

Un antiguo problema en la quimioterapia del cáncer es la carencia de tratamientos específicos para cada tumor. En la actualidad los agentes citotóxicos son muy poco o nada específicos y producen una elevada y sistemática toxicidad causando en muchos casos indeseables y severos efectos secundarios. Por tanto, el desarrollo de nuevos agentes y protocolos eficaces y específicos para cada tumor es una necesidad urgente. En muchas ocasiones las células tumorales sobreexpresan muchos receptores específicos del tumor, los cuales pueden utilizarse en ocasiones como dianas para administrar agentes citotóxicos en el tumor.¹

Con el presente trabajo se inicia en nuestro grupo una nueva línea de investigación dirigida hacia el estudio de lípidos sintéticos e híbridos funcionales de los mismos (bioconjugados) con potencial actividad antitumoral. Se pretende explorar la posibilidad de sintetizar compuestos resultantes del acoplamiento de diferentes fragmentos biológicamente activos como 1-O-alkilglicerol, ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) y sesterterpenos antitumorales.

¹ Ojima, I. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 108.

Introducción

En general un sistema conjugado, liberador de fármacos en una diana, consiste en una parte que reconozca al tumor unido directamente o a través de un conector (linker) con un agente citotóxico (cabeza activa, “warhead”). Dichos sistemas conjugados deben ser sistemáticamente no tóxicos y estables en la corriente sanguínea, pero una vez sea introducido en la célula cancerosa, el conjugado debe romperse inmediatamente liberando el agente citotóxico activo.

Actualmente se va reconociendo la gran importancia que tienen los lípidos como parte de los componentes de la membrana celular, así como las miles de diferentes estructuras lipídicas que forman parte de la misma y comienza a considerarse la trascendencia de nuestro propio “lipodoma”.² Desde hace algunos años se viene trabajando en el campo de lípidos no naturales estudiando sus propiedades debido a sus interesantes aplicaciones en Medicina. Se han conseguido lípidos no naturales resistentes a la fosfolipasa A₂, lípidos polimerizables que forman liposomas y pueden ocluir nanopartículas, colesteril-fosfolípidos útiles para estudiar el comportamiento de las biomembranas etc.

A continuación se describen algunas características interesantes de cada uno de los grupos de compuestos con los que se va trabajar: lípidos, ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), sesterterpenos antitumorales y compuestos bioconjugados.

² Fedotenko, I. A.; Holme, M. N.; Tanasescu, R.; Zaffalon, P.-L.; Zumbuehl, A. *Chimia* **2011**, *65*, 859.

En este capítulo se describen las características que resultan más relevantes en relación a los grupos de compuestos con los que se ha desarrollado la mayor parte del trabajo de esta memoria: lípidos, sesterterpenos antitumorales y compuestos bioconjugados.

A continuación aparecen las diferentes partes en las que ha sido dividido dicho capítulo:

Lípidos

- *Ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs)*
- *Lípidos estructurales de las membranas*
 1. *Glicerofosfolípidos (PL)*
 - Lisolípidos*
 - Éteres lipídicos (EL)*
 2. *Esfingolípidos*
- *Lípidos antitumorales sintéticos (ATLs)*
 - Éteres lipídicos antitumorales (AEL): Edelfosina*
- *Metodología sintética de fosfolípidos*

Sesterterpenoides. Disidiolida y análogos

Bioconjugados

- *Bioconjugados fosfolipídicos con clorambucil*
- *Lípidos bioconjugados con capsaicina*
- *Bioconjugados lipídicos derivados de ácido retinoico*
- *Bioconjugados lipídicos derivados de prostaglandinas*
- *Bioconjugados fosfolipídicos con succinato de tocoferilo*
- *Bioconjugados lipídicos con esteroides*
- *Bioconjugados sencillos*

Lípidos

Los lípidos constituyen un grupo de biomoléculas estructuralmente muy heterogéneo con características comunes de solubilidad. Son solubles en disolventes orgánicos poco polares (cloroformo, benceno, éter) y son poco o nada solubles en agua.³

La mencionada heterogeneidad estructural dificulta su clasificación, si bien tradicionalmente se pueden dividir en:

1.- ***Lípidos simples***, también denominados lípidos de reserva o almacenamiento. A dicho grupo pertenecen los ésteres de los ácidos grasos con glicerina o alcoholes grasos saturados o insaturados, son los denominados grasas, aceites y ceras. En este mismo grupo se incluyen los denominados lípidos derivados que son los resultantes de la hidrólisis de los anteriores, es decir, los ácidos grasos y los alcoholes grasos. Los

³ Frank D. Gunstone. “*The Chemistry of oils and fats. Sources, Composition, Properties and Uses*”.CRC Press, Oxford, UK, **2004**.

glicéridos simples pueden ser: mono, di o triglicéridos que en la naturaleza son escasos, frecuentes o muy abundantes respectivamente.

2.- **Lípidos complejos**, también denominados lípidos estructurales o de membrana. En este grupo se encuentran los fosfolípidos y los esfingolípidos. Su composición varía muy poco, siendo no obstante diferentes en las distintas especies animales e incluso en los distintos tejidos de un mismo organismo. A este grupo es al que nos referiremos fundamentalmente más adelante.

3.- **Lípidos afines**. Estos lípidos son estructuralmente muy diferentes de los grupos anteriores y aunque son componentes celulares relativamente minoritarios juegan un papel muy importante, pues tienen actividades biológicas específicas y esenciales. Entre ellos se encuentran los esteroides, carotenoides y algunas vitaminas.

El glicerol (1,2,3-propanotriol) es uno de los componentes fundamentales de muchos lípidos. Estructuralmente contiene un carbono proestereogénico unido a H, OH y a dos grupos CH₂OH. Cuando los dos últimos se encuentran diferentemente sustituidos la molécula es quiral y puede existir en dos formas enantioméricas. Para designar la estereoquímica de los derivados de glicerol, los tres átomos de carbono se enumeran estereoespecíficamente (*sn*: stereospecific numbering). La molécula de glicerol se representa en la proyección de Fischer con el grupo hidroxilo secundario dirigido hacia la izquierda del carbono central (proestereogénico) y los tres átomos de carbono se designan *sn1*, *sn2* y *sn3* numerados de arriba abajo (Figura 1).

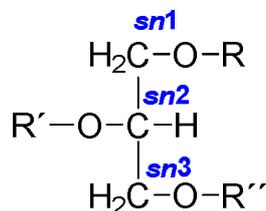


Figura 1. Numeración estereoespecífica (*sn1*, *sn2* y *sn3*). R, R', R'' = cadenas acílicas

- **Ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs)**

Los ácidos grasos poliinsaturados⁴ (PUFAs) poseen gran relevancia, ya que son esenciales y los numerosos beneficios que aportan a la salud humana están perfectamente documentados.⁵ Los más representativos que se encuentran en la Naturaleza poseen 18, 20 y 22 carbonos y de dos a seis dobles enlaces *cis* no conjugados separados por un metileno. Entre ellos podemos destacar ácido linoleico (LA), ácido linolénico (LNA), ácido araquidónico (AA), conocidos como ω -6 y ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA), conocidos como ω -3 (Figura 2). Dichos ácidos se encuentran en aceites vegetales, y en elevada proporción en las grasas de organismos marinos y tanto ellos como sus metabolitos se consideran seguros para el hombre.^{6,7} EPA y DHA son potentes cardioprotectores. Dichos ácidos actualmente son muy apreciados y muy utilizados por la industria alimentaria y farmacéutica para su utilización en dietas y en suplementos alimenticios.

Los PUFAs presentan actividad anticancerígena contra diferentes líneas celulares CFPAC, PAN-1, y Mia-Pa-Ca-2 pancreática y HL-60 de leucemia y su actividad antitumoral ha sido evaluada en estudios preclínicos y clínicos.^{8,9} Estudios de perfusión han demostrado que algunos PUFAs son incorporados más rápidamente por las células tumorales que por las células normales por lo que son candidatos ideales como guías de agentes antitumorales.¹⁰ Dichos ácidos grasos son fácilmente incorporados en la bicapa lipídica de las células tumorales con lo que se provoca una interrupción o perturbación en la estructura de la membrana y en la fluidez¹¹ de la misma lo cual influye en la quimiosensibilidad de la célula tumoral.¹² Estos ensayos sugieren el importante

⁴ Jahn, U.; Galano, J.-M.; Durand, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 5894.

⁵ (a) Magnusson, C. D.; Haraldsson, G. G. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 2728. (b) Bradley, M.O.; Webb, N.L.; Anthony, F. H.; Devanesan, P.; Witman, P.A.; Hemamalini, S.; Chander, M. C.; Baker, S. D.; He, L.; Horwitz, S.B.; Swindell, C. S. *Clin. Cancer Res.* **2001**, *7*, 3229.

⁶ Heird, W.C.; Lapillonne, A. *Annu. Rev. Nutr.* **2005**, *25*, 549.

⁷ Hardman, W. E. *J. Nutr.* **2002**, *132*, 3508S

⁸ Wigmore, S. J.; Ross, J. A.; Falconer, J. S.; Plester, C. E.; Tisdale, M. J.; Carter, D. C.; Fearon, K. C. *H. Nutrition* **1996**, *12* S27.

⁹ Hawkins, R. A.; Sangster, K.; Arennds, M. J. *J. Pathol.* **1998**, *185*, 61.

¹⁰ a) Sauer, L. A.; Dauchy, R. T.; Blask, D. E. *Cancer Res.* **2000**, *60*, 5289. b) Sauer, L. A.; Dauchy, R. T. *Brit. J. Cancer* **1992**, *66*, 297.

¹¹ Grammatikos, S. I.; Subbaiah, P. V.; Victor, T. A.; Miller, W. M. *Brit. J. Cancer* **1994**, *70*, 219.

¹² Diomede, L.; Colotta, F.; Piovani, B.; Re, F.; Modest, E. J.; Salmons, M. *Int. J. Cancer. Res.* **1993**, *53*, 124.

beneficio que puede obtenerse al utilizar PUFAs como moléculas conductoras de fármacos hacia las dianas tumorales.

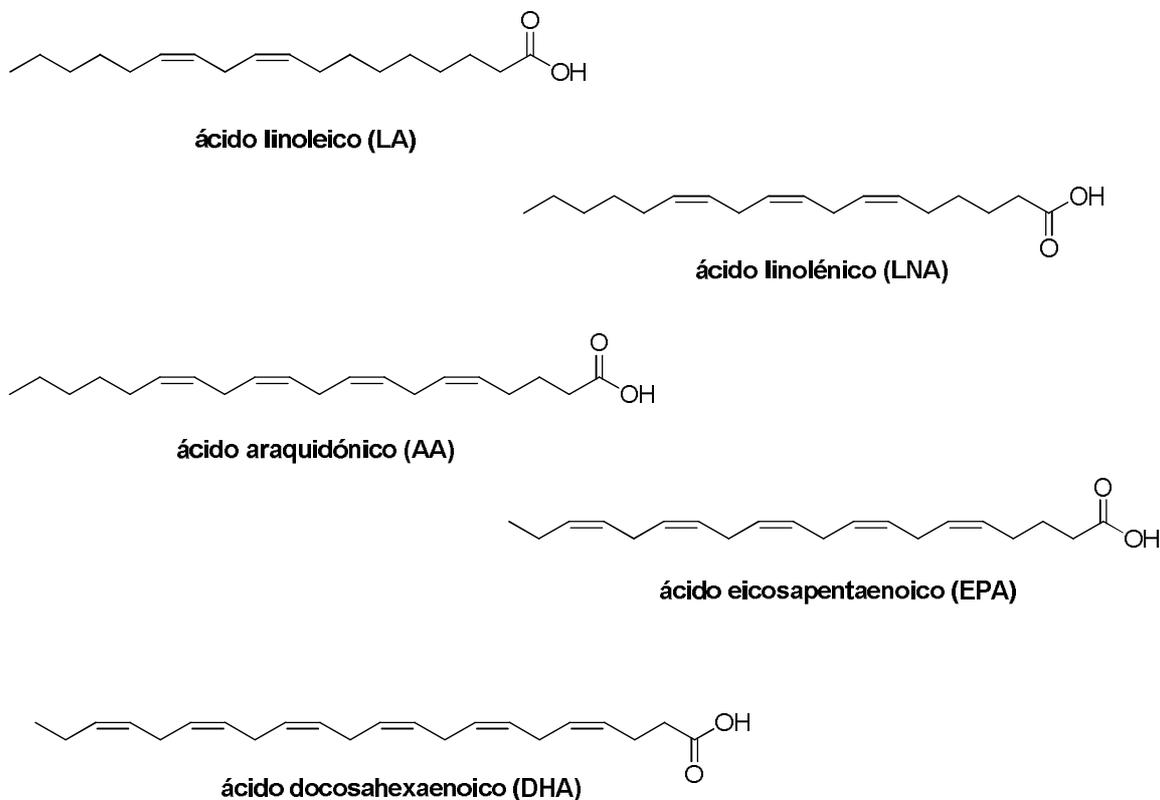


Figura 2

Por otra parte estos compuestos juegan un papel esencial en los procesos de inflamación. Dichos procesos son fundamentales en el ataque y progresión de la enfermedad de Alzheimer, aterosclerosis, cáncer, artritis y enfermedad periodontal. Muy recientemente se han identificado derivados de EPA y DHA en los exudados de los procesos inflamatorios denominados "Resolvin"¹³, que pueden ser de la serie E o D según sean derivados de EPA o DHA respectivamente.¹⁴ Dichos "Resolvin" presentan potente actividad antiinflamatoria, como es el caso de RvE1 que es un metabolito de EPA identificado como: ácido 18(R)-hidroxi-5(Z)-8(Z)-11(Z)-14(Z)-16(E) eicosapentaenoico que se genera durante el proceso de resolución de la fase aguda de inflamación.

¹³ Schwab, J. M.; Chiang, N.; Serhan, C. N. *Nature* **2007**, 447(7146): 869.

¹⁴ Krishnamurthy, V. R.; Dougherty, A.; Haller, C. A.; Chaicof, E. L. *J. Org. Chem.* **2011**, 76, 5433.

- **Lípidos estructurales de las membranas**

La característica arquitectónica central de las membranas biológicas es una doble capa lipídica que constituye una barrera al paso de las moléculas polares e iones. Los lípidos de las membranas son anfipáticos, la orientación de sus regiones hidrofóbicas e hidrofílicas (cabezas polares) dirige un empaquetamiento hacia la formación de bicapas membranosas. Estos compuestos forman dispersiones coloidales altamente organizadas. En agua forman: micelas, bicapas o liposomas (Figura 3). Son solubles en disolventes orgánicos aunque se distinguen de los triglicéridos (lípidos no polares) por su escasa solubilidad en acetona fría, lo que permite su precipitación selectiva.¹⁵

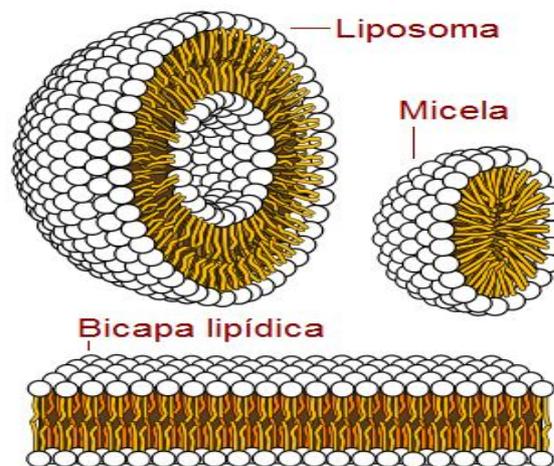


Figura 3

Entre los lípidos de membrana (Figura 4) se encuentran tres tipos generales: glicerofosfolípidos, esfingolípidos y esteroides. Aquí nos referiremos únicamente a los dos primeros.

