

Diseño y preparación de alquil éteres fosfolípidos (AEPs) antitumorales análogos de edelfosina



**VNiVERSIDAD
D SALAMANCA**

CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL

Trabajo de Fin de Master

**Máster en Evaluación y Desarrollo de
Medicamentos**

Alejandro Martín Roncero

Tutores

Dra. María Ángeles Castro González

Dr. Isidro Sánchez Marcos

Julio 2016

Índice

<u>Apartado</u>	<u>Página</u>
Índice	i
Abreviaturas y acrónimos	ii
Resumen	iii
1. Introducción y antecedentes	1
1.1 Lípidos raft y cáncer	1
1.2 Lípidos antitumorales: estructura y mecanismo de acción	4
1.3 Estudios preclínicos de edelfosina	7
1.4 Antecedentes	7
2. Objetivos	9
3. Metodología	10
3.1 Instrumentación	10
3.2 Técnicas generales cromatográficas	11
3.3 Purificación de reactivos y disolventes	12
4. Discusión de resultados	13
4.1 Síntesis de 5	13
4.2 Aproximación sintética de 12	18
5. Parte experimental	22
5.1 Síntesis de 5	22
5.2 Aproximación sintética de 12	33
6. Conclusiones	38
7. Bibliografía	39
Anexo. Espectroscopia	41

Abreviaturas y acrónimos

Las abreviaturas y acrónimos usados en esta memoria son los siguientes:

AcOEt: acetato de etilo.

AEPs: alquil éteres fosfolípidos (*Alkyl-Ethers Phospholipids*).

APCI: ionización química a presión atmosférica (*Atmospheric Pressure Chemical Ionization*).

APLs: alquil fosfolípidos (*Alkyl Phospholipids*).

ATLs: lípidos antitumorales sintéticos (*AntiTumoral Lipids*).

t-BuOH: *terc*-butanol.

calc.: calculado.

CASMER: *Cluster of Apoptotic Signaling Molecule-Enriched Rafts*.

CC: cromatografía en columna.

CCF: cromatografía de capa fina.

CTMP: proteína reguladora de la región carboxilo terminal (*Carboxy-Terminal Modulator Protein*).

CuTC: tiofeno-2-carboxilato de cobre (I).

d: doblete (en RMN).

DCM: diclorometano.

DEPT: *Distorsionless Enhancement by Polarization Transfer*.

DISC: complejo de señalización para la inducción de muerte (*Death-Inducing Signaling Complex*).

DL₅₀: Dosis Letal 50.

ESI-HRMS: espectrometría de masas de alta resolución con ionización por electrospray (*ElectroSpray Ionization High Resolution Mass Spectrometry*).

EtOH: etanol.

FADD: proteína asociada al dominio de muerte de Fas (*Fas-Associated Death Domain*).

Hex: hexano.

HMBC: *Heteronuclear Multiple Bond Coherence*.

HMQC: *Heteronuclear Multiple-Quantum Coherence*.

IR: infrarrojo.

J: constante de acoplamiento.

JNK: *c-Jun N-terminal Kinase*.

LTA: tetraacetato de plomo (*Lead (IV) TetraAcetate*).

MeOH: metanol.

NMO: *N*-óxido de *N*-metilmorfolina.

obs.: observado.

PC: fosfocolina (*PhosphoCholine*).

PDK: quinasa dependiente de fosfatidilinositol-3-fosfato (3-*Phosphoinositide-Dependent protein Kinase*).

PI3K: fosfatidil inositol-3-quinasa (*Phosphatidylinositol-3-Kinase*).

PIP₂: fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato.

PIP₃: fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato.

Pir: piridina.

PhCH₃: tolueno.

PTEN: *Phosphatase and Tensin homologue*.

q: cuartete (en RMN).

quin: quintuplete (en RMN).

RMN: Resonancia Magnética Nuclear.

RTK: receptor con actividad tirosina-quinasa (*ligand-activated Receptor Tyrosine Kinases*).

s: singulete (en RMN).

t: triplete (en RMN).

t.a.: temperatura ambiente.

THF: tetrahidrofurano.

TrCl: cloruro de tritilo.

TsCl: cloruro de *p*-toluensulfonilo.

p-TsOH: ácido *p*-toluensulfónico.

TPS: cloruro de triisopropilbencenosulfonilo.

Resumen

Los alquil éteres fosfolípidos (AEPs) sintéticos, como la edelfosina (1-*O*-octadecil-2-*O*-metil-*rac*-glicero-3-fosfocolina, ET-18-OCH₃), son una familia de compuestos con actividad antitumoral que tienen como diana la membrana celular; concretamente los dominios de membrana conocidos como *lípidos rafts*. Estos compuestos inducen la apoptosis en células tumorales y reducen la metástasis, por un mecanismo que abarca muchas rutas de señalización que se regulan en la membrana plasmática. En este trabajo se realiza la síntesis de análogos de edelfosina funcionalizados en la cadena alquílica, con el fin de mejorar la actividad antitumoral de la edelfosina y su farmacocinética; obteniéndose el derivado yodado de la misma, además de un intermedio avanzado hacia un análogo fluorescente de edelfosina, que puede ser útil en diagnóstico e investigación del mecanismo de acción de estos lípidos.

1. Introducción y antecedentes

Desde los años 80 se han ido acumulando numerosas pruebas que han cambiado la visión clásica de la membrana celular, así como su organización y los procesos celulares en los que interviene. Se ha descubierto que los lípidos de la membrana pueden organizarse de diferentes maneras, y una de ellas son los dominios de membrana denominados *lípidos rafts*.¹

Los lípidos rafts se definen² como microdominios de membrana enriquecidos en glicosfingolípidos y colesterol que actúan como plataformas lipídicas ordenadas dentro de la inmensa membrana celular con los fosfolípidos desordenados, y en los cuales se pueden segregar proteínas de membrana con funciones muy diversas. Podría hacerse una analogía entre los lípidos rafts y una balsa lipídica en un inmenso mar de fosfolípidos.

La estructura de los lípidos raft es dinámica, por lo que pueden cambiar su contenido tanto de lípidos como de proteínas. Esta capacidad de modular su organización y estructura es crucial para que en ellos se produzca la activación de diversas cascadas de transducción de señales entre la membrana y los orgánulos; ya que, en muchos casos, la función de las proteínas depende de cómo estén asociadas con los lípidos rafts.

1.1 Lípidos raft y cáncer

En los últimos años se han localizado en los lípidos rafts varios receptores y moléculas de señalización apoptótica entre los que se encuentra Fas/CD95 (miembro de la familia receptores de factores de necrosis tumoral), pero también de supervivencia celular, como la quinasa PI3K (fosfatidil inositol 3-quinasa) que inicia un gran número de cascadas de señalización, entre ellas la ruta de supervivencia PI3K/Akt.³ Además, se ha probado que las células cancerosas exhiben mayores niveles de colesterol y colesterol-lípidos rafts que las células normales y también muestran un incremento en su habilidad por la proliferación y supervivencia.⁴

Fas juega un papel muy importante en la apoptosis. Su activación con su ligando endógeno, FasL, promueve su trimerización e inicia una cascada de señalización apoptótica, reclutando proteínas como FADD (proteína asociada al dominio de muerte de Fas) y las procaspasas 8 y 10 formando el complejo de señalización para la inducción de muerte (DISC); lo que promueve la apoptosis celular mediante la cascada de señalización de las caspasas.

Sin embargo, también es posible activar el receptor Fas sin necesidad de FasL. En esto intervienen los lípidos rafts que, mediante su redistribución ocasionada por diferentes estímulos, promueven la trimerización de Fas y, en consecuencia, la activación de la cascada de señalización.³ Entre los estímulos que ocasionan la redistribución de los lípidos raft está la incorporación del lípido sintético antitumoral Edelfosina; molécula central de este trabajo.

La vía de señalización PI3K/Akt es una ruta de supervivencia celular cuya señalización comienza en la membrana celular, concretamente en los lípidos rafts.

PI3K es una familia de proteínas quinasas heterodiméricas con una subunidad catalítica (p110) y una regulatoria (p85). Esta quinasa actúa anclada a la membrana plasmática por la cara citosólica y es capaz de fosforilar PIP₂ (fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato) a PIP₃ (fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato). Para que la proteína esté activa, es necesaria su fosforilación en la subunidad p85 por parte de un receptor con actividad tirosina quinasa transmembranal (RTK).⁵

La PI3K activada, fosforila los residuos de PIP₂ a PIP₃ lo que conlleva que la proteína serina/treonina quinasa Akt sea reclutada a la membrana y se ancle en los residuos de PIP₃, donde puede ser activada (Figura 1). La activación de Akt pasa por la eliminación de CTMP (proteína reguladora de la región carboxilo terminal) y posterior fosforilación en las posiciones Thr308 y Ser473 por las quinasas dependientes de fosfatidilinositol trisfosfato (PDK1 y PDK2).^{5,6}

La quinasa Akt activada puede actuar sobre numerosos sustratos que realizan la transducción de la señal de supervivencia celular.

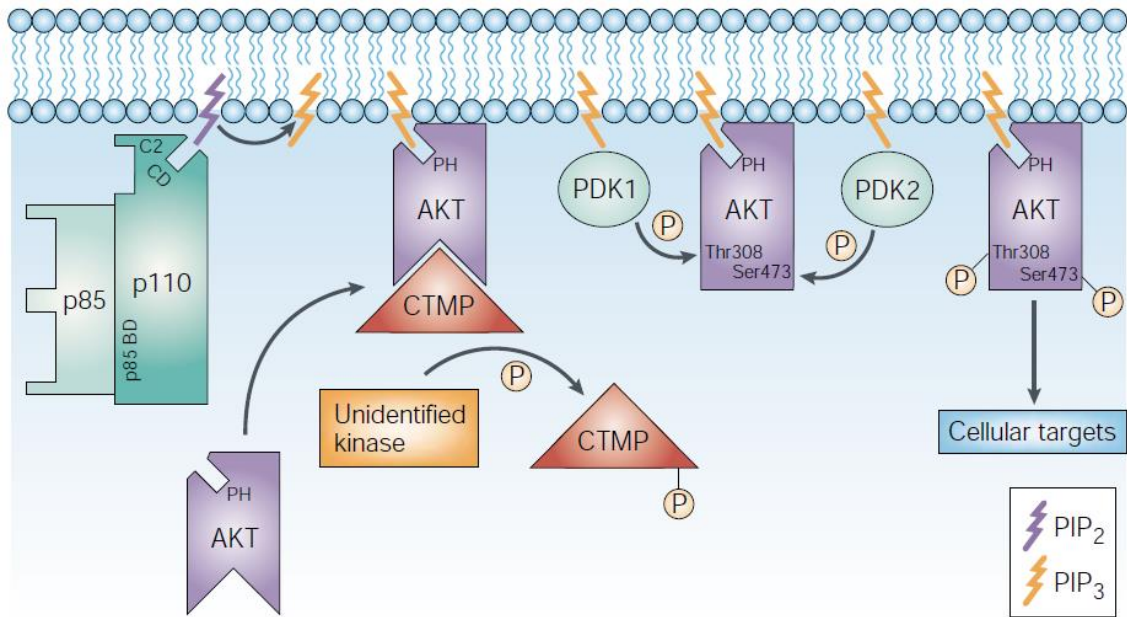


Figura 1. Cascada de transducción de señal desde la proteína quinasa PI3K hasta la activación de Akt por medio de eliminación del CTMP (proteína reguladora de la región carboxilo terminal) y posterior fosforilación en las posiciones 308 y 473 por las quinasas dependientes de fosfatidilinositol trisfosfato (PDK1 y PDK2).⁵

Por lo tanto, puede decirse que los lípidos rafts de las células de mamíferos se comportan como plataformas que pueden actuar en diferentes, o incluso opuestos, procesos de señalización, tal como supervivencia y apoptosis. En consecuencia, estos dominios celulares juegan un papel crítico en la modulación de la señalización celular y en la regulación de su destino.

En el cáncer, estas rutas están desreguladas debido a mutaciones de genes que codifican algunas de las proteínas implicadas; por ejemplo, en algunos cánceres de ovario y colon se encuentra mutado el gen de la subunidad reguladora p85, lo que hace que se active constitutivamente la proteína PI3K y se produzcan señales de supervivencia celular. Otro gen que suele estar mutado en muchos cánceres es el gen supresor de tumores PTEN, que codifica para una proteína fosfatasa llamada PTEN (*Phosphatase and Tensin homologue*) que se encarga de defosforilar PIP₃. Una delección en este gen conlleva la pérdida de función de la proteína y la desregulación de la ruta de supervivencia.⁵

Estos hechos, sumados a que las células tumorales poseen una mayor cantidad de lípidos raft, hacen de estas plataformas lipídicas una buena diana para fármacos antitumorales.

1.2 Lípidos antitumorales: estructura y mecanismo de acción

Los análogos de alquilfosfolípidos antitumorales (APLs,) también conocidos colectivamente como lípidos antitumorales (ATLs), son una familia de compuestos sintéticos estructuralmente relacionados que muestran actividad anticancerígena actuando a nivel de membrana celular. Se caracterizan por tener grupos alquilo unidos al glicerol.⁷ En la figura 2 aparecen los compuestos más representativos de este grupo: edelfosina, ilmofosina y SRI 62-834.

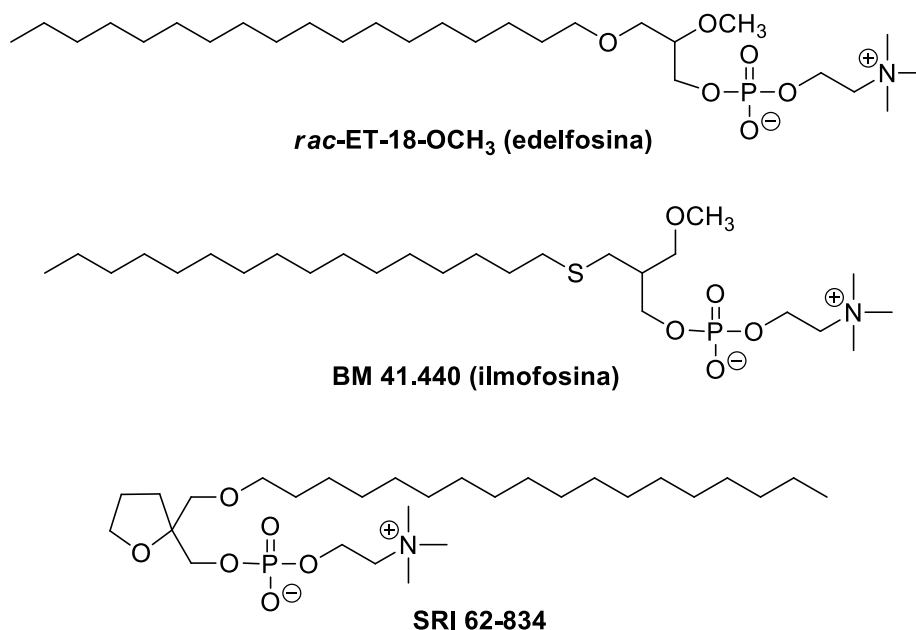


Figura 2. Tres representantes de la familia de los ATLs.

La edelfosina (1-*O*-octadecil-2-*O*-metil-*rac*-glicero-3-fosfocolina, ET-18-OCH₃) ha sido considerada el prototipo de este tipo de moléculas.

Una de las características que hacen a los alquil éteres fosfolípidos (AEPs) interesantes es que actúan a nivel de membrana celular como inductores de la apoptosis y, por tanto, no tienen como diana el DNA celular. La edelfosina induce la apoptosis en células malignas, mientras que respeta a las células normales,⁸ ya que parece que involucra a los lípidos rafts de diferentes células hematológicas y constituye el primer fármaco antitumoral que tiene como diana los lípidos rafts.⁹

Estudiando el mecanismo de acción de estas moléculas, se ha desvelado un proceso de regulación de muerte celular que envuelve la movilización y reclutamiento de receptores de muerte y proteínas proapoptóticas en los microdominios de los lípidos rafts.⁶

La edelfosina es capaz de incorporarse en los lípidos raft selectivamente, y recluta el receptor de muerte Fas/CD95 así como FADD y las procaspasas 8 y 10 sin necesidad de FasL (como se dijo anteriormente), lo que induce la formación de DISC. Además recluta otras moléculas de señalización que también promueven la apoptosis como JNK (*c-Jun N-terminal Kinase*).

