



Universidad de Valladolid

Facultad de Ciencias

TRABAJO FIN DE GRADO

Grado en Química

Síntesis de ácido [D₂₇](Z)-7-hexadecenoico

Autor: Noemí García Pérez

Tutor: Alfonso Pérez Encabo

ÍNDICE

1.	<i>Abreviaturas</i>	3
2.	<i>Resumen</i>	5
3.	<i>Introducción</i>	6
4.	<i>Antecedentes Bibliográficos</i>	7
5.	<i>Objetivo y Plan de Trabajo</i>	14
6.	<i>Resultados y Discusión.</i>	15
7.	<i>Conclusiones.</i>	22
8.	<i>Materiales y Métodos</i>	23
9.	<i>ANEXOS</i>	30

1. ABREVIATURAS

AcOEt: Acetato de etilo

AMP: Adenosin monofosfato

AMPK: Proteína quinasa activada por AMP (del inglés, *AMP-activated protein kinase*)

Ar: Arilo

DCC: N,N'-diciclohexilcarbodiimida

DCM: Diclorometano

DE: Dietiléter

DMAP: Dimetilaminopiridina

eq: Equivalente

GPC: Glicerofosfolina

Hept: Heptano

PCC: Clorocromato de piridinio

PC: Fosfatidilcolina

PLs: Fosfolípidos

THF: Tetrahidrofurano

TLC: Cromatografía en capa fina (del inglés, *thin-layer chromatography*)

Ácidos grasos:

- Ácido graso **16:1n-9**: ácido (Z)-7-hexadecenoico
- Ácido graso **16:1n-7**: ácido palmitoleico o ácido (Z)-9-hexadecenoico
- Ácido graso **18:1n-9**: ácido oleico

2. RESUMEN / ABSTRACT.

En este trabajo se ha puesto a punto la síntesis del ácido [D₂₇](Z)-7-hexadecenoico (ácido 16:1n-9) utilizando como precursores el ácido [D₁₀]pimélico y el ácido [D₁₇]nonanoico que se obtuvieron por deuteración respectivamente del ácido pimélico y ácido nonanoico por reacciones de intercambio H/D catalizadas por Pd/C y Pt/C. La metodología desarrollada ha permitido poner a punto un método para obtener otros ácidos grasos donde se puede reemplazar los átomos de hidrógeno por deuterio, además se ha diseñado un reactor que permite trabajar por encima de 250°C y 25 atm de presión. Como aplicación final se ha preparado un fosfolípido candidato a estudios en futuros procesos biológicos.

In this work the synthesis of [D₂₇](Z)-7-hexadecenoic acid (16:1n-9 acid) has been developed using as precursors the [D₁₀]pimelic acid and [D₁₇]nonanoic acid which were obtained by deuteration respectively of pimelic acid and nonanoic acid by Pd/C and Pt/C catalyzed H/D exchange reactions. The developed methodology has made it possible to fine-tune a method to obtain other fatty acids where hydrogen atoms can be replaced by deuterium. In addition, a reactor has been designed to work above 250 °C and 25 atm pressure. As final application a phospholipid candidate for studies in future biological processes has been prepared.

3. INTRODUCCIÓN.

Las membranas biológicas constituyen fronteras que permiten no sólo separar sino también poner en comunicación diferentes compartimentos en el interior de la célula y a la propia célula con el exterior. Los fosfolípidos que llevan diferentes cadenas de ácidos grasos saturados e insaturados son componentes principales de las membranas biológicas y han sido el foco de un gran número de estudios científicos en campos como la biología molecular, la bioquímica, la química, la biofísica y la farmacología.

El ácido [D₂₇](Z)-7-hexadecenoico (16:1n-9) siendo un isómero posicional del ácido palmitoleico (16:1n-7) es un ácido graso poco común y poco estudiado. En un estudio reciente del grupo del doctor Jesús Balsinde¹, se encontró que el ácido 16:1n-9 muestra una actividad anti-inflamatoria tanto in vitro como in vivo que es comparable con la de los ácidos grasos omega-3 y claramente distinguible de los efectos del ácido palmitoleico.

En este contexto de trabajo, existe una demanda de ácido [D₂₇](Z)-7-hexadecenoico para ser empleado en el estudio de procesos biológicos en los que parece que interviene.

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

4. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

Los ácidos grasos monoinsaturados han sido reconocidos durante mucho tiempo como beneficiosos para la dieta humana. El ácido palmitoleico (16:1n-7) (*Figura 1*) ha recibido mucho interés recientemente como un prometedor lípido antiinflamatorio que puede ayudar a mejorar los trastornos metabólicos. En el trabajo del profesor Cao² se introdujo el concepto de hormona lipídica, que coordina las respuestas metabólicas, para describir las acciones biológicas del 16:1n-7 en ratones. El ácido graso liberado del tejido adiposo, actuaba en el hígado para suprimir la esteatosis (acumulación anormal de grasa) y mejorar la señalización de la insulina en el músculo. Otros estudios mostraron que el 16:1n-7 tenía efectos beneficiosos sobre la sensibilidad de las células musculares a la insulina³ o la viabilidad y proliferación de células β pancreáticas⁴. De acuerdo con el estado inflamatorio de bajo grado que es característico de la obesidad y trastornos metabólicos asociados, se mostró también que 16:1n-7 reducía la respuesta inflamatoria del tejido adiposo en ciertos modelos murinos (roedores) y mejoraba las respuestas metabólicas del hígado y del músculo afectando a la proteína quinasa activada por AMP (AMPK) y las vías de señalización de proteína quinasa activadas por mitógenos^{5,6}.

Sin embargo, los estudios en sujetos humanos produjeron resultados contradictorios⁷. Los estudios epidemiológicos informaron de una correlación positiva entre los altos niveles circulantes de 16:1n-7 y la obesidad⁸, la pancreatitis⁹ o la esteatosis hepática¹⁰. Otros estudios mostraron que la sensibilidad a la insulina en los tejidos periféricos no está asociada con la disponibilidad de 16:1n-7 en el plasma de pacientes obesos¹¹, y que los altos niveles de este

² Cao, H.; Gerhold, K.; Mayers, J.R.; Wiest, M.M.; Watkins, S.M. and Hotamisligil, G.S. *Cell*. **2008**, 134, 933–944.

³ Dimopoulos, N.; Watson, M.; Sakamoto, K. and Hundal, H.S. *Biochem. J.* **2006**, 399, 473–481.

⁴ Maedler, K.; Oberholzer, J.; Bucher, P.; Spinas, G.A. and Donath, M.Y. *Diabetes*. **2003**, 52, 726–733.

⁵ Talbot, N.A.; Wheeler-Jones, C.P. and Cleasby, M.E. *Mol. Cell. Endocrinol.* **2014**, 393, 129–142.

⁶ Chan, K.L.; Pilon, N.J.; Sivaloganathan, D.M.; Costford, S.R.; Liu, Z.; Thérét, M.; Chazaud, B. and Klip, A.J. *Biol. Chem.* **2015**, 290, 16979–16988.

⁷ De Fabiani, E. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2011**, 113, 809–811.

⁸ Gong, J.; Campos, H.; McGarvey, S.; Wu, Z.; Goldberg, R. and Baylin, A. *Am. J. Clin. Nutr.* **2011**, 93, 186–191.

⁹ Samad, A.; James, A.; Wong, J.; Mankad, P.; Whitehouse, J.; Patel, W.; Alves-Simoes, M.; Siriwardena, A.K. and Bruce, J.I. *J. Biol. Chem.* **2014**, 289, 23582–23595.

¹⁰ Lee, J.J.; Lambert, J.E.; Hovhannisyan, Y.; Ramos-Roman, M.A.; Trombold, J.R.; Wagner, D.A. and Parks, E.J. *Am. J. Clin. Nutr.* **2015**, 101, 34–43.

¹¹ Fabbrini, E.; Magkos, F.; Su, X.; Abumrad, N.A.; Nejedly, N.; Coughlin, C.C.; Okunade, A.L.; Patterson, B.W. and Klein, S. *J. Lipid Res.* **2011**, 52, 808–812.

ácido graso en los glóbulos rojos se correlacionan con la severidad de la inflamación y mayor riesgo de diabetes¹².

El grupo del doctor Balsinde¹, ha estudiado la actividad antiinflamatoria del ácido palmitoleico¹³ (Figura 1), único isómero 16:1 que se había identificado hasta ese momento. Al llevar a cabo el análisis cromatográfico de la muestra detectaron que no coincidían con las señales del ácido palmitoleico comercial por lo que para poder identificar qué isómero del 16:1 estaban analizando llevaron a cabo pruebas con todos los isómeros del 16:1 comercialmente disponibles y compararon con los resultados obtenidos del ácido graso que estaban analizando. Los resultados indicaban que el ácido graso que se acumula principalmente en los lípidos neutros y en cantidades distintas en fosfolípidos es el 16:1n-9 (Figura 2).

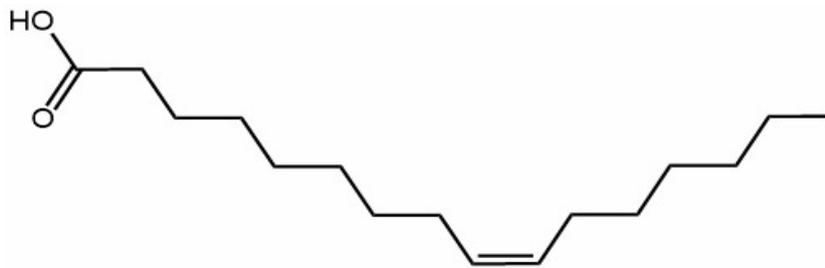


Figura 1: Ácido palmitoleico (16:1n-7)

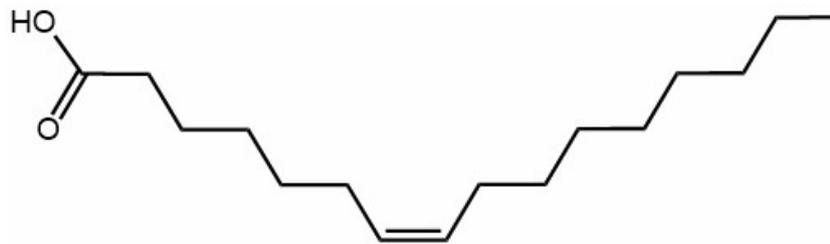


Figura 2: ácido (Z)-7-hexadecenoico (16:1n-9)

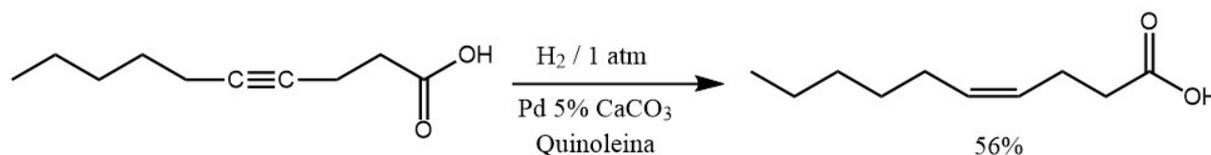
Los monocitos humanos sintetizan, además del ácido palmitoleico (16:1n-7), el ácido (Z)-7-hexadecenoico (16:1n-9), siendo este último el ácido graso que se acumula en los lípidos neutros como gotitas lipídicas de monocitos, planteando la posibilidad de que el 16:1n-9 pueda constituir un biomarcador para la formación de monocitos espumosos. Hay una evidencia adicional de que el ácido 16:1n-9 actúa como un nuevo lípido antiinflamatorio participando en un nuevo fenómeno de "cambio de clase" de lípidos, atenuando las respuestas

¹² Zong, G.; Zhu, J.; Sun, L.; Ye, X.; Lu, L.; Jin, Q.; Zheng, H.; Yu, Z.; Zhu, Z.; Li, H. et al. *Am. J. Clin. Nutr.* **2013**, 98, 319-326.

¹³ Quehenberger, O.; Armando, A.M. and Dennis, E.A. *Biochim. Biophys. Acta.* **2011**, 1811, 648-656.

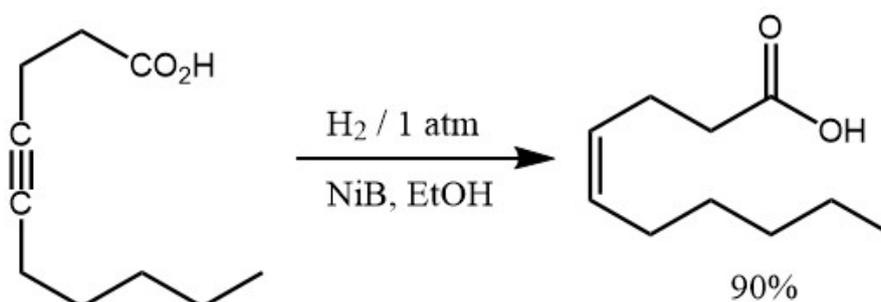
1. Hidrogenación de alquinos

El grupo del profesor Kai¹⁶, 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 2*).



Esquema 2: Hidrogenación de alquinos

Esta misma estrategia ha sido empleada¹⁷ 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 níquel (*Esquema 3*).



Esquema 3: Hidrogenación de alquinos

2. Reacción de Wittig

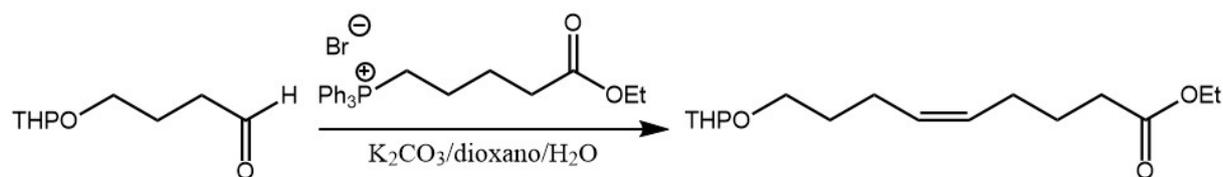
La utilización de iluros de fósforo no estabilizados constituye un buen procedimiento en la obtención de (Z)-alquenos¹⁸. Matikainen¹⁹ y colaboradores han conseguido de forma satisfactoria la preparación de 9-(tetrahidropiran-2-iloxi)-(5Z)-nonanoato de etilo por reacción de la sal de fosfonio derivada de 5-bromopentanoato de etilo y el aldehído correspondiente (*Esquema 4*).

¹⁶ Kai, K.; Kasamatsu, K. and Hayashi, H. *Tetrahedron Lett.* **2012**, 53, 5441-5444.

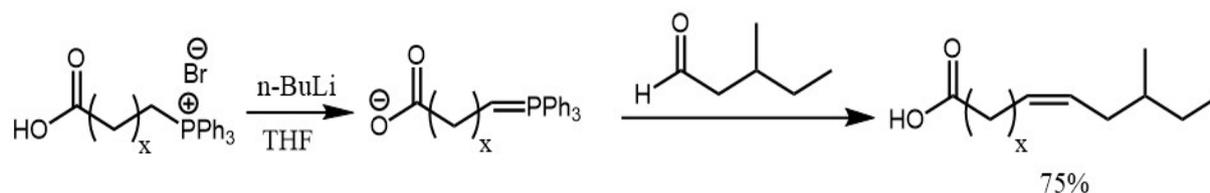
¹⁷ Djuric, S.W.; Miyashiro, J.M.; Penning, T.D.; Keith, R.H.; Villani-Price, D. and Tsai, B-S. *Biorganic & Medicinal Chemistry Letters.* **1991**, 1, 179-182

¹⁸ Maryanoff, B.E.; Reitz, A.B. *Chem. Rev.* **1989**, 89, 863-927.

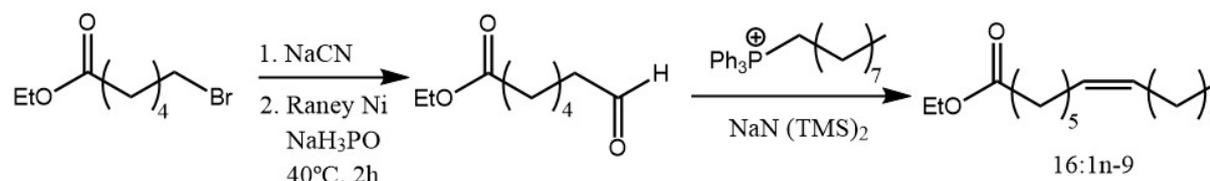
¹⁹ Kaltia, S.; Matikainen, J.; Ala-Peijari, M. and Hase, T. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **2008**, 85, 561-565.

**Esquema 4: Reacción de Wittig**

La (Z)-selectividad se encuentra también cuando se utilizan aldehídos más ramificados²⁰ 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 (ácidos grasos anteiso) se han preparado por ejemplo por reacción de 3-metilpentanal y un iluro de fosfonio generado con n-BuLi como base (*Esquema 5*):

**Esquema 5: Síntesis de ácidos grasos a partir de aldehídos ramificados**

La obtención del ácido (Z)-7-hexadecenoico (16:1n-9) se encuentra descrita en la bibliografía²¹ 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 fosforo para obtener el ácido graso monoinsaturado (*Esquema 6*).

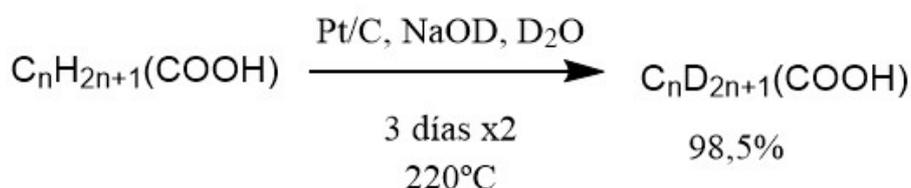
**Esquema 6: Síntesis de ácido (Z)-7-hexadecenoico (16:1n-9)**

Los procesos que permiten el intercambio H/D suelen estar favorecidos empleando medios básicos y óxido de deuterio como disolvente. Las reacciones hidrotérmicas catalizadas por un metal en D₂O, afectan al intercambio H/D, incluso en los carbonos alifáticos saturados (protones no ácidos) para producir compuestos completa o parcialmente deuterados (*Esquema*

²⁰ Thurnhofer, S.; Vetter, W. *Tetrahedron*. **2007**, 63, 1140-1145.

²¹ Mostyn, S.N.; Carland, J.E.; Shimmon, S.; Ryan, R.M.; Rawling, T. and Vandenberg R.J. *ACS Chem. Neurosci.* **2017**.

7). Las moléculas robustas, tales como los ácidos grasos saturados, se adaptan bien a las condiciones duras de las reacciones hidrotérmicas (>200°C y >20 bar). Se someten a intercambio H/D cuando se tratan con una solución alcalina de D₂O en presencia de un catalizador metálico (Pt o Pd) a altas temperaturas (180-240 °C)^{22,23}.



Esquema 7: Proceso de intercambio H/D

La síntesis más viable es la obtención del ácido graso deuterado partiendo de precursores de cadena alquilo saturados que se deuteraron usando reacciones hidrodinámicas de intercambio H/D. Al llevar a cabo la síntesis de esta forma se evita que el doble enlace del ácido graso se reduzca o que se produzca la migración del doble enlace central, u otro tipo de modificaciones en la estructura.

