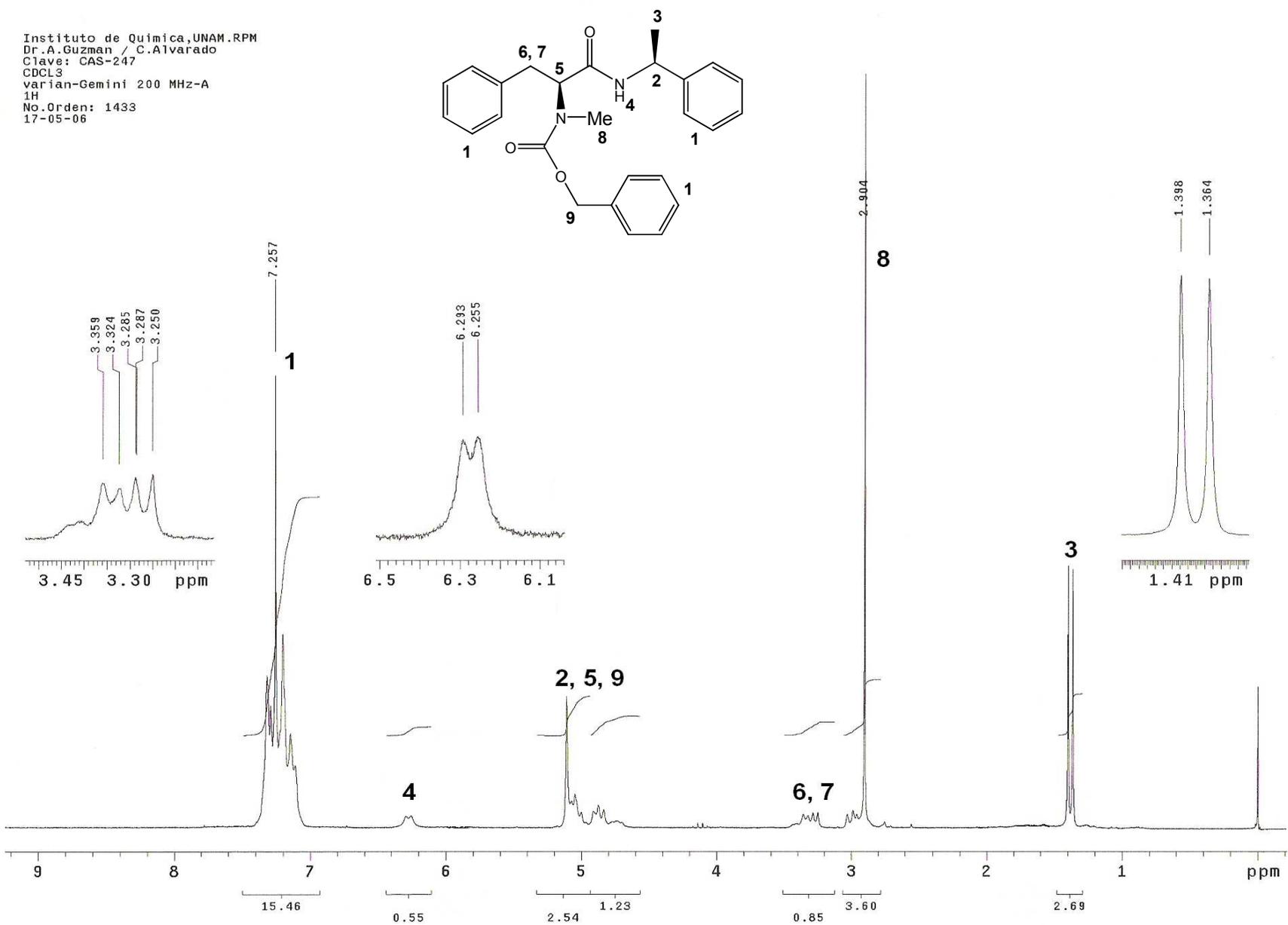
