



Universidad de Valladolid

Facultad de Ciencias

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Técnicas Avanzadas en Química. Análisis y Control de Calidad
Químicos

Oxidación de fosfinas en derivados de mio-inositol.

Autor: Inés Saiz San Pedro

Tutor/es: Alfonso Pérez Encabo

Índice

1. Resumen.....	3
2. Introducción y Antecedentes Bibliográficos.....	4
2.1 Lípidos: Clasificación.....	4
2.2 Transducción de Señales	5
2.2.1 Tipos de Comunicación Intercelular.....	5
2.2.2 Tipos de Receptores: Receptores acoplados a proteínas G.	7
2.2.3 Sistema de la fosfolipasa C: Formación fosfatidilinositoles.	7
2.3 Síntesis del diacilglicérido.....	9
2.4 Síntesis del derivado de mio-inositol	12
2.5 Síntesis del fosfolípido derivado de mio-inositol deseado.....	14
3. Objetivos y plan de trabajo	17
4. Resultados y discusión.....	18
4.1 Síntesis del derivado de mio-inositol	18
4.2 Síntesis de fosfinas	21
4.3 Oxidación de fosfinas a fosfatos.....	22
5. Conclusiones.....	24
6. Materiales y métodos.....	25
6.1 Síntesis 2,2-dimetoxi-1,7,7-trimetilbicyclo [2.2.1] heptano (3): ¹¹	25
6.2 Síntesis 2,3-O-(1',7',7'-trimetil (2.2.1) bicyclohept-2'-iliden)-mioinositol (5): ¹²	26
6.3 Síntesis 1-O-(terc-butildifenilsilil)-2,3-O-(1', 7', 7'-trimetil [2.2.1]bicyclohept-2'-iliden-mioinositol (8)	27
6.4 Síntesis 1-O-(terc-butildifenilsilil)-mioinositol (11) ¹⁷	28
6.5 Síntesis 2, 3, 4, 5, 6-pentakis(metoximetoxi)ciclohexiloxil(terc-butildifenilsililo) (14): ¹⁷	29
6.6 Síntesis 2, 3, 4, 5, 6-pentakis(metoximetoxi)ciclohexanol (16) ¹⁷	30
6.7 Síntesis (2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il) metil heptadecanoato (21)	31
6.8 Síntesis (R) -2-hidroxi-3 - ((trietilsilil) oxi) propil heptadecanoato: (24) ¹⁷	32
6.9 Síntesis (S) -1- (heptadecanoiloxi) -3-hidroxipropan-2-il -octadec-8-enoato: (26) ¹⁷	34
6.10 Síntesis del peryodato de tetrabutilamonio: (29)	36
6.11 Síntesis 1- (benciloxi) -N, N, N', N'-tetrakispropilfosfanodiamina (31):	37
6.12 Síntesis (Z) -benciloctadec-9-en-1-il diisopropilfosforamidito (34) ¹⁷	38
6.13 Síntesis (Z) -octadec-9-en-1-il-2,3,4,5,6-pentakis (metoximetoxi) ciclohexil) fosfato. (35) ¹⁷	
7. Anexos	40

1. Resumen

El objetivo de dicha síntesis es obtener fosfinas derivadas del mio-inositol. Para ello, inicialmente se partirá del mio-inositol, con el objetivo de proteger regioselectivamente todos sus grupos hidroxilo excepto el de la posición 1. La clave de esta estrategia es utilizar D-Camphor (este compuesto, sirve como un auxiliar quiral) y otros grupos protectores como metil cloro metil éter (MOM-Cl) o terc-butil (cloro) difenilsilano (TBDPS-Cl). La segunda clave es desarrollar regioespecificidad en la introducción de grupos protectores. Por lo tanto, el primer grupo protector se introduce regioespecíficamente en las posiciones 2 y 3.

Por otra parte, se sintetizará el Palmitato de (2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il) metilo, el cual se desprotegerá su grupo acetal para incluir otro grupo protector Trifluorometanosulfonato de trimetilsililo (TESOTf) e introducir otro ácido graso, en este caso el oleico. Una vez obtenido este compuesto, se producirá la adición de 1- (benciloxi) -N, N, N', N'-tetraisopropilfosfanodiamina (también sintetizado previamente).

Además, se sintetizará la fosfina derivada de (Z)-octadec-9-en-1-ol. Y se ensayarán con el oxidante Bu_4NIO_4 la transformación de la fosfina en fosfato sin que se sufra alteración del doble enlace C=C.

2. Introducción y Antecedentes Bibliográficos

Los lípidos son un grupo heterogéneo de biomoléculas. Se definen como aquellas sustancias de los seres vivos que se disuelven en solventes no polares y que no lo hacen de manera perceptible en disolventes acuosos. Sus funciones son variadas. Diversas clases de moléculas lipídicas, como por ejemplo los fosfolípidos y los esfingolípidos, son componentes estructurales importantes de las membranas celulares. Otro tipo, las grasas y los aceites (ambos son triacilgliceroles (TGs)), almacenan energía de modo eficaz¹.

2.1 Lípidos: Clasificación

Los lípidos pueden clasificarse de muchas formas diferentes. En este trabajo, los lípidos pueden subdividirse en las siguientes clases:¹

1. Ácidos grasos
2. Triacilgliceroles (TGs)
3. Ésteres de ceras
4. Fosfolípidos (fosfoglicéridos y esfingomielinas)
5. Esfingolípidos (moléculas diferentes a la esfingomielina que contienen el aminoalcohol esfingosina)
6. Isoprenoides (moléculas formadas por unidades repetidas de isopreno, un hidrocarburo ramificado de cinco carbonos)

Nos centraremos en el caso concreto de los fosfolípidos, concretamente en los fosfoglicéridos derivados del mio-inositol.

Los fosfolípidos, son lípidos anfipáticos, que se encuentran en las membranas celulares, disponiéndose como bicapas lipídicas. Pertenecen al grupo de lípidos derivados del glicerol, presentando una estructura similar a la de los triglicéridos (TGs). En este sentido, los fosfolípidos están compuestos por una molécula de glicerol a la que se unen 2 ácidos grasos en las posiciones sn-1 y sn-2, estos ácidos grasos pueden presentar distinto largo de cadena hidrocarbonada, y variar en el grado de insaturación según su procedencia. Sin embargo, se diferencian de los TGs ya que en la posición sn-3 está ligada una molécula de ácido ortofosfórico, en lugar de un tercer ácido graso. Estos grupos fosfato están

¹ Trudy McKee, James R. McKee. Bioquímica. Las bases moleculares de la vida. (2014). Capítulos 11 y 12. McGraw-Hill

siempre unidos a diferentes tipos de moléculas, de esta forma, cuando esta molécula se une al polialcohol cíclico inositol, se forma el fosfatidil inositol (PI)²

Como ya se mencionó, los *fosfolípidos* son un amplio grupo de lípidos que contienen un grupo fosfato como característica estructural común. Por ello, son moléculas *anfipáticas*, con una zona apolar formada por las colas de los ácidos grasos y otra polar que contiene, el grupo fosfato y algún otro componente específico del tipo de fosfolípido. Están especialmente diseñados para formar la *bicapa lipídica* constitutiva de las membranas biológicas, tanto la plasmática como las que delimitan los diferentes orgánulos subcelulares, aunque también pueden cumplir otras funciones, como ser agentes tensoactivos.³

Los fosfatidilinositoles son menos abundantes en las membranas biológicas, pero tienen una función reguladora importante, son mensajeros que intervienen en la regulación hormonal y en los mecanismos de transducción de señales hasta el interior celular. El más importante es el fosfatidilinositol- 4,5-bifosfato (PIP2) que, al hidrolizarse por una fosfolipasa, da lugar a diacilglicerol (DAG) e Inositol 1,4,5-trisfosfato o trifosfoinositol (IP3), dos sustancias claves en el proceso.³

2.2 Transducción de Señales

Las células reconocen y responden a múltiples señales procedentes de su entorno. A fin de conseguir un desarrollo armónico y coordinado en los organismos pluricelulares, existen elaborados sistemas de comunicación entre células. La comunicación intercelular puede ser directa (exige el contacto físico entre las células) o indirecta (mediada por moléculas de señalización o ligandos).⁴

2.2.1 Tipos de Comunicación Intercelular

Es posible distinguir distintos tipos de comunicación intercelular.

- **Comunicación intercelular directa:**⁴

Tiene lugar únicamente entre células adyacentes cuyas membranas plasmáticas están en contacto. Dentro de este tipo de comunicación es posible distinguir diferentes formas:

² Torres García Jairo, Durán Agüero Samuel. Fosfolípidos: propiedades y efectos sobre la salud (2015),31:76-83, Universidad autónoma de Chile, CODEN NUHOEQ.

³ J.A. Lozano. Bioquímica y Biología molecular para Ciencias de la Salud. (2005). Capítulos 6 y 12. McGraw-Hill

⁴ Ennis IL; Villa-Abrille MCM. Hipertensión Epidemiología, fisiología, fisiopatología, diagnóstico y terapéutica-Receptores y Mecanismos de transducción de señales. (2013). Sociedad Argentina de Hipertensión Arterial.

1. Uniones tipo hendidura o gap

Están formadas por estructuras proteicas denominadas conexones que se ensamblan y crean canales entre las membranas de dos células en contacto, logrando que ambas se acoplen metabólica y eléctricamente

2. Uniones adherentes

Están formadas por los dominios extracelulares de ciertas proteínas transmembrana denominadas cadherinas que interaccionan de forma dependiente de Ca^{+2} ; se agrupan entre ellas y con otras proteínas intracelulares, las cateninas.

1. Ligandos asociados a membrana

Otra forma de comunicación directa entre células adyacentes es a través de la interacción de un receptor de la membrana plasmática de una célula con un ligando que es, a su vez, parte de la membrana plasmática de la célula adyacente.

- Comunicación intercelular indirecta.⁴

Dos (o más) células pueden comunicarse entre sí sin estar en contacto directo utilizando diferentes moléculas que funcionan como señales químicas entre la célula que la produce y la célula diana. Las moléculas señales (ligandos) pueden actuar de tres formas diferentes:

1. Autocrina: la molécula señal actúa sobre receptores ubicados en la membrana de la célula que la produjo. Este mecanismo permite la autorregulación de las funciones celulares.
2. Paracrina: la molécula señal es liberada al líquido intersticial (espacio entre células) y difunde a células vecinas o adyacentes, modificando su función.
3. Endocrina: la molécula señal, en este caso denominada hormona, llega al torrente sanguíneo para así alcanzar células alejadas del sitio de producción. La selectividad está dada por la presencia de receptores específicos para estas moléculas en la célula diana.

2.2.2 Tipos de Receptores: Receptores acoplados a proteínas G.

La inducción en la comunicación intracelular consiste en estimular a una célula para que produzca una respuesta. Se da generalmente a través de una sustancia inductora producida por la célula emisora, llamada ligando o primer mensajero el cual actúa con la célula diana a través de una estructura llamada receptor. Los receptores pueden dividirse en cuatro categorías de acuerdo con su ubicación y al mecanismo de transducción de señales que tienen asociado: ⁴

1. Canales iónicos activados por ligandos (receptores ionotrópicos): La unión del ligando al receptor produce un cambio en el canal.
2. Receptores acoplados a Proteínas G, heterotrímeros ($\alpha\beta\gamma$): La unión de un ligando (hormona) al receptor activa la proteína G, que da lugar a una cascada enzimática
3. Receptores Catalíticos: La unión de la hormona al receptor provoca la interacción de este con enzimas
4. Receptores intracelulares o Nucleares. Se sitúan en el citoplasma o en el núcleo.

Además, desde un punto de vista bioquímico se distinguen dos grandes tipos de ligandos o primeros mensajeros:

1. Hidrofóbicos: Aquellos que pueden atravesar la membrana celular y unirse a su receptor en el interior de la célula.
2. Hidrofílicos: No pueden atravesar la membrana plasmática y se han de unir al receptor de esta.

Nos centraremos en los Receptores acoplados a proteínas G, pues es donde intervienen los fosfatidilinositoles. Dichos receptores, Están compuestos por una única cadena polipeptídica que atraviesa siete veces la membrana (siete dominios transmembrana), un dominio amino-terminal extracelular y un dominio carboxilo-terminal hidrofílico intracelular. Estas proteínas están formadas por tres subunidades ($\alpha\beta\gamma$) y dos formas interconvertibles, la forma activa se caracteriza o define por tener asociado GTP a la subunidad α , mientras que la forma inactiva lleva asociado el GDP. La unión de la hormona provoca la sustitución de nucleótido pasando de GDP a GTP, lo cual provoca la disociación de la subunidad α y la proteína G sin esta subunidad actúa sobre el sistema efector. Estos sistemas efectores son encargados de modificar los niveles de segundos mensajeros en el interior de las células para lograr cambios en la actividad celular. El sistema fosfolipasa C es un sistema efector activado por proteína G.

2.2.3 Sistema de la fosfolipasa C: Formación fosfatidilinositoles.

Las proteínas G activan una enzima la fosfolipasa C, unida a las membranas celulares. La fosfolipasa utiliza como sustrato un fosfolípido de membrana, el fosfatidil-inositol-4,5, bisfosfato (PIP₂) que se convierte en inositol-1,4,5- trifosfato (IP₃) y diacilglicerol (DAG), ambos con funciones de 2º mensajero.

El IP₃, es un producto hidrosoluble que difunde desde la membrana plasmática al retículo endoplásmico, uniéndose a receptores específicos y a través de proteínas G produce la apertura masiva de canales de Ca²⁺, de esta manera permite la salida al citoplasma del calcio almacenado en el interior del retículo endoplásmico. Los niveles de Ca²⁺ citoplasmático aumentan unas cien veces, actuando este ión como mensajero (tercer mensajero).

El DAG permanece en la membrana y activa una proteína quinasa (PKC), que fosforila proteínas específicas muy diversas, enzimas, receptores, canales iónicos, etc. Estas acciones son muy amplias, desde procesos de secreción celular a regulación en la expresión de genes o acciones metabólicas.⁵

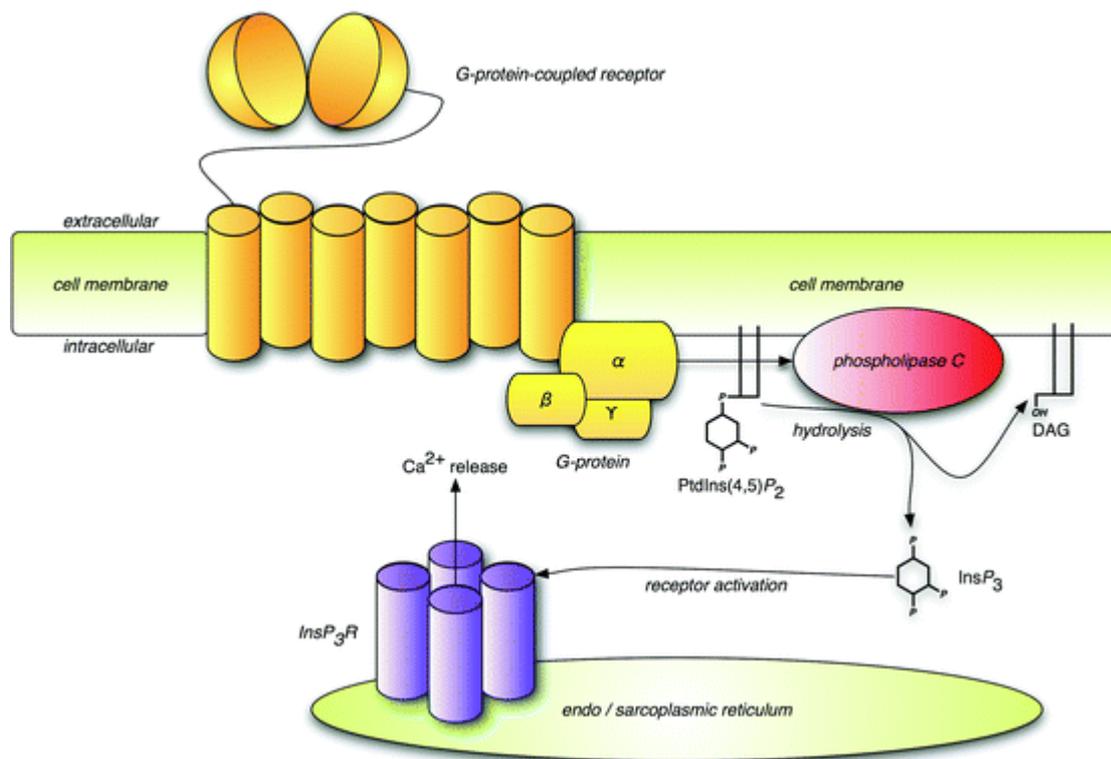


Ilustración 1 La estimulación de los receptores de la superficie celular conduce a la activación de la fosfolipasa C específica de fosfoinositido (PLC), que hidroliza el 4,5-bisfosfato de fosfatidilinositol [PtdIns (4,5) P₂] (1) para dar D -mio- 1,4,5-trifosfato de inositol (Ins P₃, 2) y diacilglicerol (DAG, 3). El DAG es lipófilo y permanece dentro de la membrana celular para evocar sus acciones celulares a través de la activación de ciertas enzimas de la proteína quinasa C (PKC). Ins P₃ es hidrófilo y se difunde hacia el citosol celular y hacia la membrana del retículo endoplásmico (o sarcoplásmico), donde interactúa con sus receptores (Ins P₃ Rs). Los Ins P₃ Rs son canales iónicos activados por ligando, que, en unión de Ins P₃ de liberación de Ca²⁺ desde distintas zonas intracelulares⁶

⁵ J. Merino Pérez, M.J. Noriega Borge. Señales Químicas. Fisiología General. Open Course-Ware. Universidad de Cantabria

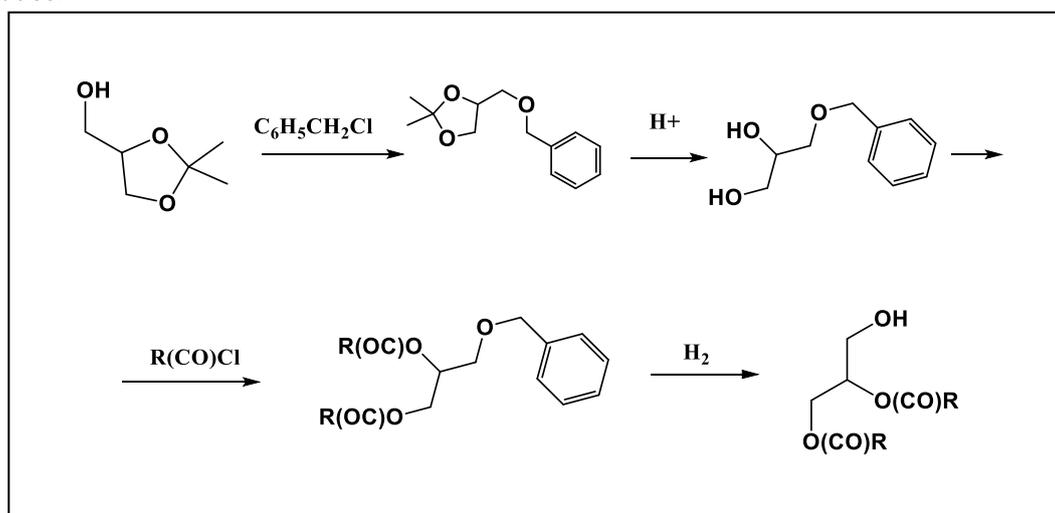
⁶ Stuart J. Conway, Gavin J. Millera. Biology-enabling inositol phosphates, phosphatidylinositol phosphates and derivatives (2007). 24, 687-707 Nat. Prod. Rep

En la siguiente sección se comentará alguna ruta sintética alternativa a la ruta empleada experimentalmente. Se dividirá en tres secciones: Síntesis del diacilglicérido, Síntesis del mio-inositol y Síntesis del fosfolípido derivado de mio-inositol.