Síntesis de fosfolípidos

En los últimos años ha habido un rápido progreso en el campo de la bioingeniería y la tecnología de fosfolípidos^{24,25}. Los nuevos descubrimientos en esta área han cambiado completamente la idea de que los fosfolípidos sean sólo los componentes integrales de la biomembrana que garantiza su integridad, funcionalidad, energía y material complementario^{26,27}. Actualmente se sabe que los fosfolípidos también están involucrados en muchas reacciones metabólicas y neurológicas. Regulan los procesos biológicos fundamentales y juegan un papel importante en la transmisión de información como mediadores intracelulares²⁸. Para la descripción de las interacciones fosfolípidos-proteína, los mecanismos de su acción en la membrana como moléculas de señalización y relación entre su estructura y actividad el punto clave es la preparación de un gran número de derivados de fosfolípidos. Especialmente importante en esta área es el desarrollo de nuevos métodos

²² Heyningen, V.; Rittenberg, W. and Schoenheimer, R. *J. Biol. Chem.* **1938**, 125, 495–500.

²³ Hsiao, C.Y.Y.; Ottaway, C.A. and Wetlaufer, D.B. *Lipids.* **1974**, 9, 913–915.

²⁴ Vance D.E.; Vance J.E. *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes.* Elsevier. 2002

²⁵ Szuhaj B.F.; Nieuwenhuyzen W.V. *Nutrition and Biochemistry of Phospholipids.* AOCS Press Illinois. 2003.

²⁶ Bezrukov S.M. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2000**, 5, 237–243.

²⁷ White S.H.; Ladokhin A.S.; Jayasinghe S.; Hirstova K. *J. Biol. Chem.* **2001**, 276, 32395–32398.

²⁸ Chrencik J.E.; Roth C.B., Terakado M., Kurata H.; Omi R.; Kihara Y. et al. *Cell.* **2015**, 161, 1633–1643.

sintéticos para la preparación de fosfolípidos biológicamente activos (PLs) con una estructura definida y alta pureza²⁹.

La mayoría de los estudios basados en la síntesis de fosfolípidos parten de glicerofosfocolina (GPC) (Figura 3) que es un derivado del glicerol.

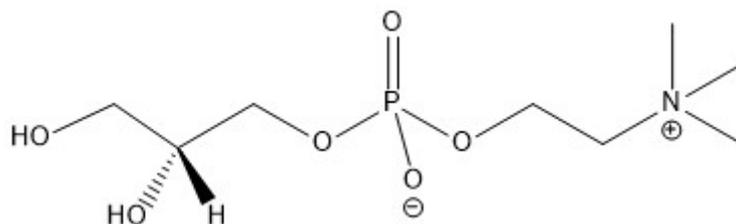
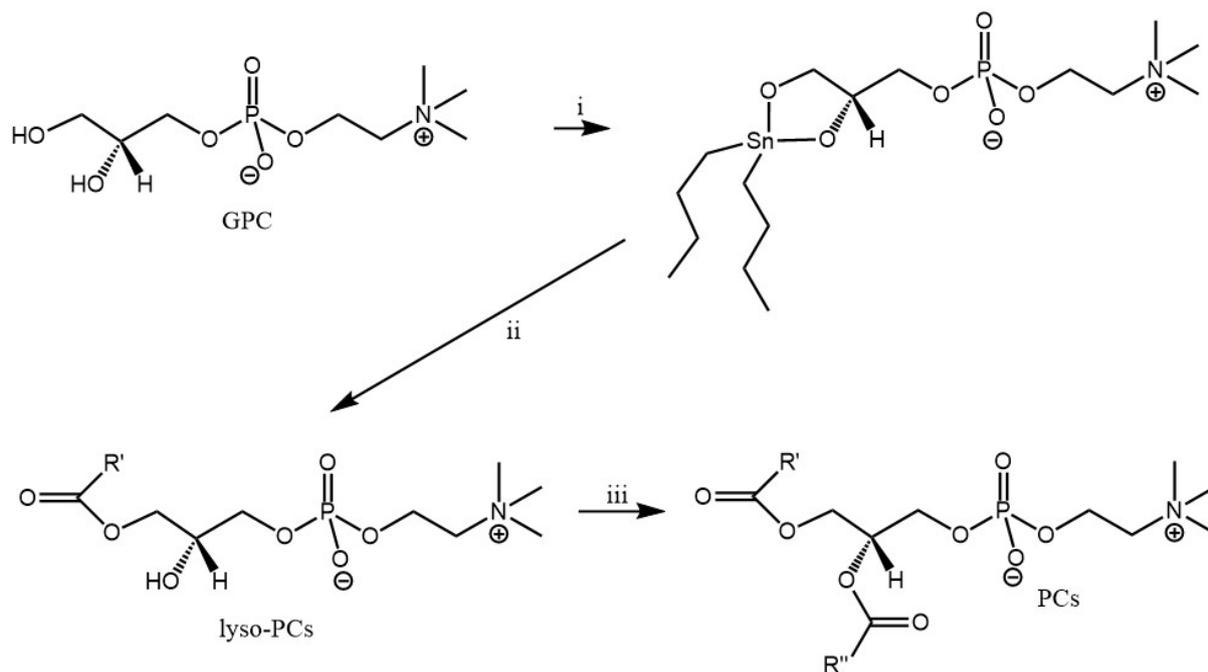


Figura 3: GPC

La actividad biológica de los fosfolípidos depende de los ácidos grasos que se localicen en las posiciones sn-1 y sn-2. En los estudios de D'Arrigo P. et al.³⁰ y Gliszczyńska, A. et al.²⁹ llevan a cabo la síntesis de diferentes fosfolípidos por ejemplo (Esquema 8) el fosfolípido mixto a partir de GPC, ácido palmítico y ácido nonanoico³⁰.



(i) DBTO, 2-propanol; (ii) R'COCl, -HCl; R'=C₁₅H₃₁; (iii) (R''CO)₂O, DMAP, CH₂Cl₂; R''=C₈H₁₇

Esquema 8: Síntesis de fosfolípidos mixtos

²⁹ Gliszczyńska, A.; Niezgodna, N.; Gładkowski, W.; Czarnecka, M.; Świtalska, M.; Wietrzyk, J. *PLOS ONE*. **2016**, 11(6), e0157278.

³⁰ D'Arrigo P.; Fasoli E.; Pedrocchi-Fantoni G.; Rossi C.; Saraceno C.; Tessaro D.; Servi S. *Chem. Phys. Lipids*. **2007**; 147: 113–118.

5. OBJETIVO Y PLAN DE TRABAJO.

El presente trabajo se realizó teniendo en cuenta los siguientes objetivos:

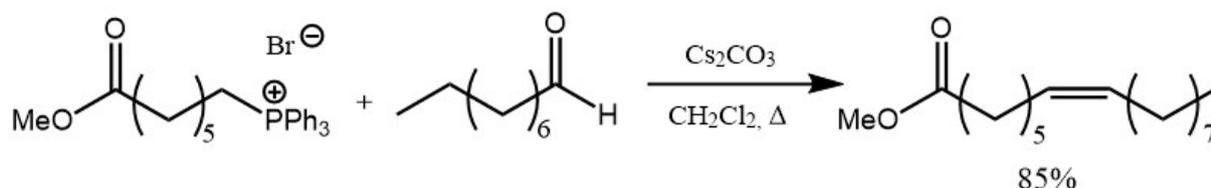
1. Poner a punto un método para la obtención de ácidos grasos donde todos sus átomos de hidrógenos se sustituyen por deuterio.
2. Preparar el ácido [D₂₇](Z)-7-hexadecenoico.
3. Sintetizar un fosfolípido empleando el ácido [D₂₇](Z)-7-hexadecenoico.

Para poder cumplir estos objetivos se ha establecido el siguiente plan de trabajo:

1. Optimización del proceso de intercambio H/D en el ácido pimélico y el ácido nonanoico para su posterior conversión en el ácido 16:1n-9.
2. La puesta a punto del método de preparación del ácido [D₂₇](Z)-7-hexadecenoico a partir del ácido pimélico y el ácido nonanoico sin deuterar, para su posterior uso con los compuestos deuterados.
3. Preparado el ácido [D₂₇](Z)-7-hexadecenoico se desarrollará un método que permita la preparación de fosfolípidos diferentemente sustituidos.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

La síntesis del ácido (Z)-7-hexadecenoico ha sido abordada y resuelta por nuestro grupo de investigación mediante una reacción de tipo Wittig entre el bromuro de (7-metoxi-7-oxoheptil)trifenilfosonio y nonanal. La calefacción a reflujo en DCM y en presencia de carbonato de cesio proporcionó la (Z)-olefina con excelente rendimiento (*Esquema 9*).



Esquema 9: Síntesis de (Z)-7-hexadecenoato de metilo

Teniendo en cuenta esta reacción nos planteamos en primer lugar la preparación de estos dos fragmentos, pero donde se han sustituido los átomos de hidrógeno por átomos de deuterio, además dado que el método que íbamos a utilizar en el proceso de intercambio H/D hace necesario emplear un compuesto estable a altas temperaturas, se optó por dos ácidos carboxílicos que se pudiesen transformar posteriormente en la sal de fosonio y nonanal con facilidad. Los compuestos elegidos fueron el ácido pimélico y el ácido nonanoico (*Figura 4*).

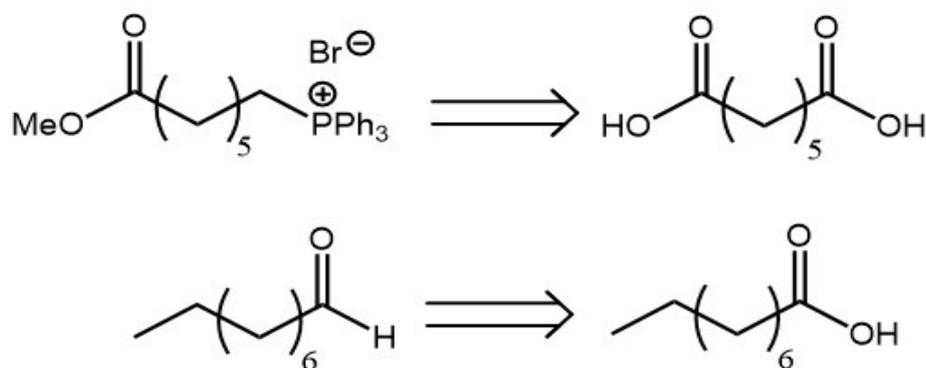
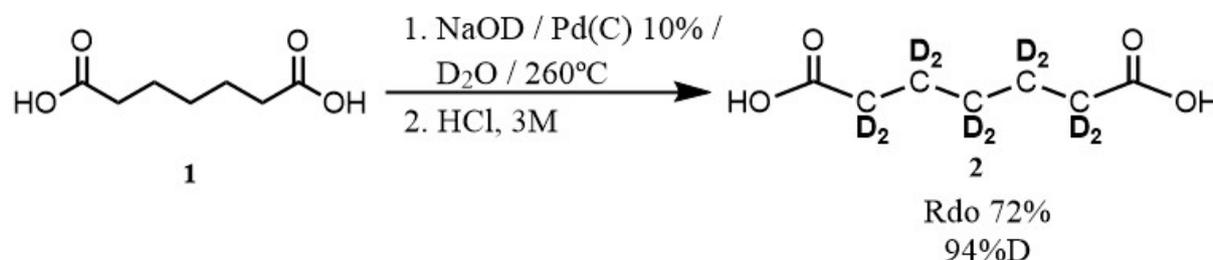


Figura 4: Precursores para la síntesis del ácido (Z)-7-hexadecenoico (16:1n-9)

La posibilidad de poder intercambiar átomos de hidrógeno por deuterio con el objetivo de perdeuterar ácidos grasos fue descrita por primera vez por el profesor Hsio²³ en 1974. Este procedimiento utiliza una mezcla de KOD/D₂O y paladio sobre carbono como catalizador. La calefacción a 195°C durante cinco días conduce a ácidos grasos perdeuterados por encima del 95%. Recientemente se ha publicado¹⁴ la preparación del ácido [D₃₂]oleico siguiendo un procedimiento parecido a éste, donde también se obtienen elevados porcentajes de intercambio H/D. De esta forma, los primeros ensayos se realizaron con ácido pimélico y una mezcla NaOD/D₂O y Pd(C) 10%. La temperatura de trabajo se fijó en 220°C y una presión de 20 bares. Después de tres días de reacción se obtuvo un porcentaje de deuteración diferente según el átomo de carbono considerado, y donde, en los carbonos en α respecto al grupo carboxilo y debido a su mayor acidez, se produce un intercambio superior al 80%, mientras

que en el resto de átomos de carbono el intercambio fue inferior al 10%. El siguiente paso fue aumentar la temperatura hasta 260°C y con ello la presión (27 bares) a la que se produce la reacción. En estas condiciones y después de tres días se obtuvieron porcentajes de intercambio superiores al 70%, por lo que fue necesario repetir el proceso con el producto parcialmente deuterado obteniéndose finalmente el ácido [D₁₀]pimélico con un porcentaje de intercambio H/D superior al 90% (Esquema 10).



Esquema 10: Reacción de intercambio H/D en el ácido pimélico

Estos resultados nos indicaban que eran necesarios periodos de reacción cercanos a una semana, por lo que, a partir de este momento todos los procesos de intercambio se realizaron con periodos de reacción de seis días, donde se consiguen porcentajes de intercambio superiores al 90%. En la *Figura 5* se recoge el espectro de ¹H-RMN del ácido [D₂₇]pimélico donde se puede apreciar el porcentaje de intercambio H/D para cada tipo de hidrógeno presente en este ácido.

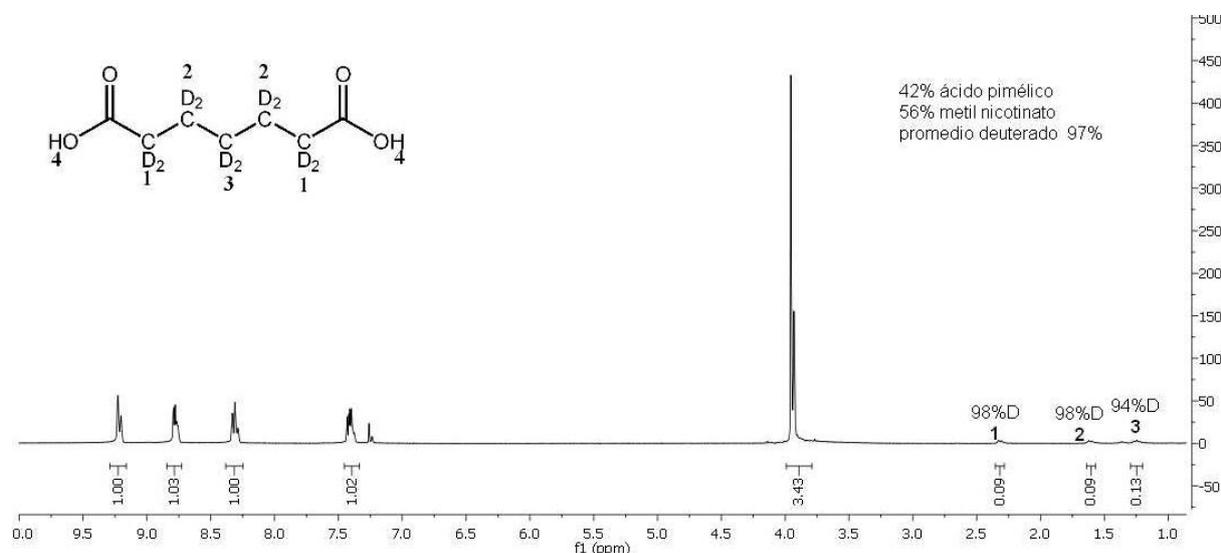
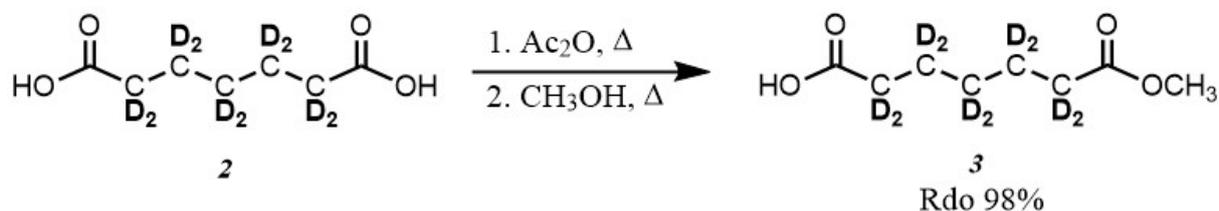


Figura 5: Porcentaje de deuterio en el ácido pimélico

Como se puede apreciar en la *Figura 5* el porcentaje medio de deuterio es superior al 90%.

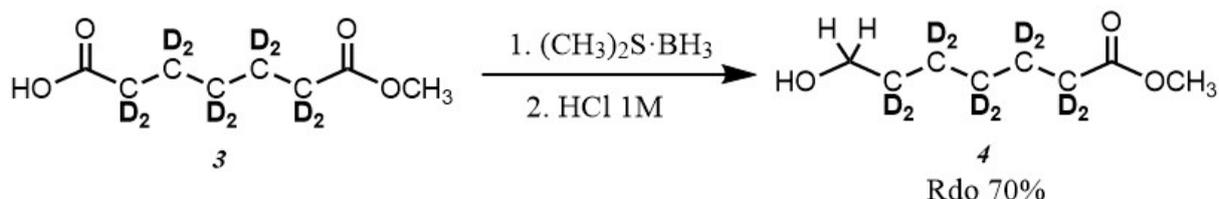
Una vez preparado el ácido [D₁₀]pimélico la transformación en la sal de fosfonio exige diferenciar ambos grupos carboxílicos; para ello en primer lugar se ensayó la esterificación del ácido [D₁₀]pimélico e hidrólisis parcial de uno de los grupos metoxicarbonil con hidróxido de bario aplicando las condiciones descritas en la bibliografía¹⁴. Se obtuvo un rendimiento

inferior al 5% de ácido carboxílico. Dado que esta reacción no proporciona buenos resultados se cambió la estrategia y se transformó el ácido [D₁₀]pimélico **2** en su anhídrido por calefacción en anhídrido acético, para su posterior apertura con metanol a reflujo³¹. En estas condiciones se obtuvo el producto deseado con excelente rendimiento (*Esquema 11*).



Esquema 11: Obtención del ácido [D₁₀]7-metoxi-7-oxoheptanoico

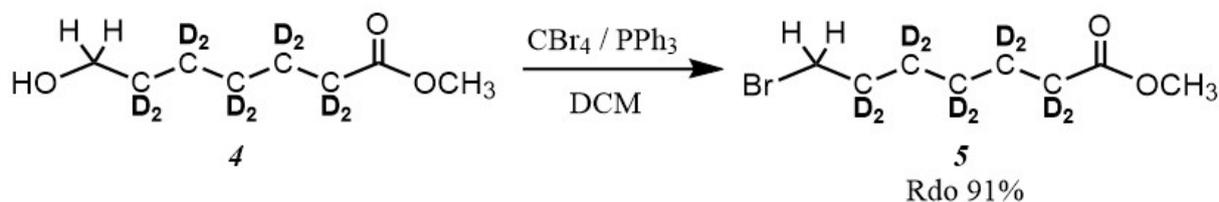
El monoéster **3** fue convertido en [D₁₀]7-hidroxiheptanoato de metilo **4** por reducción con borano dimetilsulfuro en THF anhidro (*Esquema 12*)¹⁴. La reducción transcurre de forma satisfactoria con buen rendimiento (70%).