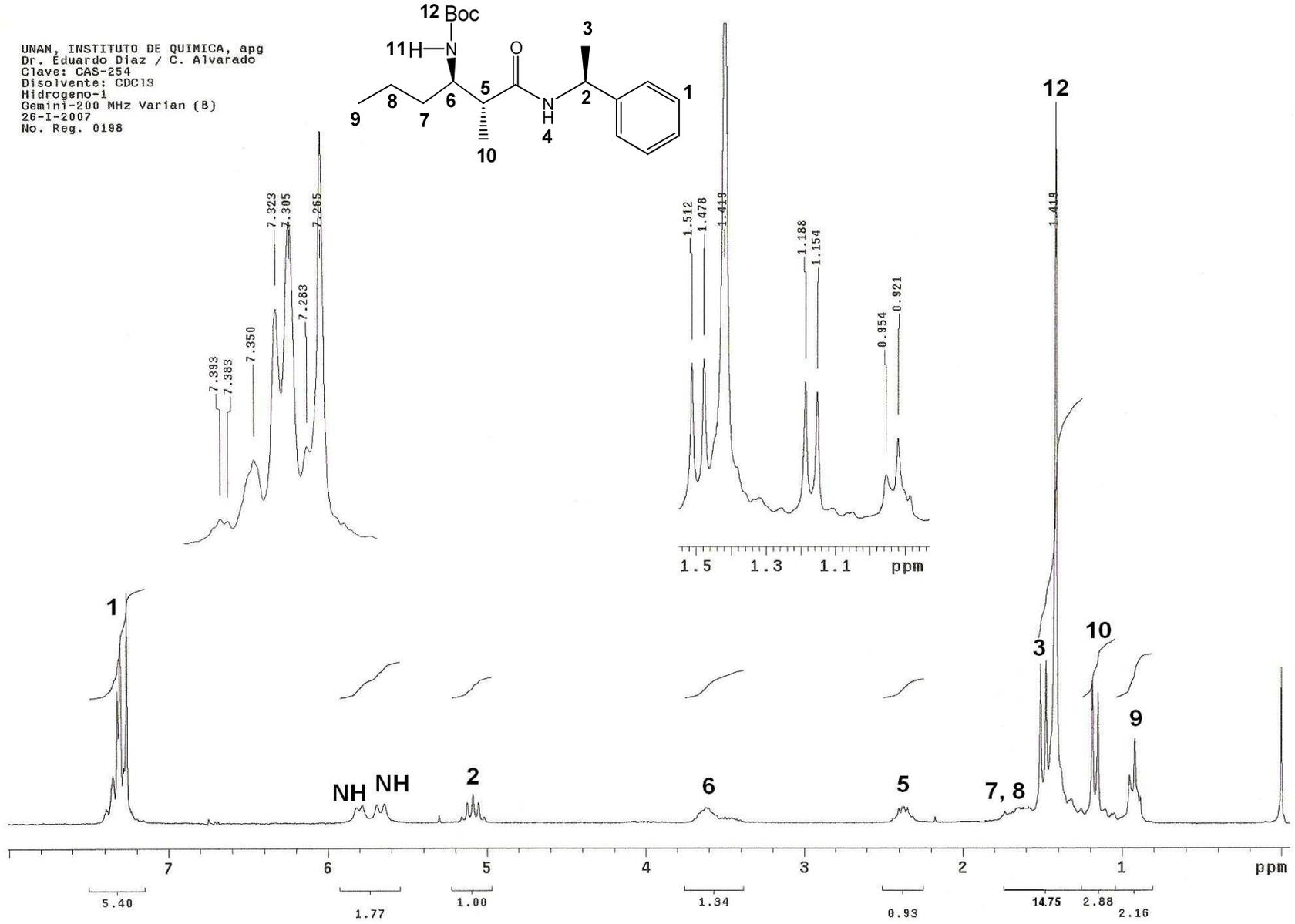


