



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“MODIFICACIÓN DE LA CADENA LATERAL DE
ÁCIDOS BILIARES MEDIANTE ACOPLAMIENTOS
CON ÁCIDO FENILBORÓNICO.”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

PRESENTA:

MARTHA CRISTINA MAYORQUÍN TORRES



MÉXICO, D.F.

AÑO 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

Presidente:	Eugene Athanas Bratoeff Titeff
Vocal:	Mauro Cruz Morales
Secretario:	Martín Andrés Iglesias Arteaga
1er Suplente:	Ana Adela Sánchez Mendoza
2do Suplente:	Martha Yolanda González Quezada

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Facultad de Química. División de Estudios de Posgrado. Edificio B. Laboratorio 201.
Departamento de Química Orgánica.

Asesor del tema:

Dr. Martín Andrés Iglesias Arteaga

Supervisor técnico:

M. en C. Margarita Romero Ávila

Sustentante:

Martha Cristina Mayorquín Torres

MODIFICACIÓN DE LA CADENA LATERAL DE ÁCIDOS BILIARES MEDIANTE ACOPLAMIENTOS CON ÁCIDO FENILBORÓNICO.

ÍNDICE

1. Justificación.....	1
2. Objetivos	1
2.1. General.....	1
2.2. Particulares.....	1
3. Hipótesis.....	1
4. Introducción	2
5. Antecedentes	3
5.1. Ácidos biliares. Estructura y función	3
5.1.1. Ácidos biliares de 24 átomos de carbono	4
5.1.2. Ácidos biliares de 27 átomos de carbono	5
5.1.3. Características fisicoquímicas de los ácidos biliares	5
5.1.4. Funciones fisiológicas de los ácidos biliares	6
5.1.5. Distribución en la naturaleza	8
5.2. Aplicaciones sintéticas.....	8
5.2.1. Síntesis de progesterona	8
5.2.2. Disolución de colesterol (3).....	9
5.2.3. Agregación	11
5.2.4. Colafanos y Ciclocolatos	12
5.2.5. Antimaláricos y antiproliferativos	14
5.2.6. Análogos de brasinoesteroides	16
5.3. Reactividad de los ácidos biliares	17
5.4. Acoplamiento	20
6. Desarrollo experimental y resultados	22
6.1. General.....	22
6.2. Acetilación de ácidos biliares	22
6.2.1. Procedimiento general	22
6.2.1.1. Ácido 3 α -acetoxy-5 β -colánico (18a).....	23
6.2.1.2. Ácido 3 α ,6 α -diacetoxy-5 β -colánico (18b).....	24

6.2.1.3. Ácido 3 α ,12 α -diacetoxi-5 β -colánico (18c)	25
6.2.1.4. Ácido 3 α ,7 α -diacetoxi-5 β -colánico (18d)	26
6.2.1.5. Ácido 3 α ,7 α ,12 α -triacetoxi-5 β -colánico (18e).....	27
6.3. Síntesis de Fenilcetonas esteroideas.....	28
6.3.1. Técnica de síntesis.....	28
6.3.2. Procedimiento general para la síntesis de fenilcetonas esteroideas.....	28
6.3.1.1. 3 α -acetoxi-5 β -colan-24-fenil-24-ona (19a)	29
6.3.1.2. 3 α ,6 α -diacetoxi-24-fenil-5 β -colan-24-ona (19b).....	30
6.3.1.3. 3 α ,12 α -diacetoxi-24-fenil-5 β -colan-24-ona (19c).....	31
6.3.1.4. 3 α ,7 α -diacetoxi-24-fenil-5 β -colan-24-ona (19d).....	32
6.3.1.5. 3 α ,7 α ,12 α -triacetoxi-24-fenil-5 β -colan-24-ona (19e)	33
7. Discusión de resultados	34
7.1. Acetilación de ácidos biliares	34
7.1.1. Caracterización de los derivados acetilados 18a-e	35
7.2. Acoplamiento entre ácidos borónicos y biliares.....	36
7.2.1. Caracterización de las fenilcetonas 19a-e.....	38
7.2.2. Mecanismo de reacción	40
8. Conclusiones	44
9. Bibliografía	45

1. Justificación

La relevancia de la presente tesis radica en la importancia de sintetizar nuevas moléculas derivadas de ácidos biliares con posible actividad biológica, en encontrar metodologías alternas para la introducción de la agrupación fenilcetona en moléculas orgánicas con énfasis en la disminución del uso y la producción de residuos dañinos para el medio ambiente.

2. Objetivos

2.1. General

- Sintetizar y caracterizar fenilcetonas derivadas de ácidos biliares con cadenas laterales modificadas.

2.2. Particulares

- Sintetizar fenilcetonas mediante acoplamiento cruzado catalizado por paladio de ácidos fenilborónicos y biliares, para crear derivados potencialmente bioactivos.
- Caracterizar la estructura química de las fenilcetonas obtenidas, utilizando técnicas de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y Difracción de Rayos X (DRX).

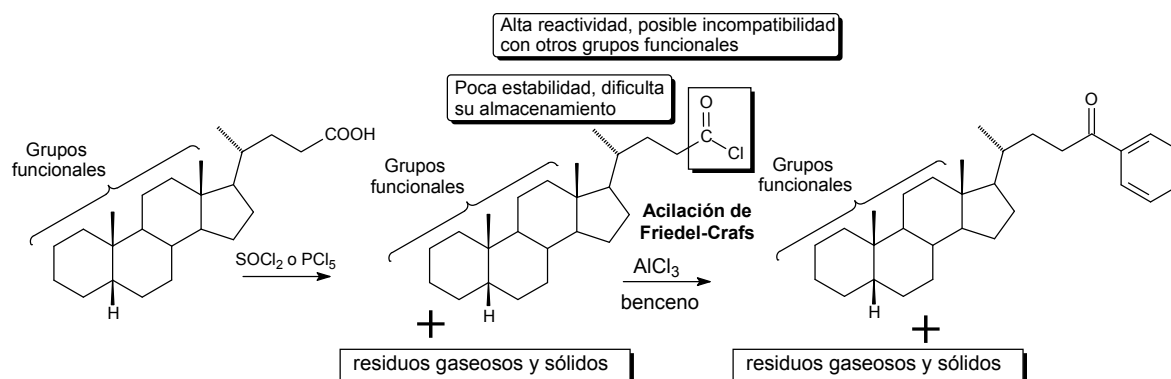
3. Hipótesis

El acoplamiento cruzado entre ácidos fenilborónicos y biliares catalizado por paladio es una buena alternativa para la obtención de fenilcetonas derivadas de ácidos biliares.

4. Introducción

Los ácidos biliares son compuestos de origen natural que se encuentran en la bilis de diferentes animales. Debido a su abundancia y a la presencia de grupos hidroxilo con diferente reactividad, en el núcleo esteroidal, estos compuestos se utilizan como materia prima para la síntesis de una amplia gama de compuestos con actividad biológica. La existencia del grupo carboxilo en la posición C-24 hace posible la transformación de la cadena lateral, siendo ésta una de las manipulaciones estructurales más comúnmente efectuada sobre dichos compuestos. Existen ejemplos en los cuales la función carboxílica ha sido utilizada para introducir estructuras no naturales en la cadena lateral, obteniendo compuestos biológicamente activos.^{1,2}

Como parte del proyecto dirigido a la síntesis de derivados esteroidales con potencial actividad biológica, se tomó la decisión de abordar la síntesis de fenilcetonas esteroidales a partir de diferentes ácidos biliares. En un primer acercamiento, es posible apreciar que el enlace C-24 con el sustituyente aromático puede introducirse utilizando el método clásico de acilación de Friedel-Crafts (Esquema 1).



Esquema 1. Acilación de Friedel-Crafts.

Sin embargo, los efectos negativos para el medio ambiente derivados de la aplicación de este método -debido a los residuos que se producen-, así como a la

reactividad de los cloruros de ácidos -cuya preparación es necesaria para esta reacción y que además pueden reaccionar con otros grupos funcionales presentes-, invitan a considerar otras opciones más apropiadas.

El acoplamiento de ácidos carboxílicos y ácidos borónicos catalizado por paladio, ha surgido en años recientes como una alternativa adecuada para la síntesis de fenilcetonas.³⁻⁵ En la presente tesis se estudia la aplicación de acoplamientos de ácidos borónicos y ácidos biliares, catalizados por paladio, como una opción más conveniente para la síntesis de fenilcetonas derivadas de diferentes ácidos biliares.

5. Antecedentes

5.1. Ácidos biliares. Estructura y función

Los ácidos biliares se definen como derivados hidroxilados del ácido colánico y son compuestos de 24 átomos de carbono que poseen en su estructura el núcleo ciclopentanoperhidrofenantreno característico de los esteroides. Este núcleo cuya configuración 5α o 5β depende de la fusión establecida entre los anillos A/B, consiste en tres anillos de seis miembros (denotados como A, B y C) y uno de 5 miembros (D). Debido a lo anterior, se encuentran dos formas isoméricas del ácido colánico: aquella con una fusión A/B-*cis* conocida también como serie 5β , y otra con fusión A/B-*trans* conocida como serie 5α o *serie allo* (Figura 1). La fusión de los anillos B/C y C/D es generalmente *trans*.⁶⁻⁹

De forma general, el término “ácido biliar”, se emplea para denotar ácidos de 24 y 27 átomos de carbono. En la literatura biomédica los ácidos biliares de 24 carbonos se denominan como “modernos”, mientras que los que poseen de 25 a 27 átomos de carbono se les llama ácidos biliares “primitivos”. Otra forma de nombrar a los ácidos biliares, dependiendo de los átomos de carbono que posean, es con los términos “colanoides” a los C-24 y “colestanooides” a los C-27.⁷⁻¹⁰

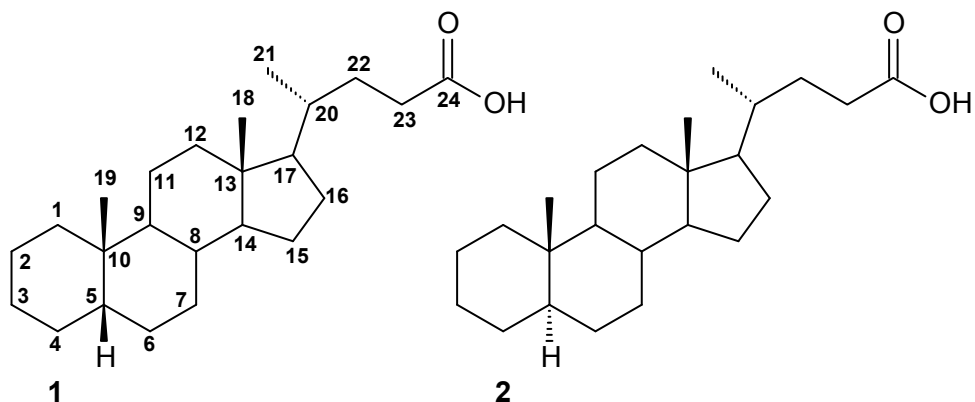


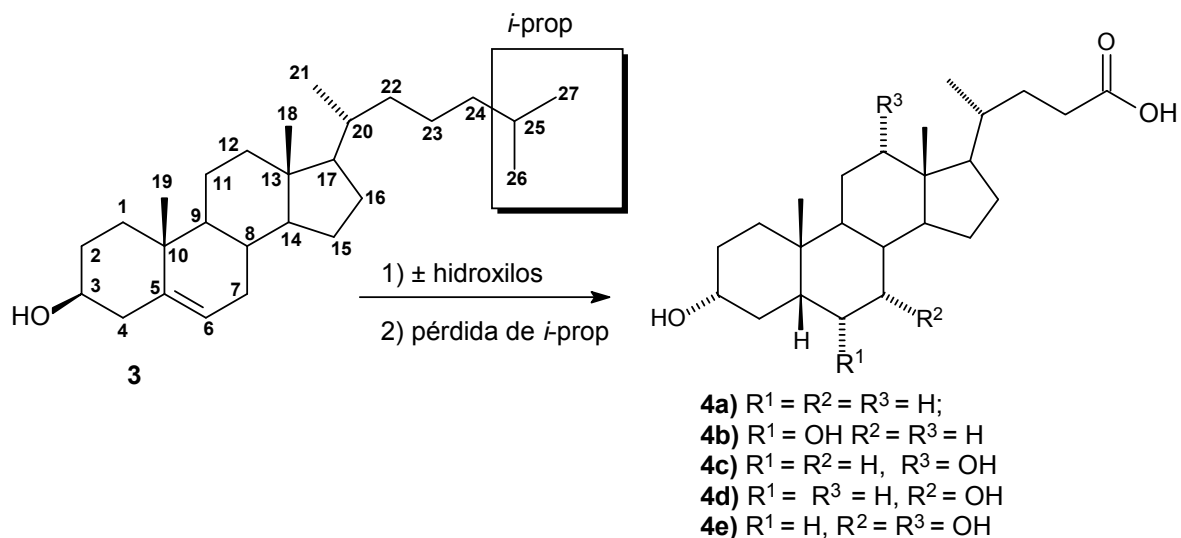
Figura 1. Ácido colánico (ácido 5 β -colánico) (1), ácido *al*lochánico (ácido 5 α -colánico) (2)

5.1.1. Ácidos biliares de 24 átomos de carbono

Los ácidos biliares de 24 átomos de carbono contienen un ácido pentanoico como sustituyente en el carbono 17 del núcleo esteroidal; son producto del metabolismo del colesterol (3) en el hígado de un gran número de vertebrados. Los ácidos biliares secundarios como el litocólico (4a), hiodesoxicólico (4b) y el desoxicólico (4c) son metabolitos de los ácidos quenodesoxicólico (4d) y cólico (4e). Los ácidos biliares se obtienen a partir del colesterol (3) a través de una serie de hidroxilaciones seguida de la pérdida del fragmento isopropilo de la cadena lateral (Esquema 2).^{8,10,11}

Los ácidos C-24 existen en la bilis formando conjugados con glicina (denominado glicocolatos o colilglicinas) o taurina (llamados taurocolatos o coliltaurinas) a través de un enlace peptídico. Estos conjugados son más solubles en agua, y favorecen la disolución de diferentes sustancias al formar micelas.⁷⁻¹⁰

Se conocen cinco tipos de conjugación de los ácidos biliares: 1) N-Acilamidación con taurina o glicina; 2) sulfatación de los grupos hidroxilo; 3) éster-glucuronidación en C-24; 4) conjugación etérea en el hidroxilo de C-3 α y posiblemente en otros sitios; y 5) N-acetilglucosamidación en posición C-7 α .⁷



Esquema 2. Origen metabólico de los ácidos biliares primarios y secundarios

5.1.2. Ácidos biliares de 27 átomos de carbono

Estos ácidos, que poseen en la cadena lateral un sustituyente derivado del ácido octanóico, se encuentran en vertebrados poco evolucionados y son los productos de la incapacidad de estos organismos para oxidar la cadena lateral de ácidos C-27 a C-24, lo que demuestra una característica de la evolución bioquímica de los ácidos biliares.^{8,10} Los ácidos biliares C-27 forman conjugados exclusivamente con taurina.⁷⁻¹⁰

5.1.3. Características fisicoquímicas de los ácidos biliares

En general los ácidos biliares, que se clasifican como lípidos polares insolubles, son capaces de agregarse para formar micelas y difieren en mucho de sus sales de sodio, que son muy solubles en agua.¹² Dentro de las características fisicoquímicas más importantes de los ácidos biliares, se encuentra su naturaleza anfifílica derivada de la coexistencia de zonas hidroxílicas -cadena lateral carboxílica y grupos hidroxilo en la cara α - e hidrofóbicas -grupos metilos orientados hacia la cara β - (Figura 2).^{7,8,10}

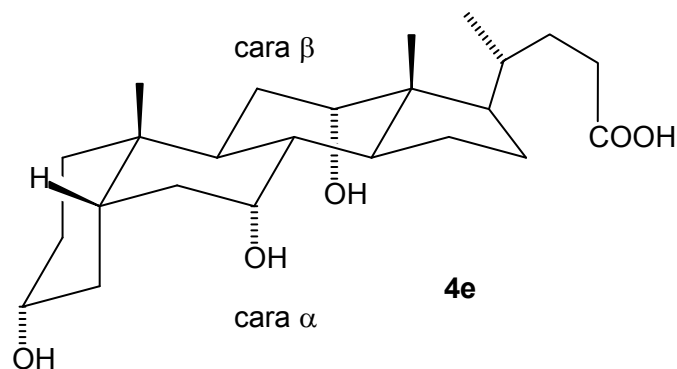


Figura 2. Estructura del ácido cólico (**4e**), caras α y β .

