



Universidad de Valladolid

Facultad de Ciencias

TRABAJO FIN DE GRADO

Grado en Química

**SÍNTESIS DE 1,2,3-TRIAZOLES DERIVADOS DE UREA PARA SU
ESTUDIO COMO INHIBIDORES DE DIACILGLICEROL LIPASAS
(DAGLs)**

Autor: Sandra Catalina Bazán

Tutor/es: Purificación Cuadrado Curto

INDICE

Índice	1
Resumen	2
Introducción	3
Antecedentes Bibliográficos	4
Diacilgliceroles neutros	4
Funciones.....	6
Formación.....	7
Diacilglicerol lipasas	8
Optimización de los 1,2,3-TUs	10
Plan de Trabajo	11
Resultados y discusión	13
Síntesis de productos de partida.....	13
Síntesis de 1,2,3-Triazolilureas.....	15
Síntesis de ácidos borónicos	20
Acoplamiento de Stille.....	21
Conclusiones	23
Técnicas experimentales	24
Síntesis de productos de partida.....	24
Síntesis de 1,2,3-Triazolilureas.....	26
Síntesis de ácidos borónicos	28
Acoplamiento de Stille.....	29
Anexos	33
Compuestos	33
Bibliografía	34
Espectros.....	35

RESUMEN

Este trabajo se ha centrado en la síntesis, aislamiento y caracterización de una serie de derivados de **1,2,3-Triazolilureas**, empleando métodos químicos muy variados. El esquema sintético parte de ácido 4-bromocinámico y utiliza un proceso “click” para la preparación del 1,2,3-triazolilderivado. A partir de él y mediante acoplamientos de Stille, se modifica el resto aromático unido al heterociclo, proporcionando así los productos finales. Se han preparado 1,2,3-triazolilureas derivadas de bencilpiperidina y de fenilpiperidina, cuyo interés radica en su papel como inhibidores de procesos enzimáticos de gran importancia en los seres vivos.

This work focused on the synthesis, isolation and characterization of a small derivative of 1,2,3-triazole ureas, using a variety of chemical methods. The synthetic schema starts with 4-bromocinnamic acid and uses a “click” process to prepare the 1,2,3-triazole derivative. From this point, the Stille couplings are applied and the aromatic rest bonded to the heterocycle is modified, providing the final products. The 1,2,3-triazole ureas derivatives were prepared from benzylpiperidine and phenylpiperidine with great interest in its role as an inhibitor of hte enzymatic processes, which are very important in human beings.

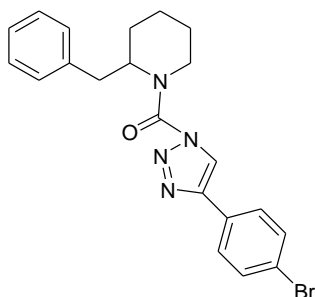
INTRODUCCIÓN

La respuesta inflamatoria de los macrófagos en la red lipídica viene desencadenada por un endocannabinoide (2-araquidonoilglicerol), que es biosintetizado por las diacilglicerol lipasas (DAGL_α y DAGL_β).

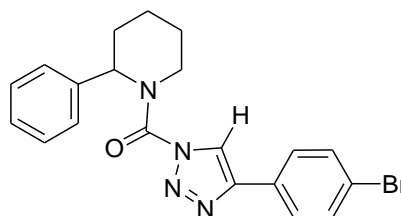
La inhibición de la producción de las diacilglicerol lipasas impediría el proceso inflamatorio que acompaña a las enfermedades autoinmunes.

Se ha comprobado¹ que algunas ureas derivadas de 1,2,3-triazoles actúan como inhibidores de las DAGL. El objeto de este trabajo es preparar inhibidores triazólicos altamente selectivos frente a las DAGL_α y DAGL_β .

Las 1,2,3-triazolilureas (1,2,3-TUs):



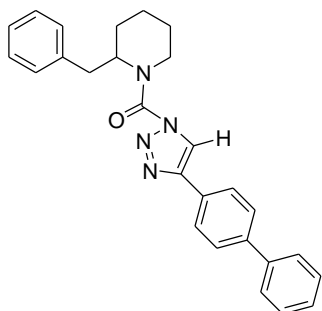
6



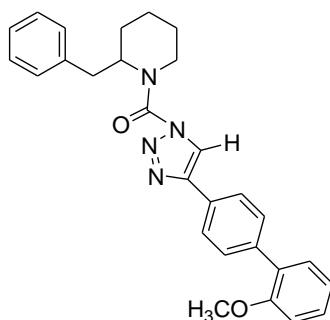
8

La modificación de éstos (**6**, **8**), mediante la inclusión de restos aromáticos de diferente polaridad, constituye un campo de enorme interés, por su potencial aplicación al control de los procesos inflamatorios que acompañan algunas enfermedades autoinmunes.

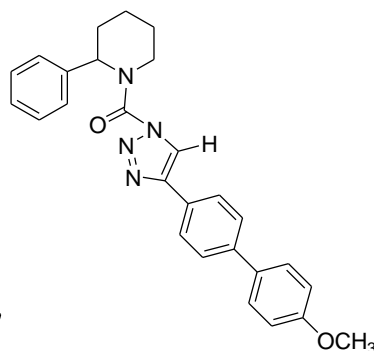
Se proponen las siguientes moléculas, de actividad y selectividad potencialmente mejoradas:



13



15



17

¹ Adibekian, A. et al. Click-generated triazole ureas as ultrapotent in vivo-active serine hydrolase inhibitors. *Nat. Chem. Biol.* 7, 469-478 (2011).

ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

Como hemos resumido en la introducción, nuestro trabajo se ha centrado en la síntesis de moléculas de 1,2,3-triazolilureas para, posteriormente, estudiar su efecto como inhibidores de las DAGL β , impidiendo la biosíntesis de diacilglicéridos (DAG), para su aplicación en la regulación de los procesos inflamatorios desencadenados por éstas, que acompañan muchas enfermedades autoinmunes.

Estos antecedentes se dividen en dos partes:

- a. DIACILGLICEROLES NEUTROS (DAGs)
- b. DIACILGLICEROL-LIPASAS (DAGL α Y DAGL β)

DIACILGLICEROLES NEUTROS (DAGs)

Los diacilgliceroles neutros (DAGs) se encuentran presentes en varias vías metabólicas. Funcionan como componentes de membranas celulares, como bloques de construcción para glicerofosfolípidos y como mensajeros secundarios lipídicos.

Teniendo en cuenta que son un eje sobre el que se apoyan multitud de procesos metabólicos y que también tienen gran importancia como moléculas de señalización, los niveles de DAG celulares requieren una regulación estricta para asegurar su disponibilidad de una forma constante y controlada (**Fig. 1 y 2**).

Podemos encontrar diferentes estructuras químicas de DAG. Además de las diferentes especies de ácidos grasos esterificados en el esqueleto del glicerol, los DAGs pueden tener 3 regioisómeros, cada uno con una actividad biológica única.

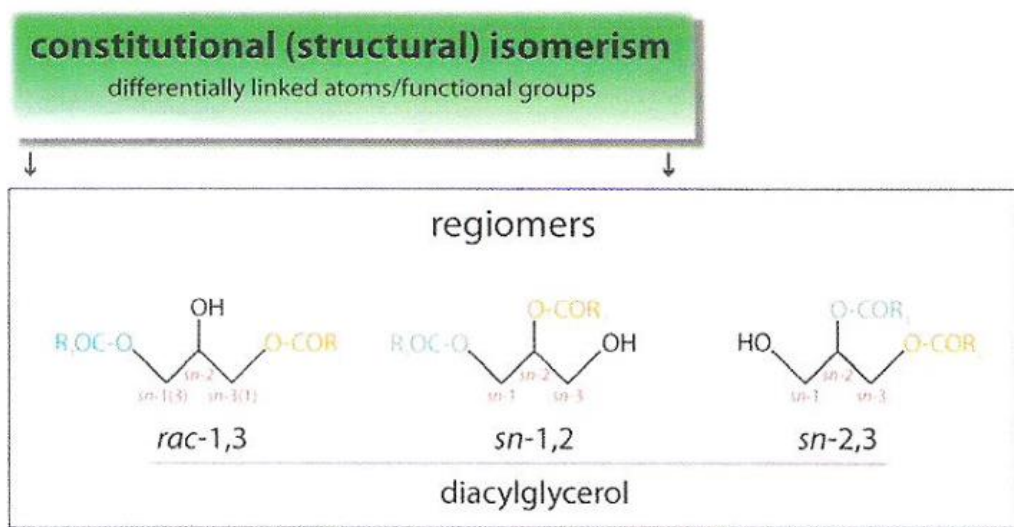


Fig. 1

Recientes avances científicos han revelado que existen sistemas enzimáticos encargados de metabolizar los DAG (las diacilglicerol lipasas α y β), que son capaces de diferenciar los diferentes estereoisómeros.

Además, la actividad fisiológica es claramente diferente en los distintos enantiómeros (**Fig. 2**).

Durante mucho tiempo se creía que la importancia del diacilglicerol (DAG) radicaba sólo en ser una molécula lipídica con funciones de señalización. Sin embargo, más recientemente, una serie de investigaciones han revelado que diferentes enzimas lipídicas modificadas pueden llegar a distinguir entre diferentes regio/estereoisómeros de los DAGs, poniendo de manifiesto que diferentes isómeros pueden tener diferentes funciones o destinos celulares.

De lo anterior se puede deducir que la naturaleza estérea de los isómeros de los DAGs es determinante para su papel biológico en distintos compartimentos celulares y vías metabólicas.

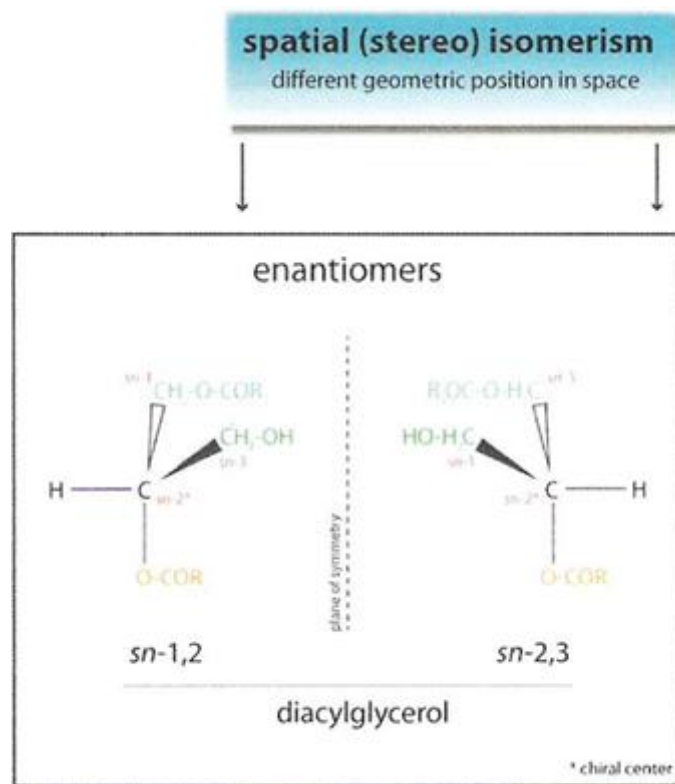


Fig. 2

Funciones de los DAGs:

La incorrecta regulación de los procesos metabólicos de formación de DAG afecta al funcionamiento celular y origina enfermedades como **IR (resistencia a la insulina)**^{2,3}, afectando negativamente al funcionamiento del hígado⁴.

En concreto, el endocannabinoide 2-araquidonoilglicerol (2-AG) está relacionado con el **proceso inflamatorio que desencadenan las células macrófagas**, como respuesta a determinados procesos autoinmunes^{5,6,7}.

Formación de DAGs en los seres vivos:

El origen (y actividad biológica) de los DAGs se puede clasificar en intracelular y extracelular y ocurre a través de procesos que emplean diferentes enzimas para transformar triacilglicéridos o monoacilglicéridos en los DAGs correspondientes.

En tales procesos actúan triacilglicerol lipasas y diacilglicerol transferasas, capaces de conducir a los diferentes estereoisómeros, en función de la actividad buscada (**Fig. 3**).

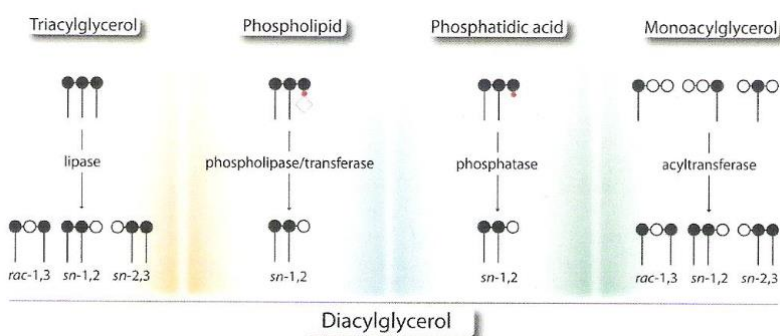


Fig. 3

² Dietrich A, Kalwa H, Rost BR, Gudermann T (2005) The diacylglycerol-sensitive TRPC3/67 subfamily of cation channels: functional characterization and physiological relevance. *Pflügers Arch Eur J Physiol* 451: 72-80

² Hacemmerle G, Lass A, Zimmermann R et al (2006) Defective lipolysis and altered energy metabolism in mice lacking adipose triglyceride lipase. *Science* 312: 734-737

³ Vazquez G, Tano JY, Smedlund K (2010) On the potential role of source and species of diacylglycerol in phospholipase-dependent regulation of TRPC3 channels. *Channels (Austin)* 4: 232-240

⁴ Jornayvaz FR, Jurezak MJ, Lee HY et al (2010) A high-fat, ketogenic diet causes hepatic insulin resistance in mice, despite increasing energy expenditure and preventing weight gain. *Am J Physiol Metab* 299: E808-E815

⁵ Prelog V, Helmchen G (1982) Basic principles of the CIP system and proposals for a revision. *Angew Chemie, Int Ed english* 21: 567-583

⁶ Tuchi-Sato K, Ozeki S, Houjou T et al (2002) The surface of lipid droplets is a phospholipid monolayer with a unique fatty acid composition. *J Biol Chem* 277: 44507-44512

⁷ Hacemmerle G, Lass A, Zimmermann R et al (2006) Defective lipolysis and altered energy metabolism in mice lacking adipose triglyceride lipase. *Science* 312: 734-737

Formación intracelular de DAG:

En el interior de las células tienen lugar algunas reacciones que conducen a la generación de DAG y dichas reacciones se localizan en diversos compartimentos subcelulares incluyendo el retículo endoplasmático, el aparato de Golgi o la membrana plasmática.

Además los DAGs actúan también como intermedios en la síntesis de triacilglicerol (TAGs) generados tanto por aciltransferasas como por fosfolipasas.

El metabolismo de los DAGs engloba un grupo de enzimas con distintas localizaciones celulares y por lo tanto con distintas propiedades y selectividades enzimáticas. La estereo/regioselectividad de estas enzimas involucradas, así como la isomería de los DAGs formados, son en su mayoría desconocidas, pero son de suma importancia para comprender las reacciones celulares posteriores⁶.

Formación extracelular de DAGs:

Los diacilglicerol (DAGs) son también intermedios en el metabolismo lipídico extracelular y se pueden generar en procesos de digestión como resultado de la hidrólisis de los triacilglicerol (TAGs) (por la acción de la lipasa lipoproteica (LPL) y la hepática (HL))^{8,9,10,11,12}.

⁸ Carriere F, Roglaska E, Cudrey C et al (1997) In vivo and in vitro studies on the stereoselective hydrolysis of tri- and diglycerides by gastric and pancreatic lipases. *Bioorg Med Chem* 5: 429-435

⁹ Roglaska E, Ransac S, Verger R (1993) Controlling lipase stereoselectivity via the surface pressure. *J Biol Chem* 268: 792-794

¹⁰ Roglaska E, Cudrey C, Ferrato F, Verger R (1993) Stereoselective hydrolysis of triglycerides by animal and microbial lipases, *Chirality* 5: 24-30

¹¹ Paltauf F, Esfandi F, Holasek A (1974) Stereospecificity of lipases. Enzyme hydrolysis of enantiomeric alkyl diacylglycerols by lipoprotein lipase, lingual and pancreatic lipase *FEBS Lett* 400: 119-123

¹² Jensen RG, DeJong FA, Clark RM et al (1982) Stereospecificity of premature human infant lingual lipase. *Lipids* 17: 570-572

DIACILGLICEROL-LIPASAS (DAGL $_{\alpha}$ Y DAGL $_{\beta}$)

Dada la importancia de los DAGs en el organismo, resulta imprescindible desarrollar métodos que permitan regular su producción, tanto intracelular como extracelular.

Recientemente se ha publicado¹³ que las diacilglicerol lipasas DAGL $_{\alpha}$ y DAGL $_{\beta}$ biosintetizan endocannabinoides y que su inhibición altera por tanto la red lipídica implicada en la respuesta inflamatoria de los macrófagos en diferentes procesos autoinmunes.

Las investigaciones a este respecto se centran en diferentes estructuras moleculares, cuya capacidad de inhibición de las DAGL $_{\alpha}$ y DAGL $_{\beta}$ está siendo objeto de ensayo.

Se ha demostrado que la DAGL $_{\beta}$ es el principal biosintetizador de 2-AG en los macrófagos y que esa enzima también regula la producción de ácido araquidónico y prostaglandinas.

En concreto, las DAGL $_{\alpha}$ y DAGL $_{\beta}$ actúan selectivamente sobre los diferentes estereoisómeros de los DAGs, por lo que presenta el mayor interés disponer de inhibidores que muestren un entorno estereo diferente y con ello capacidad inhibidora diferencial. Se ha comprobado que algunas ureas derivadas de 1,2,3-triazoles actúan como inhibidores eficazmente en este sentido^{14,15}.

Así, se han ensayado una serie de enzimas DAGL frente a una serie de 1,2,-TUs, una familia de pequeñas moléculas cuya acción como inhibidores de las serinhidroxiladas es bien conocida^{16,17}.

¹³ Nature Chemical Biology Advanced Online Publication www.nature.com/naturechemicalbiology

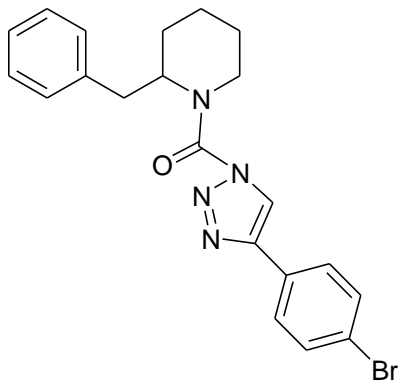
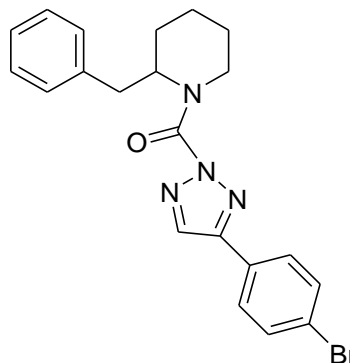
¹⁴ Gao, Y. et al. Loss of retrograde endocannabinoid signaling and reduced adult neurogenesis in diacylglycerol lipase knock-out mice. *J. Cell Biol.* 163, 463-468 (2003).

¹⁵ Tanimura, A. et al. The endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol produced by diacylglycerol lipase α mediates retrograde suppression of synaptic transmission. *Neuron* 65, 320-327 (2010)

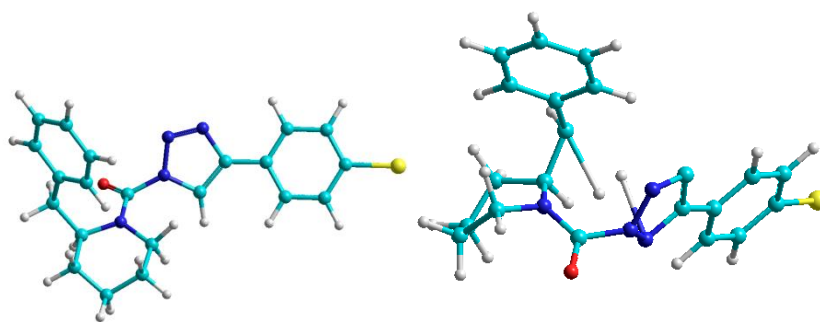
¹⁶ Hoover, H.S., Blankman, J.L., Niessen, S. & Cravatt, B.F. Selectivity of inhibitors of endocannabinoid biosynthesis evaluated by activity-based protein profiling. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 18, 5838-5841 (2008)

¹⁷ Cravatt, B.F. Wright, A.T. & Kozarich, J.W. Activity-based protein profiling: from enzyme chemistry to proteomic chemistry. *Annu. Rev. Biochem.* 77, 383-414 (2008)

De un grupo de 30 compuestos de 1,2,3-TUs se identificó un inhibidor, **KT117**, que bloquea parcialmente las DAGL β . **KT117** posee una piperidina 2-sustituída. Se comparó la actividad inhibitora de **KT117** frente a DAGL β con la de **KT116**, resultando que éste segundo tenía una potencia 10 veces mayor.

**KT116****KT117**

KT116 y **KT117** también presentan diferencias en cuanto a sus perfiles de selectividad frente a hidrolasas de serina. Las estructuras cristalinas de **KT116** y **KT117** muestran una mayor compactación; en el caso de **KT116** con algunas interacciones entre el anillo fenilo de la piperidina 2-sustituída y el anillo de triazol de la urea. Esta conformación puede explicar las diferencias en la actividad de **KT116** y **KT117**, así como la señal disminuida del protón del anillo de triazol en el espectro de protón de **KT116**.

**KT116****KT117**

Estos datos en conjunto designan a **KT116** como un buen inhibidor de DAGL β . Sin embargo, estudios paralelos han demostrado que **KT116** también inhibe algunas otras hidrolasas de serina, por lo que el siguiente paso es mejorar la selectividad de **KT116** frente a DAGL β .

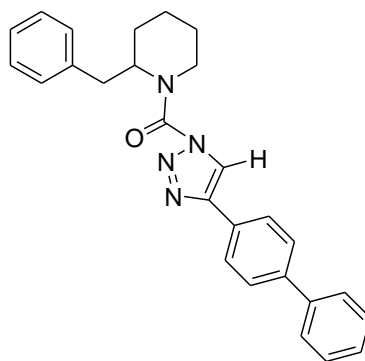
Teniendo en cuenta que las DAGL β juegan un papel muy importante en la biosíntesis de 2-AG, al analizar las células que habían sido cultivadas durante 4h con **KT116**, se observó una reducción en la cantidad de 2-AG celular comparándolo con las células que no habían sido tratadas o que sí lo habían sido pero con **KT117**.

Finalmente se observó que las células en las que se había inhibido la acción de DAGL β presentaban una cantidad menor de ácido araquidónico.

Estos datos, combinados con otros anteriores, nos llevan a deducir que tanto DAGL α como DAGL β contribuyen a la biosíntesis de 2-AG en las células neuronales. El estudio de la inactivación de DAGL β en macrófagos en vivo reveló los mismos resultados que ya se habían previsto.

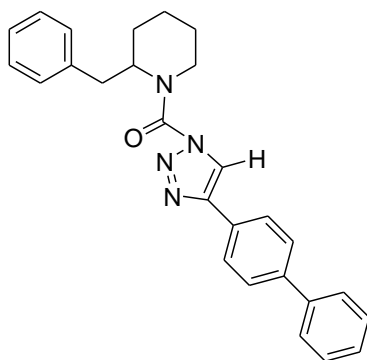
Optimización de los 1,2,3-TUs:

Durante los estudios previos sobre las modificaciones de **KT116**, se encontró que el compuesto **KT109**, que contiene un grupo de triazol 4-bifenil-sustituído, tendría una actividad inhibitora potencial importante frente a DAGL β y, lo que es más importante, una actividad insignificante frente a otras enzimas, excepto una (PLA2G7).

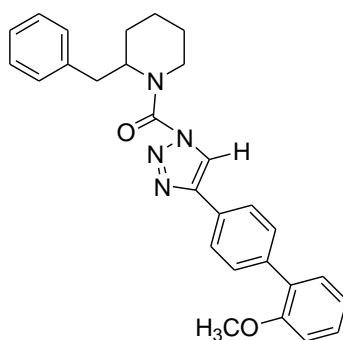


KT109

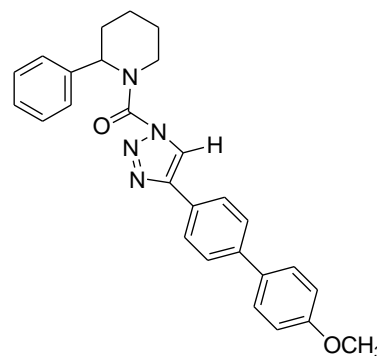
La mejora de la actividad inhibitora 1,2,3-TUs llevó al planteamiento de las siguientes estructuras para la inactivación de las DAGL β :



KT109



KT172



KT195

Con todo ello, nuestro estudio se ha estructurado de acuerdo con el plan de trabajo que se indica a continuación.

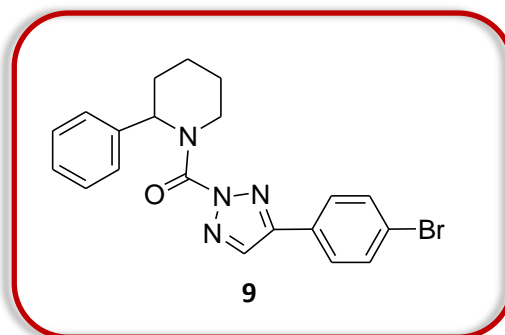
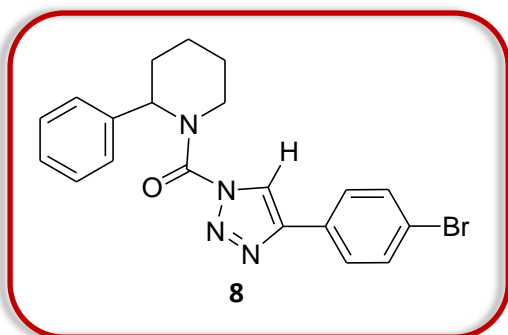
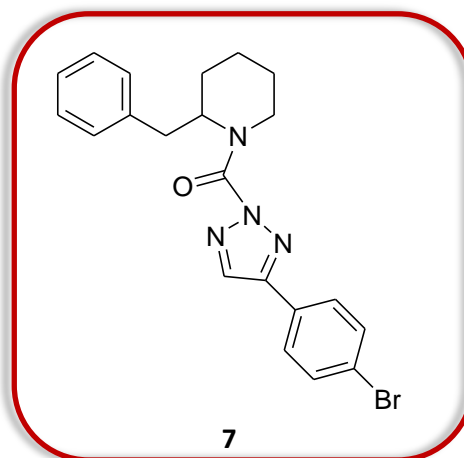
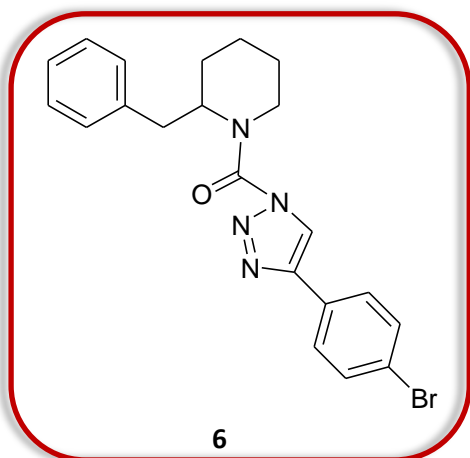
PLAN DE TRABAJO:

El planteamiento general de este trabajo se engloba dentro de un programa mucho más amplio. En él, me he centrado en la síntesis, aislamiento y caracterización de una serie de derivados de **1,2,3-Triazolilureas**, empleando métodos químicos muy variados.

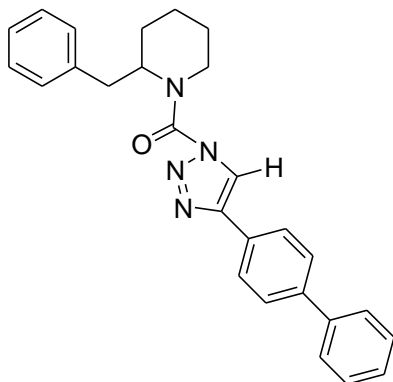
El trabajo me ha permitido familiarizarme tanto con las técnicas de trabajo en el laboratorio, como con el aprendizaje de los procedimientos de purificación de compuestos químicos.

Finalmente, una parte importante del trabajo se dedicó a adquirir las destrezas necesarias para la caracterización de compuestos.

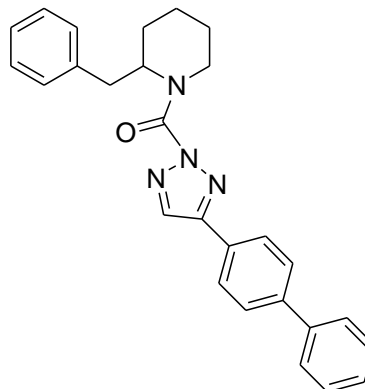
Se han preparado **1,2,3-Triazolilureas** derivadas de **bencilpiperidina** y de **fenilpiperidina (6, 7, 8 y 9)**:



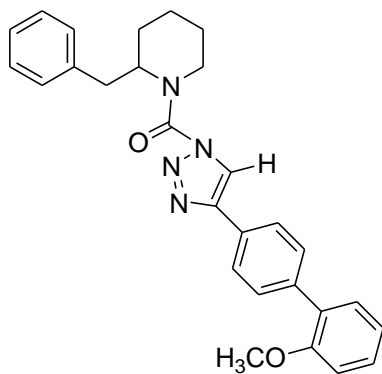
Posteriormente y con el objeto de modificar su capacidad inhibidora frente a la actividad enzimática de las DAGLs, se introdujeron restos aromáticos de diferente polaridad sobre el 4-bromofenilo, mediante **acoplamiento de Stille con los ácidos fenilborónico, 2-metoxifenilborónico y 4-metoxifenilborónico**:



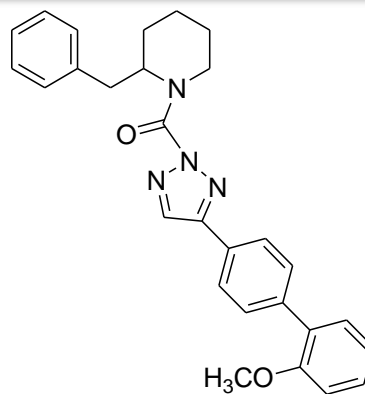
13



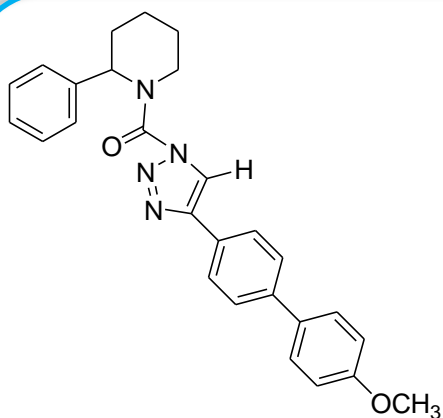
14



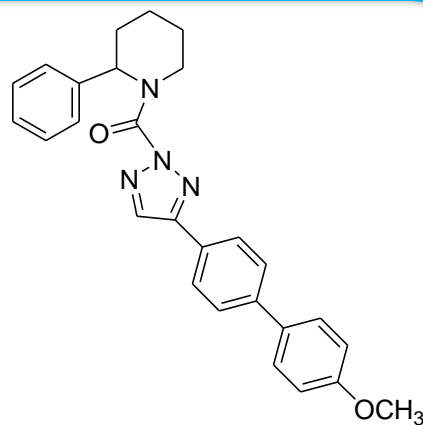
15



16



17



18

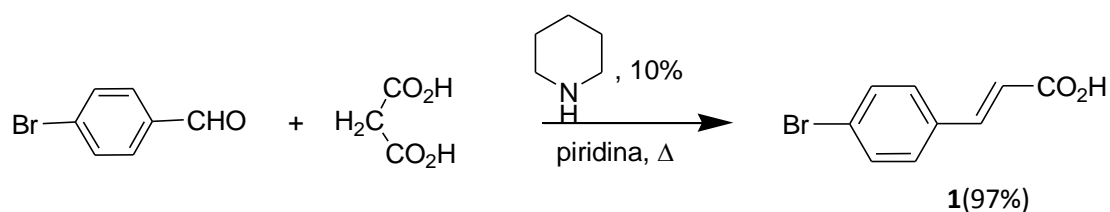
RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

Dentro del plan de trabajo se contempla la síntesis de las 1,2,3-triazolilureas (**15**, **16**, **17** y **18**). En primer lugar abordamos la preparación de los triazoles de partida (**6** y **8**).

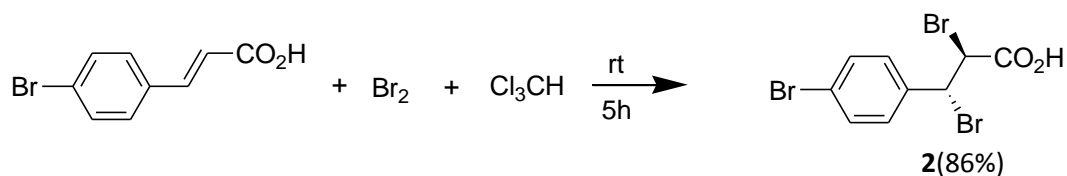
SÍNTESIS DE PRODUCTOS DE PARTIDA

El 4-(4-bromofenil)-1H-1,2,3-triazol **3**, se preparó a partir del ácido 4-bromocinámico **1**, y a través del dibromo derivado **2** correspondiente de acuerdo con procedimientos descritos en la bibliografía¹⁹.

Ácido 4-bromocinámico (**1**):

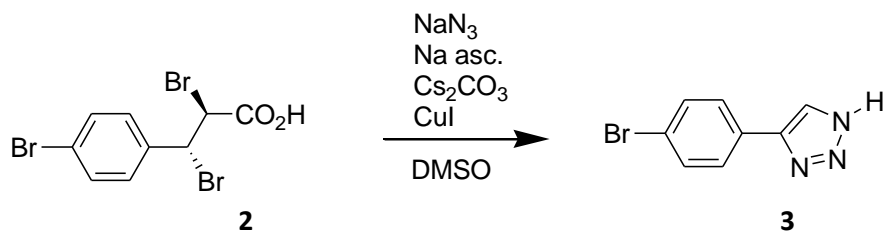


Ácido 2,3-dibromo-3-(4-bromofenil)propiónico (**2**)¹⁸:



4-(4-bromofenil)-1H-1,2,3-triazol (**3**)¹⁹:

El dibromo derivado **2** reacciona con acida sódica en presencia de ascorbato de sodio, carbonato de cesio y CuI. La transformación¹⁹ ocurre con elevado rendimiento, pero la presencia de DMSO como disolvente dificulta la etapa de extracción, llegando finalmente a rendimientos del orden del 70% en el triazol **3**, que se aísla, se purifica por cromatografía en columna y se caracteriza.



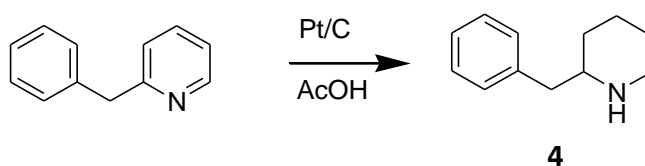
¹⁸ Synthetic communications, 29 (23), 4179-4185 (1999) Department of Chemistry and Biochemistry, Texas Tech University, Lubbock, TX 79409-1061, USA

¹⁹ Synthesis 2010, No.24, pp 4256-4260

El 1,2,3-triazolilderivado constituye ahora el punto de partida para la transformación en los derivados de urea correspondientes, compuestos **6**, **7**, **8** y **9**, dependiendo del resto de piperidina introducido. Así, hemos sintetizado por métodos sencillos bencilpiperidina **4** y fenilpiperidina **5** a partir de sus precursores aromáticos piridínicos.

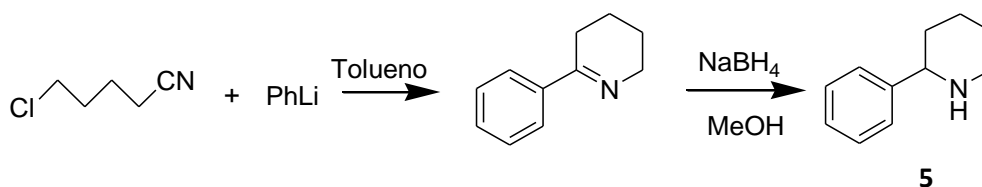
2-Bencilpiperidina (**4**)²⁰:

La hidrogenación²⁰ de la 2-bencilpiridina disuelta en ácido acético y usando platino sobre carbono como catalizador, nos permite llegar a la 2-bencilpiperidina **4** de forma cuantitativa.



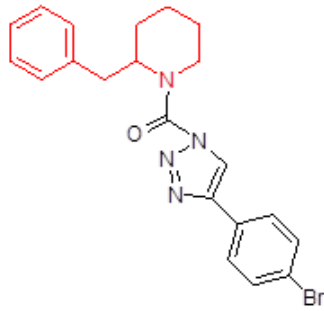
2-Fenilpiperidina (**5**)²¹:

En primer lugar, partiendo de una disolución de 5-clorovaleronitrilo en tolueno a la cual se adiciona fenilitio, se obtiene una imina intermedia. Seguidamente, tras disolver la imina en metanol, se trata con NaBH₄, llegando finalmente a la obtención del producto deseado con un rendimiento en torno al 80%.

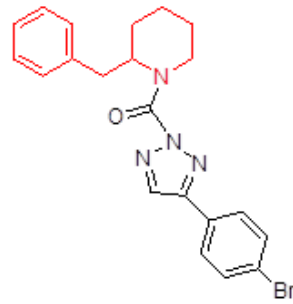


²⁰Journal of Medicinal Chemistry, 2007, Vol.50, No.11

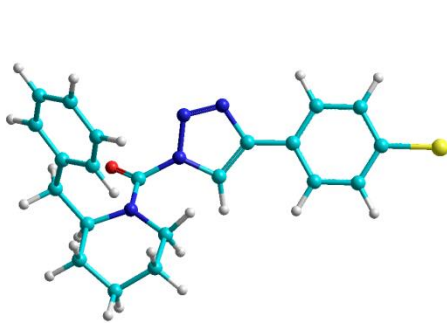
²¹J.A.C.S. 1994, 116, 4546

SINTESIS DE 1,2,3-TRIAZOLILUREAS:**Bencilderivados:**

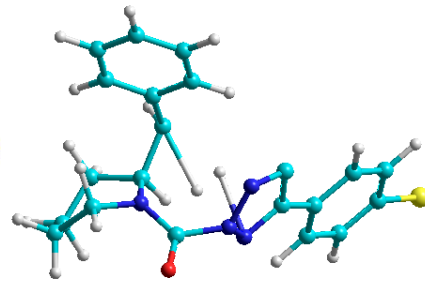
6



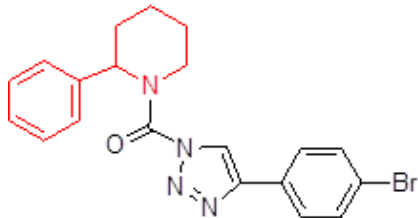
7



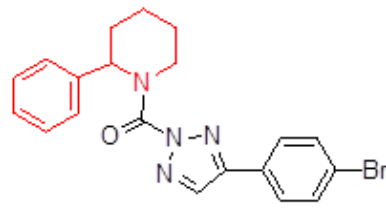
6 (KT116)



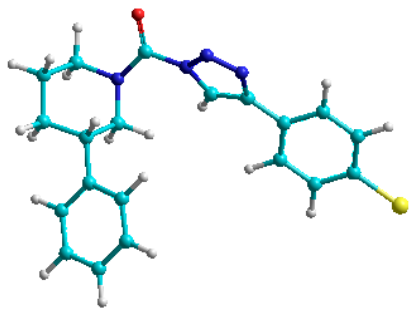
7 (KT117)

Fenilderivados:

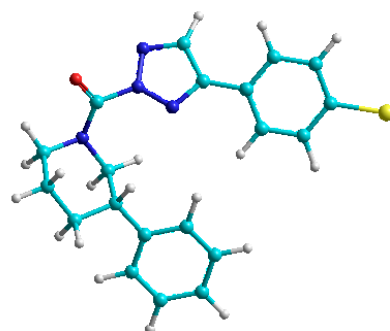
8



9

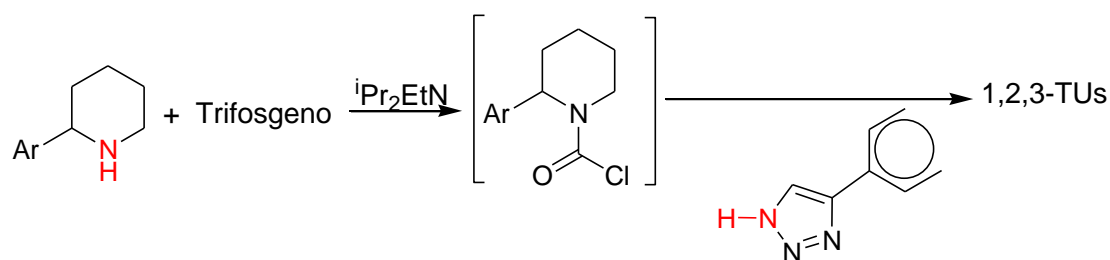


8 (KT179)



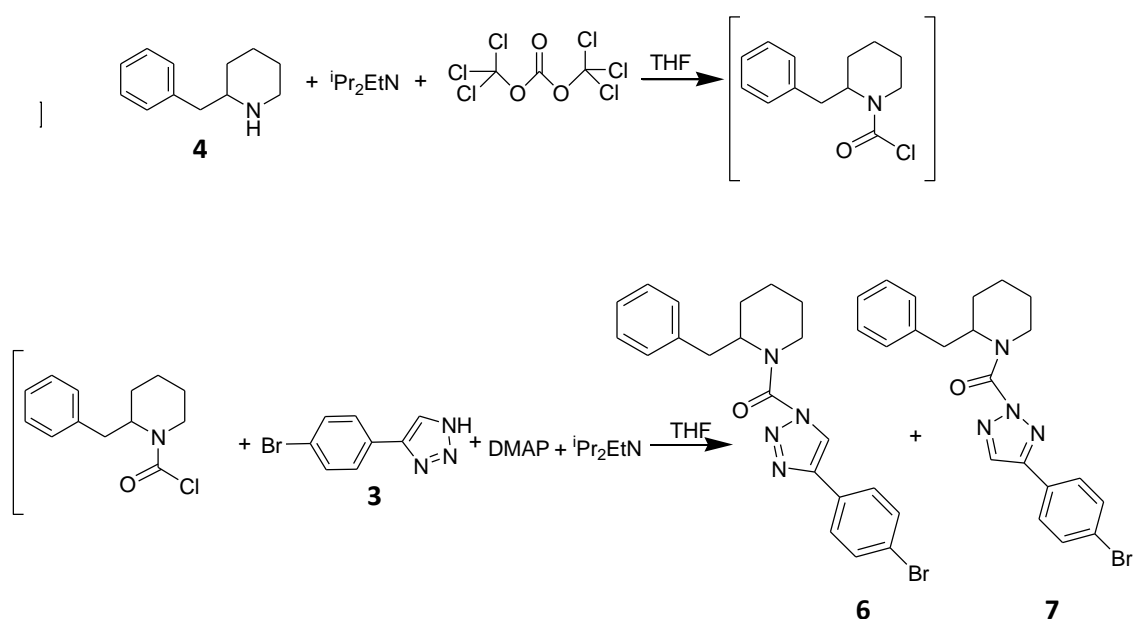
9 (KT179')

Los derivados de 1,2,3-TUs se han formado en un proceso de dos etapas²², en el cual, el derivado de piperidina, por reacción con trifosgeno, se transforma en su acil derivado, que se aísla, y se trata a continuación con el triazol **3**.