Figura 69. Espectro de RMN ¹H del derivado de la N-metil-L-fenilalanina 100.

Figura 70. Espectro de RMN ^1H del derivado del ácido (2*R*,3*R*)-3-(Boc-amino)-2-metilhexanoico **101**.



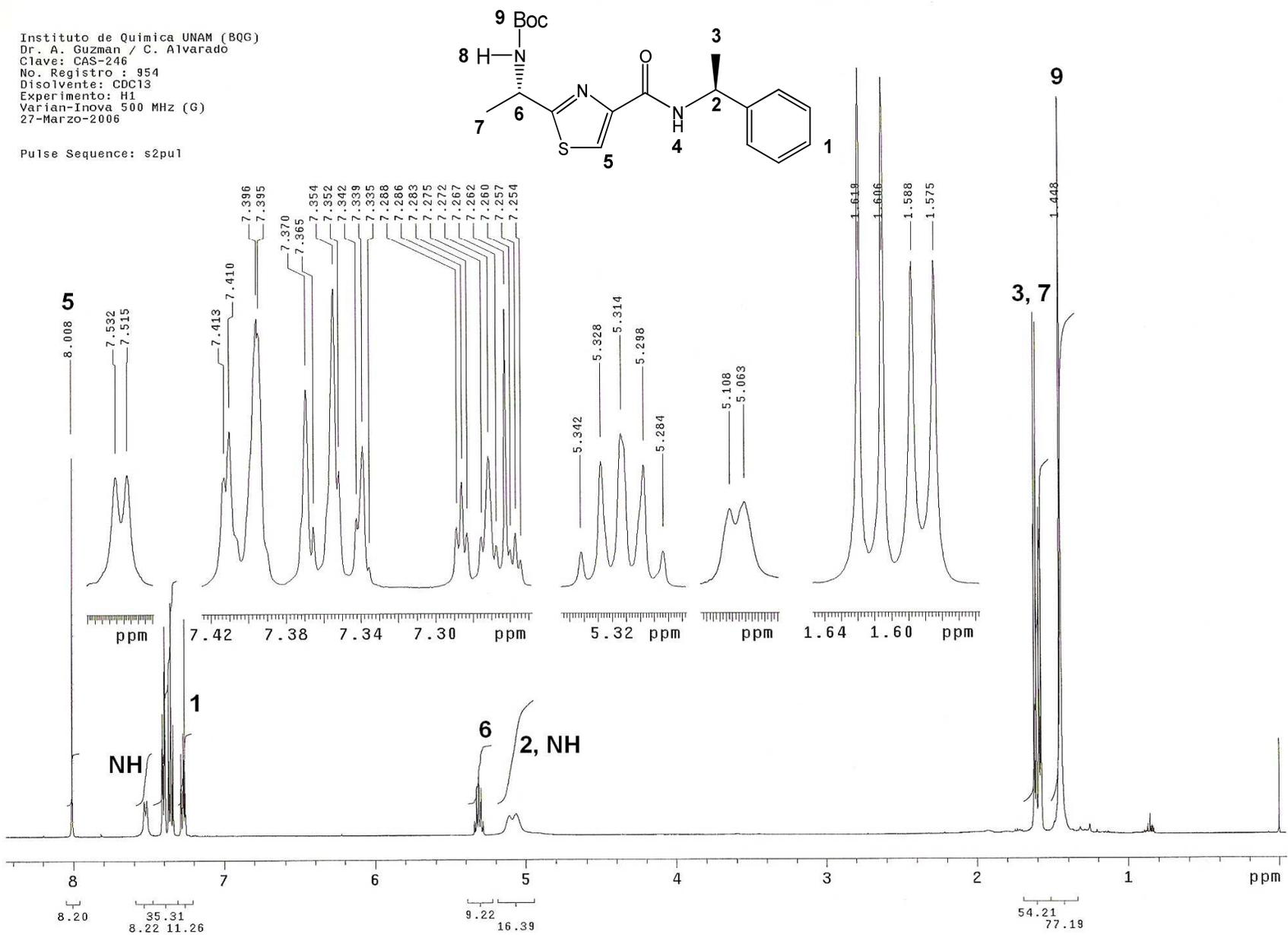


Figura 71. Espectro de RMN ¹H del derivado del ácido (S)-2-[1-(Boc-amino)etil]tiazol-4-carboxílico 102.

Total synthesis of ulongamide A, a cyclic depsipeptide isolated from marine cyanobacteria *Lyngbya* sp.

Cuauhtémoc Alvarado, Eduardo Díaz and Ángel Guzmán*

Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior s/n, Ciudad Universitaria, Coyoacan, 04510 México, DF, Mexico

Received 26 October 2006; revised 16 November 2006; accepted 17 November 2006
Available online 12 December 2006

Abstract—A total synthesis of ulongamide A (**1**), a cytotoxic natural cyclic depsipeptide, was achieved by a convergent route involving coupling of the fragments **7** and **8** to the pentapeptide **24**, and subsequent cyclization thereof after prior removal of the *t*-Boc protecting groups.

© 2006 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Cyanobacteria, or blue-green marine algae, are of considerable interest because of the impressive number and structural diversity of the metabolites which they produce. A wide variety of biological activities is found amongst these metabolites¹ including extreme toxicity in some instances.² Depsipeptides, one class of compounds produced by cyanobacteria, are of potential importance in the therapy of cancer. For example, criptophycin-52, a synthetic analog of criptophycin-1, isolated from *Nostocaceae* sp.,^{3,4} and dolastatine-10, a modified pentapeptide isolated from a marine cyanobacterium,⁵ have been tested as anticancer drugs. In 2002, six new depsipeptides designated as ulongamides A–F, were isolated by Luesch et al.⁶ from Palauan collections of the marine cyanobacterium *Lyngbya* sp., and found to possess activity against some types of cancer. Herein, is described the synthesis of ulongamide A (**1**), the first member of this series of compounds.

Luesch et al.,⁶ also showed that ulongamide A (**1**) is a cyclic depsipeptide formally derived from five structural units, four of which are the amino acids **2**, **3**, **5**, and **6**, the fifth being L-lactic acid **4** (Fig. 1). Amino acids **2** and **3** were obtained by N-methylation⁷ of L-valine

and L-phenylalanine. Compounds **5** and **6** were synthesized in the manner described later in the text.

A convergent strategy was used for the synthesis of **1**. The two starting materials required for this purpose were **7** and **8** (Fig. 2). The depsitriptide **7** was prepared by sequential coupling of **4**, **5**, and **6**. Dipeptide **8** was likewise obtained from structural units **2** and **3**.

2. Synthesis of depsitriptide 7

The optically pure benzyl ester **4a** of L-lactic acid was prepared by well known literature methodology.^{8,9} The unusual β -amino acid **5** was synthesized using a procedure reported by Kimura et al.,¹⁰ in which the (4*R*,5*S*)-oxazolidinone derivative **9** was N-acylated with propionyl chloride **11**, and the so produced *N*-propionyl derivative **10** (Scheme 1) was subjected to low temperature aldolization with *n*-butanal. The essentially pure (2*R*,3*S*)-aldol **12** thus obtained (78% from **9**), was converted into the azide **13** (43% yield), of inverted configuration, by a Mitsunobu¹¹ reaction using hydrogen azide. Cleavage of the chiral auxiliary from **13** with alkaline hydrogen peroxide, followed by catalytic reduction of the azido acid **14** provided the β -amino acid **5**, which was transformed into its *t*-Boc derivative **5a**.