Esquema 12: Obtención del [D₁₀]7-hidroxiheptanoato de metilo

El proceso de reducción del monoéster **3** con borano permite la posibilidad de obtener el hidroxiéster **4** perdeuterado, pero debido al elevado precio del borano deuterado y dado que los ensayos que se pretenden realizar con el ácido graso final son también alcanzables con un grado menor de intercambio H/D, se optó por proseguir la síntesis con el compuesto **4**.

Preparado el compuesto **4** se transformó en el [D₁₀]7-bromoheptanoato de metilo **5** por reacción con la mezcla CBr₄/PPh₃ (*Esquema 13*)³². Este proceso permitió aislar el compuesto **5** mediante destilación con excelentes rendimientos (91%).

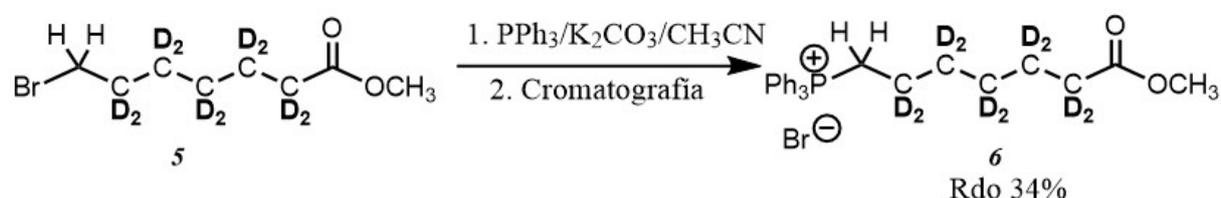


Esquema 13: Obtención del [D₁₀]7-bromoheptanoato de metilo

³¹ Rusche J.R.; Peet N.P.; Hopper A.T. Compounds including pimelic acid derivatives as hdac inhibitors. U.S., Patent, WO 2010028193 A1, 2010-03-11.

³² Hu, T-S.; Yu, Q.; Wu, Y-L.; Wu, Y. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 853–861.

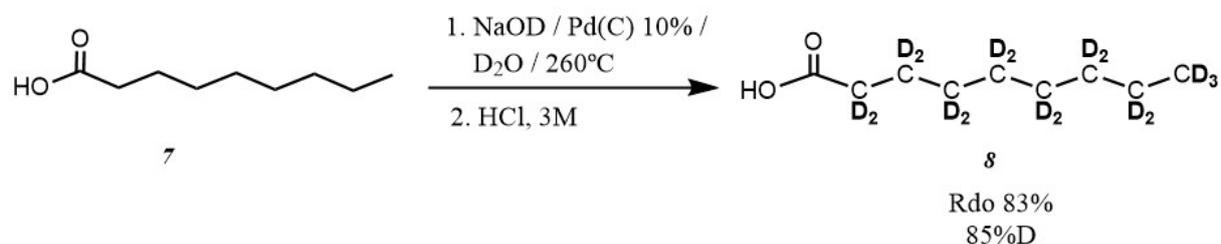
A partir del bromuro **5**, la obtención de la sal de fosfonio **6** fue posible por calefacción con trifetilfosfina en acetonitrilo anhidro y cantidades catalíticas de carbonato de potasio anhidro³². En estas condiciones se obtiene la sal de fosfonio **6**, difícil de purificar mediante recristalización, por lo que se purificó por cromatografía en columna, obteniéndose ahora sí la sal de fosfonio con un rendimiento del 34% (*Esquema 14*).



Esquema 14: Obtención de bromuro de [D₁₀](7-metoxi-7-oxoheptil)trifenilfosfonio.

En este punto disponíamos de uno de los dos fragmentos necesarios para la obtención del ácido [D₂₇](Z)-7-hexadecenoico.

El otro fragmento pudo ser preparado a partir de ácido nonanoico. La reacción de intercambio H/D transcurrió con excelentes rendimientos, tanto químico como en el intercambio H/D. La aplicación de las condiciones empleadas en el caso del ácido pimélico, también son satisfactorias para el caso del ácido nonanoico (*Esquema 15*).



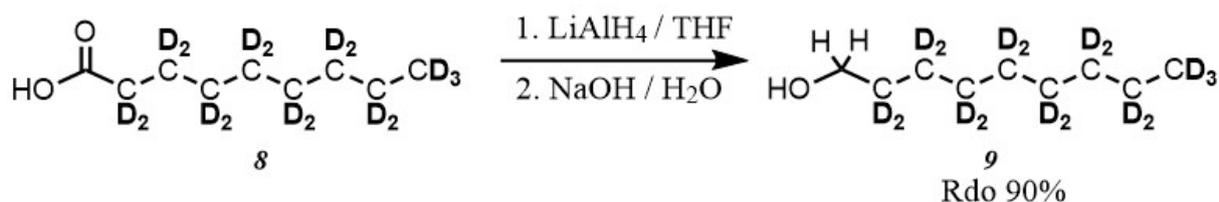
Esquema 15: Reacción de intercambio H/D del ácido nonanoico

Al igual que en el caso del ácido pimélico fue necesario un tiempo de reacción de 6 días para obtener un grado de intercambio H/D superior al 80%.

El ácido carboxílico **8** fue fácilmente reducido al alcohol **9** por reacción con LiAlH₄^{33,34} con un rendimiento del 90%. Como en la obtención del alcohol **4** se optó por el uso de un reductor no deuterado dado el elevado precio de este reactivo deuterado (*Esquema 16*).

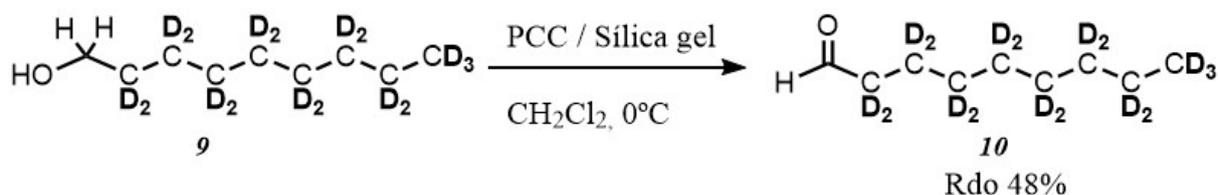
³³ Brocksom, T.J.; Coelho, F.; Deprés, J.-P.; Greene, A. E., Freire de Lima, M.E.; Hamelin, O.; Hartmann, B., Kanazawa, A. M.; Wang, Y. *Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 15313-15325.

³⁴ Barbachyn, M.R.; Cleek, G.J.; Dolak, L.A.; Garmon, S.A.; Morris, J.; Seest, E.P.; Thomas, R.C.; Toops, D.S.; Watt, W.; Wishka, D.G.; Ford, C.W.; Zurenko, G.E.; Hamel, J.C.; Schaadt, R.D.; Stapert, D.; Yagi, B.H.; Adams, W.J.; Friis, J.M.; J.G.; Slatter, Sams, J.P.; Oien, N.L.; Zaya, M.J.; Wienkers, L.C.; and Wynalda M.A. *J. Med. Chem.* **2003**, 46, 284-302.



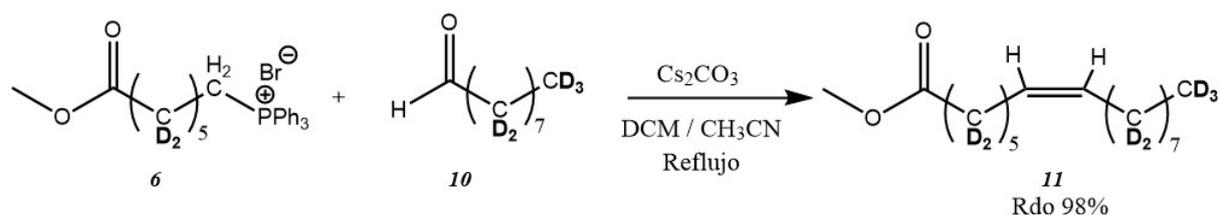
Esquema 16: Obtención de [D₁₇]1-nanol

Por último, la oxidación del alcohol **9** a [D₁₇]nonanal **10**, fue posible¹⁴ por tratamiento del alcohol **9** con PCC en DCM, obteniendo el aldehído con un rendimiento del 48% (Esquema 17).



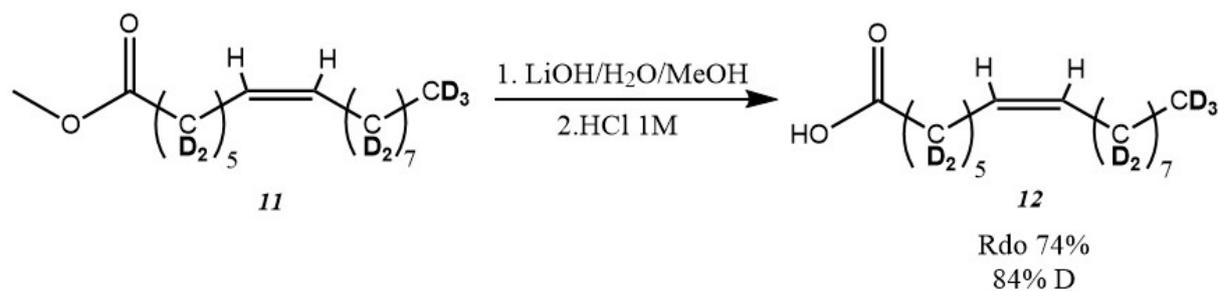
Esquema 17: Obtención de [D₁₇]nonanal

Como se ha comentado anteriormente la preparación del ácido (Z)-7-hexadecenoico es posible por reacción entre nonanal y el bromuro de (7-metoxi-7-oxoheptil)trifenilfosfonio en medio básico. Para esta transformación se ha observado que la calefacción de ambos fragmentos en presencia de carbonato de cesio conduce al (Z)-alqueno con un rendimiento superior al 80%. El uso de carbonato de cesio como base permite simplificar la reacción, ya que evita el empleo de amiduros de litio o bases más fuertes junto con un medio anhidro. Una vez completada la reacción, la eliminación de las fracciones insolubles por filtración permite aislar el ester monoinsaturado (Esquema 18) con un rendimiento del 98%.



Esquema 18: Reacción de Wittig para la obtención del [D₂₇](Z)-7-hexadecenoato de metilo

El proceso de saponificación del ester **11** se realizó¹⁴ utilizando como base hidróxido de litio en una mezcla metanol/agua (Esquema 19). La transformación es cuantitativa obteniéndose un porcentaje global de deuteración del 84% y un rendimiento del 74%. El ácido [D₂₇](Z)-7-hexadecenoico es estable durante semanas cuando se guarda por debajo de 4°C, además este ácido [D₂₇](Z)-7-hexadecenoico se utilizó en la síntesis de fosfolípidos.



Esquema 19: Reacción de saponificación para la obtención del ácido 16:1n-9

La presencia de los dos átomos de hidrógeno en los carbonos olefínicos nos ha permitido confirmar la estereoquímica de este doble enlace carbono-carbono, ya que presentan una constante de acoplamiento $J = 10$ Hz (Figura 6).

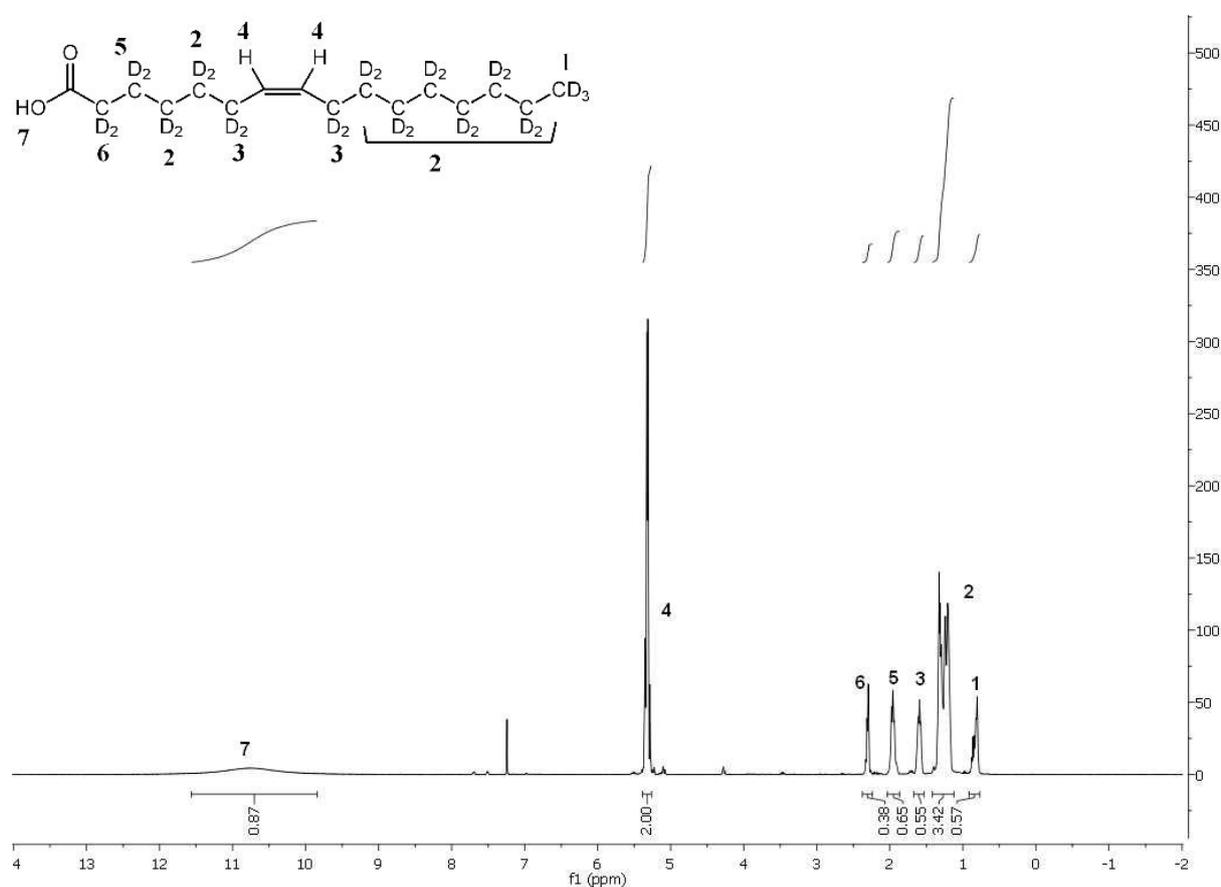
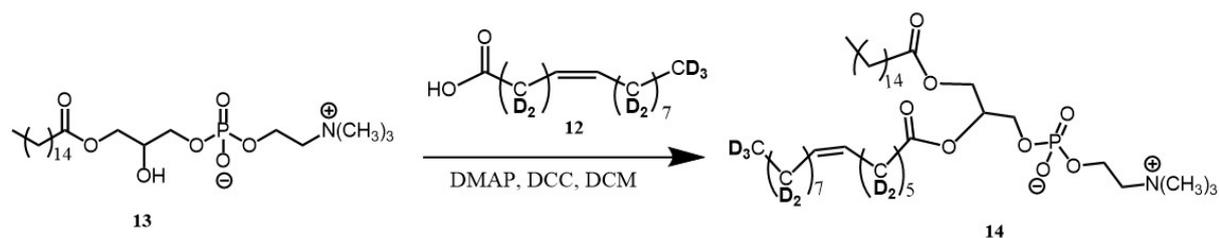


Figura 6: Espectro ¹H RMN del ácido [D₂₇](Z)-7-hexadecenoico

Este trabajo de fin de grado se ha completado con la preparación de un fosfolípido, ya que como se ha comentado en la introducción va a ser el tipo de compuesto que se usará en posteriores estudios biológicos. Se optó por un fosfolípido mixto²⁹ donde en la posición 1 hay

un grupo palmítico, por lo que la reacción entre éste y el compuesto **12** permitió preparar el fosfolípido **14** (Esquema 20).



Esquema 20: Síntesis de 1-palmitoil-2-([D₂₇](Z)-7-hexadecenoil)-sn-glicero-3-fosforilcolina a partir de ácido [D₂₇](Z)-7-hexadecenoico

El monoacil **13** ha sido preparado previamente en nuestro grupo de investigación, por lo que no fue necesario prepararlo en la realización de este trabajo de fin de grado.

7. CONCLUSIONES.

1. Se ha desarrollado un proceso de intercambio H/D para el ácido pimélico y el ácido nonanoico para su posterior conversión en ácidos grasos.
2. Se logró poner a punto un método para la obtención de ácidos grasos donde se han intercambiado los átomos de hidrógenos por deuterio.
3. Se sintetizó el ácido [D₂₇](Z)-7-hexadecenoico utilizando como precursores ácido pimélico y ácido nonanoico deuterados.
4. Se sintetizó el fosfolípido 1-palmitoil-2-([D₂₇](Z)-7-hexadecenoil)-sn-glicero-3-fosforilcolina a partir de ácido [D₂₇](Z)-7-hexadecenoico.

8. MATERIALES Y MÉTODOS.

Los dos precursores utilizados en la síntesis, ácido pimérico (98% de pureza) y ácido nonanoico (96% de pureza), se compraron a ALDRICH, al igual que el D₂O (99,9% atom D) utilizado en las reacciones de deuteración, y el reactivo DCC (99% de pureza) utilizado en la síntesis del fosfolípido deuterado. Los reactivos CBr₄ (98% de pureza), S(CH₃)₂·BH₃ (2M, en THF), PCC (98% de pureza) y DMAP (99% de pureza) se compraron a ACROS ORGANIC.

Los disolventes anhidros que fueron utilizados se secaron mediante el uso de tamices moleculares introduciéndolos en el disolvente y generando una atmosfera inerte en el mismo con Ar.

Los análisis TLC se llevaron a cabo en placas de sílica gel L x W 5cm x 20cm con indicador fluorescente 254nm utilizando una variedad de eluyentes (a) AcOEt/Heptano (1:7) (b) AcOEt/Heptano (1:10) (c) MeOH/DCM (1:10) (d) CHCl₃/MeOH/H₂O (65:25:4)

Los espectros de RMN se adquirieron en un instrumento RMN de Agilent Technologies con consola de tres canales Agilent 500 MHz DD2 y sonda fría: ¹H, ¹⁹F, ¹³C, ³¹P (¹H, 400,123 MHz; ¹³C, 100.611 MHz). Además se utilizó un 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. 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. Posibilidad de acoplamiento con cromatógrafo de líquidos Waters Acquity (UPLC-MS-TOF) y cromatógrafo de gases Bruker 450-GC (GC-MS-TOF). Sonda de introducción directa. Fuentes de ionización: electrospray (ESI). Obtenidos en el Laboratorio de técnicas experimentales de Valladolid. Los espectros HRMS se analizaron usando Bruker DataAnalysis 4.1 (www.bruker.com).

Los Espectros de IR se han registrado en un aparato Bruker FT-IR System.

