



---

**Universidad de Valladolid**

Facultad de Ciencias

## **TRABAJO FIN DE GRADO**

Grado en Química

**“SÍNTESIS DE FOSFOMIOINOSITOLIOS PORTADORES DEL ÁCIDO (Z)-7-  
HEXADECENOICO PARA POSTERIOR ESTUDIO DE SU ACCIÓN  
ANTIINFLAMATORIA”**

*Autor: Jorge David Martín Bernardos*

*Tutor/es: Purificación Cuadrado Curto*



## ÍNDICE

1. ABREVIATURAS .....	5
2. RESUMEN / ABSTRACT.....	7
3. INTRODUCCIÓN.....	9
4. PLAN DE TRABAJO.....	13
5. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS.....	17
5.1 Síntesis de derivados de mioinositol .....	17
5.2 Síntesis de ácidos grasos insaturados de estereoquímica (Z).....	19
5.2.1 Hidrogenación de alquinos.....	19
5.2.2 Reacción de Wittig.....	20
5.3 Síntesis de monoacilglicerol.....	21
5.3.1 (2R)-glicidol .....	22
5.3.2 (2R)-solketal .....	23
5.4 Síntesis del glicerofosfomioinositol .....	25
5.5 Trabajos relacionados.....	25
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	29
6.1 Síntesis del derivado de moinositol .....	29
6.2 Síntesis del ácido graso (Z)-7-hexadecenoico.....	33
6.3 Síntesis del monoacilglicerol.....	36
6.4 Síntesis del fosfatidilmioinoistol .....	37
7. CONCLUSIONES .....	41
8. MATERIALES Y MÉTODOS .....	43
9. ANEXO: <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C, HSQC, COSY.....	53
10. BIBLIOGRAFÍA.....	67



## 1. ABREVIATURAS

<b>MAG</b>	Monoacilglicerol
<b>DCC</b>	N, N-diciclohexilcarbodiimida
<b>DIPEA</b>	N, N-diisopropiletilamina
<b>DMAP</b>	4-dimetilaminopiridina
<b>TBDPS-Cl</b>	Cloruro de <i>terc</i> -butildifenilsililo
<b>MOM-Cl</b>	Cloruro de metilmetil éter
<b>p-TsOH</b>	Ácido <i>para</i> -toluensulfónico
<b>THF</b>	Tetrahidrofurano
<b>DMF</b>	N, N-dimetilformamida
<b>16:1 n-9</b>	Ácido (Z)-7-hexadecenico
<b>m-CPBA</b>	Ácido <i>meta</i> -cloroperbenzoico
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>TEA</b>	Trietilamina



## 2. RESUMEN / ABSTRACT

Este Trabajo Fin de Grado tiene como objetivo la optimización de un método sintético completo de glicerofosfolípidos que porten en su posición  $sn_2$  distintos ácidos grasos insaturados. En concreto se trabajará en la síntesis del fosfatidilmioinositol portador del ácido graso (Z)-7-hexadecenoico (16:1 n-9) con el objetivo de estudiar su actividad como posible biomarcador de enfermedades cardiovasculares. Este método se basa en trabajos anteriores para la síntesis de los diferentes fragmentos e incorpora un nuevo procedimiento para el anclaje de estos basado en compuestos de organoestaño.

This Final Project aims to optimize a complete synthetic method of glycerophospholipids that carry different unsaturated fatty acids in their  $sn_2$  position. Specifically, we will work on the synthesis of phosphatidyl mioinositol, carrier of the 16:1 n-9 fatty acid, the (Z)-7-hexadecenoic acid, in order to study its activity as a possible biomarker of cardiovascular diseases. This method is based on previous works for the synthesis of different fragments and incorporates a new procedure for the anchoring of this compounds based on organotin compounds.





### 3. INTRODUCCIÓN

Trabajos de investigación recientes han demostrado la importancia biológica que poseen una familia de ácidos grasos isómeros del ácido palmitoleico (16:1 n-7). En concreto, la actividad antiinflamatoria del ácido graso cis-7-hexadecenoico (16:1 n-9), que puede ser usado como biomarcador para la detección de enfermedades cardiovasculares<sup>[1]</sup>.

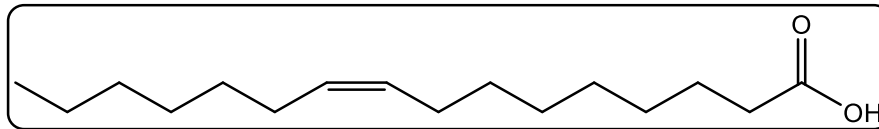


Figura 1: Ácido palmitoleico

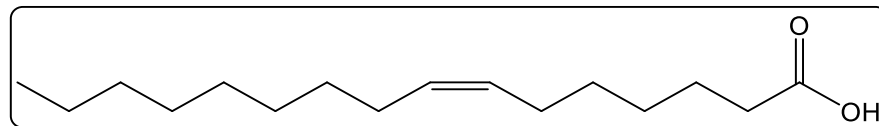


Figura 2: Ácido (Z)-7-hexadecenoico

Cuando se produce una lesión a nivel celular se desencadenan una serie de respuestas con carácter inflamatorio, perfectamente controladas por el organismo, como respuesta inicial y no específica. En la segunda fase, se generan una serie de procesos antiinflamatorios<sup>[2]</sup> mediante la liberación de sustancias bioactivas.

Las células endoteliales liberan varios productos con potencial antiinflamatorio que atraen a los monocitos y facilitan su actividad. De entre todos estos compuestos destaca el ácido araquidónico, aunque también actúan otros ácidos grasos que se liberan como respuesta autoinmune. Cuando los monocitos atraviesan el endotelio se diferencian en macrófagos y se transforman en células espumosas. Se ha demostrado que la exposición de los monocitos al ácido araquidónico resulta en una acumulación de lípidos neutros en las gotas citoplasmáticas dentro de la célula<sup>[4]</sup>.

Trabajos recientes han podido evidenciar que los monocitos están enriquecidos en otro ácido graso poco usual, aunque en menor cantidad, el ácido cis-7-hexadecenoico (16:1 n-9), isómero del palmitoleico (16:1 n-7). Esto resulta en la posibilidad de usar este ácido graso como biomarcador de la formación de monocitos, y, al no estar presente en otros procesos

inflamatorios, de enfermedades cardiovasculares como la aterosclerosis, donde un exceso de macrófagos hace que se depositen en la pared arterial formando las placas ateroscleróticas.

Este ácido graso se sintetiza en las células fagocíticas a través de la  $\beta$ -oxidación del ácido oleico. A diferencia del ácido palmitoleico y del resto de ácidos grasos que están presentes principalmente en forma de fosfolípidos, la mayor parte del 16:1 n-9 se encuentra esterificado en forma de CE (éster de colesterol) y TAG (triacilglicerol)<sup>[1]</sup>.

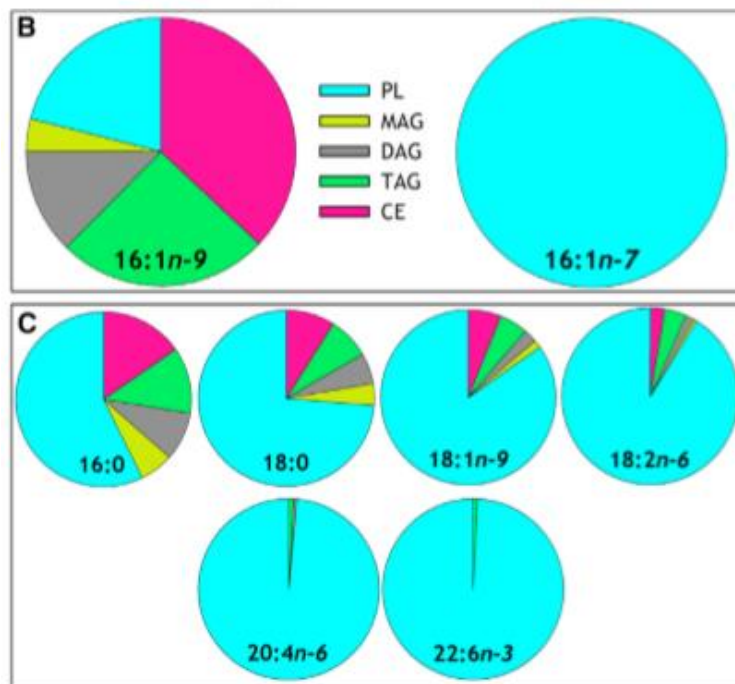


Imagen 1: Distribución de los diferentes ácidos grasos en los monocitos humanos.<sup>[1]</sup>

Sin embargo, cuando es incorporado de forma exógena, las células lo acumulan principalmente en forma de GPL (glicerofosfolípidos)<sup>[3]</sup>.

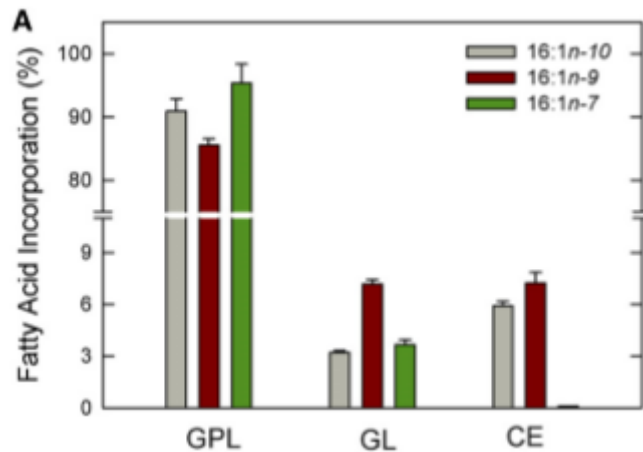


Imagen 2: Incorporación de los isómeros del ácido graso a las células en glicerofosfolípidos (GPL), glicerolípidos (GL) y ésteres de colesterol (CE).<sup>[3]</sup>

Los glicerofosfolípidos se dividen de acuerdo con el alcohol que lleven unido al grupo fosfato, diferenciándose en fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilserina (PS) y fosfatidilinositol (PI). Estos últimos juegan un papel muy importante en el anclaje de proteínas a la superficie celular, por lo que su síntesis resulta de especial interés.

Una vez que el glicerofosfolípido se introduce en la célula, una serie de enzimas se encargan de la hidrólisis de los diferentes enlaces éster para liberar los compuestos. Las enzimas responsables de este proceso son las fosfolipasas<sup>[5]</sup>.

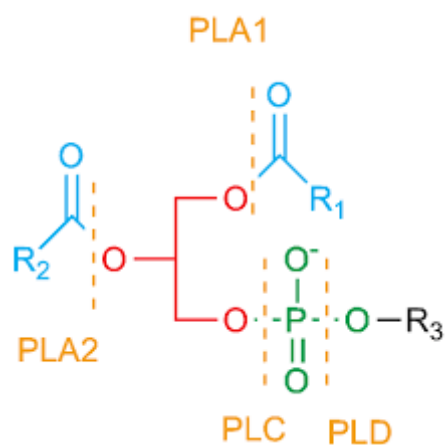


Imagen 3: Diferentes fosfolipasas responsables de la hidrólisis de los enlaces éster de un glicerofosfolípido.

La fosfolipasa responsable de la hidrólisis del enlace de la posición sn<sub>2</sub> es la fosfolipasa 2. Gracias a esta enzima se libera el ácido graso de esa posición haciendo posible el estudio de los efectos que tienen lugar en la célula.

Este trabajo se basará en la síntesis de glicerofosfomioinositol que llevará unido en su posición sn<sub>2</sub> el ácido graso 16:1 n-9, siendo esta ruta sintética válida para cualquier ácido graso insaturado en dicha posición.

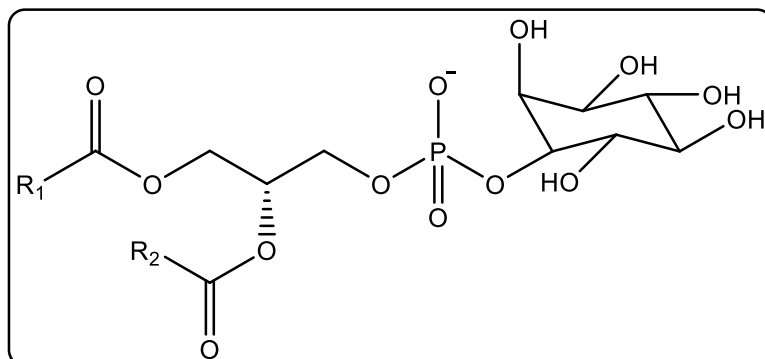


Figura 3: Estructura general de glicerofosfomioinositol.

Han sido diversos los intentos de llevar a cabo la síntesis fosfomioinositales portadores del ácido (Z)-7-hexadecenoico<sup>[6, 7, 8]</sup>, apareciendo sobre el transcurso de los trabajos diferentes trabas que dificultaban la obtención del producto final. Uno de los mayores problemas que ha surgido ha sido la inestabilidad del doble enlace del ácido graso monoinsaturado a la oxidación final del grupo fosfito. El objetivo principal es buscar una ruta alternativa que permita asegurar la integridad de dicho doble enlace.

En este trabajo se aporta un procedimiento experimental que difiere de los anteriores en el anclaje de los compuestos de partida y el orden en el que se realiza.

#### 4. PLAN DE TRABAJO

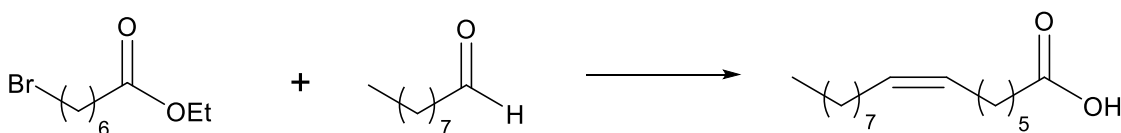
En este Trabajo Fin de Grado se marca como objetivo fundamental el ensayo de procedimientos que permitan ensamblar satisfactoria y secuencialmente los componentes del fosfomioinositol objeto de estudio. En trabajos anteriores se analizaron diferentes estrategias, que no permitieron obtener el fosfoglicerol final.

En cuanto a la síntesis de los compuestos de partida se trabajará empleando los métodos recogidos en anteriores trabajos.

- Síntesis del ácido graso de interés, el ácido (Z)-7-hexadecenoico (16:1 n-9)
- Protección selectiva de los grupos hidroxilo del mioinositol, obteniendo así el derivado con el grupo -OH del carbono-1 libre.
- Síntesis del monoacilglicerol con las posiciones sn<sub>2</sub> y sn<sub>3</sub> libres para el posterior anclaje del (16:1 n-9) y del fosfito de mioinositol respectivamente.

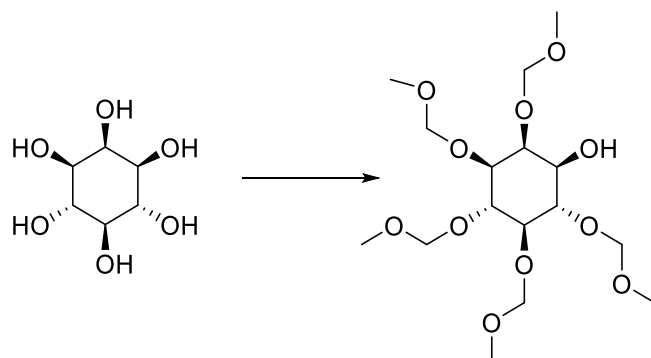
Se ha diseñado un plan de trabajo para poder lograr los objetivos anteriormente mencionados:

1. Síntesis del ácido graso (Z)-7-hexadecenoico mediante una reacción de Wittig partiendo de nonanal y 7-bromoheptanoato de etilo (**Esquema 1**).



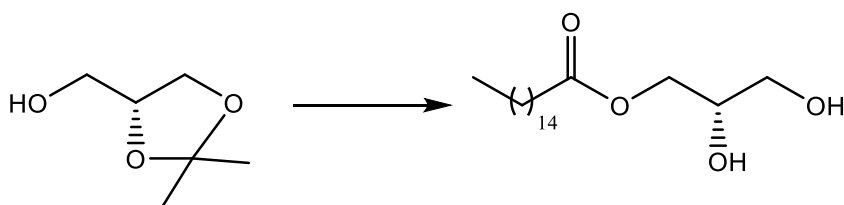
*Esquema 1*

2. Protección selectiva de los grupos hidroxilo del mioinositol (en forma metoximetil eter) dejando libre el -OH del carbono-1 donde se producirá la unión con el fosfito (**Esquema 2**).



Esquema 2

3. Síntesis del monoacilglicerol partiendo de isómero puro del (2R)-solketal mediante una esterificación con el ácido palmítico en la posición sn<sub>1</sub> (**Esquema 3**).

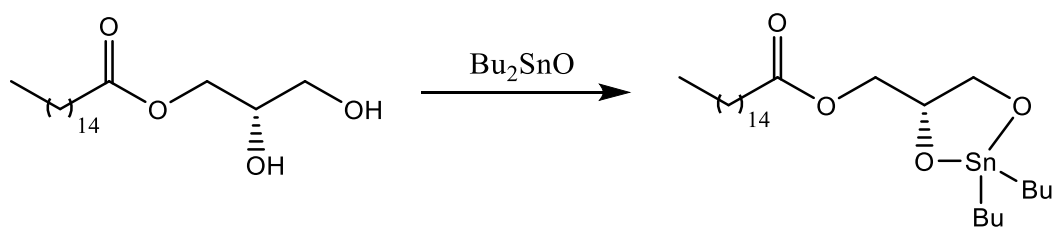


Esquema 3

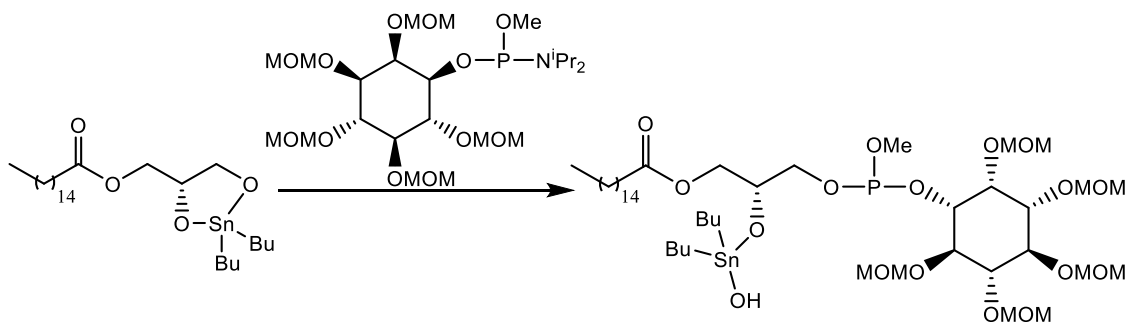
La novedad de este trabajo respecto a los anteriores viene en el anclaje de estos tres compuestos de partida. Uno de los problemas que se ha presentado en la síntesis del glicerofosfomioinositol es que, al introducir primero el ácido graso monoinsaturado, el doble enlace presente en este se veía afectado en la etapa final de oxidación del fosfito con mCPBA, generándose el correspondiente epóxido<sup>[6]</sup>.

Para evitar la oxidación del doble enlace se ha propuesto un procedimiento en el que el ácido graso monoinsaturado se introduce después de realizar la oxidación del fosfito a fosfato.

Se hará reaccionar el monoacilglicerol con óxido de dibutil estaño (**Esquema 4**) seguido de la reacción con el fosfito-inositol (**Esquema 5**) previamente preparado. Esta reacción ocurre de manera regioselectiva en la posición sn<sub>3</sub> del monoacilglicerol. De esta forma la posición sn<sub>2</sub> queda libre para el posterior anclaje del 16:1 n-9.



Esquema 4



Esquema 5

Siguiendo esta ruta sintética, donde el ácido graso monoinsaturado se introduce en la última etapa, se asegura que el doble enlace presente no sufra modificaciones.





## 5. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

### 5.1 Síntesis de derivados de mioinositol

El mioinositol es el inositol conocido más antiguo, fue aislado por primera vez alrededor del año 1850. Es el inositol más abundante en la naturaleza y el único isómero sintetizado *de novo* por la glucosa-6-fosfato<sup>[9]</sup>. En los fosfatidilinositoles el fosfato de inositol se encuentra unido a un diacilglicerol mediante un enlace fosfodiéster. Estos compuestos desarrollan un papel fundamental en la transducción de señales.

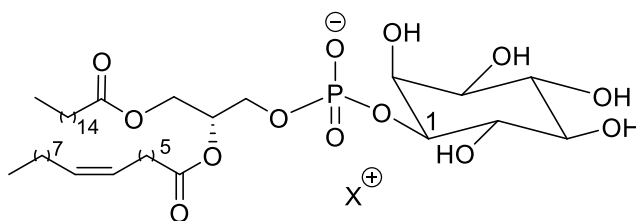


Figura 4: Estructura del glicerofosfomioinositol deseado

El mayor problema de este tipo de síntesis recae en la obtención del isómero protegido y enantioméricamente puro del mioinositol. Se han descrito muchos procedimientos para la síntesis de derivados de mioinositol<sup>[10, 11, 12]</sup>, todos ellos basados en una serie de protecciones y desprotecciones de los diferentes grupos hidroxilo gracias a su diferencia de reactividad, lo que resulta en un proceso experimental complejo con bajos rendimientos.

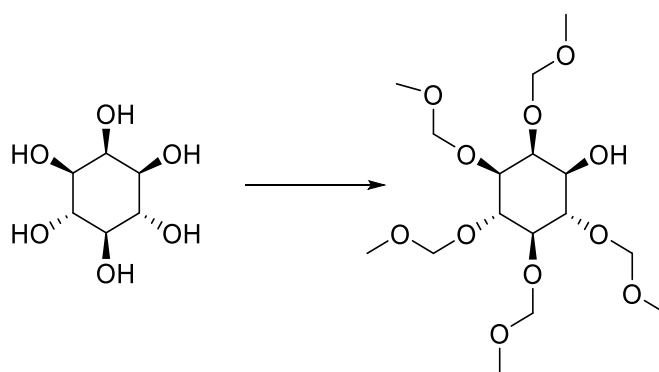
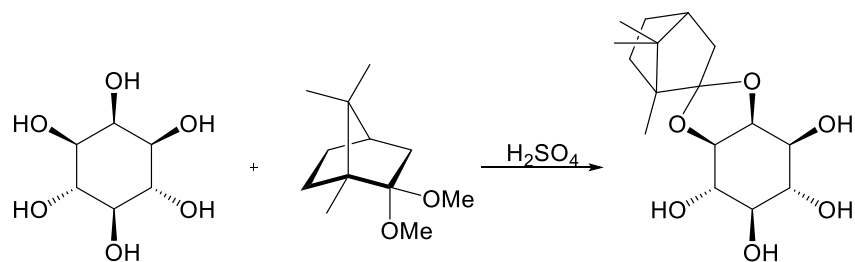


Figura 5: mioinositol protegido

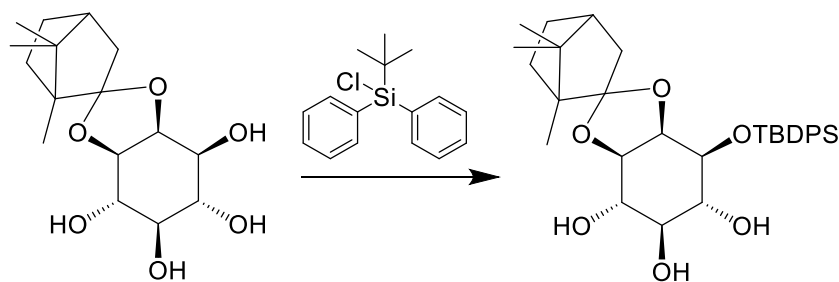
Un compuesto de partida adecuado que simplifica la primera etapa es el 2,3-O(1',7',7'-trimetil[2'.2'.1']bicyclohept-2'-iliden)-mioinositol, sintetizado mediante la reacción del

mioinositol con el 1,1-dimetoxialcanfor, donde los grupos hidroxilo del C-2 y C-3 se protegen en forma de acetal<sup>[10]</sup> (**Esquema 6**).