La acumulación de tantas moléculas de señalización de apoptosis en un área tan pequeña como los lípidos raft conduce a la formación de un complejo supramolecular llamado CASMER (*Cluster of Apoptotic Signaling Molecule-Enriched Rafts*). Esto facilita la interacción entre proteínas, lo que conlleva a la inducción de la apoptosis celular (Figura 3).

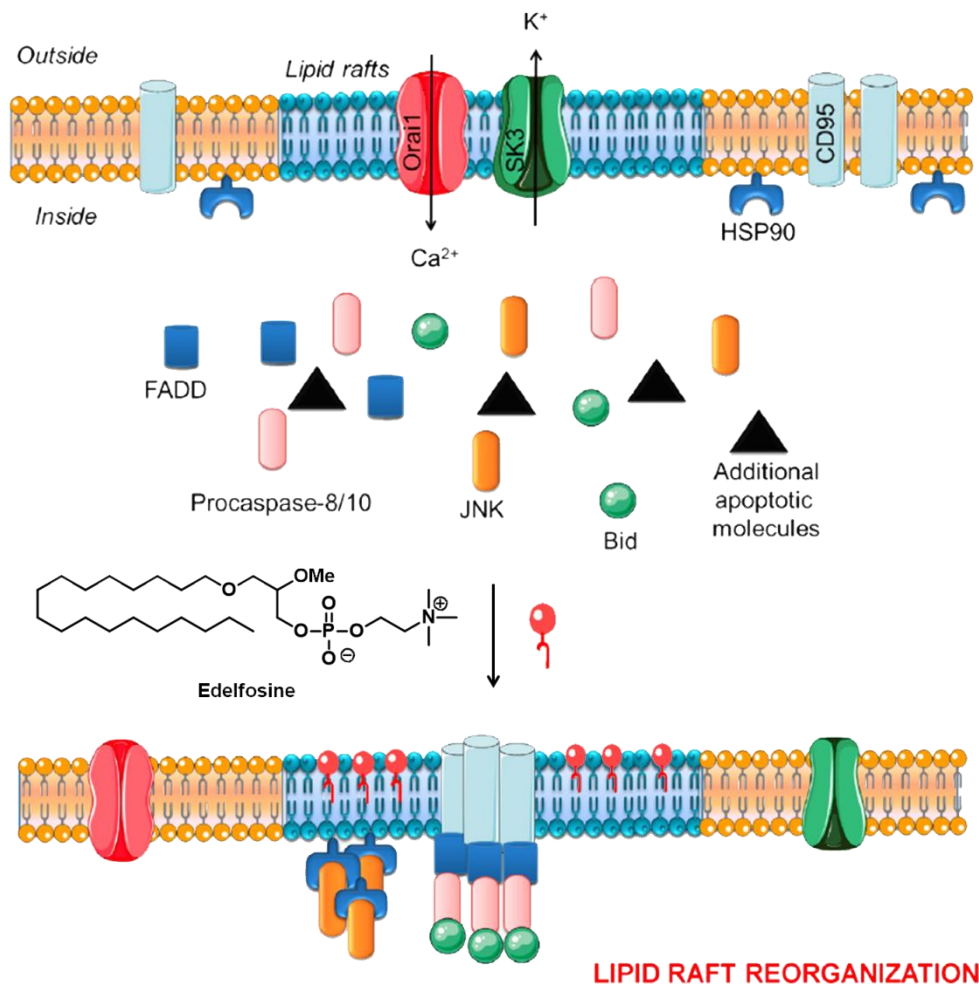


Figura 3. Formación del CASMER y reorganización de SK3-Orai1 en el tratamiento con edelfosina.

Además, la edelfosina es capaz de impedir la activación de PI3K de los lípidos raft y, por tanto, no permite que la proteína quinasa Akt se ancle a la membrana y pueda

fosforilar sus sustratos, inhibiendo así la ruta de supervivencia celular, promoviendo la apoptosis¹⁰ (Figura 4).

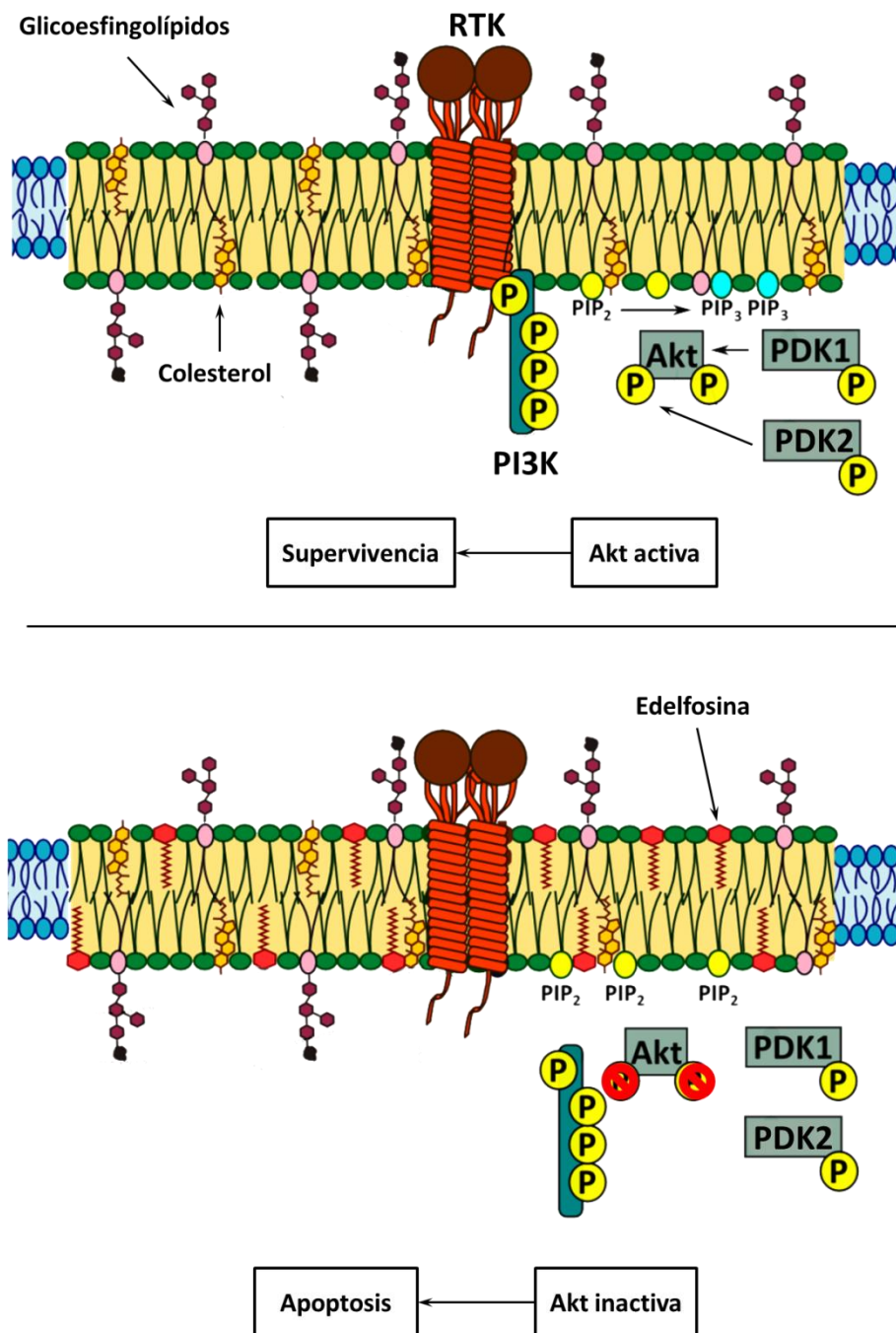


Figura 4. Esquema de actuación de los lípidos raft en la señalización de Akt durante el tratamiento con edelfosina.

Otra acción antitumoral de la edelfosina es que provoca un estrés tanto en el retículo endoplasmático como en la mitocondria, acumulándose en la membrana de estos orgánulos e induciendo la apoptosis mediante complicadas cascadas de señalización.

La actividad antimetastásica de la edelfosina se debe a que inhibe selectivamente el canal de potasio activado por calcio de baja conductancia SK3. Este canal se encuentra en los lípidos rafts de células tumorales y juega un papel importante en las vías de señalización en las que interviene el calcio. En cánceres como el melanoma o el carcinoma urotelial se ha demostrado que este canal es el responsable de la migración de células tumorales y, en definitiva, de la metástasis.^{11,12}

SK3 actúa acoplado al canal de calcio Orai1. Este complejo no se ha observado en células normales, y parece específico de células cancerígenas. La edelfosina es capaz de desplazar el complejo SK3-Orai1 de los lípidos rafts inhibiendo así la migración celular¹⁰ (Figura 3).

1.3 Estudios preclínicos de edelfosina

Los estudios preclínicos realizados tanto *in vitro* como *in vivo* reflejan que la edelfosina es un eficiente antitumoral y es selectiva para células tumorales, además de que inhibe la metástasis.^{13,14}

Estudios toxicológicos preclínicos en ratones prueban que la edelfosina carece aparentemente de toxicidad cardíaca, hepática, renal o estomacal a la dosis de 40 mg/kg.¹⁵ No obstante, a dosis más altas presenta toxicidad gastrointestinal, siendo la DL₅₀ de 120 mg/kg cuando se administra por vía oral.¹⁶

Existen estudios que presentan formulaciones de edelfosina en forma de nanopartículas lipídicas que parecen proteger de la toxicidad inherente de la edelfosina, haciendo que carezca de toxicidad a la dosis de 130 mg/kg, lo que hace de estas nanopartículas un vehículo seguro para administrar la edelfosina por vía oral.¹⁶ Además, la encapsulación de la edelfosina en nanopartículas lipídicas hace que penetre mejor en leucemias resistentes a este fármaco.¹⁷

1.4 Antecedentes

En trabajos realizados anteriormente en el Departamento de Química Orgánica, se han sintetizado edelfosina y sus análogos **1** y **2**, además de los bioconjugados **3** y **4**^{18,19} (Figura 5).

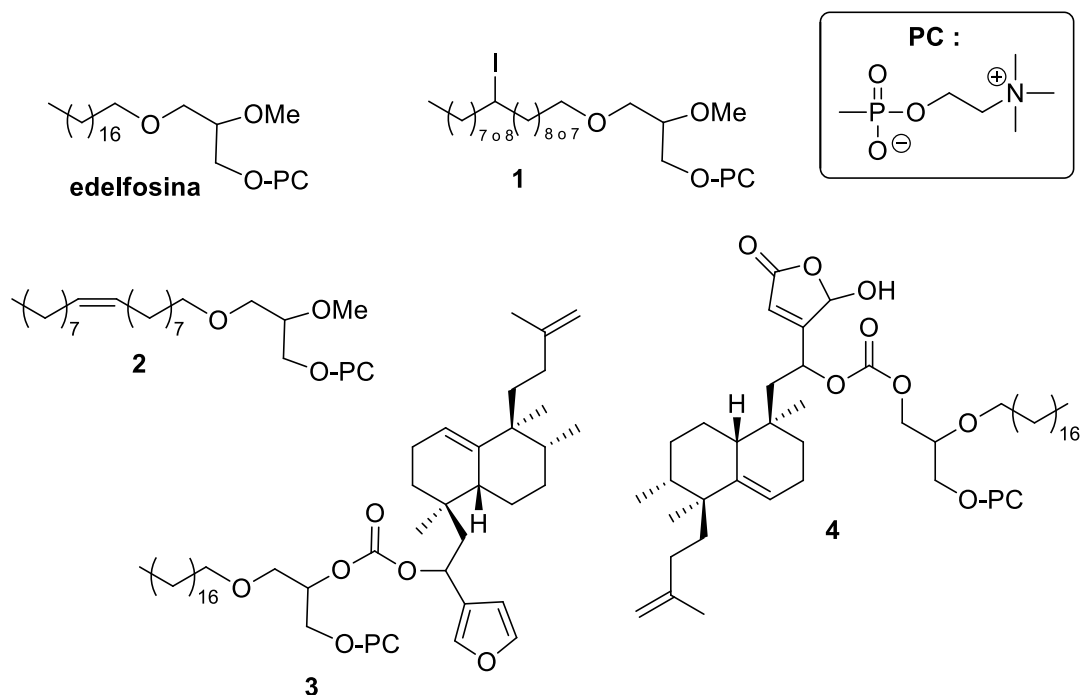


Figura 5. Edelfosina, análogos y bioconjugados sintetizados anteriormente.

Se ha comprobado que los compuestos yododerivados análogos de edelfosina son potentes agentes antitumorales y, además, presentan la ventaja de que se incorporan mejor en las células tumorales.¹⁸ Dicha propiedad resulta de gran interés en una posible aplicación terapéutica como agentes antitumorales; y, dado que permiten la introducción de yodo radiactivo,²⁰ posibilita su utilización como agente en radioterapia.

Estos trabajos forman parte de un Proyecto general de I+D+i titulado “*Lípidos rafts, cancer stem cells (CSCs) y microentorno tumoral inflamatorio en la terapia del cáncer: análogos alquifosfolípidos como agentes líder en la terapia dirigida a lípidos rafts*” (SAF 2014-59716-R) en el que se participa junto con el Dr. F. Mollinedo del CIB-CSIC-Madrid que se encarga de la evaluación y estudios biológicos de estas moléculas y las que se sintetizan en este trabajo.

2. Objetivos

Los objetivos de este trabajo se encuadran dentro de un proyecto cuyo objetivo final es la síntesis de nuevos ATLs análogos de edelfosina y miltefosina. En la figura 6 se muestran algunos análogos de edelfosina:

- Con heteroátomos en la cadena alquílica (**5**, **7**, **8**, **9**, **10** y **11**), la cual puede ser parcialmente modificada sin pérdida de actividad tumoral.¹⁴
- Con isótopos radiactivos en la cadena alquílica (**6**), que se podrían utilizar en radioterapia del cáncer.²⁰
- Con marcadores fluorescentes en la cadena alquílica (**12**). Tanto estos análogos como los anteriores podrían utilizarse para la investigación de la trazabilidad de estos compuestos en la célula y para diagnóstico de tumores *in vivo*.²¹

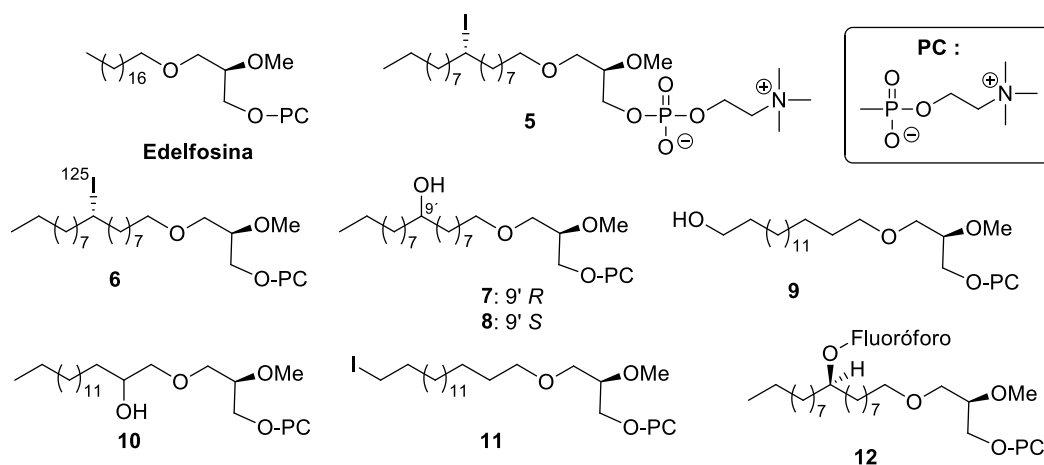
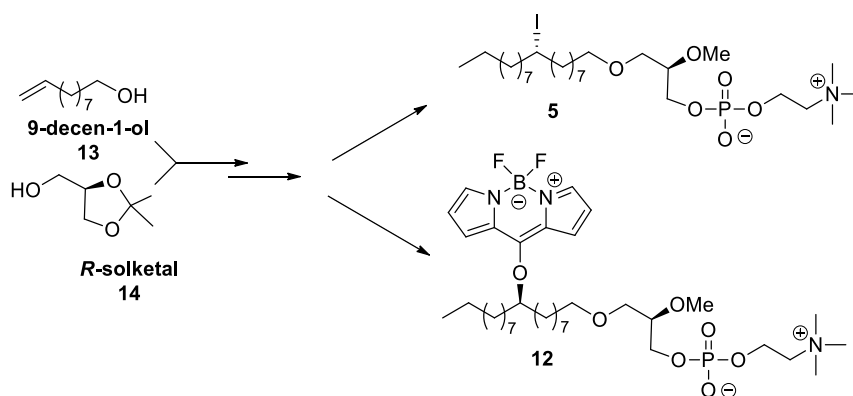


Figura 6. Nuevos análogos de edelfosina.

