

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI SALERNO
FACOLTA' DI SCIENZE MATEMATICHE FISICHE E NATURALI



CORSO DI LAUREA IN CHIMICA

Dottorato di ricerca in Chimica

-X CICLO-

Classe 62/S

Sintesi e proprietà' di peptoidi lineari e ciclici

Relatore: Prof. Francesco De Riccardis

Dottoranda: Chiara De Cola

Co-Relatrice: Prof.ssa Irene Izzo

Coordinatore : Prof. Gaetano Guerra

Anno Accademico 2008-2011

Abbreviazioni

| | |
|--------------------|--|
| BOP | Esafluorofosfato di 1H benzotriazolil-1-ilossi tris(dimetilammino) fosfonio |
| Cbz | Carbobenzilossi |
| DCC | Dicicloesilcarbodiimmide |
| DCM | Diclorometano |
| DIPEA | Etildiisopropilammina |
| DMF | <i>N, N'</i> -dimetilformammide |
| DNA | Acido desossiribonucleico |
| EDA | Etilendiammina |
| EP | Etere di petrolio |
| Fmoc | Fluorenilmetossicarbonile |
| HBT | <i>O</i> -(benzotriazol-1-il)- <i>N, N, N', N'</i> - tetrametiluronio esafluorofosfato |
| HATU | <i>O</i> -(7-Azobenzotriazolil)-1,1,3,3-tetrametiluronio esafluorofosfato |
| HMPA | Ammide esametilfosforica |
| PyBOP | Esafluorofosfato di 1H benzotriazolil-1-ilossi-tris(pirrolidino) fosfonio |
| PNA | Acido nucleico peptidico |
| RNA | Acido ribonucleico |
| <i>t</i>-Bu | <i>terz</i> -Butile |
| THF | Tetraidrofurano |

Abstract

1. Introduzione ai peptidomimetici

Le strutture e le attività metaboliche di tutte le cellule si basano su una vasta gamma di molecole comprendenti: amminoacidi, carboidrati, lipidi e nucleotidi, insieme alle forme polimeriche di questi composti. Ognuna di queste molecole presenta una caratteristica struttura chimica, una determinata capacità di interagire con altre molecole e una specifica funzione fisiologica.

È stato visto che la struttura chimica e le attività fisiologiche sono strettamente correlate tra loro, a tal punto che senza una giusta conformazione le suddette attività possono venir meno. Pertanto, negli ultimi anni si sta investigando su composti che possano mimare le molecole biologiche in tutte le loro funzioni e allo stesso tempo avere le proprietà di un biopolimero non naturale.

Una di queste classi di molecole biologiche è quella dei nucleotidi, i quali prendono parte attiva in molti aspetti della vita cellulare, infatti partecipano a reazioni di biosintesi e di ossidoriduzione, al trasferimento di energia, svolgono una serie di funzioni strutturali e catalitiche.

Un ruolo ancora più importante rivestono i loro polimeri, gli acidi nucleici, ovvero DNA ed RNA.¹ In accordo con il dogma centrale della biologia molecolare, infatti, la natura ha scelto questi due composti per l'immagazzinamento (DNA) e il trasferimento (RNA) dell'informazione genetica nelle cellule viventi.²

Oggigiorno, numerosi studi sono concentrati sulla sintesi e sull'analisi di molecole sintetiche in cui siano presenti modificazioni del ribosio, della base azotata o del

gruppo fosfato, al fine di ottenere chimere, o ibridi, in grado di inibire in modo specifico le funzioni degli acidi nucleici, prospettandosi come farmaci “intelligenti”.

Tra i mimetici del DNA il più interessante (fig. 1.1), fu ideato grazie agli sforzi combinati dei gruppi del biochimico Peter Nielsen e del chimico organico Ole Buchardt che, nel 1991, ottennero una molecola ibrida a cui diedero il nome di acido nucleico peptidico (PNA)³.

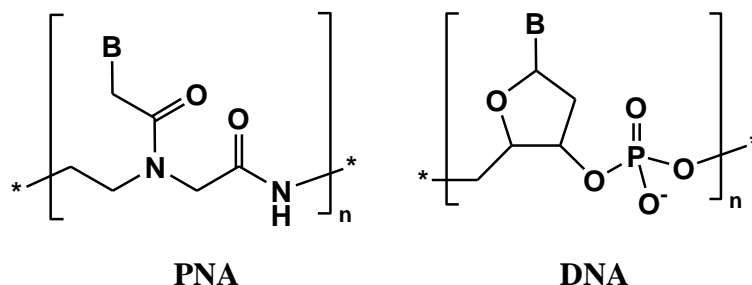


Figura 1.1: PNA e DNA a confronto.

Un'altra classe di molecole che fanno parte degli organismi viventi e che sono di rilevante importanza per le proprietà biologiche e farmacologiche sono le proteine. Alcuni peptidi mostrano eccezionali attività antimicrobiche⁴, antibiotiche e antitumorali, però la loro applicazione come potenziali farmaci è limitata, in quanto sono instabili in presenza di peptidasi e soggetti a proteolisi. Il loro impiego, pertanto, risulta impossibile nel campo medico, perché verrebbero rapidamente demoliti. Considerando che l'uomo, in generale, tenta di copiare la natura e di coglierne l'essenza, si è giunti a pensare di impiegare molecole che mostrino proprietà chimiche, strutturali e biologiche simili ai peptidi, tali molecole vengono infatti definite peptidomimetiche.

Tra i vari peptidomimetici sintetizzati, rientrano i peptoidi, oligomeri che differiscono dai classici peptidi, in quanto le catene laterali di cui sono costituiti, sono spostate di un atomo rispetto alla sequenza peptidica, risultando legate all'azoto

ammidico e non al carbonio in α^4 rispetto alla funzione carbossilica, così come mostrato in figura 1.2:

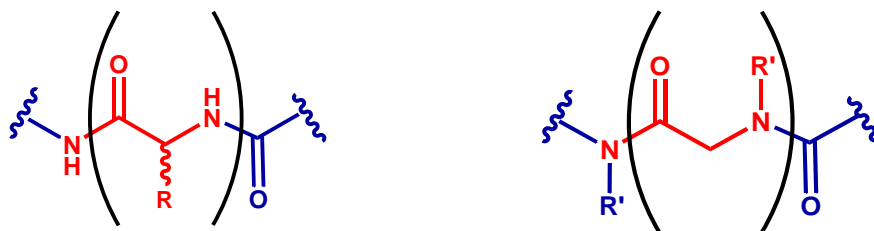


Figura 1.2: struttura chimica dei peptidi a confronto con quella dei peptoidi

In letteratura sono riportati vari esempi di peptoidi, sia lineari sia ciclici, e in entrambi i casi le applicazioni sono innumerevoli. L'alta efficienza della sintesi su fase solida ha permesso di ottenere una vasta gamma di peptoidi diversamente funzionalizzati. La lunghezza può essere incrementata dalla coniugazione di diversi materiali tale da avere un ampio *range* di molecole che imitano le proteine, e una delle proprietà più interessanti dei peptoidi è la loro capacità di adottare conformazioni ad elica stabili in diversi solventi.