Los procedimientos experimentales usados en este trabajo se describen a continuación:

8.1. Síntesis de los compuestos deuterados

8.1.1. Deuteración del ácido pimélico (Método General).

A una mezcla de ácido pimélico (7 g, 43,7 mmol) en D₂O (70 mL) se le adiciona una disolución de NaOD (40%, 8 g, 195,7 mmol) y una mezcla de Pd(C) 10% (0,54 g) y Pt (C) 5% (0,54 g). La mezcla se calienta a 260 °C de temperatura (27 bar.) con fuerte agitación durante 6 días. El reactor se enfría a temperatura ambiente, y la mezcla obtenida se filtra para separar el catalizador y se lava con agua (4x25 mL). La disolución acuosa se acidifica con HCl concentrado hasta pH 2 y se lleva a un embudo de decantación. Se extrae el compuesto con acetato de etilo (5x100 mL). La fase orgánica se lava con una disolución de NaCl saturado (30 mL), se seca con MgSO₄ anhidro y se elimina el disolvente a vacío, obteniéndose 5,34 g (31,38 mmol) de ácido [D₁₀]pimélico al 94%D (Sólido blanco), con un rendimiento del 72%.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_H 1,36 (residual CH₂), 1,60 (residual 2xCH₂), 2,31 (residual 2xCH₂).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ_C 179,85 (s, CO₂H).

8.1.2. Deuteración del ácido nonanoico

El ácido [D₁₇]nonanoico (10,3 g, 65,09 mmol) se prepara de acuerdo con el método descrito anteriormente para el ácido [D₁₀]pimélico y a una escala similar que el resto de compuestos (8 g NaOD al 40% w/w, 70 mL de D₂O, 0,54 g Pt/C 5% y 0,54 g Pd/C 10%). Después de eliminar el disolvente se obtiene el ácido [D₁₇]nonanoico (9,5 g, 85% D, 83%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_H 0,81 (residual CH₃), 1,22 (residual 5xCH₂), 1,57 (residual CH₂), 2,29 (residual CH₂-COOH), 11,69 (1,00 H, s, COOH).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ_C 175,5 (COOH).

8.2. Síntesis del anhídrido [D₁₀]pimélico.

Una disolución de ácido [D₁₀]pimélico (8,16 g, 48 mmol) en anhídrido acético (170 mL) se calienta a reflujo (P_{eb} Ac₂O=140°C) durante 4 horas. La mezcla de reacción se deja enfriar

a temperatura ambiente y se evapora el anhídrido acético a presión reducida. A la mezcla resultante se le añade xileno (100 mL), y se vuelve a eliminar a presión reducida. Se obtiene un sólido de color amarillo (7,04 g, 97%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_H 1,40 (residual CH₂), 1,65 (residual 2xCH₂), 2,42 (residual 2xCH₂).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ_C 168,68 (s, CO).

8.3. *Síntesis del ácido [D₁₀]6-metoxicarbonilhexanoico.*

Una disolución de anhídrido [D₁₀]pimélico (11,25 g, 74,01 mmol) en metanol (110 mL) se calienta a reflujo durante 3 horas. Finalizado este tiempo se deja enfriar a temperatura ambiente y se evapora el disolvente a presión reducida. Se obtuvo 13,29 g (72,22 mmol, 98%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_H 1,27 (residual CH₂), 1,54 (residual 2xCH₂), 2,21 (residual 2xCH₂-COOH), 3,58 (3 H, s, CH₃-O), 11,41 (1 H, s, COOHH).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ_C 51,29 (s, CH₃-O), 174,21 (s, CO ester), 179,54 (s, CO ácido).

8.4. *Síntesis [D₁₀]7-hidroxiheptanoato de metilo.*

A una disolución de ácido [D₁₀]6-metoxicarbonilhexanoico (12,15 g, 66,03 mmol) en THF anhidro (82 mL) a 0°C y en atmósfera inerte se le añade una disolución del complejo BH₃-SMe₂ (40,94 mL, 2M, 81,88 mmol). La disolución se mantiene a 0°C durante 2 h y después se deja calentar gradualmente hasta temperatura ambiente durante toda la noche (18 h). Se añade gota a gota MeOH (9,8 mL) y la mezcla se agita continuamente durante 2 h más. La disolución se burbujea suavemente con N₂ y el disolvente se elimina a vacío. Se redissuelve el residuo obtenido en agua (200 mL) y dietiléter (200 mL), y se hace una primera extracción. Se llevan a cabo extracciones con dietiléter (5x100 mL). Las fases orgánicas se juntan y se lavan secuencialmente con NaHCO₃, NaCl y H₂O. A continuación se seca con MgSO₄ anhidro, se filtra y se elimina el disolvente a vacío. Se obtiene un líquido incoloro (7,86 g, 70 %).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_H 1,24 (residual 2xCH₂), 1,50 (residual 2xCH₂), 2,18 (residual CH₂-COOH), 2,40 (1H, s, OH), 3,49 (2 H, s, CH₂-OH), 3,56 (4H, s, CH₃-O).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ_C 51,29 (s, CH₃-O), 62,33 (s, CH₂-OH), 174,21 (s, CO ester).

8.5. Síntesis [D₁₀]7-bromoheptanoato de metilo.

A una disolución de [D₁₀]7-hidroxiheptanoato de metilo (7,86 g, 46,24 mmol) en DCM (75 mL) se le añade CBr₄ (16,61 g, 50,08 mmol). Se agita la mezcla a 0°C y se adiciona trifenilfosfina (13,6 g, 51,79 mmol) disuelta en DCM (50 mL). Se deja agitando durante toda la noche (18 horas). Una vez completada la reacción (TLC), se elimina el disolvente a presión reducida y se redissuelve en heptano para eliminar el óxido de trifenilfosfina formado durante la reacción. Se filtra con Celita y se lava con más heptano (50 mL). Se elimina el disolvente a presión reducida. Se obtiene un líquido incoloro (9,75 g, 91 %).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_H 1,29 (residual CH₂), 1,42 (residual CH₂), 1,59 (residual CH₂), 1,81 (residual CH₂), 2,26 (residual CH₂-COO-), 3,37 (2 H, s, CH₂-Br), 3,65 (4 H, s, OCH₃).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ_C 33,58 (s, CH₂-Br), 51,29 (s, CH₃-O), 174,21 (s, CO ester).

8.6. Síntesis de la sal de Wittig, bromuro de [D₁₀](7-metoxi-7-oxoheptil)trifenilfosfonio.

A una disolución de [D₁₀]7-bromoheptanoato de metilo (9,75 g, 41,83 mmol) en CH₃CN anhidro (170 mL) se adiciona trifenilfosfina anhidra (27,43 g, 104,56 mmol) y K₂CO₃ (1 g). La mezcla se calienta a reflujo toda la noche (18 horas). El disolvente se elimina a presión reducida. Al sólido resultante se le añade MeOH (50 mL) para eliminar el exceso de PPh₃, se filtra y se lava con más MeOH. El MeOH se elimina a presión reducida y la sal de fosfonio se purifica por cromatografía en columna (sílice-gel; eluyente: DCM/MeOH; 20:1) Se obtiene un aceite amarillo oscuro. (7,06 g, 34%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_H 1,27 (residual 2xCH₂), 1,58 (residual 2xCH₂), 2,21 (residual CH₂-COO-), 3,61 (3 H, s, CH₃-O), 3,79 (2 H, d, J_{H-P} = 13 Hz, CH₂-P), 7,59-7,92 (15 H, m, PPh₃).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ_C 22,53 (CH₂-P), 51,68 (CH₃-O), 118,38 (C-Ar), 130,42 (C-Ar), 133,65 (C-Ar), 134,92 (C-Ar), 174,21 (CO ester).

8.7. Síntesis del [D₁₇]1-nonanol.

A una suspensión de hidruro de litio y aluminio (12,3 g, 324,8 mmol) en THF anhidro (350 mL) a 0°C y en atmósfera inerte a 0°C se le añade el ácido [D₁₇]nonanoico (28,46 g, 162,4 mmol) disuelto en THF anhidro (260 mL). Terminada la adición se calienta a reflujo durante toda la noche (18 horas) con agitación vigorosa. Se hidroliza por adición sucesiva de agua, disolución de NaOH 2M y agua (12,3 mL, 12,3 mL y 36,9 mL). El sólido blanco resultante se filtra y se lava con THF (100 mL). Se elimina el disolvente a presión reducida y se obtiene un líquido incoloro (23,8 g, 90%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_H 0,82 (residual CH₃), 1,22 (residual 6xCH₂), 1,48 (residual CH₂), 2,06 (1 H, s, OH), 3,58 (2 H, s, CH₂-OH).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ_C 62,73 (CH₂-OH).

8.8. Síntesis del [D₁₇] nonanal.

A una mezcla de clorocromato de piridinio (10,03 g, 46,6 mmol) y sílica gel (10 mL) en DCM (62 mL) se le añade a 0°C una disolución de [D₁₇]1-nonanol (5 g, 31 mmol) en DCM (62 mL). Finalizada la adición, se deja agitando durante 2 horas. Terminada la reacción (TLC) se añade dietiléter (300 mL) y se deja agitando aproximadamente 10 minutos. El sólido resultante se elimina por filtración, y la disolución filtrada se recoge en un matraz y se elimina el disolvente a presión reducida. El aldehído se purifica por destilación (110 °C y 15,5 torr) obteniéndose un líquido incoloro (2,4g, 48%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_H 0,80 (residual CH₃), 1,21 (residual 5xCH₂), 1,53 (residual CH₂), 2,32 (residual CH₂-CHO), 9,69 (1 H, s, CHO).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ_C 202,73 (CHO).

8.9. Síntesis del [D₂₇](Z)-7-hexadecenoato de metilo.

A una disolución de bromuro de [D₁₀](7-metoxi-7-oxoheptil)trifenilfosfonio (2,66 g, 5,37 mmol, 1 eq.) en acetonitrilo CH₃CN (60 mL) se le añade una disolución de [D₁₇]nonanal (1,03 g, 6,4 mmol, 1,2 eq.) en DCM anhidro (60 mL). La mezcla se agita durante 20 minutos y se le añade Cs₂CO₃ (7 g, 21,48 mmol). La reacción se calienta a reflujo durante toda la noche (18 horas). Se filtra y se elimina el disolvente a presión reducida. El alqueno se purifica mediante cromatografía en columna (sílice-gel; eluyente: AcOEt/Hept; 1:20). Se obtiene un líquido amarillo claro (1,55 g, 98%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_H 0,84 (residual CH₃), 1,16-1,36 (residual 8xCH₂), 1,60 (residual CH₂), 1,96 (residual 2xCH₂-C=C), 2,27 (residual CH₂-COO), 3,64 (3H, s, CH₃-O), 5,30 (1H, d, *J* = 10 Hz, HC=), 5,35 (1H, d, *J* = 10 Hz, HC=).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ_C 51,29 (CH₃-O), 129,08 (= CH), 130,26 (= CH), 174,05 (CO ester).

8.10. Síntesis del ácido [D₂₇](Z)-7-hexadecenoico.

A una disolución de [D₂₇](Z)-7-hexadecenoato de metilo (1 g, 3,4 mmol) en MeOH (35 mL) se le añade una disolución de LiOH (8 mL, 4M) y se deja agitando toda la noche. Se elimina el MeOH y se adicionan 25 mL de H₂O y 25 mL de dietiléter. La fase acuosa se extrae con dietiléter (25 mL), y se ajusta el pH=1 con HCl 6M. La fase acuosa se vuelve a extraer con dietiléter (5x30 mL). Las fases orgánicas se juntan, se lavan con una solución de NaCl saturado, se seca con MgSO₄ anhidro, se filtra y se elimina el disolvente a presión reducida. El ácido graso resultante se purifica mediante cromatografía en columna (sílice-gel; eluyente: AcOEt/Hept; 1:7) obteniéndose un aceite amarillo pálido (0,703 g, 74%, 84%D).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_H 0,84 (residual CH₃), 1,11-1,43 (residual 8xCH₂), 1,62 (residual CH₂), 1,98 (residual 2xCH₂-C=), 2,30 (residual CH₂-COOH), 5,30 (1H, d, *J* = 11 Hz, HC=), 5,35 (1H, d, *J* = 11 Hz, HC=), 10,79 (1 H, s, COOH).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ_C 129,12 (CH=), 130,18 (CH=), 180,28 (CO₂H)

8.11. Síntesis del fosfolípido.

A una disolución del ácido [D₂₇](Z)-7-hexadecenoico (200 mg, 0,71 mmol, 4 eq.) en DCM anhidro (5 mL) se le añade sucesivamente 1-palmitoil-2-lyso-PC (88 mg, 0,18 mmol, 1 eq.) y DMAP (44,16 mg, 0,36 mmol, 2 eq.). La mezcla se calienta suavemente hasta la completa disolución de los reactivos y se le adiciona una disolución de DCC (152,7 mg, 0,74 mmol, 4,14 eq.) en DCM anhidro (6 mL). Se calienta a reflujo durante 3 días en atmósfera inerte y en ausencia de luz. La reacción se transfiere a una columna de cromatografía (sílica-gel; eluyente: Cl₃CH/MeOH/H₂O; 65:25:4). Se obtiene un líquido de color amarillo (73 mg, 54%).

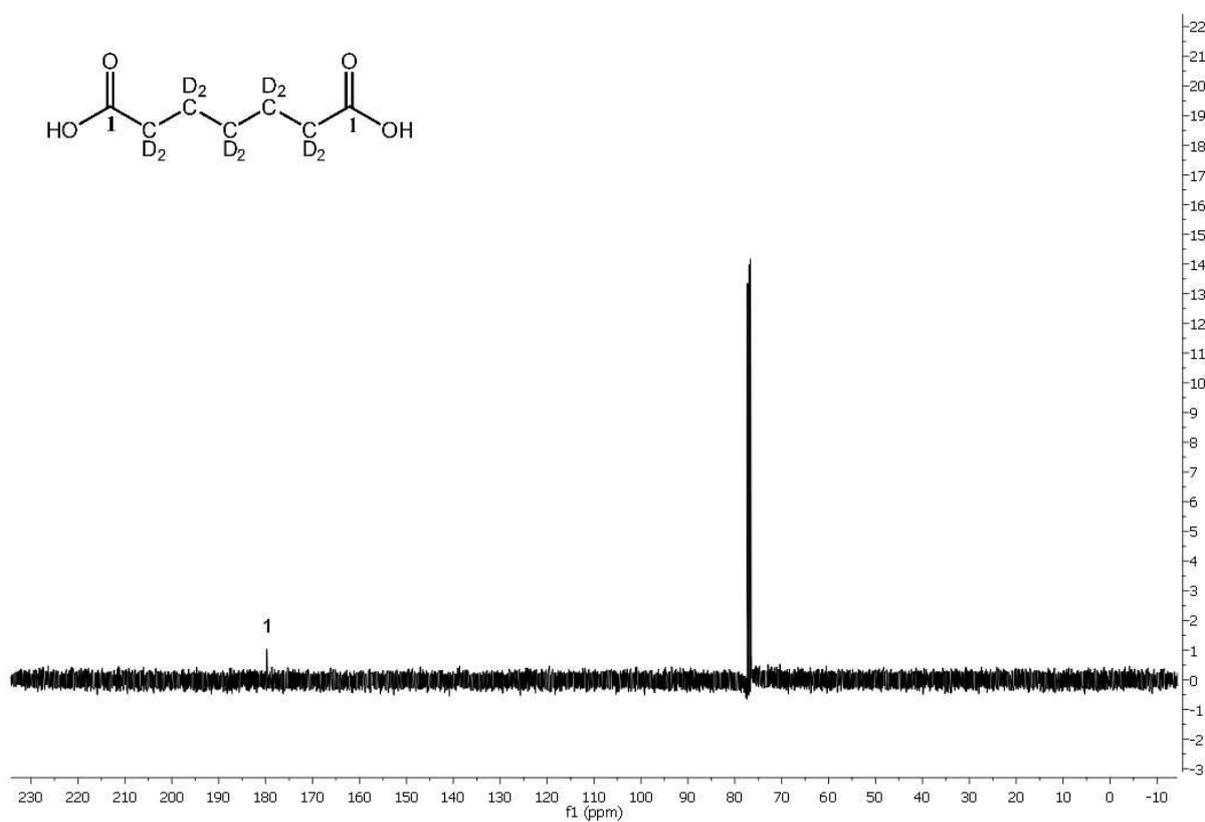
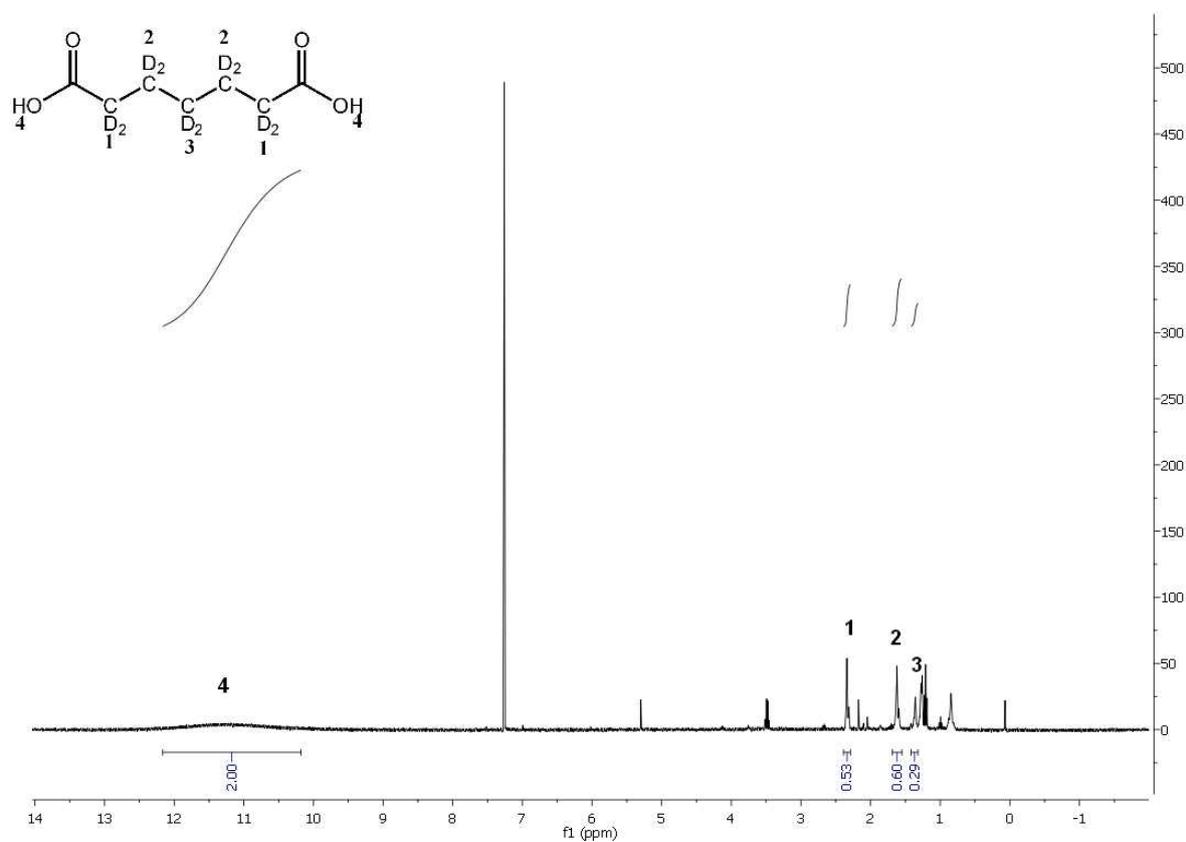
¹H NMR (400 MHz, MeOD-d₄): δ_H 0,88 (3H, t, *J* = 7 Hz, CH₃ (A), residual CH₃ (B)), 1,27 (24H, m, 12xCH₂ (A), residual 8xCH₂ (B)), 1,58 (2H, m, CH₂ (A), residual CH₂ (B)), 1,98 (residual 2xCH₂-CH= (B)), 2,29 (2H, t, *J* = 7 Hz, CH₂-COO (A), residual CH₂-COO (B)), 3,21 (9H, s, 3xCH₃-N), 3,63 (2H, m, P-O-CH₂-CH₂-N), 3,98 (2H, t, *J* = 6 Hz, P-O-CH₂-CH₂-N), 4,14 (1H, dd, *J* = 7, 12 Hz, C(O)-O-CH₂-C(O)H), 4,25 (2H, m, P-O-CH₂-C(O)H), 4,42 (1H, dd, *J* = 3, 12 Hz, C(O)-O-CH₂-C(O)H), 5,22 (1H, m, O-CH₂-C(O)-CH₂-O-P), 5,32 (1H, d, *J* = 10 Hz, HC=), 5,35 (1H, d, *J* = 10 Hz, HC=).

