



Universitat de Girona

SÍNTESI DE BASE SÒLIDA DE PÈPTIDS BIARÍLICS CONTENINT 5-ARILHISTIDINES

Vanessa CERESO FRIAS

ISBN: 978-84-692-5162-1

Dipòsit legal: Gi.91 I-2009

<http://hdl.handle.net/10803/8054>

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

WARNING. Access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.



Universitat de Girona

Departament de Química
Àrea de Química Orgànica

Tesi Doctoral

**SÍNTESI EN FASE SÒLIDA
DE PÈPTIDS BIARÍLICS
CONTENINT 5-ARILHISTIDINES**

Memòria presentada per

Vanessa Cerezo Frias

Per optar al grau de

Doctora en Ciències Químiques

Girona, 2009



Universitat de Girona

Departament de Química

Àrea de Química Orgànica

Les sotasignants **Marta Planas Grabuleda**, Professora Titular, i **Lidia Feliu Soley**, Professora Agregada, del Departament de Química de la Universitat de Girona,

CERTIFIQUEN, que la memòria que porta per títol "*Síntesi en fase sòlida de pèptids biarílics contenint 5-arilhistidines*" recull el treball realitzat, sota la seva direcció, per la **Vanessa Cerezo Frias**, Llicenciada en Química, i que constitueix la seva memòria de Tesi Doctoral per aspirar al grau de Doctora en Ciències (menció de Doctor Europeu), especialitat Química.

I perquè així consti, signen el present certificat el dia

Dra. Marta Planas Grabuleda

Dra. Lidia Feliu Soley

Porto dies pensant com començar a escriure aquestes línies d'agraïments ja que són tantes les coses que vull dir, que no aconseguixo ordenar les meves idees. Per això, he decidit no pensar, deixant fluir els meus sentiments i així, omplir aquestes planes en blanc.

Amb l'escriptura d'aquesta tesi finalitza una de les etapes més dures i a la vegada més enriquidores de la meva vida. Han estat sis anys plens de lluita, constància, decepcions, satisfaccions i sobretot d'aprenentatge. Però, aquest camí no l'he recorregut sola, al meu costat han estat les meves directores de tesi, la Dra. Marta Planas i la Dra. Lúdia Feliu, a les quals vull expressar el meu agraïment per haver-me sabut guiar i per haver-me permès aprendre gran part de la química que sé ara. També, vull agrair a la Dra. Montse Heras, el tracte rebut, el gran suport i els nous coneixements que m'ha aportat al llarg d'aquest temps. Tampoc puc oblidar-me del Dr. Eduard Bardají, al qual li he d'agrair el haver-me donat l'oportunitat de formar part del LIPPSO i així, sentir-me realitzada fent una de les coses que més m'agraden a la vida: la recerca.

També vull agrair l'eficàcia i professionalitat de les persones que integren els Serveis Tècnics de Recerca, especialment agraeixo a la Dra. Lluïsa Matas la implicació que ha tingut en aquesta tesi, durant les llargues estones passades al costat del microones.

Realitzar el doctorat m'ha donat l'oportunitat de gaudir d'una beca de mobilitat que m'ha permès poder ampliar els meus coneixements. Concretament, vaig realitzar una estada de 4 mesos i mig al grup del Professor Jean Martínez sota la direcció de la Dra. Muriel Amblard de la qual he de destacar la seva gran qualitat humana. Els integrants d'aquest grup em van fer sentir com a casa, essent una experiència inoblidable, tant professionalment com personalment. Vull agrair d'una manera especial, a la Jennifer, en Julien, l'Anne Laure, en Mathieu, en David i l'Yann, la seva paciència, els seus esforços perquè participés com un més en el grup i sobretot el seu recolzament.

Abans de continuar, vull agrair l'ajuda, el recolzament i les bones estones que he passat amb totes aquelles persones amb les quals he coincidit en un moment o un altre als laboratoris del LIPPSO. Des d'en Xavi Nadal, l'Albert Matas i en J. Josep Kostopoulos, els quals em van acompanyar en els meus inicis fins al Dr. David Font i la Gemma Albesa. Tampoc em puc oblidar d'en Bernat i en Marc que tot i compartir molt poc temps junts, vam passar molt bons moments. I què he de dir d'en Roger, de la Pilar o de la Cristina, els quals van ser companys de feina excepcionals i que amb el temps han esdevingut grans amics. Finalment, vull agrair a la Marta Ribeiro el seu recolzament i sobretot, la seva alegria i vitalisme contagiosos.

Tampoc puc deixar d'agrair a les persones que gràcies als seus treballs experimentals han col·laborat en la realització d'aquesta tesi doctoral. Entre ells, vull destacar l'entusiasme, implicació i esforç de l'Ana Afonso, de l'Abdelatif i de l'Iteng.

Tampoc vull oblidar-me del bon ambient que es respira al LIPPSO gràcies a persones com l'Anna Díaz, la Cristina, la Imma, la Laura o la Montse amb les quals he passat molt bones estones tant al laboratori com al bar d'en Paco prenent un cafè, fent més agradable el meu pas pel grup. Especialment, voldria mencionar a la Gemma, la Marta i en Rafael amb els quals m'uneix una gran amistat feta a base de comprensió, confiança i bons moments. Cadascun d'ells m'han aportat valors que m'han fet créixer com a persona, el dinamisme de la Gemma, la sensibilitat de la Marta o els bons consells i el bon humor davant de situacions difícils d'en Rafael.

Ara toca donar les gràcies a la resta de companys del Departament de Química, amb qui he conviscut durant aquests anys i amb els que he gaudit de molt bones estones., especialment als meus companys/es de despatx, les Cats, l'Ivan i, encara que ja no formin part del departament, a la Dra. Anna Torrent i la Dra. Judit Masllorens.

Una part important de la meua vida és la meua família i a ella vull expressar el meu enorme agraïment, especialment als meus íaios, per haver-me escoltat, aconsellat, recolzat i ajudat en tot el que han pogut.

A en Tuck, el meu gosset d'un anyet, li vull agrair la companyia que m'ha fet durant els mesos que he passat tancada escrivint aquesta tesi doctoral..

I finalment no podria acabar sense agrair a la persona que estimo i amb la qual comparteixo la meua vida. A tu David et vull agrair el suport, la paciència i la capacitat de fer-me veure les coses des d'un altre punt de vista, que tant m'ha ajudat en moments difícils. També, voldria donar-te les gràcies per fer-me costat en tot i estimar-me tal com sóc.

A tots vosaltres, moltes gràcies!

A la memòria del meu iaio

*Il faut faire de la vie un rêve,
et faire d'un rêve une réalité*

Pierre Curie (1859-1906)

*What we know is a drop.
What we don't know is an ocean*

Isaac Newton (1643-1727)

ABBREVIATIONS AND INDEX

Ac	acetyl
aq	aqueous
Ar	aryl
arom	aromatic
Bn	benzyl
Boc ₂ O	di- <i>tert</i> -butyldicarbonate
Bom	benzyloxymethyl
bs	broad singlet
Bu	butyl
Bz	benzylation
Cbz	benzyloxycarbonyl
CMI, see MIC	
COSY	¹ H- ¹ H correlation spectroscopy
d	doublet
dba	dibenzylideneacetone
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene
dd	doublet of doublets
ddd	doublet of doublets of doublets
DIEA	<i>N,N</i> -diisopropylethylamine
DMA	dimethylacetamide
DME	1,2-dimethoxyethane
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamide
DMSO	dimethylsulfoxide
dppf	1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocene
dt	doublet of triplets
ESI-MS	electrospray ionization-mass spectrometry
Et	ethyl
Fmoc	9-fluorenylmethoxycarbonyl

HBTU	<i>N</i> -[(1 <i>H</i> -benzotriazol-1-yl)(dimethylamino)methylene]- <i>N</i> -methylmethanaminium-hexafluorophosphate <i>N</i> -oxide
HMBC	heteronuclear multiple bond coherence
HMQC	heteronuclear multiple quantum coherence
HOBt	<i>N</i> -hydroxybenzotriazole
HPLC	high performance liquid chromatography
HRMS	high resolution mass spectrometry
<i>i</i> -Bu	<i>iso</i> -butyl
IC ₅₀	half maximal inhibitory concentration
<i>i</i> -Pr	isopropyl
IR	infrared spectroscopy
<i>J</i>	coupling constant
LC/MS	liquid chromatography-mass spectrometry
m	multiplet
MBHA	<i>p</i> -methylbenzylhydramine resin
Me	methyl
MIC	minimum inhibitory concentration
min	minute
MOM	methoxymethyl ether
mp	melting point
Ms	mesyl
<i>m/z</i>	mass-to-charge ratio
MW	microwave irradiation
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimide
NMP	<i>N</i> -methylpyrrolidone
NMR	nuclear magnetic resonance
ONf	nanoflate
OPiv	pivalate

OTf	triflate
PCy ₃	tricyclohexylphosphine
Ph	phenyl
Phth	phthaloyl
pin	pinacolate
ppm	parts per million
PPTS	pyridinium <i>p</i> -toluenesulfonate
Py	pyridine
q	quartet
R _f	retention factor
RMN, <i>see</i> NMR	
r.t.	room temperature
s	singlet
SEM	2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl
t	triplet
t.a., <i>see</i> r.t.	
TBAB	tetrabutylammonium bromide
TBAF	tetrabutylammonium fluoride
TBDPS	<i>t</i> -butyldiphenylsilyl
td	triplet of doublets
TFA	trifluoroacetic acid
THF	tetrahydrofuran
THP	tetrahydropyran
TIS	triisopropylsilane
TLC	thin layer chromatography
TNBS	2,4,6-trinitrobenzenesulfonate
t _R	retention time
Trt	trityl

Abbreviations

Ts	tosyl
tt	triplet of triplets
UV	ultraviolet
vis	visible
δ	chemical shift
λ	wavelength
ν	absorption frequency

1 INTRODUCTION AND OBJECTIVES	1
1.1 Biaryl peptides. Biological and chemical interest.....	3
1.2 4(5)-Arylimidazoles. Biological interest and synthesis	6
1.2.1 Direct arylation.....	7
1.2.2 The Negishi reaction.....	9
1.2.3 The Stille reaction.....	10
1.2.4 The Suzuki-Miyaura reaction	12
1.2.4.1 General survey of the Suzuki-Miyaura reaction.....	12
1.2.4.2 Mechanism of the Suzuki-Miyaura reaction.....	14
1.2.4.3 Synthesis of arylboronic acids	15
1.2.4.3.1 Synthesis of arylboronic acids using alkyl borates.....	15
1.2.4.3.2 Synthesis of arylboronates via a Miyaura borylation	15
1.2.4.4 Synthesis of 4(5)-arylimidazoles via a Suzuki-Miyaura reaction	17
1.3 Synthesis of biaryl amino acids via a Suzuki-Miyaura reaction	20
1.3.1 Synthesis of biaryl amino acids via a Suzuki-Miyaura reaction under conventional heating	20
1.3.2 Synthesis of biaryl amino acids by a microwave-assisted Suzuki-Miyaura reaction	26
1.3.2.1 Microwave-assisted organic synthesis	26
1.3.2.2 Synthesis of biaryl amino acids by microwave-assisted Suzuki-Miyaura reaction	27
1.4 Objectives.....	29
2 CAPÍTOL 1: Síntesi de 5-arilhistidines.....	31
2.1 Síntesi de 4(5)-aril-5(4)-metilimidazoles	33
2.1.1 Síntesi de 4(5)-fenil-5(4)-metilimidazole (1)	33
2.1.1.1 Estratègia general	33
2.1.1.2 Arilació directa.....	34

2.1.1.3 Arilació a través d'una reacció de Suzuki-Miyaura.....	35
2.1.1.3.1 Preparació dels benzilbromoimidazoles 3	35
2.1.1.3.2 Arilació dels benzilbromoimidazoles 3 a través d'una reacció de Suzuki-Miyaura	40
2.1.1.3.3 Desbenzilació dels benzilfenilimidazoles 5	41
2.1.2 Síntesi de 4(5)-metil-5(4)-(2-metoxifenil)imidazole (2)	42
2.1.2.1 Estratègia general	42
2.1.2.2 Síntesi de l'àcid 2-metoxifenilborònic (6)	43
2.1.2.3 Arilació dels benzilbromoimidazoles 3 amb àcid 2-metoxifenilborònic (6) a través d'una reacció de Suzuki-Miyaura	43
2.1.2.4 Desbenzilació dels 2-metoxifenilimidazoles 7	45
2.2 Síntesi de 5-arilhistidines en solució	47
2.2.1 Estratègia per a la síntesi de 5-arilhistidines	47
2.2.2 Síntesi de 5-bromohistidines convenientment protegides.....	48
2.2.2.1 Assajos per a la síntesi de Boc-His(π -Bom)-OMe (8a)	48
2.2.2.2 Assajos per a la protecció d'Ac-His-OMe (10) amb els grups Bom i SEM	50
2.2.2.3 Síntesi d'Ac-His(5-Br, π -SEM)-OMe (14a) i Ac-His(5-Br, τ -SEM)-OMe (14b)	51
2.2.3 Assajos d'arilació d'Ac-His(5-Br, π -SEM)-OMe (14a) i Ac-His(5-Br, τ -SEM)-OMe (14b) mitjançant una reacció de Suzuki-Miyaura amb escalfament convencional.....	54
2.2.4 Síntesi d'Ac-His(5-Ph, π -SEM)-OMe (17a) i Ac-His(5-Ph, τ -SEM)-OMe (17b) mitjançant una reacció de Suzuki-Miyaura assistida per irradiació microones	57
2.2.5 Preparació de 5-arilhistidines en dissolució	59
2.2.6 Eliminació del grup SEM.....	63
2.2.7 Anàlisi de la integritat òptica de les 5-arilhistidines	65
2.3 Síntesi de 5-arilhistidines en fase sòlida.....	67

2.3.1	Estratègia general	67
2.3.2	Síntesi de Boc-His(5-Br, π -SEM)OH (29a) i Boc-His(5-Br, τ -SEM)OH (29b) .	68
2.3.3	Síntesi de Boc-His(5-Br,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (28)	70
2.3.4	Arilació de Boc-His(5-Br,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (28) mitjançant una reacció de Suzuki-Miyaura sota irradiació microones.....	71
2.3.4.1	Síntesi d'H-His(5-Ph)-Leu-Leu-NH ₂ (34)	71
2.3.4.2	Síntesi d'H-His(5-Ar)-Leu-Leu-NH ₂ (36-41)	77
2.3.4.3	Caracterització dels tripèptids 33 , 34 , 36-41	80
2.3.4.3.1	Caracterització dels tripèptids biarílics 38 i 41	80
2.3.4.3.2	Caracterització dels tripèptids biarílics 36 i 39	82
2.3.5	Síntesi de pèptids contenint 5-(3-tirosil)histidines	86
2.3.5.1	Síntesi de l'àcid 3-tirosilborònic 42	87
2.3.5.1.1	Síntesi de Boc-Tyr(3-Bpin,Me)-OMe (45)	87
2.3.5.1.2	Hidròlisi de Boc-Tyr(3-Bpin,Me)-OMe (45)	89
2.3.5.2	Arilació de 28 amb l'àcid 3-tirosilborònic 42	91
3	CAPÍTOL 2: Síntesi de pèptids antimicrobians contenint 5-arilhistidines..	97
3.1	Introducció	99
3.1.1	Síntesi de pèptids antimicrobians contenint 5-arilhistidines.....	102
3.1.1.1	Estudi de la influència de la posició del residu de 5-bromohistidina en la reacció de Suzuki-Miyaura	102
3.1.1.1.1	Estudi de la síntesi de H-His(5-Ph)-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-Tyr-Leu-NH ₂ (52)	102
3.1.1.1.2	Estudi de la síntesi de H-His(5-Ph)-Leu-NH ₂ (53).....	103
3.1.1.2	Síntesi de H-His(5-Ar)-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-Phe-Leu-NH ₂ (60)	105
3.1.2	Avaluació de l'activitat biològica.....	108

3.1.2.1 Síntesi dels pèptids de referència.....	108
3.1.2.2 Avaluació de l'activitat antibacteriana	109
3.1.2.3 Avaluació de l'activitat hemolítica	110
4 CONCLUSIONS.....	113
5 MATERIALS AND METHODS	117
5.1 Materials.....	119
5.1.1 General reagents	119
5.1.2 Solvents	119
5.1.3 Reagents and resins for solid-phase peptide synthesis.....	119
5.2 Instruments.....	120
5.2.1 General instruments	120
5.2.2 Chromatography and Spectrometry	121
5.3 Methods for monitoring solid-phase peptide synthesis.....	123
5.3.1 Ninhydrin or Kaiser Test.....	123
5.3.2 TNBS test	124
5.4 Synthesis of Pd(0) catalysts.....	125
5.4.1 Synthesis of palladium (0) tetrakis(triphenylphosphine)	125
5.4.2 Synthesis of palladium (0) bis(dibenzylideneacetone)	126
6 EXPERIMENTAL SECTION.....	127

INTRODUCTION AND OBJECTIVES

1.1 Biaryl peptides. Biological and chemical interest

Peptides are good candidates in drug discovery research due to their role as mediators of key biological functions and their unique intrinsic properties: they show high biological activity associated with low toxicity and high specificity. The benefits conferred by these characteristics include little unspecific binding to molecular structures other than the desired target, minimization of drug-drug interactions and less accumulation in tissues reducing risks of complications due to intermediate metabolites. Despite their interesting properties, few peptides have reached the market due to several inherent limitations including low stability and bioavailability.¹

A general goal in peptide research is the finding of structure modifications that improve the biological profile of native peptides.² These modifications have been mainly focused on glycosylation, addition of non-natural amino acids and cyclization. In this context, the introduction of unnatural amino acids such as biaryl amino acids has been described to limit the conformational flexibility of peptides, enhance their enzymatic stability and improve their bioavailability.

Natural peptides containing biaryl amino acids are widespread and have attracted considerable interest due to their significant biological activities.³ Some examples are included in Figure 1.1. Especially noteworthy is vancomycin, which is currently used for the treatment of infections caused by drug-resistant bacterial strains. Biphenomycins A-C and arylomycins A-B are two families of monocyclic biaryl peptides which exhibit antibacterial activity against gram-positive bacteria. Other examples of monocyclic biaryl peptides are TMC-95 A-D which constitute a class of potent proteasome inhibitors. RP-66453 is a bicyclic peptide that binds selectively to the neurotensin receptor from guinea pigs.

¹ (a) Olson, G. L.; Bolin, D. R.; Bonner, M. P.; Bös, M.; Cook, C. M.; Fry, D. C.; Graves, B. J.; Hatada, M.; Hill, D. E.; Khan, M.; Madison, V. S.; Rusiecki, V. K.; Sarabu, R.; Sepinwall, J.; Vincent, G. P.; Voss, M. E. *J Med. Chem.* **1993**, *36*, 3039. (b) Giannis, A.; Kolter, T. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1244. (c) Liskamp, R. M. *J. Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1994**, *113*, 1. (d) Gibson, S. E.; Guillo, N.; Tozer, M. J. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 585. (e) Cativiela, C.; Díaz-de-Villegas, M. D. *Tetrahedron Asymmetr.* **2000**, *11*, 645. (f) Bursavich, M. G.; Rich, D. H. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 541.

² (a) Apitz, G.; Jager, M.; Jaroch, S.; Kratzel, M.; Schaffeler, L.; Steglich, W. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 8223. (b) Ranganathan, D.; Vaishi, N. K.; Shah, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 6545. (c) Yousaf, M. N.; Mrksich, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 4286. (d) Attardi, M. E.; Taddei, M. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 3519. (e) Rich, D. H.; Bursavich, M. G.; Estiarte, M. A. *Biopolymers* **2002**, *66*, 115.

³ Feliu, L.; Planas, M. *Int. J. Pept. Res. Ther.* **2005**, *11*, 53.

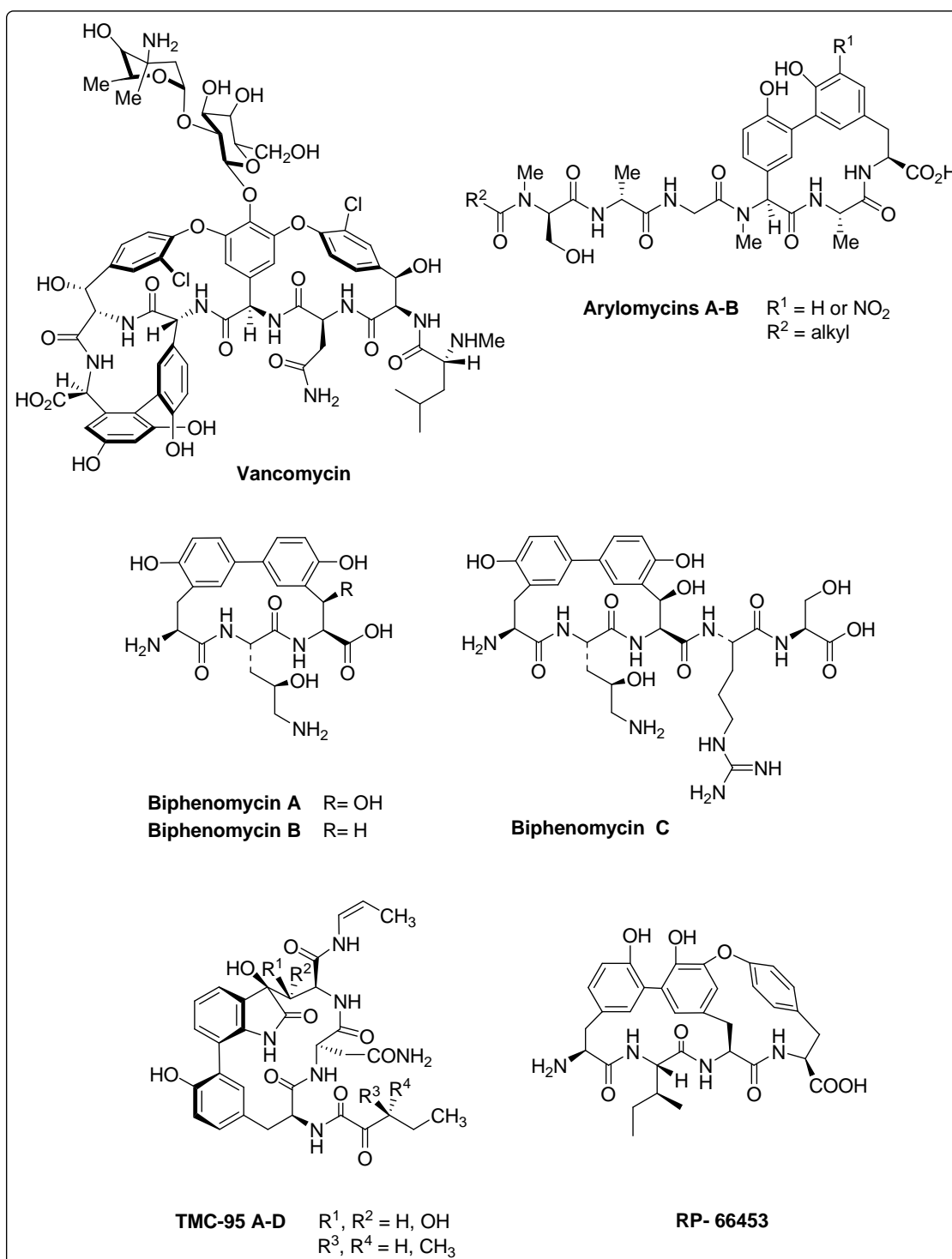


Figure 1.1. Natural biaryl peptides

An interesting family of biaryl peptides includes aciculitins, which were isolated from the lithistid sponge *Aciculites orientalis* at Siquijor Island (the Philippines) by Faulkner and co-workers (Figure 1.2).⁴ Aciculitins are cytotoxic to the human-colon tumor cell line

⁴ Bewley, C. A.; He, H.; Williams, D. H.; Faulkner, D. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 4314.

HCT-116 with an IC_{50} of 0.5 $\mu\text{g/mL}$, and inhibit the growth of *Candida albicans* at a loading of 2.5 $\mu\text{g/disk}$ in the standard disk assay.

A remarkable structural feature of aciculitins is the uncommon biaryl linkage between the 3'-position of a tyrosine and the 5'-position of a histidine. The histidine residue and, in particular, the imidazole ring plays a very important role in the biological activity of these peptides. In fact, aciculitamide A, an analog of aciculitins bearing an imidazolidinone ring in the histidine-tyrosine unit, does not exhibit biological activity.

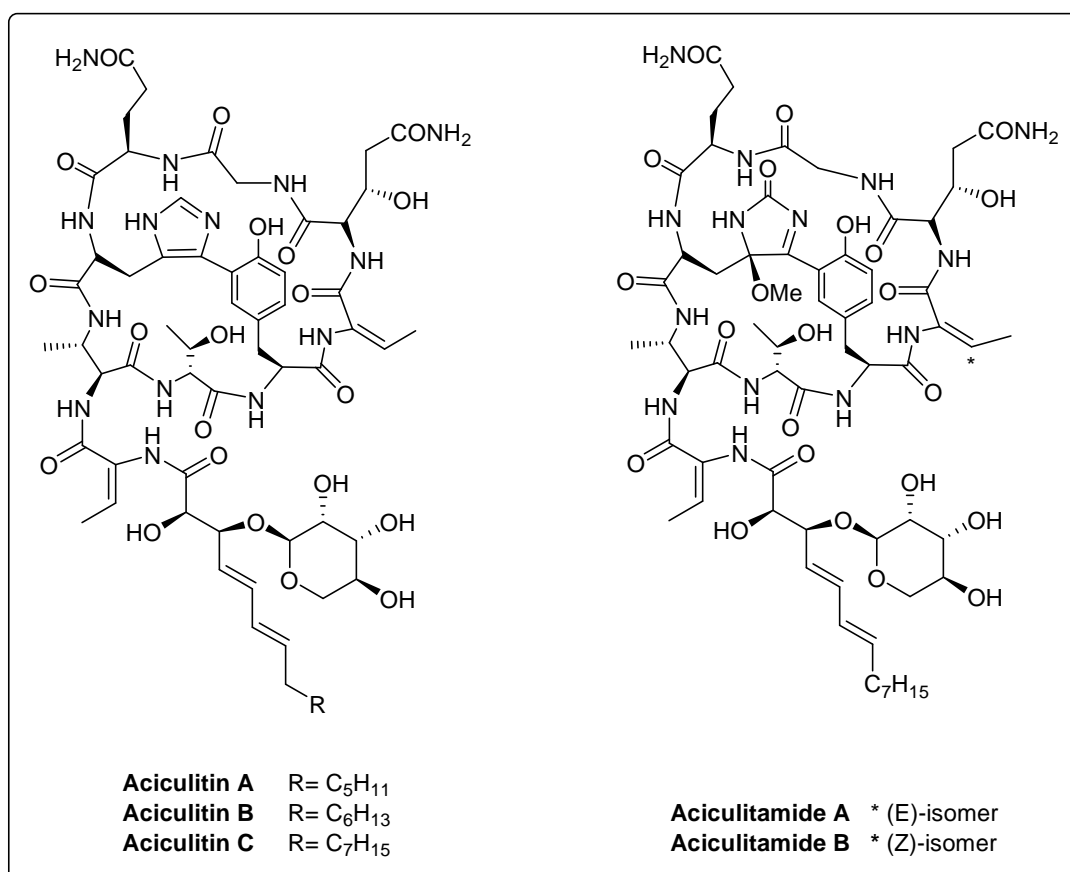


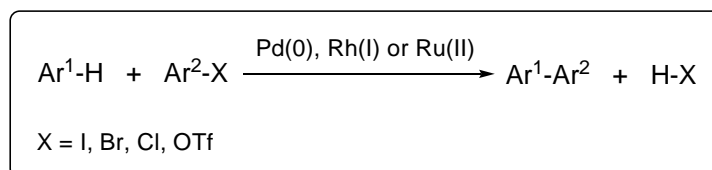
Figure 1.2. Aciculitins and aciculitamides

Despite their interest, to the best of our knowledge, the synthesis of aciculitins has not been described. One of the most challenging synthetic steps would be the formation of the linkage between the tyrosine and the histidine residues. Based on this and taking into account the crucial role of histidine in the biological activity of aciculitins, this thesis was focused on the development of a protocol for the synthesis of 5-arylhistidines. This methodology would involve the arylation at position 5 of the imidazole ring. Efficient methods for the synthesis of 4(5)-arylimidazoles have been described; however they have never been applied to the derivatization of a histidine residue.

The synthesis of 4(5)-arylimidazoles has been mainly accomplished via two methodologies. One consists on the direct C-arylation of the imidazole ring. The other one includes the transition metal-catalyzed cross-coupling reactions such as the Negishi, the Stille and the Suzuki-Miyaura.

1.2.1 Direct arylation

Catalytic direct arylation is the coupling of an aryl halide or pseudohalide with a simple arene catalyzed by a transition metal complex in low oxidation state and in the presence of a base (Scheme 1.1).¹¹



Scheme 1.1. Direct arylation

Typically, inorganic bases such as K_2CO_3 , Cs_2CO_3 , KOAc, *t*-BuOK, and CsOPiv are employed. The metal ligand depends on the aryl halide involved. For aryl iodides and aryl bromides, PPh_3 is typically used; but in the case of aryl chlorides, sterically bulky and electron-rich trialkylphosphines or the Buchwald's biphenylphospine are necessary. Usually, this reaction is performed in polar and aprotic solvents (DMF, DMA, CH_3CN , NMP and DMSO); but nonpolar solvents (toluene and xylene) have also been employed successfully. In addition, reactions are carried out at temperatures $>100\text{ }^\circ\text{C}$ and, in most cases, heating for several hours to days is necessary.

Recently, the direct arylation of π -electron rich heteroarenes has been reported. In particular, there have been developed convenient and efficient protocols for the regioselective synthesis of (hetero)arylazoles via palladium-catalyzed reaction of azoles with (hetero)aryl halides.¹²

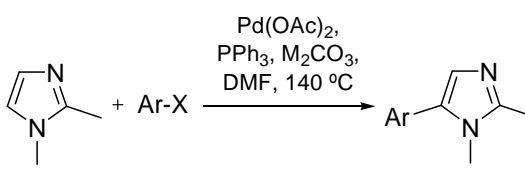
The direct arylation involving an imidazole ring was first studied by Miura and co-workers.¹³ They reported the selective C-5 arylation of 1,2-dimethylimidazole with aryl iodides and bromides in good yields (Table 1.1). In contrast, the direct C-5 arylation of *N*-methylimidazole was not selective and 2,5-diarylimidazoles were obtained as well.

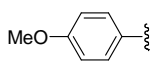
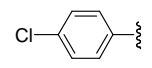
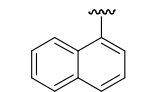
¹¹ Alberico, D.; Scott, M. E.; Lautens, M. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 174.

¹² Bellina, F.; Cauteruccio, S.; Rossi, R. *Curr. Org. Chem.* **2008**, *12*, 774.

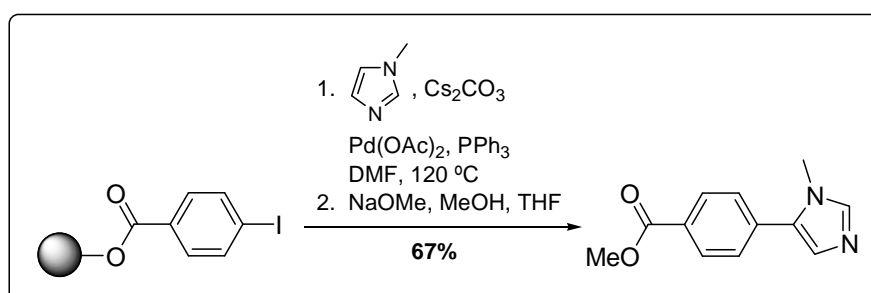
¹³ Pivsa-Art, S.; Satoh, T.; Kawamura, Y.; Miura, M.; Nomura, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1998**, *71*, 467.

Table 1.1. Direct arylation of 1,2-dimethylimidazole



Ar	X = I, M = Cs Yield (%)	X = Br, M = K Yield (%)
	80	85
	84	85
	68	86

The selective introduction of a *p*-(methoxycarbonyl)phenyl group at position 5 of *N*-methylimidazole was described by Kondo et al. In this case, the arylation was performed using as halide reagent an iodobenzoate immobilized on a polymer support (Scheme 1.2).¹⁴

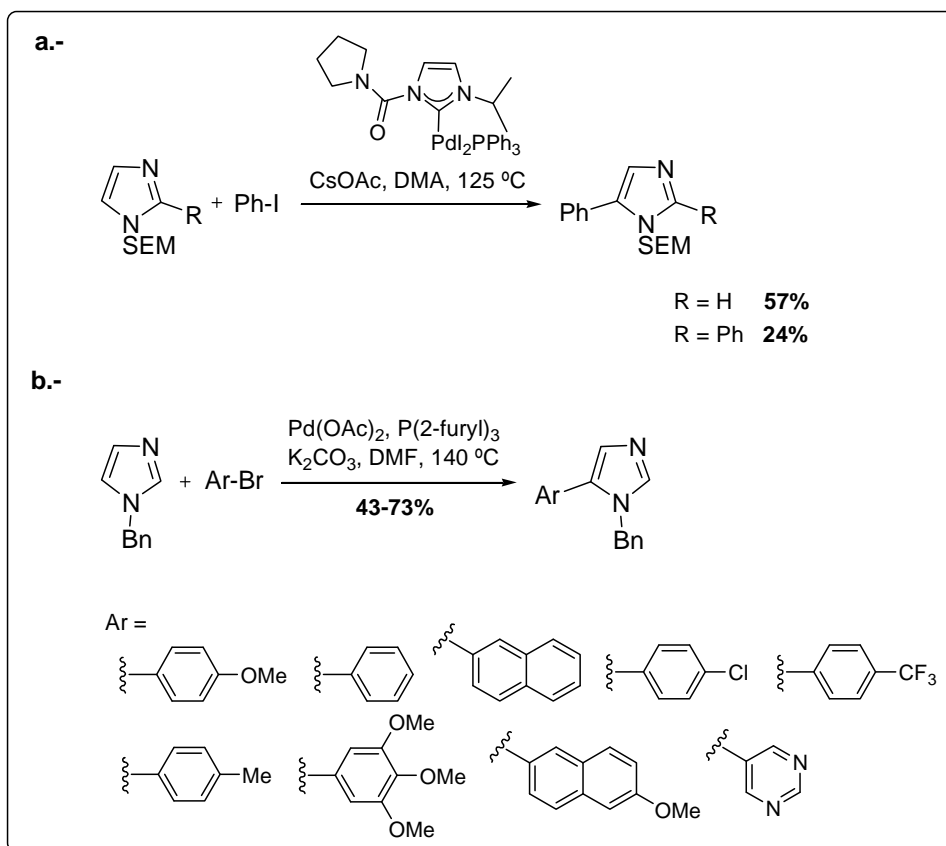
**Scheme 1.2.** Solid-phase direct arylation of *N*-methylimidazole

The direct arylation of other related *N*-substituted imidazoles has also been investigated. For instance, Sames reported the synthesis of SEM-protected 5-arylimidazoles (Scheme 1.3a).¹⁵ Recently, Bellina et al. described the direct C-5 arylation of 1-benzylimidazole with aryl bromides (Scheme 1.3b).¹⁶

¹⁴ Kondo, Y.; Komino, T.; Sakamoto, T. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 3111.

¹⁵ Touré, B. B.; Lane, B. S.; Sames, D. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 1979.

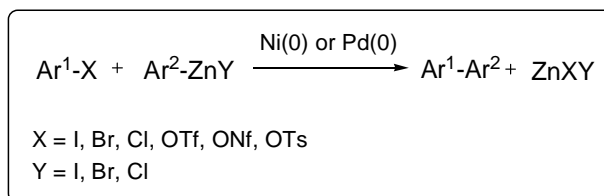
¹⁶ Bellina, F.; Cauteruccio, S.; Di Fiore, A.; Marchetti, C.; Rossi, R. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 6060.



Scheme 1.3. Direct arylation of SEM and benzyl *N*-protected imidazoles

1.2.2 The Negishi reaction

The Negishi coupling, published in 1977, was the first reaction that allowed the preparation of unsymmetrical biaryls in good yields. It includes the cross-coupling reaction of an arylzinc reagent with an aryl halide¹⁷ or pseudohalide, such as a triflate,¹⁸ a nanoflate,¹⁹ or a tosylate,²⁰ in the presence of a nickel (0) or a palladium (0) complex (Scheme 1.4).



Scheme 1.4. The Negishi reaction

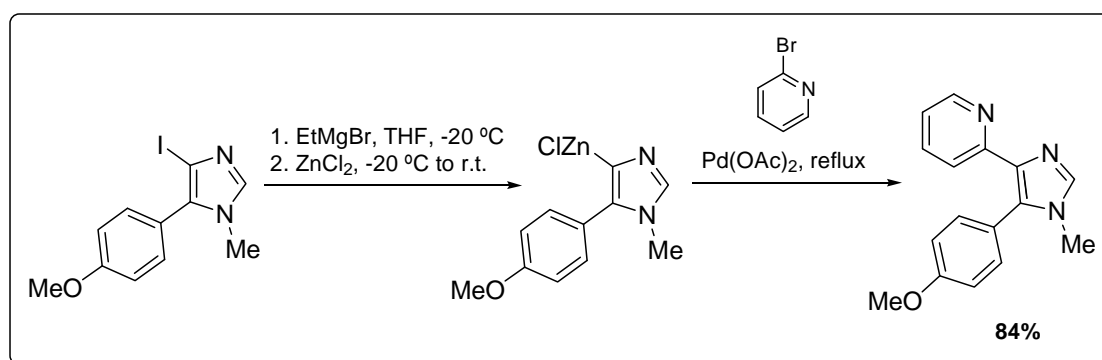
¹⁷ (a) Negishi, E.; King, A. O.; Okukado, N. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 1821. (b) Miller, J. A.; Farrell, R. P. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 6441. (c) Dai, C.; Fu, G. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 2719.

¹⁸ Savage, S. A.; Smith, A. P.; Fraser, C. L. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 10048.

¹⁹ Rottländer, M.; Knochel, P. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 203.

²⁰ Wu, J.; Liao, Y.; Zang, Z. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 3642.

Few examples have been reported on the arylation at positions 4 or 5 of an imidazole ring via the Negishi reaction.²¹ In all of them, the imidazol-4-yl or imidazol-5-yl zinc reagent was generated by treatment of the corresponding iodide with a Grignard reagent followed by the addition of ZnCl₂. These imidazolyl organozinc derivatives were reacted with aryl halides, such as 2-bromopyridine, leading to the corresponding 4- or 5-arylimidazole (Scheme 1.5).



Scheme 1.5. Synthesis of a pyridylimidazole via a Negishi reaction

The Negishi reaction is compatible with a number of common functional groups. However, certain groups, e.g. *o*-trilesters, that do survive the coupling reaction conditions, are cleaved during the aqueous work-up by the influence of the zinc halide. On the other hand, the most important Negishi side-reaction is the homo-coupling of the arylzinc reagent, which usually becomes important in sterically encumbered aryl halides. In these cases, the Suzuki-Miyaura reaction is a slightly more efficient alternative.²²

1.2.3 The Stille reaction

The Stille reaction is considered as one of the most general and selective palladium-catalyzed cross-coupling reactions. It was first reported by the group of Kosugi in 1977,²³ but it was extensively developed by Stille and co-workers.²⁴

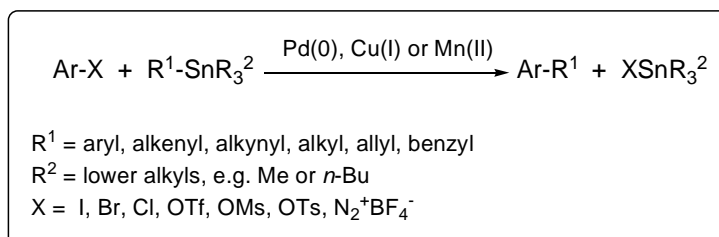
²¹ (a) Jetter, M. C.; Reitz, A. B. *Synthesis* **1998**, 829. (b) Ragan, J. A.; Raggon, J. W.; Hill, P. D.; Jonnes, B. P.; MacDermott, R. E.; Munchhof, M. J.; Marx, M. A.; Casavant, J. M.; Cooper, B. A.; Doty, J. L.; Lu, Y. *Org. Process Res. Dev.* **2003**, *7*, 676. (c) Dobler, M. R. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 7115.

²² Cepanec, I. *Synthesis of Biaryls*, Elsevier: Amsterdam, 2004.

²³ (a) Kosugi, M.; Shimizu, Y.; Migita, T. *Chem. Lett.* **1977**, 1423. (b) Kosugi, M.; Shimizu, Y.; Migita, T. *J. Organomet. Chem.* **1977**, *129*, C36. (c) Kosugi, M.; Sasazawa, K.; Shimizu, Y.; Migita, T. *Chem. Lett.* **1977**, 301.

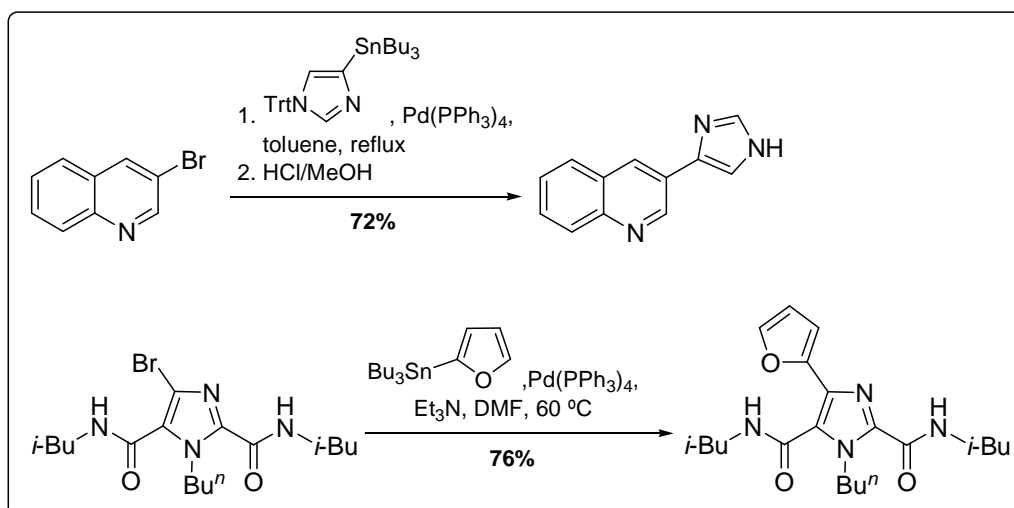
²⁴ (a) Milstein, D.; Stille, J. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 3636. (b) Stille, J. K. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 508.

The Stille coupling is the palladium-catalyzed reaction between an organostannane and an organic halide or pseudohalide, such as a sulfonate or a diazonium salt (Scheme 1.6). Typically, the organostannane is sp^2 - or sp -hybridised (aryl, alkenyl, alkynyl), but also alkyl-, allyl- and benzyl-stannanes have been used. The reactivity follows the order alkynyl > alkenyl > aryl > allyl ~ benzyl > alkyl. Apart from palladium (0), copper (I) halides and manganese (II) bromide efficiently catalyze the Stille reaction.²⁵



Scheme 1.6. The Stille reaction

The Stille reaction is widely used in the synthesis of unsymmetrical biaryls and, in particular, it has been applied to the arylation at position 4 of an imidazole ring, where the imidazole derivative was either the organostannane reagent^{21a-b,26} or the organohalide²⁷ (Scheme 1.7).



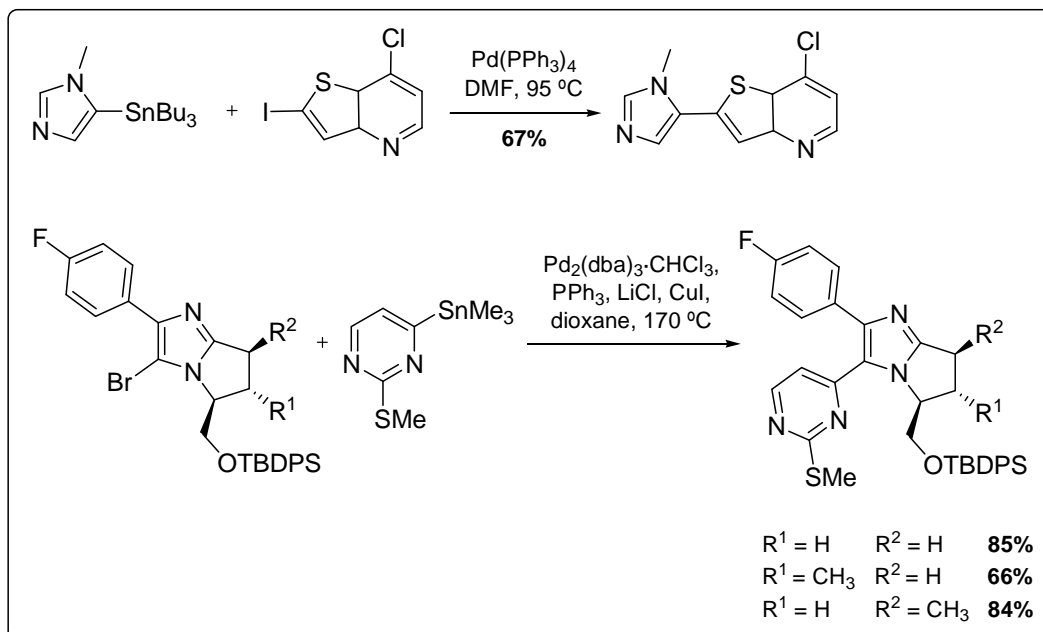
Scheme 1.7. Arylation at position 4 of an imidazole via a Stille reaction

²⁵ (a) Kang, S. -K.; Kim, J. -S.; Choi, S. -C. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 4208. (b) Nudelman, N. S.; Carro, C. *Synlett* **1999**, 1942.

²⁶ (a) Cliff, M. D.; Pyne, S. G. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 13703. (b) Hervet, M.; Théry, I.; Gueiffier, A.; Enguehard-Gueiffier, C. *Helv. Chim. Acta* **2003**, *86*, 3461.

²⁷ Chittiboyina, A. G.; Raji, C.; Blake, E.; Avery, M. A. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 1869.

Similarly, the Stille reaction has been applied to the arylation at position 5 of an imidazole derivative (Scheme 1.8).^{21b,28}



Scheme 1.8. Arylation at position 5 of an imidazole via a Stille reaction

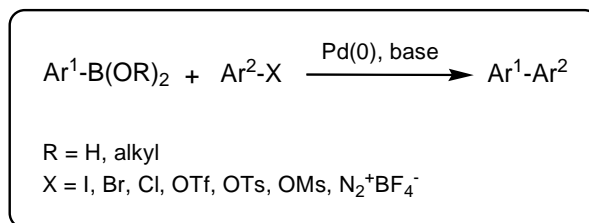
Stille reaction conditions are compatible with most common functional groups. However, the most important drawbacks of this reaction are the extreme toxicity of the organostannanes and their low polarity, being insoluble in water and hindering the purification of the final product.

1.2.4 The Suzuki-Miyaura reaction

1.2.4.1 General survey of the Suzuki-Miyaura reaction

The Suzuki-Miyaura cross-coupling is considered as the most important method for the synthesis of unsymmetrical biaryls. It usually consists on the reaction of arylboronic acids or arylboronates with aryl halides or pseudohalides, such as sulfonates or diazonium salts, catalyzed by a palladium (0) complex and in the presence of a negatively charged base (Scheme 1.9).²²

²⁸ (a) Choshi, T.; Yamada, S.; Sugino, E.; Kuwada, T.; Hibino, S. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 5899. (b) Achab, S.; Guyot, M.; Potier, P. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 2615. (c) Revesz, L.; Bonne, F.; Makavou, P. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 5171. (d) Achab, S.; Diker, K.; Potier, P. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 8825. (e) Rech, J. C.; Yato, M.; Duckett, D.; Ember, B.; LoGrasso, P. V.; Bergman, R. G.; Ellman, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 490. (f) Markey, M. D.; Ross Kelly, T. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 7441.

**Scheme 1.9.** The Suzuki-Miyaura reaction

The most common bases in the Suzuki-Miyaura cross-coupling are sodium or potassium carbonate, phosphate, or hydroxide. They are used as an aqueous solution or as a suspension in toluene, dioxane, DME or DMF. The base can be combined with a phase transfer catalyst. When the aryl halide or the arylboronic acid are sterically hindered, a strong base, such as Ba(OH)₂ or KO^tBu, is recommended. Sensitive substrates to base require the use of mild bases, such as KF or CsF.

The palladium catalysts usually used in Suzuki-Miyaura reactions are Pd(PPh₃)₄, Pd₂(dba)₃ or PdCl₂(PPh₃). The two latter require the addition of phosphines. In particular, triarylphosphines are excellent ligands to stabilize the palladium species. However, they are usually toxic, unrecoverable and they frequently hamper the isolation and purification of the desired product as well as the performance of consecutive catalytic steps of a total synthesis.

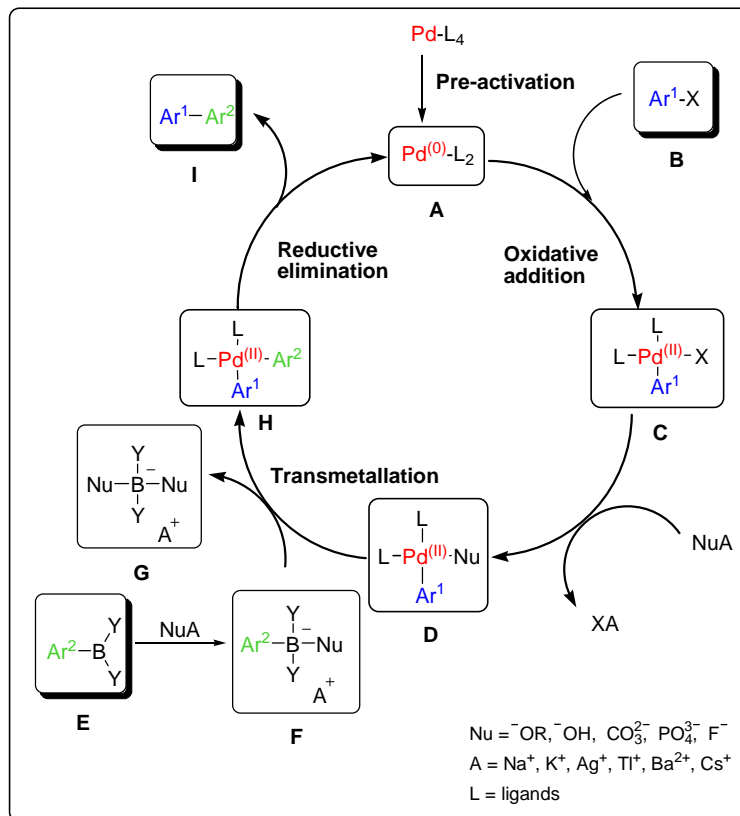
Deoxygenation of reaction mixtures is essential to prevent the homo-coupling of arylboronic acids. Other Suzuki-Miyaura side-reactions are the reductive dehalogenation of the aryl halide or the protodeboronation of the boronic acid, which occur when protic solvents, such as water or alcohols, are used.^{22,29}

Despite these drawbacks, the Suzuki-Miyaura cross-coupling has been widely used for the synthesis of biaryl compounds. The factors that have contributed to widen the scope of this reaction are the commercial availability of the starting materials, the relatively mild reaction conditions required, the tolerance of a broad range of functionalities and the non-toxicity of the boron derivatives. Moreover, it has been applied to the total synthesis of natural and non-natural products, such as unusual amino acids and peptides. Because of all these features, it has gained prominence at an industrial level, mainly in the synthesis of pharmaceuticals.

²⁹ Miyaura, N. *Topics in Current Chemistry*, vol. 219, Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, 2002.

1.2.4.2 Mechanism of the Suzuki-Miyaura reaction

The Suzuki-Miyaura cross-coupling follows a catalytic cycle involving the steps depicted in Scheme 1.10.³⁰



Scheme 1.10. Catalytic cycle of the Suzuki-Miyaura reaction

Firstly, the palladium catalyst is pre-activated by dissociation of two ligands, forming the active complex **A**.

Secondly, the arylpalladium(II) halide **C** is generated by oxidative addition of the aryl halide or pseudohalide **B** to the palladium (0) complex **A**. This is often the rate-determining step in the catalytic cycle. The relative reactivity of the aryl halide or pseudohalide decreases in the order $\text{N}_2\text{X}^+ > \text{I} > \text{Br} > \text{Cl} \geq \text{OTf} \geq \text{OTs}$, OMs. However, the reactivity of aryl triflates and other sulfonates can be slightly different than that presented here. Besides, the presence of electron-withdrawing groups increases the reactivity of the aryl halides.

³⁰ (a) Miyaura, N.; Suzuki, A. *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2457. (b) Suzuki, A. *J. Organomet. Chem.* **1999**, *576*, 147. (c) Alonso, F.; Beletskaya, I. P.; Yus, M. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 3047.

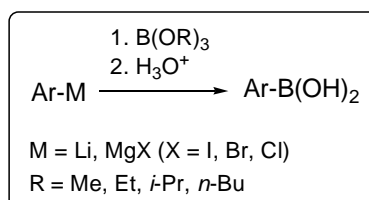
Next, the base replaces the halide in the coordination sphere of the palladium complex **C** yielding the reactive intermediate **D**. Besides, the negatively charged base reacts with the arylboronic acid giving the corresponding ate-complex **F**. The latter reacts with the arylpalladium(II) complex **D** to furnish the diarylpalladium(II) complex **H**, via a transmetallation process, presumably assisted by the metal cation originated from the base.

Finally, a reductive elimination of the diarylpalladium(II) complex **H** yields the biaryl **I**, regenerating the catalytically active palladium (0) complex **A** and closing the catalytic cycle.

1.2.4.3 Synthesis of arylboronic acids

1.2.4.3.1 Synthesis of arylboronic acids using alkyl borates

The classical approach to the synthesis of arylboronic acids involves the reaction of aryl Grignard reagents or aryllithiums with trialkyl borates to afford arylboronic esters followed by mild acid hydrolysis (Scheme 1.11). Usually, triisopropylborate is used and reactions are carried out at temperatures between -25 °C and 0 °C.³¹ The hydrolysis of the arylboronic esters is performed by treatment of the crude reaction mixture with dilute aqueous HCl, AcOH or H₂O at 0 °C to room temperature.



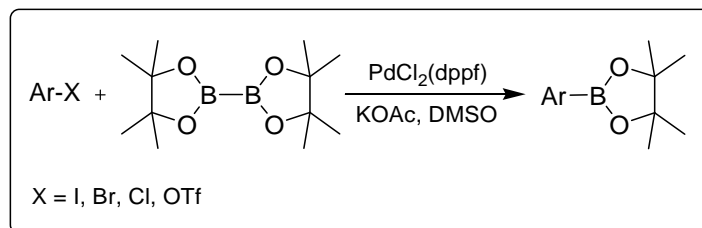
Scheme 1.11. Synthesis of arylboronic acids using trialkyl borates

1.2.4.3.2 Synthesis of arylboronates via a Miyaura borylation

The method described above for the synthesis of arylboronic acids is limited by the incompatibility of some functional groups with the organometallic reagents. Miyaura and co-workers described a milder alternative, amenable to a wider scope of substrates and functionalities, which allows the preparation of arylboronates from aryl halides in one step. They found that bis(pinacolato)diboron undergoes a smooth cross-

³¹ Brown, H.; Cole, T. E. *Organometallics* **1983**, 2, 1326.

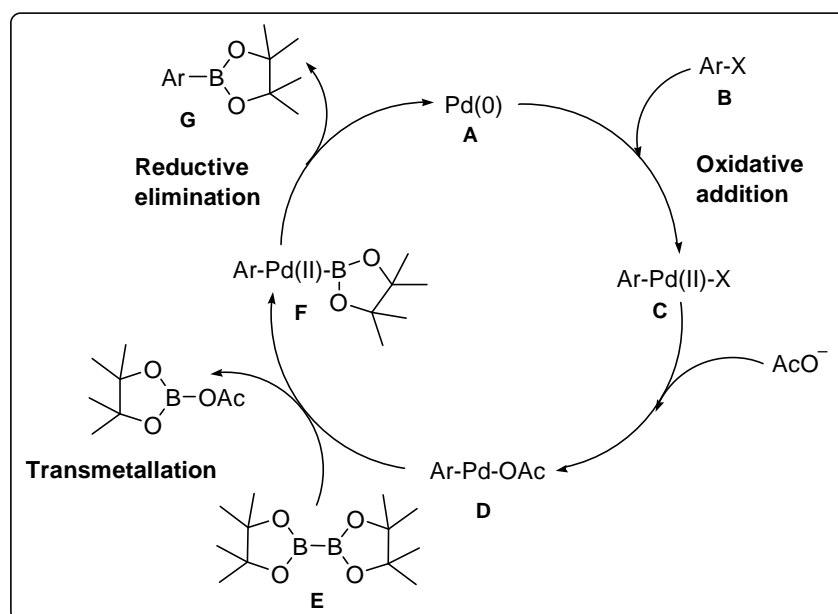
coupling reaction with aryl bromides, iodides or triflates in the presence of a base and a palladium catalyst (Scheme 1.12).³²



Scheme 1.12. Synthesis of arylboronates via a Miyaura reaction

The use of KOAc is essential not only to accelerate the reaction but also to prevent the formation of biaryl byproducts. The catalyst commonly used for the reactions with aryl iodides and bromides is PdCl₂(dppf), whereas for aryl chlorides and electron-rich aryl bromides or triflates, palladium complexes with electrodonating ligands, such as PCy₃ and *N*-heterocyclic carbenes, are advantageous. The reaction is accelerated in polar solvents, e.g. DMSO ≥ DMF > dioxane > toluene.

The Miyaura reaction mechanism follows the catalytic cycle depicted in Scheme 1.13.



Scheme 1.13. Catalytic cycle of the Miyaura reaction

³² (a) Ishiyama, T.; Murata, M.; Miyaura, N. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7508. (b) Ishiyama, T.; Miyaura, N. *J. Organomet. Chem.* **2000**, *611*, 392. (c) Ishiyama, T.; Ishida, K.; Miyaura, N. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 9813.

The first step of this catalytic cycle involves the oxidative addition of an aryl halide or pseudohalide **B** to the Pd(0) complex **A** to give the arylpalladium (II) halide adduct **C**.

Next, KOAc displaces the halide from the palladium complex **C** yielding the acetoxypalladium (II) intermediate **D**.

The following step is a transmetalation between **D** and bis(pinacolato)diboron **E** under neutral conditions to furnish the palladium complex **F**.

Finally, a reductive elimination of the complex **F** gives the pinacol derivative **G**, regenerating the Pd(0) complex **A** and closing the catalytic cycle.

1.2.4.4 Synthesis of 4(5)-arylimidazoles via a Suzuki-Miyaura reaction

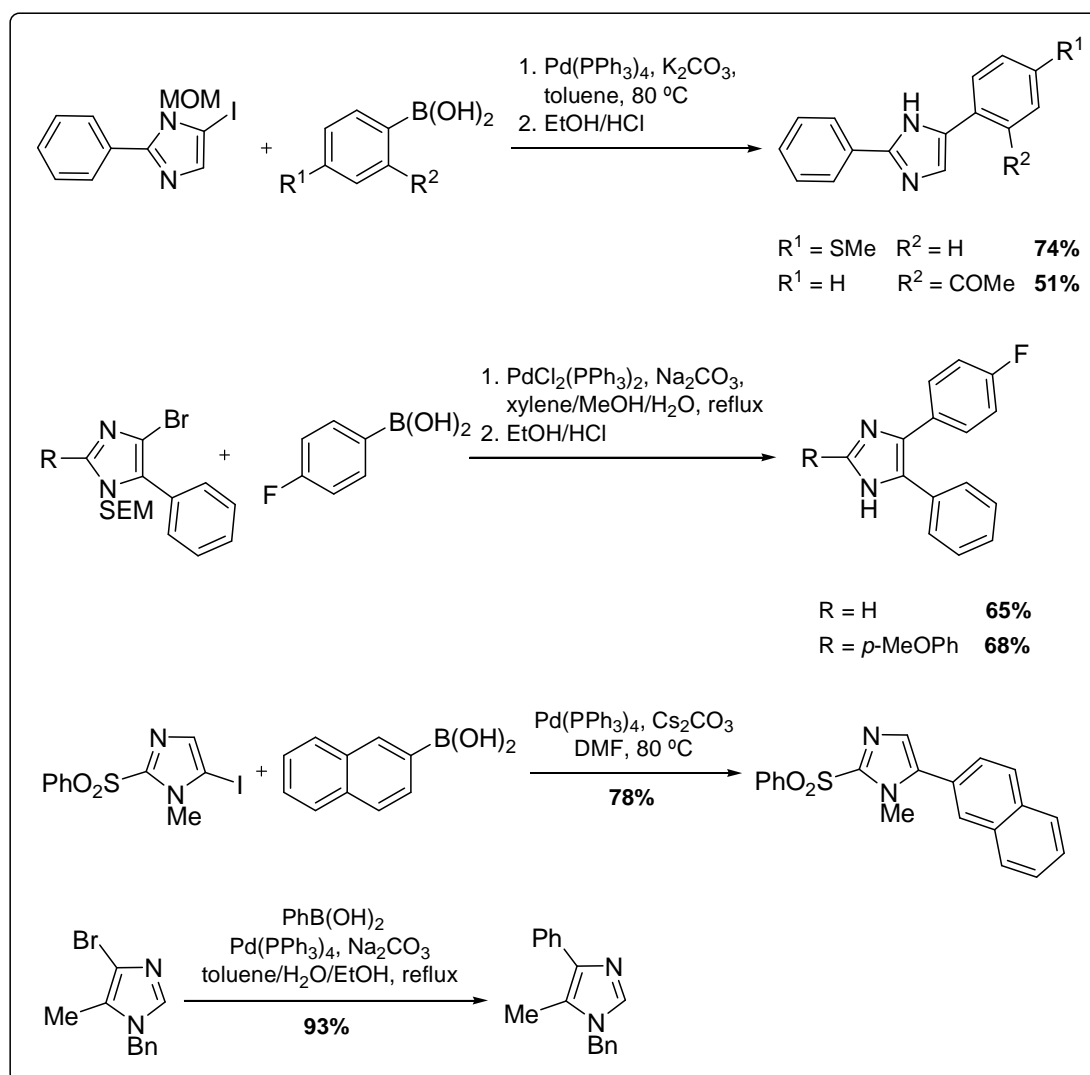
The Suzuki-Miyaura reaction has been employed for the arylation at positions 4 or 5 of an imidazole ring. Most of these cross-couplings have been carried out using *N*-protected imidazolyl halides affording the corresponding arylimidazoles in moderate to good yields (Scheme 1.14). Among the imidazole protecting groups used, there are methoxymethyl ether (MOM),³³ 2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl (SEM),^{28c,33a,34} benzyl^{16,21c,35} or several alkyls.^{21c,27,36}

³³ (a) Kawasaki, I.; Yamashita, M.; Ohta, S. *Chem. Pharm. Bull.* **1996**, *44*, 1831. (b) Langhammer, I.; Erker, T. *Heterocycles* **2005**, *65*, 1975.

³⁴ (a) Kawasaki, I.; Katsuma, H.; Nakoyama, Y.; Yamashita, M.; Ohta, S. *Heterocycles* **1998**, *48*, 1887. (b) Revesz, L.; Bonne, F.; Makavou, P. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 5171. (c) Breslin, H. J.; Cai, C.; He, W.; Kavash, R. W. WO 2005/090315.

³⁵ Wang, D.; Haseltine, J. *J. Heterocyclic Chem.* **1994**, *31*, 1637.

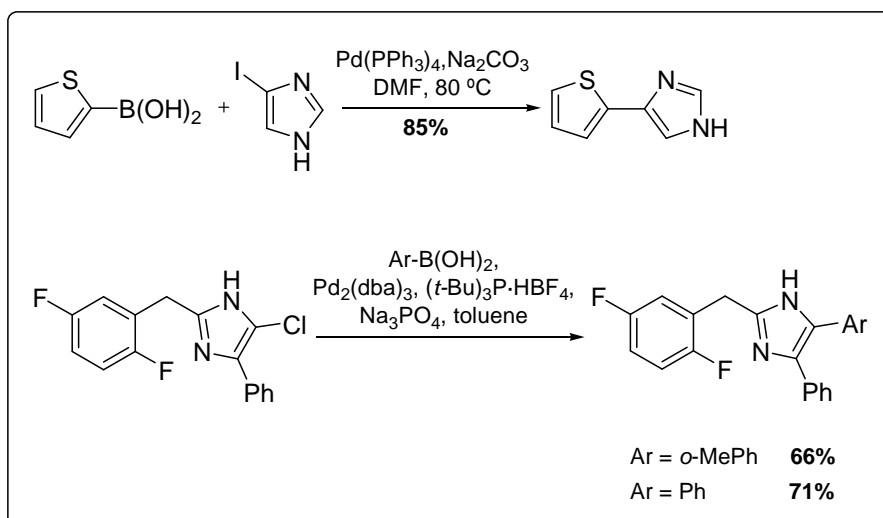
³⁶ (a) Blass, B. E.; Huang, C. T.; Kawamoto, R. M.; Li, M.; Liu, S.; Portlock, D. E.; Rennells, W. M.; Simmons, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 1543. (b) Maynard, G.; Gustavson, L.; Han, B. WO 03/093263 A1. (c) Wei, H.; Sudini, R.; Yin, H. *Org. Process Res. Dev.* **2004**, *8*, 955. (d) Delest, B.; Nishimyumukiza, P.; Fasbender, O.; Tinant, B.; Marchand-Brynaert, J.; Darro, F.; Robiette, R. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 6816.



Scheme 1.14. Arylation of *N*-protected imidazolyl halides via a Suzuki-Miyaura reaction

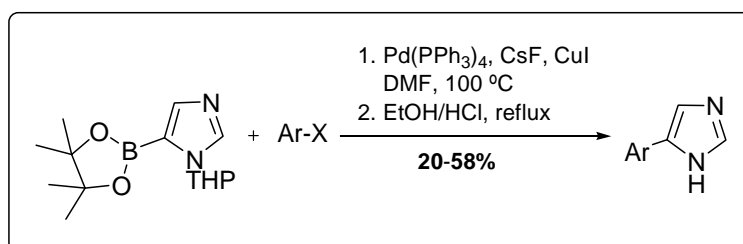
In the literature, there are also examples of Suzuki-Miyaura reactions involving unprotected imidazolyl halides, which yield the corresponding arylimidazoles in good yields (Scheme 1.15).³⁷

³⁷ (a) Heerding, D. A.; Chan, G.; DeWolf, W. E.; Fosberry, A. P.; Janson, C. A.; Jaworsky, D. D.; McManus, E.; Miller, W. H.; Moore, T. D.; Payne, D. J.; Qiu, X.; Rittenhouse, S. F.; Slater-Radosti, C.; Smith, W.; Takata, D. T.; Vaidya, K. S.; Yuan, C. C. K.; Huffman, W.F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 2061. (b) Zhong, Y.-L.; Lee, J.; Reamer, R. A.; Askin, D. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 929.



Scheme 1.15. Arylation of unprotected imidazolyl halides

Moreover, Primas et al. have recently described a Suzuki-Miyaura reaction using an imidazole derivative as organoboron reagent (Scheme 1.16).³⁸



Scheme 1.16. Suzuki-Miyaura reaction using an organoboron imidazole

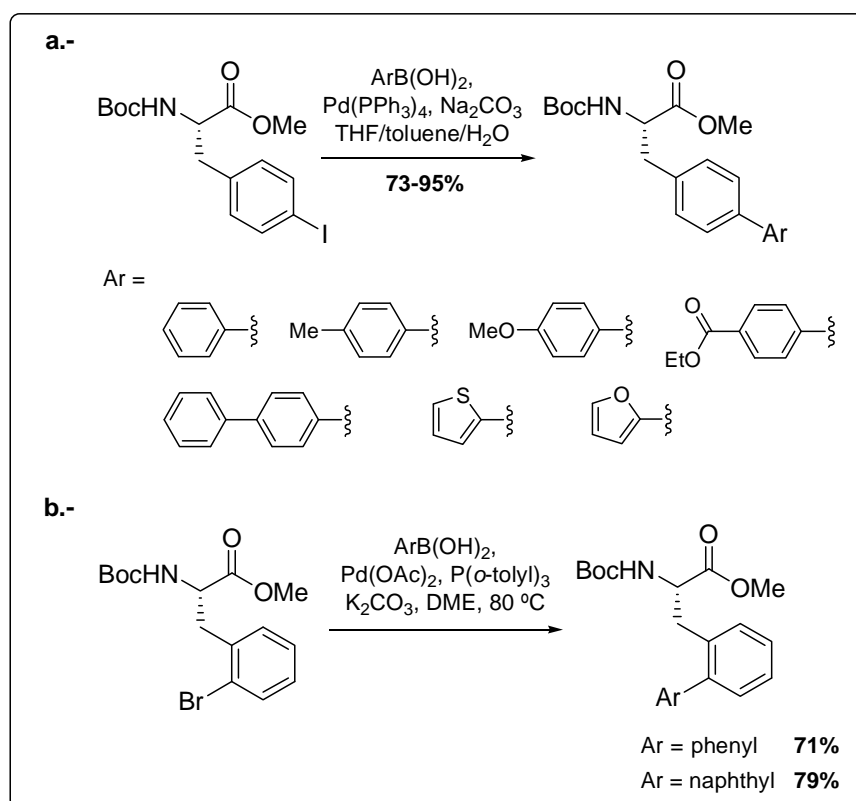
³⁸ Primas, N.; Mahatsekake, C.; Bouillon, A.; Lancelot, J.- C.; Sopková-de Oliveira Santos, J.; Lohier, J.- F.; Rault, S. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 4596.

1.3 Synthesis of biaryl amino acids via a Suzuki-Miyaura reaction

1.3.1 Synthesis of biaryl amino acids via a Suzuki-Miyaura reaction under conventional heating

The versatility of the Suzuki-Miyaura reaction has prompted its application to the synthesis of biaryl amino acids. In this regard, it has been extensively used for the arylation of the aromatic side-chain of phenylalanine and tyrosine, both in solution and on solid-phase.

Arylphenylalanines and aryltyrosines have been obtained by cross-coupling of the halo amino acid derivative with an arylboronic acid. Kotha et al. synthesized a small library of 4-arylphenylalanines by reacting a 4-iodophenylalanine with several phenyl and heteroarylboronic acids in the presence of $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ as catalyst (Scheme 1.17a).³⁹ Similarly, Wang et al. prepared 2-arylphenylalanines from a 2-bromophenylalanine by cross-coupling with phenyl or naphthylboronic acids (Scheme 1.17b).⁴⁰

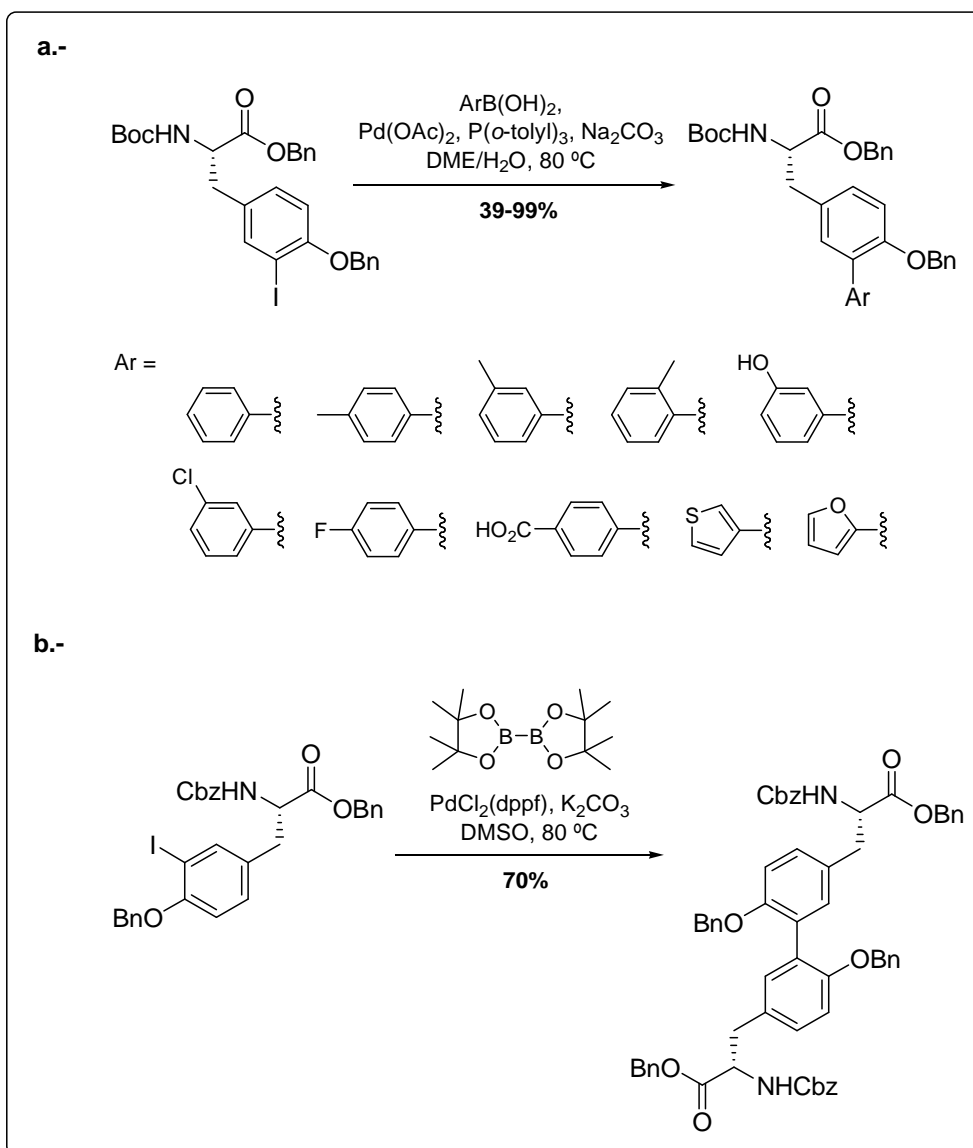


Scheme 1.17. Synthesis of arylphenylalanines

³⁹ (a) Kotha, S.; Lahiri, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 2887. (b) Kotha, S.; Lahiri, K. *Biopolymers* **2003**, *69*, 517.

⁴⁰ Wang, W.; Cai, M.; Xiong, C.; Zhang, J.; Trivedi, D.; Hruby, V. J. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 7365.

3-Aryltyrosines were synthesized by Knör et al. through arylation of a conveniently protected 3-iodotyrosine with several arylboronic acids, using $\text{Pd}(\text{OAc})_2/\text{P}(o\text{-tolyl})_3$ (Scheme 1.18a).⁴¹ Starting also from a 3-iodotyrosine, Skaff et al. described the synthesis of a dityrosine derivative through a one-pot tandem Miyaura borylation-Suzuki coupling (Scheme 1.18b).⁴²



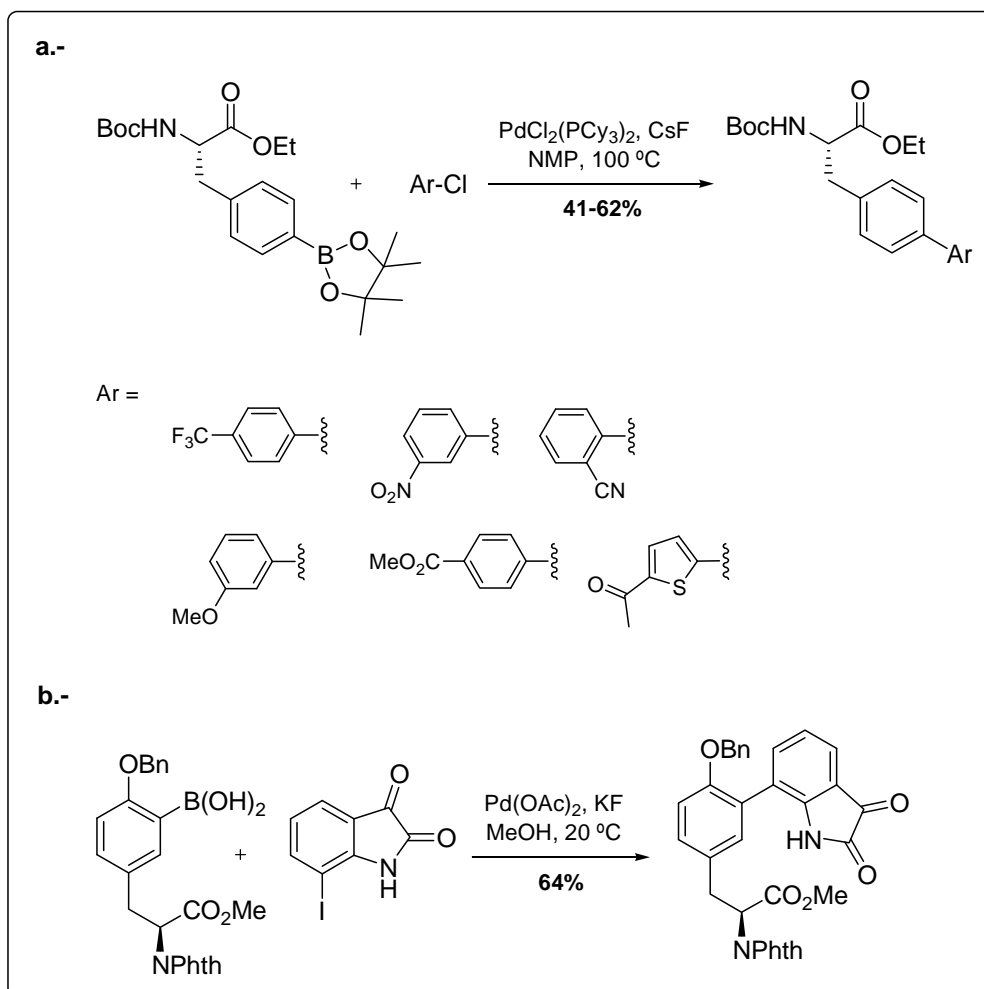
Scheme 1.18. Synthesis of aryltyrosines

On the other hand, arylphenylalanines and aryltyrosines have also been obtained by coupling of the borono amino acid derivative with an aryl halide. For instance, Firooznia et al. prepared a library of 4-arylphenylalanines via a Suzuki-Miyaura reaction between

⁴¹ Knör, S.; Laufer, B.; Kessler, H. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 5625.

⁴² Skaff, O.; Jolliffe, K. A.; Hutton, C. A. *J. Org. Chem.* **2005**, *7363*.

a 4-pinacolylboronophenylalanine and several aryl chlorides (Scheme 1.19a).⁴³ An isatinyltyrosine was synthesized by Ma et al. via a ligandless Pd(OAc)₂-catalyzed Suzuki-Miyaura coupling of 7-iodoisatin with a conveniently protected 3-boronotyrosine (Scheme 1.19b).⁴⁴



Scheme 1.19. Synthesis of arylphenylalanines and aryltyrosines

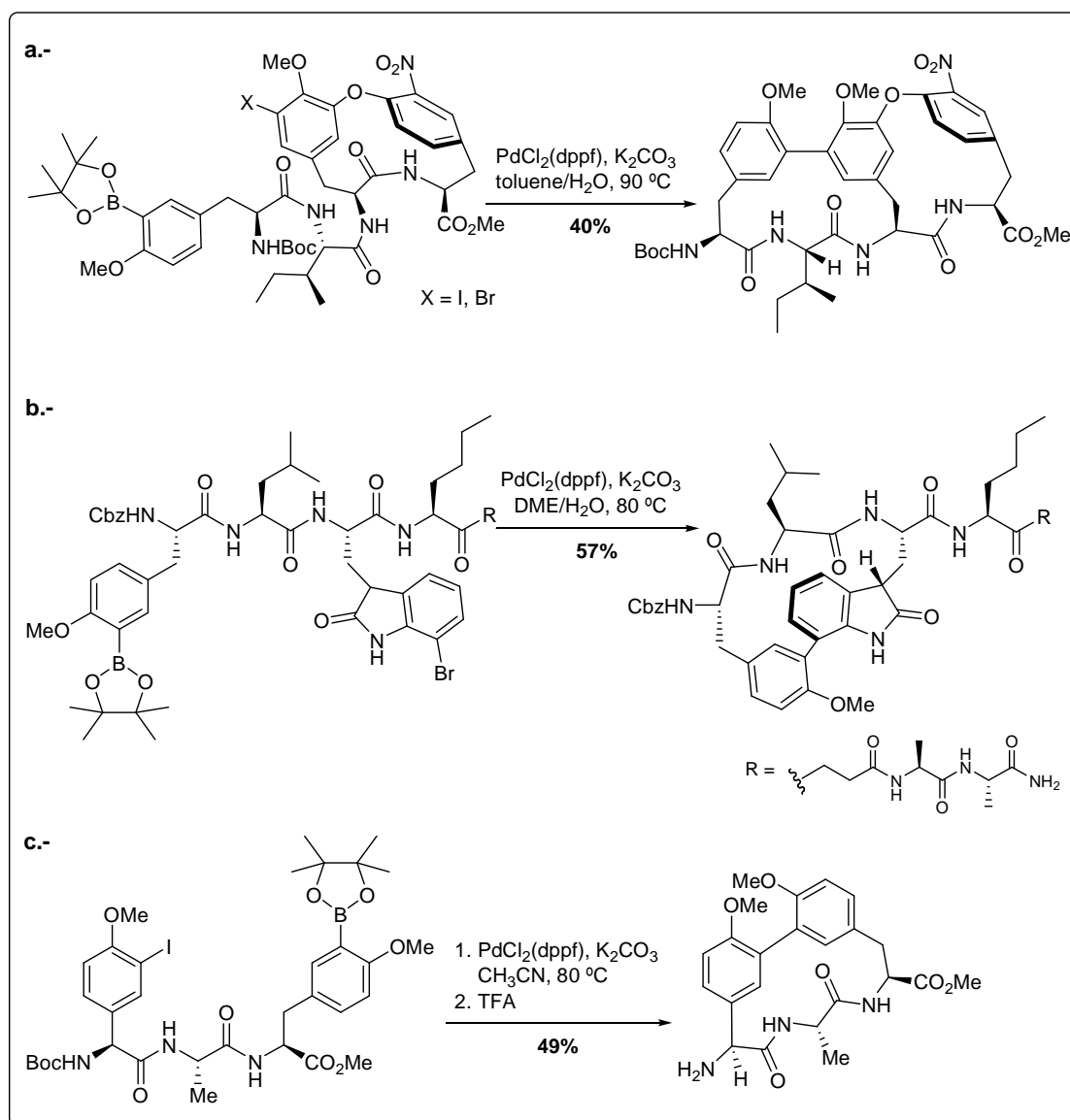
Moreover, intramolecular Suzuki-Miyaura couplings have been applied to the macrocyclization of peptides to afford cyclic peptides containing biaryl linkages. Using this approach, Zhu and co-workers synthesized an atropdiastereomer of the biaryl cyclic peptide RP-66453 using PdCl₂(dppf) (Scheme 1.20a).⁴⁵ In addition, Kaiser et al. proposed the first synthesis of a TMC-95A analogue via an intramolecular reaction between a 7-bromo-2-oxindole and a conveniently protected 3-

⁴³ Firooznia, F.; Gude, C.; Chan, K.; Satoh, Y. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 3985.

⁴⁴ Ma, D.; Wu, Q. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 5279.

⁴⁵ Bois-Choussy, M.; Cristau, P.; Zhu, J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 4238.

pinacolylboronotyrosine (Scheme 1.20b).⁴⁶ This intramolecular macrocyclization was also applied to the synthesis of the tetracyclic core of arylomycin A₂ by Roberts et al. (Scheme 1.20c).⁴⁷



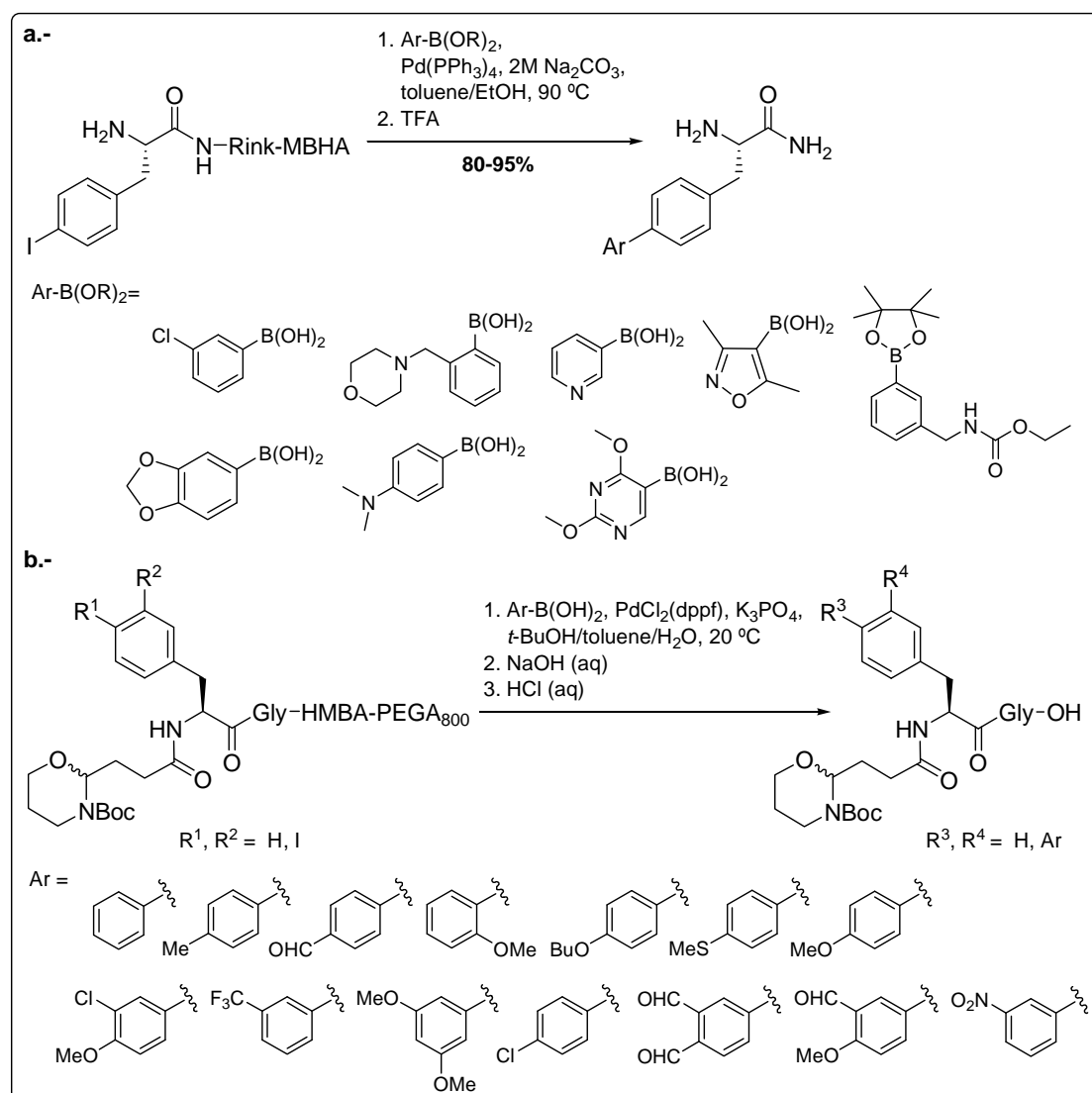
Scheme 1.20. Synthesis of biaryl cyclic peptides via an intramolecular Suzuki-Miyaura reaction

During the last decade, a large number of chemical transformations have been transferred from solution to solid-phase, enabling the design and synthesis of combinatorial libraries for drug discovery research. In particular, the solid-phase synthesis has resulted to be especially valuable for palladium-catalyzed reactions because the palladium catalyst derivative can be easily removed.

⁴⁶ Kaiser, M.; Siciliano, C.; Assfalg-Machleidt, I.; Groll, M.; Milbradt, A. G.; Moroder, L. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3435.

⁴⁷ Roberts, T. C.; Smith, P. A.; Cirz, R. T.; Romesberg, F. E. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 15830.

Some examples of solid-phase synthesis of biaryl amino acids via a Suzuki-Miyaura cross-coupling have been reported. In all of them, the arylation has been carried out with the halo amino acid linked onto the solid support and the arylboronic acid added in solution. In this context, Colombo et al. applied a Pd-catalyzed Suzuki-Miyaura cross-coupling to obtain a library of 4-arylphenylalanines (Scheme 1.21a).⁴⁸ Similarly, Nielsen et al. prepared peptides containing 3- or 4-arylphenylalanines via the arylation of a 3- or 4-iodophenylalanine residue with several boronic acids (Scheme 1.21b).⁴⁹



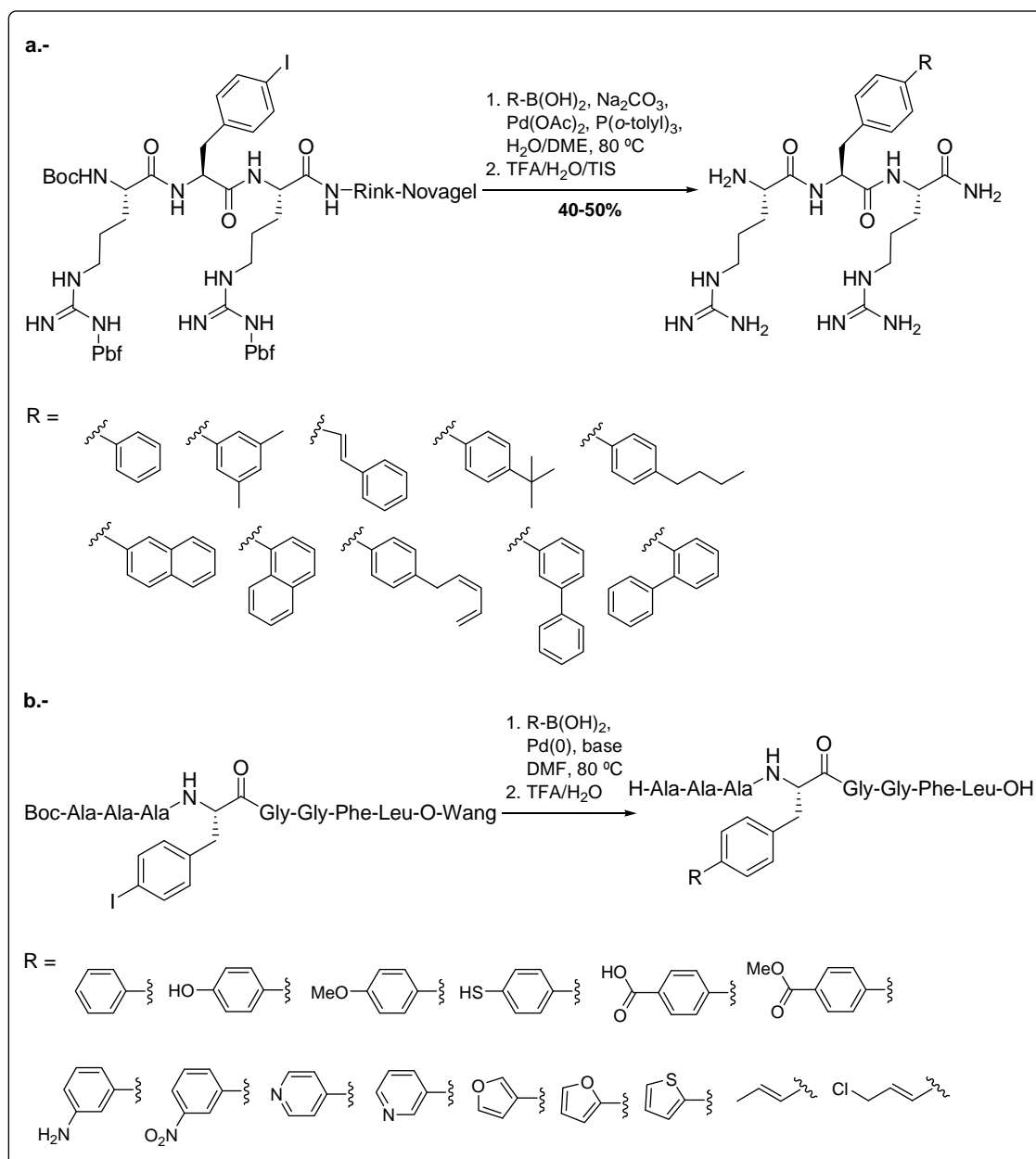
Scheme 1.21. Solid-phase synthesis of biaryl amino acids

Similarly, Haug et al. synthesized a library of tripeptides containing a 4-arylphenylalanine residue by coupling of the tripeptidyl resin Boc-Arg(Pbf)-Phe(4-I)-

⁴⁸ Colombo, A.; Fernández, J. C.; de la Figuera, N.; Fernández-Forner, D.; Forns, P.; Albericio, F. *QSAR Comb. Sci.* **2005**, *24*, 913.

⁴⁹ Nielsen, T. E.; Le Quement, S.; Meldal, M. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 7959.

Arg(Pbf)-Rink-MBHA with a variety of boronic acids (Scheme 1.22a).⁵⁰ An analogous strategy was used by Doan et al. to prepare a library of octapeptides bearing an arylphenylalanine residue (Scheme 1.22b).⁵¹



Scheme 1.22. Synthesis of biaryl peptides via a solid-phase Suzuki-Miyaura reaction

⁵⁰ Haug, B. E.; Stensen, W.; Svendsen, J. S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 2361.

⁵¹ Doan, N.-D.; Bourgault, S.; Létourneau, M.; Fournier, A. *J. Comb. Chem.* **2008**, *10*, 44.

1.3.2 Synthesis of biaryl amino acids by a microwave-assisted Suzuki-Miyaura reaction

1.3.2.1 Microwave-assisted organic synthesis

In the past few years, microwave-assisted organic synthesis has become a technique increasingly popular in the synthetic chemistry community, being widely used in academic and industrial laboratories.⁵²

This technique is mainly based on the efficient heating of materials by “microwave dielectric heating effects”. This phenomenon is dependent on the ability of a specific material (solvent or reagent) to absorb microwave energy and convert it to heat. Microwave irradiation causes heating by two mechanisms: dipolar polarization and ionic conduction. When irradiated at microwave frequencies, the dipoles or ions align in the applied electric field. As the applied field oscillates, the dipole or ion field attempts to realign itself with the alternating electric field and, in the process, energy is lost in the form of heat. The amount of heat generated by this process is directly related to the capacity of the matrix to align itself with the frequency of the applied field. If the dipole does not have enough time to realign, or reorients too quickly with the applied field, no heating occurs. The allocated frequency of 2.45 GHz used in all commercial systems lies between these two extremes and gives the molecular dipole time to align in the field, but not to follow the alternating field precisely.

Traditionally, organic synthesis is carried out by conductive heating with an external heat source, for example, an oil bath. This method depends on the thermal conductivity of the various materials that must be penetrated, being the temperature of the reaction vessel higher than that of the reaction mixture. In contrast, microwave irradiation produces efficient internal heating by direct coupling of the microwave energy with the molecules (solvents, reagents or catalysts) that are present in the reaction mixture. Since the reaction vessels used are typically made out of microwave-transparent materials, an inverted temperature gradient results compared to conventional thermal heating.

In microwave-assisted organic synthesis, reactions frequently occur much faster than under conventional heating, leading to higher yields and cleaner reaction profiles, and

⁵² (a) Larhed, M.; Hallberg, A. *Drug Discov. Today* **2001**, *6*, 406. (b) Kappe, C. O. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6250. (c) Mavandadi, F.; Pilotti, A. *Drug Discov. Today* **2006**, *11*, 165. (d) Kappe, C. O.; Dallinger, D. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2006**, *5*, 51.

allowing for more rapid reaction optimization and library synthesis. In most of these cases, the rate enhancement is the result of a thermal/kinetic effect. This means it is a consequence of the higher reaction temperatures that can rapidly be attained when irradiating polar materials in a microwave field. In addition, the so-called “specific microwave effects” are also thought to contribute to the reaction rate. They are defined as accelerations in rate that cannot be achieved or duplicated by conventional heating, but are essentially attributed to thermal effects. Moreover, the easy on-line control of temperature and pressure profiles in microwave synthesis allows its adaptation to automated sequential or parallel synthesis and leads to more reproducible reaction conditions.

Transition-metal-catalyzed carbon–carbon bond-forming reactions, which typically need hours or days to reach completion with traditional heating and often require an inert atmosphere, represent one of the most important and best studied reaction types under microwave-irradiation. In this case, the inverted temperature gradients achieved increase the lifetime of the catalyst through the elimination of wall effects, promoting the cross-coupling reactions, and increasing their yields and purities.

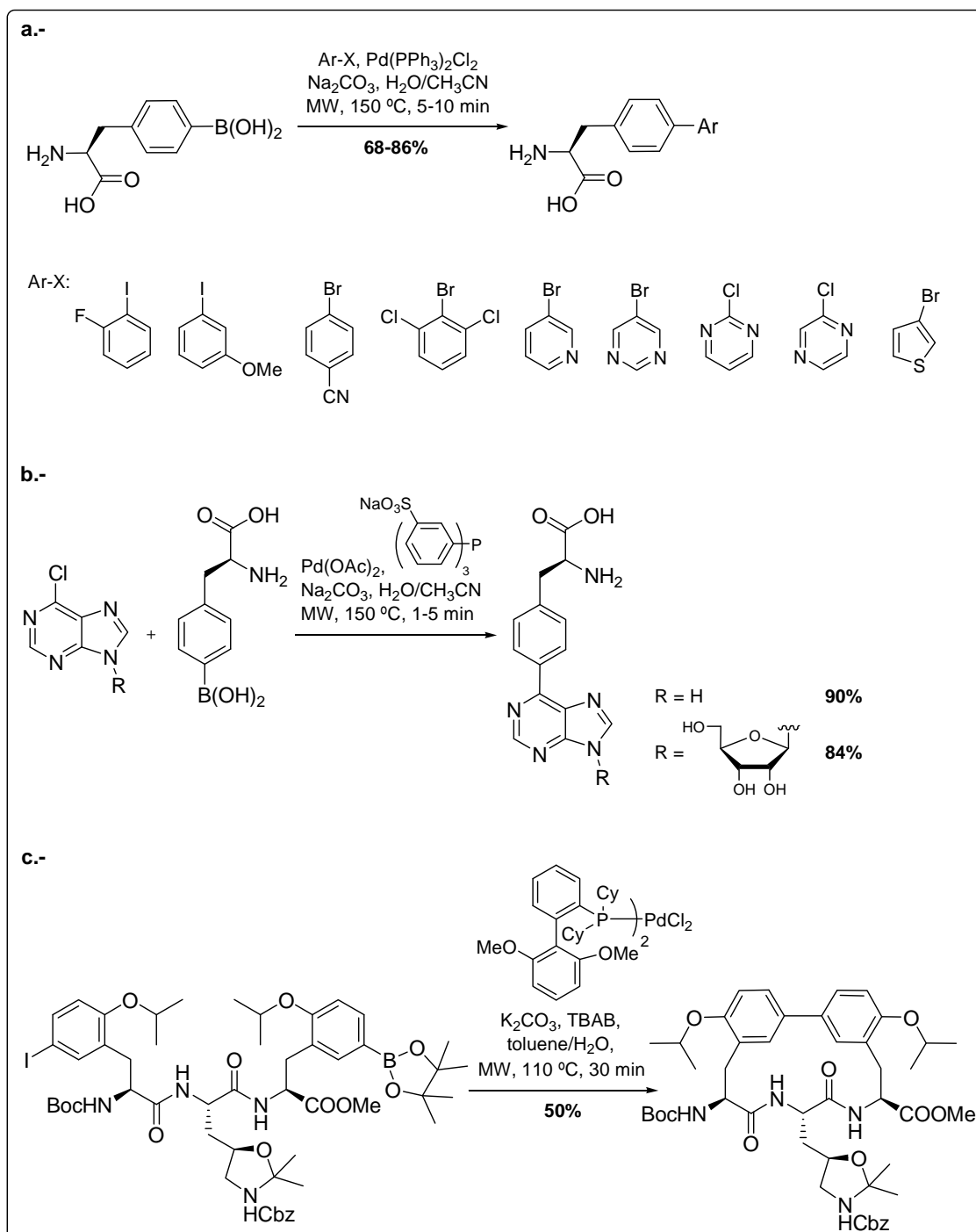
1.3.2.2 Synthesis of biaryl amino acids by microwave-assisted Suzuki-Miyaura reaction

Microwave heating has been applied to the synthesis of biaryl amino acids via a Suzuki-Miyaura reaction. For example, Gong et al. prepared unprotected 4-arylphenylalanines via the cross-coupling of 4-boronophenylalanine with several aryl halides. The biaryl amino acids were obtained in good yields after 5 to 10 min of microwave heating at 150 °C (Scheme 1.23a).⁵³ Similarly, Čapek et al. has applied this approach to the synthesis of purine-amino acid conjugates (Scheme 1.23b).⁵⁴ Moreover, Lépine et al. synthesized biphenomycin B via the microwave-assisted intramolecular Suzuki-Miyaura cross-coupling of the corresponding linear precursor at 110 °C for 30 min (Scheme 1.23c).⁵⁵

⁵³ Gong, Y.; He, W. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3803.

⁵⁴ Čapek, P.; Pohl, R.; Hocek, M. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 2278.

⁵⁵ Lépine, R.; Zhu, J. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 2981.



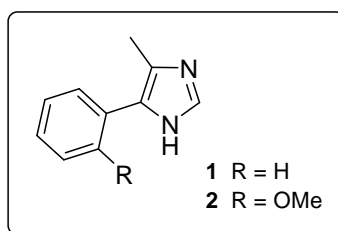
Scheme 1.23. Synthesis of biaryl amino acids by a microwave-assisted Suzuki-Miyaura reaction

Taking into account the numerous advantages of the Suzuki-Miyaura cross-coupling, this thesis was focused on exploring the feasibility of this reaction to the synthesis of 5-arylhistidines.

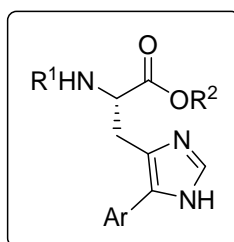
1.4 Objectives

The main objective of this thesis was to determine whether the Suzuki-Miyaura reaction would be amenable to the solid-phase arylation of the imidazole ring of a histidine in order to obtain peptides containing 5-arylhistidines. Therefore, the following aims were proposed:

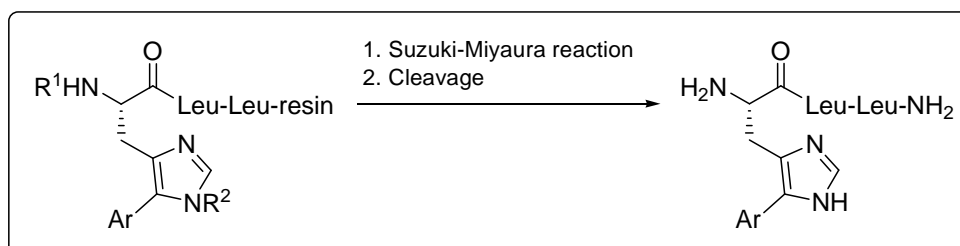
- Synthesis of 4(5)-methyl-5(4)-phenylimidazole (**1**) and 4(5)-methyl-5(4)-(2-methoxyphenyl)imidazole (**2**)



- Synthesis of 5-arylhistidines in solution



- Synthesis of 5-arylhistidines on solid support



- Synthesis of antimicrobial peptides containing 5-arylhistidines and evaluation of their biological activity.

CAPÍTOL 1:

Síntesi de 5-arilhistidines

2.1 Síntesi de 4(5)-aril-5(4)-metilimidazoles

Aquest capítol de la tesi es centra en el desenvolupament d'una metodologia per a la preparació de 5-arilhistidines, per a les quals no existeix cap mètode descrit a la literatura. Tenint en compte que l'etapa clau en la preparació d'aquest tipus de compostos és l'arilació de la posició 4(5) de l'anell d'imidazole, la seva síntesi es va estudiar utilitzant com a models sintètics 4(5)-fenil-5(4)-metilimidazole (**1**) i 4(5)-metil-5(4)-(2-metoxifenil)imidazole (**2**) (Figura 2.1). Aquest últim compost mimetitzava la unió entre les cadenes laterals de residus d'histidina i tirosina de les aciculitines.

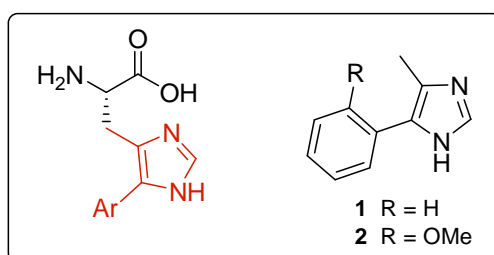
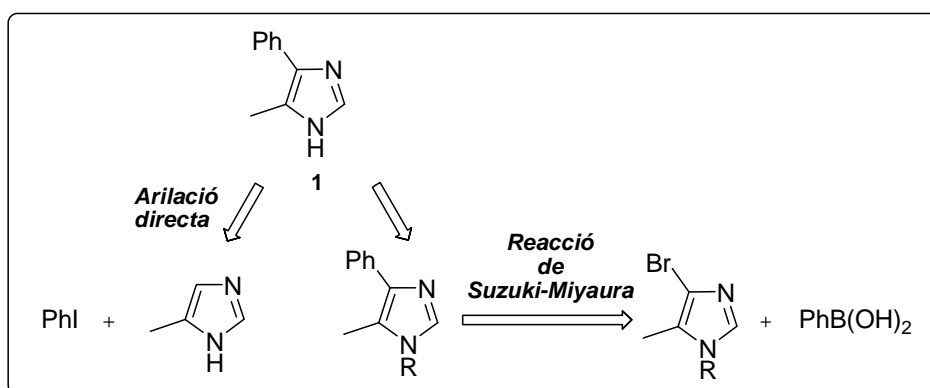


Figura 2.1. 4(5)-Arl-5(4)-metilimidazoles **1** i **2** com a models sintètics de 5-arilhistidines

2.1.1 Síntesi de 4(5)-fenil-5(4)-metilimidazole (**1**)

2.1.1.1 Estratègia general

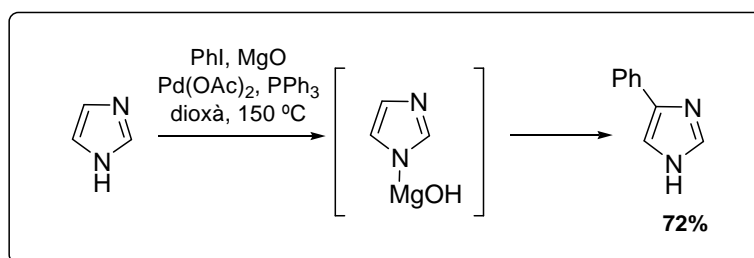
Per a la síntesi de 4(5)-fenil-5(4)-metilimidazole (**1**) es van plantejar dues rutes sintètiques (Esquema 2.1). La primera d'elles implicaria l'arilació directa de 4(5)-metilimidazole amb iodur de fenil. A la segona estratègia, l'arilació es realitzaria mitjançant una reacció de Suzuki-Miyaura entre un bromimidazole i àcid fenilborònic.



Esquema 2.1. Estratègies retrosintètiques per a la preparació de 4(5)-fenil-5(4)-metilimidazole (**1**)

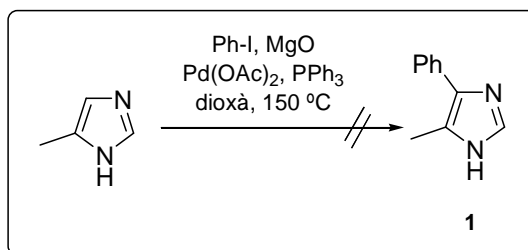
2.1.1.2 Arilació directa

En primer lloc, es va assajar la síntesi de 4(5)-fenil-5(4)-metilimidazole (**1**) seguint el procediment descrit per Sames.⁵⁶ Aquest mètode consistia en l'arilació directa d'anells heterocíclics nitrogenats, com l'imidazole, per tractament amb iodur de fenil en presència de Pd(OAc)₂, PPh₃ i MgO, en dioxà anhidre a 150 °C (Esquema 2.2). Sames va proposar que aquesta reacció transcorre per formació inicial d'una sal de magnesi entre un nitrogen heterocíclic de l'anell d'imidazole i MgO, la qual cosa protegeix l'anell de la seva reacció amb electròfils i n'augmenta la nucleofília.



Esquema 2.2. Esquema general d'arilació directa d'imidazoles proposat per Sames

En aquesta tesi doctoral, aquesta reacció es va assajar pel 4(5)-metilimidazole (Esquema 2.3). Tot i que es varen realitzar diversos assajos variant el temps de reacció i la quantitat de PPh₃, Pd(OAc)₂ i iodur de fenil (Taula 2.1), en cap cas s'observà el producte desitjat **1**, sinó que es va recuperar sempre el producte de partida.



Esquema 2.3. Assaig d'arilació directa de 4(5)-metilimidazole

⁵⁶ Sezen, B.; Sames, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 5274.

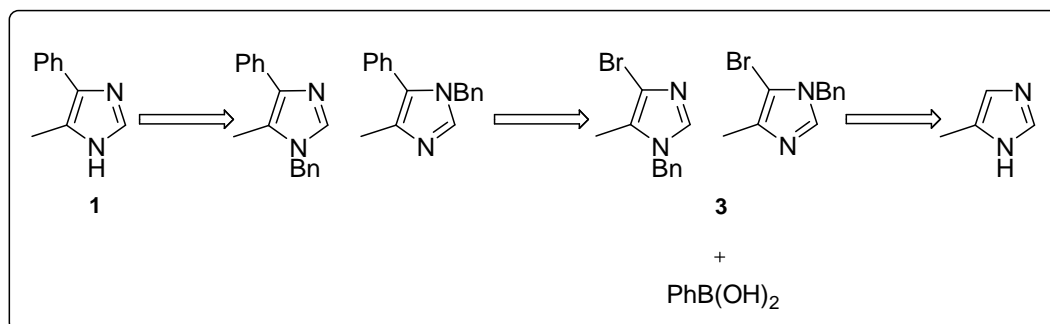
Taula 2.1. Condicions assajades per la reacció de 4(5)-metilimidazole amb iodur de fenil

PPh₃ (% mol)	Pd(OAc)₂ (% mol)	PhI (equiv)	MgO (equiv)	Temps (h)
20	5	1.2	1.2	18
20	5	1.2	1.2	48
20	5	2.4	1.2	60
40	10	1.2	1.2	18
40	10	1.2	1.2	24

L'any 2006, l'article del grup de Sames va ser retirat pel mateix autor ja que les condicions descrites no resultaven ser reproduïbles.⁵⁷

2.1.1.3 Arilació a través d'una reacció de Suzuki-Miyaura

La segona estratègia per a la preparació d'**1** a partir de 4(5)-metilimidazole implicava la síntesi dels benzilbromoimidazoles **3**, arilació a través d'una reacció de Suzuki-Miyaura amb àcid fenilborònic i desprotecció de l'anell d'imidazole (Esquema 2.4).

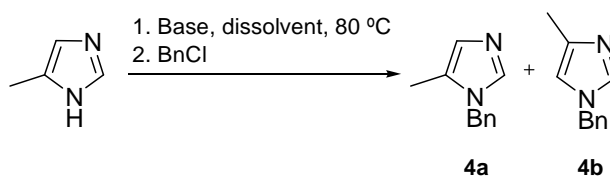


Esquema 2.4. Estratègia retrosintètica per a la síntesi d'**1** a través d'una reacció de Suzuki-Miyaura

2.1.1.3.1 Preparació dels benzilbromoimidazoles **3**

La benzilació de 4(5)-metilimidazole es va realitzar a 80 °C per tractament amb una base i posterior addició de clorur de benzil (Taula 2.2). Es varen assajar diverses condicions modificant el temps de reacció, la base, el dissolvent, així com els equivalents de base i de clorur de benzil.

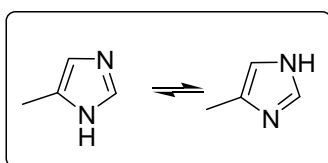
⁵⁷ Sezen, B.; Franz, R.; Sames, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 8364.

Taula 2.2. Condicions assajades per a la benzilació de 4(5)-metilimidazole


Base	Base (equiv)	BnCl (equiv)	Dissolvent	Temps (h)	4a+4b (%)
NaOMe	1	2	MeOH/DMF	48	24
NaOMe	1	2	MeOH/DMF	96	27
NaOMe	2	3	MeOH/DMF	48	14
NaH	1	1	DMSO	48	63
NaH	1	1	DMSO	18	74

Utilitzant NaOMe com a base, es va obtenir una mescla dels regioisòmers **4a** i **4b** amb un rendiment entre 14-27% i es va recuperar producte de partida en tots els casos.⁵⁸ Per tal de millorar aquest resultat es va assajar el mètode descrit per Kashima que consistia en utilitzar NaH com a base.⁵⁹ D'aquesta manera, s'obtingué la barreja **4a** i **4b** amb un 74% de rendiment. Aquests regioisòmers no es varen poder separar per cromatografia en columna.

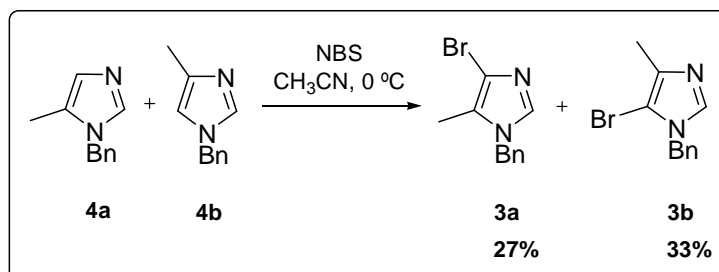
La barreja isomèrica **4a** i **4b** resulta de l'equilibri tautomèric que presenta el 4(5)-metilimidazole, la qual cosa provoca que els àtoms de nitrogen siguin indistingibles (Figura 2.2). La benzilació de cadascun d'aquests tautòmers condueix a cadascun dels regioisòmers **4a** i **4b**. Quan aquesta mescla es va analitzar per espectroscòpia de ¹H-RMN es va observar que la relació entre els dos regioisòmers depenia de la base utilitzada en la benzilació. Quan es va utilitzar NaOMe la relació **4a:4b** era (1:3.3), en canvi NaH va conduir a una relació **4a:4b** de (1:1.3).


Figura 2.2. Tautomeria del 4(5)-metilimidazole

⁵⁸ Godefroi, E. *J. Org. Chem.* **1968**, 33, 860.

⁵⁹ Kashima, C.; Harada, Y.; Hosomi, A. *Heterocycles* **1993**, 35, 433.

La bromació de la mescla **4a** i **4b** (1:1.3) es va realitzar utilitzant *N*-bromosuccinimida (NBS) en CH₃CN anhidre a 0 °C. D'aquesta manera es varen obtenir l'1-benzil-4-bromo-5-metilimidazole (**3a**) i l'1-benzil-5-bromo-4-metilimidazole (**3b**), que es van separar per cromatografia en columna sobre gel de sílice, essent **3a** un sòlid groc (27%) i **3b** un sòlid blanc (33%) (Esquema 2.5).



Esquema 2.5. Síntesi dels benzilbromoimidazoles **3a** i **3b**

Els regioisòmers **3a** i **3b** es varen caracteritzar a partir de les seves dades espectroscòpiques. Si es comparen els espectres de ¹H-RMN de cadascun dels regioisòmers **3a** i **3b** amb el de la mescla de **4a** i **4b** s'observa la desaparició del singlet a 6.87 o a 6.63 ppm, corresponent al protó de la posició 4 o 5 de l'anell d'imidazole, respectivament. A més, en l'anàlisi per ESI-MS s'observa la distribució isotòpica característica del brom.

Els isòmers **3a** i **3b** es van assignar a partir d'experiments de correlació ¹H-¹³C a llarga distància (HMBC) i per difracció de Raigs X (Figures 2.3-2.6). La posició del grup benzil del regioisòmer **3a** fou establerta en base a la correlació observada entre els protons benzílics i el C-5_{imid}. No s'observa correlació entre aquests mateixos protons i el C-4_{imid} (Figura 2.3). De la mateixa manera, la posició del grup benzil del regioisòmer **3b** fou establerta en base a la correlació observada entre els protons benzílics i el C-5_{imid} (Figura 2.5). Les estructures **3a** i **3b** varen ser confirmades per difracció de Raigs X (Figures 2.4 i 2.6).

