



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS
DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

Unidad Mérida

DEPARTAMENTO DE FÍSICA APLICADA

**“Síntesis de sólidos funcionales potenciales y estudio de nuevos
mecanismos de reacción empleando modelos esteroidales”**

TESIS

Que presenta

Jair García Méndez

Para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

en

Fisicoquímica

Directora de Tesis:

Dra. María Antonieta Fernández Herrera

Mérida, Yucatán, México

Agosto de 2020

AGRADECIMIENTOS.

Agradezco profundamente a la Dra. Marieta Fernández Herrera, por abrirme las puertas al Laboratorio de Biomoléculas y Biomateriales, así como por aceptarme como estudiante y el apoyo brindado; compartir sus conocimientos con dedicación, paciencia, motivación y aliento a lo largo de este proceso.

Agradezco al Dr. Luis Díaz Ballote y al Dr. David Cáceres Castillo por formar parte del Comité Sinodal.

Agradezco la ayuda técnica de la Dra. Gloria Hernández, el M. C. Daniel Aguilar y el Dr. Víctor Rejón por brindarme asistencia en las mediciones de RMN, DRX y SEM, respectivamente.

Agradezco también al LANNBIO, al Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear de la FQ de la UADY y al Laboratorio de Biomoléculas y Biomateriales del Cinvestav por el uso de las instalaciones durante la parte experimental.

Agradezco profundamente a mi familia por toda la paciencia, amor y apoyo en los momentos más difíciles en este camino recorrido, a mis amigos y compañeros por toda la ayuda, momentos y conocimiento compartido. A Dani, por todo el amor, apoyo y paciencia en este proceso.

Quiero agradecer al Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (Cinvestav) por el apoyo recibido y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) por la beca de maestría número CVU/Becario: 923827.

RESUMEN

Este trabajo de tesis está dividido en dos secciones, la primera hace referencia a la síntesis de sólidos funcionales potenciales y la segunda al estudio de un mecanismo de reacción; ambos trabajos empleando modelos esteroidales. Con respecto a la primera sección, las reacciones se realizaron utilizando como materia prima al ácido cólico, el cual se ha reportado como materia prima para la síntesis de colápidos, una clase importante de compuestos derivatizados a partir del ácido cólico con propiedades características e interesantes para el tratamiento de diversos padecimientos o aplicaciones en nanotecnología como biomimetizadores celulares, receptores aniónicos y/o transportadores de fármacos. Debido a su importancia y potencial diversidad estructural, en este trabajo se reportan nuevas metodologías para derivatizar al ácido cólico y la síntesis de un nuevo colárido esteroideal. Este colárido (estructura **5**) se obtuvo a través de una ruta de síntesis de 3 pasos. Esta ruta inició con la purificación de la materia prima, consecuentemente se llevó a cabo la esterificación de la parte ácida de la molécula mediante síntesis asistida por microondas reduciendo los tiempos de reacción e incrementando su selectividad y rendimiento. A partir del producto esterificado se obtuvo el compuesto **5** a través de la sustitución de los grupos hidroxilo por azidas con un rendimiento del 83%. Se llevaron a cabo pruebas para la obtención del compuesto **4**, para el cual, previamente, se llevó a cabo la acetilación de los grupos hidroxilo del ester, para posteriormente realizar la propargilación de los acetatos, desafortunadamente no se pudo obtener de manera satisfactoria este compuesto. Los diversos productos de reacción se caracterizaron por resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C , espectroscopía infrarroja, polarimetría, difracción de rayos X de sólidos y microscopía electrónica de barrido.

En la segunda sección de este trabajo, se reestudió la hidroborcación oxidativa (HBO) en Δ^5 -esteroides. La reacción de hidroborcación (HB) ha sido empleada por años desde su descubrimiento por Herbert C. Brown para la obtención de alcoholes a partir de alquenos con configuración *anti*-Markovnikov, siendo el producto principal el compuesto generado por la adición *syn* del borano. La HB se ha llevado a cabo por décadas en Δ^5 -esteroides obteniendo los productos principales con buen rendimiento (aproximadamente 80%). En el presente trabajo se llevó a cabo el reestudio del mecanismo de HB utilizando como materias primas

colesterol y kriptogenina. La reacción de HB produjo, bajo condiciones estándar, cuatro productos en lugar de uno. El producto de adición *syn* por la cara α -esteroidal, el producto de adición *syn* por la cara β -esteroidal, el producto tipo Markovnikov y un producto aparentemente de adición “*anti*”. Para explicar estos resultados, se propone la formación de un intermediario Δ^6 -esteroidal producto de una retro-hidroboración del producto principal y la consecuente re-hidroboración de dicho intermediario. Todos los productos esperados fueron caracterizados por resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C , espectroscopía infrarroja y polarimetría.

Abstract

This thesis project has been divided into two sections, the first section refers to the synthesis of potential functional solids, and the second one refers to the study of a reaction mechanism, both parts employing steroidal models. Regarding the first section; cholic acid was employed as starting material for all reactions, such steroid has been reported as starting material for the synthesis of cholapods, a class of derivatized compounds from cholic acid which contains fundamental features in the treatment of many disorders or nanotechnology applications, as cell biomimeticizer, as anionic receptors and/or as drug carriers. Due to its importance and potential structural diversity, in this work are reported two novel methodologies in order to derivatize cholic acid and the synthesis of a novel steroidal cholapod. The new cholapod (structure **5**) was obtained through a straightforward synthetic pathway of three steps. These pathways started with the purification of cholic acid, and consequently, an esterification process of the acidic moiety of the molecule by microwave-assisted synthesis, the reaction time was reduced, and the selectivity and yield were increased. From the ester product, we were able to obtain compound **5** through a substitution of the hydroxyl groups by azides in 83% yield. In order to obtain compound **4**, we performed an acetylation process of the hydroxyl groups from the cholic ester, followed by a propargylation, unfortunately, we weren't able to obtain satisfactorily this product. The reaction compounds obtained were characterized through ^1H and ^{13}C nuclear magnetic resonance, infrared spectroscopy, polarimetry, solid state X-ray diffraction and scanning electron microscope.

In the second section of this work, we revisited the hydroboration-oxidation (HBO) reaction for Δ^5 -steroids. The HBO reaction has been carried for many years since its discovery by Herbert C. Brown in order to obtain alcohols from alkenes, with an *anti*-Markovnikov configuration, being the main product of the reaction, the compound generated by the *syn* addition of the borane. The HB process has been carried by decades over Δ^5 -steroids obtaining the main products in good yields (around 80%). In the present work, we carried out once again the study of the HB mechanism employing the steroidal frameworks cholesterol and kryptogenin as starting materials. The HB reaction formed, under standard conditions, four products instead of one. The *syn* addition product by the α -steroidal face, the *syn* addition product by the β -steroidal face, the Markovnikov product, and a product presumably coming

from an “*anti*” addition. In order to explain these products, we proposed in here the formation of a Δ^6 -steroidal intermediate, originated from a retro-hydroboration reaction of the major product and its consequent hydroboration by the β -face. All the expected products were characterized through ^1H and ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance, infrared spectroscopy, and polarimetry.

LISTA DE ABREVIATURAS

$[\alpha]_D$	Rotación específica ($\lambda= 589 \text{ nm}$)
AcO	Acetato
AC	Ácido cólico
ADC	Ácido desoxicólico
<i>ax</i>	Axial
CCF	Cromatografía en capa fina
<i>ec</i>	Ecuatorial
COSY	Espectro de correlación homonuclear H-H (<i>Homonuclear Correlation Spectroscopy</i>)
DRX	Difracción de rayos X
DMAP	4-Dimetilaminopiridina
g	Gramo
HB	Hidroboración
HBO	Hidroboración oxidativa
HMBC	Correlación heteronuclear a múltiples enlaces (<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation Spectroscopy</i>)
HSQC	Coherencia cuántica simple heteronuclear (<i>Heteronuclear single quantum correlation experiment</i>)
Hz	Hercio
IR	Infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento spin-spin
MHz	Megahercio
MW	Microondas
ml	Mililitro
mmol	Milimol
nm	Nanómetro
ppm	Partes por millón
py	Piridina
THF	Tetrahidrofurano

RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de carbono 13
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de protón
SEM	Microscopía de barrido electrónico (<i>Scanning Electron Microscopy</i>)
<i>p</i> -TSA	Ácido <i>p</i> -toluenosulfónico

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	15
1.1 Los esteroides y el ácido cólico.	15
1.2 La reacción y el mecanismo de hidrobtoración.	17
2. ANTECEDENTES	20
2.1 Colápod0s esteroidales	20
2.1.1 Química supramolecular	20
2.1.2 Ácidos biliares.	23
2.1.3. Estructuras acíclicas. La arquitectura de los colápod0s.	29
2.2 La reacción de hidrobtoración.	34
2.2.1 Mecanismo de hidrobtoración.	35
2.2.2 Aplicación de la reacción de hidrobtoración oxidativa en la modificación de los anillos A y B.	37
3. OBJETIVOS	41
4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	42
4.1 Ruta sintética para la obtención de colápod0s derivatizados a partir del ácido cólico (1).	42
4.1.1 Purificación y caracterización del ácido cólico (1).	42
4.1.2 Síntesis y caracterización del 3α,7α,12α-trihidroxi-5β-colan-24-oato de metilo (2).	46
4.1.3 Síntesis y caracterización del 3α,7α,12α-triacetil-5β-colan-24-oato de metilo (3).	51
4.1.4 Síntesis y caracterización del 3α,7α,12α-tri-O-propargil-5β-colan-24-oato de metilo.	53

4.1.5 Síntesis y caracterización del 3 β ,7 β ,12 β -triazido-5 β -colan-24-oato de metilo (5).	55
4.2 Estudio del mecanismo de reacción de hidroborcación en Δ^5 -esteroides.....	58
4.2.1 Caracterización de los productos de la reacción de HBO, 7a-d.....	63
4.2.2 Síntesis y caracterización del diacetato de (25 <i>R</i>)-16,22-dioxocolest-5-eno-3 β ,26-diilo (9).	68
4.2.3 Síntesis y caracterización del diacetato de N-bencilpirrolo [2',3',4',5':16,17,20,22]-colest-5-eno-3 β ,26-diilo (10).	70
4.2.4 Síntesis y caracterización de los productos de la reacción de HBO a partir del compuesto bencilpirrónico colestánico.	72
4.2.4.1 Elucidación de los productos de la reacción de HBO, 11a-c.....	73
5. DESARROLLO EXPERIMENTAL	78
5.1 Generalidades.	78
5.2.1 Purificación del ácido 3 α ,7 α ,12 α -trihidroxi-5 β -colan-24-oico (1).	79
5.2.2 Síntesis del 3 α ,7 α ,12 α -trihidroxi-5 β -colan-24-oato de metilo (2).	80
5.2.3 Síntesis del 3 α ,7 α ,12 α -triacetil-5 β -colan-24-oato de metilo (3).....	81
5.2.4 Síntesis del 3 α ,7 α ,12 α -tri- <i>O</i> -propargil-5 β -colan-24-oato de metilo (4).....	82
5.2.5 Síntesis del 3 β ,7 β ,12 β -triazido-5 β -colan-24-oato de metilo (5).....	83
5.2.6 Síntesis del 5 α -colestano-3 β ,6 α -diol (7a).	84
5.2.7 Síntesis del 5 α -colestano-3 β ,5-diol (7b)	85
5.2.8 Síntesis del 5 β -colestano-3 β ,6 β -diol (7c).....	87
5.2.9 Síntesis del 5 α -colestano-3 β ,6 β -diol (7d)	88
5.2.10 Síntesis del diacetato de (25 <i>R</i>)-16,22-dioxocolest-5-eno-3 β ,26-diilo (9)	90
5.2.11 Síntesis del diacetato de N-bencilpirrolo[2',3',4',5':16,17,20,22]-colest-5-eno-3 β ,26-diilo (10)	91

5.2.12 Síntesis del 3 β ,6 α ,26-trihidroxi- <i>N</i> -bencilpirrolo[2',3',4',5':16,17,20,22]-5 α -colestano (11a).....	92
5.2.13 Síntesis del 3 β ,5 α ,26-trihidroxi- <i>N</i> -bencilpirrolo[2',3',4',5':16,17,20,22]-colestano (11b).	94
5.2.14 Síntesis del 3 β ,6 β ,26-trihidroxi- <i>N</i> -bencilpirrolo[2',3',4',5':16,17,20,22]-5 α -colestano (11c).....	95
6. CONCLUSIONES	97
7. PERSPECTIVAS.....	100
8. BIBLIOGRAFIA:.....	101
APÉNDICES	105
APÉNDICE 1. ESPECTROS DE INFRARROJO.	105
APÉNDICE 2. ESPECTROS DE RMN DE 1D y 2D.	111
APÉNDICE 3. DIFRACTOGRAMA DE RAYOS X.....	116
APÉNDICE 4. CONDICIONES PARA REACCIONES ASISTIDAS POR MICROONDAS.....	116

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo penta[<i>a</i>]perhidrofenantreno.....	15
Figura 2. Estructuras de los ácidos biliares más importantes y sus conjugados con glicina y taurina.	16
Figura 3. Carácter anfílico del ácido cólico.	17
Figura 4. Estructura de los anillos A y B de un Δ^5-esteroide.....	19
Figura 5. Arreglo de bicapa de los ácidos cólico y desoxicólico.²⁹	26
Figura 6. Probable conformación para d y el metil β-D-glucósido propuesta mediante modelado molecular (distancias intermoleculares de puentes de hidrógeno = 2.32 Å).	29
Figura 7. Estructura y funcionalización general de los colápidos.....	30

Figura 8. Ejemplos de compuestos colápodos.....	30
Figura 9. Estructura de diversos colápodos.	31
Figura 10. Interacción de un colápodos con un oxoanión.	32
Figura 11. Estructura del ácido cólico (1).	42
Figura 12. Espectro de RMN de ^1H del compuesto 1 (600 MHz en CDCl_3).....	43
Figura 13. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto 1 (150 MHz en CDCl_3).....	44
Figura 14. Difractograma de DRX del polimorfo de 1 en AcOEt y difractogramas de otros polimorfos reportados en otros disolventes.⁵⁵	45
Figura 15. Espectro de RMN de ^1H del compuesto 2 (600 MHz en CDCl_3).....	48
Figura 16. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto 2 (150 MHz en CDCl_3).....	49
Figura 17. Micrografía SEM del compuesto 2. a) 10 000x, b) 5 000x.	50
Figura 18. Espectro de RMN de ^1H del compuesto 3 (600 MHz en CDCl_3).....	52
Figura 19. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto 3 (150 MHz en CDCl_3).....	53
Figura 20. Espectro de RMN de ^1H de los compuestos 4a-b y 3 (600 MHz en CDCl_3).55	55
Figura 21. Espectro de RMN de ^1H del compuesto 5 (600 MHz en CDCl_3).....	57
Figura 22. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto 5 (150 MHz en CDCl_3).....	58
Figura 23. Perfil de la energía libre de la HB del colesterol por la cara α y estructuras involucradas en los estados de transición.	61
Figura 24. Perfil de energías libres para la formación de 7d' y estructuras involucradas en los estados de transición.	62
Figura 25. Espectros de RMN de ^1H de los compuestos 7a-d (600 MHz en CDCl_3). ...	64
Figura 26. Espectros de RMN de ^{13}C del compuesto 7a-d (150 MHz en CDCl_3).....	66
Figura 27. Espectro de RMN de ^1H del compuesto 9 (600 MHz en CDCl_3).....	69
Figura 28. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto 9 (150 MHz en CDCl_3).....	70
Figura 29. Espectro de RMN de ^1H del compuesto 10 (600 MHz en CDCl_3).....	71
Figura 30. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto 10 (150 MHz en CDCl_3).....	72
Figura 31. Espectros de RMN de ^1H de los compuestos 11a-c (600 MHz en CDCl_3)..	75
Figura 32. Espectros de RMN de ^{13}C de los compuestos 11a-c (150 MHz en CDCl_3)..	77

Esquema 1. Mecanismo general para la reacción de hidroborcación de alquenos.	17
Esquema 2. Análisis del rendimiento de la HB de Δ^5-esteroides con respecto al sustituyente en C-3.	18
Esquema 3. Un sensor basado en principios supramoleculares.	20
Esquema 4. Síntesis de una serie de colafenos, a-e, a partir de 1.	28
Esquema 5. Síntesis de diversas cerageninas a partir de 1.	32
Esquema 6. Síntesis de compuestos derivatizados del ácido cólico (1) los cuales generan nuevos canales iónicos artificiales.	33
Esquema 7. Síntesis de colápodos tipo caja.	34
Esquema 8. Equilibrio dinámico del diborano.	34
Esquema 9. Formación del complejo $BH_3 \cdot THF$.	35
Esquema 10. Síntesis del 5α-colestano-6α-ol.	36
Esquema 11. Productos de la reacción de hidroborcación del colesterol.	36
Esquema 12. Ruta tradicional para modificar los anillos A y B.	37
Esquema 13. Modificaciones en los anillos A y B en la síntesis estereoselectiva de brassinoesteroides y sus 28-nor análogos.	38
Esquema 14. Modificaciones en los anillos A y B en la hemisíntesis de glicósidos cardiacos.	38
Esquema 15. HBO de los anillos A y B para la obtención del derivado cetónico.	39
Esquema 16. Síntesis de laxogenina a partir de diosgenina (4 pasos).	39
Esquema 17. Síntesis de laxogenina a partir de diosgenina (3 pasos).	39
Esquema 18. Ruta sintética divergente para la obtención de compuestos derivatizados de 1.	46
Esquema 19. Síntesis del derivado 24-O-metilado de 1.	47
Esquema 20. Mecanismo de reacción de esterificación del ácido cólico (1).	49
Esquema 21. Síntesis del compuesto 3α,7α,12α-triacetilado (3).	51
Esquema 22. Ruta de síntesis propuesta para el compuesto 3α,7α,12α-tripropargilado (4).	54
Esquema 23. Síntesis del compuesto 3β,7β,12β-triazida derivatizado del compuesto 2.	56
Esquema 24. Hidroborcación del colesterol reportada por Wechter y Sondheimer.	59

Esquema 25. Productos aislados y caracterizados de la reacción de HBO del colesterol a temperatura ambiente.....	59
Esquema 26. Mecanismo de reacción para la generación de compuestos “trans” a través de HB.	60
Esquema 27. Ruta sintética para la protección de la kriptógenina (8).....	67
Esquema 28. Reacción de HBO para el compuesto derivado de la kriptógenina (10) y productos obtenidos (11a-c).....	73

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Los esteroides y el ácido cólico.

Los esteroides pertenecen a una gran familia de compuestos naturales, muchos de los cuales juegan un rol importante en plantas y animales. Los esteroides son también las principales hormonas en mamíferos y se encargan de la regulación del metabolismo entre otros mecanismos esenciales para el funcionamiento del organismo. Estas moléculas contienen en su estructura al núcleo ciclopenta[*a*]perhidrofenantreno o un esqueleto derivado de éste; pueden contener grupos metilo en las posiciones 10 y 13 y una cadena lateral hidrocarbonada sobre el carbono 17 (Figura 1). Estos compuestos incluyen una gran variedad de productos de origen natural, entre los que se encuentran los esteroides, los ácidos biliares, las hormonas sexuales, las hormonas adrenocorticales, los glicósidos y las sapogeninas, por mencionar algunos.¹

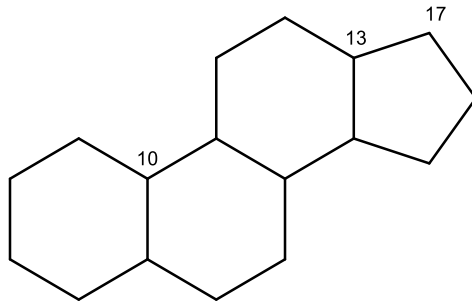


Figura 1. Ciclopenta[*a*]perhidrofenantreno.

La ciencia de los ácidos biliares tiene más de un siglo de historia donde resalta su importancia en la biología y la medicina. Estos son compuestos naturales anfifílicos los cuales se generan en la vesícula biliar y juegan un rol importante en la fisiología de los mamíferos. La estructura del grupo de compuestos que conforman los ácidos biliares consta de un esqueleto esteroideal que puede contener hasta tres grupos hidroxilo en las posiciones 3, 7 y 12 y una cadena alquílica en 17 la cual termina con un ácido carboxílico, que en la naturaleza se puede conjugar con taurina o glicina.² Los ácidos biliares más abundantes en los mamíferos son derivados hidroxilados del ácido 5 β -colan-24-oico, **a** (Figura 2). La bilis humana está constituida principalmente (90%) por ácido cólico (ácido 3 α ,7 α ,12 α -trihidroxi-5 β -colan-24-oico, **b**), ácido quenodesoxicólico (ácido 3 α ,7 α -dihidroxi-5 β -colan-24-oico, **c**) y ácido

desoxicólico (ácido 3 α ,12 α -dihidroxi-5 β -colan-24-oico, **d**). Los ácidos cólico y quenodesoxicólico se biosintetizan a partir del colesterol mediante procesos enzimáticos. Estos ácidos biliares primarios son conjugados a través de enlaces vía amida a la glicina o taurina para generar sales biliares tales como el glicolato (**e**) y taurocolato (**f**) antes de ser segregados en la bilis. La bilis se almacena en la vesícula biliar y se segrega en el intestino delgado después de ingerir alimentos, donde ayuda en la digestión y reabsorción de lípidos y vitaminas. Una parte de los ácidos biliares primarios son transformados en el colon en los ácidos biliares secundarios, ácido desoxicólico y litocólico (ácido 3 α -hidroxi-5 β -colan-24-oico, **g**). Después de su absorción en el intestino delgado y colon los ácidos biliares son dirigidos al hígado para iniciar su circulación enterohepática.³

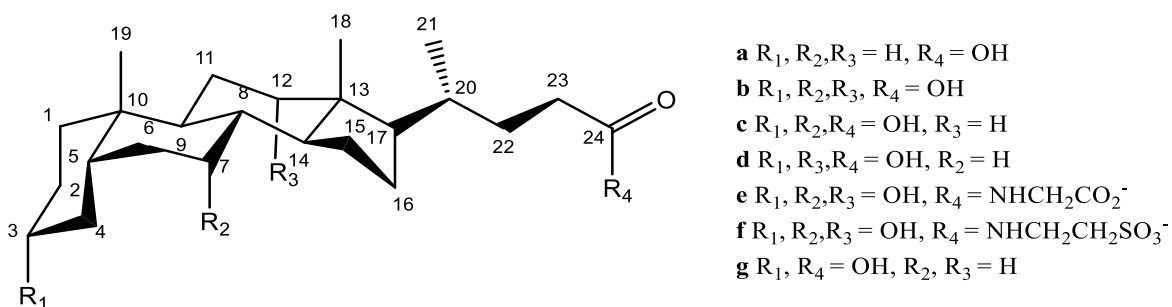


Figura 2. Estructuras de los ácidos biliares más importantes y sus conjugados con glicina y taurina.

Las sales biliares son biosurfactantes naturales los cuales actúan como solubilizantes y emulsificantes del colesterol, lípidos y proteínas en el intestino. De forma conjugada con la glicina o taurina incrementan su solubilidad en agua en condiciones fisiológicas. Todos los ácidos biliares primarios poseen tres características en común: son los productos mayoritarios en el metabolismo del colesterol, son segregados en la bilis generalmente en forma conjugada, forman conjugados o membranas impermeables, constituidas por moléculas solubles en agua y anfifílicas. Por lo tanto, poseen la habilidad de transformar arreglos lamelares de lípidos en micelas, lo cual se lleva a cabo gracias a que las sales biliares, como hemos mencionado anteriormente, son facialmente anfifílicas, por lo tanto, presentan una superficie hidrofóbica convexa (cara β) y una superficie hidrofílica cóncava (cara α) alineada a los grupos hidroxilo (Figura 3).⁴

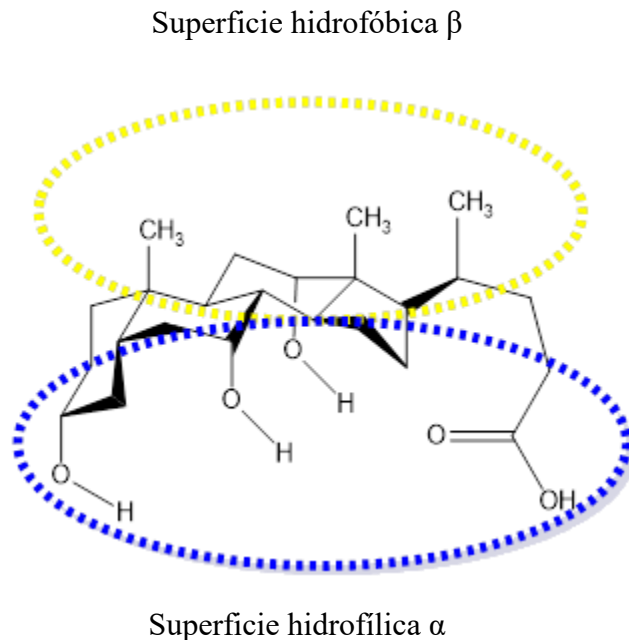
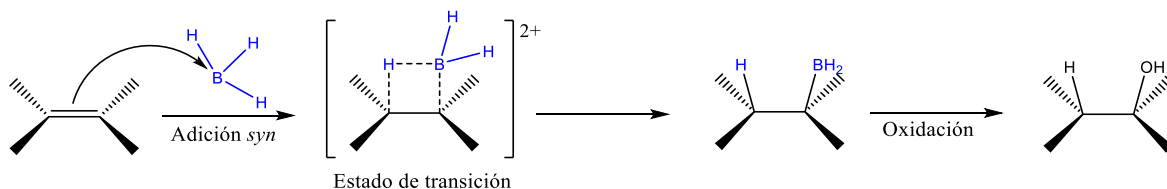


Figura 3. Carácter anfifílico del ácido cólico.

En este trabajo se reporta el diseño de nuevas rutas de síntesis para la funcionalización del ácido cólico, su derivatización estructural y la caracterización fisicoquímica de los compuestos obtenidos.

1.2 La reacción y el mecanismo de hidroborcación.

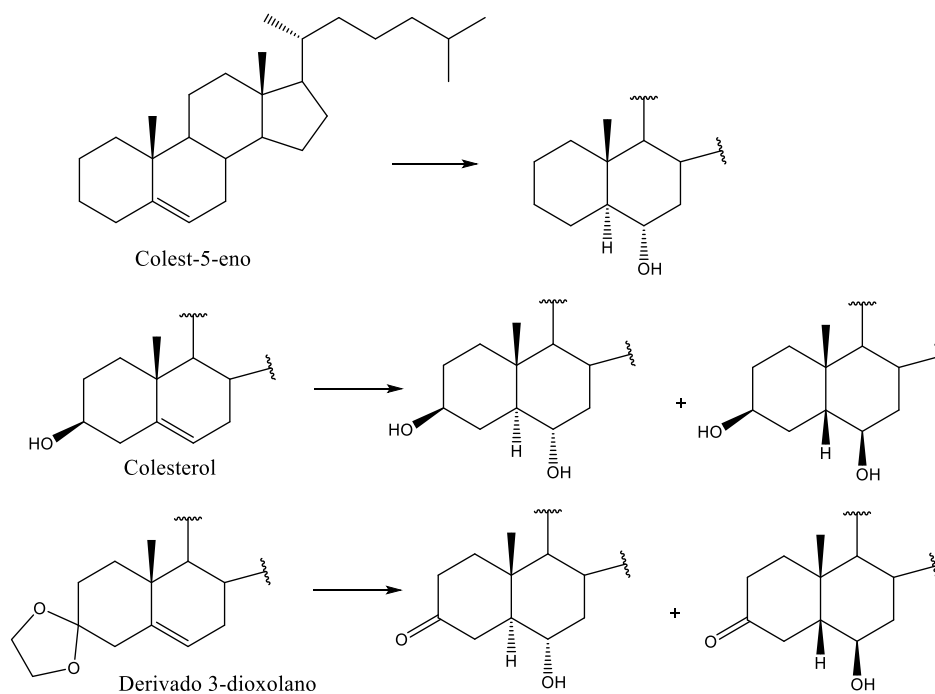
H. C Brown descubrió que el borano (BH_3) se une a alquenos con una orientación *anti*-Markovnikov para formar compuestos organoborados, los cuales se pueden oxidar para producir alcoholes tipo *anti*-Markovnikov⁵ con buenos rendimientos (Esquema 1).



Esquema 1. Mecanismo general para la reacción de hidroborcación de alquenos.

La adición simultánea del boro e hidrógeno al doble enlace conlleva a una adición *syn* (adición sobre la misma cara π) por el lado menos impedido del doble enlace y el consiguiente proceso de oxidación se lleva a cabo utilizando peróxido de hidrógeno con retención de configuración.

La estereoquímica de los productos obtenidos a partir de la hidrobioración y su consecuente oxidación es de gran interés sintético, por lo tanto, en la literatura se han reportado varios ensayos con esteroides como sustratos, principalmente sobre el doble enlace Δ^5 . Nussim y col. encontraron que la dirección del ataque en esta posición depende de la naturaleza del sustituyente en C-3, y obtuvieron resultados diversos de acuerdo con el sustituyente en dicha posición (Esquema 2).⁶



Esquema 2. Análisis del rendimiento de la HB de Δ^5 -esteroides con respecto al sustituyente en C-3.

En el presente trabajo se reestudió el mecanismo de reacción de hidrobioración empleando como modelo a los Δ^5 -esteroides colesterol y kriptogenina (Figura 4).

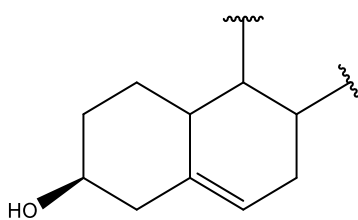


Figura 4. Estructura de los anillos A y B de un Δ^5 -esteroide.

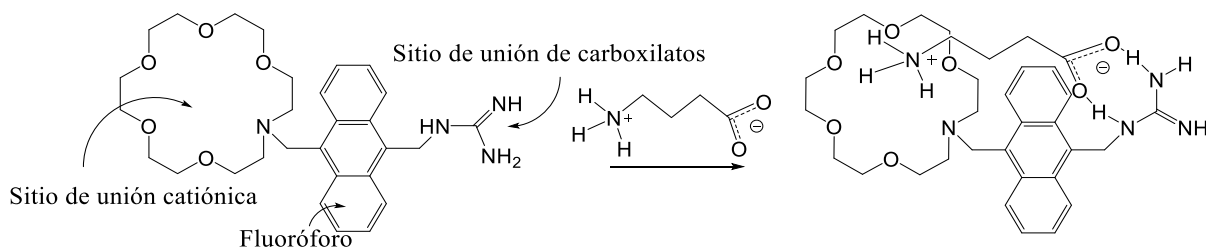
En la segunda parte de este trabajo se abordan la caracterización de los productos y el estudio del mecanismo de hidroborcación oxidativa en Δ^5 -esteroides.

2. ANTECEDENTES

2.1 Colápidos esteroidales

2.1.1 Química supramolecular

La química supramolecular es una rama de la química asociada al estudio de sistemas moleculares complejos formados por componentes químicos discretos.⁷ Estas entidades multicomponentes deben su existencia a interacciones reversibles, por lo que tienen la capacidad de disociarse y reformarse en respuesta al estímulo de un ambiente químico en particular. La formación de estos compuestos genera nuevas entidades con diferentes propiedades las cuales frecuentemente se comportan en formas inesperadas y novedosas. El fenómeno supramolecular resultante puede ser tan simple como el crecimiento cristalino a partir de una solución saturada o tan complejo como la traducción ribosomal de ARN mensajero en una proteína. Recientemente, los químicos supramoleculares han tomado moléculas simples y las han ensamblado mediante fuerzas no covalentes para obtener nanocompuestos con alta funcionalidad. Un buen ejemplo de esto es un sensor (Esquema 3) el cual se compone de elementos de reconocimiento y señalización separados por un pequeño espaciador.⁷



Esquema 3. Un sensor basado en principios supramoleculares.

Diversos aspectos de la química y biología a nivel molecular pueden ser considerados bajo la etiqueta de “química supramolecular”. Además, existen compuestos a los cuales se les han agregado diversos grupos funcionales en una molécula la cual posteriormente utiliza el arreglo espacial generado entre estas interacciones no covalentes, para incrementar las propiedades de la molécula una vez modificada.

La química supramolecular refleja la naturaleza de interacciones dinámicas reversibles, comunes en el campo de la química y la biología,⁸ por ejemplo: la formación de enlaces por puente de hidrógeno, las interacciones con ligantes metálicos y los efectos hidrofóbicos observados en la separación de compuestos alifáticos. Además, así como diversas estructuras biológicas son capaces de formar, romper, rearrreglar y reformar su estructura, este comportamiento también se puede llevar a sistemas no biológicos formados a través de interacciones supramoleculares.

Durante el desarrollo de la química supramolecular se identificaron diversos tipos de receptores, tales como: ensamble molecular (ya sea a través del autoensamblado o la autoorganización) y ensamblajes moleculares dinámicos debidos a la reversibilidad cinética de las interacciones no covalentes. Algunas interacciones presentes en estos compuestos son los enlaces por puente de hidrógeno, apilamientos π - π y efectos hidrofóbicos. Estas interacciones individualmente son más débiles que un enlace covalente pero sus efectos acumulativos son capaces de dirigir la formación de supramoléculas. Mientras más grande sea la afinidad que existe entre el receptor y el huésped a través de la combinación de estas fuerzas, mayor será la selectividad del receptor. El aprovechamiento de este importante paradigma en el diseño molecular es la base de la química supramolecular.⁷ Durante el diseño de componentes supramoleculares frecuentemente es posible manipular el balance de estas fuerzas para mejorar la afinidad con el huésped. Las interacciones que se ven involucradas generalmente en la formación de compuestos supramoleculares son descritas a continuación:

- **Enlaces covalentes:** Estas interacciones permiten la formación de compuestos orgánicos. Casi por definición este tipo de interacción es de baja relevancia en el ensamble supramolecular.
- **Enlaces covalentes reversibles:** Una idea que ha cobrado gran importancia es la de generar una biblioteca dinámica combinatoria de componentes moleculares que se autoorganicen para generar supramoléculas con terminaciones reactivas las cuales se encuentran predisuestas para formar enlaces covalentes, debido a que varios tipos de enlaces covalentes son fácilmente reversibles bajo condiciones relativamente suaves.
- **Interacciones iónicas:** Las interacciones catión-anión son comúnmente más fuertes que la compartición de electrones en los enlaces covalentes, aunque, son fácilmente

disociados por disolventes polares. Así como los iones sencillos contribuyen a los cambios en la presión osmótica y pueden influenciar los enlaces proteicos, también debe considerarse el impacto de sistemas iónicos complejos.

- **Interacciones ion-dipolo:** Los iones cuentan con una carga permanente, ya sea positiva o negativa y ésta puede interactuar con moléculas que poseen un dipolo. El dipolo puede ser una característica permanente o temporal. Un buen ejemplo de esto último ocurre entre la molécula apolar de dióxígeno y el hierro de la hemoglobina.
- **Interacciones dipolo-dipolo:** Las moléculas polares pueden interactuar débilmente con otra molécula polar a través del mismo mecanismo descrito anteriormente. Debido a que ningún “polo” de la molécula está particularmente cargado fuertemente, este tipo de interacción es necesariamente débil. A pesar de eso, pueden jugar un papel muy importante en la orientación de hidrocarburos polares que se ensamblan para formar micelas y bicapas lipídicas.
- **Enlaces puente de hidrógeno:** Los enlaces puente de hidrógeno se forman entre átomos de hidrógeno enlazados covalentemente a un átomo “rico” en electrones. Esto conlleva a la polarización del enlace covalente provocando que el hidrógeno sea electropositivo y por lo tanto atractivo para átomos electronegativos. El enlace puente de hidrógeno resultante es débil, aunque varios enlaces puente de hidrógeno se pueden complementar para impartir gran estabilidad a las interacciones moleculares.
- **Interacciones catión- π :** Las moléculas orgánicas aromáticas, son comúnmente halladas tanto en contextos biológicos como no-biológicos, su interacción con cationes parece ser de considerable importancia dirigiendo a las proteínas para formar estructuras terciarias adecuadas. La interacción se basa en la atracción entre el ion metálico cargado positivamente y el área de densidad de electrones deslocalizados que yace arriba y debajo del plano del anillo aromático.
- **Interacciones π - π :** Uno de los efectos de la aromaticidad es que, mediante la orientación de la densidad electrónica en los orbitales de la estructura de carbón, los átomos de hidrógeno de la periferia de las moléculas se encuentran polarizados. Los hidrógenos polarizados positivamente son capaces de interactuar con el sistema π de alguna molécula vecina a través de una interacción dipolo-dipolo perpendicular. Alternativamente se pueden apilar a través de interacciones π - π alternadas donde una

molécula yace encima de otra, organizada de tal forma que las regiones complementarias ricas en electrones y la región electrodeficiente, se emparejen.

- **Interacciones por fuerzas de Van der Waals:** Las fuerzas de Van der Waals o fuerzas de London son débiles y más difíciles de controlar que el resto de las interacciones debido a que son fuerzas electrostáticas que incrementan o disminuyen en función de la distancia interatómica.
- **Efectos hidrofóbicos:** Diversas moléculas no poseen la habilidad para formar puentes de hidrógeno u otras interacciones atractivas basadas en cargas complementarias. Estos compuestos están conformados comúnmente solo de carbono e hidrógeno, ejemplos comunes son cadenas lineares hidrocarbonadas y sistemas de anillos aromáticos. A pesar de que en estos compuestos pueden ocurrir interacciones de apilamiento π - π , el efecto principal de estas moléculas es interactuar excluyendo grupos polares o apolares.

2.1.2 Ácidos biliares.

A pesar de contar con más de un siglo de historia la ciencia de los ácidos biliares continúa siendo de gran relevancia. Los ácidos biliares se encuentran fisiológicamente en forma de sales. Estas sales junto a los lípidos/grasas/colesterol forman micelas en el intestino para llevar a cabo la digestión de grasas y absorción a través de la pared intestinal.¹¹ Son biosintetizados a partir del colesterol en el hígado¹² y almacenados en las glándulas biliares. Este movimiento de las sales biliares se denomina circulación enterohepática. Las sales más abundantes en los humanos son el colato, quenodesoxicolato y desoxicolato.

Todos los ácidos biliares primarios presentan tres características en común: son los productos mayoritarios en el metabolismo del colesterol, son segregados en la bilis, principalmente en forma conjugada y son impermeables ante las membranas celulares, solubles en agua y moléculas anfifílicas, las cuales tienen una gran capacidad de formar arreglos lamelares de lípidos en micelas mixtas.

Los estudios de la química de los compuestos presentes en la bilis surgieron en los inicios del siglo XIX. Después de que, en 1932, Bernal elucidó la estructura del ciclopenta[*a*]perhidrofenantreno en el colesterol mediante rayos X.¹³ Más tarde, Rosenheim

y King fueron capaces de proponer la estructura correcta de los ácidos biliares.¹⁴ La actual fase científica de la investigación de los ácidos biliares que involucra el aislamiento y caracterización de estos compuestos a partir de diferentes especies, estudios metabólicos y estudios fisicoquímicos inició en los años 50.

Todos los ácidos biliares consisten en dos partes: un núcleo esteroidal rígido y una cadena alifática lateral corta (Figura 2).¹ El núcleo esteroidal de los ácidos biliares está conformado por el ciclo penta[*a*]perhidrofenantreno, el cual contiene tres anillos de seis miembros (A, B y C) y uno de cinco miembros (D). Además, contiene metilos angulares en las posiciones 18 y 19. Posee un peculiar perfil curvo (acuñado), ya que los anillos A y B se encuentran unidos mediante fusión *cis*. Así como grupos hidroxilo bien distribuidos en el esqueleto esteroidal. Los ácidos biliares son facialmente anfifílicos, por lo que contienen una cara hidrofóbica (liposoluble) y una hidrofílica (polar).

Las dos caras de su estructura poseen propiedades muy diferentes; en la cara α , varios grupos hidroxilo se encuentran dirigidos convergentemente hacia la cavidad que genera la estructura de los ácidos biliares, formando la parte hidrofílica junto con la cadena lateral carboxilada. En la cara hidrofóbica β , se encuentran presentes tres grupos metilo. Debido a esta anfifilicidad facial los ácidos biliares tienen la capacidad de generar micelas y otras estructuras supramoleculares. El autoensamblado es inducido por las interacciones hidrofóbicas, aunque los enlaces puente de hidrógeno también juegan un papel muy importante.¹⁵

Los ácidos biliares presentan funciones fisiológicas importantes, tales como: la solubilización y transporte de lípidos, activación de lipasa mediante sales biliares, homeostasis del colesterol, entre otras.

El ácido cólico (**1**), el ácido ursodesoxicólico (ácido 3 α ,7 β -dihidroxi-5 β -colan-24-oico) y sus conjugados han sido utilizados en el tratamiento de deficiencia de ácidos biliares en algunas enfermedades del hígado y disolviendo cálculos biliares de colesterol.¹⁶ Las propiedades antivirales de los ácidos biliares y sus derivados azufrados,¹⁷ así como las propiedades antifúngicas¹⁸ de algunos ésteres derivados del ácido cólico han sido estudiadas con resultados prometedores.^{19,20}

Durante las últimas décadas, ha surgido un gran interés en la síntesis y estudio de los surfactantes catiónicos derivados de la bilis.²¹ En la mayoría de estos estudios, una diamina se une al ácido biliar mediante un enlace amida y la otra amina se convierte en una sal

cuaternaria. Fini y colaboradores,²² reportaron estudios comparativos entre los derivados ácidos y básicos. Bernheim y Lack,²³ estudiaron una serie de derivados del ácido colánico y mostraron que las sales biliares catiónicas son potentes aceleradores de la inhibición bacteriana, además de inhibir la síntesis proteica.