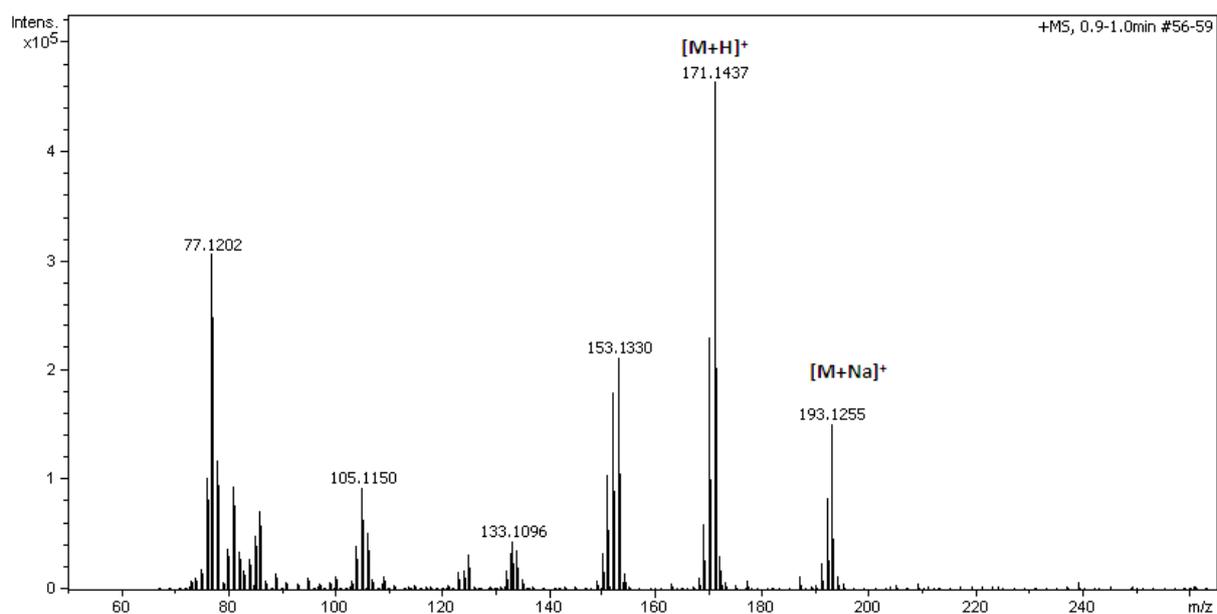
A= Ácido palmítico

B= Ácido [D₂₇](Z)-7-hexadecenoico

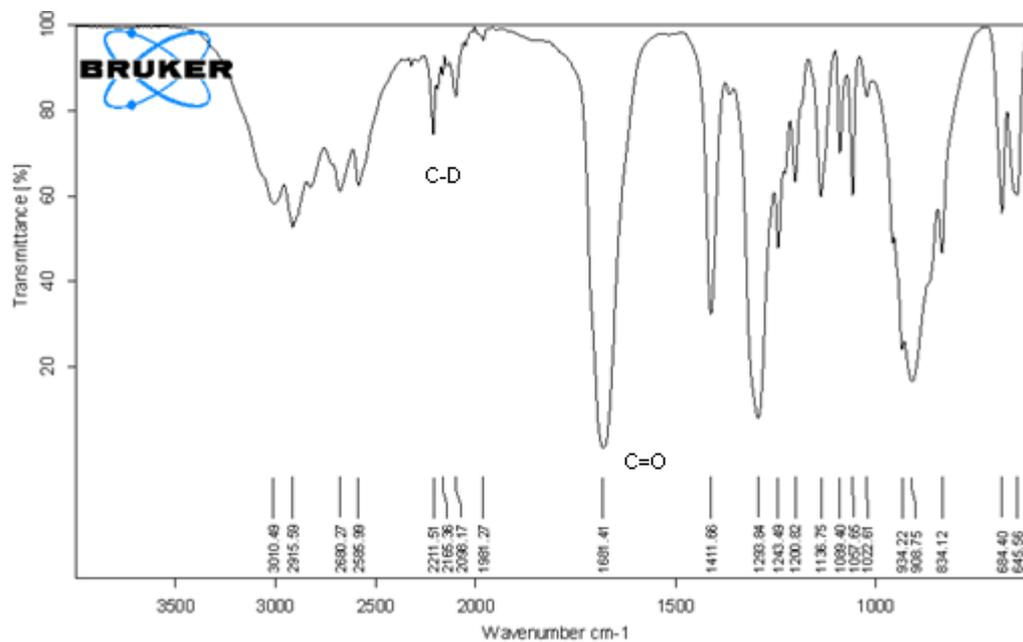
9. ANEXOS

9.1. Ácido [D₁₀] pimélico (2): ¹H RMN, ¹³C RMN, MASAS, IR

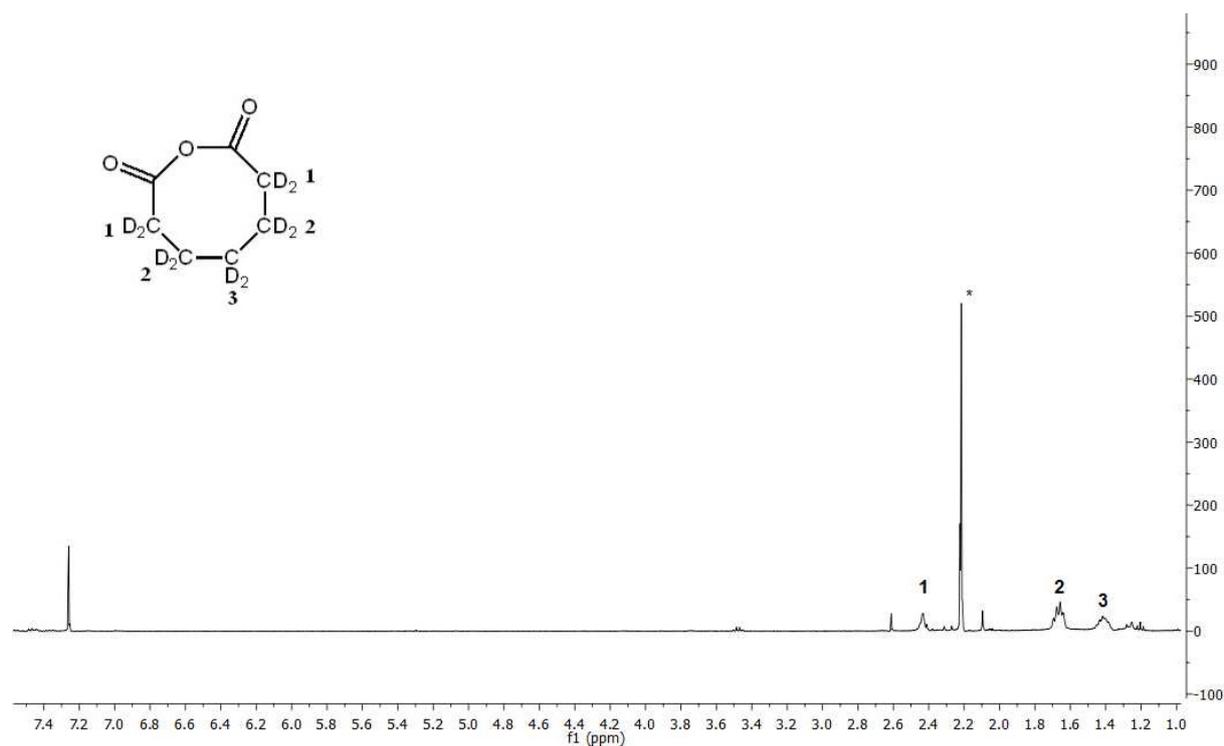




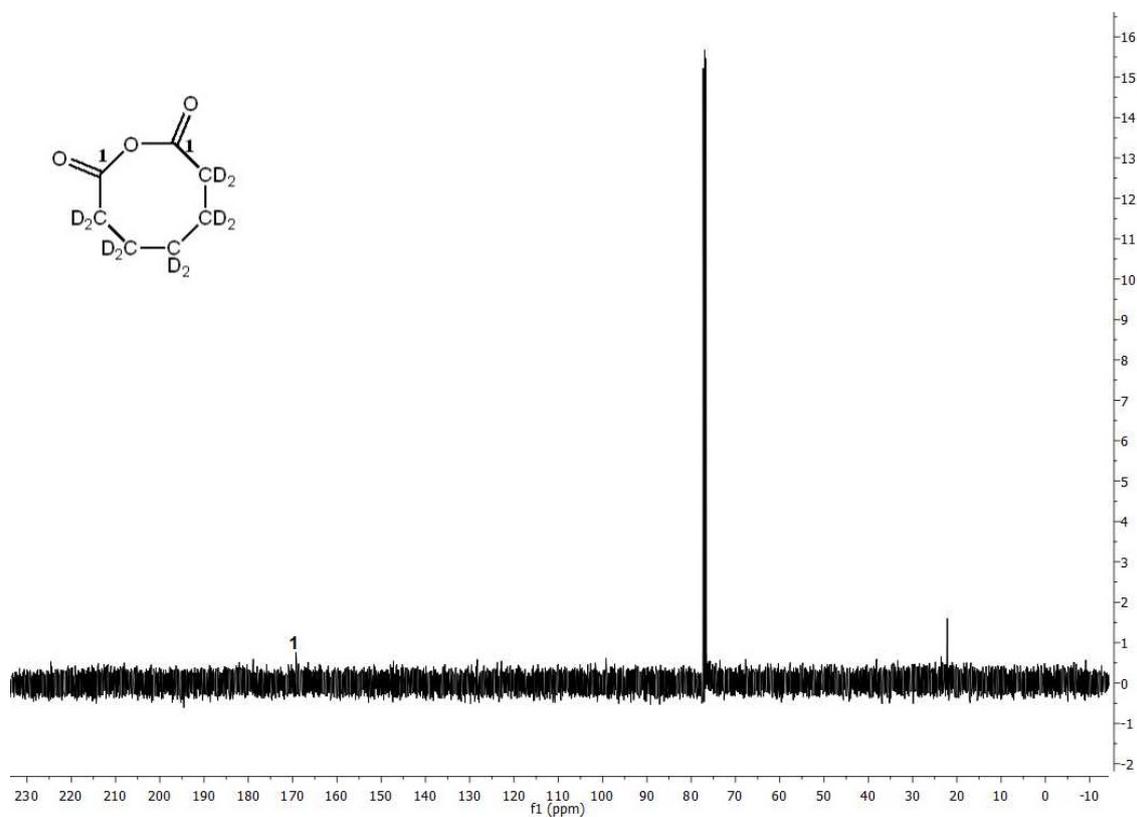
Meas. m/z	m/z	err [ppm]	Ion Formula
171,1437	171,1436	0,6	C7H3D10O4
193,1255	193,1255	0,4	C7H2D10NaO4

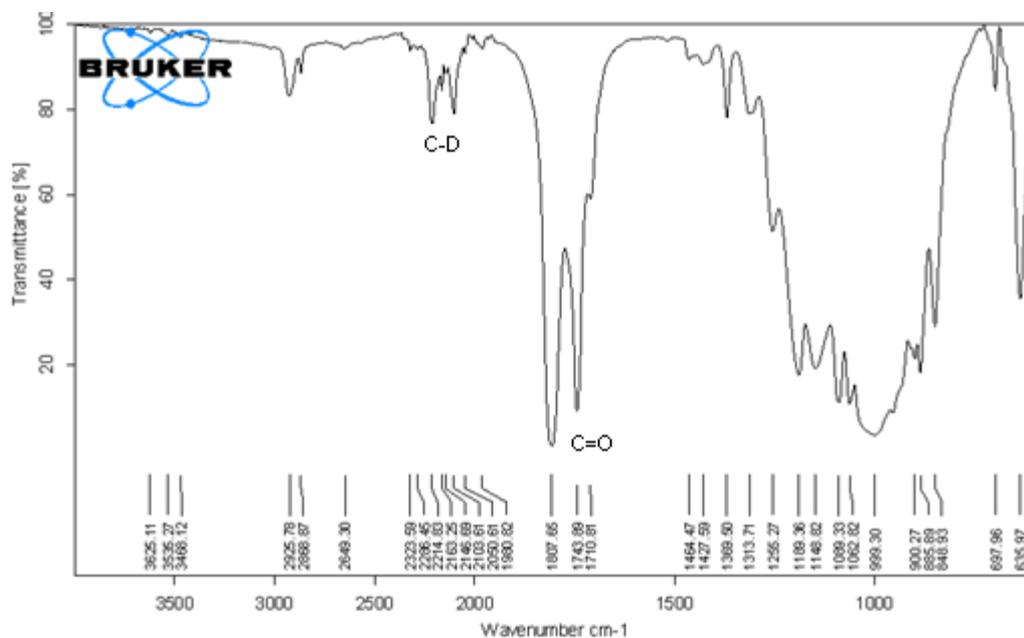


9.2. Síntesis del anhídrido pimélico [D₁₀]: ¹H RMN, ¹³C RMN, IR

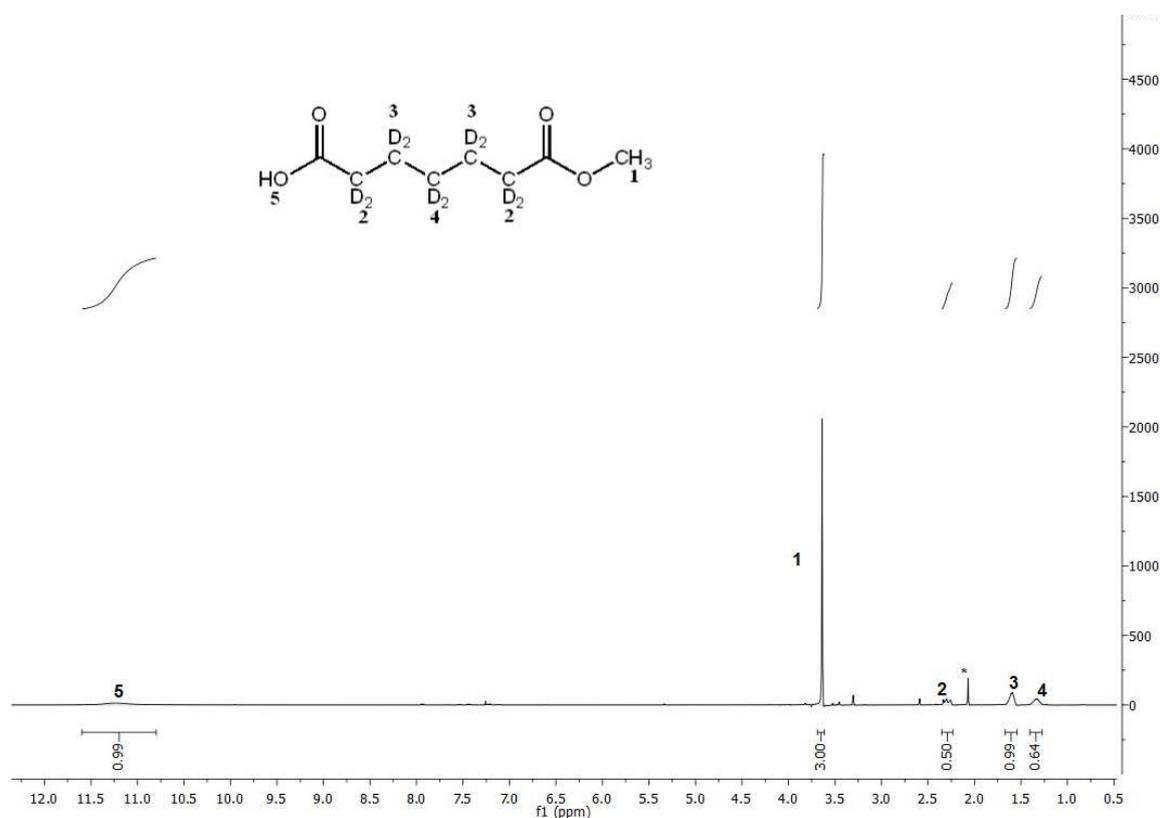


* Disolvente acetona

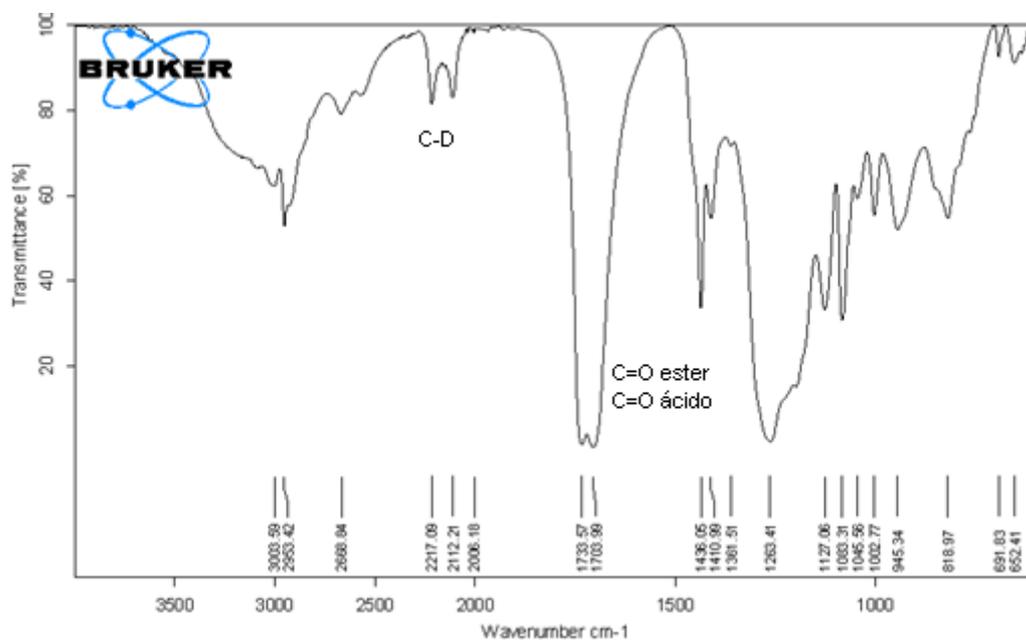
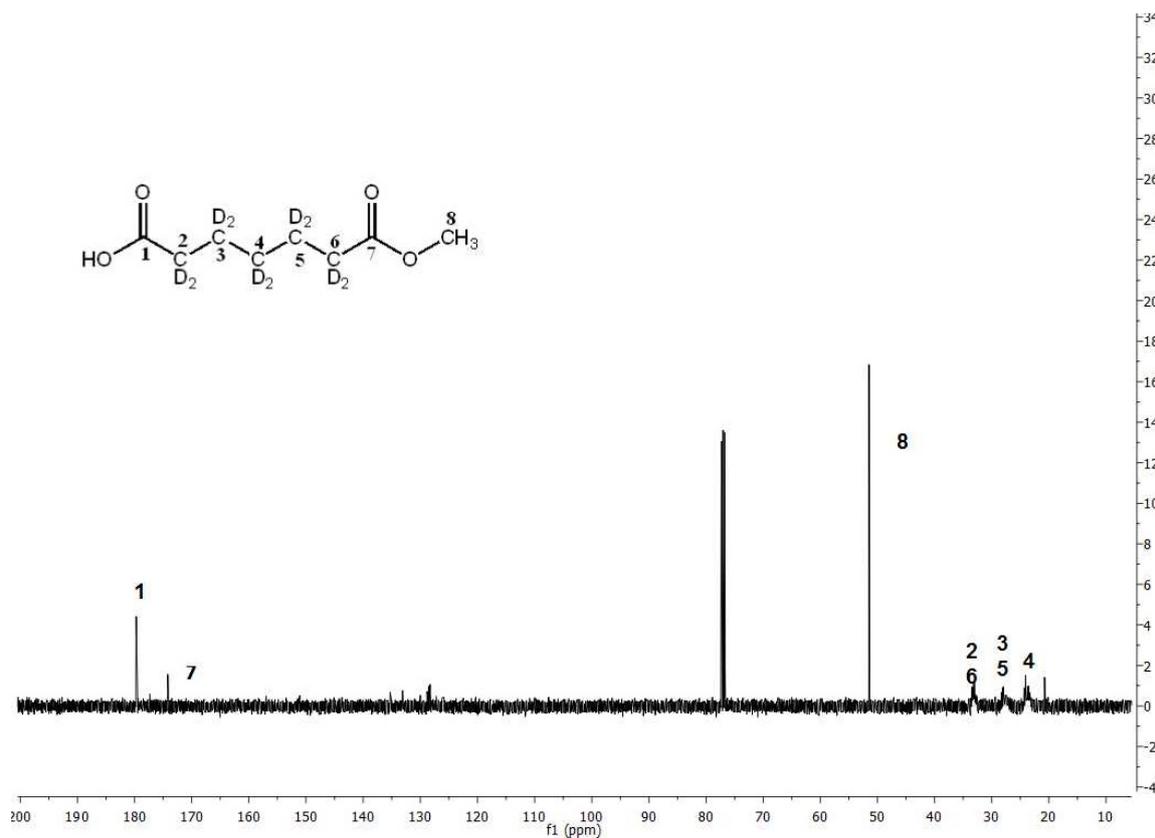