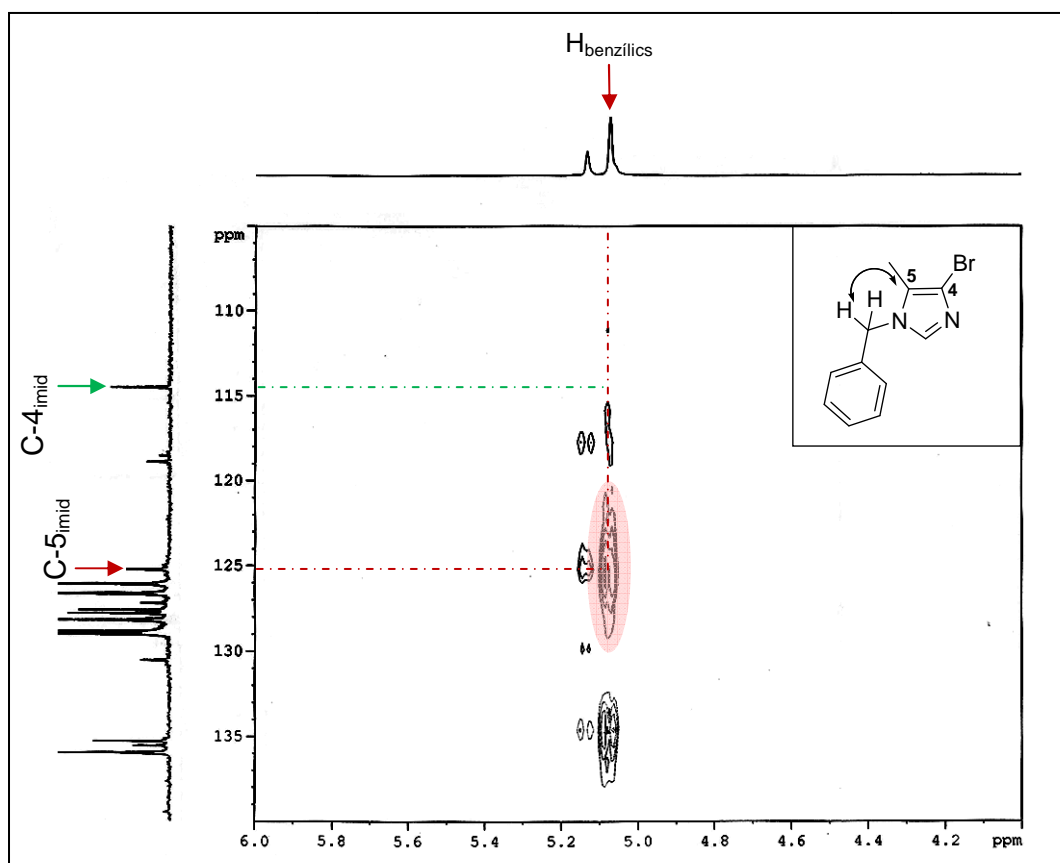


Figura 2.3. HMBC del regioisòmer 3a

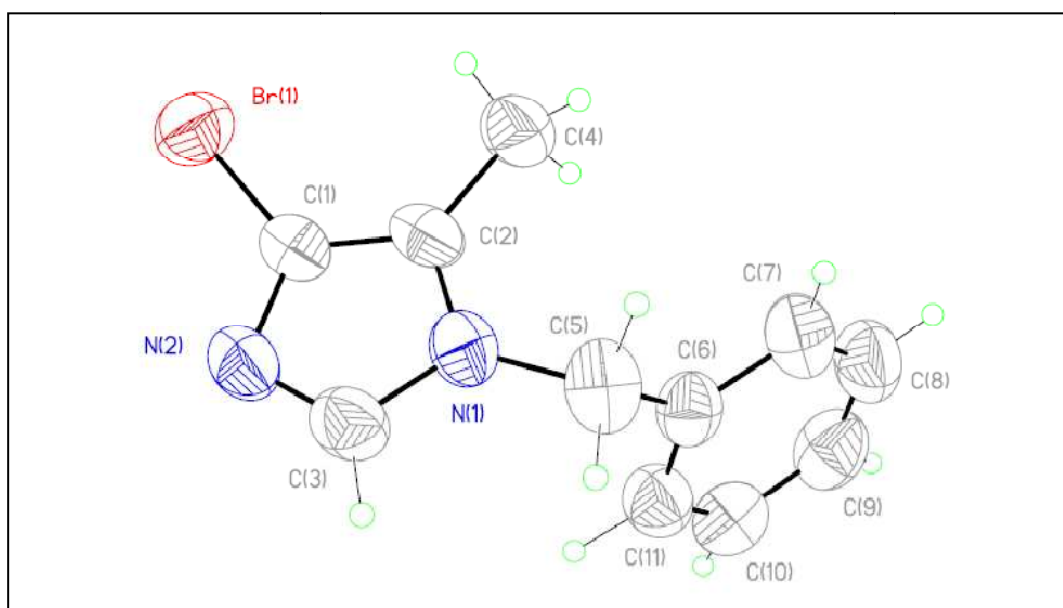


Figura 2.4. Diagrama d'ORTEP del regioisòmer 3a

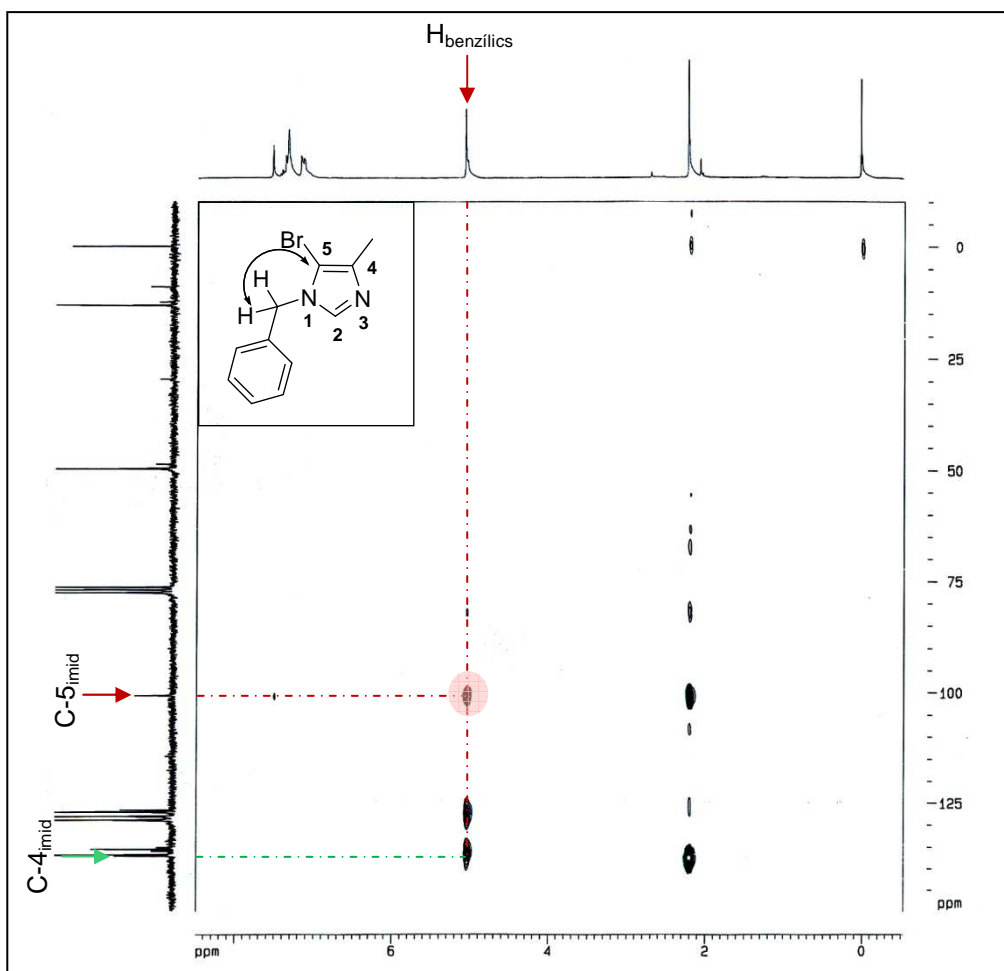


Figura 2.5. HMBC del regioisòmer **3b**

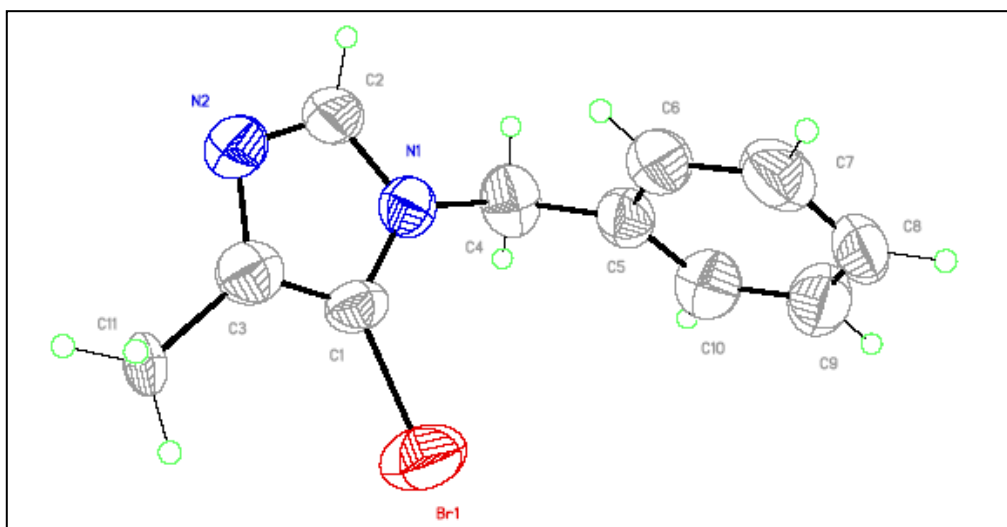
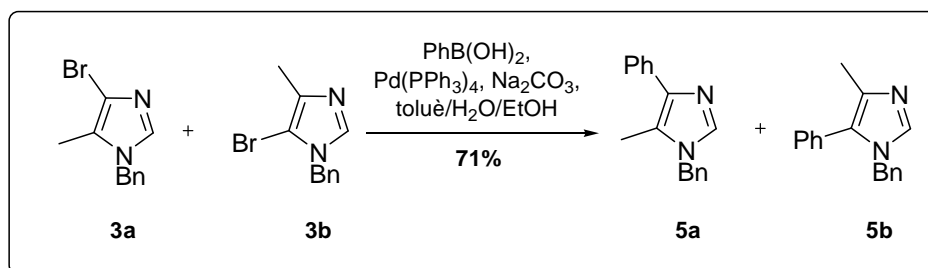


Figura 2.6. Diagrama d'ORTEP del regioisòmer **3b**

2.1.1.3.2 Arilació dels benzilbromoimidazoles **3** a través d'una reacció de Suzuki-Miyaura

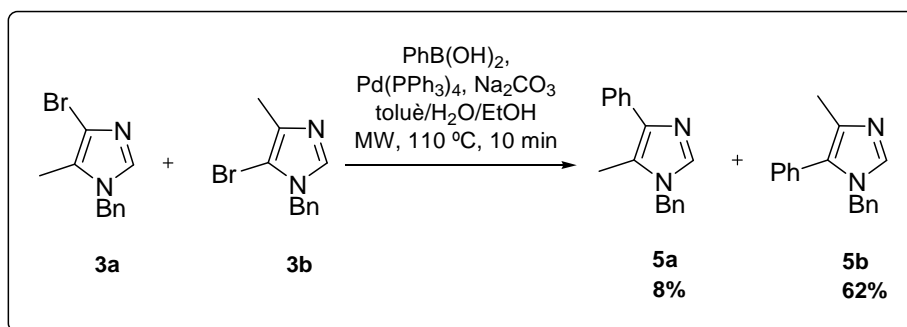
La reacció de Suzuki-Miyaura dels benzilbromoimidazoles **3** amb àcid fenilborònic es va dur a terme segons el mètode descrit per Haseltine per a la síntesi d'1-benzil-4-fenil-5-metilimidazole (**5a**). Aquest mètode implicava la utilització d'àcid fenilborònic (1.1 equiv), Pd(PPh₃)₄ (5% mol) i Na₂CO₃ 2M (4.8 equiv) en una mescla de toluè/H₂O/EtOH totalment desgasada. La reacció es va portar a terme sota atmosfera de nitrogen i a reflux de toluè. Després de 24 h, es va obtenir una mescla dels fenilimidazoles regioisomèrics **5a** i **5b** juntament amb òxid de trifenilfosfina, el qual no es va poder separar mitjançant cromatografia en columna. A partir de l'espectre de ¹H-RMN d'aquesta mescla es va observar que la relació entre els imidazoles **5** i l'òxid de trifenilfosfina era de (7:1). D'aquesta relació es va calcular que la mescla **5a** i **5b** s'obtenia amb un rendiment del 71% (Esquema 2.6). Aquesta mescla de reacció es va fer servir directament en l'etapa següent de desbenzilació.



Esquema 2.6. Preparació de **5a** i **5b** a reflux

Per tal de disminuir el temps de reacció, aquesta arilació es va assajar sota irradiació microones (Esquema 2.7).⁶⁰ La mescla de reacció es va sotmetre a una rampa de microones, amb una potència màxima de 300 W, durant 7 min fins arribar a 110 °C. Un cop assolida aquesta temperatura, el cru de reacció es va irradiar durant 10 min amb agitació constant i sota atmosfera de nitrogen, obtenint-se la barreja **5a** i **5b**. Aquests isòmers es van separar per cromatografia en columna, aïllant-se, d'una banda, **5a** com un oli transparent amb un rendiment del 8% i, d'altra banda, una barreja de **5b** i òxid de trifenilfosfina. A partir de l'espectre de ¹H-RMN d'aquesta barreja es va observar que la relació entre **5b** i l'òxid de trifenilfosfina era (7:1). D'aquesta relació es va calcular que el rendiment del regioisòmer **5b** era del 62%.

⁶⁰ Cerezo, V.; Afonso, A.; Planas, M.; Feliu, L. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 10445.

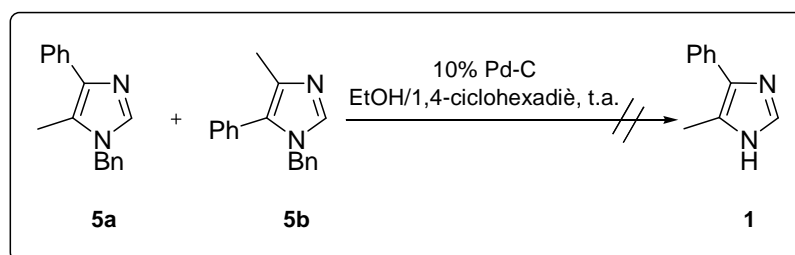


Esquema 2.7. Preparació de **5a** i **5b** mitjançant irradiació microones

Si comparem la síntesi de **5** a reflux i sota irradiació microones, tots dos procediments donen rendiments similars, però la irradiació microones permet una reducció significativa del temps de reacció de 24 h a 10 min. A la literatura s'han descrit reaccions d'acoblament creuat de diferents heterocicles assistides per microones, però aquest és el primer exemple d'arilació d'un derivat imidazòlic utilitzant aquesta tecnologia.

2.1.1.3.3 Desbenzilació dels benzilfenilimidazoles **5**

La desbenzilació dels benzilfenilimidazoles **5** es va assajar, en primer lloc, per transferència catalítica d'hidrogen (Esquema 2.8).⁶¹ Els imidazoles **5** es van tractar amb 1,4-ciclohexadiè i 10% Pd-C en EtOH a temperatura ambient. Aquest assaig va resultar infructuós, ja que després de 24 h de reacció es va recuperar el producte de partida.

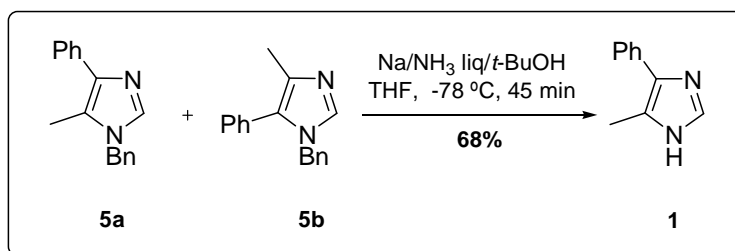


Esquema 2.8. Assaig de desbenzilació de **5a** i **5b** per transferència catalítica d'hidrogen

A continuació, es va assajar la desbenzilació de **5** per reacció amb Na metàl·lic en NH₃ líquid a -78 °C (Esquema 2.9).⁶² Després de 45 min de reacció, es va obtenir 4(5)-fenil-5(4)-metilimidazole (**1**) amb un 68% de rendiment, recuperant-se un 17% de producte de partida.

⁶¹ Fèlix, A. M.; Heimer, E. P.; Lambros, T. J.; Tzougraki, C.; Meienhofer, J. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 4194.

⁶² Rao, T. S.; Pandey, P. S. *Synth. Commun.* **2004**, *34*, 3121.



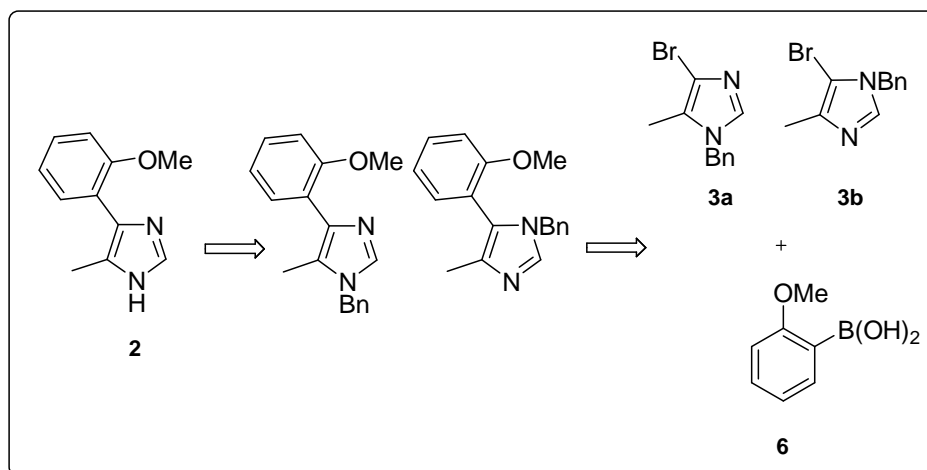
Esquema 2.9. Síntesi d'**1** per desbenzilació de **5a** i **5b**

El fenylimidazole **1** es va caracteritzar mitjançant ^1H - i ^{13}C -RMN i espectrometria de masses. Comparant l'espectre de ^1H -RMN d'**1** amb el dels benzilfenylimidazoles **5** s'observa la desaparició del singlet a ~ 5 ppm corresponent als protons benzílics. L'estructura d'**1** es va confirmar per ESI-MS, observant-se un senyal a 159.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

2.1.2 Síntesi de 4(5)-metil-5(4)-(2-metoxifenil)imidazole (**2**)

2.1.2.1 Estratègia general

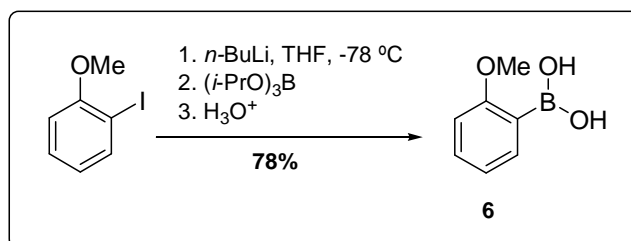
L'estratègia per a la síntesi del 4(5)-metil-5(4)-(2-metoxifenil)imidazole (**2**) mitjançant una reacció de Suzuki-Miyaura és anàloga a la descrita per a la preparació del fenylimidazole **1** però utilitzant com a organoborà l'àcid 2-metoxifenilborònic (**6**) (Esquema 2.10).



Esquema 2.10. Estratègia retrosintètica per a la preparació de **2**

2.1.2.2 Síntesi de l'àcid 2-metoxifenilborònic (**6**)

La síntesi de l'àcid 2-metoxifenilborònic (**6**) es va realitzar seguint el mètode clàssic de síntesi d'àcids borònics (Esquema 2.11).⁶³ El 2-iodoanisol comercial es va tractar amb *n*-BuLi en THF anhidre a -78 °C sota atmosfera de nitrogen i, posteriorment, es va addicionar triisopropilborat. Finalment, la hidròlisi àcida del cru de reacció va proporcionar el compost **6** com un sòlid blanc cristal·lí amb un rendiment del 78%.



Esquema 2.11. Síntesi de l'àcid 2-metoxifenilborònic (**6**)

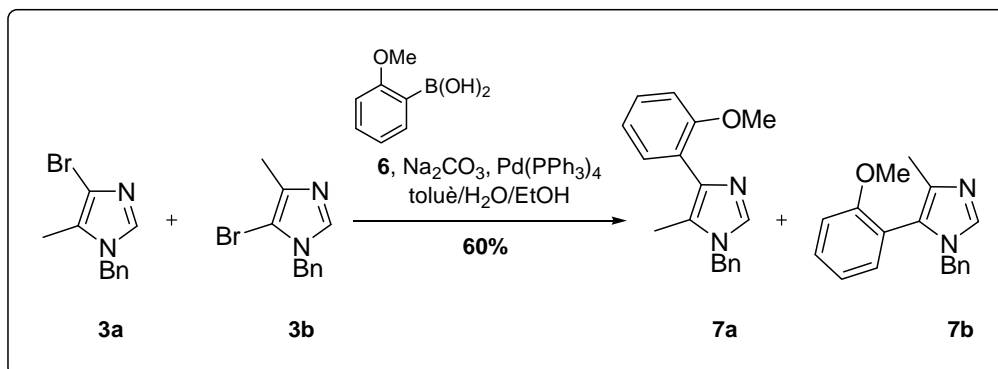
L'àcid arilborònic **6** es va caracteritzar a partir de l'espectre d'IR, que presentava una banda a 1339.52 cm⁻¹ característica de l'enllaç B-O, i a partir de l'anàlisi per ¹H- i ¹³C-RMN i ESI-MS, aquest últim mostrava un pic de massa 150.9 ([M-H]⁻).

2.1.2.3 Arilació dels benzilbromoimidazoles **3** amb àcid 2-metoxifenilborònic (**6**) a través d'una reacció de Suzuki-Miyaura

La preparació dels 2-metoxifenilimidazoles **7a** i **7b** es va realitzar a través d'una reacció de Suzuki-Miyaura entre els bromoimidazoles **3** i l'àcid 2-metoxifenilborònic (**6**) (Esquema 2.12). En primer lloc es varen assajar les condicions utilitzades per a la síntesi dels fenilimidazoles **5**: àcid borònic (1.1 equiv), Pd(PPh₃)₄ (5% mol), Na₂CO₃ 2M (4.8 equiv) a 110 °C durant 24 h en una mescla desgasada de toluè/H₂O/EtOH. D'aquesta manera, s'obtingué una barreja dels 2-metoxifenilimidazoles **7a** i **7b** com un oli groc intens amb un 11% de rendiment. Augmentant la quantitat de Pd(PPh₃)₄ a un 15% mol, el rendiment de la reacció es va incrementar fins a un 36%. Utilitzant aquestes condicions però augmentant la quantitat d'àcid 2-metoxifenilborònic (**6**) a 1.5 equiv, es va obtenir la mescla **7a** i **7b** amb un 60% de rendiment. En aquest cas va ser possible la separació de **7** de l'òxid de trifenilfosfina i la relació entre els 2-

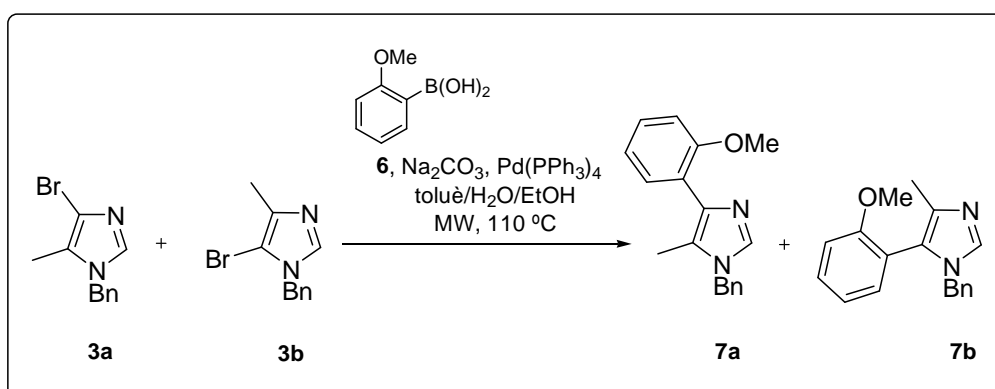
⁶³ (a) Handy, S. T.; Zhang, Y.; Bregman, H. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 2362. (b) Irlapati, N. R.; Baldwin, J. E.; Adlington, R. M.; Pritchard, G. J. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2351. (c) Piettre, S. R.; André, C.; Chanal, M. C.; Ducep, J. B.; Lesur, B.; Piriou, F.; Raboisson, P.; Rondeau, J. M.; Schelcher, C.; Zimmermann, P.; Ganzhorn, A. J. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 4208.

metoxifenilimidazoles **7a** i **7b**, calculada a partir dels senyals metilènics i benzílics de l'espectre de $^1\text{H-RMN}$, era (1:1.3).



Esquema 2.12. Síntesi de **7a** i **7b** a reflux

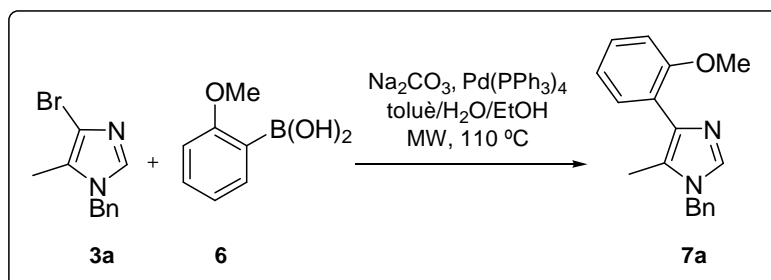
L'acoblament de Suzuki-Miyaura dels bromoimidazoles **3** amb àcid 2-metoxifenilborònic (**6**) també es va assajar sota irradiació microones (Esquema 2.13). Anàlogament al procediment descrit per a la síntesi d'**1**, la mescla de reacció es va sotmetre a una rampa de microones, amb una potència màxima de 300 W, durant 7 min fins arribar a 110 °C. Un cop assolida aquesta temperatura, el cru de reacció es va irradiar durant 10 min amb agitació constant i sota atmosfera de nitrogen, obtenint-se la barreja **7a** i **7b** juntament amb òxid de trifenilfosfina i un 37% de producte de partida. Allargant el temps d'irradiació microones fins a 30 min, la reacció va ser completa. En ambdós assajos, **7a** i **7b** no es van poder separar de l'òxid de trifenilfosfina per cromatografia en columna i tampoc es va poder determinar la seva relació per $^1\text{H-RMN}$. Aquesta mescla es va fer servir directament en l'etapa següent de desbenzilació.



Esquema 2.13. Preparació de **7a** i **7b** mitjançant irradiació microones

Per tal de caracteritzar els 2-metoxifenilimidazoles **7**, es va sintetitzar **7a** per acoblament del bromoimidazole **3a**, caracteritzat prèviament, i l'àcid 2-

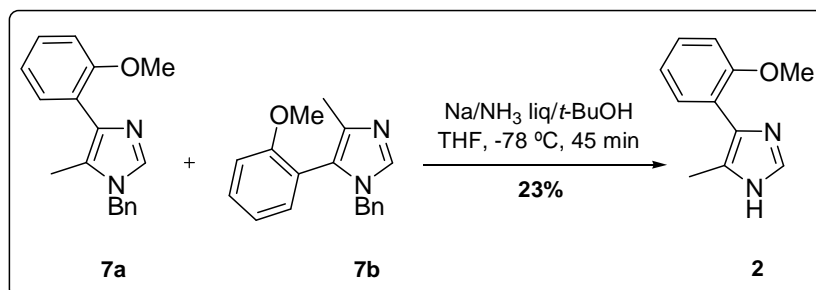
metoxifenilborònic (**6**) sota irradiació microones (Esquema 2.14). No es va poder calcular el rendiment de la reacció ja que va ser impossible la separació de **7a** de l'òxid de trifenilfosfina.



Esquema 2.14. Preparació de **7a**

2.1.2.4 Desbenzilació dels 2-metoxifenilimidazoles **7**

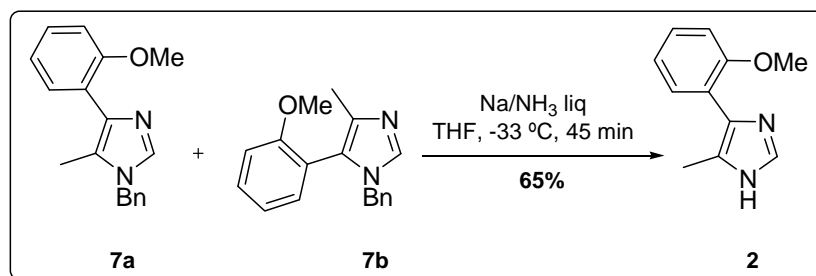
La desbenzilació dels 2-metoxifenilimidazoles **7** es va assajar, en primer lloc, utilitzant les mateixes condicions de reacció que les esmentades anteriorment per la síntesi de 4(5)-fenil-5(4)-metilimidazole (**1**) (Esquema 2.15). Després de 45 min de reacció amb Na metàl·lic en NH₃ líquid, es va obtenir **2** com un sòlid groguenc amb un 23% de rendiment, calculat a partir dels bromoimidazoles **3**, i es va recuperar un 50% dels 2-metoxifenilimidazoles de partida **7**.



Esquema 2.15. Assaig de desbenzilació de **7**

A continuació, es va assajar la desbenzilació de **7** seguint el procediment descrit per Alex et al.⁶⁴ La reacció de **7** amb un excés de Na metàl·lic (10 equiv) en NH₃ líquid a -33 °C durant 45 min va conduir al 4(5)-metil-5(4)-(2-metoxifenil)imidazole (**2**) amb un 65% de rendiment, i no es va detectar producte de partida (Esquema 2.16).

⁶⁴ Alex, K.; Schwarz, N.; Khedkar, V.; Sayyez, I. A.; Tillack, A.; Michalik, D.; Holenz, J.; Díaz, J. L.; Beller, M. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 1802.



Esquema 2.16. Síntesi de **2** per desbenzilació de **7**

El 2-metoxifenilimidazole **2** es va caracteritzar mitjançant ¹H- i ¹³C-RMN, i espectrometria de masses. Comparant l'espectre de ¹H-RMN de **2** amb el dels imidazoles **7** s'observa la desaparició del singlet a ~5 ppm corresponent als protons benzílics. Pel que fa a l'espectre de ¹³C-RMN, no s'observa el senyal a ~50 ppm, corresponent al metilè del grup benzil. A més, l'estructura de **2** es va confirmar per ESI-MS d'alta resolució.

En conclusió, en aquest primer apartat de la tesi doctoral s'ha assolit la síntesi dels 4(5)-aril-5(4)-metilimidazoles **1** i **2** a partir del 4(5)-metilimidazole comercial en quatre etapes: benzilació, bromació, arilació de l'anell d'imidazole a través d'una reacció de Suzuki-Miyaura i desbenzilació. S'han obtingut uns rendiments globals entre 21-27%. L'arilació ha estat l'etapa determinant en ambdós casos. La irradiació microones no ha afectat al rendiment de les reaccions però ha permès una reducció significativa del temps de reacció de 24 h a min. L'arilació dels bromoimidazoles **3** amb àcid 2-metoxifenilborònic (**6**) ha resultat ser més difícil, essent necessari un temps d'irradiació microones més llarg i una major quantitat de catalitzador i d'àcid borònic per completar la reacció. Aquest fet podria ser degut a l'impediment estèric causat pel grup metoxi situat en posició *orto* respecte al grup àcid borònic.

2.2 Síntesi de 5-arilhistidines en solució

El segon objectiu d'aquesta tesi doctoral es va centrar en la síntesi de 5-arilhistidines en solució (Figura 2.7).⁶⁰

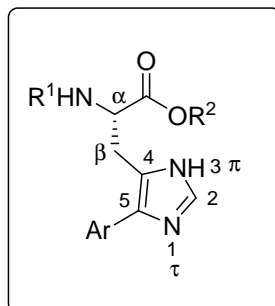
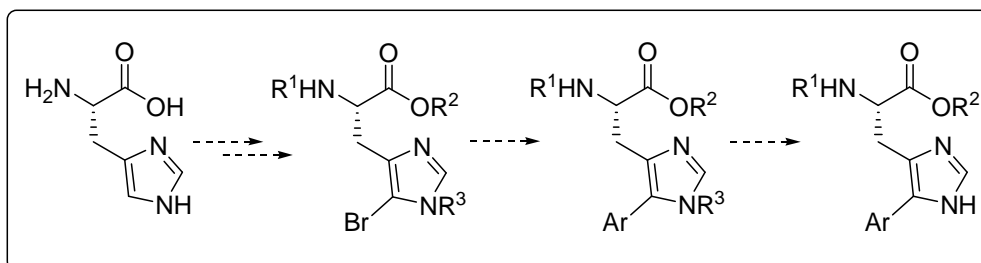


Figura 2.7. 5-Arilhistidines

Els derivats d'histidina s'anomenen seguint les recomanacions de la IUPAC per aminoàcids i pèptids,⁶⁵ segons les quals els àtoms de nitrogen de l'anell d'imidazole es designen com a *pros* ("a prop", abreviat π) i *tele* ("lluny", abreviat τ) per mostrar la seva posició relativa respecte a la cadena lateral. El nitrogen τ es numera com a 1, el carboni entre els dos nitrògens com a 2 i el carboni contigu al nitrogen τ com a 5. Els àtoms de carboni de la cadena alifàtica es designen com α i β.

2.2.1 Estratègia per a la síntesi de 5-arilhistidines

L'estratègia sintètica plantejada per a la síntesi de 5-arilhistidines es basa en la preparació de 5-bromohistidines convenientment protegides, reacció de Suzuki-Miyaura amb l'àcid arilborònic corresponent i desprotecció de l'anell d'imidazole (Esquema 2.17).



Esquema 2.17. Estratègia per a la síntesi de 5-arilhistidines

⁶⁵ *Nomenclature and Symbolism for Amino Acids and Peptides*, IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature (JCBN), 1983, 600.

2.2.2 Síntesi de 5-bromohistidines convenientment protegides

Segons l'estratègia anterior, a part de protegir els grups amino i àcid carboxílic de la histidina també era necessària la protecció de l'anell d'imidazole ja que s'ha observat que intervé en la racemització d'aquest aminoàcid. El nitrogen- π imidazòlic és prou bàsic per arrancar el protó del carboni- α amb la consegüent enolització i protonació d'aquest (Figura 2.8). La racemització es pot evitar protegint el nitrogen- π o bé, protegint el nitrogen- τ amb grups voluminosos o electroatracients que redueixin la basicitat del nitrogen- π .

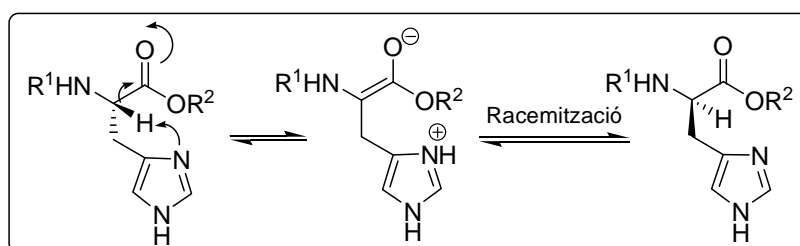


Figura 2.8. Mecanisme de racemització de la histidina

2.2.2.1 Assajos per a la síntesi de Boc-His(π -Bom)-OMe (**8a**)

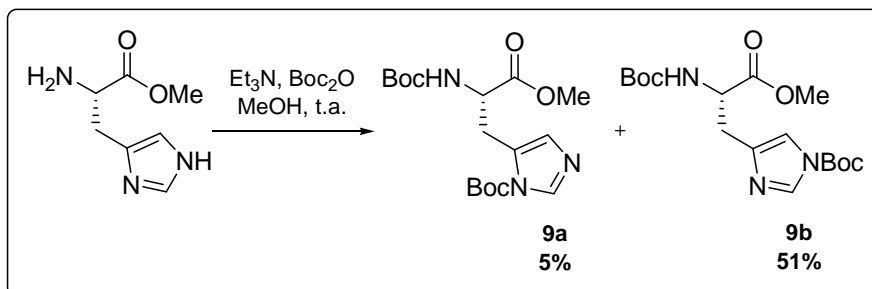
En primer lloc, es va plantejar la utilització dels grups *t*-butoxicarbonil (Boc) i benziloximetil (Bom) com a protectors del grup α -amino i de l'imidazole, respectivament. Aquests grups eren adequats per a la nostra estratègia ja que són resistents al medi bàsic necessari per a la reacció de Suzuki-Miyaura. A més, el grup Bom està descrit com un grup que bloqueja el nitrogen- π evitant la racemització del residu d'histidina. D'altra banda, té requeriments electrònics i estèrics similars al grup benzil amb el qual s'havia protegit anteriorment l'imidazole, però és més fàcilment eliminable.⁶⁶

La síntesi de Boc-His(π -Bom)-OMe (**8a**) havia estat descrita per Brown i consistia en la preparació de Boc-His(τ -Boc)-OMe (**9b**) i posterior conversió en Boc-His(π -Bom)-OMe (**8a**) per eliminació del grup Boc i introducció simultània del grup Bom (Esquemes 2.18 i 2.19).⁶⁷ Seguint aquest procediment, es va tractar l'H-His-OMe comercial amb trietilamina i di-*t*-butildicarbonat (Boc₂O) en MeOH a temperatura ambient durant tota una nit (Esquema 2.18). D'aquesta manera, es varen obtenir Boc-His(τ -Boc)-OMe (**9b**) amb un 51% de rendiment i el seu isòmer constitucional Boc-His(π -Boc)-OMe (**9a**) amb

⁶⁶ Brown, T.; Jones, J. H. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1981**, 13, 648.

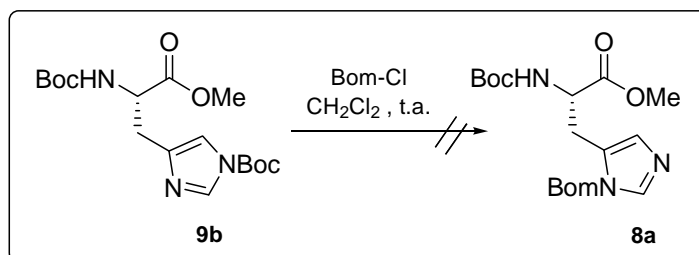
⁶⁷ Brown, T.; Jones, J. H.; Richards, J. D. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1992**, 1553.

un 5% de rendiment. Aquests compostos es varen separar per cromatografia en columna.



Esquema 2.18. Síntesi de **9a** i **9b**

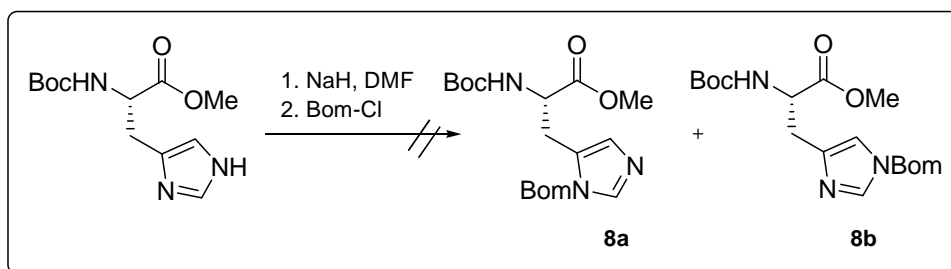
Malauradament, el tractament de Boc-His(τ -Boc)-OMe (**9b**) amb Bom-Cl (1.6 equiv) en CH_2Cl_2 no va conduir a Boc-His(π -Bom)-OMe (**8a**) (Esquema 2.19). La utilització d'un major excés de reactiu alquilant (3.2 equiv) o l'addició al cru de reacció de *N*-diisopropiletilamina (DIEA) (1 equiv) també resultaren infructuosos, obtenint-se una barreja de productes que no varen poder ésser identificats.



Esquema 2.19. Assaig de síntesi del compost **8a**

Com a alternativa, es va intentar preparar el compost **8a** utilitzant el procediment descrit per Escolano per a la protecció del nitrogen π imidazòlic de 5-nitrohistidines per tractament amb NaH i posterior addició de Bom-Cl.⁶⁸ Quan es varen assajar aquestes condicions amb la Boc-His-OMe comercial també s'obtingué una barreja de productes que no varen poder ésser identificats (Esquema 2.20).

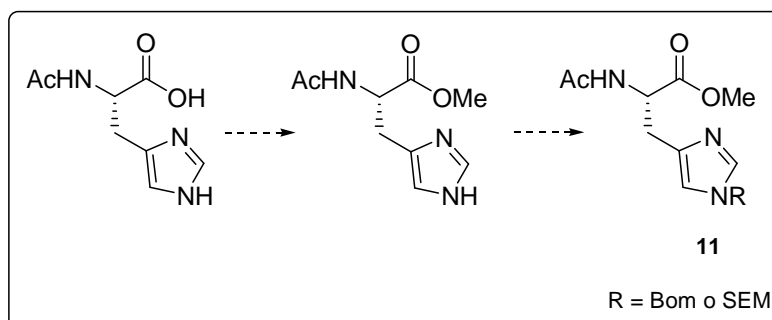
⁶⁸ Escolano, C.; Rubiralta, M.; Díez, A. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 4343.



Esquema 2.20. Assaig de síntesi de **8a** i **8b**

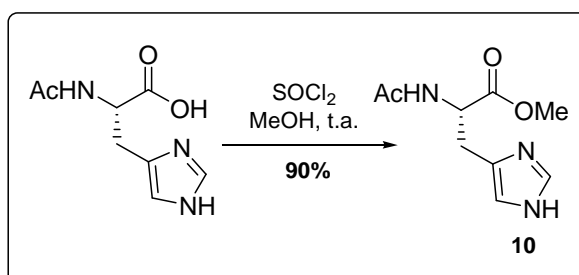
2.2.2.2 Assajos per a la protecció d'Ac-His-OMe (**10**) amb els grups Bom i SEM

Com a segona aproximació a la síntesi de 5-bromohistidines protegides es va plantejar la protecció del grup α -amino amb el grup acetil, de l'àcid carboxílic en forma d'ester metílic i de l'anell d'imidazole amb els grups Bom o 2-(trimetilsilil)etoximetil (SEM) (Esquema 2.21). Aquest últim grup té l'avantatge que s'elimina en condicions més suaus i ha estat àmpliament utilitzat en la *N*-protecció d'imidazoles.



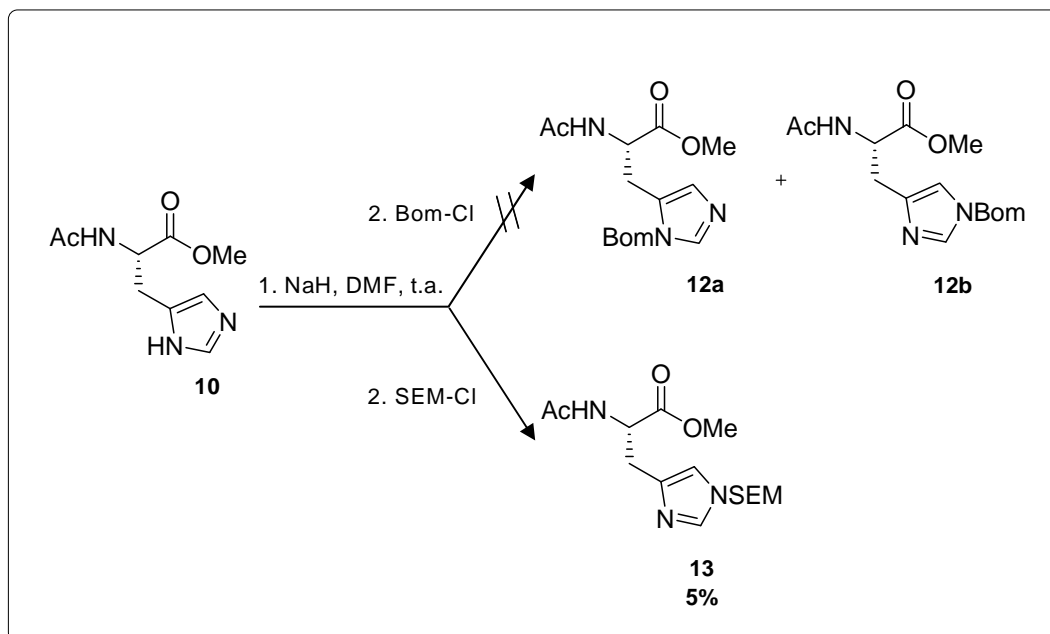
Esquema 2.21. Estratègia per a la síntesi d'**11**

L'Ac-His-OH comercial es va esterificar per tractament amb clorur de tionil en metanol anhidre durant 2 h proporcionant Ac-His-OMe (**10**) amb un 90% de rendiment (Esquema 2.22).



Esquema 2.22. Síntesi d'Ac-His-OMe (**10**)

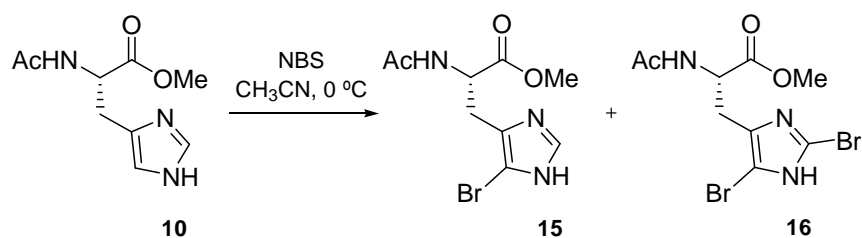
La protecció de l'anell imidazòlic d'Ac-His-OMe (**10**) amb el grup Bom es va assajar per tractament amb NaH seguit d'addició de Bom-Cl a temperatura ambient, condicions que no conduïren al producte desitjat **12**. Seguint aquest mateix procediment, però utilitzant SEM-Cl com a agent alquilant s'obtingué Ac-His(τ -SEM)-OMe (**13**) tan sols amb un 5% de rendiment (Esquema 2.23).



Esquema 2.23. Assajos de protecció d'Ac-His-OMe (**10**) amb els grups Bom i SEM

2.2.2.3 Síntesi d'Ac-His(5-Br, π -SEM)-OMe (**14a**) i Ac-His(5-Br, τ -SEM)-OMe (**14b**)

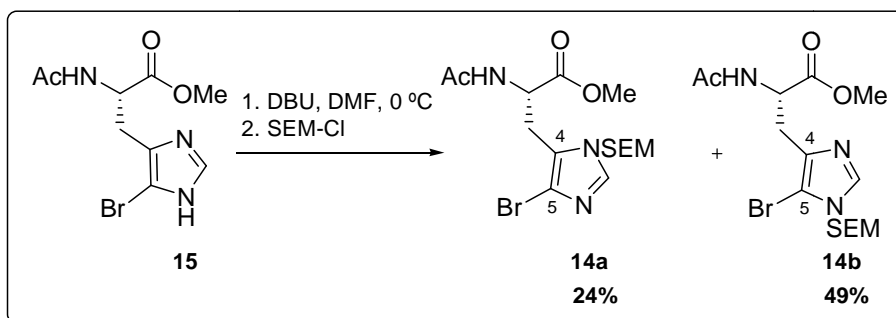
Donat que la protecció de l'anell d'imidazole no va donar bons resultats, es va plantejar una estratègia alternativa consistent en la bromació directa de **10** i posterior protecció de l'anell d'imidazole amb el grup SEM. La bromació es va realitzar per tractament d'Ac-His-OMe (**10**) amb NBS en CH₃CN anhidre a 0 °C durant 1 h proporcionant Ac-His(5-Br)-OMe (**15**) amb un 44% de rendiment (entrada 1, Taula 2.3). Per tal de millorar aquest resultat es realitzaren diferents assajos, en els quals es va modificar el temps de reacció i es va variar el nombre d'equivalents de NBS (entrades 2-5, Taula 2.3). En tots els assajos **15** es va obtenir juntament amb el derivat dibromat Ac-His(2,5-diBr)-OMe (**16**). Tot i que aquest derivat no es va poder quantificar en tots els casos, es va observar que un augment de la quantitat de NBS i del temps de reacció afavoria la seva formació. El millor resultat es va obtenir utilitzant 1.1 equivalents d'NBS i un temps de reacció de 15 min, obtenint-se **15** amb un rendiment del 60% juntament amb un 13% del derivat dibromat **16** (entrada 5, Taula 2.3).

Taula 2.3. Condicions assajades per a la síntesi de **15**

Entrada	NBS (equiv)	Temps (min)	15 (%)
1	1	60	44
2	1.5	80	26
3	1.2	30	54
4	1.1	30	55
5	1.1	15	60

Tant l'Ac-His(5-Br)-OMe (**15**) com l'Ac-His(2,5-diBr)-OMe (**16**) es caracteritzaren mitjançant ^1H - i ^{13}C -RMN, i espectrometria de masses. En comparar l'espectre de ^1H -RMN de **15** amb el de la histidina **10**, s'observa la desaparició del pic a 6.89 ppm corresponent al H-5_{imid}. A més, per ESI-MS s'obté el pic a $[\text{M}+\text{H}]^+$ que presenta la distribució isotòpica característica d'un compost monobromat. Pel que fa al compost **16**, l'espectre de ^1H -RMN mostra també la desaparició del singlet a 7.62 ppm corresponent al H-2_{imid} i a l'espectre de ^{13}C -RMN s'observa un desplaçament del senyal corresponent al C-2_{imid} a camps més baixos degut a l'efecte del Br. A més, l'anàlisi per ESI-MS mostra el pic a $[\text{M}+\text{H}]^+$ amb una distribució isotòpica característica d'un compost dibromat.

A continuació, l'anell d'imidazole de l'Ac-His(5-Br)-OMe (**15**) es va protegir amb el grup SEM. En primer lloc, **15** es va tractar amb NaH en DMF anhidre i, a continuació, es va addicionar SEM-Cl a temperatura ambient, obtenint-se Ac-His(5-Br, τ -SEM)-OMe (**14b**) amb un 20% de rendiment. Aquesta reacció també es va realitzar a 0 °C, però el rendiment no va millorar. En canvi, utilitzant DBU com a base a 0 °C en DMF anhidre, es va observar una millora substancial del resultat. Es varen obtenir Ac-His(5-Br, π -SEM)-OMe (**14a**) amb un 24% de rendiment i Ac-His(5-Br, τ -SEM)-OMe (**14b**) amb un 49% de rendiment que es varen separar per cromatografia en columna (Esquema 2.24).



Esquema 2.24. Síntesi dels compostos **14a** i **14b**

L'estructura dels compostos **14a** i **14b** es va elucidar mitjançant experiments de correlació ^1H - ^{13}C a llarga distància (HMBC) (Figures 2.9 i 2.10). La posició del grup SEM del regioisòmer **14a** fou establerta en base a la correlació observada entre els protons metilènics del residu N-CH₂-O del grup SEM i el C-4_{imid} (Figura 2.9). De la mateixa manera, la posició del grup SEM del regioisòmer **14b** fou establerta en base a la correlació observada entre aquests mateixos protons, N-CH₂-O, i el C-5_{imid} (Figura 2.10).

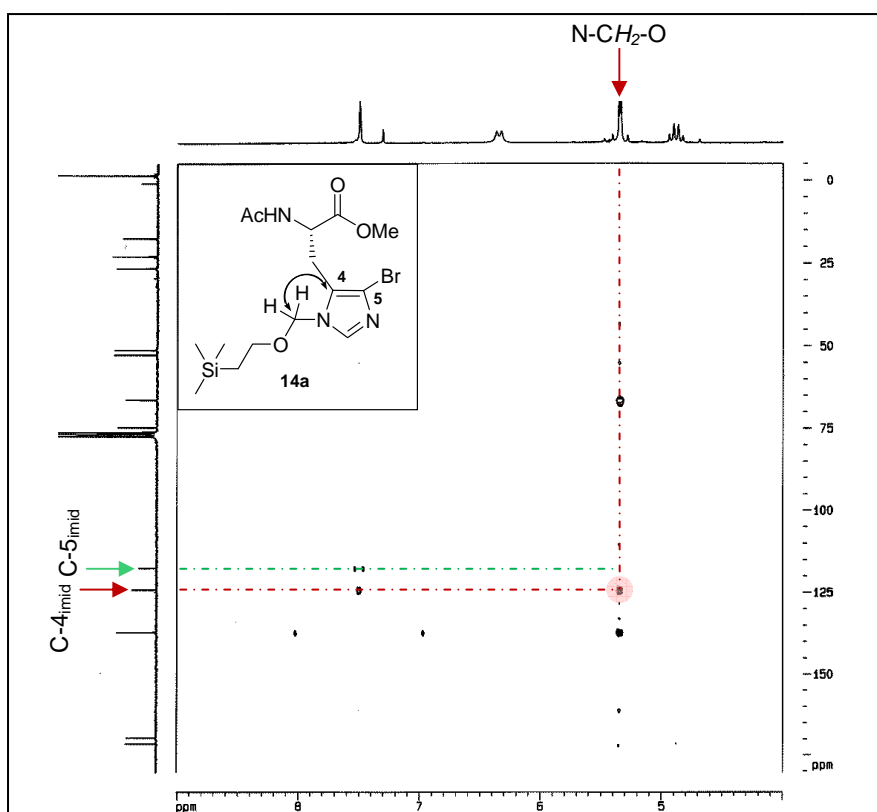


Figura 2.9. HMBC de **14a**

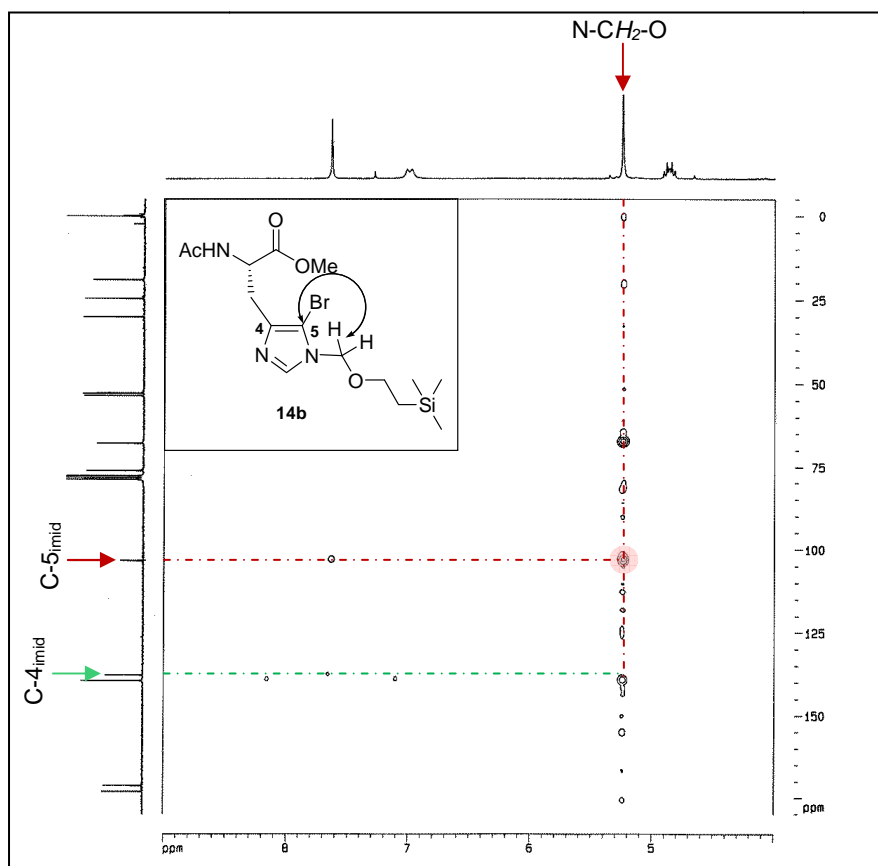
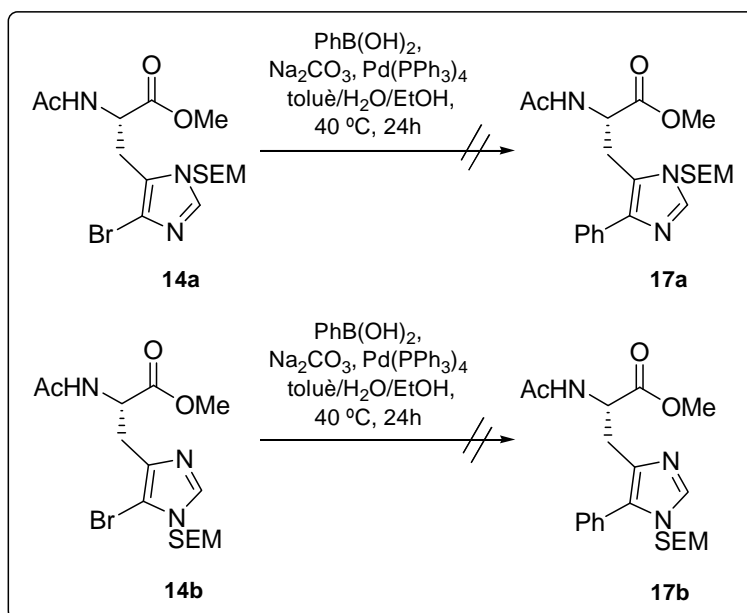


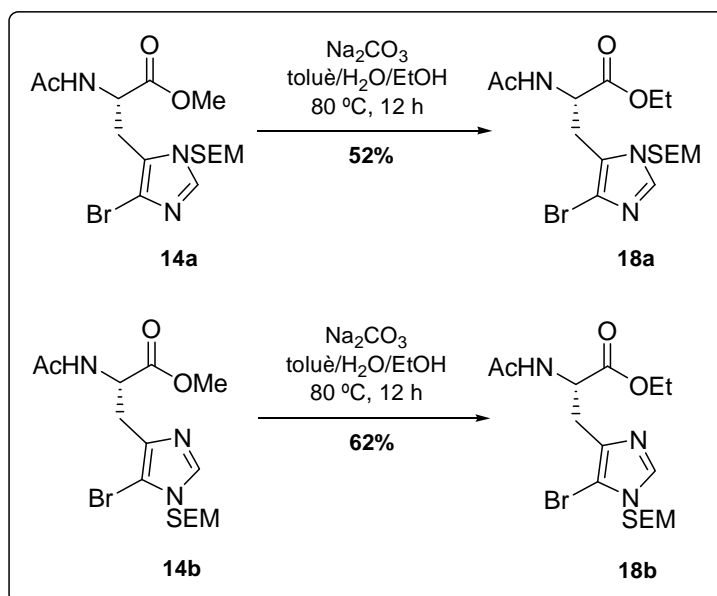
Figura 2.10. HMBC de 14b

2.2.3 Assajos d'arilació d'Ac-His(5-Br, π -SEM)-OMe (14a) i Ac-His(5-Br, τ -SEM)-OMe (14b) mitjançant una reacció de Suzuki-Miyaura amb escalfament convencional

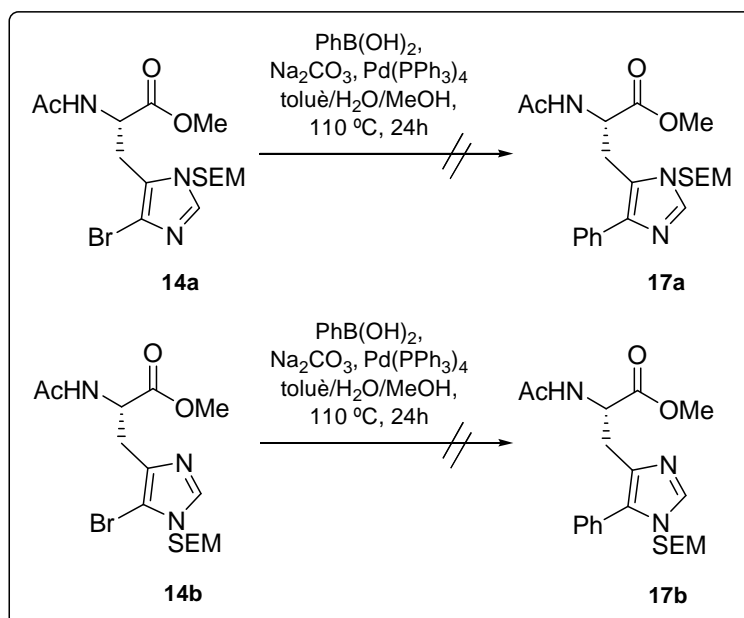
L'arilació de les 5-bromohistidines **14a** i **14b** es va assajar a través d'una reacció de Suzuki-Miyaura amb àcid fenilborònic. Cadascuna de les 5-bromohistidines **14a** i **14b** es va tractar en les condicions òptimes descrites per a la preparació dels arilimidazoles **1** i **2** però a una temperatura inferior i utilitzant menys equivalents de base. Concretament, es varen tractar amb àcid fenilborònic (1.1 equiv), Pd(PPh₃)₄ (5% mol) i Na₂CO₃ 2M (2 equiv) a 40 °C durant 24 h en toluè/H₂O/EtOH desgasats (Esquema 2.25). En cap dels dos casos es va obtenir el producte esperat, sinó que s'aïllà únicament el corresponent producte de transesterificació amb etanol. El mateix resultat s'obtingué quan s'augmentà la temperatura de reacció (80 °C), la quantitat de Pd(PPh₃)₄ (40% mol) i s'utilitzà PdCl₂(dppf) (5% mol) com a catalitzador.

Esquema 2.25. Assajos de síntesi de **17a** i **17b**

Per comprovar la formació del producte de transesterificació es varen tractar les 5-bromohistidines **14a** i **14b** amb Na_2CO_3 2M a 80 °C en toluè/ H_2O / EtOH , però en absència de catalitzador i àcid borònic (Esquema 2.26). Després de 12 h, s'obtingueren els histidinats d'etil **18a** i **18b** amb un 52% i 62% de rendiment, respectivament. Els espectres de ^1H -RMN d'aquests compostos varen coincidir amb els obtinguts pels productes de la reacció de Suzuki-Miyaura.

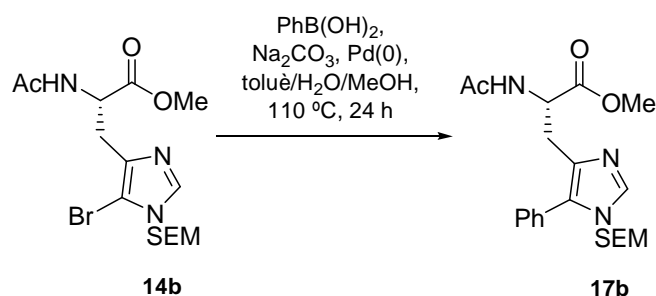
Esquema 2.26. Preparació de **18a** i **18b**

Per evitar la transesterificació, es va tractar cadascuna de les bromohistidines **14a** i **14b** amb àcid fenilborònic (1.1 equiv), Pd(PPh₃)₄ (5% mol) i Na₂CO₃ 2M (2 equiv) a 110 °C durant 24h en toluè/H₂O/MeOH desgasats. Aquestes condicions no conduïren als productes desitjats ni es varen recuperar els productes de partida (Esquema 2.27).



Esquema 2.27. Assajos de síntesi de **17**

L'arilació de **14b** també es va assajar utilitzant una major quantitat de catalitzador (20% mol) i d'àcid fenilborònic (2.1 equiv), i en presència d'altres catalitzadors usuals en acoblaments de Suzuki-Miyaura (Taula 2.4). Utilitzant Pd₂(dba)₃/P(*o*-tolil)₃ (1:2) i PdCl₂(dppf) es va obtenir la 5-fenilhistidina **17b** amb un rendiment del 12% i 26%, respectivament.

Taula 2.4. Condicions assajades per a la síntesi de **17b** a reflux

Entrada	PhB(OH) ₂ (equiv)	Catalitzador	Catalitzador (%)	17b (%)
1	2.1	Pd(PPh ₃) ₄	20	0
2	2.1	Pd ₂ (dba) ₃ /P(<i>o</i> -tolil) ₃ (1:2)	20	12
3	2.1	PdCl ₂ (dppf)	20	26
4	2.1	Pd(OAc) ₂	20	0

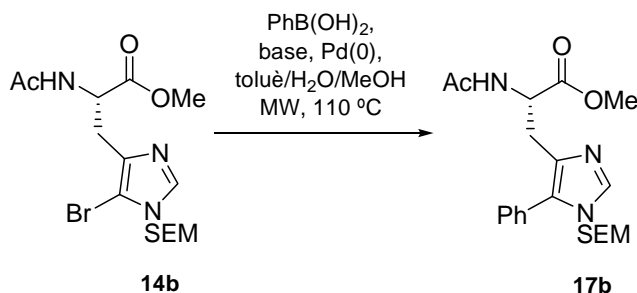
2.2.4 Síntesi d'Ac-His(5-Ph, π -SEM)-OMe (**17a**) i Ac-His(5-Ph, τ -SEM)-OMe (**17b**) mitjançant una reacció de Suzuki-Miyaura assistida per irradiació microones

Donat que l'arilació de les bromohistidines **14** havia resultat infructuosa amb escalfament convencional, aquesta reacció es va assajar sota irradiació microones. Quan **14b** es va tractar amb àcid fenilborònic (2.1 equiv), Pd(PPh₃)₄ (10% mol) i Na₂CO₃ 2M (2 equiv) durant 2×15 min d'irradiació microones a 110 °C, s'obtingué la 5-fenilhistidina **17b** amb un 22% de rendiment (entrada 1, Taula 2.5). Augmentant la quantitat de catalitzador a un 20% mol s'aconseguí incrementar el rendiment de **17b** fins a un 63% (entrada 2, Taula 2.5).

Aquesta reacció es va estudiar en presència de PdCl₂(dppf) i Pd₂(dba)₃/P(*o*-tolil)₃ (1:2) com a catalitzadors. La utilització de PdCl₂(dppf) va suposar una disminució del rendiment de **17b** a un 20% (entrada 3, Taula 2.5). En canvi, quan es va emprar Pd₂(dba)₃ (10% mol), la 5-fenilhistidina **17b** es va obtenir amb un 58% de rendiment. Aquest rendiment és similar a l'obtingut amb Pd(PPh₃)₄, però la quantitat de catalitzador és menor i el temps de reacció més curt (10 min) (veure entrades 2 i 4, Taula 2.5). Un augment de la quantitat de Pd₂(dba)₃ a un 20% mol no va millorar aquest resultat (entrada 5, Taula 2.5). Cal comentar que en tots aquests assajos es va observar la formació dels productes d'hidròlisi del metil ester tant de **14b** com de **17b**.

A continuació, es va examinar la influència de la base en la reacció utilitzant com a catalitzador $\text{Pd}_2(\text{dba})_3/\text{P}(o\text{-tolil})_3$ (1:2, 10% mol). Es van emprar K_2CO_3 , Cs_2CO_3 , NaHCO_3 , K_3PO_4 i KF (entrades 5-10, Taula 2.5). El KF va resultar ser la base més efectiva ja que va ser l'única amb la qual no s'observaren productes d'hidròlisi, obtenint-se $\text{Ac-His}(5\text{-Ph},\tau\text{-SEM})\text{-OMe}$ (**17b**) amb un 62% de rendiment (entrada 10, Taula 2.5).

Taula 2.5. Condicions assajades per a la síntesi de **17b** sota irradiació microones

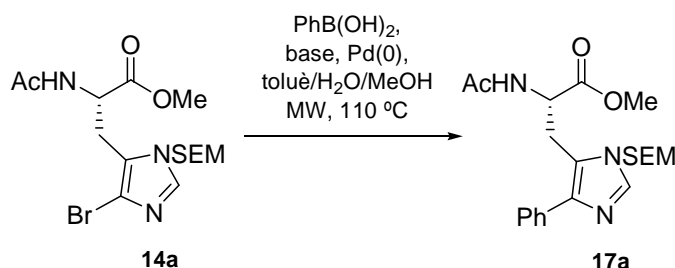


Entrada	Catalitzador	Catalitzador (% mol)	Base	Temps (min)	17b (%)
1	$\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$	10	Na_2CO_3	2×15	22
2	$\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$	20	Na_2CO_3	2×15	63
3	$\text{PdCl}_2(\text{dppf})$	20	Na_2CO_3	2×10	20
4	$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$	10	Na_2CO_3	10	58
5	$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$	20	Na_2CO_3	15	45
6	$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$	10	K_2CO_3	10	10
7	$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$	10	Cs_2CO_3	10	27
8	$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$	10	NaHCO_3	10	35
9	$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$	10	K_3PO_4	10	47
10	$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$	10	KF	10	62

Anàlogament, es va estudiar l'arilació de la 5-bromohistidina **14a** amb àcid fenilborònic. En primer lloc, es va tractar **14a** amb àcid fenilborònic (2.1 equiv), $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (10% mol) i Na_2CO_3 2M (2 equiv) durant 2×15 min d'irradiació a 110 °C. En aquestes condicions, només es varen detectar traces de **17a** per ESI-MS (entrada 1, Taula 2.6). Utilitzant $\text{Pd}_2(\text{dba})_3/\text{P}(o\text{-tolil})_3$ (1:2, 10% mol) com a catalitzador i un temps d'irradiació de 10 min, es va obtenir la 5-fenilhistidina **17a** amb un 35% de rendiment (entrada 2,

Taula 2.6). Allargant el temps de reacció a 15 min no es va observar una millora substancial del rendiment (37%, entrada 3, Taula 2.6). També es va analitzar l'efecte de la base. Emprant K_3PO_4 , es va obtenir **17a** amb només un 8% de rendiment (entrada 4, Taula 2.6). En canvi, la utilització de KF va portar a una millora significativa del rendiment, obtenint-se un 82% de 5-fenilhistidina **17a** (entrada 5, Taula 2.6).

Taula 2.6. Condicions assajades per a la síntesi de **17a** sota irradiació microones

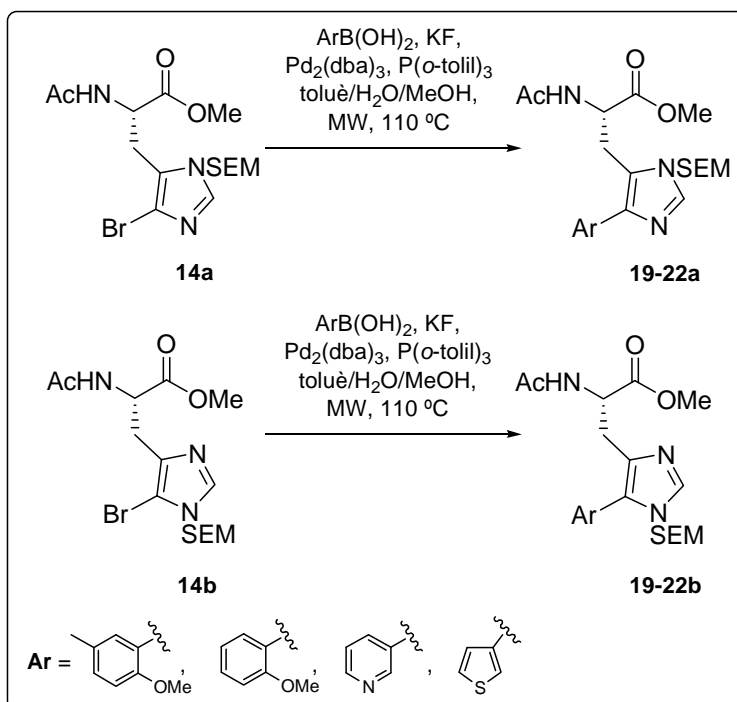


Entrada	Catalitzador	Catalitzador (% mol)	Base	Temps (min)	17a (%)
1	$Pd(PPh_3)_4$	10	Na_2CO_3	2x15	traces
2	$Pd_2(dba)_3$	10	Na_2CO_3	10	35
3	$Pd_2(dba)_3$	10	Na_2CO_3	15	37
4	$Pd_2(dba)_3$	15	K_3PO_4	15	8
5	$Pd_2(dba)_3$	10	KF	15	82

D'aquest estudi es va concloure que les condicions òptimes d'arilació de les 5-bromohistidines **14** són: àcid fenilborònic (2.1 equiv), $Pd_2(dba)_3/P(o\text{-tolil})_3$ (1:2, 10% mol) i KF (2 equiv) a 110 °C en toluè/ H_2O /MeOH desgasats. En aquestes condicions, després d'un temps d'irradiació de 10-15 min, es van obtenir **17a** i **17b** amb rendiments del 82% i 62%, respectivament.

2.2.5 Preparació de 5-arilhistidines en dissolució

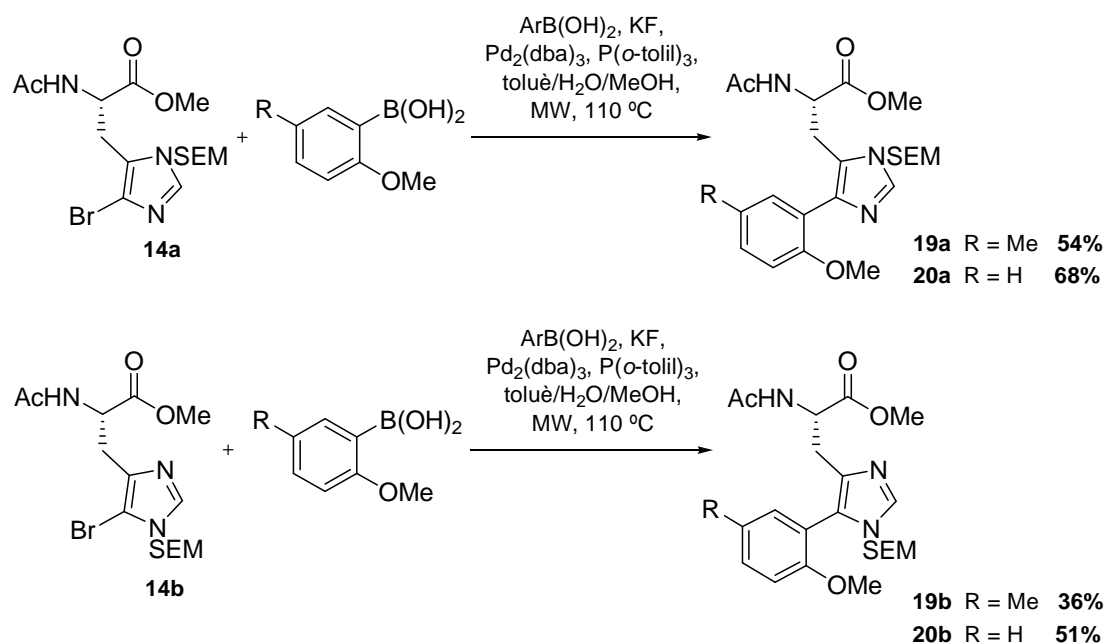
Les condicions anteriors es varen aplicar a l'arilació de les 5-bromohistidines **14a** i **14b** amb altres àcids arilborònics. Concretament, es varen escollir l'àcid 2-metoxifenilborònic, l'àcid 5-metil-2-metoxifenilborònic, l'àcid 3-piridilborònic i l'àcid 3-tiofenborònic. En tots els assajos es varen utilitzar $Pd_2(dba)_3/P(o\text{-tolil})_3$ (1:2) i KF, i el cru de reacció es va irradiar a 110 °C (Esquema 2.28).



Esquema 2.28. Arilació de les 5-bromohistidines **14** amb diversos àcids arilborònics

L'arilació de les 5-bromohistidines **14** amb l'àcid 2-metoxifenilborònic i amb l'àcid 5-metil-2-metoxifenilborònic va requerir un augment del temps de reacció i/o una major quantitat de catalitzador respecte a l'arilació de **14** amb àcid fenilborònic (Taula 2.7). Aquest fet podria ésser degut a què la reactivitat dels àcids arilborònics es veu principalment afectada per factors estèrics. Concretament, s'ha descrit que la presència de substituents en *orto* respecte a l'àcid borònic retarda significativament la formació de l'espècie activa de bor que participa en el cicle catalític.⁶⁹ En el cas de l'àcid 5-metil-2-metoxifenilborònic, el temps de reacció va ser de 60 min, obtenint-se **19a** i **19b** amb un rendiment del 54% i 36%, respectivament (entrades 1 i 2, Taula 2.7). En la reacció de l'àcid 2-metoxifenilborònic amb **14a** varen ser necessaris un 20% mol de catalitzador i 60 min d'irradiació microones, proporcionant **20a** amb un 68% de rendiment (entrada 3, Taula 2.7). Per a l'arilació de **14b** amb aquest àcid borònic es va requerir un 40% mol de catalitzador i temps de reacció de 10 min, obtenint-se **20b** amb un 51% de rendiment (entrada 4, Taula 2.7).

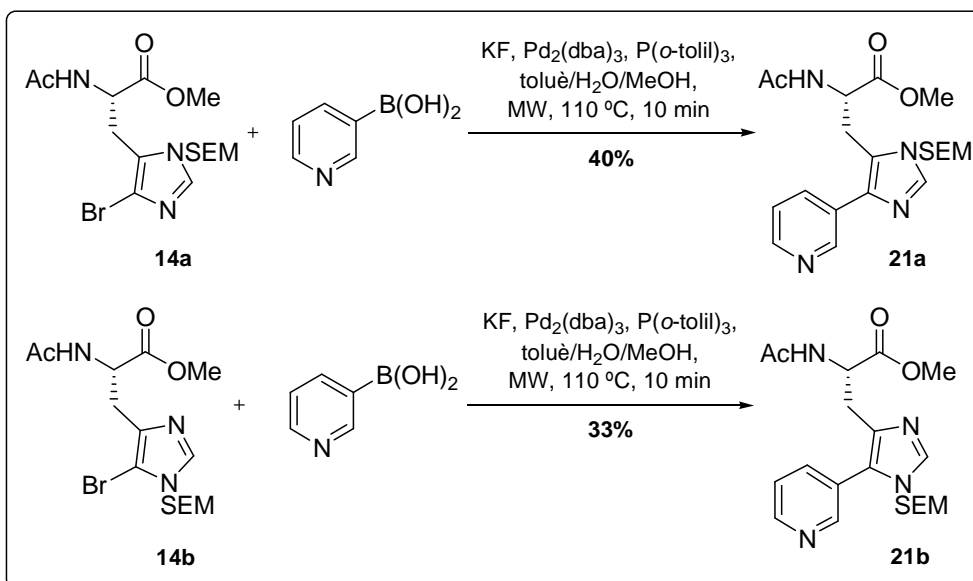
⁶⁹ (a) Zhang, H.; Kwong, F. Y.; Tian, Y.; Chan, K. S. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 6886. (b) Bringmann, G.; Götz, R.; Keller, P. A.; Walter, R.; Boyd, M. R.; Lang, F.; García, A.; Walsh, J. J.; Tellitu, I.; Bhaskar, K. V.; Kelly, T. R. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 1090. (c) Watanabe, T.; Miyaura, N.; Suzuki, A. *Synlett* **1992**, 207. (d) Fu, J. -M.; Snieckus, V. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 1665. (e) Thompson, W. J.; Gaudino, J. *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 5237.

Taula 2.7. Síntesi de les 5-arilhistidines **19** i **20**

Entrada	5-Arilhistidina	R	Catalitzador (% mol)	Temps (min)	Rdt (%)
1	19a	Me	10	60	54
2	19b	Me	10	60	36
3	20a	H	20	60	68
4	20b	H	40	10	51

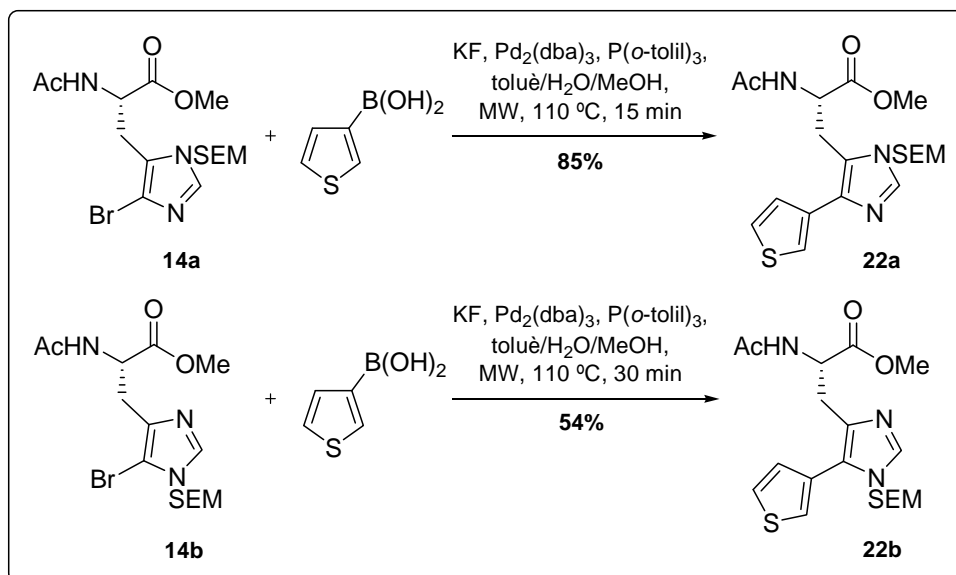
L'acoblament de l'àcid 3-piridilborònic amb **14a** i **14b** va resultar ser el més difícil. Va ser necessari un 40% mol de catalitzador per obtenir les 5-(3-piridil)histidines **21a** i **21b** amb rendiments moderats del 40% i 33%, respectivament (Esquema 2.29). La baixa efectivitat dels àcids borònics derivats de piridina en reaccions de Suzuki-Miyaura ja s'ha descrit a la literatura i s'atribueix al fet que els àcids arilborònics deficients electrònicament presenten una baixa nucleofília provocant que l'etapa de transmetal·lació sigui lenta i es converteixi en l'etapa determinant de la reacció.⁷⁰

⁷⁰ (a) Kondolff, I.; Doucet, H.; Santelli, M. *Synlett* **2005**, 13, 2057. (b) Barder, T. E.; Walker, S. D.; Martinelli, J. R.; Buchwald, S. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 4685.



Esquema 2.29. Síntesi de les 5-arilhistidines **21**

L'arilació de les 5-bromohistidines **14a** i **14b** amb àcid 3-tiofenborònic va requerir un 20% mol de catalitzador i un temps de reacció de 15 i 30 min, respectivament. D'aquesta manera, es va obtenir **22a** amb un rendiment elevat (85%) i **22b** amb un rendiment moderat (54%) (Esquema 2.30).

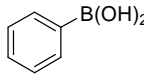
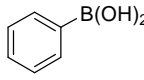
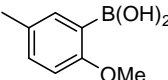
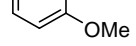
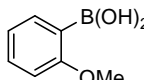
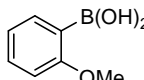
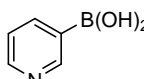
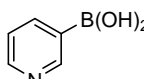
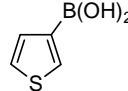
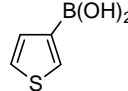


Esquema 2.30. Síntesi de les 5-arilhistidines **22**

Així doncs, en tots els casos, l'arilació de les 5-bromohistidines **14a** i **14b** amb els àcids arilborònics anteriors es va completar en temps de reacció igual o inferiors a 60 min donant lloc a les 5-arilhistidines **19-22** amb rendiments de moderats a bons. En general, l'arilació de la 5-bromohistidina **14a** va donar millor resultats (40-85%) que

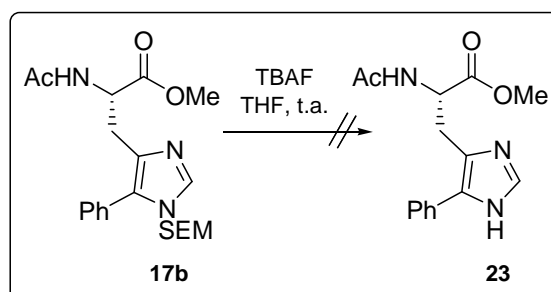
l'arilació de **14b** (33-62%). Aquest fet es podria atribuir a l'impediment estèric provocat pel grup SEM quan es troba al nitrogen- τ de la histidina (Taula 2.8).

Taula 2.8. Arilació de les 5-bromohistidines **14** amb diversos àcids arilborònics

Entrada	Bromohistidina	ArB(OH) ₂	Catalitzador (% mol)	Temps (min)	Producte	Rdt (%)
1	14a		10	15	17a	82
2	14b		10	10	17b	62
3	14a		10	60	19a	54
4	14b		10	60	19b	36
5	14a		20	60	20a	68
6	14b		40	10	20b	51
7	14a		40	10	21a	40
8	14b		40	10	21b	33
9	14a		20	15	22a	85
10	14b		20	30	22b	54

2.2.6 Eliminació del grup SEM

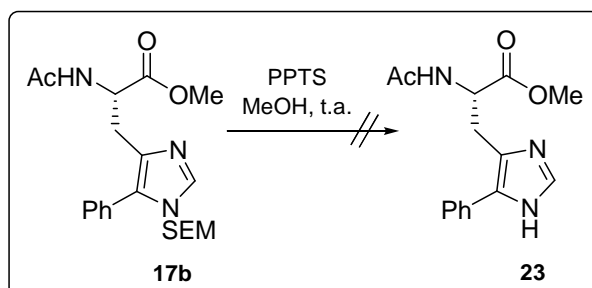
L'eliminació del grup SEM de les 5-arilhistidines protegides **17** i **19-22** es va estudiar amb la 5-fenilhistidina **17b**. En primer lloc, **17b** es va tractar amb fluorur de tetrabutilamoni (TBAF) 1 M en THF anhidre, segons el procediment descrit per Whitten.⁷¹ Aquestes condicions varen proporcionar una barreja de productes que no varen poder ésser identificats (Esquema 2.31).



Esquema 2.31. Assaig d'eliminació del grup SEM de **17b** amb TBAF

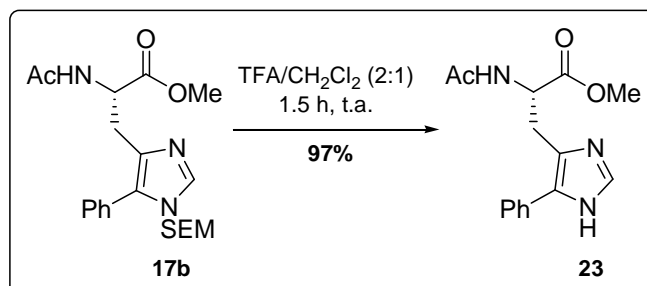
⁷¹ Whitten, J. P.; Matthew, D. P.; McCarthy, J. R. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 1891.

Posteriorment, es va tractar la 5-fenilhistidina **17b** amb *p*-toluensulfonat de piridini (PPTS) en MeOH anhidre a temperatura ambient sota atmosfera de nitrogen segons el mètode descrit per Phillips (Esquema 2.32).⁷² Després de 24 h es va recuperar el producte de partida **17b**.



Esquema 2.32. Assaig d'eliminació del grup SEM de **17b** amb PPTS

Finalment, l'eliminació del grup SEM es va assolir seguint el mètode descrit per Kumar.⁷³ La 5-fenilhistidina protegida **17b** es va tractar amb TFA/CH₂Cl₂ (2:1) a temperatura ambient durant 1.5 h, conduint a Ac-His(5-Ph)-OMe (**23**) amb un rendiment del 97% (Esquema 2.33).

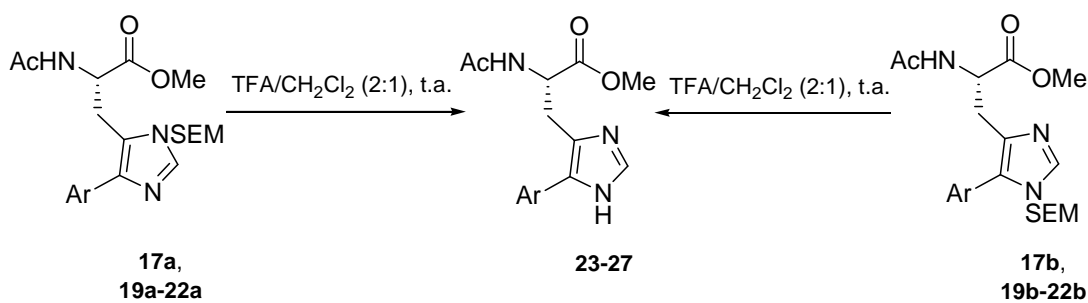


Esquema 2.33. Eliminació del grup SEM de **17b**

Posteriorment, aquestes condicions es van aplicar a la desprotecció de l'anell d'imidazole de les histidines **17a** i **19-22**, obtenint-se les 5-arilhistidines **23-27** amb rendiments elevats (70-99%, Taula 2.9).

⁷² Phillips, J. G.; Fadnis, L.; Williams, D. R. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 7835.

⁷³ Kumar, S.; Pearson, A. L.; Pratt, R. F. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 2035.


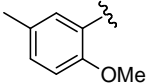
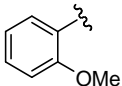


Taula 2.9. Eliminació del grup SEM de les 5-arilhistidines **17** i **19-22**


Entrada	Arilhistidina	Temps (h)	Rdt (%)	Producte	Ar
1	17a	2.5	99	23	
2	17b	1.5	97	23	
3	19a	1.5	70	24	
4	19b	1.5	91	24	
5	20a	3.5	90	25	
6	20b	1.5	91	25	
7	21a	2.5	90	26	
8	21b	3.5	92	26	
9	22a	2.0	99	27	
10	22b	2.0	99	27	

2.2.7 Anàlisi de la integritat òptica de les 5-arilhistidines

La protecció de l'anell d'imidazole amb el grup SEM així com la reacció de Suzuki-Miyaura transcorren en medi bàsic. Aquestes condicions podrien afectar a la integritat òptica del residu d'histidina. Per això es va mesurar la rotació específica de les 5-arilhistidines obtingudes **23-27** (Taula 2.10). Es varen obtenir valors similars als descrits a la literatura per derivats de la histidina tals com Boc-His(Bom)-OH ($[\alpha]_D^{20} = +6.5 \pm 1.5^\circ$ (c 1, MeOH)) o Boc-His(Tos)-OH ($[\alpha]_D^{25} = +16 \pm 2^\circ$ (c 1, MeOH)).

Taula 2.10. Valors de rotació òptica específica per les 5-arilhistidines **23-27**

5-Arilhistidina	Ar	Concentració (g/100mL)	T (°C)	$[\alpha]_D^T$ (°)
23		0.27	20	9.74
24		0.28	19	10.47
25		0.22	19	9.55
26		0.27	20	6.99
27		0.26	19	7.55

A més, es va analitzar la integritat òptica de les 5-arilhistidines **23-28**, d'Ac-His(5-Br)-OMe (**15**) i d'Ac-His-OMe (**10**) per HPLC utilitzant una columna quirals. Es va utilitzar un protocol posat a punt en el nostre grup per a l'anàlisi d'aminoàcids protegits amb el grup tetracloroftaloil.⁷⁴ Les 5-arilhistidines **23-28** presentaven el mateix perfil que l'Ac-His(5-Br)-OMe (**15**) i l'Ac-His-OMe (**10**) demostrant que no hi havia hagut racemització durant les etapes de protecció i arilació de l'anell d'imidazole.

Així doncs, mitjançant irradiació microones ha estat possible l'arilació de la posició 5 de l'anell d'imidazole de les histidines **14** a través d'una reacció de Suzuki-Miyaura, essent el primer exemple de síntesi de 5-arilhistidines.

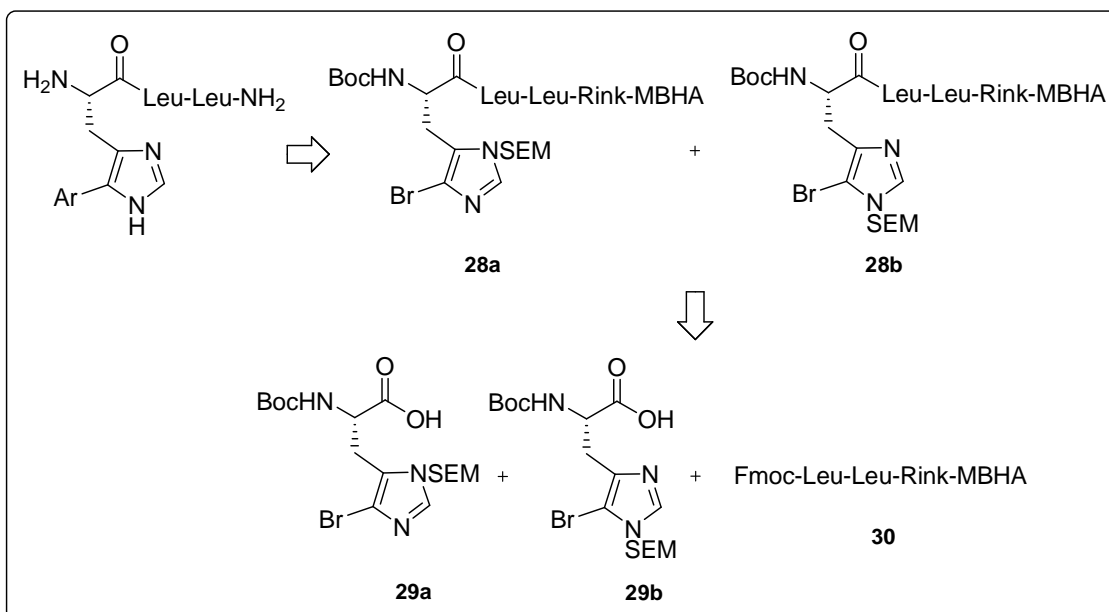
⁷⁴ Cros, E.; Planas, M.; Bardají, E. *Synthesis* **2001**, 1313.

2.3 Síntesi de 5-arilhistidines en fase sòlida

2.3.1 Estratègia general

El tercer objectiu d'aquesta tesi doctoral consistia en l'estudi de l'aplicació de la metodologia anterior a la síntesi de 5-arilhistidines en fase sòlida.⁷⁵ En els últims anys, s'han publicat un gran nombre de reaccions d'acoblament creuat en fase sòlida ja que aquesta metodologia permet eliminar fàcilment el catalitzador mitjançant rentats successius, permet utilitzar un excés de reactiu proporcionant rendiments alts i els processos poden ser fàcilment automatitzables.⁷⁶

L'obtenció de 5-arilhistidines en fase sòlida es va plantejar a través de l'arilació de les tripeptidil resines **28** que incorporen un residu de 5-bromohistidina unit a un espaiador format per dos residus de leucina. Es va proposar la incorporació d'aquest espaiador per tal de disminuir la polaritat del producte de l'arilació i així facilitar la seva anàlisi per HPLC (Esquema 2.34). Les tripeptidil resines **28** s'obtidrien per acoblament de les bromohistidines **29** a la dipeptidil resina **30**.



Esquema 2.34. Estratègia retrosintètica de 5-arilhistidines en fase sòlida

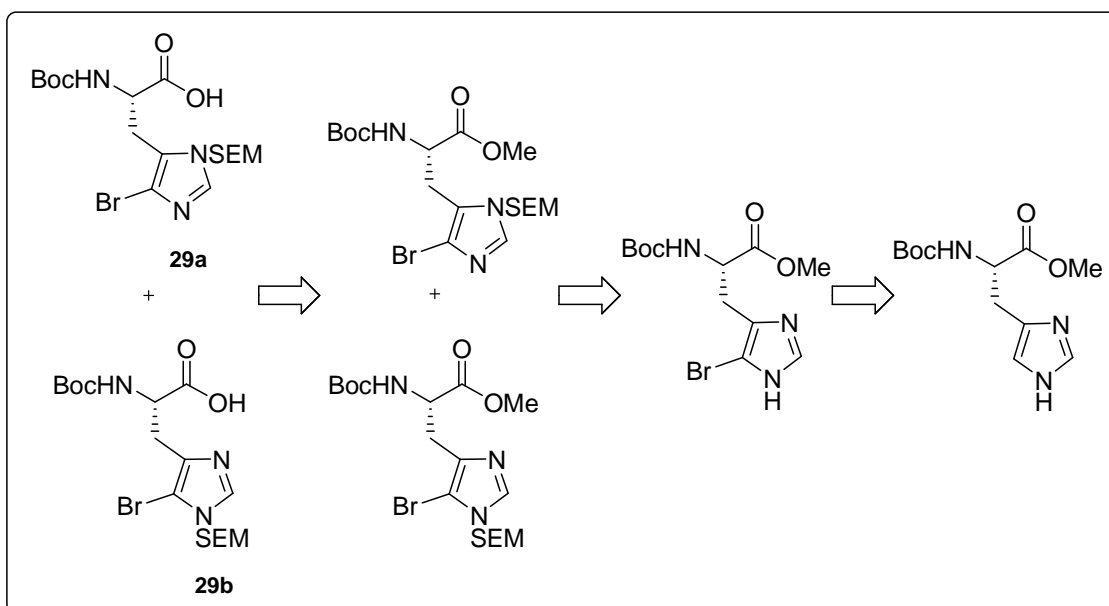
⁷⁵ Cerezo, V.; Amblard, M.; Martínez, J.; Verdié, P.; Planas, M.; Feliu, L. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 10538.

⁷⁶ (a) Bräse, S.; Kirchhoff, J. H.; Köbberling, J. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 885. (b) Sammelson, R. E.; Kurth, M. J. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 137.

2.3.2 Síntesi de Boc-His(5-Br, π -SEM)OH (**29a**) i Boc-His(5-Br, τ -SEM)OH (**29b**)

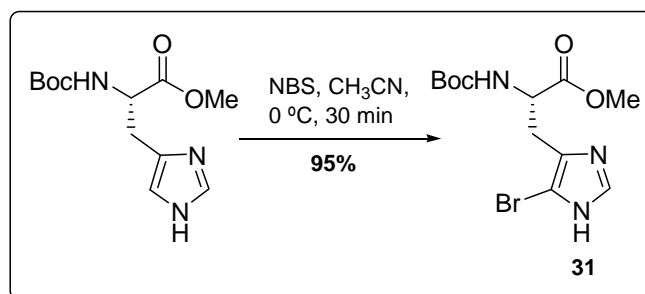
La protecció de les bromohistidines es va plantejar utilitzant el grup Boc com a protector del grup $N(\alpha)$ -amino degut a la seva estabilitat davant de les condicions bàsiques de la reacció de Suzuki-Miyaura. La protecció de l'anell d'imidazole amb el grup SEM evitaria la racemització del residu d'histidina. Ambdós grups s'eliminarien durant l'etapa de desancorament.

La síntesi d'aquestes bromohistidines protegides implicaria la bromació de la posició 5 de l'anell d'imidazole de Boc-His-OMe comercial, protecció d'aquest anell amb el grup SEM i hidròlisi del metil ester (Esquema 2.35).



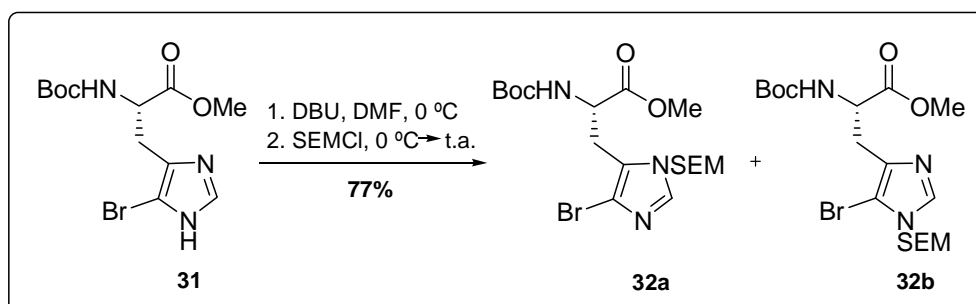
Esquema 2.35. Estratègia retrosintètica per a la síntesi de **29**

La bromació de Boc-His-OMe es va realitzar per tractament amb NBS en CH_3CN anhidre a $0\text{ }^\circ\text{C}$. Després de 30 min de reacció es va obtenir la bromohistidina **31** amb un 95% de rendiment (Esquema 2.36). A diferència de la bromació d'Ac-His-OMe (**10**), no es va detectar la formació de producte dibromat. El compost **31** es va caracteritzar mitjançant ^1H - i ^{13}C -RMN, i espectrometria de masses.



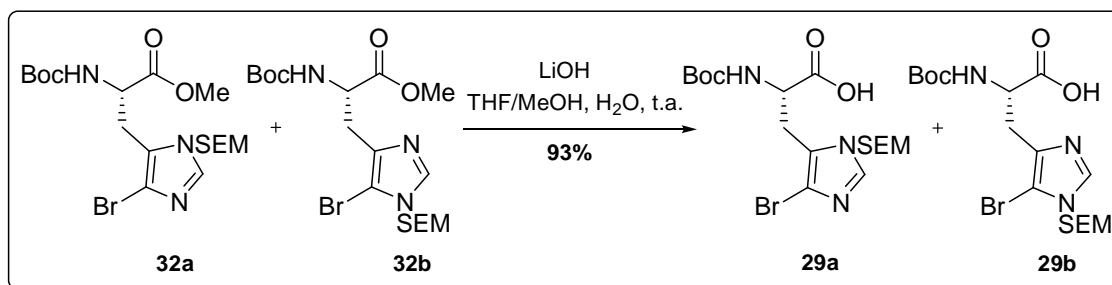
Esquema 2.36. Síntesi de Boc-His(5-Br)-OMe (**31**)

L'anell d'imidazole de Boc-His(5-Br)-OMe (**31**) es va protegir amb el grup SEM per tractament amb DBU (1.5 equiv) en DMF anhidre i posterior addició de SEM-Cl (1.5 equiv) a 0 °C. Es va deixar que la mescla de reacció arribés a temperatura ambient, i després de 3 h es va obtenir una mescla de les histidines regioisomèriques **32a** i **32b** amb un 77% de rendiment (Esquema 2.37). L'anàlisi per HPLC va mostrar que la relació **32a:32b** era (3:1). Aquestes bromohistidines **32** no es varen poder separar per cromatografia en columna. Per tal d'assignar aquests regioisòmers, una alíquota de la mescla **32** es va purificar per HPLC preparatiu. L'estructura es va confirmar comparant els espectres de ^1H - i ^{13}C -RMN de **32a** i **32b** amb els de **14a** i **14b**, respectivament.



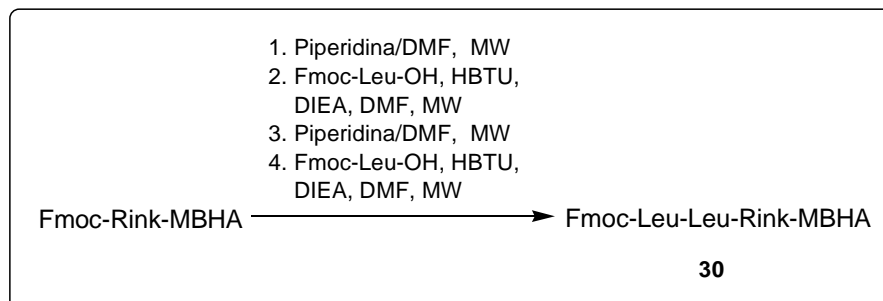
Esquema 2.37. Síntesi de les 5-bromohistidines protegides **32**

La hidròlisi del metil ester de les bromohistidines **32** es va assolir per tractament amb LiOH a temperatura ambient durant 1.5 h proporcionant les histidines **29a** i **29b** amb un 93% de rendiment (Esquema 2.38). Aquesta barreja regioisomèrica es va caracteritzar per ^1H - i ^{13}C -RMN, IR i espectrometria de masses d'alta resolució. L'espectre de ^1H -RMN presentava els senyals característics dels grups Boc i SEM. La presència de l'àcid carboxílic es va confirmar per ^{13}C -RMN i IR. A més, l'anàlisi per ESI-MS d'alta resolució va mostrar el pic a $[\text{M}+\text{H}]^+$ amb una distribució isotòpica característica d'un compost monobromat.

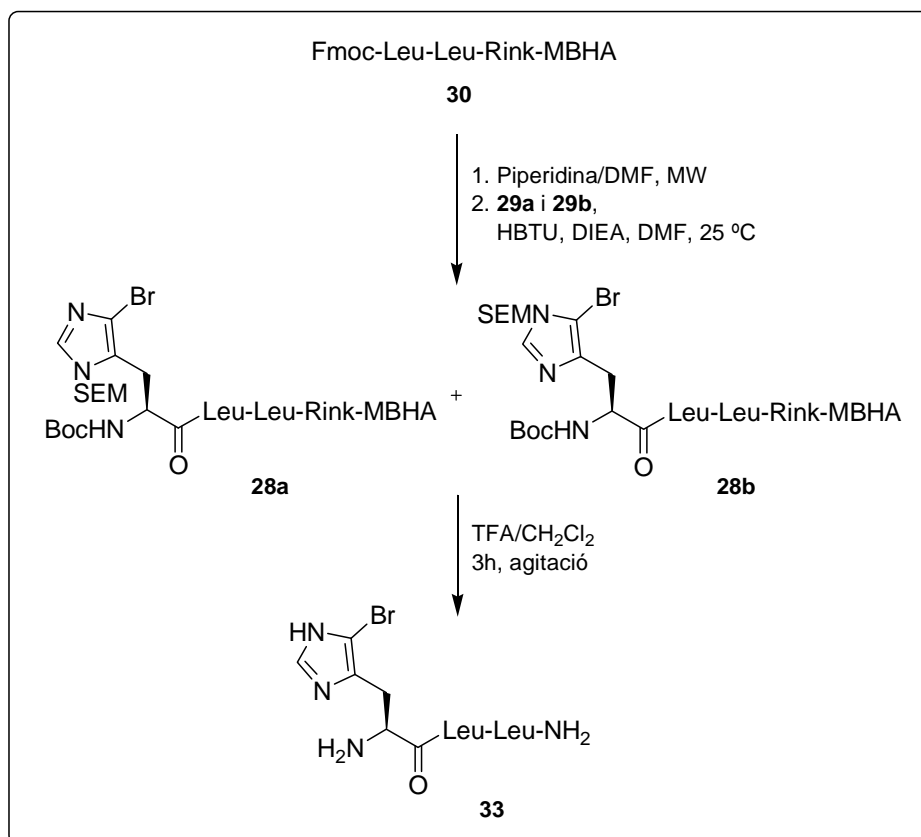

Esquema 2.38. Hidròlisi bàsica de **32**

2.3.3 Síntesi de Boc-His(5-Br,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**28**)

La tripeptidil resina Boc-His(5-Br,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**28**) es va preparar a partir d'una resina Fmoc-Rink-MBHA (0.94 mmol/g). Es va seguir una estratègia Fmoc/*t*-Bu utilitzant condicions estàndards de síntesi de pèptids en fase sòlida. L'eliminació del grup Fmoc es va realitzar per tractament de la resina amb 20% piperidina/DMF durant 3 min d'irradiació microones a 75 °C. L'acoblament de Fmoc-Leu-OH es va realitzar amb HBTU com a reactiu d'acoblament i DIEA com a base en DMF durant 5 min d'irradiació microones a 75 °C (Esquema 2.39). D'aquesta manera es va obtenir la dipeptidil resina Fmoc-Leu-Leu-Rink-MBHA (**30**).


Esquema 2.39. Síntesi de la dipeptidil resina **30**

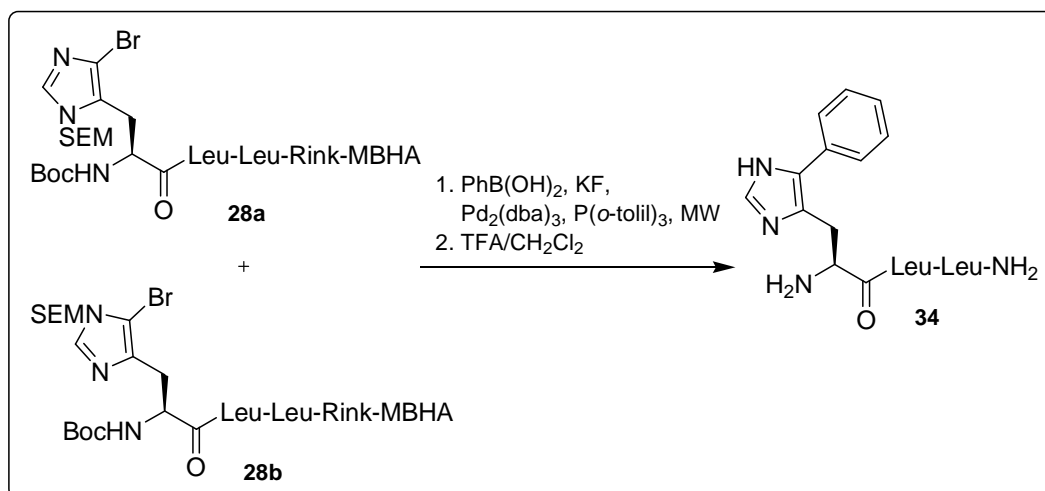
A continuació, es va eliminar el grup Fmoc de **30** i s'hi va acoblar la barreja de 5-bromohistidines **29** a temperatura ambient durant 3 h obtenint-se les tripeptidil resines **28a** i **28b**. Una alíquota d'aquesta barreja es va tractar amb TFA/CH₂Cl₂ (95:5) sota agitació durant 3 h a temperatura ambient proporcionant el tripèptid **33** amb un 99% de puresa per HPLC. Aquest tripèptid va ser caracteritzat per ¹H- i ¹³C-RMN, i espectrometria de masses (Esquema 2.40).

Esquema 2.40. Síntesi del tripèptid **33**

2.3.4 Arilació de Boc-His(5-Br,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**28**) mitjançant una reacció de Suzuki-Miyaura sota irradiació microones

2.3.4.1 Síntesi d'H-His(5-Ph)-Leu-Leu-NH₂ (**34**)

En primer lloc, es va assajar l'arilació de les tripeptidil resines **28** amb àcid fenilborònic segons les condicions que es mostren a la Taula 2.11 (Esquema 2.41). Després de cada assaig es va desancorar el pèptid del suport i el cru de reacció es va analitzar per HPLC ($\lambda = 214$ nm) i es va caracteritzar per LC/MS.



Esquema 2.41. Síntesi del tripètid **34**

A continuació es mostren les estructures dels pèptids que apareixen a la Taula 2.11 (Figura 2.11).

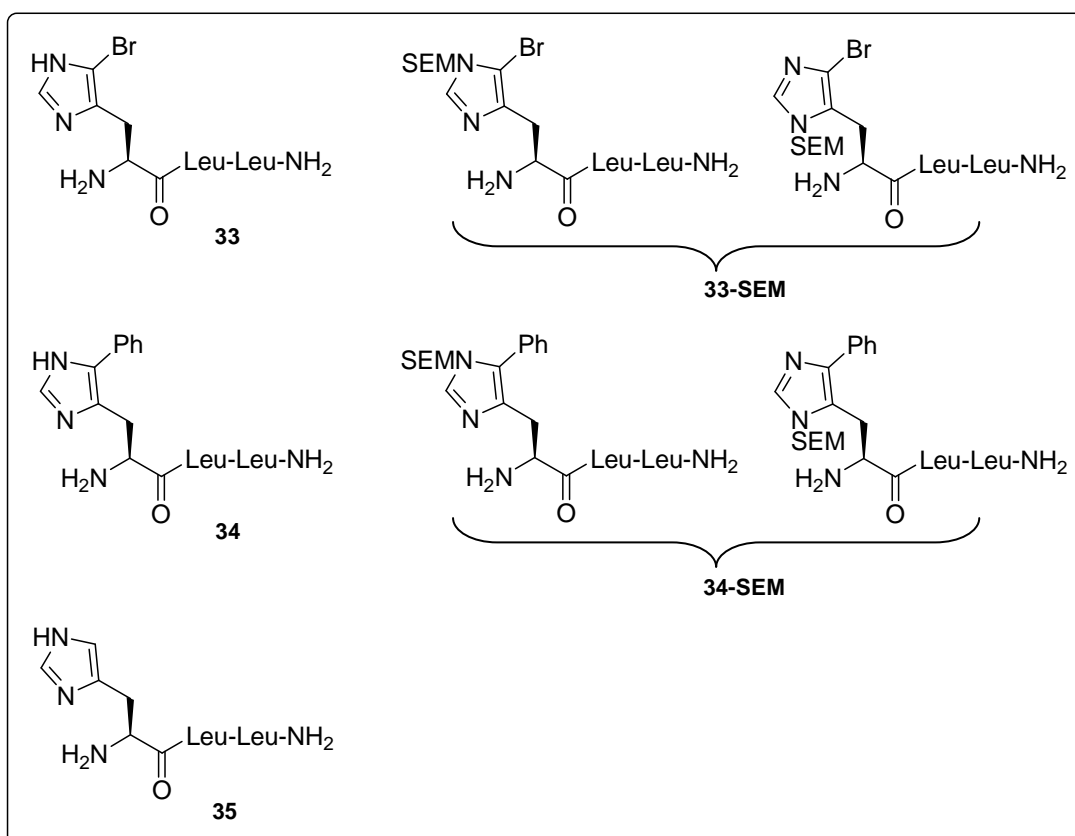


Figura 2.11. Estructures dels tripèptids **33**, **33-SEM**, **34**, **34-SEM** i **35**

Taula 2.11. Condicions assajades per a l'arilació assistida per microones de la tripeptidil resina **28** amb PhB(OH)₂

Entrada	PhB(OH) ₂ (equiv)	Pd ₂ (dba) ₃ (equiv)	P(o-tolil) ₃ (equiv)	KF (equiv)	Dissolvent	Volum (mL)	T (°C)	t (min)	35 ^a (%) ^b	33 ^a (%)	33-SEM ^a (%)	34 ^a (%)	34-SEM ^a (%)
1	2	0.1	0.2	2	Tol/EtOH/H ₂ O	4	110	10	- ^c	35	34	-	-
2	2	0.1	0.2	2	DME/EtOH/H ₂ O	4	170	10	-	21	17	3	4
3	2	0.1	0.2	2	DME/EtOH/H ₂ O	1.2	170	10	4	3	12	8	29
4	3	0.15	0.3	3	DME/EtOH/H ₂ O	1.2	170	10	6	9	13	20	45
5	4	0.2	0.4	4	DME/EtOH/H ₂ O	1.2	170	10	12	-	-	52	29
6	5	0.25	0.5	5	DME/EtOH/H ₂ O	1.2	170	10	11	-	-	63	16
7	4	0.2	0.4	4	DME/EtOH/H ₂ O	1.2	170	15	11	-	-	67	17
8	4	0.2	0.4	4	DME/EtOH/H ₂ O	1.2	170	15	10	-	-	83	2

^aEstructura representada a la Figura 11.^bPercentatge determinat per HPLC a 214nm a partir de la barreja del cru de reacció.^cNo detectat.

Prenent com a punt de partida les millors condicions obtingudes per a la síntesi de 5-arilhistidines en dissolució (apartat 2.2.4), la tripeptidil resina **28** es va tractar amb àcid fenilborònic (2 equiv), Pd₂(dba)₃ (0.1 equiv), P(*o*-tolil)₃ (0.2 equiv) i KF (2 equiv) sota irradiació microones a 110 °C durant 10 min en una barreja desgasada de toluè/EtOH/H₂O (9:1:0.2) (entrada 1, Taula 2.11). El metanol es va substituir per etanol absolut degut a la seva millor capacitat d'inflament de les resines de poliestirè. En aquestes condicions només es va recuperar el producte de partida **33** (35%) i el seu anàleg amb l'anell d'imidazole protegit **33-SEM** (34%). Utilitzant com a dissolvent una mescla de 1,2-dimetoxietà (DME)/EtOH/H₂O (9:9:2) i sotmetent la resina **28** a una temperatura de 170 °C durant 10 min, es van detectar traces (7%) del tripèptid arilat **34** + **34-SEM** (entrada 2). Tenint en compte que la concentració de reactius és un paràmetre important en reaccions sobre suport sòlid,⁷⁷ el volum de reacció es va reduir aproximadament a una tercera part. D'aquesta manera, es va observar una millora significativa de la reacció, obtenint-se el producte arilat **34** + **34-SEM** amb un 37% de puresa (entrada 3).

Per tal de millorar aquest resultat, la reacció de Suzuki-Miyaura es va portar a terme augmentant l'excés dels reactius (entrades 4-6). L'ús d'àcid fenilborònic (4 equiv), Pd₂(dba)₃ (0.2 equiv) i KF (4 equiv) va donar el millor resultat, obtenint-se el producte arilat **34** + **34-SEM** amb un 81% de puresa i no es va detectar producte de partida (entrada 5). Un augment de la quantitat de reactius no va millorar els resultats (entrada 6). D'altra banda, allargant el temps d'exposició a la irradiació microones fins a 15 min, es va obtenir el tripèptid arilat **34** + **34-SEM** amb una puresa lleugerament superior (84% i 85%, entrades 7 i 8).

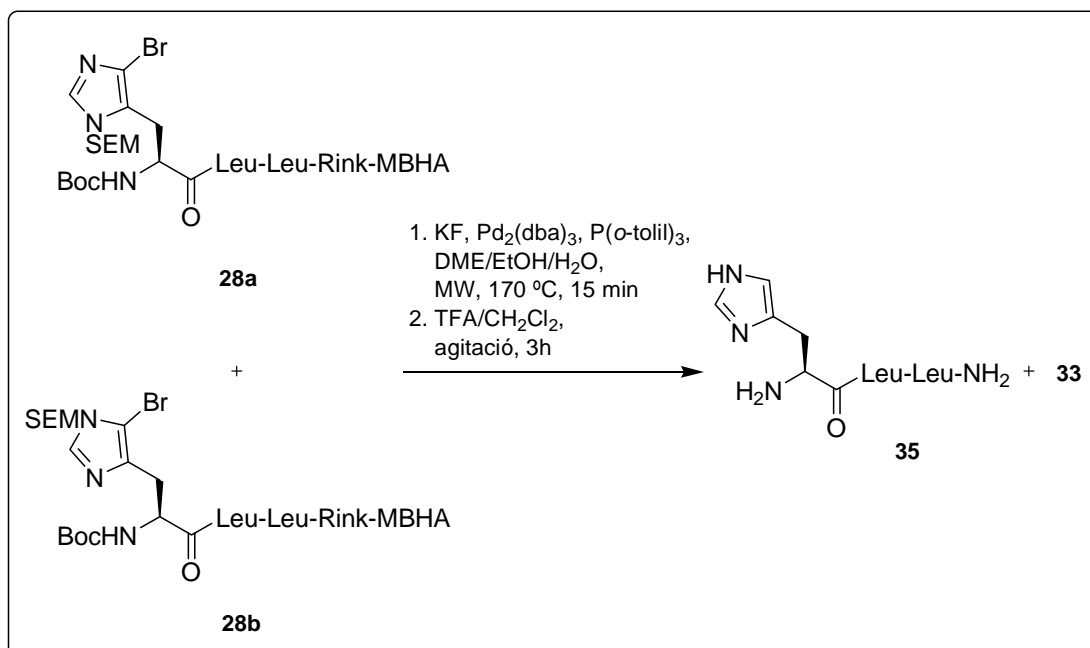
Els crús de reacció dels assajos 3-8 de la Taula 2.11 també contenien un subproducte (4-12%) que per ESI-MS es va identificar com el tripèptid **35** (Figura 2.11). Aquest compost provenia de la deshalogenació reductiva de la tripeptidil resina **28**. Aquesta reacció secundària ha estat descrita per Bellina en reaccions de Suzuki-Miyaura amb bromoimidazoles^{35b} i s'ha atribuït a la presència de dissolvents pròtics com alcohols o aigua.⁷⁸

Per tal de comprovar la formació de **35**, es va tractar la resina **28** en condicions anàlogues a les descrites per Nolan i col·laboradors per a la deshalogenació de clorurs

⁷⁷ Amblard, M.; Fehrentz, J. -A.; Martinez, J.; Subra, G. *Mol. Biotechnol.* **2006**, *33*, 239.

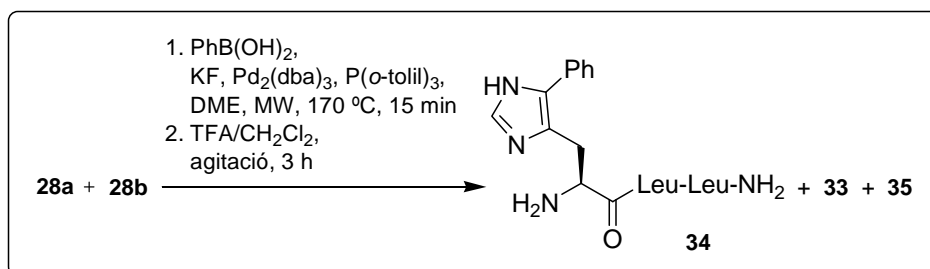
⁷⁸ (a) Miyaura, N.; Yamada, K.; Suginome, H.; Suzuki, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 972. (b) Miyaura, N.; Suzuki, A. *Org. Synth.* **1990**, *68*, 130. (c) Grushin, V. V.; Alper, H. *Organometallics* **1993**, *12*, 1890. (d) Viciu, M. S.; Grasa, G. A.; Nolan, S. P. *Organometallics* **2001**, *20*, 3607.

d'aril.⁷⁹ Així, la resina **28** es va sotmetre a les condicions anteriors de la reacció de Suzuki-Miyaura però en absència d'àcid fenilborònic (Esquema 2.42). El compost deshalogenat **35** es va obtenir amb un 58% de puresa.



Esquema 2.42. Deshalogenació reductiva de **28**

Amb la finalitat de reduir la quantitat de **35**, es va assajar la reacció entre la resina **28** i l'àcid fenilborònic utilitzant únicament DME com a dissolvent (Esquema 2.43). Malgrat l'absència de dissolvent pròtic, també es va obtenir un 10% de producte deshalogenat **35**. A més, només es va formar un 47% de producte arilat **34** i es va recuperar un 39% de producte de partida **33**.



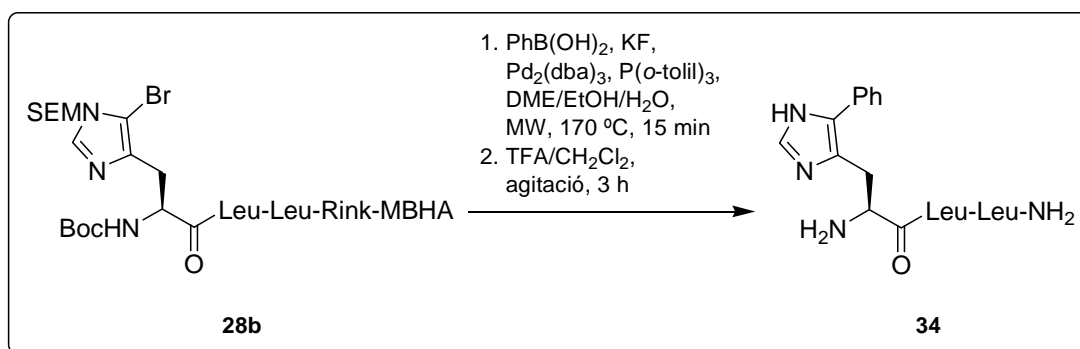
Esquema 2.43. Assaig de síntesi de **34** utilitzant DME com a dissolvent

Simultàniament als estudis de la reacció de Suzuki-Miyaura per a la síntesi de **34** es va optimitzar l'eliminació del grup SEM durant l'etapa de desancorament del pèptid. En els primers assajos la tripeptidil resina **28** es va tractar amb TFA/CH₂Cl₂ (95:5) a

⁷⁹ Navarro, O.; Kaur, H.; Mahjoor, P.; Nolan, S. P. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 3173.

temperatura ambient, sense agitació i durant 2 h, observant-se un gran percentatge de pèptid protegit amb el grup SEM (entrades 1-5, Taula 2.11). Posteriorment, aquesta etapa es va realitzar sota agitació durant 2 h, obtenint-se una major proporció de producte desprotegit (entrades 6 i 7, Taula 2.11). Finalment, allargant el temps de desancorament de 2 a 3 h sota agitació es va aconseguir l'eliminació quasi quantitativa del grup SEM, de manera que només es va obtenir un 2% de producte protegit amb SEM (entrada 8, Taula 2.11).

Les condicions òptimes obtingudes per a l'arilació de la mescla regioisomèrica **28a** i **28b** es varen aplicar al regioisòmer **28b**. Després del desancorament del pèptid del suport, l'anàlisi per HPLC del cru de reacció va mostrar que el pèptid **34** es formava amb una puresa similar a l'obtinguda a partir de la barreja regioisomèrica (Esquema 2.44).

