



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y CENTRO DE QUÍMICA-INSTITUTO DE
CIENCIAS
POSGRADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

SINTESIS DE NUEVOS *B/S*-ESTEROIDES A PARTIR DE SAPOGENINAS
ESTEROIDALES USANDO METODOLOGIAS VERDES

Tesis que para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas en el área de Química
Orgánica

Presenta:

M. en C. Gabriel Guerrero Luna

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Jesús Sandoval Ramírez

CO-DIRECTOR DE TESIS:

Dra. Ma. Guadalupe Hernández Linares

Junio de 2022

Este trabajo de tesis doctoral fue desarrollado en el Laboratorio de Investigación del Jardín Botánico Universitario de la BUAP, bajo la dirección del Dr. Jesús Sandoval Ramírez y la co-dirección de la Dra. María Guadalupe Hernández Linares. Agradezco al CONACyT (No. de becario: 573785) y al ICUAP el apoyo para la realización de esta tesis.



Parte de este trabajo de tesis de doctorado fue presentado en los siguientes foros académicos:

1. **LatinXChem Twitter Conference 2021** que se llevó a cabo en Sept. 20, 2021 con los trabajos titulados:
 - a. Selective Steroid Oxidation: Pursuing Anabolic Activity
 - b. Regioselective opening of the bisapogenins side chain
2. **60th Annual Meeting of the Phytochemical Society of North America, 2021**, la cual se llevará a cabo en modalidad virtual, del 25 al 30 de julio de 2021, con el trabajo en cartel titulado:
 - a. *Synthesis of a new amidosteroid from diosgenin and evaluation of its antiproliferative effect in breast and cervical cancer cell lines.*
3. **XVI Reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica**, la cual se llevó a cabo en modalidad virtual, del 19 al 23 de abril de 2021, con la presentación de los siguientes trabajos en modalidad cartel en plataforma Twitter:
 - a) Síntesis de dímeros esteroidales: control en el autoensamble en disolución.
 - b) Oxidación de esteroides: nuevas alternativas de esteroides con actividad anabólica.
4. **LatinXChem Twitter Conference 2020** con el poster titulado: "Self-assembling bisteroids: shape control" que se llevó a cabo el 7 de septiembre de 2020.
5. **XV Reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica**, la cual se llevó a cabo en Cuernavaca, Morelos., del 08 al 12 de abril de 2019, con la presentación de los siguientes trabajos en modalidad cartel:
 - a) Síntesis de nuevos derivados 22-oxocolesterolos hidroximínicos y evaluación de la actividad antimicrobiana frente a cepas resistentes
 - b) Síntesis de nuevos derivados i-esteroidales espiroestánicos y la evaluación de su actividad antimicrobiana.
6. **57th Annual Meeting of the Phytochemical Society of North America**, la cual se llevó a cabo en San Luis Potosí, del 4 al 8 de agosto de 2018, con los trabajos en cartel titulados:
 1. Partial synthesis of steroidal oximes from saponins of *Dioscorea mexicana* and their antiproliferative activity.
 2. Development of a green methodology for the extraction of saponins from *Dioscorea mexicana*.
7. **XIV Reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica**, la cual se llevó a cabo en Mérida, Yucatán, del 19 al 23 de marzo de 2018, con la presentación de los siguientes trabajos en modalidad cartel: Obtención de nuevos bis-esteroides con tereftalato como grupo espaciador.
8. **53 Congreso Mexicano de Química**, el cual se llevó a cabo en Ciudad de México, México, del 2 al 5 de octubre de 2018, con la presentación de los siguientes trabajos en modalidad oral y cartel:
 - a) Síntesis de nuevas oximas 22-oxocolestánicas con posible actividad antiproliferativa

Artículos arbitrados:

1. Martínez-Gallegos, A.; Guerrero-Luna, G.; Ortiz-González, A.; Cárdenas-García, M. Bernès, S.; Hernández-Linares, M.G. Azasteroids from diosgenin: Synthesis and evaluation of their antiproliferative activity, *Steroids* **2021**, 166, 108777 doi: <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2020.108777>.
2. Guerrero-Luna, G.; Reyes-Melchor, J.; Bernès, S.; Hernández-Linares, M.G. Diosgenin-3,6-dione: second polymorph in space group P212121. *IUCrData* **2020** 5, x201200. <https://doi.org/10.1107/S2414314620012006>

3. Guerrero-Luna, G.; Hernández-Linares, M.G.; Bernès, S.; Carrasco-Carballo, A.; Montalvo-Guerrero, D.; Fernández-Herrera, M.A.; Sandoval-Ramírez, J. Mesoscale Assembly of Bisteroidal Esters from Terephthalic Acid. *Molecules* **2020**, *25* (5), 1213. <https://doi.org/10.3390/molecules25051213>

Patentes:

Otorgada:

- Escalamiento a nivel multigramos para la obtención del acetato de la oxima de 23-acetildiosgenina. **Título de PATENTE No. 380559.**

En trámite:

- Diseño, ensamble y uso de un nanocristalizador de flujo continuo. MX/A/2019/015234.
- Uso de (25R)-3b-acetoxi-7-aza-B-homo-5-espirosten-7-ona (17) como agente anticancerígeno en cáncer de mama y colon. MX/E/2021/088399.
- Uso de (25R)-4-aza-5-espirosten-3-ona como agente anticancerígeno en cáncer cérvicouterino y de mama. MX/E/2021/088409.

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN	1
1.1	Esteroides.	1
1.2	Principales familias de esteroides.	2
1.2.1	Saponinas	2
1.3	Sapogeninas esteroidales.	3
2	ANTECEDENTES.	6
2.1	Modificaciones de las sapogeninas. Cadena lateral y anillos A-D.	6
2.2	Biesteroides.	11
2.3	Dímeros con conexión Anillo A – Anillo A.	12
2.3.1	Conexión directa.	12
2.3.2	Conexión a través de grupos espaciadores.	14
2.4	Lineales.	15
2.5	Compuestos esteroidales autoensamblables (<i>self-assembly behaviour</i>)	19
2.6	Metodologías y tecnologías facilitadoras. Química verde.	21
3	OBJETIVOS	25
3.1	Objetivo General.	25
3.2	Objetivos Particulares.	25
4	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	26
4.1	Obtención de bi-23-acetilsapogeninas.	45
4.2	Estabilidad térmica de ésteres biesteroides de ácido tereftálico	59
4.3	Autoensamblaje de los biesteroides estimulado por disolventes.	65
4.4	Análisis de Superficie por Fisorción.	73
4.4.1	Adsorción física o fisorción:	74
4.5	Apertura de la cadena lateral de bisapogeninas y bi-23-acetilsapogeninas.	76
4.5.1	Caracterización del bifurosteno 69a.	82
4.6	Tecnologías Verdes y Facilitadoras en Síntesis Orgánica.	88
4.6.1	Uso de microondas focalizado para la síntesis de dímeros esteroidales.	88
4.7	Uso de flujo continuo para la síntesis de dímeros esteroidales y sus precursores.	91
4.8	Biesteroides con oxalildihidrazina como grupo espaciador.	95
4.8.1	Oxidación de diosgenina para obtener diosgenona 75.	95
4.8.2	Epoxidación esterosselectiva del acetato de diosgenina (80).	97

4.8.3	Apertura del β -epóxido 81 para obtener el diol <i>trans</i> -diaxial 82.	98
4.8.4	Oxidación del triol de diosgenina. Obtención de dicetonas A/B.	104
4.8.5	Obtención del Acetato de 7-Oxo-diosgenina.	116
4.9	Formación de biesteroides con oxalildihidrazona como grupo espaciador.	121
5	DESARROLLO EXPERIMENTAL	134
5.1	Equipos y técnicas utilizadas.	134
5.2	Disolventes y Materias Primas.	136
5.3	Procedimientos generales. Preparación y Caracterización Estructural de Ésteres Biesteroides del Ácido Tereftálico.	137
5.4	Modificación de la cadena lateral y obtención de precursores de biesteroides.	138
5.4.1	Obtención del derivado epoxicolesténico 4a.	138
5.5	Regeneración del espirocetal sapogenínico en medio básico. Obtención de la 23(<i>r</i>)-acetildiosgenina.	139
5.5.1	Caracterización de la 23(<i>R</i>)-acetildiosgenina (8a).	139
5.5.2	(23 <i>S</i>)-acetilhecogenina (8b)	140
5.6	Procedimiento general. Preparación y Caracterización Estructural de Ésteres Biesteroidales del Ácido Tereftálico.	141
5.6.1	Bicolesteril tereftalato (72).	141
5.6.2	Bicolestan-3-il tereftalato (73).	142
5.6.3	Bidiosgeninil 1,4-tereftalato (66a).	142
5.6.4	Bihecogeninil 1,4-tereftalato (66b).	143
5.6.5	Bisarsasapogeninil tereftalato (66c).	143
5.6.6	Bi-(23 <i>R</i>)-23-acetildiosgeninil tereftalato (67a).	144
5.6.7	Bi-(23 <i>R</i>)-acetilhecogeninil tereftalato (67b).	145
5.7	Procedimiento general. Preparación de Ésteres Biesteroidales del Ácido Tereftálico por Irradiación de Microondas.	145
5.8	Procedimiento general. Preparación y Caracterización Estructural de Biesteroides con Cadena Lateral Pseudocolestánica con Anhídrido Mixto (AATFA).	146
5.8.1	Acetato de Bi-(25 <i>R</i>)-furosta-5,20(22)-dien-3 β ,26-diil-1,4-tereftalato.	147
5.9	Procedimiento general. Preparación y Caracterización de Biesteroides Furosténicos por Apertura de la Cadena Lateral de Bisapogeninas.	147
5.9.1	Bifurosteno (69a).	148
5.10	Procedimiento general. Reacciones en Microrrector de Flujo Continuo Syrris.	149
5.10.1	(25 <i>R</i>)-22-oxocolest-4-en-26-hidroxi-3,6-diona (75a).	149
5.10.2	Diacetato de 22-oxocolest-26OH-3 $\square$ 16 $\square$ -diil-2,4-dien-6-ona (75b).	150
5.11	Modificación de los anillos A y B para obtener precursores de biesteroides.	150

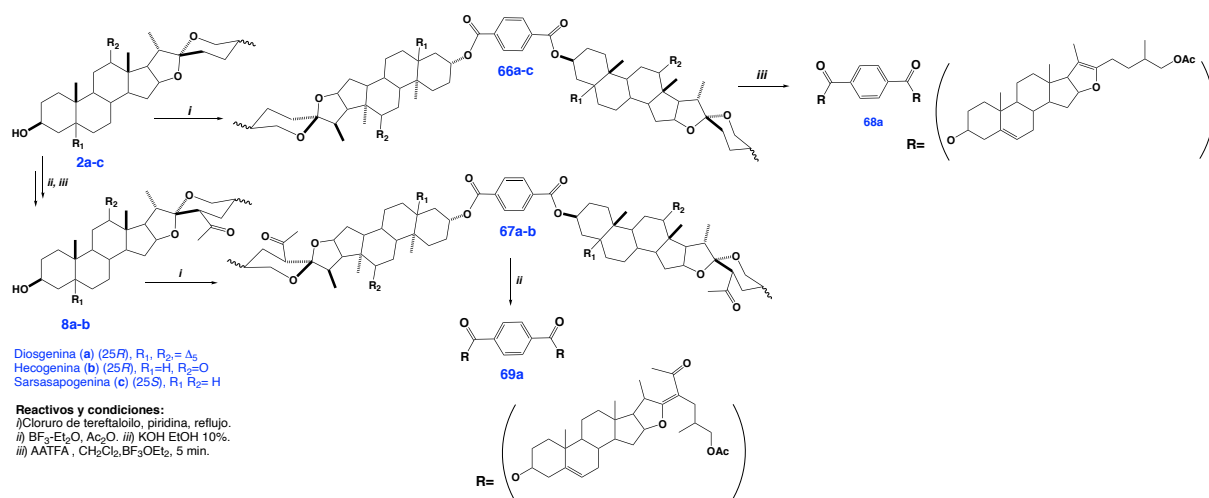
5.11.1	Síntesis de diosgenona. _____	150
5.11.2	Obtención del acetato de diosgenina. _____	151
5.11.3	Obtención del epóxido- β a partir de acetato de diosgenina. _____	152
5.11.4	Apertura del epóxido β del acetato de diosgenina (81). _____	153
5.11.5	Oxidación del Triol de diosgenina 112. _____	154
5.11.6	Oxidación del triol 82 de diosgenina. _____	155
5.11.7	Oxidación de diosgenina. Obtención de la 3,6-diona. _____	156
5.11.8	Obtención de (25R)-3 β -acetoxi-7-oxo-diosgenina (76). _____	157
5.11.9	(25R)-3 β -acetoxi-7-oxo-diosgenina (76). _____	158
5.12	Procedimiento general. Preparación y Caracterización Estructural de biesteroides con oxalildihidrazina como grupo espaciador. _____	159
5.12.1	Caracterización de Bi-(25R)-espirost-4-en-3-dioxalildihidrazona. _____	160
5.12.2	Caracterización de Bi-(25R)-espirost-4-en-3-oxo-6-dioxalildihidrazona. _	161
5.12.3	Caracterización de Bi-(25R)-espirost-6-en-7-dioxalildihidrazona. _____	162
5.13	Procedimiento general para el análisis del comportamiento de Autoensamblaje de biesteroides. _____	163
6	CONCLUSIONES _____	164
7	ANEXOS _____	168
8	BIBLIOGRAFIA _____	176

ABREVIATURAS.

<i>ax</i>	Axial
BS	Brasinoesteroide
δ	Desplazamiento químico en RMN
Δ	Doble enlace
Δ_r	Calentamiento a reflujo
KOAc	Carbonato de Potasio
CSA	Comportamiento <i>self-assembly</i>
<i>c</i>	Señal cuádruple
COSY	Espectroscopía de correlación (C orrelation S pectroscopy)
<i>d</i>	Señal doble (en datos de RMN)
<i>dc</i>	Señal doble de cuádruple
<i>dd</i>	Señal doble de doble
<i>ddd</i>	Señal doble de doble de doble
DBU	1,8-Diazabicyclo[5,4,0]undec-7-eno
DMAP	4-(<i>N,N</i> -Dimetilamino)piridina
DMF	Dimetilformamida
<i>ec</i>	Ecuatorial
EMAR	Espectrometría de masas de alta resolución
HMBC	Correlación heteronuclear a múltiples enlaces (H eteronuclear M ultiple B ond C orrelation)
HSQC	Espectroscopía de Correlación Heteronuclear de Cuanto Único (H eteronuclear S ingle Q uantum C orrelation)
<i>m</i> -CPBA	Ácido <i>m</i> -cloroperoxibenzoico
MeOHd ₄	Metanol deuterado
<i>p</i> -TsCl	Cloruro de <i>p</i> -toluensulfonilo
μ g	Picogramos
POM	Polioxometalato
Py	Piridina
Pyd ₅	Piridina deuterada
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RXP	Rayos X de Polvos
<i>s</i>	Señal simple
SEM	Scanning Electron Microscope
<i>t</i>	Señal triple
TEM	Transmission Electron Microscope
<i>m</i>	Señal múltiple
<i>t. a.</i>	Temperatura ambiente
THF	Tetrahidrofurano
TLC	Cromatografía en capa fina
TMS	Tetrametilsilano
TsOH	Ácido <i>p</i> -toluensulfónico
Ts	Grupo tosil

RESUMEN

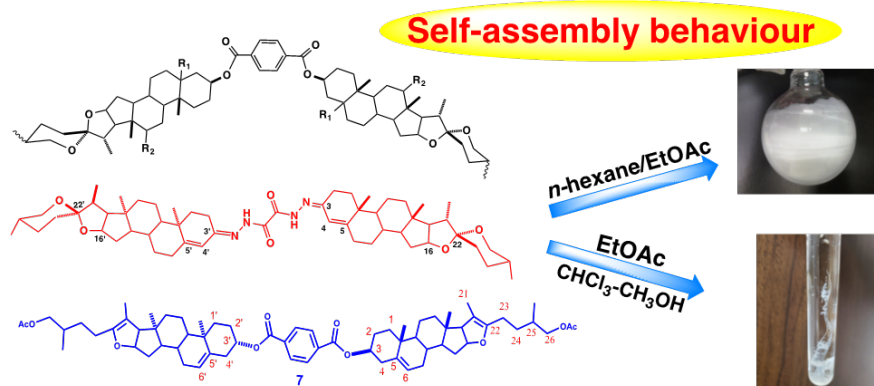
En el presente trabajo de tesis de doctorado se presentan nuevas series de biesteroides utilizando dos grupos espaciadores, a partir de esteroides y sapogeninas como sustratos. Se prepararon dímeros esteroidales con altos rendimientos empleando diésteres de ácido tereftálico como puentes en las posiciones esteroidales 3β , $3'\beta$. También se obtuvieron los biesteroides con el grupo oxalildihidrazina como espaciador, mediante la reacción de condensación con cetonas en posiciones 3, $3'$; $7,7'$, y $6,6'$. Por otra parte, se realizó la apertura regioselectiva de la cadena lateral de los derivados bisapogeninas, conduciendo la obtención de los derivados bifurosténicos y bipseudosapogeninas. La obtención de estos biesteroides y sus precursores, también se ensayó mediante el uso de metodologías de química verde como las microondas y la química de flujo continuo, con excelentes resultados y mejores condiciones de reacción menos contaminantes.



Esquema A.

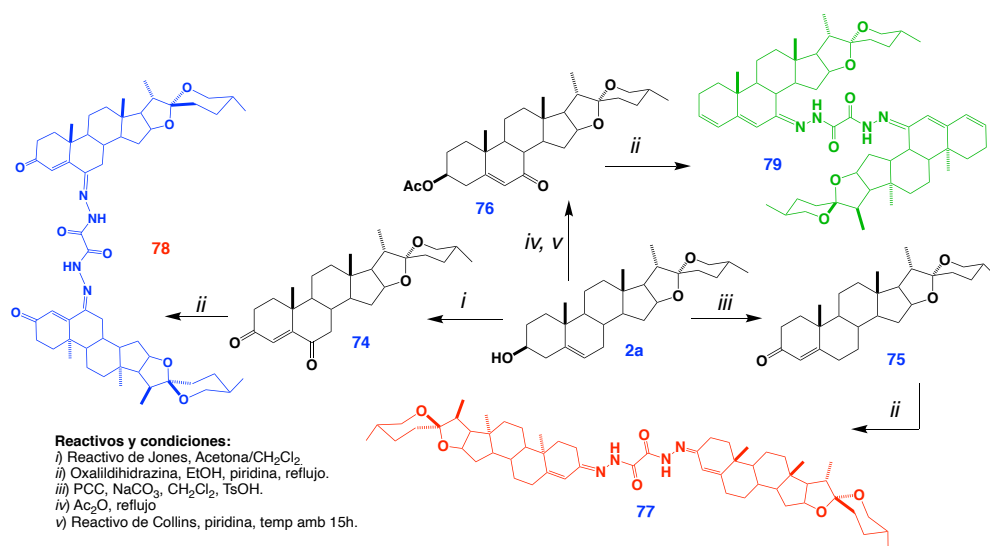
En todos los intentos de cristalizar biesteroides, se observó que los compuestos tendían a autoorganizarse en solución, lo que se detectó al emplear varios sistemas de disolventes. Las interacciones no covalentes (van der Waals) de las fracciones esteroidales de esta serie de biesteroides simétricos, la polaridad de los sistemas de disolventes y las diferentes solubilidades de los agregados biesteroides inducen a las moléculas a autoensamblarse en estructuras supramoleculares con buena organización definida. Los resultados obtenidos en este trabajo de tesis muestran que las estructuras autoensambladas para los derivados biesteroidales dependen del sistema solvente

utilizado como se argumenta en el apartado de discusión de resultados. Con base en la caracterización por TEM, SEM y XRD, obtuvimos evidencia de que el fenómeno de autoensamblaje de los biesteroides ocurre presentando diferentes morfologías dependiendo del solvente utilizado. Los nuevos derivados de dímeros esteroides se caracterizaron por RMN, TGA, DSC, TEM, SEM, DRX y XRD. Finalmente, la estructura molecular de un bisteroide fue confirmada por análisis de Rayos X de monocristal.



Esquema B.

Estos derivados cetónicos fueron materias primas para la obtención de biesteroides oxalildihidrazona, los cuales se obtuvieron en buenos rendimientos. En el caso del biesteroide de la diosgenin-3,6-diona, se obtuvo como producto mayoritario el biesteroide unidos a través de las posiciones 6 de cada unidad esteroidal. El biesteroide de la diosgenin-7-ona no pudo evitar la eliminación del acetato en el C-3, debido a la estabilidad extra que consigue de la formación de un sistema conjugado (Esquema C).

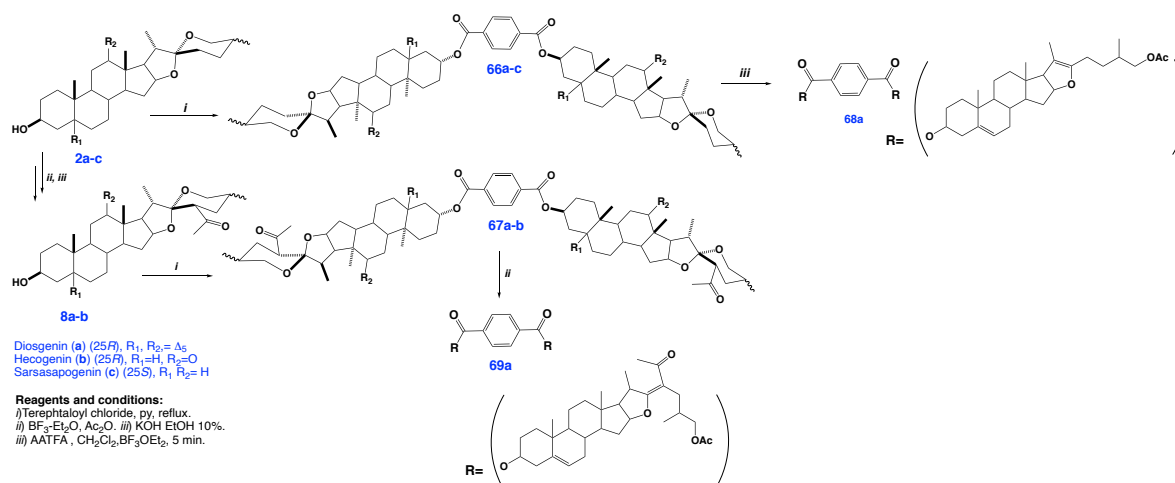


Esquema C.

Los biesteroides oxalildihidrazona obtenidos presentaron comportamiento *self-assembly* provocado por el disolvente, el cual fue caracterizado por la formación de un gel o estructuras como listones o membranas según el tipo de disolvente. Se encontró una relación directa entre la constante dieléctrica del disolvente y su capacidad de provocar la autoorganización de los biesteroides en determinada forma (hebras o membranas impermeables) en sinergia con las interacciones de Van der Waals entre los grupos hidrófobos esteroidales.

ABSTRACT

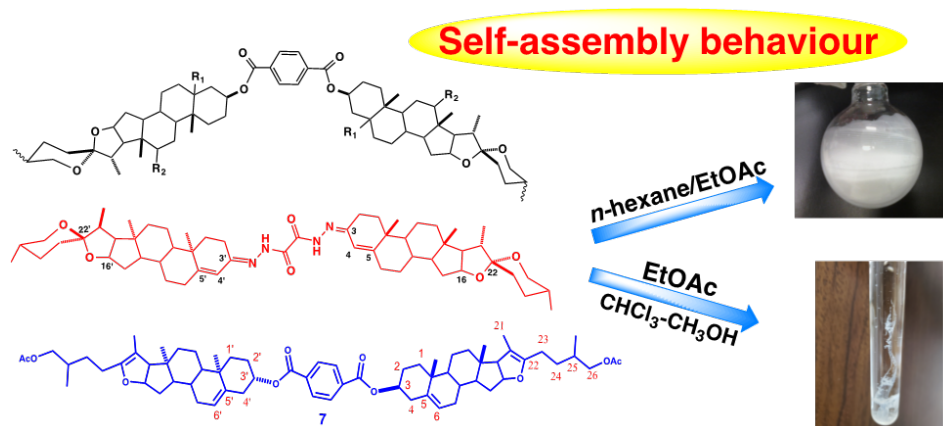
A new series of bisteroidal esters was synthesized using a spacer group, sterols and sapogenins as substrates. Steroidal dimers were prepared in high yields employing diesters of terephthalic acid as linkages at the 3 β , 3' β steroidal positions. Bisteroids with the oxalyldihydrazine group as spacer were also obtained by condensation reaction with ketones in positions 3, 3'; 7.7', and 6.6'. On the other hand, the regioselective opening of the side chain of bisapogenin derivatives was carried out, leading to the obtaining of bifurostenic and bipseudosapogenin derivatives. Obtaining these bisteroids and their precursors was also tested using green chemistry methodologies such as microwaves and continuous flow chemistry, with excellent results and better, less polluting reaction conditions.



Scheme A.

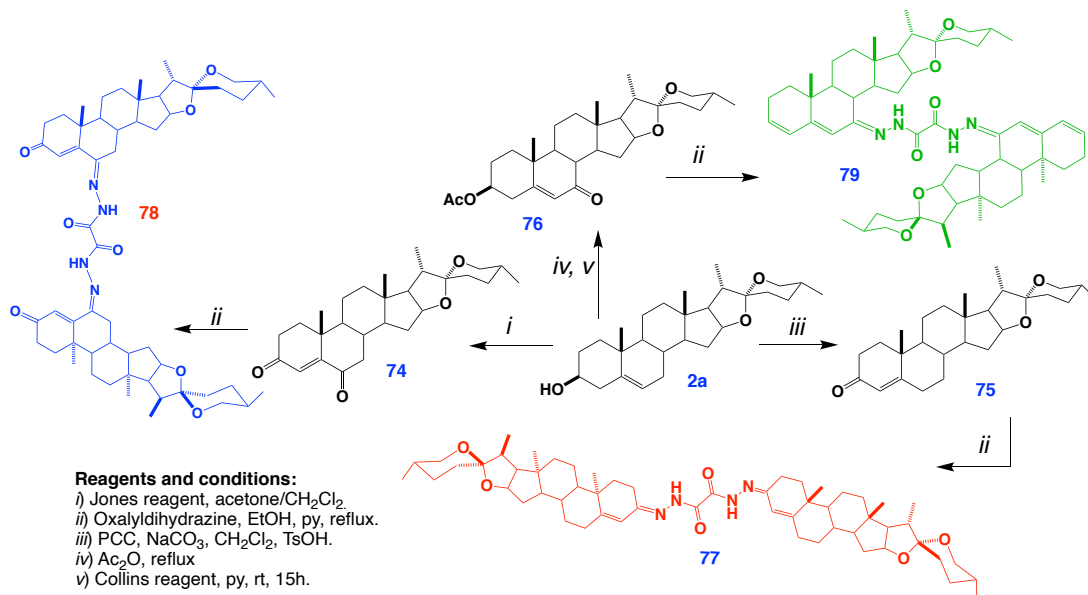
In all attempts to crystallize bisteroids, it was observed that the compounds tended to self-organize in solution, which was detected when employing various solvent systems. The non-covalent interactions (van der Waals) of the steroidal moieties of this series of symmetrical bisteroids, the polarity of the solvents systems, and the different solubilities of the bisteroid aggregates, indeed induce the molecules to self-assemble into supramolecular structures with well-defined organization. Our results show that the self-assembled structures for the bisteroidal derivatives depend on the solvent system used: with hexane/EtOAc, membrane-shaped structures were obtained, while pure EtOAc afforded strand-shaped arrangements. In the CHCl₃/CH₃OH system, thin strands were formed, since van der Waals interactions are lowered in this system, as a consequence of the increased

solubility of the bisteroids in CHCl_3 . Based on the characterization by SEM and XRD, we show evidence that the phenomenon of self-assembly of bisteroids occurs presenting different morphologies depending on the solvent used. The new steroidal dimer derivatives were characterized by NMR, TGA, DSC, SEM and XRD. Finally, the molecular structure of one bisteroid was confirmed by single-crystal X-ray analysis.



Scheme B.

These ketone derivatives were raw materials for obtaining oxalyldihydrazone bisteroids, which were obtained in good yields. In the case of the bi-steroid of diosgenin-3,6-dione, the bi-steroid linked through the 6-positions of each steroid unit was obtained as the main product. Diosgenin-7-one bisteroid could not prevent the elimination of acetate at C-3, due to the extra stability it gets from the formation of a conjugated system (Scheme C).



Scheme C.

The oxalyldihydrazone bisteroids obtained showed self-assembly behavior caused by the solvent, which was characterized by the formation of a gel or structures such as ribbons or membranes depending on the type of solvent. A direct relationship was found between the dielectric constant of the solvent and its ability to cause the self-organization of the bisteroids in a certain way (strands or impermeable membranes) in synergy with the Van der Waals interactions between the steroidal hydrophobic groups.

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Esteroides.

Estructuralmente, un esteroide es una molécula de lípido que tiene un esqueleto de carbono con cuatro anillos fusionados; tres anillos de ciclohexano fusionados, conocidos como fenantreno, se fusionan con un anillo de ciclopentano.¹ Se encuentran presentes en células animales y vegetales, donde realizan funciones biológicas esenciales de gran importancia, encontrándose involucrados en diversos procesos bioquímicos y con función estructural, tal como el colesterol (Figura 1).¹ Cuando son administrados a otros organismos pueden causar efectos fisiológicos, puesto que tienen la habilidad de atravesar las membranas celulares y asociarse con diversos receptores.

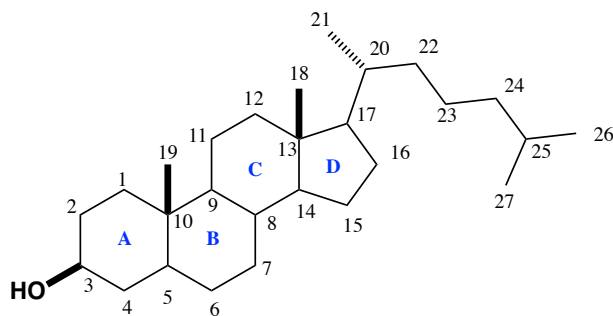


Figura 1.- Estructura del colesterol y numeración del esqueleto esteroideal.

Los esteroides, por definición, son aquellos compuestos que poseen el esqueleto el núcleo ciclopenta[a]fenantreno o un esqueleto derivado de éste mediante rupturas, alargamientos ó contracciones de los anillos; generalmente presentan grupos metilo en C-10 y C-13 y una cadena alquílica puede estar presente en C-17. En la Figura 1, se muestra la numeración para los esteroides dada por la IUPAC.² Los esteroides presentan generalmente diversas funciones oxigenadas.³

1.2 Principales familias de esteroides.

1.2.1 Saponinas

Los esteroides se clasifican en diversas familias que poseen similitudes estructurales; entre los esteroides más importantes están las hormonas sexuales, ácidos biliares, corticosteroides, vitaminas D, hormonas de crecimiento vegetal y animal, alcaloides esteroidales y saponinas.⁴

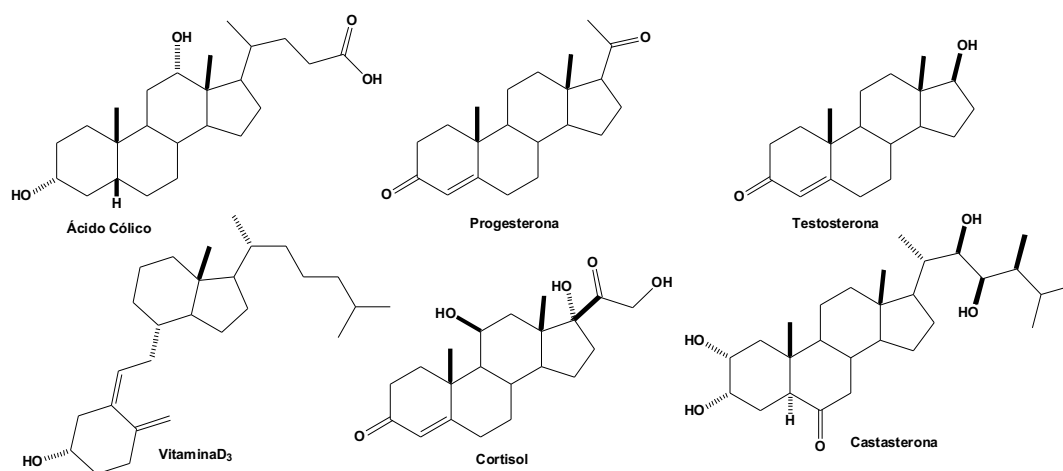
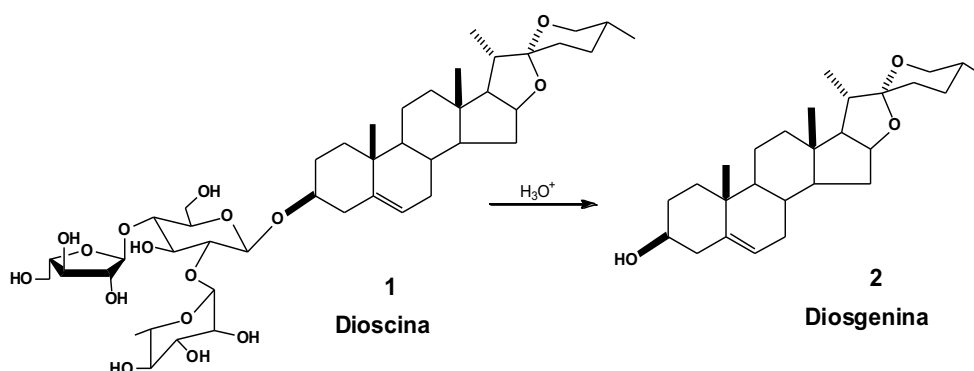


Figura 2. Esteroides representativos.

Estructuralmente, las saponinas están conformadas por dos partes, una sacárida y otra sapogenínica (aglicona) que puede ser triterpénica o esteroidal. Un ejemplo de saponinas esteroidales es la dioscina (Esquema 1).



Esquema 1. Hidrólisis ácida de dioscina.

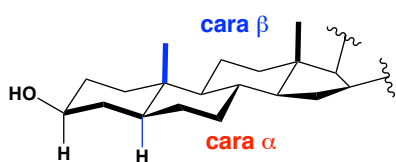
Las saponinas se han aislado de diversos órganos vegetales; se han encontrado numerosas saponinas esteroidales en las familias de las monocotiledóneas, especialmente en las dioscoreáceas (*Dioscorea*), agaváceas (*Agave*, *Yucca*) y liliáceas (*Smilax* y *Trillium*). Por ejemplo, la parrillina está presente en la raíz de la *Sarsaparrilla mexicana* y la dioscina (1) en los tubérculos de la *Dioscorea composita* (Figura 3).



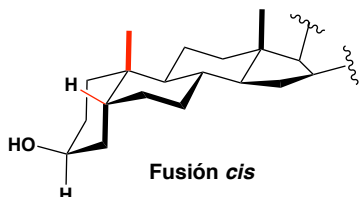
Figura 3. Fuentes naturales de saponinas (liliáceas, dioscoreáceas y agaváceas).

1.3 Sapogeninas esteroidales.

La aglicona de las saponinas puede ser de naturaleza triterpénica o esteroidal, mejor conocida como sapogenina. Las sapogeninas esteroidales se clasifican como colestánicas, espiroestánicas y furoestánicas,⁵ siendo las más comunes las del tipo espiroestánico. El término espiroestano tiene su origen en la cadena lateral, constituida por dos anillos unidos en un solo átomo de carbono a través de un puente cetálico que involucra las posiciones



Fusión trans



Fusión cis

Figura 4. Fusión A/B trans, A/B cis del esteroide.

C-16, C-22 y C-26 y es responsable de un grupo de reacciones específicas y características de este grupo cetálico.

La mayoría de los espiroestanos conocidos pertenecen a la serie 5 α (fusión A/B trans) y una minoría a la serie 5 β (fusión A/B cis); algunos tienen insaturaciones en C-5 como la diosgenina, que es una de las principales materias primas para la obtención de hormonas; además pueden encontrarse grupos hidroxilo en las posiciones 2, 6, 12, 15 y 17. Por lo

general, las sapogeninas presentan 3 centros estereogénicos adicionales a los comprendidos en una estructura colestánica: el 16S, 22S y en C-26. Las sapogeninas esteroidales se numeran como se observa en la Figura 4. Estos compuestos llaman la atención considerablemente ya que presentan una amplia gama de propiedades farmacológicas por lo que se han desde siglos atrás en la medicina tradicional y últimamente en la industria farmoquímica. En los años 1940's se desarrolló una amplia investigación sobre la fertilidad en el ser humano, y se llegó a establecer que ésta depende fundamentalmente de ciertos compuestos esteroidales tales como las hormonas sexuales. Se confirió gran atención a la progesterona debido a su utilización en la terapia médica en el tratamiento de varios desórdenes menstruales y en la prevención de ciertos tipos de aborto y control natal. Sin embargo, su obtención resultaba costosa, lo cual repercutía en su precio, hecho que impedía su uso generalizado. Las sapogeninas surgieron en el panorama mundial en los años 40's cuando Marker⁶ (Figura 5) produjo grandes cantidades de progesterona a partir de diosgenina, a través de un proceso en cinco etapas. Esa misma transformación fue posible realizarla en otras sapogeninas y resultó ser la clave para preparar hormonas sexuales y análogos.

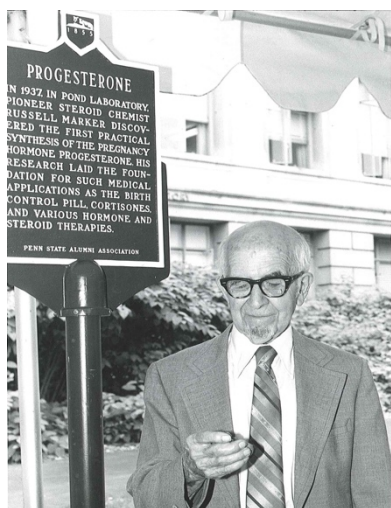


Figura 5. Marker en Pensilvania

Fue así, que este acontecimiento culminó en el surgimiento de la industria mexicana de esteroides, cuyo desarrollo se facilitó debido a la abundancia de fuentes de sapogeninas, las cuales fueron explotadas generando grandes beneficios económicos, aunque no a nuestro país. Contrariamente a lo que podría pensarse, la investigación de la reactividad de la cadena lateral espirocetálica de las sapogeninas no está concluida; se puede encontrar en la literatura en fechas recientes, reportes de nuevas transformaciones de la cadena lateral de las sapogeninas esteroidales⁷ que han abierto diferentes caminos a la generación de nuevos agentes

terapéuticos y agroquímicos.

Incluso cambios menores en las funcionalidades unidas al esqueleto de esteroides pueden conducir a cambios significativos en sus actividades biológicas y farmacológicas.⁸ Es por eso que, los químicos sintéticos siempre nos hemos interesados en realizar modificaciones estructurales de los esteroides para optimizar sus propiedades biológicas y

farmacológicas o para descubrir nuevas propiedades y aplicaciones. Los dímeros de esteroides son uno de esos grupos de esteroides modificados que son bien conocidos por su arquitectura rígida -una de sus principales ventajas- la variabilidad de sustitución y su similitud con las estructuras naturales. El uso de esteroides en la construcción de sistemas moleculares más grandes se puede documentar principalmente en ácidos biliares, principalmente por su costo relativamente bajo y por su ventajosa funcionalización con grupos hidroxilo con diferente reactividad.⁹ El ácido biliar más disponible, el ácido cólico, tiene una configuración 5 β , lo que significa que el esqueleto esteroideal es "plano" con respecto a la conexión en *trans* de los anillos A y B (Figura 6). Además, el ácido cólico tiene la cadena lateral de cinco carbonos y se conecta a través del carboxilo terminal, que introduce flexibilidad en torno a la eventual conexión con otra unidad esteroideal que conduce a la obtención de oligómeros.

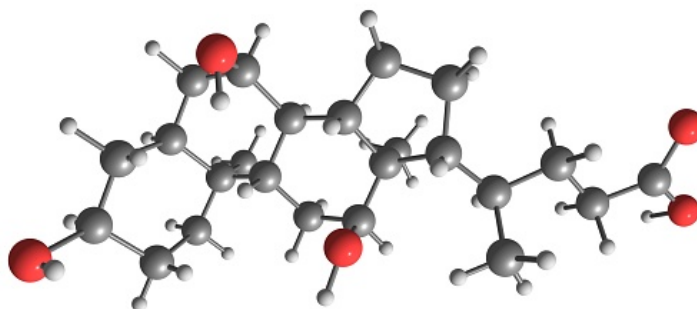


Figura 6. Estructura del ácido cólico en 3D.

Se han sintetizado varios dímeros de esteroides a lo largo de los años y los dímeros acíclicos que involucran conexiones entre los anillos A, B, C o D, directos o a través de espaciadores, forman el grupo principal de tales moléculas. Estos dímeros también se conocen como "dímeros lineales".

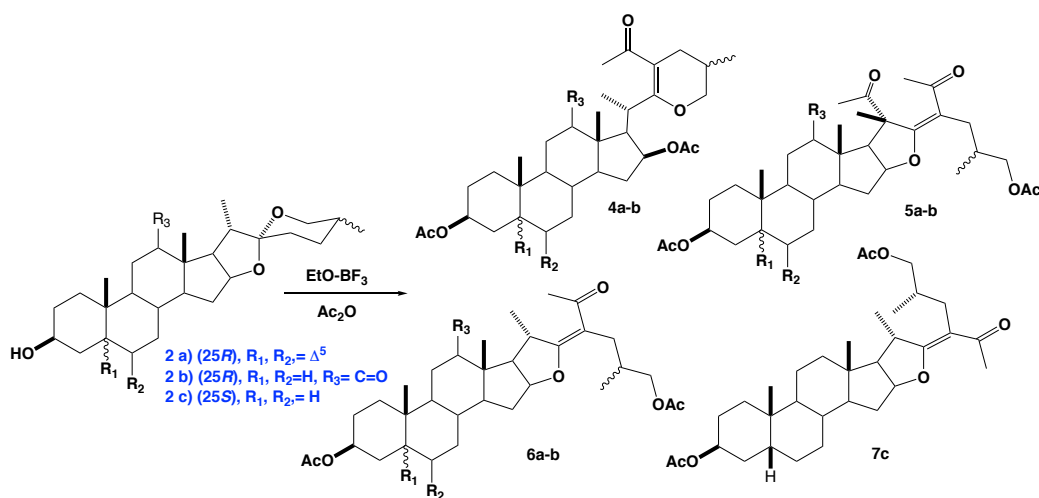
En este trabajo doctoral, a partir de sapogeninas se hizo uso de metodologías verdes y/o facilitadoras para la síntesis de los compuestos biesteroidales y sus precursores, para optimizar energía, insumos y evitar en lo posible la emisión de contaminantes al ambiente.

2 ANTECEDENTES.

2.1 Modificaciones de las sapogeninas. Cadena lateral y anillos A-D.

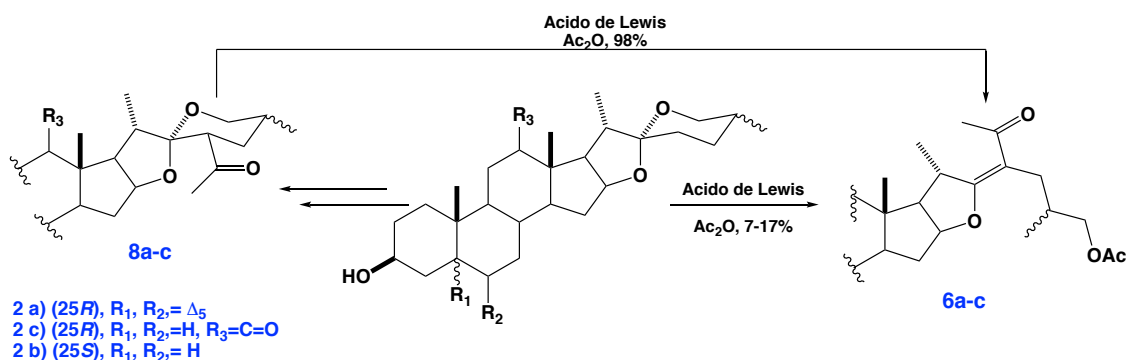
Las sapogeninas esteroidales son probablemente la familia más relevante de esteroides utilizados por los químicos para la síntesis orgánica. Muchos de los compuestos derivados de sus transformaciones las han identificado como una estructura privilegiada en química medicinal y predominan en una variedad de compuestos naturales y sintéticos farmacológicamente activos de gran relevancia, como los antiinflamatorios y anticonceptivos. Desde que se sintetizaron los primeros esteroides en la década de los 30's, se ha trabajado para obtener nuevas estructuras con propiedades importantes en varios ámbitos a nivel industrial. A pesar de que hubo un cese en cuanto a reportes de investigaciones relacionados con la química de esteroides -sobre todo con respecto a la cadena lateral- desde hace dos décadas, la modificación de la cadena lateral ha sido reestudiada por diversos grupos de investigación.¹⁰ Los reportes de los últimos años ponen de manifiesto que el tema de los esteroides tiene mucho por aportar, por lo que se han publicado trabajos relevantes al respecto.

Sandoval y colaboradores, han reportado la transformación de las cadenas laterales de la diosgenina (**2a**), hecogenina (**2b**) y la sarsasapogenina (**2c**) obteniendo los correspondientes derivados furosténicos y epoxicolectánicos por apertura de la cadena espirocetálica sapogenínica en medio ácido como se observa en el Esquema 2.



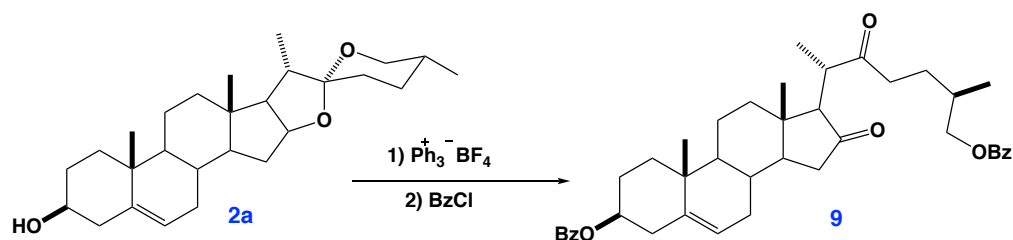
Esquema 2. Apertura regioselectiva de la cadena lateral de las sapogeninas **2**.

La metodología desarrollada por este grupo de investigación, ha permitido el estudio detallado de la reactividad de la cadena lateral. Así, cuando se trata a la 23-acetilsapogenina **8a-c** bajo condiciones de acetólisis,¹¹ da lugar a una apertura selectiva del anillo F de la sapogenina, generando el derivado furosténico de 33 átomos de carbono correspondiente (**6a-c**) en rendimientos mayores, con la formación de una cadena lateral conteniendo una cetona α,β -insaturada en C-23 (Esquema 3).



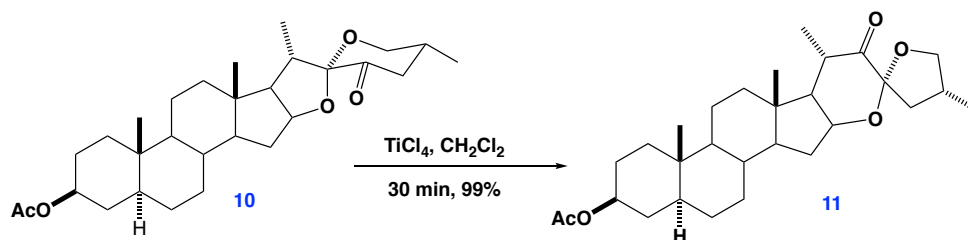
Esquema 3. Obtención de derivados 23-sustituídos de las sapogeninas **2**.

En la reacción entre el tetrafluoroborato de tritilo y el espirocetal sapogenínico de la diosgenina conduce al núcleo de la kriptogenina **9** (Esquema 4).¹² En las condiciones de reacción mostradas se efectúa la apertura del anillo E formándose un alcoholato en C-16; para la formación de la cetona correspondiente debe ocurrir una migración del hidruro en C-16 hacia el catión tritilo.



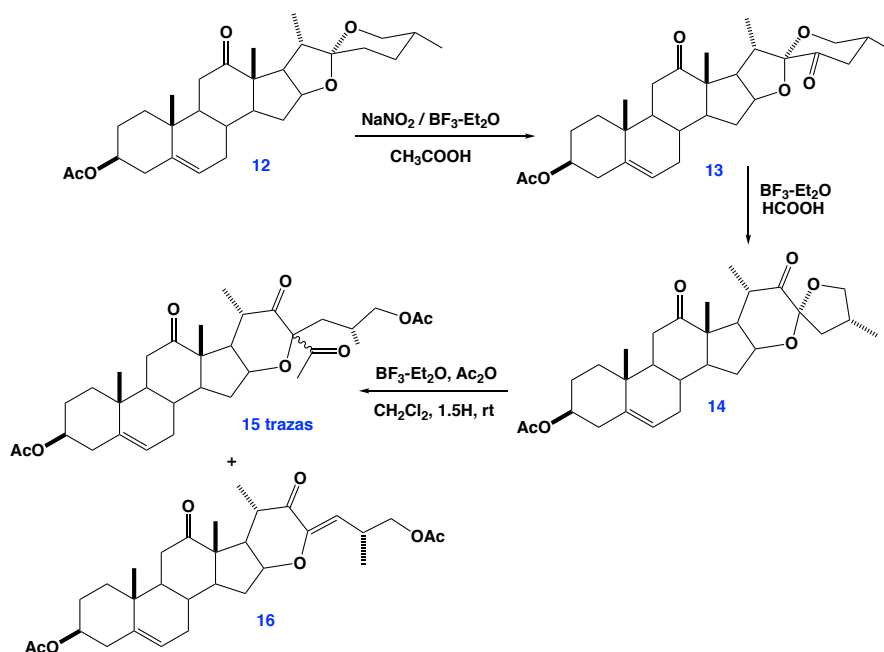
Esquema 4. Formación de la estructura de kriptogenina a partir de **2a**.

La funcionalización de la cadena espirocetálica es una de las principales estrategias en la obtención de nuevos compuestos con alto potencial en actividad biológica. En consecuencia con la funcionalización de la cadena lateral, los rearrreglos que involucran el espirostano siguen siendo investigados. En 1992, Suárez¹³ publicó la isomerización de la 23-oxotigogenina (**10**) al derivado 22-oxo-23-espirocetálico **11** empleando TiCl_4 , con un rendimiento del 99 % (Esquema 5).



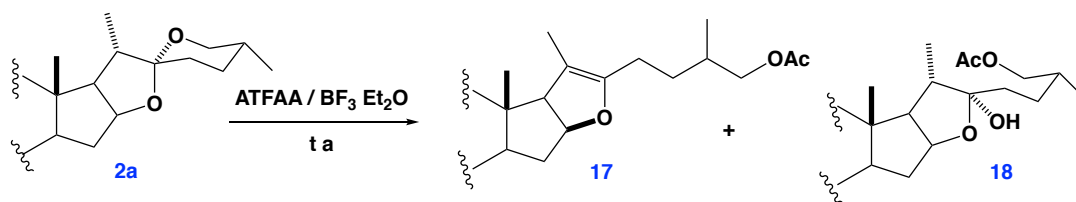
Esquema 5. Isomerización de **10** a **11** promovida por TiCl_4 .

En 2015, López y col.¹⁴ reportaron la apertura regioselectiva del anillo F de 22-oxo-23-espirocetales usando $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ en anhídrido acético que produjo nuevas cadenas colestánicas del tipo de **16** derivados de botogenina.



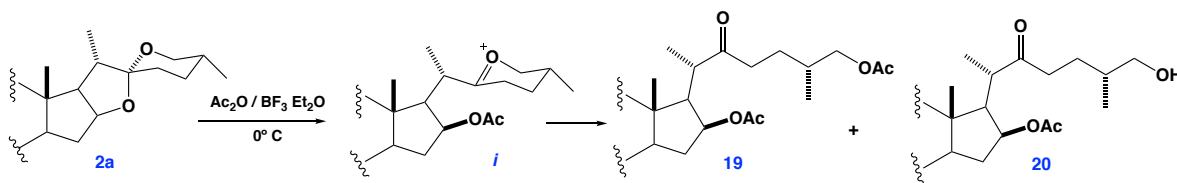
Esquema 6.

Se reportó por Sandoval y col. en 2012,¹⁵ que cuando se emplea un anhídrido mixto acético-trifluoroacético, en presencia de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ sobre el espirocetal de diversas sapogeninas a temperatura ambiente, se obtiene el diacetato de pseudosapogenina (**17**) y el compuesto furostánico **18** (Esquema 7). El derivado hidroxilado en C-22 se deshidrató fácilmente dirigiéndose a la formación de **18**. Por tanto, esta metodología constituye la primera en efectuar la apertura selectiva del anillo F esteroide a temperatura ambiente, con un rendimiento prácticamente cuantitativo. Adicionalmente, esta metodología se lleva a cabo en un tiempo de reacción significativamente corto.



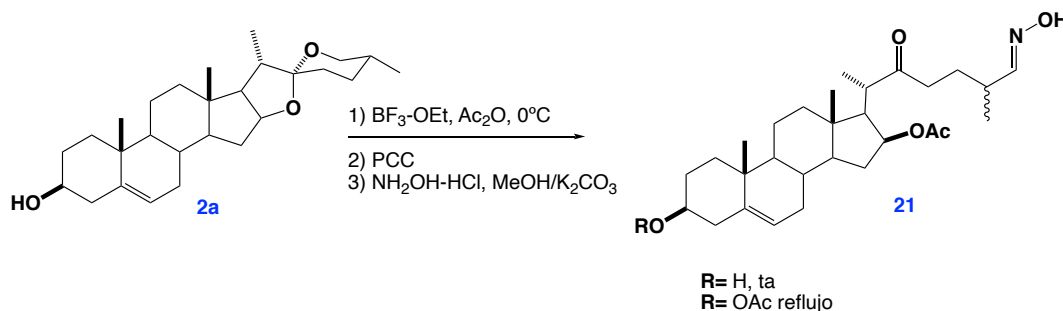
Esquema 7. Formación de pseudosapogeninas a temperatura ambiente.

Con base en estos antecedentes, el grupo de trabajo de Sandoval y col.¹⁶ desarrolló la metodología apropiada para abrir regioselectivamente el anillo E protegiendo *in situ* a los grupos alcohol en C-16 y C-26. Esta apertura inicia con la formación de un intermediario ión oxonio *i* (Esquema 8) el cual al ser atacado por una molécula de agua (captada del medio ambiente o en el work up) conduce al grupo alcohol en C-26, el cual es acetilado *in situ* por medio del $F_3B \cdot OEt_2 / Ac_2O$ remanente, conduciendo a la formación de derivados 22-oxocolestánicos.



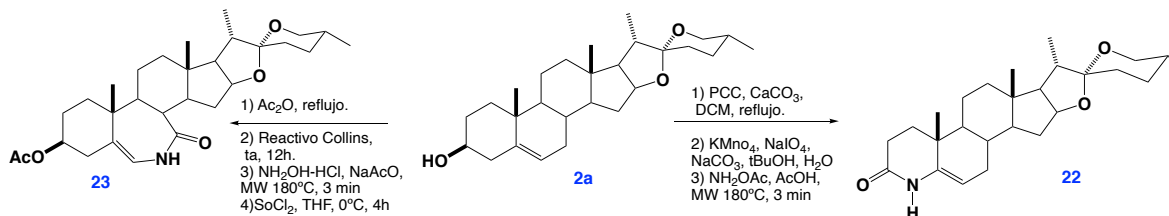
Esquema 8. Formación de la cadena 22-oxocolestánica.

Fernández-Herrera y col.¹⁷ por apertura de la cadena lateral de diosgenina, obtuvieron 22-oxocolestanos que tienen la funcionalidad de oxima en la cadena lateral reportando poseer actividad como agentes antiinflamatorios en un modelo murino, frente al glucocorticoide comercial dexametasona.



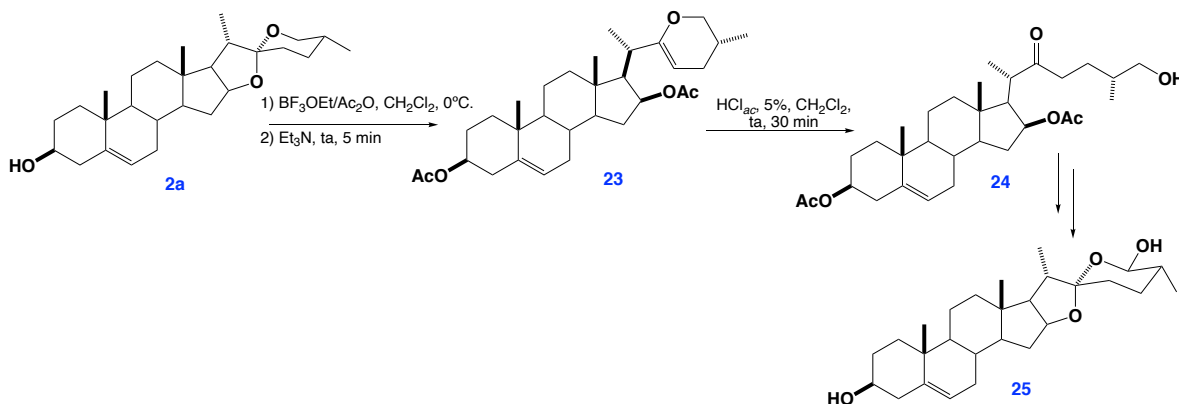
Esquema 9

En nuestro grupo de investigación¹⁸ recientemente reportamos la modificación de los anillos A/B de diosgenina para la obtención de azaesteroides, los cuales mostraron actividad antiproliferativa *in vitro* frente a cáncer de mama.



Esquema 10

Recientemente, Fernández-Herrera y col.¹⁹ reportan la ciclación estereoselectiva de un derivado de 22,26-dioxocolesteno acetilado en C-16 para dar los anillos E y F de espirostanos, en condiciones alcalinas, para conducir a la (26*R*)-26-hidroxidiosgenina, evaluando además el efecto de la diosgenina y la (26*R*)-26-hidroxidiosgenina en la regulación del ovario de rata.



Esquema 11

Los trabajos antes citados dan muestra de la versatilidad y utilidad sintética de las sapogeninas esteroidales y las modificaciones que en ellas pueden llevarse a cabo, para conducir a nuevos derivados con grupos funcionales responsables de la actividad biológica; sin embargo, la utilidad de los esteroides como sistemas de andamiaje nanoarquitectónico es un área de la ciencia de materiales que ha cobrado importancia y recibido atención de diversos grupos de investigación que nos hemos enfocado en las características de materiales con comportamiento de autoensamblaje en diversos ambientes o estímulos.

2.2 Biesteroides.

Los dímeros de esteroides son uno de esos grupos de esteroides modificados que destacan por su arquitectura rígida, predecible e inherentemente asimétrica,²⁰ pero no adquirieron relevancia hasta el año 1973, cuando fueron encontrados en la naturaleza.²¹ La principal ventaja de los esteroides es su esqueleto rígido, la versatilidad de funcionalización y su similitud con las estructuras naturales, que le permiten ser reconocidos por los receptores celulares y atravesar las membranas celulares. El uso de esteroides en la construcción de sistemas moleculares más grandes ha sido muy frecuente, como se observa en la obtención de unidades diméricas a partir de ácidos biliares y colesterol principalmente.