La química supramolecular involucra la transformación de estructuras moleculares en funcionales⁷. Un primer requerimiento es que las estructuras puedan ser predecibles, lo cual puede ser difícil para sistemas flexibles (incluso en las proteínas, donde puede existir una estructura preferible). Las subunidades rígidas son por lo tanto estructuras objetivo en el diseño supramolecular. La búsqueda de este tipo de sistemas inició en la mitad de los años 80.²⁴ La naturaleza ha producido una gran variedad de alternativas, generalmente compuestos alifáticos y casi siempre quirales, listos para ser utilizados. Algunos se pueden obtener en grandes cantidades sin altos costos. Quizás los más obvios eran los esteroides los cuales presentan un esqueleto policíclico largo y rígido. Dentro de esta familia los ácidos biliares eran excepcionalmente atractivos. En primer lugar, poseen altos niveles de funcionalidad bien distribuida alrededor del esqueleto esteroideal. En segundo lugar, los grupos funcionales podían ser diferenciados y transformados, lo cual conllevó a la era dorada de la química esteroideal.²⁵ Finalmente, estos se encuentran disponibles, siendo el más accesible el ácido cólico (**1**). Afortunadamente el ácido cólico es también el que presenta mayor funcionalidad y, por lo tanto, el más interesante y versátil de estas materias primas.

El ácido cólico (**1**) es una estructura base muy conveniente para obtener sistemas biomiméticos debido a las siguientes características:²⁶

- La rigidez de la estructura esteroideal 5 β (fusión *cis* de los anillos A/B) asegura la formación de una cavidad.
- Las dos caras del esteroide difieren dramáticamente en sus propiedades, la cara α presenta tres grupos con la capacidad de formar puentes de hidrógeno, mientras la cara β es totalmente hidrofóbica.
- Los grupos hidroxilo se encuentran orientados hacia el centro de la cara cóncava.
- La cadena lateral carboxilada puede ser fácilmente derivatizada.

Los ácidos biliares, tales como **1**, desempeñan diversos roles en la biología y química supramolecular. Mientras la naturaleza aprovecha la cara hidrofóbica de **1** para unirse y

disolver moléculas apolares en medio acuoso, la química supramolecular ha aprovechado su funcionalidad para llevar a cabo la síntesis de estructuras menos elaboradas con el fin de llevar a cabo el reconocimiento de especies polares en medios apolares.²⁷

La estructura cristalina de los compuestos derivatizados de los ácidos biliares frecuentemente muestra la presencia de canales²⁸ con moléculas de disolvente atrapadas o “huéspedes”. La tendencia a formar canales en el estado sólido se genera como resultado de la naturaleza anfifílica de estos compuestos.

La inclusión de redes complejas es el resultado del autoensamblaje supramolecular de moléculas en sus redes cristalinas con huecos los cuales están ocupados por especies huésped. El ácido desoxicólico (ADC) y el ácido cólico (**1**, AC) son ácidos biliares comunes los cuales poseen la habilidad de albergar varios compuestos orgánicos dentro de su red cristalina. Varias estructuras con inclusión de complejos involucrando estos dos receptores han revelado que la molécula receptora presenta un arreglo de tipo bicapa a través de puentes de hidrógeno y que un espacio en forma de túnel se encuentra entre ambas bicapas²⁹. El AC forma frecuentemente arreglos de bicapas cabeza-cabeza y cola-cola (hh-tt, por sus siglas en inglés) mientras el ácido desoxicólico se arregla en forma cabeza-cola (h-t) (Figura 5).

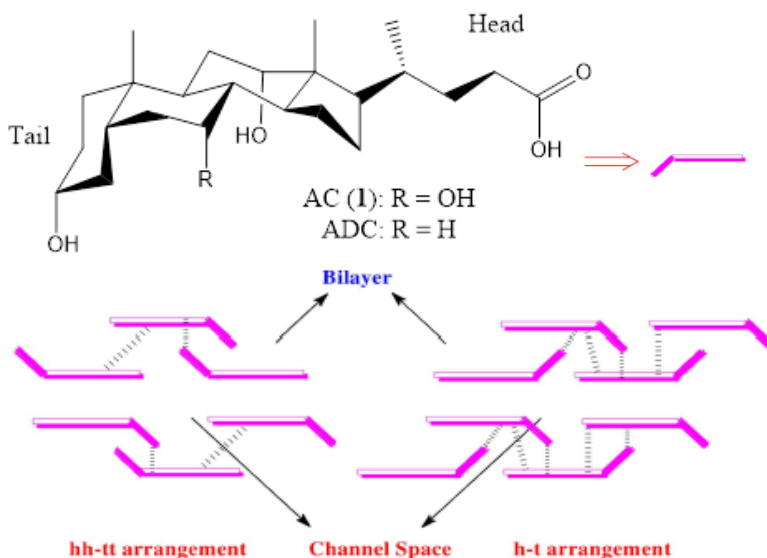


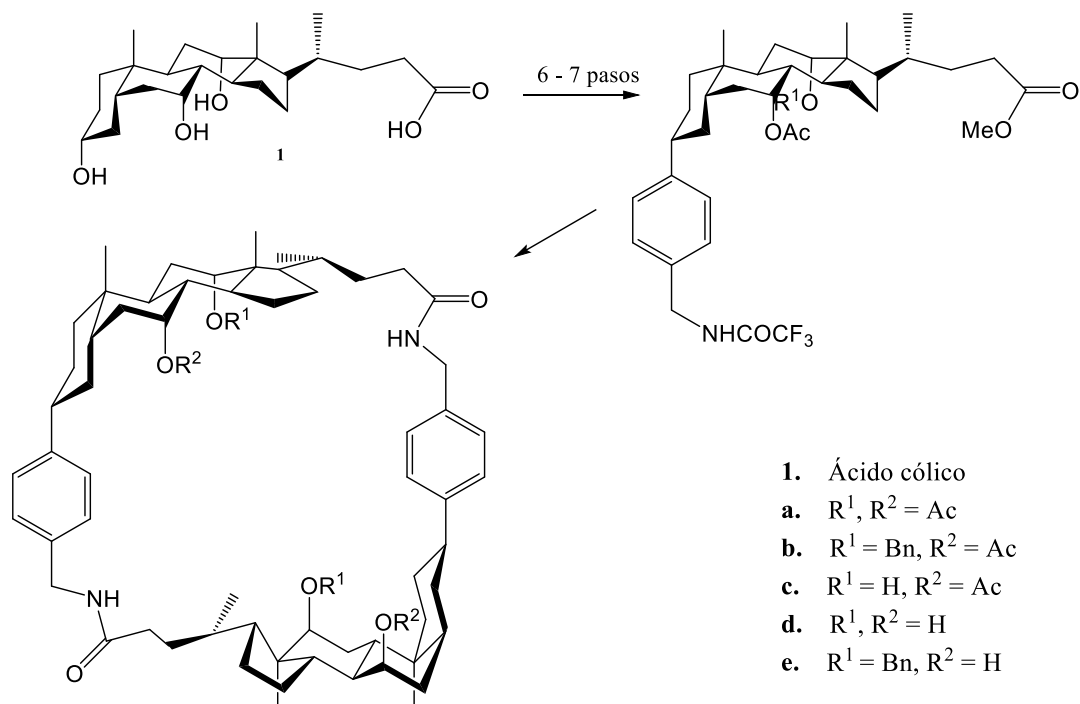
Figura 5. Arreglo de bicapa de los ácidos cólico y desoxicólico.²⁹

Una característica general de las enzimas, las cuales son responsables de la mayor parte de la actividad y selectividad, es la habilidad de rodear a los sustratos mediante grupos funcionales estratégicamente colocados. Para poder imitar la acción enzimática es deseable tener acceso a estructuras moleculares las cuales puedan encapsular moléculas pequeñas, que

sean suficientemente rígidas, que posean grupos funcionales controlables y razonablemente fáciles de ensamblar. El ácido cólico (**1**) es un compuesto que presenta o puede replicar la actividad enzimática ya que los grupos hidroxilo son químicamente distinguibles, con creciente reactividad hacia la oxidación $3\text{-OH} < 12\text{-OH} < 7\text{-OH}$, y decreciente reactividad hacia procesos de acilación, hidrolisis y reducción $3\text{-OH} > 7\text{-OH} > 12\text{-OH}$.³⁰

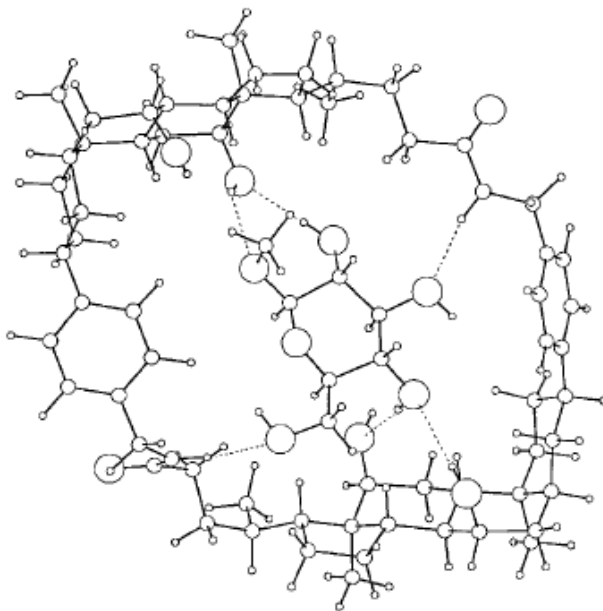
La fusión *cis* entre los anillos A y B del núcleo esteroidal imparte un perfil curvo y sugiere la posibilidad de obtener estructuras cerradas a través de la macroanillación.³¹ Estos fueron de los primeros compuestos supramoleculares obtenidos. Colocando estratégicamente un espaciador en la posición 3α de **1**, se pueden generar intermediarios en los cuales la curvatura es más acentuada, y, mediante una ciclodimerización, se obtienen moléculas con cavidades sustanciales.²⁴

El potencial de esta materia prima fue demostrado con la síntesis del primer “colafeno” reportado en 1989.³¹ Como se muestra (Esquema 4), estos macrociclos fueron preparados a partir de **1** mediante la conversión de la posición esteroidal $3\alpha\text{-OH}$ por un espaciador *p*-aminometilfenilo, seguido por una ciclodimerización. Dos series fueron sintetizadas, una en la cual las posiciones esteroidales 7 y 12 contienen el mismo grupo funcional (**a**, **d**) y otra en donde fueran diferenciables (**b**, **c**, **e**). A pesar de que el esqueleto no es enteramente rígido, se encuentra conformacionalmente restringido por los segmentos extendidos policíclico/aromático generados entre el C-20 de la base esteroidal y los átomos de carbono del metileno bencílico. Esta estructura presenta una cavidad sustancial limitada por las amidas anulares y con los grupos funcionales en C-7 y C-12 dirigidos hacia el interior.



Esquema 4. Síntesis de una serie de colafenos, **a-e**, a partir de **1**.

En pruebas iniciales, los colafenos anteriores fueron expuestos a dodecil β -D-glucopiranosido en CDCl_3 .³² Para ambos compuestos **d** y **e** la formación del complejo fue claramente observada mediante espectroscopia de RMN de ^1H . Los corrimientos sustanciales observados en el campo para las señales NH de las amidas sugieren que estos grupos actúan como donadores de H en puentes de hidrógeno y otros corrimientos indican cambios significativos en la conformación de los macrociclos. Los patrones de estos corrimientos fueron consistentes con una estequiometría 1:1, los análisis arrojan valores para la constante de asociación (K_a) de 1740 y 700 M^{-1} para **d** y **e**, respectivamente. A pesar de esto no se pudo comprobar que el carbohidrato entró en las cavidades de los macrociclos, aunque los datos descritos anteriormente y estudios de modelado molecular (Figura 6) sostienen esta hipótesis. La quiralidad del esqueleto del colafeno genera la posibilidad de reconocimiento de carbohidratos enantio- y diastereoselectivos.



*Figura 6. Probable conformación para **d** y el metil β -D-glucósido propuesta mediante modelado molecular (distancias intermoleculares de puentes de hidrógeno = 2.32 Å).*

2.1.3. Estructuras acíclicas. La arquitectura de los colápodos.

Una de las áreas más activas en la química supramolecular es el estudio de reconocimiento aniónico. Un importante grupo de receptores aniónicos derivados del ácido cólico han sido previamente diseñados para operar en disolventes orgánicos mediante puentes de hidrógeno a través de grupos funcionales electroneutrales a los cuales se les denominó “colápodos” (cholapods).²⁴

Los colafenos poseen la ventaja de encerrar a sus substratos a través de grupos funcionales enlazantes en sus alrededores. A pesar de ello, la variación de, ya sea, los grupos enlazantes o de su solubilidad mediante sustituyentes estructurales no es tan sencilla. Un enfoque alternativo es utilizar una sola molécula de ácido biliar para crear una estructura de tipo “colgante” (podant) (Figura 7). El sitio de enlace se encuentra formado por las “piernas” A-C, mientras la solubilidad puede ser controlada mediante el grupo éster R. Los primeros sistemas de este tipo fueron reportados por Kahne y Still quienes se percataron de que los receptores de este tipo podían ser variados en forma combinatoria.³³ Debido a que estas estructuras son dirigidas hacia el reconocimiento aniónico, son de interés estructuras en las

cuales A-C contienen donadores de hidrógeno enlazantes. Su número y posiciones pueden ser variadas, así como su fuerza donadora (por ejemplo, ajustando Z).

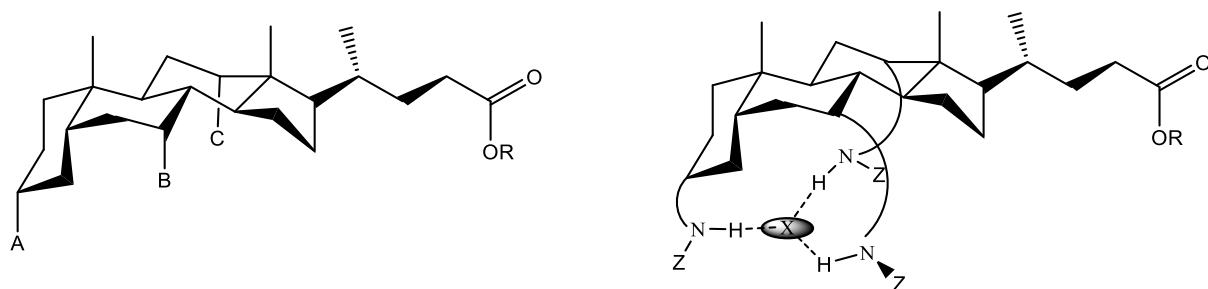


Figura 7. Estructura y funcionalización general de los colápodos.

Estos receptores orgánicos neutrales pueden ser vistos como la contraparte ligante-aniónica de los clásicos ligantes catiónicos éter corona, criptandos y esferandos.³⁴ La síntesis de compuestos colápodos se ha llevado a cabo a través de la sustitución de los grupos hidroxilo por aminas (Figura 8)³⁵. Aunque, en términos de afinidad los anionóforos presentan menor actividad en comparación a los cationóforos. Mientras para los cationóforos valores de constantes de asociación $\geq 10^{10} \text{ M}^{-1}$ son comunes, los anionóforos rara vez exceden valores de 10^5 M^{-1} .³⁶

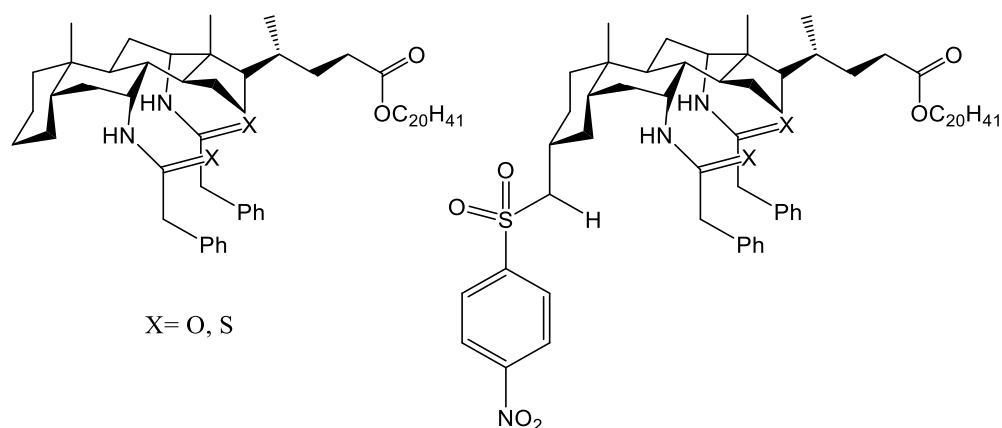


Figura 8. Ejemplos de compuestos colápodos.

Es posible obtener colápodos mediante derivatización directa a partir de **1**, a pesar de que la distribución de los tres grupos hidroxilo no es ideal para este propósito.³⁷ Un método obvio sería la esterificación, pero es un proceso lento y difícil de llevar a cabo y además no arroja productos especialmente “útiles”. Sin embargo, si uno o más hidroxilos pueden ser reemplazados por grupos amino³⁸, cuyas estructuras son más atractivas, los grupos amino son fácilmente transformados en amidas, ureas, sulfonamidas y grupos guanidinas, todos con

propiedades de reconocimiento.²⁴ La derivatización secuencial también es sencilla. En estructuras mixtas amino/hidroxi, los grupos amino reaccionarán primero y en las que estén presentes dos o tres aminas, estas pueden ser protegidas de forma diferenciada³⁹ (Figura 9).

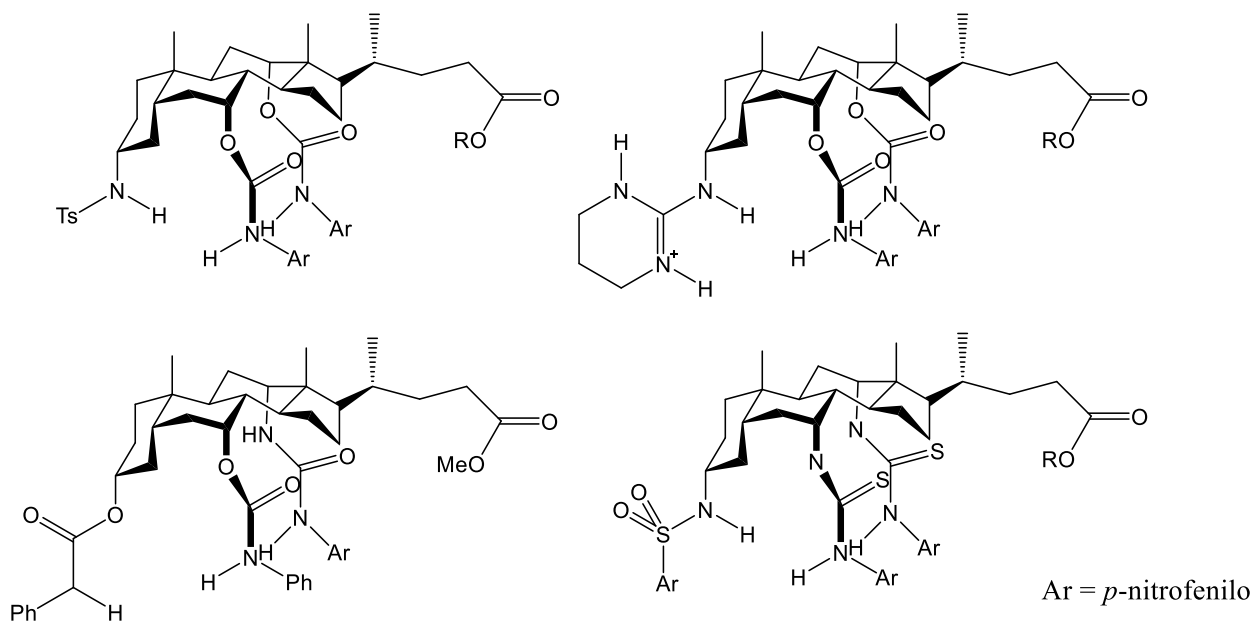


Figura 9. Estructura de diversos colápodos.

Los colápodos muestran una gran afinidad aniónica (hasta 10^{11} M^{-1} para el ion cloruro en cloroformo) y manteniendo la compatibilidad con medios no polares (como en el interior de las bicapas en las membranas). Por lo que estos compuestos pueden actuar como portadores aniónicos transmembrana, siendo los primeros compuestos orgánicos neutros en presentar esta propiedad.

Davis y colaboradores han llevado a cabo la síntesis de receptores aniónicos del tipo “colgante” basados en **1**, en los cuales se añadieron grupos amino en las posiciones 3α , 7α y 12α del núcleo esteroidal.²⁴ También hallaron que los metil y octil colatos se unen a oxoaniones tridentados, como los sulfonatos, a través de enlaces puente de hidrógeno, en los cuales se involucran los tres grupos hidroxilo de **1** (Figura 10).⁴⁰

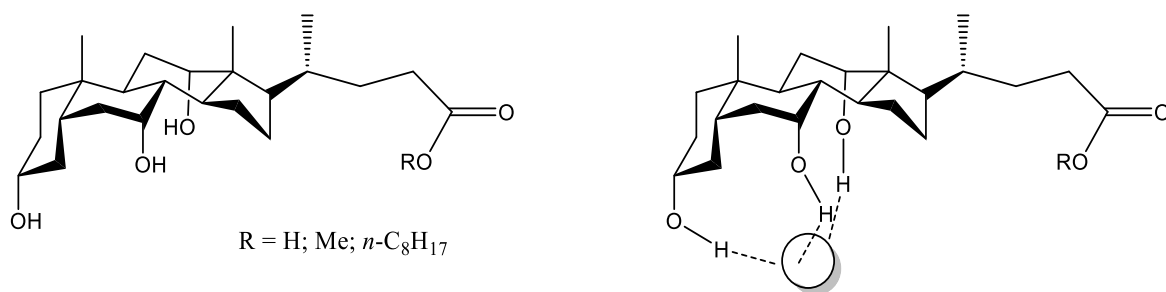
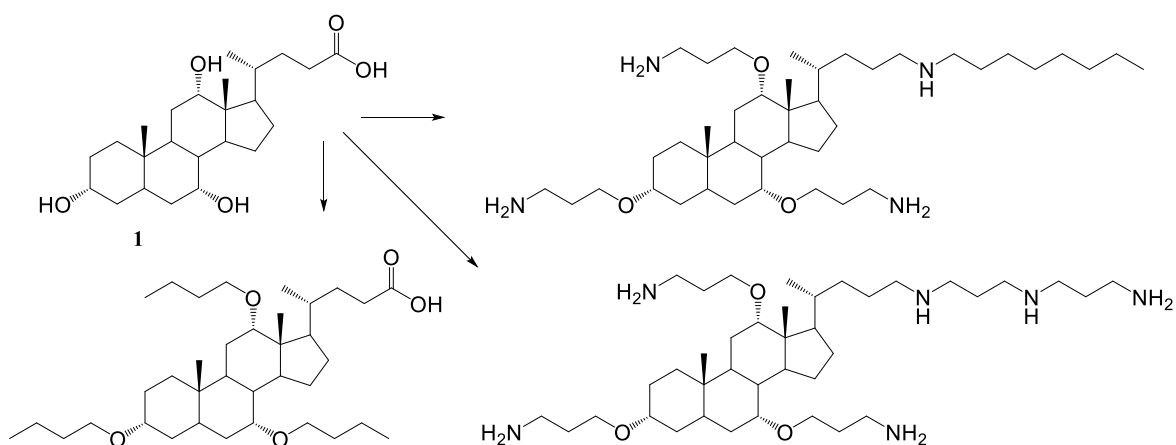


Figura 10. Interacción de un colápedo con un oxoanión.

Existen reportes en los cuales se ha afinado la naturaleza anfifílica del ácido cólico (**1**) para imitar de manera óptima la carga catiónica característica de los péptidos antimicrobianos. Inicialmente, estos compuestos fueron definidos como *esteroides catiónicos antibióticos* (o CSA, por sus siglas en inglés, Esquema 5) y para evitar la idea de que estos compuestos puedan poseer propiedades de tipo esteroidal, se han denominado *cerageninas*⁴¹. Las cerageninas fueron diseñadas para imitar la morfología facial anfifílica de los péptidos antimicrobianos. El estudio de estos compuestos se ha enfocado en cuatro áreas: la actividad antibacteriana directa (bacterias Gram-negativas y positivas) incluyendo trabajos con organismos resistentes a los fármacos, la habilidad de las cerageninas para sensibilizar a las bacterias Gram-negativas ante antibióticos hidrofóbicos, la correlación de la actividad antimicrobiana de las cerageninas con péptidos antimicrobianos y los métodos de unión de las cerageninas a polímeros para la prevención de la colonización superficial por bacterias.

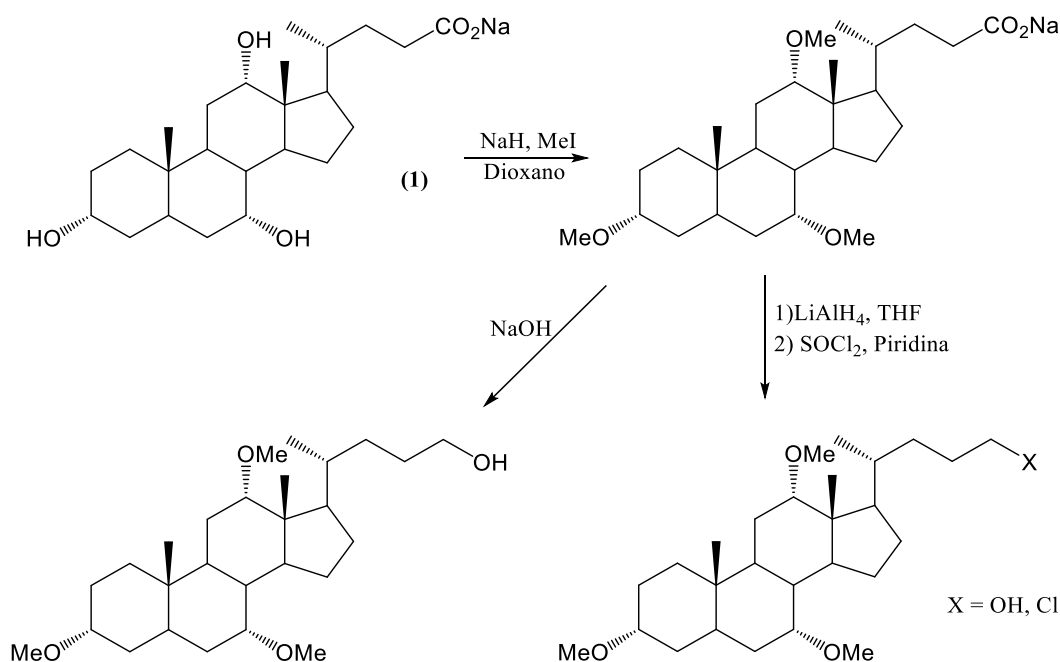


Esquema 5. Síntesis de diversas cerageninas a partir de **1**.

Los canales iónicos peptídicos naturales son excelentes sistemas moleculares para llevar a cabo la transducción en células biológicas y por lo tanto la construcción de canales iónicos artificiales ha sido un objeto de estudio bastante atractivo.

El ácido cólico (**1**) fue modificado⁴² para obtener un simple acercamiento a un canal iónico artificial supramolecular mediante la conversión de tres grupos hidroxilo a metil éteres y al grupo carboxilo a un grupo hidroxilo o halógeno (Esquema 6). Estos compuestos presentaron canales de corriente estable y valores de conductancia adecuados en membranas planas de bicapas lipídicas.

Los canales iónicos han sido caracterizados adecuadamente mediante la medición de corrientes de canales iónicos individuales y de valores de conductancia en el orden de 10^1 - 10^3 pS.



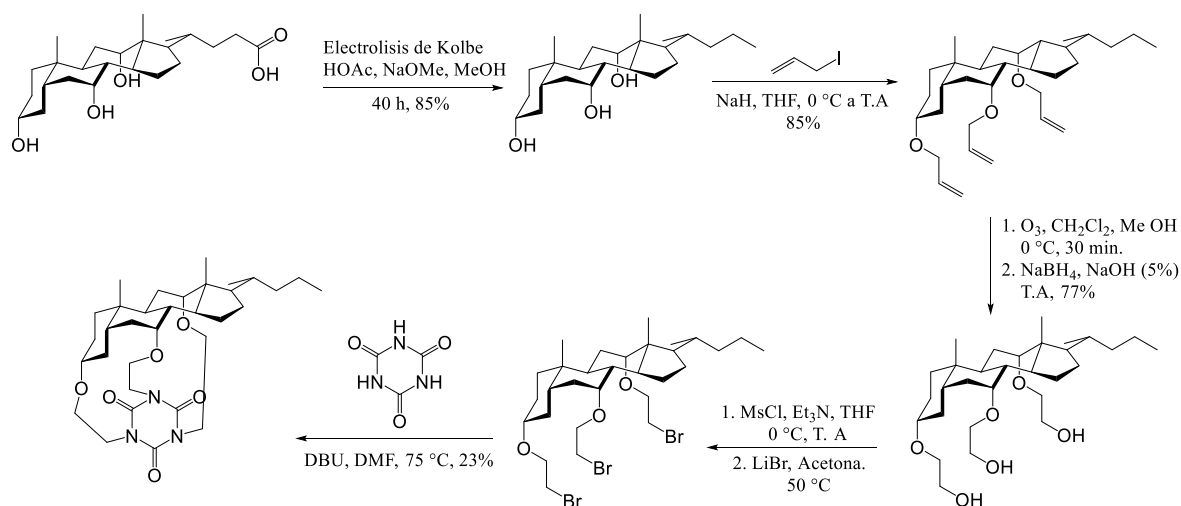
*Esquema 6. Síntesis de compuestos derivatizados del ácido cólico (**1**) los cuales generan nuevos canales iónicos artificiales.*

Las mediciones de corriente de canales individuales muestran claramente una serie de valores de conductancia la cual comprueba la formación del ensamblaje supramolecular de la unidad estructural. Estas propiedades se considera que se originan a partir de la naturaleza estructural anfifílica y rígida del componente esteroideal.

Zhang describe colápidos en forma de caja con propiedades anfifílicas ajustables.⁴³ Estos compuestos en forma de caja son construidos extendiendo los tres grupos hidroxilo debajo de los anillos esteroidales con enlazadores de etilbromuro, los cuales fueron unidos posteriormente al ácido cianúrico en presencia de DBU y DMF (Esquema 7). Estas

estructuras en forma de caja fueron bastante rígidas debido a la corta distancia de los enlazadores y se determinó mediante cristalografía de rayos-X.

Mediante titulación con KPF_6 en una solución de los compuestos tipo caja en acetona d_6 , se determinó la actividad de reconocimiento aniónico.⁴³

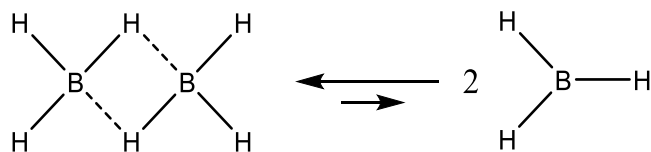


Esquema 7. Síntesis de colápodos tipo caja.

2.2 La reacción de hidroborcación

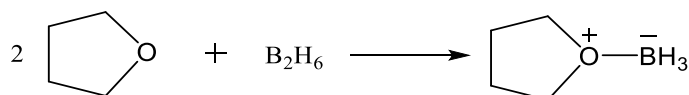
En 1957 H.C. Brown llevó a cabo la adición de borano a alquenos a través de una orientación *anti*-Markovnikov, para generar compuestos organoborados⁴⁴ con la misma orientación que su predecesor (Esquema 1).

El borano (BH_3) se encuentra generalmente en forma de dímero (diborano). La unión en el diborano es poco convencional, posee una estructura de tres centros-dos electrones (Esquema 8).



Esquema 8. Equilibrio dinámico del diborano.

El diborano es un compuesto gaseoso inestable, tóxico, inflamable y explosivo. Por tal razón, es más práctico utilizarlo como complejo, generalmente con éteres como el tetrahidrofurano (THF, Esquema 9). Este complejo reacciona como borano y la solución es más fácil de manipular.



Esquema 9. Formación del complejo $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$.

El tratamiento posterior con peróxido de hidrógeno, en medio básico, oxida al organoborano en un alcohol con retención de configuración.

2.2.1 Mecanismo de hidroborcación.

El borano es un compuesto electrodeficiente. Contiene solo seis electrones de valencia, ya que el átomo de boro no puede completar un octeto. La única forma de adquirir un octeto es formando el diborano. Ya que el BH_3 es un compuesto electrodeficiente, es también un fuerte electrófilo, capaz de unirse a un doble enlace. La hidroborcación del doble enlace se lleva a cabo en un solo paso, generalmente, con la adición del átomo de boro en el lado menos sustituido del doble enlace (ver Esquema 1).

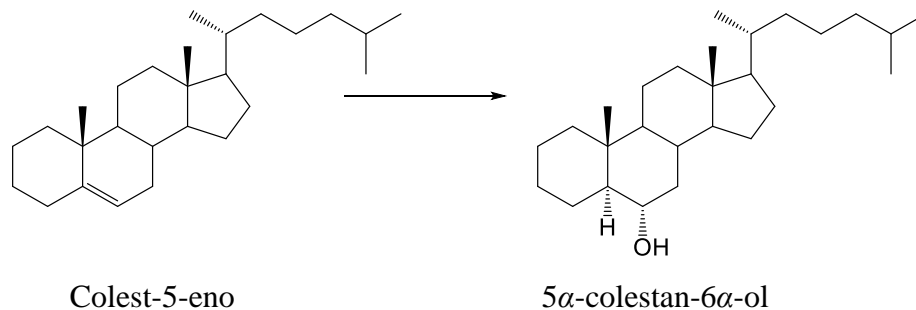
En el estado de transición, el átomo electrofílico de boro acepta los electrones del enlace π y el carbono del otro lado del doble enlace adquiere una carga parcial positiva. Esta carga parcial es más estable en el átomo de carbono más sustituido, por ello es preferido el producto tipo *anti*-Markovnikov. El producto final contiene al boro unido en el lado menos sustituido y al hidrógeno en el más sustituido. De igual forma, el impedimento estérico favorece este tipo de adición.

Para la formación de alcoholes a partir de organoboranos, el átomo de boro se remueve mediante una oxidación, utilizando una solución de peróxido de hidrógeno en medio alcalino, reacción que transcurre con retención de configuración.⁴⁵

La mayoría de los ejemplos estudiados por Brown involucraban olefinas acíclicas o ciclos sencillos. Mas adelante, se llevaron a cabo estudios en una variedad de esteroides insaturados, los resultados obtenidos arrojaron información acerca del alcance de la reacción, así como el

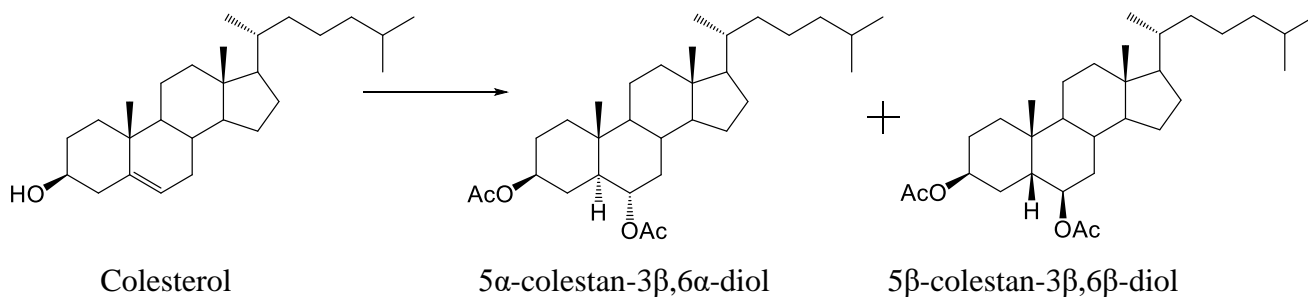
efecto del impedimento estérico. La reacción transcurrió, para todos los casos, por adición *syn*, predominantemente del lado menos impedido (comúnmente la cara α) de la molécula. Los experimentos de hidrobioración se llevaron a cabo ya sea agregando una solución de LiAlH_4 en éter dietílico a una solución de la olefina esteroidea y $\text{BF}_3 \cdot \text{THF}$ (método *a*)^{46,47} o alternativamente, pasando gas diborano (generado mediante la adición de NaBH_4 a $\text{BF}_3 \cdot \text{THF}$ en diglima) a una solución de la olefina en THF (método *b*)⁴⁸.

Para los compuestos derivados del colest-5-eno, se encontró que la dirección del ataque depende de la naturaleza del sustituyente en C-3⁴⁹. Empleando el método *a* el colest-5-eno produce 75% de 5α -colestan- 6α -ol, además se recupera 20% de materia prima. A través del método *b* el rendimiento para el mismo compuesto fue de 45% y se recuperó 45% del material de partida (Esquema 10). En ningún caso se detectó algún otro subproducto.



Esquema 10. Síntesis del 5 α -colestan-6 α -ol.

En el colesterol, ya sea a través del método *a* o *b* se obtiene, después de acetilar, 70% del diacetato de 5α -colestan- 3β , 6α -diol, y 20% del diacetato de 5β -colestan- 3β , 6β -diol⁴⁶ (Esquema 11).

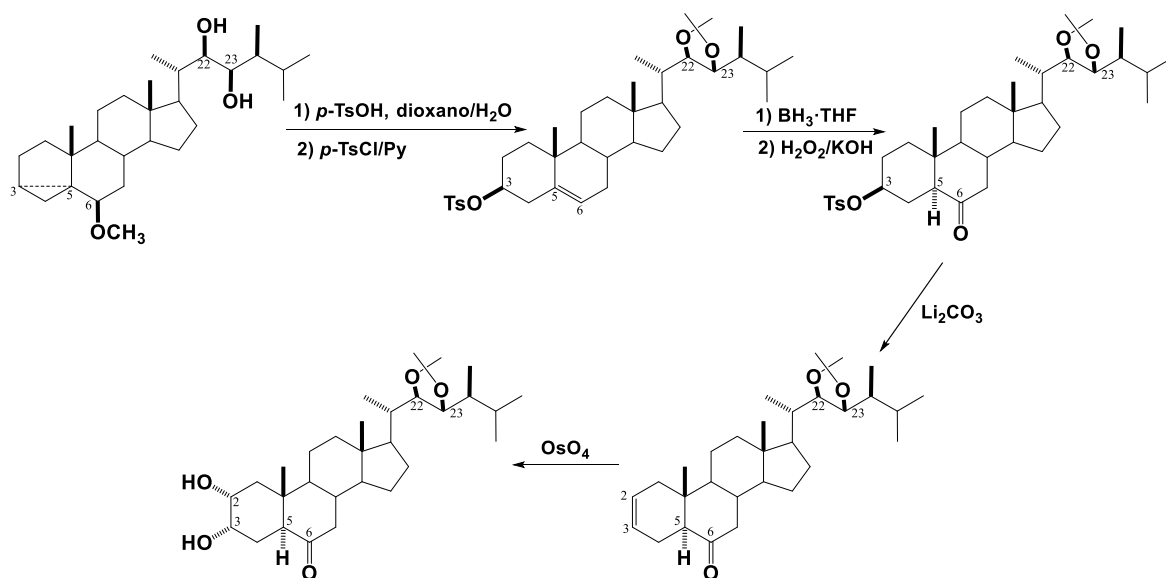


Esquema 11. Productos de la reacción de hidrobioración del colesterol.

2.2.2 Aplicación de la reacción de hidroborcación oxidativa en la modificación de los anillos A y B.

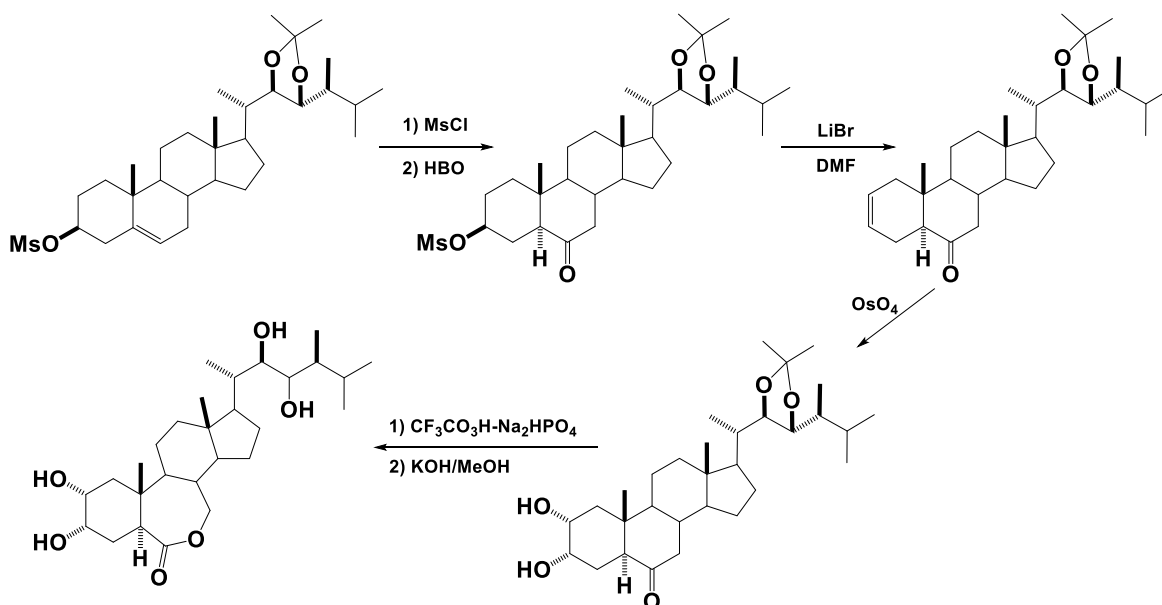
El control altamente estereoselectivo en la HB de Δ^5 esteroides ha sido de gran utilidad en síntesis orgánica (Esquema 12);⁵⁰ se reporta en algunos casos la obtención de un solo alcohol (similar al producto mayoritario para el colesterol) y en otros casos la generación de dos alcoholes como resultado de la adición *syn* por las caras α y β del esteroide. La regio- y estereoselectividad en la HB de Δ^5 -esteroides fue explicada, arguyendo que la introducción del átomo de boro en el carbono C-6 α se debe a que ésta es la posición menos impedida.