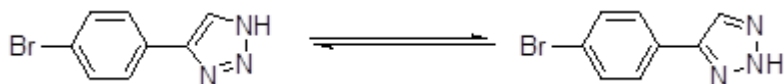
Bencilpiperidinas

Los derivados de bencilpiperidina²² se obtienen al hacer reaccionar una disolución de **4** en THF con diisopropiletilamina y trifosgeno, llegando a un producto intermedio que posteriormente se redissuelve en THF y se hace reaccionar con el triazol **3**, DMAP y diisopropiletilamina, obteniendo un sólido cristalino. En un primer momento, la transformación de los productos de partida es completa, sin embargo en la bibliografía no supera el 50% el rendimiento final en el compuesto **6**. Tras analizar el sólido obtenido y purificarlo por columna, llegamos a la conclusión de que se trata de una mezcla de dos tautómeros y que en dicha bibliografía no se aisló el anómalo. Ambos tautómeros han sido aislados y caracterizados, recibiendo los nombres de **6** (KT116) y **7** (KT117).

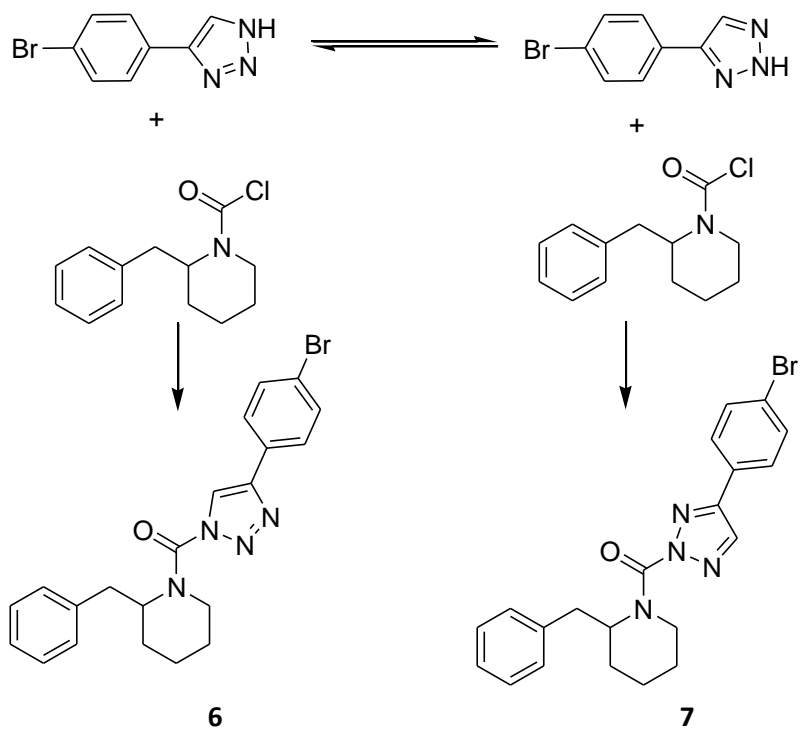


²² Nature Chemical Biology doi. 10 1038/nchembio,1105

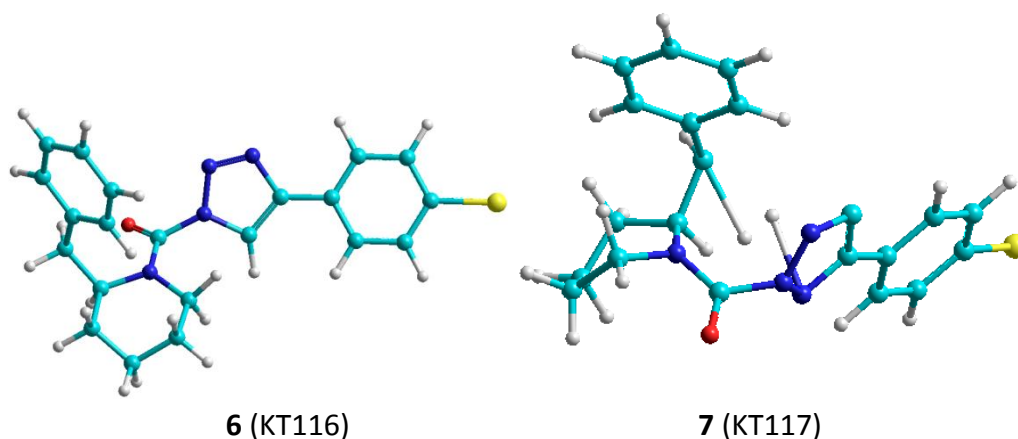
De la masa de reacción se aíslan dos compuestos, de Rf muy similares, que se separan por cromatografía en columna. Una vez caracterizados, se identifican como los regioisómeros **6** y **7**. Su formación en proporciones similares se debe a la tautomería existente en el triazol **3**:



Ambos tautómeros reaccionan con el acil derivado de la piperidina, conduciendo a los compuestos **6** y **7**.



En trabajos anteriores¹ se determinó que la actividad biológica de **6** y **7** es muy diferente, como corresponde con su diferente entorno espacial, haciendo que su actividad sea radicalmente diferente frente a la superficie enzimática quiral de el DAG.

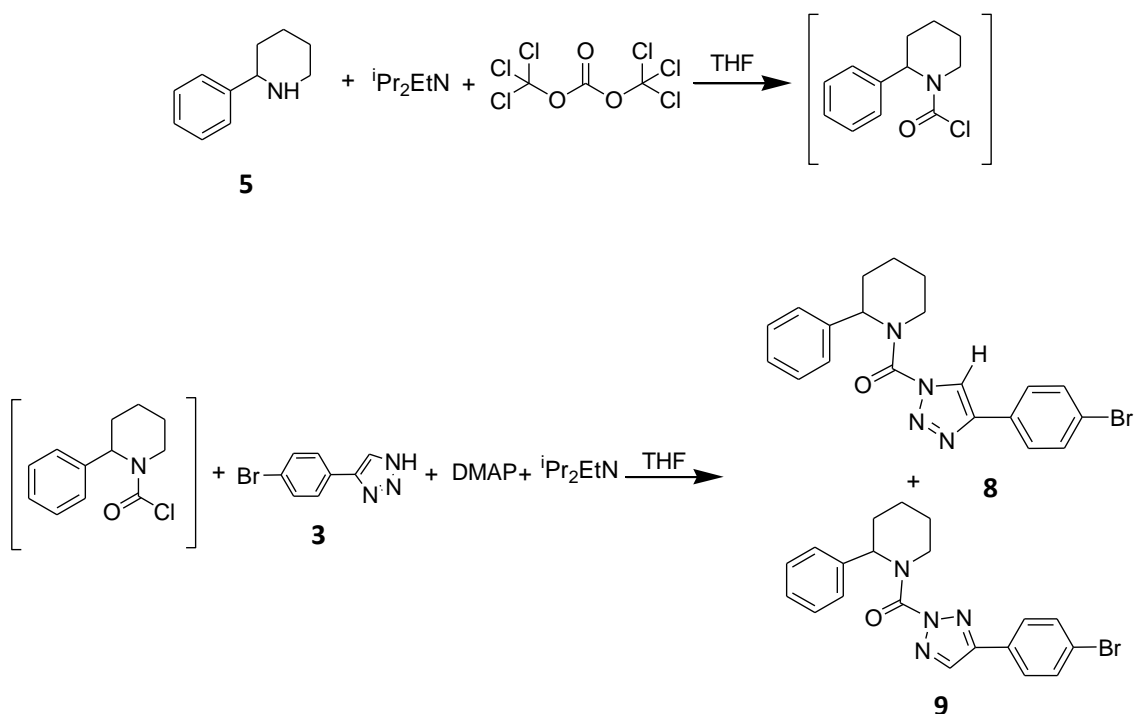


De hecho, ambos han resultado ser inhibidores de la DAGL β , pero KT116 (el compuesto **6**) exhibió una actividad 10 veces mayor. Ello se asoció a una mayor compactación en el caso de KT116 con algunas interacciones entre el grupo fenilo de la piperidina 2-sustituída y el anillo de triazol de la urea. Lo que explicaría también la disminuida señal del protón del anillo del triazol en el espectro de $^1\text{H-NMR}$ de KT116 (Espectros nº 8 y 15)

Idénticos resultados se obtuvieron en el caso de los derivados de fenilpiperidina.

Fenilpiperidinas

Los derivados de fenilpiperidina²² se obtienen al hacer reaccionar una disolución de **5** en THF con diisopropiletilamina y trifosgeno, llegando a un producto intermedio que posteriormente se redissuelve en THF y se hace reaccionar con el triazol **3**, DMAP y diisopropiletilamina, obteniendo un sólido cristalino. En un primer momento la reacción es cuantitativa, sin embargo en la bibliografía no supera el 50%. Tras analizar el sólido obtenido y purificarlo por columna, llegamos a la conclusión de que se trata de una mezcla de dos tautómeros y que en dicha bibliografía no se aisló el anómalo. Ambos tautómeros han sido aislados y caracterizados recibiendo los nombres de KT179 **8** y KT179' **9**.



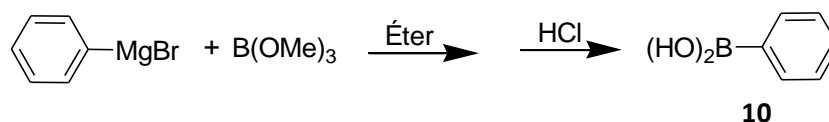
MODIFICACIONES DE LOS DERIVADOS 6, 7, 8 Y 9. ACOPLAMIENTOS DE STILLE:

El objetivo final del trabajo consiste en realizar una serie de acoplamientos de Stille con diferentes ácidos borónicos, partiendo de los compuestos **6** y **8**. Al haber llegado a aislar y caracterizar sus tautómeros anómalos, los acoplamientos de Stille²² también se realizaron con los compuestos **7** y **9**, para proceder posteriormente a evaluar la actividad inhibidora de ambos.

SÍNTESIS DE ÁCIDOS BORÓNICOS

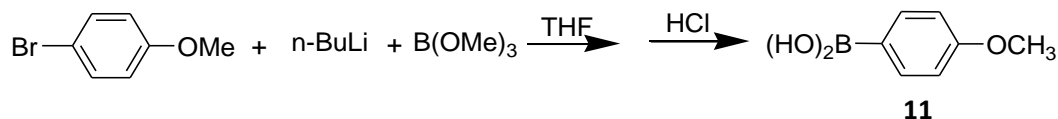
Ácido fenilborónico (**10**)

La reacción de bromuro de fenilmagnesio en presencia de éter con trimetilborato y la posterior adición de HCl, nos va a llevar a la obtención del ácido fenilborónico **10**.



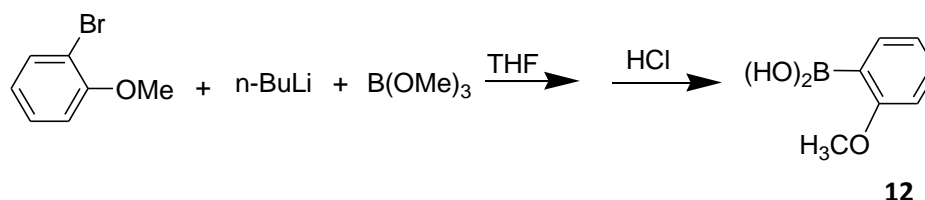
Ácido 4-metoxifenilborónico (**11**)²³

Por otro lado, la adición de trimetilborato²³ sobre una disolución de 4-bromoanisol en THF en presencia de butilitio, nos conduce al ácido 4-metoxifenilborónico **11**.



Ácido 2-metoxifenilborónico (**12**)²³

Paralelamente, la adición de trimetilborato²³ sobre una disolución de 2-bromoanisol en THF en presencia de butilitio, nos conduce al ácido 2-metoxifenilborónico **12**.



Los tres ácidos borónicos **10**, **11** y **12**, se utilizaron directamente sin necesidad de separación en columna. Su caracterización espectroscópica es compleja, pues son compuestos que existen como mezcla de diferentes estados de agregación.

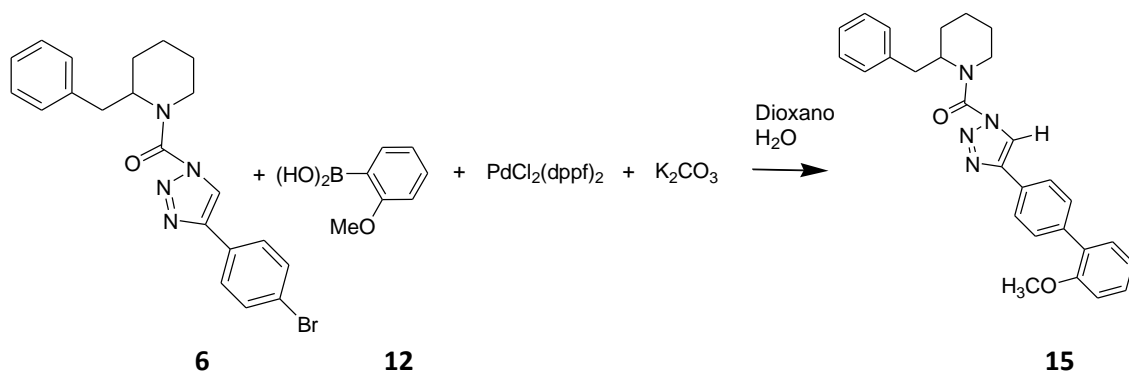
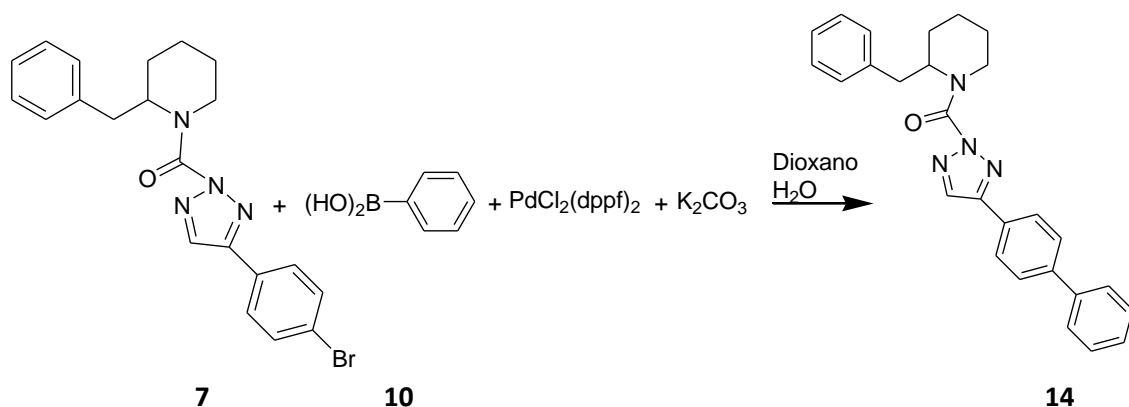
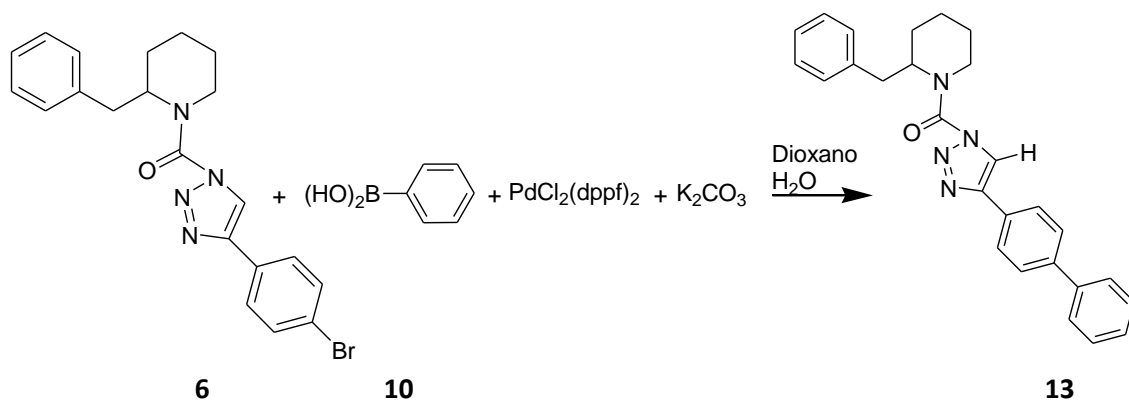
²³ Journal Organic Chemistry 2014, 79 1017-1024

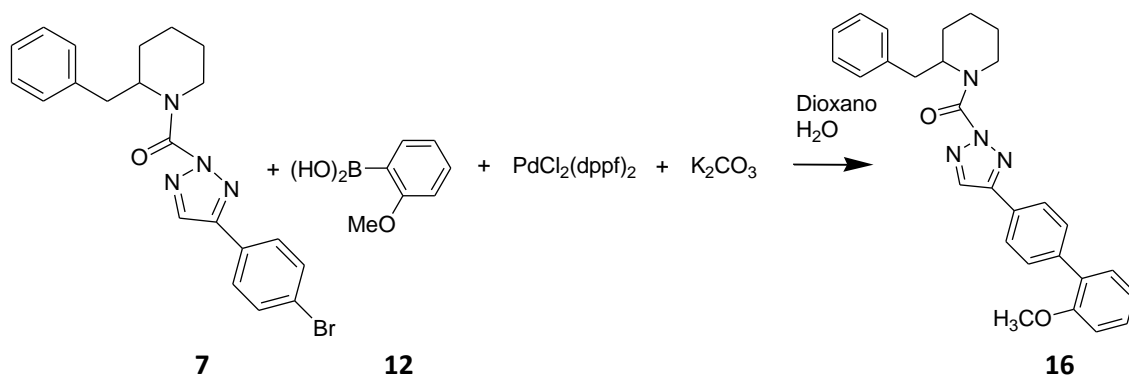
ACOPLAMIENTOS DE STILLE

Para llevar a cabo los acoplamientos de Stille, se ensayaron diferentes catalizadores de paladio; los mejores resultados se obtienen con el [1-1'-Bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio(II) ($\text{PdCl}_2(\text{dppf})_2$).

Bencilderivados

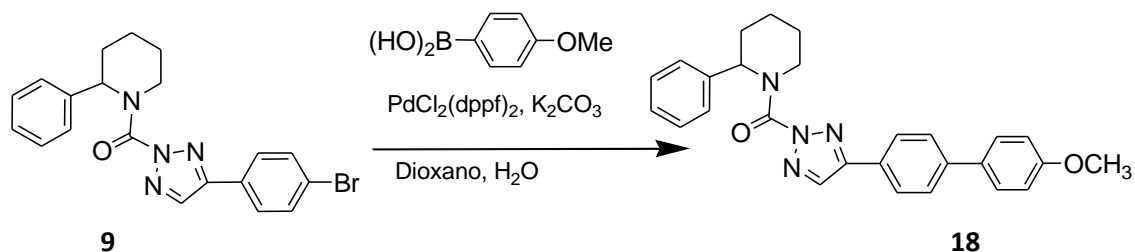
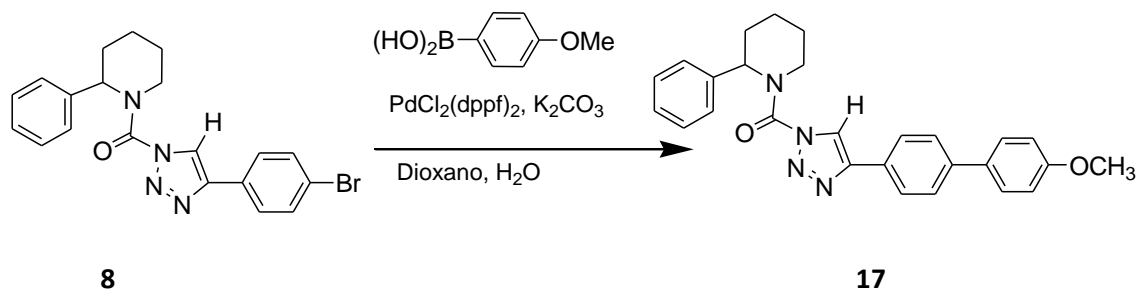
Se realizaron los acoplamientos de cada uno de los triazoles (**6** y **7**) con los ácidos fenilborónicos **10** y 2-metoxifenilborónico **11**, siguiendo el procedimiento descrito en la bibliografía²². Se aíslan los derivados **13** (KT109), **14** (KT109'), **15** (KT172) y **16** (KT172'), que se purificaron por cromatografía en columna y se caracterizaron espectroscópicamente. Los rendimientos fueron, en todos, los casos elevados.





Fenilderivados

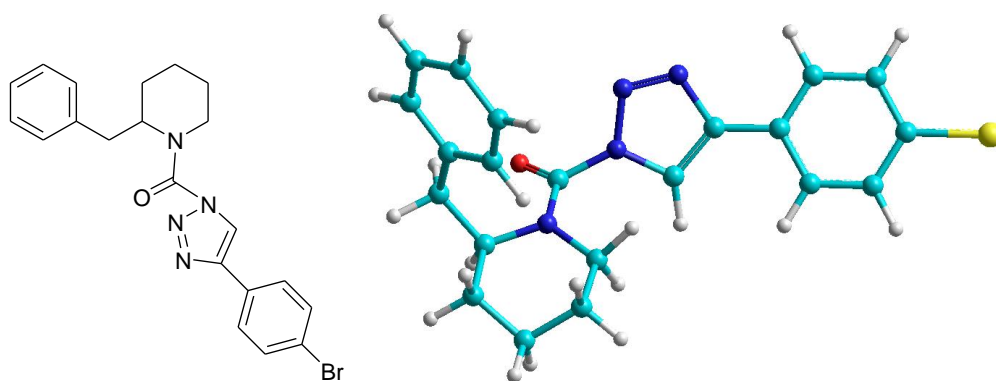
En el caso de los triazoles (**8** y **9**), se estudió su acoplamiento con el ácido 4-metoxifenilborónico (**11**), obteniendo **17** (KT195) y **18** (KT195') con altos rendimientos.



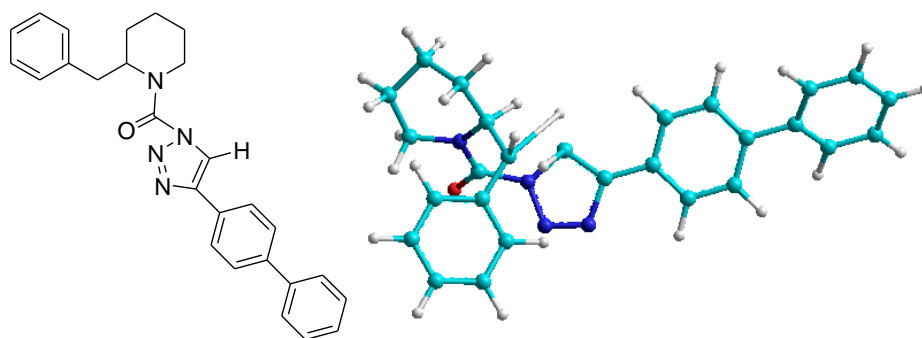
La última parte de este trabajo se centrará en el estudio de la actividad de cada uno de los 1,2,3-TUs **6** KT116, **7** KT117, **8** KT179, **9** KT179', **17** KT195, **18** KT195', **13** KT109, **14** KT109', **15** KT172 y **16** KT172', que se desarrolla actualmente en el IBGM.

CONCLUSIONES

- La síntesis de derivados de 1,2,3-TUs se ha llevado a cabo con excelentes rendimientos y los procesos de aislamiento y purificación han permitido obtener compuestos finales aptos para ser empleados en los test de actividad biológica.
- La mayor actividad del compuesto **6** (KT116) frente a hidrolasas de serina, designa este compuesto como un buen inhibidor de DAGL β .



- La modificación de **6** (KT116) a **13** (KT109), que contiene un grupo triazol 4-bifenilsustituído, demostró no sólo una mayor eficacia frente a DAGL β , sino una insignificante actividad frente a otras enzimas, remarcando ello su selectividad e interés.

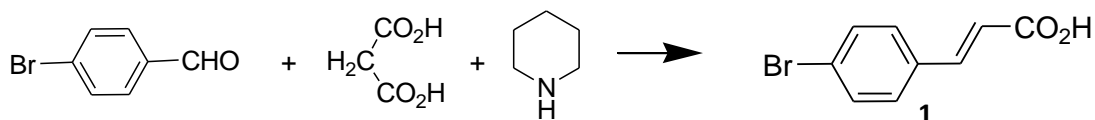


- La modificación con sistemas metoxifenílicos tuvo resultados referibles, aunque con menor especificidad hacia las enzimas DAGL α y DAGL β .
- Indicar, finalmente, que la realización de este trabajo me ha permitido conocer procedimientos experimentales y manejo en el laboratorio, así como el uso comprensivo de las diferentes técnicas de determinación estructural.

TÉCNICAS EXPERIMENTALES

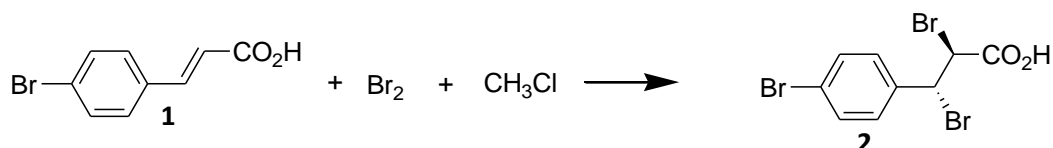
SÍNTESIS DE PRODUCTOS DE PARTIDA

Ácido 4-bromo cinámico (**1**):



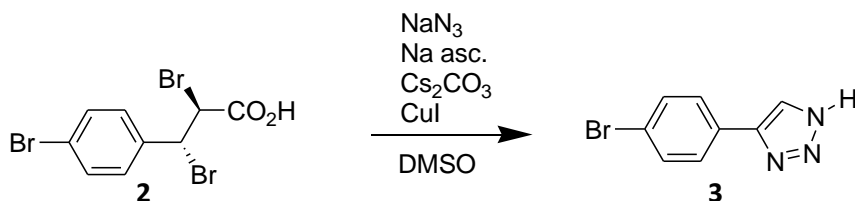
Una mezcla de 4-bromobenzaldehído (5.92g, 32mmol), ácido malónico (4.02g, 38.7mmol) y piperidina (0.33g, 3.87mmol) se disuelve en piridina (100mL) y se agita a 85°C durante 24h. La piridina se elimina a vacío. La mezcla de reacción se vierte sobre agua y se lava con HCl. El precipitado se filtra y se lava con hexano tres veces, se seca a vacío obteniendo un sólido blanco (6.814g, 30.01mmol, 93.85%), p.f.=380.01°C. Espectro nº1.

Ácido 2,3-dibromo-3-(4-bromofenil)propiónico (**2**)¹⁸:



En un matraz de 100mL de dos bocas se añade ácido 4-bromocinámico **1** (6.066g, 26.72mmol) y cloroformo (26mL), se acopla un refrigerante de bolas y se comienza a agitar a temperatura ambiente. Se añade gota a gota bromo líquido (1.404mL) y se mantiene la agitación durante 5h. Se extrae con CH₂Cl₂ (2x20mL) y H₂O (40mL); las fases orgánicas reunidas se lavan con tiosulfato sódico (40mL) y posteriormente con salmuera. Se secan sobre sulfato magnésico anhidro, se filtra y se elimina el disolvente a vacío obteniendo un sólido blanco (10.219g, 26.40mmol, 98.8%), p.f.=507.29°C. Espectro nº2

4-(4-bromofenil)-1H-1,2,3-triazol (**3**)¹⁹:

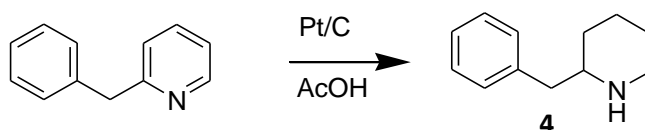


Una disolución del dibromo derivado **2** (387mg, 1mmol), NaN₃ (83.98mg, 1.3mmol), CsCO₃ (816mg, 2.5mmol), CuI (20mg, 0.1mmol) y ascorbato de sodio (40mg, 0.2mmol) en DMSO (6mL) se agita en un matraz bajo atmósfera de nitrógeno durante 5 min. y después se calienta a 110°C durante 4h.

La mezcla se deja enfriar a temperatura ambiente y se vierte sobre H₂O (50mL). La mezcla se extrae con AcOEt (3x60mL) y las fases orgánicas reunidas se lavan con salmuera (3x20mL), se seca sobre sulfato magnésico anhidro y se concentra a presión reducida. El producto crudo se purifica por cromatografía en columna (gel de sílice, AcOEt/heptano 1:10 a 1:2). Se obtiene un producto aceitoso (151mg, 0.67mmol, 67.41%) que cristaliza, p.f.= 386.66°C y se caracteriza. Espectros nº 3 y 4.

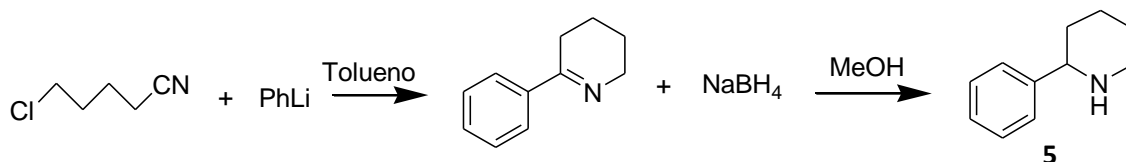
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ=7.96 (s, 1H), 7.70 (d, J=8.6 Hz, 2H), 7.59 (d, J=8.6Hz, 2H)

2-Bencilpiperidina (4)²⁰:



Se mezcla 2-bencilpiperidina (5g, 40mmol) con Pt/C (326.9mg) en AcOH (150mL) y se agita bajo presión de 8atm de H₂ a temperatura ambiente durante 6h. Tras filtrar para eliminar el Pt/C, se concentra en rotavapor para eliminar al máximo el AcOH, se disuelve en CH₂Cl₂ y se lava con NaOH (5%, 50mL). Se seca con sulfato magnésico anhidro, se filtra y concentra obteniendo un aceite (4.4g, 63.13%). Espectros nº 5 y 6.

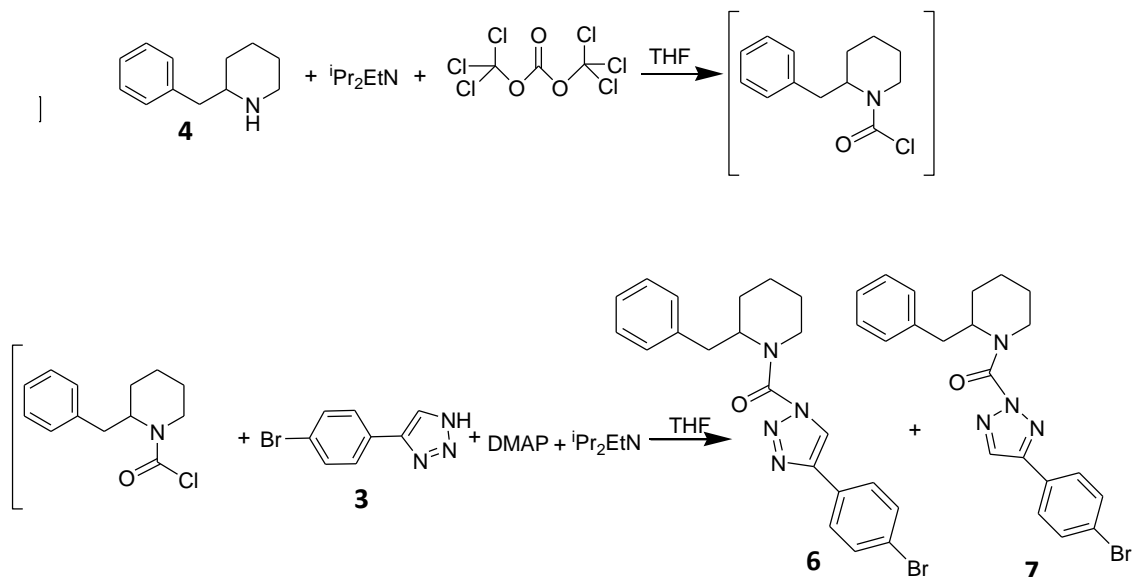
2-Fenilpiperidina (5)²¹:



Se añade PhLi (1.13eq., 1.5M, 23mL) gota a gota sobre una disolución de 5-clorovaleronitrilo (1eq., 5g, 4.8mL) en tolueno seco (310mL). La disolución resultante se calienta a reflujo durante 20h obteniendo una imina (42mmol). La imina se introduce en un baño de hielo y se disuelve en MeOH (3.4mL, 84mmol), se va añadiendo poco a poco NaBH₄ (3.18g, 84mmol), lo agitamos durante 3h y después dejamos que alcance temperatura ambiente. Se vierte sobre NaHCO₃ y se extrae con CH₂Cl₂, las fases orgánicas reunidas se lavan con salmuera, se filtra y se concentra obteniendo un aceite (5.017g, 76.2%). Espectro nº 7.

¹H NMR (300MHz, CDCl₃): δ 7.90-7.70 (m, 2H), 7.50-7.30 (m, 3H), 3.80-3.70 (m, 2H), 2.70-2.60 (m, 2H), 1.90-1.80 (m, 2H), 1.75-1.60 (m, 2H).

Mass (ESI⁺): m/z=160.2

SINTESIS DE 1,2,3-TRIAZOLILUREAS:**Bencilpiperidinas²²**Preparación de los compuestos **6** y **7**:

Una disolución de 2-bencilpiperidina **4** (0.64g, 3.6mmol) en THF (30mL) se trata con iPr_2NEt (1.9mL, 10.8mmol) y trifosgeno (0.54g, 1.8mmol) y la mezcla de reacción se calienta durante 30min a 4°C. La mezcla se concentra para eliminar al máximo el THF, se vierte sobre H_2O y se extrae con acetato de etilo. La fase orgánica se lava con H_2O y salmuera, se seca con sulfato magnésico anhidro y se concentra bajo presión reducida. El intermedio se disuelve en THF (20mL) y se añade iPr_2Net (1.9mL, 10.8mmol), DMAP (218mg, 1.8mmol) y 4-(4-bromofenil)-1H-1,2,3-triazol **3** (0.383g, 1.3mmol). La mezcla se calienta durante 2h a 60°C y se concentra para eliminar al máximo el THF. La mezcla se extrae con acetato de etilo, se lava con HCl (0.5N) para eliminar iPr_2NEt y salmuera, se seca sobre sulfato magnésico anhidro y se concentra bajo presión reducida. Purificamos por columna (gel de sílice, AcOEt/heptano (1:6)) obteniendo dos tautómeros **6** (KT-116) (0.262g, 48 %), espectros nº 8, 9, 10, 11, 12, 13 y 14 y **7** (KT-117) (0.242g, 44%), espectros nº 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22.

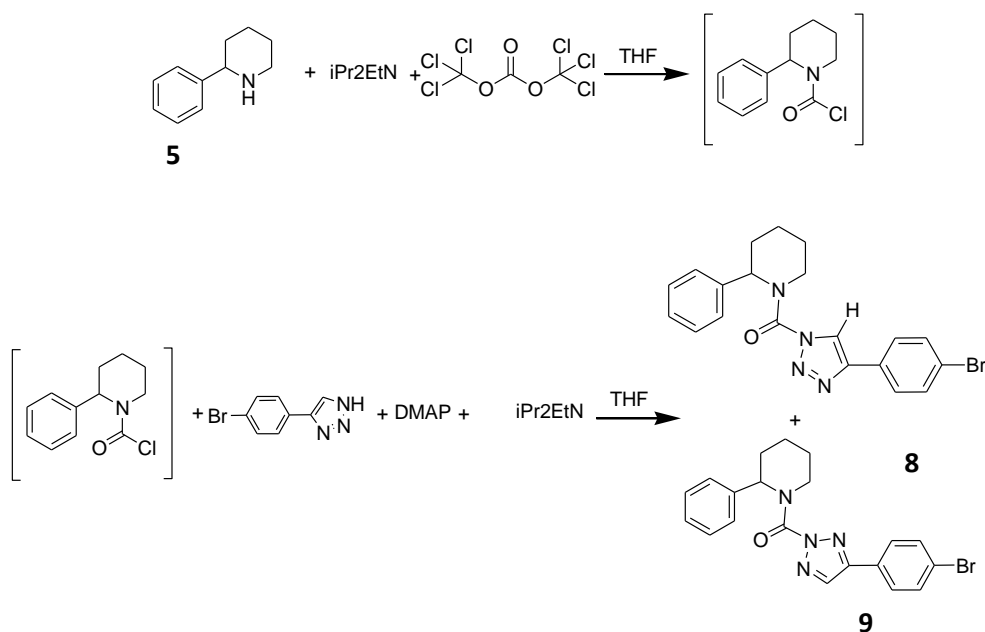
1H NMR (KT116) ($CDCl_3$, 400 MHz) δ (ppm), 7.72-7.54 (m, 4H), 7.45-6.89 (m, 6H), 4.81 (bs, 1H), 4.34 (bd, 1H, $J=13.5$ Hz), 3.42-3.10 (m, 2H), 2.67 (bs, 1H), 2.04-1.60 (m, 6H).

^{13}C NMR (KT116) ($CDCl_3$, 150 MHz) δ (ppm), 150.95, 146.21, 138.82, 132.96, 130.02, 129.57, 129.53, 128.11, 127.43, 123.33, 121.44, 58.25, 41.77, 37.49, 29.79, 26.18, 19.73.

HRMS (KT116) m/z calc. Para $C_{21}H_{22}BrN_4O$ $[M+H]^+$ 425.0951, encontrado 425.0976.

Fenilpiperidinas²²

Preparación de los compuestos **8** y **9**.

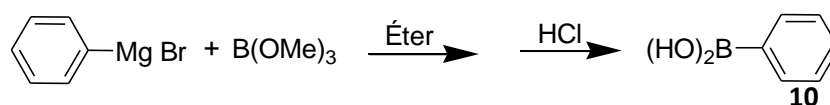


Una disolución de 2-fenilpiperidina **5** (2.334g, 14.5mmol) en THF (120.83mL) se trata con iPr_2NEt (7.73mL, 43.5mmol) y trifosgeno (2.175g, 7.25mmol) y la mezcla de reacción se calienta durante 30min a 4°C. La mezcla se concentra para eliminar al máximo el THF, se vierte sobre H_2O y se extrae con acetato de etilo. La fase orgánica se lava con H_2O y salmuera, se seca con sulfato magnésico anhidro y se concentra bajo presión reducida. El intermedio se redisuelve en THF (145mL) y se añade iPr_2NEt (7.73mL, 43.5mmol), DMAP (1.74g, 14.5mmol) y 4-(4-bromofenil)-1H-1,2,3-triazol **3** (3.108g, 13.8mmol). La mezcla se calienta durante 2h a 60°C y se concentra para eliminar al máximo el THF. La mezcla se extrae con acetato de etilo, se lava con HCl (0.5N) para eliminar iPr_2NEt y salmuera, se seca sobre sulfato magnésico anhidro y se concentra bajo presión reducida. Purificamos por columna (gel de sílice, AcOEt/heptano (1:4)) obteniendo dos tautómeros **8** (KT-179) (1.073g, 20%), espectros nº 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 y 30 y **9** (KT-179') (2.668, 48%), espectros nº 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37 y 38.

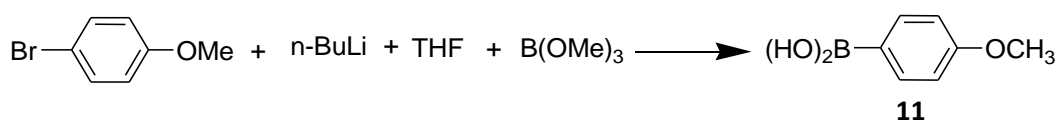
1H NMR (KT179) ($CDCl_3$, 400 MHz) δ (ppm), 8.40 (s, 1H), 7.75 (d, 2H, $J=8.5Hz$), 7.58 (d, 2H, $J=8.5 Hz$), 7.43-7.26 (m, 5H), 5.91 (bs, 1H), 4.36 (bd, 1H, $J=13.6 Hz$), 3.18 (m, 1H), 2.52 (bd, 1H, $J=14.2 Hz$), 2.15 (m, 1H), 1.90-1.60 (m, 4H).

^{13}C NMR (KT179) ($CDCl_3$, 150 MHz) δ (ppm), 150.15, 146.74, 138.66, 133.03, 129.85, 129.41, 128.27, 128.08, 127.42, 123.55, 122.01, 28.68, 26.67, 20.16.

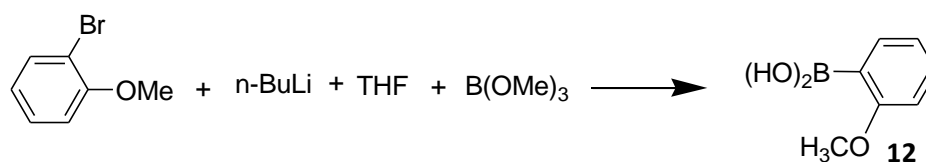
HRMS (KT179) m/z calc. Para $C_{20}H_{20}BrN_4O$ $[M+H]^+$ 411.0815, encontrado 411.0802.

SÍNTESIS DE ÁCIDOS BORÓNICOS**Ácido fenilborónico (10)**

Una disolución de bromuro de fenilmagnesio (20mL, 23.2mmol) en éter (60mL) se enfría a -78°C y se añade lentamente trimetilborato (7.7mL, 69mmol), se deja agitando hasta que alcanza la temperatura ambiente. Se añade HCl acuoso (0.5M, 30mL) y se agita durante 1h; pasado ese tiempo se extrae con AcOEt. Las fases orgánicas reunidas se lavan con una disolución acuosa saturada de NaHCO_3 , agua y salmuera, se secan sobre sulfato magnésico anhidro, se filtra y se concentra hasta obtener un sólido blanco **10** (4.403g, cuantitativo). Espectro nº 39.

Ácido 4-metoxifenilborónico (11)²³

Una disolución de 4-bromoanisole (1.56mL, 12.4mmol) en THF (50mL) se enfría a -78°C y se añade n-butilitio (12.4mL, 1.2M, 15mmol) bajo agitación. Después de que la mezcla haya sido agitada durante 1h a esa temperatura, se añade lentamente trimetilborato (1.53mL, 13.6mmol) y la disolución se deja calentando hasta temperatura ambiente. Se añade HCl acuoso (0.5M, 30mL) y se deja agitar durante 1h, pasado ese tiempo se extrae con AcOEt. Las fases orgánicas reunidas se lavan con una disolución acuosa saturada de NaHCO_3 , agua y salmuera, se seca con sulfato magnésico anhidro, se filtra y se concentra hasta obtener un sólido blanco **11** (2.002g, cuantitativo). Espectro nº 40.