Como objetivo concreto de este trabajo se realizará la síntesis de **5** y una aproximación sintética de **12**, a partir de 9-decen-1-ol (**13**) y *R*-solketal (**14**) (Esquema 1).



Esquema 1: Esquema sintético simplificado para la síntesis de los análogos **5** y **12**.

3. Metodología

3.1 Instrumentación

Rotaciones específicas ($[\alpha]_D^{20}$)

Se midieron en un polarímetro digital Perkin-Elmer 241 en cubetas de 1 dm de paso óptico, en la línea de emisión del sodio a 20 °C. La concentración a la que se realizó la medida y el disolvente empleado se especifican en cada caso.

Espectroscopia de IR

Las medidas se realizaron usando un espectrofotómetro Shimadzu IR Affinity-1 en película sobre cristales de NaCl.

Espectrometría de masas

Las medidas se llevaron a cabo en un espectrómetro de cuadrupolo-tiempo de vuelo (QTOF) Applied Biosystems QSTAR XL. Dispone de sondas de electrospray, APCI y fotospray, pudiendo trabajar en modo positivo y negativo. Es capaz de determinar la masa exacta de un compuesto, con un margen de error de 0.0005%.

Espectroscopia de RMN

Experimentos unidimensionales de ^1H y ^{13}C

Se ha usado un espectrómetro VARIAN 200 (200 MHz ^1H y 50 MHz ^{13}C) y también un espectrómetro BRUKER AVANCE 400 MHz DRX (400 MHz ^1H y 100 MHz ^{13}C), equipado con una sonda de detección inversa con bobina de gradientes y sonda $^1\text{H}/^{13}\text{C}$.

El disolvente habitual usado para realizar los espectros fue CDCl_3 , cuyas referencias respecto al disolvente residual CHCl_3 son 7.26 ppm en ^1H y 77.0 ppm en ^{13}C . Los desplazamientos químicos (δ) se expresan en ppm y las constantes de acoplamiento (J), en Hz.

La multiplicidad de los carbonos se obtiene aplicando una secuencia de pulsos DEPT (Distorsionless Enhancement by Polarization Transfer). Esta secuencia distingue los carbonos protonados CH , CH_2 y CH_3 usando pulsos de protón a través del desacoplador de 90° y 135°.

Experimento bidimensional $^1\text{H}/^{13}\text{C}$: HMQC

Estos experimentos que nos proporcionan información acerca de la correlación heteronuclear $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ a un enlace se obtienen usando la secuencia rutinaria Bruker inv4gs.

Experimento bidimensional $^1\text{H}/^{13}\text{C}$: HMBC

Para conocer las correlaciones a larga distancia, 2 o 3 enlaces, se viene usando la secuencia de pulsos inv4gslprnd.

Espectrofotometría UV/Vis

Para las medidas de absorbancia se ha utilizado un espectrofotómetro Shimadzu UV–2401(PC) de doble haz con portacubetas CSP–240 y seis celdas termostatadas por sistema Peltier. Se manejaron cubetas de cuarzo Hellma, 110QS, de 1 cm de paso óptico.

Espectrofluorimetría

Para la adquisición del espectro de emisión se ha utilizado un espectrofluorímetro Shimadzu RF-5301PC con baño termostatado utilizando cubetas de cuarzo Hellma 110 QS de 1cm de paso óptico, midiendo la cantidad de radiación emitida a 90° del haz de radiación de excitación de una longitud de onda determinada.

3.2 Técnicas generales cromatográficas

Cromatografía en capa fina (CCF)

Se realizan sobre placas de gel de sílice Merck (60 F₂₅₄) de 0.2 mm de espesor. Para revelarlas se sumergen en una disolución de molibdato amónico en $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}$ al 0.05/1 p/v, y posteriormente se someten a un calentamiento a 120°C durante unos segundos.

Las sustancias que presentan fluorescencia son visualizadas por iluminación con luz ultravioleta de $\lambda = 254\text{ nm}$ y $\lambda = 336\text{ nm}$ antes de ser reveladas.

Cromatografía en columna (CC)

Se lleva a cabo usando una columna de vidrio, empaquetando con gel de sílice Merck-60. Se disponen de dos tipos de sílice. Dependiendo del tamaño de partícula se tiene gel de sílice normal con un tamaño de partícula de 0.200-0.063 mm, y gel de sílice flash

con un tamaño de partícula de 0.063-0.040 mm, que necesita de la aplicación de presión adicional. La relación de sílice usada va desde 20 g a 100 g de gel de sílice por gramo de sustancia.

La elución se realiza usando disolventes y mezclas de disolventes de polaridad creciente (generalmente son mezclas *n*-hexano/AcOEt o *n*-hexano/éter) y la composición de cada una de las fracciones se sigue usando CCF.

3.3 Purificación de reactivos y disolventes

Acetato de etilo (AcOEt): Se destila y se almacena con CaCl₂.

Acetona (Me₂CO): Se somete a ebullición sobre KMnO₄ y se destila.

Anhídrido acético (Ac₂O): Se destila a partir del producto comercial.

Benceno (C₆H₆): Se destila sobre Na y benzofenona bajo atmósfera de Ar. Se almacena con Na.

Cloroformo (CHCl₃): Se destila.

Diclorometano (CH₂Cl₂): Se destila sobre CaH₂ bajo atmósfera de Ar.

Éter (Et₂O): Se somete a ebullición sobre Na y se destila sobre Na y benzofenona.

***n*-Hexano (C₆H₁₄):** Se destila y almacena con CaCl₂.

Metanol (MeOH): Se destila.

Oxicloruro de fósforo (POCl₃): Se destila a vacío justo antes de cada uso.

Piridina (C₅H₅N): Se destila sobre BaO y se almacena con KOH.

Tetrahidrofurano (THF): Se somete a ebullición sobre Na y se destila sobre Na y benzofenona.

Tolueno (PhCH₃): Se almacena con Na.

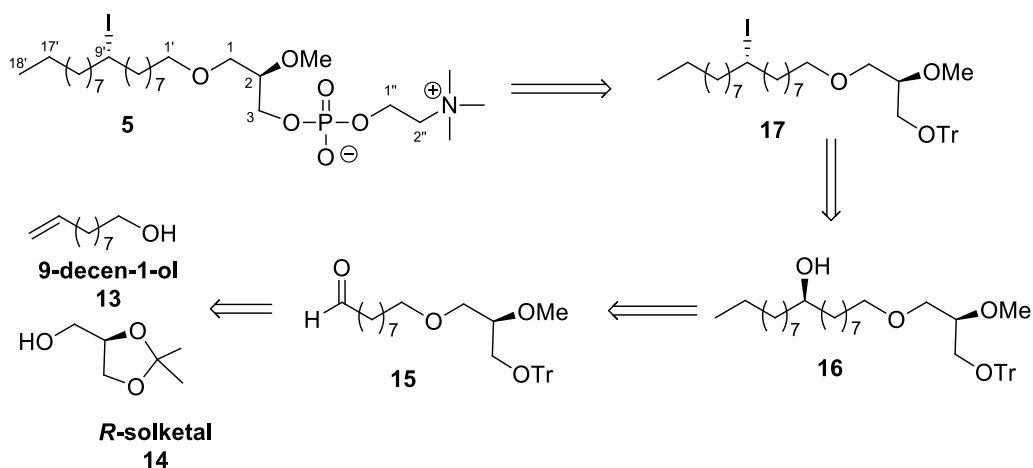
4. Discusión de resultados

Los resultados obtenidos en este trabajo se dividirán en dos apartados.

En primer lugar se describe la síntesis de **5** y, a continuación, se desarrollarán los resultados de la aproximación sintética del análogo fluorescente **12**. Los compuestos sintetizados en este trabajo serán enviados al Dr. F. Mollinedo del CIB-CSIC-Madrid para la evaluación biológica de su actividad antitumoral.

4.1 Síntesis de **5**

La síntesis del análogo de edelfosina **5** se desarrollará de acuerdo con el siguiente esquema retrosintético (Esquema 2):



Esquema 2. Retrosíntesis de **5**.

El acceso a **5** desde el intermedio **17** requiere la desprotección de C-3 y la instalación de la unidad de fosfolina en dicha posición.

Es posible acceder al yododerivado **17** desde el aldehído **15** usando el hidroxiderivado **16** como intermedio. El control del centro estereogénico de la cadena alquílica se realizará utilizando (-)-TADDOL como inductor asimétrico. Para transformar **16** en **17** se requiere utilizar un tosilato o análogo como intermedio sintético.

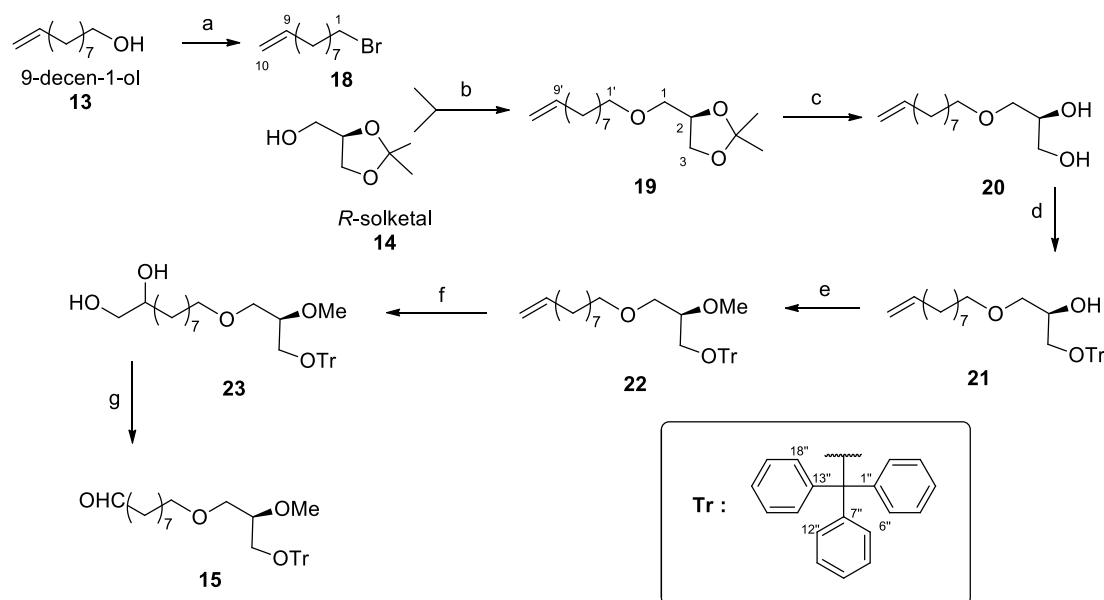
El aldehído **15** puede conseguirse partiendo de los productos comerciales **13** y **14**.

El desarrollo de la síntesis de **5** se dividirá en cuatro apartados:

- Síntesis del aldehído **15**
- Síntesis del hidroxiderivado **16**
- Obtención del yododerivado **17**
- Obtención del análogo yodado **5**

Síntesis del aldehído 15

Por reacción de **13** con tetrabromuro de carbono en presencia de trifenilfosfina se obtiene el bromoderivado **18** (Esquema 3). En el espectro IR de **18** no aparece la banda correspondiente al grupo hidroxilo.



Esquema 3. a) CBr_4 , PPh_3 , DCM , 0°C , 2 h/ t.a., 18 h, 99%. b) NaNH_2 , PhCH_3 , 110°C , 4 h, 82%. c) $p\text{-TsOH}$, MeOH , H_2O , 40°C , 8 h, 94%. d) TrCl , Pir , 115°C , 3 h, 81%. e) NaH , THF , 75°C , 2 h, MeI , t.a., 4 h, 99%. f) OsO_4 , NMO , $t\text{-BuOH/THF/H}_2\text{O}$ 7/2/1, t.a., 24 h, 98%. g) LTA , C_6H_6 , t.a., 30 min, 99%.

Por calentamiento de **14** con amido de sodio y posterior reacción con **18** se consigue el alquil-solketal derivado **19**. En el espectro de RMN^1H de **19**, en la región de hidrógenos geminales a funciones oxigenadas (4.0-3.2 ppm), aparecen señales correspondientes a 7 hidrógenos y además se observan las señales correspondientes al grupo vinilo terminal: 5.78 ppm (1H, ddt, $J = 17.0, 10.2, 6.0$ Hz, H-9'), 5.01-4.86 ppm (2H, m, H-10').

La reacción de **19** con ácido p -toluensulfónico proporciona el diol **20**. En el espectro IR de **20** se observa una banda ancha a 3400 cm^{-1} correspondiente a los grupos hidroxilo.

La necesaria protección regioselectiva del hidroxilo primario de **20** se consigue mediante tratamiento con cloruro de tritilo (cloruro de trifenilmetano) en piridina, obteniéndose **21**. Efectivamente, se consigue la monoprotección regioselectiva del hidroxilo primario, que se puede corroborar observando los espectros RMN^1H de **20** y **21**. En el espectro de **20** los hidrógenos de C-3 aparecen a 3.68-3.55 ppm como un

multiplete, mientras que en el espectro de **21**, aparecen apantallados como un doblete a 3.20 ppm. Además, se observa entre 7.5-7.2 ppm la presencia de 15 hidrógenos correspondientes a los tres anillos aromáticos del grupo tritilo.

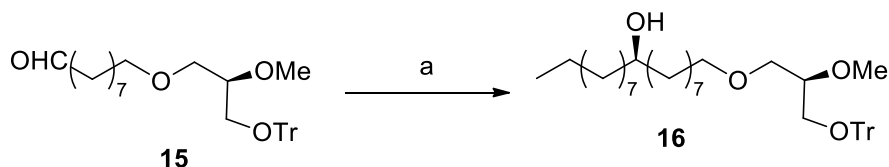
La metilación de **21** se realiza por reacción con hidruro de sodio, seguido de tratamiento con yoduro de metilo, obteniéndose **22**. En el espectro RMN ^1H de **22** se observa la señal a 3.42 ppm (3H, s, -OMe) que corresponde al grupo metoxilo.

Por tratamiento de **22** con tetraóxido de osmio y *N*-óxido de *N*-metilmorfolina se consigue la *cis*-hidroxilación del doble enlace, obteniéndose **23**. En el espectro RMN ^1H de **23** se observan señales entre 3.6-3.2 ppm correspondientes a 10 hidrógenos geminales a funciones oxigenadas. Además, se observa en su espectro IR una banda ancha a 3400 cm^{-1} correspondiente a los grupos hidroxilo.

Por reacción de **23** con tetraacetato de plomo (LTA) se consigue la oxidación del glicol, obteniéndose el aldehído **15**. En el espectro RMN ^1H se observa la señal: 9.76 ppm (1H, t, $J = 1.8\text{ Hz}$, H-9') característica del grupo formilo.

Obtención del hidroxiderivado **16**

Por reacción de **15** con bromuro de nonilmagnesio, se consigue la adición de una cadena alquílica de 9 carbonos al aldehído, obteniéndose el hidroxiderivado **16** (Esquema 4).