The (*S*)-thiazole carboxylic acid **6a** was prepared following the procedure described by Xia and Smith¹² for the (*R*)-enantiomer. To this end, L-alanine (**15**, Scheme 2) was protected as the *t*-Boc derivative **16**, and then

Keywords: Ulongamide A; Cyanobacteria; Cyclodepsipeptides.

* Corresponding author. Tel.: +52 55 56 22 44 21; fax: +52 55 56 16 22 17; e-mail addresses: alvaradosanchezc@yahoo.com.mx; maudiaz@servidor.unam.mx; angelgs@servidor.unam.mx

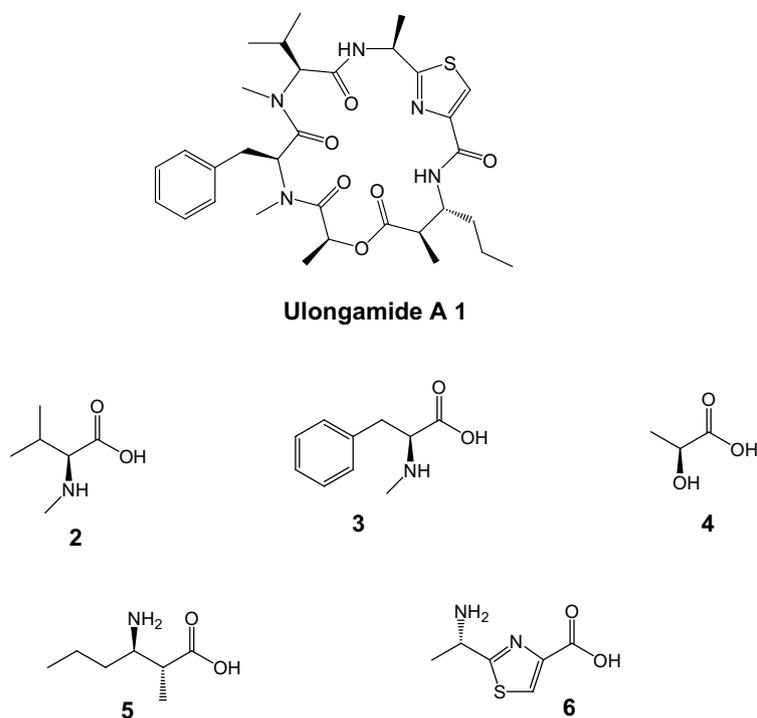


Figure 1. Ulongamide A and its structural components.

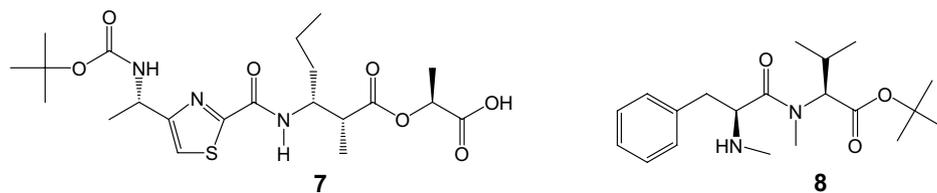
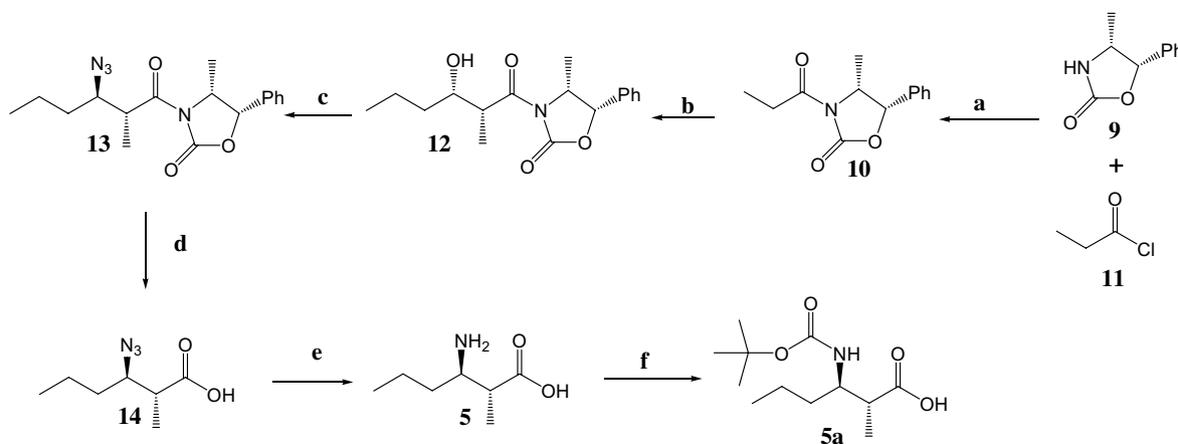