En 1980, retomando la síntesis de la brassinólida, Sidall⁵¹ modificó los anillos A y B del compuesto esteroideal mostrado en el Esquema 12. Mediante una catálisis ácida, regeneró el grupo hidroxilo en 3 β y el doble enlace en C-5. Posteriormente, efectuó la tosilación en C-3 y la hidroborcación oxidativa al doble enlace. Una subsiguiente eliminación del grupo tosilato seguida de una *cis*-hidroxilación del doble enlace en C-2, condujo al brassinoesteroide deseado.



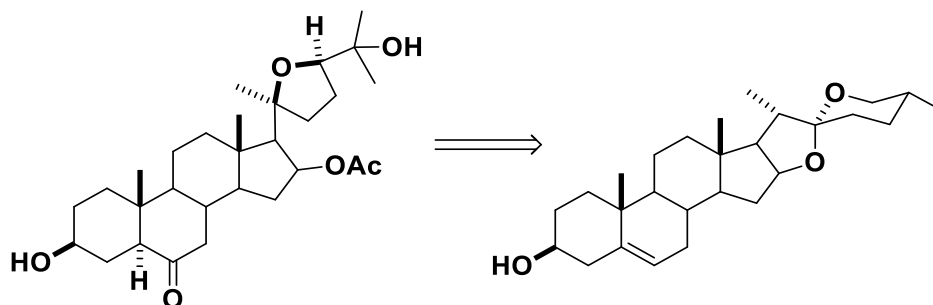
Esquema 12. Ruta tradicional para modificar los anillos A y B.

Ikekawa⁵² reportó la síntesis estereoselectiva de la brassinólida, la castasterona, el tifasterol y sus 28-nor análogos; en dicha síntesis se empleó un procedimiento similar para la modificación de los anillos A y B (Esquema 13).



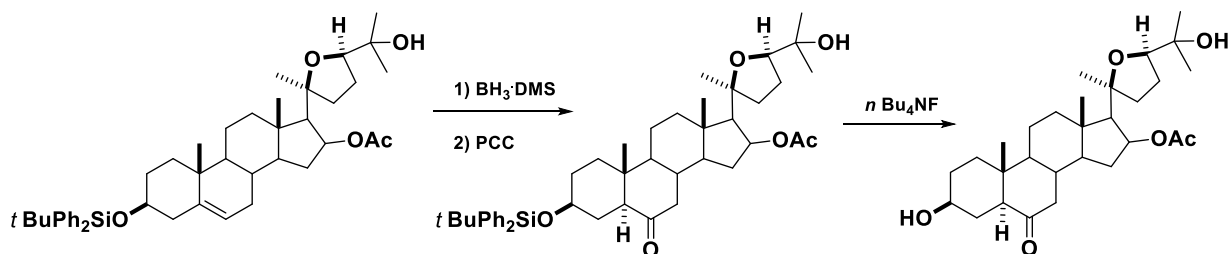
Esquema 13. Modificaciones en los anillos A y B en la síntesis estereoselectiva de brassinoesteroides y sus 28-nor análogos.

Los escarabajos Crisomelid generalmente producen glicósidos cardiacos en sus glándulas de defensa y una gran mayoría de estas especies producen glicósidos esteroidales polioxygenados. Este tipo de compuestos se caracteriza por su esqueleto de tipo colestano o estigmastano y por poseer un patrón de oxidación poco usual. La aglicona del (20*S*,24*R*)-16-acetoxi-20,24-epoxi-3 β ,16 β ,25-trihidroxi-6-oxo-5 α -colestanil-3-*O*- β -soforósido fue sintetizada por el grupo de Tavares a partir de diosgenina (Esquema 14).^{50d}



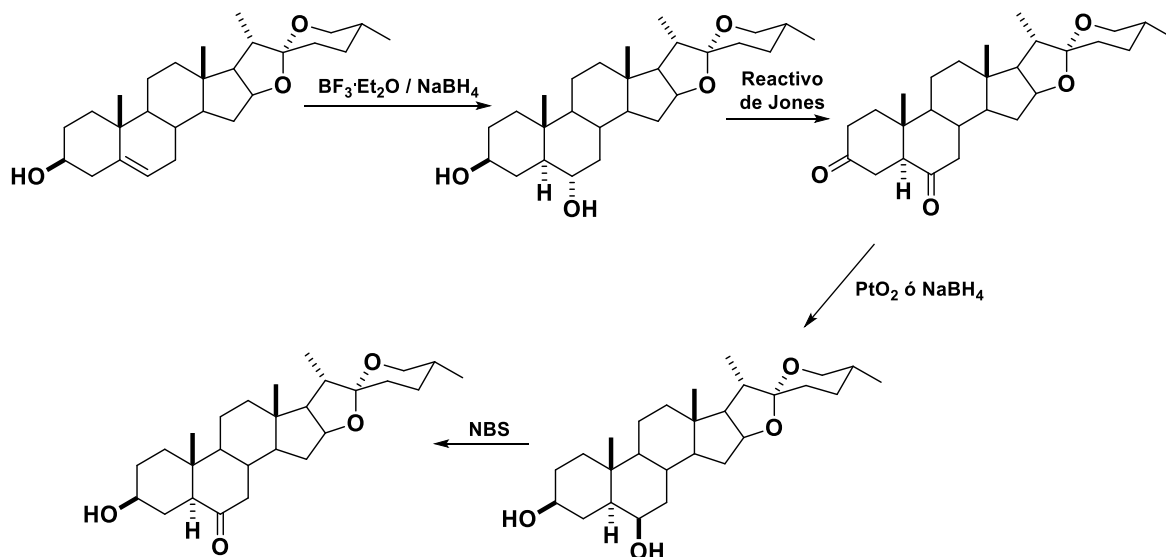
Esquema 14. Modificaciones en los anillos A y B en la hemisíntesis de glicósidos cardiacos.

Al inicio de la síntesis, el C-3 fue protegido con el grupo *t*-BuPh₂Si-, cuando se concluyó con la síntesis de la cadena lateral se prosiguió con la modificación de A y B mediante la siguiente ruta (Esquema 15):



Esquema 15. HBO de los anillos A y B para la obtención del derivado cetónico.

Coll-Manchado⁵³ sintetizó la laxogenina (52-61%) a partir de diosgenina (Esquema 16). La ruta consistió en la HBO del doble enlace en C-5 para obtener la α -clorogenina, la cual fue oxidada con reactivo de Jones para generar el compuesto dicarbonílico; éste se redujo para formar la β -clorogenina y por último se oxidó selectivamente el OH en C-6 utilizando NBS.



Esquema 16. Síntesis de laxogenina a partir de diosgenina (4 pasos).

En el año 2002, Yu⁵⁴ sintetizó también laxogenina partiendo de diosgenina (Esquema 17), modificó ligeramente la síntesis generando un éter bencílico en C-3 sobre el cual realizó la reacción de HBO y mejoró el rendimiento global obteniendo un 69% del producto final:



Esquema 17. Síntesis de laxogenina a partir de diosgenina (3 pasos).

En este trabajo de tesis se llevó a cabo el diseño de rutas de síntesis para la funcionalización del ácido cólico, su derivatización estructural y la caracterización fisicoquímica de los compuestos obtenidos. Así como la obtención de dos nuevas estructuras colápodas.

Asimismo, se reporta el reestudio del mecanismo de HB empleando como modelo a los Δ^5 -esteroides colesterol y kriptogenina y la obtención de un producto no descrito previamente en la literatura.

3. OBJETIVOS

Generales:

- Sintetizar estructuras colápocas a partir del ácido cólico (**1**) para obtener sólidos funcionales orgánicos.
- Estudiar la reacción de hidroborcación utilizando compuestos Δ^5 -esteroidales.

Específicos:

- Purificar y derivatizar el ácido cólico y los compuestos obtenidos a partir de este, para obtener estructuras colápocas.
- Obtener estructuras cristalinas para analizar su arreglo y funcionalización.
- Estudiar los productos y mecanismo de la reacción de hidroborcación del colesterol.
- Proteger los grupos hidroxilo y carbonilo de la kriptogenina y estudiar los productos y mecanismo de la reacción de hidroborcación.

4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 Ruta sintética para la obtención de colápidos derivatizados a partir del ácido cólico (1).

4.1.1 Purificación y caracterización del ácido cólico (1).

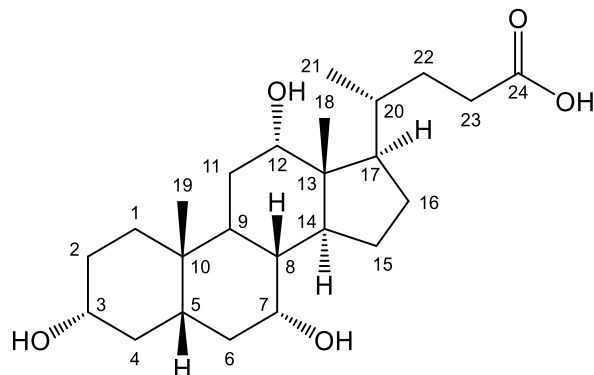


Figura 11. Estructura del ácido cólico (1).

La purificación del compuesto **1** (Figura 11) se llevó a cabo por cromatografía en columna en gel de sílice utilizando un sistema eluyente $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95:5 determinado mediante cromatografía en capa fina (CCF). La estructura fue elucidada mediante IR (Figura A1, Apéndice 1) y RMN (Figuras A12-A14, Apéndice 2).

En las Figuras 12 y 13 se muestran los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C , respectivamente para el compuesto **1**. En el espectro de ^1H se observan en 3.91 y 3.79 ppm las señales simples correspondientes a H-12 y H-7, respectivamente y una señal múltiple en 3.35 ppm correspondiente al protón H-3, posiciones en las cuales se encuentran unidos los grupos hidroxilo. A su vez, observamos señales múltiples en 2.31, 2.07 y 1.86 ppm correspondientes a los protones de las posiciones H-23, H-14 y H-17, respectivamente. En 1.66 ppm, se observa una señal doble correspondiente a la posición H-4 y en 1.48 ppm se encuentra la señal para H-20. A campo alto se observa una señal doble en 0.95 ppm correspondiente a los protones del metilo 21 y en 0.84 y 0.63 ppm las señales simples correspondientes a los protones de los metilos 18 y 19, respectivamente.

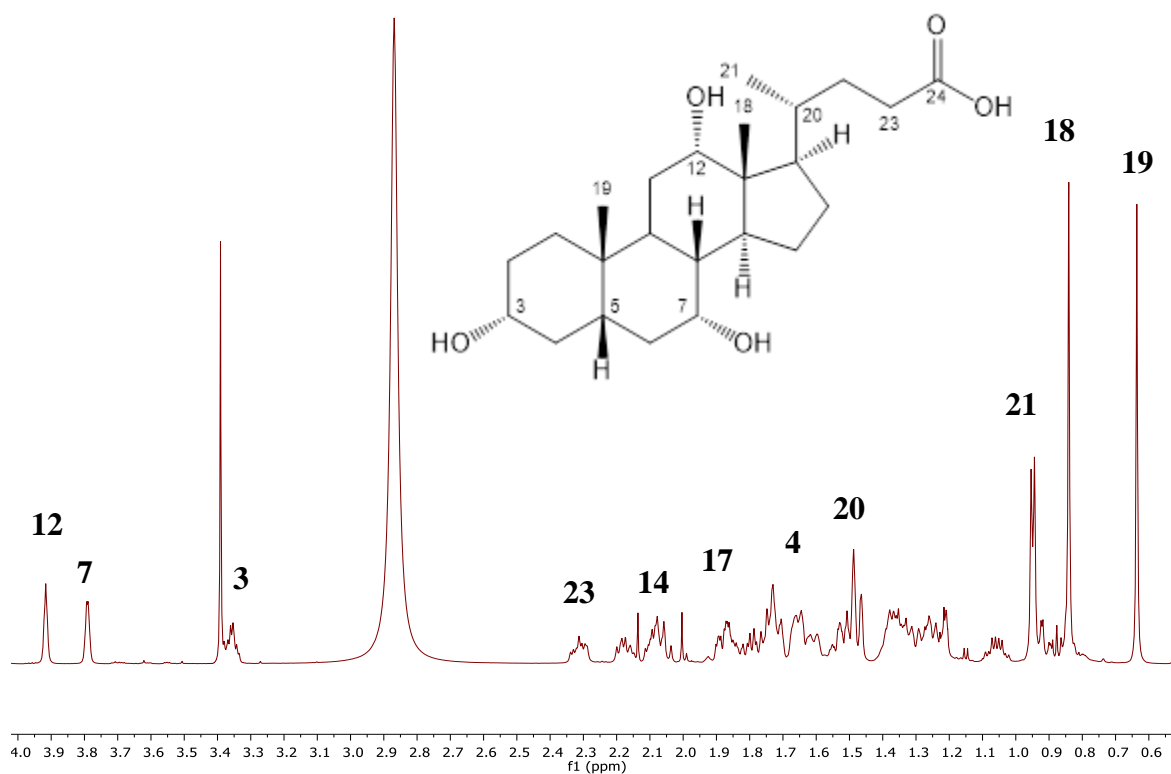


Figura 12. Espectro de RMN de ^1H del compuesto **1** (600 MHz en CDCl_3).

En el espectro de RMN de ^{13}C se realizó la asignación de los carbonos más característicos de la molécula. En 177.6 ppm se observa el carbonilo correspondiente al ácido carboxílico de C-24, las señales en 73.1, 71.7 y 68.5 ppm corresponden a los carbonos que contienen los grupos hidroxilo, C-12, C-3 y C-7, respectivamente. En 46.4, 41.7 y 34.7 ppm se encuentran las señales para los carbonos cuaternarios C-13, C-5 y C-20, respectivamente, en 31.0 ppm se observa la señal del C-23. A campo alto se encuentran las señales correspondientes a los grupos metilo CH_3 -19 (22.4 ppm), CH_3 -21 (17.2 ppm) y CH_3 -18 (12.4 ppm).

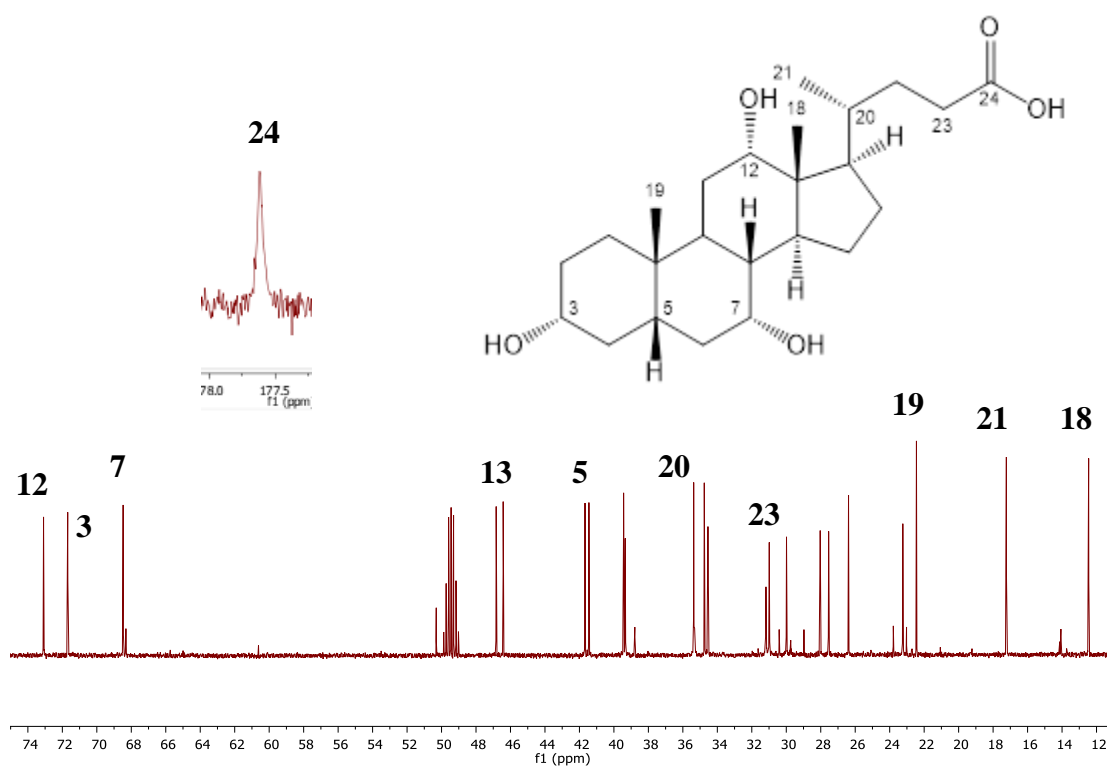


Figura 13. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **1** (150 MHz en CDCl_3).

La recristalización de **1** se realizó en AcOEt, del cual se obtuvo una estructura cristalina hasta ahora no reportada en la literatura,⁵⁵ este polimorfo se caracterizó mediante DRX (Figura 14).

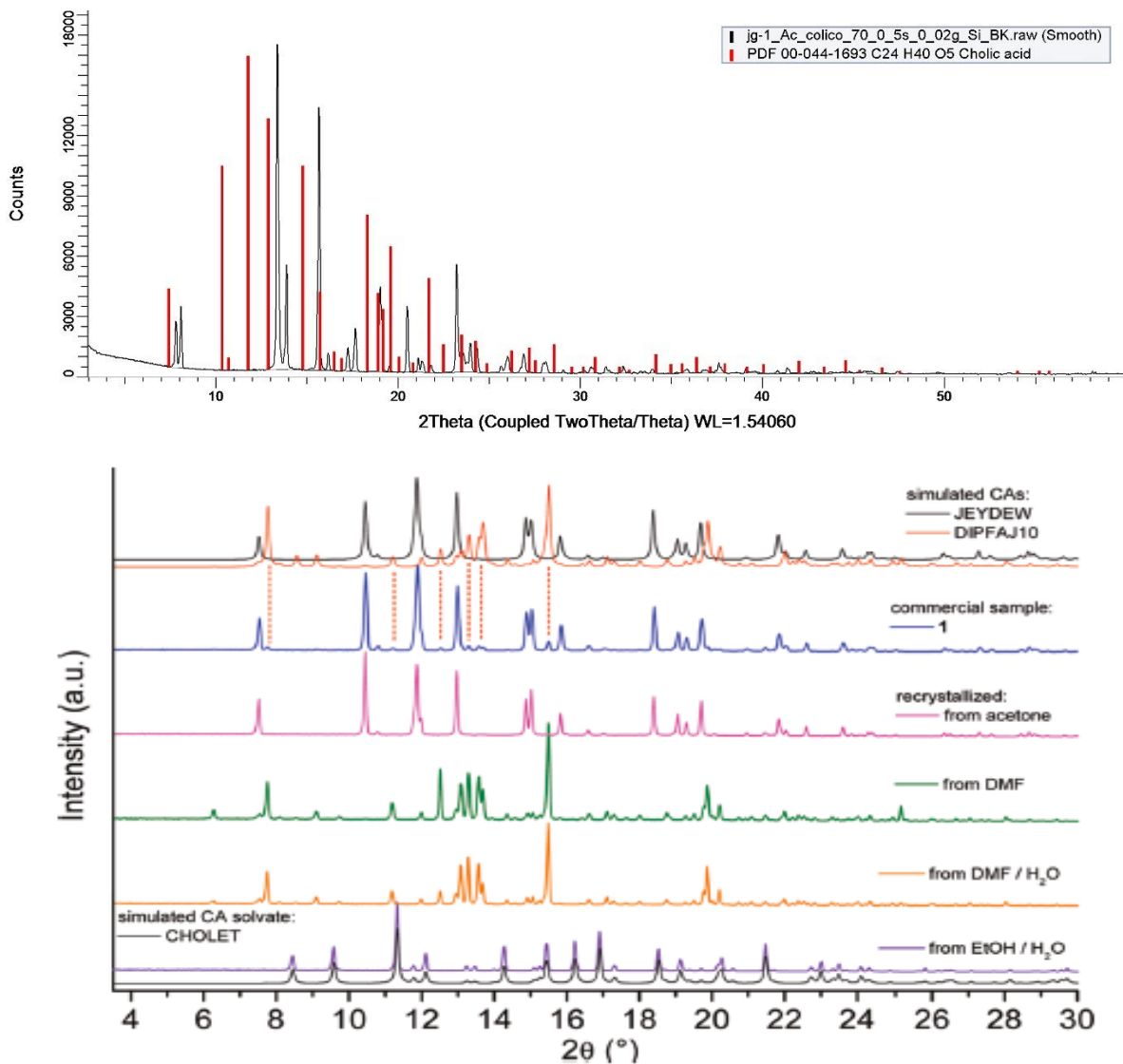
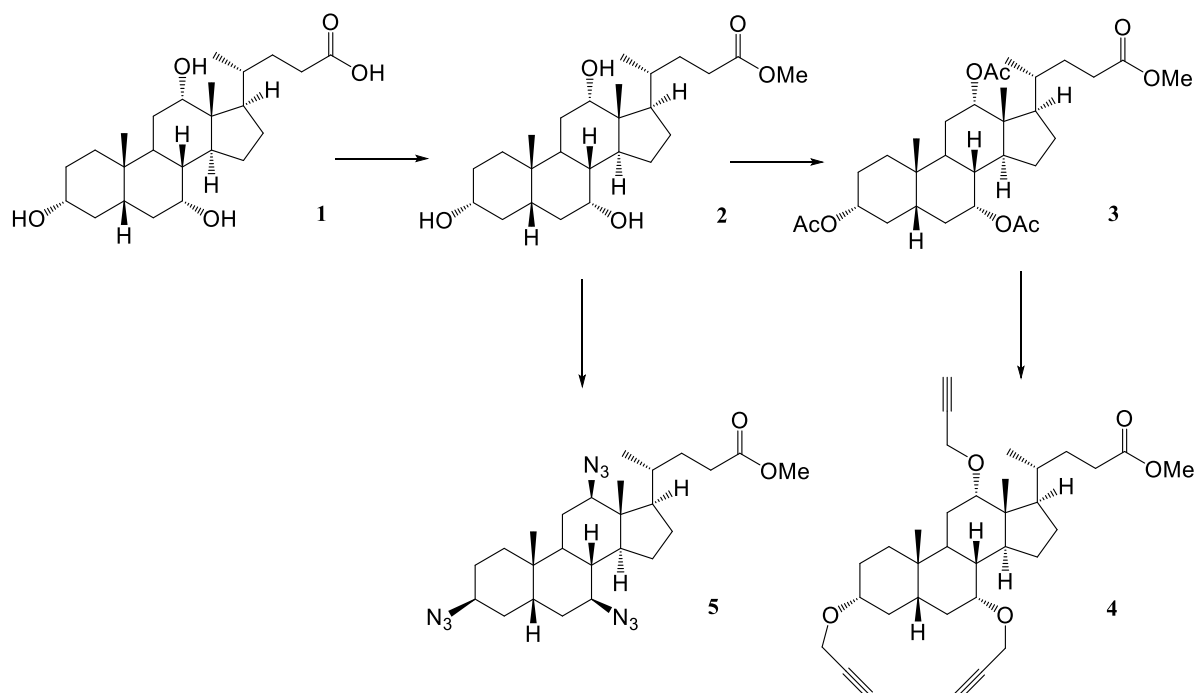


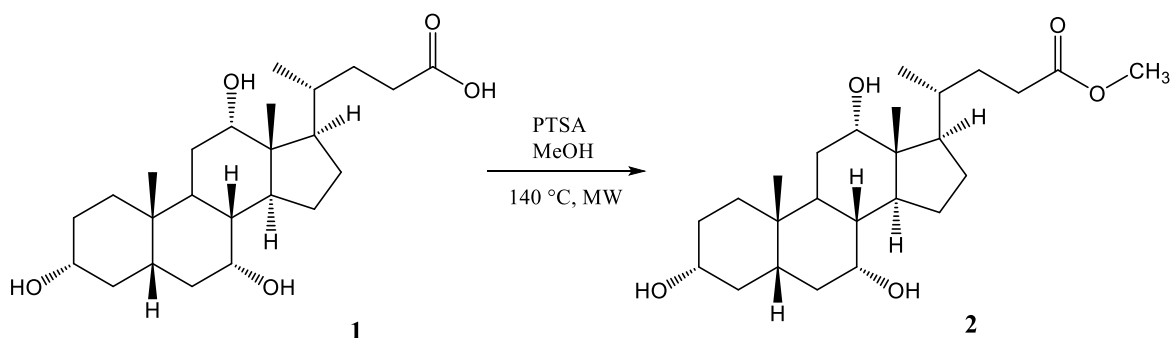
Figura 14. Difractograma de DRX del polimorfo de 1 en AcOEt y difractogramas de otros polimorfos reportados en otros disolventes.⁵⁵



Esquema 18. Ruta sintética divergente para la obtención de compuestos derivatizados de **1**.

4.1.2 Síntesis y caracterización del 3 α ,7 α ,12 α -trihidroxi-5 β -colan-24-oato de metilo (**2**).

La síntesis del metil éster del ácido cólico (compuesto **2**) está reportada en la literatura empleando condiciones de reacción severas en medio ácido (HCl, H₂SO₄, AcCl)⁵⁶ y disolventes anhidros (THF)⁵⁷ bajo atmosfera inerte. El compuesto **2** se obtuvo mediante un proceso de esterificación asistida por microondas a partir de **1** empleando ácido *p*-toluenosulfónico y metanol como disolvente y agente esterificante a la vez, a 140 °C y 12 bares durante 15 s (Esquema 19, Apéndice 4, Figura A22). Estas condiciones de reacción son bastante suaves y el producto se obtuvo con un rendimiento del 81.7%, de forma muy rápida y sin la generación excesiva de subproductos como con los métodos convencionales de calentamiento (52-70%) .⁵⁸ Al finalizar el procedimiento en el reactor de microondas, el crudo de reacción debe conducirse a un medio neutro para evitar su descomposición. La estructura de **2** fue elucidada mediante IR (Figura A2, Apéndice 1) y RMN (Figuras A15-A17, Apéndice 2)



Esquema 19. Síntesis del derivado 24-O-metilado de 1.

En el espectro de RMN de ^1H del compuesto **2** (Figura 15) se observan señales simples en 3.96, 3.84 y 3.44 ppm correspondientes a los protones base de hidroxilo en 12, 7 y 3. En 3.66 ppm se observa una señal simple intensa que corresponde a los hidrógenos del grupo metilo del éster. En 2.36, 2.20, 1.90, 1.67 y 1.51 ppm se observan señales múltiples correspondientes a los protones de las posiciones 23, 14, 17, 4 y 20, respectivamente. A campo alto, se observa una señal doble en 0.97 ppm correspondiente a los protones del metilo 21 y en 0.88 y 0.67 ppm dos señales simples que pertenecen a los protones de los metilos 18 y 19, respectivamente. Los protones lábiles correspondientes a los hidroxilos en 3, 7 y 12 se observan en 4.30, 4.10 y 4.00 ppm, lo cual se confirmó mediante un experimento de intercambio hidrógeno-deuterio del compuesto **2** en $\text{CDCl}_3/\text{MeOD}$ (Figura A18-A19. Esto también se verificó mediante RMN en 2D (HSQC) en donde se observó que estas señales de protón no muestran acoplamiento directo con señales de carbono (Figura A16, Apéndice 2). Esta reacción procede según el mecanismo de esterificación de Fischer (Esquema 20).⁵⁹

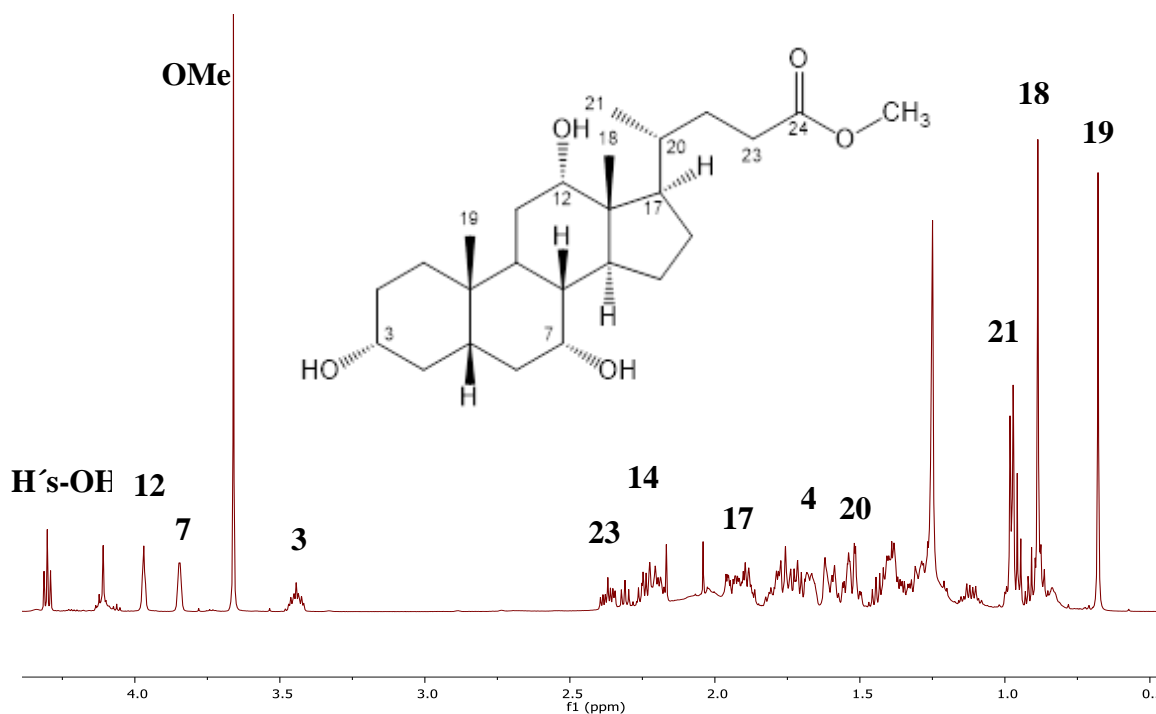


Figura 15. Espectro de RMN de ^1H del compuesto **2** (600 MHz en CDCl_3).

En el espectro de RMN de ^{13}C para el compuesto **2** (Figura 16) se observa en 175.0 ppm la señal del carbonilo correspondiente al éster de C-24, en 73.2, 72.0 y 68.7 ppm, se observan los carbonos correspondientes a los alcoholes en las posiciones 12, 3 y 7, respectivamente. En 51.6 ppm se observa la señal del metilo unido al oxígeno del éster en la posición 24. Los carbonos C-13, C-5 y C-20 aparecen en 46.6, 41.6 y 35.4 ppm, respectivamente. En 31.2 ppm se observa la señal del metileno C-23. Los metilos en las posiciones 19, 21 y 18 se observan en 22.6, 17.4 y 12.6 ppm, respectivamente.

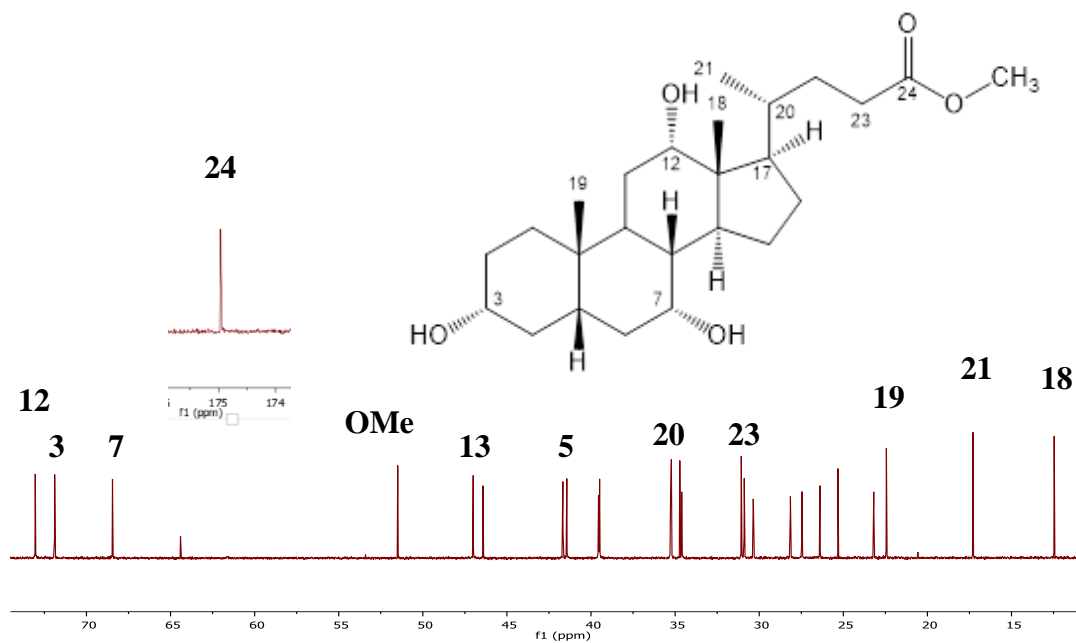
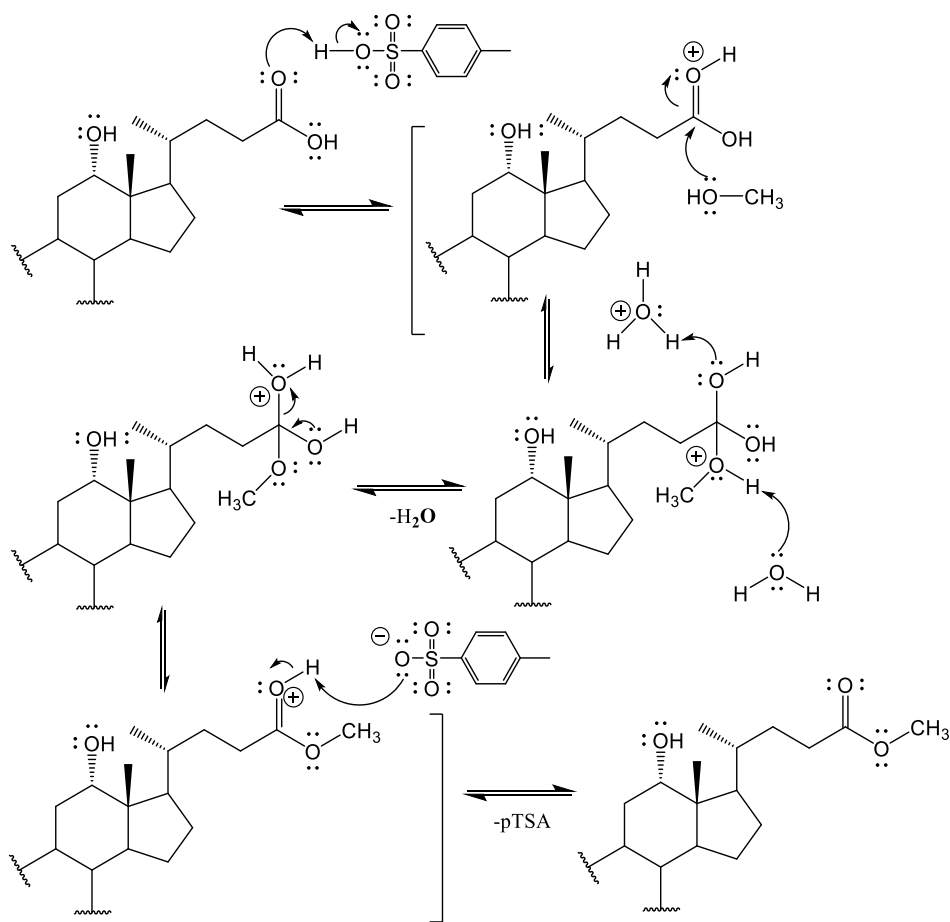


Figura 16. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **2** (150 MHz en CDCl_3).



Esquema 20. Mecanismo de reacción de esterificación del ácido cólico (**1**).

En la Figura 17 se muestran las micrografías a 10000x y 5000x del compuesto sólido obtenido de **2**, en (a) se muestra la toma más cercana que se pudo obtener en donde se observan partículas alargadas en forma de hilos con bordes curvos en forma de aglomerados, en (b) se muestran las mismas secciones con el zoom aplicado en el cual se observa el mismo patrón. El sólido obtenido se analizó mediante DRX, sin observar un patrón que sugiera una estructura cristalina (Figura A21, Apéndice 3).

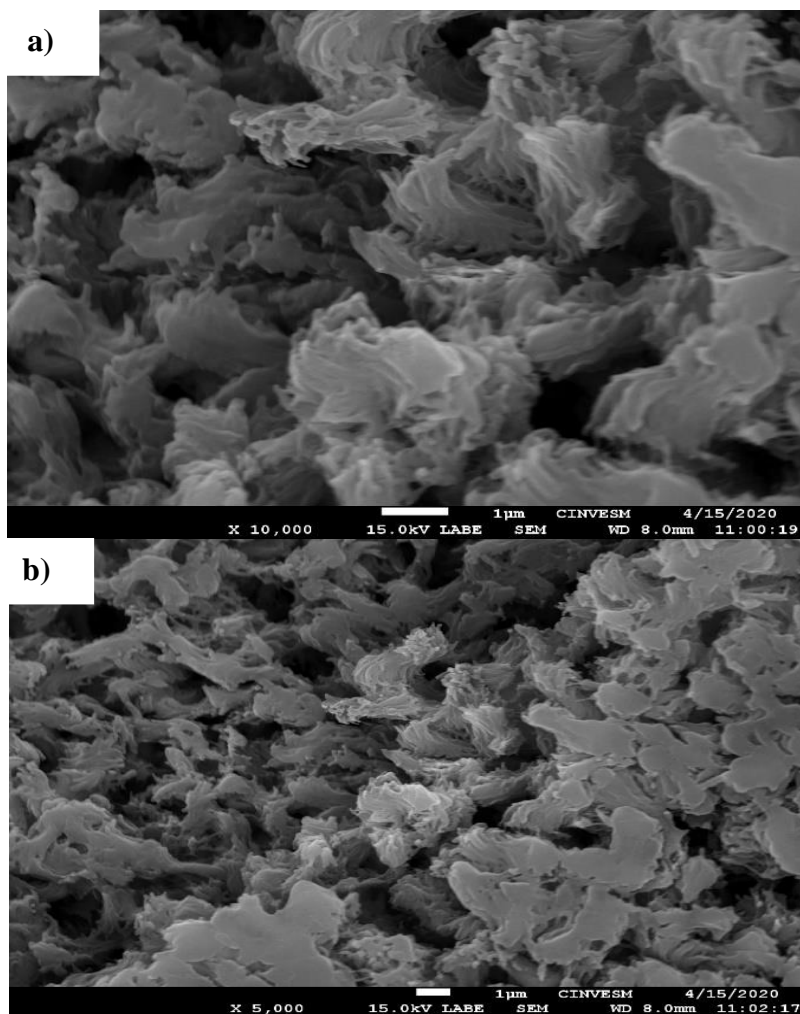
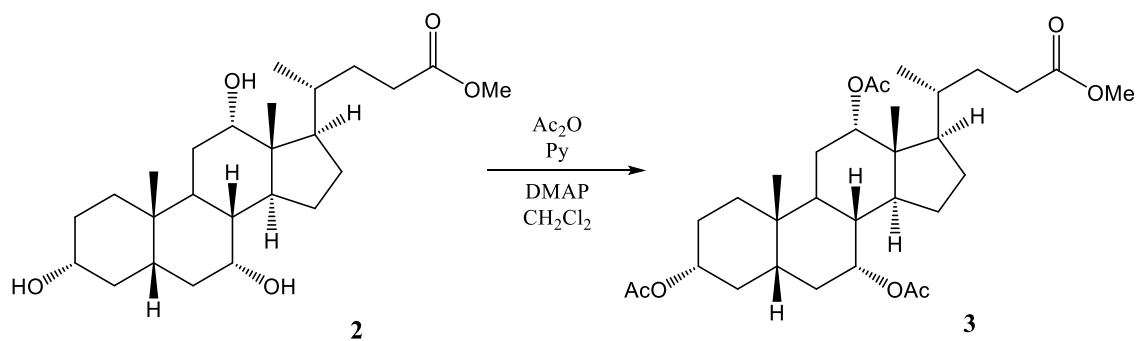


Figura 17. Micrografía SEM del compuesto 2. a) 10 000x, b) 5 000x.

4.1.3 Síntesis y caracterización del 3 α ,7 α ,12 α -triacetil-5 β -colan-24-oato de metilo (3).

El compuesto **3** se obtuvo mediante la reacción de acetilación del compuesto **2** a temperatura ambiente empleando anhídrido acético, piridina y 4-dimetilaminopiridina (DMAP) (Esquema 21), con base en el método reportado por El-Nezhawy, *et al.*⁶⁰ El tratamiento de la reacción debe conducir a un medio neutro para evitar su descomposición. La estructura de **3** fue elucidada mediante IR (Figura A3, Apéndice 1) y RMN.



Esquema 21. Síntesis del compuesto 3 α ,7 α ,12 α -triacetilado (**3**).