Algunas constantes físicas de los principales ácidos biliares -y de importancia para los objetivos de la presente tesis- se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1. Constantes físicas de ácidos biliares representativos.*

Ácido biliar	Masa molar	Punto de fusión (°C)	Solubilidad en H ₂ O (μ M, pH 3, 25 °C) **	CMC*** (mM)	
				H ₂ O	0.15 M Na
β -Colánico (1)	360.56	163-164			
Litocólico (4a)	376.56	184-186	0.05		
Hiodesoxicólico (4b)	392.56	197	15	14	6
Desoxicólico (4c)	392.56	176-178	28	10	3
Quenodesoxicólico (4d)	392.56	143	27	9	4
Cólico (4e)	408.56	198-199	235	13	11

* Adaptada de 8, **12, **13 Concentración Micelar Crítica.

5.1.4. Funciones fisiológicas de los ácidos biliares

Si bien, los ácidos biliares tienen un papel muy importante en la digestión de grasas provenientes de alimentos, no es la única función que desempeñan. A continuación se indican (Tabla 2) las múltiples funciones de los ácidos biliares en los mamíferos.

Tabla 2. Funciones de los ácidos biliares en mamíferos.¹⁰

TODO EL ORGANISMO	HÍGADO		TRACTO BILIAR		
- Eliminación del colesterol (3)	Hepatocito	Células endoteliales	Lumen	Colangiocito	Epitelio de la vesícula biliar
	<ul style="list-style-type: none"> - Inserción de ácidos biliares a la membrana canicular y transportadores fosfolipídicos. - Inducción del flujo y secreción biliar de lípidos. - Promoción de la mitosis durante la regeneración hepática. - Regulación de la expresión genética mediante activación de FXR.¹⁵ - Estimulación de la síntesis y excreción de FGF-15 (factor de crecimiento de fibroblastos).¹⁵ 	<ul style="list-style-type: none"> - Regulación del flujo de sangre hepática por la activación de la vía TGR5. 	<ul style="list-style-type: none"> - Disolución y transporte del colesterol (3) y aniones orgánicos. - Disolución y transporte de cationes de metales pesados. 	<ul style="list-style-type: none"> - Estimulación de la secreción de bicarbonato por vías CFTR y AE2. - Promoción de la proliferación ante la obstrucción del flujo biliar. 	<ul style="list-style-type: none"> - Modulación de la secreción mediada por AMPc. - Promoción de la secreción de mucina.
TEJIDO ADIPOSO PARDO	INTESTINO GRUESO		INTESTINO DELGADO		
- Promover termogénesis a través de TGR5. ¹⁶	Epitelio del colon y capa muscular	Enterocito del colon	Lumen	Enterocito ileal	Epitelio ileal
	<ul style="list-style-type: none"> - Promover la defecación al aumentar la motilidad intestinal.¹⁴ 	<ul style="list-style-type: none"> - Modulación de la absorción de fluidos y electrolitos. 	<ul style="list-style-type: none"> - Disolución micelar de lípidos en la dieta. - Cofactor de lipasa dependiente de sales biliares. - Efectos antimicrobianos. - Mejora la hidrólisis de proteínas de la dieta. 	<ul style="list-style-type: none"> - Regulación de la expresión genética a través de receptores nucleares. - Liberación de FGF-15 (represión de la síntesis de ácidos biliares).¹⁵ 	<ul style="list-style-type: none"> - Secreción de factores antimicrobianos mediados por FXR.

5.1.5. Distribución en la naturaleza

Tal como fue mencionado anteriormente, los ácidos biliares están presentes en la bilis de diferentes animales. La secreción biliar consiste aproximadamente de 86% de agua y el resto de materia seca, los componentes más importantes de ésta son mezclas de ácidos y alcoholes biliares libres y conjugados.^{17,18} La cantidad y el tipo de ácidos biliares presentes en la bilis, depende de la especie animal de la que se trate. La tabla 3, resume las especies animales en donde se encuentran los ácidos biliares más representativos.

Tabla 3. Principales ácidos biliares naturales y su distribución en la naturaleza.⁸

Ácido biliar	Fuente natural
β -Colánico (1)	Humano.
Litocólico (4a)	Humano, conejo, buey, mono, vaca, puerco, conejillo de Indias.
Hiodesoxicólico (4b)	Puerco, rata, verraco (puerco semental). ⁹
Desoxicólico (4c)	Humano, buey, ciervo, perro, oveja, cabra, antílope, conejo, ⁹ vaca, puerco. ⁶
Quenodesoxicólico (4d)	Humano, ganso, buey, peces, aves, rata, perro, conejillo de Indias, gallina, ⁹ vaca. ⁶
Cólico (4e)	Humano, buey, oveja, perro, cabra, serpientes, peces ⁹ , vaca, puerco ⁶ , jabalí.

5.2. Aplicaciones sintéticas

5.2.1. Síntesis de progesterona

Los ácidos biliares son compuestos muy importantes debido a su utilización como materia prima de la síntesis de hormonas, principalmente de pregnanos como la progesterona (5) y la cortisona (6). En 1938, Wilhelm Dirscherl y F. Hanush sintetizaron la progesterona (5) a partir del colesterol (3), lo cual constituyó la base para su producción industrial.²⁰ En los años 50, el equipo de Max Tishler en *Merck and Company*, comenzó la investigación en el desarrollo del proceso para la síntesis de acetato de cortisona (7) a partir de ácido desoxicólico (4c).²¹ Posteriormente, en 1990, el equipo de Lemos describió la preparación de progesterona (5) a partir de ácido litocólico (4a) en ocho pasos con un 32% de

rendimiento total. En este trabajo la degradación de la cadena lateral del ácido biliar a una de pregnano, procedió con un rendimiento del 66% (Figura 3).¹⁹

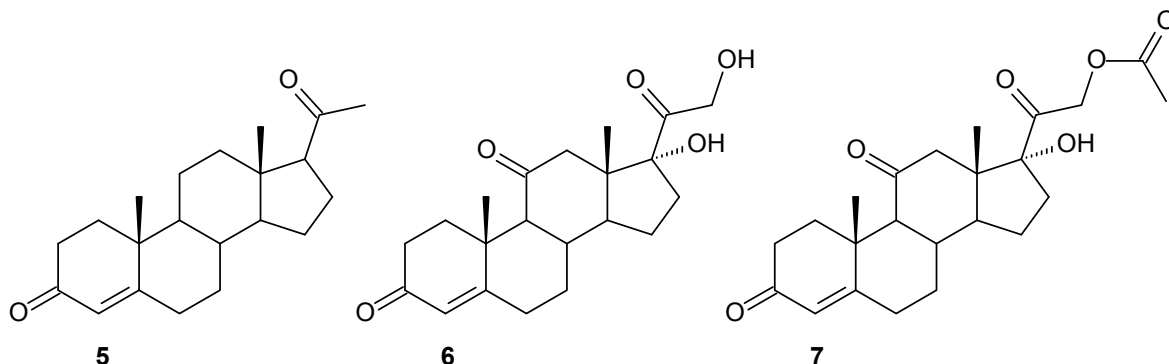


Figura 3. Estructuras químicas de la progesterona (5), cortisona (6) y acetato de cortisona (7).

5.2.2. Disolución de colesterol (3)

Las sales biliares son biosurfactantes naturales que favorecen la disolución y emulsificación de los lípidos, las grasas y las proteínas en el intestino formando micelas que permiten la digestión y la absorción de éstos a través de la pared intestinal. Esta característica es aprovechada para crear análogos de ácidos biliares que tengan la capacidad de disolver colesterol (3) al crear micelas.²² Al sintetizar un derivado de ácidos biliares, su influencia en la disolución de colesterol (3) depende, en gran medida, de la capacidad que tenga para autoagregarse, viéndose reflejada ésta última, en el valor de su CMC.

Nonappa y Maitra describieron el comportamiento de agregación con valores de CMC bajos y gran capacidad para disolver colesterol (3) que tiene el ácido pitocólico (ácido 3 α ,12 α ,16 α -trihidroxi-5 β -colan-24-oico, 8) y de su epímero, el ácido 16-epi-pitocólico (ácido 3 α ,12 α ,16 β -trihidroxi-5 β -colan-24-oico, 9) y sugirieron que el número, posición y distribución de grupos hidroxilo en el esqueleto esteroidal tienen efecto notable sobre las propiedades fisicoquímicas de los ácidos biliares. Los diferentes estudios han mostrado un comportamiento

similar al comparar el modo de agregación y de disolución del colesterol (**3**) del ácido 16-epi-pitocólico (**9**) con los ácidos cólico (**4e**) y avicólico (**10**) (Figura 4).^{22,23}

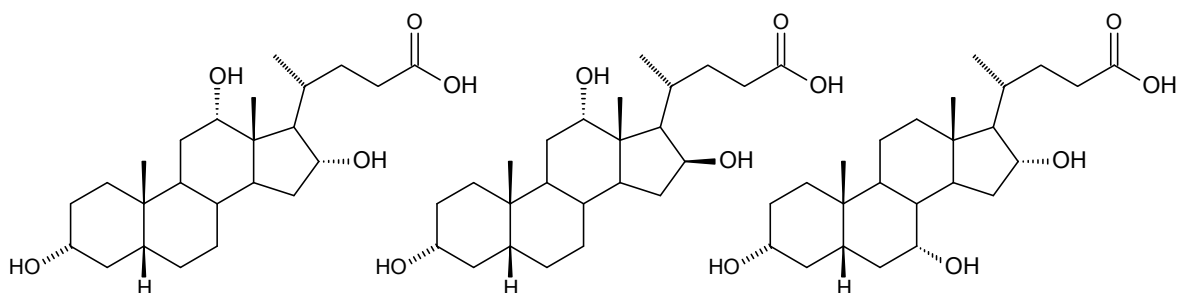


Figura 4. Estructuras químicas del ácido pitocólico (**8**), ácido 16-epi-pitocólico (**9**) y ácido avicólico (**10**).

El ácido avicólico (**10**) ha sido objeto de múltiples estudios por sus características de agregación y de disolución del colesterol (**3**). Es por ello que se han descrito diversas síntesis de este compuesto a partir de ácido quenodesoxicólico (**4c**)²⁴ y de colestanol (**11**) (Figura 5).²⁵ Mukhopadhyay y Maitra describieron la síntesis del ácido avicólico (**10**) a partir de ácido quenodesoxicólico (**4c**) en ocho pasos y determinaron su influencia en la disolución de colesterol (**3**) y la formación de micelas, llegando a la conclusión de que mientras más hidrofílicas sean las sales biliares, presentarán menor capacidad para disolver el colesterol (**3**).²⁶

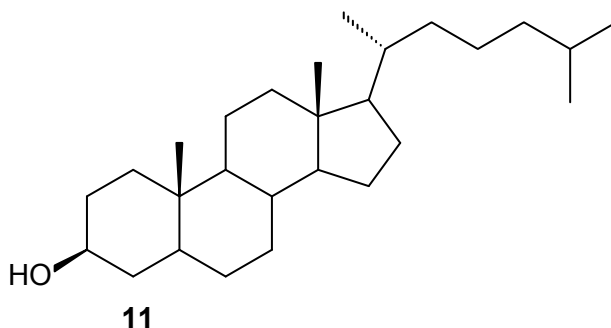


Figura 5. Estructura química del colestanol (**11**).

5.2.3. Agregación

Las micelas de sales biliares juegan un papel importante en la absorción y transporte de sustancias insolubles, pues favorecen la digestión de éstas en agua.¹³ Debido a lo anterior, es de especial interés la determinación de la concentración a la cual se produce la auto-asociación en agua o en soluciones iónicas. Este valor, denominado concentración micelar crítica (CMC), es un parámetro que refleja la actividad superficial de la molécula. Se han llevado a cabo estudios para encontrar una relación entre la estructura química de diferentes ácidos biliares y la CMC, concluyendo que la presencia simultánea de superficies polares y no polares en estas moléculas, determina el carácter autoasociativo y un número de otras propiedades fisicoquímicas.²⁷⁻²⁸

Poša realizó estudios de Relación Cuantitativa Estructura-Propiedad (QSPR) de 30 ácidos biliares divididos en tres grupos: i) tres ó ii) dos, átomos de oxígeno provenientes de sustituyentes hidroxilo u oxo unidos al núcleo esteroidal, y iii) ácido glicocólico (**12**) (Figura 6) y derivados de éste. Como resultado de estos estudios se logró encontrar un modelo matemático que explica la dependencia de los valores de CMC con la estructura topológica de los ácidos biliares estudiados y se concluyó que la formación de micelas está influida no sólo por el número de OH y grupos oxo en el núcleo, sino también por su entorno estérico.²⁹

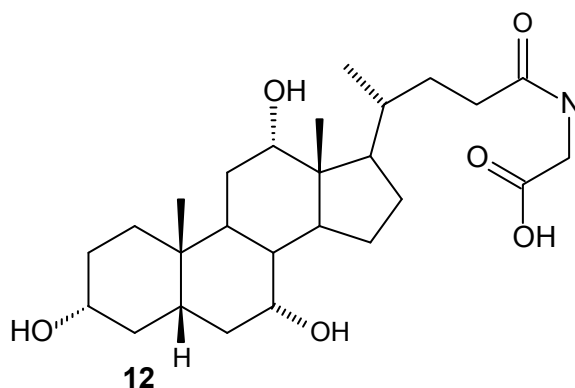


Figura 6. Estructura química del ácido glicocólico (12).

En los derivados de ácidos biliares se han estudiado tres tipos de modificaciones estructurales que han demostrado ser de valor para aplicaciones biológicas. Los derivados de ácido cólico (**4e**) y desoxicólico (**4c**) con un sustituyente metilo en C-7; ácidos biliares modificados en su cadena lateral -por ejemplo, ácido biliar 22,23-ciclopropil y ácidos 23,24-sulfónicos- y ácidos biliares conjugados con prolina y sarcosina. Maitra y Babu describieron la síntesis de derivados fosfónicos de ácidos biliares y al llevar a cabo estudios de agregación encontraron semejanzas importantes con los ácidos y sales biliares de los que provienen.³⁰

5.2.4. Colafanos y Ciclocolatos

Los derivados cíclicos de ácidos biliares se pueden agrupar en colafanos y ciclocolatos. Los primeros son macrociclos, compuestos de dos a cuatro subunidades de ácidos biliares, unidos siempre a través de espaciadores que pueden ser grupos aromáticos o ramificaciones que posean alguna función éster, amida, piperazina, carbonatos, éteres acetálicos e iminas. Los colafanos son considerados como “imitadores de enzimas” o “receptores moleculares sintéticos” por lo que son de especial importancia en la química supramolecular (Figura 7).³¹

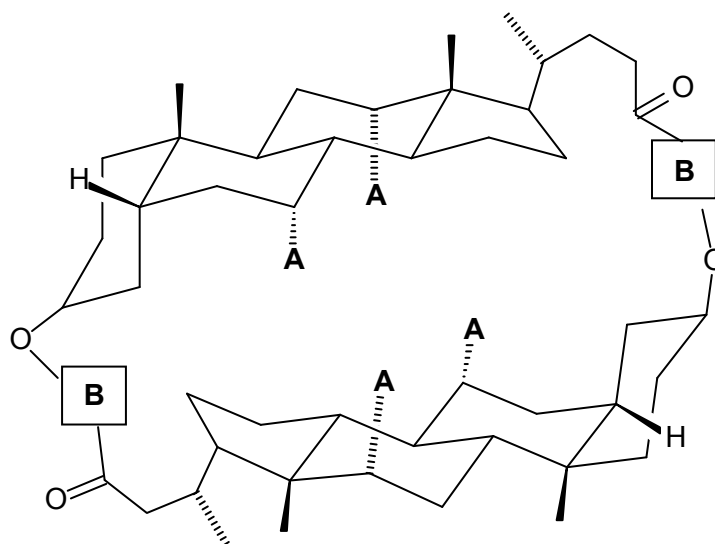


Figura 7. Colafano tipo *cabeza-cola* de dos subunidades de ácido biliar. Donde: A son H, OH, grupos amino y B son grupos espaciadores aromáticos o ramificados.