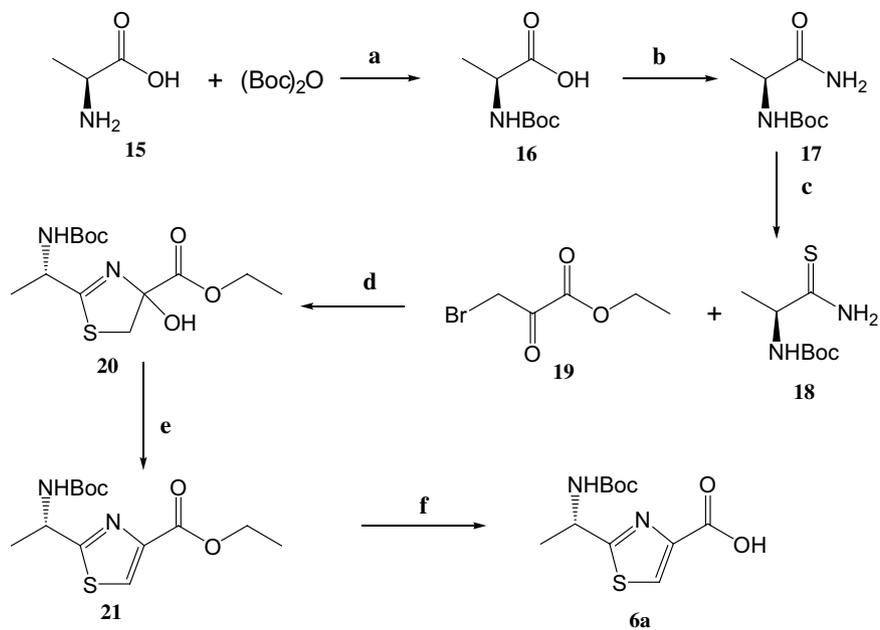
Figure 2. Convergent way.



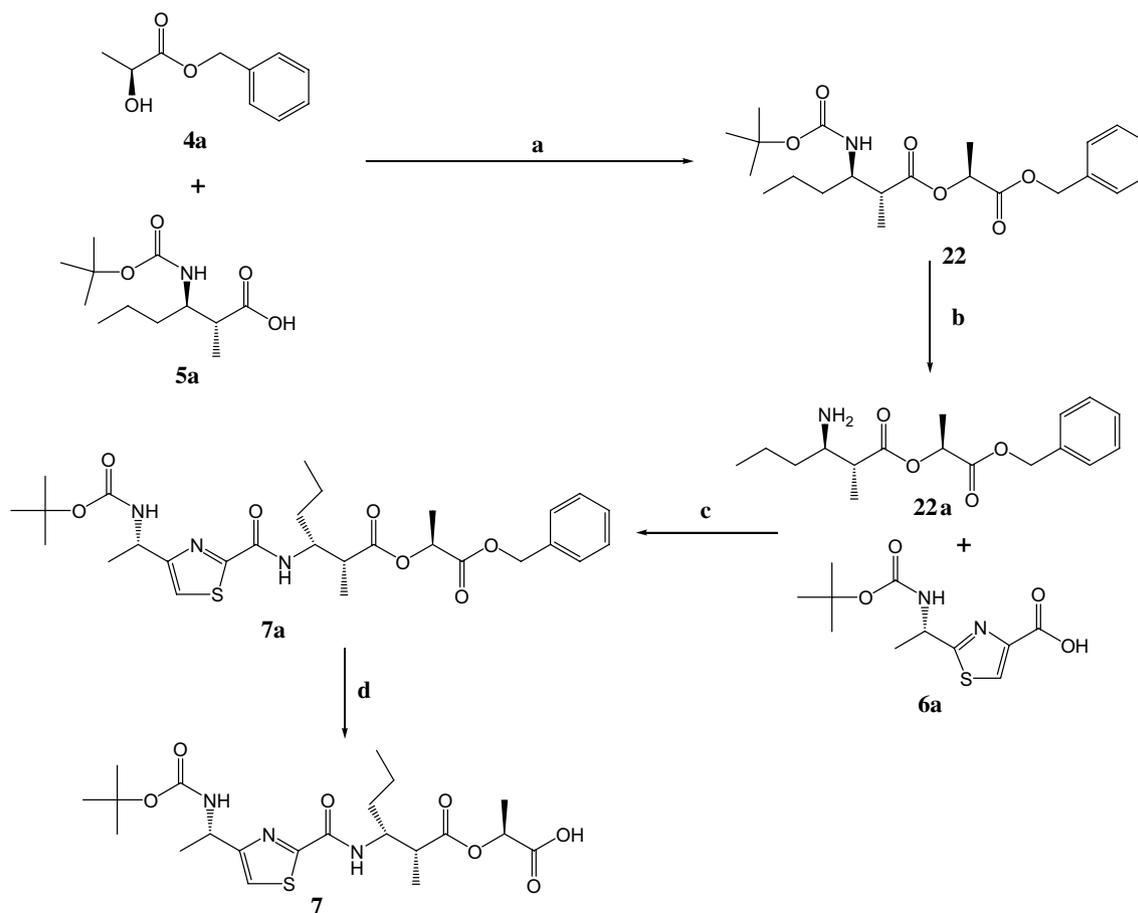
Scheme 1. Synthetic route to **5a**. Reagents and conditions: (a) *n*-BuLi, THF, $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, 93%; (b) 1. DBBT, EDIPA, CH_2Cl_2 , $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, 2. *n*-butanal, $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, 84%; (c) DEAD, PPh_3 , HN_3 , toluene, 43%; (d) H_2O_2 , LiOH, H_2O ; (e) $\text{H}_2/\text{Pd-C}$, methanol, 88%; (f) $(\text{Boc})_2\text{O}$, Et_3N , $\text{H}_2\text{O}/p$ -dioxane, 85%.