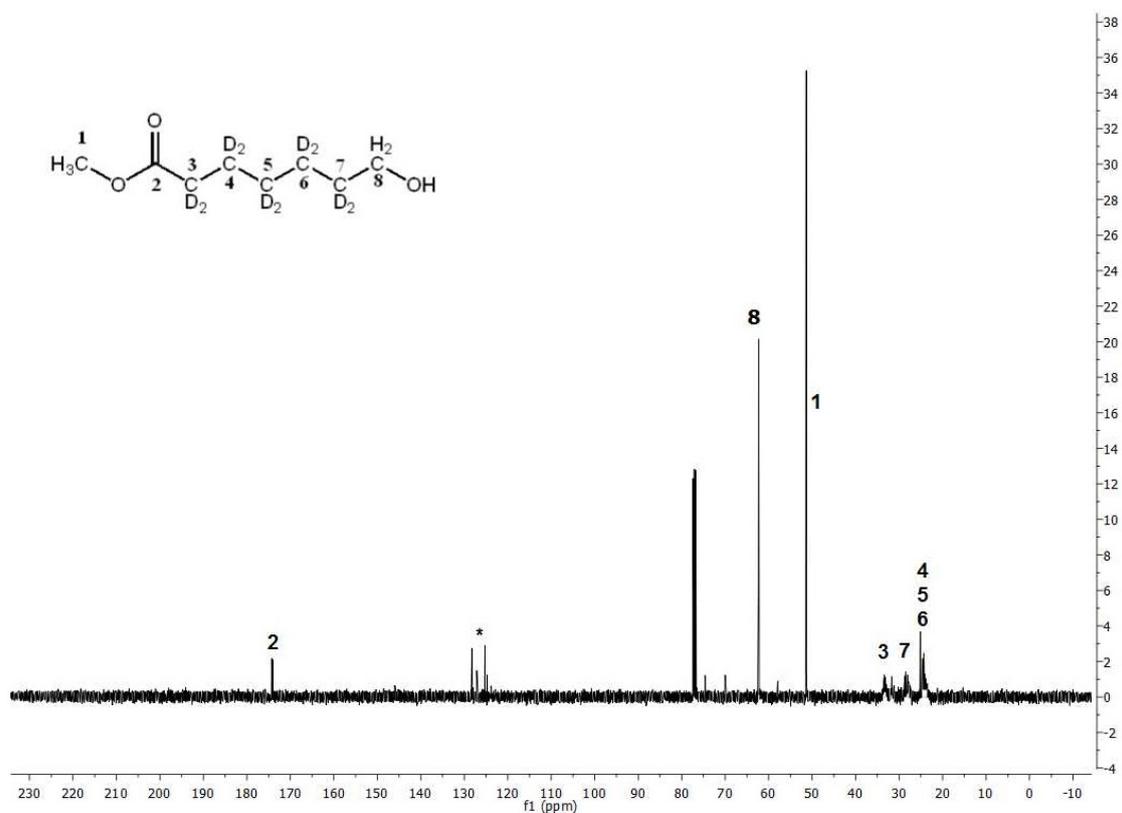
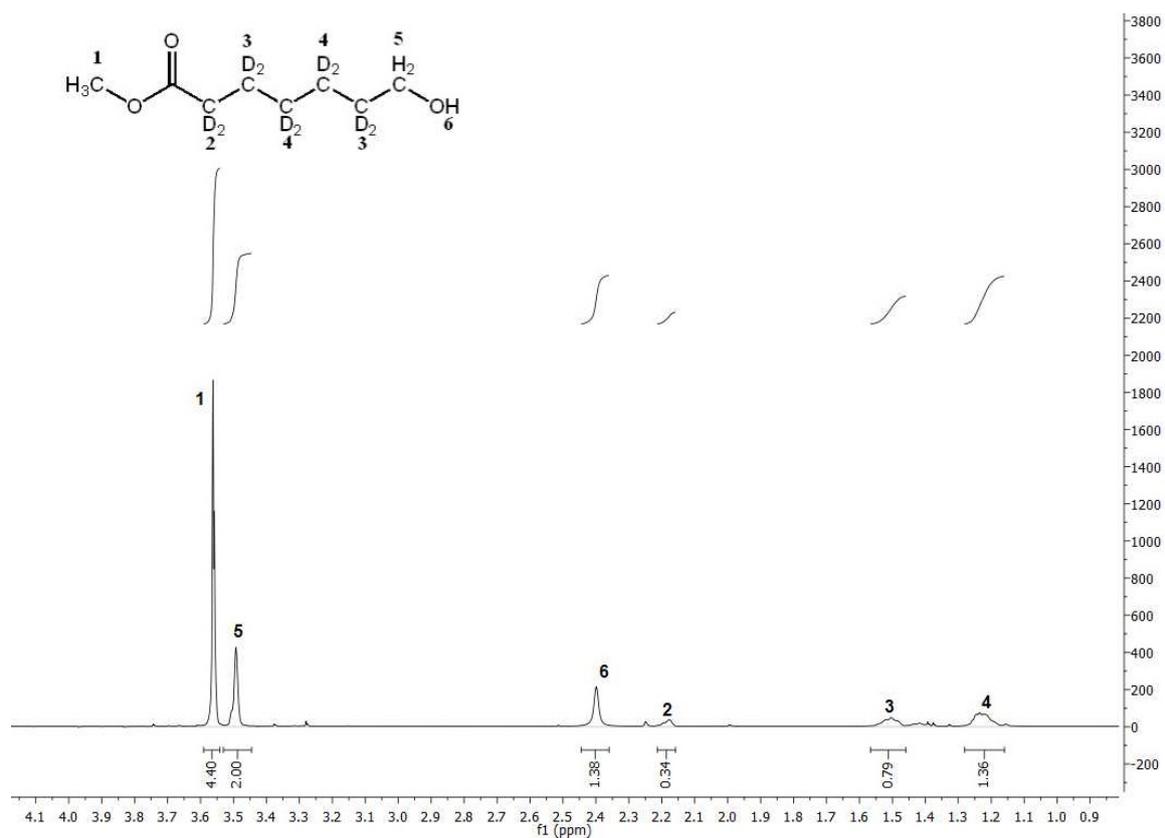
9.3. Síntesis del ácido [D₁₀] 6-metoxicarbonilhexanoico (3): ¹H RMN, ¹³C RMN, IR



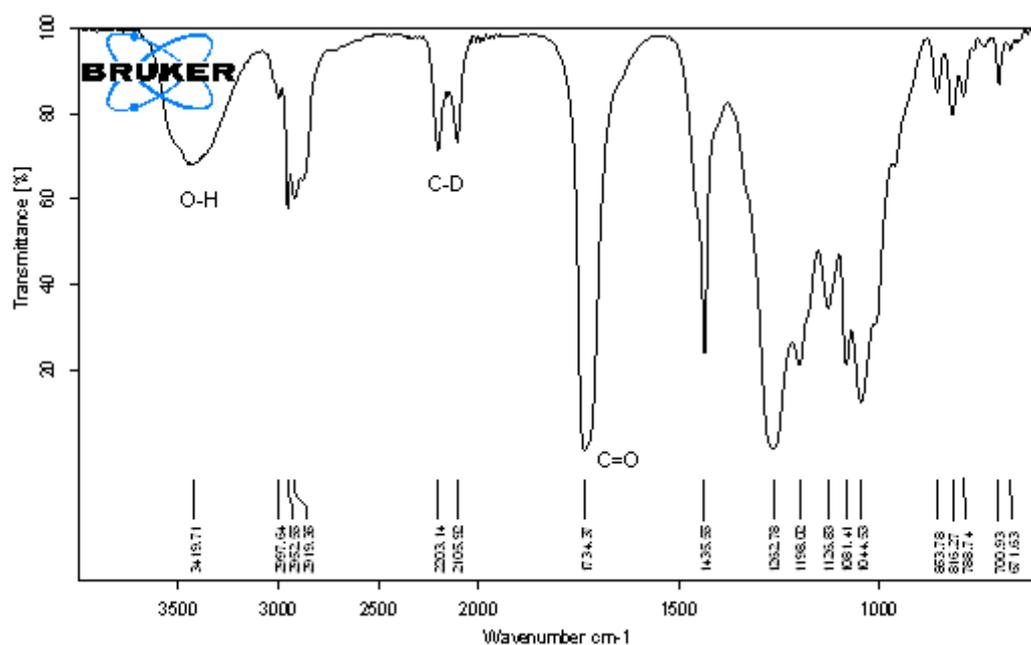
* Disolvente acetona



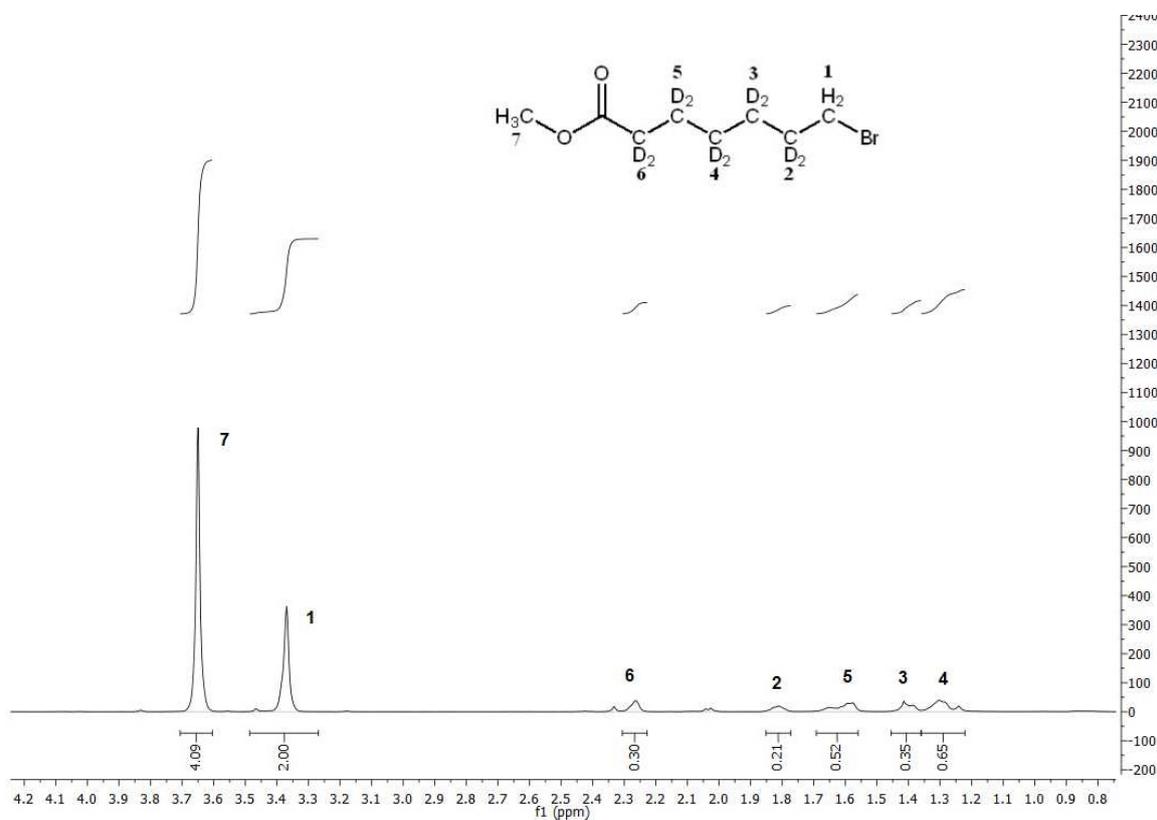
9.4. Síntesis [D₁₀] 7-hidroxiheptanoato de metilo (4): ¹H RMN, ¹³C RMN, IR