Davis demostró que mediante la colocación de un espaciador aromático en la posición 3 α de un ácido biliar, es posible generar intermedios donde la curvatura natural de los ácidos biliares se acentúa y como consecuencia, al ciclodimerizarse producen moléculas con cavidades que pueden ser utilizadas para alojar otros compuestos con actividad biológica capaces de unirse con los grupos hidroxilo presentes.³² Entre las características de estos macrociclos se encuentran: 1) su quiralidad, 2) la presencia de diferentes tipos de puentes de unión, 3) la variedad en el número de subunidades, 4) la posibilidad de cambiar la polaridad de la cavidad de lipofílica -al utilizar ácido litocólico (**4a**)- a hidrofílica -si se usa ácido cólico (**4e**)- y 5) la forma de unión, ya sea *cabeza-cola* o *cabeza-cabeza*, siendo el anillo A la cabeza y la cadena lateral la cola.³²⁻³⁴

Los ciclocolatos son macrociclos que poseen de dos a seis subunidades de ácidos biliares que están asociadas a través de enlaces *cabeza-cola* (Figura 8).³³ La metodología aplicada generalmente para la preparación de los ciclocolatos es a partir de derivados monoméricos o diméricos lineales de ácidos biliares mediante la macrolactonización de Yamaguchi, usando como reactivos de acoplamiento DCBC (2,6-dicloro cloruro de benzoílo) y DMAP (4-N,N-dimetilaminopiridina). Esta reacción de ciclación se realiza bajo control cinético y representa la química irreversible convencional.³⁴ Brady y Sanders desarrollaron un método eficaz para la síntesis de los ciclocolatos por transesterificación bajo condiciones reversibles en tolueno, usando complejos de metóxido de potasio–diciclohexil-18-corona-6 como catalizador. Este proceso termodinámicamente controlado se denomina "macrolactonización viva" ya que en el equilibrio los componentes individuales pueden romper y crear enlaces rápidamente.³⁵

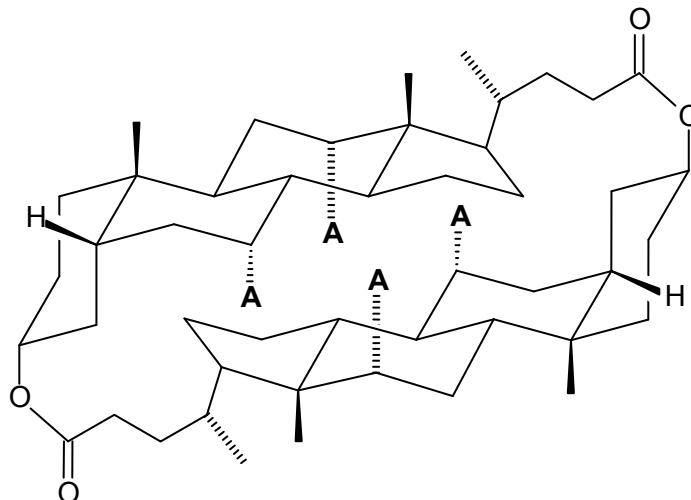


Figura 8. Ciclocolato de dos subunidades de ácido biliar. Donde: A son H, OH u otros grupos funcionales.

5.2.5. Antimaláricos y antiproliferativos

El grupo de Opsenica desarrolló 1,2,4,5-tetraoxanos derivados de ácido cólico (**4e**) con el fin de explorar la influencia de esteroides en la actividad antimalárica *in vitro* (Figura 9) . A partir de cetonas quirales, fueron obtenidas series diastereómeras de *cis*- y *trans*-tetraoxanos y se encontró que la serie *cis* era aproximadamente dos veces más activa contra *Plasmodium falciparum* D6 y clones W2, que la *trans*. La misma tendencia se observó contra líneas celulares de melanoma humano (Fem-X) y carcinoma de cuello uterino humano (HeLa).³⁶ La introducción de una amida terminal en C-24 en el ácido portador de un farmacóforo tetraoxano, produjo una mejora significativa de las actividades antimalárica y antiproliferativa, en comparación con los correspondientes ésteres metílicos. Algunos tetraoxanos derivados de ácido desoxicólico (**4c**) han demostrado una potente actividad antimalárica.³⁷

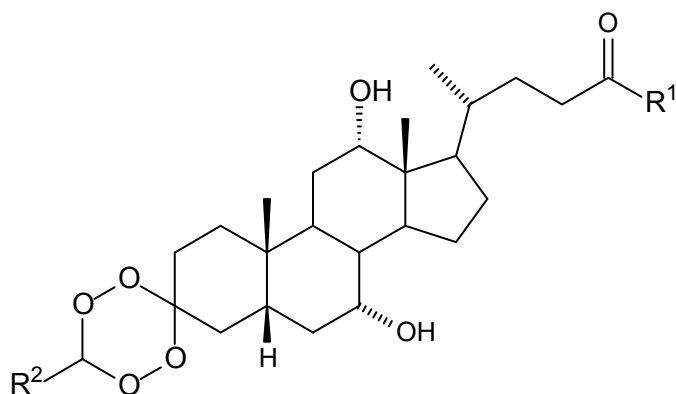


Figura 9. Estructura general de derivados 1,2,4,5-tetraoxanos de ácido cólico. Donde R¹ y R² tienen diferentes grupos funcionales.

De acuerdo con un gran número de informes, los ácidos biliares endógenos muestran toxicidad contra varias líneas celulares de cáncer, apuntando en consecuencia, a una potencial actividad anticancerígena.³⁸ Los principales inconvenientes de los ácidos biliares endógenos incluyen la citotoxicidad relativamente alta y la capacidad de promover la formación de tumores. Por lo anterior, la búsqueda de derivados sintéticos de ácidos biliares más eficientes ha tomado mayor importancia. Nuevos derivados de ácidos biliares se han sintetizado y demuestran potentes propiedades antiproliferativas y apoptóticas en varias líneas celulares de cáncer.³⁸

Algunos análogos de ácido cólico también han sido preparados como inhibidores de la α -metilacil-CoA racemasa, que es una enzima esencial en la β -oxidación de los ácidos grasos de cadena ramificada y se sobreexpresa en el cáncer de próstata y de colon. Im y cols. encontraron que el ácido ursodesoxicólico (**13**) (Figura 10) y el desoxicólico (**4c**) muestran una citotoxicidad dosis-dependiente en líneas celulares de carcinoma de mama humano y son capaces de inhibir la proliferación celular y de promover la inducción de la apoptosis.³⁹

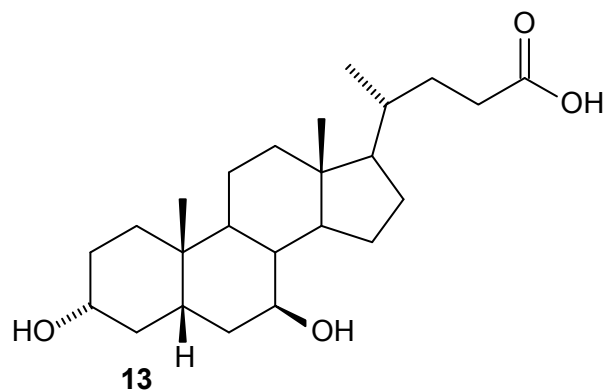


Figura 10. Estructura química del ácido ursodesoxicólico (**13**).

5.2.6. Análogos de brasinoesteroides

Los brasinoesteroides estimulan el crecimiento vegetal, además de aumentar el rendimiento y la producción de biomasa y acelerar la maduración de la cosecha. En dichas características radica la importancia de la síntesis de estas sustancias y sus análogos no naturales. Sin embargo, esto representa un reto, ya que la síntesis de éstos implica la introducción de varios centros quirales. El núcleo del esteroide requiere la introducción de grupos hidroxilo en las posiciones C-2 α y C-3 α mientras que en la cadena lateral en C-17 es necesario introducir grupos hidroxilo en C-22 y C-23 y cuatro centros quirales en C-20, C-22, C-23, y C-24, además de la construcción regioselectiva de una lactona del anillo B.⁴¹

La síntesis de brasinoesteroides y sus análogos a partir de ácidos biliares comenzó con Zhou y cols., quienes, describieron la obtención de la brasinólida (**14**) a partir de ácido hiodesoxicólico (**4b**) (Figura 11), desarrollando una modificación regioselectiva del anillo B para formar el anillo 7-oxolactona por oxidación con ozono del enolsilil éter, lo que puede considerarse como un complemento de la oxidación de Baeyer-Villiger.⁴² Para la construcción de la cadena lateral, el ácido hiodesoxicólico (**4b**) fue degradado a 20-carbaldehído y se utilizaron varios métodos estereocontrolados para la construcción de la cadena lateral dihidroxilada en C-22 y C-23 y configuración 20S, 22R, 23R, 24S.⁴²⁻⁴³

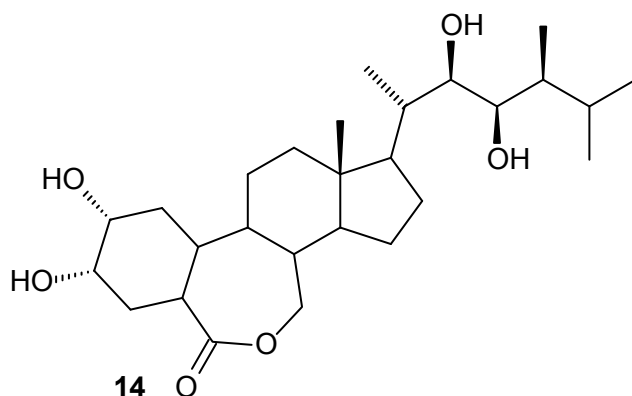


Figura 11. Estructura química de la brasinólida (**14**).

Lo anteriormente señalado son solo algunas aplicaciones sintéticas de los ácidos biliares que ponen en evidencia la existencia de múltiples opciones a explorar para la síntesis de nuevos derivados bioactivos a partir de dichos compuestos. Entre otras de sus aplicaciones también es posible enumerar la síntesis de agentes antioxidantes,⁴⁰ hipoglucemiantes,³⁹ agentes para tratar fibrosis quística,³⁹ pancreatitis aguda,³⁹ enfermedades del hígado y de transmisión sexual,³⁹ agentes hipolipemiantes,³⁹ promotores de la absorción de fármacos en concentraciones no tóxicas por vías intestinal, oral, transdérmica, ocular, nasal, rectal y pulmonar,³⁹ etc. Hoy en día, las funciones terapéuticas de los ácidos biliares, prometen una expansión en cuanto a líneas de investigación se refiere.

5.3. Reactividad de los ácidos biliares

La reactividad de los ácidos biliares se ve influida por la existencia de diferentes grupos funcionales: alcohol (-OH), la cadena lateral y ácido carboxílico (-COOH).

Los grupos hidroxilo de los ácidos biliares de la serie 5 β son frecuentemente encontrados en las posiciones C-3, C-6, C-7, y C-12 y son, mayormente, α orientados.⁶ El ácido cólico (**4e**) presenta 3 hidroxilos en posiciones 3 α , 7 α y 12 α , el quenodesoxicólico (**4d**) y el desoxicólico (**4c**) en posiciones C-3 α y C-7 α y C-3 α y C-12 α respectivamente; mientras que el hiodesoxicólico (**4b**) presenta dos

grupos hidroxilo en C-3 α y C-6 α , y, finalmente, el litocólico (**4a**) posee un hidroxilo en C-3 α . El grupo hidroxilo puede ser oxidado con una gran diversidad de agentes o esterificado por una amplia variedad de ácidos.

Dependiendo de la posición en la que se encuentren en el núcleo de ciclopentanoperhidrofenantreno, los grupos hidroxilo muestran reactividad variable a diferentes agentes oxidantes en el orden siguiente: C-7 α > C-12 α > C-6 α > C-3 α . Esto se debe a que los hidroxilos axiales (C-7 α y C-12 α) son más reactivos frente a la oxidación que los ecuatoriales (C-3 α y C-6 α) ya que, en los primeros, los protones carbinólicos se encuentran más expuestos, hecho que favorece la sustracción de hidruro y hace más rápida la reacción. Otro elemento que justifica la mayor reactividad de los hidroxilos axiales frente a la oxidación, es que la conversión del carbono a hibridación sp² produce una disminución de tensión e interacciones repulsivas que es mayor en los hidroxilos axiales que en los ecuatoriales. Los agentes oxidantes más comúnmente utilizados son CrO₃, K₂CrO₄, HNO₃, PCC, PDC, Cl₂ o Br₂ en un medio apropiado o N-bromosuccinimida. El orden de reactividad de los OH, arriba señalado, no se aplica a la oxidación catalítica, ni la de Oppenauer, en donde el C-3 α es el más reactivo, debido a que el mecanismo de reacción es diferente.^{8,44}

En cuanto a la reactividad de los hidroxilos en los ácidos biliares en acetilación e hidrólisis de ésteres, el orden en el que reaccionan es C-3 α > C-7 α > C-12 α .⁸ La acetilación es el procedimiento más común para la protección del grupo hidroxilo en los ácidos biliares. Dicha reacción involucra anhídrido acético en piridina o anhídrido acético, ácido acético y ácido perclórico.⁴⁴ Cuando el colato de metilo (**15**) es tratado con cloruro de acetilo en piridina, se obtiene primero el compuesto 3-acetilado (**15a**), luego el 3,7-diacetilado (**15b**) y finalmente el 3,7,12-triacetilado (**15c**), según las condiciones de reacción vayan siendo más severas (Figura 12).⁸ Otras formas de proteger a los grupos OH son con ayuda de sustituyentes formiato, tritil, trimetilsilil, benzoato, etc.⁹

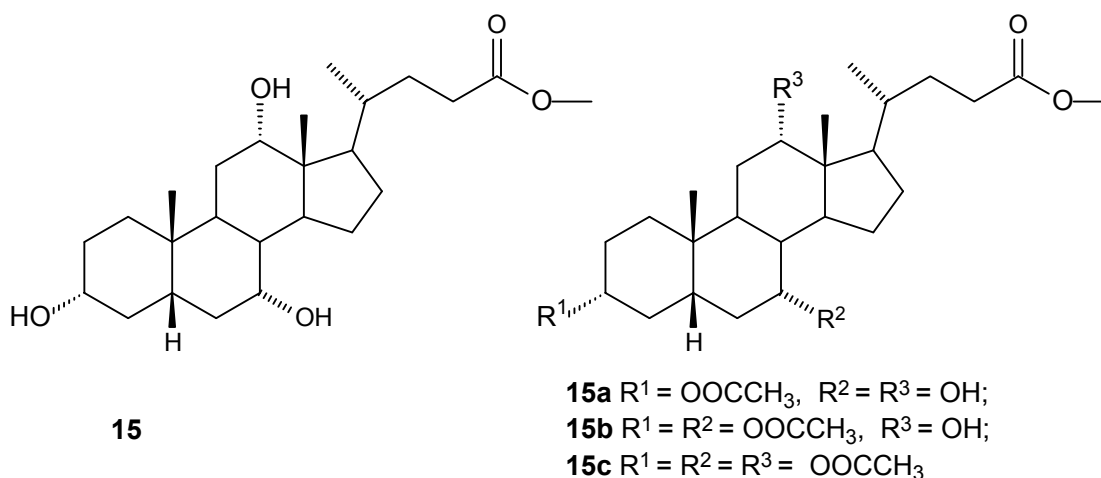
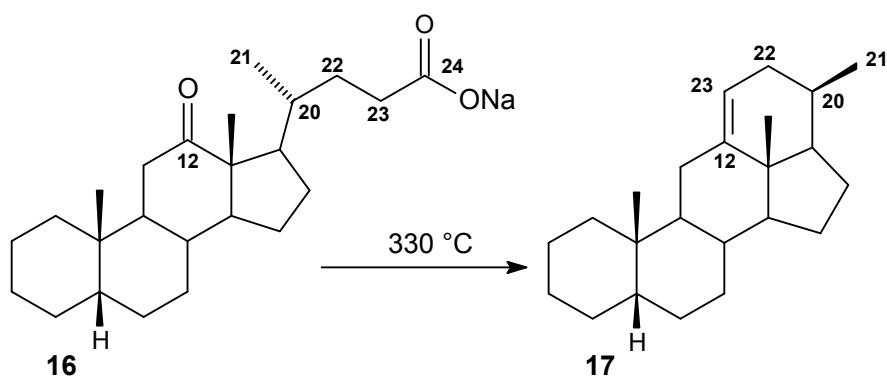


Figura 12. Estructura química del colato de metilo y sus acetilaciones.

