



Universidad de Valladolid

Facultad de Ciencias

TRABAJO FIN DE GRADO

Grado en Química

Síntesis de fosfolípidos derivados del ácido (Z)-7-
hexadecenoico y mioinositol

Autor: Sonia Campano Tiedra

Tutor/es: Alfonso Pérez Encabo

Índice

1. Abreviaturas	5
2. Resumen.....	6
3. Introducción	7
4. Objetivos y plan de trabajo	9
5. Antecedentes bibliográficos.....	10
5.1 Síntesis del ácido graso (Z)-7-hexadecenoico:.....	10
5.2 Síntesis de diacilglicéridos:	12
5.3 Síntesis del D-2,3,4,5,6-pentakis-O-(metoximetil)mioinositol:	14
6. Resultados y discusión.....	17
6.1 Síntesis del D-2,3,4,5,6-pentakis-O-(metoximetil)mioinositol (6):	17
6.2 Síntesis del ácido graso (Z)-7-hexadecenoico (9):	20
6.3 Síntesis del diacilglicérido (14):	22
6.4 Síntesis del fosfolípido (21):.....	24
7. Conclusiones.....	26
8. Materiales y métodos.....	27
9. Anexo: ¹ H-RMN; ¹³ C-RMN; MS; IR	41

1. Abreviaturas

DCM	Diclorometano
DMF	N,N-dimetilformamida
DCC	N,N'-diciclohexilcarbodiimida
DMAP	Dimetilaminopiridina
TBDPS-Cl	Cloruro de <i>tert</i> -butildifenilsililo
MOM-Cl	Cloruro de metilmetiléter
DMT-Cl	Cloruro de 4,4'-dimetoxitritilo
THF	Tetrahidrofurano
TFA	Ácido trifluoroacético
16:1 n-9	Ácido (Z)-7-hexadecenoico
16:0	Ácido palmítico
m-CPBA	Ácido <i>meta</i> -cloroperbenzóico
DMSO	dimetilsulfóxido

2. Resumen

Este trabajo ha permitido abordar la síntesis de fosfolípidos diferentemente sustituidos. Más concretamente, en este TFG, se ha optado por la preparación de un fosfolípido derivado del ácido (Z)-7-hexadecenoico y mioinositol. La primera parte del trabajo se centra en la preparación de estos fragmentos. Posteriormente se procedió a la construcción del fosfolípido siguiendo una secuencia de reacciones que empieza con la preparación del diacilglicérido y su reacción con cloro(N,N-diisopropilamido)metoxifosfina. Este intermedio permite la incorporación del derivado de mioinositol y la oxidación de éste, al fosfolípido final.

This work aims the synthesis of phospholipids differently substituted, giving special attention to a phospholipid derived from the (Z)-7-hexadecenoic acid and myo-inositol. The first part of the work was focused on the preparation of these fragments. Then, the phospholipid construction was developed according to a sequence of reactions that starts with the diglyceride preparation and its reaction with chloro(N,N-diisopropyl)methoxyphosphine. This intermediate allows the incorporation of the myo-inositol derivative and its oxidation to the final phospholipid.

3. Introducción

El planteamiento de este trabajo está englobado dentro de una investigación más amplia en la cual se pretende poder estudiar el mecanismo de actuación del ácido graso **(Z)-7-hexadecenoico** en el organismo, introducido de diferentes formas químicas.

El interés científico que despierta el ácido graso (Z)-7-hexadecenoico (16:1 n-9) surgió durante el estudio del mecanismo de defensa del organismo contra la enfermedad de la aterosclerosis. En ella, el ácido graso (Z)-7-hexadecenoico (16:1 n-9) aparece como respuesta antiinflamatoria en procesos de activación anormal de células endoteliales (inicio de la aterosclerosis).

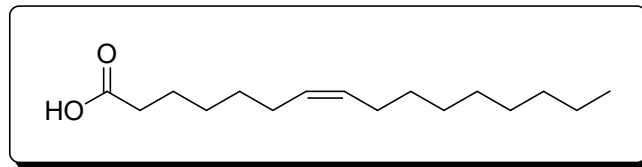


Imagen 1: Ácido graso cis-7-hexadecenoico

Cuando las células endoteliales se activan, secretan una gran cantidad de compuestos con potencial inflamatorio, entre los que destaca el ácido araquidónico. Los monocitos circundantes se ven atraídos por este ácido graso favoreciendo su infiltración en la pared del vaso sanguíneo, produciéndose una acumulación de lípidos neutros en forma de gotas lipídicas dentro de la célula. Este proceso promoverá la síntesis de nuevos ácidos grasos para combatir el proceso inflamatorio, encontrándose entre ellos el ácido (Z)-7-hexadecenoico (16:1 n-9) y no el ácido palmitoleico (16:1 n-7) como hasta ahora se pensaba (imagen 2). Debido a este hecho y a la ausencia de éste durante otros procesos inflamatorios diferentes, se espera una futura aplicación de este ácido graso como biomarcador de enfermedades ateroscleróticas.

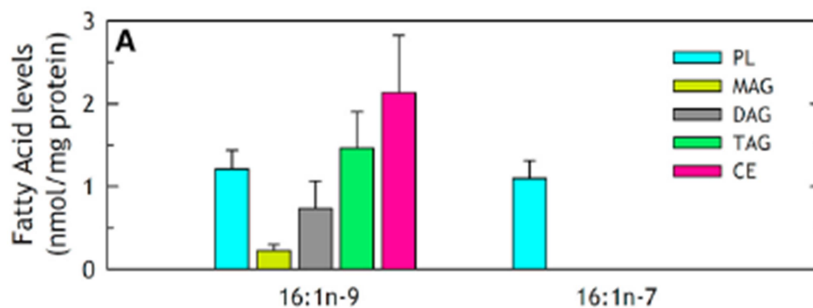


Imagen 2: En la imagen se muestra el nivel de ácido graso (nmol/mg de proteína) en las diferentes formas biológicas ante un proceso inflamatorio. El significado de las siglas es el siguiente: monoacilgliceroles (MAG), diacilgliceroles (DAG), triacilgliceroles (TAG), fosfolípidos (PL), ésteres de colesterol (CE).

No se conoce en detalle cuál es el mecanismo de actuación de este ácido graso, pero parece estar relacionado con las diferentes formas lipídicas en las que puede encontrarse en las células¹. Para poder aclararlo, en el proyecto de investigación en el que se engloba este trabajo, se propuso sintetizar diferentes lípidos que contengan este ácido graso: monoacilgliceroles, diacilgliceroles, triacilgliceroles, fosfolípidos y ésteres de colesterol, para posteriormente introducirlos en organismos vivos y estudiar su mecanismo de actuación.²

¹Guijas. C; Meana. C; Astudillo. A.M; Balboa. M.A; y Balsinde.J. *Cell Chemical Biology*. **2016**, 23, 689–699.

²Guijas. C. Tesis doctoral: Regulación de la formación de gotas lipídicas por ácido araquidónico en monocitos humanos: importancia del ácido graso 16:1 n-9. **2016**

4. Objetivos y plan de trabajo

Este trabajo se ha llevado a cabo teniendo en cuenta los siguientes objetivos:

1. Poner a punto un método para la síntesis de un derivado de mioinositol específico.
2. Sintetizar el ácido graso (Z)-7-hexadecenoico.
3. Preparar de forma regioselectiva un diacilglicérido a partir del ácido (Z)-7-hexadecenoico y el ácido palmítico.
4. Unir el diacilglicérido con el derivado de mioinositol mediante un derivado de fosfina para construir el fosfolípido de interés.

Para poder llevar a cabo los objetivos descritos, se ha desarrollado el siguiente plan de trabajo:

1. Se realizará la síntesis de un derivado de mioinositol en el cual se encuentren todos los grupos hidroxilos protegidos a excepción del que se encuentra situado en el C1.
2. Se pondrá a punto de un método para sintetizar el ácido (Z)-7-hexadecenoico a partir de 7-bromoheptanoato de etilo y nonanal.
3. Se desarrollará un método que permita la síntesis de un diacilglicérido específico, en el cual se encuentra el ácido (Z)-7-hexadecenoico en la posición sn2 y el ácido graso palmítico en la sn1.
4. Con el derivado de mioinositol y el diacilglicérido sintetizados y mediante un derivado de fosfina para su posterior oxidación, se llevará a cabo la síntesis del fosfolípido final.

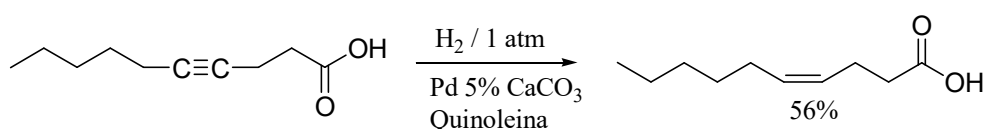
5. Antecedentes bibliográficos

5.1 Síntesis del ácido graso (Z)-7-hexadecenoico:

La síntesis de ácidos grasos con estereoquímica (Z) ha sido abordada empleando diferentes estrategias; de éstas las más relevantes se pueden agrupar en dos metodologías:

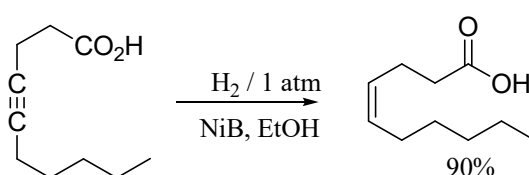
5.1.1 Hidrogenación de alquinos:

El grupo del profesor Kai³, obtienen el ácido (Z)-4-decenoico por hidrogenación del ácido 4-decinoico en presencia de paladio al 5% sobre carbonato de calcio (catalizador de Lindlar) (esquema 1).



Esquema 1: Hidrogenación de alquinos

Esta misma estrategia ha sido empleada en la síntesis del Leukotrieno B₄, donde la estereoquímica del doble enlace en las posiciones 6 y 14 se controla por hidrogenación en presencia de boruro de níquel⁴ (esquema 2).



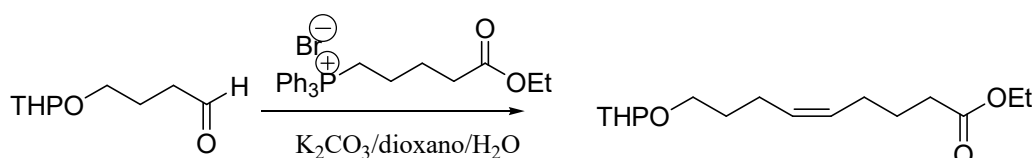
Esquema 2: Hidrogenación de alquinos

³ Kai, K.; Kasamatsu, K. and Hayashi, H. *Tetrahedron Lett.* **2012**, 53, 5441-5444.

⁴ Djuric, S.W.; Miyashiro, J.M.; Penning, T.D.; Keith, R.H.; Villani-Price, D. and Tsai, B-S. *Biorganic & Medicinal Chemistry Letters.* **1991**, 1, 179-182

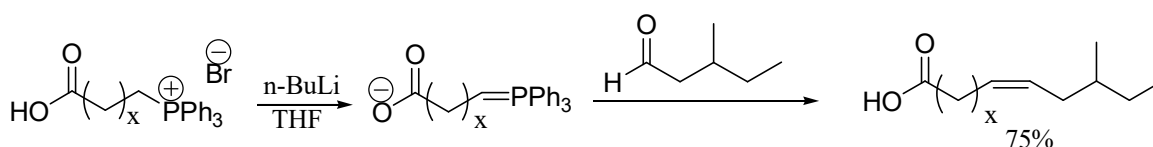
5.1.2 Reacción de Wittig:

La utilización de iluros de fósforo no estabilizados constituye un buen procedimiento en la obtención de (Z)-alquenos⁵. Matikainen⁶ y colaboradores han conseguido de forma satisfactoria la preparación de 9-(tetrahidropiran-2-iloxi)-(5Z)-nonanoato de etilo por reacción de la sal de fosfonio derivada de 5-bromopentanoato de etilo y el aldehído correspondiente (esquema 3).



Esquema 3: Reacción de Wittig.

La (Z)-selectividad se encuentra también cuando se utilizan aldehídos más ramificados⁷ como es el caso de la síntesis del ácido 12-metiltetradecenoico y 14-metilhexadecenoico, que son ácidos grasos presentes en diversos alimentos como la leche de cabra o la mantequilla. Este grupo de ácidos grasos ramificados se han preparado por ejemplo por reacción de 3-metilpentanal y un iluro de fosfonio generado con n-BuLi como base (esquema 4).



Esquema 4: Reacción de Wittig con aldehidos ramificados.

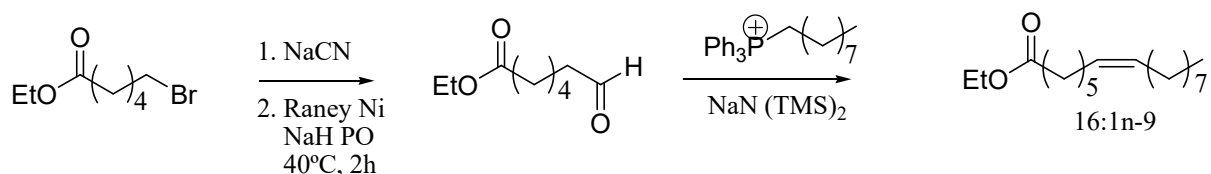
La obtención del ácido (Z)-7-hexadecenoico (16:1 n-9) se encuentra descrita en la bibliografía⁸ recientemente, si bien el procedimiento es algo laborioso. Los autores parten de 6-bromohexanoato de etilo, que una vez transformado en el 7-oxoheptanoato de etilo, se hace reaccionar con el iluro de fósforo para obtener el ácido graso monoinsaturado (esquema 5).

⁵ Maryanoff, B.E.; Reitz, A.B. *Chem. Rev.* **1989**, 89, 863-927.

⁶ Kaltia, S.; Matikainen, J.; Ala-Peijari, M. and Hase, T. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **2008**, 85, 561-565.

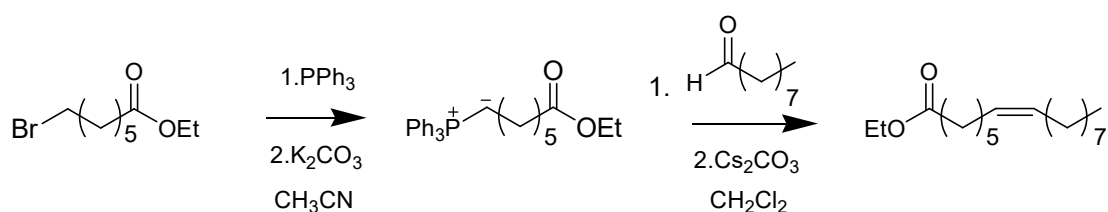
⁷ Thurnhofer, S.; Vetter, W. *Tetrahedron.* **2007**, 63, 1140-1145.

⁸ Mostyn, S.N.; Carland, J.E.; Shimmon, S.; Ryan, R.M.; Rawling, T. and Vandenberg R.J. *ACS Chem. Neurosci.* **2017**.



Esquema 5: Síntesis del (Z)-7-hexadecenoico.

La síntesis del ácido (Z)-7-hexadecenoico ha sido abordada y resuelta con gran éxito por nuestro grupo de investigación⁹ mediante una reacción tipo Wittig entre el bromuro de (7-etoxi-7-oxoheptil)trifenilfosfonio y nonanal. La calefacción a reflujo con DCM en presencia de carbonato de cesio proporciona la (Z)-olefina con un excelente rendimiento (esquema 6).



Esquema 6: Reacción de Wittig para la formación de (Z)-7-hexadecenoico

5.2 Síntesis de diacilglicéridos:

La reacción de una molécula de glicerol con un ácido graso es espontánea a temperaturas próximas y superiores a 110°C y la esterificación se produciría en todos los grupos hidroxilo del glicerol¹⁰.

La síntesis de diglicéridos ha sido estudiada en profundidad por diferentes grupos de investigación¹¹. El problema principal que debe resolverse es la diferente regioselectividad entre los grupos hidroxilo presentes en el glicerol.

⁹ Resultados sin publicar.

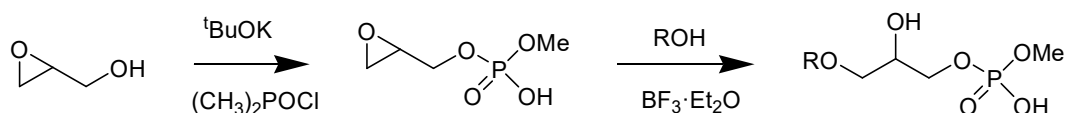
¹⁰ Hartman, L. J. *Chem. Soc.* **1959**, 4134.

¹¹ *Bull. Korean Chem. Soc.* **2003**, Vol. 24, No. 8

A continuación se exponen diferentes estrategias posibles para solventar este problema:

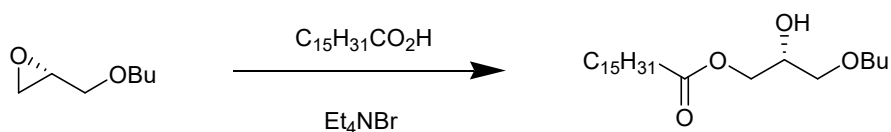
5.2.1 Apertura de epóxidos:

La fosforilación de glicidol y posterior apertura en medio ácido permite diferenciar los grupos hidroxilo entre las posiciones 1 y 2. Como ejemplo, Prestwich y colaboradores¹² hacen reaccionar (2R)-glicidol con cloruro de dimetilfosfonio en presencia de *tert*-butóxido potásico para dar el 1-fosfato derivado, y que permita la apertura nucleófila catalizada por ácidos de Lewis usando hexadecanol y $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (esquema 7).



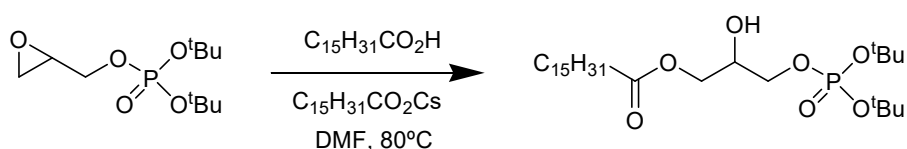
Esquema 7: Apertura de epóxidos mediante fosforilación

La apertura del epóxido con ácidos grasos¹³ también es posible en presencia de bromuro de tetraetilamonio, donde el grupo ácido se incorpora en la posición 1 (esquema 8).



Esquema 8: Apertura de epóxidos con ácidos grasos

El empleo de medio básico¹⁴ también permite la apertura nucleofílica del epóxido de forma regioselectiva (esquema 9).



Esquema 9: Apertura de epóxidos en medio básico

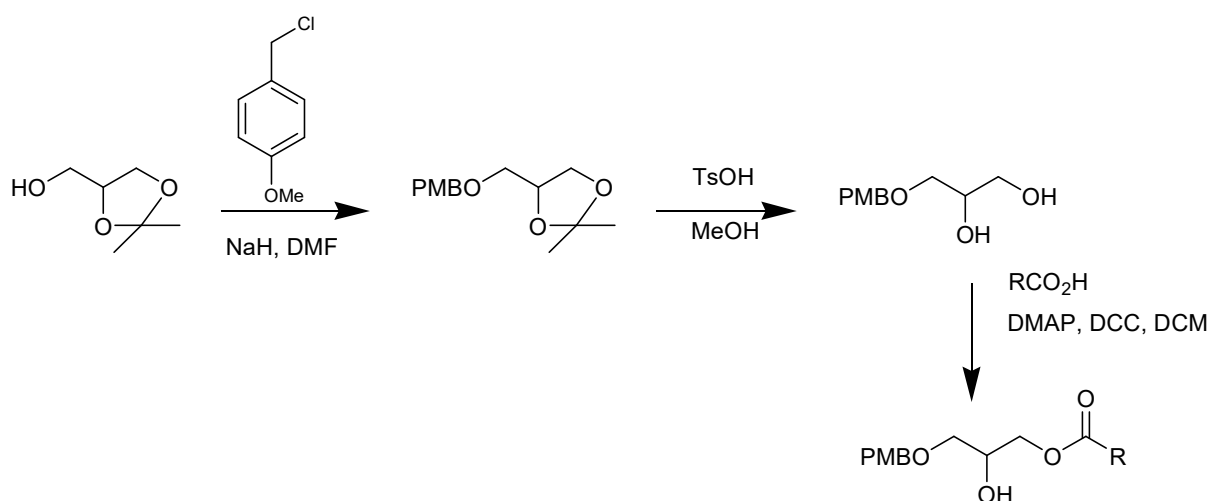
¹² Xu, Y.; Tanak, M.; Arai, H.; Aoki, J. y Prestwich, G.D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, 14,5323

¹³ Dyer, B.S.; Jones, J.D.; Ainge, G.D.; Denis, M.; Larsen, D.S. y Painter, G.F. *J. Org. Chem.* **2007**, 72,3282

¹⁴ Arrigo, P.D.; Servi, S. *Molecules*, **2010**, 15,1354

5.2.2. Apertura de 1,2-O-isopropiliden glicerol:

Esta metodología¹⁵ requiere una protección previa del grupo hidroxilo libre como éter 4-metoxibencilo, para posteriormente eliminar el grupo isopropiliden en condiciones ácidas. (esquema10). De esta forma, existe una buena regioselectividad entre el grupo hidroxilo primario frente al secundario, por lo que se puede, en principio, introducir cualquier ácido graso empleando DCC.



Esquema 10: Apertura de 1,2-O-isopropiliden glicerol

5.3 Síntesis del D-2,3,4,5,6-pentakis-O-(metoximetil)mioinositol:

Desde hace tiempo se conoce que los fosfatos de mioinositol desencadenan procesos biológicos muy importantes a través de vías complejas, por ejemplo, sirven de anclaje a proteínas en la membrana celular.¹⁶

Están descritos más de 20 fosfoinositoles dentro de las células^{17,18}; por lo cual, se intuye que esta forma química reside de manera natural en los organismos vivos. A partir de este hecho nace el interés en sintetizar diferentes fosfolípidos en cuya estructura aparezca el mioinositol para facilitar la introducción del ácido graso (Z)-7-hexadecenoico (16:1 n-9) en bioorganismos.

¹⁵ Lim, Z-Y.; Thuring, J.W.; Holmes, A.B.; Manifava, M. y Ktostakin, N.T. *J.Chem.Soc., PerkinTrans.1.* **2002**, 1067

¹⁶ Ferguson M. A. J.; Williams, A. F. *Ann. Rev. Biochem.* **1988**,57, 285-320.

¹⁷ Kubiak ;y Bruzik S., *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 960-968.

¹⁸ Majerus P. W.; Conolly T. M.; Bansal, V. S.; *J. Bid. Chem.* **1988**, 263, 3051-3054.

La investigación del mecanismo de actuación de los compuestos derivados del mioinositol se ha visto obstaculizada por la dificultad en la síntesis de los diferentes sustratos. Hoy en día, estos derivados de mioinositol aún no son fácilmente accesibles.

Para poder llegar a los compuestos finales, los fosfoinositoles, se necesitan muchos procesos de protección y desprotección selectiva. Esto conduce a un bajo rendimiento global de su síntesis.¹⁹

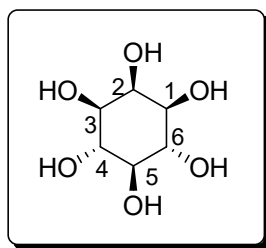
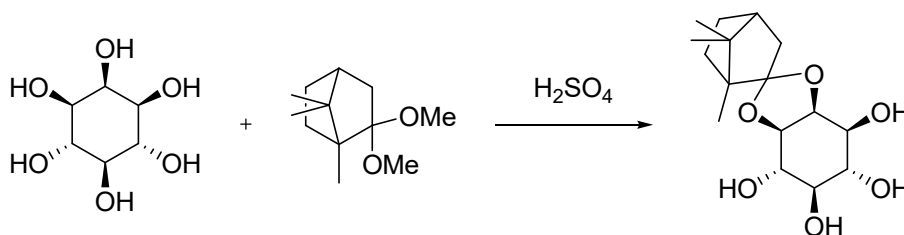


Imagen 3: Posiciones del mioinositol.

La mayoría de los posibles isómeros derivados del mioinositol se preparan a partir de un precursor común: 2,3-O-(1',7',7'-trimetil[2.2.1]bicyclohept-2'-iliden)-mioinositol. La derivatización regioselectiva de los grupos hidroxilo libres de estos intermedios puede conducir a todos los posibles derivados de mioinositol.¹⁷

Esta metodología exige en primer lugar la protección de los grupos hidroxilo en las posiciones 2 y 3 de manera regioselectiva (esquema 11).



Esquema 11: Protección de las posiciones 2 y 3 del mioinositol

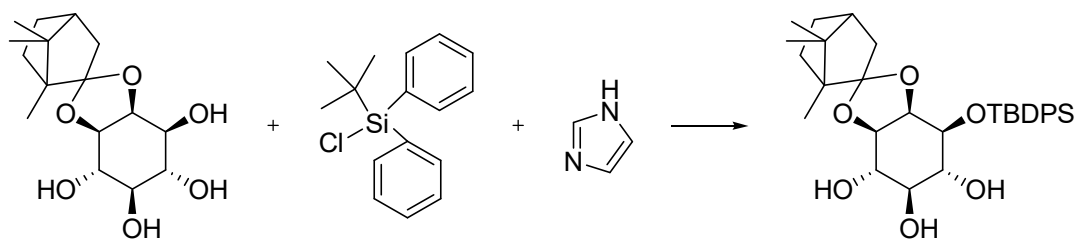
La protección del mioinositol con el dimetilcetal del alcanfor da lugar a una mezcla de productos en la cual podemos separar el de interés mediante cristalización. Debido a esto, el rendimiento con el que se obtiene el compuesto deseado es del **22%**.^{20,21}

¹⁹ Bruzik .K. S. y Tsai.M-D.. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 6361-6374.

²⁰ Bruzik, K. S.; Salamonczyk, G. M. *Carbohydr. Res.* **1989**, *195*, 67-73

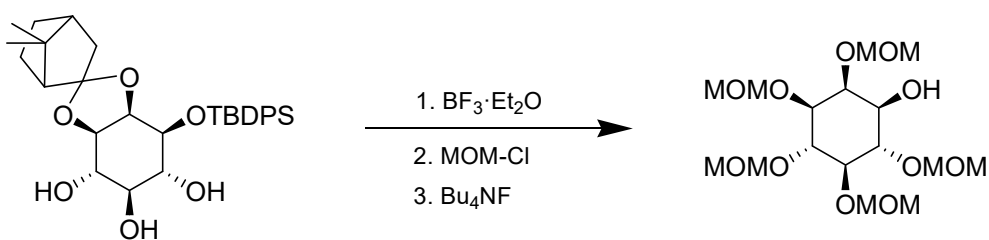
²¹ Pietrusiewicz, K. M.; Salamonczyk, G. M.; Bruzik, K. S.; Wieczorek, W. *Tetrahedron* **1992**, *48*, 5523-42.

El tetrol, permite la protección de la posición 1. La introducción de un grupo protector de manera regioselectiva en dicha posición se logró con TBDPS-Cl en presencia de imidazol a 4°C (esquema 13).



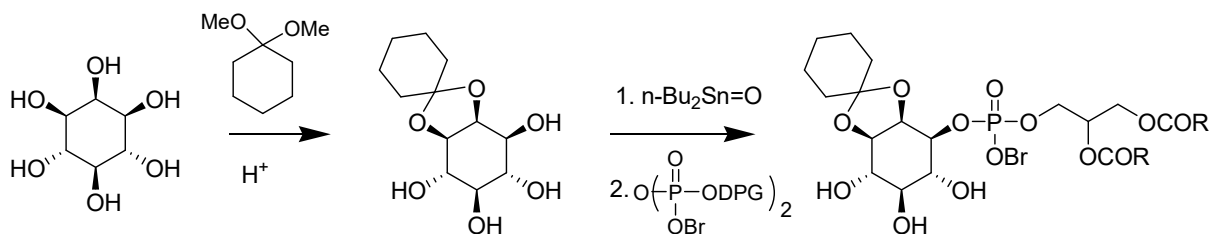
Esquema 12: Protección de la posición 1 del mioinositol

Una vez derivatizado el grupo hidroxilo del carbono 1, la eliminación del derivado de alcanfor permite la manipulación del resto de grupos hidroxilo para poder liberar el de la posición 1 y, así introducir el grupo fosfato necesario en el producto final (esquema 13).



Esquema 13

Otra metodología alternativa²² consiste en la formación de un ciclohexiliden cetal y posterior fosforilación regioselectiva (esquema14).



Esquema 14: Alternativa para la introducción de un grupo fosfato en la posición 1 de un derivado de mioinositol.