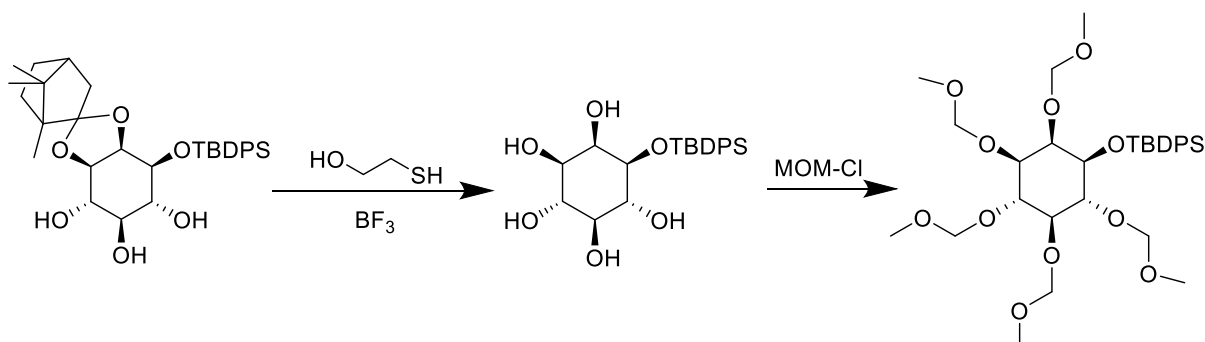
Esquema 6

La siguiente etapa es también una protección regioselectiva, esta vez del grupo hidroxilo de la posición 1. Se emplea un grupo voluminoso, cloruro de *terc*-butildifenilsililo (TBDCS-Cl), que reacciona únicamente con el grupo hidroxilo del C-1<sup>[11]</sup> (**Esquema 7**).



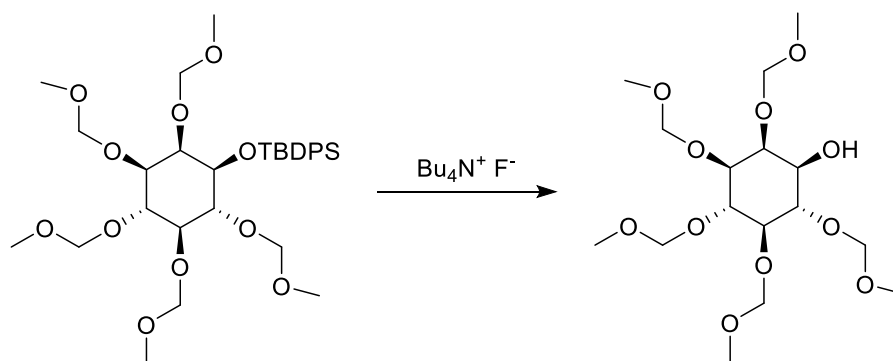
Esquema 7

Una vez se tiene el hidroxilo del C-1 protegido, se elimina el grupo protector diacetal derivado del alcanfor situado en el C-2 y C-3 empleando mercaptoetanol en presencia de un catalizador como  $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$ .<sup>[11]</sup> De esta forma se consigue que estén libres todos los grupos -OH a excepción de aquel en el C-1. Posteriormente se protegen todos los grupos hidroxilo con cloruro de metoximetiléter (MOM-Cl)<sup>[11]</sup> (**Esquema 8**).



Esquema 8

Por último, se emplea  $\text{Bu}_4\text{NF}$  para eliminar el grupo protector *tert*-butildifenilsililo y liberar el -OH del C-1<sup>[11]</sup> (Esquema 9)



Esquema 9

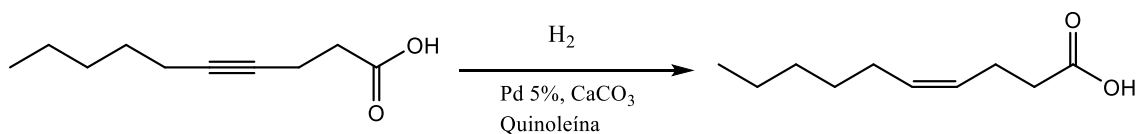
## 5.2 Síntesis de ácidos grasos insaturados de estereoquímica (Z).

No existen muchos métodos para la preparación de ácidos grasos insaturados con estereoquímica (Z). El método más sencillo es mediante una reacción de Wittig, aunque también se puede llevar a cabo mediante hidrogenación de alquinos.

### 5.2.1 Hidrogenación de alquinos

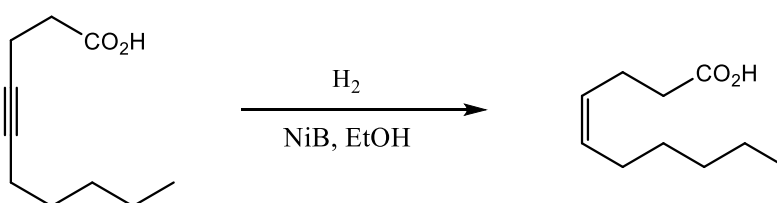
Este método sintético para la preparación de ácidos grasos monoinsaturados *cis* se basa en la reducción selectiva de un alquino para generar un alqueno (Z).

En experimentos recientes<sup>[13]</sup> se ha preparado el ácido (Z)-4-decenoico partiendo del ácido 4-decinoico empleando el catalizador de Lindlar (paladio al 5% sobre carbonato cálcico) (Esquema 10).



Esquema 10

Anteriormente también se había llevado a cabo un procedimiento similar en la síntesis de Leukotrieno B4<sup>[14]</sup>, esta vez se realizó una hidrogenación en presencia de boruro de níquel para controlar la estereoquímica del doble enlace en las posiciones 6 y 14 (**Esquema 11**).

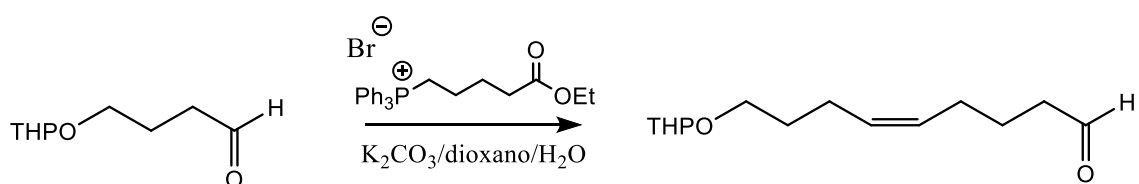


Esquema 11

### 5.2.2 Reacción de Wittig

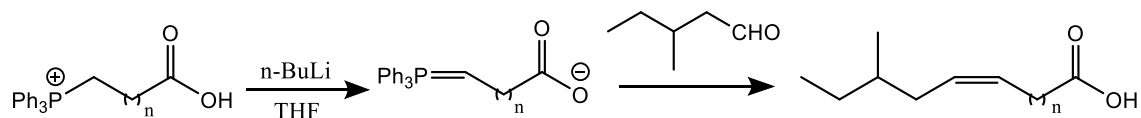
La reacción de Wittig es una reacción muy extendida y se da entre un grupo carbonilo (aldehído o cetona) y un iluro de fósforo generando un alqueno de estereoquímica (Z).

En cuanto a ácidos grasos y derivados, esta reacción se ha probado de forma satisfactoria en la síntesis de 9-(tetrahidropiran-2-iloxi)-(5Z)-nonanoato de etilo, partiendo de la sal de fosfonio derivada de 5-bromopentanoato de etilo y el correspondiente aldehído<sup>[15]</sup> (**Esquema 12**).



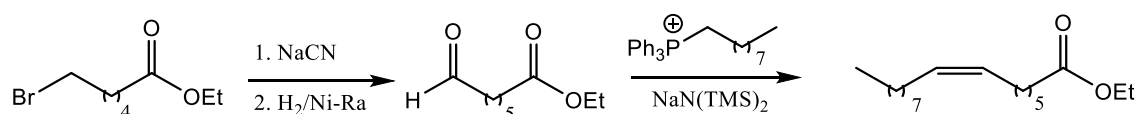
Esquema 12

La estereoselectividad característica de esta reacción también se mantiene cuando se emplean aldehídos más ramificados. Es el caso de la síntesis de los ácidos 14-metilhexadecenoico y 12-metilhexadecenoico. Estos ácidos grasos ramificados se preparan a partir del 3-metilpentanal y el iluro de fósforo del carboxilato correspondiente<sup>[16]</sup> (**Esquema 13**).



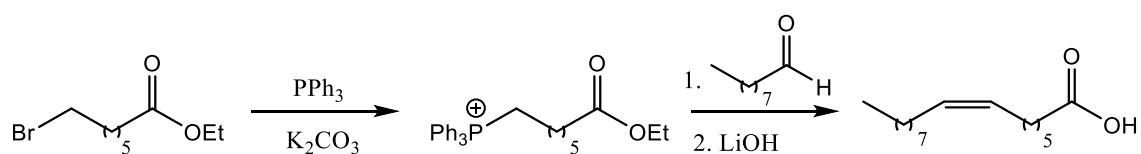
Esquema 13

Para el ácido graso de interés en este trabajo, el ácido (Z)-7-hexadecenoico, existe un procedimiento sintético descrito en la bibliografía<sup>[17]</sup>. Se parte del 6-bromohexanoato de etilo que se transforma en 7-oxoheptanoato de etilo empleando, primero NaCN para generar el nitrilo, y después, H<sub>2</sub>/Ni-Ra para reducirlo al correspondiente aldehído. Este compuesto se hace reaccionar con el yuro de fósforo para proporcionar el ácido 16:1 n-9 (Esquema 14).



Esquema 14

Un método alternativo para la preparación del 16:1 n-9 ha sido llevado a cabo por nuestro grupo de investigación, proporcionando resultados muy satisfactorios. Se parte de 7-bromoheptanoato de etilo y se forma la sal de fosonio correspondiente. A continuación, se hace reaccionar la sal de fosonio con nonanal seguido de la hidrólisis del éster para formar el ácido deseado (Esquema 15).



Esquema 15

### 5.3 Síntesis de monoacilglicerol.

La importancia de esta etapa radica en la síntesis del isómero puro del monoacilglicerol con la regioquímica y estereoquímica adecuadas. La preparación de un monoacilglicerol partiendo directamente del glicerol tiene el inconveniente de que la acilación puede ocurrir en cualquiera de los tres grupos hidroxilo. Por lo que se debe realizar una esterificación regioselectiva que nos asegure la introducción del ácido graso en la posición correcta.

Los dos métodos más repetidos en la bibliografía parten del (2R)-glicidol o del (2R)-solketal, aunque también existen otros compuestos de partida descritos para la síntesis de lisofosfolípidos<sup>[21]</sup>.

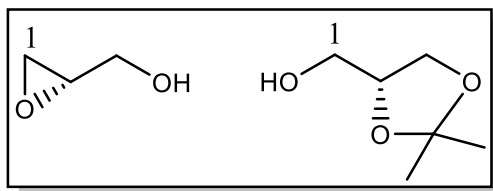
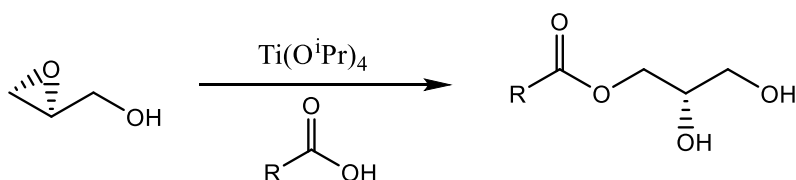


Figura 6: Estructuras del (2R)-glicidol y (2R)-solketal.

### 5.3.1 (2R)-glicidol

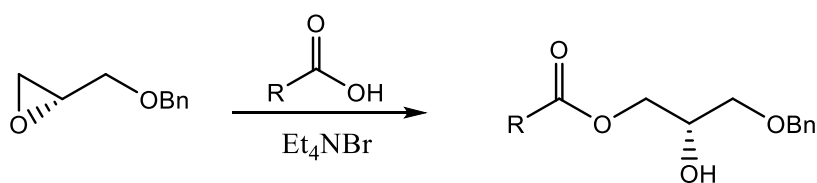
EL objetivo es la esterificación en la posición  $sn_1$ . Existen diferentes metodologías que parten de este derivado de oxirano.

- Apertura nucleofílica de epóxidos asistida por titanio<sup>[18]</sup>. Se produce la apertura del epóxido por un nucleófilo, en este caso el anión carboxilato del ácido graso de interés, utilizando isopropóxido de titanio. En este caso se parte del enantiómero (S) del glicidol (**Esquema 16**).



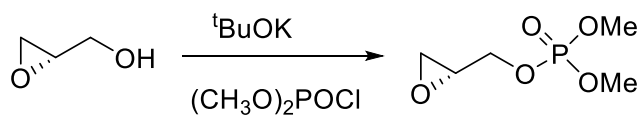
Esquema 16

- Usando bromuro de tetraetilamonio como catalizador para introducir el ácido graso de interés en la posición  $sn_1$ <sup>[19]</sup> (**Esquema 17**).



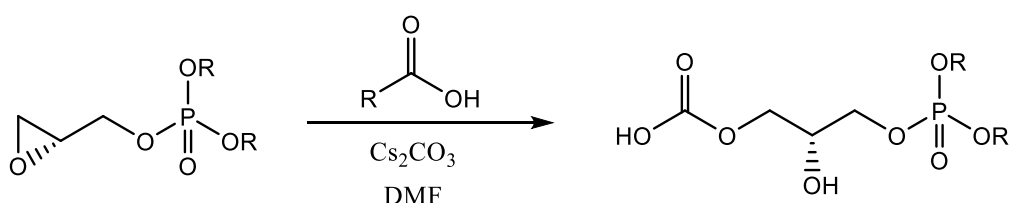
Esquema 17

- Haciendo reaccionar (2R)-glicidol con cloruro de dimetilfosfonio en presencia de *tert*-butóxido potásico, proporcionando el derivado de fosfato en posición 3<sup>[20]</sup> (**Esquema 18**).



*Esquema 18*

- Apertura regioselectiva del epóxido en medio básico utilizando carbonato de cesio<sup>[21]</sup> (**Esquema 19**).



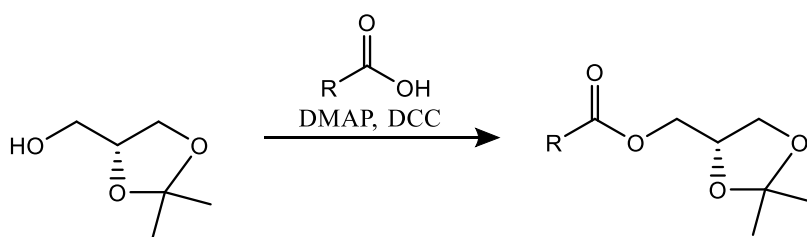
*Esquema 19*

Las síntesis mencionadas posibilitan la incorporación regioselectiva del ácido graso en la posición  $sn_1$ . En nuestro caso el ácido graso que se incorpora en esta posición sería el ácido palmítico ( $C_{16}H_{32}O_2$ ).

### 5.3.2 (2R)-solketal

El uso de 1,2-O-isopropiliden glicerol, más conocido como (2R)-solketal es el más extendido en la preparación de monoacilgliceroles, ya que permite el acceso directo al grupo hidroxilo de la posición 1. Una vez se introduce el ácido graso en la posición  $sn_1$  se lleva a cabo la desprotección de los otros dos grupos hidroxilo que quedan libres para reacciones posteriores.

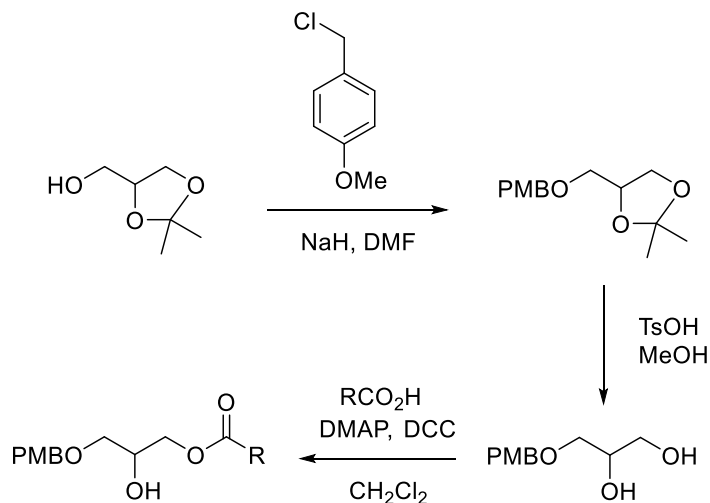
Uno de los métodos para introducir el ácido graso en la posición  $sn_1$  parte del isómero puro del (2R)- solketal que reacciona con el ácido en presencia de dimetilaminopiridina (DMAP) y dicitclohexilcarbodiimida (DCC)<sup>[22]</sup> (**Esquema 20**).



Esquema 20

La síntesis del monoacilglicerol empleando (2R)-solketal es la más utilizada debido a la facilidad para introducir el ácido graso en la posición  $sn_1$ , ya que las otras dos posiciones se encuentran protegidas.

Otro método, que también parte del (2R)-solketal para generar un monoacilglicerol, es tratarlo con cloruro de 4-metoxibencilo en medio básico para proteger el grupo hidroxilo de la posición  $sn_1$ <sup>[23]</sup>. Después se procede a la apertura del acetal empleando ácido p-toluenosulfónico para introducir posteriormente el ácido graso en la posición  $sn_3$ . De esta forma queda libre el -OH de la posición  $sn_2$  para introducir otro ácido graso (**Esquema 21**).



Esquema 21

Otros métodos para la preparación de monoacilgliceroles se basan en el uso de enzimas para catalizar la reacción<sup>[24]</sup>, sin embargo, en este trabajo no se utilizará ninguna enzima.

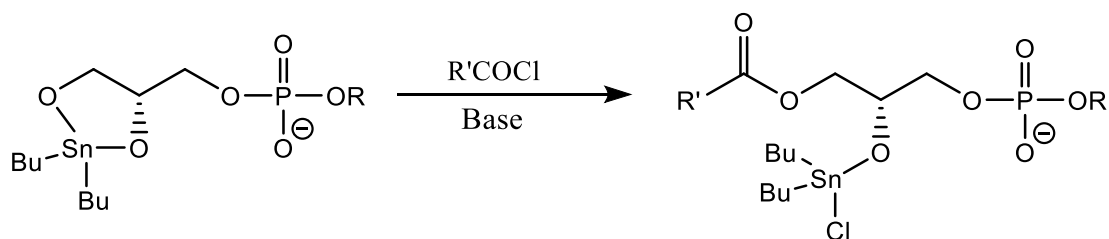


## 5.4 Síntesis del glicerofosfomioinositol

Vistos los problemas que se presentaban en trabajos anteriores en la realización de esta etapa, se ha desarrollado otra ruta donde la incorporación del ácido graso insaturado sea posterior a la oxidación del grupo fosfito.

Uno de los mayores problemas a la hora de realizar este procedimiento es la diferenciación entre los dos grupos hidroxilo del monoacilglicerol. Un buen método para llevar a cabo la monoacilación de dioles es mediante el empleo de derivados de organoestaño<sup>[26]</sup>.

El tratamiento del monoacilglicerol con óxido de dibutilestaño constituye una buena alternativa a lo visto anteriormente, ya que el acoplamiento con el fosfito-derivado ocurre de manera regioselectiva en la posición menos sustituida (sn<sub>3</sub>). Este hecho se ha comprobado en la síntesis de lisofosfolípidos<sup>[27-29]</sup>, produciéndose la esterificación del ácido graso en la posición menos sustituida (**Esquema 22**).

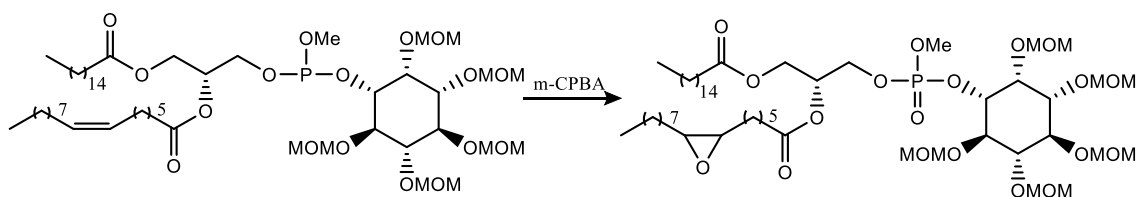


Esquema 22

## 5.5 Trabajos relacionados.

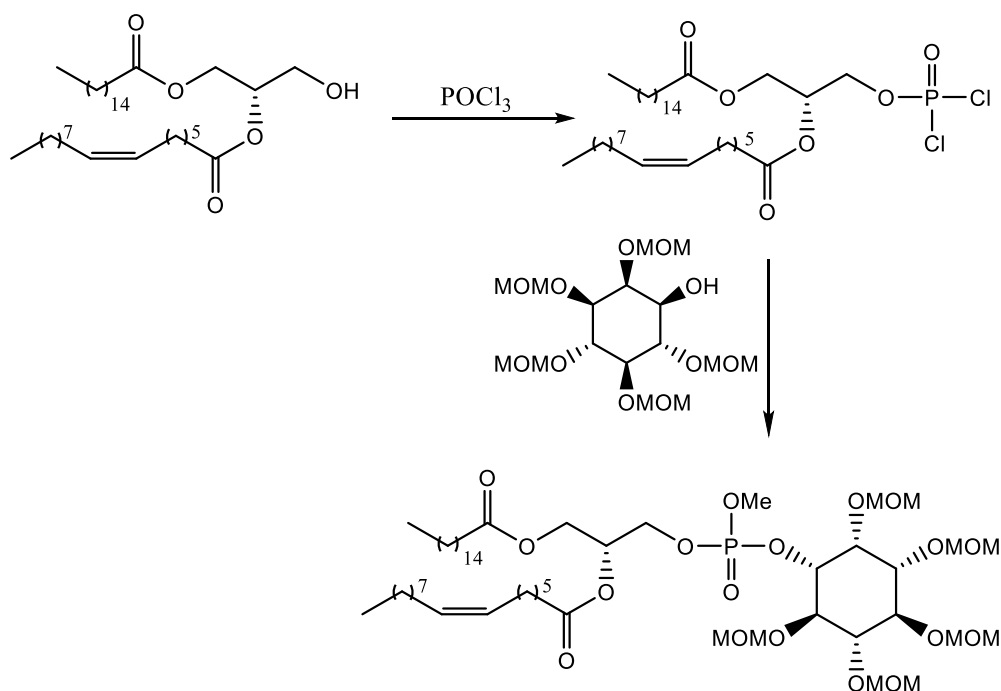
La síntesis de glicerofosfomioinositoles portadores del ácido graso 16:1 n-9 ha sido objeto de estudio por nuestro grupo de investigación, proponiendo diversos métodos sintéticos que no han llegado a funcionar de la manera que se esperaba. Así como la preparación de los compuestos iniciales es algo ya estudiado y aplicable a escala de laboratorio proporcionando resultados aceptables, la etapa de ensamblaje ha sido la principal dificultad a la hora de poder conseguir el objetivo.

En primer lugar se realizó una síntesis en la que la incorporación del 16:1 n-9 era posterior a la oxidación del grupo fosfito<sup>[6]</sup>. Debido a este hecho, el doble enlace presente en el ácido graso sufría una transformación, donde se convertía en el correspondiente epóxido al usar ácido metacloroperbenzoico como agente oxidante (**Esquema 23**).