2.3 Síntesis del diacilglicérido

Los fosfolípidos naturales típicamente tienen dos cadenas de acilo diferentes, y la síntesis de tales fosfolípidos históricamente ha sido problemática.

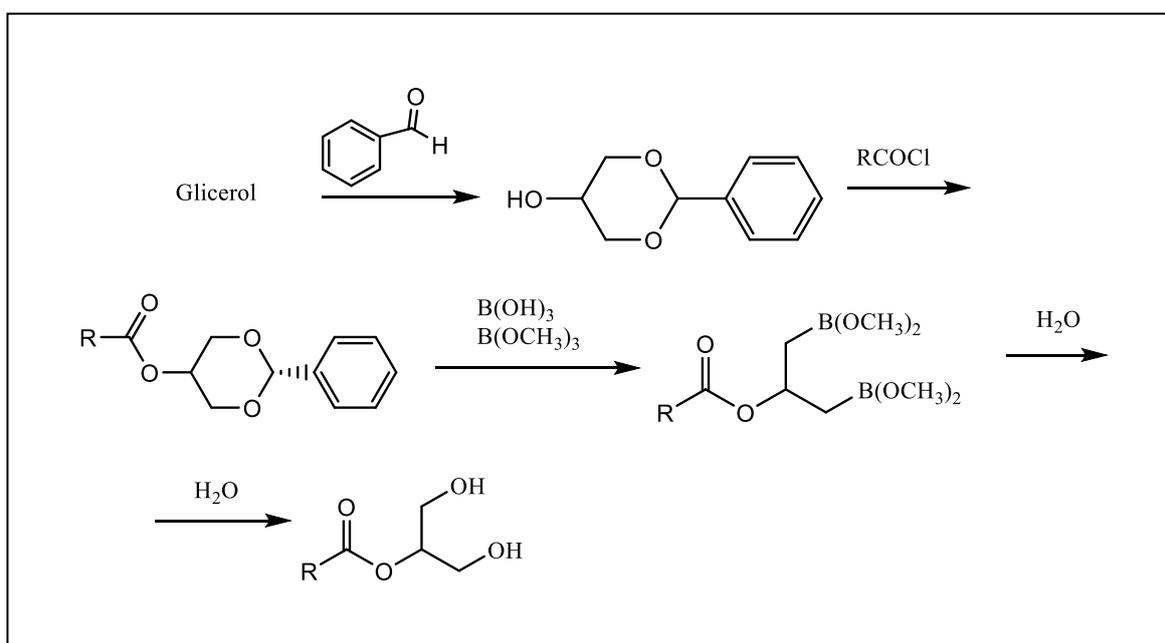
Con la excepción de ciertos 1,3 diacilglicéridos, un monoglicérido de estructura conocida es el material de partida preferido en la síntesis de diacilglicéridos. Debido a la facilidad con la que se isomeriza los monoglicéridos, la esterificación se limita al uso de cloruros de ácidos grasos. También se ha demostrado que los diacilglicerol también se isomerizan fácilmente, siendo la mezcla de equivalentes aproximadamente una mezcla 60-40 de 1,3 diacilglicerol y 1,2 diacilglicerol. Por lo tanto, las condiciones de esterificación y purificación utilizadas en la presencia de diacilglicéridos deben ser tal como para minimizar la isomerización del producto. En el Esquema 1, el grupo hidroxilo libre de 1,2 isopropiliden glicerol es bloqueado con bencil éter. El isopropilideno es eliminado y los grupos hidroxilo libres (posiciones 1 y 2) se acilan con cloruro de ácido graso. Debido a que los grupos hidroxilo se esterifican simultáneamente este método se limita a la síntesis de diacilglicéridos mono-ácidos. Se elimina el grupo bencilo por hidrogenólisis, que limita el método a la formación de diacilglicéridos disaturados.⁷



Esquema 1. Síntesis 1,2 diacilglicéridos disaturados

⁷ F. H. Mattson, R. A. Volpenhein. Synthesis and properties of glycerides. J. Lipid Research. July, (1962). Volume 3, Number 3

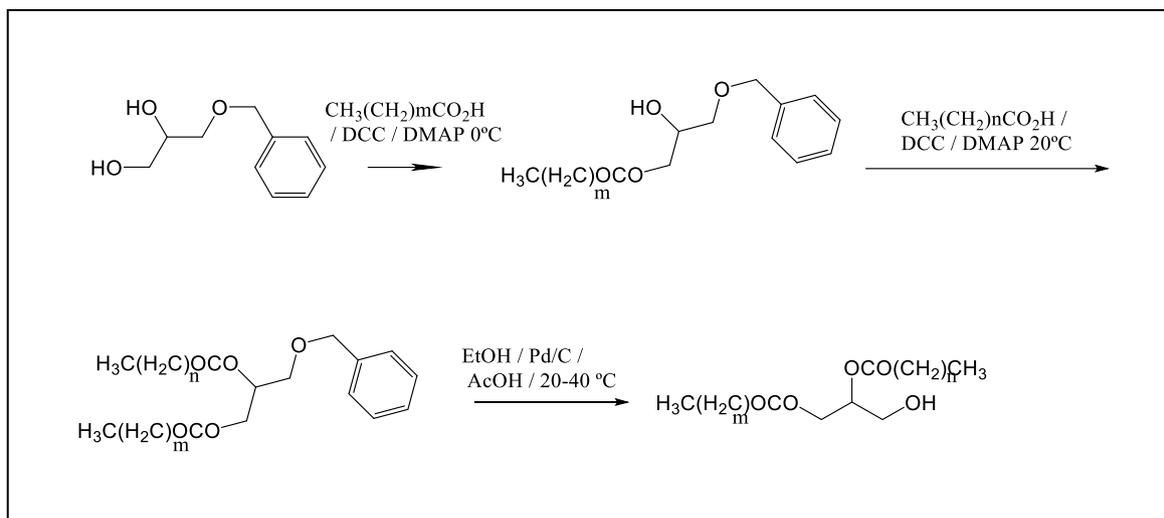
Se ha encontrado que la acilación incompleta de 2-monoglicérido seguido de la separación cromatográfica de 1,2-diacilglicéridos de la mezcla resultante de glicéridos es un procedimiento experimental para la preparación de 1,2-diacilglicéridos disaturados, diinsaturados y mixtos. El 2-monoglicérido apropiado cuya síntesis aparece en el Esquema 2, se acila a temperatura ambiente agregando una cantidad equimolar del cloruro de ácido graso. Se deja que la reacción prosiga durante sólo 4 horas. La mezcla de reacción final consta de ácido graso libre, 2-monoglicérido, 1,2-diglicérido y triglicéridos; sin embargo, en estas condiciones el diglicérido constituye al menos el 50% de la mezcla. Los diglicéridos se aíslan mediante cromatografía en gel de sílice. La pequeña cantidad de ácido graso libre contaminante se elimina disolviendo los diglicéridos en éter etílico húmedo y añadiendo, con agitación, la resina de intercambio iónico Amberlite 1RA-400 (OH)éter etílico húmedo. ⁷



Esquema 2. Síntesis 2-monoglicéridos saturados

Este método de síntesis es un desperdicio de materiales de partida, permite sin embargo obtener los 1,2-diglicéridos, en los que uno o ambos ácidos grasos están insaturados. Tiene la ventaja de simplicidad de manipulación.

Otro ejemplo, es el siguiente plan esbozado en el Esquema 3 podría proporcionar una ruta concisa y eficiente para obtener 1,2-O-diacil-sn-gliceroles disaturados.



Esquema 3. Síntesis diacilglicérido disaturado partiendo de 3-O-Bencilglicerol

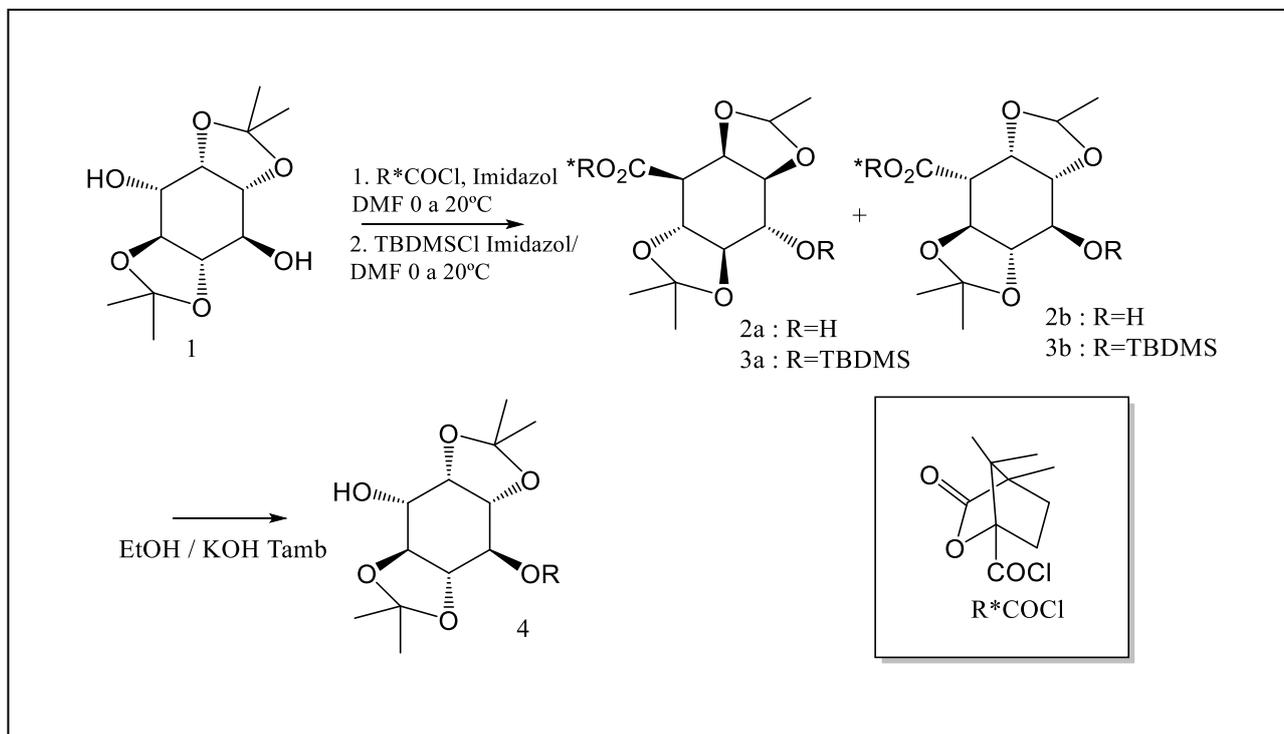
La cuestión fundamental para abordar era si la acilación secuencial de los grupos hidroxilo primario y secundario de un derivado de sn-glicerol protegido en la posición 3 podría lograrse limpiamente. Se descubrió que el grupo sn-1-hidroxilo de 3-O-bencil-sn-glicerol podría ser acilado selectivamente con varios carboxílicos representativos ácidos usando dicitohexilcarbodiimida (DCC) en la presencia de 4-(dimetilamino) piridina (DMAP). Un control cuidadoso de la temperatura de reacción era necesario para evitar la diacilación. La acilación posterior de los monoésteres así obtenidos con un segundo ácido carboxílico en presencia de DCC y DMAP se procedió sin migración del etér a 1,2-acilo para proporcionar los 1,2-O-diacil-sn-gliceroles mezclados. La acilación mediada por DCC / DMAP de 3-O-bencil-sn-glicerol con ácidos alquil carboxílicos para proporcionar los gliceroles monoacilados fue superior al uso del ácido correspondiente cloruros o anhídridos. Sin embargo, este método no se ha probado para sintetizar dicilglicéridos con insaturación en la posición sn-2. (Esquema 3) ⁸

⁸ Stephen F. Martin, John A. Josey, Yue-Ling Wong, Daniel W. Dean. General method of synthesis of phospholipid Derivatives of 1,2-O-diacyl-sn-glycerols (1994) 59, 4805-4820. Journal Organic Chemistry

2.4 Síntesis del derivado de mio-inositol

Dado que mioinositol 1,4,5-trifosfato es a mensajero secundario en transducción de señales celulares, ha habido un enorme interés en el diseño de síntesis asimétricas de derivados de mioinositol y los fosfatidilinositoles.

Una síntesis alternativa a la utilizada para proteger al mio-inositol sería la siguiente (Esquema 4):⁹



Esquema 4. Protección alternativa a la utilizada del derivado de mio-inositol.

Se partiría del bis-acetonido racémico (1) obtenido previamente del mio-inositol (disponible comercialmente), este es acilado selectivamente en el grupo hidroxilo C (1) con cloruro 1(S)-Canfanoilo para dar lugar a (2a) y (2b) (mezcla diastereomérica). Seguido de la reacción con terc-butildimetil silano (TBDMS-Cl) para dar (3a) y (3b). Se separan mediante técnicas como HPLC y Cromatografía Ultrarrápida. Una vez separado (3b) se produce la saponificación del éster con etanol e hidróxido potásico para dar (4).¹⁰

Otra síntesis alternativa aparece en el Esquema 5, se parte del ortoacetato de mio-inositol. Se introduce sobre este mismo un grupo protector (Bencilo) con un alto rendimiento 87% sin necesidad

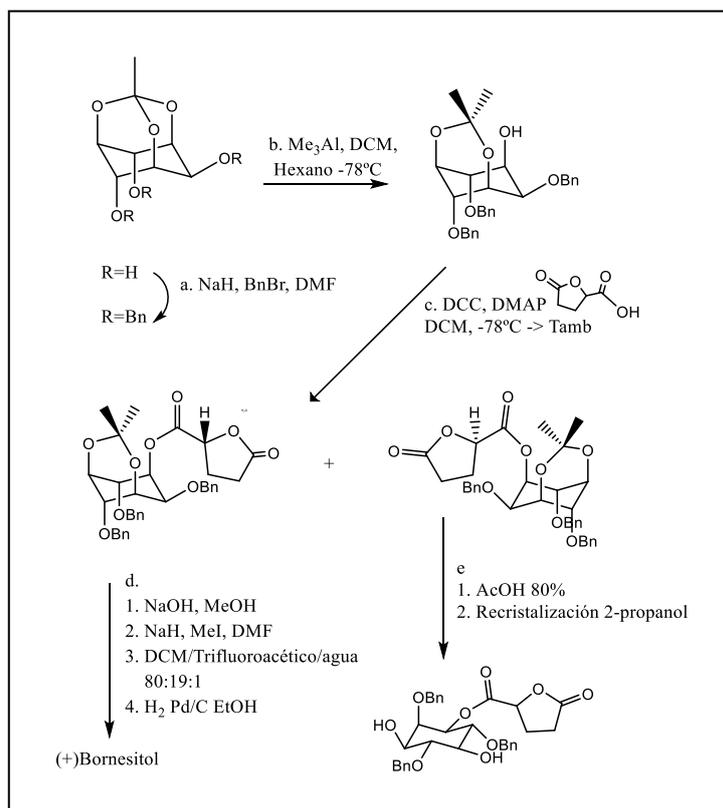
⁹ Stephen F. Martin, John A. Josey, Yue-Ling Wong, Daniel W. Dean. General method of synthesis of phospholipid Derivatives of 1,2-O-diacyl-sn-glycerols (1994) 59, 4805-4820. Journal Organic Chemistry

de cromatografía. Después de un tratamiento con trimetil aluminio, el éter de ortoacetato debe dar el acetal de isopropilideno. Hay dos claves por las cuales se utiliza el éter de ortoacetato: ¹⁰

1. El acetal de isopropilideno no contiene un nuevo centro estereogénico en el C puente
2. Este acetal es un ácido más lábil que el correspondiente etilideno, lo que permite su eliminación en condiciones suaves. ¹⁰

Se optimizaron las condiciones lo que implicó el uso de 2,5 a 3,0 equivalentes de trimetilaluminio a -78°C, seguido de tratamiento alcalino. En estas condiciones el alcohol del acetal de isopropilideno se obtuvo con un alto rendimiento. Temperaturas más altas dieron cantidades sustanciales de 2,4,6-tri-O-bencil-mioinositol no deseado. Una esterificación con Diciclohexilcarbodiimida (DCC) con ácido (R)-(-)-5-oxo-2-tetrahidrofurancarboxílico dio lugar a los ésteres diastereoméricos que eran separables por cromatografía ultrarápida. El éster menos polar se obtuvo puro y en 4 pasos se convirtió en (+)-bornesitol. El otro diastereoisómero presentaba trazas de este último. Este diastereoisómero parcialmente puro se utilizó directamente pese a poder purificarse por cromatografía. Se eliminó el acetal de isopropilideno de este mismo mediante un tratamiento ácido suave (ácido acético a temperatura ambiente) seguido de cristalización con 2-propanol que dio un diastereoisómero único con 78% de rendimiento. ¹⁰

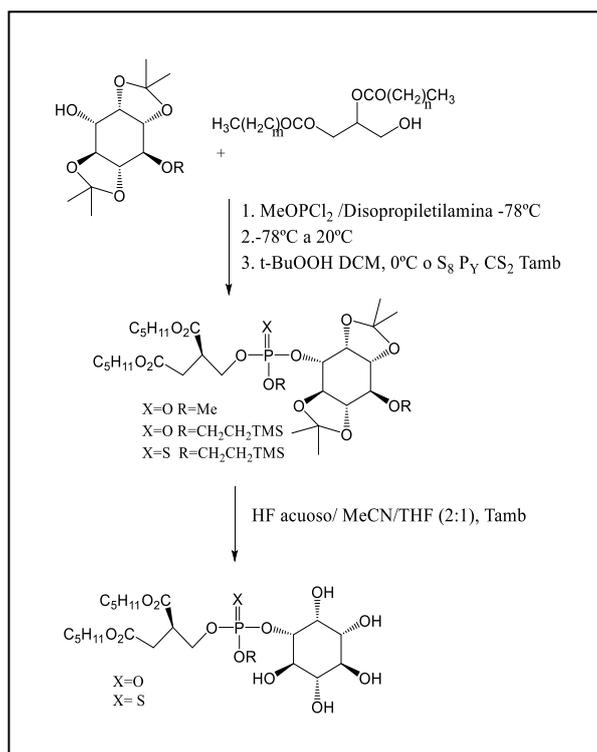
¹⁰ Andrew M. Riley, Barry V.L. Potter. α -Phosphatidyl-d-myo-inositol 3,5-bisphosphate: total synthesis of a new inositol phospholipid via myo-inositol orthoacetate. (1998) Vol. 39; Iss. 37 Tetrahedron Letters