Dal momento che i polipeptidi con strutture ad elica hanno ruoli biologicamente rilevanti, sono stati studiati peptoidi con strutture secondarie analoghe. Sono state generate delle librerie (altresì denominate "chemoteche"), dotate di ampia diversità molecolare, di nuovi peptoidi basati su specifiche sequenze in modo tale da ottenere eteropolimeri con la conformazione desiderata⁵.

La formazione di strutture ad elica è da ricollegare alla presenza delle catene laterali legate direttamente all'atomo d'azoto, le quali apportano una certa congestione sterica, minimizzata grazie proprio all'assunzione di conformazioni simili a quelle riscontrate nei peptidi.

La struttura ad elica risulta essere stabilizzata, non da legami ad idrogeno ma da repulsioni steriche ed interazioni dipolo-dipolo tra le catene laterali chirali.

1. PNA con scheletro peptoidico lineare.

Il PNA è definito come un polimero organico, simile al DNA, in cui l'intera porzione ribosio-fosfato è stata sostituita da unità ripetitive di *N*-(2-amminoetil)glicina, connesse tra di loro mediante legami peptidici⁶ e le diverse basi azotate, puriniche (A e G) e pirimidiniche (C e T), sono legate all'azoto glicinico attraverso un metilen carbonile (figura 1.1).

I PNA (dall'inglese *Peptide Nucleic Acid*) non sono presenti in natura ma vengono sintetizzati artificialmente; tuttavia, è stato ipotizzato che le prime forme di vita sulla terra possano aver utilizzato il PNA come materiale genetico passando poi al sistema basato su DNA ed RNA.

Il forte interesse rivolto verso questi composti, è insito nella loro eccezionale inerzia chimica verso determinati enzimi e nella loro capacità di legarsi stabilmente e specificamente alla doppia elica del DNA. Infatti, grazie alla similarità delle strutture, è possibile un'ibridizzazione tra il PNA e sequenze specifiche di DNA o RNA mediante legami a idrogeno di tipo Watson-Crick e le interazioni risultano essere più efficienti di quelle presenti nelle doppie eliche generate dal DNA. La motivazione della accresciuta forza di queste interazioni, risiede nell'assenza nel PNA di gruppi fosfato carichi, apportando ad una minore repulsione elettrostatica tra i due filamenti⁷.

Un indice della stabilità di questo tipo di interazione è fornito dalla temperatura di *melting* T_m , definita come la temperatura alla quale metà del DNA si trova nello stato a doppia elica, e l'altra metà in quello denaturato (*random coil*). Tra i vari fattori che, in generale, influenzano questo parametro, particolare attenzione va rivolta alla natura del solvente, alla concentrazione degli ioni in soluzione ed al pH. Tipicamente, la T_m di una duplex PNA/DNA costituita da un decapentamero è all'incirca 70°C, a fronte di una T_m di circa 55°C per la corrispondente duplex DNA/DNA nelle stesse condizioni di pH e di concentrazione salina. Il PNA forma duplex anche con l'RNA con simili valori di T_m . Come regola generale, si può dire che la T_m di una duplex PNA/DNA è più alta di 1°C per base rispetto alla corrispondente DNA/DNA.

Un'ulteriore conseguenza dell'assenza di cariche nel PNA è che la stabilità degli ibridi da esso formati è praticamente indipendente dalla concentrazione salina. Questo fenomeno è in forte contrasto con quanto si osserva per le duplex DNA/DNA, la cui stabilità è fortemente influenzata dalla forza ionica del mezzo in cui si trovano.

Il PNA, inoltre, a differenza di DNA e RNA, riconosce e lega filamenti complementari in entrambi le direzioni, parallela e antiparallela. Nell'ibridazione di tipo antiparallelo l'estremità *N*-terminale del PNA lega il 3' filamento di DNA mentre l'estremità *C*-terminale si appaia con il 5'. Viceversa, nell'ibridazione di tipo parallelo l'estremità *N*-terminale si appaia con il 5' del filamento di DNA mentre l'estremità *C*-terminale lega il 3'.⁸ Sperimentalmente risulta più stabile il complesso a catena antiparallela, la sua formazione è rapida, mentre per ottenere il complesso a catena parallela sono richieste delle ore, in quanto in quest'ultimo i legami a idrogeno che si instaurano sono meno efficaci. Nel caso di PNA omopirimidinici e di PNA aventi un rapporto pirimidina/purina elevato si verifica un altro fenomeno particolarmente interessante in quanto sono in grado di legarsi a filamenti complementari di DNA dando luogo a strutture a tripla elica insolitamente stabili. La

realizzazione di queste triplex è resa possibile dall'accoppiamento delle basi attraverso legami ad idrogeno sia di tipo Watson-Crick, sia di tipo Hoogsteen (fig. 2.1)⁶.

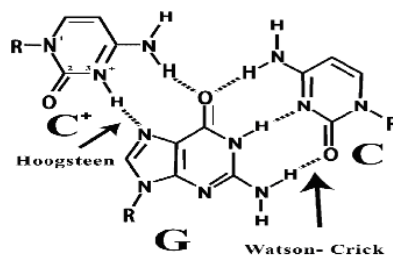


Figura 2.1. Illustrazione dei due tipi di legami ad idrogeno, Watson-Crick e Hoogsteen, responsabili della formazione delle triplex

Il PNA manifesta oltre ad un'eccezionale inerzia chimica, anche quella biologica. È resistente all'attacco di nucleasi e peptidasi, sia nel siero umano che in estratti cellulari, di conseguenza il tempo di vita è maggiore sia in vitro che in vivo⁹. Dal punto di vista chimico, invece, le molecole di PNA sono stabili in ambiente relativamente acido, mentre, nelle stesse condizioni, il DNA va facilmente incontro a depurinazione.