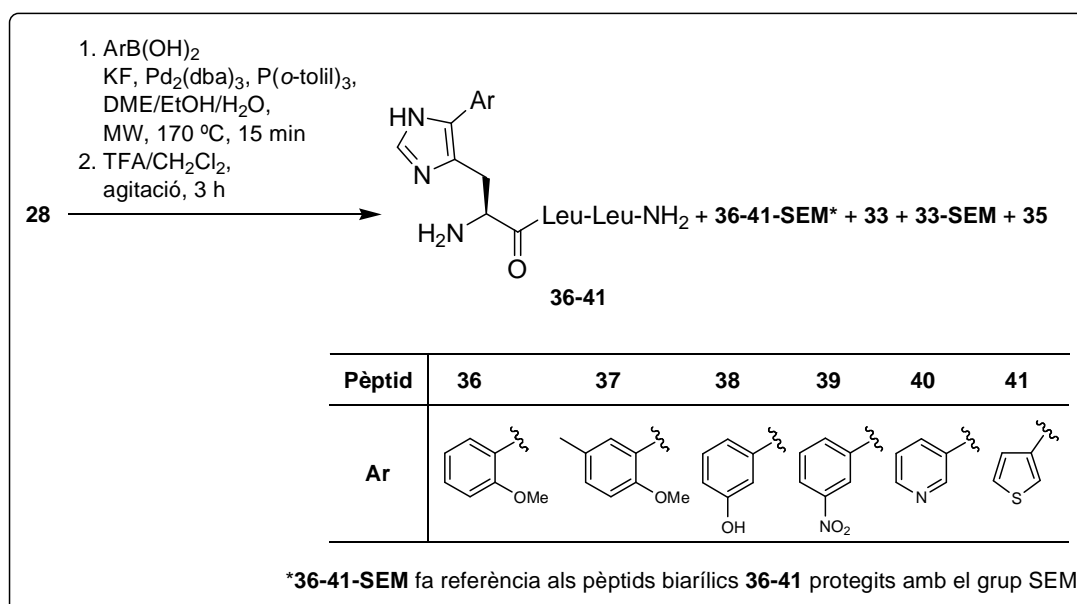


Esquema 2.44. Arilació de la tripeptidil resina **28b**

Així doncs, les millors condicions per a l'arilació de **28** amb àcid fenilborònic han estat: àcid fenilborònic (4 equiv), Pd₂(dba)₃ (0.2 equiv), P(*o*-tolil)₃ (0.4 equiv) i KF (4 equiv) sota irradiació microones a 170 °C durant 15 min en una barreja desgasada de DME/EtOH/aigua (9:9:2). L'eliminació del grup SEM durant l'etapa de desancorament s'ha assolit agitant la resina amb TFA/CH₂Cl₂ (95:5) durant 3 h a temperatura ambient.

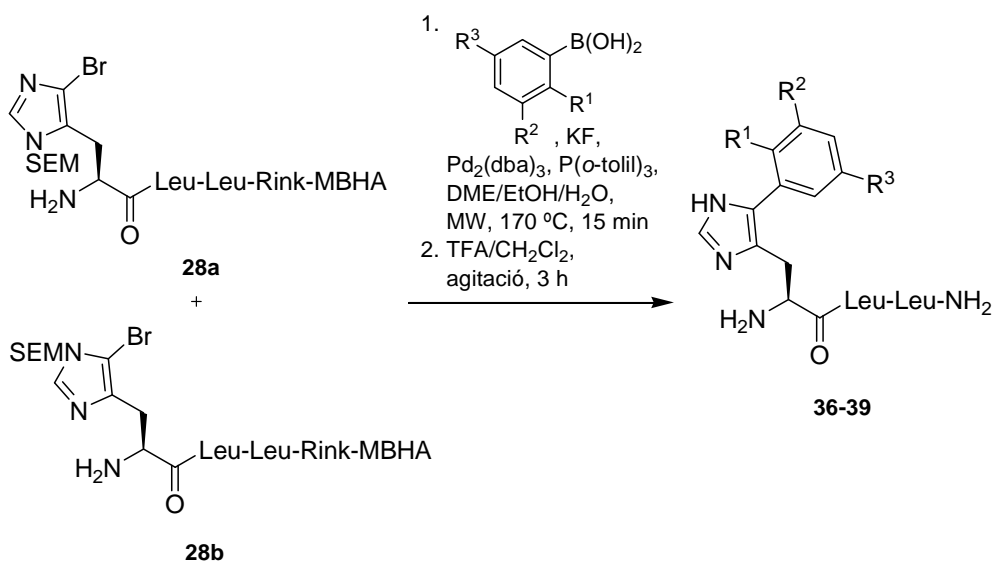
2.3.4.2 Síntesi d'H-His(5-Ar)-Leu-Leu-NH₂ (**36-41**)

Les condicions de la reacció de Suzuki-Miyaura anteriors es varen aplicar a l'arilació de la tripeptidil resina **28** amb altres àcids arilborònics. Concretament, es varen utilitzar l'àcid 3-hidroxifenilborònic, l'àcid 3-nitrofenilborònic, l'àcid 2-metoxifenilborònic, l'àcid 5-metil-2-metoxifenilborònic, l'àcid 3-piridilborònic i l'àcid 3-tiofenborònic. En tots els casos la reacció de Suzuki-Miyaura es va portar a terme tractant 150 mg de resina **28** amb el corresponent àcid arilborònic (4 equiv), Pd₂(dba)₃ (0.2 equiv), P(*o*-tolil)₃ (0.4 equiv) i KF (4 equiv) sota irradiació microones a una temperatura de 170 °C durant 15 min en una barreja desgasada de DME/EtOH/H₂O (9:9:2) (Esquema 2.45). Després de cada reacció, es va desancorar el pèptid del suport i el cru de reacció es va analitzar per HPLC (λ= 214 nm).



Esquema 2.45. Arilació de **28** amb diferents àcids arilborònics

Els millors resultats es varen obtenir en l'arilació de **28** amb l'àcid 5-metil-2-metoxifenilborònic i amb l'àcid 3-nitrofenilborònic, obtenint-se els corresponents productes arilats amb 80-83% de puresa (entrades 2 i 4, Taula 2.12). L'arilació amb els àcids 2-metoxifenilborònic i 3-hidroxifenilborònic va conduir a un menor percentatge de pèptid arilat **36** + **36-SEM** (65%, entrada 1, Taula 2.12) i **38** + **38-SEM** (72%, entrada 3, Taula 2.12), respectivament. En totes aquestes reaccions també es va detectar la presència de producte bromat **33** (2-15%) i del producte deshalogenat **35** (4-20%).

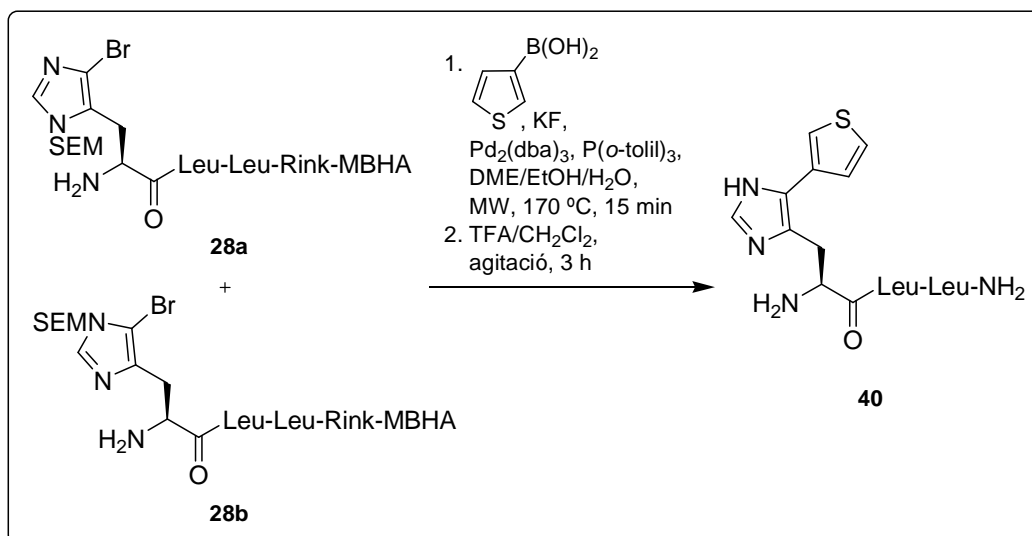
Taula 2.12. Síntesi dels tripèptids biarílics **36-39**


Entrada	R ¹	R ²	R ³	35 (%) ^a	33 (%)	33-SEM (%)	Pèptid	Pèptid (%)	Pèptid-SEM (%)
1	OMe	H	H	10	15	- ^b	36	61	4
2	OMe	H	Me	4	4	7	37	75	8
3	H	OH	H	13	2	-	38	65	7
4	H	NO ₂	H	20	-	-	39	73	7

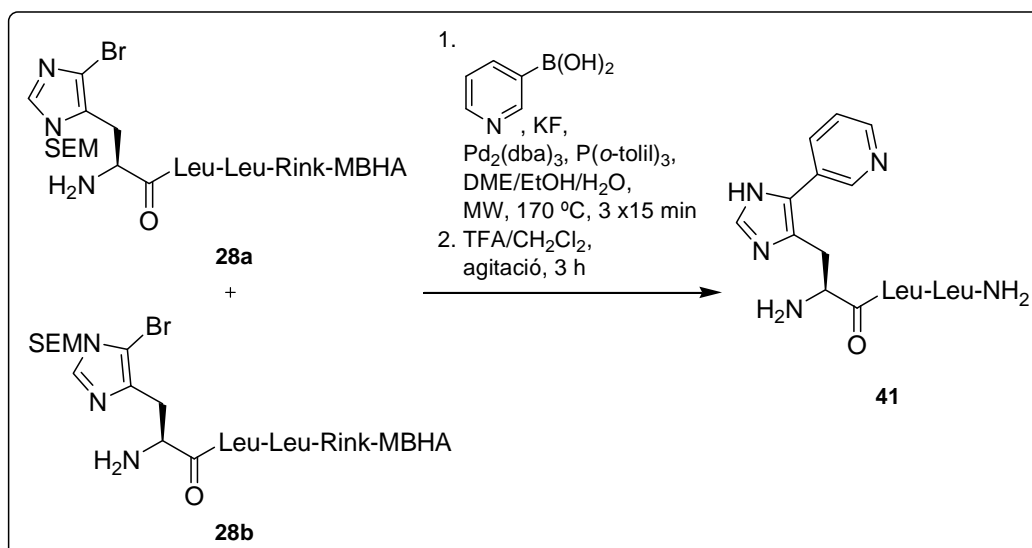
^aPercentatge determinat per HPLC a 214 nm a partir del cru de reacció

^bNo detectat

La reacció de Suzuki-Miyaura de **28** amb l'àcid 3-tiofenborònic va donar lloc al producte arilat **40** amb una bona puresa (70%). Es va detectar tan sols un 9% de producte deshalogenat **35** i no es va observar la presència de tripèptid bromat **33** (Esquema 2.46).


Esquema 2.46. Síntesi del tripèptid biarílic **40**

Anàlogament, a la síntesi en dissolució de 5-(3-piridil)histidines, l'acoblament de **28** amb l'àcid 3-piridilborònic va resultar ser el més difícil. Va ser necessari tractar tres vegades la resina **28** amb les condicions de reacció de Suzuki-Miyaura anteriors per obtenir el pèptid biarílic **41** amb un 52% de puresa (Esquema 2.47). Al cru de reacció es va detectar un 36% de producte deshalogenat **35** i no es va observar pèptid bromat **33**.

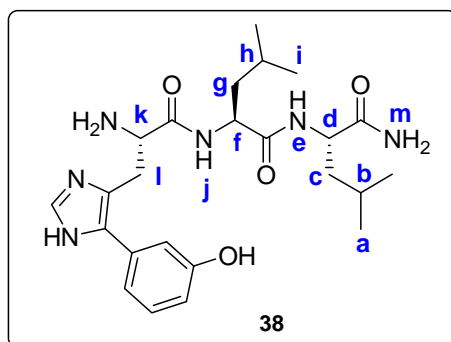

Esquema 2.47. Síntesi del tripèptid biarílic **41**

2.3.4.3 Caracterització dels tripèptids **33, 34, 36-41**

El tripèptid bromat **33** i els tripèptids biarílics **34, 36-41** van ser purificats per HPLC preparatiu en fase reversa i la seva elucidació estructural es va portar a terme mitjançant espectrometria de masses i experiments de ^1H - i ^{13}C -RMN. A més, per tal d'assignar correctament tots els senyals de protó i carboni, per alguns d'aquests pèptids es van realitzar experiments de RMN bidimensionals 2D-COSY i HMQC. A continuació es mostra la caracterització d'alguns d'aquests tripèptids.

2.3.4.3.1 Caracterització dels tripèptids biarílics **38 i 41**

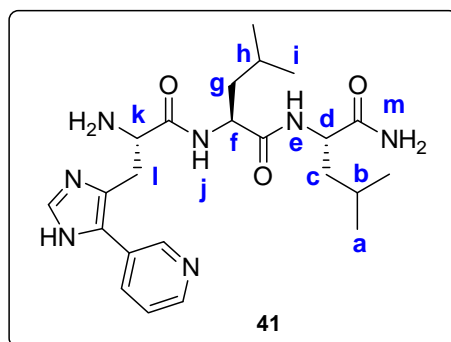
A les taules 2.13 i 2.14 es mostren les dades de ^1H -RMN, ^{13}C -RMN, 2D-COSY i HMQC pels pèptids **38 i 41**.

Taula 2.13. Caracterització del tripèptid **38**


Àtom	$^1\text{H}^{a,b}$ δ (ppm)	$^{13}\text{C}^b$ δ (ppm)	COSY $^1\text{H} \rightarrow ^1\text{H}$	HMQC $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$
a,i	0.89-0.95 (m)	20.41, 20.79, 22.30, 22.34	H(b,h)	C(a,i)
b,h	1.62-1.70 (m)	24.45, 24.52	H(a,i)	C(b,h)
c,g	1.51-1.61 (m)	38.89, 40.44	H(d,f)	C(c,g)
d,f	4.30-4.36 (m)	52.11, 53.04	H(c,g),H(e,j)	C(d,f)
e,j	7.44 (d, 7.6), 7.84 (d, 5.8)		H(d,f)	
k	4.42 (dd, 5.2 i 8.4)	52.16	H(l)	C(k)
l	3.37 (dd, 8.4 i 15.5) 3.48 (dd, 5.2 i 15.5)	26.23	H(k)	C(l)
m	6.03 (s), 6.59 (s)			
CH _{imid-2}	8.60 (s)	134.04		C _{imid-2}
C _{imid}		122.28, 127.40		
C _{arom-1}		131.88		
CH _{arom-2}	7.14 (t, 2.0)	115.05	H _{arom-4} , H _{arom-6}	C _{arom-2}
C _{arom-3}		157.86		
CH _{arom-4}	6.96 (ddd, 0.8, 2.0 i 8.0)	117.35	H _{arom-2} , H _{arom-5} , H _{arom-6}	C _{arom-4}
CH _{arom-5}	7.38 (t, 8.0)	130.61	H _{arom-4} , H _{arom-6}	C _{arom-5}
CH _{arom-6}	7.05 (ddd, 0.8, 2.0 i 8.0)	119.29	H _{arom-2} , H _{arom-4} , H _{arom-5}	C _{arom-6}
CO		167.40, 173.76, 174.36		

^aEntre parèntesi s'indica la multiplicitat i la constant d'acoblament en Hz.

^bEspectres enregistrats en CD₃CN.

Taula 2.14. Caracterització del tripèptid **41**


Àtom	$^1\text{H}^{\text{a,b}}$ δ (ppm)	COSY $^1\text{H} \rightarrow ^1\text{H}$
a,i	0.84-0.92 (m)	H(b,h)
b,h	1.52-1.68 (m)	H(a,i)
c,g		H(d,f)
d,f	4.25-4.29 (m)	H(c,g),H(e,j)
e,j	7.27 (d, 7.6), 7.97 (d, 5.6)	H(d,f)
k	4.39-4.44 (m)	H(l)
l	3.42-3.46 (m)	H(k)
m	5.95 (s), 6.47(s)	
CH _{imid-2}	8.42 (s)	
CH _{piridina-2}	9.00 (bs)	
CH _{piridina-4}	8.72 (bs)	H _{piridina-5}
CH _{piridina-5}	7.78 (bs)	H _{piridina-4} , H _{piridina-6}
CH _{piridina-6}	8.34 (d, 7.8)	H _{piridina-5}

^aEntre parèntesi s'indica la multiplicitat i la constant d'acoblament en Hz.

^bEspectre enregistrat en CD₃CN.

2.3.4.3.2 Caracterització dels tripèptids biarílics **36** i **39**

Els espectres de ^1H -RMN dels pèptids biarílics **36** i **39**, realitzats a temperatura ambient i utilitzant CD₃CN com a dissolvent, mostraven un desdoblament dels senyals corresponents als protons de les funcions amida (Figures 2.12 i 2.13). A l'espectre de ^{13}C -RMN també s'observava desdoblament dels senyals situats a la zona alifàtica.

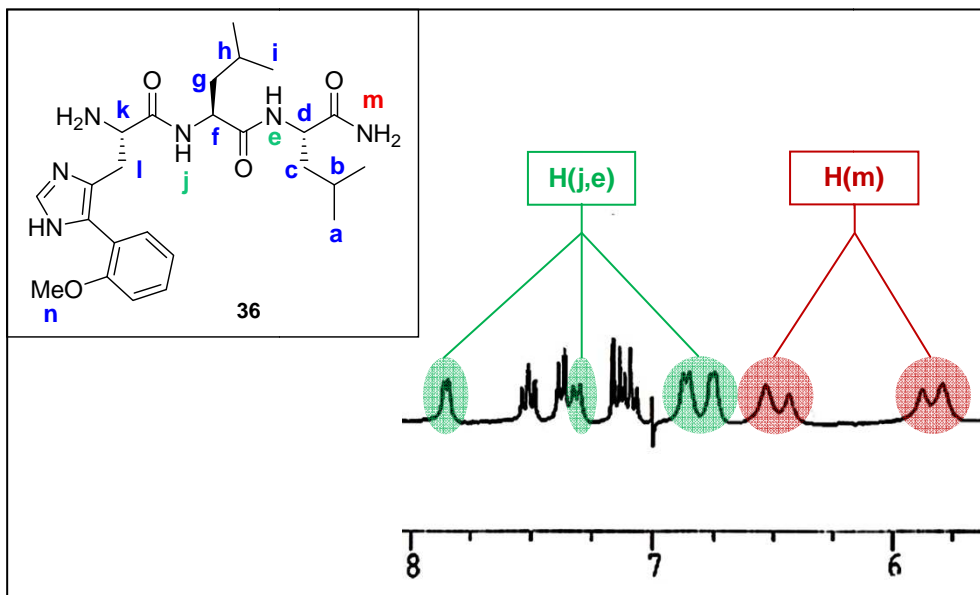


Figura 2.12. ¹H-RMN del pèptid biarílic 36

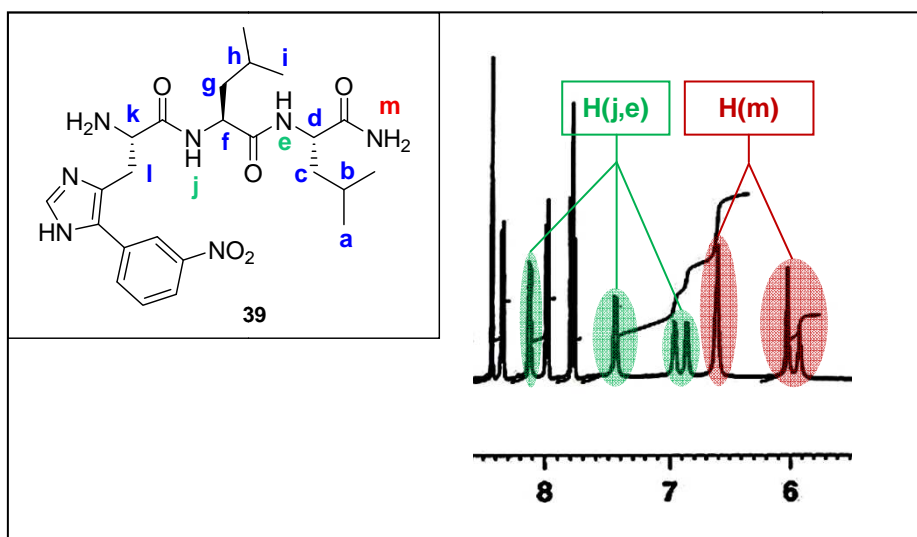


Figura 2.13. ¹H-RMN del pèptid biarílic 39

El desdoblament observat va ser atribuït a la presència de dos confòrmers diferents. Aquesta hipòtesi es va confirmar mitjançant experiments de ¹H-RMN en DMSO-d₆ a altes temperatures, on es va observar que augmentant la temperatura s'arribava a la coalescència dels senyals dels protons amida. A les taules 2.15 i 2.16 es mostren les dades de ¹H-RMN, ¹³C-RMN, 2D-COSY i HMQC pels pèptids 36 i 39.

Taula 2.15. Caracterització del tripèptid **36**

Àtom	$^1\text{H}^{\text{a,b}}$ δ (ppm)	$^{13}\text{C}^{\text{b}}$ δ (ppm)	COSY $^1\text{H} \rightarrow ^1\text{H}$	HMQC $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$
a,i	0.84-0.93 (m)	20.07, 20.16, 20.44, 20.51, 21.91, 21.96, 22.02, 22.09	H(b,h)	C(a,i)
b,h	1.51-1.57 (m)	24.12, 24.16, 24.22	H(a,i)	C(b,h)
c,g		39.65, 39.83, 40.11	H(d,f)	C(c,g)
d,f	4.13-4.33 (m)	51.04, 51.63, 51.79,	H(c,g), H(e,j)	C(d,f,k)
k		52.55, 52.61	H(l)	C(d,f,k)
e,j	6.75 (d, 5.5), 6.86 (d, 7.1) 7.31 (d, 7.5), 7.85 (d, 6.0)		H(d,f)	
l	3.28 (d, 6.6)	25.98	H(k)	C(l)
m	5.79 (s), 5.87 (s), 6.43 (s), 6.53 (s)			
n	3.85 (s)	55.19		C(n)
CH _{imid-2}	8.56 (s)	133.42		C _{imid-2}
C _{imid}		123.28, 128.13		
C _{arom-1}		114.06		
C _{arom-2}		156.67		
CH _{arom-3}	7.15 (d, 7.9)	111.51	H _{arom-4}	C _{arom-3}
CH _{arom-4}	7.52 (td, 1.6 i 7.9)	131.67	H _{arom-3} , H _{arom-5}	C _{arom-4}
CH _{arom-5}	7.09 (t, 7.9)	120.67	H _{arom-4} , H _{arom-6}	C _{arom-5}
CH _{arom-6}	7.38 (dd, 1.6 i 7.9)	130.89	H _{arom-3} , H _{arom-5}	C _{arom-6}
CO		171.17, 172.25, 173.22		

^aEntre parèntesi s'indica la multiplicitat i la constant d'acoblament en Hz.

^bEspectres enregistrats en CD₃CN.

Taula 2.16. Caracterització del tripèptid 39

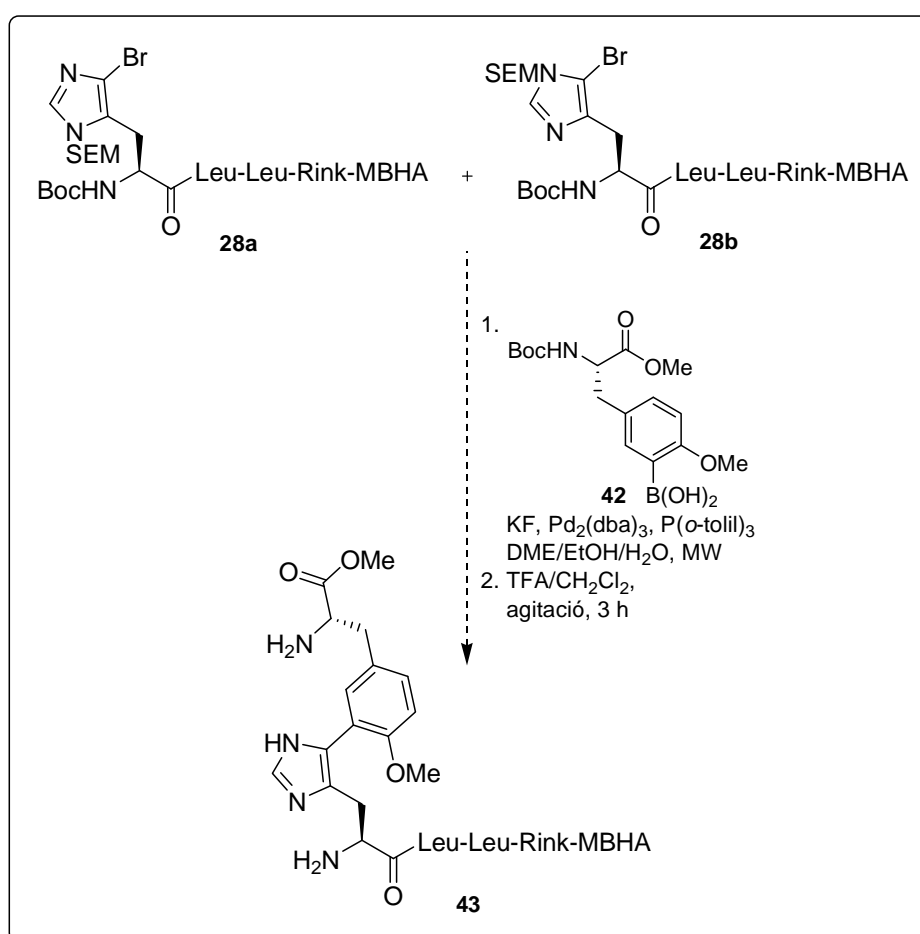
Àtom	$^1\text{H}^{\text{a,b}}$ δ (ppm)	$^{13}\text{C}^{\text{b}}$ δ (ppm)	COSY $^1\text{H} \rightarrow ^1\text{H}$	HMQC $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$
a,i	0.86-0.96 (m)	20.50, 20.81, 20.85, 22.25, 22.30, 22.32, 22.43	H(b,h)	C(a,i)
b,h	1.51-1.73 (m)	24.42, 24.51, 24.53	H(a,i)	C(b,h)
c,g		39.97, 40.09, 40.17, 40.35	H(d,f)	C(c,g)
d,f	4.16-4.22 (m), 4.24-4.28 (m), 4.30-4.35 (m)	51.95, 52.88	H(c,g),H(e,j)	C(d,f)
e,j	6.86 (d, 6.1), 6.96 (d, 7.9) 7.44 (d, 7.4), 8.12 (d, 6.1)		H(d,f)	
k	4.46 (t, 6.6)	52.20	H(l)	C(k)
l	3.48 (d, 6.6)	25.90	H(k)	C(l)
m	5.92 (s), 6.03 (s), 6.60 (s)			
CH _{imid-2}	8.62 (s)	134.51		C _{imid-2}
C _{imid}		123.79, 128.06		
C _{arom-1}		129.71		
CH _{arom-2}	8.43 (t, 2.1)	123.34	H _{arom-4} , H _{arom-6}	C _{arom-2}
C _{arom-3}		148.26		
CH _{arom-4}	8.35 (ddd, 1.0, 2.1 i 8.0)	123.89	H _{arom-6} , H _{arom-2} , H _{arom-5}	C _{arom-4}
CH _{arom-5}	7.78 (t, 8.0)	130.24	H _{arom-4} , H _{arom-6}	C _{arom-5}
CH _{arom-6}	7.99 (ddd, 1.0, 2.1 i 8.0)	134.68	H _{arom-4} , H _{arom-2} , H _{arom-5}	C _{arom-6}
CO		167.07, 171.17, 172.27, 172.77, 174.04, 174.64		

^aEntre parèntesi s'indica la multiplicitat i la constant d'acoblament en Hz.

^bEspectres enregistrats en CD₃CN.

2.3.5 Síntesi de pèptids contenint 5-(3-tirosil)histidines

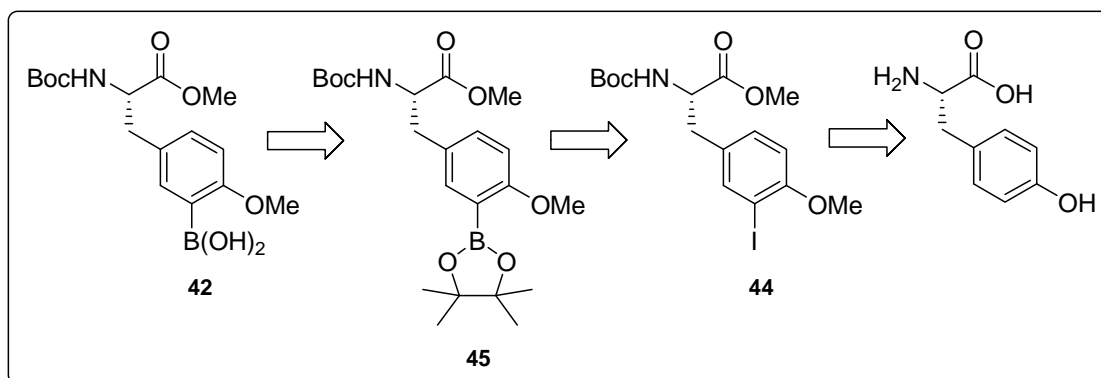
La metodologia anterior es va estendre a la formació d'un enllaç C-C entre les cadenes laterals de residus d'histidina i tirosina. Així doncs, es va estudiar l'arilació de la tripeptidil resina **28** amb l'àcid 3-tirosilborònic **42** per a l'obtenció del tetrapèptid **43** (Esquema 2.48). Per a la protecció dels grups funcionals de **42** es varen escollir grups estables a les condicions de borilació i d'arilació. Pel grup hidroxil es va plantejar la protecció en forma de metil èter. Aquest grup és estable en condicions bàsiques, és poc voluminós, i evitaria la possible interferència del grup fenòlic en les reaccions d'acoblament creuat.



Esquema 2.48. Estratègia per a la síntesi del tetrapèptid **43**

2.3.5.1 Síntesi de l'àcid 3-tirosilborònic **42**

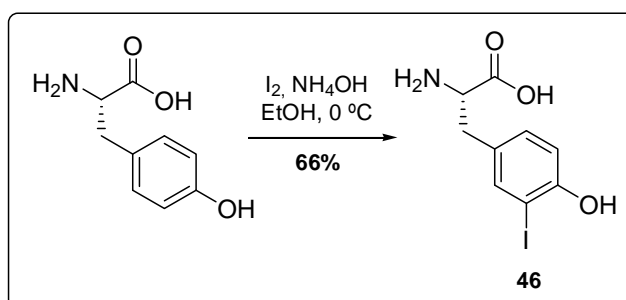
La ruta sintètica plantejada per a la preparació de l'àcid 3-tirosilborònic **42** tenia com a etapes claus la borilació de Miyaura de la 3-iodotirosina **44** i la hidròlisi del corresponent ester pinacòlic **45**. El iododerivat **44** es prepararia a partir de la L-tirosina comercial per iodació de la posició 3 de l'anell fenòlic seguit de protecció dels grups funcionals (Esquema 2.49).



Esquema 2.49. Estratègia per a la síntesi de **42**

2.3.5.1.1 Síntesi de Boc-Tyr(3-Bpin,Me)-OMe (**45**)

Seguint el procediment descrit per Chiarello i Joullie,⁸⁰ la tirosina es va iodar per tractament amb NH_4OH i I_2 en EtOH a 0 °C durant 2.5 h, obtenint-se H-Tyr(3-I)-OH (**46**) amb un 66% de rendiment (Esquema 2.50).

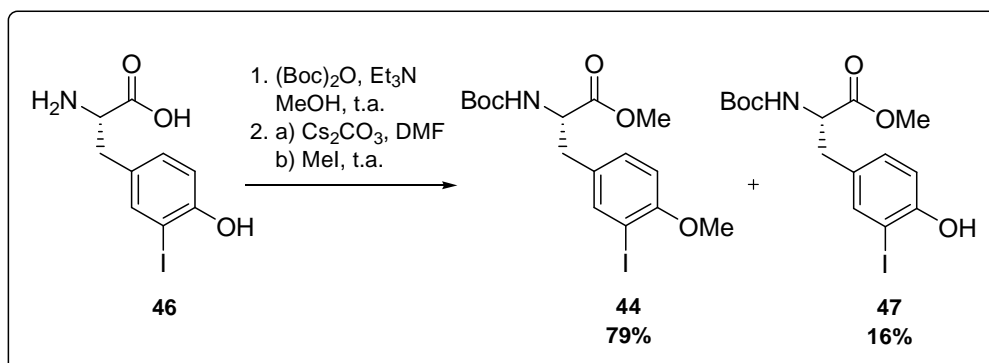


Esquema 2.50. Iodació de la tirosina

El grup $N(\alpha)$ -amino de la tirosina **46** es va protegir amb el grup Boc per tractament amb $(\text{Boc})_2\text{O}$ i Et_3N en MeOH anhidre a temperatura ambient durant tota la nit. Després del *work-up* corresponent, el cru de reacció es va tractar amb carbonat de cesi en DMF anhidre a temperatura ambient durant 15 min i, a continuació, amb iodur

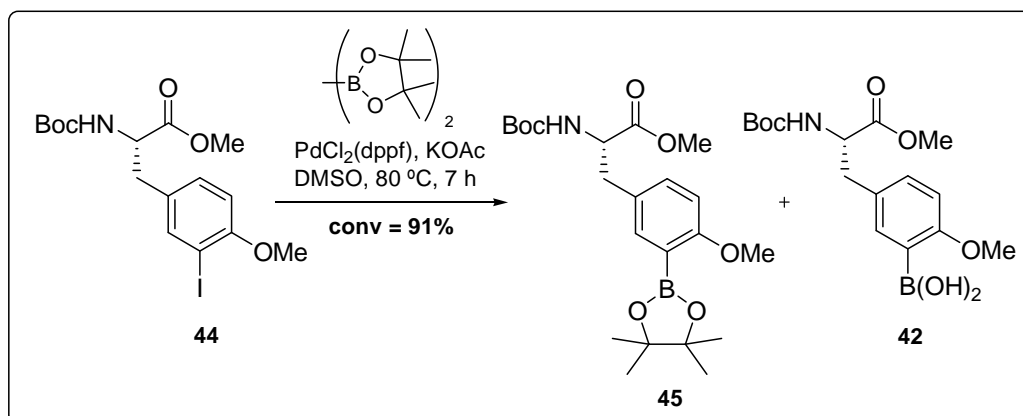
⁸⁰ Chiarello, J.; Joullie, M. M. *Synth. Commun.* **1988**, *18*, 2211.

de metil durant tota la nit. Aquest procediment va proporcionar una mescla de Boc-Tyr(3-I,Me)-OMe (**44**, 79%) i Boc-Tyr(3-I)-OMe (**47**, 16%) que es varen separar per cromatografia en columna (Esquema 2.51).



Esquema 2.51. Protecció dels grups funcionals de H-Tyr(3-I)-OH (**46**)

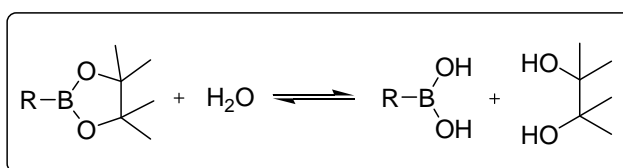
Tot seguit es va procedir a la síntesi de Boc-Tyr(3-Bpin,Me)-OMe (**45**) seguint les condicions descrites per Miyaura.^{32a} La 3-iodotirosina **44** es va tractar amb bis(pinacolat) de dibor, PdCl₂(dppf) i KOAc a 80 °C durant 7 h en DMSO desgasat. El cru de reacció es va purificar per cromatografia en columna obtenint-se una mescla de boronat **45** i de l'àcid borònic **42**. Aquest àcid borònic resulta de la hidròlisi de **45** durant la cromatografia. La conversió de la reacció va ser del 91%. A partir de l'espectre de ¹H-RMN d'aquesta mescla es va calcular que la relació **45:42** era de (1:1) (Esquema 2.52).



Esquema 2.52. Borilació de Miyaura de **44**

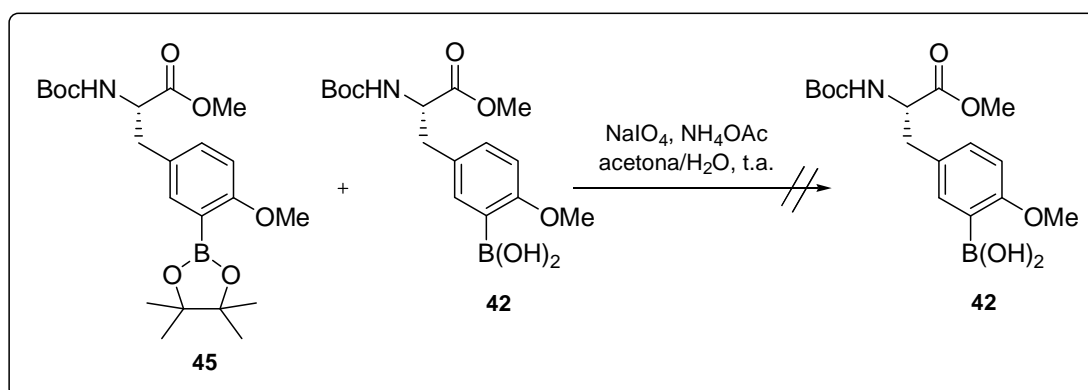
2.3.5.1.2 Hidròlisi de Boc-Tyr(3-Bpin,Me)-OMe (**45**)

Els àcids borònics són més eficients que els pinacolboronats en reaccions d'acoblament creuat. Ara bé, la hidròlisi d'aquests boronats és un procés termodinàmicament desfavorable (Esquema 2.53). No obstant, existeixen mètodes per a dur a terme aquesta conversió que impliquen la utilització de periodat,^{81,82} de dietanolamina⁸³ o la transesterificació en presència d'un excés d'àcid fenilborònic, bé sota condicions de transferència de fase⁸³ o sota condicions homogènies.⁸⁴



Esquema 2.53. Hidròlisi de l'ester pinacolborònic

Així doncs, es va procedir a la hidròlisi de **45**. En primer lloc, es va tractar una barreja de **42** i **45** amb periodat sòdic i acetat amònic 0.1 N en acetona a temperatura ambient durant 18 h (Esquema 2.54).⁸⁵



Esquema 2.54. Assaig de síntesi de **42**

Malauradament, l'àcid borònic **42** no es va obtenir, sinó que es va formar l'àcid carboxílic **48**, provinent de la hidròlisi de l'ester metílic de **42**, juntament amb la boroxina **49** (Figura 2.14). Aquests compostos es varen identificar a partir de l'anàlisi del cru de reacció per ESI-MS i ¹H-RMN. A l'espectre de ¹H-RMN s'observava la

⁸¹ Nakamura, H.; Fujiwara, M.; Yamamoto, Y. *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 7529.

⁸² Coutts, S. J.; Adams, J.; Krolikowski, D.; Snow, R. J. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 5109.

⁸³ Song, Y. -L.; Morin, C. *Synlett* **2001**, 266.

⁸⁴ Decicco, C. P.; Song, Y.; Evans, D. A. *Org. Lett.* **2001**, 3, 1029.

⁸⁵ Hitotsuyanagi, Y.; Hiroshi, I.; Naito, S.; Takeya, K. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 5901.

desaparició del senyal corresponent a l'èster metílic i un desdoblament dels singlets corresponents als grups Boc i metoxi.

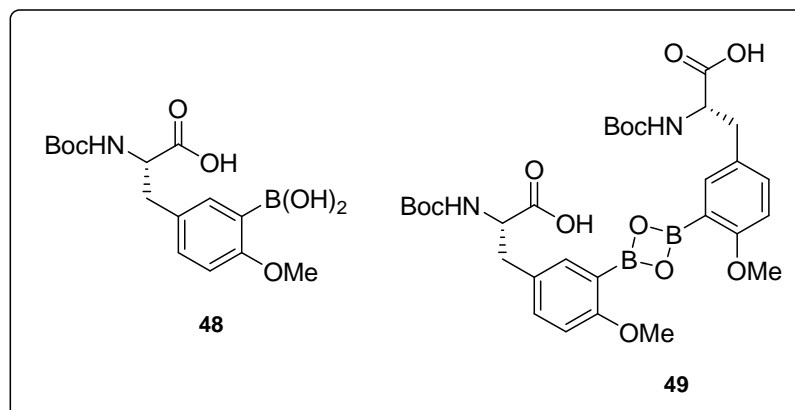
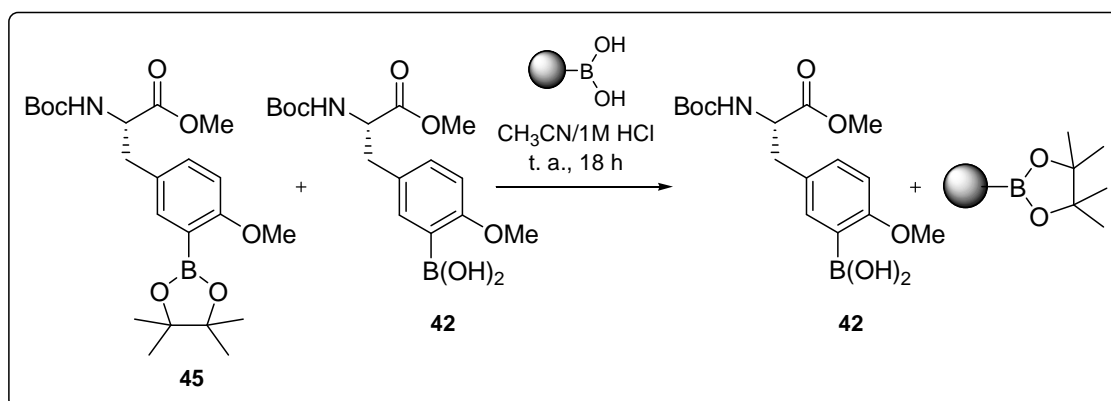


Figura 2.14. Estructures de Boc-Tyr(3-borono,Me)-OH (**48**) i de la boroxina **49**

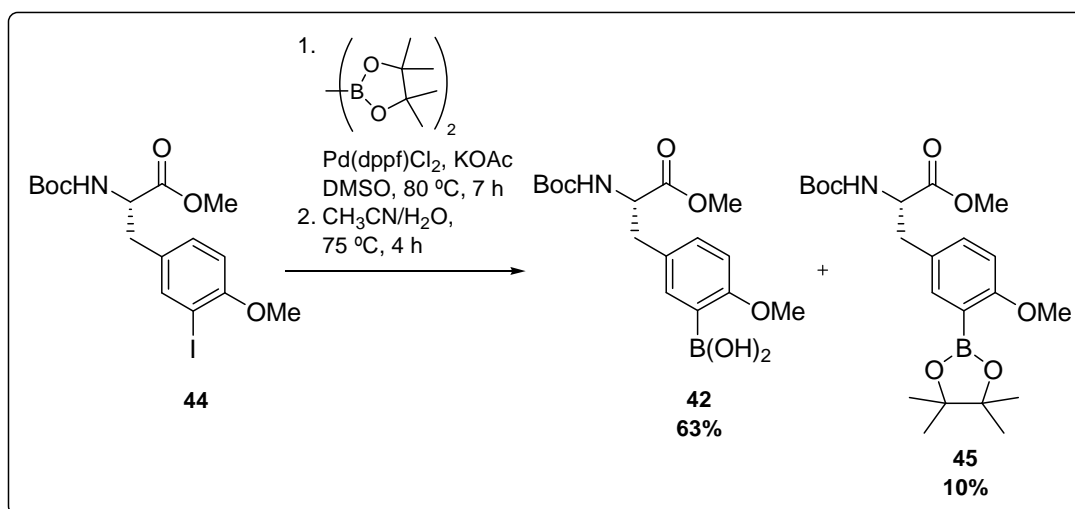
Darrerament, el grup de Hutton ha descrit l'ús d'una resina de poliestirè funcionalitzada com àcid borònic per a la conversió d'esters pinacolborònics en els seus corresponents àcids borònics via transesterificació.⁸⁶ Així, una barreja de **45** i **42** es va tractar amb la resina funcionalitzada amb el grup àcid borònic (5 equiv) en CH₃CN/1M HCl (9:1) a temperatura ambient. Després de 18 h, es va obtenir **42** amb un 60% de rendiment, calculat a partir de la 3-iodotirosina **44** (Esquema 2.55). Tot i aquest resultat, aquest mètode no resulta convenient per a la síntesi de **42** a escala de grams.



Esquema 2.55. Assaig de síntesi de **42**

⁸⁶ Pennington, T. E.; Kardiman, C.; Hutton, C. A. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 6657.

Basant-nos en el fet que Schulz i col.⁸⁷ havien descrit la hidròlisi d'esters pinacolborònics durant l'anàlisi per HPLC degut a la utilització d'H₂O/CH₃CN en presència de TFA, es va tractar la barreja de **45** i **42** amb CH₃CN/H₂O (1:1) a temperatura ambient durant 24 h. En aquestes condicions es va obtenir **42** amb un 43% de rendiment. En augmentar la temperatura de reacció a 75 °C, es va obtenir **42** amb un 63% de rendiment, recuperant-se un 10% de l'ester pinacolborònic **45**. Aquests rendiments han estat calculats a partir de la 3-iodotirosina **44** i, per tant, inclouen tant l'etapa de borilació de Miyaura com la hidròlisi de **45** (Esquema 2.56).

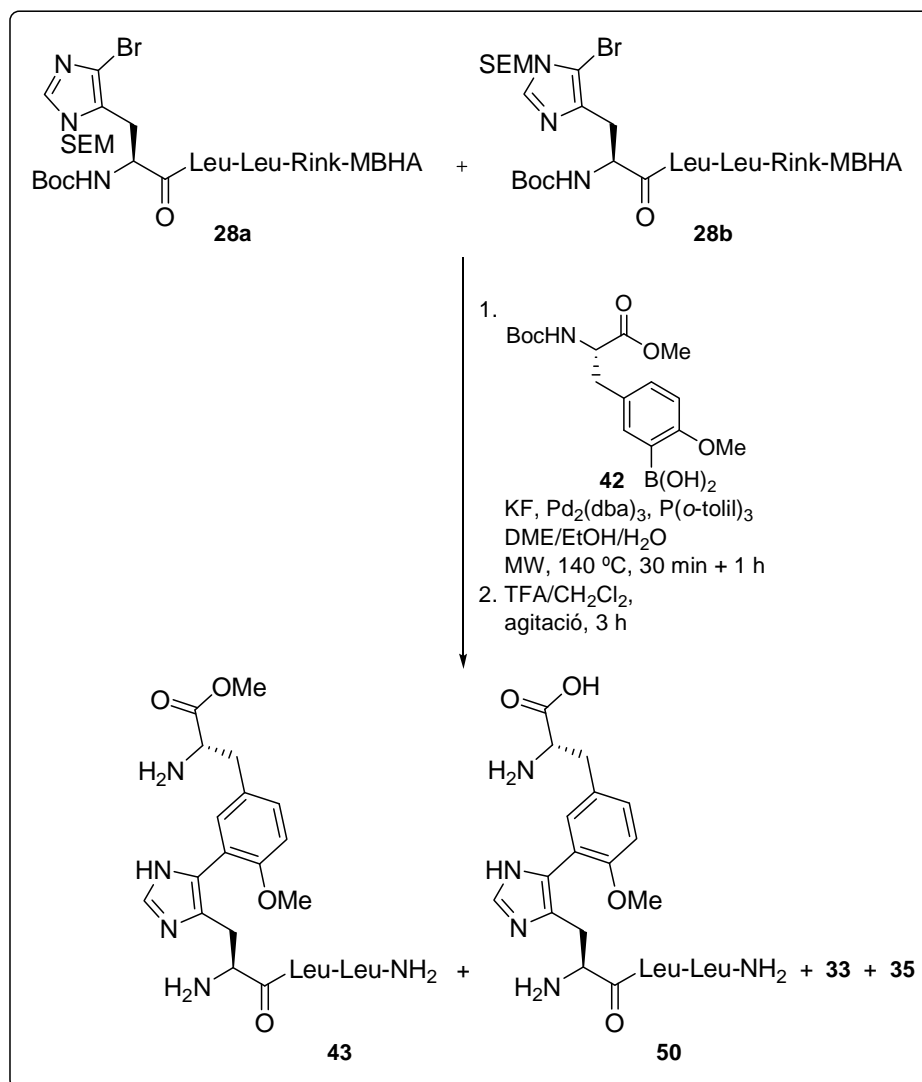


Esquema 2.56. Síntesi de l'àcid 3-tirosilborònic **42**

2.3.5.2 Arilació de **28** amb l'àcid 3-tirosilborònic **42**

L'arilació de la tripeptidil resina **28** amb l'àcid 3-tirosilborònic **42** es va assajar per tractament de **28** amb **42** (4 equiv), Pd₂(dba)₃ (0.2 equiv) i KF (4 equiv) sota irradiació microones a 170 °C durant 30 min en una barreja desgasada de DME/EtOH/H₂O (9:9:2). D'aquesta manera, es va formar un 22% de tetrapèptid **43** i es va recuperar un 39% de producte bromat **33**. Es va realitzar un segon tractament de 30 min que va portar a la descomposició de la tripeptidil resina. A continuació, es va assajar aquesta arilació a 140 °C durant 30 min, obtenint-se un 23% de **43** i recuperant-se un 37% de **33**. Un segon tractament d'1 h va donar lloc a un 18 % de **43** juntament amb un 49% de **50**, producte provinent de la hidròlisi de l'ester metílic de **43**. També es va observar la formació d'un 19% de producte deshalogenat **35** i d'un 12% de **33** (Esquema 2.57).

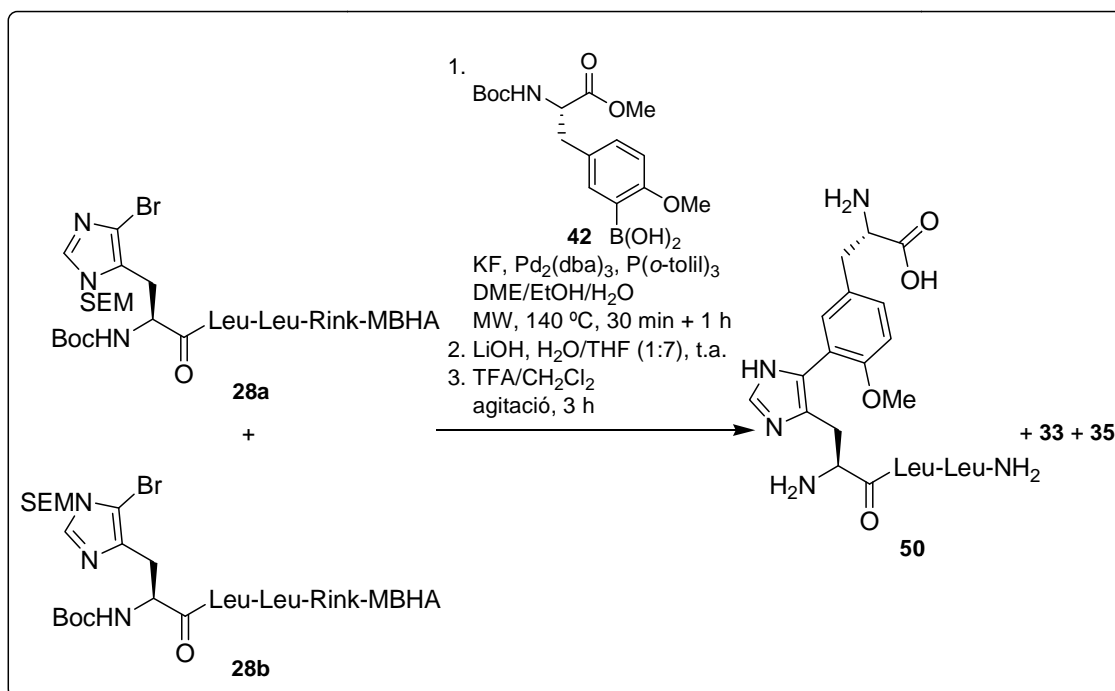
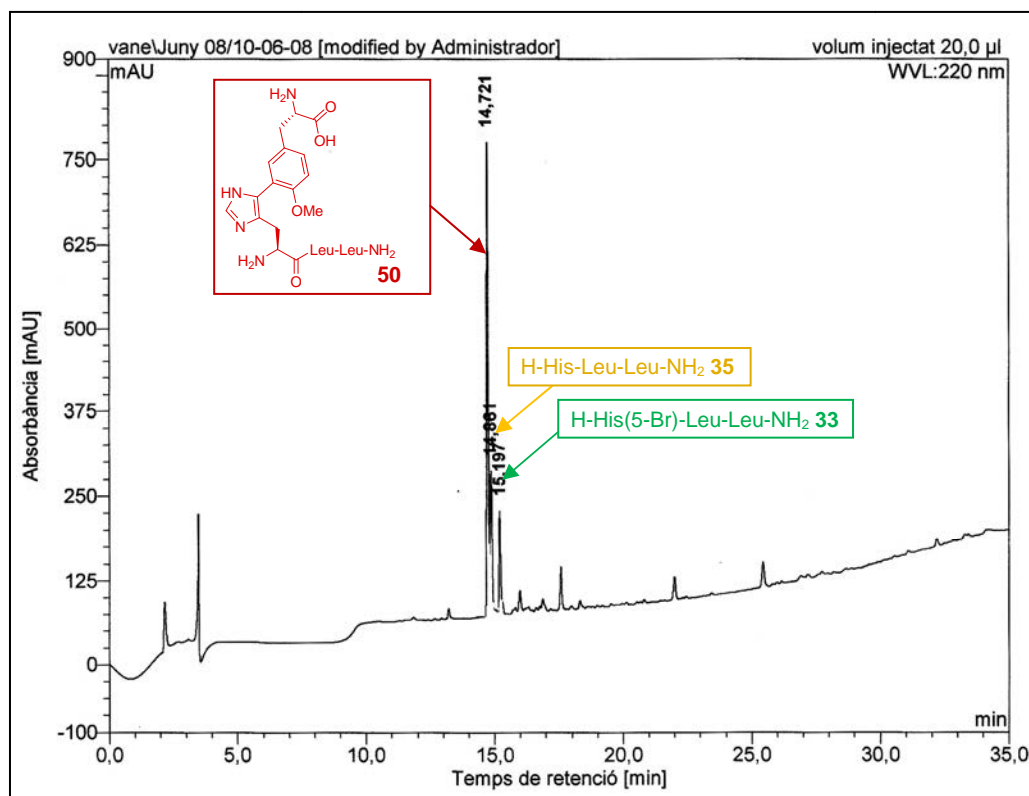
⁸⁷ Schulz, M. J.; Coats, S. J.; Hlasta, D. J. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3265.



Esquema 2.57. Arilació de la resina **28** amb l'àcid 3-tirosilboronic **42**

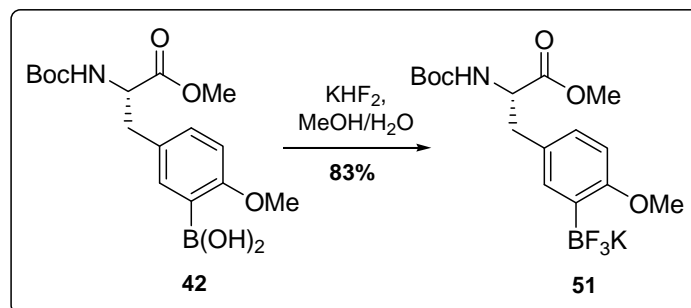
Per tal de promoure la hidròlisi completa del metil ester de la tirosina, la resina obtinguda de la reacció de Suzuki-Miyaura anterior es va tractar amb LiOH (5 equiv) en THF/ H_2O (7:1). D'aquesta manera, es va obtenir **50** amb un 67% de puresa (Esquema 2.58, Figura 2.15).⁸⁸

⁸⁸ Gu, W.; Silverman, R. B. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 8774.


 Esquema 2.58. Síntesi del tetrapèptid **50**

 Figura 2.15. HPLC corresponent al cru de la reacció de **28** amb **42**

Per tal de millorar el resultat anterior, la reacció de Suzuki-Miyaura anterior es va assajar sota condicions de transferència de fase. D'una banda, es va realitzar en presència de bromur de tetrabutilamoni, obtenint-se un 44% de **50**, un 19% de pèptid deshalogenat **35** i un 29% de producte bromat **33**. D'altra banda, es va realitzar utilitzant les condicions descrites per Bellina per a la síntesi de 4(5)-arilimidazoles.¹⁶ Així, l'acoblament de **28** i **42** es va portar a terme en presència de PdCl₂(dppf), CsF i clorur de tetrabutilamoni sota irradiació microones a 110 °C en una barreja desgasada de toluè/H₂O (4:1), recuperant-se únicament producte de partida **33**.

Com a alternativa, es va plantejar la utilització d'un organotrifluoroborat de potassi. Aquests són sòlids cristal·lins, estables a l'aire i a la humitat, i generalment presenten una major nucleofília que els esters i àcids borònics en reaccions d'acoblament creuat.⁸⁹ Concretament, es va preparar l'organotrifluoroborat **51** a partir de l'àcid borònic **42** seguint el procediment descrit per Darses.^{89c} Així, **42** es va tractar amb KHF₂ en MeOH/H₂O a temperatura ambient, obtenint-se **51** amb un 83% de rendiment (Esquema 2.59).

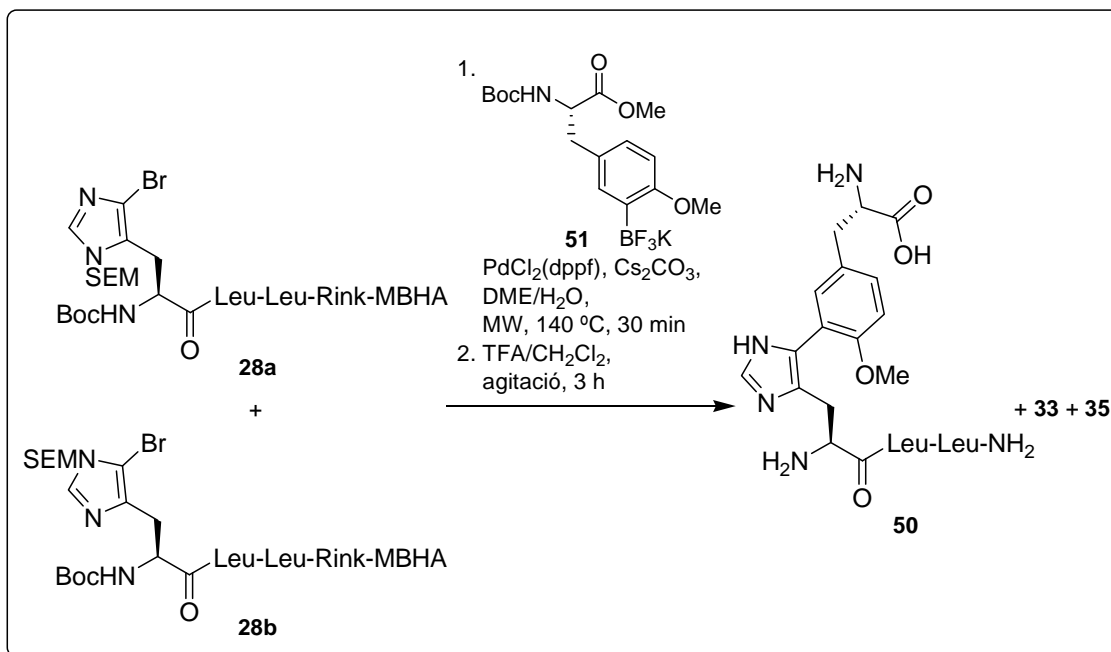


Esquema 2.59. Síntesi de l'organotrifluoroborat de potassi **51**

L'organotrifluoroborat de potassi **51** es va caracteritzar mitjançant ¹H- i ¹³C-RMN, IR i espectrometria de masses d'alta resolució. En comparar l'espectre de ¹H-RMN de **51** amb el de l'àcid borònic **42**, s'observa la desaparició del pic a 5.54 ppm corresponent als protons de l'àcid borònic. L'espectre de ¹³C-RMN mostra la desaparició del carboni unit al bor, tal i com es descriu a la literatura.^{89c} A més, l'anàlisi per ESI-MS d'alta resolució en mode negatiu va confirmar que es tractava d'aquest compost.

⁸⁹ (a) Vedejs, E.; Chapman, R. W.; Fields, S. C.; Lin, S.; Schrimp, M. R. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 3020. (b) Vedejs, E.; Fields, S. C.; Hayashi, R.; Hitchcock, S. R.; Powell, D. R.; Schrimpt, M. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 2460. (c) Darses, S.; Michaud, G.; Genet, J-P. *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 1875. (d) Molander, G. A.; Biolatto, B. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 1867. (d) Molander, G. A.; Biolatto, B. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 4302.

A continuació, es va assajar l'acoblament de la resina **28** i l'organotrifluoroborat de potassi **51** utilitzant PdCl₂(dppf) (0.2 equiv) i Cs₂CO₃ (4 equiv), en una barreja desgasada de DME/H₂O (4:1). Després de 30 min d'irradiació microones a 140 °C, es va obtenir tan sols un 7% de **50** juntament amb un 14% de producte deshalogenat **35** i un 56% de producte bromat **33** (Esquema 2.60).



Esquema 2.60. Arilació de **28** amb **51**

Així doncs, el millor resultat per a l'arilació de **28** amb l'àcid 3-tirosilborònic **42** s'ha obtingut en sotmetre aquesta resina a un tractament de 30 min seguit d'un altre d'1 h amb **42** (4 equiv), Pd₂(dba)₃ (0.2 equiv), P(*o*-tolil)₃ (0.4 equiv) i KF (4 equiv) sota irradiació microones a 140 °C. Aquestes condicions han conduït al tetrapèptid biarílic **50** amb un 67% de puresa, després d'una etapa d'hidròlisi amb LiOH.

CAPÍTOL 2:

Síntesi de pèptids antimicrobians
contenint 5-arilhistidines

3.1 Introducció

Els bacteris fitopatògens són microorganismes unicel·lulars que causen malalties en plantes i fruits, afectant la qualitat dels productes agrícoles i provocant la pèrdua de cultius. La utilització de pesticides en la lluita contra aquestes fitopatologies està limitada per les repercussions tant a nivell mediambiental com de salut pública. A més, la seva efectivitat es veu reduïda per l'aparició de soques resistents. Actualment, nombrosos grups centren la seva investigació en el disseny de nous agents que substitueixin o complementin els pesticides existents i contra els quals els bacteris no puguin desenvolupar resistència. Els pèptids antimicrobians s'han descrit com uns bons candidats.

La majoria de pèptids antimicrobians contenen de 6 a 59 aminoàcids, són catiónics i tenen la capacitat d'adoptar una estructura amfipàtica, de tipus α -hèlix o làmina- β , formada per una regió hidrofòbica i una altra hidrofílica. La cationicitat permet la interacció electrostàtica dels pèptids amb els fosfolípids de la membrana bacteriana, mentre que l'amfipaticitat n'afavoreix la seva inserció.

Els mecanismes d'acció proposats actualment pels pèptids antimicrobians es troben representats a la Figura 3.1.⁹⁰ En dos d'aquests mecanismes l'acció del pèptid té lloc per formació de porus a la membrana citoplasmàtica, mentre que pel tercer es proposa que el mecanisme és de tipus detergent. Aquests mecanismes fan difícil l'aparició de soques resistents ja que implicaria canvis dràstics en la composició dels fosfolípids de la membrana bacteriana.

⁹⁰ (a) Boman, H. G. *Annu. Rev. Immunol.* **1995**, 13, 61. (b) Toke, O. *Biopolymers* **2005**, 80, 717. (c) Brogden, K. A. *Nat. Rev. Microbiol.* **2005**, 3, 238. (d) Li, C.; Salditt, T. *Biophys. J.* **2006**, 91, 3285.

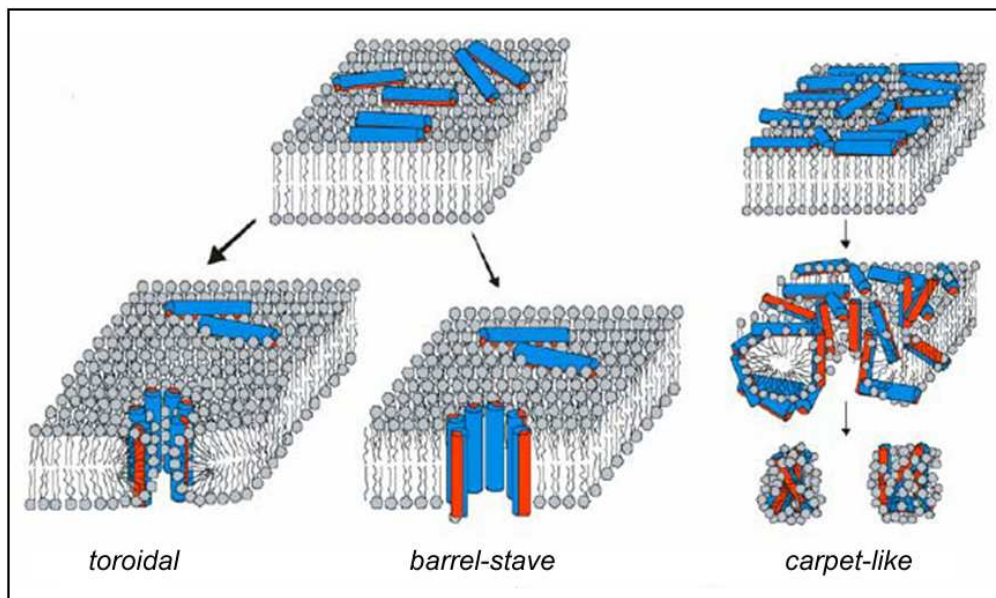


Figura 3.1. Models propats pel mecanisme d'acció dels pèptids antimicrobians

Una de les línies de recerca que desenvolupa el nostre grup, en col·laboració amb el grup de Patologia Vegetal de la UdG, se centra en la cerca de pèptids antimicrobians capaços de combatre agents patògens de cultius de plantes d'importància econòmica. Concretament, s'està estudiant l'aplicació de pèptids lineals o cíclics d'origen natural o dissenyats *de novo* com a agents antimicrobians enfront dels bacteris gram-negatius *Erwinia amylovora*, *Xanthomonas vesicatoria* i *Pseudomonas syringae*.

E. amylovora és el causant del foc bacterià, malaltia greu que afecta a pereres (*Pyrus*), pomeres (*Malus*) i codonyers (*Cydonia*), i també a altres espècies de la família de les rosàcies. *X. vesicatoria* és l'agent causant de la malaltia coneguda com a taca bacteriana, afectant principalment a cultius de tomaqueres i pebroteres. *P. syringae* és el principal patògen causant de la malaltia anomenada necrosi bacteriana que es dona, principalment, en cultius hortícoles. Fins al moment, no existeixen mètodes efectius pel tractament d'aquestes malalties.

En el nostre grup es va sintetitzar una quimioteca de 125 undecapèptids lineals que són híbrids cecropina A-melitina d'estructura general $R-X^1KLFKKILKX^{10}L-NH_2$ on $R= H, Ac, Bn, Bz, Ts$; $X^1= Lys, Leu, Trp, Tyr, Phe$ i $X^{10}= Lys, Val, Trp, Tyr, Phe$. Es va assajar l'activitat antibacteriana d'aquests pèptids enfront *X. vesicatoria*, *P. syringae* i *E. amylovora*, així com la citotoxicitat enfront eritròcits humans i l'estabilitat a la degradació per proteases. Es varen identificar 8 seqüències amb un bon balanç entre l'activitat antibacteriana i l'hemolítica (Taula 3.1), i que a més eren bastant estables a

les proteases. Un d'ells, **BP100**, va presentar una eficàcia *in vivo* comparable a la de l'estreptomocina, antibiòtic que s'utilitza pel control del foc bacterià.⁹¹

Taula 3.1. Pèptids lineals

Pèptid		CMI ^a (µM)			Hemòlisi (%) ^b	
Codi	Seqüència	<i>Ps</i> ^c	<i>Xv</i> ^c	<i>Ea</i> ^c	50 µM	150 µM
BP76	KKLFFKILKFL-NH ₂	2.5-5.0	2.5-5.0	2.5-5.0	3±1	34±2.1
BP66	FKLFFKILKFL-NH ₂	5.0-7.5	2.5-5.0	2.5-5.0	9±2.2	63±5.9
BP77	Ac-KKLFFKILKFL-NH ₂	5.0-7.5	<2.5	5.0-7.5	6±0.6	40±3.8
BP81	LKLFFKILKFL-NH ₂	2.5-5.0	<2.5	2.5-5.0	10±1.3	65±1.5
BP100	KKLFFKILKYL-NH ₂	2.5-5.0	5.0-7.5	2.5-5.0	3±0.1	22±2.8
BP105	LKLFFKILKYL-NH ₂	5.0-7.5	2.5-5.0	5.0-7.5	14±1.6	91±6.2
BP125	Ts-YKLFFKILKKL-NH ₂	2.5-5.0	2.5-5.0	>7.5	2±0.7	8±1.6
BP126	Bz-KKLFFKILKKL-NH ₂	2.5-5.0	2.5-5.0	5.0-7.5	2±0.4	14±2.9

^aCMI, concentració mínima inhibidora.

^bPercentatge d'hemòlisi a 50 i 150 µM més un interval de confiança ($\alpha=0.05$).

^c*Ps*, *Pseudomonas syringae*; *Xv*, *Xanthomonas vesicatoria*; *Ea*, *Erwinia amylovora*.

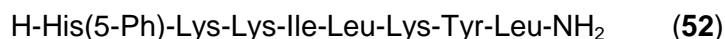
En aquesta tesi doctoral es va plantejar estudiar la síntesi de pèptids antimicrobians contenint residus de 5-arilhistidina. Aquests pèptids es prepararien a partir de les corresponents seqüències incorporant una 5-bromohistidina que s'arilaria aplicant la metodologia desenvolupada al capítol anterior.

⁹¹ (a) Ferre, R.; Badosa, E.; Feliu, L.; Planas, M.; Montesinos, E.; Bardají, E. *Appl. Environ. Microb.* **2006**, *72*, 3302. (b) Badosa, E.; Ferre, R.; Planas, M.; Feliu, L.; Besalú, E.; Cabrefiga, J.; Bardají, E.; Montesinos, E. *Peptides* **2007**, *28*, 2276.

3.1.1 Síntesi de pèptids antimicrobians contenint 5-arilhistidines

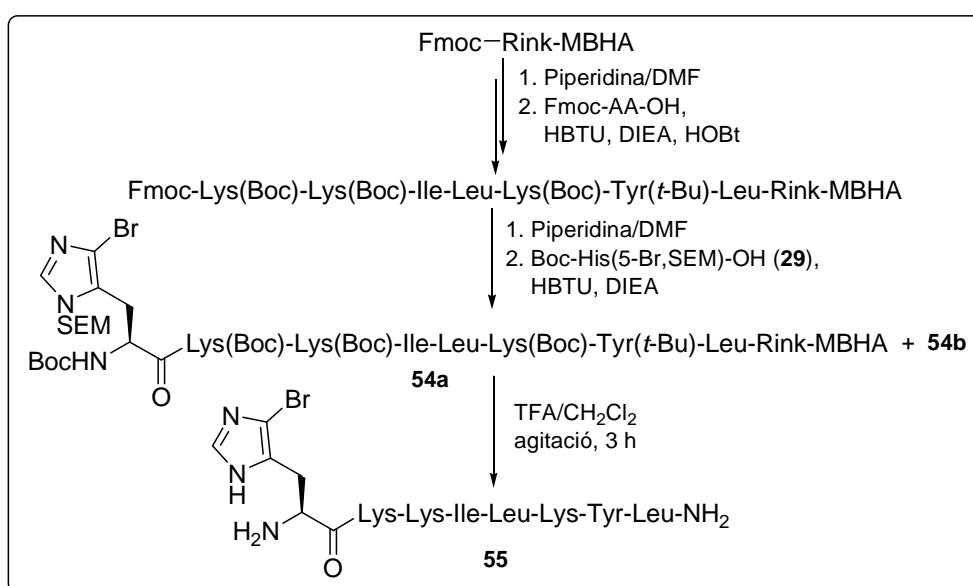
3.1.1.1 Estudi de la influència de la posició del residu de 5-bromohistidina en la reacció de Suzuki-Miyaura

En primer lloc, es va estudiar si la posició del residu de 5-bromohistidina en la seqüència peptídica tenia influència en el resultat de la reacció de Suzuki-Miyaura. En una primera aproximació, es va plantejar la síntesi dels pèptids següents:



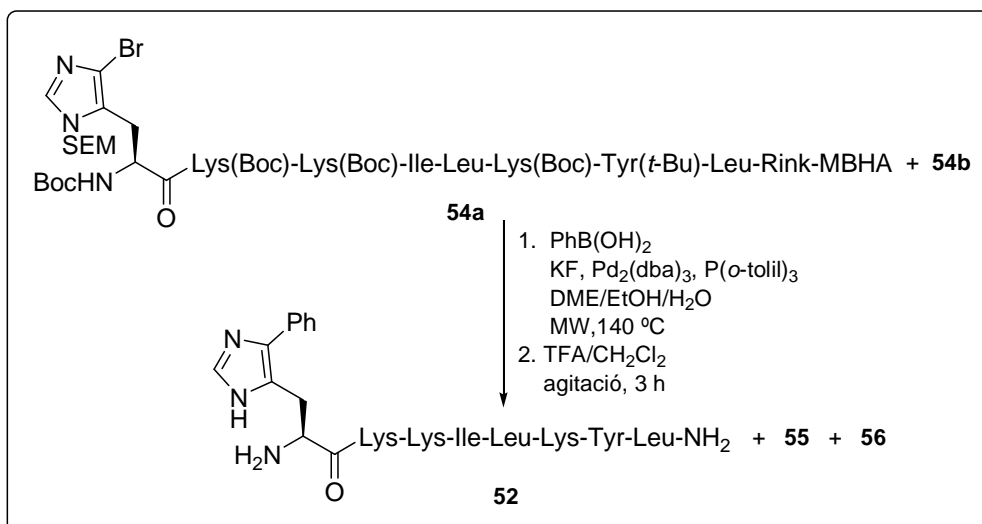
3.1.1.1.1 Estudi de la síntesi de H-His(5-Ph)-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-Tyr-Leu-NH₂ (52)

Per a l'obtenció de **52** es va preparar la peptidil resina **54** a partir de Fmoc-Rink-MBHA seguint una estratègia Fmoc/*t*-Bu (Esquema 3.1). L'eliminació del grup Fmoc es va realitzar utilitzant piperidina/DMF (20:80), l'acoblament dels Fmoc-aminoàcids es va portar a terme emprant HBTU, DIEA i HOBt durant 1 h a temperatura ambient, i l'acoblament de la mescla de bromohistidines Boc-His(5-Br, π -SEM)-OH (**29a**) i Boc-His(5-Br, τ -SEM)-OH (**29b**) es va realitzar amb HBTU i DIEA durant 3 h. Una alíquota de la resina resultant es va tractar amb TFA/CH₂Cl₂ sota agitació durant 3 h a temperatura ambient, obtenint-se H-His(5-Br)-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-Tyr-Leu-NH₂ (**55**) amb una puresa del 99% per HPLC que es va caracteritzar per ESI-MS.



Esquema 3.1. Síntesi de la peptidil resina **54**

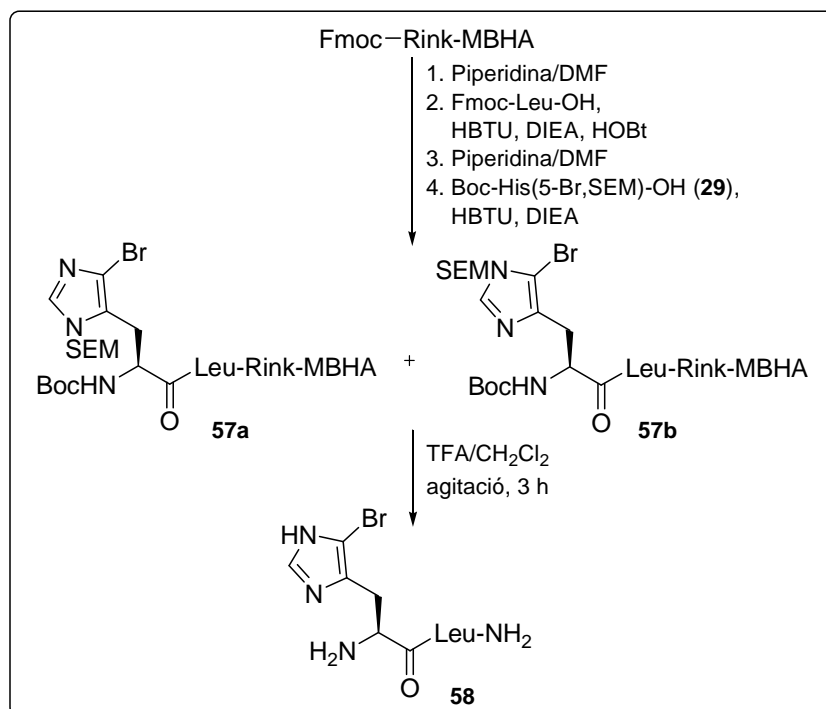
L'arilació de la peptidil resina **54** es va assajar per tractament amb àcid fenilborònic (4 equiv), KF (4 equiv), Pd₂(dba)₃ (0.2 equiv), P(*o*-tolil)₃ (0.4 equiv) sota irradiació microones a 140 °C durant 15 min en una barreja desgasada de DME/EtOH/H₂O. Una alíquota de la resina resultant es tractà amb TFA/CH₂Cl₂ sota agitació durant 3 h. El cru de reacció es va analitzar per HPLC i ESI-MS, observant-se un 56% de pèptid biarílic **52**, un 22% de pèptid bromat **55** i un 22% de pèptid deshalogenat H-His-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-Tyr-Leu-NH₂ (**56**). Un segon tractament de la resina obtinguda durant 15 min, va conduir a un augment del percentatge de pèptid biarílic **52** fins a un 65%, observant-se un 8% de producte de partida **55** i un 27% de producte deshalogenat **56**. Aquest resultat es va millorar quan la resina **54** es va tractar en les mateixes condicions anteriors però irradiant la mostra directament durant 30 min. D'aquesta manera, es va formar un 72% de pèptid biarílic **52** i un 20% de producte deshalogenat **56**, i es va obtenir un 7% de producte de partida **55** (Esquema 3.2).



Esquema 3.2. Síntesi del pèptid biarílic **52**

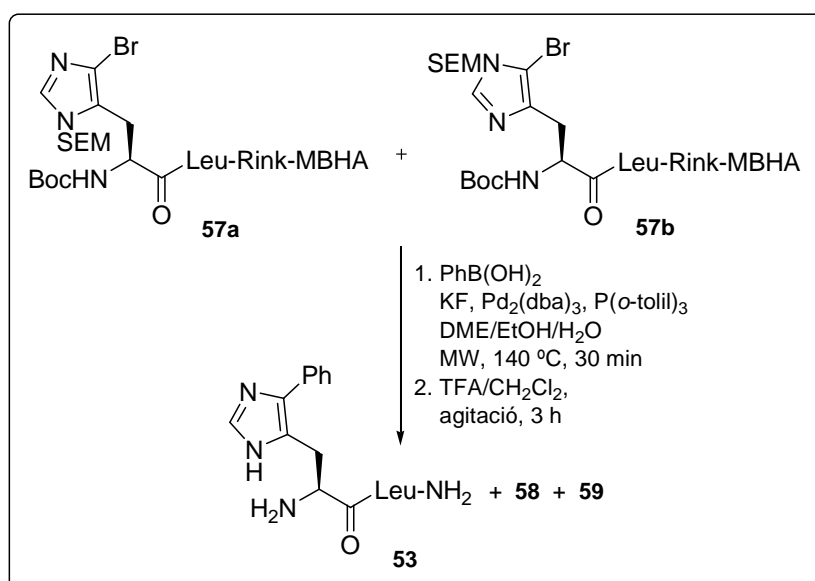
3.1.1.1.2 Estudi de la síntesi de H-His(5-Ph)-Leu-NH₂ (**53**)

La síntesi de **53** implicava preparar la dipeptidil resina **57**, que es va obtenir a partir de Fmoc-Rink-MBHA seguint el procediment descrit a l'apartat anterior. El tractament acidolític d'una alíquota de **57** va proporcionar H-His(5-Br)-Leu-NH₂ (**58**) amb un 99% de puresa per HPLC que va ser caracteritzat per ESI-MS (Esquema 3.3).



Esquema 3.3. Síntesi de la dipeptidil resina **57**

Les condicions òptimes de síntesi del pèptid biarílic **52** es varen aplicar a l'arilació de la peptidil resina **57**. Així doncs, **57** es va tractar amb àcid fenilborònic (4 equiv), KF (4 equiv), Pd₂(dba)₃ (0.2 equiv), P(*o*-tolil)₃ (0.4 equiv) sota irradiació microones a 140 °C durant 30 min en DME/EtOH/H₂O (Esquema 3.4). D'aquesta manera, es va obtenir el dipèptid biarílic **53** amb un 63% puresa per HPLC, juntament amb un 4% de producte de partida **58** i un 33% del pèptid deshalogenat H-His-Leu-NH₂ (**59**).



Esquema 3.4. Síntesi de H-His(5-Ph)-Leu-NH₂ (**53**)

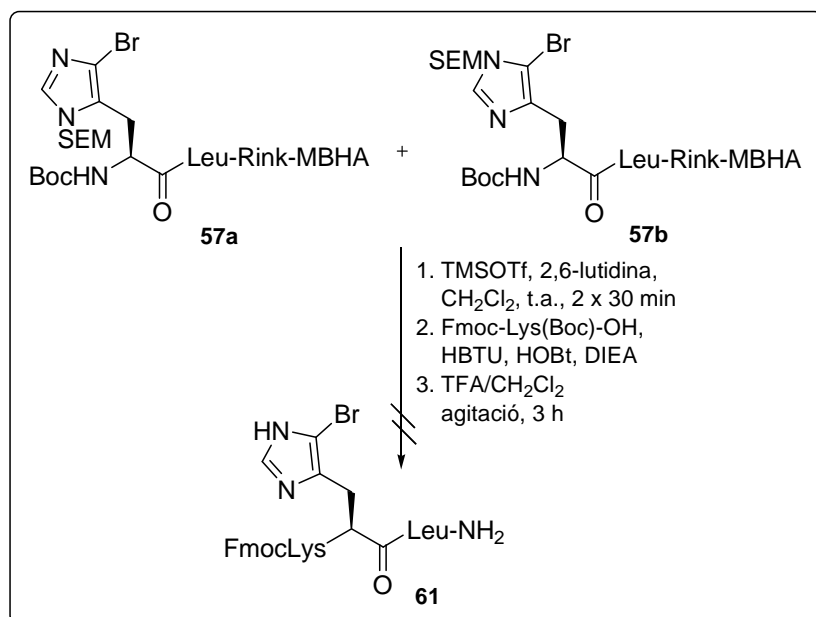
A partir d'aquests resultats, s'observa que l'arilació d'una 5-bromohistidina és lleugerament més favorable quan aquesta es troba en una posició més allunyada del suport sòlid. Aquest fet es podria explicar pels possibles impediments estèrics causats per la matriu polimèrica que podrien disminuir la velocitat de la reacció de Suzuki-Miyaura, conduint a un augment del producte deshalogenat.

3.1.1.2 Síntesi de H-His(5-Ar)-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-Phe-Leu-NH₂ (60)

A continuació, es va plantejar l'extensió de la metodologia d'arilació a la síntesi de seqüències biaríliques anàlogues al pèptid FKLFKKILKFL-NH₂ (**BP66**) que havia estat identificat com a antimicrobià (Taula 3.1). Es proposà preparar anàlegs de **BP66** per substitució del residu de fenilalanina de les posicions 1 i/o 10 per una 5-arilhistidina.

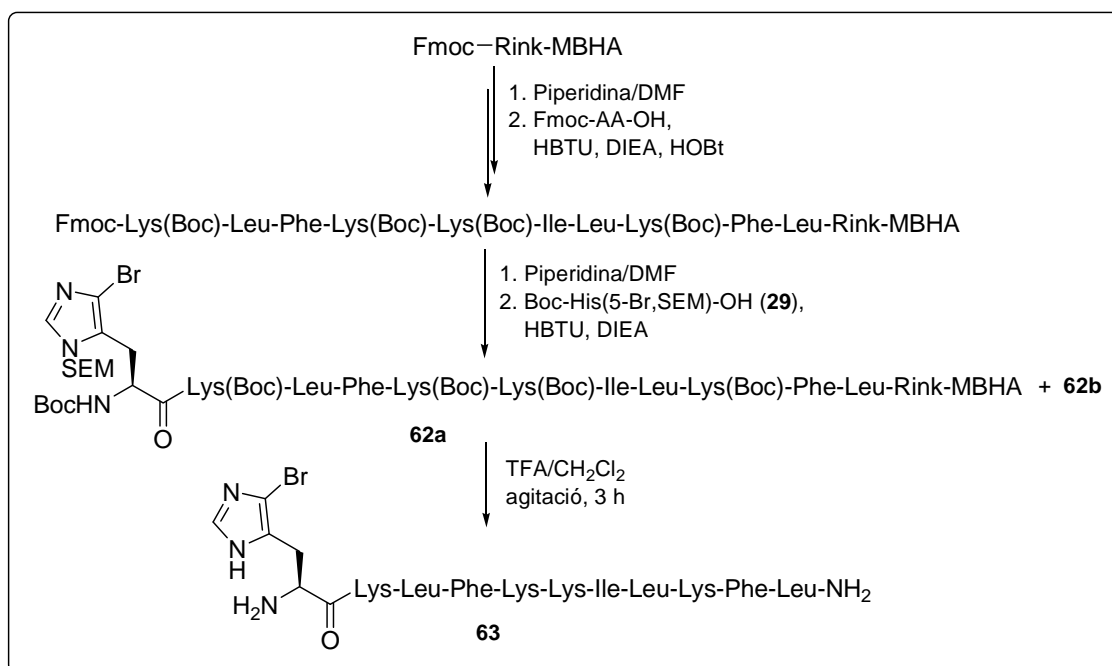
Aquests anàlegs es podrien preparar a partir de la peptidil resina **57**, per eliminació del grup Boc i elongació de la cadena. L'eliminació del grup Boc de **57** es va assajar mitjançant dos tractaments de 30 min amb una barreja de triflat de trimetilsilil (TMSOTf) i 2,6-lutidina en CH₂Cl₂.⁹² A continuació, es va acoblar Fmoc-Lys(Boc)-OH utilitzant HBTU, HOBt i DIEA i, finalment, es va tractar la resina amb TFA/CH₂Cl₂ en agitació durant 3 h. Malauradament, al cromatograma d'HPLC del cru de reacció només es va observar la presència del pic corresponent al dipèptid de partida H-His(5-Br)-Leu-NH₂ (**58**) (Esquema 3.5).

⁹² Zhang, A. J.; Russell, D. H.; Zhu, J.; Burgess, K. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 7439.



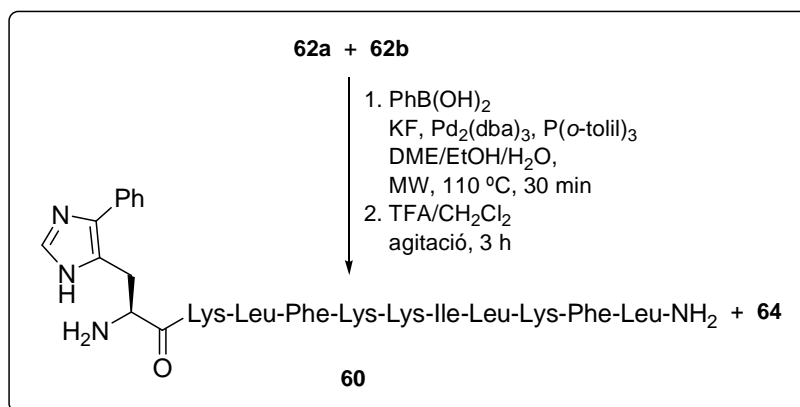
Esquema 3.5. Assaig d'eliminació del grup Boc de la resina **57**

Aquest resultat ens va portar a sintetitzar anàlegs de **BP66** incorporant un residu de 5-arilhistidina a la posició 1. La peptidil resina **62**, precursora d'aquests anàlegs, es va preparar seguint el procediment descrit a l'apartat 3.1.1.1.1. El tractament amb TFA/CH₂Cl₂ d'una alíquota d'aquesta resina i posterior anàlisi per HPLC va mostrar que el pèptid **63** s'obtenia amb un 83% de puresa (Esquema 3.6).



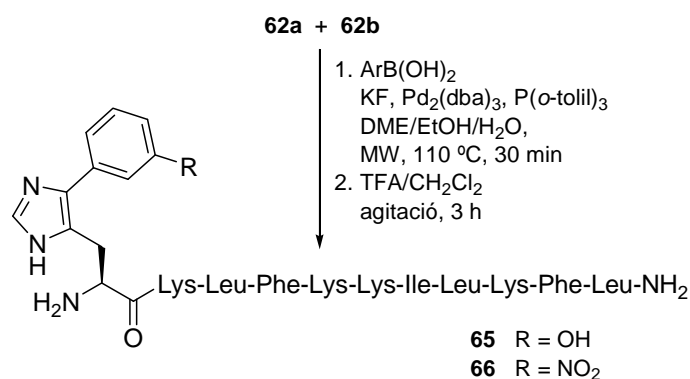
Esquema 3.6. Síntesi de la peptidil resina **62**

L'arilació de la peptidil resina **62** es va assajar amb les condicions descrites a l'apartat anterior, és a dir, per tractament amb àcid fenilborònic (4 equiv), KF (4 equiv), Pd₂(dba)₃ (0.2 equiv), P(*o*-tolyl)₃ (0.4 equiv) sota irradiació microones a 140 °C durant 30 min en una barreja desgasada de DME/EtOH/H₂O. Un cop desancorat el pèptid de la resina, l'anàlisi per HPLC i LC/MS del cru de reacció va mostrar la presència d'un 9% del pèptid biarílic **60**, un 5% de pèptid deshalogenat H-His-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-Phe-Leu-NH₂ (**64**), un 4% de producte bromat (**63**) juntament amb subproductes que no van poder ser identificats. Reduint el temps de reacció a 15 min, el resultat no va millorar ja que es va obtenir un 12% de pèptid biarílic **60**. En canvi, quan la reacció es va realitzar a 110 °C durant 30 min, el percentatge de **60** va augmentar fins a un 52%, observant-se un 15% de producte deshalogenat **64** (Esquema 3.7).



Esquema 3.7. Arilació de la resina **62** amb àcid fenilborònic

Aquestes condicions de reacció es varen aplicar a l'arilació de la resina **62** amb els àcids 3-hidroxifenilborònic i 3-nitrofenilborònic (Taula 3.2). L'acoblament amb l'àcid 3-hidroxifenilborònic va proporcionar el pèptid biarílic **65** amb un 66% de puresa. La reacció amb l'àcid 3-nitrofenilborònic només va conduir al pèptid biarílic **66** amb un 35% de puresa. En ambdós casos també es va observar la formació de producte deshalogenat **64**.

Taula 3.2. Arilació assistida per microones de la resina **62** amb diversos àcids arilborònics


R	63 (%)	64 (%)	Pèptid	Pèptid (%)
OH	-	17	65	66
NO ₂	10	33	66	35

3.1.2 Avaluació de l'activitat biològica

3.1.2.1 Síntesi dels pèptids de referència

Per tal de poder analitzar la influència de l'arilació del residu d'histidina en l'activitat biològica es varen sintetitzar 4 anàlegs de **BP66** (FKLFFKKILKFL-NH₂) per substitució dels residus de fenilalanina de les posicions 1, 4 i/o 10 per histidina. La síntesi es va realitzar a partir d'una resina Fmoc-Rink-MBHA utilitzant el procediment detallat a l'apartat 3.1.1.1.1 d'aquest capítol. Després de l'etapa de desancorament per tractament amb TFA/CH₂Cl₂, es varen obtenir els pèptids **67-70** amb pureses compreses entre 73-100% que es varen caracteritzar per ESI-MS (Taula 3.3).

Taula 3.3. Resultats de la síntesi dels pèptids **67-70**

Pèptid	Seqüència	t _R (min)	Puresa (%) ^a
67	FKL F KKIL KHL -NH ₂	17.03	82
68	HKL F KKIL KFL -NH ₂	17.16	76
69	HKL F KKIL KHL -NH ₂	15.52	74
70	HKL H KKIL KHL -NH ₂	14.14	100

^aPercentatge determinat per HPLC a 220 nm a partir del cru de reacció.

3.1.2.2 Avaluació de l'activitat antibacteriana

L'activitat antibacteriana dels pèptids **BP66**, **60** i **65-70** es va avaluar enfront a *E. amylovora*, *X. vesicatoria* i *P. syringae*. Les concentracions de pèptid assajades varen ser 6.25, 12.5, 25 i 100 μM . Els resultats obtinguts s'indiquen a la Taula 3.4, expressats com la mínima concentració de pèptid necessària per inhibir completament el creixement del bacteri (CMI).

Taula 3.4. Activitat antibacteriana (CMI) dels pèptids **BP66**, **60**, **65-70**

Codi	Pèptid Seqüència	CMI ^a (μM)		
		<i>Ea</i> ^b	<i>Ps</i> ^b	<i>Xv</i> ^b
BP66	FKLFKKILKFL -NH ₂	6.25-12.5	<6.25	<6.25
60	H (5-Ph) KL FKKILKFL -NH ₂	~25	6.25-12.5	<6.25
65	H [5-(3-hidroxifenil)] KL FKKILKFL -NH ₂	6.25-12.5	6.25-12.5	<6.25
66	H [5-(3-nitrofenil)] KL FKKILKFL -NH ₂	12.5-25	6.25-12.5	<6.25
67	FKLFKKILKHL -NH ₂	>25	>25	>100
68	HKLFKKILKFL -NH ₂	6.25-12.5	6.25-12.5	6.25-12.5
69	HKLFKKILKHL -NH ₂	>25	12.5-25	12.5-25
70	HKLHKKILKHL -NH ₂	>25	>25	>100

^aCMI, concentració mínima inhibidora.

^b*Ps*, *Pseudomonas syringae*; *Xv*, *Xanthomonas vesicatoria*; *Ea*, *Erwinia amylovora*.

Els resultats mostren que les seqüències **67-70** que contenen un o més residus d'histidina presenten valors de CMI iguals o superiors a **BP66**. La presència d'un residu d'histidina a la posició 10 disminueix significativament l'activitat. El pèptid més actiu, amb activitat comparable a **BP66**, és el **68** que incorpora un residu d'histidina a la posició 1. En treballs anteriors també s'havia observat que canvis en un únic residu de la seqüència provocaven modificacions significatives de l'activitat del pèptid.^{91b,93}

⁹³ (a) Matsuzaki, K.; Sugishita, K.; Fujii, N.; Miyajima, K. *Biochemistry* **1995**, *34*, 3421. (b) López-García, B.; Pérez-Payá, E.; Marcos, J. F. *Appl. Environ. Microbiol.* **2002**, *68*, 2453. (c) McManus, P. S.; Stockwell,

D'altra banda, els pèptids biarílics **60**, **65** i **66** també varen resultar ser, en general, actius contra els tres patògens. Enfront *E. amylovora*, el pèptid biarílic **65** presenta valors de CMI iguals al pèptid **68**, mentre que **60** i **66** són menys actius. Els tres pèptids biarílics mostren la mateixa activitat que **68** enfront *P. syringae*, en canvi són més actius enfront *X. vesicatoria*. Aquests resultats concorden amb els obtinguts en treballs anteriors en els que s'havia observat que *X. vesicatoria* és més susceptible que *P. syringae* i *E. amylovora* a pèptids catiónics.⁹¹ Això pot ser atribuït a les diferents característiques de la membrana d'aquests microorganismes, tals com la càrrega i la composició lipídica, que podrien influir en la velocitat d'unió del pèptid catiónic a la membrana.⁹⁴

3.1.2.3 Avaluació de l'activitat hemolítica

La toxicitat a cèl·lules eucariotes dels pèptids **BP66**, **60** i **65-70** es va determinar avaluant la capacitat de lisi d'eritròcits humans. Els percentatges d'hemòlisi a una concentració de pèptid de 50 i 150 µM es mostren a la Taula 3.5.

V. O.; Sundin, V. O.; Jones, A. L. *Annu. Rev. Phytopathol.* **2002**, *40*, 443. (d) Monroc, S.; Badosa, E.; Besalú, E.; Planas, M.; Bardají, E.; Montesinos, E.; Feliu, L. *Peptides* **2006**, *27*, 2575.

⁹⁴ Huang, H. W. *Biochemistry* **2000**, *39*, 8347.

Taula 3.5. Activitat hemolítica del pèptids **BP66**, **60** i **65-70**

Pèptid		Hemòlisi (%) ^a	
Nom	Seqüència	50 µM	150 µM
BP66	FKL FKKILK FL -NH ₂	9.0 ± 2.2	63.0 ± 5.9
60	H (5-Ph)KL FK KILK FL -NH ₂	15.4 ± 2.0	53.9 ± 8.5
65	H [5-(3-hidroxifenil)]KL FK KILK FL -NH ₂	34.2 ± 2.4	55.2 ± 4.6
66	H [5-(3-nitrofenil)]KL FK KILK FL -NH ₂	39.7 ± 3.4	67.3 ± 3.7
67	FKL FKKILK H L-NH ₂	4.2 ± 2.2	26.0 ± 0.8
68	H KL FK KILK FL -NH ₂	0	16.5 ± 5.4
69	H KL FK KILK H L-NH ₂	0	0
70	H KL H KKILK H L-NH ₂	0	0

^aPercentatge d'hemòlisi a 50 i 150 µM més un interval de confiança ($\alpha=0.05$).

Dels resultats anteriors es dedueix que la substitució de residus de fenilalanina per residus d'histidina provoca una disminució considerable de l'hemòlisi. Els pèptids **69** i **70**, que presenten 2 o 3 residus d'histidina, no són hemolítics fins a una concentració de 150 µM. En canvi, la presència d'una 5-arilhistidina a la posició 1 augmenta el caràcter hemolític dels pèptids a 50 µM, mentre que a 150 µM l'hemòlisi és comparable a la de **BP66**.

Així doncs, els valors d'activitat i d'hemòlisi obtinguts indiquen que, en general, l'arilació d'un residu d'histidina de la posició 1 manté l'activitat del pèptid i, en alguns casos, la millora. A més, s'obtenen valors d'hemòlisi acceptables ja que les concentracions a les que s'ha avaluat són superiors a les que aquests pèptids presenten activitat.

CONCLUSIONS

Les conclusions que es poden extreure d'aquesta tesi doctoral es resumeixen a continuació.

1. S'han preparat 4(5)-fenil-5(4)-metilimidazole (**1**) i 4(5)-metil-5(4)-metoxifenilimidazole (**2**) a partir de 4(5)-metilimidazole en quatre etapes amb uns rendiments globals entre 21-27%. L'etapa determinant ha estat l'arilació de l'anell d'imidazole a través d'una reacció de Suzuki-Miyaura que s'ha realitzat sota condicions d'escalfament convencional i sota irradiació microones. Els millors resultats d'aquesta reacció s'han obtingut utilitzant Pd(PPh₃)₄ com a catalitzador i Na₂CO₃ com a base a 110 °C en una barreja desgasada de toluè/EtOH/H₂O. El mètode d'escalfament no ha influït en el rendiment, però la irradiació microones ha permès una reducció significativa del temps de reacció de 24 h a min.
2. S'han sintetitzat 5-arilhistidines per arilació d'Ac-His(5-Br,π-SEM)-OMe (**14a**) i Ac-His(5-Br,τ-SEM)-OMe (**14b**) mitjançant una reacció de Suzuki-Miyaura amb àcid fenilborònic, àcid 2-metoxifenilborònic, àcid 5-metil-2-metoxifenilborònic, àcid 3-piridilborònic i àcid 3-tiofenborònic. Aquesta reacció s'ha optimitzat amb àcid fenilborònic i s'ha assajat a reflux i sota irradiació microones. En el primer cas no ha estat possible l'obtenció de les 5-fenilhistidines. Els millors resultats s'han obtingut utilitzant Pd₂(dba)₃ i KF en una barreja desgasada de toluè/MeOH/H₂O, sotmetent la mescla de reacció a irradiació microones a 110 °C durant 10-15 min, obtenint-se les 5-fenilhistidines corresponents amb un 62-82% de rendiment. L'aplicació d'aquestes condicions a l'arilació de **14a** i **14b** amb els altres àcids borònics, ha proporcionat les 5-arilhistidines amb rendiments compresos entre 33-85%. En aquests casos ha estat necessari augmentar el percentatge de catalitzador i/o el temps de reacció. En general, l'arilació de **14a** (40-85%) ha donat millors resultats que la de **14b** (33-62%).
3. S'han sintetitzat 5-arilhistidines en fase sòlida per arilació de la tripeptidil resina Boc-His(5-Br,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**28**) amb àcid fenilborònic, àcid 3-hidroxifenilborònic, àcid 3-nitrofenilborònic, àcid 2-metoxifenilborònic, àcid 5-metil-2-metoxifenilborònic, àcid 3-piridilborònic i àcid 3-tiofenborònic. Aquesta arilació s'ha assolit emprant Pd₂(dba)₃ i KF, sota irradiació microones a 170 °C durant 15 min en una barreja desgasada de DME/EtOH/H₂O. D'aquesta manera, s'han obtingut els tripèptids biarílics corresponents amb pureses de moderades a bones (52-83%).

4. S'ha sintetitzat un tetrapèptid biarílic per formació d'un enllaç C-C entre les cadenes laterals d'un residu d'histidina i un de tirosina. La resina Boc-His(5-Br,SEM)-Leu-Leu-Rink-MBHA (**28**) s'ha arilat amb Boc-Tyr(3-borono,Me)-OMe (**42**) emprant $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ i KF sota irradiació microones a una temperatura de 140 °C en una barreja desgasada de DME/EtOH/H₂O. En aquest cas ha estat necessari un tractament de 30 min seguit d'un altre d'1 h. El tetrapèptid biarílic corresponent s'ha obtingut amb un 67% de puresa, després d'una etapa d'hidròlisi.
5. S'han sintetitzat anàlegs del pèptid antimicrobià **BP66** (FKLFKKILKFL-NH₂) per substitució del residu de fenilalanina de la posició 1 per 5-fenilhistidina, 5-(3-hidroxifenil)histidina i 5-(3-nitrofenil)histidina. Aquests pèptids s'han preparat per arilació d'una peptidil resina que incorpora una 5-bromohistidina a la posició 1. Aquesta arilació s'ha realitzat per tractament amb l'àcid borònic corresponent, $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ i KF, sota irradiació microones a 110 °C durant 30 minuts en una barreja desgasada de DME/EtOH/H₂O. D'aquesta manera, s'han obtingut els pèptids biarílics esperats amb pureses compreses entre 35-66%.
6. S'ha avaluat l'activitat antibacteriana dels anàlegs biarílics de **BP66** enfront dels fitopatògens *Erwinia amylovora*, *Xanthomonas vesicatoria* i *Pseudomonas syringae*, així com la seva activitat hemolítica. Aquests pèptids biarílics han resultat ser actius enfront els tres patògens amb valors de CMI < 25 µM. A més, presenten un caràcter hemolític acceptable, ja que s'han obtingut valors d'hemòlisi de 15-39% a una concentració de pèptid (50 µM) superior a la que són actius.

MATERIALS AND METHODS

5.1 Materials

5.1.1 General reagents

General reagents were purchased from Aldrich, Fluka, Lancaster or Panreac and were used throughout without purification, except for NBS (Fluka) which was purified by crystallization with water.⁹⁵

5.1.2 Solvents

H₂O was deionized and filtered using a COT Millipore Q-gradient (COT<3ppb) system with a resistivity of 18 MΩ cm⁻¹. The most common used organic solvents were synthesis grade, except for DMF and CH₃CN which were multisolvent HPLC grade. They were purchased from Aldrich (DME, toluene), Sharlau (DMF, DMSO, CH₃CN and EtOH), SDS (CH₂Cl₂) or VWR International (hexane, ether, EtOAc, THF, MeOH).

Solvents were purified and dried by passing through an activated alumina purification system (MBraun SPS-800) or by conventional distillation techniques.¹ For instance, DMSO and DMF were dried over activated 4Å molecular sieves. MeOH was stored over anhydrous calcium chloride and distilled under N₂ in the presence of calcium hydride. CH₃CN was also distilled in the presence of calcium hydride. THF was dried by distillation under N₂ in the presence of sodium and benzophenone.

5.1.3 Reagents and resins for solid-phase peptide synthesis

Protected amino acids and coupling reagents were purchased from Bionova, Senn Chemicals, Bachem SA or Iris Biotech.

Fmoc-Rink-MBHA resin (100-200 mesh) with a 0.94 mmol/g loading was purchased from Iris Biotech, and the same resin with a 0.64 mmol/g loading was from Bionova.

⁹⁵ Perrin, D. D.; Armarego, W. L. F.; Perrin, D. W. *Purification of Laboratory Chemicals*, 2nd ed., Pergamon Press: Oxford, 1980.

5.2 Instruments

5.2.1 General instruments

¹H- and ¹³C-NMR spectra were measured on a Bruker 200, 300 or 400 MHz NMR spectrometer. Chemical shifts were reported as δ values (ppm) directly referenced to the solvent signal. Coupling constants (J) were given in Hertz (Hz). Abbreviations used in the description of resonances were as follows: s: singlet; bs: broad singlet; d: doublet; dd: doublet of doublets; ddd: doublet of doublets of doublets; t: triplet; td: triplet of doublets; tt: triplet of triplets; q: quartet, and m: multiplet.

IR spectra were recorded on a Mattson-Galaxy Satellite FT-IR using a MKII Golden Gate single reflection ATR system (Spacec) as a sampling accessory. Absorption band position is registered in cm^{-1} .

X-Ray Diffraction: All measurements were conducted on a single X-Ray Bruker SMART Apex CCD diffractometer using graphite-monochromated Mo $K\alpha$ radiation ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$) from an X-Ray Tube, CCD area detector and X-ray capillary collimator (MonoCap).

Optical rotations ($[\alpha_D^T]$ (c g/100 mL)) were measured on a Perkin-Elmer polarimeter (Model 343 plus), using the sodium D line.

Melting points (capillary tube) were measured with an Electrothermal digital melting point apparatus IA91000 and were uncorrected.

Elemental analyses were performed on an EA 1110 (CHNS-O) apparatus from Thermo-Finnigan/CE Instruments.

The microwave-assisted synthesis was performed using an Ethos SEL labstation from Milestone equipped with a dual magnetron system (1600W). The experiment time, temperature and power were controlled with the EasyControl software package. The temperature was monitored through the ATC-400FO Automatic Fiber Optic Temperature Control System immersed into a standard Milestone reference vessel. This equipment regulates the power to achieve and maintain the selected temperature. Microwave-assisted synthesis was also performed on a Discover SPPS Microwave Manual Peptide Synthesizer (CEM Corporation).

5.2.2 Chromatography and spectrometry

Analytical thin layer chromatography (TLC) was performed on precoated TLC plates, silica gel 60 F₂₅₄ (Merck). The spots on the TLC plates were visualized with UV/visible light (254 nm) and/or stained with a solution of potassium permanganate (1.5 g/100 mL H₂O).

Flash chromatography purifications were performed on silica gel 60 (230-400 mesh, Merck).

High Performance Liquid Chromatography (HPLC): Most compounds were analyzed under standard analytical HPLC conditions on a Beckman Gold apparatus composed of the 126 solvent module, the 168 detector, and the 32 Karat software, on a C₁₈ reverse-phase column (VWR chromolith column, 50 mm × 3.9 mm, 2 μm particle size): 0-100% B linear gradient over 3 min at a flow rate of 5 mL/min. Solvent A was 0.1% aqueous TFA and solvent B was 0.1% TFA in CH₃CN. Detection was performed at 214 nm and 254 nm (condition A).

Some HPLC analyses were run on an Agilent Technologies 1200 Series apparatus using a C₁₈ Kromasil reverse-phase column (4.6×250 mm; 3.5 μm particle size) (condition B). Others compounds were analyzed on a Summit Dionex instruments composed of P680 binary pump, UVD 170U 4-Channel UV-vis Detector, ASI-100 Autosampler and the Chromaleon 6.60 software from Dionex, on a C₁₈ Kromasil reverse-phase column (4.6×250 mm; 3.5 μm particle size) (condition C) or on a C₁₈ Kromasil 100 (4×0.46 cm, 3,5 μm) (condition D). For samples analyzed under conditions B and C, a linear gradient of (2–100%) B at a flow rate of 1.0 mL/min over 28 min was used; solvent A: H₂O/0.1% TFA, solvent B: CH₃CN/0.1% TFA. For samples analyzed under conditions D, a linear gradient of (2–100%) B at a flow rate of 1.0 mL/min over 7 min was used; solvent A: H₂O/0.1% TFA, solvent B: CH₃CN/0.1% TFA. Purity estimates are based upon area percent of the peaks detected at 220 nm

Chiral HPLC: The analyses were performed on a Summit Dionex system using a sulfated polystyrene cation-exchange column (0.4×21 cm). Solutions of histidines (5nM) in phosphate buffer (pH=7) were prepared. The mobile phase was 2% 2-propanol in phosphate buffer (pH 5.8). An isocratic program was used at a flow rate of 0.9 mL/min. The injection volume of amino acid was 20 μL. Detection was performed at 220 nm.

Preparative HPLC was carried out on a Waters 4000 apparatus using a C₁₈ reverse-phase column (Deltapak column, 100 mm×40 mm, 15 μm, 100Å) at a flow rate of 50 mL/min. Linear gradients of 0.1% aqueous TFA and 0.1% TFA in CH₃CN were run from 100:0 to 70:30 over 30 min (condition E); from 100:0 to 90:10 over 10 min and from 90:10 to 70:30 over 40 min (condition F); from 100:0 to 85:15 over 15 min and from 85:15 to 70:30 over 30 min (condition G) with UV detection at 214 nm.

LC/MS analysis: Some analyses were performed on a LC/MS system consisting of a Waters Alliance 2690 HPLC, coupled to a Micromass Quatro Micro spectrometer (electrospray ionization mode, ESI+). All analyses were carried out using Onyx Monolithic C₁₈ (25 × 4.6 mm) reverse-phase column (Phenomenex). A flow rate of 1.5 mL/min and a gradient of 0-100% B over 4 min were used (solvent A was 0.1% HCOOH in water and solvent B 0.1% HCOOH in acetonitrile). Positive ion electrospray mass spectra were acquired at a solvent flow rate of 100 μL/min. Nitrogen was used for both the nebulizing gas and the drying gas. Data were acquired in the scan mode from *m/z* 200 to 1200 in 0.1 s intervals, 10 scans were summed to produce the final spectrum.

Other analyses were performed on a LC/MS system consisting of a Agilent Technologies 1200 Series HPLC, coupled to a esquire 6000 ESI ion Trap LC/MS (Bruker Daltonics) equipped with an electrospray ion source. All analyses were carried out using a C₁₈ Kromasil reverse-phase column (4.6 × 250 mm; 3.5 μm particle size). A flow rate of 1 mL/min and a gradient of 2-53.6% B over 15 min were used (solvent A was 0.015% HCOOH in water and solvent B 0.015% HCOOH in acetonitrile). The instrument was operated either in the positive ESI(+) ion mode. Nitrogen was employed as both a drying and nebulizing gas. Association of the substrate was often observed, and appeared from reactions with traces of cations, even in HPLC-grade solvent.

Mass spectra were acquired using a Navigator quadrupole mass spectrometer (Finnigan AQA ThermoQuest) equipped with an electrospray ion source. The instrument was operated in the positive ESI(+) ion mode at a probe tip voltage of 3 kV. The other ESI-MS analyses were recorded on an esquire 6000 ESI ion Trap LC/MS (Bruker Daltonics) equipped with an electrospray ion source. The instrument was operated either in the positive ESI(+) or negative ESI(-) ion mode. Samples were introduced into the mass spectrometer ion source directly through a HPLC autosampler with a 5 μL sample. The mobile phase flow (100 μL·min⁻¹ of 80:20 vol/vol CH₃CN/H₂O) was delivered by a 1100 Series HPLC pump (Agilent). Nitrogen was employed as both

a drying and nebulizing gas. Association of the substrate was often observed, and appeared from reactions with traces of cations, even in HPLC-grade solvent.

High resolution mass spectra (HRMS) were determined under conditions of ESI on a Bruker MicroTof-Q instrument using a hybrid quadrupole time-of-flight mass spectrometer (University of Zaragoza). Samples were introduced into the mass spectrometer ion source directly through a 1100 Series Agilent HPLC autosampler and were external calibrated using sodium formiate. The instrument was operated either in the positive ESI(+) or negative ESI(-) ion mode.

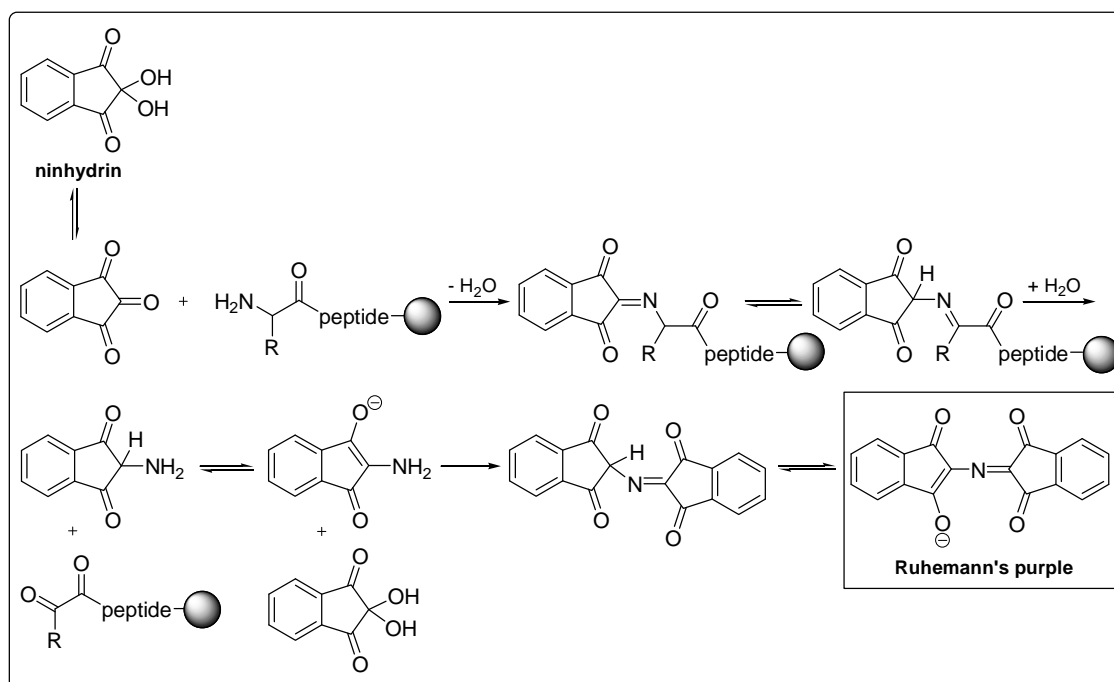
5.3 Methods for monitoring solid-phase peptide synthesis

In Fmoc solid-phase peptide synthesis, the monitoring of the completion of the coupling reaction is essential. A range of color tests for the qualitative monitoring of the coupling reaction have been developed. In this thesis the ninhydrin and the TNBS tests have been used.

5.3.1 Ninhydrin or Kaiser Test⁹⁶

The ninhydrin test is a qualitative colour test to detect the presence or absence of free primary amino groups, constituting a useful indication about the completeness of the amino acid coupling in solid-phase peptide synthesis. The test is based on the reaction of ninhydrin with free primary amines, which gives an intensive dark blue colour. In particular, ninhydrin, or triketohydrindene hydrate, is a strong oxidizing agent which causes the oxidative deamination of the α -amino function. The product of the reaction is the hydrindantin, a reduced derivative of ninhydrin which reacts with another molecule of ninhydrin to yield a purple chromophore product (Ruhemann's Purple) (Scheme 5.1).

⁹⁶ Kaiser, E.; Colescott, R. L.; Bossinger, C. D.; Cook, P. I. *Anal. Biochem.* **1970**, *34*, 595.



Scheme 5.1. The ninhydrin reaction

A few resin beads from the reaction vessel were transferred into a small test tube and 3 drops of each solution of the test kit were added. Next, the suspension was mixed well and heated at 100 °C for 3 min. The resin beads and the solution turn dark blue when free primary amines are present. The resin beads remain their colour and the solution stays yellow when no free primary amines are present.

The ninhydrin test kit contains three solutions:

Solution A: phenol (40 g) in absolute ethanol (10 mL)

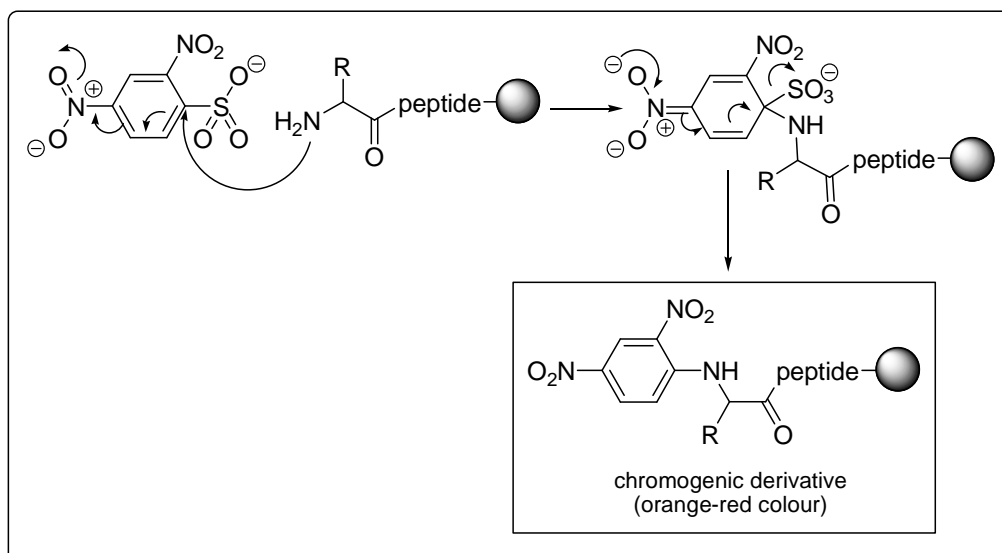
Solution B: 2 mL of a solution of KCN (65 g) in H₂O (100 mL) are added to pyridine (100 mL)

Solution C: ninhydrin (2.5 g) in absolute ethanol (50 mL)

5.3.2 TNBS test⁹⁷

The TNBS test is easier to perform and of a nearly equivalent sensitivity as the Kaiser test. The test is based on the reaction of 2,4,6-trinitrobenzenesulfonate (TNBS) with free primary amines, which affords an orange colored product (Scheme 5.2).

⁹⁷ Hancock, W. S.; Battersby, J. E. *Anal. Biochem.* **1976**, *71*, 260.

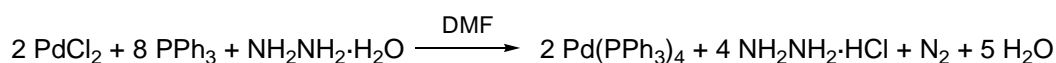


Scheme 5.2. The TNBS reaction

Three drops of TNBS A (10% DIEA in DMF) and B (1M aqueous TNBS) solutions were added to a few resin beads in a test tube. After a short mixing, the mixture was left at room temperature for 10 min. If the beads are colorless, the result is negative. If the beads are intensely orange or red, the result is positive.

5.4 Synthesis of Pd(0) catalysts

5.4.1 Synthesis of palladium (0) tetrakis(triphenylphosphine)



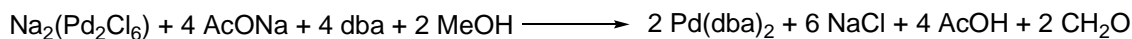
A mixture of PdCl₂ (2.3 g, 13.0 mmol) and triphenylphosphine (13.6 g, 52 mmol) in DMF (150 mL) was stirred at 130 °C under N₂ until the solid was dissolved. After that, upon cooling, the mixture was stirred at room temperature for 15 min. Next, hydrazine hydrate (1.6 g, 32 mmol) was added and the resulting mixture was cooled to 0°C. The resulting yellow precipitate was filtered and washed with both degassed absolute EtOH and dry diethyl ether, affording palladium (0) tetrakis(triphenylphosphine) (12.7 g, 85%).

mp: 119-120 °C. **mp (lit):**⁹⁸ 116 °C

IR (neat) ν (cm⁻¹): 3052, 1475, 1430, 1082, 1025, 998, 740, 690

⁹⁸ Coulson, P. R. *Inorg. Synth.* **1972**, 13, 121.

5.4.2 Synthesis of palladium (0) bis(dibenzylideneacetone)



A mixture of PdCl₂ (1.00 g, 5.63 mmol) and NaCl (0.33 g, 5.63 mmol) in MeOH (29 mL) was stirred at room temperature for 24 h. After this time, the mixture was filtered through fiberglass. The solution was diluted with MeOH until 163 mL and warmed at 60 °C. Dibenzylideneacetone (3.69 g, 15.76 mmol) was added and the resulting mixture was stirred at 60 °C for 15 min. Next, sodium acetate (8.62 g, 103.03 mmol) was added and the reaction mixture was stirred for 1 h upon which the room temperature was reached. After this time, the precipitate was filtered, washed with MeOH (3 mL), H₂O (5 mL) and acetone (3 mL), and dried over P₂O₅, affording a maroon solid (3.15 g, 97%).

mp: 151-153 °C. **mp (lit):**⁹⁹ 151-153 °C

IR (neat) ν (cm⁻¹): 3053, 3020, 1642, 1614, 1574, 1542, 1486, 1443, 1334, 1182, 980, 759, 696

⁹⁹ Ukai, T.; Kwazura, H.; Ishii, Y. *J. Organomet. Chem.* **1974**, *65*, 253.

