



2017/2018

SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y APLICACIONES DE BISAMIDAS PSEUDOPEPTÍDICAS ANFIFÍLICAS DERIVADAS DE L-VALINA

MÁSTER INTERUNIVERSITARIO EN QUÍMICA SOSTENIBLE

DIRECTOR: SANTIAGO VICENTE LUÍS LAFUENTE

SARA MIRALLES COMINS

TUTORA: BELÉN ALTAVA BENITO

GRUPO QUÍMICA SOSTENIBLE Y SUPRAMOLECULAR

UNIVERSITAT JAUME I, CASTELLÓN DE LA PLANA

FECHA DEFENSA: 28/09/2018

ÍNDICE

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 3 |
| <u>1.1 Química Sostenible.....</u> | 3 |
| <u>1.2 Química Supramolecular.....</u> | 4 |
| 1.2.1 Compuestos Peptidomiméticos..... | 5 |
| 1.2.2 Procesos de Auto-ensamblaje..... | 7 |
| 1.2.3 Compuestos Anfílicos Geminales..... | 8 |
| 1.2.4 Geles Supramoleculares..... | 9 |
| 1.2.5 Contribución del Grupo de Investigación en este Campo..... | 11 |
| 2. OBJETIVOS..... | 15 |
| 2.1 Objetivos Específicos..... | 15 |
| 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 16 |
| <u>3.1 Compuestos Pseudopeptídicos Derivados de L-Valina con Grupos Poliazaalcanos en la Cadena Espaciadora.....</u> | 16 |
| 3.1.1 Síntesis..... | 16 |
| 3.1.2 Caracterización..... | 18 |
| <u>3.2 Funcionalización de Pseudopéptidos Derivados de L-Valina Conteniendo Grupos Poliazaalcanos en la Cadena Espaciadora.....</u> | 21 |
| 3.2.1 Funcionalización de las aminas centrales con grupos alquilo carboxílicos | 21 |
| 3.2.2 Funcionalización de las aminas terminales con grupos alquilo mediante aminación reductiva..... | 22 |
| 3.2.3 Funcionalización de las aminas centrales con grupos alquilo mediante aminación reductiva..... | 25 |
| 3.2.4 Funcionalización de las aminas centrales con grupos alquilurea a partir de isocianatos..... | 27 |
| <u>3.3 Estudios de Auto-ensamblaje.....</u> | 34 |
| 4. PARTE EXPERIMENTAL..... | 43 |
| 5. CONCLUSIONES..... | 48 |
| 6. ANEXO: Información Suplementaria..... | 49 |

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Química Sostenible

Las líneas de investigación del grupo de Química Sostenible y Supramolecular, en el que se ha realizado este Trabajo de Fin de Máster, siguen los principios de la química verde. La química sostenible engloba el diseño, la fabricación y el uso de productos y procesos químicos eficientes, efectivos, seguros y más benignos para el medio ambiente; teniendo como objetivo minimizar o incluso eliminar el uso y la generación de sustancias peligrosas.¹ Mientras que la química ambiental se centra en los efectos de las sustancias químicas contaminantes presentes en la naturaleza, la química verde se centra en los enfoques tecnológicos para prevenir la contaminación y reducir el consumo de recursos no renovables.^{2,3,4,5}

La química verde se utiliza en todas las subdisciplinas de la química, pero con un enfoque particular en la síntesis química, la química de procesos y la ingeniería química en aplicaciones industriales. En una menor medida, los principios de la química verde también afectan las prácticas de laboratorio, ya que son los académicos los que tienen la capacidad de investigar y diseñar nuevas metodologías químicas en las primeras etapas.⁶

El desarrollo de la química verde surgió de un conjunto de ideas existente (catálisis) o elaboradas (economía atómica) en el período previo a la década de 1990, en un contexto de una creciente atención a los problemas ocasionados por la contaminación química y el agotamiento de los recursos. El impulso de la química verde en Europa y Estados Unidos estuvo relacionado con un cambio en las estrategias de resolución de los problemas ambientales. El conjunto de conceptos ahora conocidos como química verde se fusionaron a mediados y finales de la década de 1990, junto con una adopción más amplia del término (que prevaleció sobre términos competitivos como química "limpia" y "sostenible").

En 1998, Paul Anastas (que luego dirigió el Programa de Química Verde en la EPA de EE. UU.) y John C. Warner (entonces colaborador del Polaroid Corporation) publicaron un conjunto de principios para guiar la práctica de la química verde.⁷ Los doce principios abordan las distintas maneras de reducir los impactos ambientales y de salud de la producción química, y también indican las prioridades en la investigación para el desarrollo de tecnologías de química verde.

Los principios de la química sostenible son los siguientes:

1. Prevención, ya que es mejor prevenir la producción de residuos químicos que tratarlos o degradarlos una vez que han sido formados.
2. Economía atómica, es decir, los métodos sintéticos deben ser diseñados para maximizar la incorporación de todos los materiales usados en el proceso en el producto final.

¹ A. Singh, S. Singh, N. Singh, *J. Appl. Chem.*, **2014**, *2*, 77.

² R. A. Sheldon, I. W. C. E. Arends, U. Hanefeld, "*Green Chemistry and Catalysis*", **2007**, Wiley-VCH, ISBN 9783527611003.

³ K. Sanderson, *Nature*, **2011**, *469*, 18.

⁴ P. T. Anastas, "*Green Chemistry for a Sustainable Future*", **2015**, Wiley-VCH, ISBN 9780470503515.

⁵ R. A. Sheldon, "*Biocatalysis and Green Chemistry*", **2016**, Wiley-VCH, ISBN 9781118822296.

⁶ M. Poliakoff, P. Licence, *Nature*, **2007**, *450*, 810.

⁷ P. T. Anastas, J. C. Warner, "*Green chemistry: Theory and Practice*", Oxford University Press, New York, **1998**, ISBN 9780198502340.

3. Síntesis química menos peligrosa, los métodos sintéticos deben diseñarse para usar y generar sustancias que posean poca o ninguna toxicidad para la salud humana y el medio ambiente.
4. Diseño de compuestos más seguros, minimizando su toxicidad.
5. Reducción de disolventes y compuestos auxiliares.
6. Diseño para la eficiencia energética. Los requisitos de energía para procesos químicos deben ser seleccionados de acuerdo a su impacto ambiental y económico y deben ser minimizados si es posible. Las reacciones químicas deben ser ejecutadas a temperatura y presión ambiental.
7. Uso de materias primas renovables en vez de usar fuentes no renovables.
8. Reducción de derivados: el uso de grupos protectores, modificación temporal de procesos fisicoquímicos, etc. debe ser minimizado o evitado si es posible debido a que estas etapas extras usan reactivos adicionales que pueden generar más residuos.
9. Catálisis, ya que los sistemas catalíticos son selectivos y más eficientes que los métodos convencionales estequiométricos.
10. Diseño para la degradación, es decir, los productos químicos deben ser diseñados de tal manera que al final de su función puedan descomponerse en productos inofensivos y que no persistan en el medio ambiente.
11. Análisis en tiempo real para prevenir la contaminación, es decir, se necesita desarrollar metodologías analíticas que permitan el seguimiento y control en tiempo real de la formación de sustancias tóxicas o peligrosas.
12. Procesos químicos más seguros para prevenir los accidentes.

Una de las áreas de la química que permite avanzar en el desarrollo de la química sostenible es la química supramolecular, ámbito en el cual se va a centrar este trabajo de investigación.

1.2. Química Supramolecular

La química supramolecular se puede definir como la "química más allá de la molécula" o "la química del enlace no covalente" tal como la describió Jean-Marie Lehn, premio Nobel en 1987, debido a que, esta disciplina estudia sistemas nuevos en los cuales sus componentes moleculares individuales están enlazados por interacciones no-covalentes. Asimismo, también examina la fortaleza y reversibilidad de estas interacciones entre moléculas.⁸

El descubrimiento de los éteres de corona (Figura 1) por Charles Pedersen, también premio Nobel en 1987, en la década de 1960 despertó el interés en el estudio de las interacciones moleculares débiles y cinéticamente lábiles.⁹ Estas interacciones no covalentes incluyen interacciones electrostáticas, interacciones π - π , enlaces de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals y efectos hidrofóbicos o con carácter más general solvofóbicos. Un complejo supramolecular involucra al menos dos especies unidas por enlaces no covalentes y con propiedades diferentes a las de las especies componentes consideradas por separado.¹⁰

⁸ J. M. Lehn, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1988**, 27, 89.

⁹ C. J. Pedersen, *J. Am. Chem. Soc.*, **1970**, 92, 391.

¹⁰ C. A. Schalley, *Beilstein J. Org. Chem.*, **2011**, 7, 1541.

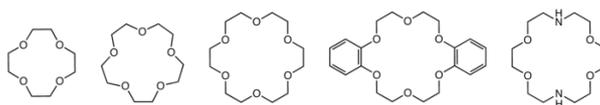


Figura 1. Estructura general de los éteres corona estudiados por Pedersen

Desde ese momento, la química supramolecular ha madurado en el campo de la investigación. Hoy en día, gracias a la química supramolecular se han podido demostrar conceptos importantes como el auto-ensamblaje molecular, la auto-asociación, el reconocimiento molecular, las aproximaciones biomiméticas a distintos campos de la química o la química "receptor-huésped" (Figura 2).¹¹ Estos conceptos han hecho que la síntesis supramolecular sea una herramienta poderosa para construir compuestos químicos grandes y complejos a partir de simples bloques de construcción que contengan una información estructural (supramolecular) capaz de dirigir dicho proceso de construcción. Este emocionante progreso ha ido acompañado por un desarrollo de nuevos métodos que pueden monitorizar la dinámica a veces bastante rápida de los sistemas supramoleculares.¹²

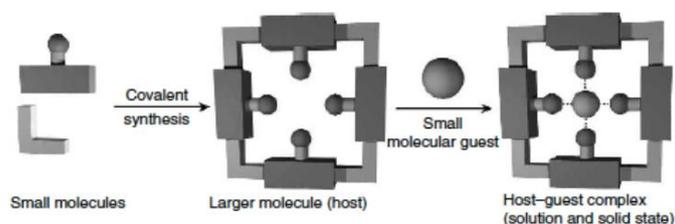


Figura 2. Desarrollo de un sistema supramolecular a partir de bloques moleculares de construcción (centros de reconocimiento / enlace supramolecular representados por círculos) "host-guest"

En los seres vivos, dichas interacciones no-covalentes juegan roles críticos y son las responsables de muchos procesos biológicos, como por ejemplo la generación de señales transcriptoras, el transporte selectivo de iones y de pequeñas moléculas a través de membrana, reacciones enzimáticas, etc.¹³ Por tanto, el interés de comprender estas interacciones en el mundo biológico ha hecho de la química supramolecular una de las áreas de mayor crecimiento e interés dentro de la química.¹⁴

Asimismo, la química supramolecular es un enlace entre la química, la física y la biología, que posee aplicaciones en medicina, catálisis, cromatografía, almacenamiento de información y procesamiento de dispositivos nanotecnológicos.

1.2.1 Compuestos Peptidomiméticos

Los aminoácidos son un tipo de moléculas orgánicas fundamentales debido a su elevada densidad funcional, su variabilidad estructural y por sus distintas preferencias conformacionales. Además, su combinación permite formar largas cadenas peptídicas con la consiguiente construcción de un infinito número de estructuras. A partir de los aminoácidos se sintetizan también numerosos tipos

¹¹ T. F. A. De Greef, E. W. Meijer, *Nature*, **2008**, 453, 171.

¹² C. A. Schalley, *Beilstein J. Org. Chem.*, **2009**, 5, 76.

¹³ K. Aaron, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1983**, 22, 565.

¹⁴ S. Wang, L. Yue, Z. Shpilt, A. Cecconello, J. S. Kahn, J. M. Lehn, I. Willner, *J. Am. Chem. Soc.*, **2017**, 139, 9662.

de pseudopéptidos, los cuales pueden formar estructuras ordenadas y participar en diferentes procesos, mimetizando eficientemente las propiedades de los sistemas naturales.¹⁵

El objetivo general de la química biomimética o la química bioinspirada es imitar a la naturaleza desde dos perspectivas diferentes: la imitación de la estructura química y la imitación de sus funciones. Es evidente que los enfoques biomiméticos representan una de las formas más directas de llevar a cabo los objetivos de la química verde ya que, no hay nada más sostenible que inspirarse en el comportamiento de la propia naturaleza. Por ello, una de las múltiples aplicaciones de la química supramolecular es su uso en la química peptidomimética.

En la naturaleza, la generación de una estructura funcional exacta requiere generalmente grandes macromoléculas individuales (formadas a partir de un número limitado de unidades estructurales simples). Sin embargo, en algunos casos la actividad de estos sistemas complejos se encuentra asociada a un pequeño fragmento, tal como ocurre normalmente en las proteínas, en las que la estructura funcional está en un fragmento peptídico específico. Por tanto, mediante la combinación de componentes naturales y no naturales, diseñados adecuadamente siguiendo el conocimiento obtenido de los sistemas naturales, se podría lograr la funcionalidad deseada con moléculas de bajo peso molecular.¹⁵

Por ejemplo, partículas pequeñas, como las nanopartículas, pueden usarse en diferentes aplicaciones. Entre estas aplicaciones destaca la capacidad de suministrar altas dosis de compuestos terapéuticos a las células.^{16,17} La encapsulación de fármacos hidrófobos en nanopartículas puede hacer que el fármaco se disperse en soluciones acuosas, y por tanto pueda usarse para aplicaciones intravenosas. De esta forma también se prolonga el tiempo de circulación y se mejora la captación celular del fármaco. Recientemente, se han notificado distintos péptidos, proteínas y otros portadores biomiméticos útiles para encapsular fármacos para entregas terapéuticas. Entre estos portadores, se han desarrollado péptidos para la dirección activa de agentes citotóxicos a células tumorales, con la ventaja de la focalización específica del tejido, por lo que los efectos fuera del objetivo podrían minimizarse. Estos vectores con estructuras únicas son capaces de auto-ensamblarse en una variedad de nanoestructuras que incluyen nanocubos, nanotubos y nanopartículas esféricas, que pueden mejorar la capacidad de carga de genes o fármacos (Figura 3). Además, al utilizar péptidos en particular, es más fácil dotarlos con características específicas a través de modificaciones simples.¹⁷

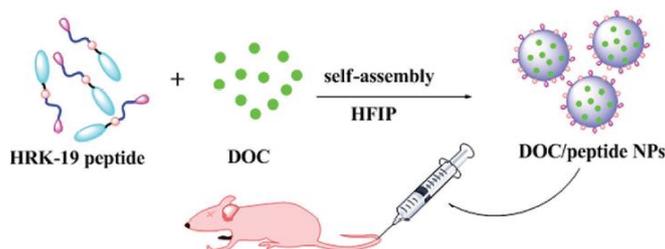


Figura 3. Encapsulación de fármacos (DOC) en nanopartículas

¹⁵ S. V. Luis, I. Alfonso, *Acc. Chem. Res.*, **2014**, *47*, 112.

¹⁶ E. C. Izgu, A. Bjorkbom, N. P. Kamat, V. S. Lelyveld, W. Zhang, T. Z. Jia, J. W. Szostak, *J. Am. Chem. Soc.*, **2016**, *138*, 16669.

¹⁷ R. Fan, L. Mei, X. Gao, Y. Wang, M. Xiang, Y. Zheng, A. Tong, X. Zhang, B. Han, L. Zhou, P. Mi, C. You, Z. Qian, Y. Wei, G. Guo, *Adv. Sci.*, **2017**, *4*, 1600285

1.2.2 Procesos de Auto-ensamblaje

El auto-ensamblaje se puede definir como la asociación espontánea y reversible de moléculas o iones para formar entidades supramoleculares de mayor tamaño y más complejas mediante interacciones no covalentes de acuerdo con la información intrínseca contenida en las mismas moléculas. Por tanto, un sistema auto-ensamblado proviene de un proceso convergente en el que una serie de componentes se ensamblan con el fin de obtener un agregado final estable (Figura 4), siguiendo las mismas estrategias empleadas tan eficazmente por los sistemas biológicos. Este enfoque se ha desarrollado fundamentalmente en las últimas dos décadas gracias a la investigación de sistemas en los cuales la función está relacionada directamente con las interacciones no covalentes existente entre las moléculas.¹⁸

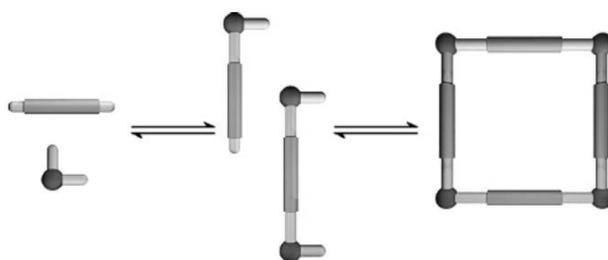


Figura 4. Sistema de auto-ensamblaje

En los procesos de auto-ensamblaje, la energía libre de Gibbs ha de ser baja, por lo que las estructuras auto-ensambladas son termodinámicamente más estables que los componentes no ensamblados en solitario. Dentro de los procesos de auto-ensamblaje, debemos distinguir el auto-ensamblaje molecular y el auto-ensamblaje supramolecular.¹⁸

El auto-ensamblaje molecular hace referencia a la formación de enlaces covalentes como parte de un procedimiento sintético especial, mientras que el supramolecular se refiere a la asociación intermolecular de grupos funcionales relativamente lábiles de manera espontánea y reversible, mediante interacciones no covalentes (interacciones de coordinación, enlaces de hidrógeno e interacciones dipolares). La reversibilidad es clave para que los sistemas resultantes sean capaces de examinar cuidadosamente los componentes disponibles para formar la estructura termodinámicamente más favorable. Esto incorpora el potencial adicional de auto-reparación y corrección de defectos, tal como ocurre en los sistemas biológicos.¹⁸

La mayoría de los péptidos auto-ensamblables se preparan típicamente mediante síntesis de péptidos en fase sólida. Esta técnica es rápida y adecuada para lotes a pequeña escala. Sin embargo, puede estar limitada por el elevado coste a mayor escala y por los rendimientos relativamente bajos. Como método alternativo a esta técnica se emplea la producción recombinante, la cual utiliza la maquinaria de un organismo receptor para sintetizar péptidos. Esta metodología, una vez optimizada, representa un medio escalable y más rentable para producir péptidos formadores de materiales.¹⁹

El auto-ensamblaje en el contexto de la química de los materiales implica que los componentes estén programados para crear una estructura funcional y ordenada con poca intervención de los

¹⁸ J. W. Steed, J. L. Atwood, "Supramolecular Chemistry", 2009, Wiley-VCH, 2nd ed., ISBN 978047051233-3.

¹⁹ C. Sonmez, K. J. Nagy, J. P. Schneider, *Biomaterials*, 2015, 37, 62.

humanos o la tecnología, ya que estas moléculas (o partes de moléculas) deben formar espontáneamente agregados ordenados. Este proceso puede ocurrir a cualquier escala, desde la escala nano y micrométrica hasta las dimensiones macroscópicas (Figura 5).²⁰

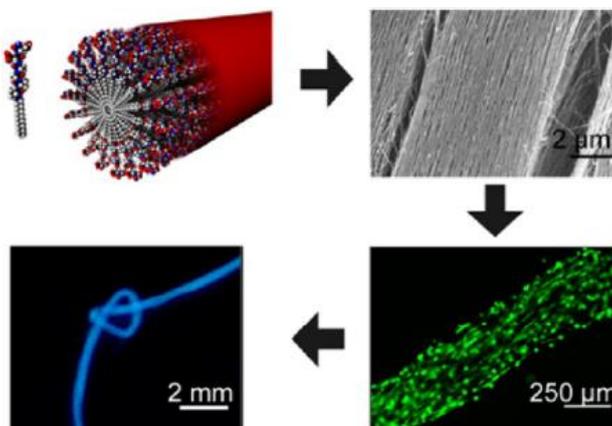


Figura 5. Auto-ensamblaje molecular de materiales

1.2.3 Compuestos Anfifílicos Geminales

Una molécula anfifílica se caracteriza por poseer una doble afinidad: es tanto polar como apolar. La parte polar es hidrofílica (tiene afinidad por el agua), mientras que la apolar es hidrofóbica.

Los surfactantes geminales son un nuevo tipo de moléculas anfifílicas, formadas por uno / dos grupos polares situados en la "cabeza" de la molécula y dos cadenas alquílicas hidrofóbicas unidas por una molécula espaciadora, capaces de formar fibras y vesículas (Figura 6).²¹

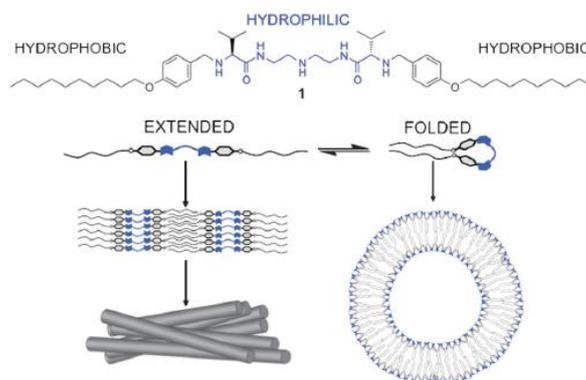


Figura 6. Estructura de un compuesto anfifílico geminal

La formación de nanoesferas solubles o hidrogeles estables a través del auto-ensamblaje de un simple pseudopéptido anfifílico geminal puede controlarse mediante el ajuste de las interacciones hidrofílicas / hidrofóbicas en un medio acuoso.²¹

Debido a su estructura, este tipo de surfactantes suele presentar concentraciones micelares críticas (CMC) bajas, alta eficiencia en reducir la tensión superficial y una mayor capacidad de

²⁰ S. I. Stupp, L. C. Palmer; *Chem. Mater.*, **2014**, *26*, 507.

²¹ J. Rubio, I. Alfonso, M. I. Burguete, S. V. Luis, *Chem. Commun.*, **2012**, *48*, 2210.

solubilización comparada con la de las moléculas en solitario.²² En los últimos años, los surfactantes geminales han mostrado un alto potencial para desarrollar aplicaciones tanto en la liberación y encapsulamiento de fármacos, como en la remediación del suelo, catálisis y adsorción, en mejorar la recuperación del petróleo, el desarrollo de antibacterianos, en la biotecnología, aditivos de pintura, separaciones analíticas y también en preparación de materiales de alta porosidad.^{23,24}

El desarrollo de surfactantes geminales benignos, más ecológicos, basados en la biocompatibilidad y en la biodegradabilidad, es un tema de investigación que ha ido ganando popularidad en los últimos años. Éstos se pueden obtener a partir de aminoácidos naturales, siendo una buena alternativa a los surfactantes sintéticos ya que de esta forma son compuestos biocompatibles y biodegradables que satisfacen las preocupaciones medioambientales y los requisitos de baja toxicidad.²⁵

1.2.4 Geles supramoleculares

Un gel es una clase de semi-sólido muy utilizado en nuestra vida diaria.²⁶ El término gel se utiliza para designar sistemas que cumplen con las siguientes características: 1) consisten en dos o más componentes, uno líquido, que se encuentra en mayor proporción y el otro una sustancia gelificante, que suele ser un sólido, y 2) son sólidos blandos o semi-sólidos.²⁷

El propio gel tiene las propiedades mecánicas de un sólido, es decir, puede mantener su forma bajo la tensión de su propio peso, pero, en cambio, bajo cualquier esfuerzo mecánico posee la propiedad de la deformación.²⁸ A pesar de su apariencia sólida, dentro del gel, el componente líquido es móvil y sólo es retenido por fuerzas capilares. La red sólida supramolecular puede ser un polímero covalente o un conjunto de moléculas pequeñas.²⁹

Los geles también se clasifican según el líquido empleado. En el caso de un hidrogel, el componente líquido es agua, mientras que para un organogel es un disolvente orgánico. Un aerogel tiene un gas como la fase fluida en lugar de un líquido, mientras que los metalógenos son geles en los que los componentes de la fibra están unidos entre sí de alguna manera por iones metálicos.

Los gelantes orgánicos son un grupo interesante de moléculas orgánicas de bajo peso molecular que pueden formar una red tridimensional no covalente con un sistema de disolvente concreto. El resultado final es la inmovilización de las moléculas de disolvente. Estas sustancias poseen muchas aplicaciones potenciales en la ciencia biomédica, la tecnología ambiental y de separación.³⁰

²² Han Y., Wang Y., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2011**, *13*, 1939.

²³ J. Coronel-León, A. Pinazo, L. Pérez, M. J. Espuny, A. M. Marqués, A. Manresa, *Colloid Surface B*, **2017**, *149*, 38.

²⁴ M. E. Achaby, H. Ennajih, F.Z. Arrakhiz, A. E. Kadib, R. Bouhfid, E. Essassi, A. Qaiss, *Compos. Part B-Eng.*, **2013**, *51*, 310.

²⁵ T. Benavides, M. Mitjans, V. Martínez, P. Clapes, M. R. Infante, R. H. Clothier, M. P. Vinaderll, *Toxicology*, **2004**, *197*, 229.

²⁶ A. Noro, M. Hayashi, Y. Matsushita, *Soft Matter*, **2012**, *8*, 6416.

²⁷ K. Almdal, J. Dyre, S. Hvidt, O. Kramer, *Pol. Gels and Net.*, **1993**, *1*, 5.

²⁸ Z. Yang, B. Xu, *J. Mater. Chem.*, **2007**, *17*, 2385.

²⁹ K. J. Skilling, F. Citossi, T. D. Bradshaw, M. Ashford, B. Kellam, M. Marlow, *Soft Matter*, **2014**, *10*, 237.

³⁰ H. Chow, C. Cheng, *Beilstein J. Org. Chem.* **2010**, *6*, 1015.

Muy a menudo, un cambio sutil de los sustituyentes del organogelante puede modificar significativamente sus propiedades de gelificación, por ello éstas son difíciles de predecir. Esto se debe a que la gelificación es el resultado de un delicado equilibrio de varias fuerzas impulsoras. Si las interacciones de unión entre las moléculas del organogelante son demasiado fuertes, tendrá lugar la precipitación o la cristalización. Por otro lado, si las interacciones son demasiado débiles, se producirá la disolución de éste. Además, las interacciones no específicas, como las interacciones hidrófobas y de Van der Waals, son difíciles de cuantificar, aunque pueden desempeñar papeles muy importantes en una escala acumulativa cuando tales interacciones realmente involucran un gran número de moléculas solventes y gelantes.³⁰

Por otra parte, los hidrogeles (geles obtenidos en agua) ofrecen un gran potencial para su utilización en ingeniería de tejidos, implantes biomédicos y en la bionanotecnología. Los hidrogeles se preparan generalmente a partir de matrices poliméricas hidrófilas que se reticularon por varios métodos.³¹ El diseño de péptidos "inteligentes" que experimentan transiciones de fase de hidrogel en solución en respuesta a señales biológicas puede permitir el suministro mínimamente invasivo de sustitutos de matriz extracelular in vivo. Y, al igual que la formación de muchas estructuras poliméricas supramoleculares, la agregación del gel también es jerárquica. La Figura 7 muestra un diagrama esquemático de un mecanismo propuesto para el ensamblaje de péptidos en fibras no covalentes en agua.³²

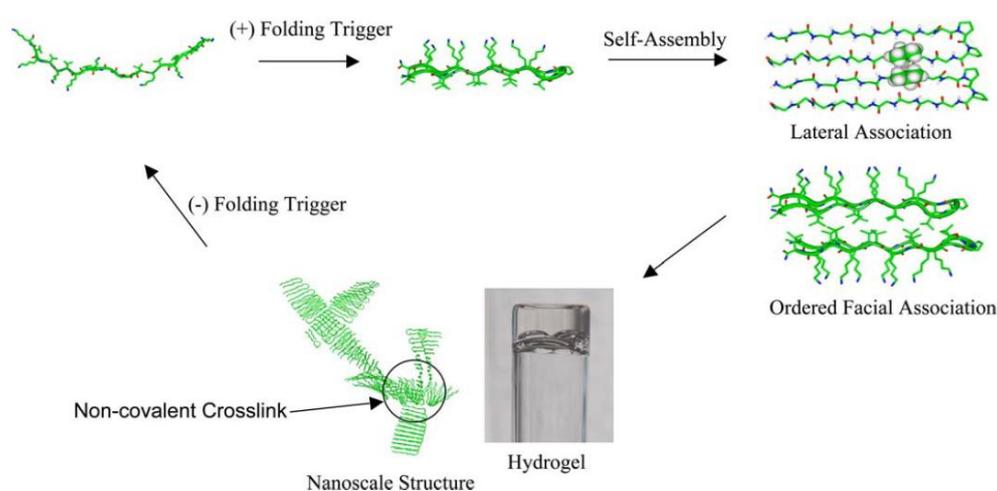


Figura 7. Plegamiento desencadenado por el entorno, auto-ensamblaje y reticulación no covalente de fibrilos que conduce a la formación de hidrogel

Los geles presentan típicamente un punto de transición, T_{gel} , una temperatura por encima de la cual el gel se convierte en una solución isotrópica. Una manera típica de preparar geles es disolver el gelificador en una solución caliente y dejarlo enfriar por debajo del T_{gel} . Así, por ejemplo, se pueden formar geles termorreversibles a unas concentraciones determinadas.³³ También se han descrito la formación de geles inducida por sonicación³⁴ o por reordenamientos fotoquímicos.³⁵

³¹ J. K. Oh, R. Drumright, D. J. Siegwart, K. Matyjaszewski, *Prog. Polym. Sci.*, **2008**, *33*, 448.

³² K. Rajagopal, B. Ozbas, D. J. Pochan, J. P. Schneider, *Eur Biophys J.*, **2006**, *35*, 162.

³³ F. S. Schoonbeek, J. H. van Esch, R. Hulst, R. M. Kellogg, B. L. Feringa, *Chem. Eur. J.*, **2000**, *6*, 2633.

³⁴ T. Naota, H. Koori, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 9324.

³⁵ L. Frkanec, M. Jokic, J. Makarevic, K. Wolsperger, M. Zinic, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 9716.

En la macroescala, los geles no fluyen, por lo que una prueba simple para determinar si tenemos un gel es invirtiendo el recipiente. En la microescala, el componente de tipo sólido comprende generalmente haces fibrilares de alta relación de aspecto y en el caso de geladores quirales puede adoptar una morfología helicoidal. Algunos geles también exhiben tixotropía, es decir, fluyen cuando se sacuden, pero se vuelven a formar cuando se estabilizan. Las fuerzas mecánicas implicadas en la agitación son suficientes para romper temporalmente los enlaces que sostienen las fibras de gel.¹⁸

El interés por los geles supramoleculares se ha incrementado durante las últimas décadas debido a sus potenciales aplicaciones en catálisis, sensores, cosmética, alimentación, administración de fármacos, aplicaciones biomédicas, entre otras.^{36,37,38,39}

1.2.5 Contribución del Grupo de Investigación en este Campo

El grupo de Química Sostenible y Supramolecular es pionero en España en el campo de la química supramolecular. Entre otros receptores, el grupo ha diseñado y sintetizado distintos ligandos pseudopeptídicos derivados de aminoácidos.¹⁵

La síntesis de estructuras macrocíclicas a menudo requiere estrategias complejas pero el grupo ha sido capaz de lograrlas a través de distintas estrategias de preorganización tanto por el empleo de precursores con una preorganización conformacional o configuracional como por una preorganización inducida mediante plantillas aniónicas (Figura 8).^{40,41}

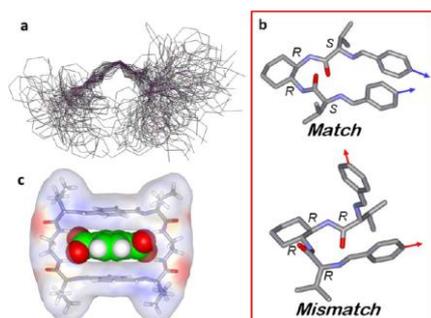


Figura 8. Preorganización que favorece la ciclación de los pseudopeptidos C₂ de cadena abierta: (a) conformacional; (b) configuracional; (c) con una plantilla aniónica

En este sentido, las principales líneas de investigación del grupo en esta área son las siguientes:

- Auto-ensamblaje molecular de estructuras peptídicas para obtener organogeles (Figura 9), estructuras cristalinas que permiten una mejor comprensión de los parámetros de empaquetamiento en diferentes sistemas proteicos o para la formación de estructuras fibrilares o vesiculares sensibles al medio y cuyas estructuras pueden intercambiarse mediante pequeños cambios en la estructura o en las condiciones del entorno.⁴²

³⁶ B. Escuder, F. R. Llansola, J. F. Miravet, *New J. Chem.*, **2010**, *34*, 1044.