In virtù dell'alta stabilità termica e della resistenza alle nucleasi ed alle proteasi, i PNA si sono dimostrati i candidati ideali per la modulazione artificiale dell'espressione genica e, tutt'oggi, sono utilizzati non solo come potenziali agenti terapeutici ma anche come potenti strumenti in biologia molecolare ed in campo diagnostico. I PNA trovano applicabilità nel campo della biologia molecolare come agenti antisense e antigene. Nel primo caso agiscono come inibitori della trascrizione, in quanto, agiscono sull'RNA e sono in grado di arrestare la genesi delle proteine.

Agiscono, invece, come agenti antigene quando bloccano la replicazione, legandosi direttamente al DNA¹⁰.

Il vantaggio di queste modalità terapeutiche risiede nel fatto che questi composti intervengono selettivamente sulle cellule che esprimono livelli aberranti di RNA o di proteine, senza, però, intaccare tutte le altre cellule.

Accanto agli utilizzi nella terapia genica, i PNA rivestono anche una particolare importanza nel campo della biologia molecolare perché possono essere adoperati come enzimi di restrizione artificiali. Molte sequenze di DNA, infatti, non sono riconosciute dagli enzimi di restrizione; in questi casi può essere d'aiuto un PNA che abbia una sequenza complementare a quella di riconoscimento. Questo fa sì che il PNA si leghi alla sequenza bersaglio sulla doppia elica del DNA, mediante “*strand invasion*”, quindi un filamento di DNA viene spezzato rimanendo “disappaiato” e può così diventare substrato dell'enzima S1 che procede alla degradazione del DNA in frammenti ben definiti. Altre applicazioni importanti prevedono l'utilizzo di PNA nella purificazione degli acidi nucleici e in diagnostica.¹¹ Recentemente, peraltro, ha suscitato forte interesse l'utilizzo di queste sostanze in biosensori. Sonde a PNA, con la loro alta sensibilità, migliore specificità, maggiore stabilità e la capacità di legare un bersaglio con maggiore affinità e più rapidamente, rappresentano senza dubbio un sistema ideale per la rivelazione di un determinato analita bersaglio.

Nonostante i suoi svariati vantaggi e potenziali applicazioni, il problema più importante nell'utilizzo del PNA è rappresentato al di là di dall'elevata tendenza ad auto-aggregarsi anche dalle difficoltà di penetrazione dei PNA attraverso le membrane cellulari a causa della scarsa solubilità che questi composti presentano⁸. Inoltre, la solubilità del PNA è relazionata alla lunghezza dell'oligomero e al rapporto purine/pirimidine e la permeabilità cellulare molto bassa, ne limita le applicazioni nella terapia antisense e antigenica. Questo è in gran parte dovuto alla loro natura neutra e, in questo senso, ci si sta muovendo mediante l'introduzione di gruppi carichi sulla catena principale in modo da aumentarne l'idrosolubilità.

Per ovviare all'inconveniente dell'insolubilità recentemente sono state apportate alcune modifiche strutturali a questi derivati consistenti, principalmente, nell'introduzione di residui carichi positivamente o negativamente¹².

Tali modifiche possono essere apportate in posizione C2 e C5 e in posizione N- γ , con l'ultimo caso è possibile avere uno scheletro peptoidico.

Un esempio di scheletro lineare di tipo "peptoidico" è stato riportato dal gruppo del prof. Chuan-Fa Liu¹² dell'Università di Singapore, il quale ha sfruttato le proprietà dei peptoidi per sintetizzare una PNA modificato nella posizione γ -N.

Questa modificazione sul γ -N dello scheletro del PNA porta ad una struttura che presenta un legame in catena di tipo "peptoidico" e non più peptidico, per di più la lunghezza della catena alchilica in posizione γ -N, gioca un ruolo importante nell'influenzare l'ibridizzazione e l'affinità del PNA modificato con gli acidi nucleici. La modificazione in questa posizione preserva la natura achirale¹³ del PNA e non causa complicazioni stereochimiche durante la sintesi, e introducendo una catena con un gruppo funzionale carico può fungere come punto di ancoraggio per la maggior parte delle molecole di interesse biochimico. Tuttavia si è visto, che la lunghezza della catena gioca un ruolo cruciale nella determinazione dell'affinità del PNA modificato con il DNA.

In riferimento a tali studi, parte dei miei obiettivi di ricerca sono consistiti nella sintesi di analoghi monomerici di PNA modificati nella posizione suddetta (fig. 1.4, monomeri A e B) con opportuni gruppi funzionali carichi negativamente, tale da avere il biopolimero più affine e compatibile con l'ambiente fisiologico cellulare.

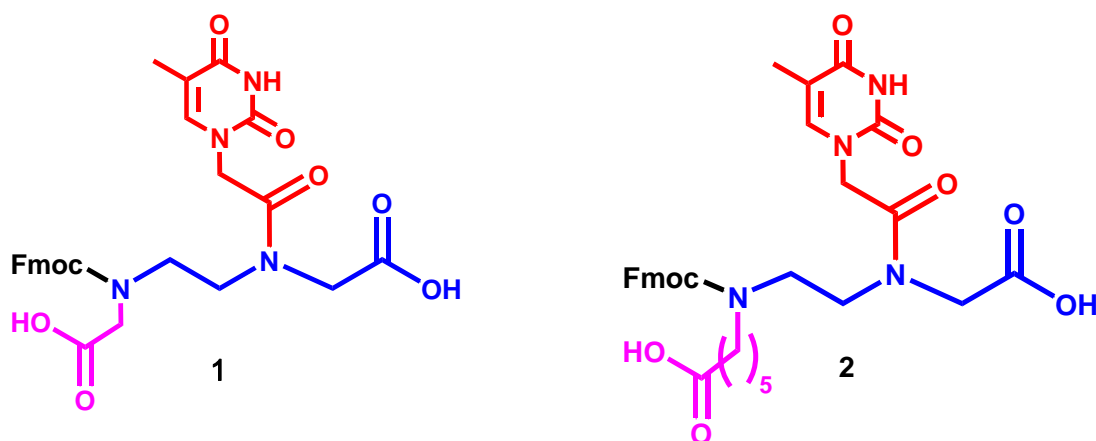


Figura 2.2: Monomeri di PNA.