EXPERIMENTAL SECTION

INDEX

6 EXPERIMENTAL SECTION.....	127
6.1 Experimental Section: Chapter 1	134
6.1.1 Synthesis of 4(5)-aryl-5(4)-methylimidazoles.....	134
6.1.1.1 Synthesis of 1-benzyl-5-methylimidazole (4a) and 1-benzyl-4-methylimidazole (4b)	134
6.1.1.2 Synthesis of 1-benzyl-4-bromo-5-methylimidazole (3a) and 1-benzyl-5-bromo-4-methylimidazole (3b)	135
6.1.1.2.1 1-Benzyl-4-bromo-5-methylimidazole (3a).....	135
6.1.1.2.2 1-Benzyl-5-bromo-4-methylimidazole (3b).....	135
6.1.1.3 Synthesis of 1-benzyl-5-methyl-4-phenylimidazole (5a) and 1-benzyl-4-methyl-5-phenylimidazole (5b)	136
6.1.1.3.1 Method A: under reflux	136
6.1.1.3.2 Method B: under microwave irradiation	136
6.1.1.3.3 1-Benzyl-5-methyl-4-phenylimidazole (5a)	137
6.1.1.3.4 1-Benzyl-4-methyl-5-phenylimidazole (5b)	137
6.1.1.4 Synthesis of 4(5)-methyl-5(4)-phenylimidazole (1).....	137
6.1.1.5 Synthesis of 2-methoxy-phenylboronic acid (6)	138
6.1.1.6 Synthesis of 1-benzyl-5-methyl-4-(2-methoxyphenyl)imidazole (7a) and 1-benzyl-4-methyl-5-(2-methoxyphenyl)imidazole (7b)	139
6.1.1.6.1 Method A: under reflux	139
6.1.1.6.2 Method B: under microwave irradiation	139
6.1.1.6.3 1-Benzyl-5-methyl-4-(2-methoxyphenyl)imidazole (7a) and 1-benzyl-4-methyl-5-(2-methoxyphenyl)imidazole (7b)	140
6.1.1.7 Synthesis of 4(5)-methyl-5(4)-methoxyimidazole (2)	140
6.1.2 Synthesis of 5-arylhistidines in solution	141

6.1.2.1 Synthesis of $N(\alpha),N(\pi)$ -bis- <i>t</i> -butoxycarbonyl-L-histidine methyl ester (9a) and $N(\alpha),N(\tau)$ -bis- <i>t</i> -butoxycarbonyl-L-histidine methyl ester (9b)	141
6.1.2.1.1 $N(\alpha),N(\pi)$ -bis- <i>t</i> -butoxycarbonyl-L-histidine methyl ester (9a) ...	141
6.1.2.1.2 $N(\alpha),N(\tau)$ -bis- <i>t</i> -butoxycarbonyl-L-histidine methyl ester (9b)....	142
6.1.2.2 Synthesis of $N(\alpha)$ -acetyl-L-histidine methyl ester (10)	142
6.1.2.3 Synthesis of $N(\alpha)$ -acetyl-5-bromo-L-histidine methyl ester (15)	143
6.1.2.3.1 $N(\alpha)$ -Acetyl-2,5-dibromo-L-histidine methyl ester (16)	143
6.1.2.3.2 $N(\alpha)$ -Acetyl-5-bromo-L-histidine methyl ester (15).....	144
6.1.2.4 Synthesis of $N(\alpha)$ -acetyl-5-bromo- $N(\pi)$ -[2-(trimethylsilyl)ethoxy methyl]-L-histidine methyl ester (14a) and $N(\alpha)$ -acetyl-5-bromo- $N(\tau)$ -[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (14b)	144
6.1.2.4.1 $N(\alpha)$ -Acetyl-5-bromo- $N(\pi)$ -[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (14a).....	145
6.1.2.4.2 $N(\alpha)$ -Acetyl-5-bromo- $N(\tau)$ -[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (14b).....	145
6.1.2.5 Synthesis of $N(\alpha)$ -acetyl-5-bromo- $N(\pi)$ -[2-(trimethylsilyl)ethoxy methyl]-L-histidine ethyl ester (18a) and $N(\alpha)$ -acetyl-5-bromo- $N(\tau)$ -[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine ethyl ester (18b).....	146
6.1.2.5.1 General procedure	146
6.1.2.5.2 $N(\alpha)$ -Acetyl-5-bromo- $N(\pi)$ -[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine ethyl ester (18a)	146
6.1.2.5.3 $N(\alpha)$ -acetyl-5-bromo- $N(\tau)$ -[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine ethyl ester (18b)	147
6.1.2.6 General method for the arylation of histidines 14a and 14b under microwave irradiation.....	147
6.1.2.6.1 $N(\alpha)$ -Acetyl-5-phenyl- $N(\pi)$ -[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (17a).....	148
6.1.2.6.2 $N(\alpha)$ -Acetyl-5-phenyl- $N(\tau)$ -[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (17b).....	148

6.1.2.6.3	<i>N</i> (α)-Acetyl-5-(2-methoxy-5-methylphenyl)- <i>N</i> (π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (19a).....	149
6.1.2.6.4	<i>N</i> (α)-Acetyl-5-(2-methoxy-5-methylphenyl)- <i>N</i> (τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (19b).....	150
6.1.2.6.5	<i>N</i> (α)-Acetyl-5-(2-methoxyphenyl)- <i>N</i> (π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (20a).....	151
6.1.2.6.6	<i>N</i> (α)-Acetyl-5-(2-methoxyphenyl)- <i>N</i> (τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (20b).....	151
6.1.2.6.7	<i>N</i> (α)-Acetyl-5-(3-pyridyl)- <i>N</i> (π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (21a).....	152
6.1.2.6.8	<i>N</i> (α)-Acetyl-5-(3-pyridyl)- <i>N</i> (τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (21b).....	153
6.1.2.6.9	<i>N</i> (α)-Acetyl-5-(3-thienyl)- <i>N</i> (π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (22a).....	154
6.1.2.6.10	<i>N</i> (α)-Acetyl-5-(3-thienyl)- <i>N</i> (τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (22b).....	154
6.1.2.7	General method for the removal of the SEM group.....	155
6.1.2.7.1	<i>N</i> (α)-Acetyl-5-phenyl-L-histidine methyl ester (23).....	155
6.1.2.7.2	<i>N</i> (α)-Acetyl-5-(2-methoxy-5-methylphenyl)-L-histidine methyl ester (24).....	156
6.1.2.7.3	<i>N</i> (α)-Acetyl-5-(2-methoxyphenyl)-L-histidine methyl ester (25).....	156
6.1.2.7.4	<i>N</i> (α)-Acetyl-5-(3-pyridyl)-L-histidine methyl ester (26).....	157
6.1.2.7.5	<i>N</i> (α)-Acetyl-5-(3-thienyl)-L-histidine methyl ester (27).....	158
6.1.3	Synthesis of 5-arylhistidines on solid-phase.....	159
6.1.3.1	Synthesis of Boc-His(5-Br, π -SEM)OH (29a) and Boc-His(5-Br, τ -SEM)OH (29b).....	159
6.1.3.1.1	Synthesis of 5-bromo- <i>N</i> (α)- <i>t</i> -butoxycarbonyl-L-histidine methyl ester (31).....	159

6.1.3.1.2 Synthesis of 5-bromo- <i>N</i> (α)- <i>t</i> -butoxycarbonyl- <i>N</i> (π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (32a) and 5-bromo- <i>N</i> (α)- <i>t</i> -butoxycarbonyl- <i>N</i> (τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (32b)	160
6.1.3.1.3 5-Bromo- <i>N</i> (α)- <i>t</i> -butoxycarbonyl- <i>N</i> (π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine (29a) and 5-bromo- <i>N</i> (α)- <i>t</i> -butoxycarbonyl- <i>N</i> (τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine (29b)	161
6.1.3.2 Synthesis of <i>N</i> (α)- <i>t</i> -butoxycarbonyl-3-borono-4-methoxy-L-tyrosine methyl ester (42)	162
6.1.3.2.1 Synthesis of 3-iodo-L-tyrosine (46)	162
6.1.3.2.2 Synthesis of <i>N</i> (α)- <i>t</i> -butoxycarbonyl-3-iodo-4-methoxy-L-tyrosine methyl ester (44)	162
6.1.3.2.2.1 <i>N</i> (α)- <i>t</i> -butoxycarbonyl-3-iodo-L-tyrosine	163
6.1.3.2.2.2 <i>N</i> (α)- <i>t</i> -butoxycarbonyl-3-iodo-4-methoxy-L-tyrosine methyl ester (44)	164
6.1.3.2.2.3 <i>N</i> (α)- <i>t</i> -butoxycarbonyl-3-iodo-L-tyrosine methyl ester (47)	164
6.1.3.2.3 <i>N</i> (α)- <i>t</i> -butoxycarbonyl-3-borono-4-methoxy-L-tyrosine methyl ester (42)	165
6.1.3.3 Synthesis of potassium <i>N</i> (α)- <i>t</i> -butoxycarbonyl-4-methoxy-L-tyrosyl-3-trifluoroborate methyl ester (51)	166
6.1.3.4 Synthesis of H-His(5-Ar)-Leu-Leu-NH ₂	166
6.1.3.4.1 Synthesis of the bromotripeptidyl resin 28	166
6.1.3.4.1.1 H-His(5-Br)-Leu-Leu-NH ₂ (33)	167
6.1.3.4.2 General method for the microwave-assisted Suzuki-Miyaura cross-coupling	167
6.1.3.4.2.1 H-His(5-Ph)-Leu-Leu-NH ₂ (34)	168
6.1.3.4.2.2 Biaryllic peptide 36	168
6.1.3.4.2.3 Biaryllic peptide 37	169

6.1.3.4.2.4	Biaryllic peptide 38	169
6.1.3.4.2.5	Biaryllic peptide 39	170
6.1.3.4.2.6	Biaryllic peptide 40	171
6.1.3.4.2.7	Biaryllic peptide 41	171
6.1.3.4.2.8	Biaryllic peptide 50	172
6.2	Experimental Section: Chapter 2	173
6.2.1	General protocol of solid-phase synthesis of peptides containing 5-bromohistidine residues	173
6.2.1.1	H-His(5-Br)-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-Tyr-Leu-NH ₂ (55)	173
6.2.1.2	H-His(5-Br)-Leu-NH ₂ (58)	173
6.2.1.3	H-His(5-Br)-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-Phe-Leu-NH ₂ (63)	173
6.2.1.4	H-Phe-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-His-Leu-NH ₂ (67)	174
6.2.1.5	H-His-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-Phe-Leu-NH ₂ (68)	174
6.2.1.6	H-His-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-His-Leu-NH ₂ (69)	174
6.2.1.7	H-His-Lys-Leu-His-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-His-Leu-NH ₂ (70)	174
6.2.2	General method for the microwave-assisted Suzuki-Miyaura cross-coupling	174
6.2.2.1	H-His(5-Ph)-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-Tyr-Leu-NH ₂ (52)	175
6.2.2.2	H-His(5-Ph)-Leu-NH ₂ (53)	175
6.2.2.3	H-His(5-Ph)-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-Phe-Leu-NH ₂ (60)	175
6.2.2.4	Biaryllic peptide (65)	175
6.2.2.5	Biaryllic peptide (66)	175

6.1 Experimental Section: Chapter 1

6.1.1 Synthesis of 4(5)-aryl-5(4)-methylimidazoles

6.1.1.1 Synthesis of 1-benzyl-5-methylimidazole (**4a**) and 1-benzyl-4-methylimidazole (**4b**)

A mixture of sodium hydride (280 mg, 7.0 mmol) and 4(5)-methylimidazole (541 mg, 6.1 mmol) in dry DMSO (3.5 mL) was stirred at 80 °C for 2 h under nitrogen atmosphere. Benzyl chloride (0.71 mL, 6.1 mmol) was added to this mixture and the resulting solution was stirred at 80 °C overnight. Next, the reaction mixture was quenched with water (1 mL) and the solvent was removed *in vacuo*. The reaction mixture was diluted with water (20 mL) and extracted with CH₂Cl₂ (3×20 mL). The combined organic layers were washed with water (2×20 mL) and brine (20 mL), and dried over anhydrous magnesium sulfate. Removal of the solvent gave a residue, which was purified by column chromatography. Elution with EtOAc afforded a regioisomeric mixture of **4a:4b** (1: 1.3) as a yellow solid (779 mg, 74%).

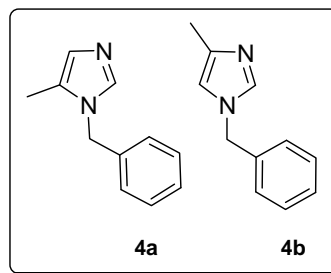
R_f (EtOAc/ NH₃, 98:2) = 0.20

IR (neat) ν (cm⁻¹): 3096, 2919, 1562, 1494, 1445, 843, 728, 694

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 2.14 (s, 1.3H, CH₃), 2.25 (s, 1.7H, CH₃), 5.07 (s, 1.1H, CH₂), 5.09 (s, 0.9H, CH₂), 6.63 (s, 0.6H, CH-5_{imid}), 6.87 (s, 0.4H, CH-4_{imid}), 7.08 (dd, *J* = 2.4 and 7.8 Hz, 1.1H, *o*-CH_{arom}), 7.19 (dd, *J* = 2.4 and 7.8 Hz, 0.9H, *o*-CH_{arom}), 7.40-7.33 (m, 3H, *m*- and *p*-CH_{arom}), 7.46 (s, 0.6 H, CH-2_{imid}), 7.51 (s, 0.4 H, CH-2_{imid})

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.14 (CH₃), 13.67 (CH₃), 48.29 (CH₂), 50.61 (CH₂), 115.63 (CH_{arom}), 126.49 (CH_{arom}), 127.17 (CH_{arom}), 127.31 (CH_{arom}), 127.84 (CH_{arom}), 128.05 (CH_{arom}), 128.83 (CH_{arom}), 136.39 (CH-2_{imid}), 136.46 (CH-2_{imid}), 137.28 (C_{arom}), 138.78 (C_{arom})

MS (ESI) *m/z* (%): 173 (100) [M+H]⁺



6.1.1.2 Synthesis of 1-benzyl-4-bromo-5-methylimidazole (**3a**) and 1-benzyl-5-bromo-4-methylimidazole (**3b**)

N-Bromosuccinimide (420 mg, 2.4 mmol) was added to a solution of a regioisomeric mixture of 1-benzyl-5-methylimidazole (**4a**) and 1-benzyl-4-methylimidazole (**4b**) (1:1.3) (422 mg, 2.4 mmol) in dry acetonitrile (55 mL) at 0 °C. The reaction mixture was stirred for 30 min under N₂ at this temperature. Pyridine (4 μL) was added and the mixture was concentrated *in vacuo*. Triethylamine (40 μL) was added to the concentrated solution. Removal of the solvent gave a residue, which was purified by column chromatography. Elution with hexane/EtOAc/NH₃ (83:16:1) afforded **3a** as a yellow solid (162 mg, 27%) and with hexane/EtOAc/NH₃ (79:20:1) afforded **3b** as a white solid (198 mg, 33%).

6.1.1.2.1 1-Benzyl-4-bromo-5-methylimidazole (**3a**)

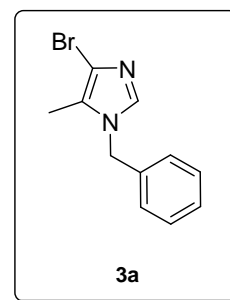
R_f (EtOAc/NH₃, 99:1): 0.60

IR (neat) ν (cm⁻¹): 3027, 2924, 1564, 1494, 1429, 1231, 796, 723, 693

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 2.11 (s, 3H, CH₃), 5.09 (s, 2H, CH₂), 7.09-7.13 (m, 2H, *o*-CH_{arom}), 7.31-7.41 (m, 3H, *m*- and *p*-CH_{arom}), 7.44 (s, 1H, CH-2_{imid})

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.96 (CH₃), 49.60 (CH₂), 114.55 (C-4_{imid}), 125.25 (C-5_{imid}), 126.68 (*o*-CH_{arom}), 128.23 (*p*-CH_{arom}), 129.04 (*m*-CH_{arom}), 135.30 (C_{arom}), 135.98 (CH-2_{imid})

MS (ESI) *m/z* (%): 250.9 (100), 253.0 (96) [M+H]⁺

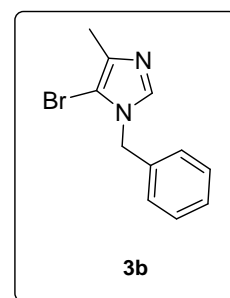


6.1.1.2.2 1-Benzyl-5-bromo-4-methylimidazole (**3b**)

R_f (EtOAc/NH₃ 99:1): 0.50

IR (neat) ν (cm⁻¹): 3113, 2920, 1552, 1485, 1438, 1222, 802, 735, 695

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 2.26 (s, 3H, CH₃), 5.11 (s, 2H, CH₂), 7.15-7.20 (m, 2H, *o*-CH_{arom}), 7.35-7.40 (m, 3H, *m*- and *p*-CH_{arom}), 7.55 (s, 1H, CH-2_{imid})



¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 13.15 (CH₃), 49.82 (CH₂), 100.89 (C-5_{imid}), 127.16 (o-CH_{arom}), 128.15 (p-CH_{arom}), 128.92 (m-CH_{arom}), 135.65 (C_{arom}), 136.91 (CH-2_{imid}), 137.20 (C-4_{imid})

MS (ESI) *m/z* (%): 250.9 (100), 253.0 (96) [M+H]⁺

6.1.1.3 Synthesis of 1-benzyl-5-methyl-4-phenylimidazole (**5a**) and 1-benzyl-4-methyl-5-phenylimidazole (**5b**)

6.1.1.3.1 Method A: under reflux

A mixture of **3a** and **3b** (1:1.2) (966 mg, 3.8 mmol) and Pd(PPh₃)₄ (225 mg, 5 mol %) was dissolved in degassed toluene (9.3 mL). A degassed solution of phenylboronic acid (534 mg, 4.2 mmol) in absolute EtOH (5.4 mL) and aqueous 2 M Na₂CO₃ (9.3 mL, 19 mmol) was added to the above mixture. The reaction was heated at 110 °C for 24 h. After this time, upon cooling, the reaction mixture was diluted with water (25 mL) and extracted with CH₂Cl₂ (3×25 mL). The combined organic layers were washed with water (25 mL) and brine (25 mL), and dried over anhydrous magnesium sulfate. The solvent was evaporated affording an amber colored oil, which was purified by column chromatography. Elution with hexane/EtOAc (1:2) afforded a mixture of **5a** and **5b** (669 mg, 71%) as a yellow oil.

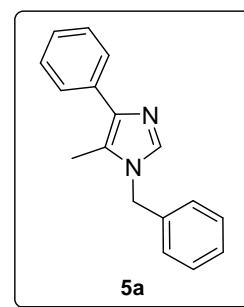
6.1.1.3.2 Method B: under microwave irradiation

A 30mL vial containing a magnetic stir bar was charged with a solution of **3a** and **3b** (1:1.2) (200 mg, 0.8 mmol) and Pd(PPh₃)₄ (46 mg, 5 mol %) in degassed toluene (2 mL). Then, a degassed solution of phenylboronic acid (110 mg, 0.9 mmol) in absolute EtOH (1.25 mL) and aqueous 2 M Na₂CO₃ (2 mL, 4.0 mmol) was added. The vial was sealed and heated under N₂ in the microwave lab station. Firstly, a microwave ramp (300 W maximum) was applied for 7 min to reach 110 °C. The reaction mixture was irradiated at this temperature for 10 min. After this time, upon cooling, the reaction mixture was diluted with water (25 mL) and extracted with EtOAc (3×25 mL). The combined organic layers were washed with water (25 mL) and brine (25 mL), dried over anhydrous magnesium sulfate, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography. Elution with hexane/EtOAc (3:1) afforded **5a** as a colorless oil (16 mg, 8%) and gradient elution with hexane/EtOAc from 2:1 to 0:1 afforded **5b** as a yellow oil (122 mg, 62%).

6.1.1.3.3 1-Benzyl-5-methyl-4-phenylimidazole (**5a**)

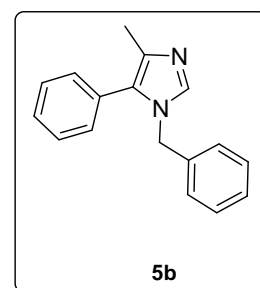
Rf (EtOAc/NH₃, 98:2): 0.48

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 2.22 (s, 3H, CH₃), 5.04 (s, 2H, CH₂), 7.01-7.05 (m, 2H, *o'*-CH_{arom}), 7.13-7.37 (m, 5H, *o*, *m* and *p*-CH_{arom}), 7.51 (s, 1H, CH-2_{imid}), 7.56-7.62 (m, 3H, *m'* and *p'*-CH_{arom})

6.1.1.3.4 1-Benzyl-4-methyl-5-phenylimidazole (**5b**)

Rf (EtOAc/NH₃, 98:2): 0.30

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 2.15 (s, 3H, CH₃), 4.93 (s, 2H, CH₂), 6.86-6.91 (m, 2H, *o'*-CH_{arom}), 7.09-7.31 (m, 5H, *o*-, *m*- and *p*-CH_{arom}), 7.33-7.48 (m, 3H, *m'*- and *p'*-CH_{arom}), 7.42 (s, 1H, CH-2_{imid})



MS (ESI) *m/z* (%) 249.2 (100) [M+H]⁺. (Data from a **5a** and **5b** mixture)

6.1.1.4 Synthesis of 4(5)-methyl-5(4)-phenylimidazole (**1**)

To a 100 mL two-necked flask cooled to -78 °C were added freshly cut sodium metal (211 mg, 9.2 mmol) and liquid ammonia (50 mL). When the solution became blue in color (20 min), *t*-BuOH (440 mL, 4.6 mmol) in anhydrous THF (8 mL) was added followed by a mixture of **5a** and **5b** (669 mg, 2.69 mmol) in anhydrous THF (25 mL). The reaction mixture was stirred at -78 °C for 45 min; by then, all the blue color had disappeared. Ammonia was evaporated by replacing the cooling bath with a water bath (20-30 °C). The reaction mixture was then quenched with aqueous NH₄Cl (2 mL) and extracted with EtOAc (3×25 mL). The combined organic layers were dried over anhydrous magnesium sulfate and the solvent was removed giving a residue, which was purified by column chromatography. Gradient elution with hexane/EtOAc from 1:2 to 1:8 afforded **1** as a white solid (286 mg, 68%).

Rf (EtOAc/NH₃, 98:2): 0.18

mp: 186-188 °C

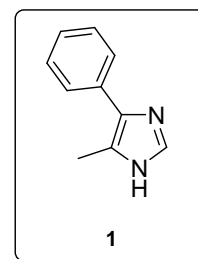
IR (neat) ν (cm⁻¹): 1599, 1519, 1472, 952, 909, 813, 768, 699, 637

¹H-NMR (200 MHz, DMSO) δ (ppm): 2.47 (s, 3H, CH₃), 7.30 (t, J = 7.4 Hz, 1H, *p*-CH_{arom}), 7.48 (t, J = 7.4 Hz, 2H, *m*-CH_{arom}), 7.67 (s, 1H, CH-2_{imid}), 7.71 (d, J = 7.4 Hz, 2H, *o*-CH_{arom})

¹³C-NMR (50 MHz, DMSO) δ (ppm): 11.95 (CH₃), 124.93 (C-5_{imid}), 125.49 (*p*-CH_{arom}), 125.77 (2×*o*-CH_{arom}), 128.30 (2×*m*-CH_{arom}), 132.34 (C_{arom}), 133.68 (CH-2_{imid}), 134.58 (C-4_{imid})

MS (ESI) m/z (%): 159.1 (100) [M+H]⁺, 200.1 (10) [M+CH₃CN]⁺, 317.2 (60) [2M+H]⁺

HRMS (ESI) m/z calcd for C₁₀H₁₁N₂ [M+H]⁺: 159.091675, found: 159.091571



6.1.1.5 Synthesis of 2-methoxy-phenylboronic acid (6)

To a vigorously stirred solution of 2-iodoanisole (0.6 mL, 4.2 mmol) in dry THF (21 mL), cooled at -78 °C, was added dropwise 1.6 N *n*-BuLi in hexane (2.8 mL, 4.5 mmol). Stirring was continued for 15 min, and triisopropylborate (2.8 mL, 12.4 mmol) was rapidly added. After 1 hour of stirring at -78°C, the mixture was warmed up to room temperature and stirred overnight. Next, the product was extracted with EtOAc (15 mL) and washed with water (15 mL). To the resulting aqueous layer HCl 10% was added until pH=1 and it was washed with EtOAc (15 mL). The organic layer was washed with brine (15 mL) and dried over anhydrous magnesium sulfate. The solvent was removed *in vacuo* to give the crude product which was purified by column chromatography. Elution with hexane/EtOAc/NH₃ (83:16:1) afforded **6** as a white solid (489 mg, 78%).

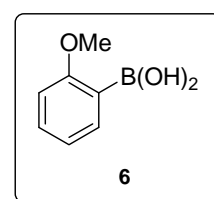
Rf (EtOAc): 0.59

mp: 101-104 °C

IR (neat) ν (cm⁻¹): 3349, 1599, 1575, 1339, 1227, 1052, 1023, 756, 646

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 3.96 (s, 3H, CH₃), 6.10 (s, 2H, B(OH)₂), 6.96 (d, 1H, J = 7.2 Hz, CH-3), 7.08 (t, 1H, J = 7.2 Hz, CH-5), 7.49 (td, 1H, J = 2.0 and 7.2 Hz, CH-4), 7.91 (dd, J = 2.0 and 7.2 Hz, CH-6)

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 55.45 (CH₃), 109.96 (C_q-1, CH-3), 121.24 (CH-5), 132.82 (CH-4), 136.85 (CH-6), 164.51 (C_q-2)



MS (ESI) m/z (%): 150.9 (100) [M-H]⁻

6.1.1.6 Synthesis of 1-benzyl-5-methyl-4-(2-methoxyphenyl)imidazole (**7a**) and 1-benzyl-4-methyl-5-(2-methoxyphenyl)imidazole (**7b**)

6.1.1.6.1 Method A: under reflux

A mixture of **3a** and **3b** (1:1.2) (141 mg, 0.6 mmol) and Pd(PPh₃)₄ (98 mg, 15 mol %) was dissolved in degassed toluene (1.5 mL). A degassed solution of **6** (130 mg, 0.9 mmol) in absolute EtOH (1 mL) and aqueous 2 M Na₂CO₃ (1.5 mL, 3 mmol) was added to the above mixture. The reaction was heated at 110 °C for 24 h. After this time, upon cooling, the reaction mixture was diluted with water (15 mL) and extracted with EtOAc (3×15 mL). The combined organic layers were washed with water (2×15 mL) and brine (15 mL), and dried over anhydrous magnesium sulfate. The solvent was removed *in vacuo* to give the crude product which was purified by column chromatography. Elution with hexane/EtOAc (1:1) afforded a mixture of **7a** and **7b** (92 mg, 60%) as a yellow oil.

6.1.1.6.2 Method B: under microwave irradiation

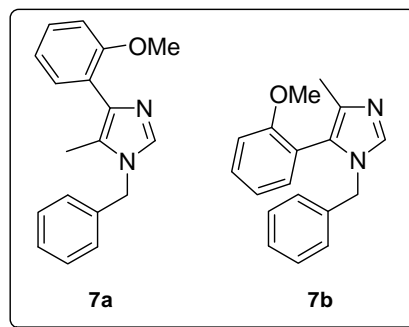
A 30 mL vial containing a magnetic stir bar was charged with a solution of **3a** and **3b** (1:1.2) (300 mg, 1.2 mmol) and Pd(PPh₃)₄ (209 mg, 15 mol %) in degassed toluene (3 mL). Then, a degassed solution of **6** (272 mg, 1.8 mmol) in absolute EtOH (3 mL) and aqueous 2 M Na₂CO₃ (1.9 mL, 3.8 mmol) was added. The vial was sealed and heated under N₂ in the microwave lab station. Firstly, a microwave ramp (300 W maximum) was applied for 7 min to reach 110 °C. The reaction mixture was irradiated at this temperature for 30 min. After this time, upon cooling, the reaction mixture was diluted with water (30 mL) and extracted with EtOAc (3×30 mL). The combined organic layers were washed with brine (30 mL), dried over anhydrous magnesium sulfate, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography. Gradient elution with hexane/EtOAc from (2:1) to (1:1) afforded a yellow oil (263 mg) corresponding to a mixture of imidazoles **7a** and **7b**, and triphenylphosphine oxide. This reaction mixture was used in the following synthetic step.

6.1.1.6.3 1-Benzyl-5-methyl-4-(2-methoxyphenyl)imidazole (**7a**) and 1-benzyl-4-methyl-5-(2-methoxyphenyl)imidazole (**7b**)

Rf (EtOAc/NH₃, 99:1): 0.30

IR (neat) ν (cm⁻¹): 2917, 1492, 1451, 1437, 1236, 1023, 750, 726

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.99 (s, 1.3H, CH₃), 2.06 (s, 1.7H, CH₃), 3.61 (s, 1.7H, OCH₃), 3.73 (s, 1.3H, OCH₃), 4.80 (systAB, 1.1H, CH₂), 5.01 (s, 0.9H, CH₂), 6.83-7.27 (m, 9H, CH_{arom}), 7.38 (s, 0.6H, CH-2_{imid}), 7.47 (s, 0.4H, CH-2_{imid})



¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.79 (CH₃), 13.18 (CH₃), 48.77 (CH₂), 49.14 (CH₂), 55.22 (OCH₃), 55.42 (OCH₃), 118.95, 120.56, 120.59, 126.77, 127.25, 127.52, 127.87, 128.57, 128.90, 129.98, 131.50, 132.77, 136.17, 136.90

MS (ESI) m/z (%): 279.1 (100) [M+H]⁺

HRMS (ESI) m/z calcd for C₁₈H₁₉N₂O [M+H]⁺: 279.1492; found: 279.1487

6.1.1.7 Synthesis of 4(5)-methyl-5(4)-methoxyimidazole (**2**)

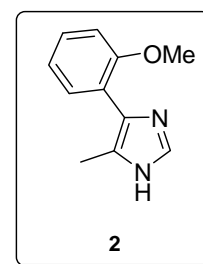
To a deep blue solution of Na (218 mg, 12 mmol) in NH₃ (ca, 6 mL) at -78 °C, a solution of a mixture of **7a** and **7b** (263 mg) in dry THF (3 mL) was added dropwise. The mixture was stirred at -33 °C for 30 min, quenched with NH₄Cl allowed to warm to room temperature and concentrated. The residue was diluted with water (10 mL) and extracted with EtOAc (3×10 mL). The combined organic layers were washed with brine (10 mL) and dried over anhydrous magnesium sulfate. The solvent was removed *in vacuo* to give the crude product, which was purified by column chromatography. Gradient elution with hexane/EtOAc from (1:2) to (1:4) afforded **2** as a yellow solid (146 mg, 65%).

Rf (EtOAc/NH₃, 98:2): 0.24

mp: 52-54 °C

IR (neat) ν (cm⁻¹): 1486, 1461, 1433, 1238, 1025, 947, 749

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 2.45 (s, 3H, CH₃), 3.92 (s, 3H, OCH₃), 7.02 (d, J = 8.2 Hz, 1H, CH-3_{arom}), 7.08 (t, J = 7.6 Hz, 1H, CH-5_{arom}), 7.31 (ddd, J = 8.2, 7.6 and 1.4 Hz, 1H, CH-4_{arom}), 7.53 (dd, J = 7.6 and 1.4 Hz, 1H, CH-6_{arom}), 7.61 (s, 1H, CH-2_{imid})



¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 14.94 (CH₃), 56.30 (OCH₃), 111.99 (CH-3_{arom}), 120.98 (C-1_{arom}), 121.75 (CH-5_{arom}), 124.97 (C-5_{imid}), 128.76 (CH-6_{arom}), 130.01 (CH-4_{arom}), 133.60 (CH-2_{imid}), 134.01 (C-4_{imid}), 156.29 (C-2_{arom})

HRMS (ESI) *m/z* calcd for C₁₁H₁₃N₂O [M+H]⁺: 189.1022, found: 189.1028

6.1.2 Synthesis of 5-arylhistidines in solution

6.1.2.1 Synthesis of *N*(α),*N*(π)-bis-*t*-butoxycarbonyl-L-histidine methyl ester (**9a**) and *N*(α),*N*(τ)-bis-*t*-butoxycarbonyl-L-histidine methyl ester (**9b**)

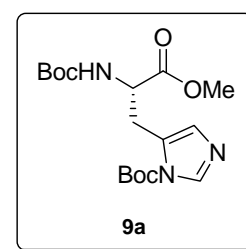
Triethylamine (1.7 mL, 11.8 mmol) and a solution of di-*t*-butyl dicarbonate (3.2 g, 14.2 mmol) in MeOH (10 mL) were subsequently added to a suspension of L-histidine methyl ester dihydrochloride (715 mg, 3 mmol) in MeOH (25 mL), and the mixture was stirred at room temperature overnight. The solvent was removed in vacuo, CH₂Cl₂ (50 mL) was added and the mixture was extracted with 10% citric acid (2×15 mL). The resulting organic layer was dried over anhydrous magnesium sulfate and the solvent was evaporated affording a yellow colored oil, which was purified by column chromatography. Elution with hexane/EtOAc (3:1) gave **9b** as a white solid (555 mg, 51%) and elution with EtOAc afforded **9a** as a colourless oil (56 mg, 5%). The compound **9b** was only characterized by IR and ¹H-NMR due to its instability.

6.1.2.1.1 *N*(α),*N*(π)-bis-*t*-butoxycarbonyl-L-histidine methyl ester (**9a**)

R_f (EtOAc): 0.56

IR (neat) ν (cm⁻¹): 3385, 2979, 1748, 1710, 1480, 1306, 1249, 1161, 1118, 1090, 772

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.30 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.57 (s, 9H, C(CH₃)₃), 3.08 (dd, *J* = 8.8 and 15.0 Hz, 1H, β-CH₂), 3.34 (dd, *J* = 5.2 and 15.0 Hz, 1H, β-CH₂), 3.65 (s, 3H, CO₂CH₃), 4.42-4.65 (m, 1H, CH-α), 5.10 (bs, 1H, NH), 6.75 (s, 1H, CH-5_{imid}), 7.95 (s, 1H, CH-2_{imid})

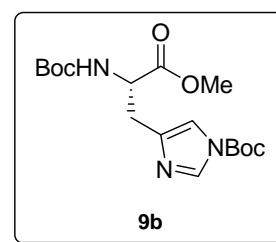


6.1.2.1.2 *N*(α),*N*(τ)-bis-*t*-butoxycarbonyl-L-histidine methyl ester (**9b**)

R_f (EtOAc): 0.69

IR (neat) ν (cm⁻¹): 3130, 2983, 1738, 1713, 1526, 1486, 1273, 1254, 1152, 986, 970, 770

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.37 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.54 (s, 9H, C(CH₃)₃), 2.97 (d, *J* = 6.0, 2H, β -CH₂), 3.66 (s, 3H, CO₂CH₃), 4.40-4.60 (m, 1H, CH- α), 5.60 (bs, 1H, NH), 7.06 (s, 1H, CH-4_{imid}), 7.91 (s, 1H, CH-2_{imid})



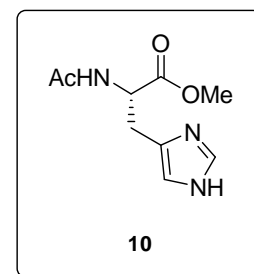
6.1.2.2 Synthesis of *N*(α)-acetyl-L-histidine methyl ester (**10**)

Ac-His-OH·H₂O (5.5 g, 25.4 mmol) was added to a mixture of anhydrous methanol (51 mL) and thionyl chloride (3.5 mL, 48.2 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature under N₂ for 2 h. The solvent was then removed *in vacuo*, H₂O (40 mL) was added followed by the addition of NaHCO₃ until pH=4-5. The solvent was removed affording a residue, which was purified by column chromatography. Elution with EtOAc/MeOH/NH₃ (10:2:0.2) gave *N*(α)-acetyl-L-histidine methyl ester (**10**) as a white solid (4.8 g, 90%).

R_f (CHCl₃/MeOH/AcOH, 5:3:1): 0.49

IR (neat) ν (cm⁻¹): 3269, 3199, 1738, 1650, 1541, 1435, 1374, 1211, 1175, 662, 622

¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 1.92 (s, 3H, CH₃CO), 2.91 (dd, *J* = 8.0 and 14.6 Hz, 1H, CH₂- β), 3.01 (dd, *J* = 5.8 and 14.6 Hz, 1H, CH₂- β), 3.68 (s, 3H, CO₂CH₃), 4.55 (ddd, *J* = 5.8, 8.0 and 7.4 Hz, 1H, CH- α), 6.89 (s, 1H, CH-5_{imid}), 7.62 (s, 1H, CH-2_{imid}), 8.31 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, CONH)



¹³C-NMR (50 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 22.26 (CH₃CO), 26.83 (CH₂- β), 51.87 (CO₂CH₃), 52.03 (CH- α), 116.97 (CH-5_{imid}), 130.47 (C-4_{imid}), 134.06 (CH-2_{imid}), 169.60 (CONH), 171.52 (COO)

MS (ESI) *m/z* (%): 212.2 (47) [M+H]⁺, 270.1 (100) [M+CH₃CN+NH₄]⁺

6.1.2.3 Synthesis of *N*(α)-acetyl-5-bromo-L-histidine methyl ester (**15**)

N-Bromosuccinimide (4.4 g, 23.9 mmol) was added to a solution of *N*(α)-acetyl-L-histidine methyl ester (**10**) (4.6 g, 21.8 mmol) in dry acetonitrile (125 mL) at 0 °C. The reaction mixture was stirred for 15 min at this temperature under N₂. Then, pyridine (40 μ L) was added and the mixture was concentrated *in vacuo*. Triethylamine (0.4 μ L) was added to the concentrated solution. Removal of the solvent gave a residue, which was purified by column chromatography. Elution with EtOAc/MeOH (99:1) gave methyl *N*(α)-acetyl-2,5-dibromo-L-histidinate (**16**) as a white solid (1.1 g, 13%) and elution with EtOAc/MeOH/NH₃ (90:9:1) afforded **15** as a white solid (3.8 g, 60%).

6.1.2.3.1 *N*(α)-Acetyl-2,5-dibromo-L-histidine methyl ester (**16**)

R_f (EtOAc/MeOH, 5:1): 0.70

mp: 144-146 °C

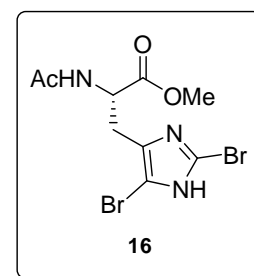
IR (neat) ν (cm⁻¹): 3064, 2969, 1701, 1644, 1535, 1431, 1371, 1177, 971

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 2.13 (s, 3H, CH₃CO), 3.06 (dd, *J* = 6.6 and 15.4 Hz, 1H, CH₂- β), 3.19 (dd, *J* = 6.4 and 15.4 Hz, 1H, CH₂- β), 3.81 (s, 3H, CO₂CH₃), 4.81-4.91 (m, 1H, CH- α), 6.56 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, CONH)

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 23.11 (CH₃CO), 27.87 (CH₂- β), 51.61 (CO₂CH₃), 53.01 (CH- α), 114.39 (C-5_{imid}), 115.29 (C-2_{imid}), 126.81 (C-4_{imid}), 171.29 (CONH), 171.34 (COO)

MS (ESI) *m/z* (%): 367.9 (59), 369.9 (100), 372.0 (44) [M+H]⁺

Anal. calcd for C₉H₁₁Br₂N₃O₃ · 1/9C₄H₈O₂: C, 37.26; H, 4.17; N, 14.48. Found: C, 36.95; H, 4.53; N, 14.24



6.1.2.3.2 *N*(α)-Acetyl-5-bromo-L-histidine methyl ester (**15**)

R_f (EtOAc/MeOH, 5:1): 0.18

mp: 165-167 °C

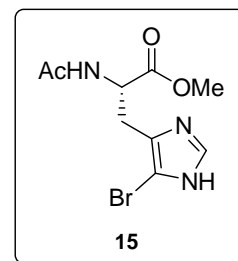
IR (neat) ν (cm⁻¹): 3321, 3277, 1730, 1661, 1544, 1434, 1371, 1177, 961, 676, 657

¹H-NMR (200 MHz, DMSO) δ (ppm): 1.93 (s, 3H, CH₃CO), 2.95 (dd, *J* = 7.4 and 14.8 Hz, 1H, CH₂- β), 3.06 (dd, *J* = 7.4 and 14.8 Hz, 1H, CH₂- β), 3.67 (s, 3H, CO₂CH₃), 4.52 (q, *J* = 7.4 Hz, 1H, CH- α), 7.66 (s, 1H, CH-2_{imid}), 8.39 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, CONH)

¹³C-NMR (50 MHz, DMSO) δ (ppm): 22.30 (CH₃CO), 29.04 (CH₂- β), 51.70 (CO₂CH₃), 52.45 (CH- α), 116.52 (C-5_{imid}), 133.21 (C-4_{imid}), 134.34 (CH-2_{imid}), 169.28 (CONH), 172.24 (COO)

MS (ESI) *m/z* (%): 290.0 (100), 291.9 (96) [M+H]⁺

Anal. calcd for C₉H₁₂BrN₃O₃: C, 37.26; H, 4.17; N, 14.48. Found: C, 36.95; H, 4.53; N, 14.24



6.1.2.4 Synthesis of *N*(α)-acetyl-5-bromo-*N*(π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxy methyl]-L-histidine methyl ester (**14a**) and *N*(α)-acetyl-5-bromo-*N*(τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (**14b**)

DBU (0.2 mL, 1.4 mmol) was added to a solution of **15** (272 mg, 0.9 mmol) in dry DMF (1.8 mL) at 0 °C. The reaction mixture was stirred at this temperature under N₂ for 1.5 h. After this time, 2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl chloride was added (0.2 mL, 0.9 mmol) and the reaction mixture was stirred at 0 °C under N₂ for 1.5 h. Next the crude product was poured into a mixture of water-ice (150 mL) and the product was extracted with toluene/EtOAc (1:1, 3×40 mL). The combined organic layers were washed with brine (40 mL) and dried over anhydrous magnesium sulfate. Removal of the solvent *in vacuo* afforded an oil, which was purified by column chromatography. Elution with hexane/EtOAc (1:2) gave **14a** as colorless oil (96 mg, 24%) and elution with EtOAc/MeOH (99:1) afforded **14b** as a colorless oil (192 mg, 49%).

6.1.2.4.1 *N*(α)-Acetyl-5-bromo-*N*(π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (**14a**)

Rf (EtOAc/MeOH, 5:1): 0.52

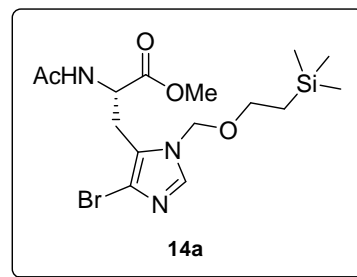
IR (neat) ν (cm⁻¹): 3270, 2952, 1743, 1663, 1544, 1436, 1371, 1235, 1207, 1086, 834, 758

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0.03 (s, 9H, (CH₃)₃Si), 0.93-1.02 (m, 2H, CH₂Si), 2.00 (s, 3H, CH₃CO), 3.09 (dd, *J* = 7.6 and 15.2 Hz, 1H, CH₂- β), 3.18 (dd, *J* = 6.8 and 15.2 Hz, 1H, CH₂- β), 3.41-3.67 (m, 2H, CH₂O), 3.78 (s, 3H, CO₂CH₃), 4.82-4.93 (m, 1H, CH- α), 5.30 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, NCH₂O), 5.43 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, NCH₂O), 6.34 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, CONH), 7.49 (s, 1H, CH-2_{imid})

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): -1.51 ((CH₃)₃Si), 17.62 (CH₂Si), 22.99 (CH₃CO), 26.69 (CH₂- β), 51.35 (CO₂CH₃), 52.82 (CH- α), 66.49 (CH₂O), 74.91 (NCH₂O), 117.72 (C-5_{imid}), 124.26 (C-4_{imid}), 137.26 (CH-2_{imid}), 169.68 (CONH), 171.56 (COO)

MS (ESI) *m/z* (%): 419.9 (91), 421.9 (100) [M+H]⁺

Anal. calcd for C₁₅H₂₆BrN₃O₄Si: C, 42.86; H, 6.23; N, 10.00. Found: C, 42.76; H, 6.60; N, 10.34



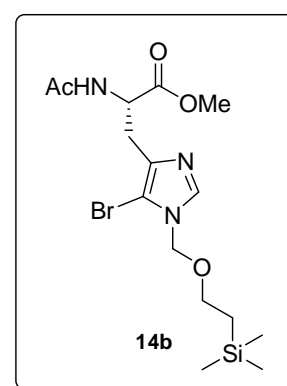
6.1.2.4.2 *N*(α)-Acetyl-5-bromo-*N*(τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (**14b**)

Rf (EtOAc/MeOH, 5:1): 0.41

IR (neat) ν (cm⁻¹): 3319, 2952, 1744, 1665, 1529, 1436, 1373, 1248, 1211, 1103, 835, 760

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0.01 (s, 9H, (CH₃)₃Si), 0.93 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H, CH₂Si), 2.05 (s, 3H, CH₃CO), 3.00 (dd, *J* = 4.8 and 14.8 Hz, 1H, CH₂- β), 3.16 (dd, *J* = 4.8 and 14.8 Hz, 1H, CH₂- β), 3.54 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H, CH₂O), 3.72 (s, 3H, CO₂CH₃), 4.88 (dt, *J* = 4.8 and 8.0 Hz, 1H, CH- α), 5.26 (s, 2H, NCH₂O), 7.02 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, CONH), 7.65 (s, 1H, CH-2_{imid})

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): -1.38 ((CH₃)₃Si), 17.61 (CH₂Si), 23.14 (CH₃CO), 28.66 (CH₂- β), 51.51 (CO₂CH₃), 52.25 (CH- α), 66.52 (CH₂O), 74.78 (NCH₂O), 102.11 (C-5_{imid}), 136.51 (C-4_{imid}), 138.08 (CH-2_{imid}), 169.84 (CONH), 171.67 (COO)



MS (ESI) m/z (%): 420.1 (100), 422.1 (87) $[M+H]^+$

HRMS (ESI) m/z calcd for $C_{15}H_{26}BrN_3NaO_4Si$ $[M+Na]^+$: 442.0768, 444.0753, found: 442.0777, 444.0757

6.1.2.5 Synthesis of $N(\alpha)$ -acetyl-5-bromo- $N(\pi)$ -[2-(trimethylsilyl)ethoxy methyl]-L-histidine ethyl ester (**18a**) and $N(\alpha)$ -acetyl-5-bromo- $N(\tau)$ -[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine ethyl ester (**18b**)

6.1.2.5.1 General procedure

2M Na_2CO_3 (2 equiv) was added to a solution of the corresponding $N(\alpha)$ -acetyl-5-bromo- N -[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester **14** (1 equiv) in toluene/EtOH (3:2) and the reaction mixture was stirred at 80 °C for 24 h. Next, the mixture was concentrated *in vacuo* to give a residue, which was diluted with water (10 mL) and extracted with EtOAc (3×10 mL). The combined organic layers were washed with brine (10 mL), dried over anhydrous magnesium sulfate and the solvent was removed *in vacuo*. The crude product was purified by column chromatography.

6.1.2.5.2 $N(\alpha)$ -Acetyl-5-bromo- $N(\pi)$ -[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine ethyl ester (**18a**)

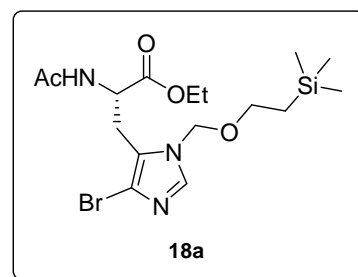
Following the general procedure and elution with hexane/EtOAc (1:2) **14a** (50 mg, 0.06 mmol) afforded **18a** (20 mg, 52%) as a colorless oil.

R_f (EtOAc/MeOH, 5:1): 0.49

IR (neat) ν (cm^{-1}): 3258, 2953, 1737, 1661, 1546, 1491, 1373, 1247, 1201, 1088, 835, 663

¹H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 0.03 (s, 9H, $(CH_3)_3Si$), 0.93-1.01 (m, 2H, CH_2Si), 1.28 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, CH_3), 2.01 (s, 3H, CH_3CO), 3.09 (dd, $J=7.8$ and 15.2 Hz, 1H, $CH_2-\beta$), 3.17 (dd, $J=7.8$ and 15.2 Hz, 1H, $CH_2-\beta$), 3.51-3.60 (m, 2H, CH_2O), 4.13-4.30 (m, 2H, CO_2CH_2), 4.86 (q, $J=7.8$, 1H, $CH-\alpha$), 5.30 (d, $J=11.0$ Hz, 1H, NCH_2O), 5.39 (d, $J=11.0$ Hz, 1H, NCH_2O), 6.32 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, $CONH$), 7.49 (s, 1H, $CH-2_{imid}$)

¹³C-NMR (50 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): -1.47 ($(CH_3)_3Si$), 13.97 (CH_3), 17.61 (CH_2Si), 23.00 (CH_3CO), 26.82 ($CH_2-\beta$), 51.39 ($CH-\alpha$), 62.03 (CO_2CH_2), 66.46 (CH_2O), 74.96



(NCH₂O), 117.71 (C-5_{imid}), 124.37 (C-4_{imid}), 137.21 (CH-2_{imid}), 169.64 (CONH), 171.15 (COO)

MS (ESI) *m/z* (%): 433.9 (96), 436.0 (100) [M+H]⁺

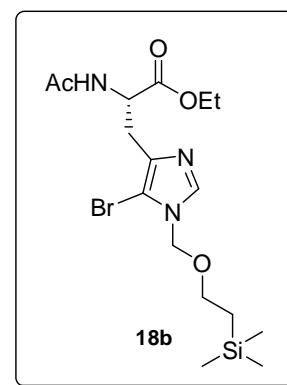
6.1.2.5.3 *N*(α)-acetyl-5-bromo-*N*(τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine ethyl ester (**18b**)

Following the general procedure and elution with EtOAc/MeOH (99:1) **14b** (101 mg, 0.12 mmol) afforded **18b** (64 mg, 62%) as a colorless oil.

R_f (EtOAc/MeOH, 5:1): 0.39

IR (neat) ν (cm⁻¹): 3352, 2953, 1738, 1667, 1526, 1490, 1373, 1247, 1205, 1102, 836, 626

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): -0.01 (s, 9H, (CH₃)₃Si), 0.92 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H, CH₂Si), 1.25 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H, CH₃), 2.05 (s, 3H, CH₃CO), 2.98 (dd, *J* = 5.0 and 14.8 Hz, 1H, CH₂-β), 3.15 (dd, *J* = 5.0 and 14.8 Hz, 1H, CH₂-β), 3.53 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H, CH₂O), 4.09-4.21 (m, 2H, CO₂CH₂), 4.85 (dt, *J* = 5.0 and 7.8 Hz, 1H, CH-α), 5.25 (s, 2H, NCH₂O), 7.05 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, CONH), 7.64 (s, 1H, CH-2_{imid})



¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): -1.57 ((CH₃)₃Si), 14.04 (CH₃), 17.60 (CH₂Si), 23.17 (CH₃CO), 28.68 (CH₂-β), 51.56 (CH-α), 61.26 (CO₂CH₂), 66.50 (CH₂O), 74.76 (NCH₂O), 102.03 (C-5_{imid}), 136.65 (C-4_{imid}), 138.03 (CH-2_{imid}), 169.79 (CONH), 171.19 (COO)

MS (ESI) *m/z* (%): 434.0 (94), 436.0 (100) [M+H]⁺

6.1.2.6 General method for the arylation of histidines **14a** and **14b** under microwave irradiation

A 30-mL vial containing a magnetic stir bar was charged with a solution of **14a** or **14b** (1 mmol), Pd₂(dba)₃, and P(*o*-tolyl)₃ in degassed toluene (15 mL). Then, a degassed solution of the corresponding arylboronic acid (2.1 mmol) in MeOH (10 mL) and aqueous 2 M KF (2 mmol) were added. The vial was sealed and heated under N₂ in the microwave lab station. Firstly, a microwave ramp (300 W maximum) was applied for 7 min to reach 110 °C. The reaction mixture was irradiated at this temperature for periods of 10 or 15 min. After the total reaction time, upon cooling, the solvent was evaporated and the crude product dissolved in water (50 mL) was extracted with EtOAc (3×50 mL).

The combined organic layers were washed with water brine (50 mL), dried over anhydrous magnesium sulfate, and concentrated *in vacuo*. Products were isolated by column chromatography.

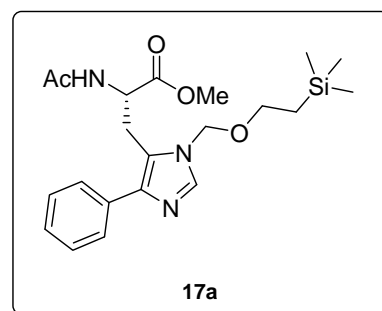
6.1.2.6.1 *N*(α)-Acetyl-5-phenyl-*N*(π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (**17a**)

From **14a** (100 mg, 0.24 mmol) following the general procedure using Pd₂(dba)₃ (10 mol %), P(*o*-tolyl)₃ (0.12 mmol), and phenylboronic acid, after 15 min irradiation, elution with hexane/EtOAc (1:1) afforded **17a** (82 mg, 82%) as a colorless oil.

R_f (EtOAc/MeOH, 5:1): 0.48

IR (neat) ν (cm⁻¹): 2952, 1742, 1662, 1504, 1438, 1367, 1248, 1200, 1081, 858, 835

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): -0.06 (s, 9H, (CH₃)₃Si), 0.85-0.94 (m, 2H, CH₂Si), 1.66 (s, 3H, CH₃CO), 3.33 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₂- β), 3.44 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.46-3.55 (m, 2H, CH₂O), 4.70 (dt, *J* = 7.0 and 7.8 Hz, 1H, CH- α), 5.27 (s, 2H, NCH₂O), 5.96 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, CONH), 7.21 (tt, *J* = 2.4 and 7.2 Hz, 1H, *p*-CH_{arom}), 7.33 (td, *J* = 1.4 and 7.2 Hz, 2H, *m*-CH_{arom}), 7.52 (s, 1H, CH-2_{imid}), 7.55 (dt, *J* = 2.4 and 7.2 Hz, 2H, *o*-CH_{arom})



¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): -1.48 ((CH₃)₃Si), 17.65 (CH₂Si), 22.70 (CH₃CO), 26.38 (CH₂- β), 51.83 (CO₂CH₃), 52.42 (CH- α), 66.24 (CH₂O), 74.24 (NCH₂O), 122.05 (C-5_{imid}), 127.07 (*p*-CH_{arom}), 127.38 (2 \times *o*-CH_{arom}), 128.64 (2 \times *m*-CH_{arom}), 134.81 (C_{arom}), 137.83 (CH-2_{imid}), 141.29 (C-4_{imid}), 169.61 (CONH), 171.70 (COO)

HRMS (ESI) *m/z* calcd for C₂₁H₃₂N₃O₄Si [M+H]⁺ 418.2157, found 418.2144; calcd for C₂₁H₃₁N₃NaO₄Si [M+Na]⁺ 440.1976, found 440.1958

6.1.2.6.2 *N*(α)-Acetyl-5-phenyl-*N*(τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (**17b**)

From **14b** (75 mg, 0.18 mmol) following the general procedure using Pd₂(dba)₃ (10 mol %), P(*o*-tolyl)₃ (0.09 mmol), and phenylboronic acid, after 10 min irradiation, gradient elution with hexane/EtOAc from 3:7 to 0:1 afforded **17b** (46 mg, 62%) as a yellow oil.

Rf (EtOAc/MeOH, 10:1): 0.45

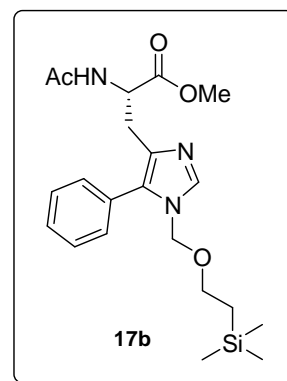
IR (neat) ν (cm⁻¹): 2952, 1742, 1667, 1526, 1493, 1371, 1247, 1205, 1174, 1085, 858, 835

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): -0.01 (s, 9H, (CH₃)₃Si), 0.83-0.91 (m, 2H, CH₂Si), 2.04 (s, 3H, CH₃CO), 3.02 (dd, J = 5.0 and 14.8 Hz, 1H, CH₂- β), 3.18 (dd, J = 5.0 and 14.8 Hz, 1H, CH₂- β), 3.39-3.48 (m, 2H, CH₂O), 3.55 (s, 3H, CO₂CH₃), 4.78 (dt, J = 5.0 and 7.6 Hz, 1H, CH- α), 5.14 (s, 2H, NCH₂O), 7.34-7.39 (m, 2H, *o*-CH_{arom}), 7.44-7.54 (m, 3H, *m*- and *p*-CH_{arom}), 7.65 (s, 1H, CH-2_{imid})

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): -1.49 ((CH₃)₃Si), 17.69 (CH₂Si), 23.16 (CH₃CO), 28.23 (CH₂- β), 51.95 (CO₂CH₃), 52.10 (CH- α), 66.31 (CH₂O), 74.02 (NCH₂O), 77.21 (C-5_{imid}), 128.53 (*p*-CH_{arom}), 128.74 (2 \times *o*-CH_{arom}), 130.26 (2 \times *m*-CH_{arom}), 135.06 (C_{arom}), 135.18 (C-4_{imid}), 137.26 (CH-2_{imid}), 170.00 (CONH), 171.90 (COO)

MS (ESI) m/z (%): 418.0 (100) [M+H]⁺

HRMS (ESI) m/z calcd for C₂₁H₃₂N₃O₄Si [M+H]⁺ 418.215659, found 418.215322



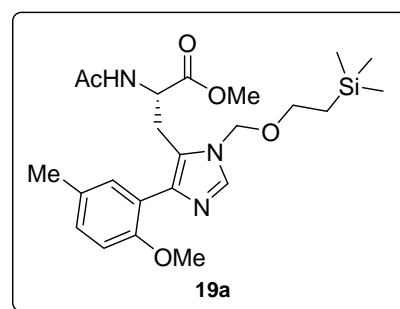
6.1.2.6.3 *N*(α)-Acetyl-5-(2-methoxy-5-methylphenyl)-*N*(π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (**19a**)

From **14a** (75 mg, 0.18 mmol) following the general procedure using Pd₂(dba)₃ (10 mol %), P(*o*-tolyl)₃ (0.09 mmol), and 2-methoxy-5-methylphenylboronic acid, after 1 h irradiation, elution with hexane/EtOAc (3:7) afforded **19a** (45 mg, 54%) as a colorless oil.

Rf (EtOAc/MeOH, 10:1): 0.38

IR (neat) ν (cm⁻¹): 2952, 1744, 1666, 1509, 1243, 1208, 1179, 1085, 1030, 858, 835

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): -0.03 (s, 9H, (CH₃)₃Si), 0.95-1.03 (m, 2H, CH₂Si), 1.74 (s, 3H, CH₃CO), 2.33 (s, 3H, CH₃), 3.19 (dd, J = 8.8 and 15.3



Hz, 1H, CH₂- β), 3.32 (dd, J = 5.6 and 15.3 Hz, 1H, CH₂- β), 3.55-3.63 (m, 2H, CH₂O), 3.60 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.83 (s, 3H, OCH₃), 4.66-4.74 (m, 1H, CH- α), 5.32 (s, 2H, NCH₂O), 6.07 (d, J = 7.4 Hz, 1H, CONH), 6.89 (d, J = 8.3 Hz, 1H, CH-3_{arom}), 7.15 (dd, J = 2.1 and 8.3 Hz, 1H, CH-4_{arom}), 7.32 (d, J = 2.1 Hz, 1H, CH-6_{arom}), 7.63 (s, 1H, CH-2_{imid})

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): -1.50 ((CH₃)₃Si), 17.60 (CH₂Si), 20.26 (CH₃), 22.58 (CH₃CO), 25.98 (CH₂-β), 51.56 (CO₂CH₃), 52.20 (CH-α), 55.61 (OCH₃), 66.20 (CH₂O), 74.34 (NCH₂O), 111.39 (CH-3_{arom}), 123.46 (C-5_{imid}), 123.63 (C-1_{arom}), 129.44 (CH-6_{arom}), 130.24 (C-5_{arom}), 132.56 (CH-4_{arom}), 137.85 (CH-2_{imid}), 138.40 (C-4_{imid}), 153.86 (C-2_{arom}), 169.59 (CONH), 171.92 (COO)

HRMS (ESI) *m/z* calcd for C₂₃H₃₆N₃O₅Si [M+H]⁺ 462.241874, found 462.239847

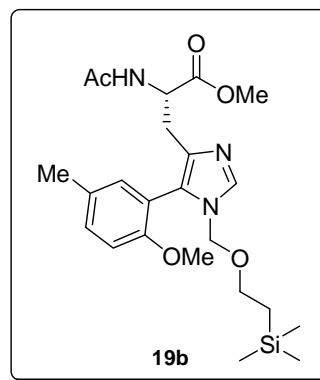
6.1.2.6.4 *N*(α)-Acetyl-5-(2-methoxy-5-methylphenyl)-*N*(τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (**19b**)

From **14b** (75 mg, 0.18 mmol) following the general procedure using Pd₂(dba)₃ (10 mol %), P(*o*-tolyl)₃ (0.09 mmol), and 2-methoxy-5-methylphenylboronic acid, after 1 h irradiation, elution with hexane/EtOAc (3:7) afforded **19b** (30 mg, 36%) as a yellow oil.

R_f (EtOAc/MeOH, 10:1): 0.25

IR (neat) *v* (cm⁻¹): 2951, 1745, 1671, 1500, 1246, 1208, 1169, 1088, 1025, 858, 835

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): -0.05 (s, 9H, (CH₃)₃Si), 0.74-0.82 (m, 2H, CH₂Si), 2.02 (s, 1.5H, CH₃CO), 2.04 (s, 1.5H, CH₃CO), 2.35 (s, 3H, CH₃), 2.86-3.02 (m, 2H, CH₂-β), 3.24-3.32 (m, 2H, CH₂O), 3.51 (s, 1.5H, CO₂CH₃), 3.65 (s, 1.5H, CO₂CH₃), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 4.69-4.77 (m, 1H, CH-α), 4.96-5.27 (m, 2H, NCH₂O), 6.90 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H, CH-3_{arom}), 6.99 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH-6_{arom}), 7.24 (dd, *J* = 2.1 and 8.6 Hz, 1H, CH-4_{arom}), 7.32 (d, *J* = 7.0 Hz, 0.5H, CONH), 7.41 (d, *J* = 7.0 Hz, 0.5H, CONH), 7.66 (s, 1H, CH-2_{imid})



¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): -1.57 ((CH₃)₃Si), 17.65 (CH₂Si), 20.35 (CH₃), 23.09 (CH₃CO), 28.37 (CH₂-β), (51.77, 52.31) (CO₂CH₃), 51.98 (CH-α), 55.48 (OCH₃), 66.17 (CH₂O), (74.38, 74.67) (NCH₂O), 111.02 (CH-3_{arom}), 117.23 (C-1_{arom}), 126.53 (C-5_{arom}), (130.02, 130.25) (C-5_{imid}), 130.99 (CH-6_{arom}), 133.16 (CH-4_{arom}), (135.01, 135.18) (C-4_{imid}), 137.12 (CH-2_{imid}), 155.33 (C-2_{arom}), 169.92 (CONH), (171.91, 172.10) (COO)

HRMS (ESI) *m/z* calcd for C₂₃H₃₆N₃O₅Si [M+H]⁺ 462.2419, found 462.2406; calcd for C₂₃H₃₅N₃NaO₅Si [M+Na]⁺ 484.2238, found 484.2211

6.1.2.6.5 *N*(α)-Acetyl-5-(2-methoxyphenyl)-*N*(π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxy-methyl] -L-histidine methyl ester (**20a**)

From **14a** (75 mg, 0.18 mmol) following the general procedure using Pd₂(dba)₃ (20 mol %), P(*o*-tolyl)₃ (0.18 mmol), and 2-methoxyphenylboronic acid, after 1 h irradiation, elution with hexane/EtOAc (3:7) afforded **20a** (54 mg, 68%) as a colorless oil.

R_f (EtOAc/MeOH, 10:1): 0.30

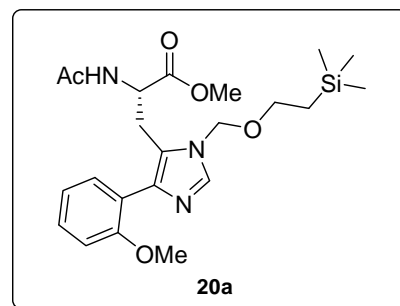
IR (neat) ν (cm⁻¹): 2951, 1740, 1663, 1503, 1435, 1370, 1243, 1202, 1086, 1025, 858, 836

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0.04 (s, 9H, (CH₃)₃Si), 0.95-1.03 (m, 2H, CH₂Si), 1.74 (s, 3H, CH₃CO), 3.24 (dd, *J* = 7.0 and 15.6 Hz, 1H, CH₂- β),

3.36 (dd, *J* = 5.8 and 15.6 Hz, 1H, CH₂- β), 3.55-3.64 (m, 2H, CH₂O), 3.57 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 4.67-4.77 (m, 1H, CH- α), 5.33 (s, 2H, NCH₂O), 6.06 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H, CONH), 7.00 (dd, *J* = 0.9 and 7.6 Hz, 1H, CH-3_{arom}), 7.08 (td, *J* = 0.9 and 7.6 Hz, 1H, CH-5_{arom}), 7.37 (td, *J* = 1.7 and 7.6 Hz, 1H, CH-4_{arom}), 7.50 (dd, *J* = 1.7 and 7.6 Hz, 1H, CH-6_{arom}), 7.65 (s, 1H, CH-2_{imid})

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): -1.49 ((CH₃)₃Si), 17.61 (CH₂Si), 22.66 (CH₃CO), 26.03 (CH₂- β), 51.54 (CO₂CH₃), 52.25 (CH- α), 55.47 (OCH₃), 66.24 (CH₂O), 74.35 (NCH₂O), 111.30 (CH-3_{arom}), 121.05 (CH-5_{arom}), 123.68 (C-5_{imid}), 123.72 (C-1_{arom}), 129.13 (CH-6_{arom}), 132.03 (CH-4_{arom}), 137.91 (CH-2_{imid}), 138.23 (C-4_{imid}), 156.01 (C-2_{arom}), 169.64 (CONH), 171.88 (COO)

HRMS (ESI) *m/z* calcd for C₂₂H₃₄N₃O₅Si [M+H]⁺ 448.2262, found 448.2257



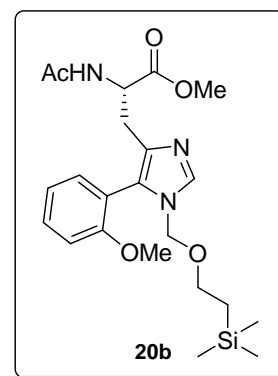
6.1.2.6.6 *N*(α)-Acetyl-5-(2-methoxyphenyl)-*N*(τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxy-methyl]-L-histidine methyl ester (**20b**)

From **14b** (75 mg, 0.18 mmol) following the general procedure using Pd₂(dba)₃ (40 mol %), P(*o*-tolyl)₃ (0.36 mmol), and 2-methoxyphenylboronic acid, after 10 min irradiation, elution with hexane/EtOAc (4:6) afforded **20b** (41 mg, 51%) as a yellow oil.

Rf (EtOAc/MeOH, 5:1): 0.33

IR (neat) ν (cm⁻¹): 2952, 1745, 1668, 1526, 1493, 1435, 1247, 1207, 1173, 1088, 1023, 858, 836

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): -0.05 (s, 9H, (CH₃)₃Si), 0.73-0.81 (m, 2H, CH₂Si), 2.01 (s, 3H, CH₃CO), 2.89-3.15 (m, 2H, CH₂- β), 3.24-3.33 (m, 2H, CH₂O), 3.50 (s, 1.5H, CO₂CH₃), 3.63 (s, 1.5H, CO₂CH₃), 3.82 (s, 3H, OCH₃), 4.68-4.77 (m, 1H, CH- α), 4.97-5.33 (m, 2H, NCH₂O), 7.00-7.10 (m, 2H, CH-3_{arom} and CH-5_{arom}), 7.18 (bs, 1H, CONH), 7.41-7.50 (m, 2H, CH-4_{arom} and CH-6_{arom}), 7.67 (s, 1H, CH-2_{imid})



¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): -1.57 ((CH₃)₃Si), 17.60 (CH₂Si), 23.07 (CH₃CO), 28.31 (CH₂- β), (51.52, 52.27) (CO₂CH₃), 51.95 (CH- α), 55.34 (OCH₃), 66.13 (CH₂O), (74.35, 74.65) (NCH₂O), 111.03 (CH-3_{arom}), 117.50 (C-1_{arom}), (120.79, 121.00) (CH-5_{arom}), (126.34, 126.57) (C-5_{imid}), 130.63 (CH-6_{arom}), 132.68 (CH-4_{arom}), (135.10, 135.32) (C-4_{imid}), 137.13 (CH-2_{imid}), (157.18, 157.39) (C-2_{arom}), 169.95 (CONH), (171.89, 172.05) (COO)

HRMS (ESI) m/z calcd for C₂₂H₃₄N₃O₅Si [M+H]⁺ 448.226224, found 448.224059

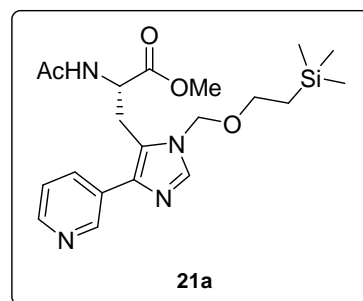
6.1.2.6.7 *N*(α)-Acetyl-5-(3-pyridyl)-*N*(π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (**21a**)

From **14a** (116 mg, 0.28 mmol) following the general procedure using Pd₂(dba)₃ (40 mol %), P(*o*-tolyl)₃ (0.56 mmol), and 3-pyridylboronic acid, after 10 min irradiation, gradient elution with EtOAc/MeOH from 95:5 to 92:8 afforded **21a** (46 mg, 40%) as a colorless oil.

Rf (EtOAc/MeOH, 5:1): 0.18

IR (neat) ν (cm⁻¹): 2952, 1743, 1665, 1368, 1249, 1083, 858, 835

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0.03 (s, 9H, (CH₃)₃Si), 0.95-1.03 (m, 2H, CH₂Si), 1.82 (s, 3H, CH₃CO), 3.38-3.42 (m, 2H, CH₂- β), 3.53 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.56-3.65 (m, 2H, CH₂O), 4.79-4.90 (m, 1H, CH- α), 5.32 (d, J = 11.0 Hz, 1H, NCH₂O), 5.41 (d, J = 11.0 Hz, 1H, NCH₂O), 6.43 (d, J = 7.8 Hz, 1H, CONH), 7.34 (bs,



$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.66 (s, 1H, CH-2_{imid}), 8.01 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, CH-4_{Py}), 8.53 (bs, 1H, CH-6_{Py}), 8.91 (bs, 1H, CH-2_{Py})

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm): -1.50 ((CH_3)₃Si), 17.65 (CH_2 Si), 22.72 (CH_3CO), 26.75 (CH_2 - β), 51.59 (CO_2CH_3), 52.48 (CH- α), 66.39 (CH_2O), 74.37 (NCH_2O), 123.36 (C-5_{imid}, CH-5_{Py}), 130.73 (C-3_{Py}), 134.78 (CH-4_{Py}), 137.96 (C-4_{imid}), 138.39 (CH-2_{imid}), 147.80 (CH-6_{Py}), 148.00 (CH-2_{Py}), 169.68 (CONH), 171.47 (COO)

HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{N}_4\text{O}_4\text{Si}$ [$\text{M}+\text{H}$]⁺ 419.2109, found 419.2092; calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{NaO}_4\text{Si}$ [$\text{M}+\text{Na}$]⁺ 441.1929, found 441.1902

6.1.2.6.8 *N*(α)-Acetyl-5-(3-pyridyl)-*N*(τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (**21b**)

From **14b** (75 mg, 0.18 mmol) following the general procedure using $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (40 mol %), $\text{P}(o\text{-tolyl})_3$ (0.36 mmol), and 3-pyridylboronic acid, after 10 min irradiation, elution with EtOAc/MeOH/ NH_3 (96:3:1) afforded **21b** (25 mg, 33%) as a yellow oil.

Rf (EtOAc/MeOH, 5:1): 0.20

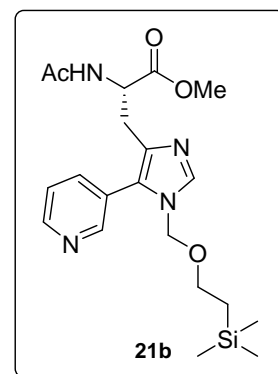
IR (neat) ν (cm^{-1}): 2952, 1744, 1667, 1494, 1248, 1207, 1174, 1086, 858, 836

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 0.01 (s, 9H, (CH_3)₃Si), 0.86-0.94 (m, 2H, CH_2 Si), 2.05 (s, 3H, CH_3CO), 3.01 (dd, $J = 5.0$ and 15.0 Hz, 1H, CH_2 - β), 3.17 (dd, $J = 5.0$ and 15.0 Hz, 1H, CH_2 - β), 3.45-3.53 (m, 2H, CH_2O), 3.58 (s, 3H, CO_2CH_3), 4.82

(dt, $J = 5.0$ and 7.8 Hz, 1H, CH- α), 5.13 (s, 2H, NCH_2O), 7.44 (dd, $J = 5.0$ and 7.8 Hz, 1H, CH-5_{Py}), 7.46 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, CONH), 7.67 (s, 1H, CH-2_{imid}), 7.77 (dt, $J = 2.0$ and 7.8 Hz, 1H, CH-4_{Py}), 8.63 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, CH-2_{Py}), 8.69 (dd, $J = 2.0$ and 5.0 Hz, 1H, CH-6_{Py})

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm): -0.85 ((CH_3)₃Si), 18.34 (CH_2 Si), 23.80 (CH_3CO), 28.89 (CH_2 - β), 52.56 (CO_2CH_3), 52.72 (CH- α), 67.07 (CH_2O), 74.82 (NCH_2O), 124.10 (CH-5_{Py}), 125.74 (C-5_{imid}), 127.46 (C-3_{Py}), 137.40 (C-4_{imid}), 138.24 (CH-4_{Py}), 138.62 (CH-2_{imid}), 150.28 (CH-6_{Py}), 151.36 (CH-2_{Py}), 170.62 (CONH), 172.43 (COO)

HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{N}_4\text{O}_4\text{Si}$ [$\text{M}+\text{H}$]⁺ 419.2109, found 419.2096; calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{NaO}_4\text{Si}$ [$\text{M}+\text{Na}$]⁺ 441.1929, found 441.1915



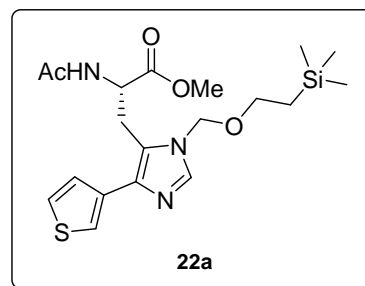
6.1.2.6.9 *N*(α)-Acetyl-5-(3-thienyl)-*N*(π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (**22a**)

From **14a** (75 mg, 0.18 mmol) following the general procedure using Pd₂(dba)₃ (20 mol %), P(*o*-tolyl)₃ (0.18 mmol), and 3-thienylboronic acid, after 15 min irradiation, elution with hexane/EtOAc (4:6) afforded **22a** (64 mg, 85%) as a yellow oil.

R_f (EtOAc/MeOH, 10:1): 0.33

IR (neat) ν (cm⁻¹): 2952, 1742, 1660, 1248, 1199, 1083, 857, 835

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0.02 (s, 9H, (CH₃)₃Si), 0.93-1.01 (m, 2H, CH₂Si), 1.82 (s, 3H, CH₃CO), 3.37 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH₂- β), 3.54-3.62 (m, 2H, CH₂O), 3.58 (s, 3H, CO₂CH₃), 4.84 (q, *J* = 7.4 Hz, 1H, CH- α), 5.35 (s, 2H, NCH₂O), 6.41 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, CONH), 7.37 (dd, *J* = 2.8 and 5.1 Hz, 1H, CH-5_{thien}), 7.45 (dd, *J* = 1.4 and 5.1 Hz, 1H, CH-4_{thien}), 7.54 (dd, *J* = 1.4 and 2.8 Hz, 1H, CH-2_{thien}), 7.68 (s, 1H, CH-2_{imid})



¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): -1.55 ((CH₃)₃Si), 17.61 (CH₂Si), 22.64 (CH₃CO), 26.52 (CH₂- β), 51.66 (CO₂CH₃), 52.45 (CH- α), 66.33 (CH₂O), 74.29 (NCH₂O), 120.96 (CH-2_{thien}), 121.83 (C-5_{imid}), 125.90 (CH-5_{thien}), 126.53 (CH-4_{thien}), 134.87 (C-3_{thien}), 136.61 (C-4_{imid}), 137.40 (CH-2_{imid}), 169.78 (CONH), 171.73 (COO)

HRMS (ESI) *m/z* calcd for C₁₉H₃₀N₃O₄SSi [M+H]⁺ 424.1721, found 424.1709

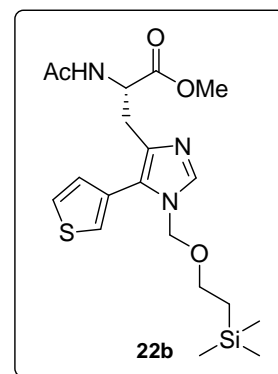
6.1.2.6.10 *N*(α)-Acetyl-5-(3-thienyl)-*N*(τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (**22b**)

From **14b** (75 mg, 0.18 mmol) following the general procedure using Pd₂(dba)₃ (20 mol %), P(*o*-tolyl)₃ (0.18 mmol), and 3-thienylboronic acid, after 30 min irradiation, elution with hexane/EtOAc (1:2) afforded **22b** (41 mg, 54%) as a yellow oil.

R_f (EtOAc/MeOH, 5:1): 0.35

IR (neat) ν (cm⁻¹): 2952, 1744, 1669, 1493, 1248, 1083, 858, 836

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): -0.01 (s, 9H, (CH₃)₃Si), 0.85-0.93 (m, 2H, CH₂Si), 2.00 (s, 3H, CH₃CO), 3.00 (dd, *J*= 5.0 and 14.8 Hz, 1H, CH₂- β), 3.21 (dd, *J*= 5.0 and 14.8 Hz, 1H, CH₂- β), 3.44-3.52 (m, 2H, CH₂O), 3.57 (s, 3H, CO₂CH₃), 4.79 (dt, *J*= 5.0 and 10.0 Hz, 1H, CH- α), 5.14 (s, 2H, NCH₂O), 7.17-7.20 (m, 1H, CH-5_{thien}), 7.43-7.49 (m, 3H, CH-4_{thien}, CH-2_{thien}, CONH), 7.60 (s, 1H, CH-2_{imid})



¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): -1.56 ((CH₃)₃Si), 17.64 (CH₂Si), 23.02 (CH₃CO), 28.45 (CH₂- β), 51.93 (CO₂CH₃), 52.02 (CH- α), 66.14 (CH₂O), 73.95 (NCH₂O), 125.14 (CH-2_{thien}), 125.45 (C-5_{imid}), 126.19 (CH-5_{thien}), 128.44 (CH-4_{thien}), 128.54 (C-3_{thien}), 135.35 (C-4_{imid}), 137.20 (CH-2_{imid}), 169.93 (CONH), 171.84 (COO)

HRMS (ESI) *m/z* calcd for C₁₉H₃₀N₃O₄SSi [M+H]⁺ 424.1721, found 424.1737; calcd for C₁₉H₂₉N₃NaO₄SSi [M+Na]⁺ 446.1540, found 424.1548

6.1.2.7 General method for the removal of the SEM group

The corresponding arylhistidines **17**, **19-22** (1 mmol) were dissolved in TFA/CH₂Cl₂ (2:1, 24 mL) and stirred at room temperature. After the total reaction time (Table 2.9), the solvent was evaporated. Products were isolated by column chromatography.

6.1.2.7.1 *N*(α)-Acetyl-5-phenyl-L-histidine methyl ester (**23**)

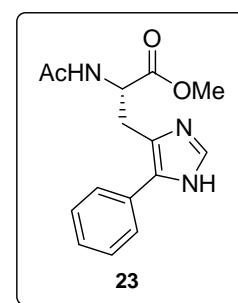
From **17a** (81 mg, 0.19 mmol) following the general procedure after 2.5 h reaction, elution with EtOAc/MeOH/NH₃ (98:1:1) afforded **23** (55 mg, 99%) as a colorless oil. From **17b** (108 mg, 0.26 mmol) following the general procedure after 1.5 h reaction, elution with EtOAc/MeOH/NH₃ (98:1:1) afforded **23** (72 mg, 97%) as a colorless oil.

R_f (EtOAc/MeOH/NH₃, 98:1:1): 0.33

$[\alpha]_D^{20}$ 9.74° (*c* 0.27, MeOH)

IR (neat) ν (cm⁻¹): 1741, 1659, 1436, 1374, 1198, 1177, 1130

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.95 (s, 3H, CH₃CO), 3.21 (dd, *J*= 5.2 and 15.4 Hz, 1H, CH₂- β), 3.35 (dd, *J*= 5.2 and 15.4 Hz, 1H, CH₂- β), 3.50 (s, 3H, CO₂CH₃), 4.81 (dt, *J*= 5.2 and 7.8 Hz, 1H, CH- α), 7.26-7.43 (m, 5H, CH_{arom}), 7.53 (s, 1H, CH-2_{imid})



¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 22.06 (CH₃CO), 27.56 (CH₂-β), 51.14 (CO₂CH₃), 51.20 (CH-α), 126.14 (2×*o*-CH_{arom}), 126.45 (*p*-CH_{arom}), 127.88 (2×*m*-CH_{arom}), 128.68, 129.72, 130.35 (C-4_{imid}, C-5_{imid}, C-1_{arom}), 133.55 (CH-2_{imid}), 169.43 (CONH), 170.99 (COO)

HRMS (ESI) *m/z* calcd for C₁₅H₁₈N₃O₃ [M+H]⁺ 288.1343, found 288.1339; calcd for C₁₅H₁₇N₃NaO₃ [M+Na]⁺ 310.1162, found 310.1171

6.1.2.7.2 *N*(α)-Acetyl-5-(2-methoxy-5-methylphenyl)-L-histidine methyl ester (**24**)

From **19a** (121 mg, 0.26 mmol) following the general procedure after 1.5 h reaction, elution with EtOAc afforded **24** (61 mg, 70%) as a pale yellow solid. From **19b** (49 mg, 0.11 mmol) following the general procedure after 1.5 h reaction, elution with EtOAc afforded **24** (32 mg, 91%) as a pale yellow solid.

R_f (EtOAc/MeOH, 10:3): 0.36

mp: 50-51 °C

[α]_D¹⁹ 10.47° (*c* 0.28, MeOH)

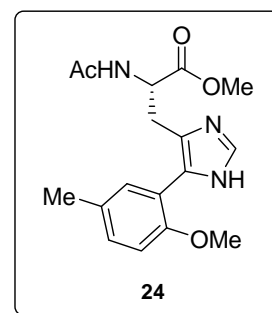
IR (neat) ν (cm⁻¹): 1742, 1658, 1502, 1437, 1241, 1026, 807

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.96 (s, 3H, CH₃CO), 2.34

(s, 3H, CH₃), 3.16 (dd, *J* = 4.7 and 14.8 Hz, 1H, CH₂-β), 3.33 (dd, *J* = 6.2 and 14.8 Hz, 1H, CH₂-β), 3.57 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 4.82 (ddd, *J* = 4.7, 6.2, and 7.4 Hz, 1H, CH-α), 6.89 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, CH-3_{arom}), 7.13 (dd, *J* = 2.0 and 8.4 Hz, 1H, CH-4_{arom}), 7.21 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, CH-6_{arom}), 7.45 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, NHCO), 7.59 (s, 1H, CH-2_{imid})

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 20.38 (CH₃), 22.92 (CH₃CO), 28.86 (CH₂-β), 51.99 (CO₂CH₃), 52.18 (CH-α), 55.63 (OCH₃), 111.33 (CH-3_{arom}), 118.69 (C-1_{arom}), 125.61 (C-5_{imid}), 129.45 (CH-6_{arom}), 130.29 (CH-4_{arom}), 130.39 (C-4_{imid}), 132.30 (C-5_{arom}), 133.71 (CH-2_{imid}), 153.80 (C-2_{arom}), 170.29 (CONH), 172.08 (COO)

HRMS (ESI) *m/z* calcd for C₁₇H₂₂N₃O₄ [M+H]⁺ 332.1605, found 332.1591; calcd for C₁₇H₂₁N₃NaO₄ [M+Na]⁺ 354.1424, found 354.1408



6.1.2.7.3 *N*(α)-Acetyl-5-(2-methoxyphenyl)-L-histidine methyl ester (**25**)

From **20a** (85 mg, 0.19 mmol) following the general procedure after 3.5 h reaction, elution with EtOAc/MeOH (99:1) afforded **25** (54 mg, 90%) as a pale yellow solid. From

20b (85 mg, 0.19 mmol) following the general procedure after 1.5 h reaction, elution with EtOAc/MeOH (99:1) afforded **25** (55 mg, 91%) as a pale yellow solid.

R_f (EtOAc/MeOH, 10:3): 0.36

mp: 50-51 °C

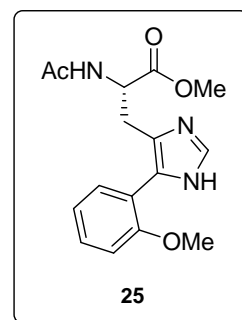
$[\alpha]_D^{19}$ 9.55° (*c* 0.22, MeOH)

IR (neat) ν (cm⁻¹): 1740, 1661, 1435, 1375, 1246, 1200, 1178, 1127, 1022, 757

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.92 (s, 3H, CH₃CO), 3.21 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H, CH₂- β), 3.56 (s, 3H, CO₂CH₃), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 4.81 (dt, *J* = 6.0 and 7.8 Hz, 1H, CH- α), 6.98-7.07 (m, 2H, CH-3_{arom} and CH-5_{arom}), 7.33-7.42 (m, 2H, CH-4_{arom} and CH-6_{arom}), 7.54 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, CONH), 7.81 (s, 1H, CH-2_{imid})

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 22.72 (CH₃CO), 28.00 (CH₂- β), 51.99 (CO₂CH₃), 52.22 (CH- α), 55.45 (OCH₃), 111.35 (CH-3_{arom}), 117.84 (C-1_{arom}), 121.06 (CH-5_{arom}), 126.70 (C-5_{imid}), 129.71 (C-4_{imid}), 130.10 (CH-6_{arom}), 130.30 (CH-4_{arom}), 133.24 (CH-2_{imid}), 156.24 (C-2_{arom}), 170.71 (CONH), 171.68 (COO)

HRMS (ESI) *m/z* calcd for C₁₆H₂₀N₃O₄ [M+H]⁺ 318.1448, found 318.1435; calcd for C₁₆H₁₉N₃NaO₄ [M+Na]⁺ 340.1268, found 340.1250



6.1.2.7.4 *N*(α)-Acetyl-5-(3-pyridyl)-L-histidine methyl ester (**26**)

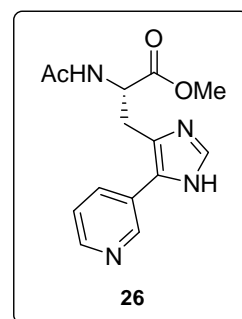
From **21a** (71 mg, 0.17 mmol) following the general procedure after 2.5 h reaction, elution with EtOAc/MeOH/NH₃ (96:3:1) afforded **26** (44 mg, 90%) as a colorless oil. From **21b** (43 mg, 0.10 mmol) following the general procedure after 3.5 h reaction, elution with EtOAc/MeOH/NH₃ (96:3:1) afforded **26** (27 mg, 92%) as a colorless oil.

R_f (EtOAc/MeOH, 10:3): 0.10

$[\alpha]_D^{20}$ 6.99° (*c* 0.27, MeOH)

IR (neat) ν (cm⁻¹): 1740, 1658, 1199, 1177, 1130, 712

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.99 (s, 3H, CH₃CO), 3.28 (dd, *J* = 6.6 and 15.4 Hz, 1H, CH₂- β), 3.41 (dd, *J* = 5.4 and 15.4 Hz, 1H, CH₂- β), 3.63 (s, 3H, CO₂CH₃), 4.86 (ddd, *J* = 5.4, 6.6 and 7.4 Hz, 1H, CH- α), 7.38 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, CONH), 7.40 (dd, *J* = 4.8 and 8.0 Hz, 1H, CH-5_{Py}), 7.85 (s, 1H, CH-2_{imid}), 7.94 (dt, *J* = 1.8 and 8.0 Hz, 1H, CH-4_{Py}), 8.54 (dd, *J* = 1.8 and 4.8 Hz, 1H, CH-6_{Py}), 8.80 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H, CH-2_{Py})



¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 22.89 (CH₃CO), 28.41 (CH₂-β), 52.08 (CO₂CH₃), 52.54 (CH-α), 123.86 (CH-5_{Py}), 127.82, 128.46, 129.91 (C-3_{Py}, C-4_{imid}, C-5_{imid}), 134.91 (CH-4_{Py}), 135.31 (CH-2_{imid}), 147.61 (CH-6_{Py}), 147.83 (CH-2_{Py}), 170.86 (CONH), 171.61 (COO)

HRMS (ESI) *m/z* calcd for C₁₄H₁₇N₄O₃ [M+H]⁺ 289.1295, found 289.1293; calcd for C₁₄H₁₆N₄NaO₃ [M+Na]⁺ 311.1115, found 311.1114

6.1.2.7.5 *N*(α)-Acetyl-5-(3-thienyl)-L-histidine methyl ester (**27**)

From **22a** (121 mg, 0.29 mmol) following the general procedure after 2.0 h reaction, gradient elution from EtOAc/MeOH (99:1) to EtOAc/MeOH/NH₃ (98:1:1) afforded **27** (83 mg, 99%) as a yellow solid. From **22b** (84 mg, 0.20 mmol) following the general procedure after 2.0 h reaction, gradient elution from EtOAc/MeOH (99:1) to EtOAc/MeOH/NH₃ (98:1:1) afforded **27** (57 mg, 99%) as a yellow solid.

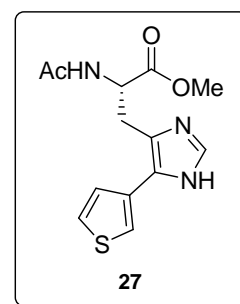
R_f (EtOAc/MeOH, 10:3): 0.33

mp: 49-50 °C

[α]_D¹⁹ 7.55° (c 0.26, MeOH)

IR (neat) ν (cm⁻¹): 1739, 1660, 1198, 1177, 1129

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.95 (s, 3H, CH₃CO), 3.25 (dd, *J* = 8.0 and 15.2 Hz, 1H, CH₂-β), 3.38 (dd, *J* = 5.2 and 15.2 Hz, 1H, CH₂-β), 3.64 (s, 3H, CO₂CH₃), 4.78-4.88 (m, 1H, CH-α), 7.31 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H, CH-4_{thien}), 7.40 (dd, *J* = 2.8 and 4.4 Hz, 1H, CH-5_{thien}), 7.50 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H, CH-2_{thien}), 7.60 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, CONH), 7.87 (s, 1H, CH-2_{imid})



¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 22.71 (CH₃CO), 27.98 (CH₂-β), 52.14 (CO₂CH₃), 52.59

(CH-α), 122.42 (CH-2_{thien}), 126.11 (CH-5_{thien}), 126.56 (C-5_{imid}), 126.99 (CH-4_{thien}), 127.35 (C-3_{thien}), 129.94 (C-4_{imid}), 133.38 (CH-2_{imid}), 171.16 (CONH), 171.44 (COO)

HRMS (ESI) *m/z* calcd for C₁₃H₁₆N₃O₃S [M+H]⁺ 294.0907, found 294.0893; calcd for C₁₃H₁₅N₃NaO₃S [M+Na]⁺ 316.0726, found 316.0714

6.1.3 Synthesis of 5-arylhistidines on solid-phase

6.1.3.1 Synthesis of Boc-His(5-Br, π -SEM)OH (**29a**) and Boc-His(5-Br, τ -SEM)OH (**29b**)

6.1.3.1.1 Synthesis of 5-bromo-*N*(α)-*t*-butoxycarbonyl-L-histidine methyl ester (**31**)

N-Bromosuccinimide (2.6 g, 14.8 mmol) was added to a solution of methyl *N*(α)-*t*-butoxycarbonyl-L-histidinate (4.0 g, 14.8 mmol) in dry acetonitrile (80 mL) at 0 °C. The reaction mixture was stirred at this temperature under Ar for 30 min. Then, pyridine (32 μ L) was added and the mixture was concentrated *in vacuo*. Triethylamine (3.2 mL) was added to the concentrated solution. Removal of the solvent gave a residue, which was purified by column chromatography. Elution with EtOAc/hexane (2:1) afforded 5-bromo-*N*(α)-*t*-butoxycarbonyl-L-histidine methyl ester (**31**) as a white solid (4.9 g, 95%).

t_R : 1.02 min (condition A)

mp: 156-158 °C

IR (neat) ν (cm^{-1}): 3359, 3079, 1693, 1526, 1434, 1323, 1244, 1166

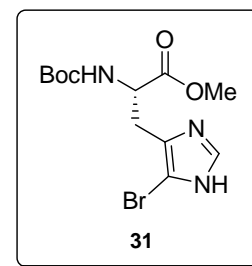
$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1.37 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$), 2.94

(dd, $J = 6.6$ and 15.4 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-}\beta$), 3.13 (dd, $J = 5.4$ and 15.4 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-}\beta$), 3.71 (s, 3H, OCH_3), 4.43-4.46 (m, 1H, $\text{CH-}\alpha$), 5.28 (bs, 1H, NH-Boc), 7.43 (s, 1H, $\text{CH-2}_{\text{imid}}$), 10.43 (bs, 1H, NH_{imid})

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 28.94 ($(\text{CH}_3)_3\text{C}$), 29.07 ($\text{CH}_2\text{-}\beta$), 53.52 (OCH_3), 53.66 ($\text{CH-}\alpha$), 81.56 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 115.62 (C-5_{imid}), 124.03 (C-4_{imid}), 135.55 ($\text{CH-2}_{\text{imid}}$), 156.30 (CONH), 172.67 (COO)

MS (ESI) m/z (%): 248.0 (18), 250.0 (16) $[\text{M-Boc}+\text{H}]^+$, 348.0 (100), 350.0 (96) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 695.1 (4), 697.1 (9), 699.1 (4) $[2\text{M}+\text{H}]^+$

HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{BrN}_3\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 348.0553, 350.0522, found 348.0544, 350.0521; calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{BrN}_3\text{NaO}_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 370.0373, 372.0352, found 370.0362, 372.0351



6.1.3.1.2 Synthesis of 5-bromo-*N*(α)-*t*-butoxycarbonyl-*N*(τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (**32a**) and 5-bromo-*N*(α)-*t*-butoxycarbonyl-*N*(τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (**32b**)

DBU (1.5 mL, 9.9 mmol) was added to a solution of 5-bromo-*N*(α)-*t*-butoxycarbonyl-L-histidine methyl ester (**31**) (2.3 g, 6.6 mmol) in dry DMF (17 mL) at 0 °C. The reaction mixture was stirred at this temperature under Ar for 1.5 h. After this time, 2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl chloride was added (1.3 mL, 9.9 mmol) and the mixture was stirred for 3 h while the temperature was allowed to warm to room temperature. The reaction mixture was then poured into water (150 mL) and the product was extracted with toluene/EtOAc (1:1, 3×40 mL). The organic layers were combined, washed with brine (50 mL) and dried over anhydrous magnesium sulfate. Removal of the solvent afforded a pale yellow oil which was purified by column chromatography. Elution with hexane/EtOAc (60:40) gave **32** as a colorless oil (2.4 g, 77%).

t_R : 1.75 and 1.90 min (condition A)

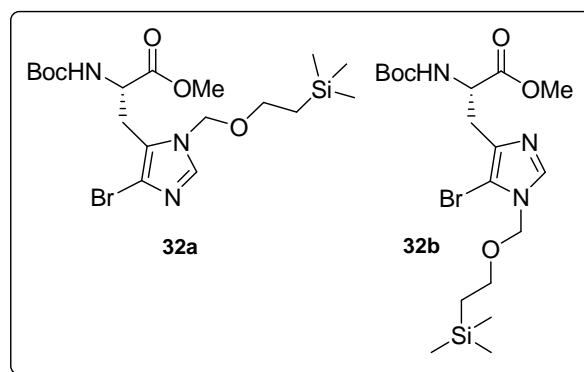
IR (neat) ν (cm^{-1}): 2953, 1713, 1489, 1364, 1248, 1207, 1164, 1090, 834

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 0.03 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3\text{Si}$), 0.89-0.97 (m, 2H, CH_2Si), 1.42 (s, 6.8H, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$), 1.46 (s, 2.2H, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$), 3.04 (dd, J =

8.4 and 15.2 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-}\beta$), 3.18 (dd, J = 6.2 and 15.2 Hz, 1H, $\text{CH}_2\text{-}\beta$), 3.50-3.58 (m, 2H, CH_2O), 3.74 (s, 0.8H, OCH_3), 3.78 (s, 2.2H, OCH_3), 4.57-4.68 (m, 1H, $\text{CH-}\alpha$), 5.26-5.32 (m, 2H, NCH_2O), 5.86 (bs, 1H, CONH), 7.48 (s, 0.8H, $\text{CH-2}_{\text{imid}}$), 7.65 (s, 0.2H, $\text{CH-2}_{\text{imid}}$)

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm): -0.79 ($(\text{CH}_3)_3\text{Si}$), 18.26 (CH_2Si), 27.74, 29.94 ($\text{CH}_2\text{-}\beta$), 28.92, 29.02 ($(\text{CH}_3)_3\text{C}$), 52.89, 53.36 ($\text{CH-}\alpha$ and OCH_3), 67.15, 68.04 (CH_2O), 75.46, 75.59 (NCH_2O), 80.27, 80.79 ($(\text{CH}_3)_3\text{C}$), 102.76, 118.38 (C-5_{imid}), 125.06, 137.28 (C-4_{imid}), 137.76, 138.82 ($\text{CH-2}_{\text{imid}}$), 155.60, 155.63 (CONH), 172.43, 172.87 (COO)

HRMS (ESI) m/z calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{BrN}_3\text{O}_5\text{Si}$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ 478.1367, 480.1345, found 478.1375, 480.1352; calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{BrN}_3\text{NaO}_5\text{Si}$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ 500.1187, 502.1190, found 500.1199, 502.1197



6.1.3.1.3 5-Bromo-*N*(α)-*t*-butoxycarbonyl-*N*(π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine (**29a**) and 5-bromo-*N*(α)-*t*-butoxycarbonyl-*N*(τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine (**29b**)

An aqueous solution of LiOH (1.6 M, 10.5 mmol) was added to a solution of **32** (1.8 g, 3.8 mmol) in THF/MeOH (1:1, 14.6 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature for 1.5 h. After this time, the organic solvents were evaporated under reduced pressure. The resulting residue was adjusted to pH= 5-6 by addition of 1 N HCl followed by extraction with EtOAc (3x50 mL). The combined organic layers were washed with brine (50 mL) and dried over anhydrous magnesium sulfate. Removal of the solvent afforded histidine derivatives **29** as a white solid (1.7 g, 93%).

t_R : 1.65 and 1.70 min (condition A)

mp: 107-109 °C

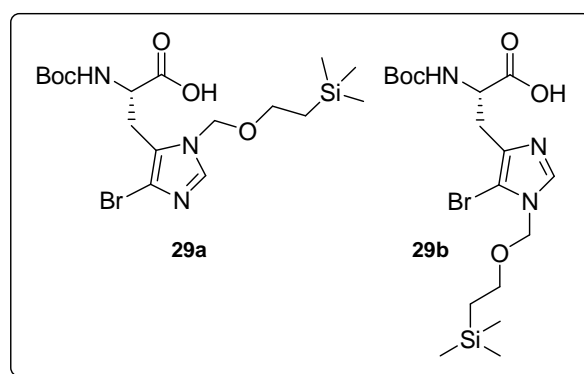
IR (neat) ν (cm⁻¹): 3317, 2954, 1711, 1681, 1366, 1247, 1159, 1100, 835

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0.03 (s, 9H, (CH₃)₃Si), 0.91-1.02 (m, 2H, CH₂Si), 1.43 (s, 6.8H, (CH₃)₃C),

1.48 (s, 2.2H, (CH₃)₃C), 3.05-3.32 (m, 2H, CH₂- β), 3.52-3.62 (m, 2H, CH₂O), 4.55-4.65 (m, 1H, CH- α), 5.32 (s, 1.5H, NCH₂O), 5.36 (s, 0.5H, NCH₂O), 5.50 (d, J = 7.4 Hz, 1H, CONH), 7.71 (s, 0.8H, CH-2_{imid}), 8.06 (s, 0.2H, CH-2_{imid}), 11.05 (bs, 1H, COOH)

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): -0.74 ((CH₃)₃Si), 18.33 (CH₂Si), 27.53, 29.76 (CH₂- β), 28.95, 29.11 ((CH₃)₃C), 53.36, 53.78 (CH- α), 67.45, 67.87 (CH₂O), 76.04, 76.47 (NCH₂O), 80.28, 80.96 ((CH₃)₃C), 104.66, 116.20 (C-5_{imid}), 126.10, 135.20 (C-4_{imid}), 137.87, 138.45 (CH-2_{imid}), 155.82, 156.01 (CONH), 173.87, 174.31 (COO)

HRMS (ESI) m/z calcd for C₁₇H₃₁BrN₃O₅Si [M+H]⁺ 464.1211, 466.1197, found 464.1219, 466.1201



6.1.3.2 Synthesis of *N*(α)-*t*-butoxycarbonyl-3-iodo-4-methoxy-L-tyrosine methyl ester (**42**)

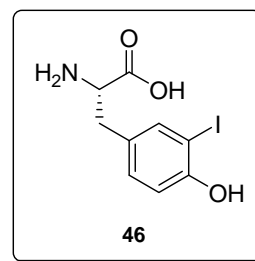
6.1.3.2.1 Synthesis of 3-iodo-L-tyrosine (**46**)

A solution of iodine (5.6 g, 22.1 mmol) in EtOH (60 mL) was added dropwise for 1 h to a solution of L-tyrosine (4.0 g, 22.1 mmol) in concentrated NH₄OH (400 mL) cooled at 0 °C. Then, the mixture was concentrated *in vacuo* until the formation of a precipitate, it was cooled at 0 °C and acidified to pH = 4-5. The resulting precipitate was collected by filtration under reduced pressure and air dried. The solid was suspended in acetone and stirred at 0 °C for 2 h to remove residual iodine. The solid was again collected by suction filtration to afford **46** as a white solid (4.5 g, 66%).

t_R: 0.82 min (condition A)

mp: 200-202 °C decomp

IR (neat) ν (cm⁻¹): 3233, 2846, 1613, 1418, 1363, 1328, 1285, 833



¹H-NMR (200 MHz, D₂O + DCl) δ (ppm): 3.09 (dd, J = 7.4 and 14.8 Hz, 1H, CH₂- β), 3.22 (dd, J = 5.8 and 14.8 Hz, 1H, CH₂- β), 4.33 (dd, J = 5.8 and 7.4 Hz, 1H, CH- α), 6.93 (d, J = 8.4 Hz, CH_{arom}-5), 7.17 (dd, J = 2.0 and 8.4 Hz, CH_{arom}-6), 7.66 (d, J = 2.0 Hz, CH_{arom}-2)

¹³C-NMR (50 MHz, D₂O + DCl) δ (ppm): 37.08 (CH₂- β), 56.86 (CH- α), 86.89 (C_{arom}-3), 118.38 (CH_{arom}-5), 130.48 (CH_{arom}-6), 133.77 (C_{arom}-1), 142.84 (CH_{arom}-2), 157.69 (C_{arom}-4), 173.97 (COOH)

MS (ESI) m/z (%): 261.9 (5) [M-COOH+H]⁺, 290.0 (15) [M-OH+H]⁺, 307.8 (100) [M+H]⁺

HRMS (ESI) m/z calcd for C₉H₁₁IINO₃ [M+H]⁺ 307.9778, found 307.9780

6.1.3.2.2 Synthesis of *N*(α)-*t*-butoxycarbonyl-3-iodo-4-methoxy-L-tyrosine methyl ester (**44**)

Triethylamine (2.2 mL, 24.3 mmol) was added to a solution of 3-iodo-L-tyrosine (**46**) (4.5 g, 22.1 mmol) in anhydrous methanol (43 mL) at 0 °C. A solution of Boc₂O (5.91 g, 26.2 mmol) in anhydrous methanol (35 mL) was then added dropwise. The reaction mixture was stirred for 1.5 h while the temperature was allowed to warm to room temperature. After this time, the mixture was concentrated *in vacuo* and then adjusted to pH = 4 by addition of 1N HCl. The solution was transferred to a separatory funnel and

extracted with EtOAc (3×50 mL). The combined organic layers were washed with brine (50 mL), dried over anhydrous magnesium sulfate and evaporated *in vacuo* to yield *N*(α)-*t*-butoxycarbonyl-3-iodo-L-tyrosine.

6.1.3.2.2.1 *N*(α)-*t*-butoxycarbonyl-3-iodo-L-tyrosine

t_R: 1.41 min (condition A)

mp: 87.5-90.5 °C

IR (neat) ν (cm⁻¹): 3355, 3319, 1681, 1503, 1367, 1250, 1157

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.45 (s, 9H, (CH₃)₃C),

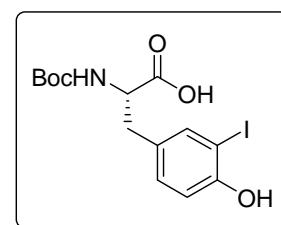
2.95-3.20 (m, 2H, CH₂- β), 4.51-4.53 (m, 1H, CH- α), 5.20 (bs, 1H, CONH), 6.86 (d, J = 8.2 Hz, 1H, CH_{arom}-5), 7.06 (d, J = 8.2 Hz, 1H, CH_{arom}-6), 7.52 (s, 1H, CH_{arom}-2)

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 29.01 ((CH₃)₃C), 37.28 (CH₂- β), 55.38 (CH- α), 81.32 (C(CH₃)₃), 85.98 (C_{arom}-3), 115.84 (CH_{arom}-5), 130.75 (C_{arom}-1), 131.70 (CH_{arom}-6), 139.86 (CH_{arom}-2), 154.93 (C_{arom}-4), 156.32 (CONH), 176.53 (COO)

MS (ESI) m/z (%): 393.1 (100) [M-CH₃+H]⁺, 408.2 (53) [M+H]⁺, 430.0 (45) [M+Na]⁺, 446.0 (15) [M+K]⁺

HRMS (ESI) m/z calcd for C₁₄H₁₈I₂NaO₅ [M+Na]⁺ 430.0122, found 430.0137

N(α)-*t*-Butoxycarbonyl-3-iodo-L-tyrosine was added to a solution of Cs₂CO₃ (8.35 g, 25.4 mmol) in anhydrous DMF (76 mL) and the reaction mixture was stirred at room temperature for 15 min. Methyl iodide (3.3 mL, 53.0 mmol) was then added and the mixture was stirred at room temperature overnight. After this time, the reaction mixture was concentrated under reduced pressure and acidified to pH= 5-6 by addition of 1N HCl. The resulting solution was extracted with EtOAc (3×100 mL), the combined organic layers were washed with brine (100 mL), dried over anhydrous magnesium sulfate and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography. Elution with hexane/EtOAc (80:20) gave **44** as a pale yellow solid (7.60 g, 79%) and elution with hexane/EtOAc (50:50) afforded *N*(α)-*t*-butoxycarbonyl-3-iodo-L-tyrosine methyl ester (**47**) as a white solid (992 mg, 16%). Both yields were calculated from 3-iodo-L-tyrosine (**46**).

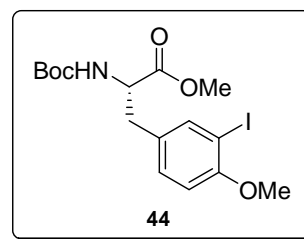


6.1.3.2.2.2 *N*(α)-*t*-butoxycarbonyl-3-iodo-4-methoxy-L-tyrosine methyl ester (**44**)

t_R : 1.87 min (condition A)

mp: 63-65 °C

IR (neat) ν (cm⁻¹): 3333, 1736, 1702, 1510, 1495, 1366, 1255, 1223, 1151, 1048, 1016, 822



¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.46 (s, 9H, (CH₃)₃C), 2.96 (dd, J = 5.8 and 13.8 Hz, 1H, CH₂- β), 3.08 (dd, J = 5.6 and 13.8 Hz, 1H, CH₂- β), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 3.88 (s, 3H, CO₂CH₃), 4.53-4.56 (m, 1H, CH- α), 5.02 (bs, 1H, CONH), 6.77 (d, J = 8.4 Hz, 1H, CH_{arom}-5), 7.10 (dd, J = 2.2 and 8.4 Hz, 1H, CH_{arom}-6), 7.57 (d, J = 2.2 Hz, CH_{arom}-2)

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 28.97 ((CH₃)₃C), 37.64 (CH₂- β), 52.92 (CO₂CH₃), 55.17 (CH- α), 57.03 (OCH₃), 80.71 (C(CH₃)₃), 86.61 (C_{arom}-3), 111.54 (CH_{arom}-5), 130.92 (C_{arom}-1), 130.95 (CH_{arom}-6), 140.91 (CH_{arom}-2), 155.65 (CONH), 157.94 (C_{arom}-4), 172.77 (COO)

MS (ESI) m/z (%): 336 (10) [M-Boc+H]⁺, 358 (17) [M-Boc+Na]⁺, 458 (90) [M+Na]⁺, 474 (25) [M+K]⁺

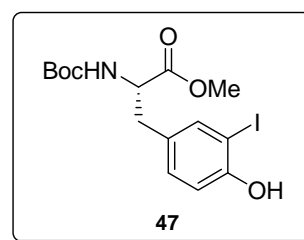
HRMS (ESI) m/z calcd for C₁₆H₂₂INNaO₅ [M+Na]⁺ 458.0435, found 458.0425

6.1.3.2.2.3 *N*(α)-*t*-butoxycarbonyl-3-iodo-L-tyrosine methyl ester (**47**)

R_f (EtOAc/MeOH/NH₃, 5:1:1): 0.65

mp: 104.6-104.8 °C

IR (neat) ν (cm⁻¹): 3332, 1714, 1685, 1392, 1289, 1252, 1150, 1051, 1017, 821



¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.45 (s, 9H, C(CH₃)₃), 2.92 (dd, J = 6.2 and 13.8 Hz 1H, CH₂- β), 3.07 (dd, J = 5.8 and 13.8 Hz 1H, CH₂- β), 3.74 (s, 3H, CO₂CH₃), 4.51-4.55 (m, 1H, CH- α), 5.04 (d, J = 5.8 Hz, 1H, NH), 5.69 (bs, 1H, OH), 6.89 (d, J = 8.2 Hz, CH_{arom}-5), 7.01 (dd, J = 2.0 and 8.2 Hz, 1H, CH_{arom}-6), 7.44 (d, J = 2.0 Hz, 1H, CH_{arom}-2)

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 28.22 ((CH₃)₃), 36.90 (CH₂- β), 52.27 (CO₂CH₃), 54.44 (CH- α), 80.23 (C(CH₃)₃), 85.03 (C_{arom}-3), 114.98 (CH_{arom}-5), 129.72 (C_{arom}-1), 130.72 (CH_{arom}-6), 139.05 (CH_{arom}-2), 154.31 (C_{arom}-4), 155.11 (CONH), 172.17 (COO)

HRMS (ESI) m/z calcd for C₁₅H₂₀INNaO₅ [M+Na]⁺ 444.0278, found 444.0269

6.1.3.2.3 *N*(α)-*t*-butoxycarbonyl-3-borono-4-methoxy-L-tyrosine methyl ester (**42**)

A solution of *N*(α)-*t*-butoxycarbonyl-3-iodo-4-methoxy-L-tyrosine methyl ester (**44**) (0.99 g, 2.28 mmol) in degassed DMSO (10 mL) was added to a solution of bis(pinacolato)diboron (1.18 g, 4.56 mmol), PdCl₂(dppf) (0.11 g, 0.13 mmol) and KOAc (0.90 g, 9.13 mmol) in degassed DMSO (5 mL). The mixture was stirred under nitrogen at 80 °C for 7 h. After this time, brine (50 mL) was added and the resulting solution was extracted with EtOAc (3×100 mL). The combined organic extracts were washed with brine (3×50 mL) and dried over anhydrous magnesium sulfate. Removal of the solvent gave a dark brown oil, which was purified by column chromatography. Elution with hexane/EtOAc (83:17) afforded a mixture of the expected boronate **45** together with the boronic acid derivative **42** as a pale yellow oil. This mixture was dissolved in acetonitrile/H₂O (1:1, 40 mL) and was stirred at 75 °C for 4 h. The resulting solution was lyophilized to afford a white solid which was purified by column chromatography. Elution with hexane/EtOAc (3:1) afforded the pinacol boronic ester **45** (104 mg, 10%) and elution with hexane/EtOAc (1:1) gave *N*(α)-*t*-butoxycarbonyl-3-borono-4-methoxy-L-tyrosine methyl ester (**42**) (540 mg, 63%).

t_R: 1.45 min (condition A)

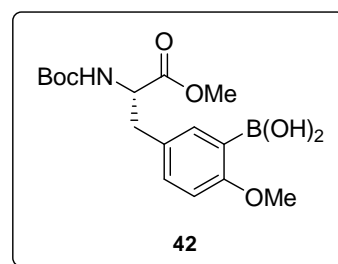
mp: 126-127 °C

IR (neat) ν (cm⁻¹): 3352, 1737, 1686, 1518, 1494, 1362, 1344, 1234, 1153, 1043, 1015

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.41 (s, 9H, (CH₃)₃C), 3.02 (dd, *J* = 5.6 and 13.8 Hz, 1H, CH₂- β), 3.07 (dd, *J* = 5.5 and 13.8 Hz, 1H, CH₂- β), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 3.89 (s, 3H, CO₂CH₃), 4.52-4.55 (m, 1H, CH- α), 5.03 (bs, 1H, CONH), 5.54 (bs, 2H, B(OH)₂), 6.85 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, CH_{arom}-5), 7.23 (dd, *J* = 2.2 and 8.4 Hz, 1H, CH_{arom}-6), 7.58 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, CH_{arom}-2)

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 28.41 ((CH₃)₃C), 37.60 (CH₂- β), 52.41 (CO₂CH₃), 54.73 (CH- α), 55.95 (OCH₃), 80.30 (C(CH₃)₃), 110.34 (C_{arom}-3), 110.84 (CH_{arom}-5), 128.64 (C_{arom}-1), 133.75 (CH_{arom}-6), 137.87 (CH_{arom}-2), 155.37 (CONH), 163.85 (C_{arom}-4), 172.53 (COO)

HRMS (ESI) m/z calcd for C₁₆H₂₄BNNaO₇ [M+Na]⁺ 376.1538, found 376.1538



6.1.3.3 Synthesis of potassium *N*(α)-*t*-butoxycarbonyl-4-methoxy-L-tyrosyl-3-trifluoroborate methyl ester (**51**)

Aqueous potassium hydrogen fluoride (0.21 mL, 4.5 M, 0.93 mmol) was added to a solution of boronic acid **42** (100 mg, 0.28 mmol) in MeOH (0.2 mL). The resulting white slurry was stirred at room temperature for 15 min, concentrated *in vacuo* and dissolved in hot acetone. The mixture was filtered and the filtrate was concentrated *in vacuo*. The residue recrystallized from a minimal amount of hot acetone and ether to afford the corresponding potassium trifluoroborate salt **51** as a white solid (97.9 mg, 83%).

t_R : 7.47 min (condition D)

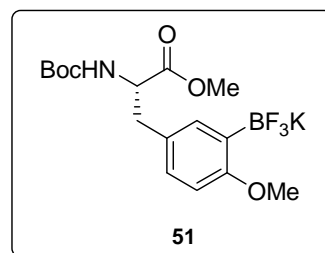
mp: 215-217 °C

IR (neat) ν (cm^{-1}): 3363, 2974, 1702, 1530, 1347, 1290, 1229, 1160, 1008, 970, 935, 857, 824

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 1.44 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$), 2.74-2.89 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-}\beta$), 3.42 (s, 3H, OCH₃), 3.69 (s, 3H, CO₂CH₃), 4.10-4.16 (m, 1H, CH- α), 6.67 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, CONH), 6.96 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, CH_{arom}-5), 7.15 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, CH_{arom}-6), 7.23 (s, 1H, CH_{arom}-2)

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 28.12 ($(\text{CH}_3)_3\text{C}$), 36.21 ($\text{CH}_2\text{-}\beta$), 51.54 (CO₂CH₃), 54.80 (OCH₃), 55.95 (CH- α), 78.20 (C $(\text{CH}_3)_3$), 109.45 (CH_{arom}-5), 126.92 (CH_{arom}-6), 127.29 (C_{arom}-1), 134.02 (CH_{arom}-2), 155.34 (CONH), 161.33 (C_{arom}-4), 172.96 (COO)

HRMS (ESI) m/z calcd for C₁₆H₂₂BF₃NO₅ [M]⁻ 376.1549, found 376.1548



6.1.3.4 Synthesis of H-His(5-Ar)-Leu-Leu-NH₂

6.1.3.4.1 Synthesis of the bromotripeptidyl resin **28**

The bromotripeptidyl resin **28** was synthesized manually by the solid-phase method using standard Fmoc chemistry. Fmoc-Rink-MBHA resin (0.94 mmol/g) was used as solid support. Couplings of Fmoc-Leu-OH (3 equiv) were performed using HBTU (3 equiv) and DIEA (3 equiv) in DMF under microwave irradiation (5 min, 75 °C, 50 W). SEM-protected 5-bromohistidines **29** were coupled using the same conditions but for 3h at room temperature. The completion of the reactions was checked by the Kaiser and the TNBS tests. Fmoc group removal was achieved with 20% piperidine in DMF under microwave irradiation (3 min, 75 °C, 50 W). After each coupling and deprotection step, the resin was washed with DMF ($\times 3$), MeOH ($\times 1$) and CH₂Cl₂ ($\times 3$), and air dried.

6.1.3.4.1.1 H-His(5-Br)-Leu-Leu-NH₂ (**33**)

An aliquot of the bromotripeptidyl resin **28** was cleaved with TFA/CH₂Cl₂ (95:5) under stirring for 3 h at room temperature. Following TFA evaporation and diethyl ether extraction, the crude peptide was dissolved in H₂O/CH₃CN (50:50 vol/vol containing 0.1% TFA), lyophilized and purified by reverse-phase preparative HPLC using condition E to afford H-His(5-Br)-Leu-Leu-NH₂ (**33**).

t_R: 0.92 min (condition A)

¹H-NMR (400 MHz, CD₃CN) δ (ppm): 0.92-0.97 (m, 12H, 4×CH₃(δ)-Leu), 1.53-1.66 (m, 2H, 2×CH(γ)-Leu), 1.69-1.75 (m, 4H, 2×CH₂(β)-Leu), 3.27 (dd, *J*= 6.7 and 15.8 Hz, 1H, CH₂(β)-His), 3.34 (dd, *J*= 5.2 and 15.8 Hz, 1H, CH₂(β)-His), 4.30-4.40 (m, 3H, 3×CH(α)), 6.15 (s, 1H, CONH₂), 6.63 (s, 1H, CONH₂), 7.62 (d, *J*= 7.3 Hz, 1H, CONH), 7.80 (d, *J*= 6.0 Hz, 1H, CONH), 8.19 (s, 1H, CH_{imid}-2)

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃CN) δ (ppm): 20.45, 20.73, 22.29, 22.37 (4×CH₃(δ)-Leu), 24.46, 24.58 (2×CH(γ)-Leu), 25.96 (CH₂(β)-His), 40.07, 40.14 (2×CH₂(β)-Leu), 52.13, 52.17, 52.91 (3×CH(α)), 124.25 (C_{imid}-4), 136.02 (CH_{imid}-2), 167.36, 173.43, 174.63 (3×CO)

MS (ESI) *m/z* (%): 459.13 (100), 461.13 (96) [M+H]⁺

6.1.3.4.2 General method for the microwave-assisted Suzuki-Miyaura cross-coupling

A 25 mL reaction vessel containing a magnetic stir bar was charged with bromotripeptidyl resin **28** (50 mg), which was first swelled in a degassed mixture of DME/EtOH/H₂O (9:9:2, 1.2 mL) for 15 min under argon atmosphere. Then, Pd₂(dba)₃ (0.2 equiv), P(*o*-tolyl)₃ (0.4 equiv), KF (4 equiv) and the corresponding boronic acid (4 equiv) were added. The mixture was irradiated at 170 °C for 15 min at 300 W. After the reaction time, upon cooling, the solvent was removed and the resin was washed with DMF (×3), EtOH (×3) and CH₂Cl₂ (×3). The aryltripeptides were released from the solid support by treatment with TFA/CH₂Cl₂ (95:5) under stirring for 3 h at room temperature. Following TFA evaporation and diethyl ether extraction, the crude peptides were dissolved in H₂O/CH₃CN (50:50 vol/vol containing 0.1% TFA), lyophilized and purified by reverse-phase preparative HPLC.