La cadena lateral de los ácidos biliares se encuentra anclada en el carbono 17 localizado en el anillo D y consta de un sustituyente de ácido pentanóico.^{9,11} El ácido carboxílico, al final de la cadena lateral, puede ser transformado de diferentes formas: 1) puede ser esterificado, 2) reducido, 3) formar sales con iones metálicos, alcaloides o bases orgánicas, 4) puede ser convertido a una amida, etc.⁸ Debido a que la cadena lateral de los ácidos biliares se encuentra cerca del grupo hidroxilo del carbono 12, puede existir una ciclación intramolecular. Esto fue descrito por primera vez por Perkin que, al calentar a 330°C la sal de sodio del ácido 12-cetocolánico (**16**), obtuvo el hidrocarburo deshidronorcoleno (**17**) a través de una reacción de condensación seguida de una descarboxilación (Esquema 3).⁴⁴



Esquema 3. Reacción intramolecular de Perkin de la sal de sodio del ácido 12-cetocolánico.

El impacto del trabajo anterior llevó a la investigación de metodologías para producir ciclaciones tanto inter como intramoleculares en los ácidos biliares.⁴⁴ La cadena lateral también puede degradarse; el primer procedimiento descrito para ello se denomina degradación de Barbier-Wieland, donde se emplean, alternadamente, la adición de un reactivo de Grignard y reacciones de oxidación produciendo cada vez una deshomologación en un átomo de carbono. Esta metodología fue reemplazada por la degradación de Miescher-Meystre, que es capaz de eliminar tres átomos de carbono; empero, se requieren reactivos relativamente caros (PhMgCl y NBS), aunado al uso de CrO₃ cuya toxicidad es elevada.^{9,44}

5.4. Acoplamientos

La transformación de derivados de ácido carboxílico en cetonas es empleada frecuentemente en la síntesis de moléculas orgánicas complejas.⁴⁵ Hay varias metodologías para introducir el grupo carbonilo en moléculas orgánicas entre las que destacan la acilación de Friedel-Crafts, la reacción de Weinreb de una amida con reactivos de organolitio o de organomagnesio (reactivo de Grignard), la oxidación de metilenos activos, entre otras.⁴⁶

La acilación de Friedel-Crafts es uno de los procesos más antiguos para la formación de enlaces carbono-carbono que, a pesar de las modificaciones que se le han hecho a lo largo del tiempo, presenta el inconveniente de que no es un método regioselectivo, aunado a las drásticas condiciones de reacción tienden a ser incompatibles con ciertos grupos funcionales.⁴⁷⁻⁴⁸

La adición nucleofílica de compuestos organometálicos a derivados de ácidos carboxílicos es otra opción disponible para la síntesis de cetonas. La reacción de amidas de Weinreb con reactivos de Grignard es uno de los ejemplos más populares para este tipo de transformación.^{5, 47}

Se han descrito reacciones de acoplamiento cruzado catalizadas con paladio entre ácidos borónicos y ácidos carboxílicos, cloruros de ácido, anhídridos o tioésteres, teniendo como resultado rendimientos óptimos al utilizar cantidades de catalizador relativamente bajas.⁵ Los ácidos borónicos presentan varias ventajas que los hacen atractivos para ser utilizados como fuente de carbono nucleófilo pues son fácilmente disponibles, no son tóxicos, son estables al aire y humedad y toleran la presencia de una amplia variedad de grupos funcionales.⁴⁵⁻⁴⁹

Gooßen y Ghosh desarrollaron una técnica para preparar arilcetonas por acoplamiento cruzado catalizado con paladio de ácidos borónicos y carboxílicos en presencia de anhídrido piválico. Encontraron también que tanto en los ácidos borónicos como en los carboxílicos son tolerados grupos como halógenos, carbonilos, nitrilos, ésteres, nitros, o amino protegidos.⁴⁻⁵

Debido a las ventajas que presentan los ácidos borónicos, en este trabajo se adoptó la metodología reportada por Gooßen y Ghosh para sintetizar fenilcetonas derivadas de ácidos biliares activados por anhídrido piválico, a través de acoplamientos cruzados con ácidos borónicos catalizados por paladio.⁴⁻⁵

6. Desarrollo experimental y resultados

6.1. General

El curso de las reacciones se siguió mediante cromatografía en capa delgada (CCD), usando placas ALUGRAM[®]SIL G/UV₂₅₄ de MACHEREY-NAGEL. Las placas cromatográficas se sumergieron con una disolución de vainillina al 1% en HClO₄ al 50%, y se calentaron hasta la aparición de color. Los productos se purificaron por cromatografía en columna, empleando gel de sílice de KIESELGEL 60 MACHEREY-NAGEL. Los puntos de fusión se determinaron en un equipo Electrothermal Engineering LTD. Los espectros de RMN se registraron en equipos Varian INOVA 400MHz, utilizando las señales del CDCl₃ en 7.26 ppm y 77.00 ppm como referencias para ¹H y ¹³C respectivamente. La asignación de las señales de RMN se hizo con ayuda de la combinación de técnicas de RMN mono y bidimensional que incluyeron, RMN ¹H, RMN ¹³C, COSY, NOESY, HSQC y HMBC. Todos los espectros de RMN 2D se registraron con las secuencias de pulsos y los parámetros recomendados por el fabricante y fueron procesados empleando el programa MestreNova.

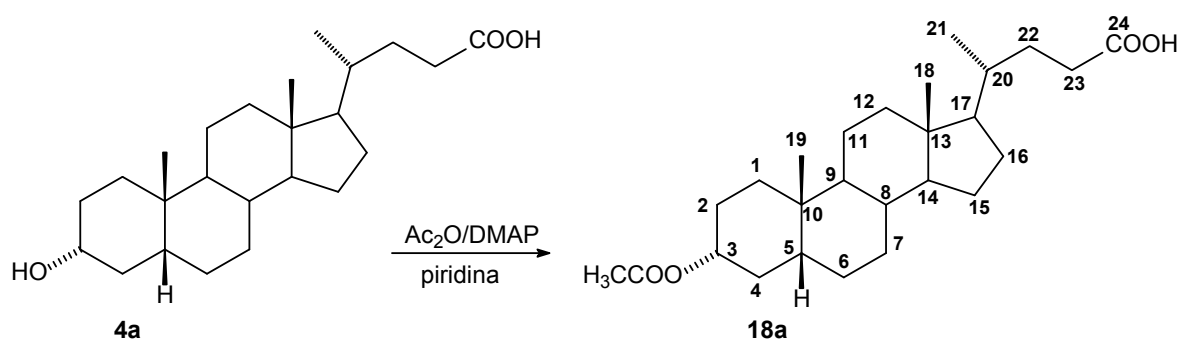
6.2. Acetilación de ácidos biliares

6.2.1. Procedimiento general

A una disolución de 10 g del ácido biliar (4a-4e) en piridina (140 ml) se le adicionó anhídrido acético (140 ml) y DMAP (0.1 g) (Figura 16). La mezcla de reacción se agitó y el curso de la reacción se siguió mediante cromatografía de capa delgada (CCD) hasta que la materia prima fue totalmente consumida. Posteriormente, la mezcla de reacción se vertió lentamente sobre 500 mL de HCl al 10% v/v y hielo (cantidad bastante para 1 L), con agitación vigorosa. El precipitado formado se filtró, se lavó con abundante agua fría y se disolvió en acetato de etilo. La disolución resultante se lavó con una disolución de CuSO₄ al 10% (3 x 70 mL) y posteriormente con agua (3 x 60 mL). La fase orgánica se secó con Na₂SO₄

anhidro y se evaporó, para obtener el derivado acetilado (**18a-e**) correspondiente. Los derivados obtenidos fueron purificados en columnas cromatográficas empacadas con gel de sílice.

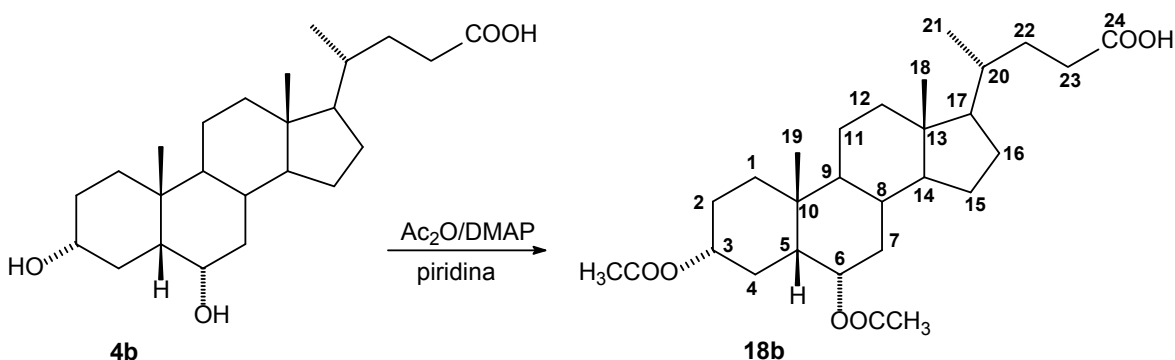
6.2.1.1. Ácido 3 α -acetoxi-5 β -colánico (**18a**)



Esquema 4. Acetilación del ácido litocólico (**4a**)

Se utilizó la técnica general arriba descrita para la acetilación de ácidos biliares. Tiempo de reacción 24 horas, rendimiento 96% (10.6998 g, 25.5 mmol), p.f. 171.1-173.5 °C (recristalizado de acetona). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 4.71 (ddd, J = 16.1, 11.2, 4.7 Hz, 1H, H-3 β), 2.54 – 2.31 (m, 1H, H-23a), 2.31 – 2.17 (m, 1H, H-23b), 2.02 (s, 1H, CH₃ acetilo), 0.92 (s, 3H, H-19), 0.92 (d, J = 6.3 Hz, 3H, H-21), 0.64 (s, 1H, H-18). ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ 35.0 C-1; 26.3 C-2; 74.4 C-3; 32.2 C-4; 41.9 C-5; 27.0 C-6; 26.6 C-7; 35.8 C-8; 40.4 C-9; 34.6 C-10; 20.8 C-11; 40.2 C-12; 42.7 C-13; 56.5 C-14; 24.2 C-15; 28.2 C-16; 56.0 C-17; 12.1 C-18; 23.4 C-19; 35.3 C-20; 18.2 C-21; 30.7 C-22; 31.0 C-23; 180.4 C-24; 21.5 CH₃ acetilo; 170.7 C=O acetilo.

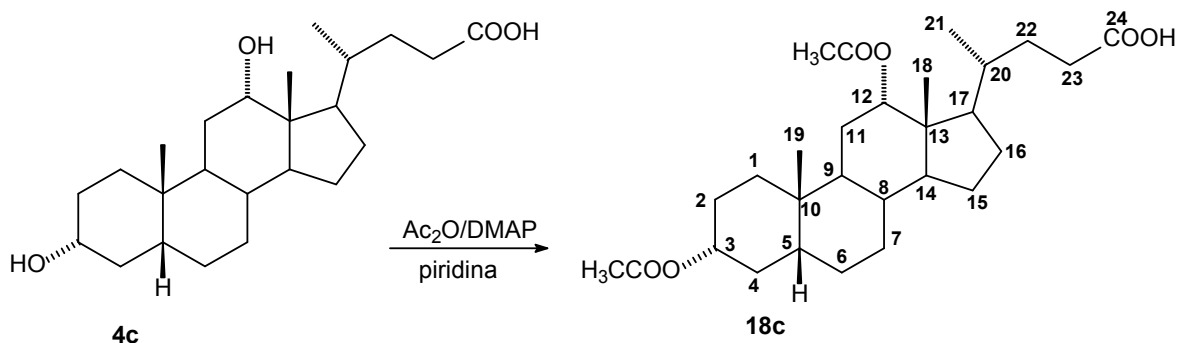
6.2.1.2. Ácido 3 α ,6 α -diacetoxi-5 β -colánico (18b)



Esquema 5. Acetilación del ácido hiodesoxicólico (4b)

Se utilizó la técnica general arriba descrita para la acetilación de ácidos biliares. Con las siguientes cantidades 5.0 g de ácido Hiodesoxicólico; 69.2 mL de piridina; 69.2 mL de anhídrido acético y 1% en peso de DMAP (0.05g). Tiempo de reacción 48 horas; rendimiento 82% (4.9546 g; 10.4 mmol), p.f. 98.7-100.9 °C (recristalizado de acetona:CH₂Cl₂). **¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ 5.14 (dt, J = 12.2, 4.8 Hz, 1H, H-6 β), 4.69 (ddd, J = 16.0, 11.2, 4.7 Hz, 1H, H-3 β), 2.38 (ddd, J = 15.5, 10.1, 5.1 Hz, 1H, H-23a), 2.25 (ddd, J = 15.9, 9.6, 6.5 Hz, 1H, H-23b), 2.03 (s, 3H, CH₃ acetilo), 2.01 (s, 3H, CH₃ acetilo), 0.96 (s, 3H, H-19), 0.91 (d, J = 6.4 Hz, 3H, H-21), 0.64 (s, 3H, H-18). **¹³C RMN (100 MHz; CDCl₃)** δ 35.0 C-1; 26.4 C-2; 73.7 C-3; 26.2 C-4; 45.3 C-5; 71.0 C-6; 31.3 C-7; 34.6 C-8; 39.8 C-9; 36.0 C-10; 20.7 C-11; 39.8 C-12; 42.9 C-13; 56.1 C-14; 24.0 C-15; 28.0 C-16; 55.9 C-17; 12.0 C-18; 23.2 C-19; 35.2 C-20; 18.3 C-21; 30.7 C-22; 31.0 C-23; 179.9 C-24; 21.4; 21.4 CH₃ acetilo; 170.5; 170.5 C=O acetilo.

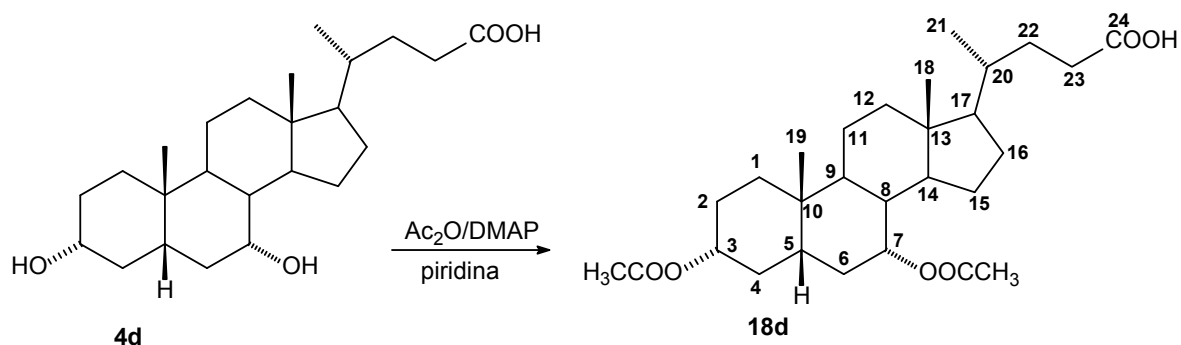
6.2.1.3. Ácido 3 α ,12 α -diacetoxi-5 β -colánico (18c)



Esquema 6. Acetilación del ácido desoxicólico (4c)

Se utilizó la técnica general arriba descrita para la acetilación de ácidos biliares. Con las siguientes cantidades 8.0 g de ácido desoxicólico; 110.72 mL de piridina; 138.4 mL de anhídrido acético y 1% en peso de DMAP (0.08g). Tiempo de reacción 48 horas; rendimiento 70% (6.6782 g; 14.0 mmol), aceite. **¹H RMN (400 MHz; CDCl₃)** δ 5.06 (m, 1H, H-12 β), 4.68 (ddd, J = 15.9, 11.3, 4.6 Hz, 1H, H-3 β), 2.36 (ddd, J = 15.3, 10.0, 5.1 Hz, 1H, H-24a), 2.21 (ddd, J = 9.3, 8.0, 4.5 Hz, 1H, H-24b), 2.08 (s, 3H, CH₃ acetilo), 2.01 (s, 3H, CH₃ acetilo), 0.88 (s, 3H, H-19), 0.80 (d, J = 6.4 Hz, 3H, H-21), 0.71 (s, 3H, H-18). **¹³C RMN (100 MHz; CDCl₃)** δ 34.7 C-1; 26.6 C-2; 74.2 C-3; 32.2 C-4; 41.8 C-5; 27.3 C-6; 25.8 C-7; 35.6 C-8; 34.5 C-9; 34.0 C-10; 26.8 C-11; 75.9 C-12; 45.0 C-13; 49.4 C-14; 23.4 C-15; 25.6 C-16; 47.5 C-17; 12.4 C-18; 23.0 C-19; 34.6 C-20; 17.4 C-21; 30.6 C-22; 30.9 C-23; 180.0 C-24; 21.3; 21.4 CH₃ acetilo; 170.5; 170.6 C=O acetilo.