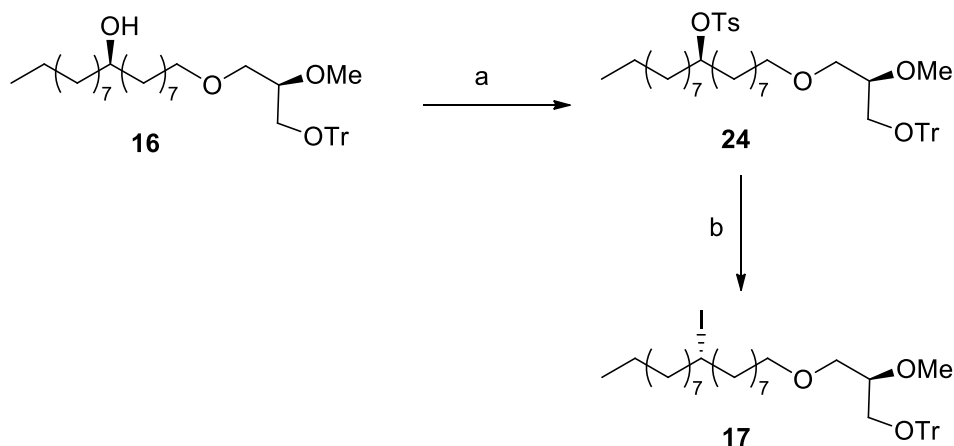


Esquema 4. a) $\text{C}_9\text{H}_{19}\text{MgBr}$, (-)-TADDOL, THF, $-90\text{ }^\circ\text{C}$, 17 h, 55 %.

Esta reacción se puede hacer estereoselectiva usando un inductor asimétrico como es el (-)-TADDOL²², que conducirá al producto **16**, con configuración absoluta 9'R. Del mismo modo, usando (+)-TADDOL se conseguirá el producto **16'**, cuya configuración en el C-9' sería *S*, hipotético intermedio epímero en C-9' del producto final **5**. En el espectro RMN ^1H de **16** se observa la desaparición de la señal a 9.8 ppm y, en el espectro RMN ^{13}C se observa a 72.2 ppm la señal del carbono geminal al grupo hidroxilo secundario (C-9').

Preparación del yododerivado 17

Por reacción de **16** con cloruro de *p*-toluensulfonilo, se forma el tosil-derivado **24** (Esquema 5), que sin purificación posterior se hace reaccionar con yoduro de sodio, obteniéndose el yododerivado **17**.



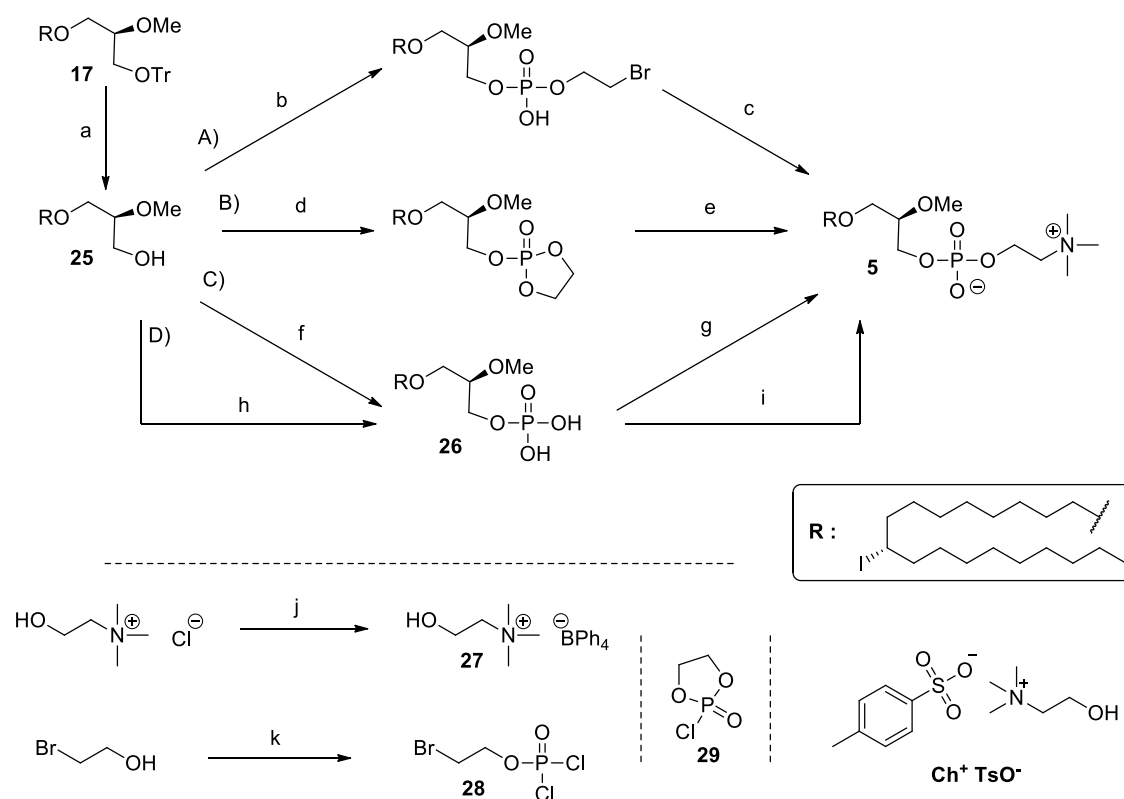
Esquema 5. a) TsCl, Pir, 0 °C, 24 h, 77%. b) NaI, acetona, 50 °C, 24 h, 71%.

En el espectro RMN ^{13}C de **17** se observan las señales: 40.6 ppm (C-9') y 40.7 ppm (C-8', 10') correspondientes al carbono geminal al yodo y los carbonos de los metilenos vecinos respectivamente.

Obtención del análogo yodado 5

Para la obtención del análogo yodado **5** desde **17** (Esquema 6) es necesario proceder a la desprotección del grupo tritilo, obteniendo **25**, y seguidamente incorporar la unidad de fosfocolina. La fosfocolina puede introducirse mediante secuencia de dos pasos. En el esquema 6 aparecen cuatro procedimientos que permiten realizar dicha transformación.

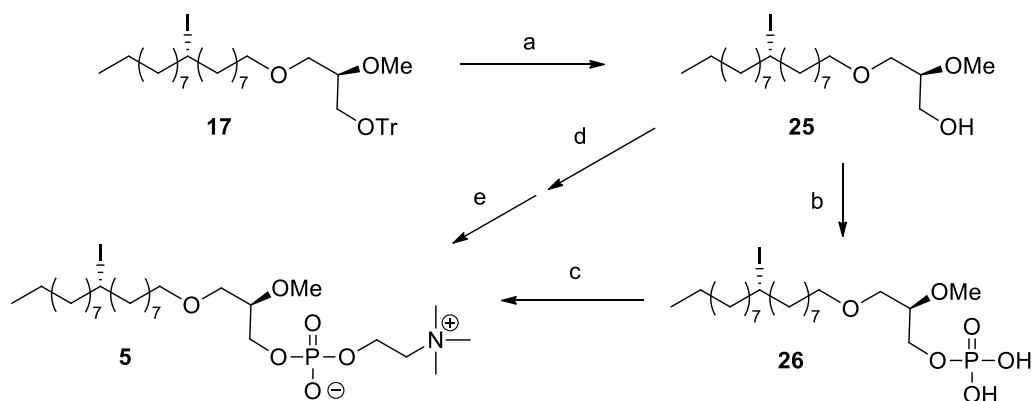
Discusión de resultados



Esquema 6. a) $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, CHCl_3 . b) **28**, Et_3N , CHCl_3 . c) Me_3N , C_6H_6 . d) **29**, Pir, C_6H_6 . e) Me_3N , CH_3CN , C_6H_6 . f) POCl_3 , Pir, THF. g) **27**, TPS, Pir. h) POCl_3 , Et_3N , DCM. i) Ch^+TsO^- , Pir, DCM. j) NaBPh_4 , H_2O . k) POCl_3 , tricloroetileno.

En trabajos anteriores ya habían sido utilizadas en el laboratorio de Química Orgánica las tres primeras rutas.¹⁸ En un principio se decidió seguir la ruta C, evitando la utilización de trimetilamina que resulta bastante desagradable por su olor. Para el desarrollo de dicha ruta (C) es necesario sintetizar previamente **27** (tetrafenilborato de colina), que se obtiene por reacción de tetrafenilborato sódico con cloruro de colina y se purifica por cristalización en acetonitrilo. (Esquema 6). En este trabajo también se ha ensayado la metodología de Pedersen y col.,²³ utilizando como base trietilamina y como sal de colina tosilato de colina. Además, en este caso no es necesaria la purificación del intermedio **26** ni la utilización de cloruro de triisopropilbencenosulfonilo (TPS).

Por reacción de **17** con trifluoruro de boro eterato, (Esquema 7) se consigue la desprotección C-3; obteniéndose **25**. En el espectro RMN ^1H y de ^{13}C de **25**, no se observan señales en la zona aromática correspondientes al grupo tritilo. En el espectro de masas, aparece un ion molecular de 749.3391 que corresponde a la fórmula molecular $\text{C}_{41}\text{H}_{59}\text{O}_3\text{INa}$ ($\text{M}+\text{Na}^+$).



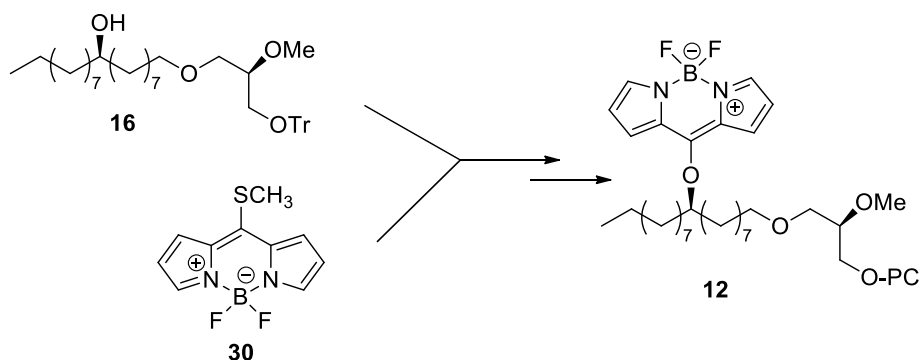
Esquema 7. a) $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, CHCl_3 , 0°C , 12 h, 99%. b) POCl_3 , Pir, THF, 0°C , 5h, 86%. c) **27**, TPS, Pir, 70°C , 1 h/ t.a., 3 h, 51%. d) POCl_3 , Et_3N , DCM, t.a., 40 min. e) Ch^+TsO^- , Pir, DCM, t.a., 19 h, 68%.

Por tratamiento de **25** con oxiclorigo de fósforo, se obtiene el ácido fosfórico **26**. Por calentamiento de **26** con tetrafenilborato de colina **27** recientemente obtenido se consigue el análogo yodado de la edelfosina **5**. (44% en los dos pasos)

El cuarto procedimiento ensayado en este trabajo permite acceder de modo directo desde **25** a **5** (Esquema 7). Por reacción de **25** con oxiclorigo de fósforo y trietilamina durante 40 minutos a temperatura ambiente, y añadiendo en el mismo balón de reacción tosilato de colina y piridina disueltos en diclorometano se consigue **5**, después de la correspondiente cromatografía. De este modo se consigue mejorar el rendimiento (68%).

4.2 Aproximación sintética de 12

Para llevar a cabo la aproximación sintética de **12** (Esquema 8) en primer lugar se realizará la síntesis del BODIPY **30** y a continuación se describirá su incorporación al intermedio **16** sintetizado anteriormente.



Esquema 8. Esquema sintético simplificado para la obtención del análogo fluorescente **12**.

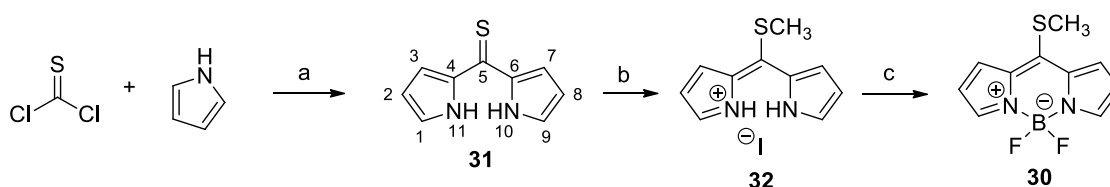
Síntesis del BODIPY 30

Las tecnologías de la fluorescencia tales como la fluorescencia de imagen y la fluorescencia de detección representan poderosas herramientas en diferentes campos científicos, especialmente en Medicina o en Bioquímica.²¹

Los métodos para conseguir imágenes intravitales basados en fluorescencia, han sido esenciales para el estudio de la función y distribución de pequeñas moléculas biológicamente activas y de sus dianas moleculares *in vivo*. Ahora pueden colgarse “etiquetas”, fluoróforos, a prácticamente cualquier biomolécula de interés, como proteínas, por ejemplo a anticuerpos, los cuales se acumulan en órganos específicos, obteniendo imágenes en animales y humanos.

El BODIPY (4,4-difluoro-4-boro-3a,4a-diaza-s-indaceno) representa un tipo de moléculas fluorescentes pequeñas que recientemente ha recibido un gran reconocimiento por su extraordinaria versatilidad como marcador fluorescente en aplicaciones de imágenes biológicas. Una ventaja del BODIPY frente a otros agentes fluorescentes comúnmente utilizados es la naturaleza neutra de su esqueleto, lo que hace que su penetración en la membrana celular sea excelente. De este modo los BODIPYs son uno de los pocos tipos de fluoróforos con los que se pueden conseguir imágenes intracelulares en células vivas.

De entre los múltiples derivados conocidos de BODIPY²⁴, en esta primera síntesis que realizamos de análogos de edelfosina marcados con fluoróforos, se ha elegido el 8-(metil-tio)-BODIPY **30** debido a sus propiedades fotofísicas (buen rendimiento cuántico y adecuada $\lambda_{\text{máx}}$ de emisión).²⁵ La síntesis de **30** se realizó partiendo de pirrol y tiofosgeno²⁶ (Esquema 9).



Esquema 9. a) Et₂O, PhCH₃, 1 h, 65%. b) MeI, DCM, t.a., 24 h, 91%. c) BF₃·OEt₂, Et₃N, DCM, 1 h, 91%.

Por reacción de pirrol con tiofosgeno, se obtiene la tiocetona **31**. Por tratamiento de **31** con yoduro de metilo en DCM, se consigue la metilación en el azufre, obteniéndose **32**.

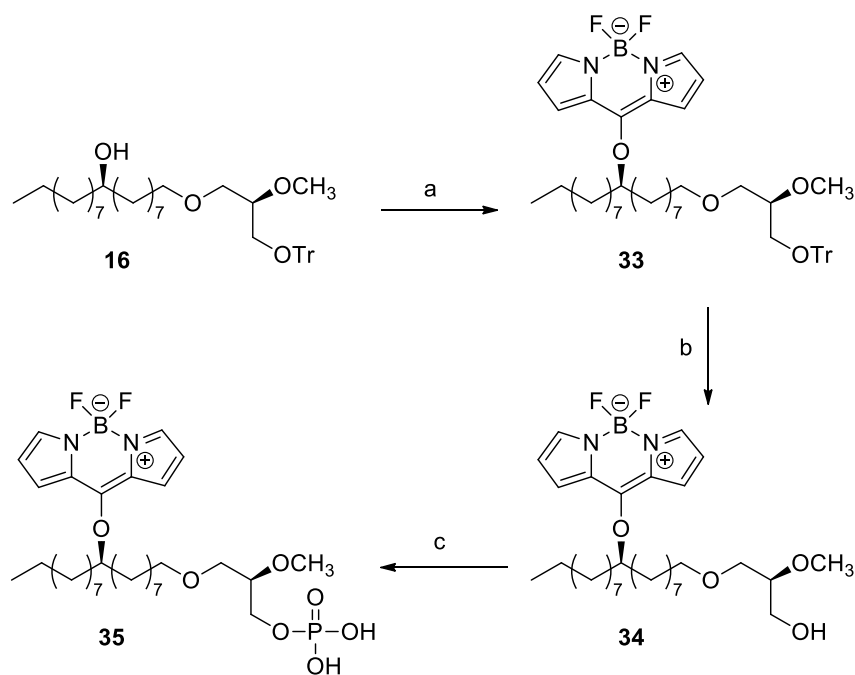
Discusión de resultados

En el espectro RMN ^1H , se observa la señal: 2.89 ppm (3H, s, -SMe) correspondiente a los hidrógenos del metilo unido al azufre.