Ácido 2-metoxifenilborónico (12)²³

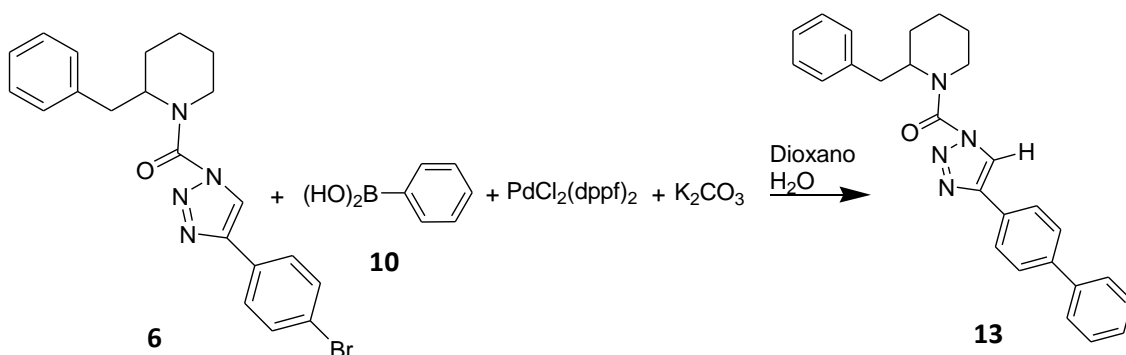
Una disolución de 2-Bromoanisole (1.00mL, 8mmol) en THF (30mL) se enfría a -78°C y se añade n-butilitio (8.4mL, 1.2M, 10mmol) bajo agitación. Después de que la mezcla haya sido agitada durante 1h a esa temperatura, se añade lentamente trimetilborato (1.02mL, 9.06mmol) y la disolución se deja calentando hasta temperatura ambiente.

Se añade HCl acuoso (0.5M, 30mL) y se deja agitar durante 1h, pasado ese tiempo se extrae con AcOEt. Las fases orgánicas reunidas se lavan con una disolución acuosa saturada de NaHCO₃, agua y salmuera, se seca con sulfato magnésico anhidro, se filtra y se concentra hasta obtener un sólido blanco **12** (1.837g, cuantitativo). Espectro nº41.

ACOPLAMIENTOS DE STILLE

Bencilderivados²²

Preparación del compuesto **13**

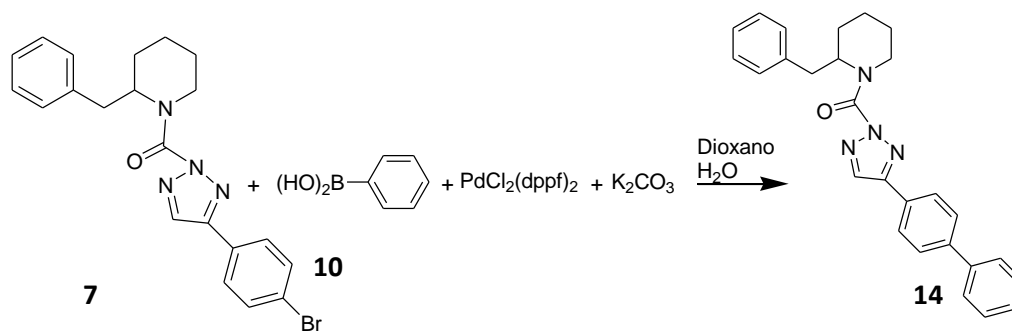


Una disolución de KT116 (**6**) (170mg, 0.355mmol) en dioxano (11.5mL) y H₂O (0.57mL) se trata con ácido fenilborónico (**10**) (92mg, 0.75mmol), K₂CO₃ (171mg, 1.254mmol) y PdCl₂(dppf) (45.6mg, 0.063mmol) y la mezcla de reacción se agita durante 4h a 80°C en atmósfera de N₂. La reacción se sigue por TLC. La mezcla se vierte sobre H₂O y se extrae con acetato de etilo. La fase orgánica se lava con H₂O y salmuera, se seca sobre sulfato magnésico anhidro y se concentra bajo presión reducida. El residuo se purifica por columna (gel de sílice, AcOEt/heptano (1:4)) obteniéndose un sólido blanco **13** (KT109) (0.049g, 35%). Espectros nº 42, 43, 44, 45, 46, 47 y 48.

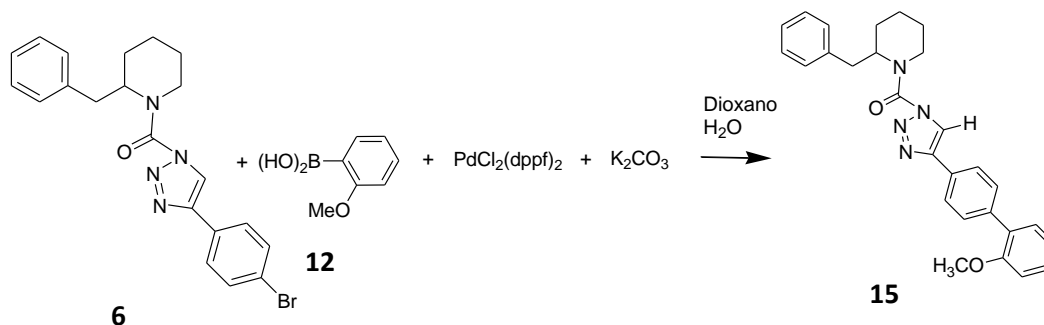
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ (ppm), 7.86 (bs, 2H), 7.70-7.65 (m, 4H), 7.50-7.35 (m, 3H), 7.30- 6.90 (m, 5H), 4.87 (bs, 1H), 4.37 (bd, 1H, J=13.7 Hz), 3.40-3.20 (m, 2H), 2.71 (bs,1H), 2.03-1.65 (m, 6H).

¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ (ppm), 150.20, 146.96, 142.13, 141.35, 138.83, 130.04, 129.73, 129.59, 129.51, 128.47, 128.41, 127.88, 127.47, 127.02, 121.36, 58.26, 41.80, 37.51, 29.66, 26.24, 19.75.

HRMS m/z calc. Para C₂₇H₂₇N₄O [M+H]⁺ 423.2179, encontrado 423.2178.

Preparación del compuesto **14**

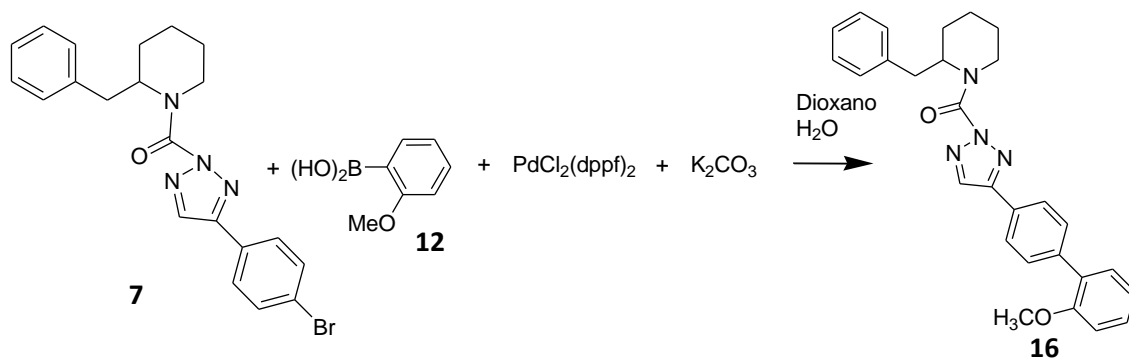
Una disolución de KT117 (**7**) (145mg, 0.35mmol) en dioxano (11.5mL) y H₂O (0.57mL) se trata con ácido fenilborónico (**10**) (92mg, 0.75mmol), K₂CO₃ (171mg, 1.254mmol) y PdCl₂(dppf) (45.6mg, 0.063mmol) y la mezcla de reacción se agita durante 4h a 80°C en atmósfera de N₂. La reacción se sigue por TLC. La mezcla se vierte sobre H₂O y se extrae con acetato de etilo. La fase orgánica se lava con H₂O y salmuera, se seca sobre sulfato magnésico anhidro y se concentra bajo presión reducida. El residuo se purifica por columna (gel de sílice, AcOEt/heptano (1:4)) obteniéndose un sólido blanco **14** (KT109') (0.049g, 35%). Espectros nº 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55 y 56.

Preparación del compuesto **15**

Una disolución de KT116 (**6**) (268mg, 0.630mmol) en dioxano (18.13mL) y H₂O (0.89mL) se trata con ácido 2-metoxifenilborónico (**12**) (163.27mg, 1.33mmol), K₂CO₃ (303.25mg, 2.223mmol) y PdCl₂(dppf) (80.34mg, 0.111mmol) y la mezcla de reacción se agita durante 4h a 80°C en atmósfera de N₂. La reacción se sigue por TLC. La mezcla se vierte sobre H₂O y se extrae con acetato de etilo. La fase orgánica se lava con H₂O y salmuera, se seca sobre sulfato magnésico anhidro y se concentra bajo presión reducida. El residuo se purifica por columna (gel de sílice, AcOEt/heptano (1:4)) obteniéndose un sólido blanco **15** (KT172) (0.044g, 17%). Espectro nº 57.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ (ppm), 7.84 (bs, 2H), 7.63 (d, 2H, J=8.4 Hz), 7.50-6.95 (m, 9H), 4.87 (bs, 1H), 4.37 (bd, 1H, J=13.8 Hz), 3.84 (s, 3H), 3.42-3.10 (m, 2H), 2.71 (bs, 1H), 2.03-1.65 (m, 6H).

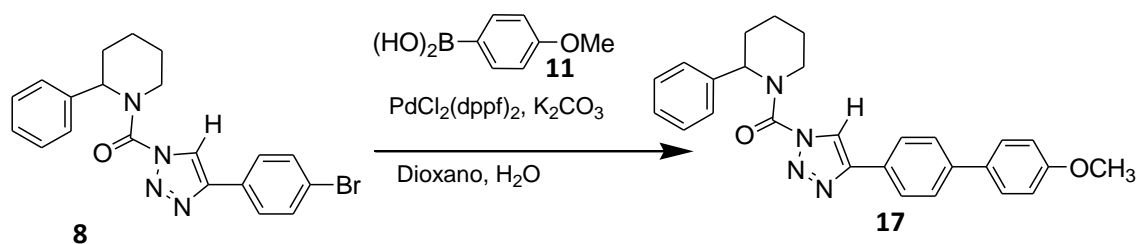
¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ (ppm), 157.36, 150.25, 147.20, 138.82, 131.61, 130.92, 130.87, 130.03, 129.75, 129.59, 129.10, 127.49, 126.29, 121.78, 112.13, 58.21, 56.46, 41.79, 37.47, 29.69, 26.25, 19.76.
HRMS m/z calc. Para C₂₈H₂₉N₄O₂ [M+H]⁺ 453.2285, encontrado 453.2297.

Preparación del compuesto **16**

Una disolución de KT117 (**7**) (275mg, 0.646mmol) en dioxano (18.55mL) y H₂O (0.903mL) se trata con ácido 2-metoxifenilborónico (**12**) (167.15mg, 1.36mmol), K₂CO₃ (310.46mg, 2.27mmol) y PdCl₂(dppf) (82.25mg, 0.113mmol) y la mezcla de reacción se agita durante 4h a 80°C en atmósfera de N₂. La reacción se sigue por TLC. La mezcla se vierte sobre H₂O y se extrae con acetato de etilo. La fase orgánica se lava con H₂O y salmuera, se seca sobre sulfato magnésico anhidro y se concentra bajo presión reducida. El residuo se purifica por columna (gel de sílice, AcOEt/heptano (1:4)) obteniéndose un sólido blanco **16** (KT172') (0.243g, 83%). Espectro n°58

Fenilderivados²²

Preparación del compuesto **17**



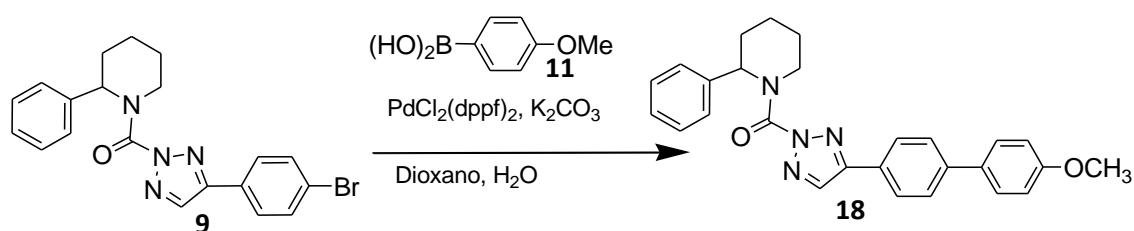
Una disolución de KT-179 (**8**) (500mg, 1.2mmol) en dioxano (20mL) y H₂O (2mL) se trata con ácido 4-metoxifenilborónico (**11**) (275mg, 1.85mmol), K₂CO₃ (500mg, 3.6mmol) y PdCl₂(dppf) (90mg, 0.12mmol) y la mezcla de reacción se agita durante 4h a 80°C en atmósfera de N₂. La reacción se sigue por TLC. La mezcla se vierte sobre H₂O y se extrae con acetato de etilo. La fase orgánica se lava con H₂O y salmuera, se seca sobre sulfato magnésico anhidro y se concentra bajo presión reducida. El residuo se purifica por columna (gel de sílice, AcOEt/heptano (1:4)) obteniéndose un sólido blanco **17** (KT195) (0.167 g, 32%). Espectros nº 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65 y 66.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ (ppm), 8.42 (s, 1H), 7.93 (d, 2H, J=8.3 Hz), 7.65 (d, 2H, J=8.3 Hz), 7.58 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.43-7.26 (m, 5H), 7.00 (d, 2H, J=8.8 Hz), 5.94 (bs, 1H), 4.78 (bd, 1H, J=13.8 Hz), 3.86 (s, 3H), 3.19 (bt, 1H, J 13.8 Hz), 2.54 (bd, 1H, J=13.8 Hz), 2.16 (m, 1H), 1.91-1.60 (m, 4H).

¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ (ppm), 160.24, 150.34, 147.54, 141.91, 138.76, 133.80, 129.84, 128.91, 128.75, 128.04, 128.02, 127.46, 127.15, 121.71, 115.16, 56.24, 28.69, 26.70, 20.20.

HRMS m/z calc. Para C₂₇H₂₇N₄O₂ [M+H]⁺ 439.2128, encontrado 439.2128.

Preparación del compuesto **18**



Una disolución de KT-179' (1g, 2.4mmol) en dioxano (40mL) y H₂O (4mL) se trata con ácido 4-metoxifenilborónico (550mg, 3.7mmol), K₂CO₃ (1g, 7.2mmol) y PdCl₂(dppf) (180mg, 0.24mmol) y la mezcla de reacción se agita durante 4h a 80°C en atmósfera de N₂. La reacción se sigue por TLC. La mezcla se vierte sobre H₂O y se extrae con acetato de etilo. La fase orgánica se lava con H₂O y salmuera, se seca sobre sulfato magnésico anhidro y se concentra bajo presión reducida. El residuo se purifica por columna (gel de sílice, AcOEt/heptano (1:4)) obteniéndose un sólido blanco **18** (KT195') (0.260g, 25%). Espectros nº 67, 68, 69, 70, 71, 72 y 73.

ANEXOS

COMPUESTOS Y BIBLIOGRAFÍA

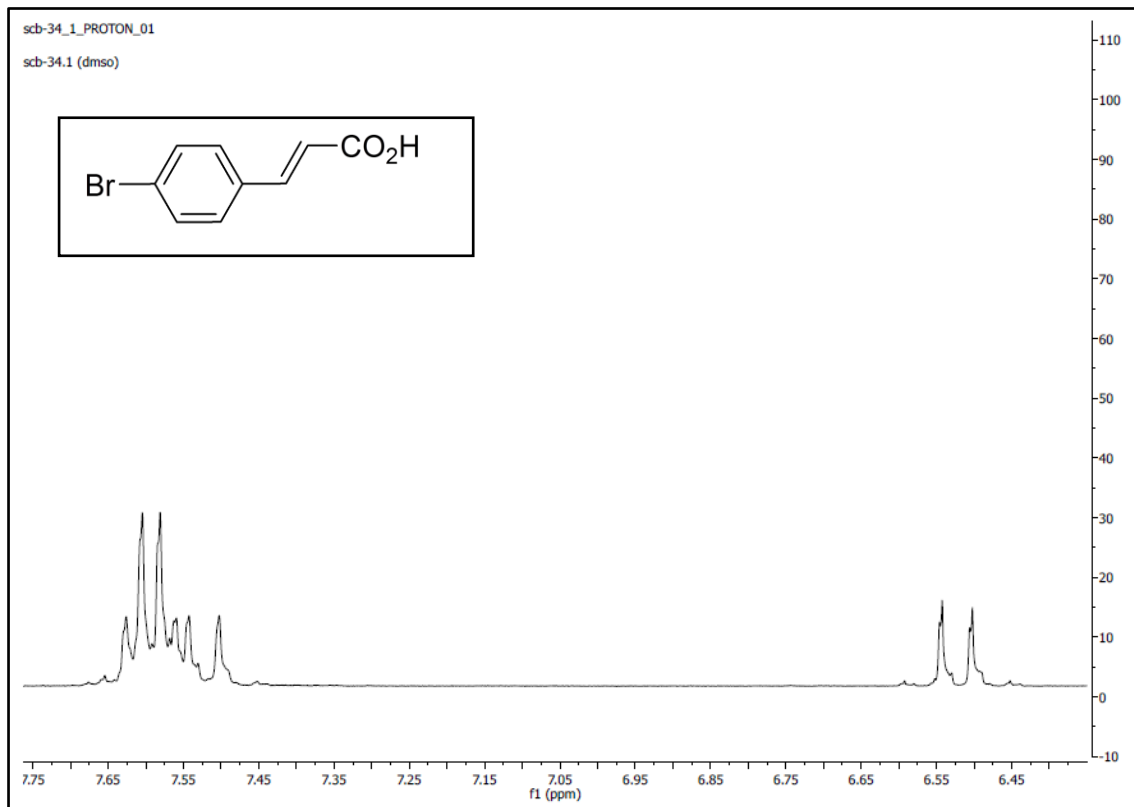
Número	Compuesto
1	Ácido 4-bromocinámico 2,3-dibromo-3-(4-
2	bromofenil)propiónico
3	4-(4-bromofenil)-1H-1,2,3-triazol
4	2-Bencilpiperidina
5	2-Fenilpiperidina
6	KT116
7	KT117
8	KT179
9	KT179'
10	Fenilborónico
11	Ácido 4-metoxifenilborónico
12	Ácido 2-metoxifenilborónico
13	KT109
14	KT109'
15	KT172
16	KT172'
17	KT195
18	KT195'

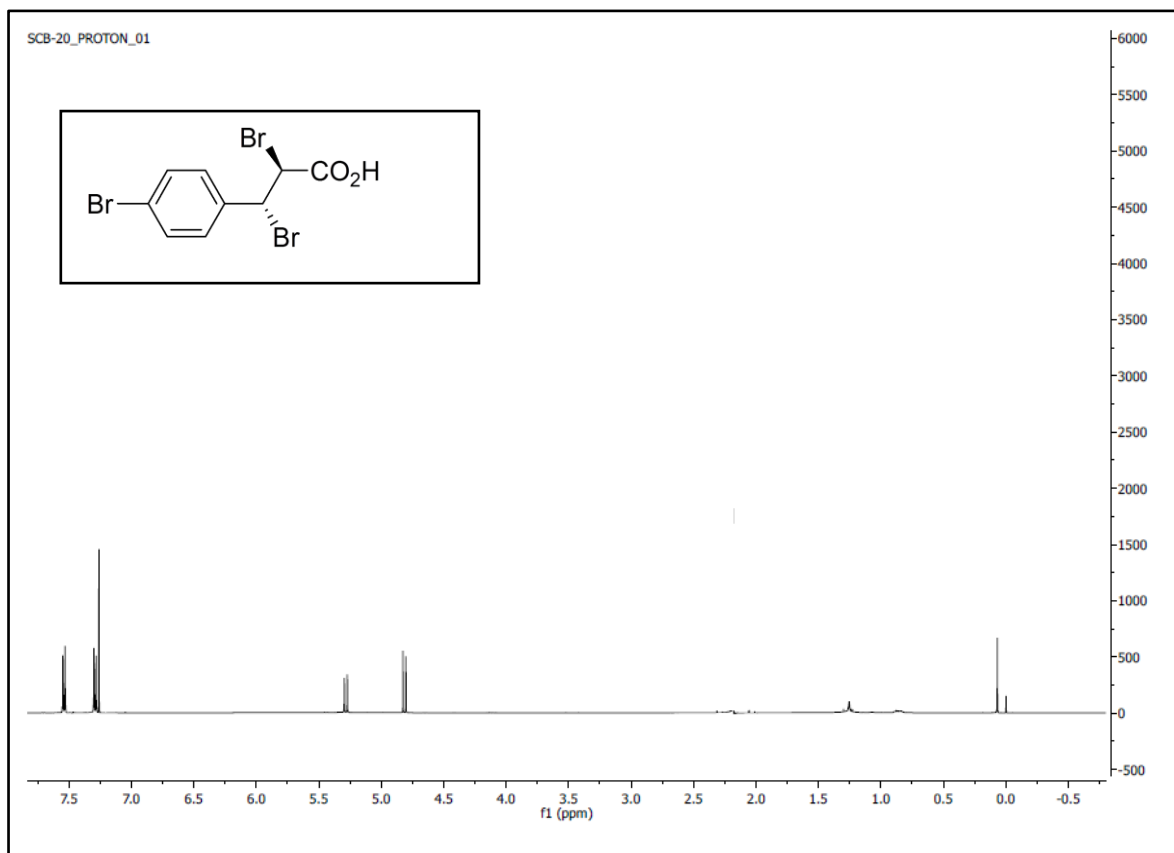
Nº	Cita Bibliográfica
1	Adibekian, A. et al. Click-generated triazole ureas as ultrapotent in vivo-active serine hydrolase inhibitors. <i>Nat. Chem. Biol.</i> 7, 469-478 (2011).
2	Dietrich A, Kalwa H, Rost BR, Gudermann T (2005) The diacylglycerol-sensitive TRPC3/67 subfamily of cation channels: functional characterization and physiological relevance. <i>Pflugers Arch Eur J Physiol</i> 451: 72-80
3	Vazquez G, Tano JY, Smedlund K (2010) On the potential role of source and species of diacylglycerol in phospholipase-dependent regulation of TRPC3 channels. <i>Channels (Austin)</i> 4: 232-240
4	Jornayvaz FR, Jurezak MJ, Lee HY et al (2010) A high-fat, ketogenic diet causes hepatic insulin resistance in mice, despite increasing energy expenditure and preventing weight gain. <i>Am J Physiol Metab</i> 299: E808-E815
5	Prelog V, Helmchen G (1982) Basic principles of the CIP system and proposals for a revision. <i>Angew Chemie, Int Ed english</i> 21: 567-583
6	Tuchi-Sato K, Ozeki S, Houjou T et al (2002) The surface of lipid droplets is a phospholipid monolayer with a unique fatty acid composition. <i>J Biol Chem</i> 277: 44507-44512
7	Hacemmerle G, Lass A, Zimmermann R et al (2006) Defective lipolysis and altered energy metabolism in mice lacking adipose triglyceride lipase. <i>Science</i> 312: 734-737
8	Carriere F, Roglaska E, Cudrey C et al (1997) In vivo and in vitro studies on the stereoselective hydrolysis of tri- and diglycerides by gastric and pancreatic lipases. <i>Bioorg Med Chem</i> 5: 429-435
9	Roglaska E, Ransac S, Verger R (1993) Controlling lipase stereoselectivity via the surface pressure. <i>J Biol Chem</i> 268: 792-794
10	Roglaska E, Cudrey C, Ferrato F, Verger R (1993) Stereoselective hydrolysis of triglycerides by animal and microbial lipases, <i>Chirality</i> 5: 24-30
11	Paltauf F, Esfandi F, Holasek A (1974) Stereospecificity of lipases. Enzyme hydrolysis of enantiomeric alkyl diacylglycerols by lipoprotein lipase, lingual and pancreatic lipase <i>FEBS Lett</i> 400: 119-123
12	Jensen RG, DeJong FA, Clark RM et al (1982) Stereospecificity of premature human infant lingual lipase. <i>Lipids</i> 17: 570-572
13	Nature Chemical Biology Advanced Online Publication www.nature.com/naturechemicalbiology
14	Gao, Y. et al. Loss of retrograde endocannabinoid signaling and reduced adult neurogenesis in diacylglycerol lipase knock-out mice. <i>J. Cell Biol.</i> 163, 463-468 (2003).
15	Tanimura, A. et al. The endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol produced by diacylglycerol lipase α mediates retrograde suppression of synaptic transmission. <i>Neuron</i> 65, 320-327 (2010)
16	Hoover, H.S., Blankman, J.L., Niessen, S. & Cravatt, B.F. Selectivity of inhibitors of endocannabinoid biosynthesis evaluated by activity-based protein profiling. <i>Bioorg. Med. Chem. Lett.</i> 18, 5838-5841 (2008)
17	Cravatt, B.F. Wright, A.T. & Kozarich, J.W. Activity-based protein profiling: from enzyme chemistry to proteomic chemistry. <i>Annu. Rev. Biochem.</i> 77, 383-414 (2008)
18	Synthetic communications, 29 (23), 4179-4185 (1999) Department of Chemistry and Biochemistry, Texas Tech University, Lubbock, TX 79409-1061, USA
19	Synthesis 2010, No.24, pp 4256-4260
20	Journal of Medicinal Chemistry, 2007, Vol.50, No.11
21	J.A.C.S. 1994, 116, 4546
22	Nature Chemical Biology doi. 10.1038/nchembio.1105
23	Journal Organic Chemistry 2014, 79 1017-1024

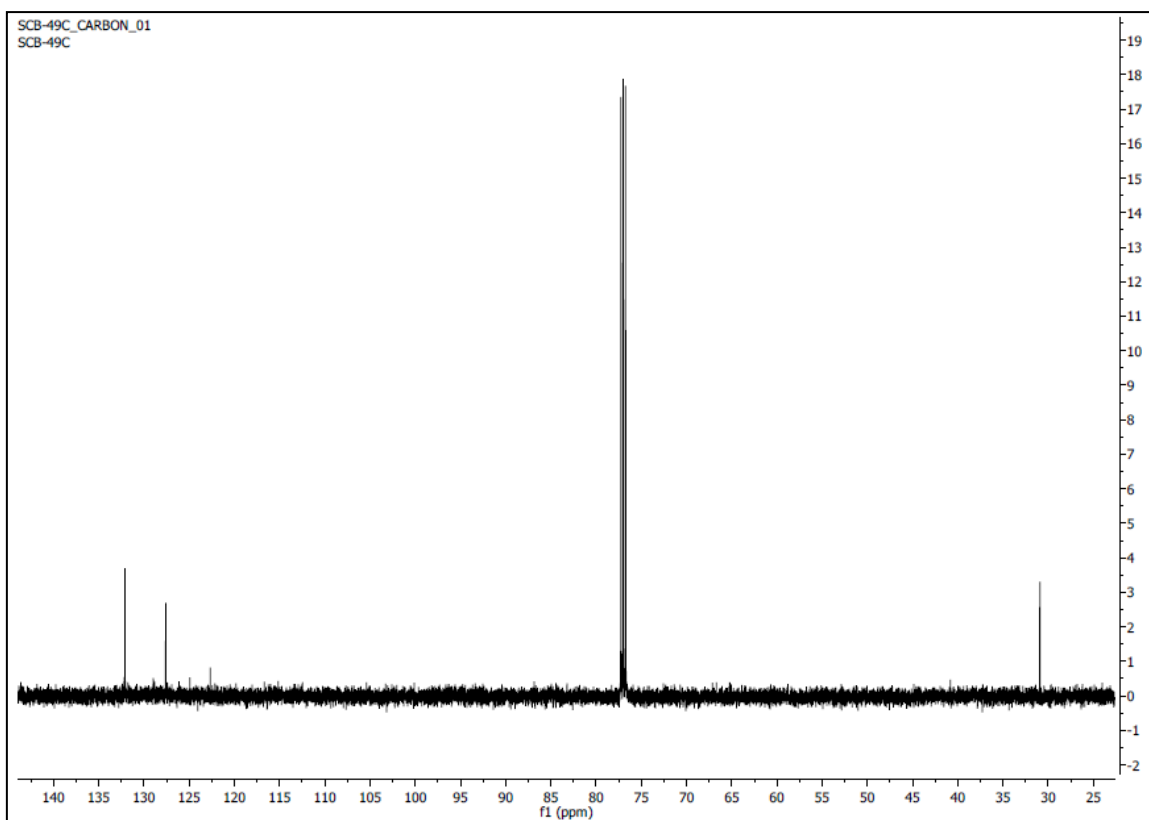
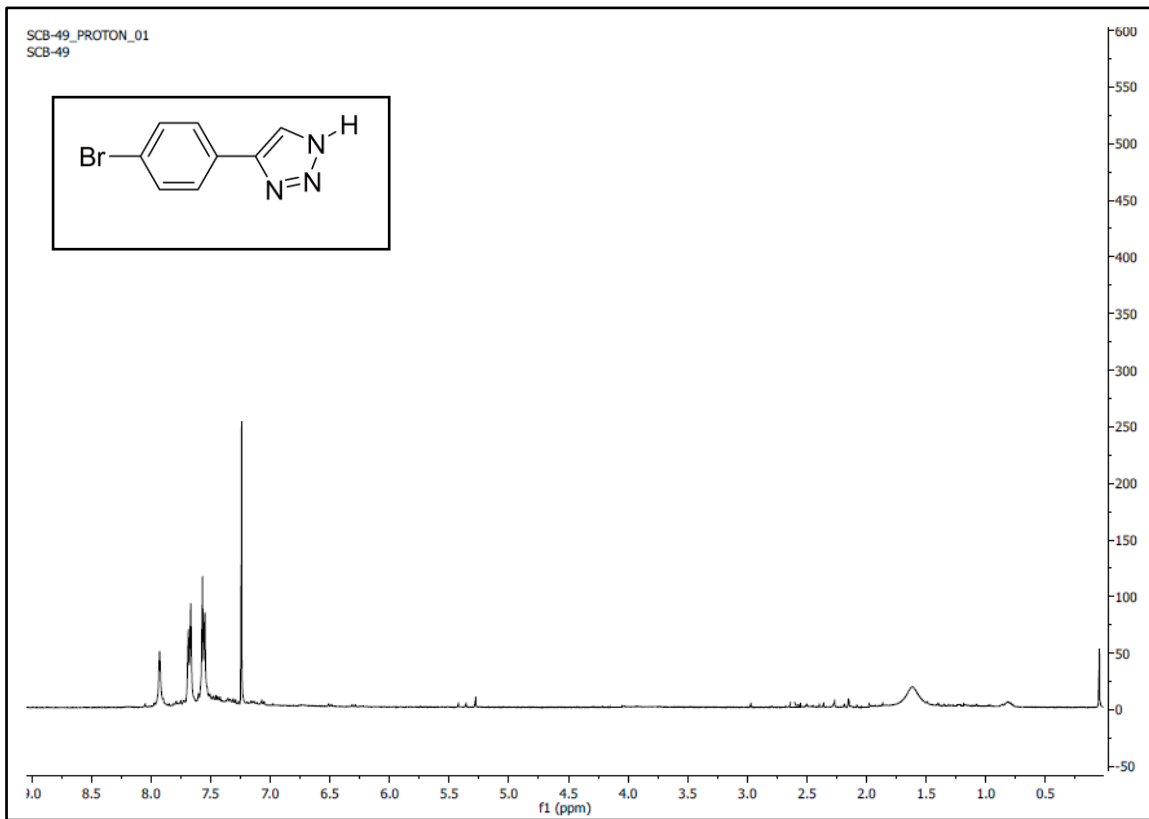
ESPECTROS

Ácido 4-bromocinámico

Espectro 1

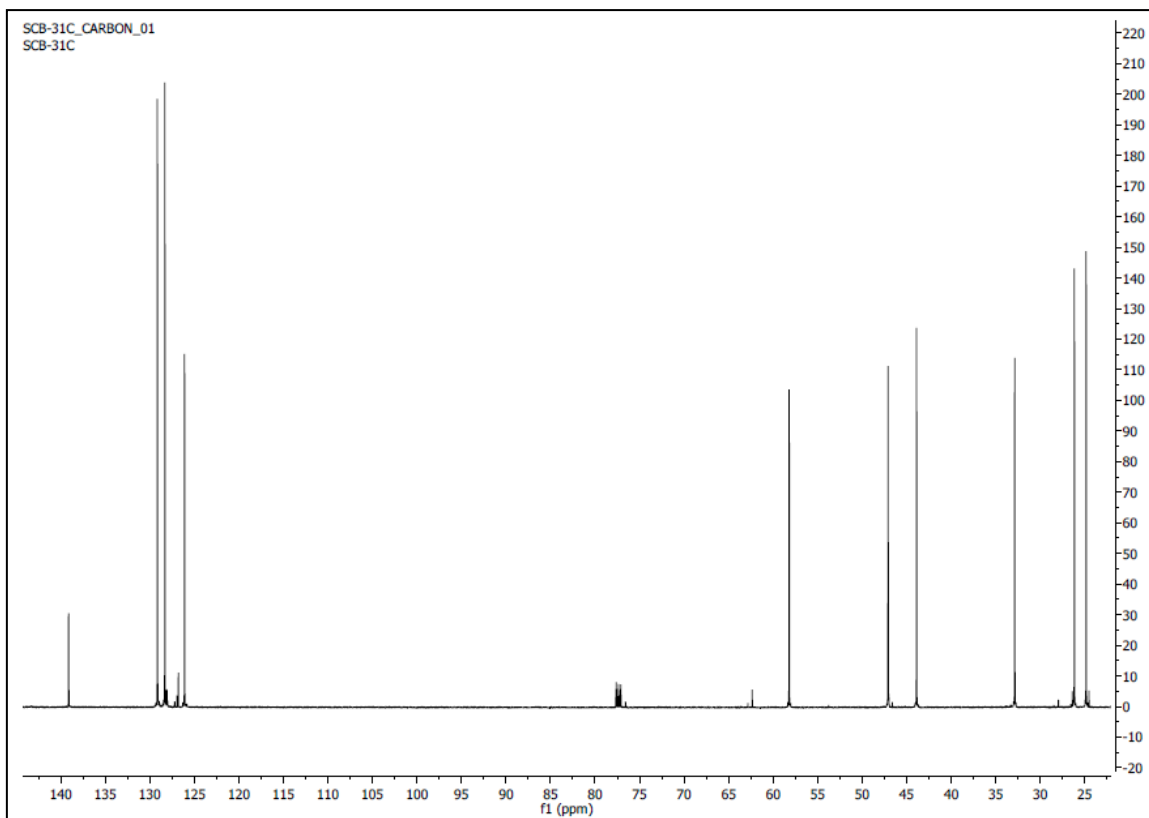
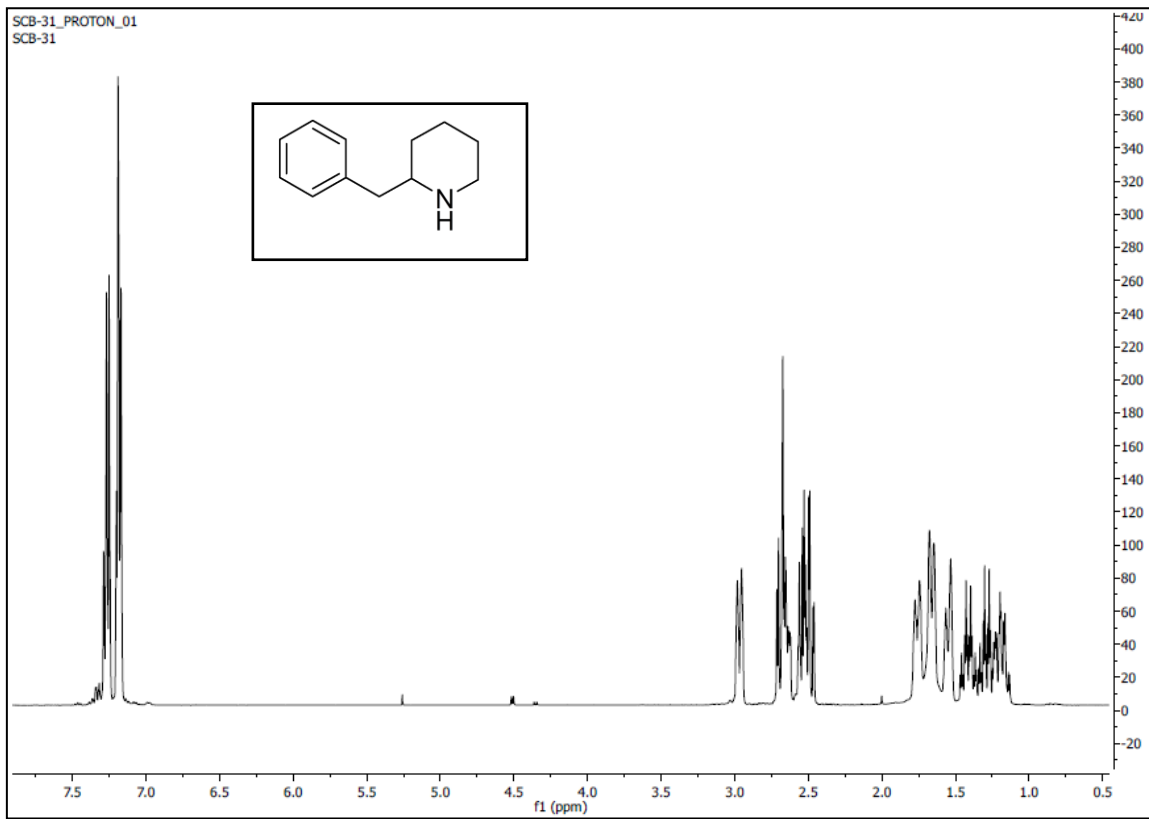


Ácido 2,3-dibromo-3-(4-bromofenil)propiónico**Espectro 2**

4-(4-bromofenil)-1H-1,2,3-triazol**Espectros 3 y 4**

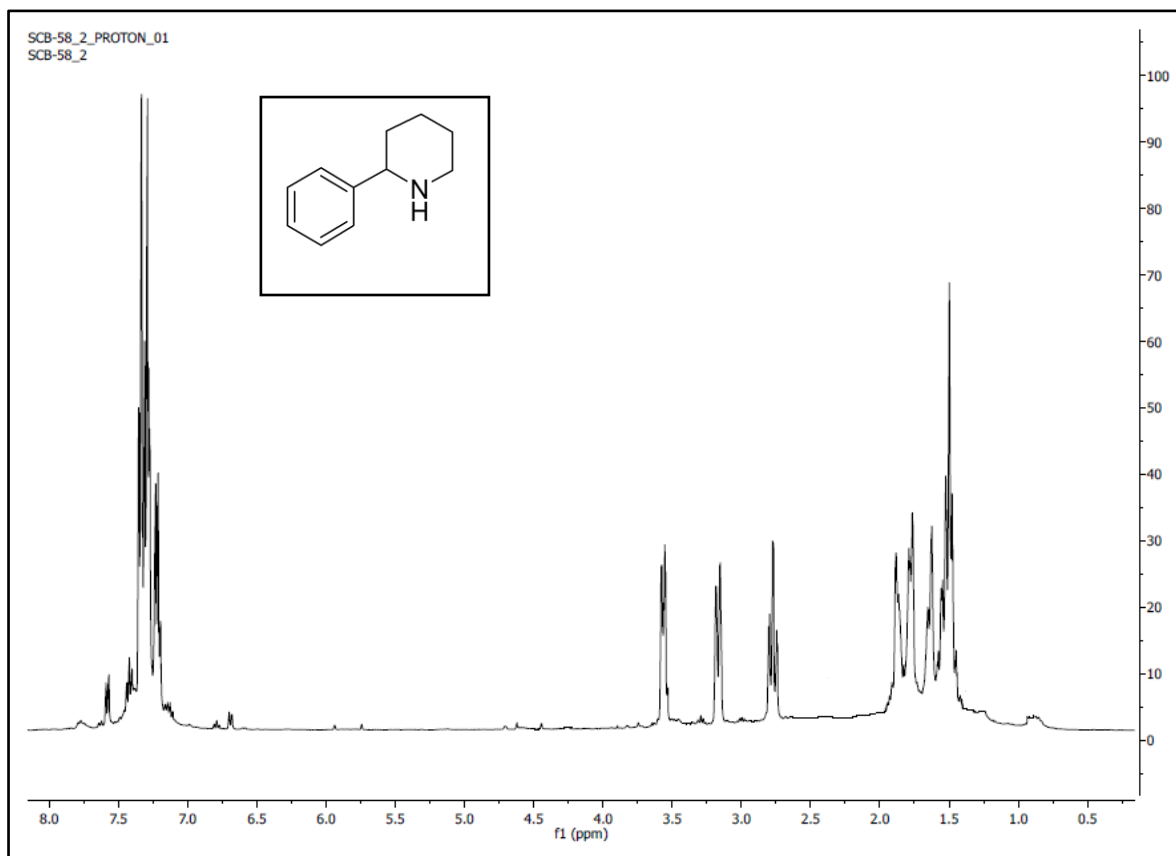
2-Bencilpiperidina

Espectros 5 y 6



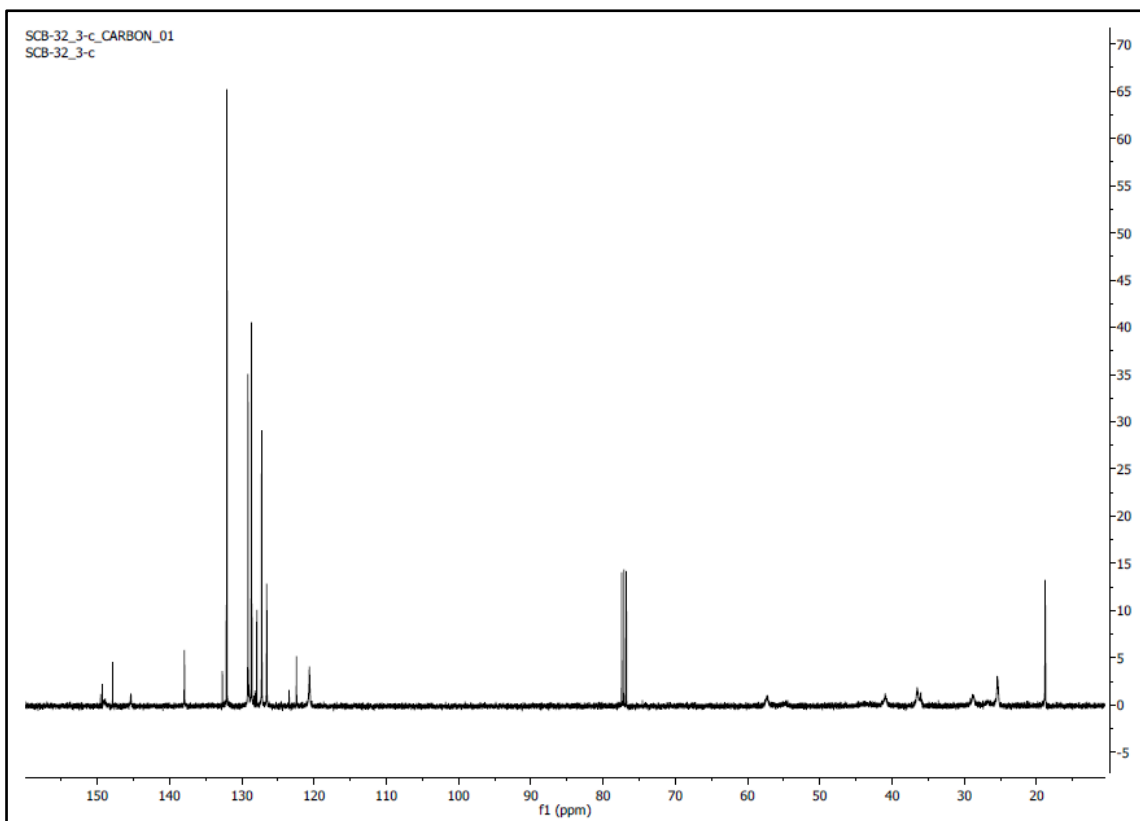
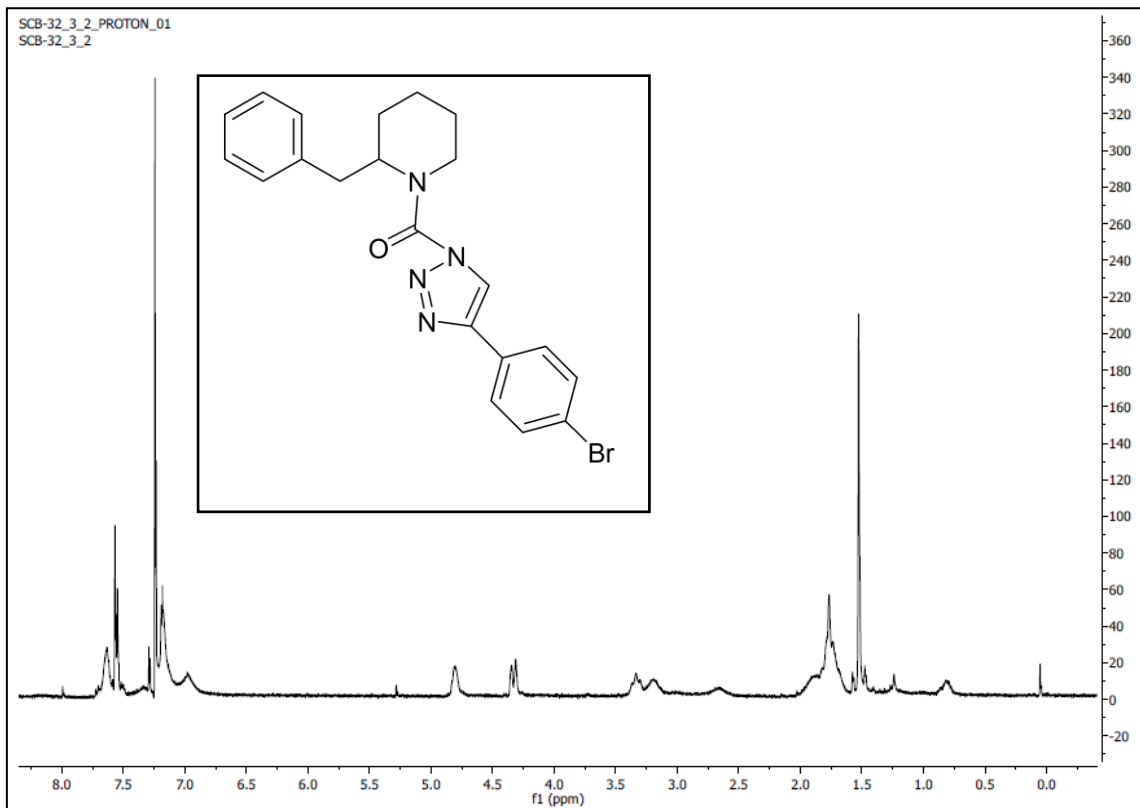
2-Fenilpiperidina