En el espectro de RMN de ¹H del compuesto **3** (Figura 18) se observan en 5.06 y 4.88 ppm señales simples que corresponden a H-12 y H-7, respectivamente. El protón H-3 se observa como una señal múltiple en 4.55 ppm. Los tres desplazamientos corroboran la acetilación de las tres posiciones. En 3.64 ppm se observa una señal simple para los protones correspondientes al metilo del éster en la posición 24. La señal para los protones del metileno 23 se encuentra en 2.32 ppm como un multiplete. En 2.11, 2.06 y 2.02 ppm se observan tres señales simples correspondientes a los metilos de los acetatos en posición 12, 7 y 3, respectivamente. Los protones H-17 y H-20 se observan como señales múltiples en 1.85 y 1.75 ppm, respectivamente. A campo alto se observan las señales correspondientes a los protones de los metilos 18, 21 y 19 en 0.89, 0.80 y 0.71 ppm, respectivamente.

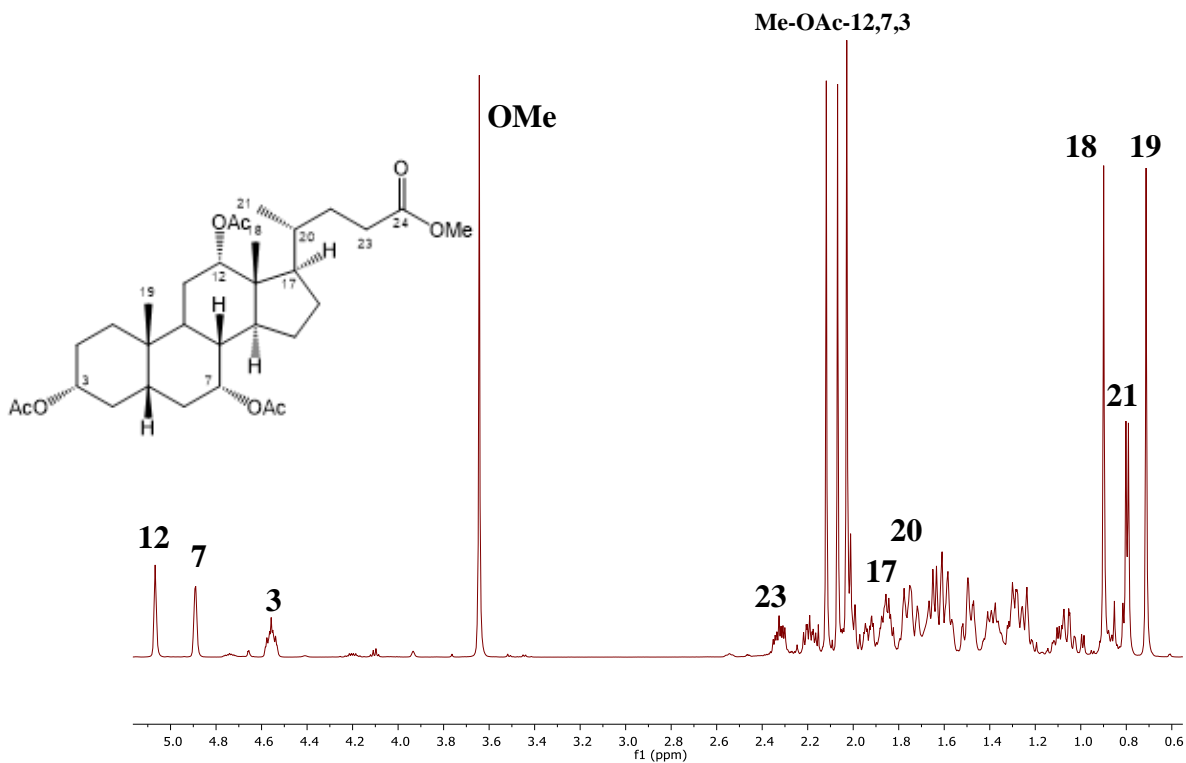


Figura 18. Espectro de RMN de ^1H del compuesto **3** (600 MHz en CDCl_3).

En el espectro de RMN de ^{13}C (Figura 19) del compuesto **3**, se observa en 174.6 la señal característica del carbonilo del éster en C-24, Los carbonilos correspondientes a los acetatos de C-12, C-3 y C-7 aparecen en 170.6, 170.6 y 170.5 ppm, respectivamente. Los carbonos de las posiciones 12, 3 y 7 se observan en 75.5, 74.2 y 70.8 ppm, respectivamente. En 51.6 ppm se observa la señal para el metilo unido al carbonilo de C-24. Los carbonos cuaternarios C-13, C-5 y C-20 se muestran en 47.5, 43.5 y 37.9 ppm, respectivamente. En 31.0 ppm se observa la señal correspondiente a C-23. En 21.7, 21.6 y 21.5 ppm se observan las señales de los metilos unidos a los carbonilos de los grupos acetatos en las posiciones 12, 3 y 7, respectivamente. Las señales de los metilos 18, 21 y 19 se aprecian en 22.7, 17.6 y 12.3 ppm, respectivamente.

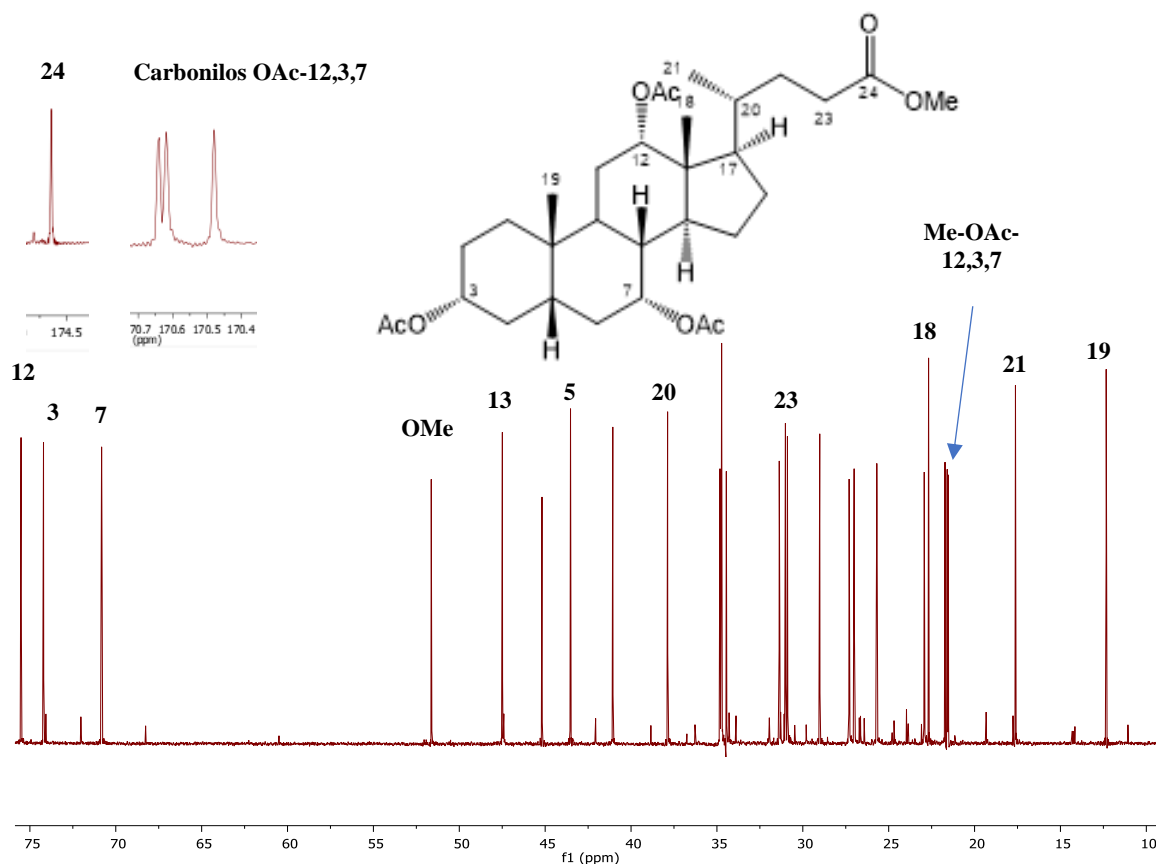
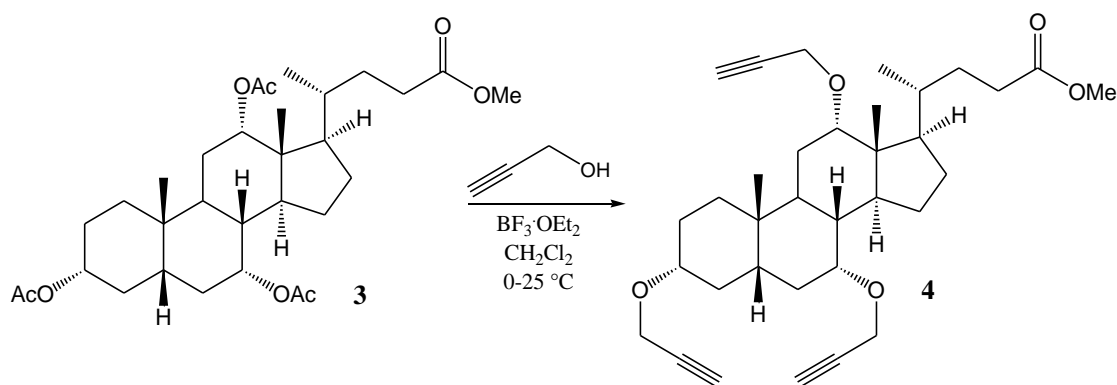


Figura 19. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **3** (150 MHz en CDCl_3).

4.1.4 Síntesis y caracterización del 3 α ,7 α ,12 α -tri-*O*-propargil-5 β -colan-24-oato de metilo.

La síntesis del compuesto **4** se propuso a partir del compuesto **3** mediante un método de propargilación reportado previamente,⁶¹ empleando alcohol propargílico y $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ a 0 °C hasta alcanzar temperatura ambiente (Esquema 22). De esta reacción se obtuvieron dos subproductos, el rendimiento de esta reacción fue de 30% para el primer compuesto y 25% para el segundo, a su vez se recuperó un 45% de la materia prima. Las estructuras obtenidas fueron elucidadas mediante IR (Figura A4, Apéndice 1) y RMN.



Esquema 22. Ruta de síntesis propuesta para el compuesto 3 α ,7 α ,12 α -tripropargilado (**4**).

Para esta reacción se obtuvieron mediante cromatografía en columna tres compuestos: los productos **4a-b** y el tercero corresponde a materia prima recuperada (**3**). A pesar de que los espectros de IR y RMN para esta reacción mostraban indicios de la formación del compuesto **4**, este no se pudo elucidar completamente a través de estas técnicas, por lo que en un futuro se llevarán a cabo pruebas para determinar la formación de este compuesto mediante diferentes condiciones. En el espectro de RMN de ^1H del compuesto **4a** (Figura 20) los protones del metileno del propargilo se observan en 4.67 ppm. En 4.22 y 3.64 ppm, se observan las señales correspondientes a los H-12 y H-3 así como la señal del proton del triple enlace del propargilo en 4.19 ppm. Los protones H-23 y H-20 se muestran como señales múltiples en 2.31 y 1.99 ppm. A campo alto se aprecian las señales correspondientes a los protones de los metilos 21, 19 y 18 en 0.92, 0.91 y 0.88 ppm, respectivamente. En este caso notamos también la ausencia de la señal característica de los protones pertenecientes al metilo del éster y se sigue observando una señal que corresponde a un metilo de acetato.

En el espectro de RMN de ^1H del compuesto **4b** (Figura 20) En 5.09, 4.98 y 4.74 ppm, se observan las señales correspondientes a los H-12, H-7 y H-3. En 3.65 ppm se muestran los protones pertenecientes al metilo del grupo éster. Los protones H-23 y H-20 se muestran como señales múltiples en 2.33 y 2.21 ppm, respectivamente. A campo alto se aprecian las señales correspondientes a los protones de los metilos 21, 19 y 18 en 0.89, 0.82 y 0.81 ppm, respectivamente. En este caso notamos la presencia de dos señales correspondientes a los metilos de los grupos acetatos, así como la ausencia de las señales de los propargilos, por lo que suponemos se obtiene un producto de descomposición.

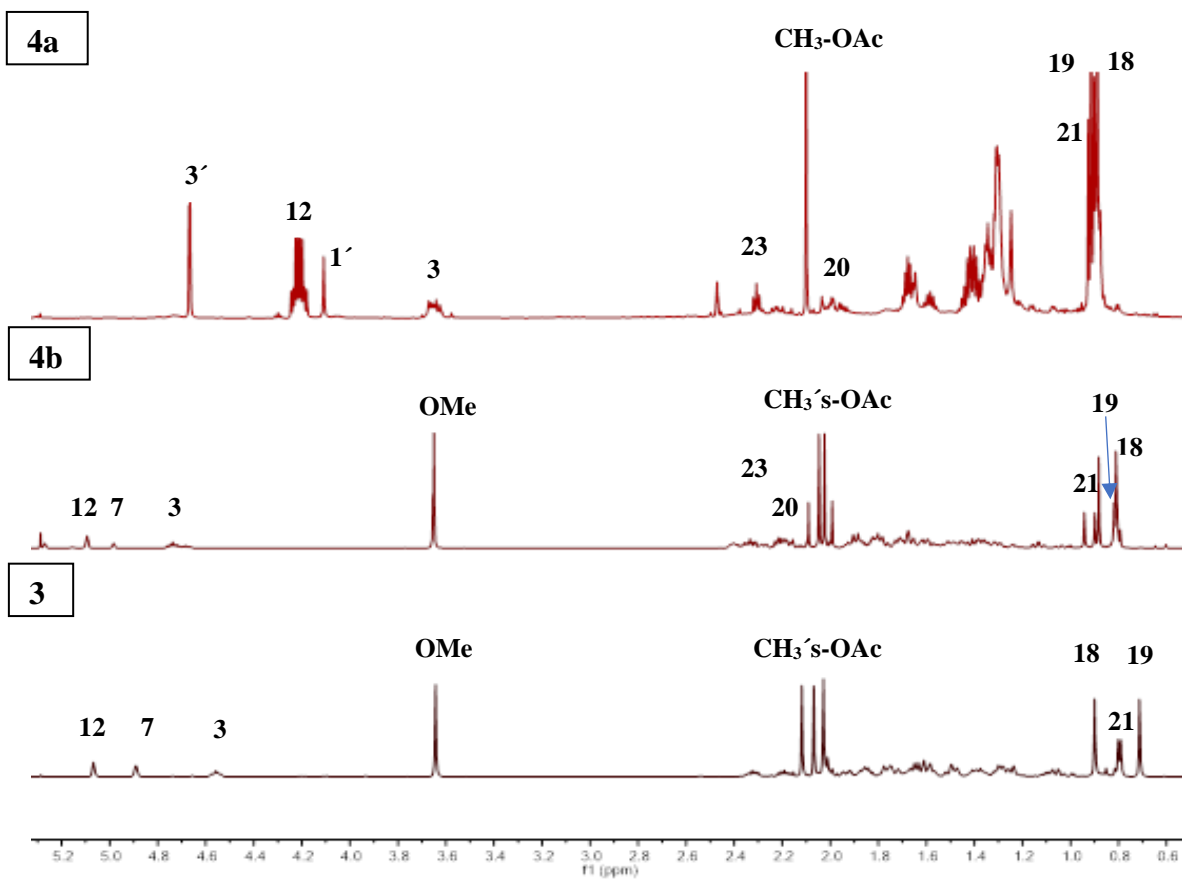
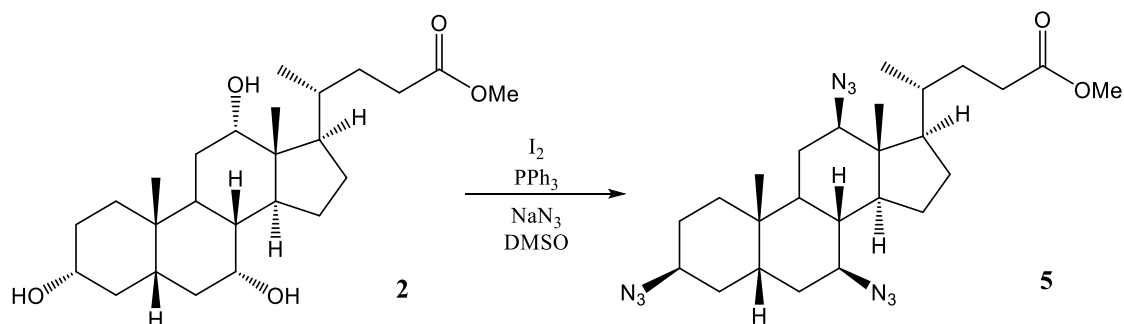


Figura 20. Espectro de RMN de ^1H de los compuestos **4a-b** y **3** (600 MHz en CDCl_3).

El apilado para los espectros de RMN de ^{13}C confirma lo observado en RMN de ^1H (Apéndice 2, Figura A20).

4.1.5 Síntesis y caracterización del $3\beta,7\beta,12\beta$ -triazido- 5β -colan-24-oato de metilo (**5**).

El compuesto **5** se obtuvo mediante la conversión de los grupos hidroxilo del éster **2** en azidas, según el método reportado en la literatura por Rokhum, *et al.*⁶² empleando yodo, trifenílfosfina, azida de sodio y DMSO a temperatura ambiente (Esquema 23). La reacción debe llevarse a medio neutro para evitar su descomposición. La estructura de **5** fue elucidada mediante IR (Figura A5, Apéndice 1) y RMN.



Esquema 23. Síntesis del compuesto $3\beta,7\beta,12\beta$ -triazida derivatizado del compuesto **2**.

En el espectro de ^1H para el compuesto **5** (Figura 21) se observan dos señales simples en 3.91 y 3.79 ppm correspondientes a H-12 y H-7. En 3.38 ppm se observa una señal múltiple que corresponde al protón H-3, posiciones en las cuales se insertaron los grupos azida. En 3.62 ppm se observa una señal simple intensa que corresponde a los hidrógenos del grupo OMe. En 2.33, 2.15, 1.86, 1.50 y 1.32 ppm se aprecian señales múltiples correspondientes a los protones en las posiciones 9, 14, 17, 4 y 20, respectivamente. A campo alto se observa una señal doble en 0.94 ppm que corresponde a los protones del metilo 21 y en 0.84 y 0.63 ppm se observan dos señales simples las cuales corresponden a los protones de los metilos 18 y 19, respectivamente.

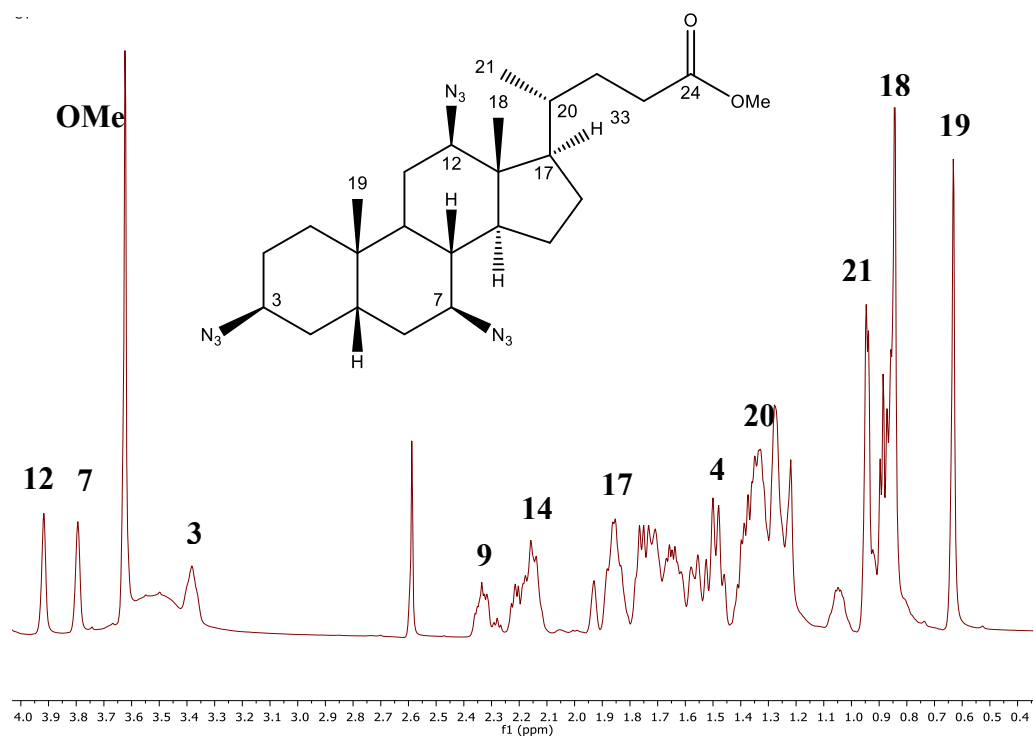


Figura 21. Espectro de RMN de ^1H del compuesto **5** (600 MHz en CDCl_3).

En el espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **5** (Figura 22) se observa en 174.9 ppm el carbonilo correspondiente al éster C-24, en 71.9, 68.5 y 68.2 ppm, se observan los carbonos correspondientes a las azidas en las posiciones 12, 3 y 7, respectivamente. En 51.6 ppm se observa la señal del metilo unido al oxígeno del éster en la posición 24. Los carbonos C-13, C-5, C-20 y C-9 se observan en 47.0, 41.6, 35.4 y 27.6 ppm, respectivamente. Los metilos 19, 21 y 18 se observan en 14.1, 12.2 y 11.0 ppm, respectivamente.

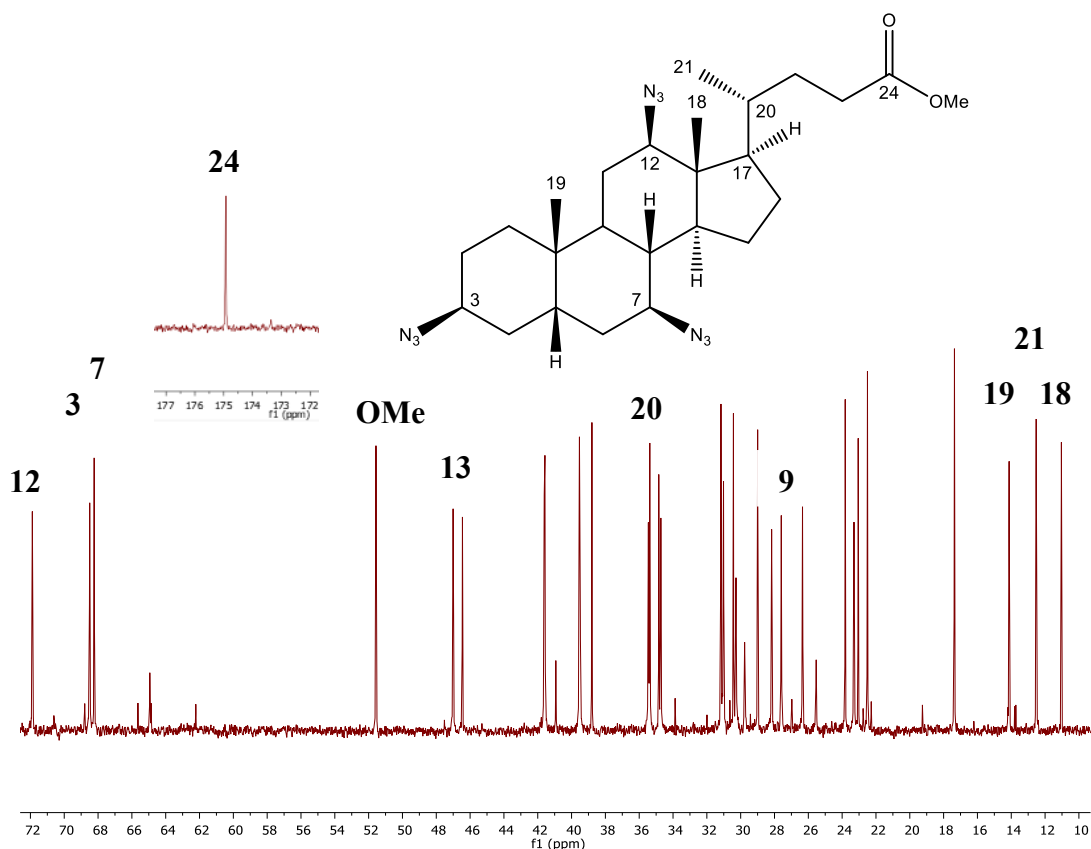


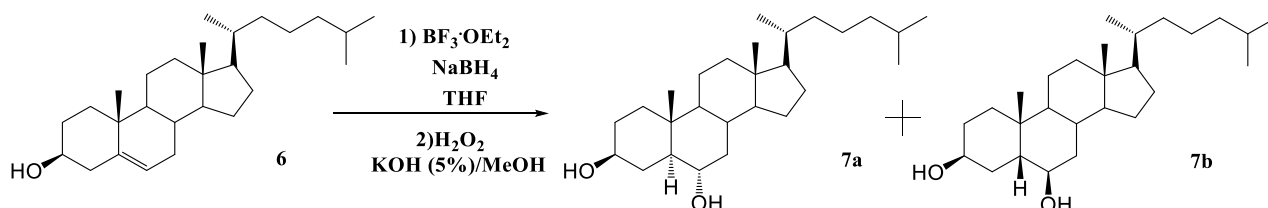
Figura 22. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **5** (150 MHz en CDCl_3).

El colápodo **5** constituye la base para construir derivados del ácido cólico con anillos 1,2,3-triazol a partir de cicloadiciones 1,3-dipolares de azidas y alquinos. Este compuesto representa un punto de partida para explorar estas reacciones clic en un futuro.

4.2 Estudio del mecanismo de reacción de hidroración en Δ^5 -esteroides.

La primera vez que se llevó a cabo la reacción de hidroración oxidativa (HBO) del doble enlace del colesterol (**6**), fue reportada simultáneamente por Wechter⁶³ y Sondheimer.^{47,49} Wechter reportó que la HB empleando $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ generaba una mezcla de dialquilboranos con un 98% de rendimiento. Esta mezcla fue oxidada con una solución de NaOH y peróxido de hidrógeno, encontrando que el crudo de reacción estaba compuesto por 5α -colestán- $3\beta,6\alpha$ -diol (**7a**, 78%), 5β -colestán- $3\beta,6\beta$ -diol (**7c**, trazas) y un tercer compuesto sin caracterizar.

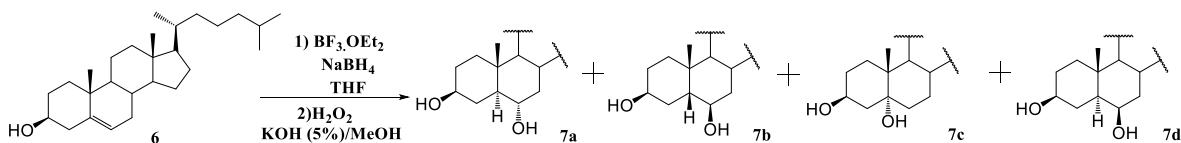
Por otra parte, Sondheimer agregó a la reacción con **6**, $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ y la oxidación fue llevada a cabo con peróxido de hidrógeno en una solución de KOH/EtOH obteniendo **7a** (68%) y **7c** (20%). En general, la mayoría de los estudios de HBO en Δ^5 -esteroides describen solo la generación del alcohol con estereoquímica *cis* tipo **7a** (Esquema 24).



Esquema 24. Hidroboración del colesterol reportada por Wechter y Sondheimer.

En este trabajo se llevó a cabo la reacción de HB para el colesterol (**6**) y la kriptogenina (**8**), como modelos representativos de Δ^5 -esteroides, empleando NaBH_4 y $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ en THF (anhidro) a $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{T.A.}$, para generar los correspondientes organoboranos. El crudo de reacción se oxidó utilizando una solución de KOH/MeOH al 5% y peróxido de hidrógeno (35%) en agitación a temperatura ambiente.

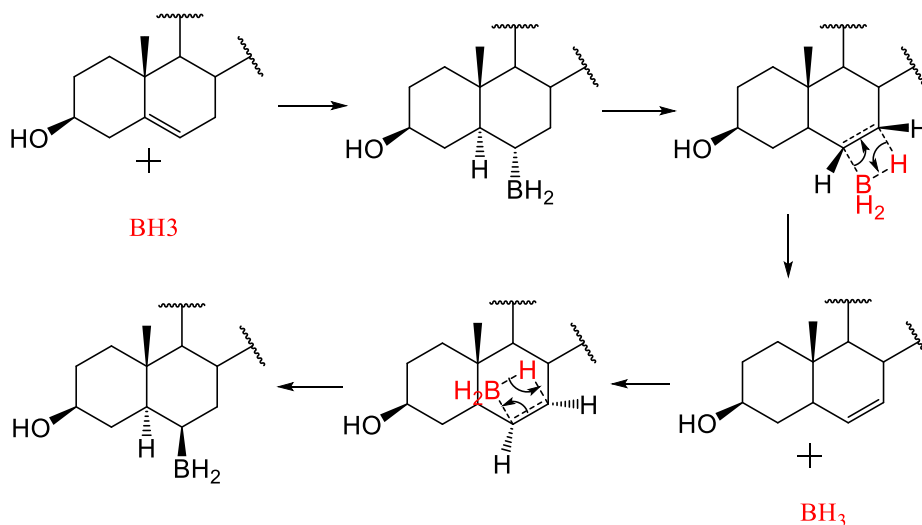
En nuestras manos y bajo las condiciones tradicionales de HB ya descritas, esta reacción generó 4 productos en lugar de dos (Esquema 25). Debido al efecto estérico ejercido por el metilo en la posición 19, el producto mayoritario es el que proviene de la adición *syn* por la cara α esteroidal, **7a**. El compuesto **7c** es el producto de adición tipo Markonikov, los cuales han sido reportados recientemente empleando reacciones de HB asimétricas metal-catalizadas, pero no en condiciones tradicionales,^{64, 65} **7b** se obtuvo en trazas. El producto **7c** se obtuvo con un rendimiento muy bajo (9%) de lo que se infiere que el impedimento estérico que ejerce el metilo 19 es importante.



Esquema 25. Productos aislados y caracterizados de la reacción de HBO del colesterol a temperatura ambiente.

Inesperadamente se halló también un producto de HB “*trans*”, **7d**, el cual podría decirse que proviene de una adición tipo *anti*, pero esto no es factible para la reacción de HB. El rendimiento de este compuesto es moderado (22%), pero alto considerando su naturaleza. A temperatura ambiente el rendimiento de **7d** es casi un tercio del producto principal **7a**. La estereoquímica de los compuestos **7a-d** fueron confirmados mediante IR (Apéndice 1) y RMN de 1D y 2D (Apéndice 2).

Para explicar la formación del producto no tradicional **7d** se propuso un mecanismo de reacción (Esquema 26) en el que el organoborano que da lugar a **7a** sufre una retrohidroboración, regenerando el doble enlace, pero esta vez en la posición 6 (intermediario Δ^6 -esteroidal), posteriormente, dicho intermediario sufriría una hidroboración por la cara β -esteroidal debido al exceso de borano en el medio para dar pie a la formación del borano que tras la oxidación produjo **7d**.



Esquema 26. Mecanismo de reacción para la generación de compuestos “*trans*” a través de HB.

Para llevar a cabo la elucidación del inesperado producto **7d**, se realizaron cálculos computacionales en colaboración con el grupo del Dr. Gabriel Merino del Cinvestav Mérida. El cálculo se realizó empleando un nivel SMD/PBE0-D3/def2-TZVP⁶⁶⁻⁶⁹ en Gaussian 16.⁷⁰ Para describir apropiadamente este mecanismo (y en general para cualquier mecanismo), deben ser incluidos tres factores: el disolvente, la dispersión y los factores termodinámicos. Así, la discusión se basa en las energías libres de Gibbs calculadas a 273.15 K, utilizando

THF como disolvente e incluyendo los efectos de dispersión vía la aproximación de Grimme-D3. Considerando que el alcohol es generado a través de una oxidación con retención de configuración, solo se analizó el mecanismo de HB, por lo tanto, denominamos al sistema alquilborano como **7a'** el cual genera el compuesto **7a** después de la oxidación, lo mismo para los productos **7c** y **7d**

Las energías libres de Gibbs determinadas para las adiciones de la HB suprafacial de **6** se ilustran en la Figura 23. Para la adición α , el complejo del reactivo generado o complejo π (**INT α**) es más estable que los reactivos por separado (5.0 kcal/mol). Enfocándonos en la reacción de adición por la cara α , como se esperaba, la diferencia energética entre el aducto *anti*-Markovnikov **7a'** y Markovnikov **7c'** ($\Delta\Delta G^\ddagger = 3.3$ kcal/mol) favorece la primera. Debido a que la adición involucra al C-5 cabeza de puente, los estados de transición están conectados a conformaciones de silla distorsionada (**INT2-7a'** e **INT2-7c'**), los cuales son más estables que **INT α** por 3.6 y 1.2 kcal/mol, respectivamente. Las barreras energéticas para obtener los productos finales son menores a 1.5 kcal/mol y la formación de **7a'** y **7c'** es exérgica por 16.9 y 13.0 kcal/mol, respectivamente, con respecto a la materia prima. Hasta este punto aún no se ha logrado explicar la formación del compuesto **7d**.

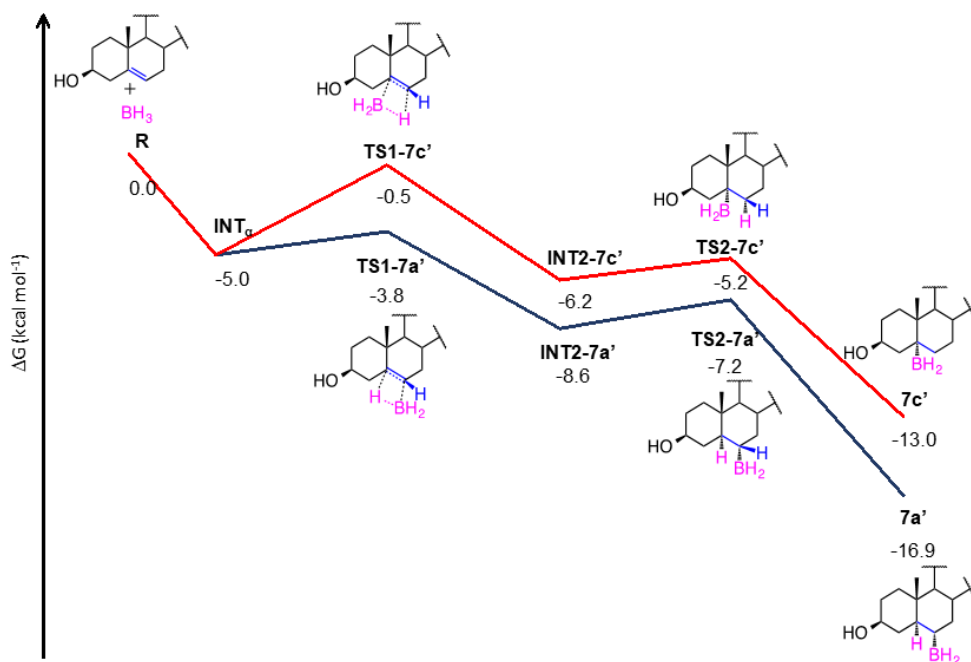


Figura 23. Perfil de la energía libre de la HB del colesterol por la cara α y estructuras involucradas en los estados de transición.

Para explicar la formación del compuesto **7d** se exploraron diversos mecanismos potenciales los cuales involucran BH_3 , BH_4^- , B_2H_7^- , e incluso el cambio de regioselectividad durante el proceso de oxidación. La respuesta más congruente es un proceso de *retro*-hidroboración para regenerar el doble enlace, pero ahora en C-6 para formar el esteroide Δ^6 (5α -colest-6-en-3 β -ol), seguido de una HB típica en este caso por la cara β . Los cálculos realizados indican que el compuesto **6** es más estable respecto al compuesto Δ^6 -esteroidal por 4.3 kcal/mol. La formación del compuesto Δ^6 -esteroidal a partir de **7a'** es concertada vía **TS1-7d'** ($\Delta G^\ddagger = 14.1$ kcal/mol). Resultando en el complejo π **INT2-7d'**, el cual es estable respecto al Δ^6 -esteroide + BH_3 por 8.5 kcal/mol. El siguiente paso es la adición del borano por la cara β del Δ^6 -esteroide para formar **INT3-7d'**, el cual es exergónico por 6.2 kcal/mol. El producto *trans* (**7d'**) se obtiene a través de una barrera energética pequeña de 2.6 kcal/mol y es solo 0.4 kcal/mol más estable que **7a'** (Figura 24). Nótese que el Δ^6 -esteroide tiene un ambiente estructural diferente alrededor del doble enlace en comparación con **6**. Debido a que el Δ^6 -esteroide no involucra la adición en ningún carbono cabeza de puente como en **6**, la generación de la β -HB del Δ^6 -esteroide es más exergónica (21.6 kcal/mol) que la α -HB de **6** (16.9 kcal/mol). En pocas palabras, los productos más abundantes (**7a'** y **7d'**) son los más estables termodinámicamente.

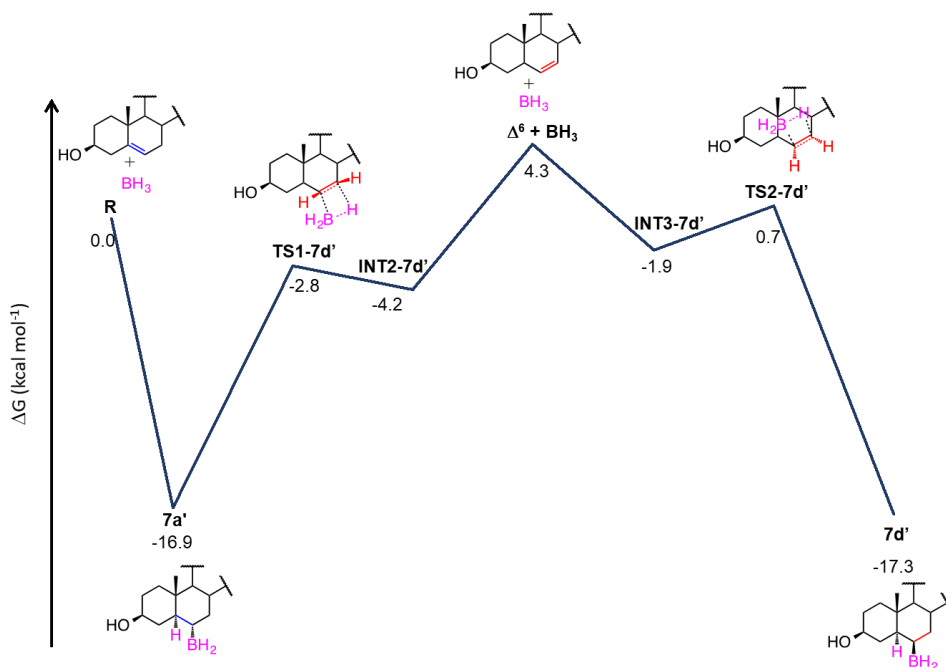


Figura 24. Perfil de energías libres para la formación de **7d'** y estructuras involucradas en los estados de transición.

4.2.1 Caracterización de los productos de la reacción de HBO, 7a-d.

En el espectro de RMN de ^1H para el compuesto **7a** (Figura 25) se observa una señal múltiple en 3.58 ppm correspondiente al protón base de alcohol en la posición 3. En 3.41 ppm se aprecia un doble de dobles que pertenece al protón H-6. Las señales para los metilenos en las posiciones H-4, H-12 y H-7 se observan en 2.18, 1.98 y 1.96 ppm como señales múltiples y un doble de dobles, respectivamente. A campo alto se observan tres señales dobles en 0.89, 0.86 y 0.85 ppm correspondientes a los protones de los metilos 21, 26 y 27, a su vez en 0.81 y 0.64 ppm se observan dos señales simples las cuales corresponden a los protones de los metilos 19 y 18, respectivamente.

En el espectro de RMN ^1H para el compuesto **7b** (Figura 25) se observan en 4.09 y 3.70 ppm dos señales múltiples correspondientes a los H-3 y H-6. Los metilenos en las posiciones 7 y 5 aparecen como un doble de dobles y una señal múltiple en 1.82 y 1.77 ppm, respectivamente. A campos altos apreciamos las señales para los metilos 19, 21, 26, 27 y 18 en 1.14, 0.90, 0.87, 0.85 y 0.68 ppm, respectivamente.

En el espectro de RMN de ^1H para el compuesto **7c** (Figura 25) se observa en 4.09 ppm una señal múltiple correspondiente al H-3. El metileno en la posición 12 se aprecia como una señal múltiple en 1.98 ppm. A campo alto apreciamos las señales para los metilos en las posiciones 19, 21, 26, 27, 18 en 0.99 (s), 0.89 (d), 0.86 (d), 0.85 (d) y 0.65 ppm (s), respectivamente.

En el espectro de RMN de ^1H para el compuesto **7d** (Figura 25) se observan en 3.79 ppm y 3.63 ppm (como un doble de dobles y una señal múltiple) los protones H-6 y H-3. El metileno en la posición 12 aparece como un doble de dobles en 1.99 ppm. A campo alto apreciamos las señales para los metilos 19, 21, 26, 27 y 18 en 1.03, 0.95, 0.87, 0.85 y 0.69 ppm, respectivamente.

