



Universidad de Valladolid

Facultad de Ciencias

TRABAJO FIN DE GRADO

Grado en Química

**Síntesis de glicerofosfomioinositales portadores
del ácido (Z)-7-hexadecenoico**

Autora: Silvia del Moral Peñas

Tutora: Purificación Cuadrado Curto

D^ª Purificación Cuadrado Curto, profesora del Departamento de Química Orgánica de la Universidad de Valladolid, en relación a la SOLICITUD DE DEFENSA Y EVALUACIÓN DEL TRABAJO FIN DE GRADO, y como tutora del trabajo ***“Síntesis de glicerofosfomioinositales portadores del ácido graso (Z)-7-hexadecenoico”*** realizado por D^ª Silvia del Moral Peñas, según el Reglamento sobre la Elaboración y Evaluación del Trabajo Fin de Grado aprobado por el Consejo de Gobierno de 18 de enero de 2012 (BOCyL 15 de febrero de 2012, modificado el 27 de marzo de 2013), informa que:

Dicho trabajo ha sido realizado en el Departamento de Química Orgánica de la Universidad de Valladolid, por la alumna D^ª Silvia del Moral Peñas de forma satisfactoria y con gran dedicación, demostrando poseer una gran capacidad de trabajo y análisis.

Por lo que concluyo que: Tanto el trabajo como los aspectos científicos desarrollados en el mismo reúnen las condiciones para ser defendidos ante el correspondiente tribunal. El trabajo se encuentra plenamente integrado dentro de los objetivos que se pretenden en el Trabajo Fin de Grado, para la obtención del Grado en Química.

Valladolid, 16 de Julio de 2018

Fdo. Purificación Cuadrado Curto

ÍNDICE

1.	Abreviaturas	1
2.	Resumen/Summary	2
3.	Introducción	3
4.	Objetivos y plan de trabajo	5
5.	Antecedentes bibliográficos.....	7
5.1	Síntesis de derivados de mioinositol.....	7
5.2	Síntesis del ácido graso (Z)-7-hexadecenoico	8
5.2.1	Reacción de Wittig	8
5.2.2	Hidrogenación de alquinos.....	9
5.3	Síntesis de diacilglicerol.....	9
5.3.1	(2R) – glicidol	10
5.3.2	(2R) – solketal.....	11
5.4	Síntesis del glicerofosfomioinositol.....	12
6.	Resultados y discusión	14
6.1	Síntesis de derivados de mioinositol.....	14
6.2	Síntesis del ácido graso (Z)-7-hexadecenoico	17
6.3	Síntesis del diacilglicerol.....	18
6.4	Síntesis del glicerofosfomioinositol.....	21
7.	Conclusiones.....	23
8.	Materiales y métodos	24
9.	Anexo: ¹ H, ¹³ C, HSQC, COSY, MS.....	35
10.	Bibliografía	75

1. Abreviaturas

DAG	Diacilglicerol
DCC	N,N-diciclohexilcarbodiimida
DIPEA	N,N-Diisopropiletilamina
DMAP	4-dimetilaminopiridina
DMF	N,N-dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMT-Cl	Cloruro de dimetoxitritilo
MOM-Cl	Cloruro de metilmetiléter
TBDPS-Cl	Cloruro de <i>terc</i> -butildifenilsilano
TFA	Ácido trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano
TsOH	Ácido p-toluensulfónico

2. Resumen/Summary

Este proyecto de fin de grado se dedica a la síntesis de fosfolípidos, más específicamente, en la síntesis de fosfatidilmioinositoles que porten los isómeros posicionales del ácido graso 16:1 en la posición sn₂.

A grandes rasgos, está dividido en tres partes: la primera se centra en la síntesis del derivado de mioinositol, la segunda en la obtención del ácido graso y su incorporación para formar un diacilglicerol, y la última en el ensamblaje del fosfodiacylglicerol y el mioinositol tanto químicamente como regioespecíficamente.

This final project is focused on the synthesis of phospholipids, more specifically, on the synthesis of phosphatidylmyoinositols, which could carry positional isomers of the 16:1 fatty acid at sn₂ position.

In general, it is divided in three parts: the first one pays attention to the synthesis of derivatives of mioinositol, the second one to get the fatty acid and to form a diacylglycerol and finally, the last one, try to link the derivative of myoinositol and the diacylglycerol in a regiospecific way.

3. Introducción

En estudios anteriores se ha evaluado la actividad biológica de los diferentes isómeros posicionales del doble enlace de los ácidos grasos monoinsaturados (16:1 n-9, 16:1 n-7 y 16:1 n-10), llegando a observarse un fuerte carácter antiinflamatorio del 16:1 n-9 y del 16:1 n-7, tras diferentes estímulos inflamatorios^[1,2].

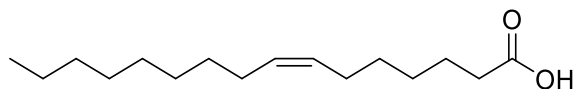


Figura 1: Estructura del ácido graso (Z)-7-hexadecenoico (16:1 n-9).

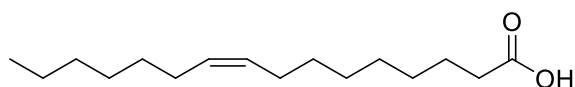


Figura 2: Estructura del ácido graso (Z)-9-hexadecenoico (16:1 n-7).

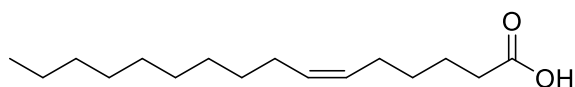


Figura 3: Estructura del ácido graso (Z)-6-hexadecenoico (16:1 n-10).

No se conoce en detalle cuál es el mecanismo de actuación de estos ácidos grasos, pero parece estar relacionado con las diferentes formas lipídicas en las que pueden encontrarse. Se ha observado que la incorporación de estos ácidos grasos ocurre, preferentemente, en glicerofosfolípidos.

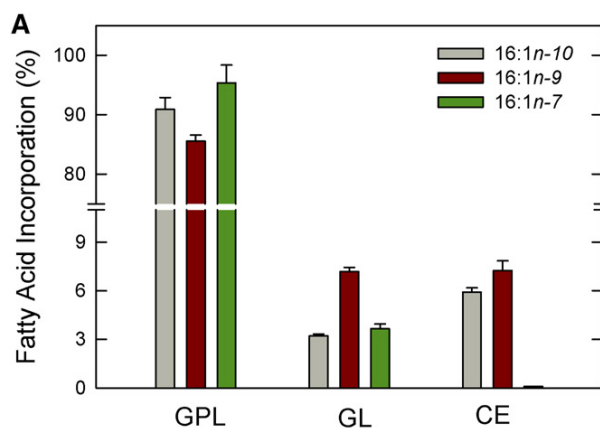


Figura 4^[1]: Incorporación de los diferentes isómeros posicionales en glicerofosfolípidos (GPL), en glicerolípidos (GL) y en ésteres de colesterol (CE).

Para poder evaluarlo, en el proyecto de investigación en el que se engloba este trabajo, se propone sintetizar diferentes formas lipídicas que contengan estos ácidos grasos de interés: fosfolípidos, acilglicéridos y ésteres de colesterol, para posteriormente introducirlos en células relacionadas con el sistema inmune y estudiar su mecanismo de actuación.

Este trabajo está enfocado a desarrollar derivados de mioinositol, más concretamente, glicerofosfomioinositoles, mediante los cuales sea posible introducir estos ácidos grasos.

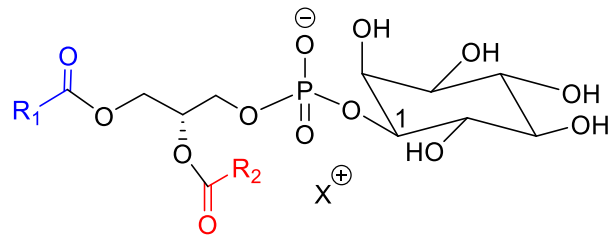


Figura 5: Estructura general de un glicerofosfomioinositol.

Los fosfatos de mioinositol participan en el anclaje de proteínas en la membrana celular^[3], de ahí el objetivo de utilizarlos como transporte para los ácidos grasos.

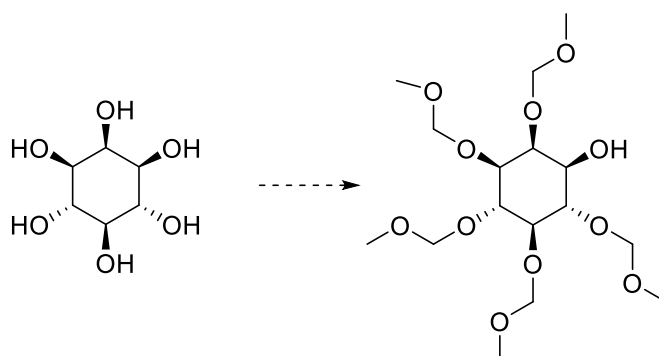
4. Objetivos y plan de trabajo

Los principales retos a conseguir en este trabajo son:

- Protección selectiva de los grupos hidroxilo del mioinositol, para la obtención del derivado deseado, con el hidroxilo en C-1 libre.
- Sintetizar el ácido graso (Z)-7-hexadecenoico.
- Unir el ácido graso (Z)-7-hexadecenoico a un derivado del glicerol de forma selectiva, de forma que el OH primario sn3 quede libre para, posteriormente, formar el fosfato y unirlo al derivado de mioinositol.
- Formar un fosfolípido a partir del diacilglicerol y el derivado de mioinositol.

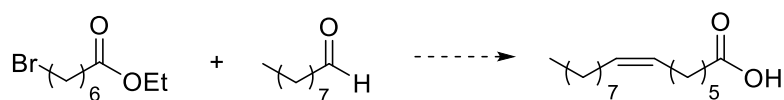
Para la consecución de estos objetivos se ha llevado a cabo el diseño del siguiente plan de trabajo:

- Protección selectiva de los grupos hidroxilo 2, 3, 4, 5 y 6 del mioinositol, quedando únicamente libre el situado en C-1, que servirá como punto de unión con el fosfodiácilglicerol.



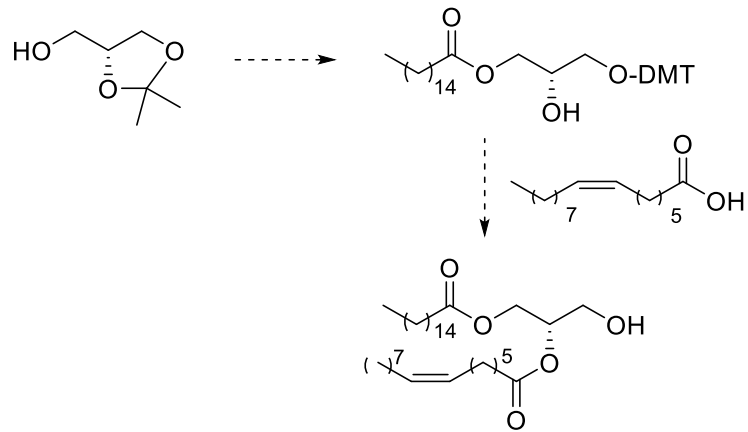
Esquema 1

- La obtención del ácido graso (Z)-7-hexadecenoico a partir de 7-bromoheptanoato de etilo y nonanal, por reacción de Wittig.



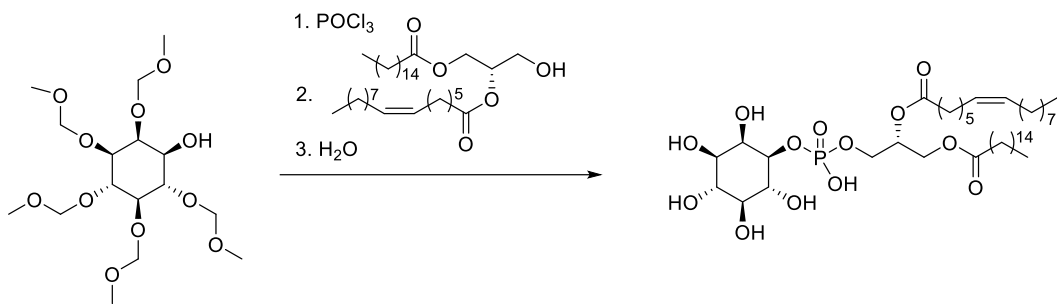
Esquema 2

- La síntesis del diacilglicerol implica la presencia del ácido graso (Z)-7-hexadecenoico y un derivado del ácido palmítico sobre un derivado del propanotriol adecuado para la preparación del enantiómero biológicamente activo [(2R)-solketal].



Esquema 3

- La síntesis del fosfolípido requiere, en primer lugar, la formación de un fosfato del derivado de mioinositol para, a continuación, incorporar el diacilglicerol. Finalmente, se eliminan los grupos protectores del mioinositol, generando así el glicerofosfomioinositol deseado.



Esquema 4

5. Antecedentes bibliográficos

5.1 Síntesis de derivados de mioinositol

Como se ha dicho anteriormente, los fosfatos de mioinositol sirven de anclaje de proteínas en la membrana celular.

El mioinositol es una molécula con diferentes isómeros, pero sólo uno se encuentra de forma natural formando derivados de glicerofosfatos en los organismos vivos. De ahí, el interés en obtener lípidos que sirvan como vehículo para incorporar el mioinositol en el organismo, portando además, ácidos grasos de distinta naturaleza.

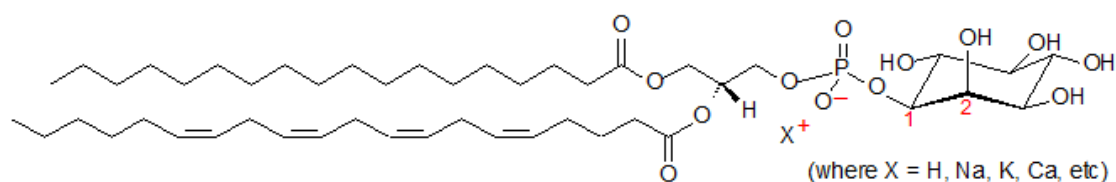


Figura 6: Estructura de un glicerofosfoinositol.

Existen diferentes antecedentes en la literatura reciente en donde se aborda esta temática. En todos ellos, el hándicap inicial es disponer del isómero adecuado del mioinositol, protegido de modo que el fosfodiacylglicerol se incorpore sobre el hidroxilo situado en C-1. Para ello, se han publicado métodos que incluyen sucesivas protecciones y desprotecciones^[4], con la consiguiente complejidad experimental y disminución del rendimiento^[5].

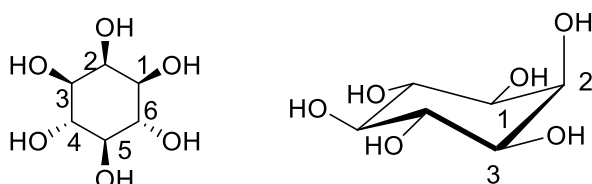
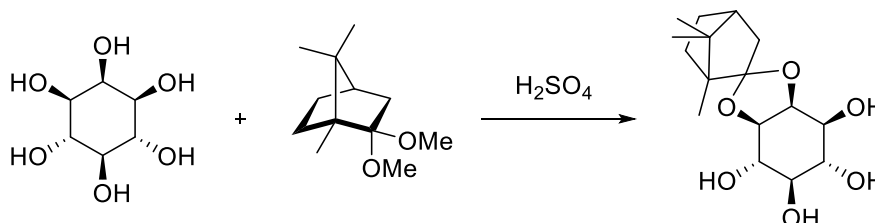


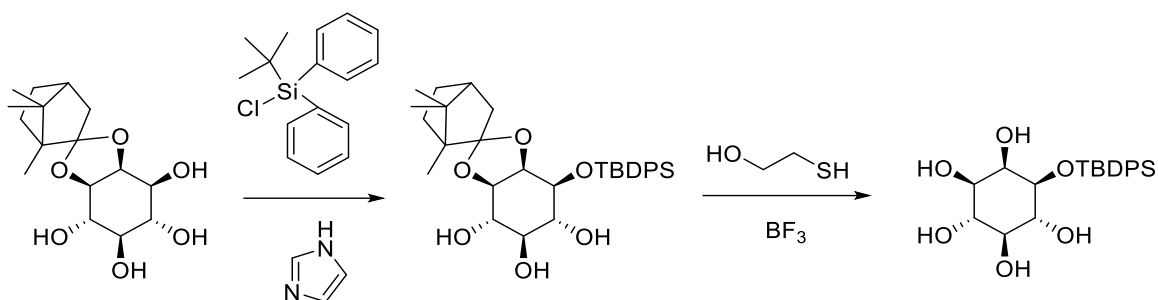
Figura 7: Posiciones del mioinositol.

Una de las vías de síntesis para obtener derivados de mioinositol es partir del 2,3-O-(1',7',7'-trimetil[2'.2'.1']biciclohept-2'-iliden)-mioinositol, siendo esta molécula sintetizada a partir del bloqueo de los hidroxilos del mioinositol situados en C-2 y C-3 como acetal derivado del 1,1-dimetoxialcanfor^[5,6] (Esquema 5).



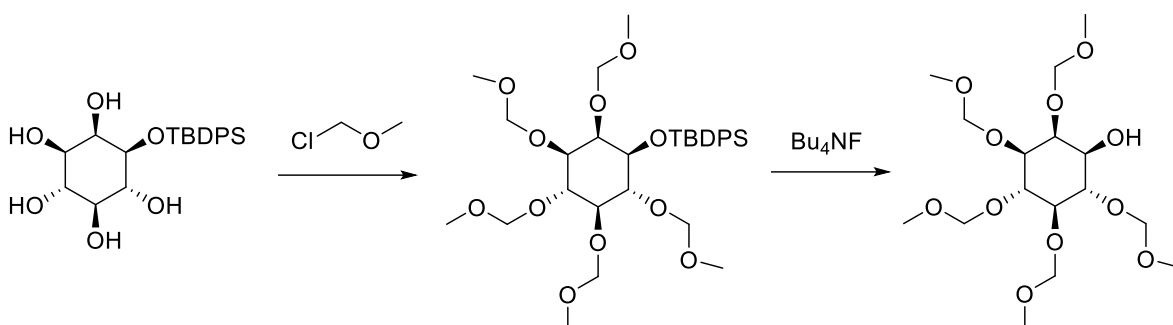
Esquema 5

A continuación, se protege el OH situado en C-1 con un grupo voluminoso, como es el cloruro de *tert*-butildifenilsililo (TB DPS-Cl) y seguidamente, se elimina el acetal de alcanfor, quedando así únicamente protegida la posición 1^[5] (Esquema 6).



Esquema 6

Una vez protegido el hidroxilo situado en C-1, se protegen los restantes utilizando clorometilmetiléter (MOM-Cl), para finalmente, eliminar el grupo *tert*-butildifenilsililo y liberar el OH en C-1^[5] (Esquema 7).



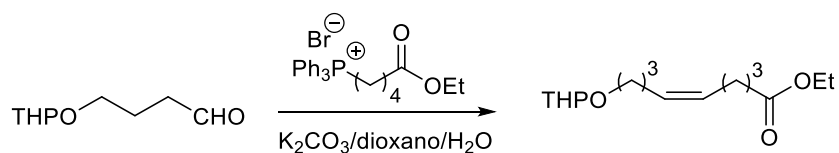
Esquema 7

5.2 Síntesis del ácido graso (Z)-7-hexadecenoico

La síntesis de ácidos grasos de estereoquímica (Z) se puede llevar a cabo de diferentes formas. A continuación, se presentan algunas de las más utilizadas.

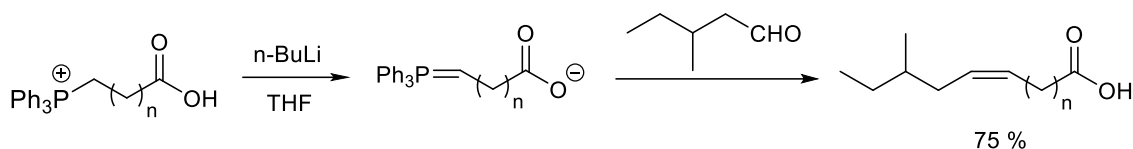
5.2.1 Reacción de Wittig

Esta reacción se produce entre un aldehído o cetona junto con un iluro de fósforo, dando lugar a un (Z)-alqueno^[7]. Este hecho se ha comprobado de forma exitosa en la preparación del 9-(tetrahidropiran-2-iloxi)-(5Z)-nonanoato de etilo, a partir de sal de fosfonio procedente del 5-bromopentanoato de etilo y un aldehído^[8] (Esquema 8).



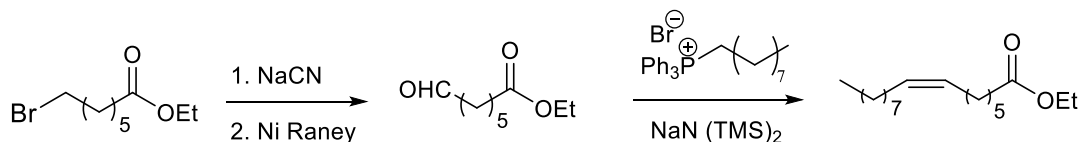
Esquema 8

La obtención de un (Z)-alqueno también puede realizarse partiendo de aldehídos ramificados^[9]. Este es el caso de la síntesis tanto del ácido 14-metilhexadecenoico, como del ácido 12-metiltratadecenoico. Ambos se preparan a partir de 3-metilpentanal y un iluro de fósforo (Esquema 9).



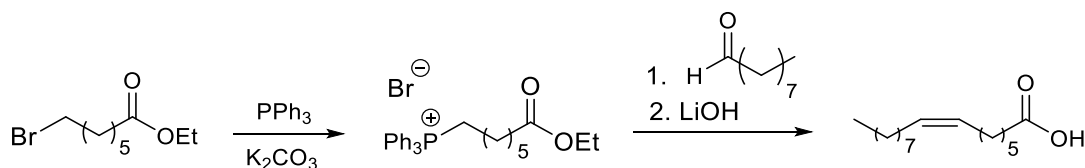
Esquema 9

En este caso, el ácido de interés es el (Z)-7-hexadecenoico (16:1 n-9), cuya síntesis se puede abordar de distintas maneras. En una de ellas, se parte de 6-bromohexanoato de etilo, se transforma en 7-oxoheptanoato de etilo, el cual reacciona con el correspondiente iluro para dar el ácido deseado^[10] (Esquema 10).



Esquema 10

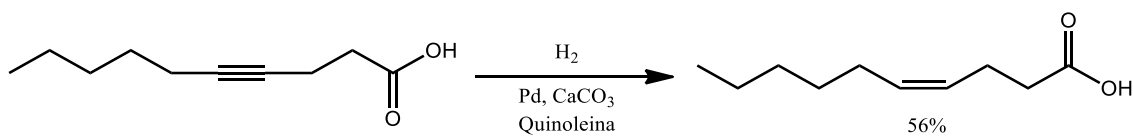
Sin embargo, la síntesis de este ácido graso ha sido llevada a cabo por nuestro grupo de investigación de una forma diferente, generando muy buenos resultados. En este caso, se parte de 7-bromoheptanoato de etilo, a continuación, se forma la sal de fosfonio correspondiente, ésta reacciona con nonanal para generar el éster y finalmente, con una base se genera el ácido graso (Z)-7-hexadecenoico (16:1 n-9) (Esquema 11).



Esquema 11

5.2.2 Hidrogenación de alquinos

Este proceso consiste en la hidrogenación selectiva de alquinos para generar (Z)-alquenos. Esto se consigue mediante la utilización del "Catalizador de Lindlar", o lo que es lo mismo, paladio (5%) sobre carbonato de calcio y quinoleína. El uso de este catalizador proporciona buenos resultados, tal y como se observa en diversas investigaciones como, por ejemplo, en la síntesis del ácido (Z)-4-decenoico a partir del ácido 4-decinoico^[11] (Esquema 12).



Esquema 12

5.3 Síntesis de diacilglicerol

La síntesis de diacilglicerol tiene como principal problema la regio- y enantioselectividad entre los hidroxilos pertenecientes al glicerol. Por ello, se han

estudiado diversas vías que parten de un derivado del *R*-glicerol, adecuadamente protegido para preservar la estereoselectividad.

En la bibliografía se han empleado diversos métodos, entre los cuales, los más ventajosos parten del (2*R*) – glicidol y del (2*R*) – solketal, respectivamente.

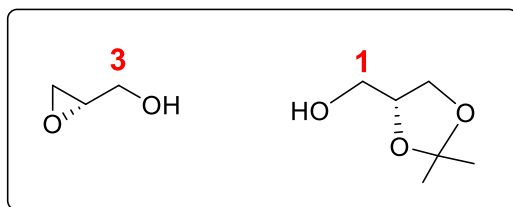
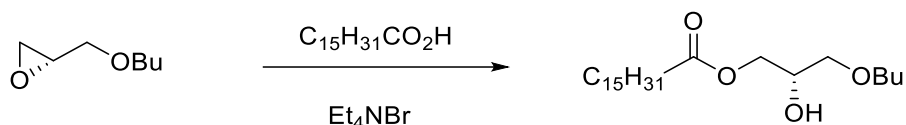


Figura 8: Estructuras correspondientes a (2*R*) – glicidol (izquierda) y (2*R*) – solketal (derecha).

5.3.1 (2*R*) – glicidol

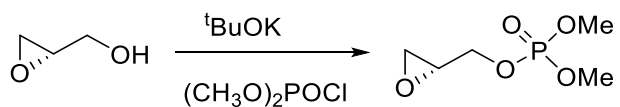
Partiendo de este derivado de oxirano, es posible llegar a distinguir los grupos OH tanto de la posición 1 como de la 2^[12,13]. La protección del hidroxilo primario puede realizarse mediante diferentes estrategias:

- Utilizando ácidos grasos y bromuro de tetraetilamonio como catalizador, incorporar el grupo ácido en la posición 1^[12] (Esquema 13).



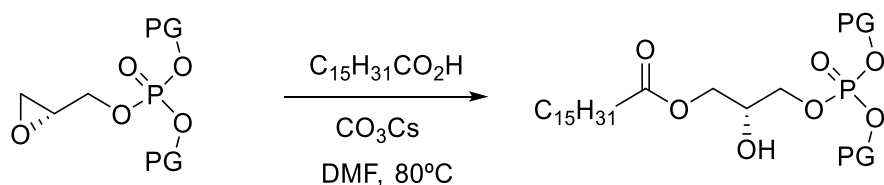
Esquema 13

- Haciendo reaccionar (2*R*) – glicidol con cloruro de dimetilfosfonio, en presencia de terc butóxido potásico, para dar el 3 – fosfatidil derivado (Esquema 14).



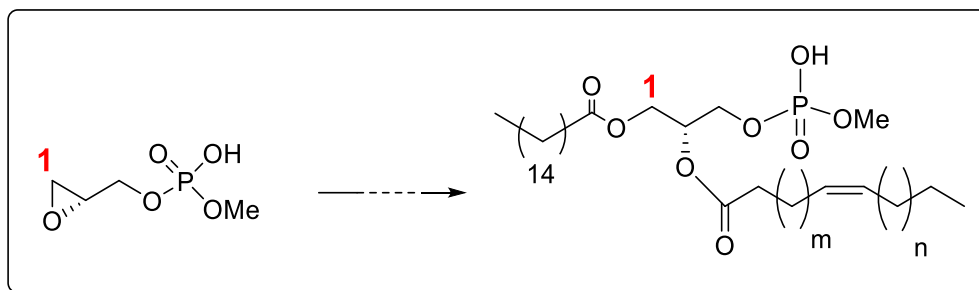
Esquema 14

- En medio básico, se produce la apertura nucleofílica del epóxido, de forma regioselectiva^[14] (Esquema 15).



Esquema 15

Esta metodología permite partir de un derivado donde el OH primario de C-3 está ya sustituido, para así incorporar sucesivamente los ácidos grasos deseados en C-1 y C-2 (Esquema 16).

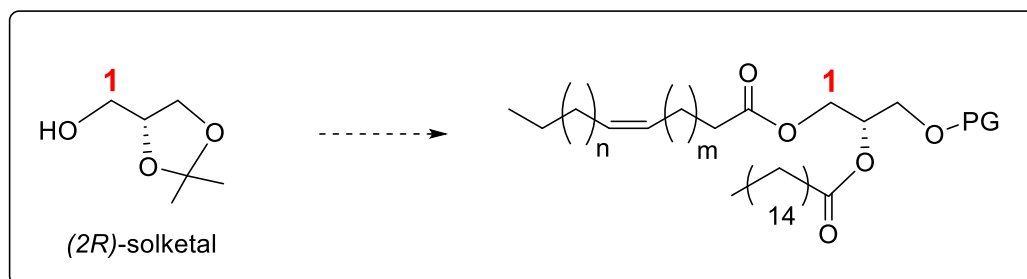


Esquema 16

5.3.2 (2R) – solketal

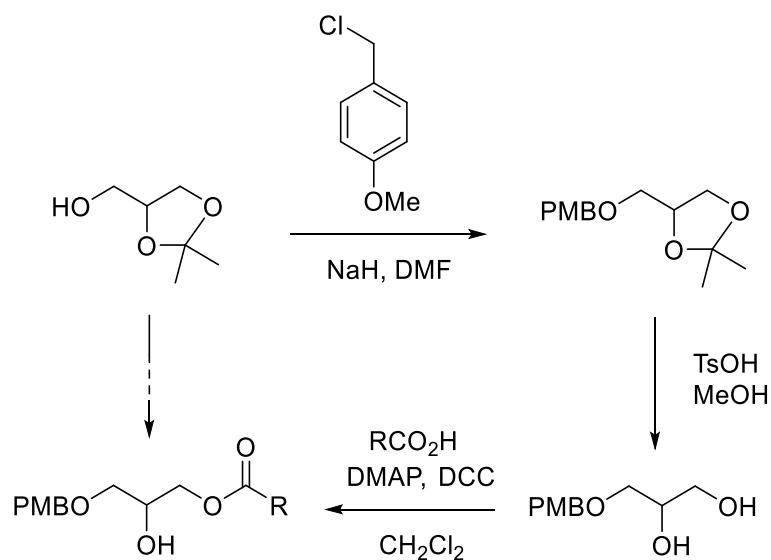
El uso de (2R) – solketal o 1,2-O-isopropiliden glicerol es una buena alternativa al (2R) – glicidol, ya que permite el acceso al hidroxilo en C-1. Seguidamente, es posible liberar el 2,3-diol, proteger la posición 3 y finalmente, introducir el ácido graso deseado en C-2. Si bien, previamente, es necesario realizar la protección del OH libre del solketal para, más tarde, eliminar el grupo isopropilideno en condiciones ácidas.

Esta metodología implica una gran regioselectividad entre el hidroxilo primario y secundario. Este hecho facilita el bloqueo del primario y la introducción del ácido graso deseado (Figura 17).



Esquema 17

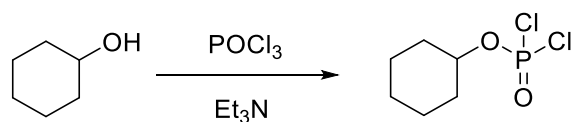
Otra posible vía de síntesis es tratar (2R) – solketal con cloruro de 4-metoxibencilo en medio básico^[15], protegiendo así el grupo hidroxilo de C-1. A continuación, la apertura del cetal con ácido p-toluensulfónico y finalmente, incorporación de un ácido graso en C-3 en presencia de DMAP y DCC. De esta manera, se consigue liberar el OH secundario, por donde se unirá el ácido graso (Esquema 18).



Esquema 18

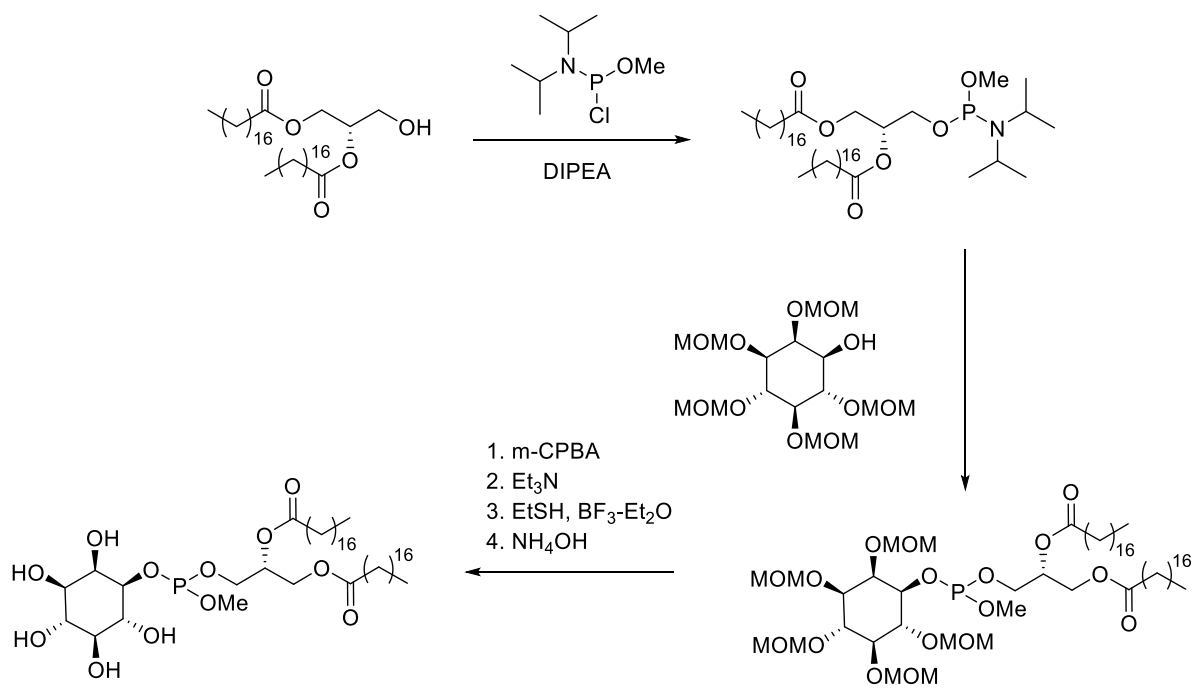
5.4 Síntesis del glicerofosfomioinositol

La preparación de monómeros de fosfodiclorohidratos de alquilo o de arilo se puede llevar a cabo utilizando tanto fosfitos como fostatos. Éstos últimos son los más versátiles, más concretamente, el oxiclورو de fósforo, el cual permite la incorporación de una mayor cantidad de productos^[16] (Esquema 19).



Esquema 19

Otra posible vía de síntesis parte de la adición de una fosfina sobre el diacilglicerol, a continuación, añadir el derivado de mioinositol, realizar una oxidación y finalmente, desproteger los hidroxilos del mioinositol^[17] (Esquema 20).