³⁷ K. Matsumoto, N. Sakikawa, T. Miyata, *Nat. Commun.*, **2018**, *9*, 2315.

³⁸ J. Wu, P. Li, C. Dong, H. Jiang, B. Xue, X. Gao, M. Qin, W. Wang, C. Bin, Y. Cao, *Nat. Commun.*, **2018**, *9*, 620.

³⁹ C. Zareie, M. V. Sefti, A. R. Bahramian, M. B. Salehi, *Iran. Polym. J.*, **2018**, *27*, 577.

⁴⁰ V. Martí-Centelles, M. D. Pandey, M. I. Burguete, S. V. Luis, *Chem. Rev.*, **2015**, *115*, 8736.

⁴¹ M. Bru, I. Alfonso, M. I. Burguete, S. V. Luis, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, *45*, 6155.

⁴² J. Becerril, B. Escuder, J. F. Miravet, R. Gavara, S. V. Luis, *Chem. Eur. J.*, **2005**, *11*, 481.

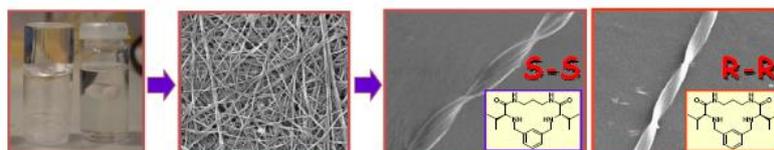


Figura 9. Organogeles pseudopeptídicos

• Máquinas supramoleculares. Muchas de las estructuras macrocíclicas preparadas poseen elementos dinámicos cuyo movimiento puede ajustarse mediante diferentes estímulos externos, dando como resultado lo que se conoce como máquinas supramoleculares.⁴³ Un ejemplo de este comportamiento puede ser el ciclofano de la Figura 10, en el cual, la rotación del anillo aromático a través de la cavidad del macrociclo puede acelerarse mediante la adición de disolventes próticos como metanol.^{44,45}

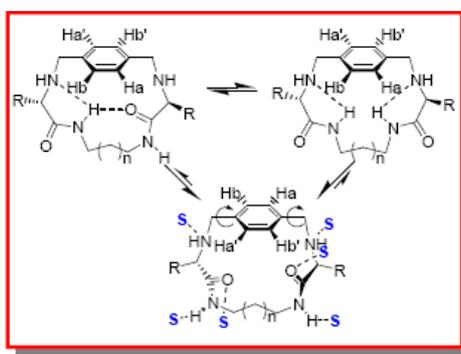


Figura 10. Rotores moleculares basados en ciclofanos pseudopeptídicos

• Sensores y receptores pseudopeptídicos, que se forman mediante la combinación de subunidades estructurales derivadas de aminoácidos con unidades abióticas.^{46,47,48} Muchos sistemas pseudopeptídicos preparados son capaces de interactuar selectivamente con diferentes moléculas de interés biológico o ambiental.^{49,50,51} Además, la incorporación de subunidades estructurales que contienen cromóforos que pueden generar una señal luminosa en la zona del visible o de tipo fluorescente, han permitido el desarrollo de diferentes sensores. Esto ha hecho posible estudiar el reconocimiento de diferentes especies como aminoácidos, péptidos de pequeño tamaño o aniones como el citrato (Figura 11).⁵²

⁴³ E. Faggi, J. Serra-Vinardell, M. D. Pandey, J. Casas, G. Fabrias, S.V. Luis, I. Alfonso, *J. Org. Chem.*, **2016**, *81*, 2143.

⁴⁴ E. Faggi, S. V. Luis, I. Alfonso, *RSC Advances*, **2013**, *3*, 11556.

⁴⁵ I. Alfonso, M. I. Burguete, S.V. Luis, *J. Org. Chem.*, **2006**, *71*, 2242.

⁴⁶ V. Martí, M. I. Burguete, S. V. Luis, *Org. Biomol. Chem.*, **2015**, *13*, 11721.

⁴⁷ M.D. Pandey, V. Martí, M.I. Burguete, N. Montoya, S.V. Luis, E. García-España, A. Domenech, *Sensors and Actuators*, **2016**, *B-234*, 633.

⁴⁸ B. Korchowiec, M. Gorczyca, J. Korchowiec, J. Rubio-Magnieto, A.H. Lotfallah, S.V. Luis, E. Rogalska, *RSC Adv*, **2016**, *6*, 35257.

⁴⁹ J. Becerril, M. I. Burguete, B. Escuder, F. Galindo, R. Gavara, J. F. Miravet, S. V. Luis, G. Peris, *Chem-Eur J.*, **2004**, *10*, 3879.

⁵⁰ E. Faggi, C. Vicent, S.V. Luis, I. Alfonso, *Chem. Commun*, **2015**, *51*, 17361.

⁵¹ A. García- Bernabe, A. Rivera, A. Granados, S.V. Luis, V. Compañ, *Coll. Surf. B: Biointerfaces*, **2016**, *146*, 54.

⁵² M. I. Burguete, F. Galindo, S. V. Luis, L. Vígara, *Dalton Trans.*, **2007**, *36*, 4027.

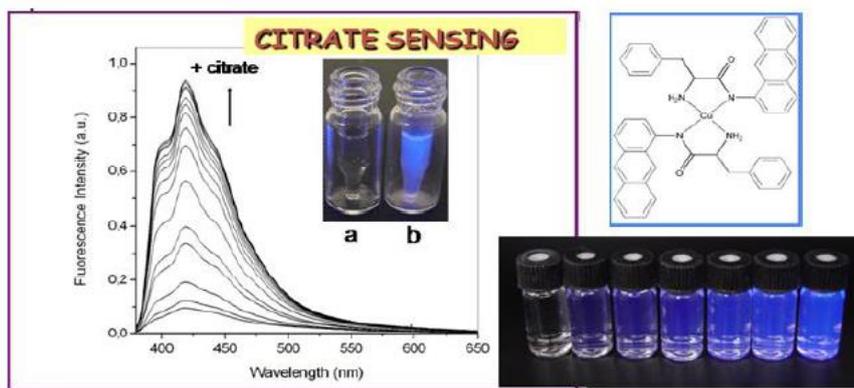


Figura 11. Detección fluorescente del anión citrato con un compuesto pseudopeptídico

• Sistemas preorganizados: aproximaciones biomiméticas para la síntesis de sistemas macrocíclicos. Una reacción de macrociclación (Figura 12) es un proceso complejo que a menudo se desarrolla con una eficacia muy baja, ya que las reacciones de oligomerización frecuentemente están más favorecidas que la propia reacción de ciclación deseada. La naturaleza utiliza sistemas altamente preorganizados para optimizar este proceso. Dentro de este contexto, el grupo ha desarrollado varias estrategias para la realización de macrociclaciones [1 + 1] basadas en la preorganización conformacional derivada de efectos solvofóbicos; macrociclaciones [2 + 2] basadas en una determinada preorganización caracterizada por elementos configuracionales, y macrociclaciones [2 + 2] basadas en el uso de plantillas aniónicas orgánicas.⁵³

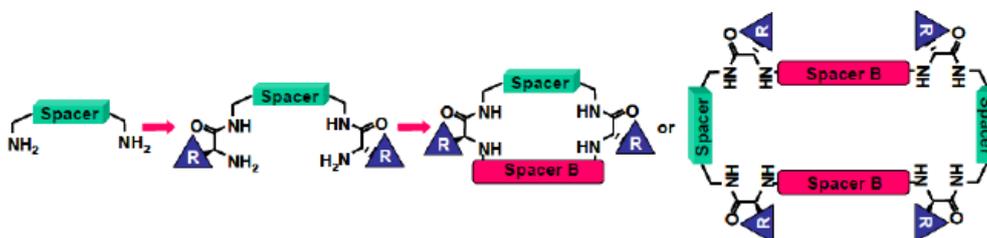


Figura 12. Macro ciclación [1 + 1] y [2 + 2] de compuestos pseudopeptídicos

Los pseudopéptidos más simples involucran dos aminoácidos unidos por un espaciador central diamino (Figura 13a). A pesar de su simplicidad, si se cambia el espaciador o si se funcionaliza alguno de los grupos amino (primarios o secundarios) presentes en la molécula, se aumenta la diversidad molecular y los sitios activos para las interacciones supramoleculares. Los grupos amino y amida permiten las interacciones electrostáticas y por puentes de hidrógeno, mientras que el espaciador, las cadenas laterales y los grupos relacionados con el aminoácido en cuestión pueden presentar interacciones hidrofóbicas π - π o introducir funcionalidades adicionales.

Por ello, en este Proyecto Final de Máster, se han estudiado varios pseudopéptidos simples con distintos espaciadores y cadenas laterales, con simetría C_2 . Esta simetría facilita la convergencia de grupos funcionales, mientras que su accesibilidad sintética permite la construcción de

⁵³ I. Alfonso, M. Bolte, M. Bru, M. I. Burguete, S. V. Luis, J. Rubio, *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, *130*, 6137.

estructuras más elaboradas (Figura 13b, 13c). Los espaciadores seleccionados contienen varios grupos amino y como aminoácido se ha utilizado la L-valina.¹⁵

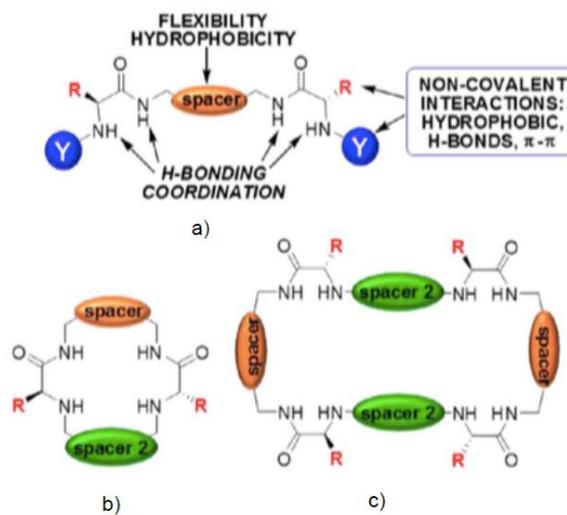


Figura 13. Representación esquemática de las estructuras pseudopeptídicas con las que ha trabajado el grupo de investigación

2. OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo de investigación ha sido la optimización de la síntesis de un conjunto de bisamidas pseudopeptídicas polifuncionalizadas con simetría C_2 y su caracterización completa, incluyendo el estudio de sus propiedades más importantes.

Desde un punto de vista didáctico, los objetivos han sido:

- Aprender a manejar y a entender la información obtenida de las diferentes técnicas instrumentales empleadas: ^1H RMN, ^{13}C RMN, FT-IR, ESI-MS, polarímetro, potenciómetro, COSY, NOESY, HETCOR, rayos X, análisis elemental y microscopía óptica, entre otras.
- Conseguir autonomía en el uso de las técnicas y equipos más importantes en un laboratorio de Química Orgánica.
- Tomar decisiones de manera individual ante los problemas surgidos durante la realización del proyecto.
- Participar en las tareas comunes y en la organización general del grupo de investigación.

2.1 Objetivos Específicos

Los objetivos específicos consistieron en:

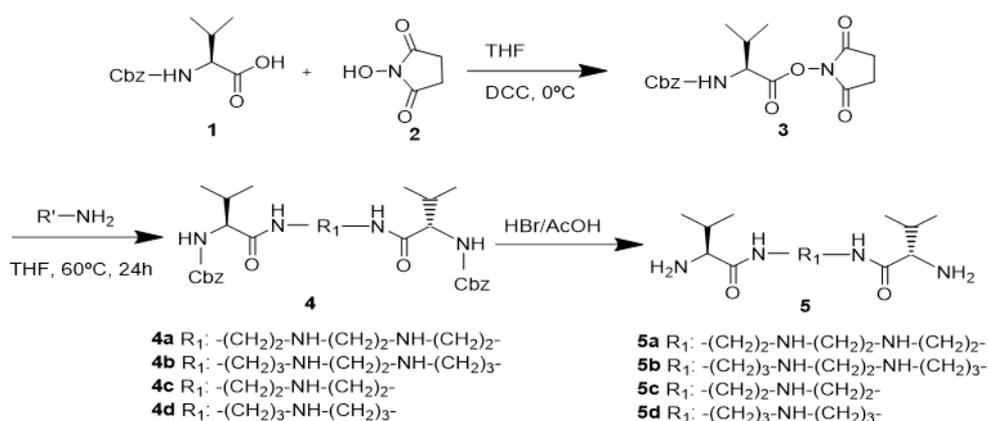
- 1) Optimizar la metodología seguida para la síntesis y la desprotección de pseudopéptidos derivados de L-valina con poliazaalcanos como espaciadores centrales.
- 2) Estudiar la posible implementación de técnicas no convencionales como microondas y ultrasonidos para llevar a cabo un procedimiento de síntesis más sostenible.
- 3) Funcionalizar las bisamidas sintetizadas con grupos alquil carboxílicos a través de las aminas secundarias de la cadena espaciadora.
- 4) Funcionalizar las bisamidas sintetizadas con grupos alquilo mediante una aminación reductiva, a través de las aminas primarias terminales y secundarias de la cadena espaciadora.
- 5) Funcionalizar las bisamidas sintetizadas con grupos alquileta a partir de isocianatos, mediante reacción con las aminas secundarias de la cadena espaciadora.
- 6) Caracterizar los compuestos sintetizados por distintas técnicas espectroscópicas y espectrométricas.
- 7) Estudiar las propiedades de auto-ensamblaje de los pseudopéptidos sintetizados en diferentes disolventes.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Compuestos Pseudopeptídicos Derivados de L-Valina con Grupos Poliazaalcanos en la Cadena Espaciadora

3.1.1 Síntesis

Las distintas amino amidas pseudopeptídicas derivadas de L-valina con simetría C_2 se prepararon siguiendo una ruta sintética descrita por el grupo previamente (Esquema 1).⁵⁴ Para ello, se parte del aminoácido comercial protegido con el grupo N-carbobenziloxi (Cbz) **1**, cuya reacción con N-hidroxisuccinimida **2** en presencia de diclohexilcarbodiimida (DCC) y tetrahidrofurano (THF) a 0°C, da como producto el éster activado correspondiente **3**. En dicha reacción se forma, además, como subproducto, diclohexilurea que precipita en el medio de reacción y se filtra posteriormente. El filtrado se concentra hasta sequedad en el rotavapor. El crudo de la reacción se recristaliza en 2-propanol para obtener el compuesto deseado puro. Este intermedio reacciona con la poliamina en la siguiente etapa de la ruta sintética para dar el compuesto pseudopeptídico **4** (**4a,4b,4c,4d**). Y, el último paso es el de la desprotección del grupo Cbz. Para conseguirlo se empleó HBr/AcOH, ya que en estudios previos se había visto que el uso de Pd/C en H_2 no daba buenos resultados. Por tanto, hay que tener en cuenta que el reactivo empleado en este paso es un ácido extremadamente fuerte, muy corrosivo y volátil, por lo que es importante evitar la inhalación de los gases y trabajar en una vitrina bien ventilada. Esta reacción de desprotección, se deja agitando hasta que cesa el desprendimiento de CO_2 , luego se añade dietil éter y el producto de interés **5** (**5a,5b,5c,5d**) precipita y se filtra posteriormente. Este producto puede guardarse en forma de sal o bien se puede basificar a pH 9-10 y extraer el producto neutro con cloroformo o diclorometano. Como subproducto de la reacción de desprotección se forma bromuro de bencilo que es un compuesto lacrimógeno y por ello es necesario dejar todo el material que ha estado en contacto con este compuesto en remojo en una disolución de NaOH en metanol para desactivarlo.



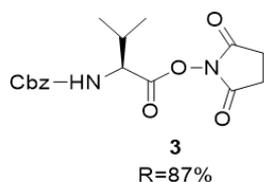
Esquema 1. Ruta sintética para obtener las amino amidas deseadas

Seguindo esta metodología se sintetizaron 4 conjuntos de bisamidas pseudopeptídicas con distintas cadenas espaciadoras de diferente longitud y con un número variable de aminas,

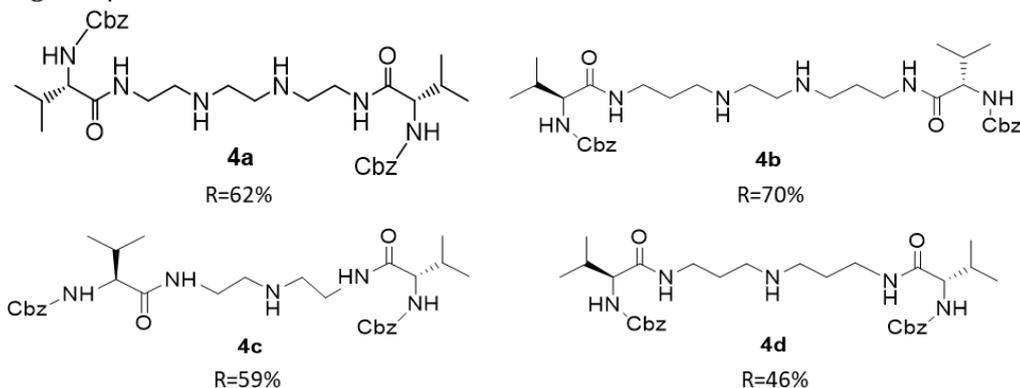
⁵⁴ J. Becerril, M. Bolte, M. I. Burguete, F. Galindo, E. García-España, S. V. Luis, J. F. Miravet, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 6677.

partiendo de la N-Cbz-L-valina. Las estructuras de todas las amino amidas obtenidas a lo largo de la ruta sintética se resumen en la Figura 14, junto con sus respectivos rendimientos.

1) Primer paso: **Síntesis del éster activado de N-Cbz-L-valina**



2) Segundo paso: **Obtención de las bisamidas protegidas**



3) Tercer paso: **Desprotección de las bisamidas**

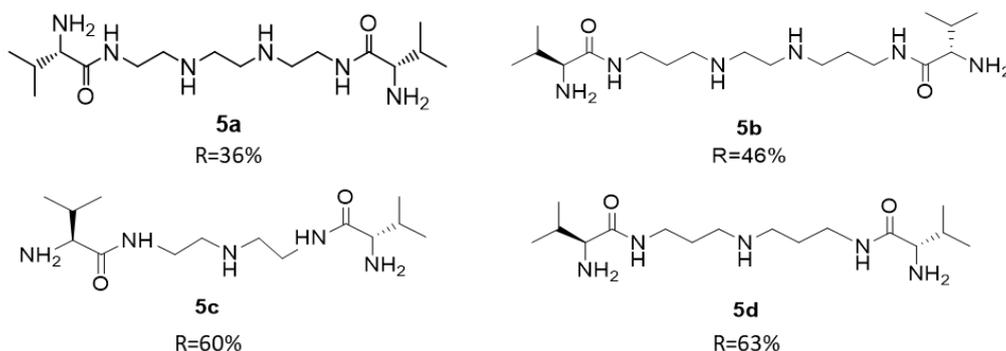


Figura 14. Estructura de los compuestos sintetizados en cada etapa de la ruta sintética y sus respectivos rendimientos

La ruta sintética empleada se optimizó con el fin de obtener los rendimientos que se muestran en la Figura 14 para el caso de las bisamidas con poliazaalcanos como espaciadores centrales **4a** y **4b**, ya que los rendimientos previos habían sido remarcablemente bajos.

Así, por ejemplo, cuando se llevó a cabo la síntesis de **4** en las condiciones descritas por el grupo de investigación,⁵⁴ los rendimientos para **4a** y **4b** fueron 31 y 7 % respectivamente. Con el objetivo de conseguir unos mejores resultados, se estudió la influencia de distintos factores. Finalmente, se comprobó que el rendimiento mejoraba de manera considerable al aumentar los equivalentes del reactivo de partida **3** (2.2 eq). Además, también se aumentó el tiempo de reacción, de 24 horas a 48 horas. De esta forma se lograron aumentar los rendimientos de ambos pseudopéptidos (62 % para el compuesto **4a** y 70 % para **4b**).

Seguidamente, también se estudió como mejorar el rendimiento del producto aislado **5** en el paso de la desprotección. Para ello se disminuyó la cantidad de HBr / AcOH utilizado, ya que al estar los reactivos más concentrados se podría favorecer la precipitación del producto deseado al añadir dietiléter. Sin embargo, se observó que al trabajar con una menor cantidad de HBr / AcOH la reacción no transcurre por completo y se obtiene el producto desprotegido impuro con producto de partida sin desproteger. Por otro lado, también se evaluó el uso de distintos disolventes para favorecer la precipitación del producto una vez finalizada la reacción (CH_2Cl_2 y éter de petróleo). Sin embargo, se vio que el mejor disolvente era dietil éter. Con estos resultados se puede concluir que las condiciones idóneas para llevar a cabo la reacción de desprotección son las que había establecido previamente el grupo.⁵⁵

Los bajos rendimientos observados en la Figura 14 para las bisamidas desprotegidas **5** son debidos a la dificultad de aislarlas en su forma neutra. Los rendimientos obtenidos del producto aislado en forma de sal de bromhidrato fueron superiores al 80 %, pero al querer neutralizarlo, los rendimientos disminuyeron a niveles del 40 %. Ello es debido a que el producto **5** es parcialmente soluble en agua, ya que al contener aminas libres aumenta su solubilidad en medio acuoso. Y, como para neutralizar el producto se necesita utilizar agua básica, parte del producto se queda en la fase acuosa al extraerlo con CH_2Cl_2 . Por este motivo se planteó llevar a cabo un work-up alternativo, sustituyendo la extracción líquido-líquido, por extracción líquido-sólido. En este caso, se disolvió igualmente el producto en agua básica para neutralizarlo y a continuación ésta se evaporó en el rotavapor. Después, al sólido obtenido se le añadió MeOH muy frío para evitar que las sales inorgánicas se disolviesen. Aun así, el espectro obtenido por espectrometría de masas molecular del producto extraído en MeOH mostró la presencia de bromuro en el producto final, lo que indica la presencia de sales de NaBr. Por último, se llevó a cabo este mismo procedimiento utilizando cloroformo en lugar de metanol, pero el producto deseado tampoco resultó ser demasiado soluble en este medio.

Con esto, se concluyó que tal vez podría llevarse a cabo la neutralización directamente *in-situ* en el siguiente paso sintético. O incluso, se podría funcionalizar el pseudopéptido antes de desprotegerlo, para evitar que éste sea tan soluble en medio acuoso.

3.1.2 Caracterización

Los compuestos se caracterizaron mediante ^1H RMN (400 y 300 MHz), ^{13}C RMN (400 MHz), ESI-MS y FT-IR. Tal como se ha explicado, la ruta sintética llevada a cabo consiste en tres reacciones consecutivas para obtener los compuestos pseudopeptídicos deseados.

En la síntesis del éster activado de la N-Cbz-L-valina **3**, la evidencia más significativa de que la reacción transcurrió de manera correcta es la desaparición de la banda correspondiente al grupo carboxílico ($3400\text{-}2300\text{ cm}^{-1}$) en el espectro FT-IR (Figura 15).

⁵⁵ J. Rubio, "Receptores abióticos pseudopeptídicos capaces de participar en procesos de autoasociación y autoensamblaje", 2011, Tesis Doctoral.

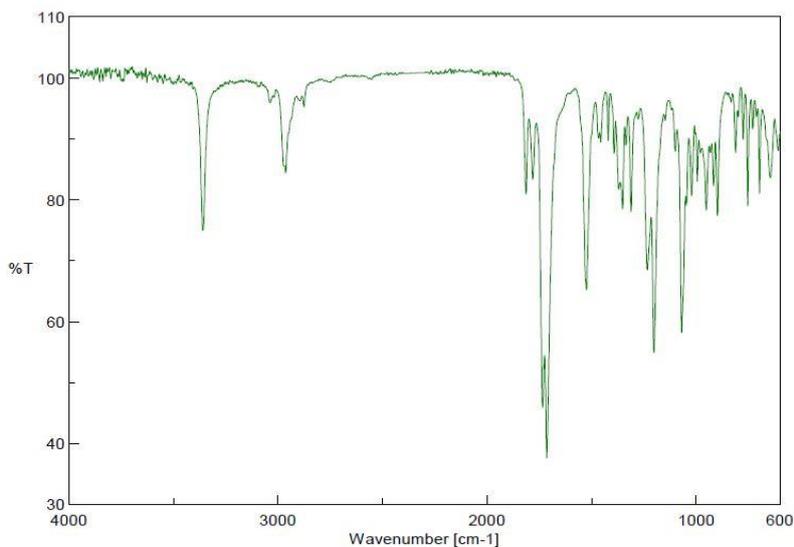


Figura 15. Espectro FT-IR del éster activado de la N-Cbz-L-valina **3**

Además, el espectro de ^1H RMN muestra la aparición de una nueva señal a 2.8 ppm, la cual corresponde al nuevo fragmento introducido de N-hidroxisuccinimida (Figura 16).

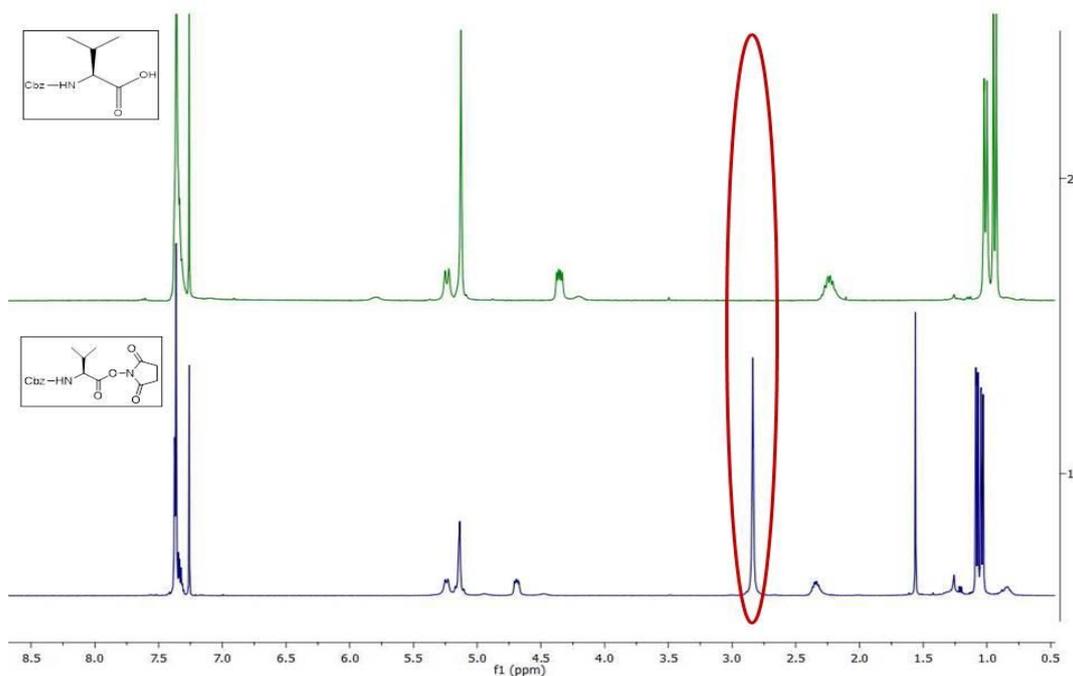


Figura 16. Espectro de ^1H RMN de la N-Cbz-L-valina (arriba) y el éster activado **3** (abajo)

La reacción del éster activado con la poliamina correspondiente se puede seguir fácilmente por ^1H RMN, así por ejemplo para **4a** se observa el pico correspondiente al protón NH del grupo amida (7.2 ppm) en el correspondiente espectro ^1H RMN (Figura 17). Al mismo tiempo, el pico de los protones metilénicos del grupo succinimida desaparece. Como estos compuestos ya los había sintetizado previamente el grupo no se realizó una caracterización completa.

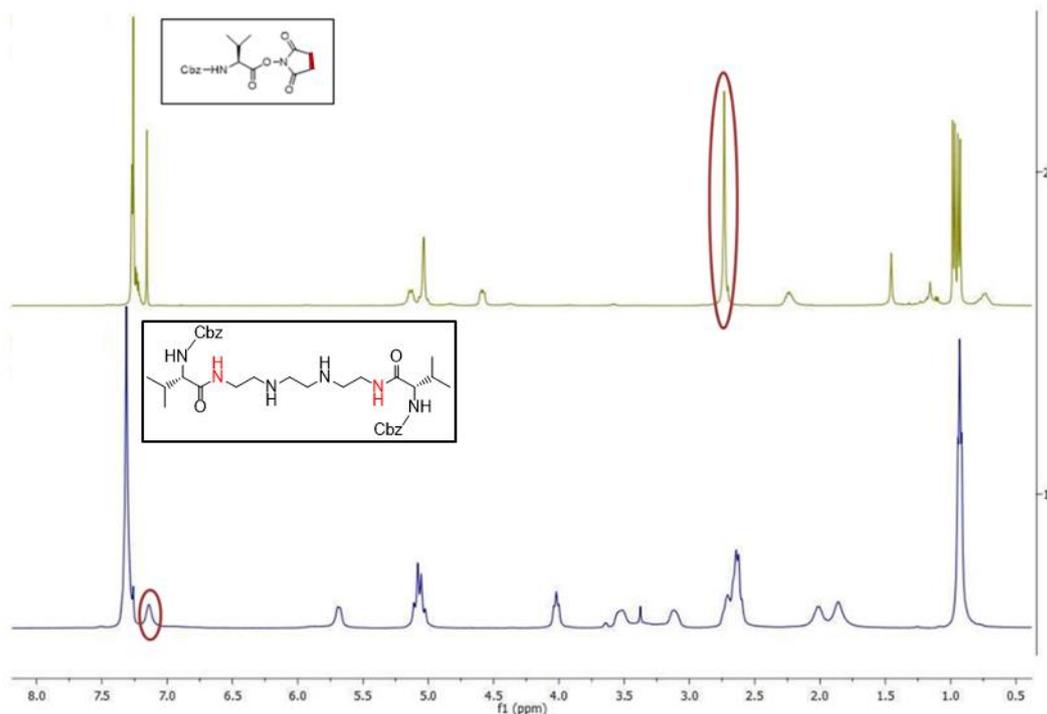


Figura 17. Espectro de ¹H RMN del éster activado de la L-valina **3** (arriba) y la bisamida **4a** (abajo)

El último paso fue la desprotección de las amino amidas. En el espectro ¹H RMN de **5a** (Figura 18) se observa la desaparición de las señales de los protones bencílicos correspondientes al grupo protector Cbz (7.25-7.41 y 5 ppm). Además, se ve un desplazamiento significativo de la señal del protón del carbono quiral, de 3.9 ppm a 3.4 ppm.

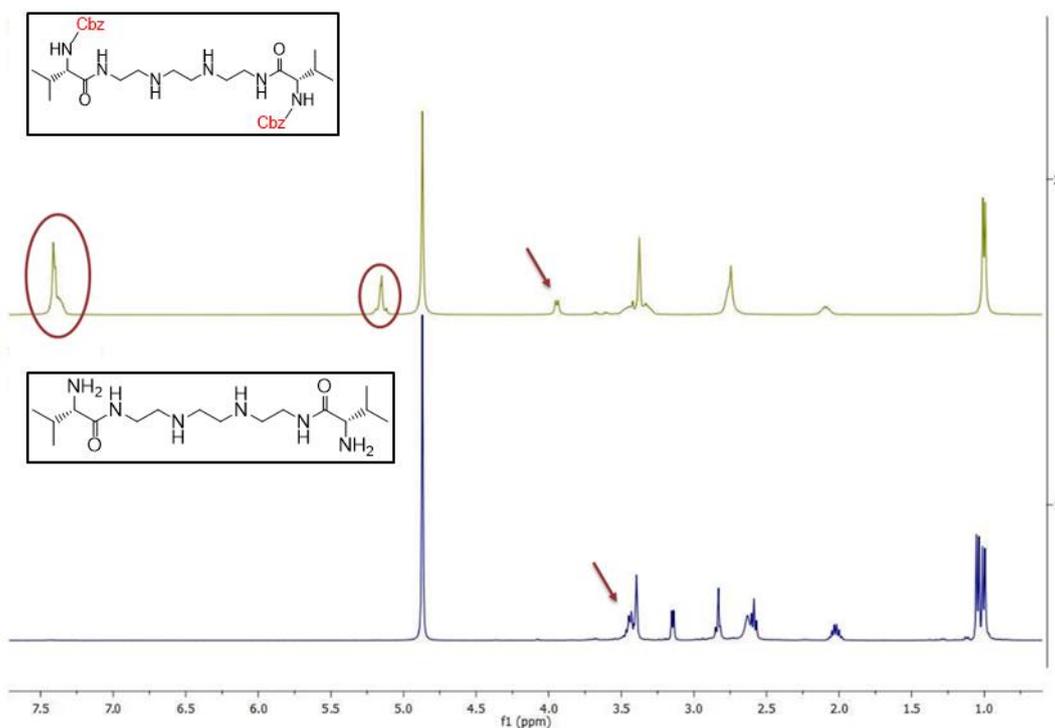


Figura 18. Espectro de ¹H RMN de la bisamida protegida **4a** (arriba) y desprotegida **5a** (abajo)

Sin embargo, hay que señalar que, en el ESI-MS del producto aislado **5a** se observó el pico correspondiente a $[M+H]^+$: 345.5 m/z y además un pico bastante intenso a $[M+26]^+$: 371.5 m/z (mirar espectro ESI-MS de **5a** en el anexo). En un principio se pensó que podía deberse a un subproducto formado, ya que esta señal también había aparecido en trabajos anteriores llevados a cabo por otros colaboradores, llegando todos ellos a esta misma conclusión. Pero al obtener monocristales, y tras examinarlos mediante la técnica de Espectroscopía de Rayos X, la estructura atómica obtenida contenía un ciclo central inesperado, tal como muestra la Figura 19. Revisando los reactivos de partida se observó que la trietilentetraamina utilizada para la síntesis de **4a** era de una pureza del 70 %.