6.1.3.4.2.1 H-His(5-Ph)-Leu-Leu-NH₂ (**34**)

This peptide was purified using condition E

t_R: 1.02 min (condition A)

¹H-NMR (400 MHz, CD₃CN) δ (ppm): 0.92-0.97 (m, 12H, 4×CH₃(δ)-Leu), 1.49-1.68 (m, 6H, 2×CH(γ)-Leu, 2×CH₂(β)-Leu), 3.43 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH₂(β)-His), 4.22-4.34 (m, 2H, 2×CH(α)-Leu), 4.49 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H, CH(α)-His), 5.99 (s, 1H, CONH₂), 6.67 (s, 1H, CONH₂), 7.44 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, CONH), 7.48-7.55 (m, 3H, CH_{arom}-3, CH_{arom}-4, CH_{arom}-5), 7.59 (dd, *J* = 1.8 and 8.1 Hz, 2H, CH_{arom}-2, CH_{arom}-6), 8.20 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H, CONH), 8.55 (s, 1H, CH_{imid}-2)

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃CN) δ (ppm): 20.63, 20.86, 22.31 (4×CH₃(δ)-Leu), 24.37, 24.51 (2×CH(γ)-Leu), 26.27 (CH₂(β)-His), 40.22, 40.45 (2×CH₂(β)-Leu), 51.87, 52.39, 52.91 (3×CH(α)), 123.19 (C_{imid}), 126.96 (C_{imid}), 128.39 (CH_{arom}-2, CH_{arom}-6), 129.16 (CH_{arom}-3, CH_{arom}-5), 129.45 (CH_{arom}-4), 131.67 (C_{arom}-1), 134.24 (CH_{imid}-2), 167.65, 172.84, 174.47 (3×CO)

MS (ESI) *m/z* (%): 456.9 (100) [M+H]⁺, 479.1 (10) [M+Na]⁺

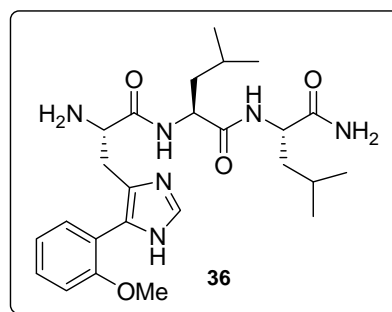
6.1.3.4.2.2 Biaryllic peptide **36**

This peptide was purified using condition G

t_R: 1.05 min (condition A)

¹H-NMR (300 MHz, CD₃CN) δ (ppm): 0.84-0.93 (m, 12H, 4×CH₃(δ)-Leu), 1.51-1.57 (m, 6H, 2×CH₂(β)-Leu, 2×CH(γ)-Leu), 3.28 (d, *J* = 6.6 Hz, 1H, CH₂(β)-His), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 4.13-4.33 (m, 3H, 2×CH(α)-Leu, CH(α)-His), 5.79 (s, 0.6H, CONH₂), 5.87 (s, 0.4H, CONH₂), 6.43 (s, 0.4H, CONH₂), 6.53 (s, 0.6H, CONH₂), 6.75 (d, *J* = 5.5 Hz, 0.6H, CONH), 6.86 (d, *J* = 7.1 Hz, 0.6H, CONH), 7.09 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H, CH_{arom}-5), 7.15 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, CH_{arom}-3), 7.31 (d, *J* = 7.5 Hz, 0.4H, CONH), 7.38 (dd, *J* = 1.6 and 7.9 Hz, 1H, CH_{arom}-6), 7.52 (td, *J* = 1.6 and 7.9 Hz, 1H, CH_{arom}-4), 7.85 (d, *J* = 6.0 Hz, 0.4H, CONH), 8.56 (s, 1H, CH_{imid}-2)

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃CN) δ (ppm): 20.07, 20.16, 20.44, 20.51, 21.91, 21.96, 22.02, 22.09 (CH₃(δ)-Leu), 24.12, 24.16, 24.22 (CH(γ)-Leu), 25.98 (CH₂(β)-His), 39.65, 39.83, 40.11 (CH₂(β)-Leu), 51.04, 51.63, 51.79, 52.55, 52.61 (CH(α)-Leu, CH(α)-His), 55.19 (OCH₃), 111.51 (CH_{arom}-3), 114.06 (C_{arom}-1), 120.67 (CH_{arom}-5), 123.28 (C_{imid}), 128.13



(C_{imid}), 130.89 (CH_{arom}-6), 131.67 (CH_{arom}-4), 133.42 (CH_{imid}-2), 156.67 (C_{arom}-2), 171.17, 172.25, 173.22 (CO)

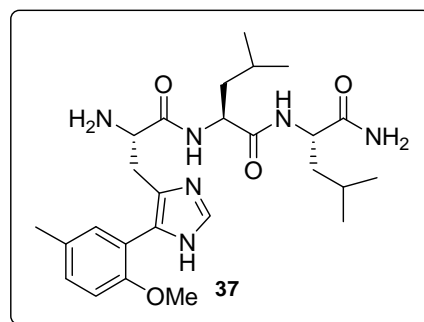
MS (ESI) *m/z* (%): 487.3 (100) [M+H]⁺

6.1.3.4.2.3 Biaryllic peptide **37**

This peptide was purified using condition E

t_R: 1.13 min (condition A)

¹H-NMR (400 MHz, CD₃CN) δ (ppm): 0.87-0.96 (m, 12H, 4xCH₃(δ)-Leu), 1.52-1.71 (m, 6H, 2xCH(γ)-Leu, 2xCH₂(β)-Leu), 2.34 (s, 3H, CH₃), 3.30 (dd, *J* = 6.6 and 14.8 Hz, 1H, CH₂(β)-His), 3.35 (dd, *J* = 6.6



and 14.8 Hz, 1H, CH₂(β)-His), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 4.26-4.34 (m, 2H, 2xCH(α)-Leu), 4.40 (t, *J* = 6.6 Hz, 1H, CH(α)-His), 5.94 (s, 1H, CONH₂), 6.54 (s, 1H, CONH₂), 7.06 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, CH_{arom}-3), 7.22 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H, CH_{arom}-6), 7.34 (dd, *J* = 1.8 and 8.5 Hz, 1H, CH_{arom}-4), 7.41 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, CONH), 8.05 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H, CONH), 8.56 (s, 1H, CH_{imid}-2)

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃CN) δ (ppm): 19.37 (CH₃), 20.51, 20.78 (2xCH(γ)-Leu), 22.28, 22.34, 24.41, 24.51 (4xCH₃(δ)-Leu), 26.48 (CH₂(β)-His), 40.08, 40.42 (2xCH₂(β)-Leu), 51.88, 52.21, 52.94 (3xCH(α)), 55.51 (OCH₃), 111.78 (CH_{arom}-3), 114.44 (C_{arom}-1), 123.89 (C_{imid}), 128.42 (C_{imid}), 130.41 (CH_{arom}-4), 131.50 (C_{arom}-5), 132.13 (CH_{arom}-6), 133.72 (CH_{imid}-2), 154.86 (C_{arom}-2), 167.59, 173.09, 174.17 (3xCO)

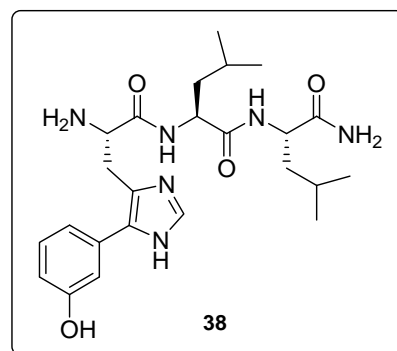
MS (ESI) *m/z* (%): 501.3 (100) [M+H]⁺

6.1.3.4.2.4 Biaryllic peptide **38**

This peptide was purified using condition F

t_R: 0.96 min (condition A)

¹H-NMR (400 MHz, CD₃CN) δ (ppm): 0.89-0.95 (m, 12H, 4xCH₃(δ)-Leu), 1.51-1.61 (m, 4H, 2xCH₂(β)-Leu), 1.62-1.70 (m, 2H, 2xCH(γ)-Leu), 3.37 (dd, *J* = 8.4 and 15.5 Hz, 1H, CH₂(β)-His), 3.48 (dd, *J* = 5.2 and 15.5 Hz, 1H, CH₂(β)-His), 4.30-4.36 (m, 2H,



2xCH(α)-Leu), 4.42 (dd, *J* = 5.2 and 8.4 Hz, 1H, CH(α)-His), 6.03 (s, 1H, CONH₂), 6.59 (s, 1H, CONH₂), 6.96 (ddd, *J* = 0.8, 2.0 and 8.0 Hz, 1H, CH_{arom}-4), 7.05 (ddd, *J* = 0.8, 2.0

and 8.0 Hz, 1H, CH_{arom}-6), 7.14 (t, *J* = 2.0 Hz, 1H, CH_{arom}-2), 7.38 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, CH_{arom}-5), 7.44 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, CONH), 7.84 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H, CONH), 8.60 (s, 1H, CH_{imid}-2)

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃CN) δ (ppm): 20.41, 20.79, 22.30, 22.34 (4×CH₃(δ)-Leu), 24.45, 24.52 (2×CH(γ)-Leu), 26.23 (CH₂(β)-His), 39.89, 40.44 (2×CH₂(β)-Leu), 52.11 (CH(α)-Leu), 52.16 (CH(α)-His), 53.04 (CH(α)-Leu), 115.05 (CH_{arom}-2), 117.35 (CH_{arom}-4), 119.29 (CH_{arom}-6), 122.28 (C_{imid}), 127.40 (C_{imid}), 130.61 (CH_{arom}-5), 131.88 (C_{arom}-1), 134.04 (CH_{imid}-2), 157.86 (C_{arom}-3), 167.40, 173.76, 174.36 (3×CO)

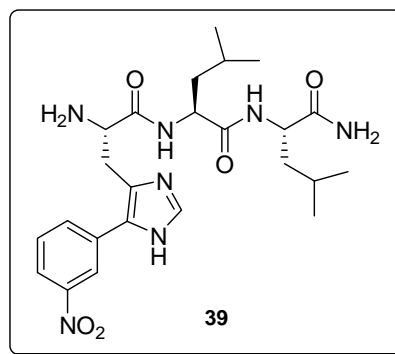
MS (ESI) *m/z* (%): 473.3 (100) [M+H]⁺

6.1.3.4.2.5 Biaryllic peptide **39**

This peptide was purified using condition E

t_R: 1.07 min (condition A)

¹H-NMR (400 MHz, CD₃CN) δ (ppm): 0.86-0.96 (m, 12H, 4×CH₃(δ)-Leu), 1.51-1.73 (m, 6H, 2×CH₂(β)-Leu, 2×CH(γ)-Leu), 3.48 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H, CH₂(β)-His), 4.16-4.22 (m, 0.37H, CH(α)-Leu), 4.24-4.28 (m, 1H, CH(α)-Leu), 4.30-4.35 (m, 0.63H, CH(α)-Leu), 4.46 (t, *J* = 6.6 Hz, 1H, CH(α)-His), 5.92 (s, 0.37H, CONH₂), 6.03 (s, 0.63H, CONH₂), 6.60 (s, 1H, CONH₂), 6.86 (d, *J* = 6.1 Hz, 0.37H, CONH), 6.96 (d, *J* = 7.9 Hz, 0.37H, CONH), 7.44 (d, *J* = 7.4 Hz, 0.63H, CONH), 7.78 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, CH_{arom}-5), 7.99 (ddd, *J* = 1.0, 2.1 and 8.0 Hz, 1H, CH_{arom}-6), 8.12 (d, *J* = 6.1 Hz, 0.63H, CONH), 8.35 (ddd, *J* = 1.0, 2.1 and 8.0 Hz, 1H, CH_{arom}-4), 8.43 (t, *J* = 2.1 Hz, 1H, CH_{arom}-2), 8.62 (s, 1H, CH_{imid}-2)



¹³C-NMR (100 MHz, CD₃CN) δ (ppm): 20.50, 20.81, 20.85, 22.25, 22.30, 22.32, 22.43 (CH₃(δ)-Leu), 24.42, 24.51, 24.53 (CH(γ)-Leu), 25.90 (CH₂(β)-His), 39.97, 40.09, 40.17, 40.35 (CH₂(β)-Leu), 51.95 (CH(α)-Leu), 52.20 (CH(α)-His), 52.88 (CH(α)-Leu), 123.34 (CH_{arom}-2), 123.79 (C_{imid}), 123.89 (CH_{arom}-4), 128.06 (C_{imid}), 129.71 (C_{arom}-1), 130.24 (CH_{arom}-5), 134.51 (CH_{imid}-2), 134.68 (CH_{arom}-6), 148.26 (C_{arom}-3), 167.07, 171.17, 172.27, 172.77, 174.04, 174.64 (CO)

MS (ESI) *m/z* (%): 502.3 (100) [M+H]⁺

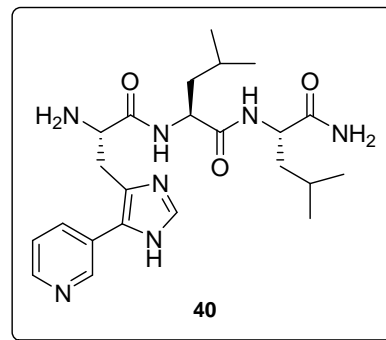
6.1.3.4.2.6 Biaryllic peptide **40**

Following the general procedure, the Suzuki-Miyaura reaction was carried out by treating the resin **28** three times with using Pd₂(dba)₃ (0.2 equiv), P(*o*-tolyl)₃ (0.4 equiv), KF (4 equiv) and 3-pyridylboronic acid (4 equiv).

This peptide was purified using condition F

t_R : 0.90 min (condition A)

¹H-NMR (300 MHz, CD₃CN) δ (ppm): 0.84-0.92 (m, 12H, 4xCH₃(δ)-Leu), 1.52-1.64 (m, 6H, 2xCH(γ)-Leu, 2xCH₂(β)-Leu), 3.42-3.46 (m, 2H, CH₂(β)-His), 4.25-4.29 (m, 2H, 2xCH(α)-Leu), 4.39-4.44 (m, 1H, CH(α)-His), 5.95 (s, 1H, CONH₂), 6.47 (s, 1H, CONH₂), 7.27 (d, J = 7.6 Hz, 1H, CONH), 7.78 (bs, 1H, CH_{pyr}-5), 7.97 (d, J = 5.6 Hz, 1H, CONH), 8.34 (d, J = 7.8 Hz, 1H, CH_{py}-6), 8.42 (s, 1H, CH_{imid}-2), 8.72 (bs, 1H, CH_{py}-4), 9.00 (bs, 1H, CH_{py}-2)



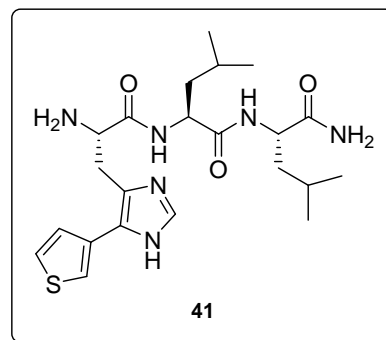
MS (ESI) m/z (%): 458.2 (35) [M+H]⁺

6.1.3.4.2.7 Biaryllic peptide **41**

This peptide was purified using condition G

t_R : 1.01 min (condition A)

¹H-NMR (400 MHz, CD₃CN) δ (ppm): 0.86-0.92 (m, 12H, 4xCH₃(δ)-Leu), 1.48-1.68 (m, 6H, 2xCH(γ)-Leu, 2xCH₂(β)-Leu), 3.42 (dd, J = 5.6 and 16.2 Hz, 1H, CH₂(β)-His), 3.48 (dd, J = 5.3 and 16.2 Hz, 1H, CH₂(β)-His), 4.20-4.26 (m, 1H, CH(α)-Leu), 4.28-4.34 (m, 1H, CH(α)-Leu), 4.47 (t, J = 5.4 Hz, 1H, CH(α)-His), 6.06 (s, 1H, CONH₂), 6.71 (s, 1H, CONH₂), 7.44 (dd, J = 1.2 and 5.0 Hz, 1H, CH_{thien}-5), 7.52 (d, J = 7.4 Hz, 1H, CONH), 7.58 (dd, J = 2.9 and 5.0 Hz, 1H, CH_{thien}-4), 7.83 (dd, J = 1.2 and 2.9 Hz, 1H, CH_{thien}-2), 8.17 (d, J = 6.2 Hz, 1H, CONH), 8.45 (s, 1H, CH_{imid}-2)



¹³C-NMR (100 MHz, CD₃CN) δ (ppm): 20.31, 20.54, 21.92, 21.97 (4xCH₃(δ)-Leu), 24.02, 24.19 (2xCH(γ)-Leu), 26.20 (CH₂(β)-His), 39.89, 40.06 (2xCH₂(β)-Leu), 51.57, 51.98, 52.65 (3xCH(α)), 115.04 (C_{arom}), 122.73 (C_{arom}), 124.66 (C_{arom}), 126.39 (CH_{thien}-2), 127.10 (CH_{thien}-4), 127.16 (CH_{thien}-5), 133.63 (CH_{imid}-2), 167.50, 172.51, 174.26 (3xCO)

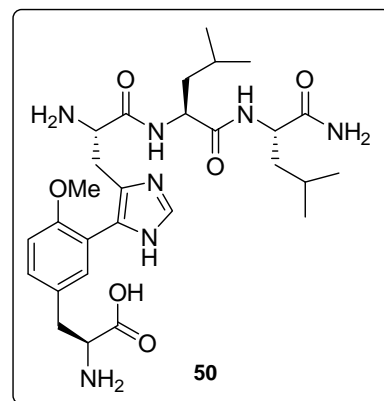
MS (ESI) m/z (%): 463.2 (100) $[M+H]^+$, 485.0 (20) $[M+Na]^+$

6.1.3.4.2.8 Biaryllic peptide **50**

Following the general procedure, the Suzuki-Miyaura reaction was carried out by treating the resin **28** with $Pd_2(dba)_3$ (0.2 equiv), $P(o\text{-tolyl})_3$ (0.4 equiv), KF (4 equiv) and tyrosine-3-boronic acid **42** (4 equiv) at 140 °C for two periods of 30 min and 1 h, respectively. After the corresponding washes, the resin was treated with LiOH (5 equiv) in THF/H₂O (7:1) at room temperature for 24 h. After the reaction time, the solvent was removed and the resin was washed with DMF (x3), MeOH (x2), H₂O (x2), DMF (x3) and CH₂Cl₂ (x3). The biaryllic peptide **50** was released from the solid support by treatment with TFA/CH₂Cl₂ (95:5) under stirring for 3 h at room temperature. Following TFA evaporation and diethyl ether extraction, the crude peptide was dissolved in H₂O/CH₃CN (50:50 vol/vol containing 0.1% TFA), and lyophilized.

t_R : 14.72 min (condition C)

MS (ESI) m/z (%): 574.4 (33) $[M+H]^+$



6.2 Experimental Section: Chapter 2

6.2.1 General protocol of solid-phase synthesis of peptides containing 5-bromohistidine residues

The peptidyl resins were synthesized manually by the solid-phase method using standard Fmoc chemistry. Fmoc-Rink-MBHA resin (0.64 mmol/g) was used as solid support. Couplings of Fmoc amino acids were carried out as follows: Fmoc-AA-OH (4 equiv) was dissolved in DMF and preactivated for 5 min with HBTU (3.8 equiv), HOBT (4 equiv) and DIEA (7.8 equiv). The mixture was added to the resin and shaken for 1 h at room temperature. Couplings of SEM-protected 5-bromohistidines **29** (3 equiv) were performed using HBTU (3 equiv) and DIEA (3 equiv) in DMF under stirring for 3 h at room temperature. The completion of the reactions was checked by the Kaiser test. Fmoc group was removed by treating the resin with a mixture of piperidine/DMF (1:4) (2×4 mL) for 3 and 7 min. After each coupling and deprotection step, the resin was washed with DMF (×3), MeOH (×1) and CH₂Cl₂ (×3), and air dried. The resulting peptides were cleaved from the resin with TFA/TIS/H₂O (95:2.5:2.5) under stirring for 3 h at room temperature. Following TFA evaporation and diethyl ether extraction, the crude peptides were dissolved in H₂O, lyophilized and tested for purity on HPLC. Electrospray ionization mass spectrometry was used to confirm peptide identity.

6.2.1.1 H-His(5-Br)-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-Tyr-Leu-NH₂ (**55**)

HPLC ($\lambda = 220$ nm): 5.89 min (99%) (condition D)

MS (ESI) m/z (%): 560.3 (22), 561.4 (24) [M+2H]²⁺, 1119.6 (88), 1121.6 (100) [M+H]⁺, 1141.5 (52), 1143.4 (58) [M+Na]⁺

6.2.1.2 H-His(5-Br)-Leu-NH₂ (**58**)

HPLC ($\lambda = 220$ nm): 4.79 min (99%) (condition D)

MS (ESI) m/z (%): 346.4 (35), 348.3 (38) [M+H]⁺

6.2.1.3 H-His(5-Br)-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-Phe-Leu-NH₂ (**63**)

HPLC ($\lambda = 220$ nm): 13.16 min (83%) (condition B)

MS (ESI) m/z (%): 746.3 (55), 747.3 (100) [M+2H]²⁺, 1491.6 (45), 1493.6 (65) [M+H]⁺

6.2.1.4 H-Phe-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-His-Leu-NH₂ (67)

HPLC ($\lambda = 220$ nm): 17.03 min (82%) (condition C)

MS (ESI) *m/z* (%): 707.4 (100) [M+2H]²⁺, 1413.7 (60) [M+H]⁺

6.2.1.5 H-His-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-Phe-Leu-NH₂ (68)

HPLC ($\lambda = 220$ nm): 17.16 min (76%) (condition C)

MS (ESI) *m/z* (%): 674.4 (100) [M-imidazole+2H]²⁺, 707.8 (32) [M+2H]²⁺, 1413.6 (8) [M+H]⁺

6.2.1.6 H-His-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-His-Leu-NH₂ (69)

HPLC ($\lambda = 220$ nm): 15.52 min (74%) (condition C)

MS (ESI) *m/z* (%): 702.4 (60) [M+2H]²⁺, 1403.7 (100) [M+H]⁺

6.2.1.7 H-His-Lys-Leu-His-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-His-Leu-NH₂ (70)

HPLC ($\lambda = 220$ nm): 14.14 min (100%) (condition C)

MS (ESI) *m/z* (%): 1394.6 (15) [M+H]⁺

6.2.2 General method for the microwave-assisted Suzuki-Miyaura cross-coupling

A 10 mL reaction vessel containing a magnetic stir bar was charged with the corresponding bromotripeptidyl resin (50 mg), which was first swelled in a degassed mixture of DME/EtOH/H₂O (9:9:2, 1.2 mL) for 15 min under N₂. Then, Pd₂(dba)₃ (0.2 equiv), P(*o*-tolyl)₃ (0.4 equiv), KF (4 equiv) and the corresponding boronic acid (4 equiv) were added. The sealed vial was heated under N₂ in the microwave lab station. Firstly, a microwave ramp (600 W maximum) was applied for 5 min to reach the reaction temperature. The reaction mixture was irradiated at this temperature for 30 min. After the reaction time, upon cooling, the solvent was removed and the resin was washed with DMF (x3), EtOH (x3) and CH₂Cl₂ (x3). The arylpeptides were released from the solid support by treatment with TFA/CH₂Cl₂ (95:5) under stirring for 3 h at room temperature. Following TFA evaporation and diethyl ether extraction, the crude peptides were dissolved in H₂O, lyophilized and tested for purity on HPLC. LC/MS was used to confirm peptide identity.

6.2.2.1 H-His(5-Ph)-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-Tyr-Leu-NH₂ (52)

HPLC ($\lambda = 220$ nm): 16.09 min (72%) (condition C)

MS (ESI) m/z (%): 559.34 (45) $[M+2H]^{2+}$, 1041.61 (50) $[M-C_6H_5+H]^+$, 1117.62 (100) $[M+H]^+$

6.2.2.2 H-His(5-Ph)-Leu-NH₂ (53)

HPLC ($\lambda = 220$ nm): 14.36 (63 %) (condition C)

MS (ESI) m/z (%): 344.2 (100) $[M+H]^+$

6.2.2.3 H-His(5-Ph)-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-Phe-Leu-NH₂ (60)

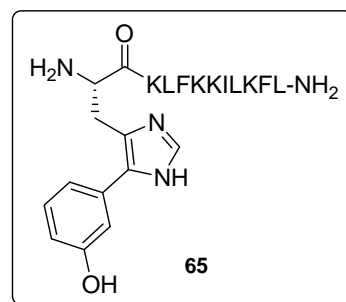
HPLC ($\lambda = 220$ nm): 17.70 min (52 %) (condition C)

MS (ESI) m/z (%): 745.9 (40) $[M+2H]^{2+}$, 1490.2 (50) $[M+H]^+$, 1512.2 (100) $[M+Na]^+$

6.2.2.4 Biaryllic peptide (65)

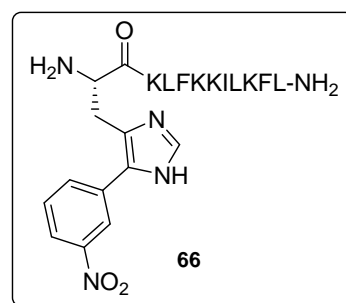
HPLC ($\lambda = 220$ nm): 17.44 min (66%) (condition C)

MS (ESI) m/z (%): 753.4 (80) $[M+2H]^{2+}$, 1505.8 (100) $[M+H]^+$, 1527.8 (100) $[M+Na]^+$

6.2.2.5 Biaryllic peptide (66)

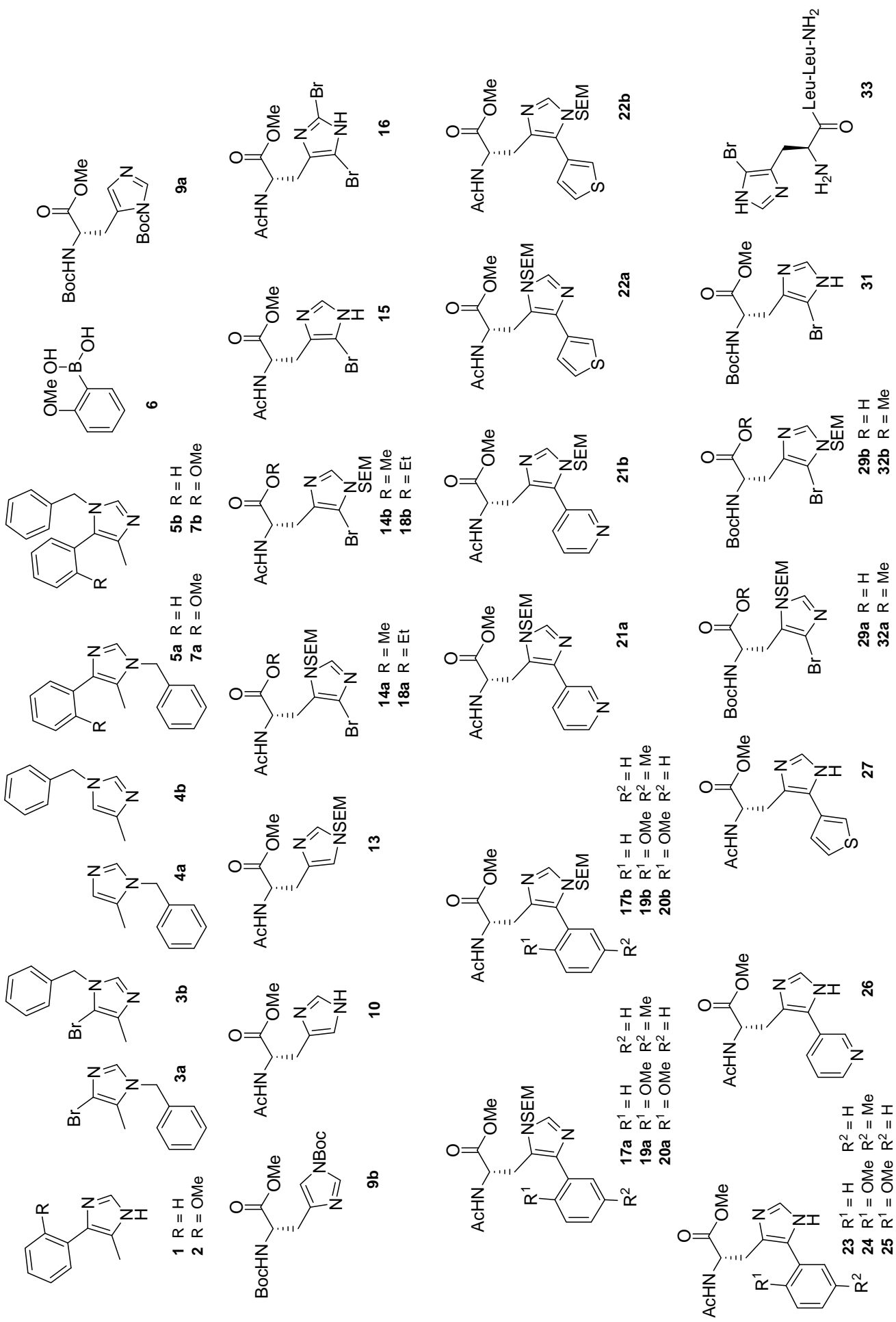
HPLC ($\lambda = 220$ nm): 17.98 min (35 %) (condition C)

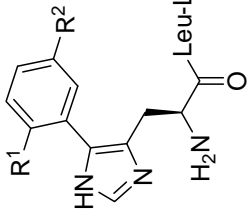
MS (ESI) m/z (%): 767.9 (80) $[M+2H]^{2+}$, 1535.8 (40) $[M+H]^+$, 1556.7 (95) $[M+Na]^+$



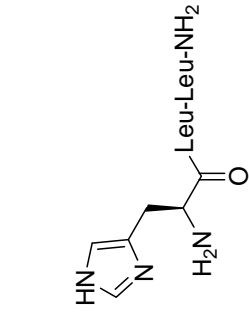
**INDEX OF THE MOST
REPRESENTATIVE COMPOUNDS**

Index of the most representative compounds

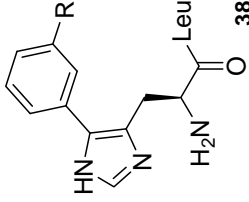




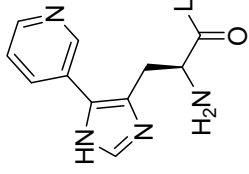
34 R¹ = H R² = H
 36 R¹ = OMe R² = H
 37 R¹ = OMe R² = Me



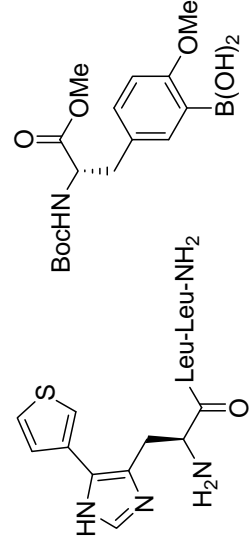
35



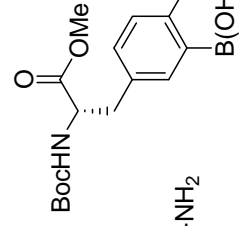
38 R = OH
 39 R = NO₂



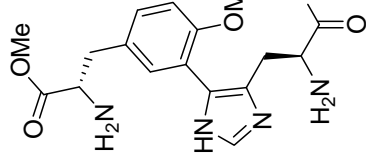
40



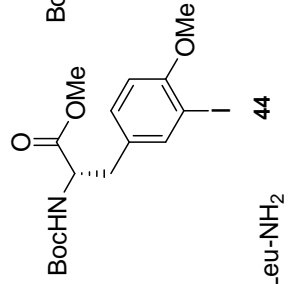
41



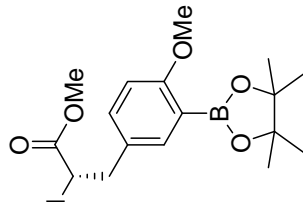
42



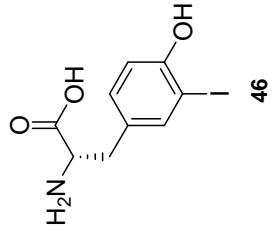
43



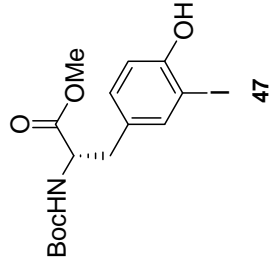
44



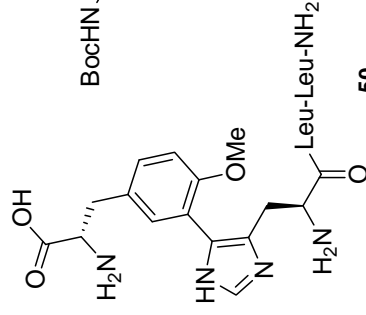
45



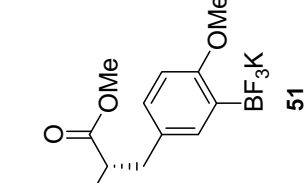
46



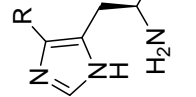
47



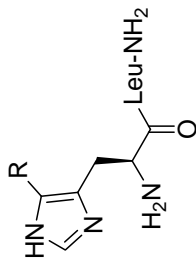
48



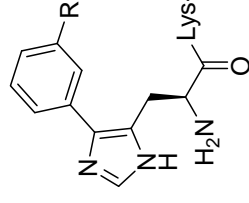
49



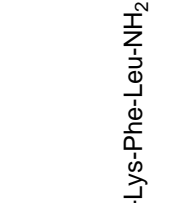
50 R = Ph
 55 R = Br



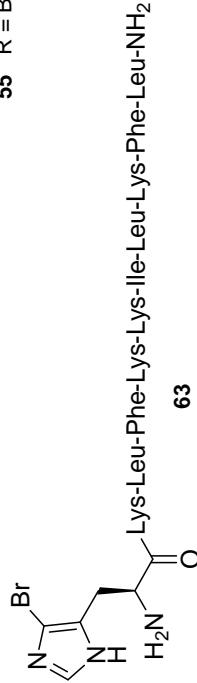
51 R = Ph
 58 R = Br



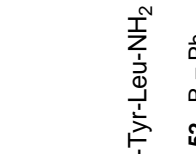
52 R = H
 65 R = OH
 66 R = NO₂



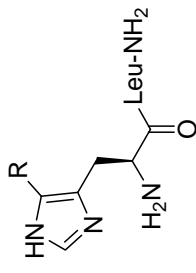
53



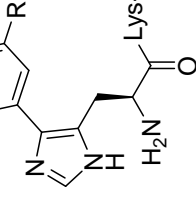
54



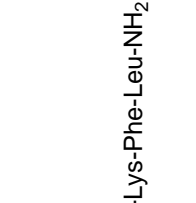
55 R = Ph
 60 R = H
 65 R = OH
 66 R = NO₂



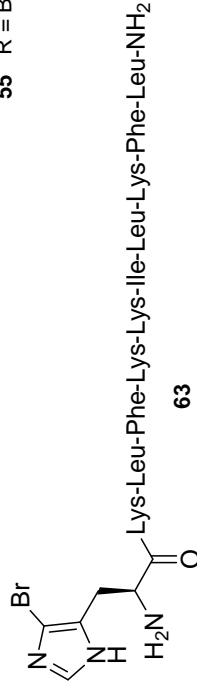
56 R = Ph
 58 R = Br



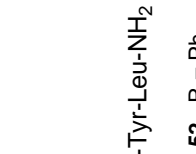
57 R = H
 65 R = OH
 66 R = NO₂



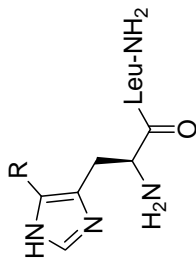
58



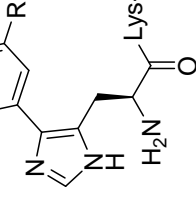
59



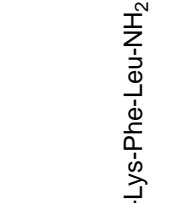
60 R = Ph
 65 R = Br



61 R = Ph
 58 R = Br



62 R = H
 65 R = OH
 66 R = NO₂



63

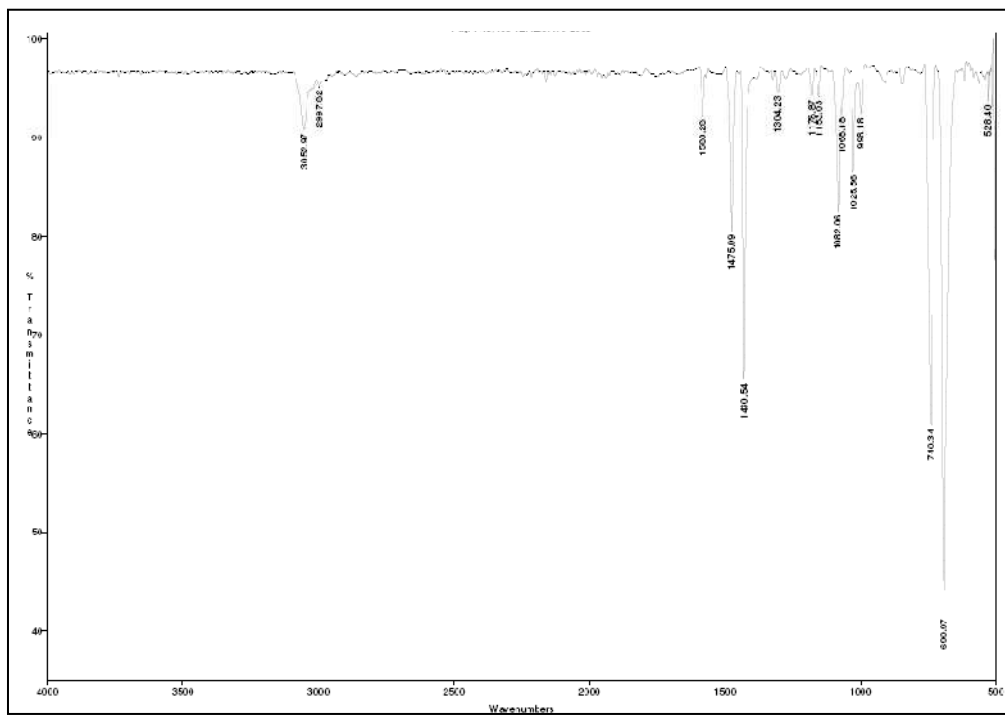
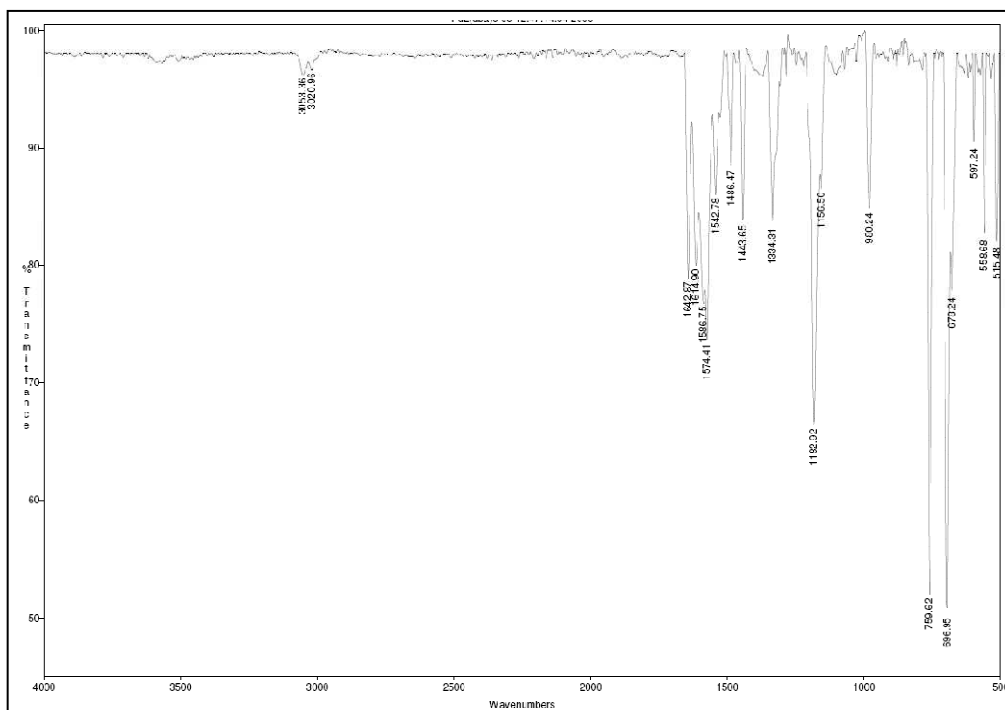
APPENDIX I

INDEX

Pd(PPh ₃) ₄	Al-1
Pd ₂ (dba) ₃	Al-1
1-Benzyl-5-methylimidazole (4a) and 1-Benzyl-4-methylimidazole (4b)	Al-2
1-Benzyl-4-bromo-5-methylimidazole (3a)	Al-4
1-Benzyl-5-bromo-4-methylimidazole (3b)	Al-6
1-Benzyl-5-methyl-4-phenylimidazole (5a)	Al-8
1-Benzyl-4-methyl-5-phenylimidazole (5b)	Al-9
4(5)-Methyl-5(4)-phenylimidazole (1)	Al-10
2-Methoxyphenylboronic acid (6)	Al-12
1-Benzyl-5-methyl-4-(2-methoxyphenyl)imidazole (7a) and 1-Benzyl-4-methyl-5-(2-methoxyphenyl)imidazole (7b).....	Al-14
4(5)-Methyl-5(4)-(2-methoxyphenyl)imidazole (2)	Al-16
<i>N</i> (α), <i>N</i> (π)-bis- <i>t</i> -butoxycarbonyl-L-histidine methyl ester (9a).....	Al-18
<i>N</i> (α), <i>N</i> (τ)-bis- <i>t</i> -butoxycarbonyl-L-histidine methyl ester (9b)	Al-19
<i>N</i> (α)-Acetyl-L-histidine methyl ester (10)	Al-20
<i>N</i> (α)-Acetyl-2,5-dibromo-L-histidine methyl ester (16)	Al-22
<i>N</i> (α)-Acetyl-5-bromo-L-histidine methyl ester (15)	Al-24
<i>N</i> (α)-Acetyl-5-bromo- <i>N</i> (π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (14a)	Al-26
<i>N</i> (α)-Acetyl-5-bromo- <i>N</i> (τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (14b)	Al-28
<i>N</i> (α)-Acetyl-5-bromo- <i>N</i> (τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (14b)	Al-28
<i>N</i> (α)-Acetyl-5-bromo- <i>N</i> (π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine ethyl ester (18a)	Al-30
<i>N</i> (α)-Acetyl-5-bromo- <i>N</i> (τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine ethyl ester (18b)	Al-32

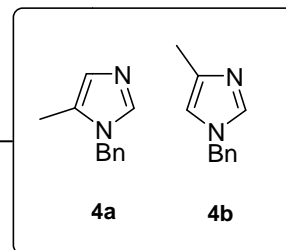
<i>N</i> (α)-Acetyl-5-phenyl- <i>N</i> (π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (17a)	AI-34
<i>N</i> (α)-Acetyl-5-phenyl- <i>N</i> (τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (17b)	AI-36
<i>N</i> (α)-Acetyl-5-(5-methyl-2-methoxyphenyl)- <i>N</i> (π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (19a)	AI-38
<i>N</i> (α)-Acetyl-5-(5-methyl-2-methoxyphenyl)- <i>N</i> (τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (19b)	AI-40
<i>N</i> (α)-Acetyl-5-(2-methoxyphenyl)- <i>N</i> (π)-[2-(trimethylsilyl) ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (20a)	AI-42
<i>N</i> (α)-Acetyl-5-(2-methoxyphenyl)- <i>N</i> (τ)-[2-(trimethylsilyl) ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (20b)	AI-44
<i>N</i> (α)-Acetyl-5-(3-pyridyl)- <i>N</i> (π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (21a)	AI-46
<i>N</i> (α)-Acetyl-5-(3-pyridyl)- <i>N</i> (τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (21b)	AI-48
<i>N</i> (α)-Acetyl-5-(3-thienyl)- <i>N</i> (π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (22a)	AI-50
<i>N</i> (α)-Acetyl-5-(3-thienyl)- <i>N</i> (τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (22b)	AI-52
<i>N</i> (α)-Acetyl-5-phenyl-L-histidine methyl ester (23)	AI-54
<i>N</i> (α)-Acetyl-5-(5-methyl-2-methoxyphenyl)-L-histidine methyl ester (24)	AI-56
<i>N</i> (α)-Acetyl-5-(2-methoxyphenyl)-L-histidine methyl	AI-58
<i>N</i> (α)-Acetyl-5-(3-pyridyl)-L-histidine methyl ester (26)	AI-60
<i>N</i> (α)-Acetyl-5-(3-thienyl)-L-histidine methyl ester (27)	AI-62
<i>N</i> (α)- <i>t</i> -butoxycarbonyl-5-bromo-L-histidine methyl ester (31)	AI-64
5-Bromo- <i>N</i> (α)- <i>t</i> -butoxycarbonyl- <i>N</i> (π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (32a) and 5-Bromo- <i>N</i> (α)- <i>t</i> -butoxycarbonyl- <i>N</i> (τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (32b)	AI-66

5-Bromo- <i>N</i> (α)- <i>t</i> -butoxycarbonyl- <i>N</i> (π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine (29a) and 5-Bromo- <i>N</i> (α)- <i>t</i> -butoxycarbonyl- <i>N</i> (τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine (29b)	AI-68
3-Iodo-L-tyrosine (46)	AI-70
<i>N</i> (α)- <i>t</i> -butoxycarbonyl-3-iodo-L-tyrosine	AI-72
<i>N</i> (α)- <i>t</i> -butoxycarbonyl-3-iodo-4-methoxy-L-tyrosine methyl ester (44)	AI-74
<i>N</i> (α)- <i>t</i> -butoxycarbonyl-3-iodo-L-tyrosine methyl ester (47)	AI-76
<i>N</i> (α)- <i>t</i> -butoxycarbonyl-3-borono-4-methoxy-L-tyrosine methyl ester (42)	AI-78
Potassium <i>N</i> (α)- <i>t</i> -butoxycarbonyl-4-methoxy-L-tyrosyl-3-trifluoroborate methyl ester (51)	AI-80
H-His(5-Br)-Leu-Leu-NH ₂ (33)	AI-82
H-His(5-Ph)-Leu-Leu-NH ₂ (34)	AI-84
Biaryllic peptide 36	AI-86
Biaryllic peptide 37	AI-88
Biaryllic peptide 38	AI-90
Biaryllic peptide 39	AI-92
Biaryllic peptide 40	AI-94
Biaryllic peptide 41	AI-95
Biaryllic peptide 50	AI-97

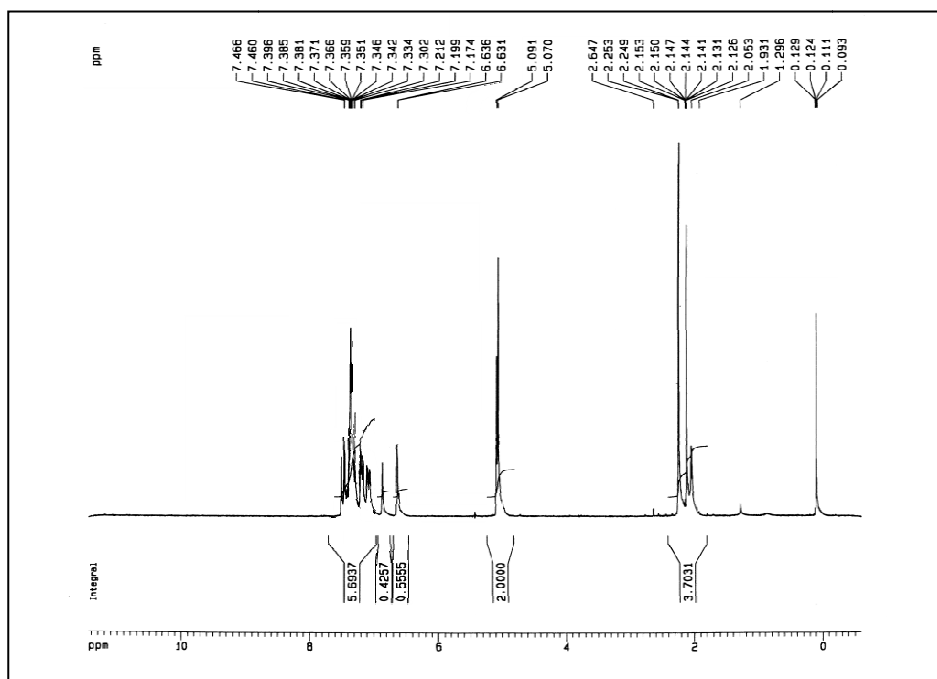
Pd(PPh₃)₄Pd₂(dba)₃

1-Benzyl-5-methylimidazole (**4a**)

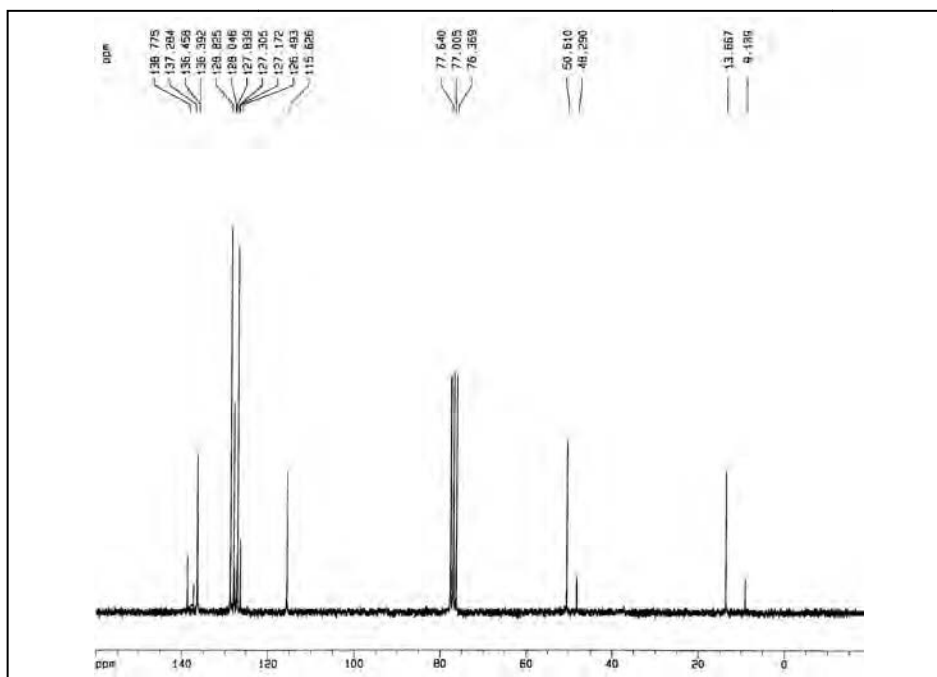
1-Benzyl-4-methylimidazole (**4b**)

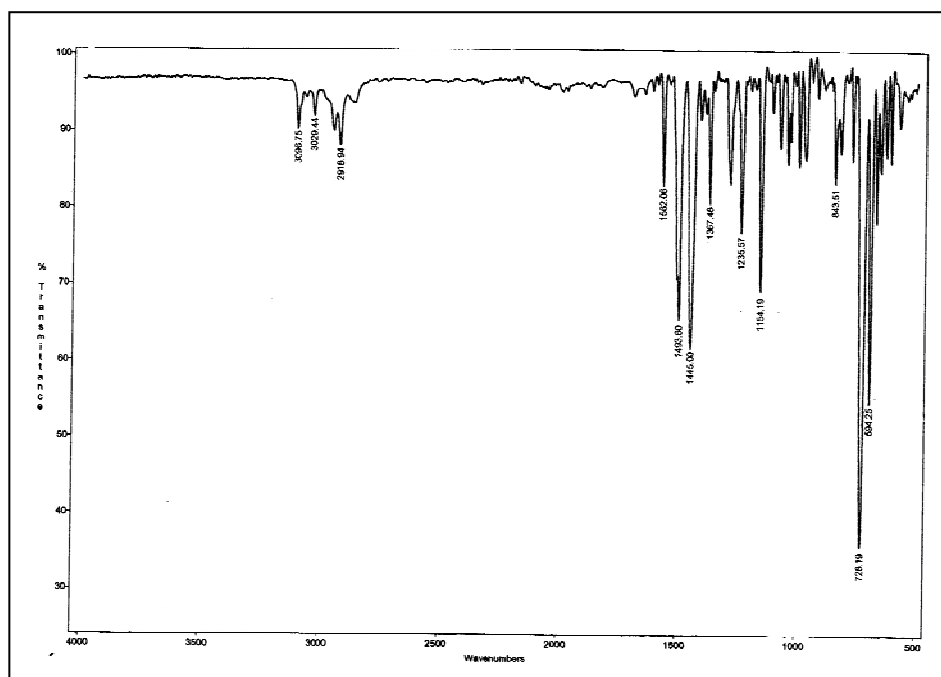
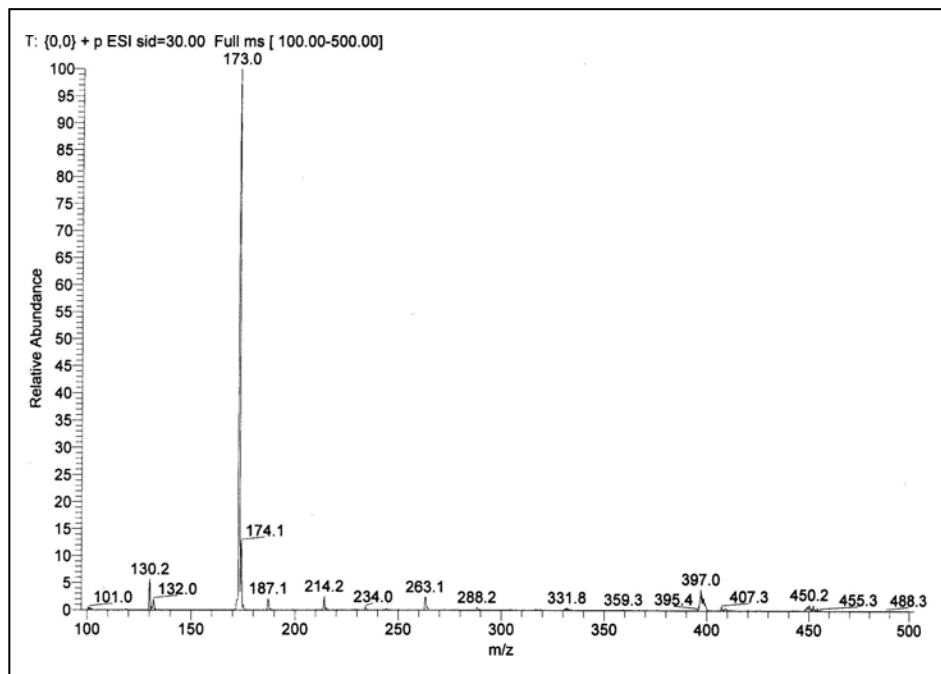


¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

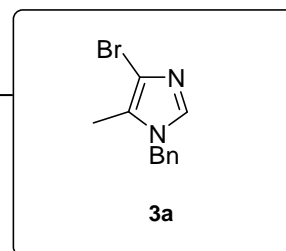


¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

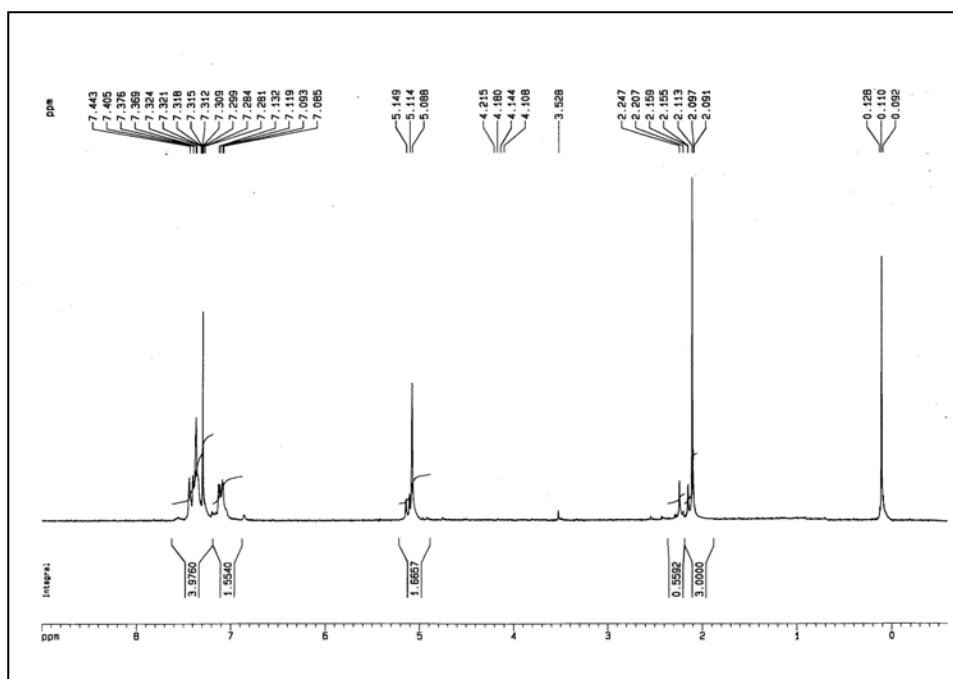


IR (neat) ν (cm^{-1})MS (ESI) m/z (%)

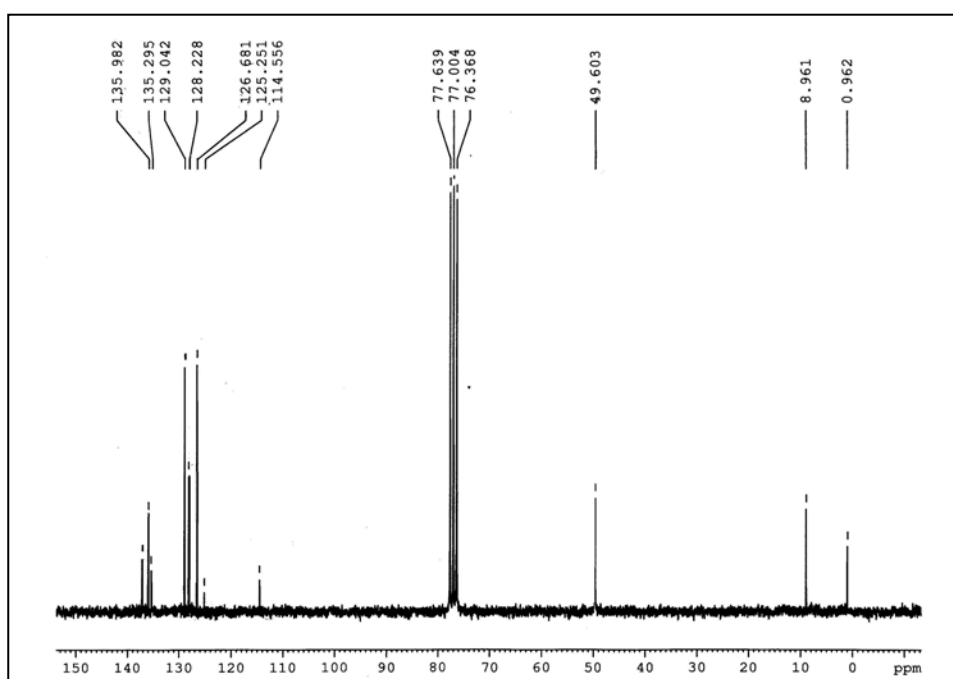
1-Benzyl-4-bromo-5-methylimidazole (**3a**)

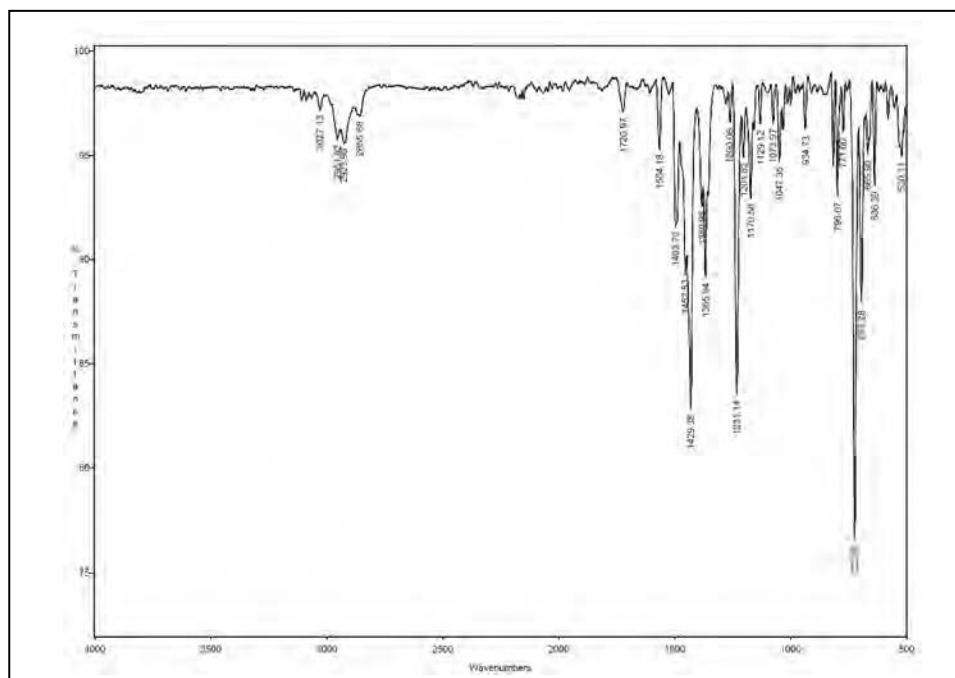
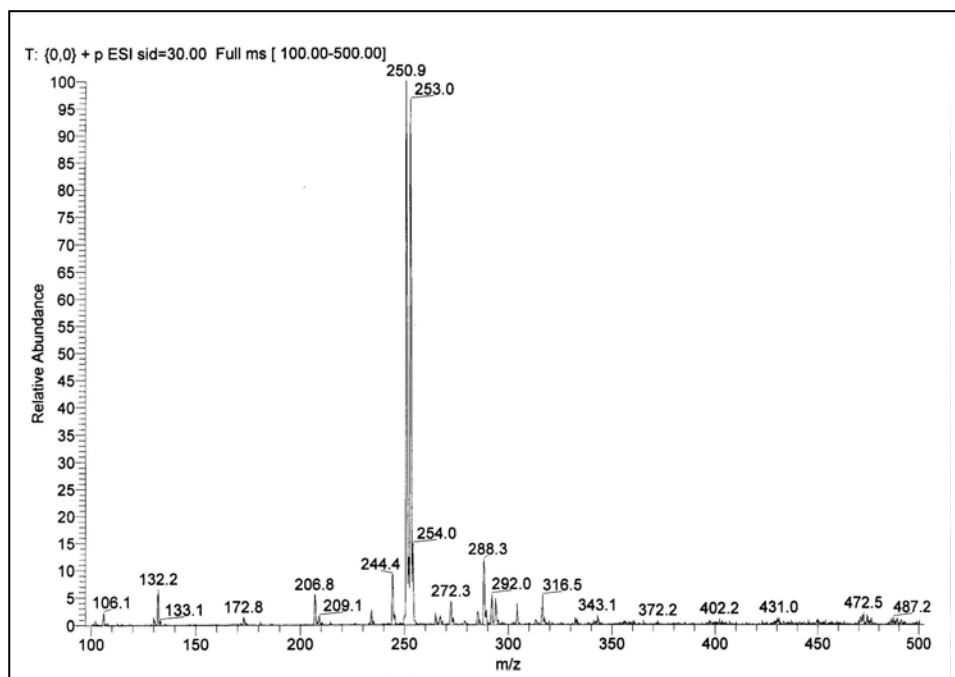


¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

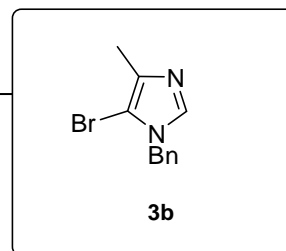


¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

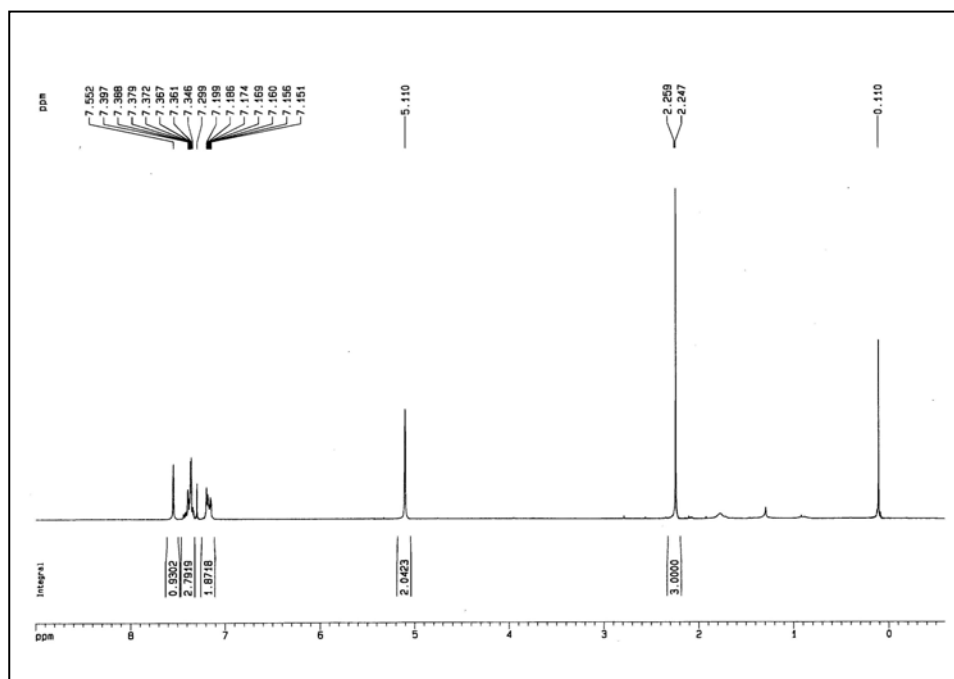


IR (neat) ν (cm^{-1})MS (ESI) m/z (%)

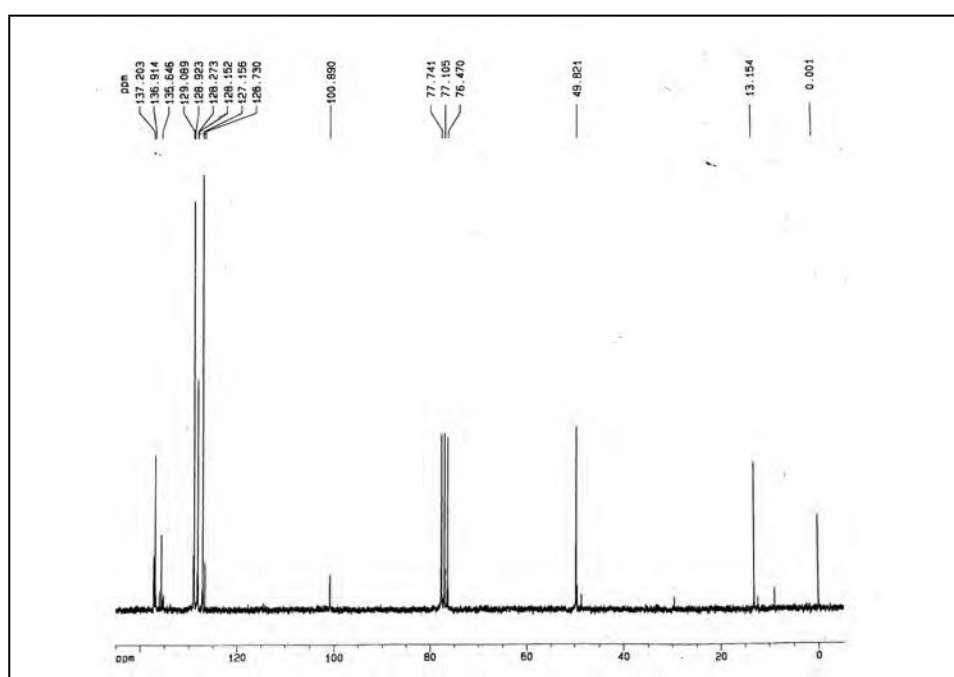
1-Benzyl-5-bromo-4-methylimidazole (**3b**)

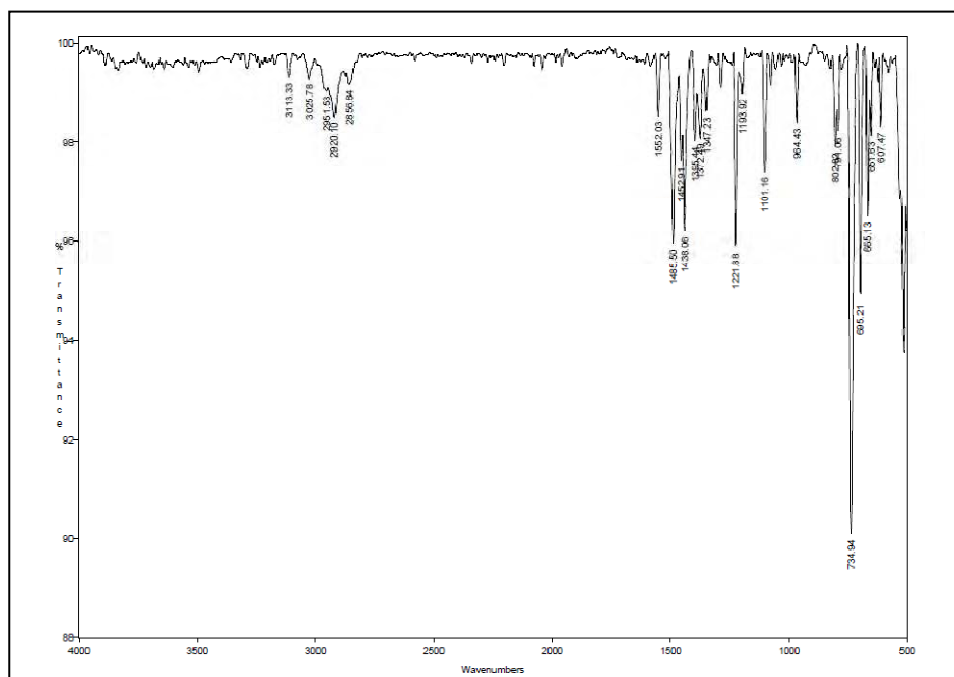
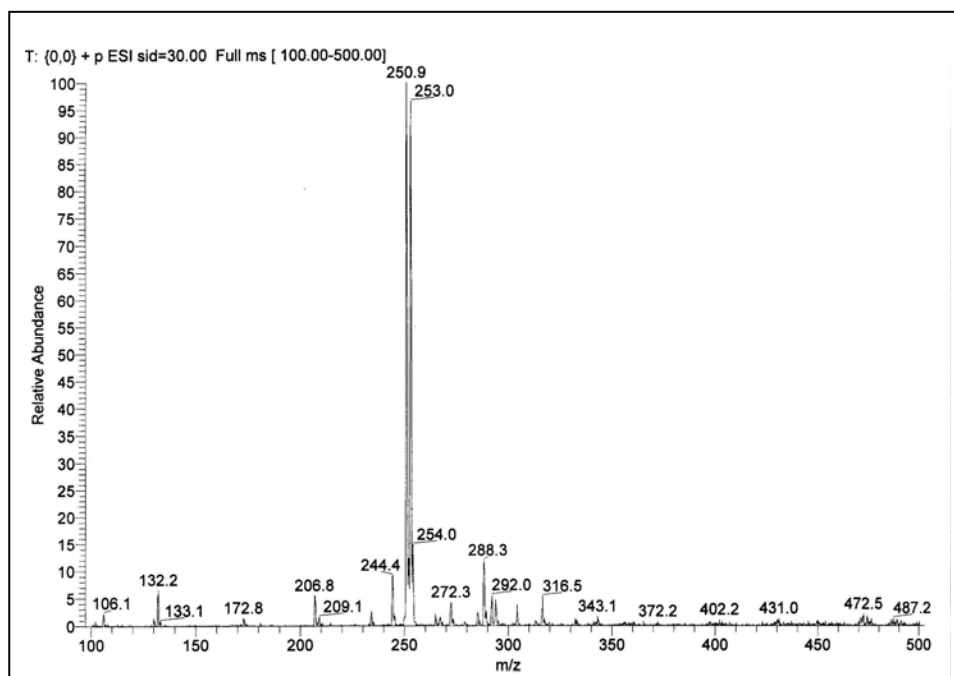


¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

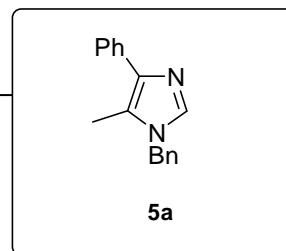


¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

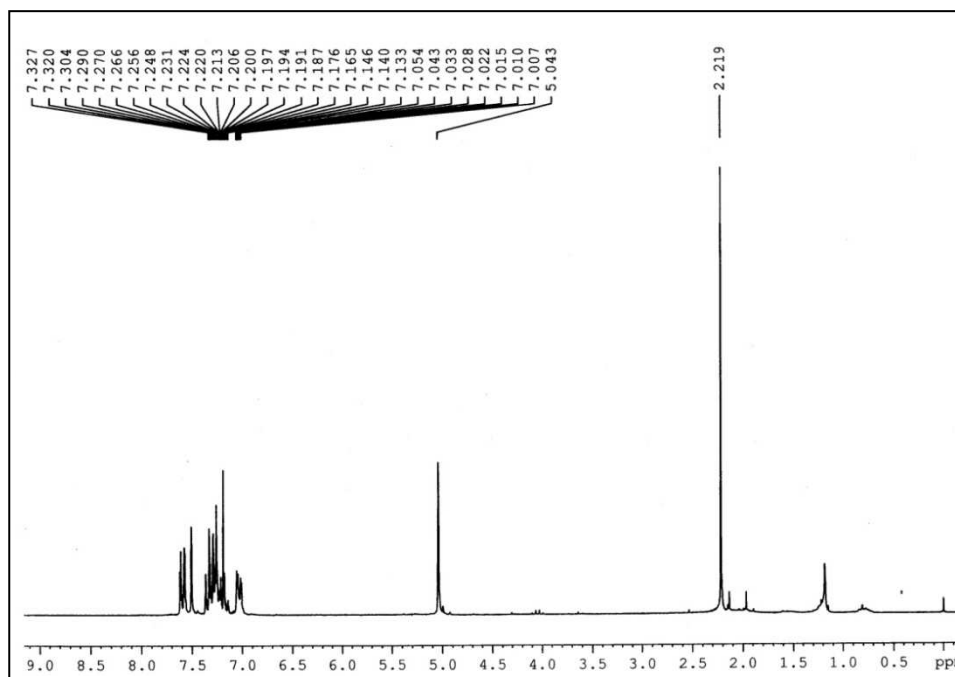


IR (neat) ν (cm^{-1})MS (ESI) m/z (%)

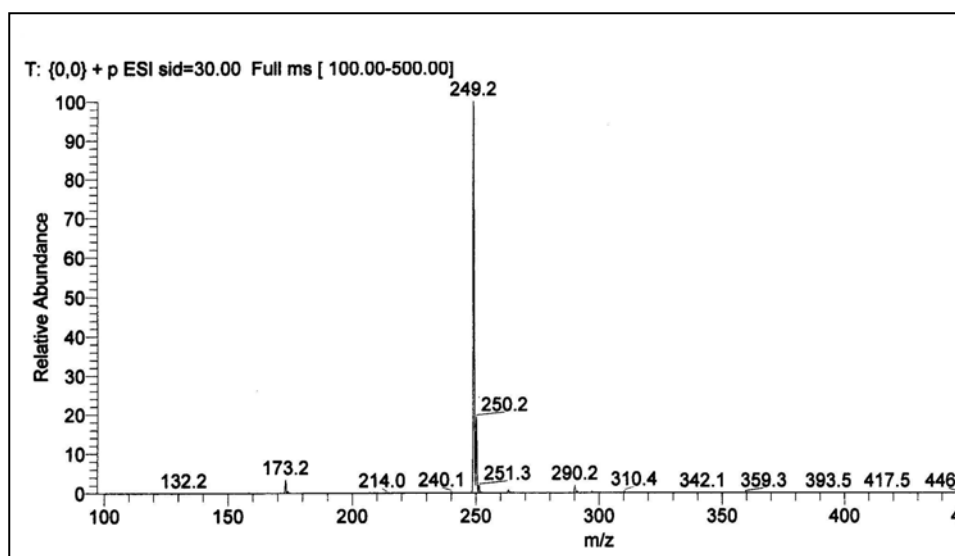
1-Benzyl-5-methyl-4-phenylimidazole (**5a**)

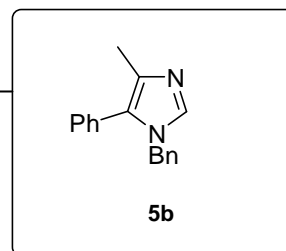


¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

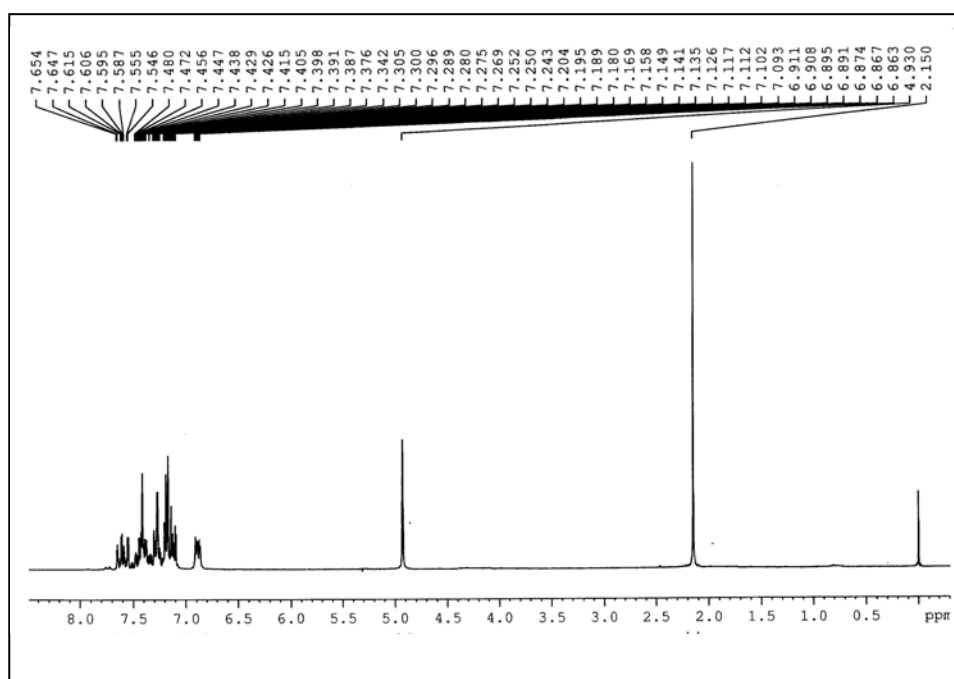


MS (ESI) *m/z* (%) (Data from a **5a** and **5b** mixture)

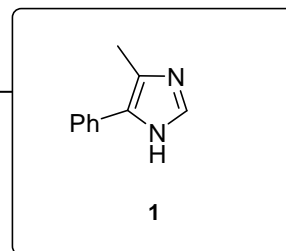


1-Benzyl-4-methyl-5-phenylimidazole (**5b**)

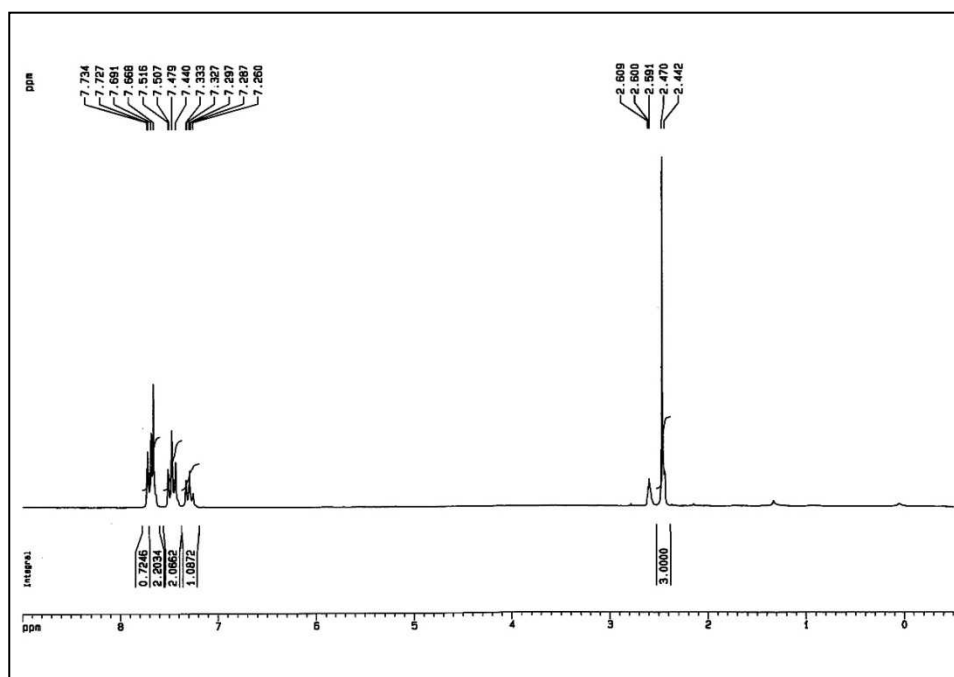
¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm)



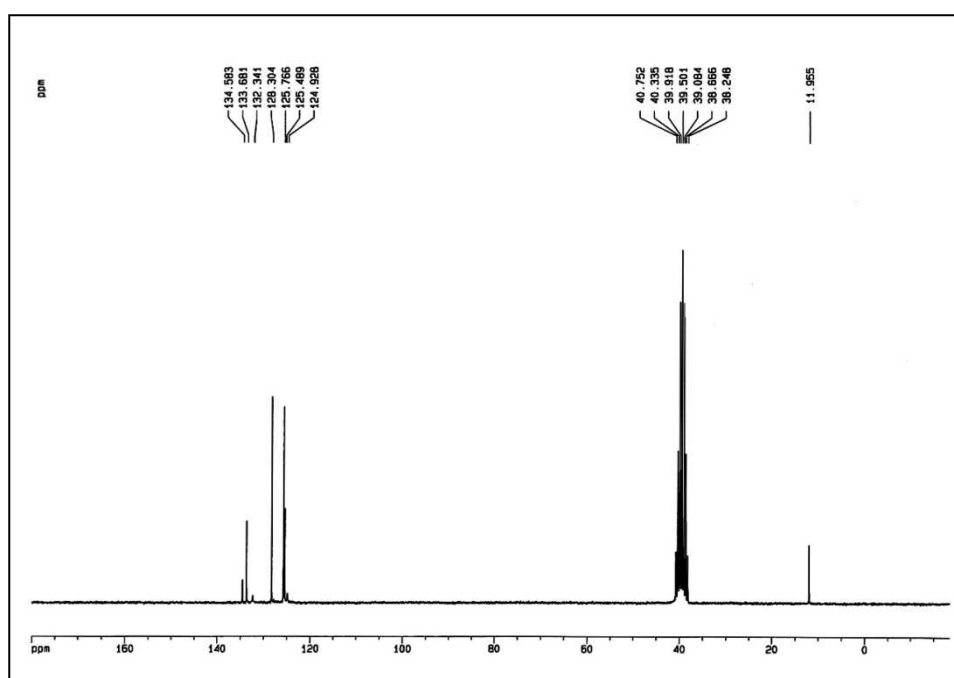
4(5)-Methyl-5(4)-phenylimidazole (**1**)

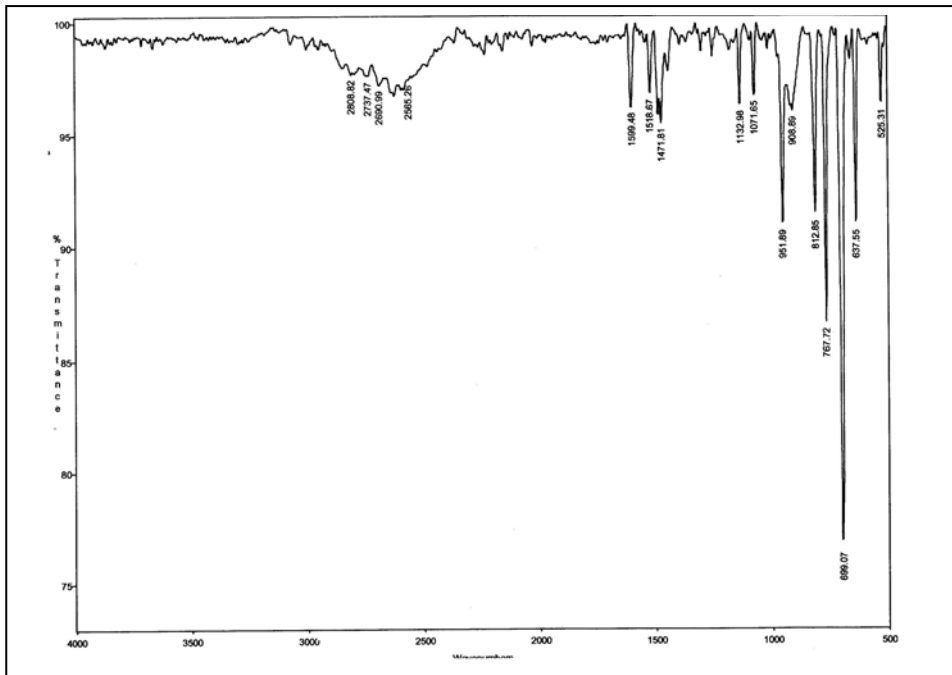
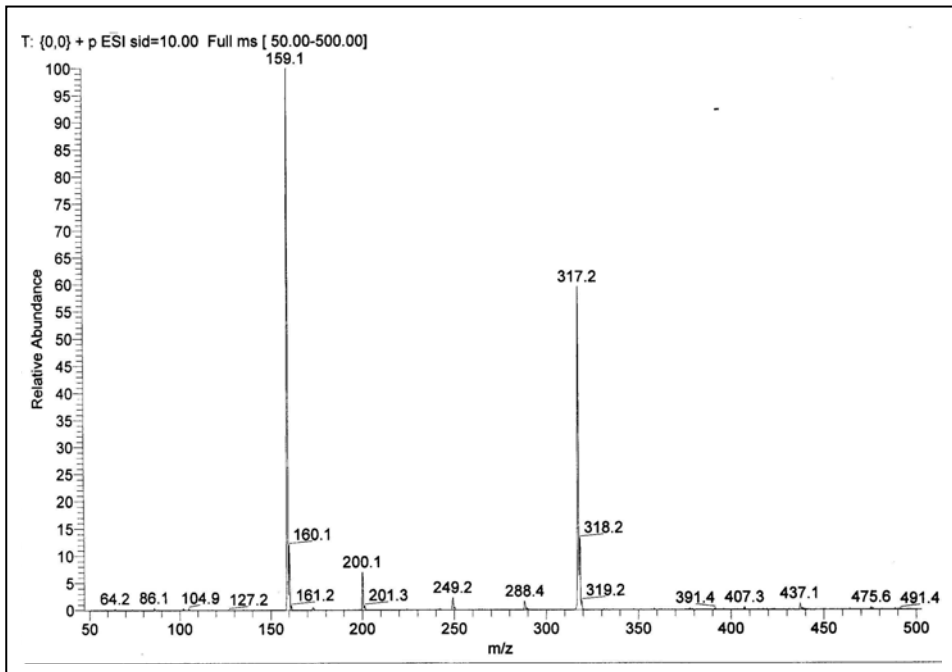


¹H-NMR (200 MHz, DMSO) δ (ppm)

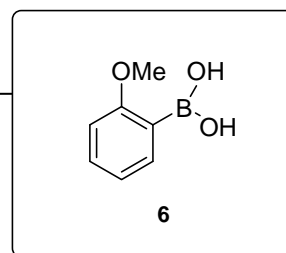


¹³C-NMR (50 MHz, DMSO) δ (ppm)

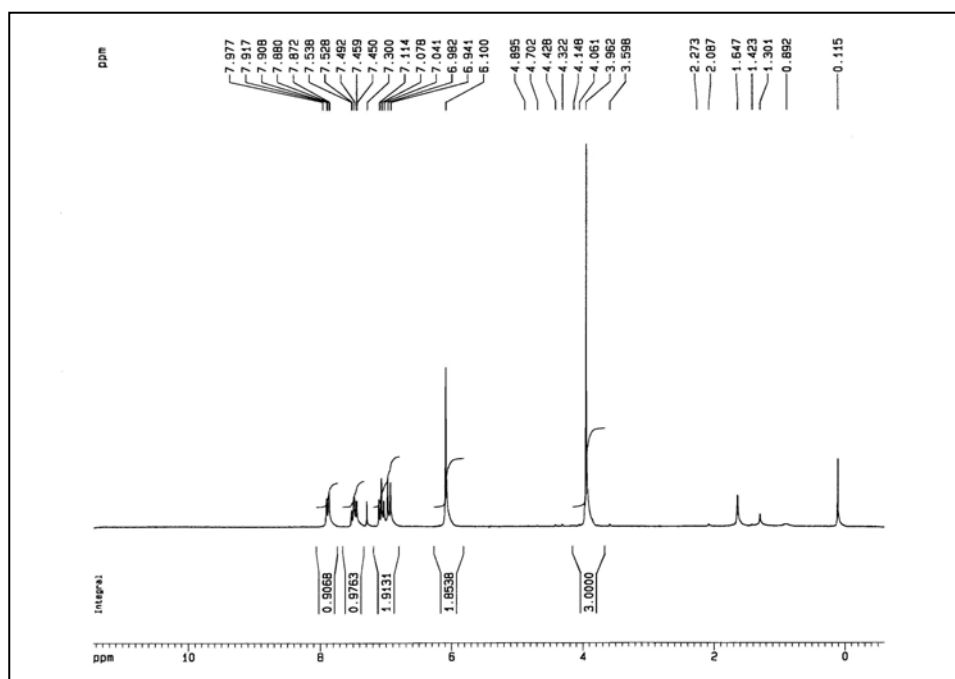


IR (neat) ν (cm^{-1})MS (ESI) m/z (%)

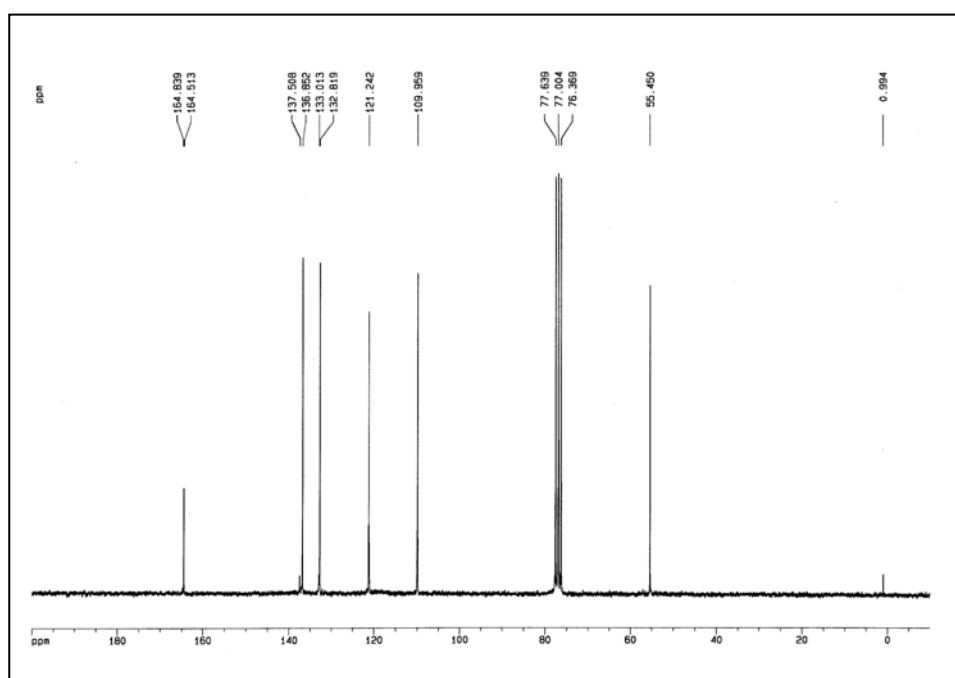
2-Methoxyphenylboronic acid (**6**)

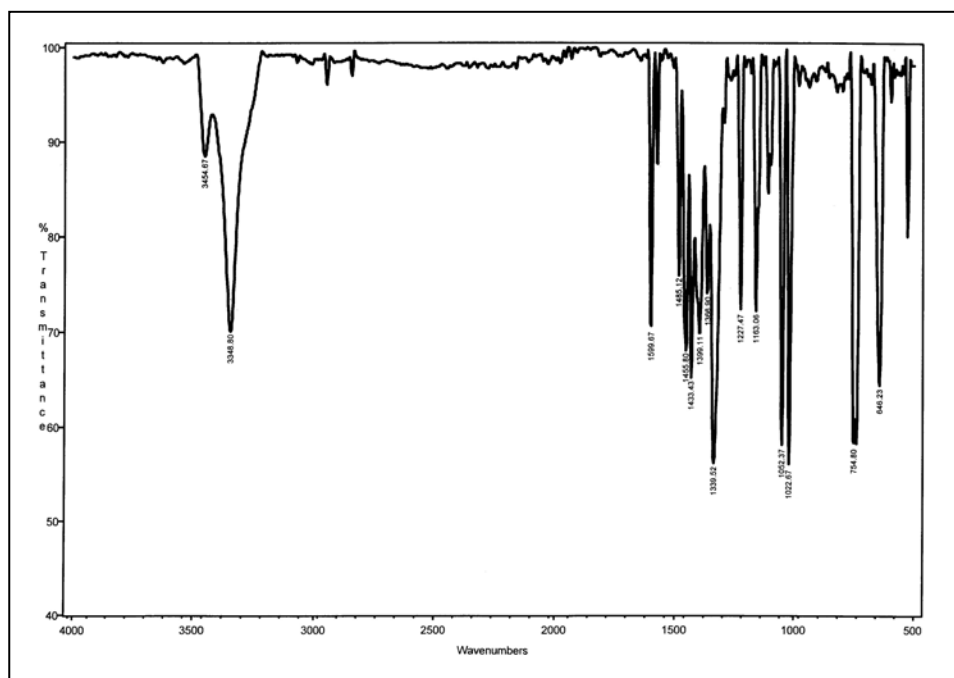
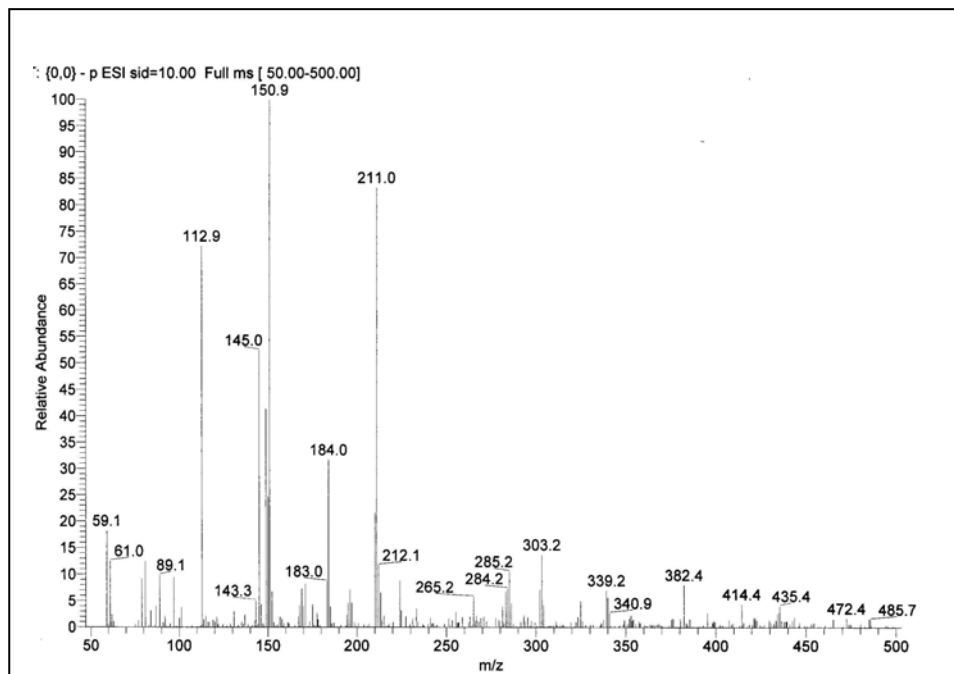


¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm)



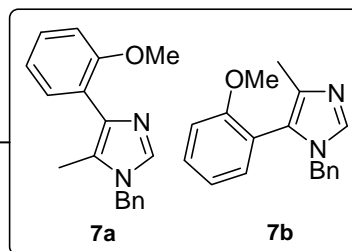
¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm)



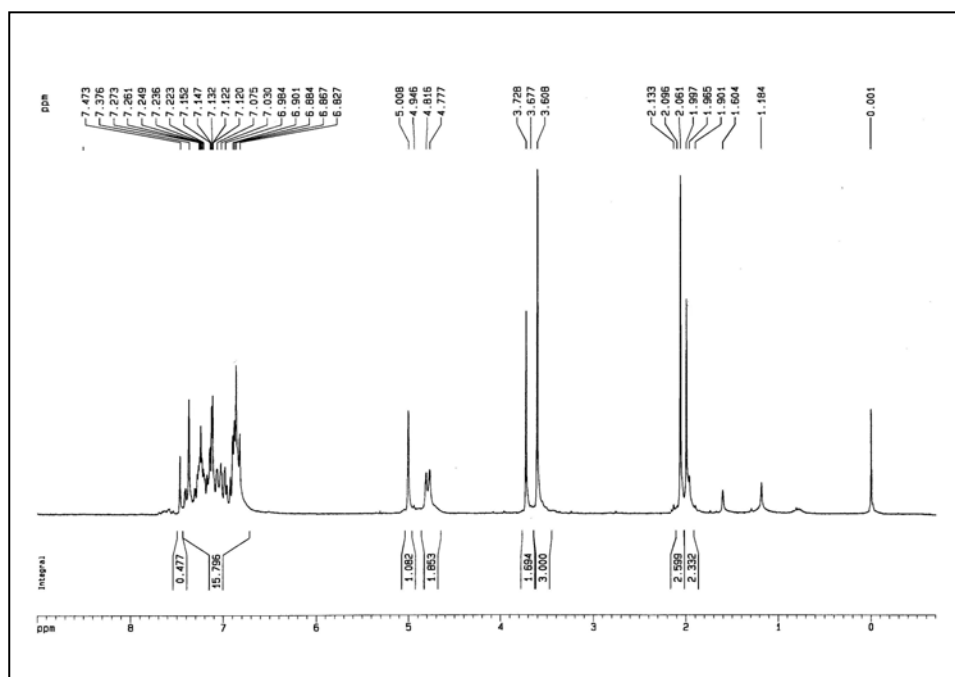
IR (neat) ν (cm^{-1})MS (ESI) m/z (%)

1-Benzyl-5-methyl-4-(2-methoxyphenyl)imidazole (**7a**)

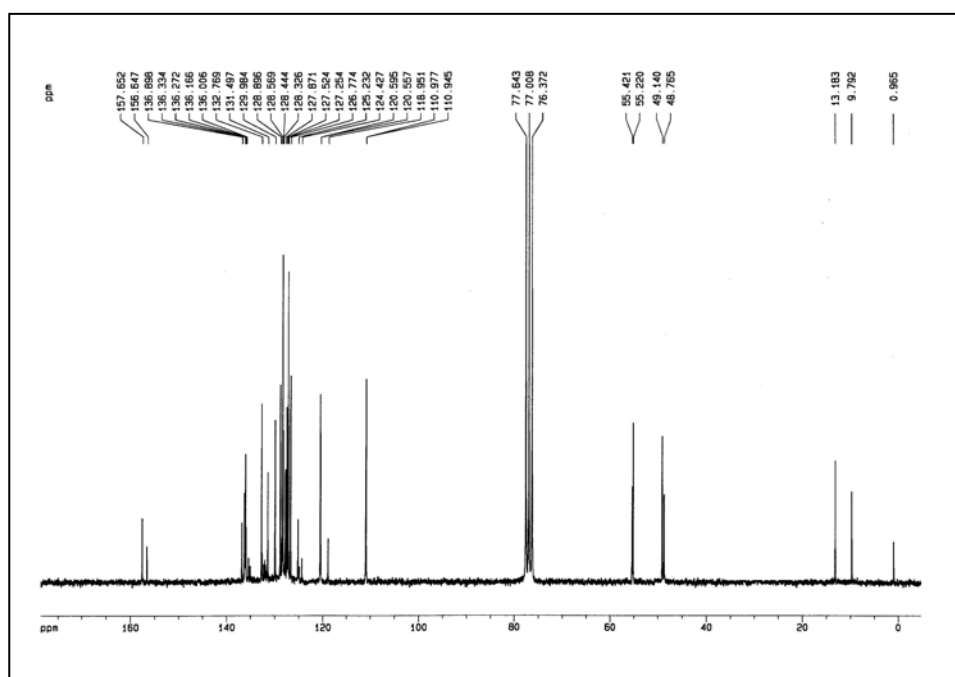
1-Benzyl-4-methyl-5-(2-methoxyphenyl)imidazole (**7b**)

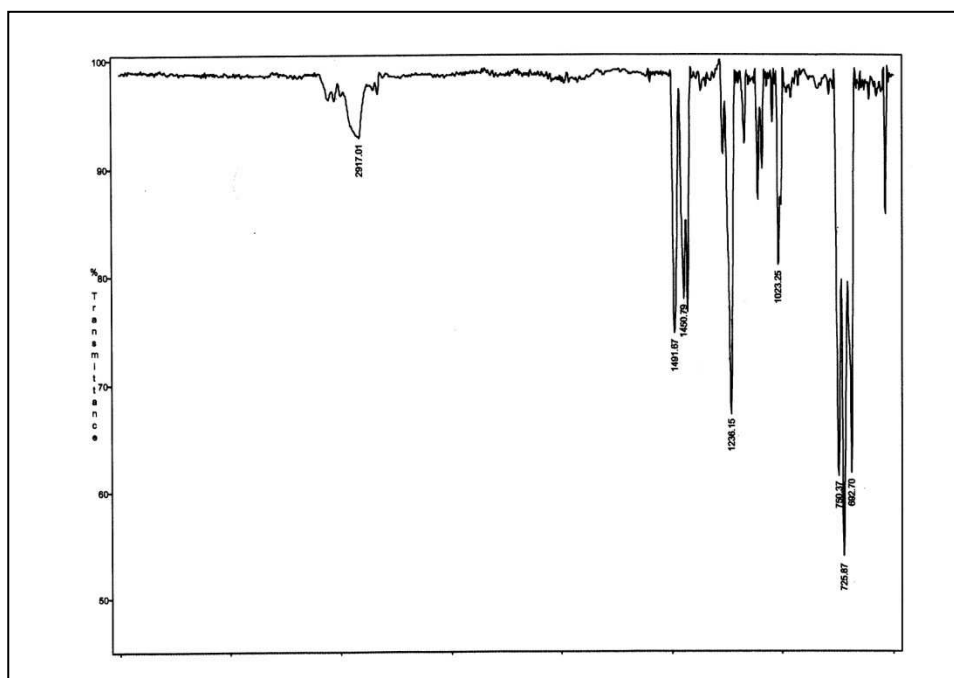
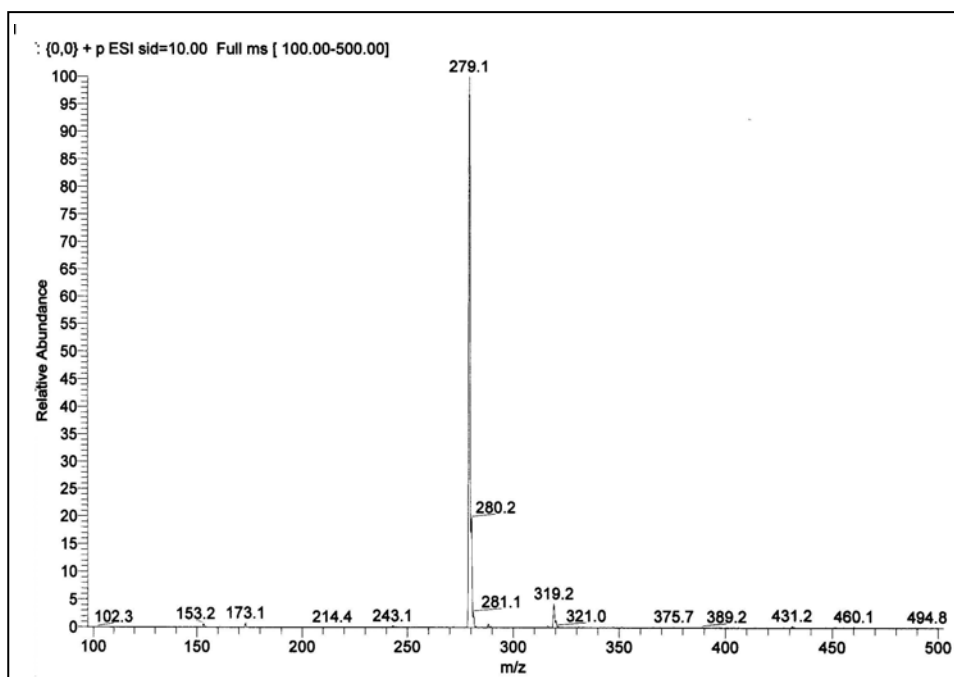


¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

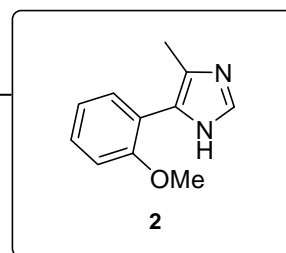


¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

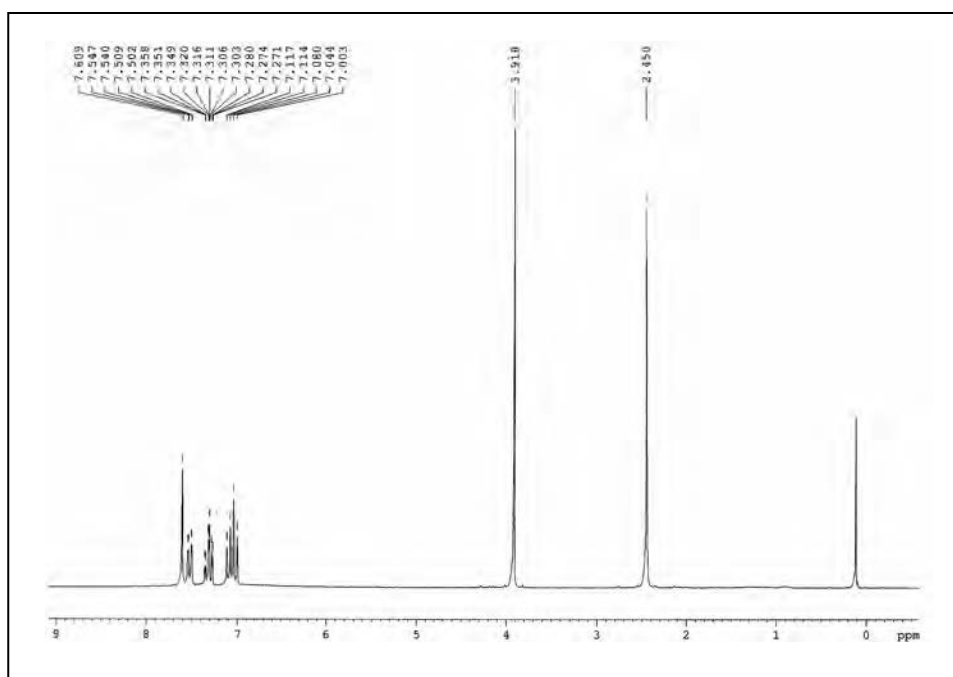


IR (neat) ν (cm^{-1})MS (ESI) m/z (%)

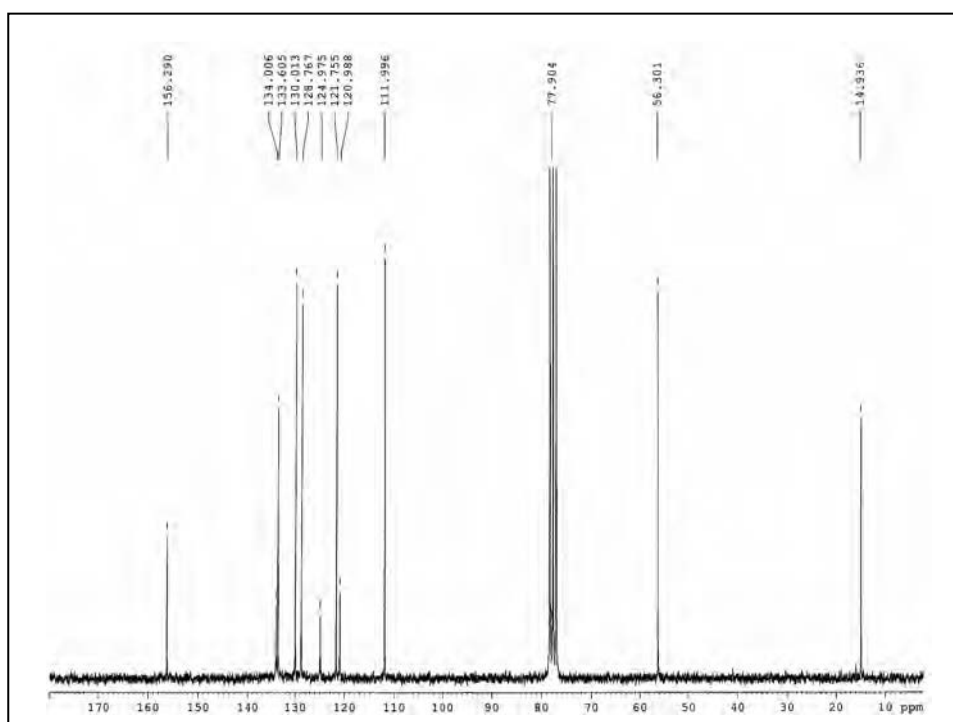
4(5)-Methyl-5(4)-(2-methoxyphenyl)imidazole (**2**)

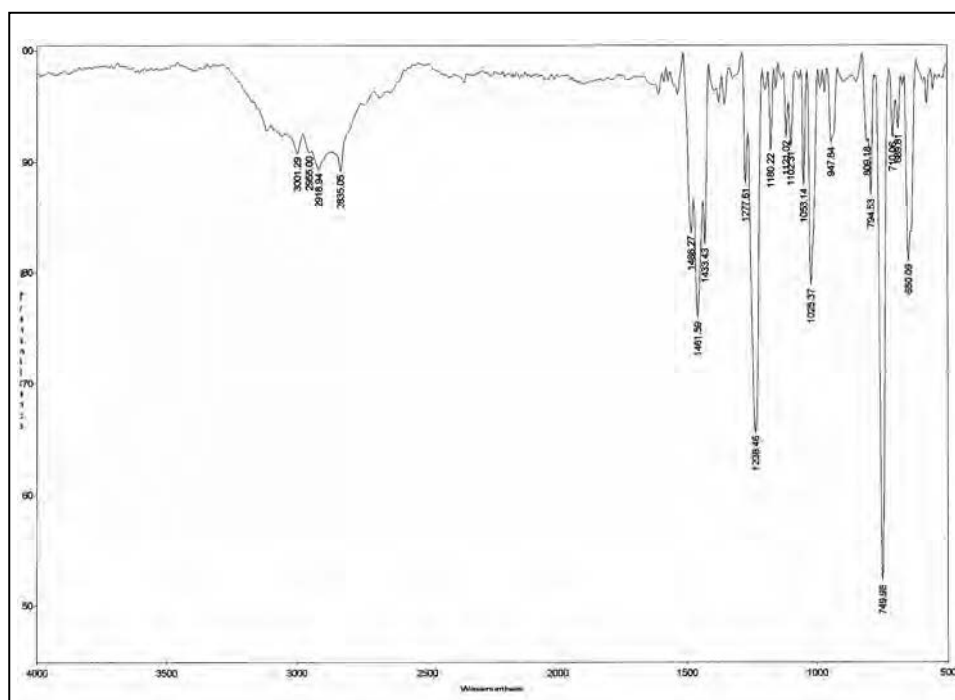
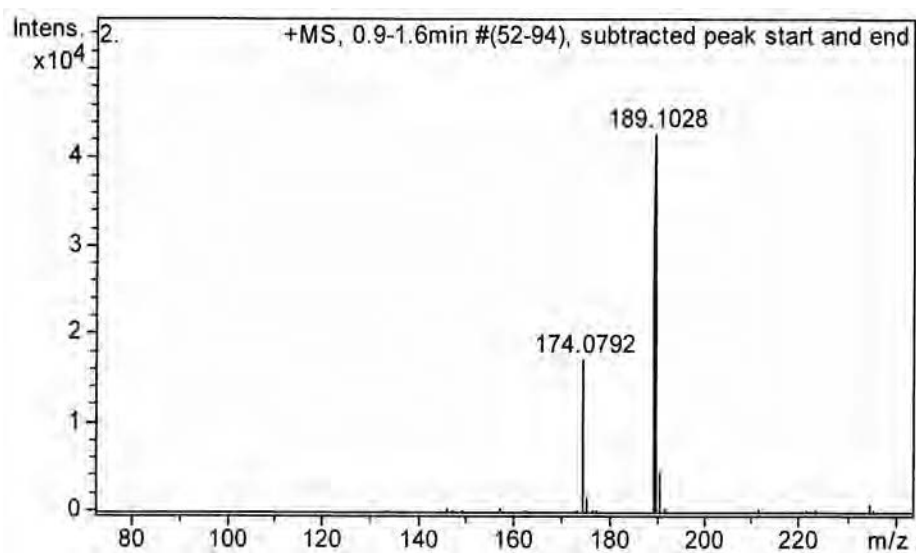


$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

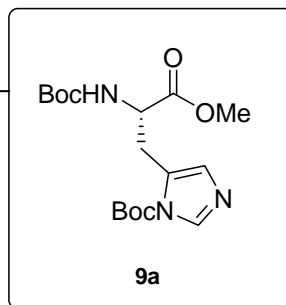


$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

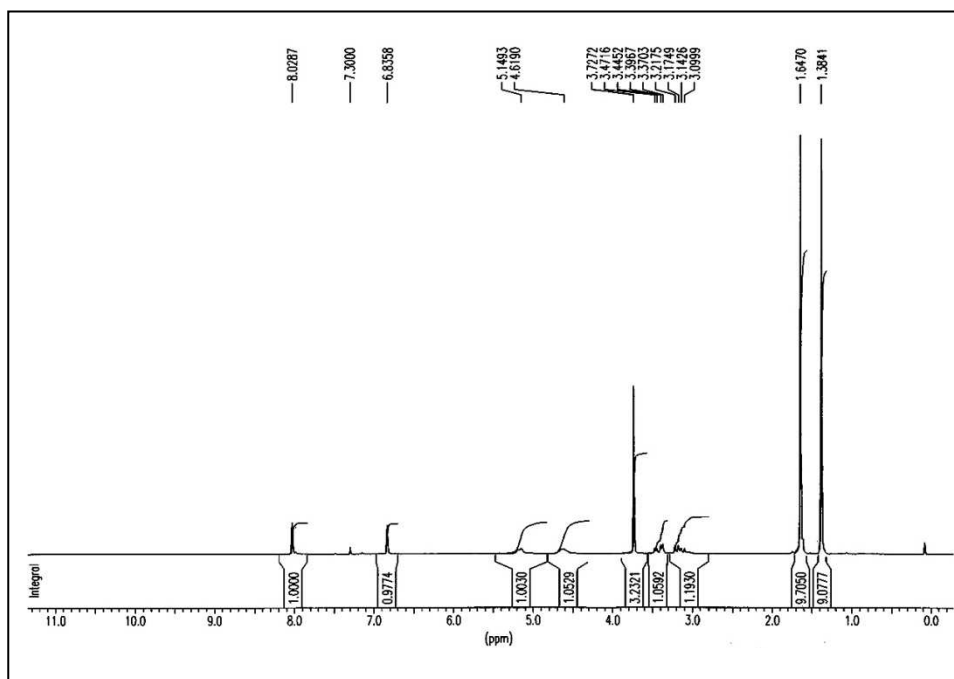


IR (neat) ν (cm^{-1})HRMS (ESI) m/z 

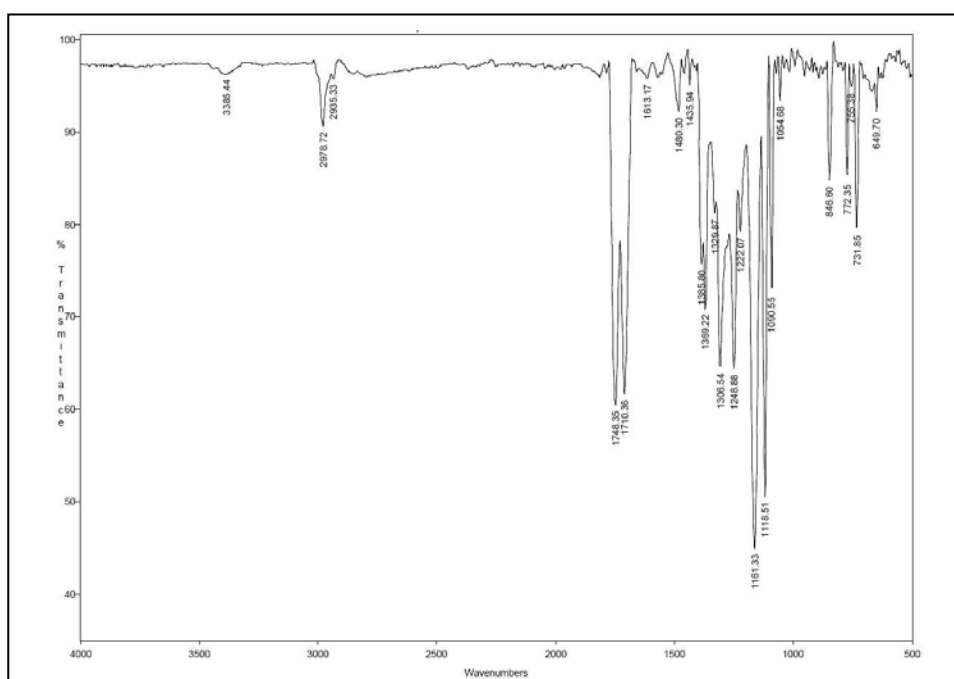
N(α),*N*(π)-bis-*t*-butoxycarbonyl-L-histidine methyl ester (**9a**)



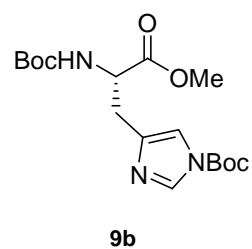
¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm)