Los dímeros de esteroides pertenecen a un grupo esencial de compuestos farmacológicamente activos que naturalmente son -en su mayoría- biosintetizados por organismos marinos.^{1,8} Los ejemplos de biesteroides naturales son las ritterazinas y las cefalostatinas²² que son productos marinos naturales que contienen dos módulos espiroestánicos o espirodifuránicos acoplados por un anillo de pirazina (Figura 7). La síntesis de dímeros de esteroides se registró e identificó por primera vez a través de estudios fotoquímicos en la investigación del efecto de la luz sensibilizada sobre la activación del ergosterol, cuyo producto fue el dímero de ergosterol (Figura 7).²³

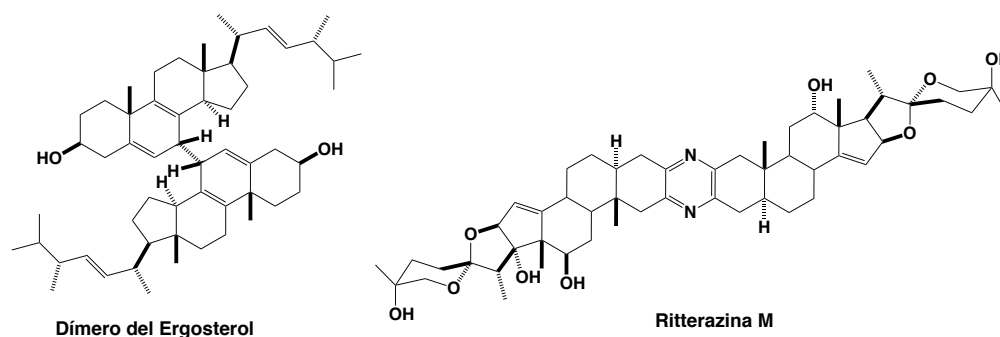
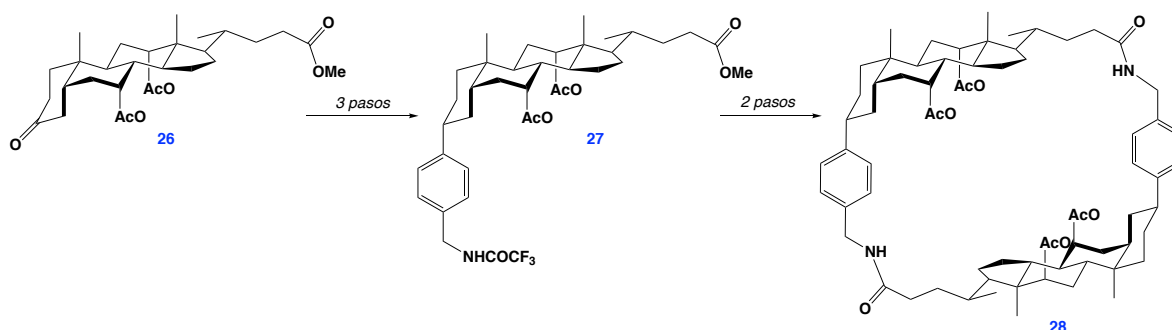


Figura 7. Dímero del ergosterol formado fotoquímicamente y el dímero natural Ritterazina M.

La síntesis del colafano **28**, un ciclodímero del ácido cólico con grupos espaciadores aromáticos, es reportada por Bonar-Law y Davis.²⁴ Este macrociclo fue sintetizado a partir del ácido cólico con un rendimiento global del 20%. El campo de trabajo en el que esta basado, lo convierte en un derivado muy versátil, y podría probarse en química biomimética (Esquema 12).



Esquema 12

Éstos mismos autores reportaron también un método sintético similar,²⁵ y reportan un estudio de RMN de ¹H de interacciones entre el colafano y carbohidratos (glucósidos lipofílicos²⁶ y la asociación de constantes entre el colafano y los octilglucósidos.²⁷

Observando que la estructura química de una molécula determina sus propiedades y es responsable del comportamiento, los dímeros esteroidales pueden clasificarse como cíclicos (se forman a través de conexiones directas o a través de espaciadores por cabeza-cabeza o cabeza-cola²⁸ y forman nuevos sistemas de anillos o estructuras macrocíclicas, por ejemplo, ciclocolatos o colafanos, respectivamente) o lineales; por su conexión directa por diferentes sitios de los anillos del esqueleto, y si están unidos por medio de grupos espaciadores.²⁹

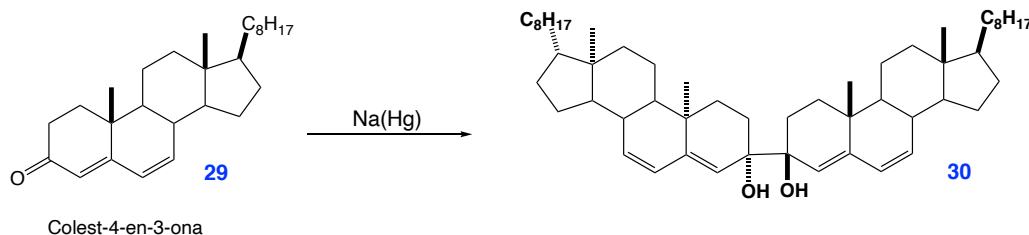
2.3 Dímeros con conexión Anillo A – Anillo A.

2.3.1 Conexión directa.

Existen diversos métodos de variada eficacia para la preparación de un rango amplio de dímeros estructurales diferentes conectados por el anillo A. en general, estos métodos utilizan metales activados o irradiación lumínica y actúan sobre una función carbonílica en el esteroide.

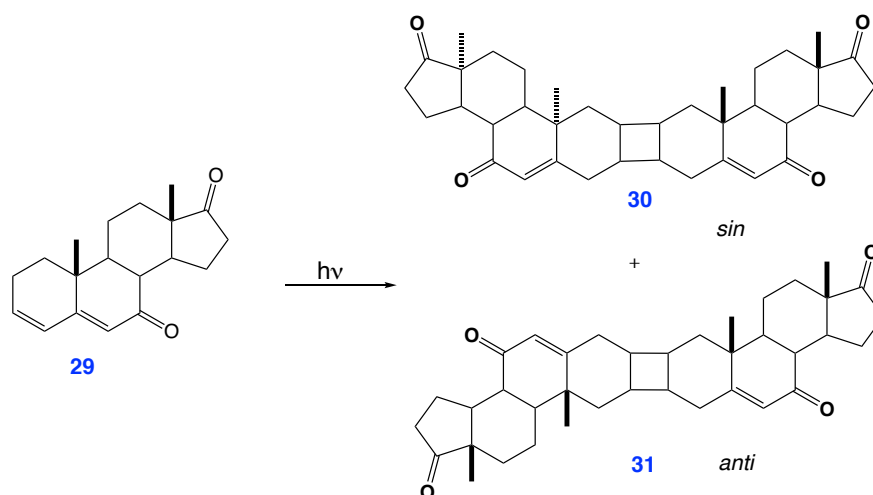
Dulou³⁰ y col. fueron los primeros en aislar y caracterizar, en el año de 1951, el esteroide dimérico **30** obtenido a partir de colest-4-en-3-ona por condensación reductiva con Na (Hg), como se observa en el Esquema 13. McMurry³¹ y Doering,³² prepararon otros dímeros, esqueleto tipo colestano utilizando un concepto similar al de Duloy y col. por acoplamiento reductivo, empleando cloruros de titanio en un medio reductor con bajos rendimientos. Estos esteroides diméricos podían unirse a cromóforos de porfirina para realizar estudios estructurales mediante la técnica de dicroísmo circular (DC). Schmidt³³ y col. modificaron

la técnica empleando HCl el lugar de ácidos de Lewis, logrando conversiones cercanas al 90%. En todos los casos, el producto obtenido consistía en una mezcla de los isómeros *sin* y *anti*, este último producto más favorecido termodinámicamente.



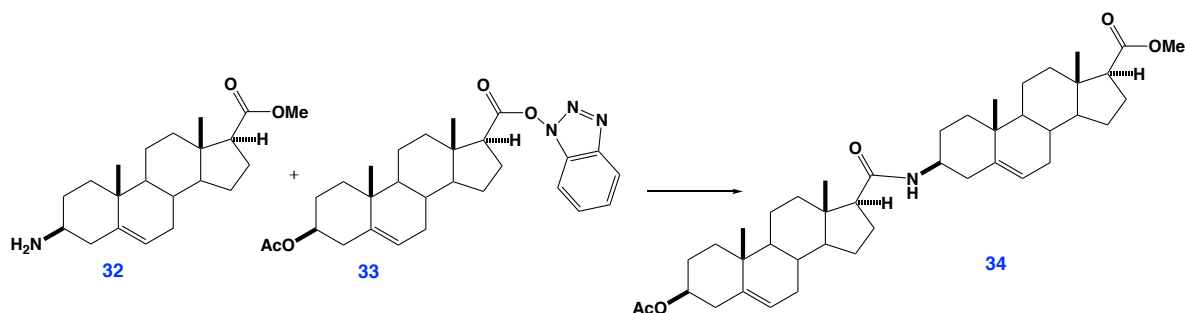
Esquema 13. Síntesis del primer dímero esteroidal obtenido por acoplamiento reductivo.

Por otro lado, Devaquet y Salem³⁴ utilizaron una reacción fotoquímica sobre cetonas insaturadas para obtener los dímeros *sin* y *anti* **30** y **31** (ver Esquema 14). Williams³⁵ y col. reportaron, a su vez, la fotodimerización por irradiación UV de 17 α -metiltestosterona.



Esquema 14. Fotodimerización de cetonas esteroidales insaturadas.

Así mismo, Cerny y colaboradores³⁶ reportan la obtención de dímeros y oligómeros lineales del colesterol unidos por una amida como grupo espaciador. Estos derivados oligoméricos tienen utilidad en la construcción de nanoestructuras, como por ejemplo, membranas celulares (Esquema 15).



Esquema 15 Dímeros unidos por un enlace tipo amida

2.3.2 Conexión a través de grupos espaciadores.

Se han sintetizado diversos dímeros de esteroides,³⁷ y entre ellos, los dímeros acíclicos que involucran conexiones a través de anillos A, B, C o D directamente a través de grupos espaciadores, conforman el grupo principal de tales moléculas; estos dímeros también se conocen como "dímeros lineales". La síntesis de esteroides diméricos que involucran los anillos A de los monómeros de esteroides, conectados a través de grupos espaciadores, se puede lograr mediante la unión a través de la posición más conveniente en el C-3.^{25b} Utilizando los grupos funcionales correctos, es posible obtener dímeros conectados vía espaciadores de distinta longitud. Las funcionalidades éster³⁸ y amina son las más usadas para generar este tipo de estructuras, no obstante también existen algunos ejemplos en la literatura del empleo de uniones éter y carbamato.³⁹ Otra alternativa factible consiste en unir los monómeros mediante un heterociclo.⁴⁰ Hoffmann y Kumpf⁴¹ en 1986 acoplaron dos estronas con ácido tereftálico para obtener el primer dímero enlazado por una función éster (**35**) y desde aquel momento, este tipo de dímeros han sido los más numerosos en la literatura.¹⁹

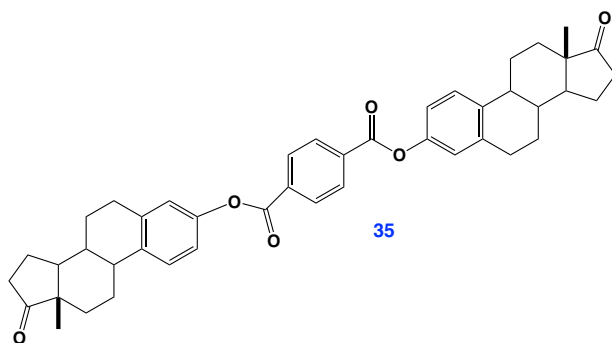
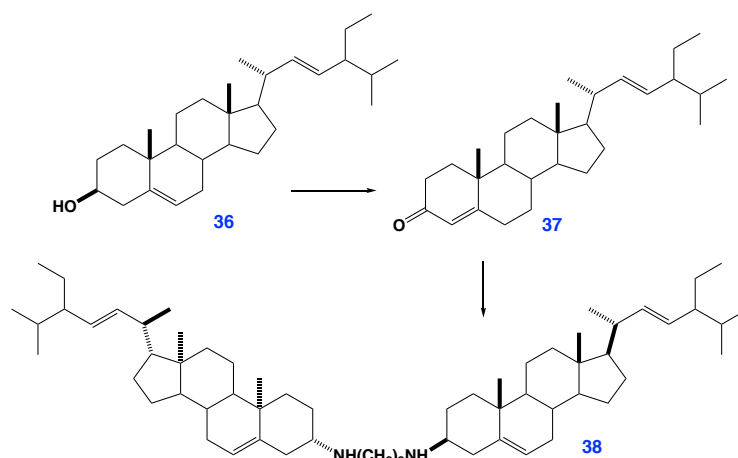


Figura 8. Dímero enlazado por una función éster.

2.4 Lineales.

Entre los reportes hallados en la literatura para la generación de dímeros lineales a partir de moléculas esteroidales, se encuentra el de Shawakfeh y colaboradores⁴² utilizaron diaminoalquilos y triacetoxiborohidruro de sodio para sintetizar los dímeros **38** por aminación reductiva usando alquildiaminas (Esquema 16).



Esquema 16 Dímeros unidos por un enlace tipo amina

Nahar y colaboradores⁴³ sintetizaron gran cantidad de derivados 3-oxalato diméricos utilizando como monómeros dehidro-epi-androsterona, pregnenolona, 5 α -colestano y estigmasterol, entre otros (**39-41**). En la misma línea de trabajo, el grupo de Zhu⁴⁴ desarrolló la síntesis de 3 α -dímeros de los ácidos litocólico y cólico utilizando diésteres de longitudes variables, en la mayoría de los casos con excelentes rendimientos. Paryzek y colaboradores⁴⁵ prepararon tres esteroides diméricos de la familia de los ácidos biliares para actuar como receptores de moléculas neutras y cationes metálicos (Figura 9).

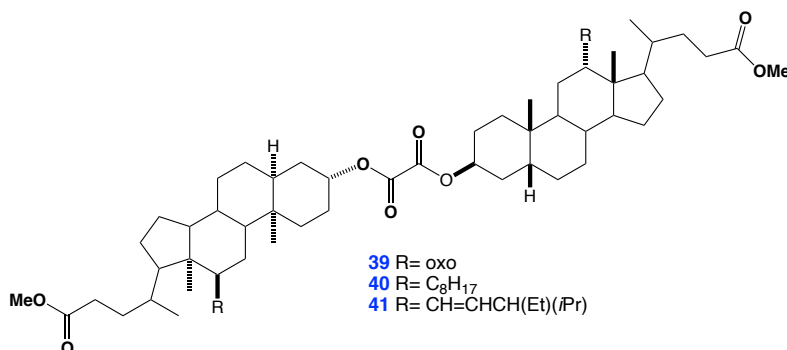


Figura 9

McKenna y colaboradores⁴⁶ sintetizaron distintos *bis*-esteroides (**34-36**) capaces de actuar como modelos enzimáticos a partir de conesina y ácido cólico, utilizando aminas alifáticas como conectores. Análogamente, el grupo de Guthrie⁴⁷ obtuvo el esteroide dimérico **37** con propiedades catalíticas a partir de tereftaldehído y un 3-amino esteroide. El mismo grupo espaciador fue utilizado para unir dos moléculas de ácido cólico a través de su cadena lateral en C-17⁴⁸ (Figura 10).

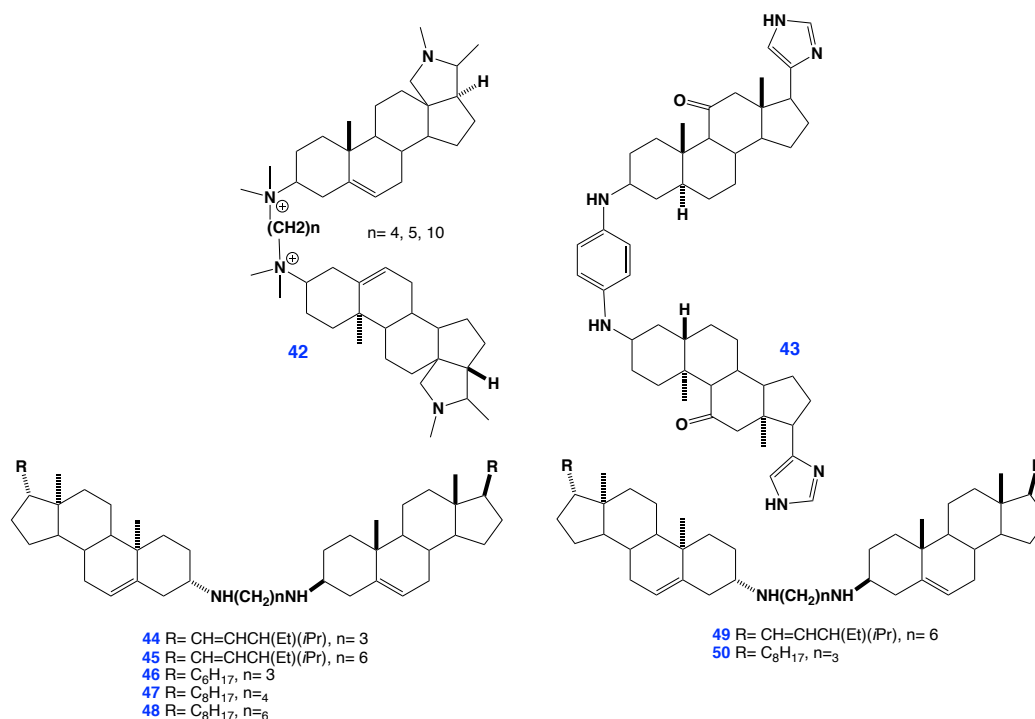


Figura 10

Como se ha mencionado antes, las funciones menos utilizadas para la síntesis de dímeros son las que involucran carbamatos, éteres y uniones del tipo peróxido. Sin embargo, existen algunos ejemplos en la literatura con aplicaciones de gran interés. Kobuke y Nagatani⁴⁹ prepararon los dímeros **84-87** mediante uniones biscarbamato capaces de actuar como canales iónicos transmembrana (Figura 11).

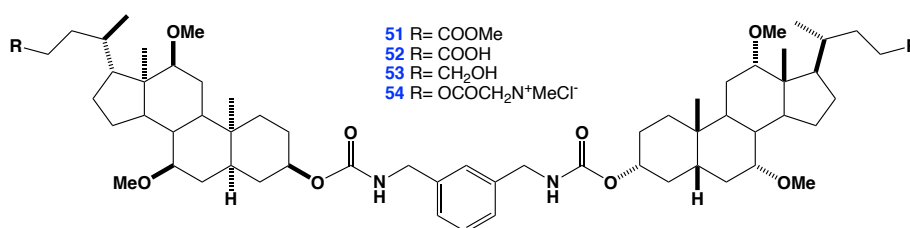
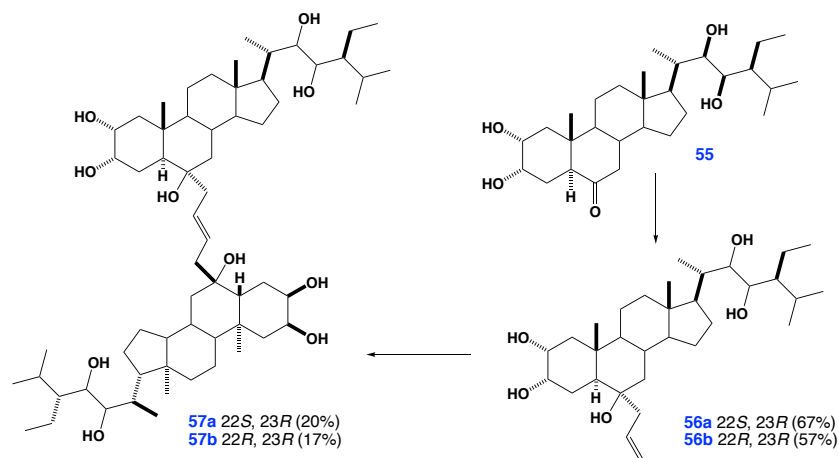


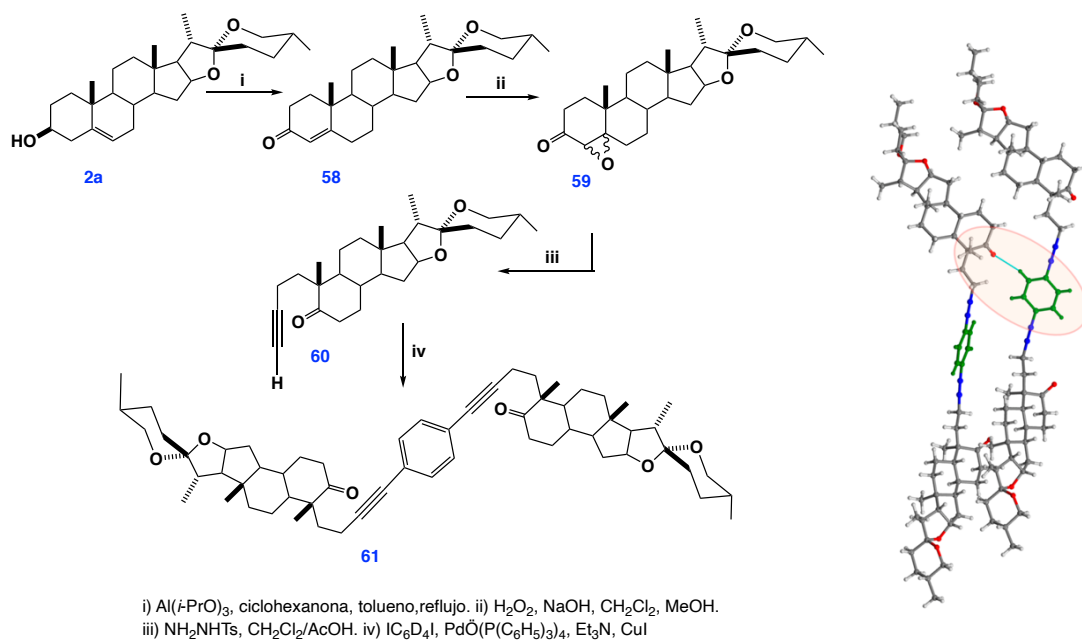
Figura 11. Dímeros unidos con espaciadores tipo peróxido y carbamato

Phutdhawong y col.⁵⁰ reportan la adición de 28-homocastasterona (**55**) a través del reactivo de alilo Grignard al grupo carbonilo en C6 seguido de metátesis cruzada de olefina dio como resultado análogos diméricos. El ensayo de inclinación de la lámina de arroz mostró que los análogos diméricos mostraron una bioactividad reducida pero significativa en comparación con la 28-homocastasterona.



Esquema 17

De los reportes más recientes, el grupo de investigación de Rodríguez-Molina⁵¹ ha reportado la síntesis de dímeros con un grupo espaciador fenilo (Esquema 18), caracterización por RMN en estado sólido y estudio dinámico de rotores unidos por medio de interacciones por puente de H, partiendo de diosgenina (**2a**) como materia prima.



Esquema 18. Esteroide dimérico a partir de diosgenina, con un grupo espaciador.

No solo diosgenina ha sido materia prima de elección en la obtención de dímeros, otras sapogeninas como hecogenina, tigogenina y sarsasapogenina han sido sustratos debido a su disponibilidad y versatilidad de modificaciones, como la condensación aldólica doble catalizada por $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ entre sapogeninas esteroideas acetiladas y tereftaldehído del reporte de Iglesias y colaboradores,⁵² que condujo a espiroestanoles diméricos acetilados unidos a través de un resto 1,4-dimetilidenbenceno.

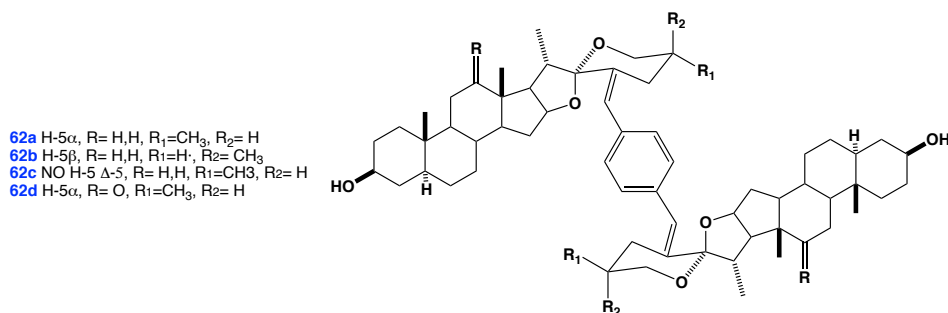


Figura 12.

Muy recientemente,⁵³ este mismo grupo ha reportado la reducción con NaBH_3CN de dímeros simétricos mediante 2 rutas diferentes: (a) hidrogenación del doble enlace bencílico y (b) apertura reductiva del anillo F de la cadena lateral. Mientras que las rutas a y b condujeron a dímeros simétricos, la combinación de ambas vías produjo un dímero asimétrico **63a-b** que lleva diferentes cadenas laterales en cada mitad.

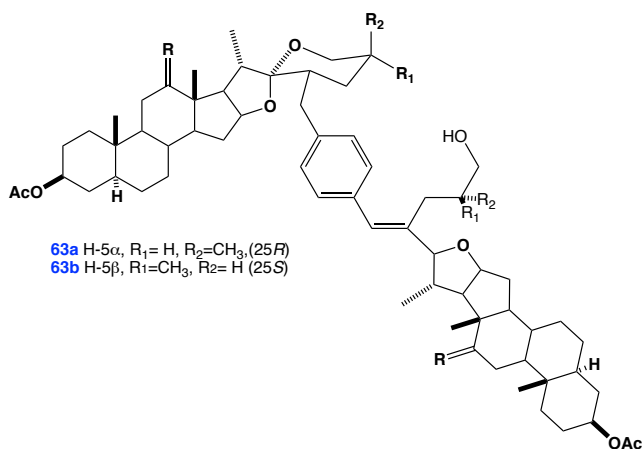


Figura 13.

Los conjugados biesteroides han llamado mucho la atención en los últimos años, como lo demuestran la gran cantidad de estructuras reportadas,⁵⁴ que han resultado interesantes debido a sus destacadas aplicaciones en biología, medicina y química supramolecular. Sin embargo, hay una característica muy peculiar en biesteroides

colestánicos o derivados de ácidos biliares, la autoorganización o autoensamblaje, que se aborda a continuación.

2.5 Compuestos esteroidales autoensamblables (*self-assembly behaviour*)

La construcción de materiales funcionales y sistemas de química supramolecular utilizando moléculas biológicas como esteroides ha recibido considerable atención. Recientemente, se ha incrementado el interés en el diseño y construcción de nuevos nano-objetos con formas bien definidas. En la década de los años 60's se observó que algunos derivados esteroidales (ácidos cólico, desoxicólico, litocólico y sus sales) eran capaces de espesar soluciones salinas acuosas.⁵⁵ Los primeros esteroides capaces de gelar solventes orgánicos, **64** y su derivado amino **65**, fueron descubiertos en 1979 durante una síntesis con de derivados de isoandrosterona.⁵⁶

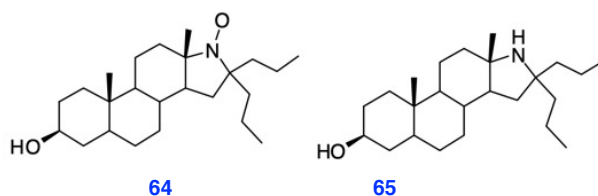


Figura 14.

El uso de estas moléculas y sus agregados permitieron el desarrollo de numerosas técnicas para obtener información estructural acerca de los organogeles⁵⁷ como protocolos para microscopía electrónica, dispersión de neutrones, cristalografía y dicroísmo circular.

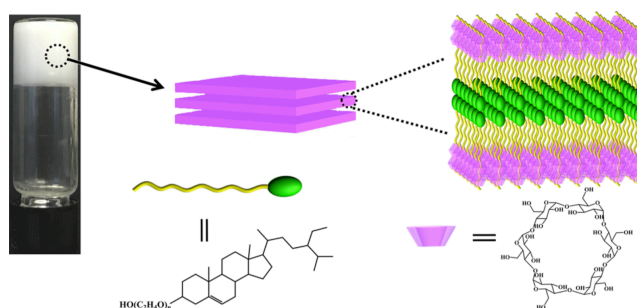


Figura 15. Estructura del hidrogel BPS-n (Wang *et.al*, 2019).

Actualmente, se ha incrementado el interés en el diseño y la construcción de nuevos nano-objetos, por ejemplo, nanolistones,⁵⁸ nanofibras,⁵⁹ nanocinturones,⁶⁰ nanotubos,⁶¹ y varillas⁶² en tamaños controlados y predecibles. En una estrategia de autoensamblaje, el

diseño de moléculas específicas apunta a una estructura termodinámicamente estable específica. Una metodología fácil y conveniente para construir estas nanoestructuras bien organizadas es el control del autoensamblaje supramolecular al alterar ligeramente las condiciones ambientales, incluida la composición del disolvente,⁶³ la temperatura,⁶⁴ el pH,⁶⁵ el metal de coordinación,⁶⁶ o la irradiación de luz.⁶⁷

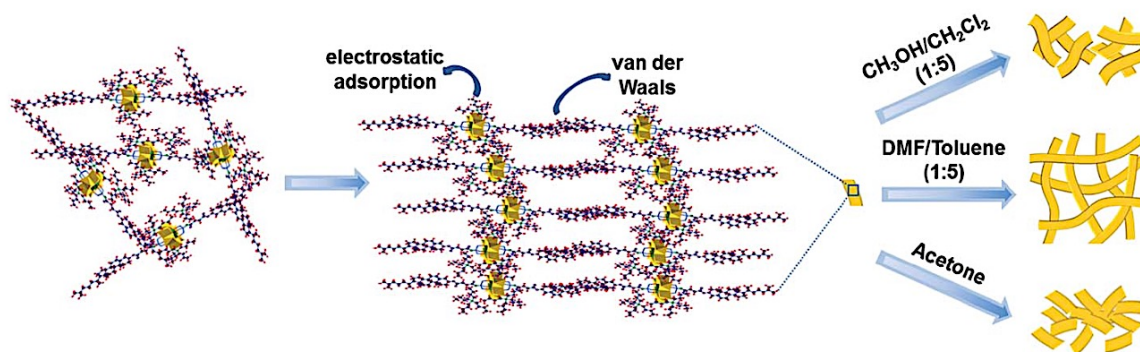


Figura 16. Diferentes arreglos del conjugado POM-esteroidal (Yang *et. al.* 2016).

Para conseguir el diseño razonado de moléculas biesteroides con comportamiento *self-assembly* (CSA) es crítico el control sobre dos aspectos elementales: 1) los requerimientos espaciales necesarios para el autoensamblaje unidimensional de las moléculas (tomando ventaja de las interacciones intermoleculares no covalentes) para dar lugar al ordenamiento eficiente de las fibras, y 2) el delicado balance de las interacciones entre moléculas de biesteroides y del biesteroide con el solvente. El primer aspecto ha sido abundantemente estudiado y puede controlarse eligiendo apropiadamente grupos capaces de formar interacciones fuertes y organizadas como los puentes de hidrógeno.

El esqueleto de los esteroides (Figura 17) le confiere rigidez a la estructura y, en el caso de los isómeros *trans*, adoptan conformaciones planares, lo que provoca que algunos derivados del colesterol tiendan a formar mesofases en las que la interacción esteroide-esteroide, determinada principalmente por interacciones de tipo Van der Waals, dan como resultado la formación de ensamblajes macroscópicos.

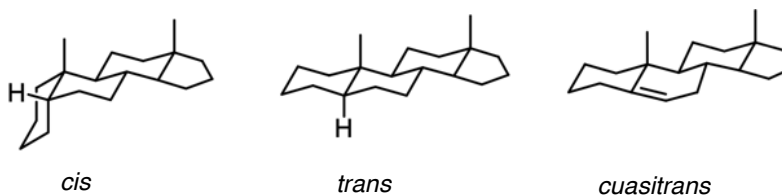


Figura 17

Si bien la presencia de grupos capaces de formar estas interacciones organizadas que conduzcan a un arreglo unidimensional es ineludible para la formación de un gel, no es suficiente, ya que la interacción con el solvente es un factor insustituible. Por lo anterior, es difícil predecir cómo las alteraciones en los grupos funcionales afectan la capacidad gelante o autoensamblable de estas moléculas biesteroidales o no, debido al delicado balance de fuerzas intermoleculares que derivan en la formación del gel.

Debido a sus formas únicas, se ha descubierto que estos nano-objetos tienen aplicaciones potenciales, por ejemplo, como nanomateriales,⁶⁸ como soportes para catálisis selectiva,⁶⁹ como plantillas para fabricar nanoestructuras unidimensionales;⁷⁰ o como hidrogeles de relleno de superficie (SFH) basados en péptidos autoensamblables que liberan nanopartículas compuestas de microARN y péptidos que ingresan a las células cancerosas atenuando su firma oncogénica.⁷¹

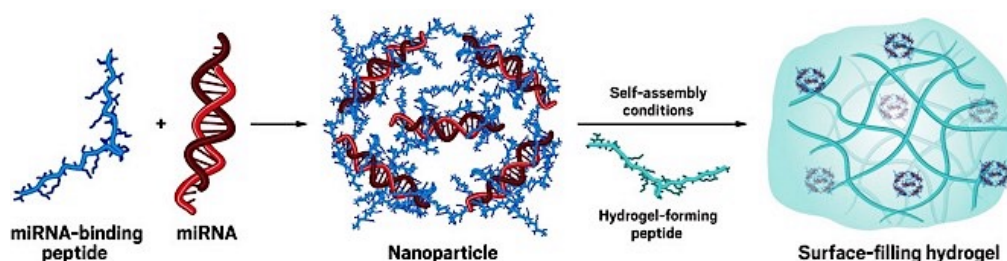


Figura 18. Hidrogeles de relleno de superficie (SFH) basados en péptidos autoensamblables. (Ref.: *Nanotechnol.* **2021**, <https://doi.org/10.1038/s41565-021-00961-w>).

2.6 Metodologías y tecnologías facilitadoras. Química verde.

La química verde se ha constituido como una poderosa orientación que contribuye a reducir el impacto ambiental causado por ciertos productos químicos y a minimizar el flujo de materia (economía química) desde los recursos naturales no renovables hasta los procesos productivos. El gran impulso de la química verde se ha debido, en parte, al conocimiento de la toxicidad de las sustancias y a la creciente capacidad de crear de forma selectiva y eficiente solo aquellas sustancias menos tóxicas que conservan e incluso aumentan su eficacia. La química combinatoria mostró a la comunidad de químicos orgánicos la importancia de la automatización y las tecnologías mejoradas que han influido en la síntesis orgánica a larga escala.⁷² Las tecnologías facilitadoras se definen como técnicas tradicionales o nuevas, cuyo propósito es acelerar las transformaciones sintéticas

y facilitar el trabajo de preparación, así como el aislamiento de los productos. La química sustentable, se basa en minimizar el uso y generación de sustancias peligrosas.

Las microondas (MW) son una forma no ionizante de energía electromagnética con frecuencias que van desde 300 MHz a 300 GHz (Figura 19). Esta energía se transmite en forma de ondas que penetran en la materia e interactúa con las moléculas polares para generar calor. La rotación dipolar y la conducción iónica son los principales mecanismos de transformación de la radiación electromagnética en calor. La energía de microondas actúa directamente sobre las moléculas por conducción iónica y rotación de dipolos y, por lo tanto, solo los materiales polares se pueden calentar en función de su constante dieléctrica.

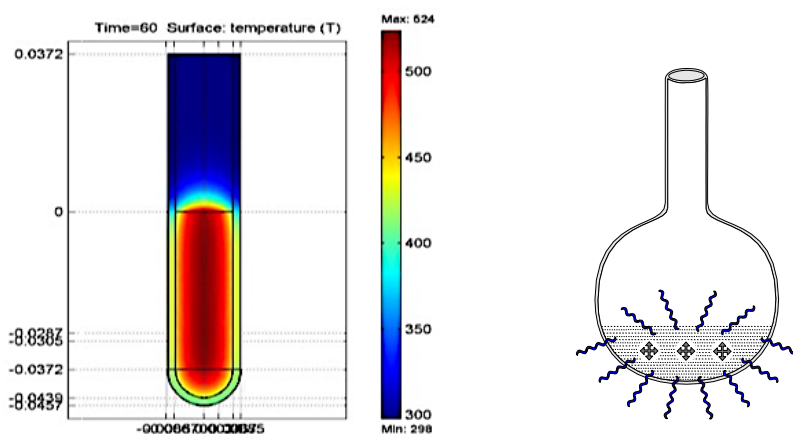


Figura 19. Microondas: calentamiento volumétrico interno.

El calentamiento con microondas es causado por la interacción del campo eléctrico de radiación con la materia de manera que va a influir en el comportamiento molecular de la materia, como la rotación de dipolos o la migración de iones. La energía se transmite al material electromagnéticamente, no es un flujo térmico, es calentamiento volumétrico porque se calienta a la misma velocidad, por tanto, el tiempo de calentamiento puede ser reducido a menos del 1% del requerido por un calentamiento convencional. Sus principales ventajas frente a los métodos convencionales son velocidades de calentamiento rápidas, tiempos cortos de extracción-reacción, proceso limpio de calentamiento que no genera desechos secundarios y la reducción del uso de disolventes orgánicos.⁷³ Este fenómeno se ha aprovechado a favor de la economía química, para facilitar y acelerar los procesos.

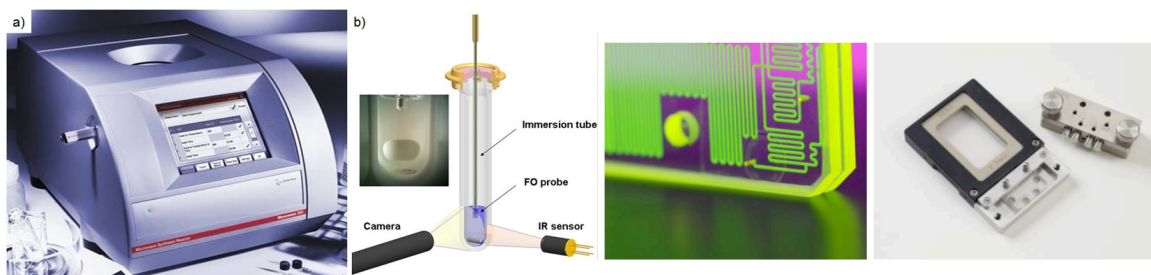


Figura 20. Tecnologías facilitadoras: Microondas y flujo continuo.

Varios fundamentos de la química verde son afines a la química de flujo continuo como es el menor consumo de reactivos, y la optimización de reacciones aumentando el rendimiento y disminuyendo la generación de desechos. Las reacciones en flujo continuo son más selectivas, más seguras y hasta cientos o miles de veces más rápidas.⁷⁴

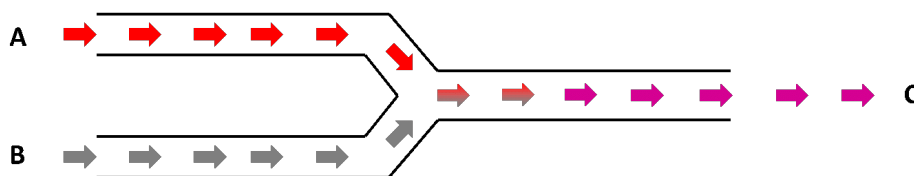


Figura 21. Química de flujo continuo: flujo laminar en el capilar.

La "química de flujo", a veces denominada "plug flow" o "química de flujo continuo", es el proceso de realizar reacciones químicas en un tubo o tubería. Los componentes reactivos se bombean juntos en una unión de mezcla y fluyen por una tubería o tubo de temperatura controlada. Esto proporciona algunas ventajas importantes, como reacciones más rápidas, productos más limpios, reacciones más seguras y fácil escalado (Figura 6).⁷⁵

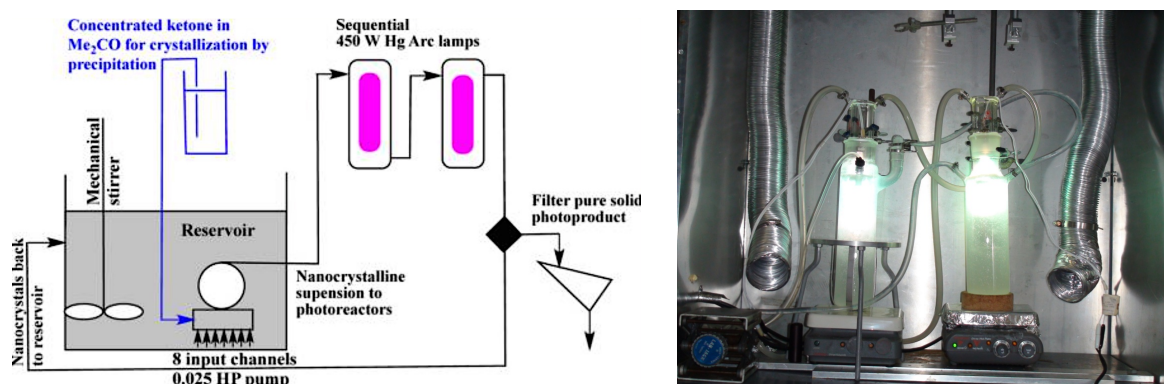


Figura 22. Fotoreactor en flujo continuo en "twin serial" para escalamiento.⁷⁵

La innovación en tecnología sintética requerirá la combinación de dos o más de estas tecnologías facilitadoras, provocando que los químicos sintéticos colaboren más estrechamente con el área de materiales y los ingenieros químicos para crear nuevos equipos, a través de grupos de trabajo multidisciplinario. En este trabajo de tesis se abordó el explorar la química verde a través de metodologías como las microondas y el flujo continuo en la búsqueda de optimizar la obtención de los biesteroides simétricos y sus precursores (monómeros o productos monosustituídos).

El CSA observado por los nuevos derivados biesteroidales resulta altamente interesante, lo que motivó su estudio y comprensión. Como consecuencia, este comportamiento es un atractivo objetivo para diseñar y fabricar nanomateriales funcionales con diferentes estructuras mediante el control de las formas y tamaños.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo General.

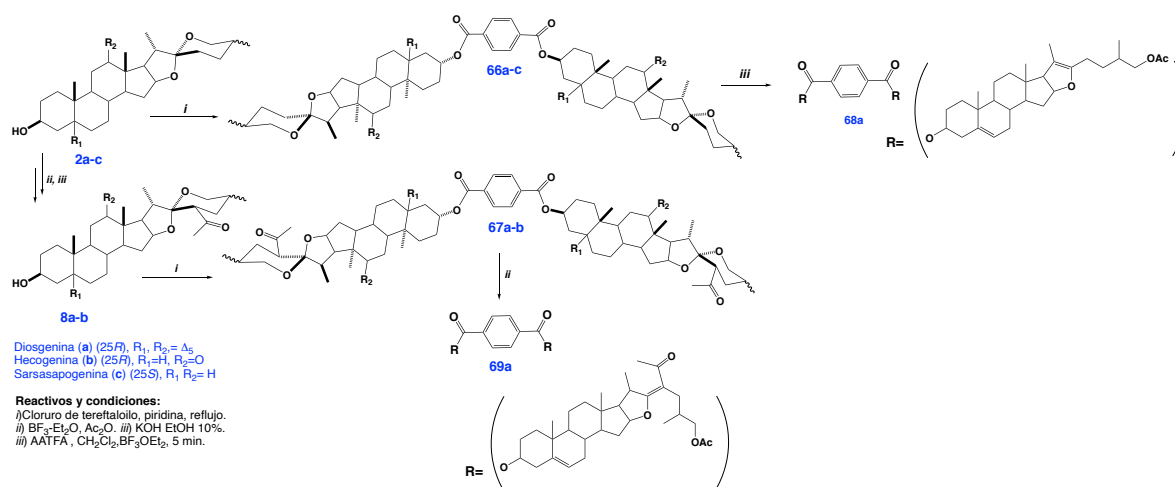
Transformar compuestos esteroidales para obtener dímeros esteroidales, enlazándolos a diversos grupos espaciadores, con posible aplicación como nuevos materiales.

3.2 Objetivos Particulares.

1. Obtener los derivados diméricos sapogenínicos y furosténicos utilizando grupos espaciadores tereftalato y oxalildihidrazina, y estudiar su comportamiento de autoensamble.
2. Sintetizar los biesteroides espirostánicos y furosténicos con los grupos espaciadores descritos, mediante las metodologías convencionales (reflujo) y de química verde (microondas).
3. Utilizar la química de flujo continuo para la optimización en la obtención de los precursores de los biesteroides.
4. Elucidar las estructuras de los nuevos derivados obtenidos (precursores y biesteroides) mediante el empleo de los diferentes métodos físicos, así como espectroscópicos y espectrométricos (RMN, IR, EMAR, RX, SEM, PXRD).
5. Caracterizar los nuevos materiales (biesteroides) a través de TGA, DSC, TEM y SEM para estudiar su estabilidad y medir el alcance (escala) del autoensamblaje.

4 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Después de analizar la influencia de cada una de las funciones químicas presentes en los reportes de la literatura, realizar diversas búsquedas y actualización bibliográfica, las sugerencias de mis directores de tesis, así como la experiencia en el laboratorio, se planteó una ruta de síntesis de nuevos biesteroides a partir de sapogeninas espirostánicas, derivados espirostánicos 23-sustituídos, con cadena lateral furosténica y colestánica, así como tipo pseudo, como se muestra en el esquema general siguiente:

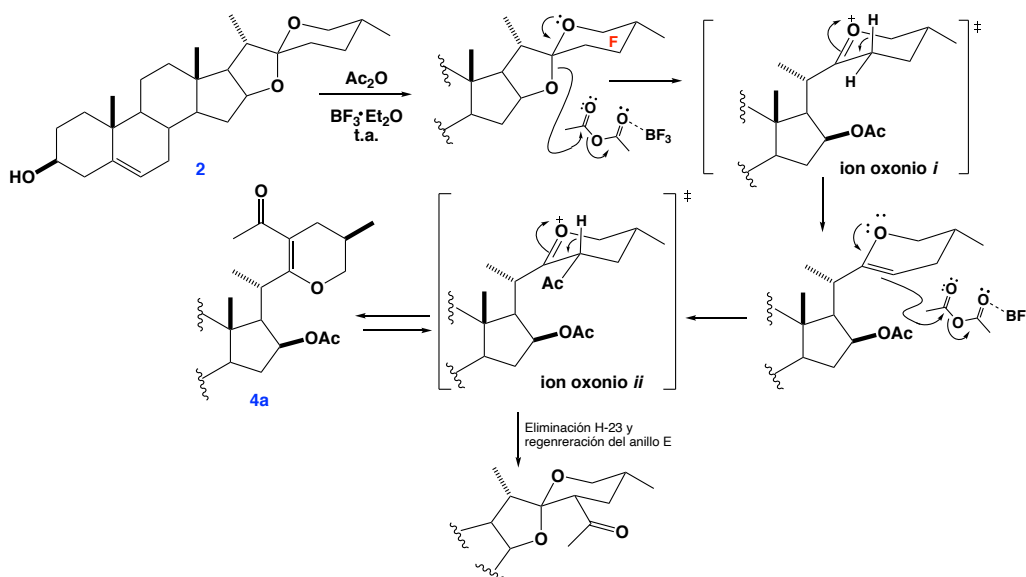


Esquema 19. Ruta de síntesis de biesteroides espirostánicos y apertura regioselectiva de la cadena lateral.

Las sapogeninas esteroidales se transformaron en los derivados epoxicolesténicos y furosténicos **4**, **5** y **6**, los cuales han sido debidamente caracterizados y reportados en la literatura. Estos derivados fueron funcionalizados para permitir el acoplamiento de un grupo espaciador y conducir a la obtención del dímero. Es importante destacar que las sapogeninas de partida son pertenecientes a las series 25S (sarsasapogenina) y 25R (diosgenina y hecogenina), lo cual representa una diferencia en cuanto a la reactividad, derivado principalmente de la diferencia en la fusión de los anillos A y B; la presencia de la doble ligadura del anillo B en diosgenina provoca una diferencia en la conformación del núcleo esteroidal, haciéndola cuasitrans. La estrategia sintética que se desarrolló para obtener los derivados furosténicos **6**, y los derivados espirostánicos 23-sustituídos **8** es la

que se muestra en el Esquema 3, misma que conduce a la obtención de los precursores de la primera parte del trabajo de tesis.

Al momento de analizar el mecanismo para la formación del derivado Epoxicolesteno **4a** (ver Esquema 20), la entrada del par de electrones del oxígeno del anillo F de la diosgenina, provoca que el par electrónico del anillo tetrahidrofurano E ataque al aducto formado por el anhídrido acético-trifloururo de boro, conduciendo a la adición de un acetato en C-16 y la formación de un intermediario (ión oxonio *i*), mismo que cede un H₂₃ para que el oxígeno en C26 recupere el par electrónico formando una doble ligadura, que por la entrada del par de electrones del oxígeno del anillo F (generando por segunda vez un ión oxonio *ii*) ataca al aducto anhídrido acético-trifloururo de boro para adicionar un acetilo en dicha posición, eliminando el H₂₃ para que el oxígeno recupere el par electrónico conduciendo al derivado con una cadena lateral epoxicolesténica **4a**. En particular se observa que la stereoquímica de C-25 no se ve comprometida por las condiciones de reacción. Este mecanismo es plausible para las series 25*R* y 25*S*.

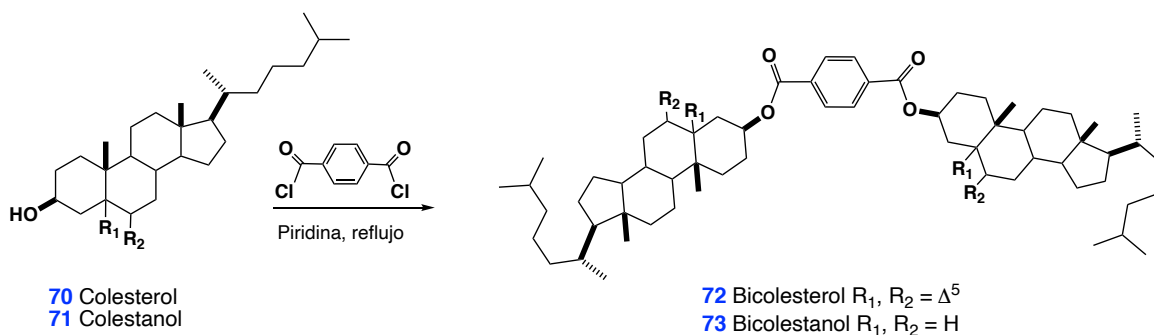


Esquema 20. Mecanismo de obtención del derivado epoxicolesténico **4a** intermediario para obtener 23-acetilsapogeninas.

Este mecanismo nos permitió saber qué condiciones de reacción eran necesarias para conducir a la regeneración del espirocetal, conservando la metilcetona en C-23. El derivado epoxicolesténico fue tratado en medio básico alcohólico para regenerar el espirocetal y conducir a la 23-acetilsapogenina, precursor para la obtención de dimeros espirocetálicos 23-sustituídos. Otro biesteroide que se obtuvo fue la bipseudosapogenina,

mediante la apertura de la cadena lateral de la bidiosgenina a partir de las metodologías mostradas en el Esquema 19.

La metodología para obtener dímeros esteroidales con un grupo espaciador con una unión tipo tail-tail mediante un enlace tipo éster, se desarrolló exitosamente por nuestro grupo de investigación. Se han hecho, además, modificaciones a la metodología propuesta precedentemente por nuestro grupo, logrando mejores resultados para obtener dímeros espirostánicos, en particular de diésteres del ácido tereftálico. Primeramente, se probó con colesterol como modelo esteroidal, debido a sus características anfífilas, así como a su similitud con diosgenina (**2a**), la cual posteriormente se usó como materia prima obteniéndose de igual forma buenos resultados del compuesto bidiosgenina **66a**. Los productos obtenidos de colesterol y diosgenina fueron identificados y caracterizados por RMN. (ver esquema 6).



Esquema 21. Obtención de biesteroides colestánicos.

Para la síntesis se ensayaron diferentes bases y solventes a diferentes temperaturas (Tabla 1). Se seleccionaron fracciones de colesterol y colestanol como dianas moleculares debido a la afinidad termodinámica del colesterol por las membranas celulares y su capacidad para cambiar estas propiedades, por ejemplo, mejorando su durabilidad mecánica y reduciendo la permeabilidad pasiva;⁷⁶ otra ventaja de los colestanos es su rigidez, una característica útil en nanoarquitectura.

Tabla 1. Condiciones de reacción para obtener biesteroides a partir de **2a** y **70***.

Parámetro	Tiempo	Temp	Solvente	Base	Rendimiento
Entrada					
a	1 h	ta	Py	Py	nr
b	2h	ta	DMF	K ₂ CO ₃	nr
c	24h	reflujo	THF	Et ₃ N	10%
d	2h	reflujo	Py	Py	70%
e	2h	reflujo	Py	Py	80%

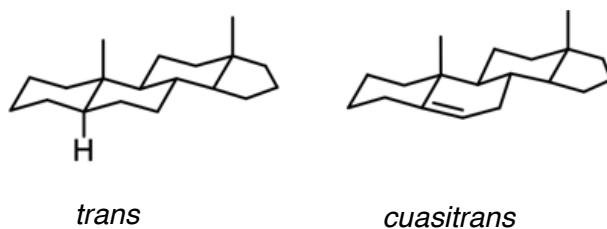
*Las condiciones optimizadas se describen en las columnas d y e.

nr= no reacción. Entrada **a-d= 3 Entrada **e= 7a**

Table 2. Señales de interés de RMN de ¹H y ¹³C de **72** y **73**, en ppm.

¹ H RMN (CDCl ₃)			¹³ C RMN (CDCl ₃)		
Señales	5	6	Señales	5	6
H-3, H-3'	4.90	4.96	C-3, C-3'	75.1	74.9
H-18, H-18'	0.69	0.87	C-18, C-18'	18.7	12.3
H-19, H-19'	1.07	0.66	C-19, C-19'	19.3	12.0
H-21, H-21'	0.93	0.91	C-21, C-21'	11.8	18.6
H _{Ar} -H _{Ar} '	8.08	8.07	C _{ipso} -C _{ipso} '	137.1	134.4

El resto hidrocarbonado de la cadena lateral le confiere al colesterol una estructura altamente hidrofóbica, mientras que el grupo hidroxilo polar 3 β le proporciona una naturaleza ligeramente anfifílica. Los anillos de ciclohexano fusionados asumen una conformación de silla fruncida o *cuasitrans* más estable, lo que hace que el colesterol sea una estructura plana y rígida, ideal para presentar la formación de agregados tan presentes en la arquitectura molecular.

**Figura 23.**

Los resultados de estos primeros ensayos y biesteroides colestánicos fueron los esperados. En la mezcla de reacción se observaron 2 productos, con diferencia de R_f en

CCF, que al obtener sus espectros de RMN de ^1H y ^{13}C pudimos apreciar que se trataba de la monosustitución del grupo espaciador con una unidad esteroideal, y del producto biesteroideal **72** (Figura 24), con 2 unidades esteroidales unidas al ácido tereftálico para dar ésteres de tereftalato.

Al comparar los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C para los dímeros esteroides con los materiales de partida esteroidales, se encontró que son casi idénticos, excepto por la presencia de señales del grupo espaciador. Para el espectro de RMN de ^1H del bicolesterol, se observan las señales de la aglicona en 2.5 ppm para el H-4 y H-4', en la región de 5 ppm se observan las señales múltiples de los H-6, H-6' y H-3, H-3', y hasta 8.05 ppm la señal intensa y simple de los H-aromáticos del grupo tereftalato.

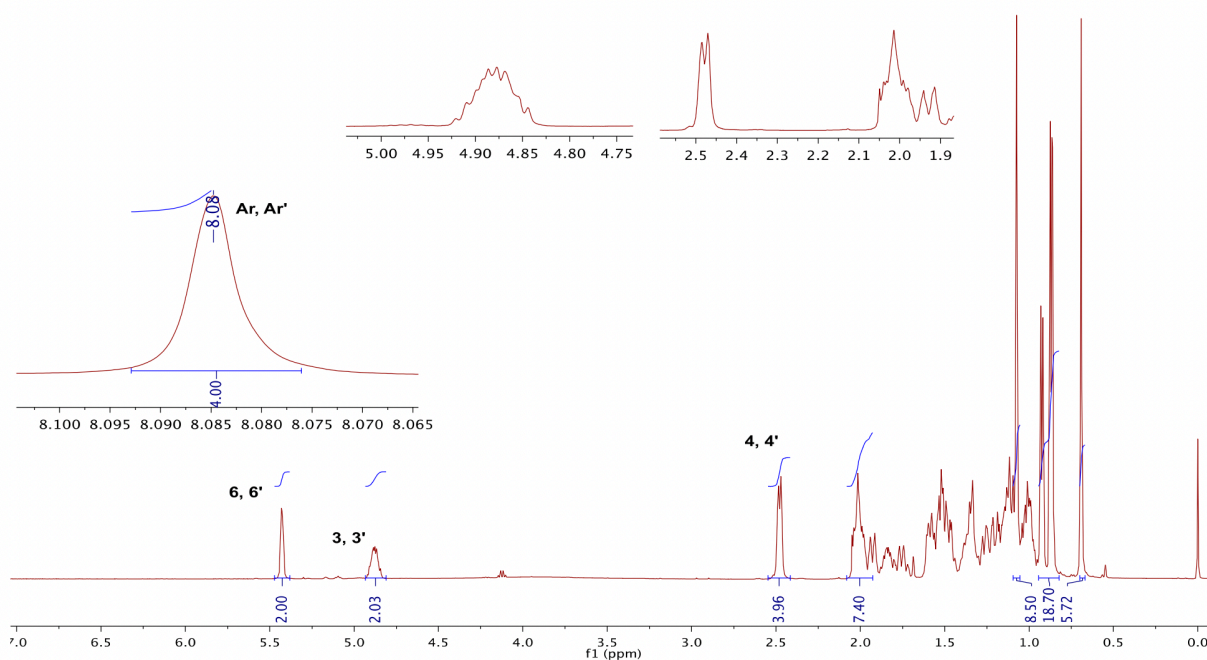
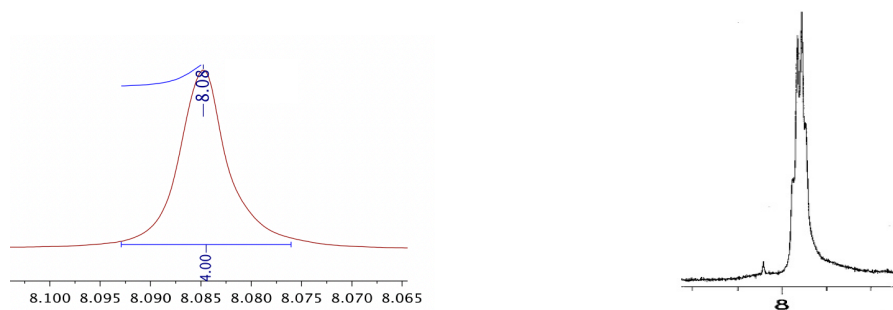


Figura 24. Espectro de ^1H a 500 MHz del bicolesterol **72** con expansiones.

Cabe destacar que el patrón de acoplamiento del grupo espaciador es característico de una unidad dimérica simétrica, ya que los H se reconocen como equivalentes debido al ambiente químico, generando una única señal intensa en la región de aromáticos (a) en 8.08 ppm en el espectro de RMN de ^1H , que integra para 4H, lo que descarta la posibilidad de la monosustitución del tereftaloilo (b) en este derivado, donde los H en el anillo aromático no serían químicamente equivalentes (Figura 25).



a) Disustitución en *para* (molécula simétrica)

b) Monosustitución del tereftaloilo

Figura 25. Expansión del espectro de ^1H a 500 MHz del bicolesterol **72**.

