



Universidad de Valladolid

Facultad de Ciencias

TRABAJO FIN DE GRADO

Grado en Química

“SÍNTESIS DE DERIVADOS DE GLICEROL DIFERENTEMENTE SUSTITUIDOS”

Autor: Gonzalo Tomillo del Barrio

Tutor/es: Alfonso Pérez Encabo

ÍNDICE

1. Abreviaturas	5
2. Resumen / Abstract	6
3. Introducción	7
4. Objetivos y plan de trabajo.....	10
Plan de Trabajo.....	10
5. Antecedentes Bibliográficos	11
5.1 Síntesis de éteres	11
5.2 Síntesis de ésteres.....	14
5.3 Inserción del derivado fosforilado.....	15
6. Resultados y discusión	18
7. Materiales y Métodos	24
7.1 Síntesis de 1-O-Palmitoyl-sn-glycerol	25
7.2 Síntesis de 3-((4-methoxybenzyl)oxy)propaneglicerol	26
7.3 Síntesis del 3-((4-methoxybenzyl)oxy)propane-1,2-diol	27
7.4 Síntesis de 1-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-3-((4 methoxybenzyl)oxy)propan-2-ol	27
7.5 Síntesis 2-(((4-methoxybenzyl)oxy)methyl)oxirane	28
7.6 Reducción de Ácido oleico	29
7.7 Síntesis de (Z)-1-bromooctadec-9-eno	30
7.8 Síntesis de (2-(oleicoxy)-3-((4-methoxybenzyl)oxy)propoxy)(tert-butyl)dimethylsilane	30
7.9 Síntesis (2-(benzyloxy)-3-((4-methoxybenzyl)oxy)propoxy)(tert-butyl)dimethylsilane	31
7.10 2-(benzyloxy)-3-((4-methoxybenzyl)oxy)propan-1-ol	32
8. Bibliografía	33
9. Anexos	34

1. Abreviaturas

DCC	N,N'-diciclohexilcarbodiimida
DMAP	Dimetilaminopiridina
DCM	Diclorometano
DMF	N,N-dimetilformamida
DIPEA	N,N-diisopropiletilamina
<i>m</i> -CPBA	Ácido <i>meta</i> -cloroperbenzóico
THF	Tetrahidrofurano
TBSCI	Cloruro de Tertbutildimetilsilano
PMBCl	<i>para</i> -metoxicloruro de bencilo
t.a.	Temperatura Ambiente

2. Resumen / Abstract

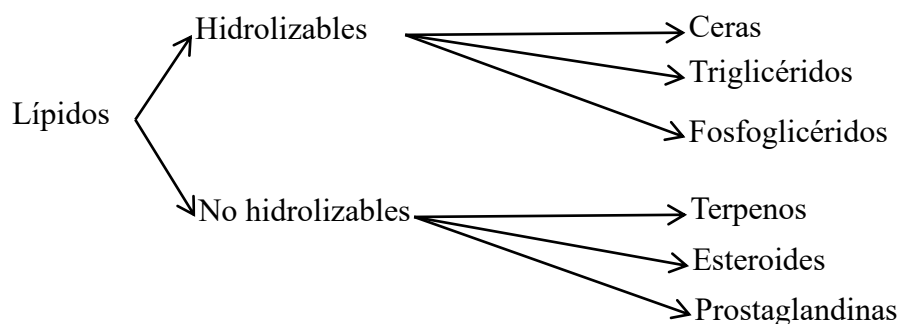
En este trabajo se ha abordado la síntesis quimioselectiva de esteres y éteres diferentemente sustituidos, con objeto de preparación de fosfolípidos derivados de glicerol. En este TFG, se ha optado por el uso de Solketal y Glicidol (2-3-epoxi-1-propanol) como derivados de glicerol para proceder con la síntesis. En primera instancia, la síntesis se inicia con la formación de diferentes esteres y éteres que soportasen las condiciones de un posterior proceso de eliminación del grupo acetal en condiciones ácidas. Posteriormente se procede con la formación quimioselectiva de éteres en posición sn-1 y sn-2 para las cuales tuvo que prepararse (Z)-1-bromooctadec-9-eno como sustituyente. Por último, se probó la introducción de un derivado de fósforo con el objetivo de obtener un fosfolípido.

In this work, the quimioselective synthesis of differently substituted esters and ethers has been addressed, in order to prepare phospholipids derived from glycerol. In this TFG, the use of Solketal and Glicidol (2-3-epoxy-1-propanol) as glycerol derivatives has been chosen to proceed with the synthesis. In the first instance, the synthesis begins with the formation of different esters and ethers that support the conditions of a subsequent process of elimination of the acetal group in acid conditions. Subsequently, we proceed with the chemoselective formation of ethers in the sn-1 and sn-2 position for which (Z)-1-bromooctadec-9-ene had to be prepared as a substituent. Finally, the introduction of a phosphorus derivative was tested in order to obtain a phospholipid.

3. Introducción

En este trabajo se ha desarrollado una ruta de síntesis quimioselectiva de fosfolípidos derivados de glicerol, que son importantes debido a su efecto inflamatorio y a su implicación en rutas de inducción a mecanismos de detención del crecimiento celular para ser usados como anticancerígenos.

Los lípidos son metabolitos derivados del ácido acético, los cuales poseen diversas funciones en el organismo como constituir las principales reservas energéticas de los seres vivos, estructural formando parte de la membrana celular y la regulación de la actividad de las células y tejidos.



El desarrollo de nuevos métodos sintéticos para la preparación de derivados de fosfolípidos biológicamente activos es un problema desafiante de la química y la bioquímica de membranas en la actualidad. De hecho, los estudios estructurales y dinámicos de biomembranas para el establecimiento de relaciones estructura-actividad, interacciones fosfolípidos-proteínas y mecanismos de acción de enzimas metabolizadoras de fosfolípidos requieren la preparación de un gran número de derivados de fosfolípidos como paso clave en el avance de la bioquímica de membranas.

Los lisofosfolípidos se han convertido recientemente en el foco de especial atención desde que se descubrió que, además de su papel en el metabolismo de los fosfolípidos, funcionan como segundos mensajeros, exhibiendo una amplia gama de actividades biológicas por derecho propio.

Además, se ha demostrado que los análogos de fosfolípidos y los lisofosfolípidos que incorporan grupos espectroscópicamente activos son sondas estructurales para estudiar las propiedades de agregación de estos compuestos particulares y el destino de los productos generados por las enzimas que metabolizan los fosfolípidos.

La síntesis de fosfolípidos derivados de glicerol ha sido muy estudiada en el ámbito biológico y biomedicina debido a las propiedades de estas macromoléculas ejerciendo un papel importante como reguladores, anticancerígenos y constitucionales del tejido vivo ³.

En un estudio de 2005 en el grupo de investigación de Thomas L. Andresen ² revelaron el efecto significativo de este tipo de lípidos bio activos ante la respuesta citotóxica y reguladora de la apoptosis celular. Este estudio demostró que la actividad citotóxica residía en la estereoquímica del alcohol secundario del glicerol y también se evaluó la actividad reguladora de la apoptosis celular demostrando una correlación entre ambos fenómenos.

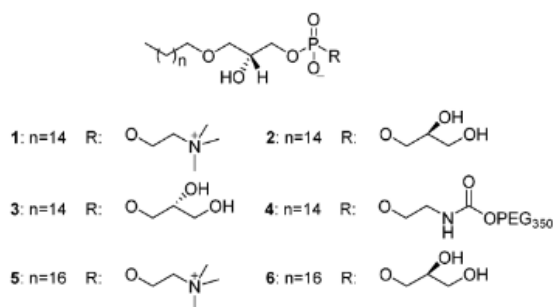


Ilustración 1:(AEL-1), dos estereoisómeros de 1-O-hexadecil-2-liso-sn -glicero-3-fosfoglicerol (AEL-2(S)-isómero y AEL 3(R)-isómero), 1- O-hexadecil-2-liso-sn-glicero-3-fosfoetanolamina poli- (etilenglicol)350(AEL-4), 1-O-octadecil-2-liso sn-glicero-3-fosfocolina (AEL-5), 1-O-octadecil-2-liso-sn-glicero-3- fosfo-(S)-glicerol (AEL-6). 1-O-hexadecil-2-liso-sn-glicero-3-fosfocolina (2)

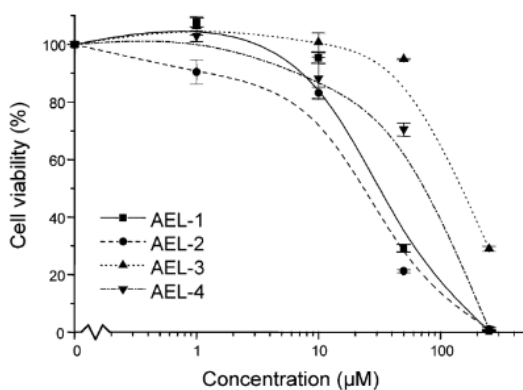


Ilustración 2: Grafica que muestra la actividad citotóxica de AEL 1-4 en la línea celular del cáncer de colon.

Se ha investigado el diseño de liposomas de profármacos cubiertos de polímeros constituidos por estos lípidos de éter anticancerígenos (AEL) para la administración controlada de fármacos contra el cáncer en el tejido específico.

Muchas de estas moléculas ya sintetizadas son muy potentes ², pero poseen un problema general de citotoxicidad hacia los glóbulos rojos. Por ello la generación de lípidos de éter formulados como liposomas, pueden ser hidrolizados y activados específicamente por vía enzimática en el tumor eludiendo así las limitaciones hemolíticas del uso de AEL como fármacos anticancerígenos de administración intravenosa.