Esquema 5. Derivado de mio-inositol protegido con la finalidad de obtener un fosfolípido derivado de mio-inositol. (Véase siguiente sección)

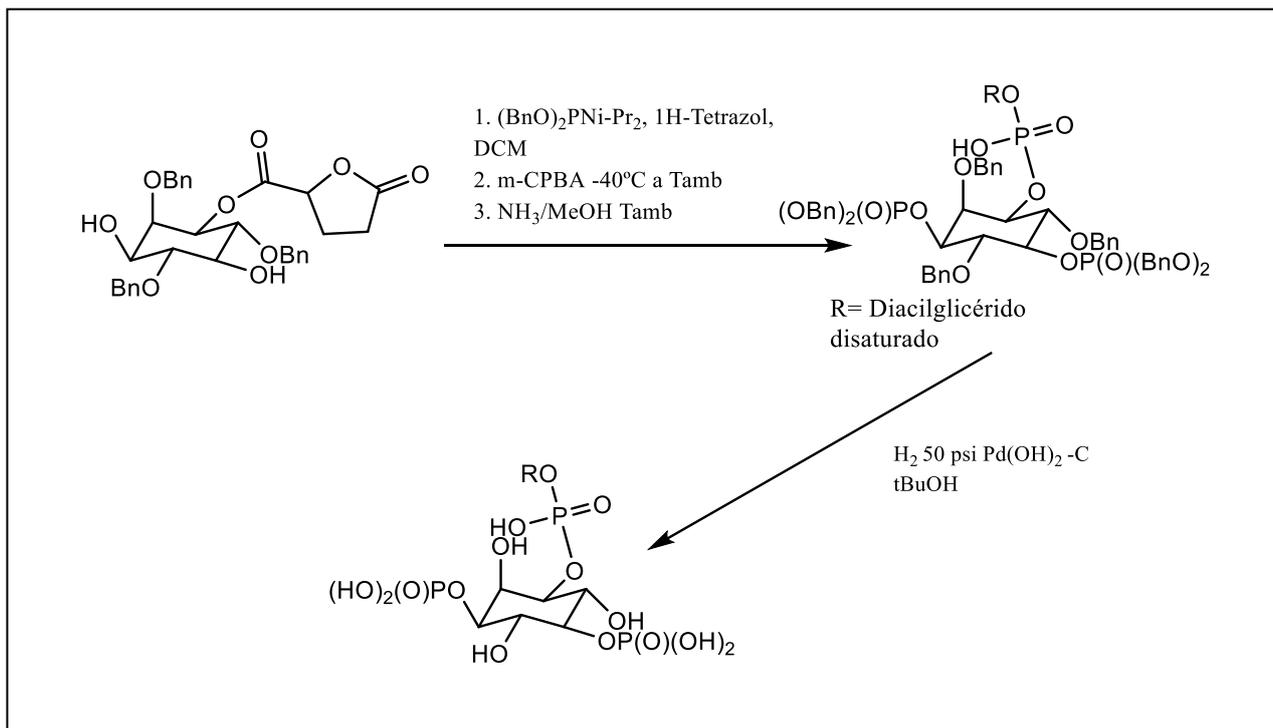
2.5 Síntesis del fosfolípido derivado de mio-inositol deseado

Una ruta alternativa a la utilizada para obtener fosfonio-inositoles sería la que aparece en el esquema 6. ⁹El derivado de mio-inositol protegido procedente de la sección anterior, se hace reaccionar con el diacilglicérido en presencia de MeOPCl_2 , diisopropiletilamina, THF a -78°C , después la presencia del hidroperóxido tercbutílico en diclorometano a temperatura ambiente da lugar al compuesto con sustituyentes $\text{X}=\text{O}$ y $\text{R}=\text{Me}$. Este compuesto se hace reaccionar con HF acuoso y una mezcla de MeCN/THF (2:1) a temperatura ambiente, dando lugar al fosfolípido derivado de mio-inositol. ⁹



Esquema 6: Ruta alternativa (I) para obtener fosfoinositoses.

Otra síntesis alternativa sería la que aparece en el Esquema 7, partiendo del compuesto 2,4,6-tris(benciloxi)-3,5-dihidroxyciclohexil-5-oxotetrahidrofuran-2-carboxilato y donde se introducen los grupos bencilfosfato en las posiciones 3 y 5 por fosforilación usando bis(benciloxi)(N,N-disopropilamino)fosfina y 1H-tetrazol seguido de oxidación in situ con m-CPBA lo cual permite escindir el éster derivado del ácido (R)-(-)-5-oxo-2-tetrahidrofuranocarboxílico. Finalmente la desprotección por hidrogenación sobre $\text{Pd}(\text{OH})_2$ en C en presencia de alcohol terbutílico dio lugar al fofoslípid derivado de inositol.



Esquema 7: Ruta alternativa (II) para obtener fosfoinositoles.

3. Objetivos y plan de trabajo

Los objetivos establecidos al comienzo de este Trabajo Fin de Máster fueron los siguientes

1. Preparar un derivado de mio-inositol con todos los grupos hidroxilo protegidos excepto en la posición 1.
2. Sintetizar alguna fosfina con grupos alquenos presentes en su estructura
3. Estudiar la oxidación de fosfinas a fosfatos en presencia de sistemas insaturados.

Para conseguir estos objetivos se ha diseñado el siguiente plan de trabajo:

1. De acuerdo con los métodos descritos en la bibliografía se sintetizó el derivado de mio-inositol.
2. Se desarrollará un método sintético que permita la síntesis de una fosfina derivada de (Z)-octadec-9-en-1-ol.
3. Se ensayará la transformación de la fosfina en fosfato sin que se sufra alteración del doble enlace C=C mediante el oxidante peryodato de tetrabutilamonio.

4. Resultados y discusión

4.1 Síntesis del derivado de mio-inositol

La investigación del mecanismo de actuación en procesos biológicos de los compuestos derivados de mio-inositol se ha visto ralentizada por la dificultad de preparación estereoselectiva de estos compuestos. Aunque se han obtenido algunos derivados de mio-inositol aún no son fácilmente accesibles.

Para llegar a los fosfoinositoles son necesarios varios procesos de protección y desprotección selectiva, esta tiene como consecuencia el bajo rendimiento de la síntesis de este compuesto.^{11 12} La estructura del mio-inositol se presenta en la figura 1.

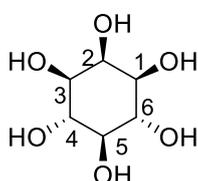
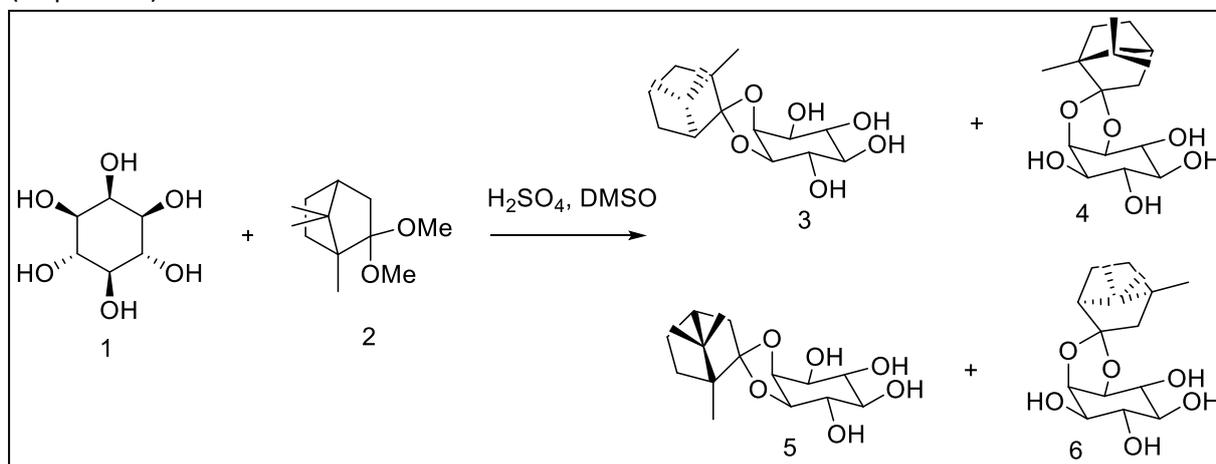


Figura 1. Estructura mio-inositol

Como está descrito en numerosos trabajos previos la síntesis del derivado de mio-inositol necesario en este trabajo comenzó con la protección selectiva de los grupos hidroxilo en posiciones 2 y 3 (Esquema 8).

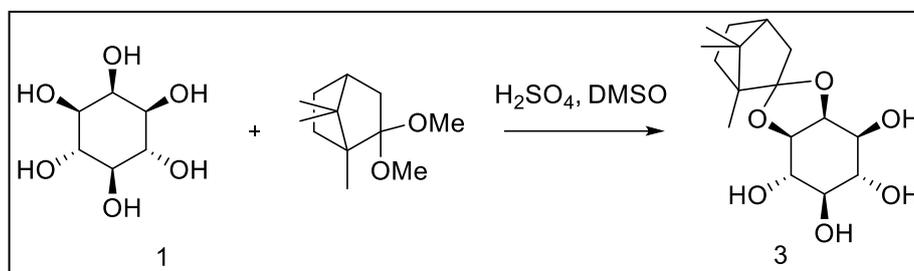


Esquema 8. Reacción del mio-inositol con el dimetilacetal derivado de alcanfor

¹¹ Bruzik .K. S. y Tsai.M-D.. Efficient and Systematic Syntheses of Enantiomerically Pure and Regiospecifically Protected myo-Inositols. (1992) 114, 6361-6374. J. Am. Chem. Soc

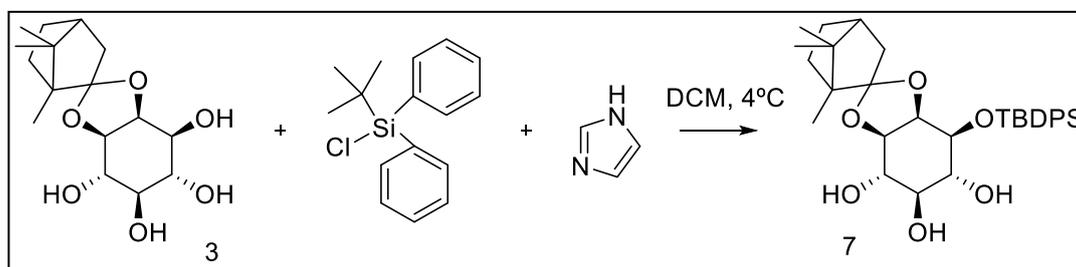
¹² Lindberg, J., Öhberg, L., Garegg, P. J. & Konradsson, P. Efficient routes to glucosamine myo-inositol derivatives, key building blocks in the synthesis of glycosylphosphatidylinositol anchor substances. (2002) Tetrahedron 58, 1387-1398

Para ello la reacción de mio-inositol con el dimetilacetal derivado de alcanfor proporciona una mezcla de cuatro diastereoisómeros. La calefacción de la mezcla de reacción en presencia de ácidos permite enriquecer la mezcla en el isómero deseado¹³ lo que conduce a la separación por cristalización. La purificación completa se consiguió por recrystalización en una mezcla metanol/trietilamina (Et₃N). El rendimiento final del compuesto **3**^{14,15} fue de 25%. (Esquema 9)



Esquema 9. Obtención del compuesto 2,3-O-(1',7',7'-trimetil (2.2.1) biciclohept-2'-iliden)-mioinositol con un Rendimiento del 25%.

El tetrol **3** permite la protección selectiva del grupo hidroxilo en la posición 1. La protección regioselectiva de dicha posición se logró por reacción con cloruro de tercbutildifenilsilano (TBDPSCI) en presencia de imidazol. (Esquema 10) manteniendo la temperatura a 4°C, el rendimiento de la reacción es del 70%



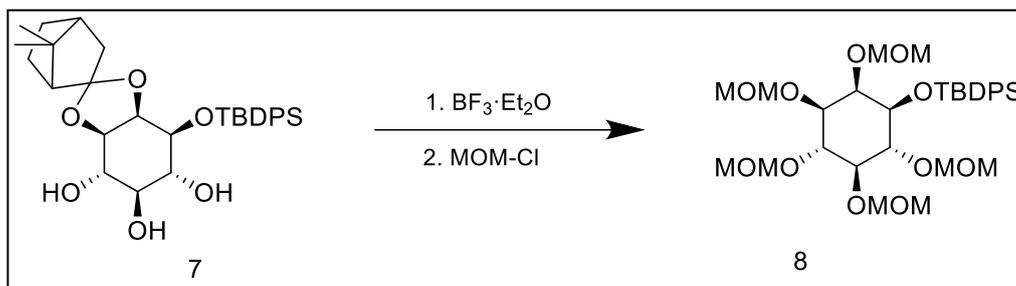
Esquema 10. Reacción regioselectiva en la posición 1.

Una vez obtenido el silano **7**, la preparación del derivado de mio-inositol final necesita la protección de todos los grupos hidroxilo excepto en la posición 1. Para ello, la estrategia seguida necesita en primer lugar de la eliminación del fragmento de derivado de alcanfor y posterior reacción con cloruro de metoximetiléter (MOMCl). (Esquema 11)

¹³ Majareus, P.W; Cowolly, T.M; Bansal, V.S; Inositol Phosphates: Synthesis and Degradation. (1988) 263, 3051-3054. J.Bid.Chem.

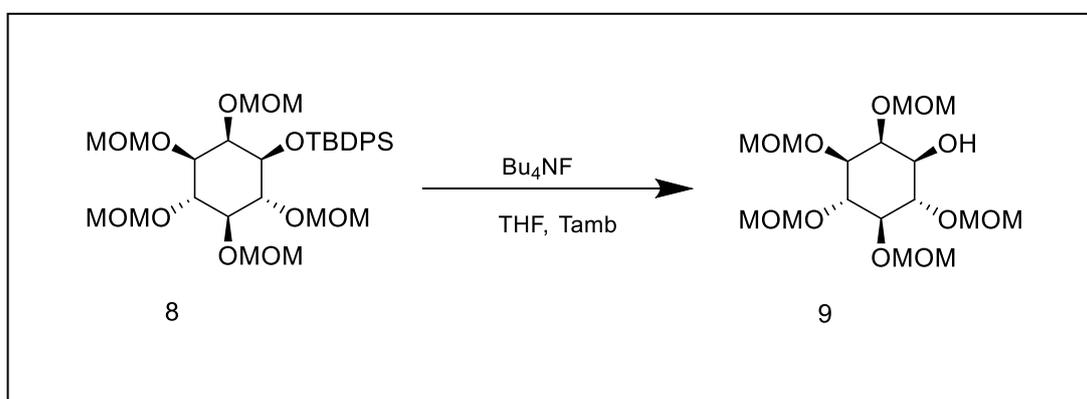
¹⁴ Bruzik, K. S.; Salamonczyk, G. M. Síntesis del enantiomérico 1,4,5,6-tetra-O-bencilo-myo inositoles. (1989), 195, 67-73 Carbohydr. Res.

¹⁵ Pietrusiewicz, K. M.; Salamonczyk, G. M.; Bruzik, K. S.; Wieczorek, 1992, 48, 5523-42 W. Tetrahedron.



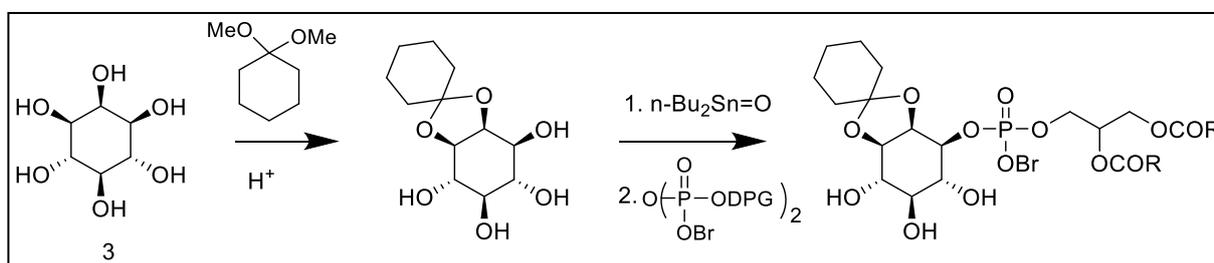
Esquema 11: Síntesis 2, 3, 4, 5, 6-pentakis(metoximetoxi)ciclohexanol Rendimiento 75%

El derivado de mio-inositol final **9** con el grupo hidroxilo libre en la posición 1, se obtuvo por tratamiento del compuesto **8** con una disolución de tetrabutilamonio en THF, la sección presume con buen rendimiento. (Esquema 12)



Esquema 12: Posible manipulación del derivado de mioinositol para la liberación del grupo hidroxilo de la posición 1.
Rendimiento 50%

Una metodología alternativa¹⁶ consiste en la fracción de un ciclohexildiacetal y posterior fosforilación regioselectiva. (Esquema 13)

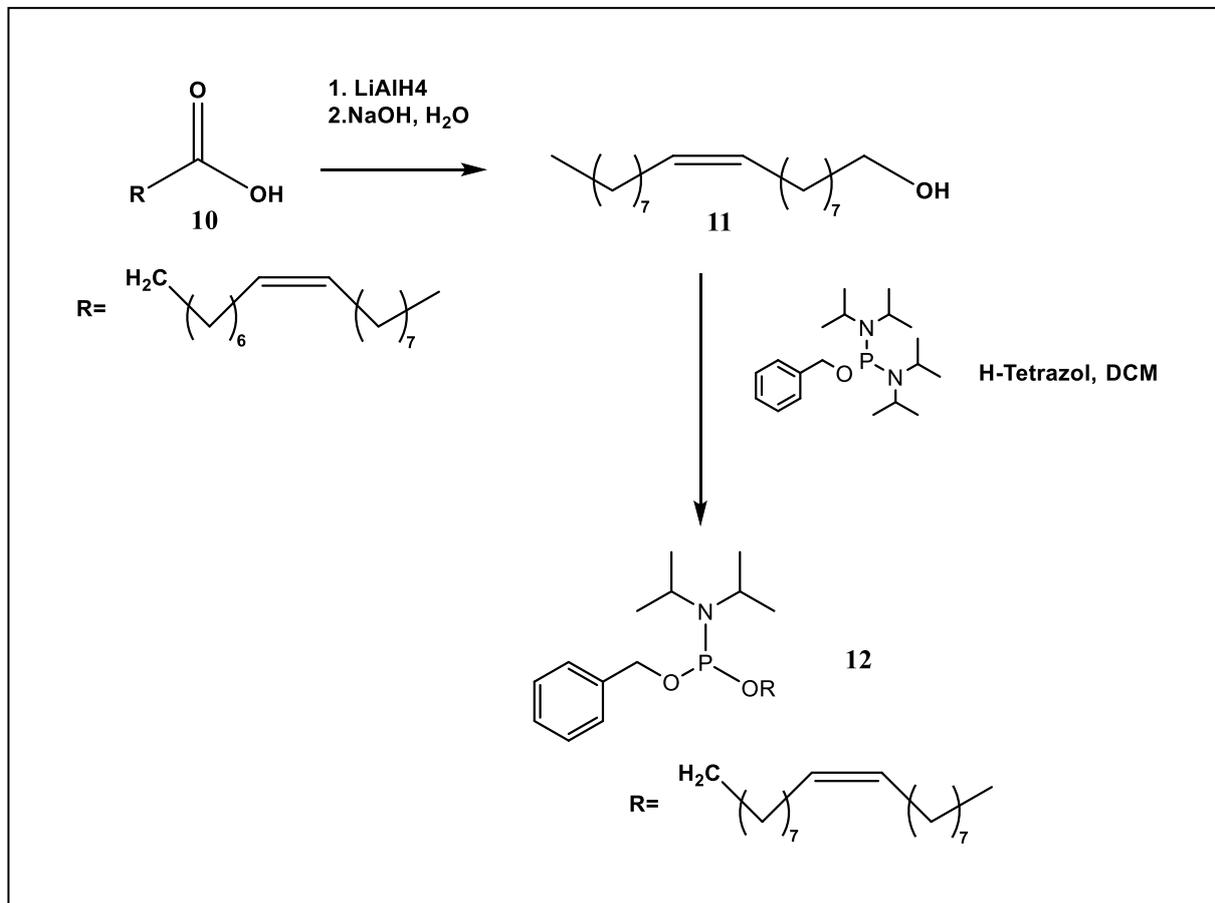


Esquema 13: Alternativa para la introducción de un grupo fosfato en la posición 1 de un derivado de mioinositol.