Por reacción de **32** con trifluoruro de boro eterato, se obtiene el BODIPY **30**. En el espectro de masas aparece un ion molecular de 239.0620 que corresponde con la fórmula molecular $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{BN}_2\text{F}_2\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}^+$).

Aproximación sintética de **12**

La preparación de un intermedio avanzado para la síntesis **12** se llevó a cabo siguiendo el Esquema 10, con reacciones análogas a las realizadas en la síntesis de **5**. Por reacción de **16** con **30** en presencia de CuTC (tiofeno-2-carboxilato de cobre (I))²⁷, se consigue el anclaje del BODIPY a la cadena alquílica, obteniéndose **33** (ion molecular de 829.4898 correspondiente a la fórmula: $\text{C}_{50}\text{H}_{65}\text{BN}_2\text{O}_4\text{F}_2\text{Na}$ ($\text{M}+\text{Na}^+$)).

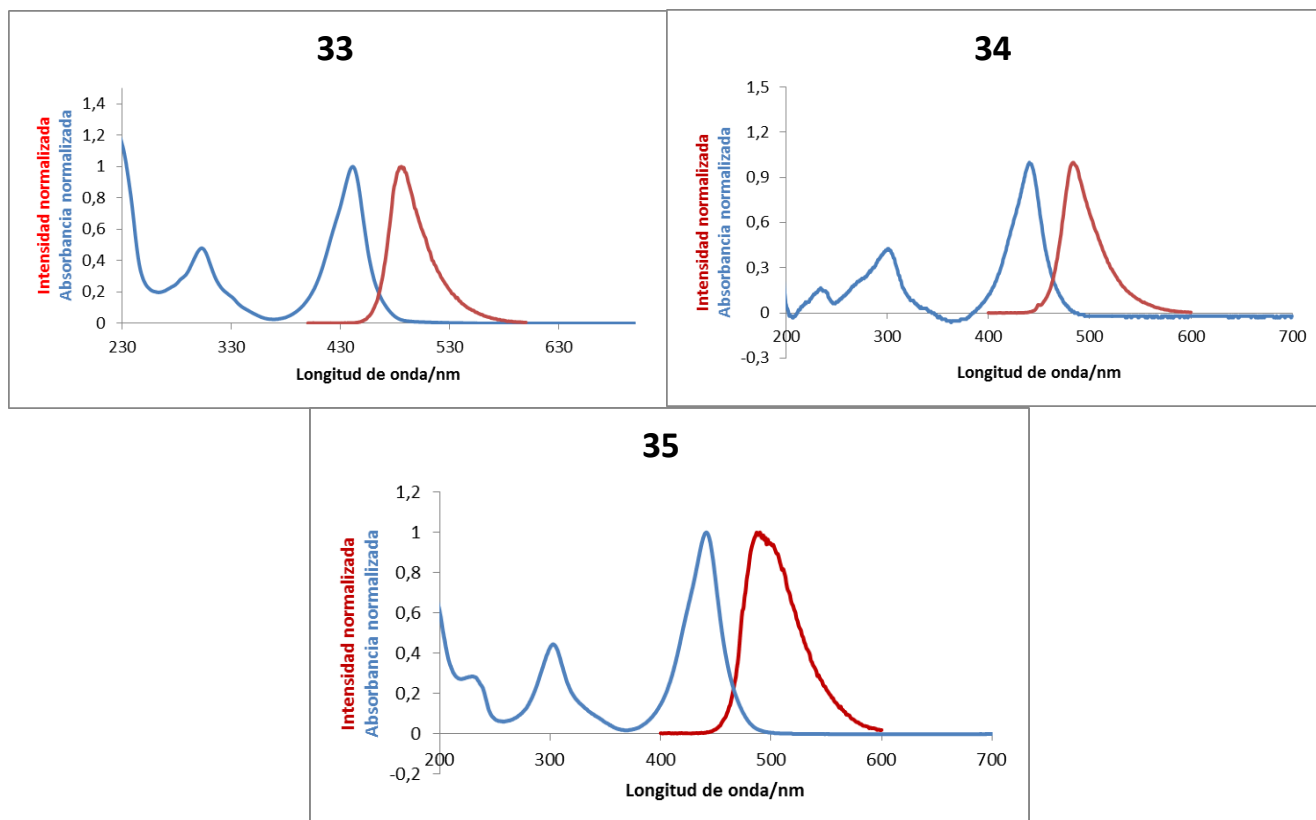


Esquema 10. a) **30**, CuTC, Na_2CO_3 , CH_3CN , 55°C , 12 h, 73%. b) $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, CHCl_3 , 0°C , 12 h, 99%. c) POCl_3 , Pir, THF, 0°C , 5 h, 75%.

La desprotección de **33** se realiza por reacción con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, obteniéndose **34** (ion molecular de 587.3802 que corresponde a la fórmula $\text{C}_{31}\text{H}_{51}\text{BN}_2\text{O}_4\text{F}_2\text{Na}$ ($\text{M}+\text{Na}^+$)) con buen rendimiento. La reacción de **34** con POCl_3 conduce al ácido fosfatídico **35** (ion molecular de 689.3284 que corresponde a la fórmula $\text{C}_{31}\text{H}_{51}\text{BN}_2\text{O}_7\text{F}_2\text{PN}_2$ ($\text{M}-\text{H}^++2\text{Na}^+$)), que constituye un intermedio avanzado en la síntesis de **12**.

Discusión de resultados

En la Tabla 1 aparecen las características fotofísicas de los compuestos derivados de BODIPY **33**, **34** y **35**. En azul se muestra el espectro de UV/Vis y en rojo el espectro de fluorescencia.*



Compuesto	$\lambda_{\text{abs}}(\text{máx})/\text{nm}$	$\lambda_{\text{em}}(\text{máx})/\text{nm}$	$\epsilon/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$
33	441	486	1635
34	440	484	7384
35	441	490	14025

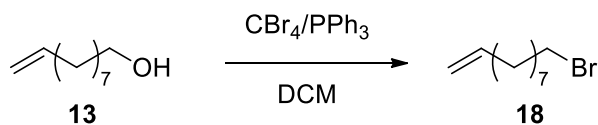
Tabla 1. Datos de fluorescencia obtenidos de los intermedios **33**, **34** y **35**.

*Gracias a los Drs. Emilio Calle Martín y Julio Casado Linarejos por la ayuda prestada en el uso de los equipos espectrofotométricos.

5. Parte experimental

5.1 Síntesis de 5

5.1.1 Bromación de 9-decen-1-ol: 18



A una disolución de **13** (1.31 g, 8.38 mmol) en DCM (14 mL) a 0 °C se añade lentamente CBr₄ (2.79 g, 8.38 mmol) y PPh₃ (3.30 g, 12.57 mmol) y se agita durante 2 h a dicha temperatura y 18 h a temperatura ambiente. Después se filtra sobre celita, se evapora el disolvente y el producto se cromatografía sobre 20 g de gel de sílice. Eluyendo con hexano se separa **18** (1.82 g, 99%).

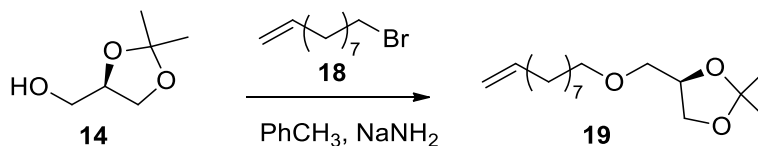
1-bromodec-9-eno: 18

Espectro IR ν_{max} cm⁻¹ 3076, 2928, 2854, 1458, 1244, 993, 910, 723, 646, 563.

Espectro RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ ppm) 5.80 (1H, ddt, $J = 17.2, 10.2$ y 6.9 Hz, H-9), 4.98 (1H, d, $J = 17.2$ Hz, H_a-10), 4.93 (1H, d, $J = 10.2$ Hz, H_b-10), 3.39 (2H, t, $J = 6.9$ Hz, H-1), 2.03 (2H, q, $J = 6.9$ Hz, H-8), 1.84 (2H, quin., $J = 6.9$ Hz, H-2), 1.45-1.34 (4H, m, H-3 y 7), 1.30 (6H, s, H-4, 5 y 6).

Espectro RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ ppm) 139.0 (C-9), 114.2 (C-10), 33.9 (C-1), 33.7 (C-8), 32.8 (C-2), 29.2-28.1 (C-3-7).

5.1.2 Reacción de 18 con *R*-solketal: 19



A una disolución de **14** (858 mg, 6.49 mmol) en PhCH₃ seco (12.8 mL), se adiciona lentamente NaNH₂ (253 mg, 6.49 mmol). Se calienta a reflujo en atmósfera de Ar durante 1 h. Tras ese tiempo, se deja enfriar y se añade gota a gota una disolución de **18** (1.42 g, 6.49 mmol) en PhCH₃. Se vuelve a calentar a reflujo durante 3 h más. Se enfría y se añade hielo y una disolución saturada de NH₄Cl. Se extrae con AcOEt y se lava con H₂O y una disolución saturada de NaCl. Después se seca con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y

Parte experimental

se evapora el disolvente. Se cromatografía sobre 20 g de gel de sílice. Al eluir con Hex/AcOEt 95:5 se aísla **19** (1.43 g, 82%).

1-O-(dec-9-en-1-il)-2*R*,3-isopropilidenglicerol: 19

$$[\alpha]_D^{20} = -4.2 \text{ (c = 0.96, CHCl}_3\text{)}$$

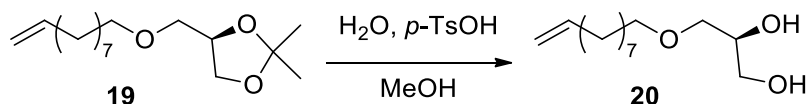
Espectro IR ν_{\max} cm⁻¹ 3076, 2986, 2927, 2856, 1641, 1369, 1213, 1119, 910, 847.

Espectro RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃, δ ppm) 5.78 (1H, ddt, $J = 17.0, 10.2, 6.0$ Hz, H-9'), 5.01-4.86 (2H, m, H-10'), 4.23 (1H, quin., $J = 6.0$ Hz, H-2), 4.06-3.66 (2H, m, H-3), 3.53-3.34 (4H, m, H-1 y 1'), 2.01 (2H, q, $J = 6.0$ Hz, H-8'), 1.55 (2H, quin., $J = 6.0$ Hz, H-2'), 1.49-1.28 (10H, m, H-3'-7'), 1.40 y 1.34 (3H, s, cada uno, CMe₂).

Espectro RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃, δ ppm) 139.3 (C-9'), 114.3 (C-10'), 109.5 (CMe₂), 74.9 (C-2), 72.05 (C-3), 72.03 (C-1), 67.1 (C-1'), 34.0 (C-8'), 29.8 (C-2'), 29.6-26.24 (C-3'-7'), 27.0 y 25.6 (CMe₂).

ESI-HRMS C₁₆H₃₁O₃ (M+H⁺): calc.: 271.2273 u, obs.: 271.2266 m/z , $\Delta = 2.6$ ppm.

5.1.3 Reacción de **19** con *p*-TsOH: **20**



A una disolución de **19** (1.55 g, 5.74 mmol) en MeOH (16.5 mL) se añade *p*-TsOH (1.08 g, 5.74 mmol) y 0.1 mL de H₂O. Se calienta a 40 °C y se deja agitando a reflujo 8 h. Se añade H₂O y se extrae con AcOEt; después se lava con NaHCO₃ 6% y H₂O. Se seca con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora el disolvente. Se obtiene **20** (1.25 g, 94%).

1-O-(dec-9-en-1-il)-2*S*-glicerol: 20

$$[\alpha]_D^{20} = +1.6 \text{ (c = 1.3, CHCl}_3\text{)}$$

Espectro IR ν_{\max} cm⁻¹ 3396, 3076, 2926, 2855, 1641, 1463, 1119, 1047, 993, 908.

Espectro RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ ppm) 5.78 (1H, ddt, $J = 17.0, 10.2, 6.6$ Hz, H-9'), 4.96 (1H, d, $J = 17.0$ Hz, H_a-10'), 4.90 (1H, d, $J = 10.2$ Hz, H_b-10'), 3.83 (1H,

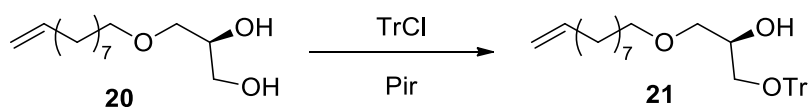
Parte experimental

quin., $J = 5.8$ Hz, H-2), 3.68-3.55 (2H, m, H-3), 3.46-3.41 (4H, m, H-1 y 1'), 2.01 (2H, q, $J = 6.6$ Hz, H-8'), 1.55-1.51 (2H, m, H-2'), 1.39-1.26 (10H, m, H-3'-7')

Espectro RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , δ ppm) 139.1 (C-9'), 114.1 (C-10'), 72.2 (C-1), 71.7 (C-1'), 70.6 (C-2), 64.1 (C-3), 33.7 (C-8'), 29.5 (C-2'), 29.3-26.0 (C-3'-7').

ESI-HRMS $\text{C}_{13}\text{H}_{26}\text{O}_3\text{Na}$ ($\text{M}+\text{Na}^+$): calc.: 253.1779 u, obs.: 253.1778 m/z , $\Delta = 0.4$ ppm.

5.1.4 Reacción de **20** con TrCl: **21**



Sobre una disolución de **20** (0.78 g, 3.39 mmol) en piridina (7.5 mL) se añade TrCl (1.18 g, 4.23 mmol) y se calienta a reflujo con agitación durante 3 h en atmósfera de Ar. Después se enfría, se añade H_2O y se extrae con AcOEt. Se lava con HCl 2 M, NaHCO_3 6% y NaCl saturado. Se seca con Na_2SO_4 anhidro, se filtra y se evapora el disolvente. Se cromatografía sobre 30 g de gel de sílice. Al eluir con Hex/AcOEt 95:5 se separa **21** (1.29 g, 81%).

1-O-(dec-9-en-1-il)-3-O-trifenilmetil-2R-glicerol: **21**

$$[\alpha]_D^{20} = +1.8 \text{ (c = 1.6, CHCl}_3\text{)}$$

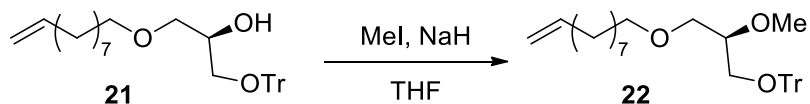
Espectro IR ν_{max} cm^{-1} 3445, 3059, 3024, 2926, 2854, 1958, 1639, 1597, 1491, 1449, 1117, 1076, 991, 901, 764, 704, 633.

Espectro RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 , δ ppm) 7.46-7.20 (15H, m, $-\text{CPh}_3$), 5.82 (1H, ddt, $J = 17.0, 10.2, 6.6$ Hz, H-9'), 5.05-4.90 (2H, m, H-10'), 4.00-3.89 (1H, m, H-2), 3.58-3.40 (4H, m, H-1 y 1'), 3.20 (2H, d, $J = 5.6$ Hz, H-3), 2.04 (2H, q, $J = 6.6$ Hz, H-8'), 1.57-1.51 (2H, m, H-2'), 1.40-1.28 (10H, m, H-3'-7').

Espectro RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 , δ ppm) 144.1 (C-1'', 7'' y 13''), 139.5 (C-9'), 128.9 (C-3'', 5'', 9'', 11'', 15'', 17''), 128.1 (C-2'', 6'', 8'', 12'', 14'', 18''), 127.3 (C-4'', 10'', 16''), 114.4 (C-10'), 86.8 ($-\text{CPh}_3$), 72.3 (C-1), 71.9 (C-1'), 70.1 (C-2), 64.8 (C-3), 34.1 (C-8'), 29.9 (C-2'), 29.7-26.3 (C-3'-7').

ESI-HRMS C₃₂H₄₀O₃Na (M+Na⁺): calc.: 495.2875 u, obs.: 495.2873 *m/z*,
Δ = 0.4 ppm.