Este tipo de lípidos de éter anticancerígenos logran su actividad citotóxica a partir de mecanismos que implican la perturbación directa de la membrana, inducción de una diferenciación y activación de macrófagos que den como resultado la detención del ciclo celular y la apoptosis deteniendo así el crecimiento del tumor.

Por ello para la investigación del efecto de estos lípidos se centra en la variación de los niveles de AKT para desarrollar así inhibidores dirigidos de AKT para el desarrollo de nuevos fármacos contra el cáncer.

Como resultado de estas investigaciones ², aunque es bien sabido que la actividad citotóxica de los lípidos de éter anticancerígenos depende en gran medida del grupo principal de fosfolípidos, se encontró que la estereoquímica del grupo de cabeza de glicerol (AEL-2 y AEL-3) da como resultado una diferencia de 5 veces en la actividad. Este es un resultado interesante ya que la mayoría de los fabricantes de lípidos actualmente venden lípidos de fosfatidilglicerol como racematos del grupo principal. Esto se puede deber a la posible presencia de receptores específicos de liso-fosfatidilglicerol que son sensibles a la estereoquímica del grupo principal.

También se encontró que existe una correlación entre la actividad citotóxica ejercida por los lípidos de éter anticancerígenos y su capacidad para inhibir la fosforilación de AKT, con lo cual el estudio de este tipo de lípidos de éter resulta interesante en el avance de las investigaciones centradas en el tratamiento del cáncer.

4. Objetivos y plan de trabajo

El objetivo principal es diseñar un procedimiento experimental que permita la sustitución controlada en los grupos hidroxilo del glicerol:

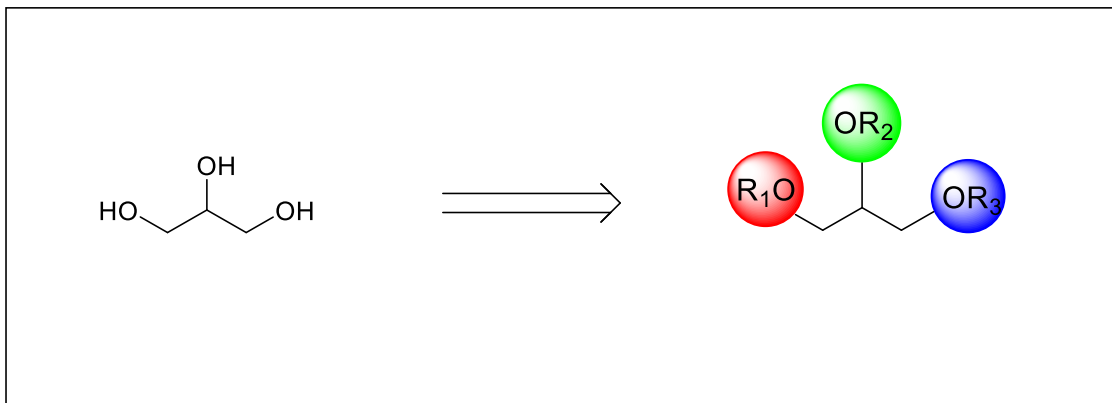


Ilustración 1: Objetivo de síntesis de derivados de glicerol siendo $R1 \neq R2 \neq R3$

También se pretende optimizar cada reacción y caracterizar completamente cada uno de los compuestos obtenidos.

Plan de Trabajo

- A partir de Solketal derivatizar el grupo hidroxilo libre.
- Buscar las condiciones apropiadas para la apertura de dioxolano.
- Ensayar diferentes condiciones de reacción que permitan la reactividad diferencial de ambos grupos hidroxilos libres.

5. Antecedentes Bibliográficos

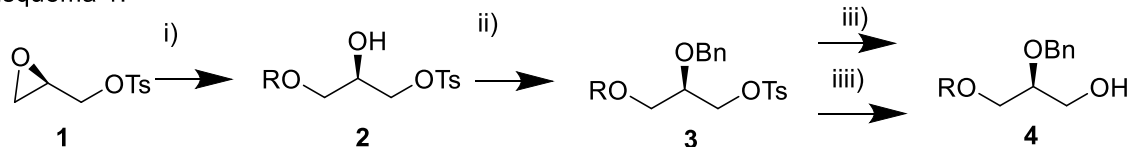
La síntesis de fosfolípidos derivados de glicerol específicos se ha abordado de numerosas formas al largo de los años obteniendo diversas estrategias para la formación de esteres y éteres derivados de glicerol específicos.

5.1 Síntesis de éteres

El grupo de investigación de Thomas L Andersen¹ abordó la síntesis de esta clase de lípidos a partir de D-Manitol y de la apertura de anillo de glicidol ambas semejantes.

La primera ruta a partir de glicidol se realiza la apertura del epóxido en medio ácido usando $\text{BF}_3\text{-OEt}_2$ formando un éster C_{16} y C_{18} previa protección del alcohol primario formando un tosilato. Posteriormente se realizó la formación del éter bencílico catalizada en medio ácido usando tricloroacetimidato de bencilo y se llegó al compuesto **4** mediante el uso de acetato de cesio seguido de una reducción o alternativamente por una hidrólisis usando nitrito de sodio.

Esquema 1:



Esquema 1: Síntesis de 1-O-Hexadecilo-2-O-bencilo-*sn*-glicerol y 1-O-Octadecilo-2-O-bencilo-*sn*-glicerol a partir de [®]-Tosilato de glicidilo; i) $\text{C}_{16}\text{H}_{33}\text{OH}$ o $\text{C}_{18}\text{H}_{37}\text{OH}$, $\text{BF}_3\text{-OEt}_2$, MCD; ii) $\text{BnOC}(\text{NH-CCl}_3)\text{TfOH}$, dioxano; iii) AcOCS , DMF, DMSO, LiAlH_4 , Et_2O ; iiiii) NaNO_2 , DMF

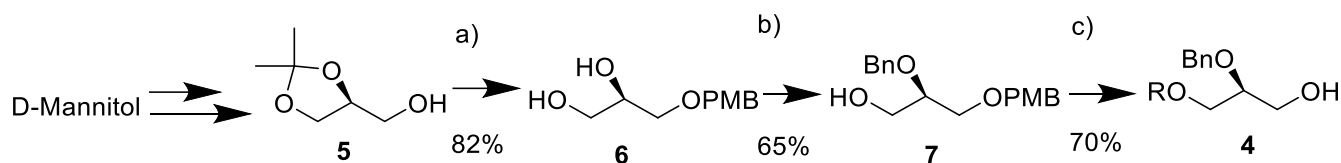
La segunda ruta, a partir del D Manitol, se obtiene el Solketal. Los dos alcoholes, se protegen formando un éter alquílico a partir del derivado con el PMBCl previamente sintetizado, posteriormente se realiza la formación de un éter bencílico a partir de BnBr de igual forma.

¹ Andresen, T. L., Jensen, S. S., Madsen, R., & Jørgensen, K. (2005). *Journal of Medicinal Chemistry*, 48(23), 7305–7314.

TFG: Síntesis de derivados de glicerol diferentemente sustituidos

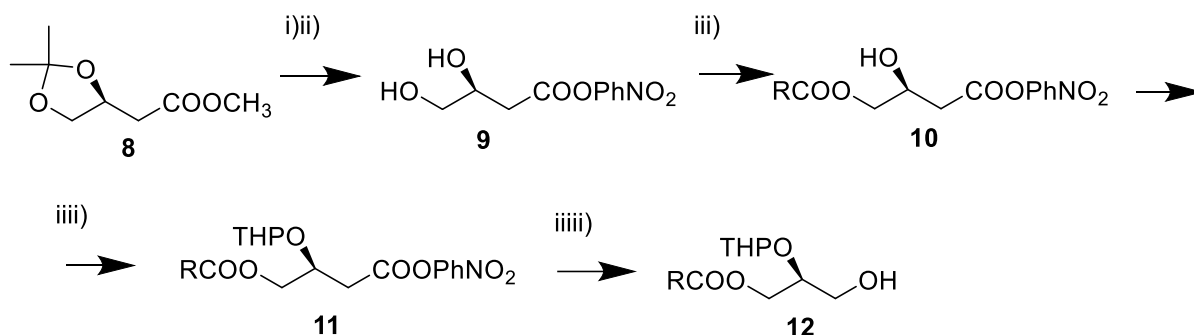
Por último, se realizó la formación del compuesto **4** tratando con I₂ en medio básico y el bromuro de alquilo C16 o C18.

Esquema 2:



Esquema 2: Síntesis de 1-O-Hexadecilo-2-O-bencilo-sn-glicerol y 1-O-Octadecilo-2-bencilo-sn-glicerol a partir de D-Mannitol; a) i) NaH, PMBCl, Bu₄NI, THF, DMF; ii) TsOH, MeOH; b) NaH, BnBr, THF, DMF; iii) TsOH, MeOH; c) i) NaH, C₁₆H₃₃Br o C₁₈H₃₇Br, THF, DMF; ii) DDQ, H₂O, CH₂Cl₂.

Otra de las rutas sintéticas interesantes para la síntesis estereoespecífica de estos lípidos está descrita por el grupo de investigación de Paola D'Arrigo y Stefano Servi ².