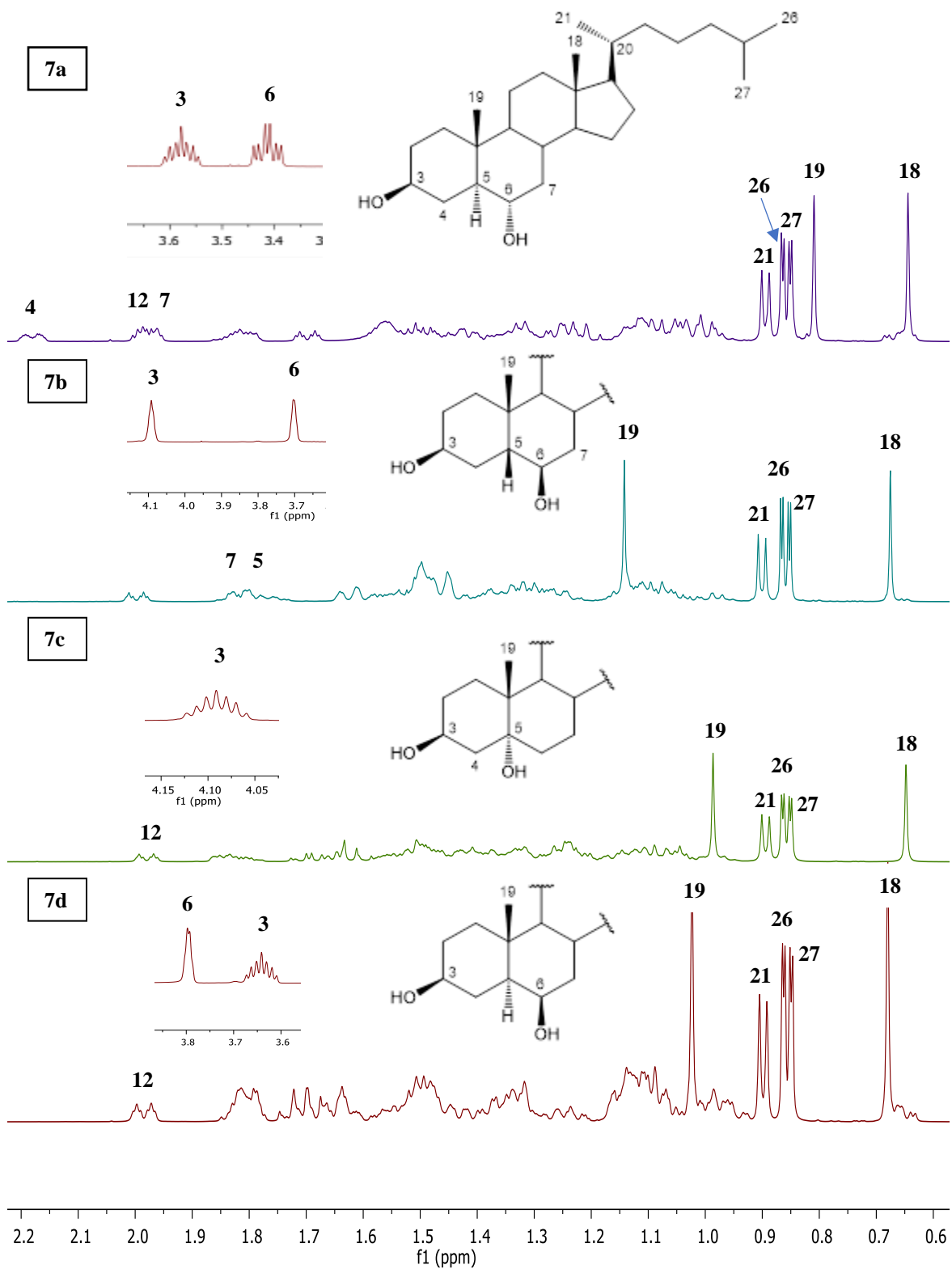


Figura 25. Espectros de RMN de ^1H de los compuestos **7a-d** (600 MHz en CDCl_3).

En el espectro de RMN de ^{13}C para el compuesto **7a** (Figura 26) se observan en 71.4 y 69.7 ppm los carbonos correspondientes a los hidroxilos en las posiciones C-3 y C-6, respectivamente. En 56.3, 56.3 y 51.8 ppm se observan las señales de los carbonos terciarios C-17, C-14 y C-5, respectivamente. Los metilenos C-7 y C-4 se muestran en 41.8 y 32.4 ppm. Los metilos en las posiciones 27, 26, 21, 19 y 18 se observan en 23.0, 22.7, 18.8, 13.6 y 12.2 ppm, respectivamente.

En el espectro de RMN de ^{13}C para el compuesto **7b** (Figura 26) se observan los C-6 y C-3 de los alcoholes en 73.4 y 66.2 ppm, respectivamente. En 56.3 y 43.9 ppm aparecen los carbonos terciarios C-17 y C-5. Los metilos en las posiciones 19, 27, 26, 21, y 18 se observan en 26.2, 22.7, 22.7, 18.7 y 12.1 ppm, respectivamente.

En el espectro de RMN de ^{13}C para el compuesto **7c** (Figura 26) aparecen los C-5 y C-3 de los alcoholes en 75.5 y 67.5 ppm, respectivamente. En 44.0 40.2 y 34.5 ppm se observan los metilenos C-4, C-12 y C-6. Los metilos en las posiciones 27, 26, 21, 19 y 18 aparecen en 23.0, 22.7, 18.8, 16.4 y 12.3 ppm, respectivamente.

En el espectro de RMN de ^{13}C para el compuesto **7d** (Figura 26) se muestran en 72.2 y 71.8 ppm los C-6 y C-3 de los alcoholes, respectivamente. En 47.5 ppm aparecen los protones del carbono terciario C-5. Los metilos en las posiciones 27, 26, 21, 19 y 18 se observan en 22.9, 22.7, 18.8, 15.9 y 12.2 ppm, respectivamente.

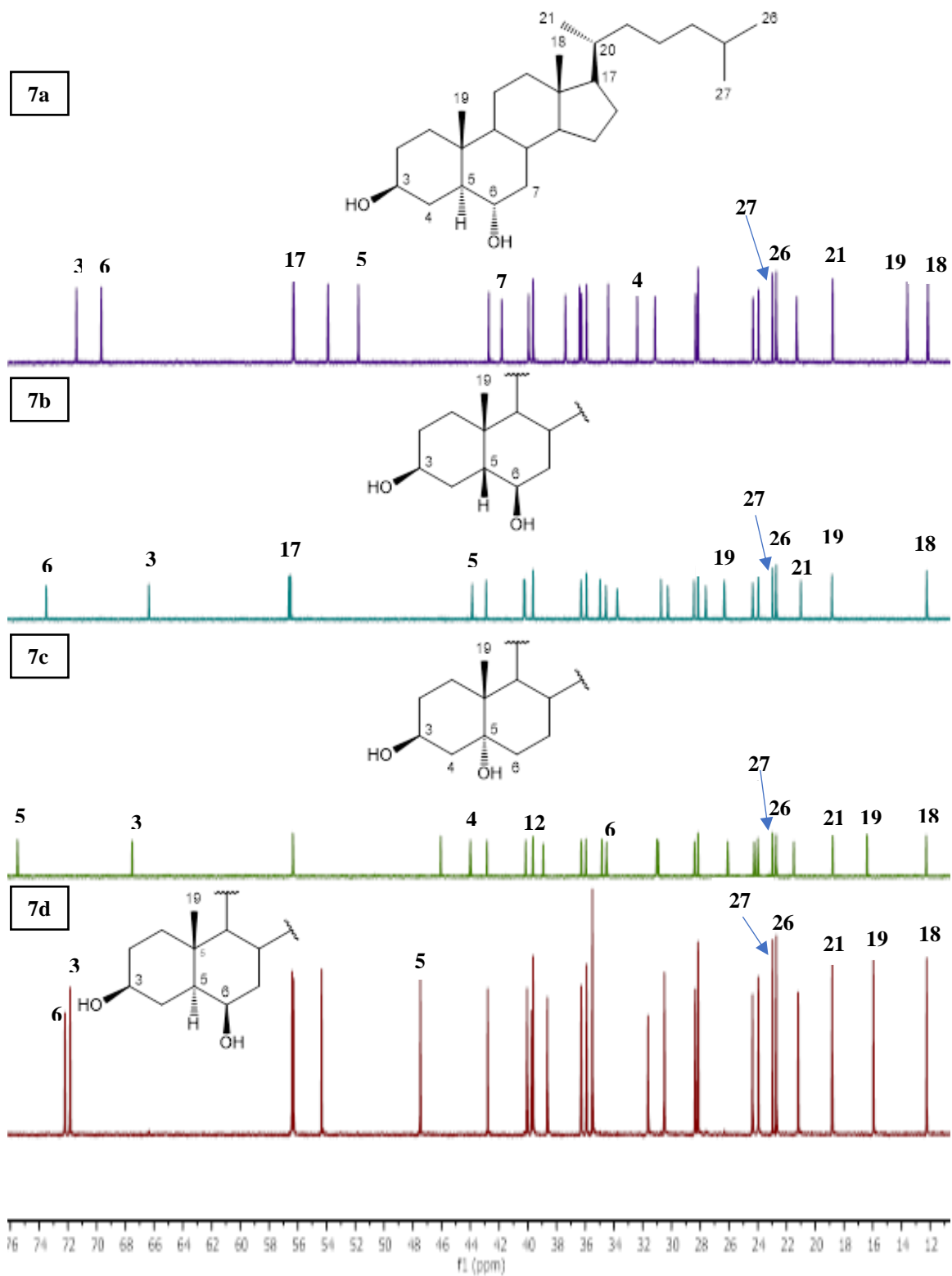
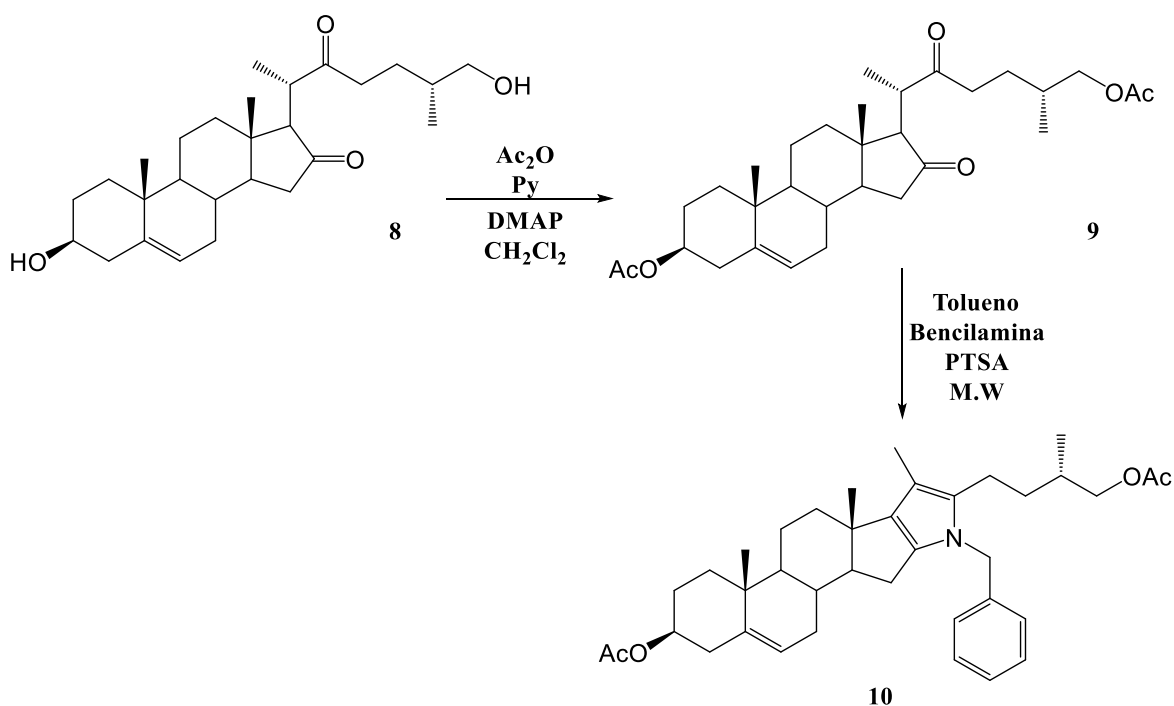


Figura 26. Espectros de RMN de ^{13}C de los compuestos **7a-d** (150 MHz en CDCl_3).

El estudio de la reacción de hidroborcación que se realizó sobre el colesterol se ha extendido a otro esteroide, la diosgenina⁷¹ Para incrementar los casos de estudio en esta reacción, cuyos resultados atípicos ya se han comprobado en dos sustratos, se empleó un tercer sustrato, el Δ^5 -esteroide kriptogenina (**8**). Debido a que **8** contiene dos grupos hidroxilo en las posiciones 3 y 26 y dos grupos carbonilo en las posiciones 16 y 22, se realizaron dos reacciones de protección de grupos funcionales previas a la hidroborcación. El primer paso consistió en la protección de los grupos hidroxilo por acetilación, lo cual generó el compuesto **9**, seguido de la síntesis de un pirrol para proteger la función 1,4-dicarbonilo, compuesto **10**. Esta protección generó un anillo extra en el esqueleto esteroidal, al cual por nomenclatura IUPAC denominamos anillo E y para este caso particular, corresponde a un pirrol pentasustituido. Posteriormente se llevó a cabo la HB del compuesto **10** (Esquema 27). La caracterización por RMN se llevó a cabo utilizando los datos reportados en la literatura.⁷²



Esquema 27. Ruta sintética para la protección de la kriptógenina (**8**).

4.2.2 Síntesis y caracterización del diacetato de (25*R*)-16,22-dioxocolest-5-eno-3 β ,26-diilo (**9**).

El compuesto **9** se obtuvo mediante la reacción de acetilación del compuesto **8** bajo condiciones estándar (anhidrido acético, piridina y 4-dimetilaminopiridina, Esquema 27).⁶⁰ Las condiciones de reacción son suaves y la reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente. El tratamiento de la reacción debe conducir a un medio neutro para evitar su descomposición. La estructura de **9** fue elucidada mediante IR (A8, Apéndice 1) y RMN.

En las Figuras 27 y 28 se muestran los espectros de RMN de ¹H y ¹³C, respectivamente, del compuesto **9**. En el espectro de RMN de ¹H aparece la señal correspondiente al protón vinílico H-6 en 5.38 ppm. En 4.23 y 3.94 ppm se observan como multipletes las señales correspondientes a H-26 y H-3. El protón H-20 se muestra en 2.76 ppm como una señal múltiple. Los protones alfa a carbonilo (H-15 y H-23) aparecen en 2.65 y 2.31 ppm, respectivamente. Los metilos de los grupos acetato de 3 y 26 aparecen como señales simples en 2.05 y 2.03 ppm, respectivamente. A campo alto aparecen las señales dobles de los metilos 21 y 27 en 1.25 y 0.91 ppm y dos singuletes que corresponden a 19 y 18 en 1.05 y 0.80 ppm.

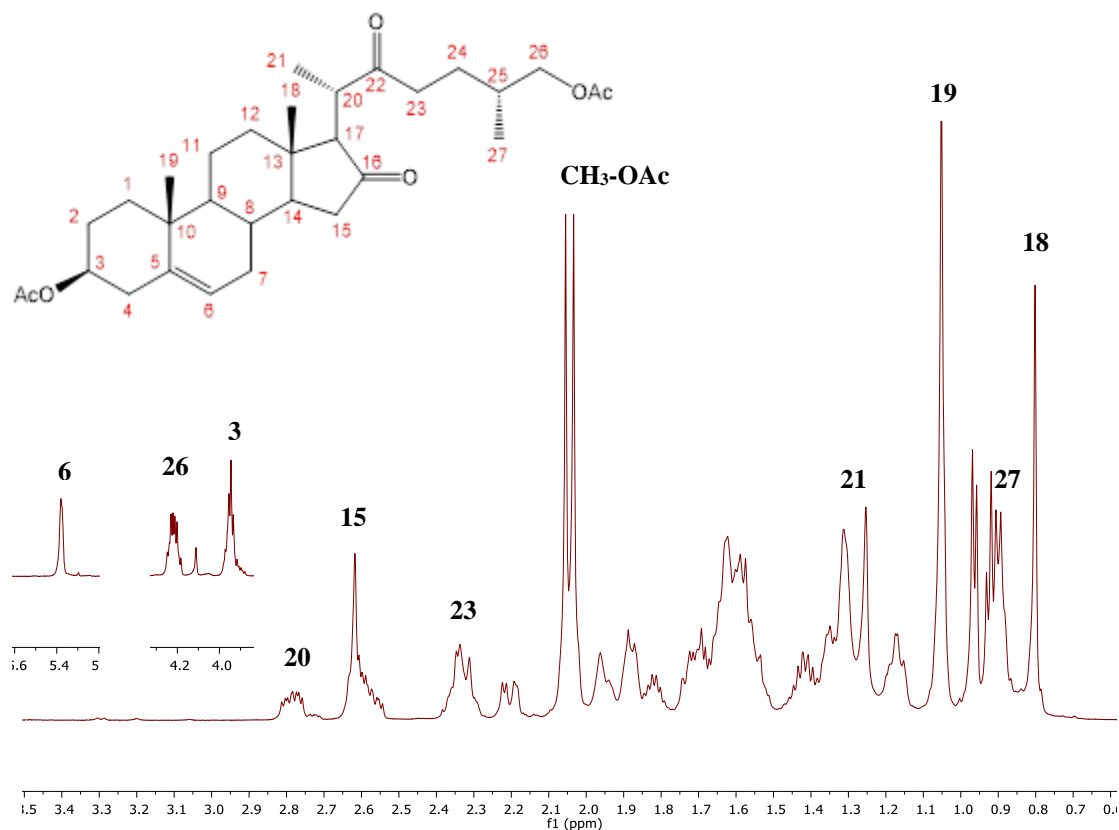


Figura 27. Espectro de RMN de ^1H del compuesto **9** (600 MHz en CDCl_3).

Con respecto al espectro de ^{13}C para el compuesto **9** (Figura 28), los carbonos más característicos de la molécula se presentan en 210.3 y 208.7 ppm y corresponden a las cetonas de C-16 y C-22. En 170.6 y 169.2 ppm se observan las señales de los carbonilos de acetato en las posiciones 3 y 26, respectivamente. Los carbonos vinílicos C-6 y C-5 se aprecian en 128.9 y 121.9 ppm. Los carbonos base de oxígeno se encuentran en 73.8 ppm para el C-3 y 69.2 ppm para el C-26. Los carbonos alfa a los carbonilos de 16 y 22 aparecen en 41.8 ppm (C-15), 68.3 ppm (C-17), 43.5 ppm (C-20) y 36.8 ppm (C-23). En 20.6 y 19.4 ppm se muestran los metilos de los acetatos. Por último, a campo alto se asignan los metilos 19, 27, 21 y 18 los cuales se observan en 17.0, 15.5, 14.2 y 13.1 ppm, respectivamente.

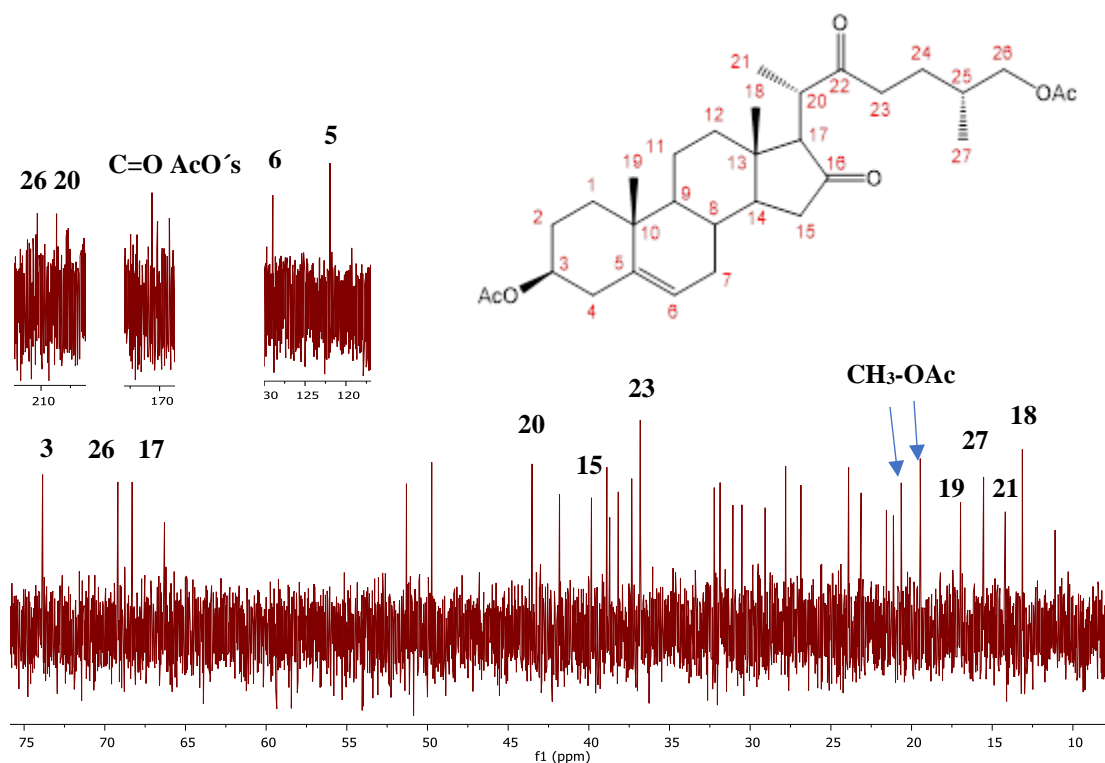


Figura 28. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **9** (150 MHz, en CDCl_3).

4.2.3 Síntesis y caracterización del diacetato de N-bencilpirrolo [2',3',4',5':16,17,20,22]-colest-5-eno-3 β ,26-diilo (**10**).

El compuesto **10** se obtuvo mediante la reacción de Paal-Knorr⁵⁵ una reacción de ciclación intermolecular comúnmente empleada para 1,4-dicarbonilos. La reacción se efectuó mediante calentamiento asistido por microondas a partir de **9**, utilizando bencilamina, ácido *p*-toluenosulfónico y tolueno como disolvente a 200 °C y 11 bares (Esquema 27). El tratamiento de la reacción debe conducir a un medio neutro para evitar su descomposición. La estructura del compuesto **10** fue elucidada mediante RMN e IR (Apéndice 1, Figura A10) en el cual se observó la aparición de las señales características del pirrolo alrededor de 3500 cm^{-1} .

En el espectro de RMN de ^1H para el compuesto **10** (Figura 29) se observan las señales correspondientes a los protones aromáticos pertenecientes al anillo bencílico en 7.27 ppm

para la posición *orto*, 7.19 ppm para la posición *meta* y en 6.90 ppm para la posición *para*. En 5.36 ppm se muestra el protón vinílico H-6 como una señal doble. La señal de los protones del metileno bencílico aparece en 4.88 ppm como una señal simple. El protón H-3 se muestra en 4.60 ppm, los protones de 26 aparecen en 3.79 ppm como una señal doble para cada protón. Los metilos pertenecientes a los grupos acetato en las posiciones 26 y 3 se observan como señales simples en 2.00 y 1.96 ppm. La señal perteneciente al metilo en la posición 21 nos indica la formación del anillo *E* pirrólico, el cual a diferencia del compuesto **9** en donde se mostraba como una señal doble debido al acoplamiento con H-20, ahora, al no haber protones presentes en dicha posición se observa como una señal simple en 1.24 ppm. Hacia campos más altos encontramos las señales correspondientes a los protones de los metilos 19, 18, 27 en 1.05, 0.90 y 0.83 ppm, como señales simples y una doble, respectivamente.

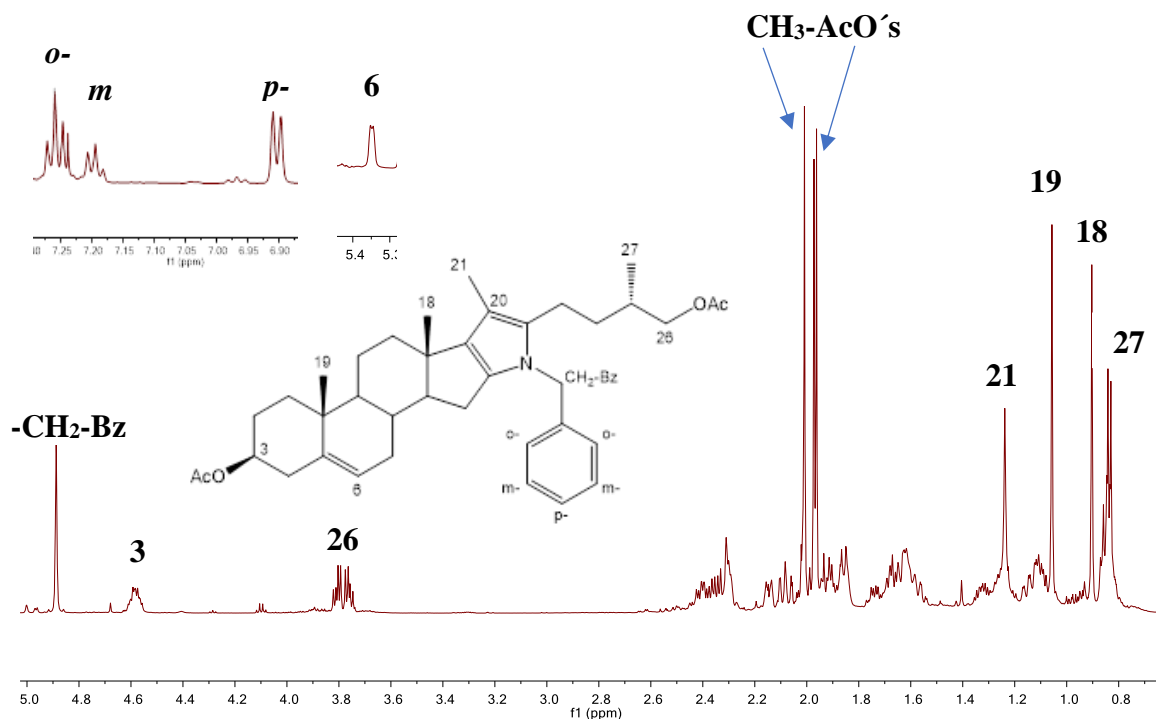


Figura 29. Espectro de RMN de ^1H del compuesto **10** (600 MHz en CDCl_3).

En el espectro de ^{13}C (Figura 30) para el compuesto **10**, se observa en 171.3 y 170.6 ppm las señales características de los carbonilos de los grupos acetato en las posiciones 3 y 26 respectivamente. Los carbonos vinílicos C-5 y C-6, aparecen en 140.2 y 122.4 ppm, respectivamente. En 139.4, 134.3, 129.9 y 109.4 ppm se muestran los carbonos

correspondientes al pirrol, C-17, C-22, C-16 y C-20, respectivamente. Los carbonos del anillo bencénico se observan en 128.7 ppm para el carbono *meta*-, 127.1 ppm para los carbonos en posición *orto*- y en 126.2 ppm los carbonos de la posición *para*-. Los carbonos C-3 y C-26 se muestran en 74.1 y 69.2 ppm, respectivamente. En 48.6 ppm se observa la señal correspondiente al metileno bencílico. En 21.0 y 20.9 ppm se observan las señales de los metilos unidos a los carbonilos de los grupos acetatos en las posiciones 3 y 26. Las señales para los metilos en las posiciones C-21, C-18, C-27 y C-19 se aprecian en 19.4, 18.6 y 16.8 y 14.2 ppm, respectivamente.

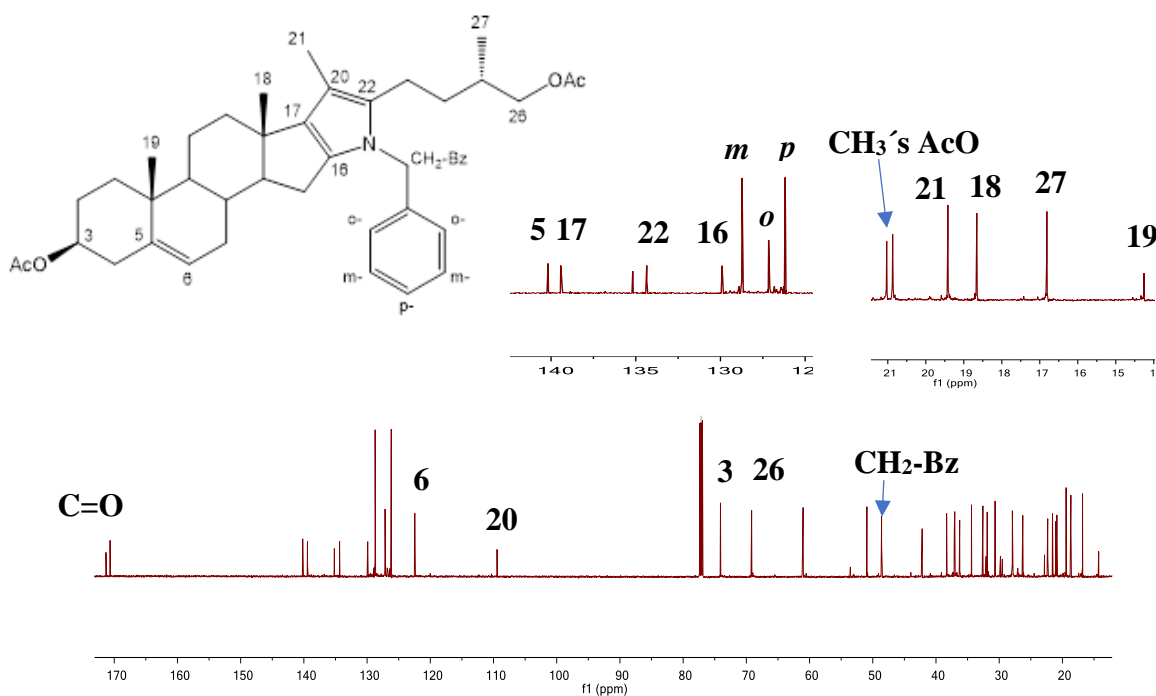
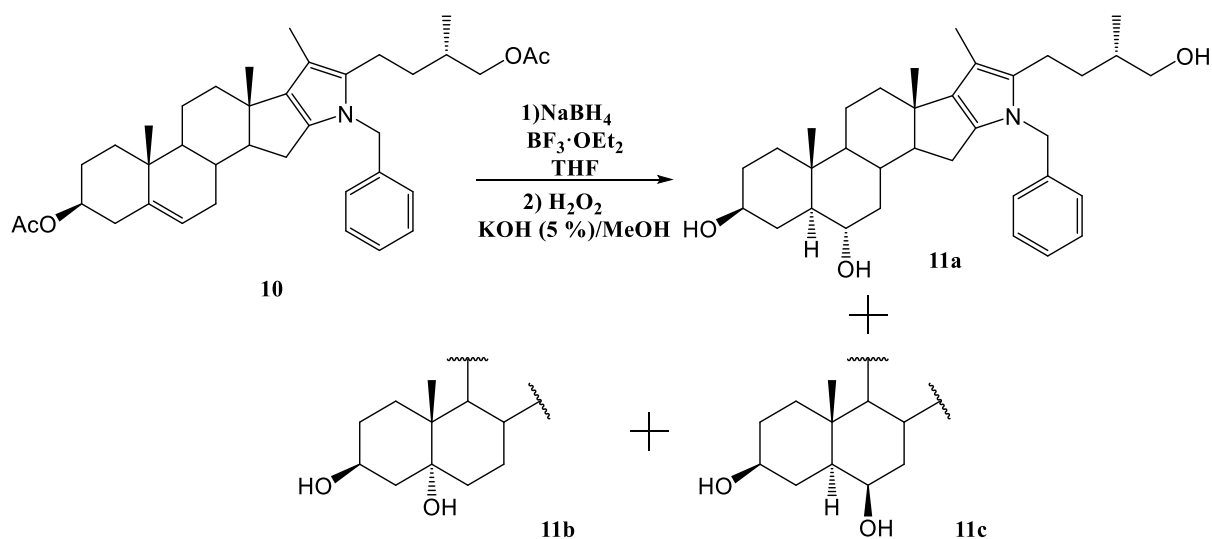


Figura 30. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **10** (150 MHz en CDCl_3).

4.2.4 Síntesis y caracterización de los productos de la reacción de HBO a partir del compuesto bencilpirrólico colestánico.

La reacción de hidroborcación se llevó a cabo de forma análoga a la descrita previamente para el colesterol **6**, empleando NaBH_4 , en THF (anhidro) y $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, de 0°C a temperatura ambiente. La oxidación de los productos de HB se llevó a cabo empleando una solución de KOH al 5 % en metanol y peróxido de hidrógeno al 35% (Esquema 28).



Esquema 28. Reacción de HBO para el compuesto derivado de la kriptógenina (10) y productos obtenidos (11a-c).

El mecanismo de reacción es análogo al propuesto para la HB del colesterol (Esquema 26), con la diferencia de que para la base esteroidal de la kriptógenina se obtuvo como producto principal a **11a**, los productos **11b** y **11c**, se obtuvieron en pequeñas cantidades (10.3 y 2.7%, respectivamente), reafirmando así la formación del compuesto “*trans*”.

4.2.4.1 Elucidación de los productos de la reacción de HBO, 11a-c.

En el espectro de RMN de ^1H para el compuesto **11a** (Figura 31) se observan las señales correspondientes a los protones aromáticos pertenecientes al anillo bencílico en 7.13 ppm para la posición *orto*, 7.05 ppm para la posición *meta* y en 6.81 ppm para la posición *para*. La señal de los protones del metileno bencílico aparece en 4.43 ppm como una señal simple. En 3.92 y 3.67 ppm se observan señales múltiples correspondientes a los protones de los alcoholes en las posiciones 26 y 3. En 3.60 ppm aparece un doble de dobles que pertenecen al protó H-6. Las señales para los metilenos en las posiciones H-4, H-12 y H-7 se observan en 2.34, 1.96 y 1.84 ppm como señales múltiples, respectivamente. A campo alto se observa en 2.04 ppm la señal desplazada por el pirrol de los protones del metilo en la posición 21. A su vez se observan las señales características en 1.25, 0.87 y 0.84 ppm correspondientes a los protones del metilo en 19, 27 y 18, respectivamente.

En el espectro de RMN de ^1H para el compuesto **11b** (Figura 31) se observan las señales correspondientes a los protones aromáticos pertenecientes al anillo bencílico en 7.53 ppm para la posición *orto*, 7.35 ppm para la posición *meta* y en 7.11 ppm para la posición *para*. La señal de los protones del metileno bencílico aparece en 5.29 ppm como una señal simple. En 4.19 y 3.48 ppm se observan señales múltiples correspondientes a protones 26 y 3. A campo alto apreciamos las señales para los metilos en las posiciones 21, 19, 27 y 18 en 1.82, 1.32, 1.28 y 1.25 ppm, respectivamente.

En el espectro de RMN de ^1H para el compuesto **11c** (Figura 31) se observan las señales correspondientes a los protones aromáticos del anillo bencílico en 7.51 ppm para la posición *orto*, 7.35 ppm para la posición *meta* y en 7.13 ppm para la posición *para*. En 4.43 y 4.21 ppm se observan las señales de los protones 26 y 3 como señales múltiples y en 4.30 ppm como un doble de dobles correspondiente al protón en 6. A campo alto apreciamos las señales para los metilos 21, 19, 27 y 18 en 2.03, 1.32, 1.27 y 1.25 ppm, respectivamente.

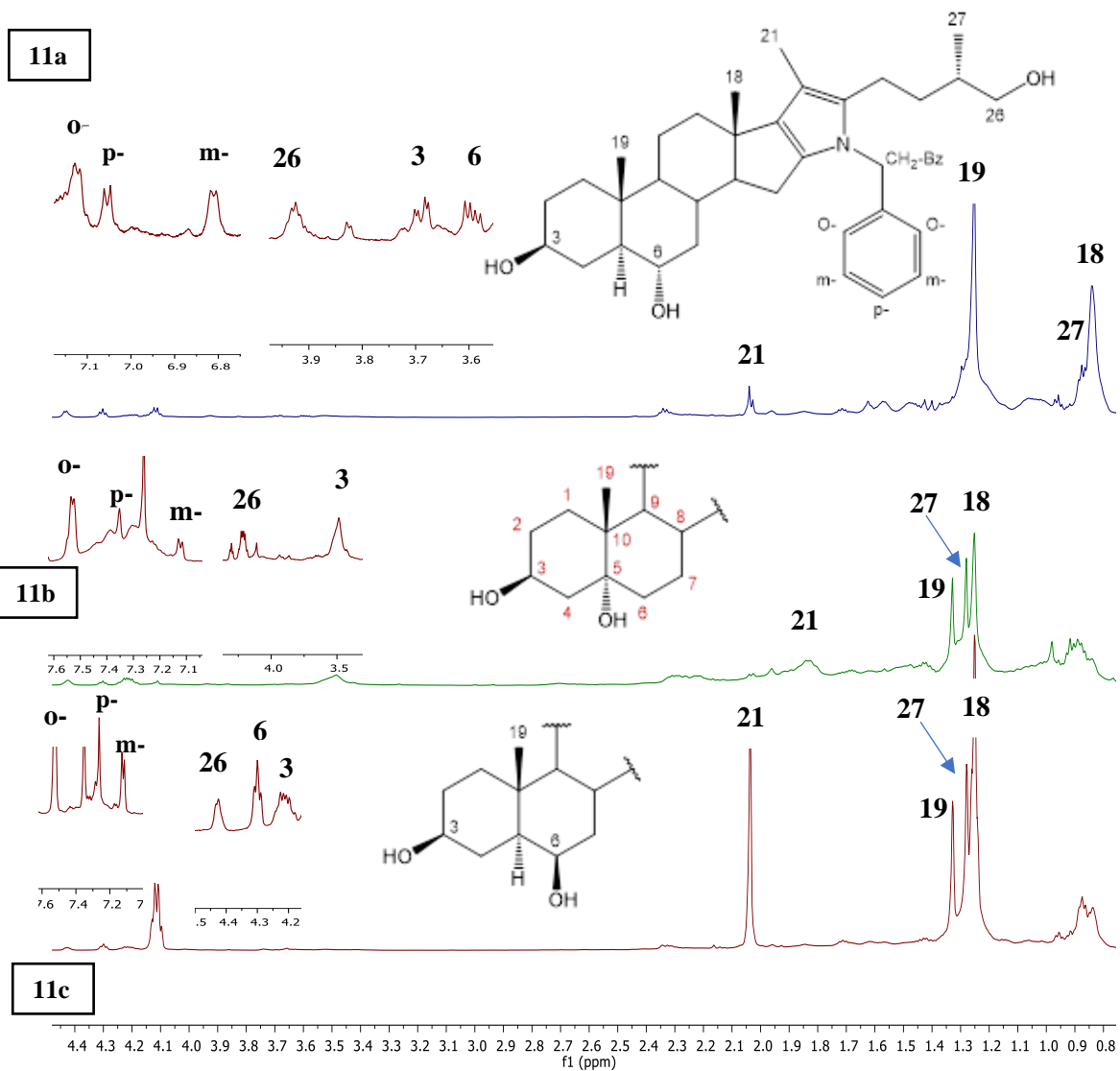


Figura 31. Espectros de RMN de ^1H de los compuestos **11a-c** (600 MHz en CDCl_3).

En el espectro de RMN de ^{13}C para el compuesto **11a** (Figura 32) se observan en 131.0, 129.6, 128.0 y 127.7 ppm se muestran los carbonos correspondientes al pirrol, C-17, C-22, C-16 y C-20. Los carbonos del anillo bencénico se observan en 129.0 ppm para el carbono *meta*-, 128.9 ppm para los carbonos en posición *orto*- y en 128.8 ppm los carbonos de la posición *para*-. En 65.7, 65.3 y 60.5 ppm se observa los carbonos correspondientes a los hidroxilos en las posiciones C-3, C-6 y C-26 respectivamente. En 53.5 ppm se muestra el carbono perteneciente al metileno bencílico. Los metilos en las posiciones 21, 19, 27 y 18 se observan en 22.8, 19.3, 14.3 y 14.2 ppm respectivamente.

En el espectro de RMN de ^{13}C para el compuesto **11b** (Figura 32) se observan en 131.0, 124.6, 124.1 y 119.2 ppm se muestran los carbonos correspondientes al pirrol, C-17, C-22, C-16 y C-20. Los carbonos del anillo bencénico se observan en 129.9 ppm para el carbono *meta*-, 129.1 ppm para los carbonos en posición *orto*- y en 128.9 ppm los carbonos de la posición *para*-. Posteriormente aparecen los C-5, C-3 y C-26 de los carbonos base oxígeno en 71.8, 68.3 y 58.6 ppm, respectivamente. El carbono perteneciente al metileno bencílico se muestra en 50.01 ppm. Los metilos en las posiciones 21, 19, 27 y 18 aparecen en 22.8, 19.4, 14.2 y 11.1 ppm, respectivamente.

En el espectro de RMN de ^{13}C para el compuesto **11c** (Figura 32) aparecen en 147.2, 138.6, 131.0 y 119.2 ppm las señales correspondientes a los carbonos que conforman al pirrol C-17, C-22, C-16 y C-20. Los carbonos aromáticos bencílicos se muestran en 128.9 ppm para los carbonos *meta*-, 124.6 ppm para la posición *orto*- y en 124.1 ppm para el carbono *para*-. Los C-6, C-3 y C-26 de los alcoholes se observan en 68.3, 65.7 y 60.5 ppm, respectivamente. La señal perteneciente al metileno bencílico se observa en 53.5 ppm. Los metilos en las posiciones 21, 19, 27 y 18 en 22.8, 21.1, 14.3 y 14.2 ppm, respectivamente.