Los desplazamientos de las señales observadas en los espectros de RMN tanto de ^1H como de ^{13}C muestran un solo juego de señales, que en ^1H integran para el doble de H en las señales correspondientes a la unidad esteroidal. Por lo tanto, es de esperarse que, si ocurrió el acoplamiento de 2 unidades esteroidales con el grupo espaciador, tendremos ese patrón característico en la región de aromáticos, lo que es de utilidad en la elucidación de los biesteroides.

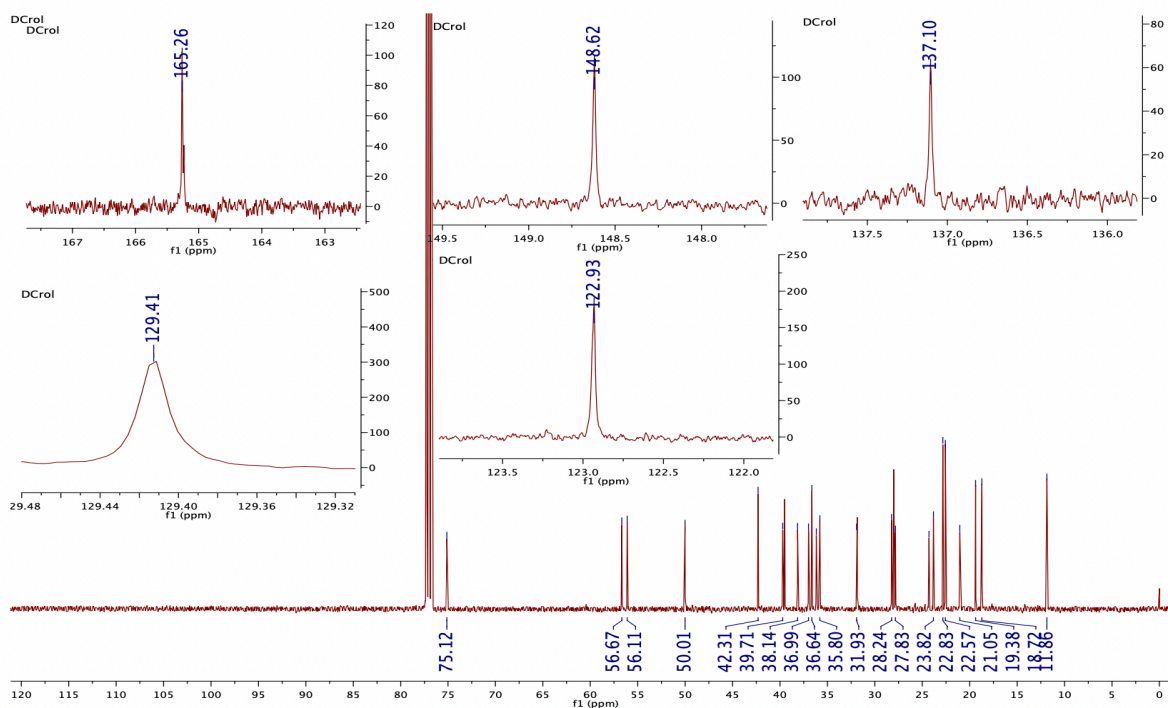


Figura 26. Espectro de ^{13}C a 125 MHz del bicolesterol **72** en CDCl_3 con expansiones.

Con la finalidad de comparar las características de la fusión de los anillos A/B del esteroide, se preparó y caracterizó el derivado bicolestanol, el cual presenta un H-5 β (Figura 28), lo cual lo hace adoptar una planaridad que podía provocar un comportamiento diferente ante el fenómeno de gelificación o autoensamblaje. Sin embargo, cabe resaltar que el bicolestanol no superó el comportamiento del bicolesterol frente a estímulos del disolvente, los cuales se discuten más adelante.

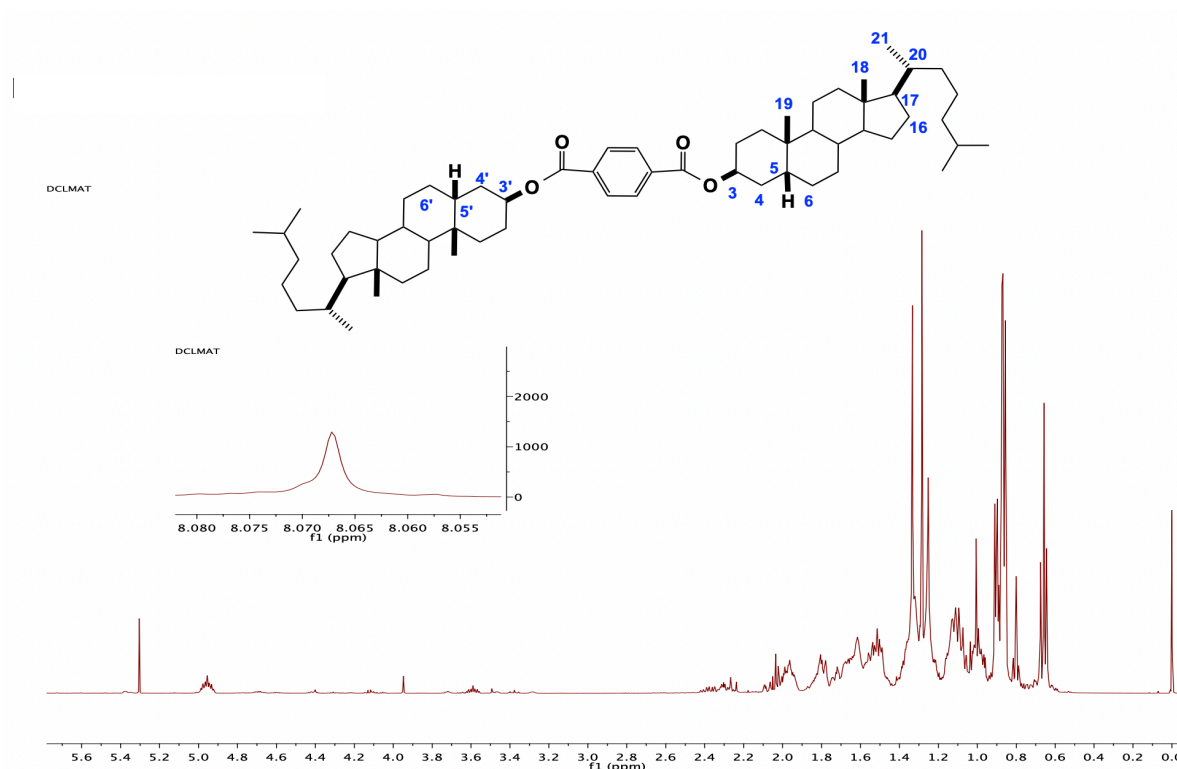


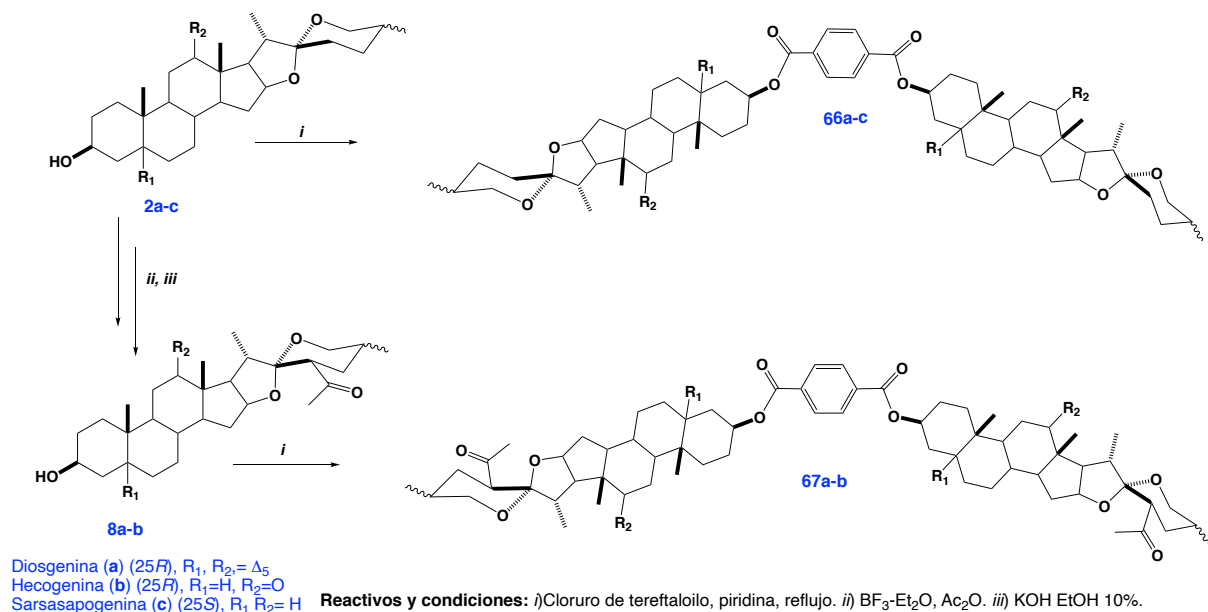
Figura 28. Espectro de RMN de ^1H a 500 MHz del bicolestanol **73**.

Las señales de la Tabla 2 nos permiten visualizar las diferencias que se hacen notorias por la diferencia de fusión de los anillos A/B. Las diferencias en la fusión en este sistema son visibles en los Me-18 que se encuentra unido al C-10 y justo en medio de los anillos A y B. Estas diferencias hacen que su acomodo en el espacio sea diferente, como consecuencia de su conformación, que repercute en su ambiente químico e interacciones intermoleculares, y en su comportamiento frente al disolvente. Notamos una tendencia mayor del bicolesterol al autoensamblaje que del bicolestanol.

Tabla 2. Señales de interés de RMN de ^1H y ^{13}C para los derivados bicolesterol (**72**) y bicolestanol (**73**), en ppm.

señales	^1H RMN (CDCl_3)		señales	^{13}C RMN (CDCl_3)	
	5	6		5	6
H-3, H-3'	4.90	4.96	C-3, C-3'	75.1	74.9
H-18, H-18'	0.69	0.87	C-18, C-18'	18.7	12.3
H-19, H-19'	1.07	0.66	C-19, C-19'	19.3	12.0
H-21, H-21'	0.93	0.91	C-21, C-21'	11.8	18.6
H _{Ar} -H _{Ar} '	8.08	8.07	C _{ipso} -C _{ipso} '	137.1	134.4

A continuación, también se sintetizaron esteroides diméricos de diosgenina (**2a**), hecogenina (**2b**) y sarsasapogenina (**2c**) en las mismas condiciones descritas en la Tabla 1 entrada e. Estos resultados obtenidos en colesterol y colestanol se replicaron en las sapogeninas esteroidales, para obtener compuestos que pudieran continuar su transformación, principalmente en la cadena lateral.



Esquema 22. Obtención de biesteroides espirostánicos.

Los datos obtenidos de la EMAR del dímero de diosgenina **66a** (Figura 29) nos confirma que el peso molecular del compuesto es característica y consistente para las dos unidades del esteroide formando un ester tereftalato.

Observed m/z	Int%				
959.6414	85.7				
Estimated m/z	Error [ppm]	U.S.	C	H	O
959.6401	+1.4	19.5	62	87	8

Figura 29. Datos de EMAR para la bidiosgenina **66a**.

Los datos de espectrometría de masas son un dato importante en la elucidación de biesteroides. El espectro infrarrojo (IR) del dímero de diosgenina (Figura A123) presenta las bandas características para el anillo F de las dos unidades del esteroide que aparecen aproximadamente a 850, 900, 920 y 985 cm^{-1} . Como la intensidad de la señal en 900 cm^{-1} es menor que la de 920 cm^{-1} se trata de una cadena lateral de la serie "neo" (25*R*). El espectro mostró bandas en 1666 cm^{-1} y 1056 cm^{-1} que se asignan a las tensiones de los enlaces: C=C y C-O respectivamente. Por otra parte, las bandas correspondientes al grupo espaciador en 1600 cm^{-1} para a un anillo bencénico disustituído. En 1700 cm^{-1} se observa una banda debida al éster del tereftalato que une las dos unidades del esteroide al grupo espaciador.

En el espectro de RMN de ^1H se observa en 8.0 ppm una señal intensa y simple para los H aromáticos del grupo espaciador, debido a la simetría integran para 4H. Se aprecian además las señales correspondientes a los protones de ambas unidades esteroidales, las cuales coinciden debido a su equivalencia química, ya que la molécula es simétrica. Las señales de los protones cuyo ambiente químico genera un efecto de desprotección para éstos y los hace moverse a frecuencias altas, despegándose de la montaña de señales, son: la señal doble del H-6 y H-6' se distingue en 5.4 ppm; el H-3 y H-3' se observan en 4.8 ppm como una señal múltiple ancha. La señal doble de doble de dobles de los H-16 y H-16' se encuentra en 4.4 ppm. El par de señales de los protones diastereotópicos en el C-26 y C-26' se ubican en 3.46 y 3.39 ppm para el H-26e y H-26a respectivamente, como dos señales cuya multiplicidad coincide con las constantes de acoplamiento de 10.8 Hz para el acoplamiento geminal con el H-26a, de 4.4 Hz para el acoplamiento con el H-25a y de 2.4 Hz con el H-24e para el H-26e y H-26e'; y para el H-26a y H-26a' que presenta una $J = 10.8$ Hz para su acoplamiento con el H-25a en una señal doble de dobles. En 2.4 ppm se observa una señal doble correspondiente al H-4 y H-4'. Se aprecian las señales de los metilos 18 y 18' en 1.04 ppm; los metilos 21, 21' y 27, 27' se observan como señales dobles en 0.98 y 0.79 ppm respectivamente. La señal simple de los metilos 19 y 19' se ubica en 0.8 ppm (Figura 31).

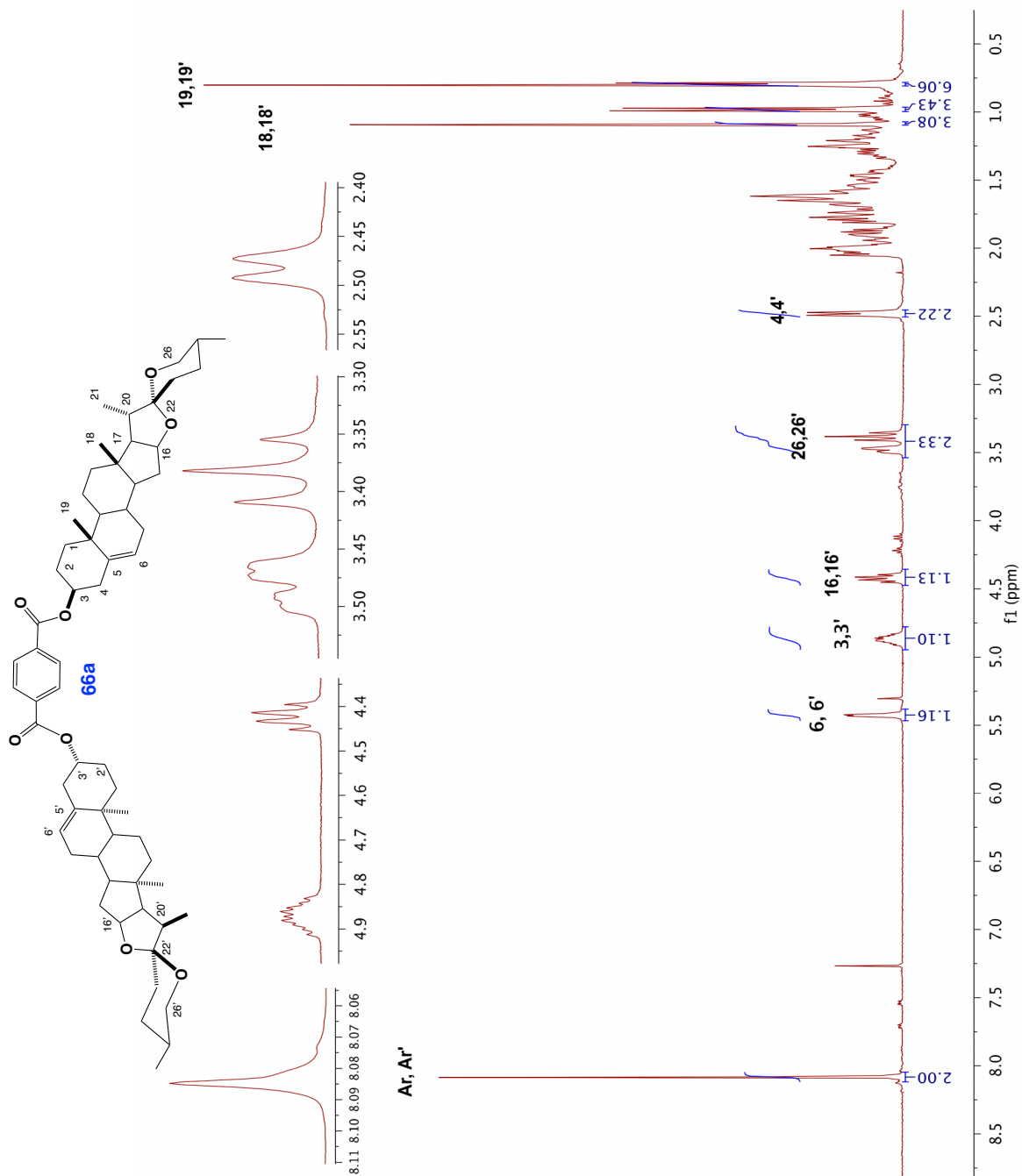


Figura 31. Espectro de ^1H a 500 MHz del bidiosgenina **66a** con expansiones.

Así mismo, en el espectro de RMN de ^{13}C , se distinguieron 29 señales de carbonos para esta molécula, ya que la molécula es simétrica y en las señales existe una equivalencia química. Las señales del grupo espaciador se muestran en 129.5 ppm para los carbonos del anillo aromático en las posiciones *orto* y *meta* (C-2,3,5 y 6), así como las posiciones

prima (C-2',3',5' y 6'); los C-*ipso* del anillo aromático se ubican en 134.3 ppm, desplazamiento característico para este C cuaternario (Figura 32).

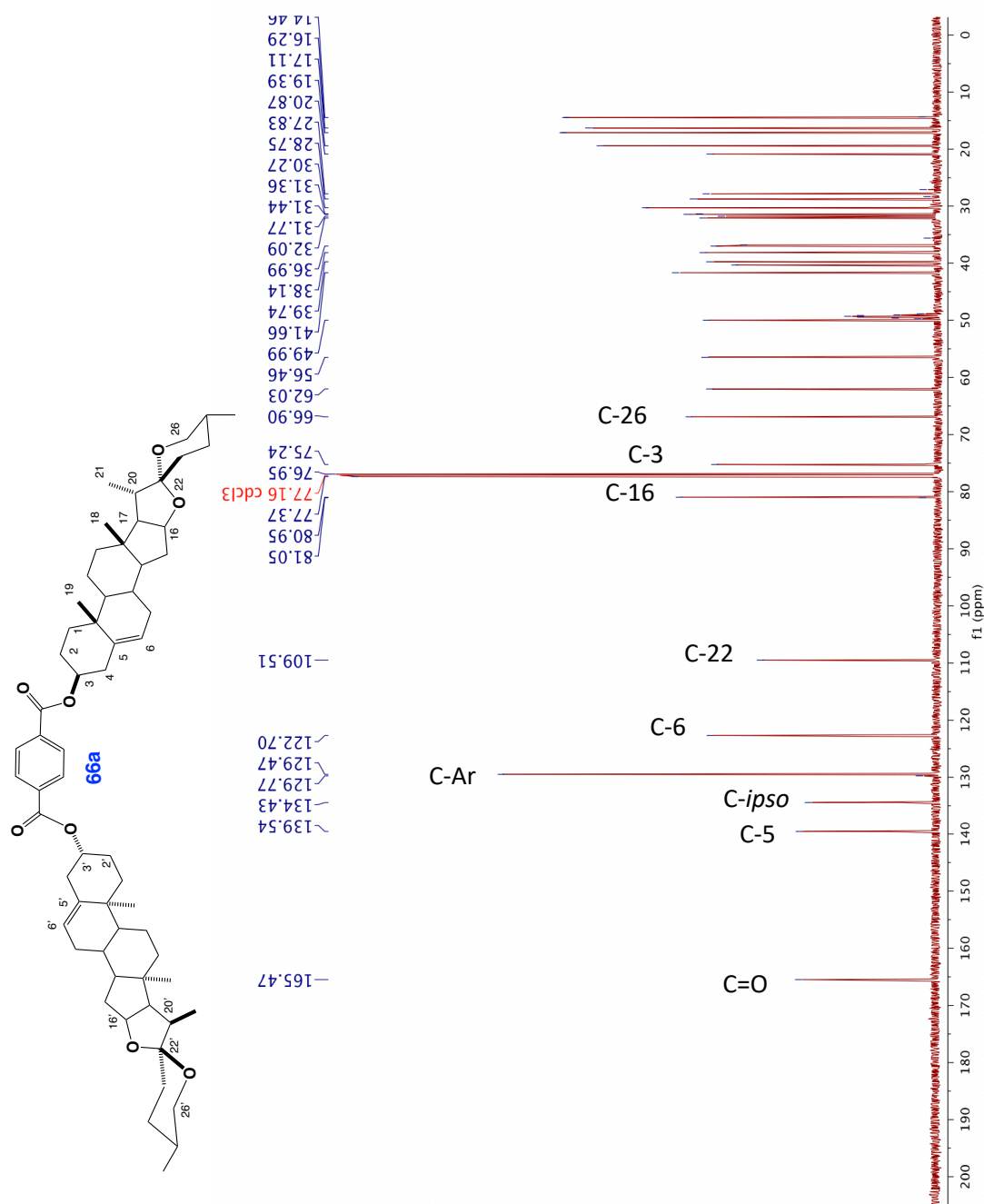


Figura 32. Espectro de ^{13}C a 125 MHz del bidiosgenina **66a** en CDCl_3 con expansiones.

En las señales correspondientes a los esteroides, se aprecian los carbonos vinílicos C-5, C-5' y C-6, C-6' en 140.8 y 121.4 ppm. El carbono espirocetálico 22 y 22' se ubicó en 109.3 ppm, desplazamiento característico para éste. Las señales de los carbonos base de

oxígeno de C-3, C-3', C-16, C-16' y C-26, C-26' se observaron a frecuencias altas hacia 74.8, 80.8 y 66.8 ppm respectivamente.

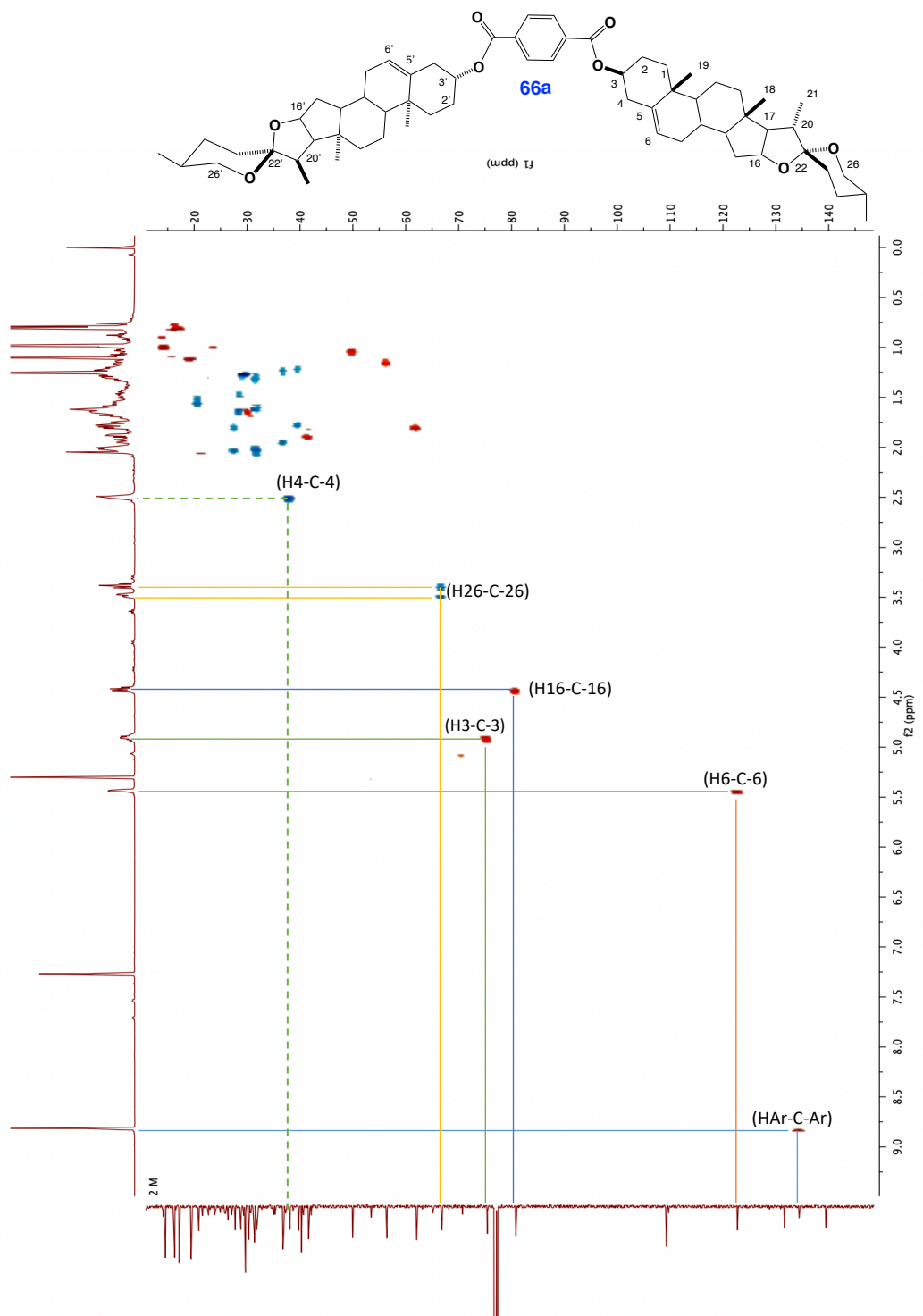


Figura 33. Espectro de RMN-HSQC a 600 MHz en CDCl_3 de Bidiosgenina (**66a**).

El espectro COSY ayudó a la correcta asignación del espectro de ^1H , ya que como se observa, el H-3 y el H-16 son señales muy cercanas, pero el acoplamiento del H-16 con el H-17 permite distinguir ambas señales. Se observa también la correlación entre los H-26a y H-26e, quienes a su vez correlacionan visiblemente con el H-24e. La correlación del H-6 con una señal del sistema de acoplamiento complejo a frecuencias bajas, indica la presencia de los H-7 en esa área. Es importante destacar que la señal simple de los H-aromáticos no correlaciona con ningún H del resto del espectro. Con los experimentos bidimensionales HSQC y HMBC (Figuras 33 y 34) se asignaron inequívocamente todas las señales de carbono.

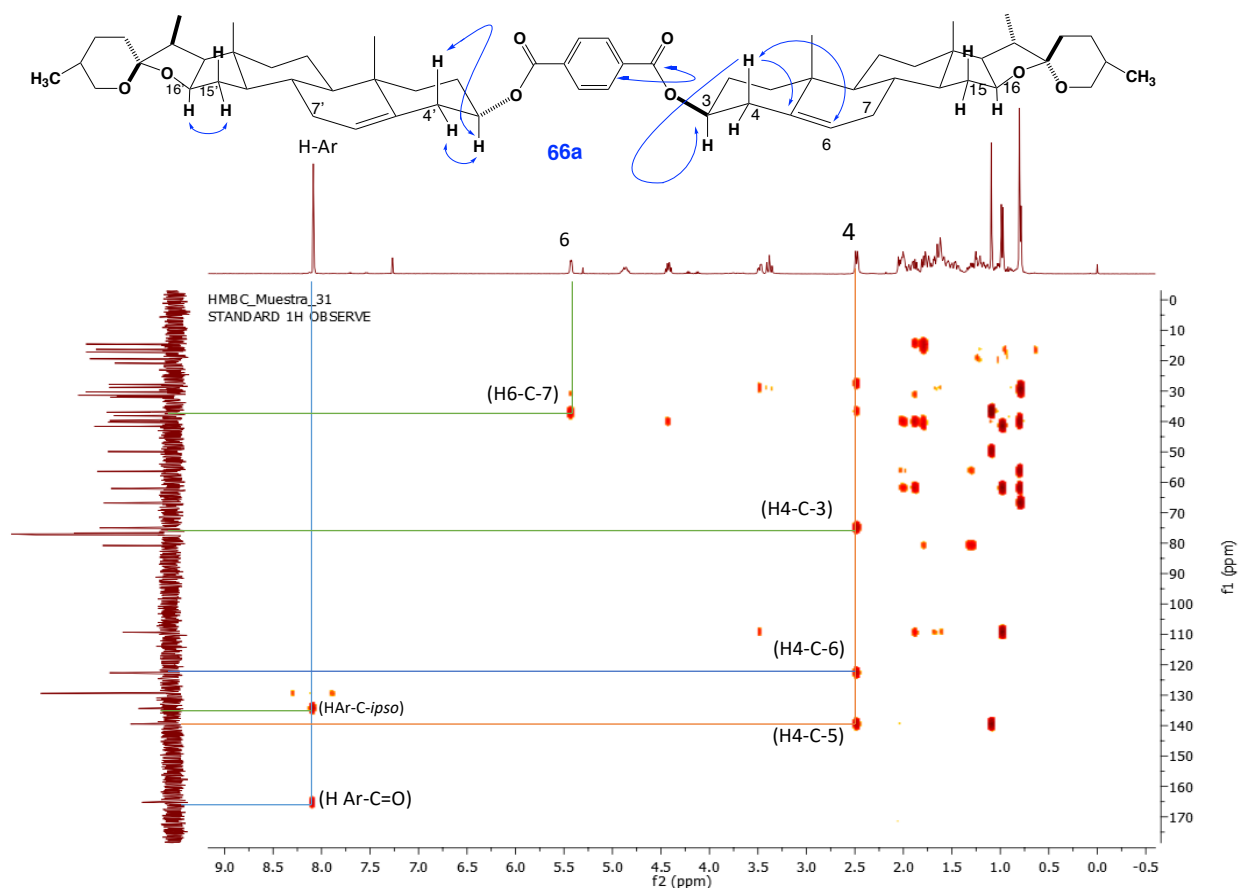


Figura 34 Correlaciones (arriba) y espectro de RMN-HMBC a 600 MHz en CDCl_3 de Bidiosgenina (**66a**, abajo).

Así por ejemplo, los metilos angulares 18, 19 y los carbonos cuaternarios que los soportan se establecieron con estos experimentos, mediante las correlaciones a un enlace en el caso del HSQC, e interacciones a dos y tres enlace para el caso del HMBC. En el

experimento HMBC se confirma que el grupo éster del grupo espaciador correlaciona con el C-*ipso* del anillo aromático; se confirman las señales de los metilos angulares y de los C-cuaternarios que los soportan, y que el H-4 correlaciona con los C-3, C-5 y C-6.

Se obtuvo el dímero de hecogenina (bihecogenina) el cual fue caracterizado y se discute a continuación. Los datos de EMAR son distintivos para un tereftalato de bisapogenina con una fórmula condensada $C_{62}H_{86}O_{10}$ con una masa observada de 990.6619. El espectro infrarrojo (IR) de bihecogenina **66b** (Figura A124) presenta las bandas características para el anillo F de las dos unidades del esteroide que aparecen aproximadamente a 850, 900, 920 y 985 cm^{-1} . Mostró bandas en: 1672 cm^{-1} y 1056 cm^{-1} que se asignan a las tensiones de los enlaces: C=O y C-O respectivamente. En 1702 cm^{-1} se observa una banda correspondiente al éster del tereftalato que une las dos unidades del esteroide al grupo espaciador. En el espectro de RMN de 1H para la bihecogenina **66b**, las señales de los protones cuyo ambiente químico genera un efecto de desprotección y los hace moverse a frecuencias altas, despegándose de la montaña de señales, son: en 8.06 ppm las señales de los H-aromáticos que integra para 4H, el H-3 y H-3' que se localiza en 4.95 ppm como una señal múltiple ancha. La señal doble de doble de dobles de los H-16 y H-16' se encuentra en 4.34 ppm.

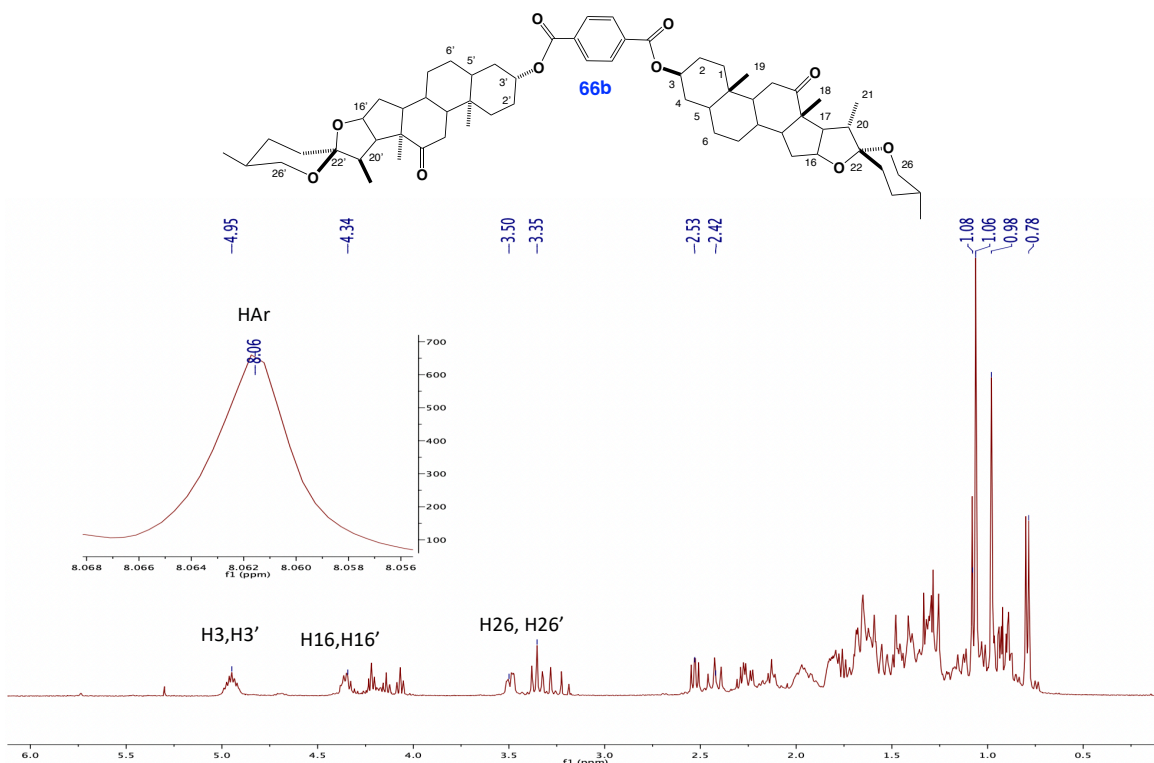


Figura 36. Espectro de RMN 1H a 500 MHz del bihecogenina **66b** con expansiones.

El par de señales de los protones diastereotópicos en el C-26 y C-26' se ubican en 3.50 y 3.35 ppm para el H-26e y H-26a respectivamente, como dos señales cuya multiplicidad coincide con las constantes de acoplamiento de 10.6 Hz para el acoplamiento geminal con el H-26a, de 4.4 Hz para el acoplamiento con el H-25a y la señal múltiple para el H-26e y H-26e'; y para el H-26a y H-26a' que presenta una $J= 10.6$ Hz para su acoplamiento con el H-25a en una señal doble de dobles. En 2.53 ppm se observa una señal doble de dobles correspondiente al H-11 y H-11' con una $J_{gem}= 14.2$ Hz para el acoplamiento geminal, y una $J_{11a-10}= 13.2$ Hz con el H-10. Se aprecian las señales de los metilos 18 y 18' en 1.06 ppm; los metilos 21, 21' y 27, 27' se observan como señales dobles en 1.08 y 0.78 ppm respectivamente. La señal simple de los metilos 19 y 19' se ubica en 0.98 ppm (Figura 36).

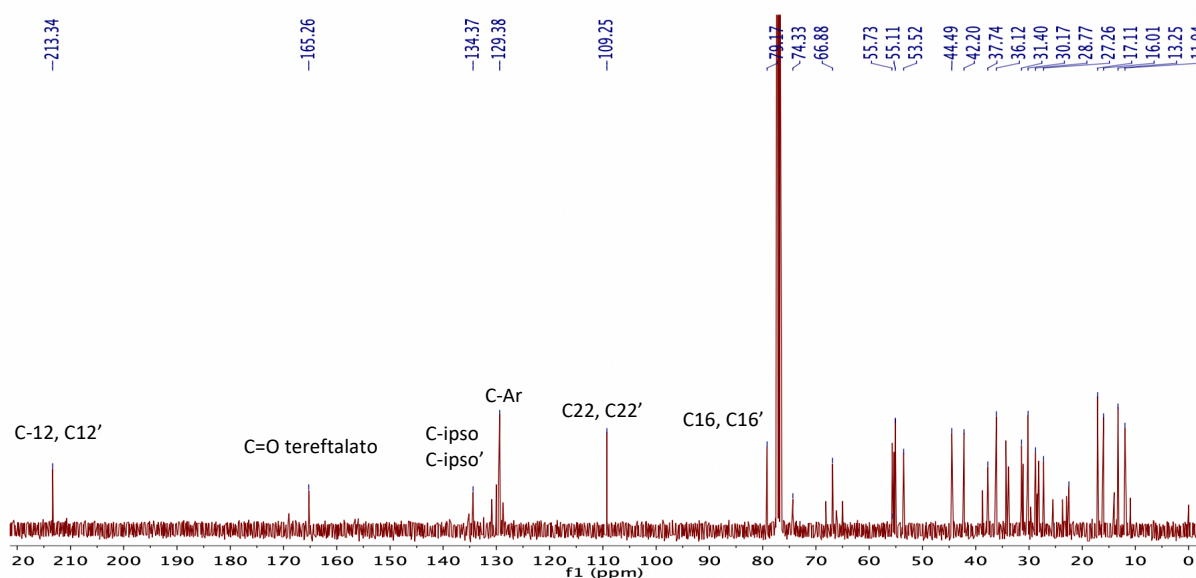


Figura 37. Espectro de RMN- ^{13}C a 125 MHz del bihecogenina **66b**.

En el espectro de RMN de ^{13}C , las señales del grupo espaciador se muestran en 130.0 ppm para los carbonos del anillo aromático en las posiciones orto y meta (C-2,3,5 y 6); los C-*ipso* del anillo aromático se ubican en 134.3 ppm, característico para este C cuaternario. En las señales de los esteroides, se aprecian los C del ester del tereftalato en 165.2 ppm. El C-espirocetálico 22 y 22' se ubicó en 109.2 ppm, desplazamiento característico para éste. Las señales de los carbonos base de oxígeno de C-3, C-3', C-16, C-16' y C-26, C-26' se observaron a frecuencias altas hacia 74.3, 74.3 y 66.8 ppm respectivamente. Destaca la señal a frecuencias altas en 213.3 ppm correspondiente al C-12 y C-12' (Figura 37).

Para el dímero de sarsasapogenina (bisarsasapogenina, **66c**) los datos de EMAR coinciden para un tereftalato de bisapogenina con una fórmula condensada $C_{62}H_{90}O_8$ con una masa observada de 962.6619. El espectro de IR del tereftalato de bisarsasapogenina se aprecian bandas en: 1269 cm^{-1} y 1117 cm^{-1} que se asignan a las tensiones de los enlaces C-O-C y C-O respectivamente, (Figura A125). En 1718 cm^{-1} se observa una banda correspondiente al éster del tereftalato C=O-O.

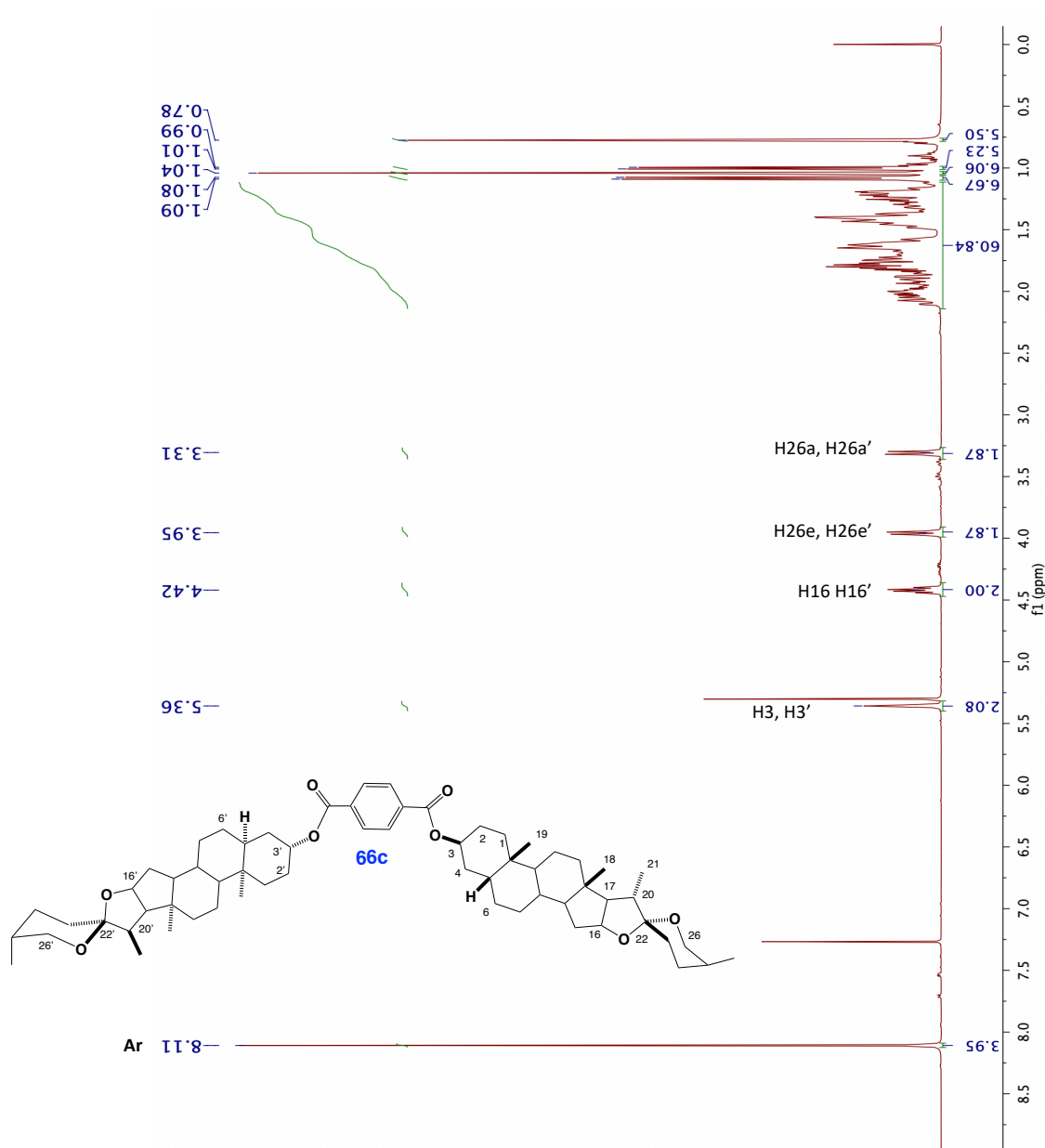


Figura 39. Espectro de RMN ^1H a 500 MHz del éster de Bisarsasapogenina (**66c**).

En el espectro de RMN de ^1H de la bisarsasapogenina **66c**, las señales de los protones con un ambiente químico que los hace moverse a frecuencias altas, despegándose de la montaña de señales son: en 8.11 ppm una señal intensa y aguda de los H-aromáticos que integra para 4H, el H-3 y H-3' que se localiza en 5.36 ppm como una señal múltiple ancha. La señal doble de doble de dobles de los H-16 y H-16' se encuentra en 4.42 ppm. El par de señales de los protones diasterotópicos en el C-26 y C-26' se ubican en 3.95 y 3.31 ppm para el H-26e y H-26a respectivamente, como dos señales cuya multiplicidad coincide con las constantes de acoplamiento de 10.6 Hz para el acoplamiento geminal con el H-26a, de 4.4 Hz para el acoplamiento con el H-25a y la señal múltiple para el H-26e y H-26e'; y para el H-26a y H-26a' que presenta una $J = 10.6$ Hz para su acoplamiento con el H-25a en una señal doble de dobles. Se aprecian las señales de los metilos 27, 27' y 19 y 19' en 1.09 y 1.04 ppm; en 1.0 ppm la señal doble del metilo 21, 21', y por último en 0.78 ppm la señal del metilo angular 18 y 18' (Figura 39).

En el espectro de RMN de ^{13}C , se aprecian las señales del grupo espaciador en 129.4 ppm para los carbonos del anillo aromático en las posiciones *orto* y *meta* (C-2,3,5 y 6), así como las posiciones *prima* (C-2',3',5' y 6'); los C-*ipso* del anillo aromático se ubican en 134.7 ppm, desplazamiento característico de este C cuaternario, además se aprecian los carbonos del ester del tereftalato en 165.1 ppm. En las señales correspondientes a las unidades esteroidales el carbono 22 y 22' se ubicó en 109.7 ppm, desplazamiento característico del espirocetal presente en la sapogenina. Las señales de los carbonos base de oxígeno de C-3, C-3', C-16, C-16' y C-26, C-26' se observaron a frecuencias altas hacia 71.9, 80.9 y 65.1 ppm respectivamente (Figura 40).

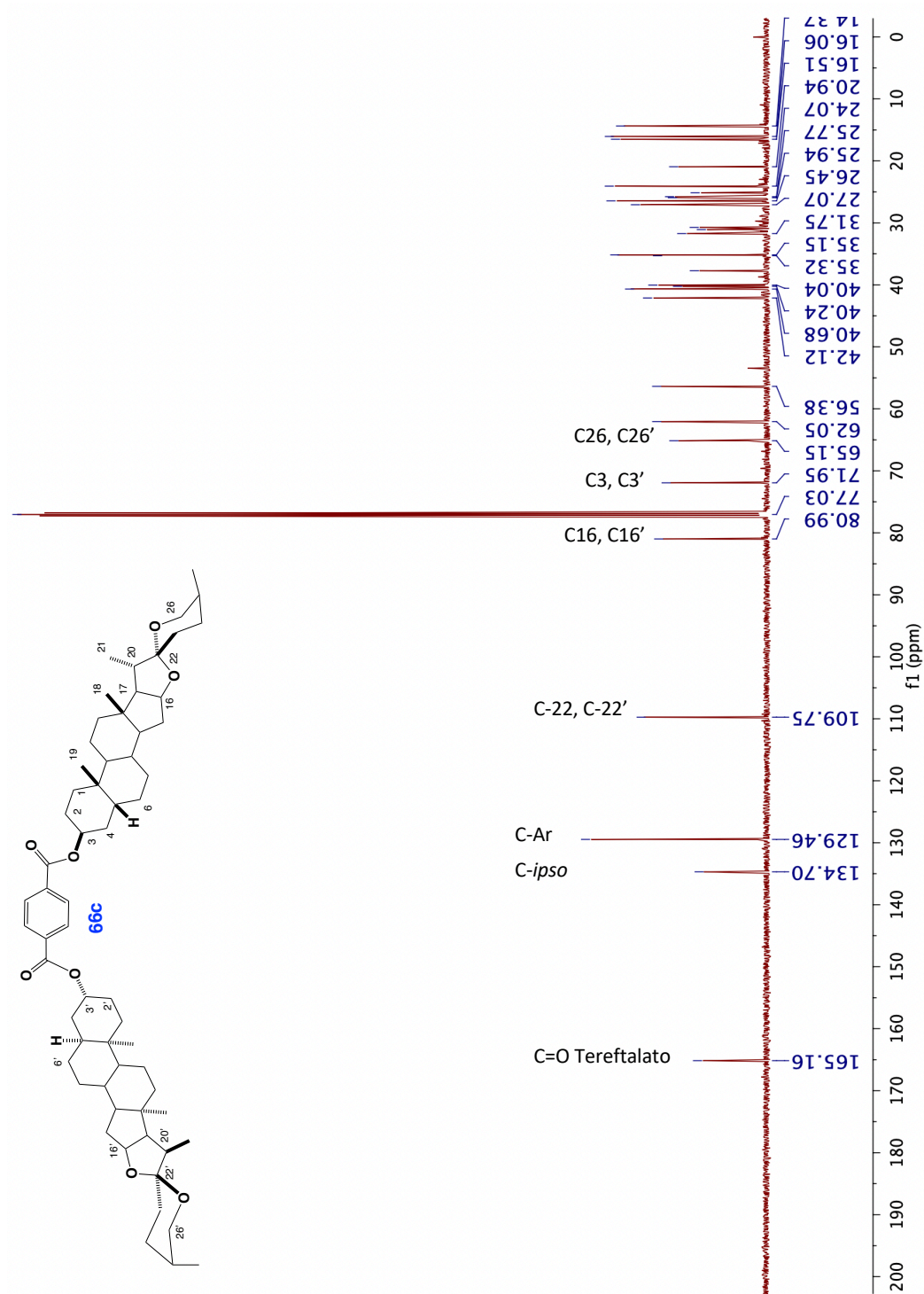


Figura 40. Espectro de RMN ^{13}C a 125 MHz del ester de Bisarsasapogenina (**66c**).

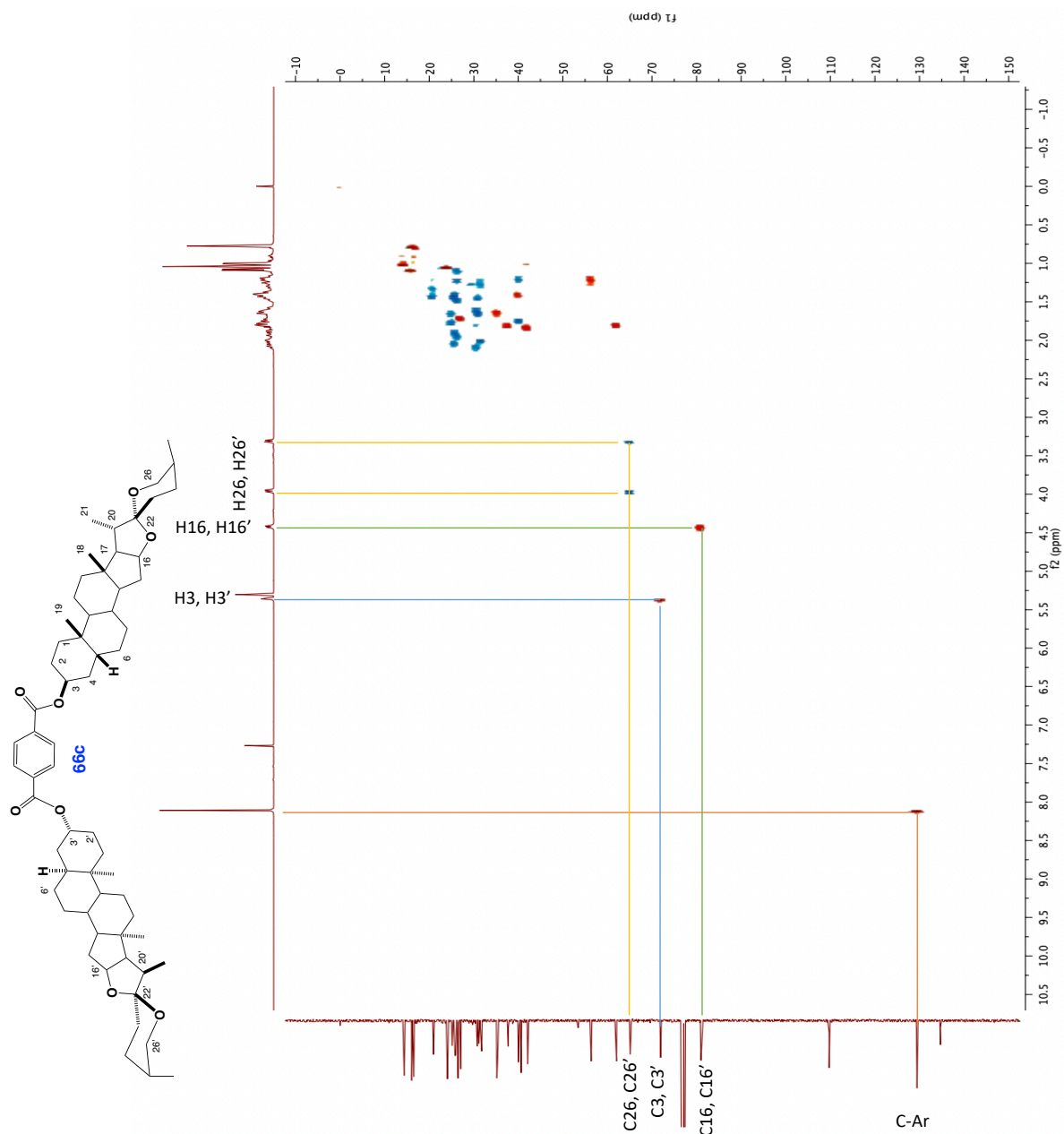


Figura 41. Espectro de RMN-HSQC a 500 MHz del éster de Bisarsasapogenina (**66c**).

Los experimentos bidimensionales heteronucleares como el HSQC (Figura 41) fueron útiles para asignar inequívocamente todas las señales de carbono. Los metilos angulares 18, 19 y los carbonos cuaternarios que los soportan se establecieron con este experimento, ya que a diferencia de los espectros y acoplamientos en la serie *25R*, en este caso el Me-18 en el ^1H se encuentra a frecuencia baja. Permite además apreciar que la señal de los C del anillo aromático del grupo espaciador correlaciona con la señal de los H del anillo aromático.

4.1 Obtención de bi-23-acetilsapogeninas.

La obtención de los derivados bi-23-acetilsapogenínicos se realizó a partir del precursor epoxicolestano, que se trató en medio básico para regenerar el espirocetal, con la metilcetona en C-23, cuya metodología está descrita en la literatura.^{15a} Se realizó la obtención de los derivados **67a** y **67b**, ya que no fue posible trabajar con sarsasapogenina para obtener 23-acetilsarsasapogenina, por la dificultad de conseguirla en cantidad suficiente.

Los datos de espectrometría de masas son un dato importante en la elucidación de biesteroides, para corroborar el peso molecular del compuesto, donde el espectro de **67a** es consistente mostrando una masa de 1043.6609 (Figura 42).

Observed m/z	Int%				
1043.6609	41.2				
Estimated m/z	Error [ppm]	U.S.	C	H	O
1043.6612	-0.3	21.5	66	91	10

Figura 42. Datos de HRMS de **67a**.

El espectro infrarrojo (IR) del dímero de 23-acetildiosgenina (Figura A126) presenta las bandas características para el anillo F de las dos unidades del esteroide que aparecen aproximadamente a 732, 942, 1012 cm^{-1} . El espectro mostró una banda en 1695 cm^{-1} que se asigna a la tensión de los enlaces: C=O y C-O. Por otra parte, las bandas correspondientes al grupo espaciador en 1452 cm^{-1} para la banda de tensión de C=C del anillo, y 1600 cm^{-1} para un anillo bencénico disustituído. En 1715.6 cm^{-1} se observa una banda del éster del tereftalato que une las dos unidades del esteroide al grupo espaciador.

En el espectro de RMN de ^1H de **67a** se observa en 8.0 ppm una señal intensa y simple para los H aromáticos del grupo tereftalato, que debido a la simetría y equivalencia química integran para 4H. A frecuencias bajas se aprecian además las señales correspondientes a los protones de ambas unidades esteroidales. La señal doble del H-6 y H-6' se distingue en 5.42 ppm; el H-3 y H-3' se observan en 4.88 ppm como una señal múltiple ancha. La señal doble de doble de dobles de los H-16 y H-16' se encuentra en 4.44 ppm. El par de señales de los protones diasterotópicos en el C-26 y C-26' se ubican en 3.50 y 3.46 ppm para el H-26e y H-26a respectivamente, como dos señales cuya multiplicidad coincide con las constantes de acoplamiento de 10.8 Hz para el acoplamiento

geminal con el H-26a, de 4.4 Hz para el acoplamiento con el H-25a y de 2.4 Hz con el H-24e para el H-26e y H-26e'; y para el H-26a y H-26a' que presenta una $J = 10.8$ Hz para su acoplamiento con el H-25a en una señal doble de dobles. En 2.65 ppm la señal que integra para 2H, se asignó a H-23a y H23a', se presenta una señal doble con una $J_{23-24a} = 12$ Hz.

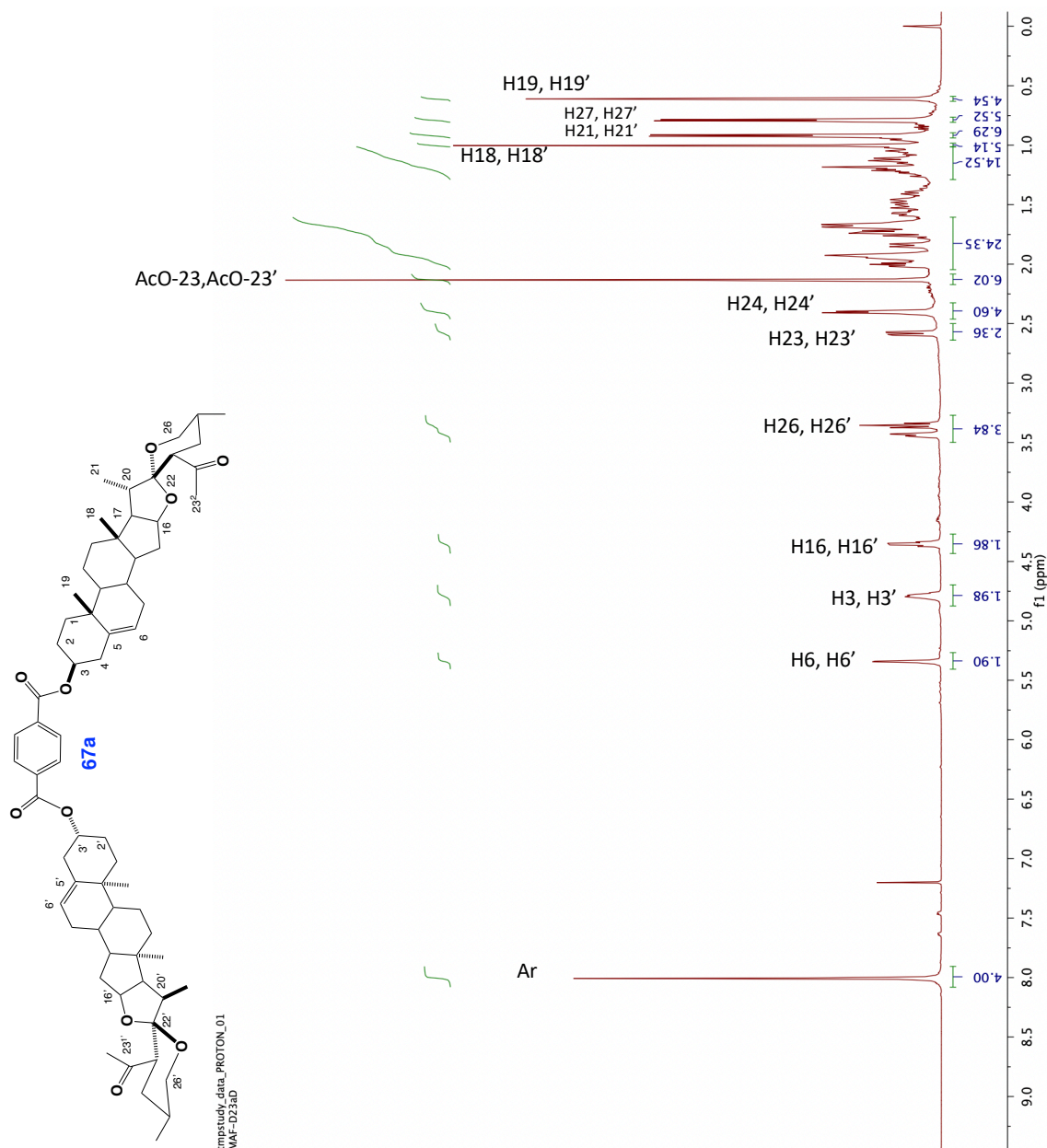


Figura 44. Espectro de RMN- ^1H a 600 MHz del éster de Bi-23-acetildiosgenina (**67a**).