5.1.5 Reacción de **21** con MeI: **22**



A una disolución de **21** (1.29 g, 2.73 mmol) en THF (5.6 mL) se añade rápidamente NaH (60%) (164 mg, 4.09 mmol). Se calienta a reflujo a 75 °C, en atmósfera de Ar, durante 2 h. Se añade MeI (1.94 g, 13.65 mmol) gota a gota, se deja 4 h a temperatura ambiente y se añade hielo lentamente pasado ese tiempo. Posteriormente se extrae con AcOEt y se lava con HCl 2 M, H₂O y NaCl saturado. Se seca con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora el disolvente. Se cromatografía sobre 20 g de gel de sílice. Eluyendo con Hex/AcOEt 97:3 y 9:1 se obtiene **22** (1.31 g, 99%).

1-O-(dec-9-en-1-il)-2R-O-metil-3-O-trifenilmetilglicerol: **22**

$$[\alpha]_D^{20} = +9.0 \text{ (c = 0.97, CHCl}_3\text{)}$$

Espectro IR ν_{\max} cm⁻¹ 3059, 3032, 2926, 2855, 1958, 1728, 1639, 1491, 1449, 1358, 1317, 1221, 1090, 908, 764, 706, 633.

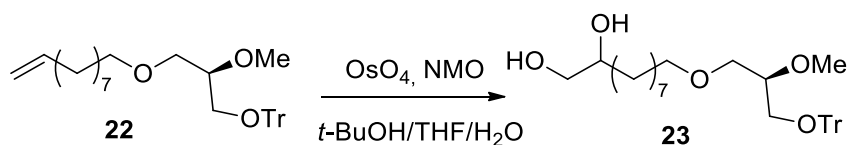
Espectro RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃, δ ppm) 7.49-7.16 (15H, m, -CPh₃), 5.82 (1H, ddt, *J* = 17.0, 10.2, 6.6 Hz, H-9'), 5.04-4.91 (2H, m, H-10'), 3.61-3.38 (5H, m, H-1, 1' y 2), 3.42 (3H, s, -OMe), 3.21 (2H, d, *J* = 5.6 Hz, H-3), 2.04 (2H, q, *J* = 6.6 Hz, H-8'), 1.56-1.53 (2H, m, H-2'), 1.28 (10H, s ancho, H-3'-7').

Espectro RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃, δ ppm) 144.4 (C-1'', 7'' y 13''), 139.4 (C-9'), 129.0 (C-3'', 5'', 9'', 11'', 15'', 17''), 128.0 (C-2'', 6'', 8'', 12'', 14'', 18''), 127.2 (C-4'', 10'', 16''), 114.4 (C-10'), 86.9 (-CPh₃), 80.2 (C-2), 72.0 (C-1), 71.2 (C-1'), 63.2 (C-3), 58.4 (OMe), 34.1 (C-8'), 29.9 (C-2'), 29.7-26.3 (C-3'-7').

ESI-HRMS C₃₃H₄₂O₃Na (M+Na⁺): calc.: 509.3032 u, obs.: 509.3022 *m/z*,
Δ = 1.9 ppm.

En los compuestos que aparece † la numeración sistemática de la nomenclatura no corresponde con la de la asignación espectroscópica.

5.1.6 Reacción de **22** con OsO₄: **23**



Sobre una disolución de **22** (766 mg, 1.56 mmol) en *t*-BuOH/THF/H₂O (7:2:1, 23.3 mL), se añade NMO (846 mg, 6.26 mmol) y OsO₄ 2.5% en *t*-BuOH (130 μ L). Se deja agitando a temperatura ambiente durante 24 h. Al término de ese tiempo, se añade Na₂SO₃ saturado y se deja agitando 30 min. Posteriormente, se extrae con AcOEt y se lava con HCl 2 M, H₂O y NaCl saturado. Después se seca con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora el disolvente. Se cromatografía sobre 20 g de gel de sílice. Eluyendo con Hex/AcOEt 9:1 se obtiene **23** (800 mg, 98%).

10-(2*R*-metoxi-3-trifenilmetoxi-propoxi)-decano-1,2-diol[†]: **23**

$$[\alpha]_D^{20} = +5.8 \text{ (} c = 0.62, \text{CHCl}_3 \text{)}$$

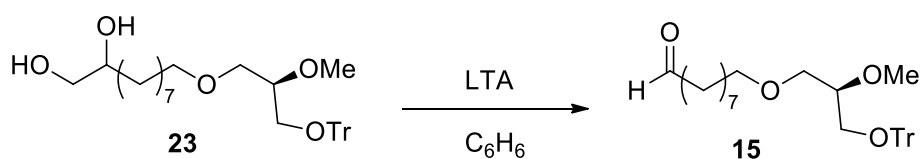
Espectro IR ν_{max} cm⁻¹ 3404, 3057, 2928, 2855, 1960, 1728, 1597, 1489, 1449, 1090, 899, 744, 706, 633.

Espectro RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ ppm) 7.46-7.22 (15H, m, -CPh₃), 3.58-3.39 (8H, m, H-1, 2, 1', 9', 10'), 3.41 (3H, s, -OMe), 3.20 (2H, m, H-3), 1.55 (2H, s ancho, H-8'), 1.43 (2H, s ancho, H-2'), 1.26 (10H, s ancho, H-3'-7').

Espectro RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ ppm) 144.3 (C-1'', 7'' y 13''), 129.0 (C-3'', 5'', 9'', 11'', 15'', 17''), 128.0 (C-2'', 6'', 8'', 12'', 14'', 18''), 127.2 (C-4'', 10'', 16''), 86.9 (-CPh₃), 80.1 (C-2), 72.5 (C-9'), 72.0 (C-1), 71.2 (C-1'), 67.0 (C-10'), 63.1 (C-3), 58.3 (OMe), 33.4 (C-8'), 29.9 (C-2'), 29.9-25.9 (C-3'-7').

ESI-HRMS C₃₃H₄₄O₅Na (M+Na⁺): calc.: 543.3086 u, obs.: 543.3084 *m/z*, $\Delta = 0.4$ ppm.

5.1.7 Reacción de **23** con LTA: **15**



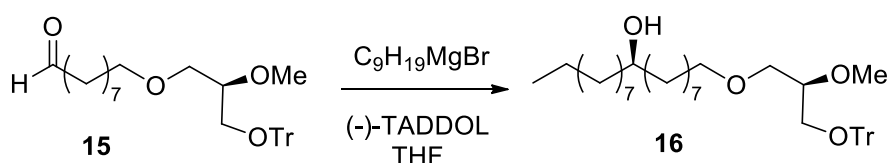
Parte experimental

Sobre una disolución de **23** (556 mg, 1.07 mmol) en C₆H₆ (10.2 mL) a temperatura ambiente se añade LTA (1.04 mg, 2.35 mmol). Después de 30 min se filtra sobre celita; y el filtrado se lava con NaHCO₃ 6%, H₂O y NaCl saturado. Se seca sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora el disolvente obteniéndose **15** (520 mg, 99%).

9-(2*R*-metoxi-3-trifenilmetoxi-propoxi)-nonanal[†]: 15

Espectro RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃, δ ppm) 9.76 (1H, t, *J* = 1.8 Hz, H-9'), 7.48-7.19 (15H, m, -CPh₃), 3.60-3.35 (5H, m, H-1, 2, 1'), 3.41 (3H, s, -OMe), 3.21 (2H, m, H-3), 2.42 (2H, dt, *J* = 6.7, 1.8 Hz, H-8'), 1.70-1.50 (2H, m, H-2'), 1.26 (10H, m, H-3'-7')

5.1.8 Reacción de **15** con C₉H₁₉MgBr: **16**



Se disuelve (-)-TADDOL (1.34 g; 2.87 mmol) a -85 °C y bajo atmósfera de Ar en THF (11 mL) y se añade bromuro de nonilmagnesio 1 M en Et₂O (5.74 mmol); la mezcla se lleva rápidamente a -50 °C, temperatura a la que se vuelve a adicionar bromuro de nonilmagnesio 1 M en Et₂O (2.87 mmol), y se sube la temperatura hasta temperatura ambiente. Después la mezcla resultante se enfría a -90 °C y se añade una disolución de **15** (359 mg; 0.74 mmol) en THF (15 mL), manteniéndose a esta temperatura agitando durante 17 h. Transcurrido dicho tiempo se adiciona NH₄Cl saturado y abundante Et₂O. La fase orgánica se lava con NaCl saturado, se seca sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora el disolvente. Tras sucesivas cromatografías del producto de reacción, eluyendo con mezclas Hex/AcOEt 95:5, 9:1 y 8:2 se consigue separar **16** (249 mg; 55%).

2*R*-*O*-metil-1-*O*-(octadecan-9*R*-ol-1-il)-3-*O*-trifenilmetilglicerol: 16

$$[\alpha]_D^{20} = +1.4 \text{ (c = 0.1, CHCl}_3\text{)}$$

Espectro IR ν_{\max} cm⁻¹ 3422, 2926, 2855, 1448, 1117, 704.

Espectro RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃, δ ppm) 7.48-7.22 (15H, m, -CPh₃), 3.57-3.37 (6H, m, H-1, 2, 1', 9'), 3.41 (3H, s, -OMe), 3.20-3.18 (2H, m, H-3), 1.53-1.49 (4H,

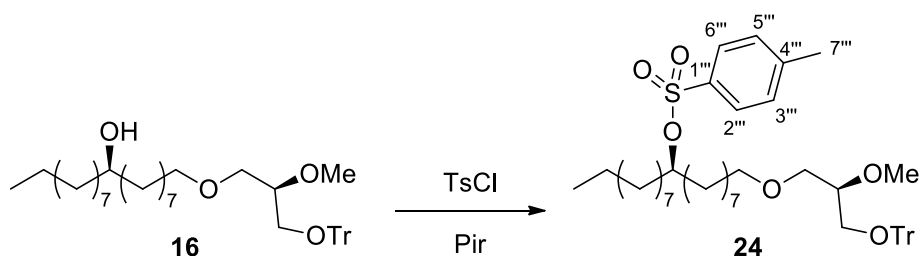
Parte experimental

m, H-8', 10'), 1.41 (4H, m, H-2', 3'), 1.21 (22H, s ancho, H-4'-7', 11'-17'), 0.88 (3H, t, $J = 6.4$ Hz, H-18')

Espectro RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 , δ ppm) 144.3 (C-1'', 7'', 13''), 129.0 (C-3'', 5'', 9'', 11'', 15'', 17''), 128.0 (C-2'', 6'', 8'', 12'', 14'', 18''), 127.2 (C-4'', 10'', 16''), 86.8 (-CPh₃), 80.1 (C-2), 72.2 (C-9'), 71.9 (C-1), 71.2 (C-1'), 63.1 (C-3), 58.3 (-OMe), 37.8 (C-8', 10'), 32.1-22.9 (C-2'-7', 11'-17'), 14.4 (C-18')

ESI-HRMS $\text{C}_{41}\text{H}_{60}\text{O}_4\text{Na}$ ($\text{M}+\text{Na}^+$): calc.: 639.4389 u, obs.: 639.4394 m/z , $\Delta = 0.8$ ppm.

5.1.9 Reacción de **16** con TsCl: **24**

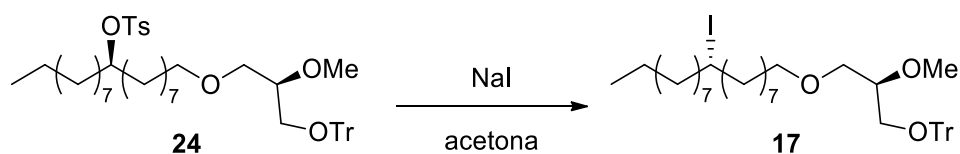


Sobre una disolución de **16** (54 mg, 0.09 mmol) en piridina (0.75 mL) a 0 °C en atmósfera de Ar, se le añade TsCl (41 mg, 0.22 mmol). La reacción se deja agitando durante 24 h controlando por CCF. Una vez finalizada la reacción se añade hielo, se extrae con AcOEt y se lava con HCl 2 M, NaHCO_3 6% y H_2O . La fase orgánica se seca sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtra y se evapora el disolvente obteniéndose **24** (53 mg, 77%).

2R-O-metil-1-O-(9R-toluensulfoniloctadecan-1-il)-3-O-trifenilmetilglicerol: **24**

Espectro RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 , δ ppm) 7.79 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, H-2''', 6'''), 7.48-7.22 (15H, m, -CPh₃), 7.48-7.43 (2H, m, H-3''', 5'''), 4.57 (1H, m, H-9'), 3.56-3.37 (5H, m, H-1, 2, 1'), 3.41 (3H, s, -OMe), 3.20 (2H, d, $J = 4.0$ Hz, H-3), 2.43 (3H, s, H-7'''), 1.56-1.54 (4H, m, H-8', 10'), 1.26-1.17 (26H, m, H-2'-7', 11'-17'), 0.90 (3H, t, $J = 6.2$ Hz, H-18').

5.1.10 Reacción de 24 con NaI: 17



Sobre una disolución de **24** (25 mg, 0.03 mmol) en acetona (1.5 mL) se añade NaI (47 mg, 0.32 mmol) y se calienta a 50 °C durante 24 h. Pasado ese tiempo, se añade H₂O para parar la reacción. Se extrae con AcOEt y se lava con Na₂SO₃ 10%, NaHCO₃ 6% y NaCl saturado. Se seca con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora el disolvente. Se cromatografía sobre gel de sílice. Eluyendo con Hex/AcOEt 98:2 se obtiene **17** (16 mg, 71%).

2R-O-metil-3-O-trifenilmetil-1-O-(9S-yodooctadecan-1-il)-glicerol: 17

$$[\alpha]_D^{20} = +5.0 \text{ (c = 0.54, CHCl}_3\text{)}$$

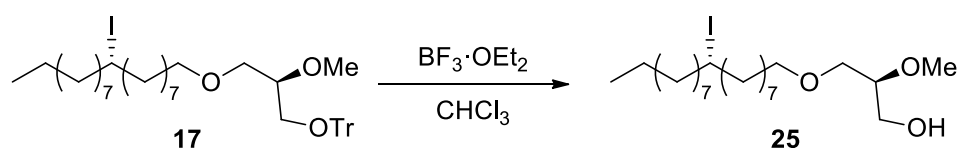
Espectro IR ν_{\max} cm⁻¹ 2926, 2855, 1728, 1448, 1120, 1090, 1078, 706.

Espectro RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ ppm) 7.49-7.22 (15H, m, -CPh₃), 4.14 (1H, m, H-9'), 3.62-3.49 (3H, m, H-1, 2), 3.44 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, H-1'), 3.44 (3H, s, -OMe), 3.24 (1H, dd, $J = 9.7$ y 4.6 Hz, H_a-3), 3.22 (1H, dd, $J = 9.7$ y 4.6 Hz, H_b-3), 1.88-1.70 (4H, m, H-8', 10'), 1.55 (4H, s ancho, H-2', 3'), 1.30 (22H, s ancho, H-4'-7' y 11'-17'), 0.90 (3H, t, $J = 6.5$ Hz, H-18')

Espectro RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ ppm) 144.1 (C-1'', 7'', 13''), 128.7 (C-3'', 5'', 9'', 11'', 15'', 17''), 127.7 (C-2'', 6'', 8'', 12'', 14'', 18''), 126.9 (C-4'', 10'', 16''), 86.6 (-CPh₃), 79.9 (C-2), 71.6 (C-1'), 70.9 (C-1), 62.9 (C-3), 58.1 (-OMe), 40.7 (C-8', 10'), 40.6 (C-9'), 31.9-22.6 (C-2'-7', 11'-17'), 14.1 (C-18')

ESI-HRMS C₄₁H₅₉O₃INa (M+Na⁺): calc.: 749.3407 u, obs.: 749.3391 m/z , $\Delta = 2.1$ ppm.

5.1.11 Reacción de 17 con BF₃·OEt₂: 25



Parte experimental

Sobre una disolución de **17** (105 mg, 0.14 mmol) en CHCl₃ (1.4 mL) a 0 °C y en atmósfera de Ar, se añade BF₃·OEt₂ (72 µL, 0.57 mmol) y se deja agitando 12 h. Se adiciona 1 mL de una mezcla H₂O/CHCl₃/MeOH 2:2:1. Se extrae con AcOEt y la fase orgánica se seca sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora el disolvente. Se cromatografía el residuo sobre 4 g de gel de sílice (Hex/AcOEt 9:1) separándose **25** (66 mg, 99%).