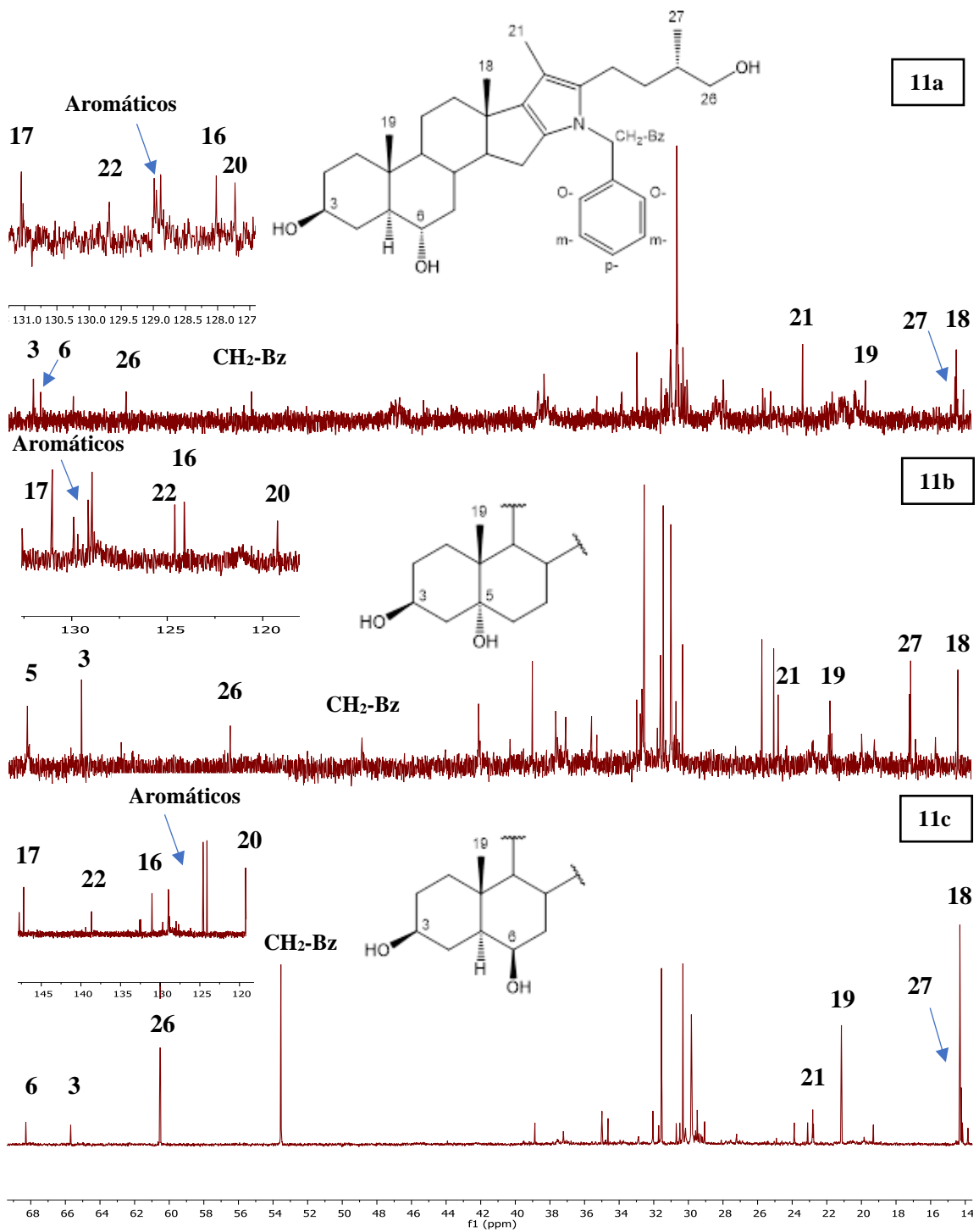


Figura 32. Espectros de RMN de ^{13}C de los compuestos **11a-c** (150 MHz en CDCl_3).

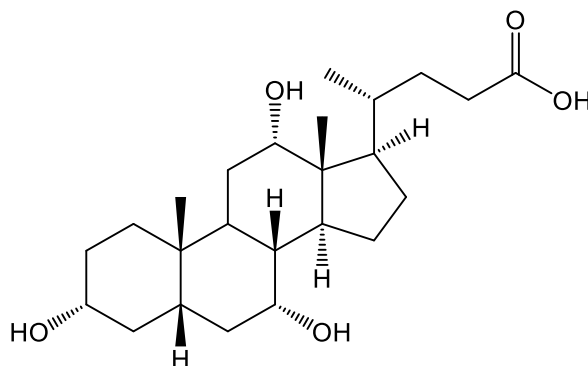
5. DESARROLLO EXPERIMENTAL

5.1 Generalidades.

Los espectros de infrarrojo se registraron en un espectrofotómetro FTIR Agilent Cary 630 utilizando las técnicas ATR (Attenued Total Reflection, por sus siglas en inglés) para muestras sólidas y DialPath para muestras líquidas, los datos se expresaron en cm^{-1} (número de onda). Los experimentos de RMN se realizaron a 25 °C en un espectrómetro Varian 600 MHz AR Premium Compact con sonda de líquidos OneNMR 1H/19F/15N-31P 5 mm con gradiente de campo pulsado (PFG). El registro de los espectros de ^1H se realizó a 600 MHz, mientras los espectros de ^{13}C se registraron a 150 MHz. Los disolventes empleados fueron cloroformo deuterado (CDCl_3 con referencia interna de TMS) y metanol deuterado (CD_3OD). Los desplazamientos químicos (δ) se expresaron en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento (J) en Hertz (Hz). El procesamiento de los espectros de RMN se realizó en el software MestReNova versión 12.0.0 de MestreLab Research S. L. La síntesis asistida por microondas se llevó a cabo en un equipo Anton Paar Monowave EXTRA 300. La cromatografía en capa fina (CCF) se realizó en placas comerciales de gel de sílice grado 60 de 0.2 mm de espesor con indicador de fluorescencia (F_{254}), para su revelado se utilizó la calcinación, previo tratamiento con ácido sulfúrico al 20% en agua. Las purificaciones en columna cromatográfica se realizaron en un equipo CombiFlash[®] Rf Lumen[™] de Teledyne Isco, para ello se utilizaron cartuchos de polipropileno, los cuales fueron empacados con gel de sílice grado 60. Las rotaciones ópticas se adquirieron en un polarímetro Anton Paar MCP 500, las mediciones se realizaron a temperatura ambiente empleando soluciones de cloroformo o etanol en celdas de 1 dm a una longitud de onda de 589 nm. Los difractogramas de rayosX se realizaron en un difractómetro Bruker D-8 Advance con un tiempo de paso de 0.5 s, tamaño de paso de 0.02 grados, 40 kV, 30 mA, en tubos de Cu, Kalfal. Todos los reactivos y disolventes empleados son grado reactivo y fueron adquiridos en Merck/Sigma Aldrich y Química Rique.

5.2.1 Purificación del ácido 3 α ,7 α ,12 α -trihidroxi-5 β -colan-24-oico (1).

El ácido cólico (1) comercial contiene una impureza significativa, la cuales fue detectada mediante cromatografía en capa fina (TLC) empleando un sistema CH₂Cl₂/MeOH (95:5) con $R_f=0.7234$ para la impureza y $R_f = 0.5454$ para 1.



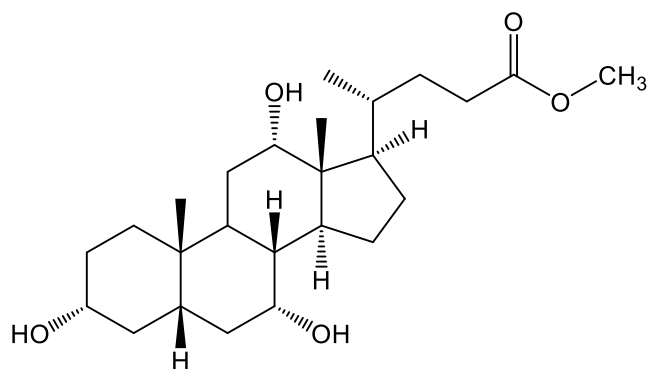
En un matraz de fondo redondo de 250 mL se colocaron 2.44 mmol (1 g) de la muestra comercial de 1 y se disolvieron en 25 ml de CH₂Cl₂, la solución se mezcló con gel de sílice (SiO₂) en una proporción (1:3), respectivamente y el disolvente se evaporó en el rotavapor. El sólido resultante se purificó por cromatografía en columna tipo *flash* en el equipo *CombiFlash*. El sistema eluyente determinado anteriormente mediante CCF se eluyó durante 30 min. Después de evaporar a presión reducida se obtuvo un sólido blanco con un rendimiento de 87.5% que arrojó un $[\alpha]_D = +40.5^\circ$ (0.0002 g/mL, EtOH), valor similar al reportado en la literatura (+37 [\pm 2])⁷³. Durante la medición de la rotación óptica se observó que el ácido cólico no se disolvía completamente en el disolvente reportado en la literatura, por lo que la medición de 1 se llevó a cabo empleando CHCl₃, en este disolvente si se observó una disolución homogénea obteniendo un valor de $[\alpha]_D = +21.7$ (0.0002 g/mL, CHCl₃)

RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃, δ): 3.91 (1H, s, H-12), 3.79 (1H, s, H-7), 3.35 (1H., m, H-3), 2.31 (1H, m, H-9), 2.07 (1H, m, H-14), 1.86 (1H, m, H-17), 1.66 (2H, d, $J_{4,5} = 10.44$ Hz, H-4), 1.48 (1H, m, H-20), 1.36 (1H, m, H-5), 0.95 (3H, d, $J_{21,20} = 6.12$ Hz, H-21), 0.84 (3H, s, H-18), 0.63 (3H, s, H-19).

RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃, δ): 35.4 (C-1), 31.2 (C-2), 71.7 (C-3), 39.3 (C-4), 41.7 (C-5), 35.3 (C-6), 68.5 (C-7), 39.4 (C-8), 27.5 (C-9), 34.5 (C-10), 30.0 (C-11), 73.0 (C-12), 46.4 (C-13), 41.4 (C-14), 23.2 (C-15), 28.0 (C-16), 46.8 (C-17), 12.4 (C-18), 22.4 (C-19), 34.7 (C-20), 17.2 (C-21), 31.2 (C-22), 31.0 (C-23), 177.6 (C-24).

IR (cm⁻¹): 3522, 3315, 3177 (OH), 2925, 2871 (CH alifático), 1712 (C=O), 1076 (C-O).

5.2.2 Síntesis del 3 α ,7 α ,12 α -trihidroxi-5 β -colan-24-oato de metilo (2).



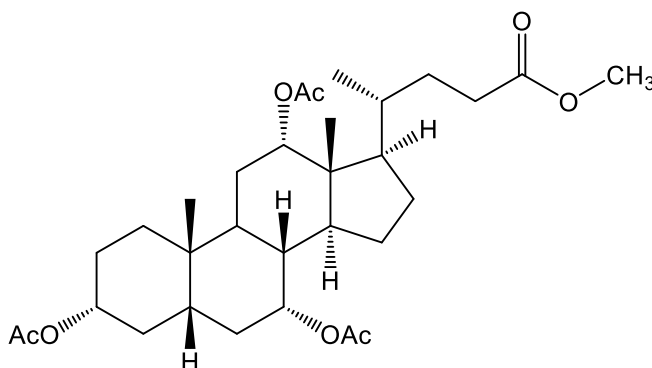
En un vial de vidrio de 30 mL para microondas se colocaron 2.14 mmol (0.870 g) de **1** disueltos en 15 mL de metanol y 100 mg (0.58 mmol) de ácido *p*-toluenosulfónico. La reacción se llevó a cabo en 15 segundos a 140 °C bajo agitación constante a 600 rpm y 12 bares en un equipo de microondas Anton Paar (Apéndice 4, Figura A22). El crudo de reacción se concentró a presión reducida en un rotavapor para retirar el metanol. Posteriormente, se diluyó en CH₂Cl₂ y se realizaron lavados con solución saturada de NaHCO₃ (2 x 50 mL), salmuera (1 x 50 mL) y agua destilada (1 x 50 mL). La fase orgánica resultante se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtró para concentrarse a presión reducida en el rotavapor. El crudo se purificó por cromatografía en columna en un equipo *CombiFlash* empleando un gradiente de hexano/acetato de etilo 7:3 → 1:1 → CH₂Cl₂/MeOH 95:5 durante 45 minutos. El compuesto **2** se obtuvo con un rendimiento de 81.7% y presentó un $[\alpha]_D = +35$ (0.0002 g/mL, CHCl₃).

RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃, δ): 3.96 (1H, s, H-12), 3.83 (1H, d, *J*_{7,8} = 2.58 Hz, H-7), 3.65 (3H, s, OMe), 3.43 (1H, m, H-3), 2.36 (1H, m, H-9), 2.18 (1H, m, H-14), 1.88 (1H, m, H-17), 1.67 (2H, d, *J*_{4,5} = 7.8 Hz, H-4), 1.51 (1H, m, H-20), 0.97 (3H, d, *J*_{21,20} = 6.42 Hz, H-21), 0.87 (3H, s, H-18), 0.67 (3H, s, H-19).

RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃, δ): 35.4 (C-1), 30.5 (C-2), 72.0 (C-3), 39.6 (C-4), 41.6 (C-5), 34.9 (C-6), 68.6 (C-7), 39.7 (C-8), 26.5 (C-9), 34.7 (C-10), 28.3 (C-11), 73.2 (C-12), 46.6 (C-13), 41.8 (C-14), 23.3 (C-15), 27.6 (C-16), 47.2 (C-17), 12.6 (C-18), 22.6 (C-19), 35.4 (C-20), 17.4 (C-21), 31.2 (C-22), 31.0 (C-23), 175.0 (C-24), 51.6 (CH₃COO-24).

IR (cm⁻¹): 3398 (OH), 3054, 2940, 2858 (CH, alifático), 1731 (C=O), 1077 (C-O)

5.2.3 Síntesis del 3 α ,7 α ,12 α -triacetil-5 β -colan-24-oato de metilo (3).



En un matraz de fondo redondo de 100 mL se colocaron 1.75 mmol (740 mg) del compuesto **2** disueltos en 25 mL de CH₂Cl₂, posteriormente se agregaron 5 mL (52.89 mmol) de anhídrido acético, 5 mL (62.07 mmol) de piridina y DMAP en cantidad catalítica. La reacción se mantuvo bajo agitación a temperatura ambiente durante 45 min. El crudo de reacción se vertió lentamente sobre una solución saturada de NaHCO₃ y la mezcla se mantuvo en agitación constante durante 30 min. El crudo de reacción se lavó con solución de HCl 5% (2 x 50 mL), solución saturada de NaHCO₃ (2 x 50 mL), salmuera (2 x 50 mL) y agua destilada (1 x 50 mL), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtró para concentrarse a presión reducida en el rotavapor. El compuesto **3** se purificó por cromatografía en columna en un equipo

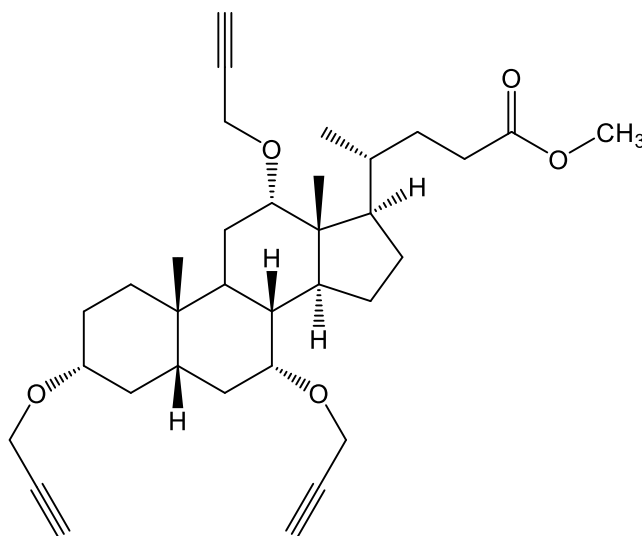
CombiFlash con un sistema eluyente hexano/acetato de etilo 7:3 durante 25 min. El rendimiento fue de 80.7% y presentó un $[\alpha]_D = +14$ (0.0002 g/mL, CHCl_3)

RMN ^1H (600 MHz, CDCl_3 , δ): 5.06 (1H, s, H-12), 4.88 (1H, d, $J_{7,8} = 2.16$ Hz, H-7), 4.55 (1H, m, H-3), 3.64 (3H, s, OMe), 2.32 (2H, m, H-23), 2.11 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-OAc-12}$), 2.06 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-OAc-7}$), 2.02 (3H, $\text{CH}_3\text{-OAc-3}$), 1.85 (1H, m, H-17), 1.75 (1H, m, H-20), 0.89 (3H, s, H-18), 0.80 (3H, d, $J_{21,20} = 6.48$ Hz, H-21), 0.71 (3H, s, H-19).

RMN ^{13}C (150 MHz, CDCl_3 , δ): 34.8 (C-1), 31.4 (C-2), 74.2 (C-3), 34.7 (C-4), 43.5 (C-5), 34.4 (C-6), 70.8 (C-7), 41.1 (C-8), 29.0 (C-9), 31.0 (C-10), 30.9 (C-11), 75.5 (C-12), 43.5 (C-13), 34.7 (C-14), 27.0 (C-15), 27.3 (C-16), 47.5 (C-17), 22.7 (C-18), 12.3 (C-19), 37.9 (C-20), 17.6 (C-21), 25.7 (C-22), 22.9 (C-23), 174.6 (C-24), 170.6 ($\text{CH}_3\text{-OAc}_{(12)}$), 170.6 ($\text{CH}_3\text{-OAc}_{(3)}$), 170.5 ($\text{CH}_3\text{-OAc}_{(12)}$), 51.6 ($\text{CH}_3\text{COO-24}$), 21.7 ($\text{CH}_3\text{-OAc}_{(12)}$), 21.6 ($\text{CH}_3\text{-OAc}_{(3)}$), 21.5 ($\text{CH}_3\text{-OAc}_{(7)}$).

IR (cm^{-1}): 3055, 2951, 2872 (CH, alifáticos), 1728 (C=O), 1025 (C-O)

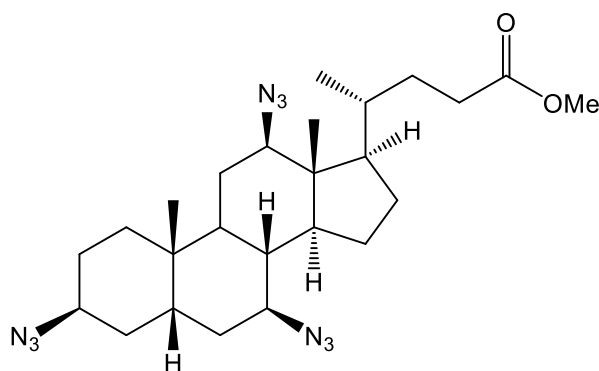
5.2.4 Síntesis del 3 α ,7 α ,12 α -tri-*O*-propargil-5 β -colan-24-oato de metilo (4)



En un matraz de fondo redondo de 100 mL se colocaron 1.4 mmol (768 mg) del compuesto **3** disueltos en 25 mL de CH_2Cl_2 y se agregaron 2.45 mL (14 mmol) de alcohol propargílico. El matraz se colocó en un enfriador a 0 °C bajo agitación constante y posteriormente se

añadieron, gota a gota, 10.4 mL (84 mmol) de $BF_3 \cdot OEt_2$, 5 min después la reacción se retiró del enfriamiento y se mantuvo en agitación hasta alcanzar temperatura ambiente. La reacción permaneció bajo estas condiciones durante 5 días. El crudo de reacción se vertió sobre salmuera en agitación durante 30 min, posteriormente, el crudo se lavó con solución saturada de $NaHCO_3$ (3 x 50 ml), salmuera (2 x 50 ml) y agua destilada (2 x 50 mL), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se filtró para concentrarse bajo presión reducida en el rotavapor. El compuesto **4** se purificó por cromatografía en columna en un equipo *CombiFlash* con un sistema eluyente hexano/acetato de etilo 85:15 durante 30 min. El rendimiento fue de 30% para **4a**, de 25% para **4b** y se recuperó un 45% de materia prima.

5.2.5 Síntesis del 3 β ,7 β ,12 β -triazido-5 β -colan-24-oato de metilo (**5**).



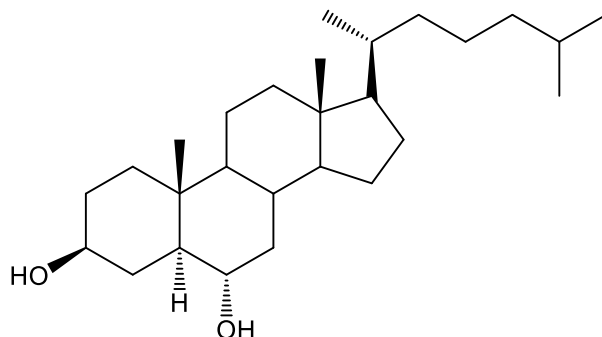
En un mortero se colocaron 0.24 mmol (100 mg) del compuesto **2**, 0.88 mmol (231 mg) de PPh_3 y 0.88 mmol (223 mg) de yodo molecular. Estos tres componentes se pulverizaron manualmente por 10 min hasta formar una pasta. Posteriormente, se agregaron 2.94 mmol (191 mg) de azida de sodio en 25 mL de dimetil sulfóxido. La reacción se trasvasó a un matraz de fondo redondo de 100 mL y se mantuvo en agitación a temperatura ambiente durante 1 h. La reacción se enfrió a 0 °C y se agregaron 30 ml de una solución al 10% de $Na_2S_2O_3$. Después de 5 min el crudo de reacción se lavó con CH_2Cl_2 (3 x 50 mL) y salmuera (3 x 50 mL), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se filtró para concentrarse a presión reducida en el rotavapor. El producto (**5**) se purificó por cromatografía en columna en un equipo *CombiFlash* empleando como eluyentes hexano/acetato de etilo 1:1 \rightarrow CH_2Cl_2 /MeOH 95:5 durante 40 min. El rendimiento fue de 87.4% y presentó un $[\alpha]_D = +57.8$ (0.0002 g/mL, $CHCl_3$)

RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃, δ): 3.91 (1H, s, H-12), 3.79 (1H, s, H-7), 3.62 (3H, s, OMe), 3.38 (1H, m, H-3), 2.33 (1H, m, H-9), 2.15 (1H, m, H-14), 1.86 (1H, m, H-17), 1.50 (2H, d, $J_{4,3} = 12.3$ Hz, H-4), 1.32 (1H, m, H-20), 0.94 (3H, d, $J_{21,20} = 4.8$ Hz, H-21), 0.84 (3H, s, H-18), 0.63 (3H, s, H-19).

RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃, δ): 35.4 (C-1), 30.4 (C-2), 68.5 (C-3), 39.5 (C-4), 41.6 (C-5), 34.8 (C-6), 68.2 (C-7), 40.9 (C-8), 27.6 (C-9), 34.7 (C-10), 29.0 (C-11), 71.9 (C-12), 47.0 (C-13), 41.6 (C-14), 23.3 (C-15), 28.2 (C-16), 47.0 (C-17), 11.0 (C-18), 14.1 (C-19), 35.4 (C-20), 12.2 (C-21), 31.2 (C-22), 30.4 (C-23), 174.9 (C-24), 51.6 (CH₃COO-24).

IR (cm⁻¹): 3233 (azida), 2923, 2849 (CH alifáticos), 1732 (C=O), 1013 (C-O).

5.2.6 Síntesis del 5 α -colestan-3 β ,6 α -diol (7a).



En un matraz de fondo redondo de 250 mL, previamente calentado para reducir la humedad en su interior, se colocaron 1.293 mmol (500 mg) de **6** y 12.93 mmol (489 mg) de NaBH₄, se cerró herméticamente el matraz y se le colocó una trampa para captar el gas generado en la reacción, para así agregar al matraz 20 mL (249.6 mmol) de THF anhidro, se colocó el matraz bajo agitación a 0 °C para posteriormente agregar, gota a gota, 12.93 mmol (1.6 mL) de BF₃·OEt₂. Después de 5 min la reacción fue colocada bajo agitación a temperatura ambiente y se mantuvo así durante una hora. La reacción se despresurizó, se le agregó al crudo de reacción, gota a gota, 10 mL salmuera y se concentró el crudo de reacción a presión reducida en rotavapor. Posteriormente el crudo de reacción se diluyó con CH₂Cl₂ y se lavó con NaCl saturado (1 x 50 mL) y agua destilada (3 x 50 mL), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtró para concentrarse a presión reducida en rotavapor. Se agregó al crudo de reacción una disolución al 2% de KOH/MeOH (50 mL) y gota a gota, 5 mL de H₂O₂ al 35%. La

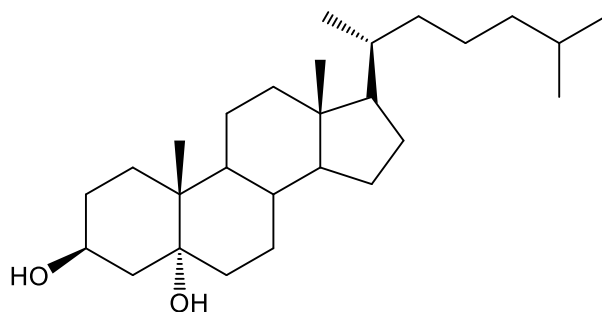
reacción se mantuvo en agitación constante a temperatura ambiente durante 1 h para posteriormente agregar 200 mL de agua al crudo de reacción, se observó la formación de un precipitado el cual se filtró al vacío, las aguas madres se lavaron con CH₂Cl₂ (3 x 50 mL), la fase orgánica se concentró junto con el precipitado a presión reducida en rotavapor. Se purificó por cromatografía en columna en un equipo *CombiFlash*. El compuesto **7a** se purificó con un gradiente de hexano/acetato de etilo (7:3) durante 30 min, obteniendo un precipitado blanco con rendimiento de 60% y un $[\alpha]_D = +38$ (0.0002 g/mL, CHCl₃).

RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃, δ): 3.58 (1H, m, H-3), 3.41 (1H, ddd, $J_{6,5} = J_{6,7ax} = 10.7$ Hz, $J_{6,7eq} = 4.1$ Hz, H-6), 2.18 (1H, m, H-4), 1.98 (1H, m, H-12), 1.98 (1H, ddd, $J_{7-6} = J_{7,8} = 4.7$ Hz, $J_{gem} = 11.1$ Hz, H-7), 0.89 (3H, d, $J_{21,20} = 6.6$ Hz, CH₃-21), 0.86 (3H, d, $J_{26,25} = 2.5$ Hz, CH₃-26), 0.85 (3H, d, $J_{27,25} = 2.5$ Hz, CH₃-27), 0.81 (3H, s, CH₃-19), 0.64 (3H, s, CH₃-18).

RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃, δ): 37.4 (C-1), 31.2 (C-2), 71.4 (C-3), 32.4 (C-4), 51.8 (C-5), 69.7 (C-6), 41.8 (C-7), 34.4 (C-8), 53.9 (C-9), 36.4 (C-10), 21.3 (C-11), 39.9 (C-12), 42.7 (C-13), 56.3 (C-14), 24.3 (C-15), 28.3 (C-16), 56.3 (C-17), 12.2 (C-18), 13.6 (C-19), 35.9 (C-20), 18.8 (C-21), 36.3 (C-22), 23.9 (C-23), 39.6 (C-24), 28.2 (C-25), 22.7 (C-26), 23.0 (C-27).

IR (cm⁻¹): 3406 (OH), 2931, 2856 (CH alifáticos)

5.2.7 Síntesis del 5 α -colestan-3 β ,5-diol (**7b**)



En un matraz de fondo redondo de 250 mL, previamente calentado para reducir la humedad en su interior, se colocaron 1.293 mmol (500 mg) de **6** y 12.93 mmol (489 mg) de NaBH₄,

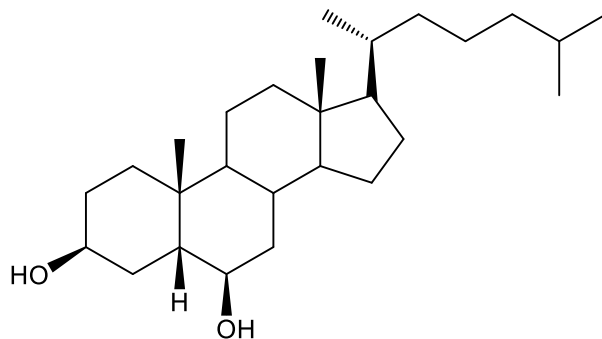
se cerró herméticamente el matraz y se le colocó una trampa para captar el gas generado en la reacción, para así agregar al matraz 20 mL (249.6 mmol) de THF anhidro, se colocó el matraz bajo agitación a 0 °C para posteriormente agregar, gota a gota, 12.93 mmol (1.6 mL) de BF₃·OEt₂. Después de 5 minutos la reacción fue colocada bajo agitación a temperatura ambiente y se mantuvo así durante una hora. La reacción se despresurizó, se le agregó al crudo de reacción, gota a gota, 10 mL salmuera y se concentró el crudo de reacción a presión reducida en rotavapor. Posteriormente el crudo de reacción se diluyó con CH₂Cl₂ y se lavó con NaCl saturado (1 x 50 mL) y agua destilada (3 x 50 mL), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtró para concentrarse a presión reducida en rotavapor. Se agregó al crudo de reacción una disolución al 2 % de KOH/MeOH (50 mL) y gota a gota, 5 mL de H₂O₂ al 35%. La reacción se mantuvo en agitación constante a temperatura ambiente durante 1 h para posteriormente agregar 200 mL de agua al crudo de reacción, se observó la formación de un precipitado el cual se filtró al vacío, las aguas madres se lavaron con CH₂Cl₂ (3 x 50 mL), la fase orgánica se concentró junto con el precipitado a presión reducida en rotavapor. Se purificó por cromatografía en columna en un equipo *CombiFlash*. El compuesto **7b** se purificó con un gradiente de hexano/acetato de etilo (7:3) durante 30 min, con rendimiento de 9% y un $[\alpha]_D = +19$ (0.0002 mg/mL, CHCl₃).

RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃, δ): 4.09 (1H, m, H-3), 1.98 (1H, m, H-12_{eq}), 0.99 (3H, s, CH₃-19), 0.89 (3H, d, $J_{21,20} = 6.5$ Hz, CH₃-21), 0.86 (3H, d, $J_{26,25} = 2.4$ Hz, CH₃-26), 0.85 (3H, d, $J_{27,25} = 2.4$ Hz, CH₃-27), 0.65 (3H, s, CH₃-18).

RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃, δ): 31.0 (C-1), 30.9 (C-2), 67.5 (C-3), 44.0 (C-4), 75.5 (C-5), 34.5 (C-6), 26.1 (C-7), 34.8 (C-8), 46.1 (C-9), 38.9 (C-10), 21.5 (C-11), 40.2 (C-12), 42.8 (C-13), 56.3 (C-14), 24.2 (C-15), 28.4 (C-16), 56.4 (C-17), 12.3 (C-18), 16.4 (C-19), 36.0 (C-20), 18.8 (C-21), 36.3 (C-22), 24.0 (C-23), 39.6 (C-24), 28.2 (C-25), 22.7 (C-26), 23.0 (C-27).

IR (cm⁻¹): 3421, 3309 (OH), 2933 (CH alifáticos)

5.2.8 Síntesis del 5 β -colestano-3 β ,6 β -diol (**7c**)



En un matraz de fondo redondo de 250 mL, previamente calentado para reducir la humedad en su interior, se colocaron 1.293 mmol (500 mg) de **6** y 12.93 mmol (489 mg) de NaBH₄, se cerró herméticamente el matraz y se le colocó una trampa para captar el gas generado en la reacción, para así agregar al matraz 20 mL (249.6 mmol) de THF anhidro, se colocó el matraz bajo agitación a 0 °C para posteriormente agregar, gota a gota, 12.93 mmol (1.6 mL) de BF₃·OEt₂. Después de 5 min la reacción fue colocada bajo agitación a temperatura ambiente y se mantuvo así durante una hora. La reacción se despresurizó, se le agregó al crudo de reacción, gota a gota, 10 mL salmuera y se concentró el crudo de reacción a presión reducida en rotavapor. Posteriormente el crudo de reacción se diluyó con CH₂Cl₂ y se lavó con NaCl saturado (1 x 50 mL) y agua destilada (3 x 50 mL), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtró para concentrarse a presión reducida en rotavapor. Se agregó al crudo de reacción una disolución al 2% de KOH/MeOH (50 mL) y gota a gota, 5 mL de H₂O₂ al 35%. La reacción se mantuvo en agitación constante a temperatura ambiente durante 1 h para posteriormente agregar 200 mL de agua al crudo de reacción, se observó la formación de un precipitado el cual se filtró al vacío, las aguas madres se lavaron con CH₂Cl₂ (3 x 50 mL), la fase orgánica se concentró junto con el precipitado a presión reducida en rotavapor. Se purificó por cromatografía en columna en un equipo *CombiFlash*. El compuesto **7c** se purificó con un gradiente de hexano/acetato de etilo (7:3) durante 30 minutos, obteniendo trazas y un $[\alpha]_D = +38$ (0.0002 g/mL, CHCl₃).

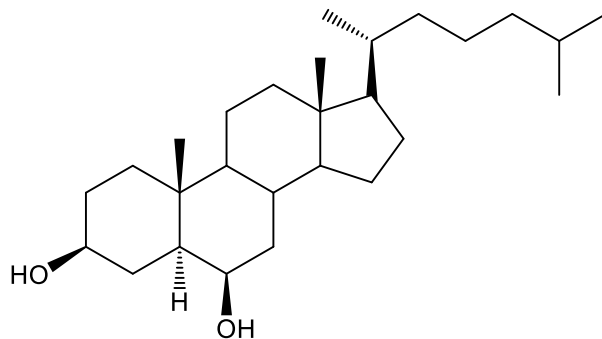
RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃, δ): 4.09 (1H, *m_{br}*, H-3), 3.70 (1H, *m_{br}*, H-6), 2.00 (1H, ddd, $J_{gem} = 12.8$ Hz, $J_{4eq,5} = 4.2$ Hz, $J_{4eq,3} = 3.1$ Hz, H-1*eq*), 1.82 (1H, ddd, $J_{7-6} = J_{7,8} = 4.0$ Hz, $J_{gem} = 8.0$ Hz, H-7), 1.77 (1H, *m*, H-5), 1.14 (3H, *s*, CH₃-19), 0.90 (3H, *d*, $J_{21,20} = 6.7$ Hz,

CH₃-21), 0.87 (3H, d, $J_{26,25} = 2.3$ Hz, CH₃-26), 0.85 (3H, d, $J_{27,25} = 2.3$ Hz, CH₃-27), 0.68 (3H, s, CH₃-18).

RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃, δ): 40.1 (C-1), 34.4 (C-2), 66.2 (C-3), 33.6 (C-4), 43.7 (C-5), 73.4 (C-6), 28.3 (C-7), 24.2 (C-8), 30.6 (C-9), 34.8 (C-10), 20.9 (C-11), 40.1 (C-12), 42.7 (C-13), 56.5 (C-14), 30.1 (C-15), 27.5 (C-16), 56.3 (C-17), 12.1 (C-18), 26.2 (C-19), 35.8 (C-20), 18.7 (C-21), 36.1 (C-22), 23.8 (C-23), 39.5 (C-24), 28.0 (C-25), 22.6 (C-26), 22.6 (C-27).

IR (cm⁻¹): 3377 (OH), 2928, 2867 (CH alifáticos)

5.2.9 Síntesis del 5 α -colestan-3 β ,6 β -diol (7d)



En un matraz de fondo redondo de 250 mL, previamente calentado para reducir la humedad en su interior, se colocaron 1.293 mmol (500 mg) de **6** y 12.93 mmol (489 mg) de NaBH₄, se cerró herméticamente el matraz y se le colocó una trampa para captar el gas generado en la reacción, para así agregar al matraz 20 mL (249.6 mmol) de THF anhidro, se colocó el matraz bajo agitación a 0 °C para posteriormente agregar, gota a gota, 12.93 mmol (1.6 mL) de BF₃·OEt₂. Después de 5 min la reacción fue colocada bajo agitación a temperatura ambiente y se mantuvo así durante una hora. La reacción se despresurizó, se le agregó al crudo de reacción, gota a gota, 10 mL salmuera y se concentró el crudo de reacción a presión reducida en rotavapor. Posteriormente el crudo de reacción se diluyó con CH₂Cl₂ y se lavó con NaCl saturado (1 x 50 mL) y agua destilada (3 x 50 mL), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro

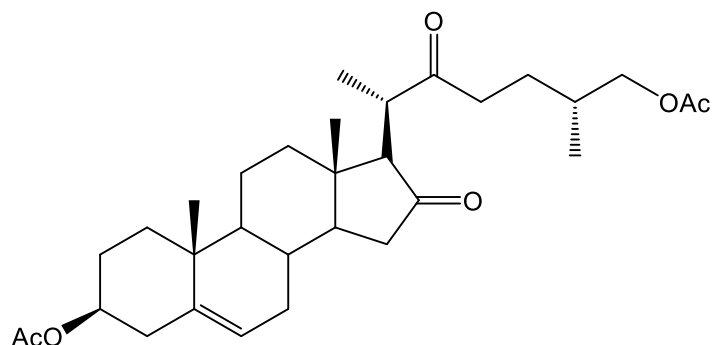
y se filtró para concentrarse a presión reducida en rotavapor. Se agregó al crudo de reacción una disolución al 2% de KOH/MeOH (50 mL) y gota a gota, 5 mL de H₂O₂ al 35%. La reacción se mantuvo en agitación constante a temperatura ambiente durante 1 h para posteriormente agregar 200 mL de agua al crudo de reacción, se observó la formación de un precipitado el cual se filtró al vacío, las aguas madres se lavaron con CH₂Cl₂ (3 x 50 mL), la fase orgánica se concentró junto con el precipitado a presión reducida en rotavapor. Se purificó por cromatografía en columna en un equipo *CombiFlash*. El compuesto **7d** se purificó con un gradiente de hexano/acetato de etilo (7:3) durante 30 min, con un rendimiento de 22% y un $[\alpha]_D = +11$ (0.0002g/mL, CHCl₃).

RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃, δ): 3.79 (1H, ddd, $J_{6,5} = J_{6,7ax} = 2.8$ Hz, $J_{6,7eq} = 2.4$ Hz, H-6), 3.63 (1H, m, H-3), 1.99 (1H, ddd, $J_{gem} = 12.4$ Hz, $J_{12,11} = 3.2$ and 3.6 Hz, H-12), 1.03 (3H, s, CH₃-19), 0.95 (3H, d, $J_{21,20} = 6.4$ Hz, CH₃-21), 0.87 (3H, d, $J_{26,25} = 1.6$ Hz, CH₃-26), 0.85 (3H, d, $J_{27,25} = 1.6$ Hz, CH₃-27), 0.69 (3H, s, CH₃-18).

RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃, δ): 38.6 (C-1), 31.6 (C-2), 71.7 (C-3), 35.5 (C-4), 47.4 (C-5), 72.1 (C-6), 39.7 (C-7), 30.5 (C-8), 54.3 (C-9), 35.5 (C-10), 21.2 (C-11), 40.0 (C-12), 42.6 (C-13), 56.2 (C-14), 24.3 (C-15), 28.3 (C-16), 56.3 (C-17), 12.2 (C-18), 15.9 (C-19), 35.9 (C-20), 18.8 (C-21), 36.2 (C-22), 24.0 (C-23), 39.6 (C-24), 28.1 (C-25), 22.7 (C-26), 22.9 (C-27).

IR (cm⁻¹): 3402 (OH), 2932 (CH alifáticos)

5.2.10 Síntesis del diacetato de (25R)-16,22-dioxocolest-5-eno-3 β ,26-diilo (9)



En un matraz de fondo redondo de 250 mL se colocaron 0.464 mmol (200 mg) de **8** disueltos en 20 mL de CH₂Cl₂, posteriormente se agregaron 5 mL (52.89 mmol) de Ac₂O, 5 mL (62.07 mmol) de piridina y 4-dimetilaminopiridina en cantidad catalítica. La reacción se mantuvo bajo agitación a temperatura ambiente durante 45 min. Se agregó el crudo de reacción a una solución de NaHCO₃, la cual se mantuvo bajo agitación durante 30 min. El crudo de reacción se lavó con una solución de HCl 5% (2 x 50 mL), NaHCO₃ saturado (2 x 50 mL), NaCl saturado (2 x 50 mL) y agua destilada (1 x 50 mL), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtró para concentrarse a presión reducida en un rotavapor. Se purificó por cromatografía en columna en un equipo *CombiFlash*. El compuesto **9** se purificó con un gradiente de hexano/acetato de etilo (7:3) durante 20 min, con un rendimiento de 97.98% y un $[\alpha]_D = -15.65$ (0.0002g/mL, CHCl₃).

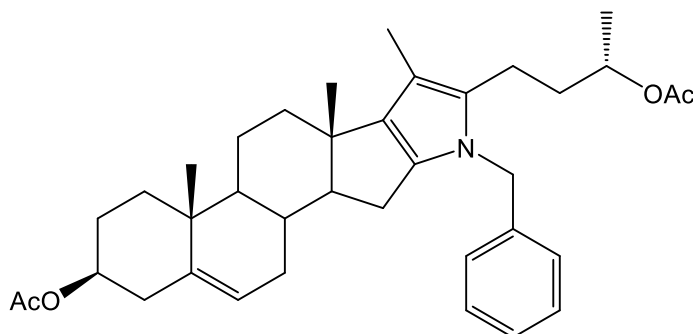
RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃, δ): 5.38 (1H, s, H-6), 4.23 (2H, m, H-26), 3.94 (1H, m, 3-H), 2.76 (1H, m, H-20), 2.65 (2H, m, H-15), 2.31 (2H, m, H-23), 2.05 (3H, s, H-OAc-3), 2.03 (3H, s, H-OAc-26), 1.25 (3H, d, $J_{21,20} = 3.06$ Hz, H-21), 1.05 (3H, s, 19), 0.91 (3H, d, $J_{27,25} = 7.62$ Hz, H-27), 0.80 (3H, s, H-18).

RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃, δ): 37.3 (C-1), 27.8 (C-2), 73.8 (C-3), 38.2 (C-4), 121.9 (C-5), 128.9 (C-6), 31.9 (C-7), 30.5 (C-8), 49.7(C-9), 41.8 (C-10), 21.1 (C-11), 39.8 (C-12), 38.9 (C-13), 51.3 (C-14), 38.7 (C-15), 210.3 (C-16), 68.3 (C-17) 13.1 (C-18), 17.0 (C-19), 43.5

(C-20), 14.2 (C-21), 208.7 (C-22), 36.8 (C-23), 26.8 (C-24), 32.2 (C-25), 69.2 (C-26), 15.5 (C-27), 170.6 (CH₃-C=O-3), 169.2 (CH₃-C=O-26).