Esquema 20

6. Resultados y discusión

6.1 Síntesis de derivados de mioinositol

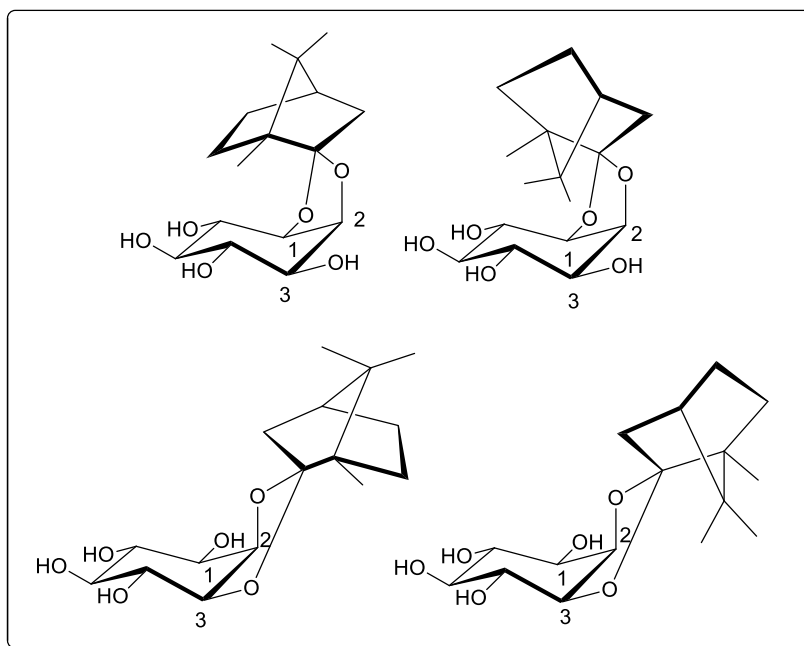
La preparación de los derivados de mioinositol requiere, una serie de etapas que implican protecciones y desprotecciones selectivas de los diferentes grupos hidroxilo.

En primer lugar, se lleva a cabo la protección selectiva de los OH *cis* en C-2 y C-3, por reacción del mioinositol con el dimetilacetal del *R*-alcanfor, que se prepara con excelentes rendimientos a partir del *R*-alcanfor^[6] (Esquema 21).



Esquema 21

Esta reacción de protección selectiva implica un proceso de transcetalización que proporciona una mezcla de, mayoritariamente, 4 isómeros^[18].



Afortunadamente, el que nos interesa puede separarse mediante sucesivas recristalizaciones, puesto que es el más insoluble^[19,20]. Este proceso, junto con la formación de diferentes isómeros, hace que el rendimiento de esta etapa sea muy bajo (no supera el 34%), condicionando así las siguientes, puesto que constituye la etapa limitante de toda la síntesis (Esquema 22).

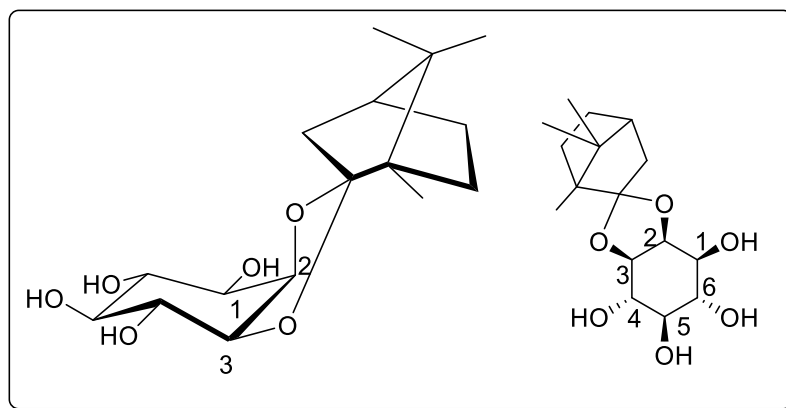
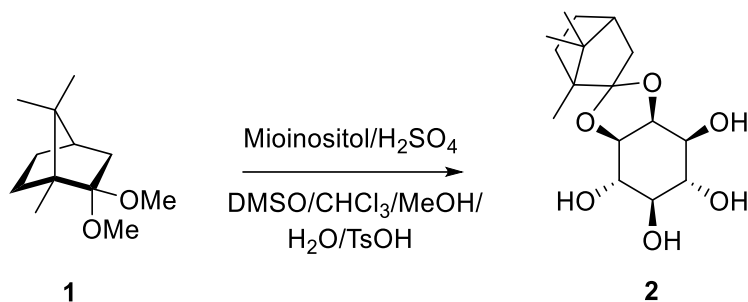


Figura 10: Isómero deseado.



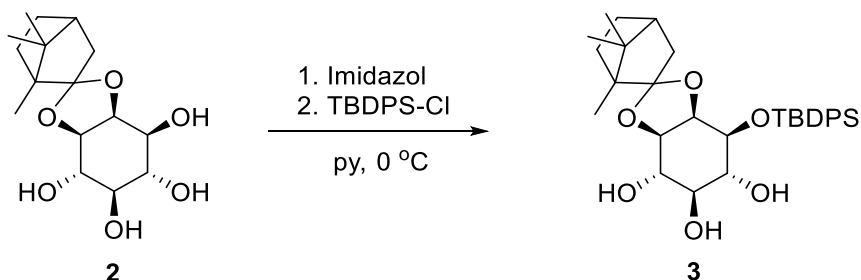
Esquema 22

Uno de los puntos donde más hincapié se ha hecho es en el intento de mejora del rendimiento en esta etapa. De acuerdo con la bibliografía existente^[6], los rendimientos en el producto deseado fueron muy bajos. El procedimiento se optimizó incorporando los siguientes aspectos experimentales:

- 1) Realizar recristalizaciones sucesivas con metanol, evitando el uso de agua.
- 2) Añadir el de doble ácido p-toluensulfónico (TsOH) de lo indicado en la bibliografía^[6], tratando así de facilitar la precipitación del isómero deseado. Se observó un apreciable aumento del rendimiento.

La baja solubilidad del compuesto **2**, útil para su separación, es sin embargo un problema a la hora de la caracterización espectroscópica. De hecho, los espectros de RMN se realizaron en metanol- d_6 .

Las características estructurales del compuesto **2** favorecen la incorporación regioselectiva de un grupo protector voluminoso, como es el *tert*-butildifenilsililo (TBDPS), en el grupo OH de C-1, para dar **3** con excelentes rendimientos (Esquema 23).



Esquema 23

En este caso, es muy importante someter al compuesto **2** a periodos de secado (a unos 65°C) de unas 24 horas para que esté completamente anhidro, ya que la presencia de agua afecta negativamente al rendimiento. Por otra parte, la regioselectividad aumenta notablemente cuando esta reacción se lleva a cabo a baja temperatura (entre 0 y -2°C).

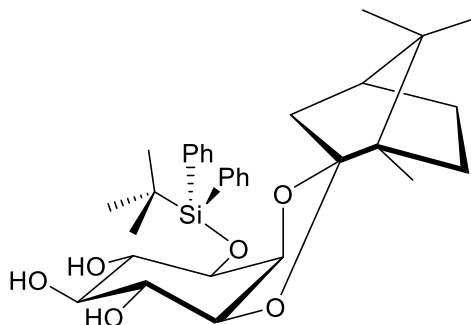
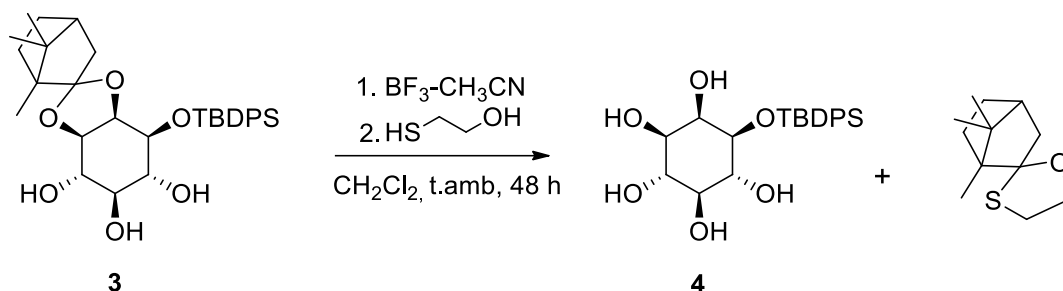


Figura 11: Estructura del derivado sililado.

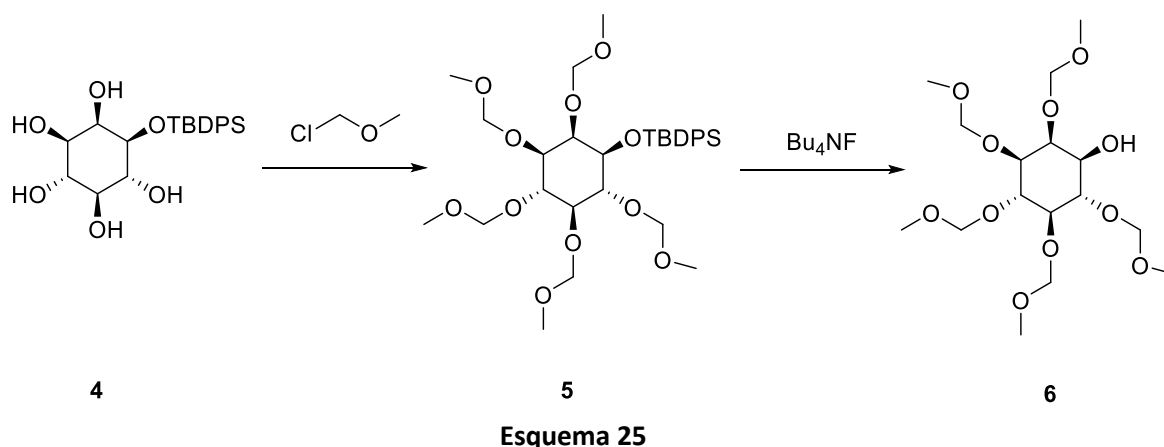
El siguiente paso consiste en la eliminación del derivado de alcanfor mediante transcetalización ácido-catalizada. Para ello, se trata el compuesto **3** con el complejo BF_3 -acetonitrilo y 2-mercaptoetanol (Esquema 24)



Esquema 24

Se realizaron pruebas tanto con $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$ como con $\text{BF}_3\text{-CH}_3\text{CN}$. Este último proporciona un rendimiento medio del 55%, mientras que al utilizar $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$ la reacción se produjo en muy escasa extensión. Por otra parte, el monotioacetal del alcanfor, se separa del producto deseado (**4**) fácilmente por cromatografía en columna.

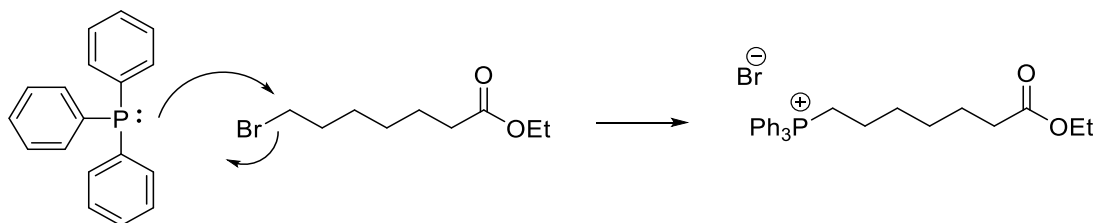
Seguidamente, se procede a la protección de todos los grupos OH con clorometilmetiléter (MOM-Cl) y finalmente, se lleva a cabo la eliminación del grupo protector TBDPS, dejando libre así el hidroxilo donde se unirá el diacilglicerol a través del éster fosfórico. Se destaca el alto rendimiento obtenido en esta etapa de desprotección (alrededor del 90%) (Esquema 25).



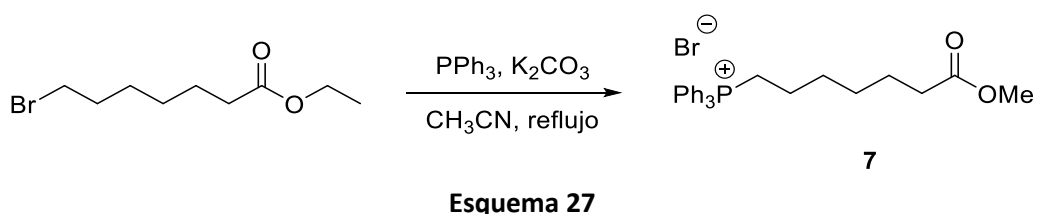
6.2 Síntesis del ácido graso (*Z*)-7-hexadecenoico

La ruta elegida para la síntesis del ácido graso (*Z*)-7-hexadecenoico parte del 7-bromoheptanoato de etilo y mediante una serie de reacciones, se transforma para dar lugar al producto deseado.

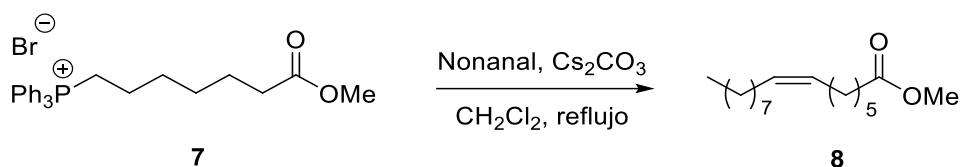
La primera reacción implica la formación de una sal de fosfonio a partir del 7-bromoheptanoato de etilo y trifetilfosfina, ocurriendo el ataque nucleofílico del fósforo sobre el carbono unido al bromo. Para favorecer el aumento del rendimiento, la trifetilfosfina debe estar completamente anhidra (Esquema 26).



Si bien esta reacción no tiene mayores inconvenientes, la purificación del producto mediante cromatografía en columna implica la transesterificación del éster etílico en metílico. Este hecho se debe a la sílice utilizada en la fase estacionaria y el metanol del eluyente. Al no ser prioritaria la presencia del éster etílico, se prosigue con el éster metílico en las siguientes etapas (Esquema 27).

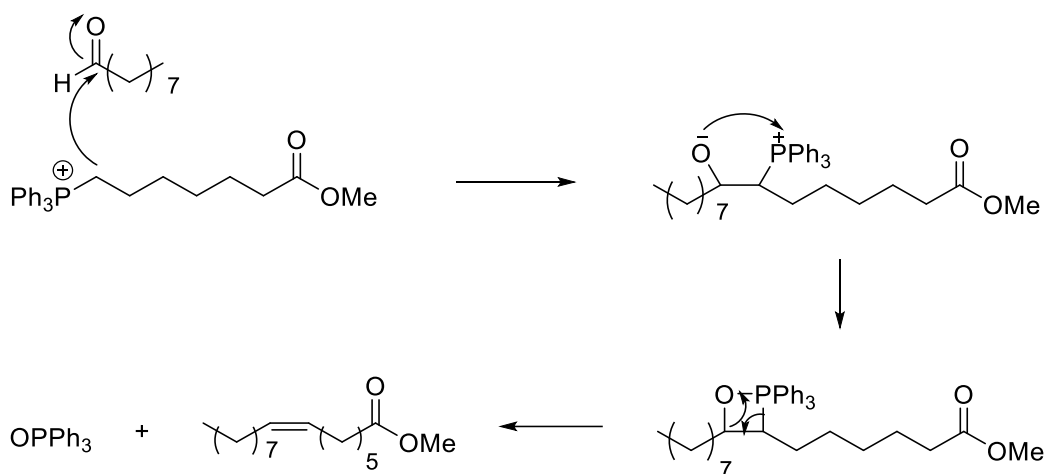


El tratamiento de esta sal de fosfonio con nonanal y carbonato de cesio da lugar a un (*Z*)-alqueno (Esquema 28).



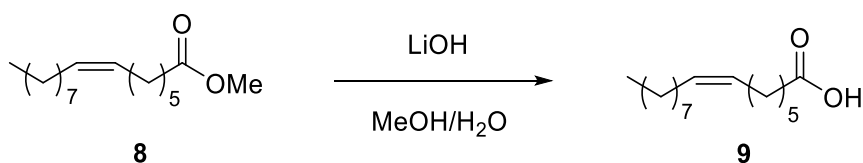
Esquema 28

Esta reacción se lleva a cabo mediante el ataque nucleófilo del carbono unido al iluro sobre el carbono carbonílico del aldehído. En este proceso, se produce la formación de un intermedio de reacción donde el oxígeno ataca al fósforo, dando lugar a un segundo intermedio, esta vez cíclico, derivado del oxafosfetano. Finalmente, mediante una β -eliminación, se elimina óxido de trifenilfosfina, formándose el doble enlace (Esquema 29).



Esquema 29

Finalmente, para la obtención del ácido carboxílico se procede al tratamiento del compuesto **8** con hidróxido de litio y mediante una serie de extracciones con diferentes disolventes, se consigue aislar el producto deseado (Esquema 30):



Esquema 30

6.3 Síntesis del diacilglicerol

Como se ha explicado previamente, uno de los mayores problemas que supone la síntesis de diacilglicéridos es la diferenciación de los grupos OH del glicerol. Además, ha de partirse de derivados de glicerol enantioméricamente puros, en vista de la futura proyección del trabajo (ensayos *in vivo*). La terminología aceptada para definir la estereoquímica absoluta denomina a cada carbono como sn_1 , sn_2 y sn_3 (stereospecific nomenclature) (Figura 11).

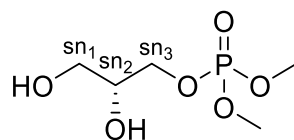
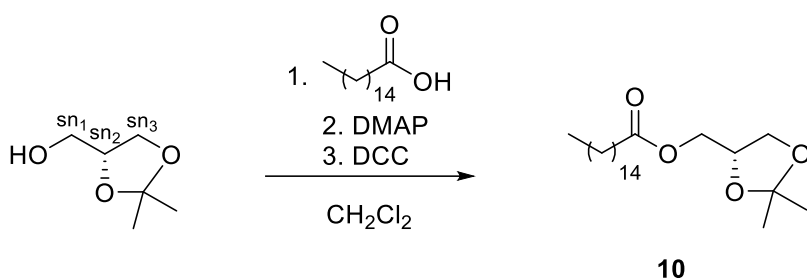


Figura 12: Posiciones sn_1 , sn_2 y sn_3 en glicerina fosforilada.

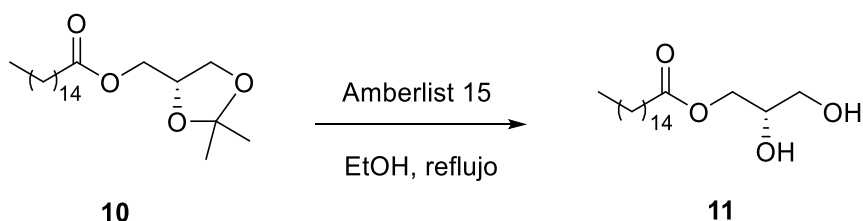
En este caso, se ha utilizado (2*R*) – solketal^[21] como reactivo inicial, para comparar su eficacia en comparación con el 2*R*-glicidol^[21–25].

Se hace reaccionar el (2*R*) – solketal con ácido palmítico, introduciéndose este último de forma selectiva sobre el carbono unido al OH libre (sn_1) del solketal (Esquema 31). El uso de DMAP y DCC permite la reacción de esterificación sin perder el grupo protector isopropilideno.



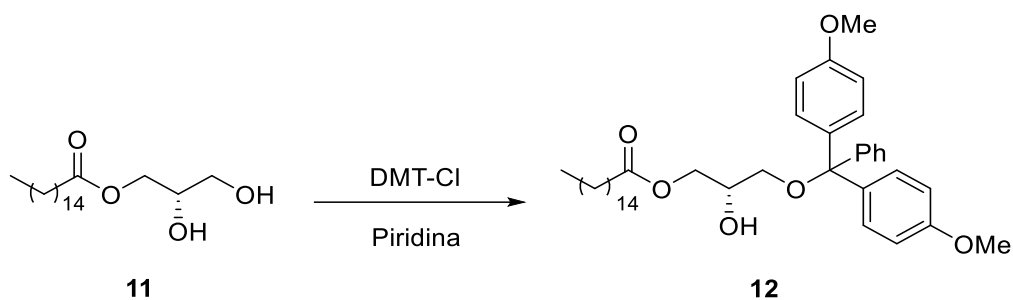
Esquema 31

Lo siguiente es realizar la desprotección de los grupos hidroxilo. Para ello, se utiliza la resina Amberlist 15, que sirve como intercambiadora de protones. Se han modificado las condiciones descritas en la bibliografía^[26] incrementando el tiempo de reacción para mejorar el rendimiento (Esquema 32).



Esquema 32

Por último, se protege el hidroxilo situado en sn_3 con cloruro de dimetoxitritilo (DMT-Cl), dejando libre así el OH de sn_2 , por donde se unirá el ácido graso (*Z*)-7-hexadecenoico (Esquema 33). Debido al gran volumen de este grupo protector, se consigue una gran selectividad en la reacción.

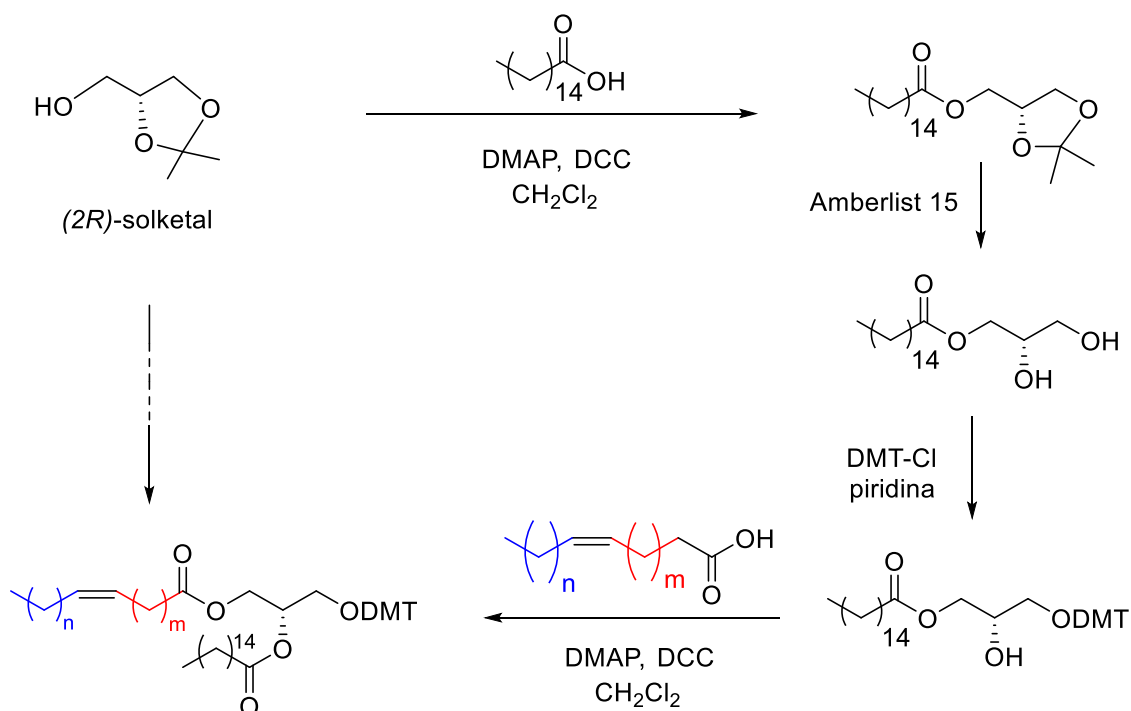


Esquema 33

Es importante destacar que estas tres etapas dan lugar a unos rendimientos excelentes, generalmente, superiores al 85%.

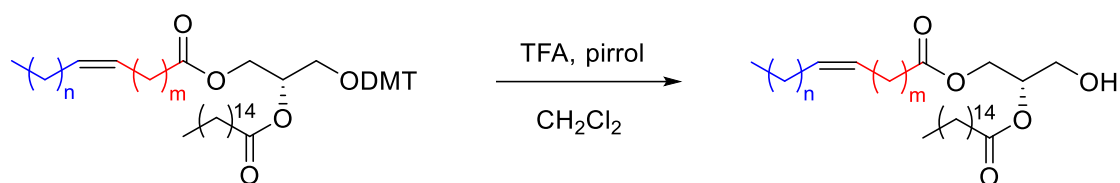
Como el objetivo de este trabajo es la puesta a punto de una metodología para la síntesis de un glicerofosfomioinositol, previamente a la formación del diacilglicerol con el ácido graso (*Z*)-7-hexadecenoico y con objeto de estudiar las condiciones de reacción, se utiliza el ácido oleico (18:1 n9), que es un producto comercial, muy similar al (*Z*)-7-hexadecenoico (16:1 n9), que se incorporará una vez optimizadas las condiciones (Esquema 34).

La introducción del ácido graso insaturado sobre el hidroxilo secundario se lleva a cabo mediante DMAP y DCC. En una primera prueba se mantuvo la reacción en agitación constante a temperatura ambiente durante 24 horas, proporcionando unos rendimientos muy bajos. De acuerdo a la bibliografía^[27], el uso de ultrasonidos en este tipo de síntesis es muy beneficioso, ya que en tan solo 6 horas se consiguió un rendimiento superior.



Esquema 34

Seguidamente, la eliminación del grupo protector dimetoxitritilo (DMT) se realiza con ácido trifluoroacético (TFA), obteniéndose excelentes rendimientos (superiores al 95%) (Esquema 35).

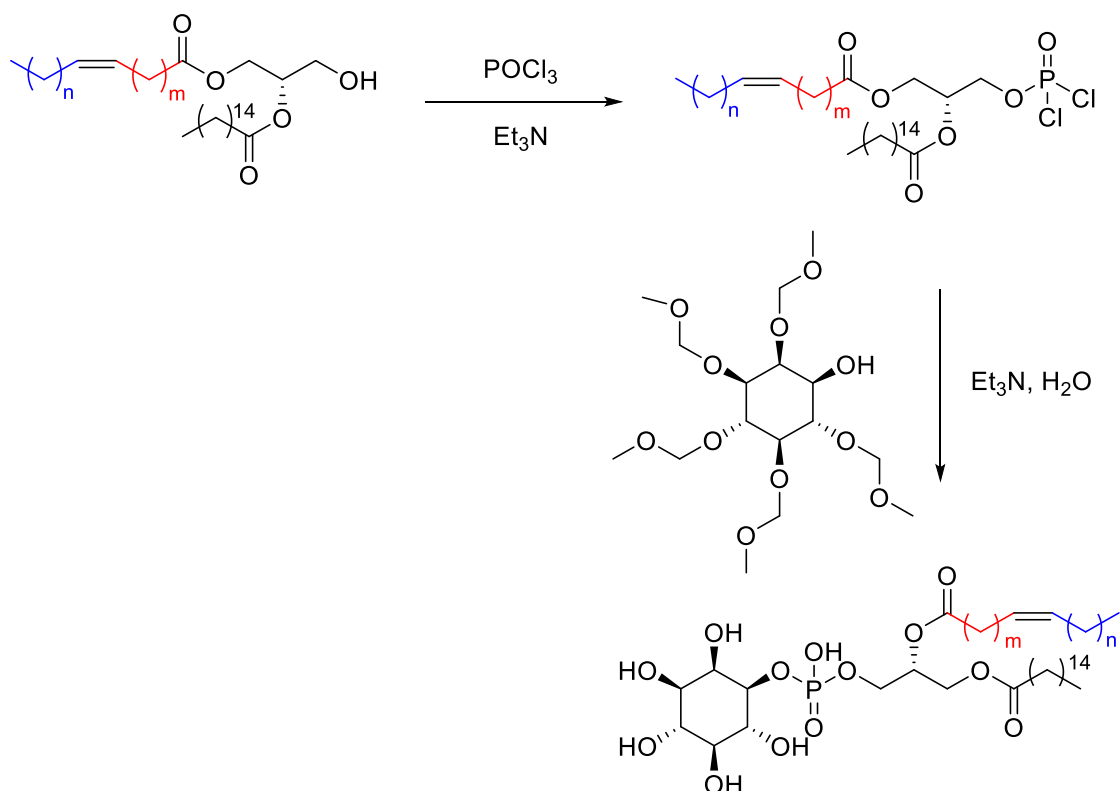


Esquema 35

6.4 Síntesis del glicerofosfomioinositol

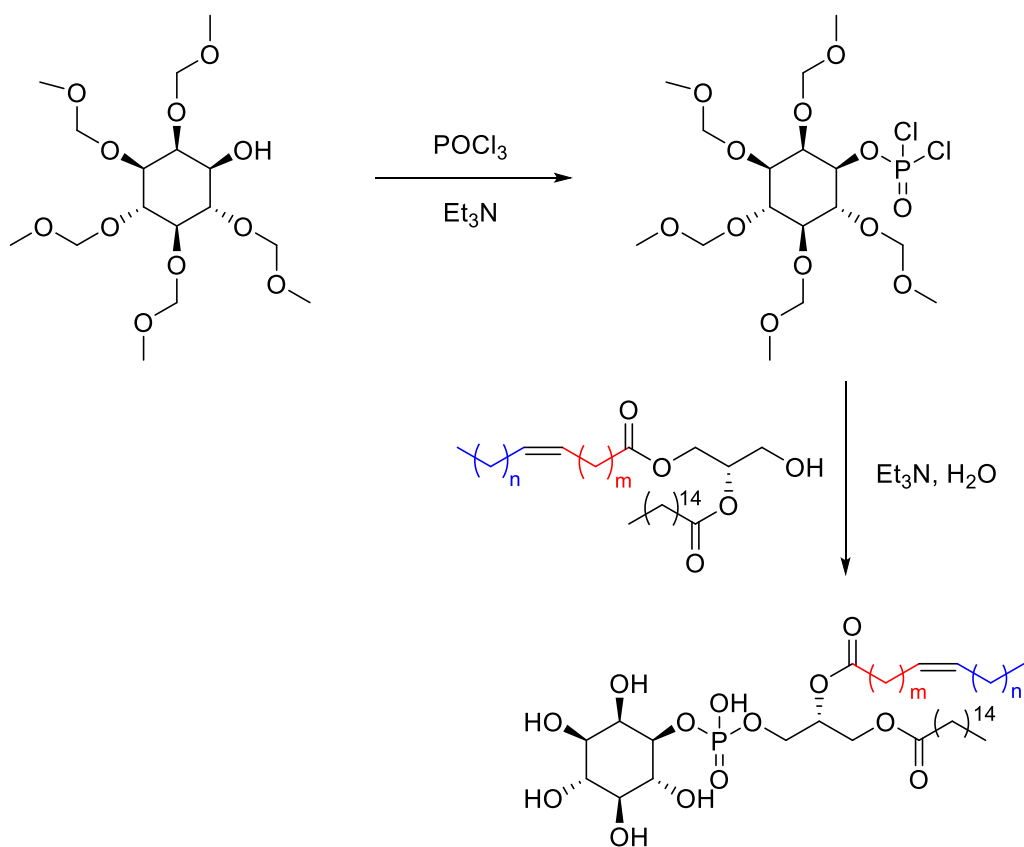
En esta etapa final, se lleva a cabo la construcción del glicerofosfomioinositol a partir de la unión de todos los fragmentos ya sintetizados.

La metodología seguida en esta parte implica dos vías diferentes. En una de ellas, se forma un fosfato a partir del DAG para, seguidamente, unir el derivado de mioinositol y finalmente, hidrolizar para desproteger todos los hidroxilos del mioinositol (Esquema 36).



Esquema 36

La segunda opción opta por formar primero el fosfato de mioinositol y que éste, se una al DAG (Esquema 37).



Esquema 37

El ensamblaje final de los tres componentes del glicerofosfomioinositol no se pudo completar por ninguna de las dos secuencias por los problemas asociados a la caracterización del producto final y será objeto de próximos estudios.

7. Conclusiones

Se ha llevado a cabo la protección selectiva de 5 de los 6 grupos hidroxilo del mioinositol, llegando al estereoisómero adecuado con el OH en C-1 libre.

El proceso sintético se ha optimizado, incrementando los rendimientos de las etapas limitantes.

Se ha obtenido el ácido graso (*Z*)-7-hexadecenoico (16:1 n-9) en tres etapas, a partir de fragmentos sencillos.

La obtención del DAG se ha llevado a cabo a partir de (*2R*) – solketal, incorporando en la posición sn₁ el ácido palmítico, protegiendo a continuación el OH sn₃, e incorporando en último lugar el ácido graso insaturado en sn₂.

Se han ensayado diferentes estrategias para la incorporación del fosfomioinositol sobre el DAG, así como para la incorporación del mioinositol sobre el DAG fosforilado mediante procesos que preserven la integridad química y estérica del fosfoglicerol final.

El proceso puede hacerse extensivo a cualquier ácido graso, y sus posiciones sobre el DAG son intercambiables, modificando la secuenciación de reacciones.

8. Materiales y métodos

Análisis por **cromatografía de placa fina (TLC)** ha sido realizado con placas de sílica. La detección se ha realizado tanto con indicador fluorescente (254 nm), como utilizando diversos reveladores (ácido fosfomolibdico y molibdato cérico de amonio).

Los **reactivos** utilizados a lo largo de esta ruta de síntesis proceden de diversas casas comerciales (Aldrich, Acros Organics). Los **disolventes secos** fueron, bien comerciales o bien, secados mediante tamices moleculares.

Espectros de ^1H NMR (400 MHz) y ^{13}C NMR (101 MHz) fueron obtenidos en un equipo de Agilent Technologies. Los desplazamientos químicos están expresados como partes por millón (ppm), utilizando tetrametilsilano (TMS) como estándar interno. Para ^1H los datos están expresados de la siguiente forma: desplazamiento químico (chemical shift), multiplicidad (s = singlete, d = doblete, dd = doble doblete, t = triplete, m = multiplete) e integración.

Espectro bidimensional **HSQC** hace referencia al acoplamiento que existe entre los átomos de hidrógeno y de carbono presentes en una molécula.

Espectro bidimensional **COSY** hace referencia al acoplamiento que se da entre los propios átomos de hidrógeno de una molécula.

Los espectros de **masas de alta resolución (HRMS)** fueron obtenidos en el espectrómetro de masas de tiempo de vuelo (MS – TOF) Bruker Maxis Impact, cuya fuente de ionización es el electrospray.

Tanto los espectros unidimensionales como bidimensionales, así como los espectros de masas de alta resolución fueron obtenidos en el Laboratorio de Técnicas Instrumentales de Valladolid (LTI).

A continuación, se encuentran los procedimientos experimentales detallados llevados a cabo en este trabajo.

8.1 Síntesis de 2,2-dimetoxi-1,7,7-trimetilbicyclo[2.2.1]heptano (1)^[6]:

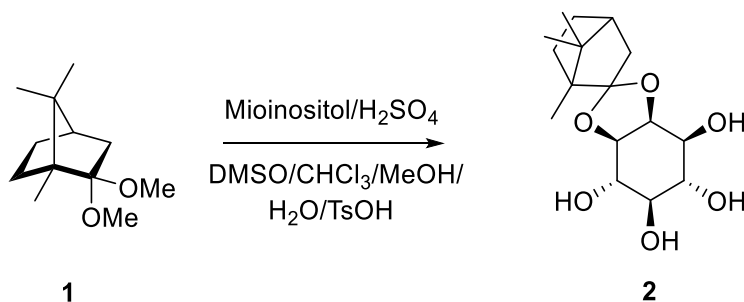


Se prepara una disolución de D-alcanfor (40,00 g, 0,263 mol) en metanol (40,0 mL). Sobre ésta, se adiciona ortoformiato de metilo (213,33 mL, 1,95 mol) y H₂SO₄ (1,20 mL), que actúa como catalizador de la reacción. Se mantiene con agitación constante durante 2 días y, una vez pasado este tiempo, se añade a la disolución resultante, una disolución de metóxido sódico (NaOMe) en metanol (3,3 mL) para neutralizar. A continuación, se elimina el disolvente en el rotavapor y el residuo se trata con tolueno anhidro (37,3 mL). Se filtra y se lleva de nuevo al rotavapor para concentrar. Finalmente, el compuesto obtenido se destila (95°C, 0,4 torr)^[28], dando lugar a un líquido viscoso incoloro (43,29 g, 0,218 mol, **83%**).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 3,19 (s, 3H), 3,12 (s, 3H), 2,16 (m, 1H), 1,70 (m, 2H), 1,62 (t, 1H), 1,31 (m, 1H), 1,20 (m, 1H), 1,11 (d, 1H), 0,93 (s, 3H), 0,88 (s, 3H), 0,79 (s, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 108.87, 77.21, 77.06, 76.61, 52.79, 50.11, 47.15, 44,14, 40.87, 29.26, 27.21, 20.50, 12.36.