¹⁵ Berchtold, R. *Chem. Phys. Lipids* **1982**, 30, 389.

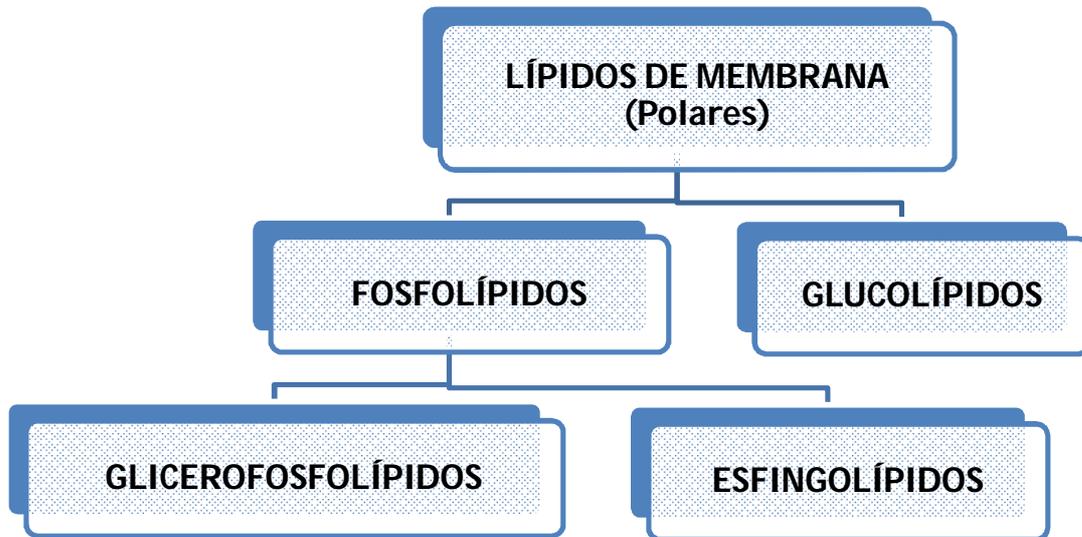


Figura 4

1. *Glicerofosfolípidos (PL)*

Muchos lípidos derivados de ácido fosfórico que contienen glicerol son los glicerofosfolípidos llamados así para distinguirlos de los esfingolípidos que también contienen dicho ácido.

En muchas ocasiones a los glicerofosfolípidos se los llama simplemente fosfolípidos. La estructura general de glicerofosfolípidos aparece en la figura 5 y su clasificación en la tabla 1.

Estructura general:

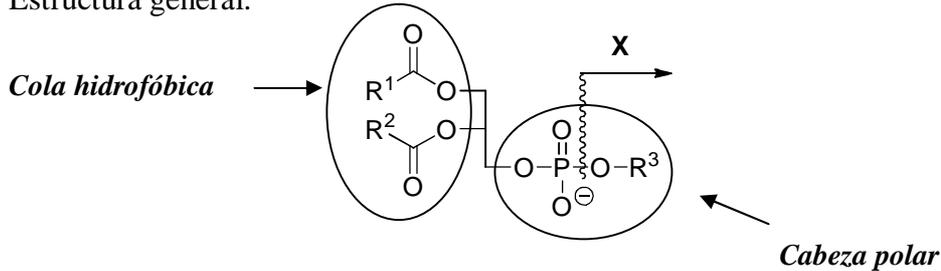


Figura 5

En los glicerofosfolípidos las regiones hidrofóbicas están compuestas por ácidos grasos unidos al glicerol, aunque también se conocen algunos en los que aparece un grupo alquilo (casi siempre en posición *sn1*) unido al glicerol mediante un enlace éter.

Los extremos polares de dichos compuestos presentan una gran diversidad estructural, en ellos se encuentran alcoholes polares y grupos fosfato.

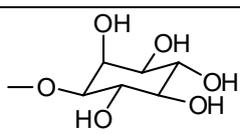
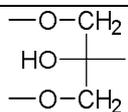
<i>Nombre X</i>	<i>X</i>	<i>Abreviatura</i>	<i>Glicerofosfolípido</i>
-	-OH	PA	Ácido fosfatídico
Colina	$-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+\text{Me}_3$	PC	Fosfatidilcolinas (lecitinas)
Etanolamina	$-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+\text{H}_3$	PE	Fosfatidiletanolaminas (cefalinas)
Serina	$-\text{OCH}_2\text{CH}(\text{N}^+\text{H}_3)\text{COO}^-$	PS	Fosfatidilserinas
Glicerol	$-\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$	PG	Fosfatidilglicerol
Inositol		PI	Fosfatidilinositol
		PGP	Difosfatidilglicerol (cardiolipina)

Tabla 1

Los ácidos fosfatídicos corresponden a la forma diacilada y fosforilada de glicerol. Estos compuestos se presentan en muy baja concentración en los sistemas vivos pero son importantes intermedios en la biosíntesis y metabolismo de otros lípidos.

Los fosfolípidos más importantes son los ácidos fosfatídicos en los que la unidad de ácido fosfórico aparece esterificada con otro compuesto hidroxilado, así surgen los diferentes tipos. Las fosfatidilcolinas son los lípidos más abundantes en las membranas de los animales seguidas de las fosfatidiletanolaminas y también son muy abundantes en las plantas.

Los fosfolípidos contienen cuatro enlaces éster que son difíciles de distinguir utilizando reactivos químicos convencionales, sin embargo utilizando fosfolipasas se pueden promover reacciones específicas en cada uno de estos enlaces.

Fosfolipasas A_1 y A_2 hidrolizan los enlaces éster en $sn1$ y $sn2$. Las fosfolipasas C y D rompen los enlaces fosfodiéster del grupo de la cabeza, tal como se indica en la Figura 6.

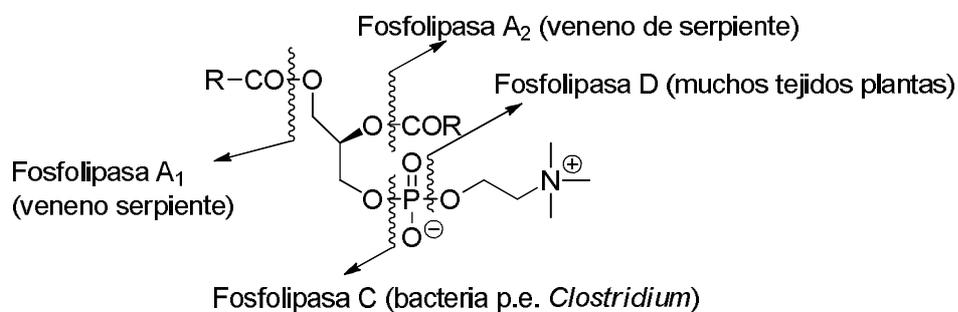


Figura 6

Muchos fosfolípidos tienen una cadena saturada en posición $sn1$ y un ácido graso insaturado en posición $sn2$.

Lisolípidos

Los lisolípidos tienen un solo grupo acilo/alquilo en posición *sn1* y un hidroxilo libre que hace a la molécula más polar y con un cierto poder surfactante (Figura 7).

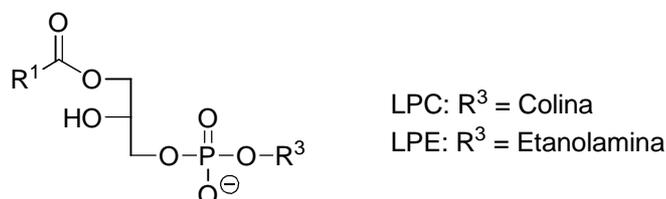


Figura 7

Los ácidos lisofosfatídicos (LPA) configuran un grupo de compuestos que ha atraído mucha atención debido a la diversidad e importancia de sus propiedades biológicas.^{16,17} Se diferencian entre ellos en la longitud y grado de insaturación de la cadena hidrocarbonada unida al glicerol vía ester, éter o vinil éter en posición *sn1* o *sn2*.¹⁸ Los LPA presentan un papel fundamental en una gran cantidad de procesos fisiológicos: flujo del Ca²⁺, funciones vasculares y neuronales, crecimiento y muerte celular y en migración celular.¹⁹

Los LPA, tienen una variada actividad intracelular, extracelular y en la membrana celular, que ejecutan a través de varias G-proteínas acopladas a receptores (GPCR) incluyendo los subtipos, bien conocidos, LPA₁, LPA₂ y LPA₃.

Recientemente se han preparado análogos de LPA fotoactivables marcados con ³²P para realizar estudios dirigidos a determinar el mecanismo de acción de estos compuestos en su interacción con las proteínas.²⁰

¹⁶ Mills, G. B.; Moolenaar, W. H. *Nat. Rev. Cancer* **2003**, 3, 582.

¹⁷ Tigyi, G; Parrill, A.L. *Prog. Lipids Res.* **2003**, 42, 498.

¹⁸ Bittman, R. *Chem. Phys. Lipids* **2004**, 129, 111.

¹⁹ Ishii, I.; Fukushima, N.; Ye. X.; Chun, J. *Annu. Rev. Biochem.* **2004**, 73, 321.

²⁰ Li, Z.; Baker, D. L.; Tigyi, G.; Bittman, R. *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 629.

Éteres lipídicos (EL)

Algunos lípidos contienen grupos alquiloxi (éteres) en lugar de aciloxi (esteres), unidos al glicerol. Estos grupos alquilo casi siempre están en posición *sn1* y aparecen como alternativa a los triglicéridos o fosfolípidos en el aceite de pescado. Estos grupos alquilo son generalmente de dos tipos (Figura 8):

1) saturados o con una insaturación en posiciones convencionales **I**, **II** y **III**.

2) insaturados con doble enlace *trans* entre la posición C-1/C-2, formando por tanto un vinil éter, son los denominados plasmalógenos **IV**, que presentan propiedades características y son muy abundantes entre los fosfolípidos cardíacos.

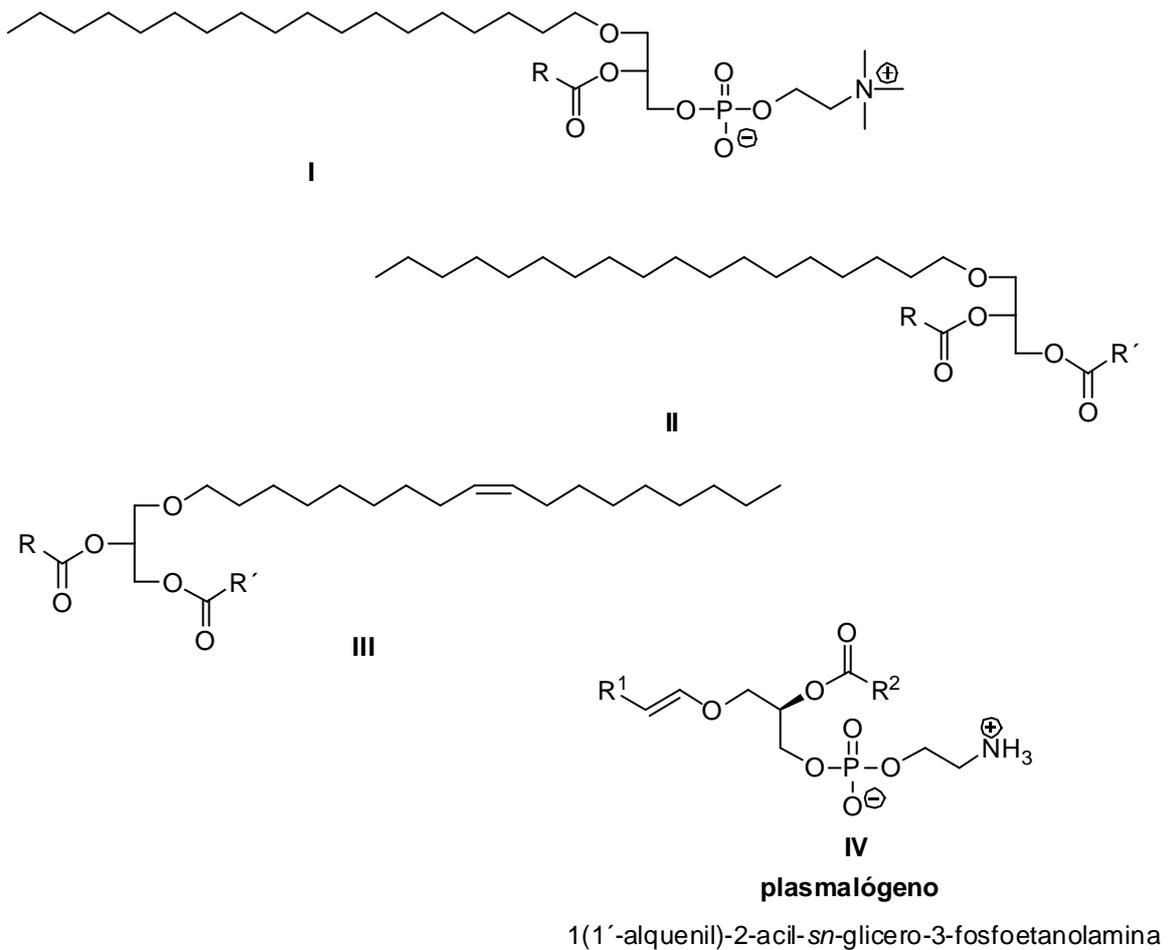


Figura 8

La hidrólisis química del primer grupo da lugar a uno o dos ácidos grasos, ácido fosfórico y un éter de glicerol. Entre estos últimos, 1-O-alkilglicerol naturales (EL), los más frecuentes son los denominados alcoholes chimílico, batílico y selachílico (Figura 9). En la hidrólisis química en medio ácido de los plasmalógenos aparece además de glicerol un aldehído.

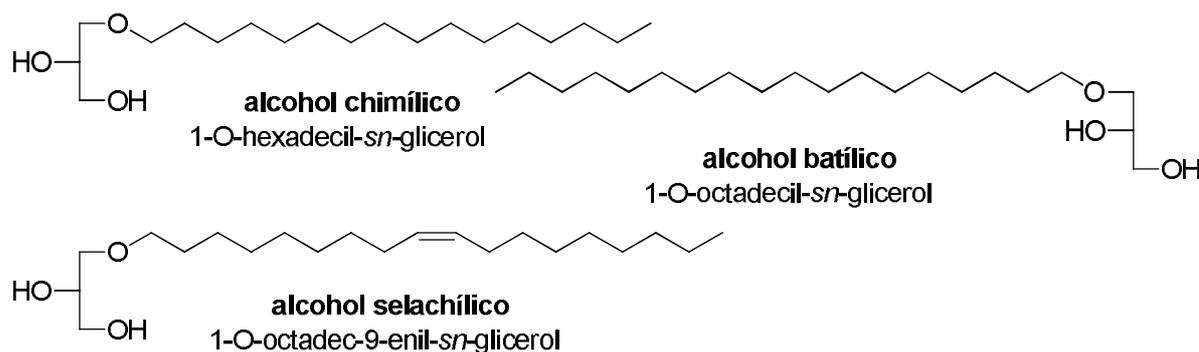


Figura 9

A los 1-O-alkilglicerol naturales es habitual encontrarlos en forma de 1-O-alkil-2,3-diacilglicerol (DAGE) en las fracciones lipídicas no polares de animales marinos o terrestres²¹, sin embargo en humanos son muy minoritarios. Los 1-O-alkilglicerol presentan diferentes bioactividades como antineoplásicos, estimulantes inmunológicos y coadyuvantes, por lo que tienen un elevado potencial terapéutico. Dichos compuestos previenen la leucopenia y la trombocitopenia en pacientes sometidos a radiación en el tratamiento del cáncer. Se encuentran en gran abundancia en la leche humana presumiblemente para compensar el sistema autoinmune de los recién nacidos.