En 2.46 ppm se observa una señal doble de doble de dobles correspondiente que integra para 2H, con $J_{24a24e} = 13$ Hz, $J_{24a23a} = 13$ Hz, $J_{24a25e} = 5$ Hz, para el H-24a y H-24a'. En 2.21 se observa una señal intensa y simple que integra para 6H y que pertenece al metilo del CH_3CO -23. Se aprecian las señales de los metilos 18 y 18' en 1.07 ppm; los metilos 21, 21' y 27, 27' se observan como señales dobles en 0.98 y 0.87 ppm respectivamente. La señal de los metilos 19 y 19' se ubica en 0.68 ppm (Figura 44). Este desplazamiento del Me-27 y Me-19 a frecuencias bajas -con respecto a **66a** que es el espiroetano no sustituido- se presume sea debido a la presencia de la metilcetona en el C-23.

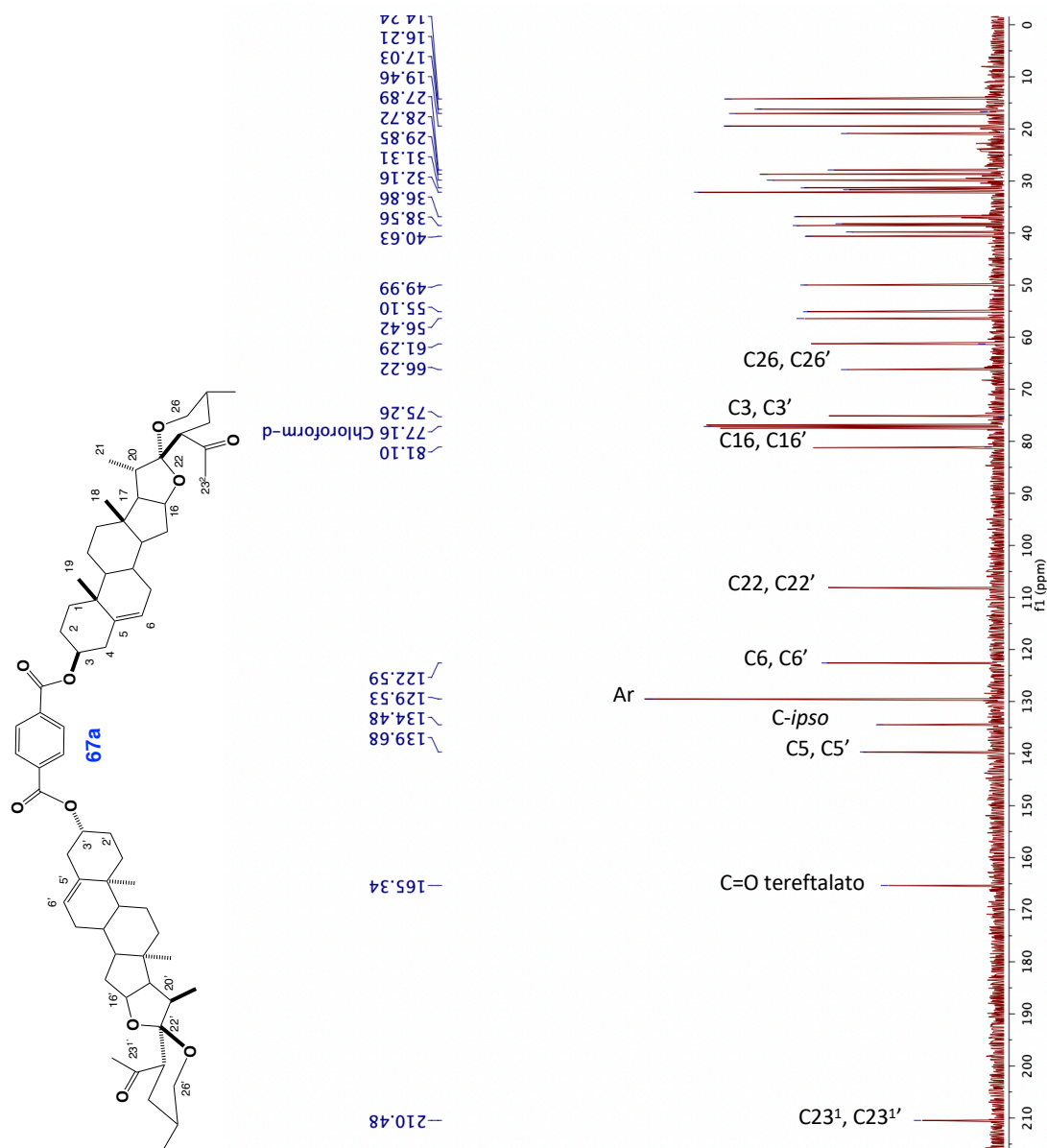


Figura 45. Espectro de RMN- ^{13}C a 150 MHz del bi-23-acetildiosgenina **67a**.

Asímismo, en el espectro de RMN de ^{13}C , se muestran las señales de los carbonos de esta molécula, ya que la molécula es simétrica y en las señales existe una equivalencia química. Las señales del grupo espaciador se muestran en 129.5 ppm para los carbonos del anillo aromático en las posiciones *orto* y *meta* (C-2,3,5 y 6), así como las posiciones *prima* (C-2',3',5' y 6'); los C-*ipso* del anillo aromático se ubican en 134.4 ppm, desplazamiento característico para este C cuaternario; la señal en 165 ppm corresponde al C=O del éster del grupo tereftalato. En las señales correspondientes a los esteroides, se aprecian los carbonos del acetilo en 210.4 ppm para el C-23¹ y C-23^{1'}; los carbonos vinílicos C-5, C-5' y C-6, C-6' están presentes en 139.6 y 122.5 ppm. El carbono espirocetálico 22 y 22' se ubicó en 108.1 ppm, desplazamiento característico. Las señales de los carbonos base de oxígeno de C-3, C-3', C-16, C-16' y C-26, C-26' se observaron a frecuencias altas hacia 75.2, 81.1 y 66.2 ppm respectivamente. En 55.1 ppm, se encuentra el C-23 y C23', base del acetilo (Figura 45).

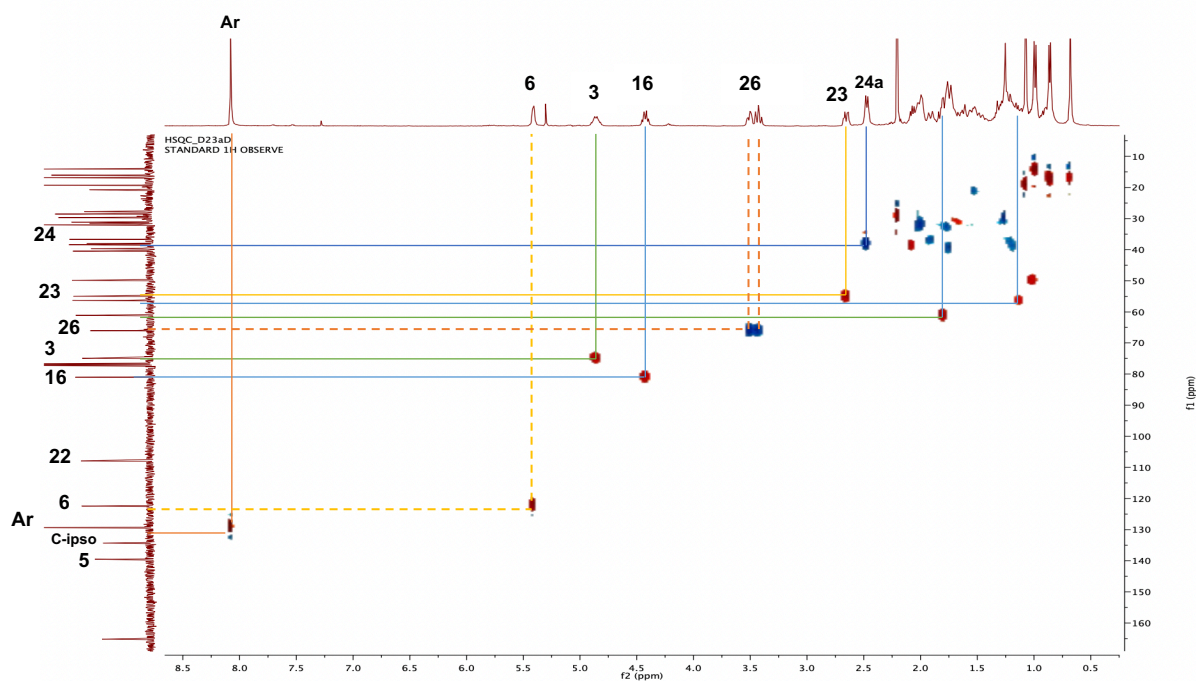


Figura 46. Espectro de RMN-HSQC a 600 MHz del éster de Bi-23-acetildiosgenina (**67a**).

Con los experimentos de 2D heteronucleares HSQC y HMBC (Figuras 46 y 47) se asignaron inequívocamente todas las señales de carbono. Así por ejemplo, en el caso de la señal del H-24a que se despega de la montaña de señales, fue posible asignar el C-24 a la señal en 38.5 ppm en el espectro de ^{13}C . La señal del C-23 en 55.1 ppm base del acetilo

correlaciona con el H-23 que se observa en 2.65 ppm. Los metilos angulares 18, 19 y los carbonos cuaternarios que los soportan se establecieron con estos experimentos, mediante las correlaciones a un enlace en el caso del HSQC, e interacciones a dos y tres enlace para el caso del HMBC, donde se confirma que el grupo éster del grupo espaciador correlaciona con el C-*ipso* del anillo aromático; se confirman las señales de los metilos angulares y de los C-cuaternarios que los soportan.

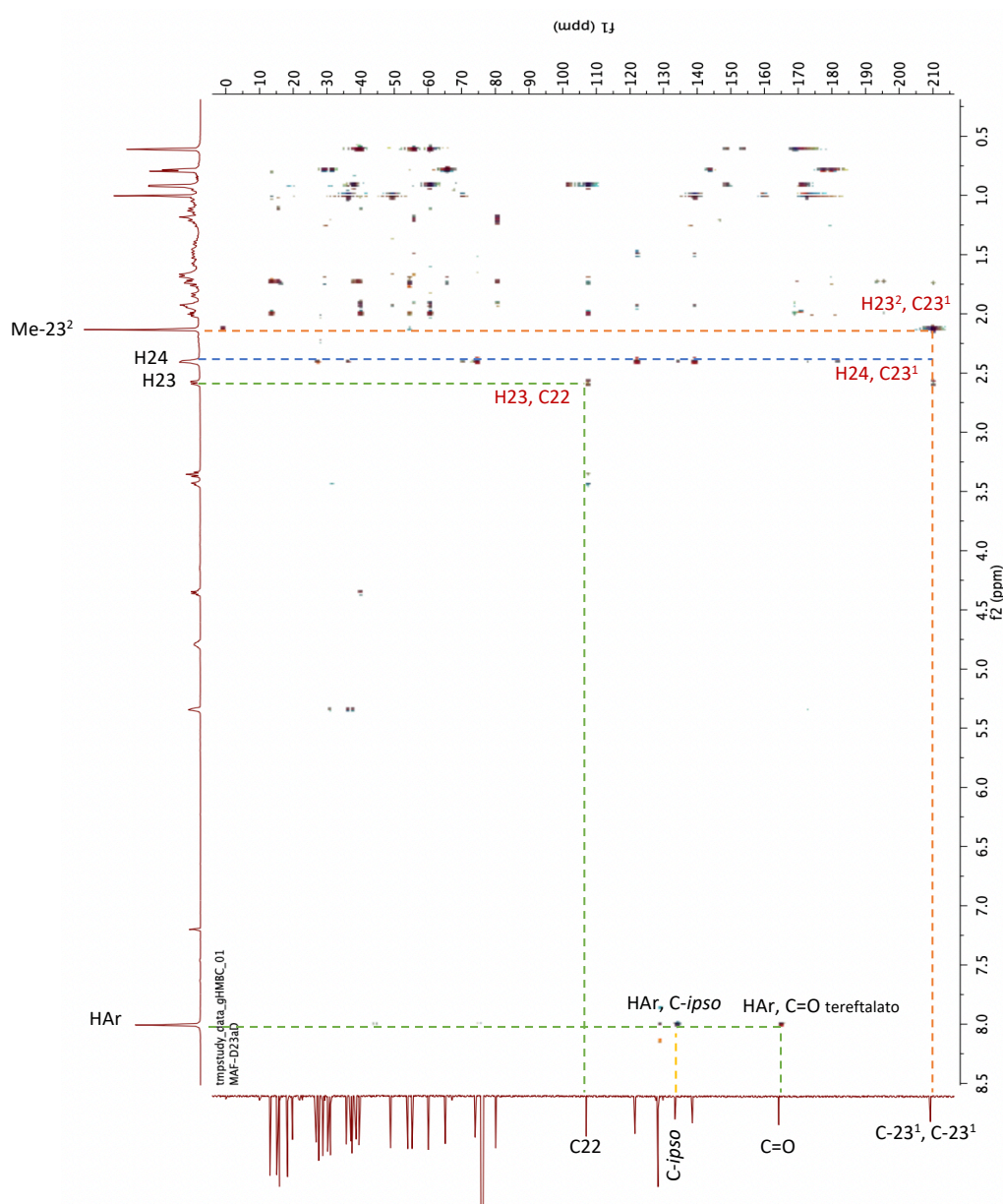


Figura 47. Espectro de RMN-HMBC a 600 MHz del éster de Bi-23-acetildiosgenina (**67a**).

Se obtuvo el dímero de la 23-acetilhecogenina (bi-23-acetilhecogenina, **67b**) cuya elucidación espectroscópica se discute a continuación. Los datos de EMAR son distintivos para un tereftalato de bi-23-acetilsapogenina con una fórmula condensada $C_{66}H_{90}O_{12}$ con una masa observada de 1074.4144. El espectro infrarrojo (IR) de **67b** presenta las bandas características en 1685 cm^{-1} y 1045 cm^{-1} que se asignan a las tensiones de los enlaces: C=O y C-O respectivamente, En 1685 cm^{-1} una banda intensa para la tensión de estrechamiento para el acetilo en C-23 (stretching C=O, C-O). En 1701 cm^{-1} se observa una banda correspondiente al éster del tereftalato que une las dos unidades del esteroide al grupo espaciador. En 2957 cm^{-1} se encuentran las bandas para (CH_3- , $-\text{CH}_2-$) (Figura A127).

En el espectro de RMN de ^1H para la bi-23-acetilhecogenina **67b**, las señales de los protones cuyo ambiente químico genera un efecto de desprotección y los hace moverse a frecuencias altas, despegándose de la montaña de señales. En 7.56 ppm la señal intensa y simple de los H-aromáticos que integra para 4H. La señal doble de doble de dobles de los H-16 y H-16' se encuentra en 4.44 ppm; y a frecuencias más bajas el H-3 y H-3' que se localiza en 3.81 ppm como una señal múltiple ancha.

El par de señales de los protones diasterotópicos en el C-26 y C-26' se ubican en 3.54 y 3.44 ppm para el H-26e y H-26a respectivamente, como dos señales cuya multiplicidad coincide con las constantes de acoplamiento de 10.6 Hz para el acoplamiento geminal con el H-26a, de 4.4 Hz para el acoplamiento con el H-25a y la señal múltiple para el H-26e y H-26e'; y para el H-26a y H-26a' que presenta una $J = 10.6\text{ Hz}$ para su acoplamiento con el H-25a en una señal doble de dobles. En 2.78 ppm se encuentra la señal múltiple para el H-23 y H-23'; y casi solapada en 2.73 ppm con una multiplicidad como doble de dobles se asignó la señal al H-17 y H-17'. La señal en 2.33 ppm se observa la señal simple del metilo en C-23² y C-23^{2'}. Se aprecian las señales de los metilos 18 y 18' en 0.90 ppm; los metilos 21, 21' y 27, 27' se observan como señales dobles en 1.37 y 0.71 ppm respectivamente. La señal simple de los metilos 19 y 19' se ubica en 0.82 ppm (Figura 49).

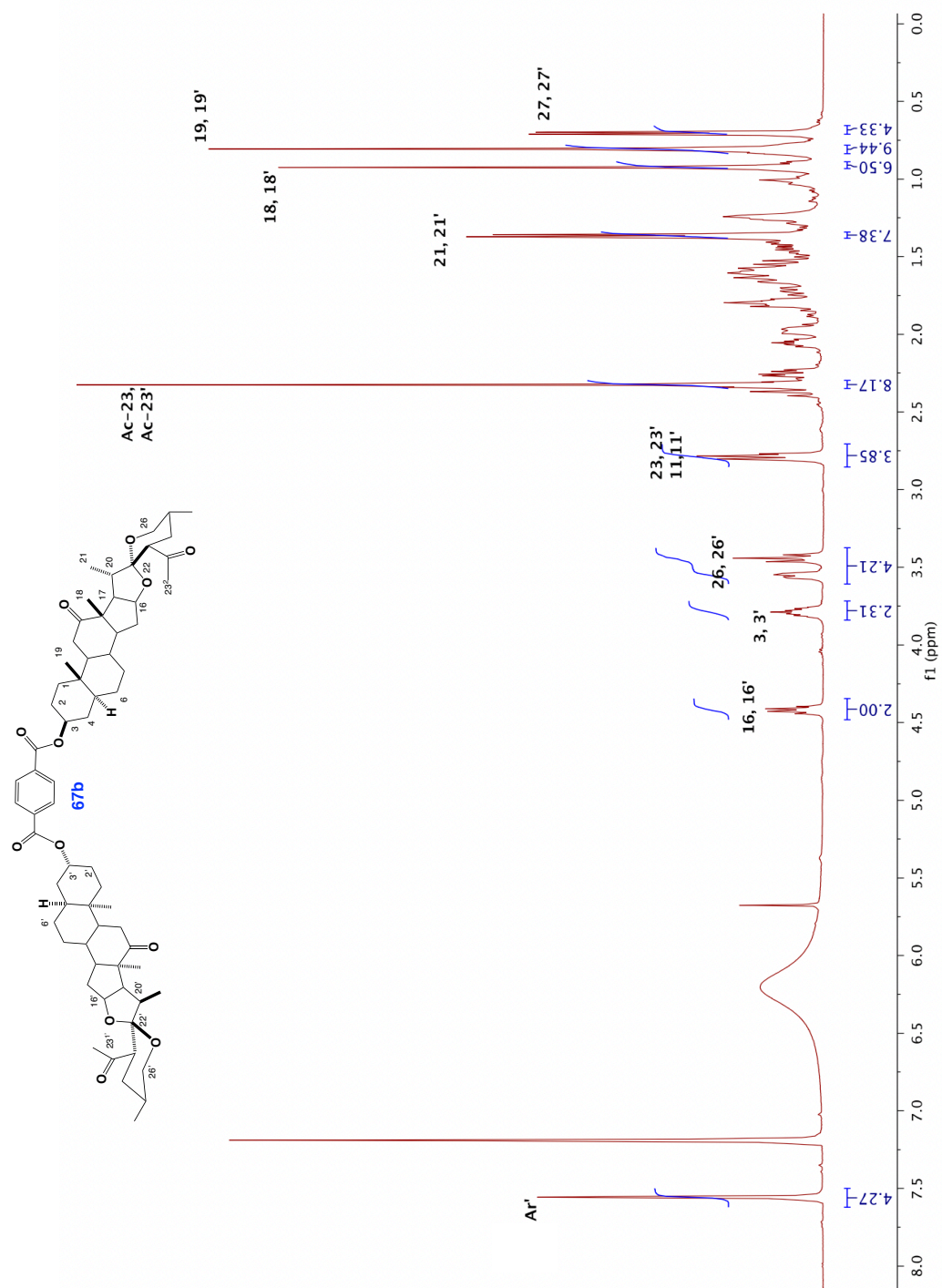


Figura 49. Espectro de RMN ¹H a 500 MHz del bi-23-acetilhecogenina **67b** en Piridina-*d*₅.

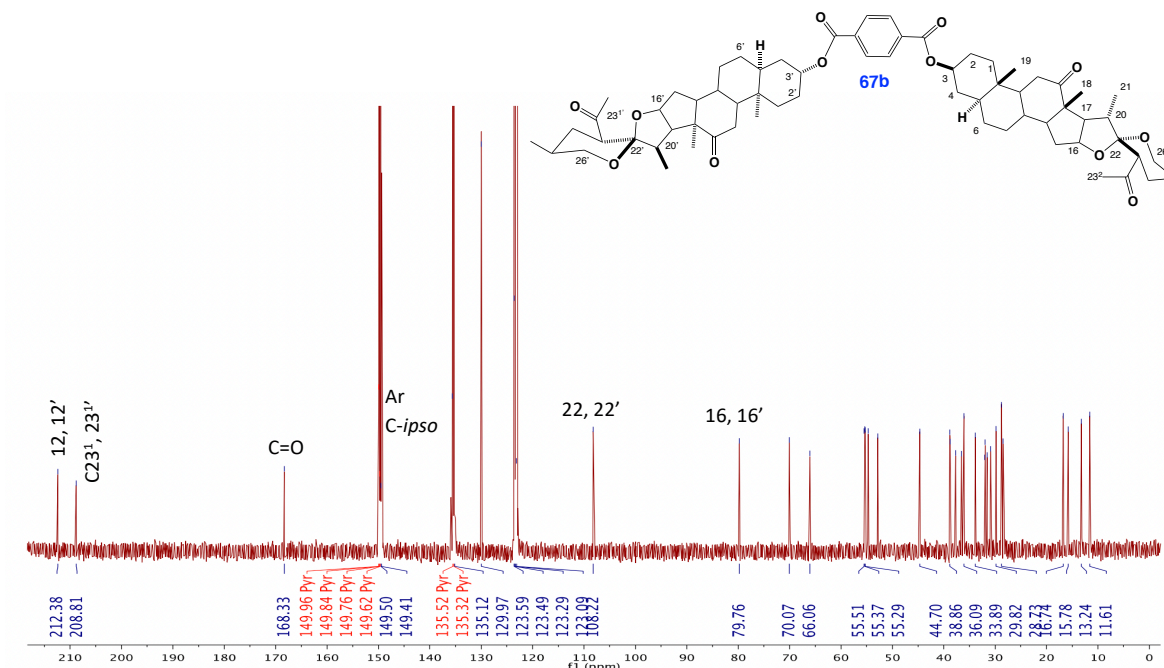


Figura 50. Espectro de RMN ^{13}C a 125 MHz del bi-23-acetilhecogenina **67b** en Piridina- d_5 .

En el espectro de RMN de ^{13}C , se aprecian las señales del total de carbonos para esta molécula, aunque como es característico de los biesteroides simétricos, se aprecia un solo juego de señales debido a la equivalencia química. Las señales del grupo espaciador se muestran en 129.9 ppm para los carbonos del anillo aromático en las posiciones orto y meta (C-2,3,5 y 6), así como las posiciones prima (C-2',3',5' y 6'); los C-*ipso* del anillo aromático se ubican en 135.1 ppm, desplazamiento característico para este C cuaternario. En las señales correspondientes a los esteroides, se aprecian los carbonos del ester del tereftalato en 165.2 ppm. El carbono espirocetálico 22 y 22' se ubicó en 108.2 ppm, desplazamiento característico para éste. Las señales de los carbonos base de oxígeno de C-3, C-3', C-16, C-16' y C-26, C-26' se observaron a frecuencias altas hacia 70.0 79.7 y 66.0 ppm respectivamente. Destacan las señales a frecuencias altas para el C del C=O del acetilo en C-23¹ y C-23¹ en 208.8 ppm, así como la señal en 212.3 ppm correspondiente al C-12 y C-12' (Figura 50).

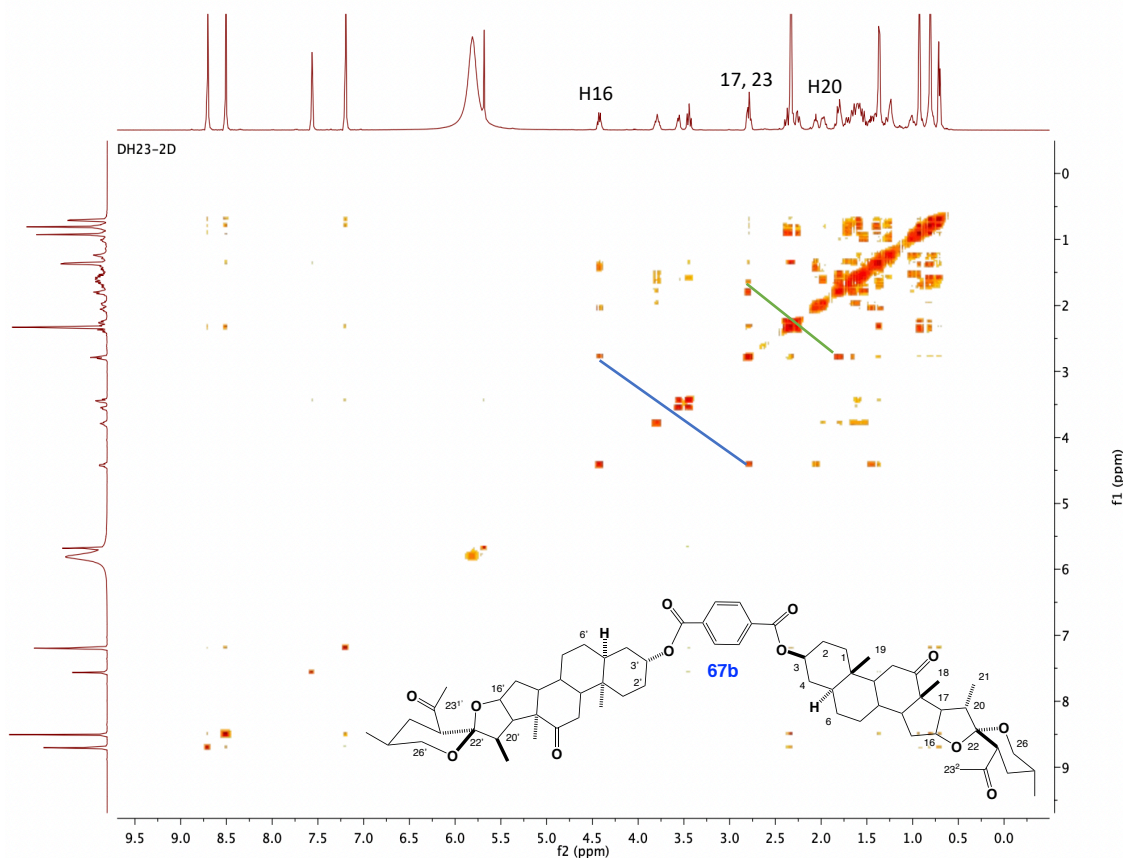


Figura 51. Espectro de RMN COSY a 500 MHz del bi-23-acetilhecogenina **67b** en Piridina-*d*₅.

En este caso en particular, el espectro COSY fue de gran ayuda para asignar el espectro de ^1H correctamente, ya que fue posible ver que las señales traslapadas en 2.78 y 2.73 se acoplan a diferentes H, pero que la integral muestra que equivalen a 4H. Es posible advertir que de esas dos señales traslapadas, una correlaciona con H-16, H-16', pudiendo asignarla al H-17, H-17', que además se acopla con H-20, H-20' que se encuentra en la montaña de señales. La otra señal correspondiente a H-23, H-23' correlaciona con H-24a, H24a' que también se encuentra en la montaña de señales (Figura 51).

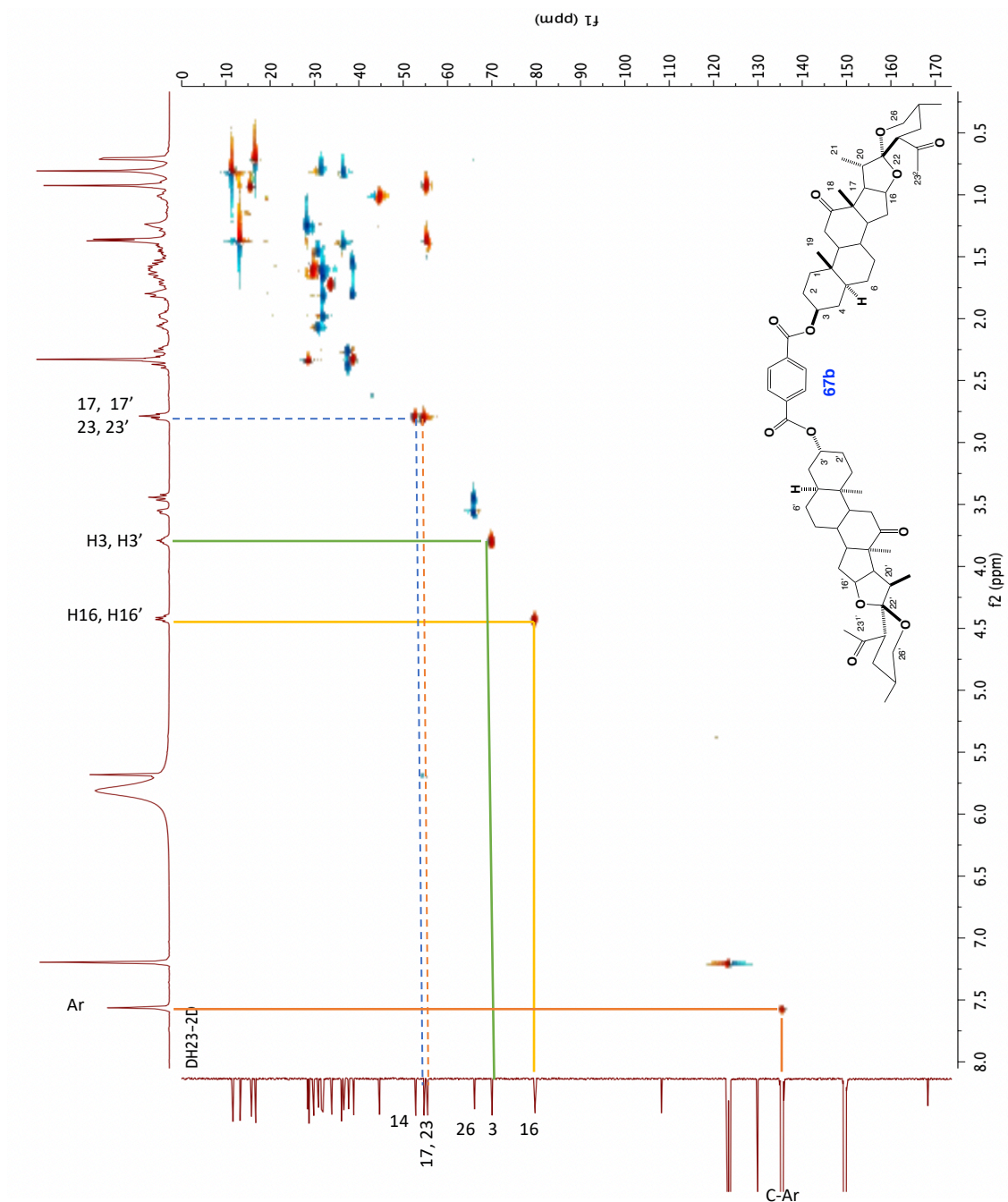


Figura 52. Espectro de RMN HSQC a 500 MHz del bi-23-acetilhecogenina **67b** en Piridina- d_5 .

Con esta información del espectro COSY fue más sencillo asignar el espectro de ^{13}C por su correlación con las señales del ^1H en el espectro HSQC (Figura 52), donde fue posible distinguir que las señales traslapadas en 2.78 y 2.73 correlacionan con señales que fueron asignadas a los C-23 y C-17; y muy cerca se encuentra el C-14.

Se intentó cristalizar el derivado **67b**, sin embargo, no fue posible obtener cristales, presumiblemente porque el autoensamblaje fue el fenómeno dominante. De un crudo de reacción se obtuvieron cristales que en un principio sospechamos podría tratarse del derivado dimérico, pero al enviar la muestra a Rayos-X y obtener el resultado de la difracción, resultó ser materia prima hidratada, como se muestra en la Figura 53.

Cristalográficamente hay un interés, es que se trata de un hemihidrato. Lo que está ya reportado es el monohidrato de la misma molécula, con una estructura cristalina muy diferente. Esto podría indicar que los puentes de hidrógeno inducidos por el agua interfieren en la dimerización, e impiden la obtención del biesteroide.

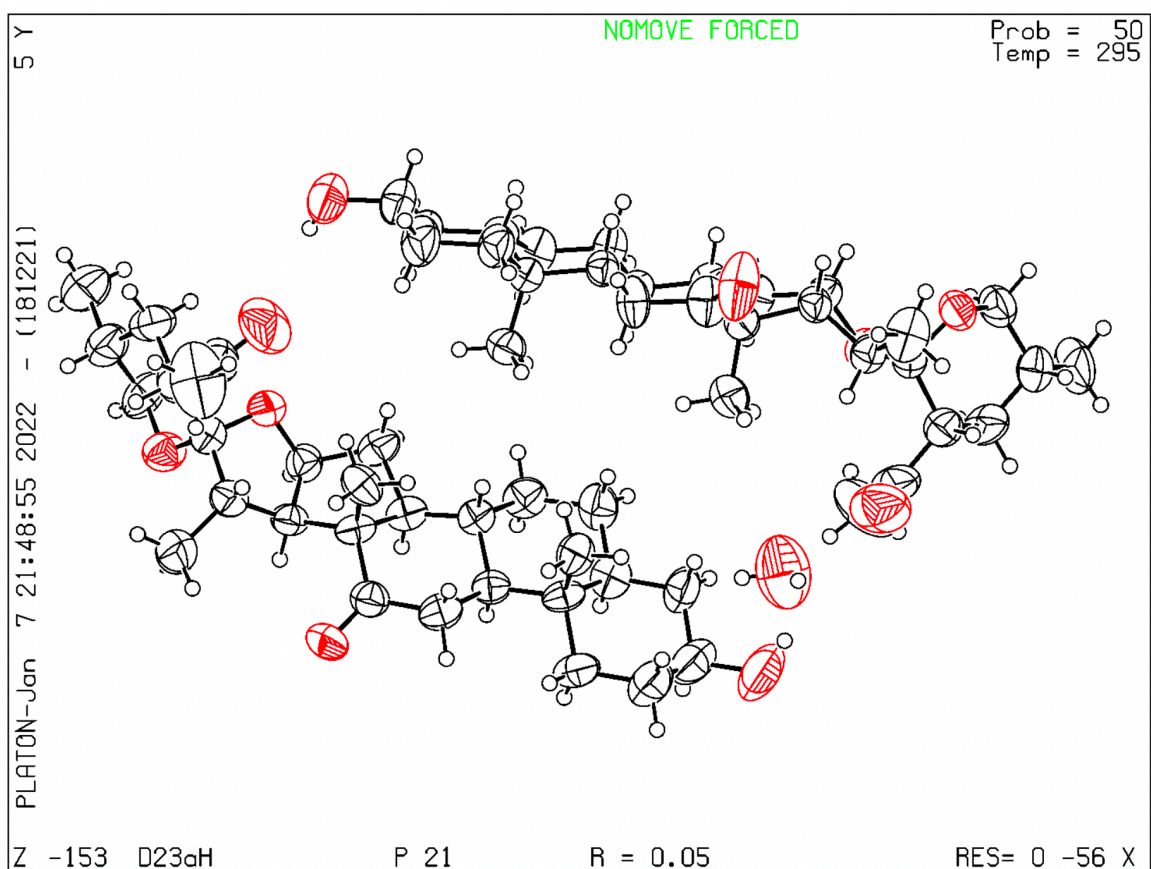


Figura 53. Estructura molecular de 23-acetilhecogenina **8b**, con elipsoides de desplazamiento al nivel de probabilidad del 20%.

Una vez que obtenidos los compuestos biesteroidales sapogeninicos y los 23-sustituídos, y haber realizado su elucidación, es posible comparar los datos de RMN que se condensan en la Tabla 3 y 4. En todos los compuestos, al calcular la relación de integración de la señal singlete alrededor de 8 ppm perteneciente al grupo espaciador, esta señal se integra para 4 H, mostrando que el anillo aromático está disustituído simétricamente, como se muestra para **66a** (Figura 31). De manera similar, el metino H-3 se desplaza a altas frecuencias, lo que confirma la formación del éster en C3 y C3' para todos los casos. Se pueden observar cambios más sutiles en los desplazamientos, por ejemplo los protones metilo C-19 presentan un ligero desplazamiento a mayor frecuencia (0.06 ppm **5**; 0.07 ppm **66a**; 0.07 ppm **67a**; 0.06 ppm **66b**; 0.04 **67b**, Tabla 3), esto se debe a la presencia del éster como grupo espaciador. Aunque se esperaría que la rotación libre minimice este efecto, el impedimento estérico generado por las fracciones esteroideas hace que estos protones se organicen bastante cerca del oxígeno del carbonilo del éster de tereftalato, lo que genera un efecto de protección (Figura 3). En el espectro ^1H -NMR de **67b**, se observa un singlete a 2,35 ppm perteneciente al H del CH_3 de posición 23"; en el espectro de RMN- ^{13}C , la señal en 208,8 ppm se asigna al grupo $\text{C}=\text{O}$ en C23" (Figura 4).

Tabla 3. Señales de interés de RMN- ^1H de **66a-c** y **67a-b** en ppm.

señales	66a*	66b*	66c*	67a*	67b♣
H-3, H-3'	4.91	4.95	5.36	4.80	3.81
H-6, H-6'	5.44			5.34	
H-18, H-18'	0.80	1.06	0.78	0.61	0.90
H-19, H-19'	1.10	0.98	1.04	1.00	0.82
H-21, H-21'	0.99	1.08	1.00	0.92	1.37
H-26a, H-26a'	3.38	3.35	3.31	3.36	3.44
H-26e, H-26e'	3.48	3.50	3.95	3.43	3.54
H-27, H-27'	0.79	0.78	1.09	0.80	0.71
$\text{H}_{\text{Ar}}-\text{H}_{\text{Ar}}'$	8.08	8.06	8.11	8.01	7.56
*en CDCl_3					
♣en $\text{Py}-d_5$					

Tabla 4. Señales de interés de RMN- ^{13}C de **66a-c** y **67a-b** en ppm.

señales	66a*	66b*	66c*	67a*	67b*
C-3, C-3'	75.2	74.3	71.9	75.2	70.0
C-5, C-5'	139.5	--	--	139.6	--
C-6, C-6'	122.7	--	--	122.5	--
C-18, C-18'	16.2	16.0	16.0	16.2	12.7
C-19, C-19'	19.3	17.1	24.0	19.4	16.9
C-21, C-21'	14.4	13.2	14.3	14.2	14.3
C-22, C-22'	109.5	109.2	109.7	108.1	108.2
C-23, C-23'	31.3	31.4	--	29.8	29.8
C-26, C-26'	66.9	66.8	65.1	66.2	66.0
C-27, C-27'	17.1	11.9	16.5	17.0	17.8
C _{ipso} -C _{ipso} '	134.4	134.3	134.7	134.4	135.1
*en CDCl ₃					
*en Py-d ₅					

Las estructuras cristalinas de los dímeros de sapogeninas brindan información para resolver problemas estructurales que estarán sujetos a las características estructurales del esqueleto esteroideal y cómo se vincula con el grupo espaciador (cola con cola o cabeza con cabeza). Debe considerarse que la información de fondo de la estructura cristalina de la difracción de Rayos X puede ser útil para dar una idea de la estructura de los agregados supramoleculares en soluciones acuosas.⁷⁷ El ejemplo publicado más recientemente se relaciona con la estructura de un esteroide dimérico con la cadena lateral espiroestánica y el anillo abierto A en una disposición de cola con cola unida.⁵¹ Además del último artículo mencionado, hasta donde identificamos, solo Bertolasi et al.,⁷⁸ Bai et al.,⁷⁹ Ghosh et al.⁸⁰ y Dias et al.⁸¹ han registrado estructuras cristalinas de un dímero de ácido biliar, un ciclódímero de ácido biliar y un ciclotrímero derivado de desoxicolato, respectivamente. A pesar de múltiples intentos por cristalizar los dímeros obtenidos, solo fue posible lograr la estructura cristalina del compuesto **67a**, los intentos de cristalización de los otros compuestos no tuvieron éxito, quizás debido a su tendencia a autoensamblarse en solución. Para el caso del compuesto **67a**, la estructura monocristalina está de acuerdo con los datos de RMN y muestra que el anillo de tereftalato central está simétricamente sustituido por dos restos esteroideales, con los grupos éster dispuestos en una conformación *anti* (Figura 54). Sin embargo, el punto medio del anillo de benceno central es un centro de inversión no cristalográfica, ya que la molécula es quiral. La extensión total de la molécula es de alrededor de 39 Å, y las moléculas están empaquetadas en estado sólido de tal manera que se alinean en una sola dirección, [1 0 -1], como se observa en el recuadro en la Figura 54.

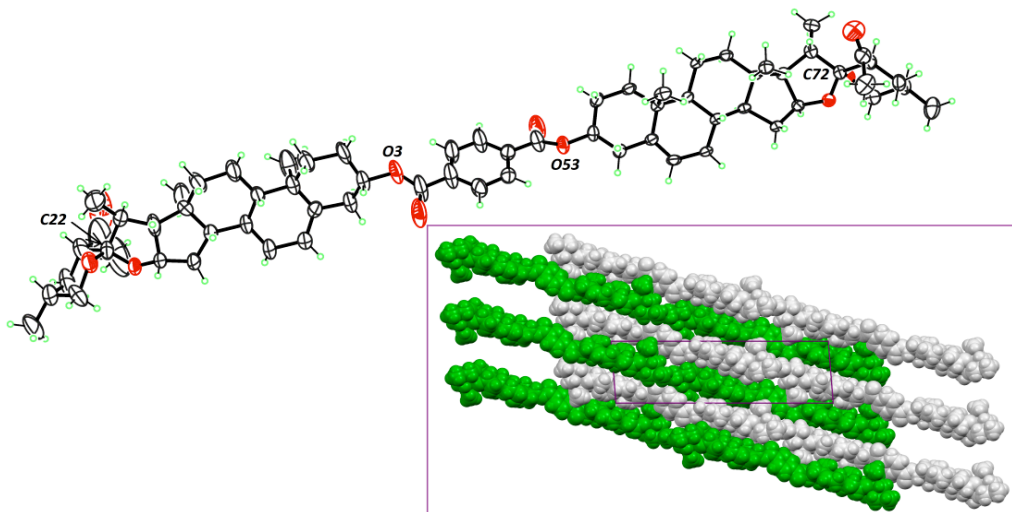


Figura 54. Estructura molecular del derivado bisteroide **67a**, con elipsoides de desplazamiento al nivel de probabilidad del 20%. El recuadro muestra una parte de la estructura cristalina, vista desde el eje b cristalográfico, utilizando una representación de spacefill. Las moléculas grises se generan a partir de la unidad asimétrica mediante traslaciones reticulares, mientras que las moléculas verdes se generan mediante el eje de 2_1 en el grupo espacial $P2_1$.

Sin embargo, la estructura de empaquetamiento no es eficiente, como se refleja en el índice de empaquetamiento de Kitaigorodskii bastante bajo de 0.61,⁸² y hay grandes vacíos que contribuyen a aproximadamente el 5% del volumen del cristal. Aparentemente, estos vacíos no se llenan con disolvente desordenado, ya que el procedimiento SQUEEZE no mejora significativamente el refinamiento de la estructura.⁸³

4.2 Estabilidad térmica de ésteres biesteroides de ácido tereftálico

Dentro del grupo de técnicas de análisis térmico⁸⁴ se encuentran: el Análisis Termogravimétrico (TGA) y la Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC), con las cuales se determina el cambio de las propiedades físicas de los compuestos químicos y materiales en función de la temperatura o el tiempo. El análisis termogravimétrico (TGA) se usa para caracterizar las propiedades físicas y químicas de los materiales, en función de la temperatura en una atmósfera controlada de forma precisa. Este método proporciona información valiosa para el control de calidad, el desarrollo y la investigación.⁸⁵ El análisis termogravimétrico (TGA) se utiliza de forma generalizada con DSC, TMA y DMA. El TGA mide la masa de una muestra mientras esta última se calienta o se enfría en una atmósfera definida. El TGA se usa principalmente para la caracterización de materiales en lo que respecta a su composición. Un instrumento de TGA/DSC le permite medir incluso eventos térmicos que no provocan un cambio de masa, como la fusión, la transición vítrea u otro tipo de transiciones de fase sólido-sólido. Por esta técnica pueden determinarse: el % de pérdida de peso por descomposición, por deshidratación, por pérdida de disolvente, etc. También puede determinarse la estabilidad térmica u oxidativa, la descarboxilación y la pirólisis.

La Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC), proporciona información sobre los efectos térmicos, los cuales son caracterizados por un cambio en la entalpía y por un intervalo de temperatura cuando la muestra se calienta o se enfría. Dichos cambios comprenden: la fusión, la cristalización, la ebullición, la sublimación, las transiciones vítreas, las transformaciones polimórficas, entalpías de fusión, la capacidad calorífica, el % de pureza, el % de cristalinidad, la compatibilidad en formulaciones (principio activo y excipientes), etcétera.⁸⁶ Ambas técnicas requieren de muestras sólidas o líquidas.

Se analizaron los diferentes derivados biesteroidales colestánicos, espirostánicos y espirostánicos 23-sustituídos para determinar sus características térmicas. El análisis de estabilidad térmica de los biesteroides permitió corroborar la estabilidad de los compuestos ante cambios en el flujo de calor en función de la temperatura o el tiempo. Los puntos de fusión que medimos para los biesteroides son 317-320 °C para **66a** y 269-270 °C para **67a**, con presencia de opacidad. A su vez, se evaluaron los análisis de estabilidad térmica de estos compuestos a altas temperaturas mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC) y análisis termogravimétrico (TGA, Figura 56).

Los estudios de calorimetría demostraron que las muestras sólidas no contienen moléculas de solvente dentro de la estructura y se pudo observar que las muestras de los compuestos analizados son altamente estables debido a que no se detectaron transiciones de fase al calentar las muestras.

El análisis de calorimetría diferencial de barrido del compuesto Bicolesterol (**72**), al calentar de temperatura ambiente a 300 °C, donde se observó el inicio de una transición endotérmica, alcanzando un pico a 242.1 °C. Esta endoterma coincidió con la temperatura de fusión de **72** y no presenta transiciones en el transcurso del calentamiento. Este tipo de comportamiento observado de este biesteroide es congruente con las propiedades de estabilidad térmica características para compuestos colestánicos.

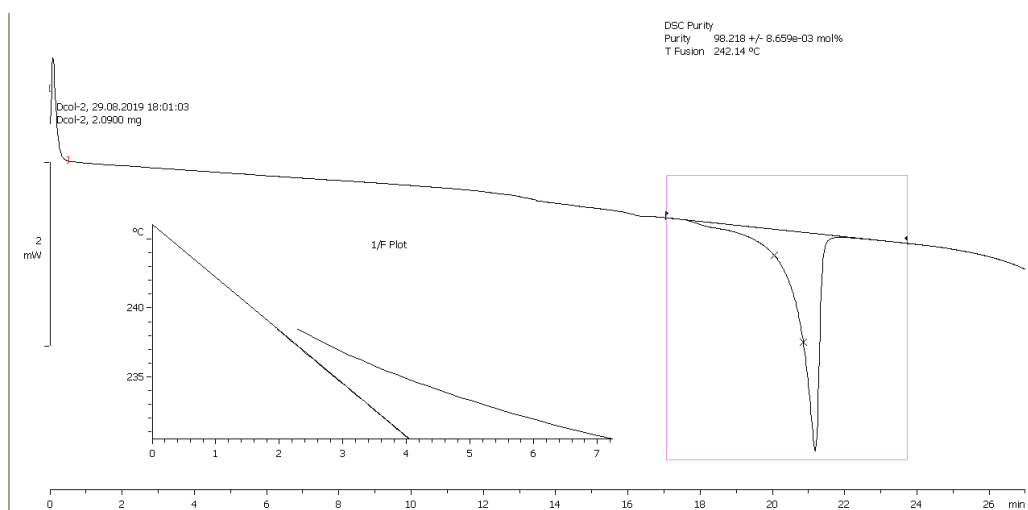


Figura 55. Calorimetría diferencial de barrido (DSC) de Bicolesterol (**72**).

En el caso del compuesto **66a**, al calentar de temperatura ambiente a 317.6 °C, donde se observó el inicio de una transición endotérmica, alcanzando un pico a 320.0 °C. Esta endoterma coincidió con la temperatura de fusión de **66a** tal como se observó experimentalmente.

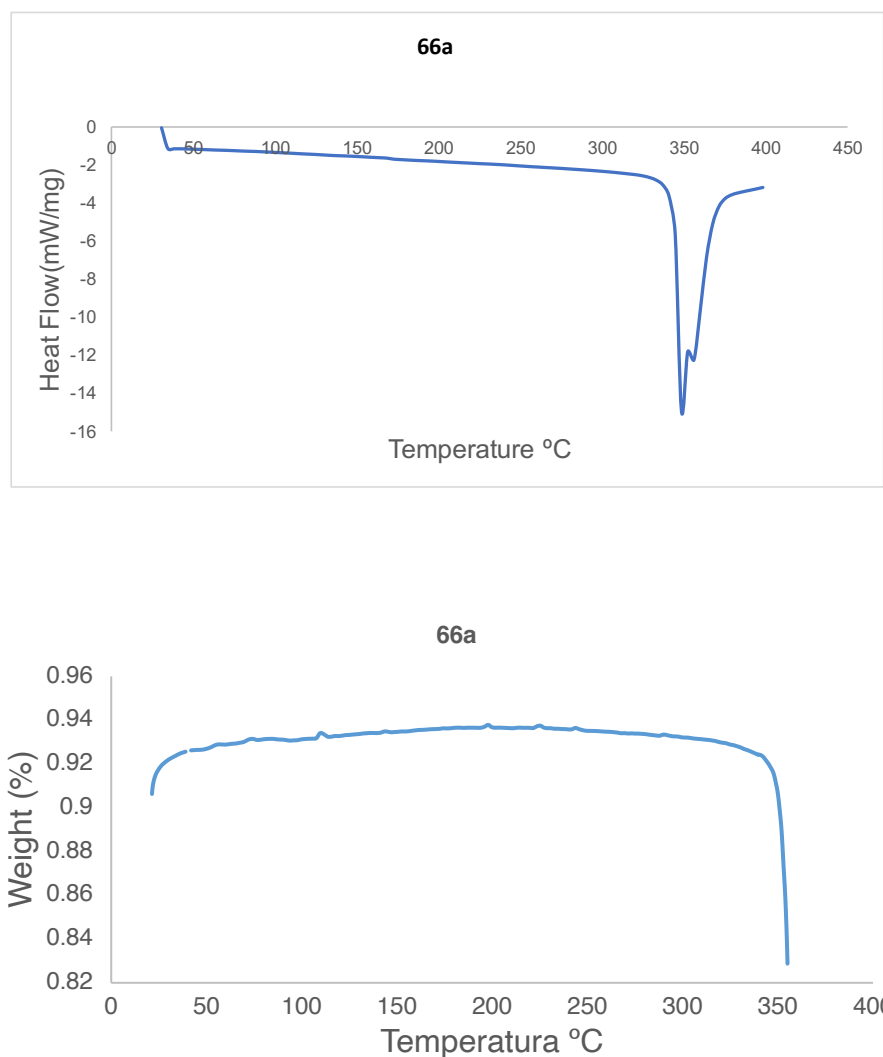


Figura 56. Calorimetría diferencial de barrido (DSC, arriba). Análisis termogravimétrico (TGA, abajo) de Bidiosgenina **66a**.

En el caso de **67a** se observó la transición endotérmica al calentar desde temperatura ambiente hasta 269.0 °C, momento en el cual se observó el inicio de una transición endotérmica, alcanzando un pico a 270.0 °C. Esto puede deberse a que el equipo puede detectar cualquier cambio que altere el flujo de calor hacia y desde la muestra. Esto incluye mucho más que solo las transiciones vítreas y la fusión. Puede ser consecuencia de transiciones de estado sólido, como los puntos eutécticos, fusión y conversiones de distintas fases cristalinas, como formas polimórficas, cristalización y recristalización, o pérdida de solventes (Figura 57).

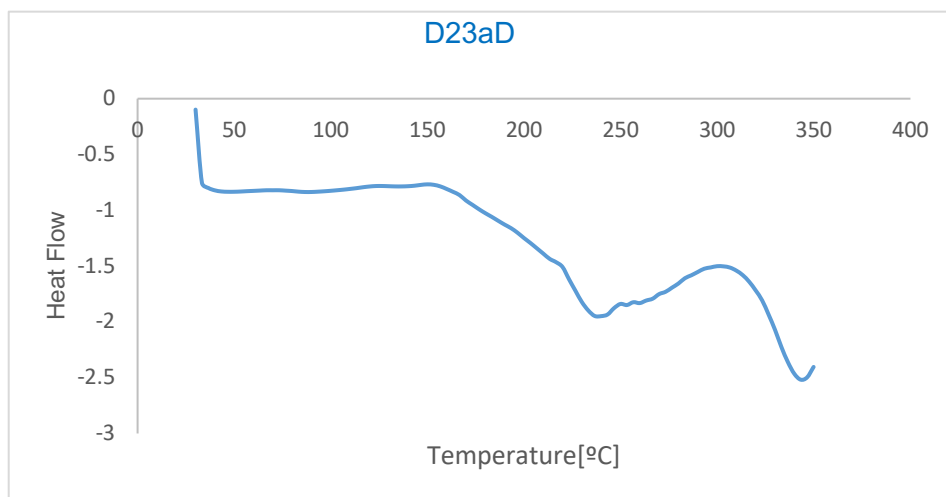


Figura 57. Calorimetría diferencial de barrido (DSC) de Bi-23-acetildiosgenina **67a**.

El análisis termogravimétrico no mostró pérdida de peso desde temperatura ambiente hasta 350 °C, por lo que lo observado en el DSC no corresponde a pérdida de solvente. Tampoco se presentó en ninguno de los derivados antes de alcanzar el punto de fusión (Figura 58).

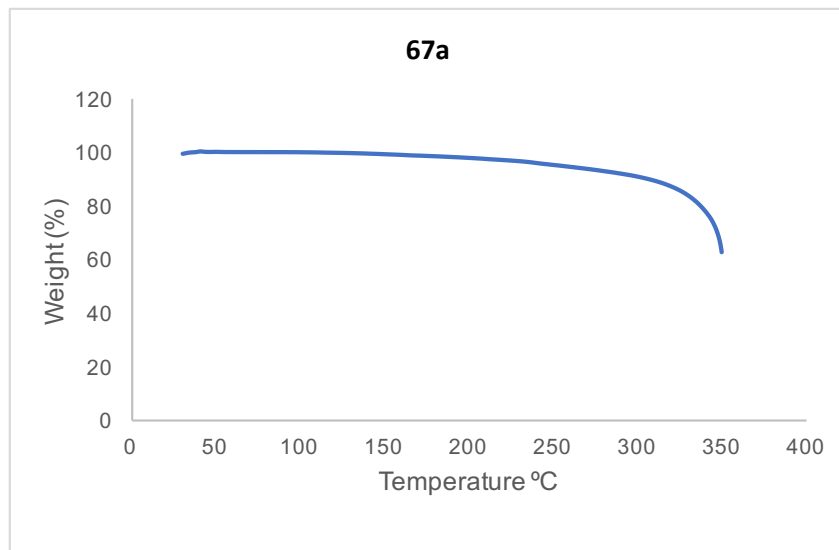


Figura 58. Análisis termogravimétrico (TGA) de Bi-23-acetildiosgenina **67a**.

En el caso del compuesto **66b**, al calentar de temperatura ambiente a 300.0 °C, donde se observó el inicio de una transición endotérmica, alcanza un pico a 259.6 °C. Esta

endoterma coincidió con la temperatura de fusión de **66b** y muestra un porcentaje de pureza de 98.8%, como observamos en el DSC de la Figura 59.

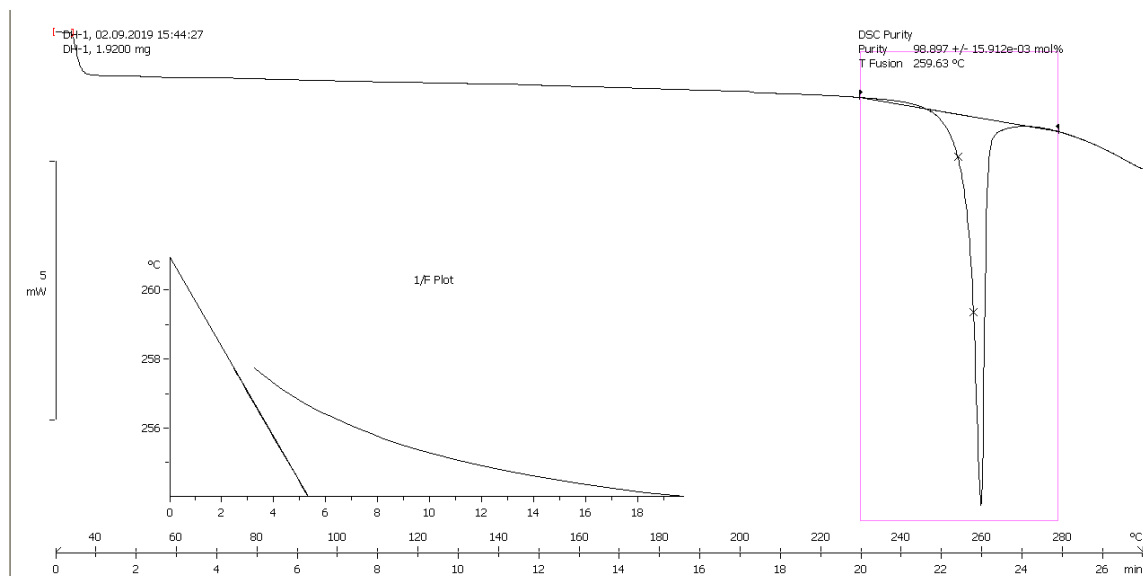


Figura 59. Calorimetría diferencial de barrido (DSC) de Bihecogenina **66b**.

En el caso del compuesto **67b**, al calentar de temperatura ambiente a 300.0 °C, donde se observó el inicio de una transición endotérmica, alcanza un pico a 243.1 °C. Esta endoterma coincidió con la temperatura de fusión de **67b** de 241°C y muestra un porcentaje de pureza de 98.5%, como observamos en el DSC de la Figura 60. Es necesario resaltar una transición vítrea (T_g) en 127.34°C, aunque el material continua siendo sólido aun sin fundir. Esta describe la región de temperatura donde las propiedades mecánicas de los materiales cambian de duros y quebradizos a más suaves, deformables o gomosos.