¹⁶ Watanabe, Y.; Kiyosawa, Y.; Hyodo, S.; Hayashi, M. Tetrahedron Lett. (2005), 46,281

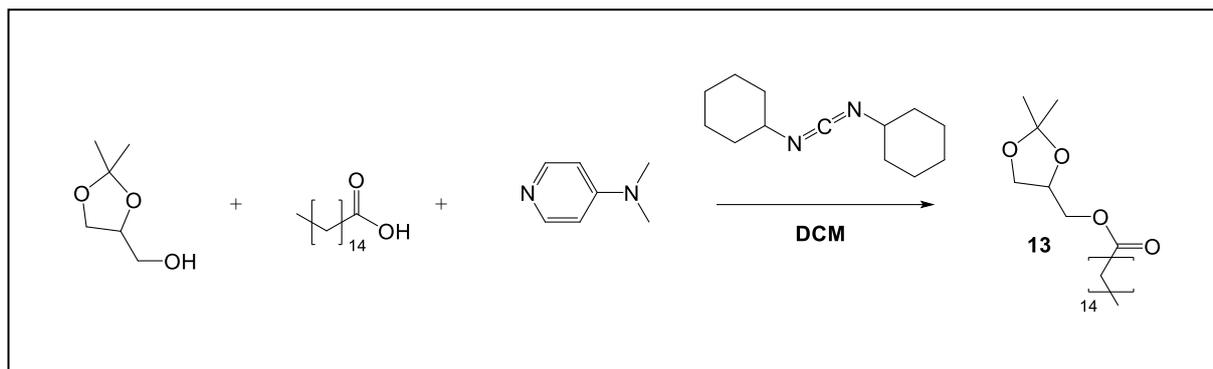
4.2 Síntesis de fosfinas

Se han preparado dos fosfinas diferentes con el objetivo de estudiar la oxidación quimioselectiva en presencia de alqueno. La primera fosfina se obtuvo por reacción de 10 con 1- (benciloxi) -N, N, N', N'-tetraisopropilfosfanodiamina en presencia de 1H-triazol. (Esquema 14)



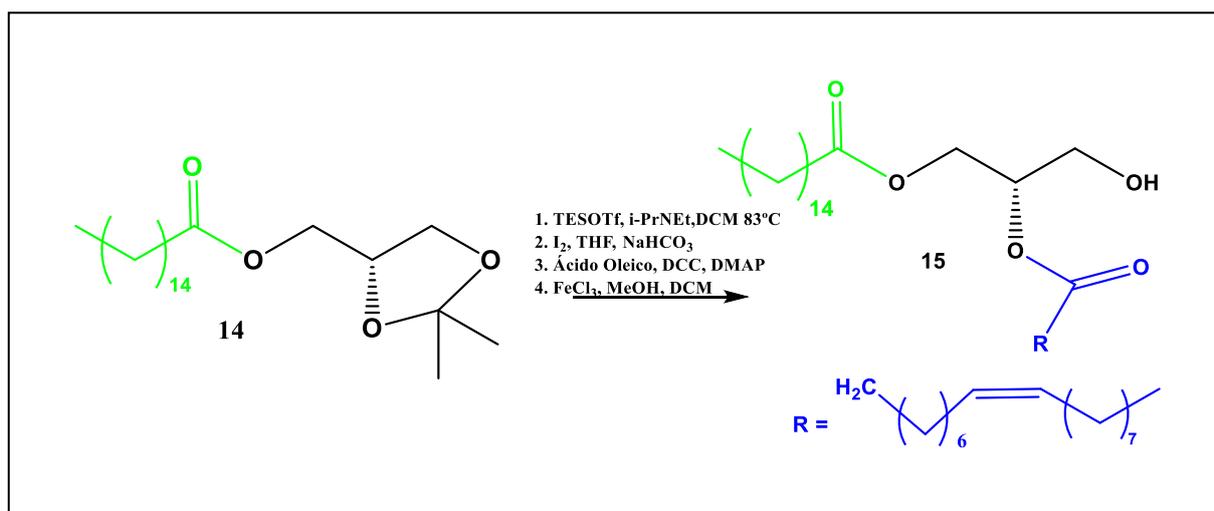
Esquema 14: Formación de Fosfinas

También se ha intentado obtener una fosfina derivada de diacilglicerol 15. En este caso la síntesis parte de Soketal por reacción con ácido palmítico en diclorometano (DCM) y la presencia de cilohexilcarbodiimida (DCC). (Esquema 15)



Esquema 15: Síntesis (2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il) metil heptadecanoato

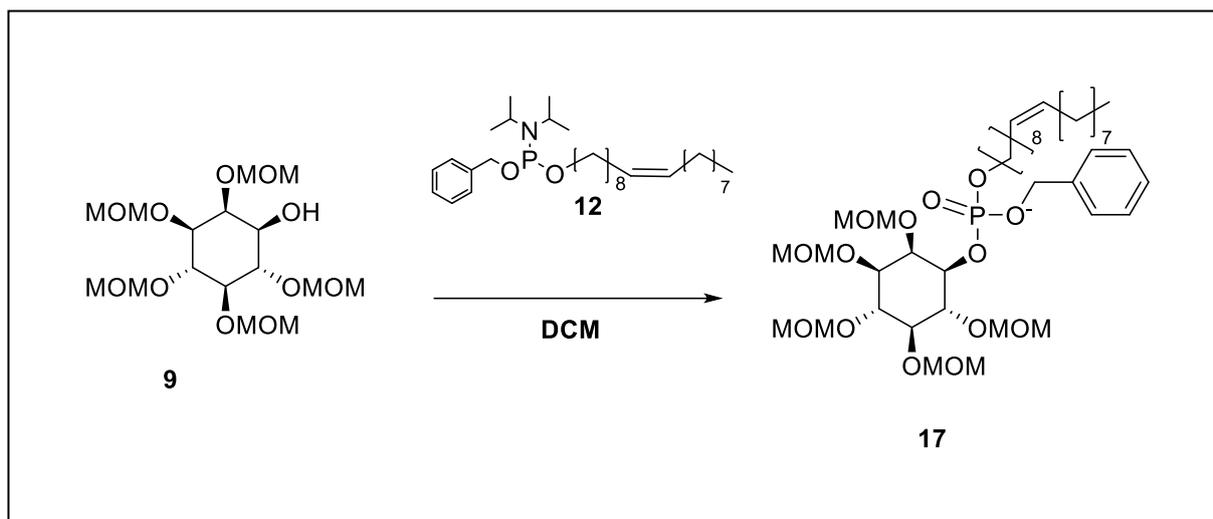
La incorporación de un segundo grupo acilo y la liberación del grupo hidroxilo en sn-1 por reacción de **14** con los reactivos expuestos en el Esquema 16.



Esquema 16: Síntesis Diacilglicérido

4.3 Oxidación de fosfinas a fosfatos

La oxidación de fosfina con perácidos a fosfatos es el método comúnmente utilizado en este tipo de oxidaciones. En el caso de la presencia de dobles enlaces C=C no es posible este proceso, pues se produce también la oxidación del alqueno. En nuestro estudio se sintetizó en primer lugar la fosfina derivada de mio-inositol por reacción del alcohol **9** y la fosfina **12** (Esquema 17).



Esquema 16: Oxidación fosfinas a fosfatos

El único ensayo posible, permitió el uso de peryodato de tetrabutilamonio, el cual reacciona con la fosfina **17** produciendo la formación del correspondiente fosfato. Se observa el cambio en el desplazamiento de la fosfina ($\delta = 145$ ppm) al fosfato ($\delta = 11$ ppm). Desafortunadamente, no ha sido posible aislar el fosfato y caracterizar el producto formado.

5. Conclusiones

- Se ha preparado el derivado de mioinositol con todos los grupos hidroxilo protegidos excepto el de la posición C-1.
- Se ha preparado la fosfina derivada de (Z)-octadec-9-en-1-ol.
- No se ha podido probar la oxidación de la fosfina a fosfato y por lo tanto comprobar que no hay alteración del doble enlace C=C del ácido graso insaturado.

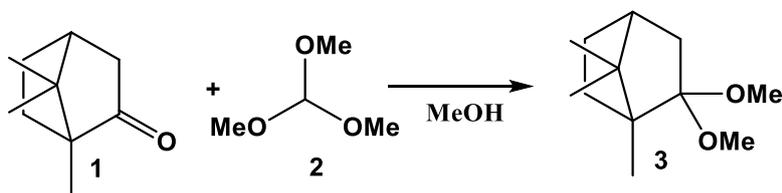
6. Materiales y métodos

Los reactivos utilizados en este esquema proceden de distintos proveedores (Aldrich, Acros Organics). Los disolventes anhidros empleados fueron adquiridos de estas casas comerciales, o también, 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 SiO₂. La revelación se ha realizado tanto con indicador UV-Vis y mediante el ácido fosfomolibdico. Los espectros de ¹H NMR, ¹³C NMR y ³¹P NMR se adquirieron en un equipo de Agilent Technologies. Los desplazamientos químicos se expresan como partes por millón, utilizando tetrametilsilano (TMS) como estándar interno. De esta manera, 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. A continuación, se describen los métodos empleados en la síntesis de cada compuesto.

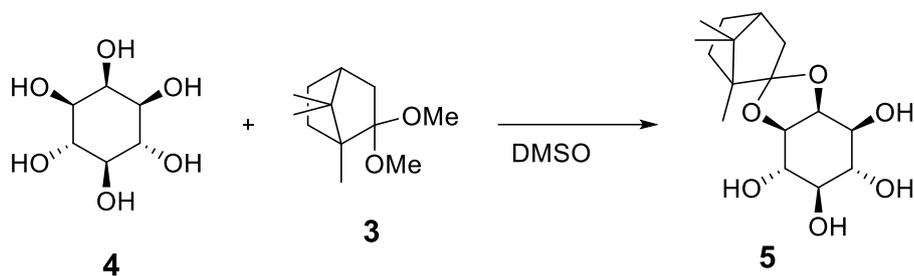
6.1 Síntesis 2,2-dimetoxi-1,7,7-trimetilbicyclo [2.2.1] heptano (3): ¹¹



Se pesan 40 g D-Camphor (**1**) y se traspasan a un matraz de 250mL con un embudo de sólidos provisto de un imán agitador. Después se añade 40 mL de MeOH y cuando esté todo disuelto se pone un septum con una jeringa y un globo de Ar. Se añade con una jeringa de 60mL, 213mL de ortoformiato de trimetilo (**2**) y con otra jeringa de 1 mL, 1.2mL de ácido sulfúrico concentrado. Pasadas 72 horas, se añaden 3,3mL de metóxido sódico. El matraz se lleva al rotavapor y se elimina el disolvente. Después, se añade 38 ml de tolueno anhidro. Se deja en el congelador y después de un tiempo se filtra por gravedad. Se lleva al rotavapor y finalmente se realiza una destilación a presión reducida en horno de bolas. Para finalmente obtener 2,2-dimetoxi-1,7,7-trimetilbicyclo [2.2.1] heptano (**3**) con un rendimiento del 76 %.

¹H NMR (400MHz, CDCl₃): δ (ppm), 3.2 (s, 3H), 3.14 (s, 3H), 2.18 (m, 1H), 1.72 (m, 2H), 1.63 (m,1H), 1.34 (m, 1H), 1.21(m, 1H), 1.13(m, 1H), 0.95(s, 3H), 0.89(s, 3H), 0.81(s, 3H)

6.2 Síntesis 2,3-O-(1',7',7'-trimetil (2.2.1) biciclohept-2'-iliden)-mioinositol (5): ¹²



Sobre un matraz de 500ml añadimos 180ml dimetilsulfóxido anhidro (DMSO). Se añaden 39,699 g del derivado de D-Camphor (**3**). Se agita la disolución bajo atmósfera de Ar. Después se añaden 15,009 g mio-inositol y 0,92mL de ácido sulfúrico concentrado y se deja a reflujo a 80°C durante 3 horas. Pasadas las 3 horas se añade trietilamina y se agita durante 5 min. Después se realiza un sistema de destilación a vacío. Pesamos el matraz sobre el que se realiza la destilación hasta que el peso final sea 76,65 g. Sobre este añadimos 266ml de cloroformo, 17mL de metanol, 5mL de agua y 0,06 g de ácido para-toluensulfónico monohidratado. Se deja en agitación durante 12horas. Después se lava el precipitado con cloroformo y 2mL de trietilamina. Se filtra el precipitado a vacío en placa filtrante y se lava con cloroformo.

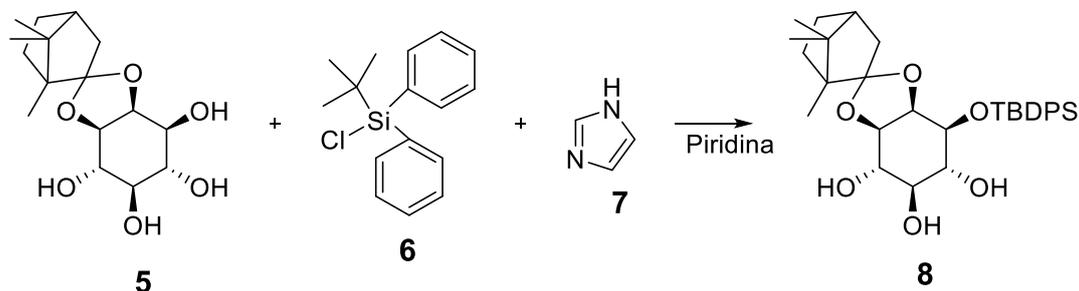
Realizamos dos disoluciones:

- Disolución 1. Metanol al 0.1% de trietilamina (500mL de metanol y 0.5mL de trietilamina)
- Disolución 2. Metanol al 0.1% de trietilamina y agua 1:1 (250mL metanol, 250mL agua y 0.5mL de trietilamina)

Ponemos a reflujo el sólido con 200 mL de la disolución 1 a 100°C y después filtramos por gravedad. Se seca el precipitado obtenido por filtración a vacío en placa filtrante. Pasamos este sólido a un matraz de 250mL y sobre él echamos 125mL de la disolución 2. Se calienta con la pistola y se filtra por gravedad. Se obtiene el compuesto **6** con un rendimiento del 25%.

¹H NMR (400MHz, MeOD): δ (ppm), 4.26 (m, 1H), 3.79 (m, 1H), 3.67 (m, 1H), 3.49(m, 2H), 3.30(m, 4H), 3.10(m, 1H), 2.04 (m, 2H), 1.73 (m, 2H), 1.48(m, 1H), 1.40(m, 1H), 1.22(m, 1H), 1.03(s, 3H), 0.88(s, 3H), 0.86(s, 3H)

6.3 Síntesis 1-O-(terc-butildifenilsilil)-2,3-O-(1', 7', 7'-trimetil [2.2.1]bicyclohept-2'-iliden-mioinositol (**8**)¹⁷

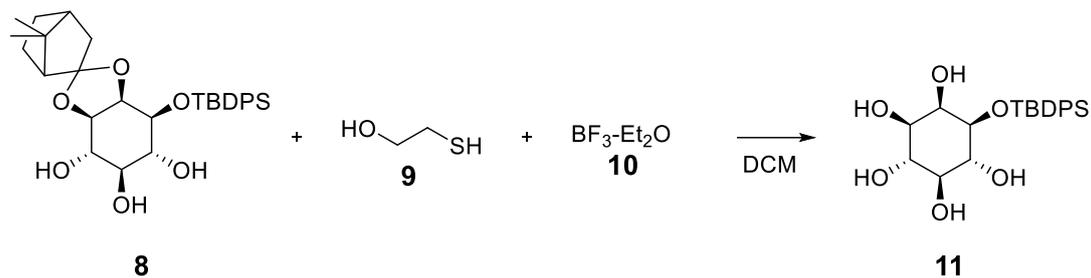


Se hace una disolución del tetrol (1.03g) (**5**) con 0.29g de imidazol (**7**) en 10.4mL de piridina anhidra en un matraz de 50mL bajo atmósfera de Ar. Se coloca un sistema de enfriamiento utilizando acetona hasta alcanzar el 1°C y en ese momento se añade 0.9 mL gota a gota terc-butil (cloro) difenilsilano (TBSDPS-Cl) (**6**). Después de 36 horas se elimina el disolvente y se prepara un TLC en la mezcla cloroformo/metanol 30:1. Se realiza una columna cromatográfica con la mezcla de eluyentes expuesta anteriormente, se concentran los tubos de interés y se obtiene el producto de interés (**8**) con un rendimiento del 98%.

¹H NMR (400MHz, CDCl₃): δ (ppm), 7.72 (m, 4H), 7.28 (m, 6H), 4.33 (m, 1H), 4.02(m, 1H), 3.92 (m, 1H), 3.81(m, 2H), 3.62(m, 1H), 3.54(m, 2H), 3.16(m, 1H), 1.94(m, 1H), 1.68(m, 4H), 1.31(m,2H), 1.09(m, 13H), 0.77(m, 6H)

¹⁷ Robert J. Kubiak and Karol S. Bruzik. Comprehensive and Uniform Synthesis of All Naturally Occurring Phosphorylated Phosphatidylinositols. J. Org. Chem. 68, 960-968 (2003).