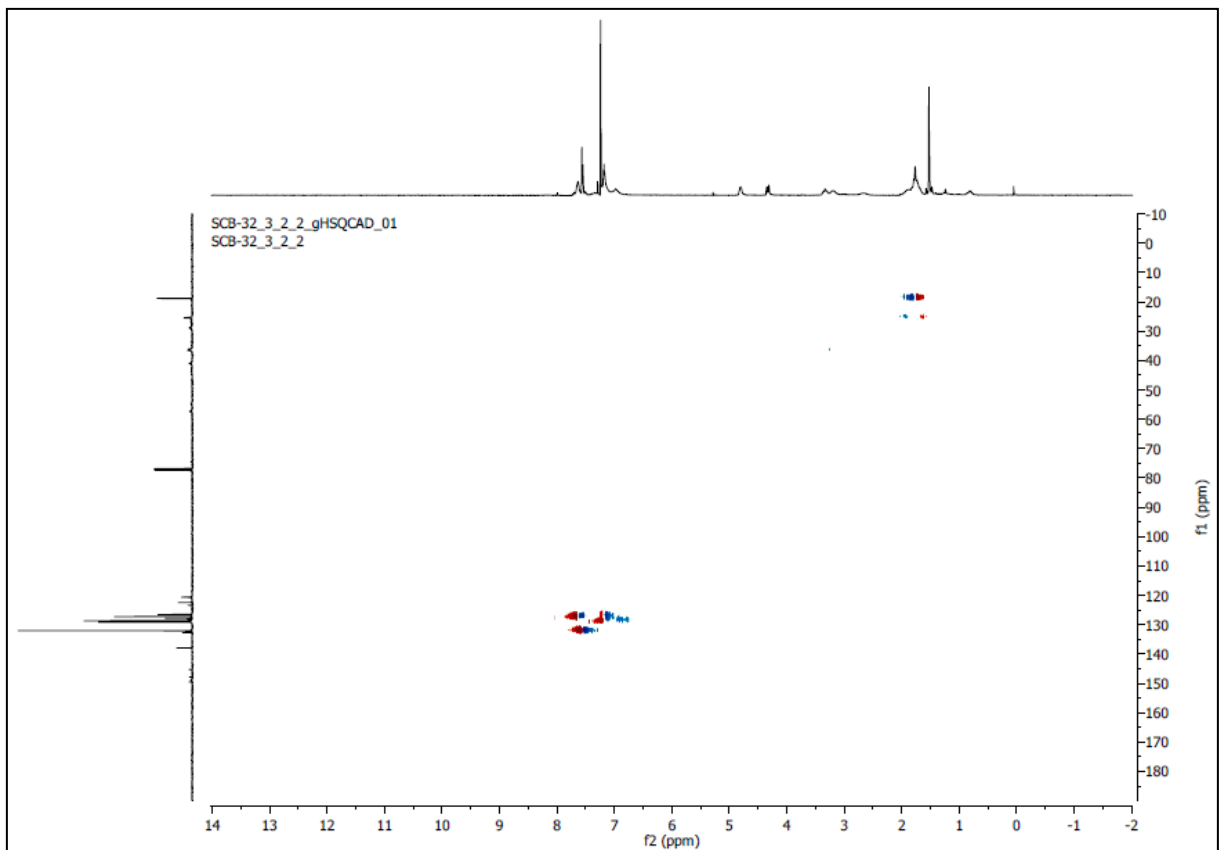
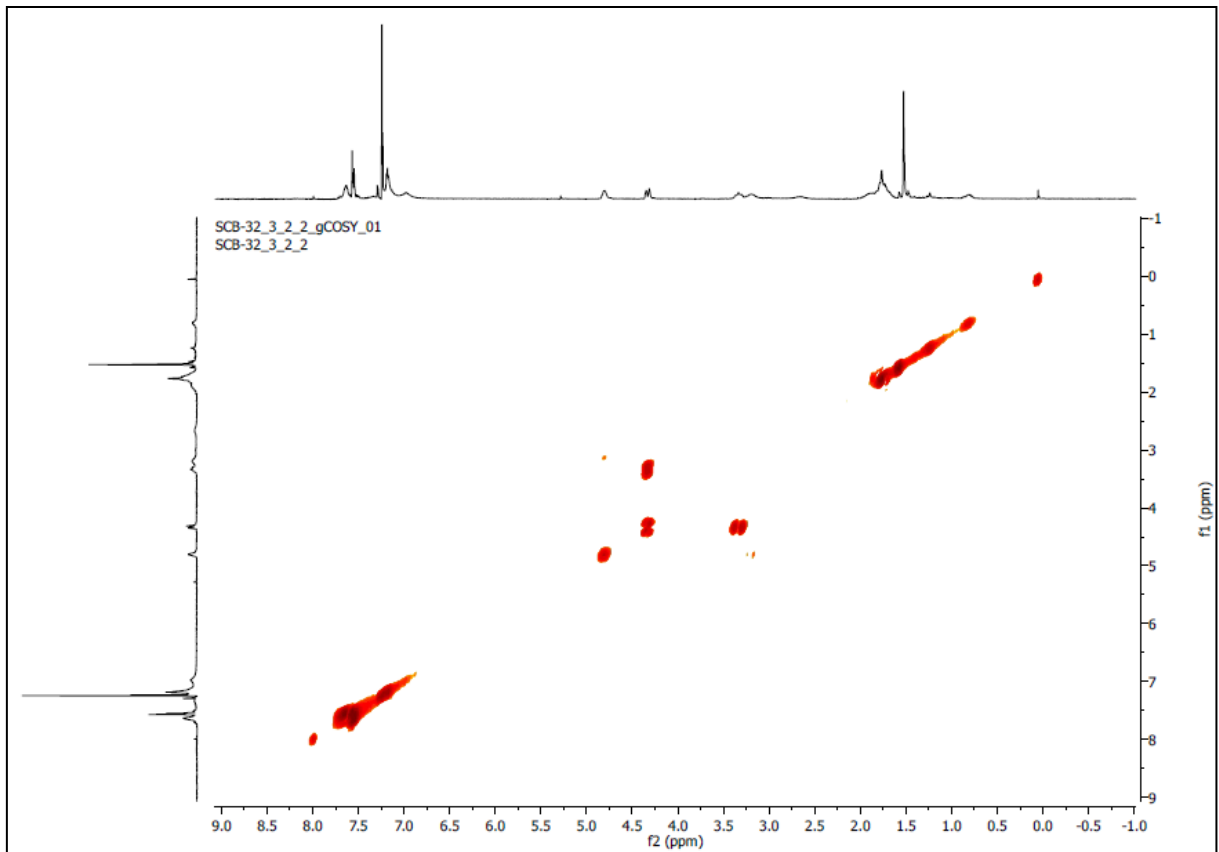
Espectro 7

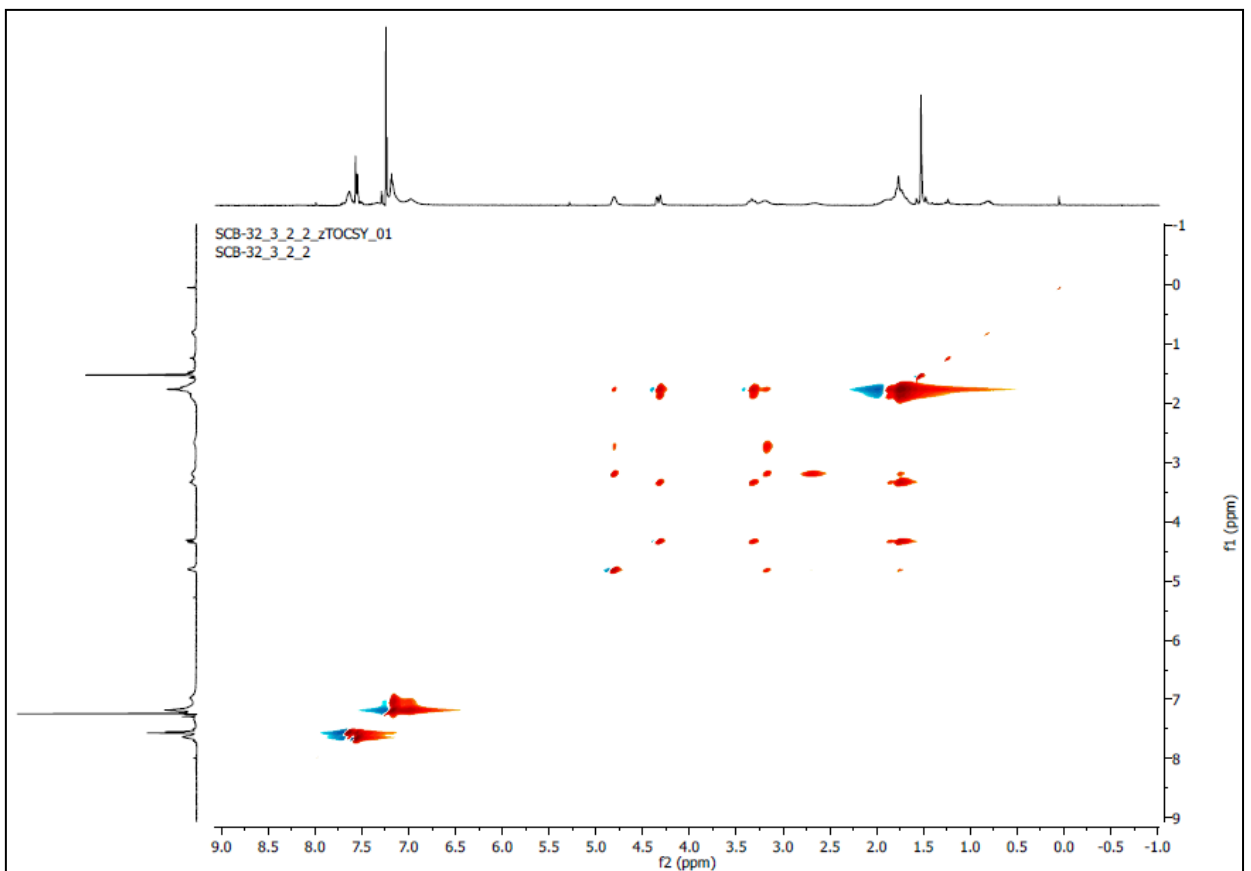
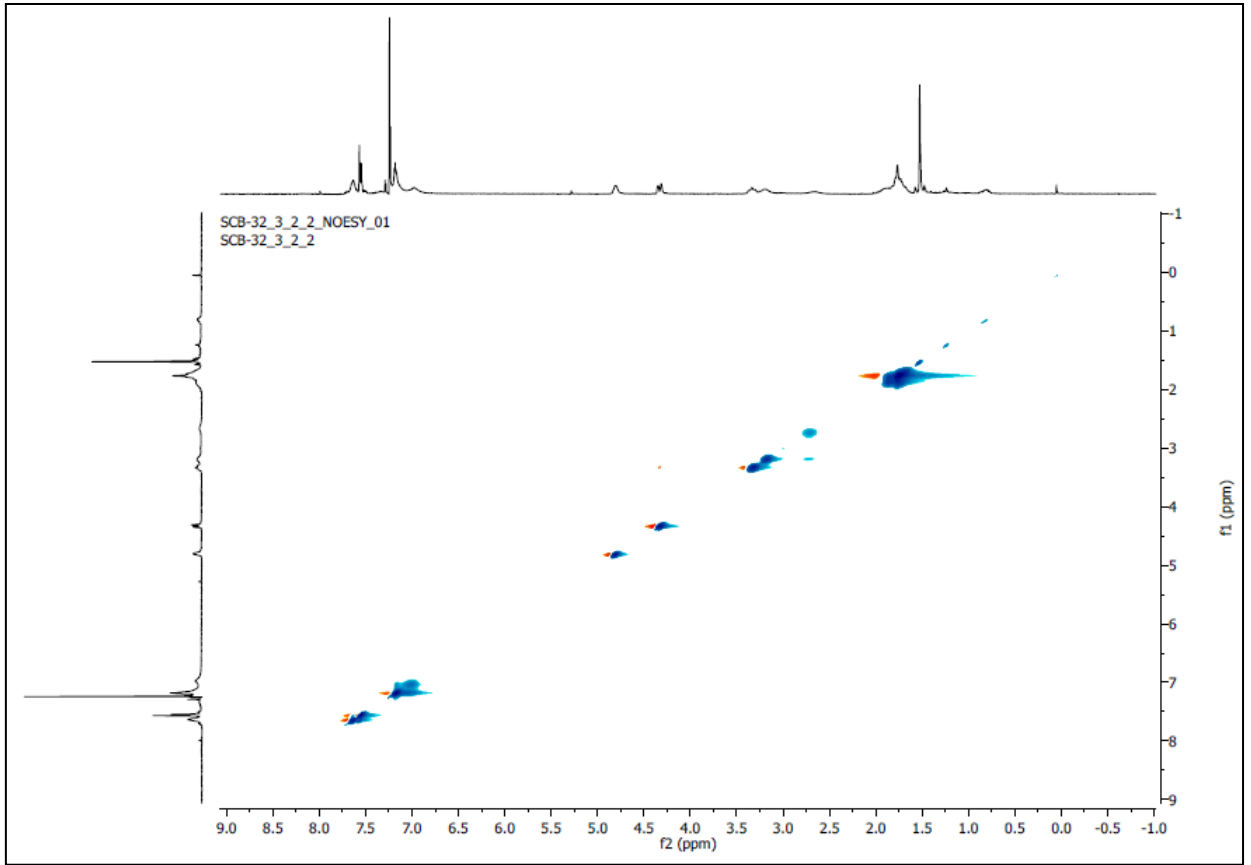


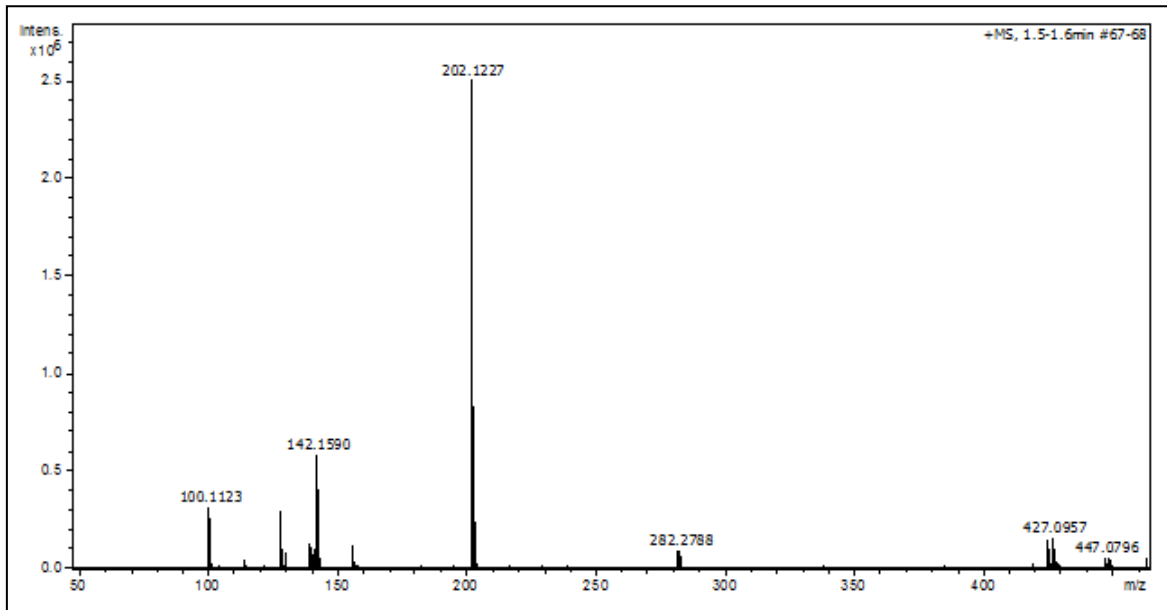
KT116 Compuesto 6

Espectros 8, 9, 10, 11, 12, 13 y 14

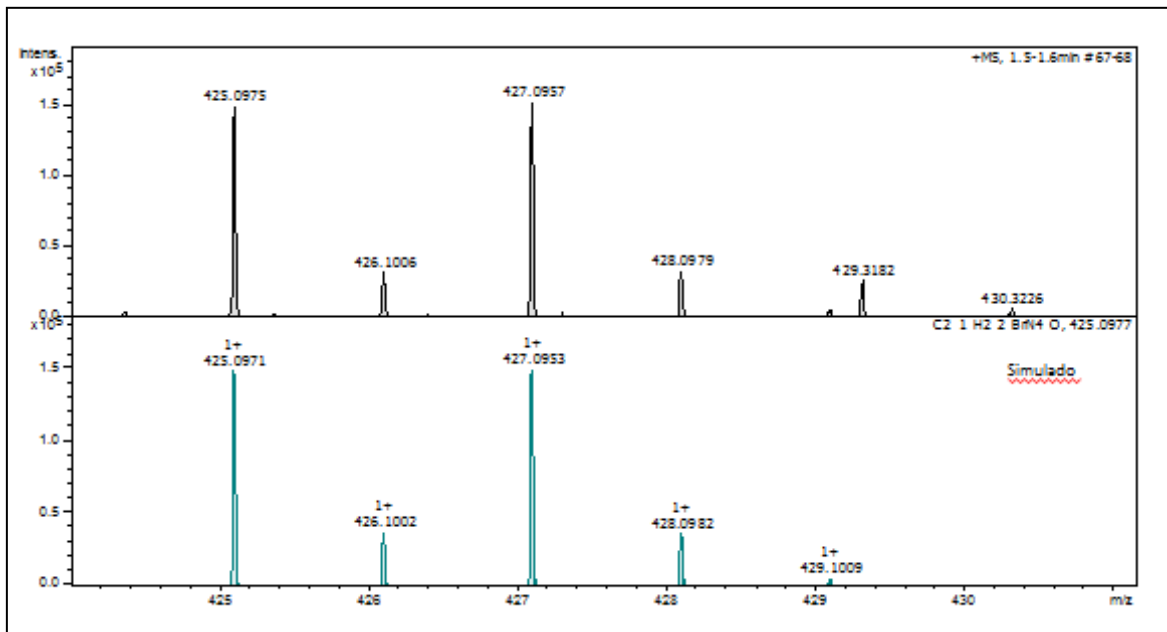






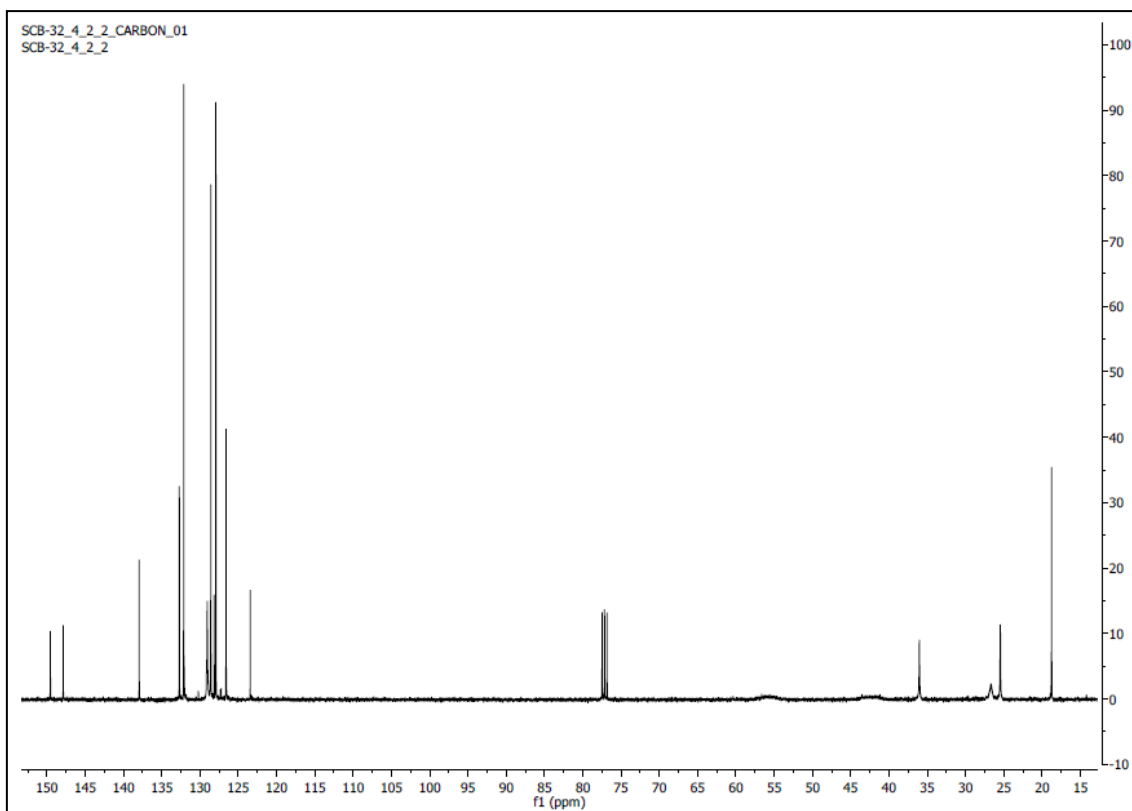
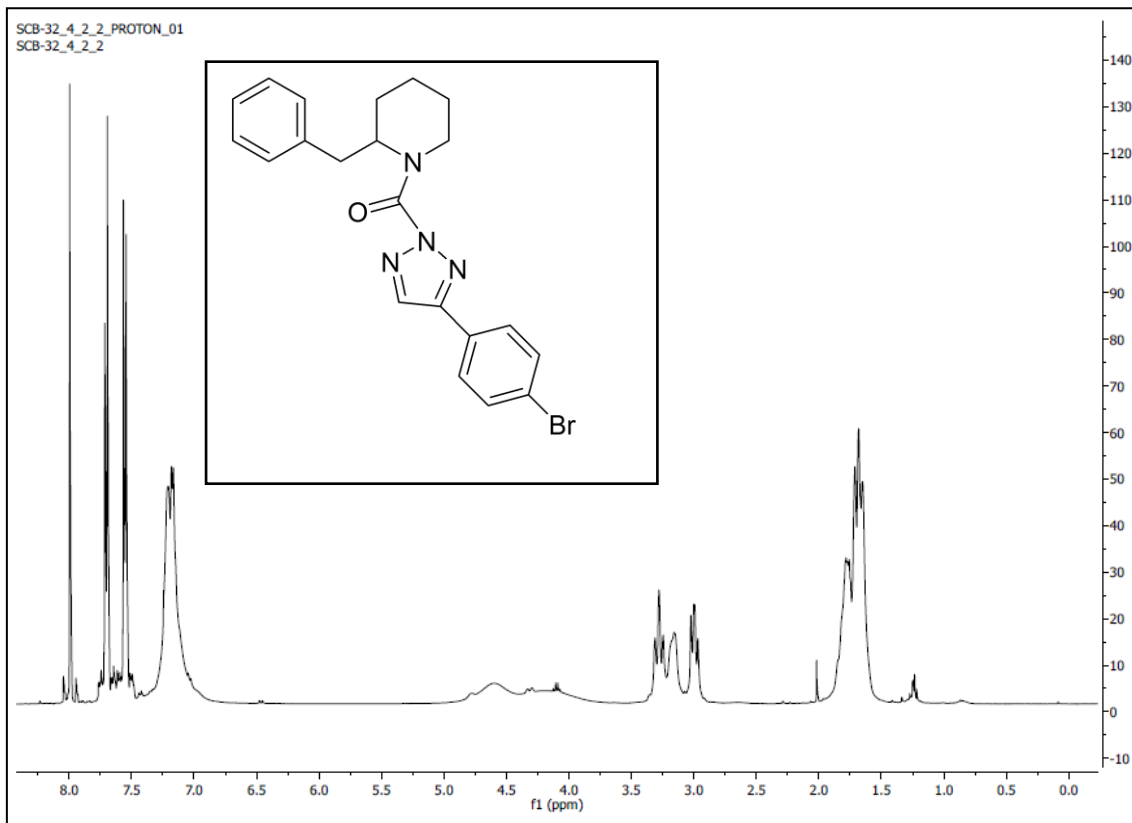


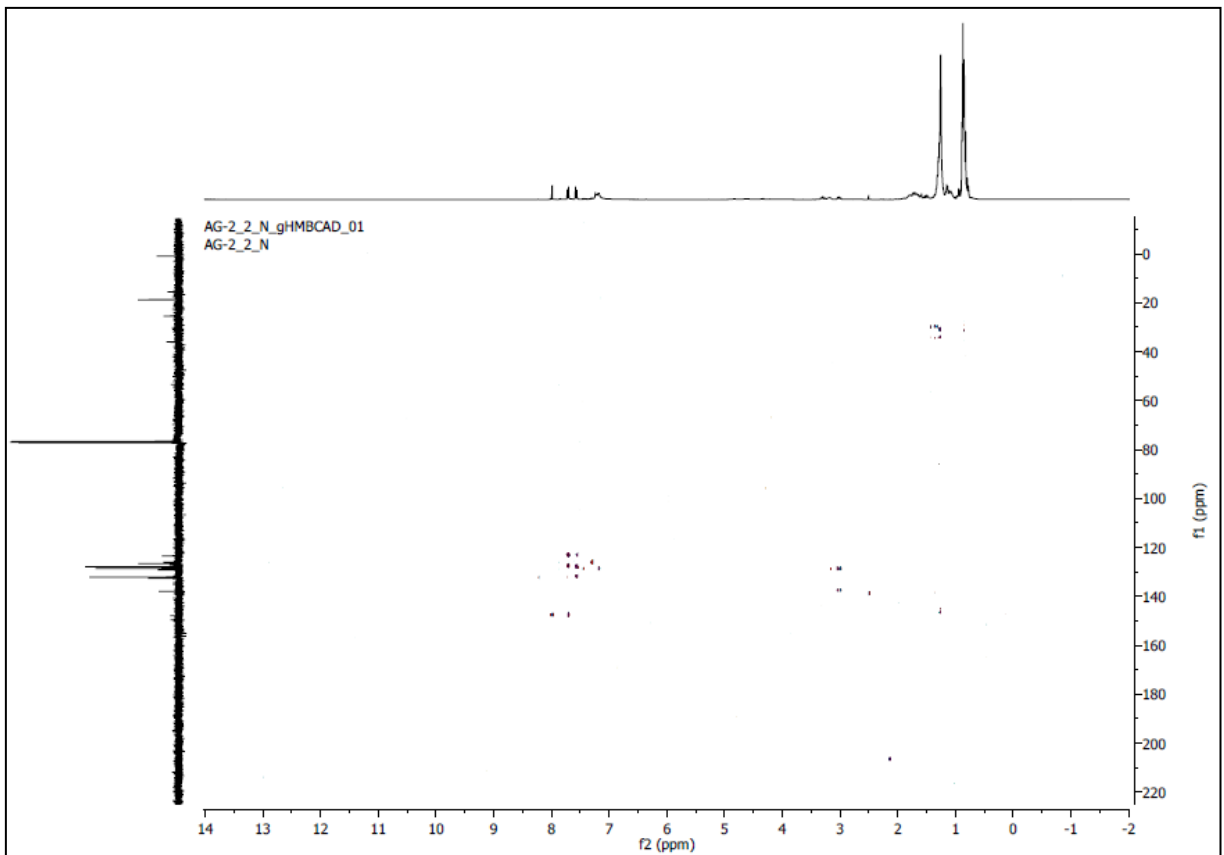
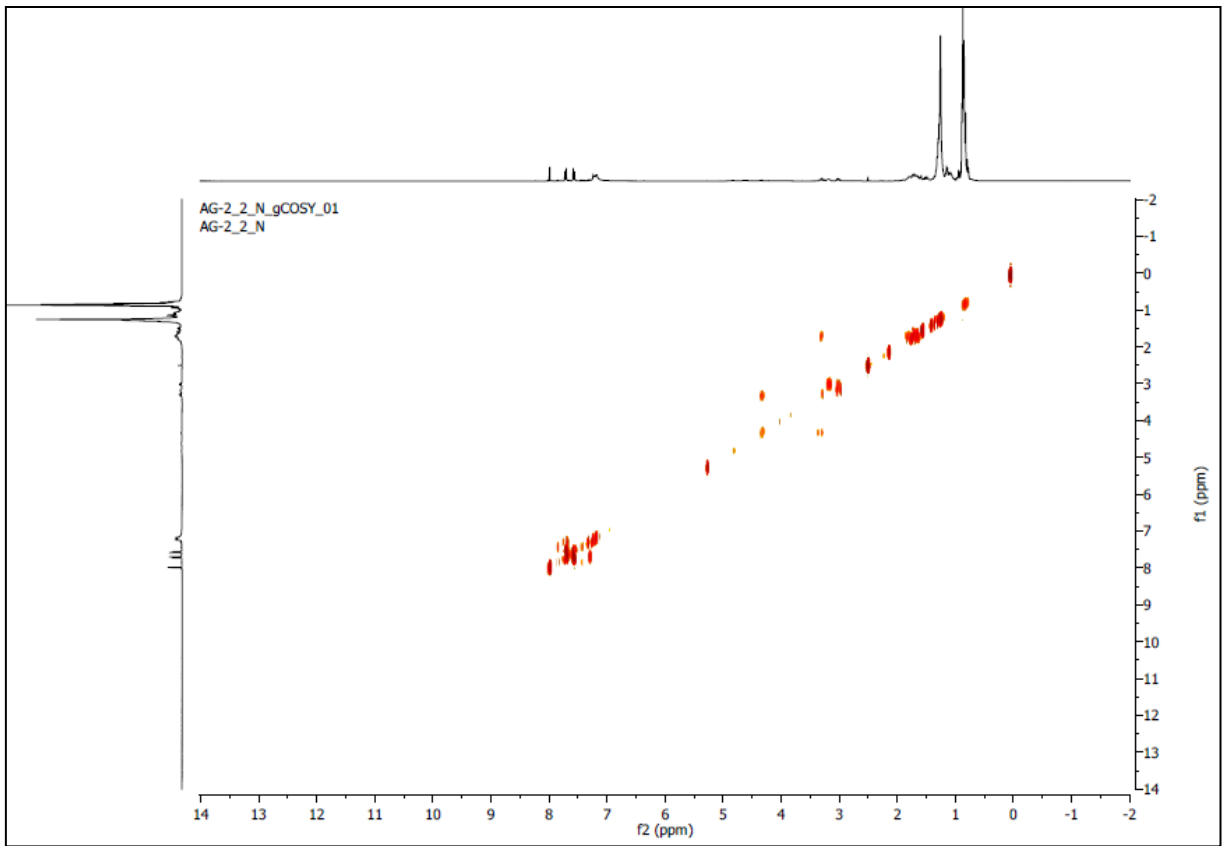
Meas. m/z	m/z	err [ppm]	mSigma	Ion Formula
425.0975	425.0971	-0.8	21.6	C21H22BrN4O

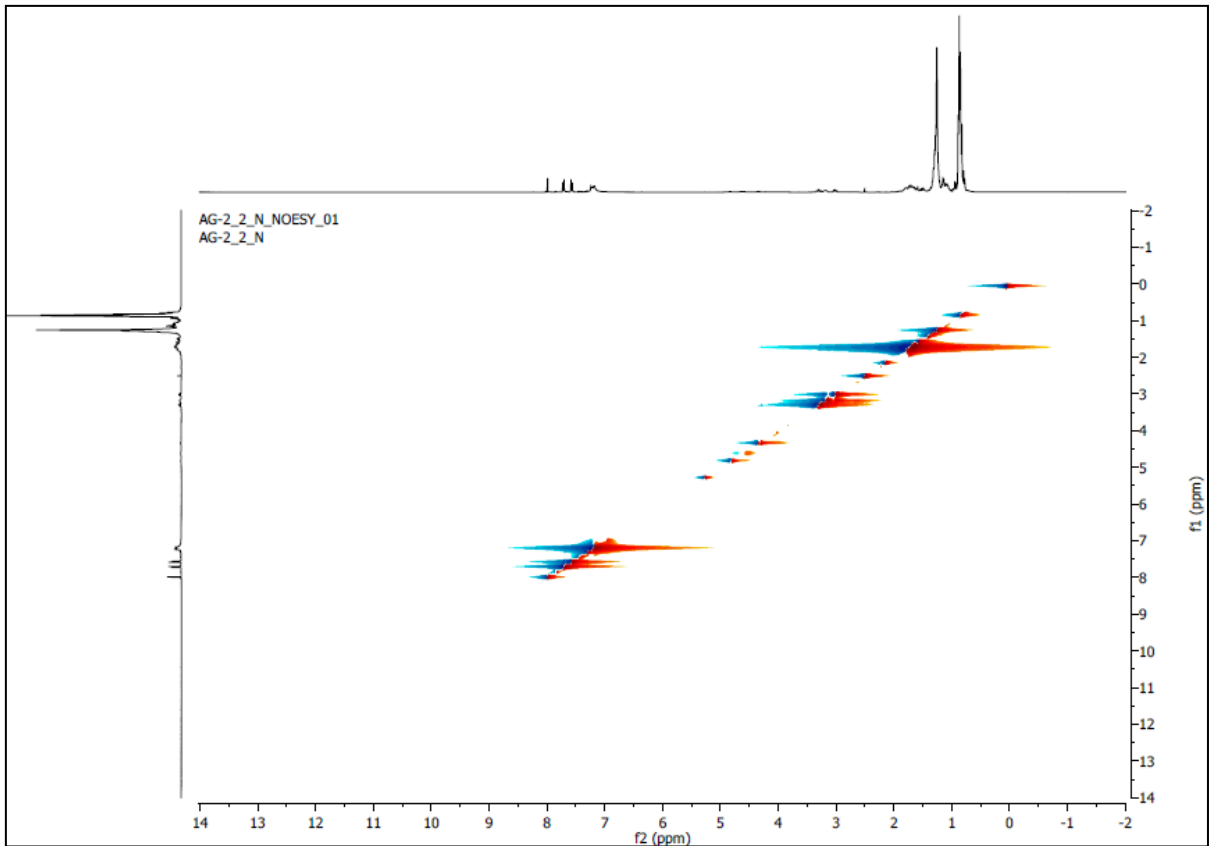
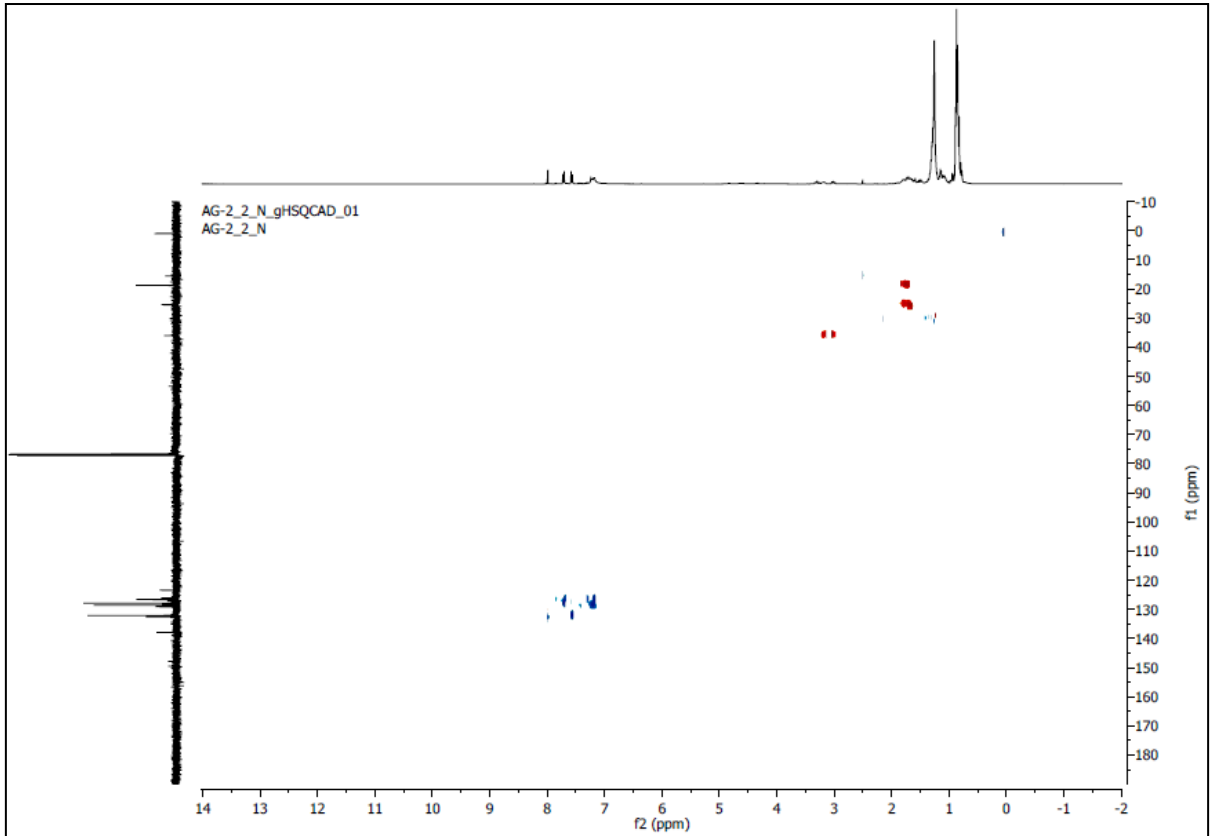