converted into the primary amide **17** by amination of the mixed anhydride derived from ethyl chloroformate. Thionation of **17** with Lawesson's reagent and subsequent reaction of the thioamide **18** with ethyl bromopyruvate **19** generated the hydroxythiazoline **20**, which was con-

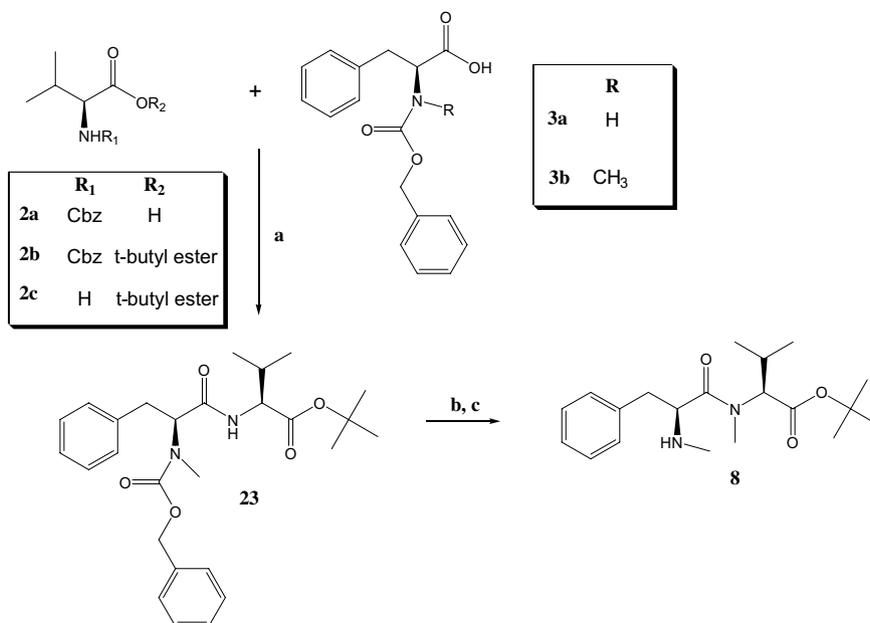
verted into the thiazole **21** by treatment with trifluoroacetic anhydride in the presence of 2,6-lutidine. Saponification of **21** with aqueous sodium hydroxide (3 equiv) at room temperature generated the protected amino acid **6a**.



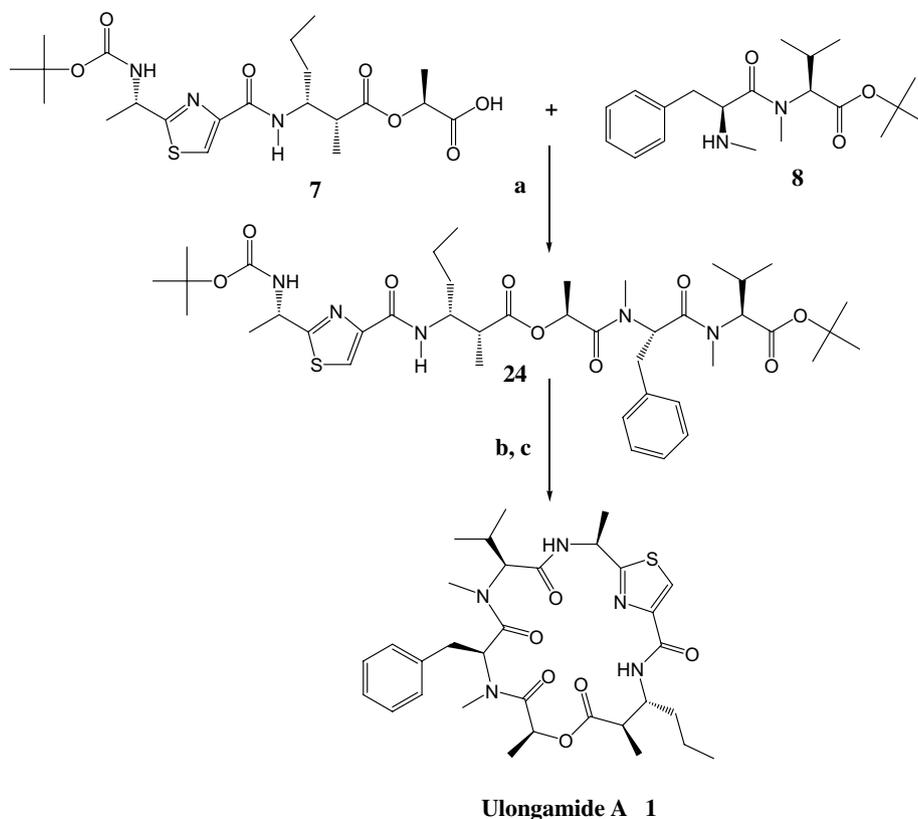
Scheme 2. Synthetic route to **6a**. Reagents and conditions: (a) Et_3N , *p*-dioxane/ H_2O (3:1), rt, 16–18 h, 87%; (b) 1. ethyl chloroformate, CH_2Cl_2 , -10°C , 2. $\text{NH}_3/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, 90%; (c) Lawesson's reagent, DME, 16–18 h, 85%; (d) KHCO_3 , DME, -15°C ; (e) $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$, lutidine, -15°C , 77%; (f) $\text{NaOH}/\text{H}_2\text{O}$, 83%.