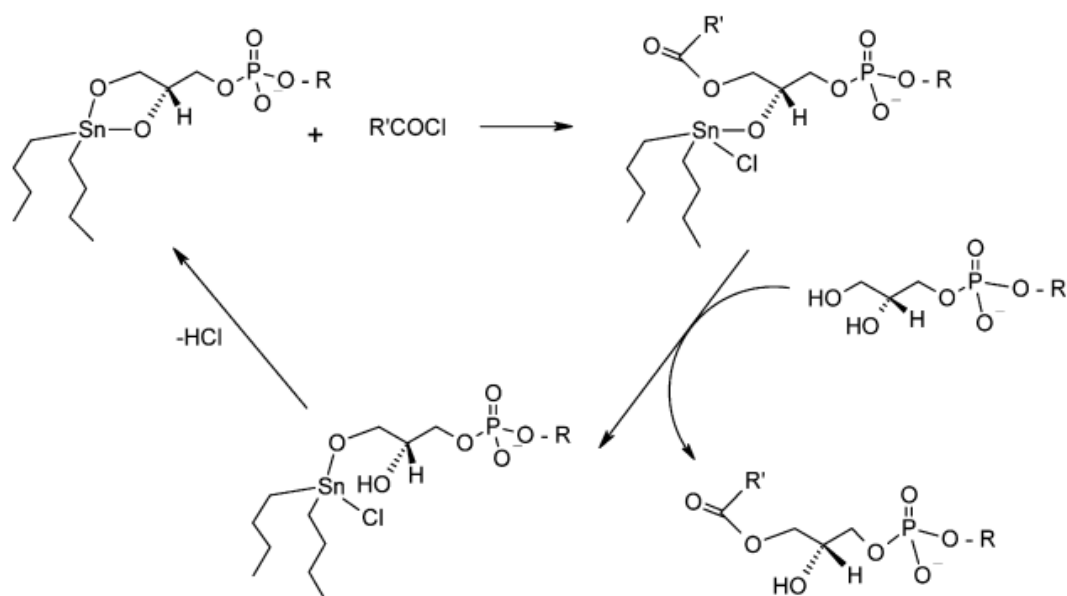
Esquema 3: Síntesis de liso fosfolípidos: i) NaOH/Dioxano/H₂O ii) Pags-NO₂C₆H₄OH/DCC iii) Palmitoilcloruro iiiii) 3,4 dihidropirano/PPTS iiiiii) NaBH₄/1,2 dimetoxietano

Esta síntesis parte de lapags-nitrofeniléster de D-ácido glicérico, que tras la eliminación del acetal se realiza una monoacilación regioespecífica del compuesto **9** con cloruro de palmitoilo. Posteriormente se realiza una tetrahidropiranilación en posición sn-2 que se llevó a cabo con 3,4- dihidropirano en presencia de (PPTS) como catalizador. Por último, se realiza una reducción con NaBH₄ en 1,2-dimetoxietano a temperatura ambiente para dar 1-palmitoil-2-tetrahidropiranil-sn -glicerol **12**.

² D'Arrigo, P., & Servi, S. (2010). Synthesis of lysophospholipids. *Molecules*, 15(3), 1354–1377.

Uno de los problemas más frecuentes que se recogen en la literatura se centra en los rendimientos procedentes de las mono acilaciones en el grupo hidroxilo en sn-1, teniendo que realizar la protección de ese grupo hidroxilo previamente para posteriormente realizar la sustitución en el alcohol secundario y por último la liberación para así generar este tipo de lípidos de forma estereoselectiva.

El grupo de investigación de Paula D'Arraigo ³ ya mencionada anteriormente resuelve este problema utilizando un catalizador de estaño, reduciendo en dos pasos la síntesis general de estos compuestos.



Esquema 4: Ciclo catalítico de la mono acilación de glicerofosfolípidos mediada por estaño³.

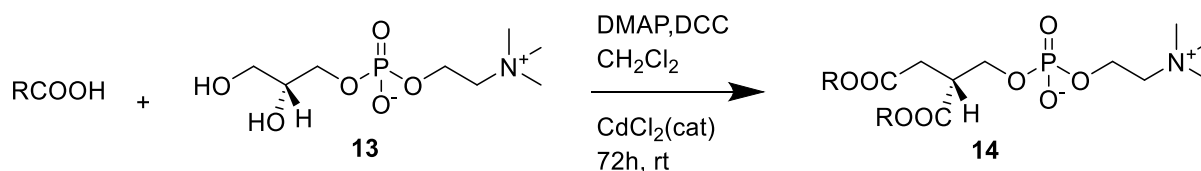
Se realizaron pruebas suficientes como para comprobar que se producía de esta manera obteniendo además rendimientos superiores al 90% en síntesis.

³ Fasoli, E., Arnone, A., Caligiuri, A., D'Arrigo, P., de Ferra, L., & Servi, S. (2006). Tin-mediated synthesis of lyso-phospholipids. *Organic and Biomolecular Chemistry*, 4(15), 2974–2978.

5.2 Síntesis de ésteres

De forma general la síntesis de esterres se realiza por dos métodos de forma exitosa en ambos casos con rendimientos elevados.

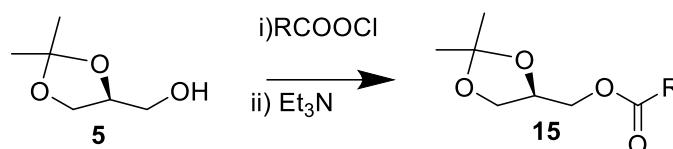
Método 1: 1,2 diacilación:



Esquema 5: Síntesis de esterres a partir de ácidos catalizada por CdCl₂

En el grupo de investigación de Anna Gliszczynorteska⁴ se desarrolla esta síntesis de esterres a partir de un ácido de cadena larga la cual se ve favorecida con el uso de un catalizador de CdCl₂.

Otra síntesis viene recogida,² se trata de la formación de esterres a partir de halogenuros de ácido en medio básico.



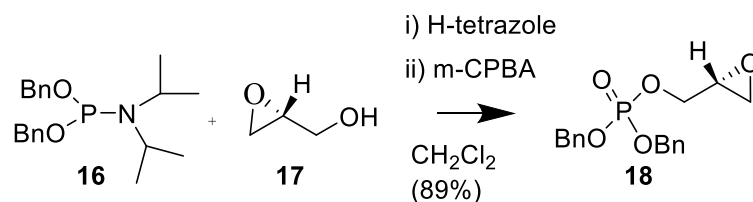
Esquema 6: Síntesis de esterres a partir de halogenuros de ácido

⁴ Gliszczyńska, A., Niezgoda, N., Gładkowski, W., Czarnecka, M., Świtalska, M., & Wietrzyk, J. (2016). Synthesis and biological evaluation of novel phosphatidylcholine analogues containing monoterpene acids as potent antiproliferative agents. *PLoS ONE*, 11(6)

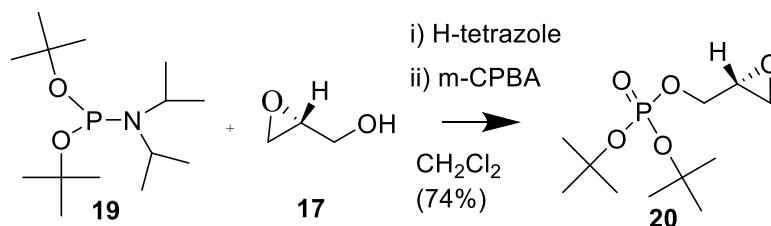
5.3 Inserción del derivado fosforilado

Por lo general en el proceso de síntesis de los fosfoglicerolípidos, el derivado fosforilado se sintetiza inicialmente de tal forma que se forman los éteres o esterés en el alcohol primario o secundario con el derivado fosforilado ya introducido de diversas formas ⁵.

Ruta de síntesis 1:



Ruta de síntesis 2 :

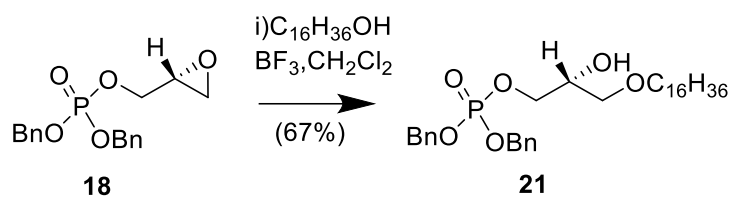


Esquema 7: Rutas de síntesis de fosfoglicerolípidos

Las dos primeras rutas de síntesis ⁵ se realizaron a partir de dos fosforamiditos de dialquilo diferentes, dibencil-N,N-diisopropilo y ditercbutil-N,N-fosforamidita de diisopropilo. Estas estrategias se siguieron como método de síntesis quimioselectiva de fosfolípidos. A partir de los derivados fosforilados y glicidol se obtuvieron altos rendimientos de este derivado fosforilado.

En la primera ruta de síntesis a partir de este derivado fosforilado, se realiza la apertura del epóxido catalizada por ácido de Lewis utilizando hexadecano y BF₃ obteniendo como resultado el alcohol fosforilado de forma regional y estero específica.

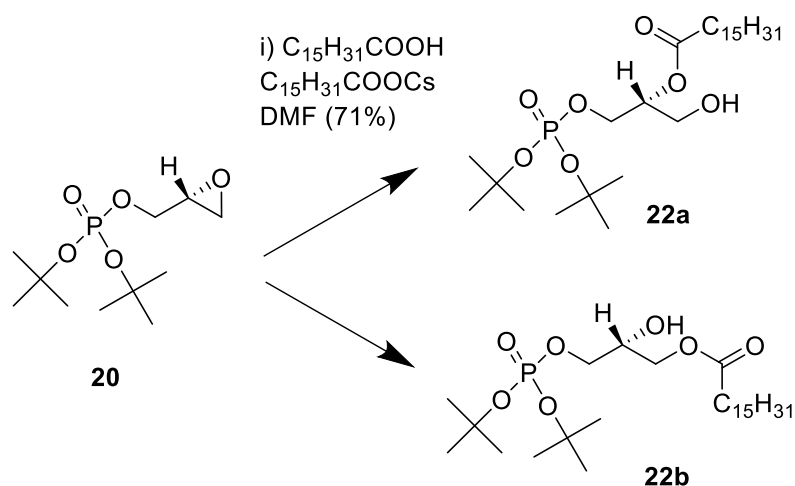
⁵ Lindberg, J., Ekeröth, J., & Konradsson, P. (2002). *Efficient Synthesis of Phospholipids from Glycidyl Phosphates*.