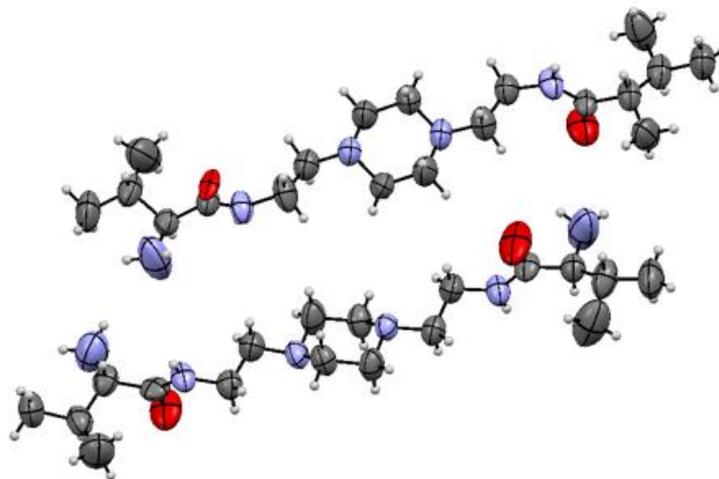


Figura 19. Estructura cristalina obtenida por Espectroscopía de Rayos X de **5a**

Para solventar este problema detectado se volvió a preparar el compuesto **5a** utilizando amina al 98% de pureza. De esta forma ya no apareció la señal $[M+26]^+$: 371.5 m/z en el espectro ESI-MS.

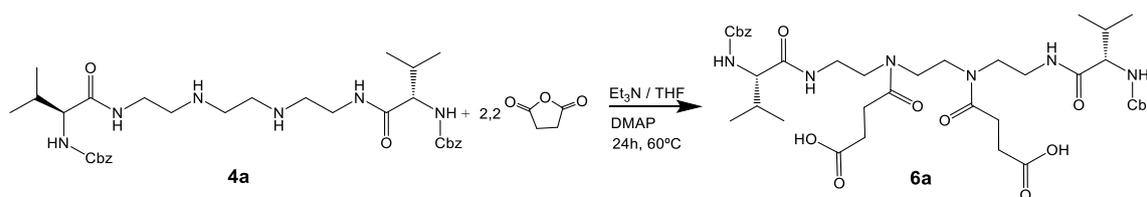
3.2 Funcionalización de Pseudopéptidos Derivados de L-Valina Conteniendo Grupos Poliazaalcanos en la Cadena Espaciadora

El principal objetivo del trabajo presentado es la obtención de compuestos anfifílicos polifuncionalizados a partir de las bisamidas sintetizadas anteriormente. Para ello debemos introducir cadenas anfifílicas bien a través de las aminas terminales o funcionalizando las aminas de la cadena espaciadora. Para ello se llevaron a cabo diferentes estrategias sintéticas.

3.2.1 Funcionalización de las aminas centrales con grupos alquil carboxílicos

En primer lugar, se intentaron funcionalizar los grupos amino centrales de la cadena espaciadora con grupos ácidos carboxílicos. Para ello, se hizo reaccionar la bisamida protegida **4a** (0.65 mmoles) con dimetilaminopiridina (0.2 equivalentes, 0.13 mmoles) y anhídrido succínico (2.2 equivalentes, 1.80 mmoles) para conseguir el pseudopéptido funcionalizado **6a**, tal como se muestra en el Esquema 2. La reacción se llevó a cabo utilizando una mezcla 1:1 de Et_3N -THF (40 mL) como disolvente, a reflujo durante 24 horas a 60°C. La reacción se siguió por TLC.⁵⁶

⁵⁶ L. Kuret, "Síntesis de compuestos polifuncionales derivados de bisaminoamidas", 2017, Trabajo de Fin de Máster.



Esquema 2. Síntesis del compuesto pseudopeptídico funcionalizado **6a**

Posteriormente el crudo obtenido en la reacción se llevó a sequedad, se acidificó hasta pH 4-5 y se extrajo con CH_2Cl_2 . Al evaporar las fases orgánicas no se observó ningún producto. Así que, como no se consiguió extraer el producto, se acidificó la fase acuosa a pH 2. Durante el proceso de extracción se pudo observar que el producto gelificaba en la interfase. Para poder romper ese gel formado se añadió más agua, y más CH_2Cl_2 para favorecer la extracción del producto en la fase orgánica. Una vez conseguido, la fase orgánica se secó con MgSO_4 anhidrido y se evaporó el disolvente. Se obtuvo un sólido arenoso marrón. El crudo se caracterizó por ^1H -RMN y ESI-MS, observándose por ESI-MS, entre otras señales, la presencia de un pico a 813.5 m/z correspondiente a $[\mathbf{6a} + \text{H}]^+$.

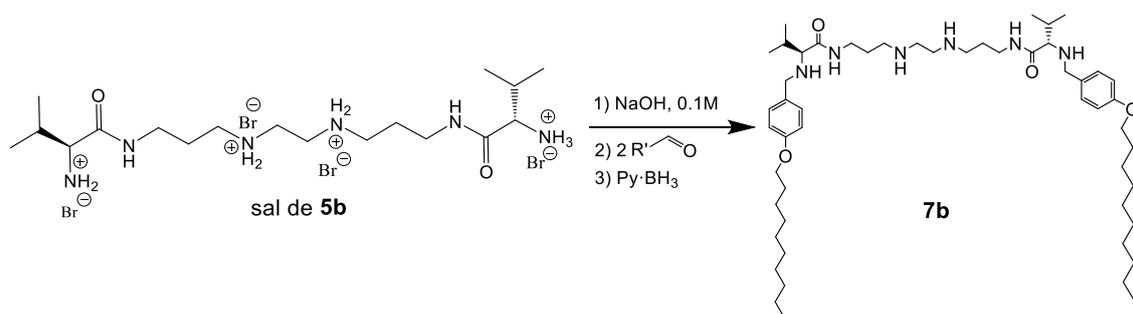
Para purificar el producto se hizo una separación por columna cromatográfica de sílice utilizando como fase móvil CH_2Cl_2 / MeOH, 10:2. Aun así, no se consiguió el producto puro deseado, se obtuvieron mezclas.

El hecho de que no se consiguiera purificar el producto de interés pudo deberse a que, como se ha comentado anteriormente, la bisamida **4a** que se utilizó en esta síntesis era la que se obtuvo impura en las primeras etapas, debido a que se utilizó una trietilentetraamina al 70 % de pureza.

Esto explicaría porque no sería viable que se hubiera obtenido el producto de interés funcionalizado con mejores rendimientos, ya que parte de las aminas secundarias que se esperaba que se funcionalizasen, resultaron ser terciarias, con lo que no habrían podido funcionalizarse.

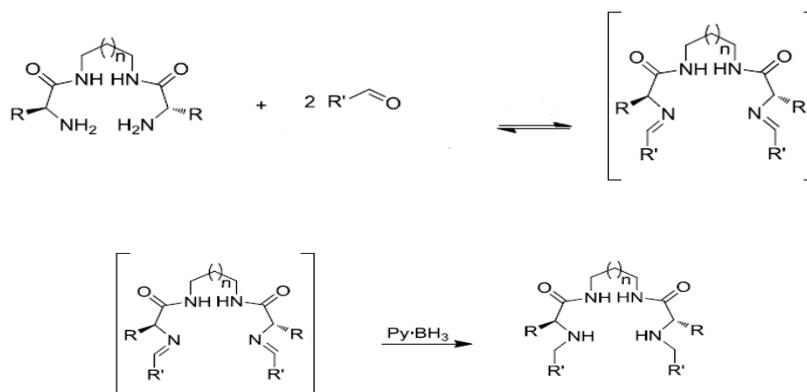
3.2.2 Funcionalización de las aminas terminales con grupos alquilo mediante aminación reductiva

A continuación, se procedió a funcionalizar las aminas primarias de la bisamida pseudopeptídica desprotegida **5b** con grupos alquilo, tal como muestra el Esquema 3. Para ello, se hizo reaccionar **5b** con 4-deciloibenzaldehído y PyBH_3 con el fin de conseguir el pseudopéptido funcionalizado anfifílico **7b**.⁵⁵



Esquema 3. Funcionalización de las aminas primarias de la bisamida desprotegida **5b**

Primero se llevó a cabo la neutralización in situ de la sal del reactivo **5b** (0.27 mmol), empleando NaOH 0.1 M. Una vez neutralizado y secado el reactivo, se disolvió en MeOH HPLC anhídrido (3 mL), en atmósfera de N₂. A continuación, se añadió el aldehído (2 equivalentes, 0.55 mmol) gota a gota disuelto también en MeOH HPLC seco. La reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 20 horas con agitación constante. Seguidamente se añadió muy lentamente el agente reductor PyBH₃ en exceso (2 mmol) para reducir la imina formada previamente y se dejó la reacción 24 horas más a 35°C (Esquema 4). El proceso completo se siguió por TLC.



Esquema 4. Ruta sintética para funcionalizar aminas primarias mediante aminación reductiva

Una vez finalizada la reacción, el crudo obtenido se hidrolizó hasta pH ácido añadiendo HCl concentrado. La mezcla se evaporó hasta sequedad y se basificó a pH 10. El producto se extrajo con cloroformo (3 x 50 mL) y de nuevo se evaporó el disolvente hasta sequedad. El crudo se caracterizó por ¹H-RMN y ESI-MS, donde se pudo constatar la existente mezcla de compuestos mono (**7a**), di (**7b**), tri (**7c**) e incluso tetra (**7d**) sustituidos (Figura 20), (Figura 21).

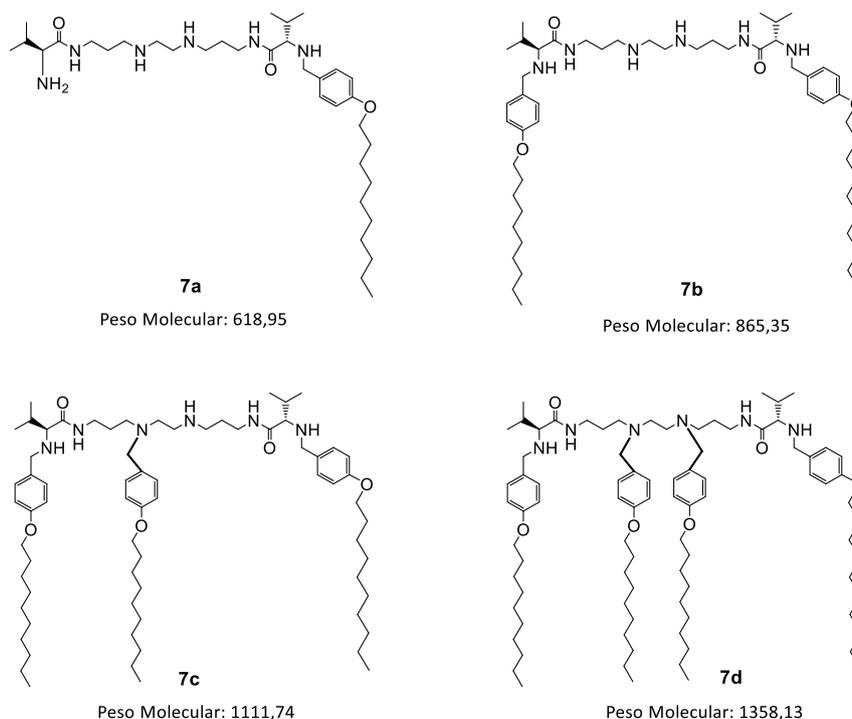


Figura 20. Representación estructural de todos los compuestos obtenidos en la síntesis de **7b**

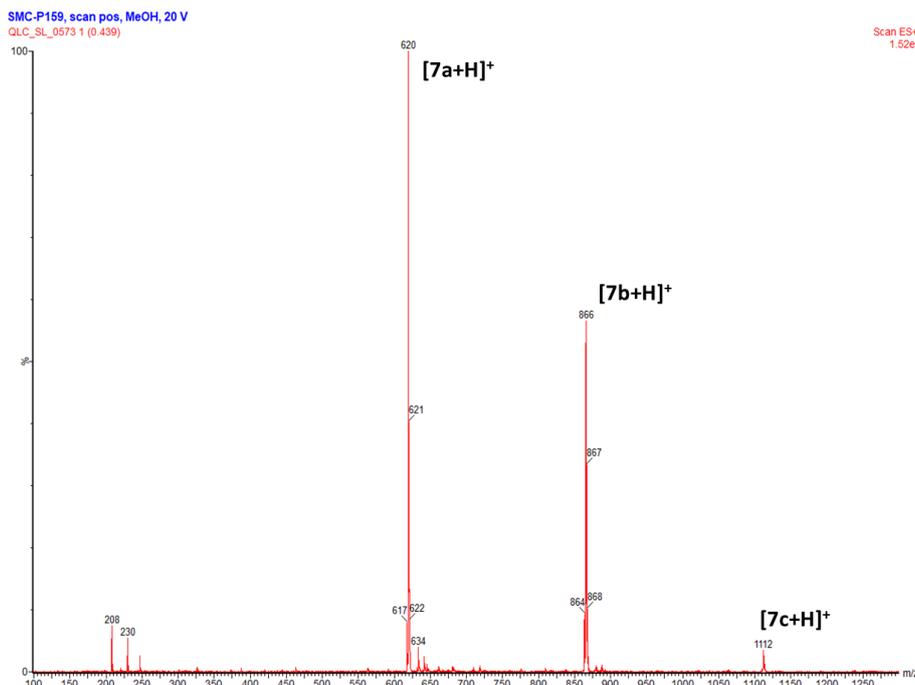


Figura 21. Espectro ESI-MS del crudo de la síntesis del compuesto **7b**

Para conseguir separar los distintos productos del crudo se llevó a cabo una purificación por columna cromatográfica empleando como fase estacionaria sílice flash (tamaño poro: 0.04-0.06 mm, más pequeño que la sílice normal) y como fase móvil CH₂Cl₂ / MeOH, 100:5, con unas gotas de NH₃ para evitar la retención de los productos en la columna. En estas condiciones no se consiguió separar bien la mezcla.

Debido a que los distintos subproductos se separaban bien en la cromatografía de capa fina de alúmina, se decidió llevar a cabo la purificación utilizando columna de alúmina. El crudo de reacción se purificó por columna cromatográfica de alúmina activada neutra, con fase móvil CH₂Cl₂ / MeOH, 100:10. Esta vez tampoco se pudo obtener el producto deseado puro (Figura 22).

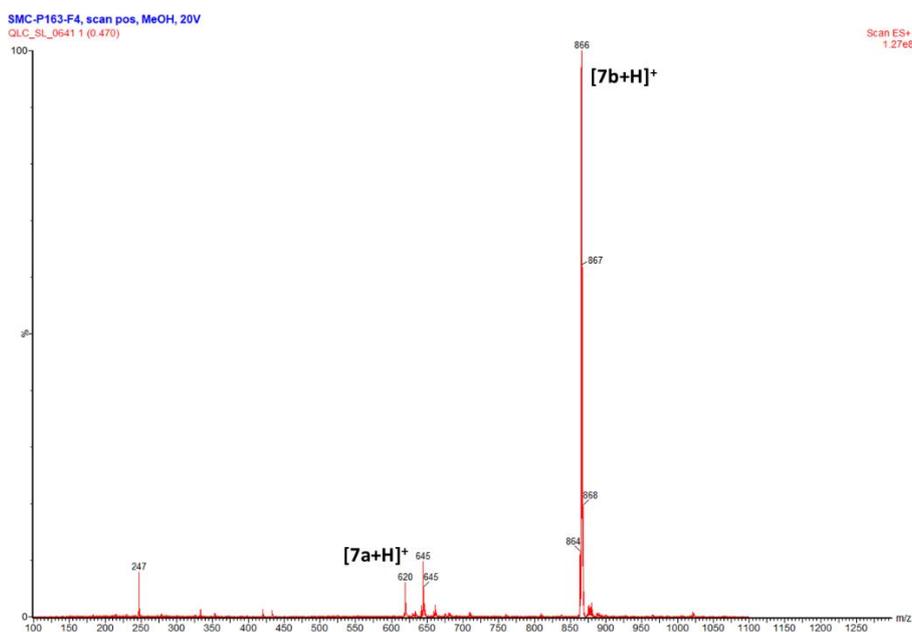
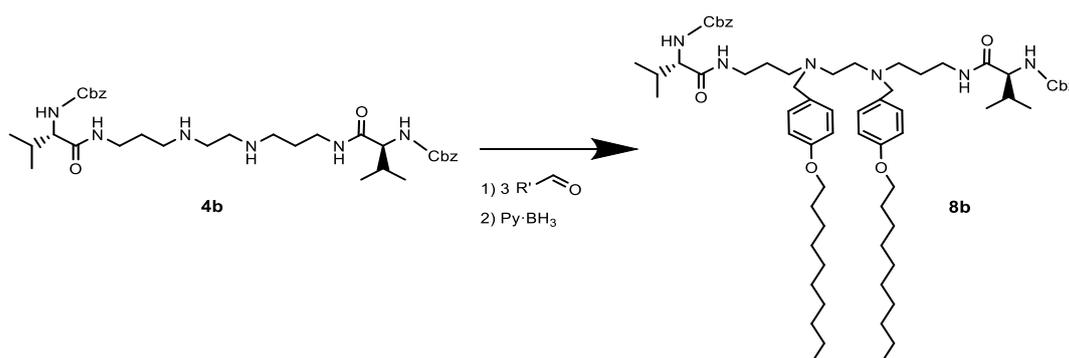


Figura 22. Espectro ESI-MS de la última fracción extraída de la columna cromatográfica

Al estar tanto las aminas primarias como las secundarias libres, todas ellas pueden funcionalizarse a lo largo de la reacción, por ello es fácil obtener tantos productos secundarios. Y, conseguir la separación de éstos resultó complicado tanto por columna cromatográfica como por recristalización ya que todos ellos presentan semejante comportamiento y propiedades. Por ello, se planteó una posible alternativa para la obtención de pseudopéptidos funcionalizados anfifílicos. Una factible solución podría ser funcionalizar en primer lugar las aminas secundarias partiendo de las bisamidas protegidas y a continuación desproteger las aminas terminales. De esta forma solo se pueden funcionalizar las aminas centrales.

3.2.3 Funcionalización de las aminas centrales con grupos alquilo mediante aminación reductiva

Para llevar a cabo esta reacción, se partió de la bisamida **4b** (0.31 mmol), la cual se disolvió en CHCl₃ HPLC anhidrido (8 mL), en atmósfera de N₂. A continuación, se añadió el aldehído en exceso (3 equivalentes, 0.94 mmol) gota a gota disuelto también en CHCl₃ HPLC anhidrido. La reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 20 horas con agitación constante. Seguidamente se añadió muy lentamente la base PyBH₃ en exceso (2 mmol) para reducir la imina formada previamente y se dejó la reacción 24 horas más a 35°C (Esquema 5). El proceso se siguió por TLC hasta la desaparición de la señal correspondiente al reactivo de partida **4b**.



Esquema 5. Funcionalización de las aminas secundarias de la bisamida protegida **4b**

El work-up posterior fue el mismo que el mencionado anteriormente. El crudo se caracterizó por ¹H-RMN y ESI-MS, donde se aprecia la existencia tanto de compuesto mono (**8a**), como di (**8b**), sustituido representado en la Figura 23. La purificación de estos productos se llevó a cabo mediante cromatografía flash, ajustando los parámetros y condiciones más adecuadas (Figura 24).

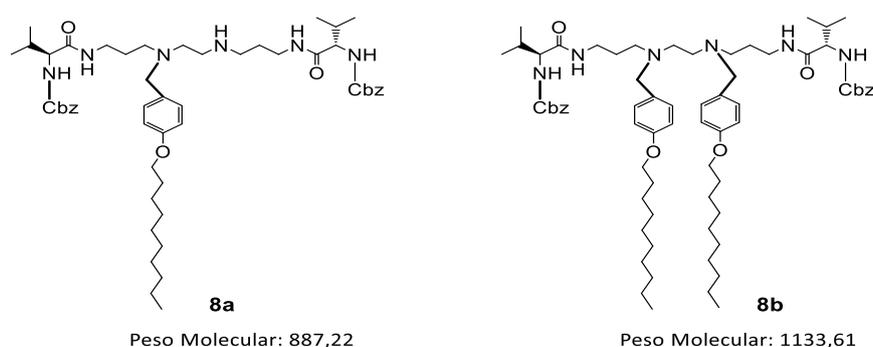


Figura 23. Representación de los compuestos obtenidos durante la síntesis de **8b**

SampleName: smc-p169

Thursday 14 June 2018 12:49PM

RediSep Column: Silica 80g
 Flow Rate: 5 ml/min
 Equilibration Volume: 150.0 ml
 Initial Waste: 0.0 ml
 Air Purge: 1.0 min
 Solvent A: A2 dichloromethane
 Solvent B: B2 methanol

Peak Tube Volume: 15.0 ml
 Non-Peak Tube Volume: Max.
 Loading Type: Solid
 Wavelength 1 (red): 254nm
 Peak Width: 2 min
 Threshold: 0.20 AU
 Wavelength 2 (purple): 220nm
 Peak Width: 2 min
 Threshold: 0.20 AU

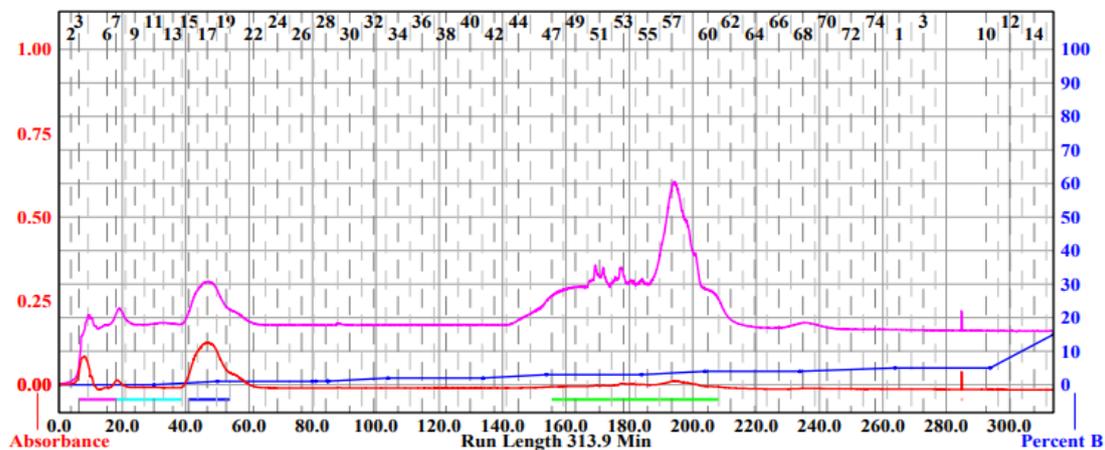


Figura 24. Parámetros ajustados y espectro cromatográfico obtenido para la purificación por columna cromatográfica flash de la bisamida funcionalizada **8b**

Sin embargo, solo se consiguió recuperar el compuesto **8a** puro (entre las fracciones 55-59, Figura 25) y una mínima cantidad de **8b** impuro (fracciones 60-63).

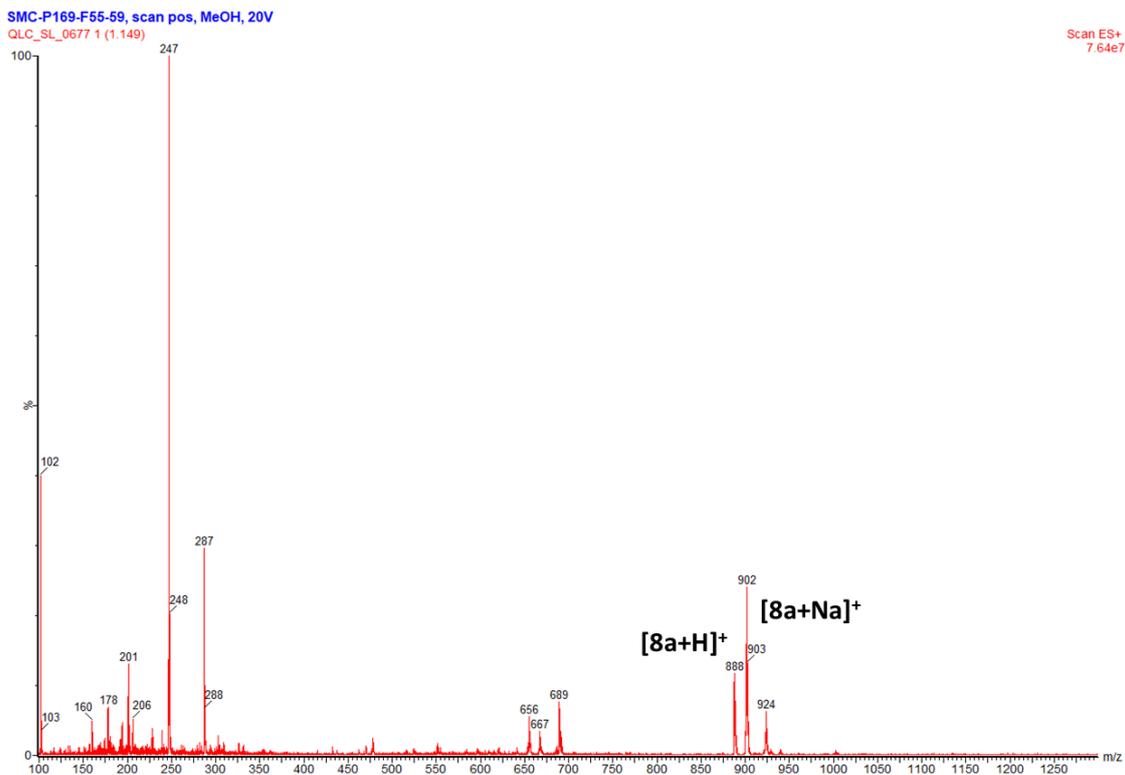


Figura 25. Espectro ESI-MS de las fracciones 55-59 en las que se obtiene principalmente el compuesto **8a**

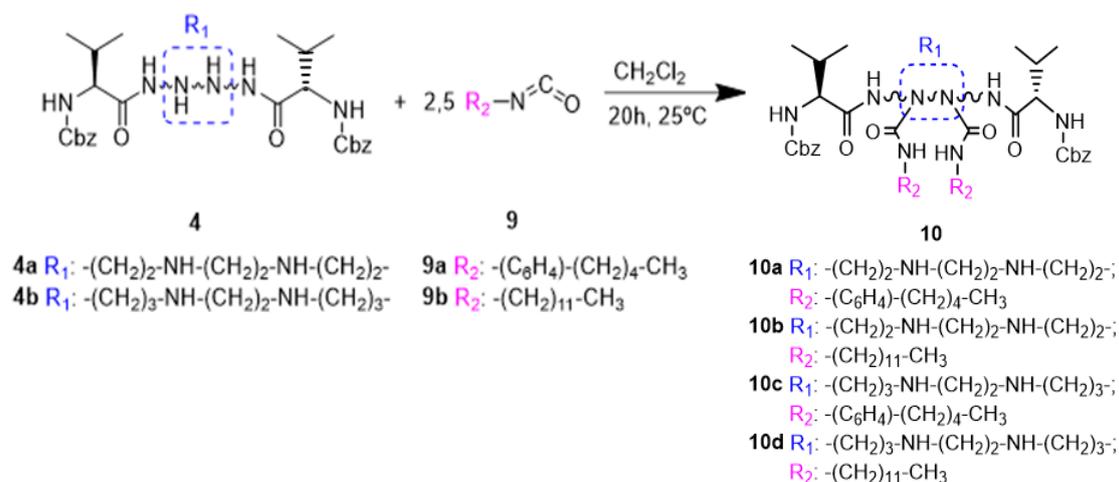
Por ello, se decidió utilizar isocyanatos como materia de partida para funcionalizar las aminas, ya que estos grupos son muy reactivos.

3.2.4 Funcionalización de las aminas centrales con grupos alquileura a partir de isocyanatos

Siguiendo una distinta metodología se sintetizaron dos familias de pseudopéptidos polifuncionalizados anfifílicos. En este caso se funcionalizaron las bisamidas protegidas **4a** y **4b** con grupos alquileura, empleando los isocyanatos 4-pentilfenilisocyanato **9a** y dodecilisocyanato **9b** como reactivos de partida. A continuación, se desprotegieron las aminas terminales para obtener los compuestos anfifílicos deseados.

El procedimiento que se siguió para obtener las bisamidas funcionalizadas protegidas había estado descrito por el grupo previamente.⁵⁷ El reactivo de partida **4** (**4a,4b**) se disolvió en CH₂Cl₂ anhídrido, en atmósfera de N₂. Seguidamente, se añadió el isocyanato en exceso (2.5 equivalentes) disuelto en CH₂Cl₂ anhídrido, gota a gota a 0°C (Esquema 6). La reacción se dejó así durante 15 minutos, y a continuación se retiró el baño de hielo y se dejó 20 horas a temperatura ambiente con agitación constante. La síntesis se siguió por TLC, y una vez finalizada se evaporó el disolvente hasta sequedad.

Para evaluar las mejores condiciones de reacción se probó a hacer la síntesis en condiciones clásicas en “batch” y en microondas. En ambos casos se obtuvieron buenos resultados, aunque un poco superiores en “batch”. También se comprobó que cuanto más concentrados se encuentran los reactivos de partida (~ 0.1 M), mejores resultados se obtienen tanto en la pureza del producto deseado como en el rendimiento alcanzado.



Esquema 6. Funcionalización de las aminas secundarias de las bisamidas protegidas **4a** y **4b**

En la Figura 26 se muestran todos los compuestos obtenidos en la etapa de funcionalización.

⁵⁷ J. Rubio, V. M. Centelles, M. I. Burguete, S. V. Luis, *Tetrahedron*, **2013**, *69*, 2302.