²² Watanabe, Y.; Kiyosawa, Y.; Hyodo, S.; Hayashi, M. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46,281

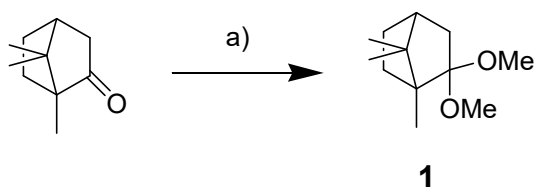
6. Resultados y discusión

6.1 Síntesis del D-2,3,4,5,6-pentakis-O-(metoximetil)miinositol (6):

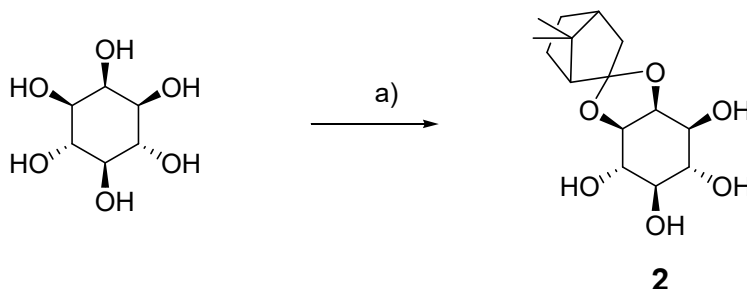
La síntesis de este derivado de miinositol implica la protección regioselectiva de todos los grupos hidroxilo excepto el de la posición 1.

Lo primero que hemos realizado es la protección de las posiciones 2 y 3 del miinositol (esquema 15). La reacción de miinositol con el dimetilcetal derivado de alcanfor **1** catalizado por ácido sulfúrico conduce a una mezcla compleja de isómeros posicionales y estereoisómeros de mono y bis miinositol cetales. Afortunadamente, el isómero deseado **2** se puede separar de la masa de reacción mediante cristalización. Esto es debido a que el dimetilcetal derivado de alcanfor aporta quiralidad a la molécula, obteniendo una mezcla de diastereoisómeros, pudiendo de esta manera separarlos¹⁸. Dado que se obtiene una mezcla de productos en diferentes proporciones, el rendimiento **no supera el 20%**.

El grupo protector quiral, aunque es un producto comercial, es sintetizado fácilmente, por ello optamos por su preparación en nuestro laboratorio mediante la reacción de D-alcanfor con ortoformiato de metilo y catálisis ácida, con excelente rendimiento (**80%**) (esquema 15).



Esquema 15: a) Ortoformiato de metilo, H_2SO_4 , MeOH



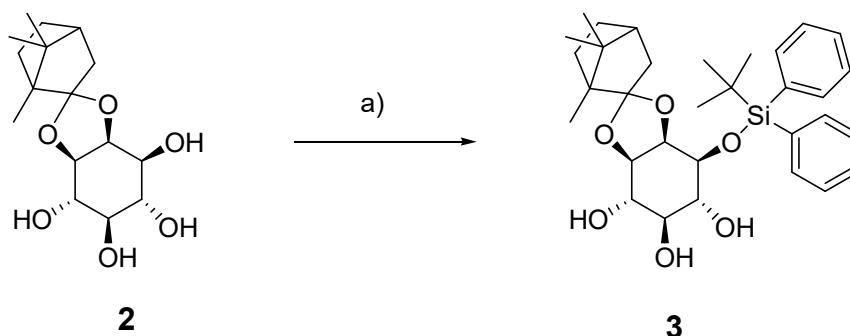
Esquema 16: a) **1**, H_2SO_4 , DMSO anh. (80°C)

Las etapas de separación del acetal **2** se llevaron a cabo mediante dos cristalizaciones, la primera en metanol con un 0.1% de trietilamina, y la segunda con metanol/agua (1:1).

Esta etapa limita considerablemente el rendimiento final de la síntesis, por lo que es necesario partir de varios gramos para obtener cantidad suficiente de producto final.^{23,24,25}

El tratamiento de **2** con TBDPS-Cl conduce de forma regioselectiva a la derivatización del grupo hidroxilo de la posición 1 como sililderivado¹⁸ (esquema 17) con un buen rendimiento. Es importante destacar el que compuesto **2** tiene que estar completamente anhidro, ya que si no el rendimiento del proceso desciende notablemente. Por este motivo fue necesario someter el compuesto **2** a periodos de calefacción a presión reducida superiores a 24h.

Cuando esta reacción se lleva a cabo a 0°C se observa un aumento en la regioselectividad y por tanto en el rendimiento del proceso.



Esquema 17: a) imidazol, TBDPS-Cl en piridina. (0°C)

La asignación de las señales en el espectro de ¹H-RMN del compuesto **3** se completó por comparación con los datos bibliográficos¹⁸ ya que, debido a la pérdida de la conformación silla del mioinositol, el espectro se complica.

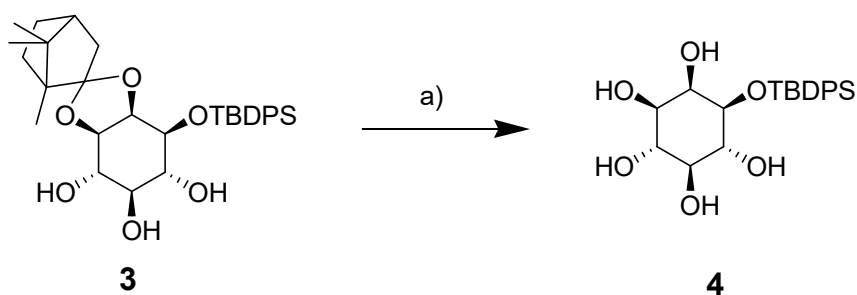
Dado que el objetivo final de la síntesis es derivatizar los grupos hidroxilo de las posiciones 2, 3, 4, 5 y 6 de la misma forma, para en una etapa posterior poder eliminarlos, se opta por la eliminación del grupo derivado de alcanfor. Los primeros intentos de hidrólisis en medio ácido conducen a mezclas complejas y a isomerizaciones del derivado de mioinositol, por lo que, se decidió cambiar la estrategia del proceso.

La eliminación de este grupo transcurre de forma satisfactoria mediante la reacción de **3** con trifluoruro de boro eterato en presencia de mercaptoetanol¹⁸ (esquema 18).

²³ Garegg, P. J.; Lindberg, B.; Kvarnstrom, I.; Svensson, S. C. T. *Carbohydr. Res.* **1985**, 139, 209-215.

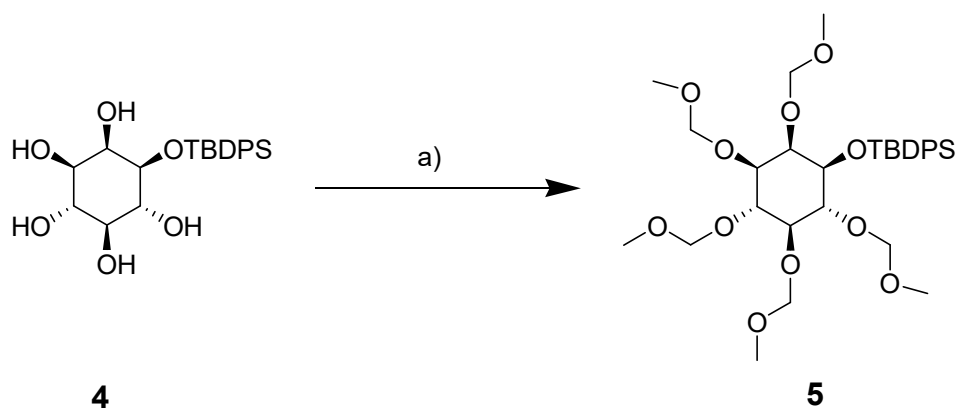
²⁴ Garegg, P. J.; Iversen, T.; Johansson, R.; Lindberg, B. *Carbohydr. Res.* **1984**, 1 30, 322-326.

²⁵ Garegg, P. J.; Lindberg, B.; Kvarnstrom, I.; Svensson, S. C. T. *Carbohydr. Res.* **1988**



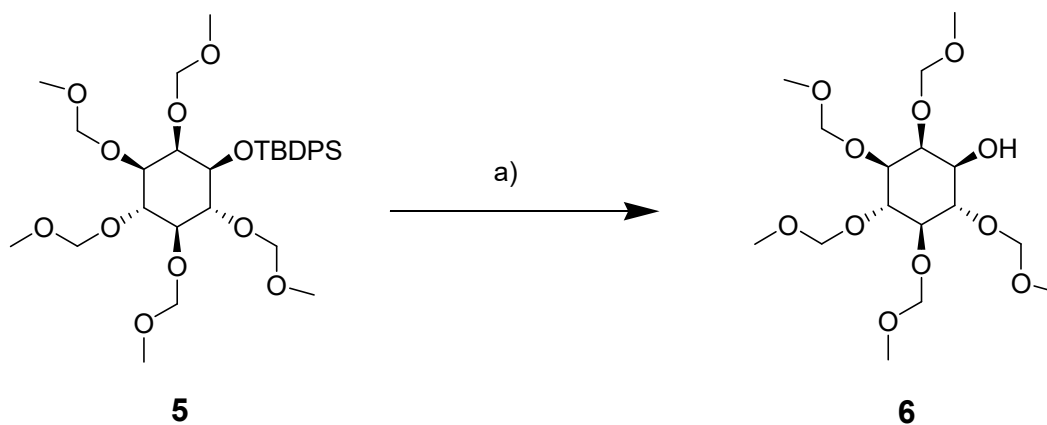
Esquema 18: a) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, mercaptoetanol, diclorometano.

El grupo protector elegido para derivatizar **4** fue el MOM-Cl, ya que permite su eliminación fácilmente en condiciones anhidras. Esto es importante debido a que son las condiciones en las cuales se producirá la eliminación de este grupo protector dentro del fosfolípido, ya que si se hiciera en medio acuoso, podría conducir a productos de hidrólisis no deseados. Así, el tratamiento del pentol **4** con MOM-Cl¹⁶ en presencia de DIPEA como base, conduce a **5** con un buen rendimiento (esquema 19).



Esquema 19 : a) DMF, DIPEA, MOM-Cl (65°C)

Por último, la reacción de **5** con una disolución de fluoruro de tetrabutilamonio en THF permite aislar el derivado de mioinositol **6**¹⁶ (esquema 20).

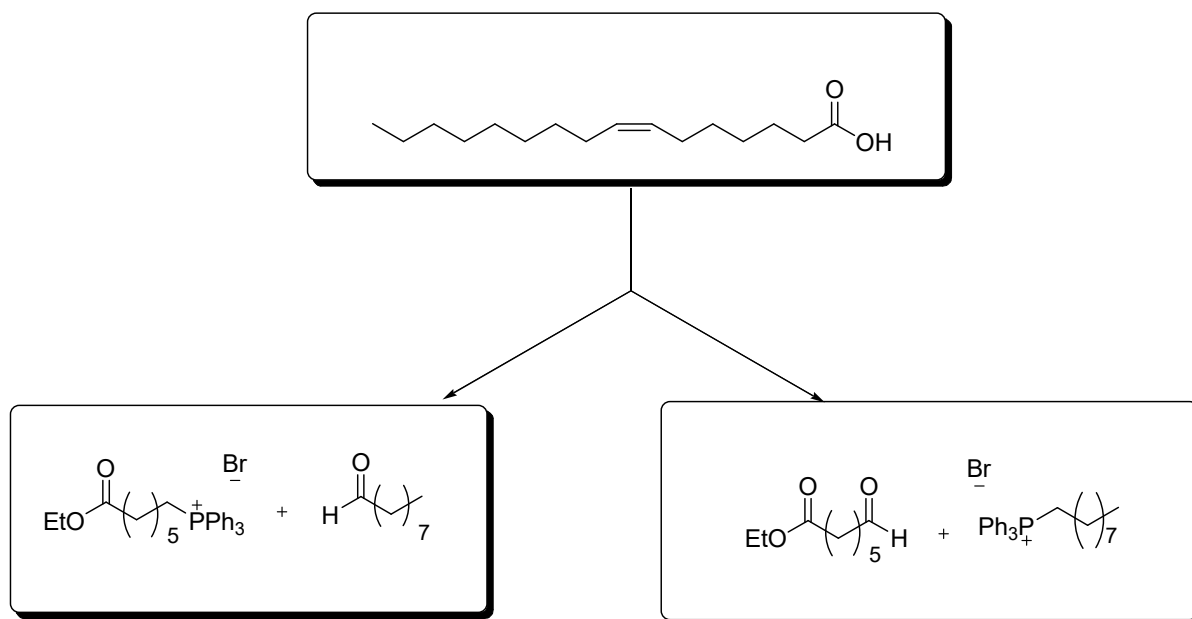


Esquema 20 : a) Bu_4NF , THF.

6.2 Síntesis del ácido graso (Z)-7-hexadecenoico (9):

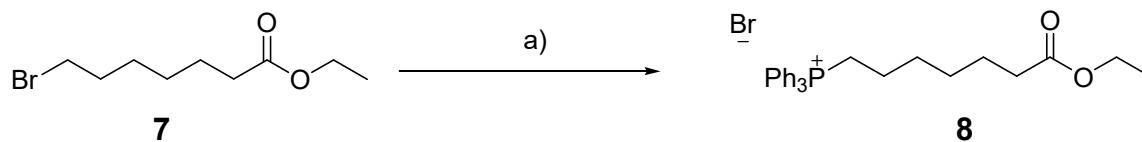
La síntesis del ácido graso (Z)-7-hexadecenoico ha sido abordada y resuelta por nuestro grupo de investigación de manera exitosa.

De las dos posibles vías que nos ofrece en análisis retrosintético (esquema 21) para realizar la reacción de Wittig se optó por la síntesis propuesta, ya que implica partir del 7-bromoheptanoato de etilo y nonanal que son productos comerciales.



Esquema 21: Posibles rutas de síntesis

La sal de Wittig se preparó por calefacción del 7-bromoheptanoato de etilo **7** y trifenilfosfina en acetonitrilo (esquema 22). Es clave es la utilización de trifenilfosfina anhidra, ya que si no el rendimiento desciende notablemente.

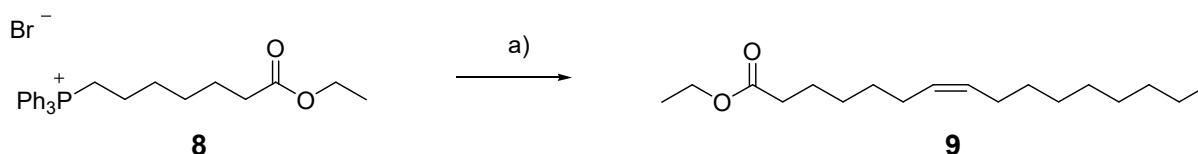


Esquema 22: g) PPh_3 , K_2CO_3 , acetonitrilo. (reflujo)

La purificación de esta sal mediante cristalización no proporcionó buenos resultados, por lo que fue necesario realizar una cromatografía en columna, de esta forma, se obtuvo la sal **8** con un excelente rendimiento (**94%**).

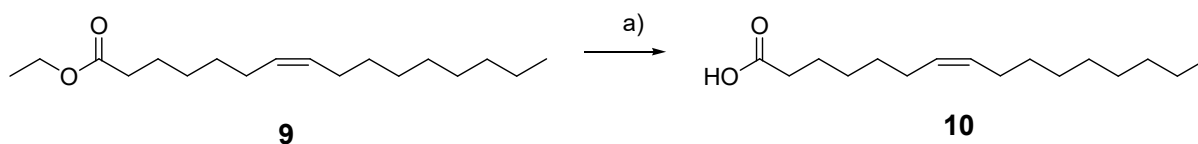
El análisis de los espectros de $^1\text{H-RMN}$ del compuesto **8** ha permitido observar la presencia de una mezcla de los ésteres etílico y metílico. Esto se debe a que se produce una transesterificación durante la cromatografía en comuna promovida por la sílica-gel utilizada como fase estacionaria y el metanol presente en la fase móvil.

La calefacción de la sal de Wittig **8** y nonanal en presencia de carbonato de cesio conduce al (Z)-alqueno con un rendimiento superior al 80% (esquema 23). El uso de carbonato de cesio como base permite simplificar la reacción, ya que evita el empleo de amiduros de litio o bases fuertes y medios anhidros. Una vez completada la reacción, la eliminación de las fracciones insolubles por filtración, permite aislar el éster monoinsaturado **9**.



Esquema 23: a) nonanal, Cs_2CO_3 , diclorometano. (60°C)

El proceso de saponificación del éster **9** se realizó utilizando como base hidróxido de litio en una mezcla metanol/agua. La transformación es cuantitativa obteniéndose el ácido monoinsaturado **10** con un rendimiento del **74%** tras su purificación.

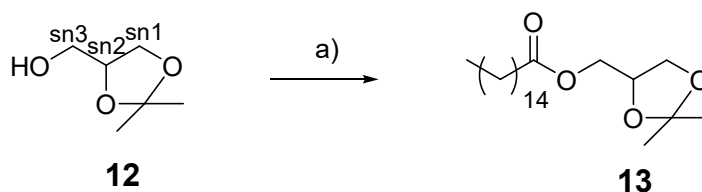


Esquema 24: a) LiOH, metanol/agua.

6.3 Síntesis del diacilglicérido (14):

La diferenciación regioselectiva de los grupos hidroxilo presentes en el glicerol es un problema que se encuentra en la síntesis de diacilglicéridos. Como se ha expuesto en los antecedentes bibliográficos, se puede resolver siguiendo diferentes estrategias²⁶. En nuestro caso, hemos abordado el problema utilizando como producto de partida un 1,2-O-isopropiliden, más comúnmente conocido como soketal²⁷.

La reacción de soketal **12** con ácido graso palmítico (16:0) conduce de manera selectiva la introducción de éste en la posición sn3, compuesto **13** (esquema 25). La reacción de esterificación en presencia de DCC permite mantener el grupo isopropiliden sin hidrolizar.



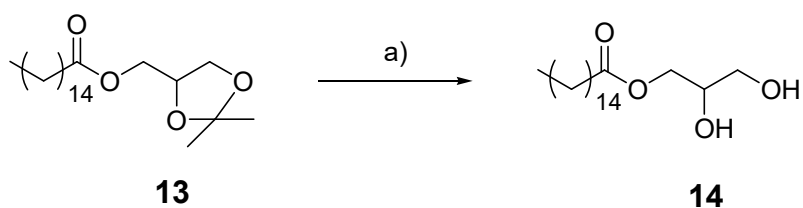
Esquema 25: a) (16:0), DMAP, DCC, diclorometano

Una vez esté formado el éster **13**, el siguiente paso es la hidrólisis del cetal para liberar los grupos hidroxilo de las posiciones 1 y 2. El tratamiento de **13** con Amberist 15 (resina ácida)²⁸ permite aislar el compuesto **14** con buenos rendimientos (esquema 26).

²⁶ Hartman, L. J. *Chem. Soc.* **1959**, 4134.

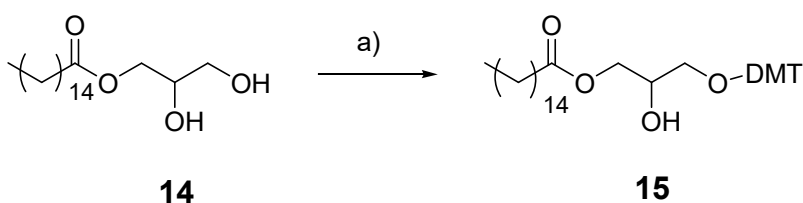
²⁷ Pecnic, S.; Knez, Z. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1992**, 69, 261.

²⁸ Pouilloux, Y.; Métayer, S.; Barrault, J. *Surface Chemistry and Catalysis* **2000**, 3, 589.



Esquema 26: a) Amberist15, etanol (reflujo).

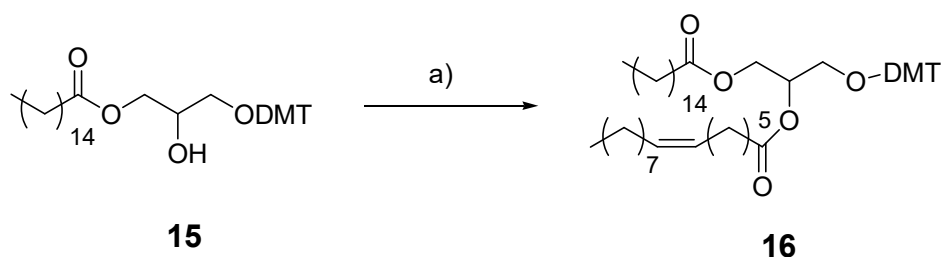
En este punto, la diferenciación regioselectiva de ambos grupos hidroxilo fue posible por reacción con DMT-Cl; especie que debido a su elevado volumen, es capaz de diferenciar ambos grupos y por tanto, reaccionar solamente en la posición sn1 (esquema 27).



Esquema 27: a) DMT-Cl, piridina.

La reacción transcurre en un corto periodo de tiempo, debido a la reactividad del DMT-Cl. El rendimiento en esta etapa es bastante alto, en torno al **75%**.

La incorporación del segundo grupo acilo, ahora es posible por reacción con el ácido (Z)-7-hexadecenoico en presencia de DCC y DMAP (esquema 28).



Esquema 28: a) 16:1 n-9, DMAP, DCC, diclorometano.

La síntesis del diacilglicérido se completa con la liberación del grupo hidroxilo de la posición sn1 (**17**) mediante el tratamiento con TFA y pirrol (esquema 28).



Esquema 29: a) TFA, pirrol, diclorometano.

En cada una de estas etapas se ha realizado un proceso de purificación mediante cromatografía en columna.

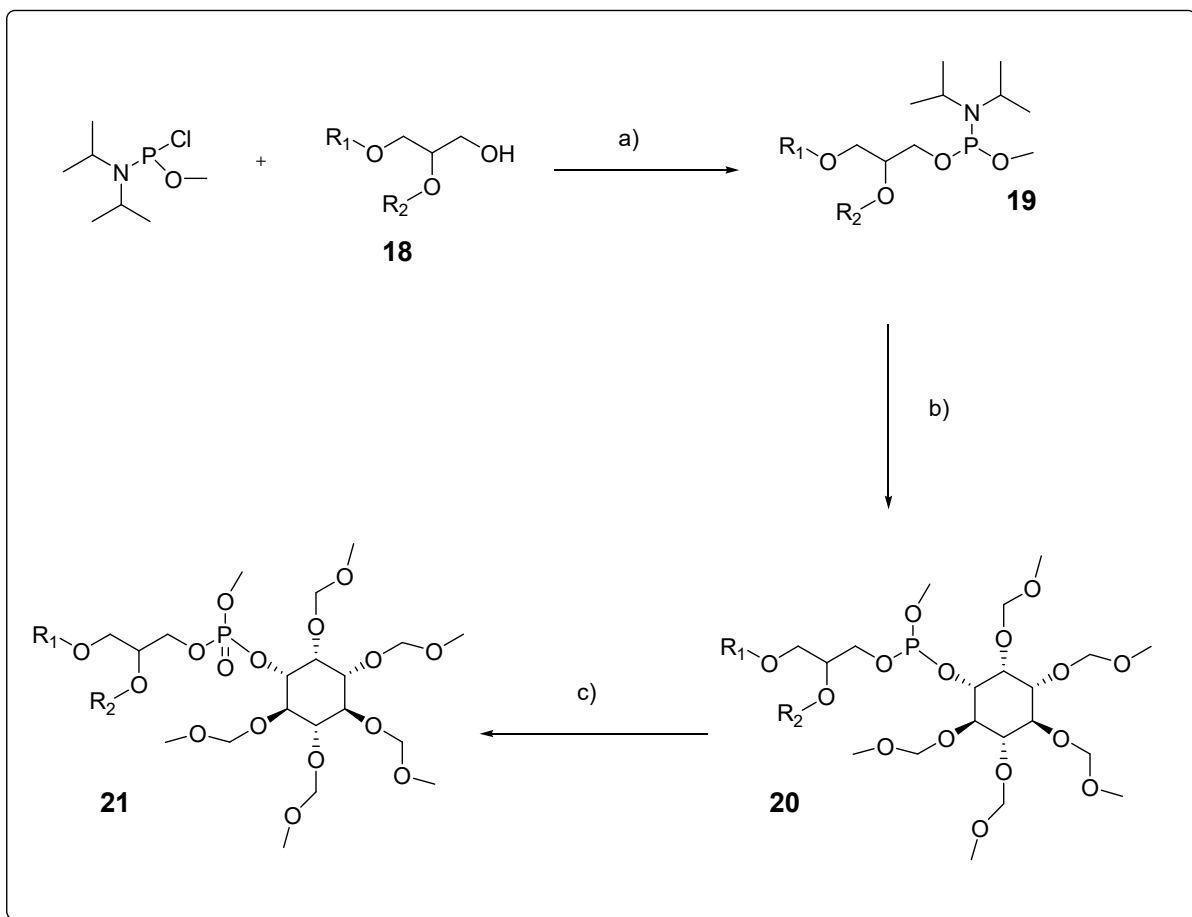
6.4 Síntesis del fosfolípido (21):

La unión de los fragmentos necesarios para obtener el fosfolípido final se puede realizar mediante dos metodologías diferentes.

En la primera, se realizó la adición de la fosfina al derivado de mioinositol, y posteriormente se adicionó el diacilglicérido, pero esta reacción no dio buenos resultados³, por lo que se intercambió el orden de adición de los reactivos²⁹.

En esta segunda, se realiza la adición de la fosfina sobre el diacilglicérido. El intermedio **19** puede ser aislado y analizado fácilmente. La posterior adición del derivado de mioinositol completa la formación del precursor del fosfolípido final, ya que es necesaria una oxidación con metacloroperbenzoico para transformar la fosfina en el fosfato final (esquema 30).

²⁹Samson, J.N.; Nieuwenhuis, E.; Bernardus, J.J.; Patente **2013**. DOI: wo 2013/081452



Esquema 30: a) DIPEA, diclorometano (-20°C); b) **6**, tetrazol, THF/CH₃CN (0°C); c) m-CPBA (-40°C)

Esta última etapa aún sigue en proceso de optimización, ya que si bien el proceso de oxidación de la fosfina transcurre correctamente, se produce a la vez la oxidación del alqueno presente en el ácido graso monoinsaturado (imagen 5).

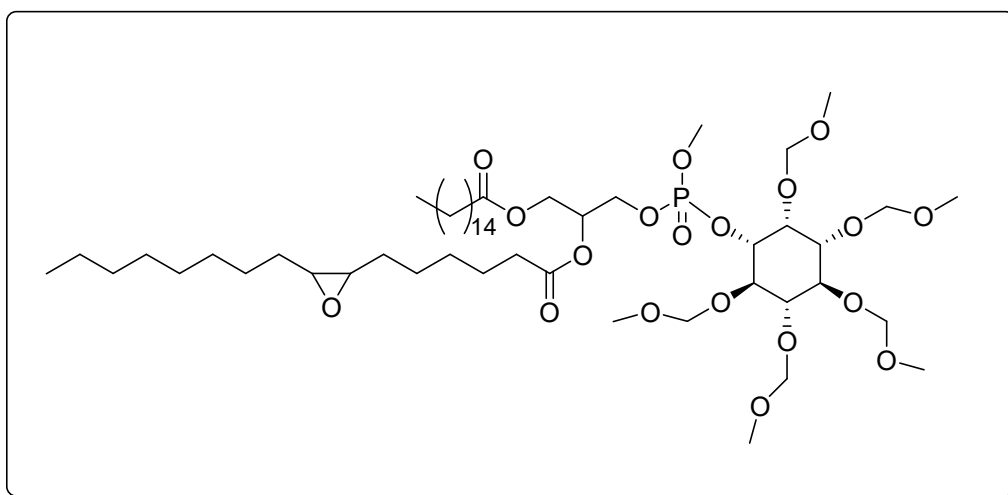


Imagen 5: Compuesto encontrado después de la oxidación.

7. Conclusiones

- 1.- Se ha sintetizado el ácido graso (Z)-7-hexadecenoico y se ha unido a un diacilglicerol, de manera regioselectiva con buenos rendimientos.
- 2.- Se ha optimizado la síntesis de un derivado de mioinositol en 5 etapas.
- 3.- Se ha descrito una metodología que permite la síntesis de fosfolípidos.

8. Materiales y métodos

Los reactivos utilizados durante esta síntesis están comprados en ACROS ORGANICS y en Aldrich. Los disolventes anhidros se secaron mediante el uso de tamices moleculares introduciéndolos en el disolvente y generando una atmosfera inerte en el mismo con N₂.

Los análisis TLC se llevaron a cabo en placas de sílica gel L x W 5cm x 20cm con indicador fluorescente 254nm utilizando diversos eluyentes.

Los espectros de RMN se adquirieron en un instrumento RMN 400 de Agilent Technologies con consola MR 400 de Agilent y sonda One NMR (1H, 400,123 MHz; 13C, 100.611 MHz). Los desplazamientos químicos se expresan como partes por millón utilizando tetrametilsilano como estándar interno.

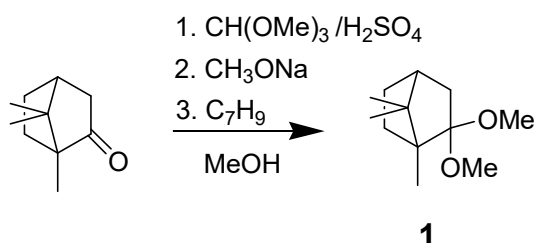
Dichos espectros fueron obtenidos en el Laboratorio de técnicas experimentales de Valladolid. Los valores de J están en Hz. También se obtuvieron espectros bidimensionales, HSQC, referidos al acoplamiento que existe entre los átomos de carbono y los hidrógenos en la molécula.