Esquema 8: Síntesis quimioselectiva a partir de fofoamidito dibencilo

La segunda ruta de síntesis la síntesis se centró en la utilización de otros grupos protectores del derivado fosforilado que no fuesen tan susceptibles al ataque nucleófilo, ya que se observó que en la apertura del epóxido con palmitato de cesio producía el producto descompuesto y palmitato de bencilo por ello se utilizó el grupo ditercbutil que ofrecía mejores resultados.

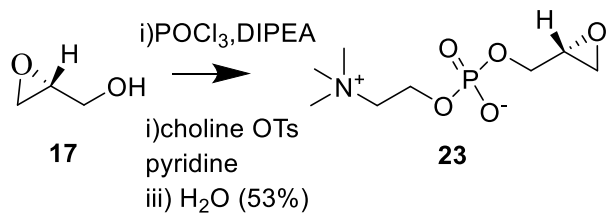
Sin embargo, en este caso por esta ruta se obtiene el producto racemizado con lo cual no produce de forma estereoespecífica el producto deseado.



Esquema 9: Obtención de mezcla racémica de productos

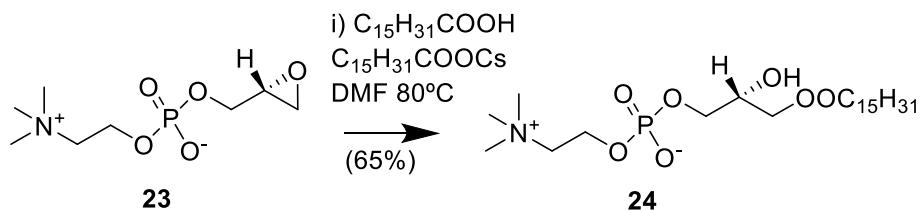
Para encontrar una ruta más corta a los derivados de la colina, en el último tratamiento el glicidol fue fosforilado utilizando oxiclورو de fósforo ⁵.

TFG: Síntesis de derivados de glicerol diferentemente sustituidos



Esquema 10: Inserción de la fosfatidilcolina al glicidol

El tratamiento posterior in situ con tosilato de colina produjo el derivado de colina con elevados rendimientos y tras la apertura del epóxido con palmitato de cesio en este caso se obtuvo el ácido liso fosfatídico enantiopuro.

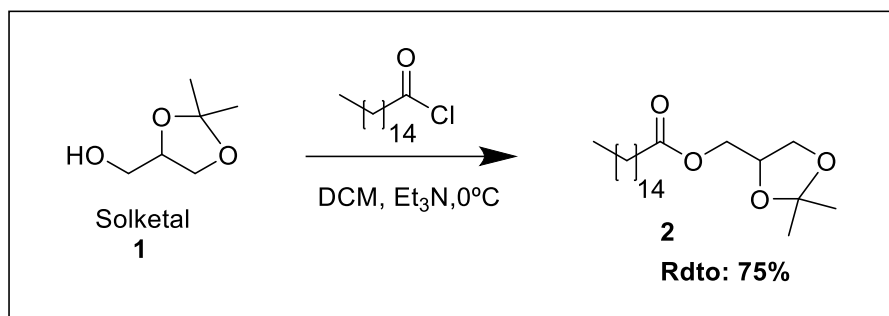


Esquema 11: Síntesis quimioselectiva de fosfoglicerolipidos

Con lo cual esta ruta ha resultado eficaz para la síntesis de este tipo de compuestos fosforilados.

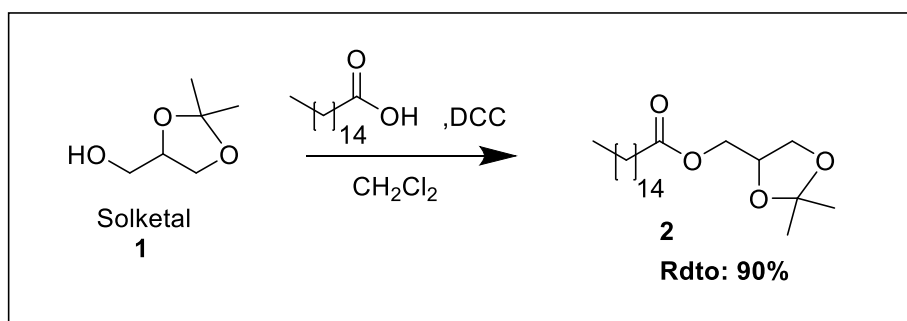
6. Resultados y discusión

La diferenciación de los dos grupos hidroxilo primarios presentes en el glicerol se ha abordado utilizando Solketal (**1**) como producto de partida. Dado que únicamente se encuentra libre un grupo hidroxilo, este se derivatizó en el éster derivado del ácido palmítico y en un éter bencílico. La reacción de Solketal (**1**) con cloruro de palmitoilo conduce al éster con excelente rendimiento (90%).



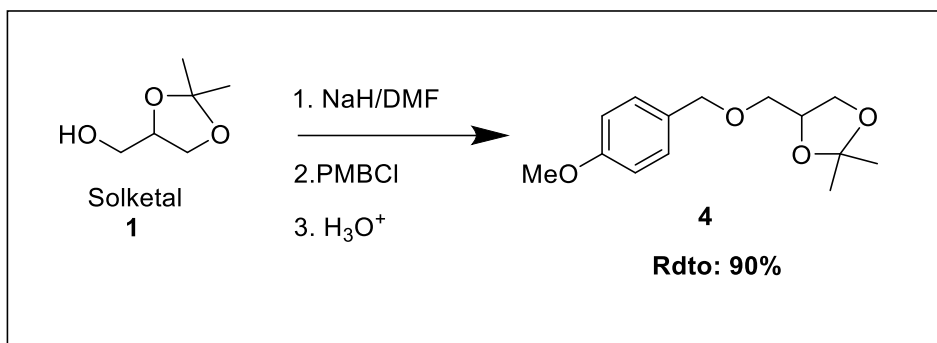
Esquema 12: Síntesis de esteres con cloruro de palmitoilo.

También se obtuvo el éster (**2**) por reacción de Solketal (**1**) con ácido palmítico en presencia de diciclohexilcarbodiimida (DCC) en diclorometano. Como en el caso anterior el rendimiento fue excelente (90%).



Esquema 13: Síntesis de esteres con DCC

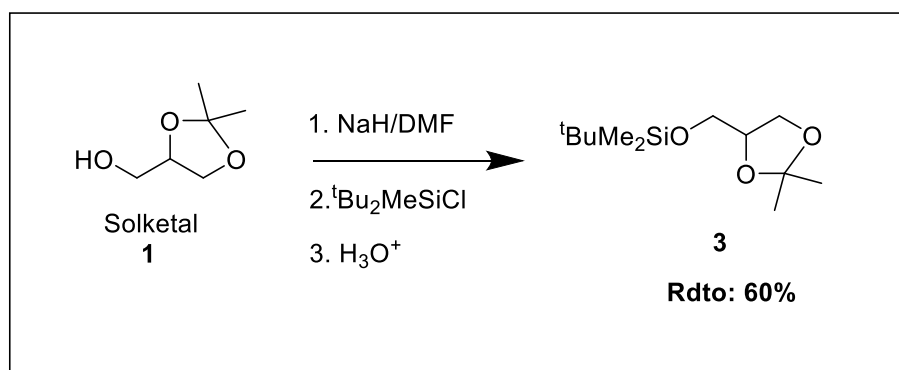
La transformación del grupo hidroxilo libre en un éter bencílico fue posible por reacción de Solketal (**1**) con hidruro sódico y cloruro de *p*-metoxibencilo en DMF. La deprotonación del grupo hidroxilo, conduce a un oxoanión que en presencia de cloruro de *p*-metoxibencilo permite aislar el éter bencílico con un buen rendimiento (Esquema 3).



Esquema 14: Síntesis de éteres derivados de Solketal

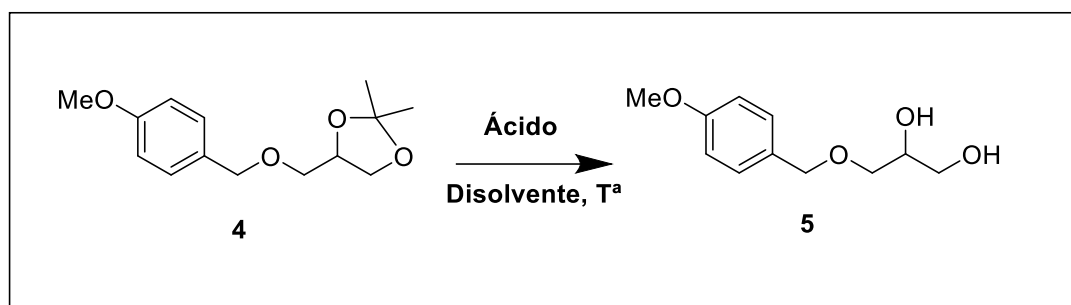
La eliminación de este grupo bencilo se puede llevar a cabo mediante hidrogenación catalítica, lo que permite una desprotección ortogonal de los grupos presentes en el compuesto final.

Por último, se ha utilizado como sustituyente en ese grupo hidroxilo un derivado de silicio. La reacción de Solketal (**1**) con hidruro sódico y cloruro de difeniltercbutil silano en DMF conduce al sililéter.



Esquema 15: Síntesis de éteres de silicio derivados de Solketal

Una vez derivatizado el primero de los grupos hidroxilo, se procedió con la hidrólisis del isopropilidenglicerol, para ello, se ensayaron diferentes procedimientos. A partir de (**3**) en condiciones ácidas. Como medio ácido se usó ácido paratoluensulfónico y Amberlyst 15. Los ensayos realizados se recogen en la Tabla 1.