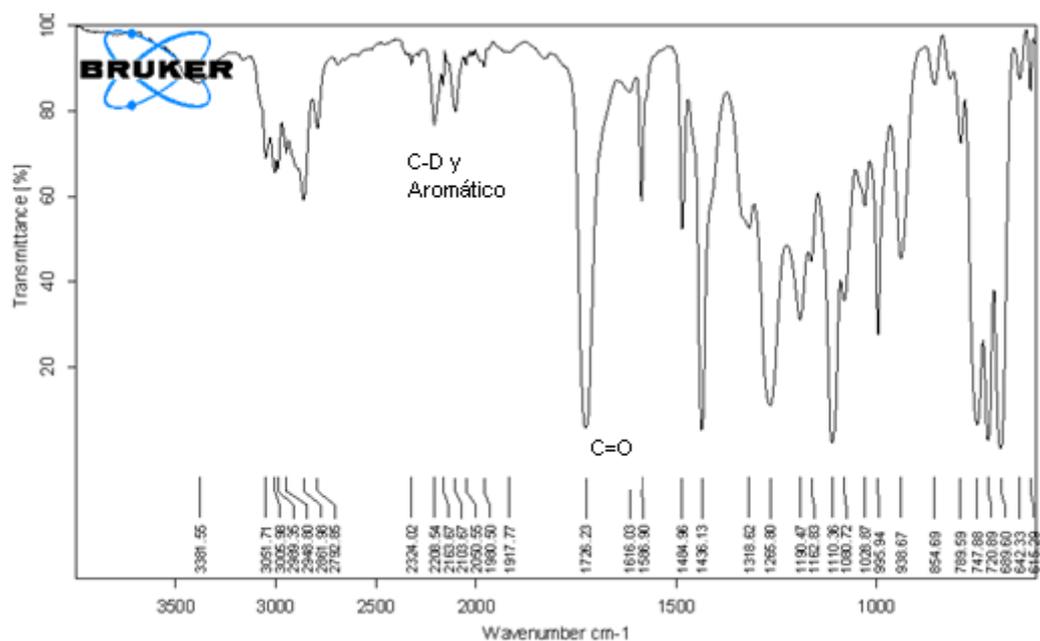


* Xileno

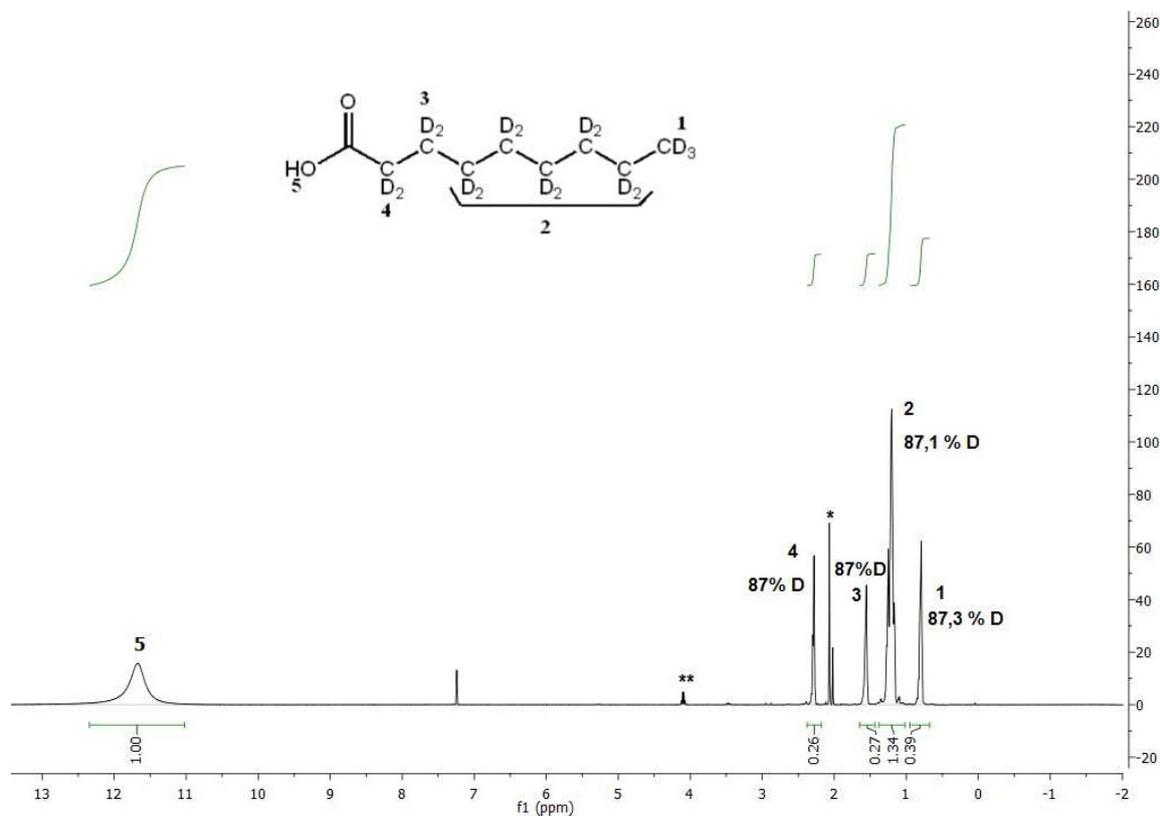


9.5. Síntesis [D₁₀] 7-bromoheptanoato de metilo (5): ¹H RMN, ¹³C RMN, IR



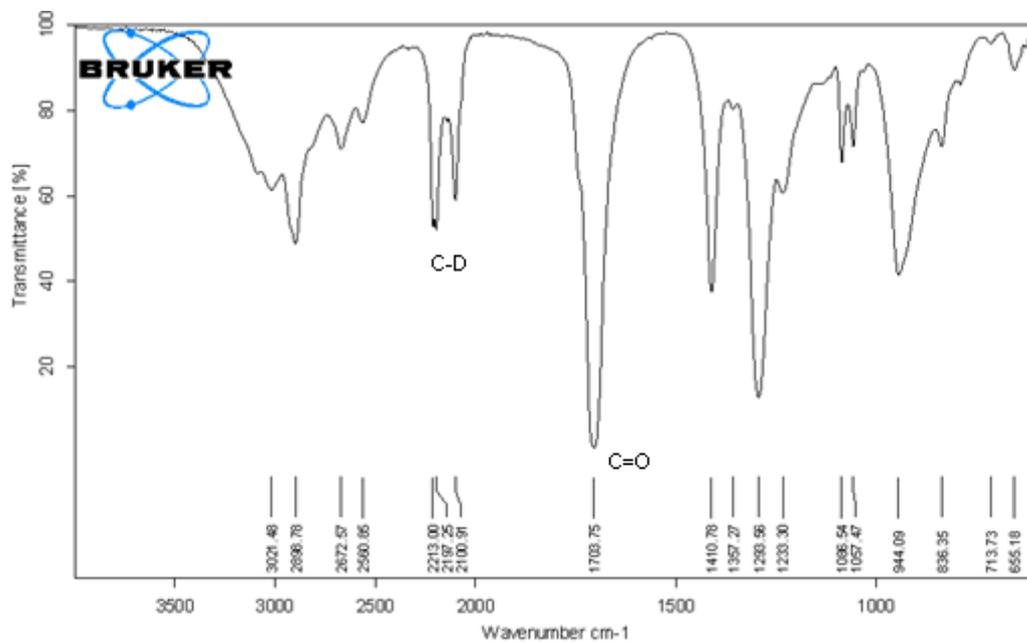
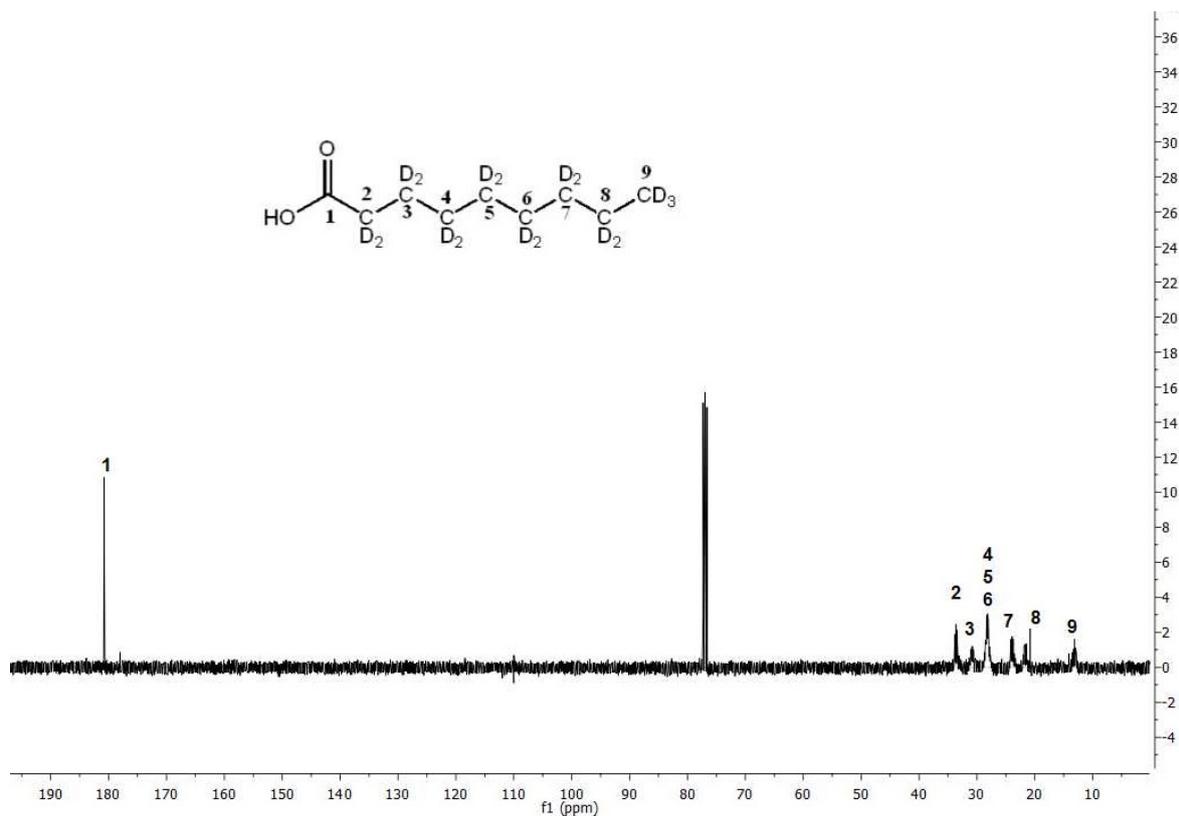


9.7. Ácido [D₁₇] nonanoico (8): ¹H RMN, ¹³C RMN, IR

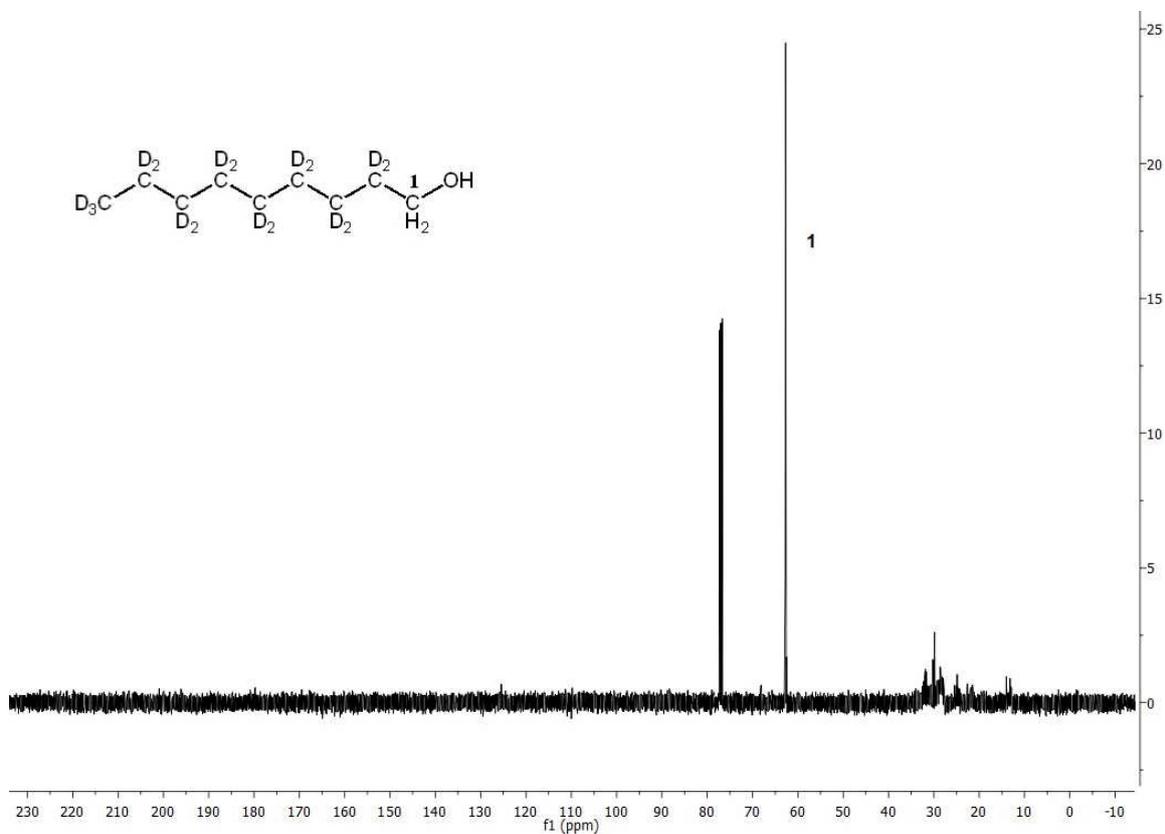
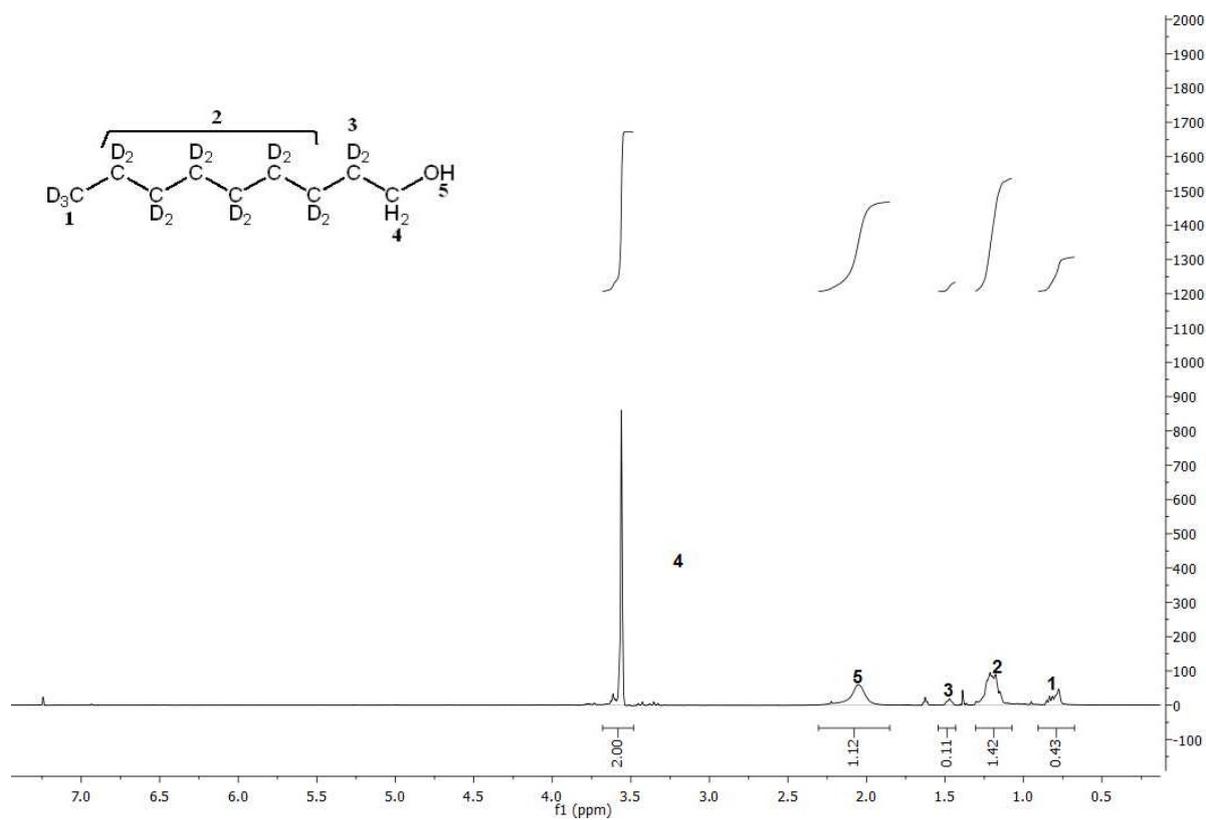


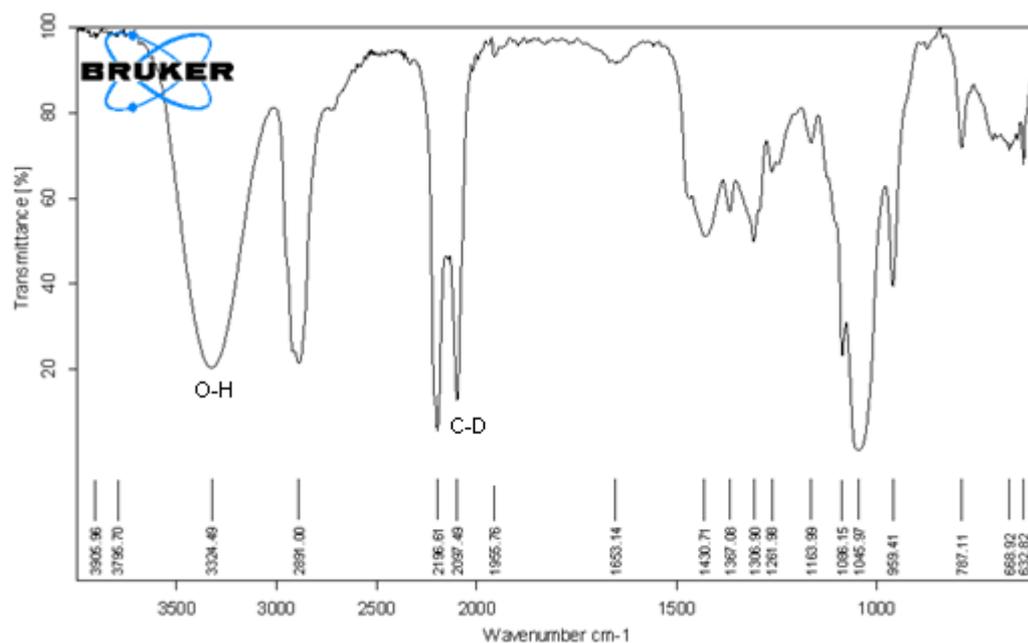
* Disolvente acetona

** Disolvente acetato de etilo

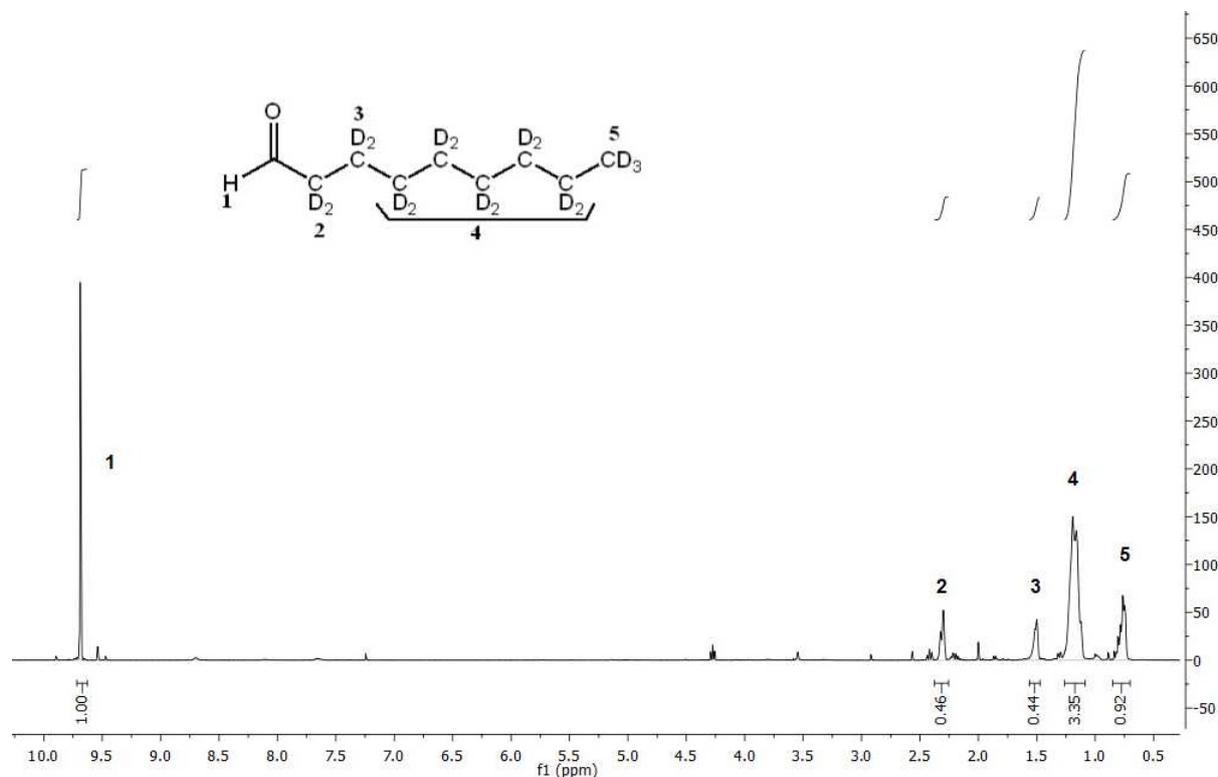


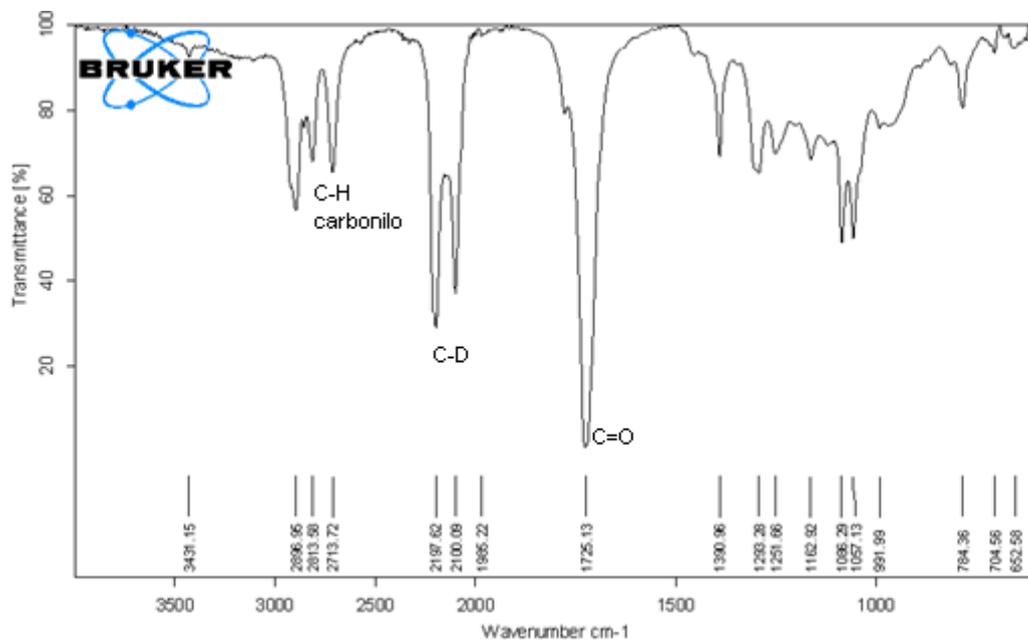
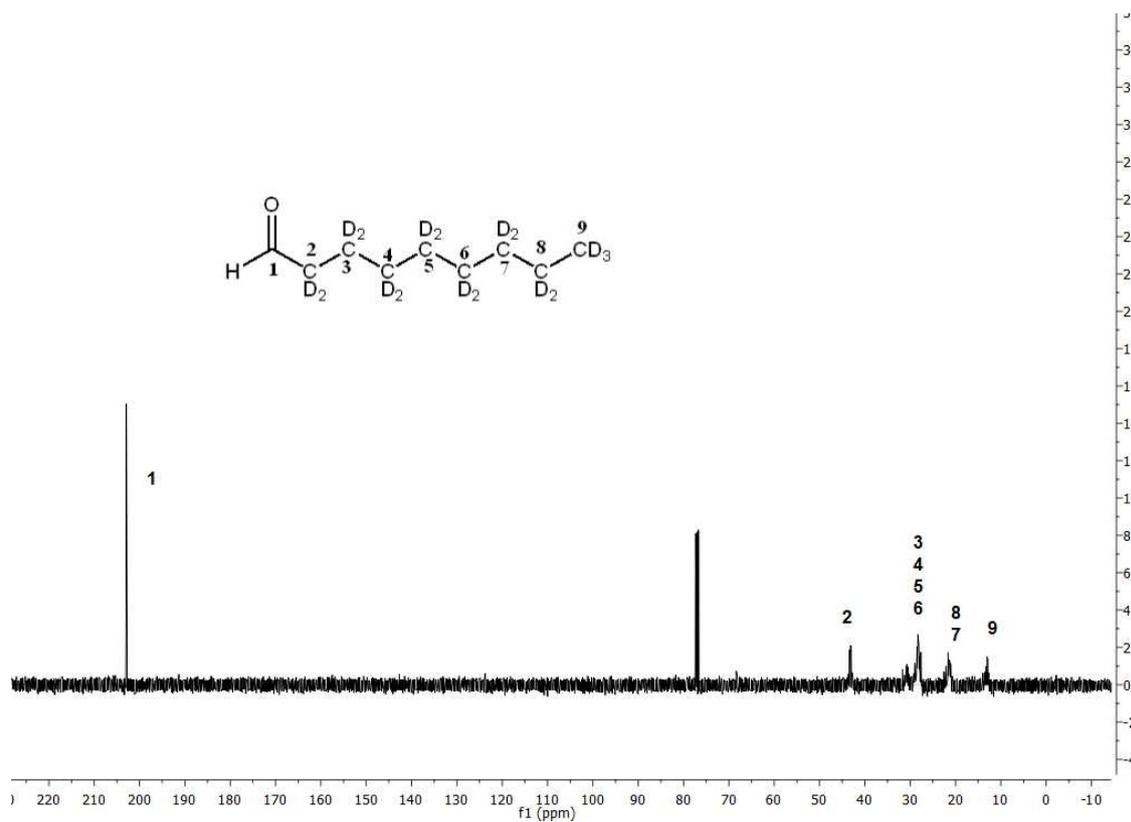
9.8. 1-nonanol [D₁₇] (9): ¹H RMN, ¹³C RMN, IR