Un grupo especial de éteres lipídicos que contienen fosfatidilcolina y presentan actividad biológica importante como hormonas son los PAF (Platelet Activating Factor) (Figura 10) que se liberan de los glóbulos blancos y estimulan la agregación de las

²¹ (a) Magnusson, C. D.; Gudmundsdottir, A. V.; Haraldsson, G. G. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 1821. (b) Kayama, M.; Mankura, M. *INFORM (Am. Oil. Chem. Soc.)* **1998**, *9*, 794.

plaquetas y la liberación de serotonina contenida en las mismas. Estos factores activadores plaquetarios son 1-O-alkil-2-acetil-*sn*-glicerol-3-fosfolcolina.

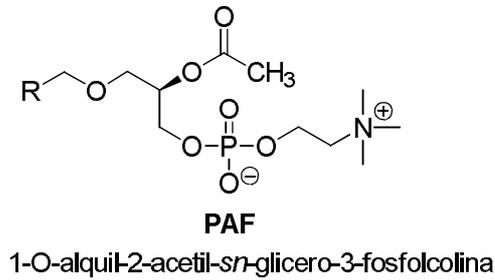


Figura 10

2. Esfingolípidos

Los esfingolípidos están formados por una molécula de amino-alcohol de cadena larga, esfingosina, (Figura 11) o uno de sus derivados, una molécula de ácido graso de cadena larga acilando el grupo amino y en el grupo hidroxilo primario se forma la cabeza polar.

Las ceramidas (Figura 11), son los compuestos de referencia de este tipo de lípidos. En las ceramidas el grupo amino en C-2 se une a un ácido graso. En muchas ocasiones dicho ácido es ácido cerebrónico (Figura 11).

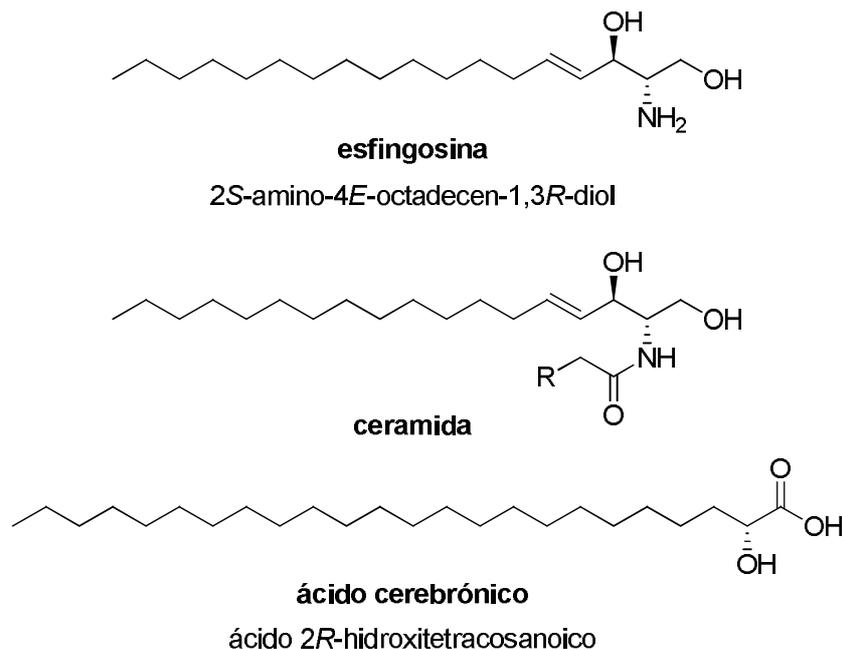


Figura 11

Antecedentes: Lípidos

El hidroxilo primario de esfingosina está unido a un carbohidrato y otras veces a ácido fosfórico en enlace diéster en el grupo de la cabeza polar X. (Figura 12 y Tabla 2).

Estructura general de **esfingolípidos**:

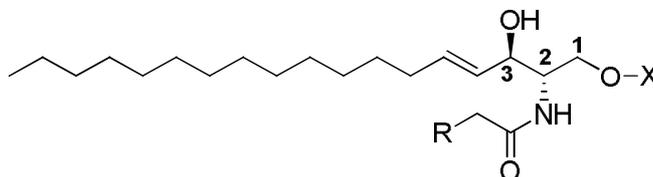
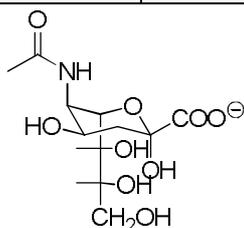


Figura 12

<i>Nombre X</i>	<i>X</i>	<i>Esfingolípido</i>
-	H	Ceramida
fosfocolina		Esfingomielina
Glucosa		Glucosilcerebrósido (cerebrósidos en general)
Disacárido (tri ó tetra sacárido)		Lactosilceramida (cerebrósidos en general)
Oligosacárido complejo		Gangliósido GM2



* Ácido N-acetil-neuramínico (ácido siálico)

Tabla 2

Hay tres tipos de esfingolípidos, todos ellos derivados de ceramidas:

- ❖ Esfingomielinas
- ❖ Glucolípidos neutros: cerebrósidos
- ❖ Gangliósidos

Las esfingomielinas contienen fosfocolina o fosfoetilamina como grupo de cabeza polar, por lo que se clasifican como fosfolípidos junto con los glicerofosfolípidos. Se encuentran presentes en membranas plasmáticas de células animales. La vaina de mielina que rodea y aísla los axones de las neuronas mielinadas constituyen una buena fuente de esfingosinas, de ahí procede su nombre.

Los glucolípidos neutros y los gangliósidos llevan uno o más azúcares unidos al C-1, pero no contienen fosfato, a veces se les llama glucoesfingolípidos.

Los cerebrósidos tienen un solo azúcar que puede ser glucosa o galactosa unido a la ceramida.

Los gangliósidos son más complejos, contienen cabezas polares muy grandes formadas por varias unidades glucídicas, oligosacáridos muy complejos. Se encuentran como lípidos de membrana en la materia gris del cerebro (6%). Entre estos grupos polares se encuentra ácido N-acetilneuramínico (ácido siálico). A estos compuestos se les identifica con símbolos como GM1, GM2 etc. Dependiendo del grupo de cabeza. Entre estos compuestos también aparecen esteres de ácido sulfúrico.

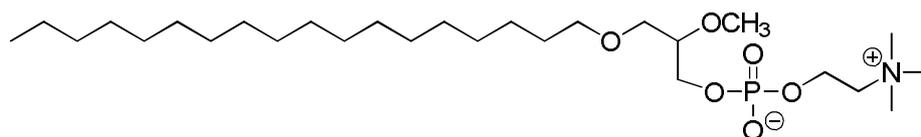
Se conocen varias enfermedades que surgen como consecuencia de una acumulación anormal, seguramente por algún defecto del metabolismo de esfingolípidos, tales como Tay-Sachs, Fabry, Gaucher, Farber, Niemann-Pic y Krabbe.

Se sabe que los esfingolípidos actúan en diversos procesos de reconocimiento en la superficie celular. Todavía hay varios gangliósidos para los que no se conoce su estructura.

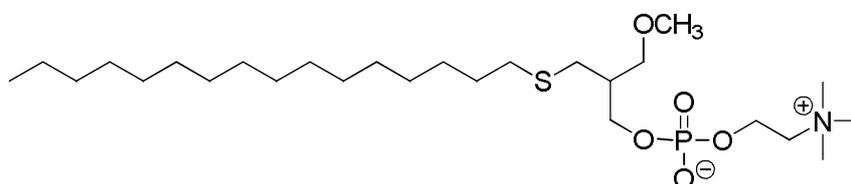
- **Lípidos antitumorales sintéticos (ATLs)**

Los lípidos antitumorales sintéticos (ATLs) constituyen un grupo de agentes potenciales para el tratamiento clínico del cáncer.²² Atendiendo a su estructura química dicho grupo puede dividirse en dos subgrupos:

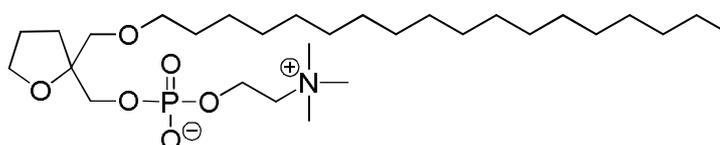
- a) Los alquil éter fosfolípidos (AEPs) denominados corrientemente como éteres lipídicos antitumorales (AELs) o análogos de alquil-lisofosfolípidos que se caracterizan por contener grupos alquilo y no acilos unidos al glicerol. La edelfosina es el arquetipo de estos compuestos. En la Figura 13 aparecen los compuestos más representativos de este grupo.



rac-ET-18-OCH₃ (edelfosina)



BM 41.440 (ilmofosina)



SRI 62-834

Figura 13

²² Frank D. Gunstone. "The Chemistry of oils and fats. Sources, Composition, Properties and Uses".CRC Press, Oxford, UK, 2004.

- b) Las alquifosfocolinas (APCs) que se caracterizan porque no contienen glicerol y se forman por enlace directo del alcohol con la fosfocolina. El prototipo de estos compuestos es miltefosina (hexadecilfosfocolina, HPC) (Figura 14).

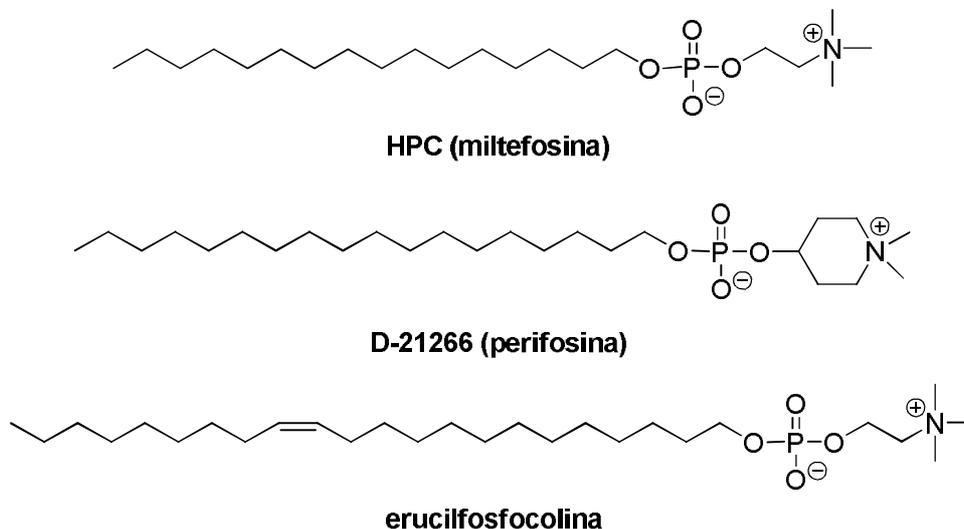


Figura 14

Los diferentes AEPs y APCs sintetizados que aparecen en las Figuras 13 y 14, presentan prometedoras actividades como antitumorales entre ellos además de edelfosina y miltefosina se encuentran ilmofosina,²³ el análogo cíclico SRI 62-834,²⁴ perifosina,²⁵ y erucilfosfocolina.²⁶

Dos características interesantes de los AEPs y APCs son su baja velocidad metabólica tanto *in vivo* como *in vitro* y el hecho de que estos compuestos no tienen como diana el DNA sino que actúan a nivel de membrana celular como inductores de apoptosis (muerte celular programada).

²³ a) Herrmann, D. B.; Bicker, U.; Pahlke, W. *Cancer Detect. Prev. Suppl.* **1987**, *1*, 361. b) Herrmann, D. B.; Besenfelder, E.; Bicker, U.; Pahlke, W.; Bohm, E. *Lipids* **1987**, *22*, 952. c) Herrmann, D. B.; Pahlke, W.; Opitz, H. G.; Bicker, U. *Cancer Treat. Rev.* **1990**, *17*, 247.

²⁴ Houlihan, W. J.; Lohmeyer, M.; Workman, P.; Cheon, S. H. *Med. Res. Rev.* **1995**, *15*, 157.

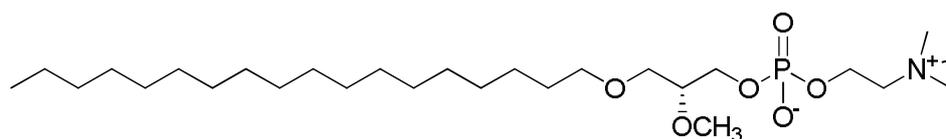
²⁵ a) Patel, V.; Lahusen, T.; Sy, T.; Sausville, E. A.; Gutkind, J. S.; Senderowicz, A. M. *Cancer Res.* **2002**, *62*, 1401. b) Ruiter, G. A.; Zerp, S. F.; Bartelink, H.; Van Blitterswijk, W. J.; Verheij, M. *Anticancer Drugs* **2003**, *14*, 167.

²⁶ a) Jendrossek, V.; Muller, I.; Eibl, H.; Belka, C.; *Oncogene* **2003**, *22*, 2621. b) Jendrossek, V.; Handrick, R. *Curr. Med. Chem. Anti-canc. Agents* **2003**, *3*, 343.

Éteres lipídicos antitumorales (AEL): Edelfosina

La edelfosina: 1-O-octadecil-2-O-metil-*rac*-glicero-3-fosfocolina (*rac*-ET-18-OCH₃) es el éter lipídico antitumoral (AEL) más característico y más ampliamente estudiado, pues inhibe el crecimiento de un extenso panel de líneas de células tumorales.²⁷

La edelfosina (Figura 15) contiene una cadena alquílica larga y una cabeza polar, lo que confiere sus propiedades anfifílicas. Dicha propiedad sugiere que edelfosina puede insertarse fácilmente en la capa exterior de la membrana plasmática, pero debido a su cabeza polar, no sería esperable que atravesara espontáneamente la membrana mediante un mecanismo de flip-flop. Al ser soluble en soluciones acuosas puede ser administrada oralmente.²⁸



R-edelfosina

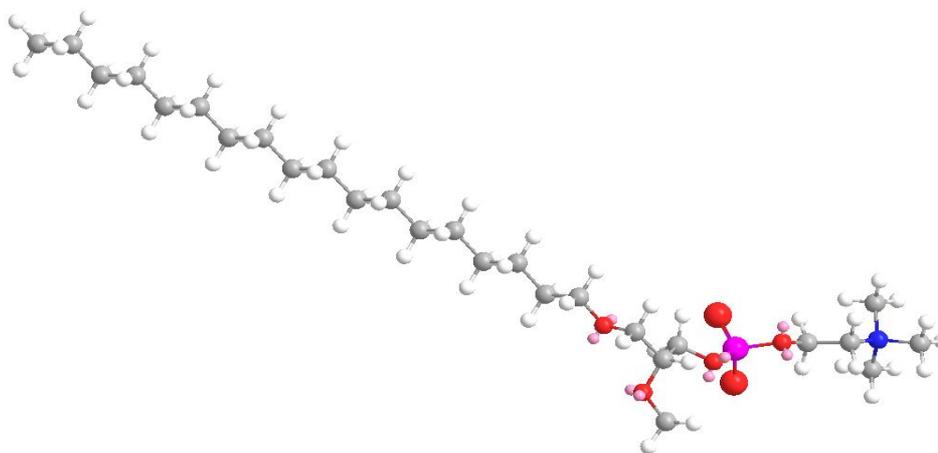


Figura 15

²⁷ a) Lohmeyer, M.; Bittman, R. *Drugs Future* **1994**, *19*, 1021. b) Lu, X.; Arthur, G. *Cancer Res.* **1992**, *52*, 2806.