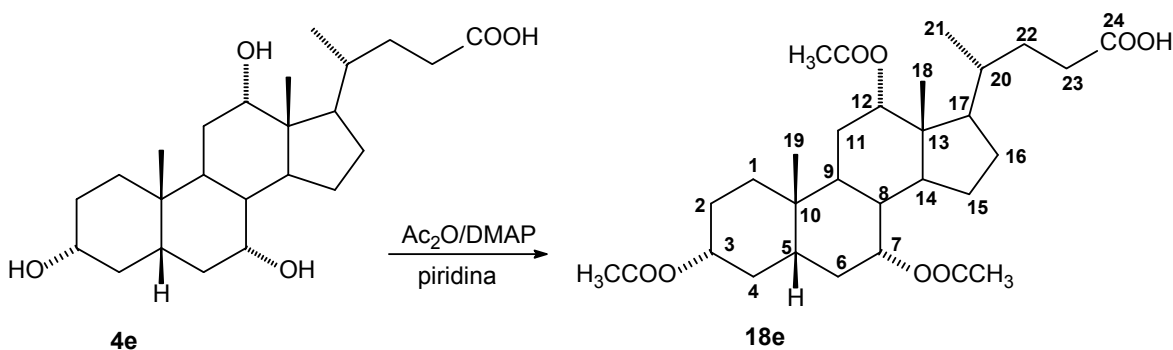
6.2.1.4. Ácido 3 α ,7 α -diacetoxi-5 β -colánico (18d)



Esquema 7. Acetilación del ácido quenodesoxicólico (4d)

Se utilizó la técnica general arriba descrita para la acetilación de ácidos biliares. Tiempo de reacción 48 horas; rendimiento 82% (9.9632 g; 20.9 mmol), p.f. 215.9-217.5 °C (recristalizado de acetona: CH₂Cl₂). **¹H RMN (400 MHz; CDCl₃)** δ 4.87 (m, H-7 β), 4.58 (ddd, J = 15.8, 11.2, 4.4 Hz, 1H, H-3 β), 2.38 (ddd, J = 15.4, 10.1, 5.1 Hz, 1H, H-24a), 2.24 (ddd, J = 11.5, 9.1, 4.3 Hz, 1H, H-24b), 2.04 (s, 3H, CH₃ acetilo), 2.02 (s, 3H, CH₃ acetilo), 0.92 (s, 3H, H-19), 0.92 (d, J = 5.9 Hz, 3H, H-21), 0.64 (s, 3H, H-18). **¹³C RMN (100 MHz; CDCl₃)** δ 34.6 C-1; 26.8 C-2, 74.2 C-3; 34.9 C-4; 40.9 C-5; 31.3 C-6; 71.0 C-7; 37.9 C-8; 34.0 C-9; 34.8 C-10; 20.6 C-11; 39.5 C-12; 42.7 C-13; 50.4 C-14; 23.5 C-15; 28.0 C-16; 55.7 C-17; 11.7 C-18; 22.7 C-19; 35.2 C-20; 18.2 C-21; 30.7 C-22; 30.9 C-23; 179.9 C-24; 21.4; 21.6 CH₃ acetilo; 170.5; 170.7 C=O acetilo.

6.2.1.5. Ácido 3 α ,7 α ,12 α -triacetoxy-5 β -colánico (18e)



Esquema 8. Acetilación del ácido cólico (**4e**)

Se utilizó la técnica general arriba descrita para la acetilación de ácidos biliares. La RMN demostró que se trataba del compuesto diacetilado; por lo cual se sometió una vez más a la metodología. Obteniendo un compuesto blanco. Tiempo de reacción 72 horas; rendimiento 67% (8.35 g; 24.4 mmol), aceite. **¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)** δ 5.08 (m, 1H, H-12 β), 4.90 (m, 1H, H-7 β), 4.57 (tt, J = 11.3, 4.3 Hz, 1H, H-3 β), 2.38 (ddd, J = 15.3, 10.0, 5.0 Hz, 1H, H-23a), 2.24 (ddd, J = 15.8, 9.3, 6.6 Hz, 1H, H-23b), 2.13 (s, 3H, CH₃ acetilo), 2.08 (s, 3H, CH₃ acetilo), 2.04 (s, 3H, CH₃ acetilo), 0.91 (s, 3H, H-19), 0.82 (d, J = 6.4 Hz, 3H, H-21), 0.72 (s, 3H, H-18). **¹³C RMN (100 MHz; CDCl₃)** δ 34.6 C-1; 26.9 C-2; 74.1 C-3; 34.7 C-4; 40.9 C-5; 31.2 C-6; 70.7 C-7; 37.7 C-8; 28.9 C-9; 34.3 C-10; 25.6 C-11; 75.4 C-12; 45.0 C-13; 43.4 C-14; 22.8 C-15; 27.2 C-16; 47.3 C-17; 12.3 C-18; 22.6 C-19; 34.5 C-20; 17.5 C-21; 30.5 C-22; 30.8 C-23; 179.4 C-24; 21.4; 21.5; 21.6 CH₃ acetilo; 170.4; 170.5; 170.6 C=O acetilo.

6.3. Síntesis de Fenilcetonas esteroideas

6.3.1. Técnica de síntesis

En un matraz de bola se adicionaron los reactivos en el siguiente orden: acetato de paladio (6.7 mg; 0.03 mmol); ácido litocólico acetilado (418.6 mg; 1.00 mmol); anhídrido piválico (279 mg; 0.25 mL en 4 mL de THF; 1.5 mmol); agua (45.0 mg; 0.045 mL; 2.5 mmol); ácido fenilborónico (146 mg; 1.2 mmol en 2 mL de THF) y tris(p-metoxifenil)fosfano (24.7 mg; 0.07 mmol). Durante la adición de los reactivos; el matraz estuvo colocado en un sometido a ultrasonido. La mezcla resultante se agitó a 60 °C en atmósfera de argón durante 48 horas y el disolvente se evaporó al vacío y el residuo obtenido fue purificado en una columna cromatográfica empacada con gel de sílice usando un sistema de elución a gradiente de Hexano/Acetona.

Se probaron otras condiciones de reacción para el acoplamiento de los ácidos fenilborónico y litocólico; variando tiempo y cantidades de reactivos; con el objetivo de aumentar el rendimiento. La Tabla 4 presenta un resumen de las condiciones que se ensayaron.

Tabla 4. Condiciones de reacción y rendimientos de lotes obtenidos.

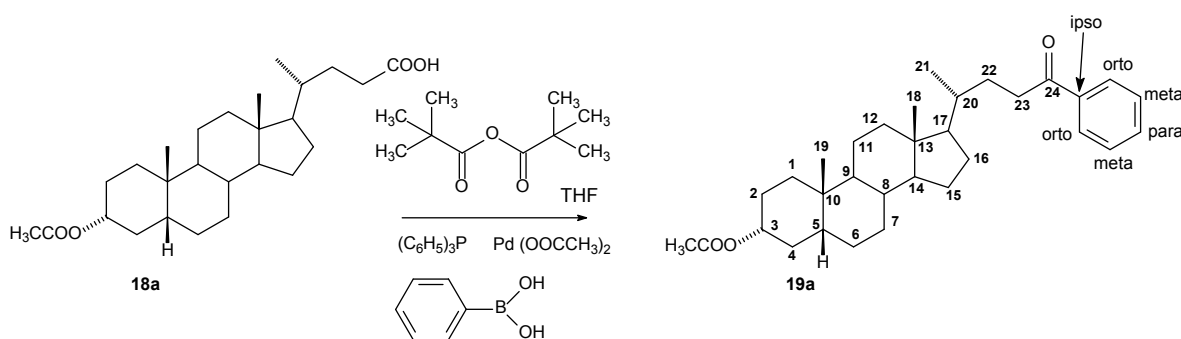
	Ácido litocólico acetilado (mg; mmol)	Ácido borónico (mg; mmol)	Anhídrido piválico (mg; mmol)	Fosfina (mg; mmol)	Tiempo de reacción (h)	Rendimiento (mg; mmol; %)
1	418.6; 1.0	146; 1.2	279; 1.5	24.7; 0.07	48	123.3; 0.26; 26.
2	418.6; 1.0	219; 1.8	418.5; 2.25	37.05; 0.105	24	241.5; 0.50; 50.
3	1255.8; 3.0	657; 5.4	1255.6; 6.75	111.15; 0.315	24	878.4; 1.8; 61.

6.3.2. Procedimiento general para la síntesis de fenilcetonas esteroideas

En un matraz de bola se adicionaron los reactivos en el siguiente orden: acetato de paladio (10.05 mg; 0.045 mmol); ácido biliar acetilado **18a-e** (1.00 mmol);

anhídrido pivalico (418.25 mg; 0.375 mL en 4 mL de THF; 2.25 mmol); agua (67.5 mg; 0.067 mL; 3.75 mmol); ácido fenilborónico (219 mg; 1.8 mmol en 2 mL de THF) y tris(p-metoxifenil)fosfano (37.05 mg; 0.105 mmol). Durante la adición de los reactivos; el matraz estuvo colocado en un ultrasonido; posteriormente; se eliminó por vacío el aire contenido y se purgó 3 veces con Argón; y se agitó constantemente a una temperatura de 60 °C. El seguimiento de la reacción se llevó mediante CCD. Los tiempos de reacción fueron de entre 24 a 48 horas; posteriormente se evaporó el THF. Los productos se purificaron en columnas cromatográficas empacadas con gel de sílice usando un sistema de elución a gradiente de Hexano/Acetona para obtener la fenilcetona **19a-e** correspondiente.

6.3.1.1. 3 α -acetoxi-5 β -colan-24-fenil-24-ona (**19a**)

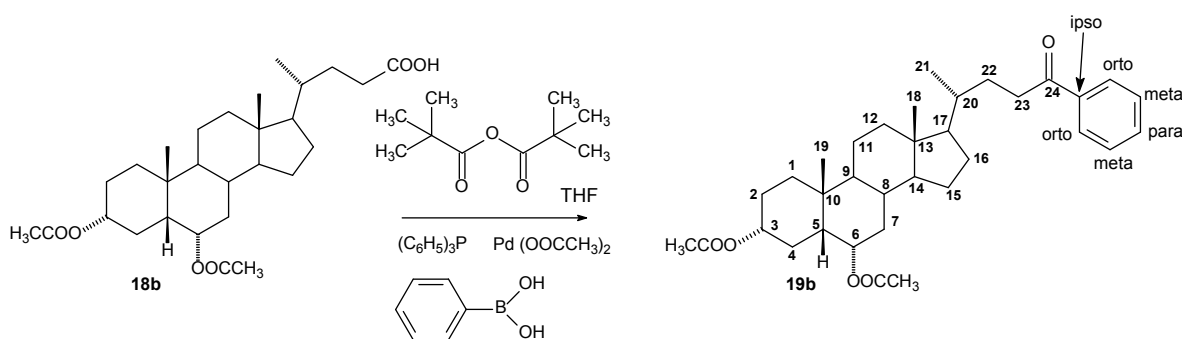


Esquema 9. Síntesis de la fenilcetona **19a**

Se utilizó el procedimiento general para síntesis de fenilcetonas esteroidales; con las siguientes cantidades: 30.15 mg de acetato de paladio (0.135 mmol); 1261.7 mg de ácido litocólico (3.00 mmol); 1.125 mL en 4 mL de THF de anhídrido pivalico (1255.6 mg; 6.75 mmol); 0.203 mL de agua (202.5 mg; 11.25 mmol); 657 mg de ácido fenilborónico (5.4 mmol en 6 mL de THF) y 111.15 mg de tris(p-metoxifenil)fosfano (0.315 mmol). Tiempo de reacción 48 horas; Rendimiento 61% (878.4 mg; 1.8 mmol), p.f. 171.5-172.7 °C (recristalizado de AcOEt/CH₂Cl₂). ¹H RMN (400 MHz; CDCl₃) δ 8.02 – 7.87 (2H; m; H-orto); 7.57 – 7.52 (1H; m; H-para); 7.48 – 7.43 (2H; m; H-meta); 4.71 (1H; tt; J=11.4; 4.8 Hz; H-3 β); 2.99 (1H; ddd; J=16.3; 10.2; 5.0 Hz; H-23a); 2.88 (1H; ddd; J=15.9; 9.6; 5.9 Hz; H-23b); 2.02 (3H; s; CH₃ acetilo); 0.98 (3H; d; J=6.3 Hz; H-21); 0.92 (3H; s; H-19); 0.65 (3H; s; H-18).

¹³C RMN (100 MHz; CDCl₃) δ 35.0 C-1; 26.3 C-2; 74.4 C-3; 32.2 C-4; 41.9 C-5; 27.0 C-6; 26.6 C-7; 35.8 C-8; 40.4 C-9; 34.6 C-10; 20.8 C-11; 40.2 C-12; 42.7 C-13; 56.5 C-14; 24.2 C-15; 28.2 C-16; 56.1 C-17; 12.0 C-18; 23.3 C-19; 35.5 C-20; 18.6 C-21; 30.5 C-22; 35.5 C-23; 201.0 C-24; 21.4 CH₃ acetilo; 170.6 C=O acetilo; 137.1 ipso fenilo; 132.8 para fenilo; 128.5 meta fenilo; 128.0 orto fenilo. **EM** 478 M⁺ (0.23); 315 (28); 299 (13); 298 (14); 257 (20); 255 (19); 216 (11); 215 (29); 161 (14); 147 (16); 135 (12); 133 (25); 121 (25); 120 (86); 119 (12); 109 (13); 108 (11); 107 (25); 95 (23); 93 (28); 91 (16); 81 (26); 79 (18); 77 (25); 67 (15); 55 (14).

6.3.1.2. 3α,6α-diacetoxi-24-fenil-5β-colan-24-ona (19b)

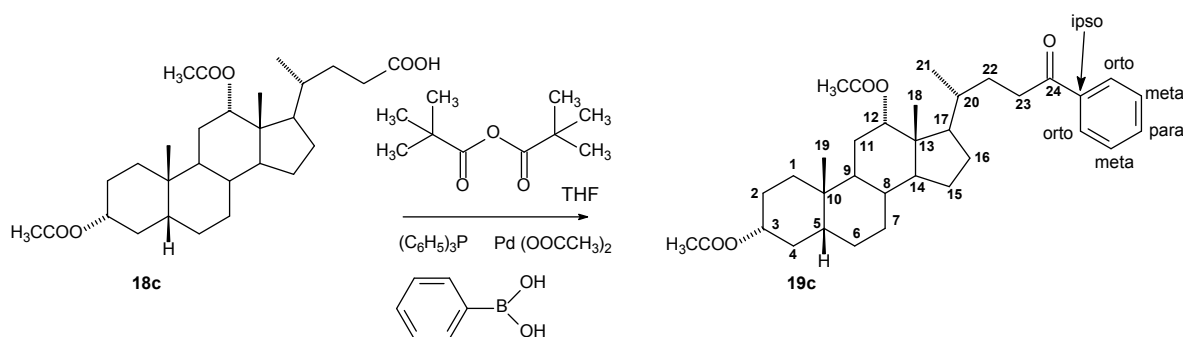


Esquema 10. Síntesis de la fenilcetona 19b

Se utilizó el procedimiento general para la síntesis de fenilcetonas esteroidales. Tiempo de reacción 24 horas; Rendimiento 61% (329.7 mg; 0.61 mmol), p.f. 120.6-122.2 °C (recristalizado de CH₂Cl₂). **¹H RMN (400 MHz; CDCl₃)** δ 7.97 – 7.92 (m; 2H; H-orto); 7.55 (t; *J* = 7.3 Hz; 1H; H-para); 7.45 (t; *J* = 7.5 Hz; 2H; H-meta); 5.14 (dt; *J* = 12.1; 4.7 Hz; 1H; H-6β); 4.70 (ddd; *J* = 15.9; 11.0; 4.6 Hz; 1H; H-3β); 2.98 (ddd; *J* = 15.2; 10.0; 5.0 Hz; 1H; H-23a); 2.93 – 2.84 (m; 1H; H-23b); 2.03 (s; 3H; CH₃ acetilo); 2.01 (s; 3H; CH₃ acetilo); 0.97 (d; *J* = 5.7 Hz; 3H; H-21); 0.97 (s; 3H; H-19); 0.65 (s; 3H; H-19). **¹³C RMN (100 MHz; CDCl₃)** δ 35.0 C-1; 26.4 C-2; 73.7 C-3; 26.2 C-4; 45.3 C-5; 70.9 C-6; 31.3 C-7; 34.6 C-8; 39.9 C-9; 36.0 C-10; 20.7 C-11; 39.9 C-12; 42.9 C-13; 56.2 C-14; 24.1 C-15; 28.2 C-16; 56.1 C-17; 12.0 C-18; 23.2 C-19; 35.5 C-20; 18.6 C-21; 30.4 C-22; 35.5 C-23; 200.9 C-24; 21.4; 21.4 CH₃ acetilo; 170.5; 170.5 C=O acetilo; 137.1 ipso fenilo; 132.8 para fenilo; 128.5 meta

fenilo; 128.0 orto fenilo. **EM** 373 (14); 297 (29); 296 (26); 255 (28); 253 (13); 228 (10); 213 (22); 173 (10); 161 (13); 159 (19); 147 (11); 145 (19); 133 (25); 131 (11); 121 (18); 120 (80); 119 (10); 107 (15); 105 (100); 95 (15); 93 (14); 81 (15); 77 (16).