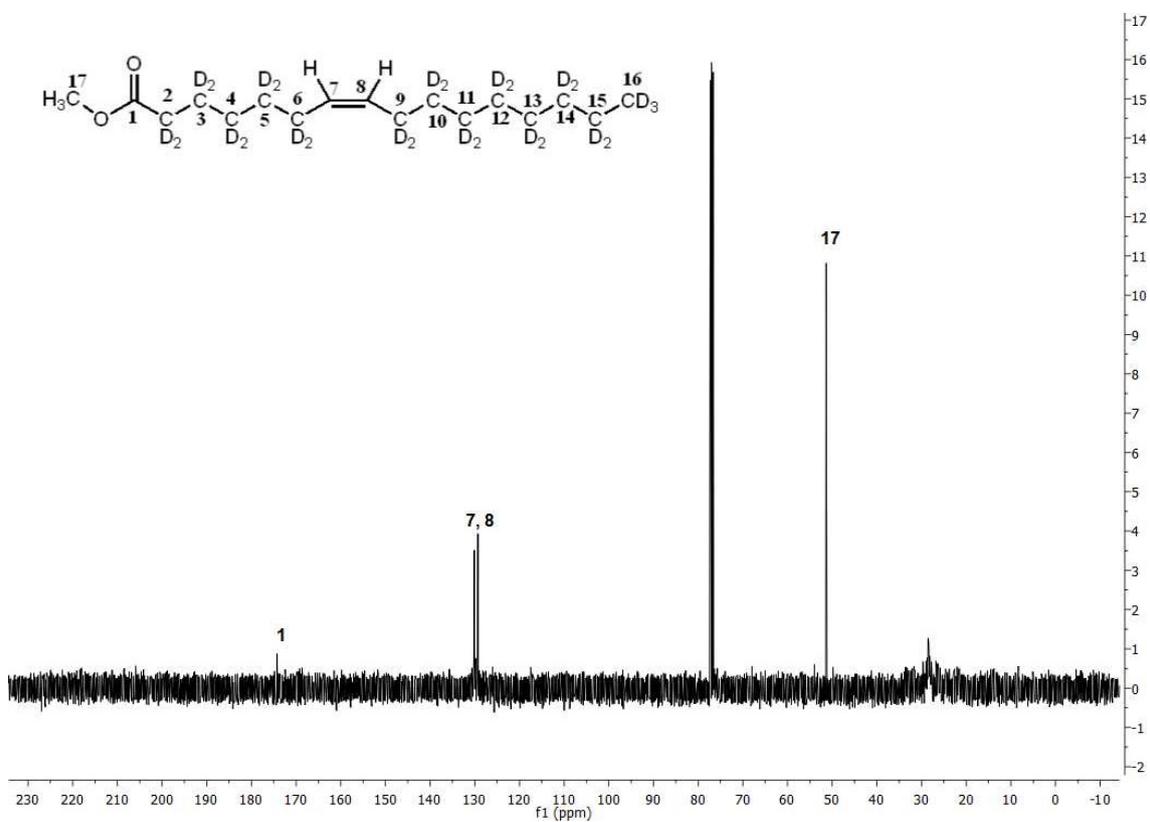
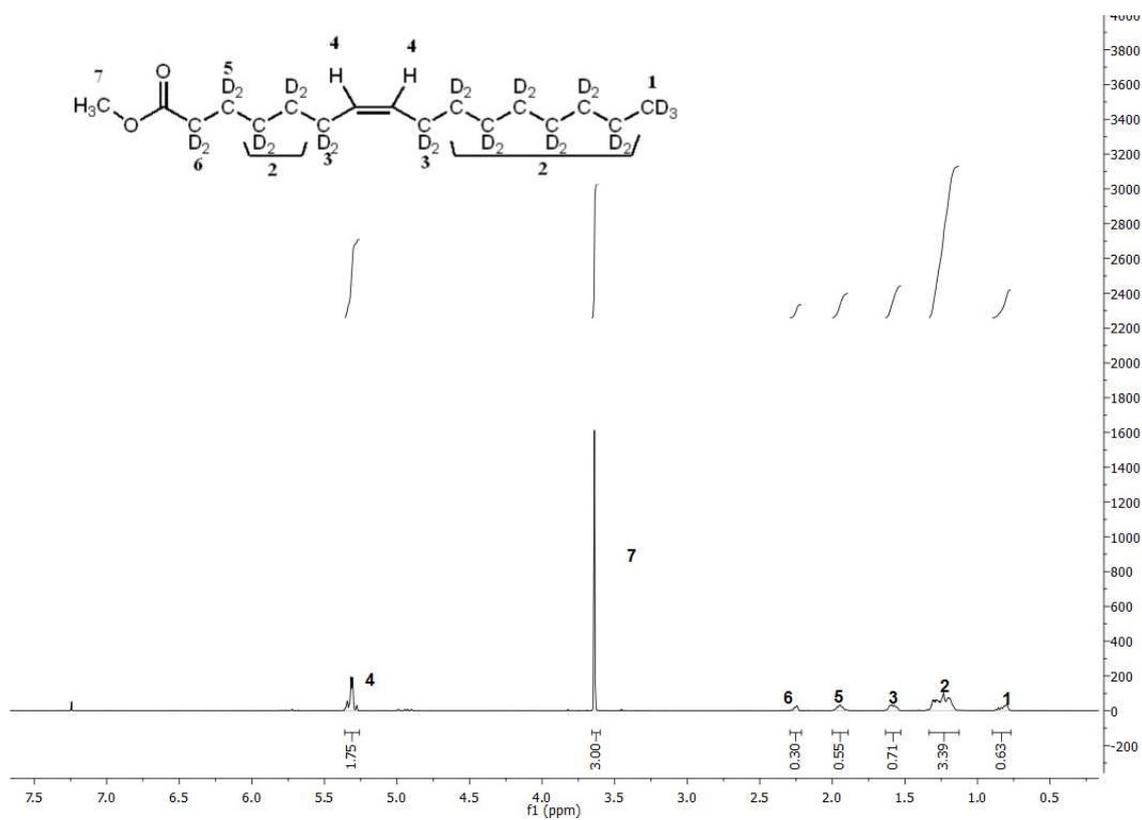


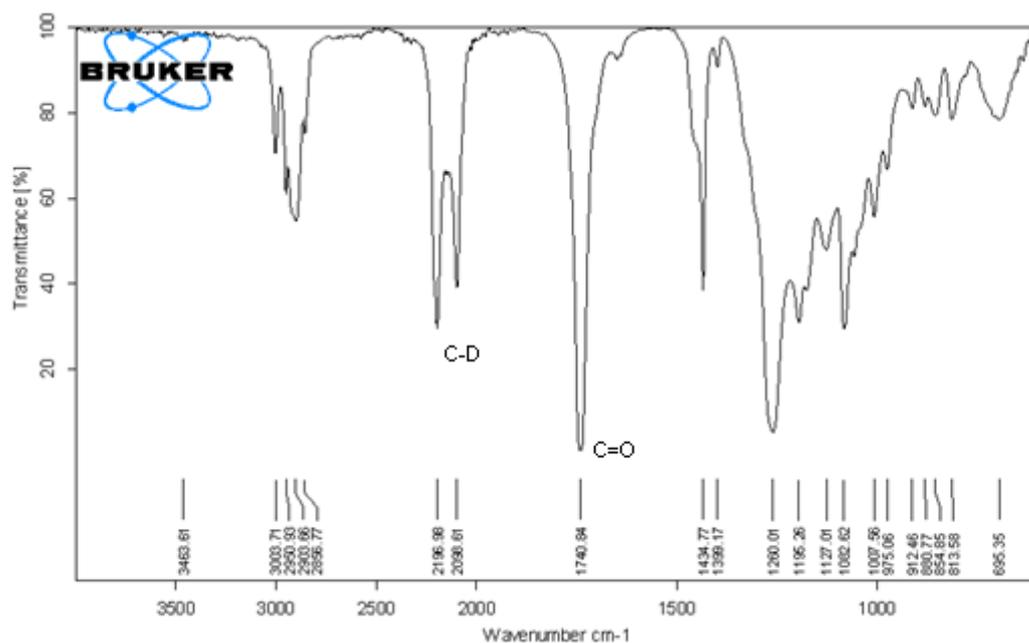
9.9. Nonanal [D₁₇] (10): ¹H RMN, ¹³C RMN, IR



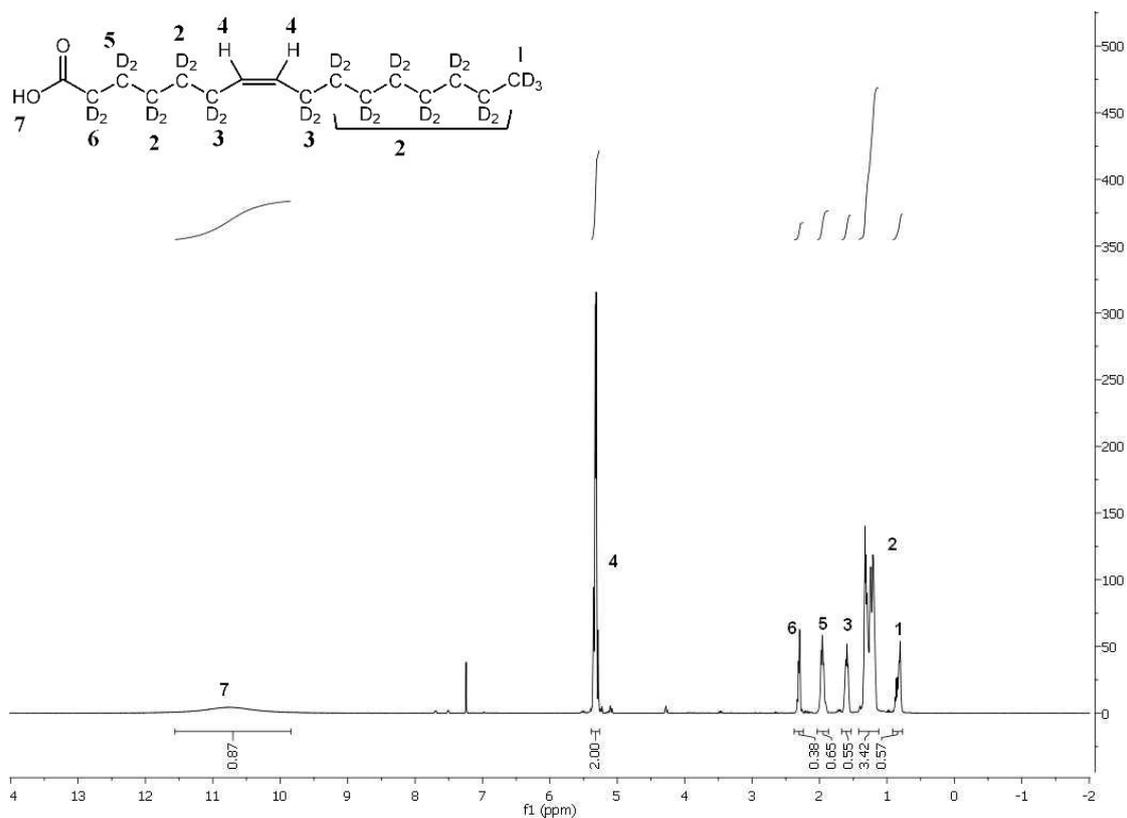


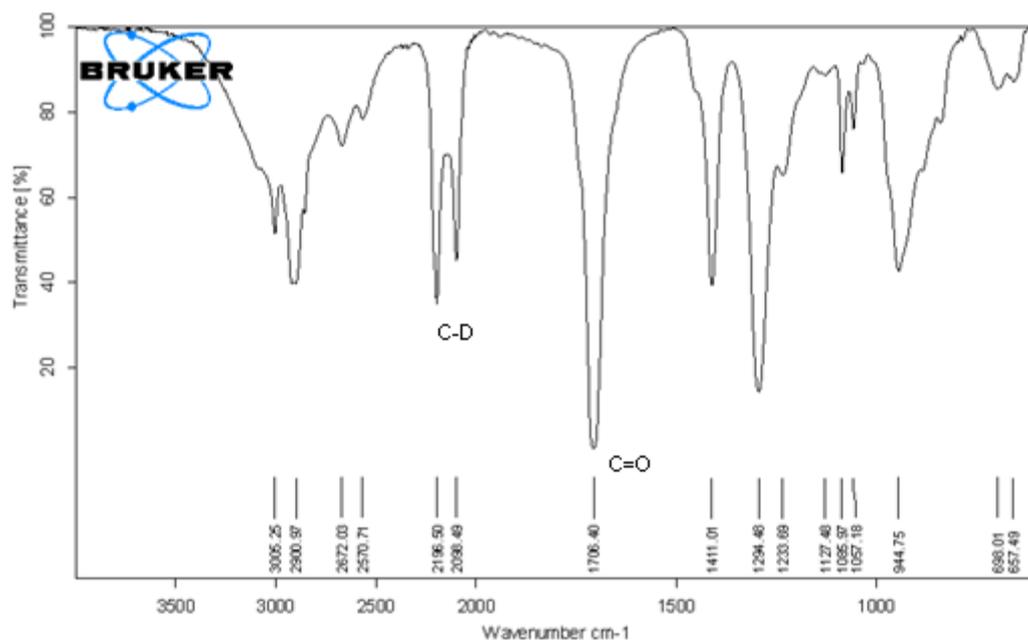
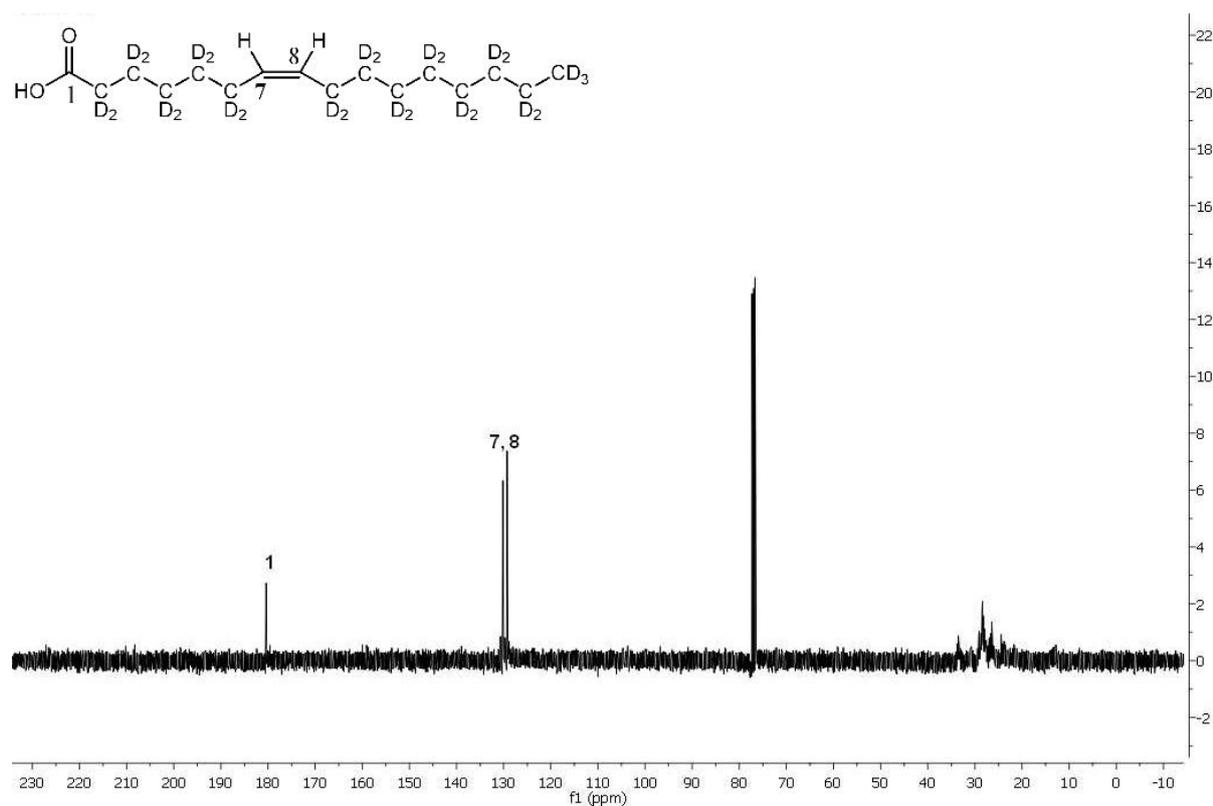
9.10. [D₂₇] cis-7-hexadecenoato de metilo (11): ¹H RMN, ¹³C RMN, IR





9.11. Ácido $[D_{27}]$ *cis*-7-hexadecenoico (12): 1H RMN, ^{13}C RMN, IR





9.12. 1-palmitoil-2-([D₂₇]-7Z-hexedecenoil)-sn-glicero-3-fosforilcolina (14): ¹H RMN, IR