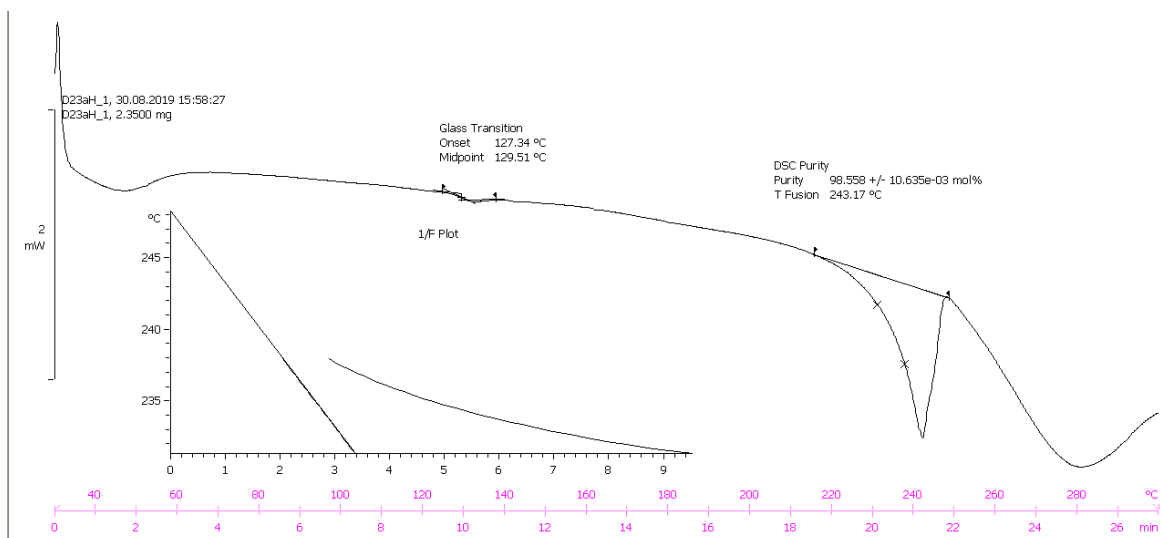


Figura 60. Calorimetría diferencial de barrido (DSC) de Bi-23-acetilhecogenina **67b**.

Muchos materiales como polímeros, por ejemplo, termoplásticos, termoestables, cauchos, etc. generalmente están compuestos de estructuras amorfas y cristalinas. Esto significa que muchos polímeros exhiben tanto una temperatura de transición vítrea, T_g , como una temperatura de fusión. La temperatura de transición vítrea (T_g) es más baja que la temperatura de fusión de un material cristalino. El derivado Bi-23-acetilhecogenina **67b** es el único que muestra este comportamiento.

En el caso del compuesto **66c**, al calentar de temperatura ambiente a 300.0 °C, donde se observó el inicio de una transición endotérmica, alcanza un pico a 270.5 °C. Esta endoterma coincidió con la temperatura de fusión de **66c** de 271°C y muestra un porcentaje de pureza de 97.1%, como observamos en el DSC de la Figura 61.

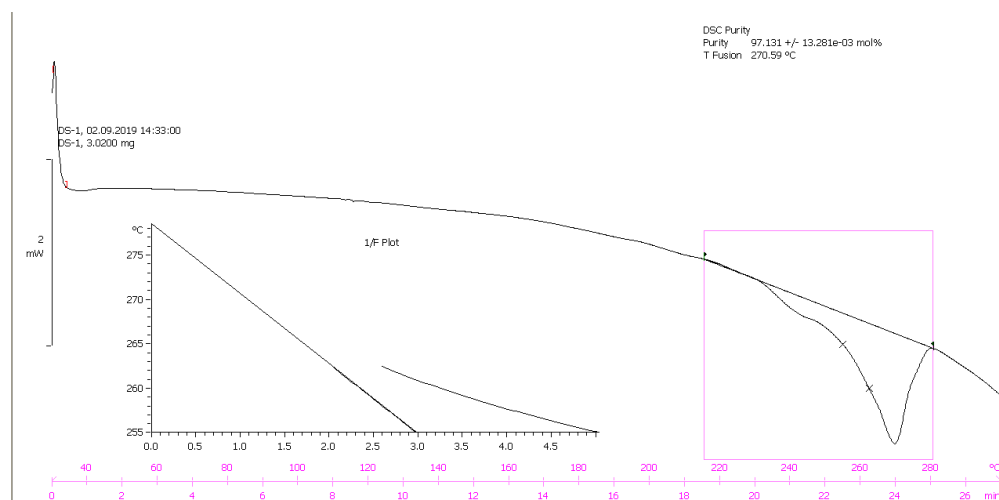
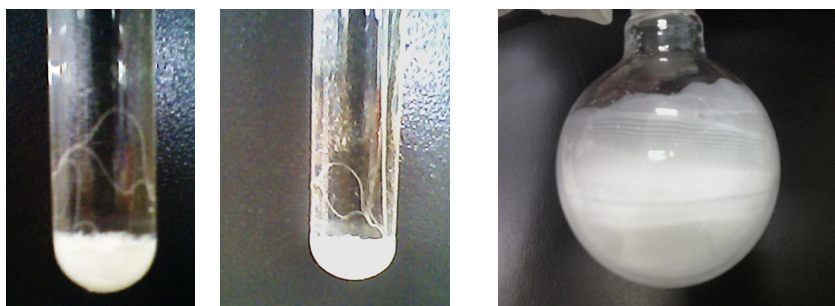


Figura 61. Calorimetría diferencial de barrido (DSC) de Bisarsasapogenina **66c**.

4.3 Autoensamblaje de los biesteroides estimulado por disolventes.

Tal como se abordó en los antecedentes, en el comportamiento de autoensamblaje (*self-assembly*) es crítico el control sobre dos aspectos imprescindibles: 1) los requerimientos espaciales necesarios para el autoensamblaje unidimensional de las moléculas (tomando ventaja de las interacciones intermoleculares no covalentes) que genere el ordenamiento eficiente de las fibras; y 2) el delicado balance de las interacciones entre moléculas de biesteroides y del biesteroide con el disolvente. El primer aspecto logra controlarse eligiendo apropiadamente grupos capaces de formar interacciones fuertes y organizadas como los puentes de hidrógeno.

El esqueleto de los esteroides le confiere rigidez a la estructura y, en el caso de los isómeros *trans*, adoptan conformaciones planares, lo que provoca que algunos derivados del colesterol (*cuasitrans*) tiendan a formar mesofases en las que la interacción esteroide-esteroide, determinada principalmente por interacciones de tipo Van der Waals, dan como resultado la formación de ensamblajes macroscópicos con una alta capacidad gelante.⁸⁷ Sin embargo, la presencia de esos grupos no es suficiente, ya que la interacción con el disolvente es un factor irremplazable y determinante, como lo pudimos corroborar en nuestros resultados. A lo largo del trabajo de tesis, fuimos notando la influencia del disolvente en la aparición de estructuras macroscópicas supramoleculares según el tipo de disolvente que estuviera presente, ya sea puro ó si se trataba de una mezcla, con la formación de hilos y membranas.



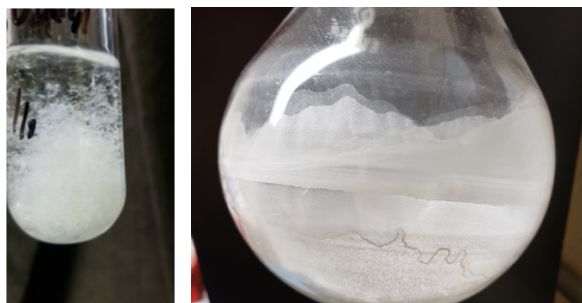


Figura 61. Hilos y membranas de Bidiosgenina **66a**.

Con el objetivo de controlar y reproducir la formación de estos hilos o membranas, realizamos diversos ensayos para estudiar mejor estas características de los biesteroides, cuyos detalles se describen en el apartado de desarrollo experimental.

Las morfologías de los agregados de derivados de bidiosgenina (**66a**) se analizaron mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) para explicar las estructuras supramoleculares de tales derivados de biesteroides en la progresión del autoensamblaje. En contacto con el sistema hexano/acetato de etilo, el dímero funcionalizado se autoorganizó en una capa no permeable, no porosa, ya que se observó la formación de agregados en forma de membrana del compuesto biesteroidal (Figura 61). La imagen SEM de los agregados de **66a** se muestra en la Figura 62a. Un fenómeno digno de mención fue que el bisteroide mostró diferentes morfologías de respuesta a disolventes en medios no polares, polares y mixtos, que involucran agregados en forma de hebras y membranas, lo que explicaba la dificultad de solubilizar estos biesteroides una vez que se autororganizan.

En el reporte de Yang,^{63c} el autor trabajó con colesterol, mostrando que la estructura molecular y los componentes de la solución afectan el nivel de agregación. De su trabajo extraemos que el motor para la obtención de estructuras de orden superior es el autoensamblaje de los gelificantes de bajo peso molecular mediado por interacciones no covalentes, como las fuerzas de Van der Waals. Este estudio afirmó que el colesterol mantiene un esqueleto rígido y plano junto con la tendencia a formar agregados vía interacciones de Van der Waals, que facilitan la formación de estructuras supramoleculares bien definidas. El conjugado de colesterol POM puede autoensamblarse en diferentes estructuras fibrosas en solución mixta o acetona a través de los efectos sinérgicos entre las fuerzas de Van der Waals de los residuos de colesterol y las interacciones electrostáticas entre los grupos POM. Yang también estableció que la polaridad del solvente también

puede ser crucial y favorable para modular estructuras supramoleculares, donde la constante dieléctrica ϵ^e se emplea para evaluar la polaridad del solvente. Yang reporta en su trabajo que, en la solución de acetona, las interacciones de van der Waals entre los residuos de colesterol se reducen considerablemente, debido a que la solubilidad de los residuos de colesterol disminuye significativamente en acetona ($\epsilon^e = 20.70$). En el sistema $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-CH}_3\text{OH}$ con una constante dieléctrica de disolventes mixtos ($\epsilon^e = 13.02$), las interacciones de van der Waals entre los residuos de colesterol se debilitan significativamente debido a la solubilidad de los residuos de colesterol en diclorometano ($\epsilon^e = 9.08$). Es por ello que la polaridad del disolvente tiene un papel fundamental en la regulación de la morfología del proceso de autoensamblaje. Estos resultados explican satisfactoriamente a nivel molecular por qué la estructura supramolecular de los biesteroides (**72-73**, **66a-c**, **67a-b**) en hexano-AcOEt y AcOEt puro está mejor organizada que la formada en $\text{CHCl}_3\text{-CH}_3\text{OH}$ donde las hebras son más delgadas. De ello se puede admitir que una constante dieléctrica de 8.2 ($\epsilon^e = 8.26$) es ideal para obtener estructuras supramoleculares mejor organizadas en compuestos con residuos de colesterol o cadenas laterales colestánicas.

Nuestros resultados muestran que en las estructuras autoensamblables de los biesteroides **72**, **73**, **66a-c** y **67a-b** tienden a organizarse en derivados biesteroides con estructuras autoensambladas obtenidas a partir de un sistema hexano/EtOAc (25:1), formando estructuras en forma de membrana (Figuras 63b y 63d). Cuando estos derivados se trataron con AcOEt, los ésteres de biesteroides se autoorganizaron en forma de cadena con una longitud superior a 100 μm (Figuras 63a y 63c; Figuras 64 a-b). Dado que la solubilidad aumenta en el cloroformo, se debilitan las interacciones de Van de Waals entre los restos biesteroides. Como consecuencia, se forman hebras más delgadas en el sistema $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ (1:25) (ver Figura 64c). Estas morfologías son consistentes con los valores de la constante dieléctrica de los sistemas disolventes, confirmando que un disolvente con una constante dieléctrica cercana a 8.2 (Tol-DMF $\epsilon^e = 8.26$, Ref. 63c) presentará estructuras autoensambladas mejor organizadas. A partir de esos resultados, pudimos observar que el AcOEt ($\epsilon^e = 6.0$) es el disolvente que conduce a los biesteroides hacia autoensamblajes mejor organizados. El alcance de la escala de autoensamblaje se extiende a una longitud cercana a los 100 μm , al menos para el compuesto **66a**.

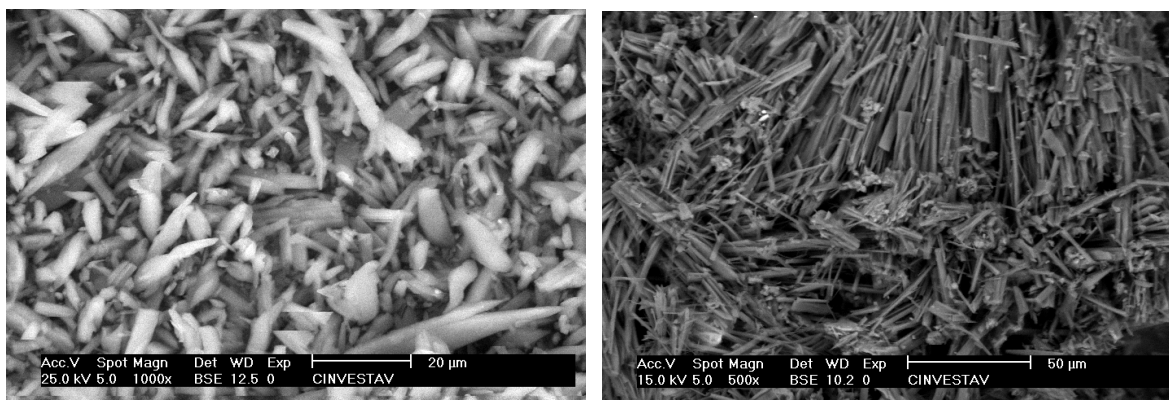


Figura 62. Imágenes de SEM del autoensamblaje de las estructuras en forma de hebras de ésteres de biesteroides: **8a** (izquierda) **10b** (derecha) en AcOEt.

Dado que los biesteroides son moléculas rígidas y casi lineales, con una dimensión cercana a los 40 Å, la agregación orientada de estas moléculas en mezclas de disolventes adecuadas parece estar favorecida, a través del alineamiento por fuerzas físicas, por ejemplo, por interacciones de Van der Waals.⁸⁸ Una vez que tales conjuntos de mesoescala se han estabilizado, se puede formar un mesocristal, que se extiende sobre dimensiones mucho más grandes, en el rango de 10-100 μm, como se observa por SEM.

La mayoría de los dímeros de esteroides son no polares y pueden separarse mediante cromatografía en columna de fase normal empleando gel de sílice como fase estacionaria y mezclas de disolventes basadas en *n*-hexano-AcOEt y hexano-AcOEt y CHCl₃-MeOH, como eluyente.⁸⁹ También se ha utilizado alúmina o celita como fase estacionaria para la separación de otros dímeros de esteroides; en nuestro trabajo, el primer intento de purificación del crudo fue por cromatografía flash. Sin embargo, en algunas purificaciones el crudo de reacción soportado sobre gel de sílice formó una “membrana” autoorganizada provocada por estímulos del eluyente (*n*-hexano-AcOEt), impidiendo el flujo apropiado de disolvente e induciendo la formación de agregados en forma de hebras de los compuestos, pero en muchos casos este autoensamble formaba membranas impermeables que hacían imposible el paso del eluyente.

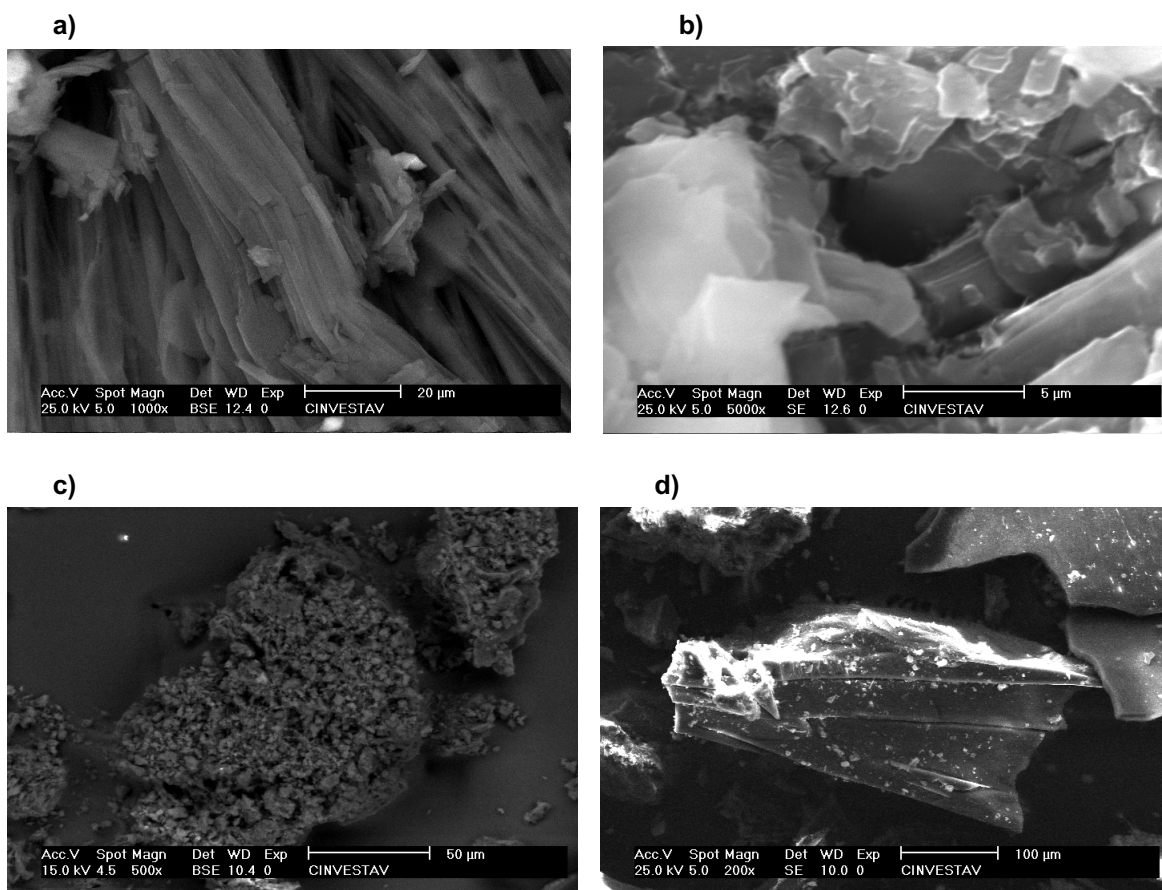


Figura 63. Imágenes SEM de las estructuras de autoensamblaje de derivados de biesteroides en forma de hebra y membrana: a) **72** en AcOEt; b) **72** en hexano/AcOEt (25:1) mostrando estructuras en forma de membrana; c) **66c** en AcOEt (estructuras en forma de hebras); d) **66c** en hexano/AcOEt (25:1) (estructuras en forma de membrana).

En nuestro trabajo posterior, para la separación inicial de los dímeros de esteroides, se emplearon métodos de partición de solventes, que ayudo a la obtención de los compuestos puros, para aislarlos del compuesto monosustituido que se obtenía en varios crudos. Más adelante, en la discusión sobre los dímeros esteroidales con oxalildihidrazina como grupo espaciador, abordaremos las características *self-assembly* de esos compuestos.

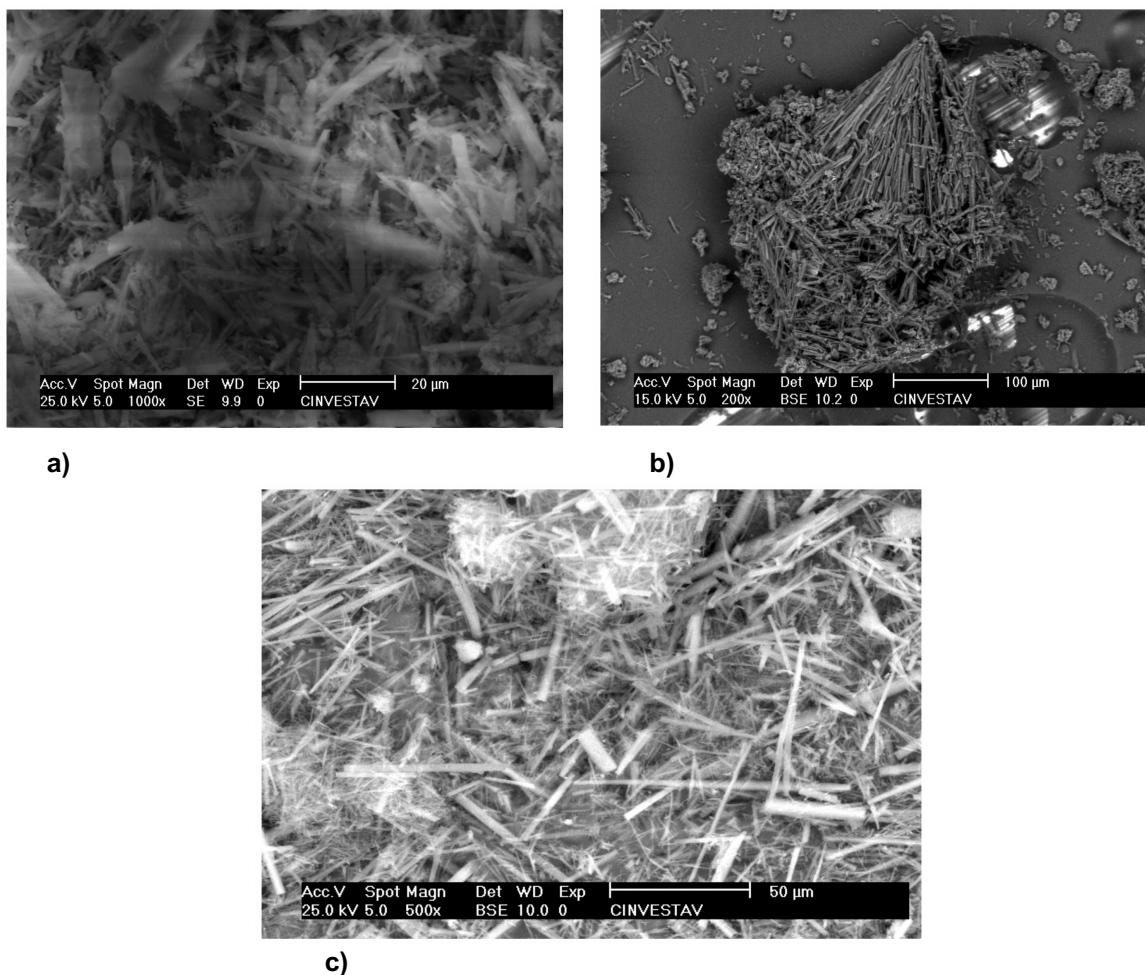


Figura 64. Imágenes SEM de las estructuras de autoensamblaje de los derivados biesteroides: a) **67a** en EtOH, b) **67b** en AcOEt, c) **66c** en CHCl₃/MeOH.

La descripción de la autoorganización de estos materiales también se puede promediar indirectamente en escalas mucho más grandes, mediante difracción de Rayos-X de polvos (p-XRD). Una capa delgada del compuesto **67a**, para el cual el refinamiento de la estructura monocristalina permite el cálculo de patrones de difracción, se caracterizó por p-XRD, empleando condiciones experimentales estándar ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$). Por otro lado, se calcularon espectros simulados, considerando el enfoque de March-Dollase para una muestra no orientada aleatoriamente.⁹⁰ La relación de intensidad $I_{111}/I_{202} \approx 0.5$ observada experimentalmente se usó como guía durante la simulación del patrón, proporcionando un parámetro de March-Dollase optimizado $r = 1.8$ y una orientación preferida a lo largo de [001], como se muestra en la Figura 11. El parámetro $r > 1$ indica una textura esencialmente similar a una aguja, consistente con las imágenes SEM. Una estimación aproximada del grado de orientación preferida se puede calcular como $\eta = [(1-r)^3 / (1-r^3)]^{1/2}$, como sugiere Zolotoyabko.⁹¹ Con base en el patrón simulado de la Figura 65, se calcula un grado de

orientación preferencial del 33% para **67a**, lo que refleja la autoorganización espacial de este material.

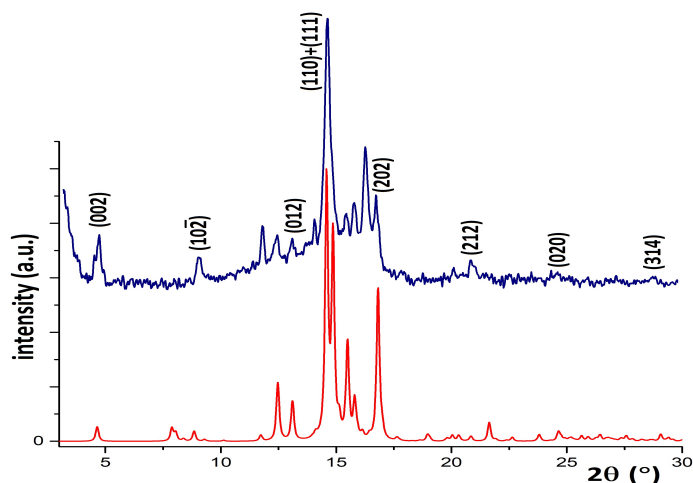


Figura 65. Arriba (patrón azul): patrón experimental de p-XRD para el compuesto **67a**, después de la corrección de la línea de base, con indexación de los planos principales. Abajo (patrón rojo): patrón p-XRD simulado para **67a**⁹² basado en la estructura monocristalina (Fig. 54), asumiendo la presencia de la orientación preferida. Los principales parámetros de simulación son $\lambda = 1.54056 \text{ \AA}$, $r = 1.8$, FWHM = $0,15^\circ$ (escala 2θ) y orientación preferida = [001].

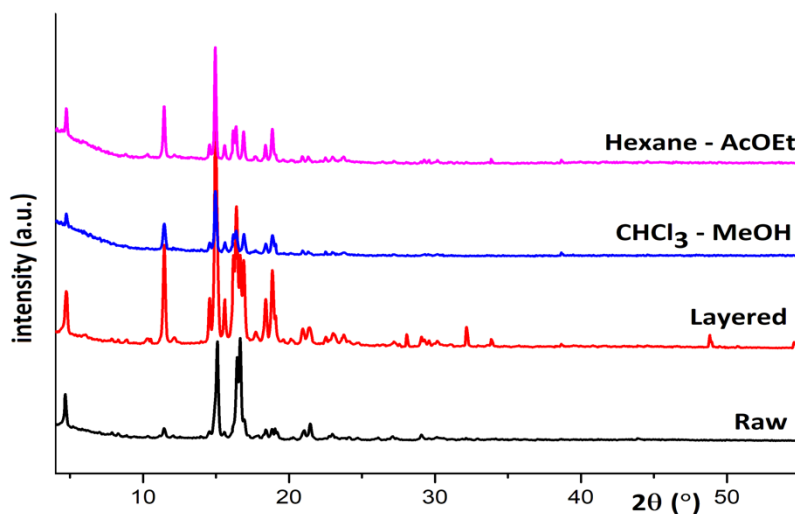


Figura 66. Comparación de los patrones de difracción de rayos X del éster de bidiosgenina (**66a**). Los patrones se recogieron con la radiación de Cu-K y no están corregidos para la contribución amorfa. Tenga en cuenta la variación de intensidad para el pico a $2\theta = 11.5^\circ$, como consecuencia de la autoorganización del dímero esteroideo.

En la Figura 66 se observan los patrones de difracción de RXP de la bidiosgenina **66a** en diferentes condiciones: materia prima (negro), material en capas (rojo), dímero en contacto con cloroformo-metanol (azul) y con hexano-acetato de etilo (magenta). Los patrones presentan diferentes intensidades, la variación de intensidad para el pico a $2\theta = 11.5^\circ$ se debe tener en cuenta que ocurre como consecuencia de la autoorganización del dímero esteroideo, y explica que en la materia prima esteroideal no se presente. Algo que debemos destacar de estos datos y todo lo que hasta ahora se ha descrito de estos biesteroides con CSA es que dicha autoorganización no se pierde por desecación, es decir, que siendo este fenómeno provocado por el disolvente, esta organización supramolecular no desaparece al evaporarse el disolvente.

Algunas muestras fueron analizadas por microscopía electrónica de transmisión (TEM), mostrando que la morfología de esas muestras era una superficie lisa no porosa, consistente con la formación de membranas impermeables (Figura 67). Esta característica es consistente con el comportamiento de estos derivados biesteroidales al intentar purificarlos por cromatografía en columna.

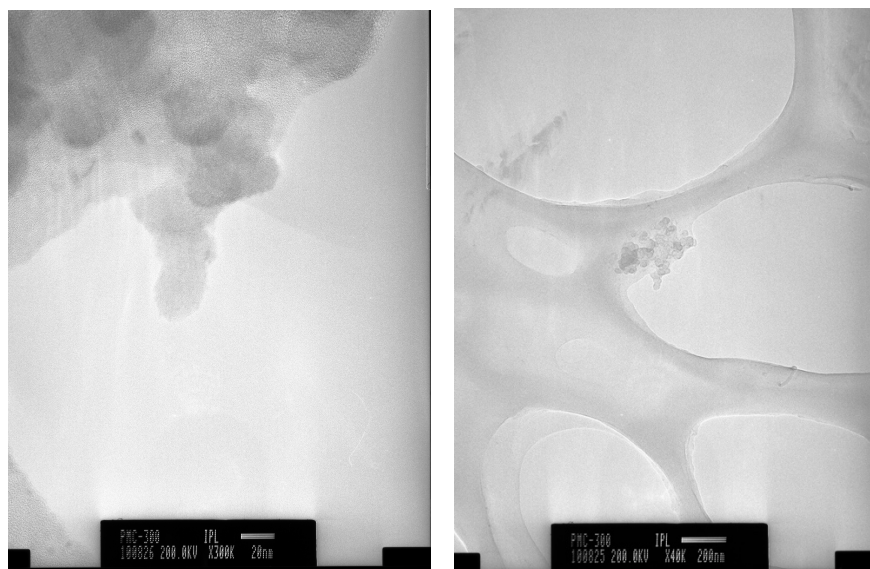


Figura 67. Imágen de TEM del autoensamblaje de en forma de membrana del biesteroide **66a**.

4.4 Análisis de Superficie por Fisisorción.

Antes de abordar el estudio de los fenómenos de adsorción es preciso describir brevemente las superficies sólidas. Estas superficies presentan diferencias importantes respecto a su estructura. Podemos conceptualizar la superficie de un sólido como una estructura homogénea donde los átomos ocupan posiciones bien definidas y por tanto se repiten regularmente:

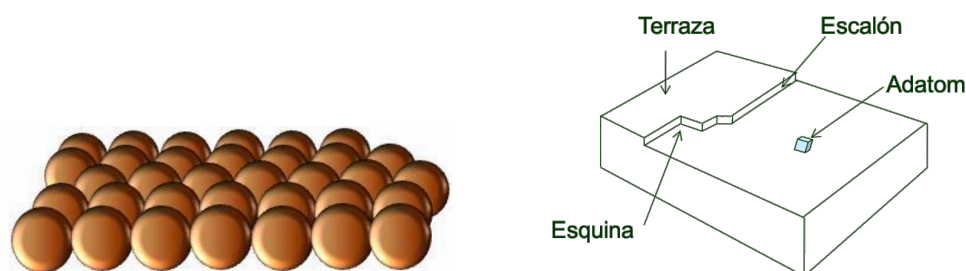


Figura 68. La estructura ideal de un sólido (izq.); clasificación de defectos en un material (der.).

No obstante, esto corresponde a una situación ideal, en realidad la superficie de un sólido puede estar llena de defectos debido al proceso de crecimiento del cristal o material, o bien a procesos sufridos una vez formado. Estos defectos se pueden identificar según su topología y la figura anterior muestra algunos de ellos.

Sabemos que al momento que una molécula de gas golpea una superficie sólida, puede rebotar o quedar sujeta sobre la superficie, es decir, sufrir adsorción. En ese último caso a continuación, la molécula adsorbida puede difundirse (moverse) sobre la superficie, quedarse fija, sufrir una reacción química o disolverse en el interior del sólido (proceso conocido como absorción y del que es un conocido ejemplo el empleo de CaCl_2 anhidro como desecador: el agua de la atmósfera es adsorbida y a continuación absorbida para formar un hidrato). Podemos definir estos procesos como:

- adsorción: proceso de unión de una molécula procedente de otra fase sobre la superficie de un sólido.
- desorción: proceso inverso a la adsorción.

Es posible diferenciar dos comportamientos límites de adsorción, fisisorción y quimisorción, aunque es normal observar procesos intermedios.

4.4.1 Adsorción física o fisisorción:

Las moléculas del gas se mantienen unidas a la superficie del sólido por medio de fuerzas de Van der Waals, que delimita todas las características propias de la fisisorción:

i) es una interacción débil.

ii) Es un proceso exotérmico (las fuerzas de van der Waals son atractivas) en el que los calores liberados, ΔH_{ads} (aprox. 20-40 kJ/mol) son semejantes a las entalpías de condensación de la sustancia adsorbida.

La energía liberada es adsorbida en forma de vibración por la red del sólido y $\Delta H^{\circ}_{\text{ads}}$ se puede medir por el aumento de temperatura de la muestra.

iii) La molécula fisisorbida mantiene su identidad ya que la energía es insuficiente para romper el enlace, aunque su geometría puede estar distorsionada.

iv) La fisisorción es un proceso no específico ya que las fuerzas que intervienen no lo son y no existe una selectividad marcada entre adsorbato y adsorbente. En general, los gases muy polarizables son adsorbidos más fácilmente.

v) La fisisorción se produce en multicapas. Sobre una capa de gas fisisorbida puede adsorberse otra. La ΔH_{ads} para la primera capa viene determinada por las fuerzas entre adsorbente (M) y adsorbato (A), mientras que la ΔH_{ads} para las capas siguientes depende de las interacciones A-A y por tanto es similar a la entalpía de condensación.

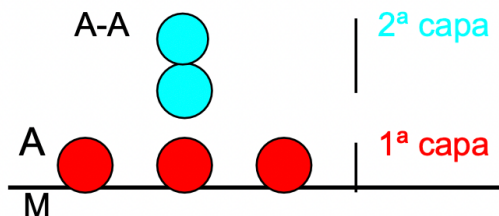


Figura 69. Comportamiento de Fisisorción: M= adsorbente, A= adsorbato.

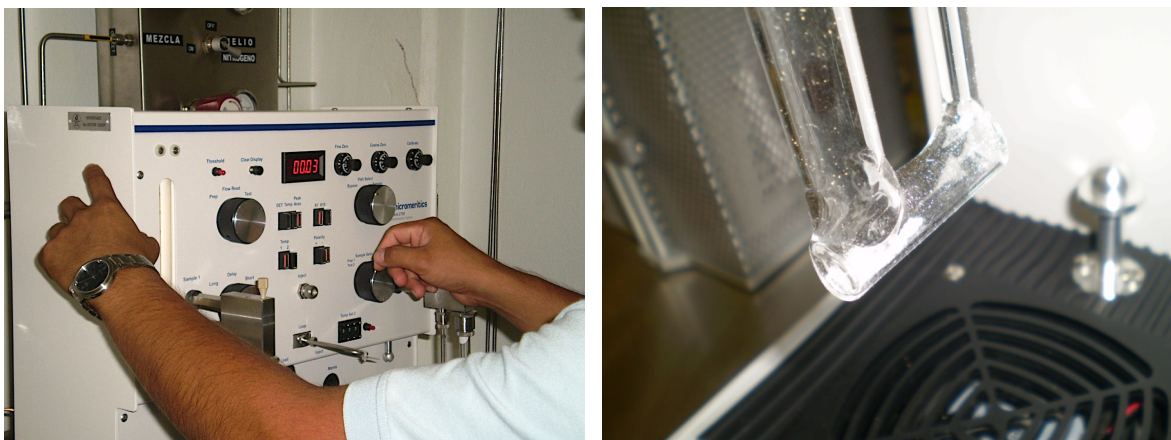
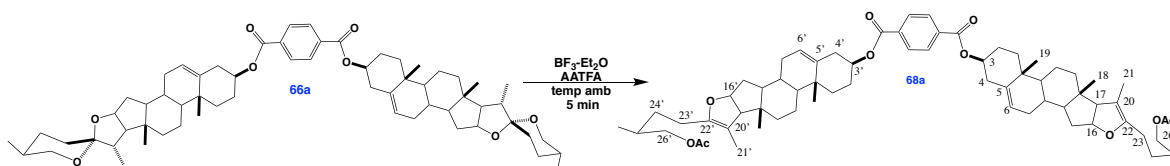


Figura 70. Análisis de superficie por fisisorción de N_2 sobre **66a**.

Para conocer las características superficiales de los biesteroides, se realizó el análisis por fisisorción del compuesto **66a** (Figura 70), a través de un equipo TPX de Micromeritics por flujo dinámico de N_2 a temperatura ambiente mediante el cual la cantidad de gas adsorbida en la superficie de la muestra es monitoreada por un detector de conductividad térmica. El resultado mostró valores muy bajos de fisisorción, que nos lleva a concluir que el material no forma microcavidades que faciliten que la sustancia (N_2) quede fisisorbida o fijada a la superficie del material (biesteroide **66a**), y que la molécula no adsorbida puede difundirse (moverse) sobre la superficie sin lograr una fisisorción ni valores medibles de los calores liberados (ΔH_{ads}) por las interacciones A-A (adsorbente-adsorbato). Esto coincide con lo observado por las micrografías por TEM de **66a**, en las cuales se distingue una superficie lisa, del material que al contacto con el disolvente (sistema) se autoorganiza en una membrana no permeable, que además no posee microcavidades.

4.5 Apertura de la cadena lateral de bisapogeninas y bi-23-acetilsapogeninas.

Una vez obtenidas las bisapogeninas, y con el objetivo de explorar la reactividad de la cadena lateral, se puso a punto la metodología de la apertura regioselectiva del anillo F de sapogeninas esteroidales para la obtención de pseudosapogeninas, la cual consiste en el uso de un anhídrido mixto, mezclando dos anhídridos anhídrido acético y trifluoroacético generando *in situ* anhídrido acético-trifluoroacético (AATFA),⁹³ incorporando un ácido de Lewis en CH₂Cl₂ y a temperatura ambiente.



Esquema 23. Bipseudodiosgenina **68a** por apertura de la cadena lateral de bidiosgenina **66a**.

La caracterización de la bipseudodiosgenina nos muestra que se obtuvo la apertura regioselectiva de la cadena lateral de las unidades esteroidales, cuya purificación se llevó a cabo con el método de partición de solventes, para evitar el comportamiento *self-assembly* del nuevo biesteroide tereftálico.

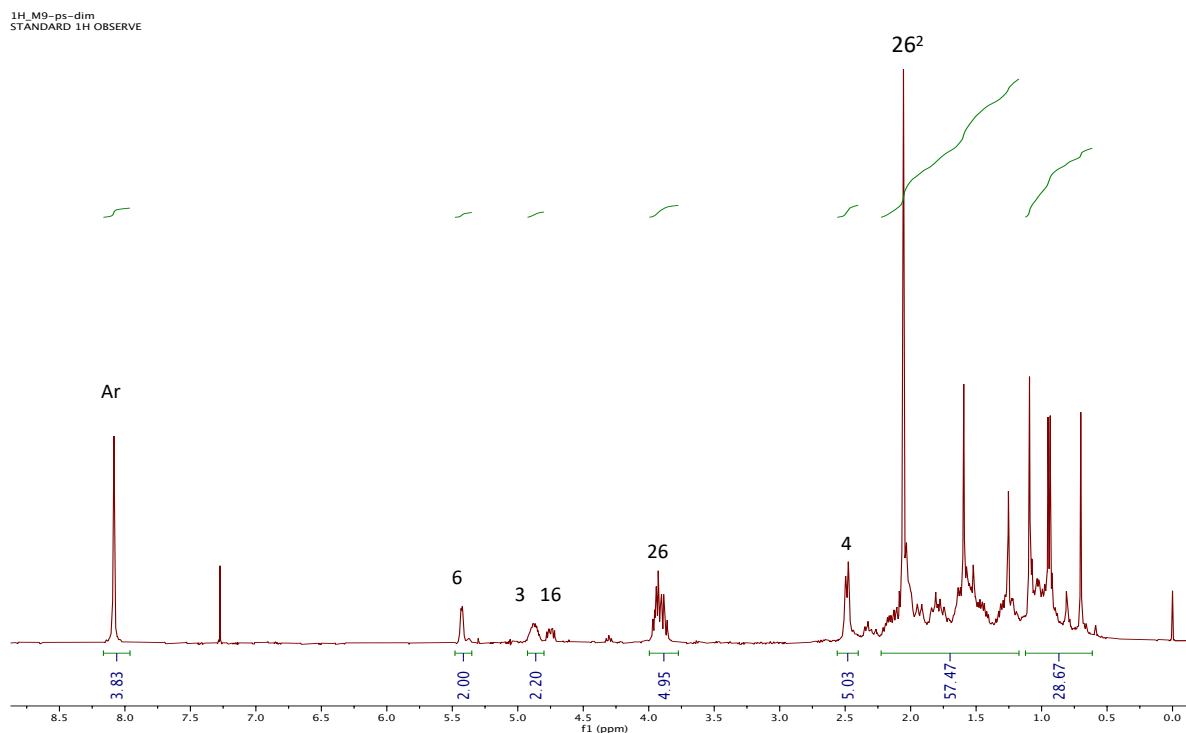


Figura 71. Espectro de RMN ¹H de la Bipseudodiosgenina **68a**.

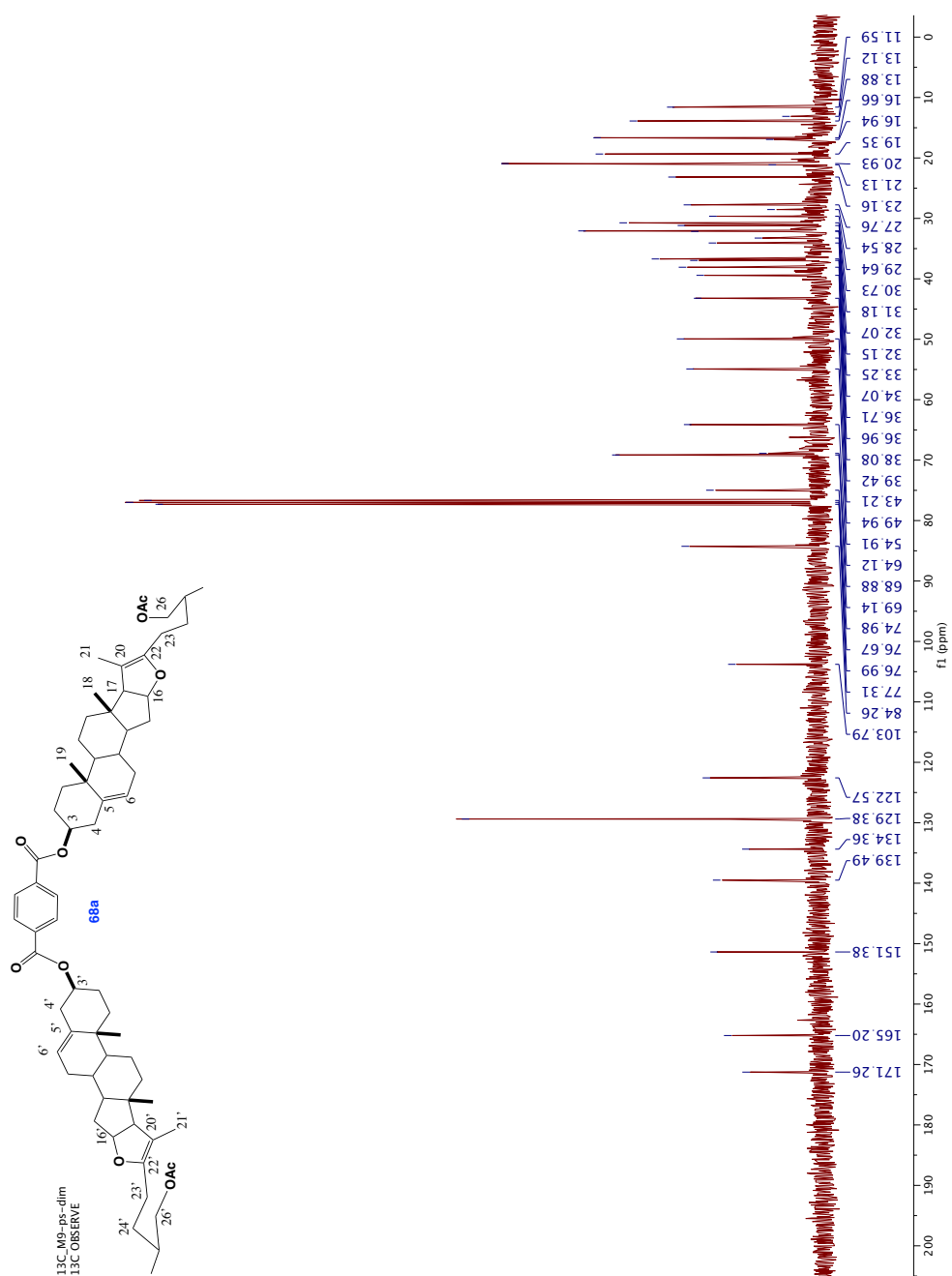


Figura 72. Espectro de RMN ¹³C de la Bipseudodiosgenina **68a**.

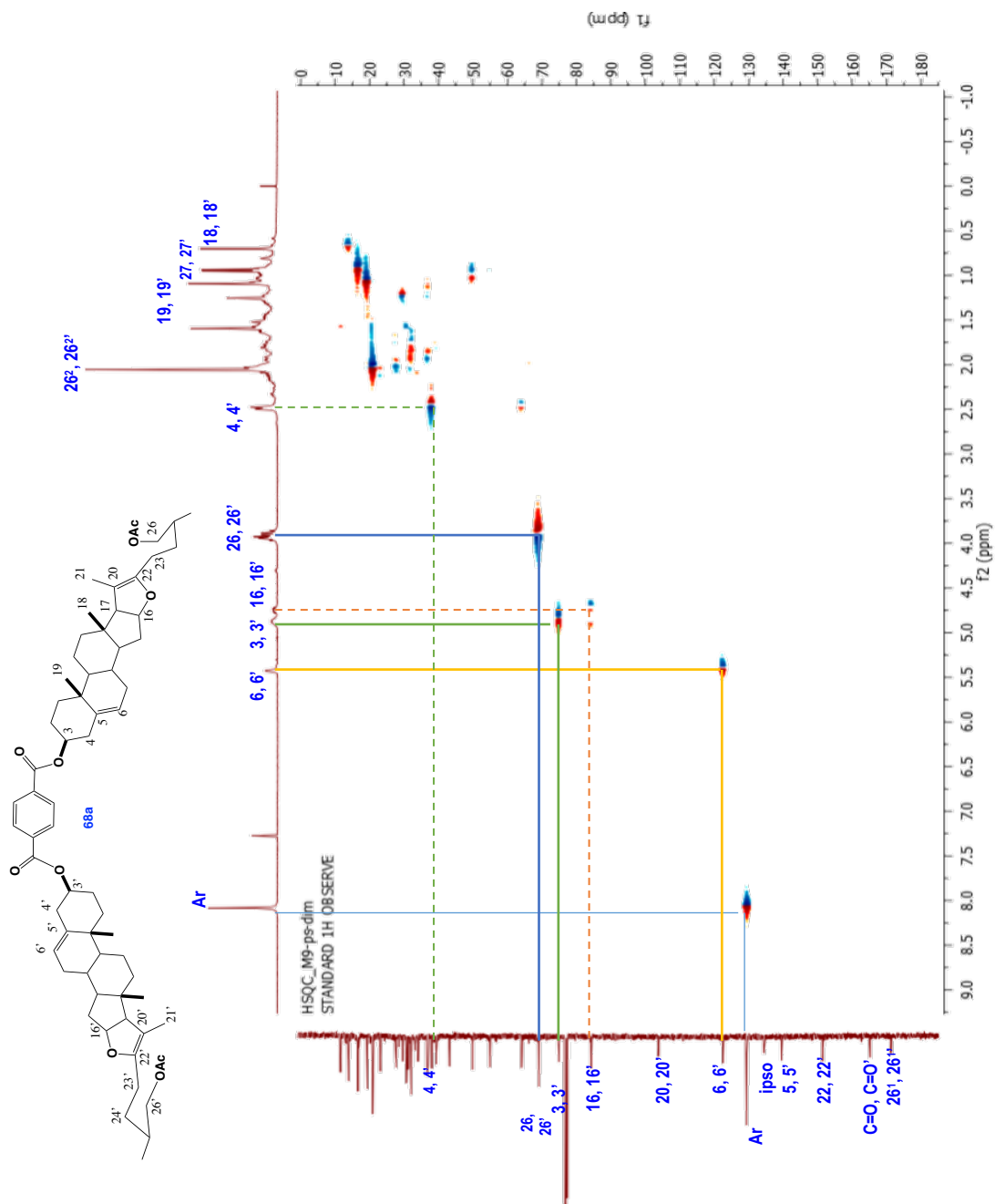


Figura 73. Espectro de RMN HSQC de la Bipseudodiosgenina **68a**.

La metodología de acetólisis con ácidos de Lewis fue utilizada en la apertura de la cadena lateral de bisapogeninas (bidiosgenina **66a**) por la metodología convencional, para obtener bifurostenos y biepoxicolestenos. La apertura del espirocetal de las bisapogeninas (acetólisis) llevó a la obtención de mezcla con cadena lateral furosténica/epoxicolestánica.

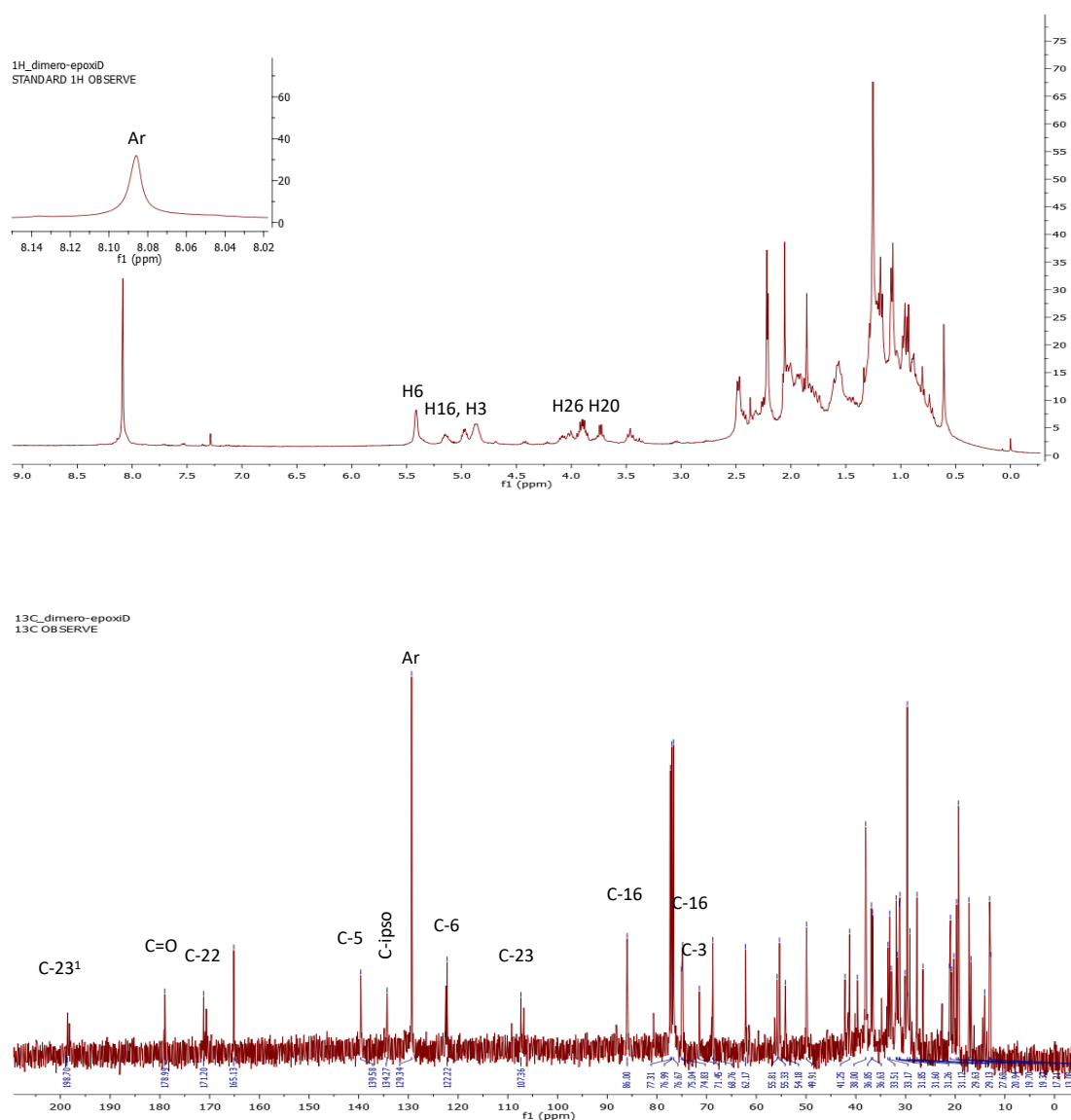


Figura 74. Espectros de RMN de ^1H (arriba) y ^{13}C (abajo) de mezcla de dímeros epoxicolesténico y furosténico.

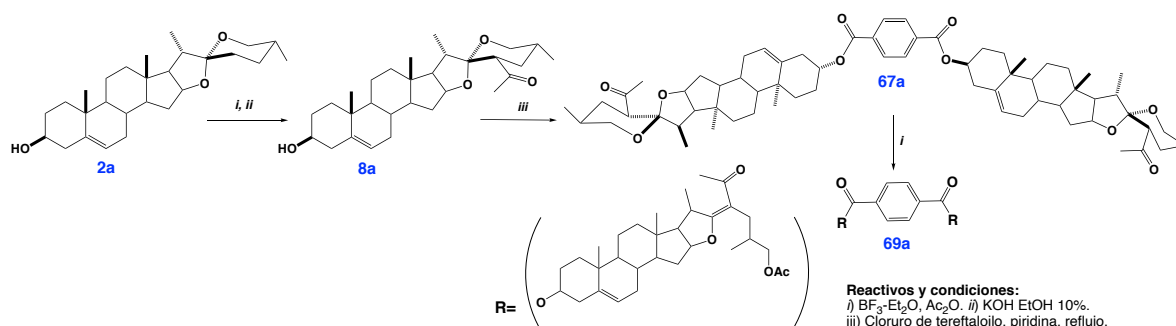
En la Figura 74, se observa que se encuentran presentes ambos biesteroides producto de la apertura de la cadena lateral de bidiosgenina **66a**, sin embargo, fue muy complicado realizar su separación, por lo que se elucidó como mezcla. Es importante resaltar que en la mezcla no está presente ningún otro isómero, cuya formación es frecuente en un rendimiento que va del 15 al 25% del furosteno de C-35, cuando se realiza la apertura de la cadena lateral de las sapogeninas (diosgenina, hecogenina y sarsasapogenina). La asignación de las señales correspondientes al derivado biesteroidal, se aprecia en el espectro de ^1H la señal intensa y simple en 8.09 ppm correspondiente a los H-aromáticos

del grupo espaciador, concordando este patrón de acoplamiento con la unión de ambas unidades esteroidales en el grupo espaciador. Se pueden apreciar las señales correspondientes a los protones de ambas unidades esteroidales, las cuales coinciden en consecuencia a su equivalencia química. La señal doble del H-6 y H-6' se distingue en 5.4 ppm; el H-3 y H-3' se observan en 4.9 ppm como una señal múltiple ancha. La señal doble de doble de dobles de los H-16 y H-16' se encuentra en 4.86 ppm. El par de señales de los protones diasterotópicos en el C-26 y C-26' se ubican en 3.88 y 3.46 ppm para el H-26e y H-26a respectivamente, como dos señales cuya multiplicidad coincide con las constantes de acoplamiento.

Se aprecian las señales de los metilos $\text{CH}_3\text{-23}^2$, $\text{CH}_3\text{-23}^{2'}$, $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{-16}$, $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{-16}'$ en 2.21 y 1.86 ppm respectivamente. Los metilos C-19 y 19' en 1.09 ppm; los metilos 21, 21' y 27, 27' se observan como señales dobles en 1.18 y 0.98 ppm respectivamente. La señal simple de los metilos 18 y 18' se ubica en 0.61 ppm (Figura 74).

Asimismo, en el espectro de RMN de ^{13}C , se reconocieron 33 señales de carbono para esta molécula, debido a que la molécula es simétrica. Las señales del grupo espaciador se muestran en 129.5 ppm para los carbonos del anillo aromático en las posiciones orto y meta (C-2,3,5 y 6), así como las posiciones prima (C-2',3',5' y 6'); los C-ipso del anillo aromático se ubican en 134.3 ppm, desplazamiento característico para este C cuaternario. En las señales correspondientes a los esteroides, se aprecian los carbonos vinílicos C-5, C-5' y C-6, C-6' en 140.8 y 121.4 ppm. Las señales de los carbonos base de oxígeno de C-3, C-3', C-16, C-16' y C-26, C-26' se observaron a frecuencias altas hacia 74.9, 73.7 y 71.4 ppm respectivamente. Los carbonos cercanos a una molécula de oxígeno en C-23¹, C-23^{1'} y C-22, C-22' aparecen en 197.3 y 171.1 ppm. Los carbonos pertenecientes a los grupos $\text{CH}_3\text{COO-3}$, $\text{CH}_3\text{COO-3}'$ y $\text{CH}_3\text{COO-16}$, $\text{CH}_3\text{COO-16}'$ se pueden apreciar en 170.4 y 170.3 ppm. Para el caso del C-23, C-23' se observó en 106.8 ppm (Figura 75).

Debido a la dificultad de obtener regioselectivamente los derivados furosténicos y epoxicolesténicos, y lo difícil de su separación, se proyectó una ruta alternativa para la obtención del dímero furosténico a partir de la bi-23-acetilsapogenina, ya que está bien establecido que la apertura del espirocetal de la 23-acetilsapogenina da como único producto el derivado furosténico. Se utilizó como materia prima a **66a**, para obtener el dímero intermediario **67a**, al cual se hizo reaccionar con un ácido de Lewis para realizar la apertura del anillo F de la cadena lateral esteroideal, conduciendo al derivado dimérico **69** (Esquema 24).



Esquema 24. Bifurosteno **69a** por apertura de la cadena lateral de bi-23-acetildiosgenina **67a**.

Retomando lo reportado en la literatura,¹⁹ donde con $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ y Ac_2O se realiza la apertura el anillo F de las sapogeninas no diméricas; se propuso realizar esta reacción sobre el dímero espiroestánico 23-sustituído **67a**, para lograr la obtención del dímero **69a** con la cadena lateral modificada (anillo F). De esta manera se realizó la apertura regioselectiva del anillo E, originando el producto dimérico **69a**. Esta reacción condujo al dímero furosténico en buen rendimiento como único producto. La variación de la cantidad del ácido de Lewis permitió la apertura regioselectiva de la cadena lateral de la bis-diosgenina **66a**, como se discute en la Tabla 4. Estas mismas condiciones de reacción se aplicaron al dímero de la 23-acetildiosgenina, para analizar que la sustitución del C-23 en **67a**, conduce a la formación de la cadena lateral furosténica cuantitativamente, y no una epoxicolestánica, como ocurre en las sapogeninas 23-sustituídas no diméricas (Tabla 5). Estos resultados son consistentes con los observados en las sapogeninas no diméricas; es de esperarse que la presencia del grupo espaciador y su comportamiento de autoensamblaje no influya en la reactividad de su cadena lateral.

Tabla 5. Influencia de la sustitución en el C-23 en la apertura de la cadena lateral de las bis-sapogeninas **66** y **67**.

<i>Bisapogenina</i>	<i>Producto</i>	<i>Rendimiento</i>
Bidiosgenina (no sustituida en C-23)	Bifurosteno + Biepoxicolesténico	90%
Bi-23(<i>R</i>)-acetildiosgenina.	<i>Bi</i> -furosteno	92%
Bihecogenina (no sustituida en C-23)	Bifurosteno + Biepoxicolesténico	90%
Bi-23(<i>R</i>)-acetilhecogenina.	Bifurosteno	91%

A continuación se reporta en este trabajo de tesis la caracterización espectroscópica y física del nuevo derivado esteroidal dimérico 69a; la caracterización del bifurosteno de hecogenina no se presenta.