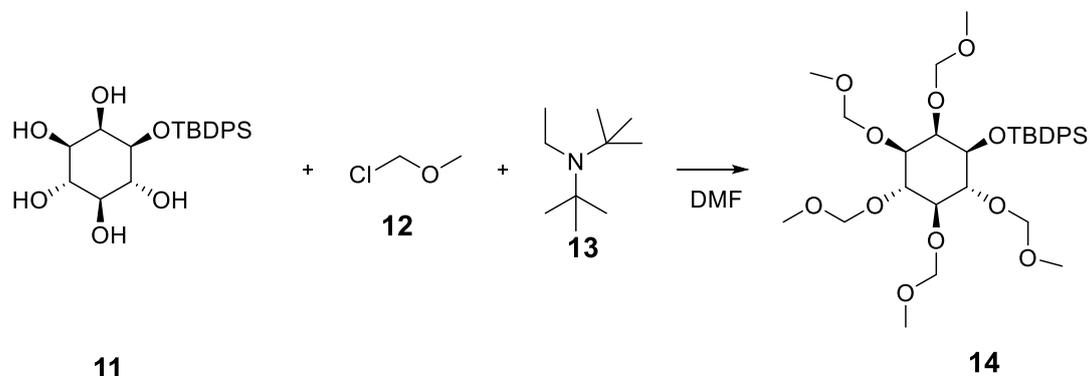
6.4 Síntesis 1-O-(tercbutildifenilsilil)-mioinositol (**11**)¹⁷



5,88 g de triol (**8**) se disuelven en diclorometano anhidro (12 mL). Sobre dicha disolución (En atmósfera de Ar) se añade gota a gota el 2-mercaptoetanol (9mL) (**9**) y después se añade el trifluoruro de boro eterato (3mL) (**10**) y se deja agitando durante 2 h y 30 minutos a temperatura ambiente bajo atmosfera de Ar. Cuando la reacción a finalizado, se hace una columna cromatográfica en cloroformo/metanol 10:1. Se concentran los tubos de interés y se obtuvo el compuesto **11** con 29% de rendimiento.

¹H NMR (400MHz, DMSO-d): δ (ppm) 7.74 (m, 4H) 7.37 (m,6H) 5.05 (d, J=4.92 Hz, 1H) 4.81(m, 1H) 4.58(dd, J=6.75, 4.55 Hz, 1H) 4.42 (m, 1H) 4.30(m, 1H) 4.05(m, 1H) 3.95(m, 1H) 3.89(m, 1H) 3.61(m, 1H) 3.50(m, 1H) 3.41(m, 1H) 0.96 (s, 9H)

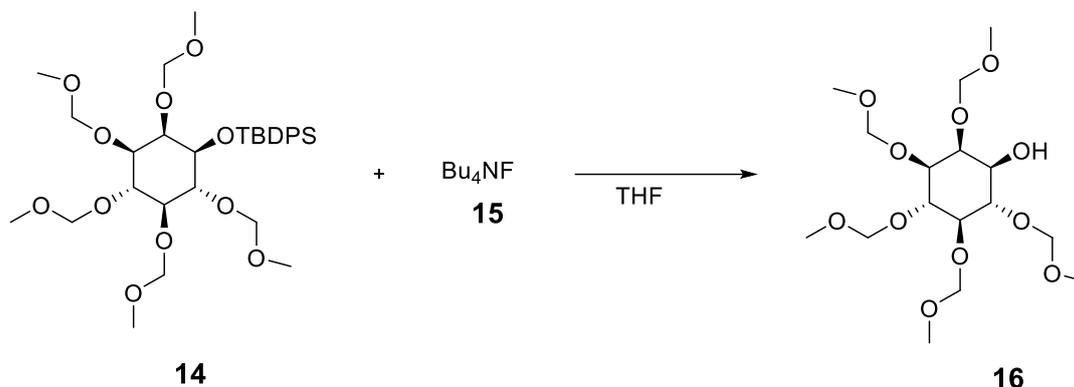
6.5 Síntesis 2, 3, 4, 5, 6-pentakis(metoximetoxi)ciclohexiloxil(terc-butildifenilsililo) (**14**):¹⁷



Sobre 0.97 g de pentol (**11**) se añaden 5mL de dimetilformamida anhidra (DMF) y después 3.2mL de diisopropiletilamina (DIPEA) anhidra (**13**). Se añade 1.2 ml de metilcloro metiléter (MOMCl) (**12**). Se deja a reflujo, bajo atmósfera de Ar durante 24 horas a 65°C. Cuando la reacción ha terminado se realiza una columna cromatográfica en heptano/acetona (8:1). Se concentran los tubos de interés y se obtiene el compuesto **17** con un rendimiento del 75%.

¹H NMR (400MHz, CDCl₃): δ (ppm) 7.67 (m, 4H) 7.38(m, 6H) 5.01(m, 5H) 4.94(m, 1H) 4.85(m, 1H) 4.79(m, 1H) 4.71(m, 1H) 4.54(m, 1H) 3.78(m, 3H) 3.47(m, 3H) 3.41(m, 3H) 3.33(m, 3H) 3.24(m, 3H) 1.09 (s, 9H)

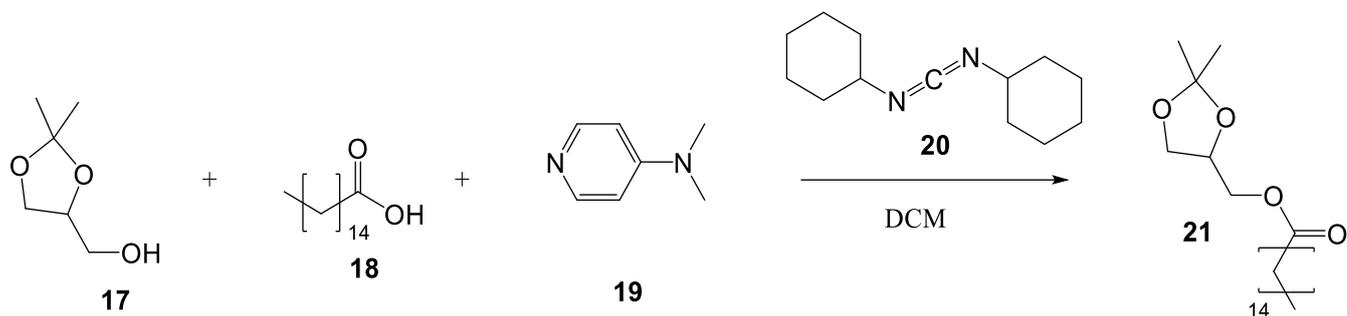
6.6 Síntesis 2, 3, 4, 5, 6-pentakis(metoximetoxi)ciclohexanol (**16**)¹⁷



Se añaden 10mL de tetrahidrofurano (THF) en 1.57 g del compuesto **14**. Sobre esta disolución se añade gota a gota 2.5mL de fluoruro de tetra n-butilamonio (**15**), bajo atmósfera de Ar. Se deja a temperatura ambiente durante 12 horas. Una vez comprobado que la reacción a terminado se realiza una columna cromatográfica en acetona/heptano 1:3. Se concentran los tubos de interés y se obtiene el compuesto **16** con un rendimiento del 50%.

$^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ (ppm) 4.79 (m, 10H) 4.13 (m, 1H) 4.07(m, 1H) 3.97 (m, 1H)3.92(m, 1H) 3.66(m, 1H) 3.50(m, 1H) 3.42 (m, 18H)

6.7 Síntesis (2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il) metil heptadecanoato (**21**)¹⁸

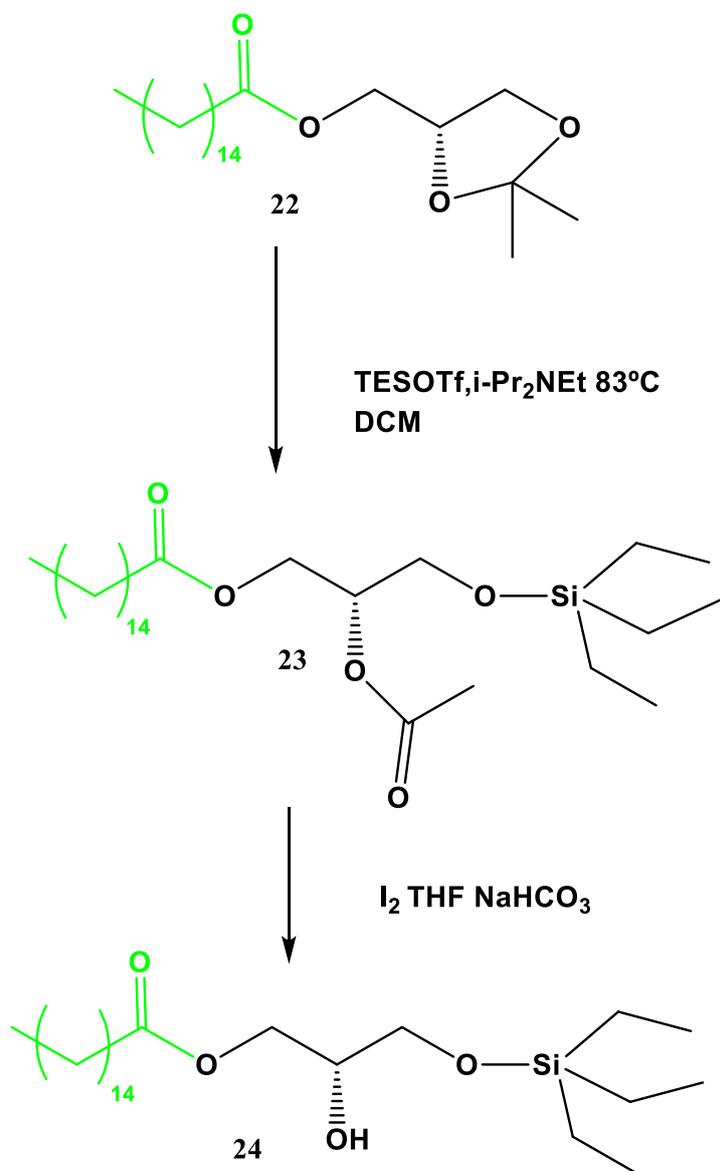


En un matraz de 250 mL se añaden 2.3mL de Solketal (**17**), 100mL de diclorometano (DCM), 5,64g dediciclohexilcarbodiimida (DCC) (**20**), 5.3g de ácido palmítico (**18**) y 0.5g 4-Dimetilaminopiridina (DMAP) (**19**). Después se añade 0.5mL de ácido acético y 0.2ml de agua. La mezcla se lleva a un Erlenmeyer de 1L y se diluye con 350mL de heptano. Luego se filtra por gravedad y se elimina el disolvente en el rotavapor y la bomba de vacío. Se obtuvo el compuesto (**21**) con un rendimiento del 98%.

¹H NMR (400MHz, CDCl₃): δ (ppm) 4.31 (m, 1H) 4.11 (m, 3H) 3.75 (m, 1H) 2.35 (m, 2H) 1.62(m, 2H), 1.43 (s, 3H), 1.37(s, 3H), 1.25(s, 28H), 0.88(m, 3H)

¹⁸ Regan J. Anderson, Shona L. Osborne, Frederic A. Meunier and Gavin F. Painter. Regioselective Approach to Phosphatidylinositol 3,5-Bisphosphates: Syntheses of the Native Phospholipid and Biotinylated Short-Chain Derivative. (2010). Journal Organic Chemistry.

6.8 Síntesis (R) -2-hidroxi-3 - ((trietilsilil) oxi) propil heptadecanoato: (24) ¹⁷

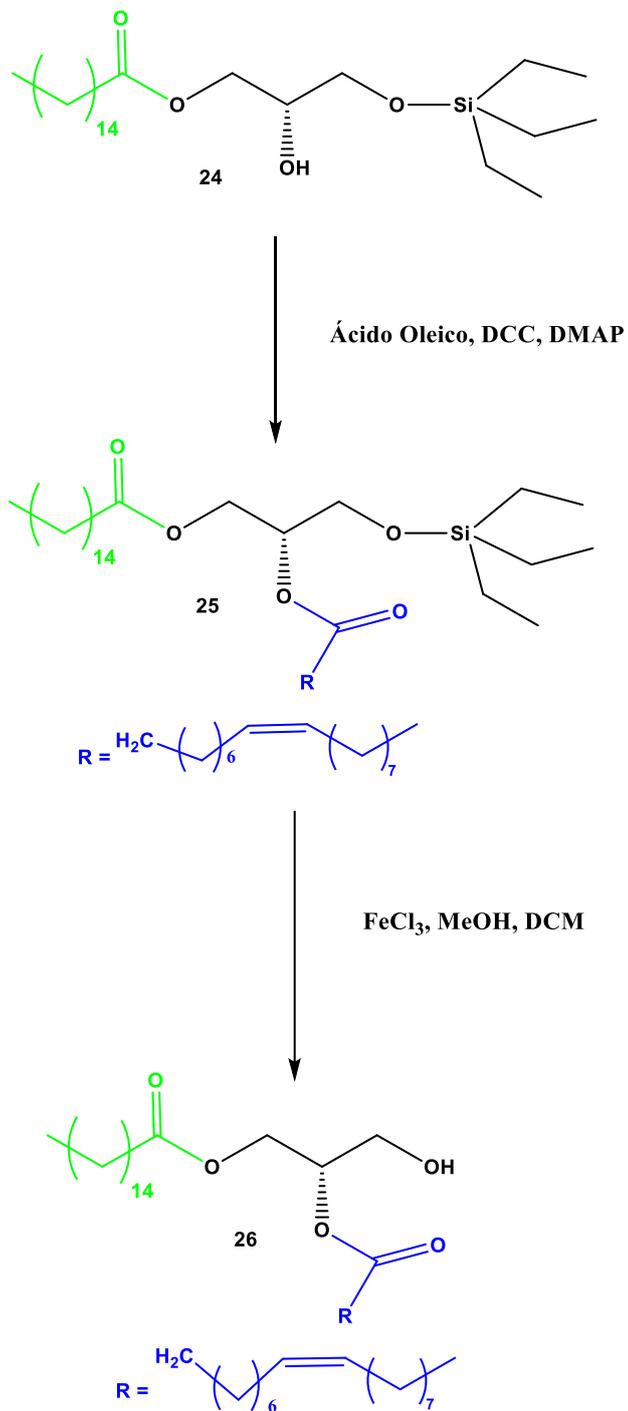


Se pesan 3.08g del acetónido (**22**) en un matraz de 2 bocas de 100mL sobre el que se añade 30mL de diclorometano anhidro y 2.7mL de diisopropilamina anhidra (DIPA), seguido de un goteo de 2.1mL de Trifluorometanosulfonato de trimetilsililo (TESOFT). Se deja 12h a reflujo bajo atmósfera de Ar a 100°C. Después se añade 0.9mL de TESOFT y se continua con el reflujo 22h. Se deja enfriar y se diluye con 100mL de ciclohexano. Se lleva a un embudo de extracción y se lava con HCl 0.1M, agua, una disolución saturada de NaCl y se seca con sulfato de magnesio. Se elimina el disolvente. Y el compuesto se disuelve con 63mL de tetrahydrofurano (THF) seguido de 30mL de una disolución de bicarbonato de sodio al 10% y 2,868g de yodo y se agita durante 80 min. Después se añaden 50ml de una disolución

saturada de tiosulfato de sodio en agua. Se extrae con éter y después con una disolución saturada de cloruro sódico. Se seca con sulfato de magnesio, se filtra, y se elimina el disolvente. Se realiza una columna cromatográfica en acetona/heptano 1:15. Se obtuvo el compuesto **24** con un rendimiento del 30%.

¹H NMR (400MHz, CDCl₃): δ (ppm) 4.15 (m, 1H) 3.86(m, 1H) 3.75(m, 1H) 3.67(m, 1H) 3.61 (m, 1H) 2.35(m, 2H) 1.84(m, 1H) 1.57(m, 4H) 1.27(m, 17H) 0.94(m, 12H) 0.60(m, 6H)

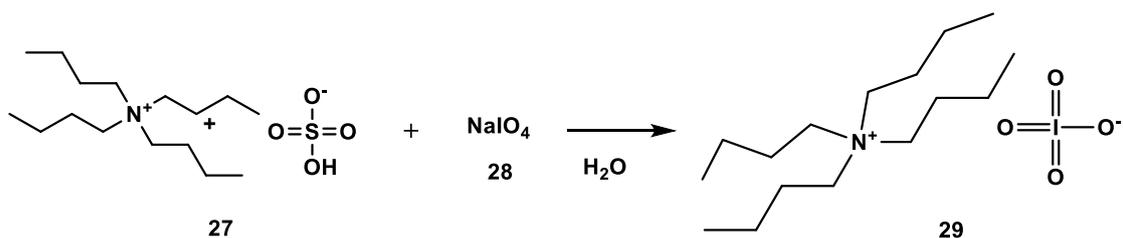
6.9 Síntesis (S) -1- (heptadecanoiloxi) -3-hidroxiopropan-2-il -octadec-8-enoato:
(26)¹⁷



0.2g del intermedio del acetónido (**24**) se disuelven en diclorometano (DCM) anhidro (2.2mL) y se añade 0.127g de dediciclohexilcarbodiimida (DCC), 0.142g de ácido oleico y 0.011g de 4-Dimetilaminopiridina (DMAP) bajo atmósfera de Ar. Se agita a temperatura ambiente durante 2 hora y 30 minutos. Se hidroliza la reacción para eliminar el exceso de DCC con 1 gota de ácido acético y agua. La disolución se diluye con heptano, se filtra, se concentra y se obtiene un aceite (**25**). Este compuesto (**25**) se disuelve en 5mL de una disolución 5mM de FeCl₃ en diclorometano/metanol 1:3 durante 25 min a temperatura ambiente, después de 8 h y 30 min se reparte entre éter y agua y la fase orgánica se lava con una disolución de NaCl saturada y se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra.

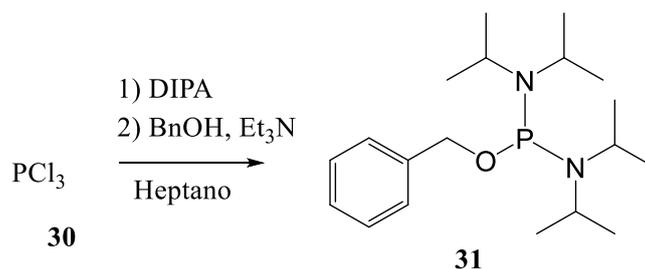
¹H NMR (400MHz, CDCl₃): δ (ppm) 5.34 (m, 2H), 5.07 (m,1H), 4.33(m, 1H), 4.19(m, 1H), 3.71(d, 2H), 2.32(m, 3H), 2.01(s, 1H), 2.00(m,4H), 1.25(m, 34H), 0.94(m,12H), 0.66(m, 6H)

6.10 Síntesis del peryodato de tetrabutilamonio: (29)



Se prepara una disolución de 10.7g de peryodato de sodio en 75mL de agua, en otro matraz se prepara una disolución de 17g de sulfato de tetrabutilamonio en 25ml de agua. La primera disolución se añade sobre esta última y se observa un precipitado. Se filtra a vacío y se lava con agua fría y finalmente se lleva a la bomba de vacío. Después con un horno de bolas se seca el compuesto a vacío utilizando para ello óxido de fósforo (V).