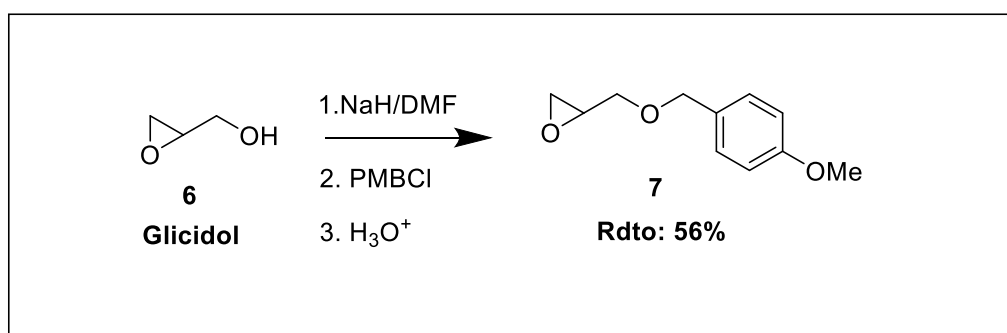
Esquema 16: Hidrólisis de acetal

Tabla 1: Hidrólisis isopropilidenglicerol 4 y 3

Ensayo	Ácido	Disolvente	T ^a	Tiempo	Rendimiento
1 (4)	Amberlyst 15	MeOH/CH ₂ Cl ₂ (1:1)	25°C	48h	64%
2 (4)	Amberlyst 15	EtOH	25°C	24h	90%
3 (4)	Amberlyst 15	EtOH	Reflujo	3h	-
4 (4)	Paratoluensulfónico, Ácido Acético	MeOH	25°C	10h	-
5(3)	Amberlyst 15	EtOH	25°C	3h	-

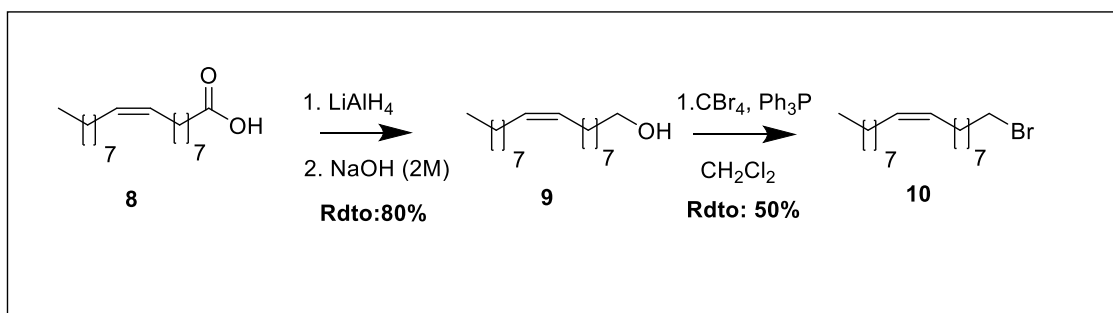
De los ensayos realizados, observamos que las condiciones que proporcionan mejor resultado son: Amberlyst 15 como catalizador ácido, etanol como disolvente y temperatura ambiente.

Una alternativa al uso de Solketal como producto de partida es usar Glicidol (2-3-epoxi-1-propanol), ya que una vez derivatizado de forma adecuada el grupo hidroxilo, la apertura del oxirano en condiciones básicas, por ejemplo, con la sal sódica de un ácido carboxílico es una vía para obtener un derivado de glicerol disustituido. De esta forma la reacción de glicidol (5) con hidruro sódico y cloruro de *p*-metoxibencilo proporciona el éter (6) con buen rendimiento.



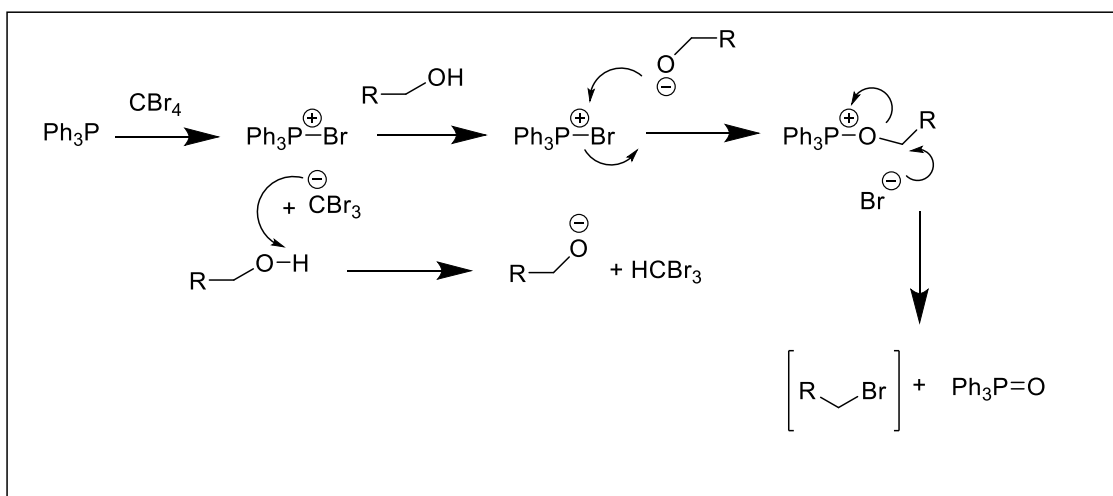
Esquema 17: Síntesis de éteres derivados de Glicidol

Es importante disponer de sustituyentes derivados de ácidos grasos naturales, ya que son los que forman parte de la estructura de fosfoglicéridos de origen natural. En nuestro caso se optó por un derivado de ácido oleico, como es el (Z)-1-bromooctadec-9-eno (**10**). La preparación de (**10**) comienza por la reducción de ácido oleico con hidruro de litio y aluminio en THF, obteniendo el alcohol (**9**) con un buen rendimiento. El tratamiento del alcohol (**9**) con una mezcla de tetrabromuro de carbono y trifenilfosfina conducen al bromuro (**10**), también con buen rendimiento.



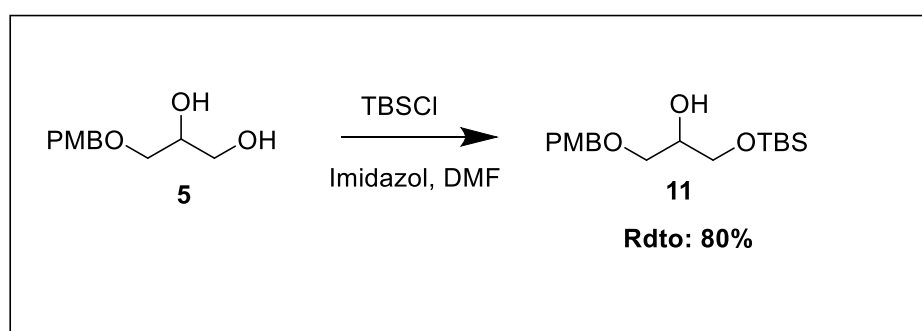
Esquema 18: Síntesis de (Z)-1-bromooctadec-9-eno (**10**)

La bromación de alcoholes con la mezcla de CBr_4 y Ph_3P , reacción de APPEL, es especialmente útil en el caso de existir enlaces múltiples, ya que en ningún momento se genera bromo elemental que podría reaccionar con ese enlace múltiple. El mecanismo por el que transcurre la reacción muestra la selectividad de esta reacción (**Esquema 8**).



Esquema 19: Mecanismo bromación. Reacción de APPEL

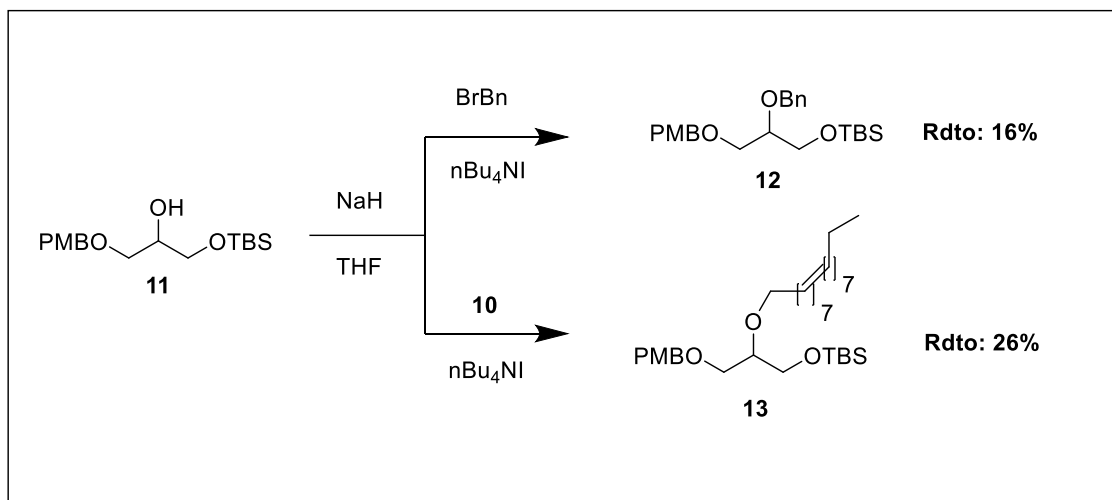
Una vez obtenido el diol (**5**), la diferenciación quimioselectiva de ambos grupos hidroxilo, se aborda utilizando la diferencia de reactividad que presentan los grupos hidroxilo primarios y secundarios. Se conoce que los grupos hidroxilo primarios reaccionan con mayor velocidad que sus homólogos secundarios, esta diferencia de selectividad es mayor a medida que el volumen del agente electrófilo crece. En este estudio se ha utilizado como agente electrófilo cloruro de dimetiltercbutilsilano en presencia de imidazol. La reacción es quimioselectiva, obteniendo el producto de monosililación en el carbono primario con un rendimiento superior al 70% en todos los casos (**Esquema 9**).