²⁸ a) Gajate, C.; Mollinedo, F.; *Curr. Drug Metab.* **2002**, *3*, 491. b) Mollinedo, F.; de la Iglesia-Vicente, J.; Gajate, C.; Estella-Hermoso de Mendoza, A.; Villa-Pulgarin J. A.; Campanero, M. A. *Oncogene* **2010**, *29*, 3748. c) Mollinedo, F.; de la Iglesia-Vicente, J.; Gajate, C.; Estella-Hermoso de Mendoza, A.; Villa-Pulgarin J. A.; de Frias, M. *Clin. Cancer Res.* **2010**, *16*, 2046.

A diferencia de otros muchos agentes antitumorales la edelfosina y otros AELs y APCs no tienen como diana el DNA celular y por tanto no son mutagénicos, si no que inducen apoptosis. Todavía no se conoce completamente el mecanismo de acción de la edelfosina, aunque recientemente se ha comprobado, que es el primer agente antitumoral, que tras su entrada en la célula tumoral induce apoptosis por activación intracelular del receptor de muerte de la proteína transmembranal *Fas/CD95*. Esto representa un nuevo y singular mecanismo de acción en quimioterapia del cáncer. Este mecanismo apoptótico que activa la edelfosina aparece latente o inactivo en las células normales.

La proteína *Fas/CD95* se encuentra en la membrana celular, tiene un dominio extracelular, un dominio membranal y un dominio citoplasmático. Su actividad citotóxica, depende de una parte de su dominio citoplasmático llamado dominio de muerte (*deathdomain, DD*).

Al incorporarse la edelfosina en la célula tumoral, se produce una reorganización de los denominados “*lipidrafts*” o microdominios de la membrana enriquecidos en colesterol y esfingolípidos. Esta “reorganización” favorece la co-agregación de los receptores *Fas*, que se encuentran en la membrana de las células, y de este modo se activa la ruta apoptótica en las células tumorales hematológicas.²⁹

En células derivadas de tumores sólidos la apoptosis ocurre mediante inducción de una respuesta de estrés de retículo endoplasmático.³⁰

La capacidad de la edelfosina para inducir apoptosis en células cancerosas parece deberse fundamentalmente a su incorporación selectiva en células tumorales³¹ frente a la incorporación en las células normales.

Las células normales incorporan una menor cantidad de edelfosina y por tanto son preservadas; y son resistentes al efecto proapoptótico. Podría decirse que son dosis-

²⁹ a) Gajate, C.; del Canto-Jañez, E.; Acuña, A. U.; Amat-Guerri, F.; Geijo, E.; Santos-Beneit, A. M.; Veldman, R. J.; Mollinedo, F. *J. Exp. Med.* **2004**, *200*, 353. b) Gajate, C.; Mollinedo, F. *Blood* **2007**, *109*, 711. c) Gajate, C.; Mollinedo, F. *Blood* **2001**, *98*, 3860.

³⁰ a) Nieto-Miguel, T.; Fonteriz, R. I., Vay, L.; Gajate, C.; López-Hernández, S.; Mollinedo, F. *Cancer Res.* **2007**, *67*, 10368. b) Nieto-Miguel, T.; Gajate, C.; Mollinedo, F. *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 1483.

³¹ Mollinedo, F.; Fernández-Luna, J. L.; Gajate, C.; Martín-Martín, B.; Benito, A.; Martínez-Dalmau, R.; Modolell, M. *Cancer Res.* **1997**, *57*, 1320.

dependiente, es decir, es necesario superar un determinado umbral para que la concentración de edelfosina induzca la muerte de la célula diana. De esta forma la membrana celular actúa como una barrera para la edelfosina en células normales mientras que las células tumorales permiten su incorporación.

En la Figura 16 aparece representado un modelo hipotético del efecto proapoptótico de edelfosina en células tumorales.

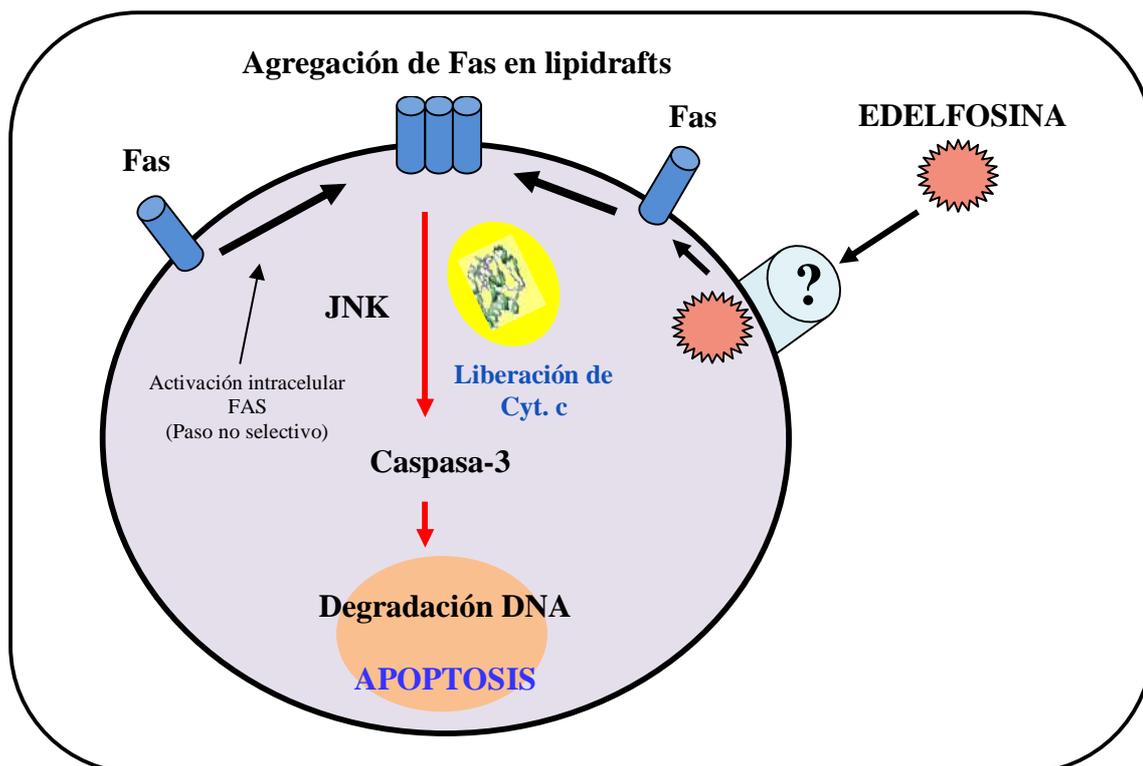


Figura 16. Efecto proapoptótico de edelfosina.

Dada la importancia de la incorporación de edelfosina en su acción antitumoral, en estos momentos se están realizando estudios dirigidos a la determinación y cuantificación mediante HPLC-Ms de la incorporación y de las propiedades del transporte de dicha molécula y alguno de sus análogos en células cancerosas.³²

³² Comunicación personal. Dr F. Mollinedo. Centro de Investigación del Cáncer. Universidad de Salamanca.

Primero, la edelfosina se incorpora selectivamente en la célula tumoral a través de su interacción con una estructura de la superficie celular todavía desconocida (?) (Figura 16).³³ Una vez dentro de la célula, la edelfosina induce la agregación y activación intracelular del receptor de muerte Fas/CD95 en los dominios de membrana “rafts”. Este segundo paso no es selectivo y conlleva a la subsiguiente activación de Jun-amino quinasa (JNK), pérdida del potencial de membrana mitocondrial y liberación de citocromo c, activación de caspasa-3 y degradación de DNA.

Con el fin de examinar la interacción de edelfosina y su efecto antiproliferativo, con proteínas que participan en varios procesos mitogénicos y tratar de progresar en la explicación del mecanismo de acción de dicha molécula, se ha llevado a cabo la síntesis de análogos de edelfosina fotoactivables marcados con ¹²⁵I.³⁴

Varios estudios previos dirigidos a decidir el papel de la “quiralidad” en la potencia de los AEL y concretamente en edelfosina contra células tumorales in vitro, han demostrado que prácticamente no hay diferencias entre las dos formas enantioméricas.³⁵

En el año 1982 se publicaron las primeras síntesis de edelfosina, una en la que se obtuvo el producto en forma racémica a partir de la glicerina y otra en la que se obtuvieron los enantiómeros (*R*) y (*S*) por separado. Los dos enantiómeros de edelfosina se sintetizaron en secuencias independientes de 7 pasos cada una, a partir del sustrato quiral *R* y *S* solketal.³⁶

³³ Mollinedo, F. de la Iglesia-Vicente, J.; Gajate, C.; Estella-Hermoso de Mendoza, A.; Villa-Pulgarin J. A.; Campanero, M. A. *Oncogene* **2010** Jul 1; 29(26):3748.

³⁴ Li, G.; Samadder, P.; Arthur, G.; Bittman, R. *Tetrahedron* **2001**, 57, 8925.

³⁵ Samadder, P.; Bittman, R.; Byun, H-S. *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 2710.

³⁶ Berchtold, R.; *Chem. Phys. Lipids* **1982**, 30, 389.

- **Metodología sintética de fosfolípidos**

Un fosfolípido puede ser construido³⁷ a partir de: 2 “colas” hidrofóbicas, una “cabeza” hidrofílica y un esqueleto o eje principal (glicerol). La síntesis puede iniciarse conectando la “cabeza” al esqueleto o por el contrario las “colas” al eje, como se muestra a continuación: (Figura 17).

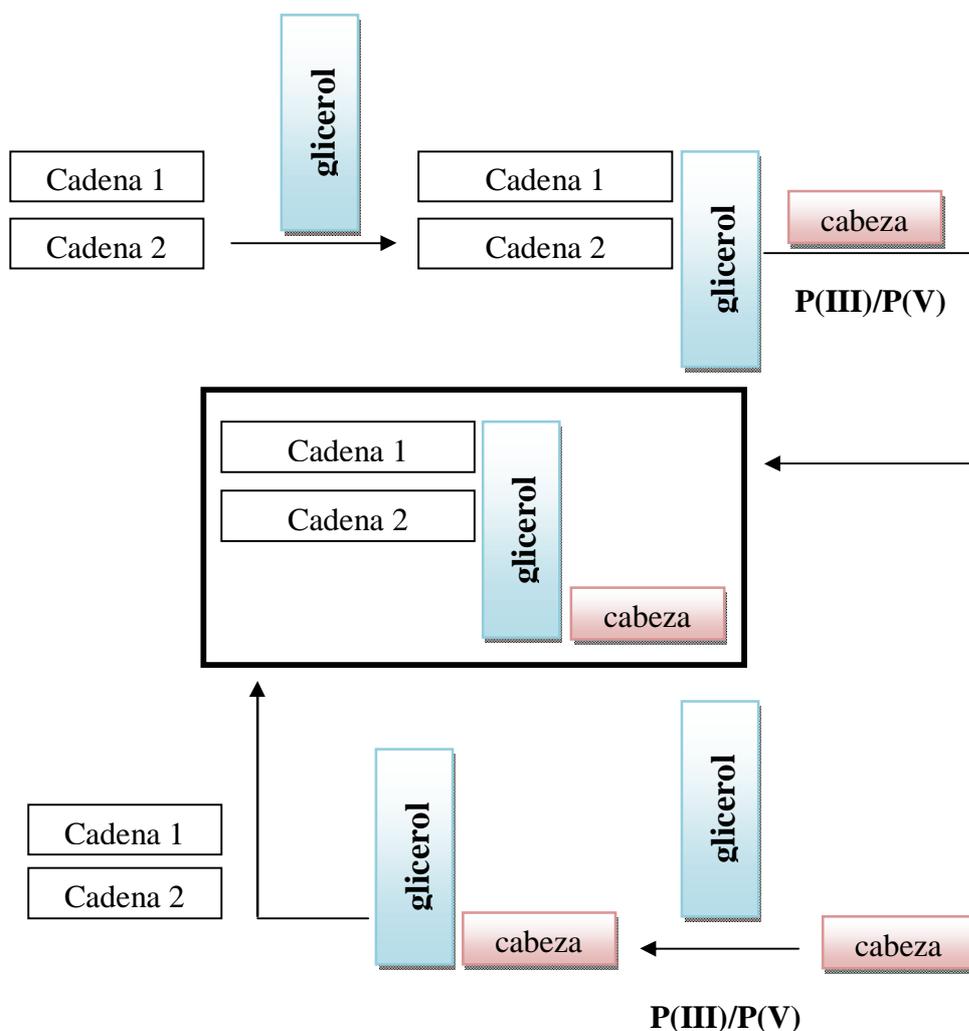


Figura 17

En este trabajo hemos probado ambas metodologías, y nuestra experiencia demuestra que el abordaje de la síntesis conectando en primer lugar las colas es más ventajoso, debido a que se reducen en gran medida tanto los inconvenientes de solubilidad que presentan las glicerofosfocolinas por su carácter zwitteriónico, como los problemas de purificación en columna cromatográfica.

³⁷ Fedotenko, I. A.; Holme, M. N.; Tanasescu, R.; Zaffalon, P.-L.; Zumbuehl, A. *Chimia* **2011**, 65,859.

Sesterterpenoides. Disidiolida y análogos

Los sesterterpenoides forman un grupo de pentapreniliterpenoides de muy diversos esqueletos carbonados cuyas estructuras derivan del pirofosfato de geranilfarnesilo.

Este es un grupo de productos naturales relativamente pequeño que se encuentra fundamentalmente en organismos marinos, especialmente en esponjas, aunque también se han aislado en organismos terrestres, hongos, líquenes, plantas superiores e insectos.^{38,39}

Los sesterterpenoides presentan una amplia gama de actividades biológicas, muchos de ellos son anti-inflamatorios, citotóxicos, antiapetentes, inhibidores de la agregación de plaquetas, antimicrobianos y antitumorales. La diversidad estructural de estos compuestos, así como las importantes bioactividades que presentan muchos de sus miembros, los convierten en un grupo muy interesante, tanto desde el punto de vista de la síntesis orgánica como desde la Biomedicina.^{40,41}

La mayor parte de los sesterterpenoides se han aislado de esponjas y concretamente de la familia *Thorectidae*, que incluye los géneros: *Luffariella*, *Cacospongia*, *Fasciospongia* y *Thorecta*. Los más interesantes contienen en su estructura agrupaciones de butenolidas o hidroxibutenolidas, las cuales están asociadas, en muchos casos, a la bioactividad⁴² de dichos compuestos y a ellos nos referiremos a continuación.

Además de manoalida⁴³ y luffolida,⁴⁴ que son las primeras sesterterpenolidas aisladas de especies de *Luffariella* que presentan actividad antiinflamatoria debido a la

³⁸ Blunt, J. W.; Copp, B. R.; Keyzers, R.A.; Munro, M. H G.; Prinsep, M. R. *Nat. Prod. Rep.* **2013**, *30*, 237 y artículos precedentes de la serie.