L'inserzione dei monomeri A e B in oligomeri di PNA classico è stata effettuata mediante sintesi standard su fase solida e ha consentito di valutarne l'interazione con un singolo filamento di DNA attraverso la determinazione della T_m .

2. Ciclopeptoidi.

Esiste una vasta letteratura di derivati ciclici di natura peptidica. Tali composti possiedono uno scheletro ciclico chirale e conformazionalmente rigido, e catene laterali con una definita orientazione spaziale. Sono stati preparati derivati ciclici di β -amminoacidi N,N' -disostituiti, potenziali *scaffold* molecolari a simmetria C_2 , in cui le catene laterali legate all'atomo di azoto assumono una posizione pseudo-assiale. Tale disposizione spaziale permette un'ampia funzionalizzazione delle catene e le rende possibili punti di ancoraggio per opportune unità catalitiche¹⁴.

Studi conformazionali hanno evidenziato come la presenza di legami ad idrogeno intramolecolari *NH-CO*- conferisca a tale struttura maggiore rigidità (figura 3.1).

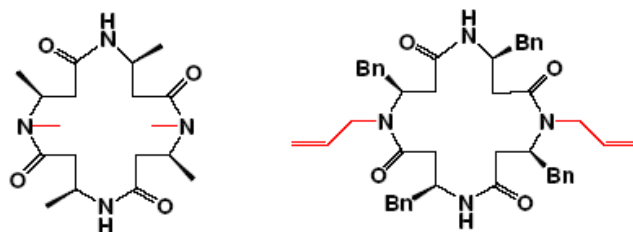


Figura 3.1: Derivati ciclici di β -amminoacidi *N,N*-disostituiti.

La rigidità conformazionale, associata alla possibilità di inserimento di specifici farmacofori, può conferire a tali molecole le attività biologiche desiderate.

Sulla base delle potenziali applicazioni riscontrate per i peptidi ciclici, nell'evoluzione di strutture peptoidiche il passo successivo è stato la sintesi di peptoidi conformazionalmente bloccati, in modo tale da ottenere strutture rigide con proprietà peptidomimetiche.

Esistono in letteratura, esempi di macrociclopeptoidi, tipo quello associato agli α -ciclopeptoidi e studiati da Kirshenbaum¹⁵ e collaboratori oppure quello riferito a β -ciclopeptoidi e proposto da Taillefumier¹⁶.

Gli α -ciclopeptoidi di Kirshenbaum sono stati ideati esclusivamente come analoghi di strutture a gomito β . L'idea di creare tali prodotti è nata valutando la facilità di ciclizzazione di oligomeri lineari peptoidici, che grazie all'elevata mobilità per la presenza delle catene laterali, si ripiegano senza grandi difficoltà su se stessi formando macrocicli di varia natura e diversamente funzionalizzati¹⁵.

La conformazione ripiegata consente di generare dei sistemi chimici in grado di connettere opportunamente strutture secondarie proteiche tali da fornire al polipeptide una struttura compatta e un'architettura globulare.

La regolarità strutturale dei peptoidi ciclici permette a questi di poter essere considerati non solo come base per lo sviluppo di potenziali strutture secondarie, ma anche come scheletri in grado di generare vaste librerie per l'ampliamento della diversità molecolare.

Taillefumier¹⁶ e collaboratori, invece hanno realizzato la prima sintesi di β -ciclopeptoidi, tenendo conto che i β -peptoidi lineari rappresentano una nuova classe di strutture poliammidiche sintetiche che mimano i β -peptidi¹⁷, nei quali la catena dell'amminoacido è stata spostata dal C_α (o C_β) all'azoto ammidico.

Taillefumier ha sintetizzato β -ciclopeptoidi da oligomeri lineari che ciclizzano facilmente, poiché presentano un atomo d'azoto ammidico terziario che agevola l'isomerizzazione *trans-cis* del legame peptoidico¹⁵.

Il vantaggio che ne deriva dall'uso dei peptoidi, come peptidomimetici, è che mostrano una grande stabilità proteolitica, possono essere sintetizzati su larga scala a costi relativamente bassi, inoltre possono adottare conformazioni analoghe a quelle dei peptidi se sono opportunamente funzionalizzati. Numerosi piccoli oligomeri (meno di otto unità) mostrano una rilevante attività terapeutica agendo da antagonisti, da inibitori o da attivatori recettoriali.¹⁸ La presenza della catena laterale in posizione amminica e non in quella al carbonio α al carbonile, consente di avere uno scheletro achirale, tuttavia la maggior parte dei peptoidi presentano una forte mobilità conformazionale, e senza le opportune congestioni steriche da parte delle catene laterali, vengono meno tutte le possibili strutture secondarie, terziarie e quaternarie delle classiche proteine.

Pertanto, affinché possano mimare realmente le attività dei peptidi, è necessario conferire ai peptoidi la suddetta rigidità conformazionale.

Con l'obiettivo di disegnare peptoidi con strutture terziarie ben definite Zuckermann e i suoi collaboratori hanno scoperto che eliche peptoidiche anfifiliche, in acqua, tendono ad auto-assemblarsi. Un esempio è rappresentato in figura 3.2, il peptoido presenta catene laterali con centri stereogenici e gruppi idrofobici e che è in grado di formare un'elica trimerica in soluzione acquosa.

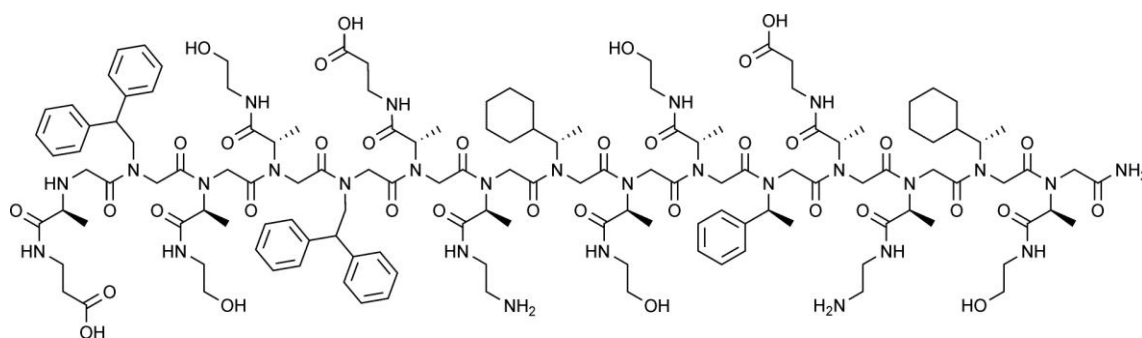


Figura 3.2

Studi eseguiti da Dill e dai suoi collaboratori hanno individuato, come fattore motrice dell'auto-assemblaggio di queste molecole, la formazione di un nucleo idrofobico.¹⁹