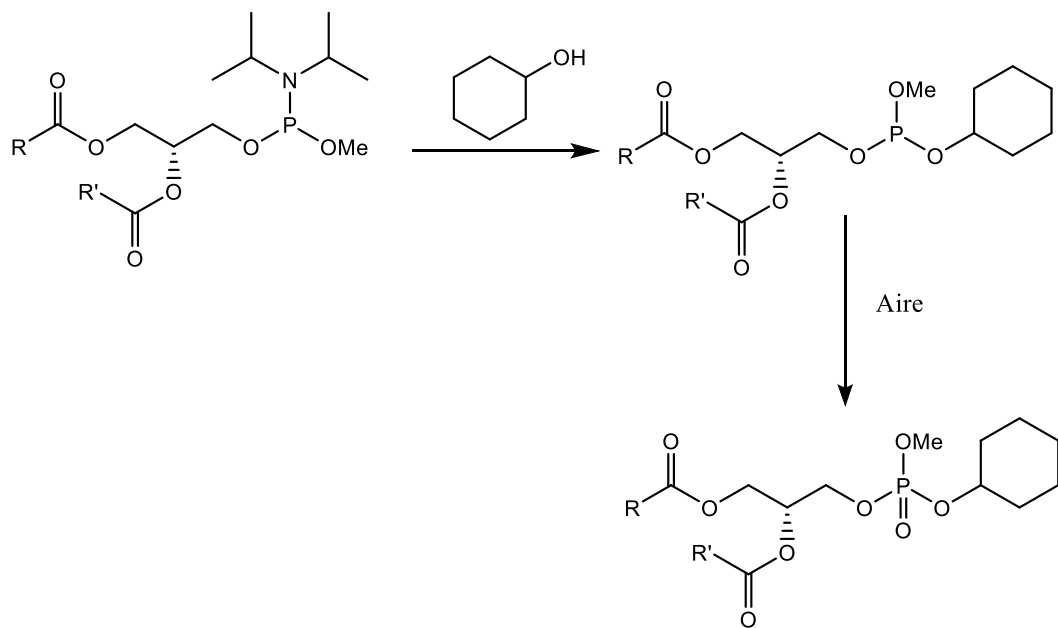
Esquema 23

Al observar este hecho, se trató de desarrollar un camino donde no fuera necesario el paso de la oxidación del grupo fosfito, introduciendo dicho grupo en el diacilglicerol directamente en forma de fosfato, empleando cloruro de fosforilo ( $\text{POCl}_3$ ) seguido de la incorporación del derivado de mioinositol<sup>[7]</sup>. En este trabajo no se pudo obtener resultados concluyentes, por problemas asociados a la caracterización del producto final obtenidos con rendimientos muy bajos para poder considerarlo como procedimiento sintético, probablemente debido a la menor reactividad del fosfato frente al fosfito (**Esquema 24**).



Esquema 24

En el último intento realizado, se volvió a la idea primera de introducir el fosfito y oxidarlo posteriormente. Gracias a los espectros de IR y  $^{31}\text{P}$  RMN se comprobó que la oxidación del fosfito ocurría al aire<sup>[8]</sup>, pudiendo obviar la etapa final de oxidación, y con ello la posible epoxidación del doble enlace presente en el ácido graso. Este procedimiento se llevó a cabo empleando ciclohexanol como derivado del mioinositol y únicamente sirvió para la caracterización del fosfato, ya que transcurrió con un rendimiento muy bajo (**Esquema 25**).



Esquema 25



## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Síntesis del derivado de mioinositol

La preparación del derivado de mioinositol requiere de sucesivas etapas de protección y desprotección hasta llegar al compuesto con todos los grupos hidroxilo protegidos excepto el de la posición 1, donde posteriormente se acoplará el grupo fosfato.

Primero se realiza la protección selectiva de las posiciones 2 y 3 del mioinositol. Para este primer paso se usa como agente protector el dimetilacetal derivado del alcanfor, preparado a partir del D-alcanfor con buenos rendimientos.<sup>[10]</sup> (**Esquema 26**).



Esquema 26

El uso de este grupo protector es ventajoso respecto a otros grupos (como ciclohexanona), ya que introduce quiralidad a la molécula y elimina la necesidad de realizar una resolución más adelante.

La reacción del dimetilacetal del alcanfor con mioinositol en presencia de ácido sulfúrico concentrado lleva a la formación de una mezcla de isómeros. Estos isómeros se separan por recristalizaciones sucesivas, ya que afortunadamente, el isómero deseado es el menos soluble de los cuatro que se forman<sup>[30,31]</sup>.

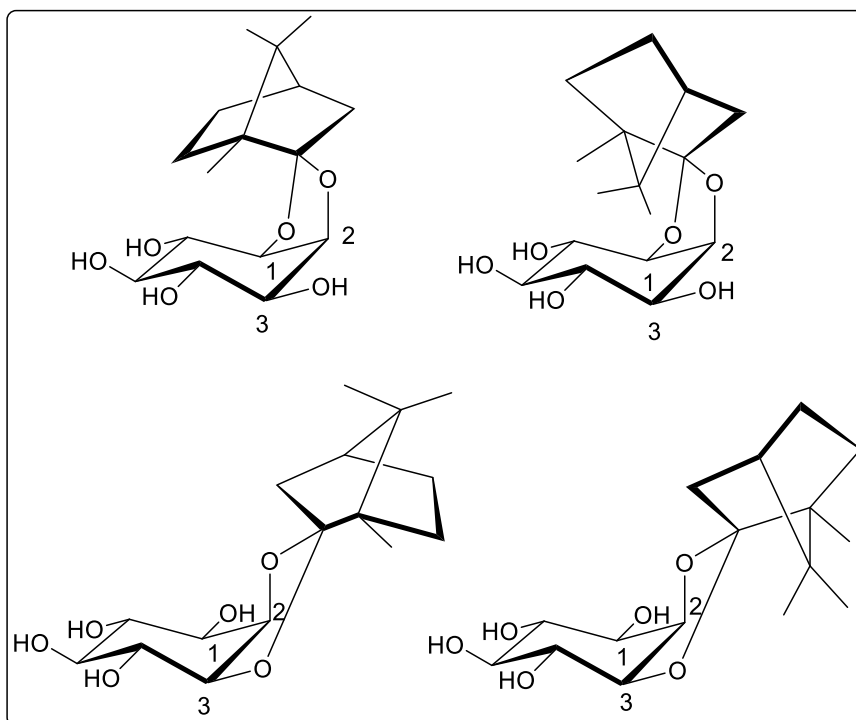


Figura 7: Distintos isómeros producidos en la reacción de transcetalización.

La formación de estos cuatro isómeros y la necesidad de separar el deseado mediante recristalizaciones hace que el rendimiento de esta etapa sea bajo (no supera el 30%), siendo así la etapa limitante de toda la síntesis. (Esquema 27).

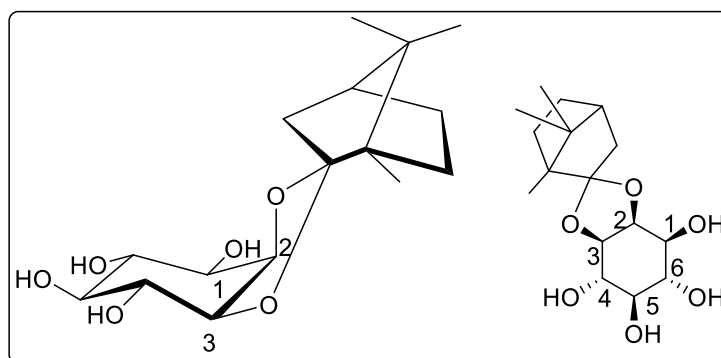
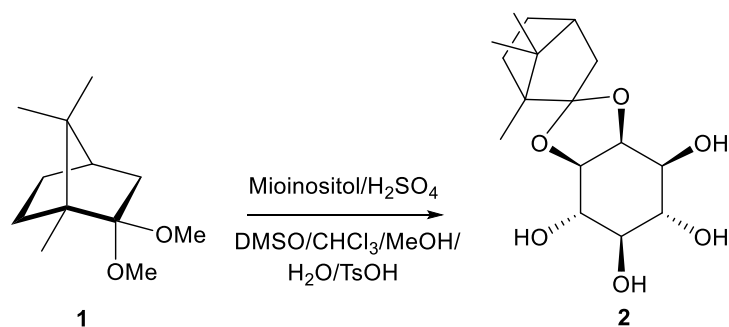


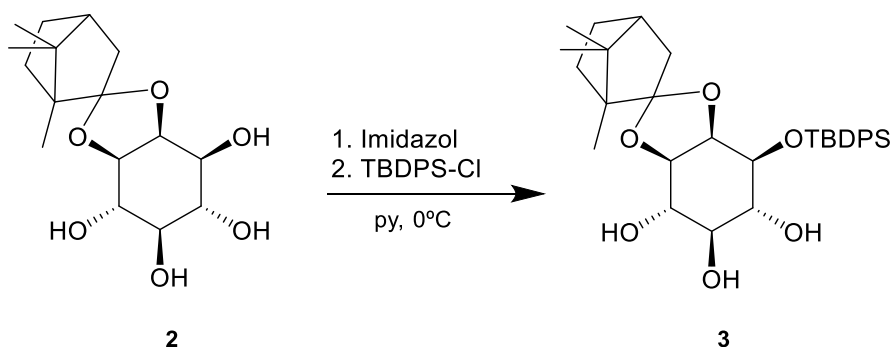
Figura 8: Estructura del isómero deseado.



*Esquema 27*

Al ser esta la etapa limitante, es uno de los puntos a mejorar para poder incrementar el rendimiento total de la síntesis. La primera recristalización se realiza en MeOH con un 0,1% de Et<sub>3</sub>N y las posteriores en una mezcla de MeOH/H<sub>2</sub>O (1:1) con un 0,1% de Et<sub>3</sub>N.

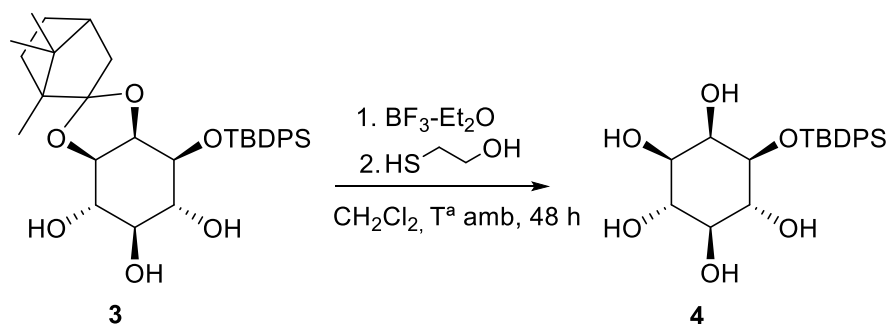
La segunda etapa es el tratamiento de **2** con TBDPS-Cl para formar **3** (**Esquema 28**) mediante su incorporación regioselectiva en la posición 1 y derivatización del grupo hidroxilo en un sili-derivado<sup>[11]</sup>. Solo los grupos muy voluminosos pueden acoplarse de forma regioselectiva en esta posición, mientras que grupos menos voluminosos pueden reaccionar en otras posiciones formando una mezcla de isómeros no deseados<sup>[11]</sup>. Otra ventaja de utilizar este grupo protector es la estabilidad frente a la hidrólisis para eliminar el grupo protector derivado del alcanfor en etapas posteriores.



*Esquema 28*

Es importante destacar que el compuesto **2** debe someterse a procesos de secado para estar completamente anhidro, ya que la presencia de agua hace que disminuya el rendimiento. Otro aspecto a tener en cuenta es que este tipo de reacciones aumentan su selectividad cuando se llevan a cabo a una temperatura de entre 0 y -2 °C.

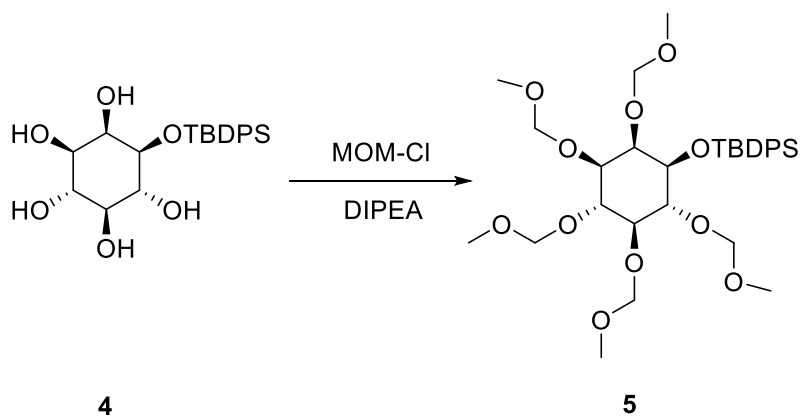
Teniendo en cuenta que el objetivo es transformar los grupos hidroxilo de las posiciones 2, 3, 4, 5, y 6 de la misma forma, se elimina en esta etapa el grupo protector del dimetilacetal del alcanfor. Esta desprotección se lleva a cabo mediante una transcetalización ácido-catalizada. Se trata el compuesto **3** con 2-mercaptoetanol y  $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$  para generar el compuesto **4**<sup>[11]</sup> (Esquema 29).



*Esquema 29*

Sin embargo, el uso de  $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$  proporcionaba unos rendimientos muy pobres, impidiendo obtener el producto deseado en varias ocasiones. Debido a este hecho se sustituyó por  $\text{BF}_3\text{-CH}_3\text{CN}$  lo que resultó de forma satisfactoria. El subproducto monotoioacetal del alcanfor se elimina fácilmente mediante columna cromatográfica.

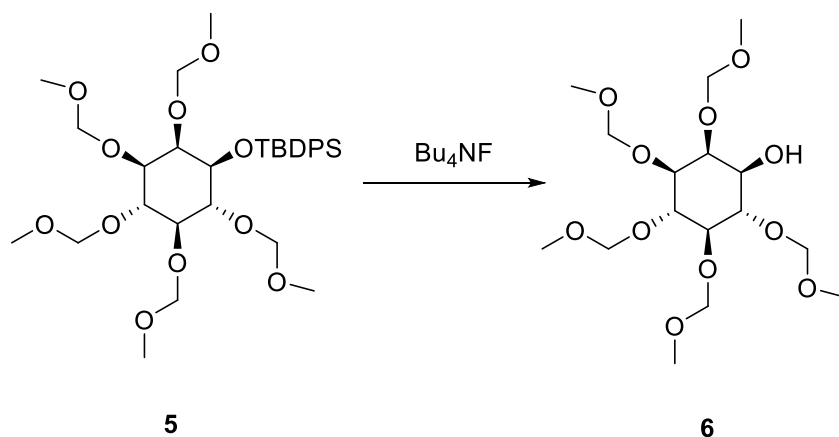
Posteriormente se procede a la protección de los grupos hidroxilo libres en forma de metilmetiléter (MOM), empleando cloruro de metilmetiléter y DIPEA, generándose así el compuesto **5**<sup>[11]</sup> (Esquema 30). El uso del grupo MOM proporciona una alta estabilidad posicional y una fácil desprotección en presencia de grupos fosfoéster y acilo<sup>[11]</sup>.



*Esquema 30*



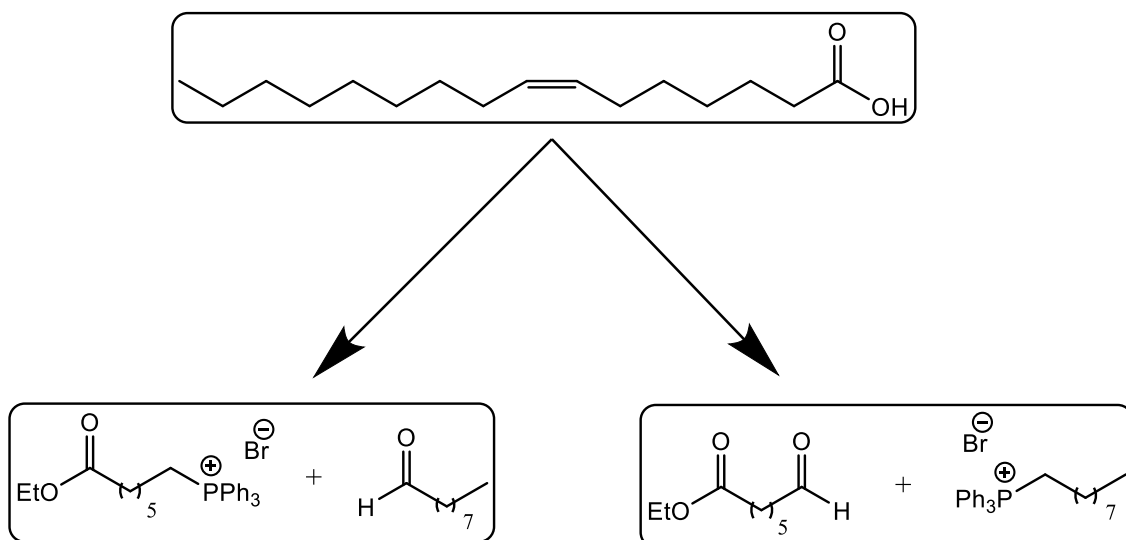
La última etapa de esta parte es la desprotección del grupo hidroxilo de la posición 1 que se encuentra en forma de silil derivado. Se trata **5** con  $\text{Bu}_4\text{NF}$  para proporcionar **6**<sup>[11]</sup>, el derivado de mioinositol con el hidroxilo de la posición 1 libre donde se producirá el anclaje con el grupo fosfato (**Esquema 31**).



*Esquema 31*

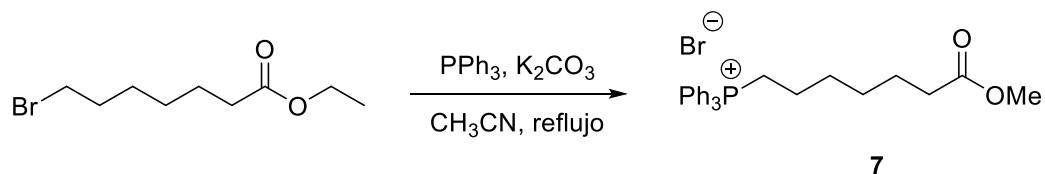
## 6.2 Síntesis del ácido graso (Z)-7-hexadecenoico.

Para la preparación de ácidos grasos monoinsaturados con estereoquímica cis se han propuesto dos rutas sintéticas basadas en la bibliografía. Mediante hidrogenación de alquinos<sup>[13,14]</sup> y mediante la reacción de Wittig empleando iluros de fósforo no estabilizados<sup>[15-17]</sup>. En este caso, para la síntesis del ácido graso 16:1 n-9 se lleva a cabo una reacción de Wittig existiendo dos caminos alternativos (**Esquema 32**). El más accesible parte del 7-bromoheptanoato de etilo y nonanal ya que ambos son productos comerciales.



Esquema 32

La primera etapa de esta síntesis es la formación de la sal de fosfonio procedente de la reacción entre el 7-bromoheptanoato de etilo y trifetilfosfina. Se produce un ataque nucleófilo del par electrónico del fósforo al carbono donde se sitúa el bromo, provocando su desplazamiento. Es importante que la trifetilfosfina se encuentre en condiciones anhidra para que el rendimiento de la reacción no se vea afectado (**Esquema 33**).

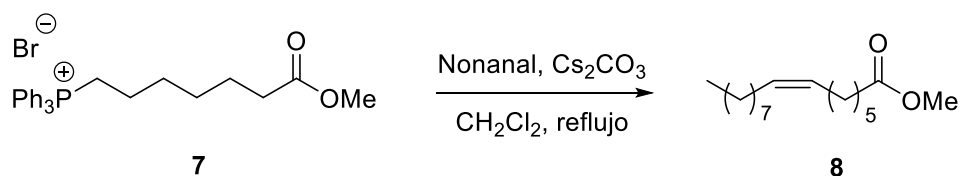


Esquema 33

En la purificación de este compuesto mediante columna cromatográfica empleando como eluyente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (20:1) se produce una transesterificación parcial debido al metanol formándose el éster metílico. Sin embargo, este hecho no presenta ningún inconveniente puesto que el producto final es el ácido carboxílico.

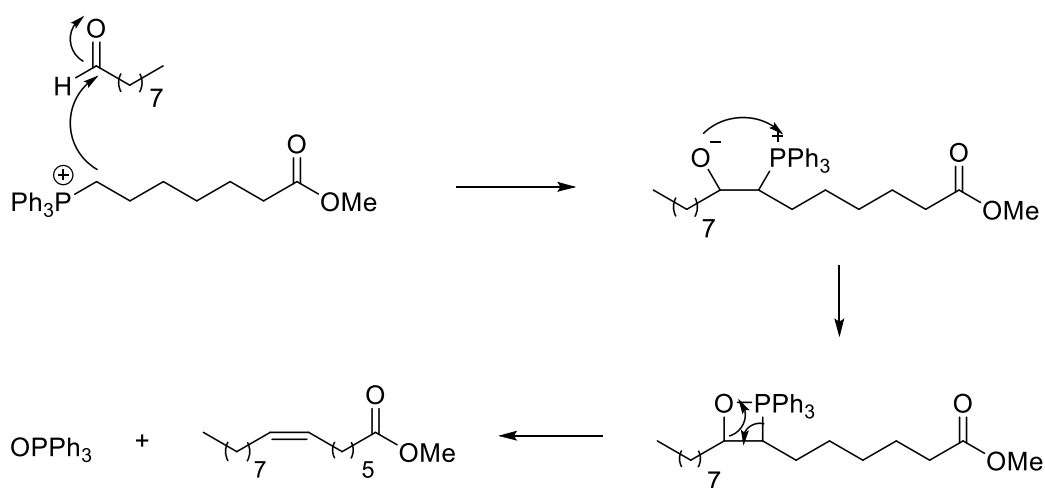
En esta reacción es posible realizar la purificación del compuesto mediante sucesivos lavados con heptano, eliminando así el exceso de  $\text{PPh}_3$ . De esta forma se evita el tener que llevar a cabo una purificación por columna cromatográfica.

La reacción de la sal de Wittig, **7**, con nonanal en presencia de carbonato de cesio produce el alqueno Z (**Esquema 34**). Al usar como base carbonato de cesio, se evita el uso de bases más fuertes y peligrosas.



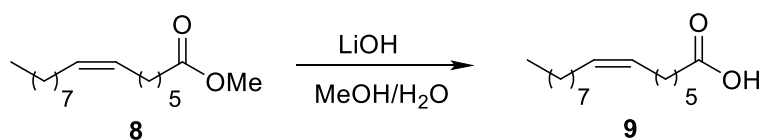
*Esquema 34*

Esta reacción transcurre a través de un mecanismo que comienza con el ataque nucleófilo del carbono contiguo al iluro sobre el carbono carbonílico del nonanal. Se genera un intermedio de reacción en el que el oxígeno ataca al fósforo produciéndose otro intermedio, esta vez cíclico. Por último, se elimina oxido de trifenilfosfina mediante una β-eliminación, formándose así el doble enlace cis (**Esquema 35**).

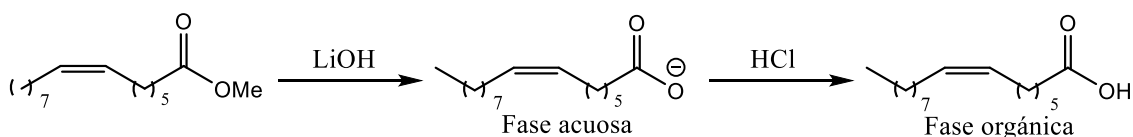


*Esquema 35*

Finalmente, se realiza la saponificación del éster monoinsaturado, **8**, utilizando hidróxido de litio como base y, mediante sucesivas extracciones, se obtiene el ácido graso deseado, **9** (**Esquema 36**). Es importante eliminar todo el disolvente orgánico, en este caso metanol, antes de empezar con las extracciones, ya que actúa de cosolvente impidiendo la formación de las dos fases.