Los espectros de masas de alta resolución se obtuvieron en el Espectrómetro de masas de tiempo de vuelo (MS-TOF) Bruker Maxis Impact del laboratorio de técnicas experimentales de Valladolid. Fuentes de ionización: electrospray (ESI).

Los Espectros de IR se han registrado en un aparato Perkin-Elmer FT-IR System, Spectrum BX.

A continuación se detallan los procedimientos experimentales utilizados en este trabajo:

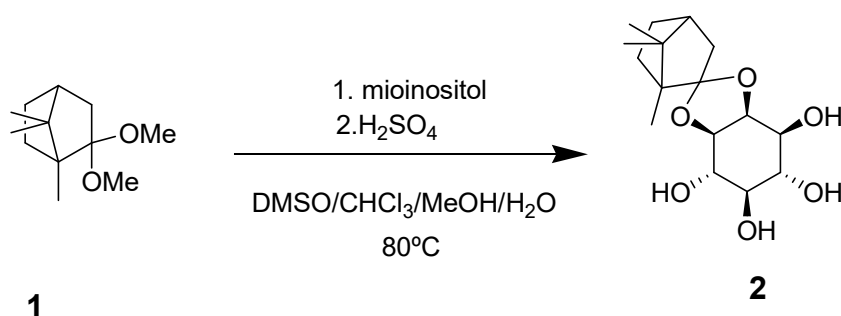
- Síntesis de 1,7,7-trimetil-2,2-dimetoxi[2.2.1]bicycloheptano (**1**)²⁹:



Sobre una disolución de D-Camphor (40.00 g, 0.26 mol) en metanol (40.00 mL) se añade ortoformiato de metilo (213.33 mL, 206.93 g, 1.95 mol) y ácido sulfúrico (1.20 mL). Se deja en agitación a temperatura ambiente durante 72h. Posteriormente, se añade una disolución de metóxido sódico en metanol (3.30 mL) y se elimina el disolvente a presión reducida en el rotavapor. El residuo resultante se disuelve en tolueno anhidro (37.30 mL), posteriormente se filtra para eliminar el posible residuo sin disolver y se concentra a vacío. Se destila en un horno de bolas a 165-175 °C y alto vacío y se obtiene un líquido denso incoloro (41.11 g, 0.21 mol, **80%**)

¹H NMR (400MHz, CDCl₃): δ (ppm), 3.19 (s, 3H), 3.12 (s, 3H), 2.15 (m, 1H), 1.69 (m, 2H), 1.62 (t, *J* = 4.5 Hz, 1H), 1.32 (m, 1H), 1.20 (m, 1H), 1.12 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 0.93 (s, 3H), 0.87 (s, 3H), 0.79 (s, 3H).

- Síntesis de 2,3-O-(1',7',7'-trimetil(2.2.1)bicyclohept-2'-iliden)-mioinositol (**2**)³⁰:



Sobre una disolución del reactivo **1** (41.11 g, 0.21 mol) en DMSO anhidro (180.34 mL) se añade el mioinositol (15.75 g, 0.09 mol) y el ácido sulfúrico (0.92 mL). Se deja en agitación durante 3 horas a 80°C. Se añade trietilamina (5.95 mL), se deja en agitación durante 5 minutos y se elimina el disolvente a presión reducida. Posteriormente se añade DMSO hasta que el peso total de la disolución sea de 76.65 g, además de: cloroformo (266.15 mL),

³⁰ Lindberg, J. *Tetrahedron* 58, **2002**, 1387-1398

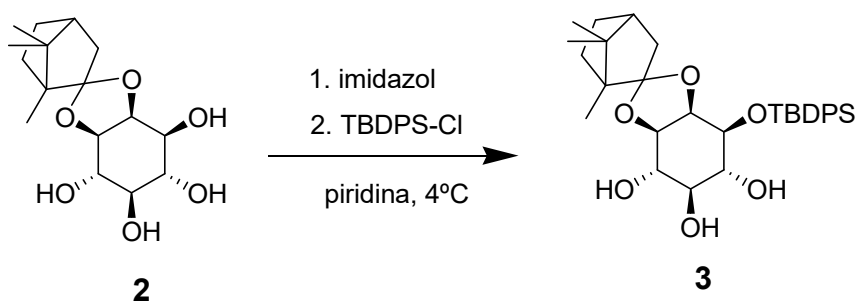
metanol (16.71 mL), agua destilada (5.34 mL) y ácido *p*-toluensulfónico monohidratado (0.06 g) y se deja en agitación a temperatura ambiente 12 horas. Se observa la aparición de un precipitado en suspensión. Se añade de nuevo trietilamina (2.00 mL) y se filtra, lavando el precipitado 3 veces con cloroformo. El precipitado se seca a vacío y se recristaliza dos veces, la primera en una disolución de metanol (0.1% trietilamina) y la segunda vez con una mezcla agua/metanol (0.1% trietilamina) (1:1). El sólido encontrado es de color blanco (7.04 g, 0.02 mol, **23%**).

¹H NMR (400MHz, MeOH-d): δ (ppm), 4.26 (t, *J* = 4.7 Hz, 1H), 3.75 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H), 3.67 (dd, *J* = 14.1, 5.24 Hz, 1H), 3.46 (m, 2H), 3.29 (m, 6H), 3.11 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H), 2.03 (m, 2H), 1.70 (m, 2H), 1.48 (d, *J* = 13.1 Hz, 1H), 1.02 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.84 (s, 3H).

HRMS *m/z* calc. para C₁₆H₂₆O₆([M+H]⁺): 314.1811

IR, ν (cm⁻¹), 3357.80 (OH)

- Síntesis del 1-*O*-(*tert*-Butyldipbenzilsilil)-2,3-*O*-(1',7',7'-trimethyl[2.2.1]bicyclohept-2'-iliden)-mioinositol (**3**)¹⁸:



Sobre una disolución formada por el tetrol **2** (1.88 g, 5.43 mmol) y el imidazol (0.53 g, 7.79 mmol) en piridina (19.00 mL) a 4°C se añade el TBDPS-Cl (1.43 mL, 5.47 mmol) y se deja en agitación durante 36 horas. Se realiza un seguimiento de la reacción en TLC cuyo eluyente es CHCl₃/MeOH (15:1) dando un R_f = 0.42. Se elimina el disolvente al rotavapor, y el precipitado resultante se cromatografía en una columna con silica gel utilizando como eluyente una mezcla CHCl₃/MeOH (30:1). Se elimina el disolvente a presión reducida y se observa un precipitado blanco de aspecto espumoso. (2.15 g, 3.67 mmol, **68%**)

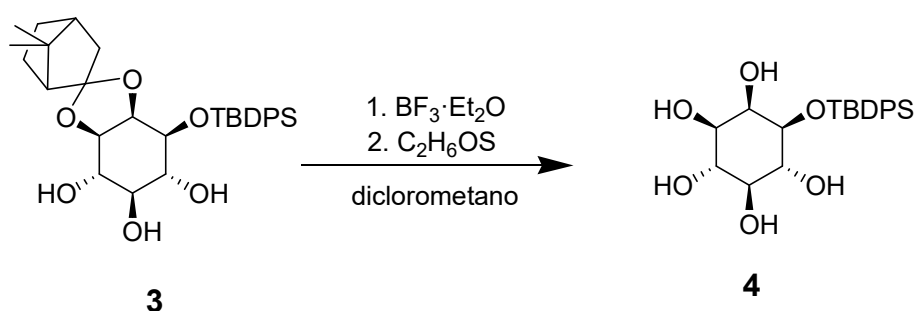
¹H NMR (400MHz, CDCl₃): δ (ppm), 7.7 (m, 4H), 7.5-7.3 (m, 6H), 3.87 (m, 1H), 3.78 (m, 2H), 3.56 (m, 1H), 3.49 (m, 1H), 3.10 (tr, 1H), 1.93 (m, 1H), 1.67 (m, 3H), 1.29 (m, 3H), 1.08 (s, 9H), 1.04 (s, 3H), 0.85 (s, 3H), 0.82 (s, 3H)

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3): δ (ppm), 135.99, 135.84, 133.43, 133.33, 129.96, 129.92, 127.80, 127.71, 118.07, 77.33, 77.01, 76.70, 76.31, 76.13, 75.73, 72.95, 72.60, 51.53, 47.98, 45.16, 44.97, 29.70, 29.54, 26.99, 26.88, 20.54, 19.30, 9.94.

HRMS m/z calc. para $\text{C}_{32}\text{H}_{44}\text{SiO}_6$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 552.2980

IR, ν (cm^{-1}), 3388.31 (OH), 3072.70 (C=C-H), 2188.50, 2163.74, 2139.62, 2103.41, 2050.96, 1981.02 (armónicos).

- Síntesis del 1-O-(*tert*-Butyldiphenylsilyl)-myo-inositol (**4**)¹⁸:



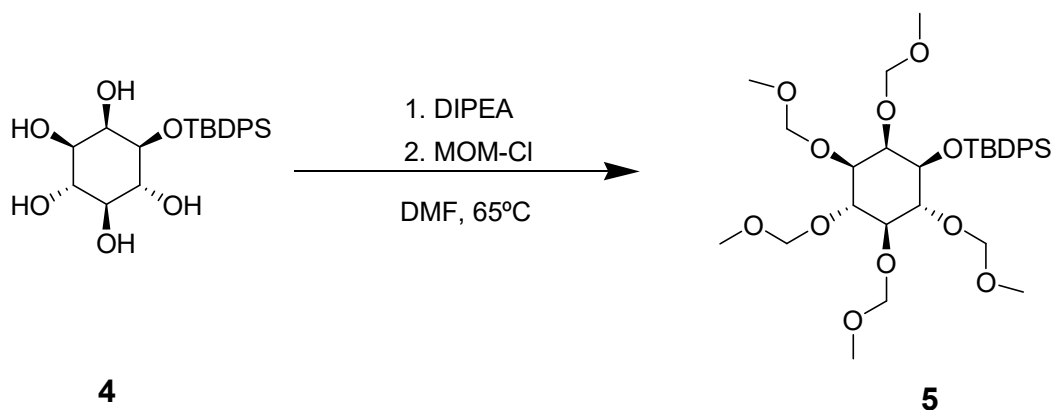
Sobre una disolución del triol **3** (1.21 g, 2.07 mmol) en diclorometano (2.50 mL) se añade $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (0.36 mL) y se deja en agitación durante 15 minutos. Se añade el tiol (1.81 mL) y se deja en agitación a temperatura ambiente durante 6 horas. Se comprueba por TLC en $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (4:1) que la reacción ha concluido viendo una mancha a un $R_f = 0.5$. El residuo se cromatografía en columna con sílica gel en una mezcla $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (10:1). Se elimina el disolvente y se observa un precipitado blanco con aspecto espumoso. (0.58 g, 1.37 mmol, **80%**)

^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6): δ (ppm), 7.7 (m, 4H), 7.35 (m, 6H), 4.56 (m, 2H), 4.40 (m, 3H), 3.6 (m, 1H), 3.48 (d, 1H), 3.38 (dd, $J = 11.9, 6.9$ Hz, 1H), 3.33 (dd, $J = 13.4, 5.0$ Hz, 1H), 2.77 (m, 2H), 0.98 (s, 9H).

HRMS m/z calc. para $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{SiO}_6$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 418.1704

IR, ν (cm^{-1}), 3347.83 (OH), 3074.83 (C=C-H), 2187.42, 2164.49, 2139.44, 2112.37, 2077.47, 2050.90, 1980.67, 1952.48 (armónicos)

- Síntesis del 2,3,4,5,6-pentakis-O-(metoximetil)ciclohexiloxil(tert-butildifenilsilil) (**5**)¹⁶:



Sobre una disolución del pentol **4** (0.30 g, 0.69 mmol) en DMF (1.30 mL) se añade DIPEA (1.00 mL, 5.78 mmol) y, posteriormente, el MOM-Cl (0.35 mL, 4.62 mmol). La disolución resultante se lleva a 65°C y se deja en agitación durante 24 horas. Se realiza un seguimiento de la reacción mediante TLC en heptano/acetona (3:1) donde, podremos observar el producto **5** con un $R_f = 0.36$. Se realiza una cromatografía en columna con sílica gel utilizando como eluyente una mezcla heptano/acetona (8:1). Se elimina el disolvente a presión reducida y se observa un líquido denso incoloro. (0.27 g, 0.42 mmol, **61%**).

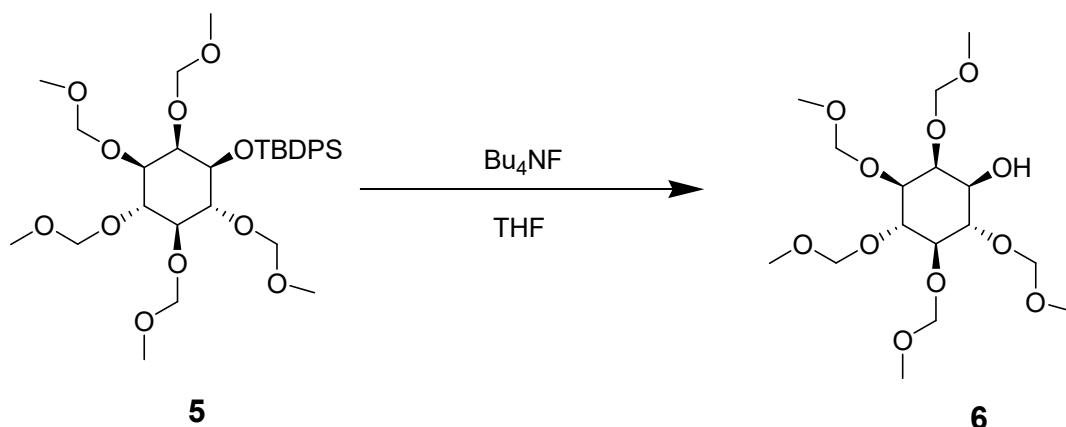
¹H NMR (400MHz, CDCl₃): δ (ppm), 7.72 (m, 4H), 7.39 (m, 6H), 4.99 (dd, $J = 35.7, 22.4$ Hz, 2H), 4.85 (dd, $J = 15.2, 4.6$ Hz, 2H), 4.78 (dd, $J = 14.2, 4.5$ Hz, 2H), 4.51 (dd, $J = 34.0, 22.2$ Hz, 2H), 4.28 (dd, $J = 95.8, 81.7$ Hz, 3H), 4.01 (t, $J = 9.6$ Hz, 1H), 3.80 (m, 2H), 3.47 (d, $J = 5.9$ Hz, 5H), 3.38 (m, 4H), 3.24 (s, 2H), 3.19 (s, 1H), 3.10 (s, 3H), 1.08 (s, 9H)

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ (ppm), 136.04, 135.83, 134.14, 132.85, 130.03, 129.74, 127.90, 127.43, 99.14, 98.77, 98.45, 97.23, 95.12, 79.35, 78.95, 77.72, 77.34, 77.03, 76.70, 75.55, 75.29, 74.21, 56.70, 56.59, 56.35, 55.52, 55.31, 27.70, 19.11.

HRMS m/z calc. para C₃₂H₅₀SiO₁₁ ([M+H]⁺): 638.3018

IR, ν (cm⁻¹), 3050.25 (C=C-H)

- Síntesis del 2,3,4,5,6-pentakis-O-(metoximetil)ciclohexanol (**6**)¹⁶:



Sobre una disolución del reactivo **5** (0.28 g, 0.44 mmol) en THF (1.30 mL), se añade una disolución de Bu₄NF en THF 1M (0.44 mL). Se deja 12 h en agitación a temperatura ambiente. Se realiza un seguimiento de la reacción por TLC en heptano/acetona (3:1) dando el compuesto **6** un R_f = 0.23. El producto se cromatografía en una columna con sílica gel, utilizando como eluyente una mezcla heptano/acetona (3:1). Se elimina el disolvente a presión reducida y se observa un aceite incoloro (0.13 g, 0.31 mmol, **73%**).

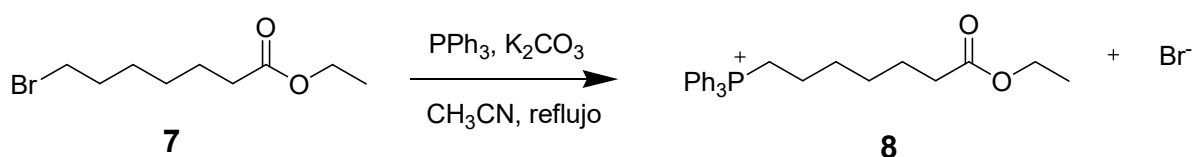
¹H NMR (400MHz, CDCl₃): δ (ppm), 4.86-4.68 (m, 10H), 4.06 (m, 1H), 3.97 (m, 1H), 3.90 (t, J = 10.4 Hz, 1H), 3.64 (t, J = 9.6 Hz, 1H), 3.51-3.33 (m, 17H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ (ppm), 98.65, 98.38, 97.89, 96.13, 83.04, 79.55, 77.74, 77.30, 77.16, 76.66, 76.33, 70.91, 56.30, 56.24, 56.03, 55.65.

HRMS m/z calc. para C₁₆H₃₁O₁₁ ([M+H]⁺): 400.1837

IR, ν (cm⁻¹), 3424.05 (OH)

- Síntesis del bromuro de (7-etoxi-7-oxoheptil)trifenilfosfonio (**8**):



Sobre una disolución del 7- bromoheptanoato de etilo **7** (5.00 mL, 22.28 mmol) en CH₃CN anhidro (90.00 mL) se añade PPh₃ (14.61 g, 55.70 mmol), y K₂CO₃ (10% en peso, 2.07 g). La disolución se deja en agitación y a reflujo durante 12 horas. Se realiza un seguimiento de la reacción por TLC utilizando como eluyente CH₂Cl₂/MeOH (20:1) y siendo el R_f= 0.10. Se elimina el disolvente a presión reducida y sobre el residuo se hacen 3 lavados con heptano para eliminar la PPh₃ en exceso. Se cromatografía en una columna con sílica gel utilizando como eluyente una mezcla de CH₂Cl₂/MeOH (20:1). El disolvente se elimina en el rotavapor, dando como resultado una grasa marrón **8** (10.34 g, 20.71 mmol, **93%**).

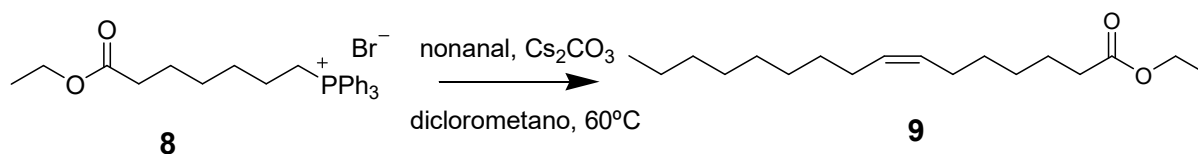
¹H NMR (400MHz, CDCl₃): δ (ppm), 7.7-7.51 (m, 15H), 3.93 (dd, *J* = 21.49, 6.81 Hz, 2H), 3.56 (m, 2H), 2.28 (s, 1H), 2.11 (m, 2H), 1.51 (m, 4H), 1.4 (m, 2H), 1.19 (m, 2H), 1.07 (t, *J* = 7.79 Hz, 1H). En el espectro se tiene mezcla del éster metílico y etílico, por ello, las integrales no son muy precisas.

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃)δ (ppm), 173.84, 173.30, 135.05, 133.53, 133.44, 130.51, 130.38, 118.59, 117.59, 77.62, 77.22, 77.05, 60.10, 51.41, 51.38, 33.97, 33.58, 29.88, 29.71, 28.36, 24.27, 22.80, 22.16, 14.12.

HRMS m/z calc. para C₂₇H₃₁O₂P([M+H]⁺): 418.2142

IR, ν (cm⁻¹), 3054.99 (C=C-H), 1727.95 (C=O)

- *Síntesis del (Z)-7-hexadecenoato (9):*



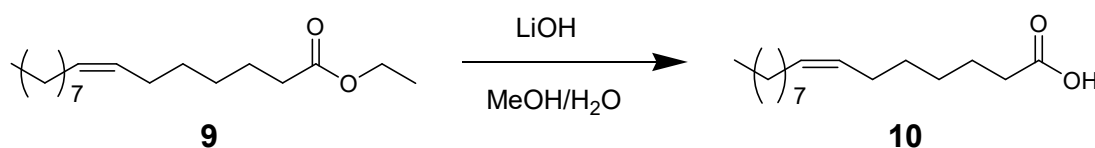
Sobre una disolución de la sal de Wittig **8** (2.00 g, 4.00 mmol) en CH_2Cl_2 (50.00 mL) se añade el aldehído (nonanal) (0.69 mL, 4.00 mmol). La disolución resultante se lleva a atmosfera de N_2 y se añade Cs_2CO_3 (5.21 g, 16.00 mmol). Se deja en agitación a 60°C durante 24 horas. Se realiza un seguimiento en TLC utilizando como eluyente una mezcla de AcOEt/Heptano (1:10) dando un $R_f=0.23$. Se añade celita (1.00 g) y se agita durante 15 minutos. Dejamos que la disolución se enfríe y lo filtramos lavándolo con CH_2Cl_2 . Se elimina el disolvente al rotavapor y sólido resultante se cromatografía en una columna con silica gel utilizando como eluyente una mezcla CH_2Cl_2 /heptano (1:1). El disolvente se elimina a presión reducida y se observa un líquido viscoso incoloro **9**. (0.78 g, 2.77 mmol, **78%**).

$^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ (ppm), 5.28 (m, 2H), 4.10-3.87 (m, 2H), 2.30-2.20 (m, 2H), 1.96 (m, 4H), 1.57 (m, 3H), 1.21 (m, 17H), 0.82 (t, $J = 6.8$ Hz, 4H).

HRMS m/z calc. para $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 282.2451

IR, ν (cm^{-1}), 3059.26 (C=C-H), 1730.15 (C=O).

- *Síntesis del ácido (Z)-7-hexadecenoico:*



Se prepara una disolución del éster **9** (2.48 g, 8.77 mmol) en MeOH (80.00 mL). Por otra parte, se prepara una disolución del hidróxido de litio (3.46 g, 0.14 mol) en H_2O destilada (90.00 mL). Ambas disoluciones se juntan en un mismo matraz y se deja durante 24 horas a temperatura ambiente en agitación. Se elimina la fase orgánica en el rotavapor. La fase acuosa se somete a una extracción líquido líquido realizada con (3x75.00 mL) de éter. Posteriormente, a la fase acuosa se la va añadiendo HCl hasta encontrar un PH proximo a 1 y

se extrae de nuevo con (3x75.00 mL) de éter. La fase orgánica se concentra quedando como resultado un líquido viscoso totalmente incoloro **10** (2.11 g, 8.28 mmol, **94.5%**).

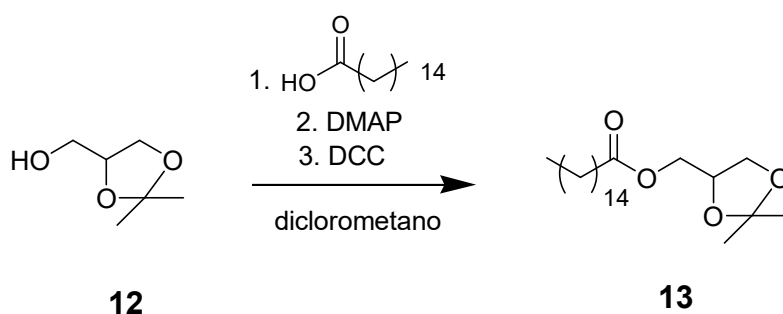
¹H NMR (400MHz, CDCl₃): δ (ppm), 5.33 (m, 2H), 2.33 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 2.00 (m, 4H), 1.62 (m, 2H), 1.39-1.20 (m, 17H), 0.87 (t, *J* = 7.7 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃)δ (ppm), 180.86, 130.30, 129.37, 77.07, 34.06, 31.93, 29.76, 29.54, 29.25, 28.67, 27.21, 26.92, 24.53, 22.64, 14.07.

HRMS m/z calc. para C₁₆H₃₀O₂ ([M+H]⁺): 254.2145

IR, ν (cm⁻¹), 3005.40 (C=C-H), 1780.21 (C=O).

- *Síntesis del compuesto 13¹¹*:

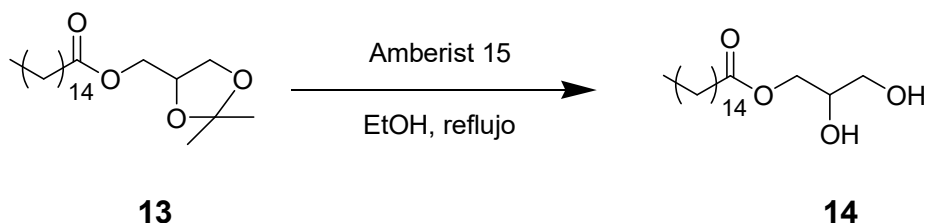


Sobre una disolución formada por soketal **12** (14.15 mL, 0.11 mol), el ácido graso palmítico (29.10 g, 0.11 mol) y DMAP (3.76 g, 30.65 mmol) en CH₂Cl₂ (250.00 mL), a 0°C, se añade una disolución de DCC (28.35 g, 0.14 mol) en CH₂Cl₂ (50.00 mL). Se deja en agitación durante 24 horas a temperatura ambiente. Se realiza un seguimiento de la reacción mediante TLC utilizando como eluyente una mezcla acetato de etilo/heptano (1:3) saliendo el compuesto **13** con un R_f = 0.5. El precipitado se filtra y de la disolución resultante se elimina el disolvente a presión reducida. Se realiza por último una cromatografía en columna con sílica gel utilizando como eluyente una mezcla acetato de etilo/heptano (1:3). Se elimina el disolvente en el rotavapor y se observa un precipitado blanco (9.03 g, 24.36 mmol, **70%**).

¹H NMR (400MHz, CDCl₃): δ (ppm), 4.29 (m, 1H), 4.14 (m, 1H), 4.07 (m, 2H), 3.73 (m, 1H), 2.32 (t, *J* = 10.0 Hz, 2H), 1.61 (m, 2H), 1.41 (s, 3H), 1.35 (s, 3H), 1.24 (s, 21H), 0.86 (t, *J* = 7.8 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ (ppm), 173.51, 109.62, 77.31, 76.97, 76.65, 73.66, 66.29, 64.50, 34.09, 31.86, 29.66, 29.40, 29.33, 29.21, 29.09, 26.67, 25.36, 24.88, 22.66, 14.13.

- Síntesis del compuesto **14**¹¹:



Sobre una disolución del compuesto **13** (9.03 g, 24.36 mmol) en EtOH (40.00 mL) se añade la resina Amberist 15 (10% en peso) y se lleva a reflujo durante 3 horas. La disolución resultante se filtra, se concentra en el rotavapor y observamos que aparece un precipitado blanco (7.70 g, 0.21 mol, **96%**).

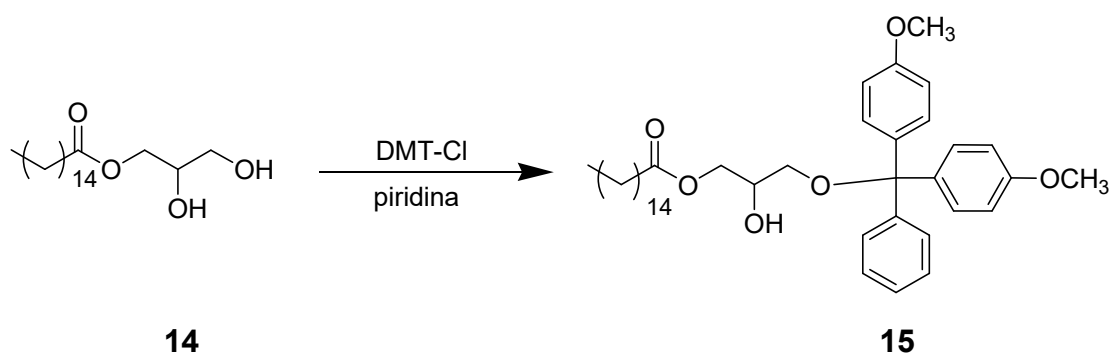
¹H NMR (400MHz, CDCl₃): δ (ppm), 4.17 (m, 2H), 3.91 (m, 1H), 3.63 (m, 2H), 2.33 (t, *J*=7.21Hz, 2H), 1.61 (m, 2H), 1.23 (s, 21H), 0.86 (t, *J*=6.59Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃)δ (ppm), 174.36, 77.27, 76.96, 76.68, 70.23, 65.13, 63.31, 34.10, 31.88, 29.67-29.55 (5C), 29.41, 29.32, 29.21, 29.09, 24.86, 22.64, 14.07.

HRMS m/z calc. para C₁₉H₃₈O₄ ([M+H]⁺):,330.2668

IR, ν (cm⁻¹), 3289.07 (O-H), 1729.25 (C=O)

- Síntesis del compuesto **15**¹¹:



Sobre una disolución del diol **14** (3.00 g, 8.91 mmol) y de DMT-Cl (3.64 g, 0.01 mol) en piridina (66.00 mL). Se deja en agitación a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se realiza un seguimiento por TLC utilizando como eluyente heptano/acetato de etilo (6:1) saliendo el compuesto **15** con un R_f= 0.10. Se realiza una separación por cromatografía en columna con sílica gel utilizando como eluyente heptano/acetato de etilo (6:1). Se elimina el

disolvente a presión reducida en el rotavapor, apareciendo una especie de grasa de color naranja (4.21 g, 8.91 mmol, **74%**).