Scheme 3. Synthetic route to **7**. Reagents and conditions: (a) DCC, DMAP, CH_2Cl_2 , 16–18 h, 70%; (b) TFA, CH_2Cl_2 , 88%; (c) DCC/HOBt, CH_2Cl_2 , 16–18 h, 67%; (d) $\text{H}_2/\text{Pd-C}$, 87%.



Scheme 4. Synthetic route to **8**. Reagents and conditions: (a) DCC/HOBt, CH₂Cl₂, 16–18 h, 87%; (b) CH₃I, NaH, THF, 0 °C, 85%; (c) H₂/Pd–C.



Scheme 5. Obtention of ulongamide A. Reagents and conditions: (a) BOP, Et₃N, CH₂Cl₂, 55%; (b) TFA, CH₂Cl₂; (c) BOP, DMF, 80–90 °C, 60%.

With the requisite starting materials in hand, the synthesis of the depsitriptide **7** was completed by the following sequence of reactions. Coupling of benzyl lactate (**4a**, Scheme 3) with the β -amino acid **5a**, mediated by dicyclohexylcarbodiimide (DCC), provided the bis-protected depsitriptide **22** (70% yield) from which the

t-Boc group was removed with trifluoroacetic acid, giving the amino compound **22a**. Coupling of **22a** with the thiazole carboxylic acid derivative **6a**, by means of DCC containing hydroxybenzotriazole (HOBt), produced **7a** which on hydrogenolysis generated depsitriptide **7** (58% yield over two steps).

3. Synthesis of dipeptide 8

N-Cbz-L-Phenylalanine **3a** was selectively *N*-methylated with methyl iodide (sodium hydride) giving **3b** (Scheme 4). Cbz-L-valine **2a** was converted into the *t*-butyl ester **2b** with 2-methylpropene under acidic conditions, and then hydrogenolyzed to L-valine *t*-butyl ester (**2c**).¹³ Compounds **2c** and **3b** were then coupled using the DCC–HOBt mixture to afford the dipeptide **23**. Sequential methylation of the valine amido NH of **23** with methyl iodide in the presence of sodium hydride and hydrogenolysis generated dipeptide **8**.

4. Synthesis of depsipentapeptide 24, and cyclization to ulongamide A¹⁴

The optimum conditions found for the coupling of **7** and **8** utilized BOP in dichloromethane solution. The pentapeptide **24** (55% yield, Scheme 5) so obtained was deprotected with trifluoroacetic acid (TFA), and the crude product, after removal of the TFA in vacuo and dilution with DMF, was cyclized to ulongamide A (**1**, 60% yield) with BOP. The spectral properties¹⁵ of synthetic ulongamide A were fully concordant with those reported⁶ for the natural product.

Acknowledgements

We thank DGAPA-UNAM (PAPIIT-IN210405) for its generous financial support. We also thank CONACYT for a doctoral grant to C. Alvarado, and we gratefully acknowledge the helpful assistance of the spectroscopic staff of the Instituto de Química (UNAM). The authors acknowledge Dr. Joseph M. Muchowski for the revision of the original manuscript.

References and notes

- Luesch, H.; Yoshida, W. Y.; Moore, R. E.; Paul, V. J.; Corbett, T. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5418–5423.
- Yasumoto, T.; Murata, M. *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 1897–1909.
- Golakoti, T.; Ogino, J.; Heltzel, C. E.; Husebo, T. L.; Jensen, C. M.; Larsen, L. K.; Patterson, G. M. L.; Moore, R. E.; Mooberry, S. L.; Corbett, T. H.; Valeriote, F. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 12030–12049.
- Trimurtulu, G.; Ohtani, I.; Patterson, G. M. L.; Moore, R. E.; Corbett, T. H.; Valeriote, F. A.; Demchick, L. J. *Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 4729–4737.