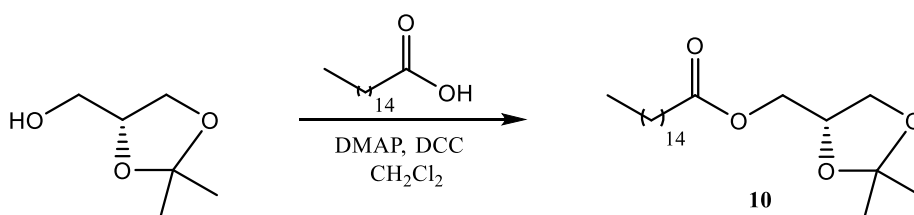
Esquema 36



### 6.3 Síntesis del monoacilglicerol.

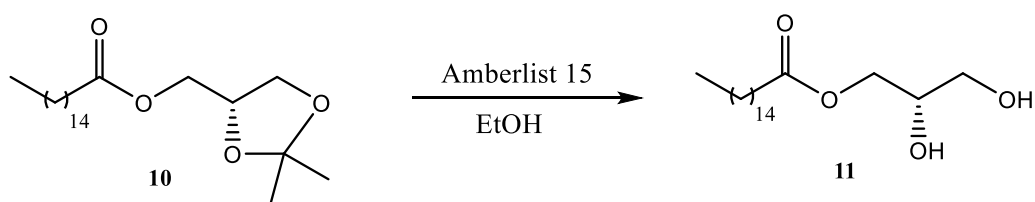
Uno de los mayores problemas de la síntesis de acilglicéridos es la diferenciación regioselectiva de los grupos hidroxilo. En la bibliografía se han propuesto distintos métodos de síntesis partiendo de diferentes compuestos iniciales<sup>[18-25]</sup>. En este trabajo se usará como compuesto de partida 1,2-O-isopropiliden, más conocido como solketal, en concreto su isómero (2R).

Primero se lleva a cabo la reacción de esterificación entre el (2R)-solketal y el ácido graso que se quiera introducir en la posición sn<sub>1</sub>, en este caso el ácido palmítico (16:0) para producir el compuesto **10** (Esquema 37). Esta reacción transcurre de forma regioselectiva al encontrarse solo un -OH libre. El uso de DMAP y DCC permiten la esterificación sin perder el grupo protector isopropiliden<sup>[23]</sup>.



Esquema 37

Una vez formado el éster **10**, se lleva a cabo la desprotección de los grupos hidroxilo mediante una hidrólisis empleando Amberlist 15, una resina ácida de intercambio iónico, generando el compuesto **11** (Esquema 38). Esta resina puede ser recuperada fácilmente por filtración y usada de nuevo ya que su actividad no se ve modificada<sup>[32]</sup>.



Esquema 38

En esta reacción es importante el uso de EtOH 95%, o en su defecto, realizar una disolución al 95% de EtOH anhidro, ya que se ha comprobado experimentalmente que la reacción no funciona sin esa ligera cantidad de agua. El uso de una concentración mayor de H<sub>2</sub>O disminuye el rendimiento de la reacción<sup>[32]</sup>, por lo que se debe usar en la proporción adecuada.

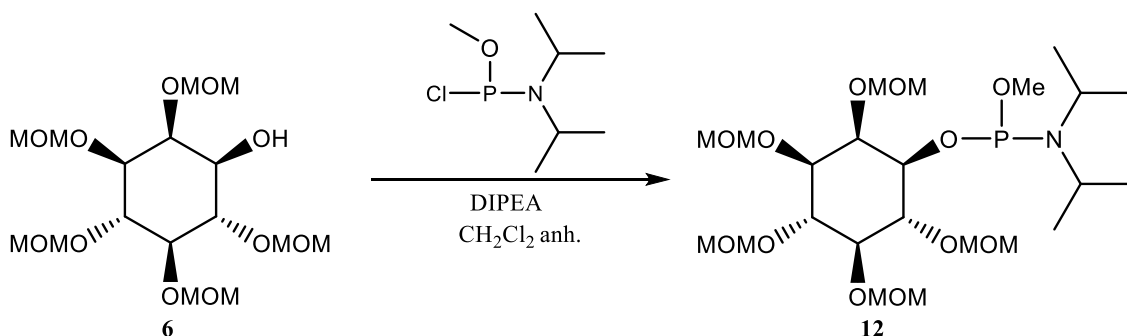
#### 6.4 Síntesis del fosfatidilmioinoistol

Como ya se ha dicho, el uso de óxido de dibutylestano permite la posterior incorporación regioselectiva al monoacilglicerol. Este procedimiento tiene varias ventajas respecto al método convencional de acilación, ya que aprovecha su alta reactividad y selectividad. En compuestos que contienen dos o más grupos hidroxilo, prevalece la funcionalización del grupo primario<sup>[27]</sup>. Otra ventaja es el menor tiempo de reacción.

Otro aspecto muy importante a tener en cuenta es la elección del disolvente, ya que, si el diol no es soluble en la mezcla de reacción, ésta transcurre por un mecanismo diferente, proporcionando rendimientos más bajos. Experimentos recientes<sup>[27]</sup> han demostrado que en disolventes apróticos no existe efecto catalítico del DBTO, probablemente debido a la baja solubilidad que presenta el diol. En cambio, en disolventes próticos la reacción transcurre con rendimientos elevados, excepto en MeOH, donde existe una acilación competitiva que disminuye la conversión.

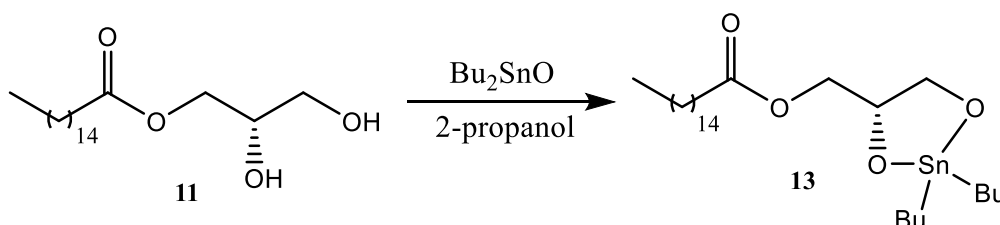
Sin embargo, esta última etapa no se pudo llevar a cabo debido al estado de alarma que dio comienzo el 12 de marzo de 2020.

Primero se realiza la fosforilación el derivado del derivado mioinositol. Se hace reaccionar el derivado de mioinositol, **6**, con el cloruro del ácido N, N-diisopropilmetilfosfinamídico en presencia de una base como DIPEA, generándose el compuesto **12** (Esquema 39).



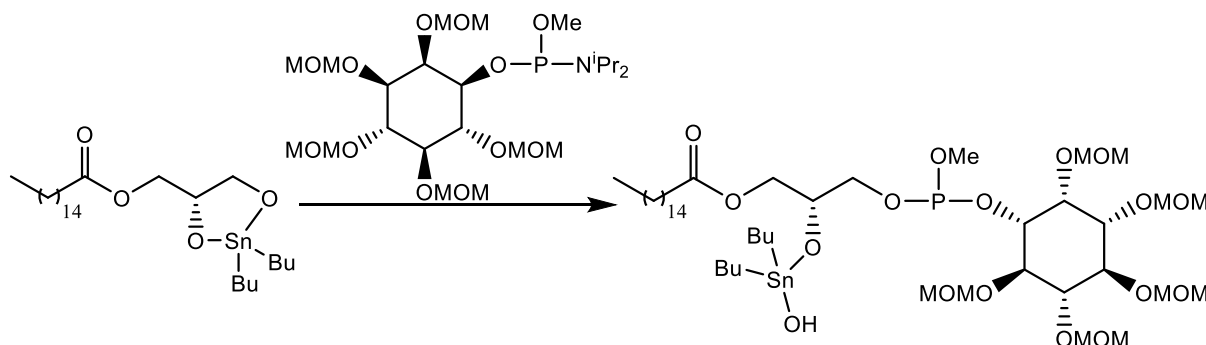
Esquema 39

Por otro lado, se hace reaccionar el monoacilglicerol con Bu<sub>2</sub>SnO empleando como disolvente 2-propanol anhidro. Se produce así el compuesto **13**. (Esquema 40).



Esquema 40

Una vez se tienen los dos compuestos, se enfría la disolución del fosfito-inositol a 0 °C y se añade lentamente sobre la disolución del derivado de óxido de estaño (Esquema 41).

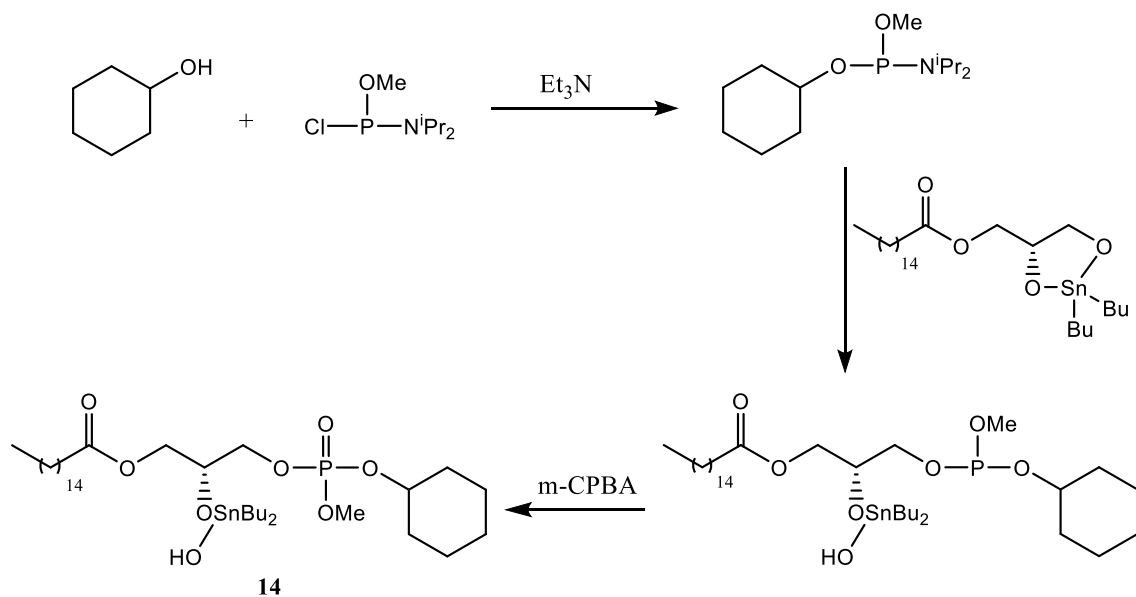


Esquema 41

Posteriormente se lleva a cabo la oxidación del grupo fosfito con m-CPBA, pudiendo confirmar la presencia del fosfato fácilmente mediante <sup>31</sup>P-RMN.

Al ser una ruta sintética nueva se estaban llevando a cabo ensayos con derivados comerciales accesibles más fácilmente, como es el ciclohexanol, que hace de sustituto del mioinositol (Esquema 42). Sin embargo, no se pudo llegar a ningún resultado ya que en este punto del

trabajo se produjo el estado de alarma debido al COVID-19, imposibilitando la continuación del trabajo experimental.



Esquema 42

El trabajo experimental abarcó hasta la síntesis del compuesto **14**, habiendo realizado únicamente un  $^1\text{H}$  NMR y  $^{31}\text{P}$  NMR de la masa de reacción sin purificar.

La última etapa consistiría en una hidrólisis básica para eliminar el compuesto de estaño, seguido de la esterificación del ácido 16:1 n-9 en la posición sn<sub>2</sub> y eliminación de los grupos protectores metilmetiléter del mioinositol.





## 7. CONCLUSIONES

Se ha preparado el ácido graso (Z)-7-hexadecenoico partiendo de reactivos comerciales (7-bromoheptanoato de etilo y nonanal) en una síntesis de tres etapas con rendimientos elevados.

Se ha preparado el derivado de mioinositol con todos los grupos hidroxilo protegidos excepto el del C-1.

En la síntesis del derivado de mioinositol se han optimizado algunas etapas, bien ajustando los parámetros de reacción, o bien facilitando la purificación de los intermedios.

Se ha llevado a cabo la preparación del monoacilglicerol partiendo del (2R-solketal) para la posterior reacción con DBTO.

Se ha desarrollado de forma teórica otro método de síntesis para llevar a cabo la incorporación del ácido graso y la oxidación del grupo fosfito.

Este procedimiento puede ser válido para cualquier ácido graso insaturado que se desee incorporar en la posición  $sn_2$  del diacilglicerol.

No se ha podido realizar la caracterización completa de los compuestos obtenidos, limitándose en la mayoría de los casos a tan solo el espectro de  $^1\text{H}$  NMR, debido al estado de alarma producido por el COVID-19.



## 8. MATERIALES Y MÉTODOS

Los **reactivos** utilizados en este procedimiento proceden de distintos proveedores (Aldrich, Acros Organics). Los **disolventes anhidros** empleados fueron adquiridos de estas casas comerciales, o bien, secados en el laboratorio con tamices moleculares.

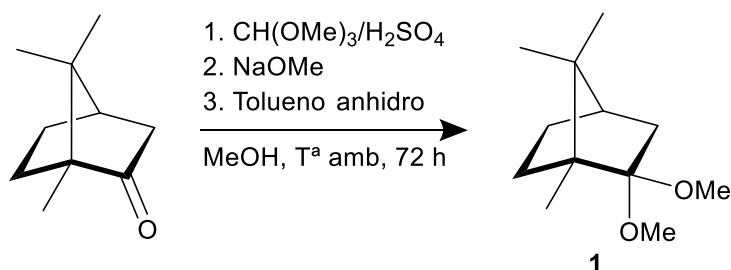
Los análisis por **cromatografía de capa fina (TLC)** se han llevado a cabo utilizando placas de sílica-gel. La revelación se ha realizado tanto con indicador fluorescente (294 nm), como con distintos reveladores.

Los espectros de  **$^1\text{H}$  NMR** (400 MHz),  **$^{13}\text{C}$  NMR** (101 MHz) y  **$^{31}\text{P}$  NMR** (162 MHz) se adquirieron en un equipo de Agilent Technologies. Los desplazamientos químicos se expresan como partes por millón, utilizando tetrametilsilano (TMS) como estándar interno.

Los espectros fueron obtenidos en el Laboratorio de Técnicas Instrumentales de Valladolid (LTI).

A continuación, se detallan los procedimientos experimentales llevados a cabo para la síntesis de los diferentes compuestos de este trabajo.

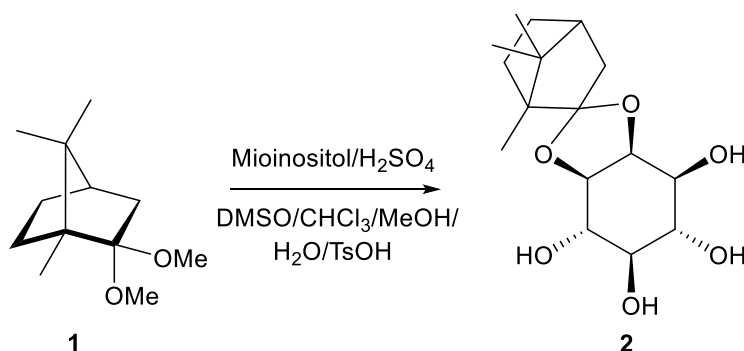
### 1) Síntesis de 2,2-dimetoxi-1,7,7-trimetilbicyclo[2.2.1]heptano (1)<sup>[33]</sup>:



Sobre una disolución de D-alcanfor (30,00 gramos, 0,197 moles) en metanol anhidro (40 mL) se añade ortoformiato de metilo (158 mL, 1,44 mol) y ácido sulfúrico (1 mL) siendo éste un catalizador de la reacción. La disolución se deja en agitación durante 48 horas a temperatura ambiente. Una vez transcurrido el tiempo se añade una disolución de metóxido sódico en metanol (2,5 mL) asegurándose de haber neutralizado el pH ácido. Posteriormente, se elimina el disolvente al rotavapor y el residuo resultante se redisuelve en tolueno anhidro (150 mL). Se filtra para eliminar las sales formadas tras la neutralización (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se concentra al rotavapor. Por último, el compuesto se destila a vacío (95 °C, 0,4 torr), dando lugar a un líquido viscoso incoloro (32,58 g, 0,164 mol, **83%**).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ (ppm), Espectro 1: 3.18 (s, 3H), 3.12 (s, 3H), 2.15 (m, 1H), 1.70 (m, 2H), 1.61 (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).

### 2) Síntesis de 2,3-O-(1',7',7'-trimetil(2.2.1)bicyclohept-2'-iliden)-mioinositol (2)<sup>[33]</sup>:



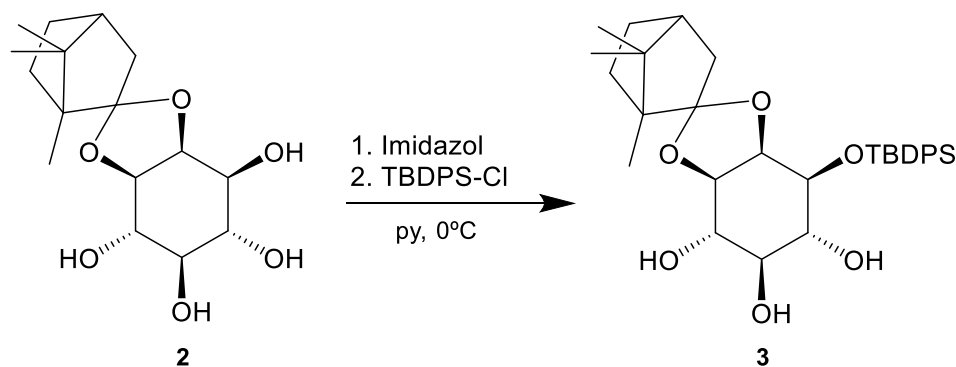
Se prepara una disolución del mioinositol (5,76 gramos, 0,032 mol) en DMSO anhidro (65 mL) sobre la que se añade el compuesto 1 (15,00 gramos, 0,076 mol) y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,3 mL) y se mantiene con agitación constante durante 3 horas a 80 °C. La disolución va tomando un color

rojizo. Pasado el tiempo se añade Et<sub>3</sub>N (2,2 mL), se deja en agitación 5 minutos y se elimina el disolvente al rotavapor. Después, se añade DMSO anhidro hasta que la masa de reacción sea de 28 gramos, además de CH<sub>3</sub>Cl (97,3 mL), MeOH (6,1 ml), H<sub>2</sub>O destilada (1,9 mL) y TsOH (0,022 g) y se deja con agitación durante 17 horas apareciendo con el tiempo un precipitado en suspensión. Se añade de nuevo Et<sub>3</sub>N (0,7 mL) y se filtra, lavándose con CHCl<sub>3</sub> (2x75 mL). El precipitado se concentra al rotavapor y se recristaliza, primero en una disolución de MeOH (0,1% Et<sub>3</sub>N) y después con una mezcla MeOH/H<sub>2</sub>O (1:1) (0,1% Et<sub>3</sub>N). Se obtiene un sólido blanco (2,20 g, 0,007 mol, 22%).

**<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, MeOH-d), δ (ppm), Espectro 2:** 4.26 (t, 1H), 3.76 (t, 1H), 3.67, (dd, 1H), 3.54 – 3.41 (m, 2H), 3.29 (m, 6H), 3.12 (t, 1H), 2.04 (m, 2H), 1.71 (m, 2H), 1.38 (m, 1H), 1.02 (s, 3H), 0.88 (s, 3H), 0.85 (s, 3H).

**<sup>13</sup>C NRM (101 MHz, MeOH-d), δ (ppm), Espectro 3:** 117.50, 76.45, 76.26, 75.97, 73.74, 72.39, 70.42, 51.19, 45.22, 45.02, 29.25, 29.16, 26.55, 19.75, 19.47, 8.94.

### 3) Síntesis de 1-O-(*tert*-butildifenilsilil)-2,3-O-(1', 7', 7'-trimetil[2.2.1]bicyclohept-2'-iliden-mioinositol (3)<sup>[11]</sup>:



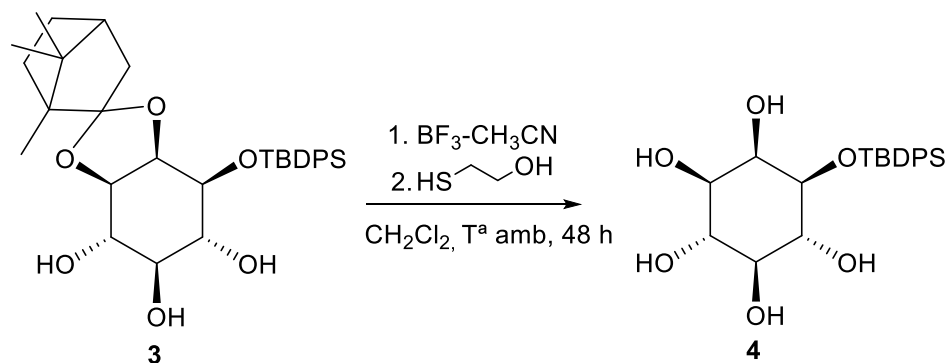
Se prepara una disolución de **2** (3,174 g, 0,010 mol) e imidazol (0,885 g, 0,013 mol) en piridina anhidra (30 mL) y se enfría a 0 °C. Una vez fría la disolución, se añade lentamente cloruro de *tert*-butildifenilsililo (TBDPS-Cl) (2,4 mL, 0,094 mol) y se deja la mezcla en agitación a 0 °C durante 36 horas. La reacción puede seguirse por TLC usando como eluyente CH<sub>3</sub>Cl/MeOH (15:1) proporcionando una mancha con R<sub>f</sub> = 0,35. Una vez finalizada la reacción, se elimina el disolvente al rotavapor y el compuesto se purifica mediante columna cromatográfica usando

como eluyente CH<sub>3</sub>Cl/MeOH (30:1), obteniéndose un sólido blanco espumoso (3,21 g, 5,81 mmol, **58%**).

**<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ (ppm), Espectro 4:** 7.72 (m, 4H), 7.40 (m, 6H), 3.91 (m, 1H), 3.78 (m, 2H), 3.60 (m, 1H), 3.52 (m, 1H), 3.14 (t, 1H), 1.94 (m, 1H), 1.68 (m, 3H), 1.28 (m, 3H), 1.09 (s, 9H), 0.86 (s, 3H), 0.83 (s, 3H).

**<sup>13</sup>C NRM (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ (ppm), Espectro 5:** 136.02, 135.89, 133.36, 133.28, 130.01, 127.86, 127.73, 118.15, 76.34, 76.22, 75.81, 72.93, 72.75, 72.64, 51.57, 48.01, 45.19, 45.03, 29.56, 27.03, 26.87, 20.52, 20.46, 19.36, 9.93.

#### 4) Síntesis de 1-O-(*ter*butildifenilsilil)-mioinositol (**4**)<sup>[11]</sup>:

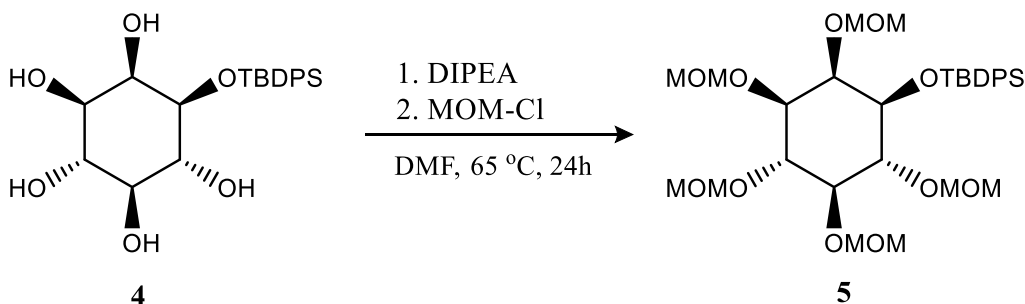


Sobre una disolución del compuesto **3** (2,13 g, 3,8 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhidro (5 mL) se añade BF<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>CN (0,62 mL, 4,9 mmol). La mezcla se deja agitando 15 minutos y pasado este tiempo se añade 2-mercaptoetanol (3,2 mL, 44,9 mmol) y se deja agitando a temperatura ambiente durante 72 horas. La reacción se puede seguir por TLC empleando como eluyente CH<sub>3</sub>Cl/MeOH (4:1) proporcionando un R<sub>f</sub> = 0,3. La masa de reacción se pasa directamente a una columna para purificar usando como eluyente CH<sub>3</sub>Cl/MeOH (15:1). Por último, se concentra y se obtiene un sólido blanco espumoso (0,82 g, 1,9 mmol, **51%**).