Sono stati preparati da Zuckermann e collaboratori, peptoidi formati da due eliche connesse con *link* costituiti da amminoacidi, quali glicina e prolina (*e.g.* Gly-Pro-Gly-Gly) che sono propensi a formare dei ripiegamenti di tipo II, in quanto la glicina non ha catene laterali ed è molto flessibile e la prolina, invece, avendo una struttura ciclica, è molto rigida.¹⁸

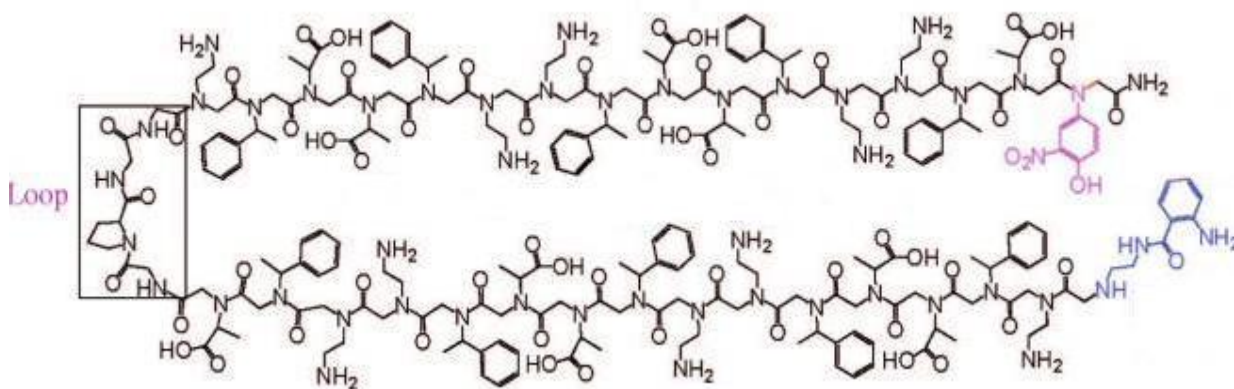


Figura 3.3

Il complesso con lo Zinco, ottenuto modificando la molecola in figura 3.2, con gruppi tiolici e imidazoli in catena laterale, rappresenta un esempio di sistema peptidico con struttura secondaria stabile che realizza una struttura terziaria (Figura 3.4).¹⁸

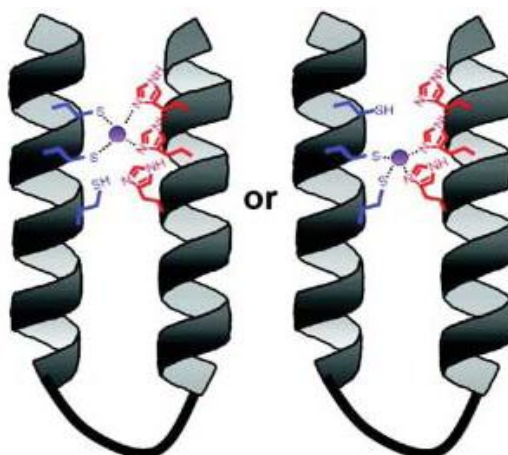


Figura 3.4

Sono stati effettuati degli studi sulla relazione esistente tra struttura e funzione¹⁹, e si è visto che per certe applicazioni è necessario avere una bassa mobilità conformazionale. I modi per ridurre tale mobilità sono vari e così come si è evinto da dati empirici, introducendo delle catene laterali ingombrate stericamente con centri stereogenici e/o ciclizzando, è possibile indurre una maggior rigidità conformazionale allo scheletro peptidico.

Per minimizzare tale mobilità, si può pensare di complessare i peptoidi con metalli²⁰ oppure inserire nelle catene, monomeri di prolina, la quale presentando una rigidità e una pre-organizzazione intrinseca, riesce a formare α -eliche e β -loop¹⁸.

La prolina è unico tra gli amminoacidi, dal momento che la catena laterale è legata covalentemente all'azoto peptidico. L'anello pentatomico conferisce rigidità ed impone dei limiti alla rotazione del legame N-C^a. Generalmente per questo amminoacido risulta prevalente il conformero *trans*, anche se nei sistemi polipeptidici mostra una maggiore probabilità di avere una geometria di tipo *cis*, del legame peptidico che lo precede, rispetto ad altri amminoacidi.²¹⁻²²

La sua presenza in peptidi naturali gioca un ruolo importante nella struttura tridimensionale di questi composti. Infatti, grazie a queste caratteristiche geometriche e alla sua rigidità, la prolina è l'amminoacido che genera motivi strutturali, quali i *loop* e strutture a gomito, in polipeptidi. Questi elementi sono importanti nella formazione di proteine globulari.²¹

Ricordando i fattori che generano stabilità conformazionale, quali la presenza di centri stereogenici sulle catene laterali dei peptoidi, la macrociclizzazione e la formazione intramolecolare di ponti disolfuri, si è dunque pensato di sintetizzare peptoidi contenenti tali modificazioni, con lo scopo di ottenere dei macrocicli conformazionalmente stabili, indipendentemente dalla presenza di cationi e dall'autoassemblaggio, caratteristico di alcuni peptoidi.

Da qui nasce la nostra idea di sintetizzare, tramite sintesi su fase solida, diversi ciclopeptoidi, valutandone le proprietà e le caratteristiche, nello specifico sono stati sintetizzati e caratterizzati

1. ciclopeptoidi per uno studio strutturale (fig. **3.5**):