8.2 Síntesis de 2,3-O-(1',7',7'-trimetil[2'.2'.1']bicyclohept-2'-iliden)-mioinositol (2)^[6]:



Se prepara una disolución con el reactivo **1** (30,03 g, 0,151 mol) en dimetilsulfóxido (DMSO) anhidro (131,7 mL) y sobre ésta, se añade el mioinositol (11,50 g, 63,8 mmol) y H₂SO₄ (0,67 mL), dejándose con agitación constante a 80°C durante 3 horas. Pasado este tiempo, se observa que la disolución adquiere un color caramelo. A continuación, se añade Et₃N (4,35 mL), se agita durante 5 minutos y se elimina el disolvente a vacío. Se añade DMSO anhidro hasta que la masa de reacción sea de 56,00 g, así como CHCl₃ (194,4 mL), MeOH (12,2 mL), H₂O destilada (3,9 mL) y TsOH (0,07 g). Se mantiene con agitación durante 12 horas a temperatura ambiente, observándose la aparición de un precipitado. Se vuelve a añadir Et₃N (1,46 mL) y seguidamente, se filtra y se lava con

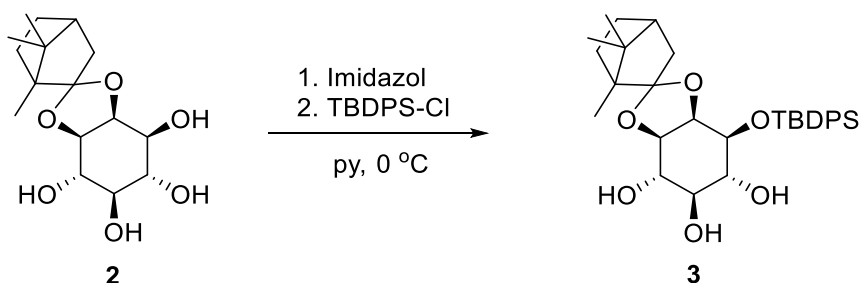
CHCl₃. El sólido resultante se recrystaliza en MeOH (0,1 % Et₃N) (200,0 mL). Se obtiene un sólido blanco (6,85 g, 0,022 mol, **34%**).

¹H NMR (400 MHz), δ (ppm): 4,25 (t, 1H), 3,76 (t, 1H), 3,66, (dd, 1H), 3,54 – 3,39 (m, 2h), 3,28 (m, 6H), 3,11 (t, 1H), 2,11 – 1,97 (m, 2H), 1,70 (m, 2H), 1,37 (m, 1H), 1,02 (s, 3H), 0,85 (d, 6H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 117.47, 76.44, 76.25, 75.95, 73.73, 72.39, 70.42, 51.17, 45.18, 45.00, 29.12, 26.51, 19.72, 19.45, 8.95.

HRMS m/z para C₁₆H₂₆O₆: 337,1631

8.3 Síntesis de 1-O-(*terc*-butildifenilsilil)-2,3-O-(1',7',7'-trimetil[2.2.1]bicyclohept-2'-iliden)-mioinositol (**3**)^[6]:



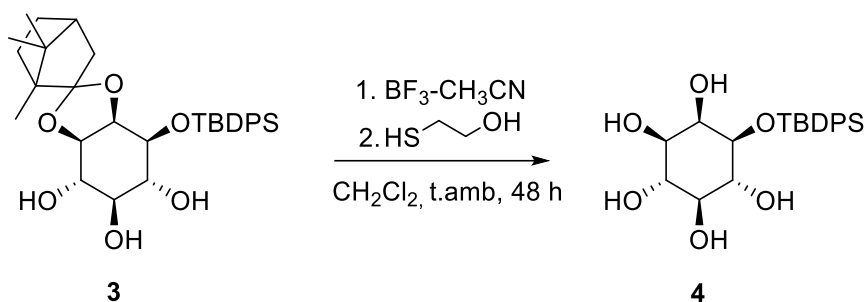
Se prepara una disolución a partir del compuesto **2** (13,706 g, 0,043 mol) e imidazol (3,86 g, 0,057 mol) en piridina seca (138,5 mL) y sobre ésta, se añade cloruro de *terc*-butildifenilsililo (TBDPS-Cl) (10,42 mL, 0,040 mol). Se deja en agitación durante 36 horas a 0°C, siendo posible seguir la reacción por TLC, utilizando como eluyente una mezcla de CHCl₃/MeOH (15:1), proporcionando una mancha con R_f = 0,42. A continuación, se elimina el disolvente en el rotavapor y el precipitado obtenido se purifica mediante columna cromatográfica utilizando como eluyente CHCl₃/MeOH (30:1). Se obtiene un sólido blanco con aspecto espumoso (20,771 g, 0,037 mol, **94%**).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7,73 (m, 4H), 7,37 (m, 6H), 3,87 (m, 1H), 3,76 (m, 2H), 3,56 (m, 1H), 3,48 (m, 1H), 3,11 (m, 2H), 1,92 (m, 1H), 1,67 (m, 3H), 1,28 (m, 3H), 1,07 (s, 9H), 0,83 (m, 6H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 135.99, 135.83, 133.39, 133.34, 127.81, 127.70, 118.09, 77.33, 76.99, 76.68, 76.32, 76.15, 75.76, 72.94, 72.64, 72.60, 51.55, 48.00, 45.15, 44.97, 29.54, 26.86, 20.52, 20.46, 19.33, 9.92.

HRMS m/z para C₃₂H₄₄O₆Si ([M+Na]⁺): 575,2909

8.4 Síntesis de 1-O-(*terc*-butildifenilsilil)-mioinositol (**4**)^[4]:



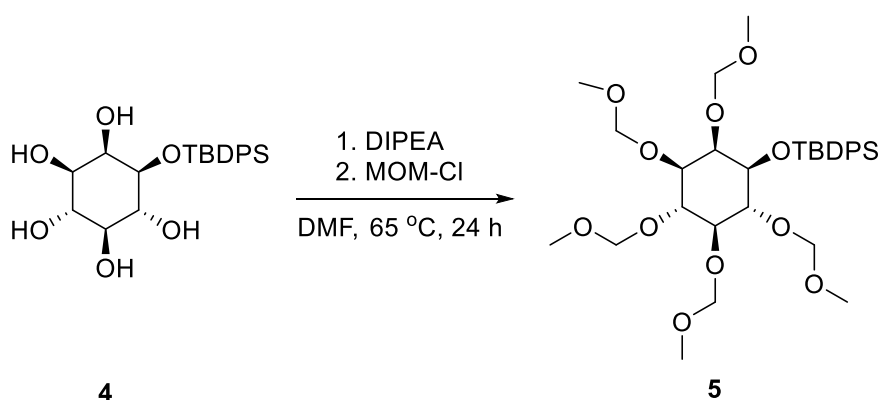
Se prepara una disolución a partir del compuesto **3** (6,114 g, 0,011 mol) en CH_2Cl_2 (12,6 mL) y $\text{BF}_3\text{-CH}_3\text{CN}$ (1,79 mL, 0,014 mol) y se agita durante 15 minutos. A continuación, se añade 2-mercaptoetanol (9,14 mL, 0,129 mol) y agita durante 72 horas a temperatura ambiente. Es posible controlar la reacción mediante TLC, usando como eluyente $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (4:1), dando lugar a una mancha con $R_f = 0,25$. Se elimina el disolvente en el rotavapor y el compuesto resultante se purifica mediante columna cromatográfica utilizando como eluyente $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (10:1). Finalmente, se concentra, obteniéndose un sólido blanco con aspecto espumoso (2,646 g, 6,32 mmol, **57%**).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6), δ (ppm): 7,72 (m, 4H), 7,35 (m, 6H), 4,47 (m, 5H), 3,61 (t, 1H), 3,47 (m, 1H), 3,34 (m, 4H), 2,77 (m, 2H), 2,47 (m, 1H), 0,98 (s, 9H).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 136.26, 135.97, 134.91, 134.08, 129.83, 127.87, 127.81, 75.79, 74.78, 73.07, 72.85, 72.18, 39.94, 27.39, 19.63.

HRMS m/z para $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_6\text{Si}$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$): 441,1718

8.5 Síntesis de 2,3,4,5,6-pentakis(metoximetoxi)ciclohexiloxil(*terc*-butildifenilsililo) (**5**)^[3]:



Se prepara una disolución del compuesto **4** (2,162 g, 5,165 mmol) en DMF (9,4 mL), sobre la cual se adiciona DIPEA (7,21 mL, 43,6 mmol) y cloruro de metilmetiléter (MOM-Cl) (2,52 mL, 33,0 mmol). Se deja en agitación durante 24 horas a 65°C. Se puede seguir la reacción mediante TLC, utilizando como eluyente heptano/acetona (3:1), comprobando que la reacción ha terminado cuando aparece una mancha con $R_f = 0,12$.

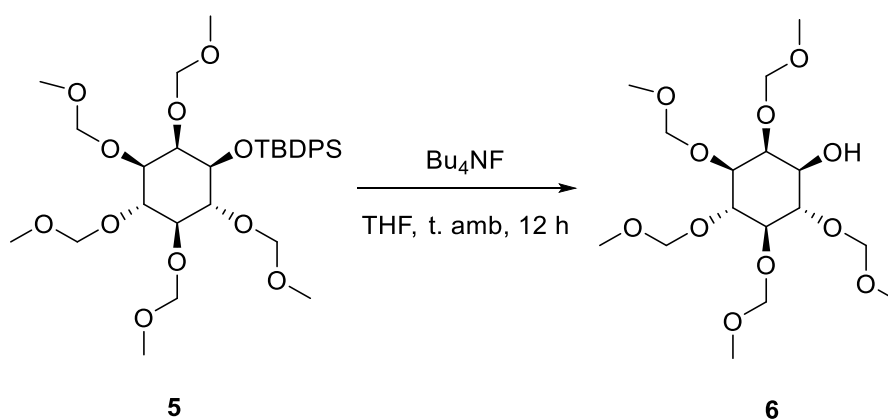
El compuesto resultante se purifica mediante columna cromatográfica utilizando como eluyente heptano/acetona (8:1). Finalmente, se concentra, obteniéndose un líquido viscoso incoloro (2,80 g, 4,39 mmol, **85%**).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 7,71 (m, 4H), 7,38 (m, 6H), 4,97 (dd, 2H), 4,85 (dd, 2H), 4,77 (dd, 2H), 4,50 (dd, 2H), 4,26 (dd, 2H), 3,99 (t, 1H), 3,78 (m, 2H), 3,48 (d, 5H), 3,38 (m, 4H), 3,23 (s, 2H), 3,18 (s, 1H), 3,11 (s, 3H), 1,08 (s, 9H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 136.04, 135.83, 134.14, 132.85, 130.01, 129.80, 127.89, 127.68, 99.12, 98.75, 98.46, 97.22, 95.07, 79.32, 78.96, 77.71, 77.30, 76.99, 76.67, 75.56, 75.29, 74.18, 56.68, 56.60, 56.37, 55.51, 55.34, 27.28, 19.12.

HRMS m/z para $\text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{O}_{11}\text{Si}$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$): 661,307

8.6 Síntesis de 2,3,4,5,6-pentakis(metoximetoxi)ciclohexanol (**6**)^[3]:



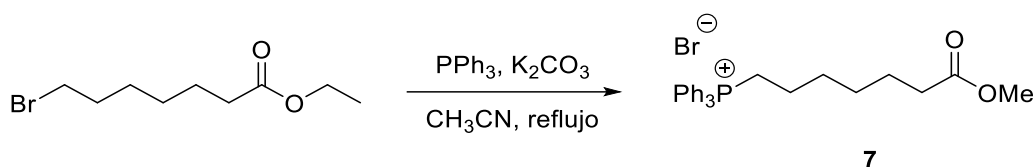
Se prepara una disolución a partir del compuesto **5** (2,408 g, 3,77 mmol) en tetrahidrofurano (THF) (11,2 mL) y sobre ésta, se añade disolución de Bu_4NF en THF 1 M (3,78 mL, 12,8 mmol). Se deja en agitación durante 12 horas a temperatura ambiente y se sigue la reacción mediante TLC con eluyente heptano/acetona (3:1), habiendo concluido cuando aparezca una mancha con $R_f = 0,23$. El compuesto resultante se purifica mediante columna cromatográfica empleando como eluyente heptano/acetona (3:1). Finalmente, se concentra, obteniéndose un líquido viscoso amarillento (1,48 g, 3,71 mmol, **98,5%**).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 4,85 – 4,70 (m, 10H), 4,06 (m, 1H), 3,96 (m, 1H), 3,91 (t, 1H), 3,76 (m, 1H), 3,65 (t, 1H), 3,52 – 3,37 (m, 17H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 98.62, 98.40, 97.90, 96.13, 83.04, 79.56, 77.77, 77.30, 77.15, 76.98, 76.68, 76.36, 70.92, 56.30, 56.24, 56.03, 55.64, 55.61.

HRMS m/z para $\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_{11}$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$): 423,1847

8.7 Síntesis de bromuro de (7-metoxi-7-oxoheptil)trifenilfosfonio (7):



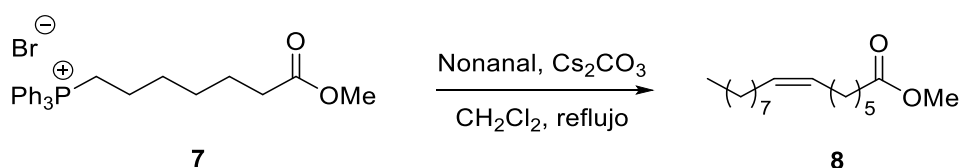
Se prepara una disolución a partir del 7-bromoheptanoato de etilo (10 mL, 51,0 mmol) en CH₃CN anhidro (180,0 mL), sobre la cual se añade PPh₃ (29,22 g, 0,111 mol) y K₂CO₃ (4,132 g, 29,9 mmol). Se deja en agitación y a reflujo durante 24 horas. La reacción puede seguirse mediante TLC, utilizando como eluyente CH₂Cl₂/MeOH (20:1), proporcionando una mancha con R_f = 0,10. A continuación, se elimina el disolvente y el sólido resultante se lava con MeOH para eliminar la PPh₃ y se filtra. La disolución resultante se concentra y se purifica el residuo mediante columna cromatográfica, utilizando como eluyente CH₂Cl₂/MeOH (20:1). Se concentra, generando una grasa marrón (17,536 g, 43,2 mmol, **85%**).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7,65 (m, 15 H), 3,59 (m, 2H), 3,48 (s, 3H), 2,25 (m, 1H), 2,13 (m, 2H), 1,52 (m, 4H), 1,40 (m, 2H), 1,19 (m, 2H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 174.03, 134.94, 133.55, 133.45, 130.51, 130.39, 118.51, 111.65, 77.50, 77.21, 76.86, 51.31, 33.66, 29.89, 29.72, 28.35, 24.22, 22.79, 22.32, 22.28, 22.24.

HRMS m/z para C₂₇H₃₂O₂P ([M+Na]⁺): 419,2142

8.8 Síntesis de (Z)-7-hexadecenoato de metilo (8):



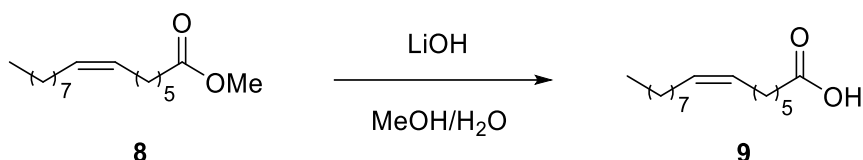
Se prepara una disolución de la sal de fosfonio **7** (17,112 g, 35,3 mmol) en CH₂Cl₂ (427,0 mL), sobre la cual se añade nonanal (5,90 mL, 34,3 mmol). Se agita a temperatura ambiente durante unos minutos y a continuación, se añade Cs₂CO₃ (44,51 g, 0,137 mol). Se deja en agitación a 60°C durante 24 horas. La reacción puede seguirse mediante TLC, utilizando como eluyente heptano/acetato de etilo (10:1), generando una mancha con R_f = 0,25. Seguidamente, se elimina el disolvente y el residuo restante se purifica mediante columna cromatográfica, utilizando como eluyente heptano/CH₂Cl₂ (10:1). Finalmente, se concentra, dando lugar a un líquido incoloro (8,631 g, 32,1 mmol, **91%**).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 5,32 (m, 2H), 3,64 (s, 2H), 2,39 (m, 1H), 2,28 (m, 2H), 1,61 (m, 3H), 1,25 (m, 17H), 0,86 (t, 4H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 174.20, 133.78, 133.58, 130.18, 129.40, 128.13, 77.25, 76.94, 76.64, 51.38, 43.89, 38.80, 34.03, 31.86, 31.73, 29.71, 29.48, 29.28, 29.12, 29.05, 28.76, 27.21, 26.95, 24.83, 22.63, 22.04, 20.00, 19.29, 14.06, 11.38.

HRMS m/z para $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$): 305,2454

8.9 Síntesis de ácido (Z)-7-hexadecenoico (16:1 n9) (9):



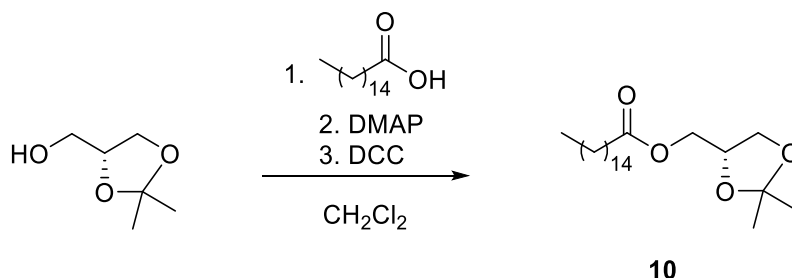
Se prepara una disolución del éster **8** (4,544 g, 16,0 mmol) en MeOH (146,6 mL), se añade disolución de hidróxido de litio 4 M (146,58 mL, 0,266 mol) y se agita durante 24 horas a 65°C. La reacción puede seguirse mediante TLC, utilizando como eluyente heptano/acetato de etilo (5:1), proporcionando una mancha con $R_f = 0,20$. A continuación, se elimina la parte orgánica en el rotavapor y sobre la fase acuosa se realiza una extracción líquido – líquido con éter. A la fase acuosa resultante, se le añade HCl hasta alcanzar pH 1 y seguidamente, se realiza otro lavado con éter. Finalmente, se lava con disolución saturada de NaCl y se seca con MgSO_4 . Se concentra, obteniéndose un líquido viscoso marrón (3,13 g, 12,3 mmol, **77%**).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 5,32 (m, 2H), 2,31 (t, 2H), 1,99 (m, 3H), 1,61 (m, 2H), 1,28 (m, 17H), 0,85 (t, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 130.86, 129.33, 77.28, 76.99, 76.68, 34.04, 31.90, 29.71, 29.48, 29.28, 28,66, 27.19, 26.91, 24.53, 22.63, 14.07.

HRMS m/z para $\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{O}_2$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$): 277,2138

8.10 Síntesis de palmitato de (2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metilo (10)^[26]:



Se prepara una disolución a partir de (2R) – solketal (19,28 mL, 0,155 mol), ácido palmítico (39,71 g, 0,155 mol) y DMAP (5,13 g, 0,042 mol) en CH_2Cl_2 (340,6 mL) a 0°C. Por otra parte, se prepara otra disolución de DCC (38,67 g, 0,187 mol) en CH_2Cl_2 (68,2 mL), la cual se añade sobre la primera y se mantiene en agitación durante 24 horas a temperatura ambiente. La reacción puede seguirse mediante TLC, usando como

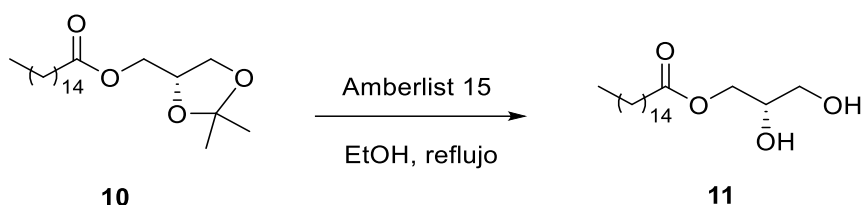
eluyente heptano/acetato de etilo (3:1), proporcionando una mancha con $R_f = 0,5$. La disolución se filtra y se elimina el disolvente en el rotavapor. El compuesto resultante se purifica mediante columna cromatográfica utilizando como eluyente heptano/acetato de etilo (3:1). Finalmente, se concentra, obteniéndose un precipitado blanco (54,52 g, 0,147 mol, **95%**).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 4,30 (m, 1H), 4,15 (m, 1H), 4,06 (m, 2H), 3,72 (m, 1H), 2,32 (t, 2H), 1,61 (m, 2H), 1,39 (s, 6H), 1,24 (s, 21H), 0,86 (t, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 173.62, 109.77, 77.28, 76.94, 76.65, 73.63, 66.35, 64.46, 34.07, 31.88, 29.64, 29.56, 29.42, 29.32, 29.21, 29.09, 26.62, 25.34, 24.87, 22.67, 14.10.

HRMS m/z para $\text{C}_{22}\text{H}_{42}\text{O}_4$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$): 393,3016

8.11 Síntesis de palmitato de 2,3-dihidroxi-propilo (**11**)^[26]:



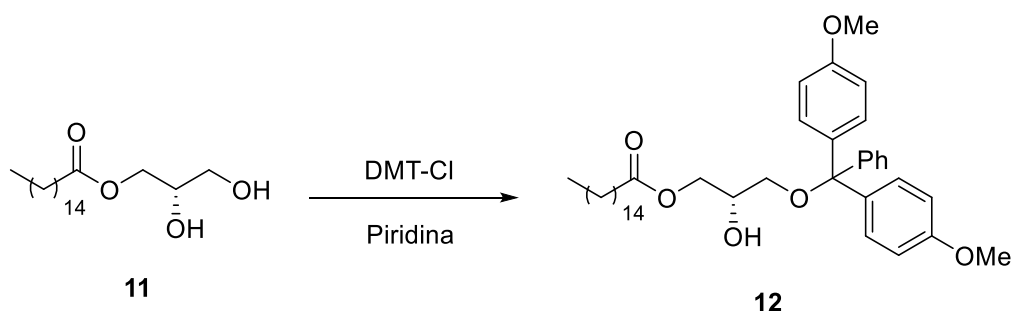
Se prepara una disolución del compuesto **10** (21,512 g, 58,0 mmol) en EtOH 95% (95,6 mL) y sobre ésta, se añade Amberlist 15 (10% en masa). Se deja a reflujo durante 24 horas. A continuación, se filtra utilizando celita y se concentra, apareciendo un sólido blanco (16,859 g, 50,1 mmol, **86%**).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 4,16 (m, 2H), 3,92 (m, 1H), 3,64 (m, 2H), 2,34 (t, 2H), 1,61 (m, 2H), 1,24 (s, 21H), 0,86 (t, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 77.25, 76.95, 76.65, 70.25, 65.18, 63.25, 34.05, 31.89, 29.64, 29.56, 29.40, 29.31, 29.22, 29.06, 24.87, 22.66, 14.09.

HRMS m/z para $\text{C}_{19}\text{H}_{38}\text{O}_4$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$): 353,2690

8.12 Síntesis de 3-dimetiltritol-2-hidroxi-propilpalmitato (**12**)^[26]:



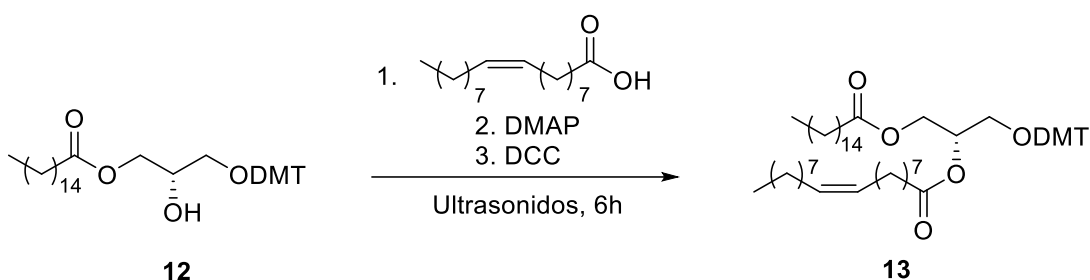
Se prepara una disolución del compuesto **11** (14,523 g, 43,1 mmol) y de cloruro de dimetoxitritilo (DMT-Cl) (17,62 g, 52,0 mmol) en piridina (319,0 mL) y se agita durante 30 minutos a temperatura ambiente. La reacción puede seguirse mediante placa, utilizando como eluyente heptano/acetato de etilo (6:1), proporcionando el compuesto **12** una mancha con $R_f = 0,10$. A continuación, se elimina el disolvente y se purifica en columna cromatográfica utilizando como eluyente heptano/acetato de etilo (6:1). Al concentrar, se obtiene un líquido muy viscoso con cierta tonalidad amarillenta (26,085 g, 40,7 mmol, **94,5%**).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 7,41(d, 2H), 7,23 (m, 8H), 6,78 (d, 4H), 4,16 (m, 2H), 3,98 (m, 1H), 3,77 (s, 6H), 3,20 (d, 2H), 2,30 (m, 2H), 1,57 (d, 2H), 1,25 (s, 20H), 0,85 (t, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 174.00, 158.56, 144.52, 135.64, 129.97, 129.10, 128.07, 127.81, 126.82, 113.09, 86.26, 77.33, 77.01, 76.69, 69.32, 65.70, 63.96, 55.19, 34.12, 31.88, 29.64, 29.45, 29.37, 29.22, 29.14, 24.86, 22.66, 14.09.

HRMS m/z para C₄₀H₅₆O₆ ([M+Na]⁺): 655,4106

8.13 Síntesis de oleato de 1-dimetoxitritil-3-(palmitoiloxi)propan-2-ilo (**13**)^[26]:



Se prepara una disolución de **12** (5,183 g, 8,11 mmol), ácido oleico (2,61 mL, 8,20 mmol) y DMAP (0,29 g, 2,37 mmol) en CH₂Cl₂ (83,6 mL) a 0°C. Por otra parte, se prepara otra disolución de DCC (2,02 g, 9,79 mmol) en CH₂Cl₂ (21,4 mL), la cual se añade sobre la primera y se lleva a reflujo en ultrasonidos^[27] durante 6 horas. La reacción puede seguirse mediante TLC, usando como eluyente heptano/acetato de etilo (6:1), proporcionando una mancha con $R_f = 0,42$. Se elimina el disolvente y el residuo

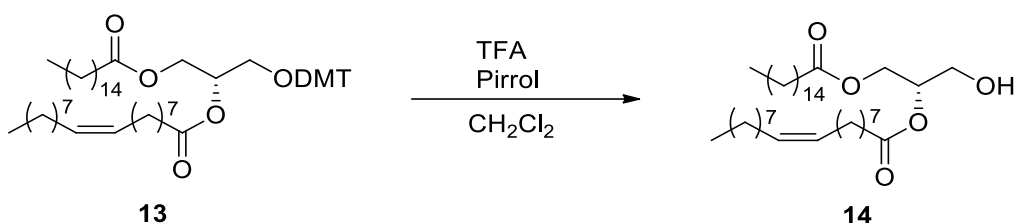
resultante se purifica mediante columna cromatográfica utilizando como eluyente heptano/acetato de etilo (15:1). Finalmente, se concentra, obteniéndose un sólido blanco (5,17 g, 5,76 mmol, **71%**).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 7,41 – 7,12 (m, 9H), 6,80 (m, 4H), 5,32 (m, 2H), 5,24 (m, 1H). 4,36 – 4,17 (dd, 3H), 3,77 (s, 6H), 3,19 (m, 2H), 2,35 – 2,20 (m, 4H), 1,99 (m, 4H), 1,67 – 1,18 (m, 44H), 0,86 (s, 6H).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 129.93 (2C), 129.66, 129.07, 128.03, 127.79, 127.77, 127.71, 126.76, 113.13, 113.07, 86.03, 77.28, 76.96, 76.65, 70.46, 62.90, 62.00, 55.14, 34.37, 34.12, 31.90, 31.87, 29.76 – 29.01 (14C), 27.19, 27.15, 24.92, 24.83, 22.67, 14.07.

HRMS m/z para $\text{C}_{58}\text{H}_{88}\text{O}_7$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$): 919,6477

8.14 Síntesis de oleato de 1-hidroxi-3(palmitoiloxi)propan-2-ilo (**14**)^[26]:



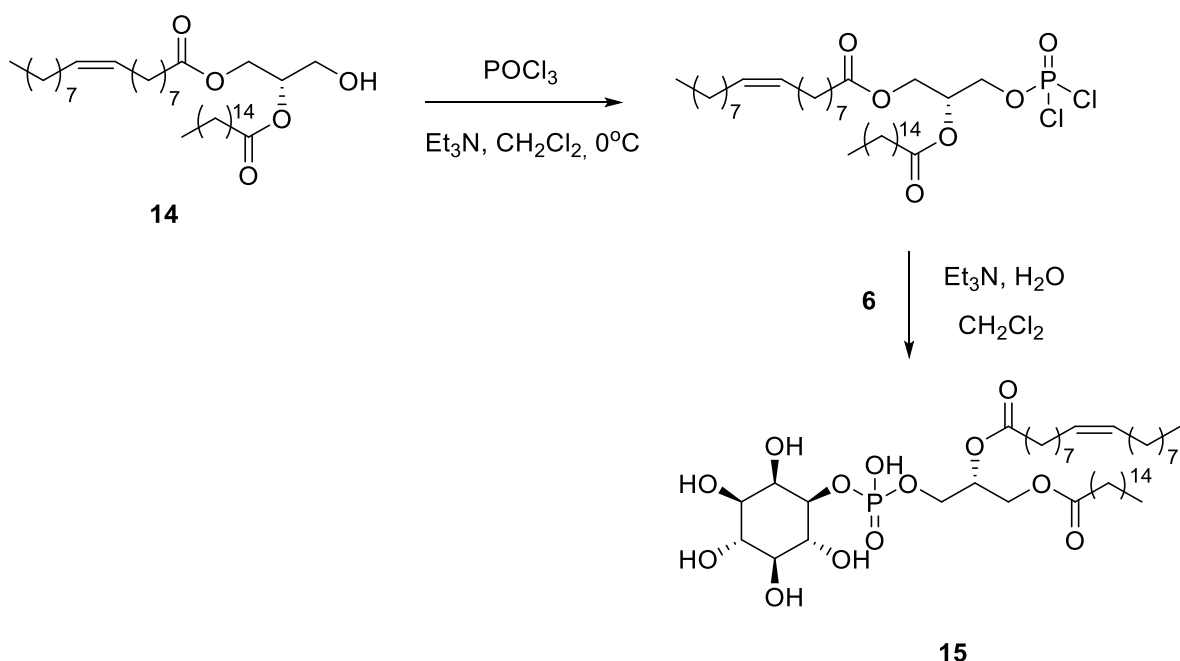
Se prepara una disolución de **13** (2,011 g, 2,24 mmol) en CH_2Cl_2 (20,5 mL), sobre la cual se añade ácido trifluoroacético (TFA) (20,11 μL , 0,262 mmol) y pirrol (0,275 mL, 3,96 mmol). Ésta se mantiene con agitación constante a temperatura ambiente durante 6 horas. La reacción puede seguirse mediante TLC, usando como eluyente heptano/dietiléter (3:1), proporcionando una mancha con $R_f = 0,08$. El compuesto resultante se purifica mediante columna cromatográfica utilizando como eluyente heptano/dietiléter (6:1). Finalmente, se concentra, obteniéndose un sólido amarillento (1,321 g, 2,22 mmol, **99%**).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 5,32 (m, 2H), 5,06 (m, 1 H), 4,33 – 4,03 (m, 4H), 3,71 (t, 1H), 2,32 (m, 4H), 1,99 (m, 4H), 1,70 – 1,33 (m, 44H), 0,86 (m, 6H).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 173.73, 173.35, 129.95, 129.59, 77.27, 76.96, 76.69, 72.10, 68.27, 64.28, 62.00, 61.42, 34.22, 34.07, 31.86, 29.74 – 28.98 (17C), 27.17, 27.11, 24.86, 22.63, 14.06.