**<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO), δ (ppm), Espectro 5:** 7.72 (m, 4H), 7.35 (m, 6H), 4.46 (m, 5H), 3.61 (t, 1H), 3.46 (m, 1H), 3.34 (m, 4H), 2.77 (m, 2H), 2.47 (m, 1H), 0.98 (s, 9H).

5) Síntesis de 2, 3, 4, 5, 6-pentakis(metoximetoxi)ciclohexiloxil(*tert*-butildifenilsililo)

(5)<sup>[11]</sup>:

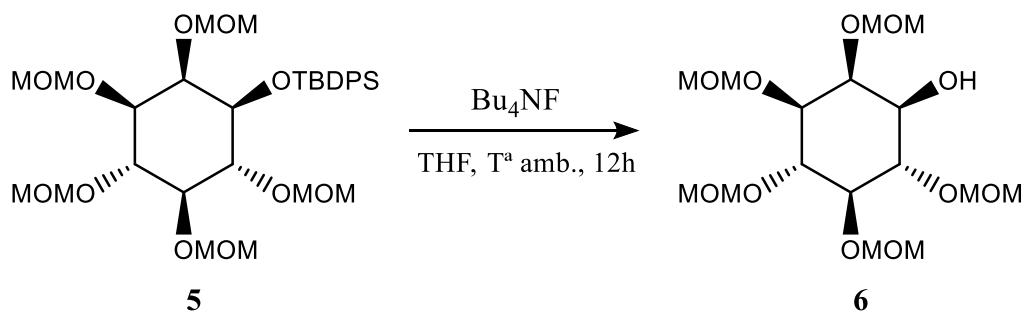


Se prepara una disolución del compuesto **4** (0,37 g, 0,88 mmol) en DMF anhidro (1,6 mL). Sobre esta disolución se añade DIPEA (1,29 mL, 7,4 mmol) y cloruro de metoximetil eter (MOM-Cl) (0,43 mL, 5,6 mmol). La mezcla se deja con agitación durante 24 horas a 65 °C. La reacción puede seguirse por TLC usando como eluyente heptano/acetona (3:1), obteniendo una mancha con  $R_f = 0,12$ . El compuesto obtenido se purifica mediante columna cromatográfica utilizando como eluyente heptano/acetona (8:1). Se elimina el disolvente al rotavapor, obteniéndose un líquido aceitoso incoloro (0,434 g, 0,68 mmol **77%**).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm), Espectro 9: 7.71 (m, 4H), 7.38 (m, 6H), 4.98 (dd, 2H), 4.84 (d,d, 2H), 4.76 (d,d, 2H), 4.50 (d,d, 2H), 4.27 (d,d, 2H), 4.00 (t, 1H), 3.80 (m, 2H), 3.46 (d, 5H), 3.36 (m, 4H), 3.23 (s, 2H), 3.19 (s, 1H), 3.09 (s, 3H), 1.08 (s, 9H).

<sup>13</sup>C NRM (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm), Espectro 11: 136.05, 135.84, 134.15, 132.82, 130.01, 129.80, 127.90, 127.70, 99.08, 98.75, 98.46, 97.23, 96.44, 95.07, 79.31, 78.94, 78.82, 77.69, 76.67, 75.53, 75.25, 74.20, 56.67, 56.59, 56.33, 55.50, 55.32, 27.25, 27.11, 19.15.

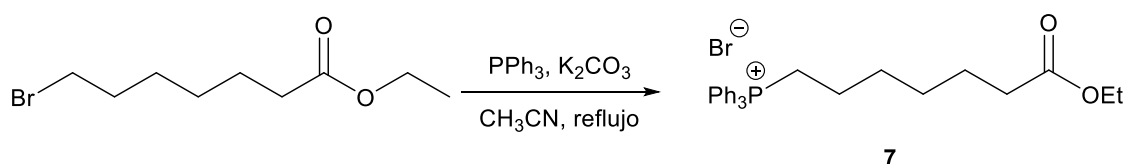
6) Síntesis de 2, 3, 4, 5, 6-pentakis(metoximetoxi)ciclohexanol (6)<sup>[11]</sup>:



Se prepara una disolución del compuesto **5** (0,288 g, 0,45 mmol) en THF (1,5 mL), sobre la que se añade una disolución 1M de Bu<sub>4</sub>NF en THF (1,1 mL). La mezcla se deja a temperatura ambiente durante 12 horas, pudiendo seguir la reacción por TLC empleando como eluyente heptano/acetona (3:1), proporcionando una mancha con R<sub>f</sub> = 0,20. El compuesto se purifica por columna cromatográfica empleando como eluyente heptano/acetona (3:1). Se concentra y se obtiene un líquido aceitoso amarillento (0,160 g, 0,40 mmol, **89%**).

**<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ (ppm), Espectro 13:** 4.87-4.70 (m, 10H), 4.07 (m, 1H), 3.99 (d, 1H), 3.91 (t, 1H), 3.65 (t, 1H), 3.49 (d,d, 1H), 3.43-3.35 (m, 16H).

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



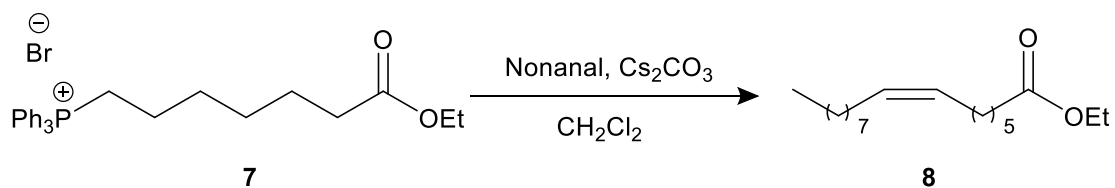
Sobre una disolución de 7-bromoheptanoato de etilo (2,5 mL, 12,8 mmol) en CH<sub>3</sub>CN anhidro (45 mL) se añaden PPh<sub>3</sub> (7,302 g, 27,8 mmol) además de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1,030 g, 7,4 mmol). La disolución se deja a reflujo a 95 °C durante 24 horas. La reacción puede seguirse por TLC usando como eluyente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (20:1), proporcionando una mancha con R<sub>f</sub> = 0,5. Se elimina el disolvente, quedando un sólido muy espeso que se lava con heptano para eliminar el exceso de PPh<sub>3</sub>. En el caso de no poder eliminar todo el PPh<sub>3</sub>, se realiza una purificación por columna usando como eluyente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (20:1). Se debe tener en cuenta que ocurre una transesterificación, pudiendo existir tanto el éster etílico como el metílico. Una vez concentrado, se obtiene una grasa marrón (5,876 g, 11,8 mmol, **92%**).

**<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ (ppm), Espectro 14:** 7.68 (m, 15H), 3.99 (m, 2H), 3.65 (m, 2H), 2.15 (m, 2H), 1.58 (m, 4H), 1.44 (m, 2H), 1.25 (m, 2H), 1.12 (m, 3H).

**<sup>13</sup>C NRM (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ (ppm), Espectro 11:** 173.56, 135.03, 135.00, 133.63, 133.60, 133.53, 133.50, 130.53, 130.41, 128.37, 118.56, 117.70, 77.45, 77.13, 76.81, 60.09, 33.97, 29.97, 29.81, 28.43, 24.28, 22.88, 22.37, 14.17.



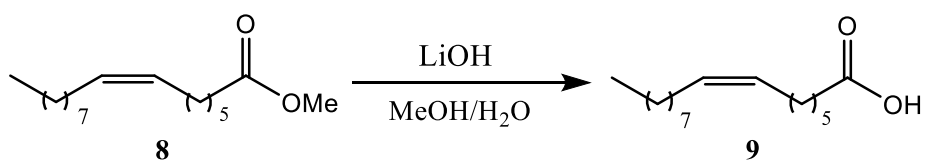
### 8) Síntesis de (Z)-7-hexadecenoato de metilo/etilo (8):



Se prepara una disolución de la sal de fosfonio, **7** (3,376 g, 6,76 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (80 mL) y se añade nonanal (1,40 mL, 8,11 mmol). La disolución se pone con agitación durante 10 minutos a temperatura ambiente y se añade Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (8,547 g). Se deja a reflujo a 60 °C durante 24 horas. La reacción puede seguirse por TLC empleando como eluyente heptano/AcOEt (10:1), obteniéndose una mancha con R<sub>f</sub> = 0,25. La masa de reacción se filtra con celita para eliminar el OPPh<sub>3</sub>. Se elimina el disolvente y se purifica mediante columna cromatográfica usando como eluyente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/heptano (1:1). La disolución se concentra obteniéndose un líquido amarillento transparente (1,731 g, 6,13 mmol, **91%**).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ (ppm), Espectro **18**: 5.31 (m, 2H), 4.09 (c, 2H), 2.25 (t, 2H), 1.98 (m, 4H), 1.60 (m, 3H), 1.23 (m, 17H), 0.85 (t, 4H).

### 9) Síntesis del ácido (Z)-7-hexadecenoico (9):

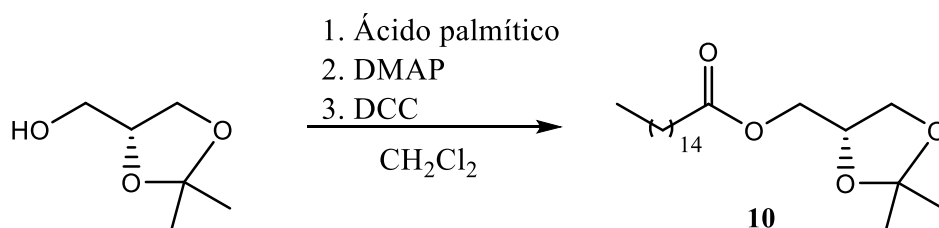


Se prepara una disolución del compuesto **8** (2,307 g, 8,17 mmol) en MeOH (116 mL). Por otro lado, se prepara una disolución de LiOH (1,956 g, 81,7 mmol) 4M en agua destilada (20,5 mL). La disolución del éster en MeOH se añade a la de LiOH y se deja agitando a temperatura ambiente durante 24 horas. La reacción se puede seguir por TLC usando como eluyente heptano/AcOEt (5:1) proporcionando una mancha con R<sub>f</sub> = 0,28. Una vez finalizada, se elimina el disolvente orgánico al rotavapor quedando una suspensión blanca. Se realiza una extracción líquido-líquido a la fase acuosa con éter. La fase acuosa resultante de la primera extracción se acidifica con HCl hasta pH 1 y se lava sucesivamente con éter. Por último, se realiza un

presecado con disolución saturada de NaCl y se seca con MgSO<sub>4</sub> anhidro. La disolución se concentra y se obtiene un líquido viscoso incoloro (1,562 g, 6,16 mmol, **75%**).

**<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ (ppm), Espectro 19:** 5.34 (m, 2H), 2.35 (t, 2H), 2.00 (m, 4H), 1.63 (m, 2H), 1.38-1.20 (m, 17H), 0.87 (t, 3H).

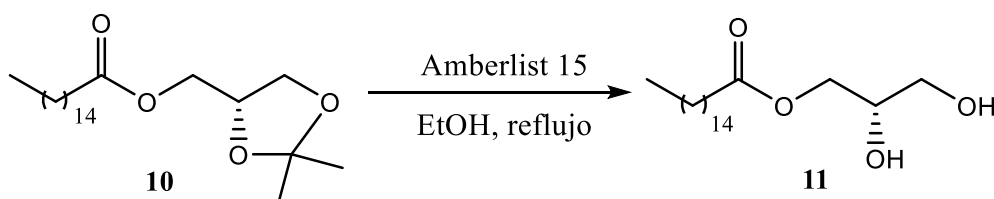
### 10) Síntesis de palmitato de (2R)-solketal (10)<sup>[32]</sup>:



Se prepara una disolución de (2R)-solketal (12,5 mL, 0,10 mol), ácido palmítico (26,642 g, 0,10 mol) y DMAP (3,34 g, 27,3 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (230 mL) y se pone en baño de hielo para que esté a 0 °C. Por otro lado, se prepara una disolución de DCC (24,72 g, 0,120 mol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 mL) y se añade sobre la anterior, dejándose con agitación a temperatura ambiente durante 24 horas. La reacción se puede seguir por TLC usando como eluyente AcOEt/heptano (1:3) proporcionando una mancha con R<sub>f</sub> = 0,5. Una vez ha finalizado, la disolución se filtra y se concentra. El sólido obtenido se purifica por columna cromatográfica empleando como eluyente AcOEt/heptano (1:3), obteniéndose después de concentrar un sólido blanco (28,756 g, 0,078 mol, **78%**).

**<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ (ppm), Espectro 20:** 4.31 (m, 1H), 4.16 (m, 1H), 4.08 (m, 2H), 3.73 (m, 1H), 1.62 (m, 2H), 1.43 (s, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.25 (s, 21H), 0.87 (t, 3H).

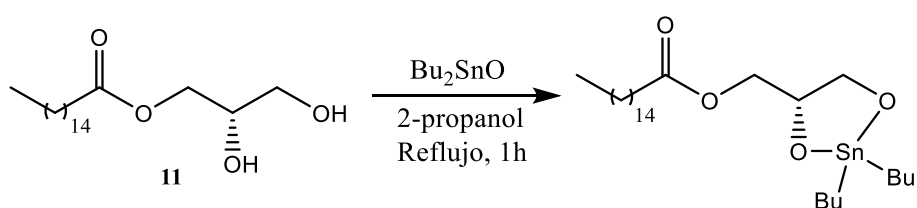
### 11) Síntesis de palmitato de 2,3-dihidroxipropilo (11)<sup>[32]</sup>:



Se prepara una disolución del compuesto **10** (3,359 g, 9,1 mmol) en EtOH 95% (16 mL) y sobre ella se añade la resina Amberlist 15 (10% en masa, 0,336 g). La disolución se deja a reflujo a 90 °C durante 24 horas. Cuando ha transcurrido ese tiempo, la disolución se filtra con celita y se concentra, apareciendo un sólido blanco (2,620 g, 7,91 mmol, **87%**).

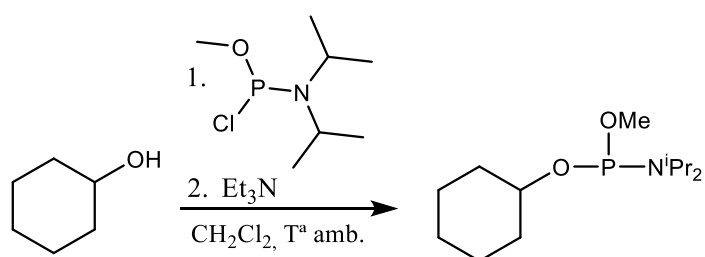
$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm), Espectro **21**: 4.18 (m, 2H), 3.93 (m, 1H), 3.65 (m, 2H), 2.35 (t, 2H), 1.63 (m, 2H), 1.25 (s, 21H), 0.87 (t, 3H).

### 12) Síntesis de palmitato de (R)-(2,2-dibutil-1,3,2-dioxoestanolan-4-il)metilo<sup>[27]</sup>.

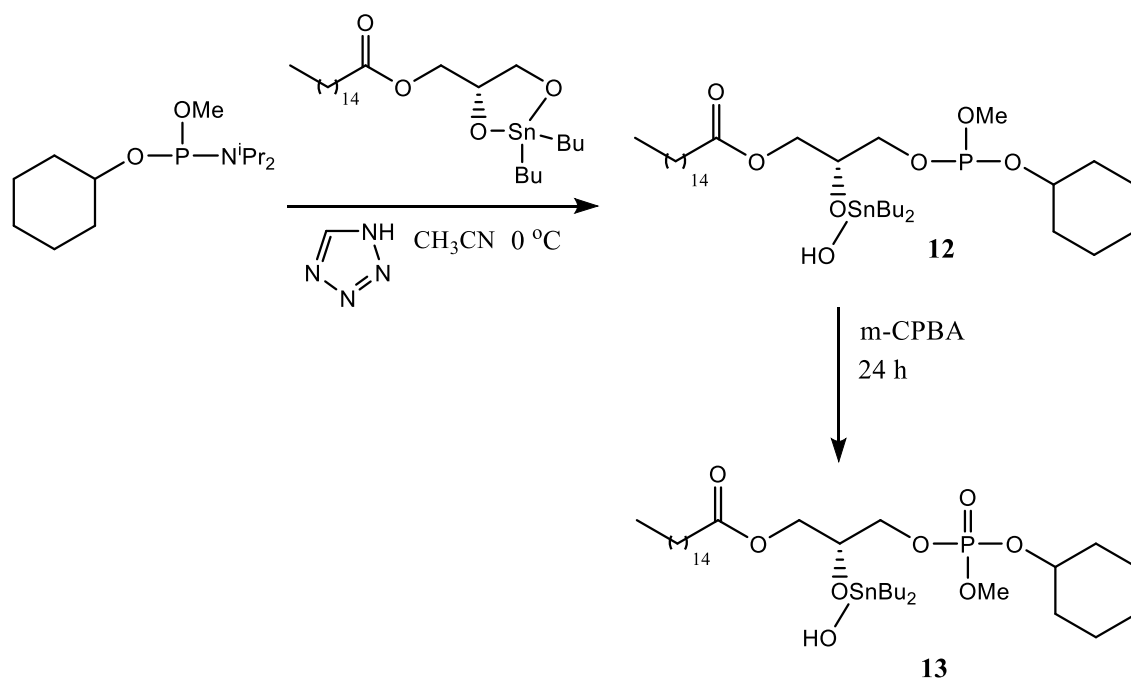


Se disuelve el MAG (16:0), **11**, (1,000 g, 3,03 mmol) en 2-propanol (30 mL) y se añade DBTO (0,792 g, 3,18 mmol). La mezcla se calienta a reflujo a 85 °C durante 1 hora y, transcurrido este tiempo, se elimina el disolvente al rotavapor. El intermedio no se aísla y se disuelve en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anhidro.

### 13) Síntesis de palmitato de (2R)-3-[[[(ciclohexiloxi)(metoxi)fosforil]oxi]-2-[[[dibutil(hidroperoxi)estanol]oxi]propilo.



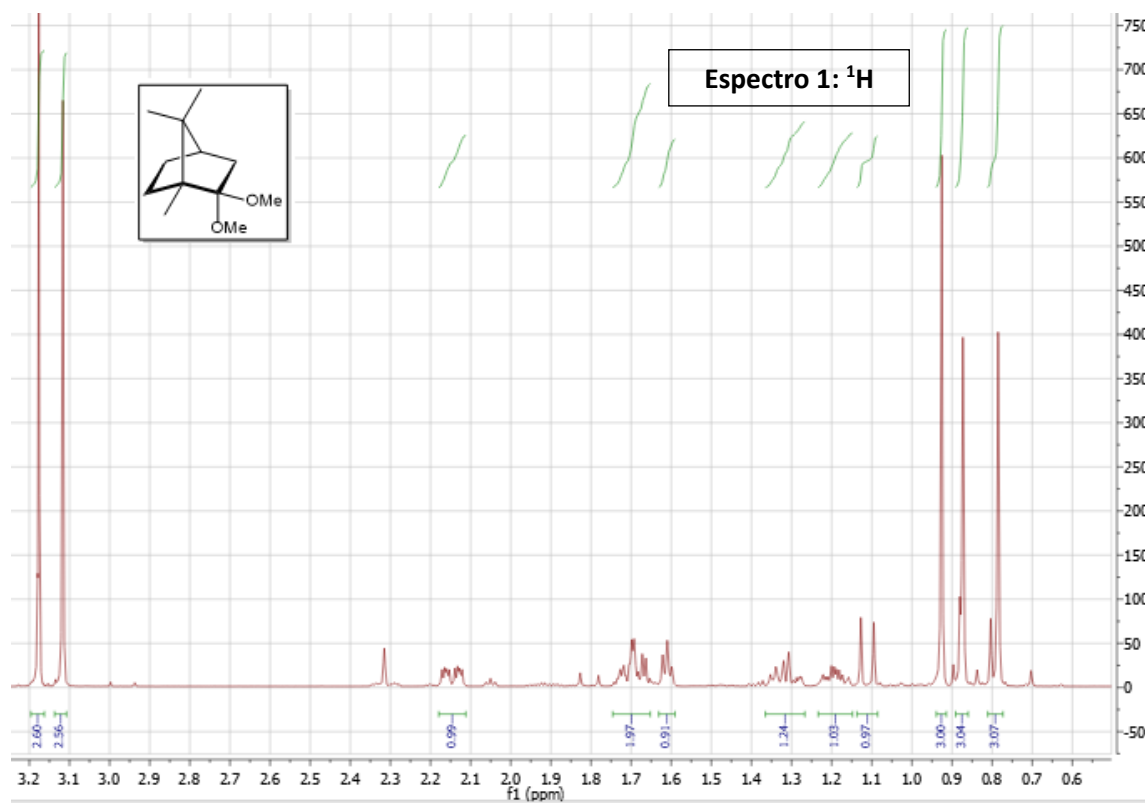
Se prepara una disolución de ciclohexanol (0,32 mL, 3,03 mmol),  $\text{Et}_3\text{N}$  (1,7 mL) y el fosfito (0,65 mL, 3,33 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anhidro (50 mL). La disolución se deja con agitación a temperatura ambiente durante mínimo 1 hora.