2S-O-metil-1-O-(9S-yodooctadecan-1-il)-glicerol: 25

$$[\alpha]_D^{20} = -7.6 \text{ (c = 0.75, CHCl}_3\text{)}$$

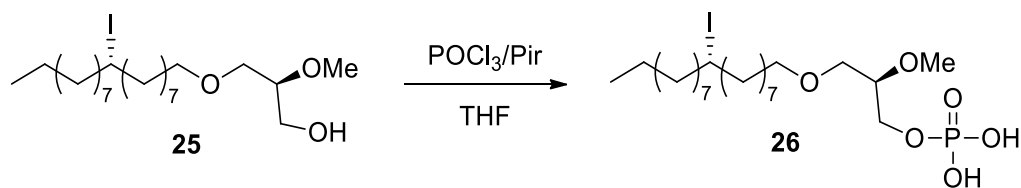
Espectro IR ν_{\max} cm⁻¹ 3460, 2926, 2855, 1732, 1464, 1123.

Espectro RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃, δ ppm) 4.11 (1H, m, H-9'), 3.76 (1H, dd, $J = 11.6$ y 4.4 Hz, H_a-3), 3.64 (1H, dd, $J = 11.6$ y 4.4 Hz, H_b-3), 3.56-3.44 (2H, m, H-1), 3.46 (3H, s, OMe), 3.46-3.41 (3H, m, H-2, 1'), 1.93-1.66 (4H, m, H-8', 10'), 1.56 (2H, m, H-2'), 1.27 (24H, m, H-3'-7', 11'-17'), 0.88 (3H, t, $J = 6.6$ Hz, H-18')

Espectro RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃, δ ppm) 80.0 (C-2), 72.1 (C-1'), 70.9 (C-1), 62.9 (C-3), 58.0 (-OMe), 41.2 (C-9'), 40.9 (C-8', 10'), 32.1-22.9 (C-2'-7', 11'-17'), 14.4 (C-18')

ESI-HRMS C₂₂H₄₅O₃INa (M+Na⁺): calc.: 507.2311 u, obs.: 507.2306 m/z , $\Delta = 1.0$ ppm.

5.1.12 Reacción de **25** con POCl₃: **26**



Sobre una disolución de **25** (67 mg, 0.14 mmol) en THF (0.7 mL) a 0 °C y en atmósfera de Ar, se añade piridina (23 µL) y POCl₃ (14 µL, 0.15 mmol). Se deja agitando durante 5 h. Tras ese tiempo se añade NaHCO₃ 6% lentamente y se deja agitar 15 min más. A continuación se añade hielo y HCl 2 M hasta alcanzar pH = 2. Se extrae con AcOEt y se lava con H₂O. Se evapora el disolvente obteniéndose **26** (68 mg, 86%)

2R-O-metil-1-O-(9S-yodooctadecan-1-il)-glicero-3-fosfato: 26

Parte experimental

$$[\alpha]_D^{20} = -0.6 \text{ (c = 0.14, CHCl}_3\text{)}$$

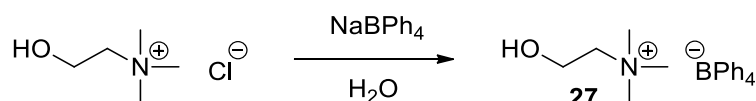
Espectro IR ν_{\max} cm^{-1} 2924, 2855, 1110.

Espectro RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 , δ ppm) 4.17-4.04 (3H, m, H-3, 9'), 3.60-3.42 (5H, m, H-1, 2, 1'), 3.49 (3H, s, -OMe), 1.87-1.66 (4H, m, H-8', 10'), 1.56 (2H, m, H-2'), 1.27 (24H, m, H-3'-7', 11'-17'), 0.87 (3H, t, $J = 6.6$ Hz, H-18').

Espectro RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 , δ ppm) 79.3 (C-2), 72.2 (C-1'), 69.9 (C-1), 66.1 (C-3), 58.3 (-OMe), 40.9 (C-9'), 40.9 (C-8', 10'), 32.1-22.9 (C-2'-7', 11'-17'), 14.3 (C-18').

ESI-HRMS $\text{C}_{22}\text{H}_{47}\text{O}_6\text{PI}$ ($\text{M}+\text{H}^+$): calc.: 565.2155 u, obs. 565.2152 m/z , $\Delta = 0.5$ ppm.

5.1.13 Reacción de cloruro de colina con tetrafenilborato sódico: 27

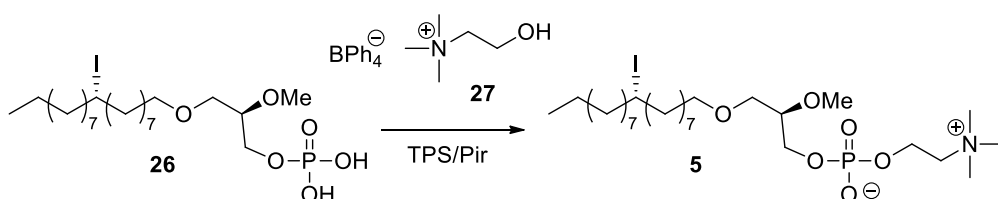


Sobre una disolución de cloruro de colina (1.0 g, 7.16 mmol) en H_2O (25 mL) se añade una disolución de tetrafenilborato sódico (1.7 g, 4.97 mmol) en H_2O (25 mL), y se somete a agitación a temperatura ambiente. En un tiempo corto, se observa la aparición de un sólido blanco. Ese sólido se filtra, se seca y se añade una mezcla $\text{PhCH}_3/\text{EtOH}$. Después se evapora a vacío y se cristaliza en CH_3CN . Después de filtrar se obtiene **27** (2.0 g, 95%)

Tetrafenilborato de colina: 27

Espectro RMN ^1H (200 MHz, DMSO δ ppm) 7.17-6.76 (20H, m, BPh_4), 5.26 (1H, t, $J = 4.1$ Hz, -OH), 3.81 -3.79 (2H, m, $-\text{CH}_2\text{OH}$), 3.40-3.30 (2H, m, $J = 4.9$ Hz, $-\text{CH}_2\text{N}$), 3.08 (9H, s, Me_3N).

5.1.14 Reacción de 26 con 27: 5



Parte experimental

Sobre una disolución de **26** (87 mg, 0.15 mmol) en piridina (1.2 mL), se añade **27** (65 mg, 0.15 mmol) y cloruro de triisopropilbencenosulfonilo (TPS) (55 mg, 0.18 mmol) y se calienta a 70 °C durante 1 h. Pasado ese tiempo, se deja agitando a temperatura ambiente durante 3 h más. Al terminar, se adiciona 1 mL de H₂O y se evapora a vacío. El crudo se cromatografía sobre 6 g de gel de sílice con CHCl₃/MeOH/NH₃ 65:30:5, obteniéndose **5** (51 mg, 51%).

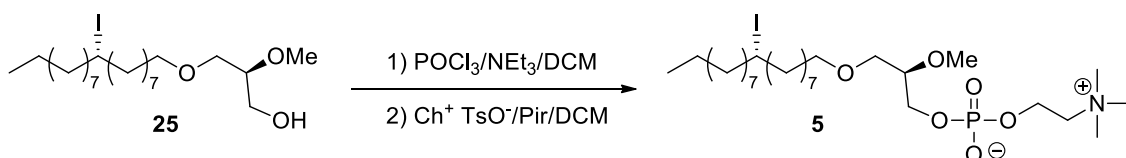
2R-O-metil-1-O-(9S-yodooctadecan-1-il)-glicero-3-fosfocolina: 5

Espectro RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃, δ ppm) 4.31 (2H, m, H-1''), 4.15-4.04 (1H, m, H-9'), 3.84 (4H, m, H-3, 2''), 3.55-3.39 (5H, m, H-1, 2, 1'), 3.43 (3H, s, -OMe), 3.39 (9H, s, Me₃N-), 1.87-1.65 (4H, m, H-8', 10'), 1.56-1.47 (2H, m, H-2'), 1.27 (24H, m, H-3'-7', 11'-17'), 0.87 (3H, t, J = 6.6 Hz, H-18').

Espectro RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃, δ ppm) 79.9 (C-2), 72.0 (C-1'), 70.5 (C-1), 66.5 (C-2''), 65.2 (C-3), 59.5 (C-1''), 58.0 (-OMe), 54.6 (Me₃N-), 41.1 (C-9'), 40.9 (C-8', 10'), 32.1-22.9 (C-2'-7', 11'-17'), 14.3 (C-18').

ESI-HRMS C₂₇H₅₇NO₆PINa (M+Na⁺): calc.: 672.2866 u, obs.: 672.2854 m/z, Δ = 1.8 ppm.

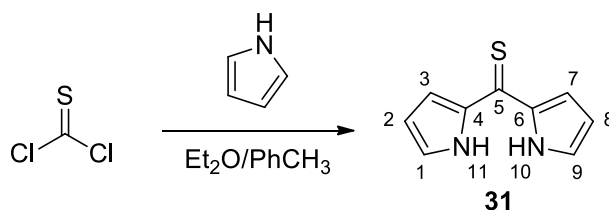
5.1.15 Reacción de **25** con POCl₃, ChTsO: **5**



Sobre una disolución de POCl₃ (82 mg, 0.53 mmol) y Et₃N (0.1 mL) en DCM (4 mL) a 0 °C se añade lentamente durante 20 min una disolución de **25** (260 mg, 0.53 mmol) en DCM (2.5 mL). Se deja agitar a temperatura ambiente durante 40 min. Pasado ese tiempo, se añade Ch⁺TsO⁻ (30 mg, 1.07 mmol) disuelto en piridina (1 mL) y la mínima cantidad posible de DCM. Se deja agitar a temperatura ambiente durante 19 h. Posteriormente se añade H₂O (1 ml) y se deja agitar 40 minutos más. Se concentra la mezcla con EtOH/PhCH₃ (1:1) hasta la aparición de una espuma blanca. Se disuelve en THF/H₂O (9:1) y se hace pasar lentamente por la resina Amberlita MB-3. Se vuelve a concentrar con EtOH/PhCH₃ (1:1). El producto se cromatografía sobre 10 g de gel de sílice con CHCl₃/MeOH/NH₃ 65:30:5, obteniéndose **5** (236 mg, 68%).

5.2 Aproximación sintética de 12

5.2.1 Reacción de tiofosgeno con pirrol: 31



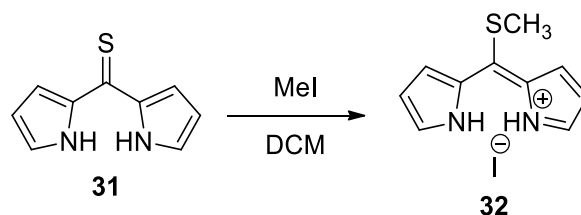
Sobre una disolución de CSCl_2 (327 mg, 2.85 mmol) en PhCH_3 (8.6 mL) a $0\text{ }^\circ\text{C}$ y en atmósfera de Ar, se añade lentamente una disolución de pirrol (382 mg, 5.69 mmol) en Et_2O (8.5 mL) y se mantiene agitando durante 30 min. Pasado ese tiempo se añade una mezcla acuosa de MeOH al 10% (5.65 mL) y se deja agitar a temperatura ambiente durante 30 min. Se evapora el disolvente y se cromatografía sobre alúmina. Eluyendo con $\text{PhCH}_3/\text{CHCl}_3$ 9:1 se obtiene el compuesto **31** (328 mg, 65%).

Bis-(1H-pirrol-2-il)-metanotona: 31

Espectro RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 , δ ppm) 9.81 (2H, s, N-H), 7.20 (2H, H-1, 9), 7.04 (2H, s ancho, H-3, 7), 6.41 (2H, s ancho, H-2, 8).

ESI-HRMS $\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_2\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}^+$): calc.: 177.0486 u, obs.: 177.0481 m/z , $\Delta = 2.8$ ppm.

5.2.2 Reacción de 31 con MeI: 32



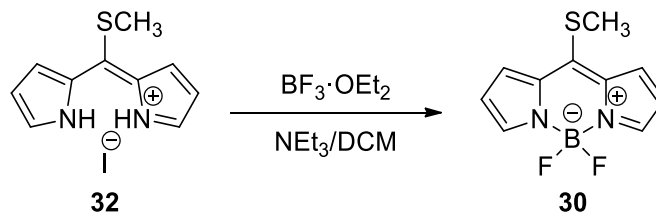
Sobre una disolución de **31** (133 mg, 0.75 mmol) en DCM (2.2 mL) a temperatura ambiente y en atmósfera de Ar, se añade MeI (0.21 mL, 3.40 mmol) y se deja agitando durante 24 h, controlando la reacción con CCF. Se evapora el disolvente y se obtiene **32** (210 mg, 91%).

Yoduro de 2-[metilsulfanyl-(1H-pirrol-2-il)-metileno]-2H-pirrolinio: 32

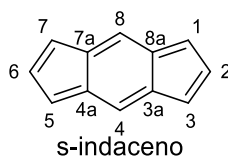
Espectro RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 , δ ppm) 11.93 (2H, s, N-H), 7.87 (2H, s, H-1, 9), 7.26 (2H, s, H-3, 7), 6.65 (2H, s, H-2, 8), 2.89 (3H, s, -SMe)

ESI-HRMS C₁₀H₁₁N₂S (M+H⁺): calc.: 191.0643 u, obs.: 191.0637 m/z, Δ = 3.1 ppm.

5.2.3 Reacción de **32** con BF₃: **30**



Sobre una disolución de **32** (465 mg, 1.52 mmol) en DCM (10.8 mL) en atmósfera de Ar, se añade NEt₃ (0.34 mL, 2.4 mmol) y se deja agitando durante 30 min. Pasado ese tiempo se añade BF₃·OEt₂ (0.29 mL, 2.28 mmol) y se deja agitando 30 min más. Se evapora el disolvente y se cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con Hex/AcOEt 9:1 y 7:3. Se obtiene el producto **30** (362 mg, 91%).

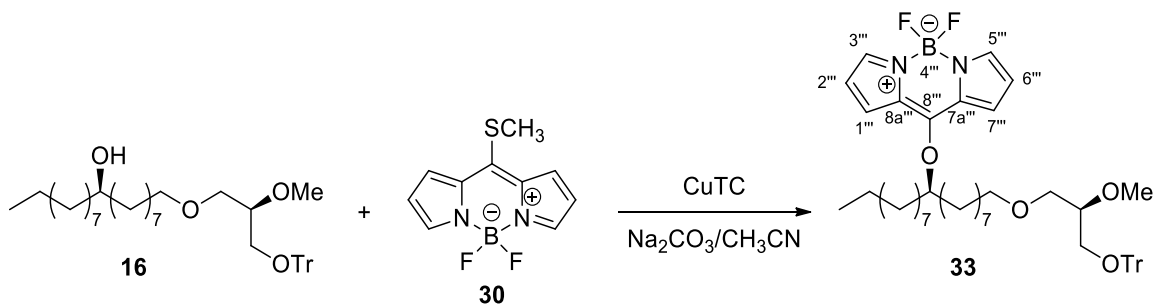


8-(Tiometil)-4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indaceno: **30**

Espectro RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃, δ ppm) 7.80 (2H, s, H-3, 5), 7.42 (2H, d, J = 4 Hz, H-1, 7), 6.53 (2H, d, J = 4 Hz, H-2, 6), 2.92 (3H, s, -SMe)

ESI-HRMS C₁₀H₁₀BN₂F₂S (M+H⁺): calc.: 239.0626 u, obs.: 239.0620 m/z, Δ = 2.5 ppm.

5.2.4 Reacción de **16** con **30**: **33**



Parte experimental

Sobre una disolución de **30** (138 mg, 0.58 mmol) en CH₃CN (1.9 mL) en atmósfera de Ar se añade CuTC (92 mg, 0.48 mmol) a la vez que se adiciona una disolución de **16** (120 mg, 0.19 mmol) en la mínima cantidad de CH₃CN y se deja agitando a temperatura ambiente 5 min. Pasado ese tiempo, se añade Na₂CO₃ (50 mg, 0.47 mmol) y se deja agitando a 55 °C durante 12 h. Pasado ese tiempo, se evapora el disolvente y se cromatografía sobre gel de sílice flash eluyendo con Hex/AcOEt 98:2. Se obtiene **33** (115 mg, 73%).