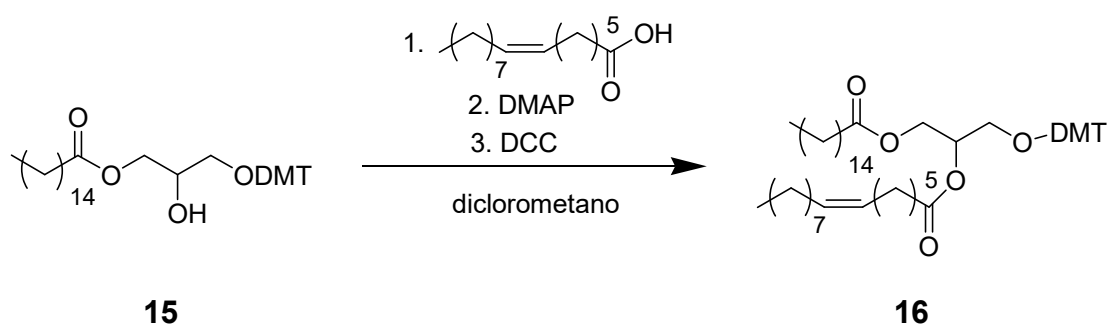
$^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ (ppm), 7.41 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.33-7.13 (m, 8H), 6.82 (d, $J = 8.6$ Hz, 4H), 4.18 (m, 2H), 3.97 (m, 1H), 3.77 (s, 6H), 3.20 (d, $J = 4.8$ Hz, 2H), 2.27 (m, 2H), 4.58 (m, 2H), 1.25 (s, 24H), 0.88 (t, $J = 8.1$ Hz, 3H)

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ (ppm), 130.03, 129.09, 128.06, 127.82, 127.01, 126.85, 113.18, 76.94, 76.59, 69.24, 65.66, 63.99, 55.12, 34.09, 31.89, 29.67-29.12 (7C), 24.86, 22.68, 14.17.

HRMS m/z calc. para $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_6$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$): 632.3962

IR, ν (cm^{-1}), 3311.06 (OH), 3059.64 (C=C-H), 2164.58, 2050.09, 1981.100, 1891.16 (armónicos), 1730.28 (C=O).

• *Síntesis del compuesto **16**¹¹:*



Sobre una disolución formada por el compuesto **15** (0.72 g, 1.14 mmol), el ácido graso 16:1 n9 (0.34 g, 1.21 mmol) y DMAP (0.04 g, 0.32 mmol) en CH_2Cl_2 (12.00 mL), a 0°C , se añade una disolución de DCC (1.70 g, 8.40 mmol) en CH_2Cl_2 (3.00 mL). Se deja 24 horas en agitación a temperatura ambiente. Se hace un seguimiento de la reacción por TLC utilizando como eluyente acetato de etilo/heptano (1:6) dando **16** un $R_f = 0.10$. Se elimina el disolvente en el rotavapor a presión reducida y se realiza una cromatografía en columna con sílica gel utilizando como eluyente una mezcla acetato de etilo/heptano (1:10). Se elimina el disolvente en el rotavapor apareciendo una grasa de color naranja (0.65 g, 0.75 mmol, **66%**).

$^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ (ppm), 7.38-7.15 (m, 9H), 6.81 (m, 4H), 5.37 (m, 2H), 4.18 (m, 2H), 3.77 (s, 7H), 3.22 (m, 2H), 2.30 (m, 4H), 2.04 (m, 4H), 1.89-1.03 (s, 40H), 0.90 (m, 6H).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ (ppm), 130.24, 130.19 (2C), 130.05 (2C), 130.00, 129.96, 129.40, 129.37, 129.14, 128.79, 128.13, 128.07, 127.83, 127.79, 127.76, 127.00, 126.86, 126.81,

113.15, 113.12, 86.23, 86.09, 85.95, 70.24, 69.27, 68.23, 68.09, 65.72, 65.08, 64.98, 64.00, 63.26, 55.19, 34.40, 34.15, 34.13, 34.08, 34.04, 32.75, 31.92, 31.91, 30.90, 30.37, 29.76, 29.70, 29.65, 29.61, 29.53-29.13 (14C), 27.23, 27.05, 26.98, 26.37, 25.50, 25.39, 25.34, 23.76, 23.01, 22.71, 14.11.

HRMS m/z calc. para $C_{56}H_{84}O_7$ ($[M+H]^+$): 868.6101

IR, ν (cm^{-1}), 3304.63 (OH), 3062.20 (C=C-H), 2189.23, 2165.10, 2145.66, 2050.28, 1981.33 (armónicos), 1733.41 (C=O).

• *Síntesis del compuesto 17¹¹*:



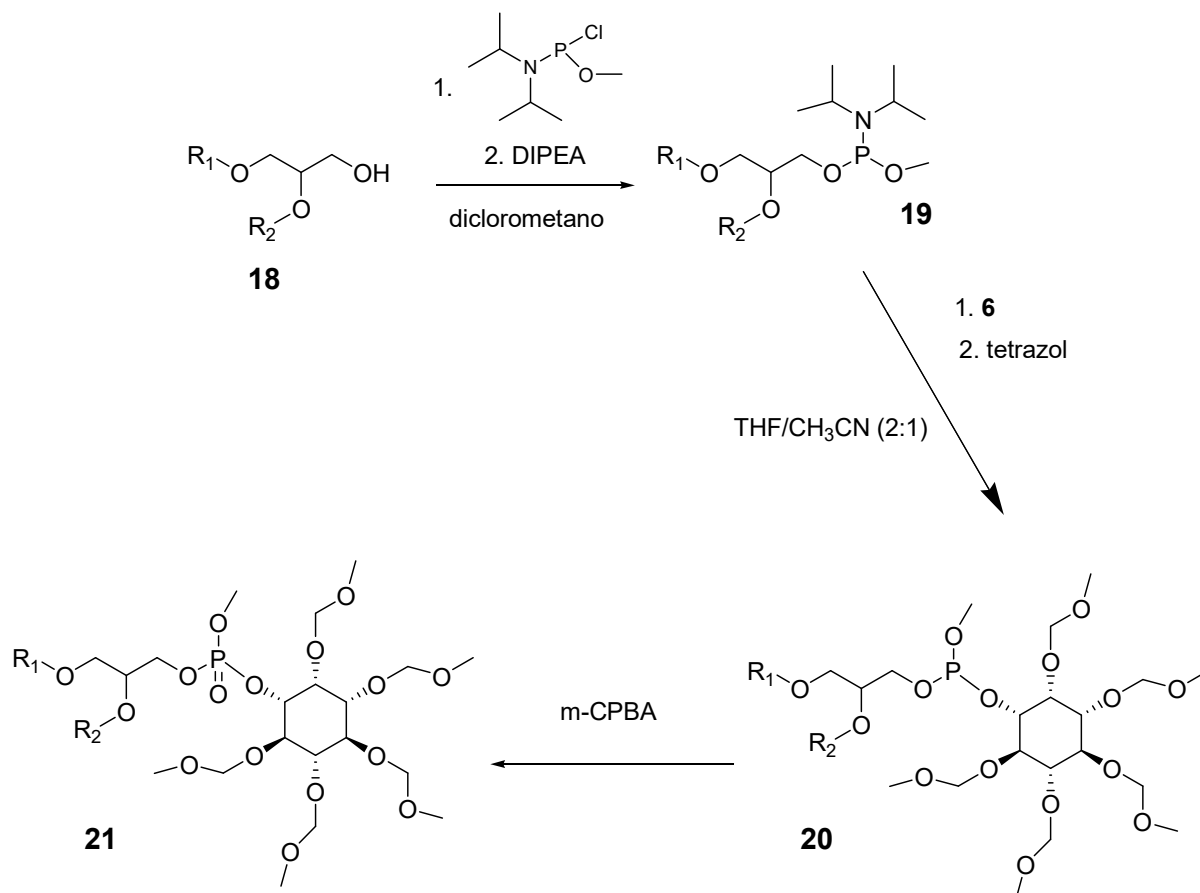
Sobre una disolución de **16** (0.40 g, 0.46 mmol) en CH_2Cl_2 (2.00 mL) se añade TFA (4 μ L) y pirrol (0.06 mL) y se deja en agitación a temperatura ambiente durante 1 hora. Se realiza un seguimiento en TLC utilizando como eluyente dietiléter/heptano (1:3) dando **17** un $R_f = 0.08$. Se elimina el disolvente en el rotavapor a baja temperatura y se realiza una cromatografía en columna con sílica gel utilizando como eluyente una mezcla dietiléter/heptano (1:6). Se elimina el disolvente en el rotavapor, apareciendo una grasa incolora (0.32 g, 0.40 mmol, **76%**).

1H NMR (400MHz, $CDCl_3$): δ (ppm), 5.32 (m, 2H), 4.26 (m, 1H), 3.71 (s, 1H), 2.31 (m, 2H), 1.99 (m, 4H), 1.58 (m, 8H), 1.24 (s, 40H), 0.86 (m, 6H).

HRMS m/z calc. para $C_{35}H_{66}O_5$ ($[M+H]^+$): 566.4798

IR, ν (cm^{-1}), 1741.52 (C=O).

- Síntesis del fosfolípido **23**²⁸:



Se disuelve el diacilglicérido **18** (0.34 g, 0.60 mmol) en CH_2Cl_2 (10.00 mL). Por otra parte, se prepara una disolución del fosfito (0.11 g, 0.60 mmol) y DIPEA (0.11 g, 0.89 mmol) en CH_2Cl_2 (10.00 mL). Sobre la disolución del diacilglicérido, se añade la del fosfito lentamente a -20°C . La disolución se deja en agitación durante 2 horas a temperatura ambiente. Se elimina el disolvente al rotavapor, apareciendo una grasa de color amarillo **19**.

Se disuelve **6** (0.14 g, 0.36 mmol) en THF (5.00 mL). Por otro lado, se hace una disolución del **19** (0.28 g, 0.36 mmol) junto con tetrazol (0.09 g, 1.08 mmol) en CH_3CN (2.80 mL). Sobre la disolución del reactivo **19**, a 0°C , se añade la otra disolución preparada. Se calienta hasta temperatura ambiente y se deja en agitación durante 1 hora, obteniéndose el reactivo **20**.

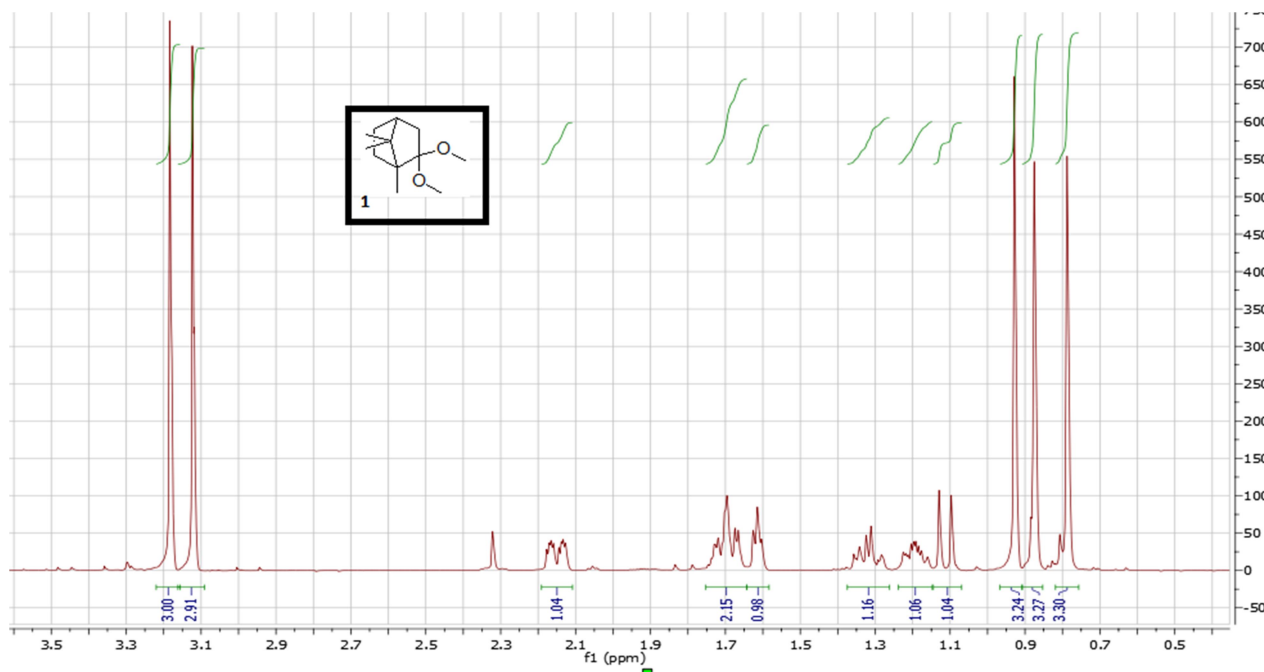
La masa de reacción se lleva a -40°C y se añade ácido meta-cloroperbenzóico (0.15 g). La disolución se calienta hasta temperatura ambiente con agitación y a los 10 minutos se elimina el disolvente y se realiza una extracción líquido-líquido, disolviendo el residuo en acetato de etilo y lavándolo con diferentes fases acuosas. La disolución se seca, se filtra y se

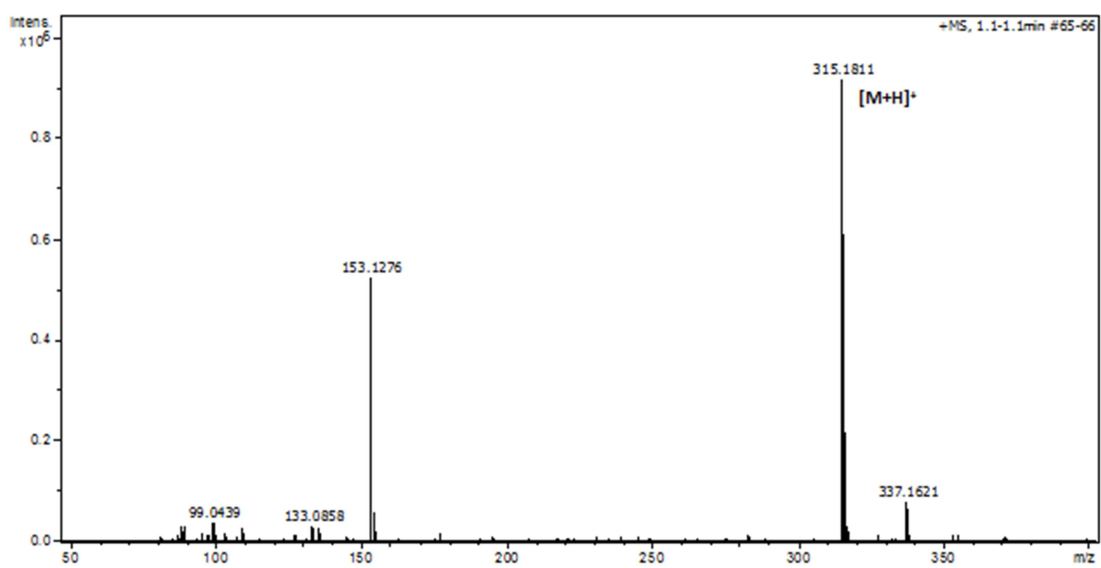
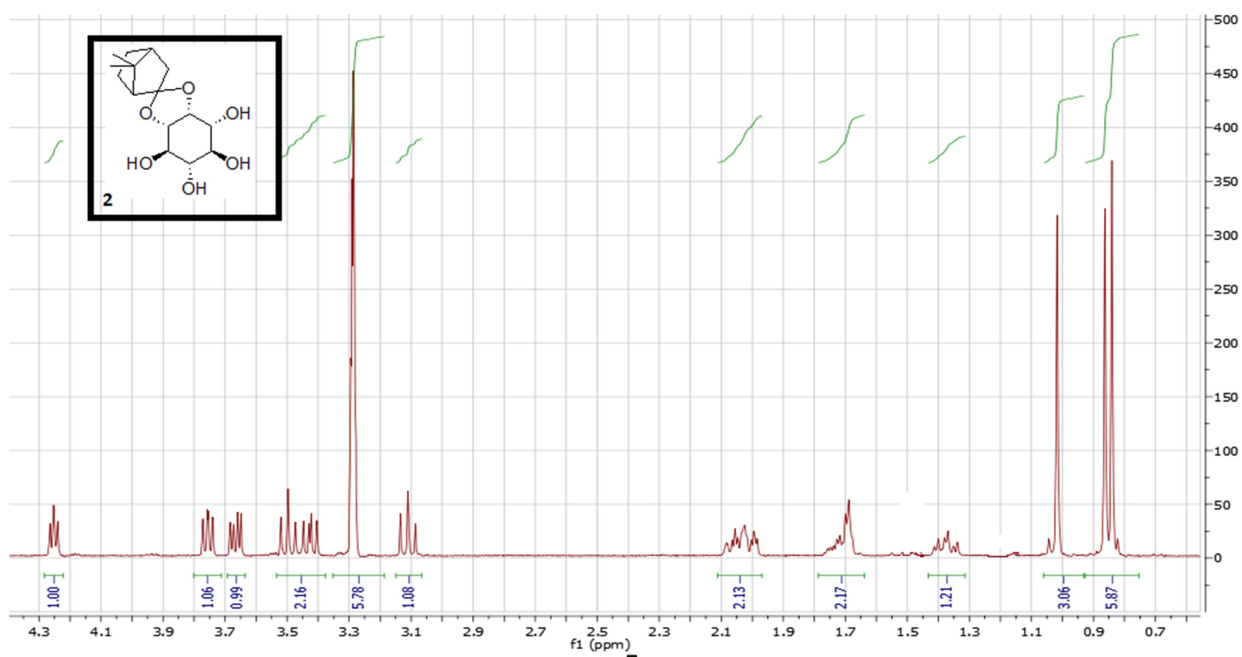
elimina el disolvente en el rotavapor. Se hace una cromatografía en columna con sílica gel utilizando como eluyente heptano/acetona (4:1). El disolvente se elimina al rotavapor y aparece una grasa incolora **21** (0.12 g, 0.11 mmol, **32%**).

¹H NMR (400MHz, CDCl₃): δ (ppm), 4.74 (m, 8H), 4.17 (m, 6H), 3.79 (m, 3H), 3.43 (m, 15H), 2.26 (m, 10H), 1.23 (m, 48H), 0.86 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H)

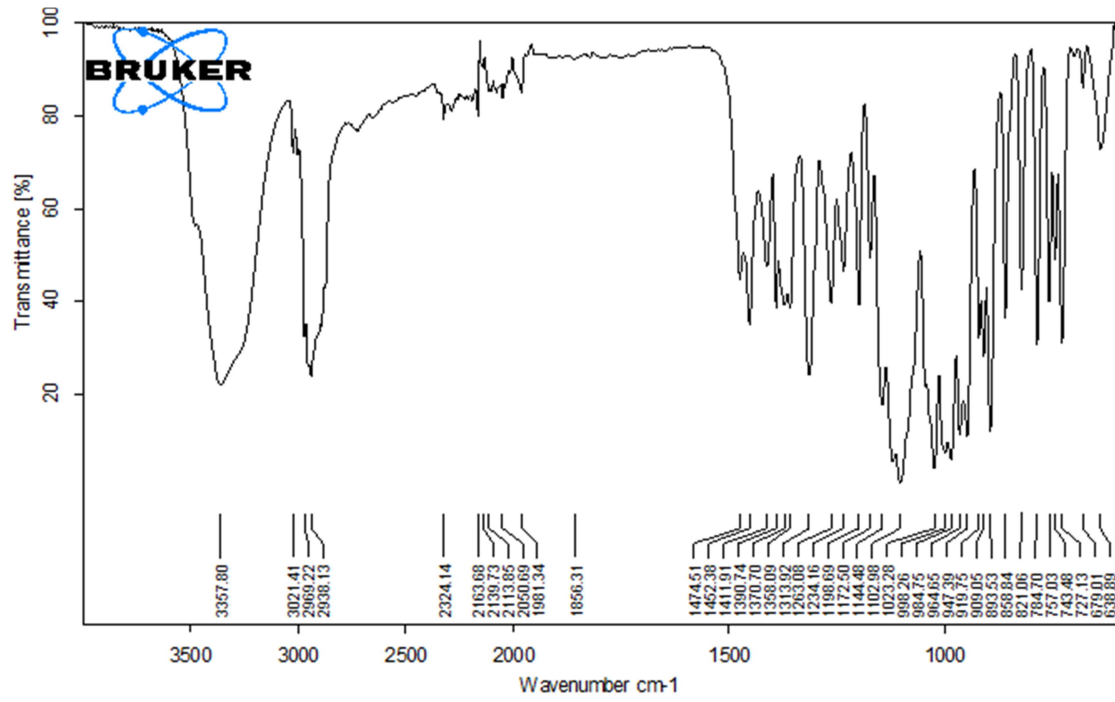
¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃)δ (ppm), 130.60, 129.21, 127.00, 126.42, 99.00, 98.37, 97.41, 95.97, 82.57, 79.40, 75.36, 74.36, 69.79, 65.37, 63.79, 61.77, 56.66, 56.51, 56.46, 55.89, 55.64, 44.78, 34.38, 34.12, 33.97, 31.88, 31.82, 31.78, 29.66, 29.62, 29.49, 29.40, 29.32, 27.53, 26.98, 26.71, 26.01, 24.83, 22.56, 19.64, 19.15, 14.02.

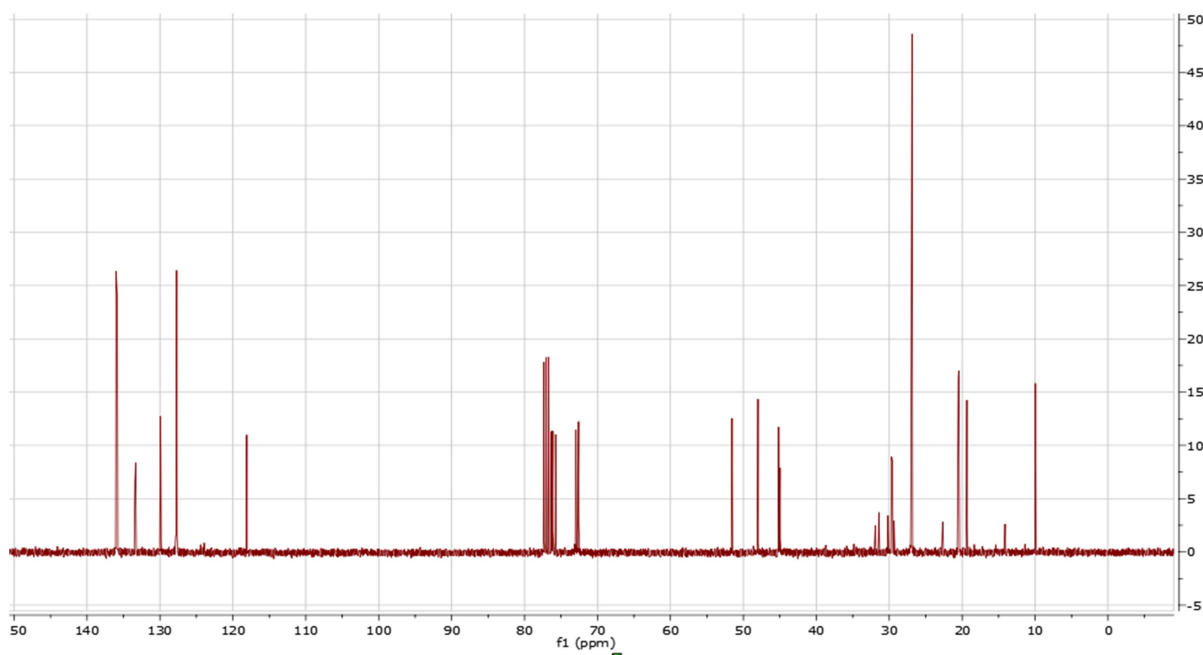
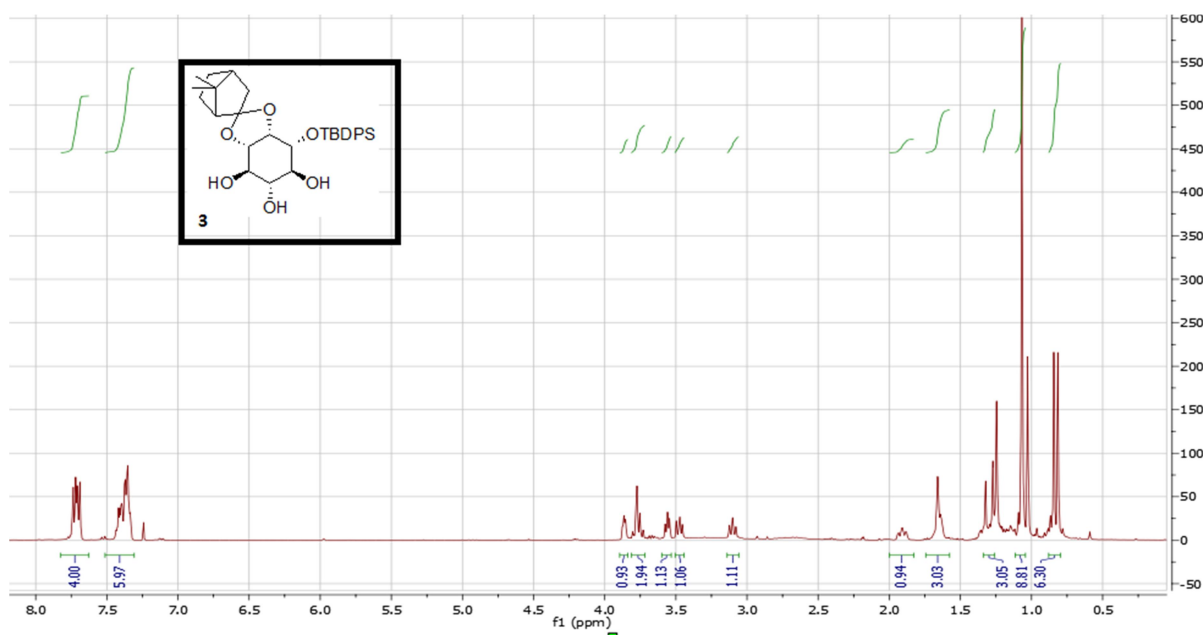
9. Anexo: ^1H -RMN; ^{13}C -RMN; MS; IR

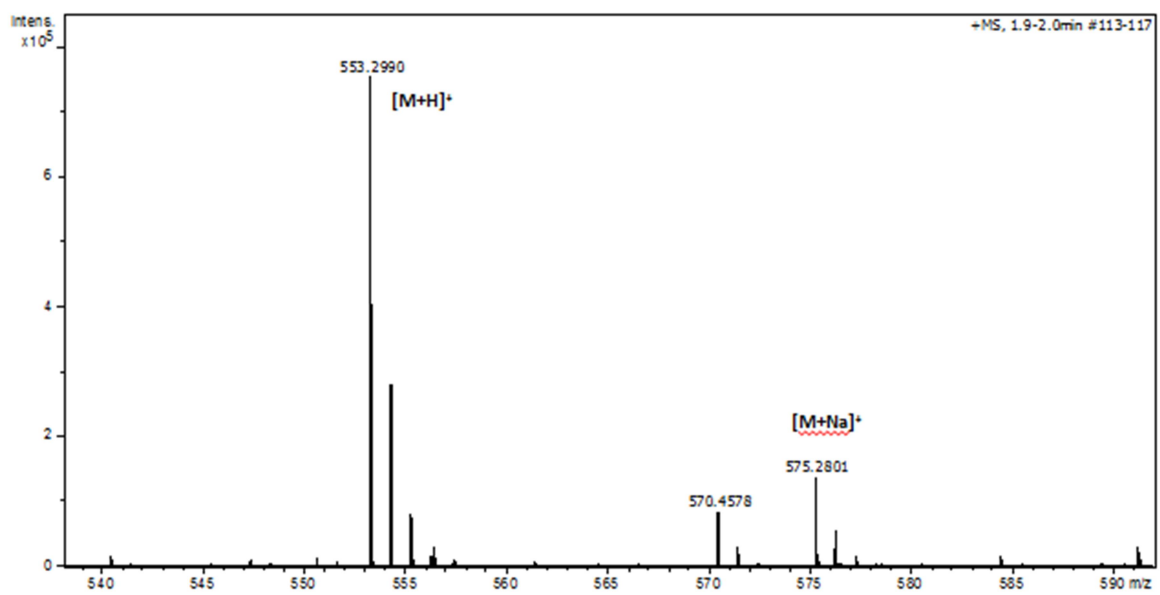
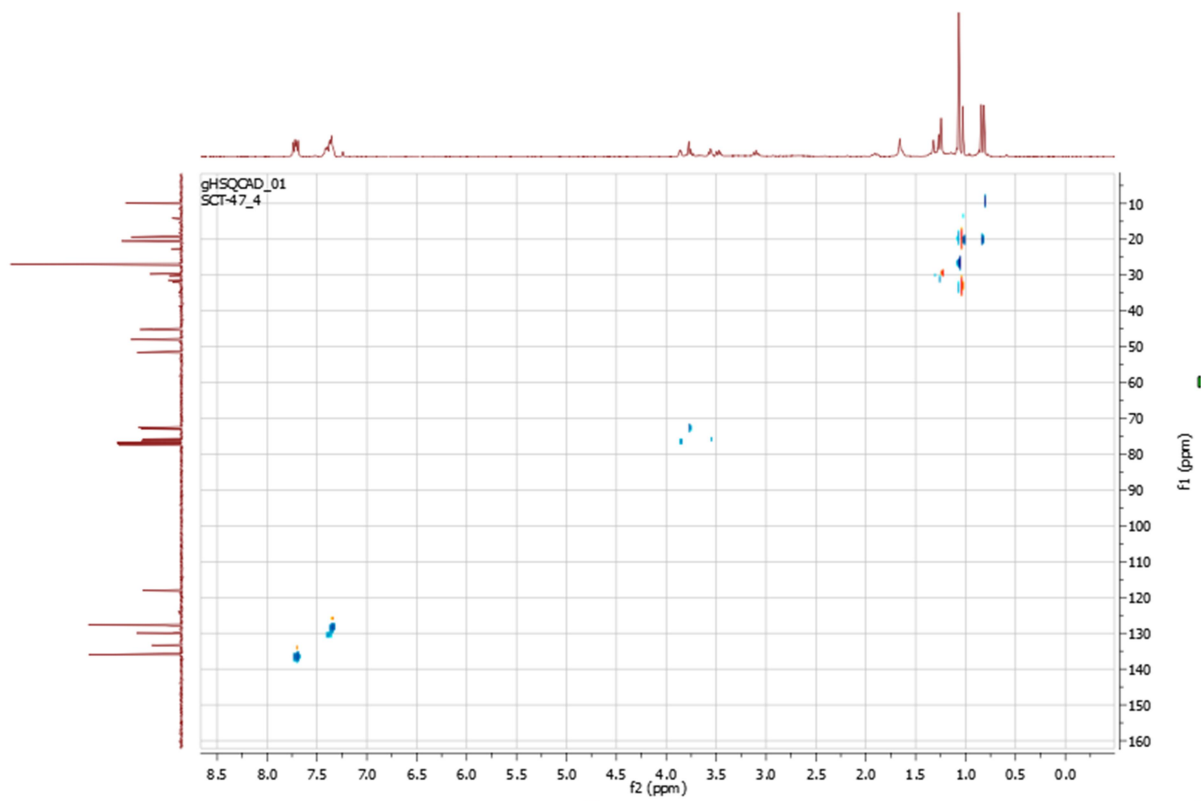