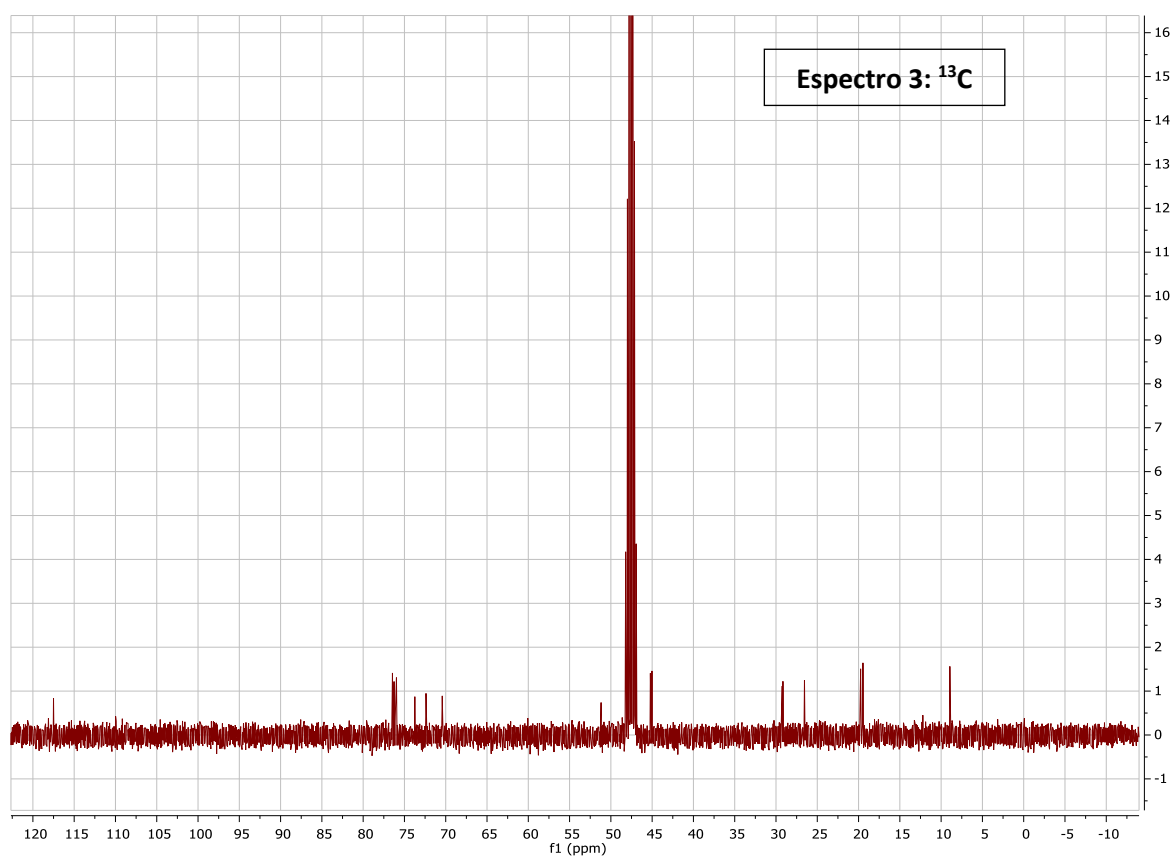
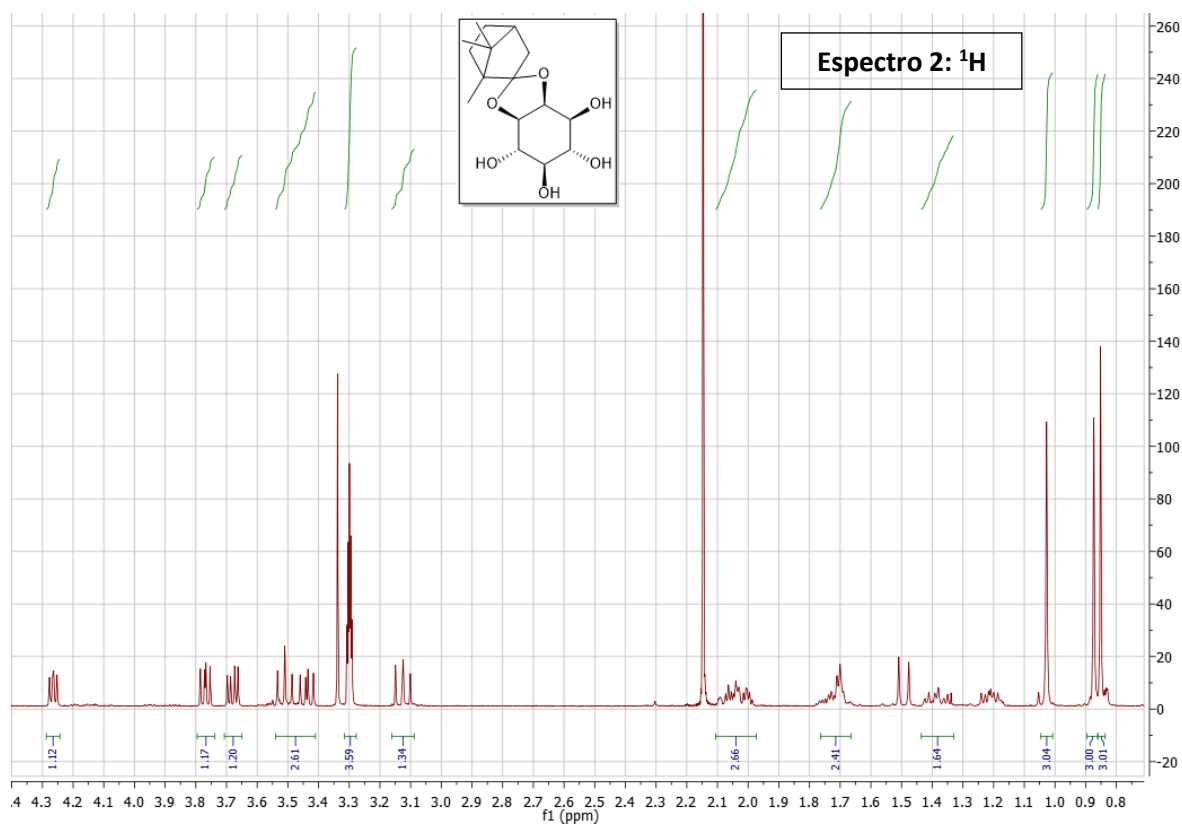
Pasado este tiempo, se añade tetrazol de una disolución 0,45M de  $\text{CH}_3\text{CN}$  (10,1 mL, 4,55 mmol) sobre la disolución del derivado de estaño del MAG. La disolución del fosfito-ciclohexanol se enfría a  $0^\circ\text{C}$  y sobre ésta, se añade lentamente la del MAG con el derivado de estaño y tetrazol dejando la mezcla con agitación a temperatura ambiente durante 24 horas. A continuación, la disolución se pone con baño de hielo, se añade *m*-CPBA (0,604 g, 3,5 mmol) y se deja que alcance temperatura ambiente poco a poco durante 24 horas. Se elimina el disolvente y se redisuelve en acetato de etilo para realizar una extracción líquido-líquido con agua. El compuesto se debe purificar por columna cromatográfica.

## 9. ANEXO: $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ , HSQC, COSY.

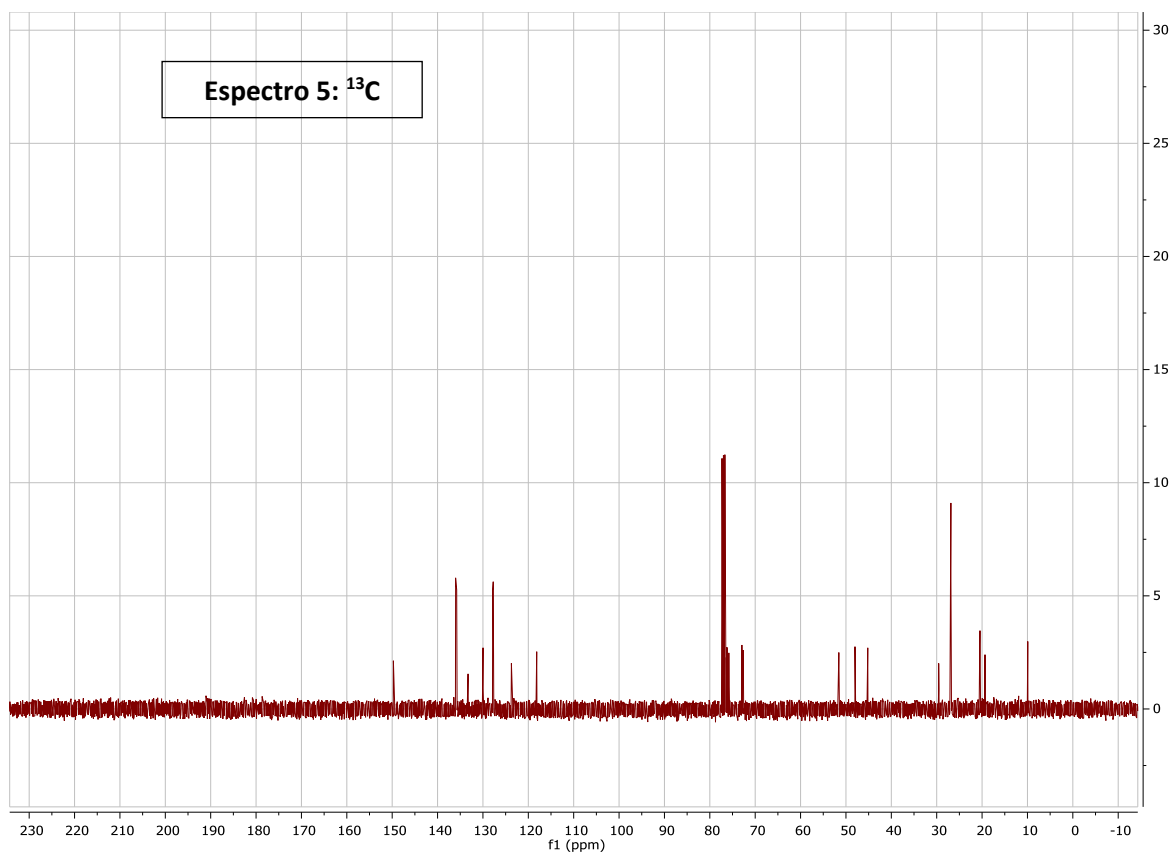
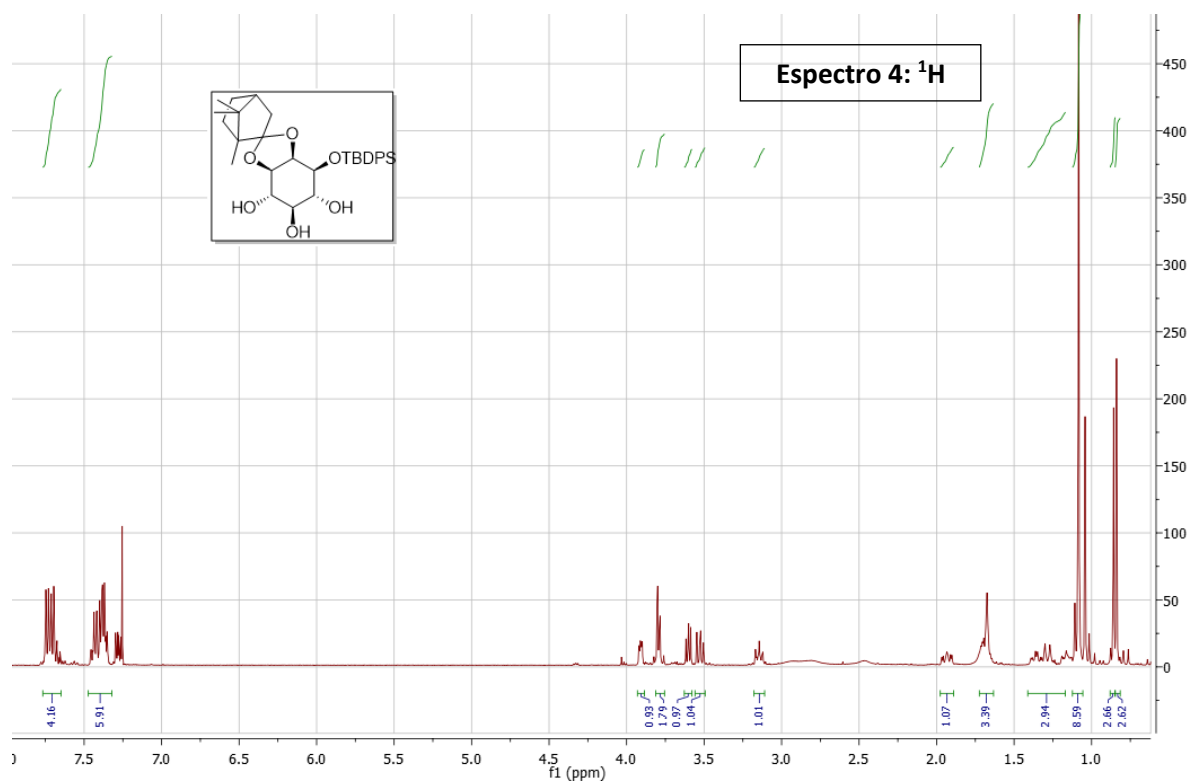
### Compuesto 1: 2,2-dimetoxi-1,7,7-trimetilbicyclo[2.2.1]heptano

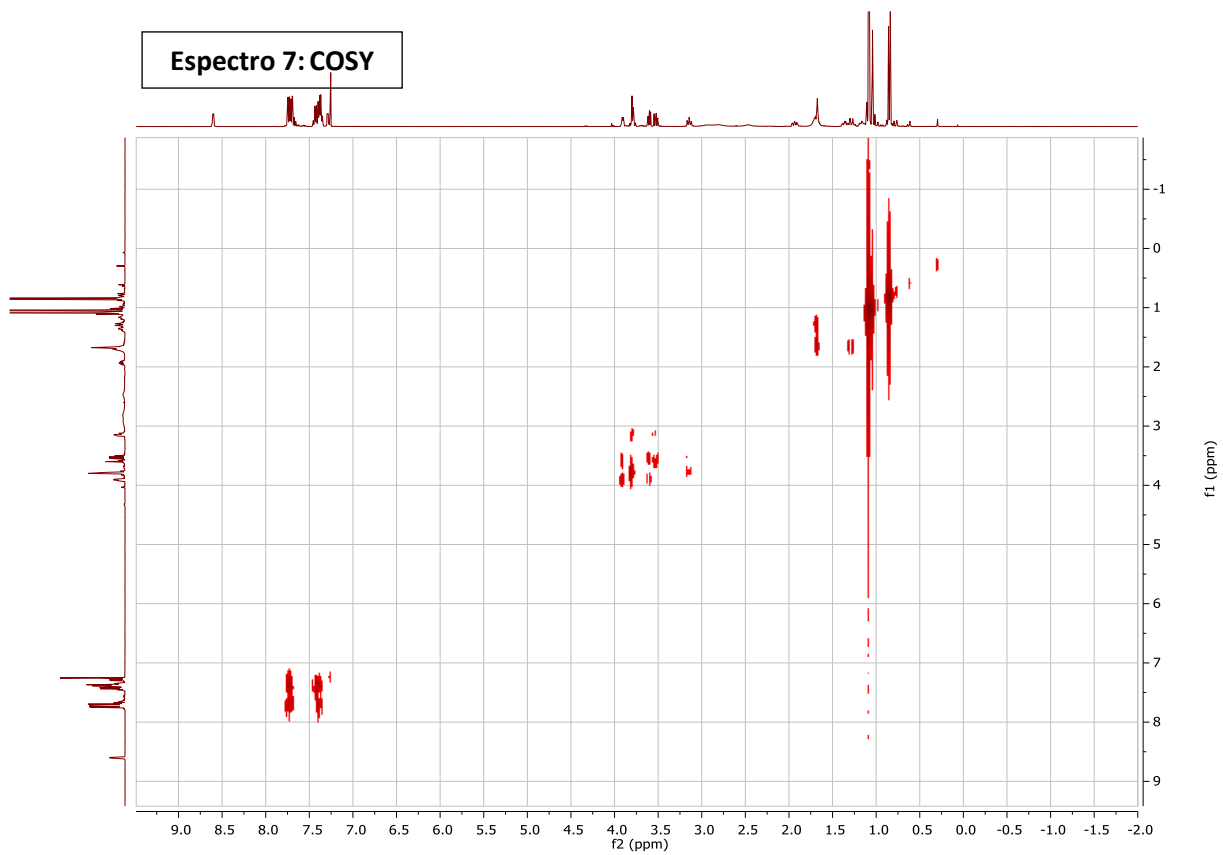
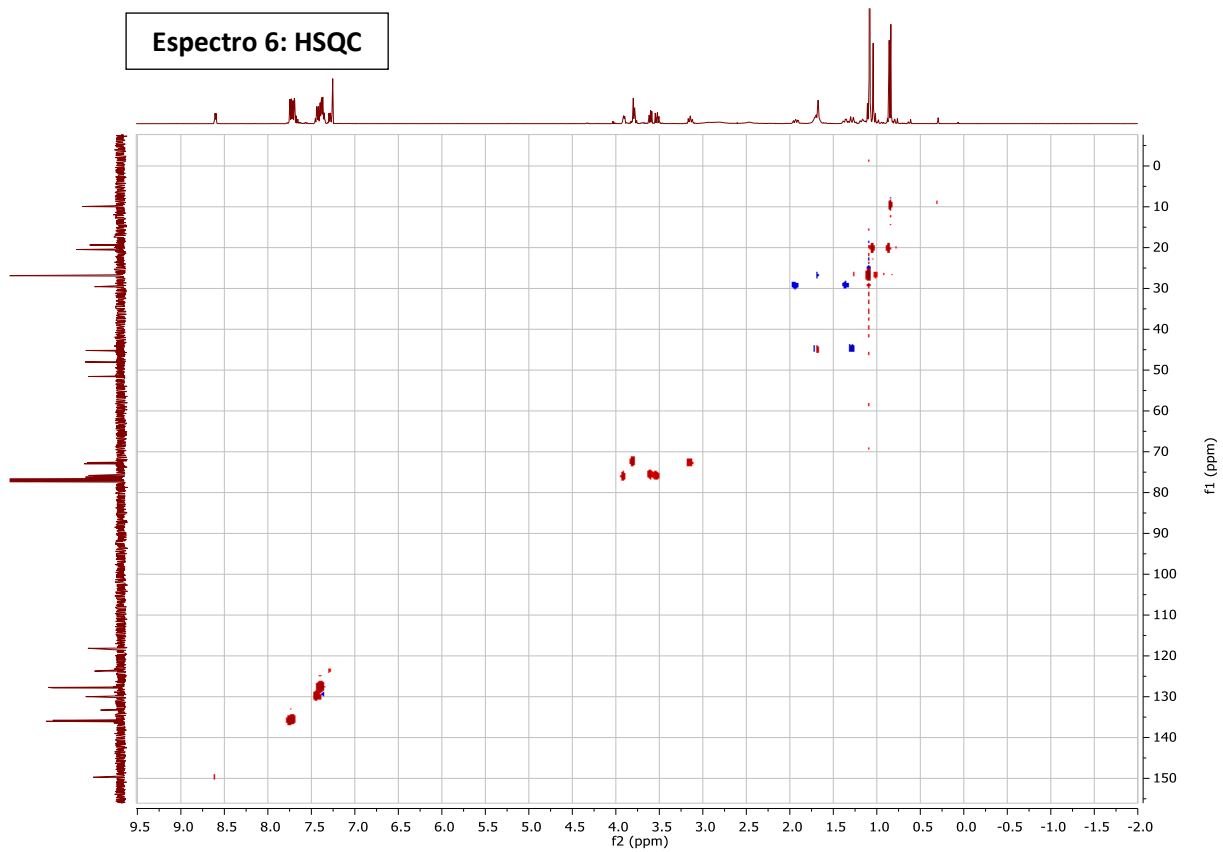


**Compuesto 2:** 2,3-O-(1',7',7'-trimetil[2'.2'.1']bicyclohept-2'-iliden)mioinositol



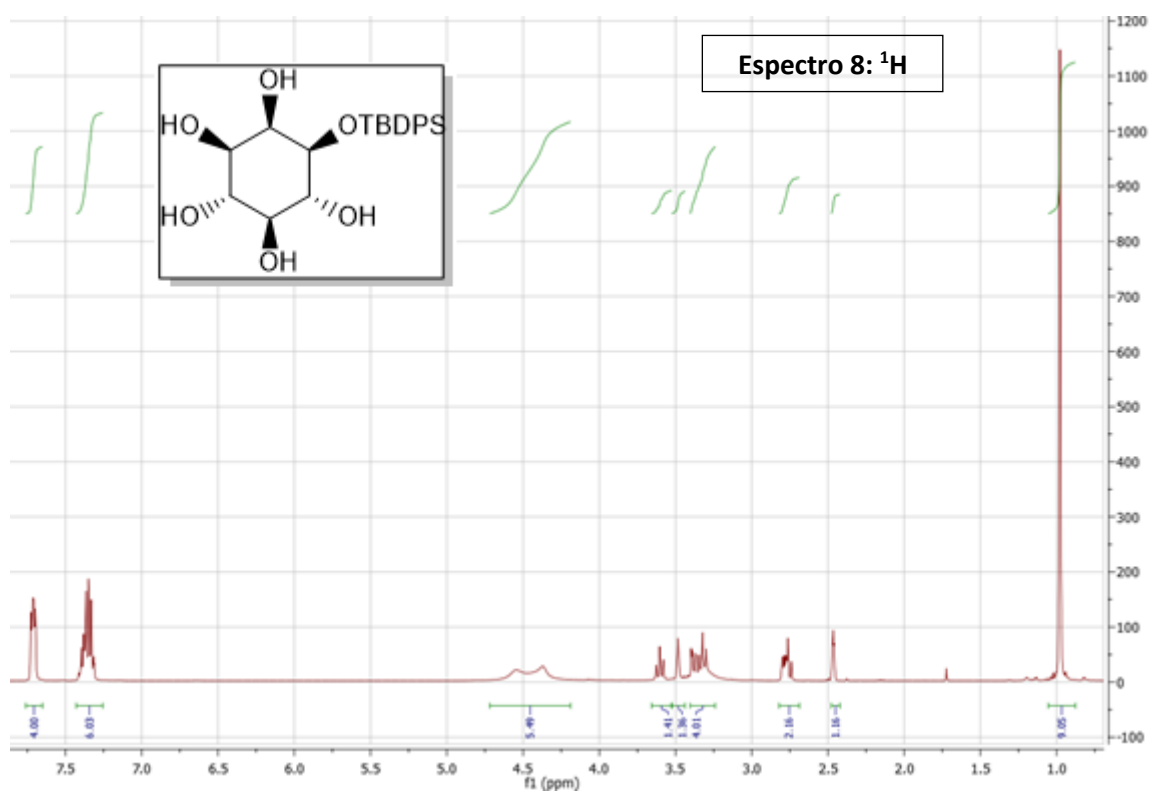
**Compuesto 3:** 1-O-(*tert*-butildifenilsilil)-2,3-O-(1',7',7'-trimetil[2.2.1]bicyclohept-2'-iliden)mioinositol



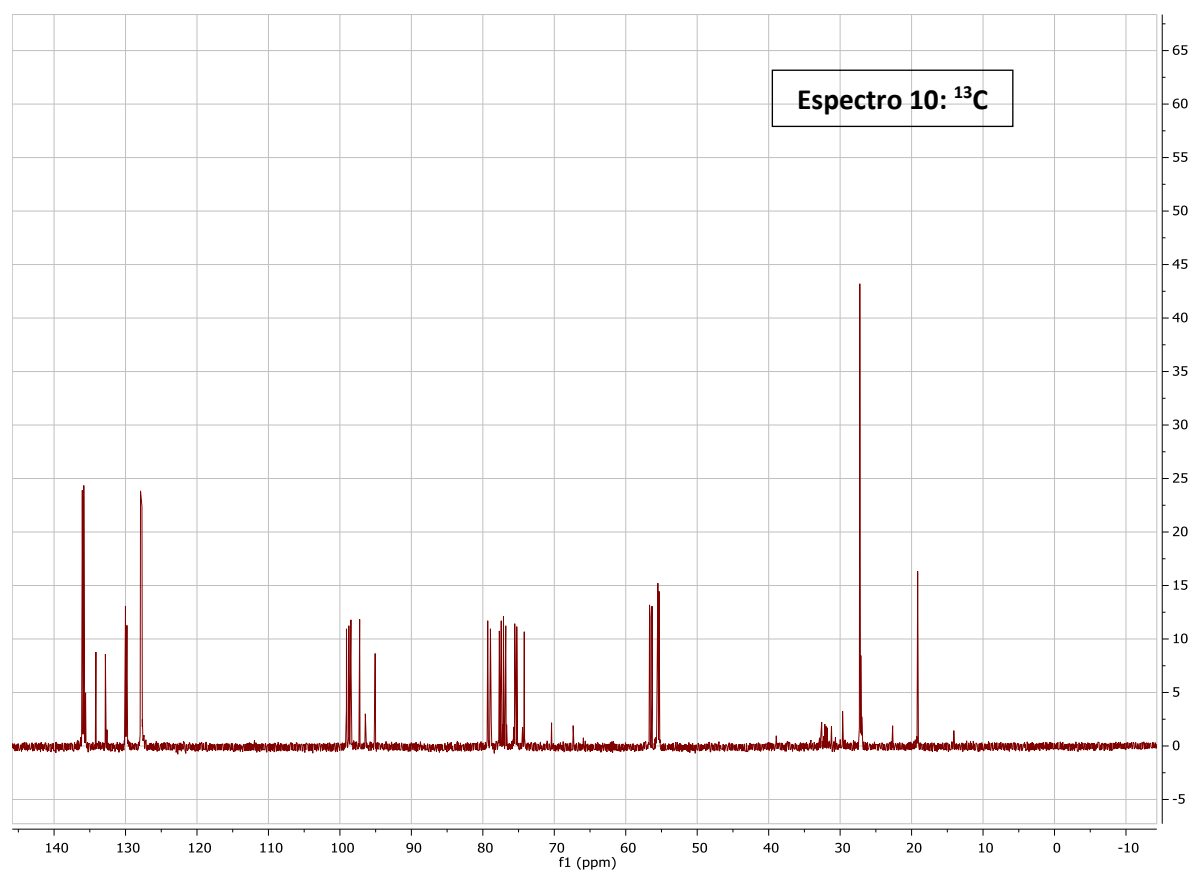
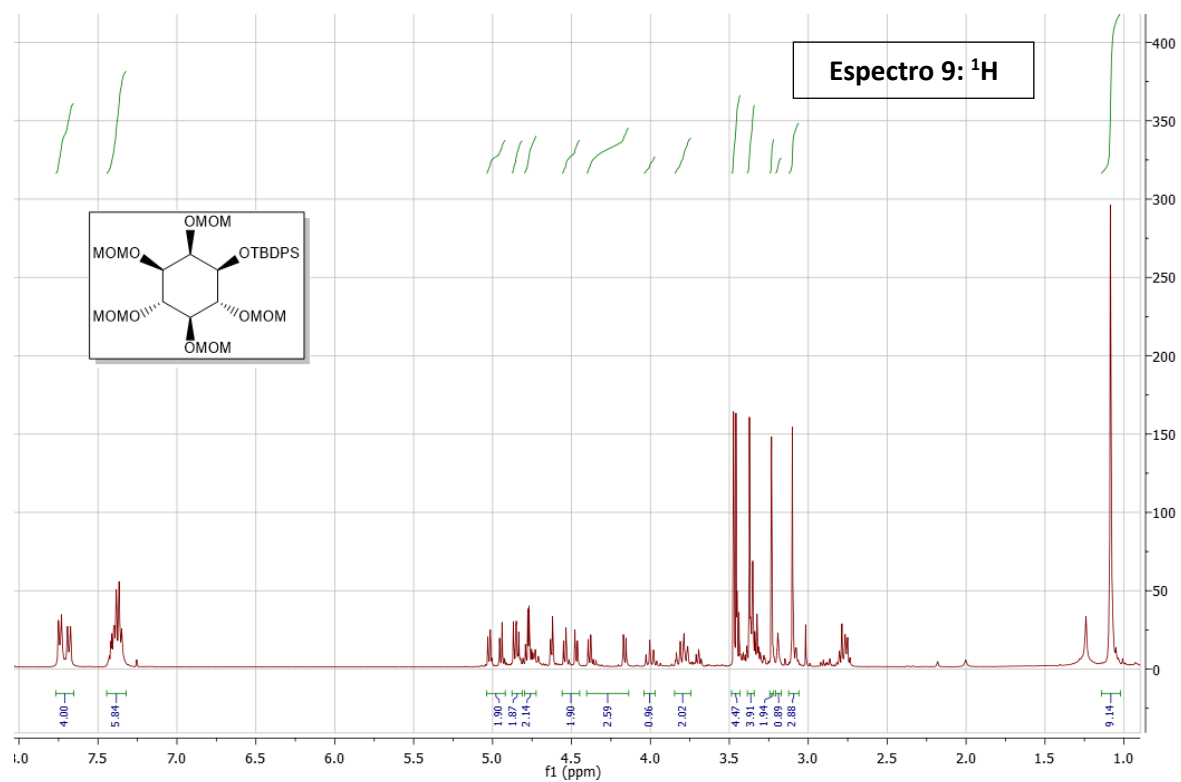