4.5.1 Caracterización del bifurosteno 69a.

Como hemos descrito en los antecedentes y como pudimos apreciar con las sapogeninas, la apertura de la cadena lateral de las 23-acetilsapogeninas produce un derivado con cadena lateral furostánica como único producto. En el espectro de IR las bandas en: 1717 cm^{-1} y 1264 cm^{-1} se asignan respectivamente a las tensiones de los siguientes enlaces: C=O (éster) y C-O; la última señal corresponde a un grupo acetato en la posición 3 de un esteroide con fusión de los anillos A y B *trans*. La señal alrededor de 2300 cm^{-1} se debe al estiramiento asimétrico C=O del CO_2 en la muestra (Figura A128).

En el espectro de RMN de ^1H a frecuencias bajas las señales más significativas son: tres señales simples en 0.91, 0.92 y 1.58 ppm asignadas a los metilos 18, 19 y al metilo vinílico 21, formado en el curso de la apertura del anillo F del dimero 23-acetilsapogenínico. En 0.87 ppm se tiene una señal doble con $J=7.3\text{ Hz}$, asignada al metilo de la posición 27. En la región de los grupos acetilo se observan dos señales en 2.01 y una nueva 2.02 ppm más con respecto a la materia prima producto de la acetilación del hidroxilo en la posición 26. Las señales doble de dobles en 3.92 y 3.87 ppm para los protones en la posición 26, presentan el mismo acoplamiento geminal $J_{\text{gem}}=10.6\text{ Hz}$, y un segundo acoplamiento con el protón en 25, $J_{26-25}=6.6\text{ Hz}$. El valor de la constante de acoplamiento indica que forman parte de una cadena abierta. En 3.78 ppm se tiene una señal doble asignada al protón 20 con constante de acoplamiento $J_{20-17}=10.2\text{ Hz}$. En 4.61 ppm se presenta una señal múltiple que integra para dos protones asociado a los hidrógenos de tipo metino 3 y 16. En 5.4 ppm se observa la señal para el H-6 vinílico (Figura 75).

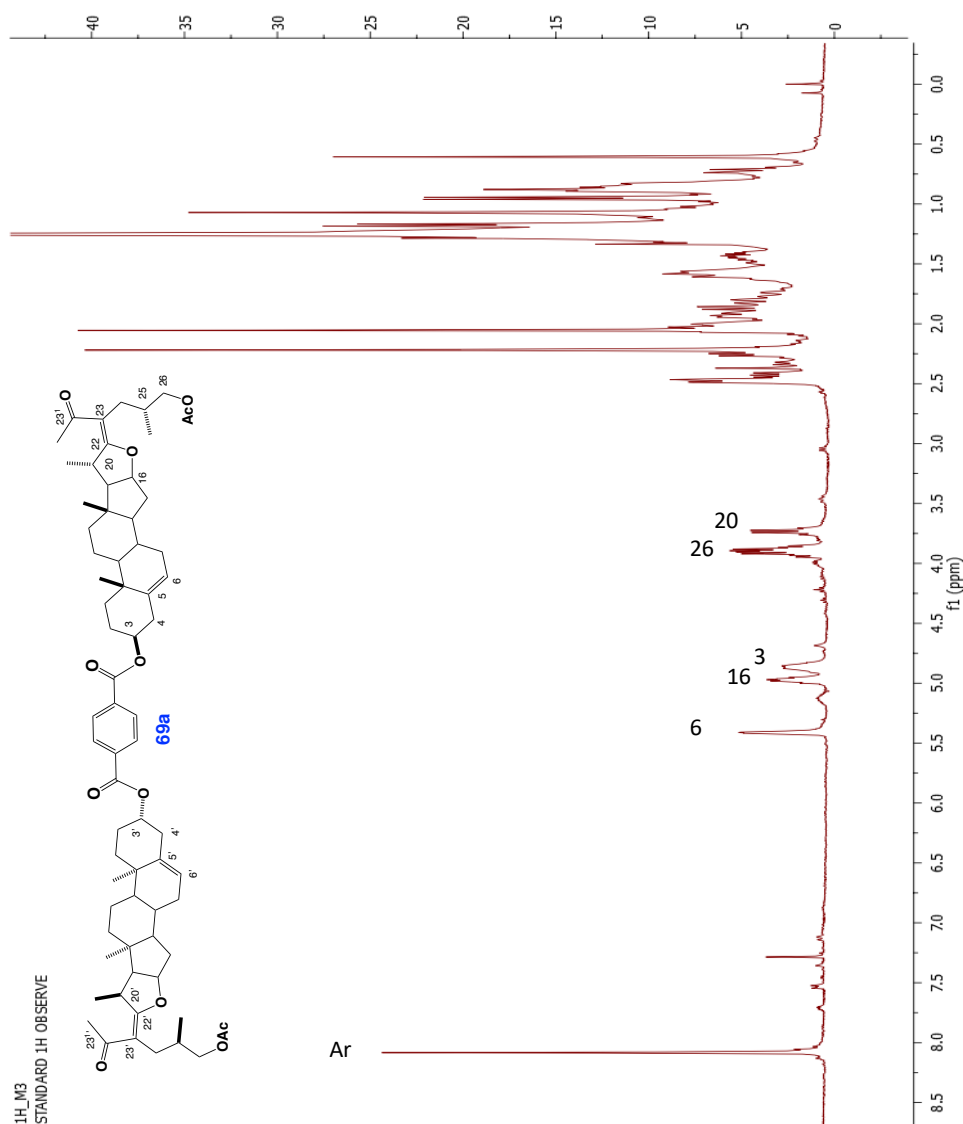


Figura 76. Espectro de RMN de ^1H a 600 MHz del bifurosteno **69a**.

El espectro de RMN ^{13}C presenta 31 señales que corresponden la estructura, las más significativas son: a frecuencias altas se observan dos nuevas señales en 103.3 y 152.1 ppm asignadas a los carbonos vinílicos C-22 y C-23. La señal para el carbono del carbonilo se presenta en 198.6 ppm del C-23¹. La señal en 82.6 ppm es característica de un átomo de carbono base de oxígeno en un anillo de cinco miembros para el C-16 (Figura 77).

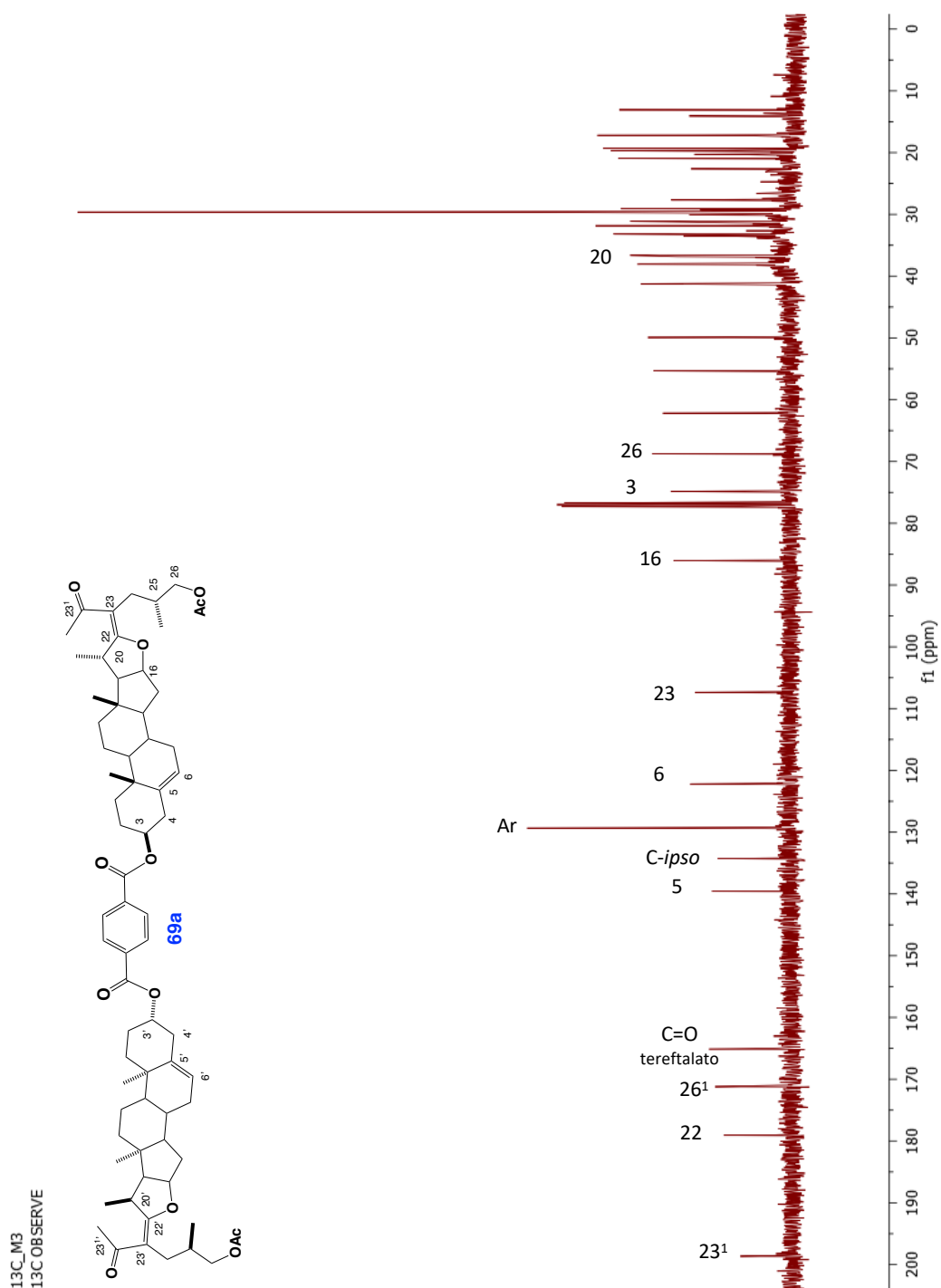


Figura 77. Espectro de RMN de ^{13}C a 150 MHz del bifurosteno **69a**.

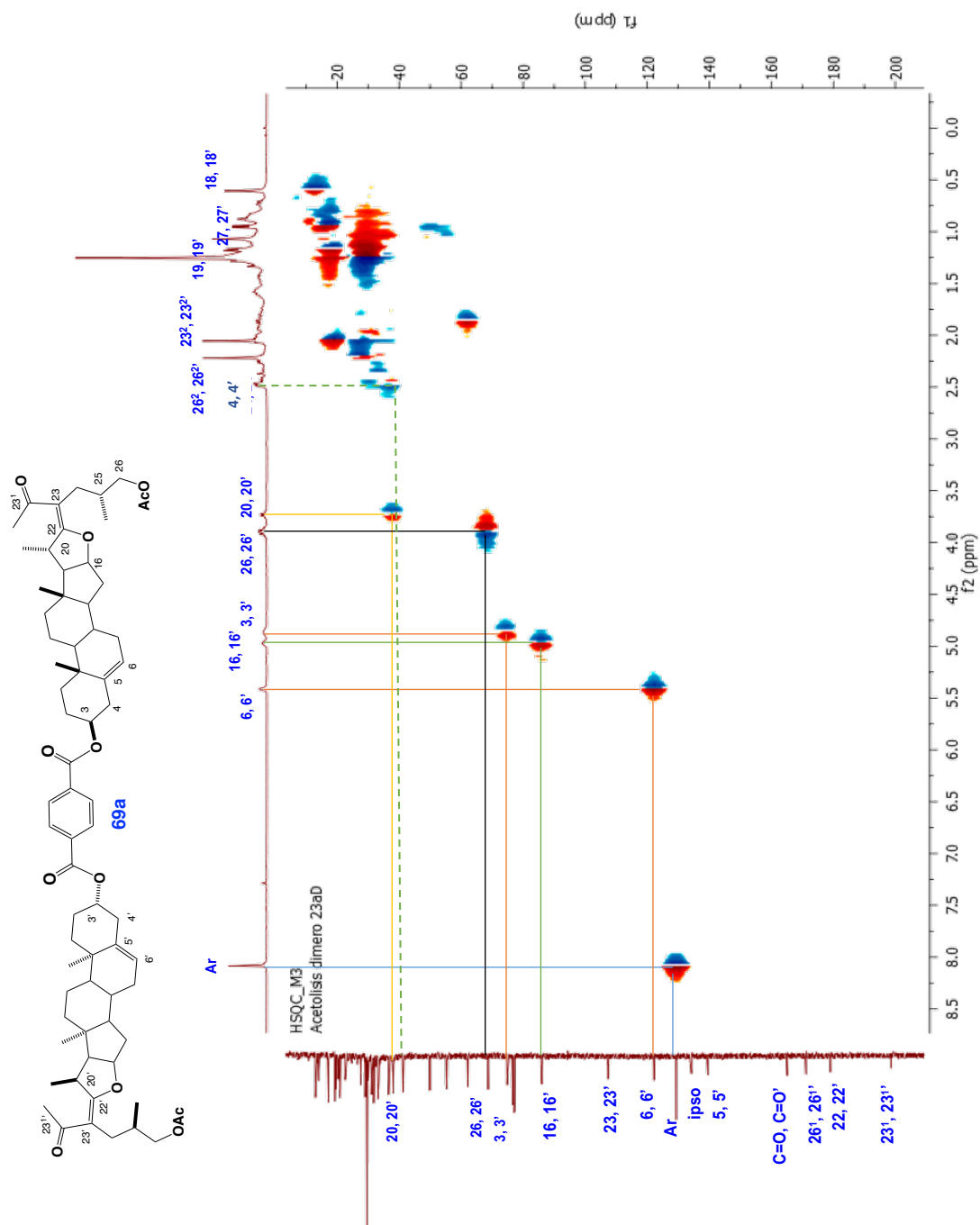


Figura 78. Espectro de RMN-HSQC del bifurosteno **69a**.

El experimento HSQC fue útil en la asignación de algunas señales por medio del acoplamiento C-H a un enlace (Figura 78), fue posible así distinguir las señales de los H-3 y H-16, y asignar el C-20 por su acoplamiento con el H-20 en 3.78 ppm. También fue posible asignar el C-6 por su acoplamiento con H-6, y corroborar que la señal en 103.3 ppm asignada al C-23 no tiene acoplados H.

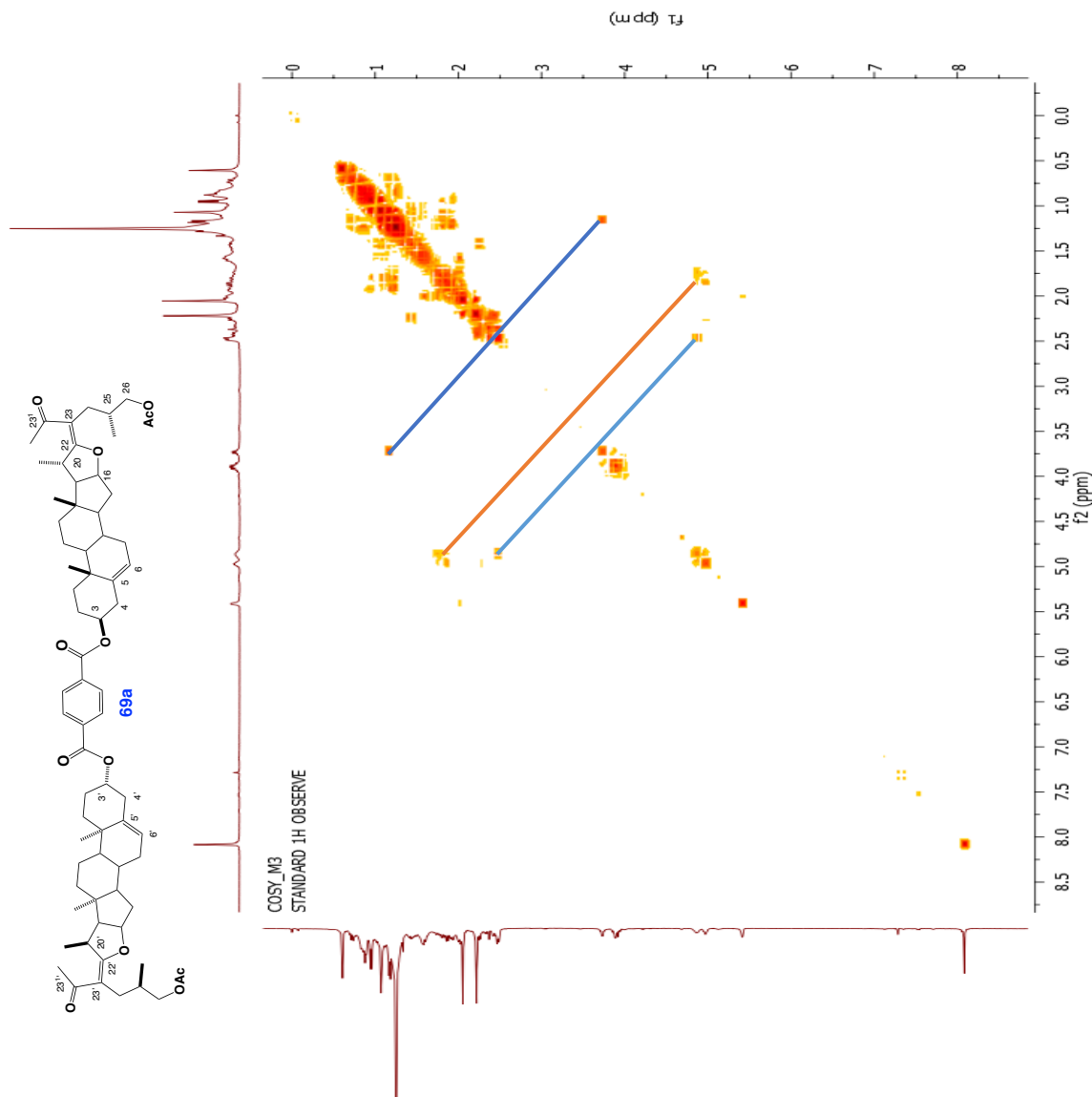


Figura 79. Espectro de RMN-COSY del bifurosteno **69a**.

En el experimento COSY fue posible observar la correlación H-H que nos apoyó en la asignación de las señales por ejemplo: se observa el acoplamiento de H-16 con H-17, el acoplamiento de H-22 con H-20 y H-21 (Figura 79).

El experimento HMBC nos ayudó a observar los acoplamientos C-H a dos y tres enlaces, y entre los más relevantes se encuentran: el acoplamiento entre el metilo 18 y el carbono vinílico 22, entre el carbón vinílico 23 y los metilenos 11 y 24; el acoplamiento entre el carbono cuaternario C-13 con el metilo 18, además entre el carbonilo 22 y el metilo 21 (Figura 80).

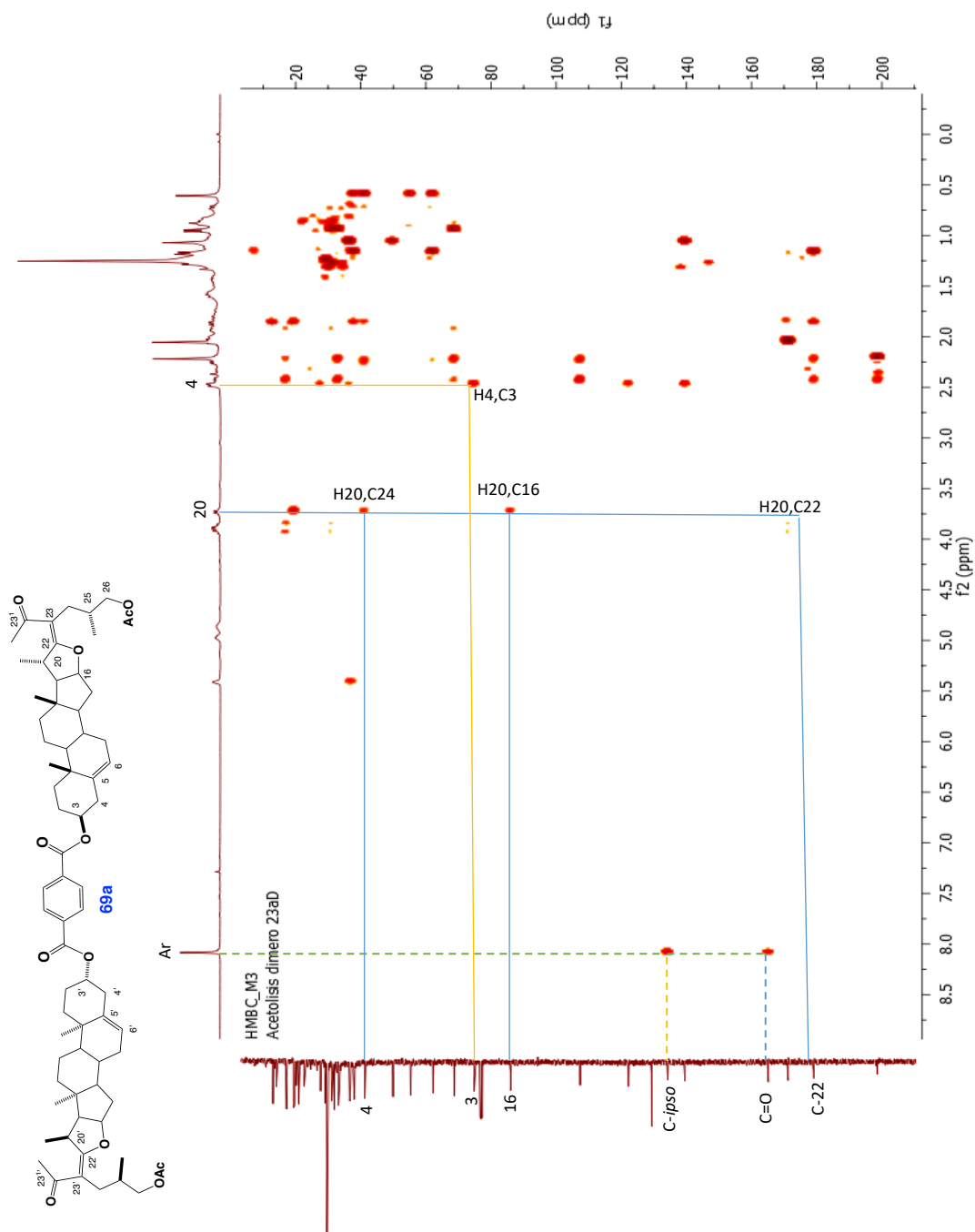


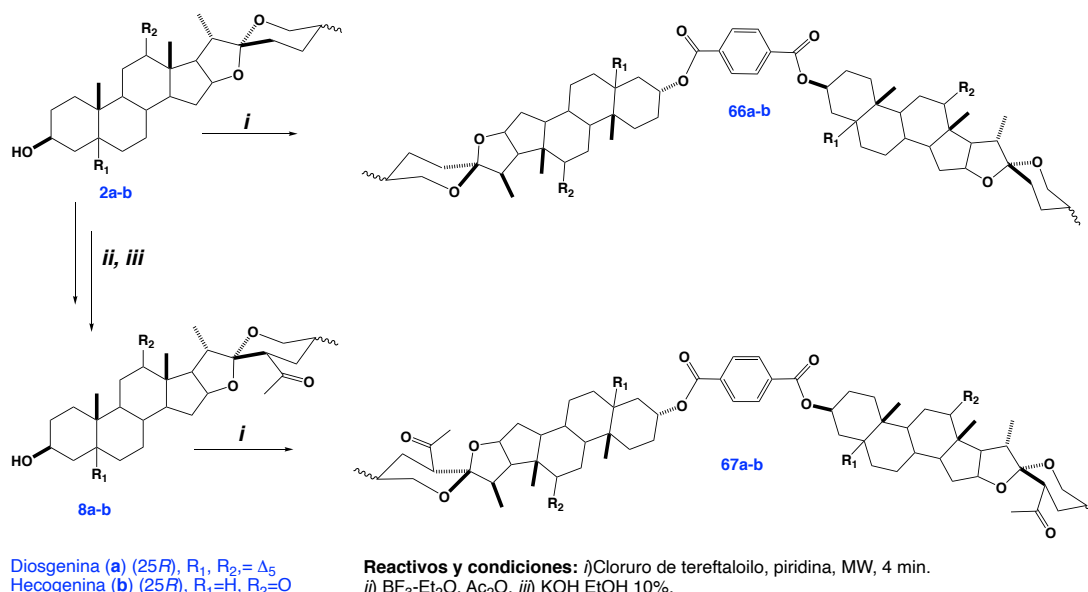
Figura 80. Espectro de RMN-HMBC del bifurosteno **69a**.

Los ensayos de la apertura de las bisapogeninas y bi-23-acetilsapogeninas fueron pausados por el cierre de la contingencia sanitaria, y al retornar al laboratorio, la institución había realizado remodelaciones que afectaron poder reanudar las actividades. El equipo menor (recirculadores-enfriadores) y evaporadores tuvieron averías que hubo que resolver antes de poder operar con normalidad. El tiempo para entregar mis resultados se agotó, y por tiempo, no fue posible reportar el trabajo con hecogenina.

4.6 Tecnologías Verdes y Facilitadoras en Síntesis Orgánica.

4.6.1 Uso de microondas focalizado para la síntesis de dímeros esteroidales.

Previamente, en la obtención biesteroides mediante la metodología convencional (reflujo con calentamiento por convección), fue posible detectar la presencia del producto de mono-sustitución del grupo espaciador, que nos dio una pauta sobre el mecanismo de reacción de sustitución en el grupo espaciador.



Esquema 25. Síntesis de biesteroides por irradiación de microondas MW.

Se realizaron ensayos de síntesis de dímeros esteroidales con el uso de microondas focalizado (FMW) bajo presión en vial sellado. Se ensayó y llevó a cabo la obtención de los biesteroides sapogenínicos con el grupo espaciador tereftalato con asistencia de microondas, en un equipo Monowave 300 que es capaz de monitorear la temperatura, el tiempo y la presión; y en función de la presión entrega la potencia necesaria.

A continuación, se muestra y describe una de las gráficas generadas por el MW que relaciona tres variables de la reacción: temperatura, presión y tiempo, donde se observa que la reacción transcurre al haber un cambio en la presión. De acuerdo a los resultados mostrados en la Tabla 6, la reacción ocurre antes de alcanzar 4 minutos como se puede apreciar en la gráfica, debido a la variación de la presión hasta llegar a una etapa en que se mantiene constante; después de los 4 minutos se asume que hay una reacción

secundaria que tiene la posibilidad de formar un subproducto. Con éstos resultados se estableció que el tiempo óptimo para llevar a cabo la reacción de obtención del biesteroide fue de 3 minutos.

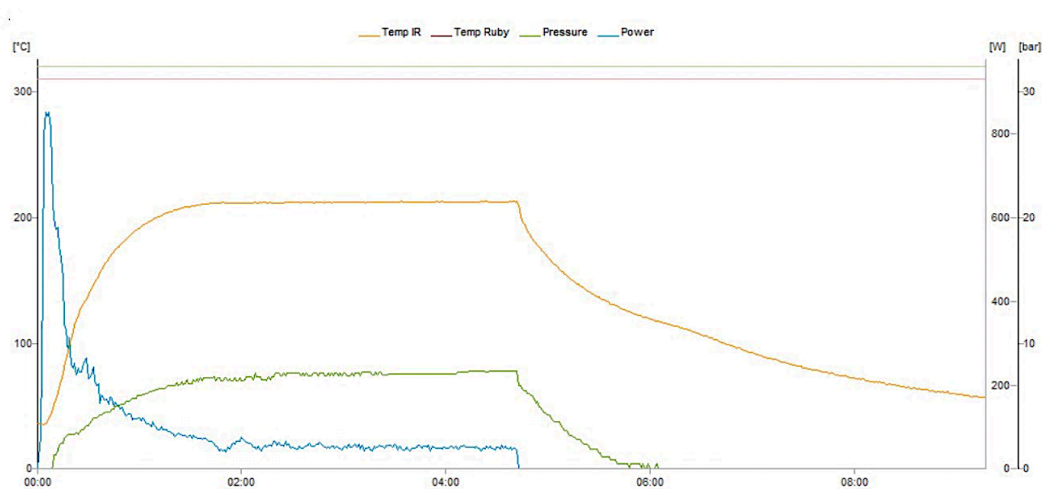


Figura 81. Gráfica de microondas en la obtención de Bidiosgenina **66a**.

Tabla 6. Datos de la gráfica de la reacción de obtención de Bidiosgenina **66a**.

Tiempo hh:mm:ss	Temp. IR °C	Temp. Ruby °C	Presión bar	Potencia W	Agitación
0:02:10	181.23	22.04	6.3	15	On
0:02:15	181.49	21.28	6	18	On
0:02:20	181.67	21.84	6.2	17	On
0:02:30	181.41	21.45	6.2	19	On
0:02:35	181.41	21.06	6.5	20	On
0:02:40	181.5	21.25	6.2	17	On
0:02:45	181.36	21.38	6.7	15	On
0:02:50	181.76	21.12	6.4	18	On
0:02:55	181.38	22.07	6.2	16	On
0:03:00	181.62	21.05	6.4	18	On
0:03:20	181.78	20.97	6.4	16	On
0:03:40	181.74	20.89	6.4	15	On
0:04:00	181.57	21.43	6.4	15	On

Este tiempo contrasta con la metodología convencional, debido a que en esta se requiere de al menos 3 horas a reflujo por calentamiento por convección y gran cantidad de disolvente (50 mL, contra 3 mL por MW), que al final se traduce en la generación de desechos que deben ser tratados, desperdicio de calor, y emisión de disolvente a la atmósfera. Con esta metodología fue posible obtener un mejor rendimiento y un crudo de reacción que es más fácil de tratar y de lavar, ya que al tener menos piridina, es más fácil de realizar los lavados. Además de no emitir el olor tan penetrante de la pídina a todo el laboratorio, la reacción se pudo observar que es muy estable, reproducible y aplicable a la

obtención de otros dímeros esteroidales, aunque la limitante es el tamaño del vial, ya que el mayor es de 30 mL.

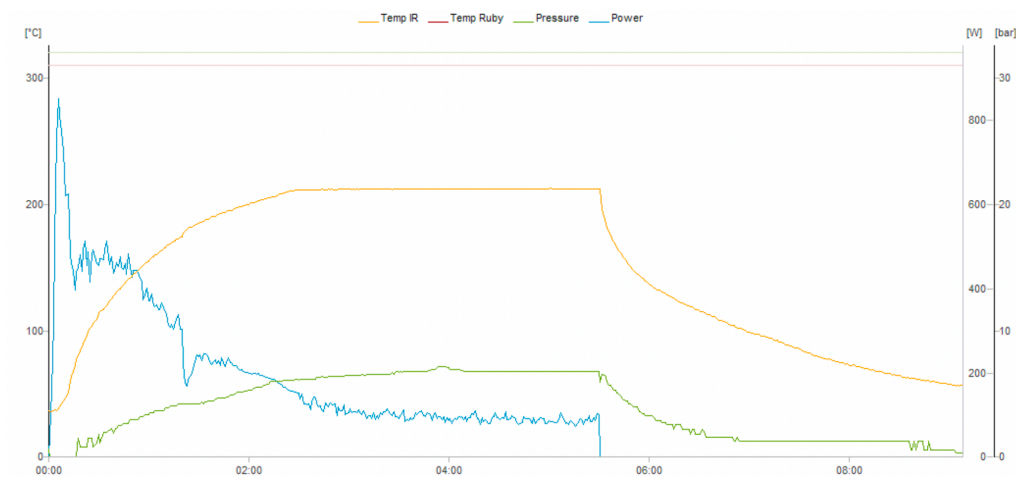


Figura 82. Gráfica de microondas en la obtención de Bi-23-acetildiosgenina **67a**.

Como se mencionó, la posibilidad de formar un subproducto la estudiamos a partir de los resultados de varios ensayos, en los que se monitoreo la reacción por CCF y RMN, encontrándose que el resultado de esta variación de presión daba lugar a productos de descomposición que no sobrepasaron el 7% de rendimiento, de los cuales no obtuvimos la caracterización por cuestiones de tiempo y acceso a RMN.

Usando colesterol como materia prima accesible, se obtuvieron los dímeros de colesterol mediante síntesis asistida por microondas focalizado, emulando las mismas condiciones que con las sapogeninas (Figura 83).



Figura 83. Viales de 10mL de microondas en la obtención de Bi-colesterol: Mezcla de reacción antes de irradiar (izquierda), mezcla de reacción después de irradiar y caliente (centro), mezcla de reacción después de irradiar fría (derecha).

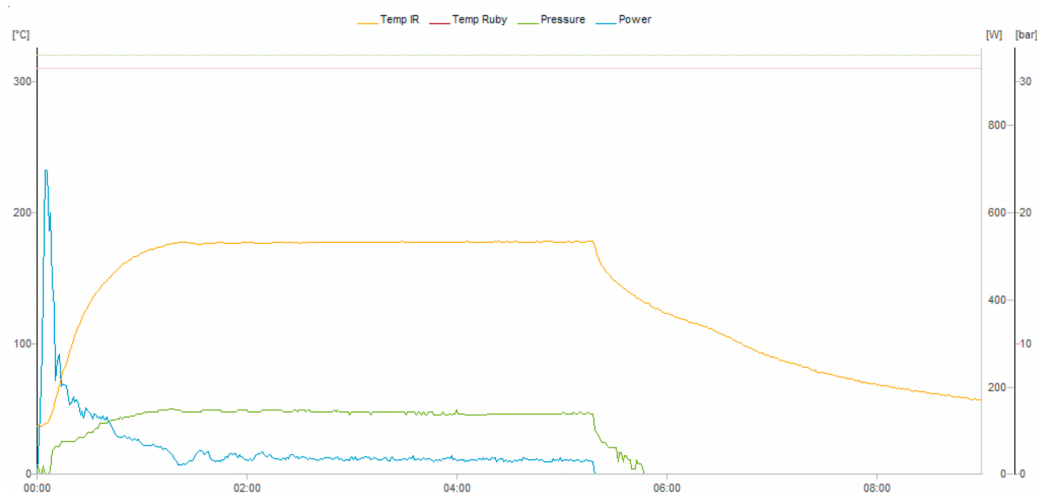


Figura 84. Gráfica de microondas en la obtención de Bicolesterol 72.

En el caso del colesterol, encontramos que al terminar la reacción y llevar el vial a temperatura ambiente, este gelificaba, es decir, se autororganizaba o autoensamblaba en la mezcla de reacción, como es posible apreciar en las imágenes de la Figura 83. Al autoensamblarse, la mezcla de reacción con el biesteroide formado, parecía duplicar su volumen y se veía con una consistencia densa, y cuya organización se preservaba a pesar de transcurrir el tiempo. Es necesario resaltar que debido a la descompostura del equipo de microondas Monowave 300 desde octubre de 2019 y posteriormente la contingencia sanitaria, no fue posible realizar la obtención de los dímeros de oxalildihidrazina utilizando microondas. Pese a esto, nuestro grupo de investigación continuará el trabajo en cuanto las condiciones sean favorables.

4.7 Uso de flujo continuo para la síntesis de dímeros esteroideos y sus precursores.

La química de flujo es el proceso de realizar reacciones químicas en un tubo, capilar o dispositivo microestructurado (un reactor de flujo). La química del flujo es mucho más que la adaptación de los procesos por lotes a los sistemas de flujo. Es posible tener selectividad, cantidad reducida de subproductos, uso de condiciones de reacción elevadas (presión y temperatura), fácil control de la reacción, optimización y escalado, que se puede lograr rápidamente cambiando el volumen del reactor o haciendo funcionar varios reactores de

flujo en paralelo, siempre que los flujos se vuelvan a calcular para lograr los mismos tiempos de residencia, como se aprecia en la Figura 85:

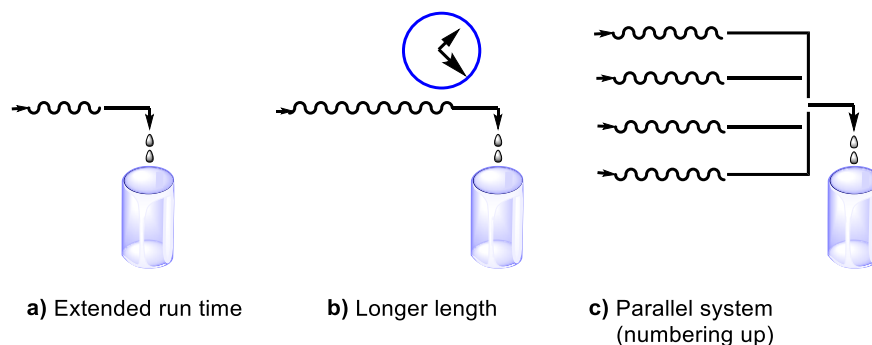


Figura 85. Secuencia de reacción en flujo continuo puede ser conducida en forma muy diferente a un proceso por lotes: a) extendiendo el tiempo de residencia, b) alargando la tubería, c) sistemas paralelos.

La química de flujo continuo es una química limpia, que genera menos residuos. Una ventaja clave de la química de flujo es que es más fácil acceder a otros métodos de activación, menos utilizados, como la electroquímica y la fotoquímica. Retomando la experiencia del trabajo de escalamiento por flujo continuo de la reacción de fotodecarbonilación de cetonas, y con la ventaja de contar con el reactor de flujo continuo marca Syrris, se planteó la obtención de los biesteroides y sus precursores por flujo continuo, para aprovechar las ventajas que significa el realizar las reacciones con flujo laminar. Sin embargo, y pese a todas las cualidades que esta metodología o tecnología facilitadora posee, *no fue posible realizar la obtención de biesteroides tereftálicos (ni oxalildihidrazona que se discuten a continuación) con el uso del microreactor Syrris, debido a que se corría el riesgo de que se quedaran adheridos los productos a la tubería capilar del equipo y se taponara la bomba o la tubería capilar del reactor.*

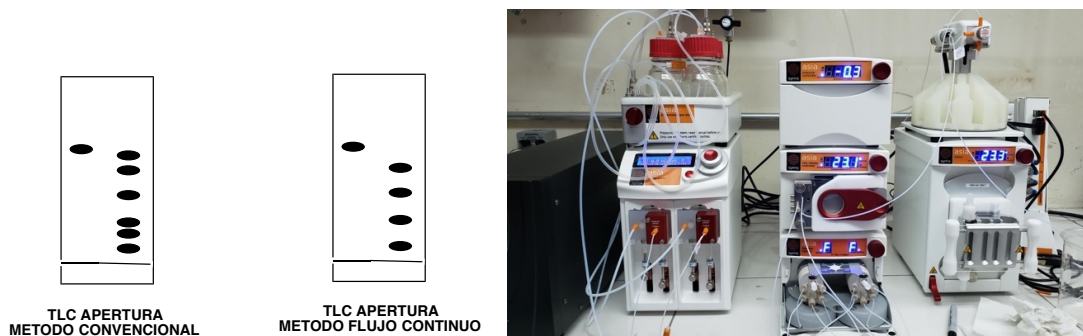
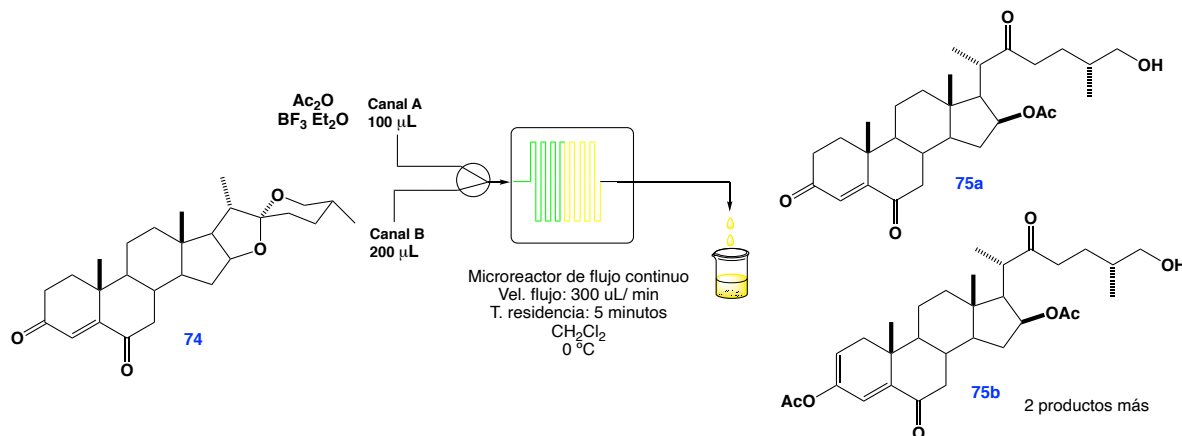


Figura 86. Comparación del crudo de reacción en método convencional y flujo continuo.

No obstante, si llevamos a cabo la obtención de los precursores epoxicolestánicos, 23-acetilsapogenínicos y 22-oxocolesténicos, donde en esta última apertura de la cadena lateral de la diosgenin-3,6-diona, esta metodología proporcionó mayor selectividad en la reacción, como se muestra en la Figura 86 de la CCF del crudo. La reacción llevada a cabo fue la apertura regioselectiva de la cadena lateral de la 3,6-diosgenindiona **74**, la cual procedió bajo las condiciones de reacción que se muestran en el Esquema 26:



Esquema 26. Obtención de derivados 22-oxocolestánicos **75a-b** por flujo continuo.

Se logró obtener diversos derivados 22-oxocolesténicos como productos, siendo los dos mostrados en el Esquema 26 los mayoritarios; sin embargo, al comparar la CCF de la reacción por el método convencional, y la realizada en flujo continuo, es posible notar la reducción de formación de subproductos, y que como consecuencia, se aumentó el rendimiento de los productos mayoritarios, optimizando la reacción. Los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C del compuesto **75b** se muestran en las Figuras 87-88 y se describen a continuación.

En el espectro de RMN de ^1H del derivado 22-oxocolesténico **75b** se observan las señales de los H vinílicos 2 y 4 en 5.7 ppm. El H-16 se observa como una señal múltiple en 5.0 ppm, característico de un H unido a un C base de acetato y con el anillo E abierto. El patrón de acoplamiento de los H-26 como una señal doble e intensa, es característico de la cadena lateral 22-oxocolestánica; el H-20 se desplaza a frecuencias altas como una señal múltiple.

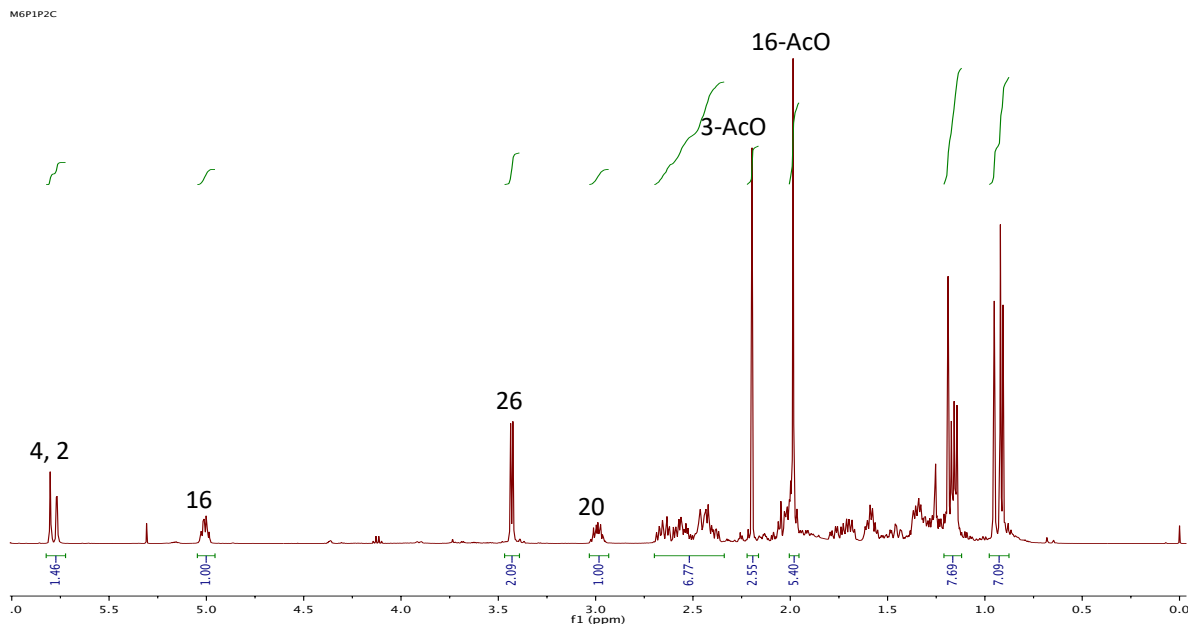


Figura 87. Espectro de RMN de ^1H del derivado **75b** obtenido por flujo continuo.

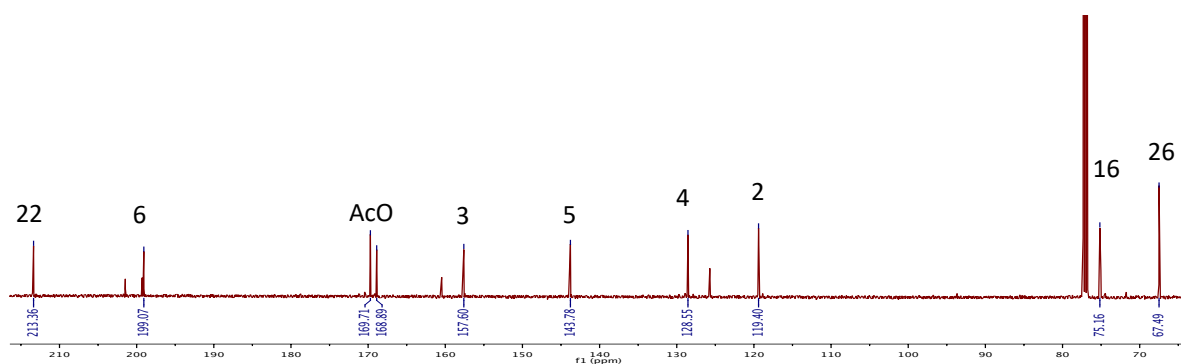
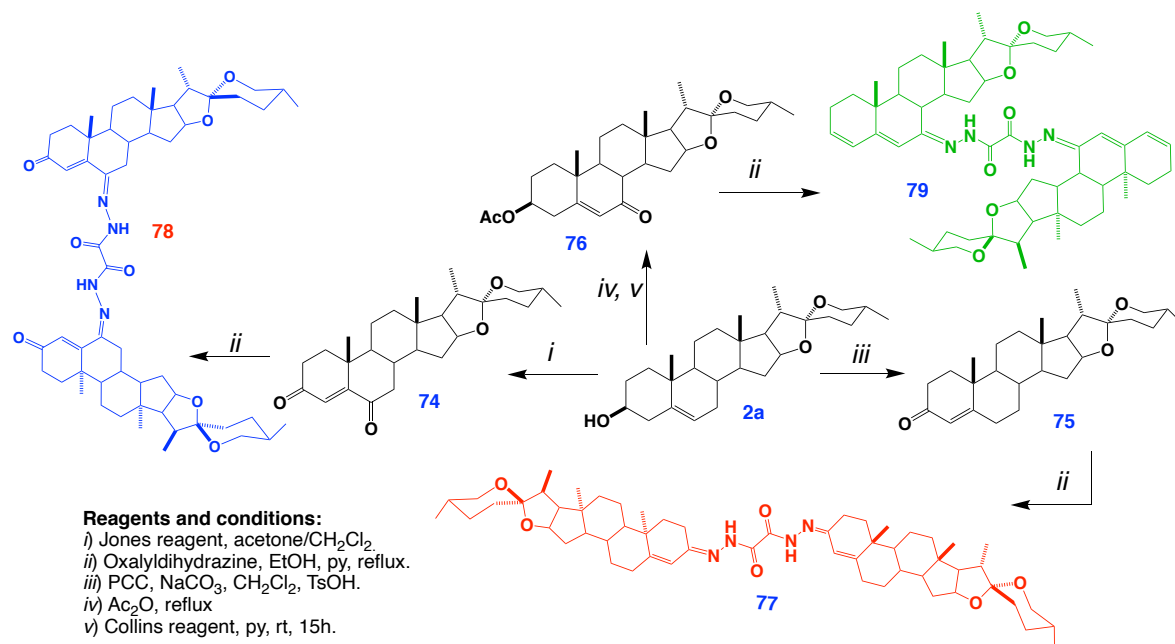


Figura 88. Espectros de RMN de ^{13}C del derivado **75b** obtenido en flujo continuo.

Los datos que arrojó el espectro de RMN de ^{13}C , fueron de ayuda para asignar la estructura por la presencia de las señales del C-22 en 213.36 ppm, desplazamiento típico de una cetona aislada; la presencia de la señal en 199.07 ppm asignada al C-6, y los C de los acetatos en las posiciones 3 y 16; así como de los C vinílicos 2-3 y 4-5, y la presencia del C-16 antes de las señales del CDCl_3 , propio de una cadena colestánica.

4.8 Biesteroides con oxalildihidrazina como grupo espaciador.

Se obtuvieron dos nuevos derivados biesteroidales utilizando a la oxalildihidrazina como grupo espaciador, conduciendo a la obtención de los derivados **77**, **78** y **79**, los cuales también se autoensamblan en solución. La ruta de síntesis planeada se muestra en el Esquema siguiente:



Esquema 27. Obtención de biesteroides con oxalildihidrazona como grupo espaciador.

Esta ruta de síntesis parte de los derivados oxidados de diosgenina: diosgenin-3-ona **75** y diosgenin-3,6-diona **74**, las cuales se obtuvieron según las metodologías que se describen a continuación.

4.8.1 Oxidación de diosgenina para obtener diosgenona 75.

Se realizó la oxidación de diosgenina con PCC para obtener la diosgenin-3-ona **75**, que fue el precursor para la obtención de biesteroides con un grupo espaciador oxalildihidrazina para obtener oxalildihidrazonas uniendo las unidades esteroidales. En la caracterización de este compuesto cetónico, en el espectro de RMN de ¹H se observó la desaparición de la señal correspondiente del protón H-6, con la aparición de una señal simple en 5.73 ppm que corresponde al protón vinílico H-4, como se observa en la Figura 89, además de las asignaciones correspondientes a los demás protones de la molécula que guardan una similitud con la materia prima, ya que no se han visto afectadas por la modificación en la estructura, como es el caso de los protones diasteretópicos H-26 ec y ax los cuales

presentan un desplazamiento similar a los de diosgenina y se encuentran en 3.48 y 3.37 ppm respectivamente, así como las señales que corresponden a los metilos angulares que se mantienen constantes. Estas asignaciones fueron confirmadas a través del experimento HSQC (Figura 91), donde se observó el acoplamiento que existe entre el protón H-3 y el C terciario C-3, como se observa en la Figura 90.

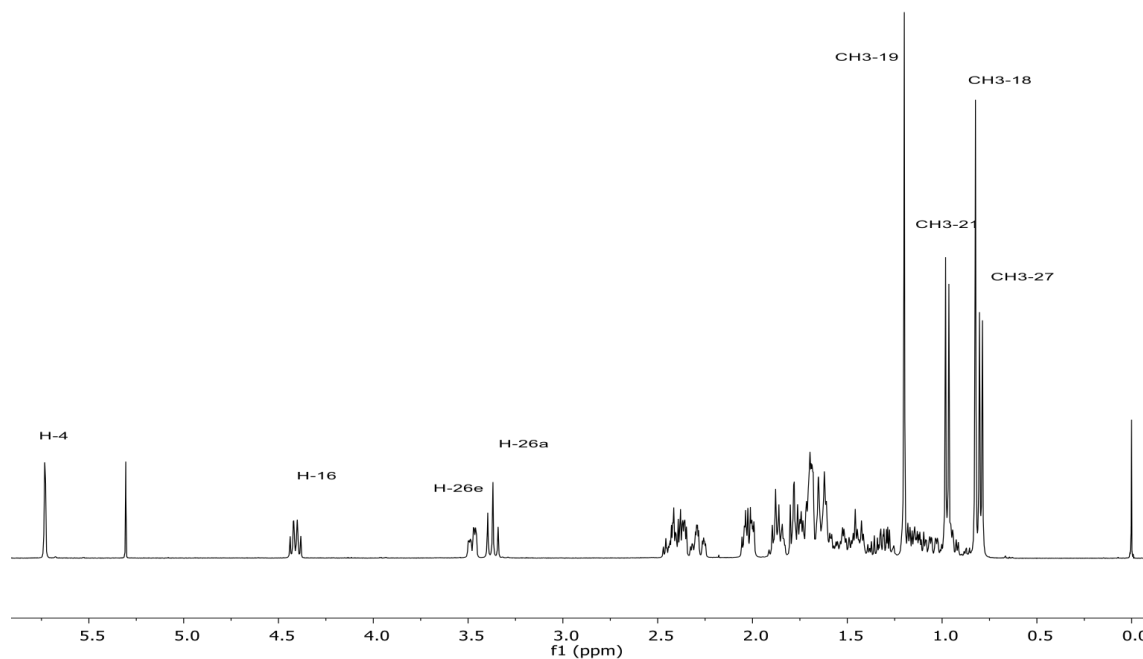


Figura 89. Espectro de RMN ^1H de diosgenona **75**.

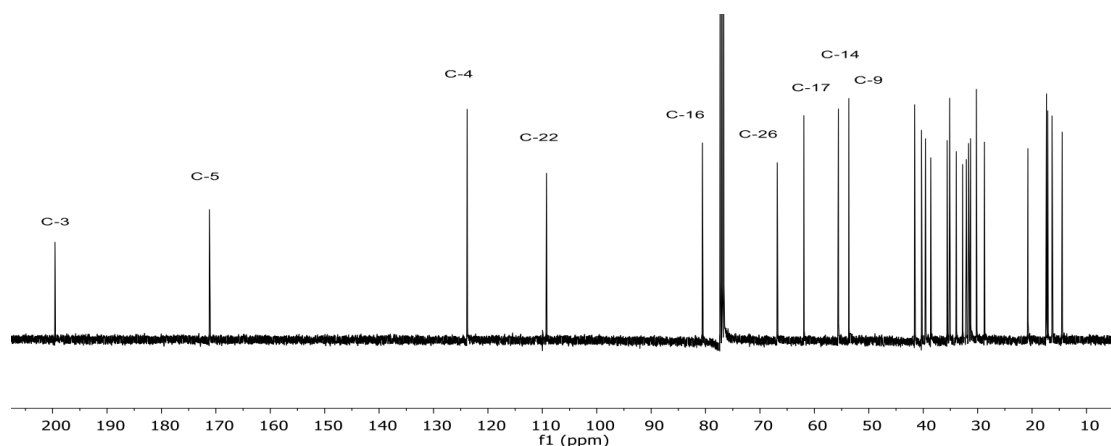


Figura 90. Espectro de RMN ^{13}C de diosgenona **75**.

Para el caso del espectro ^{13}C se observó a frecuencias altas una señal en 199.6 ppm la cual es característica de cetonas α , β -insaturadas. Las señales de los carbonos

vinílicos se aprecian en 123.8 y 171.2 ppm, la señal característica del espiroacetal permanece en 109.2 ppm. Las señales de los carbonos base de oxígeno C-16 y C-26 se observaron en 80.6 y 66.8 ppm respectivamente como se distingue en la Figura 90.

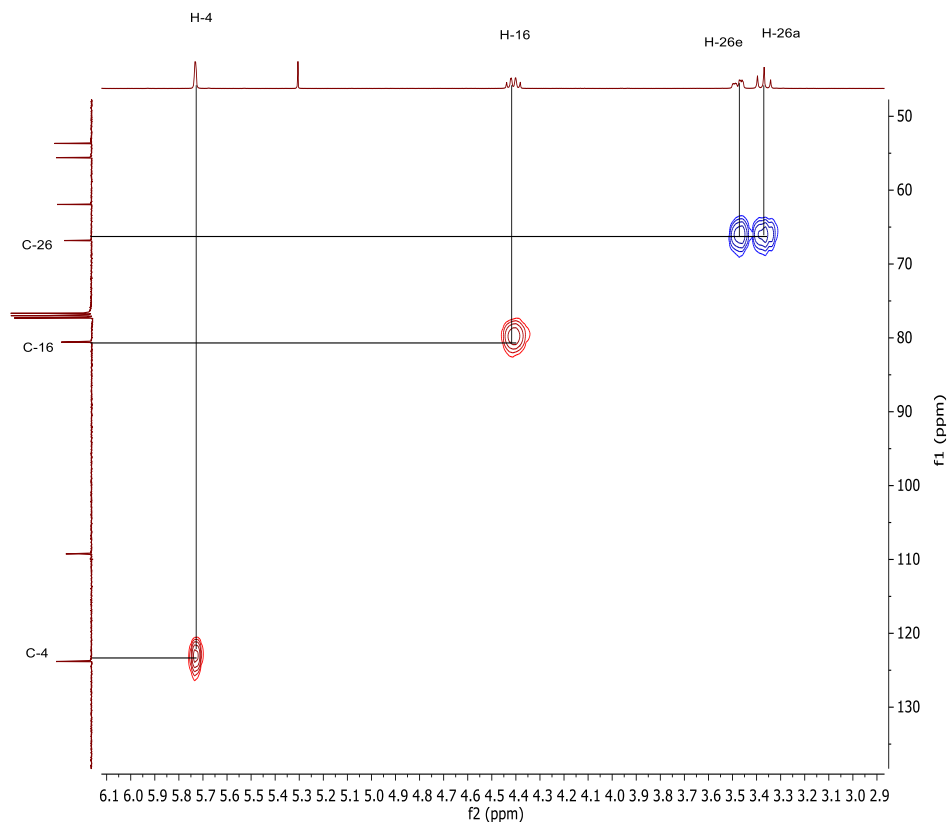
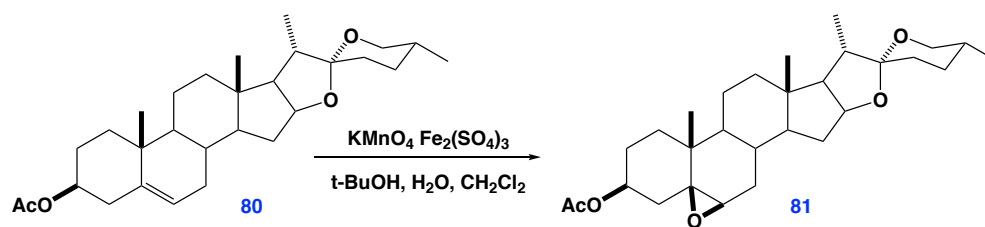


Figura 91. Espectro de RMN HSQC de diosgenona **75**.

Por otro lado, la obtención de diosgenin-3,6-diona **74** se propuso a partir de la obtención del triol **82**, como se describe a continuación.

4.8.2 Epoxidación estereoselectiva del acetato de diosgenina (**80**).

Una vez protegido el hidroxilo de la posición de 3, se realizó la epoxidación estereoselectiva del doble enlace por medio de una oxidación lenta soportada en un metal, en este caso es utilizado ion Fe^{3+} como ácido de Lewis que se acompleja en la cara más disponible del doble enlace, en este caso la cara α , saturando esta cara, lo que obliga a que la epoxidación únicamente ocurra en la cara β , como se aprecia en el Esquema 28.



Esquema 28. Epoxidación catalítica de acetato de diosgenina (**80**).