³⁹ Faulkner, D. J. *Nat. Prod. Rep.* **2002**, *19*, 1 y artículos precedentes de la serie

⁴⁰ Liu, Y.; Wang, L.; Jung, J. H.; Zhang, S. *Nat. Prod. Rep.* **2007**, *24*, 1401.

⁴¹ Park, Y. *Nat. Prod. Commun.* **2011**, *6*, 1403.

⁴² Koch, S. S. C.; Chamberlin, A. R. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 2725.

⁴³ a) Glaser, K. B.; de Carvalho, M. S.; Jacobs, R. S.; Kernan, M. R.; Faulkner, D. J. *Mol. Pharmacol.* **1989**, *36*, 782. b) De Silva, E. D.; Scheuer, P. J. *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 1611. c) Pommier, A.; Kocienski, P. J. *Chem. Comm.* **1997**, 1139.

⁴⁴ Kernan, M. R.; Faulkner, D. J.; Parkanyi, L.; Clardy, J.; de Carvalho, M. S.; Jacobs, R. S. *Experientia* **1989**, *45*, 388.

inhibición de fosfolipasa A₂ (sPLA₂),⁴⁵ se han caracterizado un buen número de sesterterpenoides con actividad antimicrobiana, antitumoral, ictiotóxica y antiapetente.⁴⁶ De alguna de ellas como manoalida,⁴⁷ luffolida,⁴⁸ luffalactona⁴⁹ y cacospongionolida B, E⁵⁰ y F⁵¹ se ha publicado recientemente su síntesis total (Figura 18). También han aparecido en bibliografía numerosos trabajos de síntesis de análogos de estas sesterterpenoides.⁵²

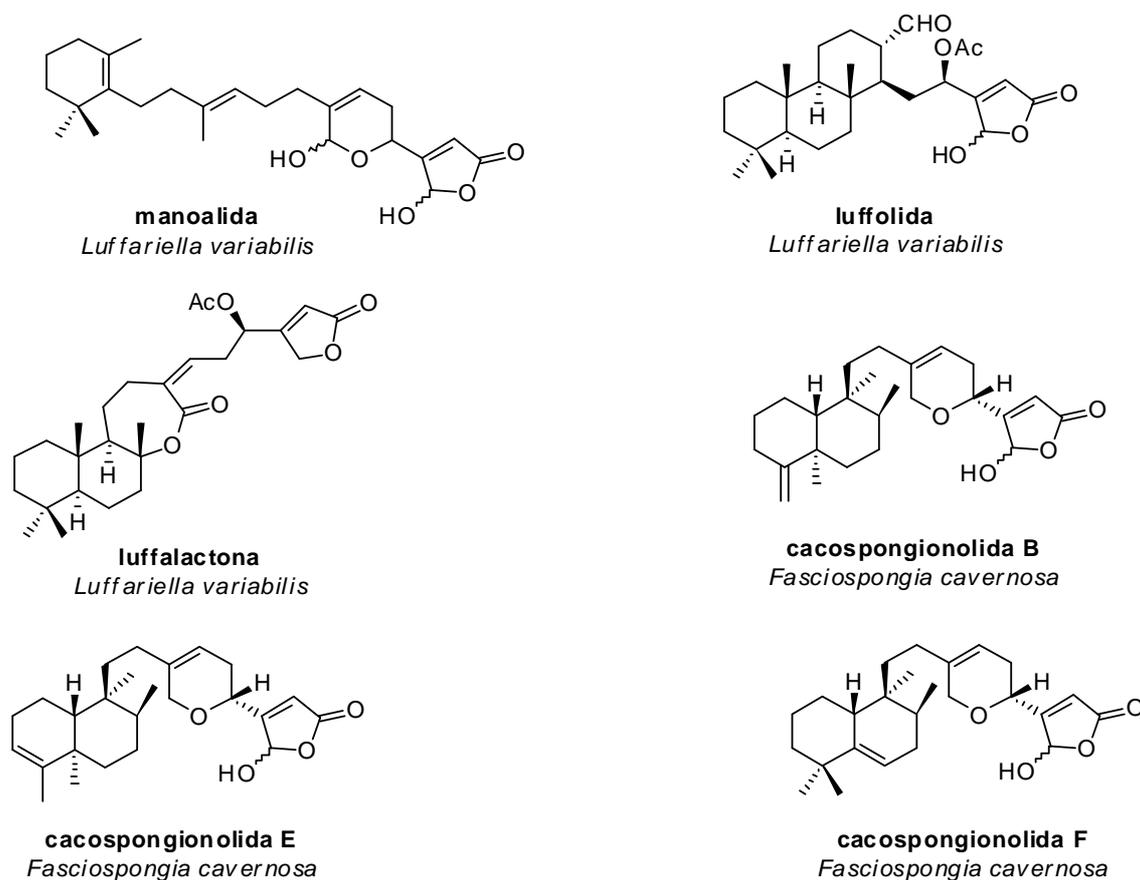


Figura 18

⁴⁵ a) Jacobs, R. S.; Culver, P.; Langdon, R.; O'Brien, T.; White, S. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 981. b) De Freitas, J. C.; Blankemeier, L. A.; Jacobs, R. S. *Experientia* **1984**, *40*, 864. c) Bennett, C. F.; Mong, S.; Clarke, M. A.; Kruse, L. I.; Croke, S. T. *Biochem. Pharmacol.* **1987**, *36*, 733. d) Jacobson, P. B.; Marshall, L. A.; Sung, A.; Jacobs, R. S. *Biochem. Pharmacol.* **1990**, *39*, 1557.

⁴⁶ a) Sullivan, B.; Faulkner, D. J. *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 907. b) Paya, M.; Alcaraz, M. J.; García, P.; Ferrandiz, M. L.; Terencio, M. C.; Ubeda, A.; De Rosa, S.; De Giulio, A.; Crispino, A.; Iodice, C. Spain Pat. No. 9600884, Apr. 18, **1996**. c) Conte, M. R.; Fattorusso, E.; Lanzotti, V.; Magno, S.; Mayol, L. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 849.

⁴⁷ Pommier, A.; Stepanenko, V.; Jarowichi, K.; Kocienski, P. J. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 4008.

⁴⁸ Basabe, P.; Delgado, S.; Marcos, I. S.; Diez, D.; Diego, A.; de Roman, M.; Urones, J. G. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 9470.

⁴⁹ Basabe, P.; Boderó, O.; Marcos, I. S.; Diez, D.; Blanco, A.; de Roman, M.; Urones, J. G. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 7750.

⁵⁰ a) Cheung, A. K.; Snapper, M. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 11584. b) Cheung, A. K.; Murelli, R.; Snapper, M. L. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 5712.

⁵¹ Demeke, D.; Forsyth, C. *J. Org. Lett.* **2003**, *5*, 991.

⁵² Murelli, R. P.; Cheung, A. K.; Snapper, M. L. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 1545.

Pero sin duda el sesterterpeno que mayor interés ha suscitado en los últimos años ha sido disidiolida (Figura 19), una sesterterpenolida aislada por Gunasekera y col. en 1996 de la esponja del Caribe *Dysideaaetherea* de Laubenfels.⁵³

La estructura de disidiolida se determinó mediante estudios espectroscópicos y se corroboró mediante difracción de Rayos-X de monocristal (Figura 19). Su configuración absoluta, que es la enantiómera de la propuesta por Gunasekera y col., se estableció un año después de su aislamiento, en la primera síntesis total de esta sesterterpenolida realizada por Corey y col.⁵⁴ Disidiolida presenta un nuevo esqueleto carbonado, disidiolano, que puede considerarse como un isoprenil-halimano (Figura 19).

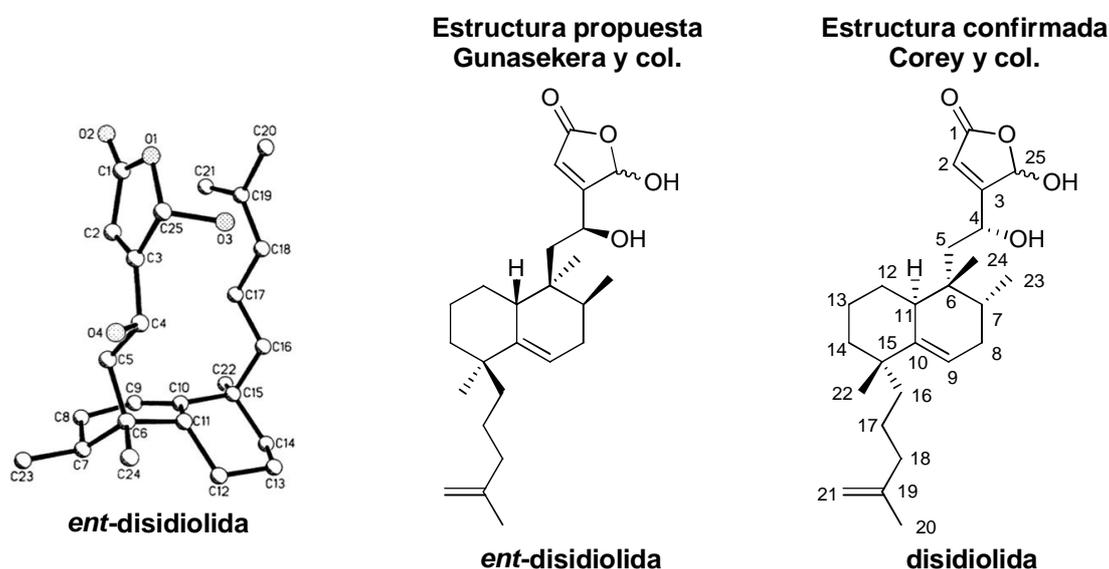


Figura 19

Disidiolida es el primer inhibidor natural conocido de la proteína fosfatasa Cdc25A ($IC_{50} \approx 9.4 \mu\text{m}$) y su homólogo Cdc25B ($IC_{50} \approx 87 \mu\text{m}$) que son enzimas que intervienen en el ciclo celular.^{55,56} El papel crucial que desempeñan dichos enzimas en el ciclo celular, es un indicador del enorme potencial que pueden presentar los inhibidores de esta proteína en el desarrollo de nuevas sustancias antitumorales.

⁵³ Gunasekera, G. P.; McCarthy, P. J.; Kelly-Borges, M.; Lobkovsky, E.; Clardy, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 8759.

⁵⁴ Corey, E. J.; Roberts, B. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 12425.

⁵⁵ Millar, J. B. A.; Russell, P. *Cell.* 1992, *68*, 407.

⁵⁶ Baratte, B.; Meijer, L.; Galaktionov, K.; Beach, D. *Anticancer Res.* **1992**, *12*, 873.

Tal y como se podría esperar, se ha comprobado que inhibe el crecimiento de varias líneas celulares neoplásicas: A-549 (carcinoma de pulmón humano), P-388 (leucemia), PC3, TSU-Pr1 y DU145 (carcinoma de próstata) y MCF7 (carcinoma de pecho) a bajas concentraciones (micromolar).^{57,58}

Debido a la nueva estructura carbonada de disidiolida, así como a su importante actividad biológica, han sido muchos los grupos de investigación⁵⁹ que han centrado su atención sobre la misma. En los últimos años se han publicado varias síntesis totales, que incluyen la síntesis del producto natural (-)-disidiolida,⁶⁰ la del enantiómero (+)-disidiolida⁶¹ y la del racémico (±)-disidiolida,⁶² y dos aproximaciones sintéticas.⁶³

Con el objetivo de llevar a cabo estudios de la relación estructura-actividad se ha realizado síntesis de un buen número de análogos de disidiolida,^{64,65,66,67} algunos, (**I-XI**) recogidos en la Figura 20, buena parte de ellos conseguidos mediante síntesis en fase sólida.⁶⁸

⁵⁷ Corey, E. J.; Roberts, B. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 12425.

⁵⁸ Magnuson, S. R.; Sepp-Lorenzino, L.; Rosen, N.; Danishefsky, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 1615.

⁵⁹ Eckstein, J. W. *Invest. New Drugs* **2000**, *18*, 149.

⁶⁰ a) Corey, E. J.; Roberts, B. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 12425. b) Takahashi, M.; Dodo, K.; Hashimoto, Y.; Shirai, R. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 2111. c) Jung, M. E.; Nishimura, N. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 2113. d) Miyaoka, H.; Kajiwara, Y.; Hara, Y.; Yamada, Y. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 1429.

⁶¹ a) Boukouvalas, J.; Cheng, Y.; Robichaud, J. J. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 288. b) Magnuson, S. R.; Sepp-Lorenzino, L.; Rosen, N.; Danishefsky, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 1615.

⁶² a) Demeke, D.; Forsyth, C. J. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 3177. b) Demeke, D.; Forsyth, C. J. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 6531. c) Miyaoka, H.; Kajiwara, Y.; Yamada, Y. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 911. d) Piers, E.; Caillé, S.; Chen, G. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 2483. e) Paczkowski, R.; Maichle-Mössmer, C.; Maier, M. E. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 3967.

⁶³ a) Brohm, D.; Waldmann, H. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 3995; b) Kaliappan, K.P.; Gowrisankar, P. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 8207.

⁶⁴ Blanchard, J. L.; Epstein, D. M.; Boisclair, M. B.; Rudolph, J. Pal, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 2537.

⁶⁵ Takahashi, M.; Dodo, K.; Sugimoto, Y.; Aoyagi, Y.; Yamada, Y.; Hashimoto, Y.; Shirai, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 2571.

⁶⁶ Shimazawa, R.; Suzuki, T.; Dodo, K.; Shirai, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 3291.

⁶⁷ Shimazawa, R.; Suzuki, T.; Dodo, K.; Shirai, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 3291.

⁶⁸ a) Brohm, D.; Metzger, S.; Bhargava, A.; Müller, O.; Lieb, F.; Waldmann, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 307. b) Brohm, D.; Philippe, N.; Metzger, S.; Bhargava, A.; Müller, O.; Lieb, F.; Waldmann, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 13171.