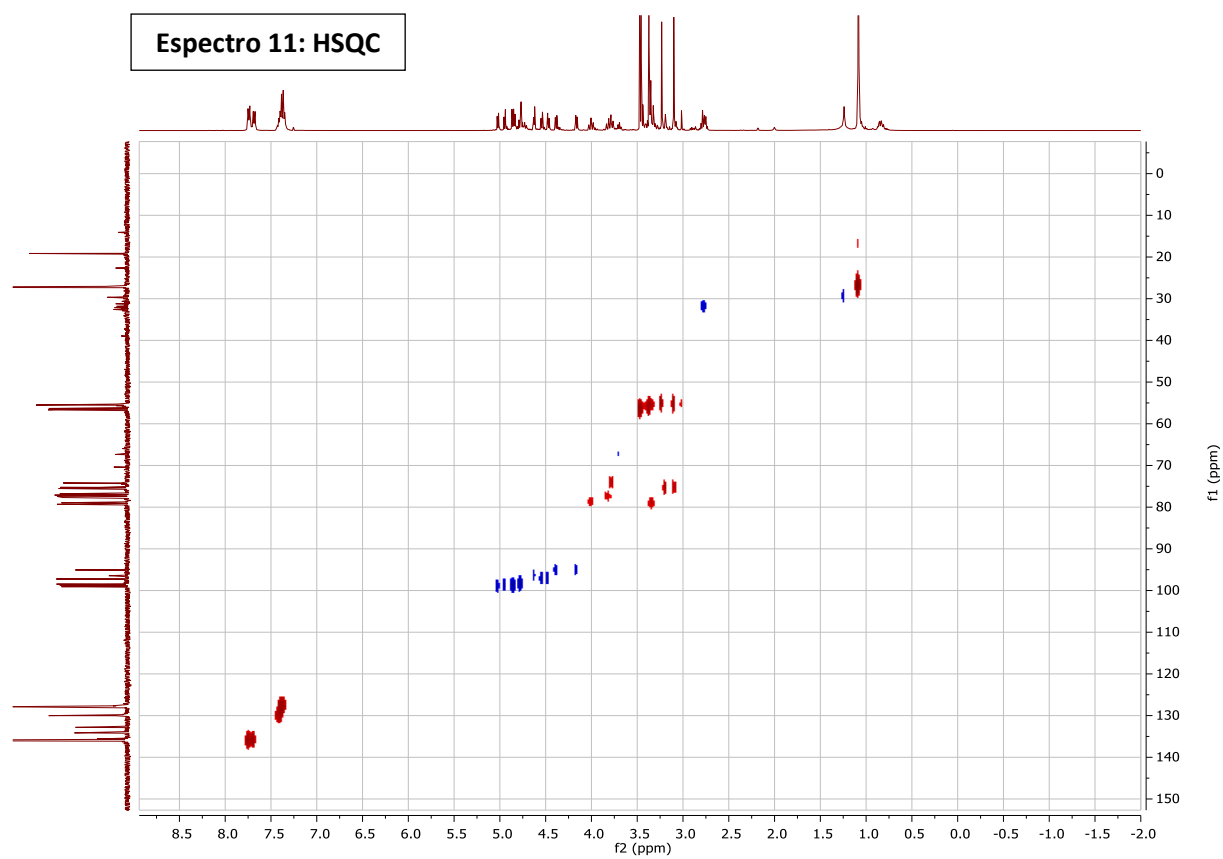


**Compuesto 4:** 1-O-(*terc*-butildifenilsilil)-mioinositol

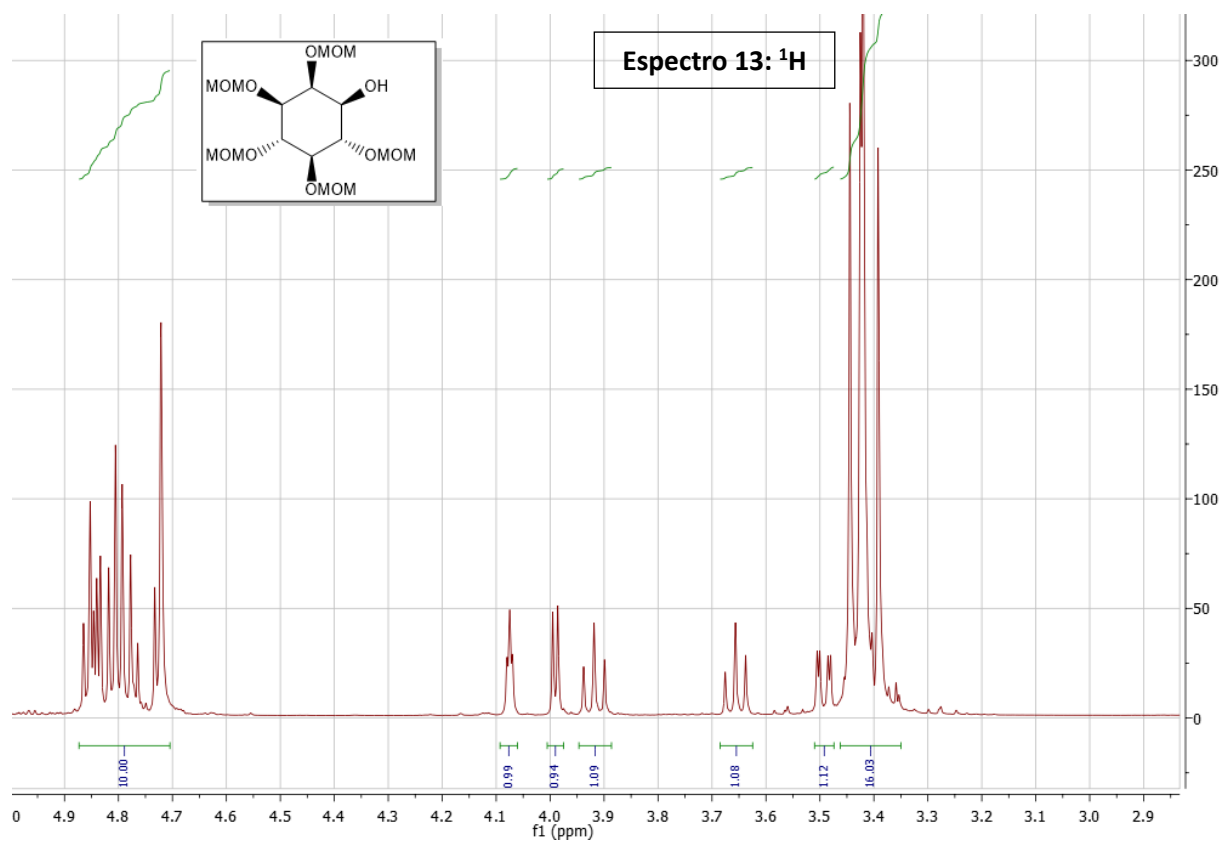


**Compuesto 5: 2,3,4,5,6-pentakis(metoximetoxi)ciclohexiloxil(*terc*-butildifenilsililo)**

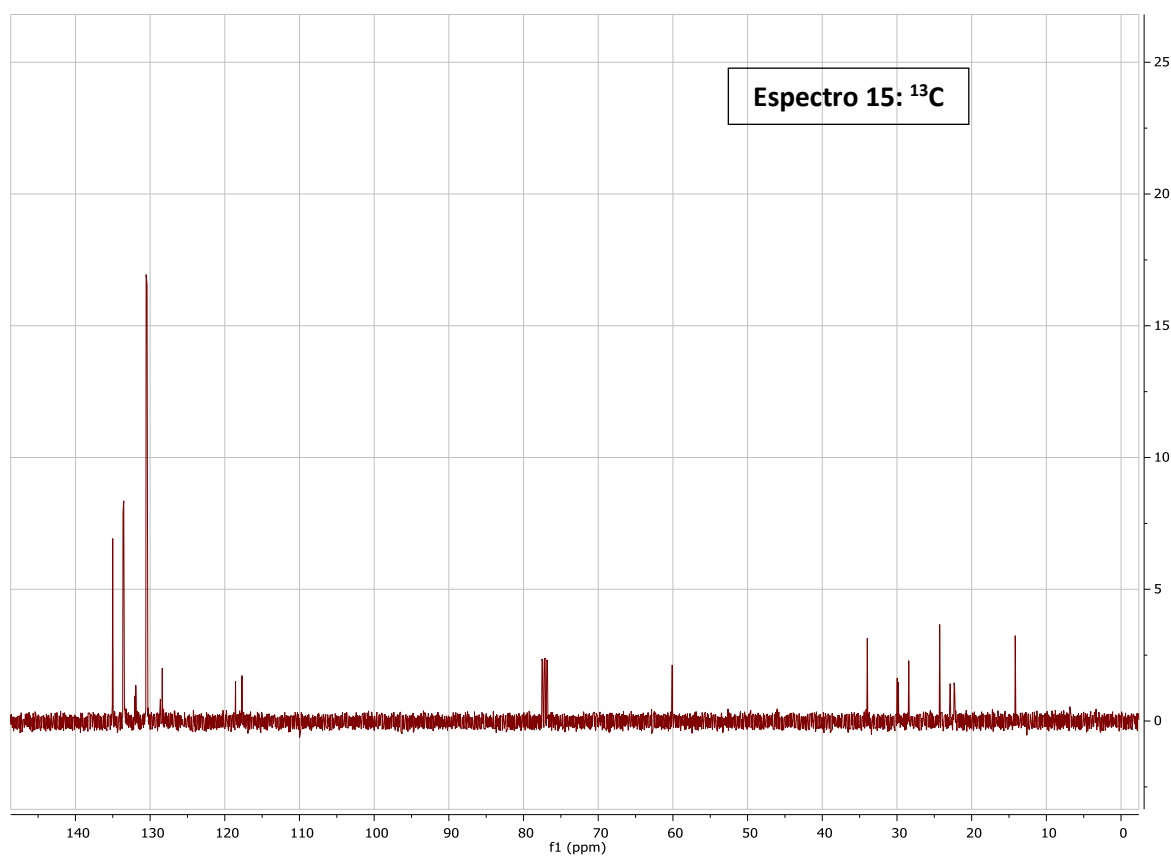
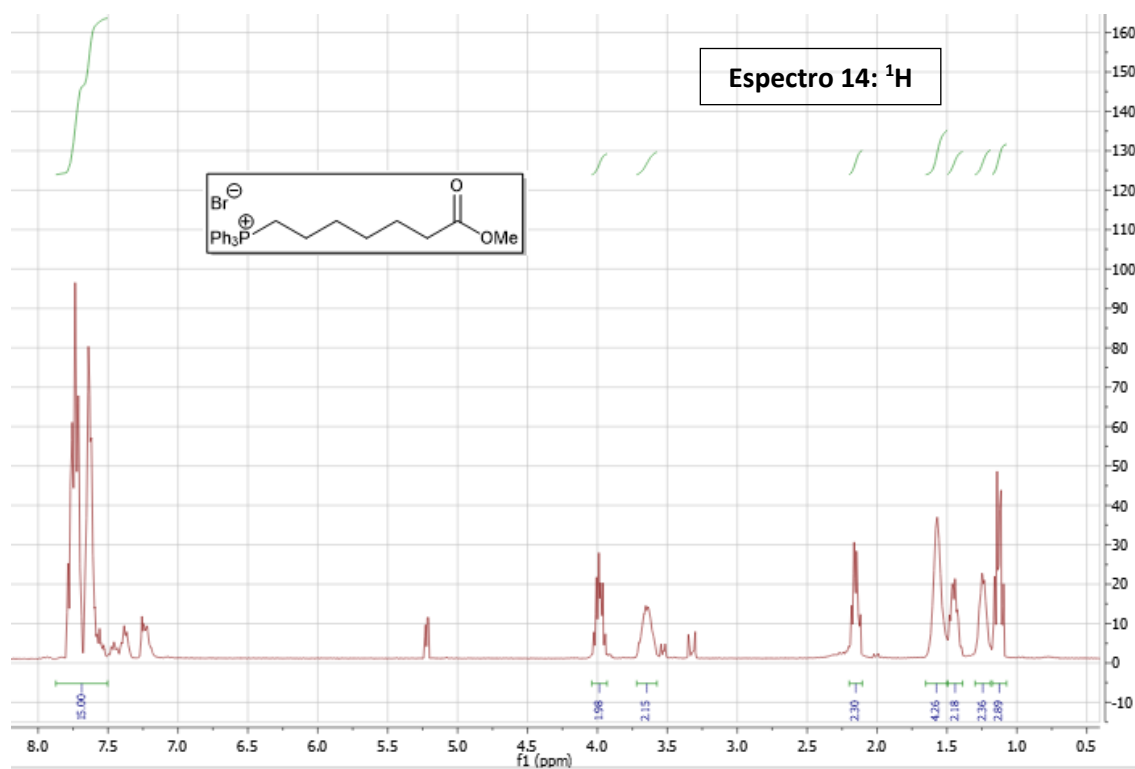




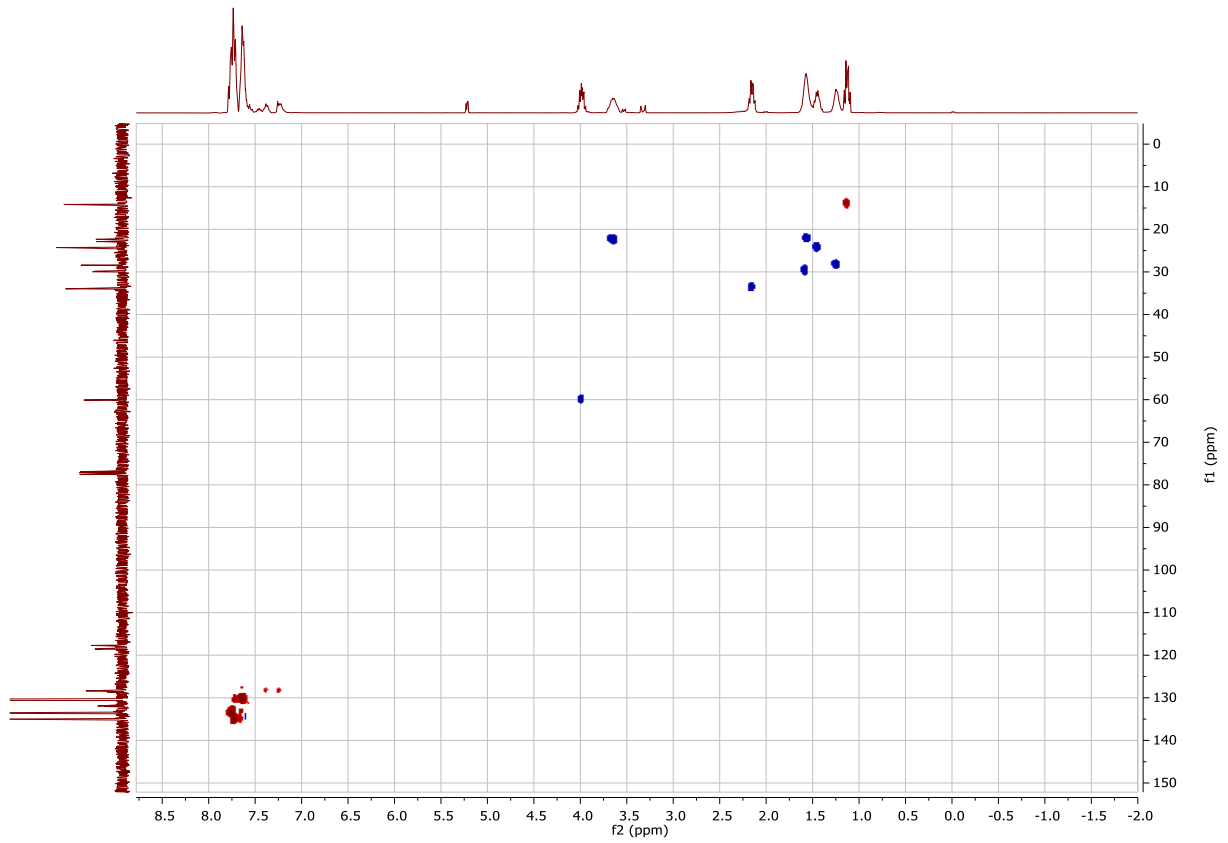
**Compuesto 6: 2,3,4,5,6-petakis(metoximetoxi)ciclohexanol**



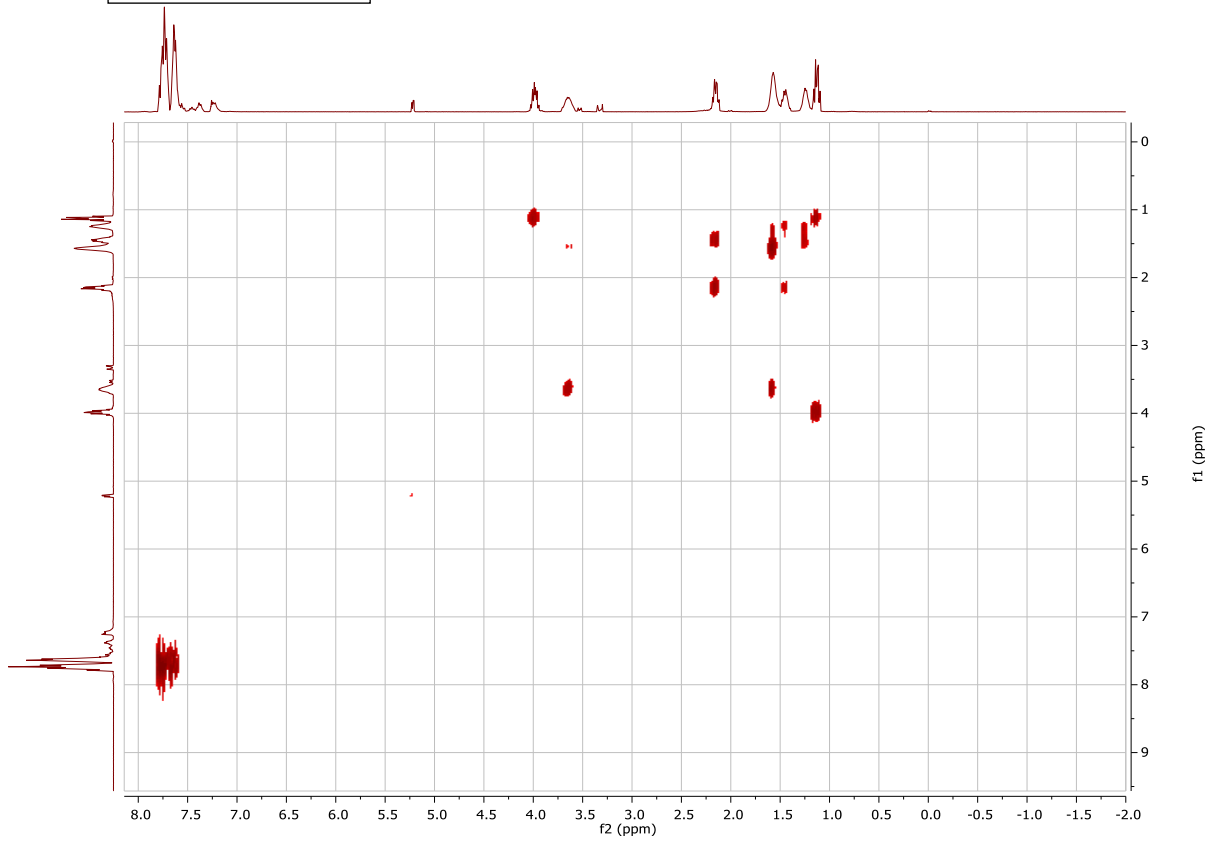
**Compuesto 7:** Bromuro de (7-metoxi-7-oxoheptil)trifenilfosfonio