El producto ya está reportado en la literatura,⁹⁴ y su caracterización coincidió, como se aprecia en el espectro de ^1H de la Figura 92:

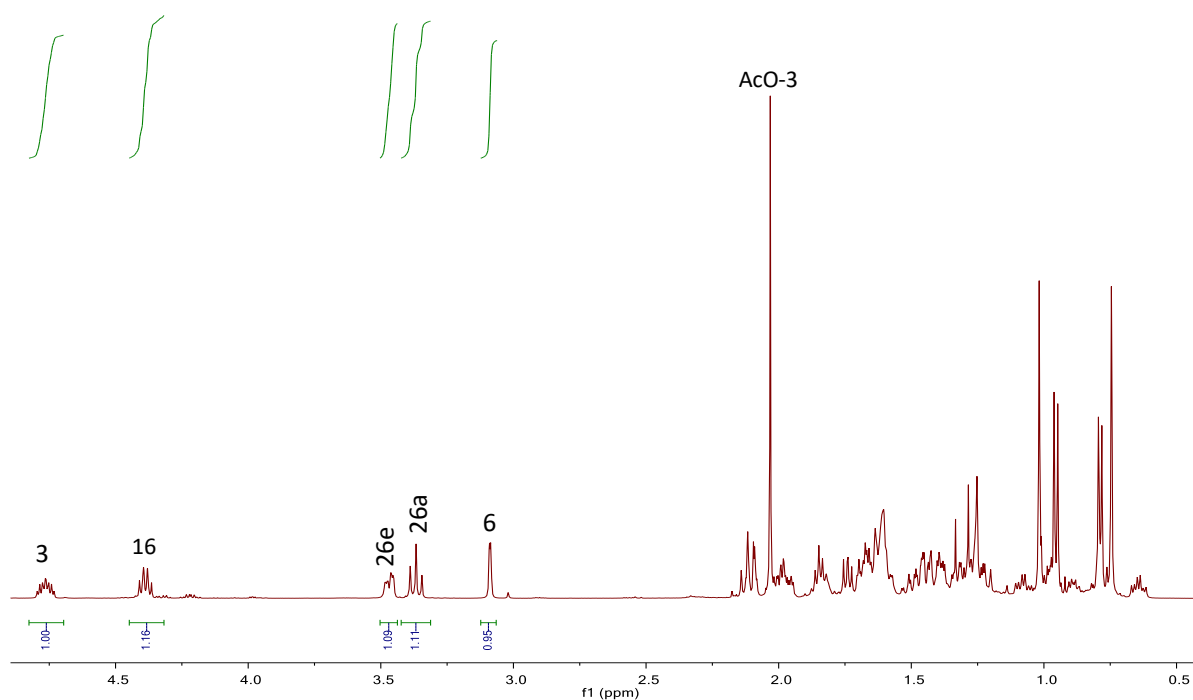
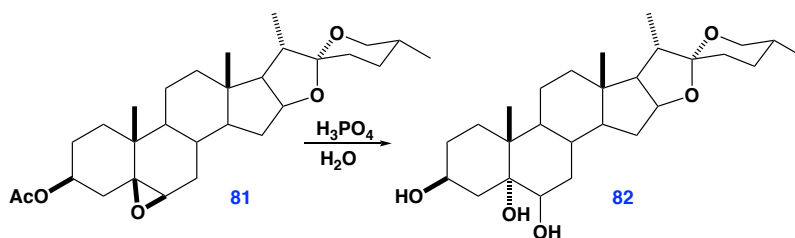


Figura 92. Espectro de ^1H a 500 MHz del epóxido **81**.

4.8.3 Apertura del β -epóxido **81** para obtener el diol *trans*-diaxial **82**.

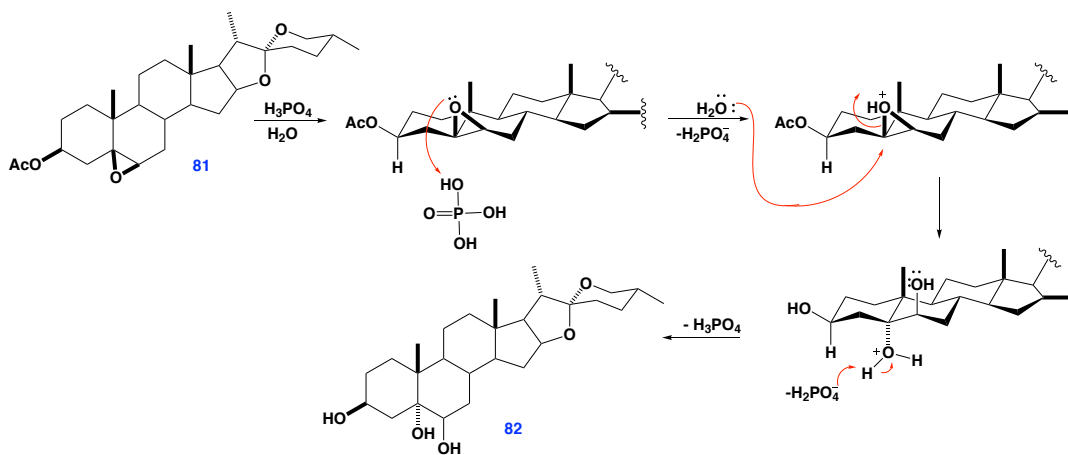
Para la obtención del glicol en los carbonos 5 y 6 de manera estereoselectiva, se procedió a una apertura en medio ácido con agua como nucleófilo, como se ha reportado en la literatura.⁶² Cuando se hace la apertura de este tipo de epóxidos esteroidales se genera un hidroxilo en α en el C-5 y un hidroxilo en β en el C-6 de manera estereoselectiva, esto se debe a que la apertura del epóxido se da por la cara α del esteroide, dado que el

epóxido se encuentra en la cara β , provocando impedimento estérico al igual que los metilos angulares 18 y 19.



Esquema 29. Apertura del β -epóxido **81** en medio ácido.

La adición del nucleófilo por abajo (cara α) así como la protonación del oxígeno del epóxido, provoca que el OH en C-5 tenga orientación α , y el OH que proviene del epóxido quede unido al C-6 (ver mecanismo en el Esquema 30); simultáneamente se observó la hidrólisis del acetato en la posición 3.



Esquema 30. Mecanismo de apertura estereoselectiva del epóxido **81**.

Al momento de realizar la reacción se observó un cambio de polaridad drástico en el producto, de manera que el producto precipitó durante la reacción conforme se formaba por la apertura del epóxido; al filtrar la reacción se obtuvo un producto blanco, con un pico ion molecular 449.3269, el cual presentó un punto de fusión alto, cercano a los 200 °C. El espectro de IR del derivado **82** muestra las bandas características de los grupos OH presentes en los anillos A y B (Figura A129).

En el espectro de RMN de ^1H a 500 MHz obtenido en metanol deuterado (debido a la alta polaridad, tuvo poca solubilidad en disolventes como CDCl_3), se observa una señal ancha en 4.64 ppm que corresponde al hidroxilo en la posición 5 el cual su protón no se intercambi6 con deuterio del solvente debido al impedimento est6rico generado por la posici6n donde se encuentra este grupo funcional, inmediatamente despu6s de observa la se6al correspondiente a H-16 la cual no sufre cambios considerables se mantiene como un ddd con $J_{16,15a}=8.5\text{ Hz}$, $J_{16,15e}=7.5\text{ Hz}$, $J_{16,17}=6.0\text{ Hz}$, en 4.02 ppm se observa la se6al correspondiente a H-3 el cual se desplaz6 a frecuencias bajas debido a la hidr6lisis del acetato.

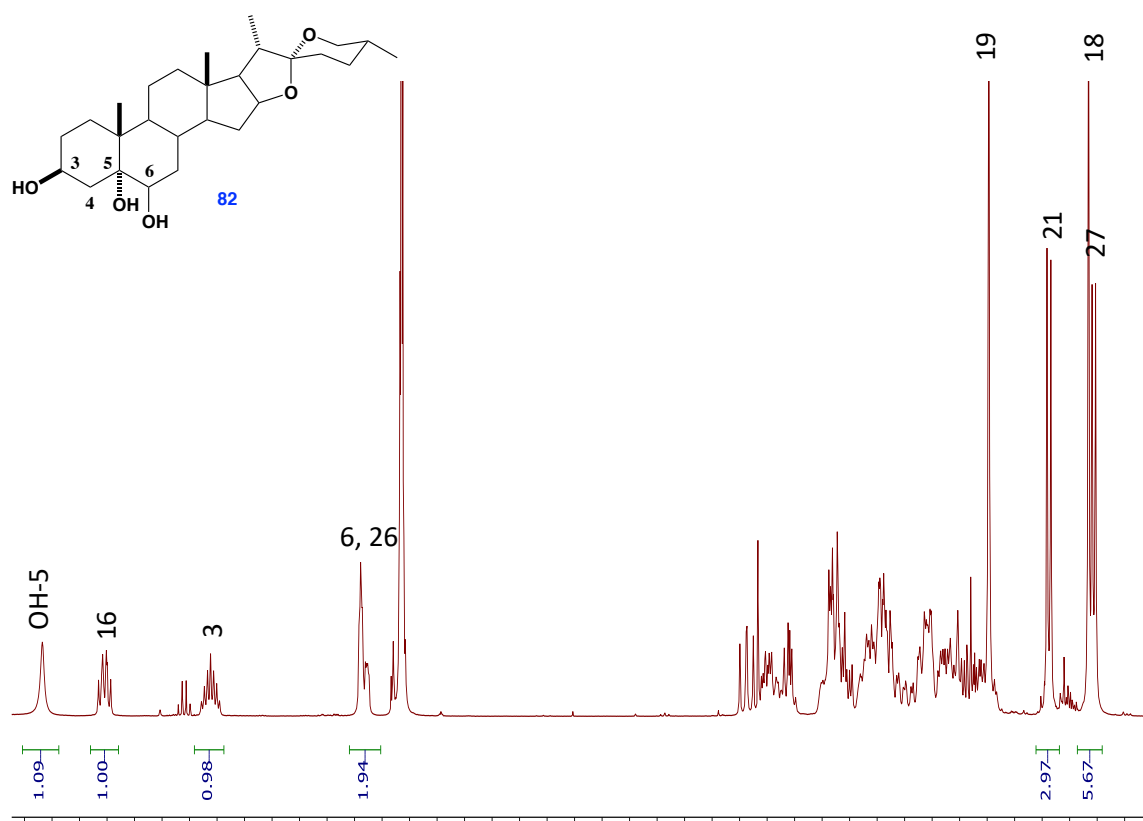


Figura 94. Espectro de ^1H a 500 MHz del triol de diosgenina **82** en CD_3OD .

Por otra parte, las se6ales correspondientes a los protones 6 y 26 se encuentran alrededor de 3.4 ppm pero se observa un traslapamiento en estas se6ales entre s6, y con la se6al correspondiente al disolvente; un efecto interesante se observ6 en la se6al del metilo 19, que normalmente se observa en 1.0 ppm pero ahora se desplaz6 a 1.19 ppm

debido al efecto generado por los hidroxilos en C-5 y C-6, en específico en C-6, ya que en el epóxido igualmente se observaba dicho efecto ya que se encontraba en la misma cara que el metilo-19 (Figura 94).

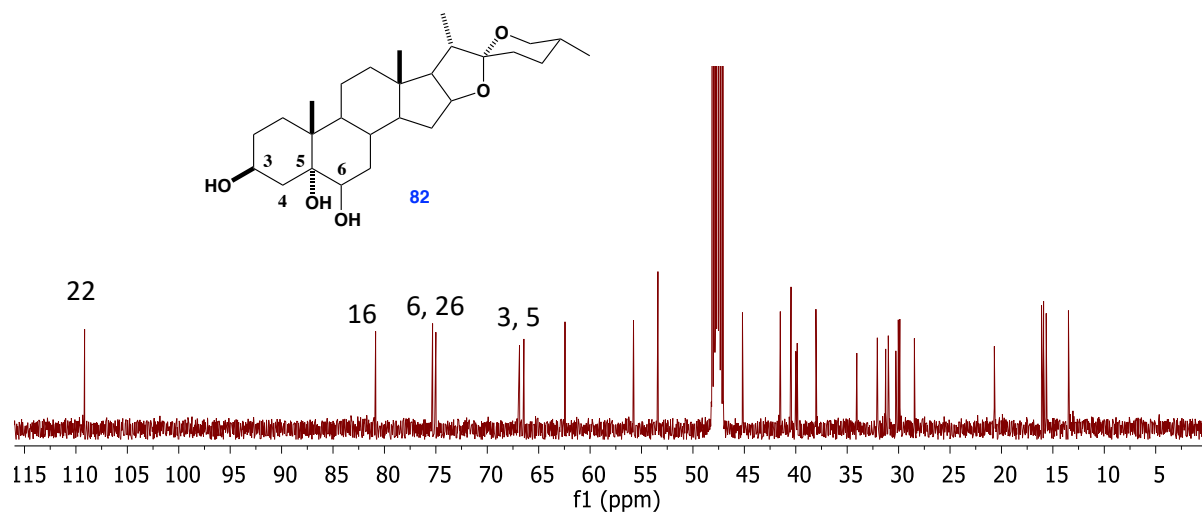


Figura 95. Espectro de ^{13}C a 125 MHz del triol de diosgenina **82** en CD_3OD .

Al analizar el espectro de RMN de ^{13}C se observa que la señal en 109.2 ppm se mantiene, indicando que el espirocetal se ha conservado; pero aparece una nueva señal en 66.4 ppm la cual corresponde al carbono 5 base del hidroxilo en esta posición, los carbonos 16 y 26 conservan sus desplazamientos, pero aparece una señal 75.3 ppm correspondiente al carbono 6 (Figura 95); para distinguir entre estos carbonos fue de gran ayuda el experimento HSQC (Figura 96) donde el C-6 fue fácilmente asignado ya que en 5 no existe un protón unido a carbono; y es posible observar que en este espectro, la señal en 4.7 ppm corresponde al H del OH en C-5, ya que no se correlaciona con ningún carbono, además de su forma ancha característica .

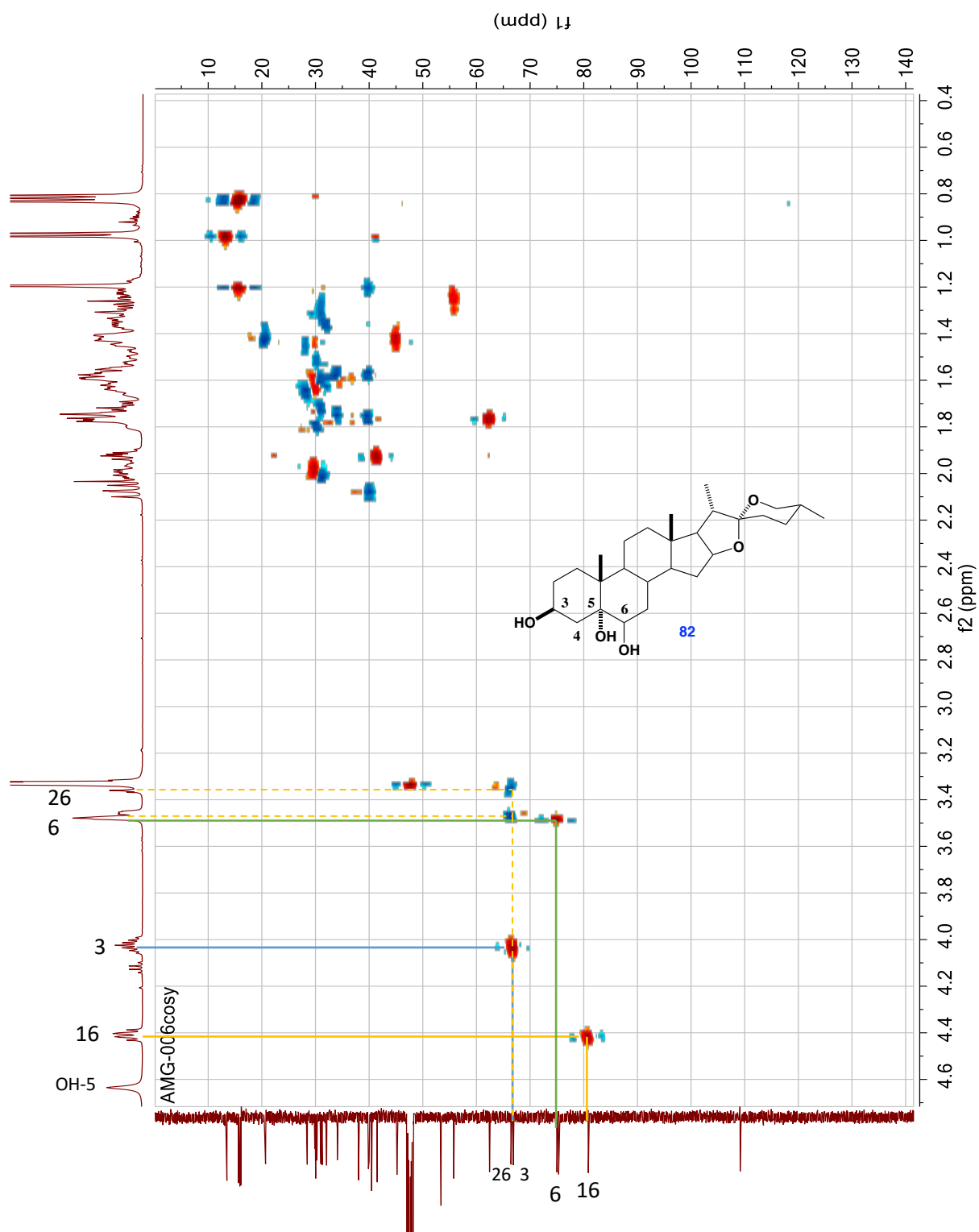


Figura 96. Espectro de RMN HSQC del triol de diosgenina **82**.

Debido a la dificultad de trabajar con un producto tan polar como el triol **82**, se protegió el OH-3, mediante una acetilación con Ac₂O y calor para obtener el diol **82a**. De este derivado protegido se obtuvieron cristales adecuados para su estudio de difracción de Rayos-X, los cuales se muestran en la Figura 97:

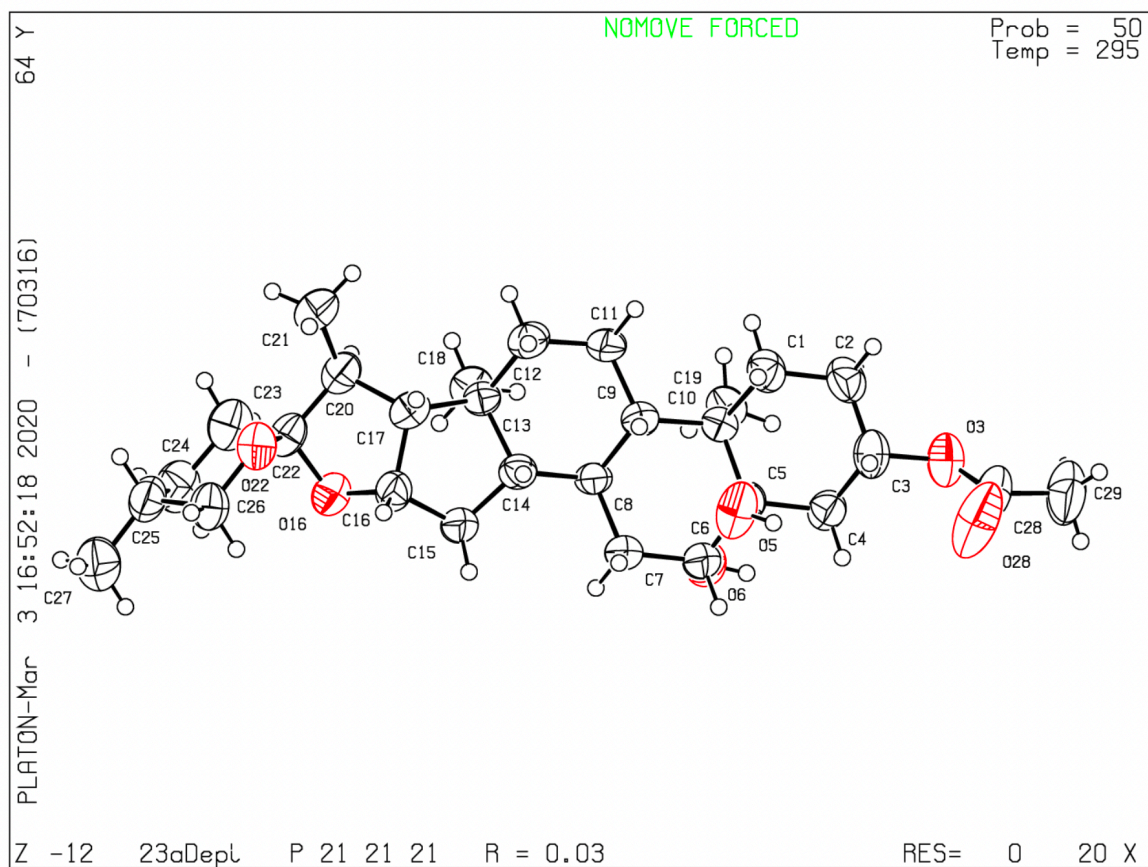
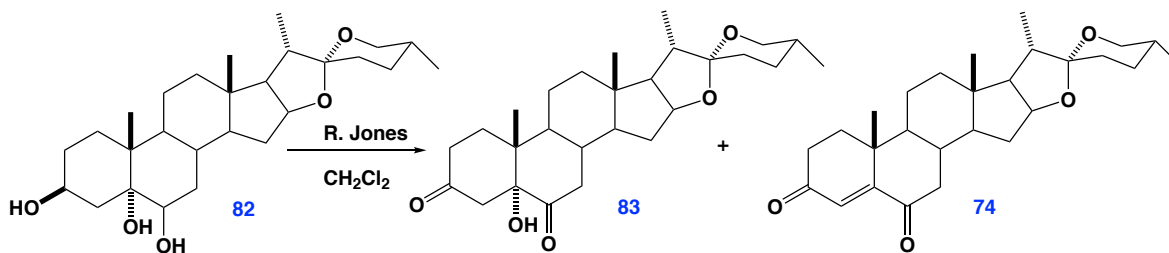


Figura 97. Estructura ORTEP del diol de diosgenina **82a**.

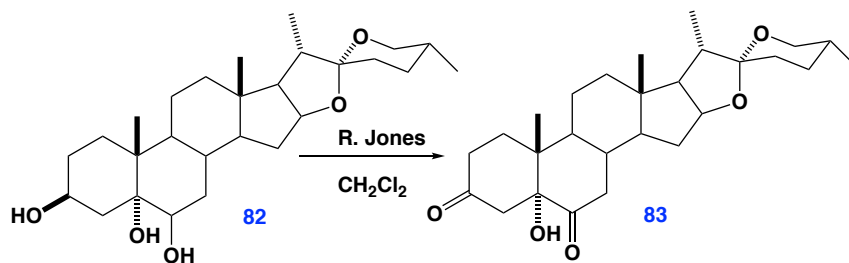
A partir de este diagrama ORTEP, es posible verificar la estereoquímica de los hidroxilos de los C-5 y C-6, donde se observa que el OH en el C-5 se encuentra dispuesto hacia la cara α del esqueleto esteroideal, mientras que el OH unido al C-6 se orienta a la cara β junto con los metilos angulares C-18 y C-19, confirmando la estereoquímica *anti* para este diol *trans* diaxial **82** que se propuso en el mecanismo de apertura del epóxido β . El derivado **82** fue la materia prima para la oxidación con el reactivo de Jones para la obtención de los derivados dicetónicos que se describen y caracterizan a continuación.

4.8.4 Oxidación del triol de diosgenina. Obtención de dicetonas A/B.



Esquema 31. Oxidación del triol de diosgenina **82**.

Una vez obtenido el producto polihidroxilado se pretendía realizar la apertura de la cadena lateral, sin embargo, debido a la poca solubilidad del compuesto fue difícil lograrlo con las condiciones de reacción de apertura de la cadena lateral, por lo que para mejorar la solubilidad del compuesto se decidió realizar una oxidación en de los hidroxilos en 3 y 6 con reactivo de Jones. En el primer ensayo se realizó la oxidación a temperatura ambiente, pero se observó la formación de dos productos: uno con la oxidación de estos dos hidroxilos, y otro con la eliminación del hidroxilo en 5 formando un doble enlace. Se analizaron los resultados, y con la finalidad de optimizar y dirigir la oxidación, se realizó la reacción a baja temperatura (Esquema 28) para orientar a la obtención mayoritariamente del producto **83**.



Esquema 32. Oxidación selectiva del triol de diosgenina **82**.

Una vez obtenido el producto **83**, la caracterización mostró en el espectro de IR una banda característica para OH presente en el C-5 en 3349 cm^{-1} , así mismo bandas en 1712 cm^{-1} para el C=O de las cetonas en C-3 y C-6 del anillo A y B (Figura A130). El espectro de Masas mostró un pico ión molecular 445.2936.

En el espectro de RMN de ^1H a 500 MHz se observa que la señal correspondiente a H-16 se mantiene sin modificaciones, al igual que las señales de los protones diastereotópicos de C-26; sin embargo, la señal del grupo hidroxilo se desplaza a 3.02 ppm debido al cambio magnético generado por la oxidación. En la región de 2.2 ppm a 2.9 ppm se observa un incremento en el número de señales, esto debido a todos los protones α a carbonilo que se formaron en el producto y cuyo ambiente químico provoca su desplazamiento; en 2.89 ppm se observa una señal doble con $J_{4a,4e}=15.8$ Hz correspondiente al protón diastereotópico en H-4a el cual solo se acopla con su protón geminal, y con ayuda del experimento COSY (Figura 100) se logra encontrar el H-4e en 2.30 ppm el cual es un dd con $J_{4e,4a}=15.8$ Hz, $J_{4a,2e}=2.0$ Hz, que presenta el segundo acoplamiento en w debido a la disposición espacial.

Por otro lado, en 2.78 ppm se encuentra una señal triple con $J=12.4$ Hz, aunque es una señal dd, que se observa como un triple, ya que H-7a se acopla con su protón geminal y con el H-8; con esta señal y utilizando el experimento COSY fue posible encontrar a H-7e en 2.30 ppm como una señal múltiple; en 2.1 ppm se encuentran dos señales múltiples que corresponden a los protones en H-2, debemos destacar que después de la oxidación se observa que se ha perdido el efecto que se ha venido observando en el metilo 19 debido a que se a oxidado el hidroxilo en C-6 lo que confirma que se debida a la influencia de este grupo en específico (Figura 99).

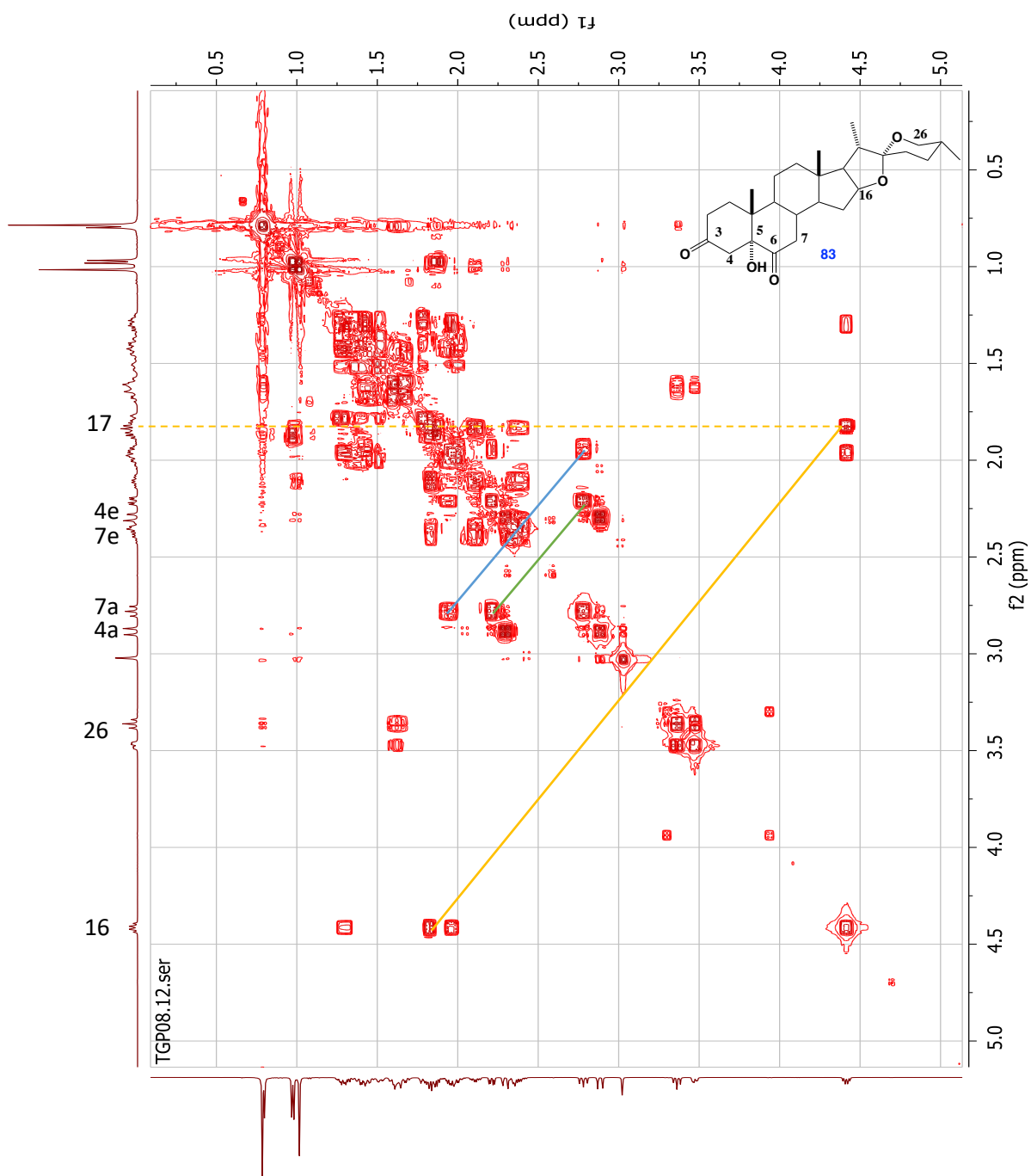


Figura 100. Espectro COSY de la 5-hidroxi-3,6-diona **83**.

Por su parte en el espectro de RMN de ^{13}C (Figura 101) se observa la aparición de dos señales una en 211.3 ppm y otra en 210.8 ppm correspondientes a los carbonos 3 y 6 respectivamente, los cuales fueron identificados inequívocamente con el experimento de

HMBC (Figura A131); en 109.3 ppm se observa que se conserva el espirocetal y se observa la desaparición de dos señales en la región característica de los C-base de oxígeno y una señal en 82.6 ppm se hace más visible correspondiendo al carbono en 5, confirmando en el HSQC que no presenta unión a H, de igual manera fue posible asignar los carbonos correspondientes a los protones α a carbonilo obtenidos en este producto, es evidente y se confirma el carácter diastereotópico de los H en 2, 4 y 7, confirmando la estructura. El OH en la posición 5 se conserva, al ser un alcohol terciario no se oxidó, y las condiciones de reacción y estructurales no propiciaron su eliminación, además que se consiguió mejorar la solubilidad de este producto **83** con respecto a su materia prima.

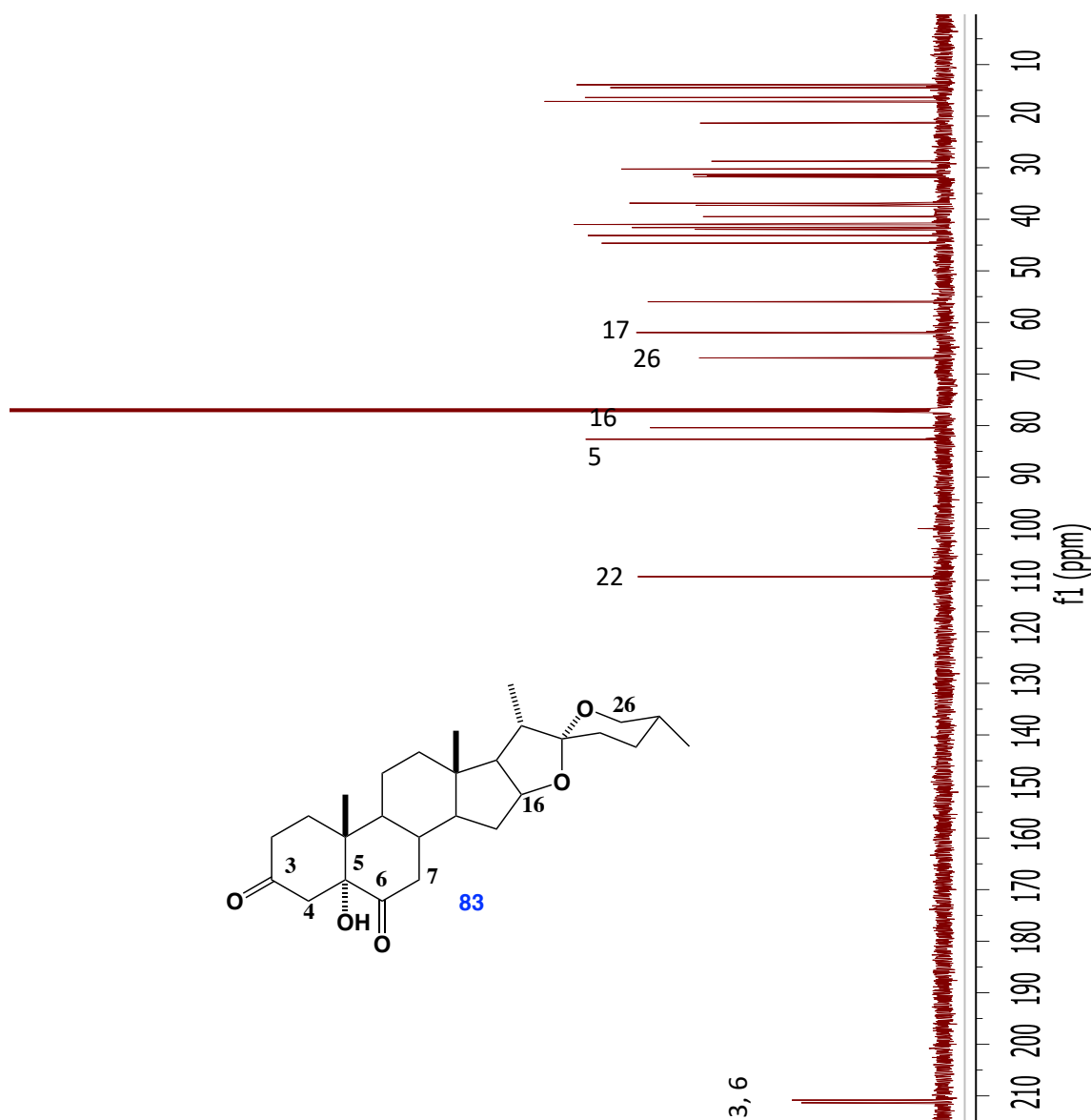


Figura 101. Espectro de ^{13}C a 125 MHz de la 5-hidroxi-3,6-diona **83**.

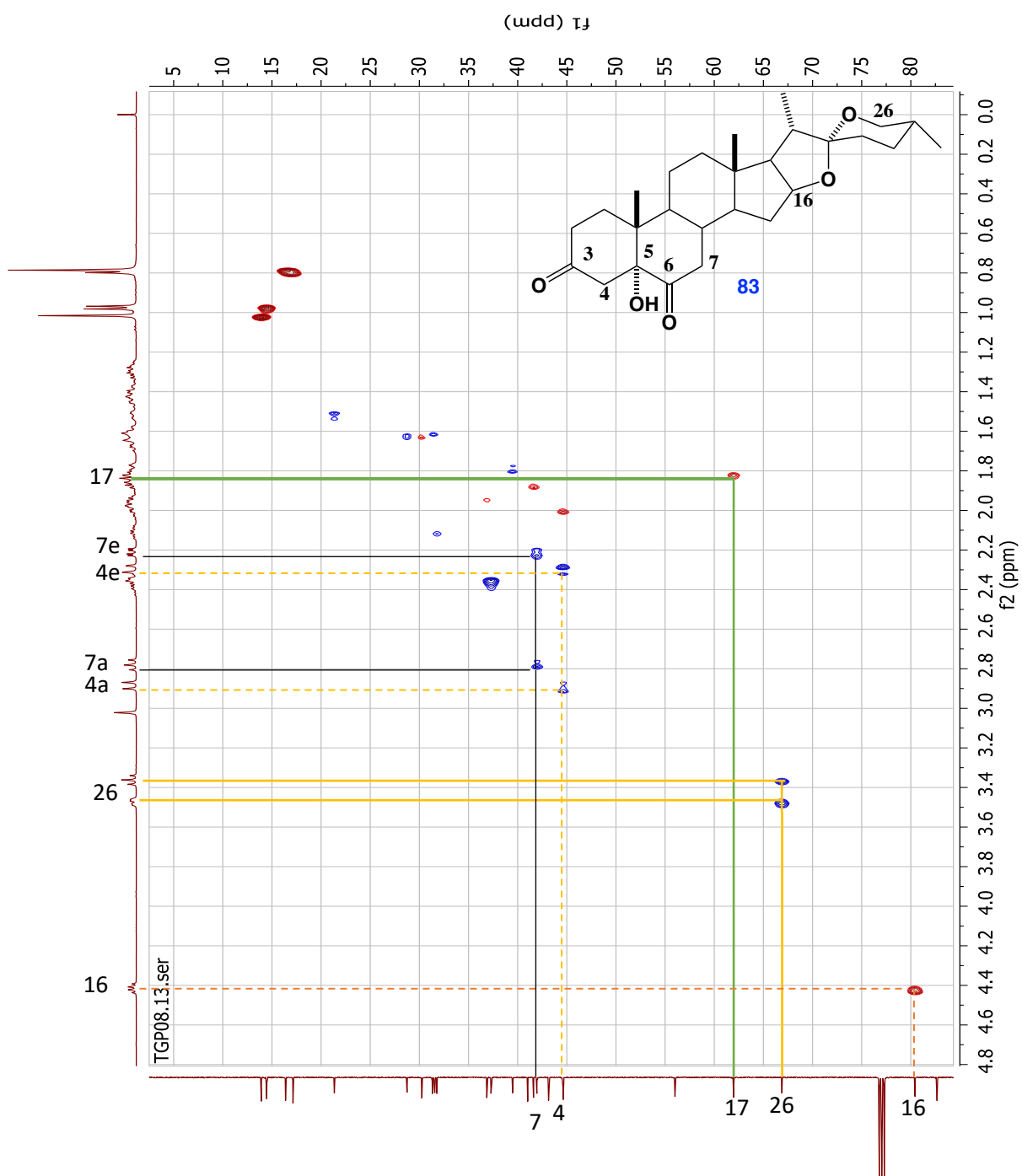
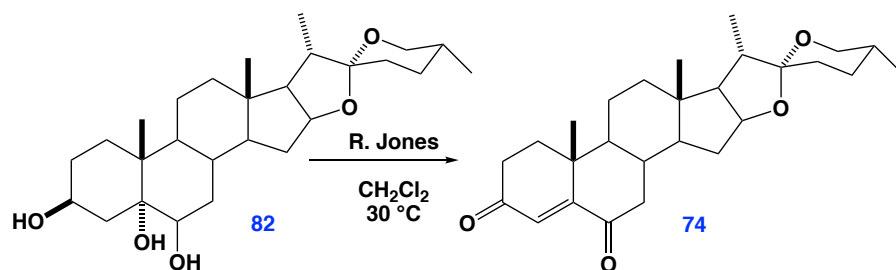
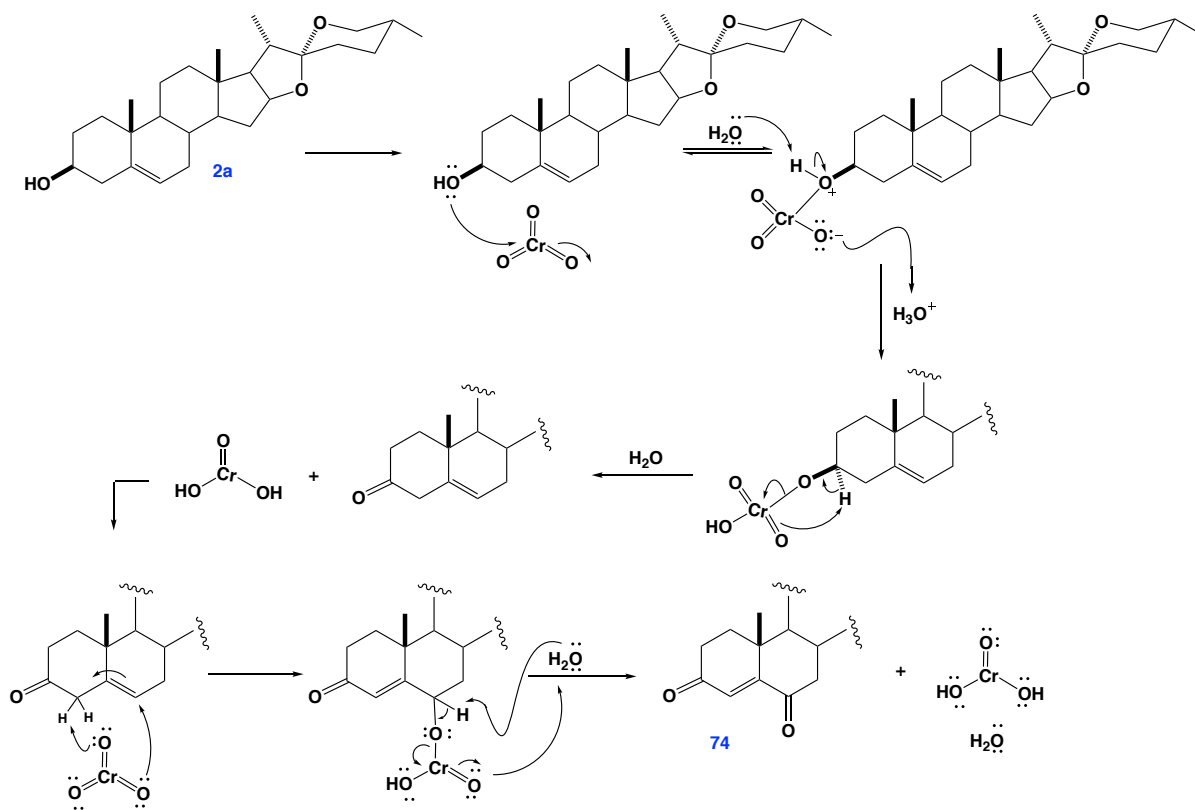


Figura 102. Espectro de RMN HSQC de la 5-hidroxi-3,6-diona **83**.

Por otro lado, en la estrategia para la obtención del producto de eliminación **74** se decidió optimizar la reacción realizándola a temperatura de 30 °C para favorecer la eliminación sin oxidar el doble enlace, y a partir de esta modificación a la metodología, se propuso un mecanismo para la oxidación/eliminación que condujo a la dicetona **74** (Esquema 33 y 34).



Esquema 33. Oxidación-eliminación del triol de diosgenina **82**.



Esquema 34. Mecanismo propuesto de oxidación de la diosgenina (**2a**) para conducir a la 3,6-diona **74**.

Este mecanismo pone en evidencia que para la obtención del producto de eliminación **74**, la diosgenin-5-en-3-ona es precursor, y a partir de ésta se reoxida para conducir a la dicetona **74**, apoyando los resultados experimentales que se han observado en la oxidación directa de diosgenina **2a**, que da como productos la diosgenin-3-ona **73** y diosgenin-3,6-diona **74**, siendo el mayoritario el **74** el mayoritario.

Al analizar el espectro de masas se observa un pico ion molecular en 426.6982, y observa un punto de fusión de 193-194 °C. Las señales notadas al analizar el espectro de RMN de ^1H a 500 MHz de **74** confirman la presencia de los H según su ambiente químico, destacando una nueva señal en 6.18 ppm como una señal simple que corresponde al nuevo H vinílico del C-4, en 4.43 se observa una señal múltiple que corresponde a H-16, en la cual no se observa un cambio significativo con respecto a la materia prima lo que confirma que no se ha afectado el espiroacetal; en 3.48 podemos observar una señal dd con $J_{26e,26a}=10.9$ Hz, $J_{26e,25}=4.6$ Hz que corresponde al H-23 ecuatorial, junto a esta señal en 3.36 se observa una señal dd con $J_{26e,26a}=J_{26e,25}=10.9$ Hz que corresponde al H-26a, donde tanto los valores de las constantes de acoplamiento como el desplazamiento dejan de manifiesto que el espirocetal no ha sufrido efecto alguno. En 2.71 ppm se observa una señal doble con $J_{7a,7e}=12$ Hz característico de la señal del protón 7a con un acoplamiento geminal, mismo que se desplazó debido a la presencia del grupo carbonilo en C-6, mismo efecto que se observó en el caso del compuesto **83**; por otro lado en 1.19 ppm se observa la señal correspondiente al metilo 19 el cual se desplazó ligeramente a frecuencias altas debido a la influencia generada por los grupos carbonilos ingresados al esteroides, mientras que los metilos 18, 21 y 27 se mantienen los desplazamientos como en la materia prima, confirmando la selectividad de la reacción en los anillos A y B.

En el espectro de RMN de ^{13}C (Figura 105) se puede observar a frecuencias altas las señales de los grupos carbonilos de la posición C-6 y C-3 en 201.8 ppm y 199.4 ppm respectivamente; en 160.6 ppm se presenta la señal correspondiente al carbono vinílico en C-5 y en 125.5 ppm la señal de C-4 confirmando la estructura propuesta para los anillos A y B de este producto de eliminación. Por otra parte en 109.3 ppm podemos observar la señal correspondiente al C-22 característico de la fusión de los anillos E-F en el espirocetal.

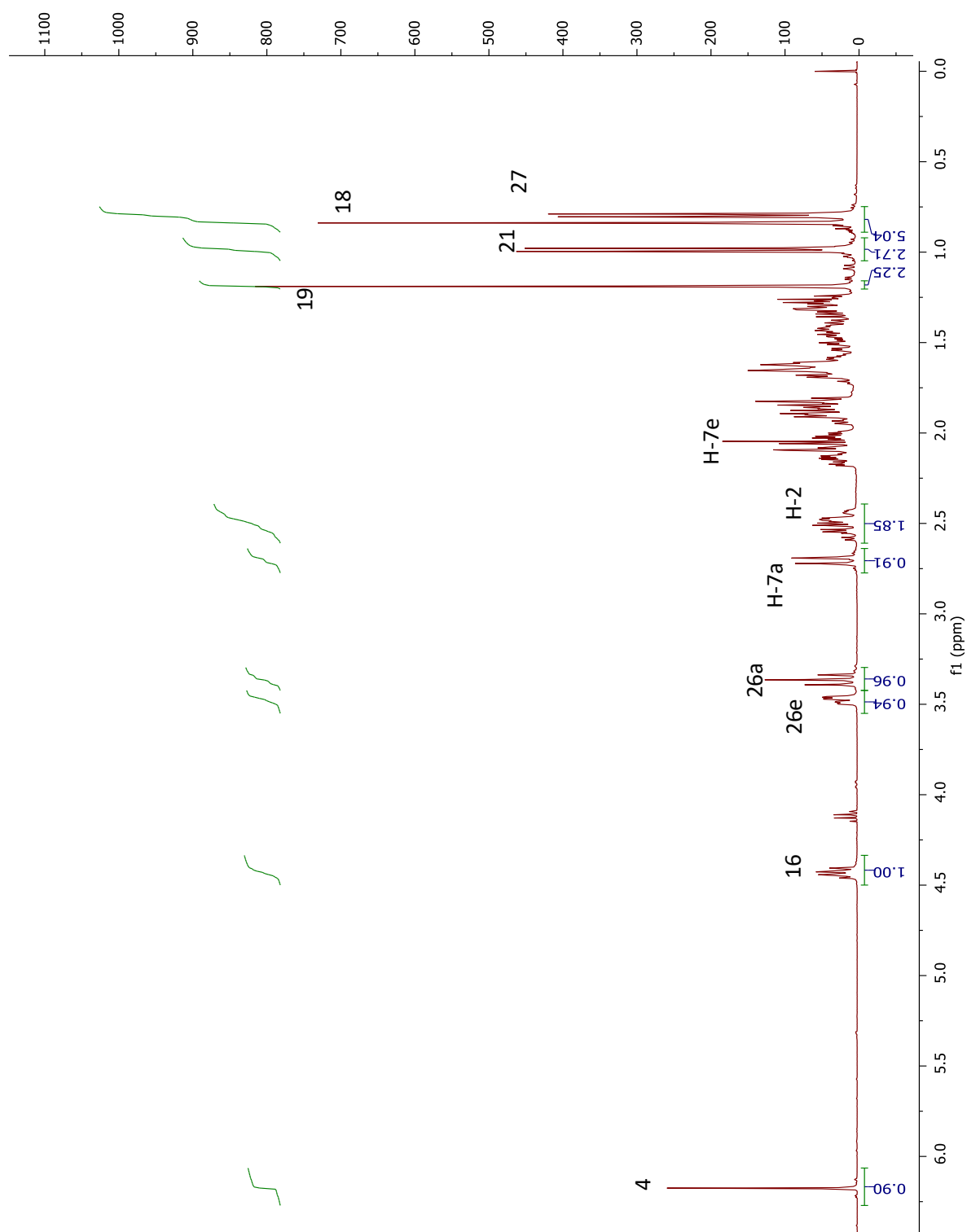


Figura 104. Espectro de ^1H a 500 MHz de la 4-en-3,6-diona **74**.

Para la asignación de C-16 y C-26 fue de utilidad el experimento HSQC, observando una correlación directa entre el protón 16 y su carbono respectivo, en el caso de C-26 se observó cómo ambos protones diasterotópicos H-26 correlacionan con este.

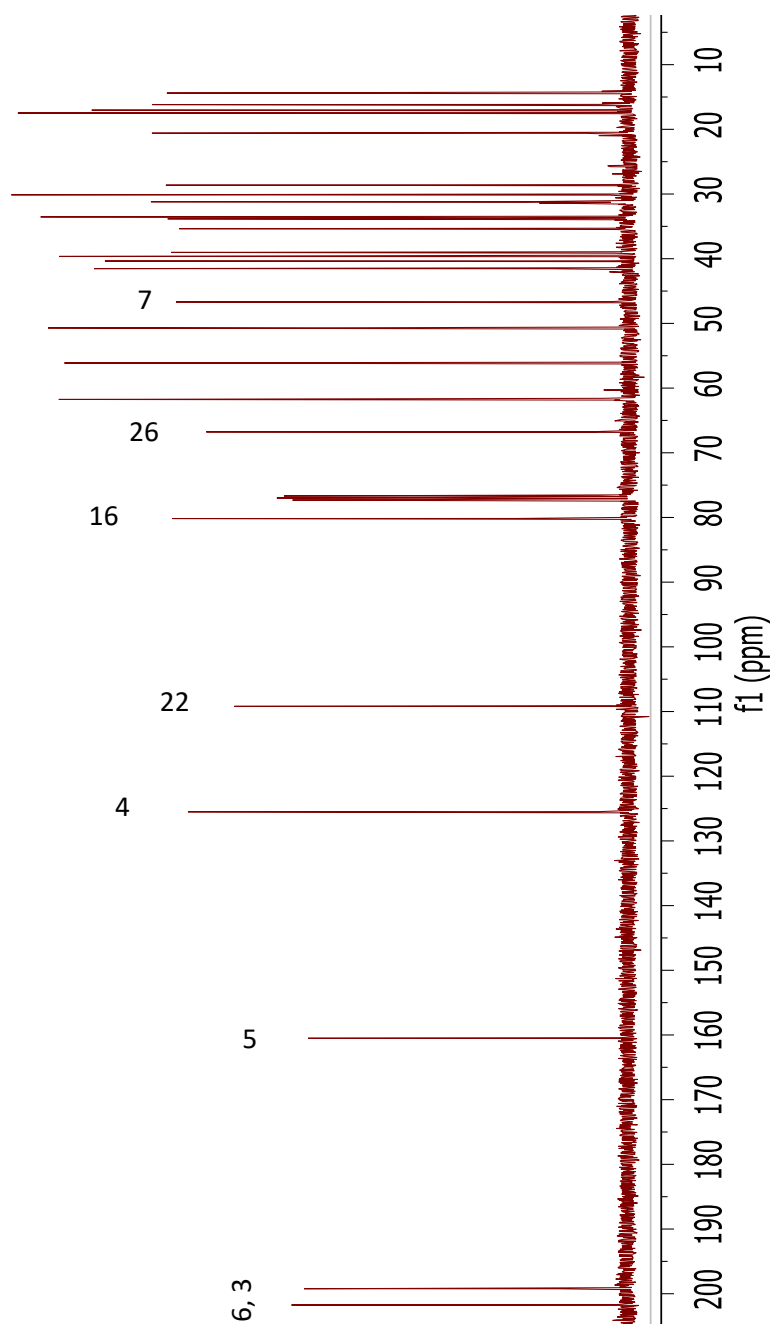


Figura 105. Espectro de ^{13}C a 125 MHz de la 4-en-3,6 diona **74**.

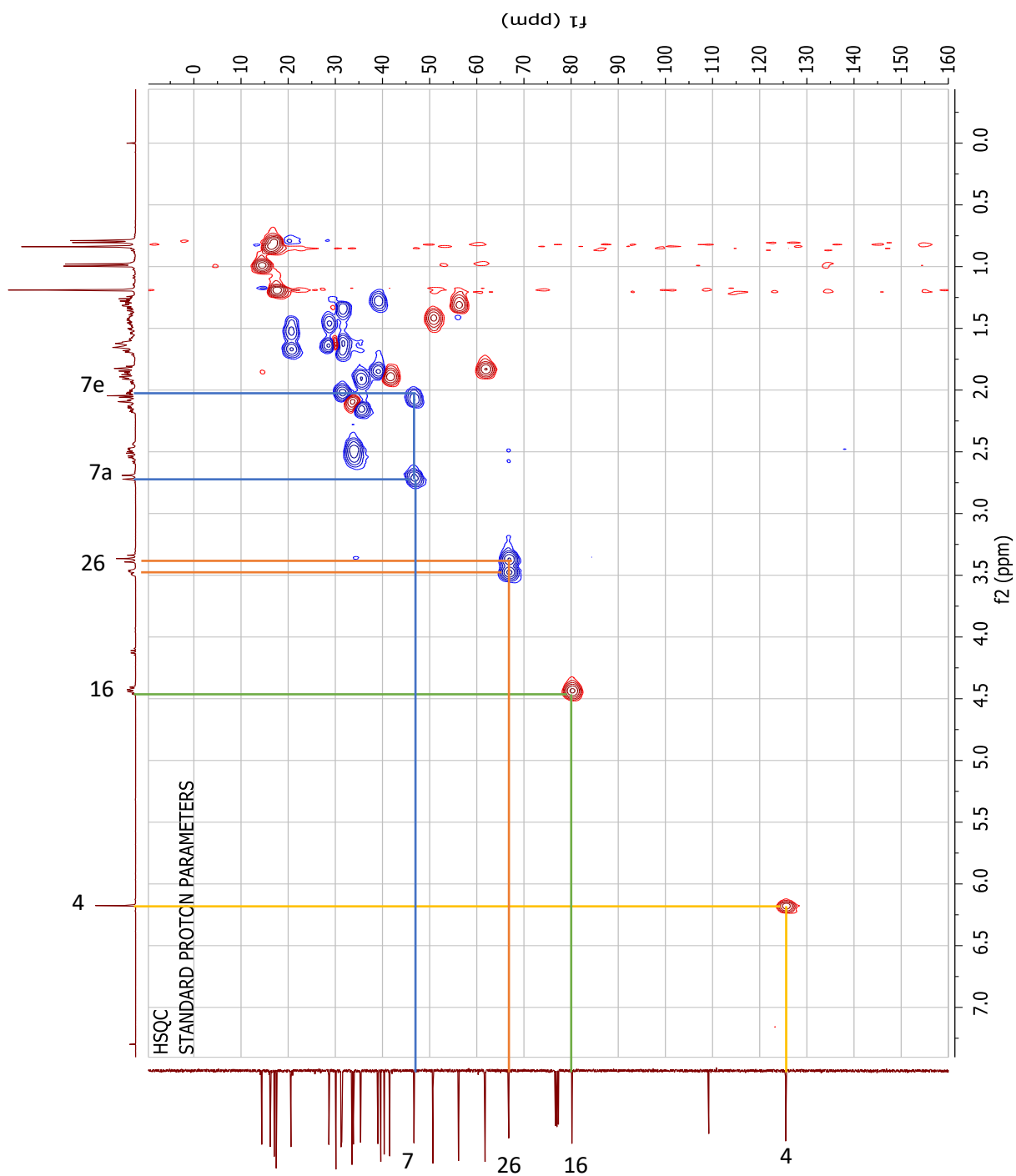


Figura 106. Espectro de RMN HSQC de la 4-en-3,6 diona **74**.

Después de innumerables intentos, se obtuvieron cristales idoneos de la diona **74** que confirman la estructura con la presencia del sistema dicetónico conjugado en los anillos A/B, cuya estructura fue publicada en un artículo de *IUCrData*

(<https://doi.org/10.1107/S2414314620012006>). Este reporte es muy importante, debido a que el reporte anterior de esta estructura es erróneo, y no había reportes más recientes, debido a la dificultad que presenta la obtención de cristales adecuados de este compuesto.

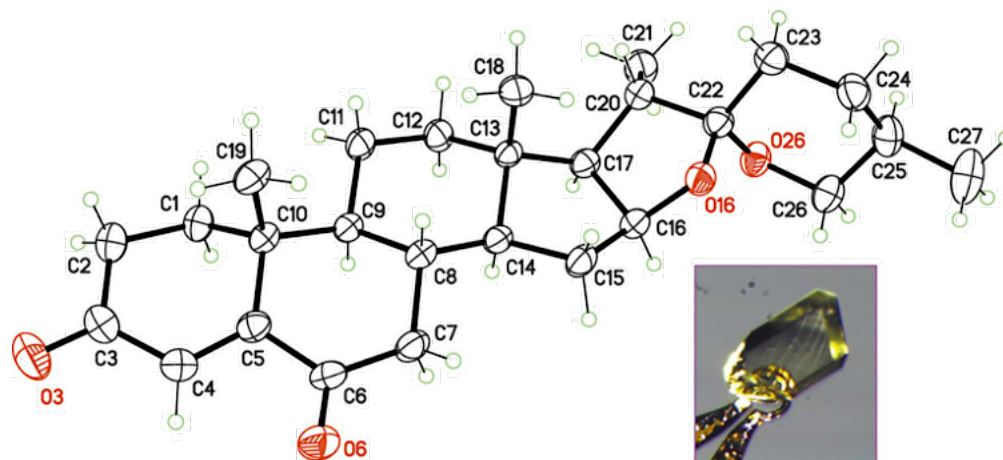


Figura 107. Estructura cristalina la 3,6-diona **74** obtenida por Difracción de Rayos-X.

Se comprobó que la oxidación de Jones no afecta los anillos E/F de diosgenina (formación de ácido crómico *in situ*), y confirmamos que el centro quiral C25 mantuvo su configuración *R* original, mientras que la estructura reportada en el trabajo de Rajnikant y colaboradores tiene configuración 25*S*. Después de innumerables veces que realizamos la oxidación de diosgenina y obteníamos esta molécula -gracias a la minuciosa purificación y condiciones de cristalización adecuadas- obtuvimos cristales prismáticos bien formados y de alta calidad, que nos permitió recolectar datos de difracción con el propósito de mejorar la estructura reportada anteriormente.⁹⁵ Sin embargo, de inmediato quedó claro que lo que habíamos logrado era cristalizar una nueva forma; aunque la simetría del cristal no cambió, se observaron diferencias en los parámetros de las celdas tan grandes como 2 Å. Después del refinamiento de la estructura, se comparó un patrón de difracción de Rayos X de polvos simulado (ver publicación, figura 2) con el obtenido con el modelo de Rajnikant et al. (2000). Los patrones son notoriamente diferentes, como es de esperar para dos formas polimórficas. El polimorfismo parece ser resultado de una ligera modificación de la conformación de los anillos A y B (Figura 108).