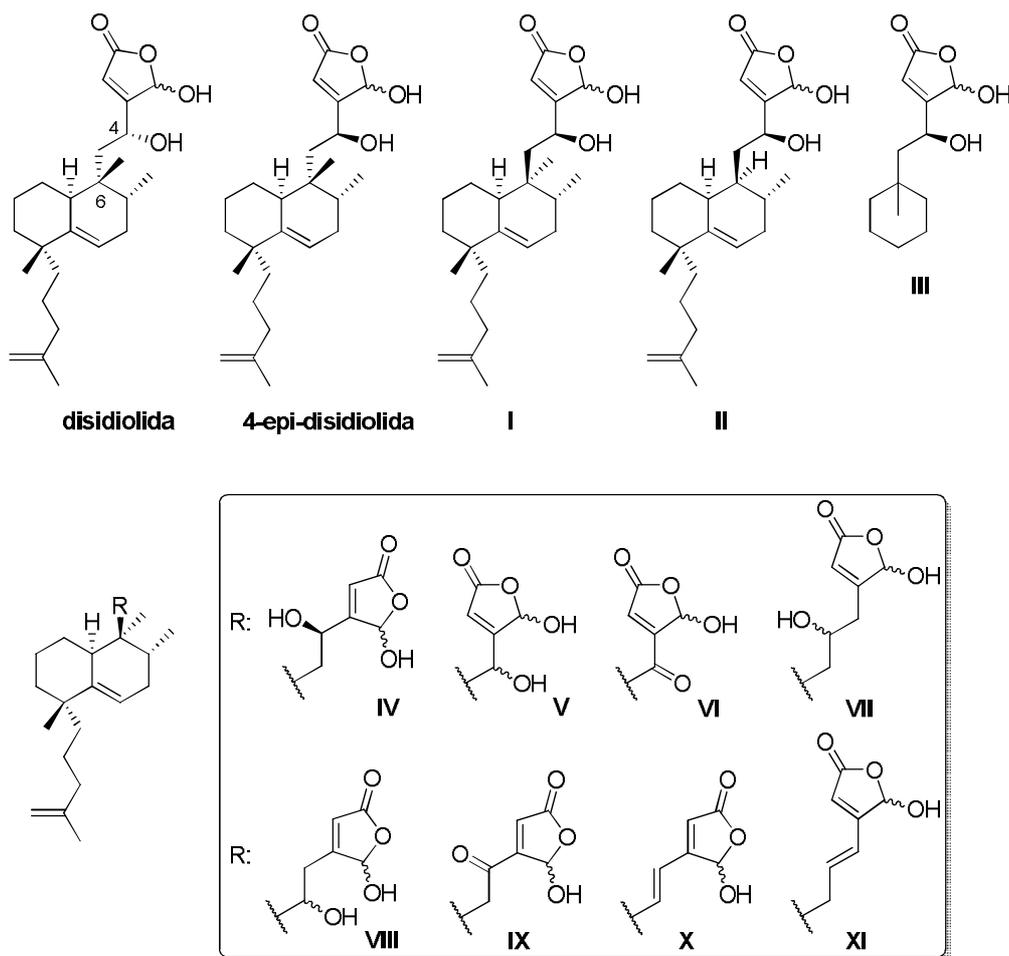


Figura 20

En 1998 Fontana y col. aislaron dos nuevas sesterterpenolidas, que denominaron cladocoran A y B,⁶⁹ que están estructuralmente relacionadas con disidiolida (Figura 21). La síntesis de los compuestos propuestos por Fontana y col. **XII** y **XIII** realizada desde ácido *ent*-halímico demostró que la estructura de los productos naturales no era la correcta.⁷⁰ Seguidamente, Yamada y col. establecen por síntesis las estructuras de los productos naturales cladocoran A y B⁷¹ que corresponden a las indicadas en la figura

⁶⁹ Fontana, A.; Ciavatta, M. L.; Cimino, G. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 2845.

⁷⁰ Marcos, I. S.; Pedrero, A. B.; Sexmero, M. J.; Díez, D.; Basabe, P.; Hernández, F. A.; Broughton, H. B.; Urones, J. G. *Synlett* **2002**, 105.

⁷¹ Miyaoka, H.; Yamanishi, M.; Kajiwara, Y.; Yamada, Y. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 3476.

21. Posteriormente, Miyaoka y col. publican la actividad antiinflamatoria de cladocoran A y B, sus diastereoisómeros y análogos.⁷²

Los compuestos sintetizados por nuestro grupo **XII** y **XIII**, en el trabajo mencionado corresponden a 15,18-bisepi-*ent*-cladocoran A y B. En dicho trabajo, además de éstas, se sintetizaron las γ -hidroxibutenolidas epímeras **XIV** y **XV**, 15-epi-*ent*-cladocoran A y B y otros derivados⁷³ (Figura 21).

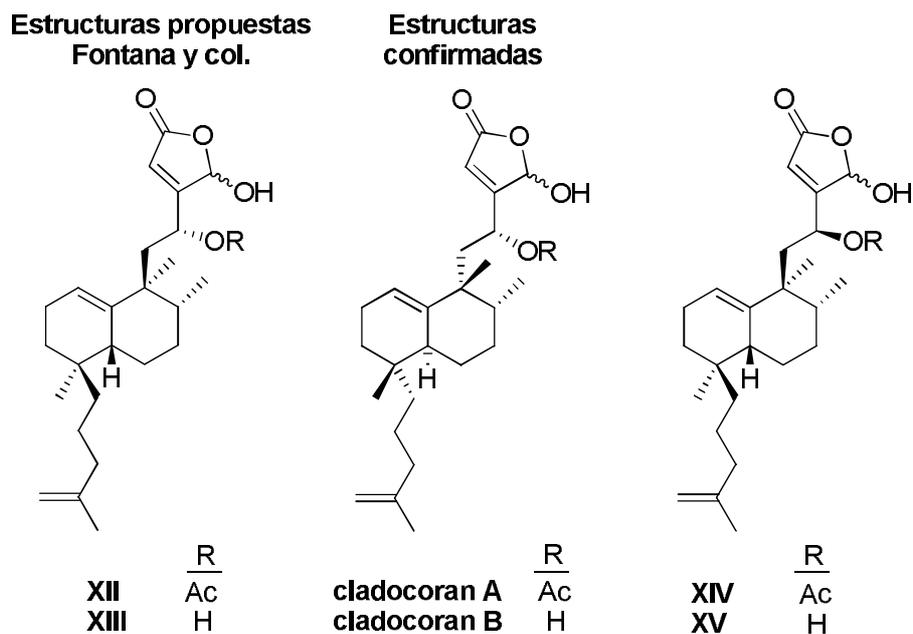


Figura 21

Las pruebas biológicas realizadas con **XIII**, **XIV** y **XV** muestran que estas lactonas inhiben la proliferación celular ($IC_{50} \approx 2 \mu M$) de varias líneas de tumores sólidos y leucemias.⁷⁴

Estos resultados tan prometedores nos animaron a sintetizar nuevos análogos de disidiolida y realizar ensayos de bioactividad.

⁷² Miyaoka, H.; Yamanishi, M.; Mitote, H. *Chem. Pharm. Bull.* **2006**, *54*, 268.

⁷³ Marcos, I. S.; Pedrero, A. B.; Sexmero, M. J.; Diez, D.; Basabe, P.; García, N.; Moro, R. F.; Broughton, H. B.; Mollinedo, F.; Urones, J. G. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 7496.

⁷⁴ Marcos, I. S.; Pedrero, A. B.; Sexmero, M. J.; Diez, D.; Basabe, P.; García, N.; Moro, R. F.; Broughton, H. B.; Mollinedo, F.; Urones, J. G. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 7496.

Una propuesta ampliamente aceptada por la comunidad científica, es que la actividad de las sesterterpenolidas es debida a la acción combinada de dos partes bien diferenciadas de la molécula.⁷⁵ Por un lado el fragmento γ -hidroxibutenolida actúa como sustituto de fosfato, mientras que el resto terpénico se aloja en una cavidad hidrofóbica del centro activo del enzima. Considerando esta propuesta y la arquitectura estructural de nuestro material de partida, ácido *ent*-halímico, se propuso la síntesis de las *ent*-isodisidiolidas **XVI-XXI** (Figura 22). En estos derivados el fragmento γ -hidroxibutenolida se sintetiza sobre la cadena sur del ácido *ent*-halímico, mientras que la cadena insaturada se elaboró en la cadena norte.

Los cambios fundamentales en **XVI**, **XVII** y **XVIII**, **XIX** se refieren a la longitud de la cadena lateral norte y en los compuestos **XX** y **XXI** en la modificación del sistema bicíclico por uno tricíclico que confiere una mayor rigidez al sistema.

Todos estos compuestos y algunos derivados de los mismos, **XXII-XXVI**, sintetizados en el mismo trabajo, presentan un fuerte carácter antitumoral, inhiben la proliferación celular ($IC_{50} \approx 2 \mu M$) de varias líneas de tumores sólidos y leucemias.⁷⁶

⁷⁵ Takahashi, M.; Dodo, K.; Sugimoto, Y.; Aoyagi, Y.; Yamada, Y.; Hashimoto, Y.; Shirai, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 2571.

⁷⁶ Marcos, I. S.; Escola, M. A.; Moro, R. F.; Basabe, P.; Díez, D.; Sanz, F.; Mollinedo, F.; de la Iglesia-Vicente, J.; Sierra, B. G.; Urones, J. G. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 5719.

Antecedentes: Sesterterpenoides

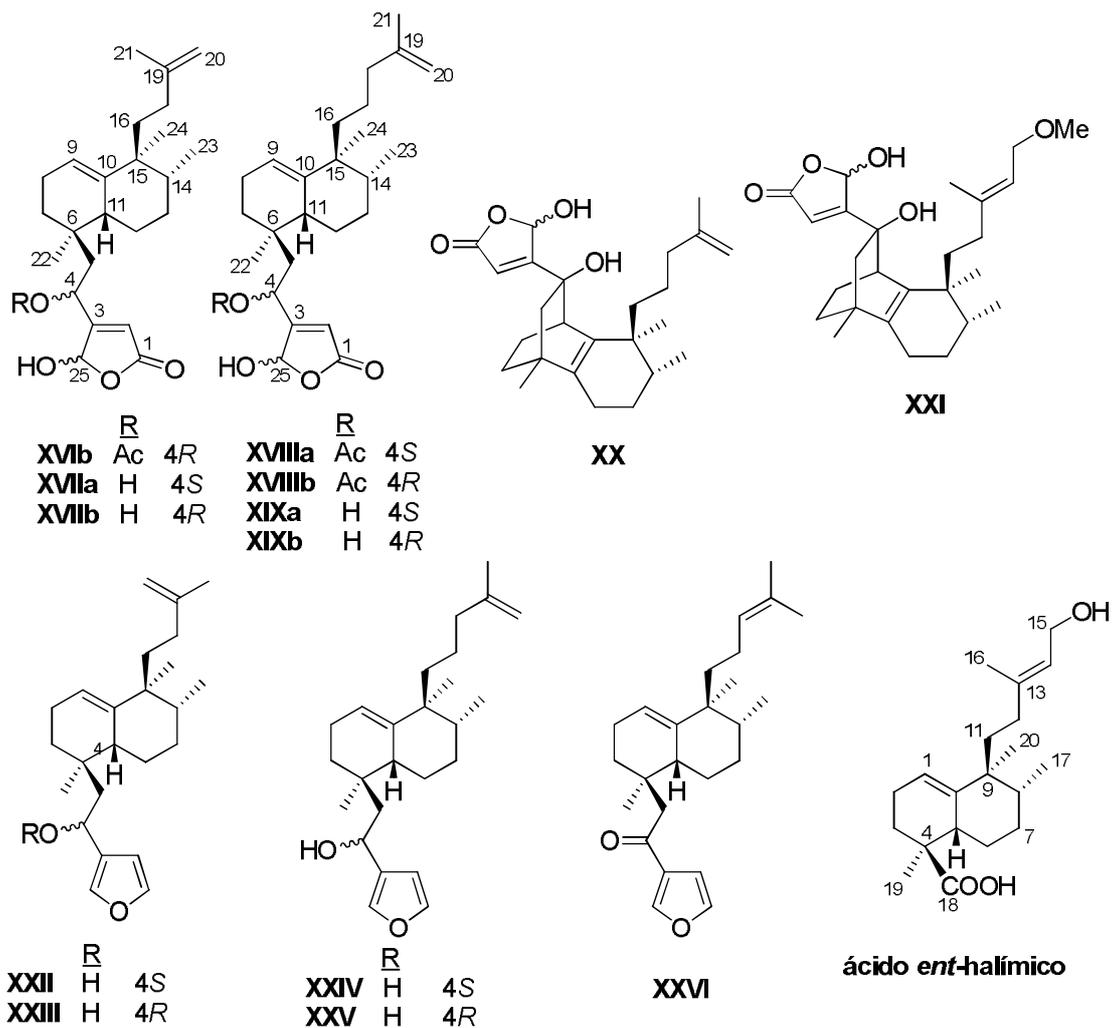


Figura 22

En este trabajo se pretende aprovechar el carácter antitumoral de este tipo de compuestos y si es posible, potenciarlo transformándolos en compuestos bioconjugados con lípidos.

Bioconjugados

En los últimos años se han introducido alrededor de 1000 nuevas moléculas en diferentes áreas terapéuticas como oncología, inmunosupresión y tratamiento de enfermedades metabólicas.⁷⁷ Muchas de estas moléculas, aproximadamente el 49%, son productos naturales o derivados y análogos de los mismos, a los que algunos autores denominan híbridos de productos naturales o también compuestos bioconjugados.⁷⁸ Surgen así los denominados: **Híbridos estructurales** que también podrían denominarse compuestos de biogénesis mixta (resultantes de la unión de fragmentos naturales procedentes de diferentes rutas biosintéticas) y los **Híbridos funcionales** (resultantes de la unión de subestructuras con diferente función biológica lo cual potencia la bioactividad).

La síntesis de compuestos bioconjugados (híbridos funcionales) es un campo altamente estimulante y atractivo en el que las aportaciones de los Profesores Szoka⁷⁹ (California), Ojima⁸⁰ (New York), R. Bittman⁸¹ (New York) y A. Zumbuehl⁸² (Univ.

⁷⁷ Para una discusión reciente sobre la importancia de la química de los productos naturales en el descubrimiento de nuevos medicamentos ver : (a) Wetzel, S.; Bon, R. S.; Kumar, K.; Waldmann, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 10800. (b) Newman, D., J. Cragg, G. M. *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 461. (c) Wilson R.M.; Danishefsky, S. J. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 8329. (d) Butler, M. S. *Nat. Prod. Rep.* **2005**, *22*, 162. (e) Hamburger, M. *Chimia* **2006**, *60*, 14. (f) Henkel, T.; Brunne, R. M.; Müller, H.; Reichel, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 643.

⁷⁸ (a) Chen S.; Zhao, X.; Chen, J.; Kuznetsova, L.; Wong, S. S.; Ojima, I. *Bioconjug. Chem.* **2010**, *21*, 979. (b) Gademann, K. *Chimia* **2006**, *60*, 841. (c) Tietze, L. F.; Bell, H. P.; Chandrasekhar, S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 3996. (d) Torre, M. C. de la; Deometrio, A. M.; Alvaro, E.; García, I.; Sierra, M. A. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 593.

⁷⁹ (a) Huang, Z.; Reza-Jaafari, M. ; Szoka, F. C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 4149. (b) Huang, Z.; Szoka, F. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 15702.

⁸⁰ (a) Ojima, I. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 108. (b) Wu, X.; Ojima, I. *Curr. Med. Chem.* **2004**, *11*, 429. (c) Ojima, I.; Gent, X.; Wu, X.; Qu, C.; Borella, C. P.; Xie, H.; Wilhelm, S. D.; Leece, B. A.; Bartle, L.M.; Goldmacher, V. S.; Chari, R. V. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 5620.

Geneva), son sin duda un referente en este tipo de química en el que se desenvuelven un buen número de grupos de trabajo.

Es un hecho que compuestos bioconjugados formados por esterificación directa de agentes citotóxicos utilizados en terapia antitumoral como paclitaxel (taxol) con PUFAs (Figura 23) han proporcionado muy buenos resultados en dichas terapias antitumorales, ya que el compuesto bioconjugado DHA-paclitaxel resulta menos tóxico y suficientemente estable en el plasma y se va liberando lentamente en el tumor.⁸³

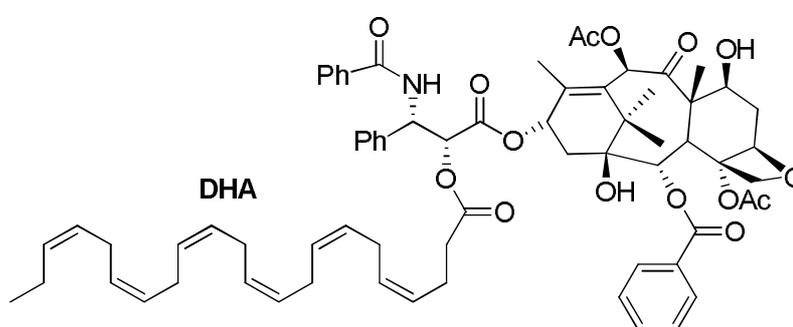


Figura 23

En este trabajo se pretende sintetizar y valorar biológicamente moléculas análogas utilizando sesterterpenos bioactivos bioconjugados con fosfolípidos y PUFAs.