HRMS m/z para $\text{C}_{37}\text{H}_{70}\text{O}_5$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$): 633,4872

8.15 Síntesis del glicerofosfomioinositol (15):

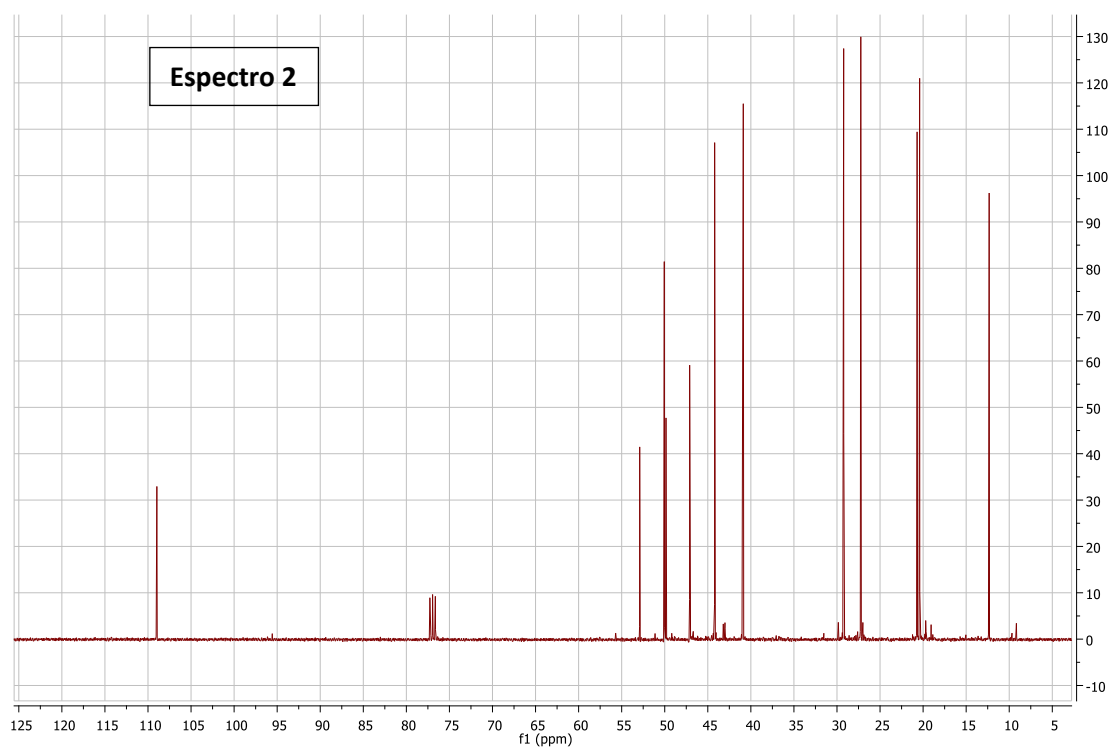
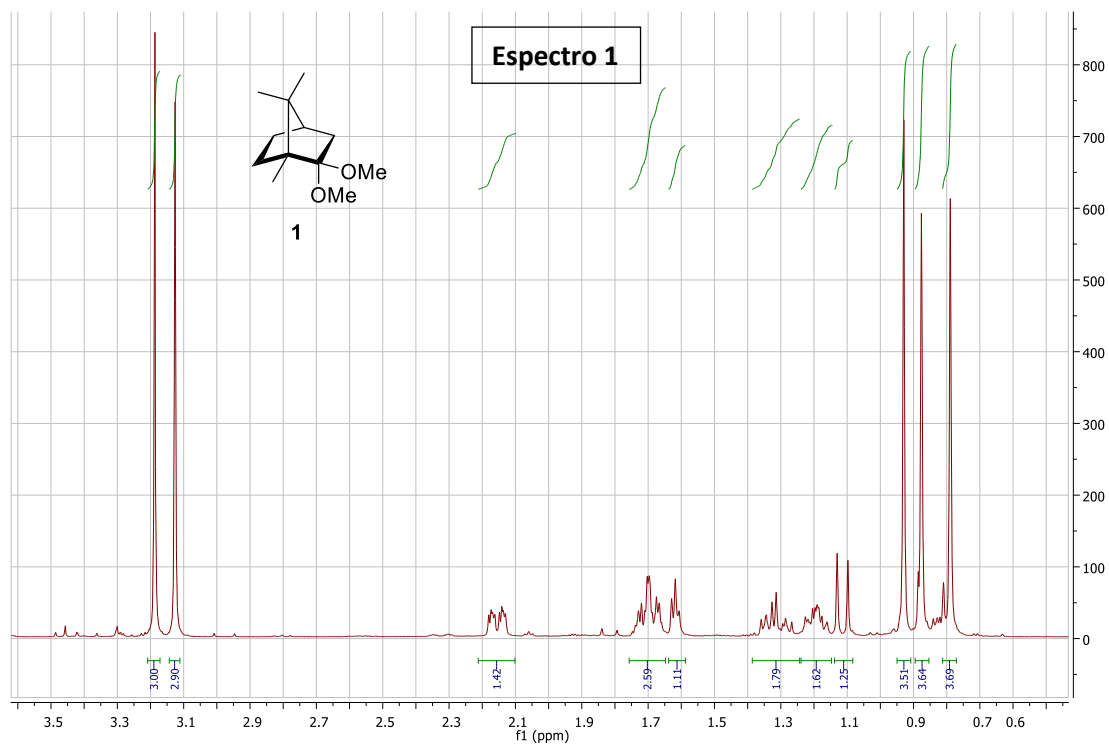


Se prepara una disolución de POCl₃ (0,05 mL, 0,548 mmol) en CH₂Cl₂ (15,0 mL), se lleva a 0°C y se añade lentamente Et₃N (0,151 mL, 1,09 mmol). Por otro lado, se prepara una disolución del diacilglicerol **14** (0,130 g, 0,219 mmol) en CH₂Cl₂ (5,0 mL) y se añade sobre la primera gota a gota. Se agita a temperatura ambiente durante 1 hora. El avance de la reacción puede seguirse mediante TLC, en eluyente heptano/dietiléter (1:1), observándose la desaparición de la mancha correspondiente al diacilglicerol **14** en R_f = 0,375. Se concentra, dando lugar a una grasa amarillenta.

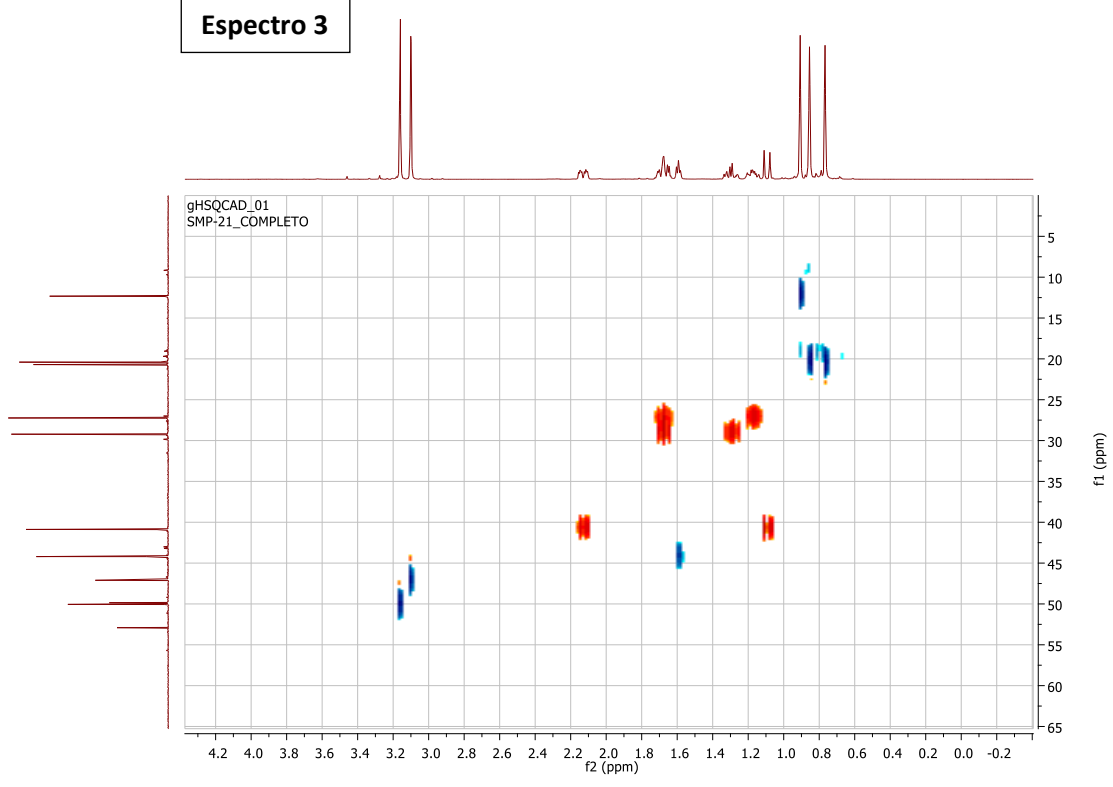
A continuación, se redisuelve este residuo en CH₂Cl₂ (15,0 mL) y se añade Et₃N (46 µL, 0,329 mmol). Por otra parte, se disuelve **6** (0,079 g, 0,197 mmol) en CH₂Cl₂ (2,00 mL) y se añade lentamente sobre la disolución anterior. Se agita a temperatura ambiente durante 90 minutos. Se añade H₂O (0,5 mL) y se agita durante 10 minutos. Seguidamente, se realiza una extracción líquido – líquido, en donde la fase orgánica se lava con CH₂Cl₂, a continuación se realiza un presecado con disolución saturada de NaCl y finalmente, se seca con MgSO₄ anhidro. Se filtra y se concentra.

9. Anexo: ^1H , ^{13}C , HSQC, COSY, MS

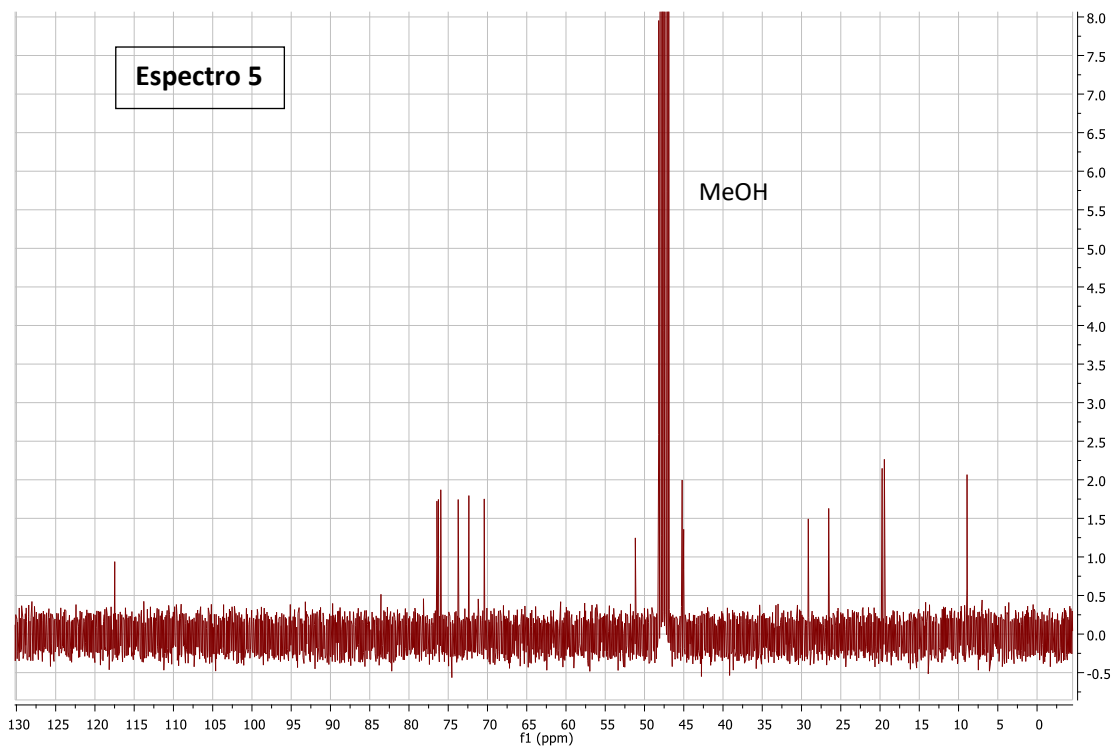
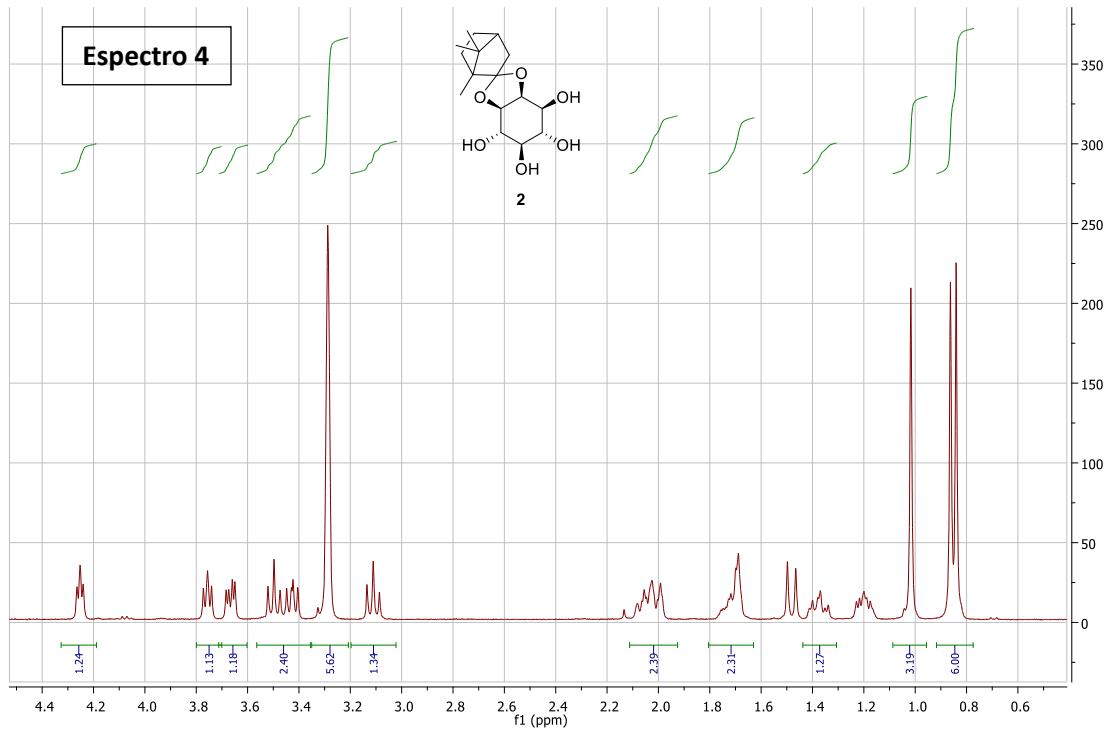
- **Compuesto 1:** 2,2-dimetoxi-1,7,7-trimetilbicyclo[2.2.1]heptano



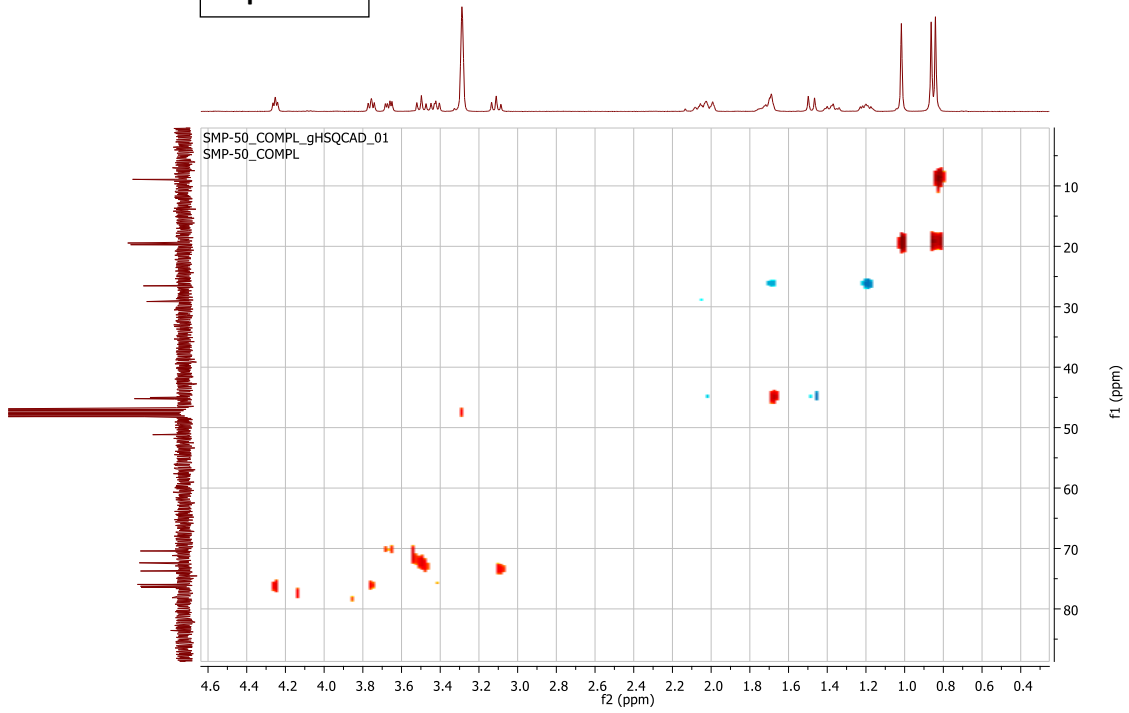
Espectro 3



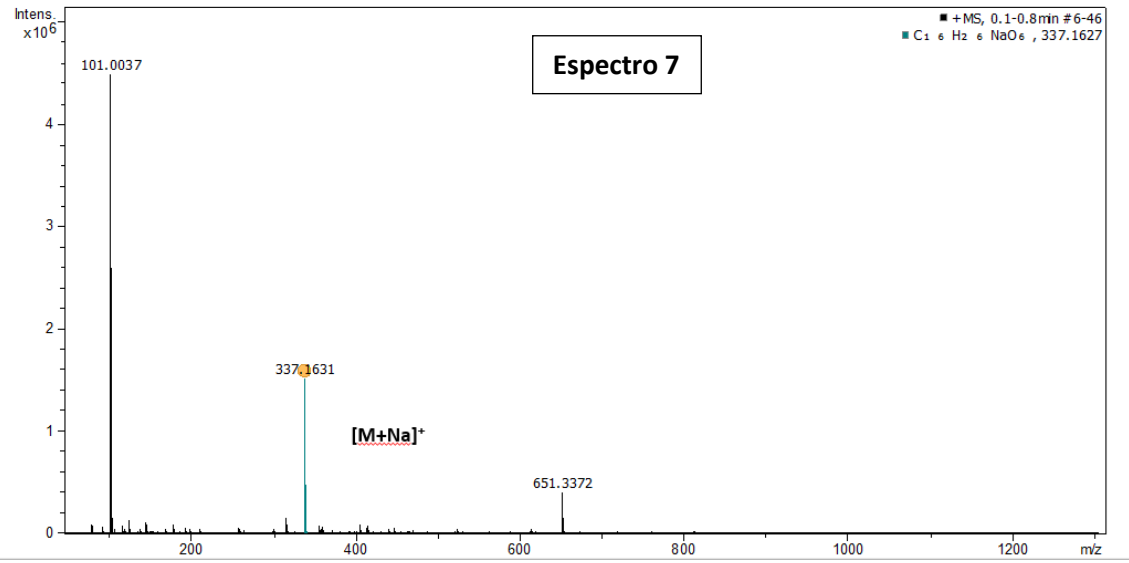
• **Compuesto 2:** 2,3-O-(1',7',7'-trimetil[2'.2'.1']bicyclohept-2'-iliden)-mioinositol



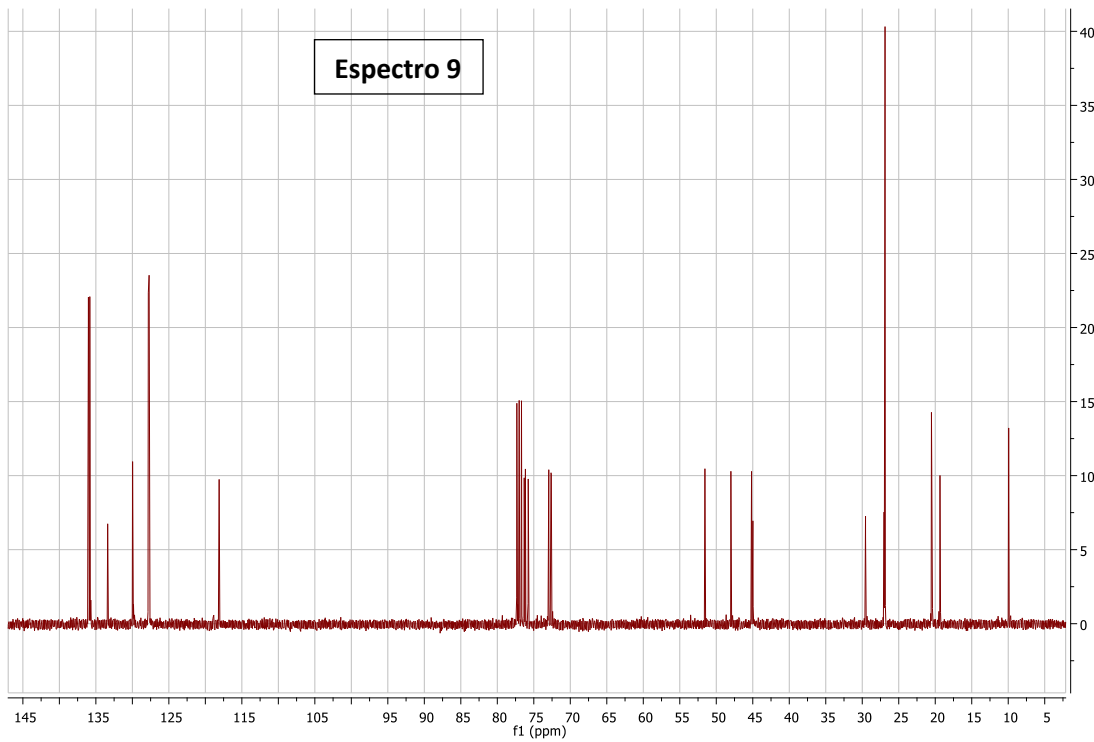
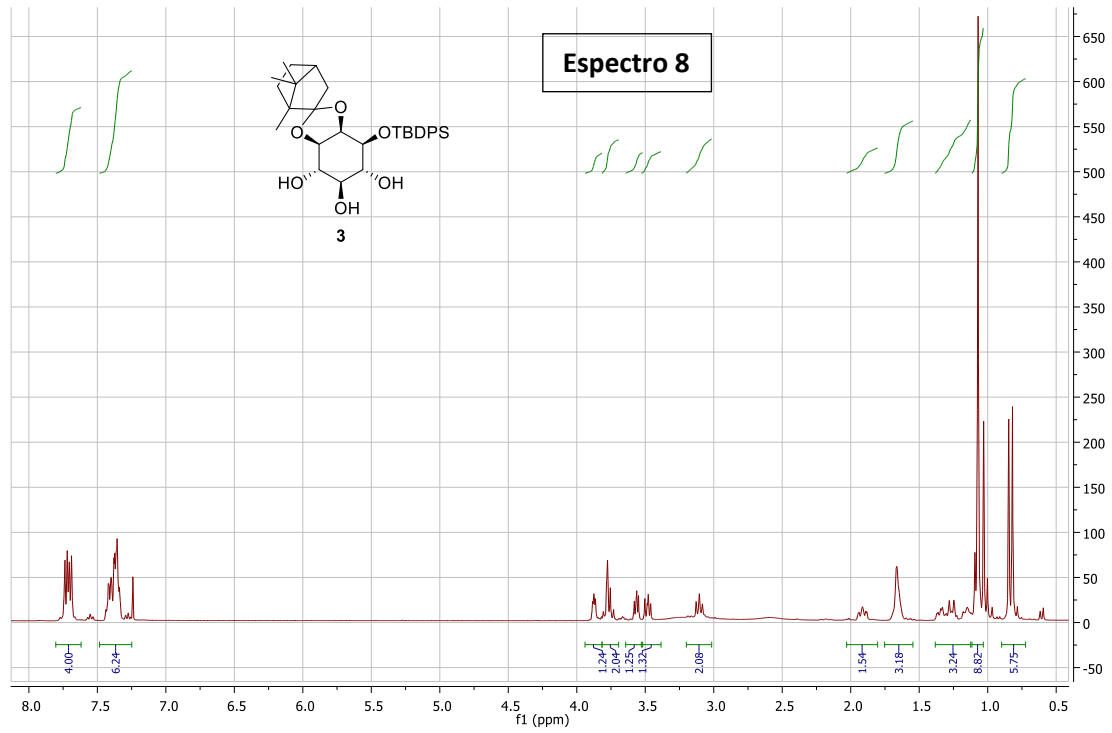
Espectro 6



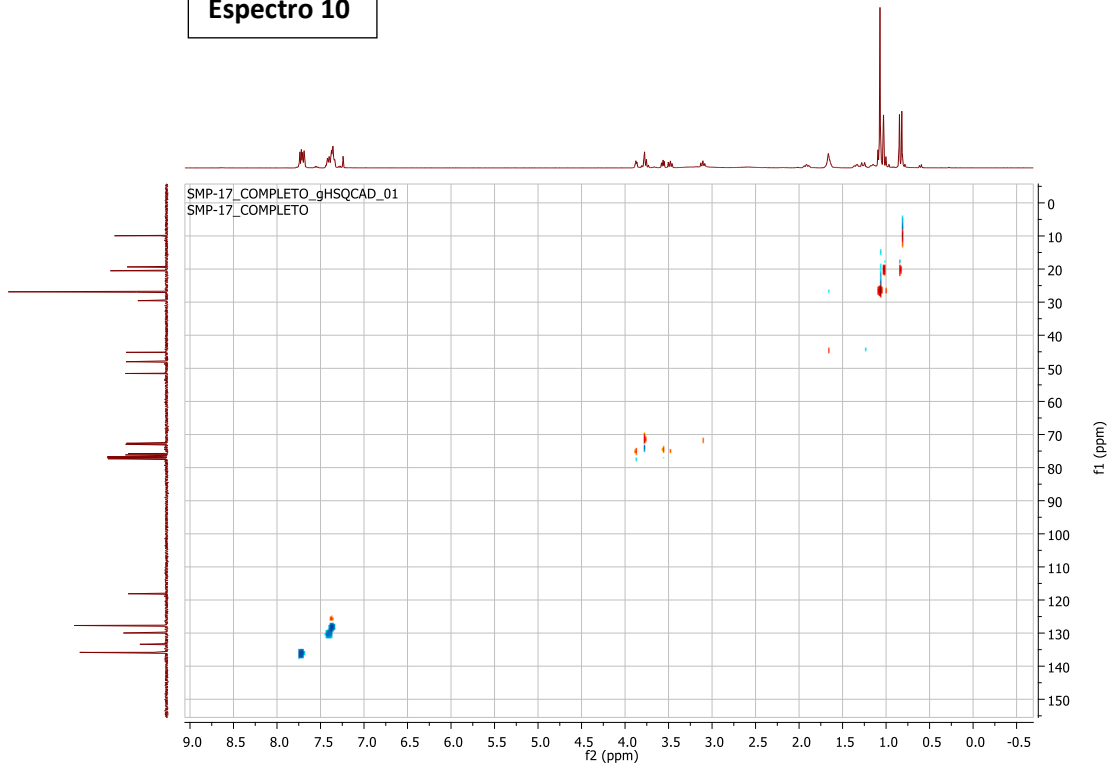
Espectro 7



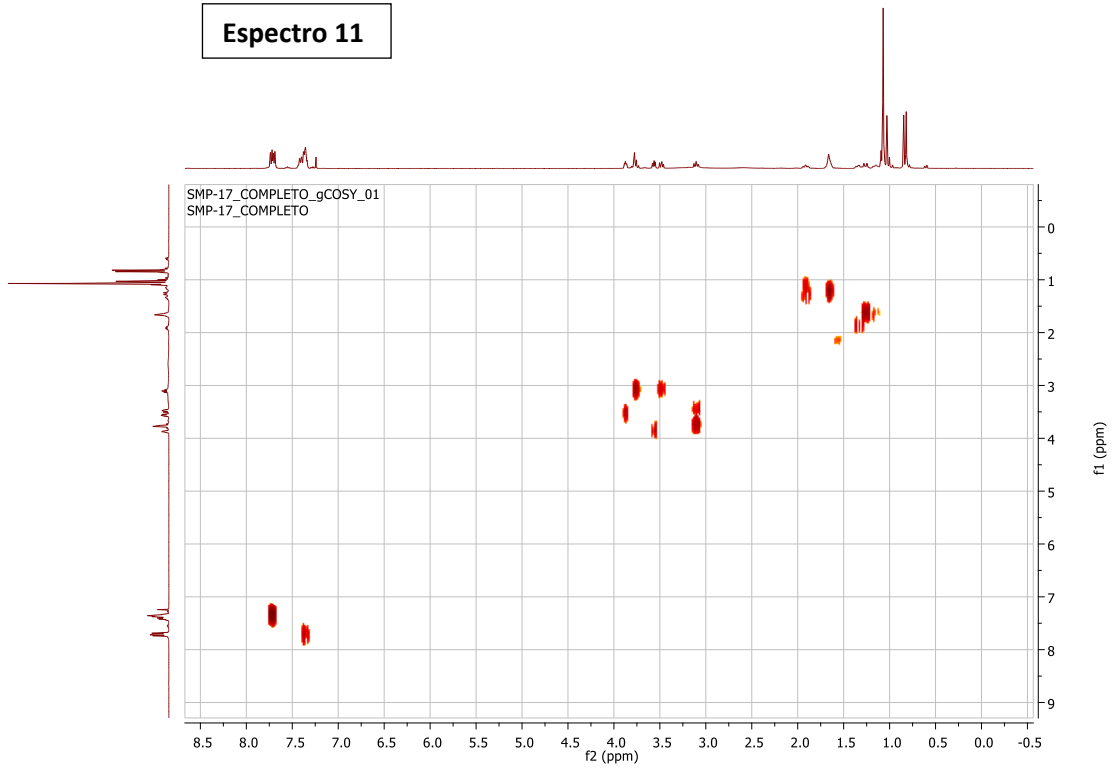
- **Compuesto 3:** 1-O-(terc-butildifenilsilil)-2,3-O-(1',7',7'-trimetil[2.2.]biclohept-2'-iliden)-mioinositol

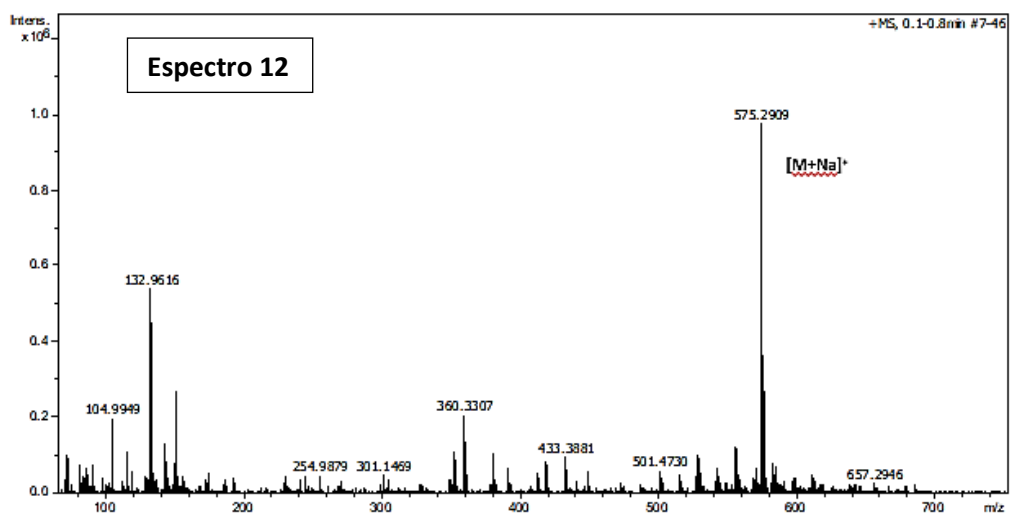


Espectro 10

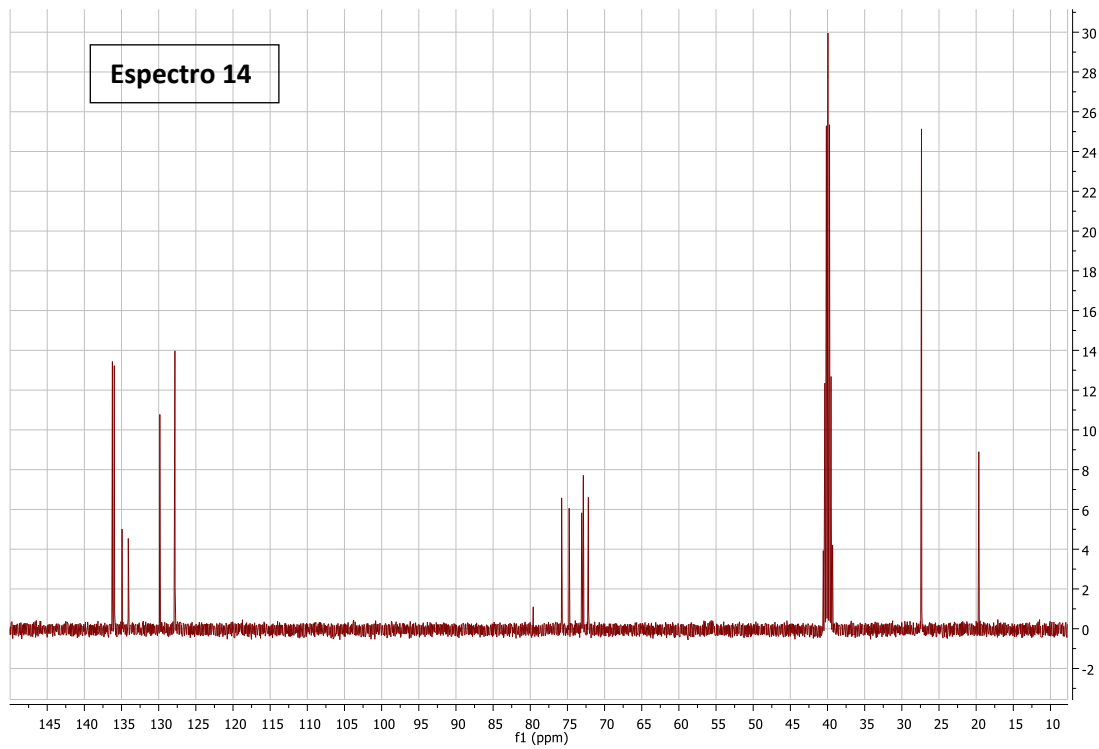
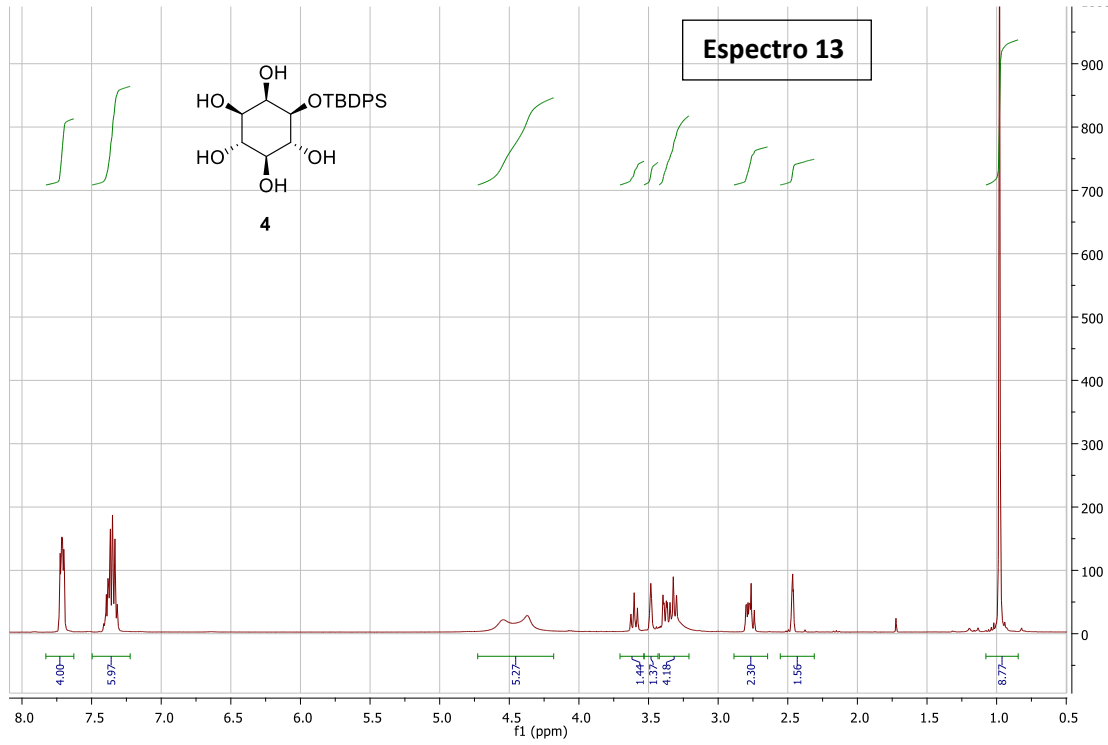