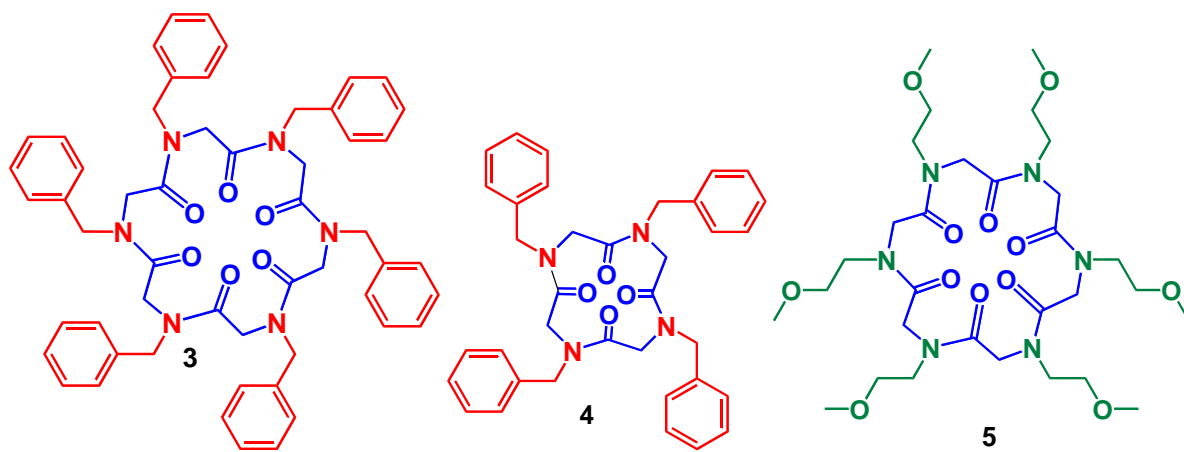


Figura 3.5: Ciclopeptidi per studi strutturali

2. Ciclopeptidi cationici come potenziali vettori di trasfezione genica (fig. 3.6):

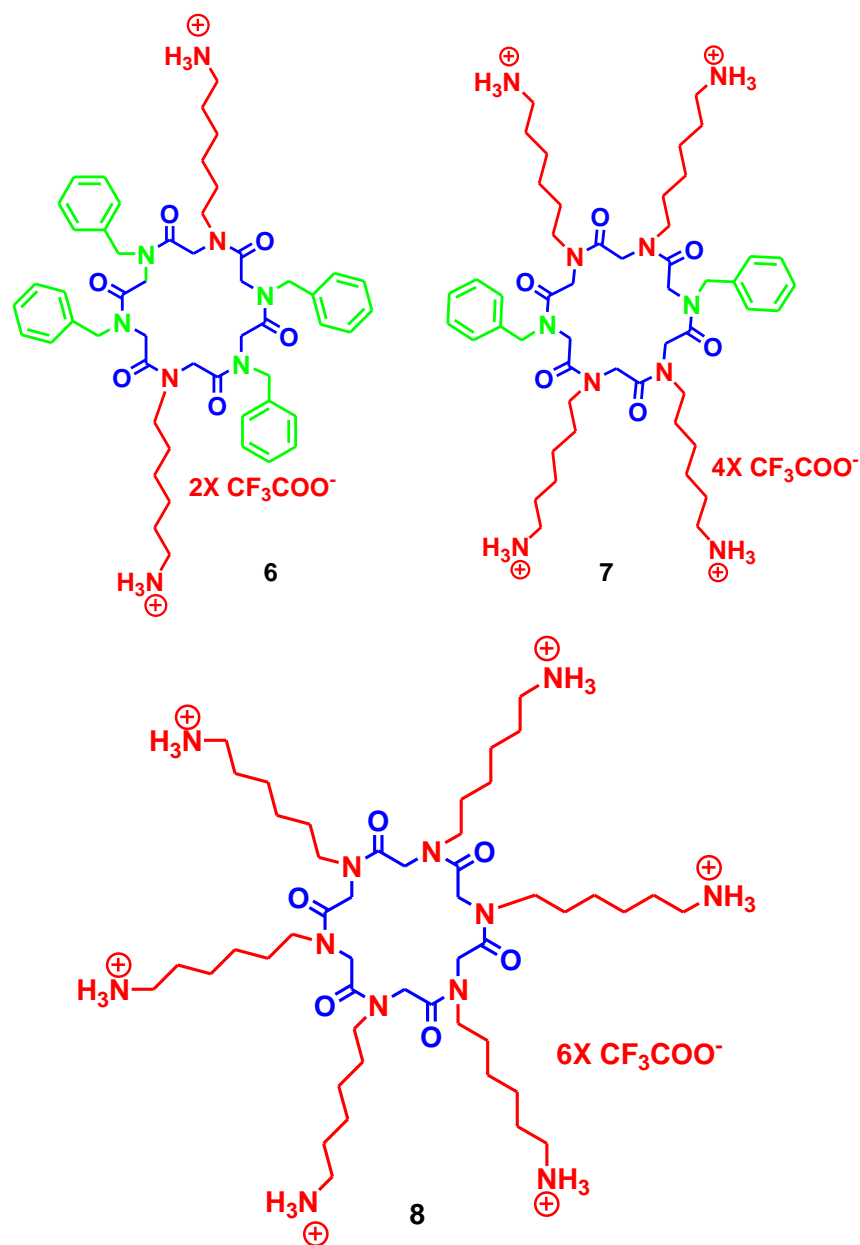


Figura 3.6: Ciclopeptoidi cationici

3. Ciclopeptoidi complessanti il Gd^{3+} , come potenziali agenti di contrasto in NMR (fig. 3.7):

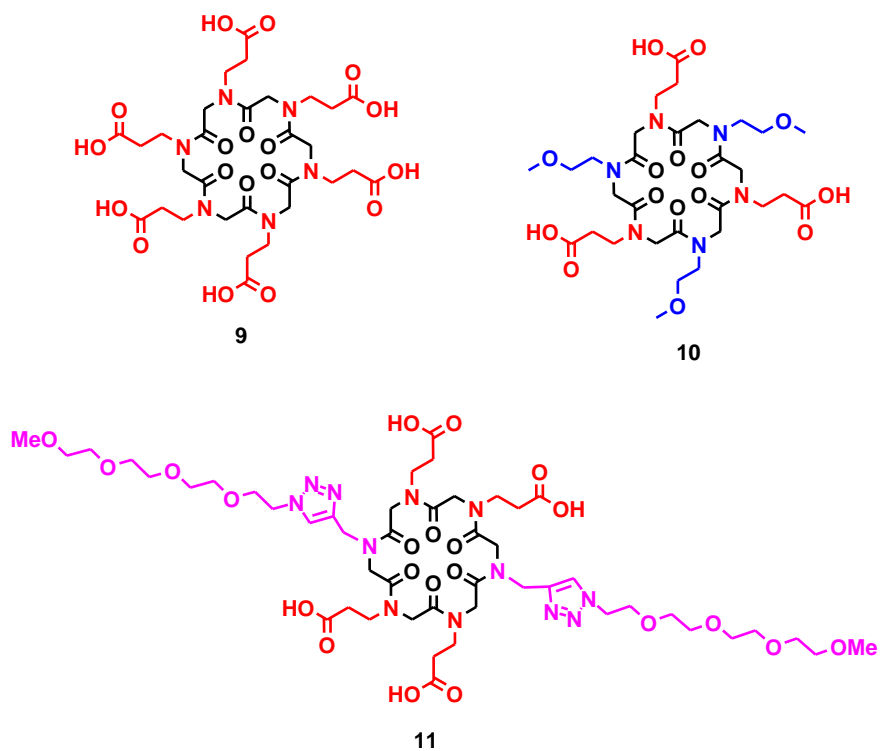


Figura 3.7: Ciclopeptoidi carbossilati

4. Ciclopeptoidi con ponti disolfuro come mimetici delle defensine (fig. **3.8**, blocco **I**: **12** hexa-linear e relativi cicli **13** e **14**; blocco **II**: **15** octa-linear e