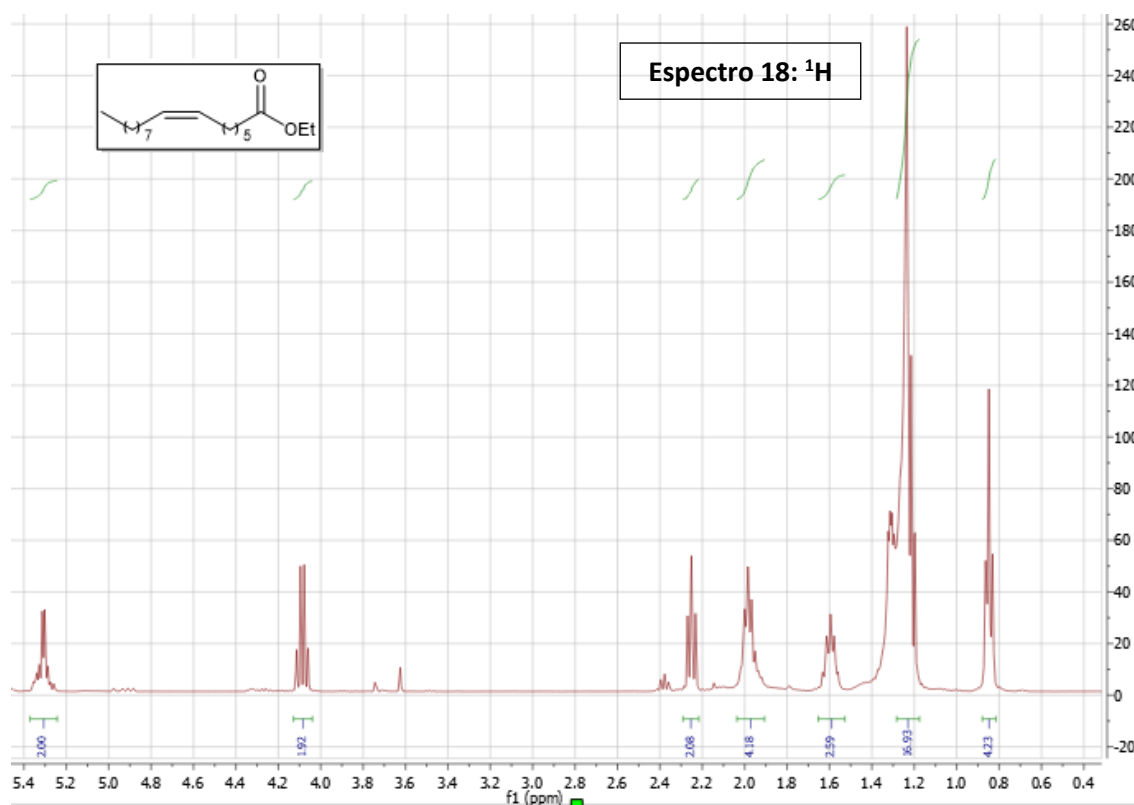
**Espectro 16: HSQC**



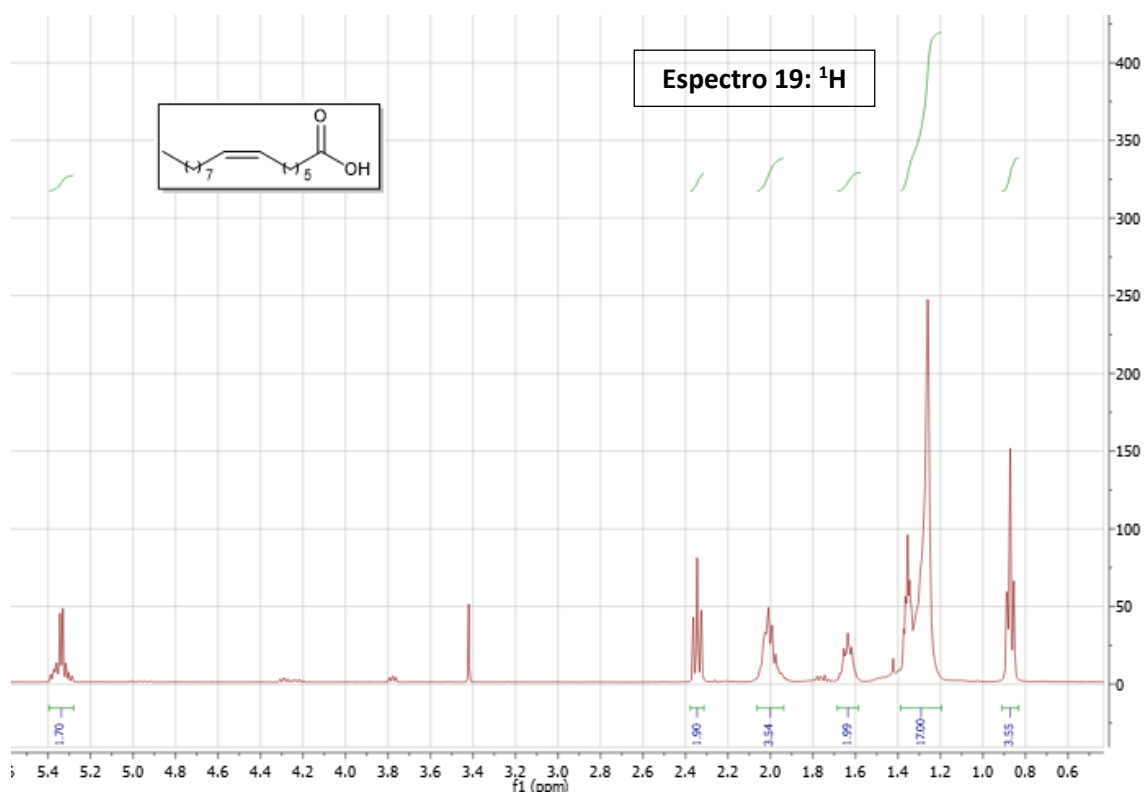
**Espectro 17: COSY**



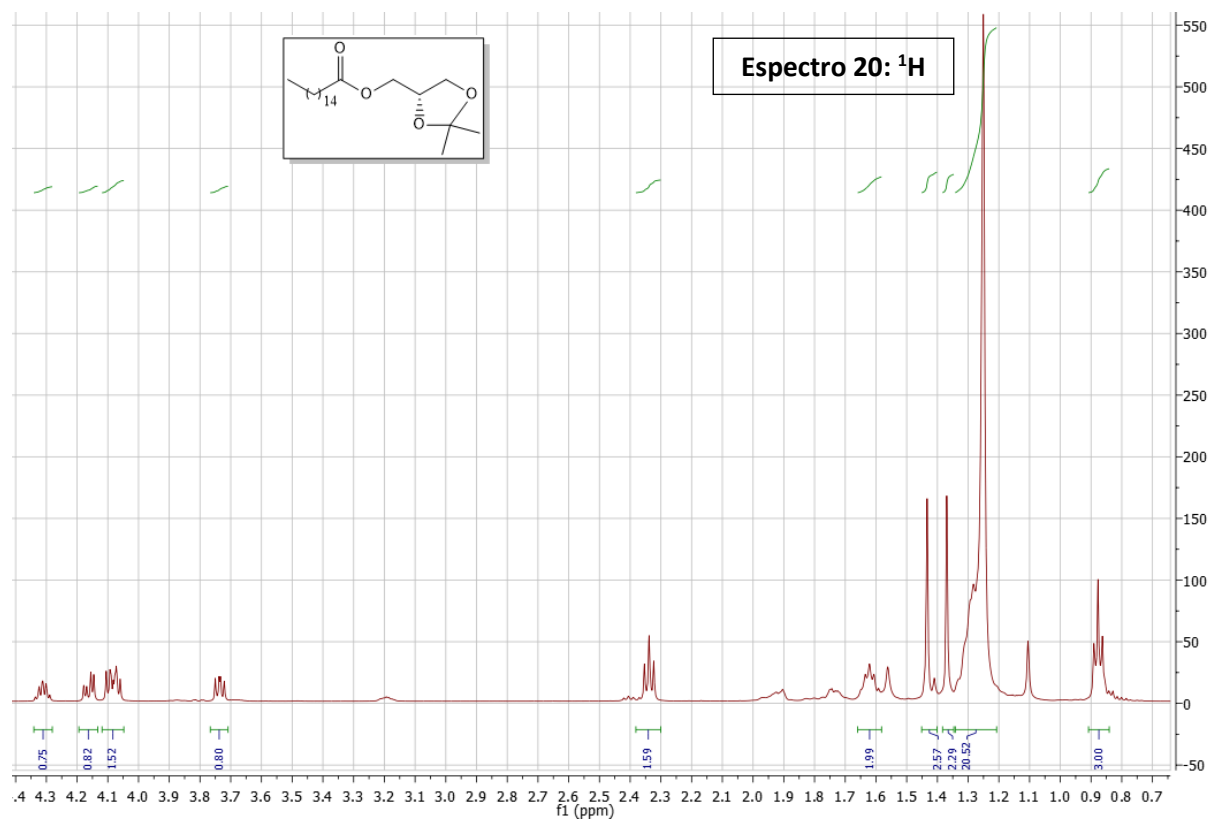
### Compuesto 8: (Z)-7-hexadecenoato de etilo



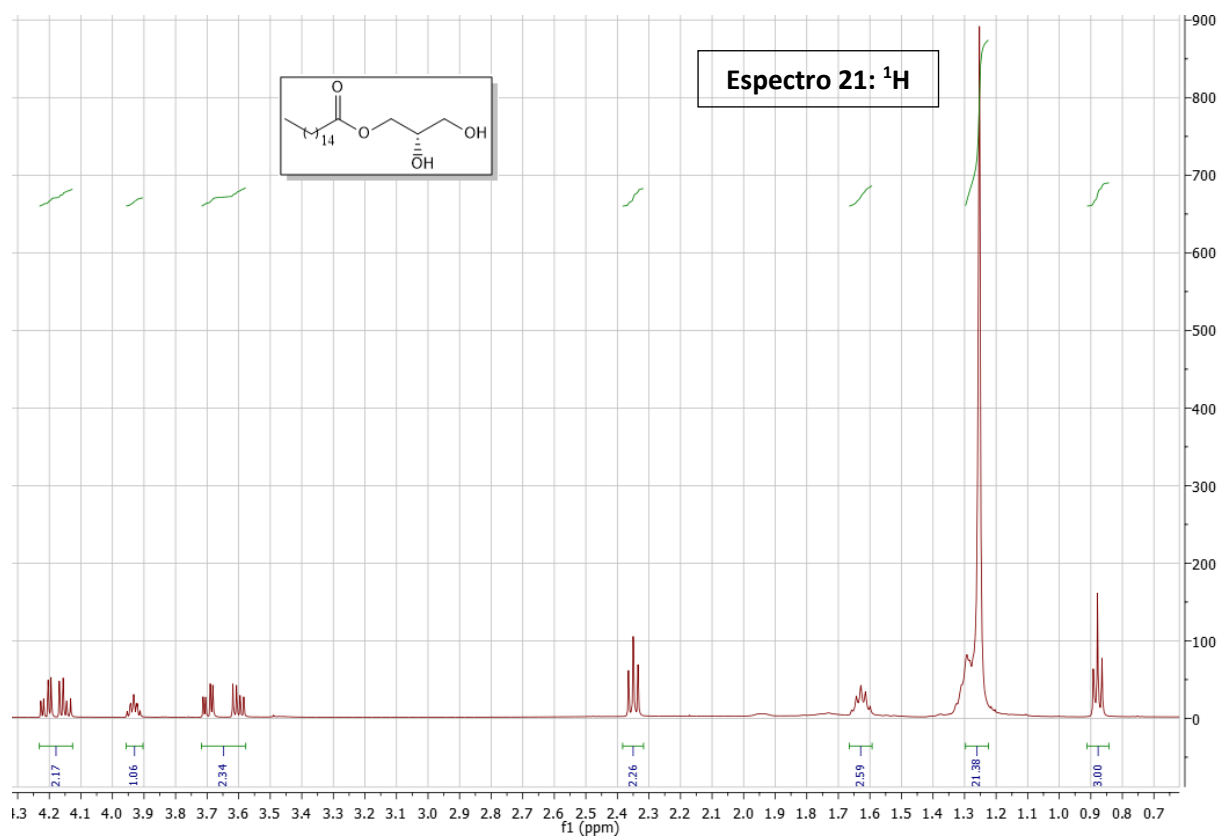
### Compuesto 9: Ácido (Z)-7-hexadecenoico



**Compuesto 10:** palmitato de (2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il) metilo

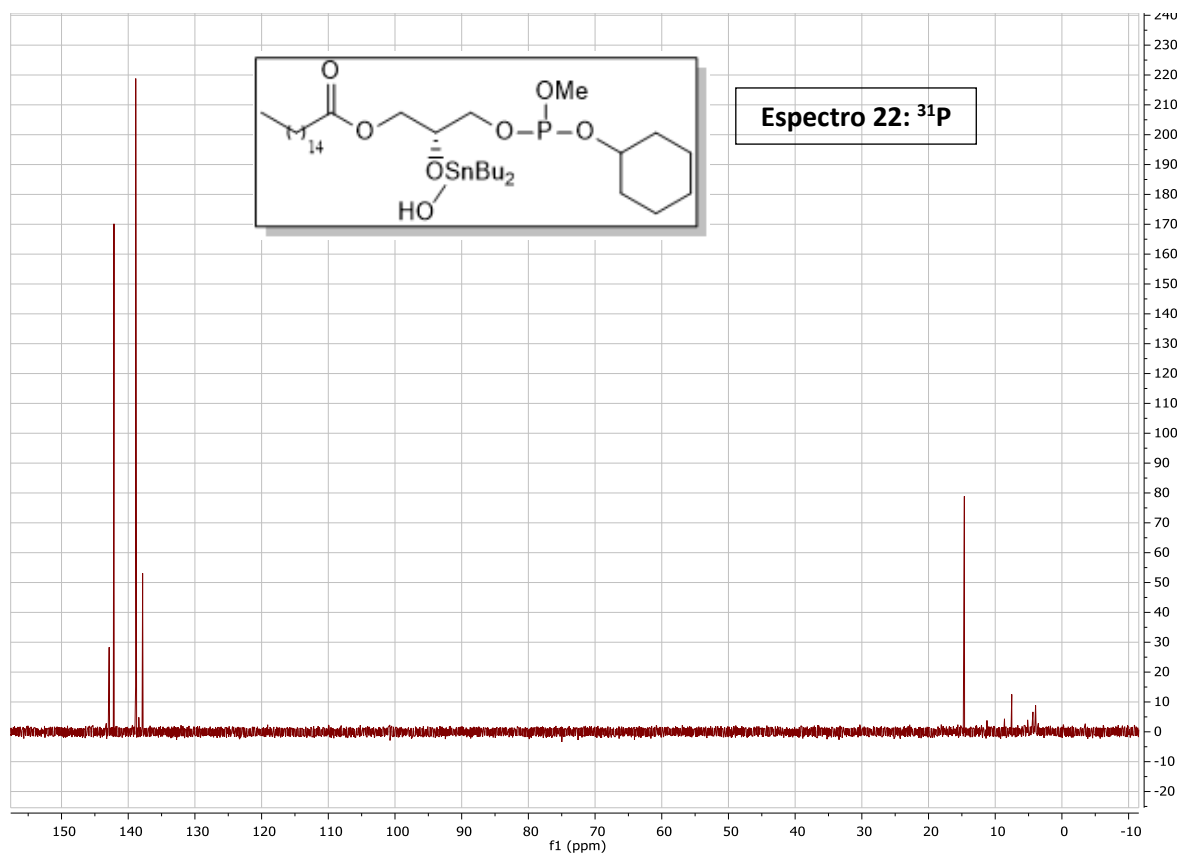


**Compuesto 11:** palmitato de 2,3-dihidropropilo

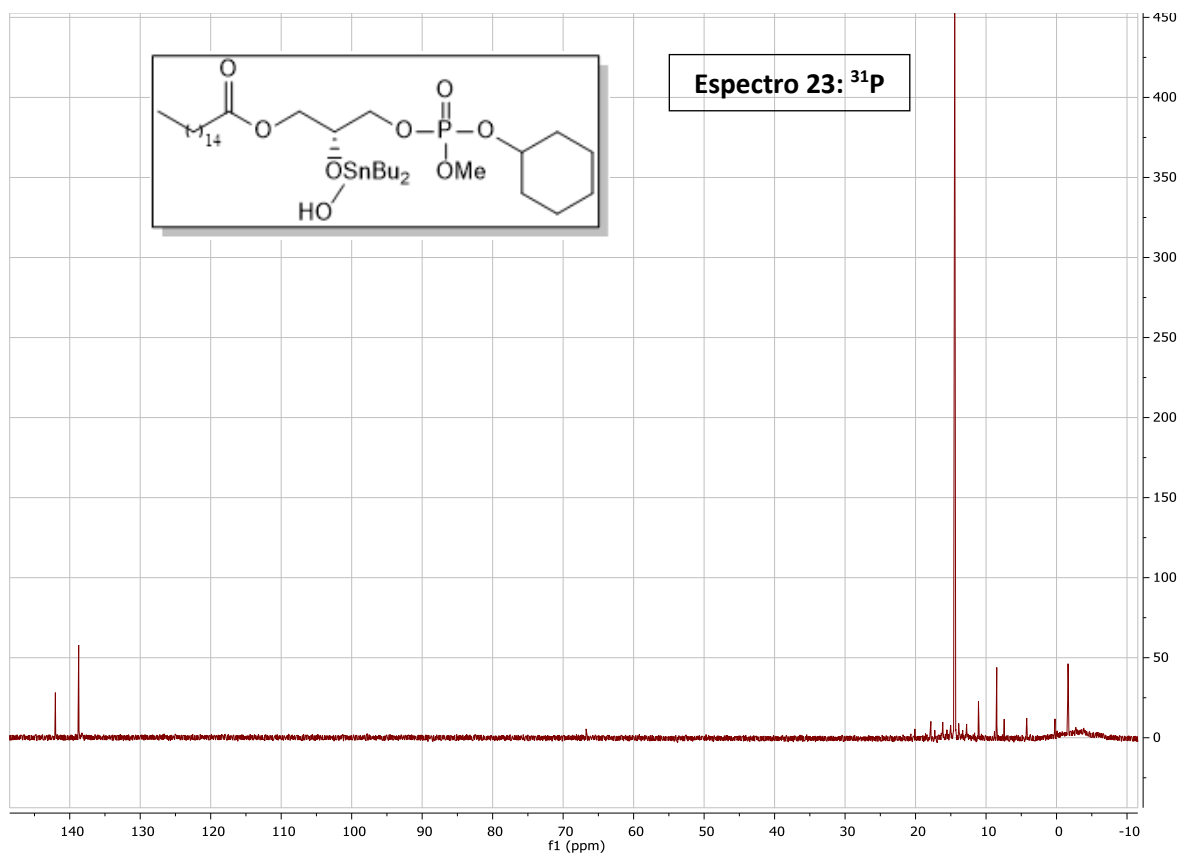




**Compuesto 12:** palmitato de (2R)-3-[[[(ciclohexiloxi)(metoxi)fosfaenil]oxi]-2-  
[[dibutil(hidroperoxi)estanil]oxi]propilo



**Compuesto 13:** palmitato de (2R)-3-[[[(ciclohexiloxi)(metoxi)fosforil]oxi]-2-  
[[dibutil(hidroperoxi)estanol]oxi]propilo



## 10. BIBLIOGRAFÍA

- [1]. Guijas, C., Meana, C., Astudillo, A.M., Balboa, M.A. & Balsinde, J. (2016) Foamy monocytes are enriched in cis-7-hexadecenoic fatty acid, 16:1n-9, a possible biomarker for early detection of cardiovascular disease. *Cell Chem. Biol.* 23: 689-699.
- [2]. A. García de Lorenzo y Mateos, J. López Martínez y M. Sánchez. Systemic inflammatory response: pathophysiology and mediators.
- [3]. Astudillo, A.M., Meana, C., Guijas, C., Pereira, L., Lebrero, P., Balboa, M.A. & Balsinde, J. (2018) Occurrence and biological activity of palmitoleic acid isomers in phagocytic cells. *J. Lipid Res* 59: 237-249.
- [4]. Guijas, C., Pérez-Chacón, G., Astudillo, A.M., Rubio, J. M., Gil-de-Gómez, L., Balboa, M.A. & Balsinde, J. (2012) Simultaneous activation of p38 and JNK by arachidonic acid stimulates the cytosolic phospholipase A2-dependent synthesis of lipid droplets in human monocytes. *J. Lipid Res.* 53: 2343–2354.
- [5]. Angeliki Bourtsala, Dia Galanpoulou. *Encyclopedia of Food Chemistry*, 277-286 (2019).
- [6]. Sonia Campano Tiedra. Síntesis de fosfolípidos derivados del ácido (Z)-7-hexadecenoico y mioinositol. (2017)
- [7]. Silvia del Moral Peñas. Síntesis de glicerofosfomioinositoles portadores del ácido (Z)-7-hexadecenoico. (2018)
- [8]. María Martín Calvo. Preparación de fosfomioinositoles portadores del ácido (Z)-7-hexadecenoico. (2019)
- [9]. *Subcellular Biochemistry, Volume 39. Biology of Inositols and Phosphoinositides.*
- [10]. 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).

- [11]. Robert J. Kubiak and Karol S. Bruzik. Comprehensive and Uniform Synthesis of All Naturally Occurring Phosphorylated Phosphatidylinositols. *J. Org. Chem.* 68, 960-968 (2003).
- [12]. Kana M. Sureshan, Mysore S. Shashidhar, Thoniyot Praveen, and Tanya Das. Regioselective Protection and Deprotection of Inositol Hydroxyl Groups. *Chem. Rev.* 103, 4477-4503 (2003).
- [13]. 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).
- [14]. Djuric, S.W.; Miyashiro, J.M.; Penning, T.D.; Keith, R.H.; Villani-Price, D. and Tsai, B-S. *Biorganic & Medicinal Chemistry Letters.* 1, 179-182 (1991).
- [15]. Kaltia, J, Matikainen, J, Ala-Peijari, M, Hase, T, Kaltia, S. Synthesis of ethyl 5Z, 9Z,12Z-octadecatrienoate (ethyl pinolenate) and methyl 12Z,15Zoctadecadienoate. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 85, 561-565 (2008).
- [16]. Thurnhofer, S. & Vetter, W. Synthesis of (S)-(+)-enantiomers of food-relevant (n5)-monoenoic and saturated anteiso-fatty acids by a Wittig reaction. *Tetrahedron* 63, 1140-1145 (2007).
- [17]. Mostyn, S. N. et al. Synthesis and Characterization of Novel Acyl-Glycine Inhibitors of GlyT2. *ACS Chem. Neurosci.* 8, 1949-1959 (2017).
- [18]. Carmen E. Burgos, Donald E. Ayer, and Roy A. Johnson. A New, Asymmetric Synthesis of Lipids and Phospholipids. *J. Org. Chem.* 52, 4973-4977 (1987).
- [19]. Dyer, B. S. et al. Synthesis and Structure of Phosphatidylinositol Dimannoside. *J. Org. Chem.* 72, 3282-3288 (2007).
- [20]. 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).

- [21]. D'Arrigo, P. & Servi, S. Synthesis of lysophospholipids. *Molecules* 15, 1354–1377 (2010).
- [22]. Piers R. J. Gaffney and Colin B. Reese. Preparation of 2-O-Arachidonoyl-1-O- stearoyl-sn-glycerol and Other Di-O-Acyl Glycerol Derivatives. *Tetrahedron Lett.* 38, 2539-2542 (1997).
- [23]. Stephen F. Martin, John A. Josey, Yue-Ling Wong, and Daniel W. Dean. General Method for the Synthesis of Phospholipid Derivatives of 1,2-O-Diacyl-sn-glycerols. *J. Org. Chem.* 59, 4805-4820 (1994).
- [24]. Lim, Z.-Y., Thuring, J. W., Holmes, A. B., Manifava, M. & Ktistakis, N. T. Synthesis and biological evaluation of a PtdIns(4,5)P<sub>2</sub> and a phosphatidic acid affinity matrix. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 1067–1075 (2002).
- [25]. Yi-Fong Wang, James J. Lalonde, Milagros Momongan, David E. Bergbreiter, and Chi-Huey Wong. 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).
- [26]. Hanessian S, David S. Regioselective Manipulation of Hydroxyl Groups Via Organotin Derivates. *Tetrahedron* 41, 643-66. (1985).
- [27]. Ezio Fasoli, Alberto Arnone, Antonio Caligiuri, Paola D'Arrigo, Lorenzo de Ferrab and Stefano Servi. Tin-mediated synthesis of lysophospholipids. *Org. Biomol. Chem.* 4, 2974-2978. (2006)
- [28]. P. D' Arrigo et al. A practical selective synthesis of mixed short/long chains glycerophosphocholines. *Chemistry and Physics of Lipids* 147, 113-118 (2007).
- [29]. S. C. Mwakwari et al. Efficient tin-mediated synthesis of lysophospholipids conjugates of a TLR7/8-active imidazoquinoline. *Tetrahedron Lett.* 57, 2093-2096 (2016).

[30]. Bruzik, K. S. & Salamończyk, G. M. Synthesis of the enantiomeric 1,4,5,6-tetra-Obenzyl-myo inositols. *Carbohydr. Res.* 195, 67–73 (1989).

[31]. 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).

[32]. 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).

[33]. Lindberg, J., Öhberg, L., Garegg, P. J. & Konradsson, P. Efficient routes to glucosaminemyo-inositol derivatives, key building blocks in the synthesis of glycosylphosphatidylinositol anchor substances. *Tetrahedron* 58, 1387–1398 (2002).