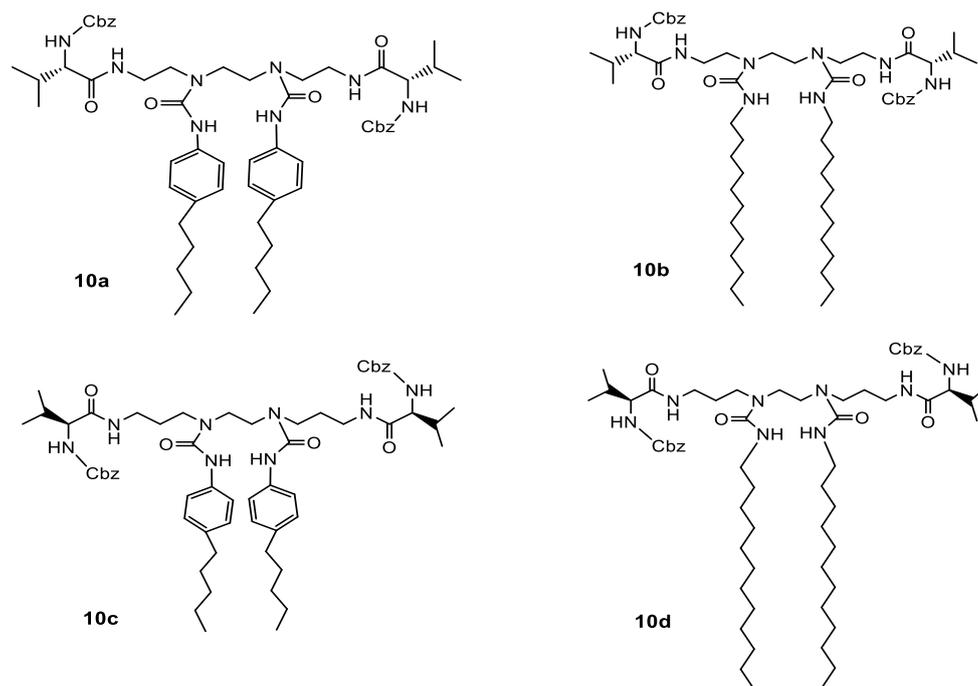


Figura 26. Representación de los compuestos anfílicos obtenidos al funcionalizar con grupos alquilurea

FUNCIONALIZACIÓN CON GRUPOS ALQUILUREA CON CADENAS AROMÁTICAS

En el caso de la reacción con el isocianato aromático **9a** con **4b**, el crudo se dejó secar y se caracterizó por $^1\text{H-RMN}$ y ESI-MS. Tal como se observa en la Figura 27, quedaron restos de los reactivos de partida en el crudo. Así pues, se observa la señal a 642 m/z perteneciente a $[\mathbf{4b} + \text{H}]^+$ y otra señal intensa a 222 m/z probablemente debida a la formación de algún derivado del isocianato **9a** libre, ya que éste se encuentra en exceso.

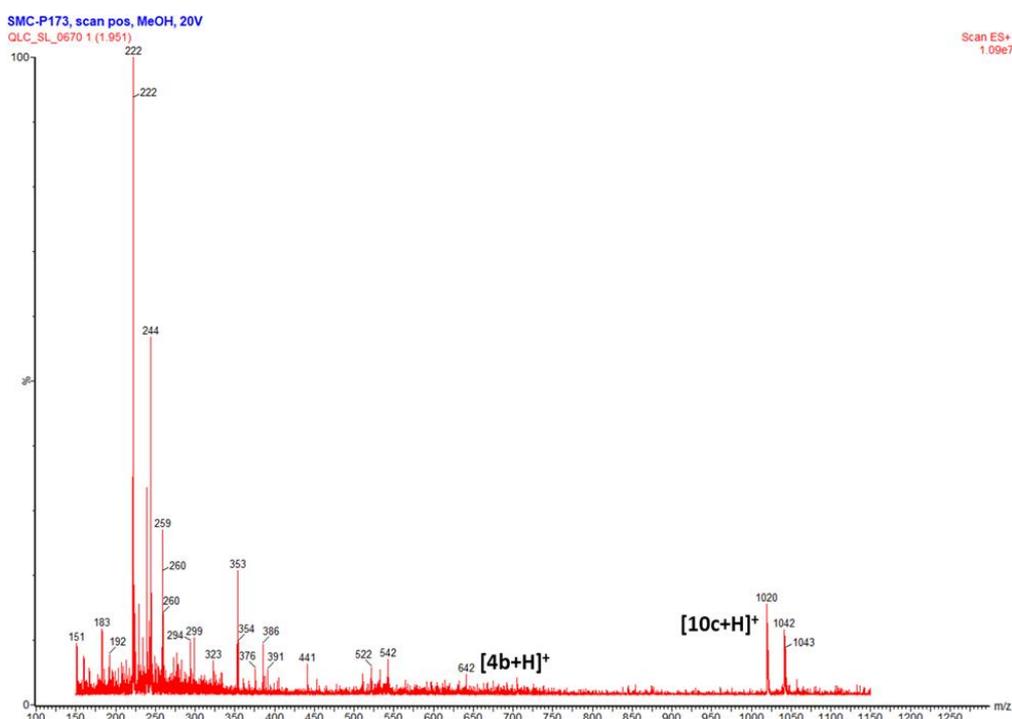


Figura 27. Espectro ESI-MS del crudo de la síntesis del compuesto **10c** a partir de **4b**

Éste se intentó recristalizar con 2-propanol (con muy poca cantidad) y calentando. De esta forma se quedó una disolución viscosa, por lo que para ayudar a la cristalización se añadió hexano. Aun dejando la disolución en el congelador, no se consiguió cristalizar ningún producto. Por ello, se estudiaron distintos posibles disolventes para llevar a cabo la recristalización. Sin embargo, no se encontró ninguno apropiado para este fin.

Asimismo, se probó a hacer lavados con agua básica y ácida, extrayendo con CH_2Cl_2 y así quitar el isocionato sobrante en exceso. La fase orgánica se secó con MgSO_4 anhidrido y se evaporó el disolvente. Una vez seco se caracterizó por $^1\text{H-RMN}$ y ESI-MS. Sin embargo, aun así, siguió quedando reactivo de partida **9a**. Con lo que tampoco este método fue factible para purificar el producto.

Por este motivo, fue necesario recurrir a la cromatografía flash para conseguir la purificación del producto deseado **10c**. Las condiciones apropiadas, así como el espectro cromatográfico se muestra en la Figura 28.

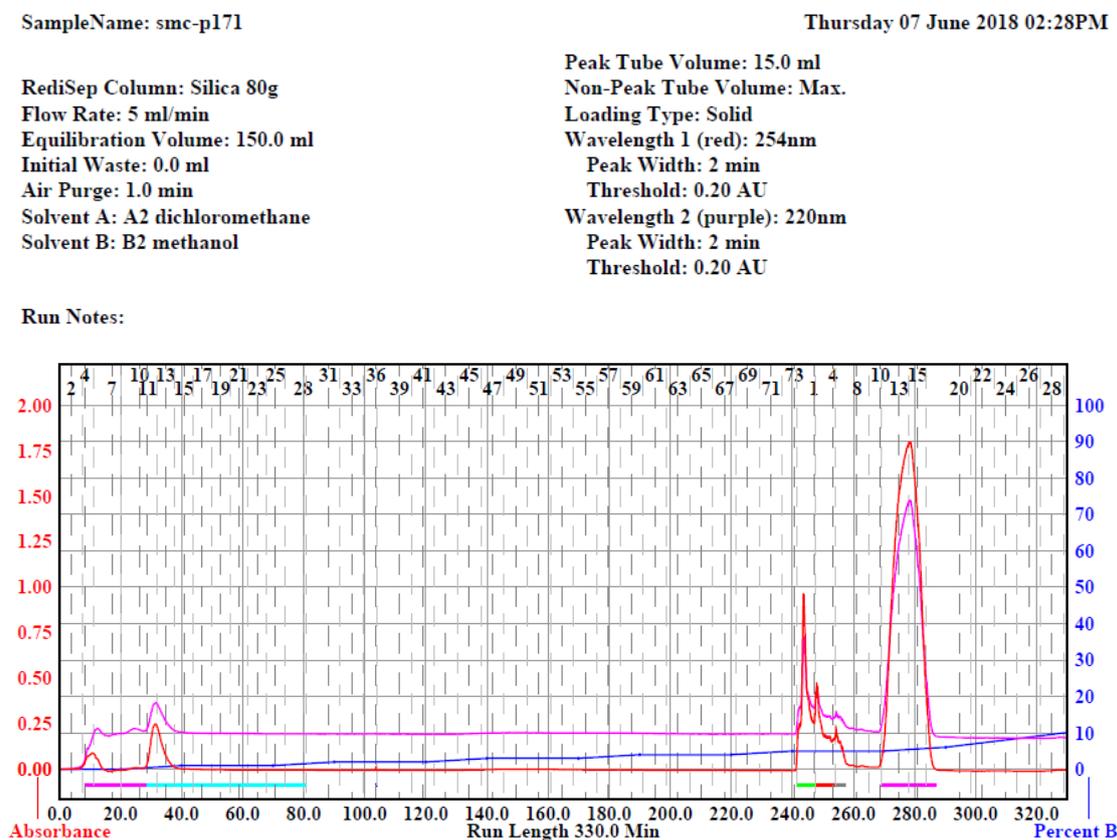


Figura 28. Parámetros ajustados y espectro cromatográfico obtenido en la purificación por columna cromatográfica flash para la bisamida funcionalizada **10c**

Mediante esta técnica sí que se consiguió el producto puro con un rendimiento del 64 % (Figura 29).

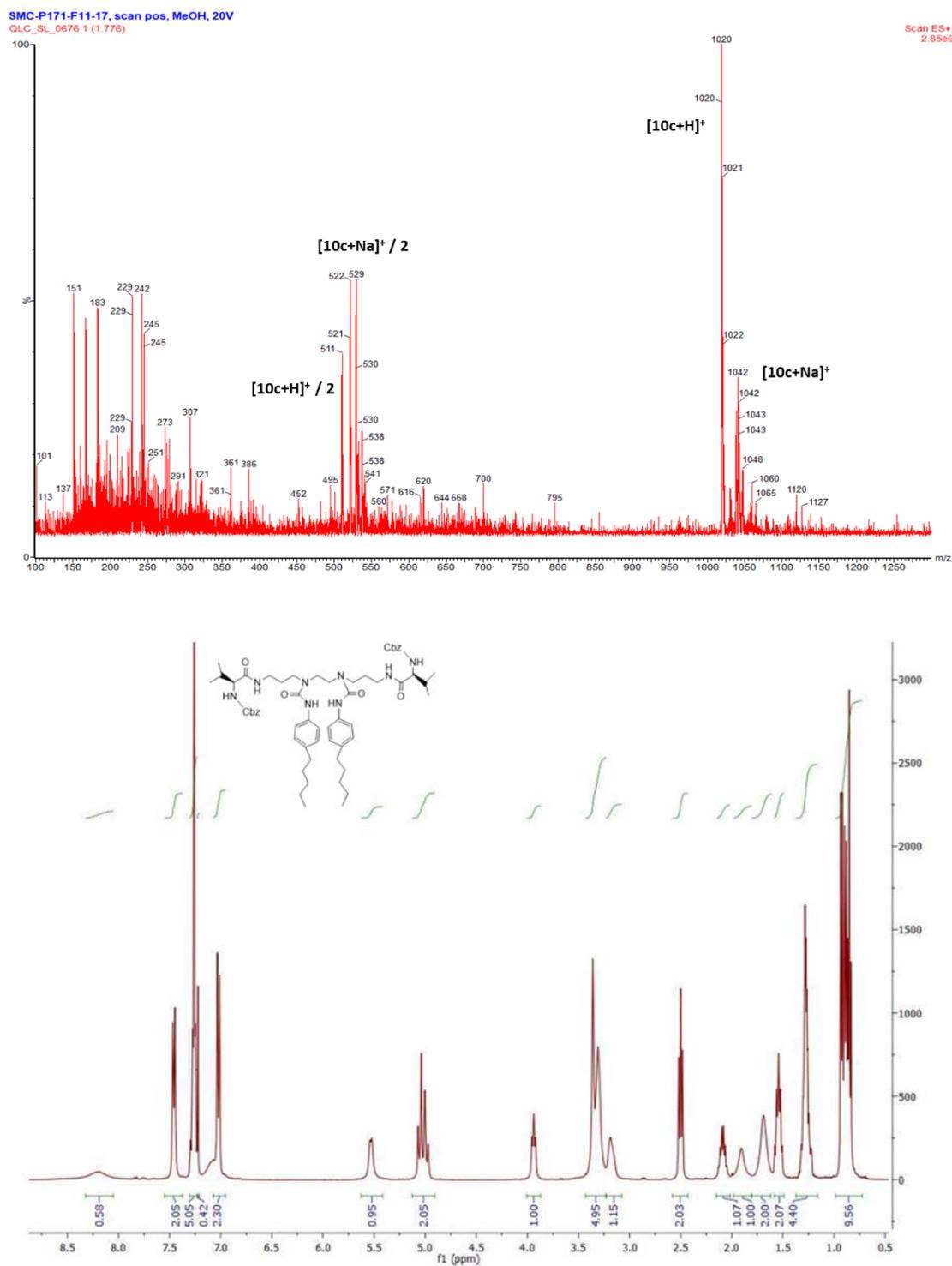


Figura 29. Espectro ESI-MS (arriba) y ¹H-RMN (abajo) para el compuesto **10c** puro

FUNCIONALIZACIÓN CON GRUPOS ALQUILUREA CON CADENAS ALIFÁTICAS

Seguidamente, se llevó a cabo la síntesis con el isocianato alifático **9b**. En esta ocasión, con el reactivo de partida **4b**, la recristalización con 2-propanol sí que tuvo lugar de manera adecuada. Tras dejar la reacción 24 horas y evaporar el disolvente, el crudo una vez seco se redisolvió en 2-propanol calentando y se dejó enfriar en el congelador. Los cristales obtenidos **10d** se filtraron, se secaron y se caracterizaron, alcanzando un 85 % de rendimiento (Figura 30).

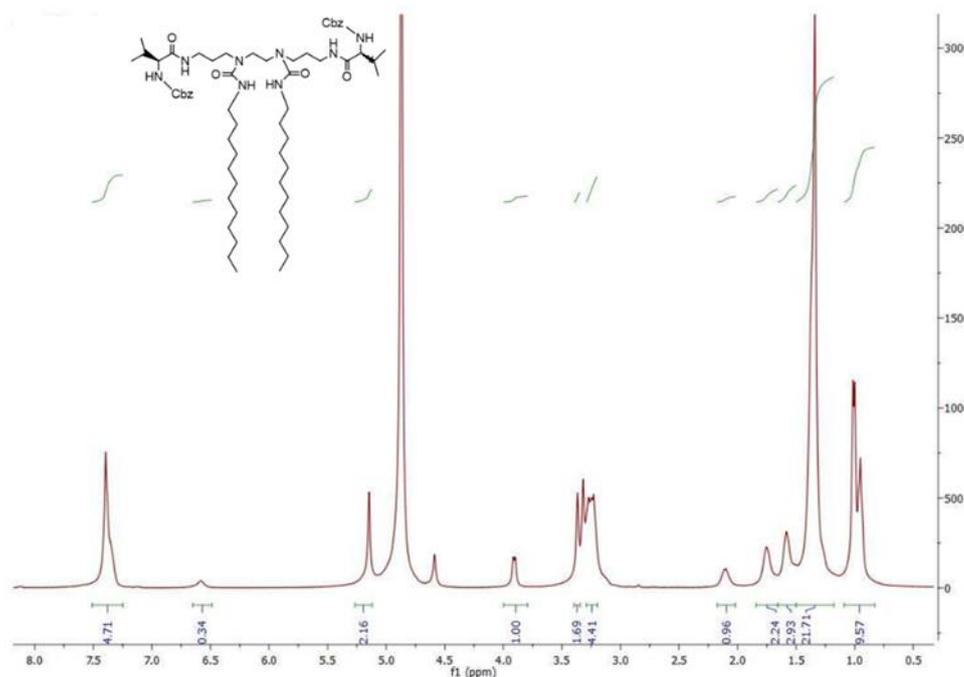


Figura 30. Espectro ^1H -RMN para el compuesto **10d** puro a partir de **4b**

Para llevar a cabo la síntesis de **10b**, partiendo de **9b** con la bisamida **4a**, se utilizó CHCl_3 HPLC anhídrido como medio de reacción, porque se vio que en este disolvente se disuelven mejor los reactivos de partida, y así éstos pueden estar más concentrados. Una vez añadido el isocianato y retirado el baño de hielo, se dejó la reacción a 40°C en reflujo durante 24 horas. Tras evaporar el disolvente, se intentó recristalizar con 2-propanol. Sin embargo, apenas cristalizó nada. Tanto el filtrado como el sólido retenido presentaron similares espectros de ^1H -RMN, en los que se aprecian impurezas y trazas de los reactivos de partida. Por ello, se juntó toda la masa de nuevo y se probó a recristalizar el compuesto empleando acetato de etilo. En esta ocasión se dejó la disolución en la nevera y trascurrido un tiempo se observó que el crudo había gelificado. Finalmente, se decidió separar las impurezas por columna cromatográfica flash para conseguir el producto **10b** puro. Las condiciones y parámetros establecidos fueron los mismos que los descritos en la Figura 28. A continuación se muestra el espectro cromatográfico obtenido (Figura 31).

SampleName: smc-p183

Wednesday 05 September 2018 12:23PM

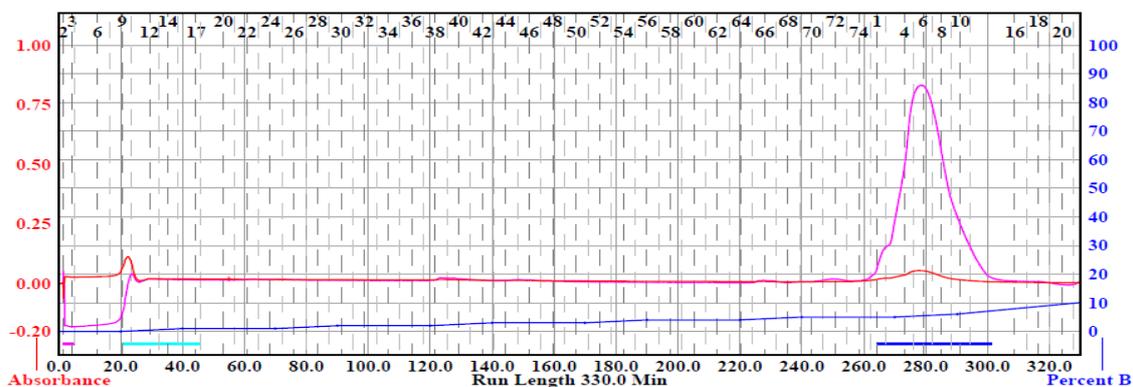


Figura 31. Espectro cromatográfico obtenido en la purificación por columna cromatográfica flash para la bisamida funcionalizada **10b**

De esta forma se consiguió purificar el producto deseado **10b**, correspondiente a las fracciones 1-13 (Figura 32). El rendimiento de la reacción con respecto al producto puro fue del 53 %.

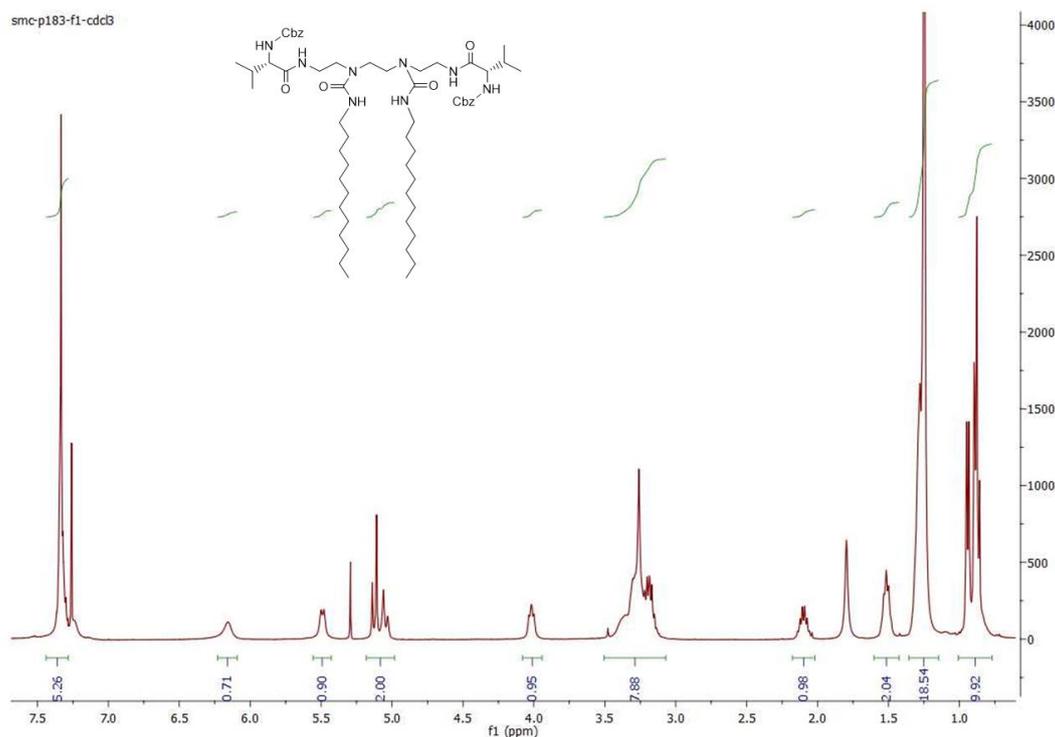
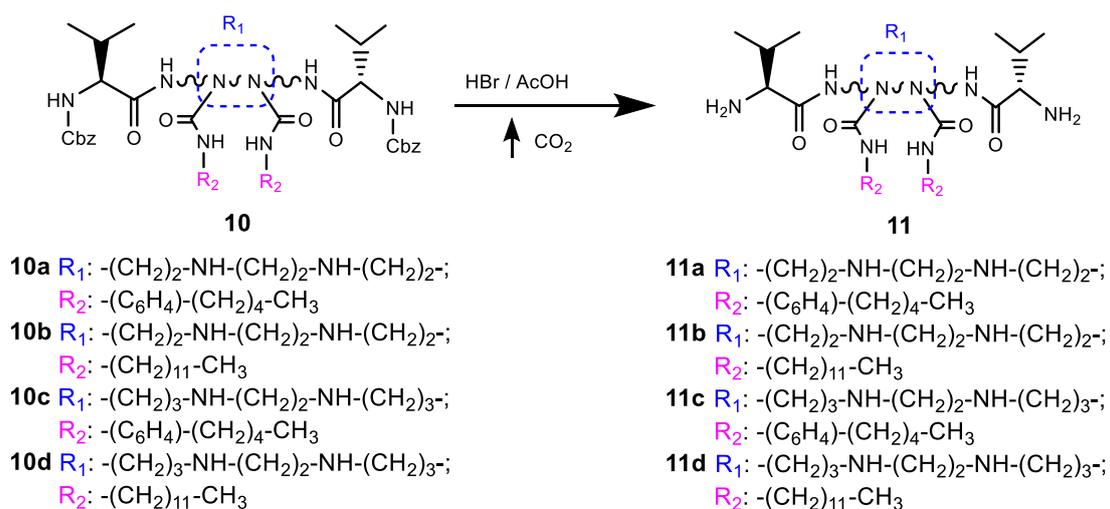


Figura 32. Espectro ^1H -RMN para el compuesto **10b** puro a partir de **4a**

DESPROTECCIÓN DE LAS BISAMIDAS PSEUDOPEPTÍDICAS FUNCIONALIZADAS

El siguiente paso fue desproteger los pseudopéptidos funcionalizados para obtener los compuestos anfífilos **11a**, **11b**, **11c** y **11d**. Para ello, se llevó a cabo la reacción de desprotección con HBr / AcOH (Esquema 7).⁵⁵



Esquema 7. Desprotección de las bisamidas funcionalizadas con grupos alquilurea

Todos los compuestos sintetizados en la etapa de desprotección se muestran en la Figura 33.

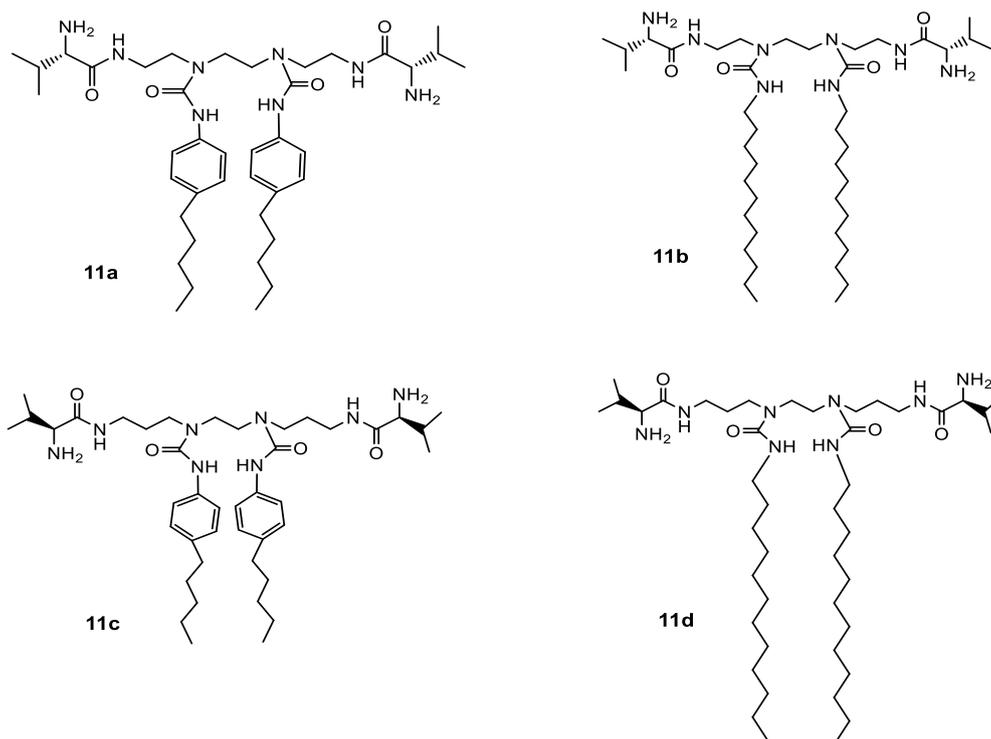


Figura 33. Estructura de los compuestos anfifílicos desprotegidos

Como con diel éter precipitaron correctamente los productos deseados, no hubo mayores complicaciones. Tal como se ha explicado anteriormente, mediante el espectro ^1H RMN se puede detectar fácilmente si la reacción transcurre correctamente, ya que las señales correspondientes a los protones del grupo protector Cbz (7.25-7.41 y 5 ppm) desaparecen (Figura 34).

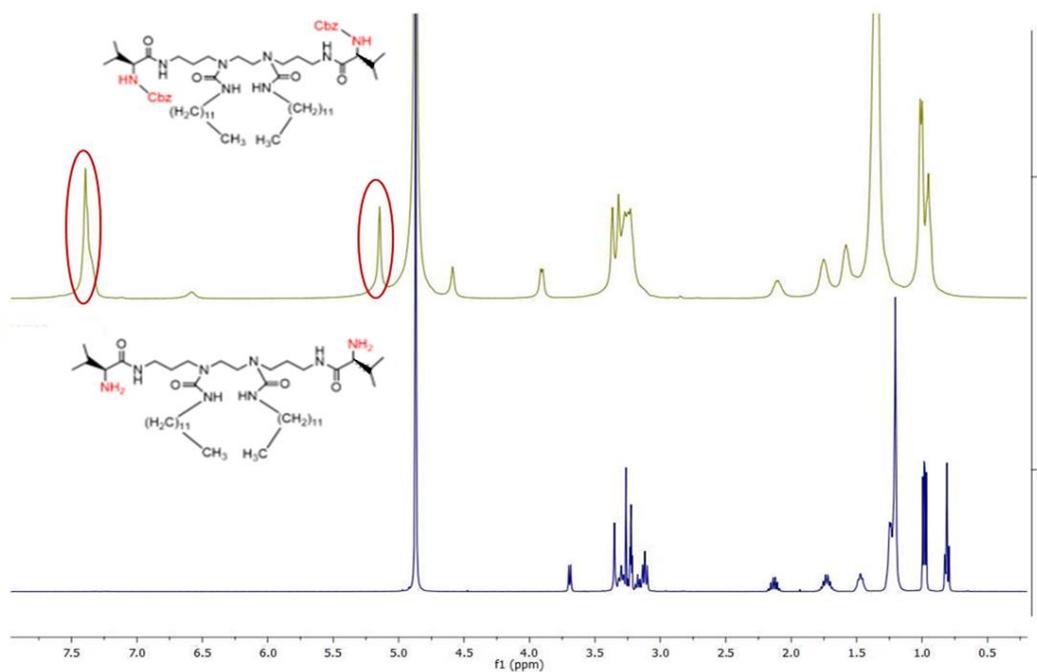


Figura 34. Espectro ^1H -RMN para la bisamida protegida 10d (arriba) y desprotegida 11d (abajo)

Estos productos se estudiaron y caracterizaron tanto en forma de sal como en su forma neutra. Para neutralizarlos se siguió el procedimiento previamente explicado: basificar a pH 8-9, extraer con cloroformo y concentrar la fase orgánica. Sin embargo, aun teniendo el producto funcionalizado, continuó perdiéndose una cantidad considerable de compuesto en los lavados con agua básica (se reduce el rendimiento del producto desprotegido neutro aislado a niveles del 30 %, siendo la conversión de la desprotección del 100 %).

3.3 Estudios de Auto-ensamblaje

Una vez obtenidos los pseudopéptidos funcionalizados (**10b**, **10d**, **11c** y **11d** (Figura 35)) y debido a que algunos compuestos pseudopeptídicos anfifílicos desarrollados por el grupo han presentado propiedades gelificantes,⁵⁵ se decidió estudiar su capacidad de auto-ensamblaje.

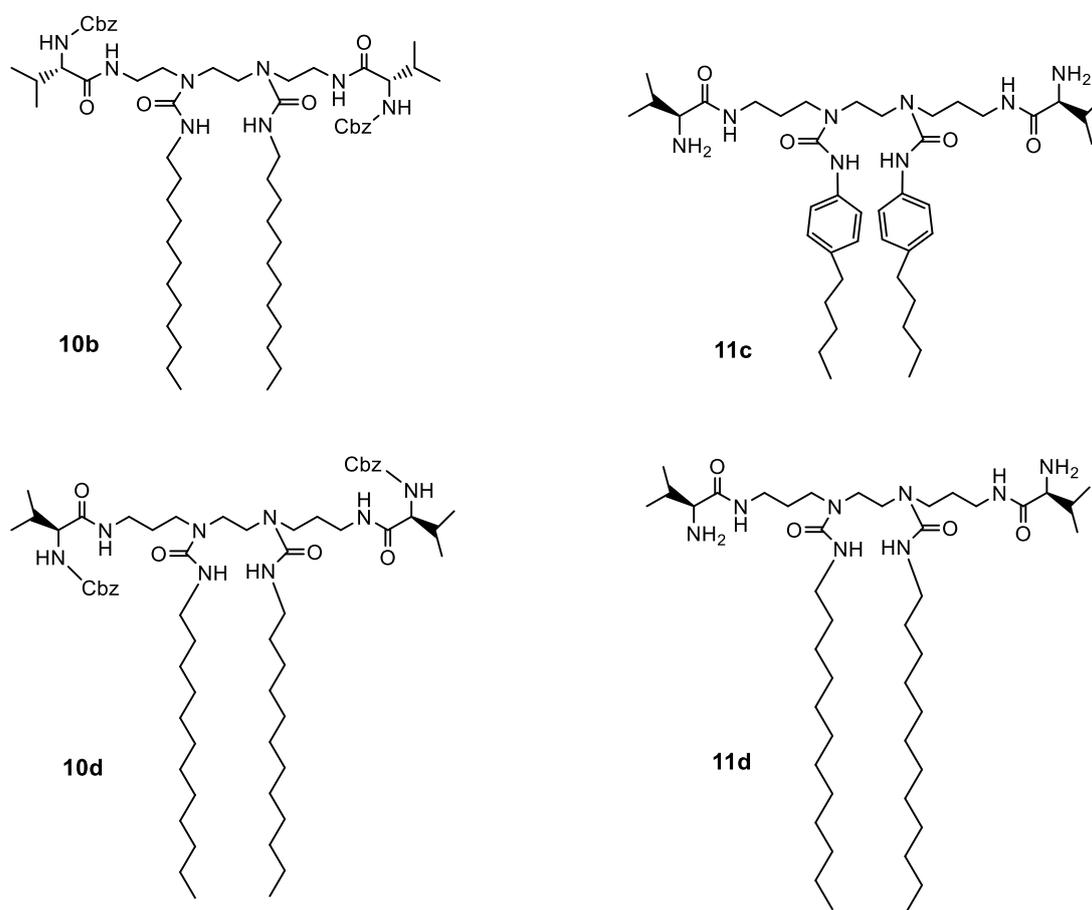


Figura 35. Representación de los compuestos estudiados

Las primeras pruebas que se realizaron, consistieron en averiguar en qué disolventes los compuestos anteriores eran capaces de gelificar. Para ello, en una primera aproximación se estudió la capacidad gelificante de los productos protegidos **10b** y **10d** en distintos medios. Se utilizó una concentración de gelante de 10 mg en 1 mL de disolvente. Los disolventes empleados fueron AcOEt, EtOH, Me-THF, CH₂Cl₂ y THF. La mezcla resultante se sonificó para que el sólido no estuviese aglomerado y se dejó a temperatura ambiente en reposo durante 24h (Tabla 1).

| COMPUESTO | DISOLVENTE | | | | |
|------------|------------|-----------|-----------|---------------------------------|---------|
| GELANTE | AcOEt | EtOH | Me-THF | CH ₂ Cl ₂ | THF |
| 10b | Soft Gel | Soluble | Soluble | Soluble | Soluble |
| 10d | Insoluble | Insoluble | Insoluble | Soluble | Soluble |

Tabla 1. Estudio del disolvente en la formación de los organogeles

Para el caso de **10b**, se consiguió obtener un soft gel con acetato de etilo a las pocas horas. Se intentó endurecer el gel concentrando (15 mg/mL) y dejándolo en la nevera. Aun así, siguió en forma de gel blando. Mientras que, el comportamiento del compuesto **10b** en el resto de disolventes no tuvo mayor relevancia ya que resultó ser completamente soluble en todos ellos debido a que las interacciones de unión eran demasiado débiles (Figura 36).