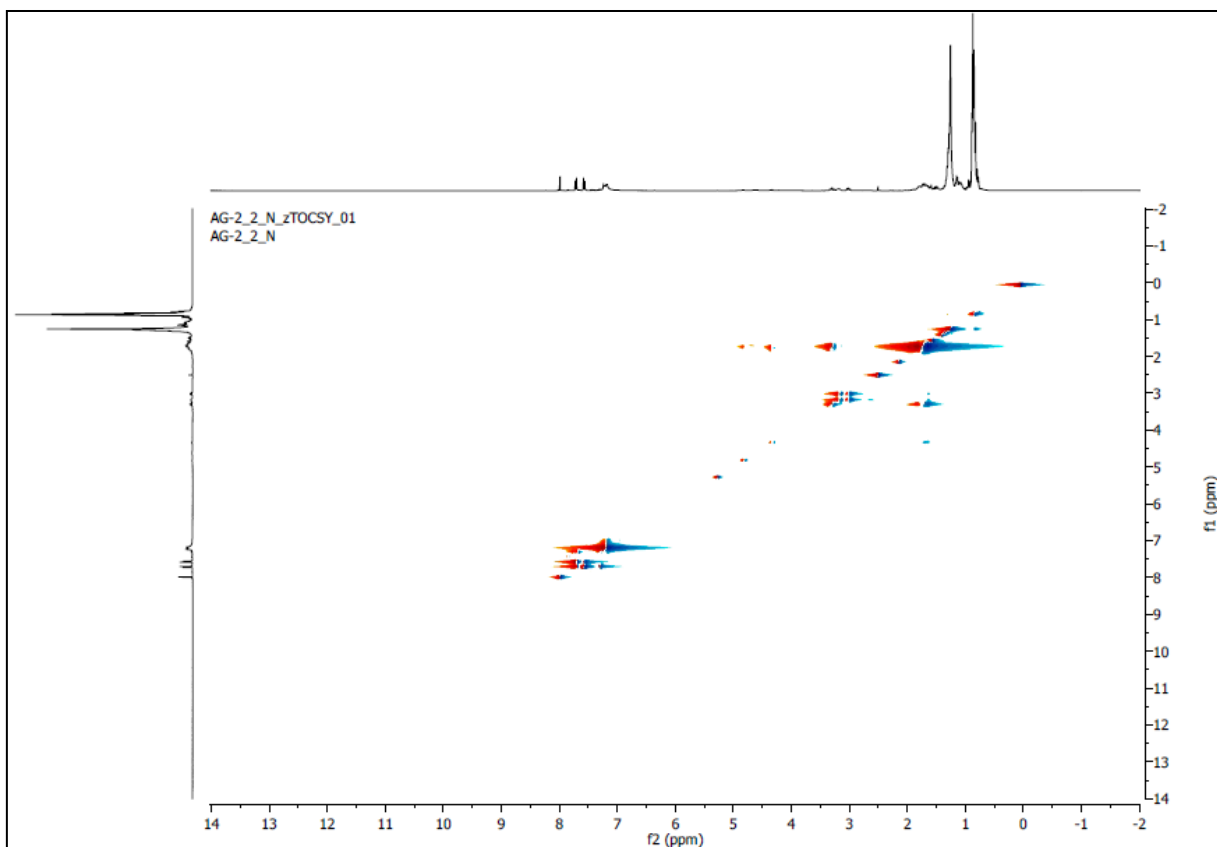
KT117 Compuesto 7

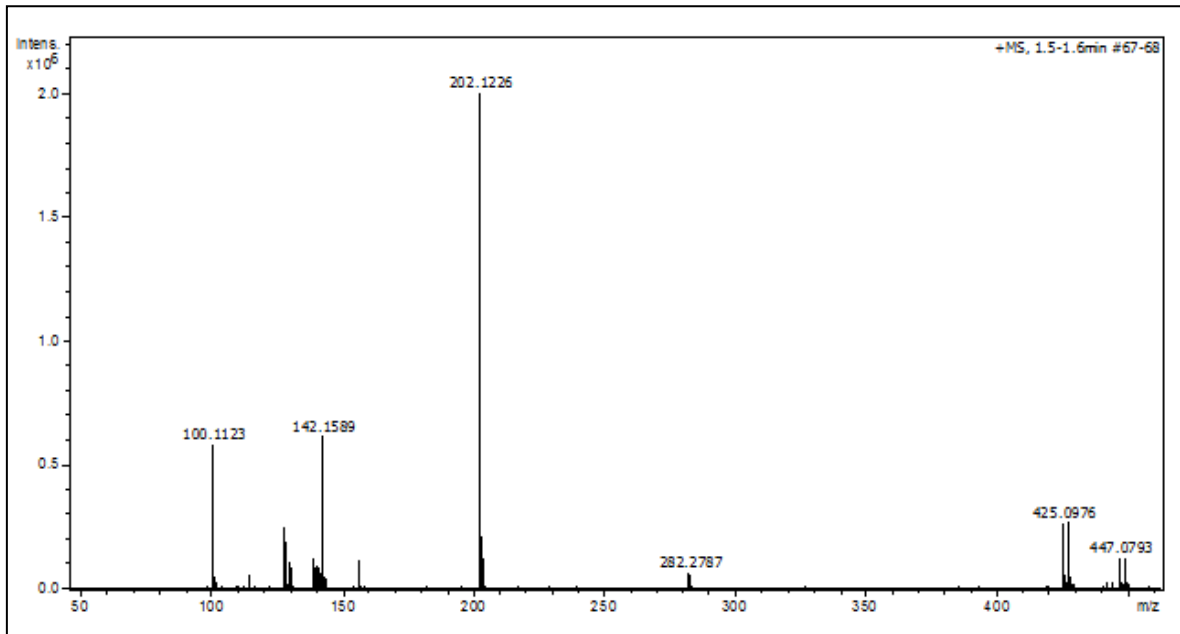
Espectros 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22



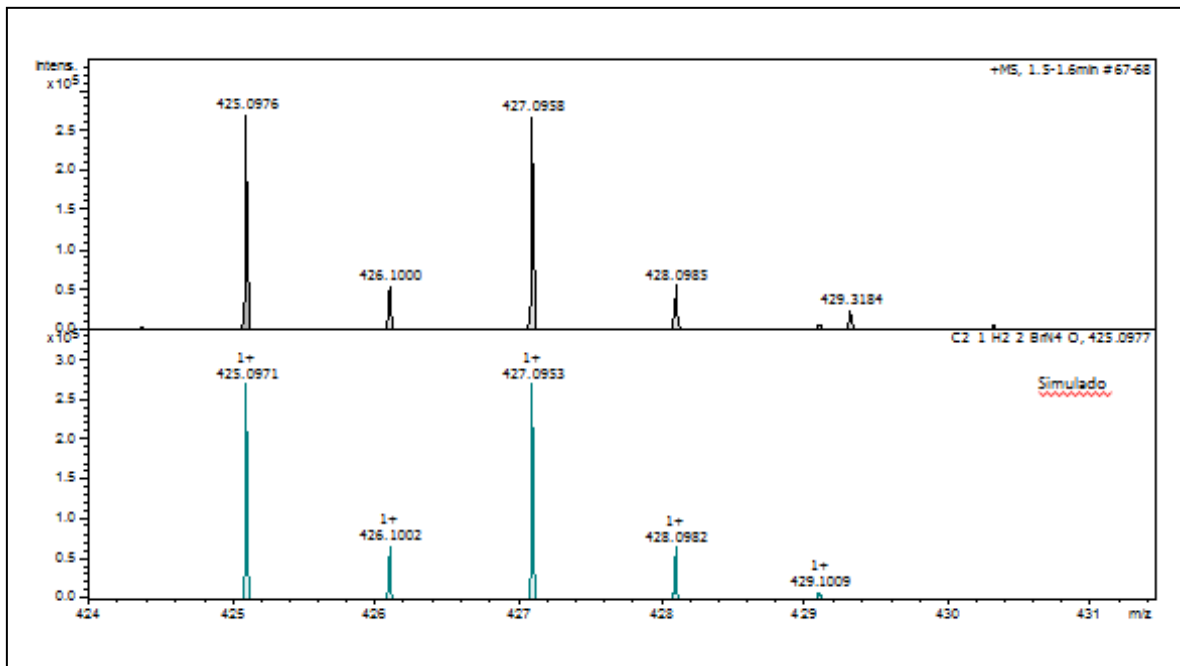


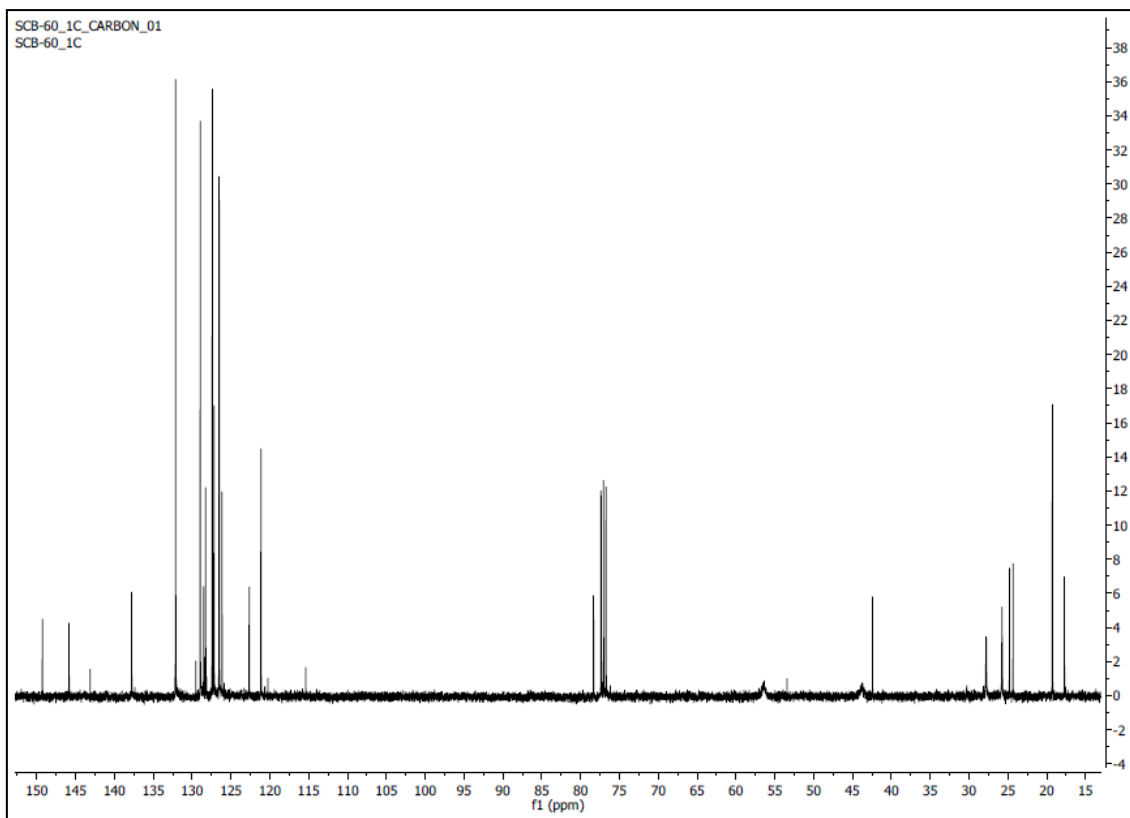
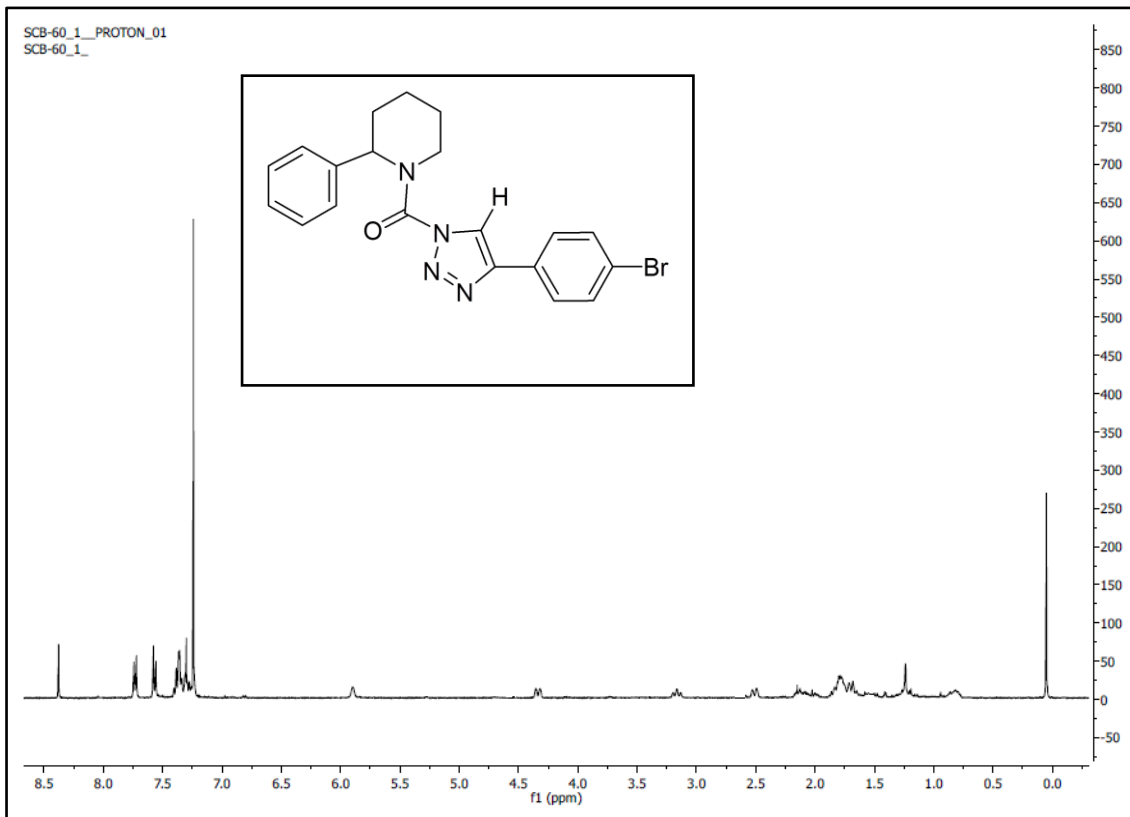


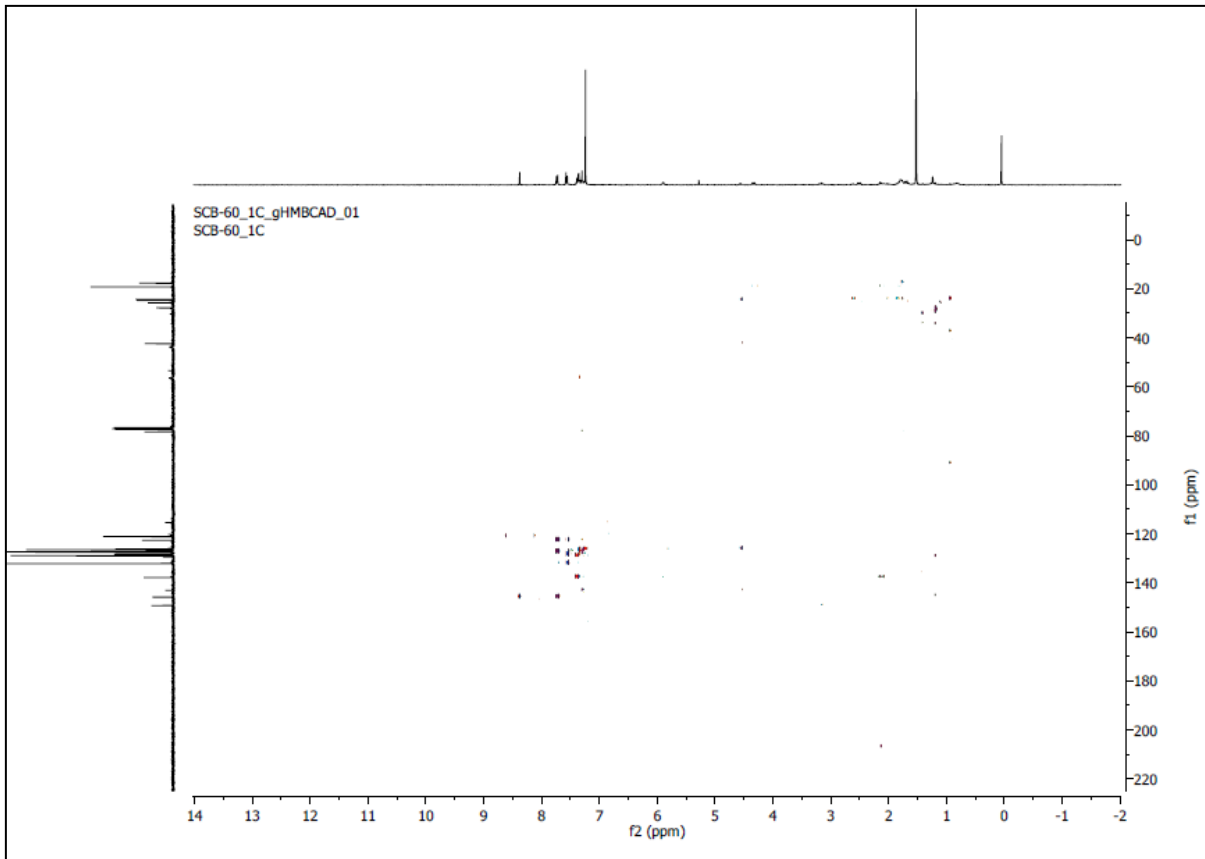
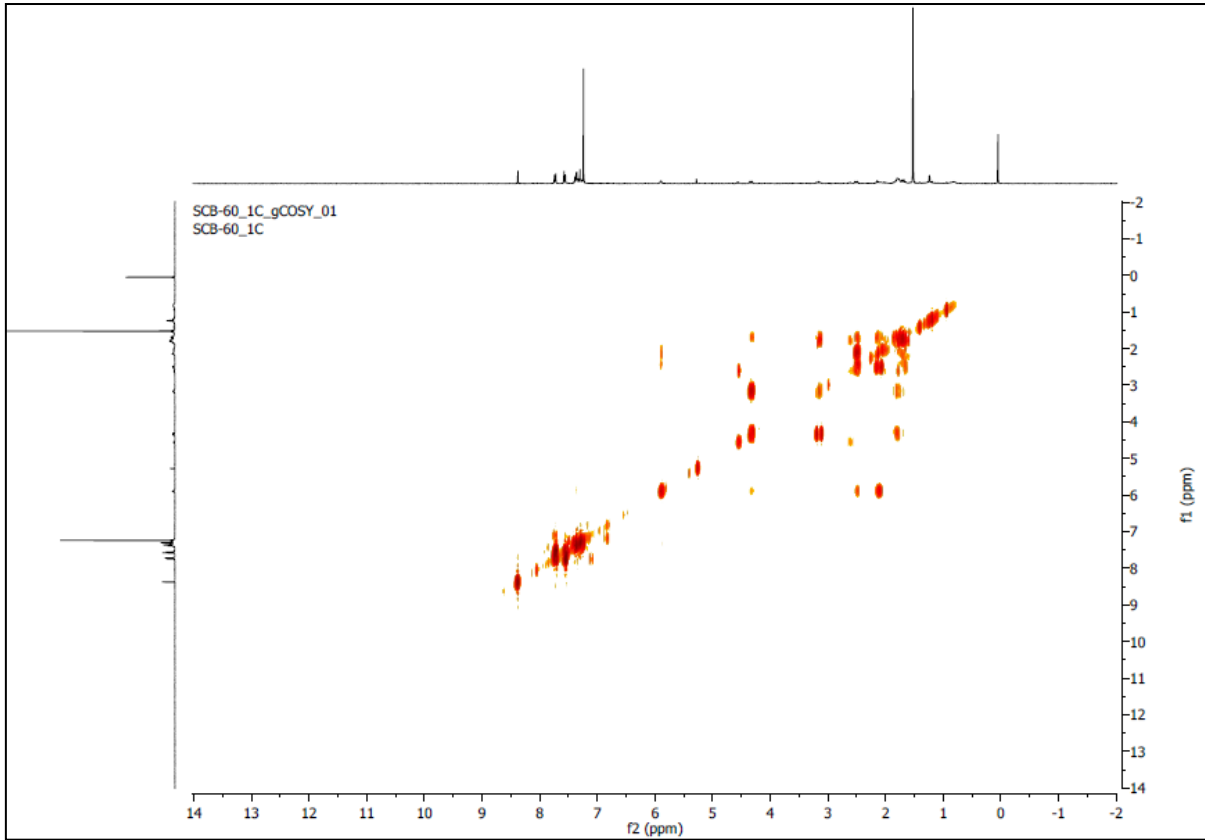


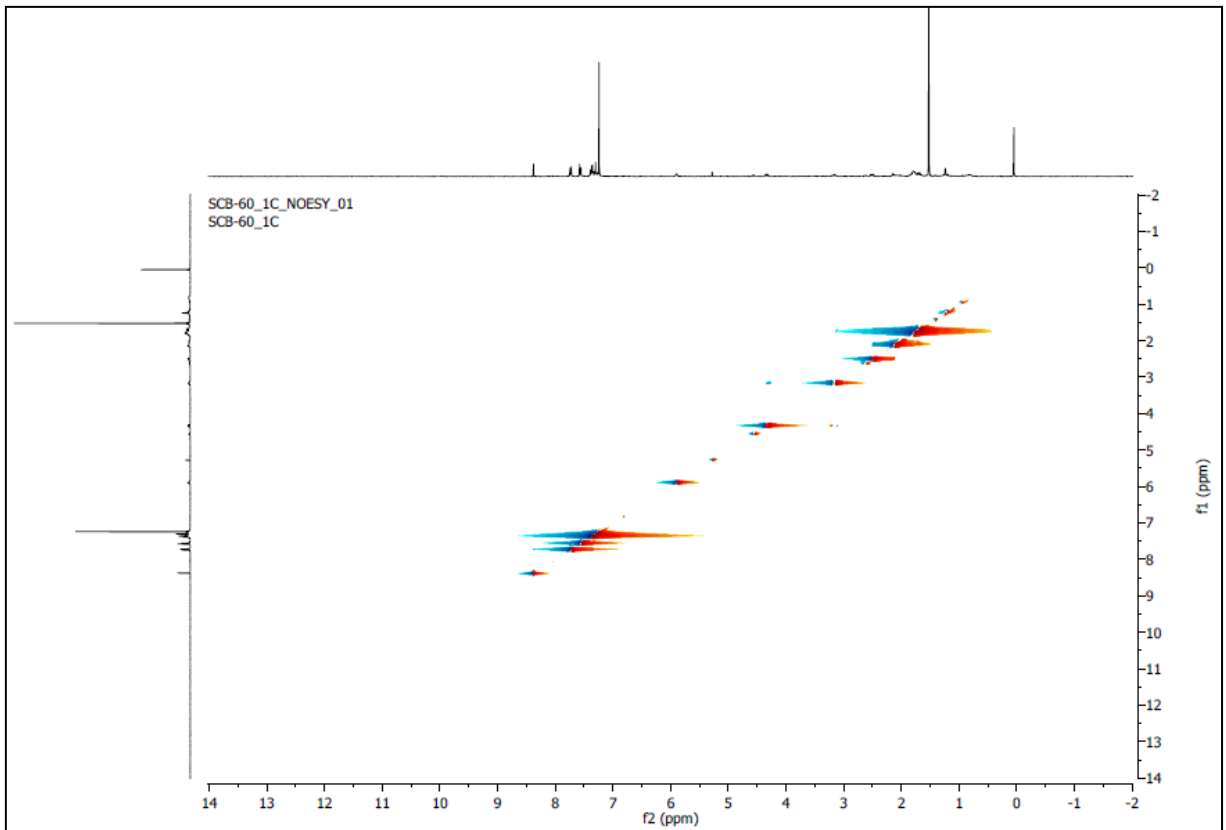
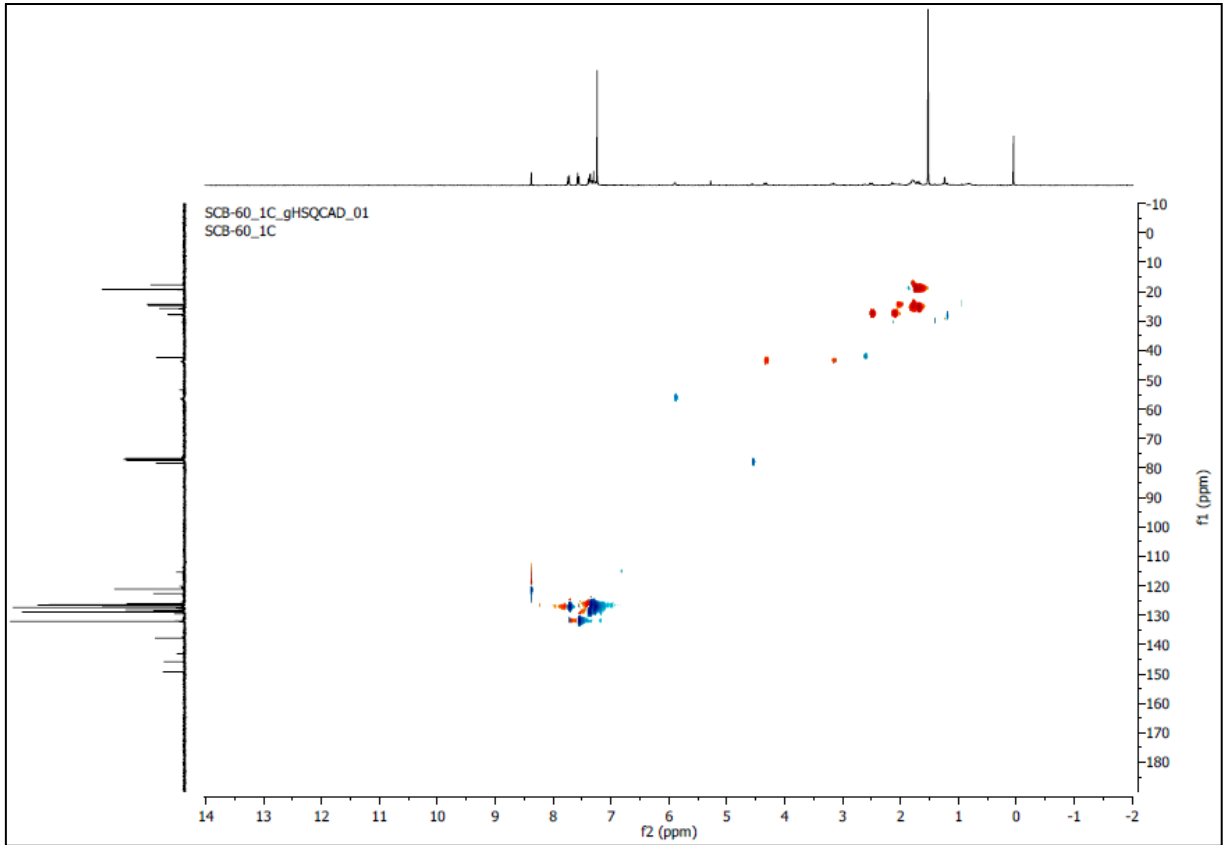


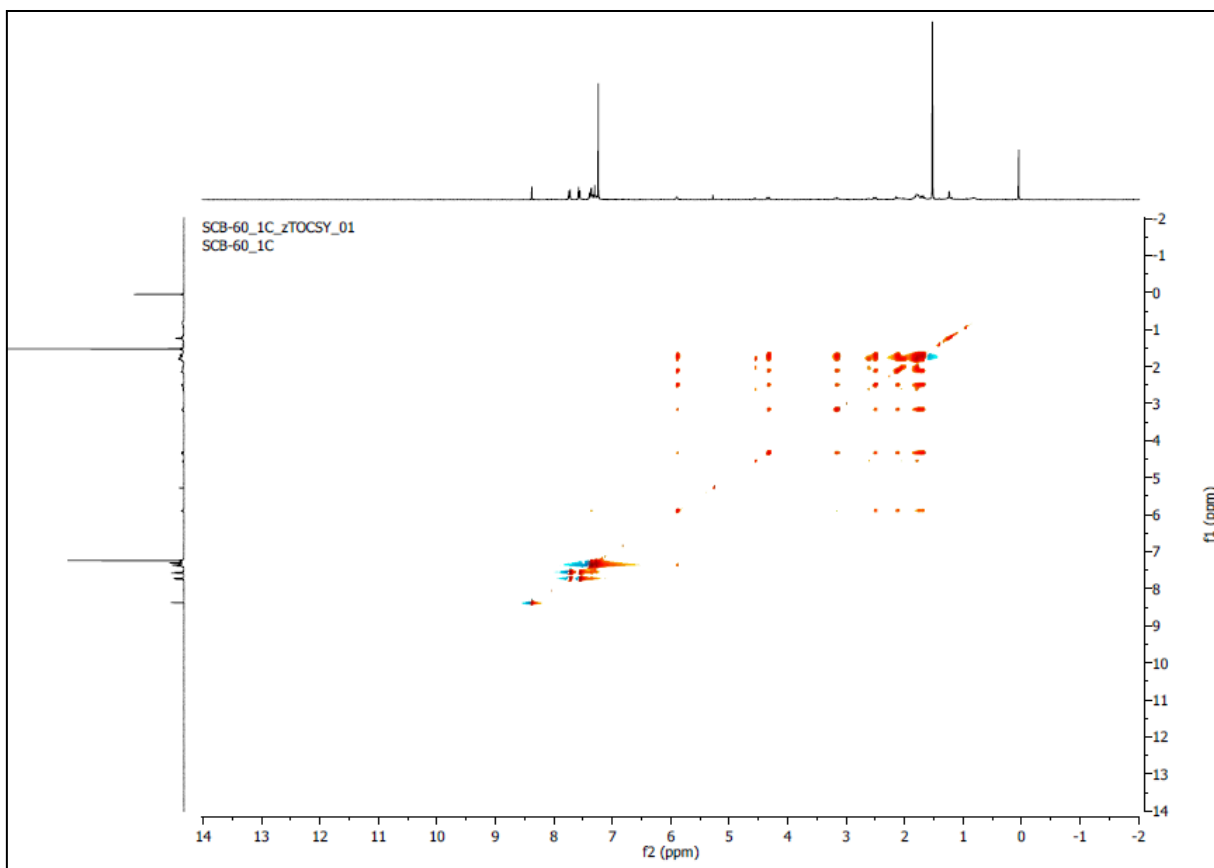
Meas. m/z	m/z	err [ppm]	mSigma	Ion Formula
425.0976	425.0971	-1	24.2	C21H22BrN4 O

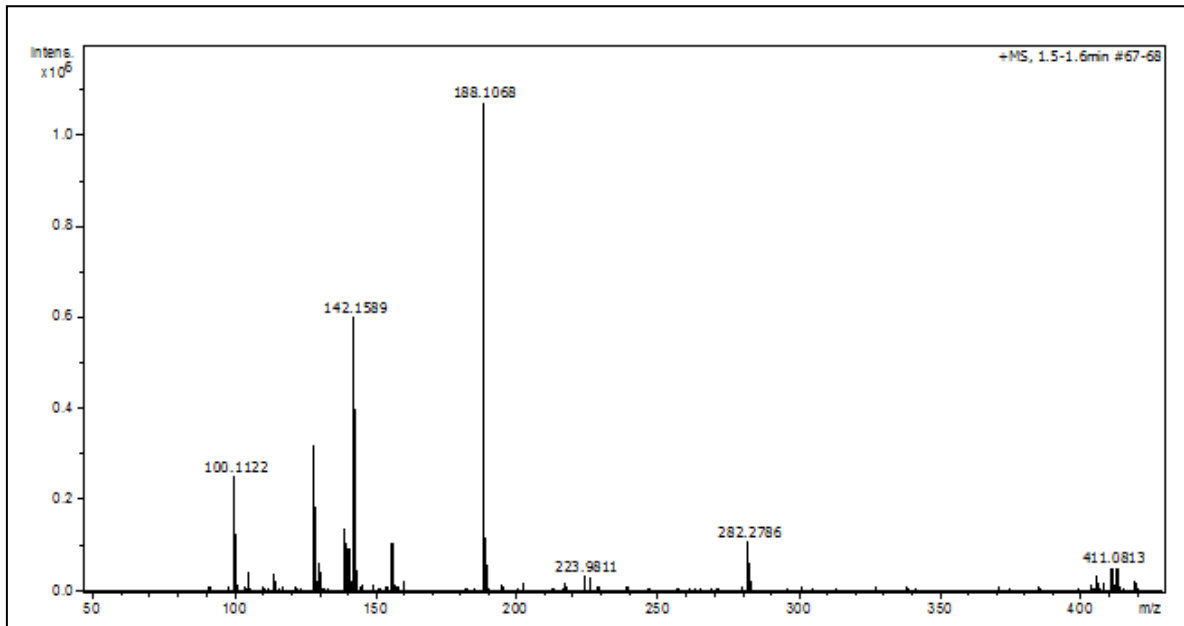


KT179 Compuesto 8**Espectros 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30**

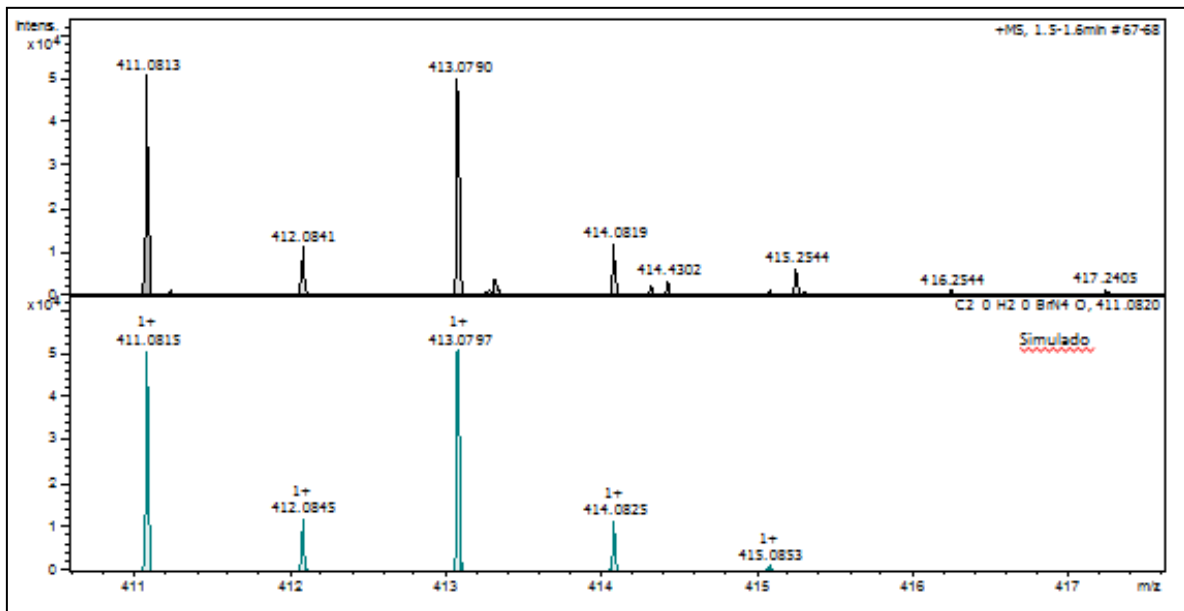


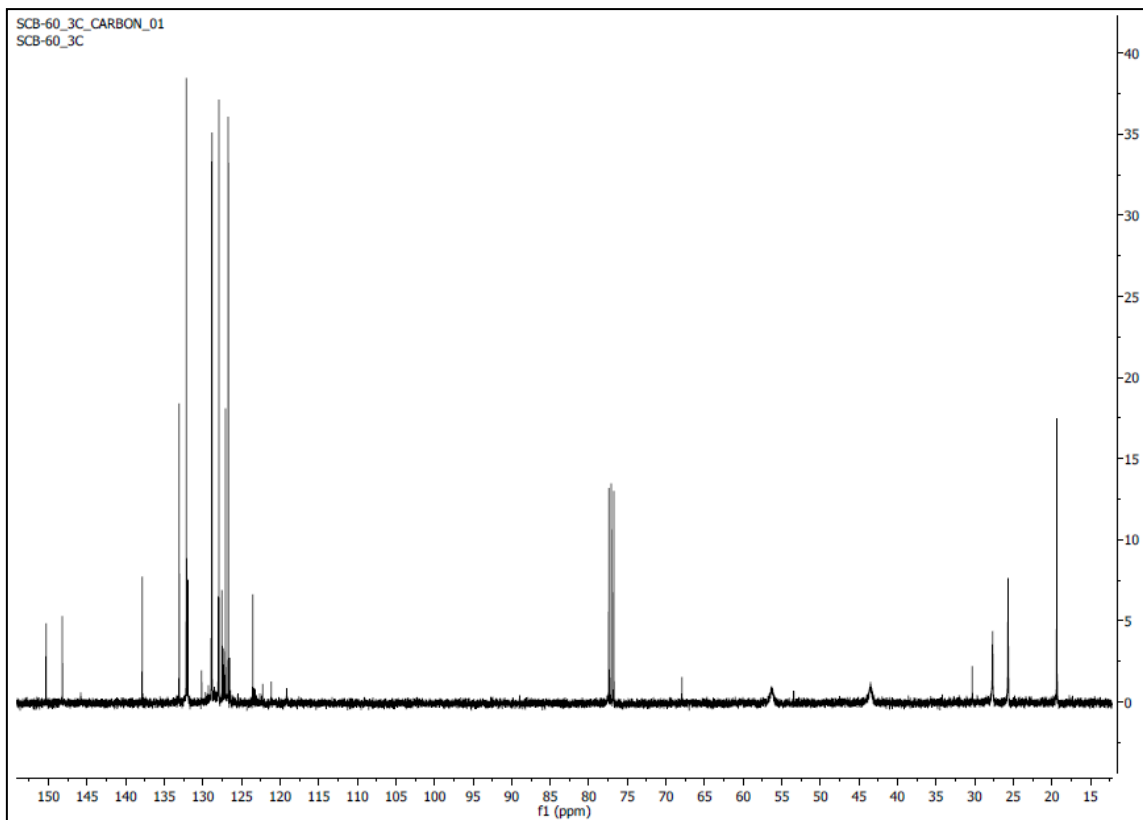
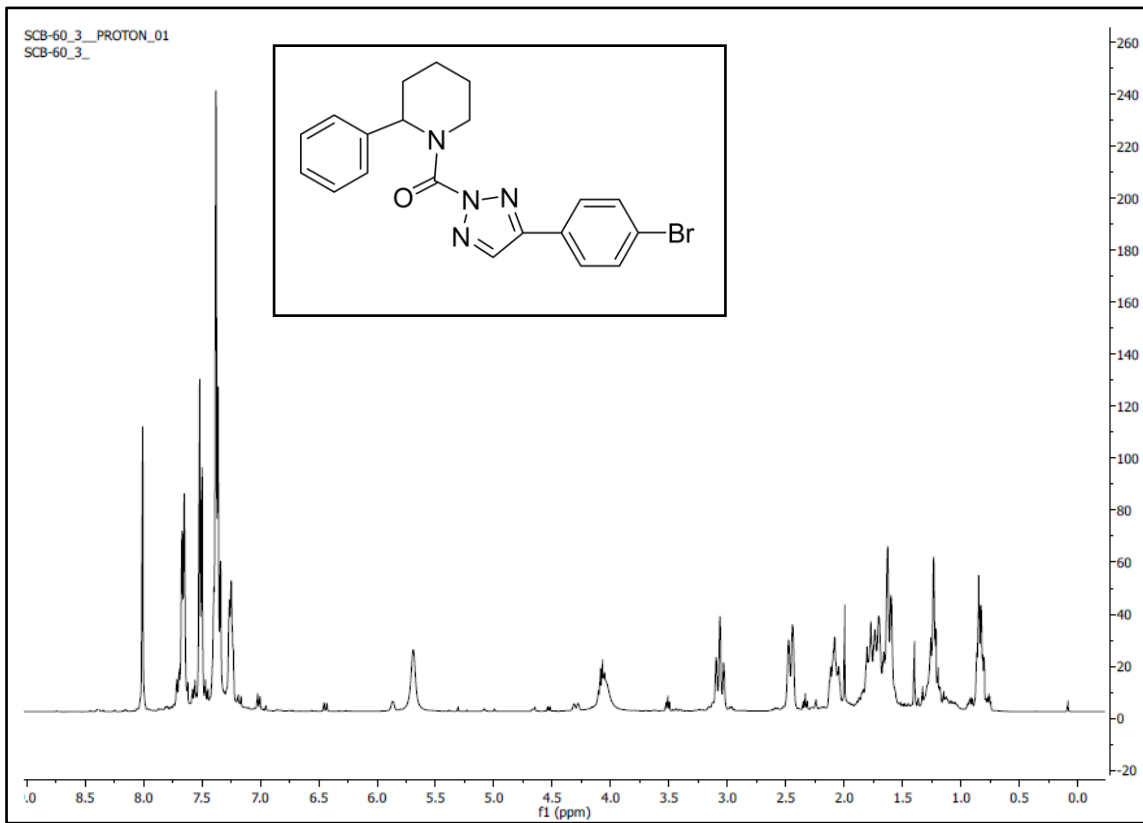


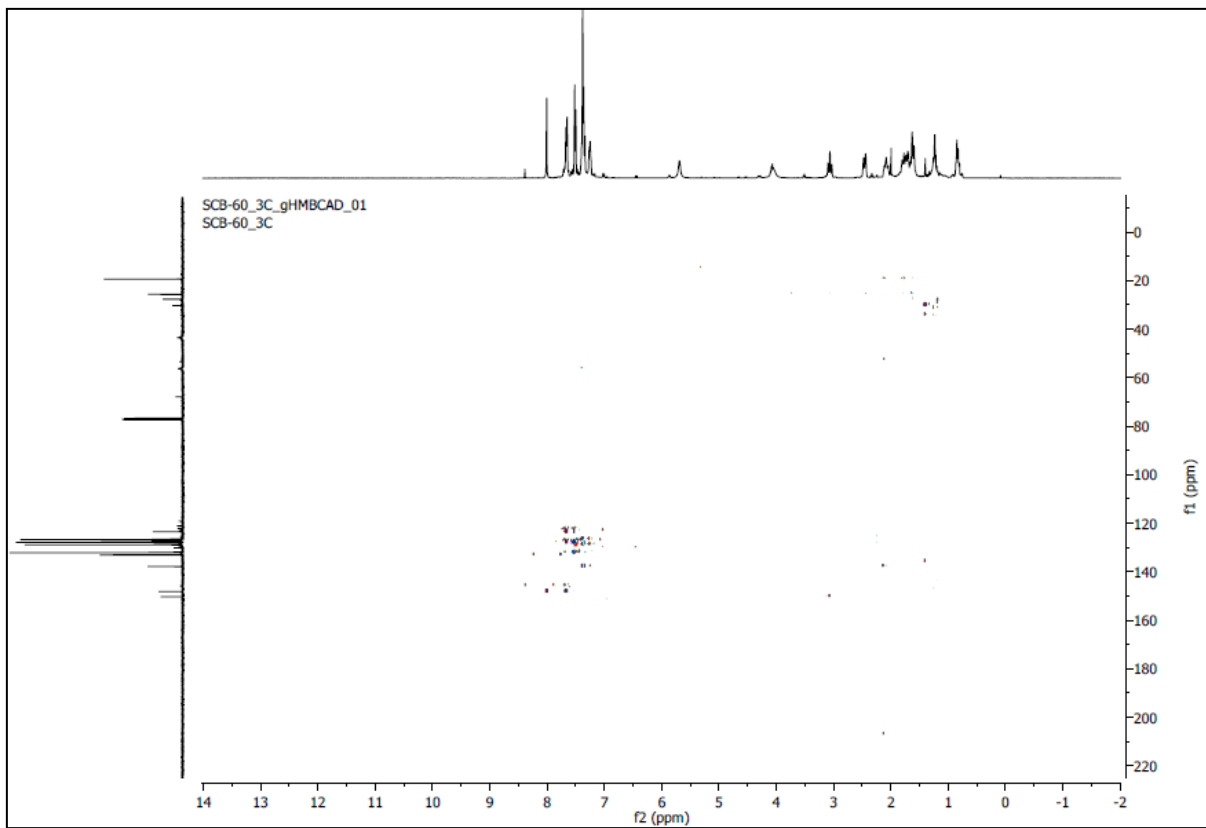
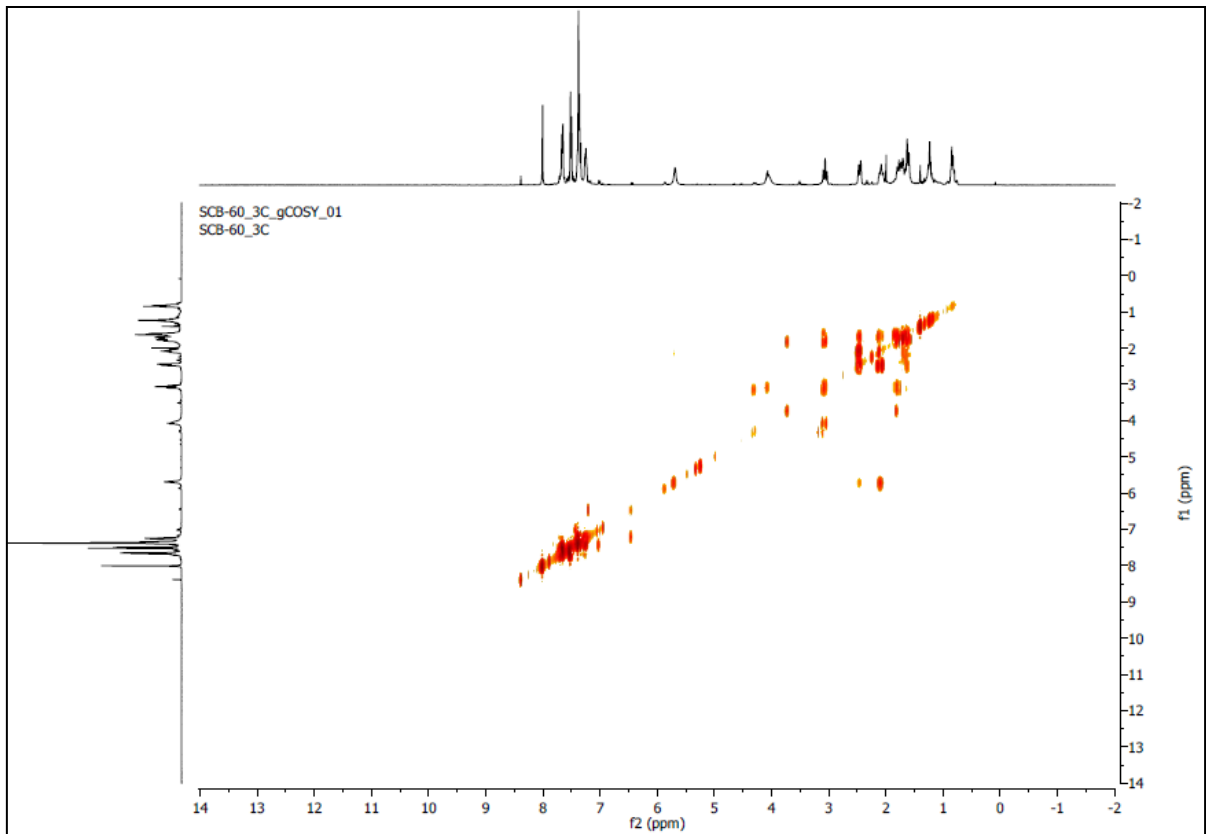