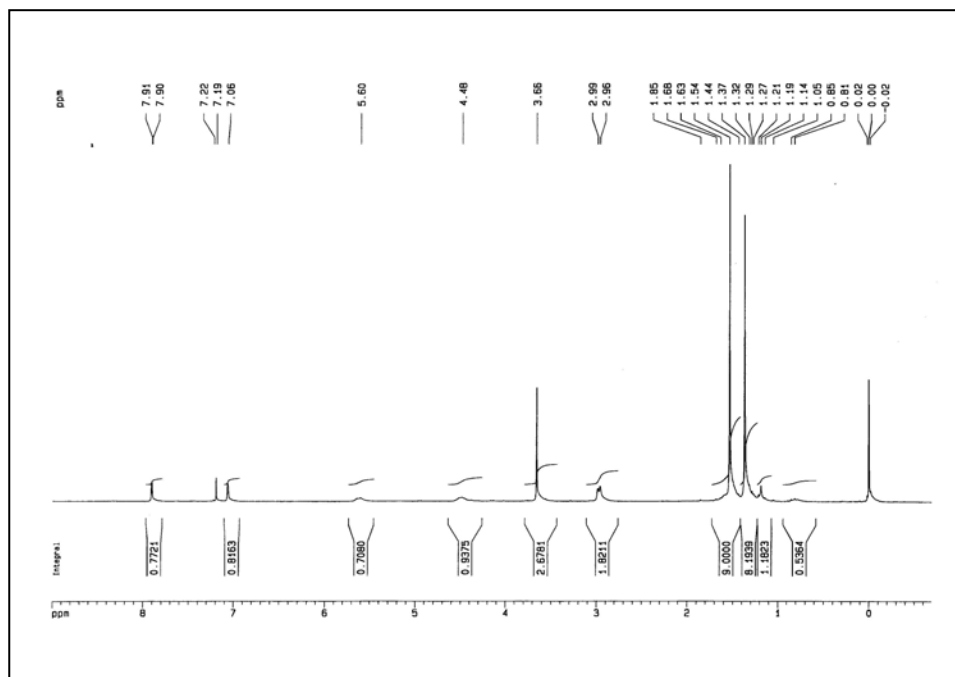
IR (neat) ν (cm⁻¹)



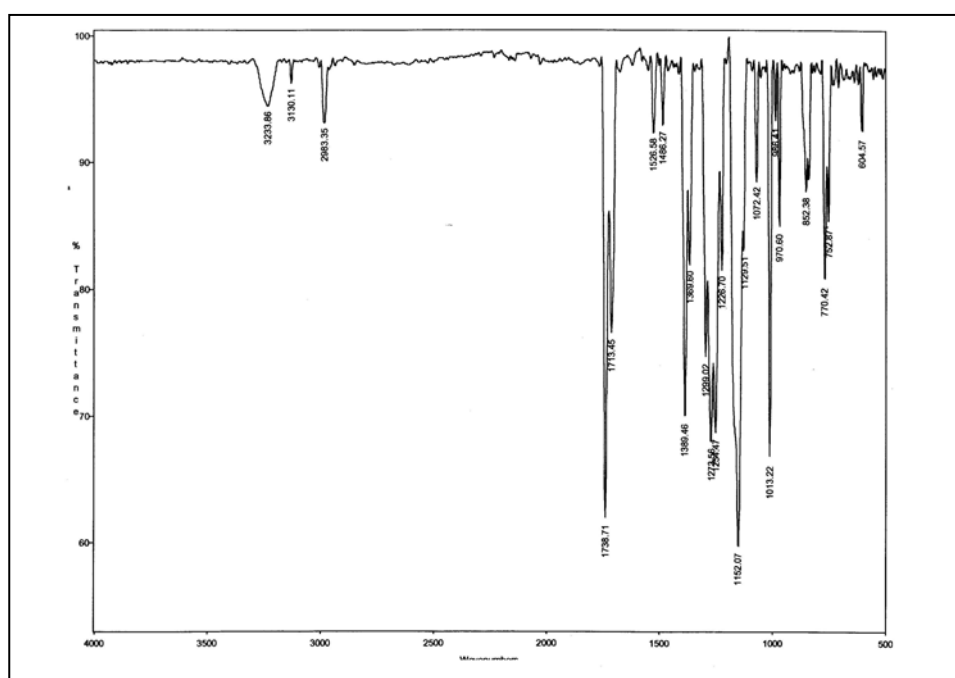
N(α),*N*(τ)-bis-*t*-butoxycarbonyl-L-histidine methyl ester (**9b**)



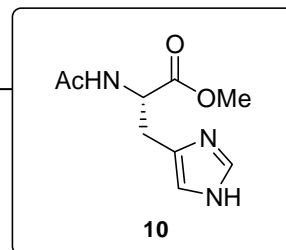
$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm)



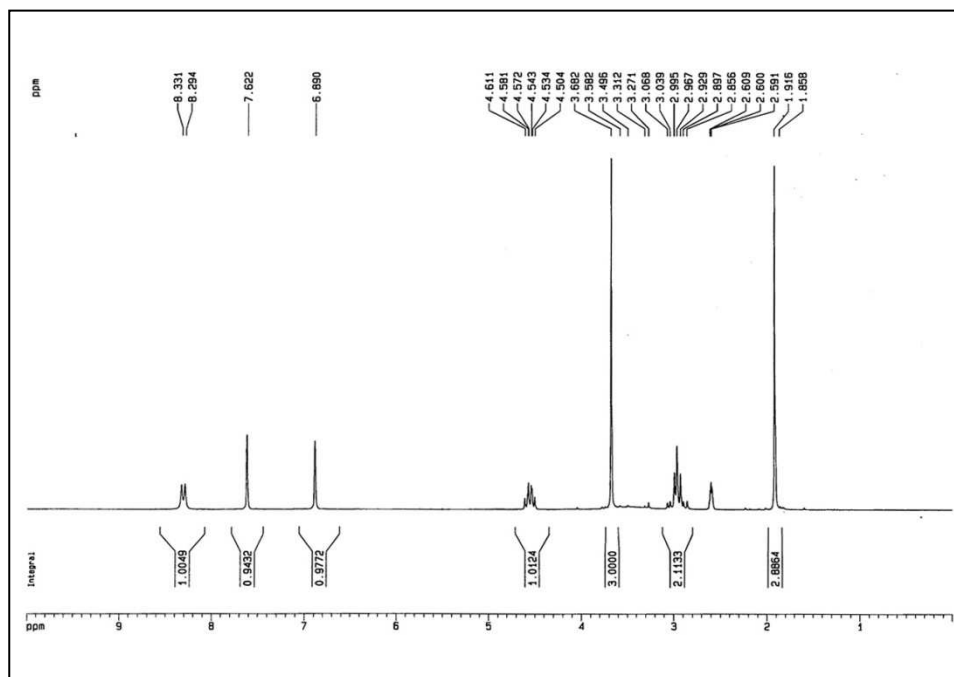
IR (neat) ν (cm^{-1})



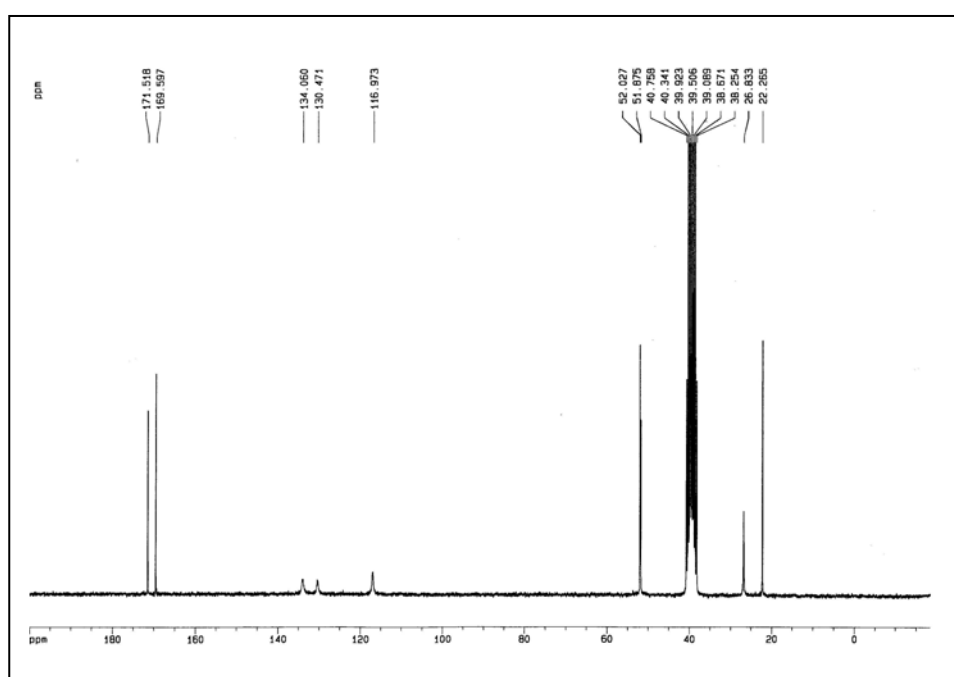
N(α)-Acetyl-L-histidine methyl ester (**10**)

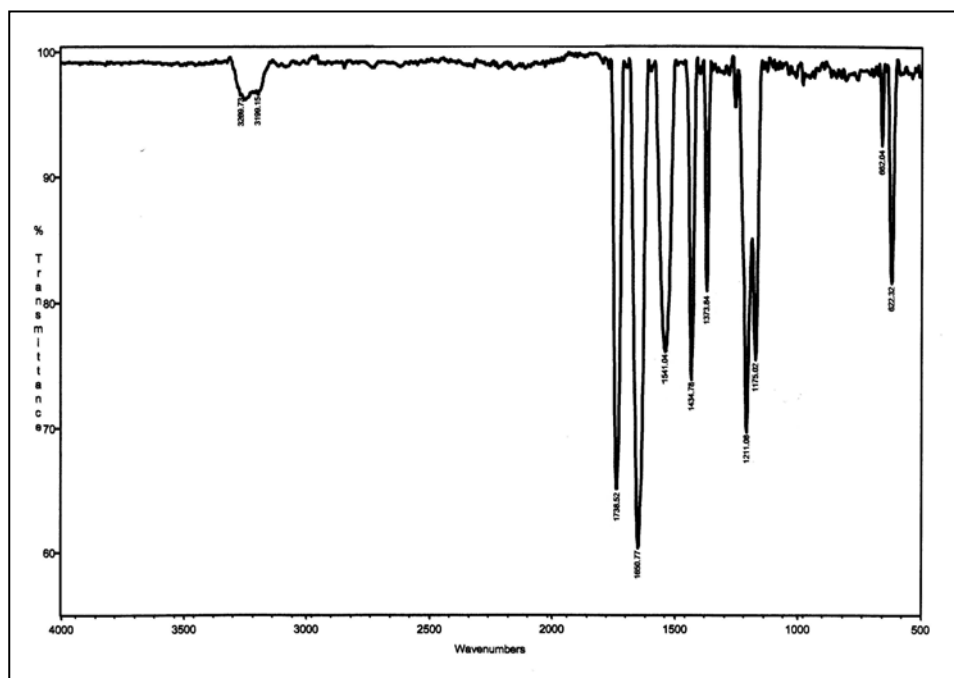
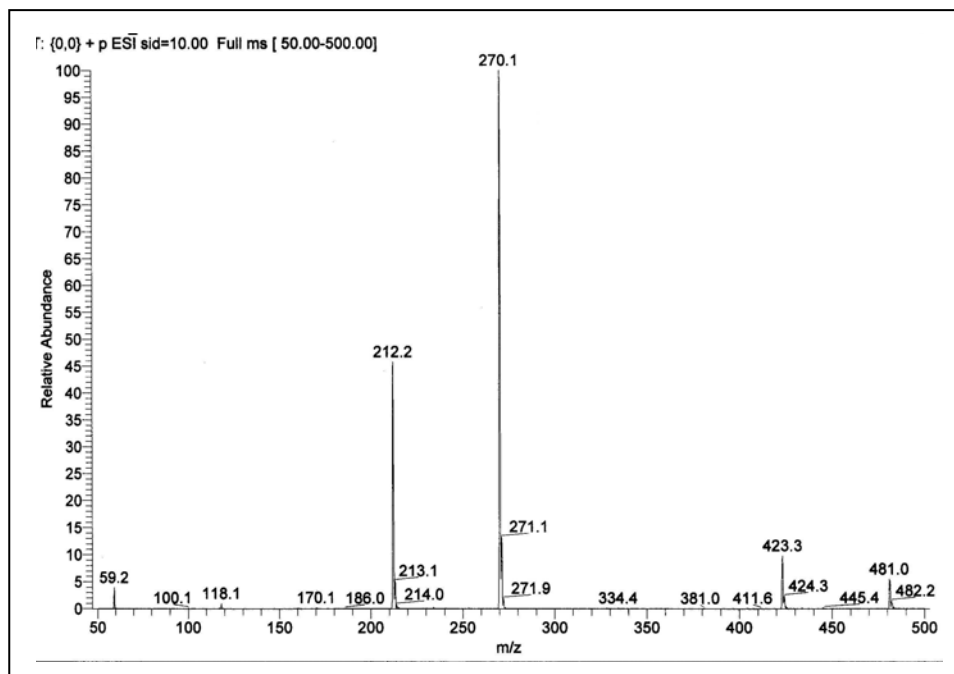


$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, DMSO) δ (ppm)

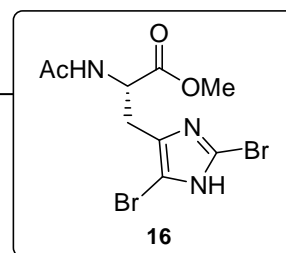


$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, DMSO) δ (ppm)

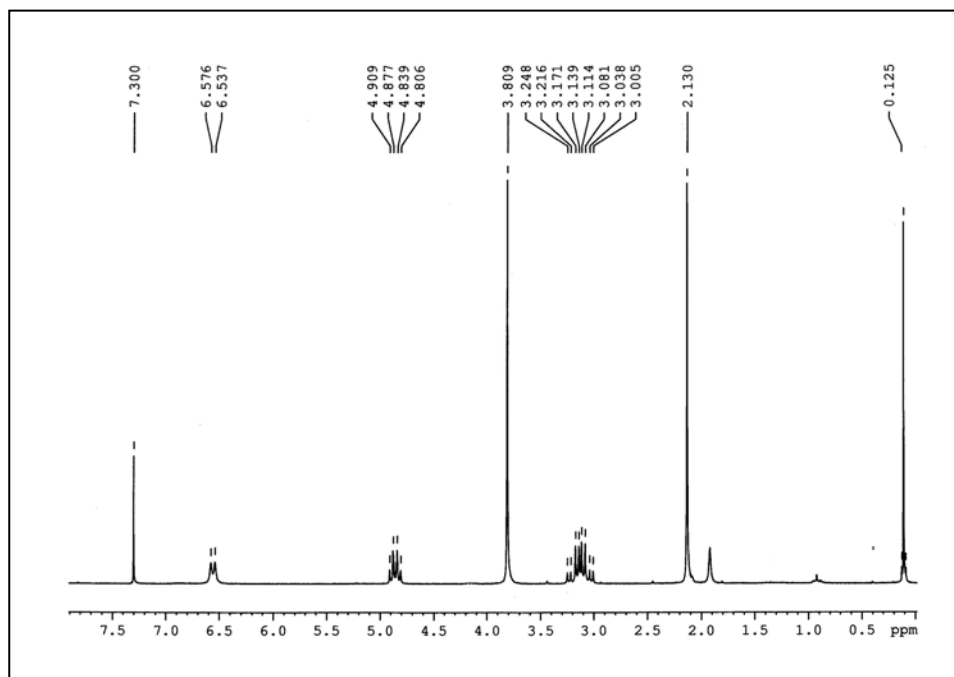


IR (neat) ν (cm^{-1})MS (ESI) m/z (%)

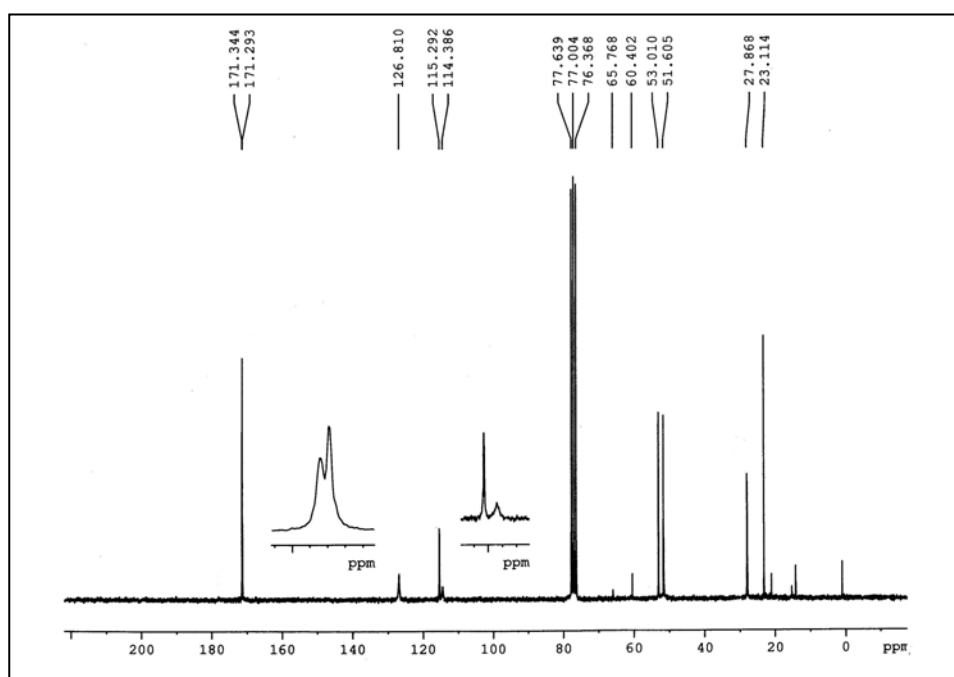
N(α)-Acetyl-2,5-dibromo-L-histidine methyl ester (**16**)

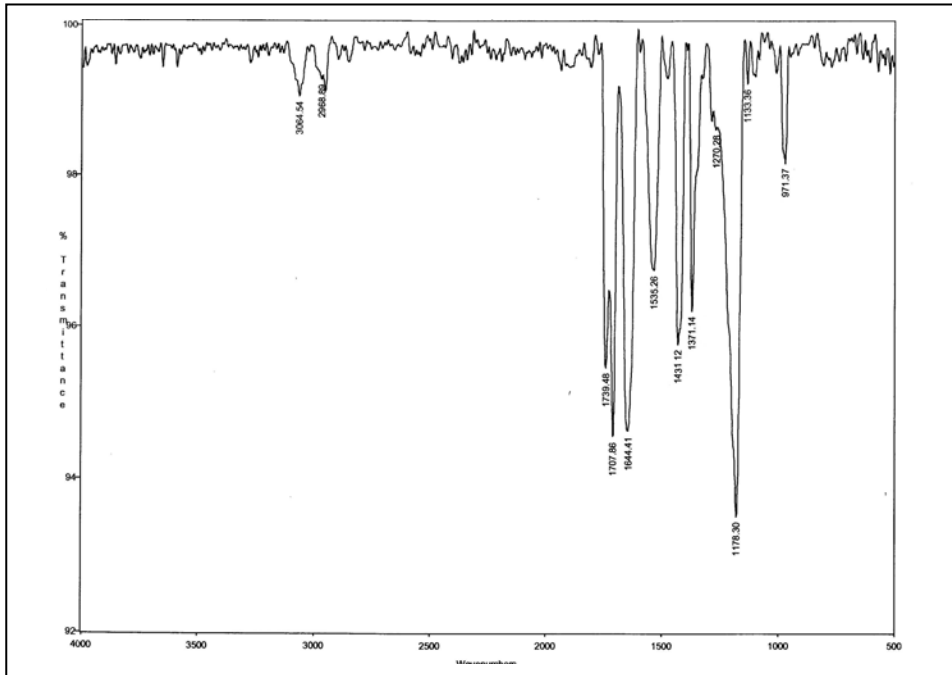
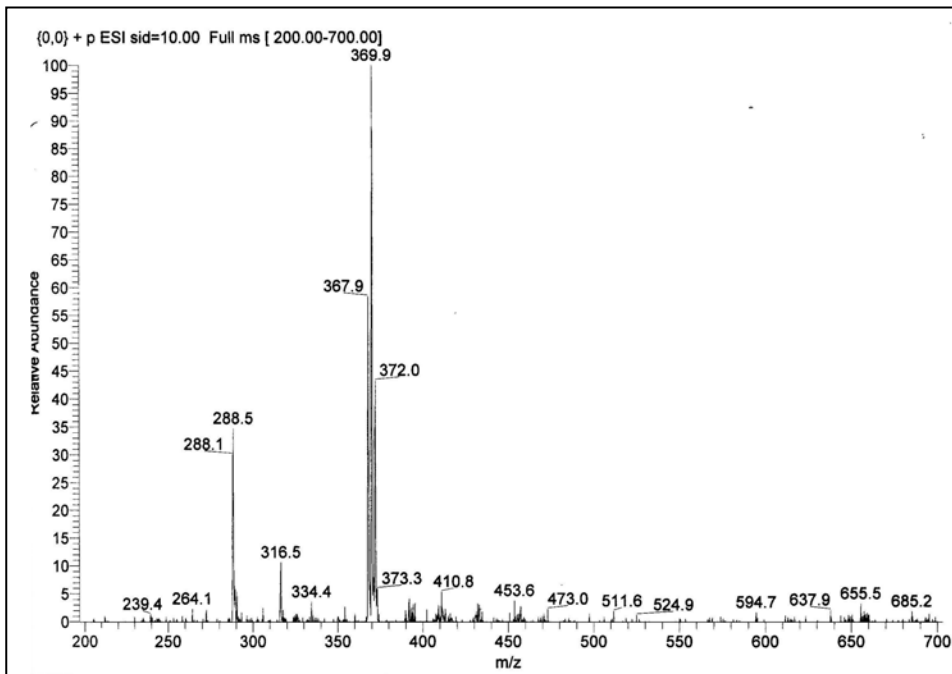


¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

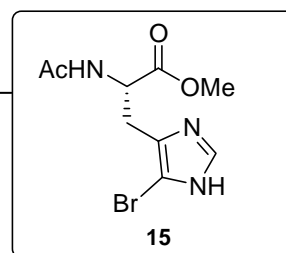


¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

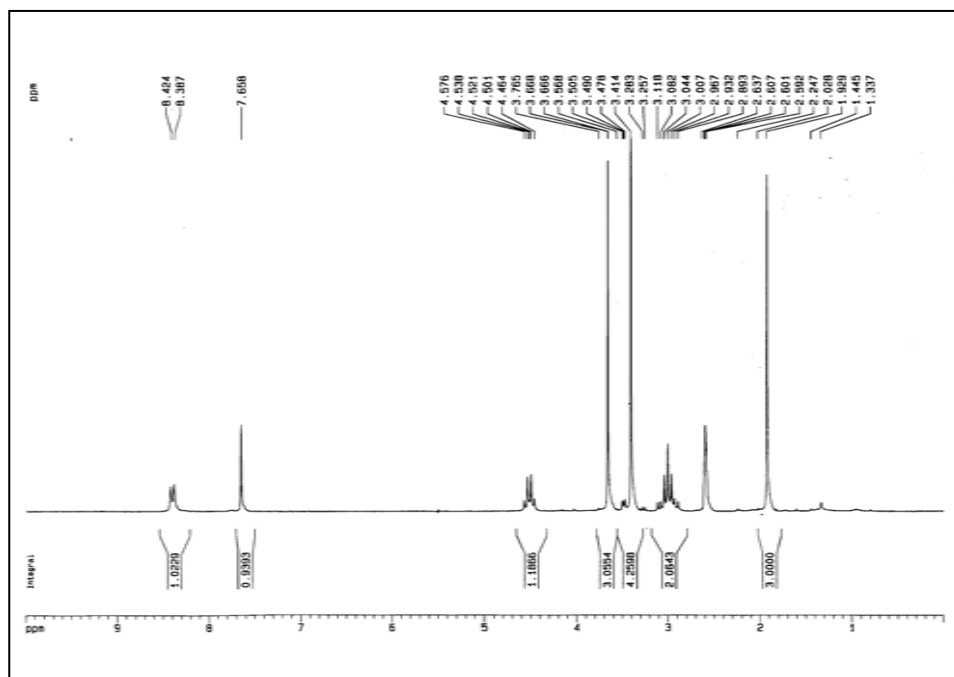


IR (neat) ν (cm^{-1})MS (ESI) m/z (%)

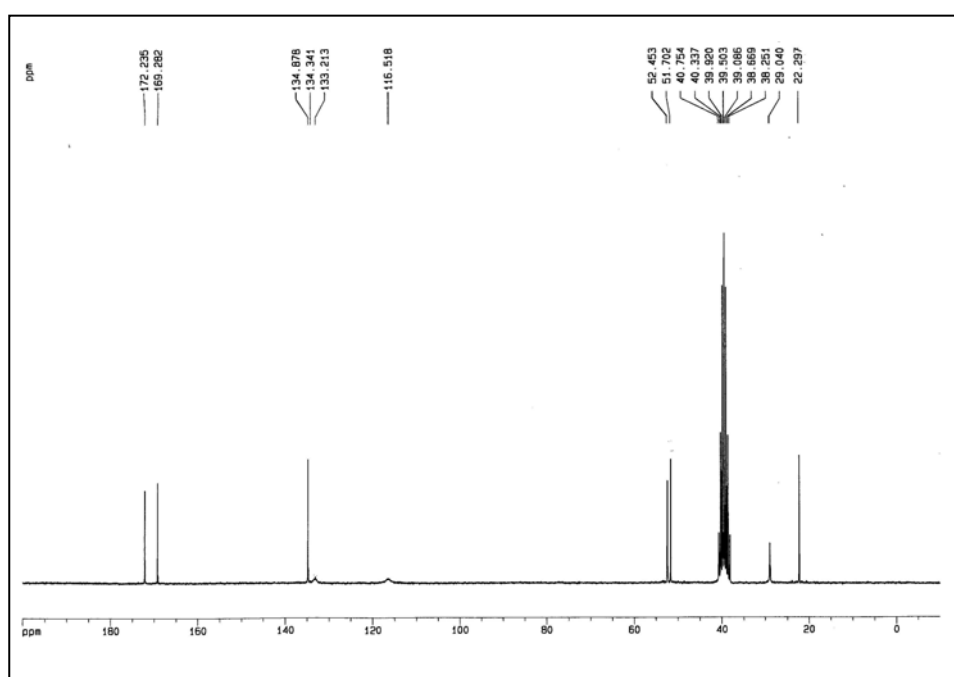
N(α)-Acetyl-5-bromo-L-histidine methyl ester (**15**)

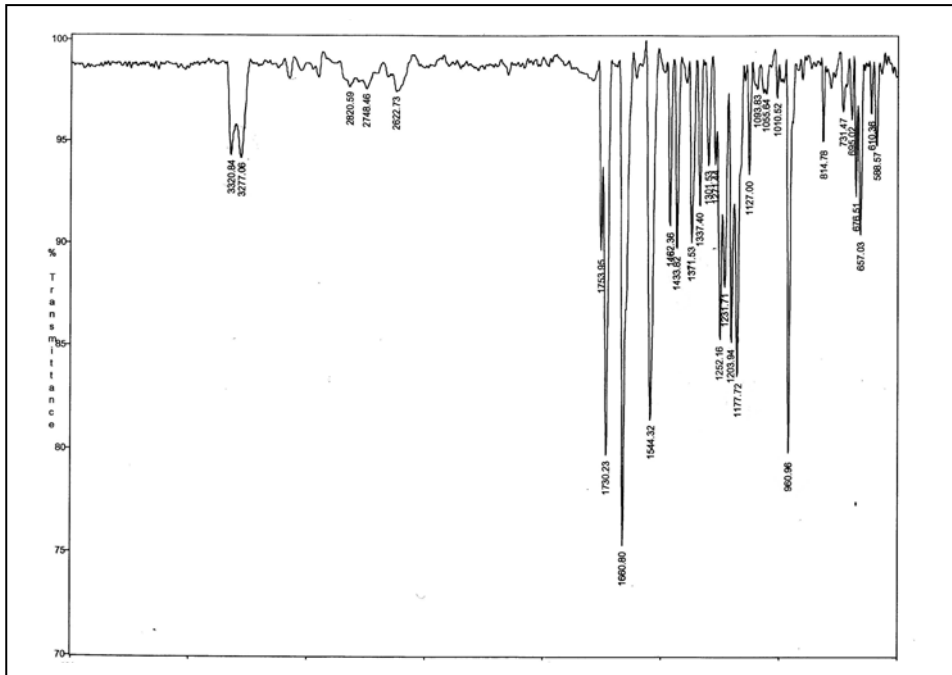
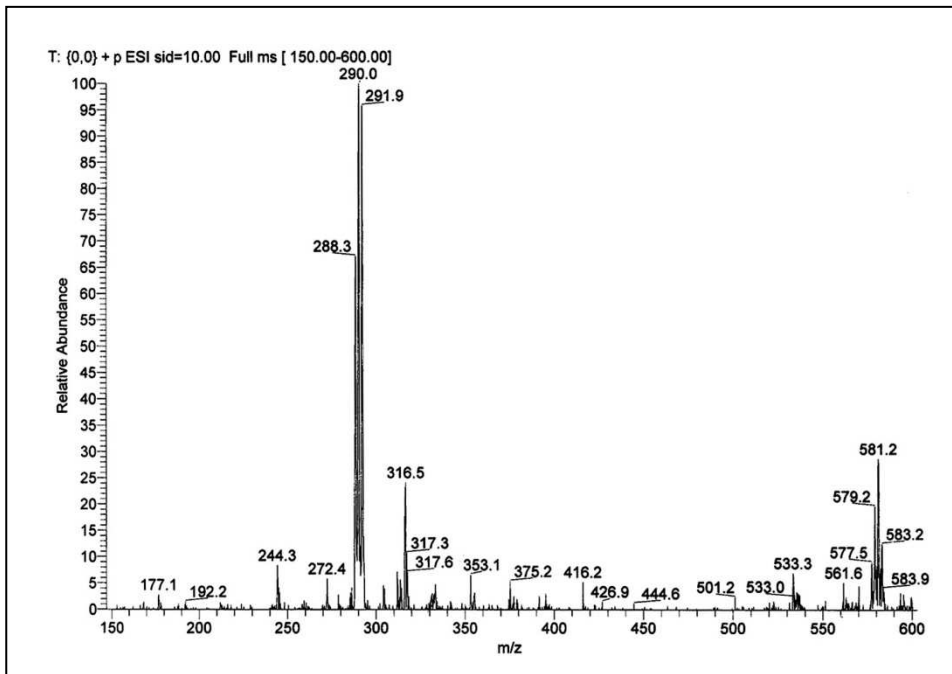


¹H-NMR (200 MHz, DMSO) δ (ppm)

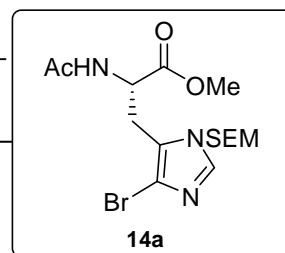


¹³C-NMR (50 MHz, DMSO) δ (ppm)

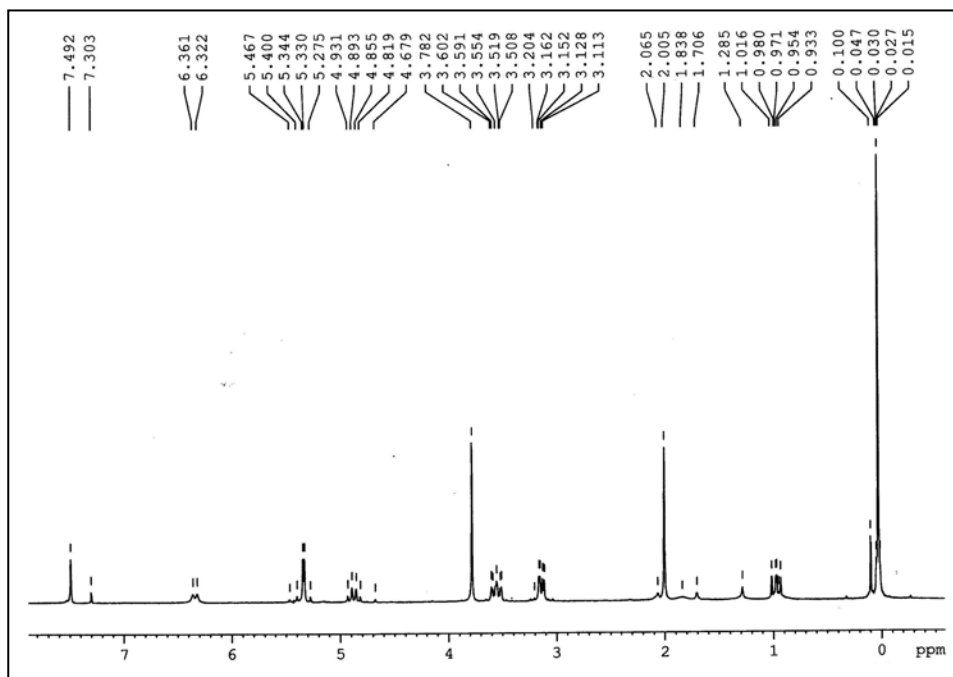


IR (neat) ν (cm^{-1})MS (ESI) m/z (%)

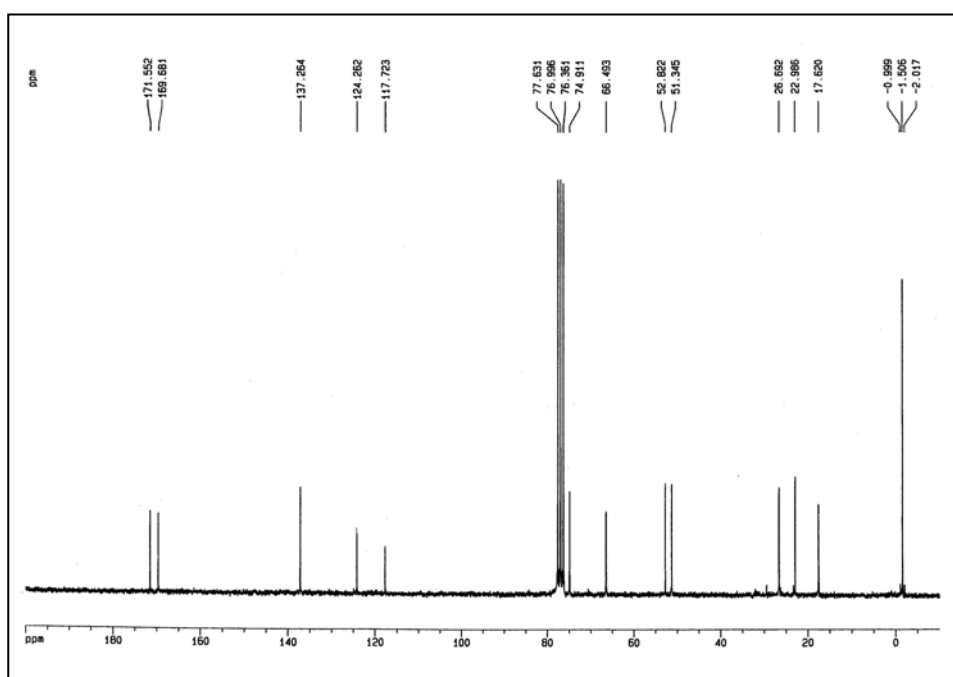
N(α)-Acetyl-5-bromo-*N*(π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (**14a**)

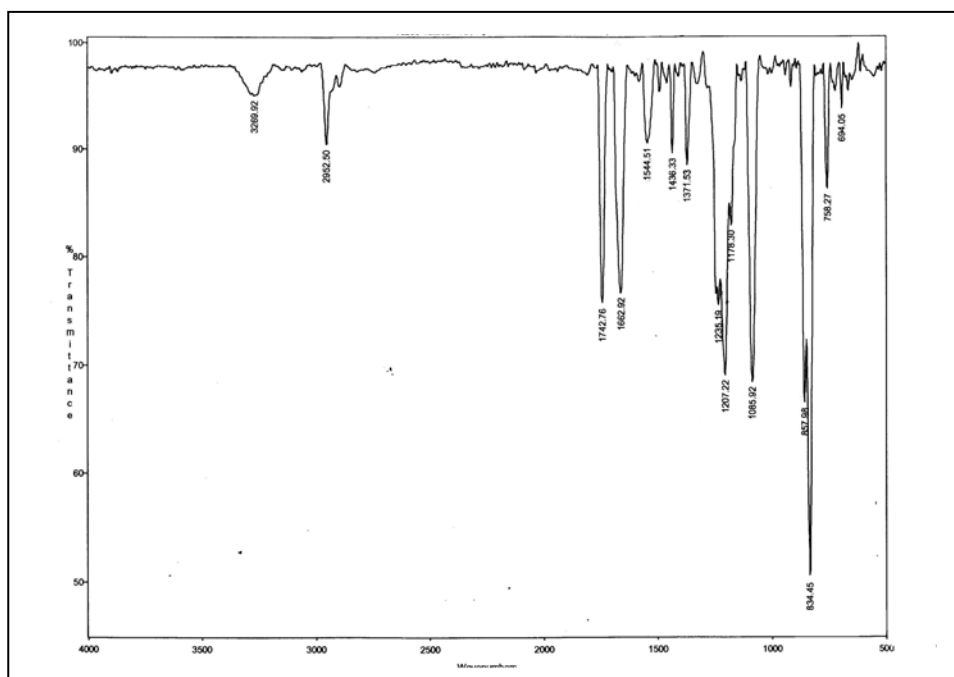
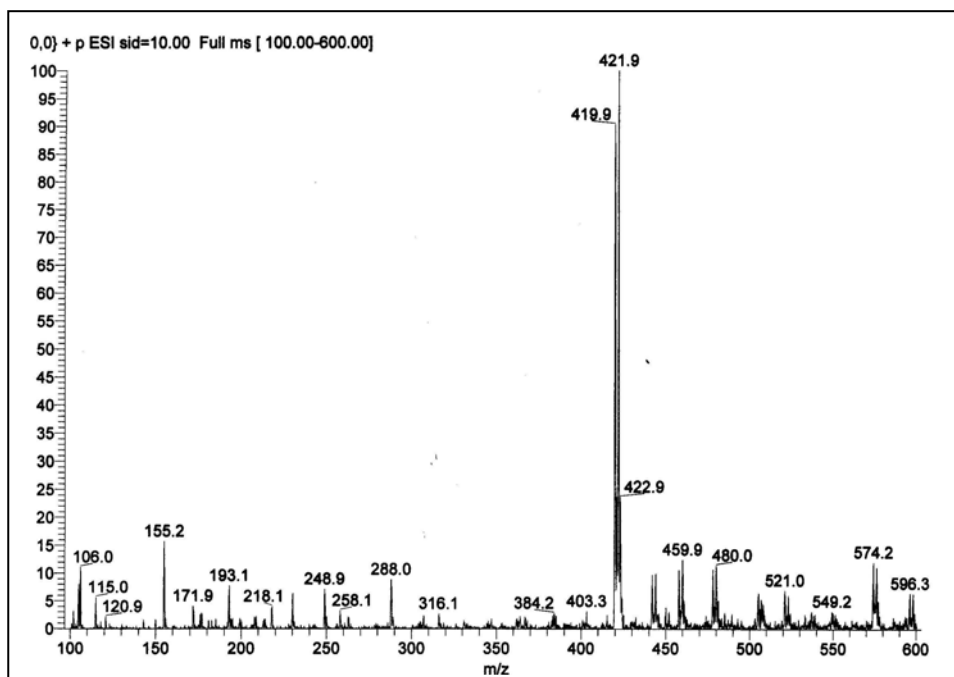


¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

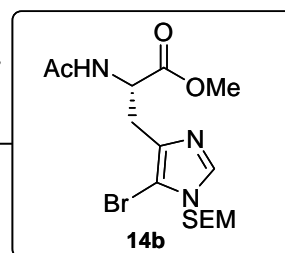


¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

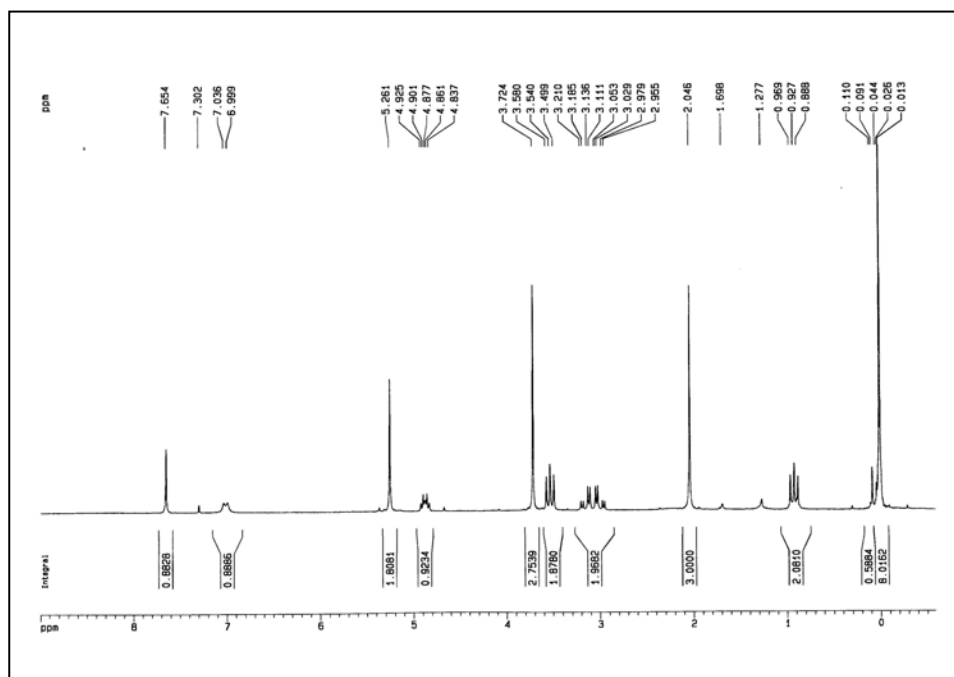


IR (neat) ν (cm^{-1})MS (ESI) m/z (%)

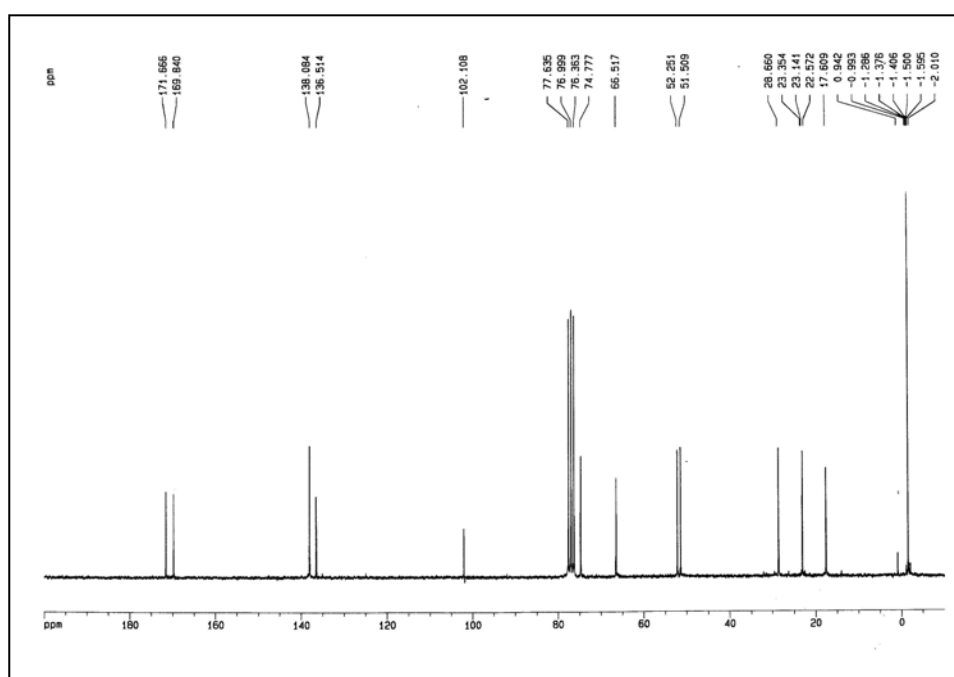
N(α)-Acetyl-5-bromo-*N*(τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (**14b**)

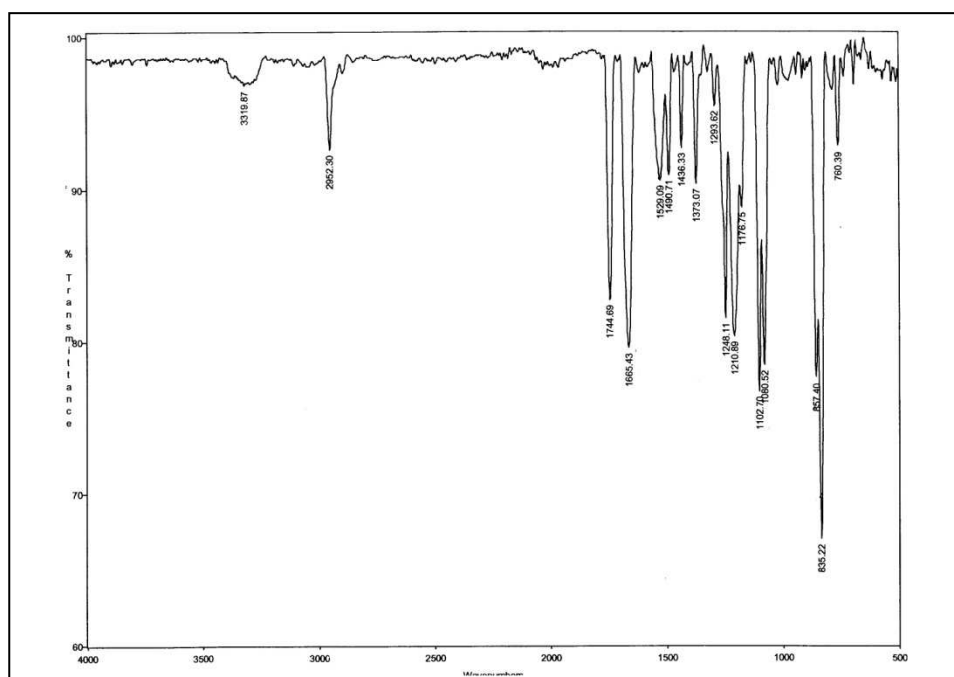
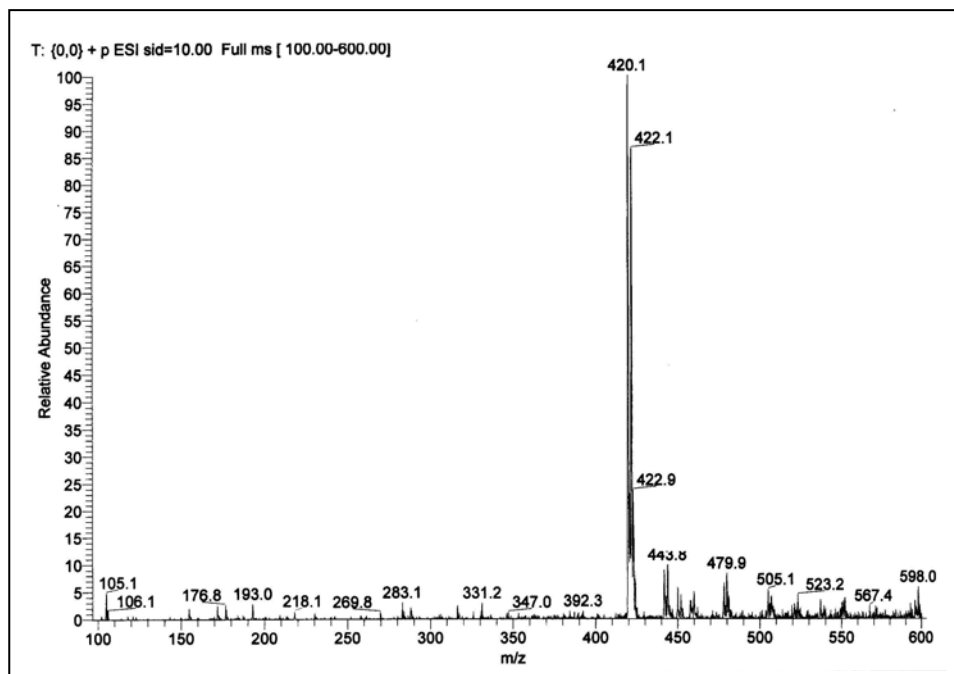


$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

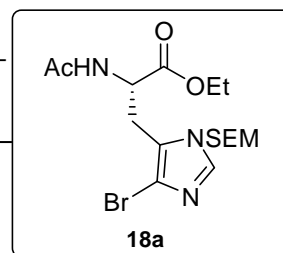


$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

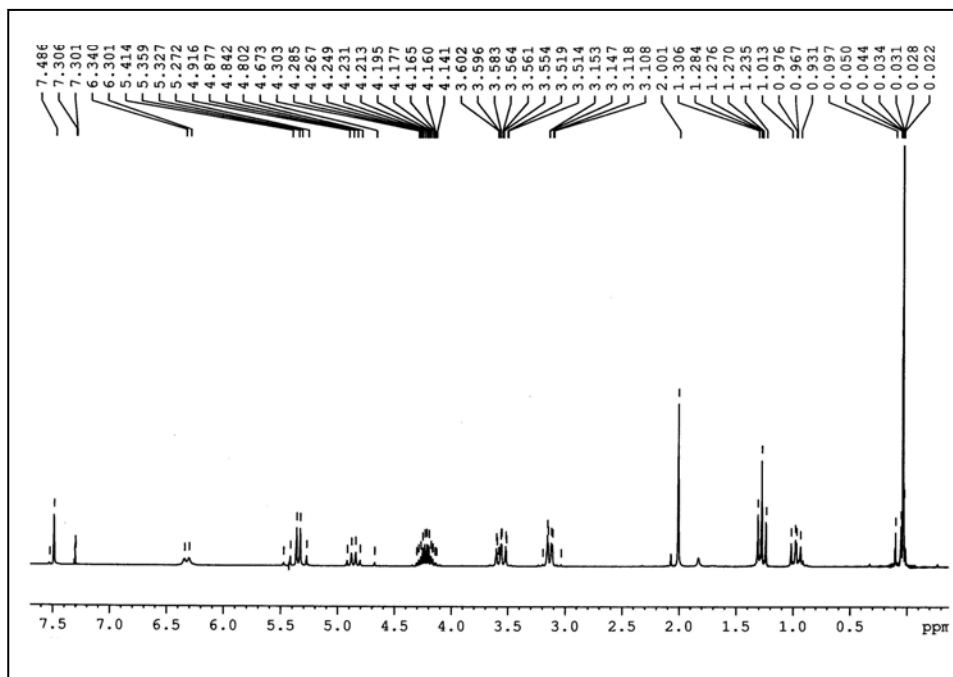


IR (neat) ν (cm^{-1})MS (ESI) m/z (%)

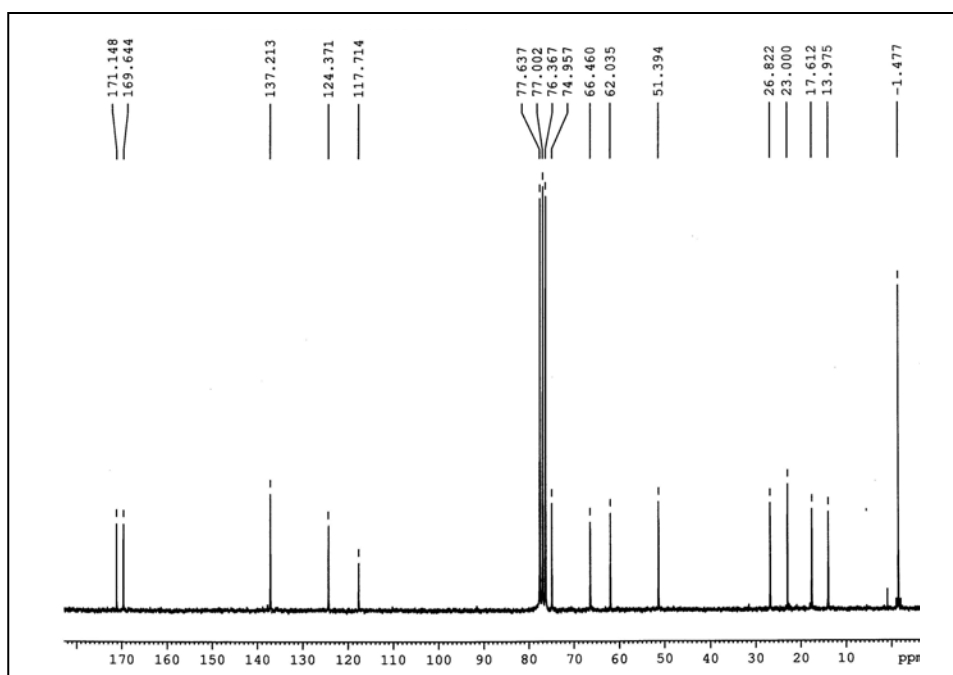
N(α)-Acetyl-5-bromo-*N*(π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine ethyl ester (**18a**)

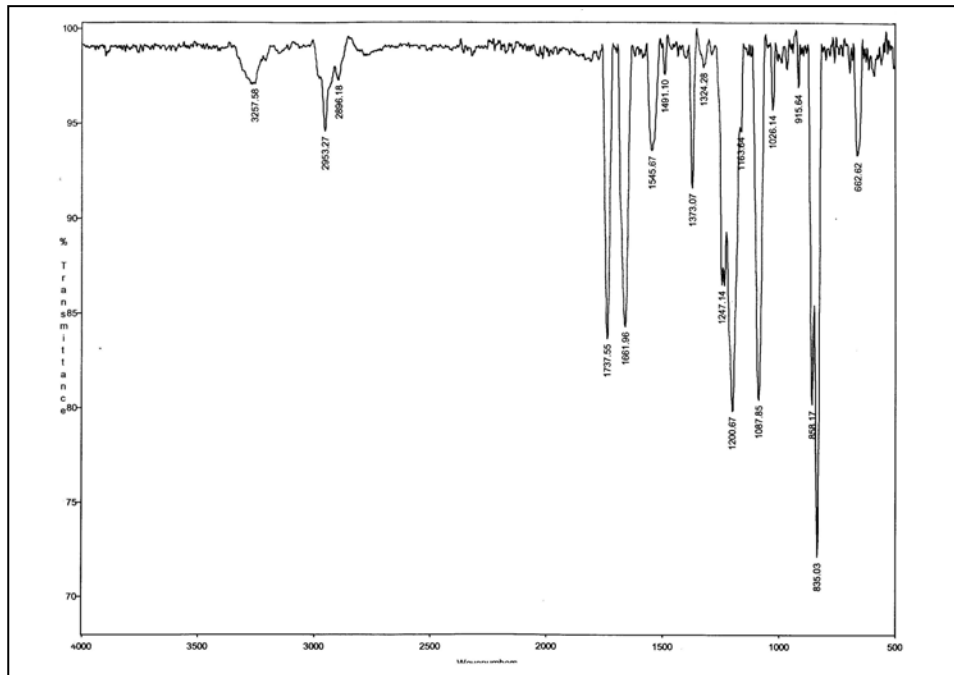
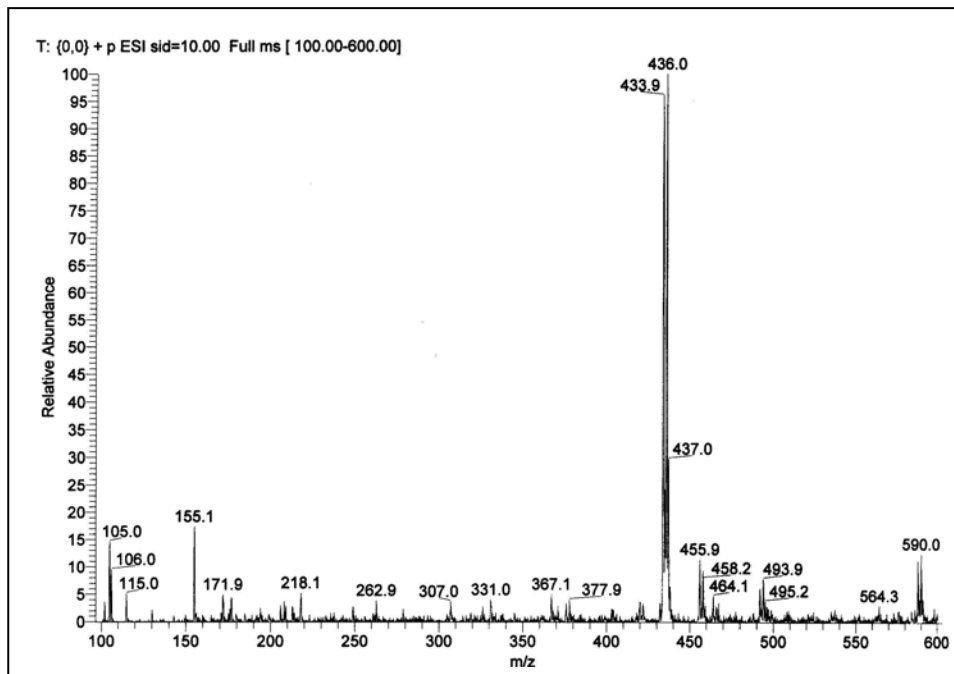


¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

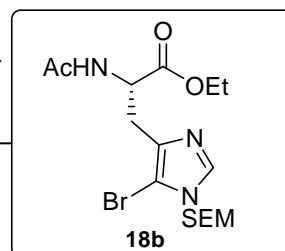


¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

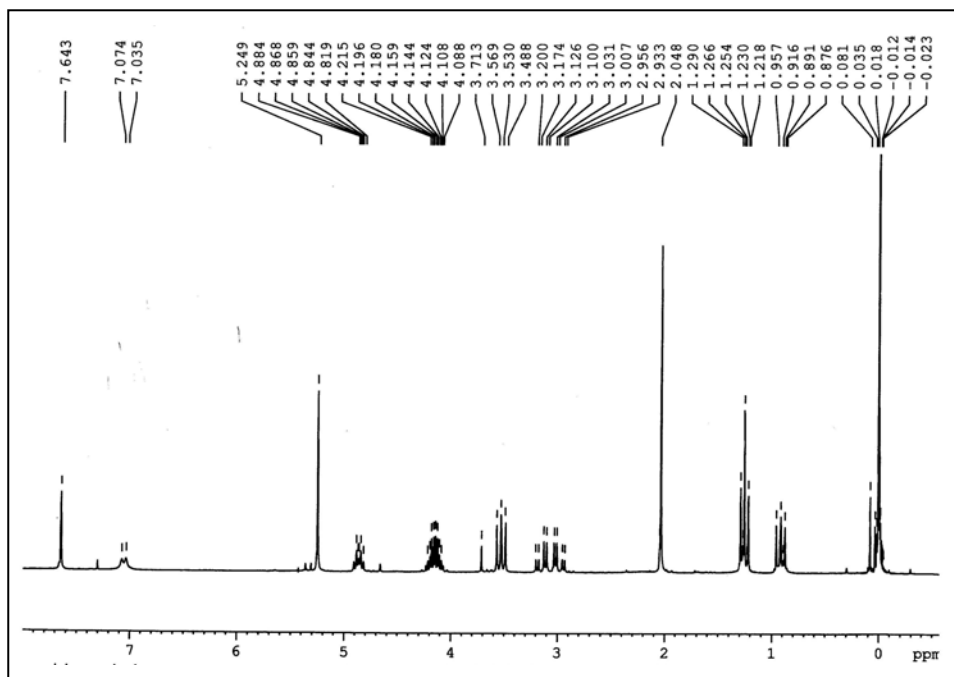


IR (neat) ν (cm^{-1})MS (ESI) m/z (%)

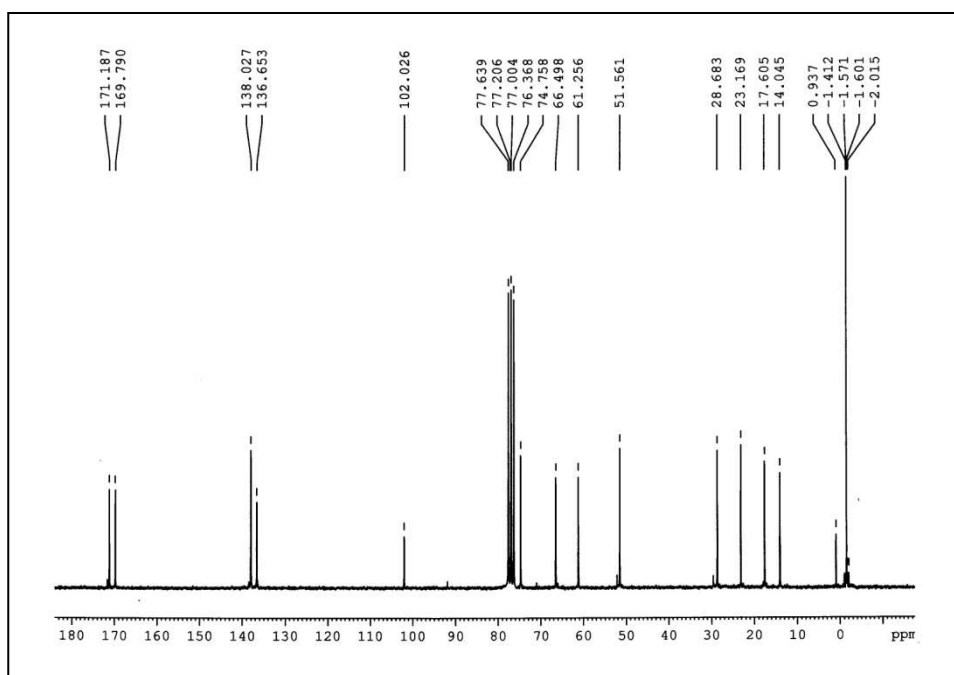
N(α)-Acetyl-5-bromo-*N*(τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine ethyl ester (**18b**)

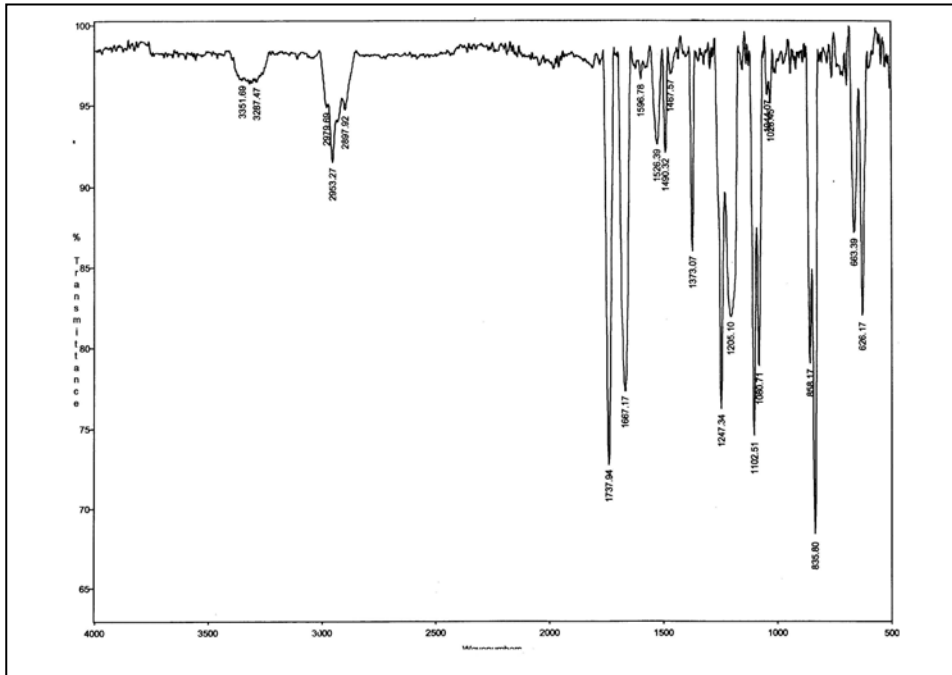
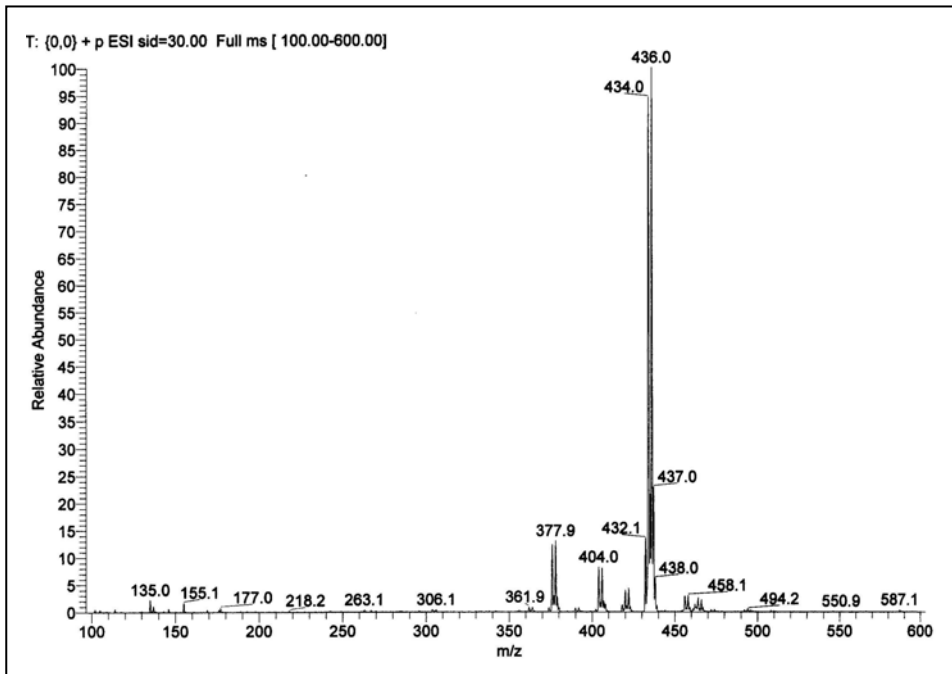


$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

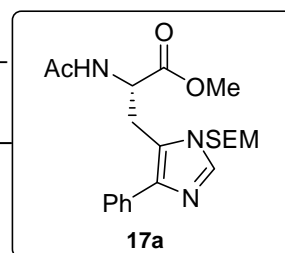


$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

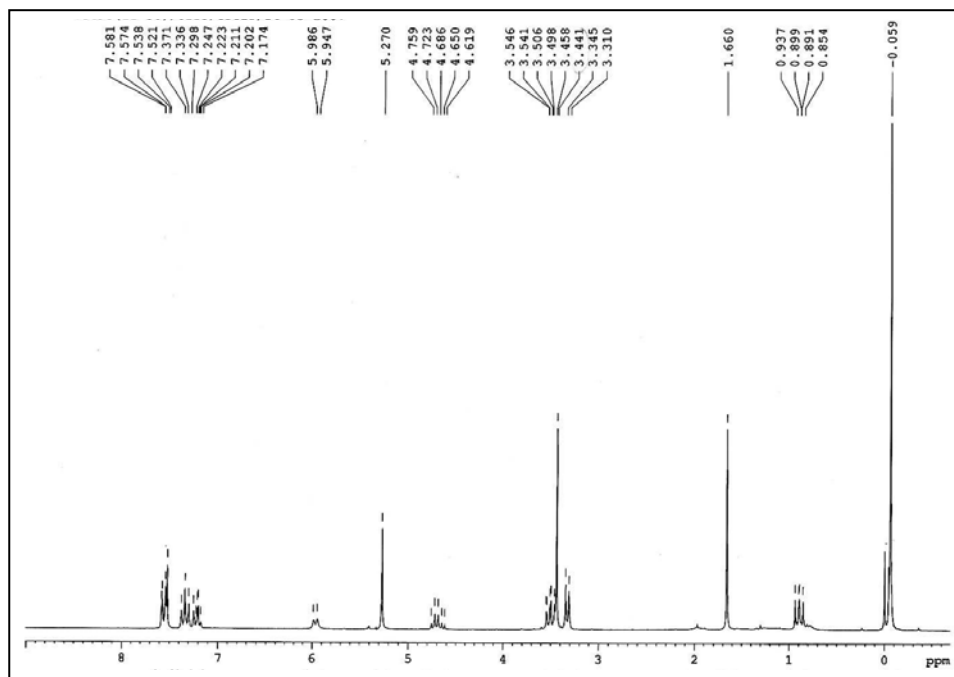


IR (neat) ν (cm^{-1})MS (ESI) m/z (%)

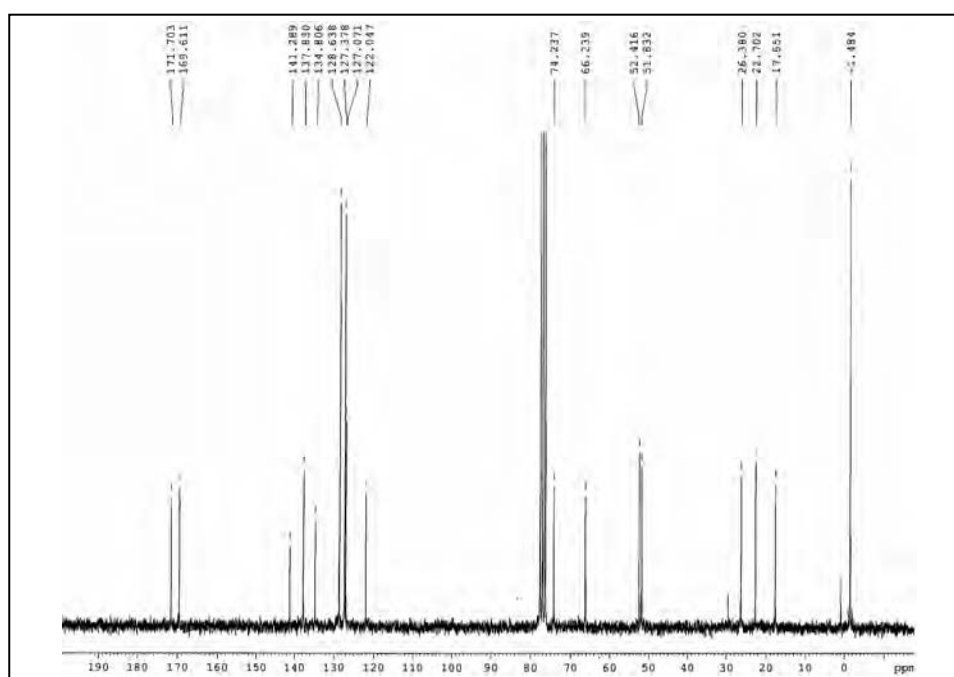
N(α)-Acetyl-5-phenyl-*N*(π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (**17a**)

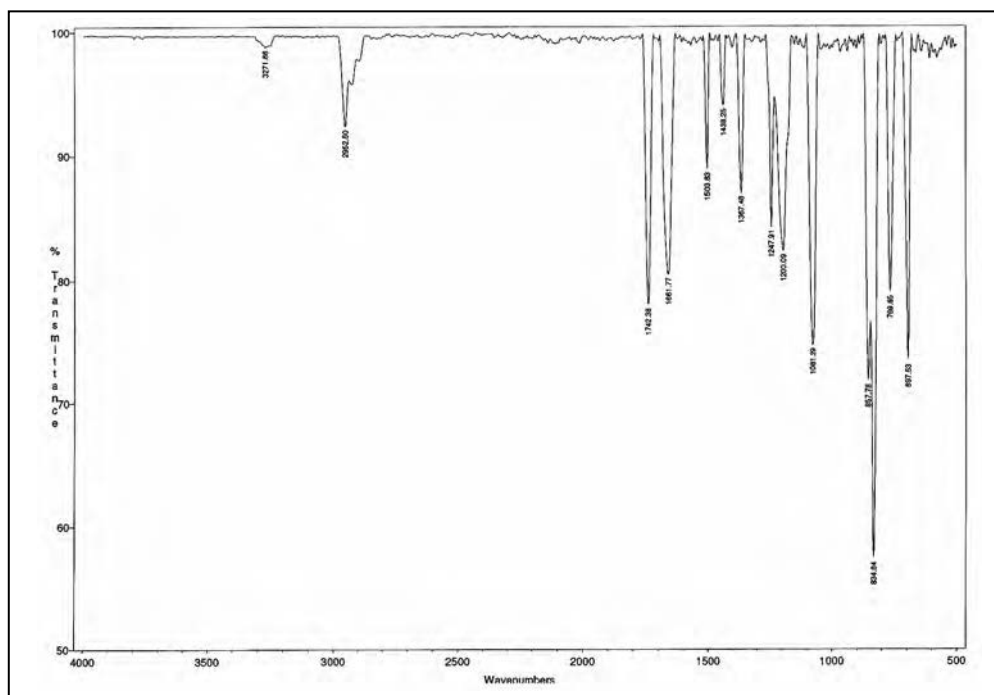
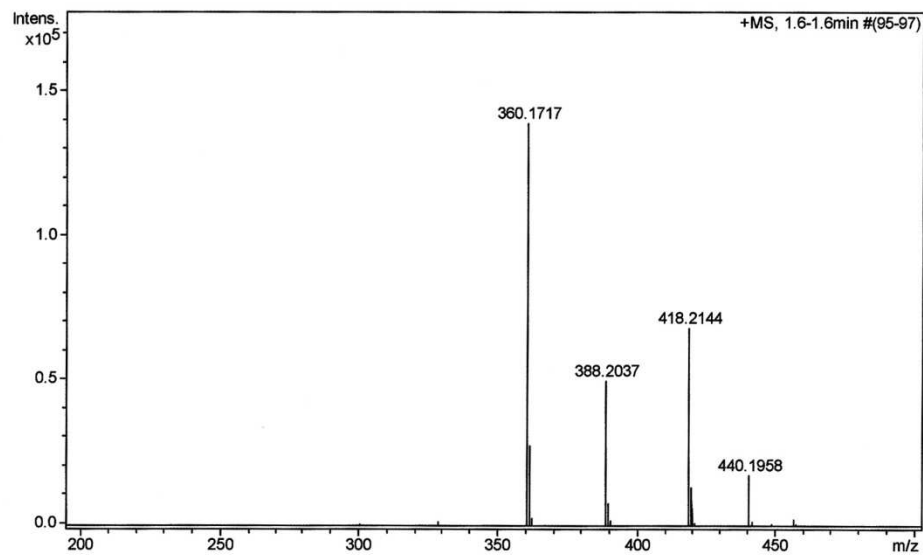


¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

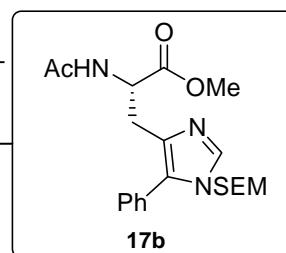


¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

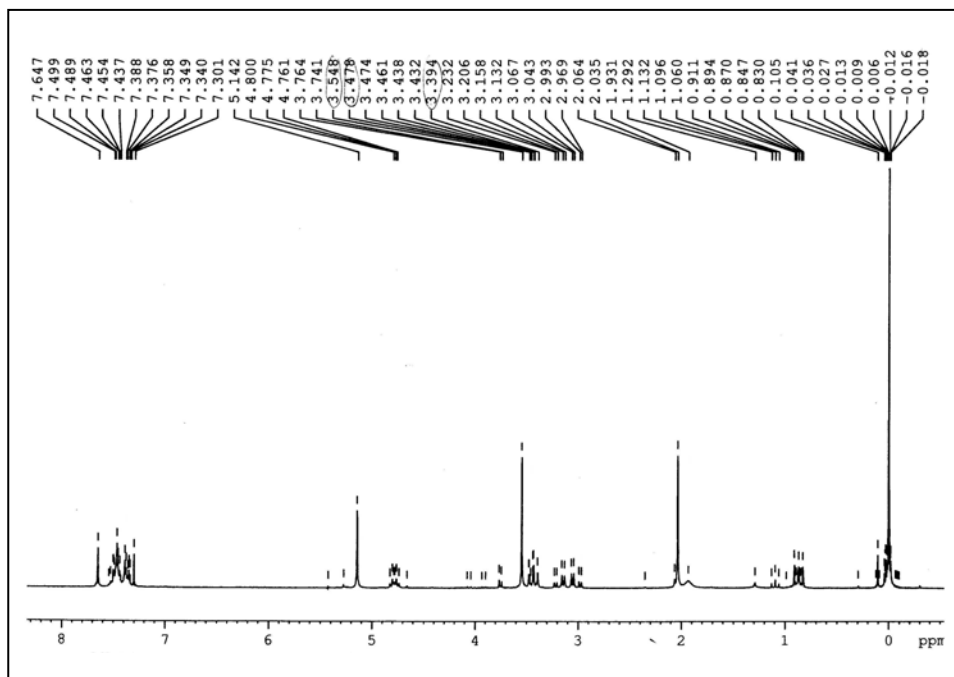


IR (neat) ν (cm^{-1})HRMS (ESI) m/z 

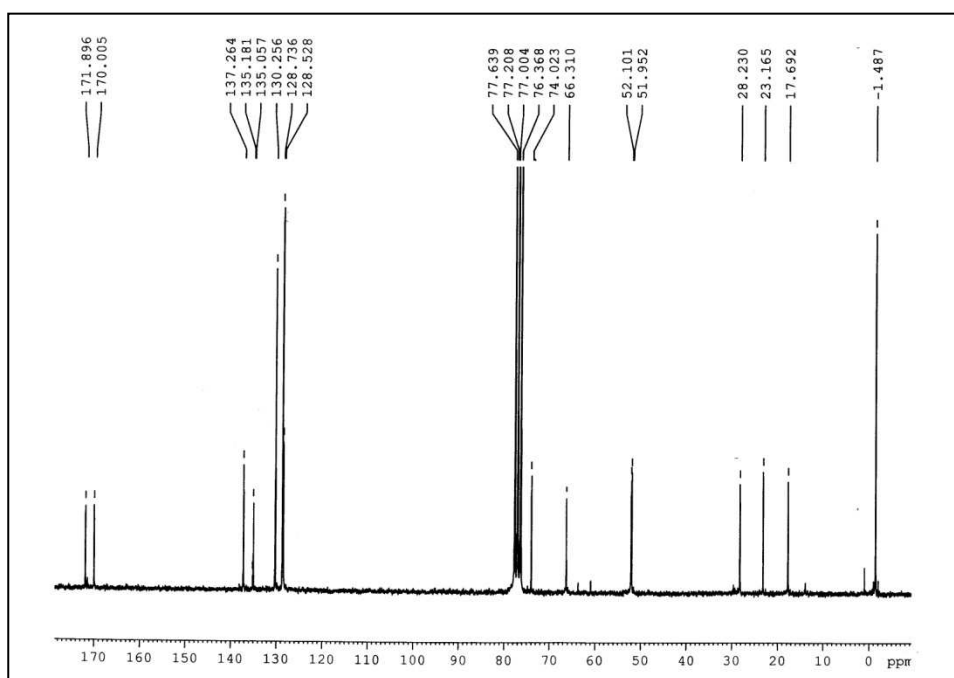
N(α)-Acetyl-5-phenyl-*N*(τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (**17b**)

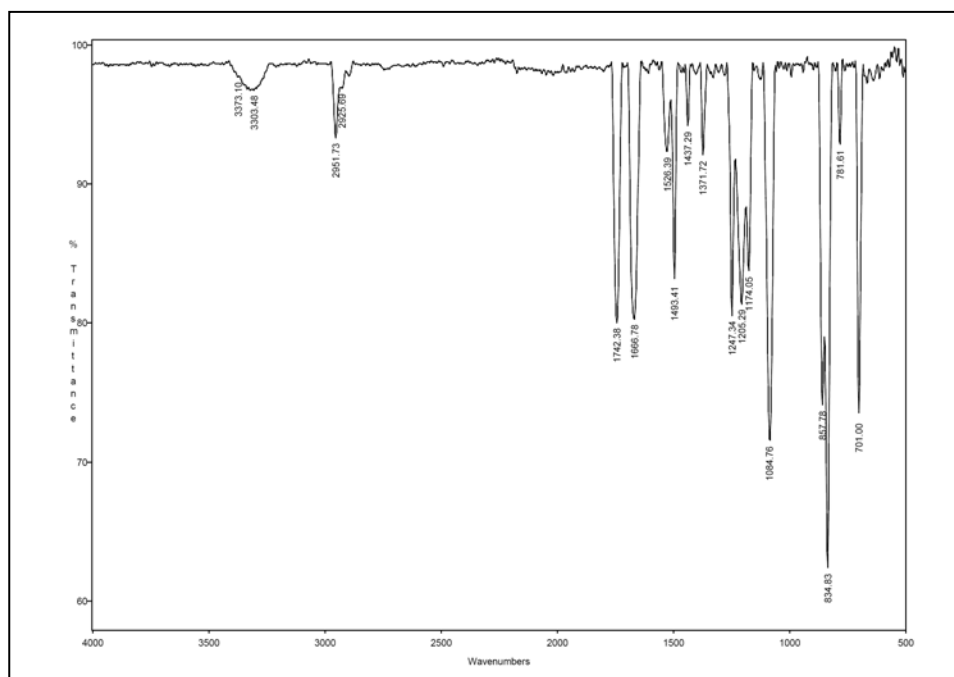
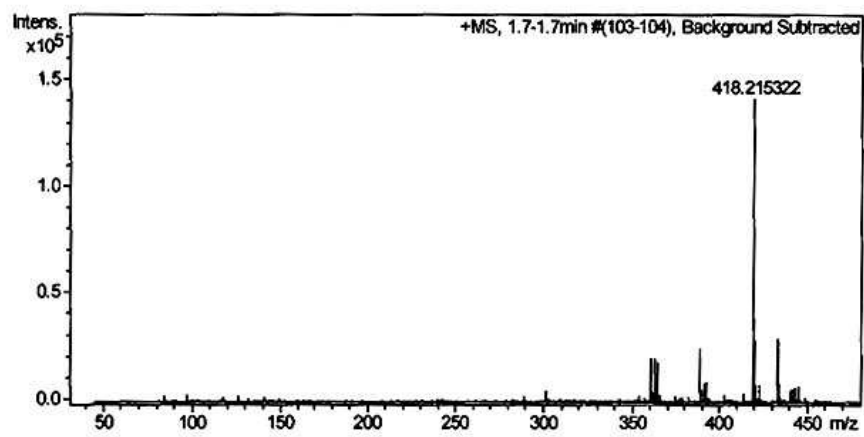


¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

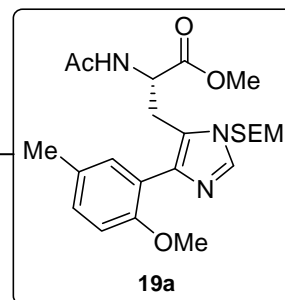


¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

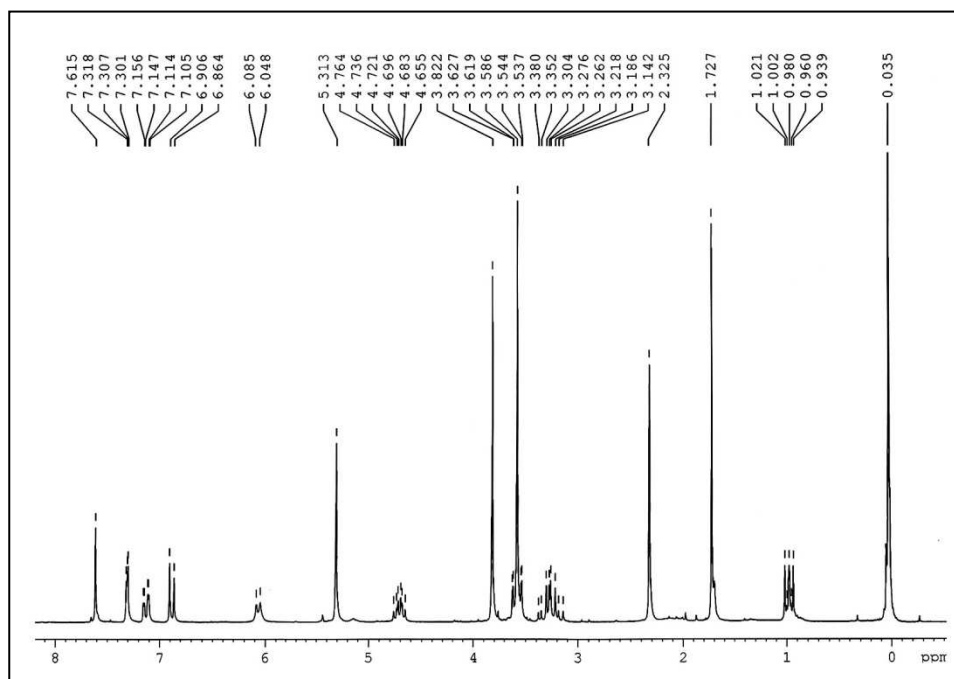


IR (neat) ν (cm^{-1})HRMS (ESI) m/z 

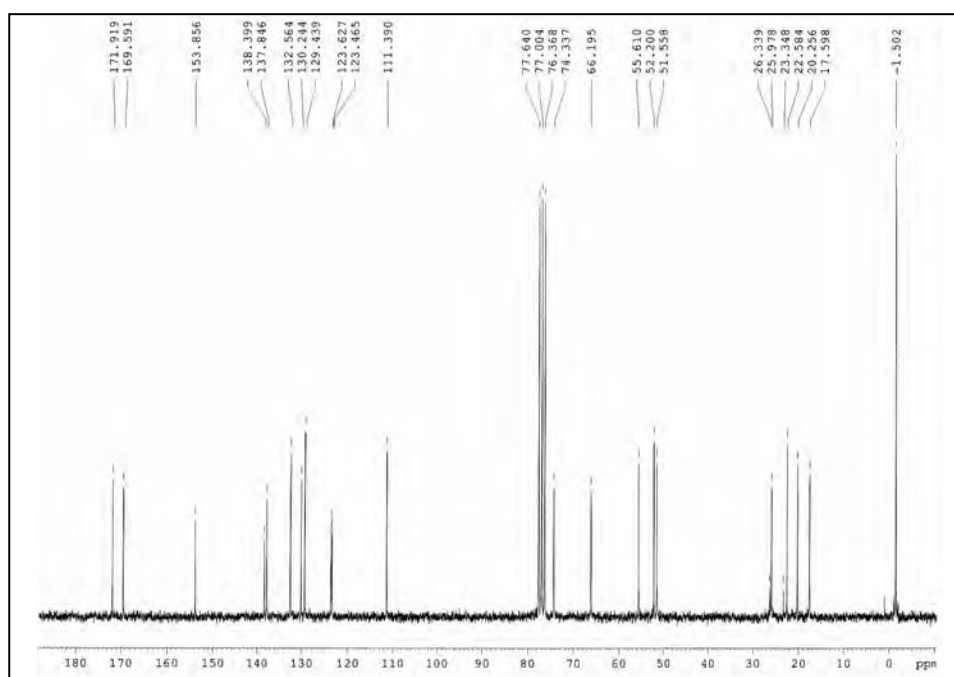
N(α)-Acetyl-5-(5-methyl-2-methoxyphenyl)-*N*(π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (**19a**)

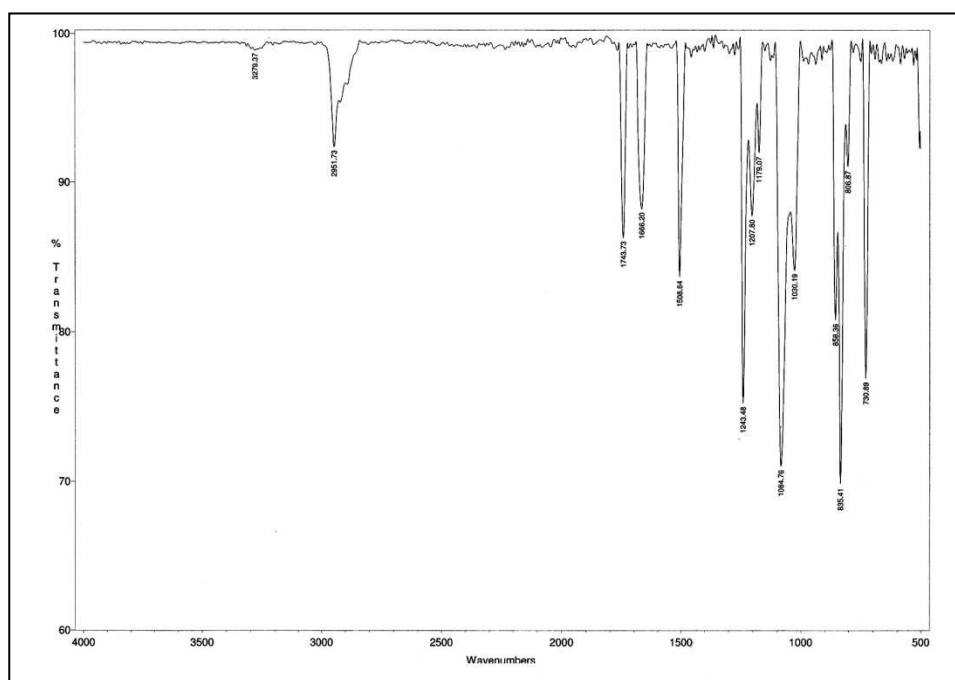
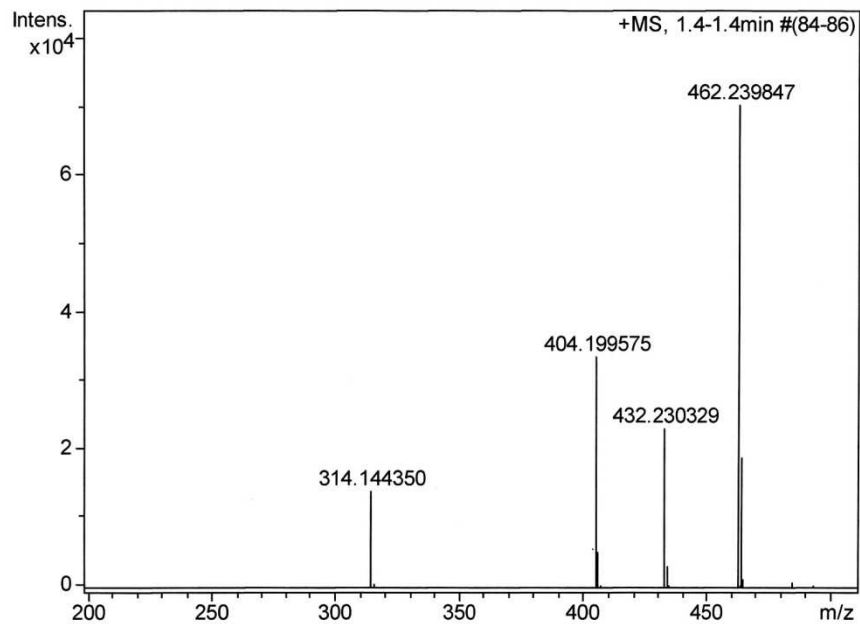


¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

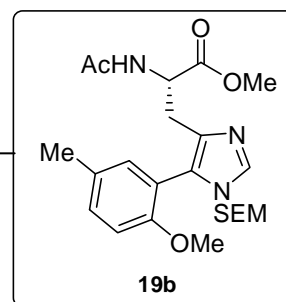


¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

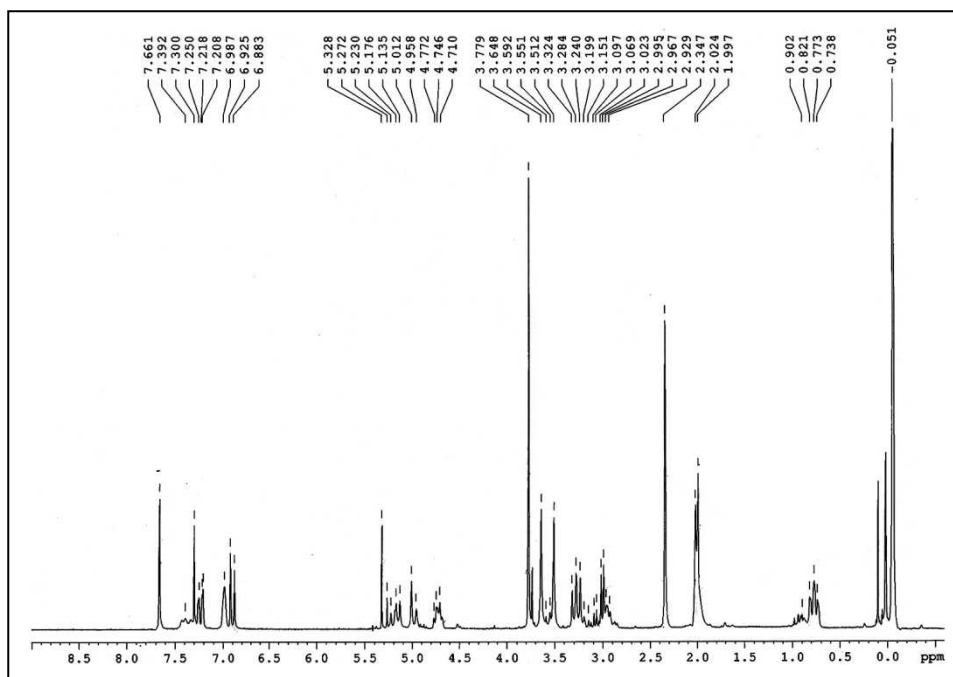


IR (neat) ν (cm^{-1})HRMS (ESI) m/z 

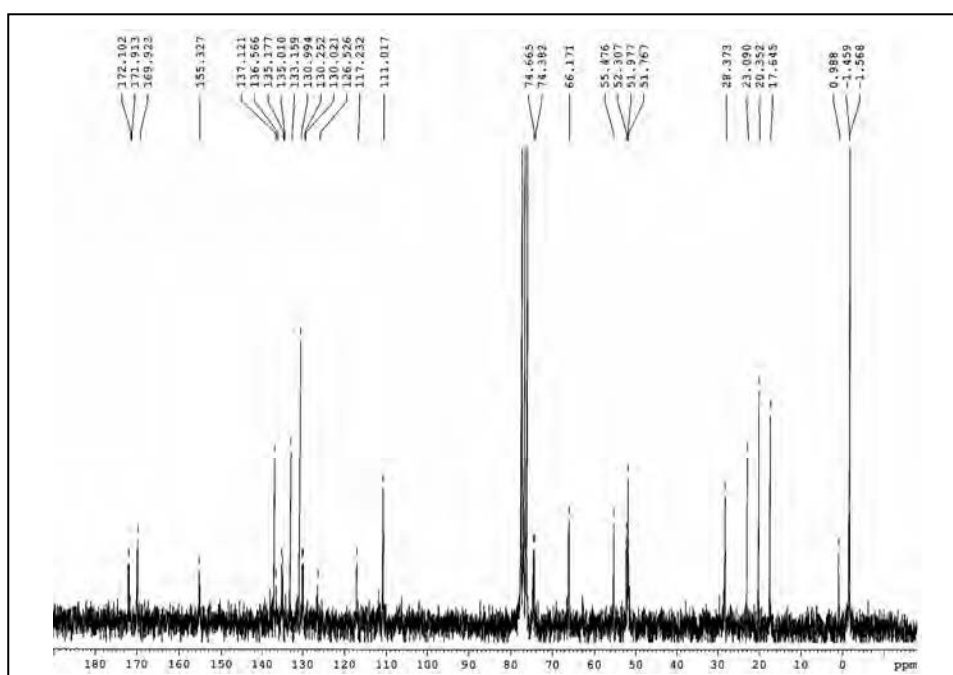
N(α)-Acetyl-5-(5-methyl-2-methoxyphenyl)-*N*(τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (**19b**)

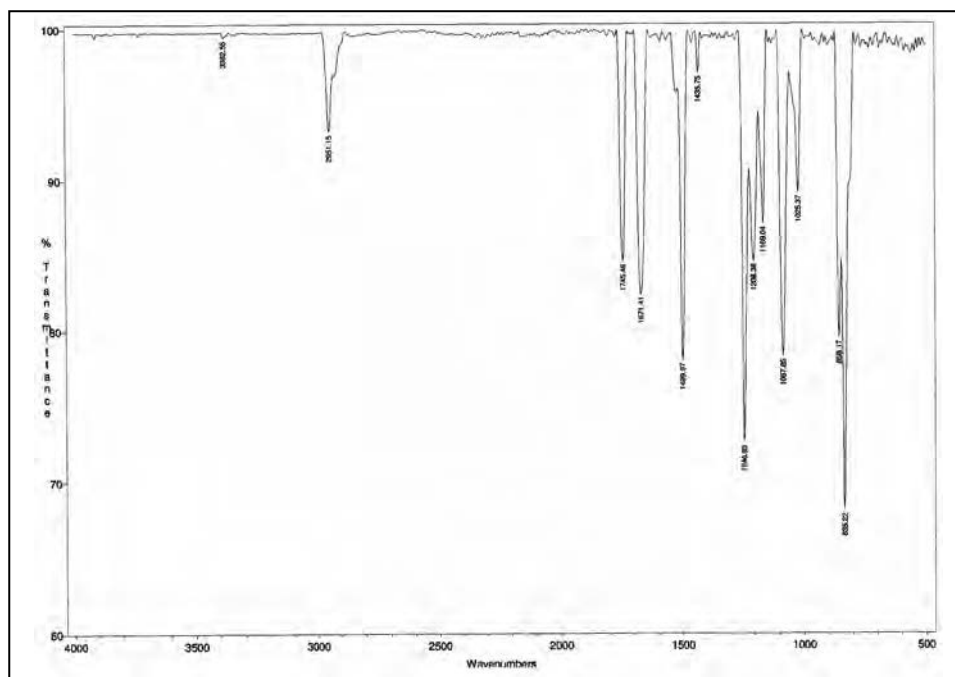
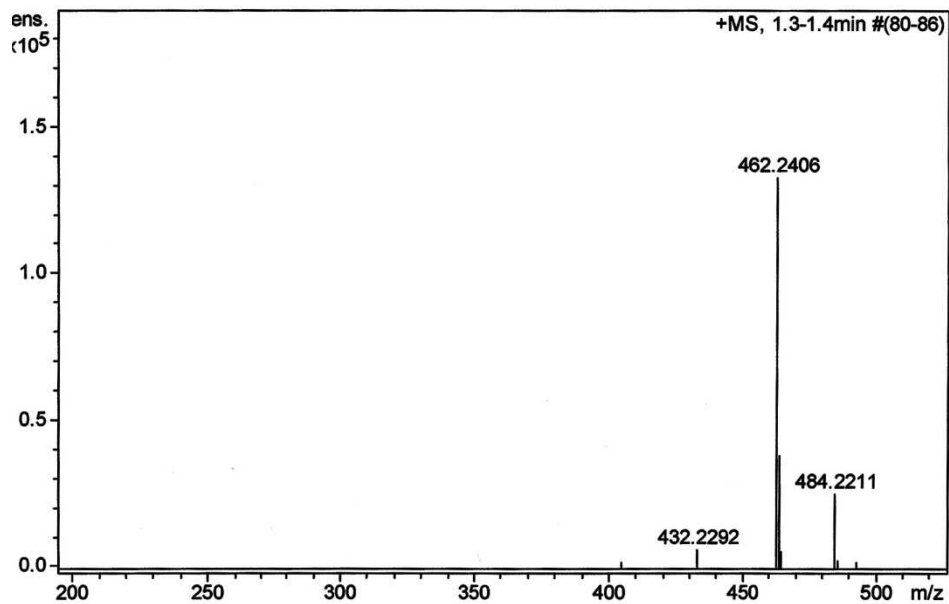


$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

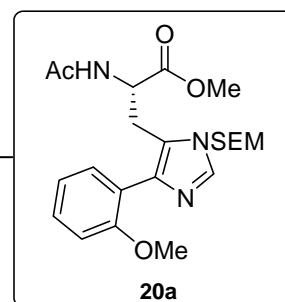


$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

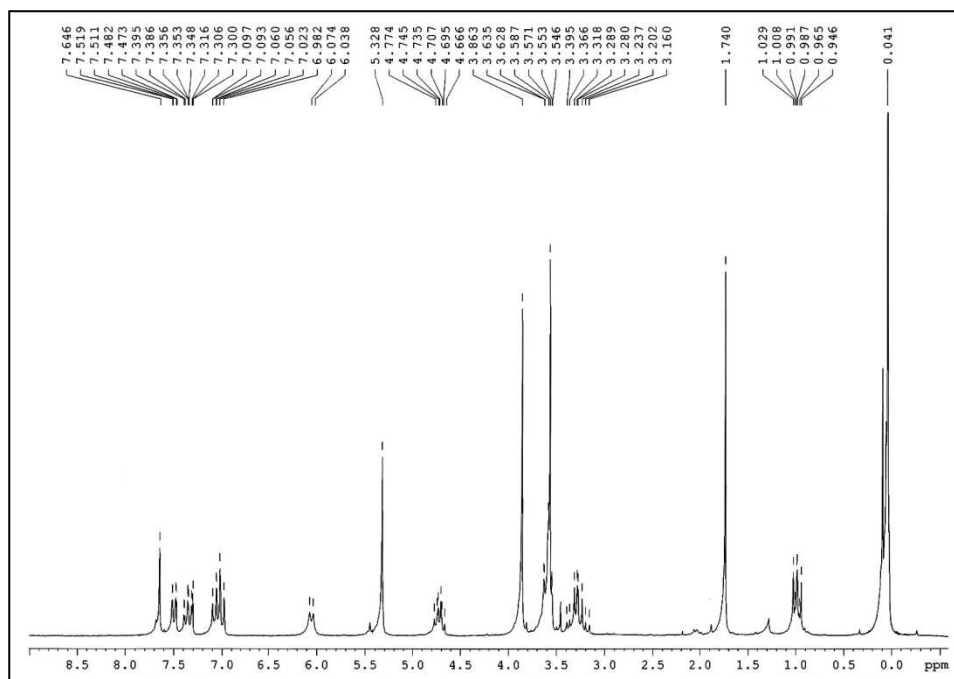


IR (neat) ν (cm^{-1})HRMS (ESI) m/z 

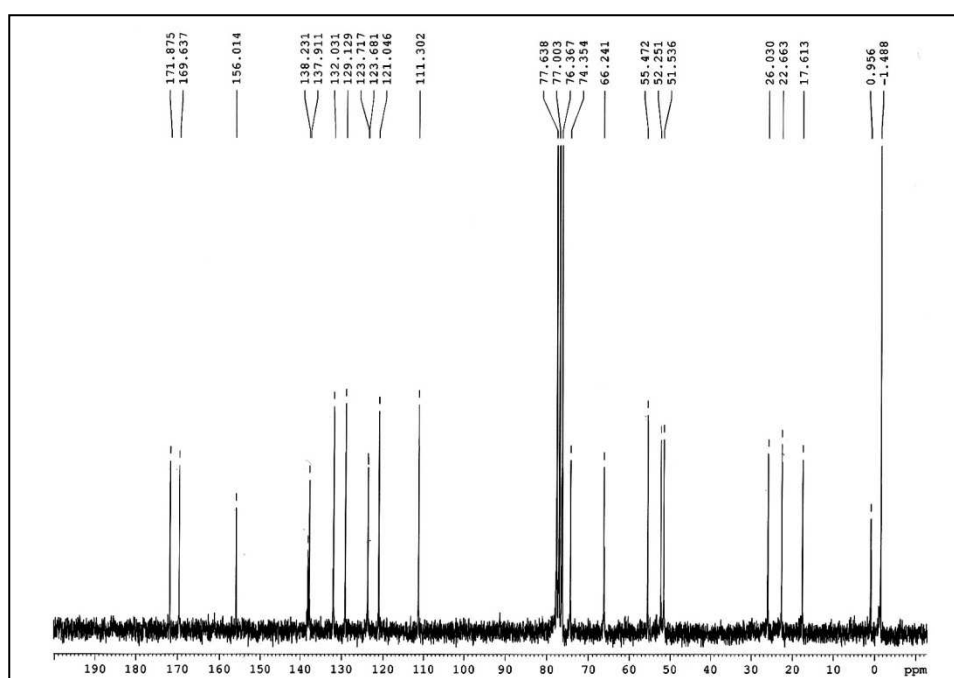
N(α)-Acetyl-5-(2-methoxyphenyl)-*N*(π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (**20a**)

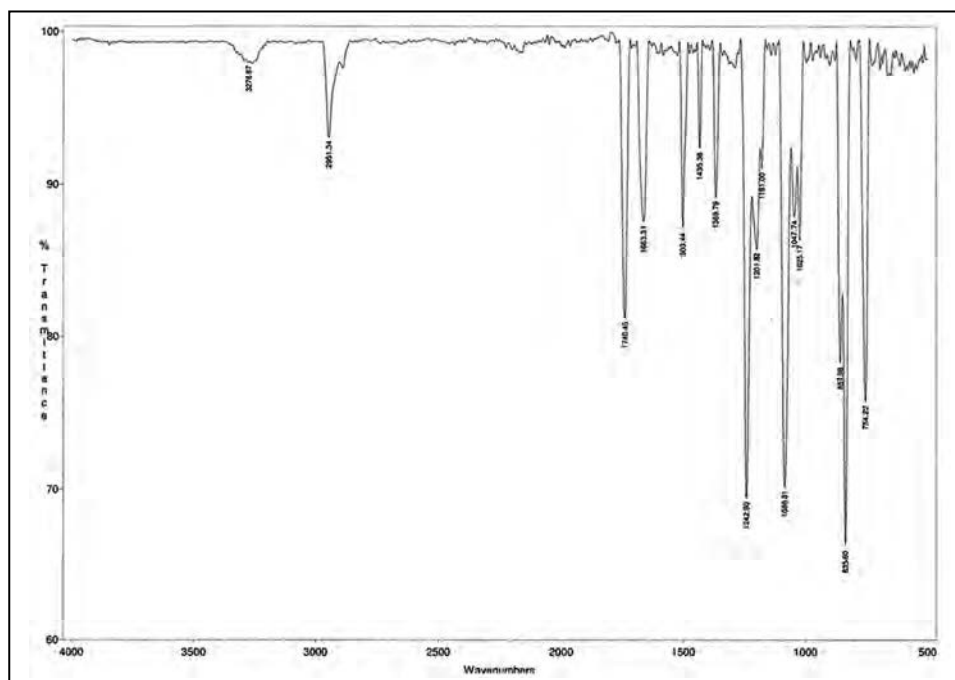
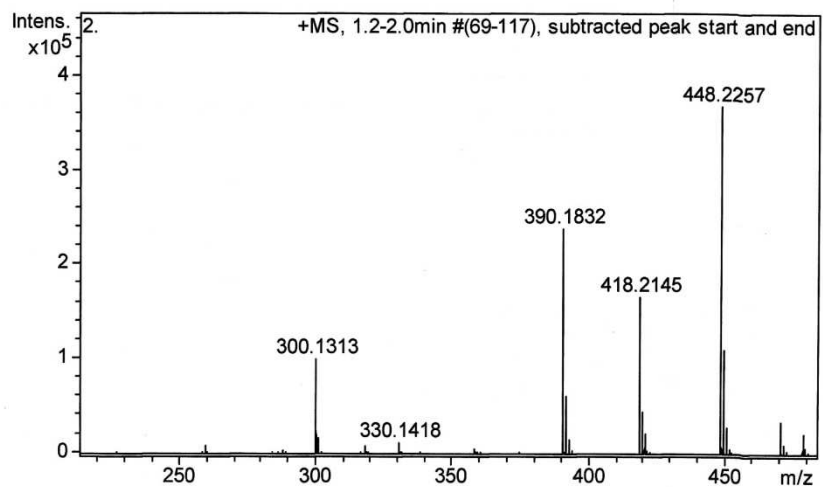


¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

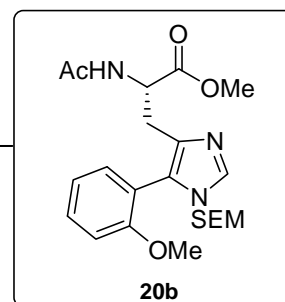


¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

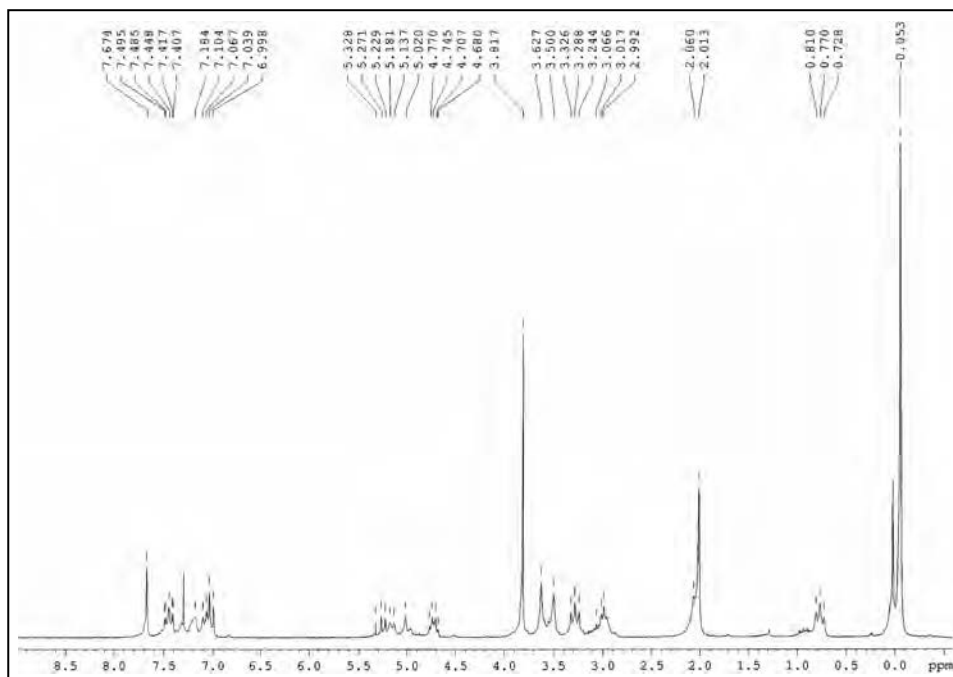


IR (neat) ν (cm^{-1})HRMS (ESI) m/z 

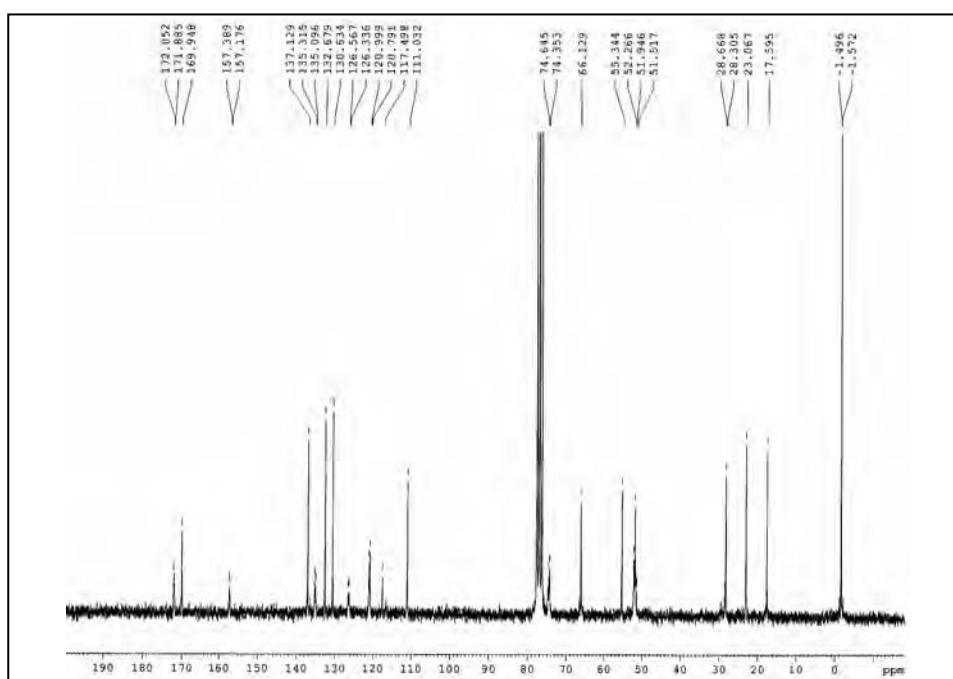
N(α)-Acetyl-5-(2-methoxyphenyl)-*N*(τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (**20b**)

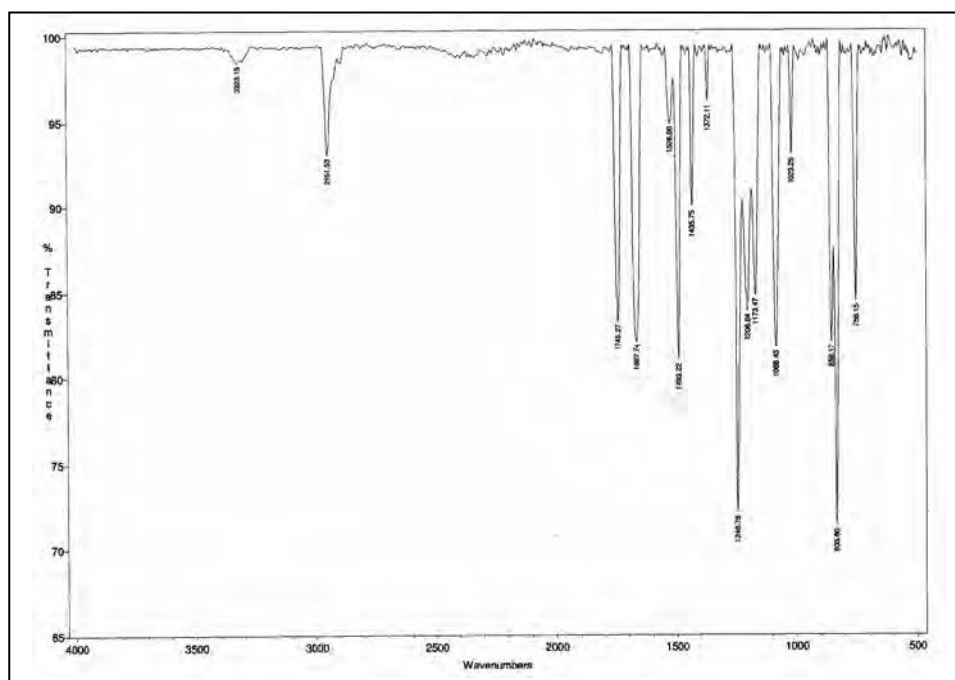
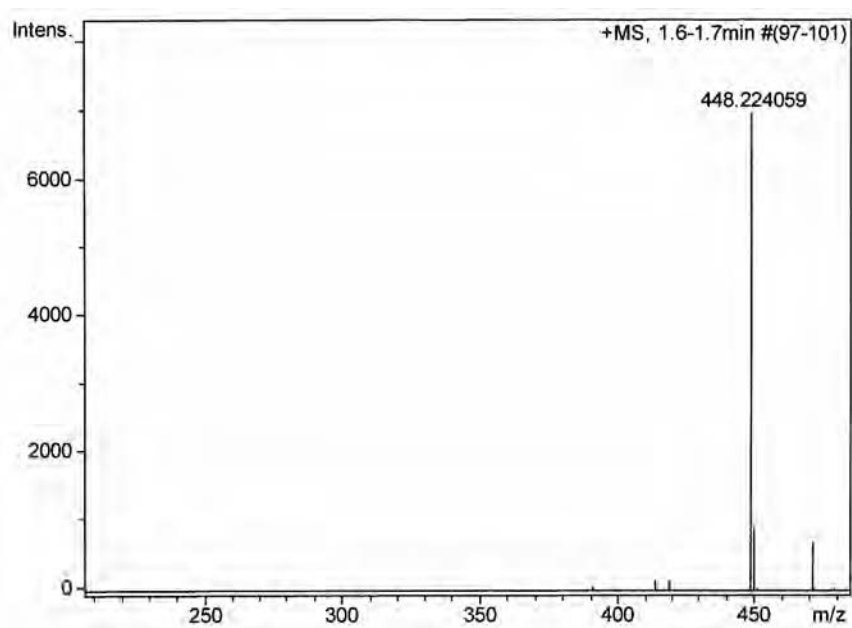


$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

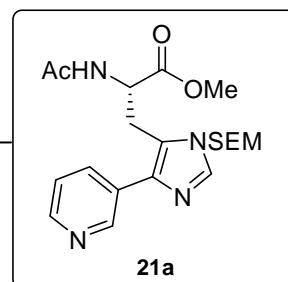


$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

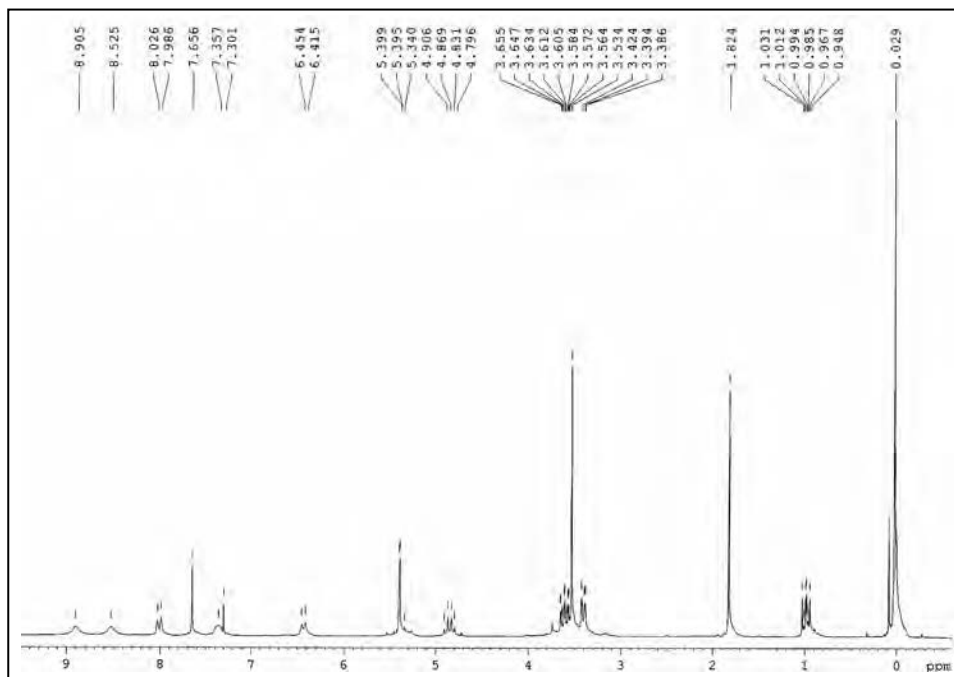


IR (neat) ν (cm^{-1})HRMS (ESI) m/z 

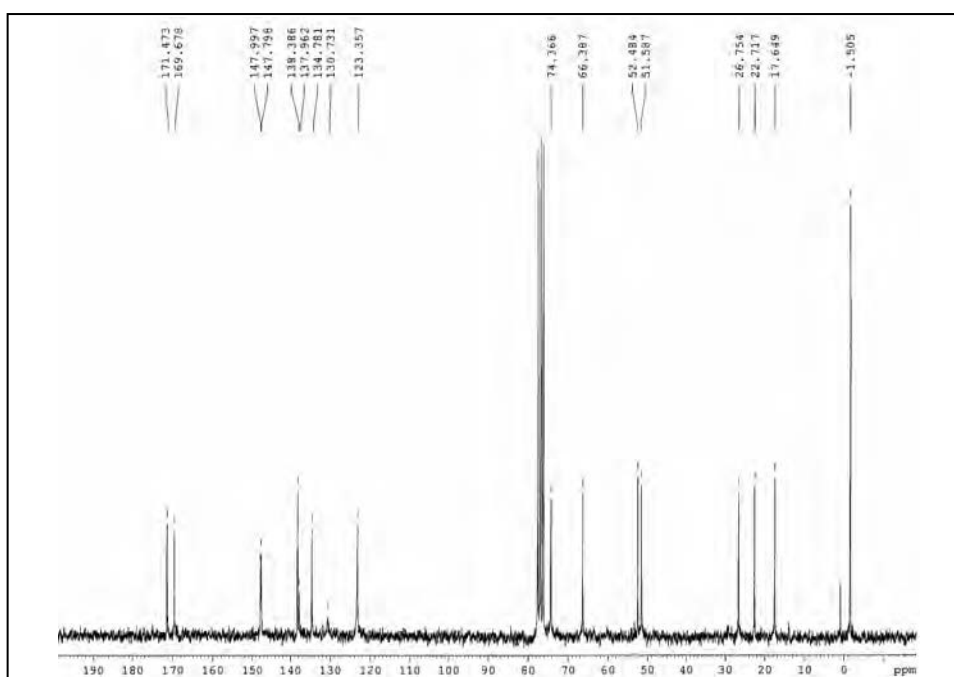
N(α)-Acetyl-5-(3-pyridyl)-*N*(π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (**21a**)