Espectro 11

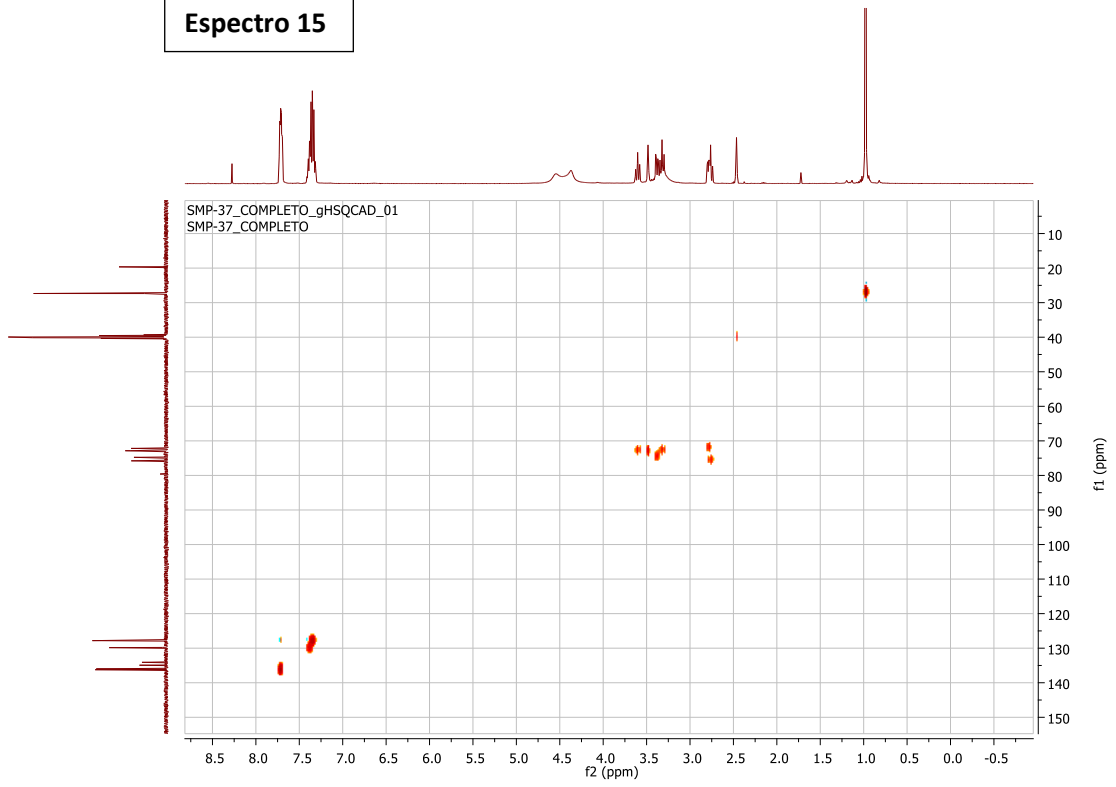




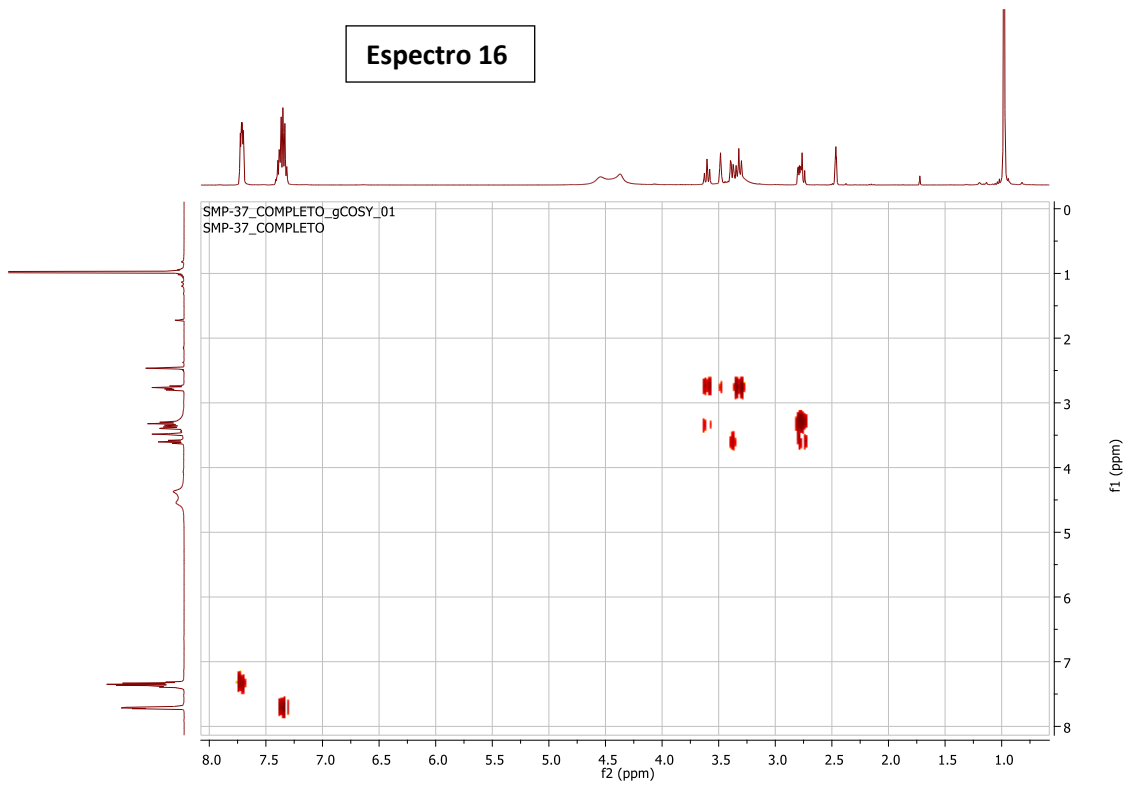
• **Compuesto 4:** 1-O-(*tert*-butildifenilsilil)-mioinositol

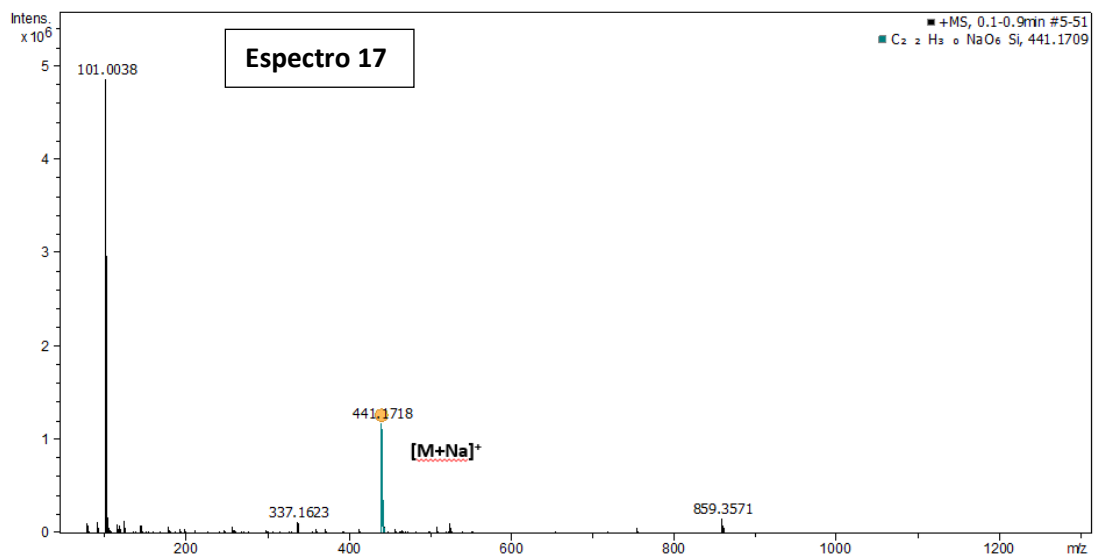


Espectro 15

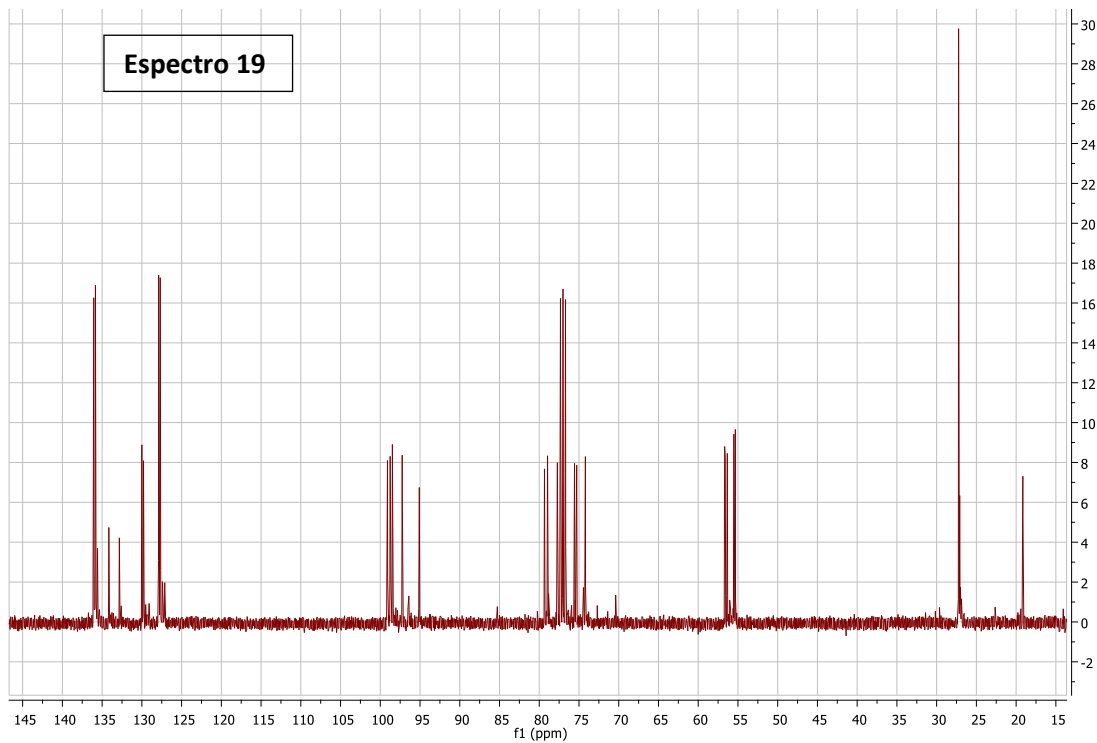
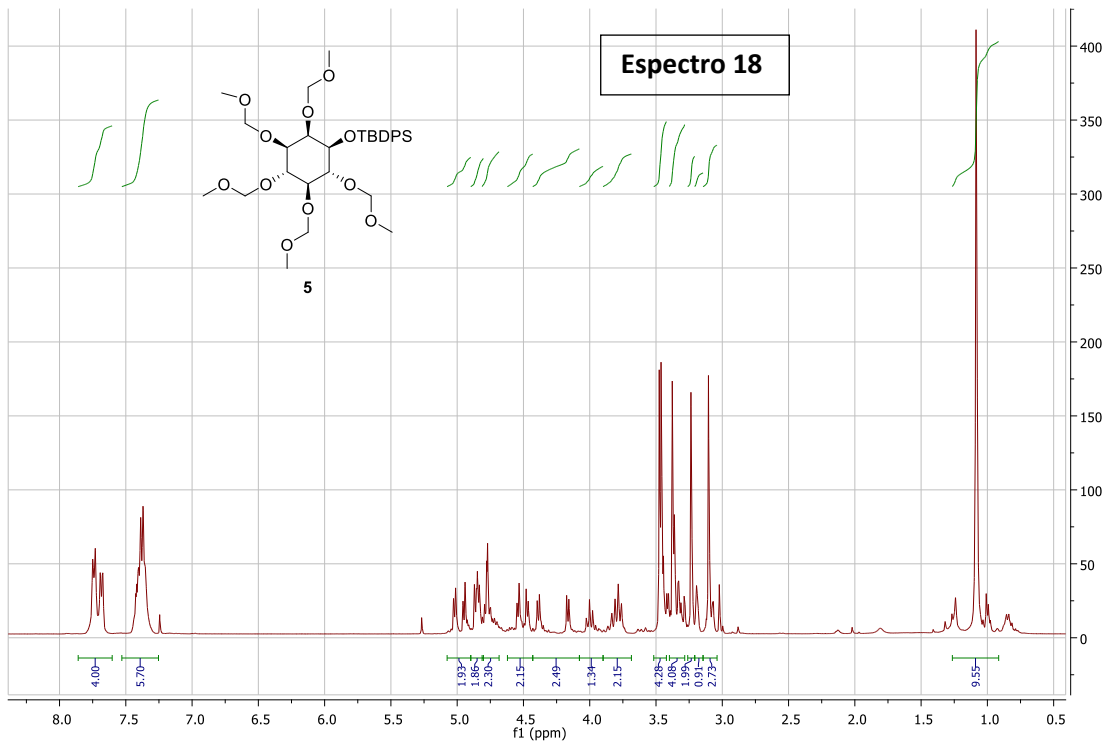


Espectro 16

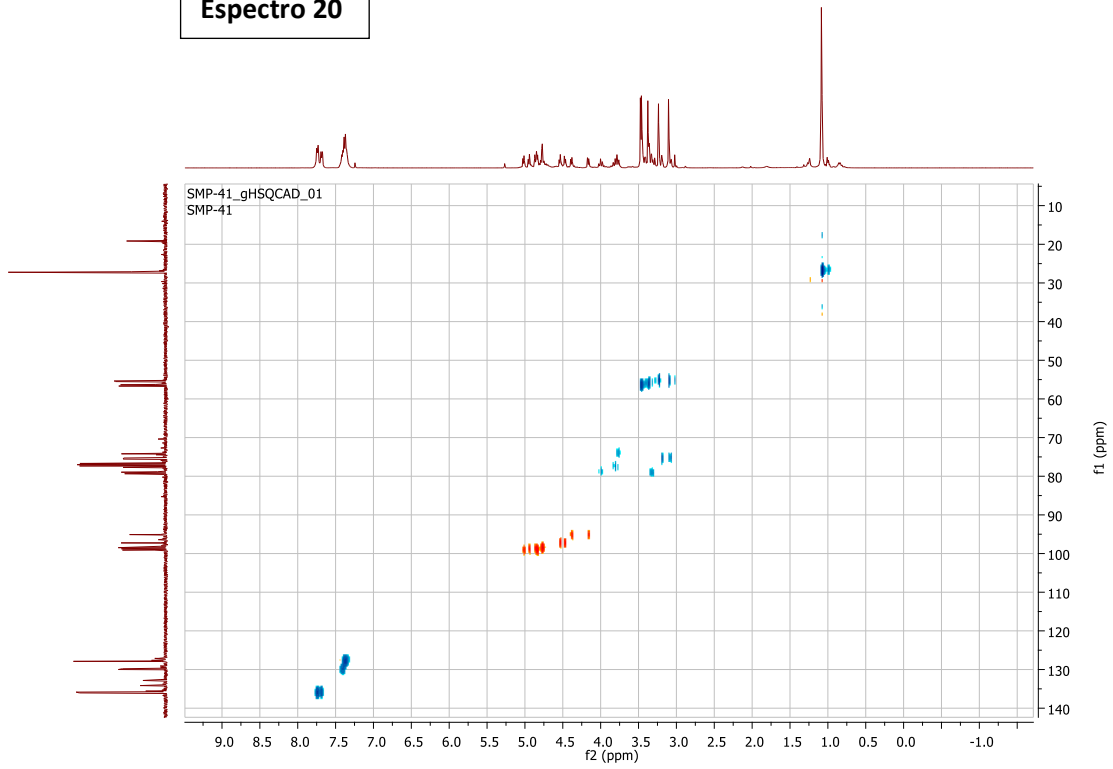




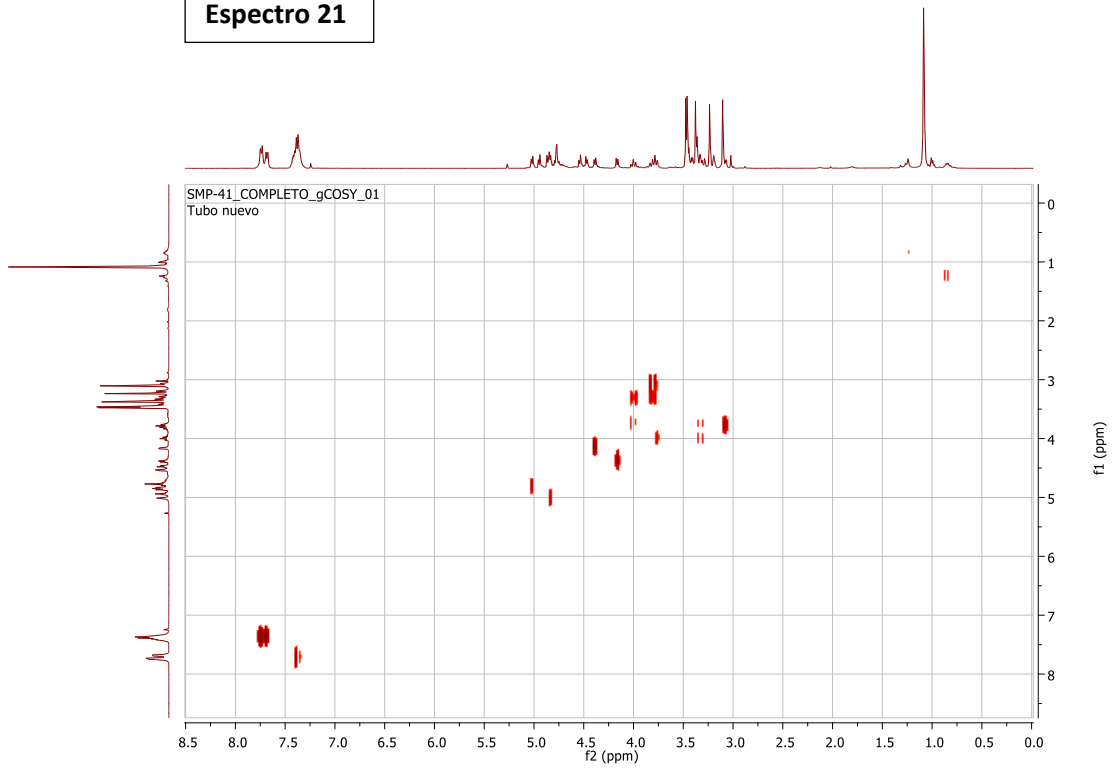
- **Compuesto 5:** 2,3,4,5,6-pentakis(metoximetoxi)ciclohexiloxil(*tert*-butildifenilsililo)

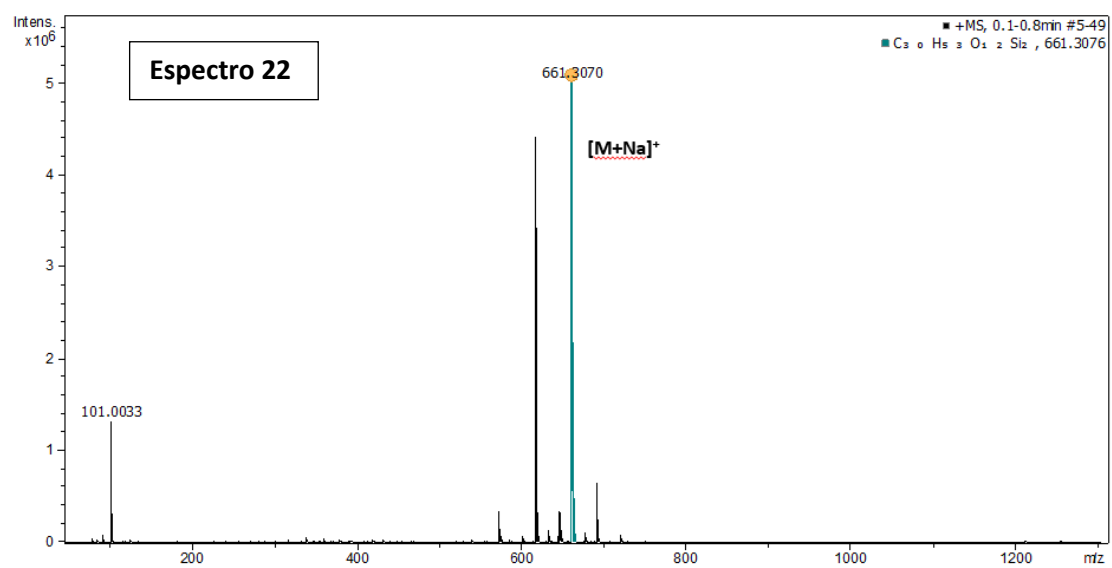


Espectro 20

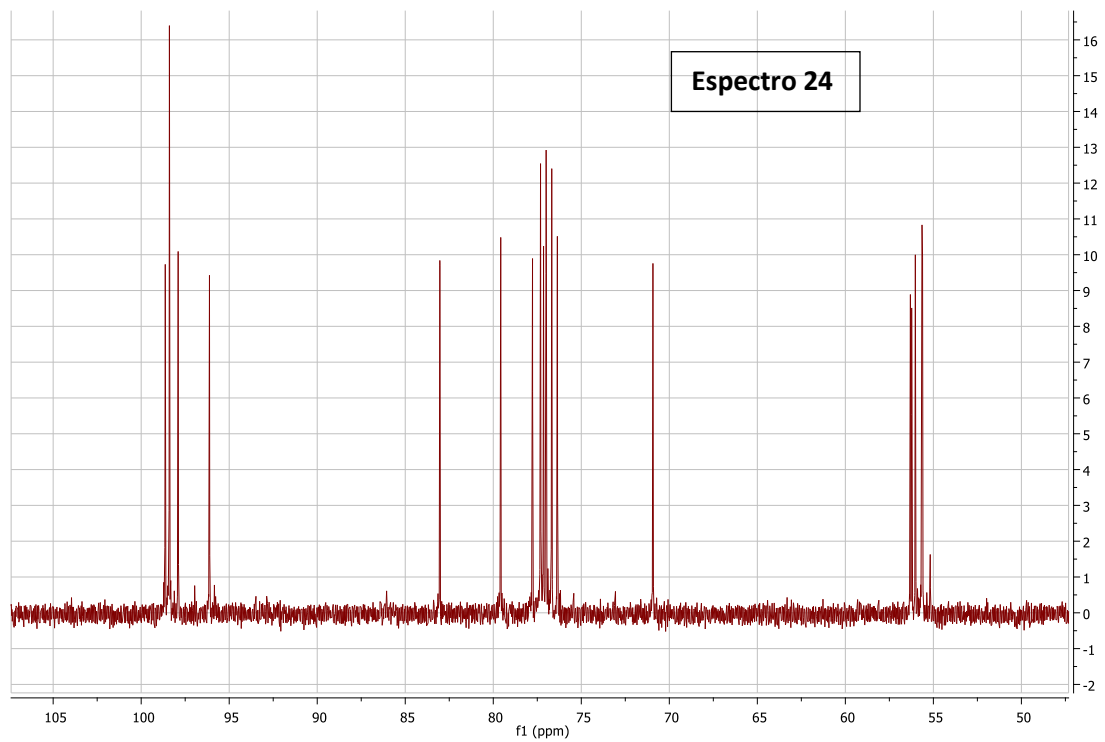
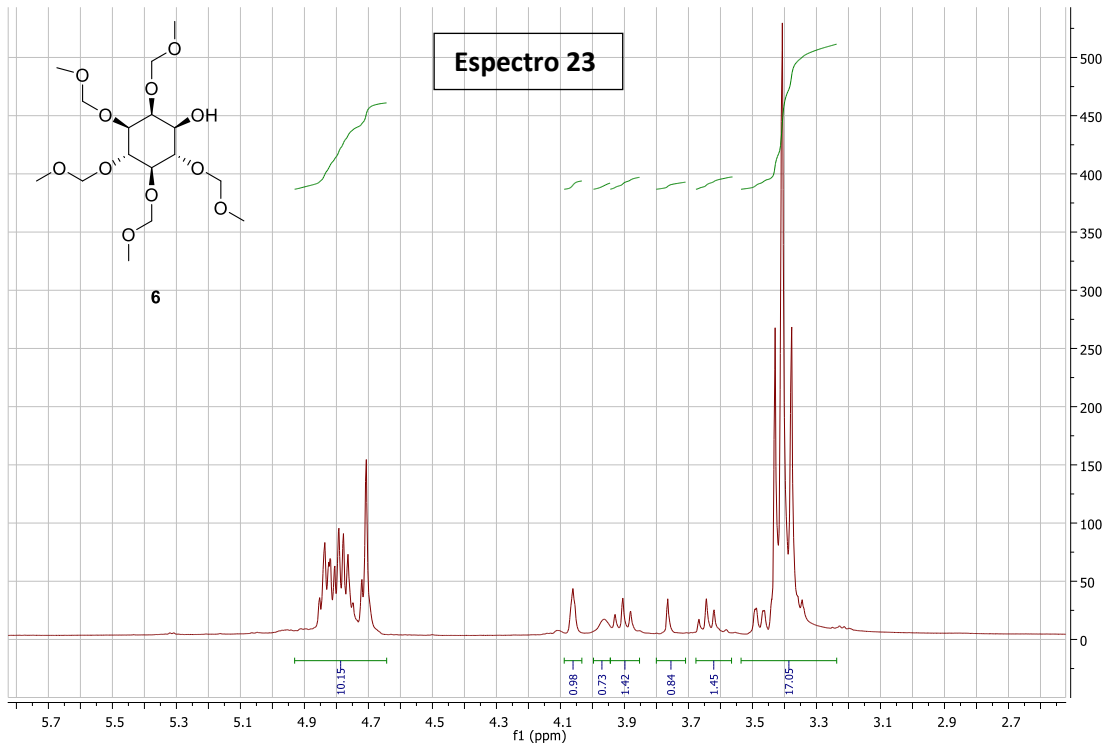


Espectro 21

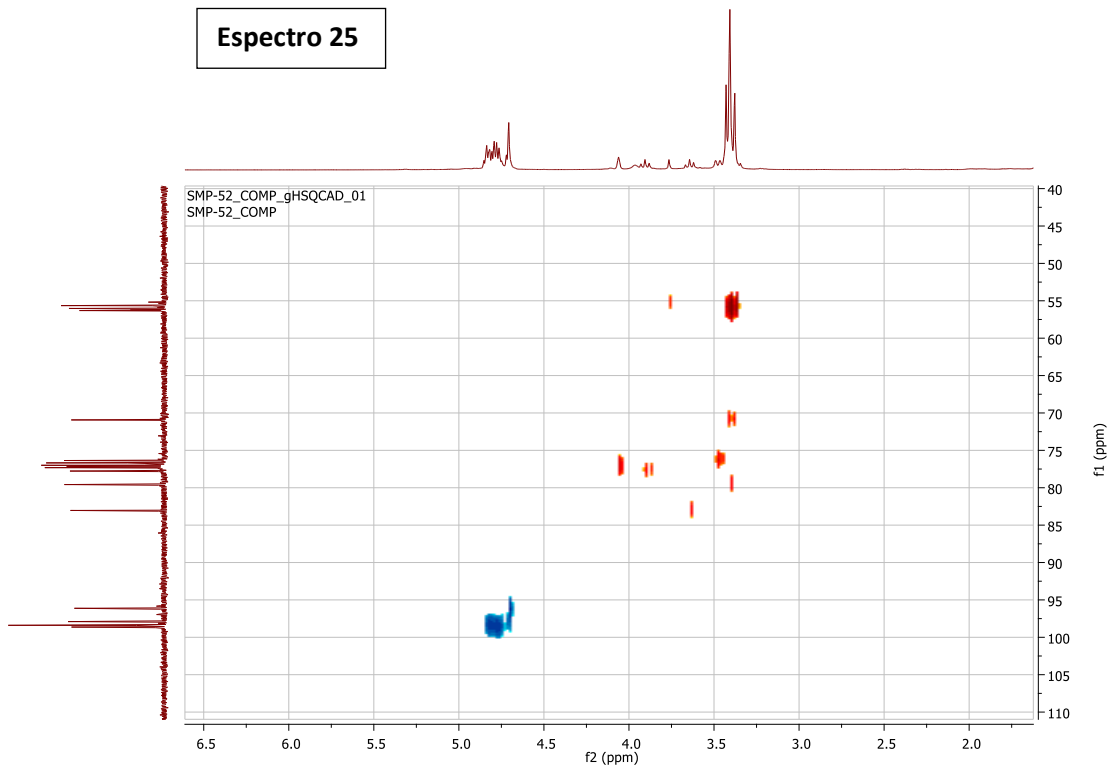




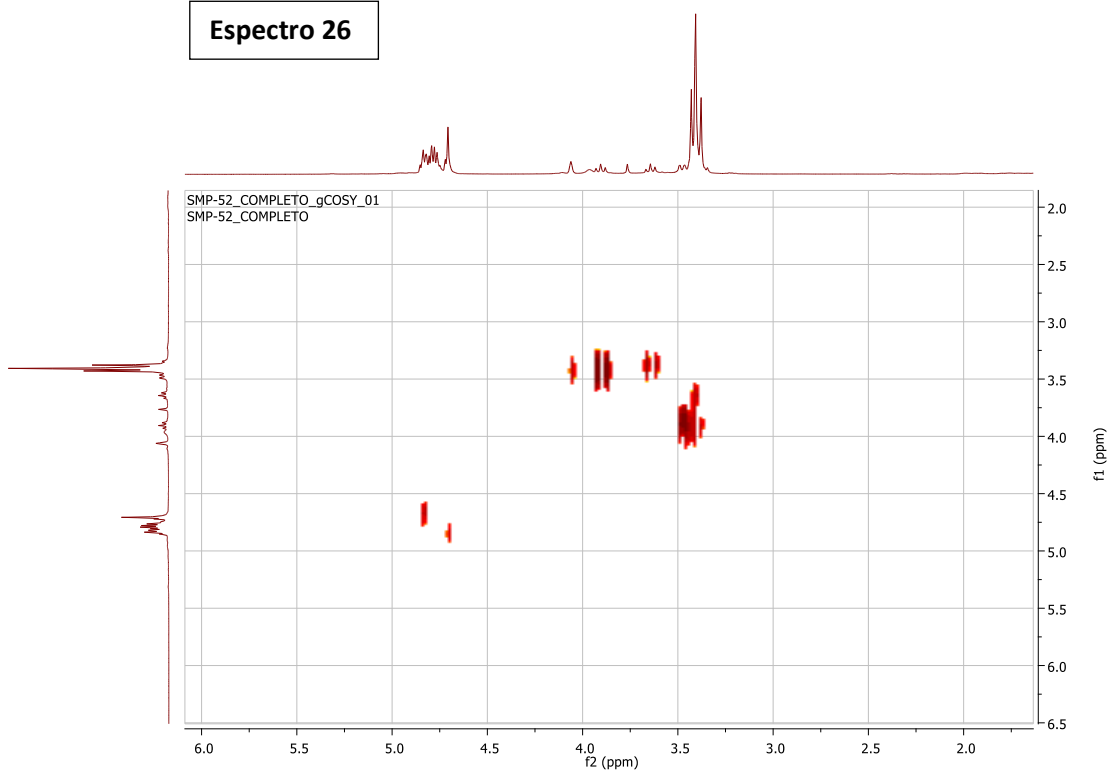
• **Compuesto 6:** 2,3,4,5,6-pentakis(metoximetoxi)ciclohexanol

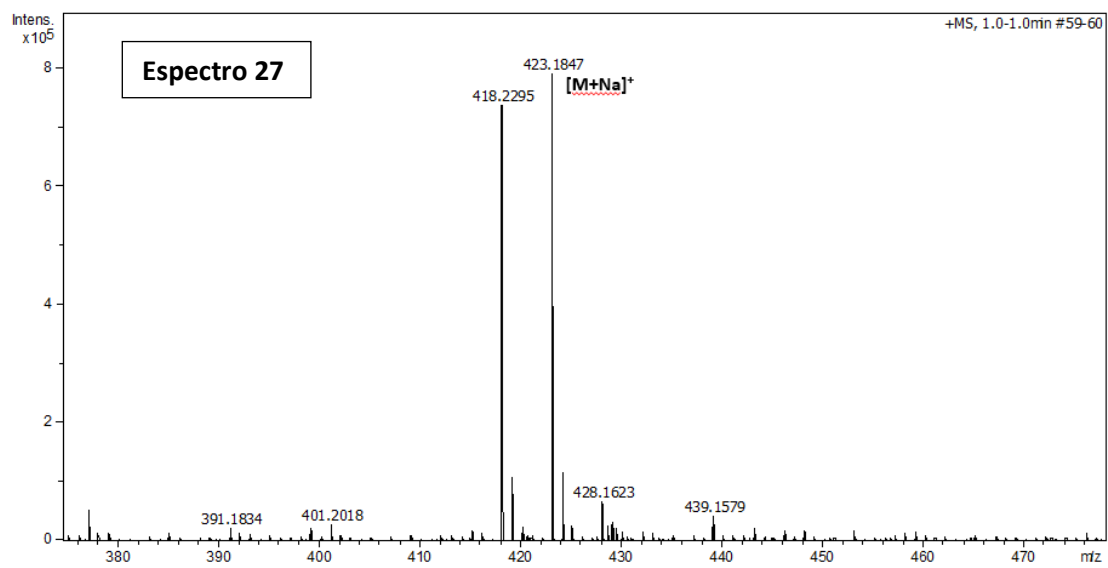


Espectro 25

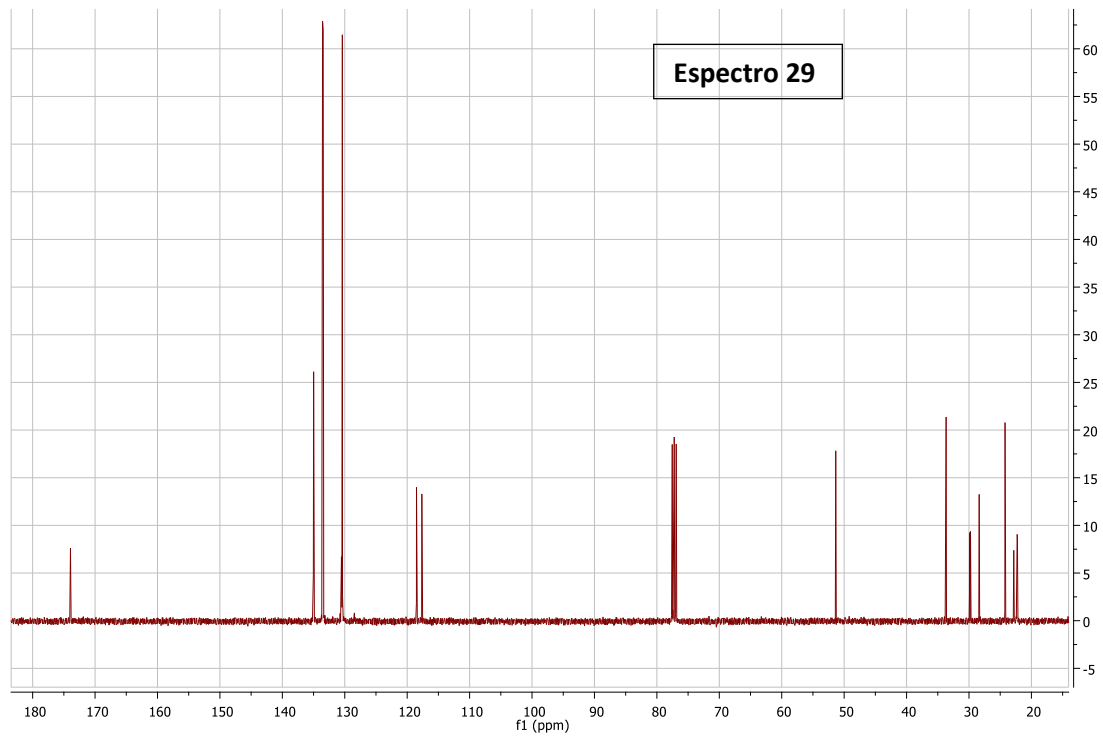
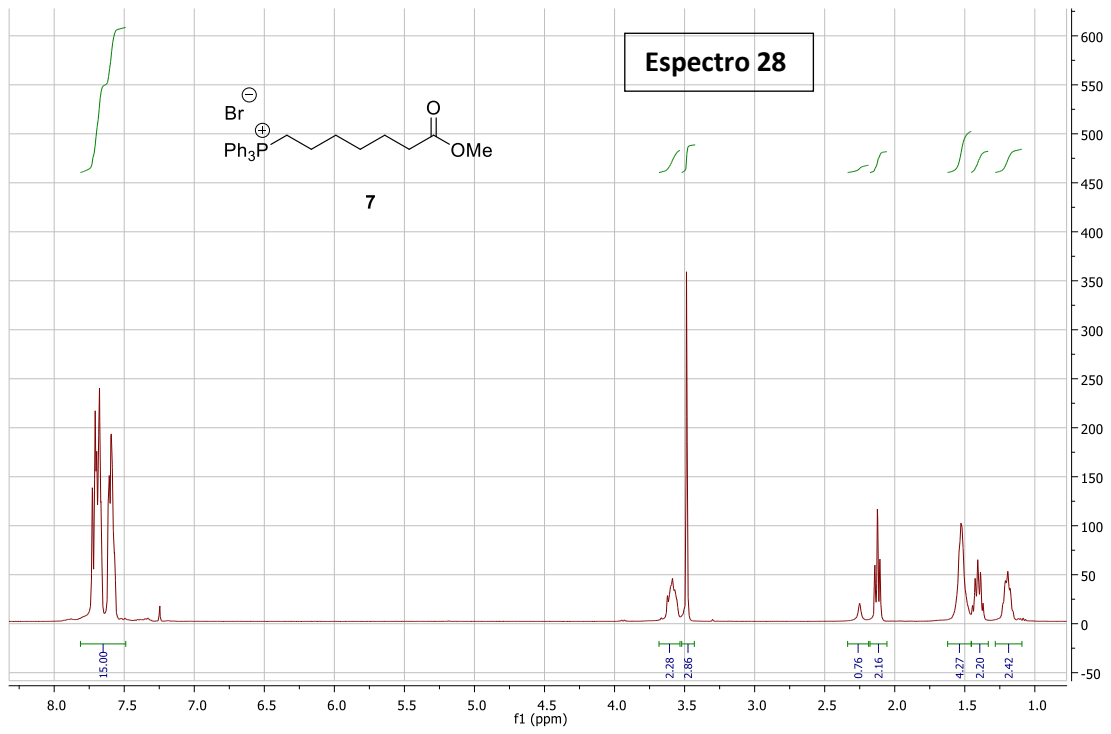