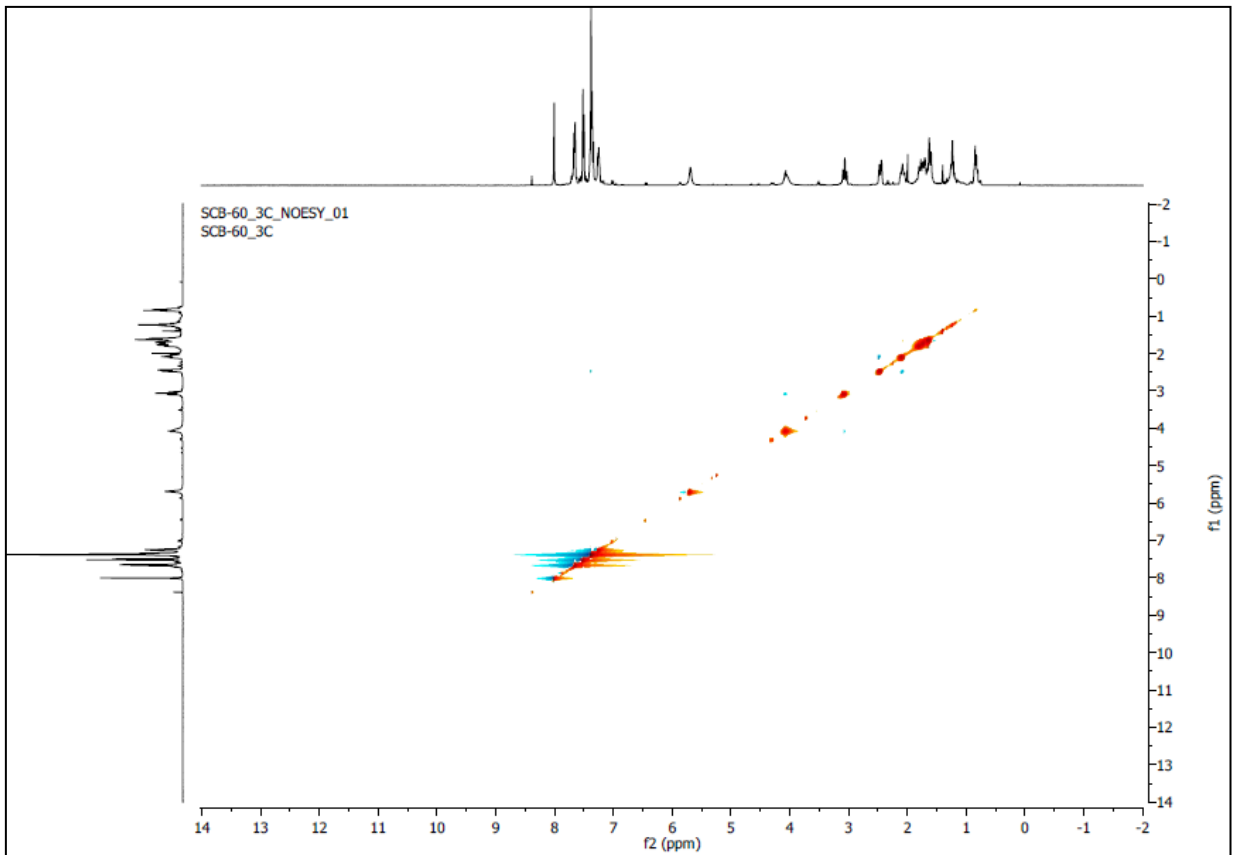
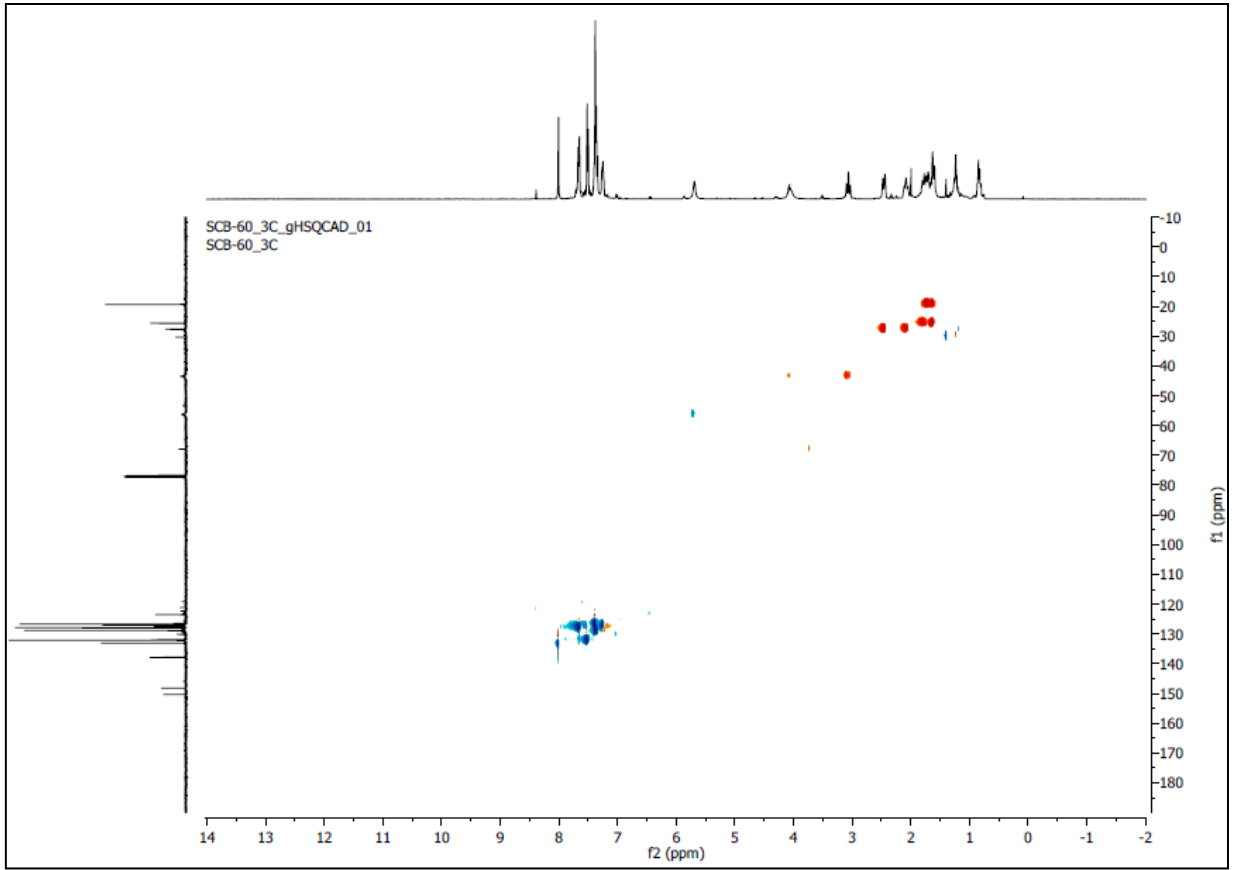


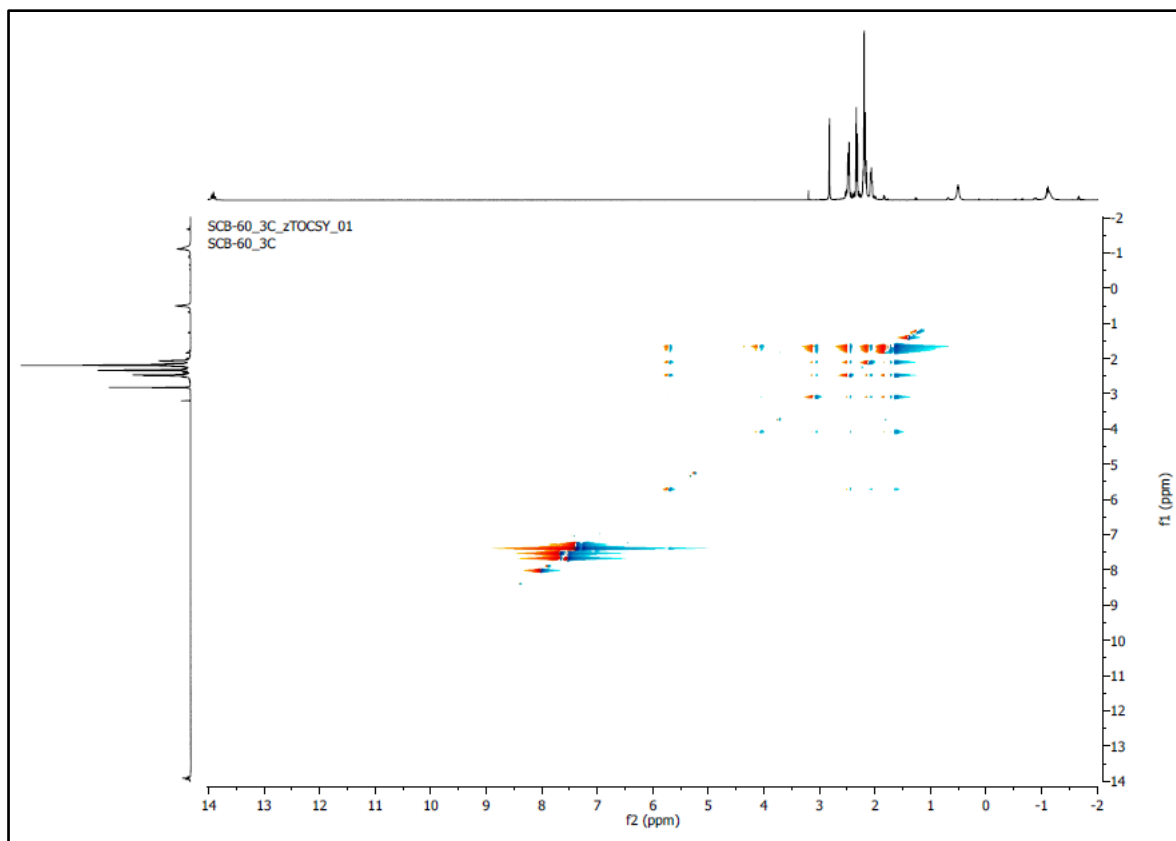
Meas. m/z	m/z	err [ppm]	mSigma	Ion Formula
411.0813	411.0815	0.6	14.8	C ₂₀ H ₂₀ BrN ₄ O

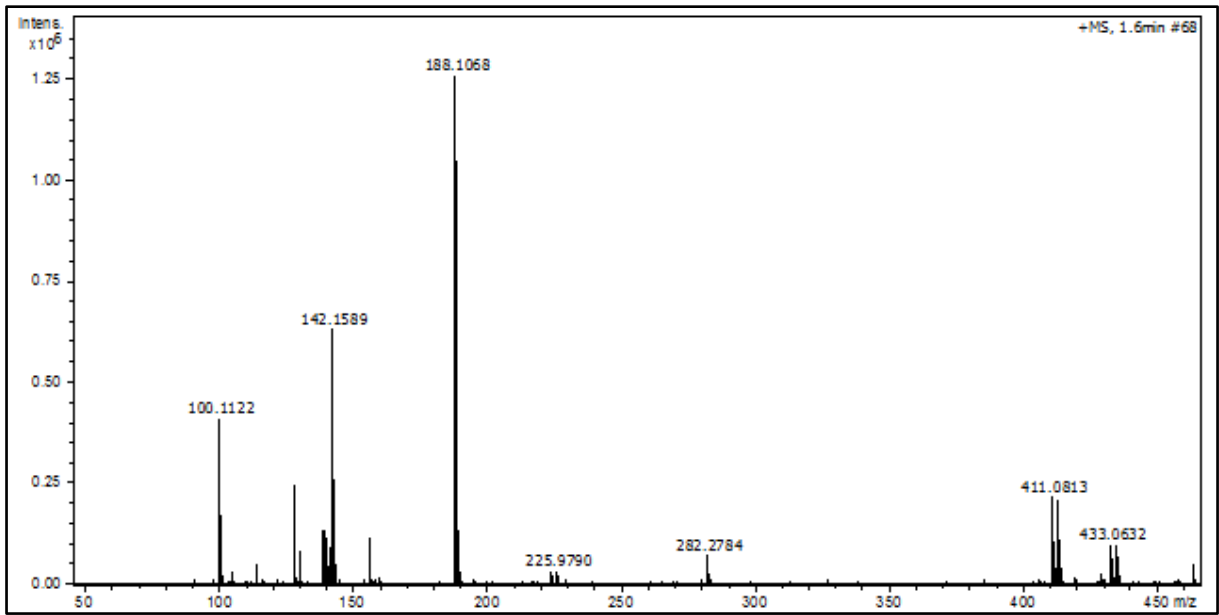


KT179' Compuesto 9**Espectros 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38**

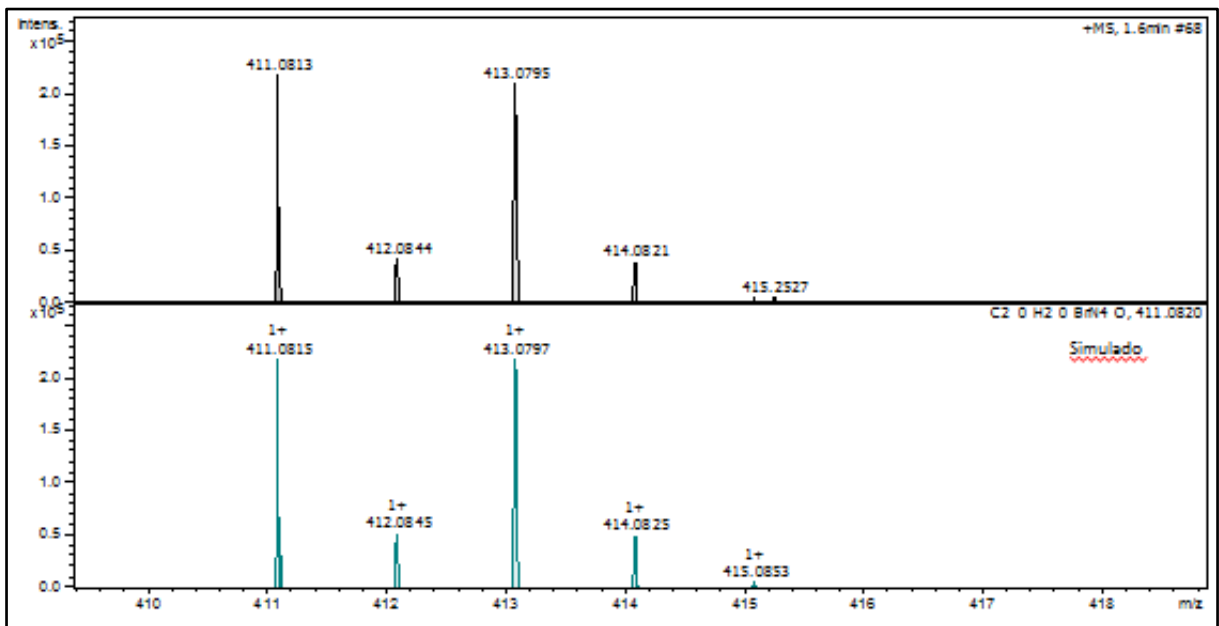






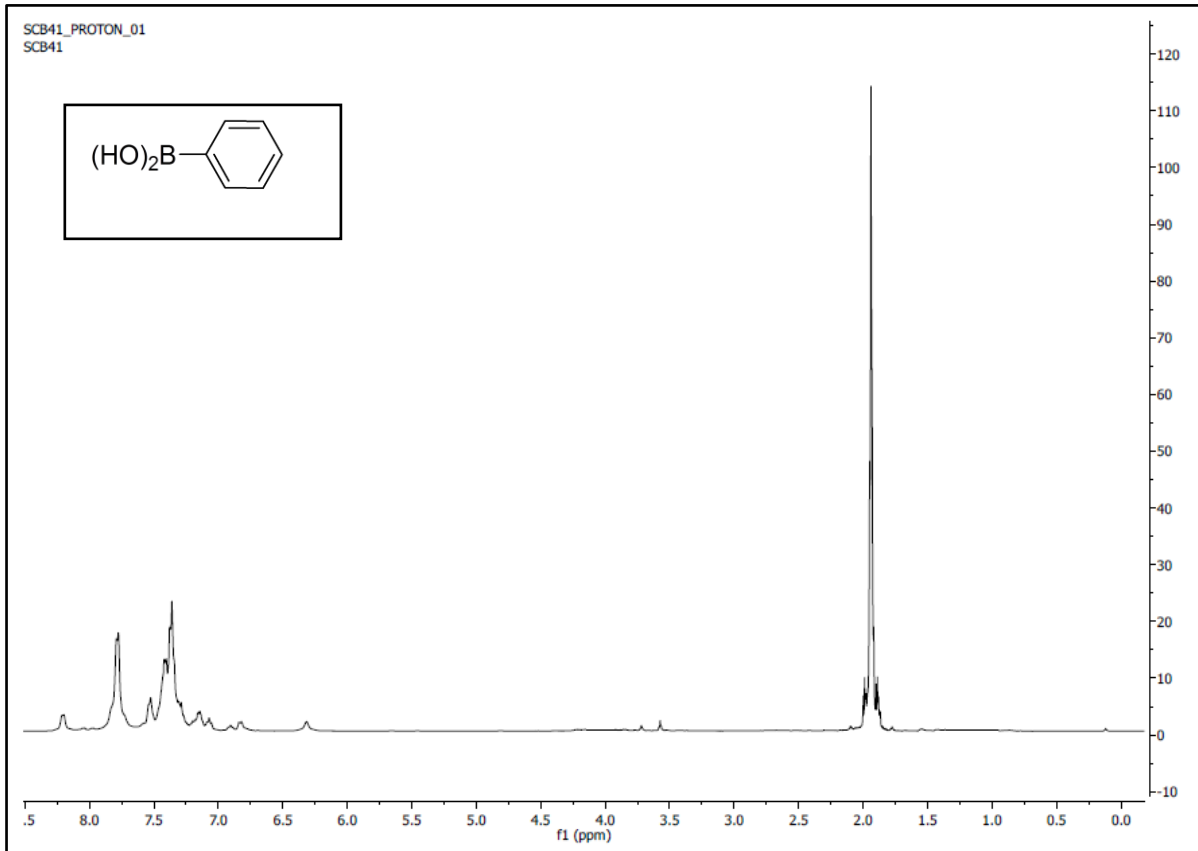


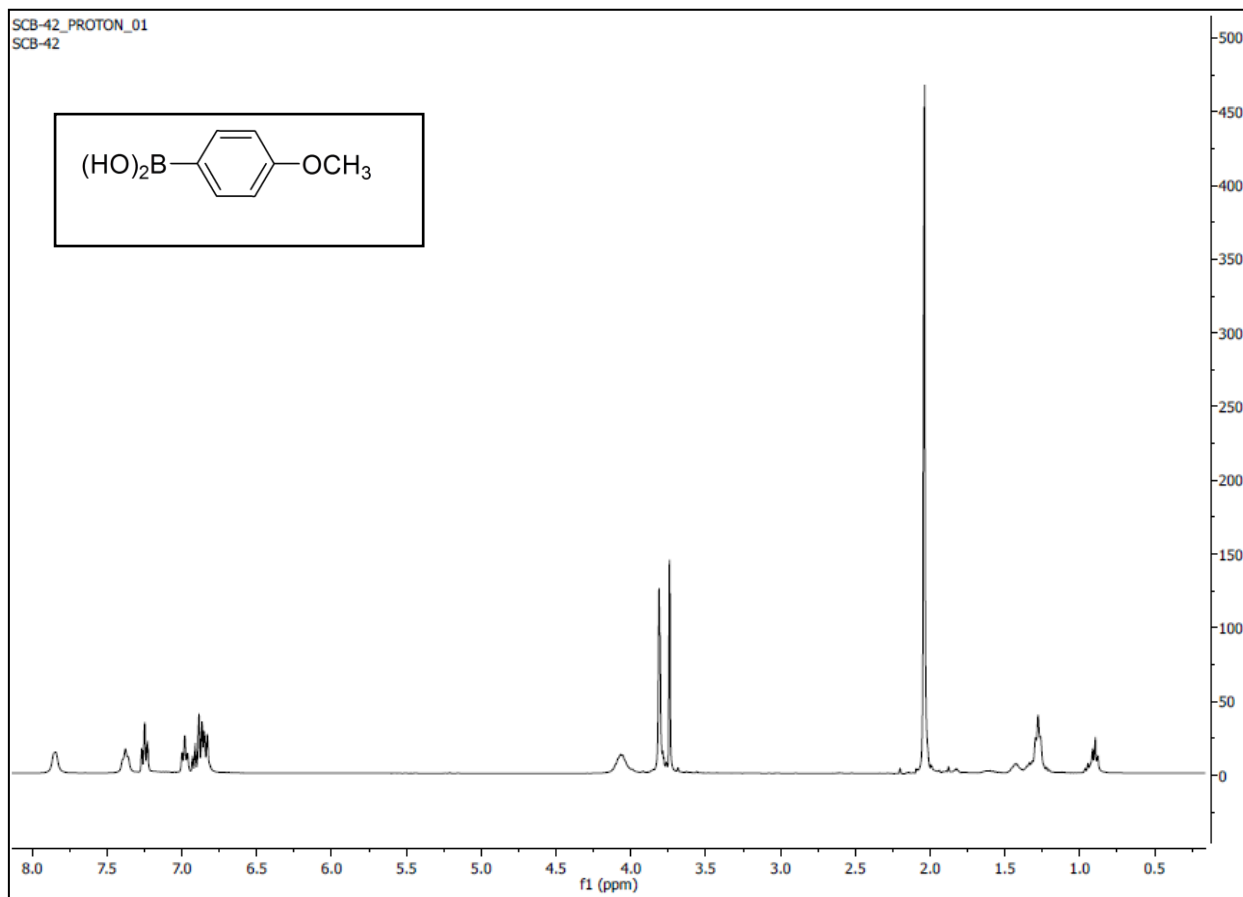
Meas. m/z	m/z	err [ppm]	mSigma	Ion Formula
411.0813	411.0815	0.4	32.1	C20H20BrN4O

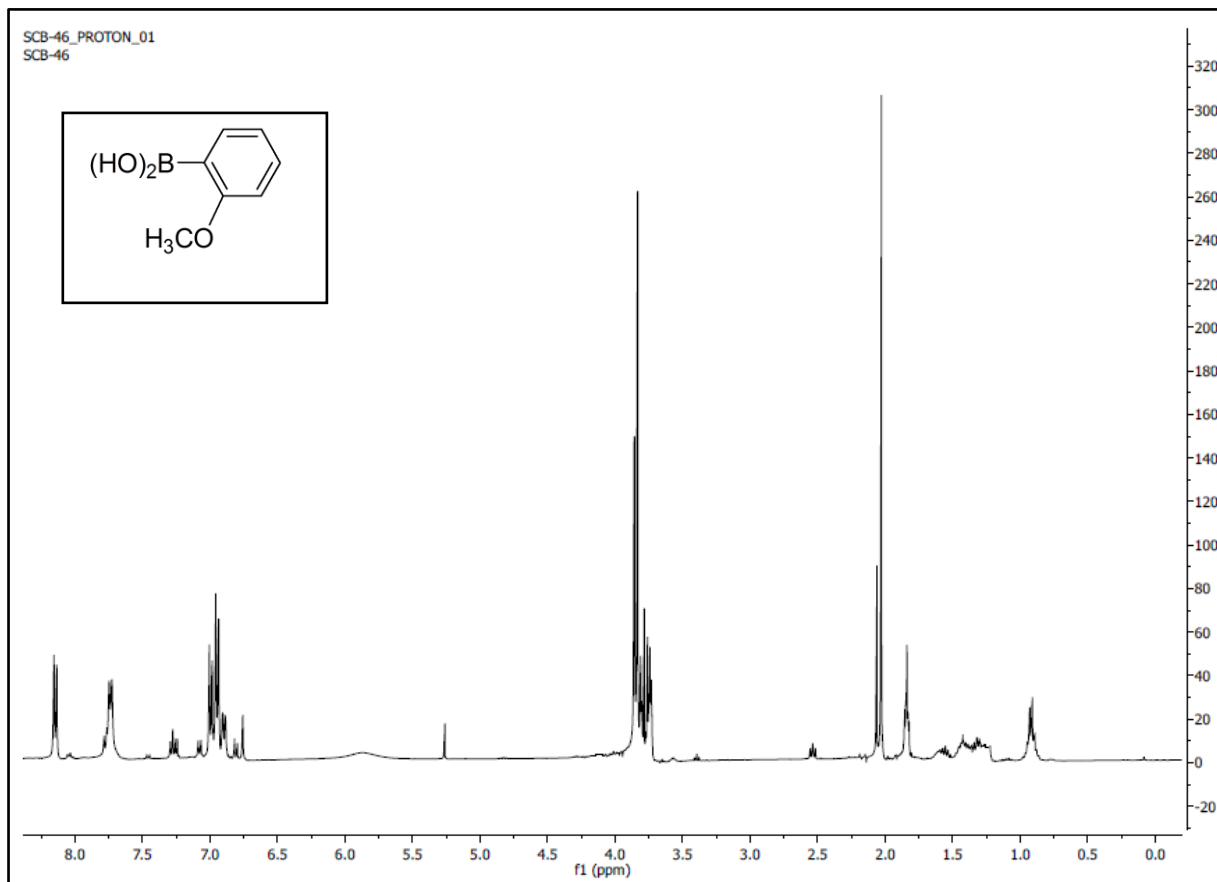


Ácido fenilborónico

Espectro 39

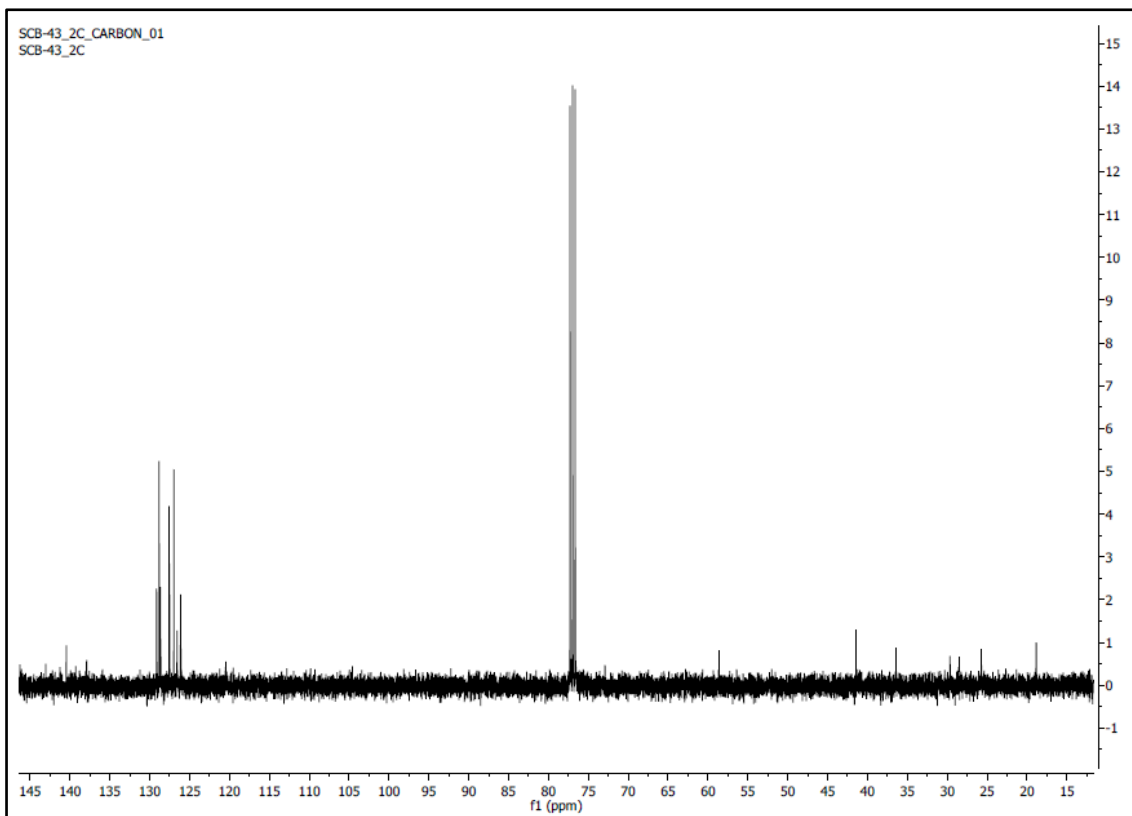
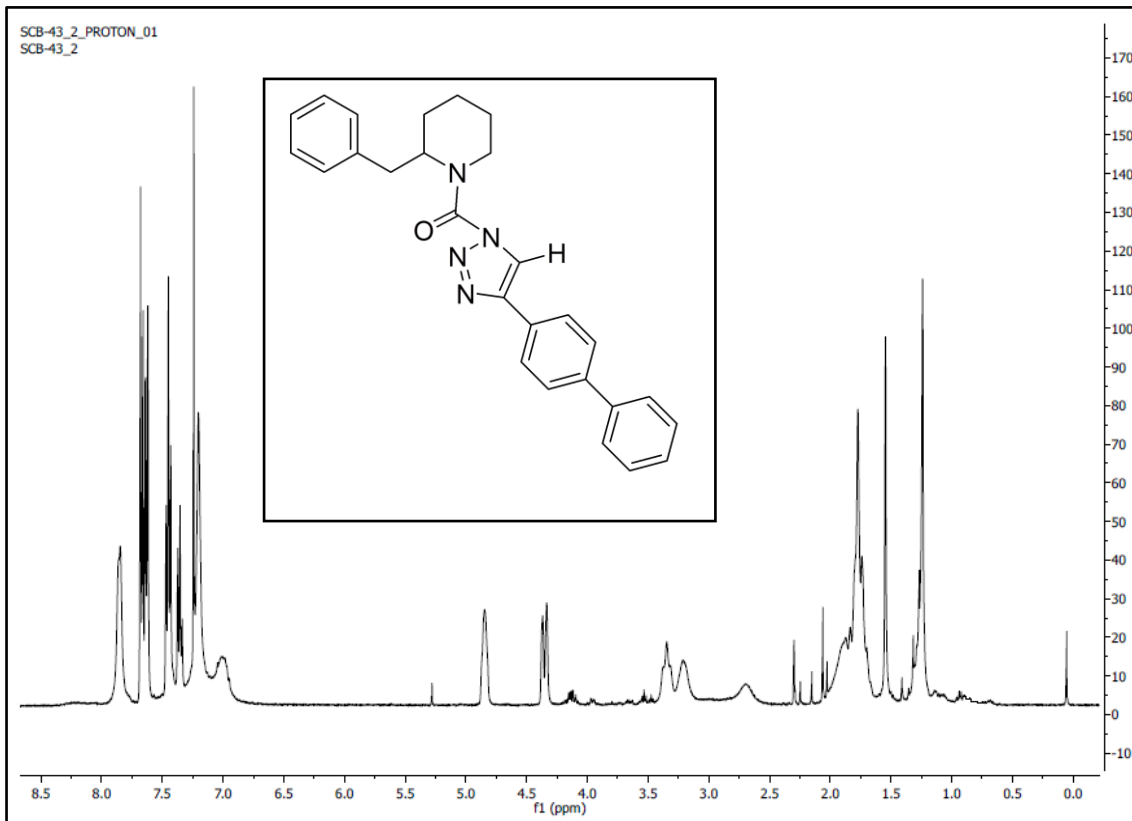


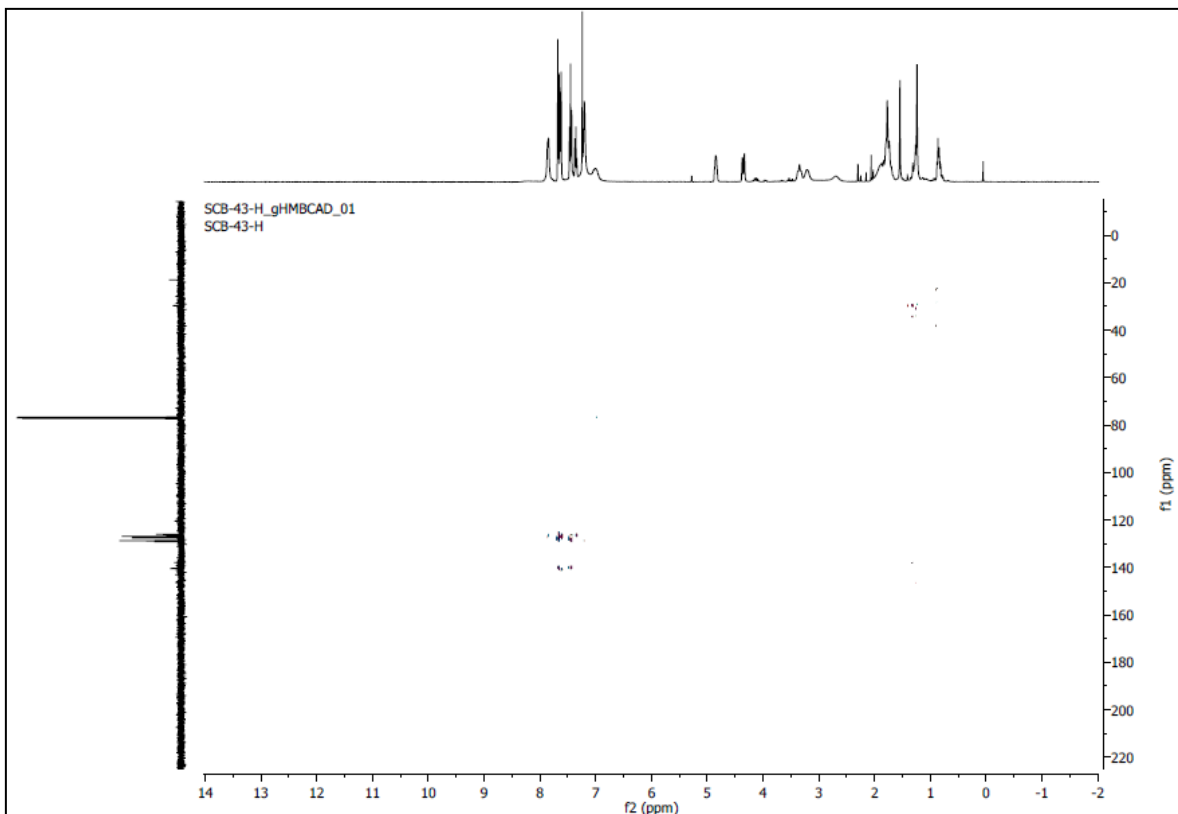
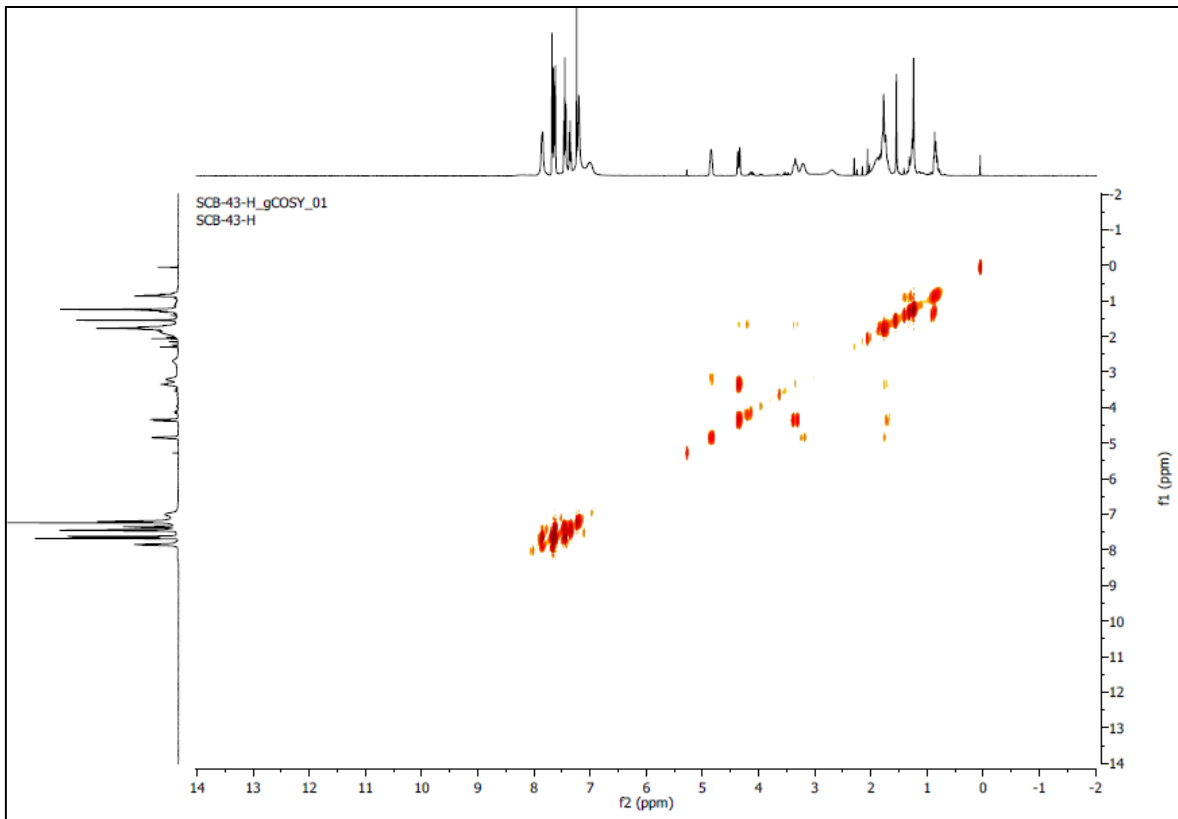
Ácido 4-metoxifenilborónico**Espectro 40**

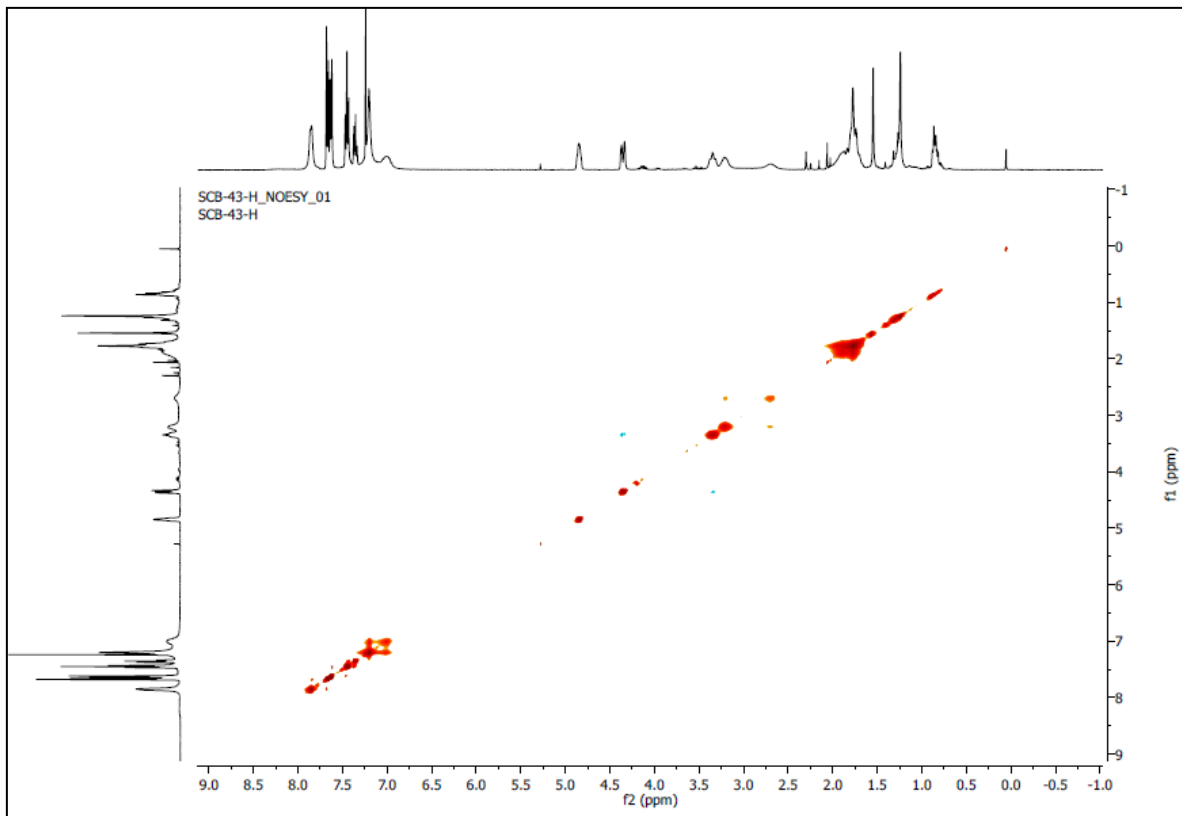
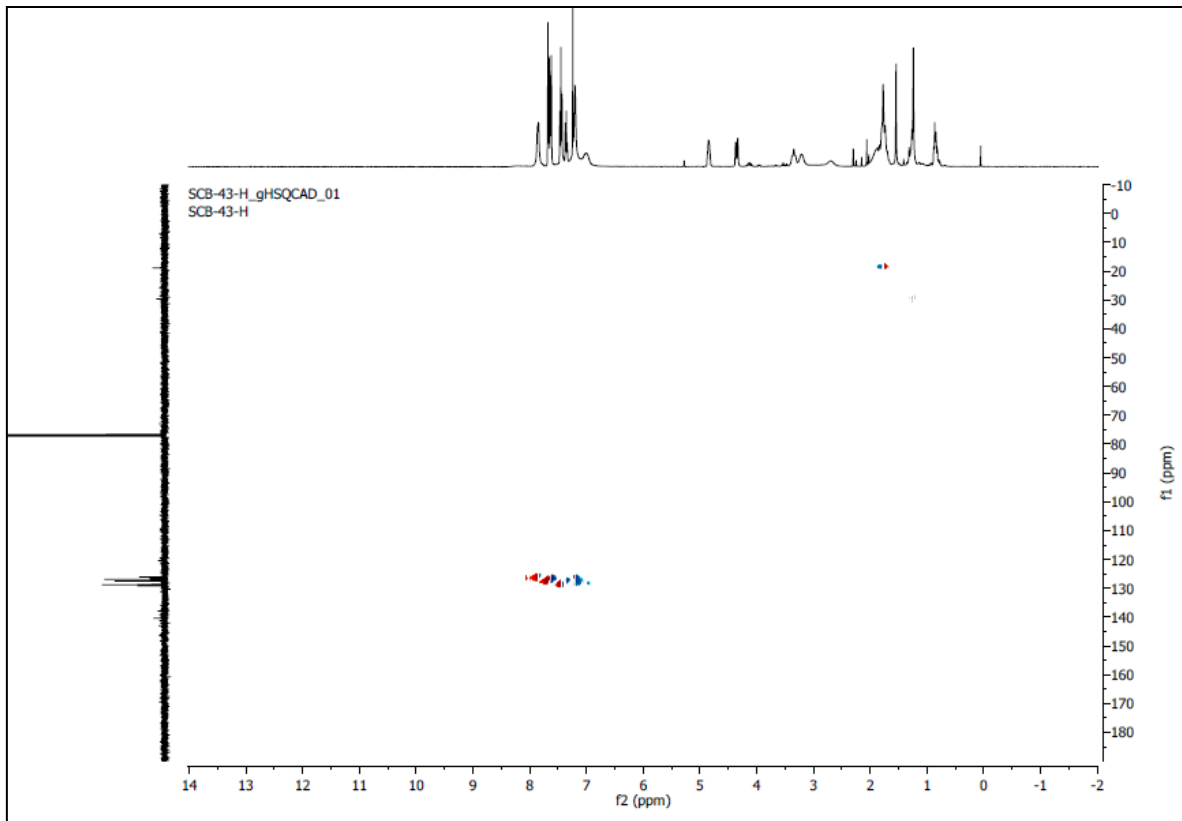
Ácido 2-metoxifenilborónico**Espectro 41**