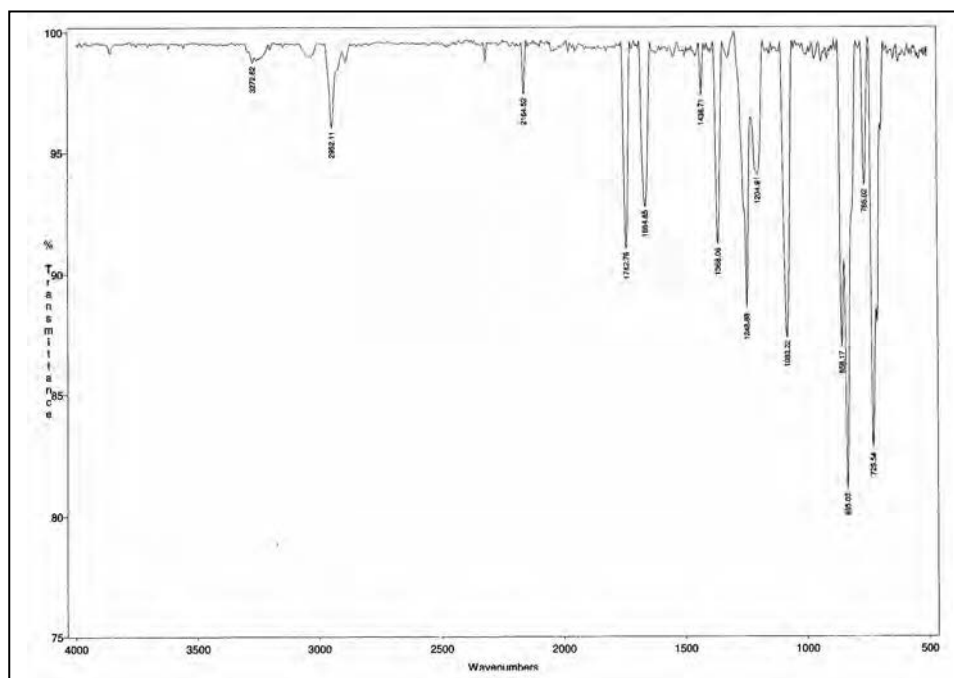
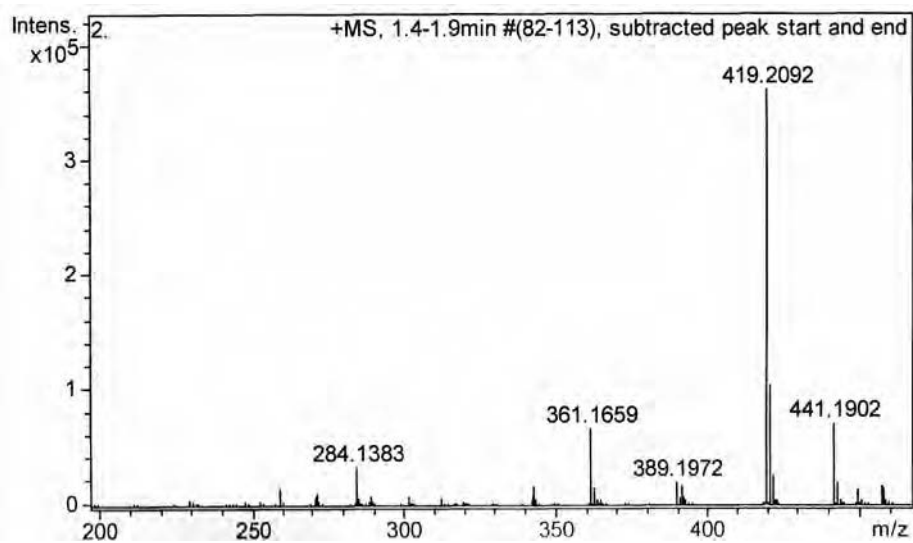


¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

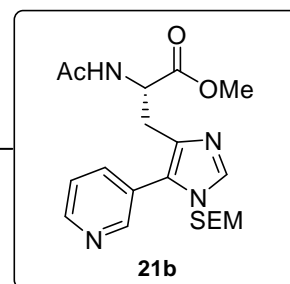


¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

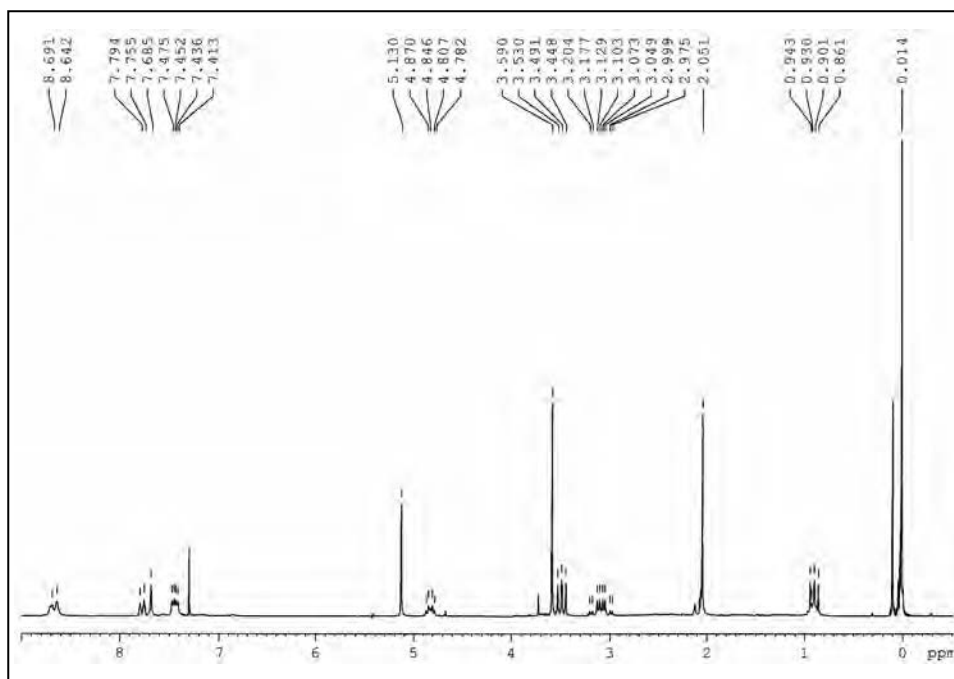


IR (neat) ν (cm^{-1})HRMS (ESI) m/z 

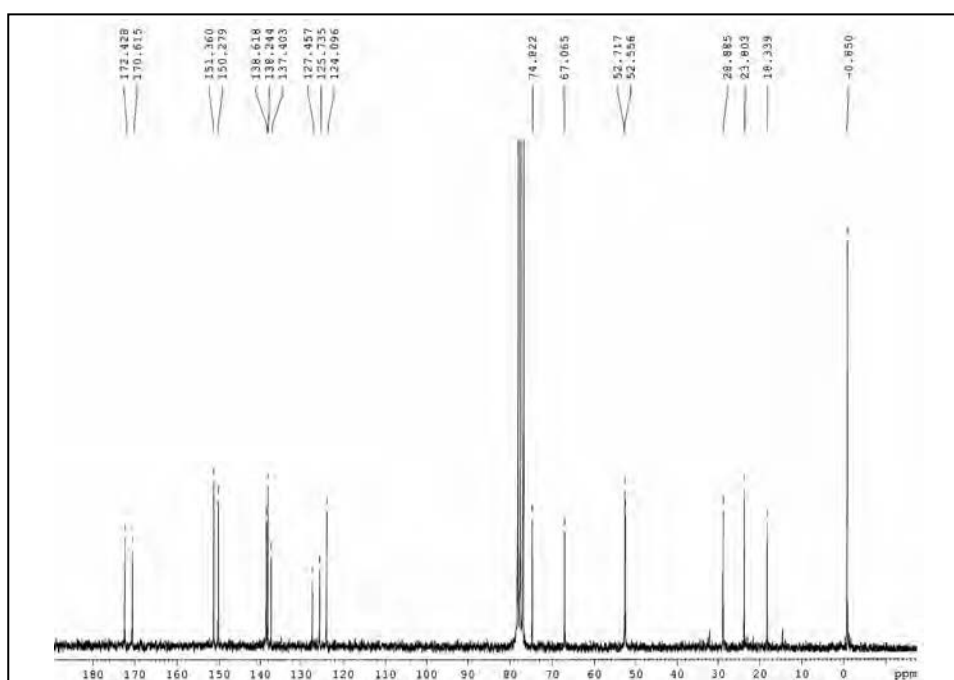
N(α)-Acetyl-5-(3-pyridyl)-*N*(τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (**21b**)

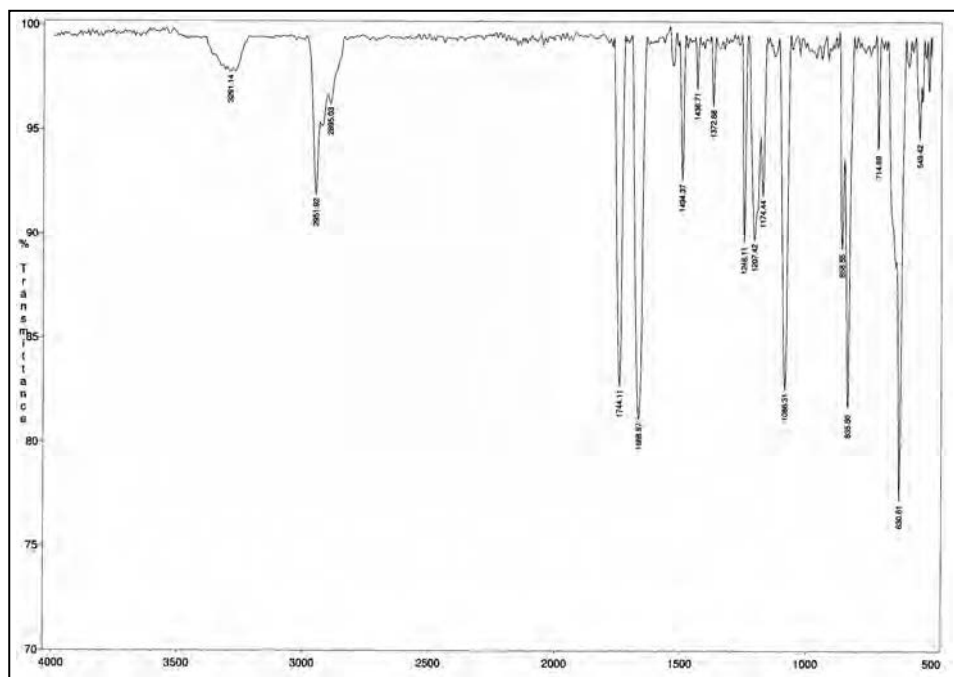
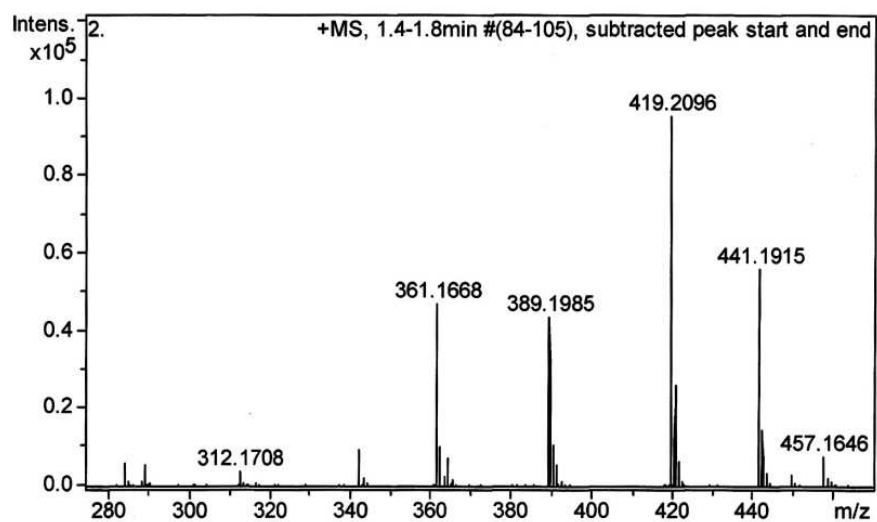


¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

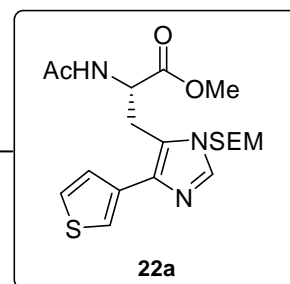


¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

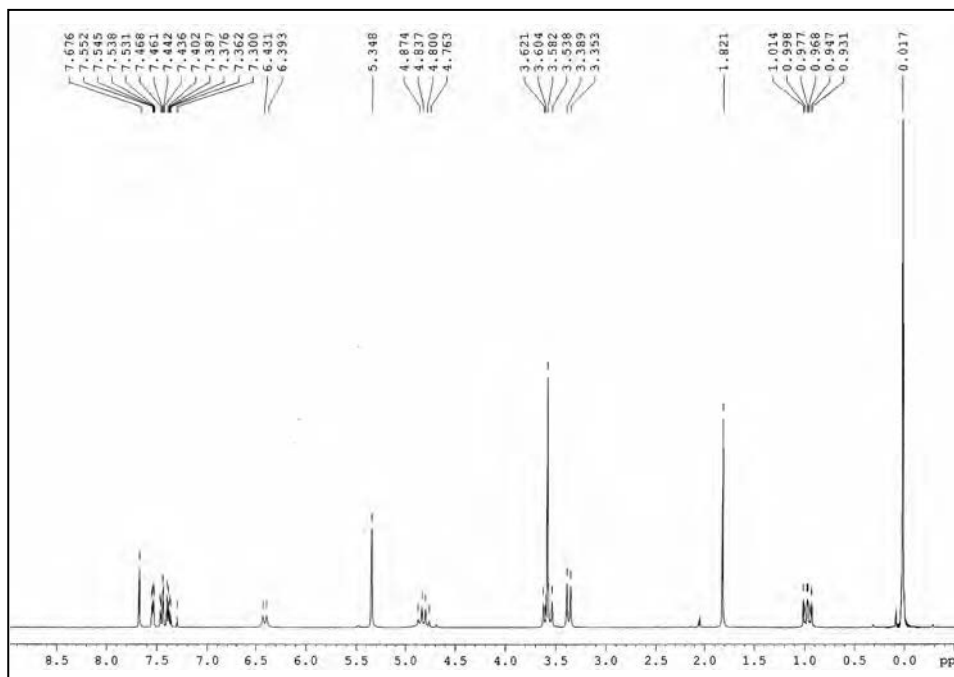


IR (neat) ν (cm^{-1})HRMS (ESI) m/z 

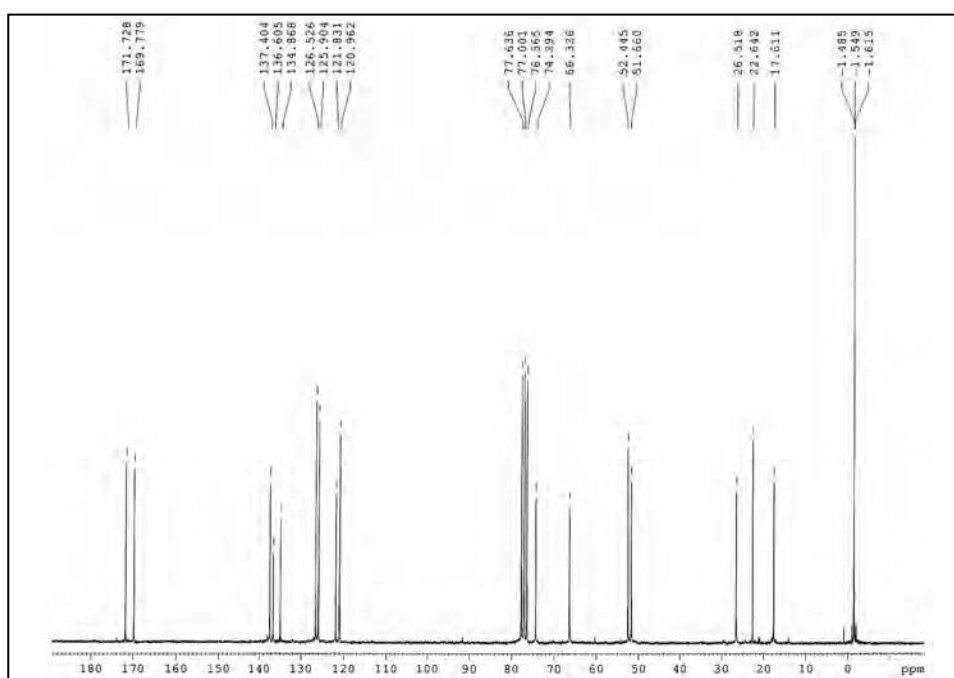
N(α)-Acetyl-5-(3-thienyl)-*N*(π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (**22a**)

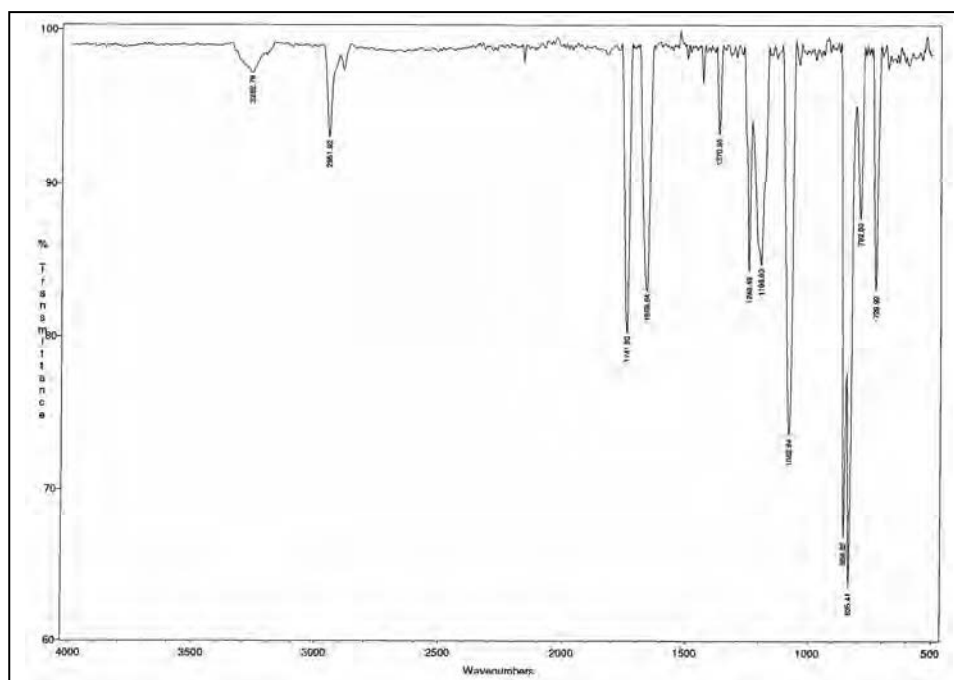
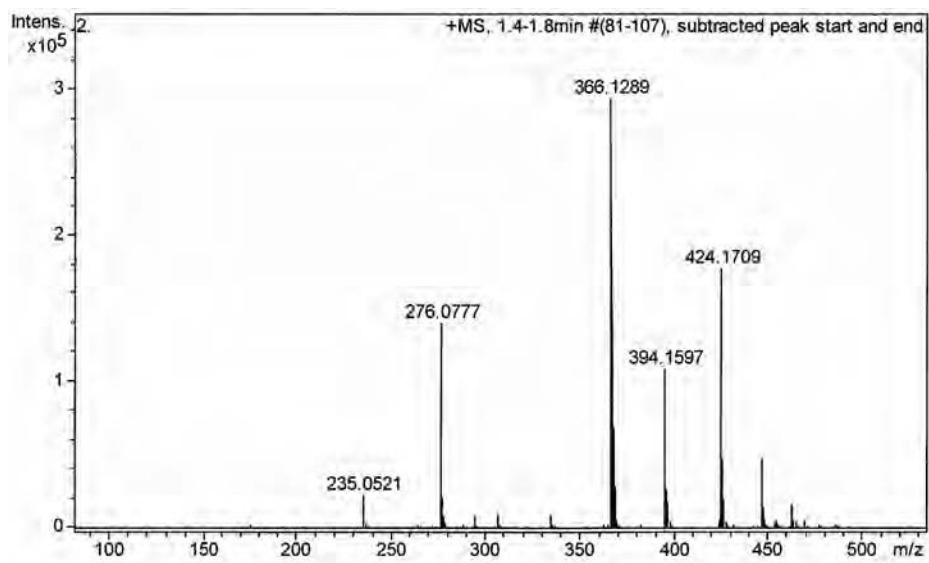


¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

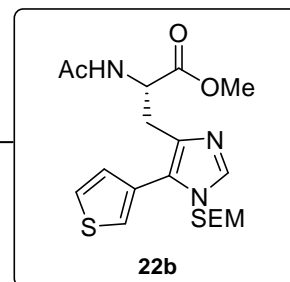


¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

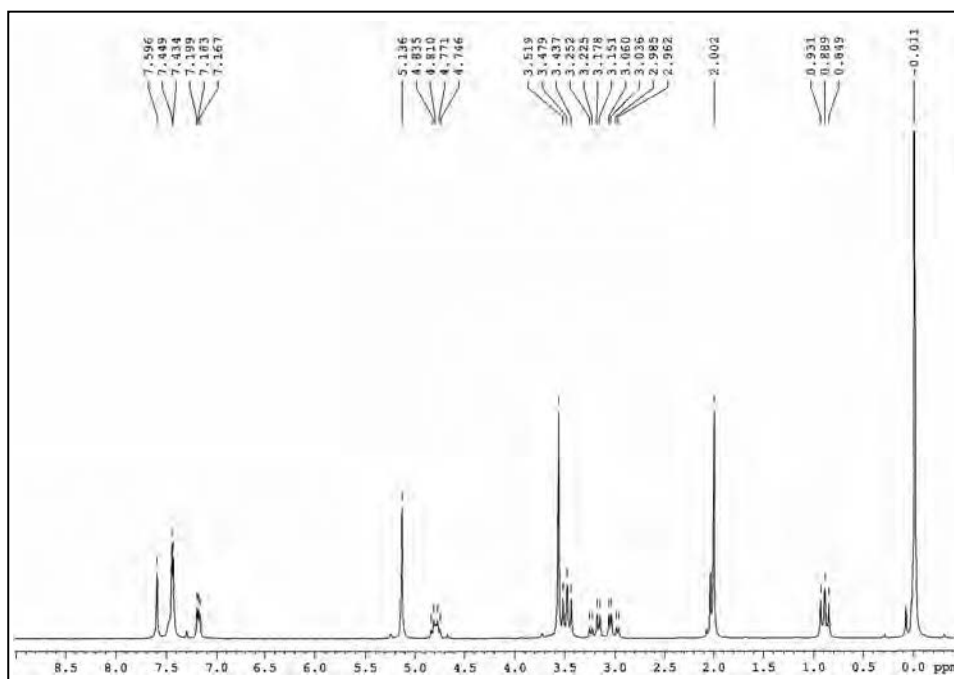


IR (neat) ν (cm^{-1})HRMS (ESI) m/z 

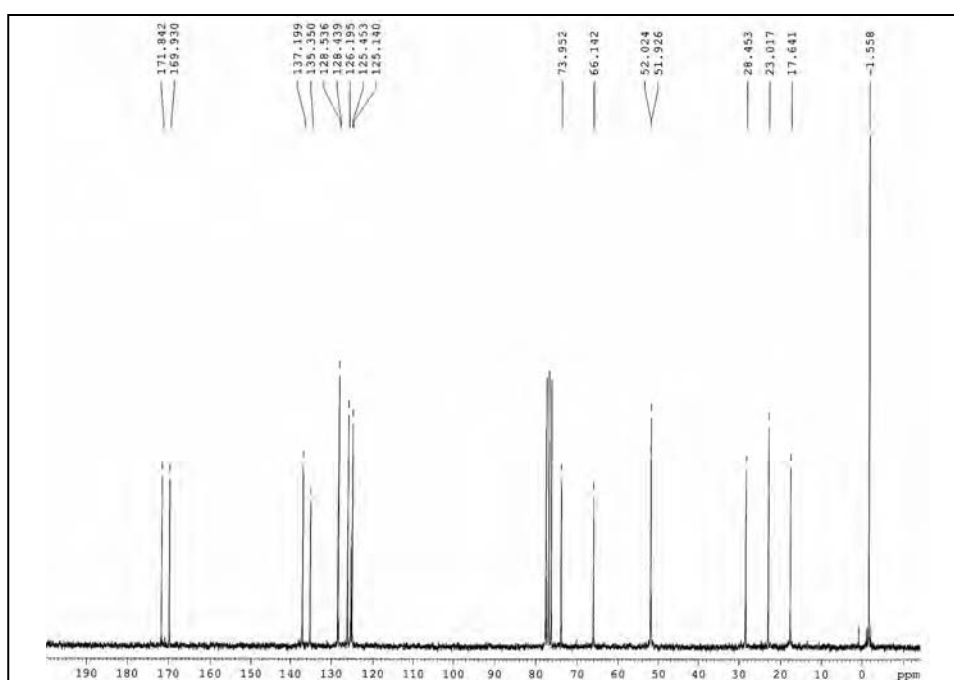
N(α)-Acetyl-5-(3-thienyl)-*N*(τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (**22b**)

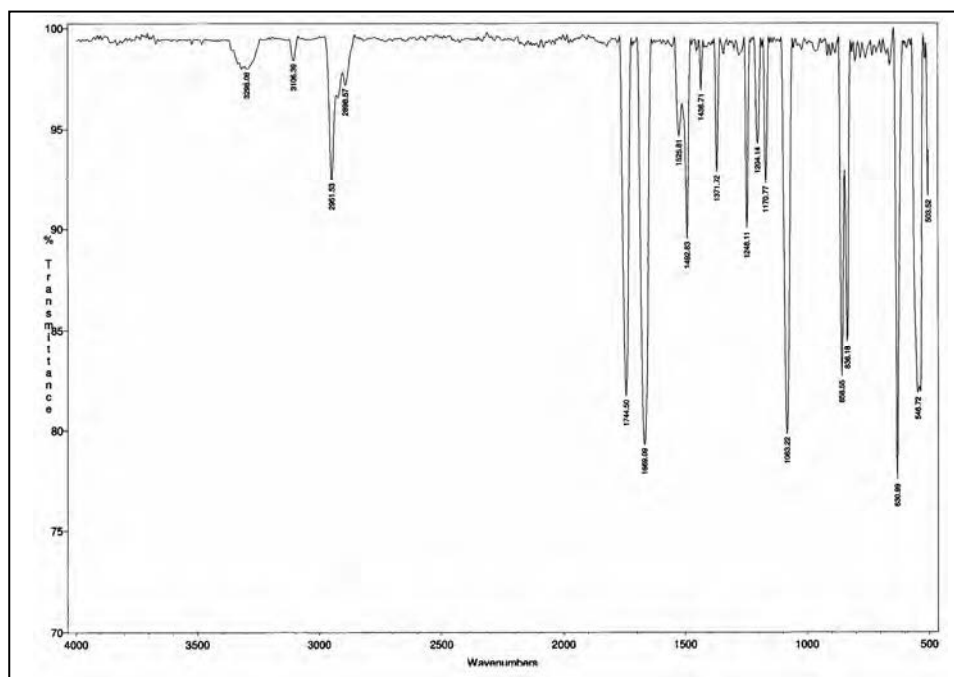
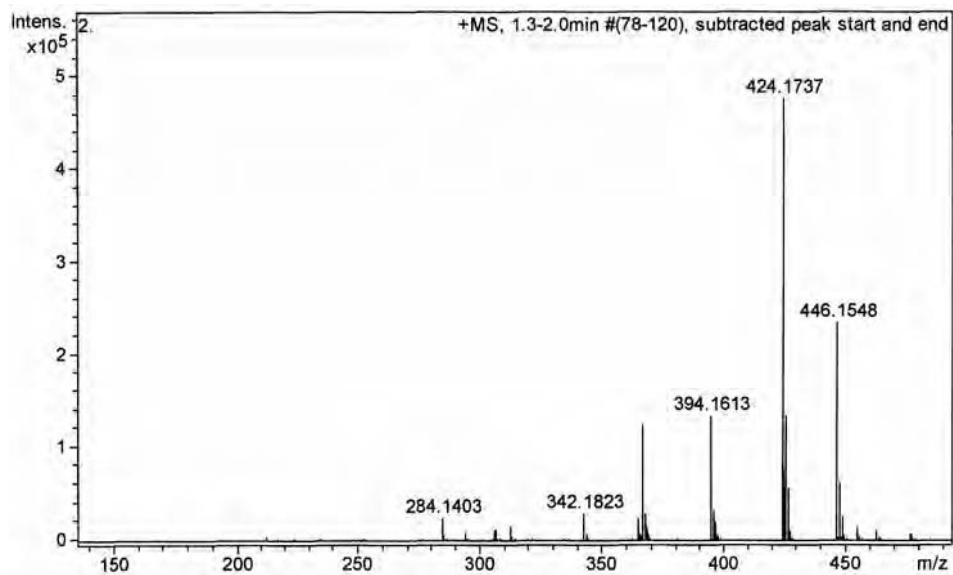


¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

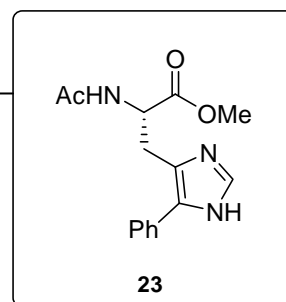


¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

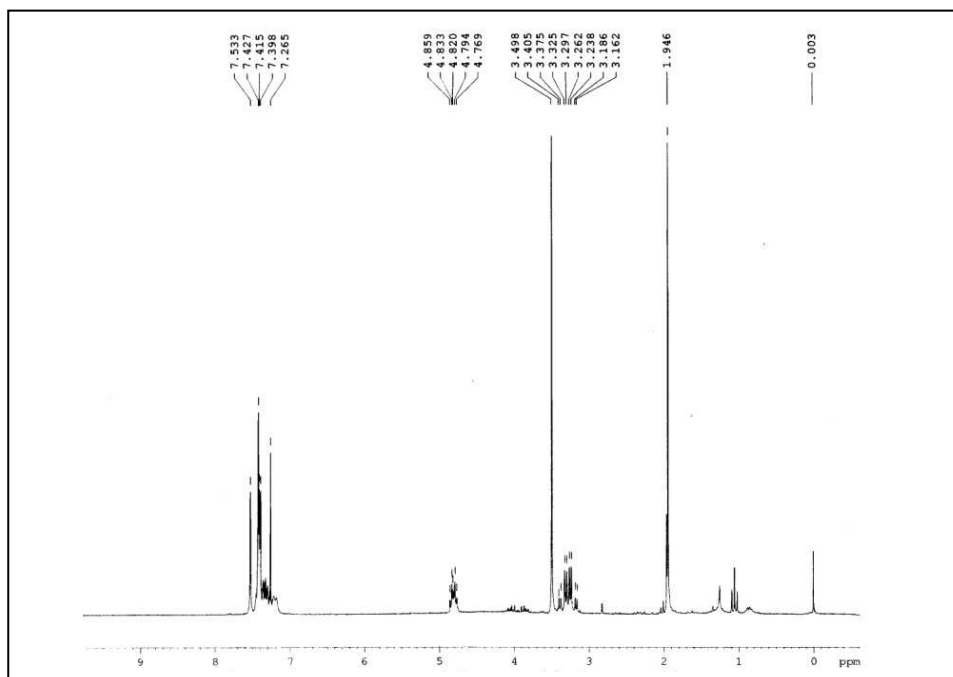


IR (neat) ν (cm^{-1})HRMS (ESI) m/z 

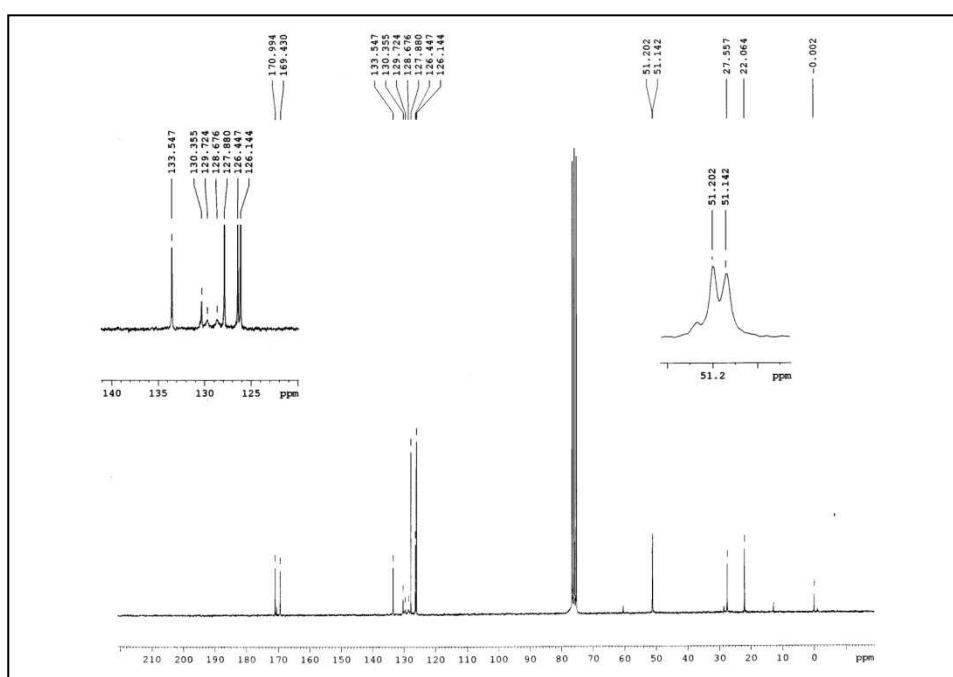
N(α)-Acetyl-5-phenyl-L-histidine methyl ester (**23**)

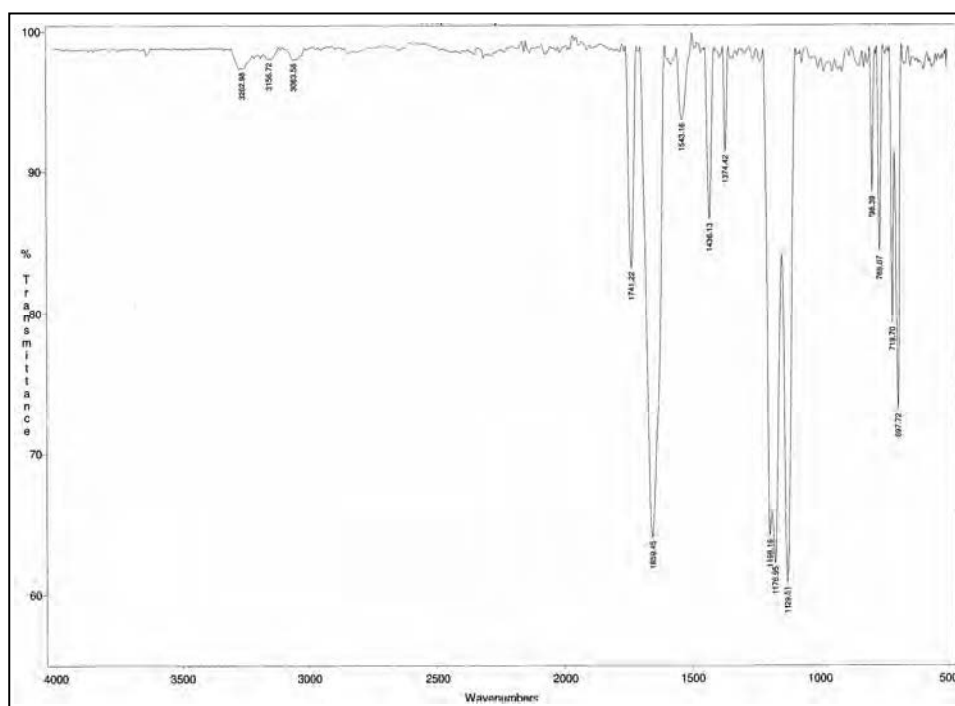
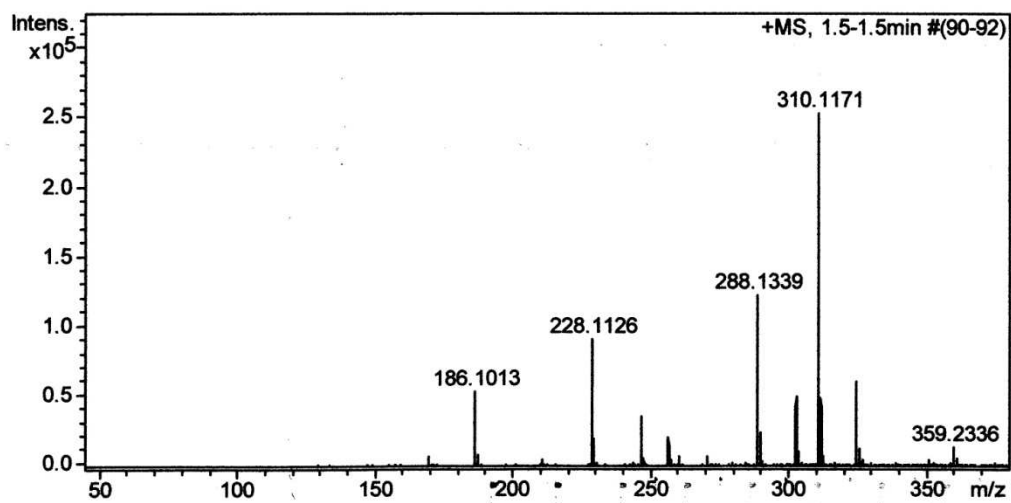


$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

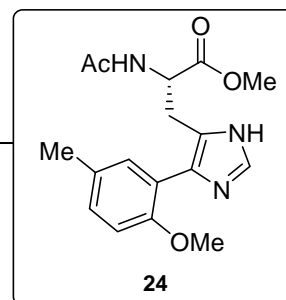


$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

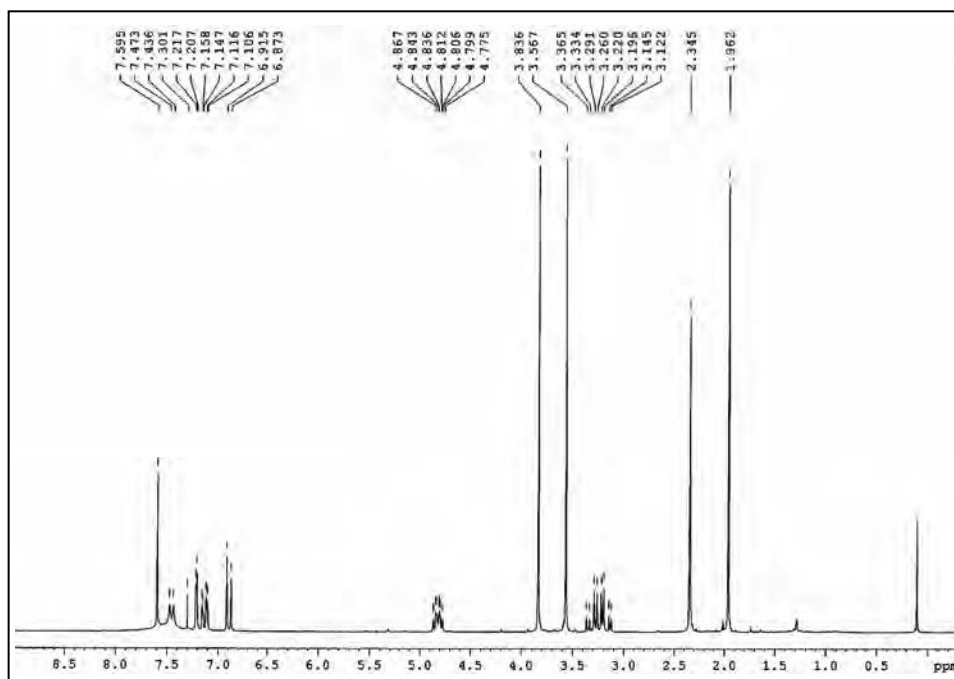


IR (neat) ν (cm^{-1})HRMS (ESI) m/z 

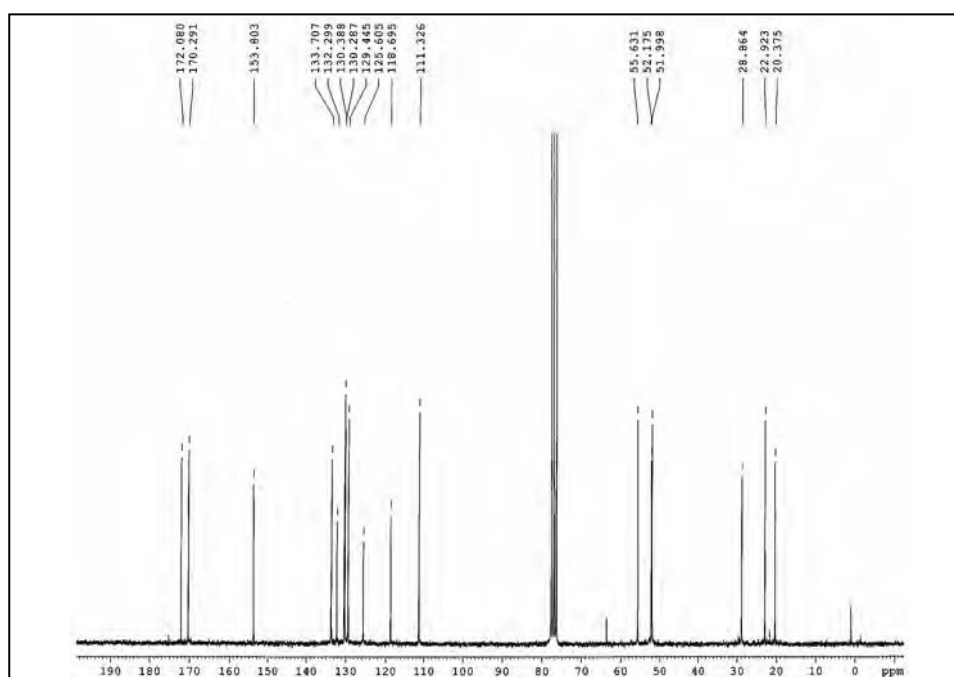
N(α)-Acetyl-5-(5-methyl-2-methoxyphenyl)-L-histidine methyl ester (**24**)

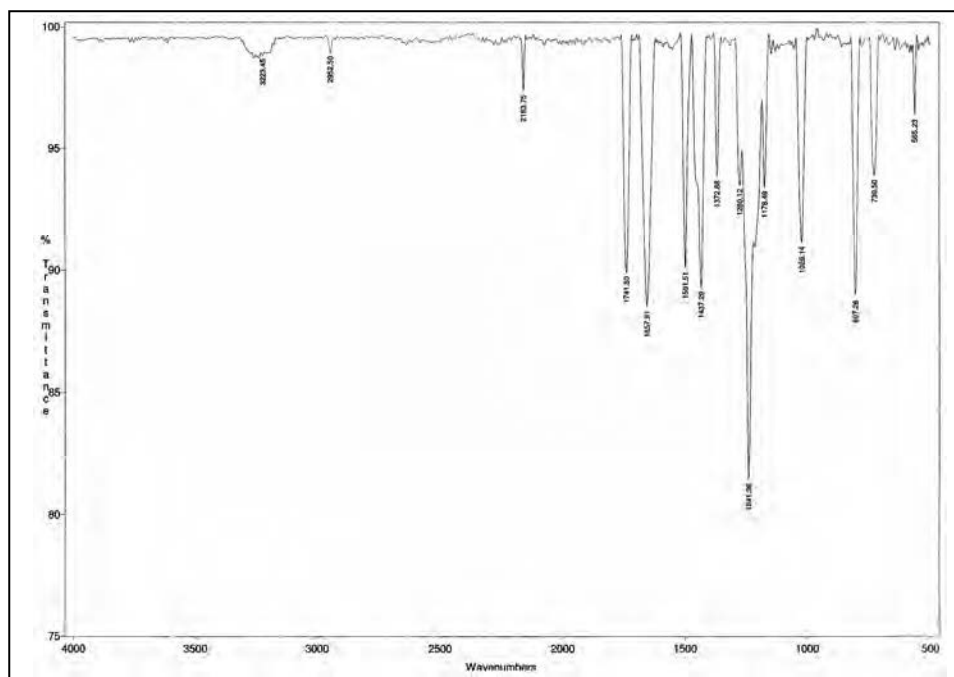
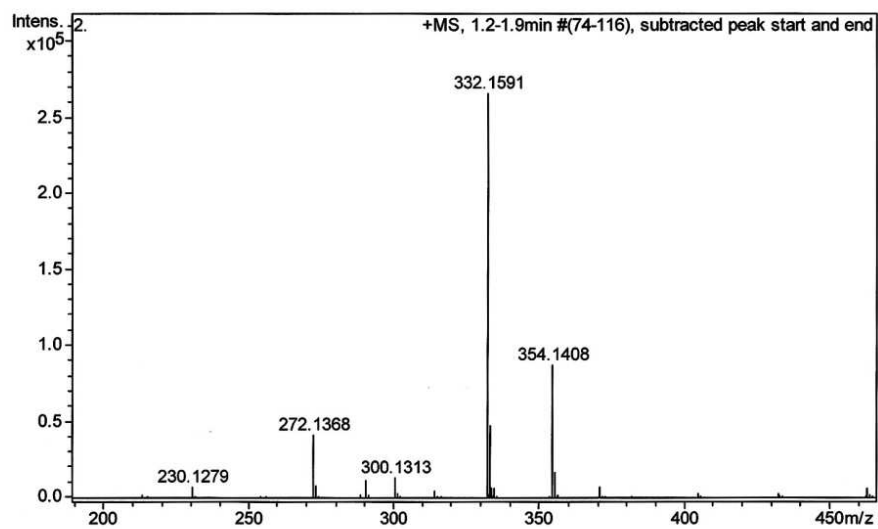


$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

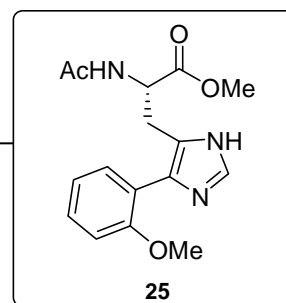


$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

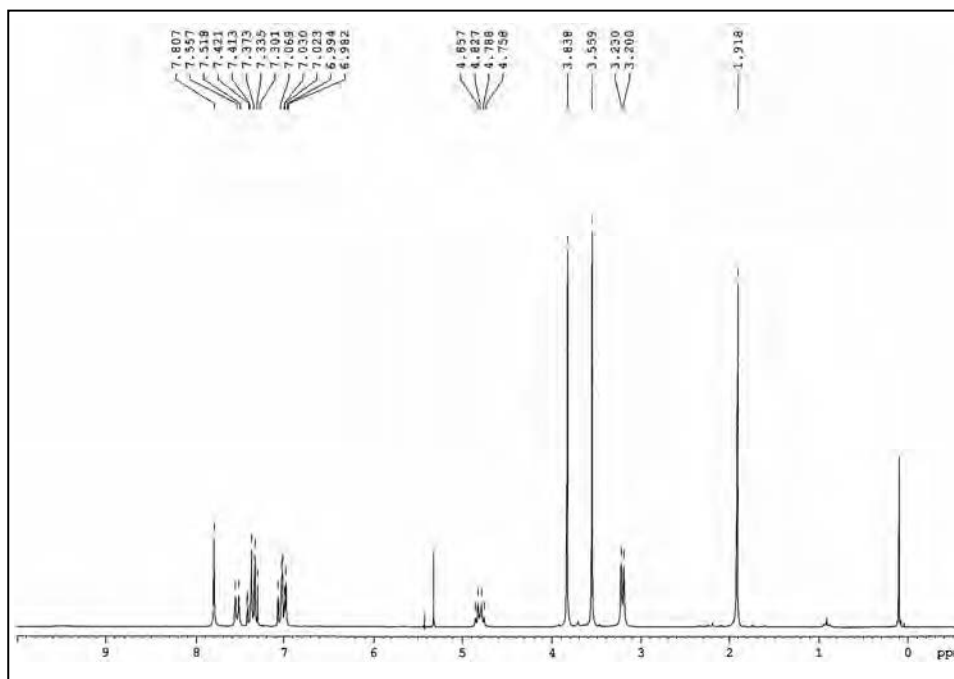


IR (neat) ν (cm^{-1})HRMS (ESI) m/z 

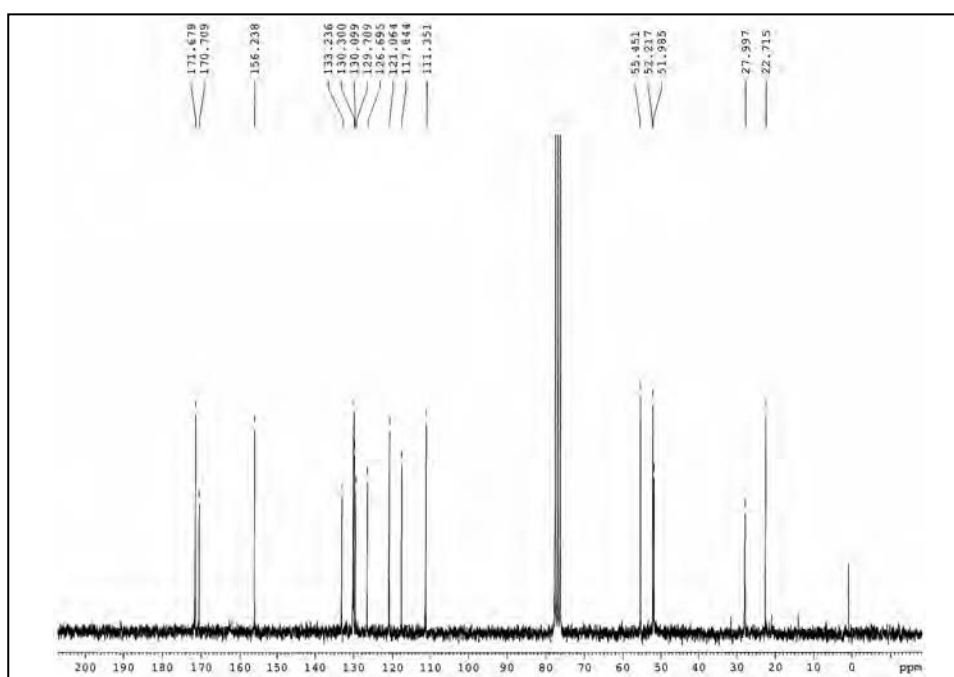
N(α)-Acetyl-5-(2-methoxyphenyl)-L-histidine methyl ester (**25**)

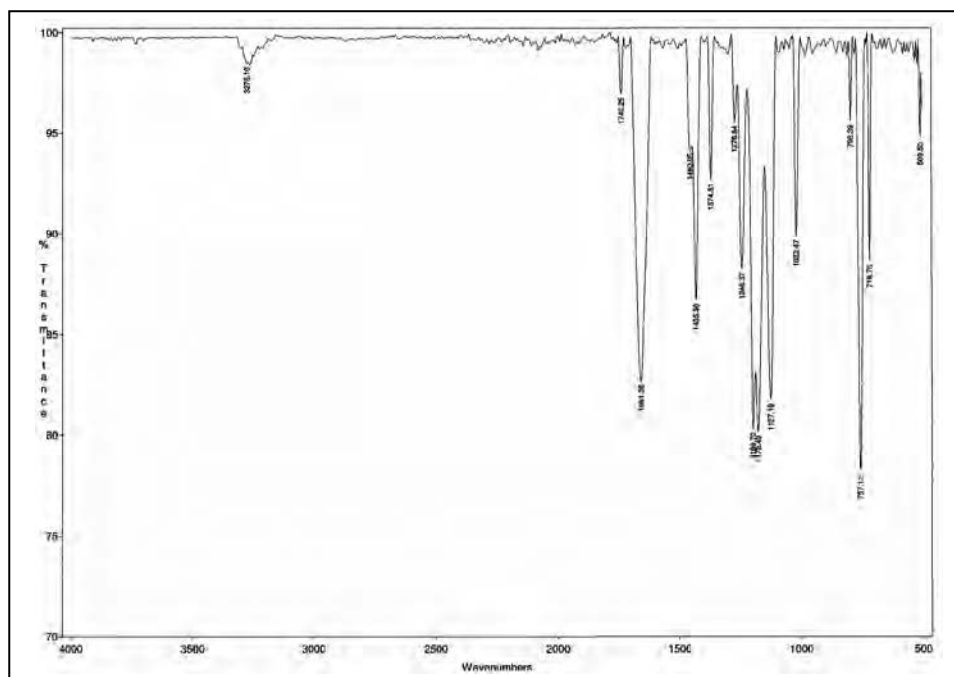
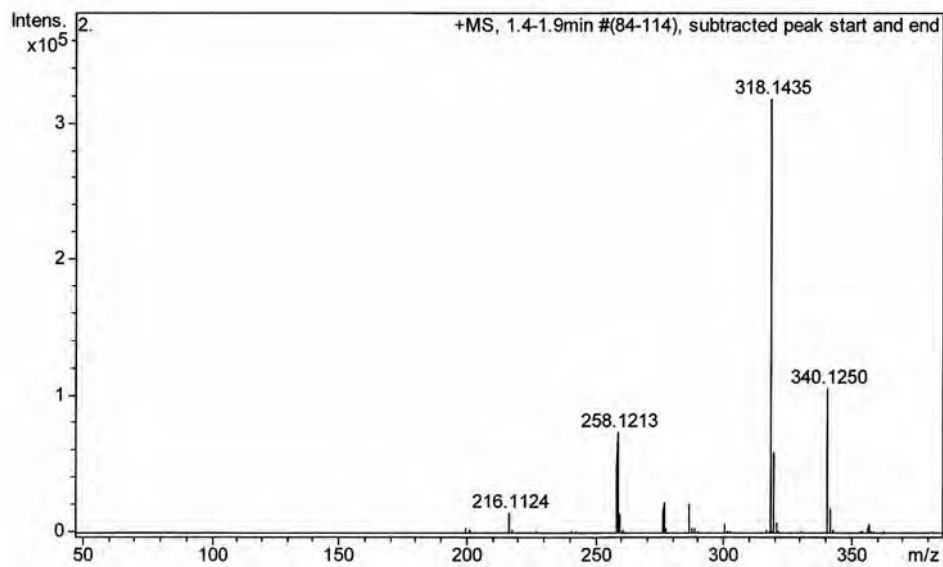


$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

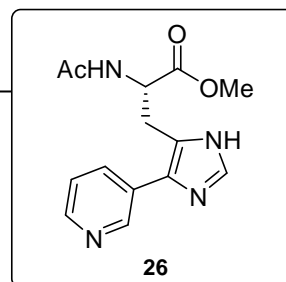


$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

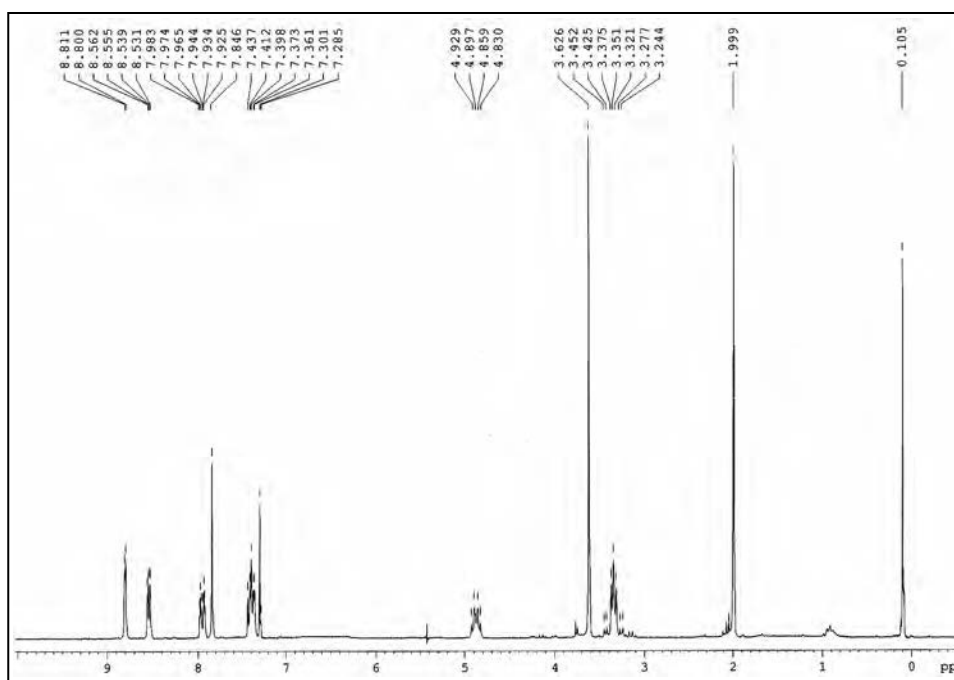


IR (neat) ν (cm^{-1})HRMS (ESI) m/z 

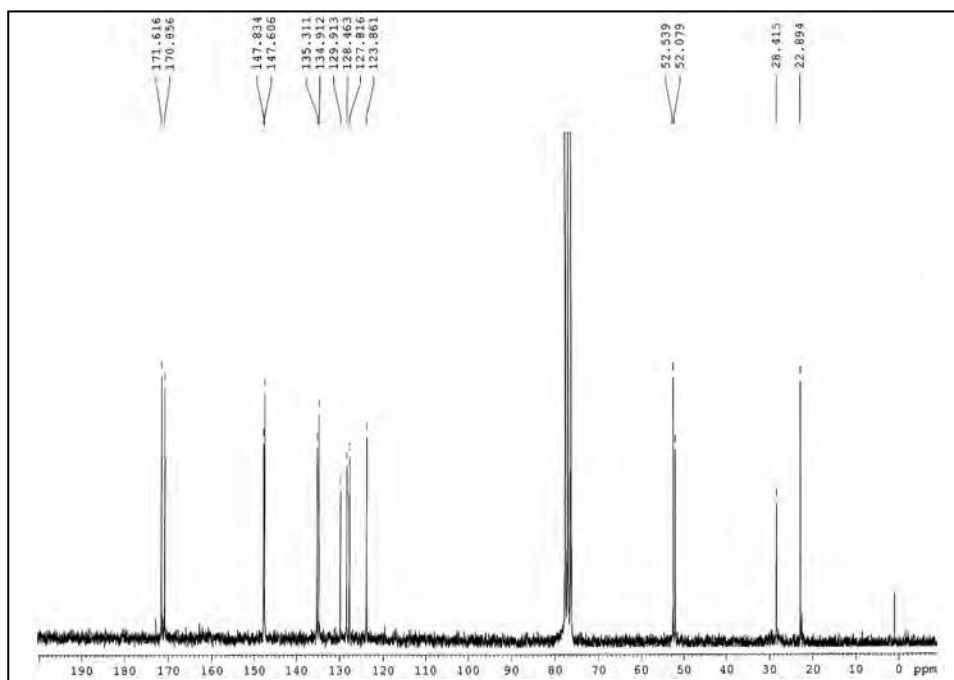
N(α)-Acetyl-5-(3-pyridyl)-L-histidine methyl ester (**26**)

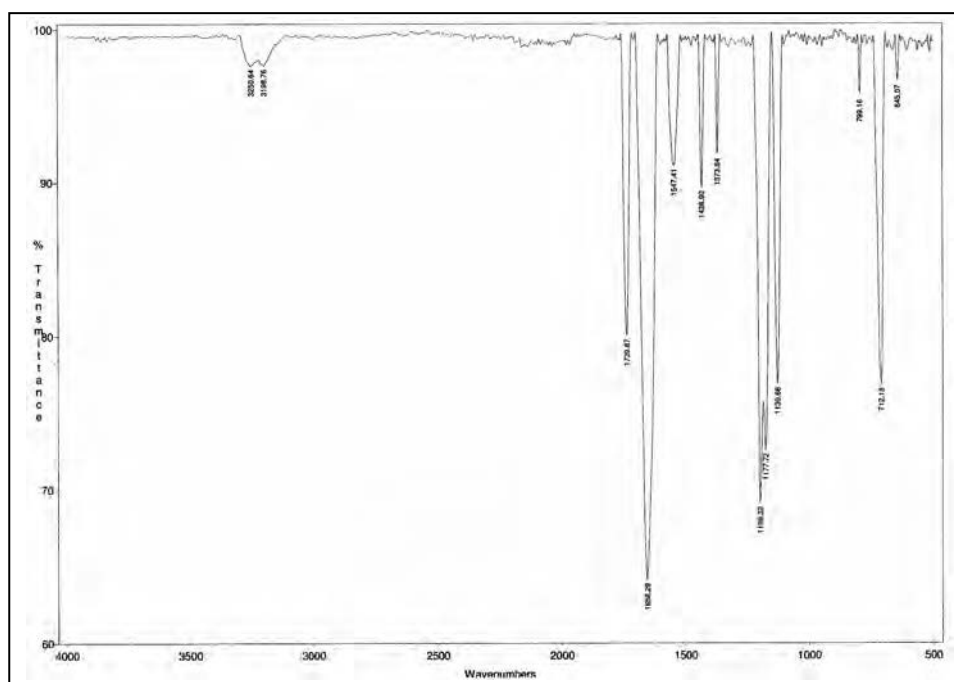
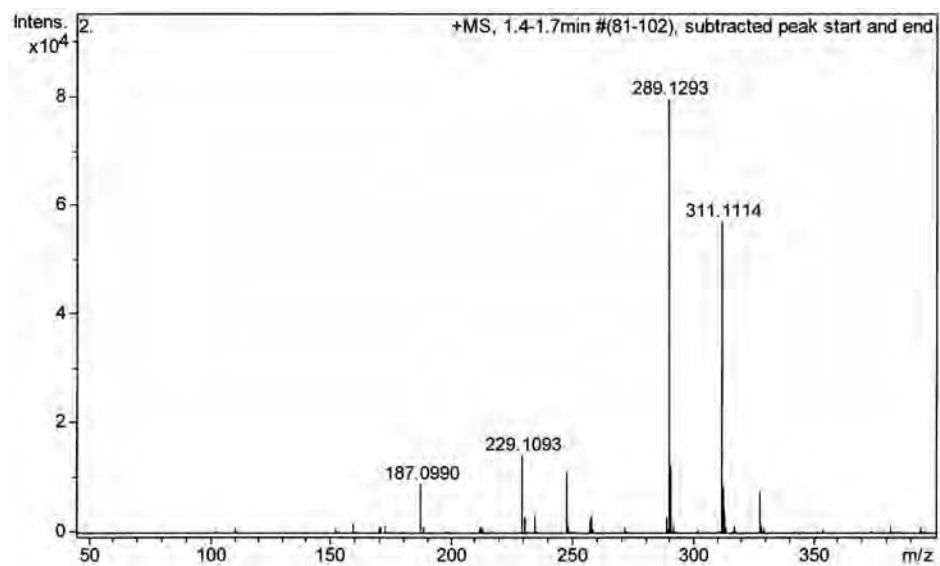


$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

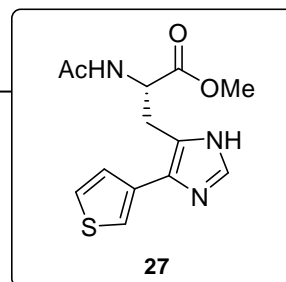


$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

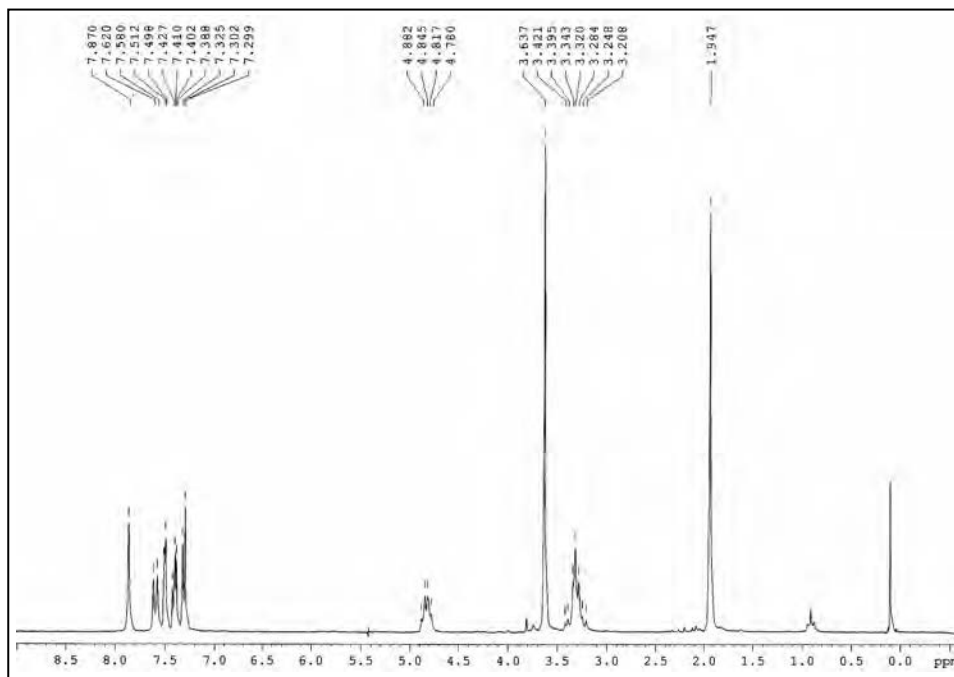


IR (neat) ν (cm^{-1})HRMS (ESI) m/z 

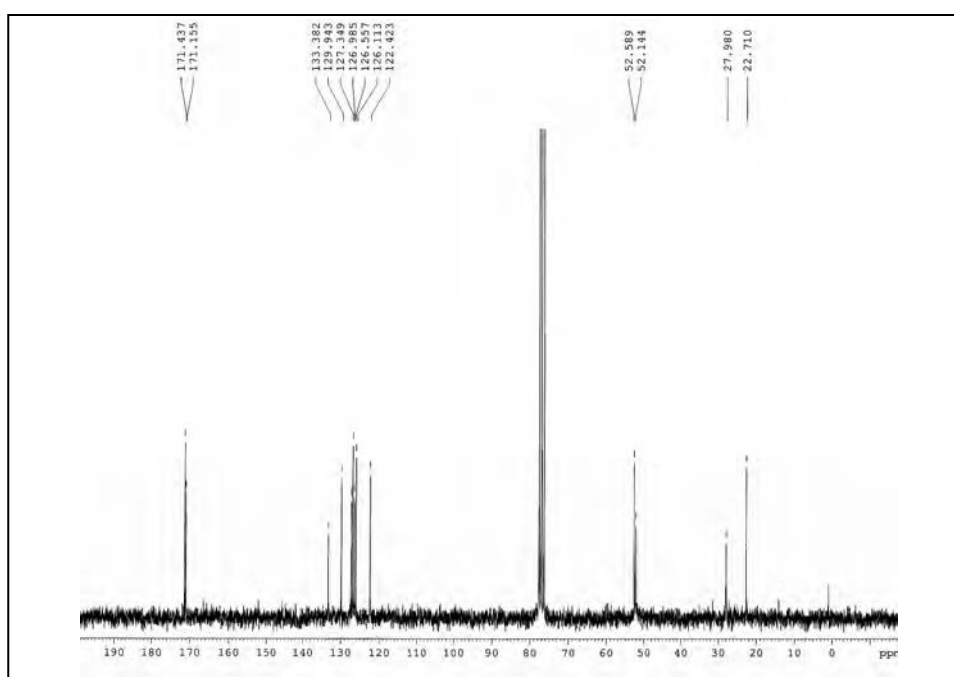
N(α)-Acetyl-5-(3-thienyl)-L-histidine methyl ester (**27**)

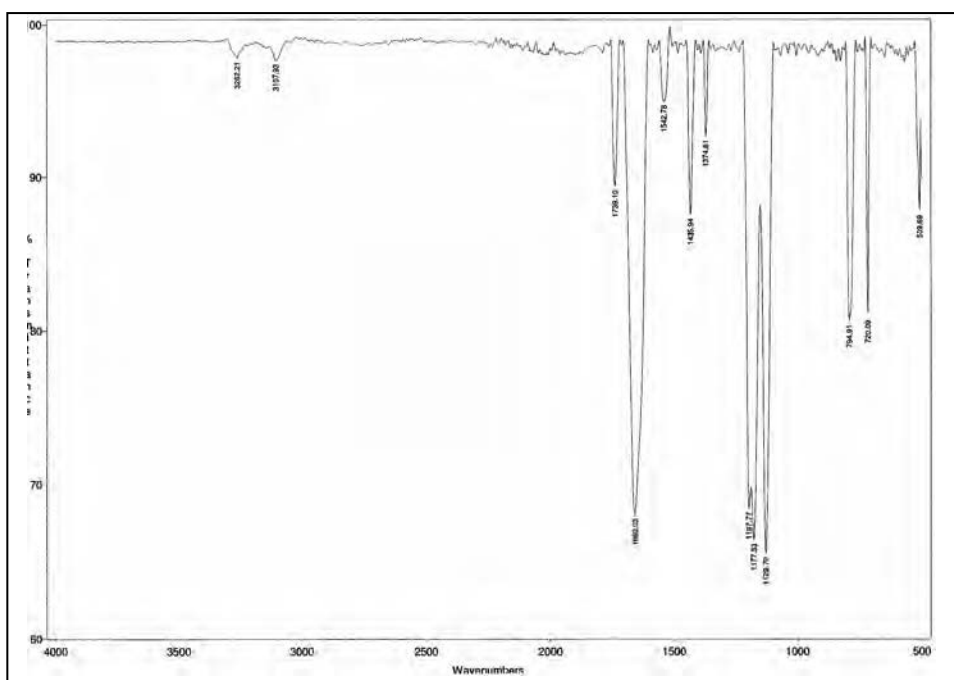
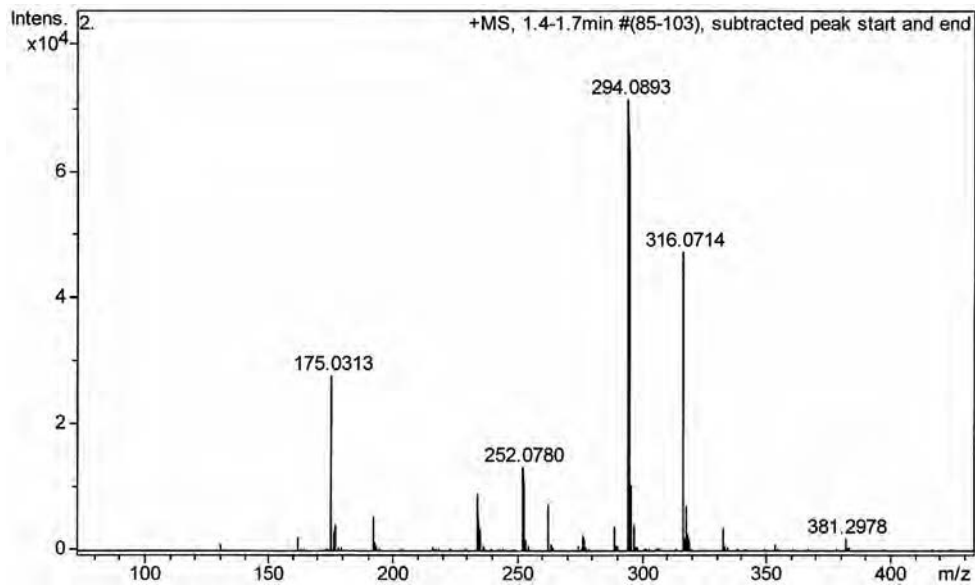


¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

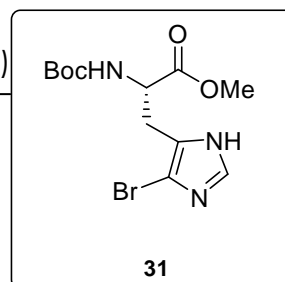


¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm)

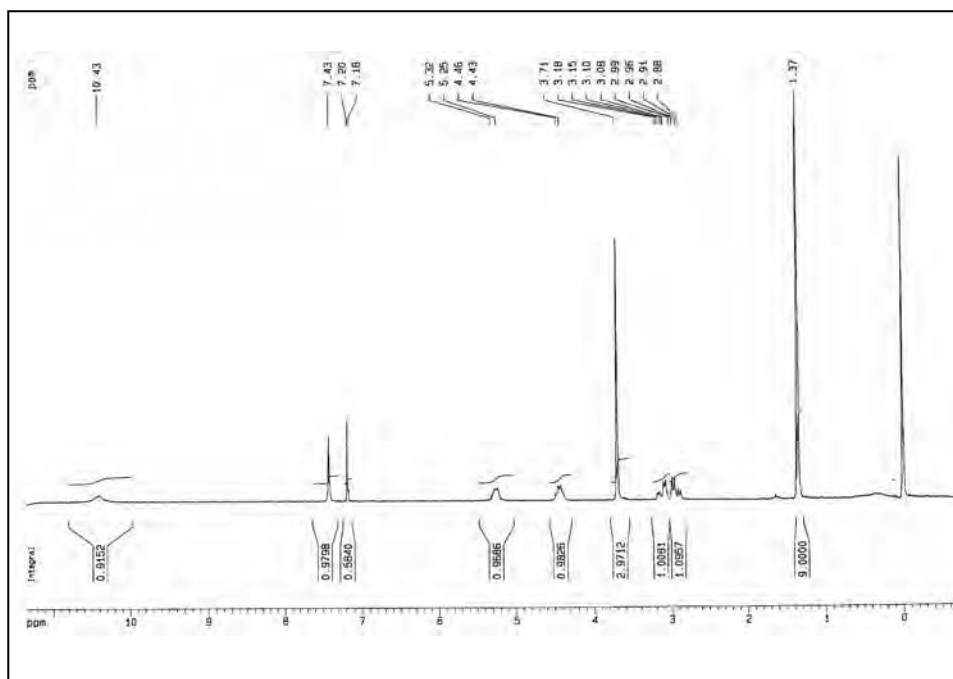


IR (neat) ν (cm^{-1})HRMS (ESI) m/z 

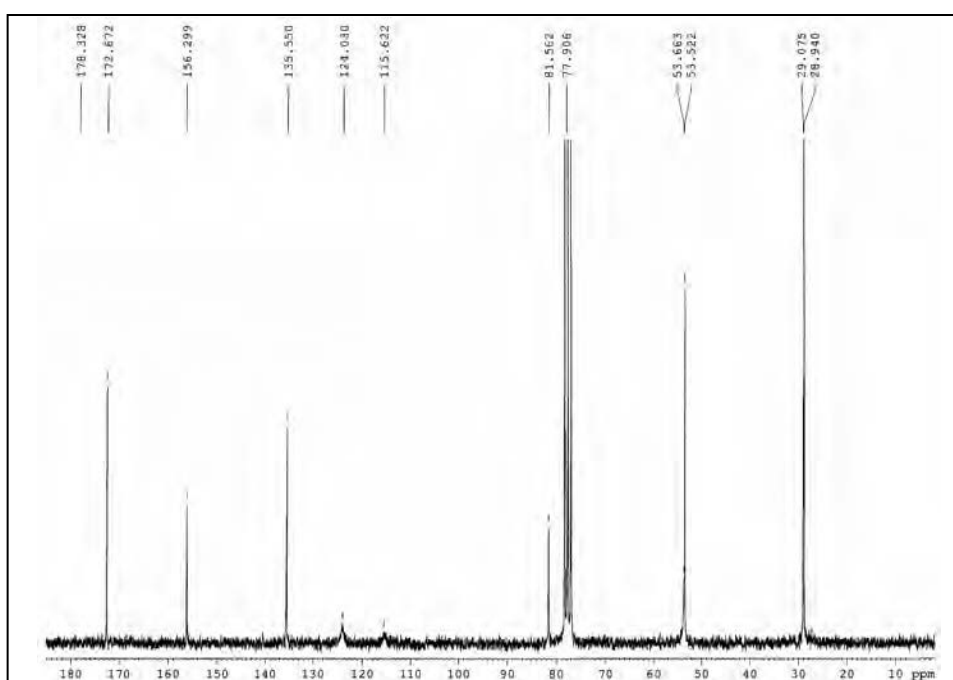
N(α)-*t*-butoxycarbonyl-5-bromo-L-histidine methyl ester (**31**)

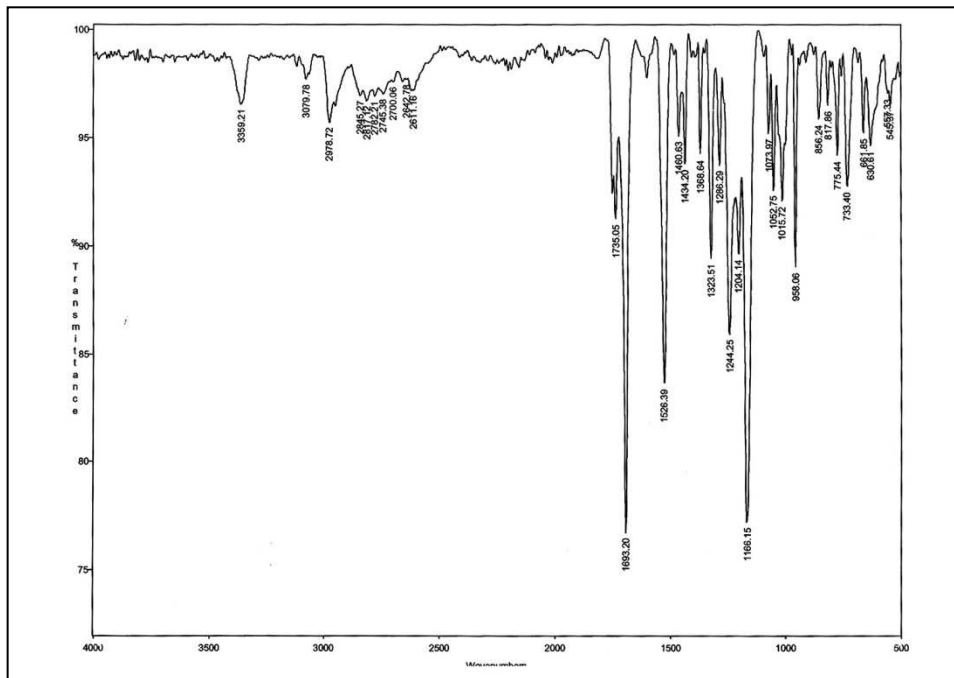
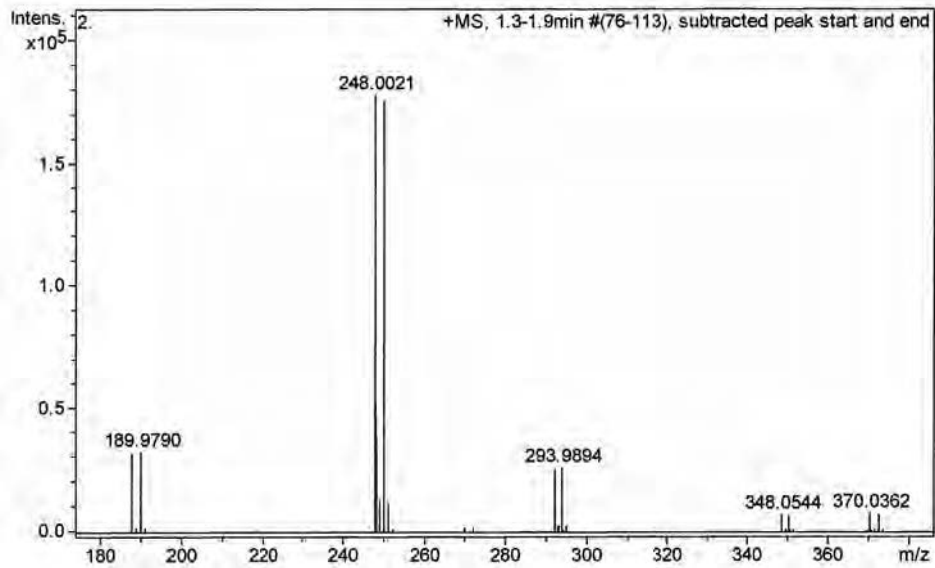


$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm)



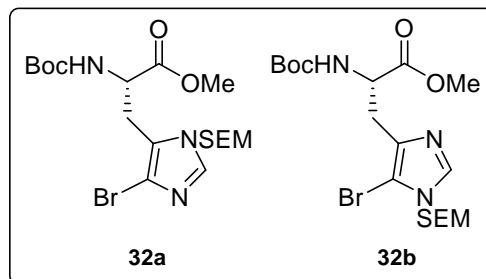
$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm)



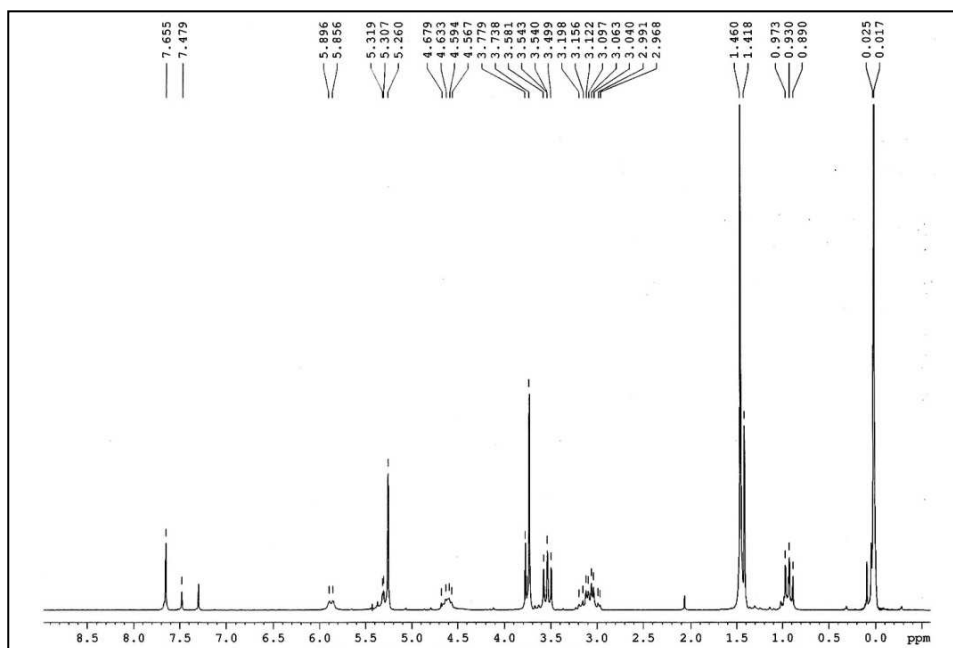
IR (neat) ν (cm^{-1})HRMS (ESI) m/z 

5-Bromo-*N*(α)-*t*-butoxycarbonyl-*N*(π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (**32a**)

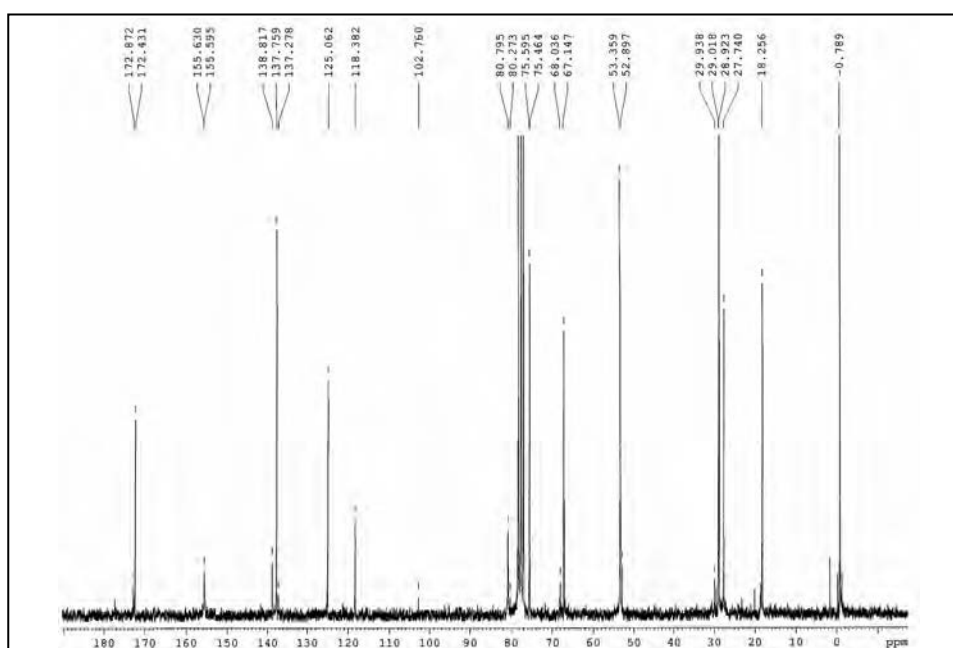
5-Bromo-*N*(α)-*t*-butoxycarbonyl-*N*(τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine methyl ester (**32b**)

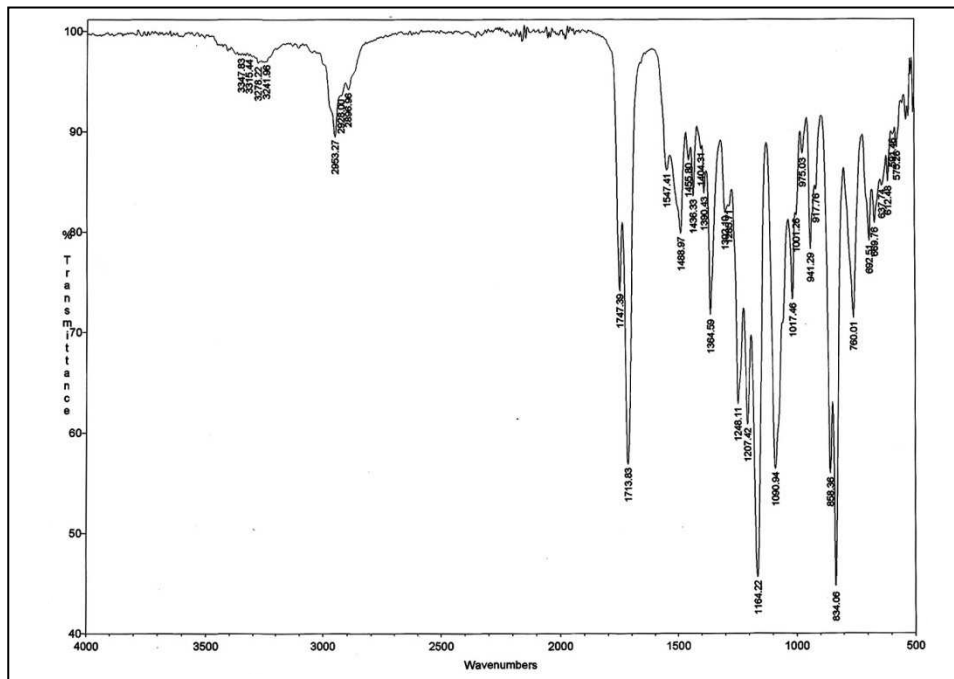
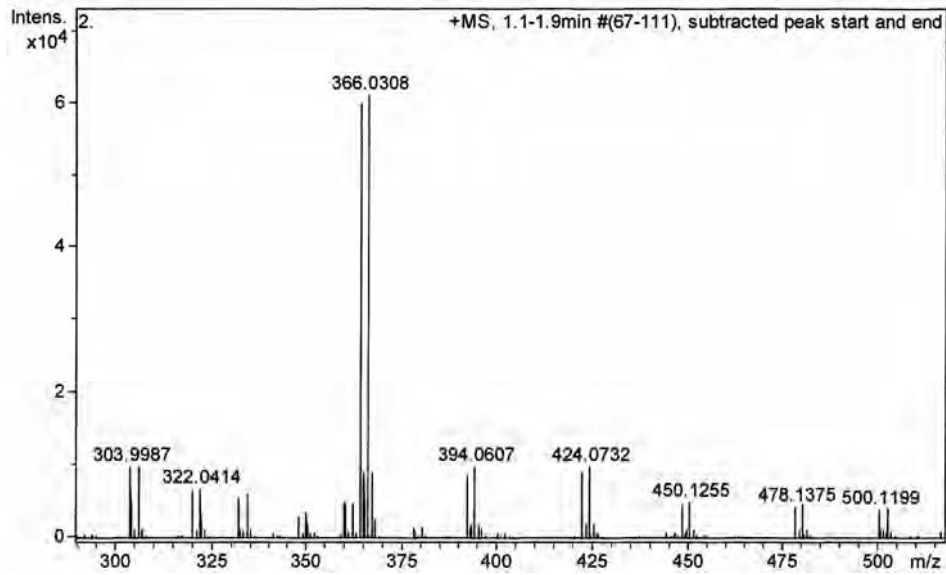


¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm)



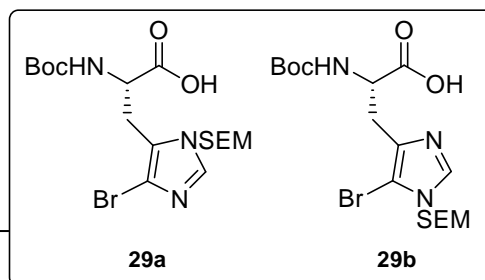
¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm)



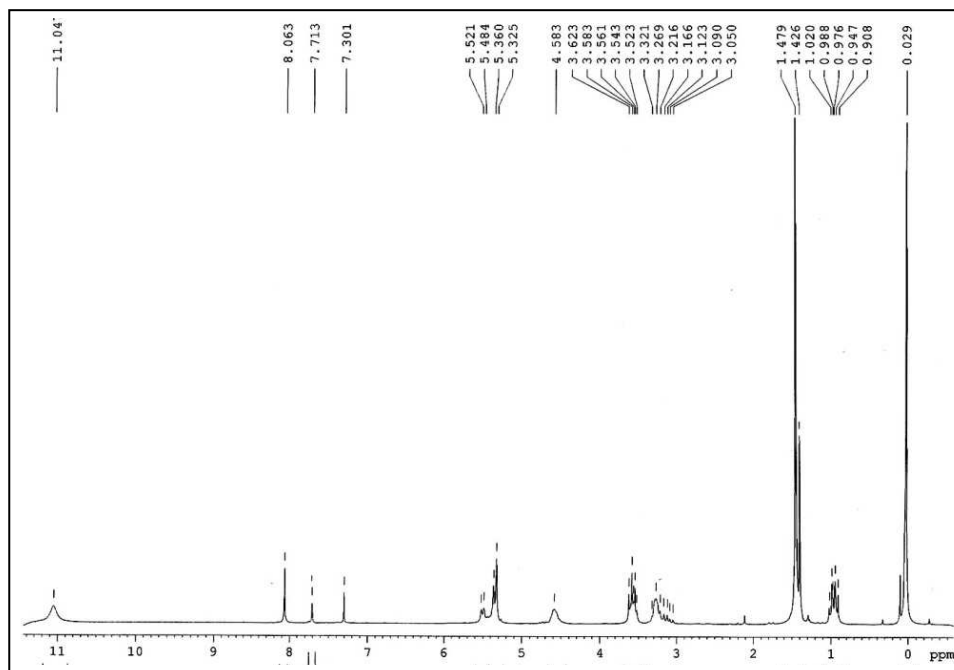
IR (neat) ν (cm^{-1})HRMS (ESI) m/z 

5-Bromo-*N*(α)-*t*-butoxycarbonyl-*N*(π)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine (**29a**)

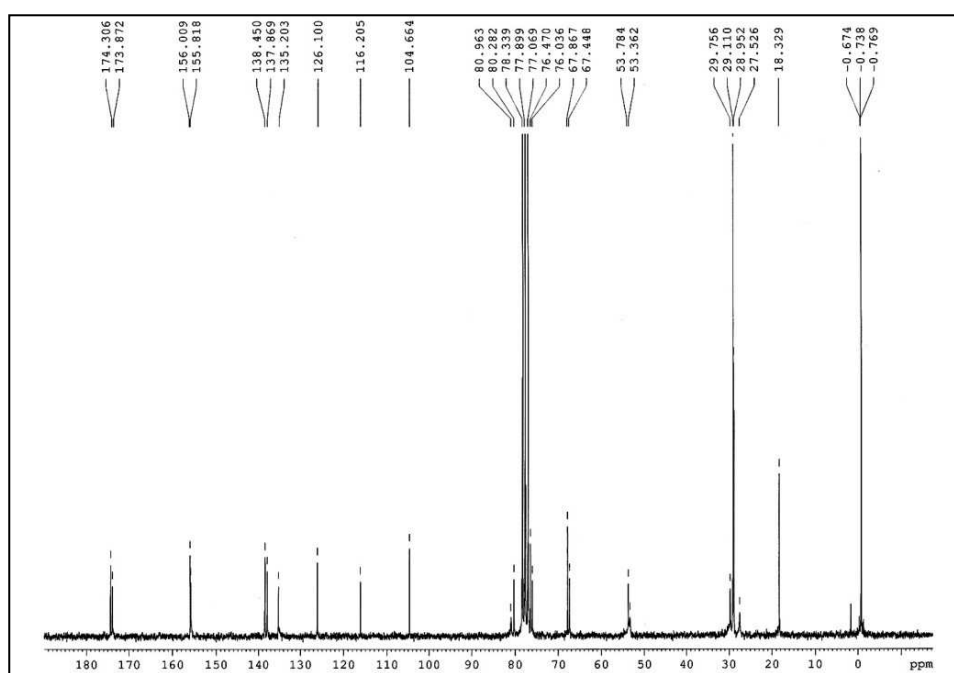
5-Bromo-*N*(α)-*t*-butoxycarbonyl-*N*(τ)-[2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl]-L-histidine (**29b**)

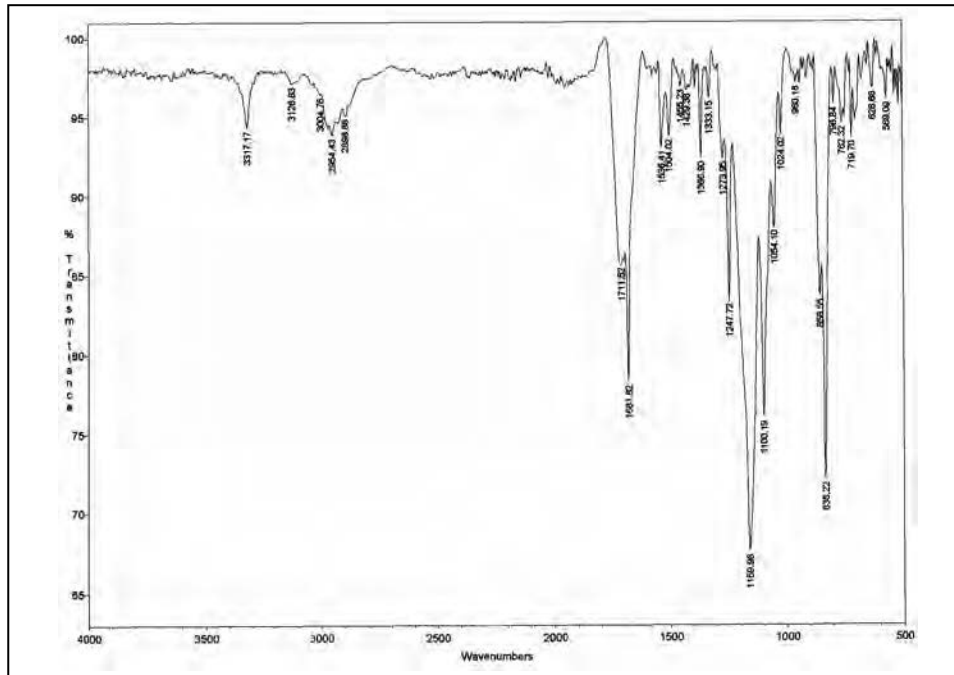
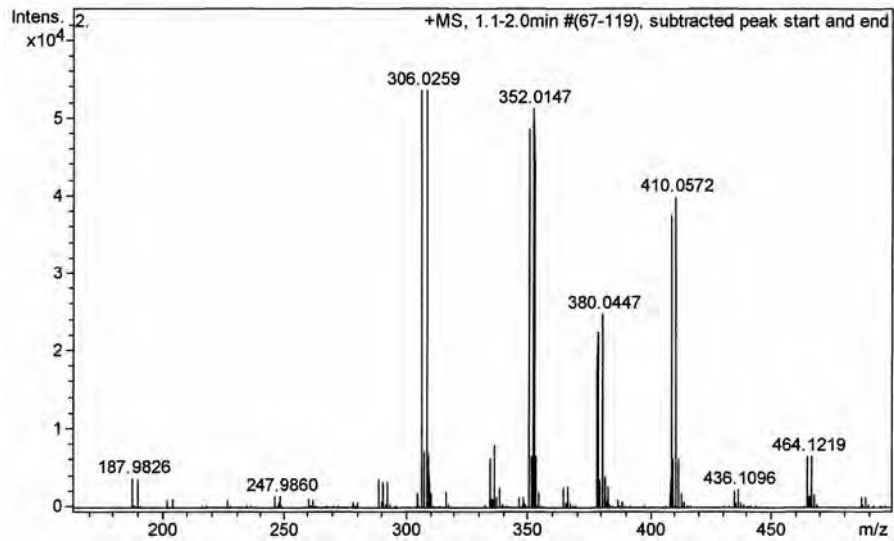


$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

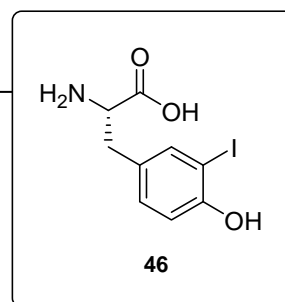


$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

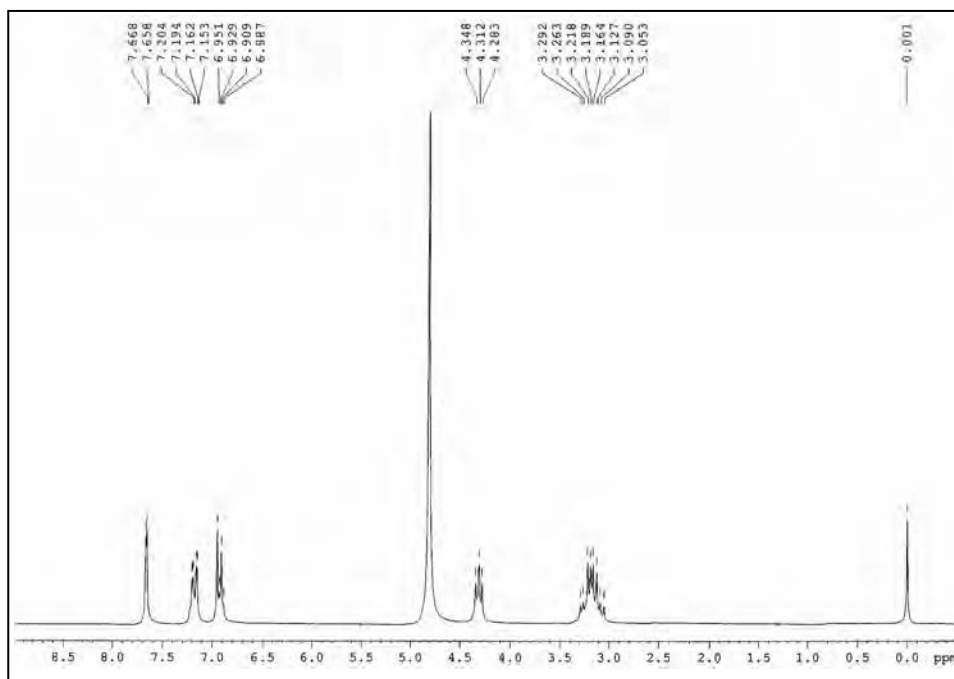


IR (neat) ν (cm^{-1})HRMS (ESI) m/z 

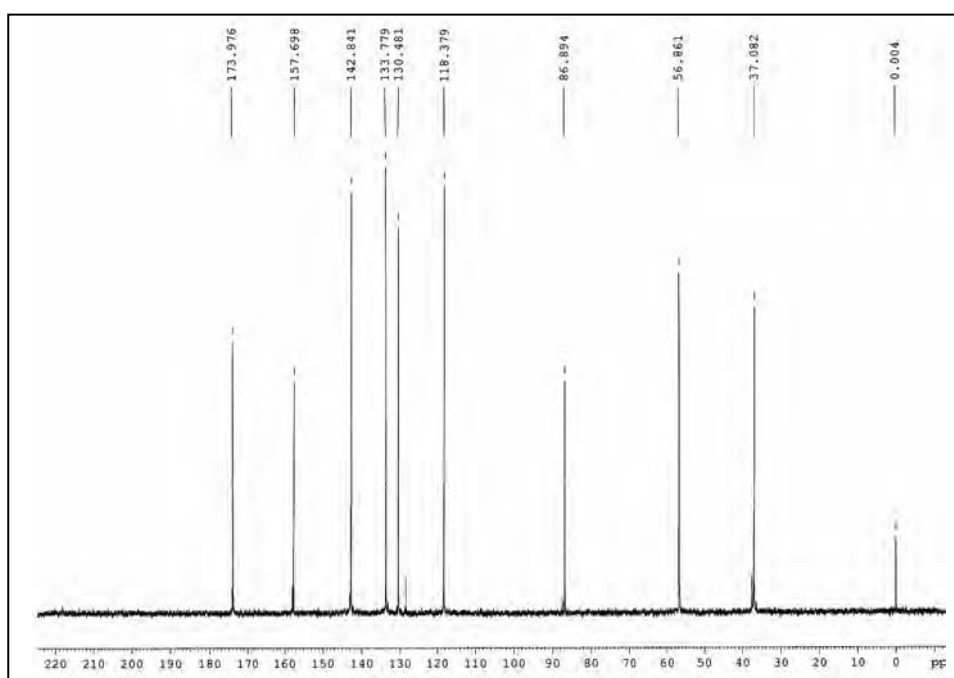
3-Iodo-L-tyrosine (**46**)

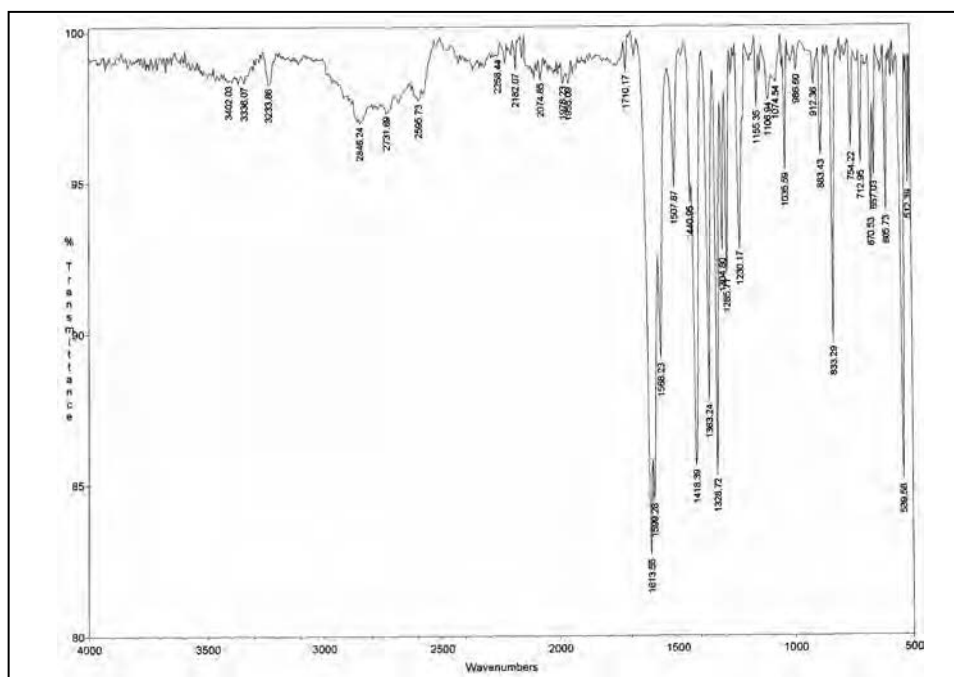
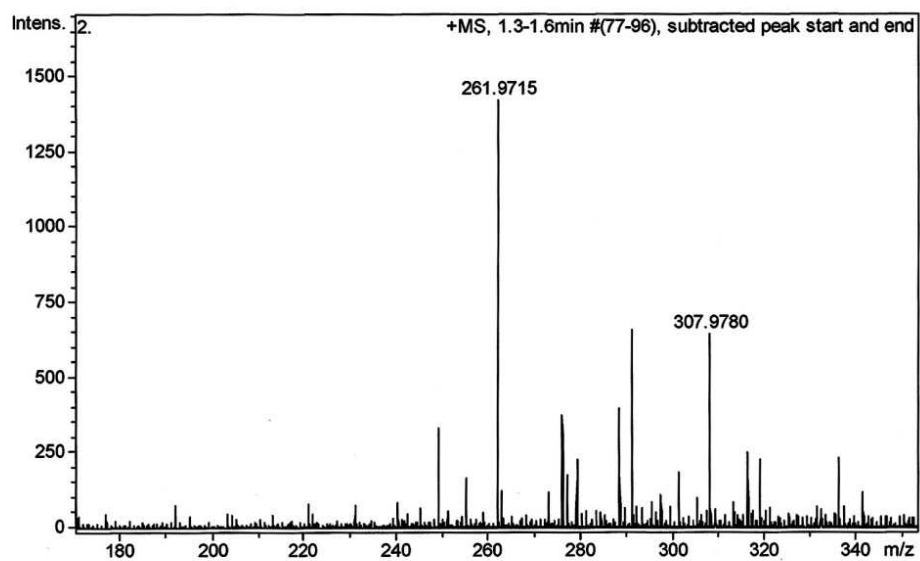


¹H-NMR (200 MHz, D₂O + DCI) δ (ppm)

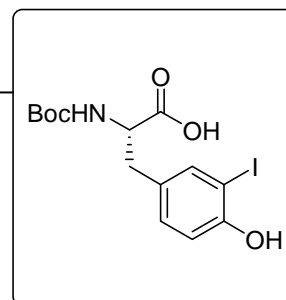


¹³C-NMR (50 MHz, D₂O + DCI) δ (ppm)

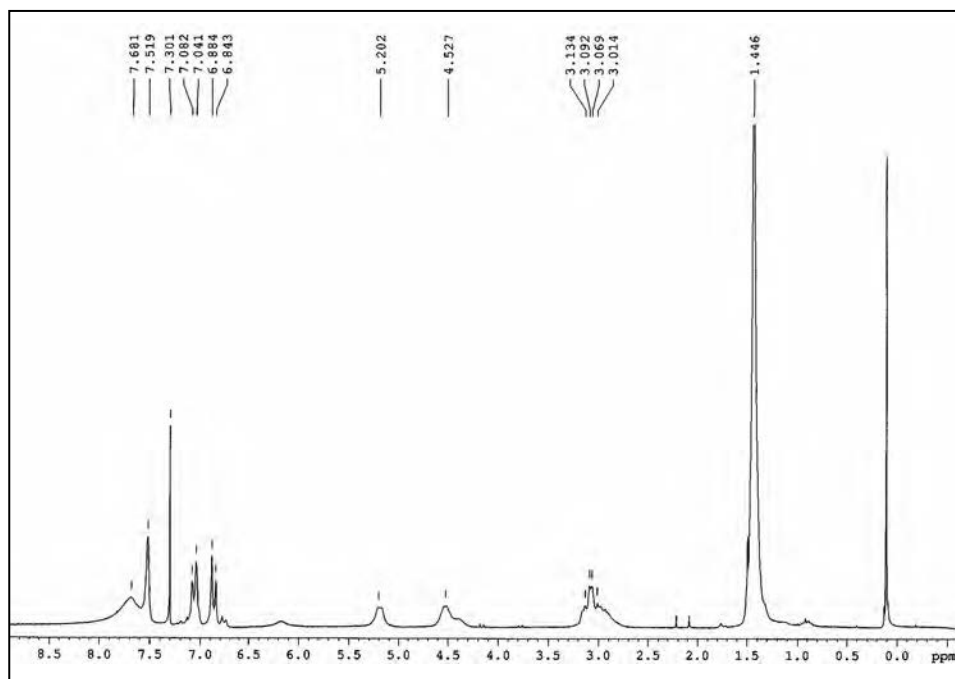


IR (neat) ν (cm^{-1})HRMS (ESI) m/z 

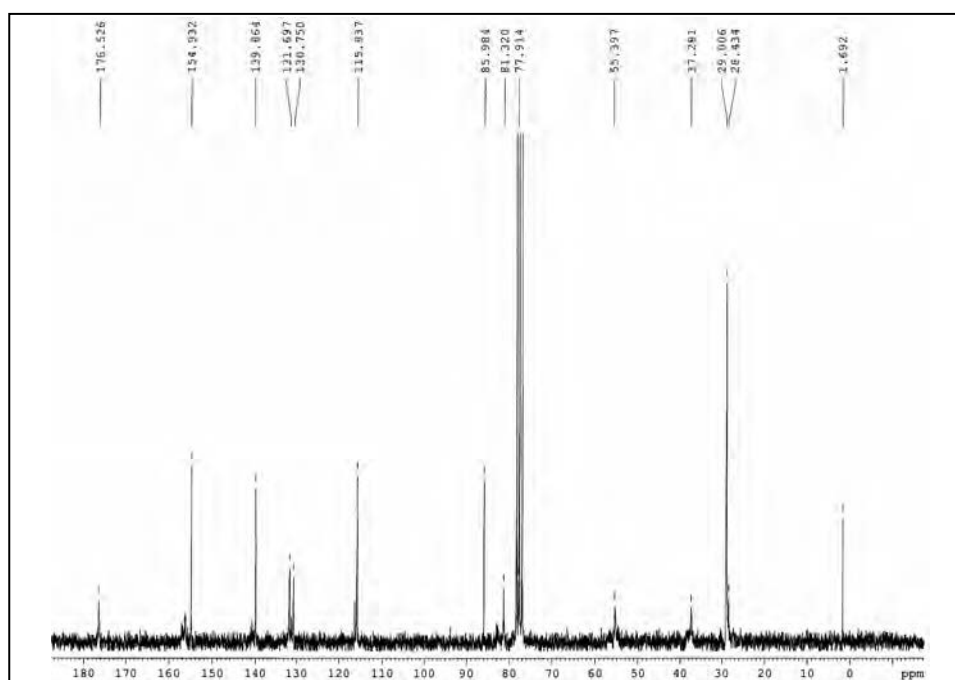
N(α)-*t*-butoxycarbonyl-3-iodo-L-tyrosine

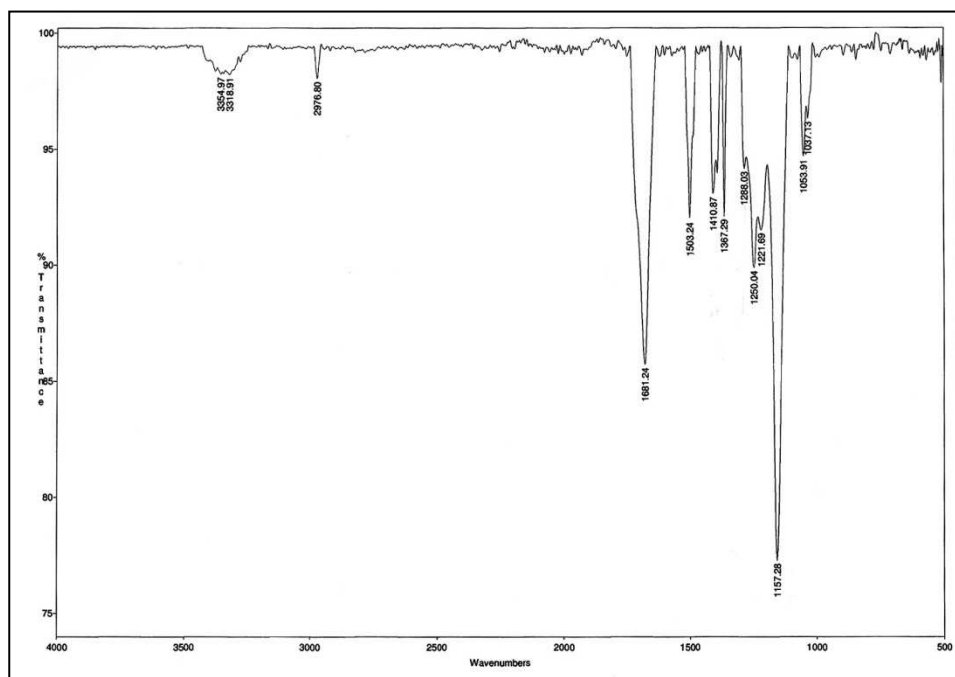
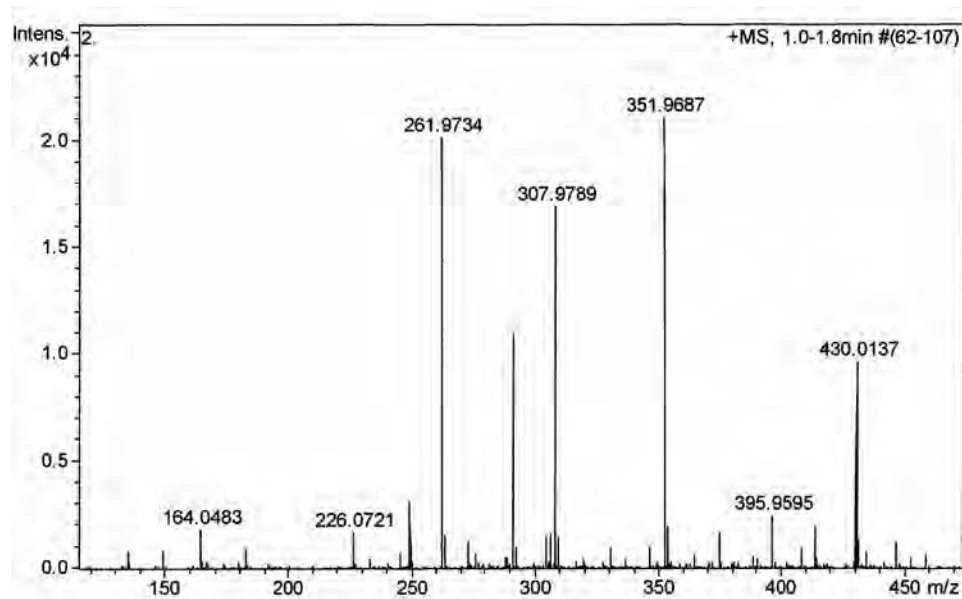


$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

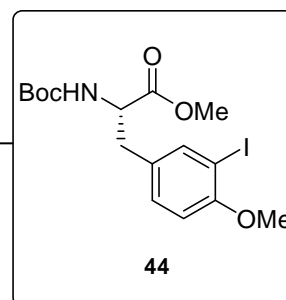


$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

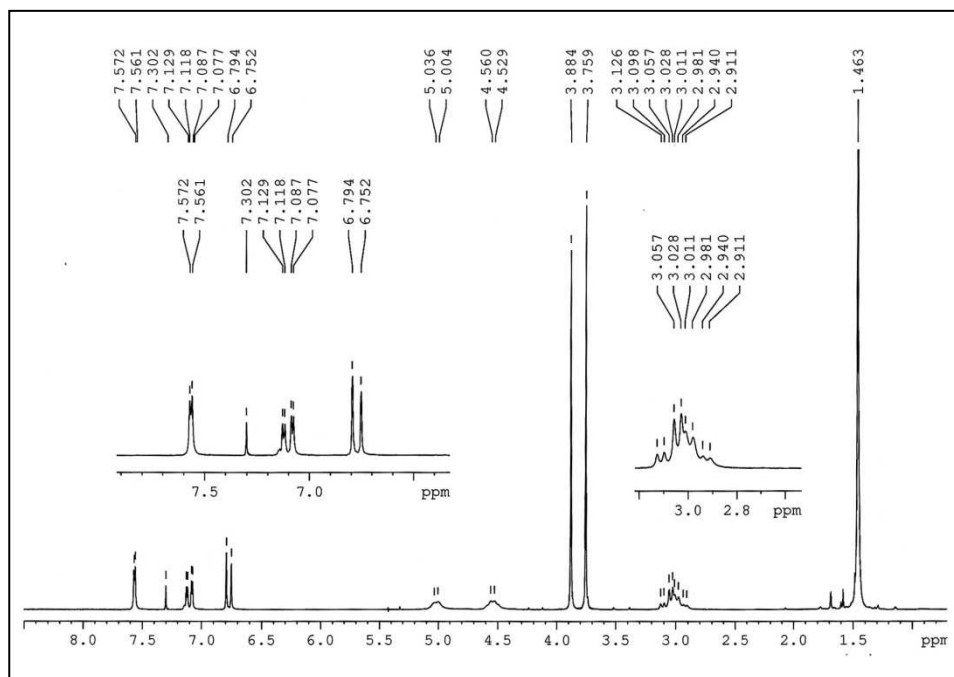


IR (neat) ν (cm^{-1})HRMS (ESI) m/z 

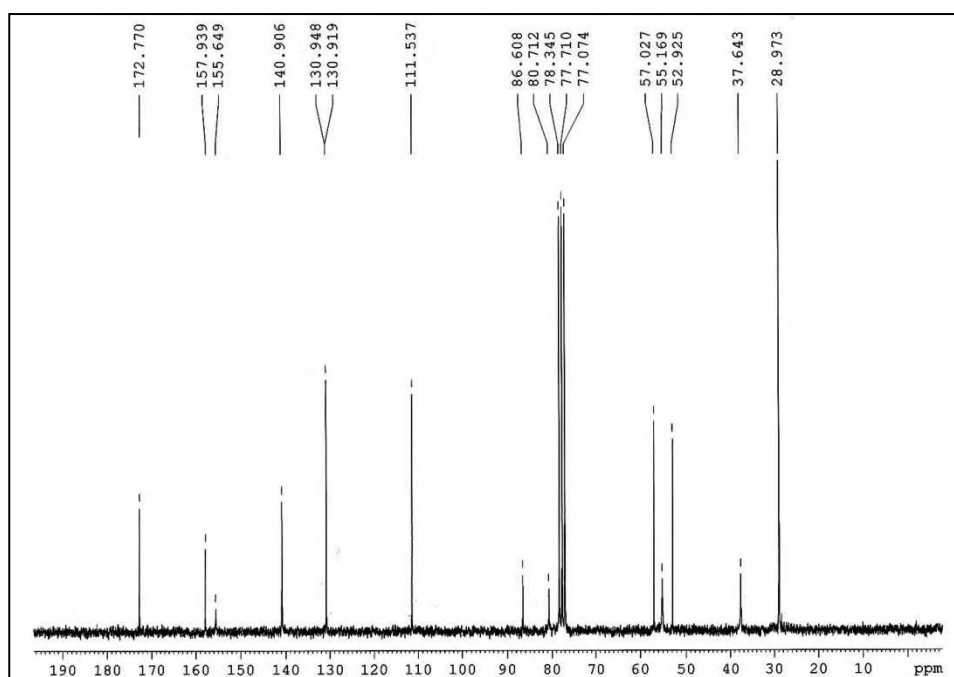
N(α)-*t*-butoxycarbonyl-3-iodo-4-methoxy-L-tyrosine methyl ester (**44**)

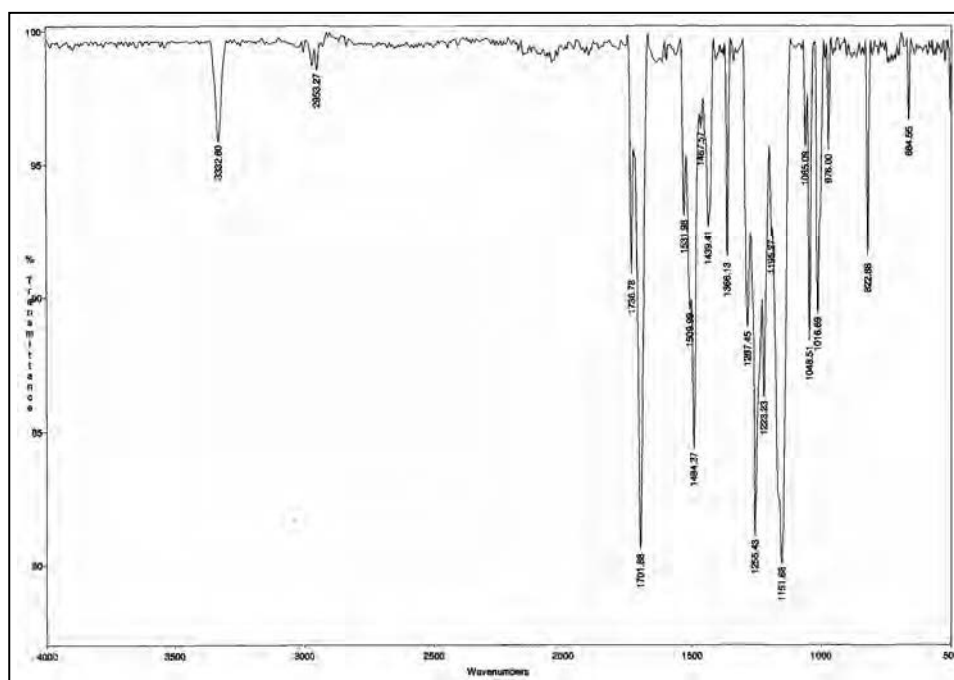
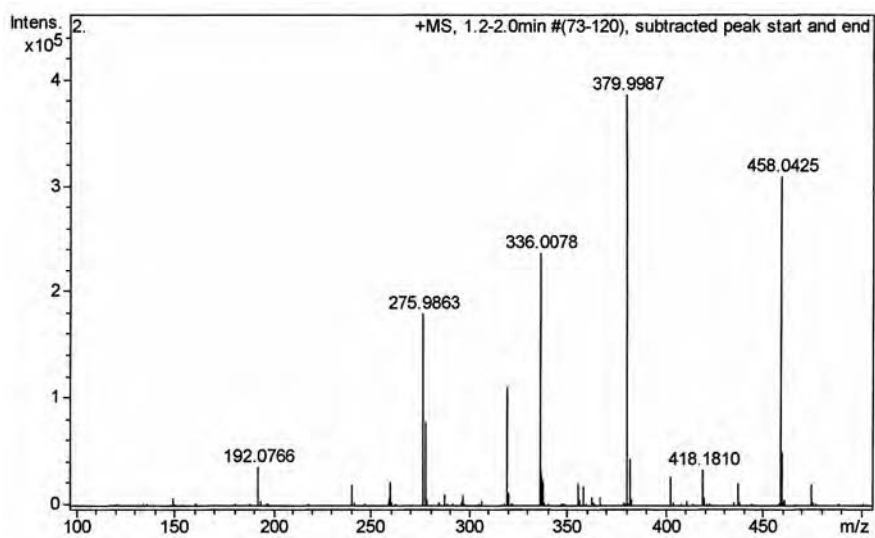