Espectro 26

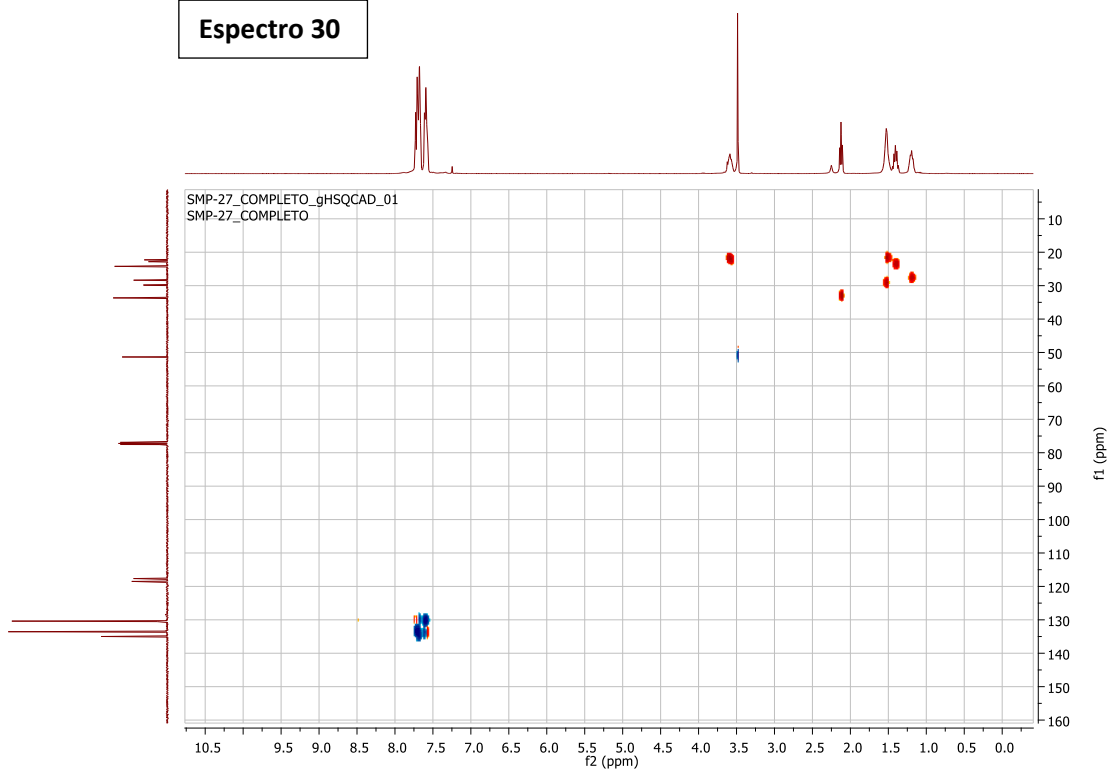




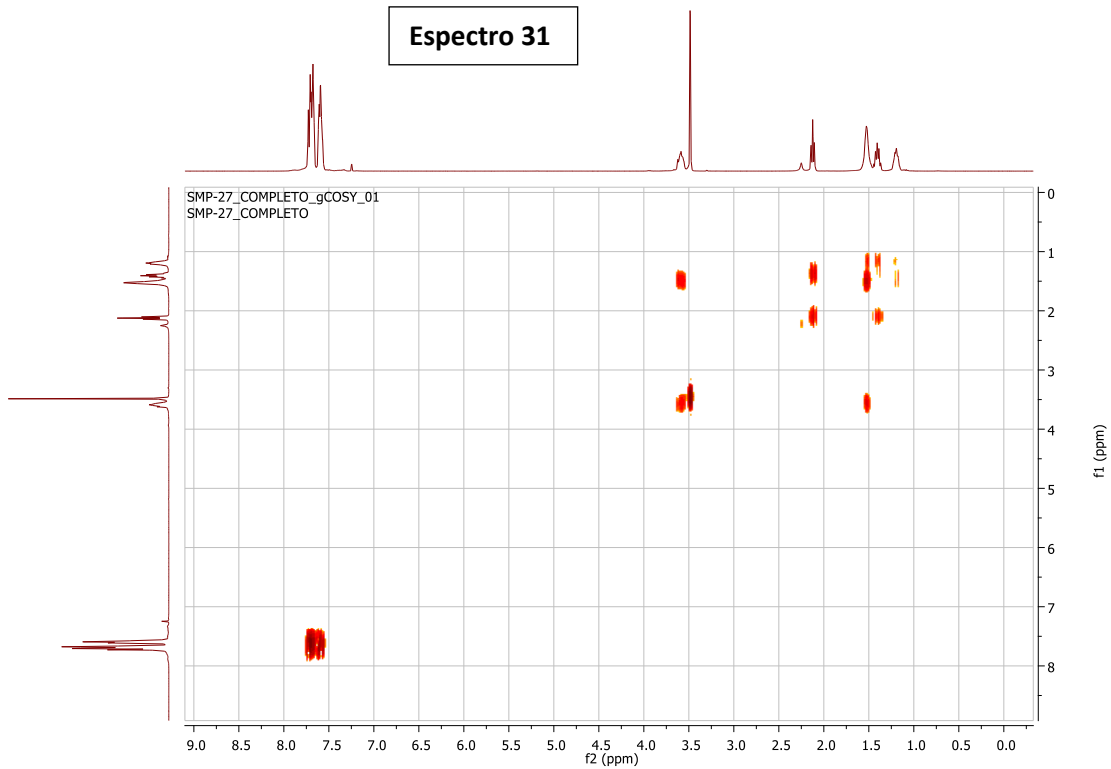
- **Compuesto 7:** bromuro de (7-metoxi-7-oxoheptil)trifenilfosfonio

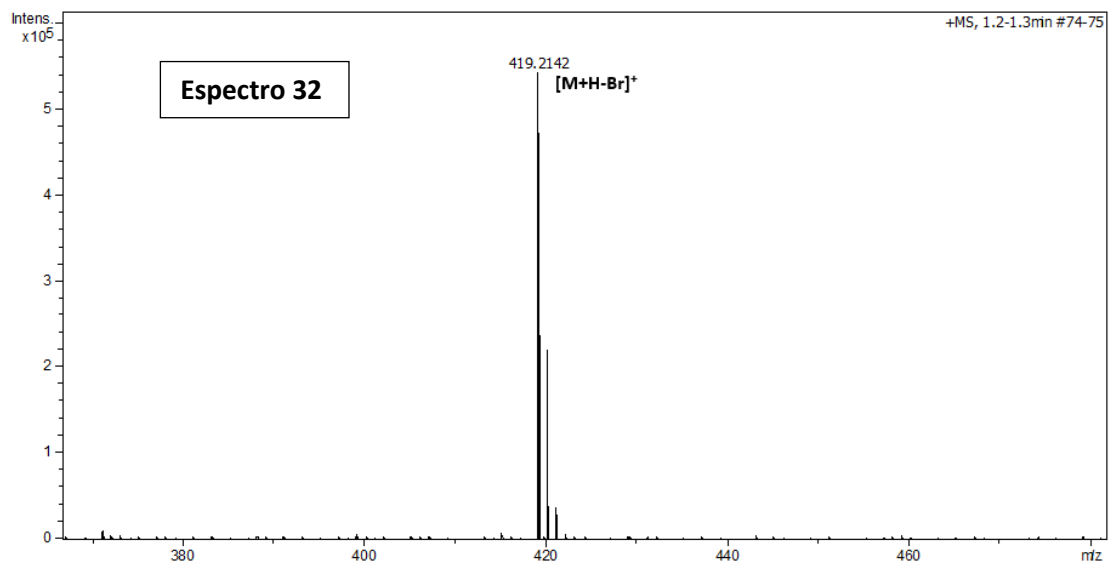


Espectro 30

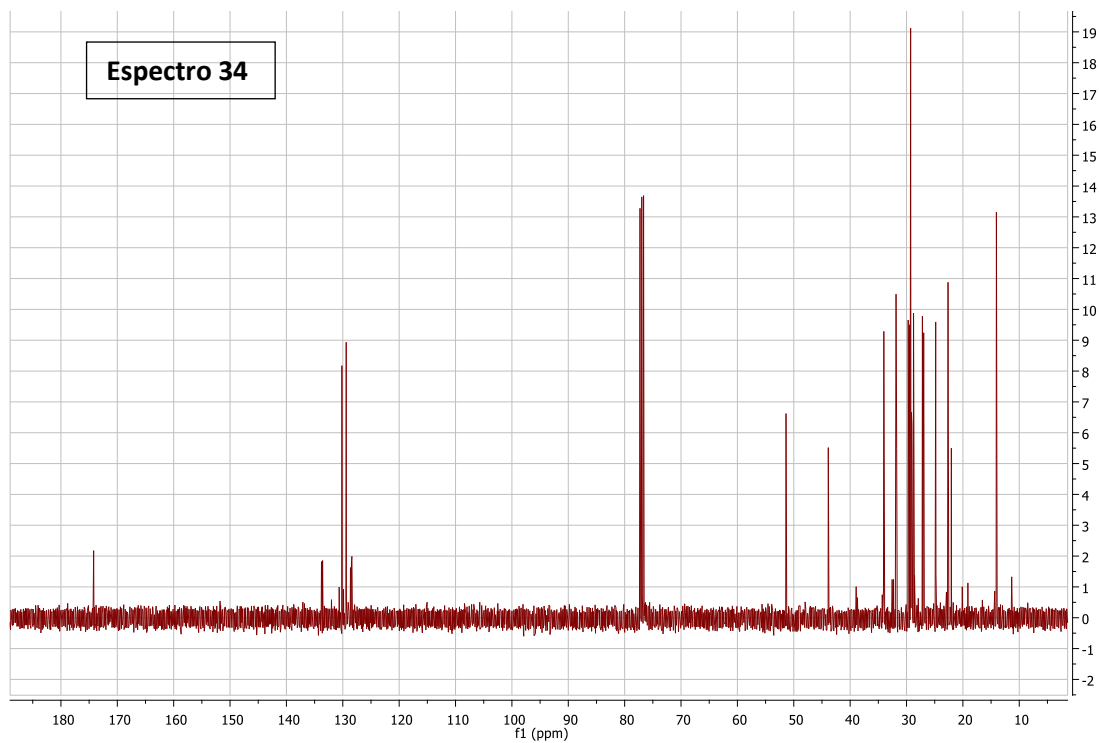
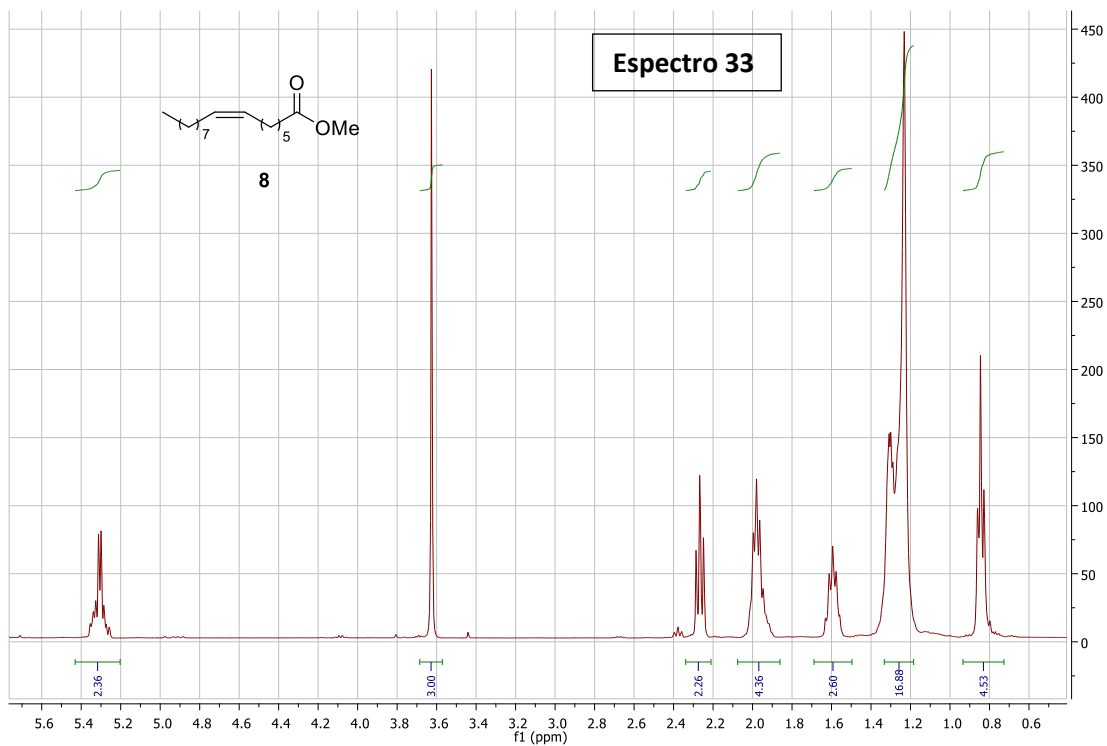


Espectro 31

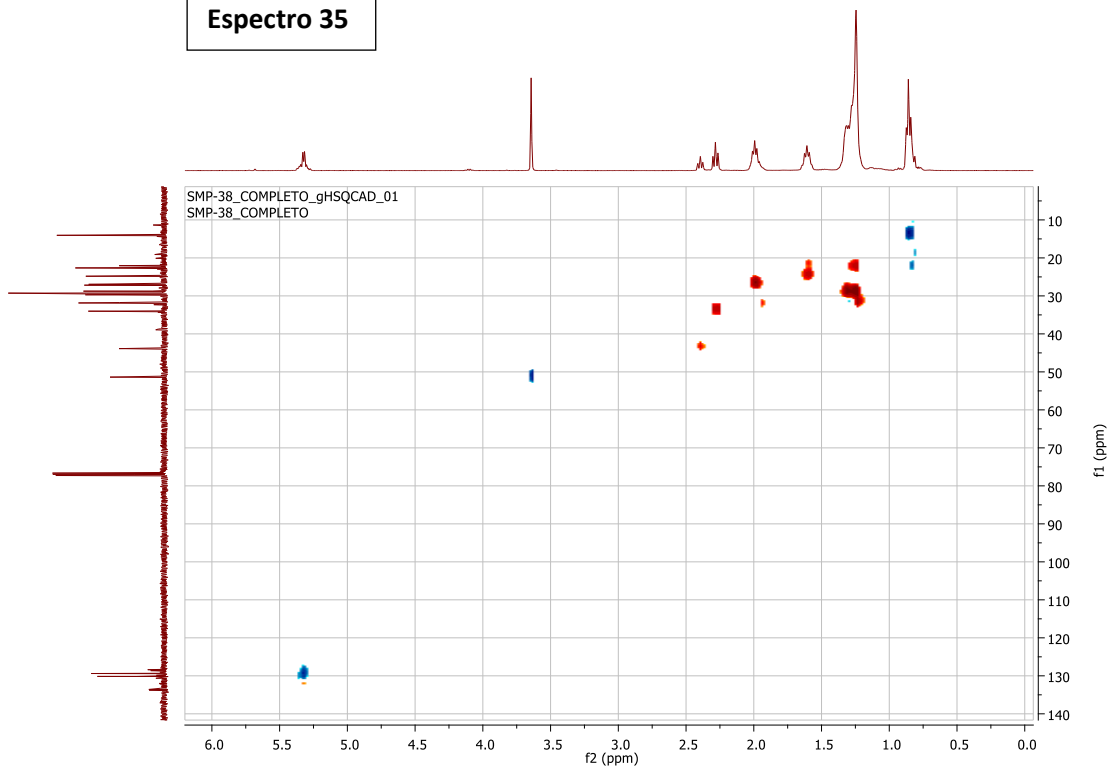




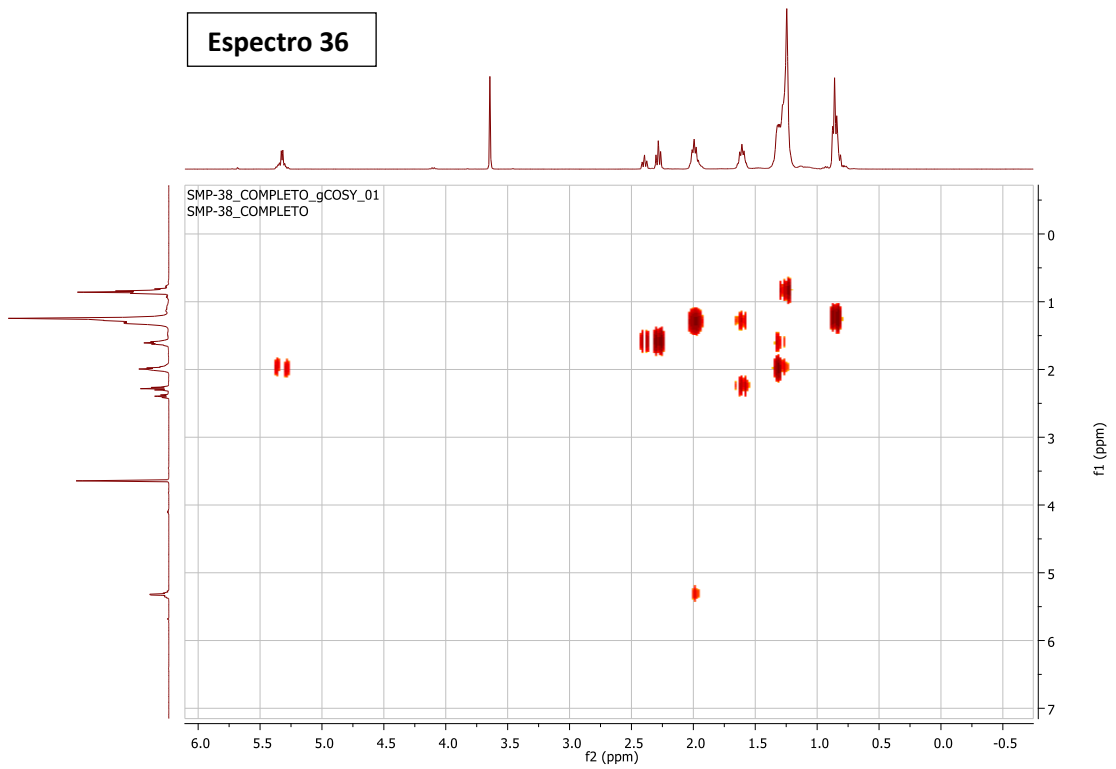
- **Compuesto 8:** (*Z*)-7-hexadecenoato de metilo

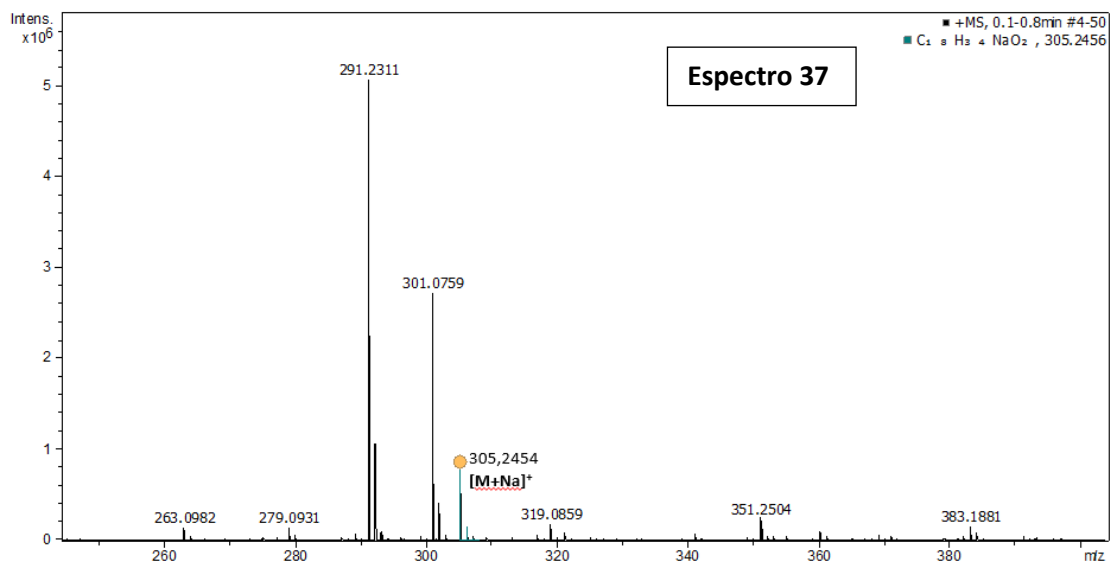


Espectro 35

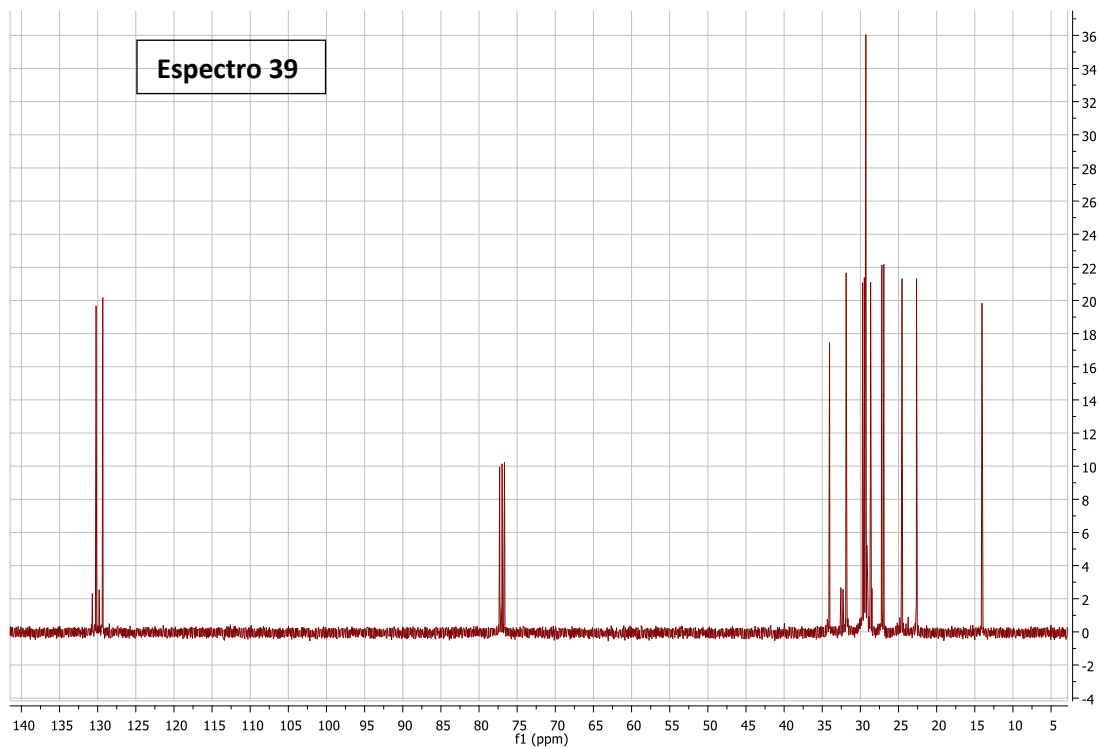
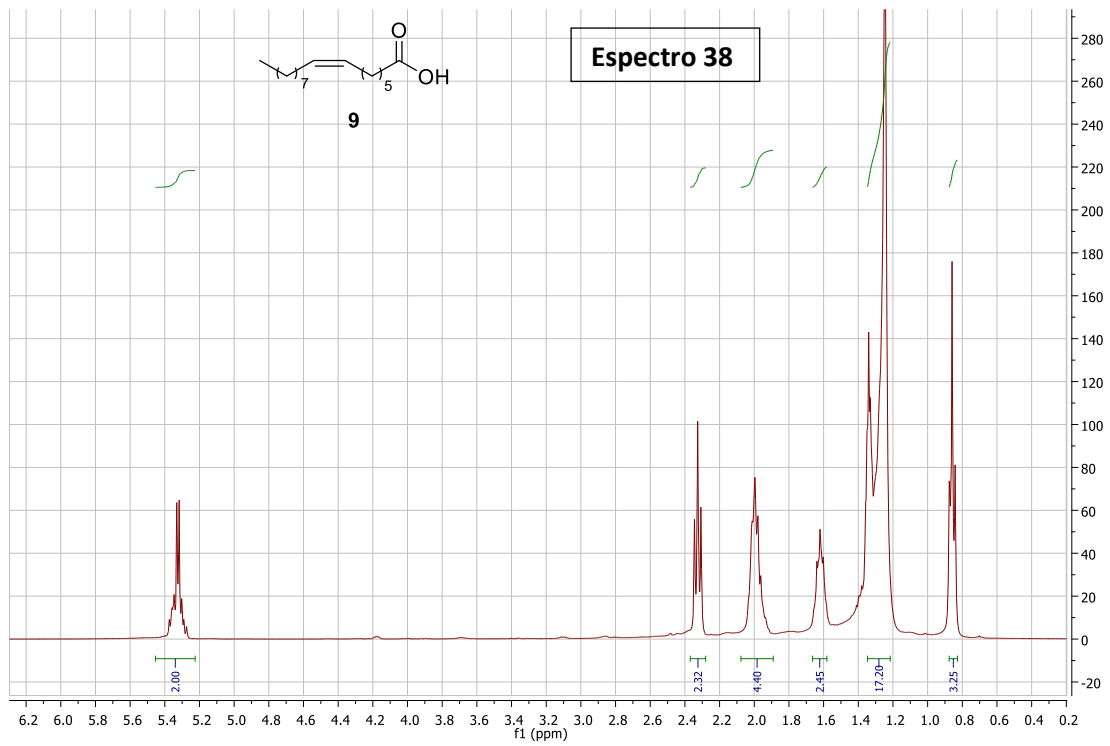


Espectro 36

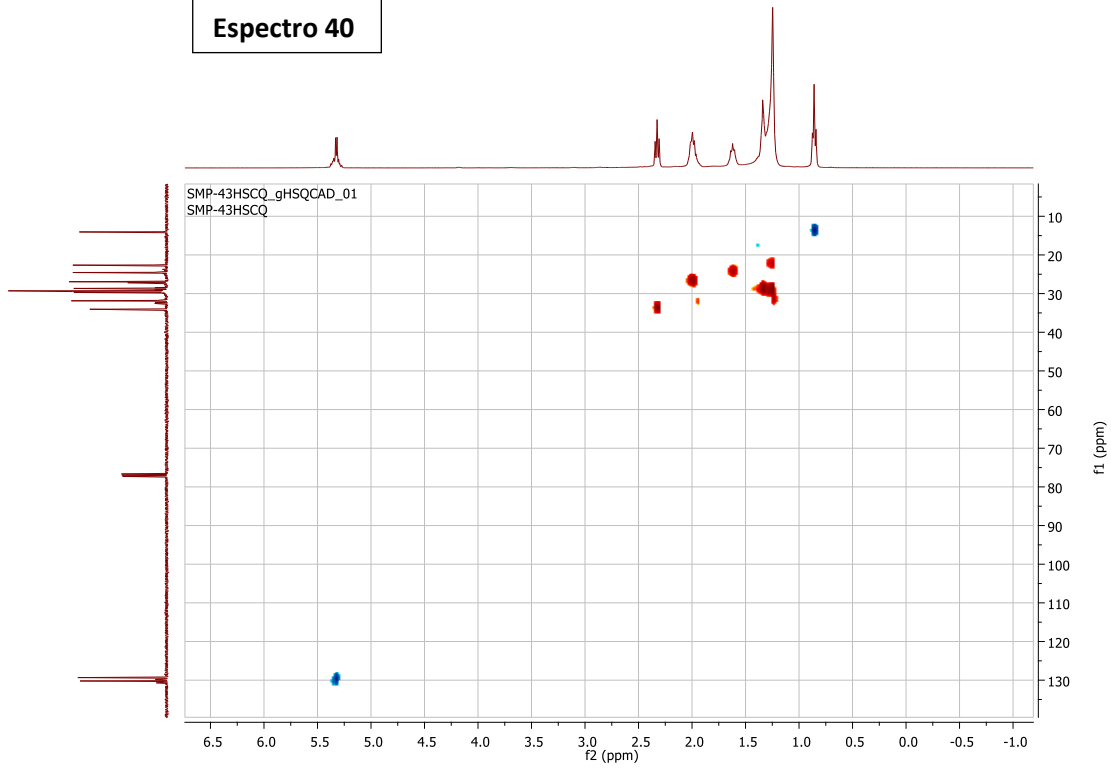




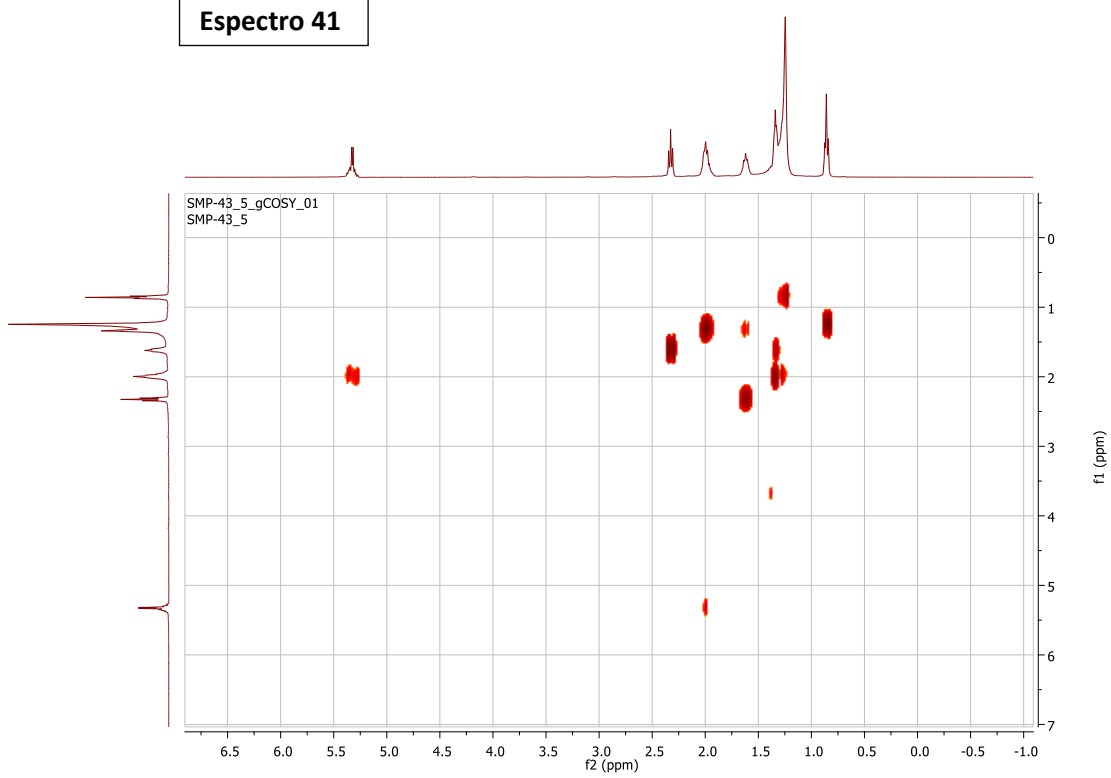
• **Compuesto 9:** ácido (Z)-7-hexadecenoico