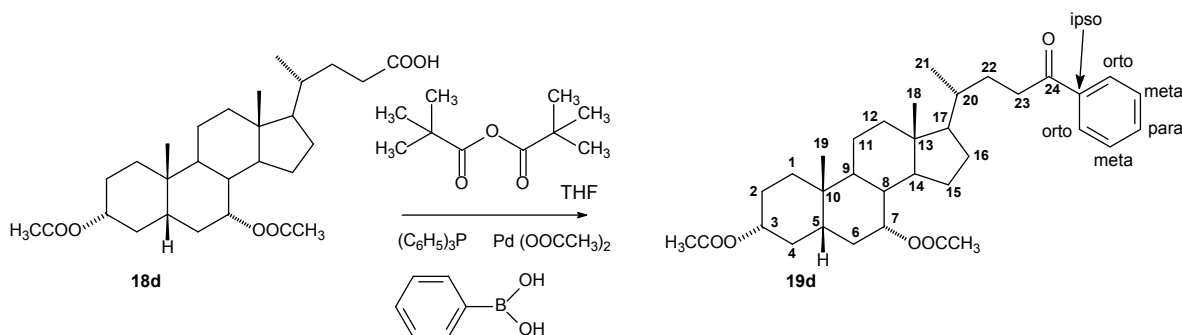
6.3.1.3. 3 α ,12 α -diacetoxi-24-fenil-5 β -colan-24-ona (19c)



Esquema 11. Síntesis de la fenilcetona 19c

Se utilizó el procedimiento general para la síntesis de fenilcetonas esteroidales. Tiempo de reacción 26 horas; Rendimiento 69% (359.6 mg; 0.69 mmol), p.f. 136.1-137.3 °C (recristalizado de benceno). **¹H RMN (400 MHz; CDCl₃)** δ 7.94 (ddd; J = 8.5; 2.2; 1.2 Hz; 2H; H-orto); 7.57 – 7.52 (m; 1H H-para); 7.48 – 7.42 (m; 2H; H-meta); 5.12 – 5.07 (m; 1H; H-12 β); 4.69 (ddd; J = 15.9; 11.2; 4.6 Hz; 1H; H-3 β); 2.97 (ddd; J = 14.9; 9.9; 4.9 Hz; 1H; H-23a); 2.92 – 2.80 (m; 1H; H-23b); 2.10 (s; 3H; CH₃ acetilo en 12); 2.02 (s; 3H CH₃ acetilo en 3); 0.90 (s; 3H; H-19); 0.87 (d; J = 6.3 Hz; 3H; H-21); 0.73 (s; 3H; H-18). **¹³C RMN (100 MHz; CDCl₃)** δ 34.7 C-1; 26.6 C-2; 74.2 C-3; 32.3 C-4; 41.8 C-5; 27.4 C-6; 25.9 C-7; 35.6 C-8; 34.4 C-9; 34.0 C-10; 26.9 C-11; 75.9 C-12; 45.1 C-13; 49.4 C-14; 23.5 C-15; 25.6 C-16; 47.9 C-17; 12.4 C-18; 23.1 C-19; 35.0 C-20; 17.9 C-21; 30.3 C-22; 35.6 C-23; 200.8 C-24; 21.4; 21.4 CH₃ acetilo; 170.5; 170.5 C=O acetilo; 137.1 ipso fenilo; 132.9 para fenilo; 128.6 meta fenilo; 128.0 orto fenilo. **EM** 416 (11); 356 (14); 315 (11); 298 (15); 297 (68); 296 (26); 283 (15); 256 (17); 255 (76); 253 (19); 213 (12); 201 (11); 187 (15); 173 (12); 161 (29); 160 (11); 159 (16); 147 (25); 145 (21); 135 (13); 134 (18); 133 (24); 131 (14); 121 (17); 120 (30); 119 (17); 109 (12); 107 (22); 106 (11); 105 (100); 95 (17); 93 (20); 91 (18); 81 (19); 79 (14); 77 (21); 67 (12); 55 (12).

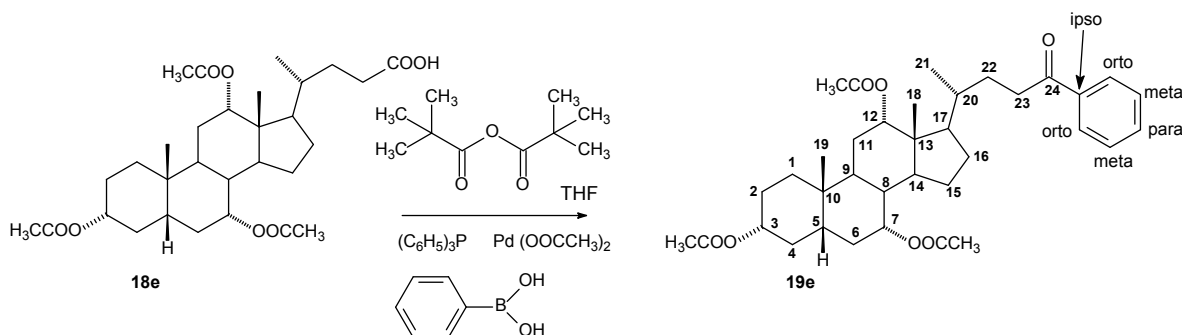
6.3.1.4. 3 α ,7 α -diacetoxi-24-fenil-5 β -colan-24-ona (19d)



Esquema 12. Síntesis de la fenilcetona 19d

Se utilizó el procedimiento general para la síntesis de fenilcetonas esteroidales. Tiempo de reacción 45 horas; Rendimiento 83% (431.8 mg; 0.83 mmol) p.f. 153.7-154.9 °C (recristalizado de CH₂Cl₂). **¹H RMN (400 MHz; CDCl₃)** δ 7.97 – 7.93 (m; 2H; H-orto); 7.54 (ddd; $J = 6.7; 3.9; 1.3$ Hz; 1H; H-para); 7.48 – 7.42 (m; 2H; H-meta); 4.87 (m; 1H; H-7 β); 4.58 (tt; $J = 11.4; 4.4$ Hz; 1H; H-3 β); 3.03 – 2.83 (m; 2H; H-23); 2.04 (s; 3H; CH₃ acetilo); 2.02 (s; 3H; CH₃ acetilo); 0.98 (d; $J = 6.3$ Hz; 3H; H-21); 0.93 (s; 3H; H-19); 0.66 (s; 3H; H-18). **¹³C RMN (100 MHz; CDCl₃)** δ 34.6 C-1; 26.8 C-2; 74.1 C-3; 34.9 C-4; 40.9 C-5; 31.3 C-6; 71.2 C-7; 37.9 C-8; 34.1 C-9; 34.8 C-10; 20.6 C-11; 39.5 C-12; 42.7 C-13; 50.4 C-14; 23.6 C-15; 28.1 C-16; 55.9 C-17; 11.7 C-18; 22.7 C-19; 35.5 C-20; 18.6 C-21; 30.4 C-22; 35.5 C-23; 200.9 C-24; 21.4; 21.6 CH₃ acetilo; 170.4; 170.6 C=O acetilo; 137.1 ipso fenilo; 132.8 para fenilo; 128.5 meta fenilo; 128.0 orto fenilo. **EM** 416 (25); 401 (23); 313 (10); 297 (24); 296 (20); 281 (11); 256 (11); 255 (53); 253 (25); 228 (14); 213 (30); 201 (20); 199 (11); 187 (11); 185 (12); 173 (13); 171 (14); 161 (19); 159 (21); 157 (12); 147 (16); 145 (24); 143 (11); 135 (11); 134 (10); 133 (28); 131 (18); 121 (15); 120 (36); 119 (18); 117 (11); 107 (17); 106 (13); 105 (100); 95 (16); 93 (19); 91 (23); 81 (18); 79 (18); 77 (26); 67 (12); 55 (15).

6.3.1.5. 3 α ,7 α ,12 α -triacetoxi-24-fenil-5 β -colan-24-ona (19e)



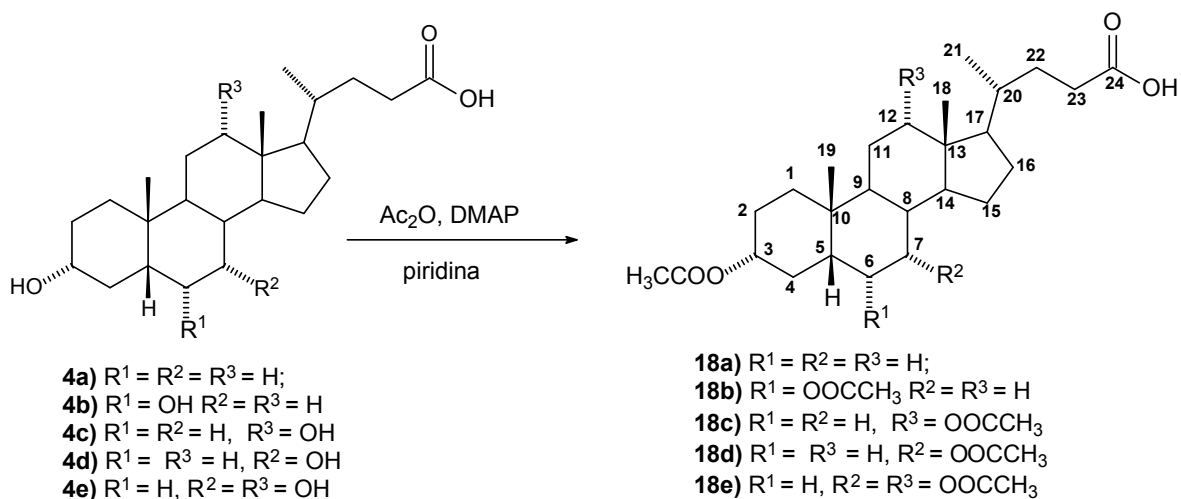
Esquema 13. Síntesis de la fenilcetona 19e

Se utilizó el procedimiento general para la síntesis de fenilcetonas esteroidales. Tiempo de reacción 45 horas; Rendimiento 77% (457.9 mg; 0.77 mmol) p.f. 106.2-108.4 °C (recristalizado de acetona). **¹H RMN (400 MHz; CDCl₃)** δ 7.94 (dd; J = 8.4; 1.3 Hz; 2H; H-orto); 7.58 – 7.53 (m; 1H; H-para); 7.49 – 7.42 (m; 2H; H-meta); 5.11 (m; 1H; H-12 β); 4.91 (m; 1H; H-7 β); 4.57 (ddd; J = 15.6; 11.3; 4.3 Hz; 1H H-3 β); 3.02 – 2.84 (m; 2H; H-23); 2.14 (m; 3H; CH₃ acetilo); 2.08 (s; 3H; CH₃ acetilo); 2.05 (s; 3H; CH₃ acetilo); 0.92 (s; 3H; H-19); 0.88 (d; J = 6.3 Hz; 3H; H-21); 0.74 (s; 3H; H-18). **¹³C RMN (100 MHz; CDCl₃)** δ 34.6 C-1; 26.9 C-2; 74.1 C-3; 34.7 C-4; 41.0 C-5; 31.3 C-6; 70.7 C-7; 37.8 C-8; 28.9 C-9; 34.3 C-10; 25.6 C-11; 75.4 C-12; 45.1 C-13; 43.4 C-14; 22.9 C-15; 27.3 C-16; 47.7 C-17; 12.3 C-18; 22.6 C-19; 34.9 C-20; 17.9 C-21; 30.3 C-22; 35.6 C-23; 200.8 C-24; 21.4; 21.5; 21.6 CH₃ acetilo; 170.4; 170.5; 170.5 C=O acetilo; 137.0 ipso fenilo; 132.9 para fenilo; 128.6 meta fenilo; 128.0 orto fenilo. **EM** 313 (16); 295 (16); 294 (12); 254 (19); 253 (91); 251 (15); 211 (12); 199 (12); 197 (11); 187 (12); 171 (13); 161 (15); 159 (18); 157 (15); 145 (18); 143 (17); 133 (11); 131 (11); 120 (19); 119 (11); 117 (12); 107 (15); 106 (10); 105 (100); 95 (11); 93 (15); 91 (19); 81 (14); 79 (15); 77 (30); 67 (11); 60 (11).

7. Discusión de resultados

7.1. Acetilación de ácidos biliares

Todos los intentos de acoplamiento realizados con los ácidos biliares con los grupos hidroxilo libres fueron infructuosos, presumiblemente debido a la reacción de estos con el anhídrido pivalico. Debido a lo anterior se decidió llevar a cabo la acetilación de estos grupos funcionales siguiendo la metodología comúnmente descrita que utiliza anhídrido acético y piridina además de una cantidad catalítica de DMAP (Esquema 14). La acetilación de las materias primas **4a-e** con anhídrido acético en piridina en presencia de DMAP, produjo los derivados acetilados correspondientes **18a-e** con rendimientos entre moderados y buenos (Tabla 5).



Esquema 14. Metodología general de acetilación de ácidos biliares.

Tabla 5. Rendimientos de derivados acetilados de ácidos biliares.

Material de partida	Producto	Rendimiento (%)
Ácido 3 α -hidroxi-5 β -colánico (4a)	18a	96
Ácido 3 α ,6 α -dihidroxi-5 β -colánico (4b)	18b	82
Ácido 3 α ,12 α -dihidroxi-5 β -colánico (4c)	18c	70
Ácido 3 α ,7 α -dihidroxi-5 β -colánico (4d)	18b	82
Ácido 3 α ,7 α ,12 α -trihidroxy-5 β -colánico (4e)	18e	67

7.1.1. Caracterización de los derivados acetilados 18a-e

Las modificaciones estructurales de los compuestos se realizaron únicamente sobre los carbonos del núcleo de ciclopentanoperhidrofenantreno que contienen grupos hidroxilo; por lo que la caracterización de estos se basó fundamentalmente en las señales que se vieron afectadas por los cambios estructurales introducidos; además de algunas otras características del núcleo esteroidal (Tablas 6 y 7).

La interpretación de las señales observadas en los experimentos de RMN para cada compuesto acetilado se llevó a cabo a partir de los trabajos que han reportado las características de RMN de ácidos biliares naturales y sintéticos no acetilados.^{8,50-51}

En particular la acetilación de los grupos hidroxilo puede verificarse en el espectro RMN protónico, por las señales asociadas a los protones unidos a los átomos de carbono portadores de los grupos acetoxilos que resuenan entre 4.57 y 5.14 ppm. Adicionalmente la presencia de las señales asociadas a los metilos de los grupos acetilo introducidos permite corroborar la transformación realizada (Tabla 6).

Tabla 6. Principales señales de RMN ¹H de los derivados acetilados **18a-e**.