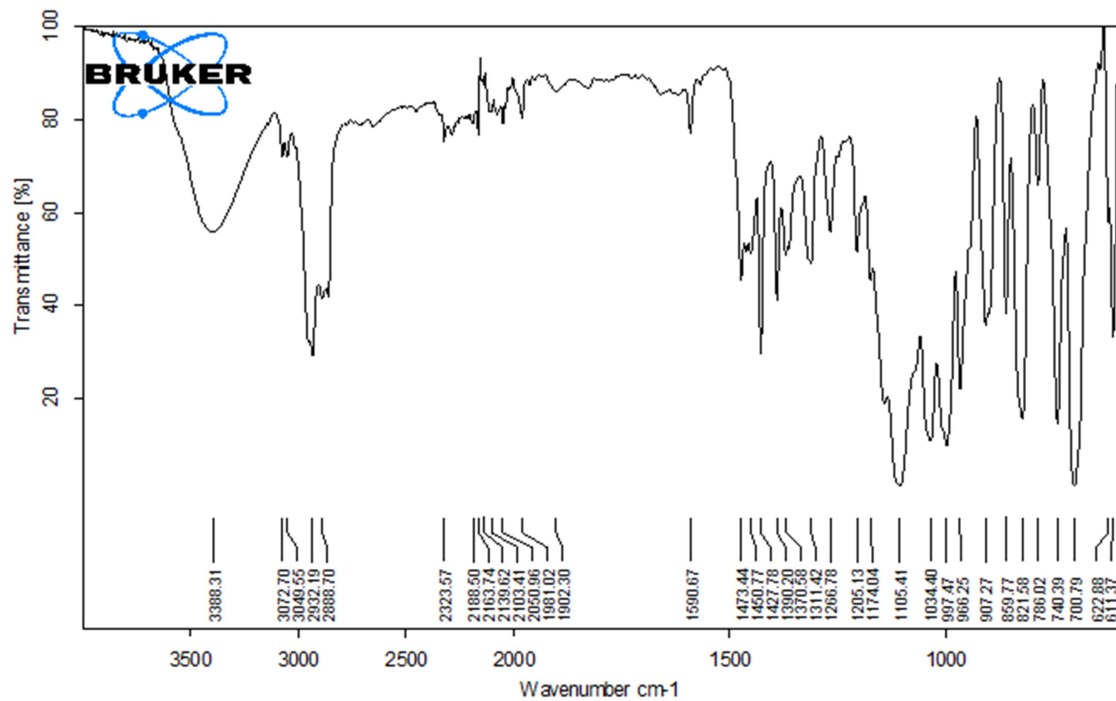
Meas. m/z	m/z	err [ppm]	mSigma	Ion Formula
315,1811	315,1802	-2.9	33.9	C16H27O6

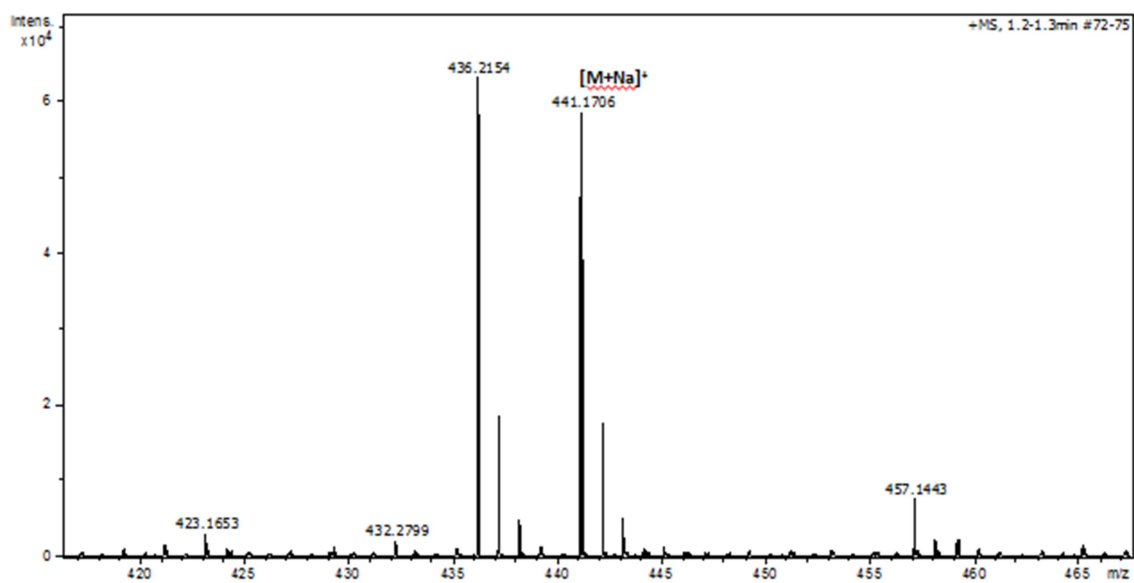
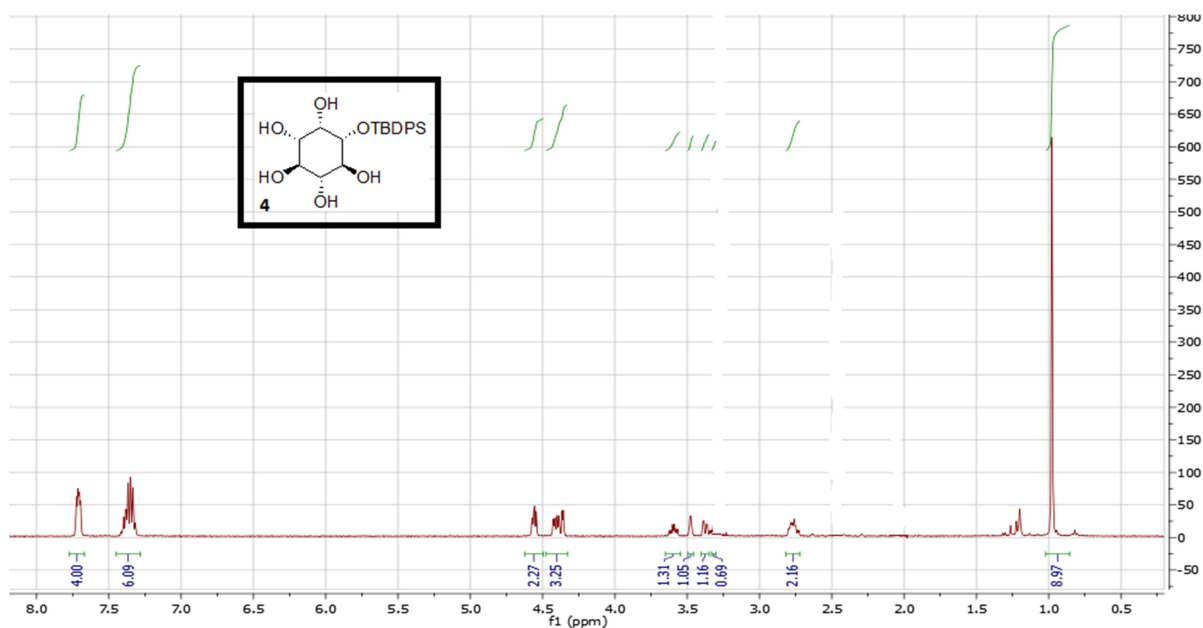




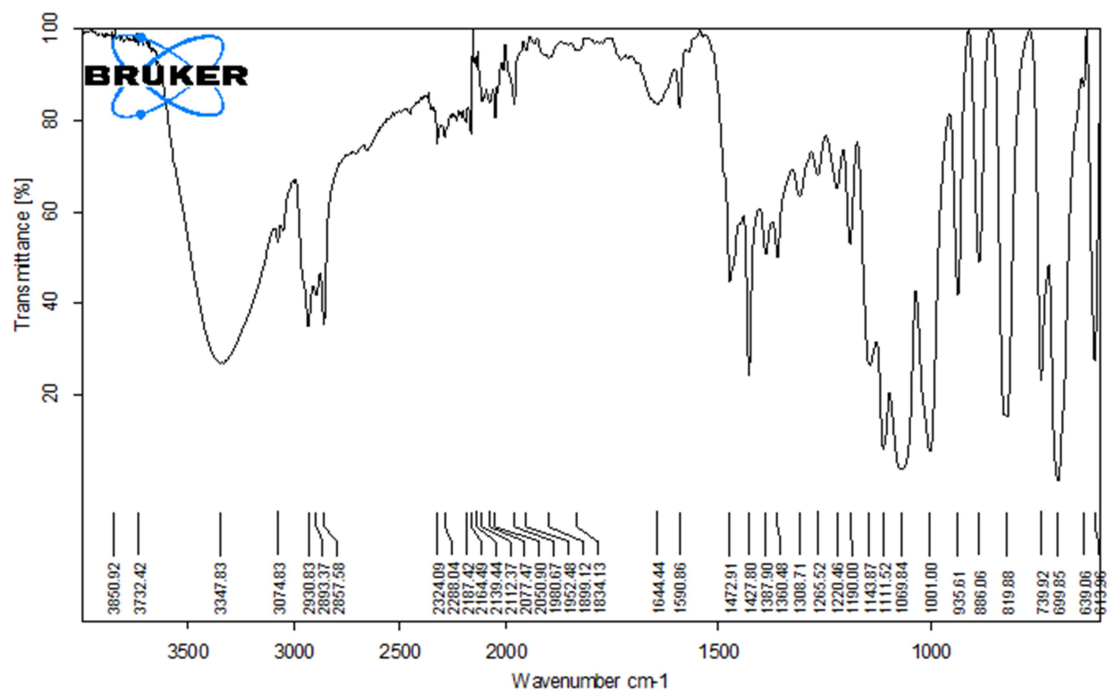


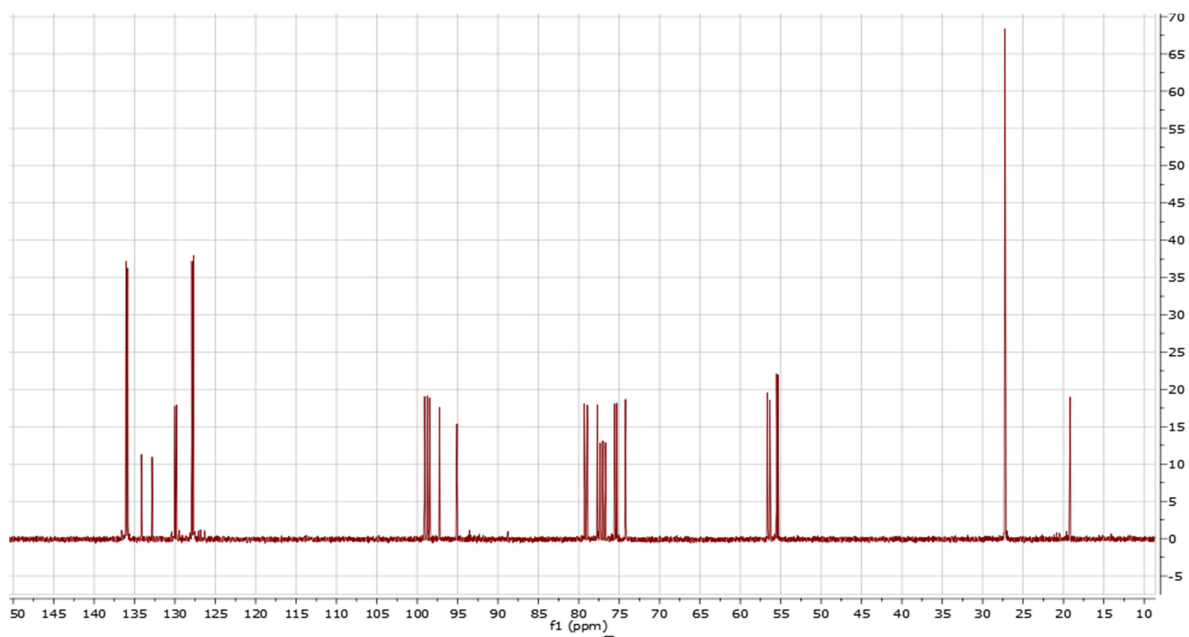
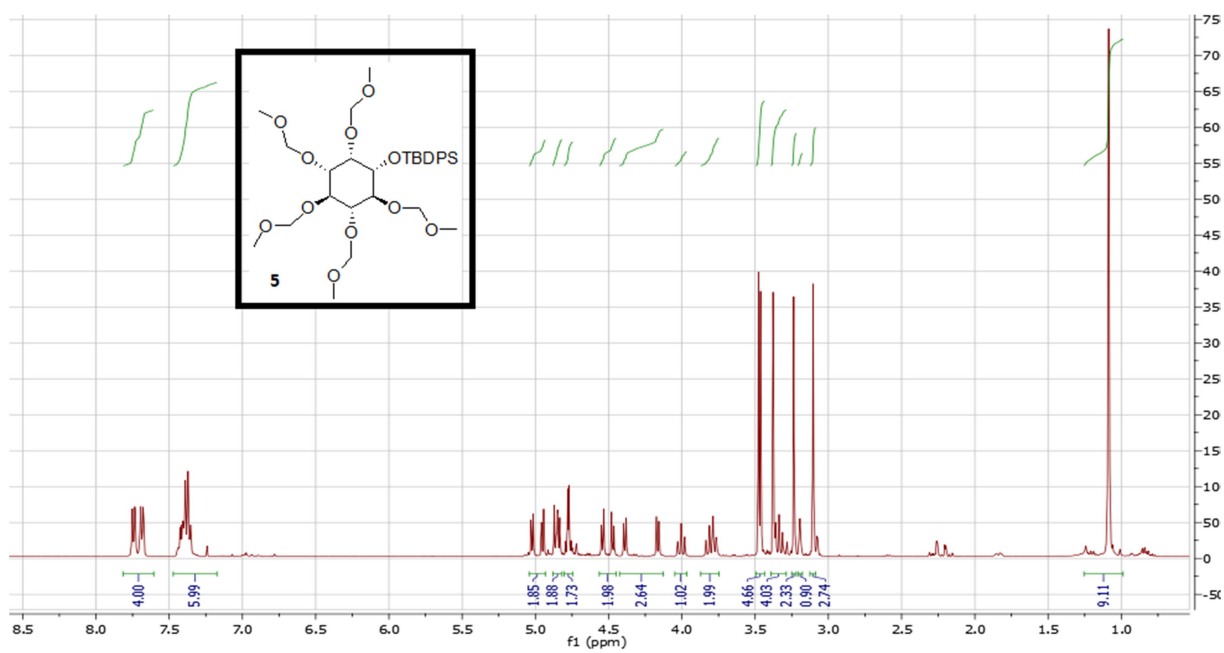
Meas. m/z	m/z	err [ppm]	mSigma	Ion Formula
553,2990	553,2980	-1.7	17.3	C32H45O6Si
575,2801	575,2799	-0.3	2.0	C32H44NaO6Si

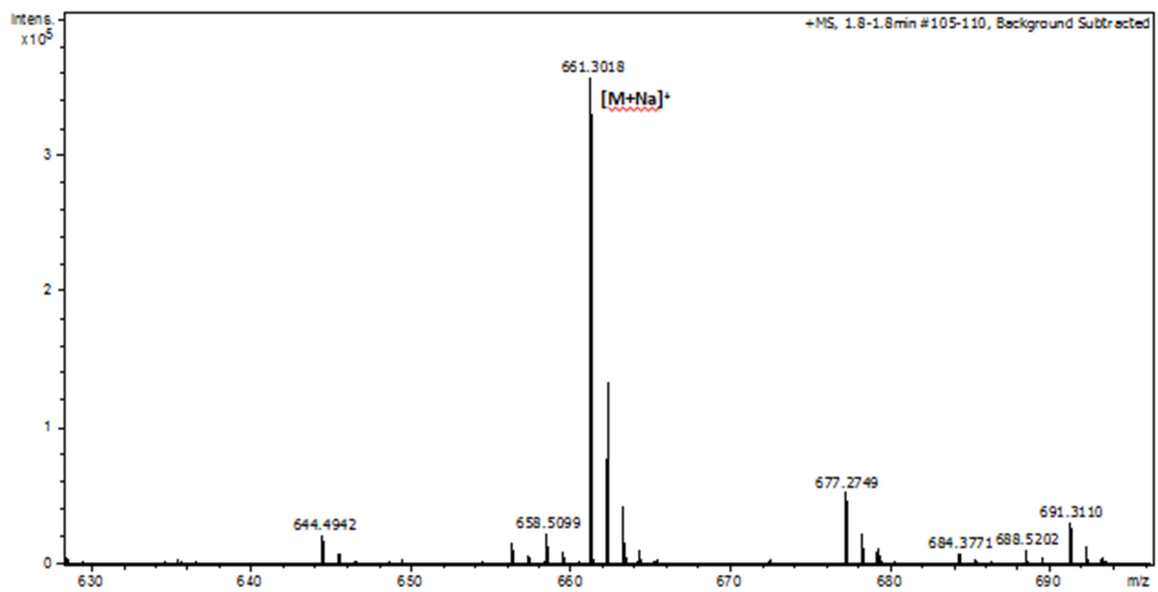
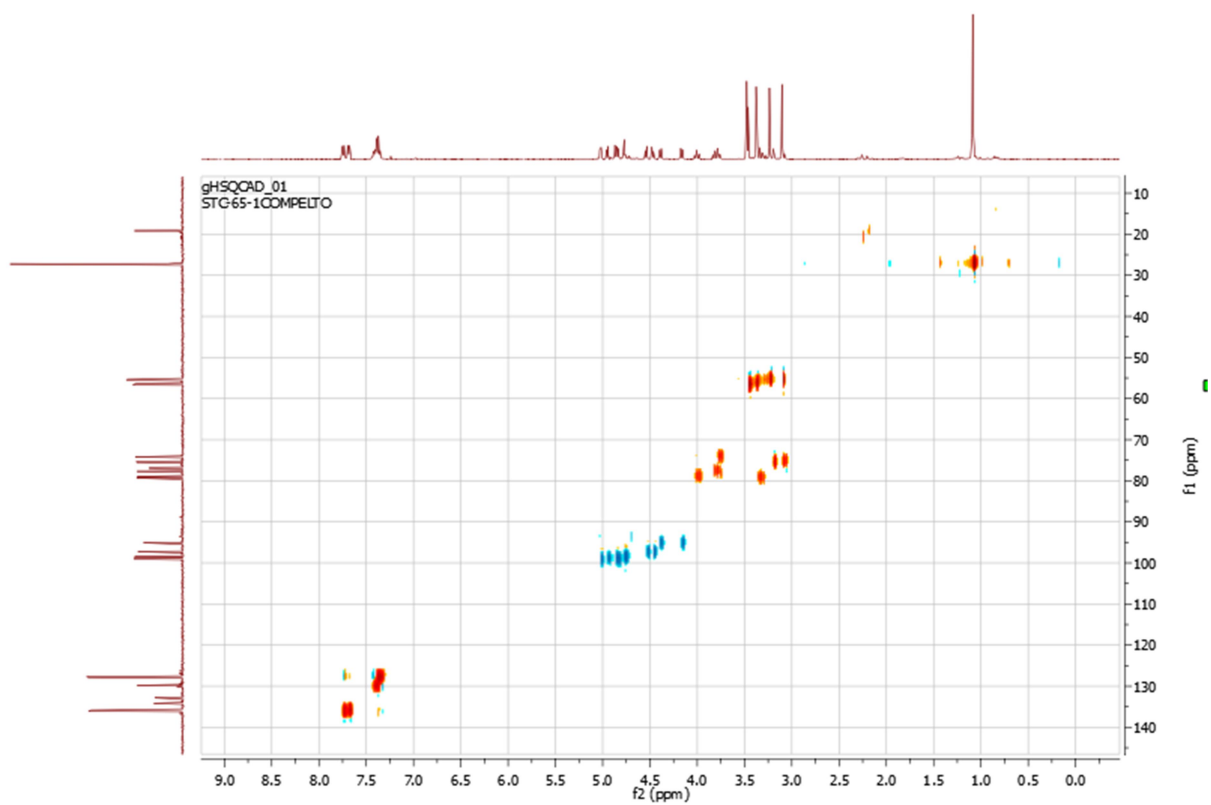




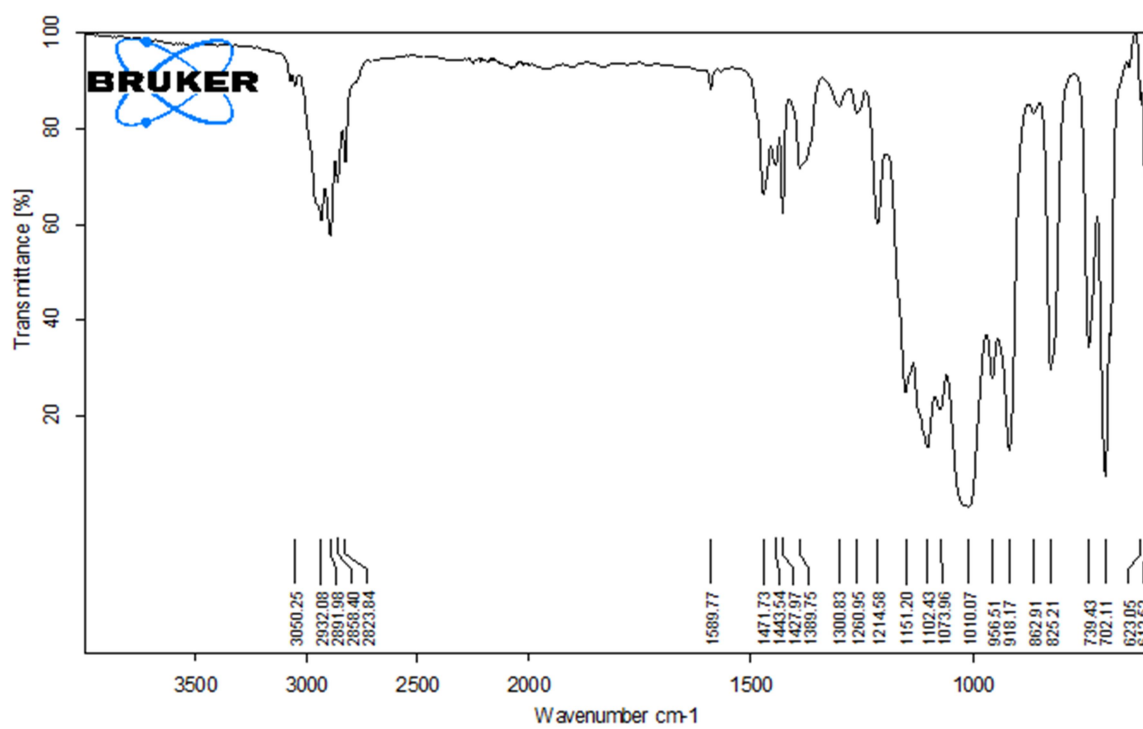
Meas. m/z	m/z	err [ppm]	mSigma	Ion Formula
441,1706	441,1704	-0.5	4.6	C22H30NaO6Si

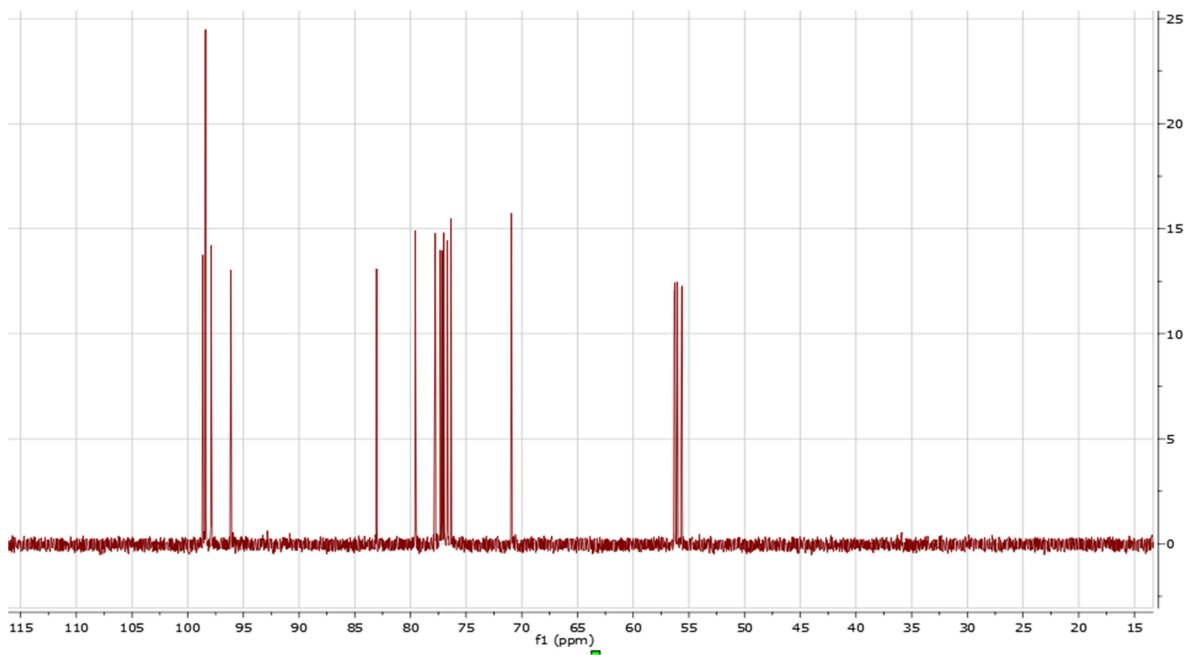
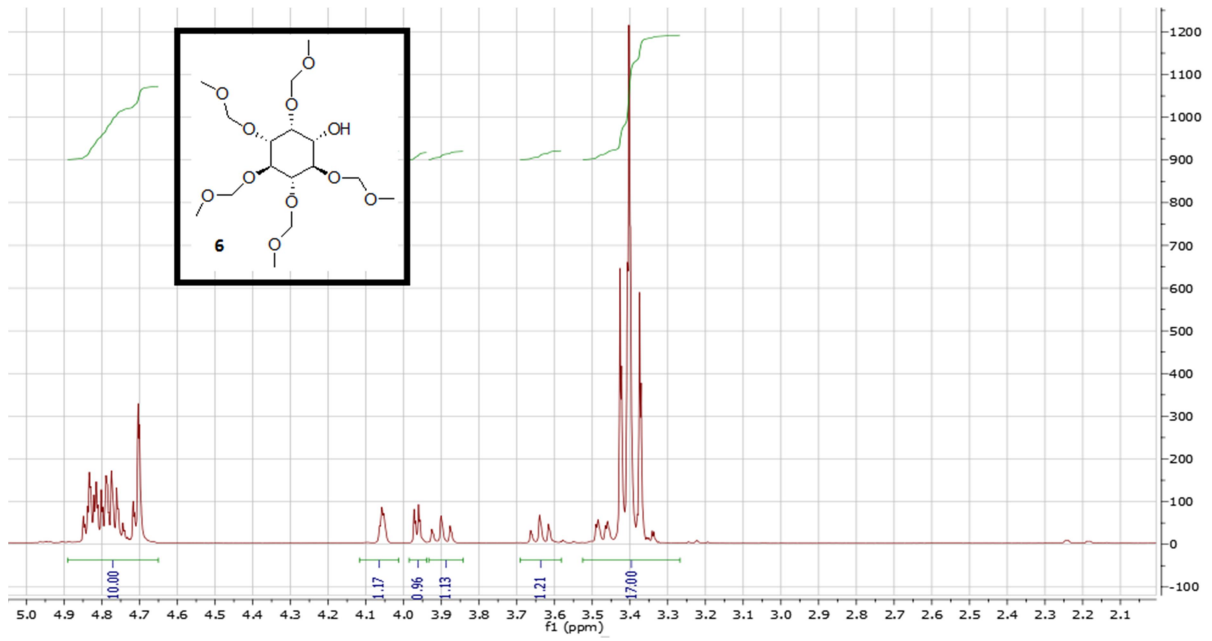