Esquema 20: Síntesis de sililderivados

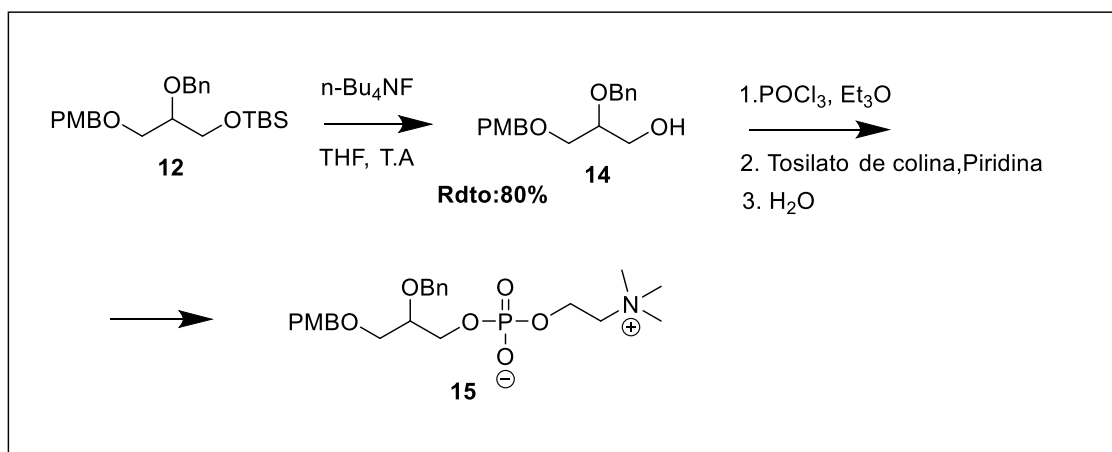
La diferenciación de estos dos grupos hidroxilos permite tener diferenciados los 3 grupos hidroxilos. La incorporación de un tercer sustituyente a partir de (**11**), hace viable el objetivo inicial de poder diferenciar la reactividad de los 3 grupos hidroxilo presentes en el glicerol.

Para incorporar el tercer sustituyente en la posición sn-2 del derivado de glicerol, se usaron bromuro de bencilo y (Z)-1-bromooctadec-9-eno (**10**). La reacción del alcohol (**11**) con hidruro sódico y bromuro de bencilo o el bromuro (**10**) propician el derivado trisustituido (**Esquema 10**).



Esquema 21

Por último, y dado que el objetivo final de este procedimiento sintético es la preparación de derivados de fosfolípidos, se ensayó la obtención de un derivado de fosfatidilcolina. La liberación de uno de estos grupos hidroxilo y posterior reacción con un derivado de fósforo se obtendría este derivado de fosfatidilcolina. Así, la reacción del éter bencílico (**12**) con fluoruro de tetrabutilamonio conduce al alcohol (**14**) con un buen rendimiento.



Esquema 22: Síntesis de Fosfatidilcolina

El tratamiento del alcohol (**14**) de forma secuencial con oxiclorigo de fósforo y tosilato de colina debería conducir a la fosfatidilcolina (**15**), desafortunadamente, aunque se realizaron varios ensayos utilizando estas condiciones, no fue posible aislar dicha fosfatidilcolina.

7. Materiales y Métodos

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

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

Los espectros de **RMN** se adquirieron en un instrumento RMN 400 de Agilent Technologies con consola **MR 400 de Agilent y sonda One NMR** (1H, 400,123 MHz; 13C, 100.611 MHz).

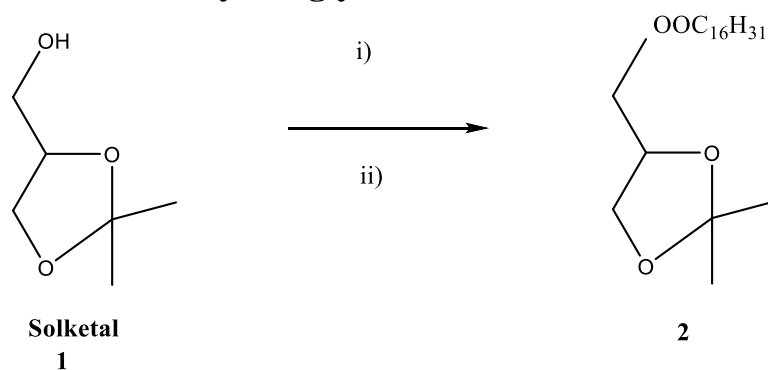
Los desplazamientos químicos se expresan como partes por millón utilizando tetrametilsilano como estándar interno. Dichos espectros fueron obtenidos en el Laboratorio de técnicas experimentales de Valladolid. Los valores de J están en Hz. También se obtuvieron espectros bidimensionales, **HSQC**, referidos al acoplamiento que existe entre los átomos de carbono y los hidrógenos en la molécula.

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

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

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

7.1 Síntesis de 1-O-Palmitoyl-sn-glycerol



Esquema 23: i) DCM; DMAP; DCC; $C_{16}H_{32}O_2$ (Ác. Palmítico) ii) Et_3N ; DCM; $C_{16}H_{31}OCl$

Primera ruta de síntesis i)

Sobre una disolución de Solketal (2.00 g; 15.2 mmol; 1.9 mL) a t.a en DCM (20 mL), se añade DCC (3.76 g; 18.4 mmol; 1.2 eq), DMAP (0.5g; 4.1 mmol) y Ácido palmítico (3.879 g; 15.2 mmol; 1.01 eq) disuelto en DCM (5 mL).

Se mantiene en agitación durante 24h a t.a. Una vez completada la reacción se purifica en columna cromatográfica con una mezcla (Heptano: AcOEt) (30:1).

Se obtiene tras la eliminación del disolvente un sólido blanco [1] (5.03g; 13.57mmol; **89%**).

Segunda ruta de síntesis ii)

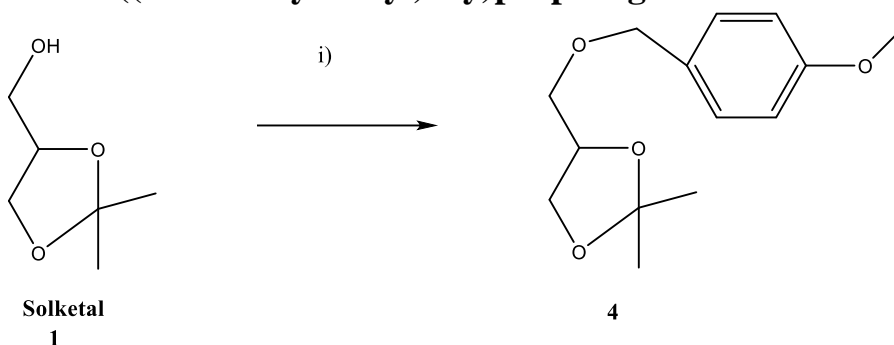
Sobre una disolución de Solketal (5,00g; 37,8 mmol; 4.7 mL) en DCM (50 mL), se añade a la disolución Et_3N (11,48 g; 113,5 mmol; 15.8 mL; 3eq) gota a gota y cloruro de palmitoilo (11.43 g; 41,58 mmol; 12.6 mL; 1.1eq) disuelto en DCM (10 mL). Se mantiene en y se agitación durante 24h a t.a.

Se lava la fase orgánica con porciones de H_2O , HCl (0.1M) y con NaCl sat. Se obtiene tras la eliminación del disolvente un sólido blanco (10,44 g; 28,18 mmol) **75%**.

1H NMR (400MHz $CDCl_3$) δ ppm: 0.86 (t, 3H, J= 6.8 Hz), 1.238 (s, 20H), 1.35 (s, 2H), 1.41(s,2H), 1.6 (m, 2H), 2.32 (t, 2H, J= 8.02 Hz) 3.7 (ddd, 1H, J= 8.3,6.2,2.1 Hz), 4.056 (m, 1H,) 4.096 (m, 1H), 4,29 (m, 1H)

^{13}C NMR (101 MHz $CDCl_3$) δ ppm: 14.07, 22.67, 24.67, 24.67, 24.87, 25.37, 26.66, 29.62, 31.90, 34.09, 64.48, 66.32, 73.63, 109.78, 173.60.

7.2 Síntesis de 3-((4-methoxybenzyl)oxy)propaneglicerol



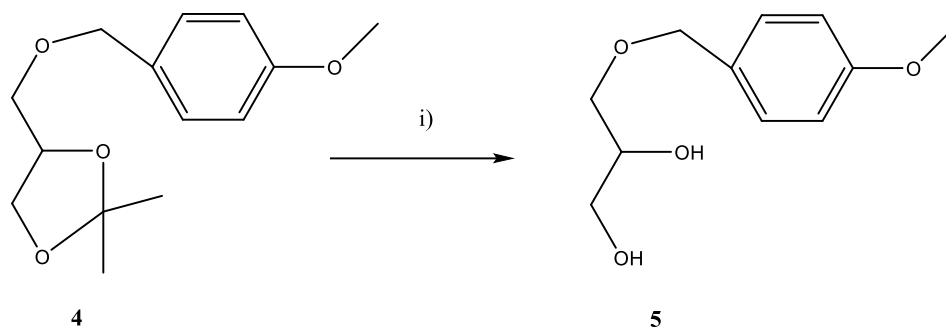
Esquema 24; i) NaH ; PMBCl (1-3) ; DMF

Sobre una suspensión de NaH 60% (5,13g; 128,33 mmol; 1.6 eq) en DMF anhidro (50mL), en un baño de hielo se añade gota a gota Solketal (10,6 g; 80,2 mmol; 10 mL) y se mantiene en agitación durante 1h hasta ver la formación de una sal. Se añade más DMF (10mL) y se deja en agitación a temperatura ambiente. Posteriormente se añade PMCl a 0°C (18,34 g; 117,1 mmol; 16mL; 1.46eq) gota a gota y se deja en agitación durante 1h. Seguimos la reacción por cromatografía TLC hasta observar que ha desaparecido el producto de partida.