- Pettit, G. R.; Kamano, Y.; Herald, C. L.; Tuinman, A. A.; Boettner, F. E.; Kizu, H.; Schmidt, J. M.; Baczynskyj, L.; Tomer, K. B.; Bontems, R. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 6883–6885.
- Luesch, H.; Williams, P. G.; Yoshida, W. Y.; Moore, R. E.; Paul, V. J. *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 996–1000.
- (a) McDermott, J. R.; Benoiton, N. L. *Can. J. Chem.* **1973**, *51*, 2555–2561; (b) Coggins, J. R.; Benoiton, N. L. *Can. J. Chem.* **1971**, *49*, 1968–1977.
- Gissin, B. F.; Merrifield, R. B.; Tosteson, D. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 2691–2695.
- Boger, D. L.; Chen, J.-H.; Saionz, K. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 1629–1644.
- Kimura, J.; Takada, Y.; Inayoshi, T.; Nakao, Y.; Goetz, G.; Yoshida, W. Y.; Scheuer, P. J. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 1760–1767.
- (a) Kurihara, T.; Nakajima, Y.; Mitsunobu, O. *Tetrahedron Lett.* **1976**, *17*, 2455–2458; (b) Schmidt, U.; Utz, R. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1984**, *23*, 725–726; (c) Schmidt, U.; Gleich, P.; Griesser, H.; Utz, R. *Synthesis* **1986**, 992–997; For a review see: Mitsunobu, O. *Synthesis* **1981**, 1–28.
- (a) Bredenkamp, M. W.; Holzapfel, C. W.; van Zyl, W. J. *Synth. Commun.* **1990**, *20*, 2235–2249; (b) Aguilar, E.; Meyers, A. I. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 2473–2476; (c) Xia, Z.; Smith, C. D. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 3459–3466.
- (a) Anderson, G. W.; Callahan, F. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 3359–3363; (b) Bodanszky, M. *The Practice of Peptide Synthesis*, 2nd ed.; Springer-Verlag: Berlin, 1993, pp 38–40; (c) Ward, D. E.; Gai, Y.; Lazny, R.; Pedras, M. S. C. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 7832–7840; (d) Mc Dermot, J. R.; Benoiton, N. L. *Can. J. Chem.* **1973**, *51*, 2562–2570; (e) Tung, R.; Dhaon, M.; Rich, D. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 3350–3354; (f) Galpin, I. J.; Mohammed, A. K.; Patel, A.; Priestley, G. *Tetrahedron.* **1988**, *44*, 1763–1772.
- (a) Wenger, R. M. *Helv. Chim. Acta* **1984**, *67*, 502–525; (b) Jones, J. *The Chemical Synthesis of Peptides*; Clarendon Press: Oxford, 1994, pp 175–182.
- Physical and spectroscopic constants of ulongamide A **1**. White, amorphous solid, mp 85 °C.; $[\alpha]_D^{25}$ +12 (*c* 0.73, MeOH); IR (film) ν_{\max} 3321, 2962, 2934, 2872, 1734, 1672, 1633, 1553, 1522, 1497, 1462, 1271, 1216, 1078, 1048; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8.94 (d, 1H, *J* = 10.5), 8.17 (d, 1H, *J* = 7.0), 8.04 (s, 1H), 7.29 (t, 2H), 7.24 (t, 1H), 7.17 (d, 2H), 6.08 (dd, 1H, *J* = 9.5, 5.5), 5.34 (q, 1H, *J* = 6.5), 5.17 (q, 1H, *J* = 7.0), 4.51 (d, 1H, *J* = 11), 4.31 (m, 1H, *J* = 10.6, 9.0, 5.0, 2.5), 3.27 (dd, 1H, *J* = 9.5, 15.0), 3.21 (s, 3H), 3.16 (dd, 1H, *J* = 5.5, 15.0), 2.99 (s, 3H), 2.70 (dq, 1H, *J* = 7.0, 2.5), 2.33 (m, 1H), 1.46 (d, 3H, *J* = 6.8), 1.43 (m, 4H), 1.33 (d, 3H, *J* = 6.8), 1.23 (d, 3H, *J* = 7.2), 0.97 (t, 3H, *J* = 7.0), 0.85 (d, 3H, *J* = 6.4), 0.60 (d, 3H, *J* = 7.0); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 14.0, 14.5, 16.2, 18.3, 19.3, 19.6, 24.5, 27.3, 29.0, 30.0, 35.4, 35.5, 45.0, 47.7, 50.7, 51.0, 66.4, 67.0, 122.0, 127.0, 128.5, 128.8, 136.0, 149.1, 160.8, 167.9, 169.6, 170.4, 171.9, 172.9; HRFABMS *m/z* [M+H]⁺ 628.3179 (calcd for C₃₂H₄₆N₅O₆S, 628.3169).