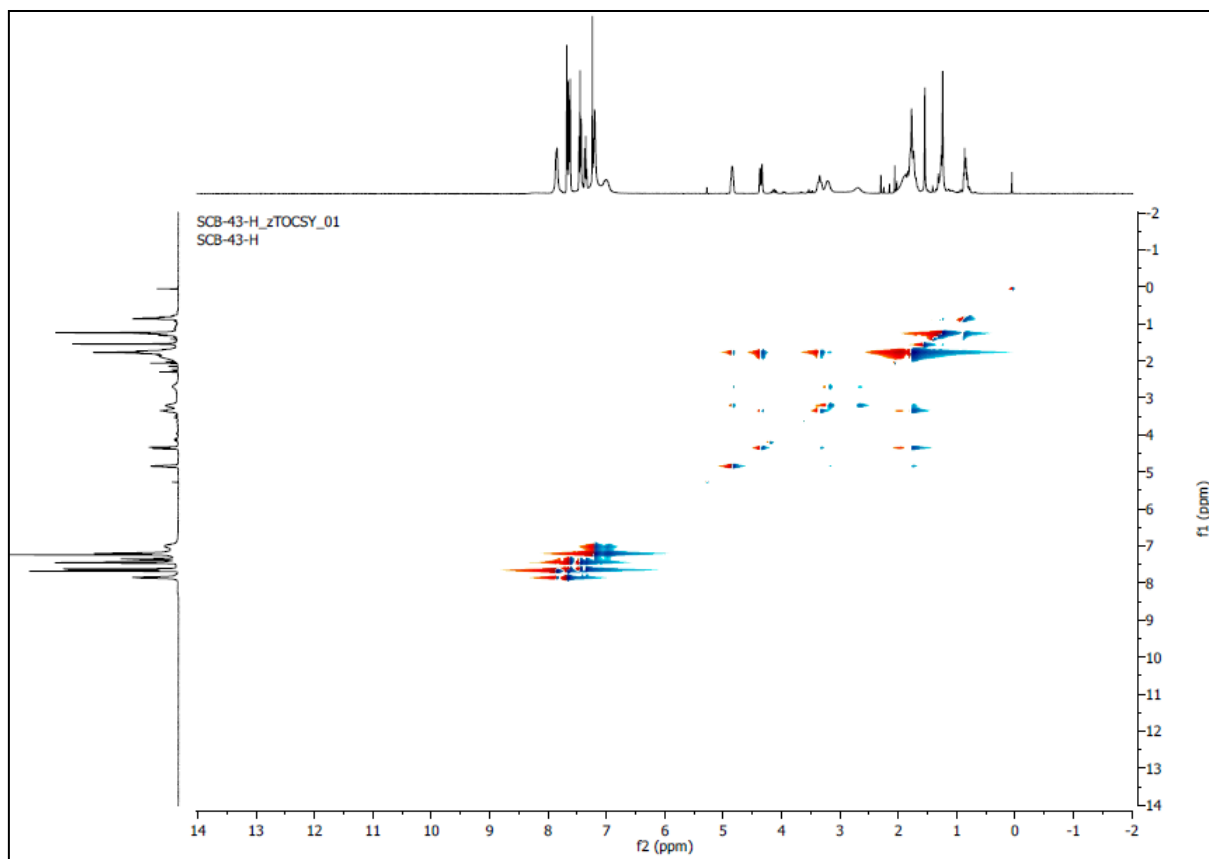
KT109 Compuesto 13

Espectros 42, 43, 44, 45, 46, 47 y 48



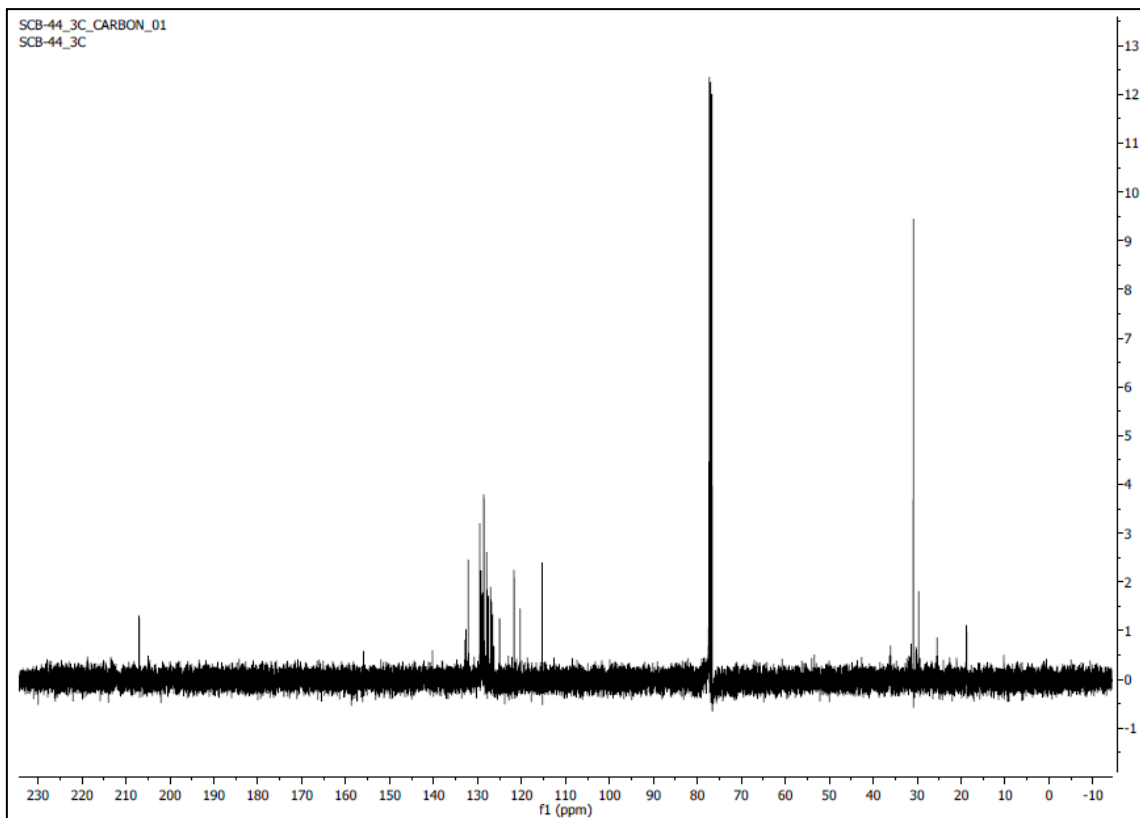
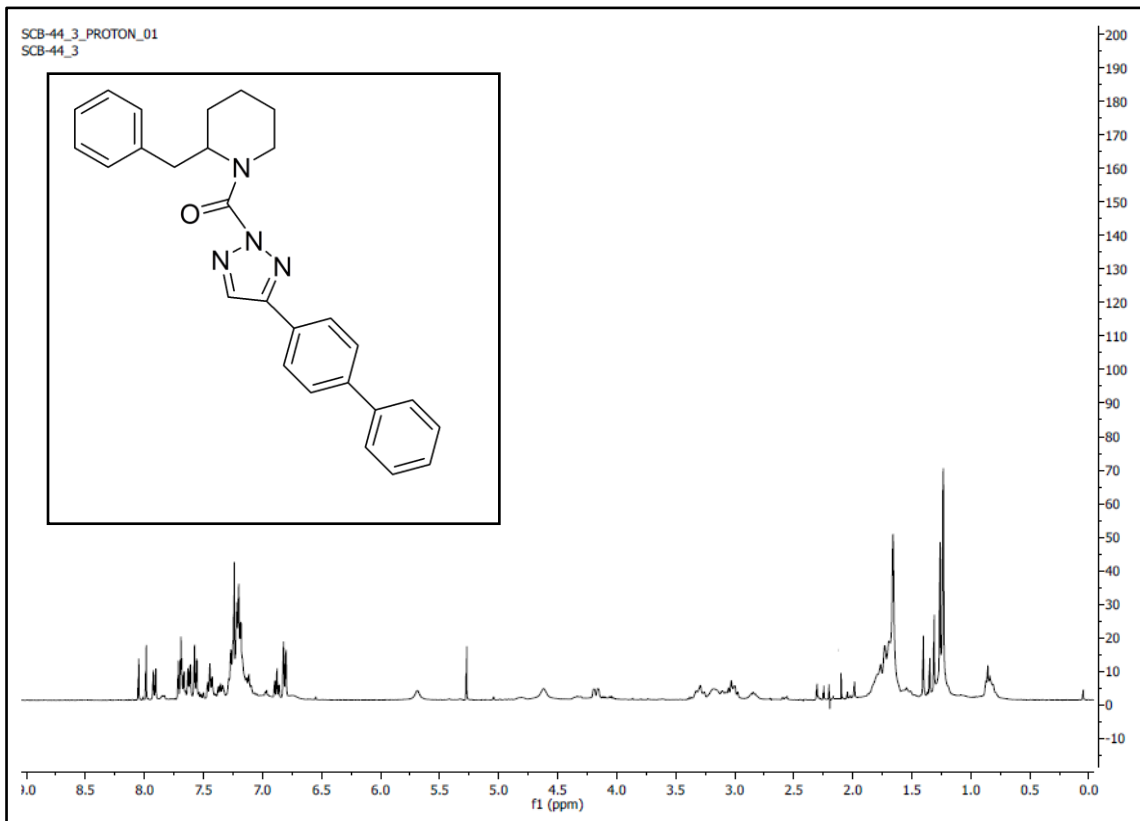


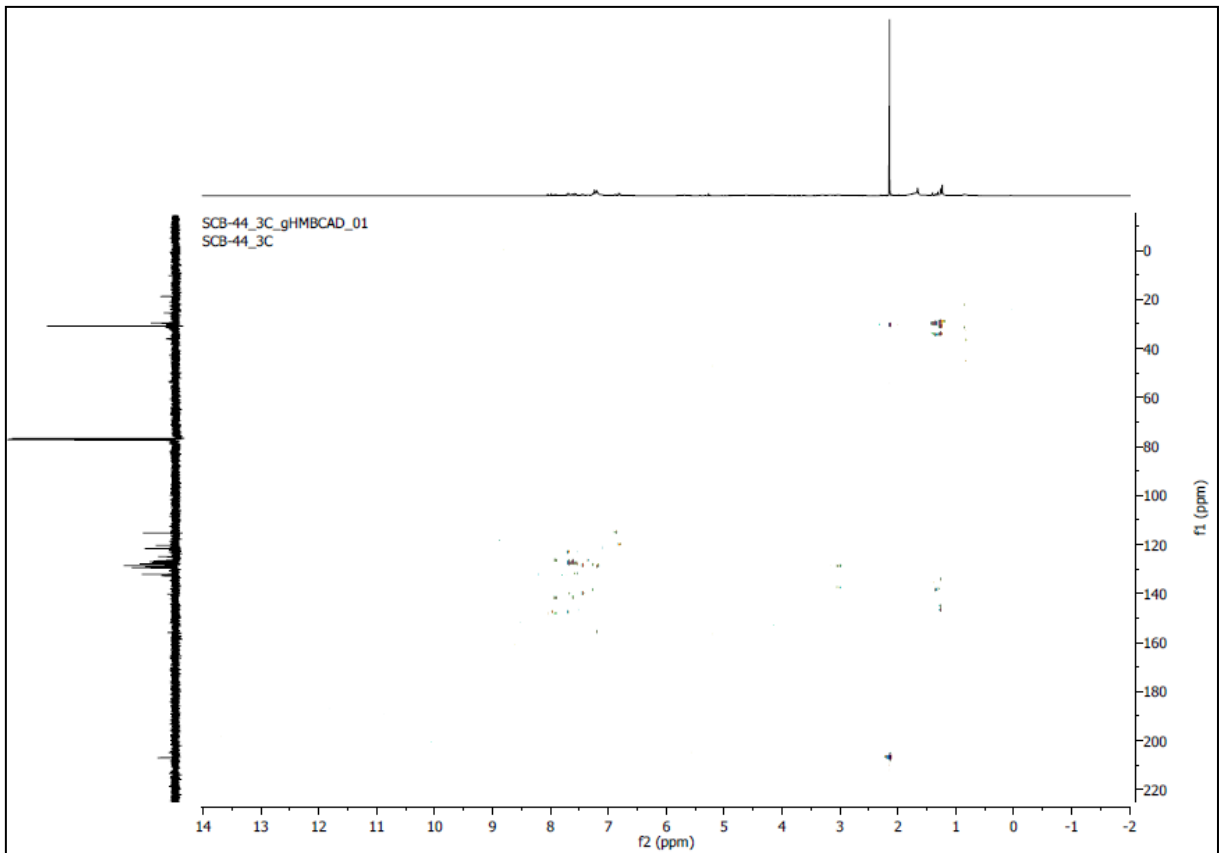
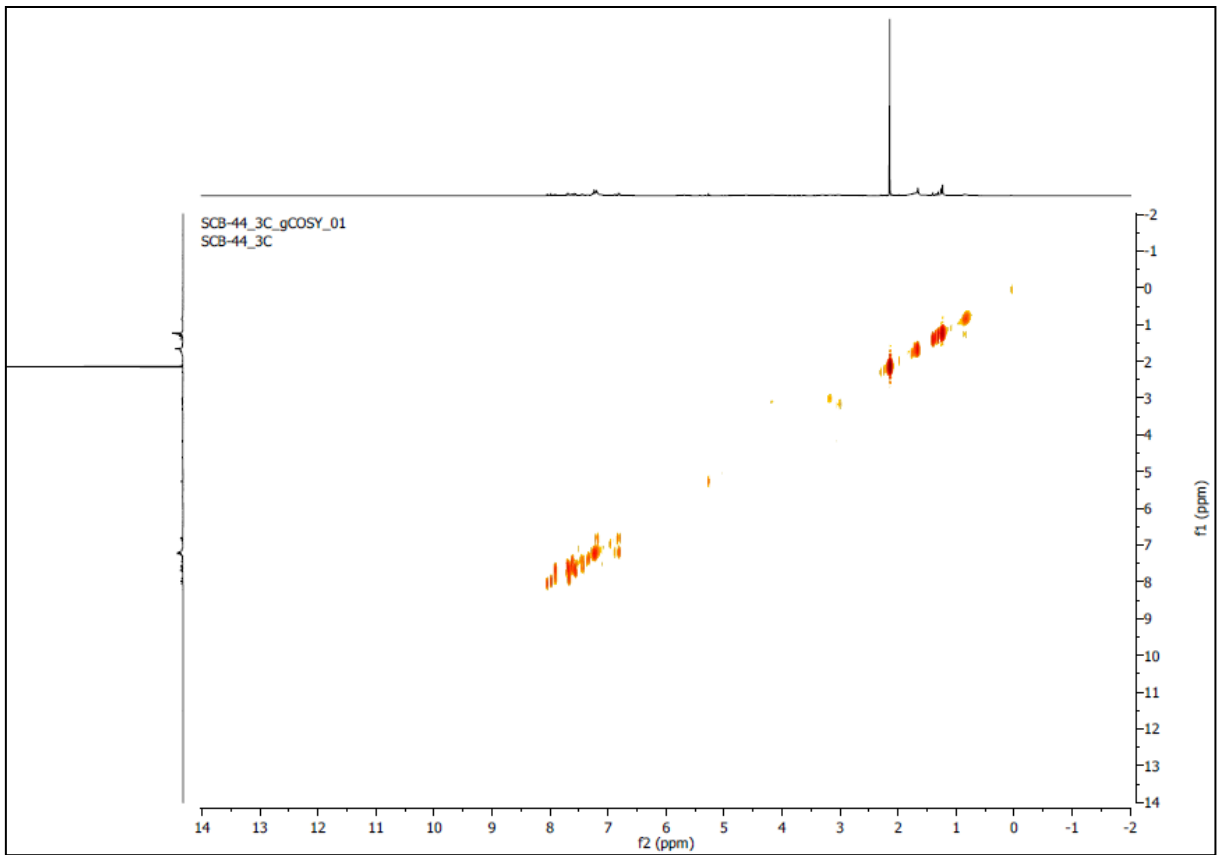


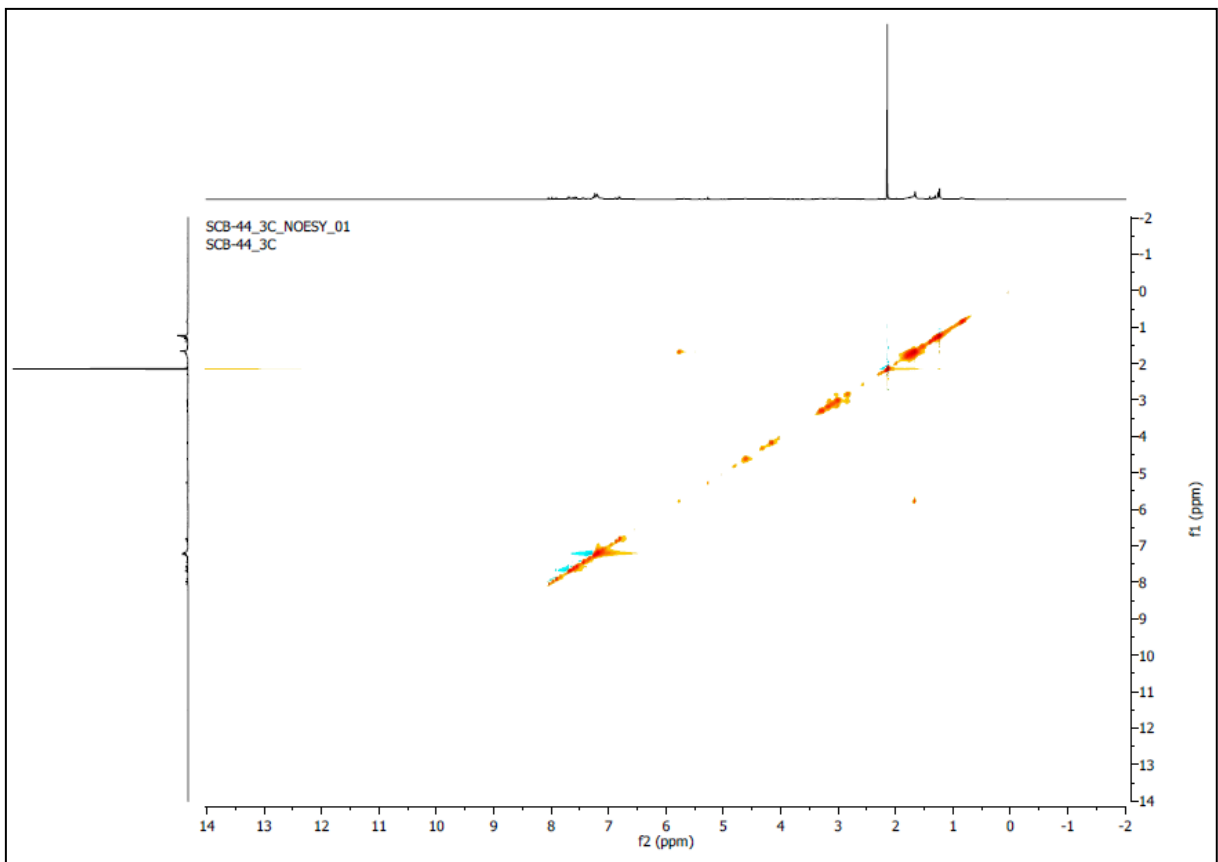
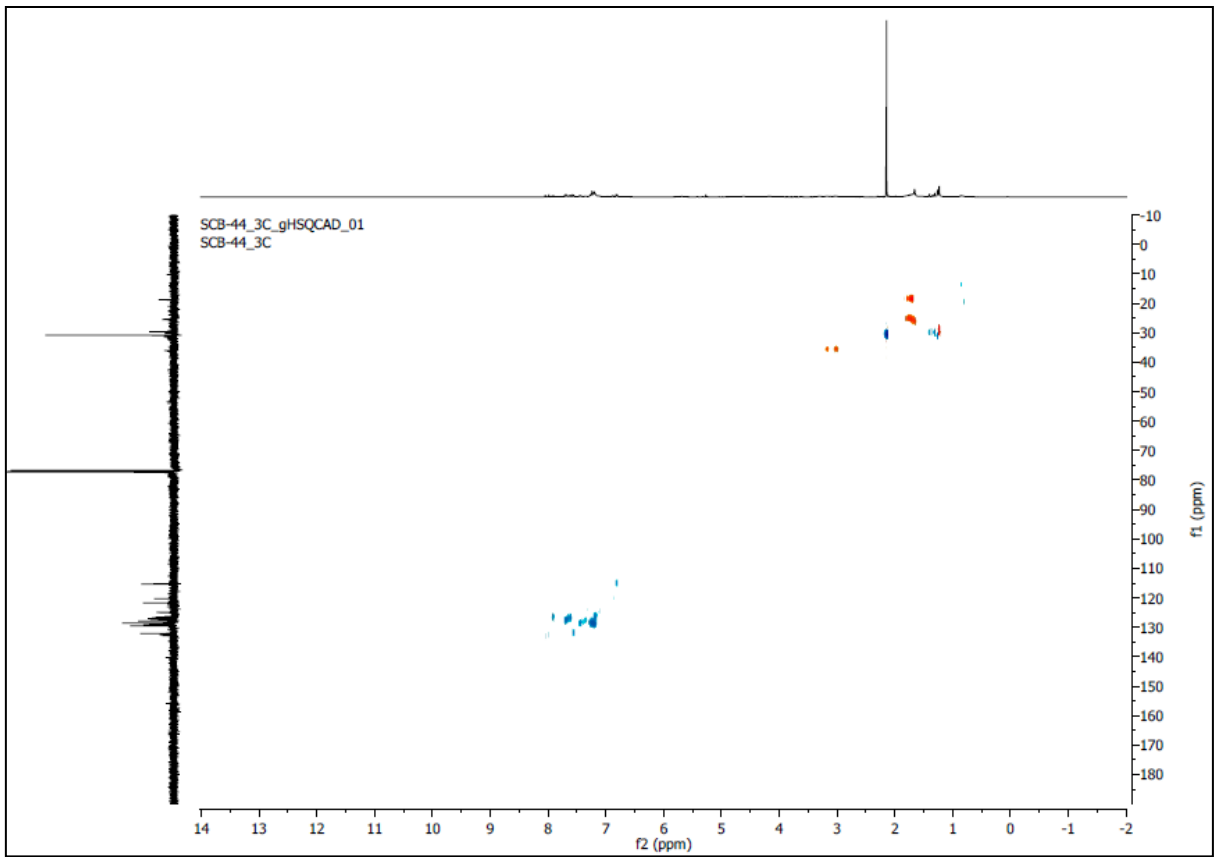


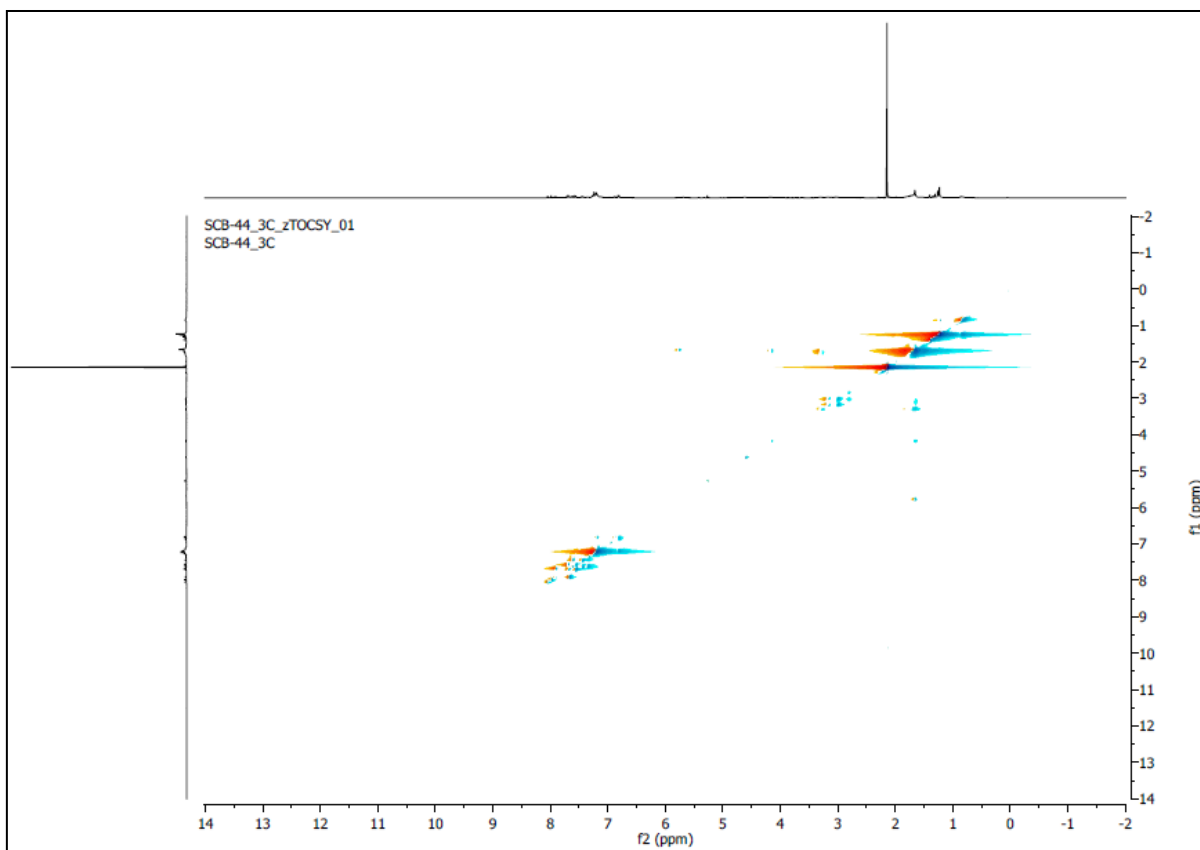
KT109' Compuesto 14

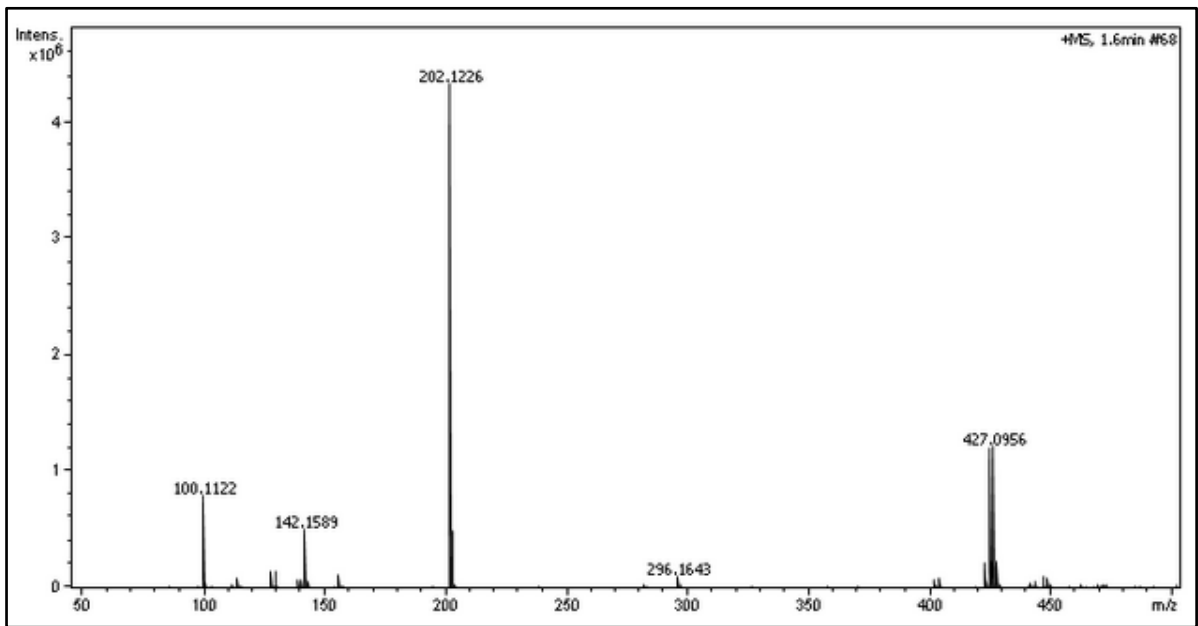
Espectros 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55 y 56



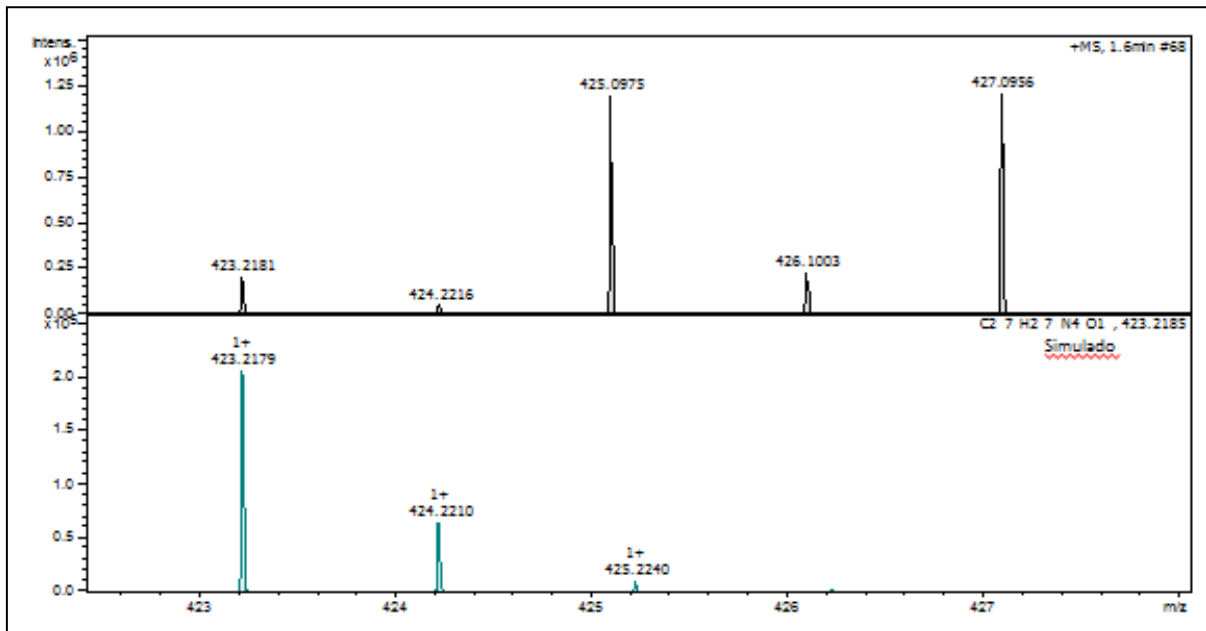






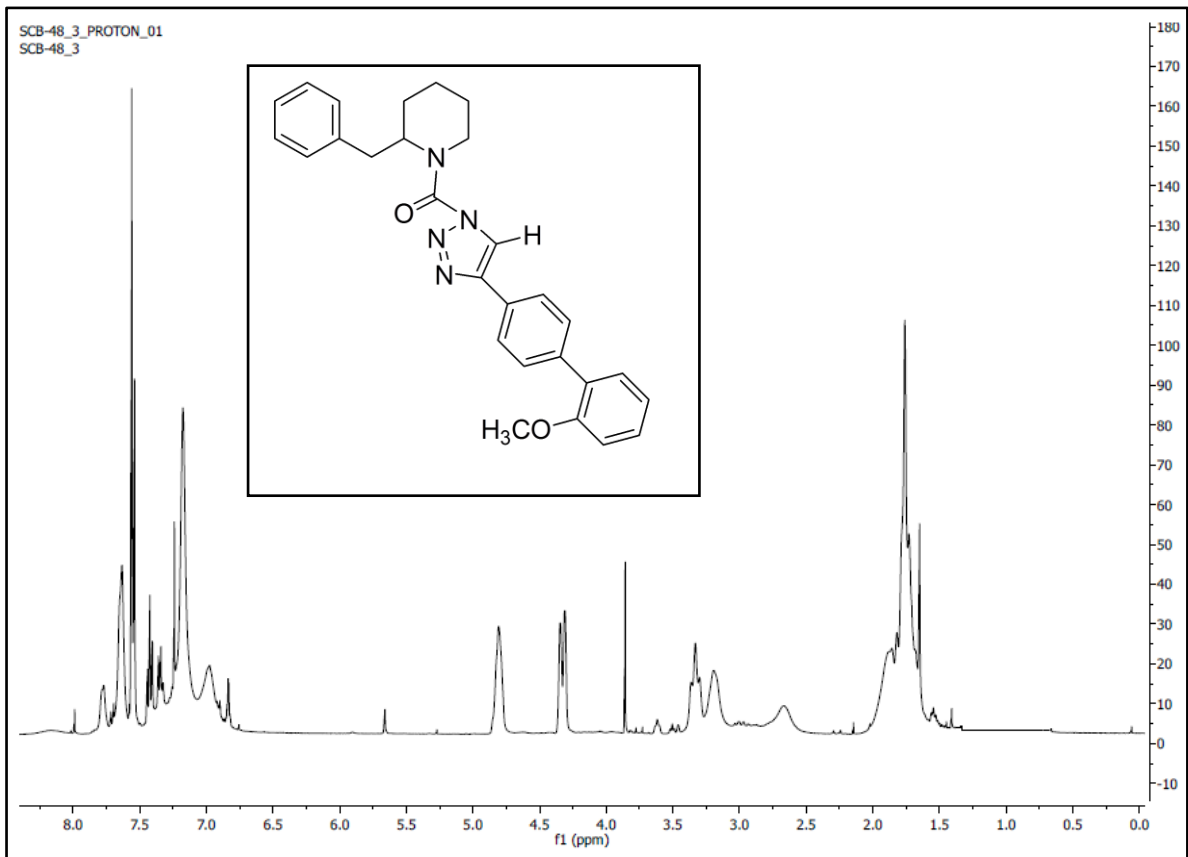


Meas. m/z	m/z	err [ppm]	mSigma	Ion Formula
423.2181	423.2179	-0.4	24.5	C27H27N4O
425.0975	425.0971	-0.8	33.5	C21H22BrN4O
	425.0966	-2.1	34.1	C18H9N12O2



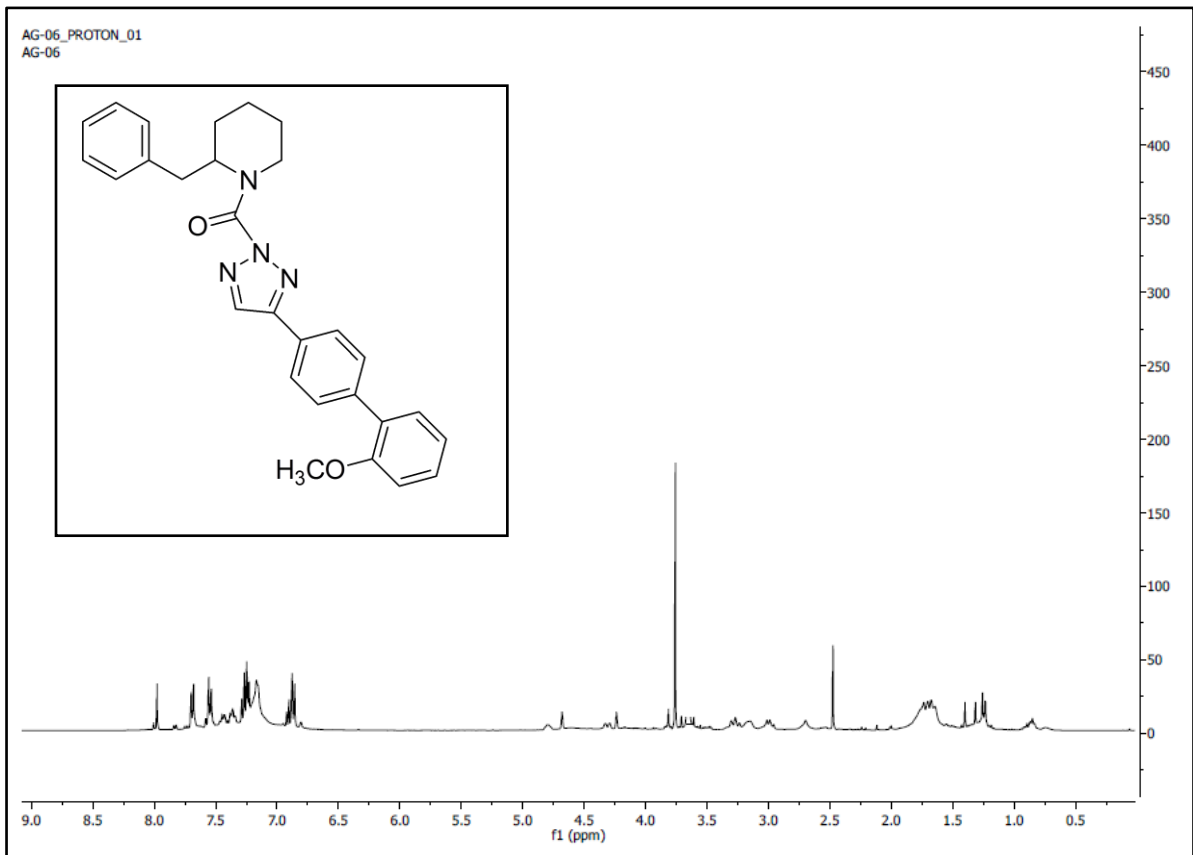
KT172 Compuesto 15

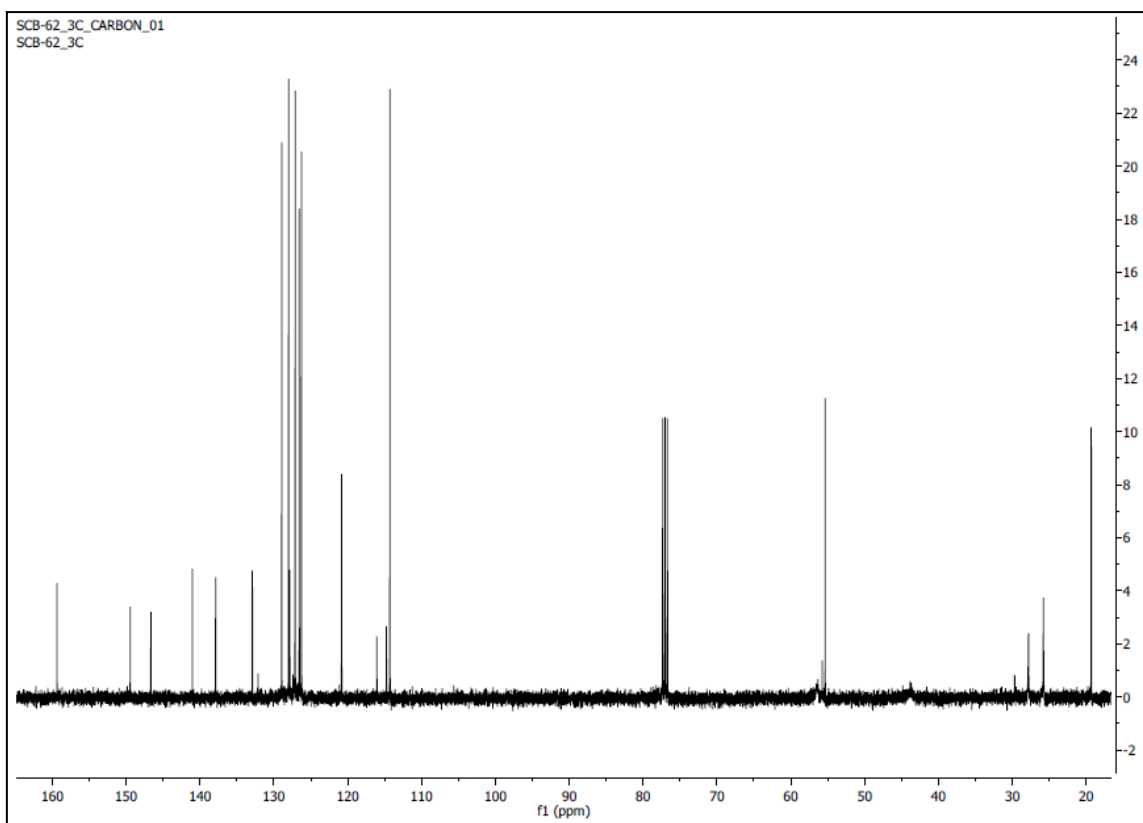
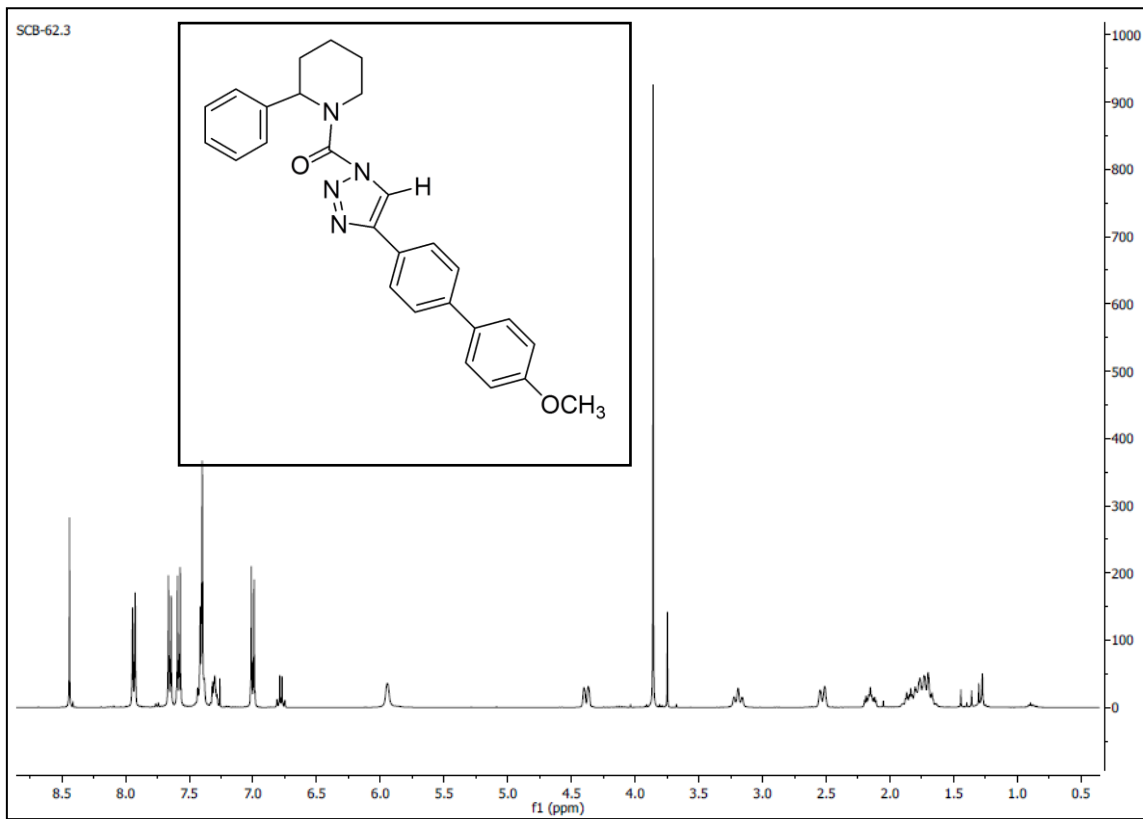
Espectro 57