	18a	18b	18c	18d	18e
H-3β	4.71 ddd J = 16.1, 11.2, 4.7 Hz	4.69 ddd J = 16.0, 11.2, 4.7 Hz	4.68 ddd J = 15.9, 11.3, 4.6 Hz	4.58 ddd J = 15.8, 11.2, 4.4 Hz	4.57 tt J = 11.3, 4.3 Hz
H-6β	-	5.14 dt J = 12.2, 4.8 Hz	-	-	-
H-7β	-	-	-	4.87 m	4.90 m
H-12β	-	-	5.06 m	-	5.08 m
H-18	0.64 s	0.64 s	0.71 s	0.64 s	0.72 s
H-19	0.92 s	0.96 s	0.88 s	0.92 s	0.91 s
H-21	0.92 d J = 6.3 Hz	0.91 d J = 6.4 Hz	0.80 d J = 6.4 Hz	0.92 d J = 5.9 Hz	0.82 d J = 6.4 Hz
CH₃ acetilo	2.02 s	2.01 s 2.03 s	2.01 s 2.08 s	2.02 s 2.04 s	2.04 s 2.08 s 2.13 s

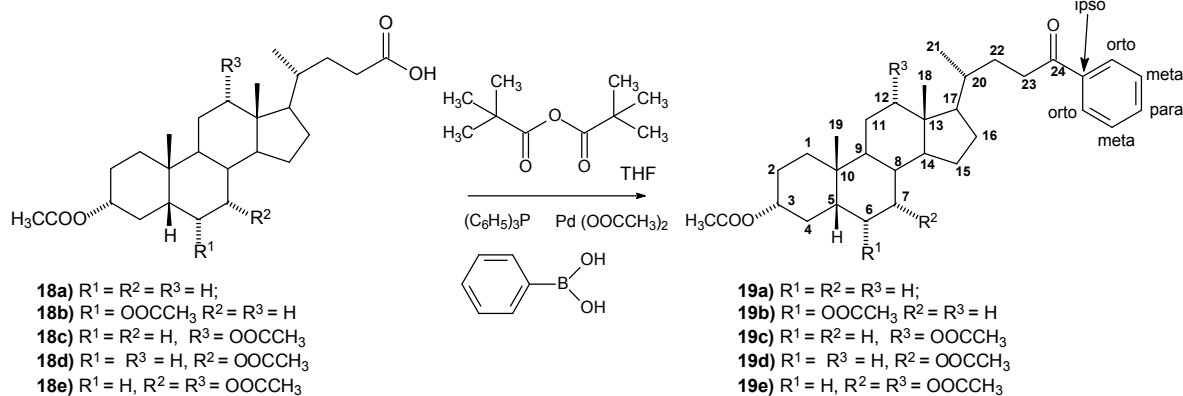
La RMN de ^{13}C aportó evidencias adicionales de las acetilaciones efectuadas. En general la acetilación de los grupos hidroxilo puede verificarse por las señales de los átomos de carbono portadores del grupo acetoxilo que resuenan entre 70.7 y 75.9 ppm. Adicionalmente las señales asociadas a los grupo carbonilo de los ésteres acéticos (170.4-170.7 ppm) además de las correspondientes a los metilos de los acetilos (21.3-21.6 ppm) permiten corroborar la presencia de los ésteres introducidos (Tabla 7).

Tabla 7. Principales señales de RMN ^{13}C de los derivados acetilados **18a-e**.

C#	18a	18b	18c	18d	18e
3	74.4	73.7	74.2	74.2	74.1
6	27.0	71.0	27.3	31.3	31.2
7	26.6	31.3	25.8	71.0	70.7
12	40.2	39.8	75.9	39.5	75.4
18	12.1	12.0	12.4	11.7	12.3
19	23.4	23.2	23.0	22.7	22.6
20	35.3	35.2	34.6	35.2	34.5
21	18.2	18.3	17.4	18.2	17.5
22	30.7	30.7	30.6	30.7	30.5
23	31.0	31.0	30.9	30.9	30.8
24	180.4	179.9	180.0	179.9	179.4
CH₃ acetilo	21.5	21.4; 21.4	21.3; 21.4	21.4; 21.6	21.4; 21.5; 21.6
C=O acetilo	170.7	170.5; 170.5	170.5; 170.6	170.5; 170.7	170.4; 170.5; 170.6

7.2. Acoplamiento entre ácidos borónicos y biliares

Para la modificación de la cadena lateral de los derivados acetilados **18a-e** se siguió una metodología que consiste en la transformación del carboxilo en la posición C-24 a una fenilcetona, mediante un acoplamiento cruzado de ácidos borónicos y ácidos carboxílicos, catalizado por paladio, en el que la función carboxílica es activada por el anhídrido piválico (Esquema 15).



Esquema 15. Metodología general para la síntesis de las fenilcetonas **19a-e**.

La aplicación de la metodología descrita por Gooßen y Ghosh⁵ al derivado acetilado **18a** produjo un rendimiento del 26 % de la correspondiente fenilcetona (**19a**) (Parte Experimental, Tabla 4, Entrada 1). Se llevó a cabo entonces un estudio que permitió establecer las condiciones más favorables para el acoplamiento cruzado (Tabla 4, Entradas 2 y 3). Con la metodología modificada se procedió a las síntesis de las fenilcetonas **19a-e** con rendimientos entre moderados y buenos (Tabla 8).

Tabla 8. Rendimientos de las síntesis de las fenilcetonas **19a-e**.

Material de partida	Producto	Rendimiento (%)
Ácido 3 α -acetoxi-5 β -colánico (18a)	19a	61
Ácido 3 α ;6 α -diacetoxi-5 β -colánico (18b)	19b	61
Ácido 3 α ;12 α -diacetoxi-5 β -colánico (18c)	19c	69
Ácido 3 α ;7 α -diacetoxi-5 β -colánico (18d)	19d	83
Ácido 3 α ;7 α ;12 α -triacetoxi-5 β -colánico (18e)	19e	77

Para estos productos las modificaciones estructurales se realizaron sobre la cadena lateral; por lo que se les dió relevancia a las señales que fueron modificadas por esos cambios; además de algunas otras propias del núcleo esteroidal.

7.2.1. Caracterización de las fenilcetonas 19a-e

Las fenilcetonas obtenidas pudieron identificarse por la presencia de señales características de RMN ^1H y ^{13}C asociadas al grupo carbonilo generado en C-24 y al anillo aromático introducido en la transformación realizada (Tablas 9 y 10).

En RMN de protones, la principal evidencia de la incorporación del grupo fenilo a la cadena lateral es la presencia de las señales de los protones aromáticos que resuenan entre 8.02 y 7.42 ppm. Adicionalmente las señales de los protones, situados en la posición alfa (C-23) de la función carbonílica (2.80-3.02 ppm) hacen evidente la transformación realizada (Tabla 9).

Tabla 9. Principales señales de RMN ^1H de las fenilcetonas **19a-e**.

	19a	19b	19c	19d	19e
H-3β	4.71 tt $J = 11.4; 4.8$ Hz	4.70 ddd $J = 15.9; 11.0; 4.6$ Hz	4.69 ddd $J = 15.9; 11.2; 4.6$ Hz	4.58 tt $J = 11.4; 4.4$ Hz	4.57 ddd $J = 15.6; 11.3; 4.3$ Hz
H-6β	-	5.14 dt $J = 12.1; 4.7$ Hz	-	-	-
H-7β	-	-	-	4.87 m	4.91 m
H-12β	-	-	5.12-5.07 m	-	5.11 m
H-18	0.65 s	0.65	0.73 s	0.66 s	0.74 s
H-19	0.92 s	0.65 s	0.90 s	0.93 s	0.92 s
H-21	0.98 d $J = 6.3$ Hz	0.97 d $J = 5.7$ Hz	0.87 d $J = 6.3$ Hz	0.98 d $J = 6.3$ Hz	0.88 d $J = 6.3$ Hz
H-23a	2.99 ddd $J = 16.3; 10.2; 5.0$ Hz	2.98 ddd $J = 15.2; 10.0; 5.0$ Hz	2.97 ddd $J = 14.9; 9.9; 4.9$ Hz	3.03-2.83 m	3.02-2.84 m
H-23b	2.88 ddd $J = 15.9; 9.6; 5.9$ Hz	2.93 – 2.84 m	2.92-2.80 m		
Orto	8.02-7.87 m	7.97 – 7.92 m	7.94 ddd $J = 8.5; 2.2; 1.2$ Hz	7.97-7.93 m	7.94 dd $J = 8.4$ Hz
Meta	7.48-7.43 m	7.45 m	7.48-7.42 m	7.48-7.42 m	7.49-7.42 m
Para	7.57-7.52 m	7.55 m	7.57-7.52 m	7.54 ddd $J = 6.7; 3.9; 1.3$ Hz	7.58-7.53 m
CH₃ acetilo	2.02 s	2.03 s 2.01 s	2.10 s 2.02 s	2.04 s 2.02 s	2.14 s 2.08 s 2.05 s

En RMN de ^{13}C los principales indicadores de la conversión del grupo carboxilo en la agrupación fenilcetona, son la sustitución de la señal carboxílica característica de los ácidos biliares acetilados (179.4-180.4 ppm) por la señal asociada al grupo carbonilo introducido (200.8-201.0 ppm). La introducción del grupo fenilo puede corroborarse por la presencia de las señales de los carbonos aromáticos ipso (137.0-137.1 ppm), orto (128.0 ppm), meta (128.5-128.6 ppm) y para (132.8-132.9 ppm) (Tabla 10).

Tabla 10. Principales señales de RMN ^{13}C de las fenilcetonas **19a-e**.

C#	19a	19b	19c	19d	19e
3	74.4	73.7	74.2	74.1	74.1
6	27.0	70.9	27.4	31.3	31.3
7	26.6	31.3	25.9	71.2	70.7
12	40.2	39.9	75.9	39.5	75.4
18	12.0	12.0	12.4	11.7	12.3
19	23.3	23.2	23.1	22.7	22.6
20	35.5	35.5	35.0	35.5	34.9
21	18.6	18.6	17.9	18.6	17.9
22	30.5	30.4	30.3	30.4	30.3
23	35.5	35.5	35.6	35.5	35.6
24	201.0	200.9	200.8	200.9	200.8
Ipso	137.1	137.1	137.1	137.1	137.0
Orto	128.0	128.0	128.0	128.0	128.0
Meta	128.5	128.5	128.6	128.5	128.6
Para	132.8	132.8	132.9	132.8	132.9
CH₃ acetilo	21.4	21.4; 21.4	21.4; 21.4	21.4; 21.6	21.5; 21.6; 21.4
C=O acetilo	170.6	170.5; 170.5	170.5; 170.5	170.6; 170.4	170.5; 170.5; 170.4

Los estudios de Difracción de Rayos X llevados a cabo en monocristales de los compuestos **19c** y **19d** permitieron corroborar las estructuras propuestas (Figura 13).

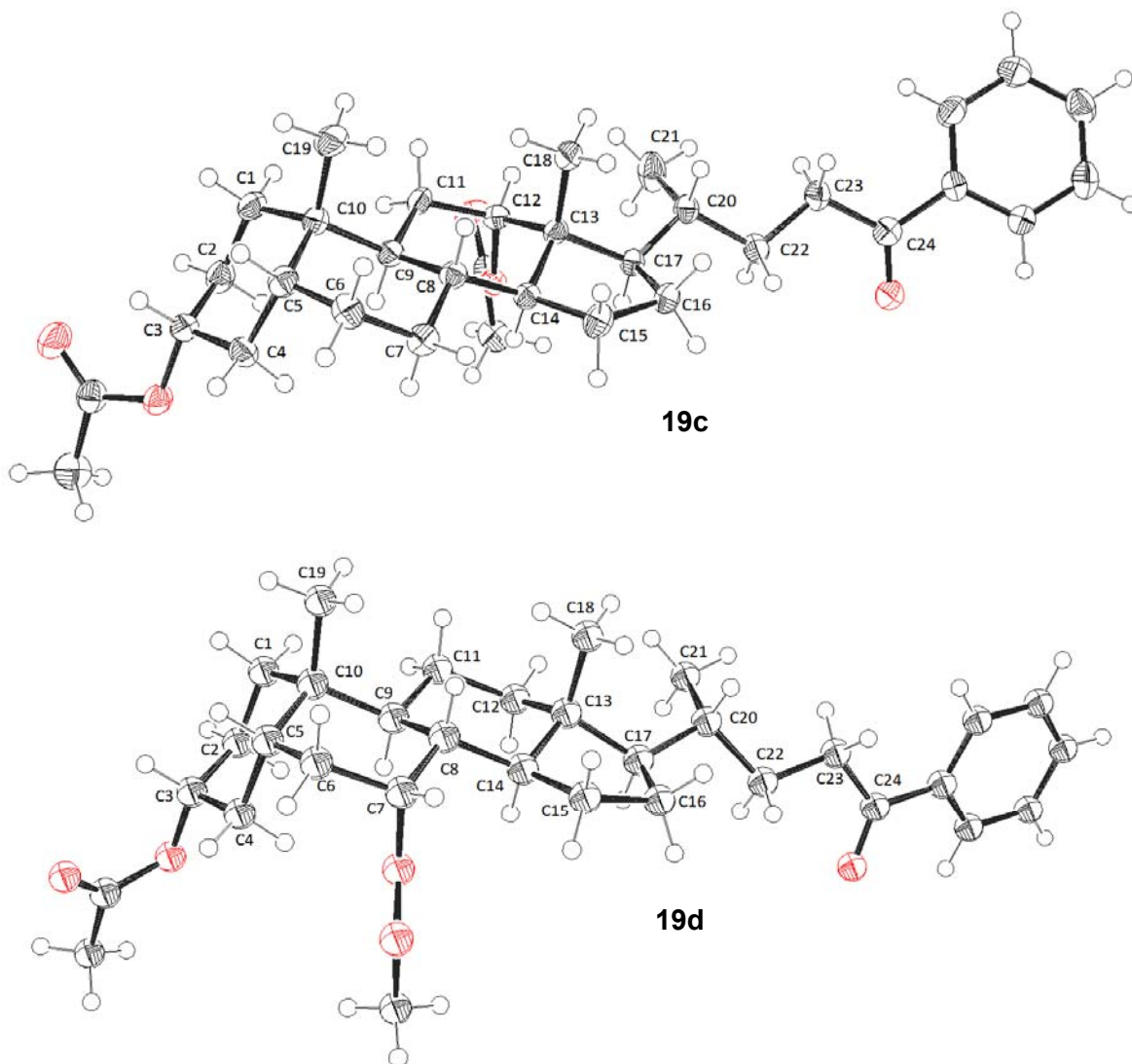
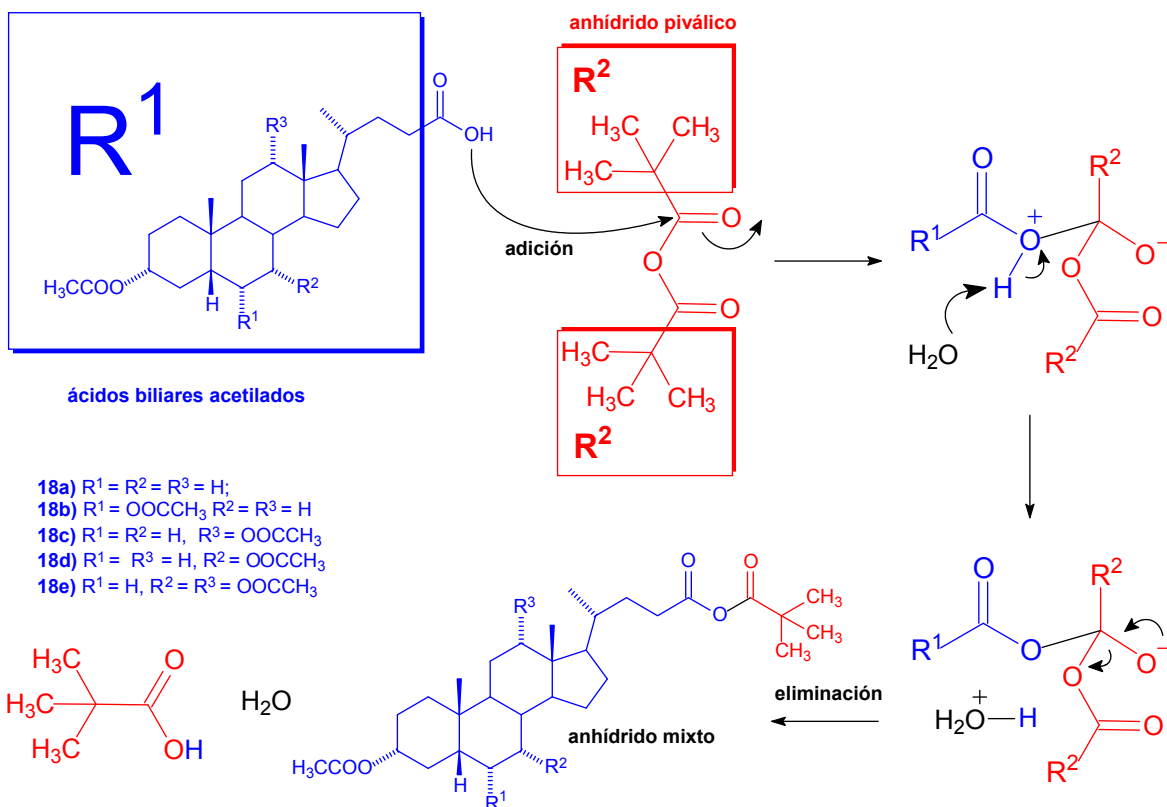


Figura 13. Estructuras cristalinas de la fenilketonas **19c** (superior) y **19d** (inferior) con los elipsoides térmicos trazados al 50% de probabilidad.