relativi cicli **16** e **17**; blocco **III**: **18** dodeca-linear e relativi cicli **19**, **20** e **21**; blocco **IV**: **22** dodeca-linear diproline e relativi cicli **23**, **24** e **25**).

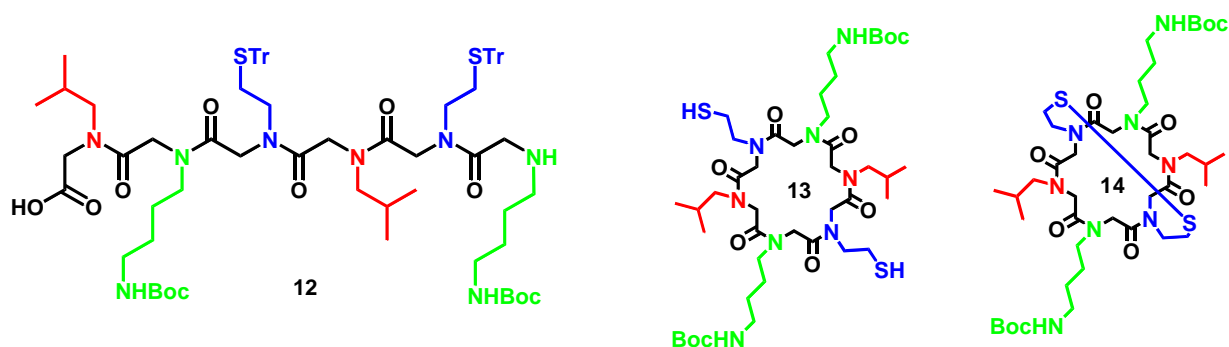


Figure 3.8, block I. Structures of the hexameric linear (**12**) and corresponding cyclic **13** and **14**

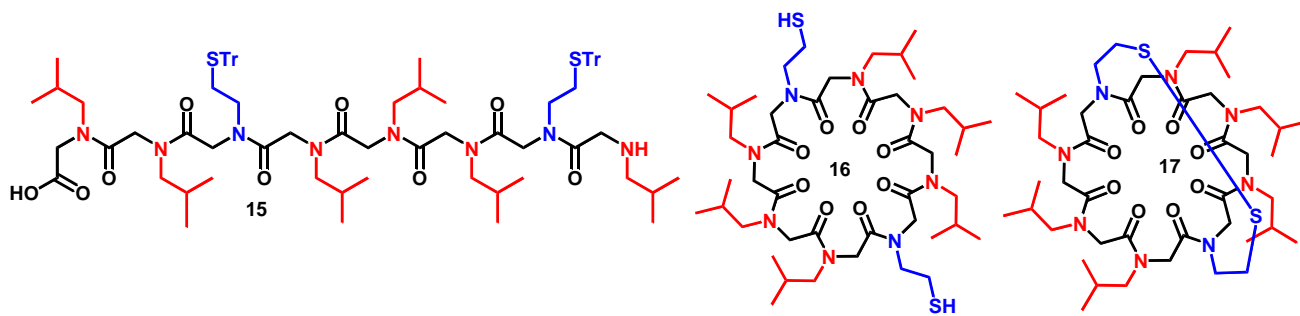


Figure 3.8, block II. Structures of octameric linear (15) and corresponding cyclic 16 and 17

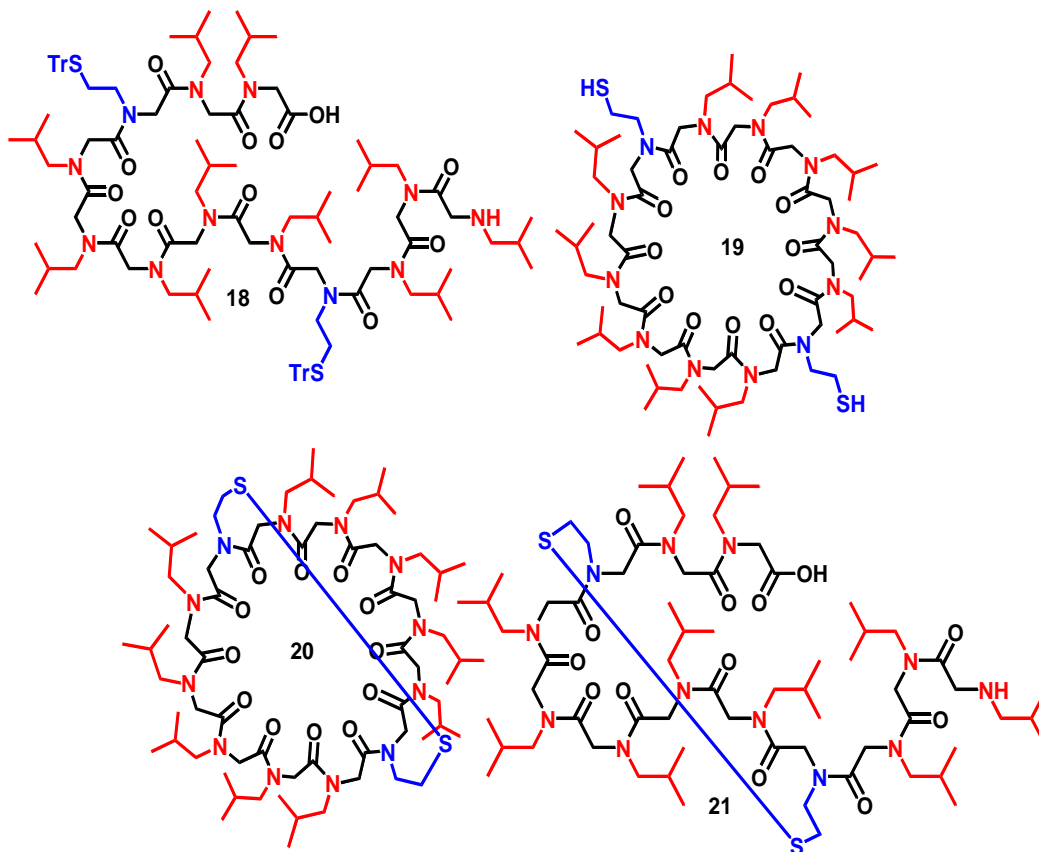


Figure 3.8, block III. Structures of linear (18) and corresponding cyclic 19, 20 and 21.