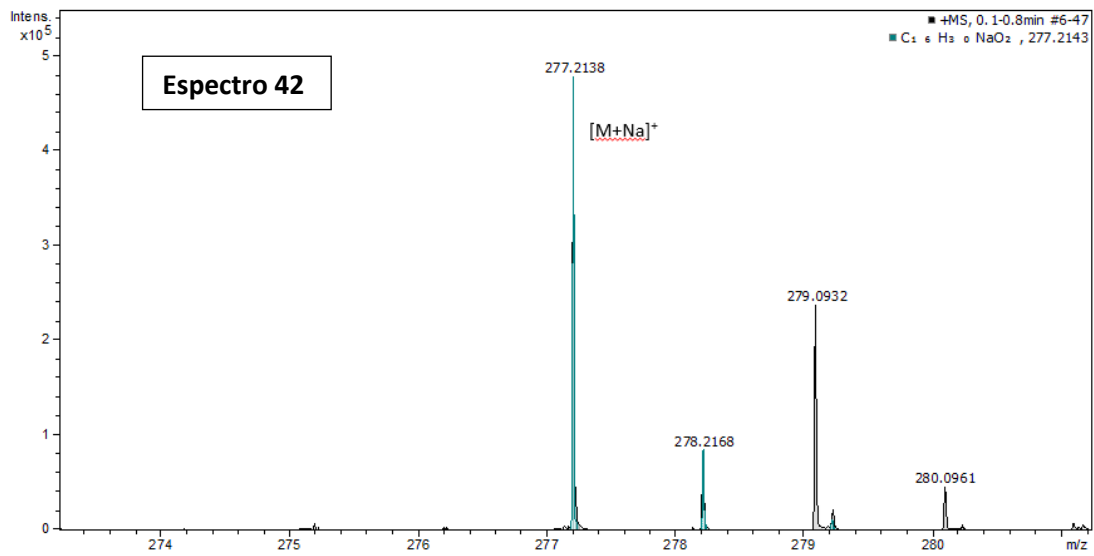


Espectro 40

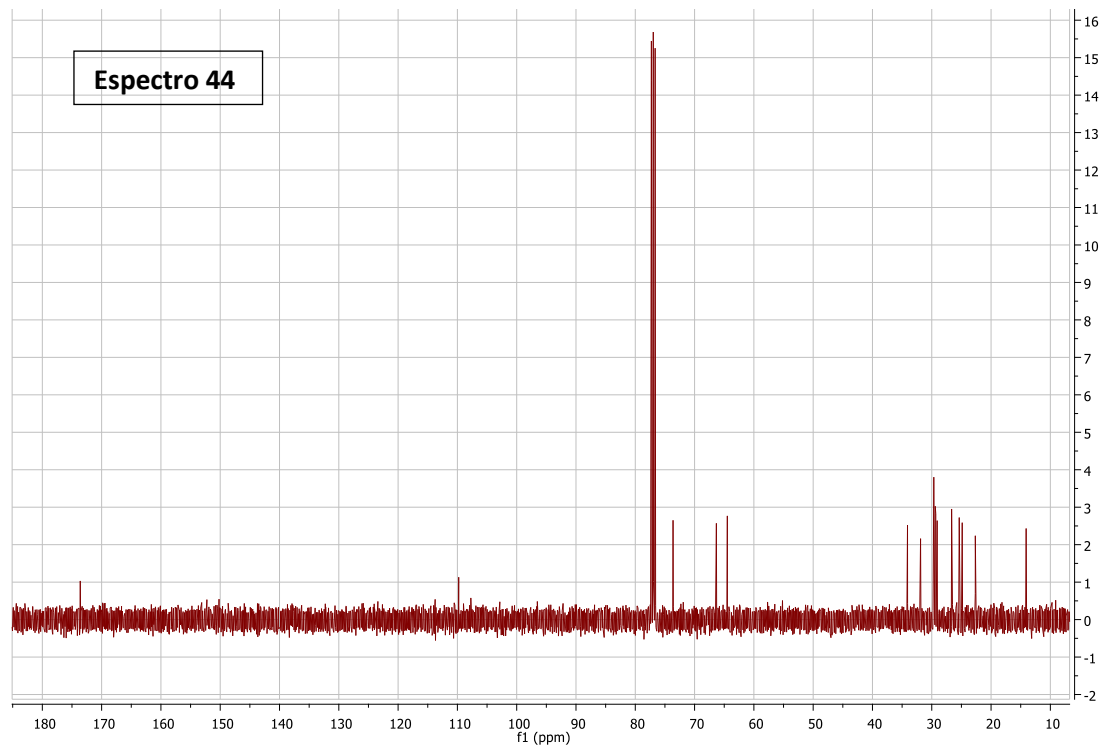
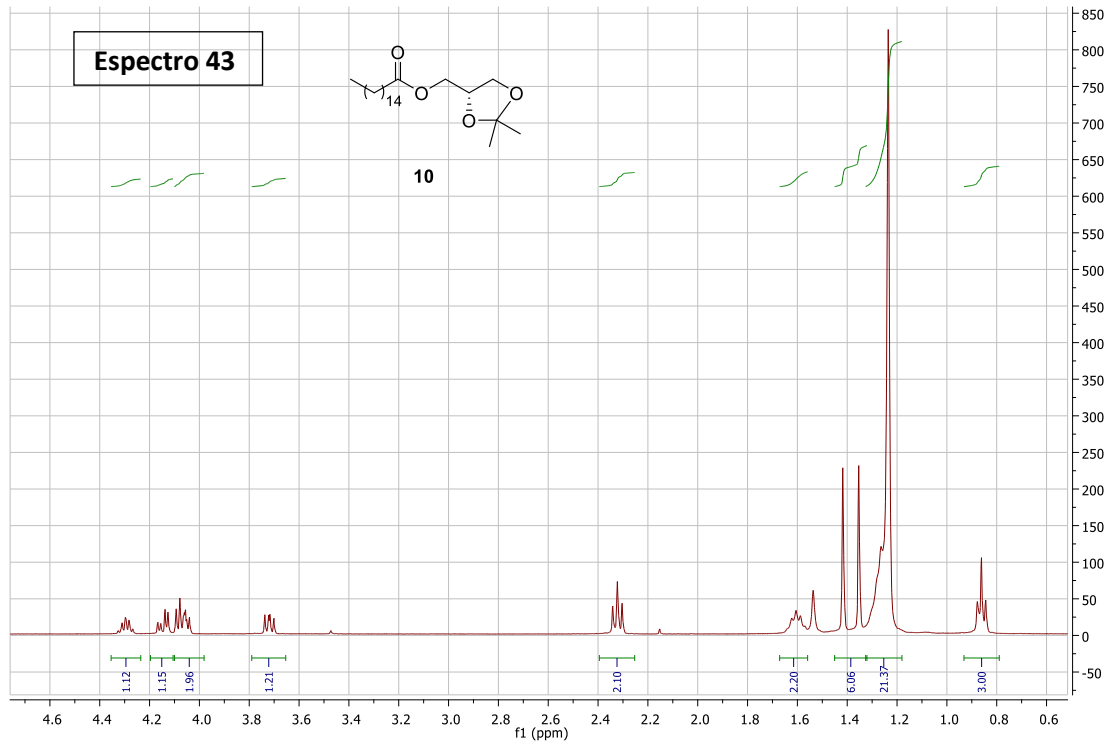


Espectro 41

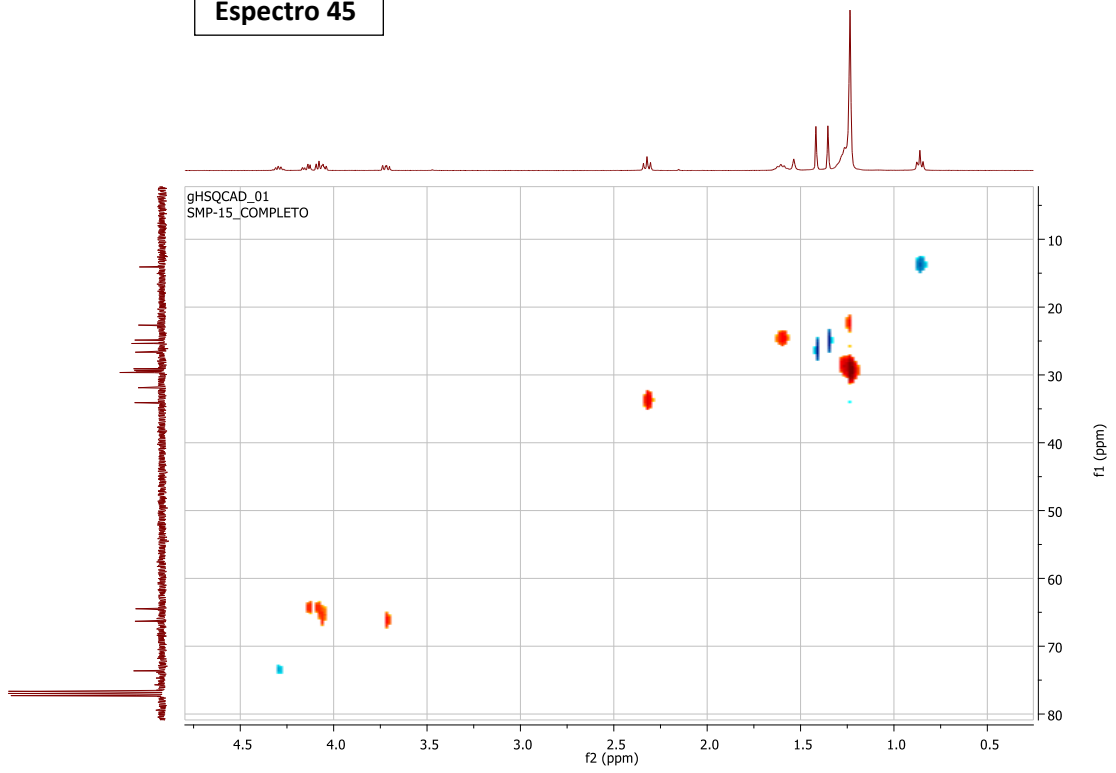




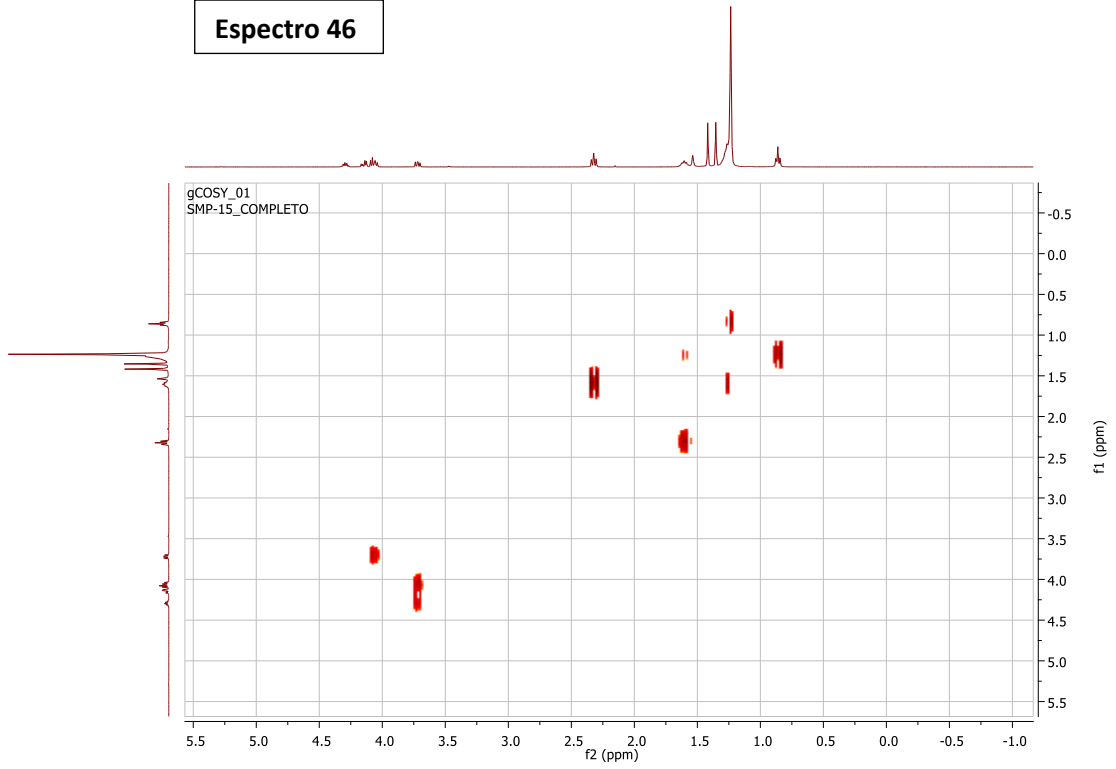
• **Compuesto 10:** Palmitato de 2,3-dimetoxipropilo

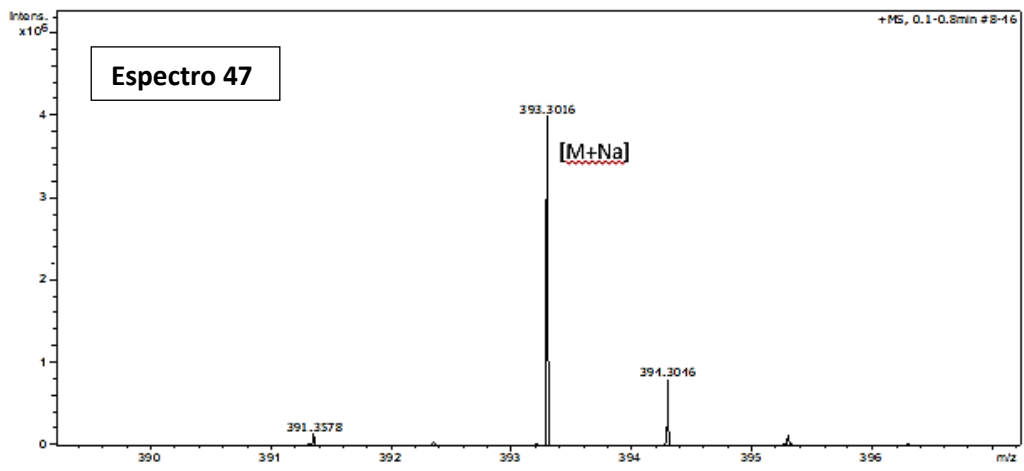


Espectro 45

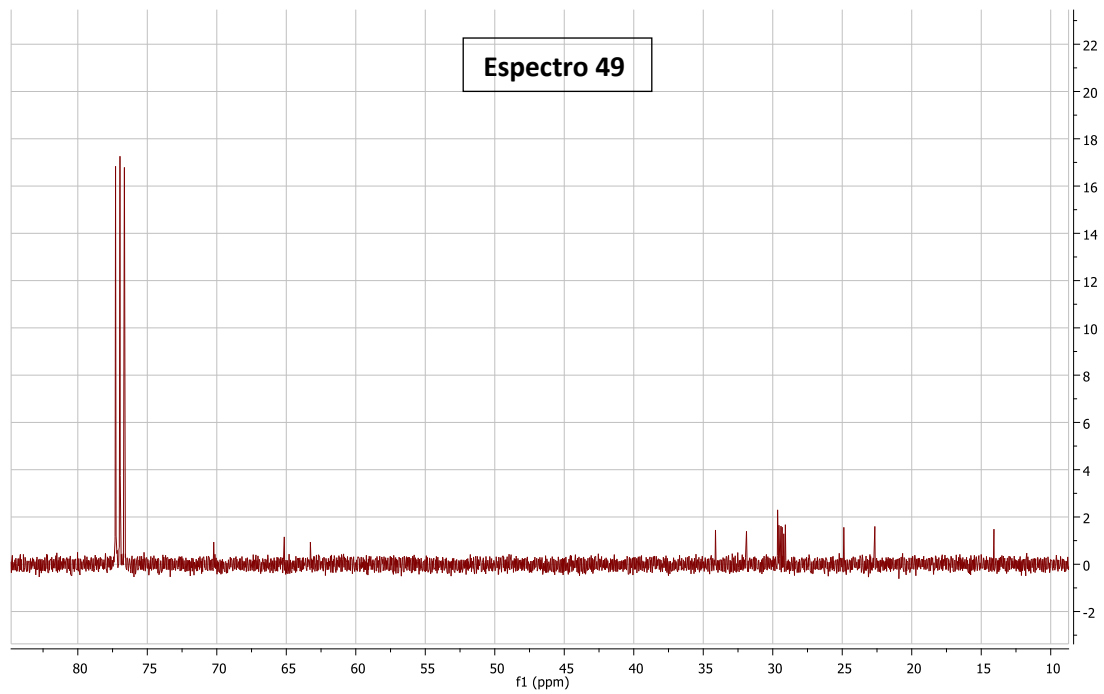
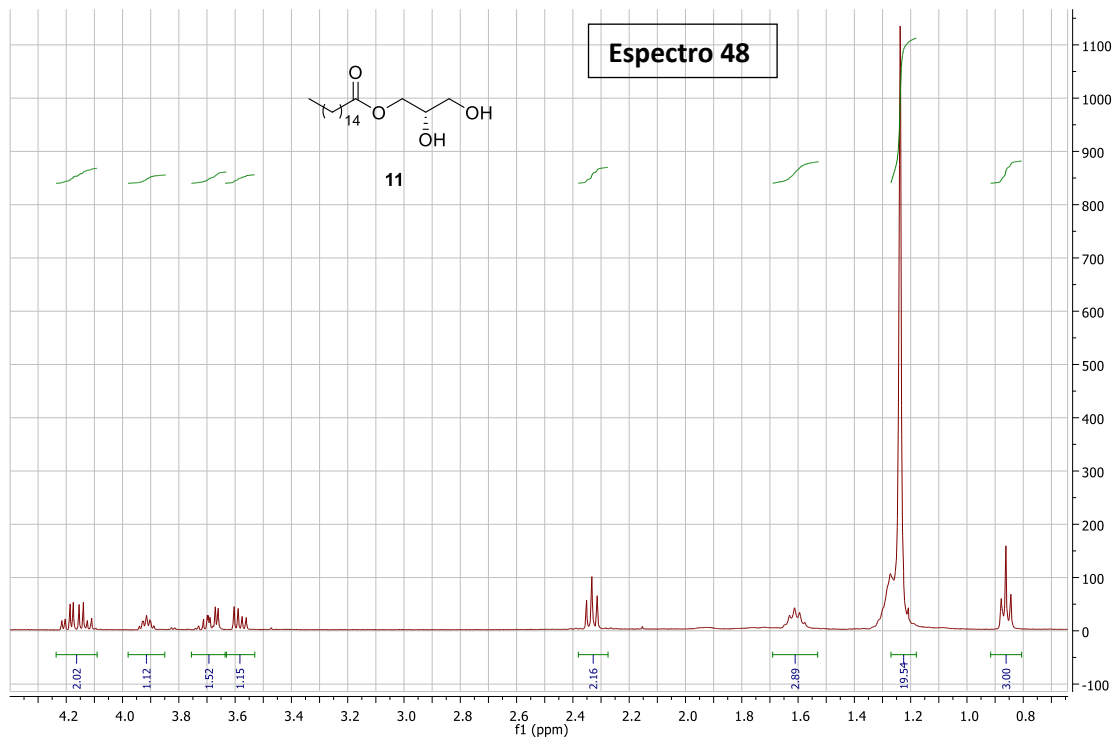


Espectro 46

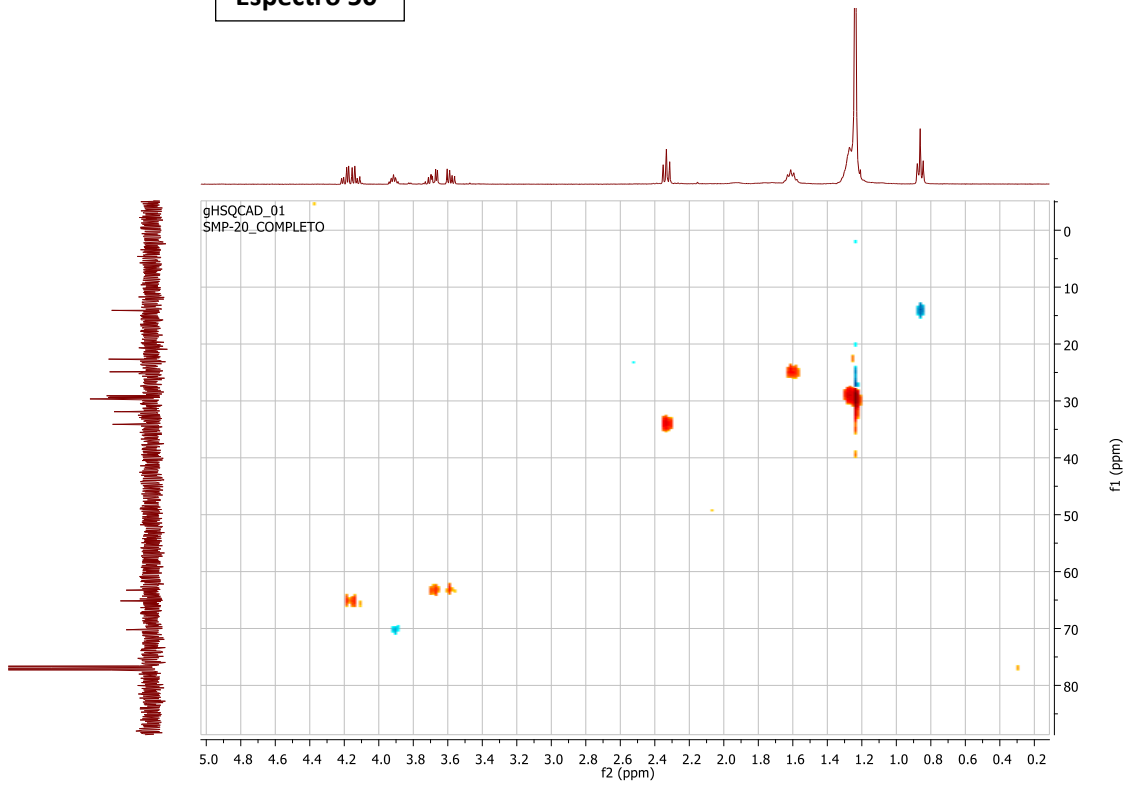




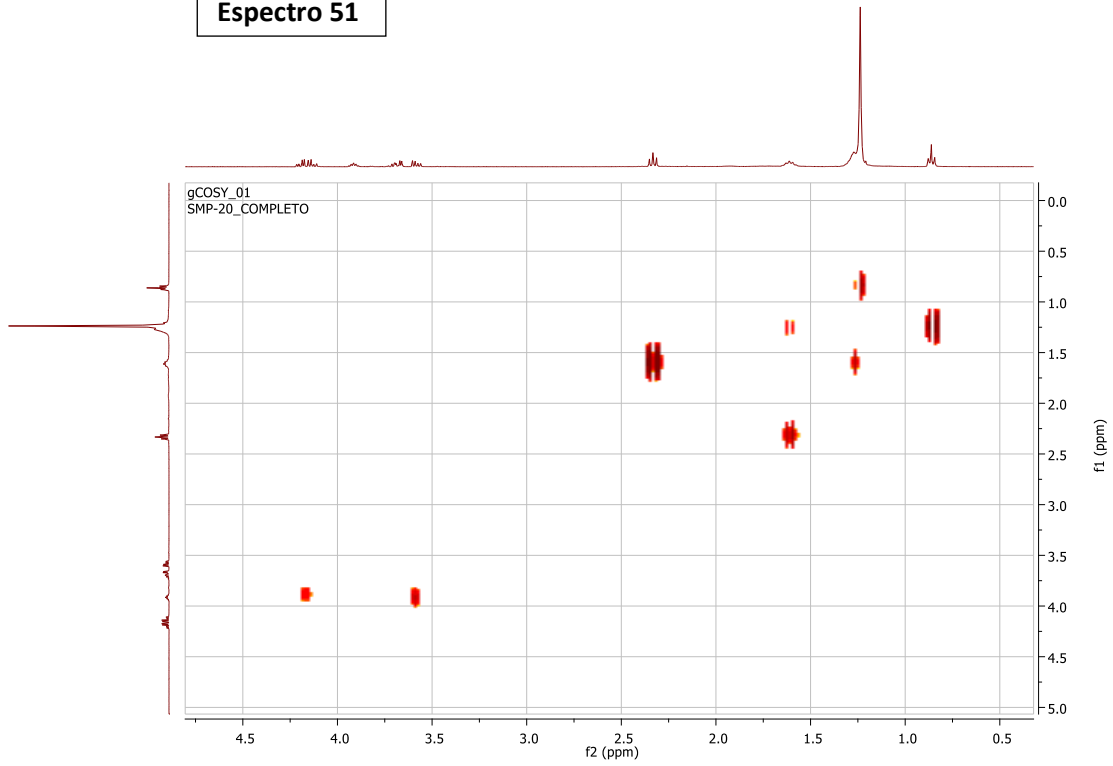
• **Compuesto 11:** Palmitato de 2,3-dihidroxiopropanoilo

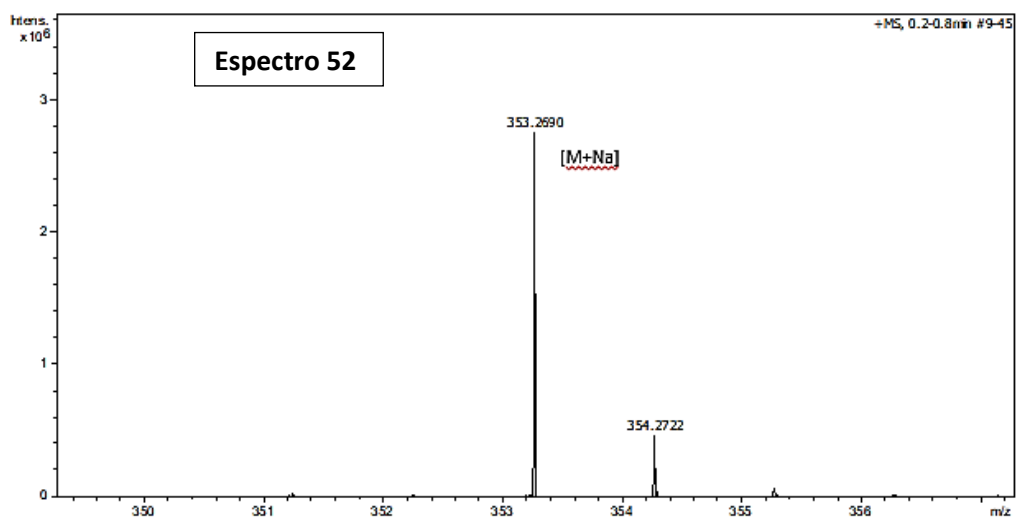


Espectro 50

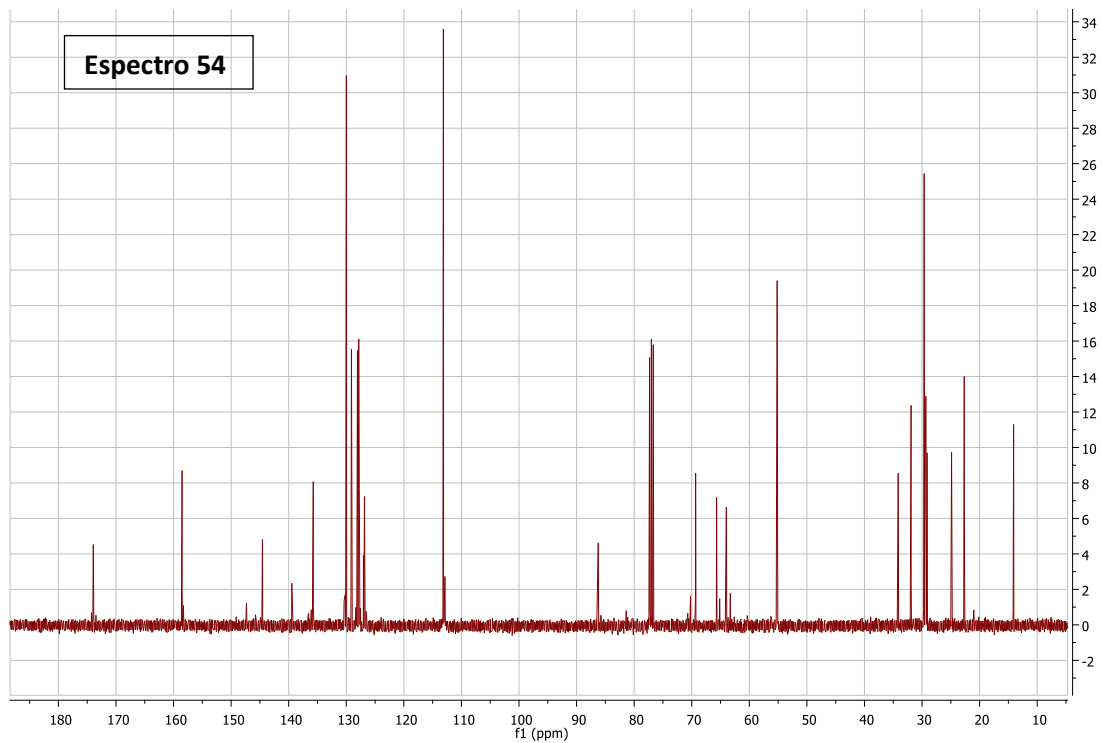
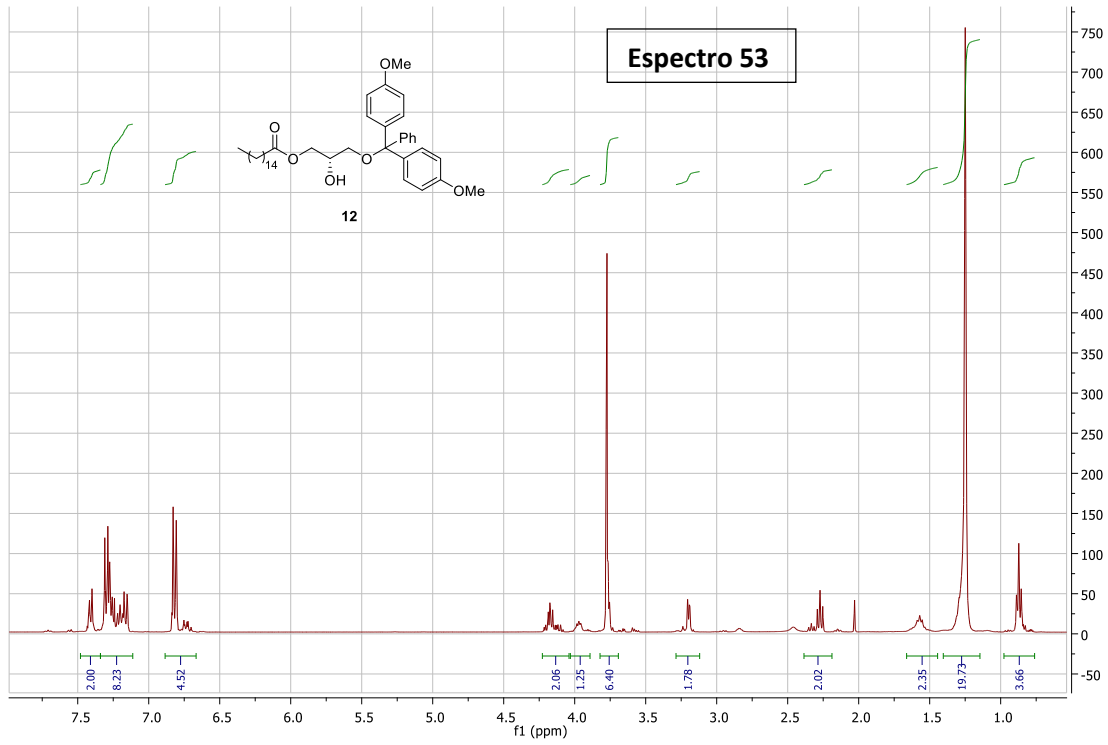


Espectro 51

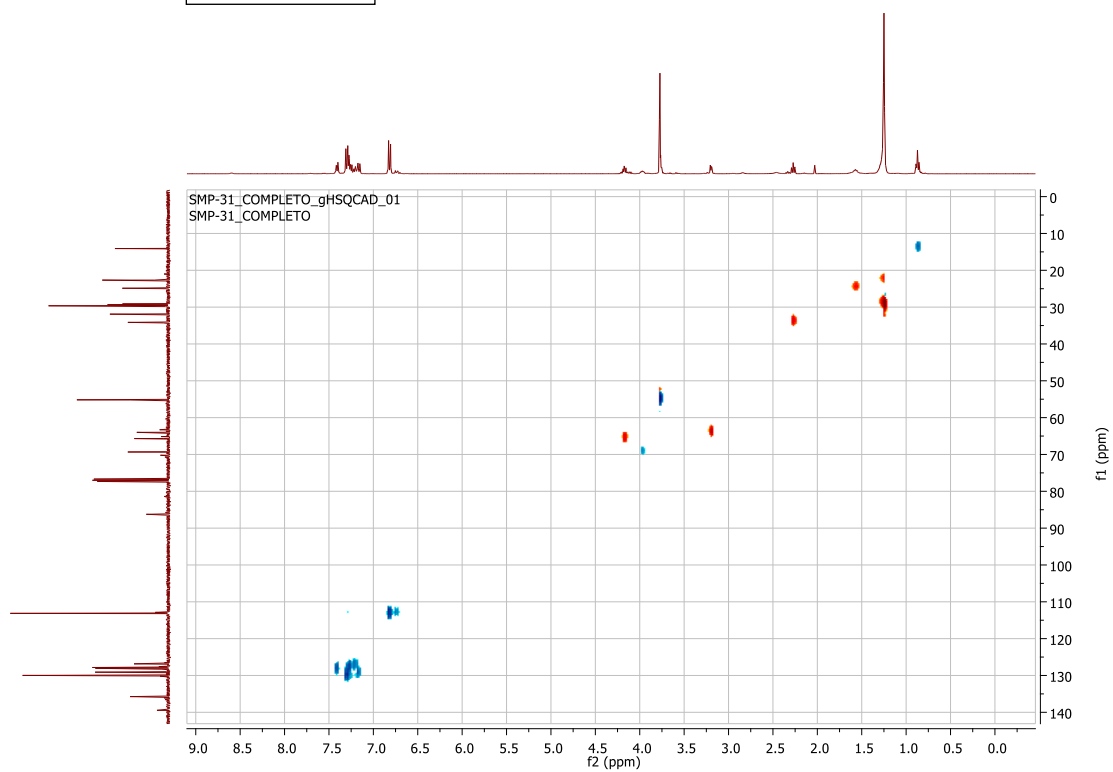




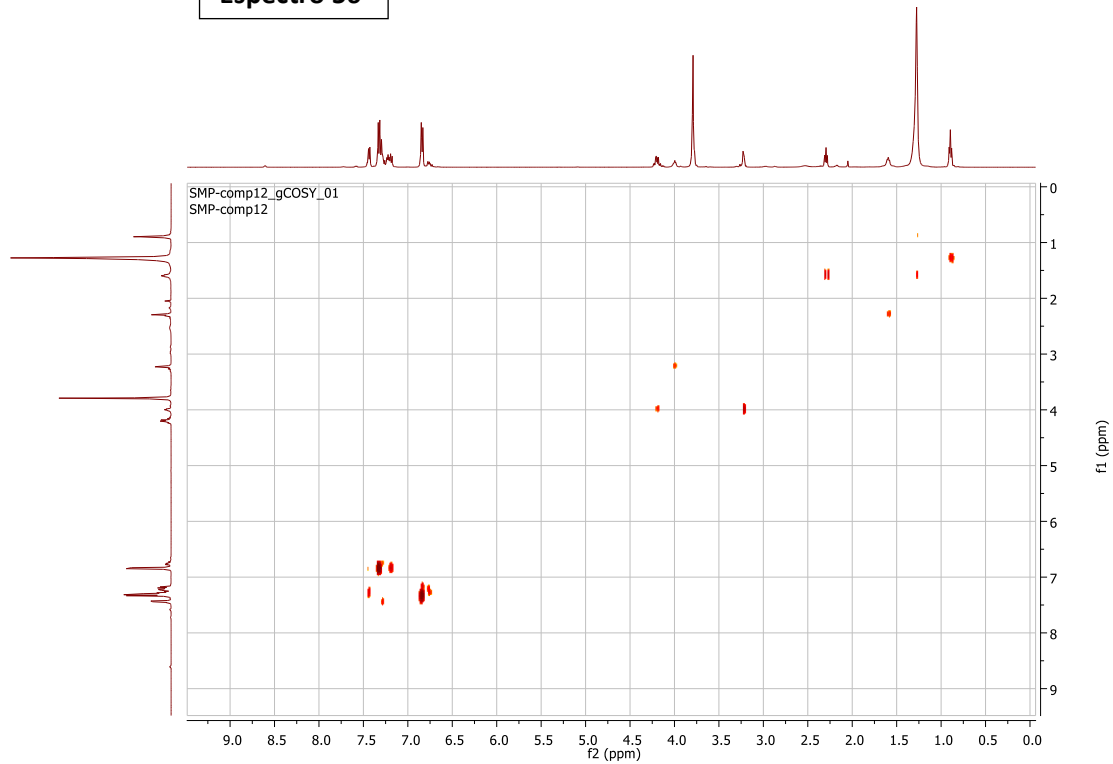
• **Compuesto 12: Palmitato de 3-(4',4'-dimetoxitritil)-2-hidroxi-1-propanoilo**