7.2.2. Mecanismo de reacción

El proceso de acoplamiento está precedido por la formación de un anhídrido mixto que garantiza la activación del grupo carboxilo del ácido biliar. La formación del anhídrido mixto transcurre a través de los procesos de adición y eliminación característicos del mecanismo clásico de sustitución nucleofílica a derivados de ácido, en este caso el anhídrido pivalico (Esquema 16).



Esquema 16. Formación del anhídrido mixto

Gooßen y Ghosh⁵ demostraron que para que se produzca el anhídrido mixto es imprescindible la presencia de H_2O , hecho que hace suponer la participación de ésta en la sustracción del protón de la función carboxílica una vez producida la adición.

El mecanismo de la reacción de acoplamiento puede ser explicado como un ciclo catalítico (Figura 14) donde están involucradas las tres reacciones siguientes:

1. Adición oxidativa del anhídrido mixto (R^1CO) O (OCR^2) al catalizador generando el intermedio [R^1CO [PdL_2] O (OCR^2)]. En este paso que involucra la formación de un enlace paladio-carbono, el estado de oxidación del paladio cambia formalmente de Pd(0) a Pd(II).

2. Transmetalación: Ocurre la transferencia del grupo fenilo desde el boro hacia el paladio produciendo la especie de paladio $R^1CO-[PdL_2]$ -fenilo
3. Eliminación reductiva del paladio liberando el producto de acoplamiento R^1CO -fenilo y recuperándose el catalizador $Pd(0)$ que se incorpora de nuevo al ciclo.

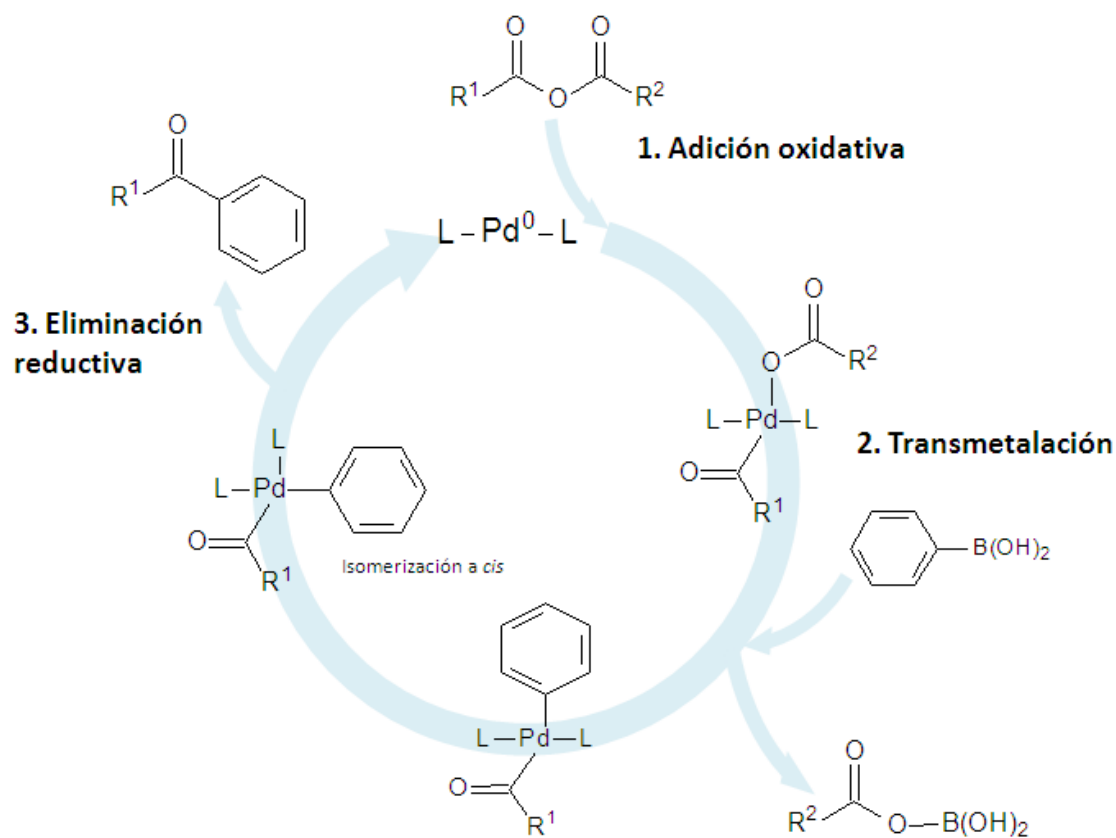
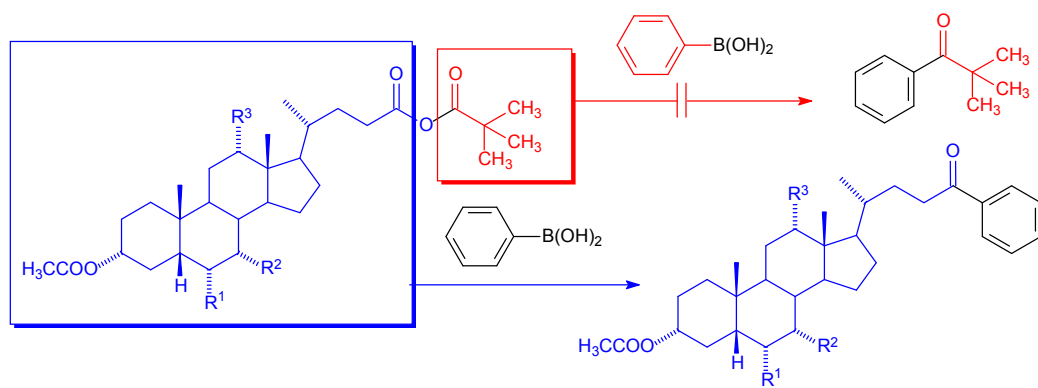


Figura 14. Ciclo catalítico para el acoplamiento de ácidos borónicos y biliarés.⁵

Aunque podría esperarse que el acoplamiento ocurra sobre cualquiera de los dos carboxilos del anhídrido mixto, el hecho de que uno de éstos tenga como sustituyente un grupo *ter*-butilo -que es muy voluminoso- hace que la reacción se dirija hacia la formación de la cetona sobre el carboxilo estéricamente menos impedido, que en el presente caso es el proveniente del ácido biliar (Figura 16).



a) $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{R}^3 = \text{H}$; b) $\text{R}^1 = \text{OOCCH}_3$ $\text{R}^2 = \text{R}^3 = \text{H}$; c) $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{H}$, $\text{R}^3 = \text{OOCCH}_3$; d) $\text{R}^1 = \text{R}^3 = \text{H}$, $\text{R}^2 = \text{OOCCH}_3$; e) $\text{R}^1 = \text{H}$, $\text{R}^2 = \text{R}^3 = \text{OOCCH}_3$

Figura 16. Selectividad de la reacción de acoplamiento

8. Conclusiones

El tratamiento de los ácidos biliares acetilados **18a-e** con anhídrido piválico, ácido fenilborónico y trifenilfosfina, en presencia de agua y una cantidad catalítica de acetato de paladio, produce rendimientos entre moderados y buenos de las correspondientes fenilcetonas esteroidales **19a-e** que fueron caracterizadas mediante diferentes técnicas espectroscópicas.

El procedimiento de acoplamiento utilizado y optimizado en el presente trabajo, constituye una alternativa eficiente para la síntesis de fenilcetonas derivadas de diferentes ácidos biliares, que permite evitar los inconvenientes asociados al método clásico de Friedel-Crafts.

9. Bibliografía

1. Ahonen; K.V.; Lahtinen; M.K.; Valkonen; A. M.; Dracinsky; M.; Kolehmainen; E.T *Steroids* **2011** 76; 261–268.
2. Silless; G.E.; Knott; M.E.; Derita; M.G.; Zacchino; S.A.; Puricelli; L.; Palermo; G.A. *Steroids*; **2012**; 77; 41-51.
3. Gooßen; L. J.; Ghosh; K. *Angew. Chem.* **2001**; 113; 3566-3568.
4. Gooßen; L. J.; Ghosh; K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**; 40; 3458-3460.
5. Gooßen; L. J.; Ghosh; K. *Eur. J. Org. Chem.* **2002**; 3254-3267.
6. Kuhajda K.; Kandrak J.; Kevresan S.; Mikov M.; J.P.; F. *Eur. J. Drug Metabol. Pharmacokinet.* **2006**; 31; 135-143.
7. Monte; M. J.; Marin; J. J.; Antelo; A.; Vazquez-Tato; J. *World J. Gastroenterol.* **2009**; 15; 804-816.
8. Setchell; K. D. R.; Kritchevsky; D.; Nair; P. P.; *The Bile Acids*. Plenum Press. New York; **1971**; Vol. 1; p 1-25; 249-283.
9. Shoppee; C. W.; *Chemistry of the steroids*. Butter Worths Scientific Publications. London; **1958**; p 79-90.
10. Hofmann; A. F.; Hagey; L. R. *Cell. Mol. Life Sci.***2008**; 65; 2461-2483.
11. Qiao; X.; Ye; M.; Liu; C.-f.; Yang; W.-z.; Miao; W.-j.; Dong; J.; Guo; D.-a. *Steroids* **2012**; 77; 204-211.
12. Fini; A.; Roda; A.; Fugazza; R.; Grigolo; B. *J. Solution Chem.***1985**; 14; 595-603.
13. Roda; A.; Hofmann; A. F.; Mysels; K. J. *J. Biol. Chem.***1982**; 258; 6362-6370.
14. Alemi; F.; Poole; D. P.; Chiu; J.; Schoonjans; K.; Cattaruzza; F.; Grider; J. R.; Bunnett; N. W.; Corvera; C. U. *Gastroenterology* **2013**; 144; 145-154.
15. Jung; D.; Inagaki; T.; Gerard; R. D.; Dawson; P. A.; Kliwer; S. A.; Mangelsdorf; D. J.; Moschetta; A. *J. Lipid Res.* **2007**; 48; 2693-2700.
16. Cannon; B.; Nenergaard; J. *Physiol. Rev.* **2004**; 84; 277–359.
17. Kevresan S.; K. K.; Kandrak J.; Fawcett J.P.; Mikov M. *Eur. J. Drug Metabol. Pharmacokinet.* 2006; 31; 145-156.
18. Kandrak; J.; S. Kevresan; Gu; J. K.; Mikov; M.; Fawcett; J. P.; Kuhajda; K. *Eur. J. Drug Metabol. Pharmacokinet.* **2006**; 31; 157-177.

19. Lemos; T. L. G.; McChesney; J. D. *J. Nat. Prod.***1990**; 53; 152-156.
20. Parra; A. I. R. *Rev. Colom. Obstet. y Ginecol.***2004**; 55; 167-173.
21. Pines; S. H. *Org. Process Res. Dev.***2003**.
22. Nonappa; Maitra; U. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**; 3331-3336.
23. Nonappa; Maitra; U. *Steroids* **2010**; 75; 506-512.
24. Iida; T.; Hikosaka; M.; Kakiyama; G.; Shirashi; K.; Schteingart; C.D.; Hagey; L. R.; Ton-Nu; H.-T.; Hofmann; A. F.; Mano; N.; Goto; J.; Nambara; T. *Chem. Pharm. Bull.* **2002**; 50; 1327.
25. Breslow; R. *Acc. Chem. Res.* **1980**; 13; 170
26. Mukhopadhyay; S.; Maitra; U. *Org. Lett.***2004**; 6; 31-34.
27. Matsuoka; K.; Suzuki; M.; Honda; C.; Endo; K.; Moroi; Y. *Chem. Phys. Lipids* **2006**; 139; 1-10.
28. Huibers; P. D. T.; Lobanov; V. S.; Katritzky; A. R.; Shah; D. O.; Karelson; M. *J. Colloid Interface Sci.* **1997**; 187; 113–120.
29. Poša; M. *Steroids* **2011**; 76; 85-93.
30. Maitra; U.; Babu; P. *Steroids* **2003**; 68; 459-463.
31. Tesis: Edelsztejn; V. C.; Universidad de Buenos Aires; **2010**.
32. Davis; A. P. *Molecules* **2007**; 12; 2106-2122.
33. *Steroid Dimers: Chemistry and Applications in Drug Design and Delivery*; Sarker; S.; Nahar; L.; John Wiley & Sons: United Kingdom; **2012**; pp 470-500.
34. Tesis: Álvarez Alcalde; M.; Universidad de Santiago de Compostela; **2007**.
35. Tamminen; J.; Kolehmainen; E. *Molecules* **2001**; 6; 21-46.
36. Opsenica; D.; Pocsfalvi; G.; Juranić; Z.; Tinant; B.; Declercq; J.-P.; Kyle; D. E.; Milhous; W. K.; Šolaja; B. A. *J. Med. Chem.***2000**; 43; 3274–3282.
37. Hanson; J. R. *Nat. Prod. Rep.***2010**; 27; 887-899.
38. Salvador; J. A. R.; Carvalho; J. F. S.; Neves; M. A. C.; Silvestre; S. M.; Leitão; A. J.; Silva; M. M. C.; Sá e Melo; M. L. *Nat. Prod. Rep.***2013**; 30; 324–374.
39. Mikov M.; F. J. P.; Kuhajda K.; Kevresan S. *Eur. J. Drug Metabol. Pharmacokinet.* **2006**; 31; 237-251.
40. DeLange; R. J.; Glazer; A. N. *Arch. Biochem. Biophys.***1990**; 276; 19-25.

41. Iglesias Arteaga; M. A.; Pérez Gil; R.; Coll Manchado; F. *CENIC Ciencias Químicas* **1996**; 27; 3-12.
42. Zhou; W.-S. *Pure Appl. Chem.* **1989**; 61; 431-434.
43. *Studies in Natural Products Chemistry. Structure and Chemistry (Part E)*; Attar-Rahman; Elsevier; Amsterdam; The Netherlands; **1997**; Vol. 19; pp. 245–287.
44. Kuhajda K.; K. S.; Kandrak J.; Fawcett J.P.; Mikov M. *Eur. J. Drug Metabol. Pharmacokinet.* **2006**; 31; 179-235.
45. Pathak; A.; Rajput; C. S.; Bora; P. S.; Sharma; S. *Tetrahedron Lett.* **2013**; 54; 2149-2150.
46. Qin; C.; Chen; J.; Wu; H.; Cheng; J.; Zhang; Q.; Zuo; B.; Su; W.; Ding; J. *Tetrahedron Lett.* **2008**; 49; 1884-1888.
47. de Luna Martins; D.; Aguiar; L. C. S.; Antunes; O. A. C. *J. Organomet. Chem.* **2011**; 696; 2845-2849.
48. Prajapati; S.; Mishra; A. P.; Srivastava; A. *IJPCBS* **2012**; 2; 52-62.
49. L. Liebeskind; J. Srogl; *J. Am. Chem. Soc.* **2000**; 122; 11260 -11261
50. Dias; J. R.; Gao; H.; Kolehmainen; E. *Spectrochim. Acta A* **2000**; 56; 53-77.
51. Blunt, J. W.; Stothers, J. B. *Org. Magn. Resonance* **1977**, 9, 439-464.