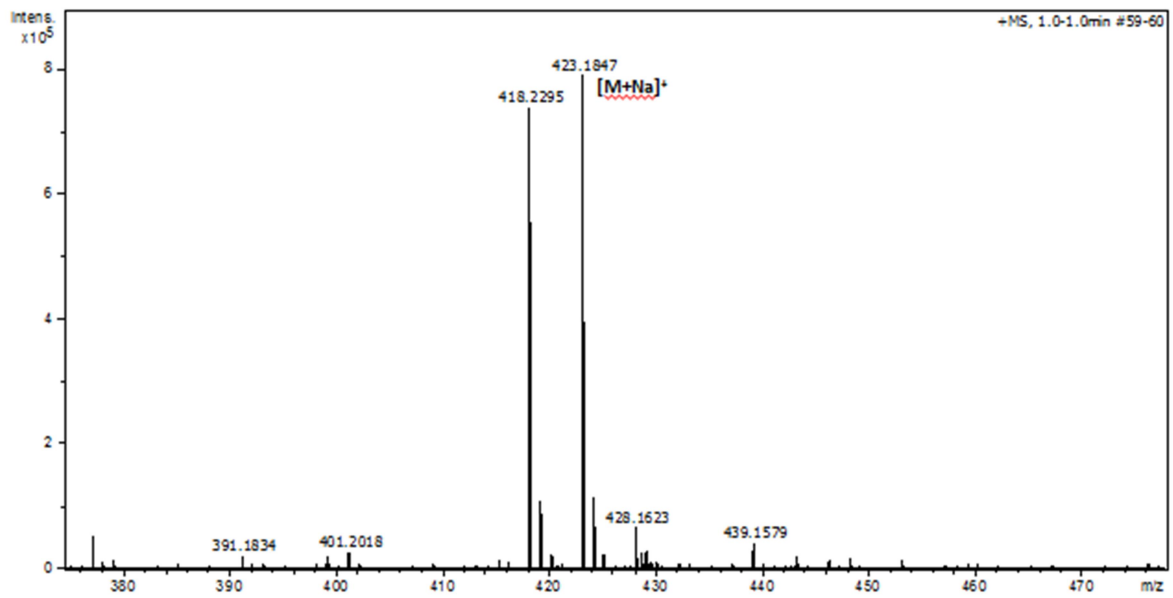
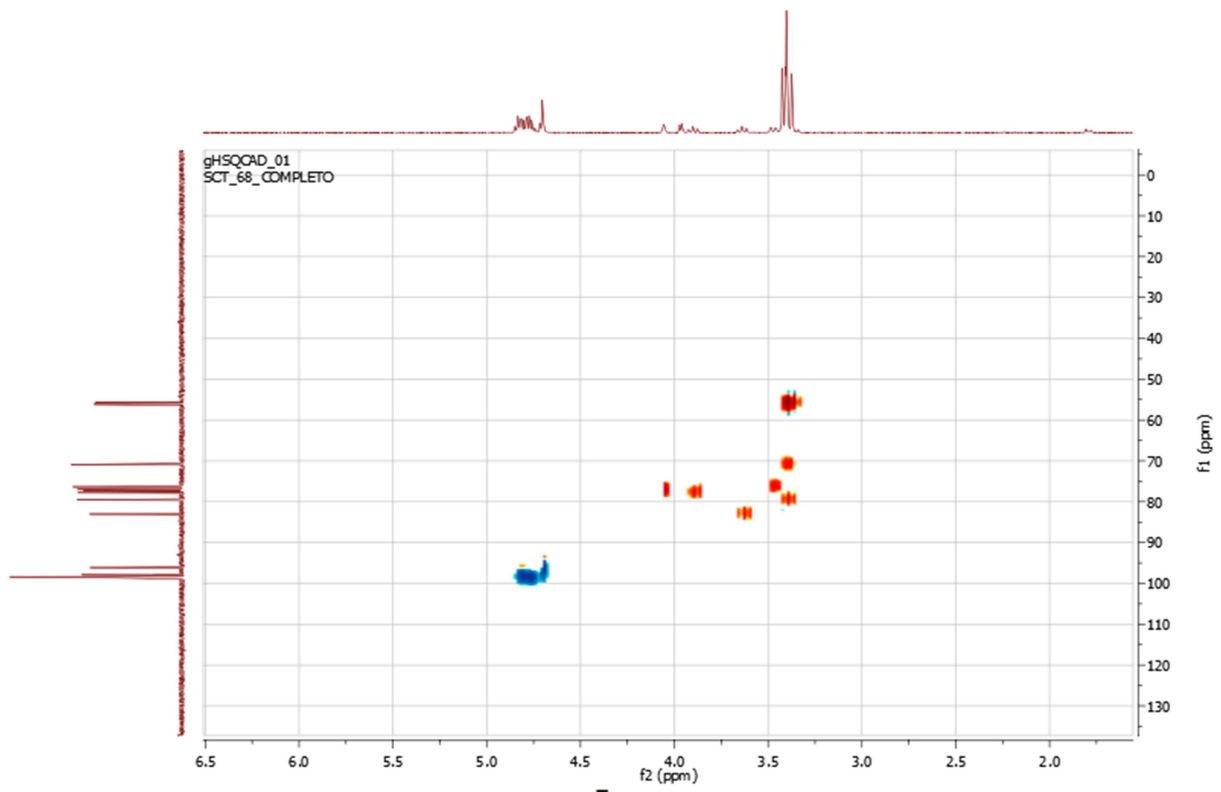




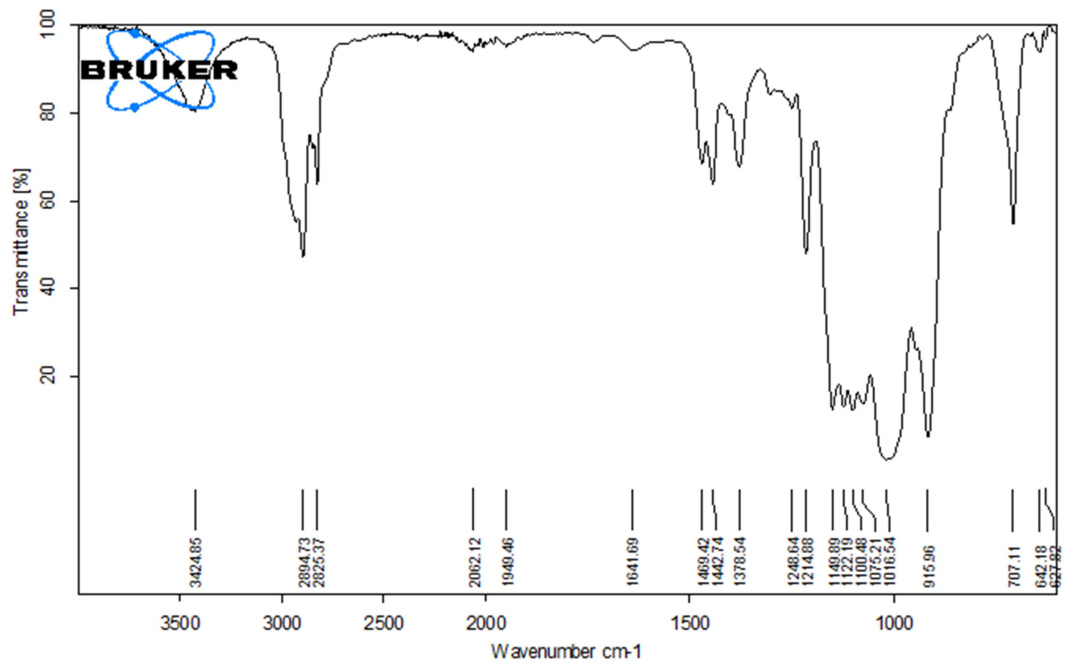
Meas. m/z	m/z	err [ppm]	mSigma	Ion Formula
661,3018	661,3015	-0.5	16.2	C32H50NaO11Si

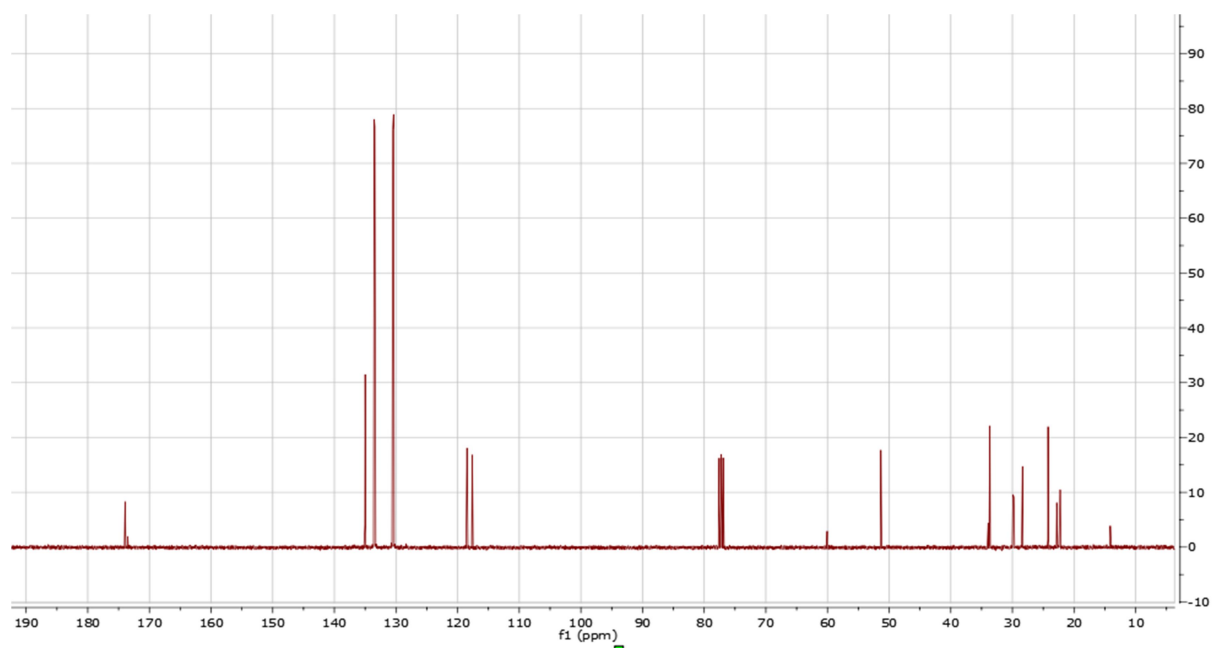
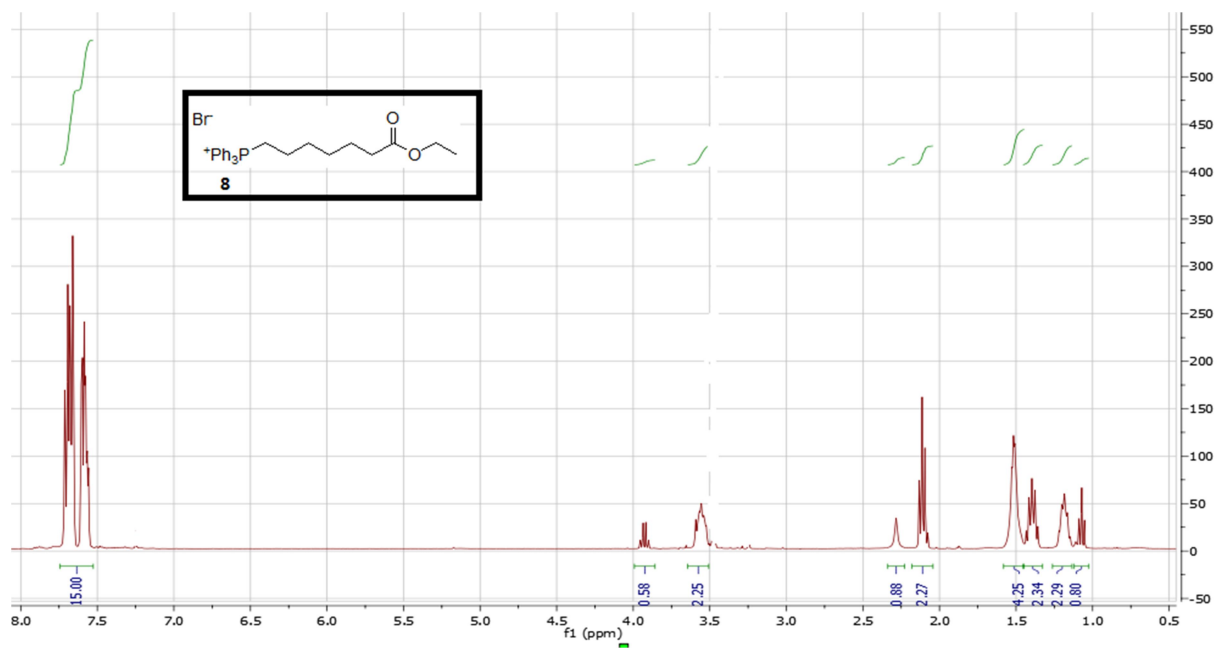


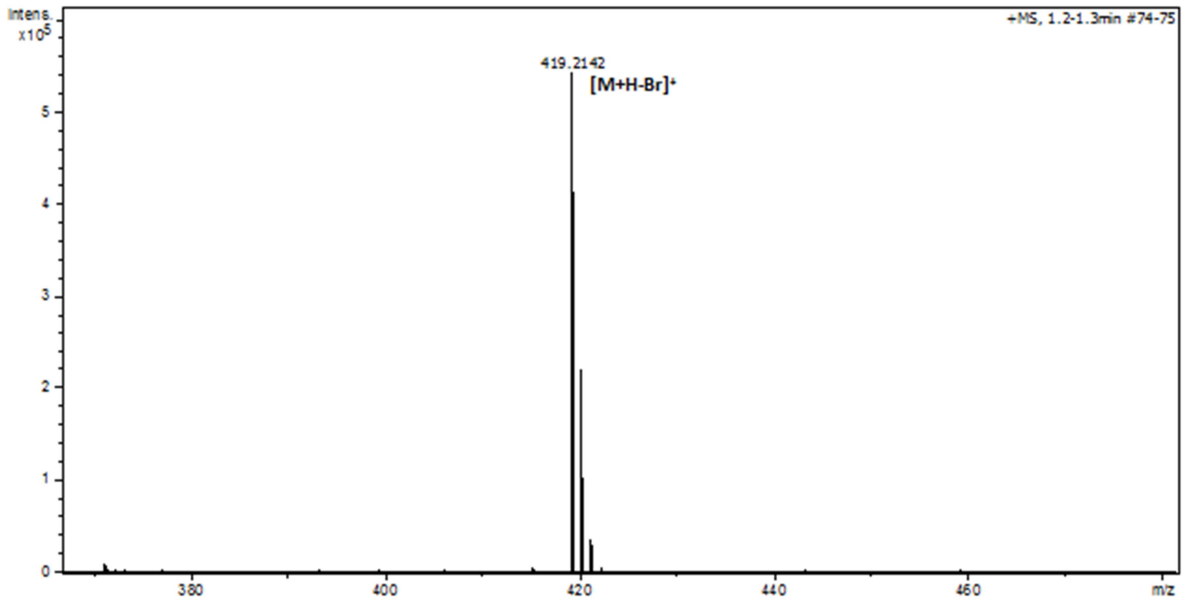




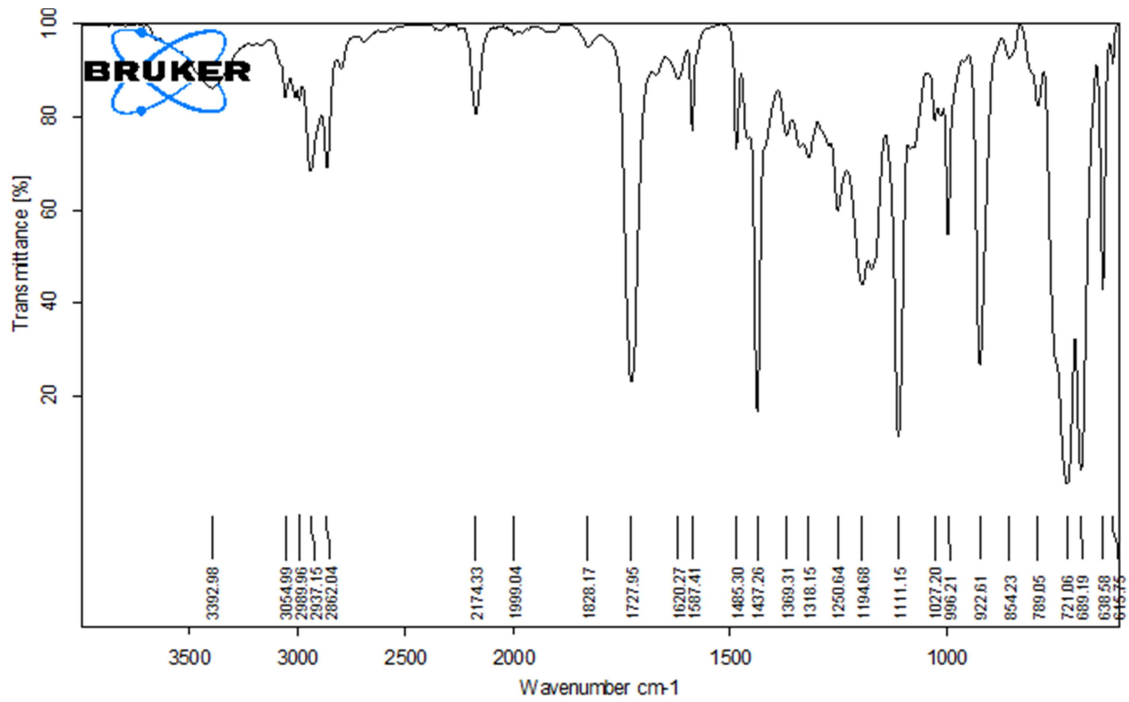
Meas. m/z	m/z	err [ppm]	mSigma	Ion Formula
423,1847	423,1837	-2.4	18.3	C16H32NaO11

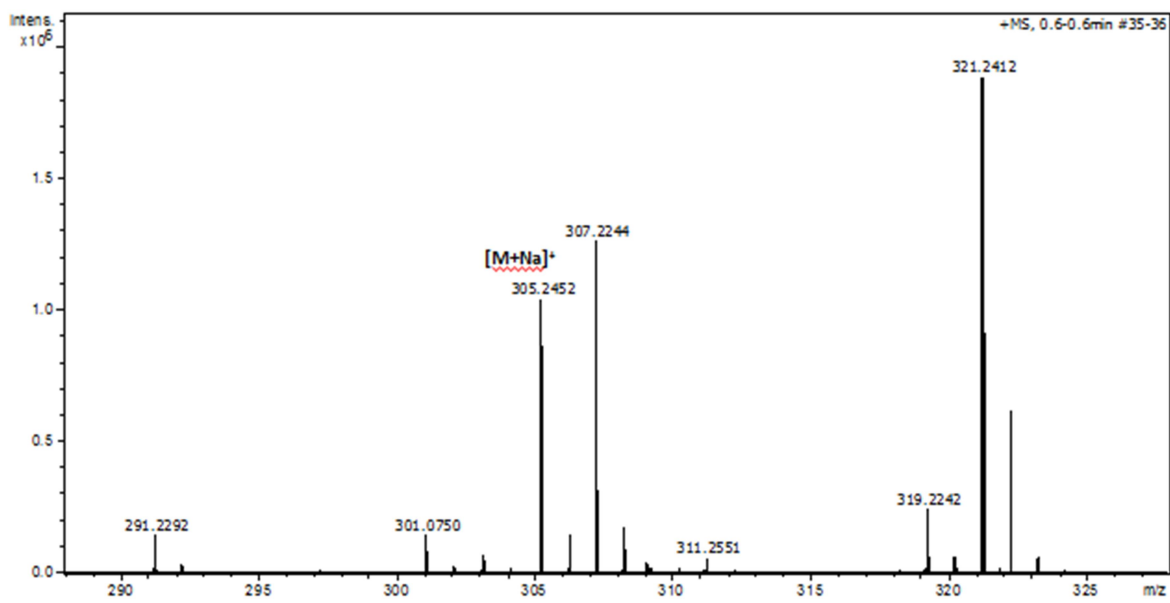
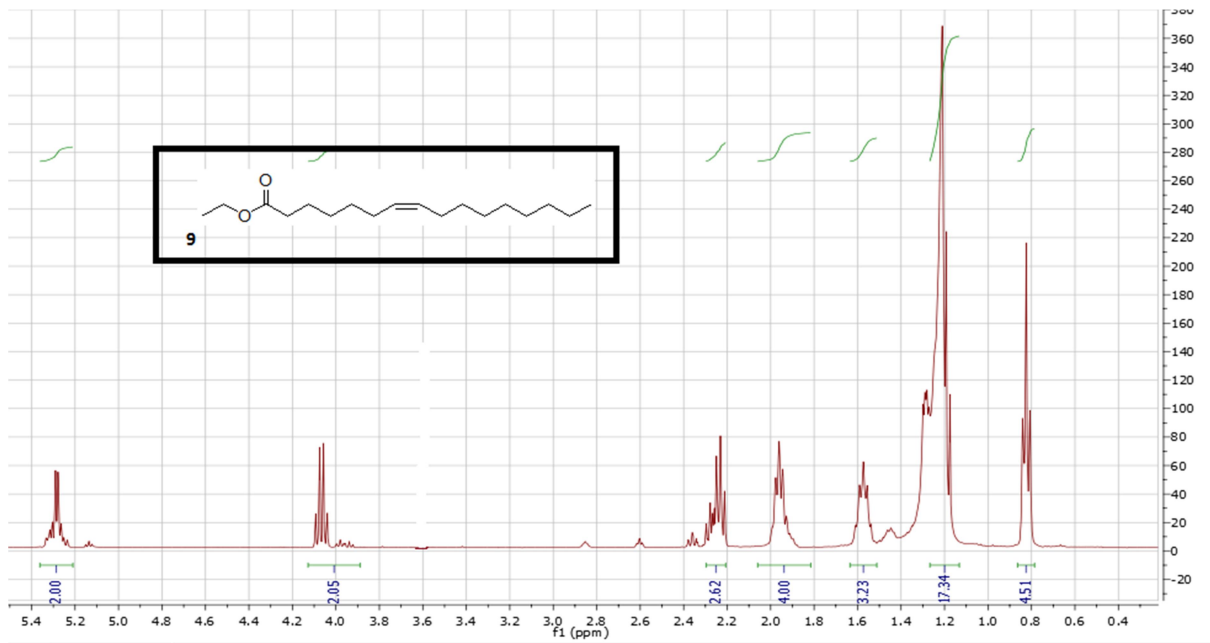




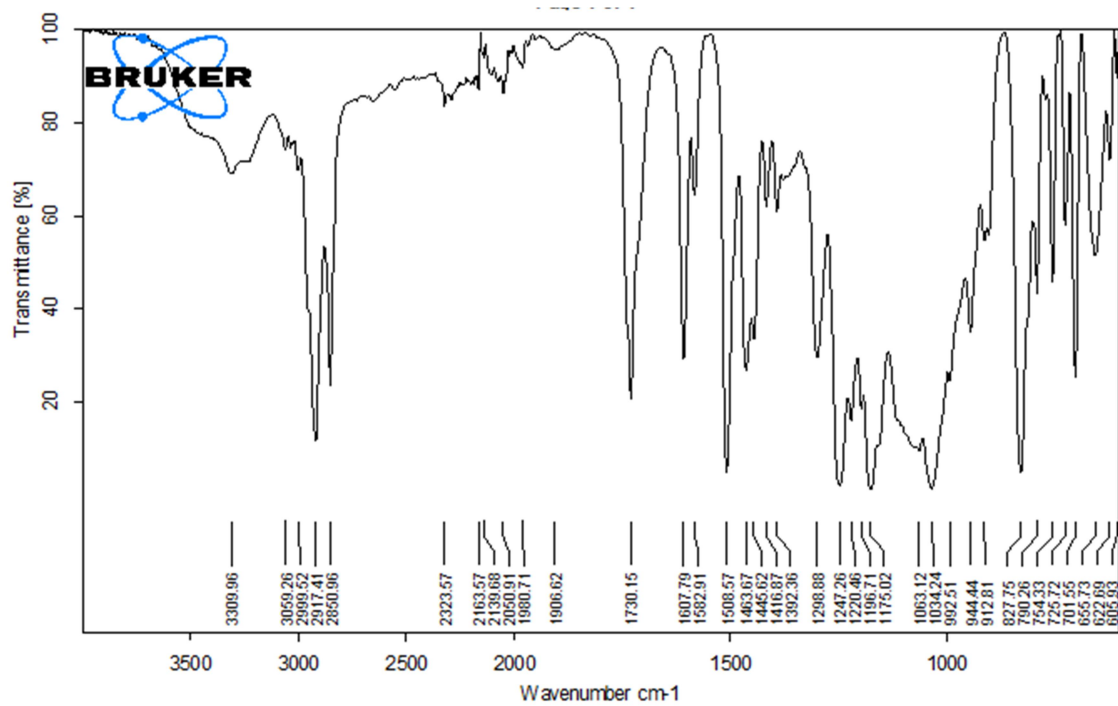


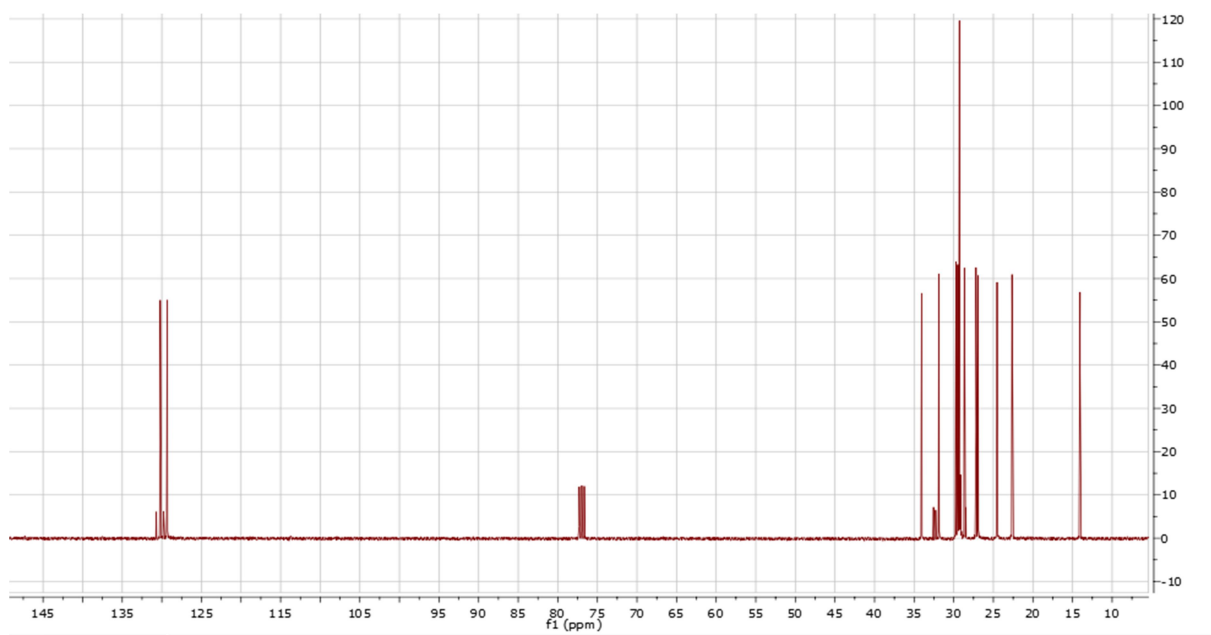
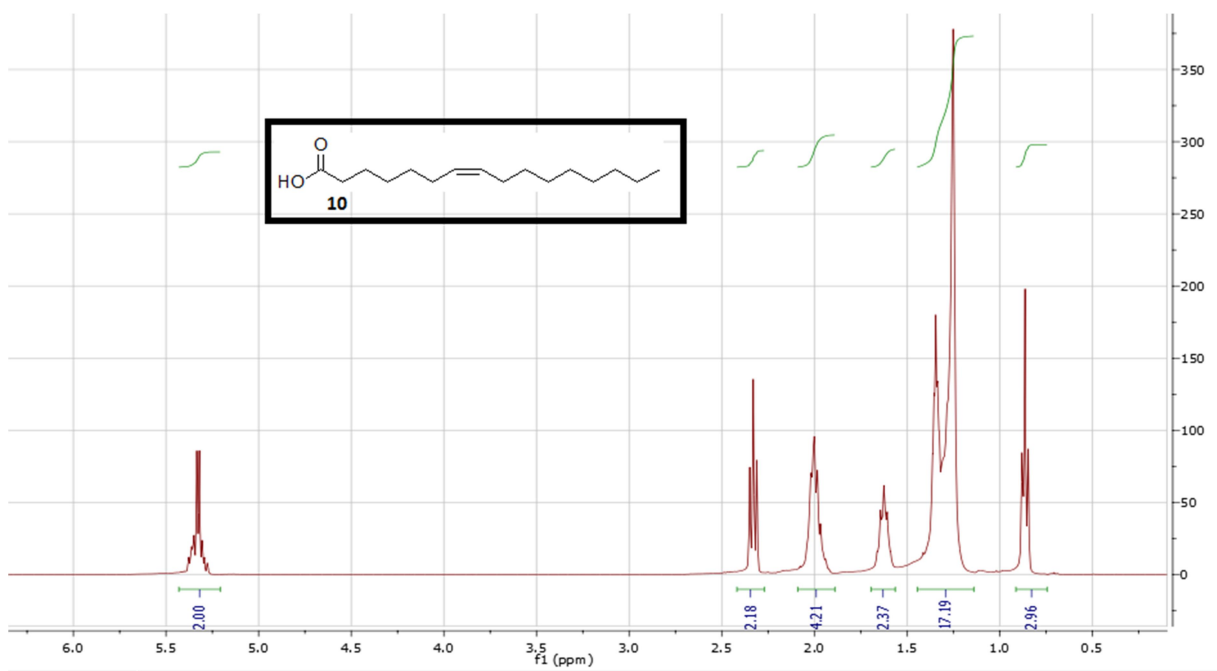
Meas. m/z	m/z	err [ppm]	mSigma	Ion Formula
419,2142	419,2134	-1.8	55.2	C27H32O2P