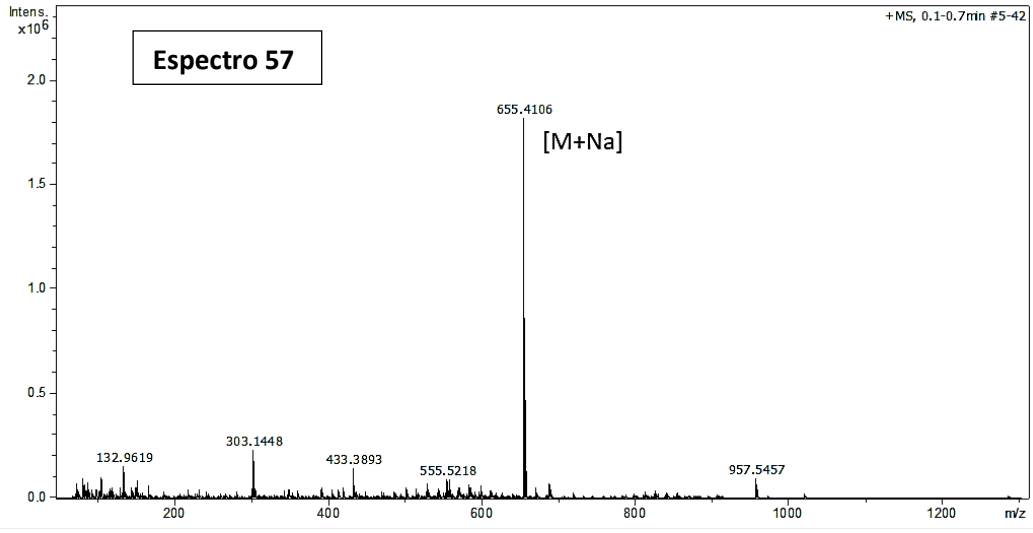


Espectro 55

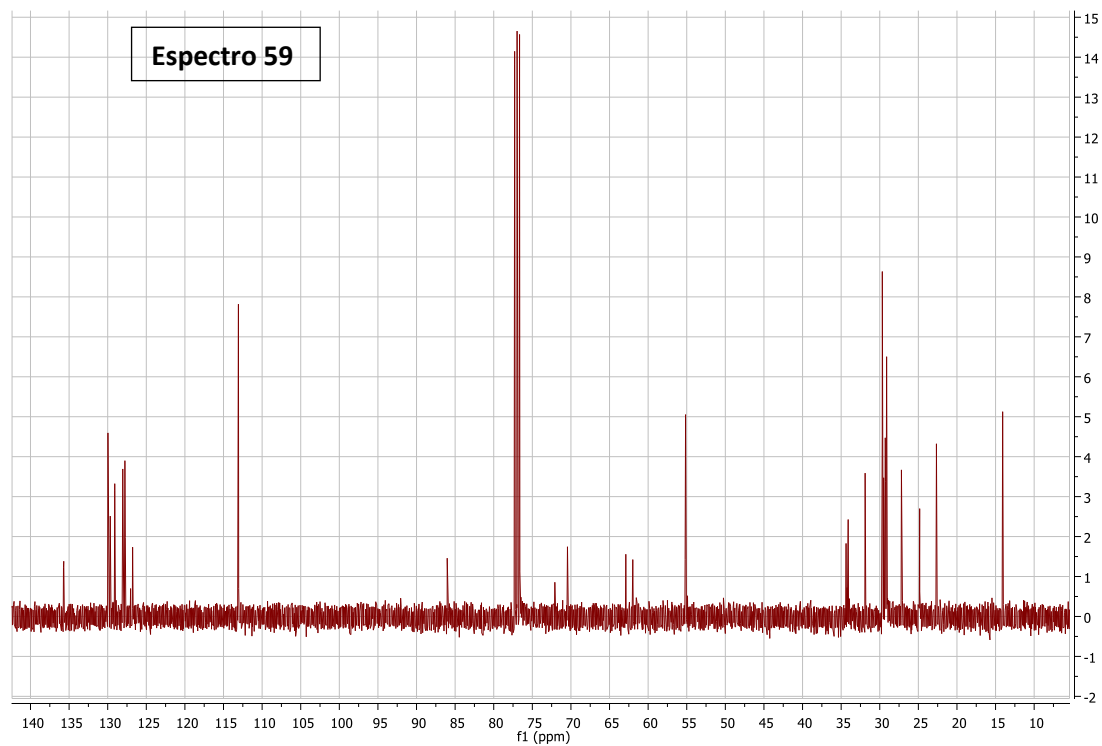
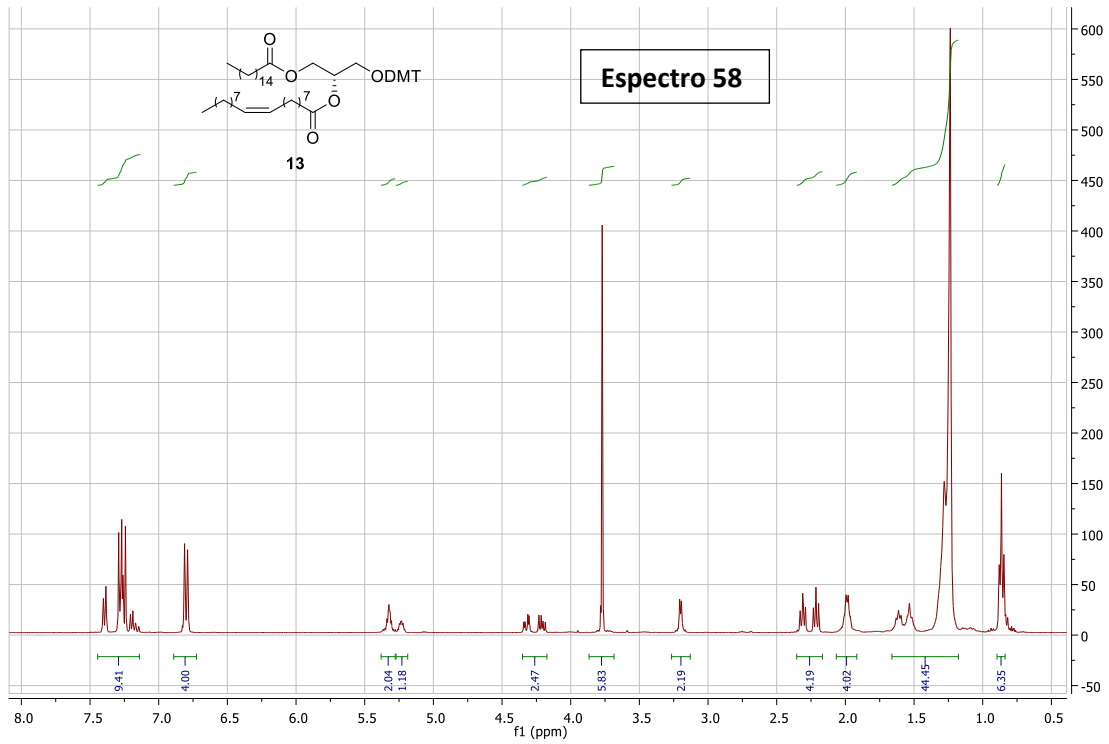


Espectro 56

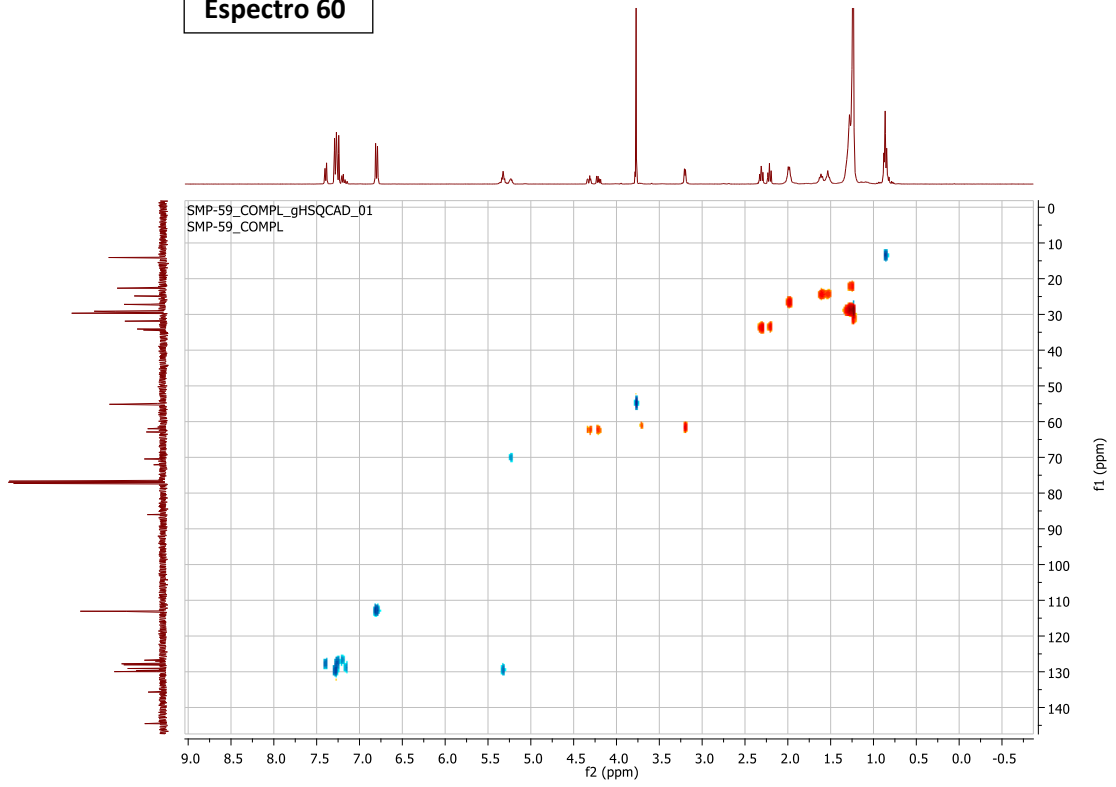




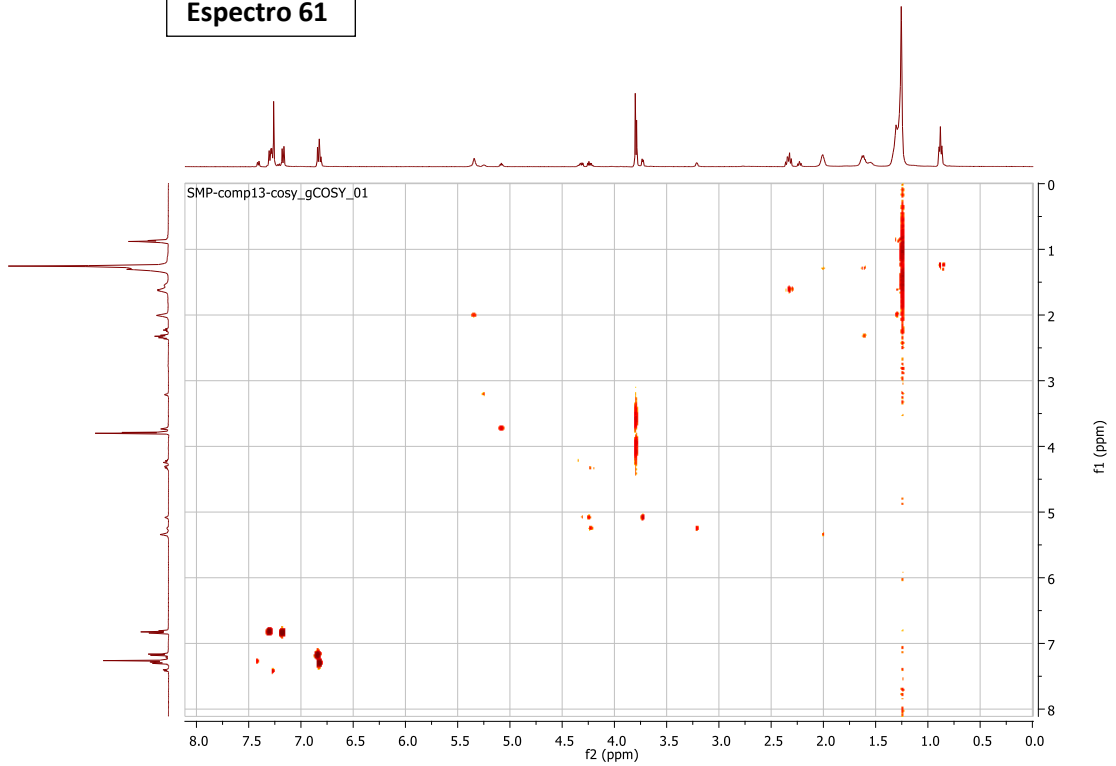
- **Compuesto 13:** oleato de 3-(4',4'-dimetoxitritilo)-1-palmitoiloxi-2-propanoilo

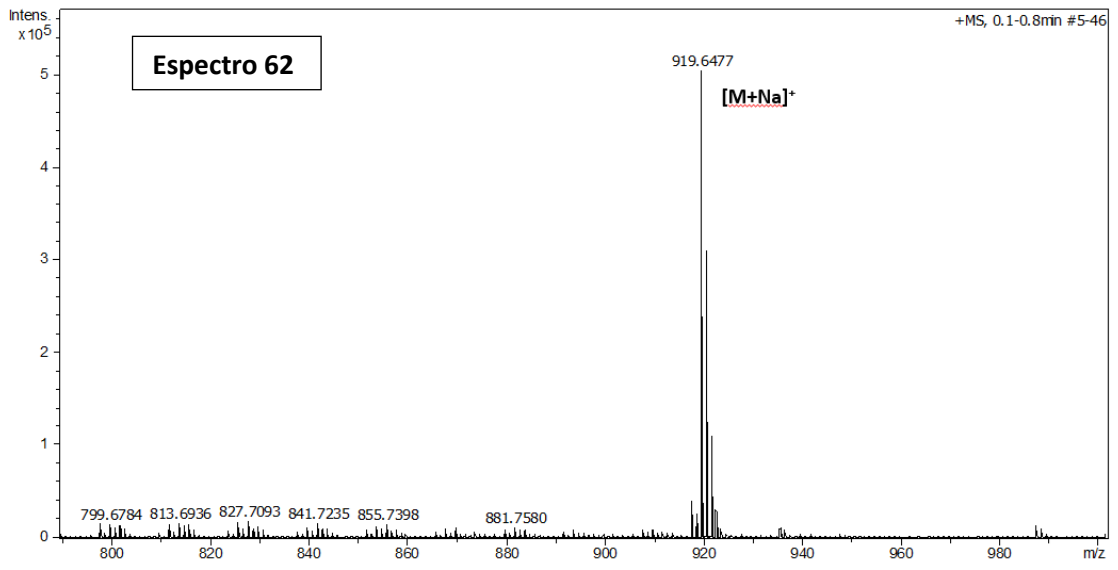


Espectro 60

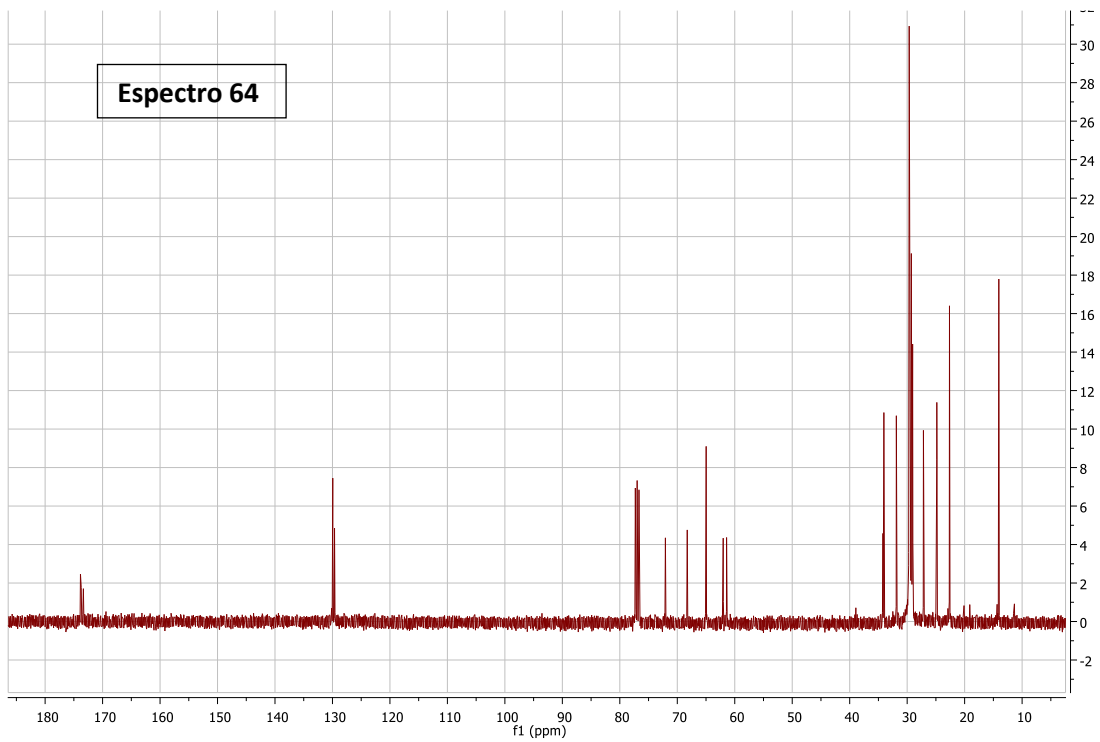
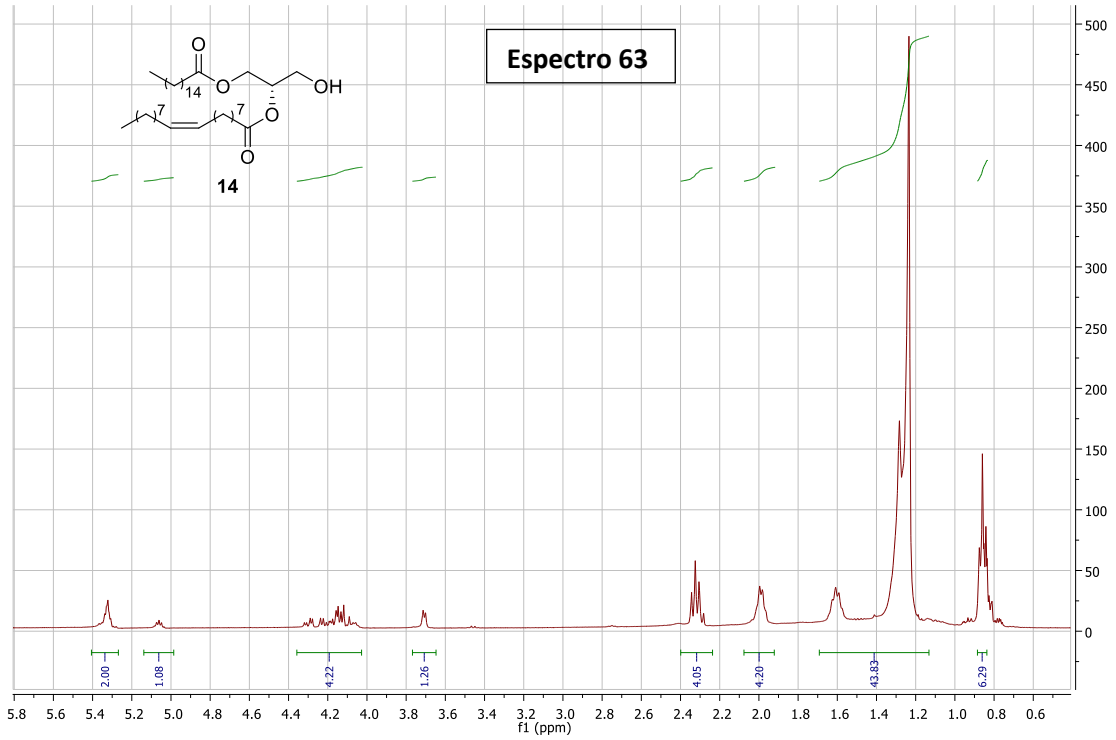


Espectro 61

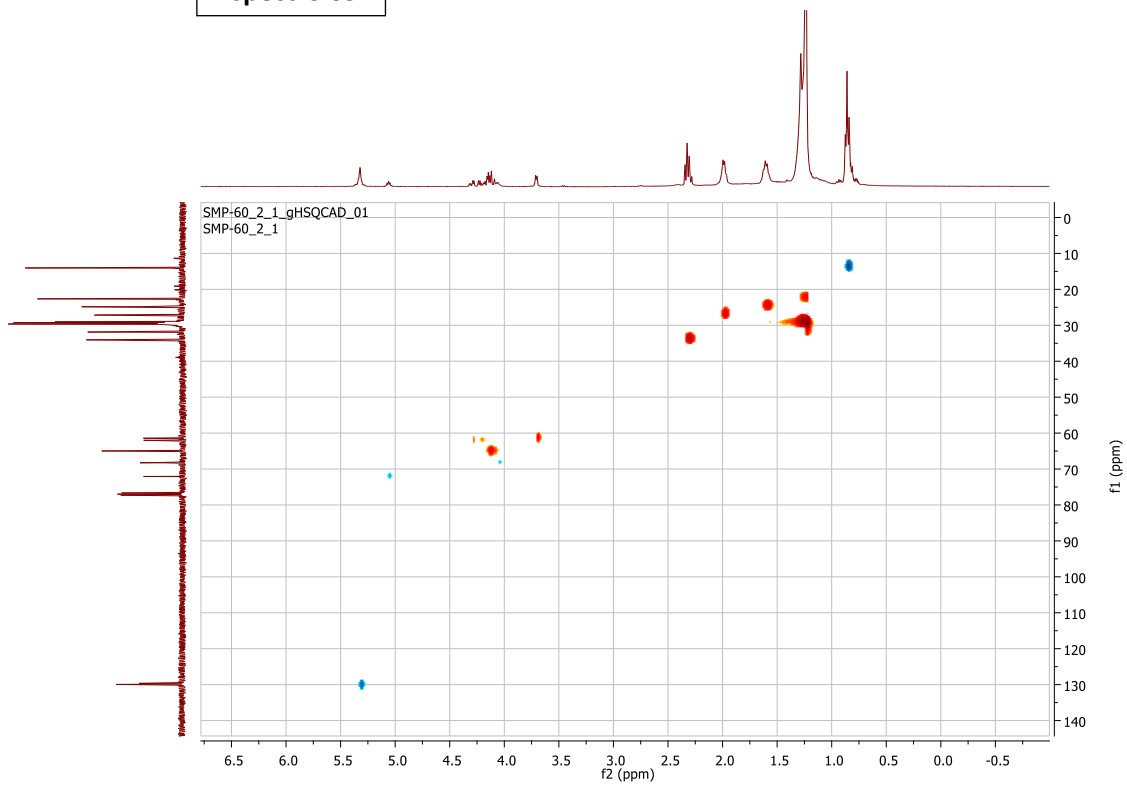




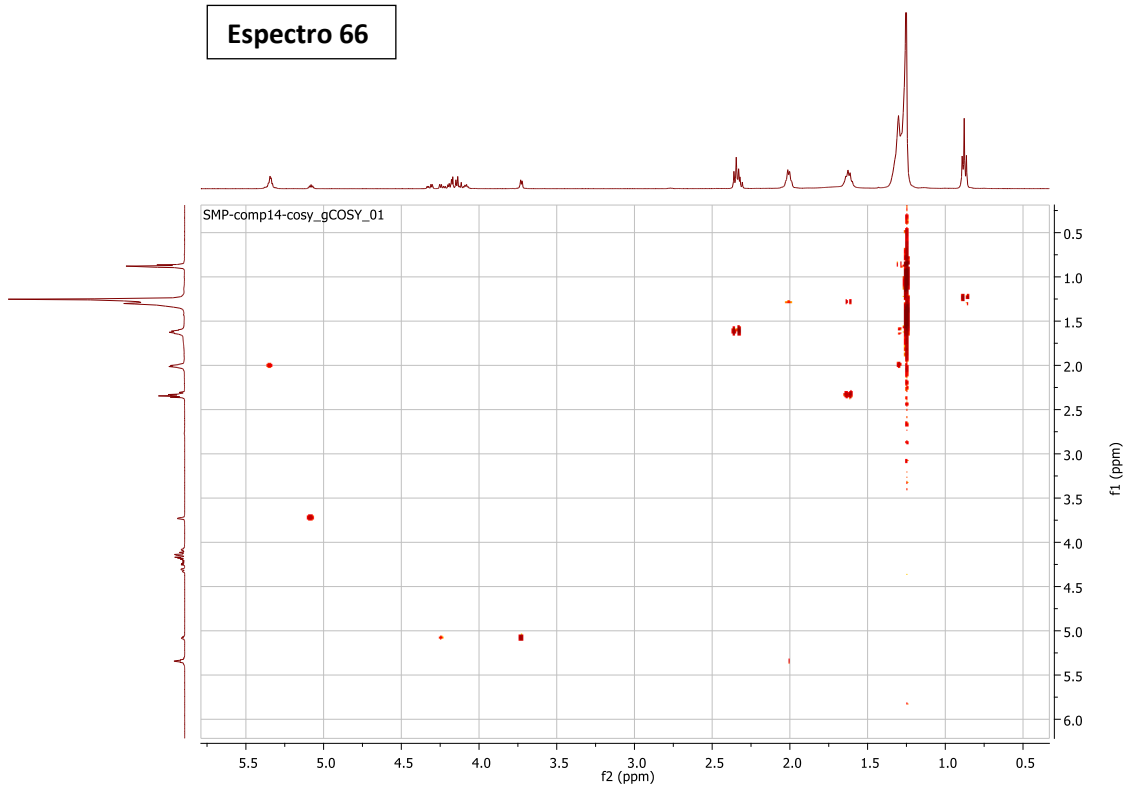
- **Compuesto 14:** oleato de 3-hidroxi-1-palmitoiloxi-2-propanoilo

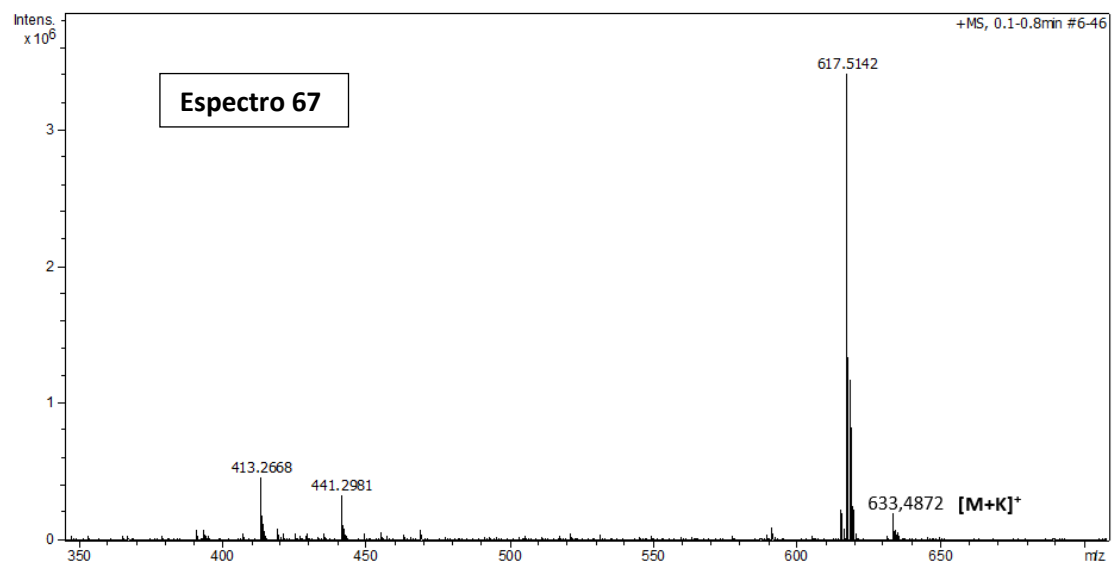


Espectro 65



Espectro 66





10. Bibliografía

1. Astudillo, A. M. *et al.* Occurrence and Biological Activity of Palmitoleic Acid Isomers in Phagocytic Cells. **59**, 237–249 (2017).
2. Guijas, C., Meana, C. & Astudillo, A. M. Foamy Monocytes Are Enriched in cis -7-Hexadecenoic Fatty Acid (16 : 1n-9), a Possible Biomarker for Early Detection of Cardiovascular Article Foamy Monocytes Are Enriched in cis -7-Hexadecenoic Fatty Acid (16 : 1n-9), a Possible Biomarker for Early . 689–699 (2016).
3. Ferguson, M. A. J. & Williams, A. F. Cell-Surface Anchoring of Proteins via Glycosyl-Phosphatidylinositol Structures. *Annu. Rev. Biochem.* **57**, 285–320 (1988).
4. Majerus, P., Connolly, T. & Bansal, V. Inositol phosphates: synthesis and degradation. *J. Biol. Chem.* **263**, 3051–3054 (1988).
5. Bruzik, K. S. & Tsai, M. D. Efficient and systematic syntheses of enantiomerically pure and regiospecifically protected myo-inositols. *J. Am. Chem. Soc.* **114**, 6361–6374 (1992).
6. Lindberg, J., Öhberg, L., Garegg, P. J. & Konradsson, P. Efficient routes to glucosamine-myo-inositol derivatives, key building blocks in the synthesis of glycosylphosphatidylinositol anchor substances. *Tetrahedron* **58**, 1387–1398 (2002).
7. Maryanoff, B. E. & Reitz, A. B. The Wittig olefination reaction and modifications involving phosphoryl-stabilized carbanions. Stereochemistry, mechanism, and selected synthetic aspects. *Chem. Rev.* **89**, 863–927 (1989).
8. Kaltia, J, Matikainen, J, Ala-Peijari, M, Hase, T, Kaltia, S. Synthesis of ethyl 5Z, 9Z,12Z-octadecatrienoate (ethyl pinolenate) and methyl 12Z,15Z-octadecadienoate. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **85**, 561–565 (2008).
9. Thurnhofer, S. & Vetter, W. Synthesis of (S)-(+)-enantiomers of food-relevant (n-5)-monoenoic and saturated anteiso-fatty acids by a Wittig reaction. *Tetrahedron* **63**, 1140–1145 (2007).
10. Mostyn, S. N. *et al.* Synthesis and Characterization of Novel Acyl-Glycine Inhibitors of GlyT2. *ACS Chem. Neurosci.* **8**, 1949–1959 (2017).
11. Kai, K., Kasamatsu, K. & Hayashi, H. (Z)-N-(4-Decenoyl)homoserine lactone, a new quorum-sensing molecule, produced by endobacteria associated with *Mortierella alpina* A-178. *Tetrahedron Lett.* **53**, 5441–5444 (2012).
12. Xu, Y., Tanaka, M., Arai, H., Aoki, J. & Prestwich, G. D. Alkyl lysophosphatidic acid and fluoromethylene phosphonate analogs as metabolically-stabilized agonists for LPA receptors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **14**, 5323–5328 (2004).
13. Dyer, B. S. *et al.* Synthesis and Structure of Phosphatidylinositol Dimannoside. *J. Org. Chem.* **72**, 3282–3288 (2007).
14. D'Arrigo, P. & Servi, S. Synthesis of lysophospholipids. *Molecules* **15**, 1354–1377

- (2010).
15. Lim, Z.-Y., Thuring, J. W., Holmes, A. B., Manifava, M. & Ktistakis, N. T. Synthesis and biological evaluation of a PtdIns(4,5)P₂ and a phosphatidic acid affinity matrix. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* 1067–1075 (2002). doi:10.1039/B200585A
 16. Derouet, D; Piatti, T; Brosse, J. C. Synthèse de polyesters phosphoriques supports de molécules actives. *Eur. Polym. J.* **22**, 963–971 (1986).
 17. Samson.J.N.; Nieuwenhuis.E.; Boesen.J.J.B. Phosphatidylinositol. (Patente) (2013). doi:wo2013/081452
 18. Wewers, W., Gillandt, H. & Schmidt Traub, H. Advances in analysis and synthesis of myo-inositol-derivatives through resolution by crystallisation. *Tetrahedron: Asymmetry* **16**, 1723–1728 (2005).
 19. Bruzik, K. S. & Salamończyk, G. M. Synthesis of the enantiomeric 1,4,5,6-tetra-O-benzyl-myo inositols. *Carbohydr. Res.* **195**, 67–73 (1989).
 20. Pietrusiewicz, K. M., Salamończyk, G. M., Bruzik, K. S. & Wieczorek, W. The synthesis of homochiral inositol phosphates from myo-inositol. *Tetrahedron* **48**, 5523–5542 (1992).
 21. Pecnik, S. & Knez, Z. Enzymatic fatty ester synthesis. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **69**, 261–265 (1992).
 22. Wang, Y. F., Lalonde, J. J., Momongan, M., Bergbreiter, D. E. & Wong, C. H. Lipase-catalyzed irreversible transesterifications using enol esters as acylating reagents: preparative enantio- and regioselective syntheses of alcohols, glycerol derivatives, sugars and organometallics. *J. Am. Chem. Soc.* **110**, 7200–7205 (1988).
 23. Akoh, C. C. Lipase-catalyzed synthesis of partial glyceride. *Biotechnol. Lett.* **15**, 949–954 (1993).
 24. Shi, Z.; Xu, J.; Hong, C.; Liu, D.; Shi, M. *Chem. React. Eng. Technol.* **40**, 1665 (1994).
 25. Hess, R.; Borscheuer, U.; Capewell, A.; Scheper, T. *Enzyme Microb. Technol.* **17**, 725 (1995).
 26. Yu, C. C., Lee, Y. S., Cheon, B. S. & Lee, S. H. Synthesis of Glycerol Monostearate with High Purity. *Bull. Korean Chem. Soc.* **24**, 1229–1231 (2003).
 27. Singh, A. An efficient synthesis of phosphatidylcholines. *J. Lipid Res.* **31**, 1522–1525 (1990).
 28. Traylor, T. G. & Perrin, C. L. The Rates of Methoxyl Exchange of Camphor and Norcamphor Dimethyl Ketals in Methanol-d₄. *J. Am. Chem. Soc.* **88**, 4934–4942 (1966).
 29. Tyurina, Y. Y. *et al.* Lipidomics characterization of biosynthetic and remodeling pathways of cardiolipins in genetically and nutritionally manipulated yeast cells. *ACS Chem. Biol.* **12**, 265–281 (2017).