Una vez concluida la reacción seguida por cromatografía TLC se hidroliza con H₂O (20mL). Finalizada la hidrólisis, realizamos la extracción con tres porciones de Ether, y lavamos con una disolución de NaCl (sat) y desecamos con MgSO₄ Anhidro. Se obtiene (19,08 g; 75,62 mmol) de [2], **94%**.

¹H NMR (400MHz CDCl₃) δ ppm; 1.35 (s, 3H), 1.41 (s, 3H), 3.43; (dq, 2H, J= 6.92 Hz), 3.72 (m, 1H), 4.03 (dd, 1H, J=8.2,6.4 Hz); 3.79 (s, 3H), 4.49 (m, 2H), 6.87 (d, 2H, J= 8.9 Hz), 7.25 (d, 2H, J= 8.5 Hz).

7.3 Síntesis del 3-((4-methoxybenzyl)oxy)propane-1,2-diol



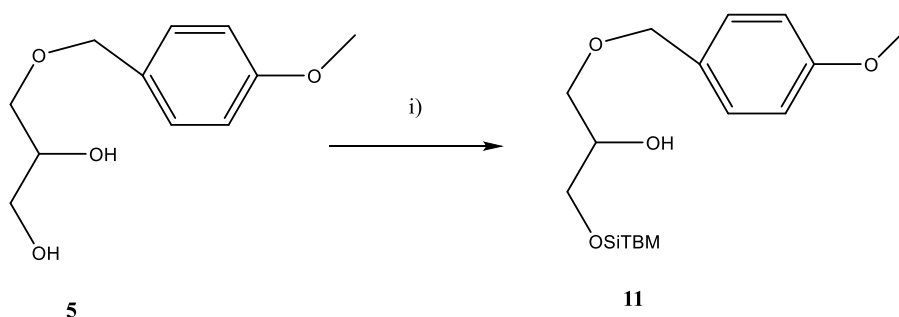
Esquema 25; i) Amberlyst ; 1:1 CH₂Cl₂: MeOH

Sobre una disolución de [**2**] (10g; 39,63mmol) en EtOH (50mL), se añade a la disolución (1,6g) de Amberlyst 15. Se mantiene en agitación y se sigue la reacción por cromatografía TLC AcOEt/Heptano (1:3). Se filtra la disolución en placa filtrante con tierra de diatomeas, y se obtiene tras eliminar el disolvente un aceite incoloro [**3**] (7,17g; 33,769mmol) en un **88%**.

¹H NMR (400MHz CDCl₃) δ ppm; 3.53 (m, 2H), 3.67 (m, 2H), 3.8 (s, 3H), 3.87 (m, 1H), 4.48 (s, 2H), 6.88(d, 2H), 7.25 (d, 2H).

¹³C NMR (101 MHz CDCl₃) δ ppm; 130.35, 114.38, 73.53, 71.9, 70.81, 64.72, 55.9.

7.4 Síntesis de 1-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-3-((4-methoxybenzyl)oxy)propan-2-ol



Esquema 26; i) ^tBu(Me)₂SiCl ; Imidazol ; DMF

TFG: Síntesis de derivados de glicerol diferentemente sustituidos

Sobre una disolución de [3] (2.5g; 11,77mmol), en DMF (10mL) se añade Imidazol (1,72g; 25,26mmol; 2.15eq). Se mantiene en agitación durante 2h a 0°C en un baño de hielo mientras se añade gota a gota con un sistema de adición una disolución de ^tBu(Me)₂SiCl (1,86g; 12,33mmol; 1.05eq) en DMF (5mL).

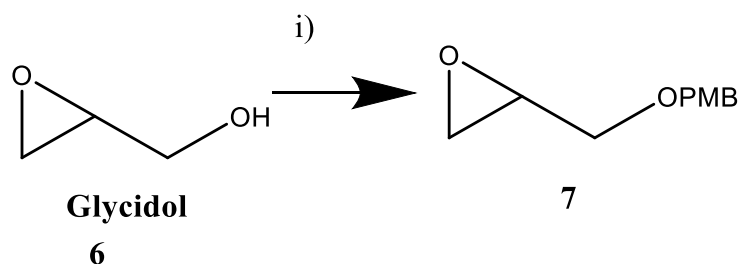
Se sigue la reacción por TLC AcOEt/Heptano (1:4). Una vez finalizada, se realiza la hidrolisis con H₂O (10mL), se lava con porciones de NaCl (sat) y LiCl(10%) desecamos con MgSO₄ anhidro. Tras la eliminación del disolvente, se purifica por columna Heptano/AcOEt (6:1) obteniendo [4] (3g; 9.17mmol) **78%**.

También se obtiene parte del producto disustituido

¹H NMR (400MHz CDCl₃) δ ppm: 0.06 (s, 6H), 0.89 (s, 9H), 3.49 (q, 2H, J= 4.3 Hz), 3.64 (q, 2H, J= 4.3 Hz), 3.80 (s, 3H), 3,83 (m, 1H), 4.48 (s, 2H), 6.88 (d, 2H, J= 10.37 Hz), 7.25 (d, 2H, J= 8.64 Hz).

¹³C NMR (101 MHz CDCl₃) δ ppm: 160.12,129.81, 114.38, 77.44, 74.18, 71.35, 64.72, 55.92, 26.15, -4.7

7.5 Síntesis 2-(((4-methoxybenzyl)oxy)methyl)oxirane



Esquema 27: i) DMF; NaH ; PMBCl (1-4)

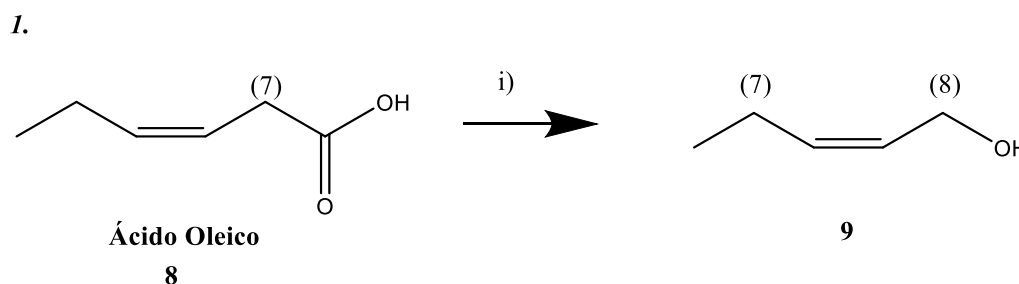
Sobre una suspensión de NaH 60% (0.85g; 0.021mmol; 1.6eq) en DMF (10mL) se añade gota a gota **Glycidol** (1g; 0.01336mmol) y se mantiene en agitación durante 1h a 0°C hasta la aparición de una sal. Se mantiene la agitación durante 30min a t.a antes de añadir el siguiente reactivo. Finalizada la agitación se añade gota a gota PMBCl (1-4) (1.46g; 0.01950mmol 1.46eq) y se mantiene con agitación durante 24h a t.a

Para el tratamiento de la mezcla se realiza la hidrolisis y la extracción del producto en AcOEt y lavamos con porciones de NaCl sat. y LiCl 10%, posterior desecado y concentración del producto. Se purifica por columna de AcOEt/Heptano (1:3) obteniendo **[5]** (1,47g; 7,56mmol) **56,64%**.

¹H NMR (400MHz CDCl₃) δ ppm: 7.39 – 7.14 (m, 2H), 6.85 (dd, *J* = 15.1, 7.3 Hz, 2H), 4.57 – 4.42 (m, 2H), 3.83 – 3.75 (m, 4H), 3.75 – 3.68 (m, 1H), 3.39 (dd, *J* = 11.4, 5.9 Hz, 1H), 3.15 (ddt, *J* = 5.6, 4.0, 2.8 Hz, 1H), 2.79 – 2.75 (m, 1H), 2.59 (dd, *J* = 4.9, 2.7 Hz, 1H).

¹³C NMR (101 MHz CDCl₃) δ ppm; 159.28, 136.82, 121.47, 72.93 , 70.51 , 55.21 , 50.86 , 44.26 .

7.6 Reducción de Ácido oleico



Esquema 28: i) LiAlH₄; THF

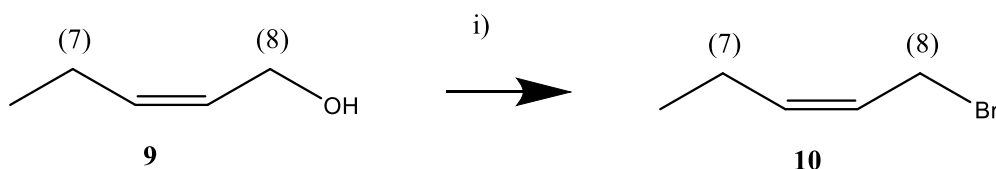
Se prepara una disolución LiAlH₄ (4,3g; 0.113mol) en THF anhidro (120mL) en un matraz de dos bocas en condiciones anhidro. Se añade en agitación una disolución de **Ácido oleico** (10,2g; 0.036mol) en THF (15mL) gota a gota con ayuda de un embudo de adición. Una vez finalizada la adición se mantiene la agitación durante 2h en condiciones de reflujo.