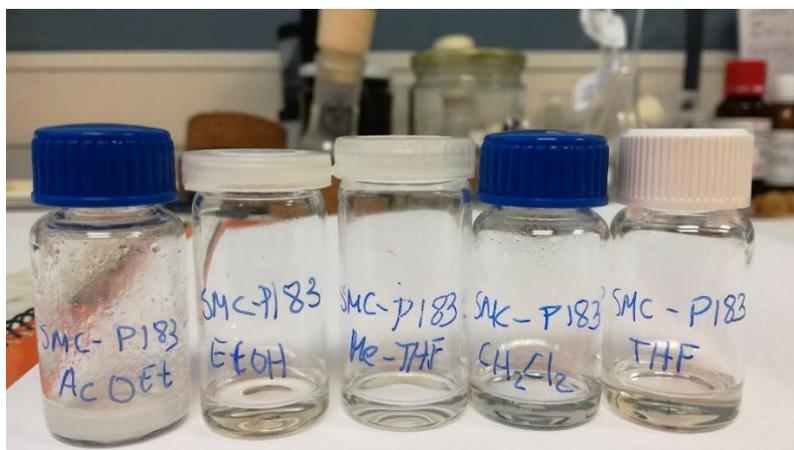


Figura 36. Fotografía de las disoluciones obtenidas para el compuesto **10b** con cada disolvente

Por lo que respecta al compuesto **10d**, no se consiguieron propiedades gelificantes con ningún disolvente empleado. Por el contrario, tanto con AcOEt, EtOH como con Me-THF, se obtuvieron mezclas con el producto en dispersión (disolución lechosa), mientras que con CH₂Cl₂ y THF el producto se disolvió completamente formando de nuevo una disolución transparente (Figura 37).

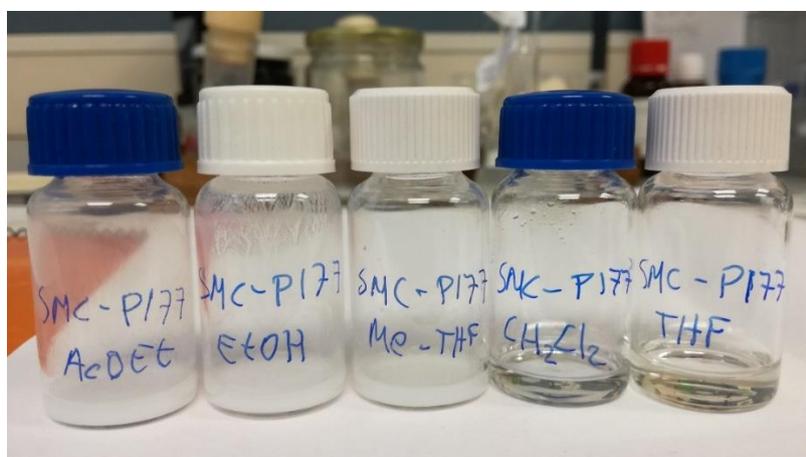


Figura 37. Fotografía de las disoluciones obtenidas para el compuesto **10d** con cada disolvente

En segundo lugar, se estudiaron los productos desprotegidos **11c** y **11d**, tanto en su forma neutra (pH ~ 7) como ácida (pH ~ 4) (Tabla 2). En esta ocasión se empleó agua ultrapura como disolvente. También se utilizó una concentración de gelante de 10 mg / mL y la mezcla resultante se sonificó y se dejó a temperatura ambiente en reposo durante 24h.

| DISOLVENTE | COMPUESTO GELANTE | |
|---|-------------------|------------|
| | 11c | 11d |
| <i>H₂O Mili-Q</i> | Insoluble | Insoluble |
| <i>H₂O Mili-Q ácida</i> | Soluble | Soluble |
| <i>H₂O Mili-Q básica</i> | Insoluble | --- |

Tabla 2. Estudio del disolvente en la formación de hidrogeles

Por una parte, los compuestos desprotegidos neutros en agua Mili-Q formaron de nuevo una emulsión lechosa, mientras que los análogos ácidos se disolvieron completamente en el agua (aunque la disolución resultante era más viscosa) (Figura 38).

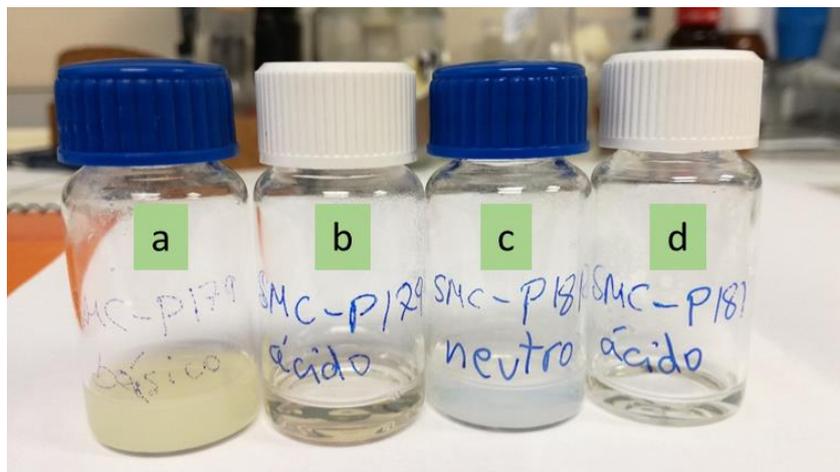


Figura 38. Fotografía de las disoluciones acuosas obtenidas para los compuestos **11c** (a y b) y **11d** (c y d)

Las disoluciones se dejaron en la nevera durante tres días más, aunque tampoco así se obtuvieron geles. A continuación, se probó a sonificar las muestras durante un mayor intervalo de tiempo y seguidamente se calentaron. Curiosamente, se observó que el compuesto **11c** disuelto en agua ultrapura precipitaba al calentarlo a elevadas temperaturas, y al enfriarse volvía a formar una mezcla dispersante blanquecina. Debido a este fenómeno de interés, se probó a concentrar la mezcla (23 mg/mL) pero tampoco así se consiguió gelificación. Se añadió una gota de KOH disuelta en agua Mili-Q, dejando la mezcla a pH 14 pero la muestra siguió en forma de emulsión. Cabe remarcar que, en la forma básica, la muestra también presenta la característica de precipitar al aplicar calor.

ESTUDIOS DE AGRAGACIÓN POR MICROSCOPIA ÓPTICA Y SEM

Todas las mezclas de interés se estudiaron por microscopía óptica y por microscopía electrónica de rastreo (SEM) para tener una idea más clara de los tipos de agregados que se forman en cada caso. Así pues, se estudiaron las siguientes disoluciones: **10d** con AcOEt, Me-THF y EtOH; **10b** con AcOEt (soft gel), y los compuestos desprotegidos **11c** y **11d** diluidos en agua Mili-Q tanto en forma ácida, como básica y neutra.

Por una parte, para la emulsión del compuesto protegido **10d** en AcOEt, se observó por microscopía óptica la formación de agregados esféricos y como al evaporarse el disolvente éstos se van juntando (Figura 39) para dar lugar finalmente a fibras como se pudo observar mejor en las imágenes tomadas por SEM (Figura 40A). El softgel del compuesto **10b** obtenido en AcOEt se analizó también por SEM una vez evaporado el disolvente y se pudieron observar los correspondientes haces fibrilares (Figura 40B).

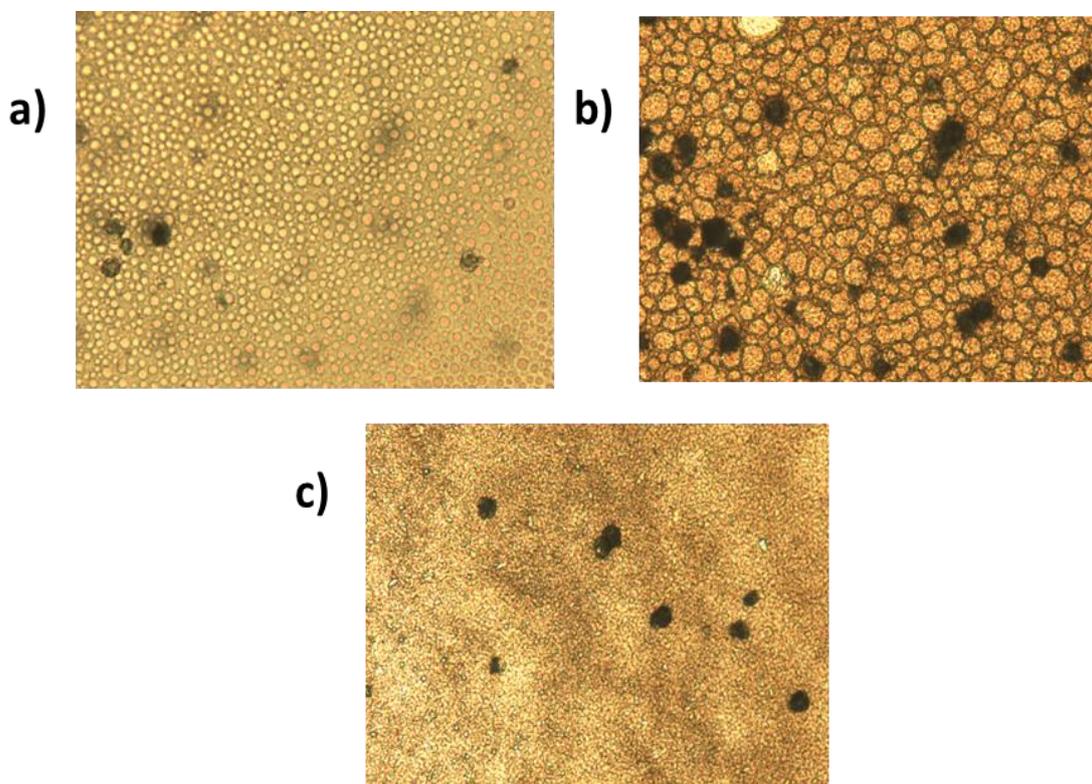


Figura 39. Imágenes adquiridas por microscopía óptica del compuesto **10d**: **a)** disuelto en AcOEt; **b)** evaporándose el disolvente; **c)** una vez seco el disolvente

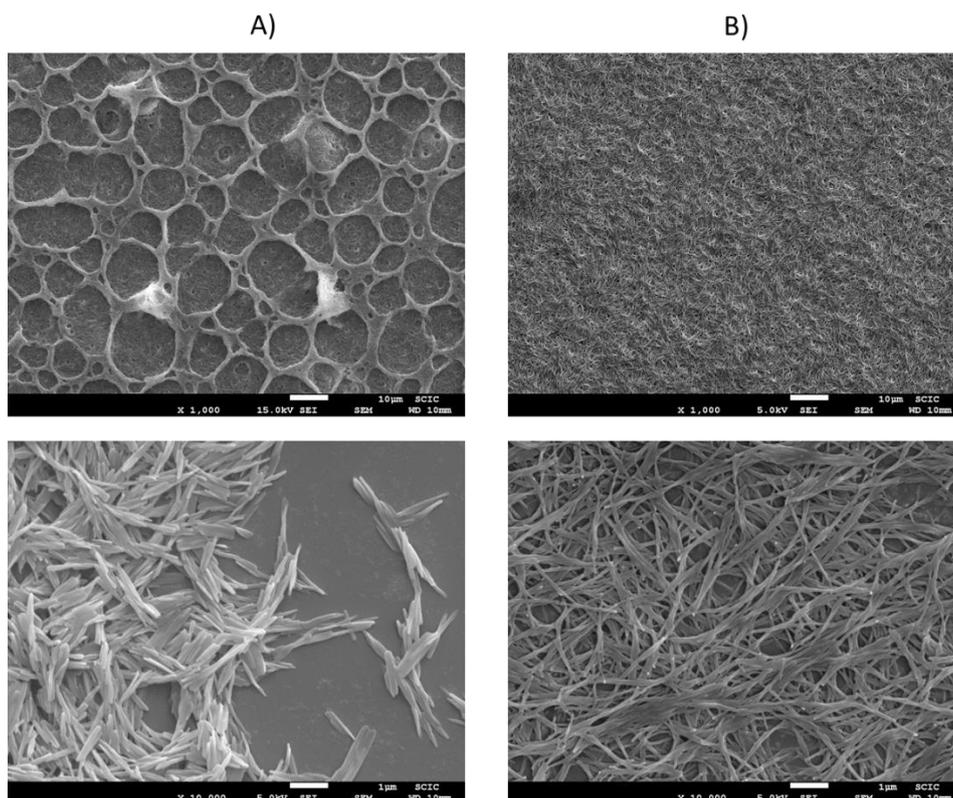


Figura 40. Imágenes de SEM. A) Compuesto **10d**. B) Soft gel del compuesto **10b**

Por otra parte, por microscopía óptica, se pudo ver como los compuestos **11c** y **11d**, en medio neutro, formaban micelas en disolución de un tamaño promedio de 15 μm (Figura 41).

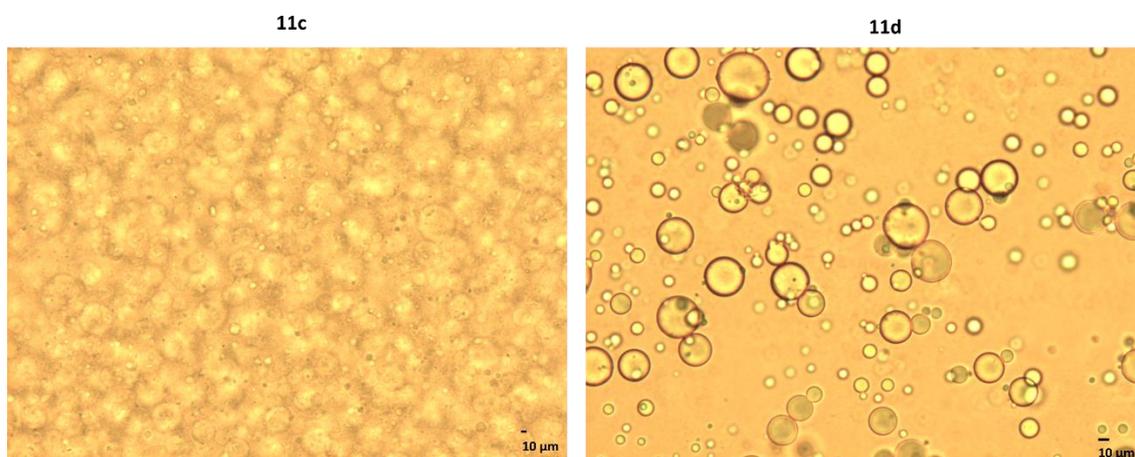


Figura 41. Imágenes de microscopía óptica de los compuestos **11c** y **11d** en H_2O Mili-Q (23M y 10M respectivamente)

Además, se observó por SEM que los compuestos desprotegidos disueltos en agua ultrapura se agregaban de distinta manera en medio neutro o ácido. Mientras que el compuesto **11d** seco a pH neutro es capaz de formar fibras bien definidas (Figura 42A), en medio ácido aparecen agregados esféricos poco definidos (Figura 42B).

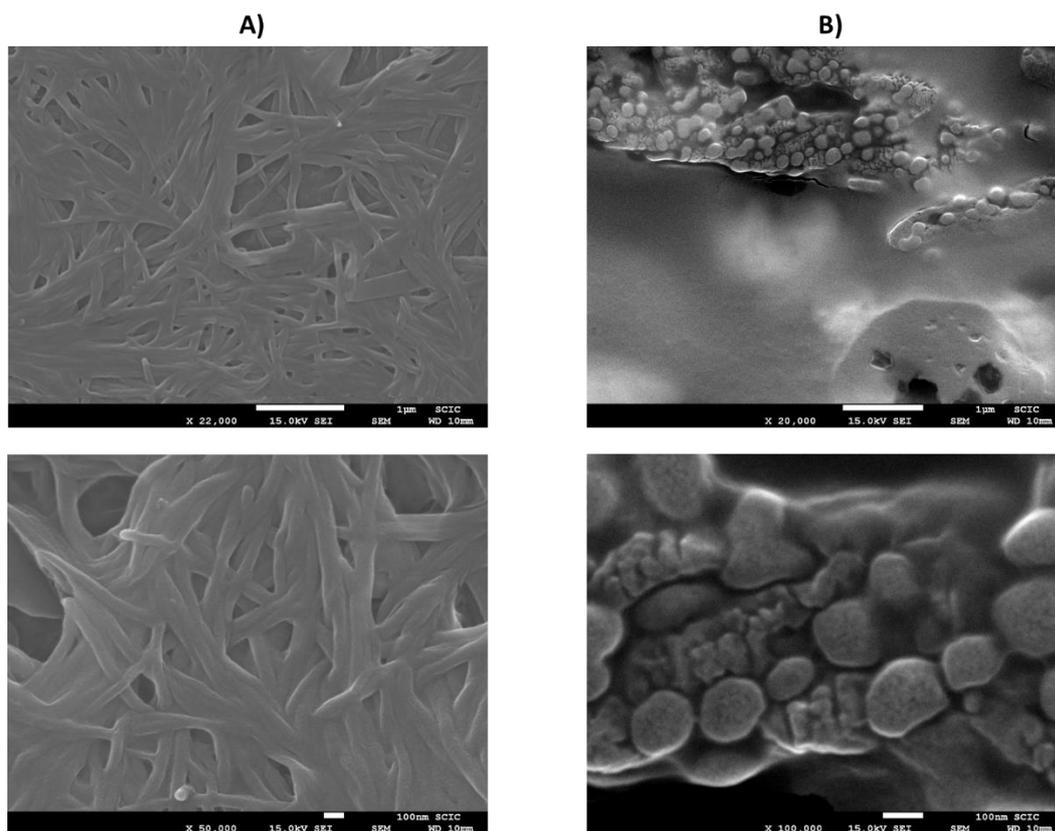


Figura 42. Imágenes de SEM. A) Compuesto **11d** en medio neutro. B) Compuesto **11d** en medio ácido

ESTUDIOS DE AGREGACIÓN POR ESPECTROSCOPIA DE ^1H RMN

La capacidad de auto-ensamblaje se estudió también por espectroscopía de ^1H -RMN. Para ello se llevó a cabo el espectro de ^1H RMN en MeOD del compuesto anfifílico **11c** en forma de sal de bromhidrato a distintas concentraciones: 20 mM, 10 mM, 7.5 mM, 3.7 mM y 1.9 mM (Figura 43).

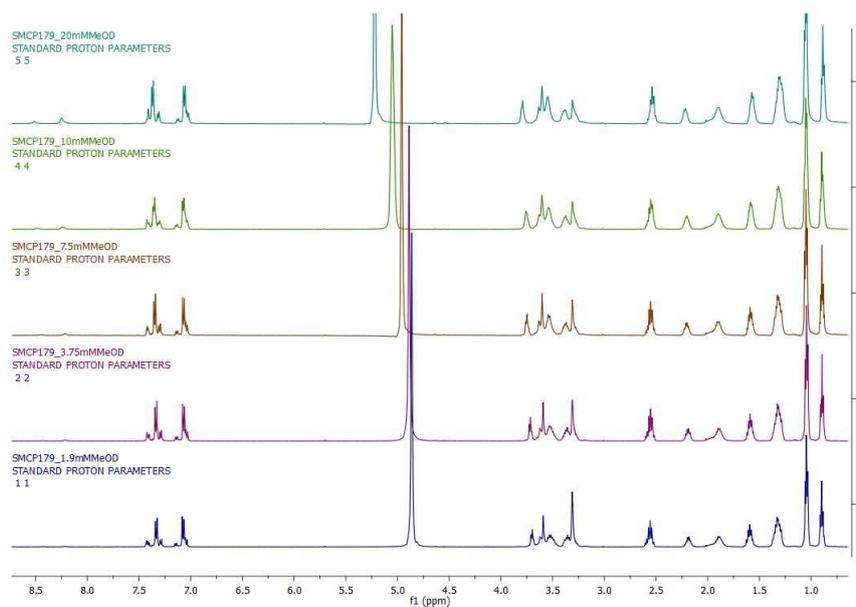


Figura 43. Espectros ^1H -RMN (500MHz) de **11c** a diferentes concentraciones en MeOD

Los cambios más evidentes se observan en los desplazamientos químicos de los protones aromáticos (Ha/Ha' y Hb/Hb') y de los protones de los grupos NH(CO) (NHa y NHb) (Figura 44).

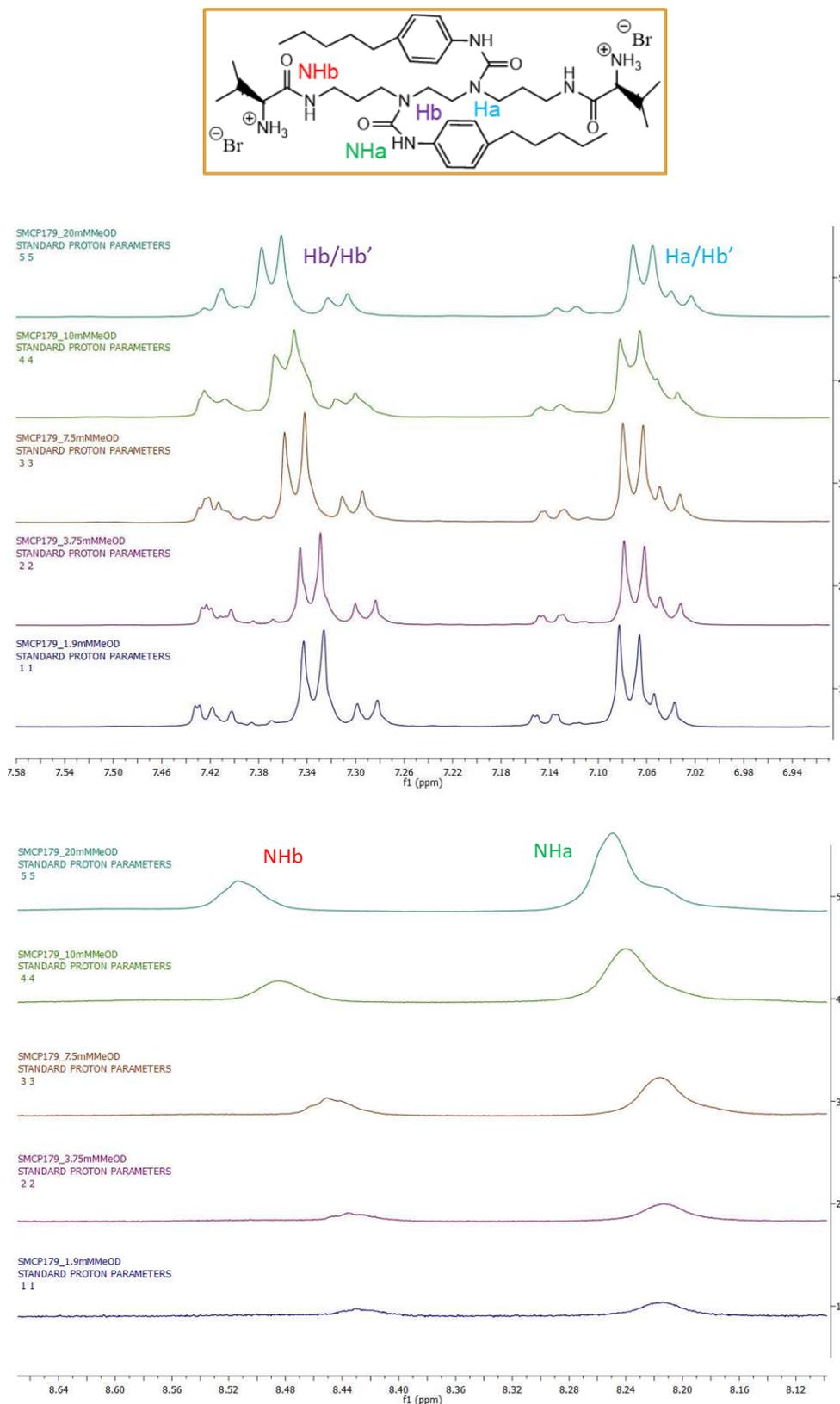


Figura 44. Estructura de **11c** y sus respectivos espectros parciales ¹H-RMN (500MHz) a diferentes concentraciones

En la Figura 44, podemos observar que, a mayor concentración, las señales de los protones H_a/H_a' y H_b/H_b' de la molécula se hacen más equivalentes y los protones NH_a y NH_b se desplazan a campos más bajos, indicando la participación de estos protones en interacciones intermoleculares por puentes de hidrógeno.

Asimismo, también se evaluó la influencia de la temperatura en la autoasociación de la molécula. Para ello, se preparó en un tubo de RMN una disolución 10mM de **11c** en MeOD y se obtuvieron espectros 1H RMN variando la temperatura: 30°C, 40°C, 50°C (Figura 45).

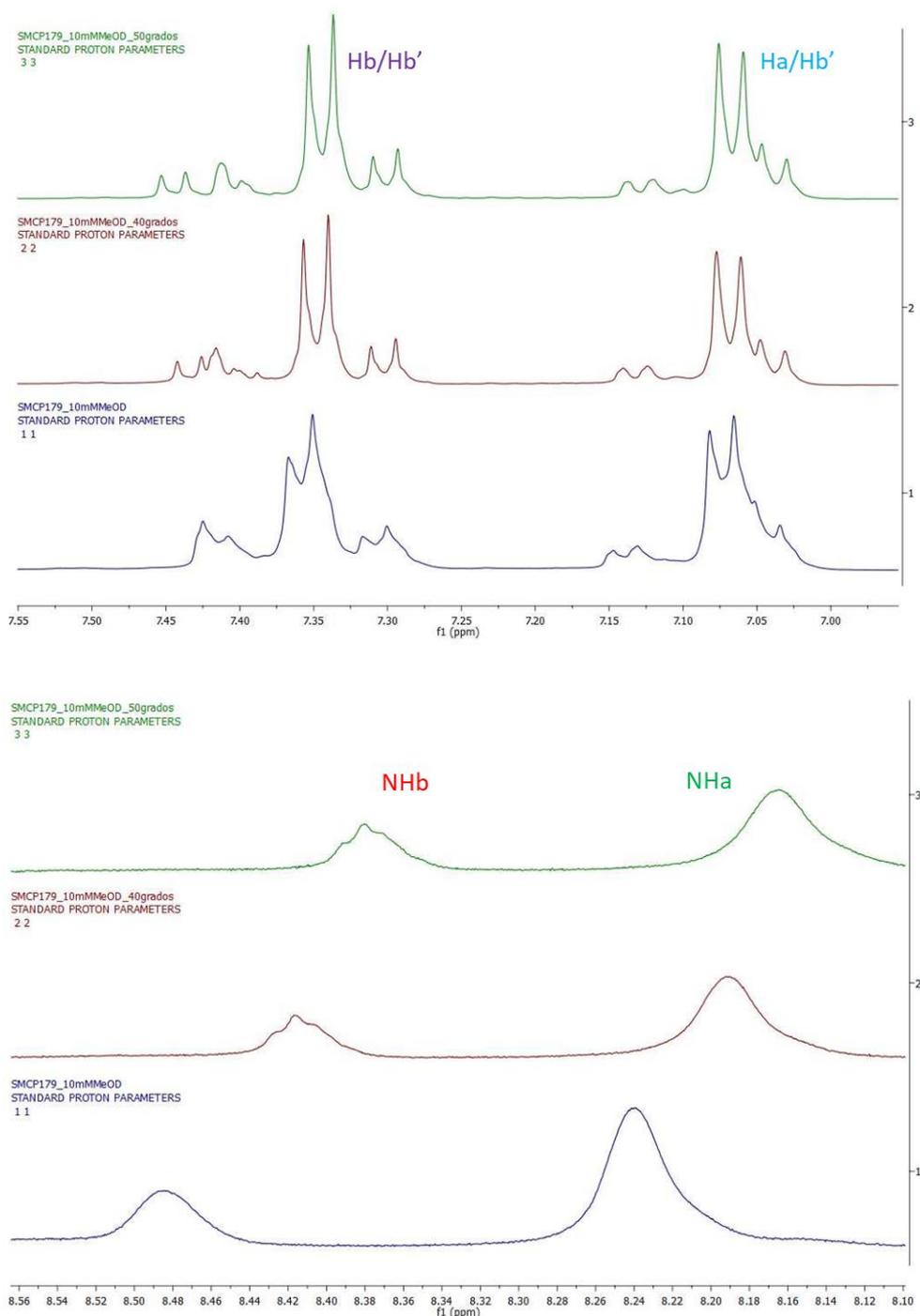


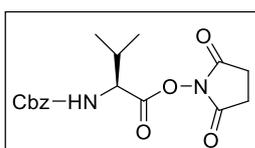
Figura 45. Espectros parciales 1H -RMN (500MHz) de **11c** a diferentes temperaturas

Al aumentar la temperatura, la señal del protón correspondiente a los protones H_a/H_a' y H_b/H_b' se hacen menos equivalentes, lo que podría indicar una mayor interacción intermolecular catión- π entre el grupo amonio y los anillos aromáticos. También se observa que las señales correspondientes a NH_a y NH_b se desplazan a campos más altos a mayor temperatura, indicando la participación de estos protones en interacciones por puentes de hidrógeno.

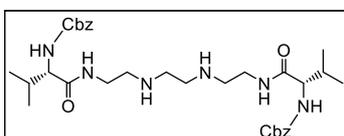
Todo ello parece revelar un cambio conformacional al aumentar la temperatura, donde están participando diferentes protones mediante enlaces de hidrógeno.

4. PARTE EXPERIMENTAL

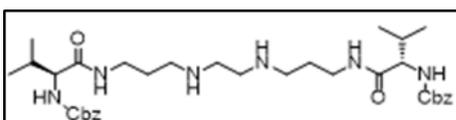
Todos los reactivos se compraron de proveedores comerciales y se usaron tal como se recibieron, sin ninguna purificación adicional. Los experimentos espectroscópicos de RMN se llevaron a cabo en los equipos de 300, 400 o 500 MHz tanto para ^1H como para ^{13}C RMN. Los desplazamientos químicos están proporcionados en valores de delta (δ), usando trimetilsilano como el patrón interno. Los espectros de FT-IR fueron adquiridos utilizando ATR con un accesorio de diamante/ZnSe en un equipo JASCO FT/IR-6200". Los espectros de masas fueron llevados a cabo en un QTOF (cuadrupole-TOF-hexapolo) con una interfase electrospray (Micromass, Manchester, UK).



Síntesis de 3. El aminoácido N-Cbz-L-valina (10 g, 39.8 mmol) se disuelve en 70 mL de THF anhídrido a 0°C en un matraz de fondo redondo de dos bocas (250 mL) bajo atmósfera inerte de N_2 . Cuando se consigue una disolución homogénea, se adiciona N-hidroxisuccinimida (4.72 g, 39.8 mmol) y DCC (8.29 g, 39.8 mmol) en THF anhídrido y la reacción se mantiene con agitación constante durante un periodo de 3 horas a una temperatura entre 0 - 5°C . Una vez transcurrido este tiempo, la dicitclohexilurea formada se separa por filtración y el filtrado es evaporado a sequedad. La purificación del crudo de reacción se obtiene por recristalización del mismo en 2-propanol. Rendimiento (11.99 g, 87 %, sólido blanco); p.f.= 119 - 120°C ; $[\alpha]^{25}_{\text{D}}$ ($c=0.1$, CHCl_3): -20.1° ; IR (ATR) 3360 , 3054 - 2845 , 1809 , 1780 , 1725 , 1716 , 1526 , 1230 , 1198 , 1066 cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) $\delta=7.41$ - 7.28 (m, 5H), 5.23 (d, 1H), 5.14 (s, 2H), 4.69 (dd, 1H), 2.84 (s, 4H), 2.34 (m, 1H), 1.09 (d, 3H), 1.05 (d, 3H); ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3) $\delta=175.6$, 168.8 , 156.5 , 135.9 , 128.6 , 128.5 , 128.3 , 67.5 , 57.5 , 31.0 , 25.4 , 19.0 , 17.4 ; MS (ESI $^+$, m/z): 349.1 (M+H) $^+$, 371.3 (M+Na) $^+$; Anal. calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_6$: C, 58.6; H, 5.8; N, 7.7. Obtenido: C, 58.1; H, 5.9; N, 8.0.