IR (cm⁻¹): 2938 (C=C-H), 2895, 2862 (CH alifáticos), 1726 (C=O), 1028 (C-O)

5.2.11 Síntesis del diacetato de N-bencilpirrolo[2',3',4',5':16,17,20,22]-colest-5-eno-3β,26-diilo (10)



En un vial de SiC para microondas de 10 mL se colocaron 0.454 mmol de **9** disueltos en 6 mL (56.4 mmol) de tolueno, 4.54 mmol (0.5 mL) de bencilamina y ácido *p*-toluensulfónico en cantidad catalítica. La reacción se llevó a cabo en 20 min a 200 °C bajo agitación constante a 600 rpm y 11 bares en un equipo de microondas Anton Paar (Apéndice 4, A23). Posteriormente se evaporó el tolueno a presión reducida en rotavapor. Se concentró el crudo de reacción a presión reducida en un rotavapor para retirar el metanol. El crudo de reacción se lavó con una solución de HCl 5% (1 x 50 mL), NaHCO₃ saturado (2 x 50 mL), NaCl saturado (2 x 50 mL) y agua destilada (1 x 50 mL), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtró para concentrarse a presión reducida en un rotavapor. Se purificó por cromatografía en columna en un equipo *CombiFlash*. El compuesto **10** se purificó con un gradiente de hexano/acetato de etilo (9:1) durante 20 min, con un rendimiento de 62.56% y un $[\alpha]_D = -221$ (0.0002 g/mL, CHCl₃).

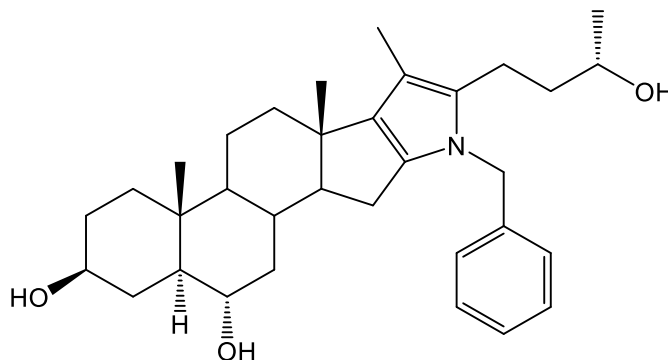
RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃, δ): 7.27 (2H, *m*, H-orto), 7.21 (2H, *m*, H-meta), 6.92 (1H, *d*, *J* = 5.0, H-para), 5.36 (1H, *d*, *J*_{6,7} = 5.0, H-6), 4.91 (2H, *s*, H-bencilo), 4.57 (1H, *s*, H-3), 3.83 (1H, *dd*, *J*_{gem} = 15.0, *J*₂₅₋₂₆ = 5.0, H-26a), 3.78 (1H, *dd*, *J*_{gem} = 15.0, *J*₂₅₋₂₆ = 5.0 Hz, H-26b), 2.01

(3H, s, CH₃-OAc), 1.96 (3H, s, CH₃-OAc), 1.24 (3H, s, H-21), 1.06 (3H, s, H-18), 0.90 (1H, s, H-19), 0.85 (3H, d, $J_{27,25} = 5.0\text{Hz}$, H-27).

RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃, δ): 37.0 (C-1), 31.9 (C-2), 74.1 (C-3), 42.2 (C-4), 140.2 (C-5), 122.4 (C-6), 32.6 (C-7), 31.9 (C-8), 30.6 (C-9), 36.2 (C-10), 20.9 (C-11), 38.3 (C-12), 37.1 (C-13), 50.9 (C-14), 37.0 (C-15), 129.9 (C-16), 139.4 (C-17), 18.6 (C-18), 14.2 (C-19), 109.4 (C-20), 19.4 (C-21), 134.3 (C-22), 34.4 (C-23), 26.3 (C-24), 32.1 (C-25), 69.2 (C-26), 16.9 (C-27), 48.6 (C-bencílico), 128.7 (C-meta-), 126.2 (C-para-), 127.1 (C-orto-) 170.6 (CH₃-CO-C26), 171.3 (CH₃-CO-C-3).

IR (cm⁻¹): 3690 (N₃), 3054, 2986 (CH alifáticos), 2521, 2410, 2305 (N₃), 2200-2000 (anillo aromático), 1728 (C=O), 1032 (C-O).

5.2.12 Síntesis del 3β,6α,26-trihidroxi-N-bencilpirrolo[2',3',4',5':16,17,20,22]-5α-colestano (11a).



En un matraz de fondo redondo de 250 mL, previamente calentado para reducir la humedad en su interior, se colocaron 0.290 mmol (170 mg) de **10** y 2.905 mmol (110 mg) de NaBH₄, se cerró herméticamente el matraz y se le colocó una trampa para captar el gas generado en la reacción, para así agregar al matraz 20 mL (249.6 mmol) de THF anhidro, se colocó el matraz bajo agitación a 0 °C para posteriormente agregar, gota a gota, 2.905 mmol (0.25 mL) de BF₃·OEt₂. Después de 5 min la reacción fue colocada bajo agitación a temperatura ambiente y se mantuvo así durante una hora. La reacción se despresurizó, se le agregó al crudo de reacción, gota a gota, 10 mL de salmuera y se concentró el crudo de reacción a presión reducida en rotavapor. Posteriormente el crudo de reacción se diluyó con CH₂Cl₂, se

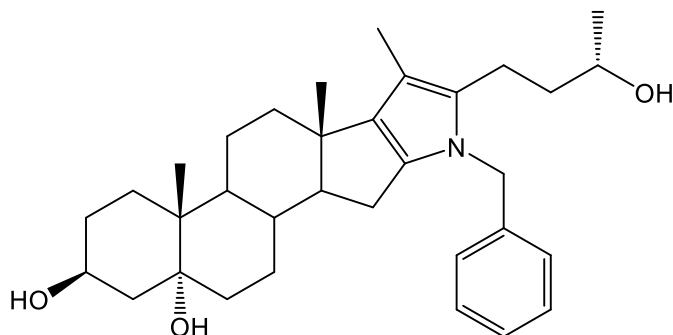
lavó con NaCl saturado (1 x 50 mL) y agua destilada (3 x 50 mL), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtró para concentrarse a presión reducida en rotavapor. Se agregó al crudo de reacción una disolución al 2% de KOH/MeOH (50 mL) y gota a gota, 5 mL de H₂O₂ al 35%. La reacción se mantuvo en agitación constante a temperatura ambiente durante una hora para posteriormente agregar 100 mL de agua al crudo de reacción. El crudo de reacción se lavó con CH₂Cl₂ (3 x 50 mL), se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró para concentrarse a presión reducida en rotavapor. Se purificó por cromatografía en columna en un equipo *CombiFlash*. El compuesto **11a** se purificó con un gradiente de hexano/acetato de etilo 7:3 → 65:35 → 6:4 → 1:1 → CH₂Cl₂ 95:5 → 9:1 durante 120 minutos, con un rendimiento de 46.6% y un $[\alpha]_D = -86$ (0.0002 g/mL, CHCl₃).

RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃, δ): 7.13 (2H, m, aromáticos *O*-), 7.05 (2H, m, aromáticos *m*-), 6.81 (2H, d, *J* = 9.48 Hz, aromáticos *p*-), 4.43 (2H, d, *J* = 5.58 Hz, CH₂-Bz), 3.92 (1H, m, H-3), 3.67 (1H, m, H-26), 3.60 (1H, m, *J* H-6), 2.34 (2H, m, H-4), 2.04 (3H, s, H-21), 1.96 (2H, m, H-12), 1.84 (2H, m, H-7), 1.25 (3H, s, H-19), 0.87 (3H, d, *J*_{27,25} = 7.08 Hz, H-27), 0.84 (3H, s, H-18).

RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃, δ): 37.3 (C-1), 32.1 (C-2), 65.7 (C-3), 37.6 (C-4), 45.3 (C-5), 65.3 (C-6), 32.9 (C-7), 30.7 (C-8), 45.8 (C-9), 37.0 (C-10), 21.2 (C-11), 38.9 (C-12), 42.2 (C-13), 54.0 (C-14), 37.6 (C-15), 128.0 (C-16), 131.0 (C-17), 14.2 (C-18), 19.3 (C-19), 127.7 (C-20), 22.8 (C-21), 129.6 (C-22), 37.4 (C-23), 27.3 (C-24), 34.3 (C-25), 60.5 (C-26), 14.3 (C-27), 53.5 (CH₂-Bz), 131.0 (C-Bz), 128.9 (Bz, posición *o*-), 129.0 (Bz, posición *m*-), 128.9 (Bz, posición *p*-).

IR (cm⁻¹): 3690, 3604 (OH), 3055, 2966, 2934 (CH alifáticos), 2600-2300 (pirrol), 1046 (C-O).

5.2.13 Síntesis del 3 β ,5 α ,26-trihidroxi-N-bencilpirrolo[2',3',4',5':16,17,20,22]-colestano (**11b**).



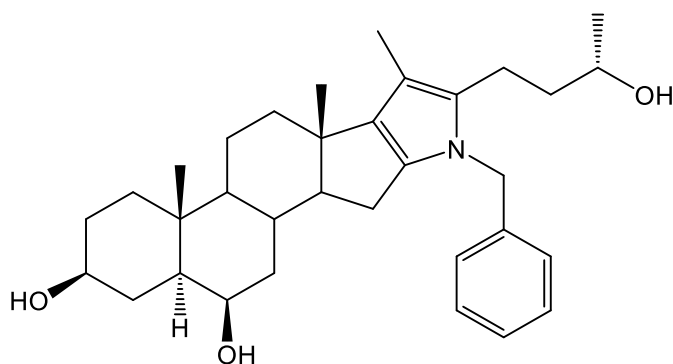
En un matraz de fondo redondo de 250 mL, previamente calentado para reducir la humedad en su interior, se colocaron 0.290 mmol (170 mg) de **10** y 2.905 mmol (110 mg) de NaBH₄, se cerró herméticamente el matraz y se le colocó una trampa para captar el gas generado en la reacción, para así agregar al matraz 20 mL (249.6 mmol) de THF anhidro, se colocó el matraz bajo agitación a 0 °C para posteriormente agregar, gota a gota, 2.905 mmol (0.25 mL) de BF₃·OEt₂. Después de 5 min la reacción fue colocada bajo agitación a temperatura ambiente y se mantuvo así durante una hora. La reacción se despresurizó, se le agregó al crudo de reacción, gota a gota, 10 mL salmuera y se concentró el crudo de reacción a presión reducida en rotavapor. Posteriormente el crudo de reacción se diluyó con CH₂Cl₂, se lavó con NaCl saturado (1 x 50 mL) y agua destilada (3 x 50 mL), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtró para concentrarse a presión reducida en rotavapor. Se agregó al crudo de reacción una disolución al 2% de KOH/MeOH (50 mL) y gota a gota, 5 mL de H₂O₂ al 35%. La reacción se mantuvo en agitación constante a temperatura ambiente durante una hora para posteriormente agregar 100 mL de agua al crudo de reacción. El crudo de reacción se lavó con CH₂Cl₂ (3 x 50 mL), se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró para concentrarse a presión reducida en rotavapor. Se purificó por cromatografía en columna en un equipo *CombiFlash*. El compuesto **11b** se purificó con un gradiente de hexano/acetato de etilo 7:3 → 65:35 → 6:4 → 1:1 → CH₂Cl₂ 95:5 → 9:1 durante 120 minutos, con un rendimiento de 10.3% y un $[\alpha]_D = -135$ (0.0002 g/mL, CHCl₃).

RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃, δ): 7.53 (2H, m, aromáticos *O*-), 7.35 (2H, m, aromáticos *m*-), 7.11 (2H, *J* = 8.58 Hz, aromáticos *p*-), 5.29 (2H, s, CH₂-Bz), 4.19 (1H, m, H-3), 3.48 (1H, m, H-26), 1.82 (3H, s, H-21), 1.32 (3H, s, H-19), 1.28 (3H, d, *J*_{27,25} = 16.74 Hz, H-27), 1.25 (3H, s, H-18).

RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃, δ): 37.3 (C-1), 30.5 (C-2), 68.3 (C-3), 42.4 (C-4), 71.8 (C-5), 32.0 (C-6), 31.7 (C-7), 31.6 (C-8), 50.0 (C-9), 36.7 (C-10), 20.5 (C-11), 38.9 (C-12), 40.3 (C-13), 49.7 (C-14), 37.2 (C-15), 124.1 (C-16), 131.0 (C-17), 11.1 (C-18), 19.4 (C-19), 119.2 (C-20), 22.8 (C-21), 124.6 (C-22), 35.0 (C-23), 29.1 (C-24), 34.6 (C-25), 58.6 (C-26), 14.2 (C-27), 50.0 (CH₂-Bz), 129.7 (C-Bz), 129.9 (Bz, posición *o*-), 129.1 (Bz, posición *m*-), 128.9 (Bz, posición *p*-).

IR (cm⁻¹): 3691, 3602 (OH), 3055, 2966, 2934 (CH alifáticos), 2600-2300 (pirrol), 1046 (C-O).

5.2.14 Síntesis del 3β,6β,26-trihidroxi-*N*-bencilpirrolo[2',3',4',5':16,17,20,22]-5α-colestano (11c).



En un matraz de fondo redondo de 250 mL, previamente calentado para reducir la humedad en su interior, se colocaron 0.290 mmol (170 mg) de **10** y 2.905 mmol (110 mg) de NaBH₄, se cerró herméticamente el matraz y se le colocó una trampa para captar el gas generado en la reacción, para así agregar al matraz 20 mL (249.6 mmol) de THF anhidro, se colocó el matraz bajo agitación a 0 °C para posteriormente agregar, gota a gota, 2.905 mmol (0.25 mL)

de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$. Después de 5 min la reacción fue colocada bajo agitación a temperatura ambiente y se mantuvo así durante una hora. La reacción se despresurizó, se le agregó al crudo de reacción, gota a gota, 10 mL salmuera y se concentró el crudo de reacción a presión reducida en rotavapor. Posteriormente el crudo de reacción se diluyó con CH_2Cl_2 , se lavó con NaCl saturado (1 x 50 mL) y agua destilada (3 x 50 mL), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se filtró para concentrarse a presión reducida en rotavapor. Se agregó al crudo de reacción una disolución al 2% de KOH/MeOH (50 mL) y gota a gota, 5 mL de H_2O_2 al 35%. La reacción se mantuvo en agitación constante a temperatura ambiente durante una hora para posteriormente agregar 100 mL de agua al crudo de reacción. El crudo de reacción se lavó con CH_2Cl_2 (3 x 50 mL), se secó sobre Na_2SO_4 y se filtró para concentrarse a presión reducida en rotavapor. Se purificó por cromatografía en columna en un equipo *CombiFlash*. El compuesto **11c** se purificó con un gradiente de hexano/acetato de etilo 7:3 \rightarrow 65:35 \rightarrow 6:4 \rightarrow 1:1 \rightarrow CH_2Cl_2 95:5 \rightarrow 9:1 durante 120 minutos, con un rendimiento de 2.65% y un $[\alpha]_D = -81$ (0.0002 g/mL, CHCl_3).

RMN ^1H (600 MHz, CDCl_3 , δ): 7.51 (2H, d, $J = 7.02$ Hz, aromáticos *O*-), 7.35 (2H, s, aromáticos *m*-), 7.13 (2H, d, $J = 8.52$ Hz, aromáticos *p*-), 4.10 (2H, s, $\text{CH}_2\text{-Bz}$), 4.43 (1H, m, H-3), 4.30 (1H, m, H-6), 4.21 (1H, m, H-26), 2.34 (2H, m, H-4), 2.03 (3H, s, H-21), 1.96 (2H, m, H-12), 1.84 (2H, m, H-7), 1.32 (3H, s, H-19), 1.27 (3H, d, $J_{27,25} = 1.32$ Hz H-27), 1.25 (3H, s, H-18).

RMN ^{13}C (150 MHz, CDCl_3 , δ): 34.6 (C-1), 30.5 (C-2), 65.7 (C-3), 38.9 (C-4), 29.5 (C-5), 68.3 (C-6), 30.7 (C-7), 30.3 (C-8), 29.8 (C-9), 31.7 (C-10), 22.3 (C-11), 37.2 (C-12), 29.8 (C-13), 29.0 (C-14), 35.0 (C-15), 131.0 (C-16), 147.2 (C-17), 14.2 (C-18), 21.1 (C-19), 119.2 (C-20), 21.1 (C-21), 138.6 (C-22), 32.0 (C-23), 29.8 (C-24), 31.5 (C-25), 60.5 (C-26), 14.3 (C-27), 53.5 ($\underline{\text{CH}_2\text{-Bz}}$), 128.8 ($\underline{\text{C-Bz}}$), 124.6 (Bz, posición *o*-), 128.9 (Bz, posición *m*-), 124.1 (Bz, posición *p*-).

IR (cm^{-1}): 3688, 3526, 3449 (OH), 3055, 2986, 2934 (CH alifáticos), 2600-2300 (pirrol), 1047 (C-O).

6. CONCLUSIONES

- Los ácidos biliares son de gran importancia en el funcionamiento y equilibrio del sistema enterohepático, llevando a cabo la transportación o disolución de sustratos obtenidos a partir de la digestión; además de ser indispensables en la composición de la pared celular del sistema de bombas de sodio-potasio para llevar a cabo el intercambio iónico. Fisiológicamente los ácidos biliares están constituidos mayoritariamente por el ácido cólico (**1**), el cual presenta la propiedad de generar diversas formas de autoensamble, obteniendo una variedad de polimorfos, así como geles o nanotubos. Estos polimorfos presentan diversas propiedades, tales como encapsuladores de sustratos neutros o iónicos, transportadores iónicos, en forma de estructuras de canales iónicos o de carga. En el presente trabajo se reporta la recristalización del ácido cólico (**1**) en AcOEt y a través del análisis por DRX se detectó el patrón de una estructura polimórfica no reportada en la literatura. Dicha estructura será posteriormente analizada para poder determinar sus propiedades, así como los factores que influyen en su formación.
- El estudio del ácido cólico (**1**) y sus derivados inició a partir del 1950. Debido a que este tiene la característica de presentar anfifilicidad, así como una alta funcionalidad y quiralidad, se han llevado a cabo un gran número de modificaciones en su estructura. Una reacción llevada a cabo comúnmente es la esterificación de la parte ácida de la cadena lateral. Dicha reacción mediante condiciones suaves y calentamiento convencional genera una mezcla de productos; por lo cual para incrementar su rendimiento y selectividad se necesita emplear reactivos y/o condiciones más agresivas bajo calentamiento convencional. En el presente estudio se llevó a cabo la síntesis de esterificación para el ácido cólico (**1**) mediante una metodología más efectiva empleando síntesis asistida por microondas, mejorando considerablemente el rendimiento, selectividad, uso de reactivos y, sobre todo, el tiempo de reacción en comparación a los procesos previamente reportados. Los resultados obtenidos nos invitan a explorar la síntesis asistida por microondas de procesos sintéticos complicados bajo condiciones convencionales de reacción para así desarrollar

métodos más limpios, selectivos y en tiempos más cortos, encaminando estos procesos hacia la química verde.

- Los colápodos son estructuras derivatizadas a partir del ácido cólico. Aprovechando la anfifilicidad de este, se funcionalizan selectivamente los grupos hidroxilo de la cara hidrofílica α , para obtener estos compuestos “podantes”. Los grupos podantes funcionan como “piernas” para poder interactuar mediante puentes de hidrógeno, generalmente, con otros sustratos o iones. Estos compuestos han presentado una gran afinidad y selectividad aniónica, lo cual permite transportar y liberar a los iones según las condiciones dadas. A su vez, tienen la capacidad de autoensamblarse ya sea en estado sólido o en forma de geles. La estructura del ácido cólico (**1**) se derivatizó hacia los productos **2** y **3** y empleando a estos últimos como materia prima, con los cuales se realizó la síntesis del colápodos **5**, con buen rendimiento. A posteriori se llevará a cabo el diseño y estudio de nuevas estructuras colápodas, así como la optimización del proceso para la obtención del compuesto **4** y la búsqueda de las condiciones adecuadas para la obtención en fase sólida de estos colápodos.
- La reacción de hidroboración oxidativa de olefinas se llevó a cabo en 1957 por H.C Brown, proceso mediante el cual se obtienen alcoholes mediante una adición *anti*-Markovnikov del borano. En el estudio del mecanismo de reacción, la hidroboración fue llevada a cabo en compuestos Δ^5 -esteroidales, proceso que, al igual que para olefinas acíclicas, se lleva a cabo mediante una adición *syn* al doble enlace. La reacción de hidroboración oxidativa en Δ^5 -esteroides se reestudió a fondo empleando la metodología tradicional y caracterizando todos los productos obtenidos. Este trabajo se realizó empleando colesterol (**6**) y kriptogenina (**8**) como materias primas. Se aislaron cuatro diferentes productos y mediante colaboración con el Laboratorio de Fisicoquímica Teórica y Computacional del Cinvestav Mérida, se propuso un mecanismo alternativo vía hidroboración-retrohidroboración para explicar la estereoquímica del producto “*trans*”, el cual no se ha reportado en la literatura para esta reacción y se obtuvo en rendimientos importantes. Para confirmar la generación

de este tipo de aductos *trans*, se realizará a futuro la HBO en otros compuestos esteroidales, así como en olefinas trisustituídas no esteroidales.

- Los productos obtenidos se caracterizaron por técnicas físicas y espectroscópicas: RMN uni- y bidimensional, FTIR, polarimetría, microscopía electrónica de barrido y difracción de rayos X de sólidos.

7. PERSPECTIVAS

A partir de los estudios y discusiones presentados en este trabajo, las perspectivas se orientan en varias vertientes:

- Optimizar los procesos de obtención de colápodos (particularmente para la obtención del colápodó **4**) y buscar el disolvente adecuado para recristalizarlos y profundizar en la caracterización de sus propiedades en estado sólido.
- Emplear al colápodó **5**, como materia prima en reacciones tipo “clic” para obtener derivados *tris*-triazólicos esteroidales.
- Sintetizar y caracterizar nuevos colápodos derivados del ácido desoxicólico y estudiar sus propiedades en estado sólido.
- Explorar la reacción de hidroborcación en alquenos trisustituídos no esteroidales para determinar si el comportamiento atípico observado se puede generalizar o es exclusivo para Δ^5 -esteroides.
- Complementar la caracterización de los compuestos obtenidos con determinaciones de puntos de fusión y espectrometría de masas de alta resolución.

8. BIBLIOGRAFIA:

- [1]. Dewick, P. M. *Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach*; 2nd Ed. John Wiley & Sons: Chichester. **2002**, pp 237-239.
- [2]. Gouin; S; Zhu, X. X. *Steroids*. **1996**, 61, 664-669.
- [3]. Tamminen; J; Kolehmainen E. *Molecules*. **2001**, 6, 21-46.
- [4]. Nonappa; Maitra, U. *Organic Biomolecular Chemistry*. **2008**, 6, 657-669.
- [5]. H. C. Brown, B. C. S. Rao, *Journal of American Chemical Society*. **1956**, 78, 5694-5695.
- [6]. Nussim, M; Mazur, Y; Sondheimer, F. *Journal of Organic Chemical Society*. **1964**, 29, 1131-1136
- [7]. Cragg, Peter J. *Supramolecular Chemistry. From Biological Inspiration to Biomedical Applications*. Springer. **2010**. Pp 1-14.
- [8]. Kwahara; K, Nishi, Y; Nakamura, S; Uchiyama, S; Nishiuchi, Y; Nakazawa, T; Ohkubo, T; Kobayashi, Y. *Biochemistry*. **2005**, 44,48, 15812–15822.
- [9]. Richard, V; Dodson, G. G. *Journal of Molecular Biology*. **1993**, 233, 270-274.
- [10]. Malinski, T; Kubaszewski, E; Kiechle, F. *Methods in Neurosciences*. **1996**, 31, 14-33.
- [11]. Berlati, F.; Ceschel, G.; Clerici, C.; Pellicciari, R.; Roda, A.; Ronchi, C. *WO 9400126* **1994**.
- [12]. Marples, B. A.; Stretton, R. J. *WO 9013298* **1990**.
- [13]. Bernal, J. D; *Nature*. **1932**, 3251, 129, 277-278.
- [14]. Araki, Y. I; Lee, A; Sugihara, G; Furuichi, M; Yamashita, S; Ohseto, F. *Colloids and Surfaces*. **1996**, 8, 81
- [15]. Zhu, X.X; Nichifor, M. *Accounts of Chemical Research*. **2002**, 35, 539-546.
- [16]. Hofmann, A. F. *The Italian Journal of Gastroenterology*. **1995**, 27, 106.
- [17]. Berlati, F.; Ceschel, G.; Clerici, C.; Pellicciari, R.; Roda, A.; Ronchi, C. *WO 9400126* **1994**.
- [18]. Marples, B. A.; Stretton, R. J. *WO 9013298* **1990**.
- [19]. Araki, Y. I; Lee, A; Sugihara, G; Furuichi, M; Yamashita, S; Ohseto, F. *Colloids and Surfaces*. **1996**, 8, 81.
- [20]. Fini, A; Fazio, A; Roda, A; Bellini, A. M; Mencini, E; Guarneri, M. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **1992**, 81, 726.

- [21]. Bernheim, F; Lack, L. *Journal of Medicinal Chemistry*. **1967**, 10, 1096.
- [22]. Berlati, F; Ceschel, G; Clerici, C; Pellicciari, R; Roda, A; Ronchi, C. WO 9400126, **1994**.
- [23]. Kwan, K. H; Higuchi, W. I; Molokhia, A. M; Hofmann, A. F. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **1977**, 66, 1105.
- [24]. Davis, A. P. *Molecules*. 12, **2007**, 2106-2122.
- [25]. Hirschmann, R. *Angewandte Chemie International Edition in English*. **1991**, 30, 1278-1301.
- [26]. Mukhopadhyay, S; Maitra, U. *Current Science*. **2004**, 87, 12, 1666-1683.
- [27]. Davis, A. P; Perry, J. J; William, R. P. *Journal of the American Chemical Society*. **1997**, 119, 1793-1794.
- [28]. Cobbleddick, R. E; Einstein F. W. *Acta Crystallographica Section B*. **1980**, 36, 287.
- [29]. Dastidar, P. *CrystEngComm*. **2000**, 8, 49-52.
- [30]. Fieser, L. F; Rajagopalan, S. *Journal of the American Chemical Society*. **1950**, 72, 5530-5536.
- [31]. Bonar-Law, R. P; Davis, A. P. *Chemical Communications* **1989**, 15, 1050-1052.
- [32]. Davis, A. P; Wareham, R. S. *Angewandte Chemie International Edition in English*. **1999**, 38, 2978-2996.
- [33]. Cheng, Y.; Ho, D. M.; Gottlieb, C. R.; Kahne, D.; Bruck, M. A. *Journal of the American Chemical Society*. **1992**, 114, 7319-7320.
- [34]. Gale, P. A.; Sessler, J. L.; Kra¹, V. *Chemical Communications*. **1998**, 1-8.
- [35]. Ayling, A. J; Pérez-Payan, M. N; Davis, A. P. *Journal of the American Chemical Society*. **2001**, 123, 12716-12717.
- [36]. Gokel, G. W. *Comprehensive Supramolecular Chemistry Molecular recognition: receptors for cationic guests*; Pergamon: Oxford, **1996**; Vol. 1.
- [37]. Boyce, R.; Li, G.; Nestler, H. P.; Suenaga, T.; Still, W. C. *Journal of the American Chemical Society*. **1994**, 116, 7955-7956.
- [38]. Davis, A. P.; Dresen, S.; Lawless, L. J. *Tetrahedron Letters*. **1997**, 38, 4305-4308.
- [39]. del Amo, V.; Siracusa, L.; Markidis, T.; Baragaña, B.; Bhattarai, K. M.; Galobardes, M.; Naredo, G.; Pérez-Payán, M. N.; Davis, A. P. *Organic and Biomolecular Chemistry*. **2004**, 2, 3320-3328.

- [40]. Broderick, S.; Davis, A. P.; Williams, R. P. *Tetrahedron Letters*. **1998**, 39, 6083.
- [41]. Lai, X. Z; Feng, Y; Pollard, J; Chin, J. N; Rybak, M. J; Bucki, R; Epand, R. F; Epand, R. M; Savage, P. B. *Accounts of Chemical Research*. **2008**, 41, 1233-1240.
- [42]. Kobuke, Y; Nagatani, T. *Chemical letters*. **2000**, 298-299.
- [43]. Lee, S. C; Bennett, B. C; Hong, W. X; Fu, Y; Baker, K. A; Marcoux, J; Robinson, C. V; Ward, A. B; Halper, J.R; Stevens, R. C; Stout, C. D; Yeager, M. J; Zhang, Q. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **2013**, 110, E1203-E1211.
- [44]. H. Brown, B. C. Rao, *Journal of Organic Chemistry*. **1957**, 22, 1135-1136.
- [45]. L. G. Wade, Jr. *Organic Chemistry*. Pearson, Prentice Hall. Pp. **2006**, 6th edition.336-340.
- [46]. Sondheimer, F; Wolfe, S. *Canadian Journal of Chemistry*. **1959**, 37, 1870.
- [47]. Wolfe, S; Nussim, M; Mazur, Y; Sondheimer, F. *Journal of the American Chemical Society*. **1959**, 24, 1034.
- [48]. Brown, H. C; Subba Rao, B. C. *Journal of the American Chemical Society*. **1961**, 83, 2544.
- [49]. Nussim, M; Mazur, Y; Sondheimer, F. *Journal of the American Chemical Society*. **1964**, 29, 1120-1131
- [50]. (a) Gandolfi, C.; Doria, G.; Longo, R. *Tetrahedron Letters*. **1970**, 1677. (b) Ref. 23. (c) Kametani, T.; Tsubuki, M.; Higurashi, K.; Honda, T. *Journal of Organic Chemistry*. **1986**, 51, 2932. (d) Tavares, R.; Randoux, T. Braekman, J. C.; Daloz, D. *Tetrahedron*. **1993**, 49, 5079. (e) Jung, M. E.; Johnson, T. W. *Tetrahedron*. **2001**, 57, 1449. (f) Antonchick, A. P.; Schneider, B.; Zhabinskii, V. N.; Khripach, V. A. *Steroids*. **2004**, 69, 617.
- [51]. Fung, S.; Siddall, J. B. *Journal of the American Chemical Society*. **1980**, 102, 6580.
- [52]. Takatsuto, S.; Yazawa, N.; Ishiguro, M.; Morisaki, M.; Ikekawa, N. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions I*. **1984**, 139.
- [53]. Iglesias-Arteaga, M. A.; Pérez-Gil, R.; Pérez-Martínez, C. S.; Coll-Manchado, F. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions, I*. **2001**, 261.
- [54]. Yu, B.; Tao, H. *Journal of Organic Chemistry*. **2002**, 67, 9099.
- [55]. Nonappa, M. L; Ikonen, S; Kolehmainen, E; Kauppinen, R. *Crystal Growth and Design*. **2009**, 9, 4710-4719.
- [56]. Ballini, R; Carotti, A. *Synthetic Communications*. **1983**, 13 (14), 1197-1201.

- [57]. Lillington, J. M; Trafford, D. J. H; Makin, H. L. J. *Clinica Chimica Acta*. **1981**, 111, 91 – 98.
- [58]. Sarenac, T. M; Mikov, M. *Frontiers in Pharmacology*. **2018**, 9, 1-22.
- [59]. Robinson, B. *Chemical Reviews*. **1963**, 63, 4, 373-401
- [60]. El-Nezhawy, A. O. H; Adly, F. G; Eweas, A. F; Hanna, A. G; El-Kholy, Y. M; El-Sayed, S. H; El-Naggar, T. B. A. *Archive der Pharmazie-Chemistry in Life Sciences*. **2011**, 344, 648-657.
- [61]. Rowan, A. S; Nicely, N. I; Cochrane, N; Wlassoff, W. A; Claiborne, A; Hamilton, C. *Journal of Organic and Biomolecular Chemistry*. **2009**, 7, 4029-4036.
- [62]. Rokhum, L; Bez, G. *Journal of Chemical Sciences*. **2012**, 123 (3), 678-961.
- [63]. Wechter, W. *Journal of Organic Chemistry*. **1959**, 294-295.
- [64]. Iwamoto, H; Imamoto, T; Ito, H. *Nature Communications*. **2018**, 9, 2290.
- [65]. Smith; J. R; Collins, B. S. L; Hesse, M. J; Graham, M. A; Myers, E. L; Aggarwal, V. K. *Journal of the American Chemical Society*. **2017**, 139, 9148-9151.
- [66]. F. Weigend. *Physical Chemistry Chemical Physics*. **2006**, 8, 1057-1065.
- [67]. A. V. Marenich, C. J. Cramer, D. G. Truhlar. *Journal of Physical Chemistry*. **2009**, 113, 6378-6396.
- [68]. C. Adamo, V. Barone. *Journal of Chemical Physics*. **1999**, 110, 6158-6170.
- [69]. S. Grimme, J. Antony, S. Ehrlich, H. Krieg. *Journal of Chemical Physics*. **2010**, 132, 154104.
- [70] Frisch, M.J. et al. Gaussian 16, Revision B.01 <https://gaussian.com/citation/> (Gaussian, 2016).
- [71]. Hilario-Martínez, J. C. **2019**. *Reacciones selectivas sobre estructuras espiroestánicas para generar compuestos biológicamente activos*. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias Químicas, BUAP.
- [72]. Corwin, A. H. *Heterocyclic Compounds Vol. I*, Wiley, NY, **1950**; Chapter 6. (Review).
- [73]. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/221493#section=Optical-Rotation>.

APÉNDICES

APÉNDICE 1. ESPECTROS DE INFRARROJO.

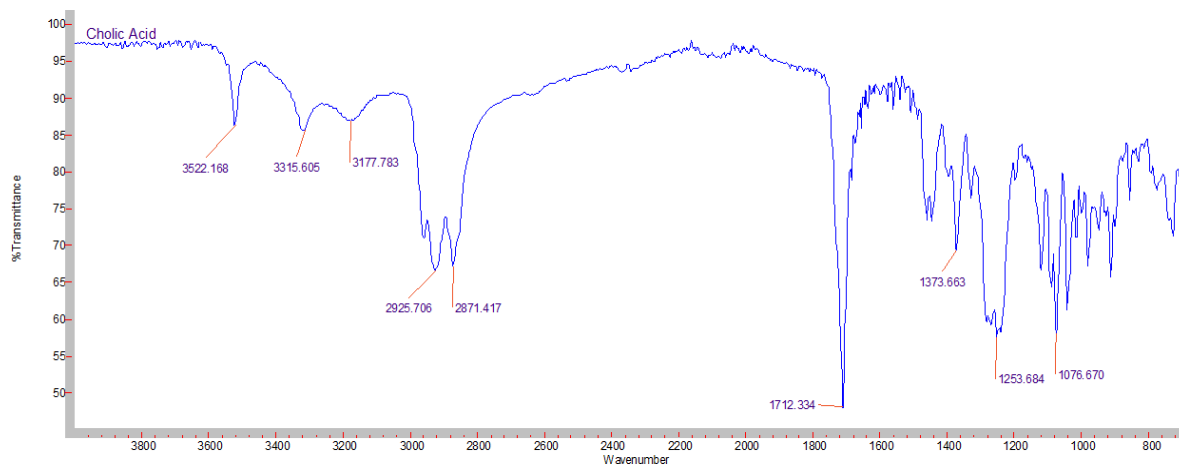


Figura A1. Espectro de infrarrojo para el compuesto 1.

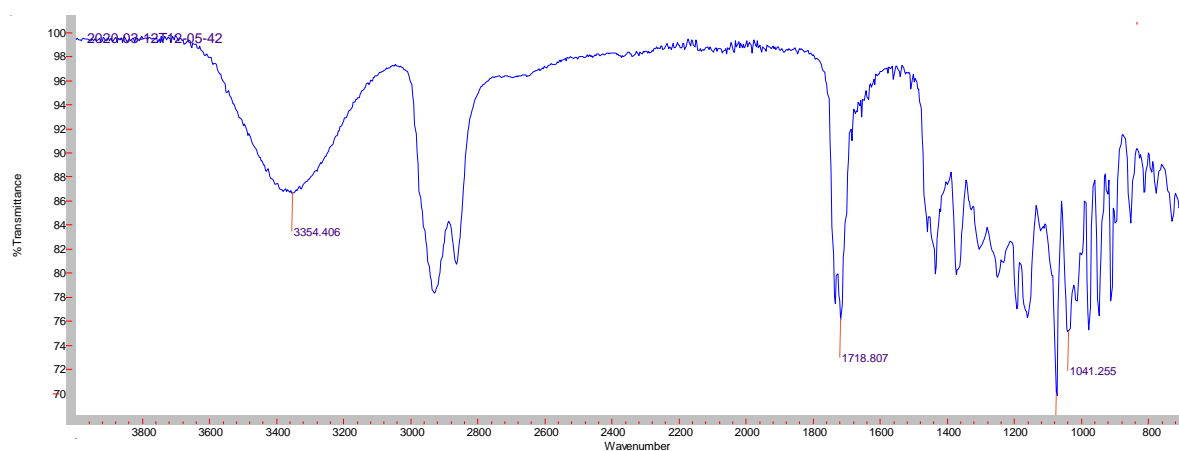


Figura A2. Espectro de infrarrojo para el compuesto 2.

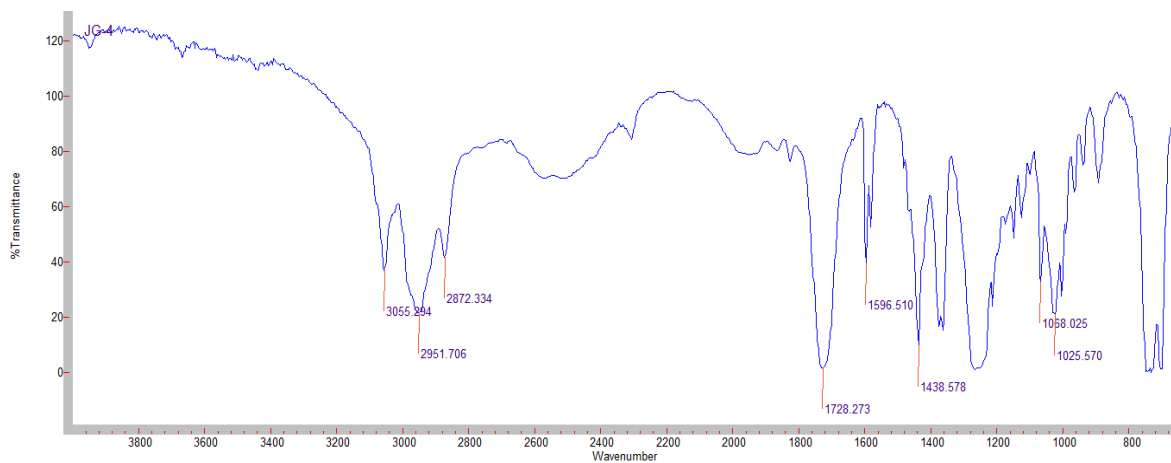


Figura A3. Espectro de infrarrojo para el compuesto **3**.

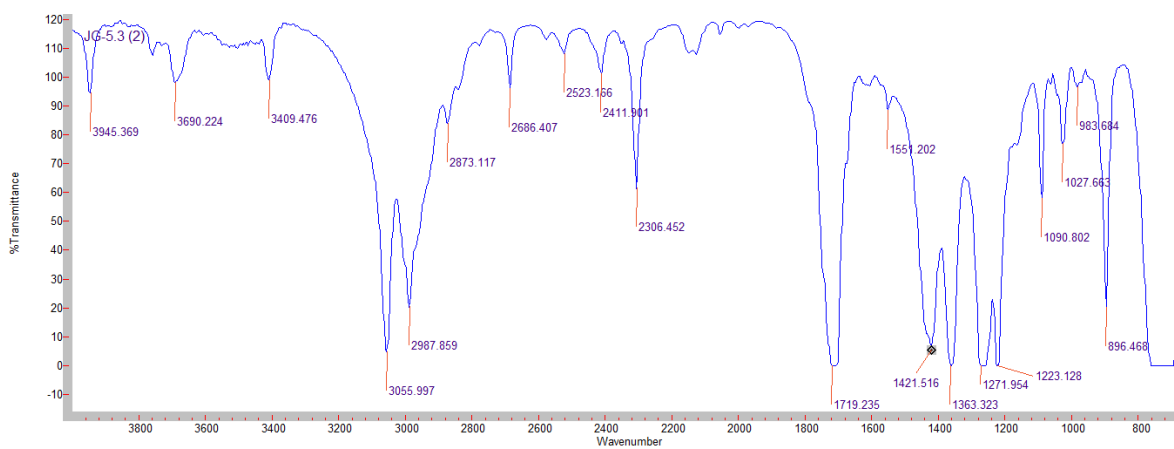


Figura A4. Espectro de infrarrojo para el compuesto **4**.