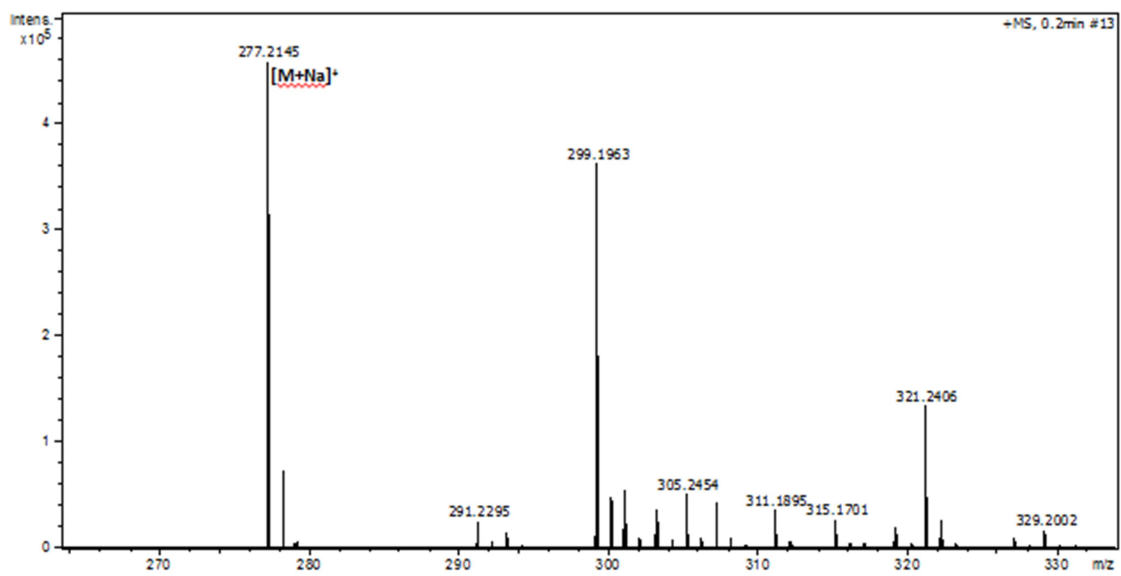
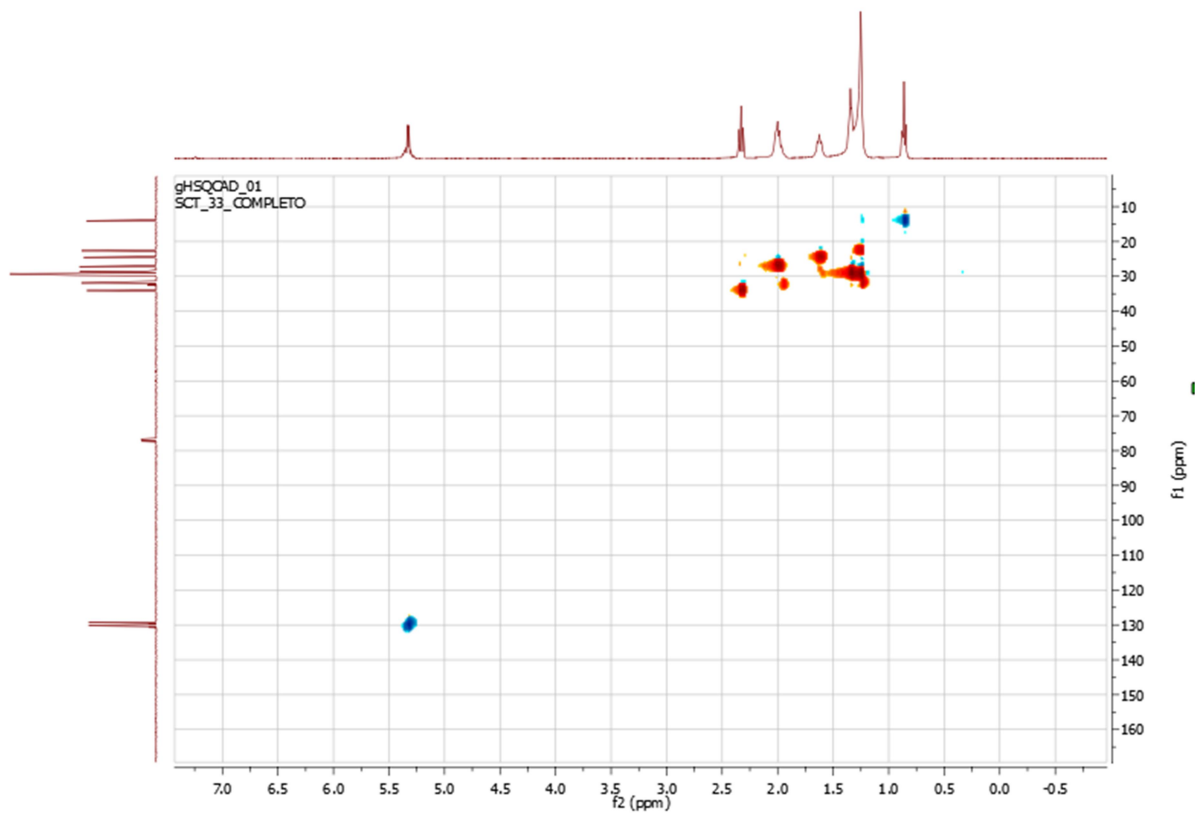




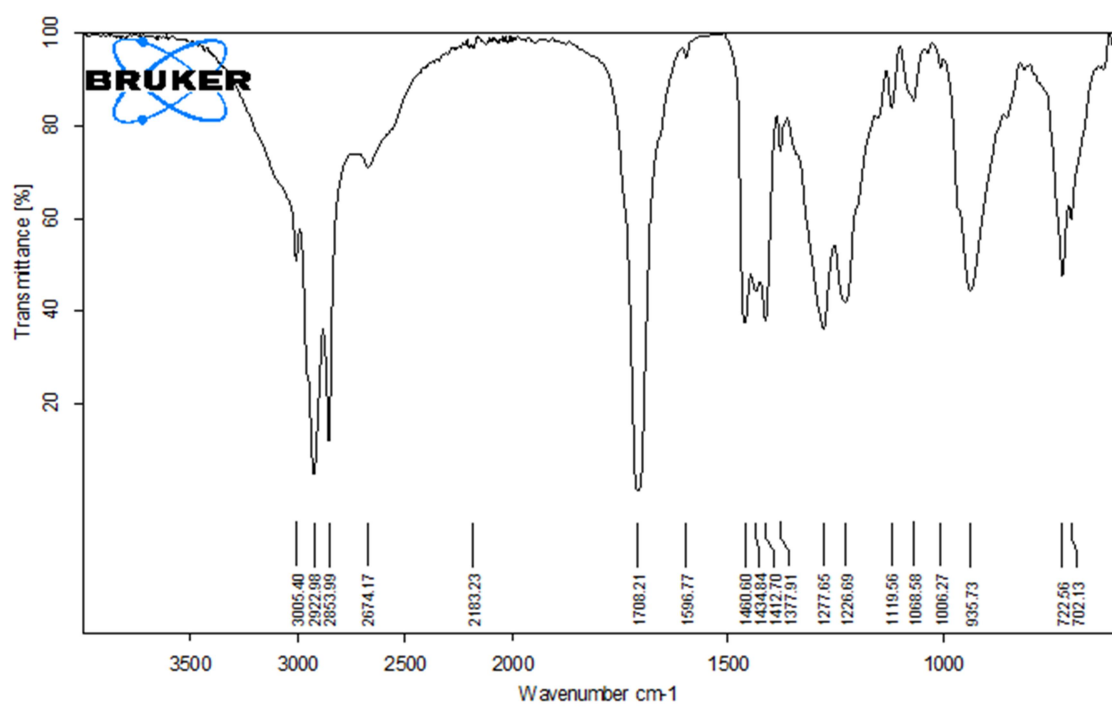
Meas. m/z	m/z	err [ppm]	mSigma	Ion Formula
305,2452	305,2451	-0.2	34.6	C18H34NaO2

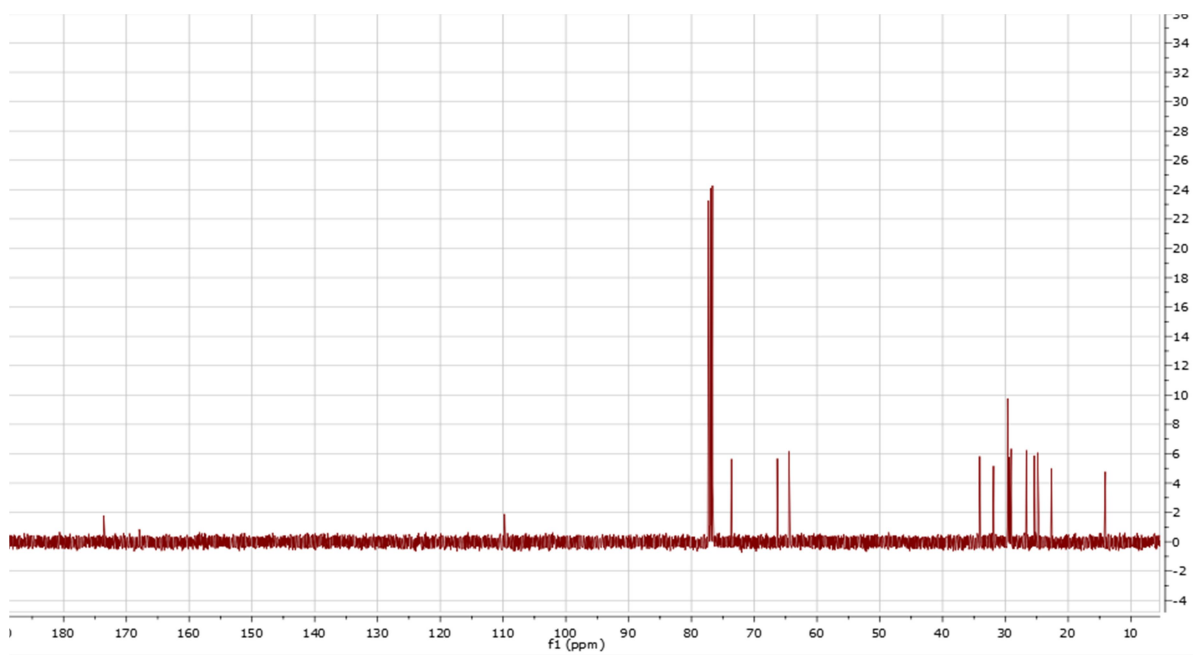
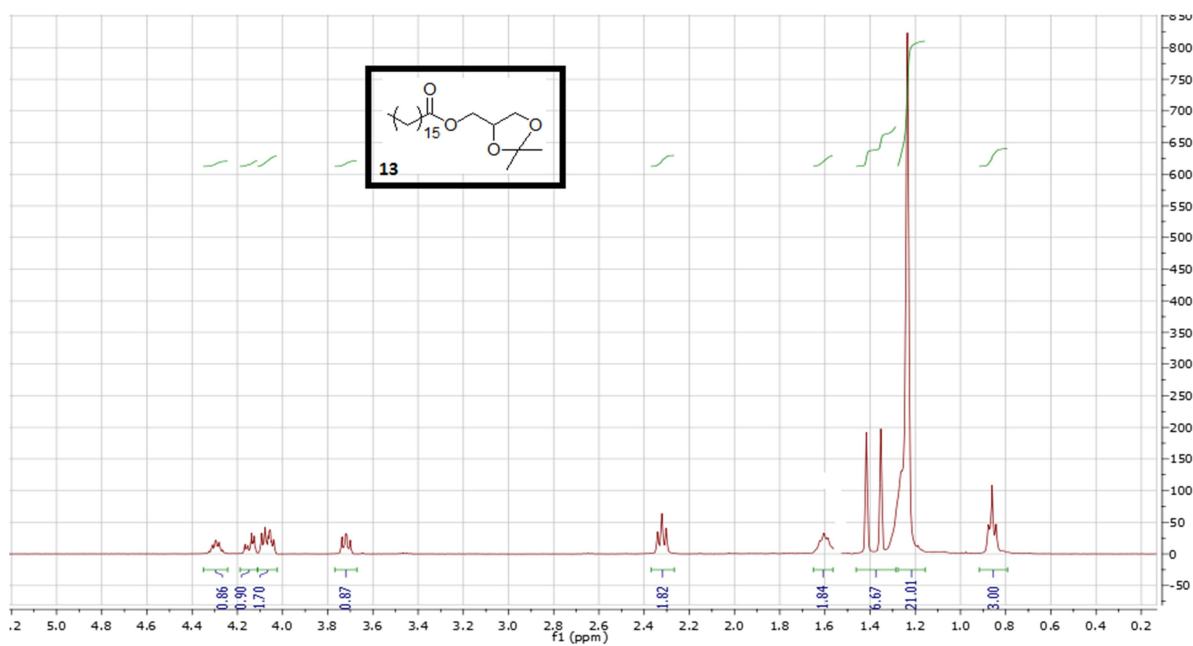


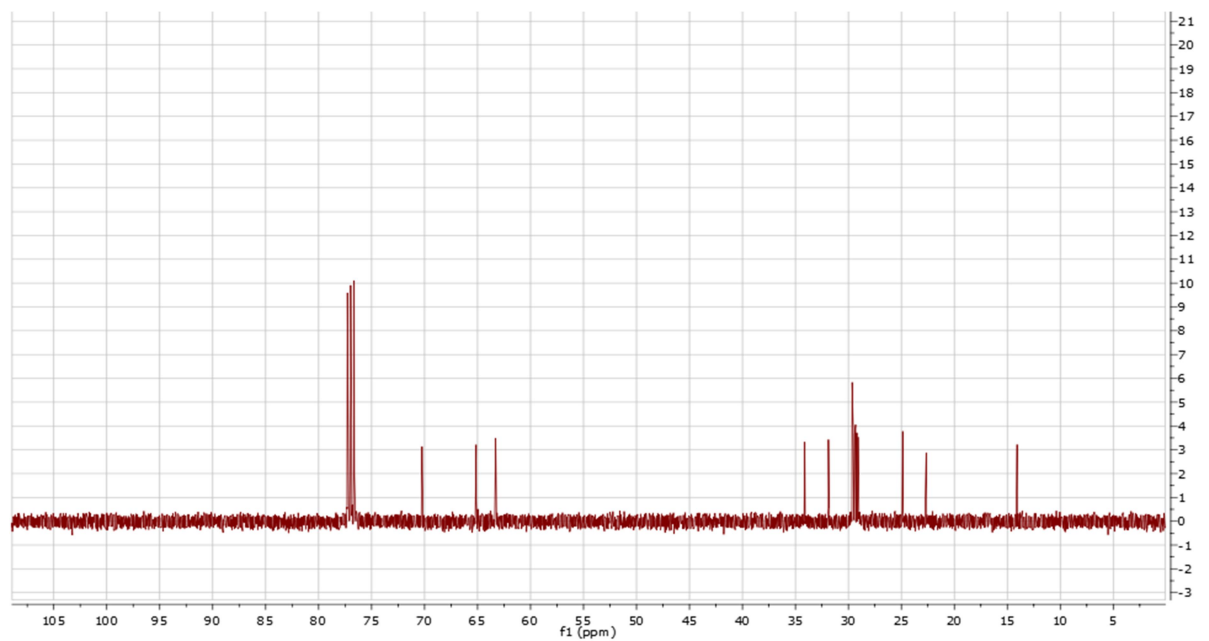
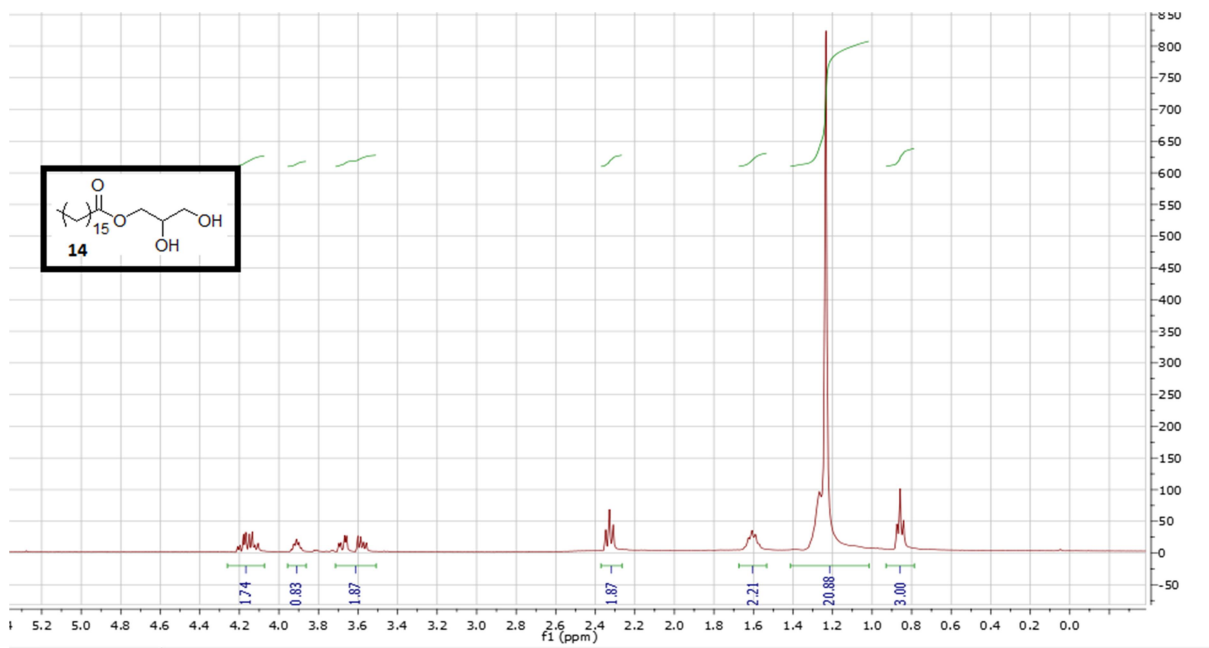


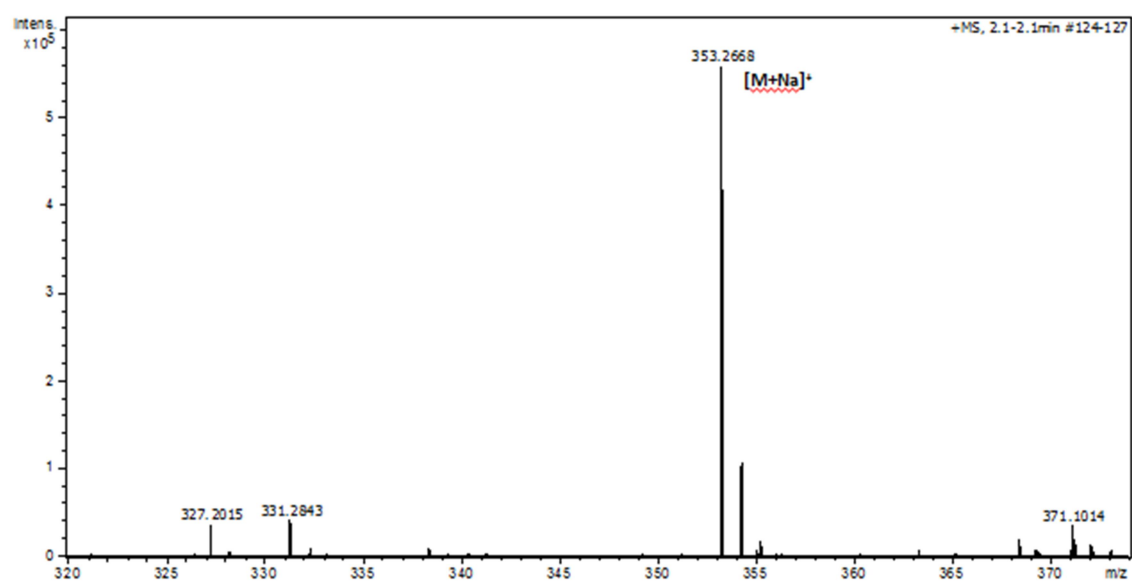
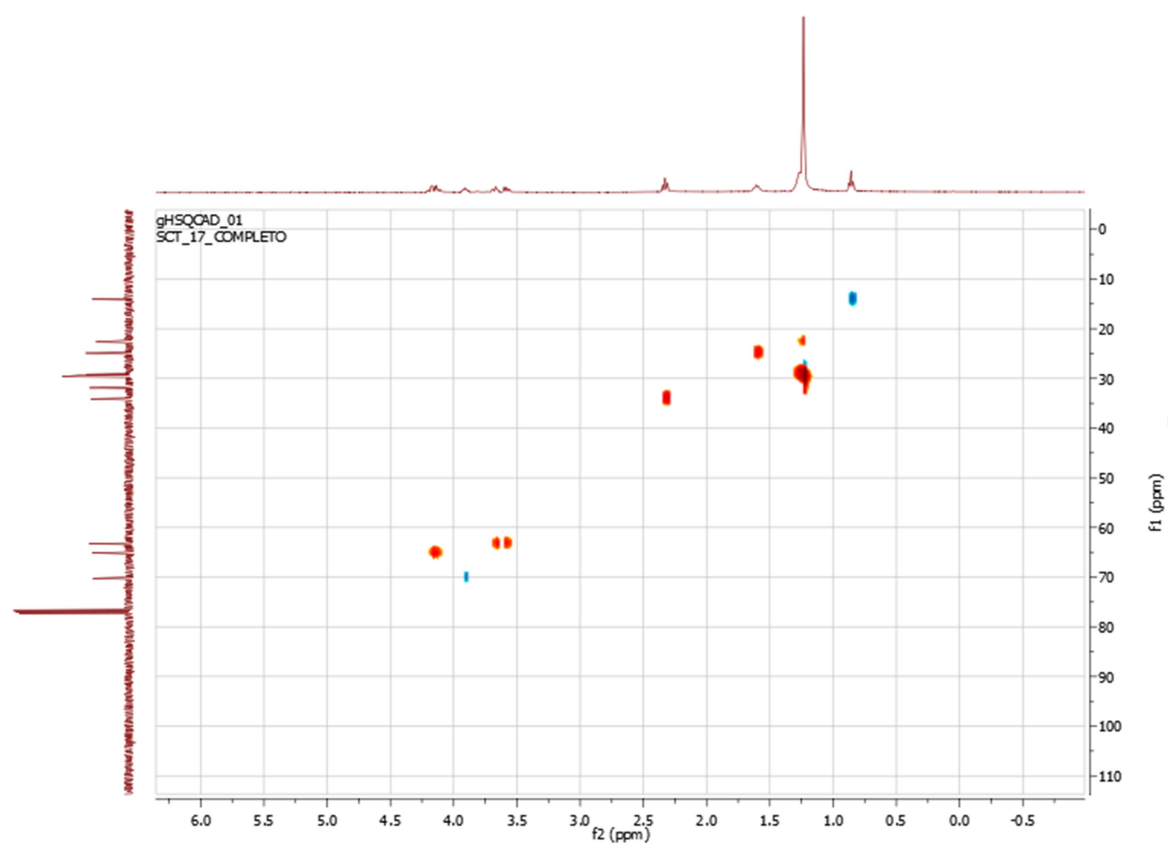


Meas. m/z	m/z	err [ppm]	mSigma	Ion Formula
277,2145	277,2138	-2.4	10.6	C ₁₆ H ₃₀ NaO ₂