6.11 Síntesis 1- (benciloxi) -N, N, N', N'-tetrakisopropilfosfanodiamina (31):

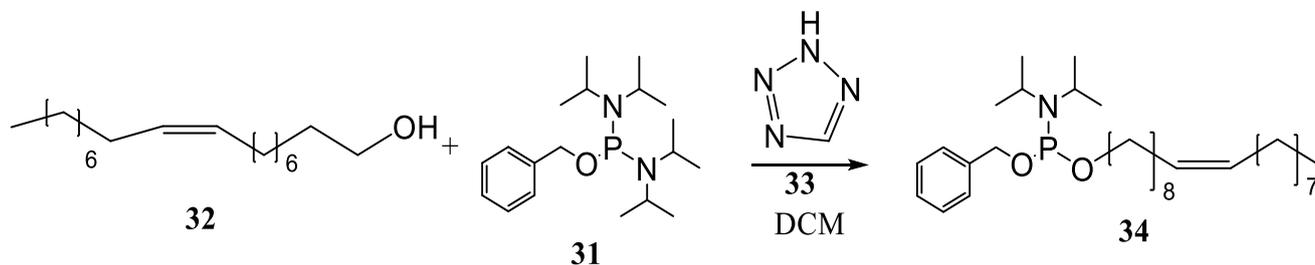


Se añade en un matraz de dos bocas de 500mL, 140mL de heptano anhidro y seguido 49mL de diisopropilamina DIPA. El matraz debe estar equipado con reflujo y embudo de adición bajo atmósfera de Ar. El matraz es enfriado a 0°C y tratado gota a gota durante 15 minutos se añade a través del embudo de decantación una disolución de 5ml de cloruro de fósforo (III) PCl_3 (**30**) en 10mL de heptano anhidro. La mezcla de reacción es agitada a temperatura ambiente y después de 3 horas se pone a reflujo durante 18 horas. Una vez pasadas las 18 horas se enfría la reacción a 0°C con hielo y se neutraliza con 24mL de trietilamina (Et_3N). Después se añade gota a gota una disolución de 6mL de alcohol bencílico en 8mL de Et_3N y 20ml de dietil éter anhidro, y se deja agitando a temperatura ambiente durante una hora. Se filtra en placa filtrante el precipitado obtenido y nos quedamos con el filtrado, se concentra y se lava con 100mL de heptano anhidro y se lava con 50mL acetonitrilo, se concentra la fase orgánica y se obtiene (**31**) con un 98% de rendimiento.

$^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ (ppm), 7.35 (m, 5H), 4.68 (d, $J=7.43$ Hz, 2H), 3.59(m, 4H), 1.2(m, 24H)

$^{31}\text{P NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ (ppm), 123.39 (s,1P)

6.12 Síntesis (Z) -benciloctadec-9-en-1-il diisopropilfosforamido (34) ¹⁷

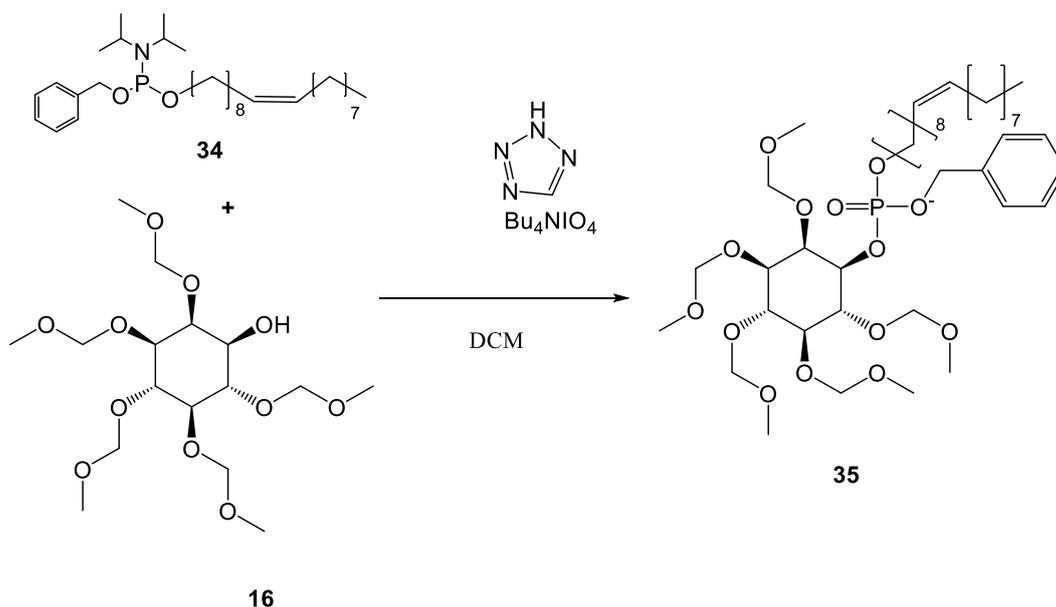


0.666g de alcohol derivado del oleico (**32**) se añaden en un matraz de 50mL seguido de 5.6mL de la disolución de 1-H-tetrazol (**33**) 0.45M en Acetonitrilo (ACN) y 24mL de diclorometano anhidro (DCM) bajo atmósfera de Ar. Se agita en un baño de hielo mientras se añade rápidamente 1.2 mL del derivado de fósforo (III) (**31**). Después de 10 minutos se quita el baño de hielo y se agita a temperatura ambiente durante 45 minutos. Se concentra en el rotavapor y después en la bomba. Se cromatografía en heptano/acetona/Trietilamina (Et₃N) (90:10:3), se concentran los tubos de interés y se obtuvo (**34**) con un rendimiento 80%.

¹H NMR (400MHz, CDCl₃): δ (ppm), 7.30 (m, 5H), 5.35(m, 2H), 4.75(m, 2H), 3.7 (m, 4H), 2.02(m, 4H), 1.61(m, 3H), 1.31(m, 30H), 0.88 (m, 3H).

³¹P NMR (400MHz, CDCl₃): δ (ppm), 146 (s, 1P)

6.13 Síntesis (Z) -octadec-9-en-1-il-2,3,4,5,6-pentakis (metoximetoxi) ciclohexil) fosfato. (35) ¹⁷

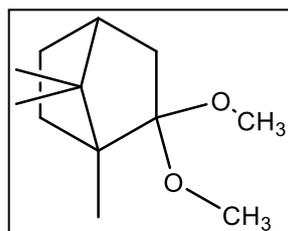
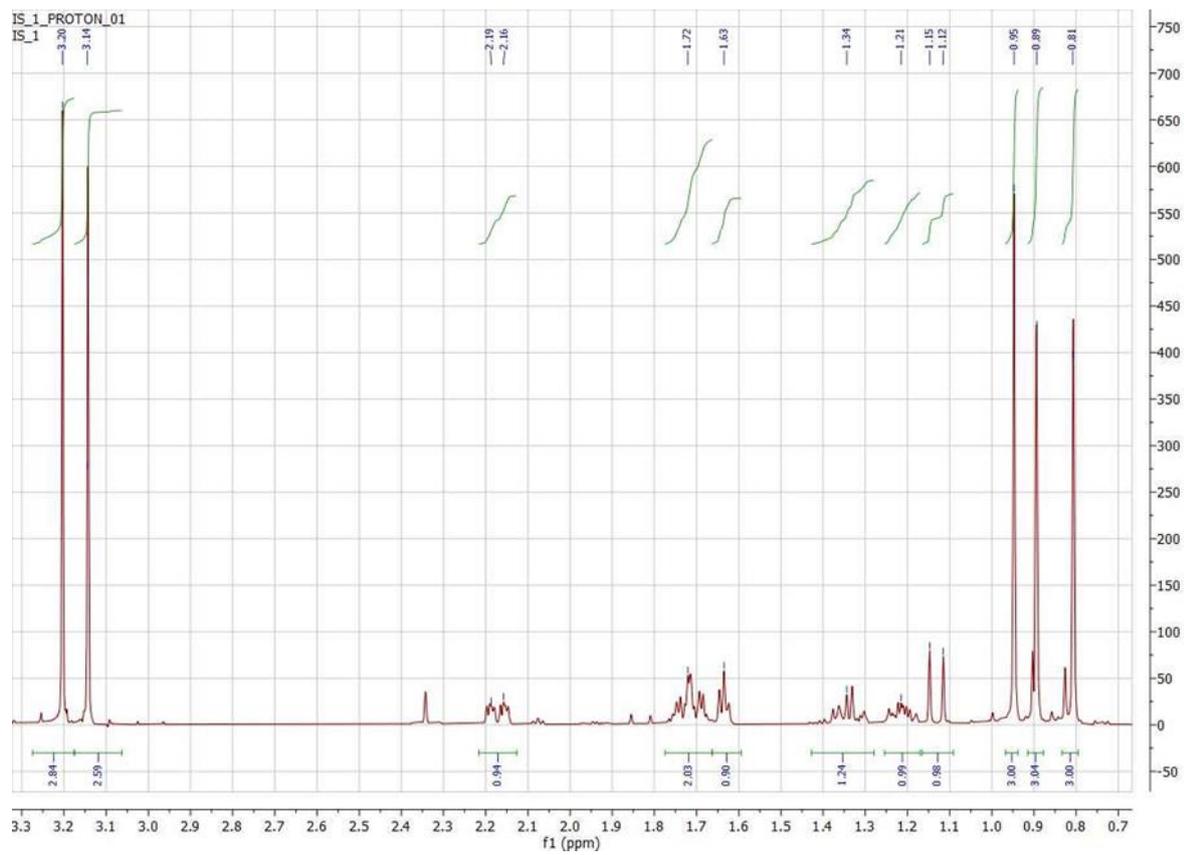


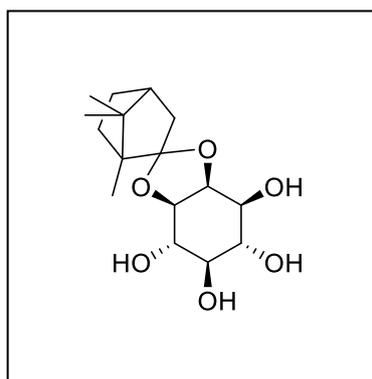
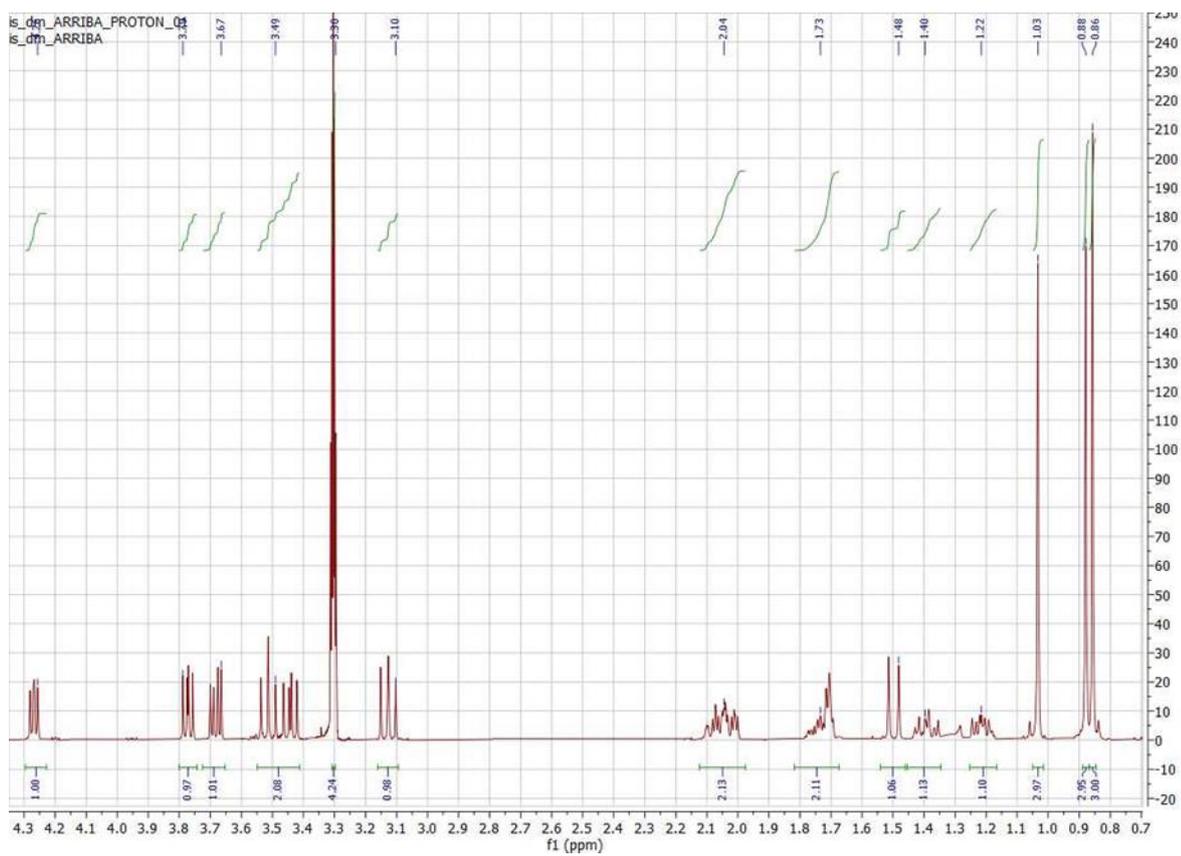
Sobre 0.47g de mio-inositol protegido (**16**) se añaden 8mL de 1H-Tetrazol 0.45M en Acetonitrilo (ACN) y 7mL de diclorometano anhidro (DCM). Se deja bajo atmósfera de Ar y durante 1h se añade 1g de la fosforamida (**34**). Se deja agitando a temperatura ambiente durante más de 17h y después se enfría a -25°C . Por otro lado, se prepara una disolución de 1.343g de Bu_4NIO_4 en 10mL de diclorometano seco (DCM). Se añade esta disolución a la mezcla de reacción y se deja 1.5h. Después, se añade 10 mL de la disolución al 10% de tiosulfato de sodio y luego se disuelve en acetato de etilo (70mL). Se separan las fases y se trata la fase orgánica con agua, una disolución saturada de NaCl y sulfato de magnesio. Se concentra y se hace una columna en heptano acetona al 20-25% de acetona.

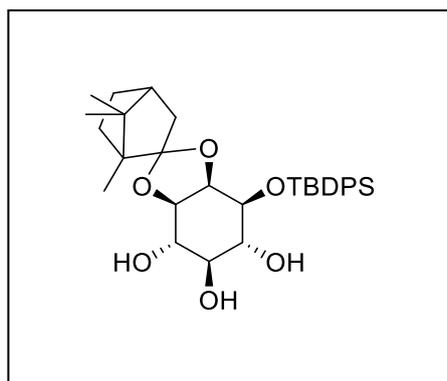
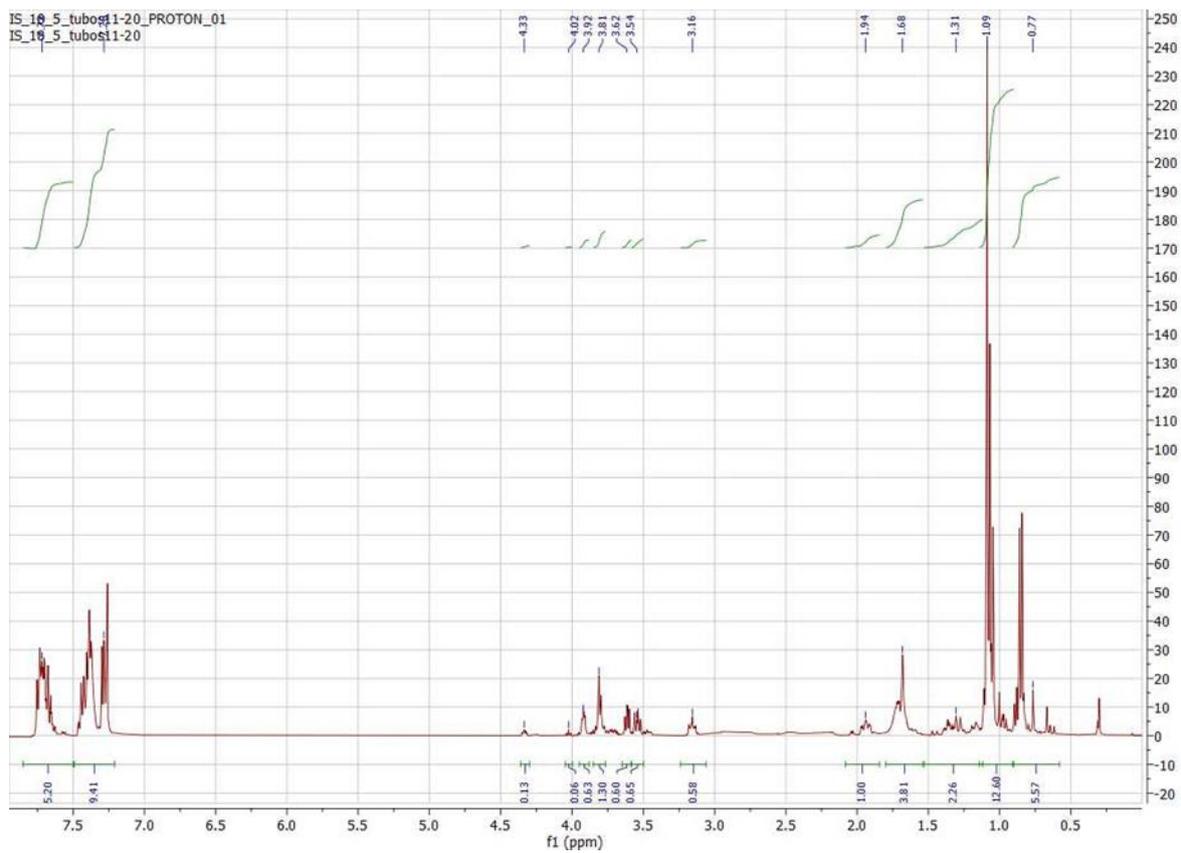
No hay caracterización del compuesto, puesto que no se pudo sintetizar con éxito. No obstante, en los anexos aparecen los espectros del posible compuesto aislado.