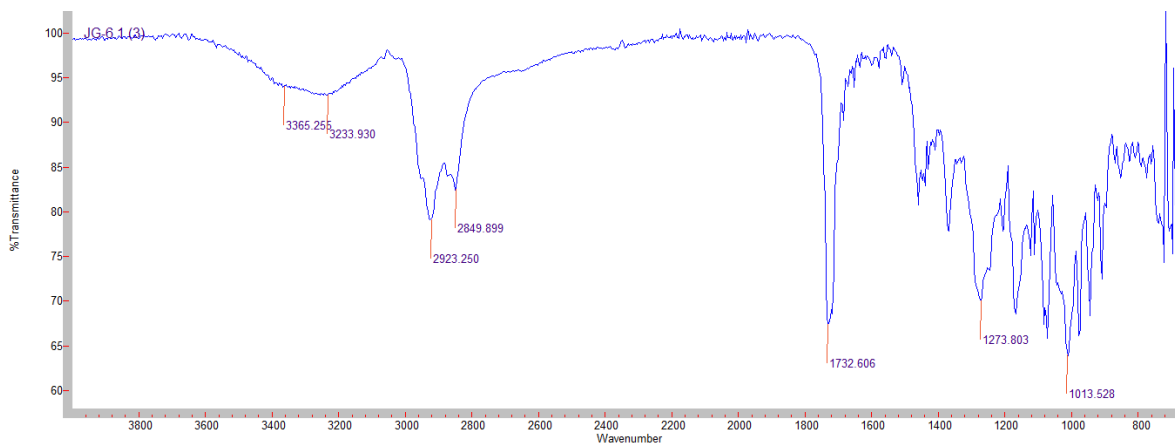


Figura A5. Espectro de infrarrojo para el compuesto **5**.

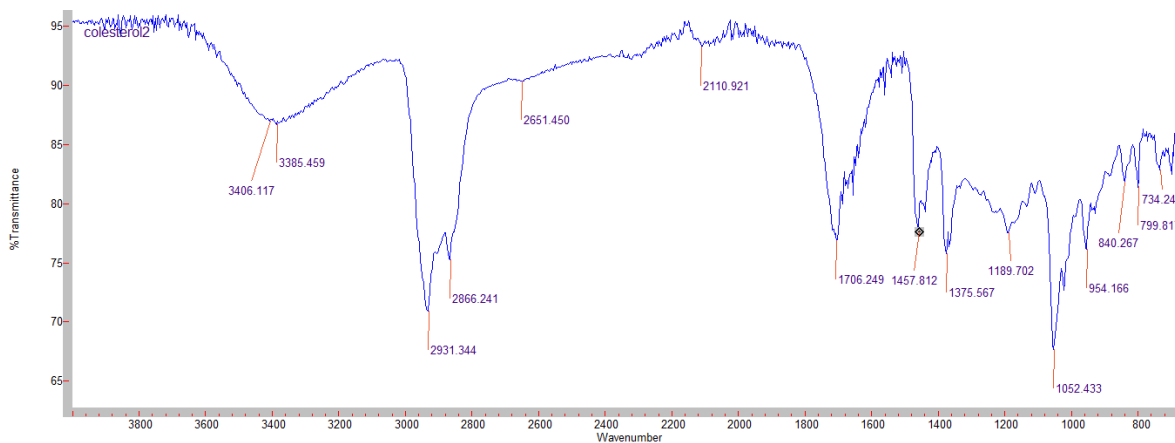


Figura A6. Espectro de infrarrojo para el compuesto **6**.

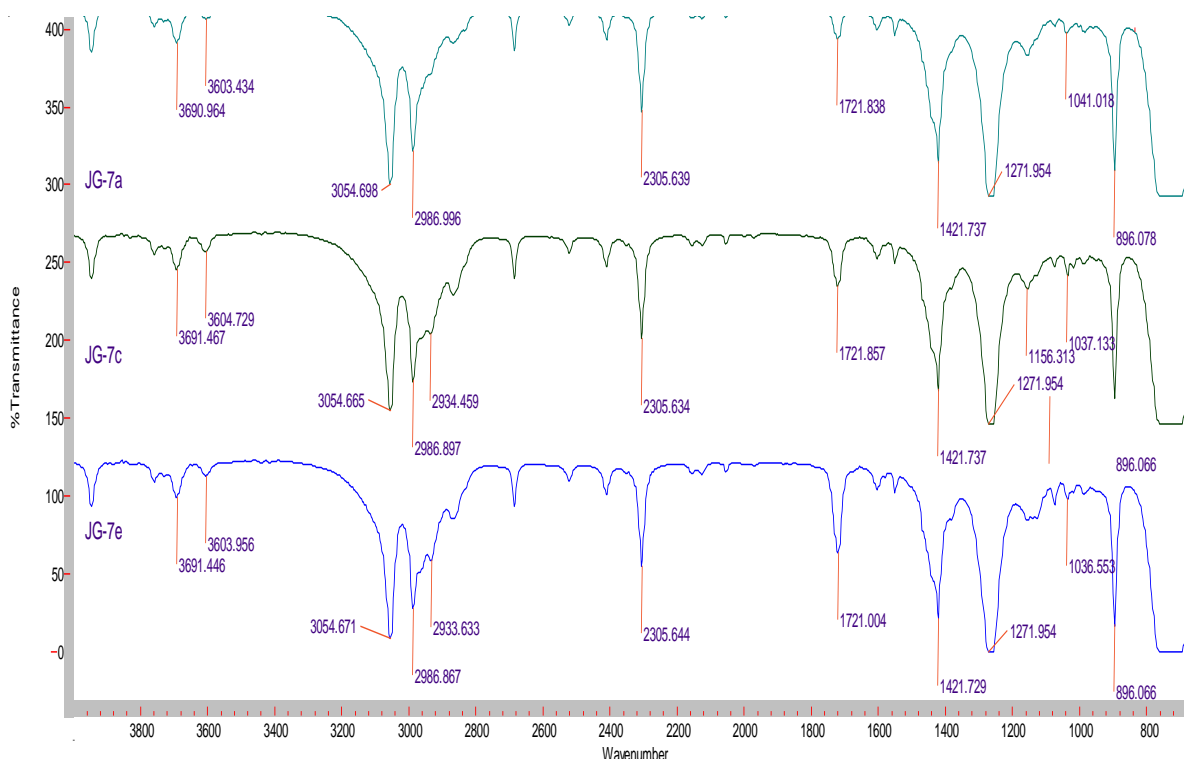


Figura A7. Apilado de espectros de infrarrojo para los compuestos **7a** – **7e**.

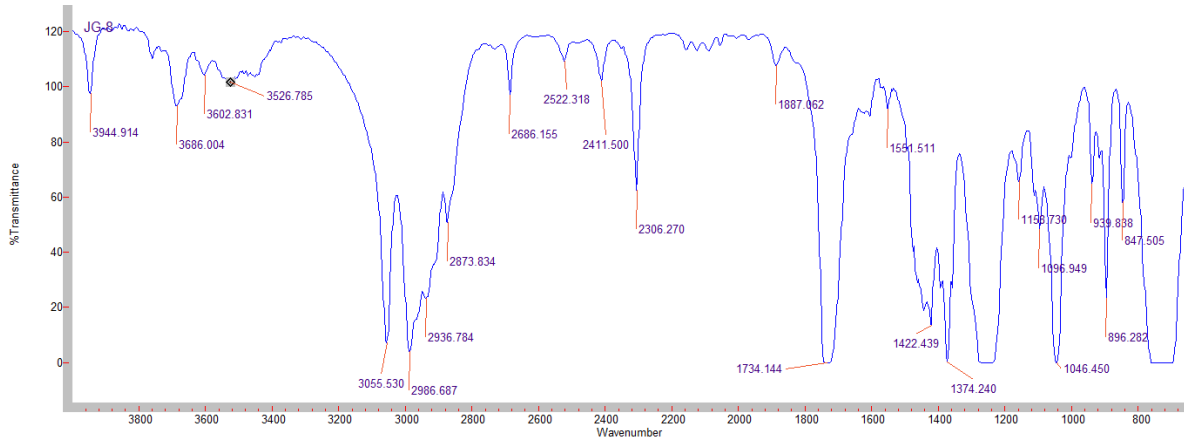


Figura A8. Espectro de infrarrojo para el compuesto **8**.

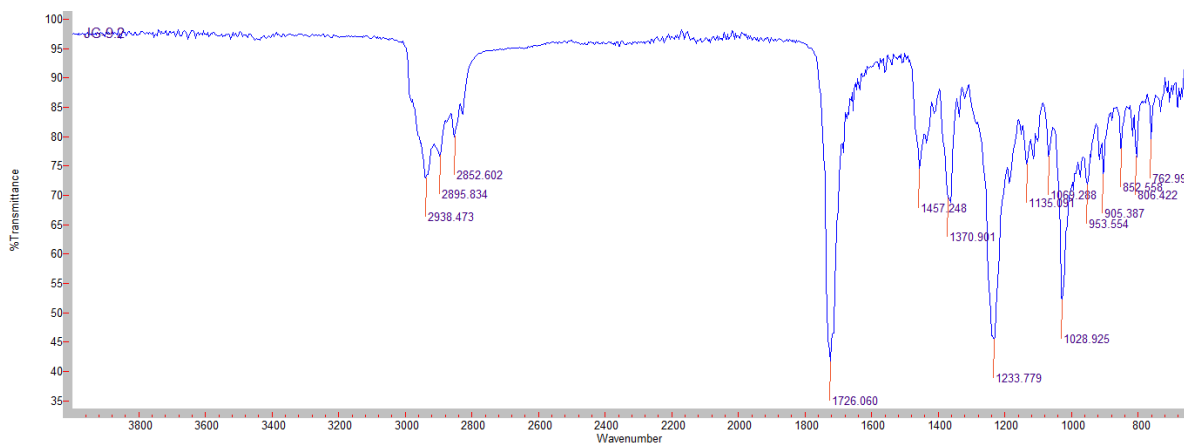


Figura A9. Espectro de infrarrojo del compuesto **9**.

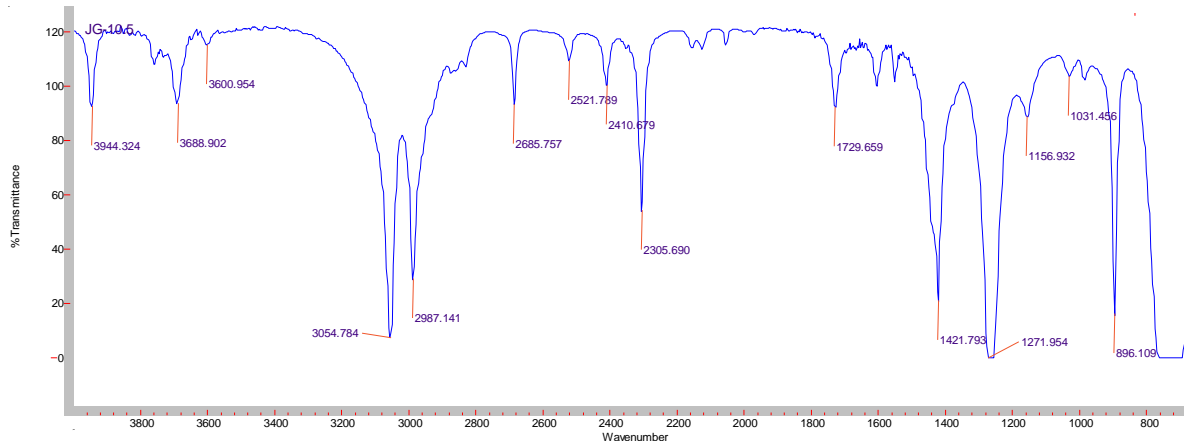


Figura A10. Espectro de infrarrojo del compuesto **10**.

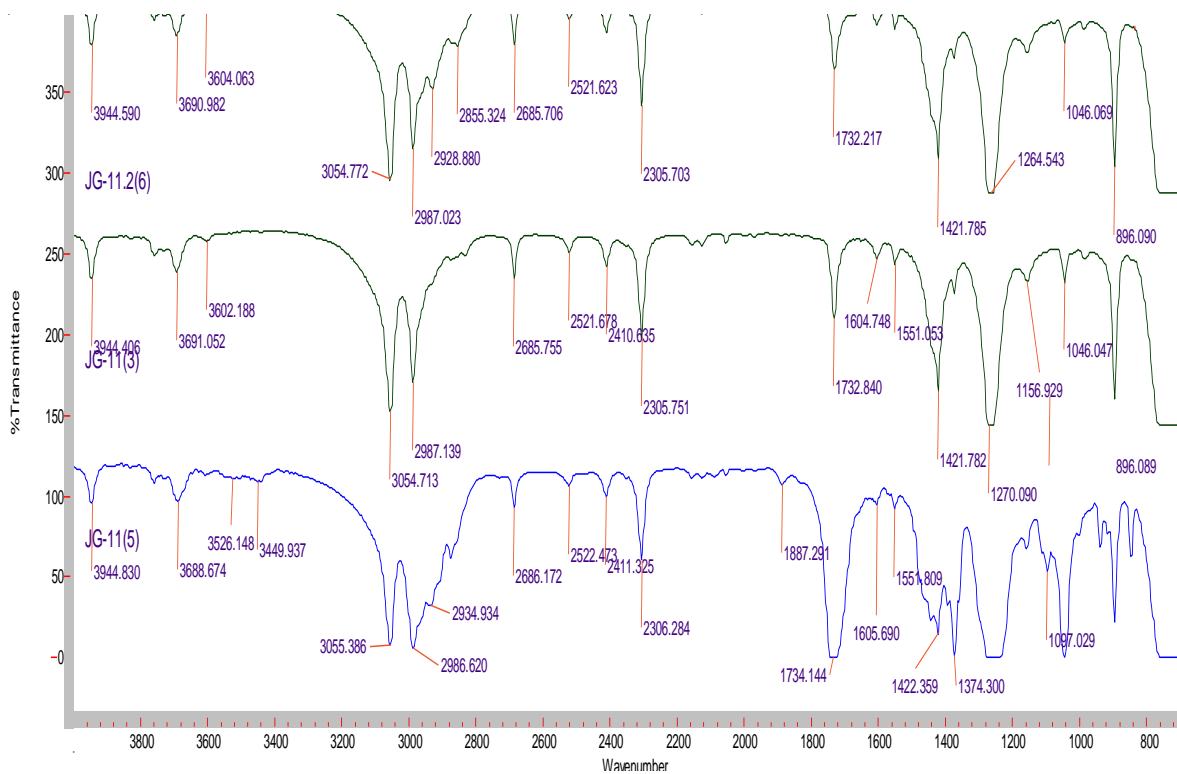


Figura A11. Apilado de espectros de infrarrojo para los compuestos **11a**, **b** y **e**.

APÉNDICE 2. ESPECTROS DE RMN DE 1D y 2D.

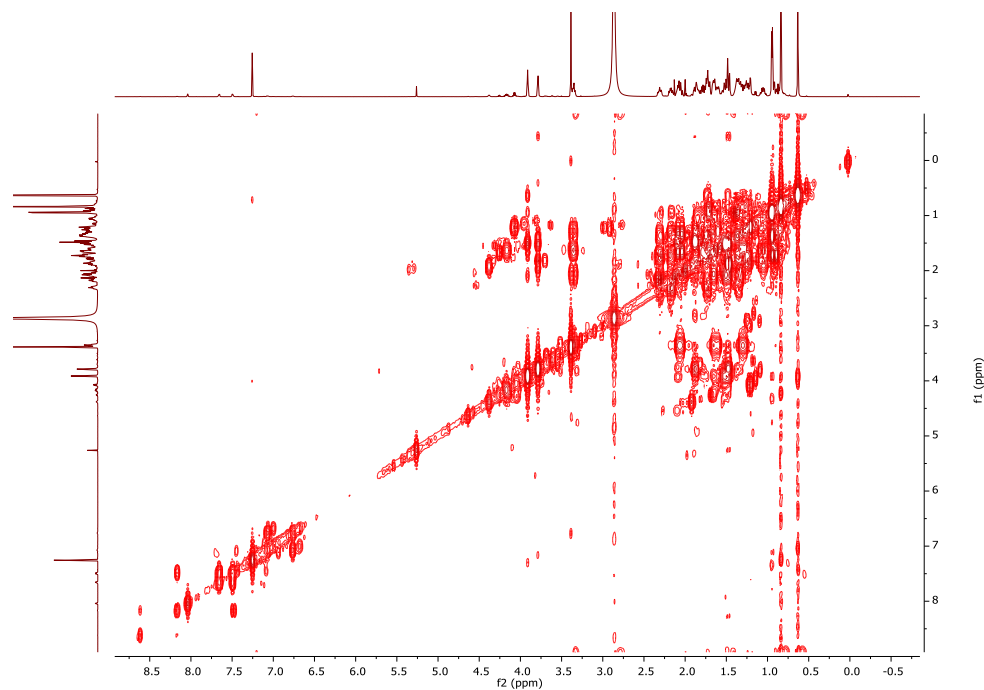


Figura A12. Experimento COSY del compuesto **1**

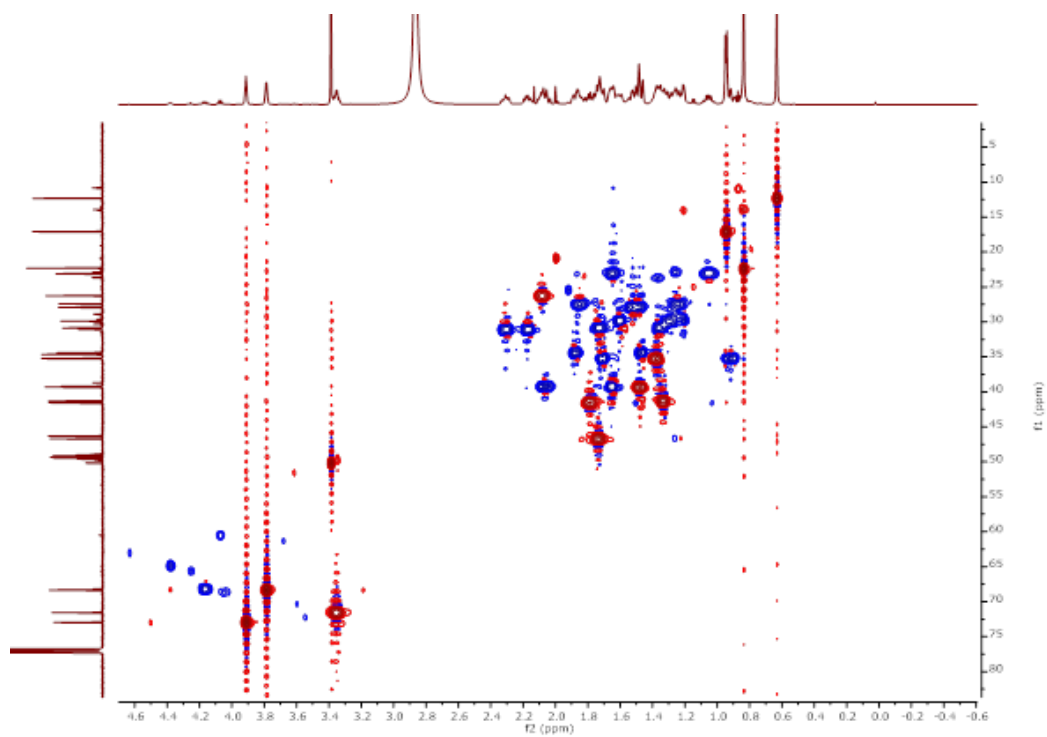


Figura A13. Experimento HSQC del compuesto **1**.

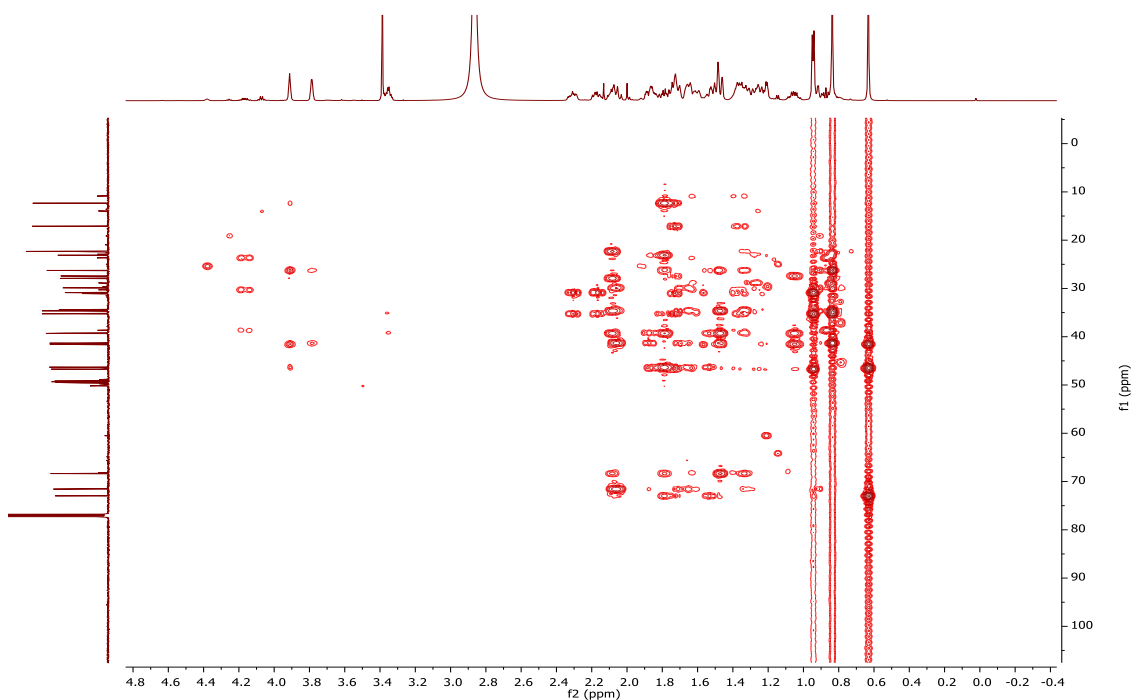


Figura A14. Experimento de HMBC para el compuesto **1**.

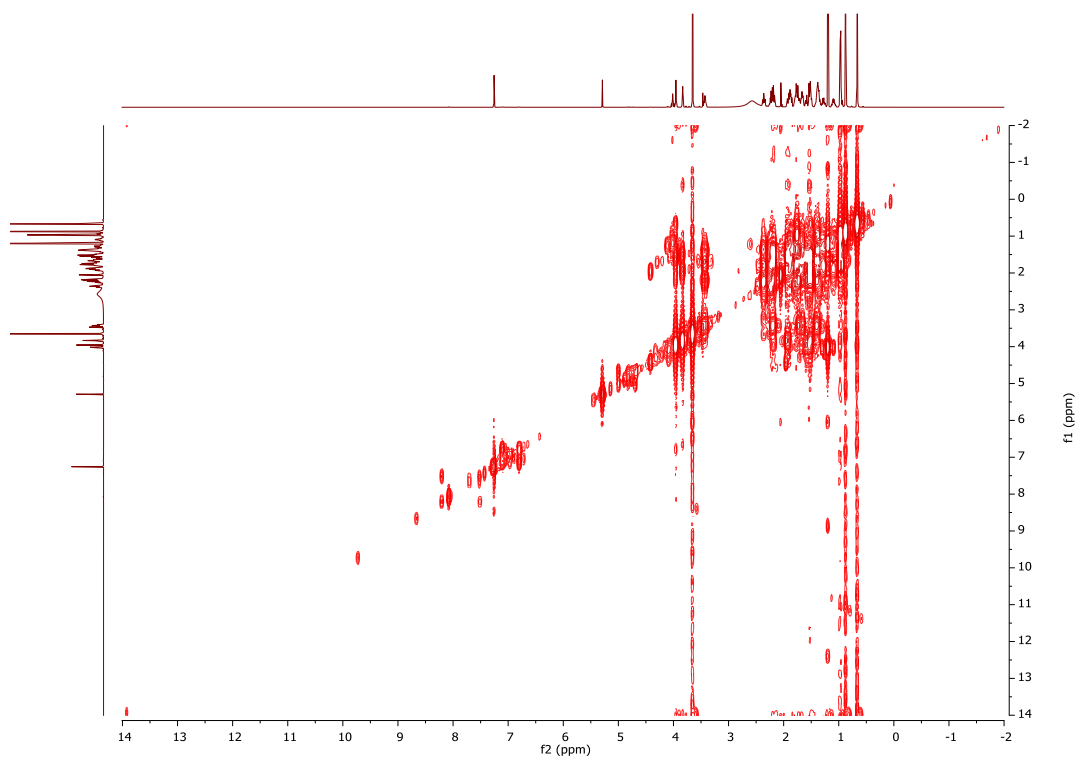


Figura A15. Experimento COSY del compuesto **2**.

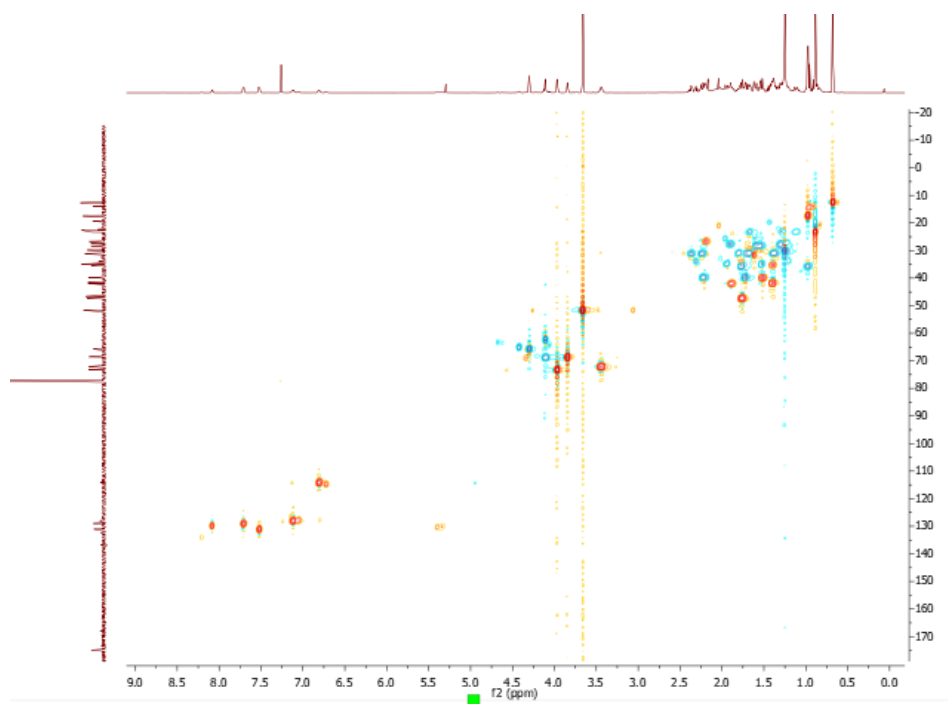


Figura A16. Experimento HSQC del compuesto **2**.

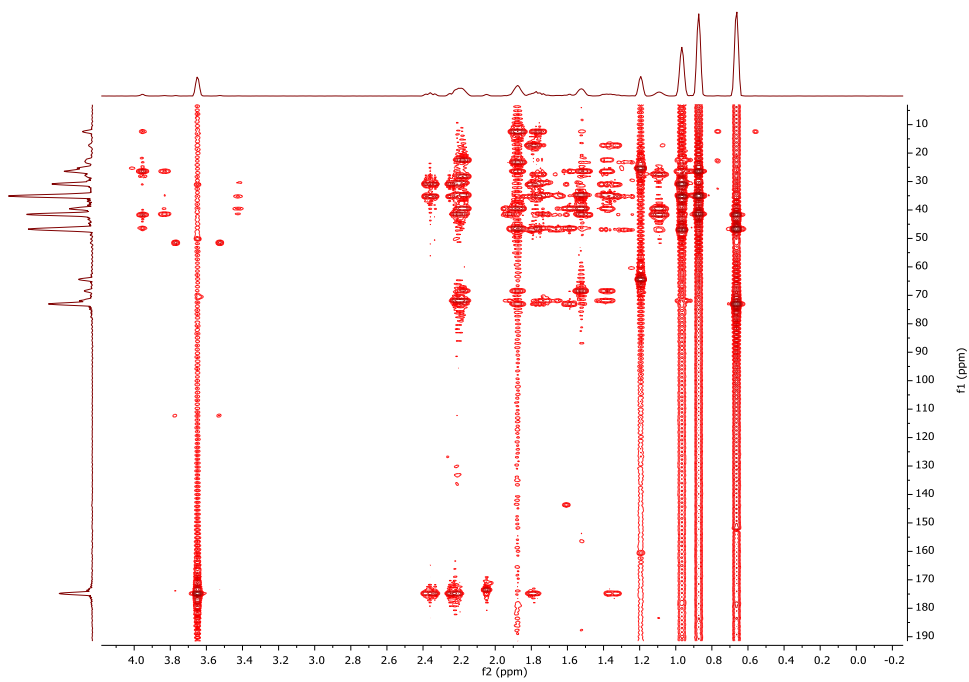


Figura A17. Experimento de HMBC para el compuesto **2**.

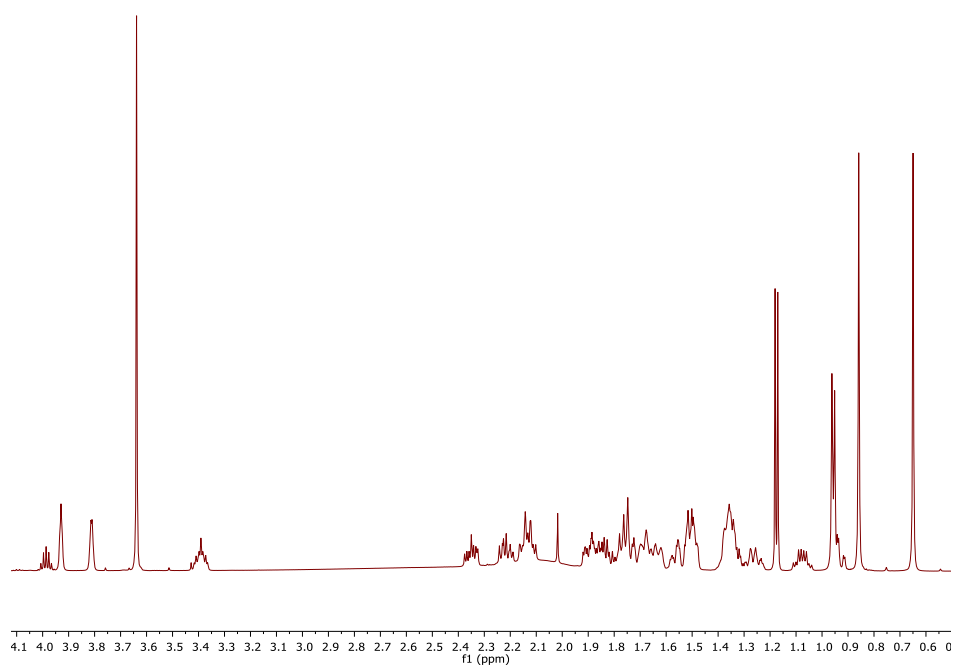


Figura A18. Experimento de RMN de ^1H para el compuesto **2** en MeOD.

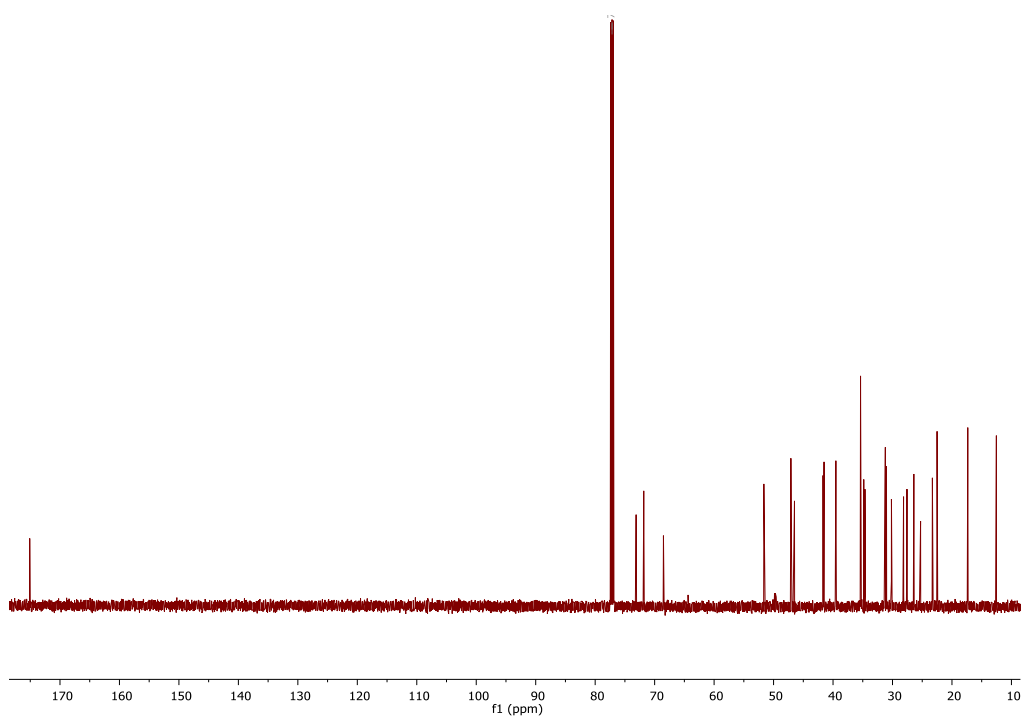


Figura A19. Experimento de RMN de ^{13}C para el compuesto **2** en MeOD.

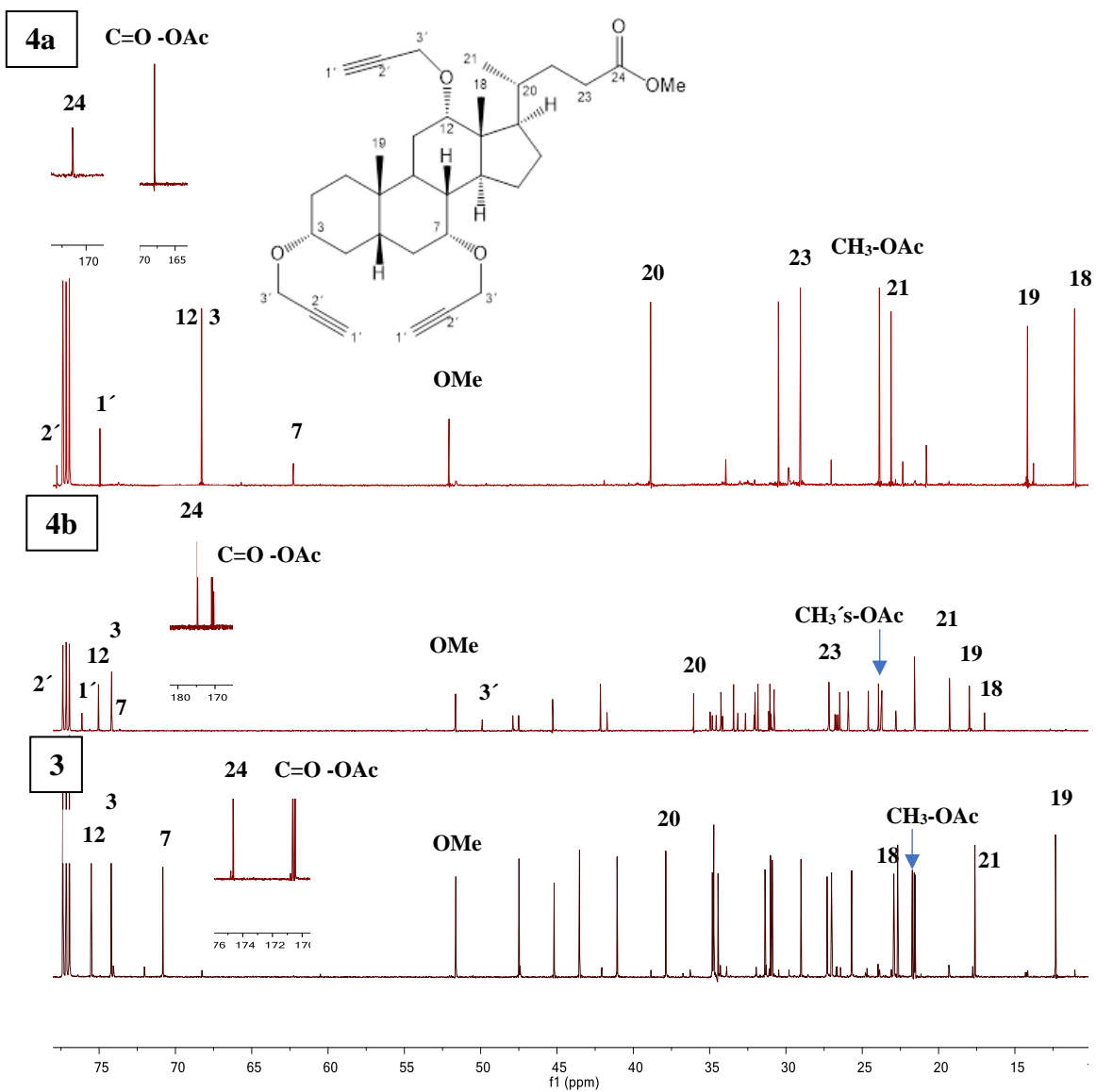


Figura A20. Espectro de RMN de ^{13}C de los compuestos **4a**, **b** y **3** (150 MHz en CDCl_3).

APÉNDICE 3. DIFRACTOGRAMA DE RAYOS X

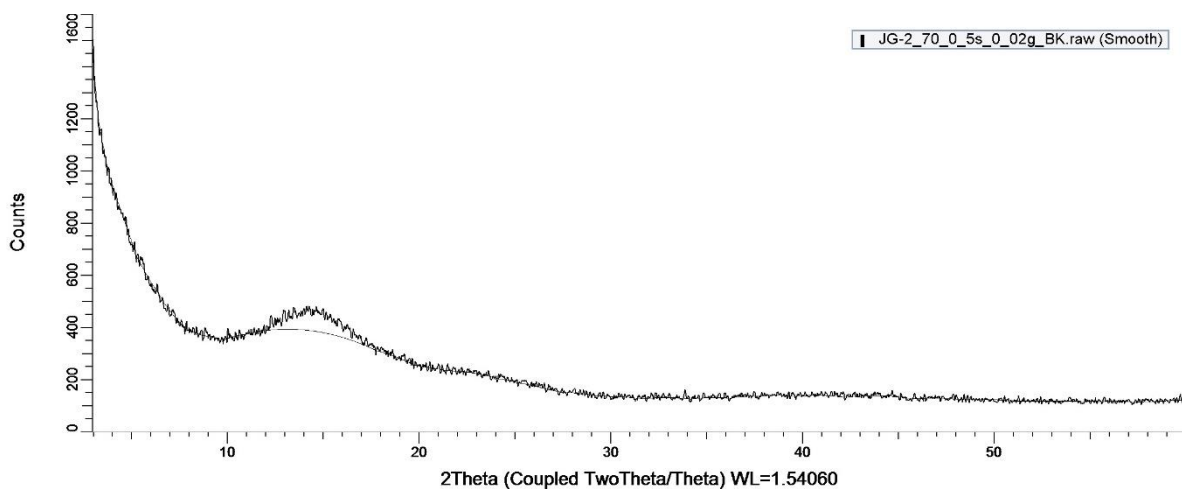


Figura A21. Difractograma de rayos X para el compuesto **2**.

APÉNDICE 4. CONDICIONES PARA REACCIONES ASISTIDAS POR MICROONDAS.

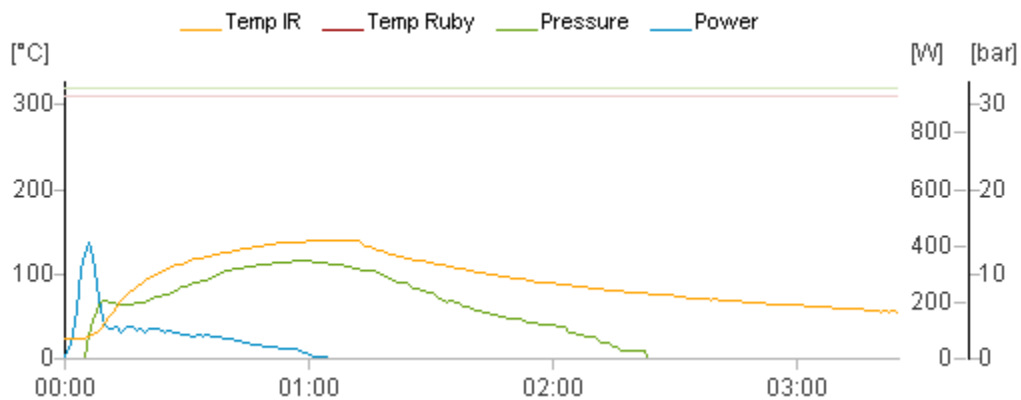


Figura A22 Diagrama de condiciones de reacción para la obtención del compuesto **2**.

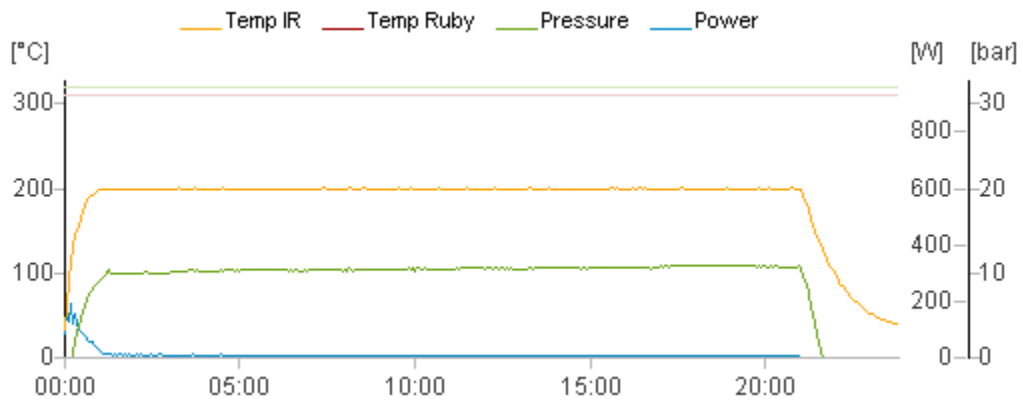


Figura A23 Diagrama de condiciones de reacción para la obtención del compuesto **10**.