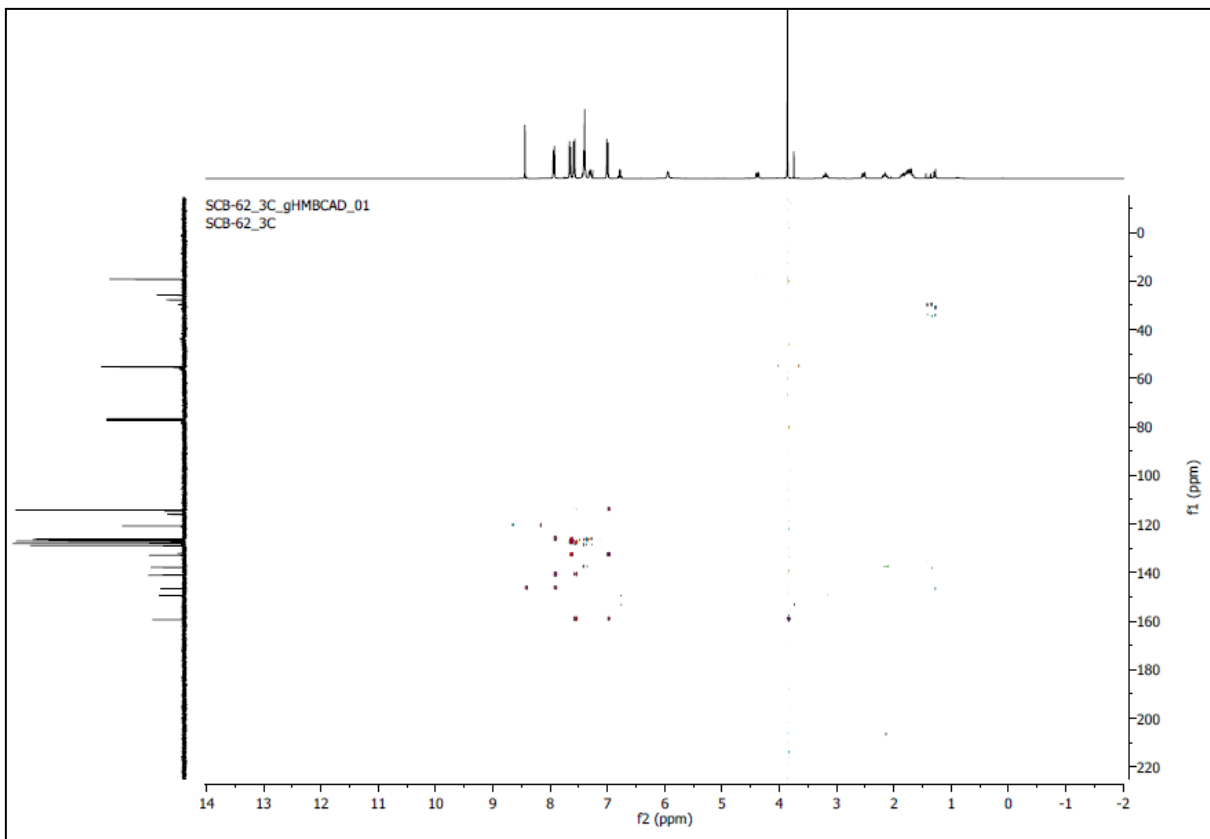
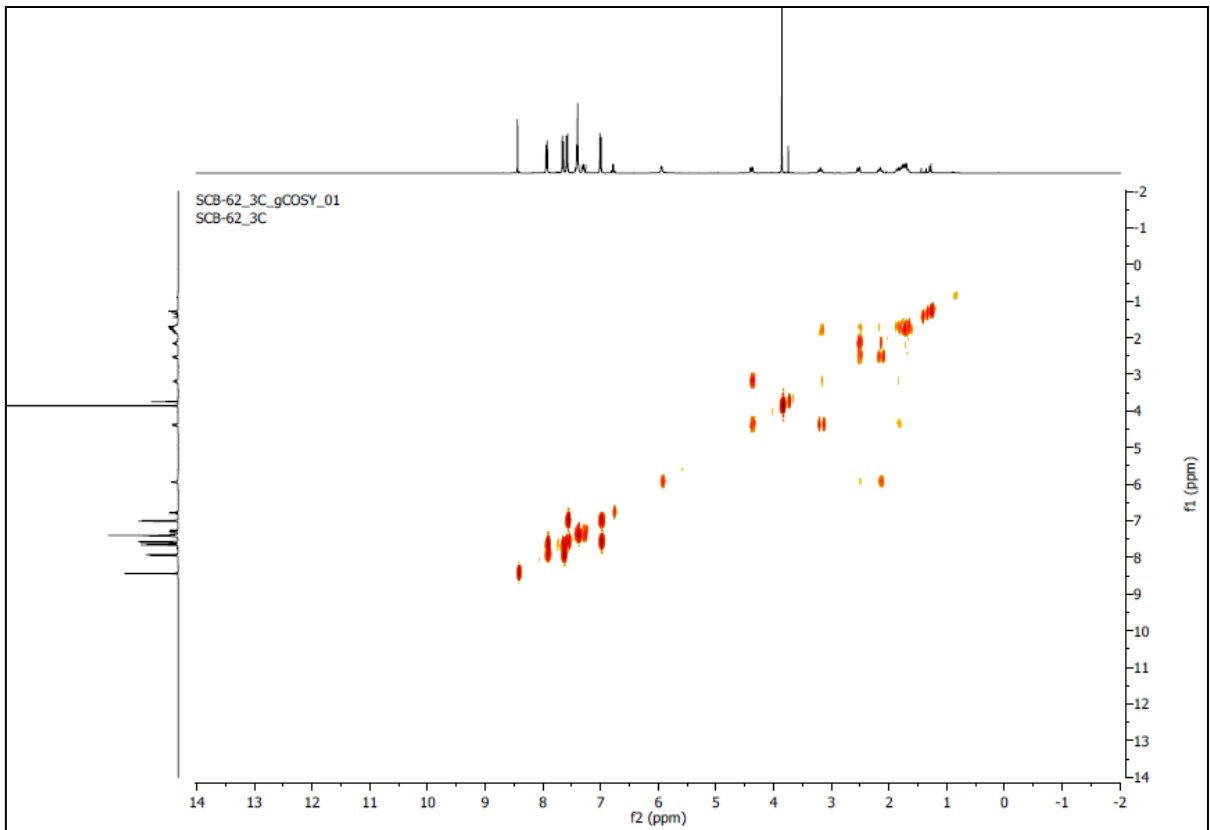


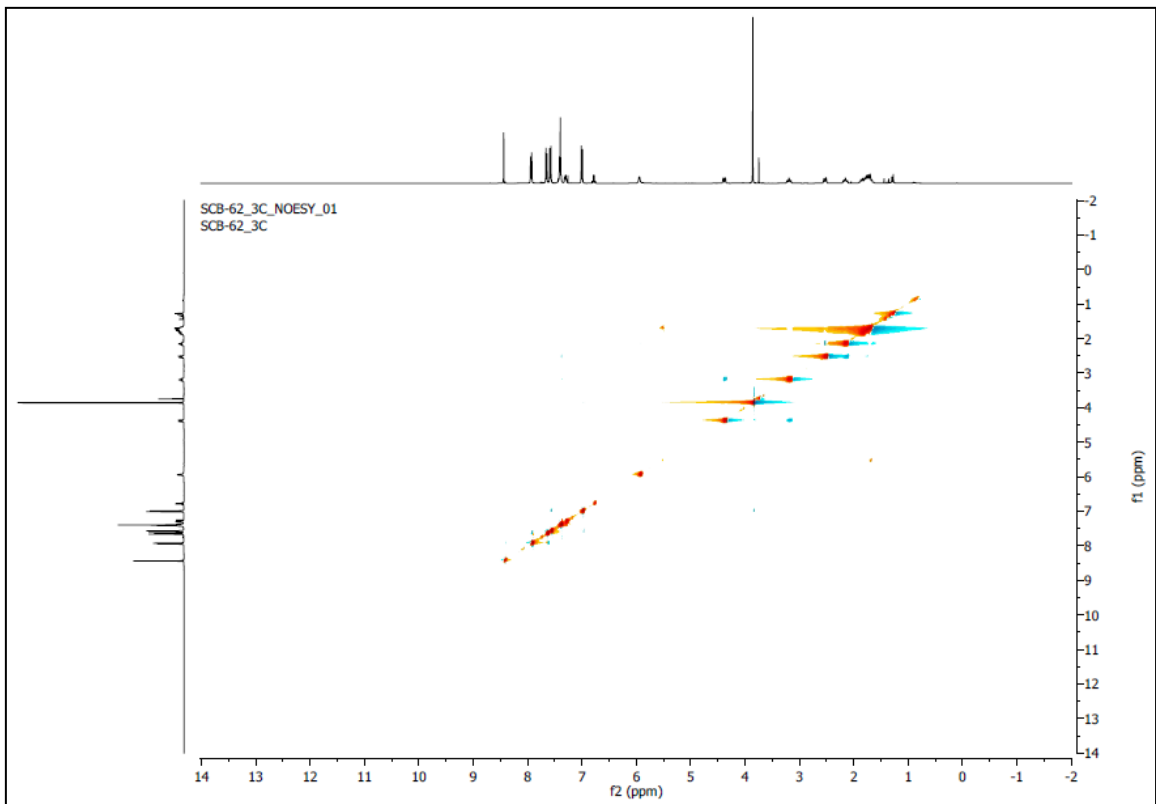
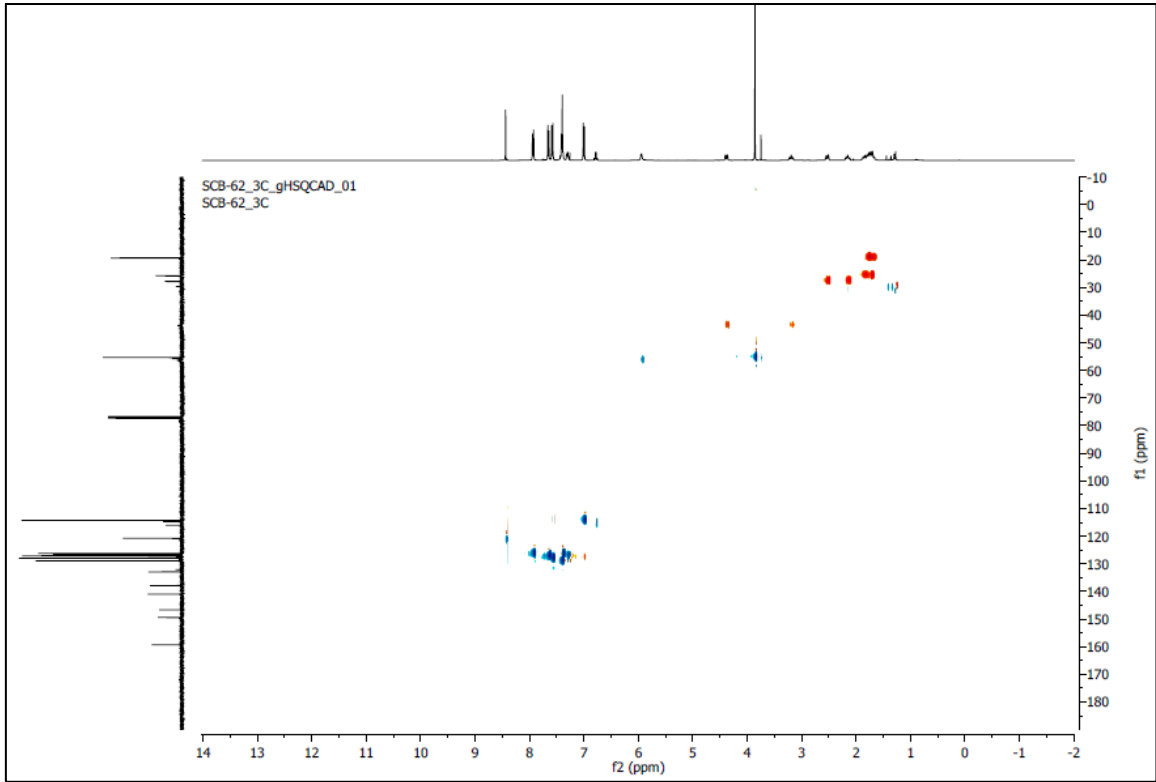
KT172' Compuesto 16

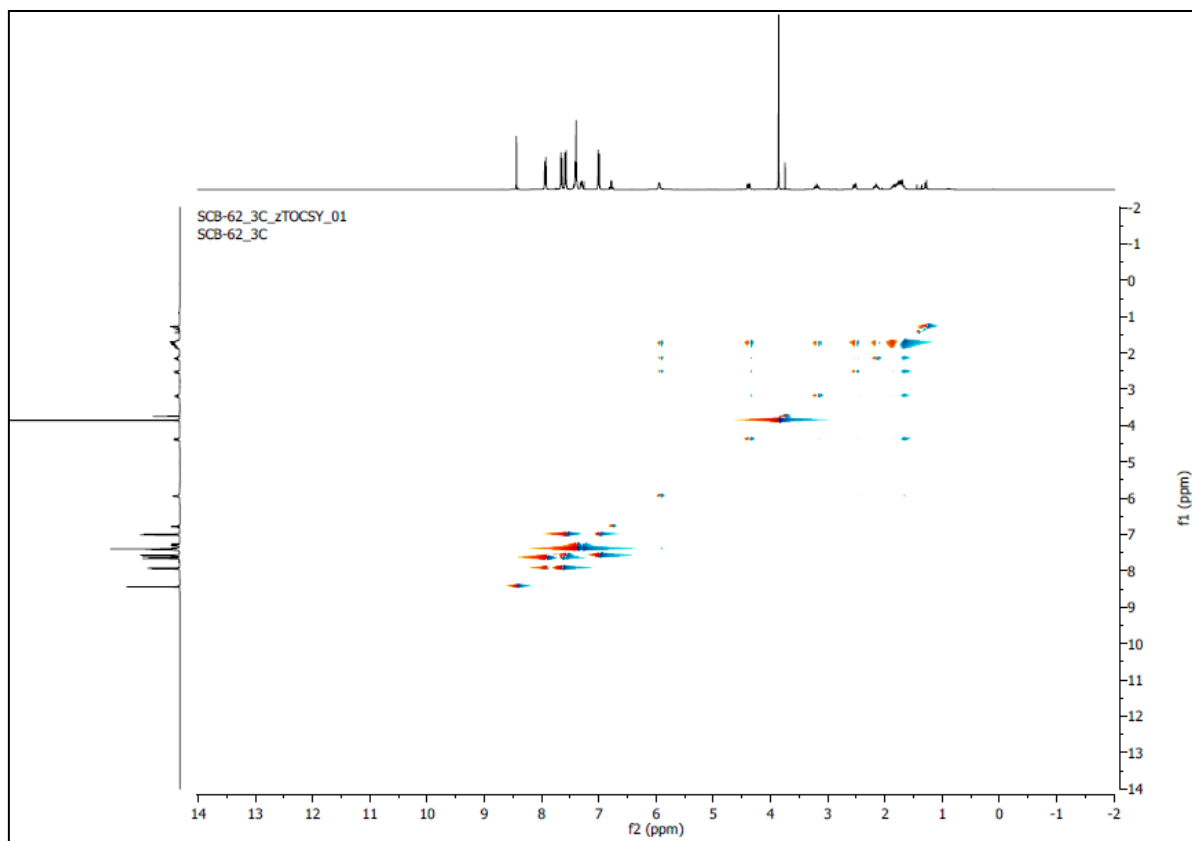
Espectro 58

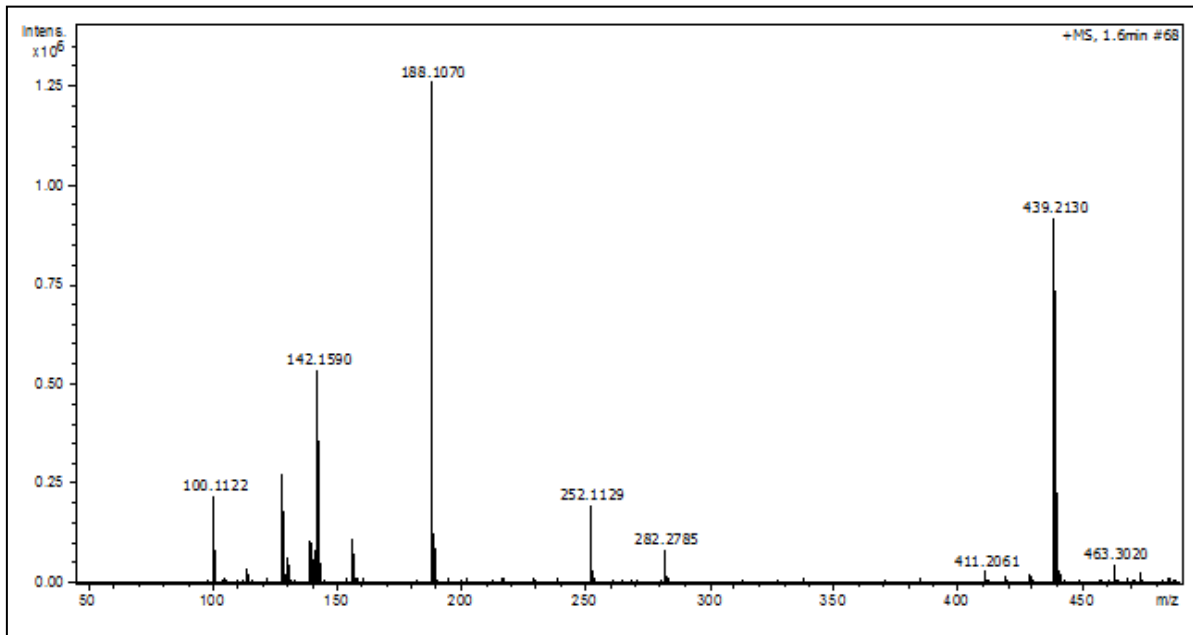


KT195 Compuesto 17**Espectros 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65 y 66**

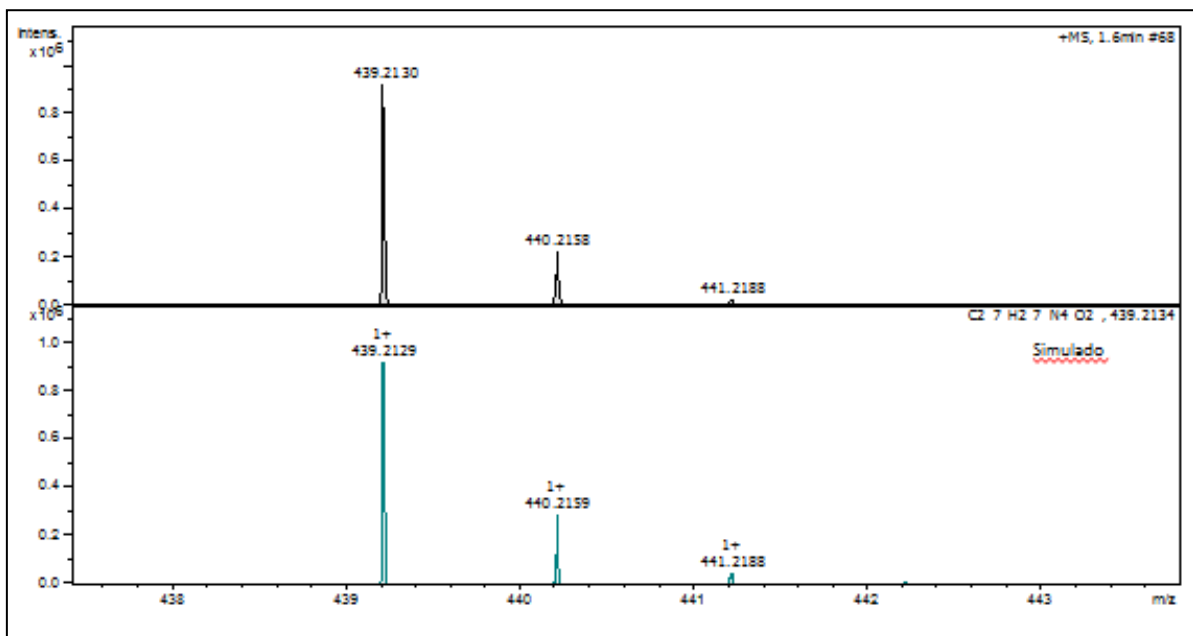






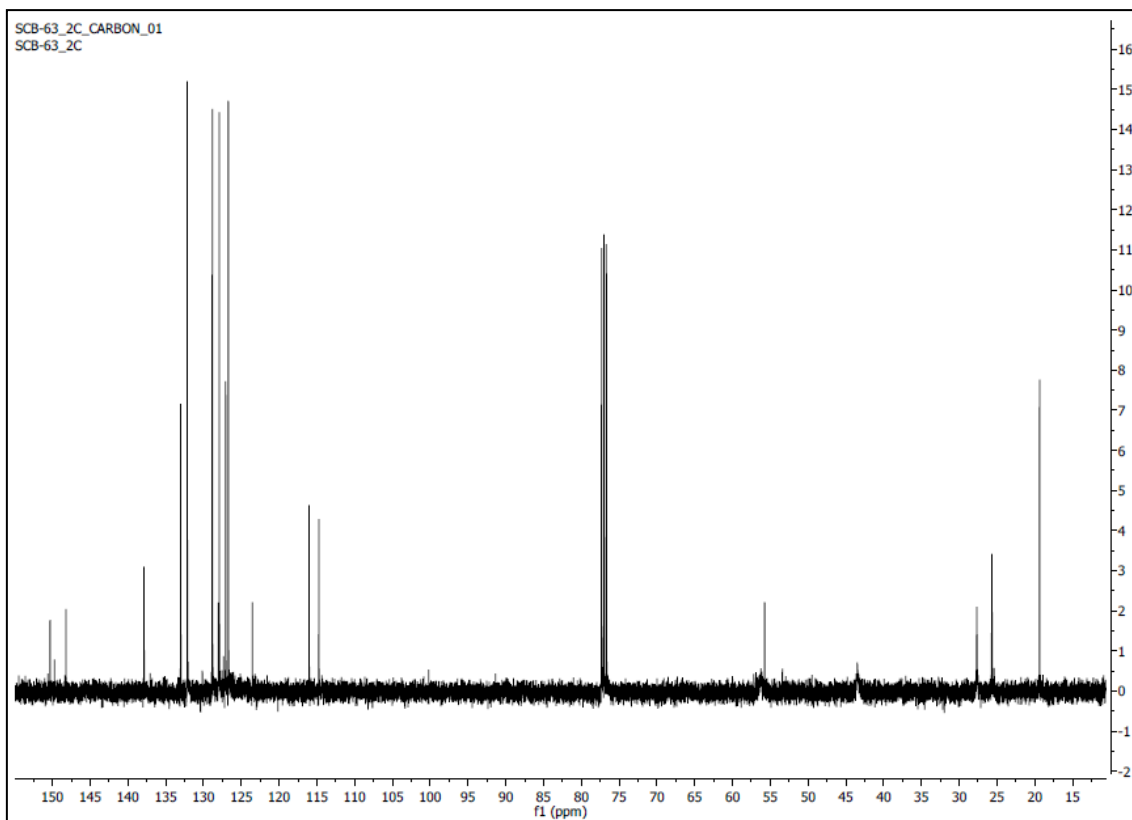
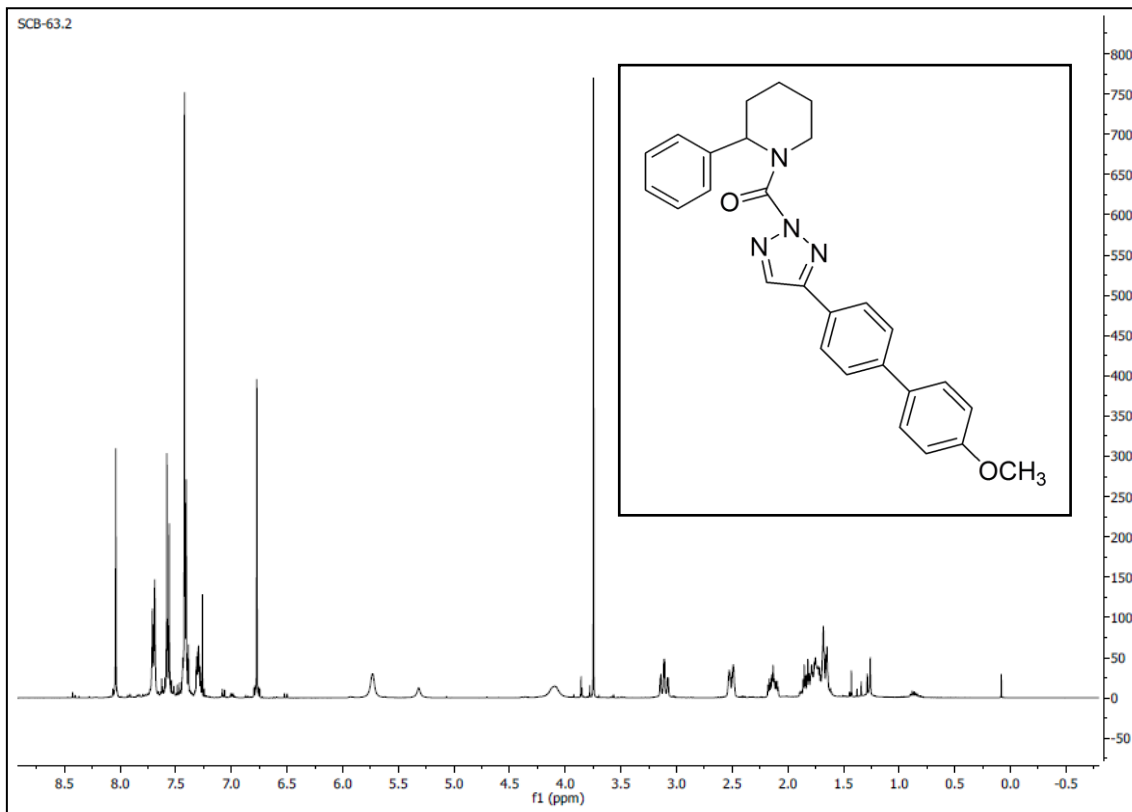


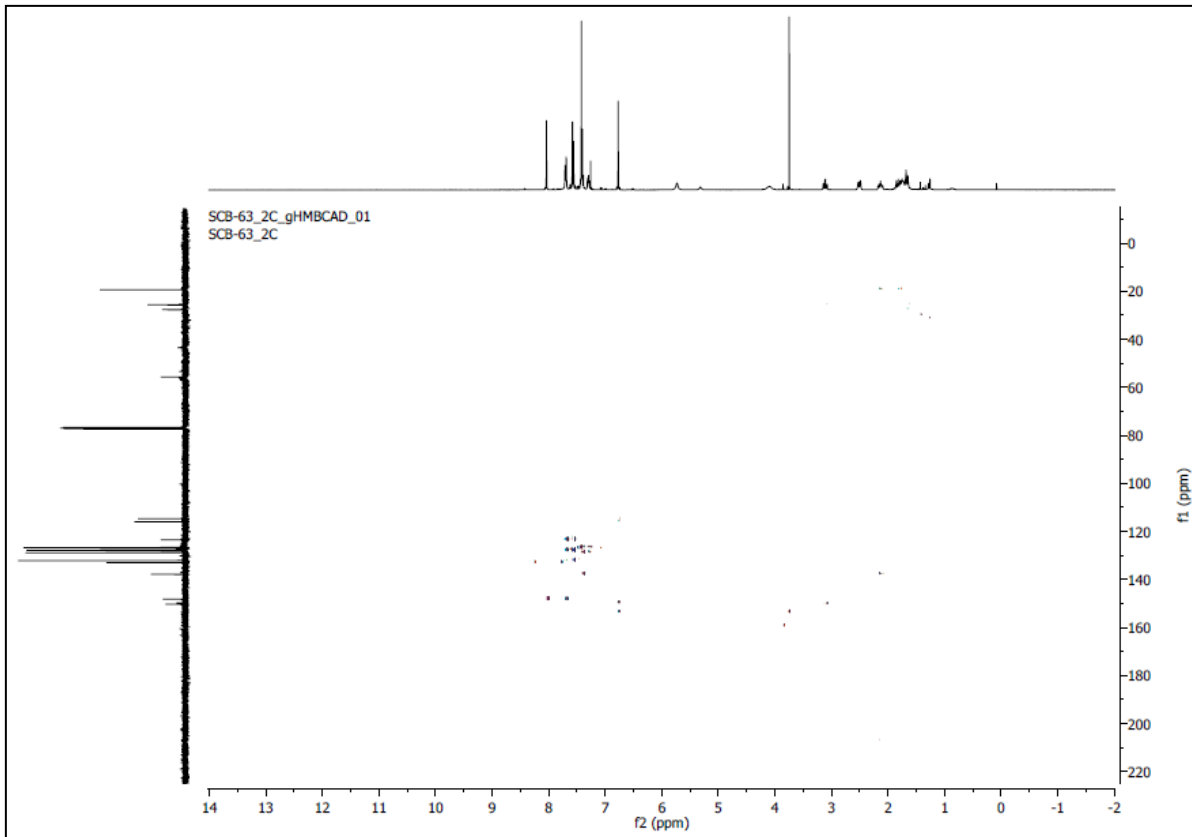
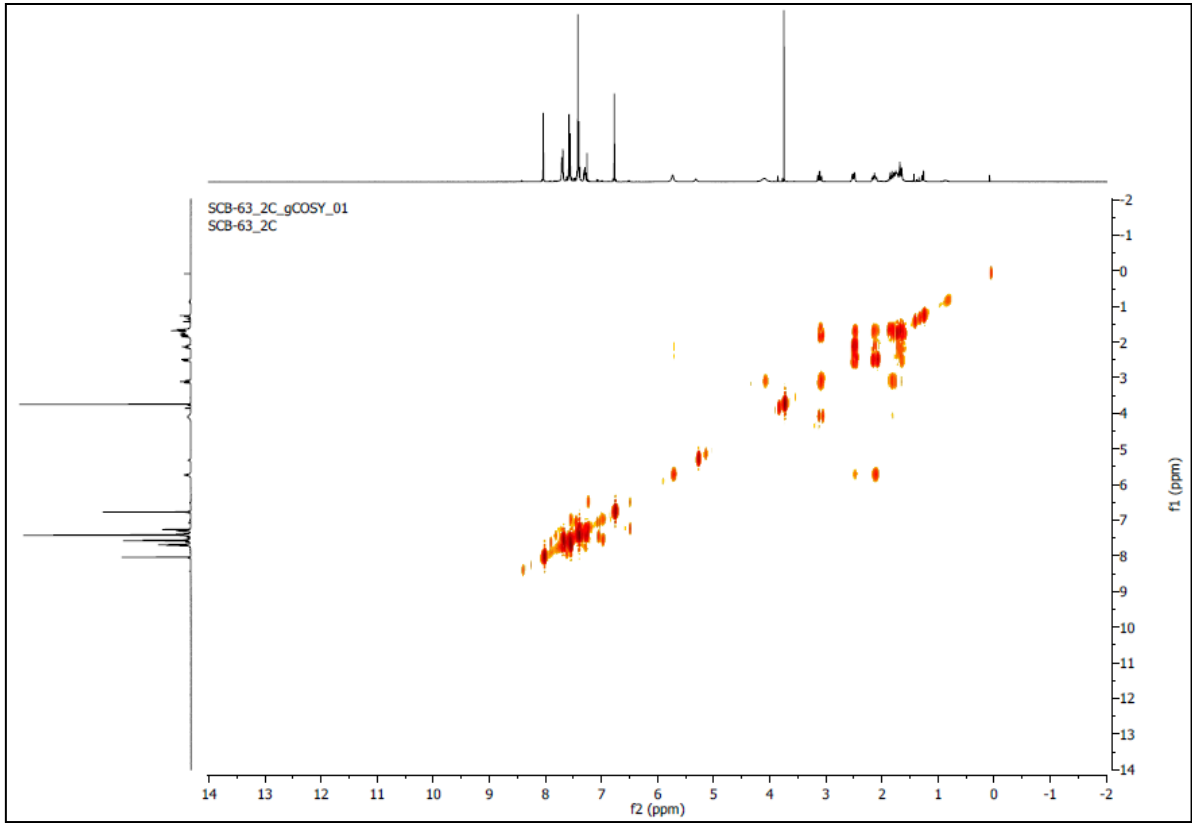
Meas. m/z	m/z	err [ppm]	mSigma	Ion Formula
439.213	439.2129	-0.4	34.2	C27H27N4 O2

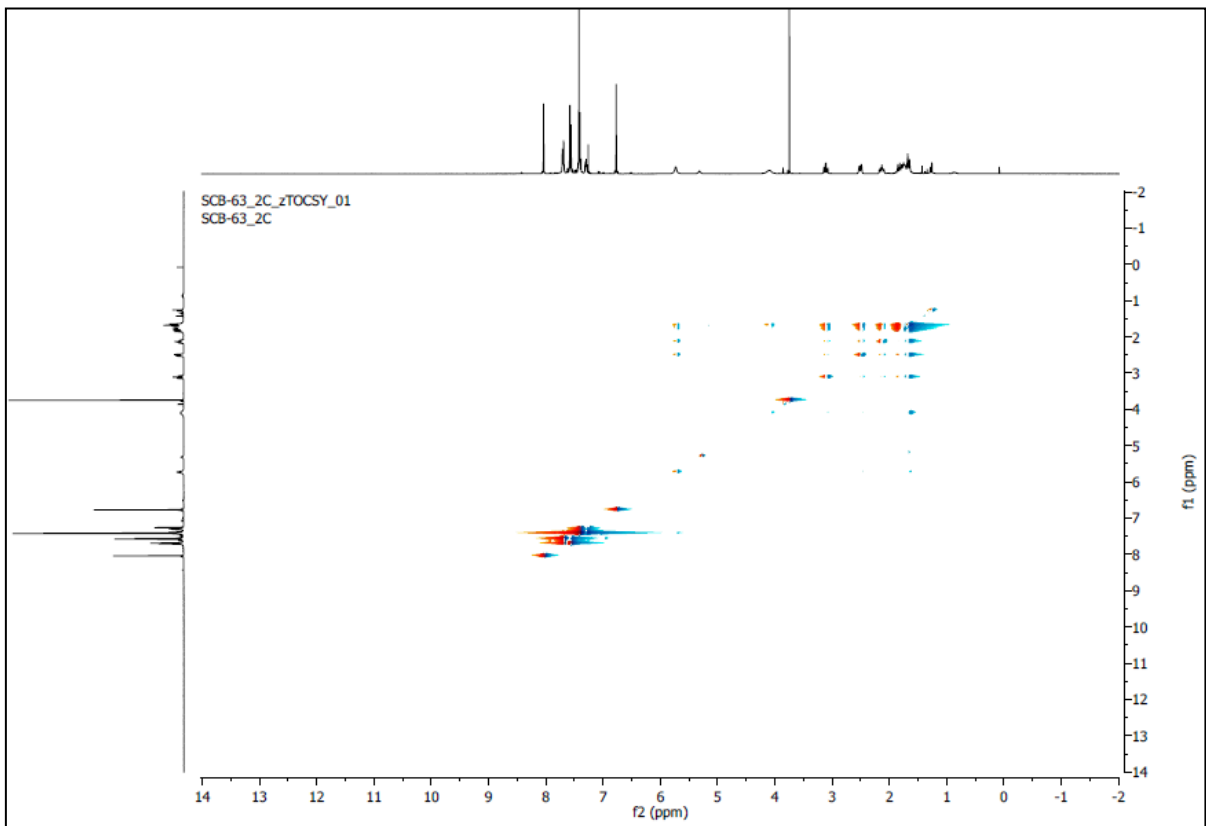
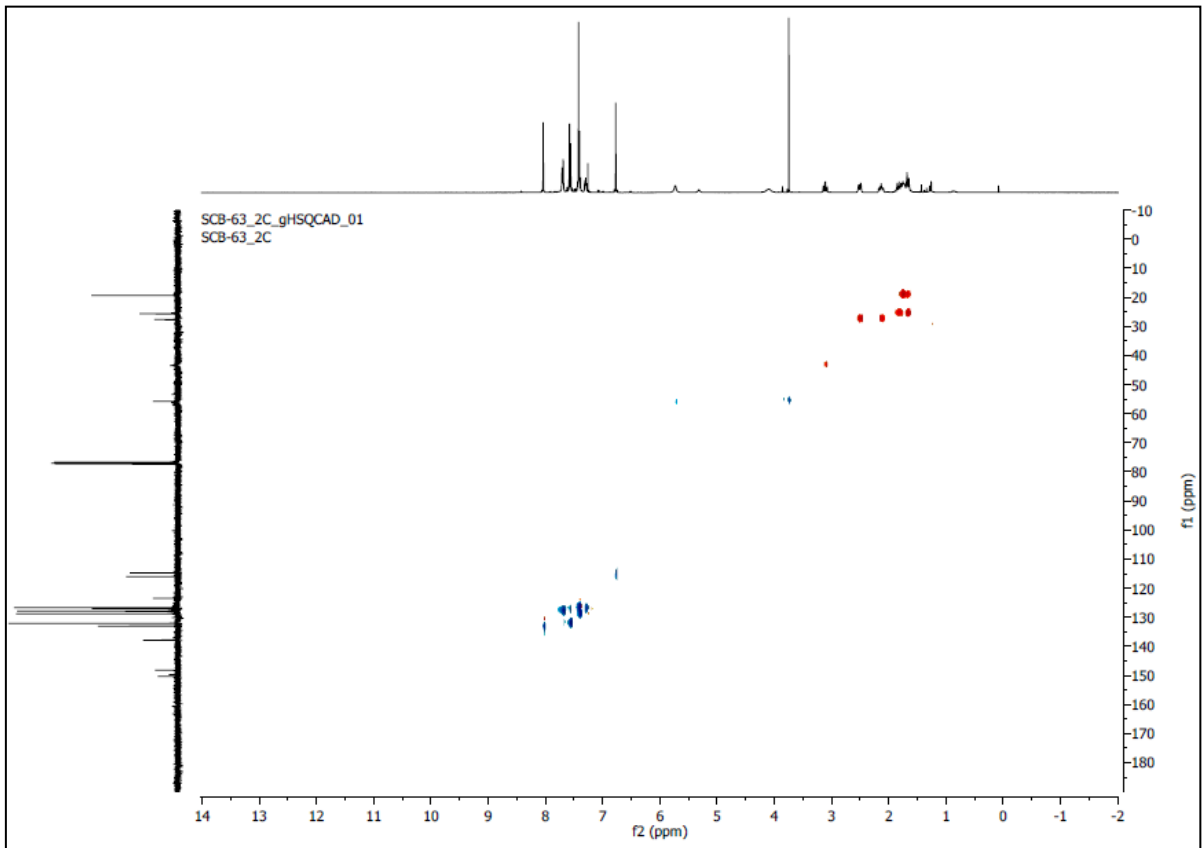


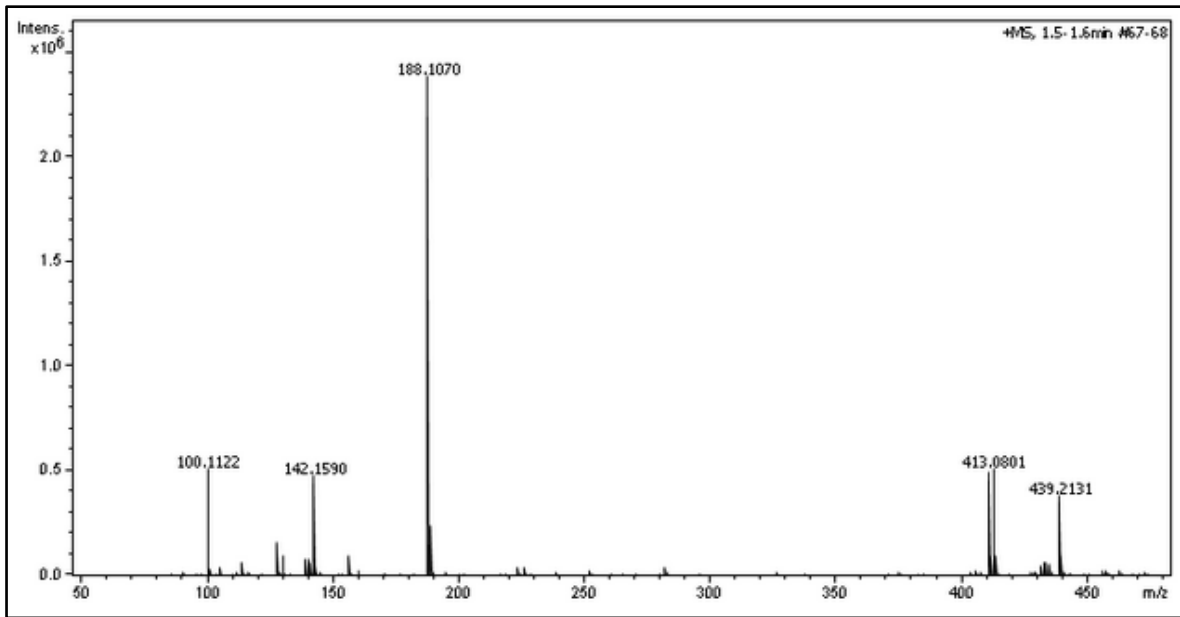
KT195' Compuesto 18

Espectros 67, 68, 69, 70, 71, 72 y 73









Meas. m/z	m/z	err [ppm]	mSigma	Ion Formula
439.2131	439.2129	-0.6	31.8	C27H27N4O2
411.0818	411.0815	-0.8	32.7	C20H20BrN4O