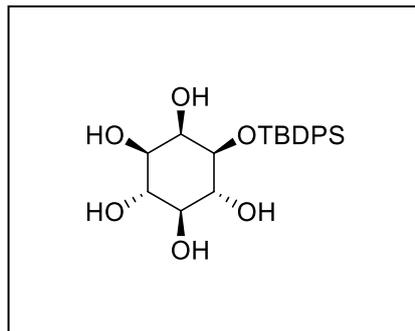
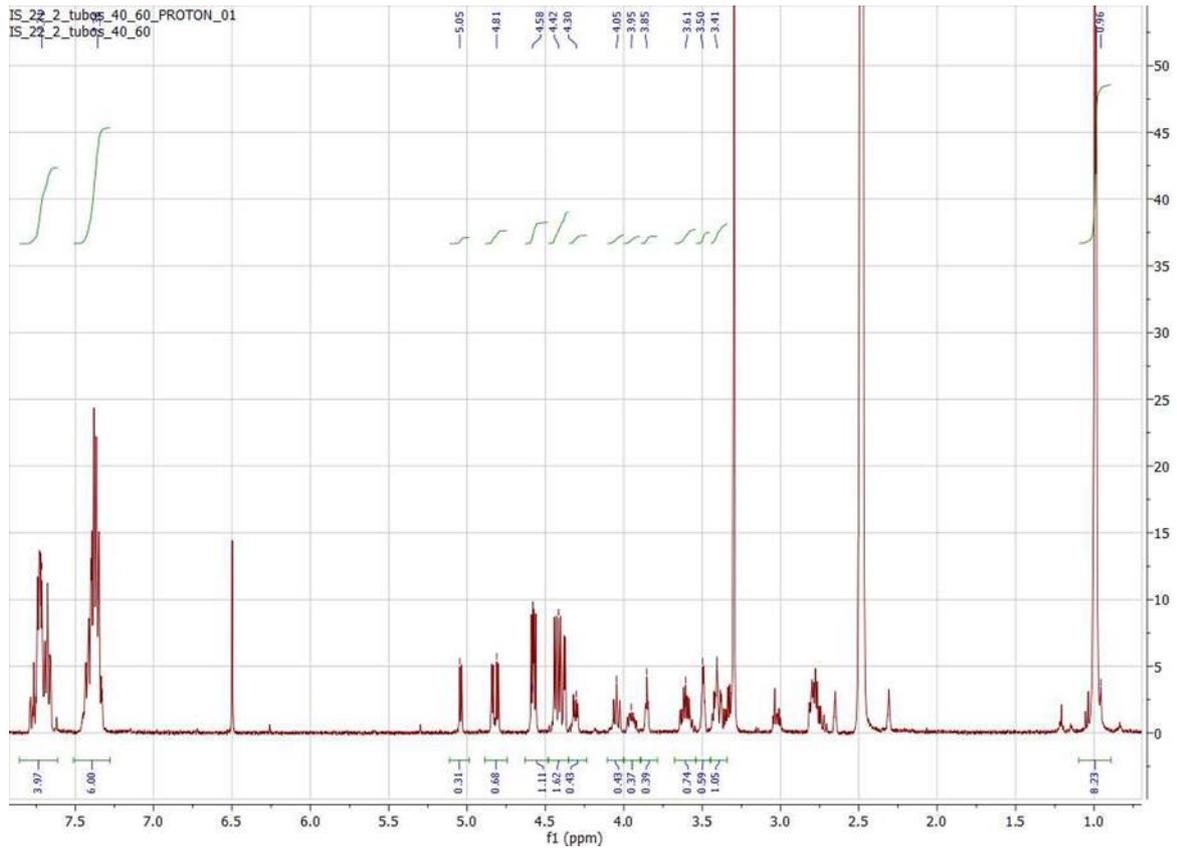
7.Anexos

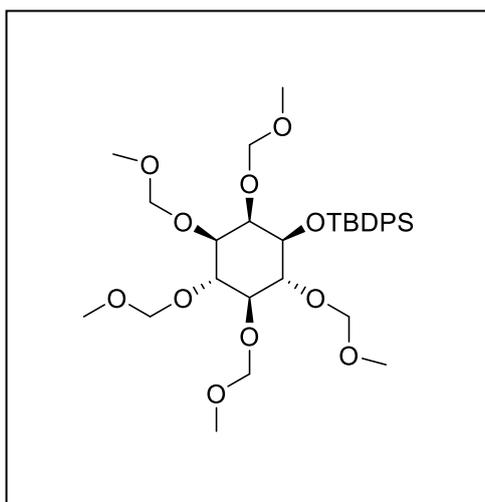
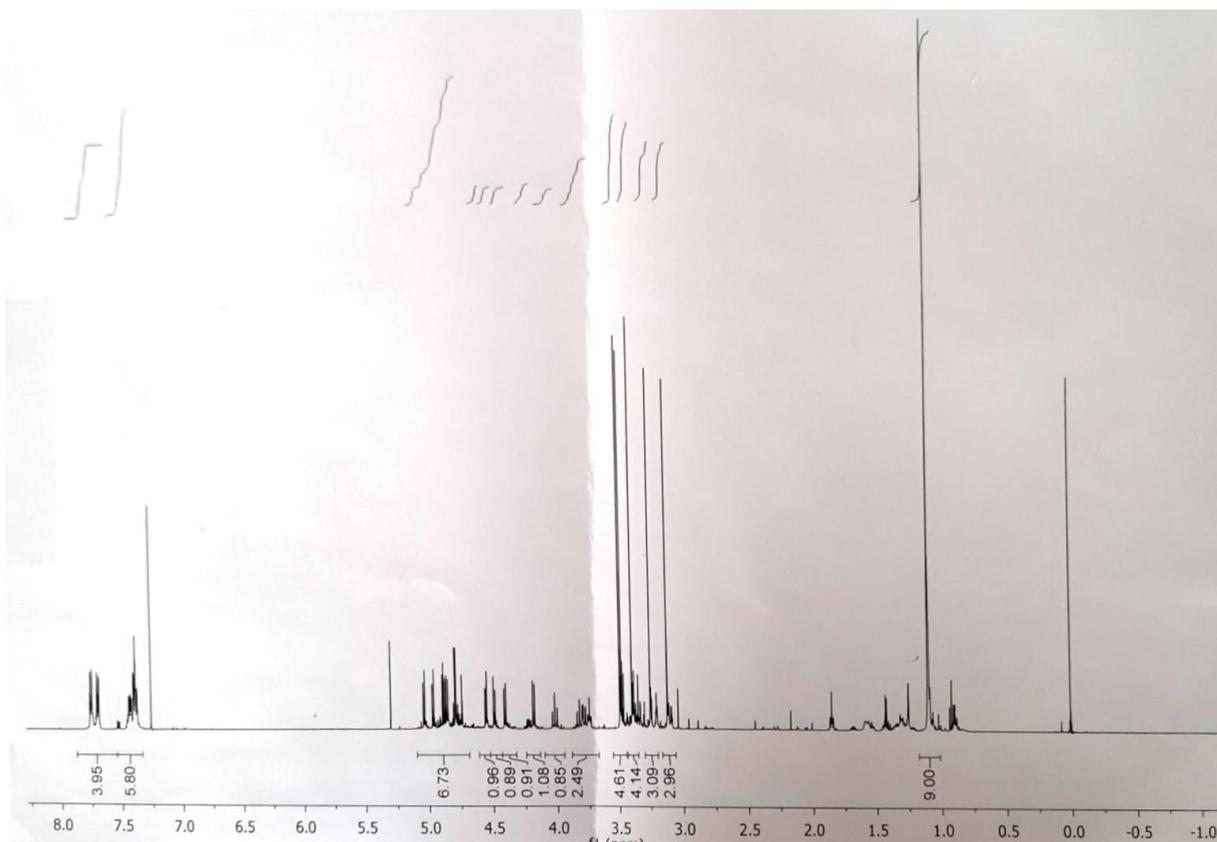
Espectros de ^1H RMN, ^{31}P RMN y ^{13}C RMN

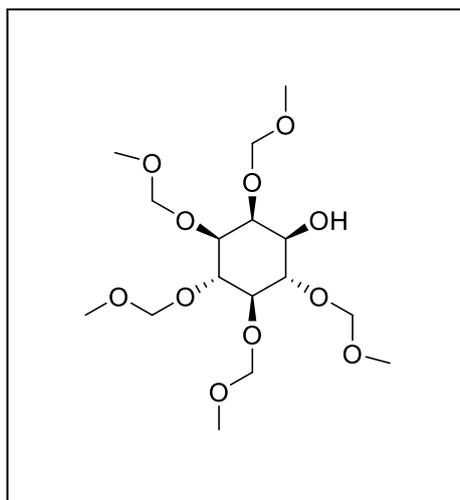
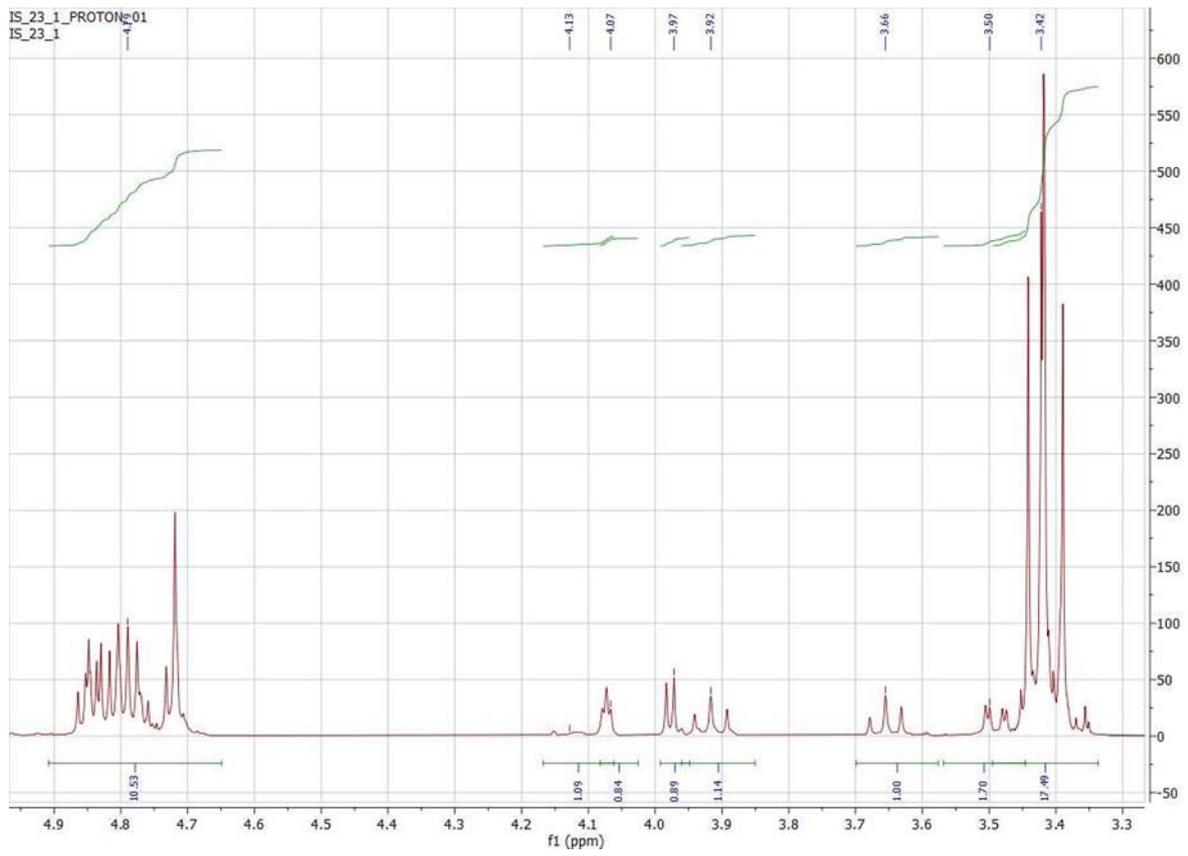


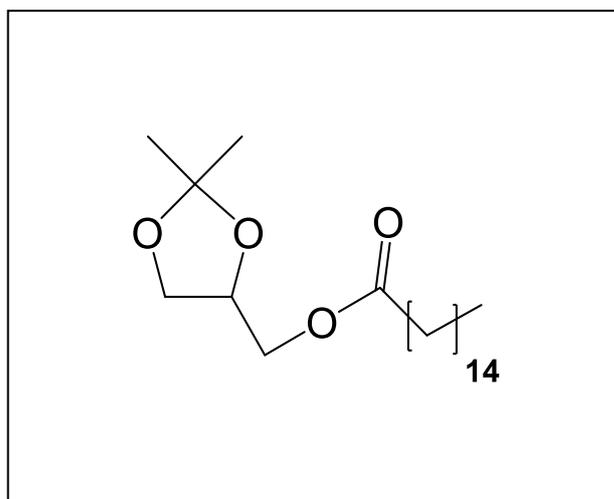
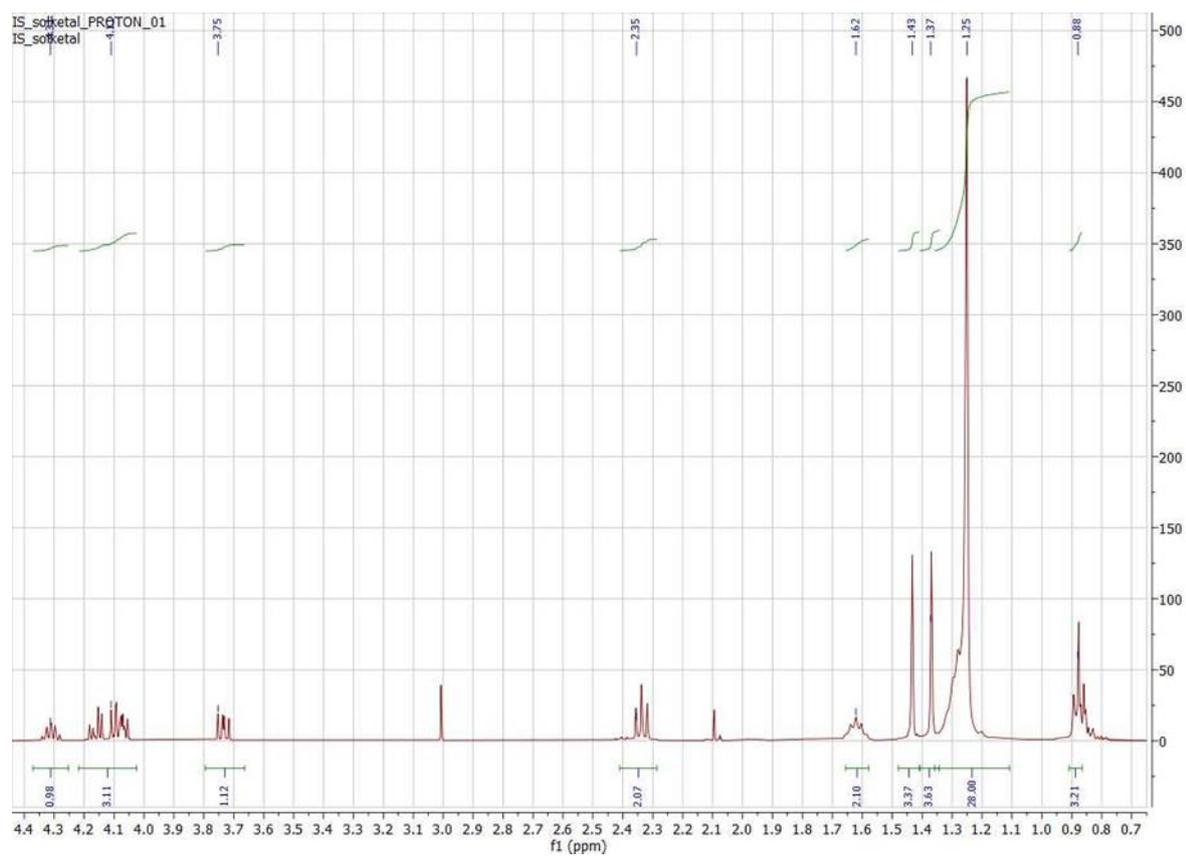


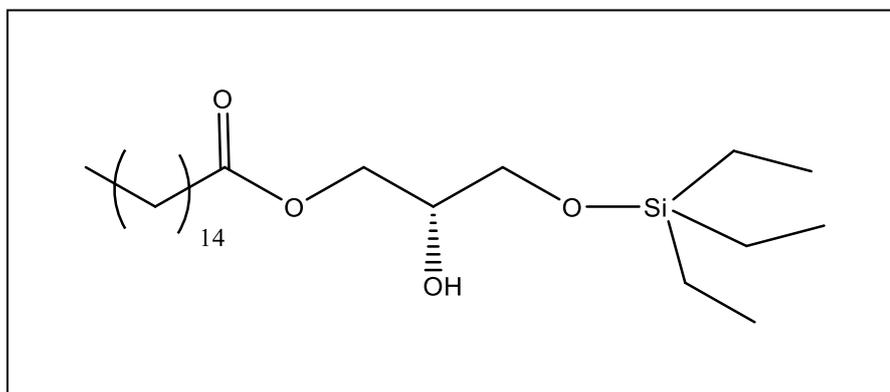
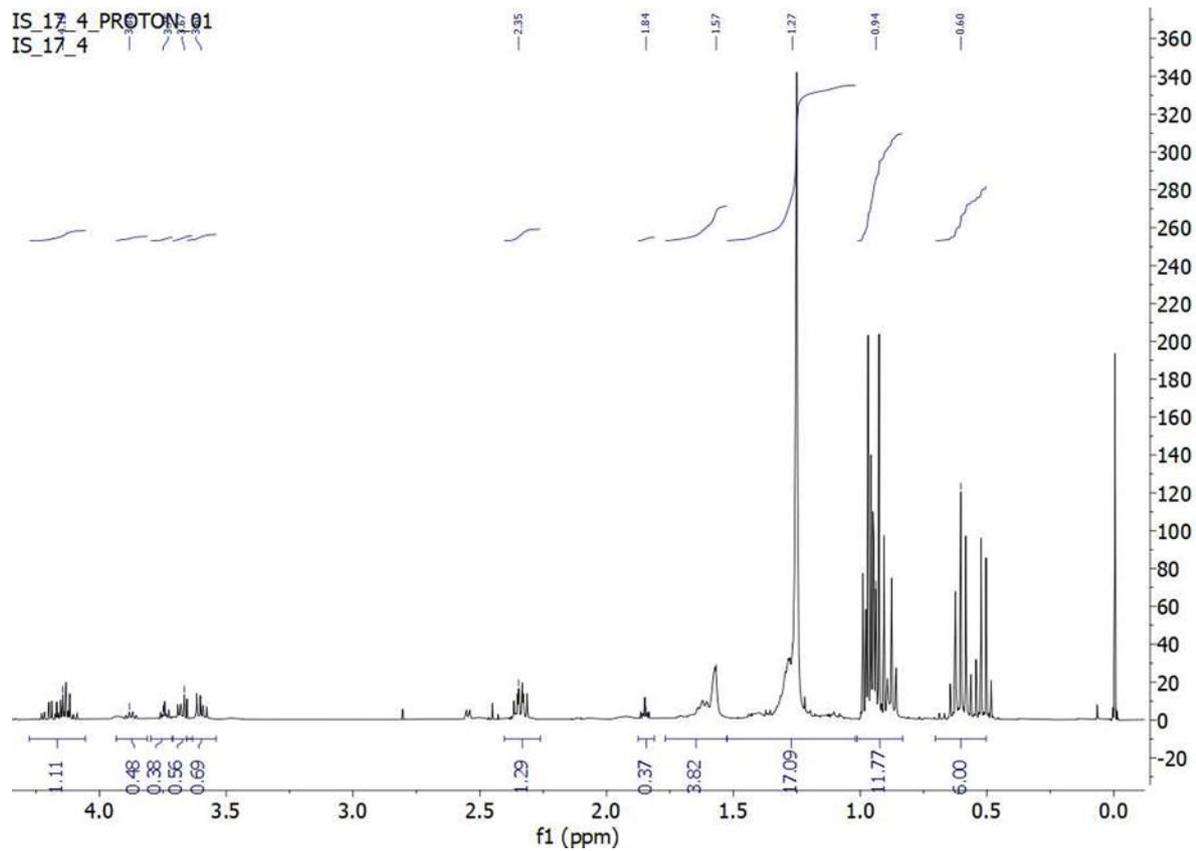