1-O-(9R-O-[4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen-8-il]-octadecanol-1-il)-2R-O-metil-3-O-trifenilmetilglicerol: **33**

$$[\alpha]_D^{20} = -0.6 \text{ (c = 0.65, CHCl}_3\text{)}$$

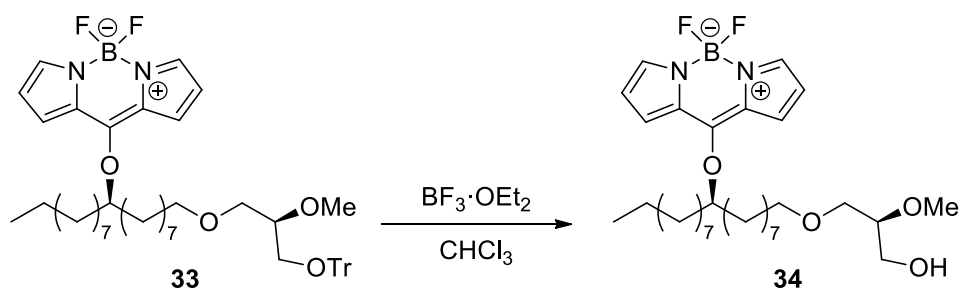
Espectro IR ν_{\max} cm⁻¹ 2956, 2927, 2856, 1728, 1552, 1400, 1286, 1126, 966.

Espectro RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ ppm) 7.71 (2H, d, $J = 1.0$ Hz, H-3''', 5'''), 7.47-7.23 (15H, m, -CPh₃), 7.27 (2H, m, H-1''', 7'''), 6.51 (2H, dd, $J = 4.0, 1.0$ Hz, H-2''', 6'''), 5.14 (1H, quin, $J = 6.0$ Hz, H-9'), 3.57-3.39 (5H, m, H-1, 2, 1'), 3.41 (3H, s, -OMe), 3.21 (1H, dd, $J = 10.2, 4.8$ Hz, H_a-3), 3.19 (1H, dd, $J = 10.2, 4.8$ Hz, H_b-3), 1.88-1.84 (4H, m, H-8', 10'), 1.54-1.51 (2H, m, H-2'), 1.43-1.26 (24H, m, H-3'-7', 11'-17'), 0.88 (3H, t, $J = 6.8$ Hz, H-18').

Espectro RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ ppm) 161.7 (C-8'''), 144.3 (C-1'', 7'', 13''), 139.0 (C-3''', 5'''), 129.0 (C-3'', 5'', 9'', 11'', 15'', 17''), 128.0 (C-2'', 6'', 8'', 12'', 14'', 18''), 127.1 (C-4'', 10'', 16''), 126.8 (C-7a''', 8a'''), 124.8 (C-1''', 7'''), 116.4 (C-2''', 6'''), 86.8 (C-9'), 86.7 (-CPh₃), 80.1 (C-2), 71.9 (C-1'), 71.2 (C-1), 63.1 (C-3), 58.3 (-OMe), 34.1 (C-8', 10'), 32.1-22.9 (C-2'-7', 11'-17'), 14.3 (C-18').

ESI-HRMS C₅₀H₆₅BN₂O₄F₂Na (M+Na⁺): calc.: 829.4903 u, obs.: 829.4898 m/z , $\Delta = 0.6$ ppm.

5.2.5 Reacción de **33** con $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$: **34**



Sobre una disolución de **33** (115 mg, 0.19 mmol) en CHCl_3 (1.9 mL) a 0 °C y en atmósfera de Ar, se añade $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (98 μL , 0.77 mmol) y se deja agitando 12 h. Se adiciona 1 mL de una mezcla $\text{H}_2\text{O}/\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 2:2:1. Se extrae con AcOEt, se seca sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtra y se evapora el disolvente. Se cromatografía el residuo sobre 4 g de gel de sílice (Hex/AcOEt 9:1) separándose **34** (106 mg, 99%).

1-O-(9R-O-[4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen-8-il]-octadecanol-1-il)-2S-O-metilglicerol: **34**

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -6.1 \text{ (c = 0.99, CHCl}_3\text{)}$$

Espectro IR ν_{max} cm^{-1} 3452, 2926, 2854, 1552, 1400, 1255, 966.

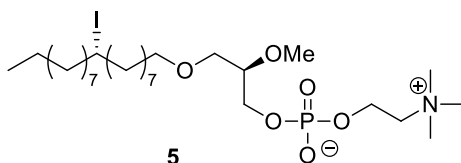
Espectro RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ ppm) 7.71 (2H, s, H-3''', 5'''), 7.49 (2H, s, H-1''', 7'''), 6.51 (2H, s, H-2''', 6'''), 5.14 (1H, quin, $J = 6.0$ Hz, H-9'), 3.74-3.41 (7H, m, H-1, 2, 3, 1'), 3.46 (3H, s, -OMe), 1.87-1.82 (4H, m, H-8', 10'), 1.56-1.54 (2H, m, H-2'), 1.43-1.22 (24H, m, H-3'-7', 11'-17'), 0.87 (3H, t, $J = 6.0$ Hz, H-18')

Espectro RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , δ ppm) 161.1 (C-8'''), 139.0 (C-3''', 5'''), 126.8 (C-7a''', 8a'''), 124.8 (C-1''', 7'''), 116.4 (C-2''', 6'''), 86.8 (C-9'), 80.1 (C-2), 72.1 (C-1'), 70.8 (C-1), 62.9 (C-3), 58.0 (-OMe), 34.2 (C-8', 10'), 32.1-22.9 (C-2'-7', 11'-17'), 14.3 (C-18').

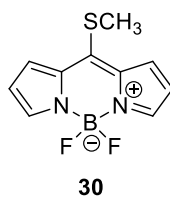
ESI-HRMS $\text{C}_{31}\text{H}_{51}\text{BN}_2\text{O}_4\text{F}_2\text{Na}$ ($\text{M}+\text{Na}^+$): calc.: 587.3808 u, obs.: 587.3802 m/z , $\Delta = 1.0$ ppm.

6. Conclusiones

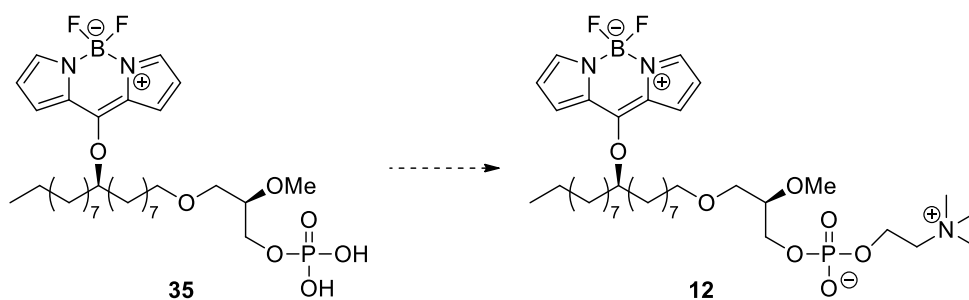
1. Este trabajo se ha desarrollado en el campo de los éteres lipídicos antitumorales, preparando análogos de edelfosina, compuesto que ha demostrado que induce apoptosis y reduce la metástasis en células tumorales. Los compuestos **5** y **12** serán enviados al CIB-CSIC-Madrid para el estudio estructura-actividad *in vitro*.
2. A partir de los compuestos comerciales 9-decen1-ol y *R*-solketal se ha realizado la síntesis del yododerivado **5**, análogo de edelfosina.



3. Se ha preparado el marcador fluorescente 8-(metil-tio)-BODIPY **30**, para incorporarlo a la cadena alquílica de edelfosina.



4. Se ha realizado la síntesis de **35** un intermedio avanzado en la preparación de **12**, análogo de edelfosina que contiene un marcador fluorescente (BODIPY).



7. Bibliografía

- (1) Simons, K.; Ikonen, E. Functional rafts in cell membranes. *Nature (London)* **1997**, *387*, 569-572.
- (2) Maxfield, F. R. Plasma membrane microdomains. *Curr. Opin. Cell Biol.* **2002**, *14*, 483-487.
- (3) George, K. S.; Wu, S. Lipid raft: A floating island of death or survival. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2012**, *259*, 311-319.
- (4) Tosi, M. R.; Tugnoli, V. Cholesteryl esters in malignancy. *Clin. Chim. Acta* **2005**, *359*, 27-45.
- (5) Vivanco, I.; Sawyers, C. L. The phosphatidylinositol 3-Kinase-AKT pathway in human cancer. *Nat. Rev. Cancer* **2002**, *2*, 489-501.
- (6) Reis-Sobreiro, M.; Roue, G.; Moros, A.; Gajate, C.; de la Iglesia-Vicente, J.; Colomer, D.; Mollinedo, F. Lipid raft-mediated Akt signaling as a therapeutic target in mantle cell lymphoma. *Blood Cancer Journal* **2013**, *3*, e118.
- (7) Gajate, C.; Mollinedo, F. Lipid rafts, endoplasmic reticulum and mitochondria in the antitumor action of the alkylphospholipid analog edelfosine. *Anticancer Agents Med. Chem.* **2014**, *14*, 509-527.
- (8) Gajate, C.; Fonteriz, R. I.; Cabaner, C.; Alvarez-Noves, G.; Alvarez-Rodriguez, Y.; Modolell, M.; Mollinedo, F. Intracellular triggering of Fas, independently of FasL, as a new mechanism of antitumor ether lipid-induced apoptosis. *Int. J. Cancer* **2000**, *85*, 674-682.
- (9) Czyz, O.; Bitew, T.; Cuesta-Marban, A.; McMaster, C. R.; Mollinedo, F.; Zarembeg, V. Alteration of Plasma Membrane Organization by an Anticancer Lysophosphatidylcholine Analogue Induces Intracellular Acidification and Internalization of Plasma Membrane Transporters in Yeast. *J. Biol. Chem.* **2013**, *288*, 8419-8432.
- (10) Jaffrès, P.-A.; Gajate, C.; Bouchet, A. M.; Couthon-Gourvès, H.; Chantôme, A.; Potier-Cartreau, M.; Besson, P.; Bougnoux, P.; Mollinedo, F.; Vandier, C. Alkyl ether lipids, ion channels and lipid raft reorganization in cancer therapy. *Pharmacol. Ther.* **2016**, <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2016.06.003>, Article in press.
- (11) Steinestel, K.; Eder, S.; Ehinger, K.; Schneider, J.; Genze, F.; Winkler, E.; Wardelmann, E.; Schrader, A. J.; Steinestel, J. The small conductance calcium-activated potassium channel 3 (SK3) is a molecular target for Edelfosine to reduce the invasive potential of urothelial carcinoma cells. *Tumor Biol.* **2016**, *37*, 6275-6283.
- (12) Potier, M.; Chantome, A.; Joulin, V.; Girault, A.; Roger, S.; Besson, P.; Jourdan, M. L.; LeGuennec, J. Y.; Bougnoux, P.; Vandier, C. The SK3/KCa2.3 potassium channel is a new cellular target for edelfosine. *Br. J. Pharmacol.* **2011**, *162*, 464-479.
- (13) Estella-Hermoso de Mendoza, A.; Campanero, M. A.; de la Iglesia-Vicente, J.; Gajate, C.; Mollinedo, F.; Blanco-Prieto, M. J. Antitumor Alkyl Ether Lipid Edelfosine: Tissue Distribution and Pharmacokinetic Behavior in Healthy and Tumor-Bearing Immunosuppressed Mice. *Clin. Cancer Res.* **2009**, *15*, 858-864.
- (14) Mollinedo, F.; Fernandez-Luna, J. L.; Gajate, C.; Martin-Martin, B.; Benito, A.; Martinez-Dalmau, R.; Modotell, M. Selective induction of apoptosis in cancer cells by the ether lipid ET-18-OCH3 (edelfosine): molecular structure requirements, cellular uptake, and protection by Bcl-2 and Bcl-XL. *Cancer Res.* **1997**, *57*, 1320-1328.

- (15) Mollinedo, F.; Gajate, C.; Morales, A. I.; del Canto-Janez, E.; Justies, N.; Colliá, F.; Rivas, J. V.; Modolell, M.; Iglesias, A. Novel anti-inflammatory action of edelfosine lacking toxicity with protective effect in experimental colitis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2009**, *329*, 439-449.
- (16) Lasa-Saracibar, B.; Aznar, M. A.; Lana, H.; Aizpun, I.; Gil, A. G.; Blanco-Prieto, M. J. Lipid nanoparticles protect from edelfosine toxicity in vivo. *Int. J. Pharm. (Amsterdam, Neth.)* **2014**, *474*, 1-5.
- (17) Lasa-Saracibar, B.; Estella-Hermoso de Mendoza, A.; Mollinedo, F.; Odero, M. D.; Blanco-Prieto, M. J. Edelfosine lipid nanosystems overcome drug resistance in leukemic cell lines. *Cancer Lett. (N. Y., NY, U. S.)* **2013**, *334*, 302-310.
- (18) Gil-Mesón, A. Síntesis de éteres lípidicos antitumorales. Bioconjugados de sesterterpenoides con glicerofosfolípidos, alquil-acil-gliceroles y PUFAs. Tesis Doctoral, Universidad de Salamanca, **2013**.
- (19) Gil-Mesón, A.; Roncero, A.; Tobal, I.; Basabe, P.; Díez, D.; Mollinedo, F.; Marcos, I. Synthesis of Bioconjugate Sesterterpenoids with Phospholipids and Polyunsaturated Fatty Acids. *Molecules* **2016**, *21*, 47.
- (20) Li, G.; Samadder, P.; Arthur, G.; Bittman, R. Synthesis and antiproliferative properties of a photoactivatable analogue of ET-18-OCH₃. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 8925-8932.
- (21) Volkova, Y. A.; Brizet, B.; Harvey, P. D.; Averin, A. D.; Goze, C.; Denat, F. BODIPY Dyes Functionalized with Pendant Cyclic and Acyclic Polyamines. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, *2013*, 4270-4279.
- (22) Weber, B.; Seebach, D. Highly enantioselective addition of primary alkyl Grignard reagents to carbocyclic and heterocyclic arylketones in the presence of magnesium TADDOLate preparative and mechanistic aspects. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 6117-6128.
- (23) Pedersen, P. J.; Christensen, M. S.; Ruyschaert, T.; Linderoth, L.; Andresen, T. L.; Melander, F.; Mouritsen, O. G.; Madsen, R.; Clausen, M. H. Synthesis and Biophysical Characterization of Chlorambucil Anticancer Ether Lipid Prodrugs. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 3408-3415.
- (24) Loudet, A.; Burgess, K. BODIPY dyes and their derivatives: Syntheses and spectroscopic properties. *Chem. Rev. (Washington, DC, U. S.)* **2007**, *107*, 4891-4932.
- (25) Arroyo, I. J.; Hu, R.; Merino, G.; Tang, B. Z.; Pena-Cabrera, E. The Smallest and One of the Brightest. Efficient Preparation and Optical Description of the Parent Borondipyromethene System. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 5719-5722.
- (26) Goud, T. V.; Tutary, A.; Biellmann, J.-F. Synthesis of 8-heteroatom-substituted 4,4-difluoro-4-bora-3a, 4a-diaza-s-indacene dyes (BODIPY). *Tetrahedron* **2006**, *62*, 5084-5091.
- (27) Flores-Rizo, J. O.; Esnal, I.; Osorio-Martinez, C. A.; Gomez-Duran, C. F.; Banuelos, J.; Lopez Arbeloa, I.; Pannell, K. H.; Metta-Magana, A. J.; Pena-Cabrera, E. 8-Alkoxy- and 8-aryloxy-BODIPYs: straightforward fluorescent tagging of alcohols and phenols. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 5867-5877.

Anexo. Espectroscopia

A continuación se muestran los espectros RMN ^1H y ^{13}C de los compuestos finales **5** y **35**.