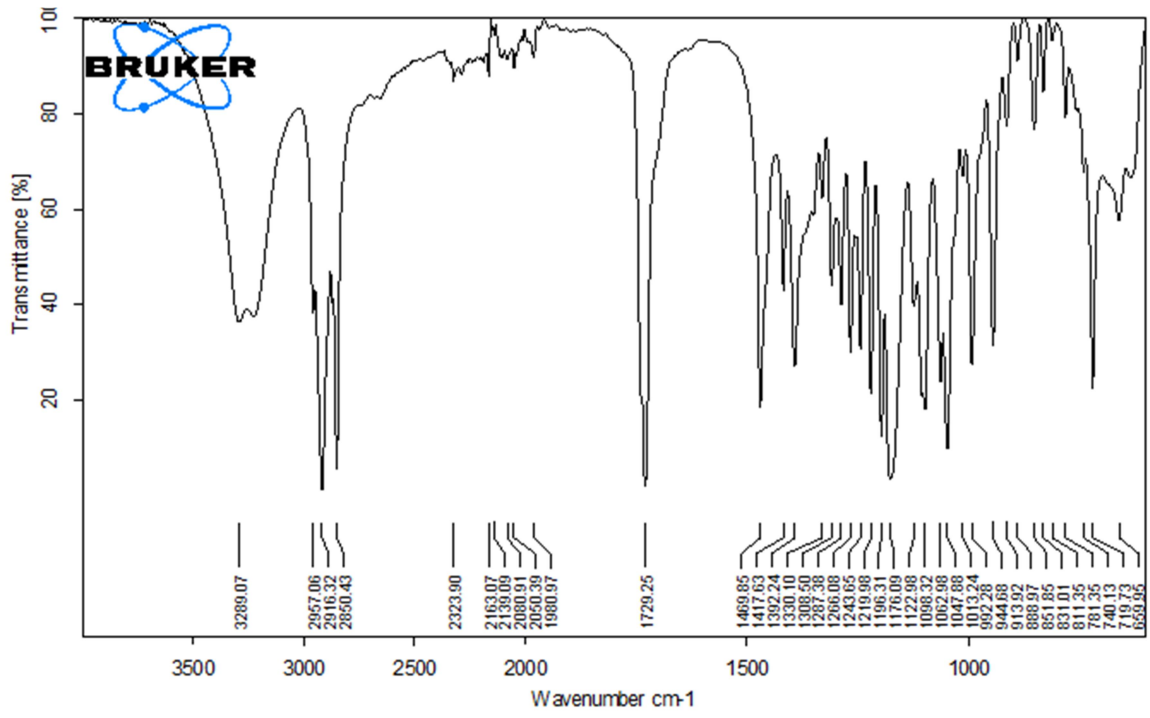


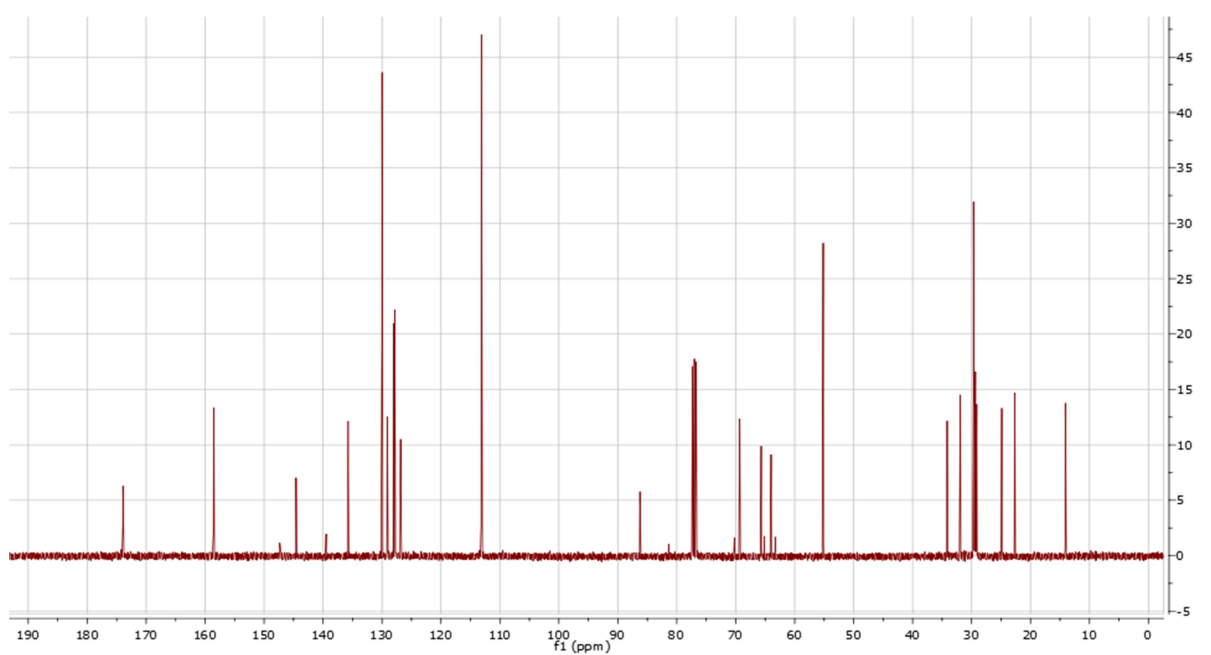
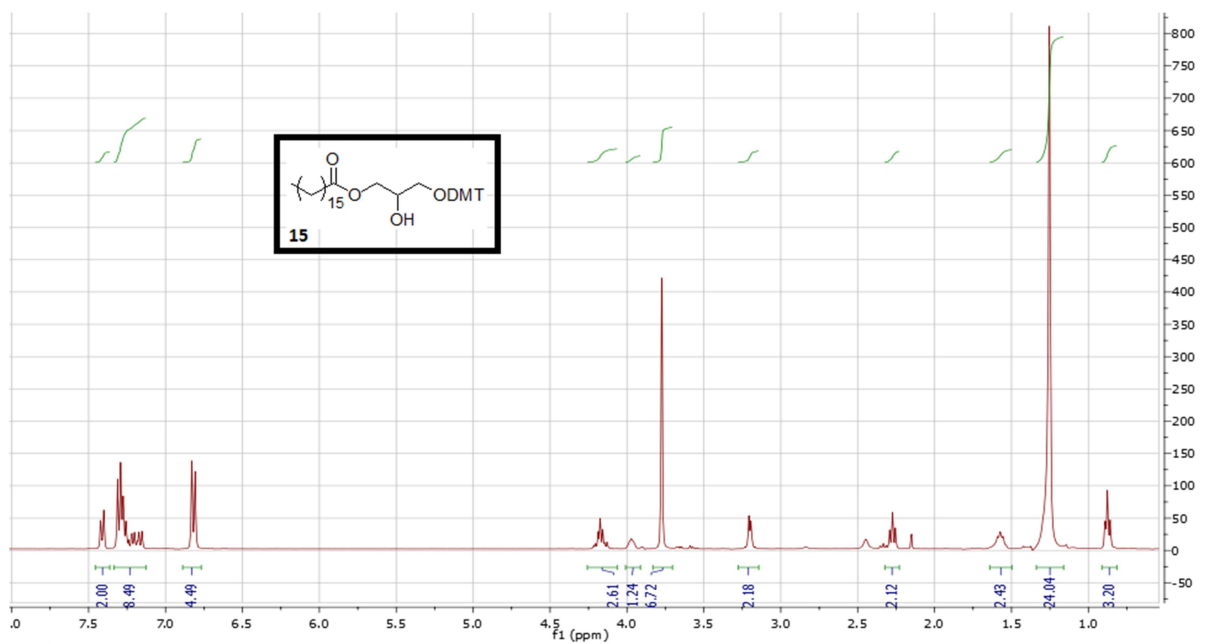


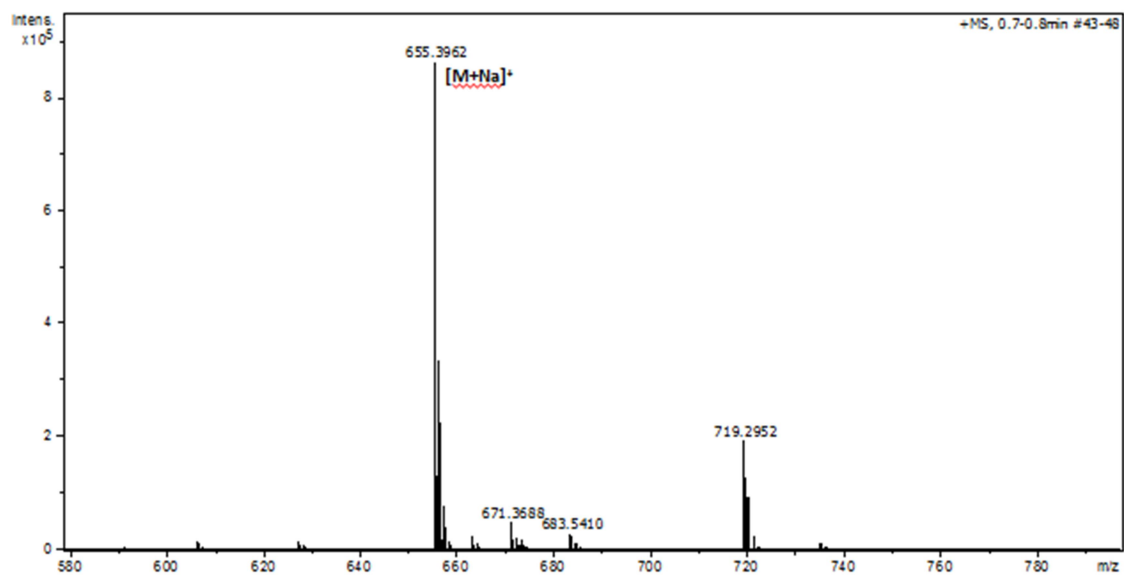
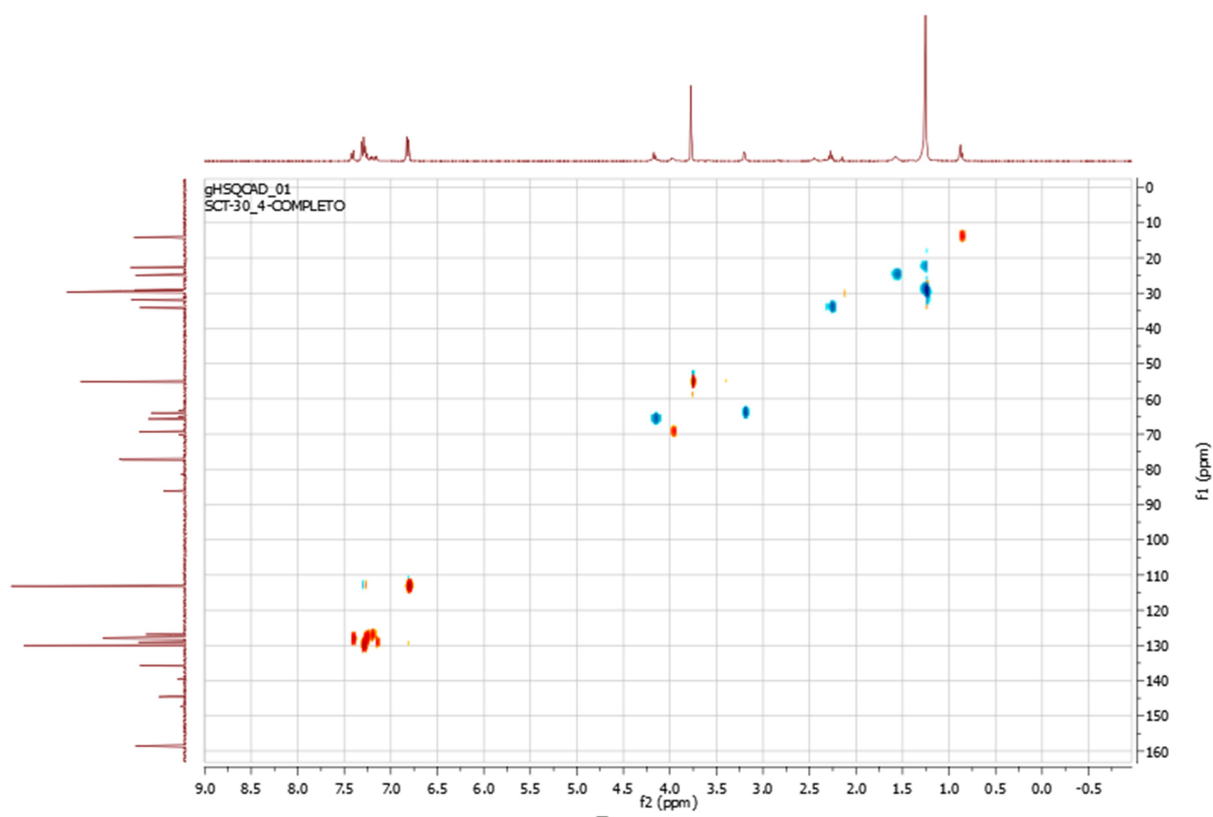




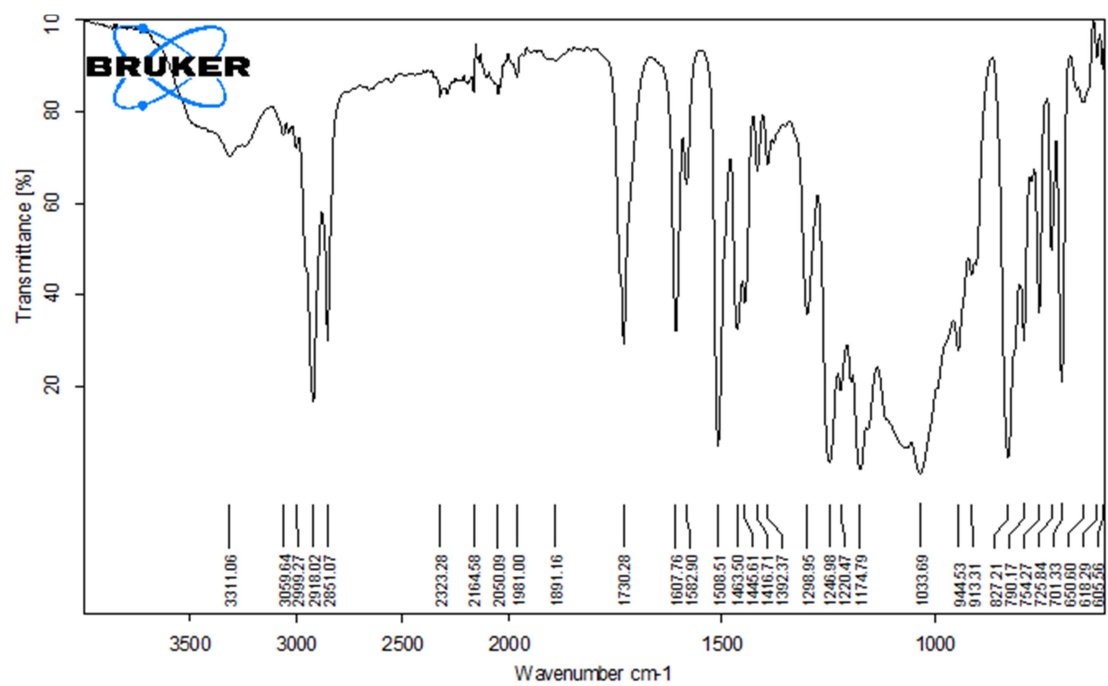
Meas. m/z	m/z	err [ppm]	mSigma	Ion Formula
353,2668	353,2662	-1.7	11.0	C19H38NaO4

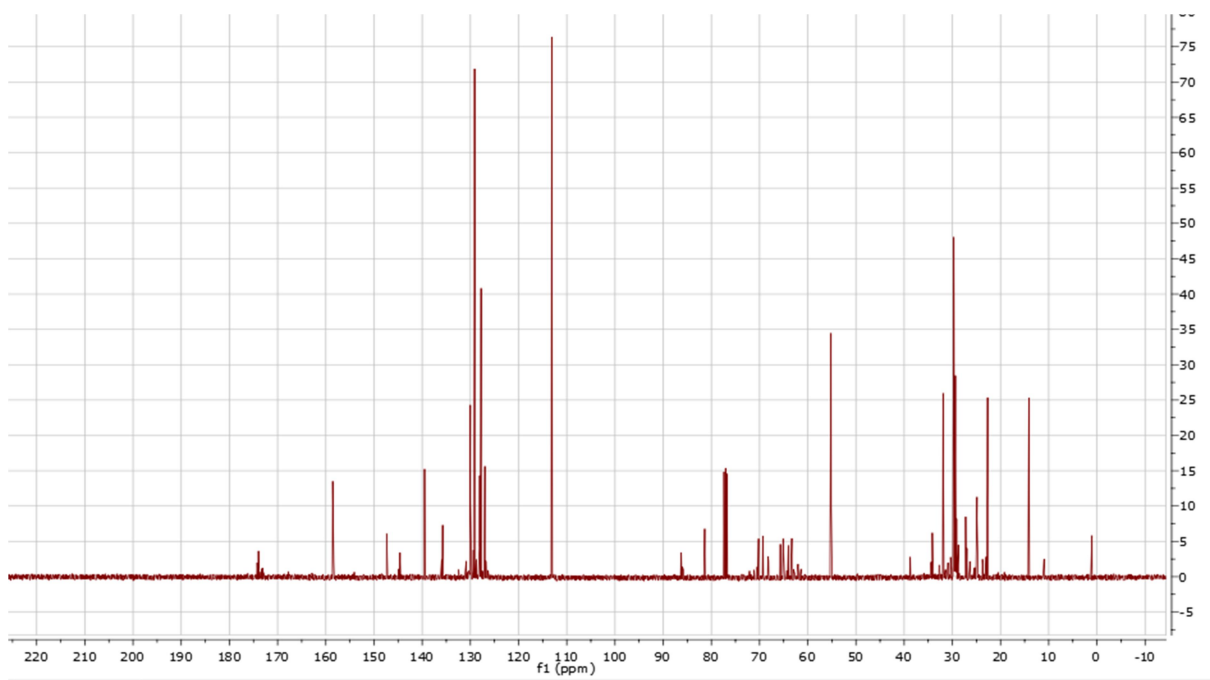
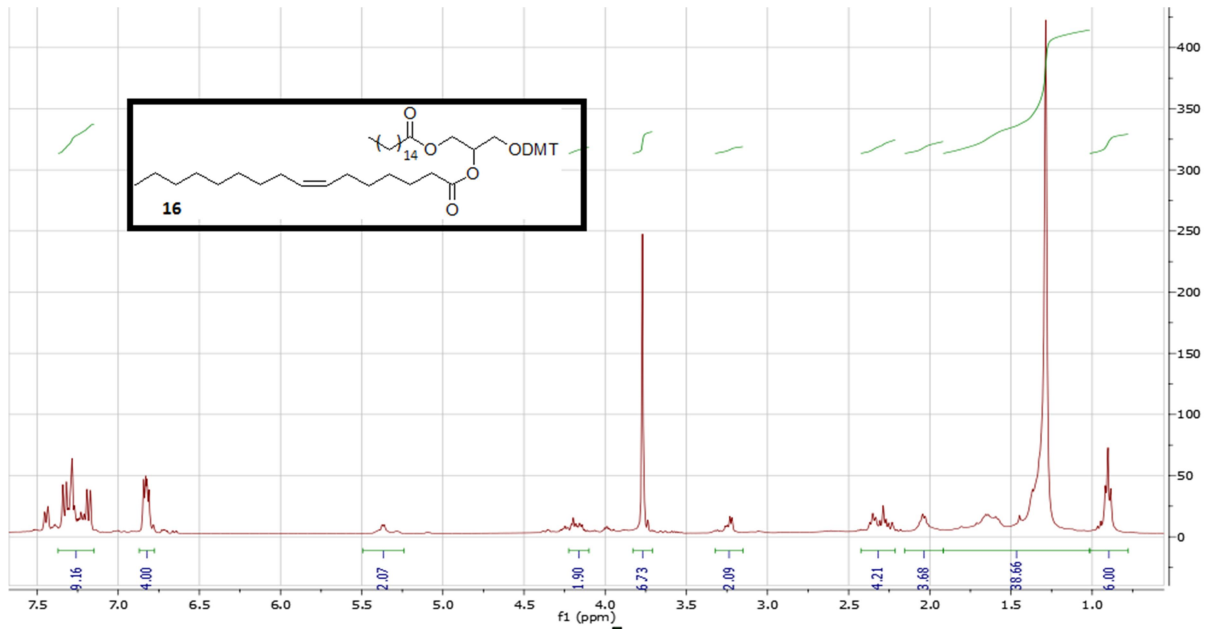


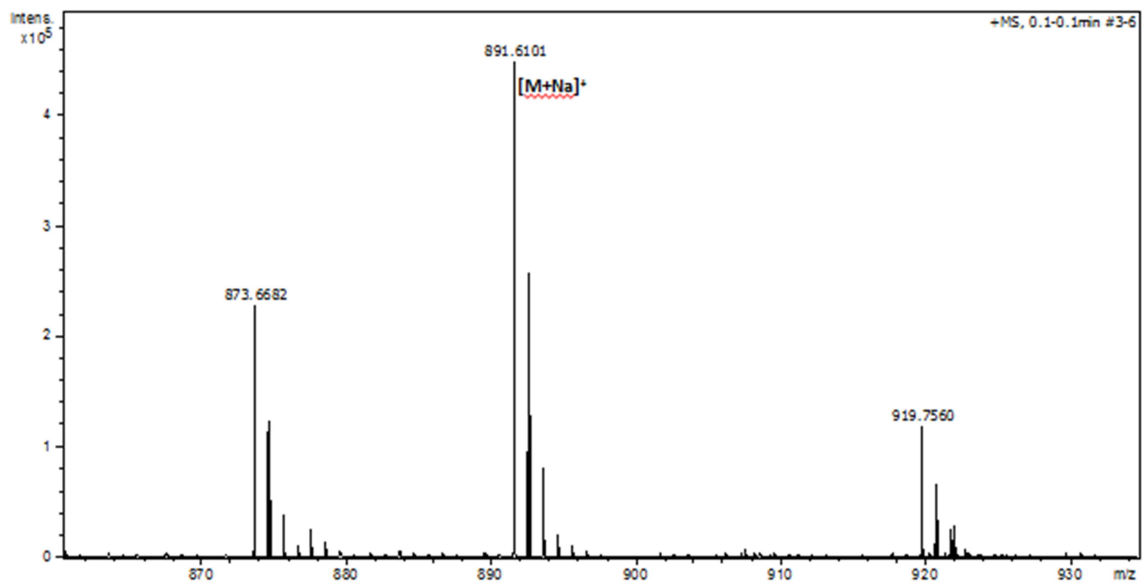
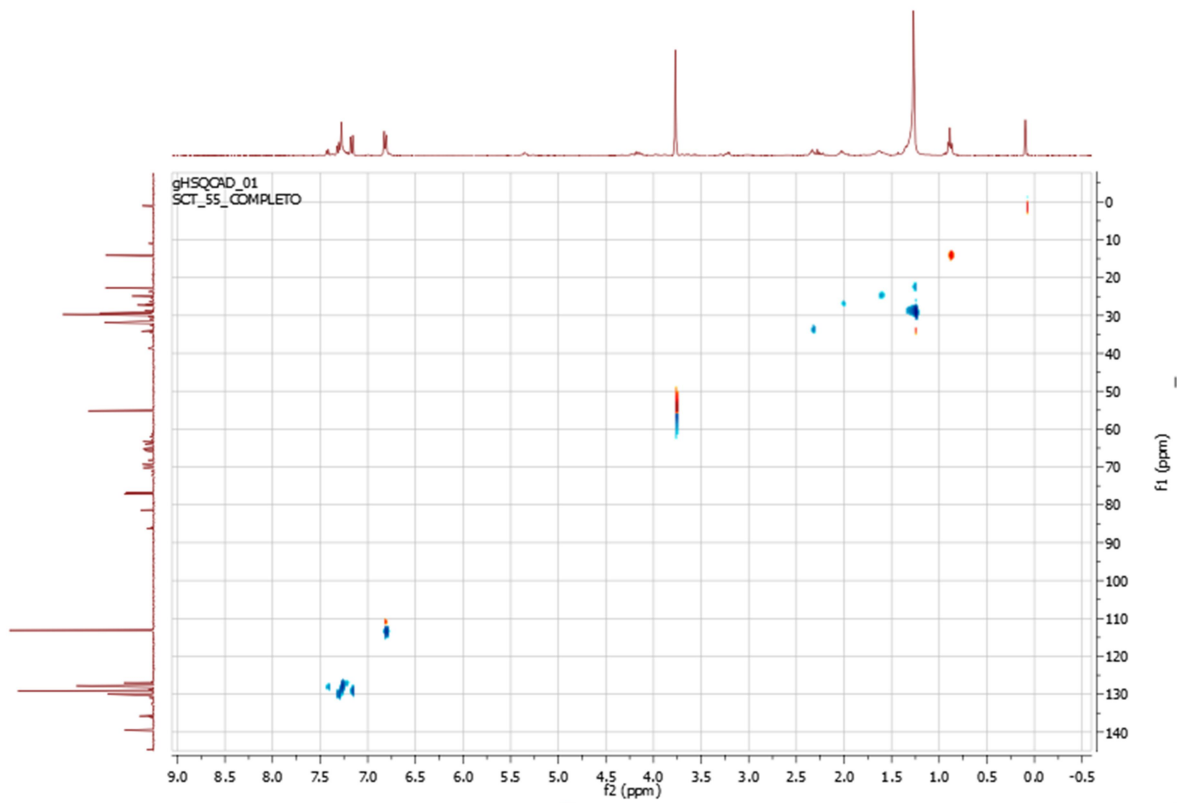


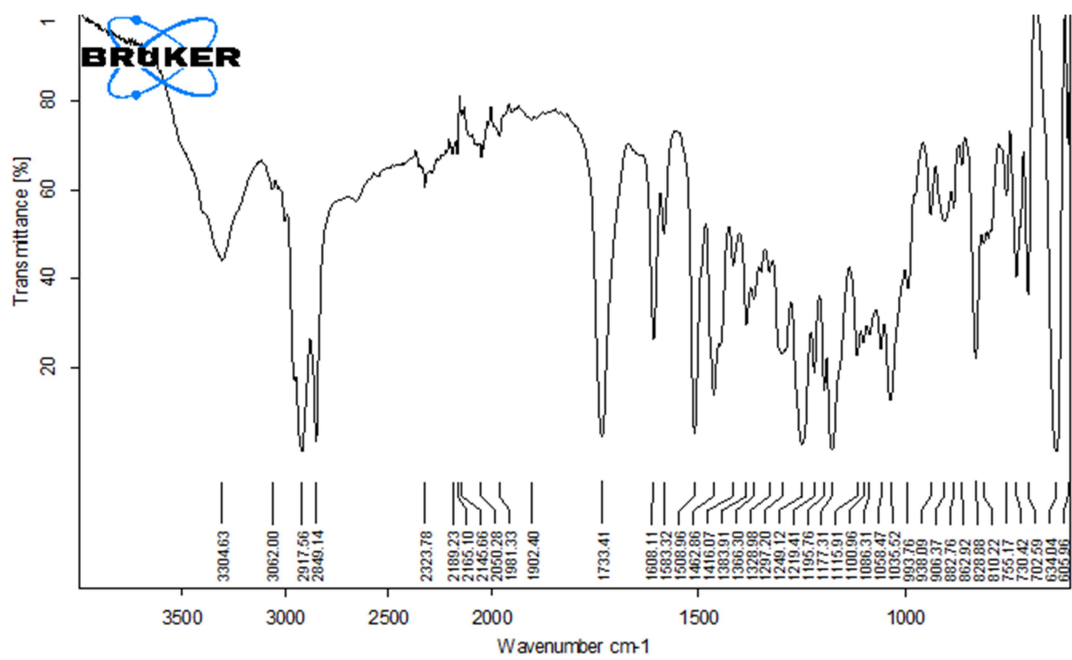


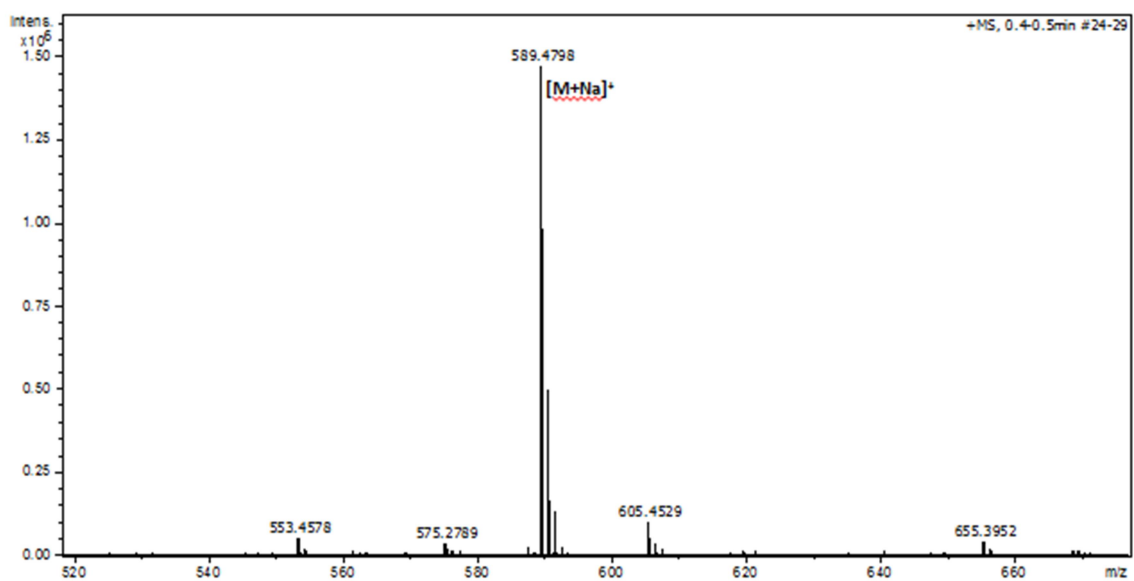
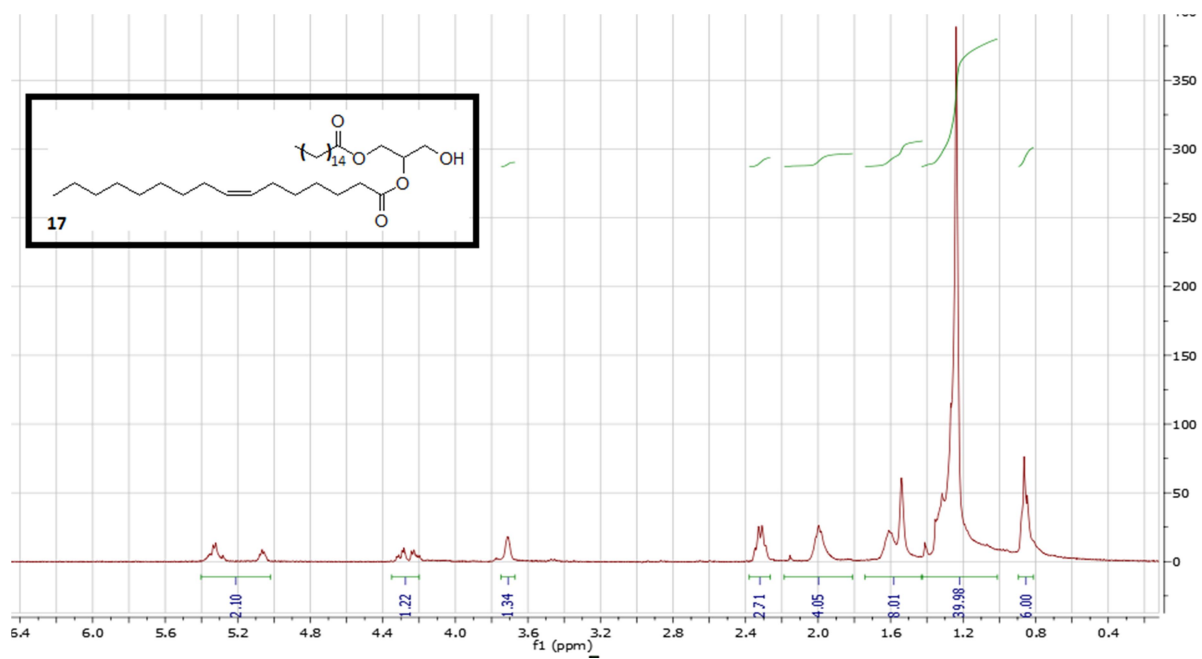
Meas. m/z	m/z	err [ppm]	mSigma	Ion Formula
655,3962	655,3969	1.1	28.8	C40H56NaO6











Meas. m/z	m/z	err [ppm]	mSigma	Ion Formula
589,4798	589,4802	0.7	27.2	C35H66NaO5