Finalizada la reacción se procede con la hidrolisis XX3X; la cual consiste en la adición de H₂O, (4,3mL), NaOH (4.3mL) y H₂O (12.9mL). Finalizada la hidrolisis se realiza una separación de un sólido blanco por filtrado y se obtiene tras eliminación del disolvente **[6]** (7,6g; 0.028mol) **78%**.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.34 (ddd, *J* = 5.5, 3.7, 1.7 Hz, 2H), 3.63 (s, 2H), 2.07 – 1.95 (m, 4H), 1.55 (dd, *J* = 15.1, 7.7 Hz, 2H), 1.28 (d, *J* = 14.1 Hz, 19H), 0.88 (dd, *J* = 8.9, 4.9 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 129.94, 129.79, 77.31, 76.99, 76.67, 63.08, 32.79, 31.89, 29.75, 29.73, 29.51, 29.48, 29.39, 29.30, 29.21, 27.20, 27.17, 25.72, 22.67, 14.10.

7.7 Síntesis de (Z)-1-bromooctadec-9-eno



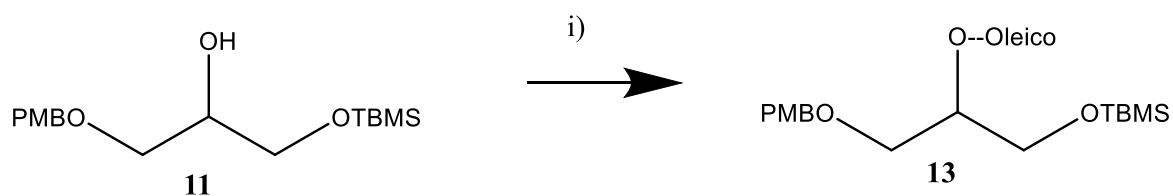
Esquema 29: i) CBr₄; DCM; PPh₃

Sobre una disolución de [6] (5g, 0.0185mol) en DCM (10mL) se añade CBr₄ (6.63g, 0,020mol) en condiciones inertes. Se mantiene en agitación durante 10 min a 0°C. Posteriormente, se añade PPh₃ (5.82g; 0.0222mol) en porciones. Se sigue la reacción por placa TLC.

Una vez finalizada la reacción filtramos el sólido formado, concentramos y añadimos Et₂O, se vuelve a formar precipitado y se vuelve a filtrar. Se purifica por columna Heptano obteniendo [7] (3g; 0.009mol) **48%**.

¹H NMR (400MHz CDCl₃): δ 5.44 – 5.26 (m, 2H), 3.40 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 2.01 (dd, *J* = 12.3, 6.3 Hz, 4H), 1.93 – 1.79 (m, 2H), 1.56 – 1.18 (m, 21H), 0.92 – 0.81 (m, 3H).

7.8 Síntesis de (2-(oleicoxy)-3-((4-methoxybenzyl)oxy)propoxy)(tert-butyl)dimethylsilane



Esquema 30: i) 7; NaH; DMF; tBuNH₄I

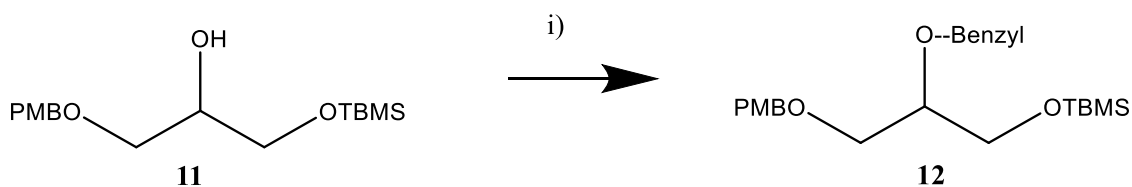
Sobre una suspensión de NaH 60% (0.032g; 1.33mmol;1.2eq) en DMF (7mL) se añade gota a gota una disolución de [4] (0.22g; 0.67mmol) en DMF (2mL) y se mantiene en agitación a 0°C durante 1h y tras ese tiempo 30 min a t.a. Se añade gota a gota una disolución de Bromuro de

TFG: Síntesis de derivados de glicerol diferentemente sustituidos

Oleico (0.24g ; 0.72mmol; 1.1eq) en DMF (3mL) y tBuNH₄I (0.049g; 0.13mmol), se mantiene en agitación a 0°C durante 1h y a t.a durante toda la noche.

Se realiza la hidrolisis con H₂O (10mL) y posterior extracción en tres porciones de Éter (5mL), lavado con porciones de H₂O, NaCl sat., LiCl (10%) y desecado con MgSO₄ anhidro. Tras eliminar el disolvente purifica en columna utilizando como eluyente una disolución de AcOEt /Heptano (1:15) obteniendo [15] (0,1g; 0.16mmol) 26 %.

7.9 Síntesis (2-(benzyloxy)-3-((4-methoxybenzyl)oxy)propoxy)(tert-butyl)dimethylsilane



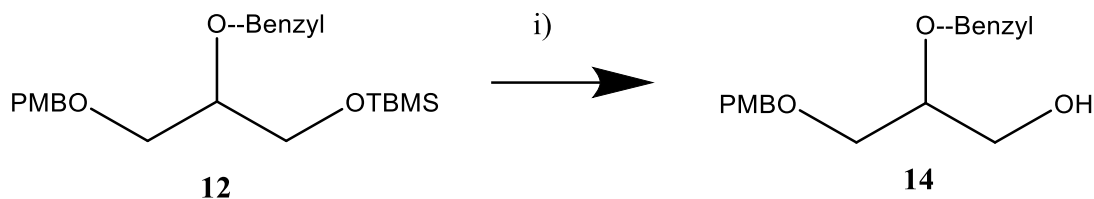
Esquema 31: i) NaH; DMF; tBuNH₄I; Benzyl-Br

Sobre una suspensión de NaH 60% (0.62g; 25,83mmol) en DMF (10mL) se añade gota a gota una disolución de [4] (1,5g; g; 4,58 mmol) en DMF (5mL) y se mantiene en agitación a 0°C durante 1h y tras ese tiempo 30 min a t.a. Se añade gota a gota una disolución de Bromuro de Bencilo (0,863g; 5.04 mmol; 1.1eq) en DMF (3mL) y tBuNH₄I (0.34g; 0.92mmol), se mantiene en agitación a 0° C durante 1h y a t.a durante toda la noche.

Se realiza la hidrolisis con H₂O (15mL) y posterior extracción en tres porciones de Éter (10mL), lavado con porciones de H₂O, NaCl sat., LiCl (10%) y desecado con MgSO₄ anhidro. Tras eliminar el disolvente purifica en columna utilizando como eluyente una disolución de AcOEt /Heptano (1:4) obteniendo [17] (0,3g; 0.7173 mmol) 16%.

¹H NMR (400MHz CDCl₃): 0.04 (s, 3H), 0.06 (s, 3H), 0.88 (s, 9H), 3.5 (m, 2H), 3.62 (m, 2H), 3,7 (m, 1H), 3.8 (t, 3H, J= 1.98 Hz), 4.47 (t, 2H, J= 5.26 Hz), 4.69 (s, 2H), 6.87 (m, 2H), 7.25 (m, 3H), 7.31 (m, 4H).

7.10 2-(benzyloxy)-3-((4-methoxybenzyl)oxy)propan-1-ol



Esquema 32: i) TBAF/AcOH/ THF 0°C

Sobre una disolución de **17** (0.280g; 0.67mmol) en THF anhidro (7mL) se añade TBAF (0.87mL; 0.87mmol) y Ácido Acético (0.052mL; 0.86mmol) y se mantiene en agitación durante 1h a t.a. Una vez finalizada la reacción se realiza la hidrólisis con H₂O (5mL) , extracción con tres porciones de éter (7mL), lavado con porciones de H₂O, NaCl sat y tras eliminar el disolvente se purifica por columna en AcOEt/Heptano 1:4 obteniendo **18** (0.160g; 0.529mmol) **79%**.

¹H NMR (400MHz CDCl₃): 3.53 (m; 2H), 3.6 (m; 2H), 3.69 (m;1H), 3.81 (d; 3H; J=2.03 Hz), 4.48 (t; 2H; J=14.33 Hz), 4.66 (dd; 2H; J=11.63 Hz) 6.88 (m;2H), 7.26 (m;4H) 7.33 (m; 4H).

¹³C NMR (101 MHz CDCl₃) δ ppm: 55.24, 70.14, 70.56,71.99, 73, 78.51, 113.78, 127,77.

8. Bibliografía

- [1]- Andresen, T. L., Jensen, S. S., Madsen, R., & Jørgensen, K. (2005). Synthesis and biological activity of anticancer ether lipids that are specifically released by phospholipase A2 in tumor tissue. *Journal of Medicinal Chemistry*, 48(23), 7305–7314.
- [2]- D'Arrigo, P., & Servi, S. (2010). Synthesis of lysophospholipids. *Molecules*, 15(3), 1354–1377.
- [3]- Fasoli, E., Arnone, A., Caligiuri, A., D'Arrigo, P., de Ferra, L., & Servi, S. (2006). Tin-mediated synthesis of lyso-phospholipids. *Organic and Biomolecular Chemistry*, 4(15), 2974–2978.
- [4]- Gliszczyńska, A., Niezgoda, N., Gładkowski, W., Czarnecka, M., Świtalska, M., & Wietrzyk, J. (2016). Synthesis and biological evaluation of novel phosphatidylcholine analogues containing monoterpene acids as potent antiproliferative agents. *PLoS ONE*, 11(6).
- [5]- Lindberg, J., Ekeröth, J., & Konradsson, P. (2002). *Efficient Synthesis of Phospholipids from Glycidyl Phosphates*.

9. Anexos