Actualmente se han descrito bioconjugados formados por la unión de compuestos bioactivos, como agentes antitumorales, analgésicos, oligonucleótidos⁸⁴ con lípidos, aminoácidos con vitaminas⁸⁵ hidrófilas o lipófilas, lípidos con azúcares,⁸⁶ etc. que potencian su actividad debido al efecto sinérgico que resulta de dicha conjugación.

⁸¹ (a) Li, Z.; Baker, D. L.; Tigyí, G.; Bittman, R. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 629. (b) Lu, X.; Cseh, S.; Byun, H.-S.; Tigyí, G.; Bittman, R. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 7046. (c) Lu, X.; Bittman, R. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 4746. (d) Li, G.; Samadder, P.; Arthur, G.; Bittman, R. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 8925.

⁸² (a) Akiinc, A.; Zumbuehl, A.; Goldberg, M.; Leshchiner, E.; Busini, V. *Nature Biotechnology* **2008**, *26*, 561. (b) Zumbuehl, A. *Chimia* **2009**, *63*, 63.

⁸³ (a) Bradley, M. O.; Webb, N. L.; Anthony, F. H.; Devanesan, P.; Witman, P. A.; Hemamalini, W. S.; Chander, M. C.; Baker, S. D.; He, L.; Hortwiz, S. B.; Swindell, C. S. *Clinical Cancer Research* **2001**, *7*, 329. (b) Kuznetsova, L.; Chen, J.; Sun, L.; Wu, X.; Pepe, A.; Veith, J. M.; Pera, P.; Bernacki, R. J.; Ojima, I. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 974.

⁸⁴ Raouane, M.; Desmaële, D.; Urbinati, G.; Massaad-Massade, L. *Bioconjugate Chem.* **2012**, *23*, 1091.

⁸⁵ Vallinayagam, R.; Weber, J.; Neier, R. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 4453.

Los bioconjugados más estudiados son aquellos derivados de alquilgliceroles ligados a diferentes moléculas bioactivas y son los compuestos a los que nos referiremos a continuación. En muchos casos este tipo de híbridos se consideran profármacos y también es habitual encontrarlos formulados como liposomas.

El desarrollo de nuevos biomateriales y sistemas liberadores de fármacos⁸⁷ ha supuesto un impacto significativo en el tratamiento de enfermedades severas como el cáncer.

En el diseño de nanopartículas utilizadas en sistemas liberadores de fármacos, el objetivo es crear una partícula que sea biocompatible, estable en el torrente sanguíneo, que se acumule en alto grado en el tejido enfermo, biodegradable y no tóxica. Las estrategias actuales incluyen el uso de micelas y liposomas^{88,89} basados en lípidos, hidrocoloides⁹⁰ y polimerosomas.⁹¹

El uso de liposomas como sistemas liberadores de fármacos ha incrementado la atención en las últimas décadas.

Como se ha dicho, una óptima formulación de administración del fármaco debe ser capaz de retener y estabilizar al fármaco transportado durante la circulación sanguínea (evitando posibles fugas) y liberarse eficazmente en la diana del tejido afectado. Una estrategia adecuada es la formulación como liposomas de un determinado bioconjugado, portador de un profármaco, que sea susceptible a la degradación selectiva por enzimas endógenas que degraden simultáneamente al portador y liberen el fármaco. A continuación se describirán algunos ejemplos de sistemas bioconjugados, algunos de ellos formulados como liposomas, donde los sistemas liberadores de fármacos son activados por la enzima secretora fosfolipasa A₂ (sPLA₂).⁹² (Esquema 1).

⁸⁶ Ainge, G. D.; Compton, B. J.; Hayman, C. M.; Martin, W. J.; Toms, S. M.; Larsen, D. S.; Harper, J. L.; Painter, G. F. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 4941.

⁸⁷ Linderoth, L.; Peters, G. H.; Madsen, R.; Andresen, T. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 1823.

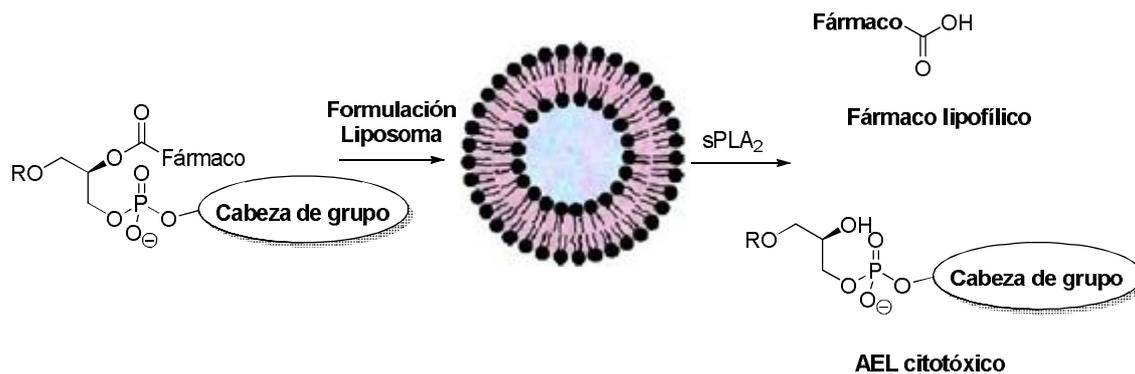
⁸⁸ a) Langer, R.; Tirell, D. A. *Nature* **2004**, *428*, 487. b) Allen, T. M.; Cullis, P. R. *Science* **2004**, *303*, 1818. c) Peer, D.; Karp, J. M.; Hong, S.; Farokhzad, O. C.; Margalit, R.; Langer, R. *Nat. Nanotechnol.* **2007**, *2*, 751.

⁸⁹ a) Barenholz, Y. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2001**, *6*, 66. b) Storm, G.; Crommelin, D. J. A. *Pharm. Sci. Technol. Today* **1998**, *1*, 19.

⁹⁰ Yanga, L.; Alexandridis, P. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2000**, *5*, 132.

⁹¹ Discher, D. E.; Eisenberg, A. *Science* **2002**, *297*, 967.

⁹² Peters, G. H.; Møller, M. S.; Jørgensen, K.; Rønholm, P.; Mikkelsen, M.; Andresen, T. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 5451.



Vista esquemática del concepto liberador de fármaco.

- **Bioconjugados fosfolípidicos con clorambucil**

El clorambucil es un agente antitumoral utilizado en la terapia de distintos tipos de cáncer. Actualmente se administra a pacientes con leucemia linfocítica crónica, aunque también está indicado en el tratamiento de carcinoma de ovario, policitemia vera, linfomas no-Hodgkin, etc. Hay que destacar que se ha usado como fármaco inmunosupresor para varias enfermedades autoinmunes y de origen inflamatorio como es el síndrome nefrótico.

Recientemente se ha llevado a cabo la síntesis de los bioconjugados glicerofosfolípidicos con clorambucil⁹³ I y II. (Figura 24).

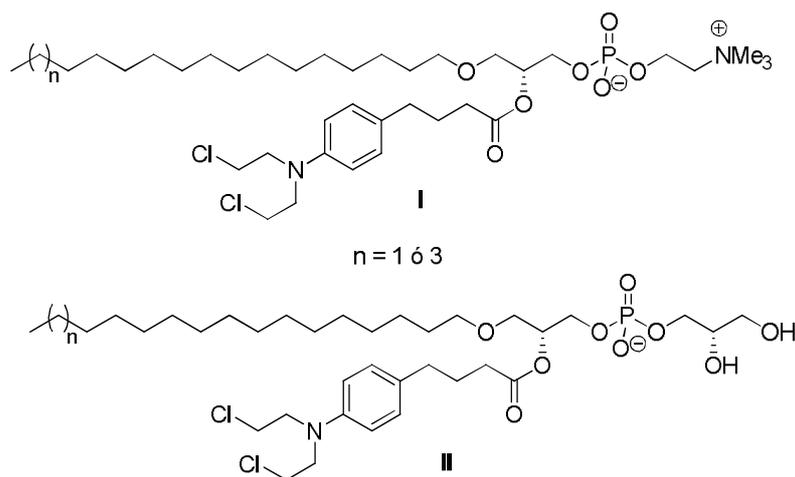


Figura 24

⁹³ Pedersen, P. J.; Christensen, M. S.; Ruysschaert, T.; Linderth, L.; Andresen, T. L.; Melander, F.; Mouritsen, O. G.; Madsen, R.; Clausen, M. H. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 3408.

Esta nueva clase de bioconjugados también son considerados profármacos con capacidad para formar liposomas unilaminares (86-125 nm) y son hidrolizados por fosfolipasa A₂, dando lugar a la liberación de clorambucil. Las formulaciones liposómicas de los profármacos lipídicos de la figura 24 mostraron citotoxicidad hacia líneas de células cancerígenas HT-29, MT-3 y ES-2 en presencia de fosfolipasa A₂ con valores de IC₅₀ entre 8-36 μM.

- **Lípidos bioconjugados con capsaicina**

La capsaicina es un metabolito secundario que se encuentra en diversas especies de plantas del género *Capsicum*. Se utiliza como analgésico, aunque también se ha puesto de manifiesto su actividad antitumoral provocando la apoptosis de células de leucemia mieloide humana.

Se ha sintetizado el bioconjugado derivado de dicho metabolito,⁹⁴ I (Figura 25).

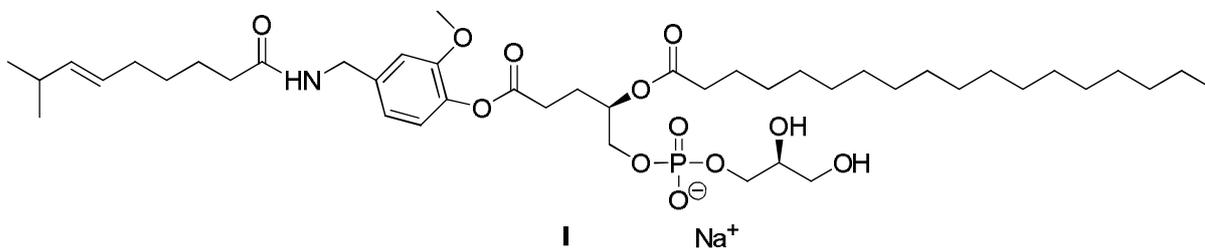
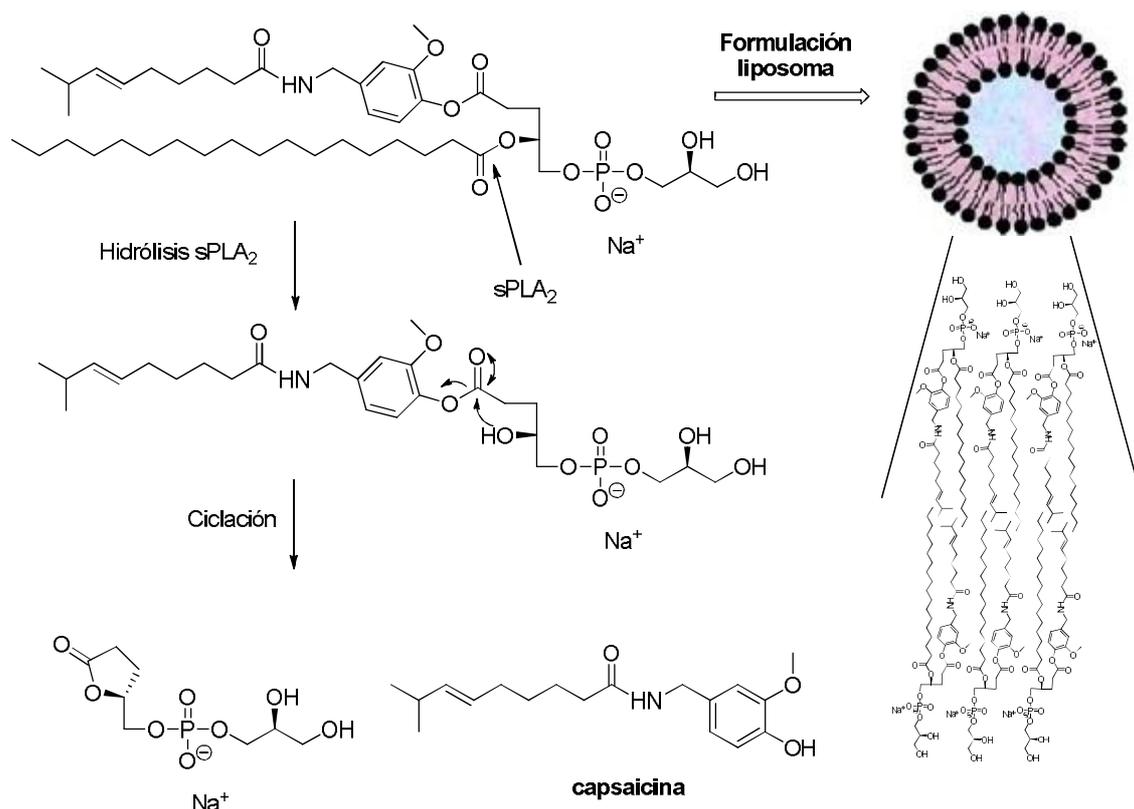


Figura 25

El profármaco lipídico forma el liposoma y es hidrolizado por sPLA₂ para liberar el fármaco (capsaicina) después de una reacción de ciclación (Esquema 2).

⁹⁴ Linderoth, L.; Peters, G. H.; Madsen, R.; Andresen, T. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 1823.



Esquema 2

- **Bioconjugados lipídicos derivados de ácido retinoico**

Se han diseñado lípidos bioconjugados derivados de ácido retinoico^{95,96} (ATRA) I y II (Figura 26). Dicho ácido se utiliza clínicamente en el tratamiento de leucemia. Uno de los inconvenientes que presenta es su baja disponibilidad por vía oral, lo que ha llevado a formular alternativas más ventajosas de administración de ATRA. La administración intravenosa también se ve obstaculizada por la baja solubilidad del ácido retinoico en agua. Esto se puede evitar mediante la formulación de bioconjugados de ATRA I y II en liposomas basados en sistemas liberadores de fármacos a través de fosfolipasa A₂.

⁹⁵ Pedersen, P. J.; Adolph, S. K.; Subramanian, A. K.; Aroui, A.; Andresen, T. K.; Mouritsen, O. G.; Madsen, R.; Madsen, M. W.; Peters, G. H.; Clausen, M. H. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 3782.

⁹⁶ Christensen, M. S.; Pedersen, P. J.; Andresen, T. L.; Madsen, R.; Clausen, M. H. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 719.