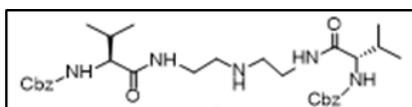


Síntesis de 4a. El éster activado de la N-Cbz-L-valina **3** en exceso (2.2 eq) (5.58 g, 16.0 mmol) se disuelve en 200 mL de DME anhídrido a 0°C y en atmósfera inerte de N_2 . A continuación se añade trietenetetramina (1.1 mL, 7.18 mmol) disuelta en DME anhídrido (20 mL) gota a gota. Seguidamente se retira el baño de hielo y la reacción se deja con agitación constante a temperatura ambiente durante 20 horas. Y después, se calienta a 60°C , 20 horas más. El sólido formado se filtra y se lava con agua básica y neutra muy fría. Rendimiento (4.46 g, 62 %, sólido marrón claro); p.f.= 157 - 159°C ; $[\alpha]^{25}_{\text{D}}= -5,8^\circ$ ($c=0.01$, MeOH); IR (ATR): 3289 , 2959 , 1687 , 1644 , 1533 cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, MeOD) (δ , ppm): 7.37 (s, 1H), 7.30 (dd, 4H), 5.10 (s, 2H), 3.91 (dd, $J=7.1$ Hz, 1H), 3.33 (dt, $J=3.3$, 1.6 Hz, 2H), 2.70 (m, 4H), 2.04 (t, 2H), 2.02 (dd, $J=13.5$, 6.8 Hz, 2H), 0.92 (dd, $J=6.7$, 1.5 Hz, 6H); ^{13}C RMN (101 MHz, MeOD) (δ , ppm): 173.1 , 157.2 , 136.8 , 128.1 , 66.3 , 61.1 , 38.2 , 30.3 , 18.3 , 17.3 ; MS para $\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{N}_6\text{O}_6$ (ESI $^+$, m/z): 613.5 (M+H) $^+$, 635.6 (M+Na) $^+$.

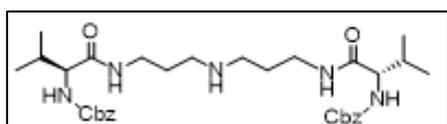


Síntesis de 4b. El éster activado de la N-Cbz-L-valina **3** en exceso (2.2 eq) (5.47 g, 15.7 mmol) se disuelve en 150 mL de DME anhídrido a 0°C y en atmósfera inerte de N_2 . A continuación se añade 1,2-bis(3-aminopropilamina)etano (1.3 mL, 7.14 mmol) disuelta en DME anhídrido (20 mL) gota a gota. Seguidamente se retira el baño de hielo y la reacción se deja con agitación constante a temperatura ambiente durante 20 horas. La reacción posteriormente se calienta a 60°C , 20 horas más. El sólido formado se filtra y se lava con agua básica y neutra muy fría. Rendimiento (3.18, 70 %, sólido blanco); p.f. = 173 - 175°C ; $[\alpha]^{25}_{\text{D}}= -32,3^\circ$ ($c=0.01$, DMSO); IR (ATR): 3285 , 2955 , 1684 , 1641 , 1533 , 1242 cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, DMSO-CDCl_3) (δ , ppm): 7.93 (s, 1H), 7.35 (s, 5H), 5.02

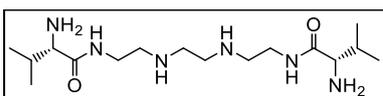
(s, 2H), 3.77 (dd, 1H), 3.07 (dtt, $J = 28.2, 12.9, 6.4$ Hz, 2H), 2.47 (m, 2H), 1.92 (m, 1H), 1.50 (m, 2H), 0.84 (dd, $J = 15.9, 9.1$ Hz, 6H); ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO- CDCl_3) (δ , ppm): 171.5, 156.6, 137.6, 128.7, 65.8, 60.9, 49.4, 47.3, 37.2, 30.7, 29.5, 19.6; MS para $\text{C}_{34}\text{H}_{52}\text{N}_6\text{O}_6$ (ESI $^+$, m/z): 641.5 (M+H) $^+$.



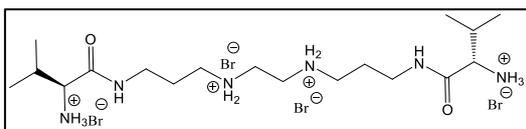
Síntesis de 4c. El éster activado de la N-Cbz-L-valina **3** en exceso (2.2 eq) (5.00 g, 14.4 mmol) se disuelve en 150 mL de DME anhídrido a 0°C y en atmósfera inerte de N_2 . A continuación se añade dietilentriamina (0.8 mL, 7.2 mmol) disuelta en DME anhídrido (20 mL) gota a gota. Seguidamente se retira el baño de hielo y la reacción se deja con agitación constante a temperatura ambiente durante 20 horas. Y después, se calienta a 60 °C, 20 horas más. El sólido formado se filtra y se lava con agua básica y neutra muy fría. Rendimiento (3.41 g, 59 %, sólido blanco); p.f. = 200-202 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +3.3^\circ$ ($c = 0.01$, MeOH); IR (ATR): 3285, 2959, 1687, 1648, 1533, 1454 cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) (δ , ppm): 7.70 (s, 1H), 7.28 (s, 5H), 5.06 (s, 2H), 3.88 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H), 3.34 (m, 2H), 2.64 (t, 2H), 2.03 (m, 1H), 0.99 (dd, $J = 6.8, 3.9$ Hz, 6H); ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3) (δ , ppm): 169.9, 167.9, 155.5, 78.7, 57.7, 29.8, 28.1, 27.6, 25.4, 18.5, 18.0; MS para $\text{C}_{30}\text{H}_{43}\text{N}_5\text{O}_6$ (ESI $^+$, m/z): 570.3 (M+H) $^+$, 592.2 (M+Na) $^+$.



Síntesis de 4d. El éster activado de la N-Cbz-L-valina **3** en exceso (2.2 eq) (5.00 g, 14.5 mmol) se disuelve en 150 mL de DME anhídrido a 0°C y en atmósfera inerte de N_2 . A continuación se añade bis(3-aminopropil)amina (1.0 mL, 7.2 mmol) disuelta en DME anhídrido (20 mL) gota a gota. Seguidamente se retira el baño de hielo y la reacción se deja con agitación constante a temperatura ambiente durante 20 horas. Posteriormente se calienta la mezcla a 60 °C, 20 horas más. El sólido formado se filtra y se lava con agua básica y neutra muy fría. Rendimiento (1.92 g, 46 %, sólido blanco); p.f. = 158-160 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -11.2^\circ$ ($c = 0.01$, MeOH); IR (ATR): 3285, 2955, 1684, 1641, 1533, 1242 cm^{-1} ; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) (δ , ppm): 7.90 (s, 1H), 7.35 (s, 5H), 5.02 (s, 2H), 3.77 (dd, 1H), 3.09 (ddd, $J = 37.6, 13.0, 6.2$ Hz, 2H), 2.44 (t, 2H), 1.90 (dd, $J = 13.7, 6.8$ Hz, 1H), 1.50 (t, 2H), 0.84 (dd, $J = 6.6, 2.6$ Hz, 6H); ^{13}C RMN (101 MHz, CDCl_3) (δ , ppm): 170.9, 156.0, 137.1, 128.3, 65.3, 60.3, 46.7, 36.7, 30.2, 19.2; MS para $\text{C}_{32}\text{H}_{47}\text{N}_5\text{O}_6$ (ESI $^+$, m/z): 598.5 (M+H) $^+$, 620.5 (M+Na) $^+$.

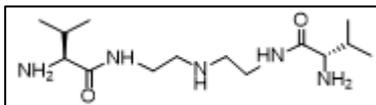


Síntesis de 5a. En un matraz de fondo redondo de una boca se disuelve la bisamida **4a** (0.51 g, 0.84 mmol) en 6 mL de AcOH/HBr 33%. La reacción se deja agitando suavemente hasta que cesa el desprendimiento de CO_2 . En ese momento se añade dietil éter (15 mL) para permitir la precipitación del producto desprotegido, y éste se filtra. De esta forma se tiene el producto en forma de sal (0.53 g, R=93%). Para conseguir el producto neutro se añade NaOH 1M (20 mL) hasta pH 8-9 y se extrae el compuesto con CHCl_3 (3 x 50 mL). La fase orgánica se seca con MgSO_4 anhídrido y se concentra en el rotavapor. Rendimiento (0.11 g, 36 %, aceite amarillo); $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -20.6^\circ$ ($c = 0.01$, CHCl_3); ^1H RMN (400 MHz, MeOD) (δ , ppm): 7.79 (s, 1H), 3.36 (m, 2H), 3.01 (dd, 1H), 2.76 (s, 2H), 2.58 (m, 2H), 1.86 (m, 1H), 0.86 (d, 3H), 0.82 (d, 3H); ^{13}C RMN (101 MHz, MeOD) (δ , ppm): 169.6, 59.0, 43.4, 35.6, 29.7, 17.6, 16.7; MS para $\text{C}_{16}\text{H}_{36}\text{N}_6\text{O}_2$ (ESI $^+$, m/z): 345.5 (M+H) $^+$.

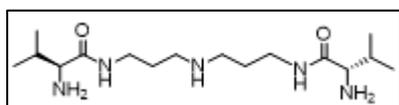


Síntesis de la sal de bromhidrato de 5b. En un matraz de fondo redondo de una boca se disuelve la bisamida **4b** (0.99 g, 1.55 mmol) en 12 mL de AcOH/HBr 33%. La reacción se deja agitando suavemente hasta que cesa el desprendimiento de CO_2 . A continuación, se añade éter de petróleo (25 mL) y el aceite de color naranja viscoso formado se separa por filtración. Se recoge el aceite de la placa filtrante añadiendo MeOH. Después de evaporar el disolvente en el rotavapor

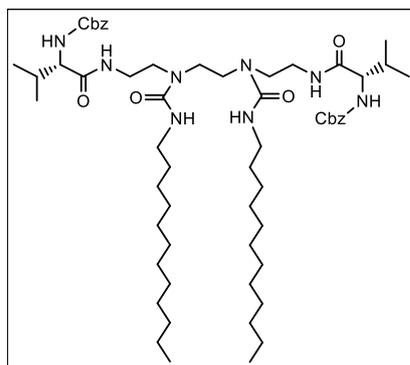
se tiene el producto en forma de sal de bromhidrato. Rendimiento (0.94 g, 87 %, aceite rojo); $[\alpha]_{D}^{25} = 2.29^\circ$ ($c = 0.01$, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, MeOD) (δ , ppm): 3.78 (dd, 1H), 3.57 (s, 2H), 3.40 (dt, 1H), 3.37 (d, 1H), 3.27 (t, 2H), 2.23 (m, 1H), 2.06 (m, 2H), 1.09 (t, 6H); $^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, MeOD) (δ , ppm): 168.9, 58.5, 45.8, 43.4, 35.9, 30.0, 26.0, 17.6, 16.7; MS para $\text{C}_{18}\text{H}_{40}\text{N}_6\text{O}_2$ (ESI^+ , m/z): 187 ($\text{M}+2\text{H}$) $^{2+}$, 373.5 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.



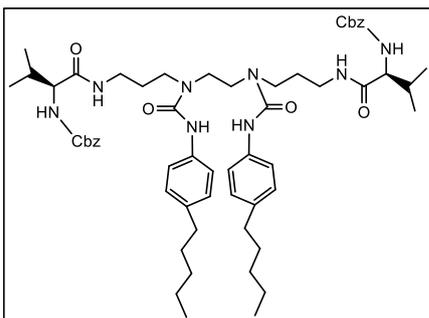
Síntesis de 5c. En un matraz de fondo redondo de una boca se disuelve la bisamida **4c** (1.0 g, 1.78 mmol) en 10 mL de AcOH/HBr 33%. La reacción se deja agitando suavemente hasta que cesa el desprendimiento de CO_2 . En ese momento se añade dietil éter (25 mL), el sólido obtenido se filtra y se disuelve en NaOH 1M (50 mL) hasta pH 8-9. Se extrae con CHCl_3 (3 x 75 mL) y la fase orgánica se seca con MgSO_4 anhídrido y se concentra en el rotavapor. Rendimiento (0.4 g, 60 %, aceite amarillo); $[\alpha]_{D}^{25} = -37,0^\circ$ ($c = 0.01$, CHCl_3); IR (ATR): 3274, 3095, 2955, 1641, 1555, 1460, 1235 cm^{-1} ; $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) (δ , ppm): 7.54 (s, 1H), 3.37 (dd, 2H), 3.22 (d, $J = 4.1$ Hz, 1H), 2.78 (dd, $J = 12.0, 6.1$ Hz, 2H), 2.27 (m, 1H), 0.99 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H), 0.82 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H); $^{13}\text{C RMN}$ (126 MHz, CDCl_3) (δ , ppm): 174.9, 60.5, 48.8, 38.8, 31.1, 19.8, 16.3; MS para $\text{C}_{14}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_2$ (ESI^+ , m/z): 302.4 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 324.4 ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$.



Síntesis de 5d. En un matraz de fondo redondo de una boca se disuelve la bisamida **4d** (1.1 g, 1.87 mmol) en 10 mL de AcOH/HBr 33%. La reacción se deja agitando suavemente hasta que cesa el desprendimiento de CO_2 . En ese momento se añade dietil éter (25 mL), el sólido formado se filtra, se disuelve en NaOH 1M (50 mL) hasta pH 8-9 y se extrae el compuesto con CHCl_3 (3 x 75 mL). La fase orgánica se seca con MgSO_4 anhídrido y se evapora el disolvente en el rotavapor para obtener **5d**. Rendimiento (0.4 g, 63 %, aceite amarillo); $[\alpha]_{D}^{25} = -37,4^\circ$ ($c = 0.01$, CHCl_3); IR (ATR): 3278, 2955, 2868, 1641, 1526, 1468, 1368, 1235 cm^{-1} ; $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) (δ , ppm): 7.67 (s, 1H), 3.36 (m, 2H), 3.21 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 2.61 (t, 2H), 2.24 (m, 1H), 1.74 (m, 2H), 0.98 (dd, 3H), 0.79 (dd, $J = 16.1, 7.2$ Hz, 3H); $^{13}\text{C RMN}$ (126 MHz, CDCl_3) (δ , ppm): 175.0, 60.4, 47.2, 37.1, 31.0, 29.3, 19.8, 16.3; MS para $\text{C}_{16}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_2$ (ESI^+ , m/z): 330.4 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 342.3 ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$.

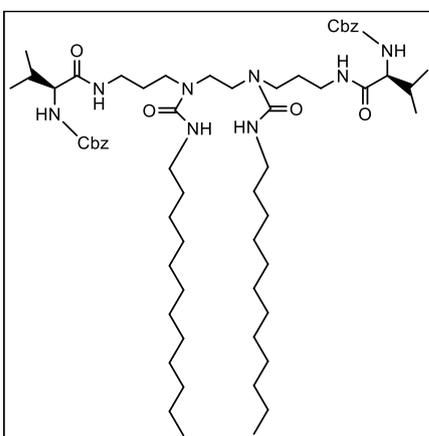


Síntesis de 10b. En un matraz de fondo redondo de dos bocas (50 mL) se disuelve la bisamida **4a** (1.0 g, 1.65 mmol) en CHCl_3 HPLC anhídrido (13 mL), calentando a 40°C bajo atmósfera inerte. Seguidamente, se añade dodecilisocianato en exceso (2.5 eq) (0.88 g, 4.13 mmol) disuelto en 2 mL de CHCl_3 HPLC anhídrido, gota a gota a 0°C . La reacción se mantiene a esta temperatura durante 20 minutos con agitación constante. Luego se retira el baño de hielo y se deja 22 horas a 40°C con reflujo. Se evapora el disolvente de la reacción hasta sequedad. Se evapora el disolvente de la reacción hasta sequedad. La purificación del crudo se realiza mediante columna cromatográfica flash (Fase móvil: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$; Fase estacionaria: Sílice flash). Rendimiento (0.89 g, 53 %, sólido blanco); $[\alpha]_{D}^{25} = -22,4^\circ$ ($c = 0.01$, CHCl_3); $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) (δ , ppm): 7.26 (m, 5H), 6.08 (s, 1H), 5.43 (s, 1H), 5.04 (d, 2H), 3.95 (t, 1H), 3.19 (m, 4H), 3.09 (m, 4H), 2.04 (m, 1H), 1.73 (s, 2H), 1.45 (t, 2H), 1.18 (s, 18H), 0.88 (d, 3H), 0.81 (m, 6H); $^{13}\text{C RMN}$ (101 MHz, CDCl_3) (δ , ppm): 172.5, 158.8, 156.5, 136.2, 128.5, 128.0, 67.1, 41.2, 39.4, 31.9, 31.0, 30.0, 29.7, 27.1, 22.7, 19.3, 17.8, 14.1; MS para $\text{C}_{58}\text{H}_{98}\text{N}_8\text{O}_8$ (ESI^+ , m/z): 1035.9 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.



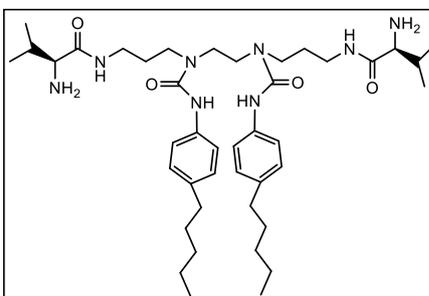
Síntesis de 10c. En un matraz de fondo redondo de dos bocas (100 mL) se disuelve la bisamida **4b** (0.2 g, 0.31 mmol) en CH₂Cl₂ HPLC anhídrido (30 mL), bajo atmósfera inerte de N₂. Seguidamente, se añade 4-pentilfenilisocianato en exceso (2.5 eq) (0.13 mL, 0.78 mmol) disuelto en 5 mL de CH₂Cl₂ HPLC anhídrido, gota a gota a 0°C. La reacción se mantiene a esta temperatura durante 15 minutos con agitación constante. Luego se retira el baño de hielo y se deja 22 horas a 40°C con reflujo.

Se evapora el disolvente de la reacción hasta sequedad. La purificación del crudo se realiza mediante columna cromatográfica flash (Fase móvil: CH₂Cl₂/MeOH; Fase estacionaria: Sílice flash). Rendimiento (0.20 g, 64 %, aceite blanco); $[\alpha]_D^{25} = -15,2^\circ$ (c= 0.01, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) (δ, ppm): 8.15 (s, 1H), 7.40 (d, 2H), 7.21 (m, 4H), 6.99 (d, 2H), 5.49 (s, 1H), 4.99 (m, 2H), 3.89 (t, 1H), 2.05 (m, 1H), 1.86 (s, 1H), 1.64 (s, 2H), 1.50 (m, 2H), 1.24 (m, 4H), 0.85 (m, 9H); ¹³C RMN (101 MHz, CDCl₃) (δ, ppm): 171.9, 156.7, 156.5, 137.2, 136.2, 128.5, 128.1, 127.8, 120.1, 67.0, 60.9, 36.2, 35.3, 31.5, 30.8, 22.6, 19.3, 17.9, 14.0; MS para C₅₈H₈₂N₈O₈ (ESI⁺, m/z): 521.5 (M+H)²⁺, 1019.7 (M+H)⁺, 1041.6 (M+Na)⁺.



Síntesis de 10d. En un matraz de fondo redondo de dos bocas (100 mL) se disuelve la bisamida **4b** (0.9 g, 1.4 mmol) en CH₂Cl₂ HPLC anhídrido (13 mL), calentando a 37°C y bajo atmósfera inerte de N₂. Seguidamente, se añade dodecilisocianato en exceso (2.5 eq) (0.75 g, 3.5 mmol) disuelto en 2 mL de CH₂Cl₂ HPLC anhídrido, gota a gota a 0°C. La reacción se mantiene a esta temperatura con agitación constante llegando a gelificar. Luego se retira el baño de hielo y se deja 2 horas a 45°C con reflujo. Finalmente se enfría la reacción y se deja a temperatura ambiente durante 18 horas. Se evapora el disolvente de la reacción hasta sequedad. El crudo se redisuelve en 2-propanol (8 mL) calentando y se deja enfriar hasta que

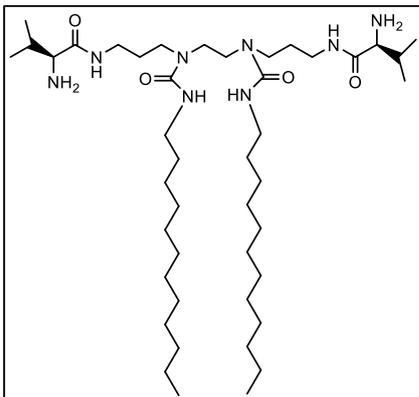
recristaliza el producto de interés. Los cristales se filtran y se secan. Rendimiento (1.3 g, 85 %, sólido marrón); $[\alpha]_D^{25} = -20,4^\circ$ (c= 0.01, MeOH); ¹H RMN (400 MHz, MeOD) (δ, ppm): 7.82 (t, 1H), 7.34 (m, 4H), 7.05 (s, 1H), 6.50 (s, 1H), 5.04 (s, 2H), 3.96 (s, 5H), 3.79 (t, 1H), 3.17 (m, 4H), 3.04 (m, 4H), 1.97 (m, 1H), 1.57 (m, 2H), 1.43 (t, 2H), 1.24 (s, 20H), 0.85 (m, 9H); ¹³C RMN (101 MHz, MeOD) (δ, ppm): 171.4, 158.3, 137.5, 128.7, 127.9, 65.9, 46.3, 45.3, 36.6, 31.7, 30.6, 30.1, 29.9, 29.5, 29.1, 26.7, 22.5, 19.6, 18.6, 14.3; MS para C₆₀H₁₀₂N₈O₈ (ESI⁺, m/z): 1064.7 (M+H)⁺, 1087.6 (M+Na)⁺.



Síntesis de 11c. En un matraz de fondo redondo de una boca se disuelve la bisamida **10c** (0.2 g, 0.20 mmol) en 2 mL de AcOH/HBr 33%. La reacción se deja agitando suavemente hasta que cesa el desprendimiento de CO₂. En ese momento se añade éter de petróleo (12 mL) y el aceite naranja obtenido se filtra. El aceite queda impregnado en la placa filtrante y se disuelve todo en MeOH. Se evapora el disolvente en el rotavapor y de esta forma se tiene el producto en forma de sal bromhidrato

(0.22 g, 95 %, aceite rojizo). El crudo obtenido se disuelve en NaOH 1M (pH8-10) y se extrae con CHCl₃ (3 x 50 mL). La fase orgánica se seca con MgSO₄ anhídrido y se concentra en el rotavapor dando lugar a un sólido. Rendimiento (0.035 g, 23 %, aceite amarillo); $[\alpha]_D^{25} = -18,5^\circ$ (c= 0.01, CHCl₃); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) (δ, ppm): 8.55 (t, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.45 (dd, 2H), 7.00 (dd, 2H),

3.39 (m, 5H), 2.48 (m, 2H), 2.21 (m, 1H), 1.65 (m, 9H), 1.24 (m, 4H), 0.91 (m, 8H); ^{13}C RMN (101 MHz, MeOD) (δ , ppm): 168.2, 157.1, 137.3, 136.8, 131.9, 128.0, 121.4, 58.6, 46.0, 45.5, 36.6, 34.8, 31.1, 30.0, 28.0, 22.2, 17.6, 16.8, 13.0; MS para $\text{C}_{42}\text{H}_{70}\text{N}_8\text{O}_4$ (ESI⁺, m/z): 752.3 (M+H)⁺.



Síntesis de 11d. En un matraz de fondo redondo de una boca se disuelve la bisamida **10d** (0.9 g, 0.84 mmol) en 6 mL de AcOH/HBr 33%. La reacción se deja agitando suavemente hasta que cesa el desprendimiento de CO₂. En ese momento se añade dietil éter (70 mL) y el sólido obtenido se filtra y se lava con éter (0.78 g, 96 %, aceite amarillo). Para conseguir el producto neutro se disuelve la sal de bromhidrato en NaOH 1M (100 mL) hasta pH 8-10 y se extrae con CHCl₃ (3 x 150 mL). La fase orgánica se seca con MgSO₄ anhidrido y se concentra en el rotavapor. Rendimiento (0.2 g, 30 %, sólido blanco); [α]_D²⁵ = -27,1° (c = 0.01, CHCl₃); ^1H RMN (400 MHz, CDCl₃) (δ , ppm): 7.68 (t, 1H), 5.94 (s, 1H), 3.19 (m, 9H), 2.16 (m, 1H), 1.64 (m, 5H), 1.46 (t, 2H), 1.19 (s, 18H), 0.93 (d, 3H), 0.78 (m, 6H); MS para $\text{C}_{44}\text{H}_{90}\text{N}_8\text{O}_4$ (ESI⁺, m/z): 796.4 (M+H)⁺.

1H), 5.94 (s, 1H), 3.19 (m, 9H), 2.16 (m, 1H), 1.64 (m, 5H), 1.46 (t, 2H), 1.19 (s, 18H), 0.93 (d, 3H), 0.78 (m, 6H); MS para $\text{C}_{44}\text{H}_{90}\text{N}_8\text{O}_4$ (ESI⁺, m/z): 796.4 (M+H)⁺.

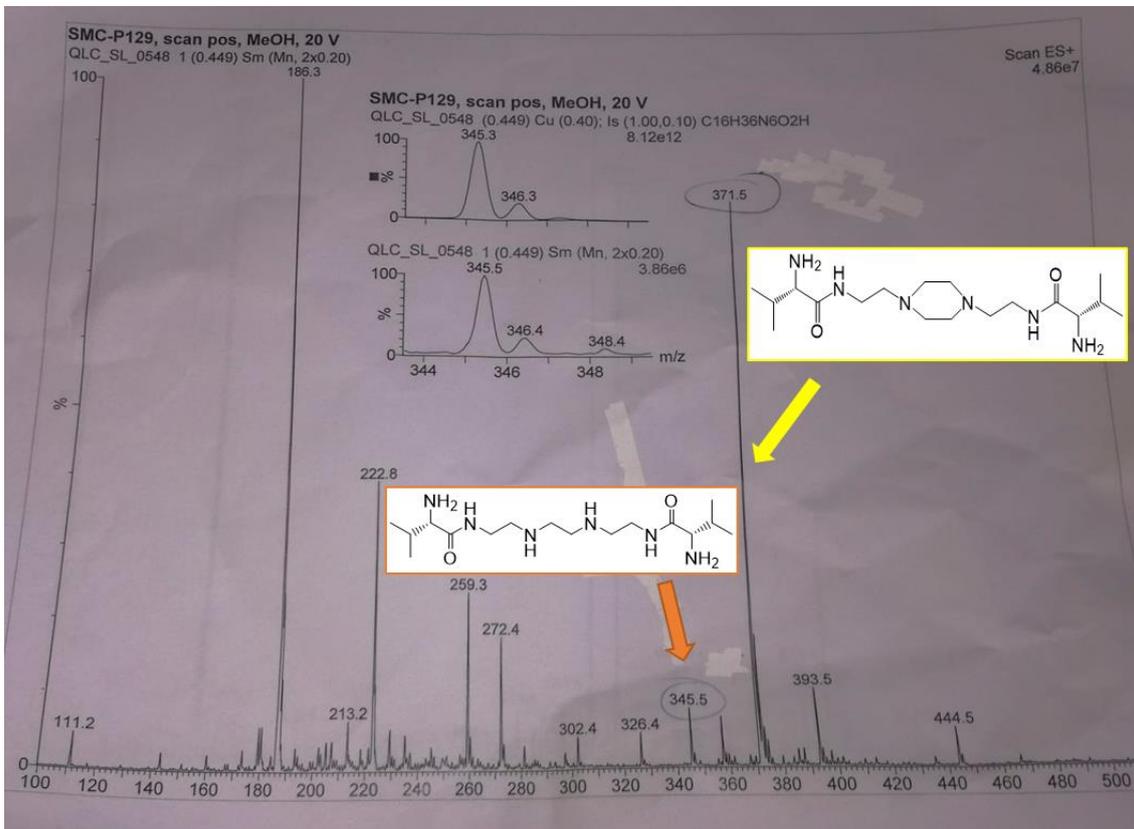
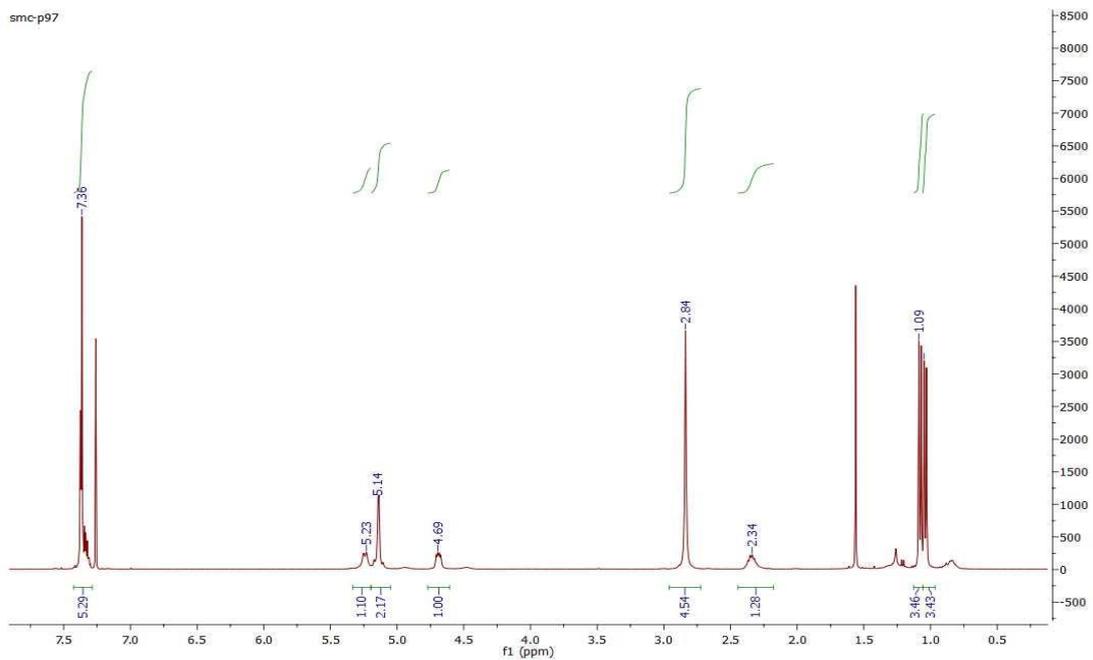
5. CONCLUSIONES

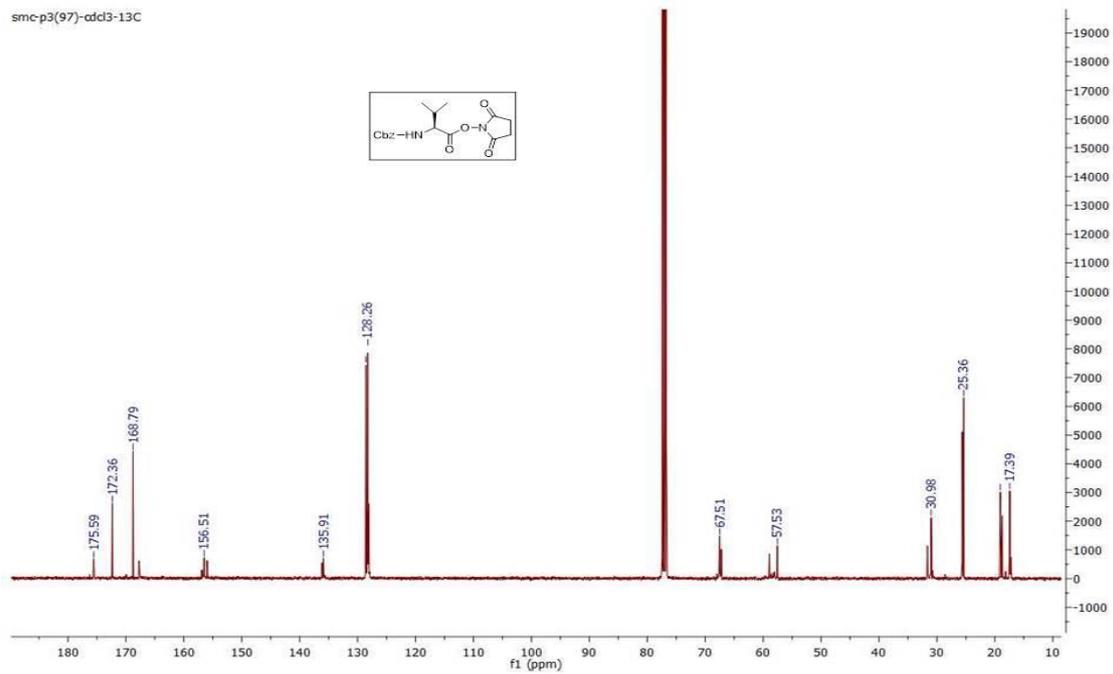
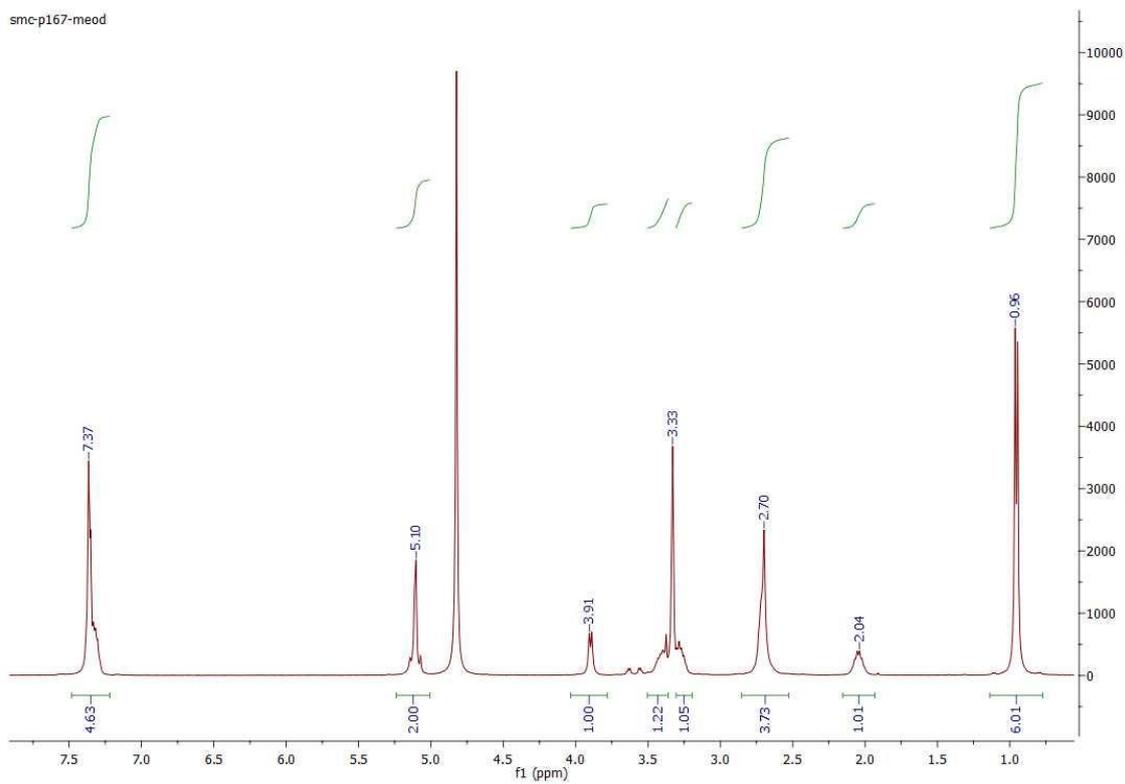
Los principales objetivos se han logrado, ya que se ha sintetizado y caracterizado una amplia variedad de bisamidas pseudopeptídicas anfifílicas polifuncionalizadas derivadas de L-valina con simetría C_2 . Asimismo, se ha estudiado su posibilidad de ser obtenidas a partir de técnicas no convencionales, como microondas.