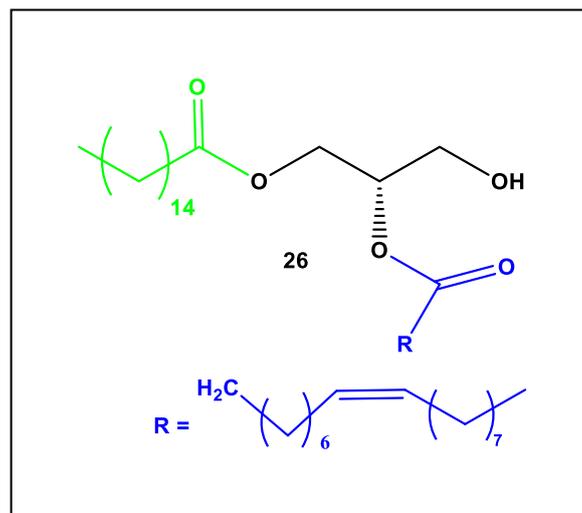
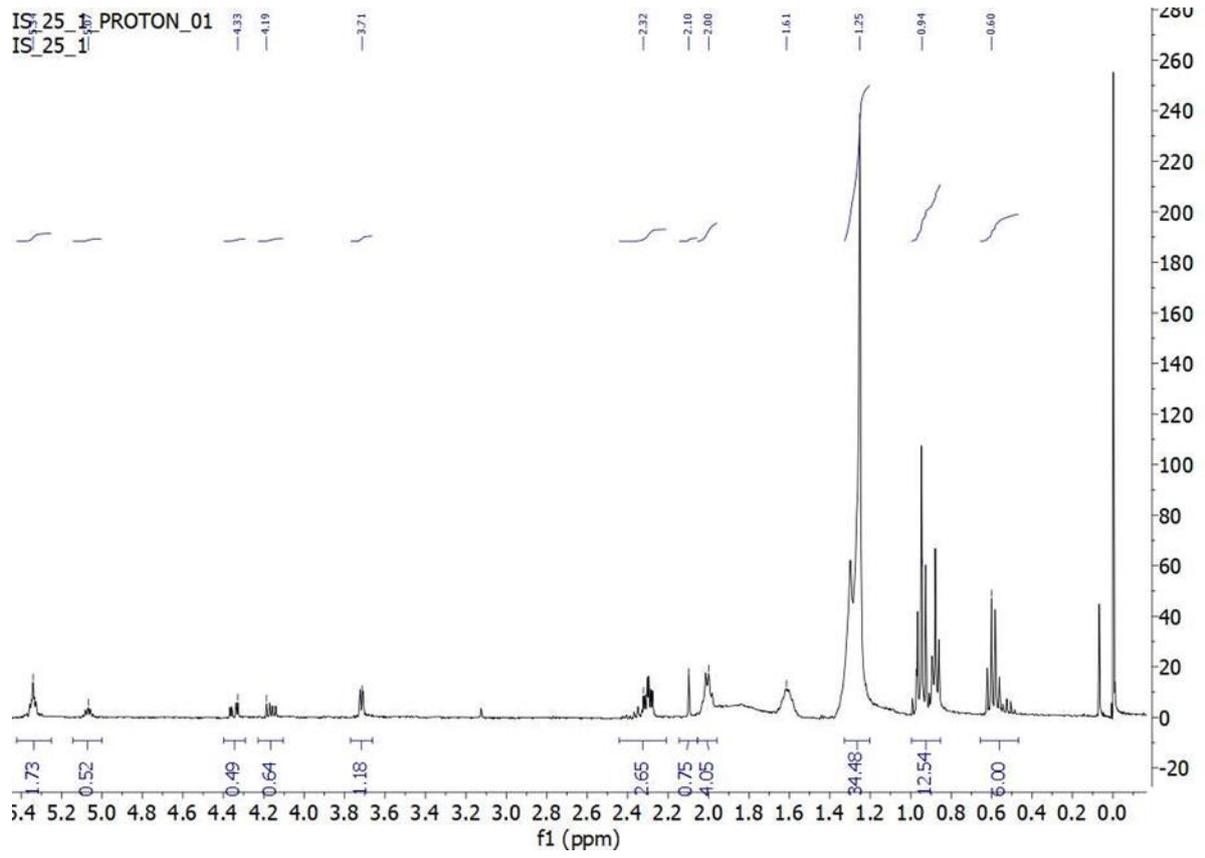


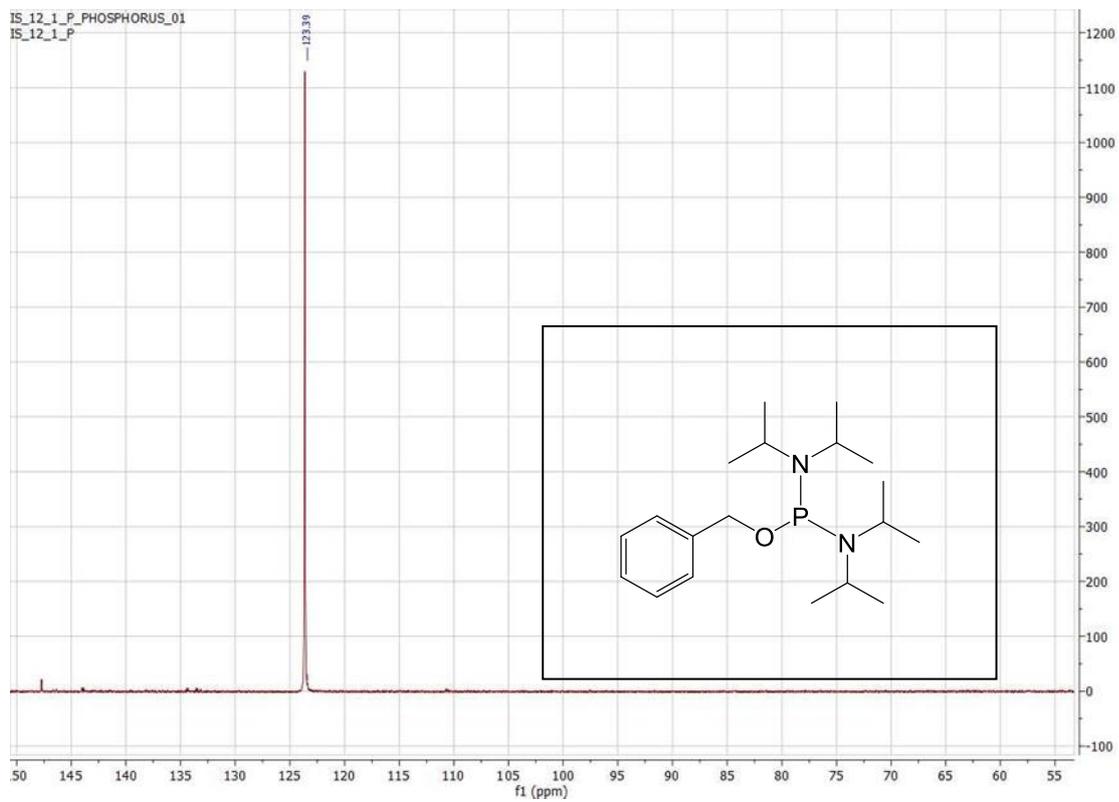
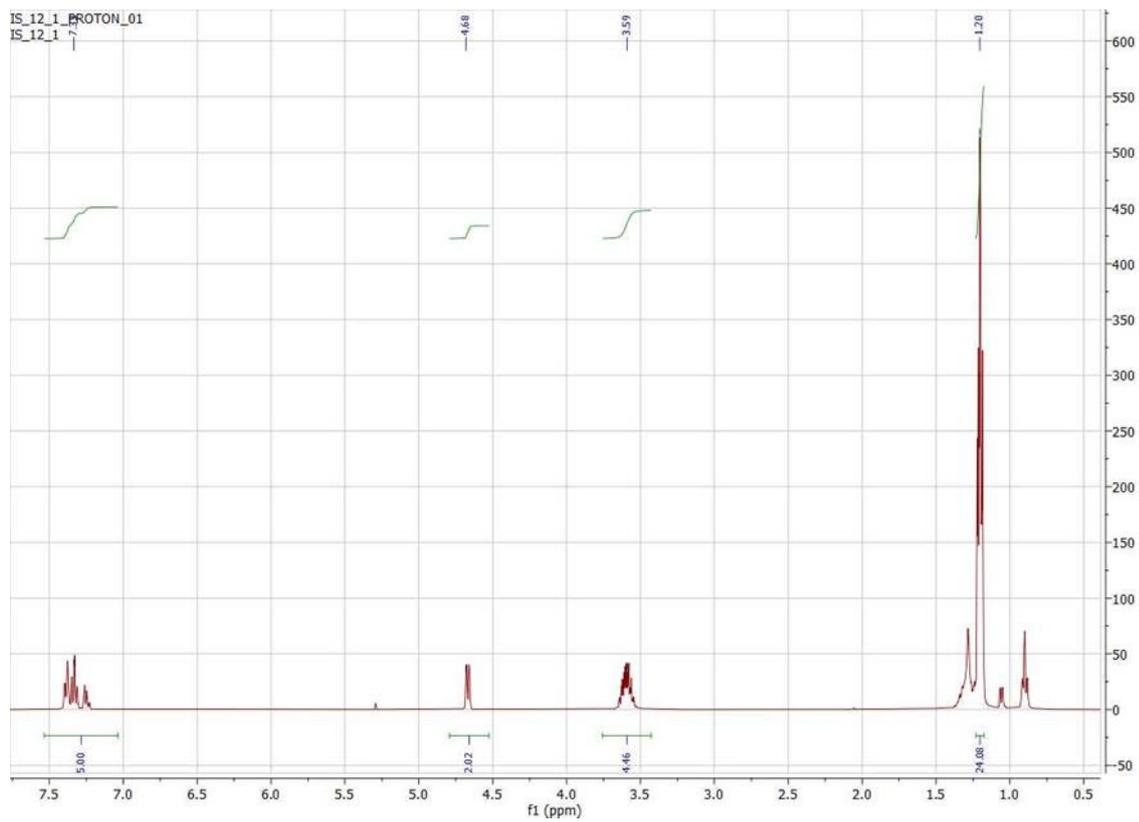


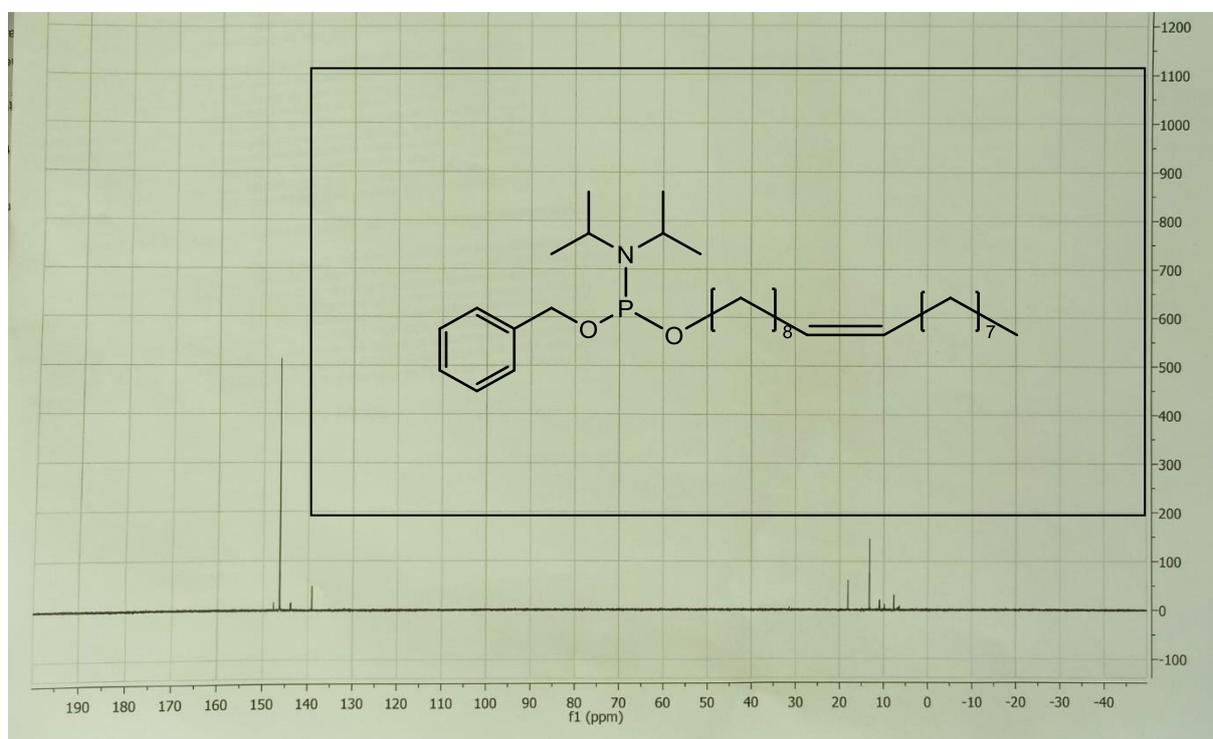
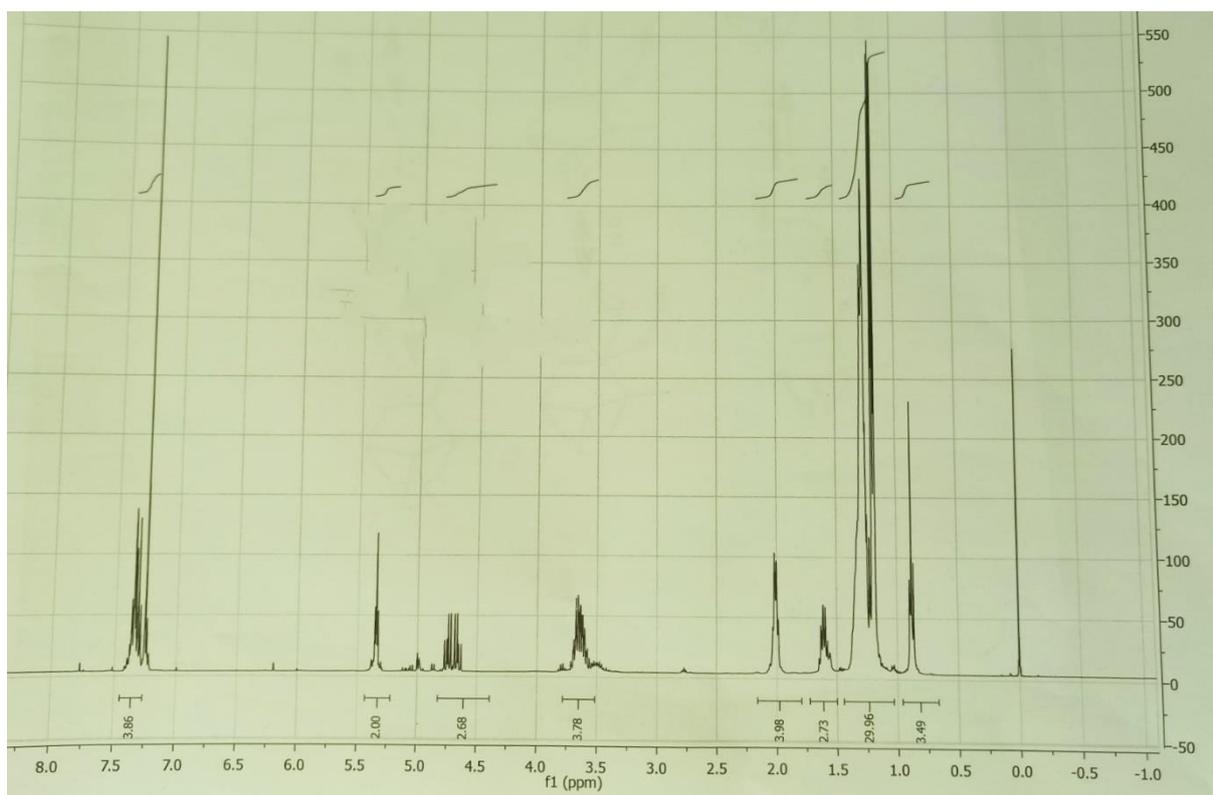




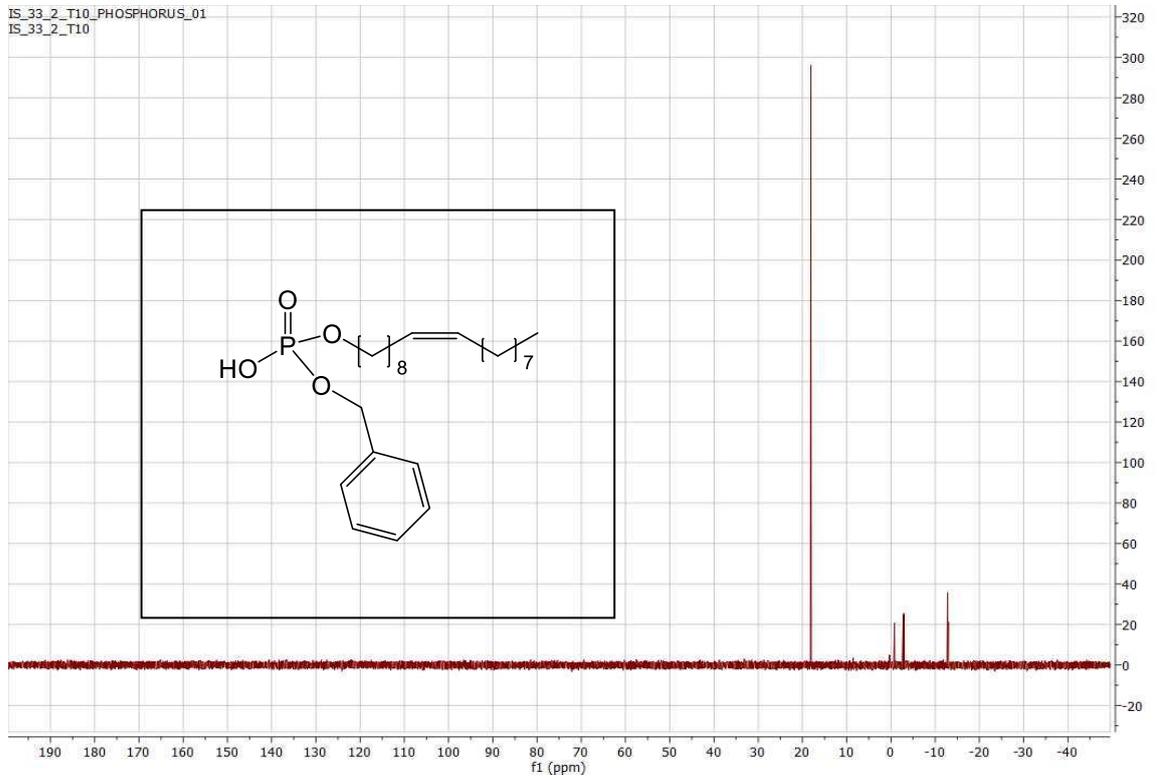








IS_33_2_T10_PHOSPHORUS_01
IS_33_2_T10



IS_33_2_T10_PROTON_01
IS_33_2_T10