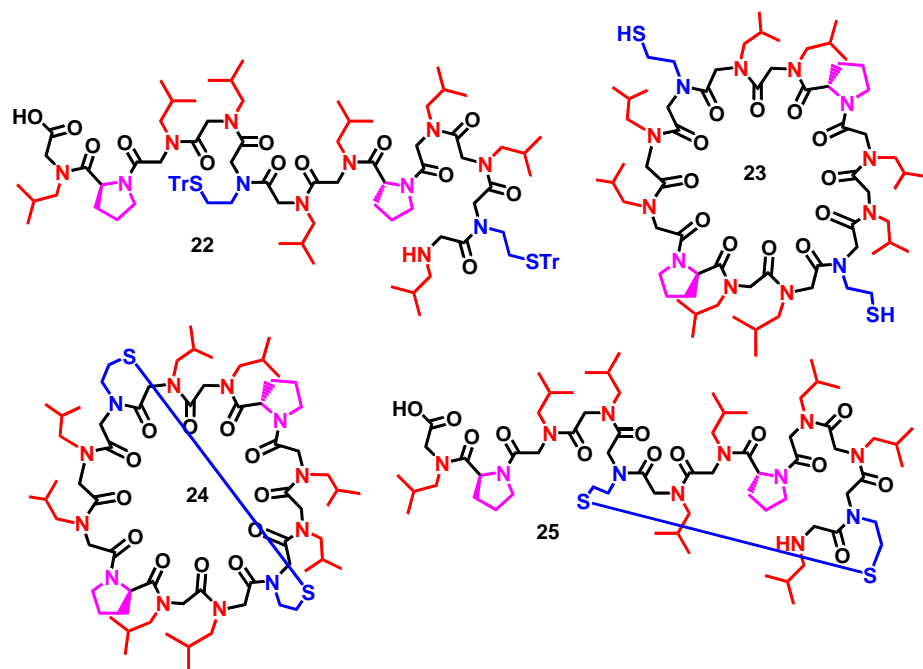


Figure 3.8, block IV. Structures of dodecameric linear diprolinate (**22**) and corresponding cyclic **23**, **24** and **25**.

Bibliografia

- [1] D. Voet, J. Voet, C. W. Pratt, *Fondamenti di Biochimica*, **2007**, 38.
- [2] P. E. Nielsen, U. Koppelhus, F. Beck, *Pseudo peptides in Drug Discovery*, **2004**, 153.
- [3] P. E. Nielsen, M. Egholm, *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *1*, 89.
- [4] G. L. Butterfoss, P. D. Renfrew, B. Kuhlman, K. Kirshenbaum, R. Bonneau, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 16798–16807.
- [5] Patch, J. A., Kirshenbaum, K., Seurynck, S. L., Zuckermann, R. N., in *Pseudo-peptides in Drug Development*, ed. P. E. Nielsen, Wiley-VCH, Weinheim, 2004, pp. 1-35.
- [6] M. Egholm, P. E. Nielsen, O. Buchardt, R. H. Berg, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9677.
- [7] P. E. Nielsen, M. Egholm, *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *1*, 89.
- [8] P. E. Nielsen, *Current Opinion in Biotechnology*, **1999**, *10*, 71.
- [9] G. Haaima, H. Rasmussen, G. Schmidt, D. K. Jensen, J. S. Kastrup, P. W. Stafshede, B. Norden, O. Buchardt, P. E. Nielsen *New J. Chem.* **1999**, *23*, 833.
- [10] R. Gambari, *Current Pharmaceutical Design* **2001**, *7*, 1839.
- [11] U. Koppelhus, P. E. Nielsen, *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, **2003**, *55*, 267.
- [12] Xiao-Wei Lu, Yun Zeng, Chuan-Fa Liu, *Organic letters*, **2009**, *11*, 2329-2332.

- [13] (a) Sforza, S., Galaverna, G., Dossena, A., Corradini, R., Marchelli, R. *Chirality* **2002**, *14*, 591. (b) Sforza, S., Tedeschi, T., Corradini, R., Ciavardelli, D., Dossena, A., Marchelli, R. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 1056.
- [14] Czyzewski, A. M., Barron, A. E., *Protein and Peptide Biomimicry: Gold-Mining Inspiration from Nature's Ingenuity, AI Ch. E. Journal.*, **2008**, *54*, 3.
- [15] Shin, S., Yoo, B., Todaro, L. J. K., Kirshenbaum, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 3218.
- [16] Roy, O., Faure, S., They, V., Didierjean, C., Taillefumier, C., *Cyclic β -Peptoids, Org. Lett.*, **2007**.
- [17] Hamper, B. C.; Kolodziej, S. A.; Scates, A. M.; Smith, R. G.; Cortez, E., *J. Org. Chem.*, **1998**, *63*, 708-718.
- [18] B. C. Lee, T. K. Chu, K. A. Dill, R. N. Zuckermann *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, *130*, 8847-8855.
- [19] S. A. Fowler, H. E. Blackwell *Org. Biomol. Chem.*, **2009**, *7*, 1508-1524.
- [20] C. De Cola, S. Licen, D. Comegna, E. Cafaro, G. Bifulco, I. Izzo, P. Tecilla and F. De Riccardis *Org. Biomol. Chem.*, **2009**, *7*, 2851-2854.
- [21] MacArthur, M. W., Thornton J. M. *J. Mol. Biol.*, **1991**, *218*, 397-412.
- [22] Sarkar S. K., Young P. E., Sullivan C. E., Torchia D. A., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **1984**, *81*, 4800 - 4803