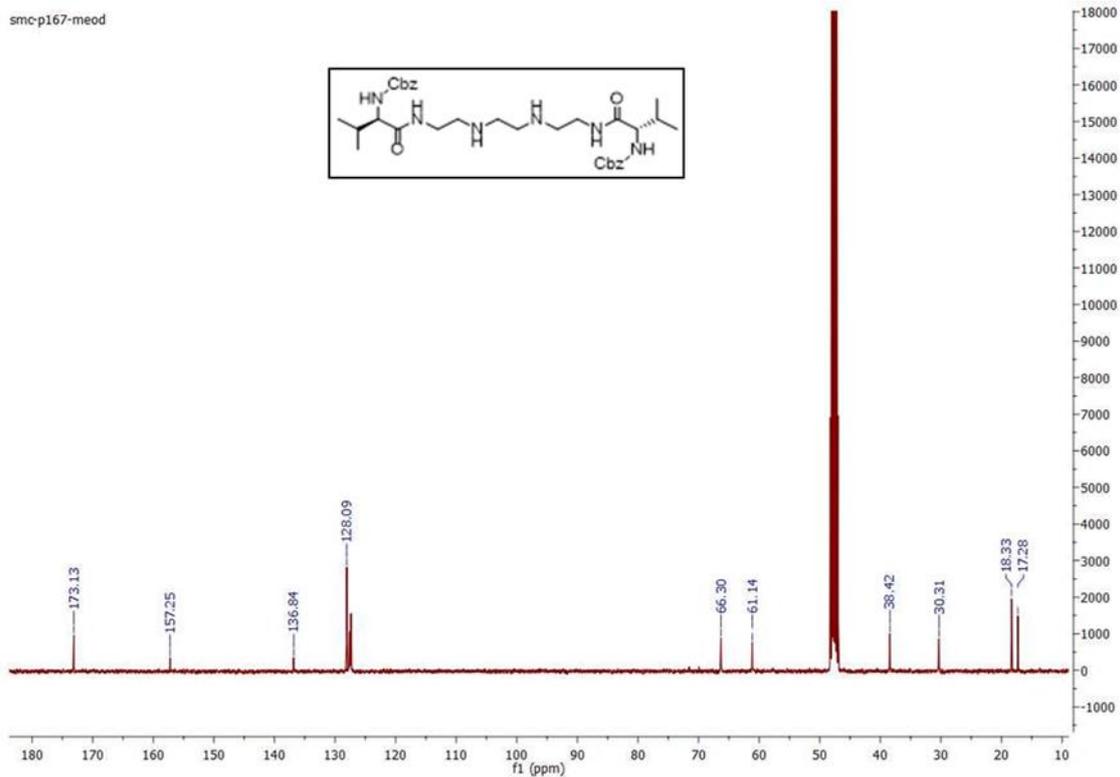
- Por una parte, se ha conseguido optimizar la ruta sintética empleada para sintetizar bisamidas con poliazaalcanos como espaciadores centrales; consiguiendo unos mayores rendimientos en las síntesis involucradas.
- Por otra parte, se han sintetizado pseudopéptidos anfifílicos polifuncionalizados con distintos grupos funcionales. Sin embargo, los productos que han dado lugar a mayores rendimientos y pureza han sido los compuestos anfifílicos funcionalizados a través de las aminas centrales con grupos urea.
- Finalmente, los compuestos anfifílicos obtenidos han mostrado auto-ensamblaje en solución y en estado sólido, observándose agregados esféricos mediante microscopía óptica y fibras mediante SEM. Asimismo, algunos de los compuestos protegidos han llegado a formar organogeles blandos.

El trabajo realizado me ha permitido obtener mayor experiencia tanto a la hora de manejar los equipos como de entender la información obtenida en éstos y en las diferentes técnicas de caracterización empleadas como ^1H RMN, ^{13}C RMN, FT-IR, ESI-MS, COSY, NOESY, HETCOR, rayos X, análisis elemental, SEM y microscopía óptica, entre otras. Además, me ha permitido aprender más sobre la química sostenible y en especial, la química supramolecular.

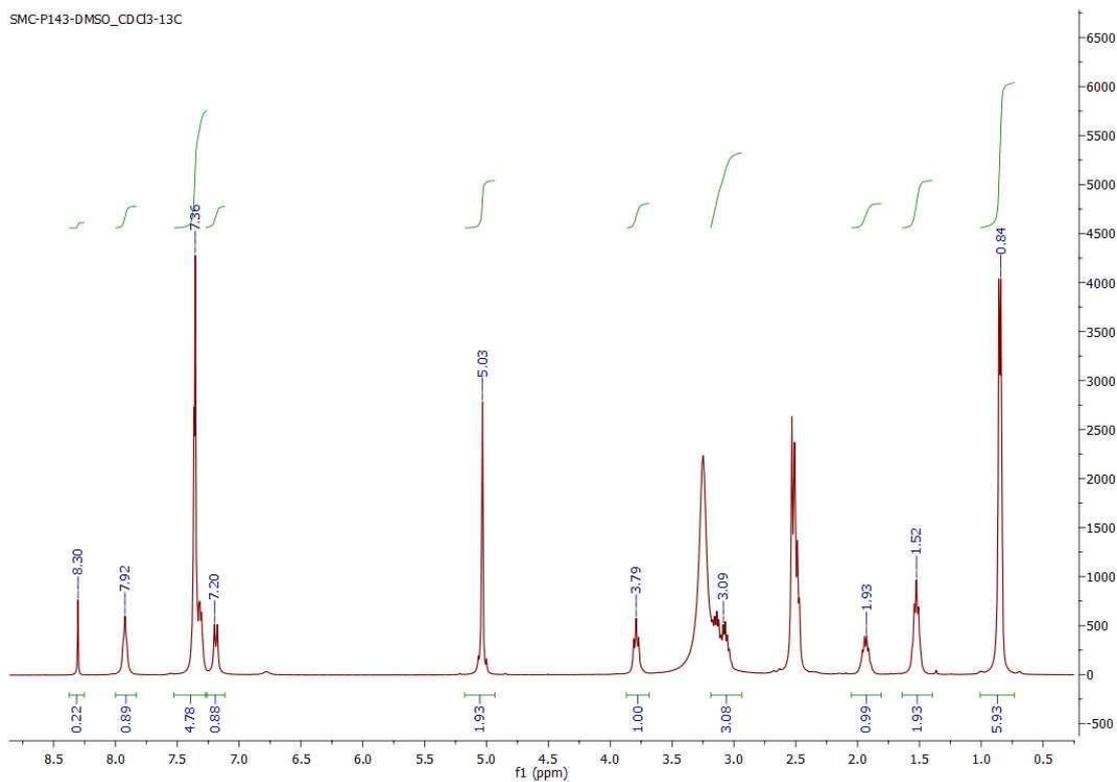
6. ANEXO: Información Suplementaria

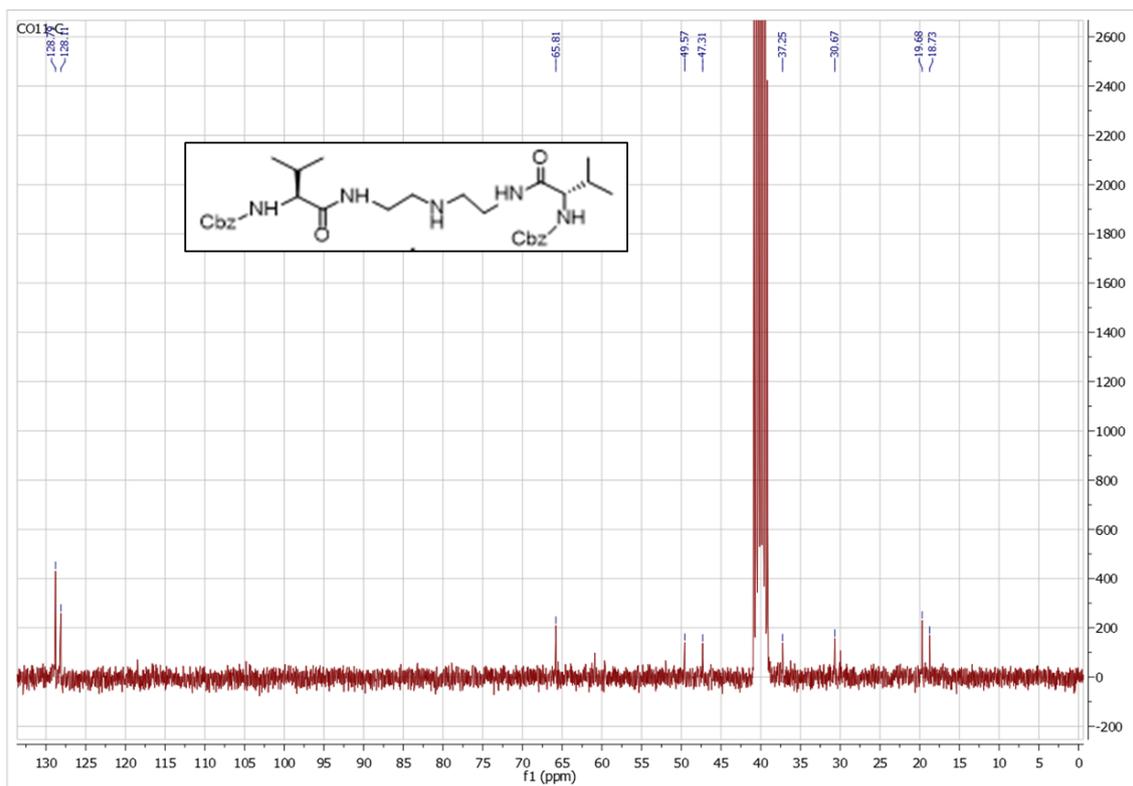
ESI-MS del Compuesto impuro 5a: $(M+H)^+ = 345.5$; $(M+26)^+ = 371.5$  ^1H NMR y ^{13}C NMR del Compuesto 3

**¹H NMR y ¹³C NMR del Compuesto 4a**

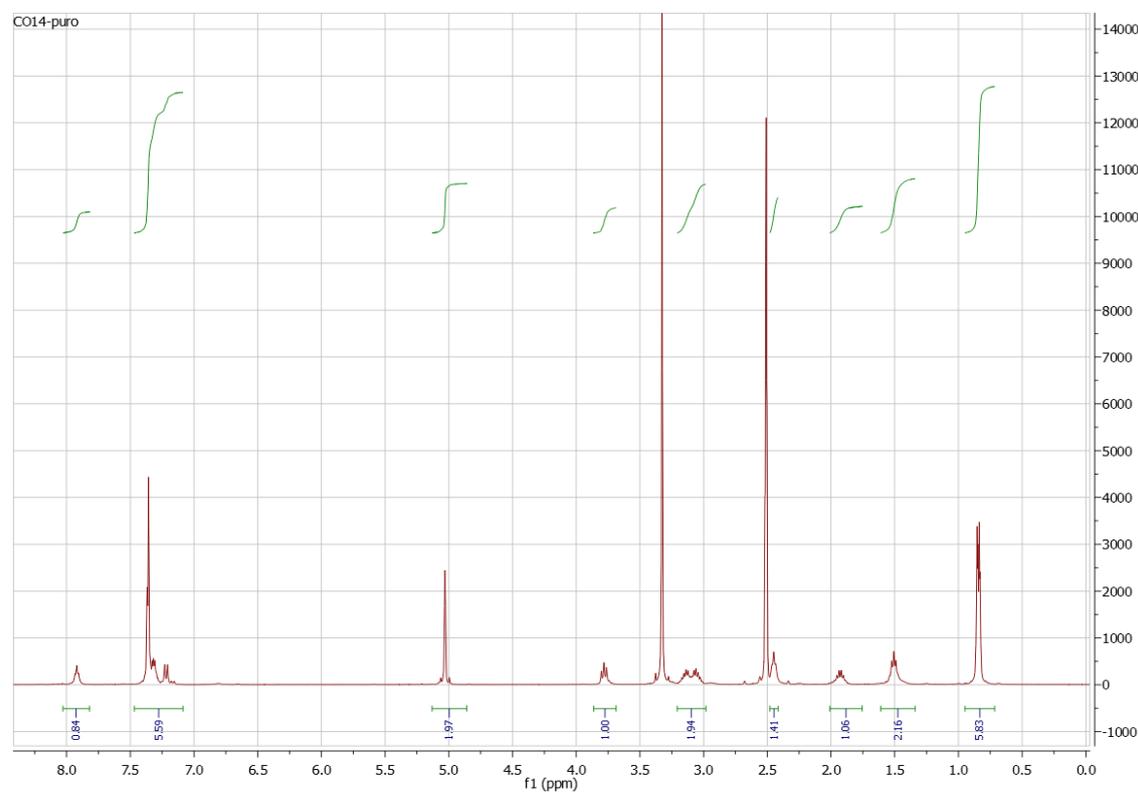


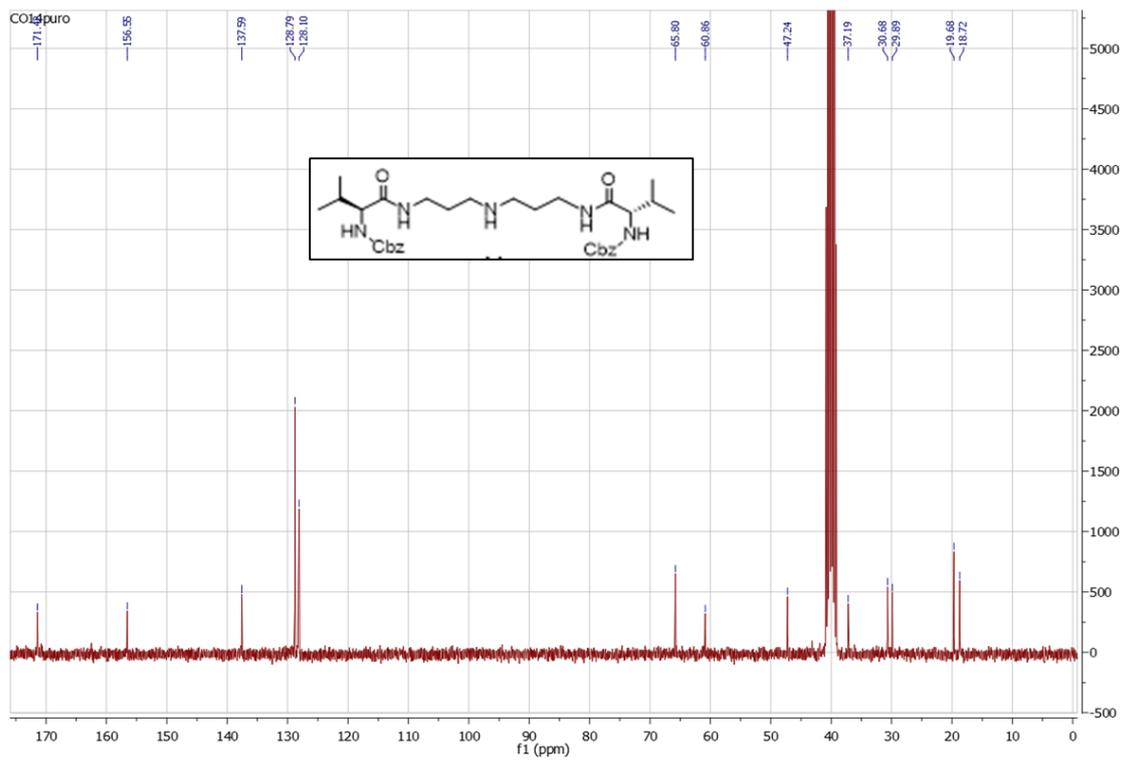
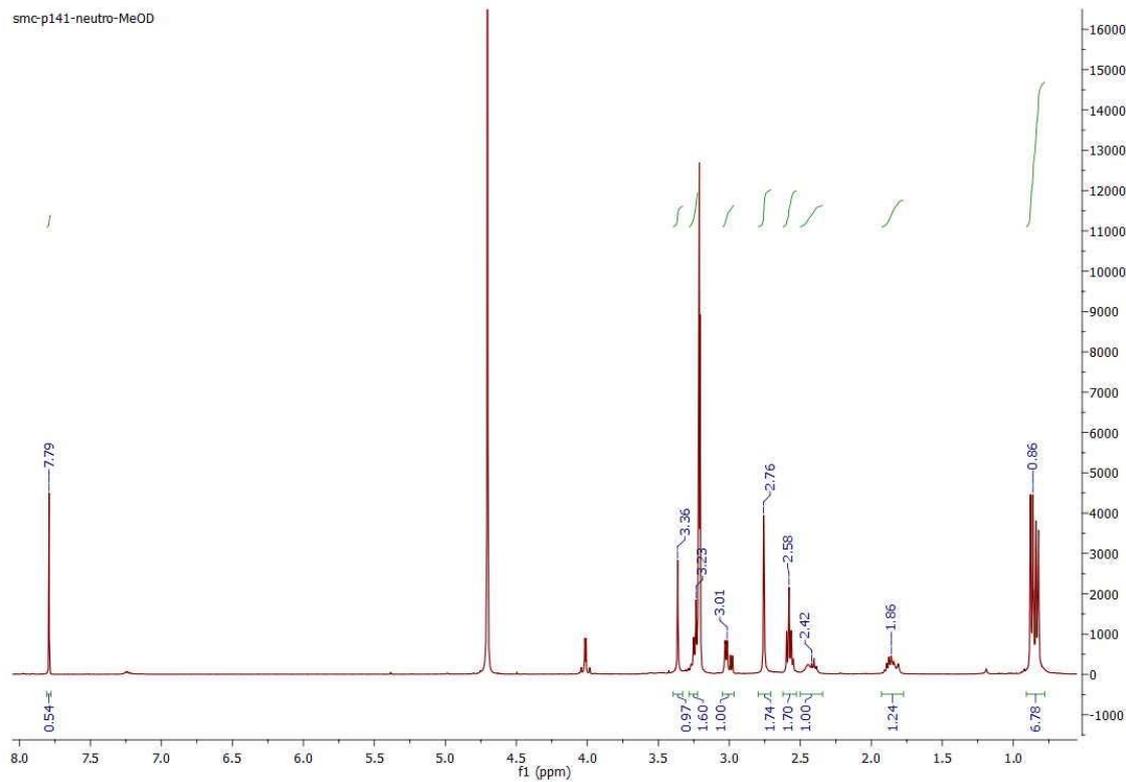
^1H NMR y ^{13}C NMR del Compuesto 4b

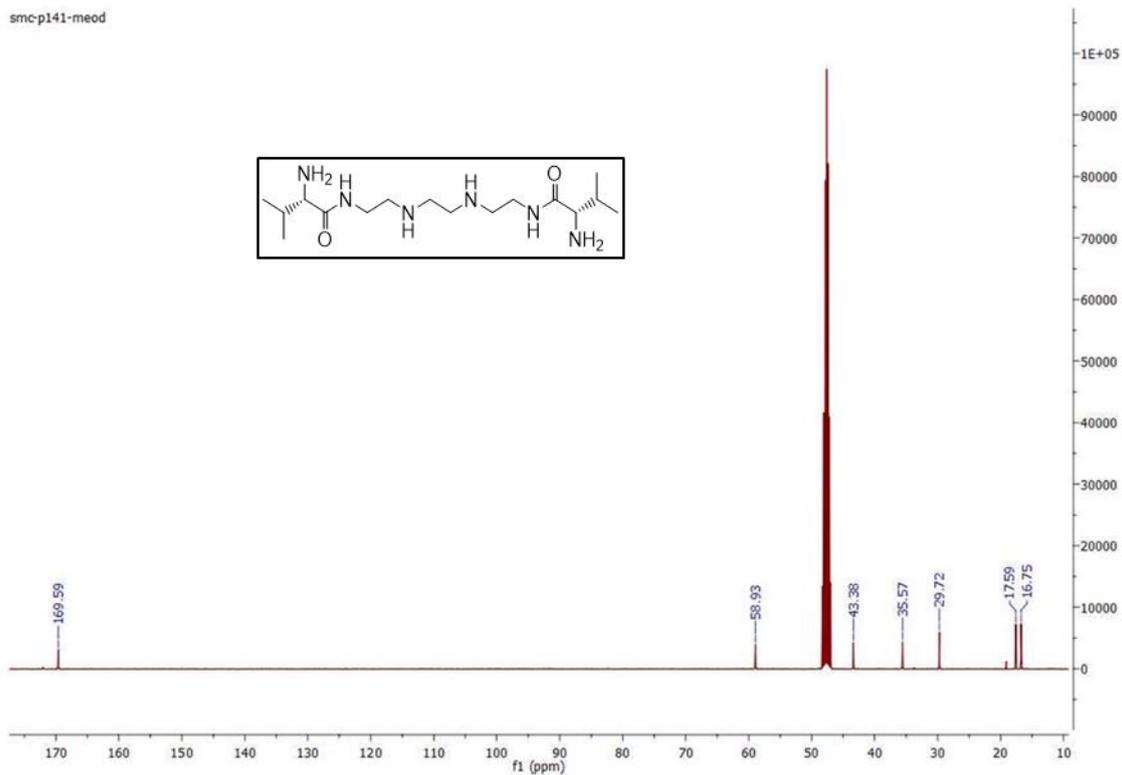




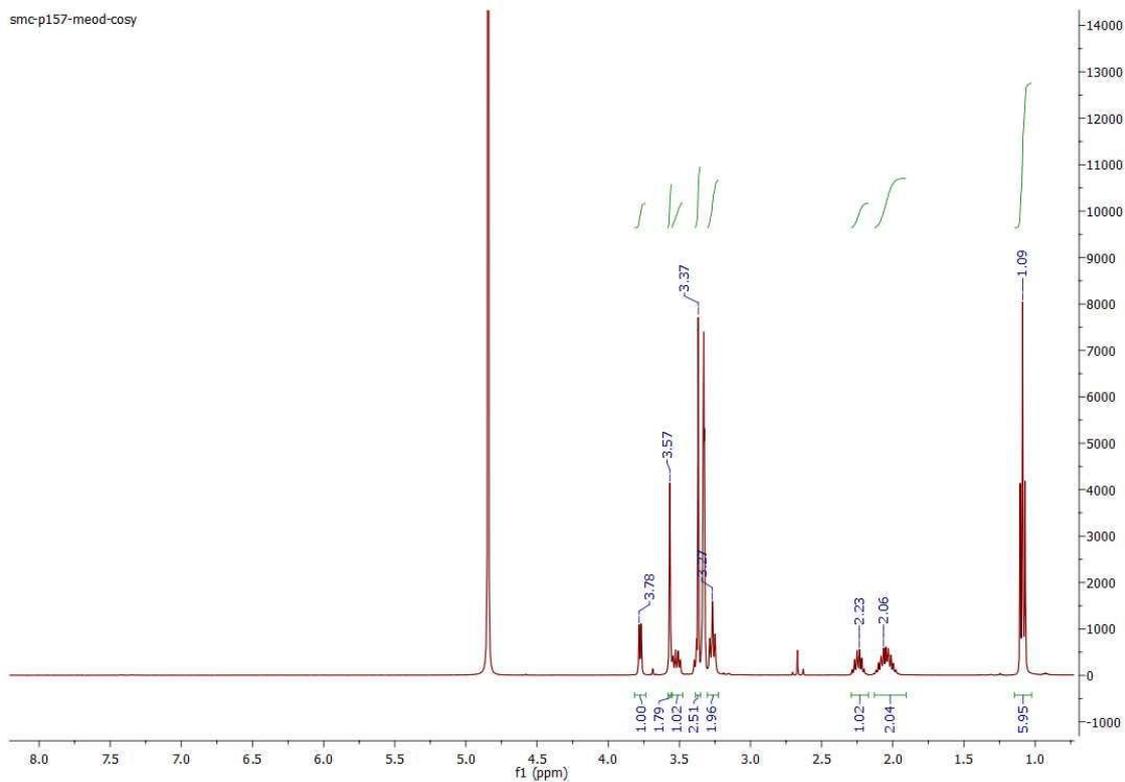
¹H NMR y ¹³C NMR del Compuesto 4d

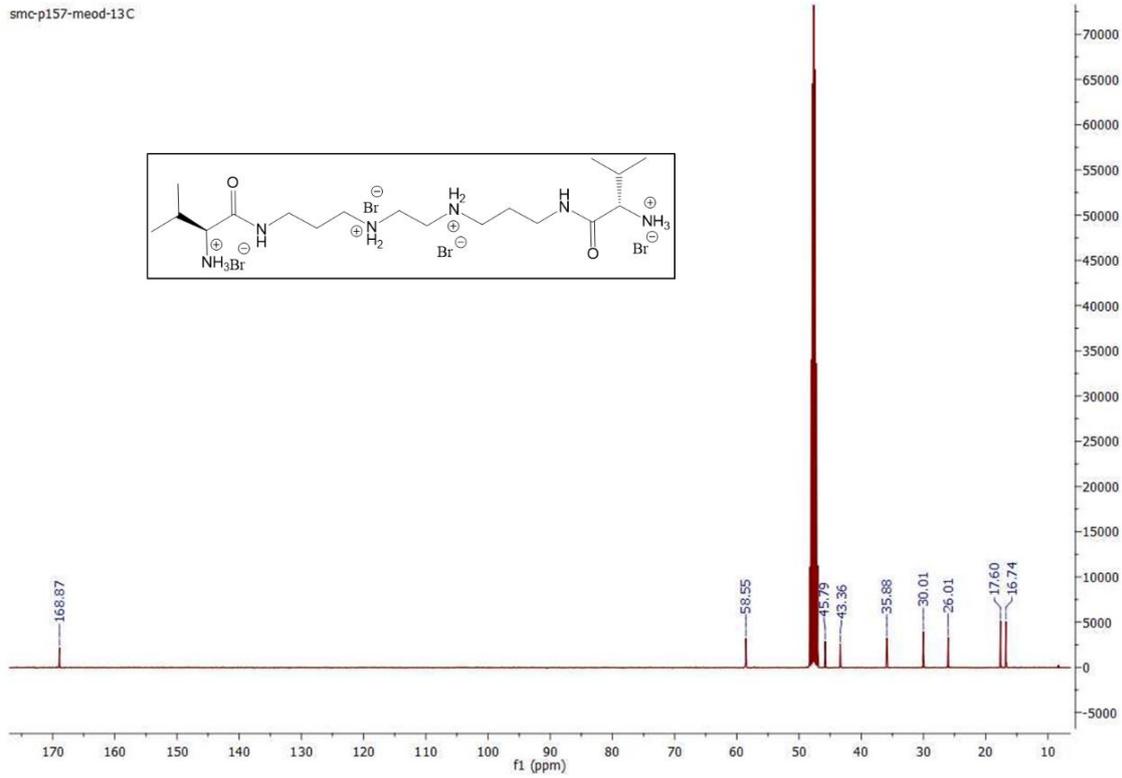
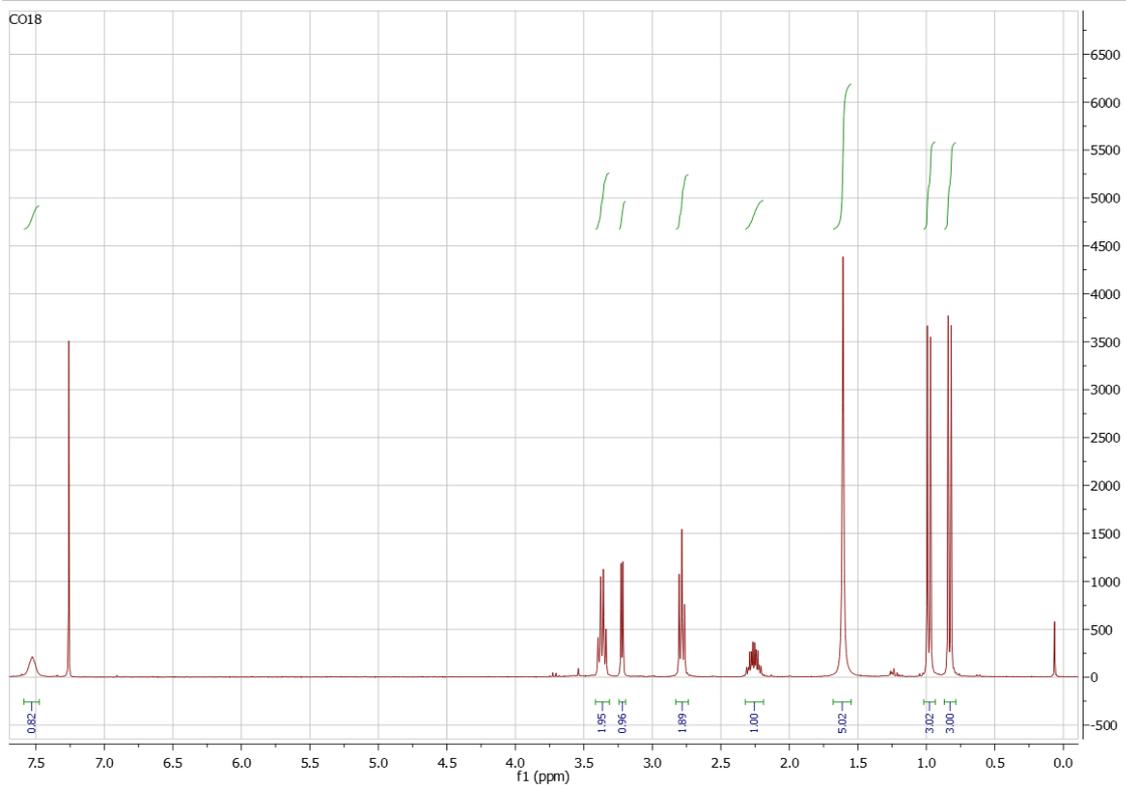