$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

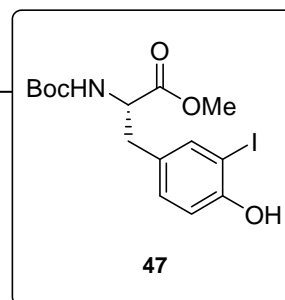


$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

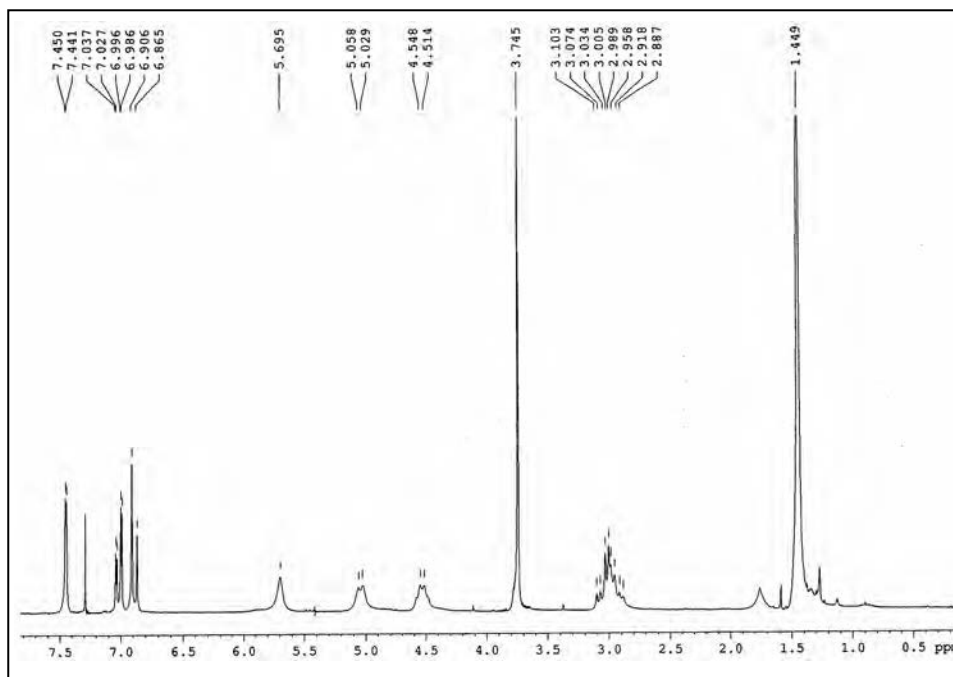


IR (neat) ν (cm^{-1})HRMS (ESI) m/z 

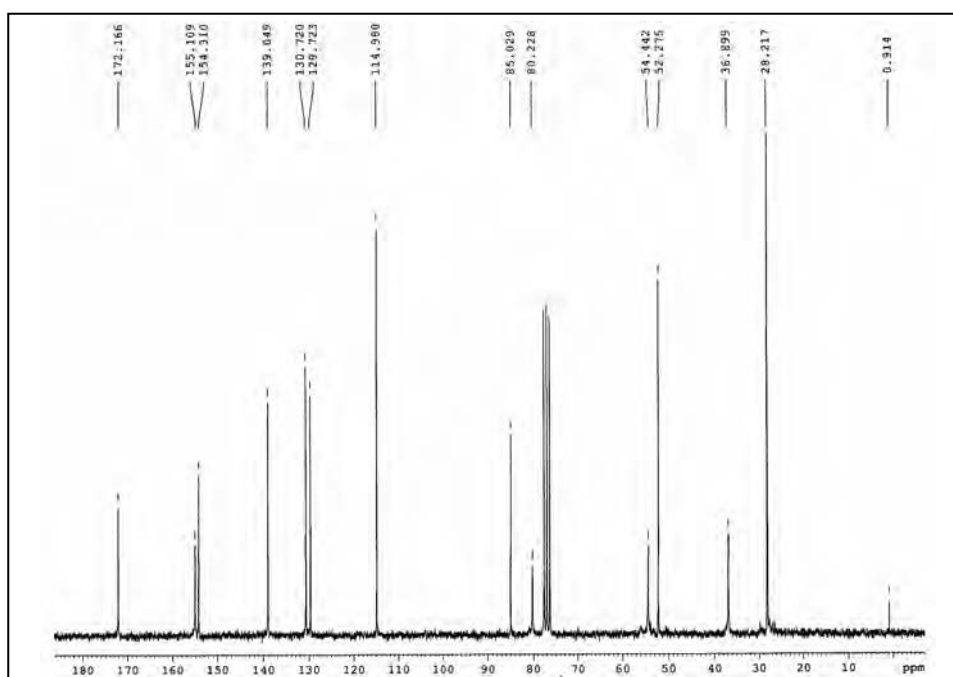
N(α)-*t*-butoxycarbonyl-3-iodo-L-tyrosine methyl ester (**47**)

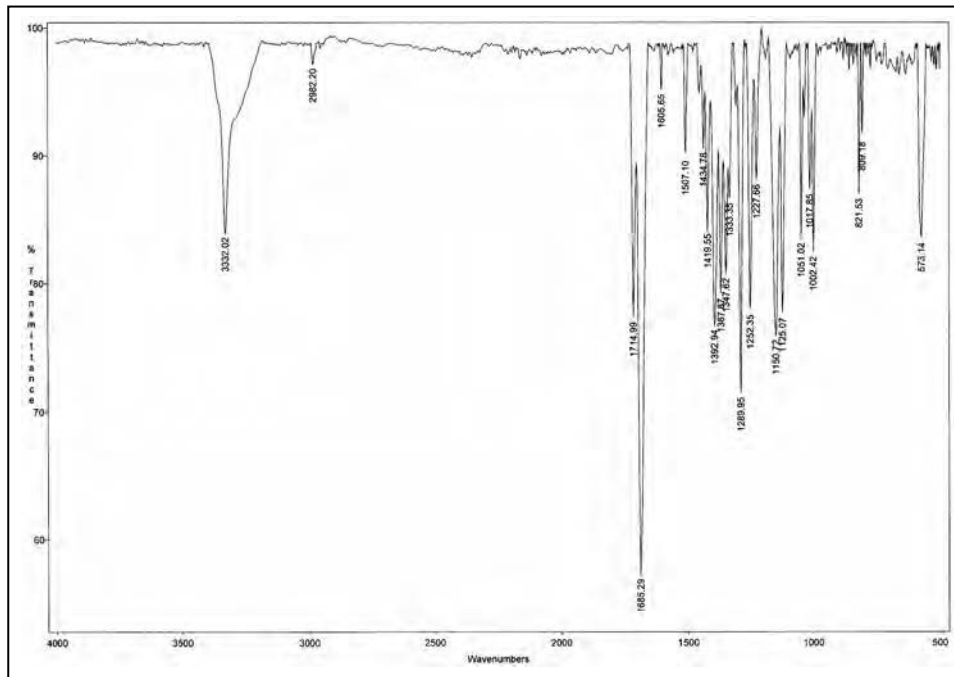
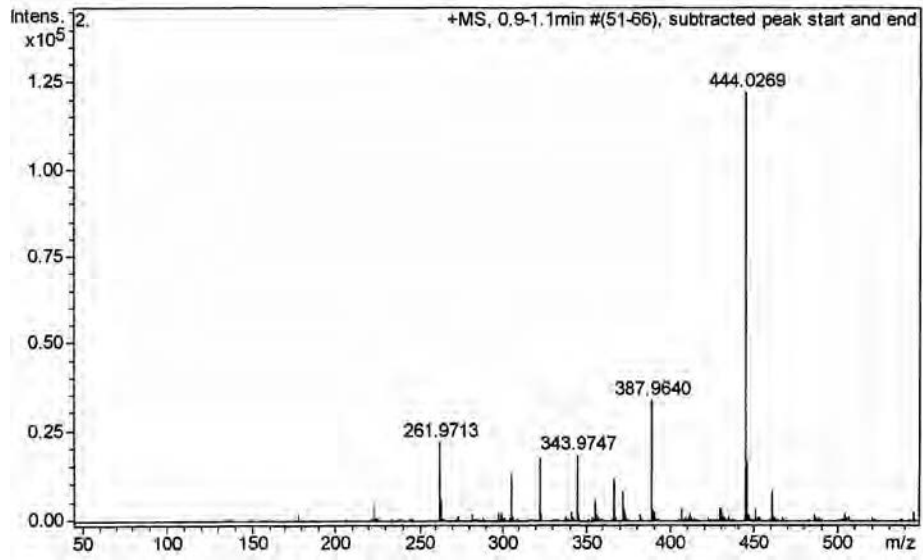


$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

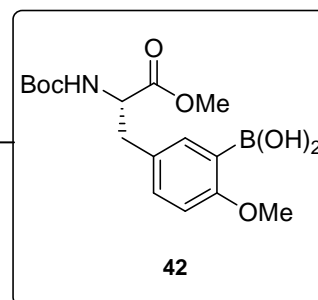


$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

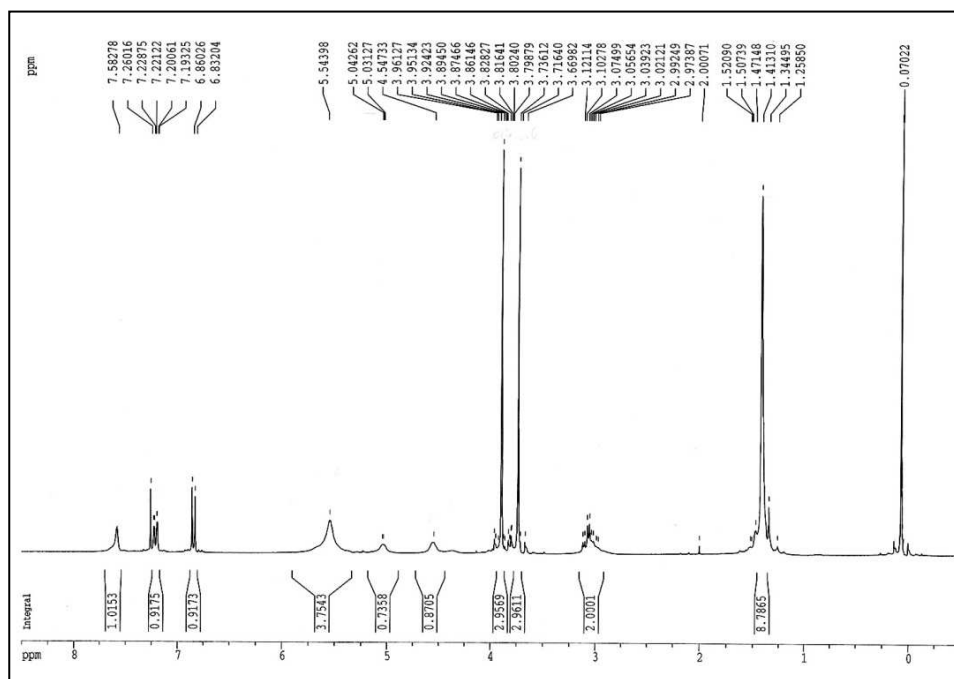


IR (neat) ν (cm^{-1})HRMS (ESI) m/z 

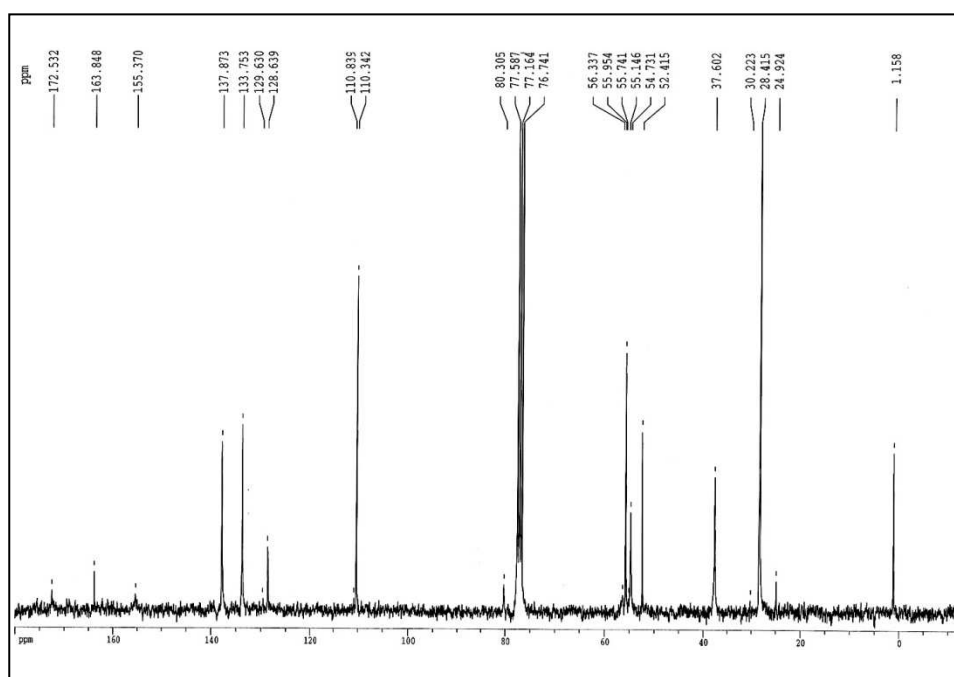
N(α)-*t*-butoxycarbonyl-3-borono-4-methoxy-L-tyrosine methyl ester (**42**)

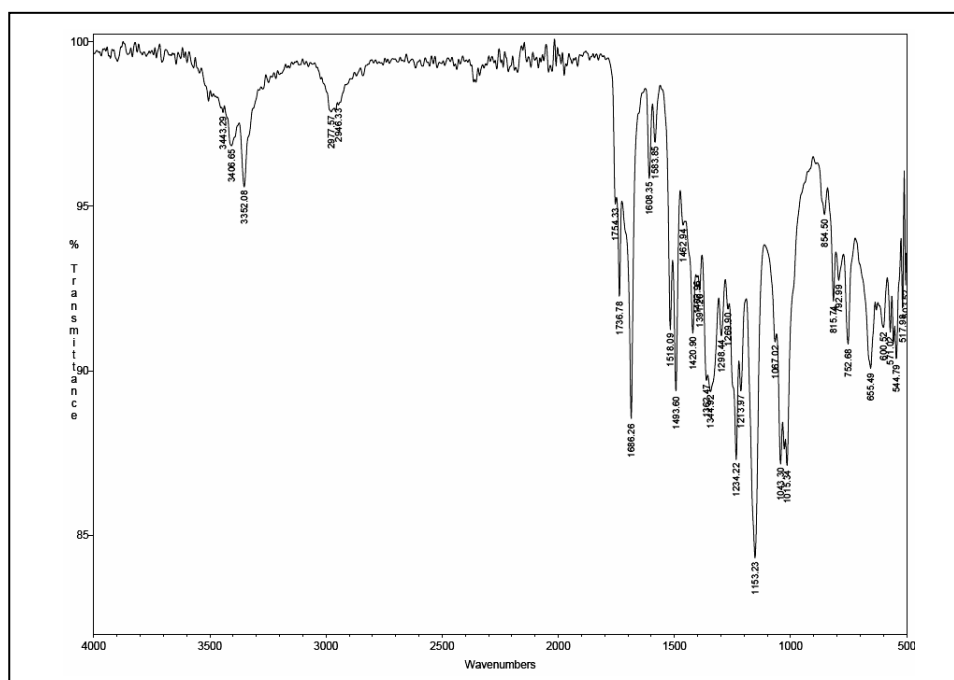
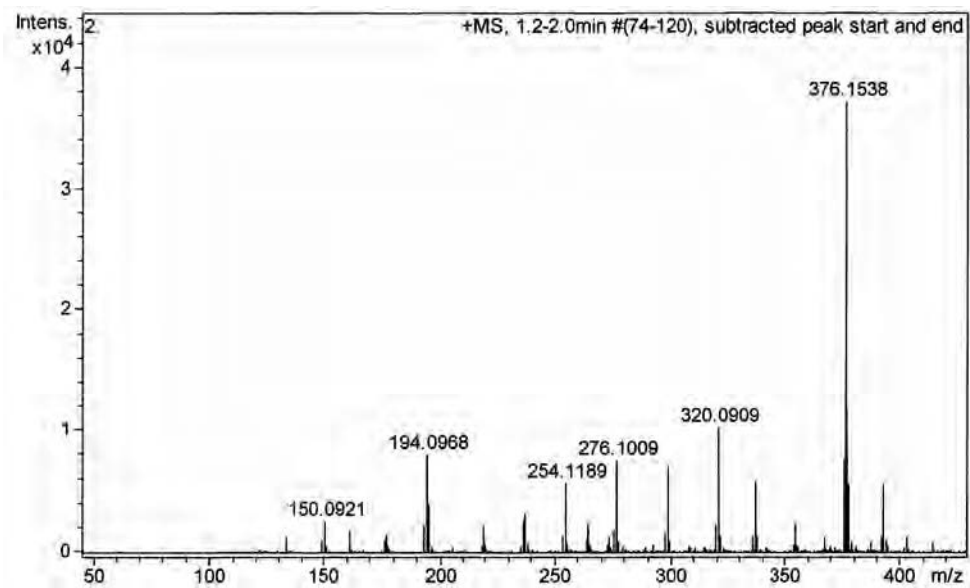


$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

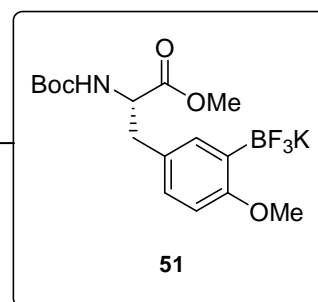


$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm)

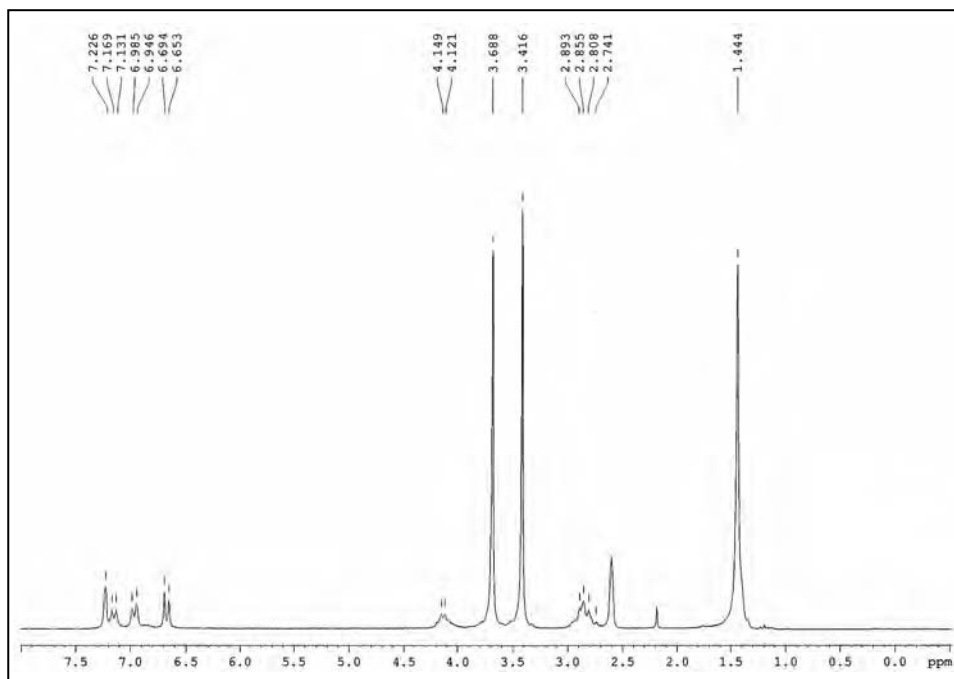


IR (neat) ν (cm^{-1})HRMS (ESI) m/z 

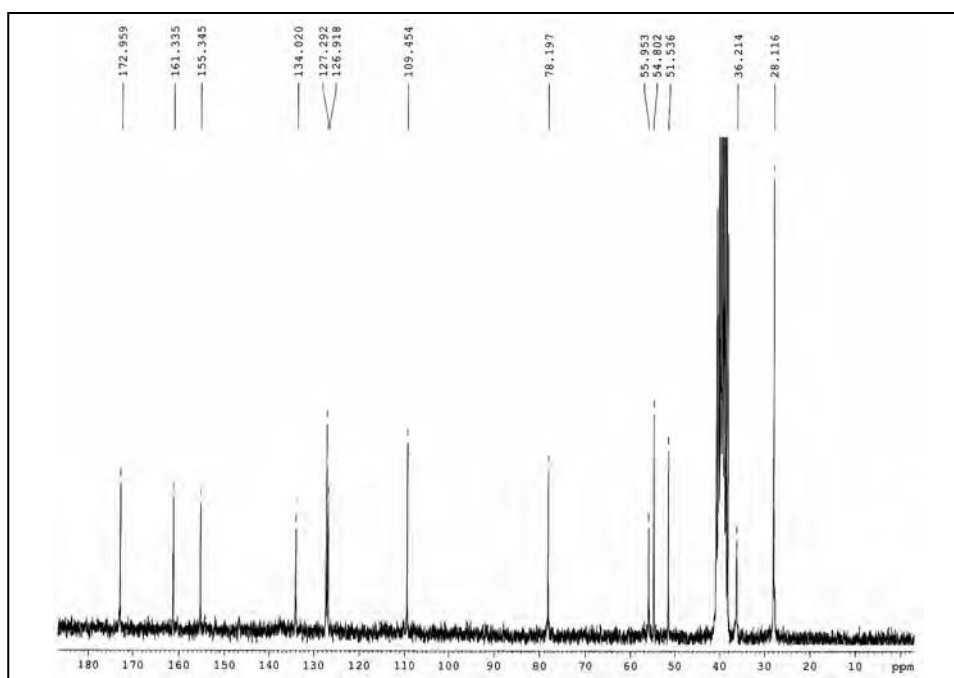
Potassium *N*(α)-*t*-butoxycarbonyl-4-methoxy-L-tyrosyl-3-trifluoroborate methyl ester (**51**)

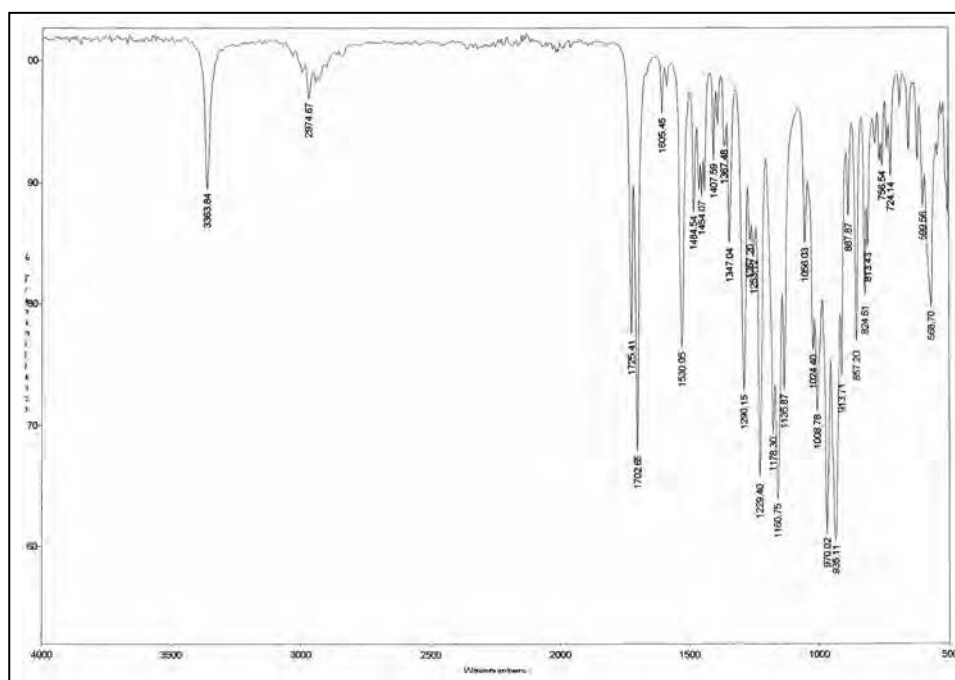
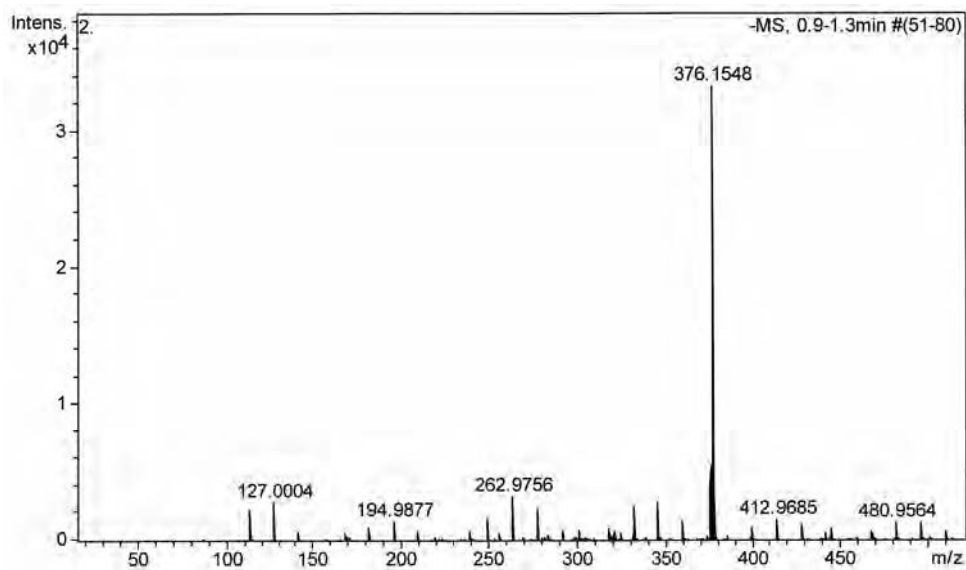


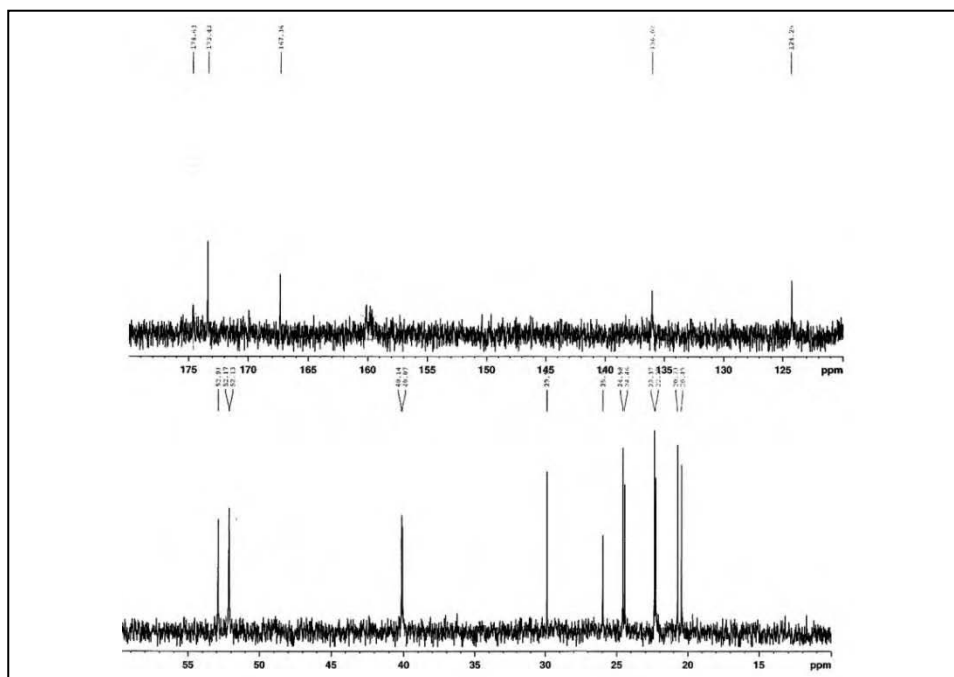
$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm)



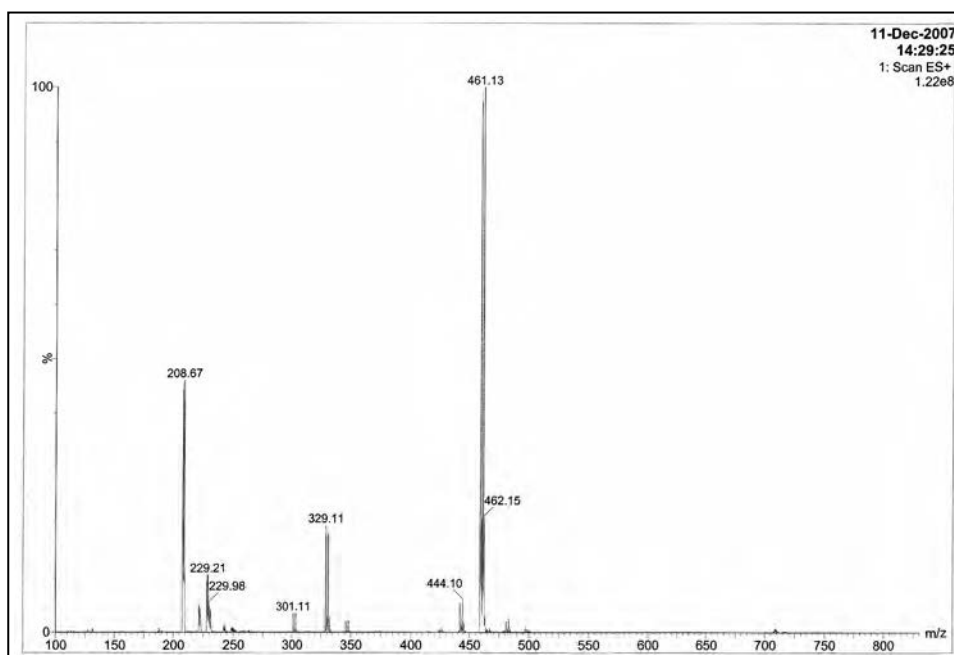
$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm)



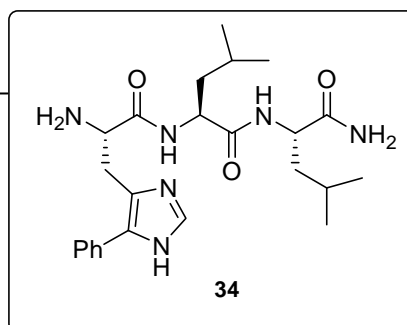
IR (neat) ν (cm^{-1})HRMS (ESI) m/z 



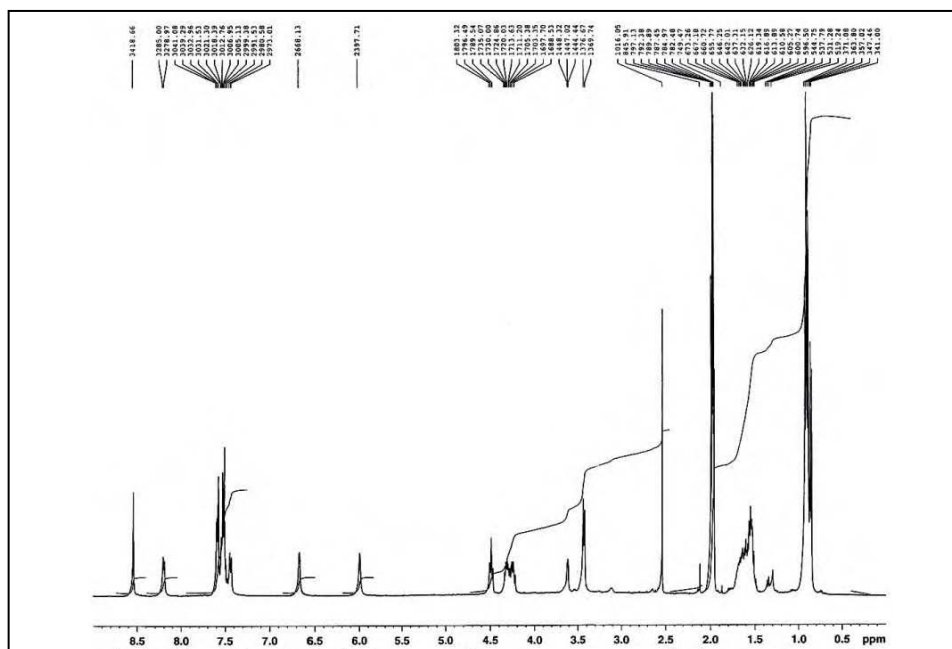
MS (ESI) m/z (%)



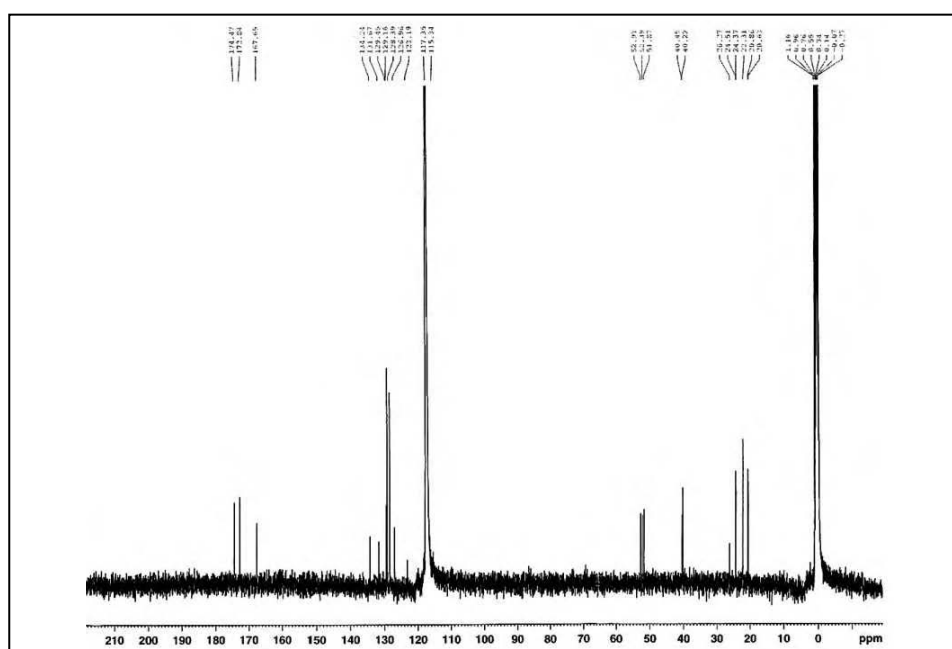
H-His(5-Ph)-Leu-Leu-NH₂ (**34**)

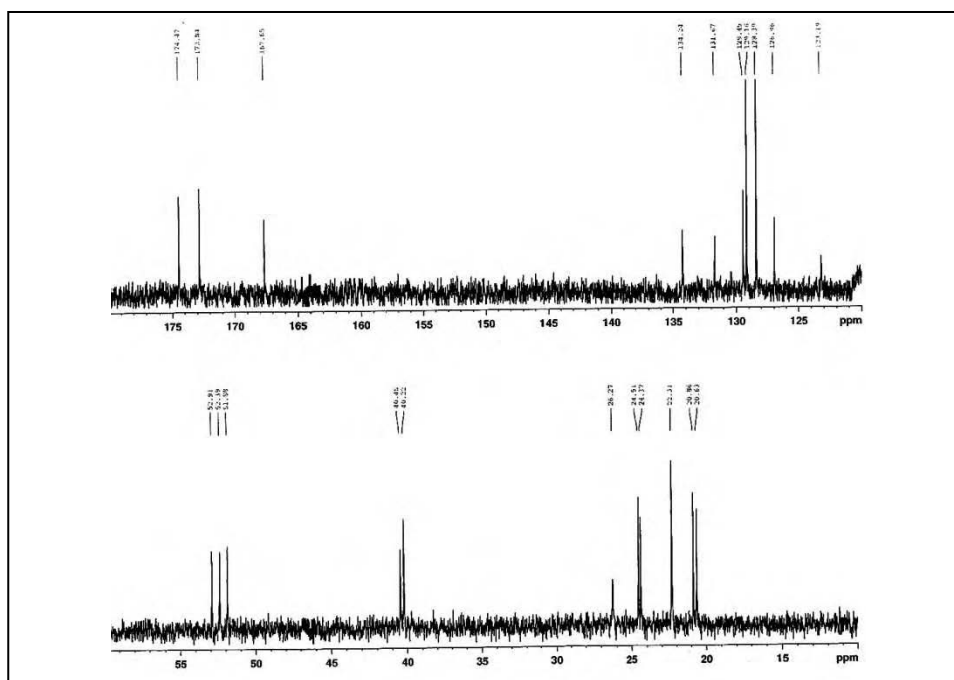


¹H-NMR (400 MHz, CD₃CN) δ (ppm)

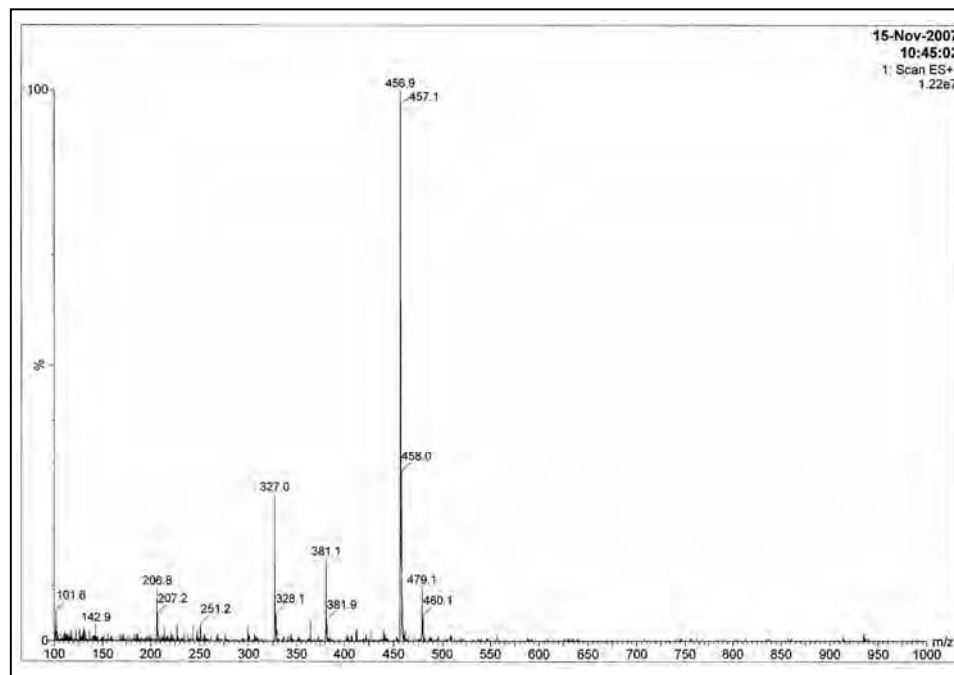


¹³C-NMR (100 MHz, CD₃CN) δ (ppm)

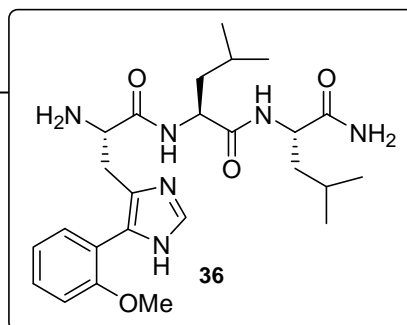




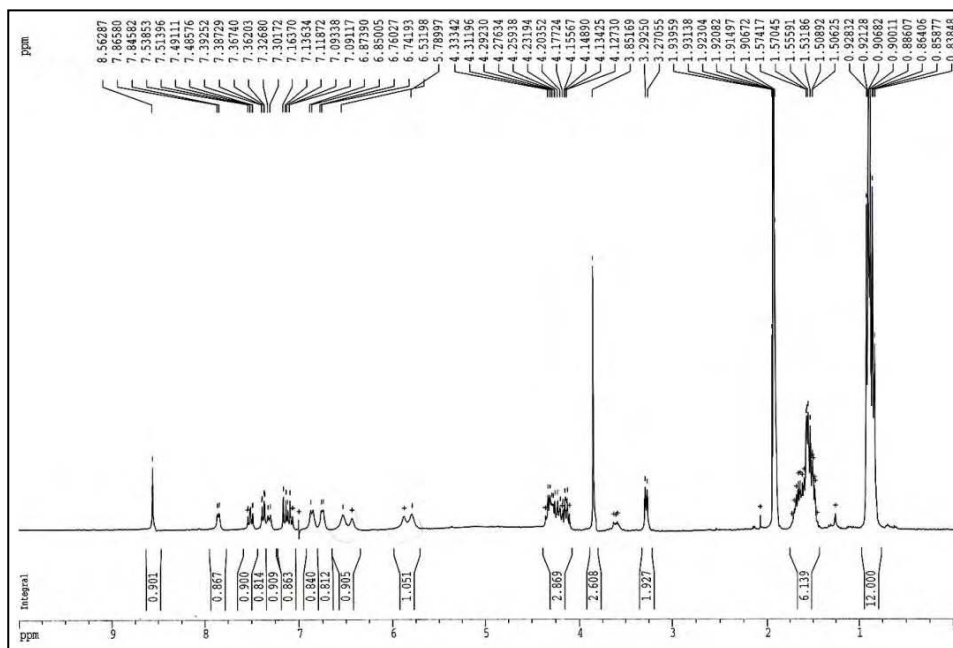
MS (ESI) *m/z* (%)



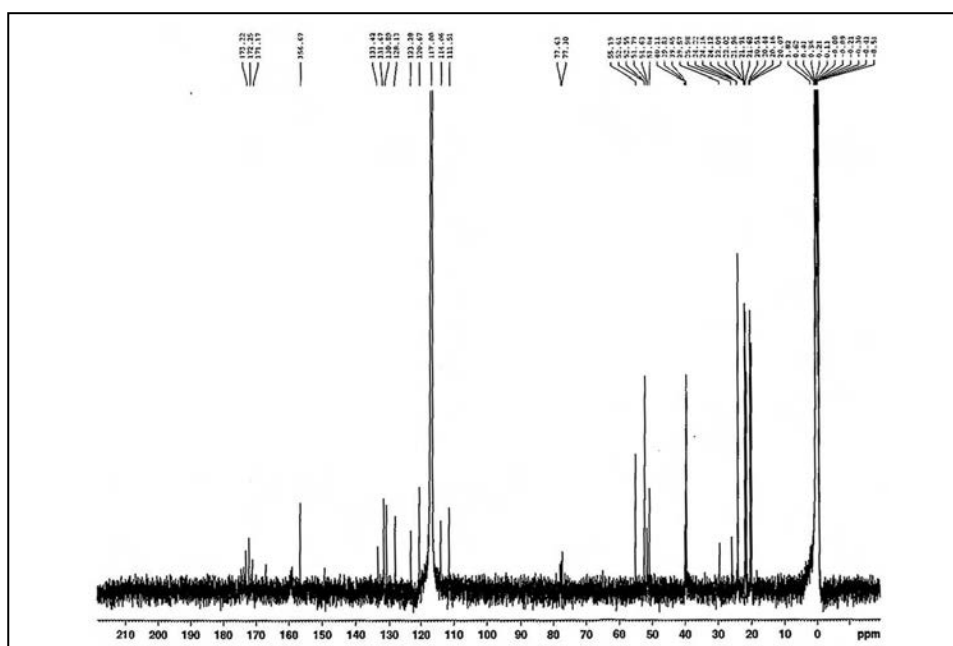
Biaryl peptide **36**

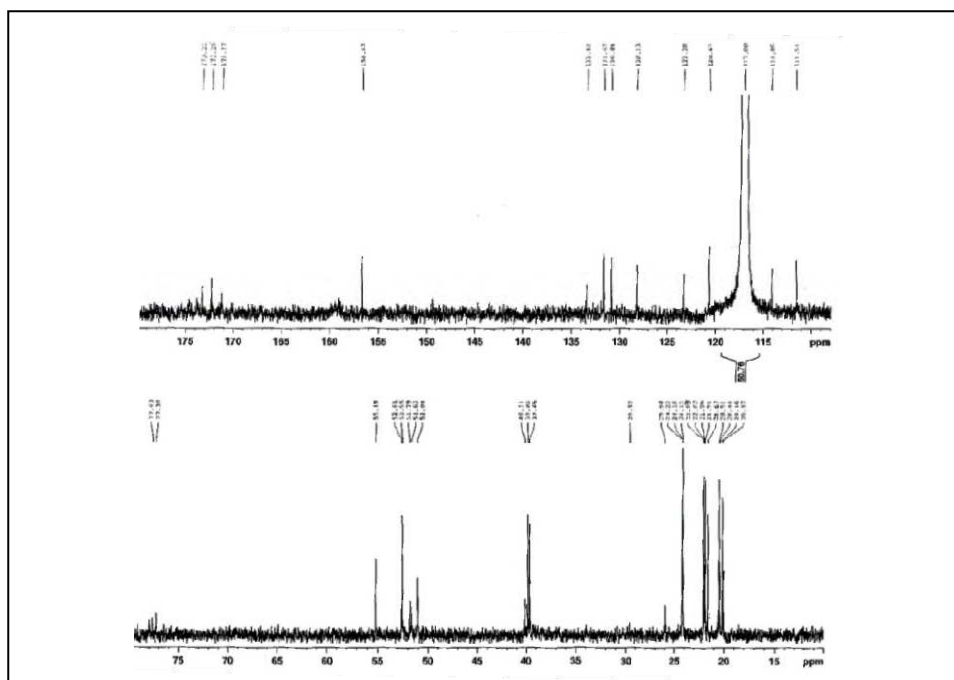


¹H-NMR (300 MHz, CD₃CN) δ (ppm)

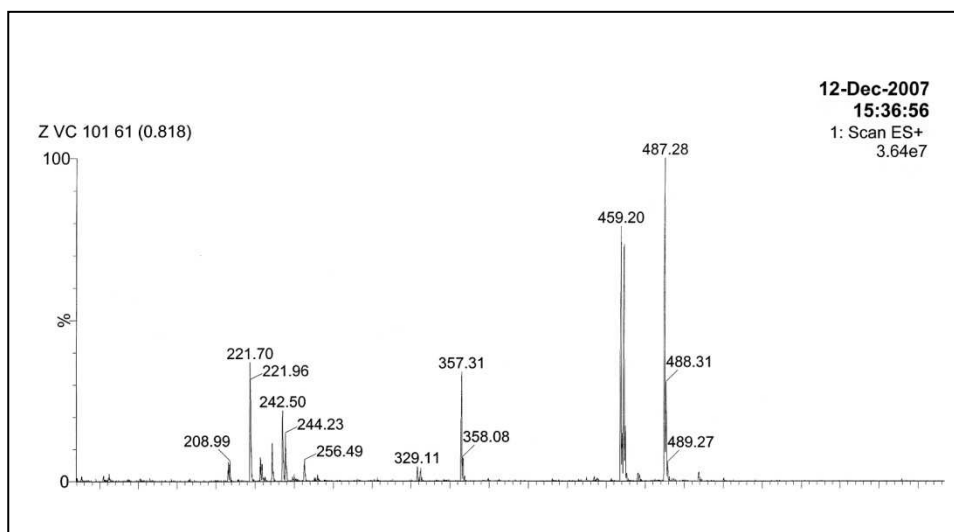


¹³C-NMR (100 MHz, CD₃CN) δ (ppm)

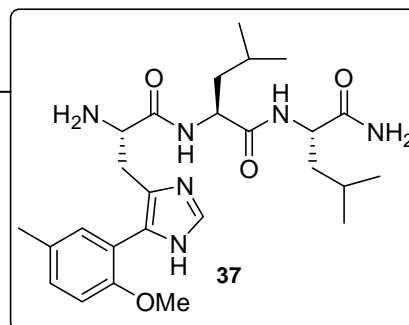




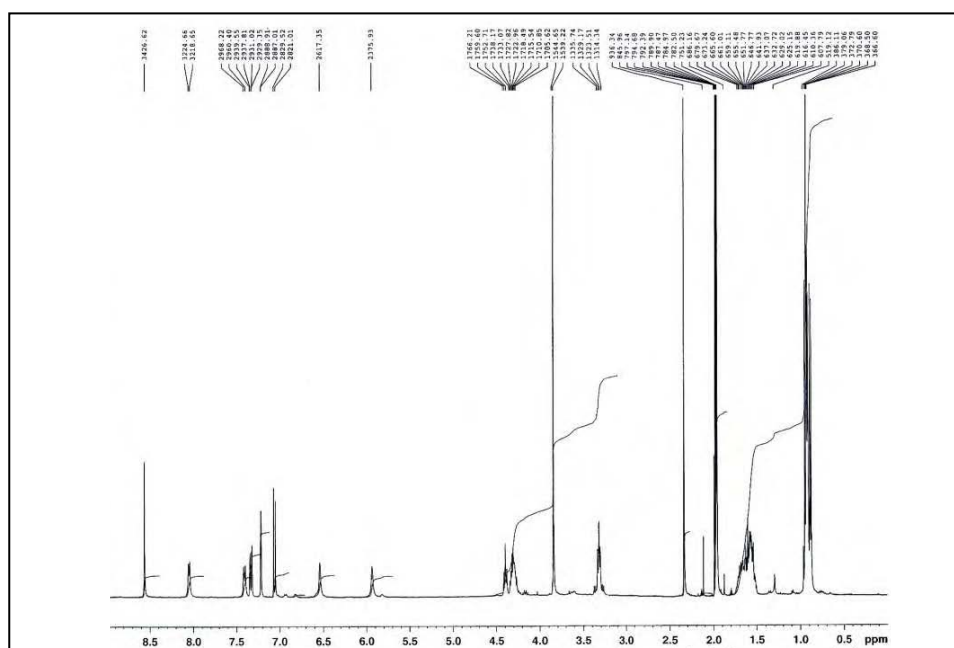
MS (ESI) m/z (%)



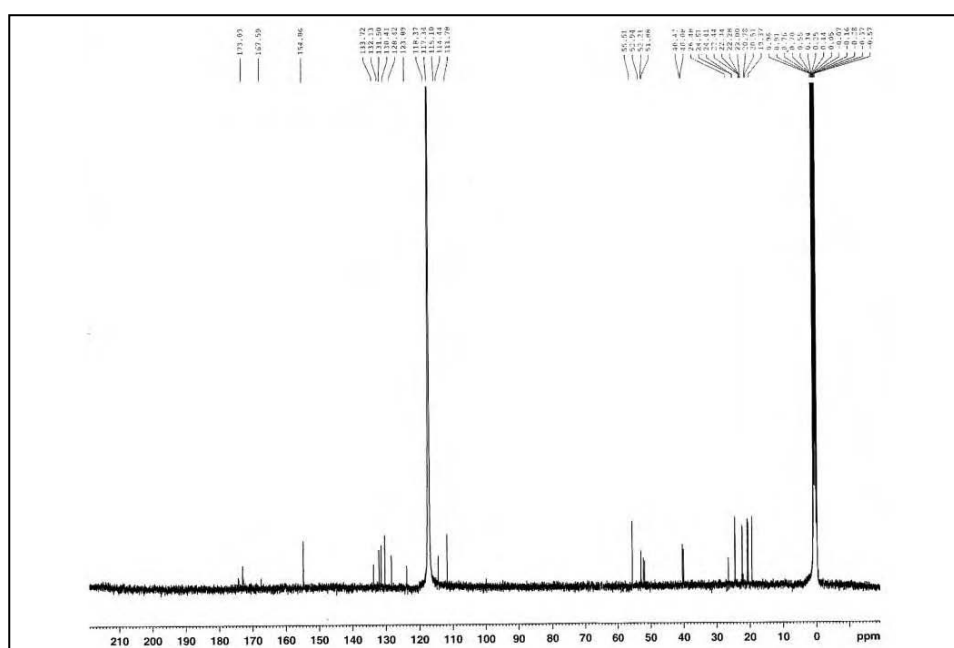
Biaryllic peptide **37**

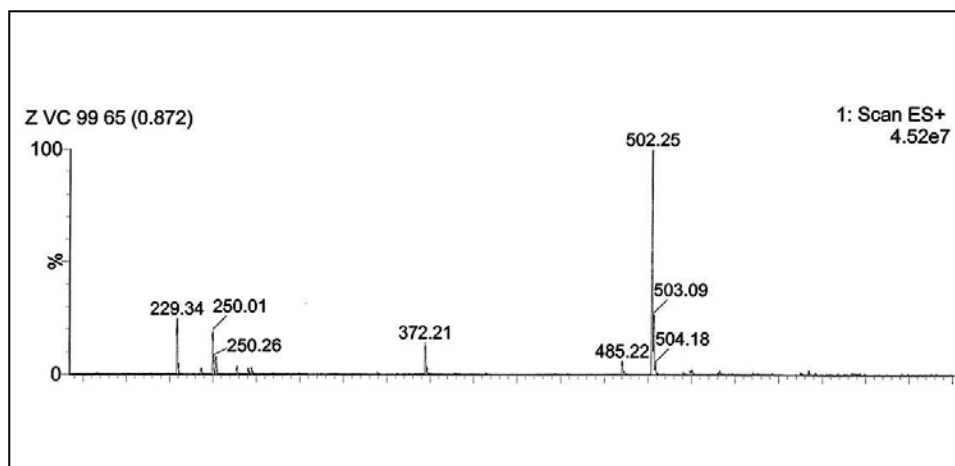


¹H-NMR (400 MHz, CD₃CN) δ (ppm)

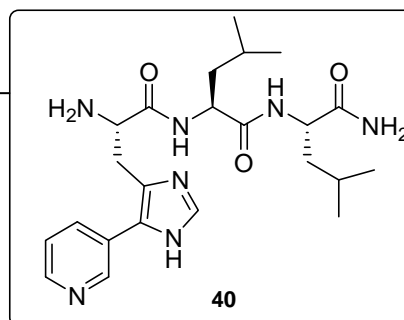


¹³C-NMR (100 MHz, CD₃CN) δ (ppm)

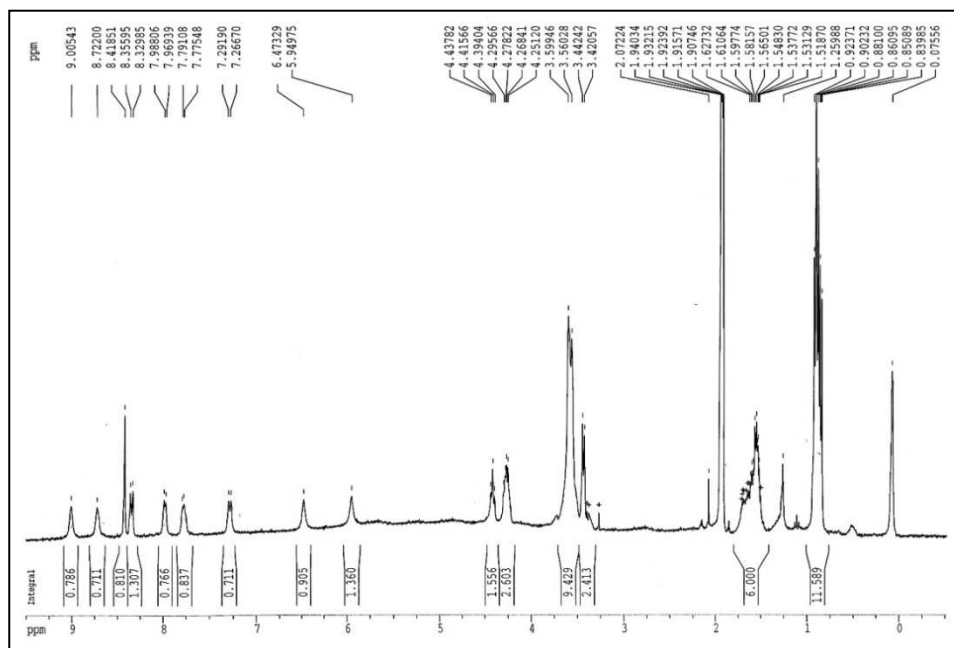


MS (ESI) m/z (%)

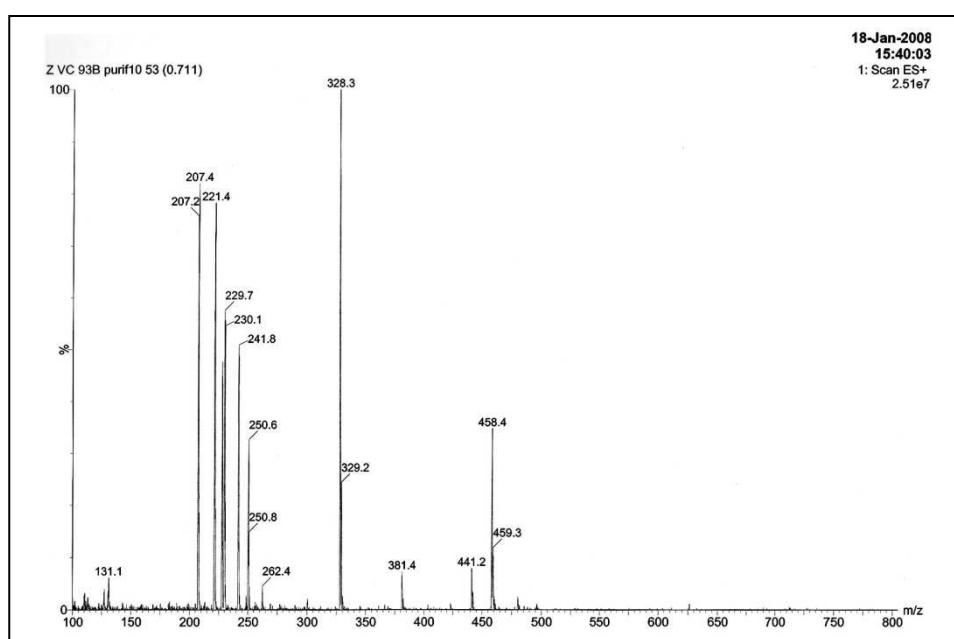
Biaryllic peptide **40**



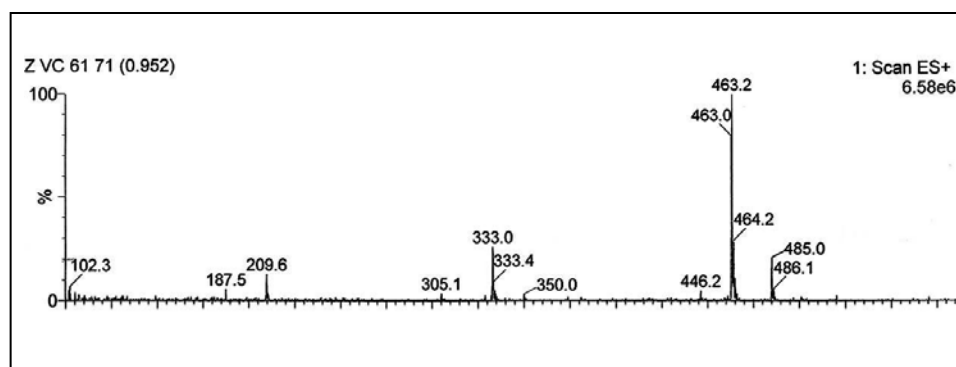
¹H-NMR (300 MHz, CD₃CN) δ (ppm)

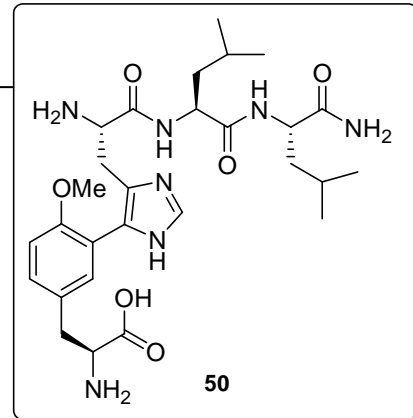


MS (ESI) *m/z* (%)

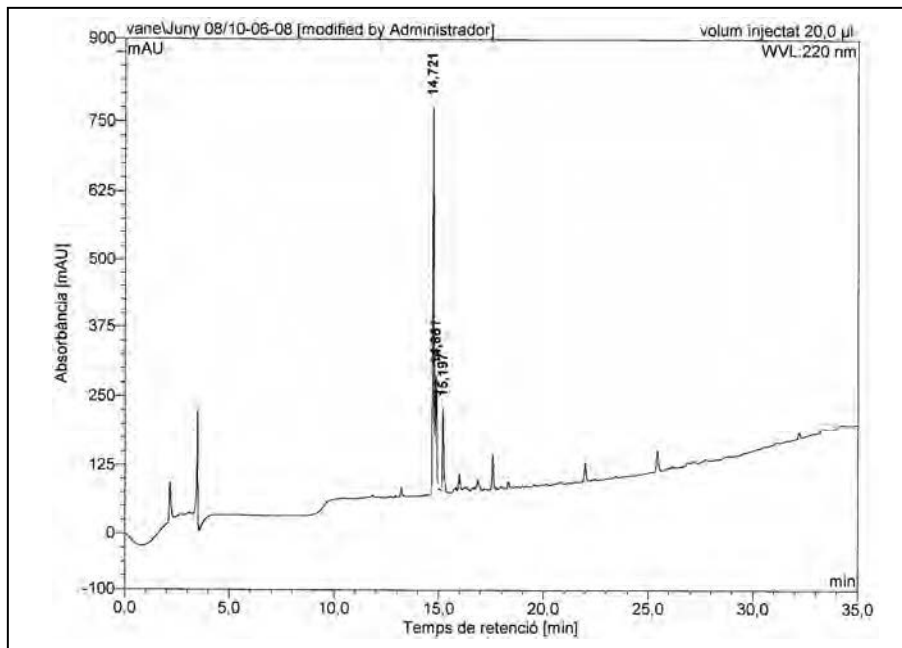
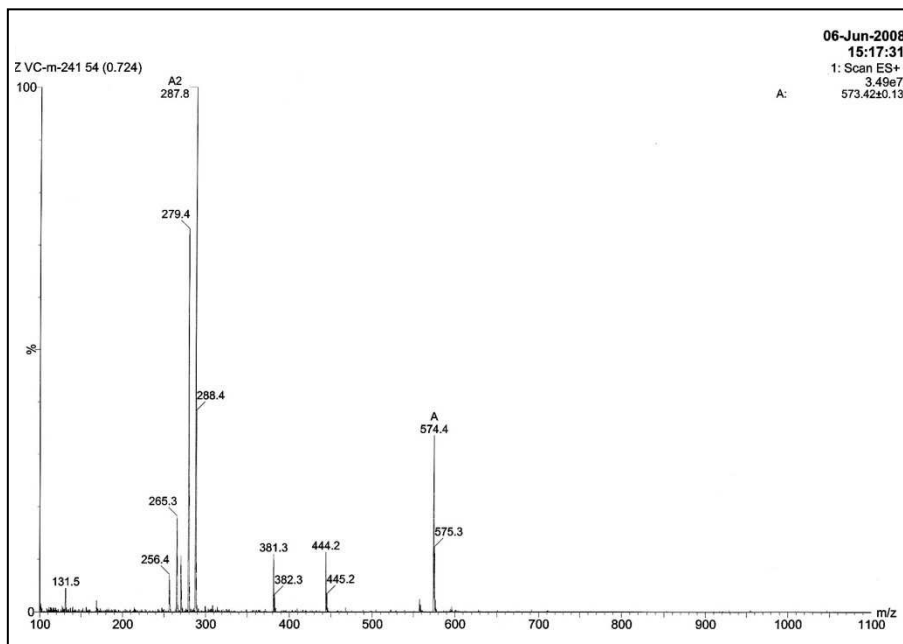


MS (ESI) m/z (%)



Biaryllic peptide **50**

HPLC

MS (ESI) m/z (%)

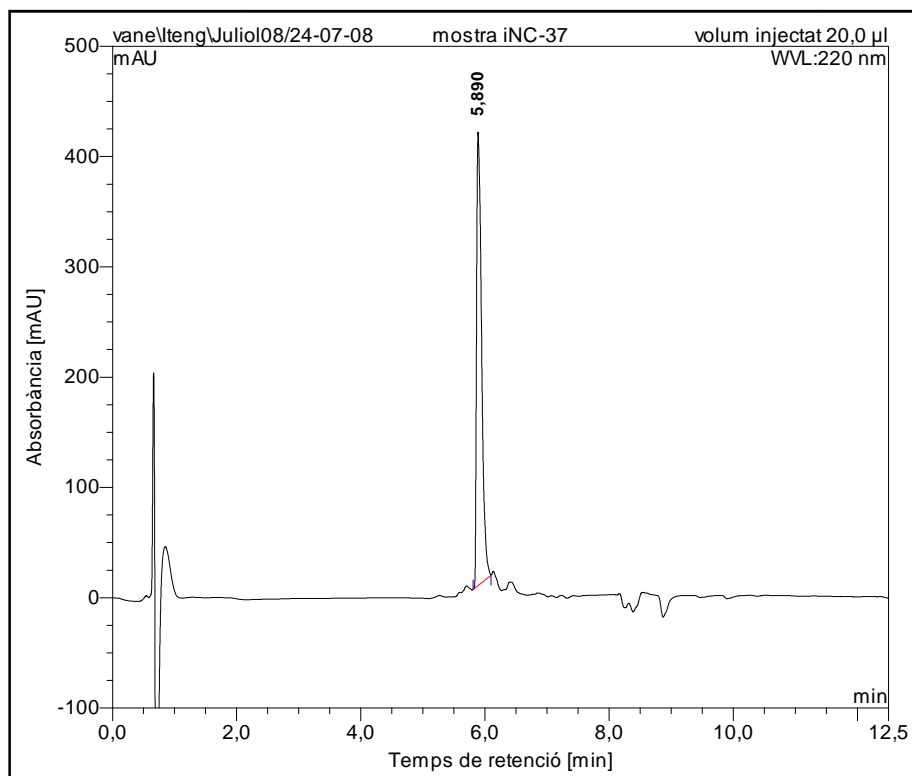
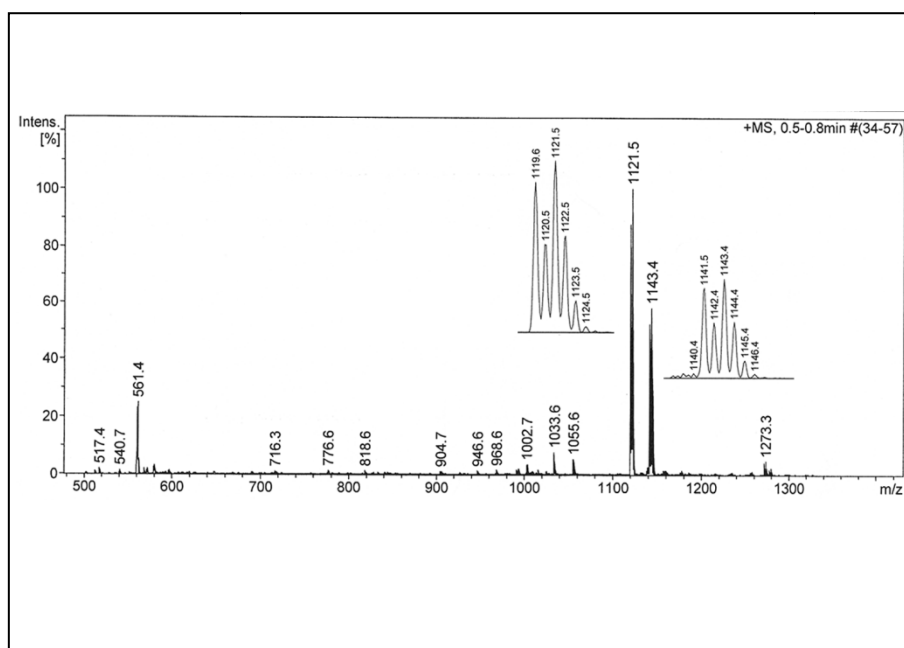
APPENDIX II

INDEX

H-His(5-Br)-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-Tyr-Leu-NH ₂ (55)	All-1
H-His(5-Br)-Leu-NH ₂ (58)	All-2
H-His(5-Br)-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-Phe-Leu-NH ₂ (63)	All-3
H-Phe-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-His-Leu-NH ₂ (67)	All-4
H-His-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-Phe-Leu-NH ₂ (68)	All-5
H-His-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-His-Leu-NH ₂ (69)	All-6
H-His-Lys-Leu-His-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-His-Leu-NH ₂ (70).....	All-7
H-His(5-Ph)-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-Tyr-Leu-NH ₂ (52)	All-8
H-His(5-Ph)-Leu-NH ₂ (53)	All-9
H-His(5-Ph)-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-Phe-Leu-NH ₂ (60)	All-10
Biaryl peptide 65	All-11
Biaryl peptide 66	All-12

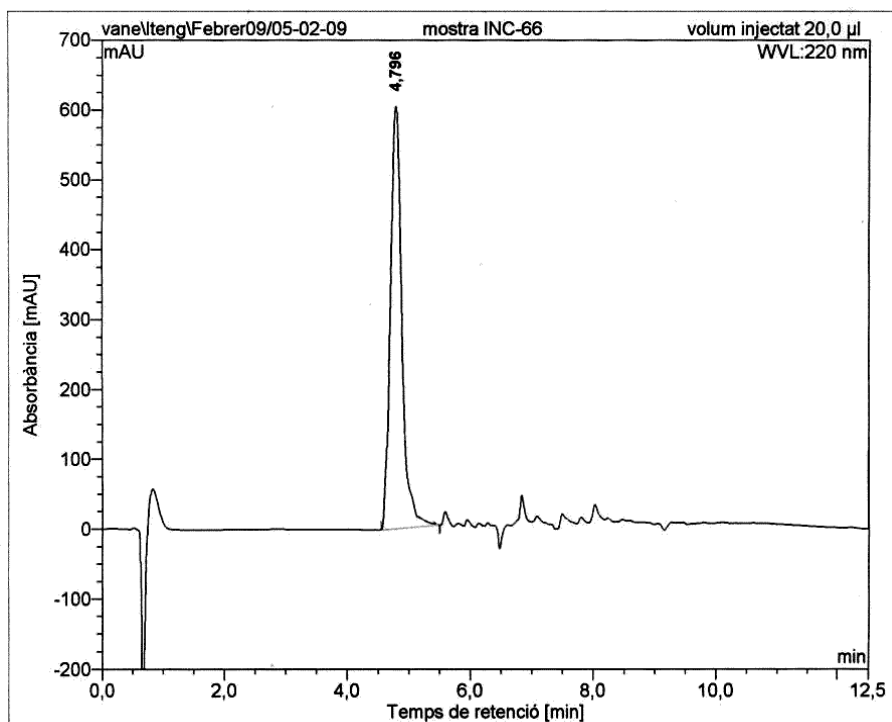
H-His(5-Br)-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-Tyr-Leu-NH₂ (**55**)

HPLC

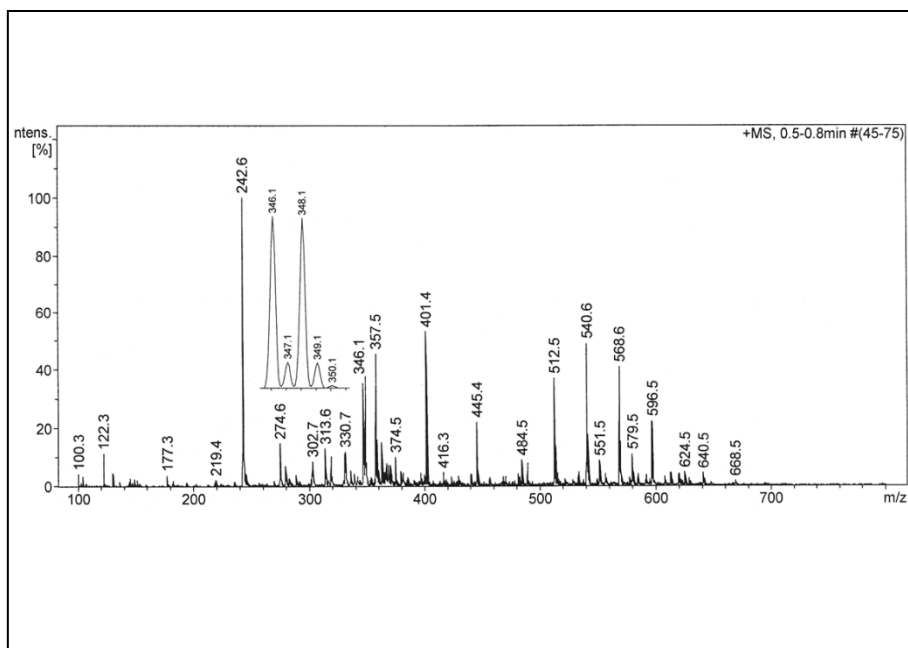
MS (ESI) m/z (%)

H-His(5-Br)-Leu-NH₂ (**58**)

HPLC

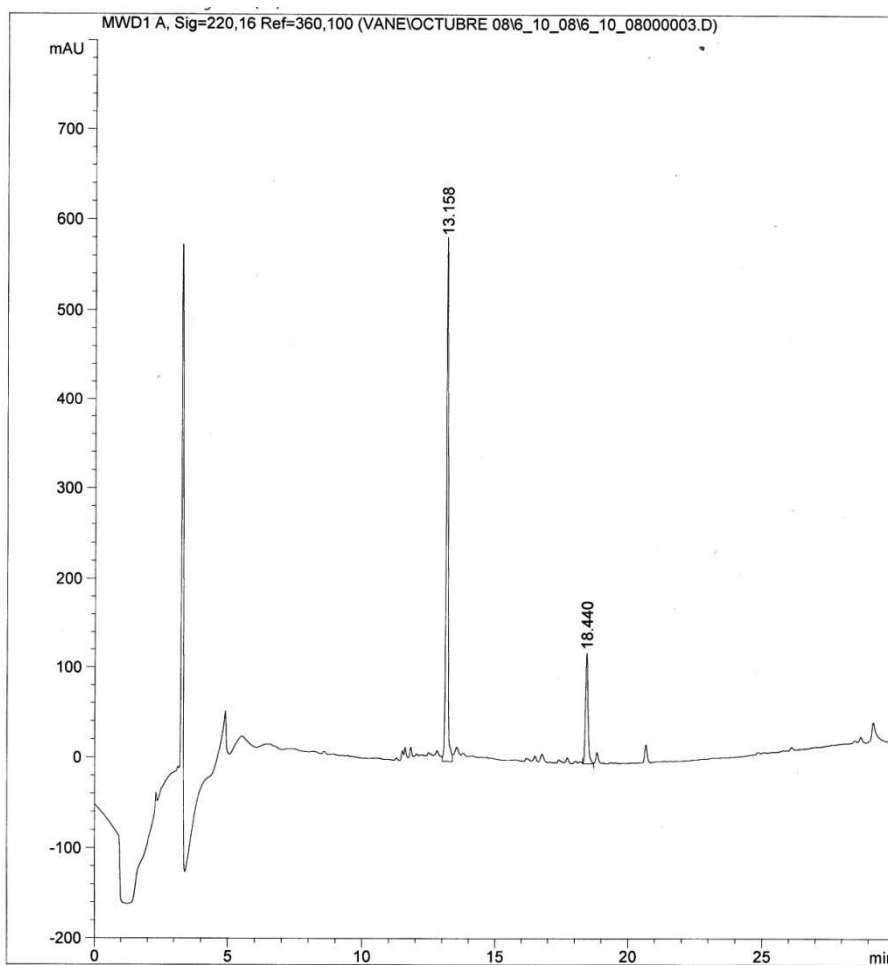


MS (ESI) m/z (%)

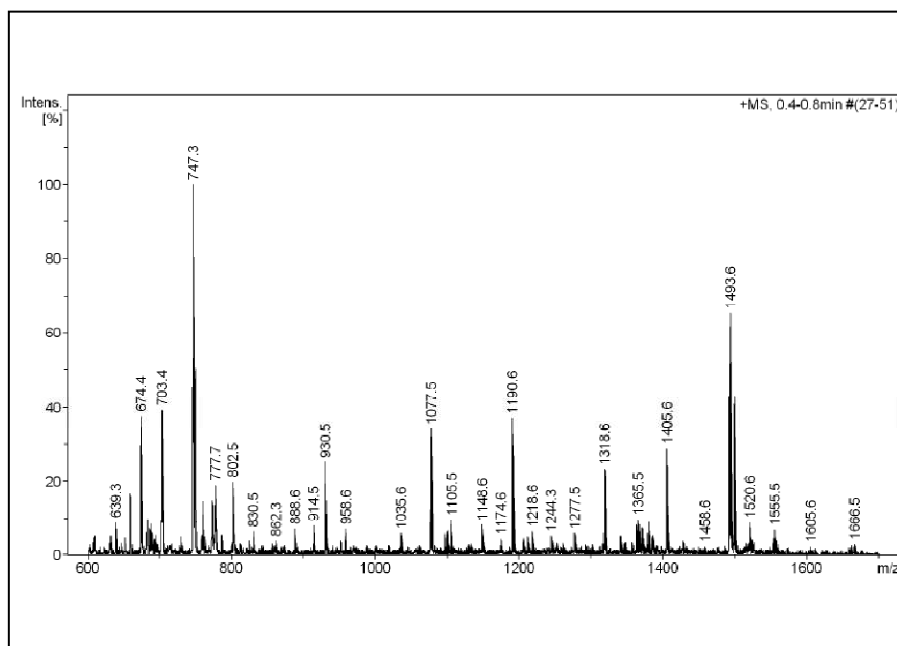


H-His(5-Br)-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-Phe-Leu-NH₂ (**63**)

HPLC

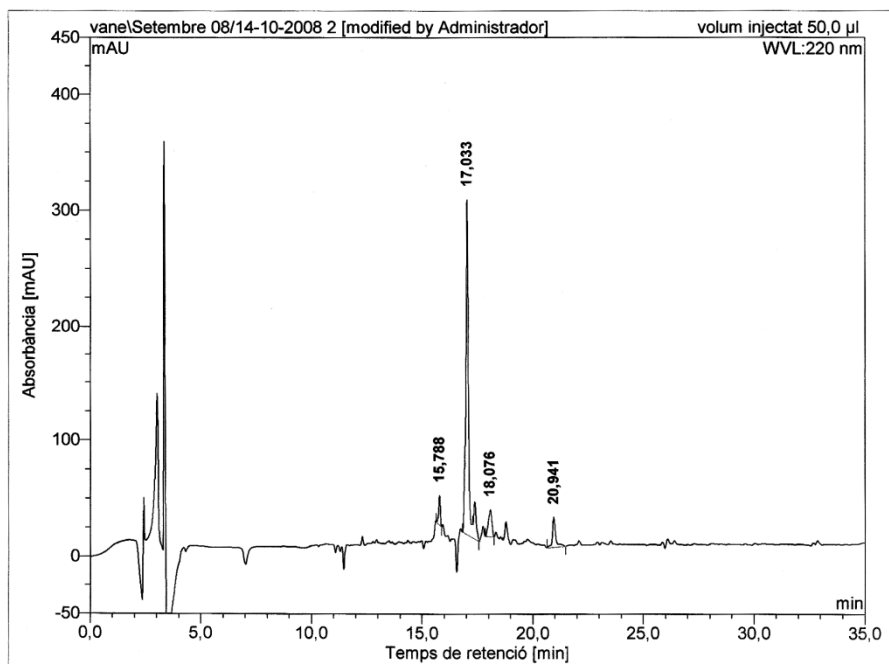


MS (ESI) *m/z* (%)

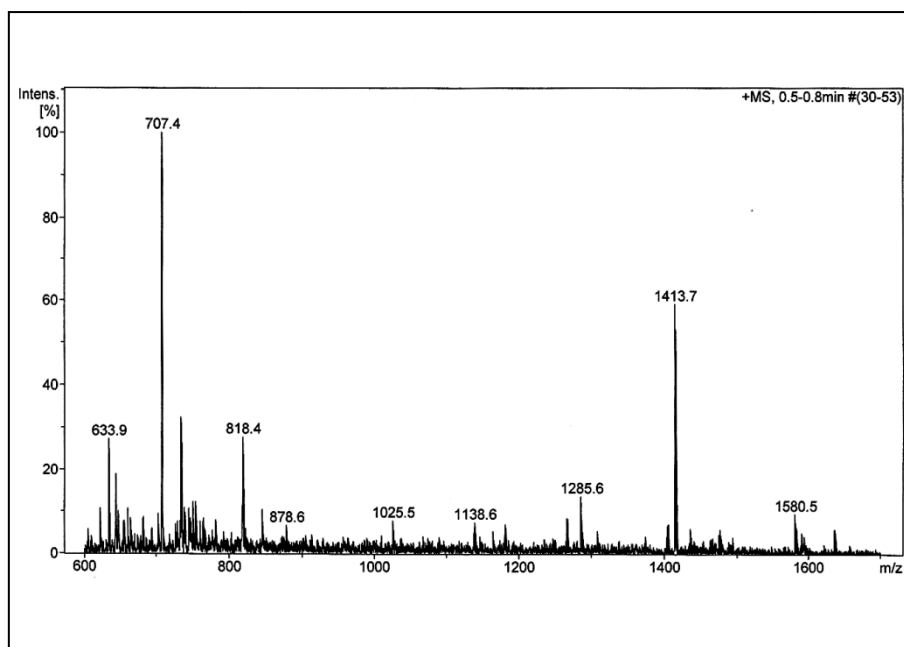


H-Phe-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-His-Leu-NH₂ (**67**)

HPLC

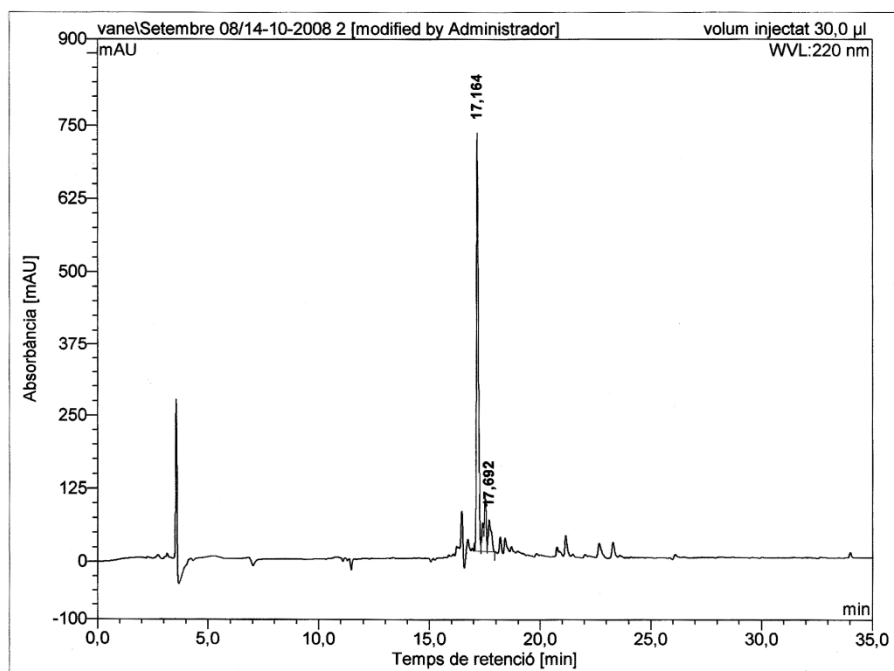


MS (ESI) *m/z* (%)

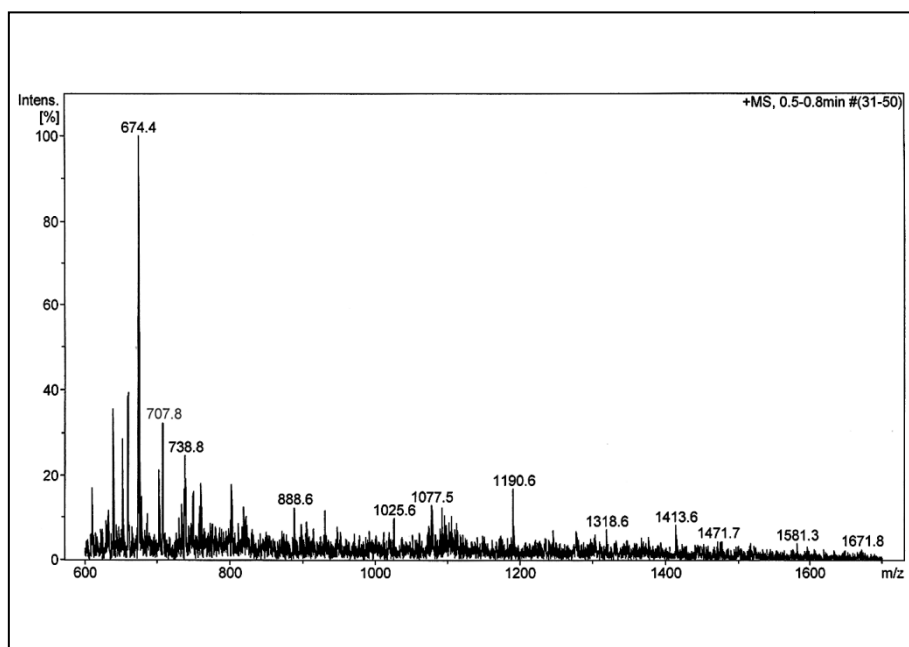


H-His-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-Phe-Leu-NH₂ (**68**)

HPLC

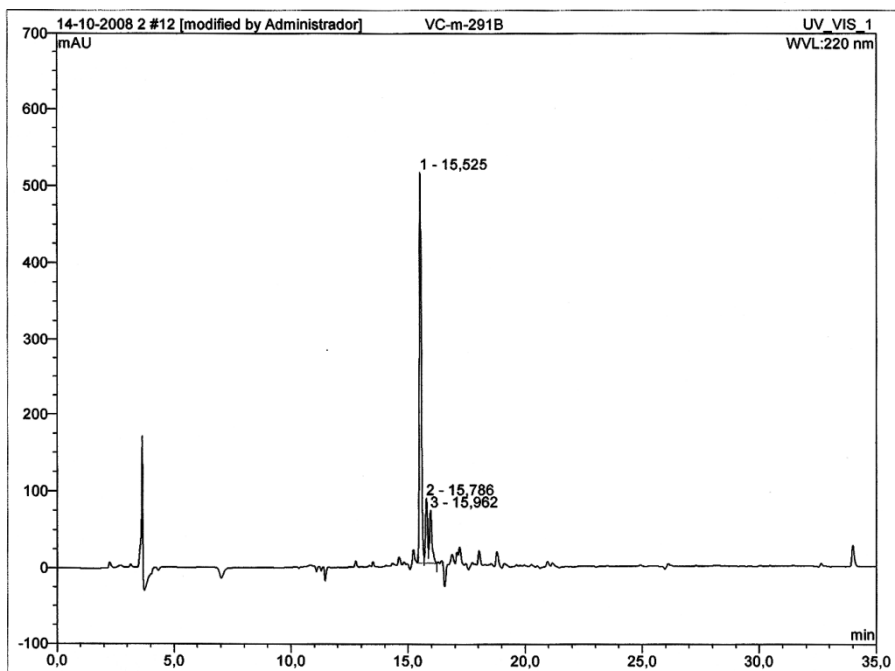


MS (ESI) *m/z* (%)

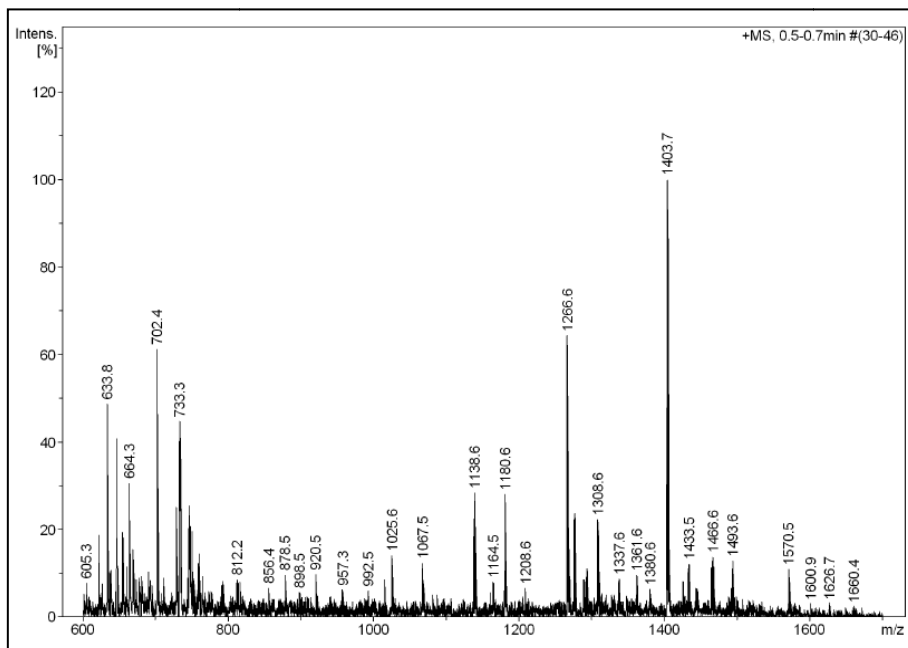


H-His-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-His-Leu-NH₂ (**69**)

HPLC

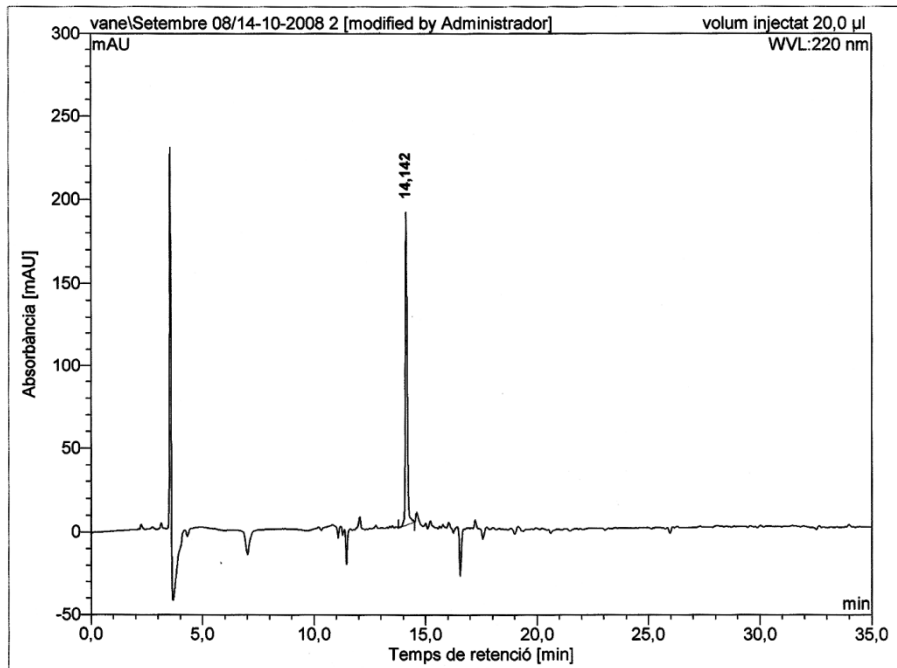


MS (ESI) *m/z* (%)

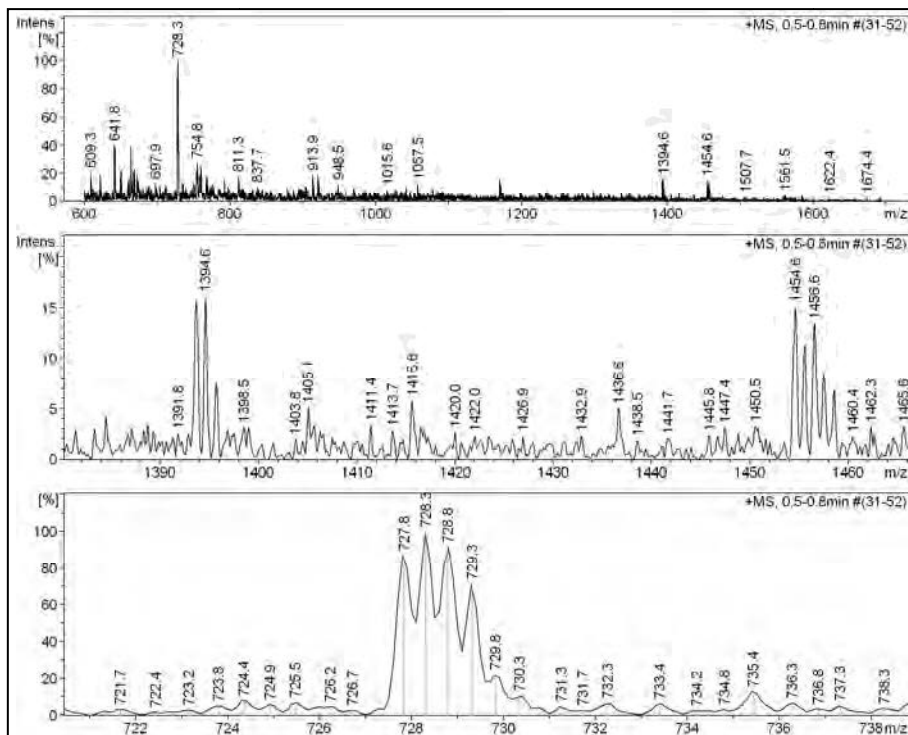


H-His-Lys-Leu-His-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-His-Leu-NH₂ (**70**)

HPLC

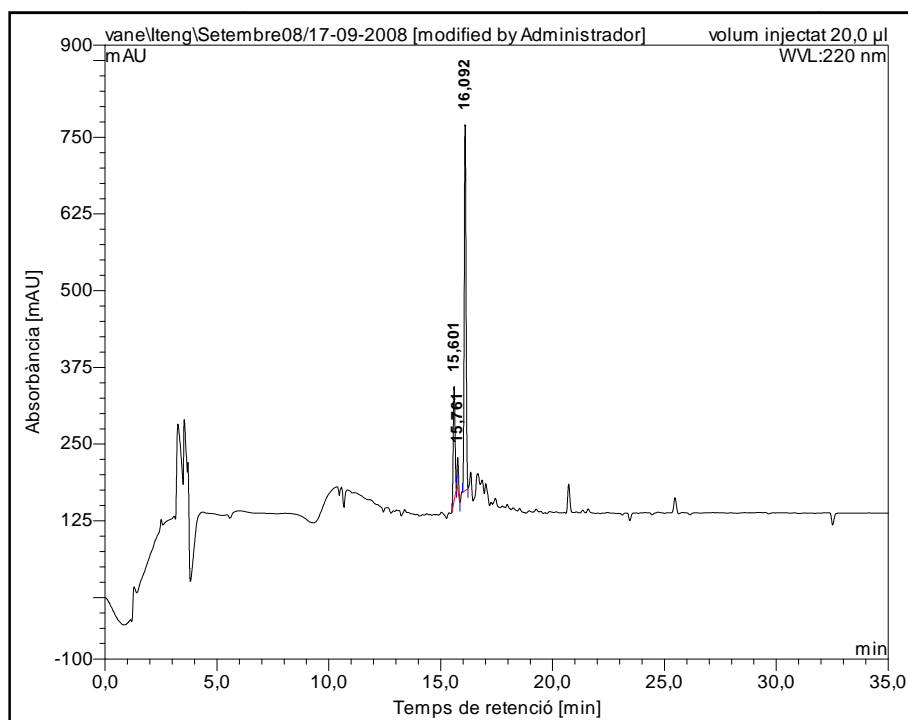


MS (ESI) *m/z* (%)

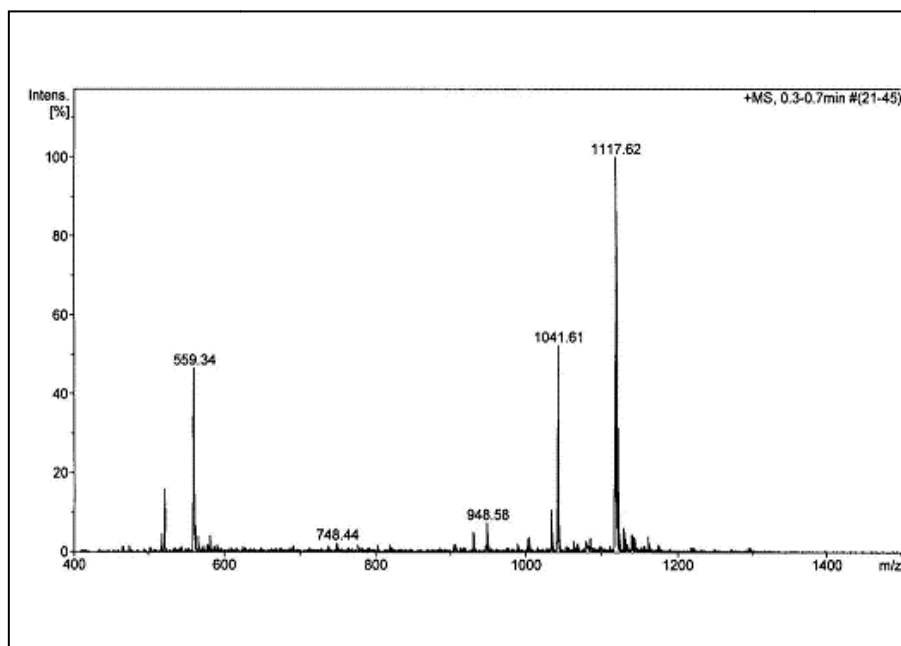


H-His(5-Ph)-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-Tyr-Leu-NH₂ (**52**)

HPLC

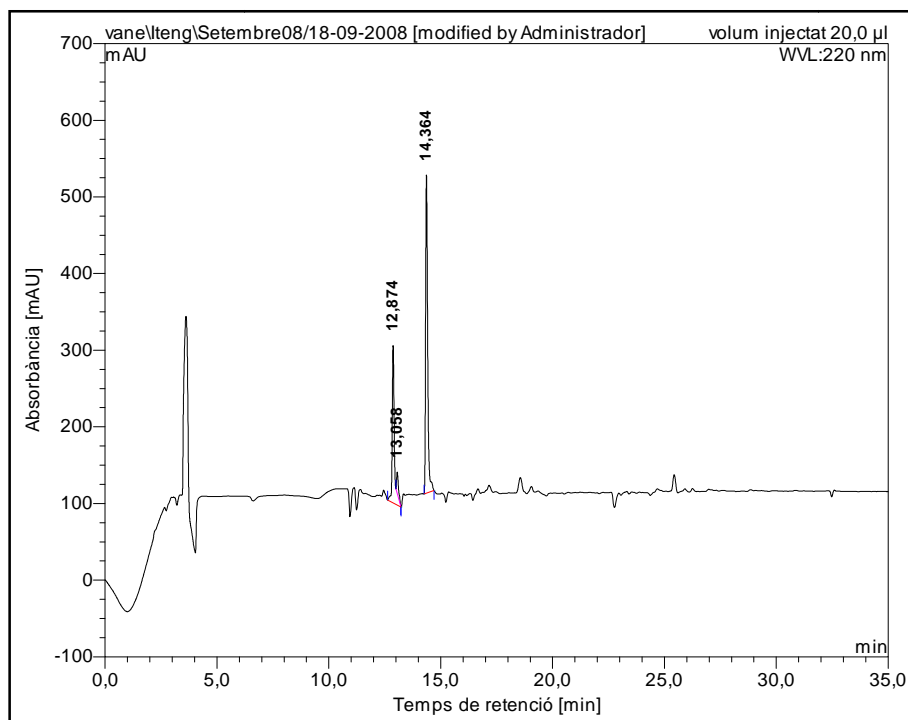
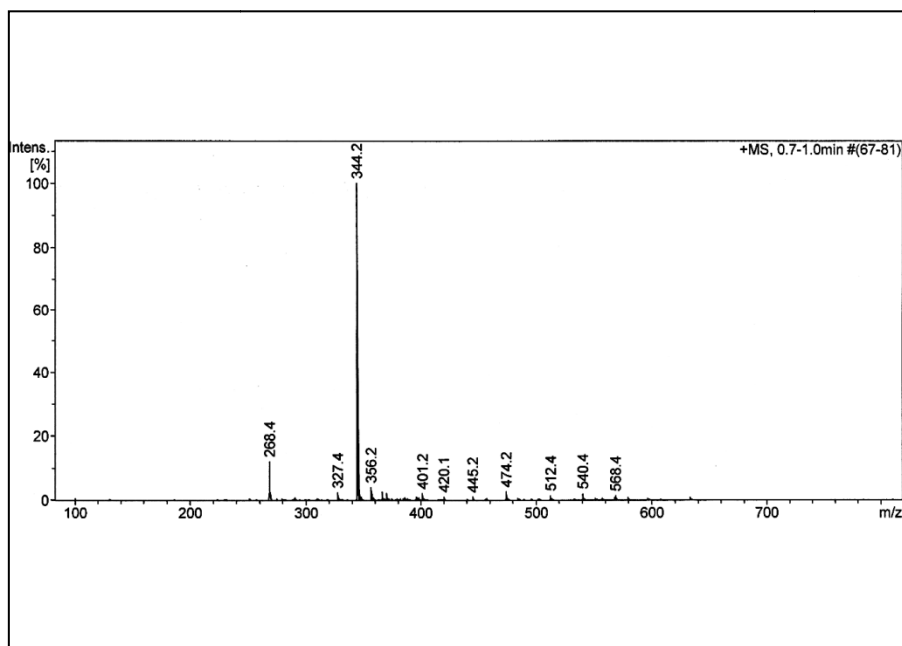


MS (ESI) m/z (%)



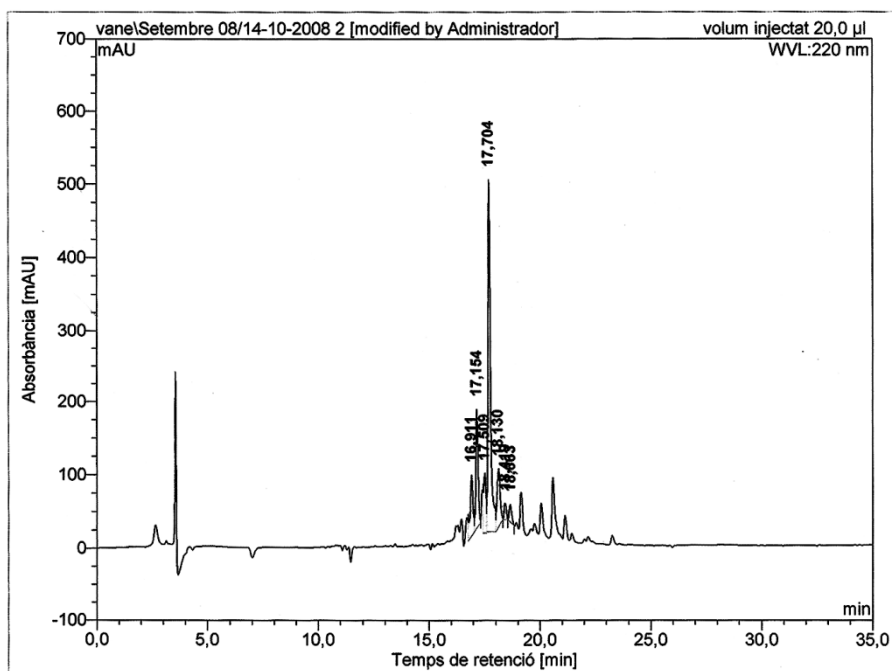
H-His(5-Ph)-Leu-NH₂ (**53**)

HPLC

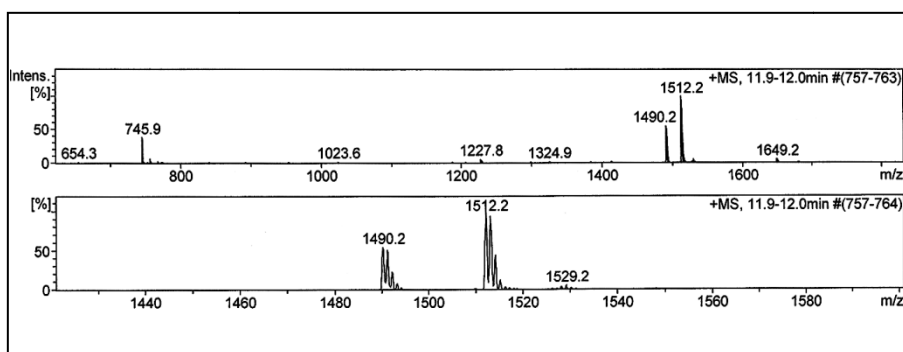
MS (ESI) m/z (%)

H-His(5-Ph)-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Leu-Lys-Phe-Leu-NH₂ (**60**)

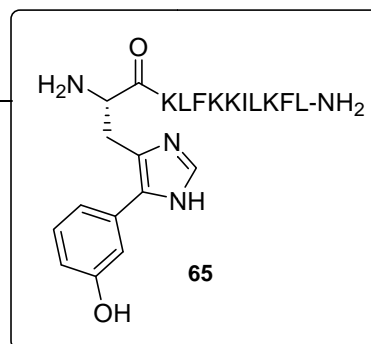
HPLC



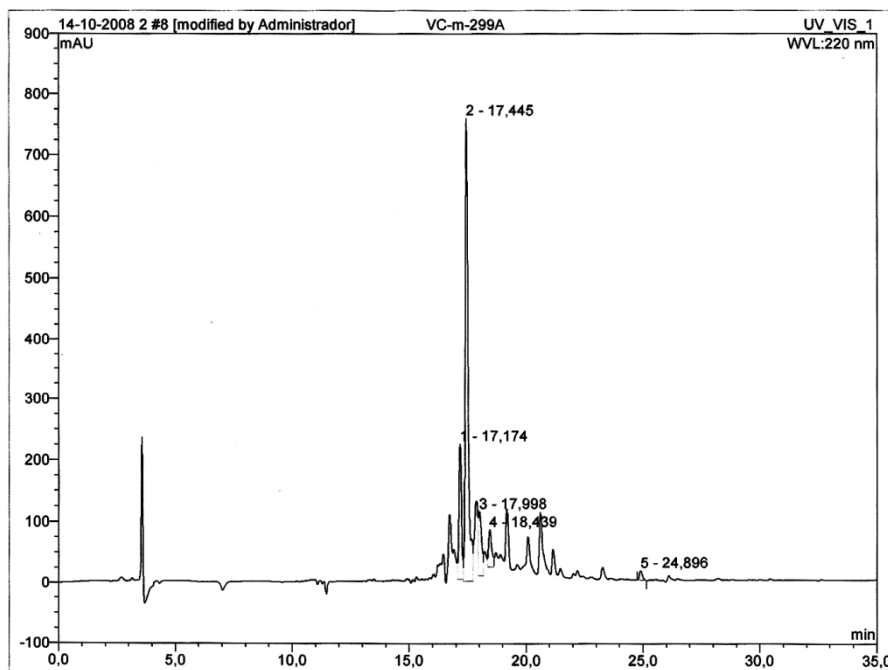
MS (ESI) *m/z* (%)



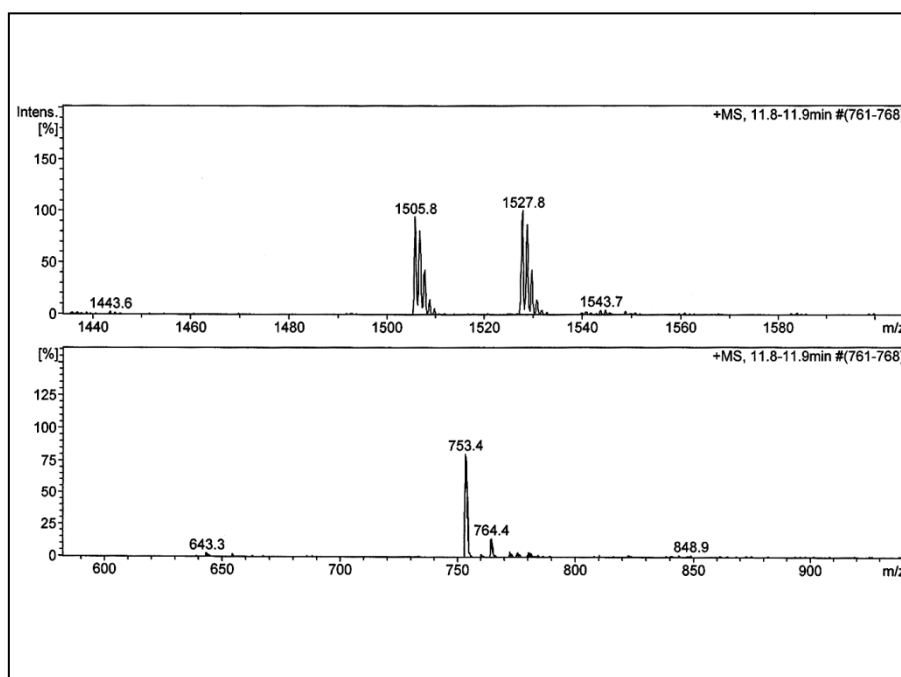
Biaryl peptide **65**



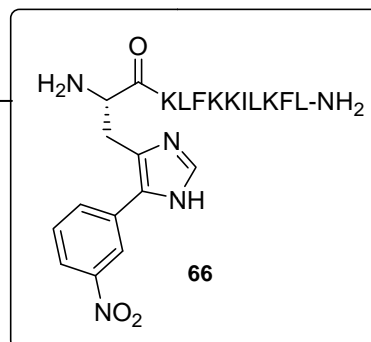
HPLC



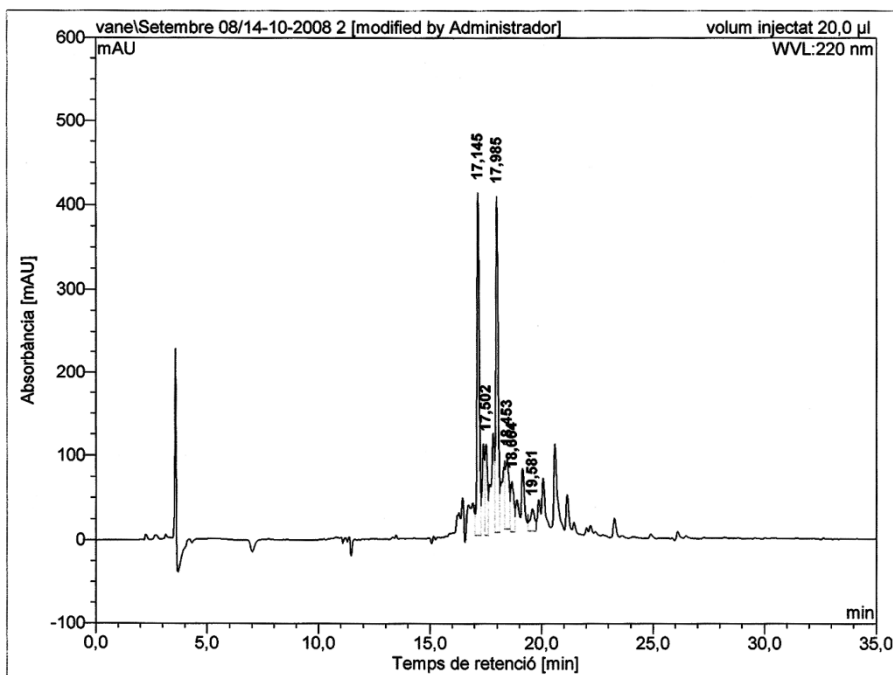
MS (ESI) m/z (%)



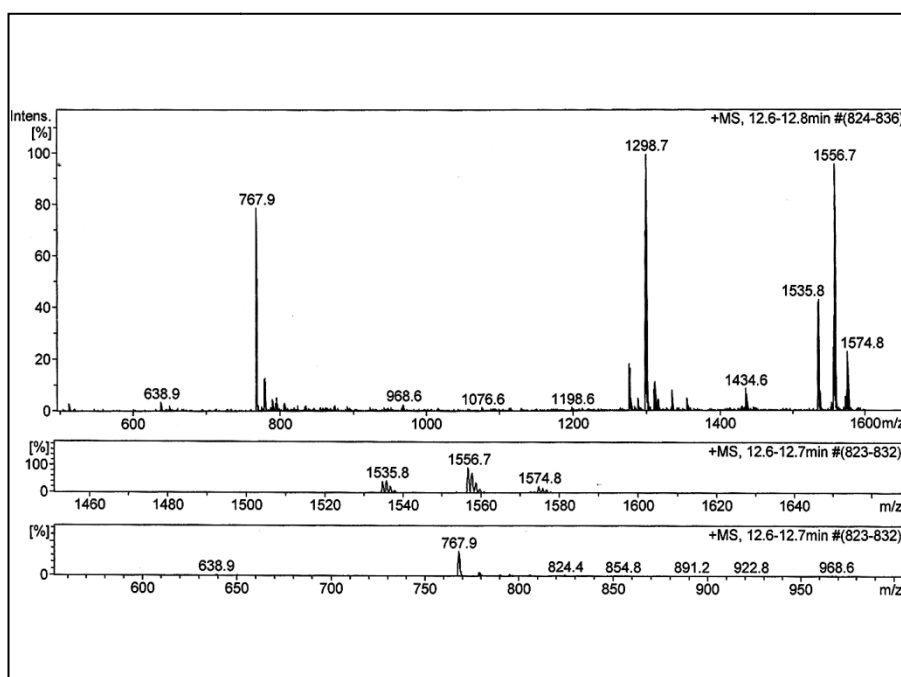
Biaryl peptide **66**



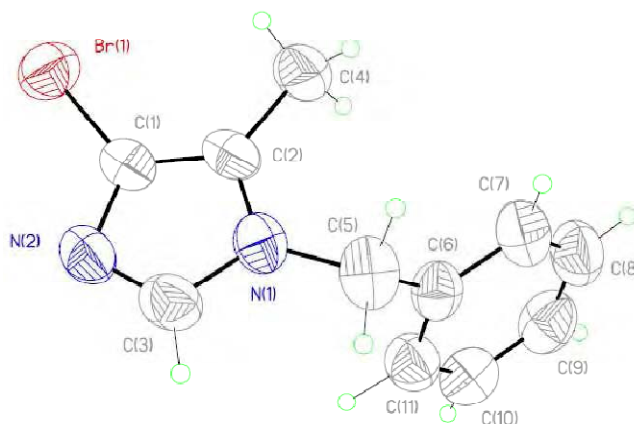
HPLC



MS (ESI) m/z (%)



APPENDIX III

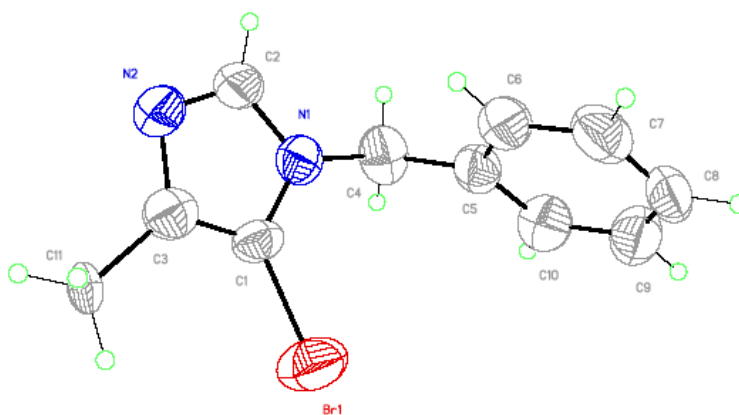
X-RAY CRYSTAL STRUCTURE REPORTOrtep plot of structural regioisomer 1-benzyl-4-bromo-5-methylimidazole (**3a**)**Table 1.** Crystal data and structure refinement for **pa88a3g**.

Identification code	pa88a3g
Empirical formula	C ₁₁ H ₁₁ Br N ₂
Formula weight	251.13
Temperature	300(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system, space group	Monoclinic, P 21/n
Unit cell dimensions	a = 8.929(11) Å α = 90 ° b = 6.335(8) Å β = 93.736(19) ° c = 19.86(3) Å γ = 90 °
Volume	1121(2) Å ³
Z, Calculated density	4, 1.488 Mg/m ³
Absorption coefficient	3.629 mm ⁻¹
F(000)	504
Crystal size	0.08 x 0.08 x 0.06 mm
Theta range for data collection	2.05 to 28.60 °
Limiting indices	-12 ≤ h ≤ 11, -8 ≤ k ≤ 8, -25 ≤ l ≤ 26
Reflections collected / unique	14075 / 2699 [R(int) = 0.0744]
Completeness to theta = 28.60	94.1 %
Absorption correction	None
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	2699 / 0 / 171
Goodness-of-fit on F ²	0.958
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0498, wR2 = 0.1202
R indices (all data)	R1 = 0.1139, wR2 = 0.1554
Largest diff. peak and hole	0.382 and -0.969 e.Å ⁻³

Appendix III: X-Ray crystal structure report

Table 2. Atomic coordinates ($\times 10^4$) and equivalent isotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for pa88a3g. U(eq) is defined as one third of the trace of the orthogonalized Uij tensor.

	x	y	z	U(eq)
Br(1)	3065(1)	6493(1)	219(1)	74(1)
N(1)	937(4)	3545(5)	1701(2)	56(1)
C(2)	1377(5)	3598(7)	1043(2)	55(1)
N(2)	2155(5)	6639(6)	1591(2)	65(1)
C(6)	-1502(5)	1530(7)	1738(2)	57(1)
C(1)	2128(5)	5505(7)	996(2)	54(1)
C(3)	1424(6)	5390(8)	2004(2)	65(1)
C(11)	-2536(6)	3165(8)	1775(2)	66(1)
C(5)	113(6)	1810(8)	2025(3)	69(1)
C(7)	-1980(7)	-411(9)	1444(3)	72(1)
C(9)	-4502(7)	956(10)	1239(3)	79(2)
C(4)	1084(8)	1849(11)	529(4)	79(2)
C(10)	-4042(7)	2892(10)	1535(3)	75(2)
C(8)	-3475(7)	-688(10)	1206(3)	79(2)

Ortep plot of structural regioisomer 1-benzyl-5-bromo-4-methylimidazole (**3b**)**Table 1.** Crystal data and structure refinement for **1P41 isomer B**.

Identification code	1p41isbg
Empirical formula	C ₁₁ H ₁₁ Br N ₂
Formula weight	251.13
Temperature	300(2)
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system	Monoclinic
Space group	<i>P</i> 2 ₁ / <i>n</i>
Unit cell dimensions	a = 8.289(4) Å α = 90 ° b = 6.477(3) Å β = 94.115(8) ° c = 19.813(9) Å γ = 90 °
Volume	1060.9(8) Å ³
Density (calculated)	1.572 Mg/m ³
Absorption coefficient	3.835 mm ⁻¹
F(000)	504
Cell formula units_Z	4
Crystal size	0.04 x 0.02 x 0.01 mm
Theta range for data collection	2.06 to 27.90 °
Limiting indices	-10 ≤ h ≤ 10, -8 ≤ k ≤ 8, -26 ≤ l ≤ 26
Reflections collected	15168
Independent reflections	2534 (R _{int} = 0.0574)
Completeness to theta = 27.90°	99.8 %
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	2534 / 0 / 136
Goodness-of-fit on F ²	1.073
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0879, wR2 = 0.2550
R indices (all data)	R1 = 0.1436, wR2 = 0.2996
Largest diff. peak and hole	1.485 and -0.907 e.Å ⁻³

Table 2. Bond lengths [Å] and angles [°] for **1P41 isomer B**

Br(1)-C(1)	1.845(6)
C(1)-C(3)	1.349(9)
C(1)-N(1)	1.365(8)
N(1)-C(2)	1.344(9)
N(1)-C(4)	1.459(9)
C(3)-N(2)	1.373(8)
C(3)-C(11)	1.577(8)
C(5)-C(10)	1.387(10)
C(5)-C(6)	1.389(10)
C(5)-C(4)	1.492(9)
N(2)-C(2)	1.312(10)
C(8)-C(9)	1.360(11)
C(8)-C(7)	1.389(12)
C(7)-C(6)	1.357(10)
C(10)-C(9)	1.357(10)
C(3)-C(1)-N(1)	108.2(5)
C(3)-C(1)-Br(1)	128.9(5)
N(1)-C(1)-Br(1)	122.9(5)
C(2)-N(1)-C(1)	104.8(5)
C(2)-N(1)-C(4)	126.7(6)
C(1)-N(1)-C(4)	128.5(6)
C(1)-C(3)-N(2)	108.8(6)
C(1)-C(3)-C(11)	126.8(6)
N(2)-C(3)-C(11)	124.3(6)
C(10)-C(5)-C(6)	117.1(6)
C(10)-C(5)-C(4)	120.5(7)
C(6)-C(5)-C(4)	122.4(7)
N(1)-C(4)-C(5)	114.6(6)
C(2)-N(2)-C(3)	104.9(6)
C(9)-C(8)-C(7)	119.3(7)
N(2)-C(2)-N(1)	113.2(6)
C(6)-C(7)-C(8)	120.2(8)
C(9)-C(10)-C(5)	121.8(7)
C(7)-C(6)-C(5)	121.2(7)
C(10)-C(9)-C(8)	120.4(8)