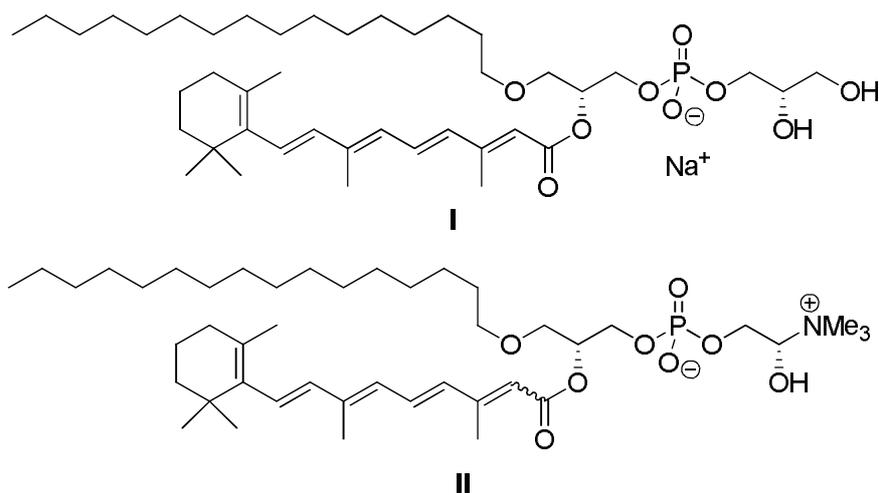


Figura 26

- **Bioconjugados lipídicos derivados de prostaglandinas**

Algunas prostaglandinas han presentado actividad antiproliferativa en células tumorales, pero las más estudiadas y las más activas son las prostaglandinas dienonas como Δ^{12} -PGJ₂ y Δ^7 -PGA₁. La 15-deoxi- $\Delta^{12,14}$ -PGJ₂, derivado metabólico de Δ^{12} -PGJ₂ (Figura 27) ha mostrado alta actividad antitumoral contra L1210 células de leucemia, además, debido a su alta lipofilia, es el compuesto más adecuado en el estudio de sistemas liberadores de fármacos formulados como liposomas. Los fosfolípidos conjugados con prostaglandinas estudiados hasta el momento contienen fosfatidilglicerol como cabezas de grupo y cadenas de 18 carbonos en la posición *sn1* unida a un éter o a un éster, y en la posición *sn2* del esqueleto lipídico lleva el agente antitumoral, prostaglandina, unida covalentemente, I. (Figura 28)

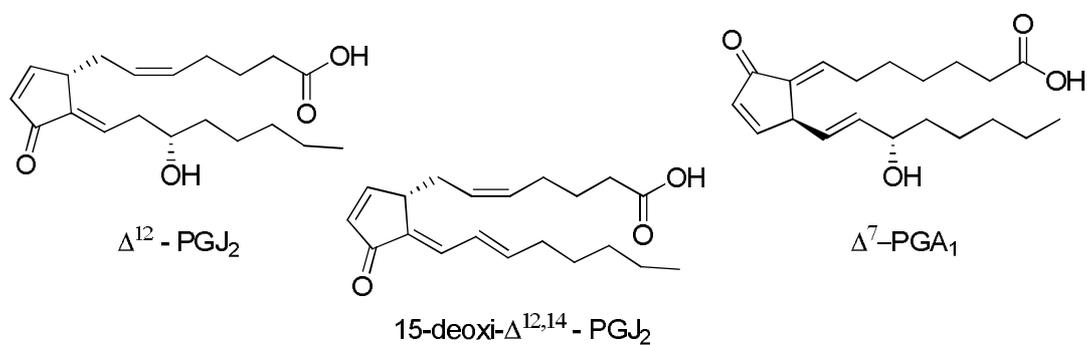


Figura 27

La toxicidad de estos bioconjugados I, fue evaluada⁹⁷ en células cancerosas HT-29 y Colo205, en las que se observó que dichos bioconjugados inducen la muerte celular en presencia de sPLA₂ y sorprendentemente también en ausencia del enzima.

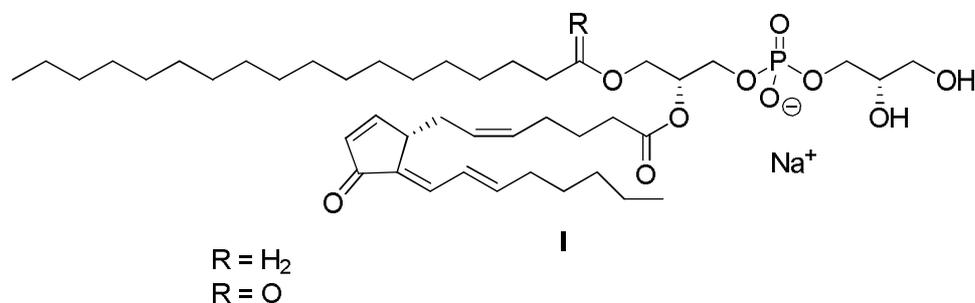


Figura 28

También se conocen bioconjugados como II y III (Figura 29) en los que aparecen derivados de prostaglandinas de la serie A y E.

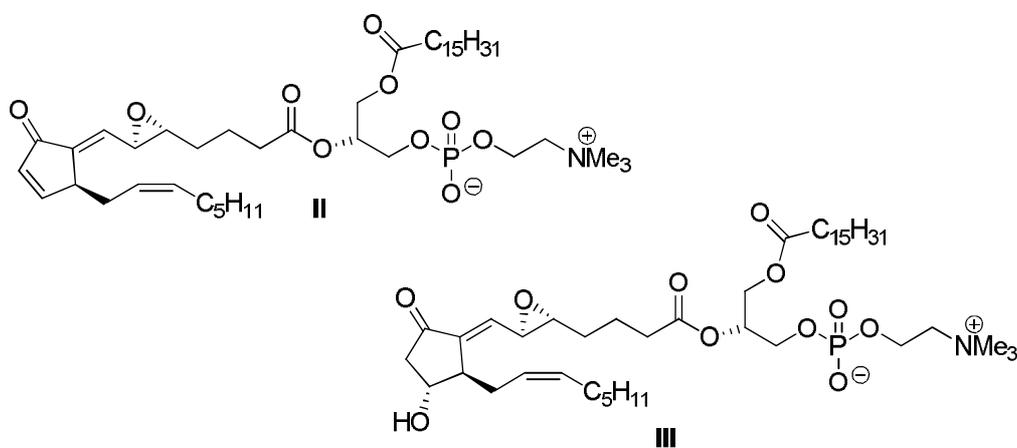


Figura 29

La acumulación de 1-palmitoil-2-(5,6)-epoxiisoprostano-E₂-sn-glicero-3-fosfocolina III (PEIPC)⁹⁸ (Figura 29) en lesiones ateroscleróticas, sugiere que estos lípidos pueden desempeñar un papel importante en numerosos procesos de

⁹⁷ Pedersen, P. J.; Adolph, S. K.; Andresen, T. L.; Madsen, M. W.; Madsen, R.; Clausen, M. H. *Bioor. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 4456.

⁹⁸ Jung, M. E.; Berliner, J. A.; Koroniak, L.; Gugiu, B. G.; Watson, A. D. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 4207.

enfermedades crónicas. Dicho compuesto es un potente activador de células endoteliales en aterosclerosis.

- **Bioconjugados fosfolipídicos con succinato de tocoferilo**

Al contrario que los tocoferoles, los succinatos⁹⁹ derivados de α -TOS y δ -TOS (Figura 30) (α y δ -tocoferilsuccinatos) presentan elevada citotoxicidad frente a células cancerosas como las de carcinoma gástrico.

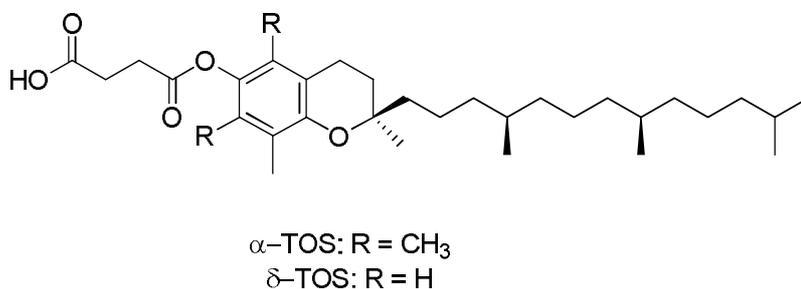


Figura 30

Debido a los problemas de dichos compuestos en cuanto a biodisponibilidad y estabilidad, se han conjugado con fosfolípidos formando los bioconjugados I y II (Figura 31) que se han formulado como liposomas.

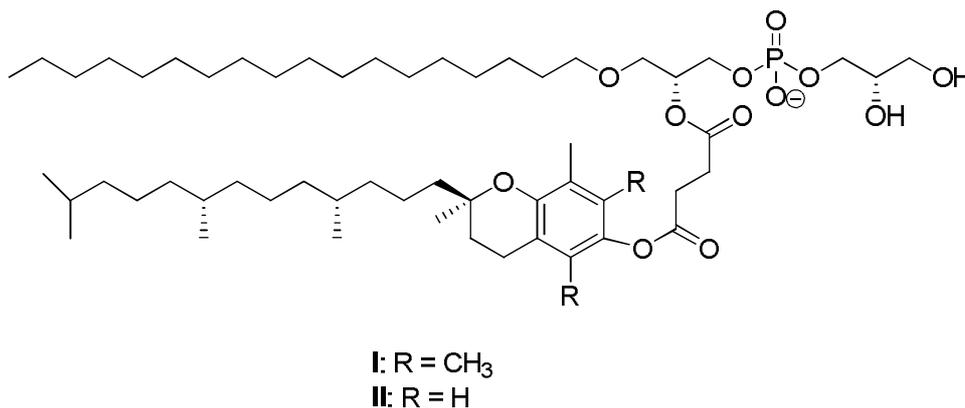


Figura 31

⁹⁹ Pedersen, P. J.; Viart, H. M.-F.; Melander, F.; Andresen, T. L.; Madsen, R.; Clausen, M. H. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *20*, 3972.

Se ha comprobado que dichos bioconjugados, procedentes de los TOSs, constituyen una prometedora oportunidad para administrar alcoholes lipofílicos, que de otra forma presentan grandes inconvenientes debido a su baja solubilidad en agua.

- **Bioconjugados lipídicos con esteroides**

También se han sintetizado bioconjugados de glicerofosfolípidos modificados con esteroides denominados SMLs¹⁰⁰ (Figura 32) y dSMLs¹⁰¹ (glicerofosfolípidos modificados con diesteroides) (Figura 33). La razón de introducir colesterol en la estructura es que dicho compuesto contribuye a la estabilidad y la fluidez de la bicapa, debido a esto son buenos portadores de fármacos o profármacos, permitiendo la acumulación de dichas moléculas bioconjugadas en la membrana.

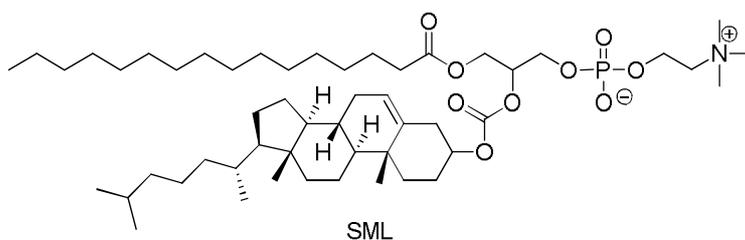


Figura 32

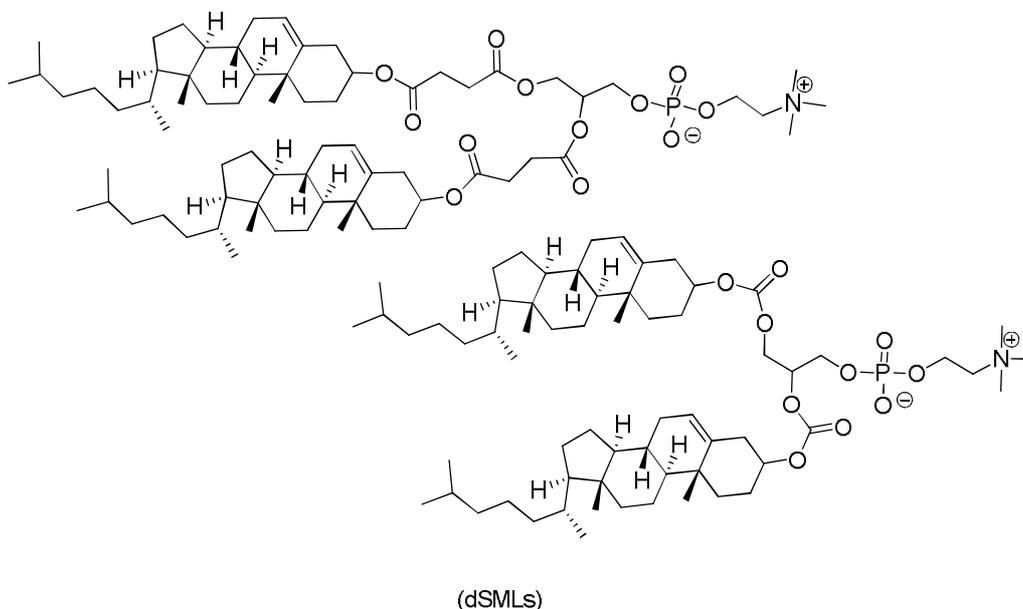


Figura 33

¹⁰⁰ Huang, Z.; Szoka, Jr F. C. *J. Am. Chem Soc.* **2008**, *130*, 15702.

¹⁰¹ Huang, Z.; Jaafari, M. R., Szoka, Jr, F. C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 4146.

- **Bioconjugados sencillos**

Se han sintetizado bioconjugados en los que participan éteres lipídicos, 1-O-alquil-*sn*-gliceroles y PUFAs¹⁰² (Figura 34). Previamente se ha destacado las múltiples actividades biológicas que presentan ambos sustratos que forman el bioconjugado final.

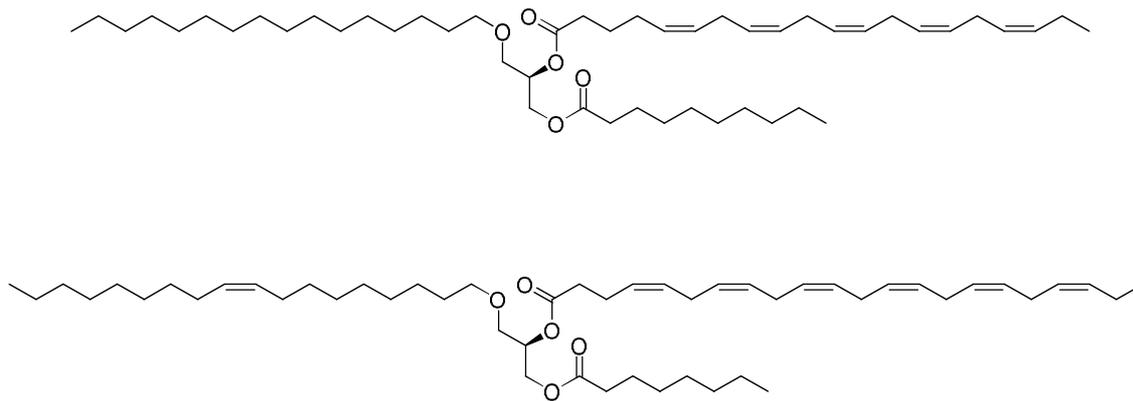


Figura 34

¹⁰² Magnusson, C. D.; Gudmundsdottir, A. V.; Haraldsson, G. G. *Tetrahedron* **2011**, 67, 1821.