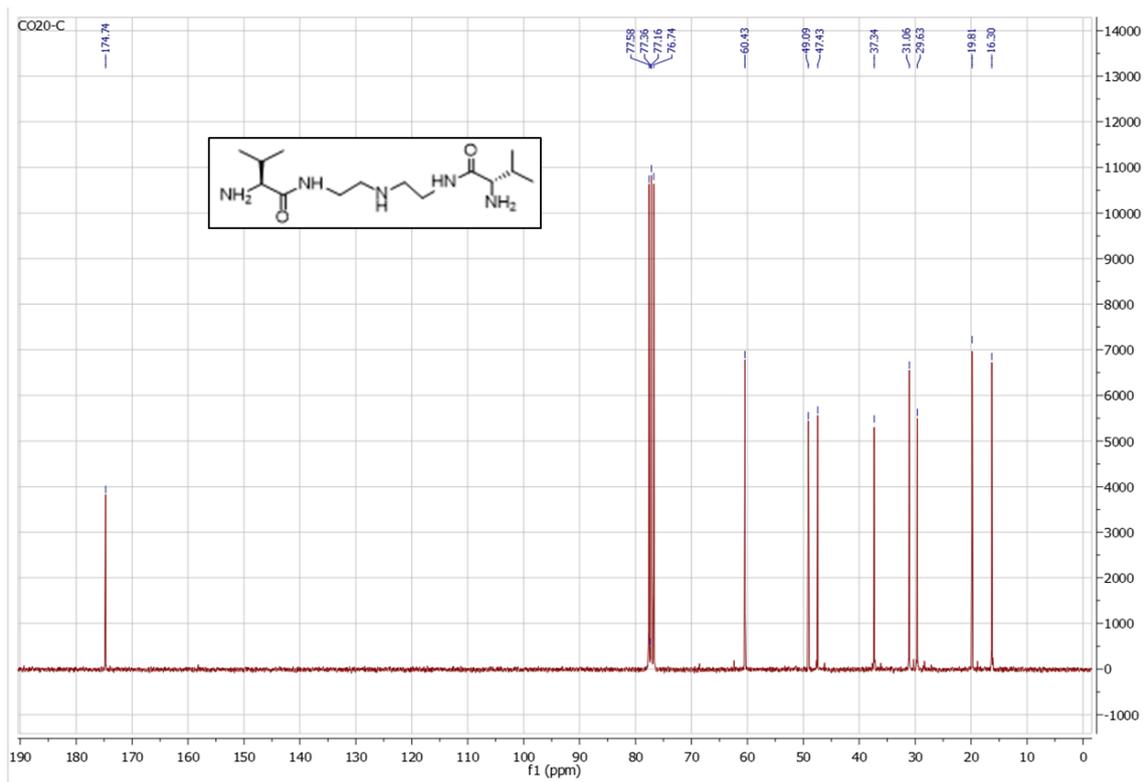
**¹H NMR y ¹³C NMR del Compuesto 5a**



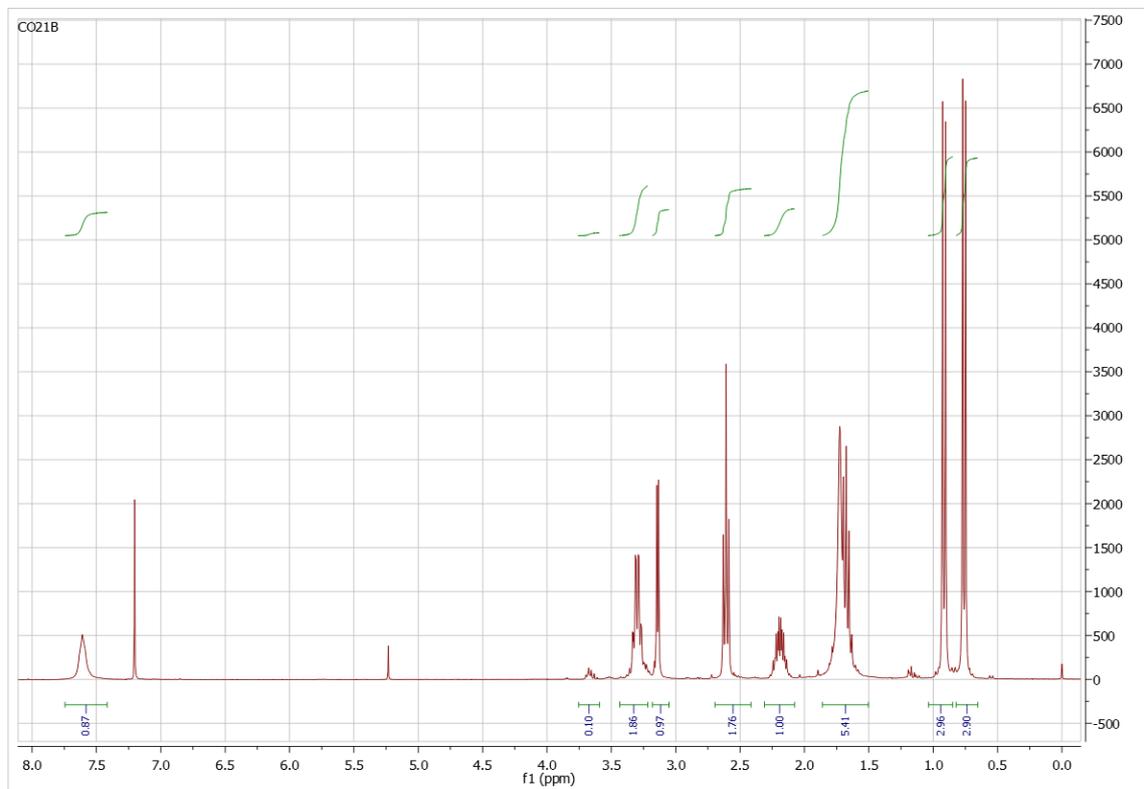
¹H NMR y ¹³C NMR del Compuesto 5b

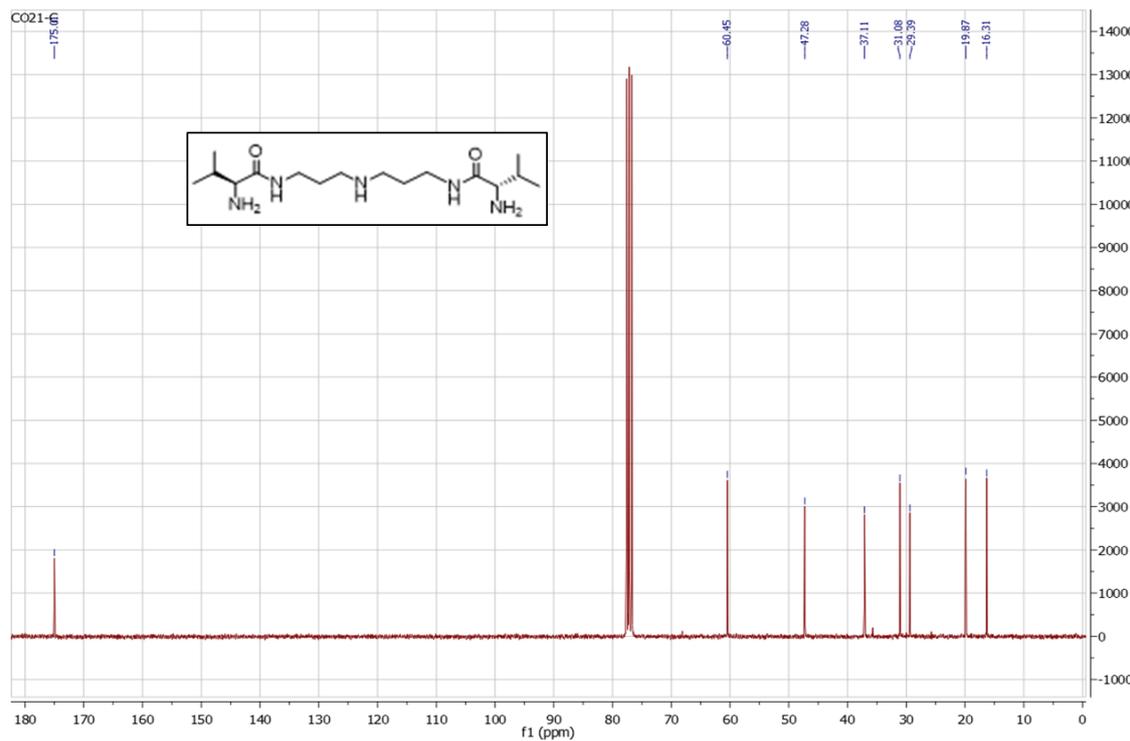


 ^1H NMR y ^{13}C NMR del Compuesto 5c

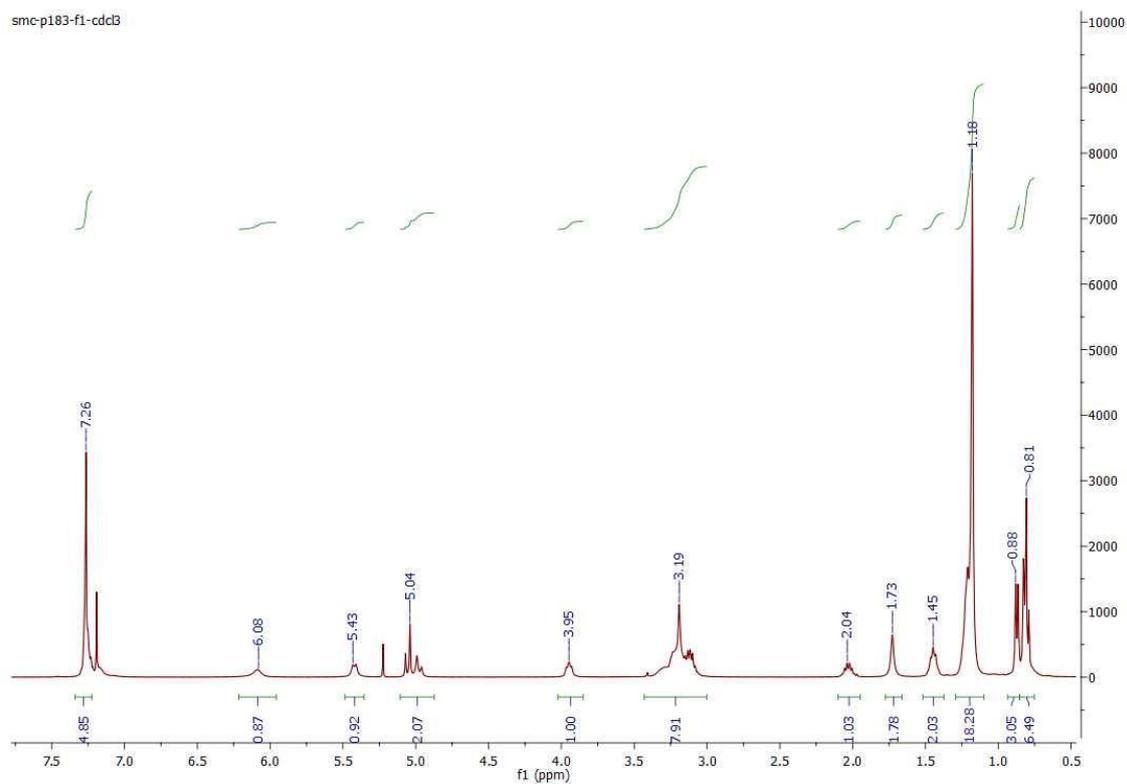


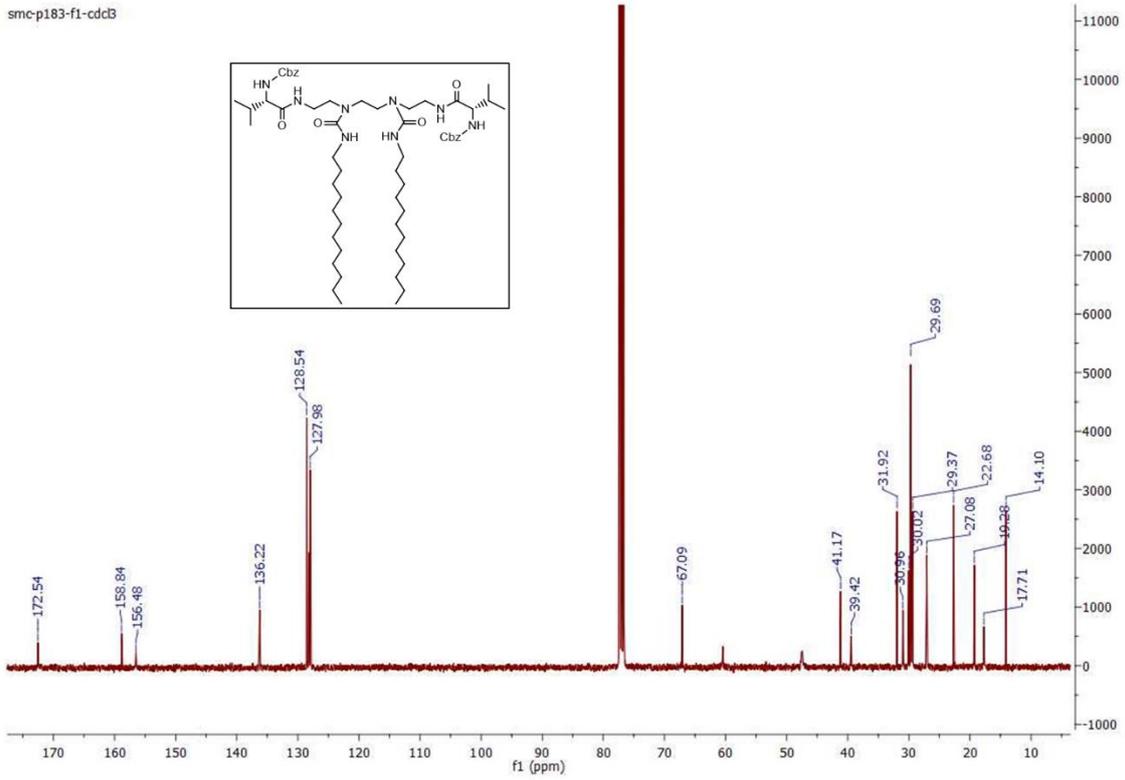
^1H NMR y ^{13}C NMR del Compuesto 5d



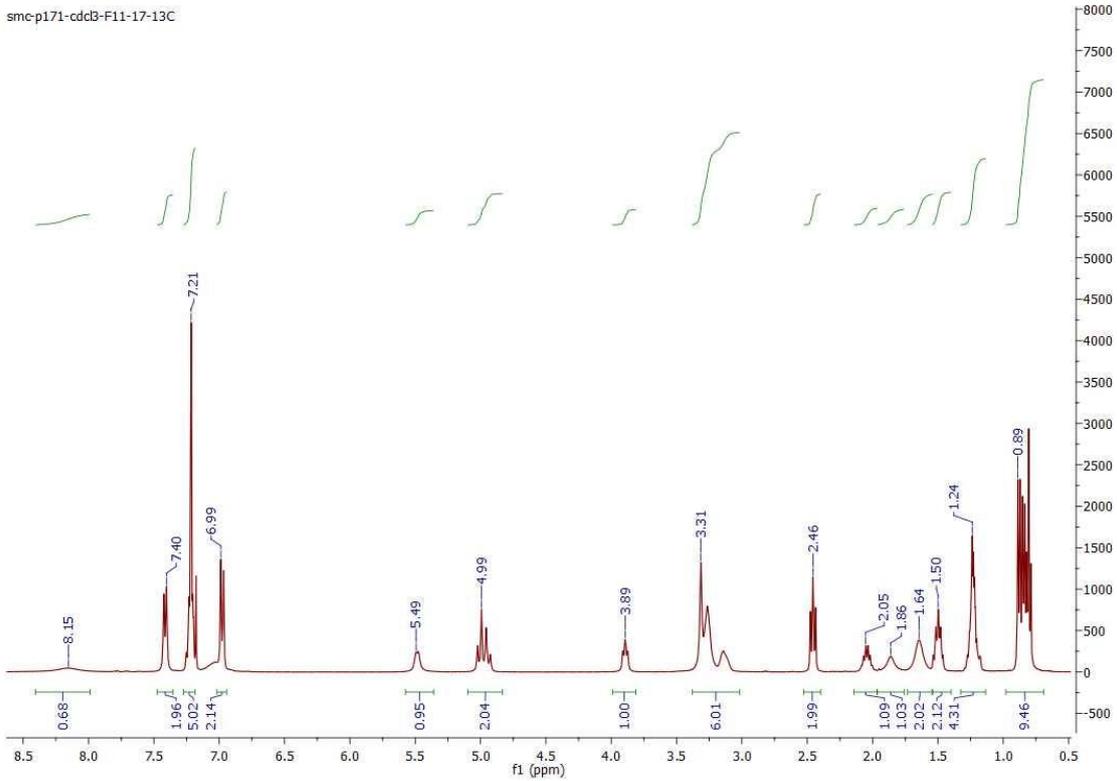


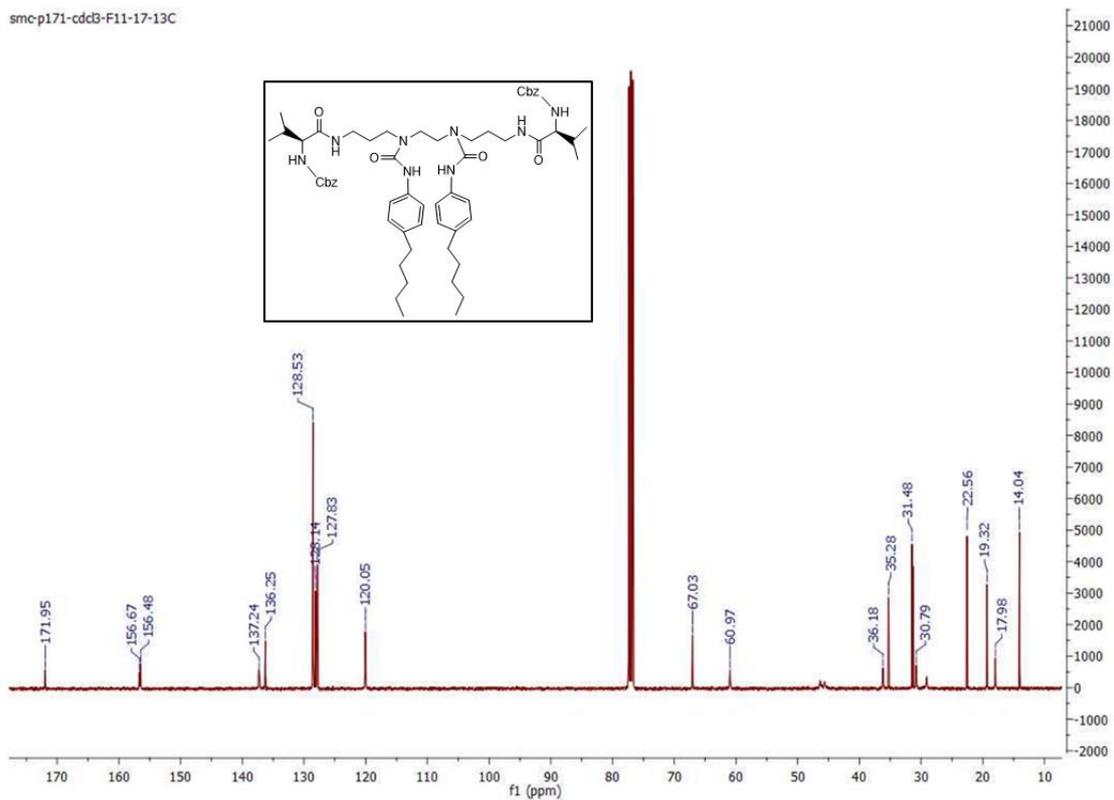
¹H NMR y ¹³C NMR del Compuesto 10b



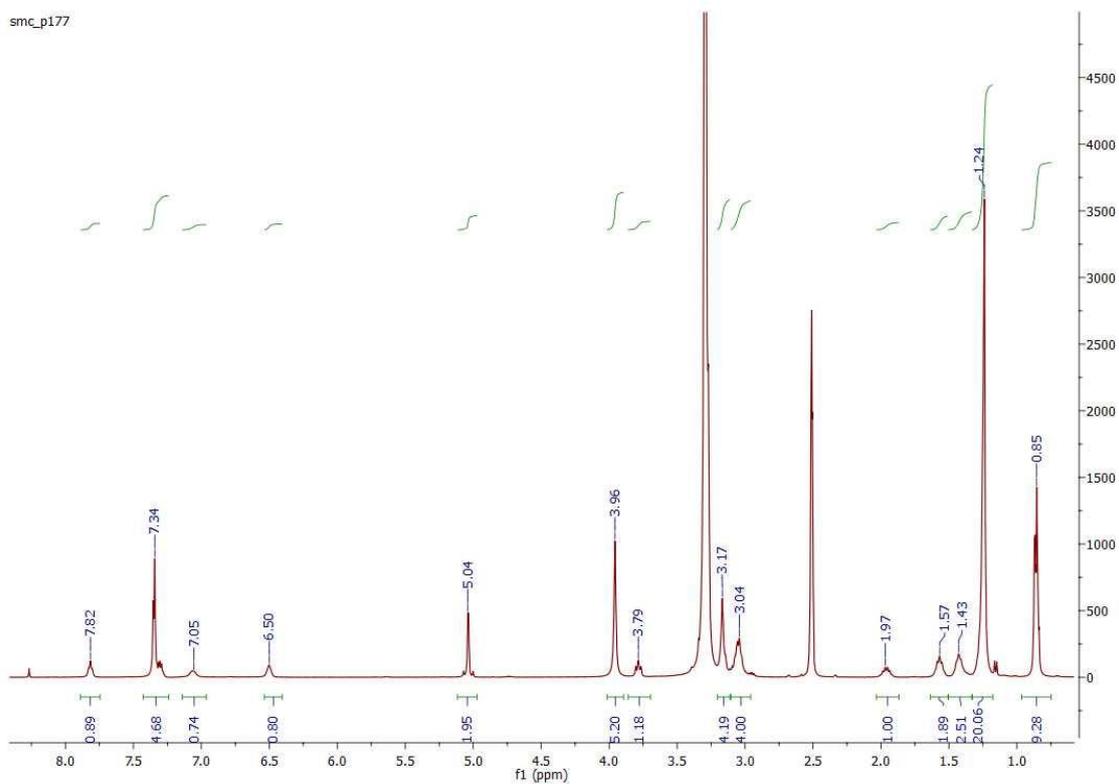


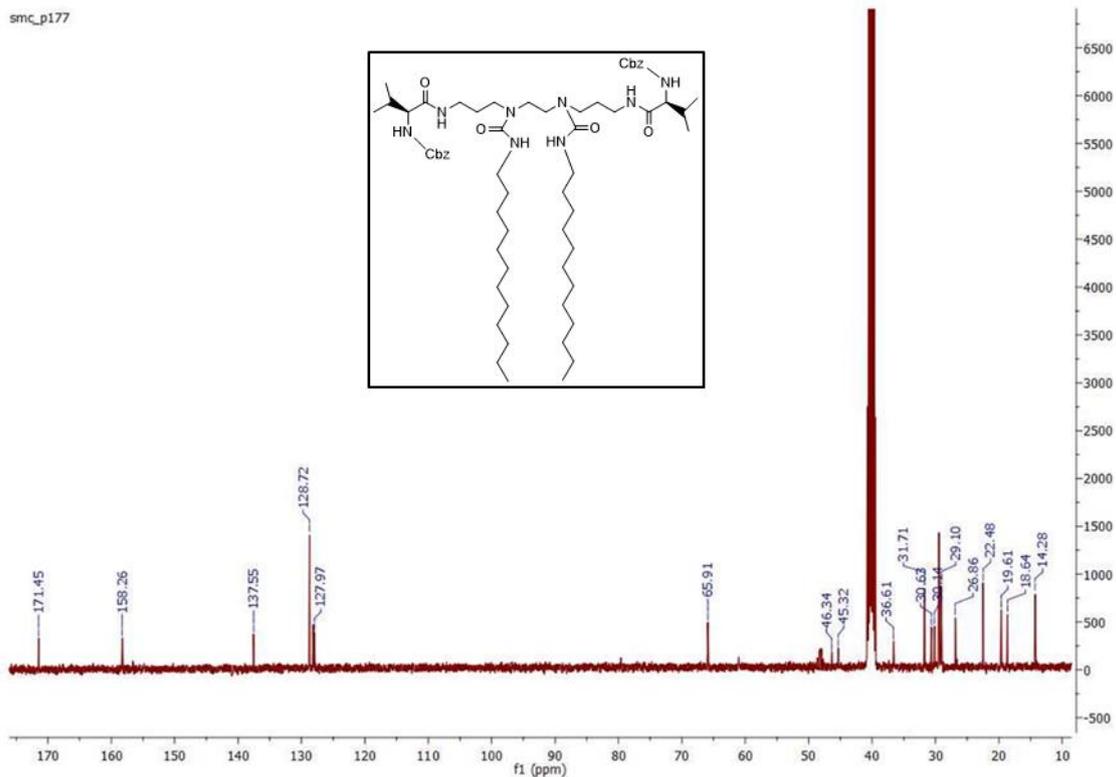
¹H NMR y ¹³C NMR del Compuesto 10c



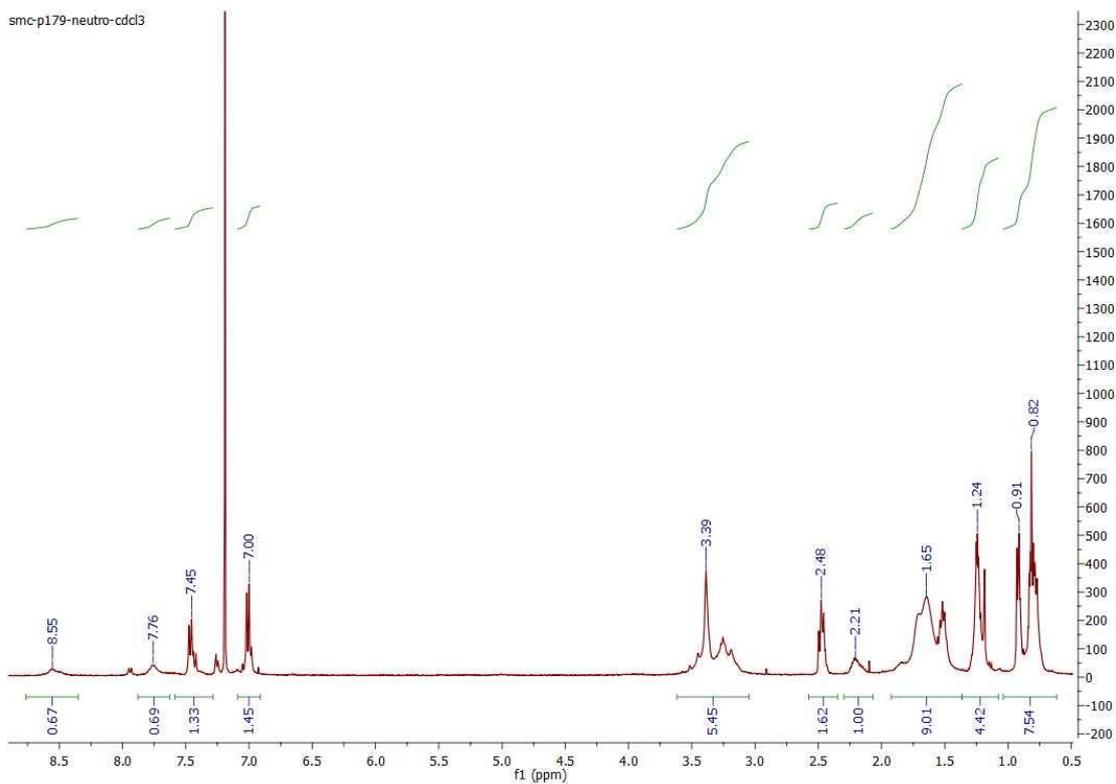


^1H NMR y ^{13}C NMR del Compuesto 10d

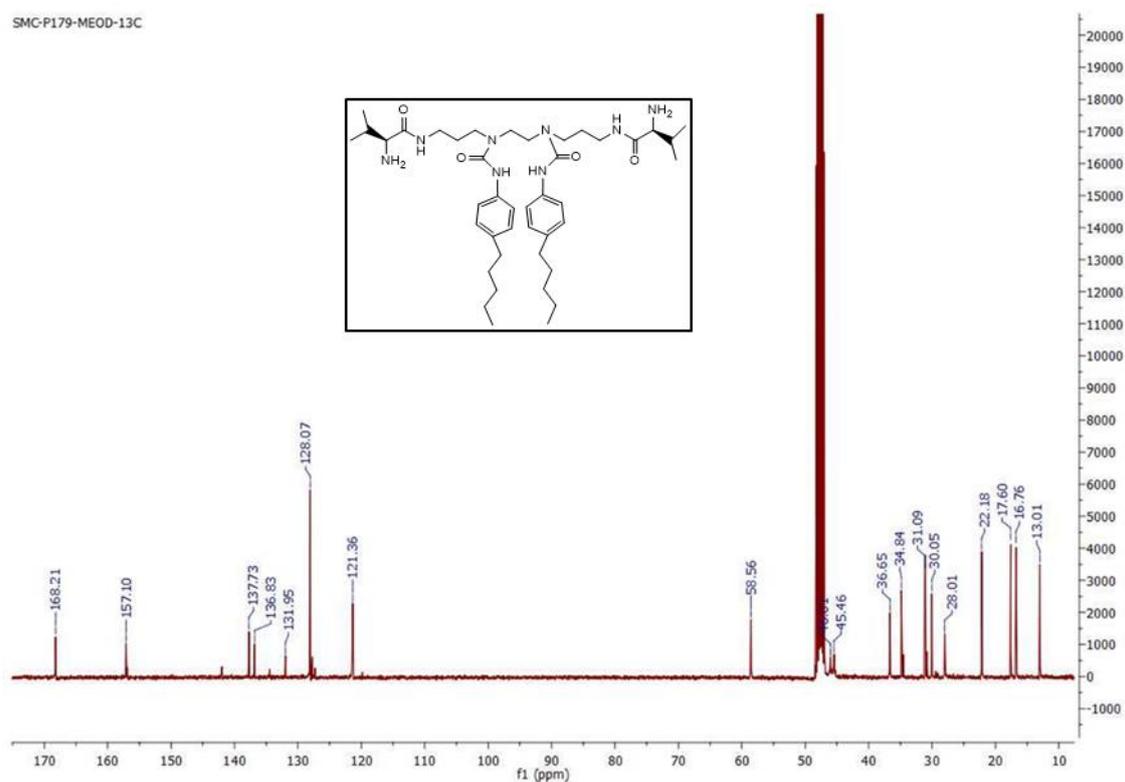




^1H NMR y ^{13}C NMR del Compuesto 11c



SMC-P179-MEOD-13C

 ^1H NMR y ^{13}C NMR del Compuesto 11d

smc-p181-neuro-cdcd3