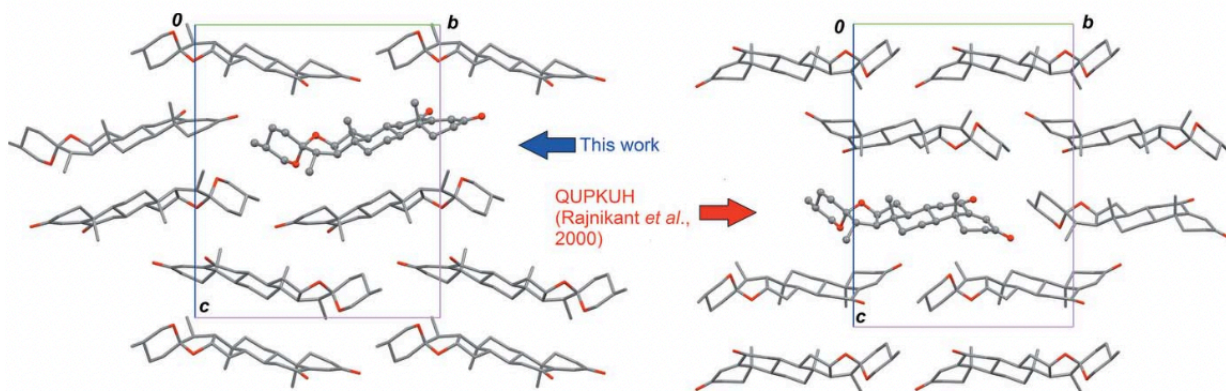


Figura 108. Comparación de la estructura cristalina del nuevo polimorfo (izquierda, diona **74**) con la reportada anteriormente (derecha).

4.8.5 Obtención del Acetato de 7-oxodiosgenina.

Para la obtención del compuesto **76** se llevó a cabo una oxidación alílica con el reactivo de Collins.⁹⁶ Al analizar el mecanismo de reacción y debido a la conformación rígida que presenta el esteroide, conduce a una selectividad para la formación de la cetona. En la literatura está reportado el mecanismo general de oxidación alílica que permite la extracción de un protón desde un C-alílico para dar lugar a un carbocatión, este intermediario posteriormente se oxida en cualquier sitio terminal del carbocatión para generar una cetona α, β insaturada, como se observa en el la Figura 109 del compuesto **76**.

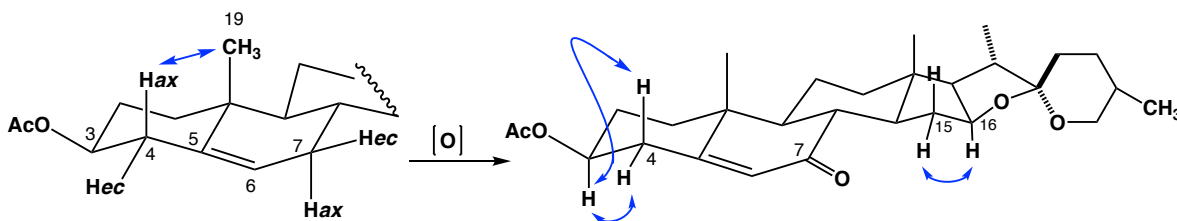


Figura 109. Obtención de la cetona **76** que muestra la distribución espacial de los hidrógenos H-4ax y H-7ax en acetato de diosgenina (**80**) e interacciones RMN-COSY de H-4 y H-15 en la cetona **14**.

En el espectro de ^1H se observó a campos bajos una señal simple ancha en 5.71 ppm que se asignó al protón H-6. Los protones H-3 y H-16 se desplazaron hacia 4.71 y 4.48 ppm mientras que los protones diastereotópicos H-26ec y H-26ax no presentan cambios en

su desplazamiento. Los cambios más significativos con referencia al espectro de la materia prima fueron la presencia de cuatro señales a frecuencias altas.

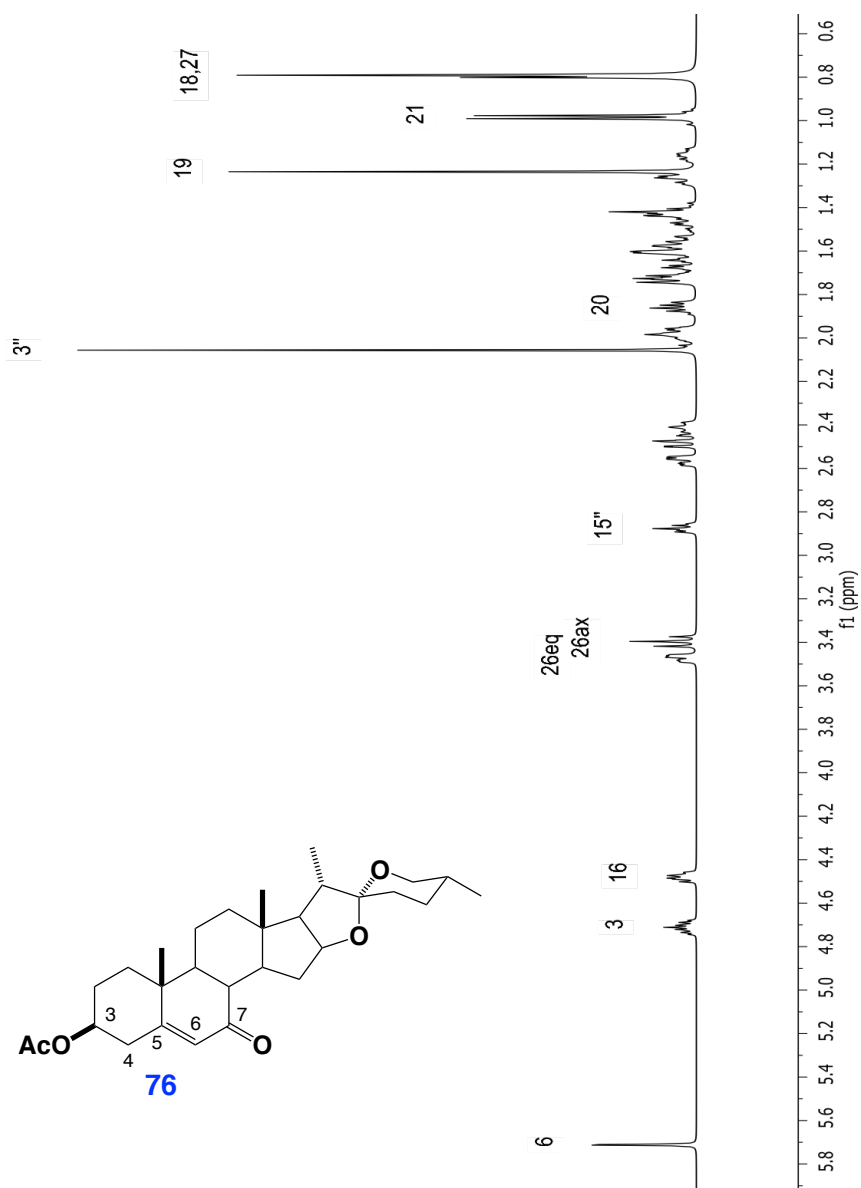


Figura 110. Espectro de RMN de ^1H a 500 MHz del acetato de 7-oxodiosgenina **76**.

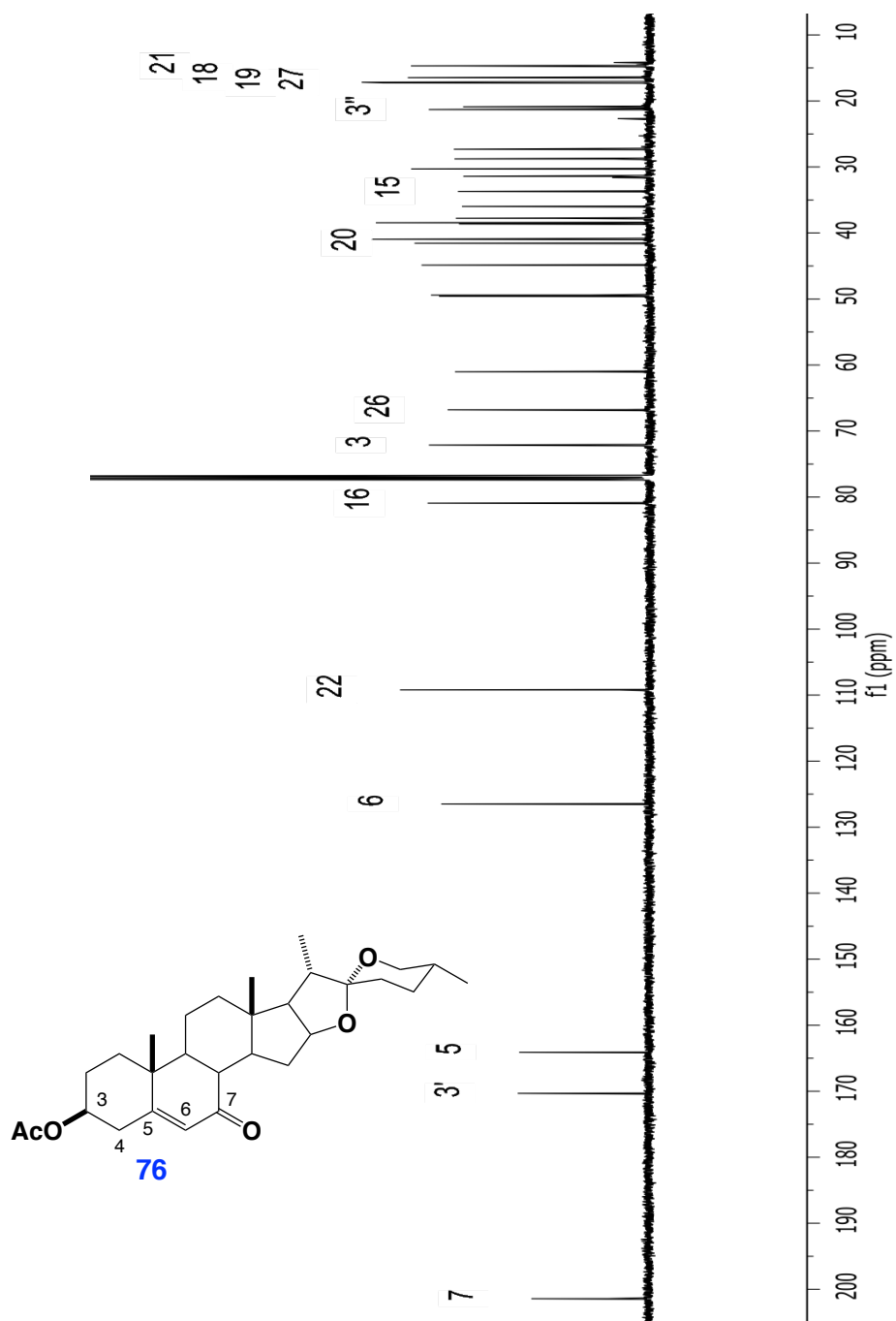


Figura 111. Espectro de RMN de ^{13}C a 125 MHz del acetato de 7-oxodiosgenina **76**.

Una señal múltiple que integra para un protón en 2.88 ppm que se asignó al protón H-15 $_{ec}$; una señal *ddd* que integra par un protón en 2.56 ppm asignada a H-4 $_{ec}$ cuyas constantes de acoplamiento fueron $J_{gem}=14$, $J_{4ec-3ax}=7.2$ y $J_{4ec-2ec}=2$ Hz, una señal *dd* que integra para un protón en 2.49 ppm con $J_{gem}=11.2$ y $J_{4ax-3}=1.6$ Hz asignada al próton H-4 $_{ax}$ y una señal múltiple en 2.41 ppm que se asignó al protón α al grupo carbonilo H-8 (figura

29). Los desplazamientos a frecuencias altas de estos protones se explican debido al apantallamiento que ejerce el grupo carbonilo y del doble enlace. Hacia 2.05 ppm se pudo observar una señal simple que se asignó al metilo del grupo acetato en C-3. A frecuencias bajas se mostraron las señales simples hacia 1.23 y 0.79 ppm que se asignaron a los protones de los metilos 19 y 18 respectivamente. De la misma manera, las dos señales dobles en 0.98 y 0.79 ppm con constantes de acoplamiento de 6.8 y 6.4 Hz se asignaron a los protones de los metilos 21 y 27 respectivamente.

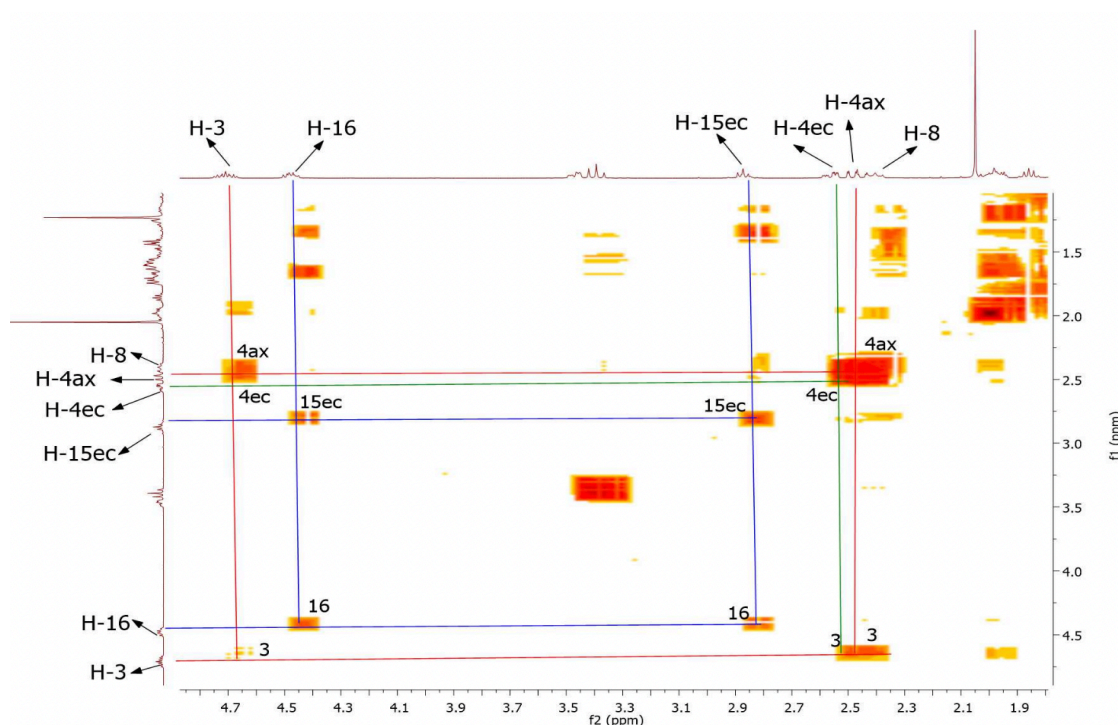


Figura 112. Espectro COSY del (25*R*)-3 β -acetoxi-5-espirosten-7-ona (**76**)

Con ayuda del DEPT se identificaron y asignaron el número de carbonos metílicos, metilénicos, metínicos y cuaternarios pertenecientes a la molécula de **76**. En el experimento COSY se observó el acoplamiento ^1H - ^1H que hay entre el protón H-3 y los protones H-4. De la misma manera, este experimento ayudó a corroborar el acoplamiento que hay entre los protones H-16 y H-15 (Figura 112). Mediante el experimento HSQC se pudieron asignar inequívocamente las señales correspondientes a los protones 4ec, 4ax, 15ec y 8, las cuales fueron corroboradas con ayuda del experimento HMBC a través de las correlaciones que hay entre los protones 4 y los carbonos C-3, C-5 y C-6, 15ec con C-14, C-16, C-17 y el protón 8 con C-7 y C-9 (Figura 113).

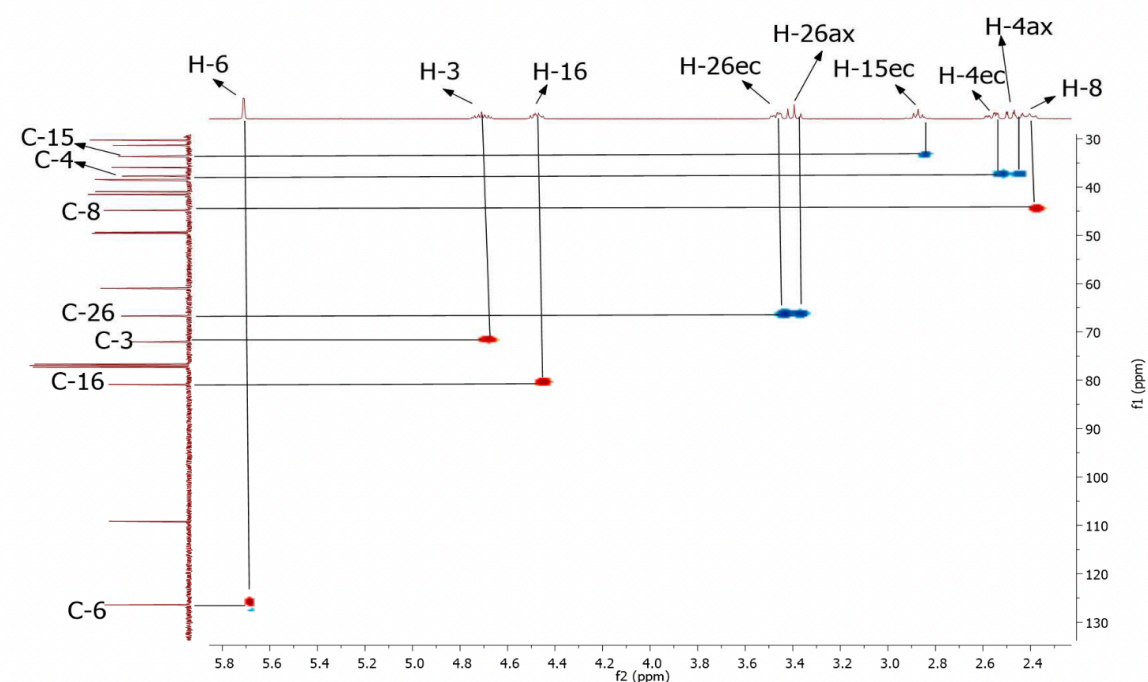
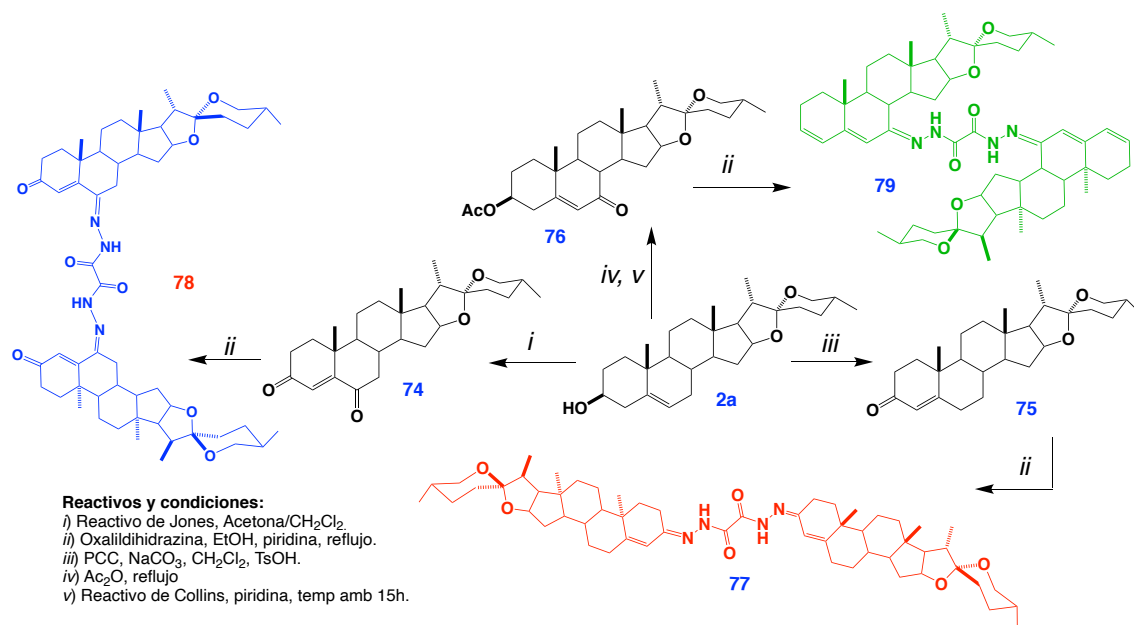


Figura 113. Espectro HSQC del (25*R*)-3β-acetoxi-5-estirosten-7-ona (**76**)

La obtención de estos esteroides cetónicos y dicetónicos α,β -insaturados fue importante en nuestro proyecto de trabajo, ya que precursores y monómeros de otros dímeros esteroidales con un grupo espaciador diferente del tereftalato mediante reacciones de condensación. La intención de cambiar el grupo espaciador fue el explorar otras opciones, que ampliaran la diversidad de estructuras, y poder analizar si también presentaban comportamiento *self-assembly*, lo cual más adelante se discute ampliamente. Por cuestiones de tiempo debido al cierre de nuestro laboratorio por la contingencia sanitaria y un cierre de un mes previo por la toma de las instalaciones de la BUAP, no fue posible presentar y/o preparar los dímeros con un grupo espaciador más (oxalato, etilendiimino, etc.); sin embargo, y debido a la notoriedad e interés en las características de los compuestos hasta ahora obtenidos, nuestro grupo de investigación sigue trabajando actualmente en dar seguimiento a nuestra línea de investigación.

4.9 Formación de biesteroides con oxalildihidrazona como grupo espaciador.



Esquema 35. Obtención de biesteroides con oxalaldihidrazona como grupo espaciador

Como se mostró en los antecedentes, el hecho de introducir nitrógeno a estructuras esteroidales ha mostrado generar y/o potenciar la actividad biológica que presentan, como la actividad anti-proliferativa en diversos tipos de cáncer, por lo que generar alcaloides esteroidales cobró gran interés. Nuestro trabajo se ha desarrollado alrededor de oxidaciones en diferentes posiciones, cuyos productos cetónicos en los compuestos que se han obtenido en este trabajo de tesis en las posiciones C-3 y C-6, permite explorar la obtención de alcaloides diméricos, mediante una reacción de condensación con oxalaldihidrazina.

Se desarrolló una estrategia sintética para conducir a nuevos biesteroides con un grupo espaciador oxalaldihidrazona, utilizando oxalaldihidrazina como grupo espaciador para condensarlos con esteroides cetónicos obtenidos previamente, como se muestra en el Esquema 35. El primer derivado obtenido fue el biesteroide **77** obtenido a partir de diosgenona y oxalaldihidrazina, que se obtuvo en excelente rendimiento, y cuya caracterización se describe a continuación. En el espectro de RMN de ^1H de **77** a frecuencias bajas se aprecian las señales correspondientes a los protones de ambas unidades esteroidales se observa en 5.97 ppm una señal intensa y simple para los protones

vinílicos H-4 y H-4', que debido a la simetría y equivalencia química la señal integra para 2H. La señal que usualmente se distingue en alrededor de 5 ppm para el H-3 y H-3' no se observa, ya que el C-3 es cuaternario. La señal doble de doble de dobles de los H-16 y H-16' se encuentra en 4.39 ppm.

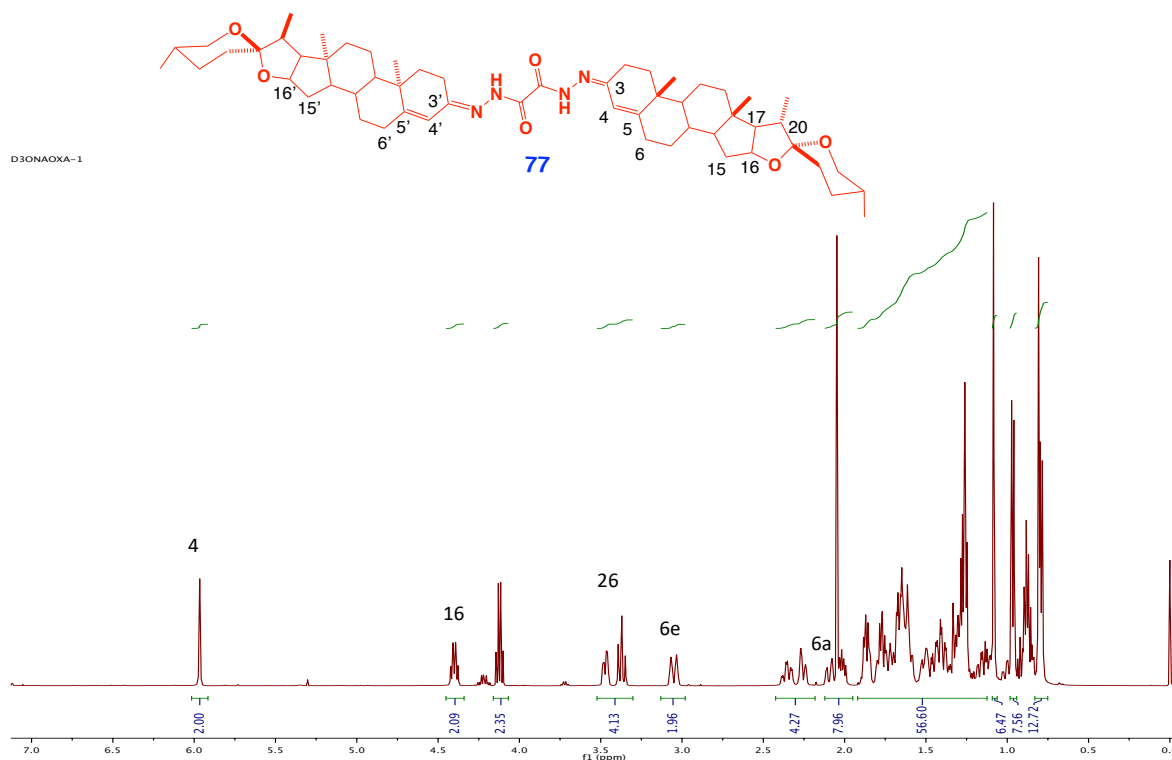


Figura 114. Espectro de RMN-¹H a 500 MHz del biesteroide **77**.

El par de señales de los protones diasterotópicos en el C-26 y C-26' se ubican en 3.37 y 3.45 ppm. Es necesario destacar que aparece una señal doble para el H-6e, que se desplaza a frecuencias altas debido a la cercanía del doble enlace en C4-C5 y la conjugación extendida que proporciona la hidrazona. Las señales correspondientes a los demás protones de la molécula guardan una similitud con la materia prima, ya que no se han visto afectadas por la modificación en el anillo A, como es el caso de los protones que corresponden a los metilos angulares. Estas asignaciones fueron confirmadas a través del experimento HSQC (Figura 116), donde se observó el acoplamiento que existe entre el protón H-6 y el C secundario C-6 en la región de 21.8 ppm, como se observa en la Figura 115. En el espectro de RMN de ¹³C se aprecia un solo juego de señales para 14 debido a la equivalencia química por la simetría de la molécula. Las señales de los cuaternarios

destaca por presentar 2 señales en 161.5 y 158.1 ppm que pertenecen a C-5 y al C base del grupo dihidrazona. La señal del C del carbonilo del grupo oxalilo. El C-4 vinílico aparece en 121.9 ppm, y el C-22 espirocetálico se observa en 109.2 ppm. Los C base de oxígeno se mantienen en 80.7 ppm para el C-16 y en 66.8 ppm para el C-26. Los C base de oxígeno se mantienen en 80.7 ppm para el C-16 y en 66.8 ppm para el C-26.

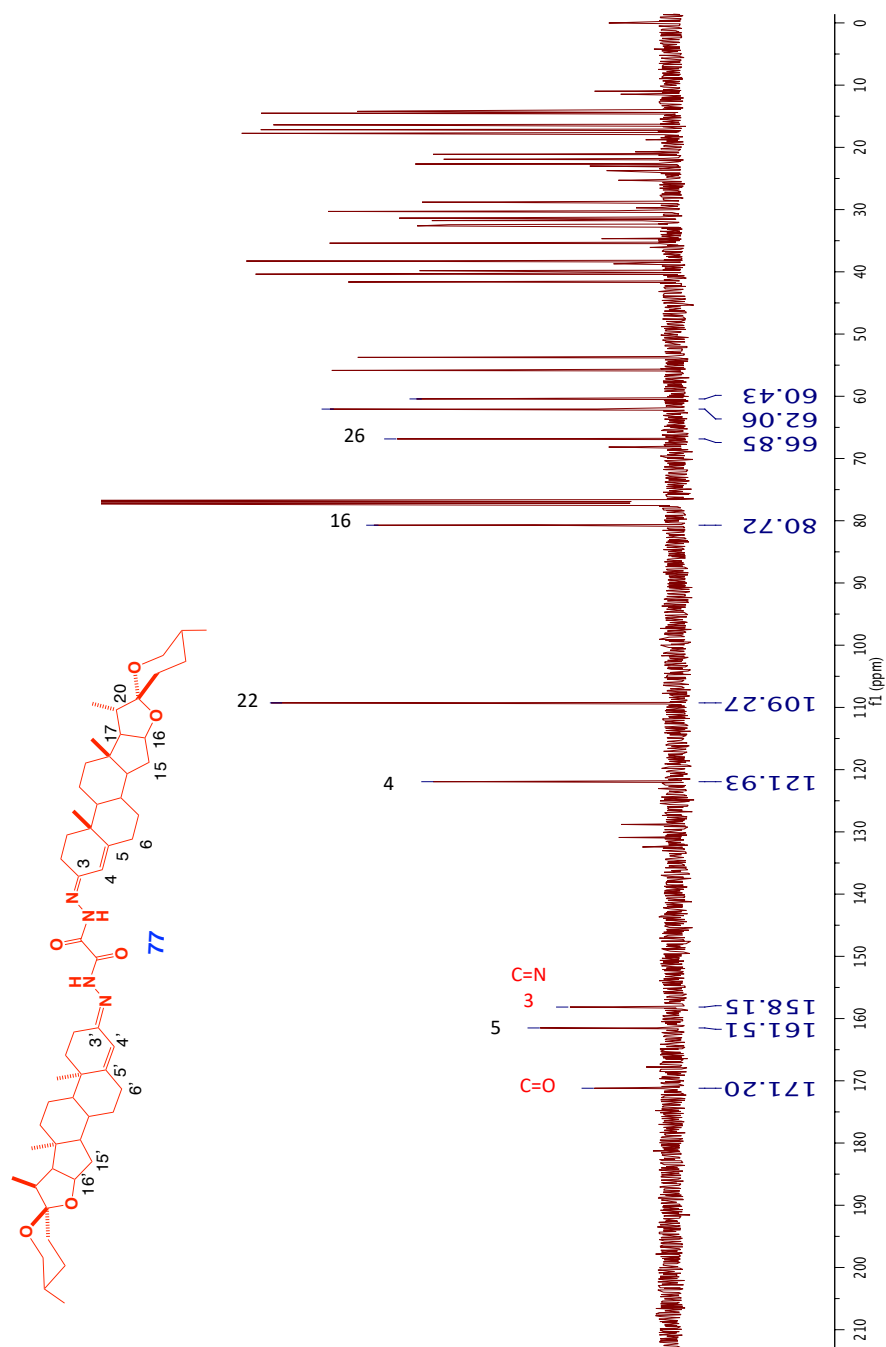


Figura 115. Espectro de RMN- ^{13}C a 125 MHz del biesteroide **77**.

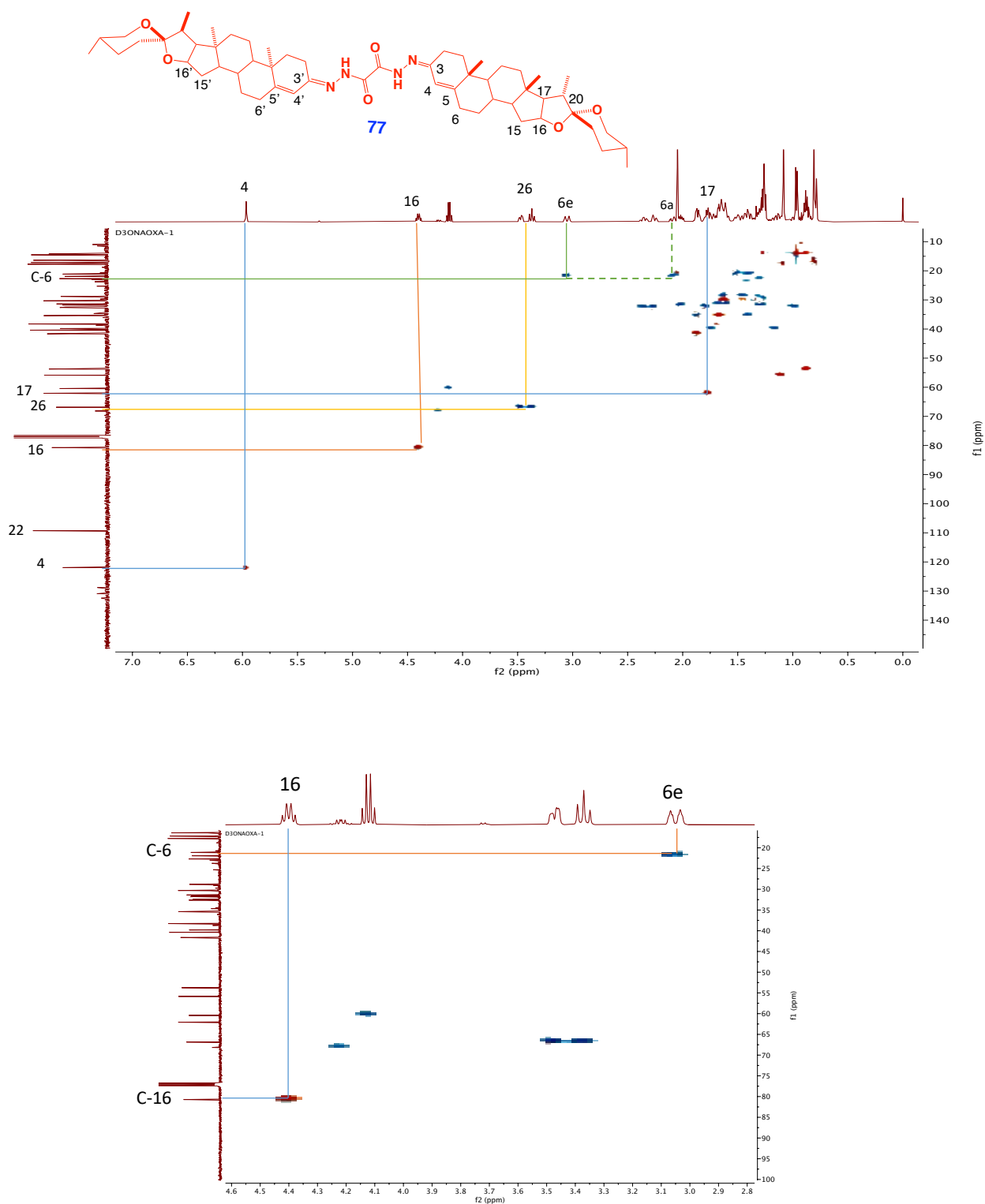


Figura 116. Espectro de RMN-HSQC a 500 MHz del biesteroide **77** con expansión.

En el espectro de RMN-COSY fue posible identificar el H-17 que se distingue en HSQC como un metino base de oxígeno, que correlaciona con el H-16 en el COSY, y el

acoplamiento con el H-15. Destaca de forma relevante el acoplamiento del H6e con H-6a, cercana a la señal del metilo del AcOEt residual. El resto del espectro es similar a la materia prima esteroideal, por lo que las correlaciones son conocidas.

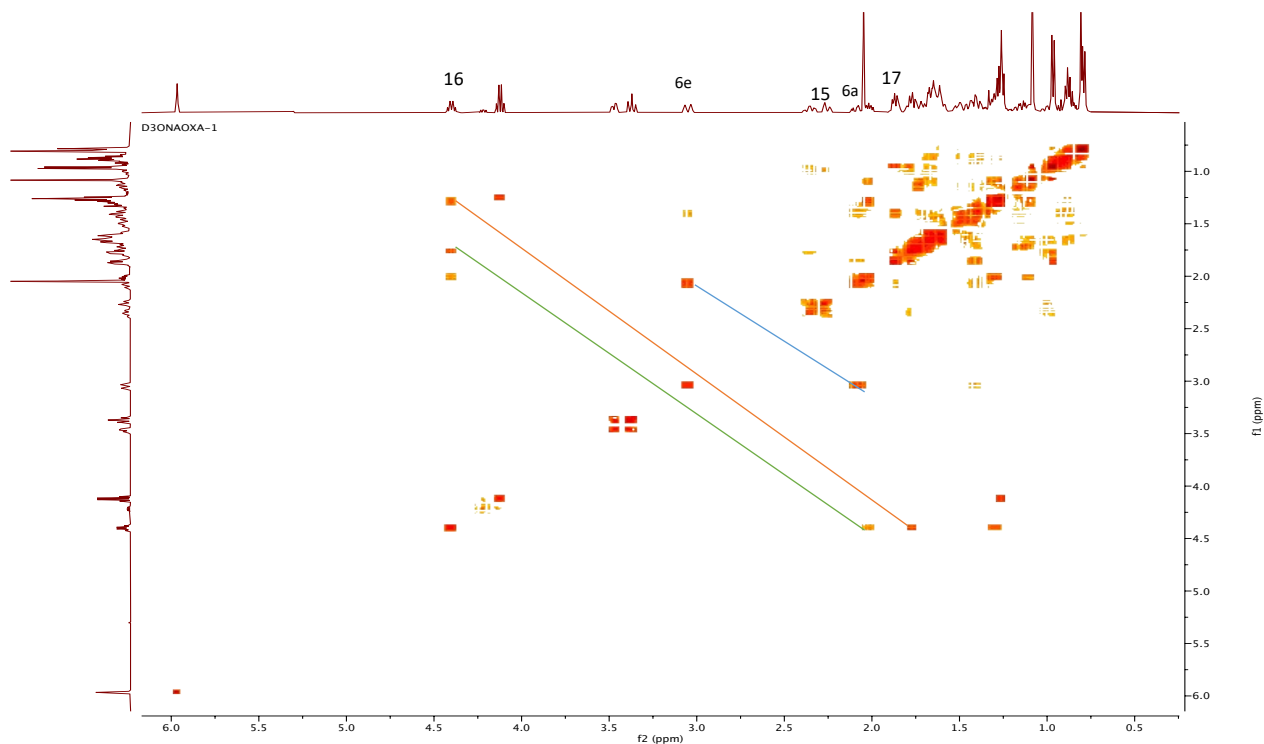


Figura 117. Espectro de RMN-COSY a 500 MHz del biesteroide **77**.



Figura 118. Biesteroide oxalildihidrazona **77** formando hilos en solución (hexano/AcOEt).

Al purificar el crudo de reacción por partición de solventes, notamos que exhibía la formación de largos listones al contacto con el disolvente (Figura 118), tanto con el sistema hexano/AcOEt como solo con AcOEt, y que la formación o autoensamblaje es estable al paso del tiempo. A pesar de haber cambiado de grupo espaciador, los biesteroides presentan el mismo comportamiento que aquellos cuyo grupo espaciador es el tereftalato, confirmando que de este comportamiento, es responsable el esteroide, no el grupo espaciador, aunque si debe contribuir con la geometría molecular y fuerzas intermoleculares que permitan estabilizar el gel. Por cuestiones de tiempo, no fue posible enviar a tiempo la muestra a microscopía para caracterizar el autoensamblaje a ese nivel, el cual está en proceso.

La diosgenin-3,6-diona (**74**) fue la materia prima para hacerla reaccionar con oxalildihidrazina en las mismas condiciones de reacción del compuesto anterior, obteniendo el biesteroide oxalildihidrazona **78**. El crudo de reacción presentó una coloración anaranjada muy intensa, y al monitorear la reacción por CCF fue posible distinguir la formación de 3 productos, de los cuales 1 fue el producto mayoritario, que se muestra en la estructura de la Figura 119. De los 2 productos restantes, por falta de tiempo, aun no se ha logrado obtener la muestra pura para su elucidación completa.



Figura 119. Crudo de reacción y estructura del biesteroide oxalildihidrazona **78**.

Una vez terminada la reacción y después de realizar la separación por partición de disolventes, el producto mayoritario de la reacción fue caracterizado por RMN e IR. A partir de los datos recolectados y analizados, pudimos concluir que el biesteroide obtenido fue aquel cuya unión fue a través del carbonilo C-6, dejando en ambas unidades esteroidales

la cetona en C-3 sin reaccionar (**78**, Figura 119), cuya señal en el espectro de RMN- ^{13}C se aprecia en 199.7 ppm, característico para el C-3 en la diona. Se asume que los otros productos biesteroidales de la reacción son aquellos donde la cetona en C-3 participa en la formación del C=N, ya sea con la misma posición de otra unidad esteroidal o con la de la posición C-6. En el espectro de RMN de ^1H , se observa la señal del protón vinílico H-4 en 5.35 ppm; en 4.41 ppm se observa la señal múltiple del H-16. Los protones diastereotópicos H-26 se muestran en 3.48 y 3.38 ppm; y en 1.8 ppm se encuentra la señal del H-17 que se pudo asignar por su correlación con su carbono base de oxígeno en 66.8 ppm como se observa en el HSQC.

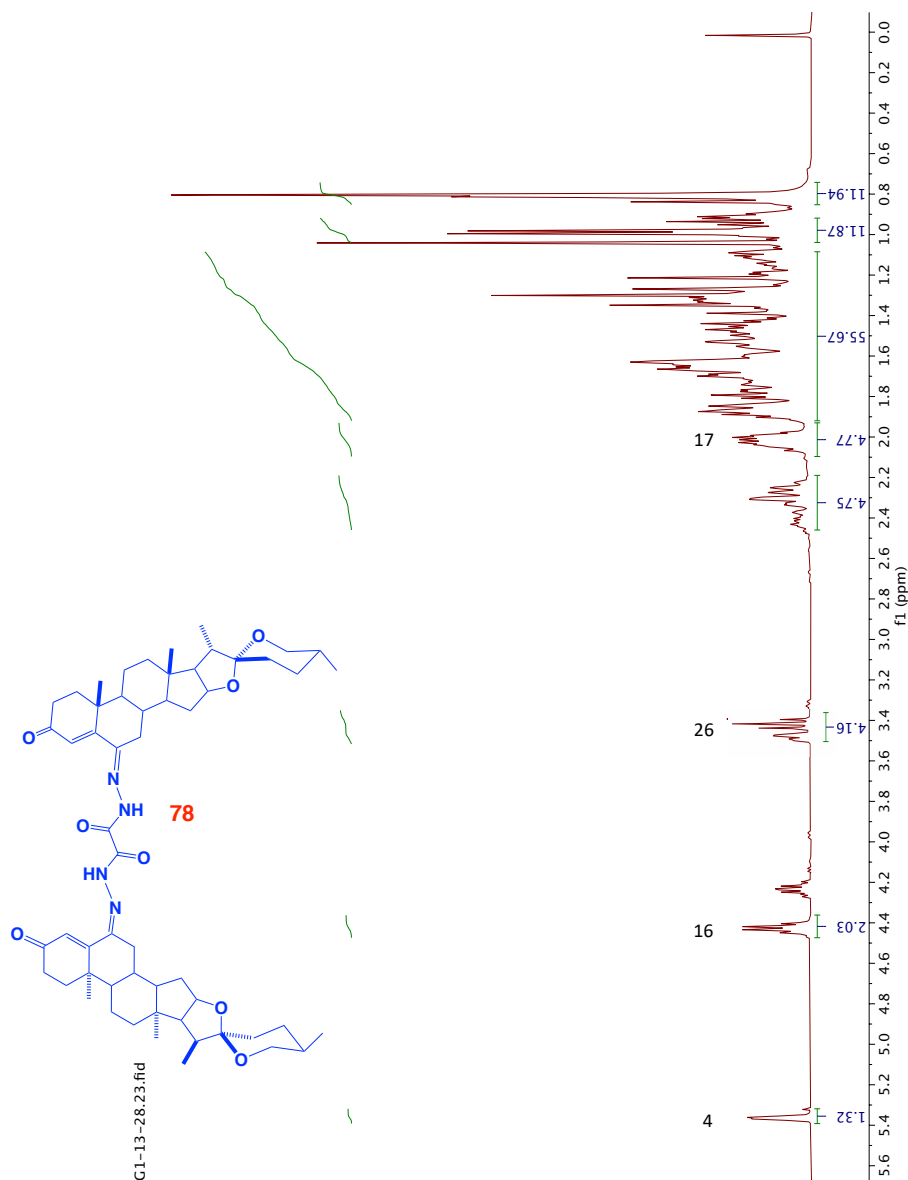


Figura 120. Espectro de RMN- ^1H a 500 MHz del biesteroide **78**.

En el espectro de RMN- ^{13}C se aprecia en 199.7 ppm la señal característica para el C-3-C-3'. En 171.3 y 167.8 ppm se observan las señales de los C=O y C=N respectivamente pertenecientes al grupo espaciador oxalildihidrazona.

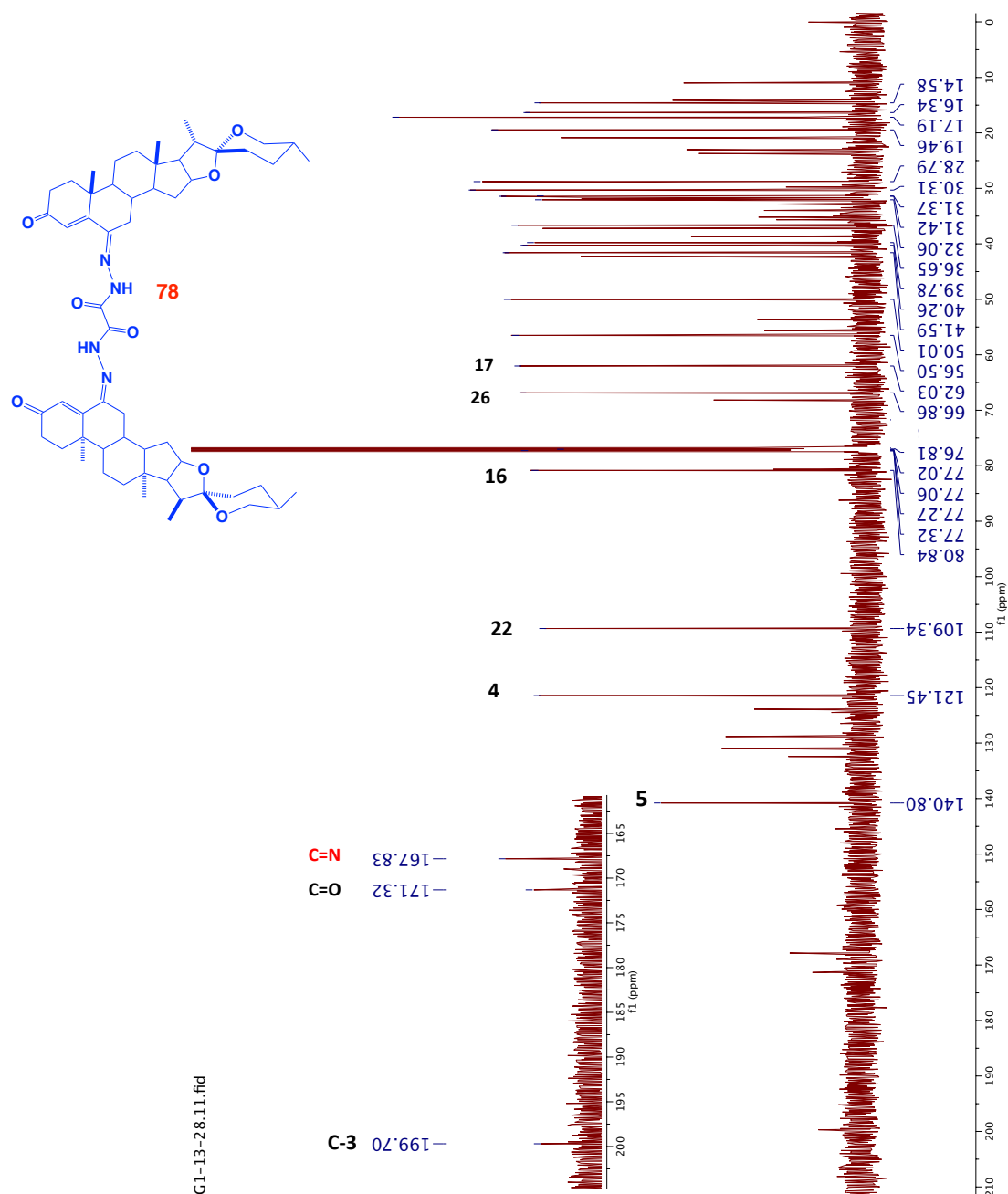


Figura 121 Espectro de RMN- ^{13}C a 125 MHz del biesteroide **78**.

Las señales en 140.8 y 121.4 ppm pertenecen a los carbonos vinílicos C-5 y C-4 respectivamente, y el C-22 aparece en 109.3 ppm. En la región de los carbonos base de oxígeno, el C-16 se observa en 80.8 ppm, seguido del C-26 con un desplazamiento químico de 66.8 ppm. El C-17 que es un metino se aprecia en 62.0 ppm. Las correlaciones heteronucleares de estos carbonos con sus respectivos protones fueron corroboradas por el espectro HSQC (Figura 122), que incluso muestra la correlación del carbono del AcOEt residual con su señal cuádruple en la traza de protón.

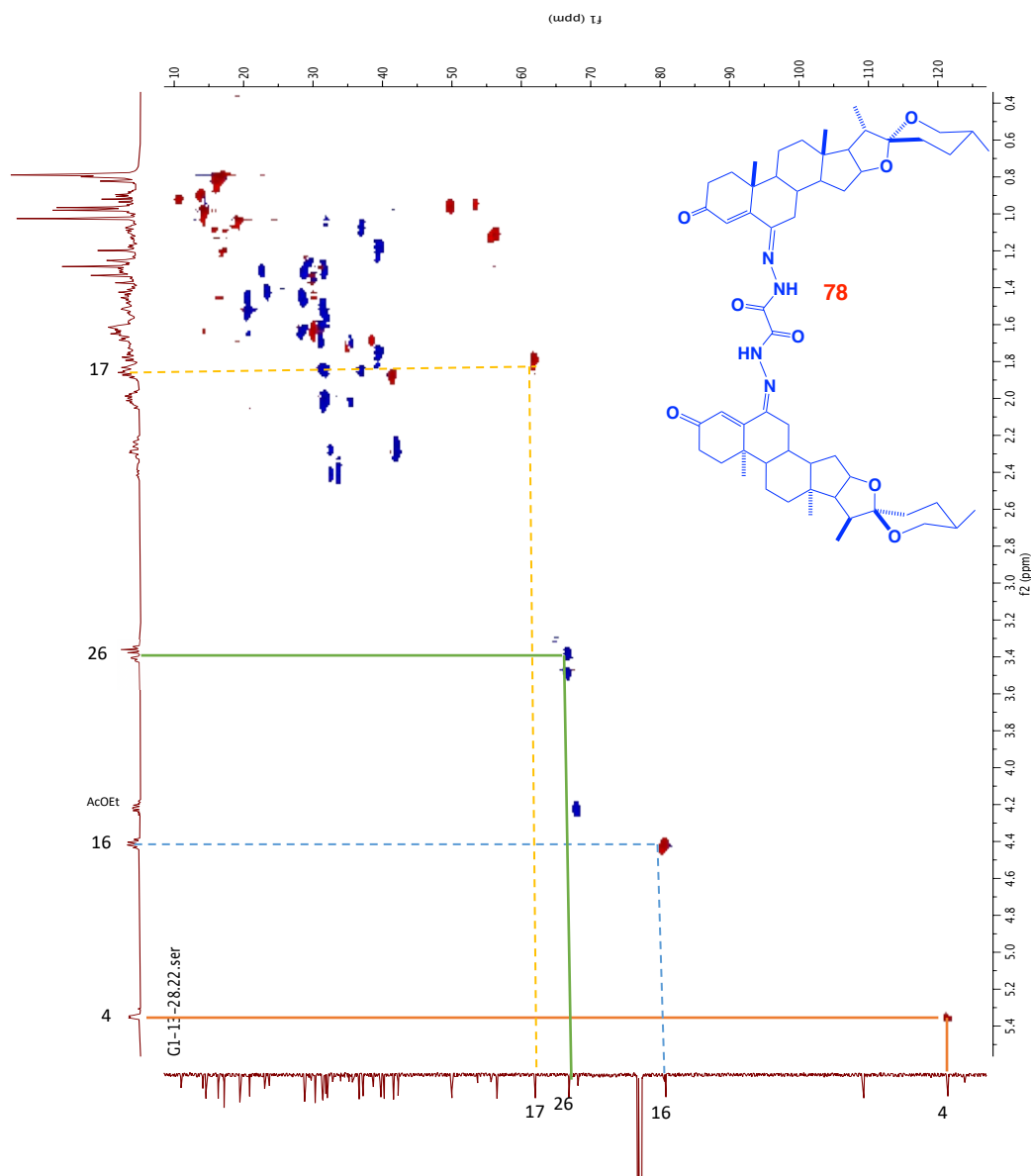


Figura 122. Espectro de RMN-HSQC a 500 MHz del biesteroide **78**.

Por cuestiones de la vigencia del programa de posgrado, las pruebas de comportamiento de autoensamblaje para este compuesto **78** aún no se recolectan y no están terminadas, sin embargo se sigue trabajando en su caracterización completa y se dará seguimiento a los resultados que se obtengan en el corto plazo.

Se realizó la obtención del biesteroide utilizando al acetato de diosgenin-7-ona como unidad esteroideal para unirla al grupo espaciador oxalildihidrazina. El resultado fue la obtención del biesteroide **79** en buen rendimiento, pero las condiciones de reacción facilitaron la eliminación del acetato en C-3, conduciendo a un derivado conjugado en los anillos A/B. El grupo 3-OAc resultó ser muy lábil con el calentamiento, además de que su eliminación se ve favorecida por la conjugación que se genera con la doble ligadura en C-5 (Esquema 35). Con la finalidad de conservar el grupo acetato en C-3 se realizaron distintas reacciones variando la temperatura y tiempos de reacción pero los resultados no fueron favorables hasta ahora.

Aunque no fue posible caracterizar adecuadamente el comportamiento *self-assembly*, la formación de láminas (membranas) se observó después de la purificación por partición de solventes.

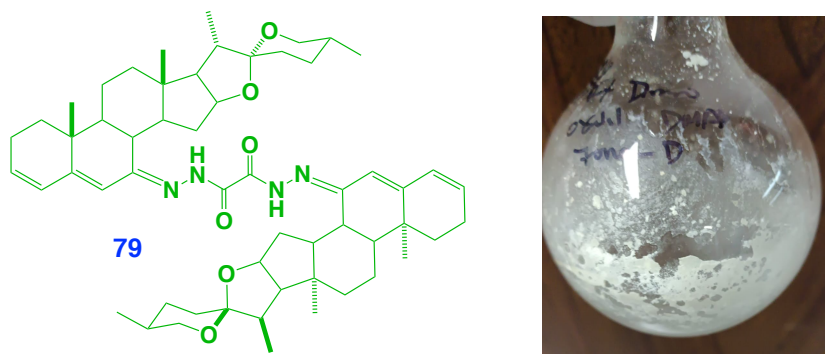


Figura 123. Estructura y crudo de reacción del biesteroide oxalildihidrazona **79**.

Una vez recoletados y revisados los datos espectroscópicos, pudimos corroborar que el biesteroide obtenido sufrió la eliminación del AcO-3, dejando en ambas unidades esteroidales una doble ligadura en los C3-C4, que parece ser el producto energéticamente favorecido al generar una deslocalización electrónica en un dieno exo en ambos anillos, donde en la conjugación alcanza a participar el C=N del grupo espaciador (**79**, Figura 123). Los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C muestran las señales para 2 unidades esteroidales más el grupo oxalildihidrazona. En el espectro de RMN de ^1H , se observan las señales del sistema conjugado de los protones vinílicos H-3 en 6.18 ppm, el H-4 en 6.09 ppm, y en 5.35

ppm el H-6, ; en 4.46 ppm se observa la señal múltiple del H-16. Los protones diastereotópicos H-26 se aprecian con el patrón de acoplamiento característico de la cadena lateral espirocetálica en 3.47 y 3.41 ppm para el H-26e y H-26a respectivamente. Se desplaza a frecuencia alta en 2.90 ppm como una señal múltiple que integra para 1H que se asignó al H-15e. La señal en 2.41 ppm se asignó al H-8, debido a la cercanía de este con el C=N. Las señales de los metilos angulares y las de los Me-21 y Me-27 guarda cierta similitud con la materia prima, la diosgenin-7-ona.

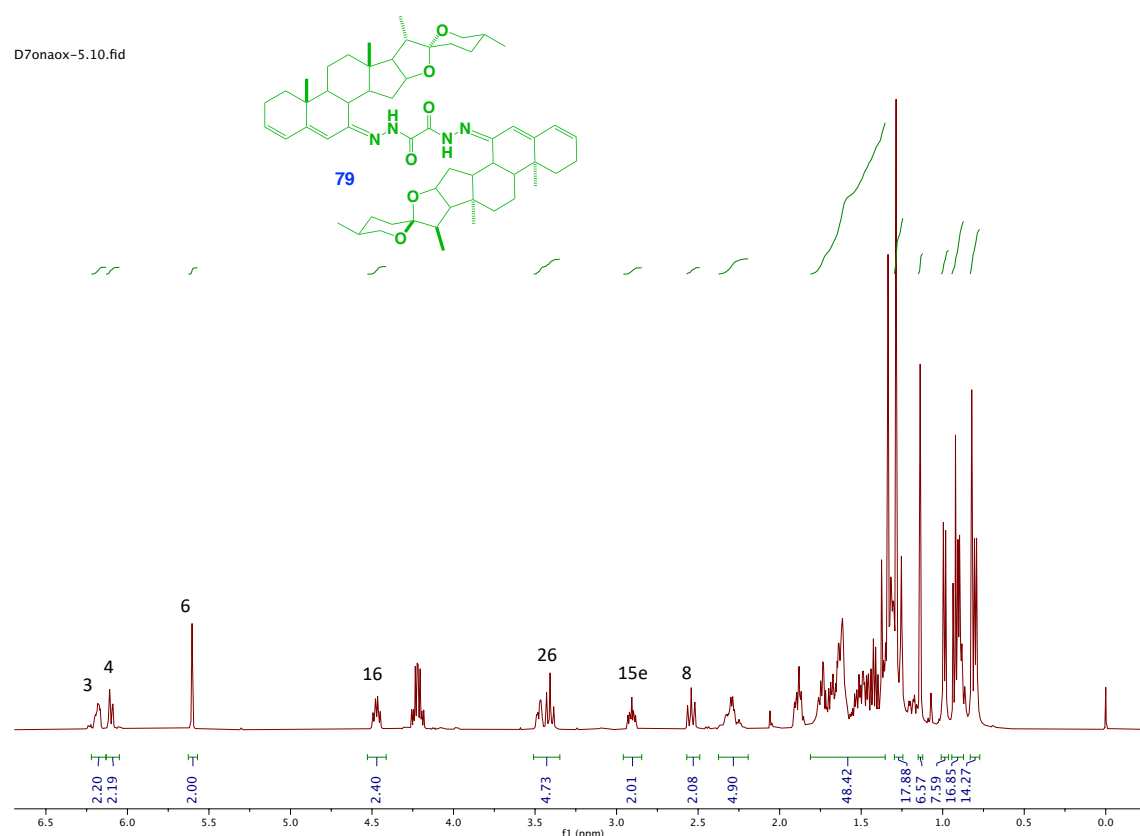


Figura 124. Espectro de RMN- ^1H a 500 MHz del biesteroide **79**.

En el espectro de RMN- ^{13}C se aprecia en la región alrededor de 200 ppm no se aprecian señales de cetona, al ser el C-7 parte del enlace C=N en 161.2 ppm. En 167.8 ppm se observa la señal del C=O del grupo espaciador oxalildihidrazona (Figura 124). Las señales de los carbonos vinílicos C-3, C-4 y C-5 respectivamente se asignaron a las señales presentes entre 124 y 136 ppm; el C-22 aparece en 109.3 ppm de forma similar a la materia prima esteroideal. En la región de los carbonos base de oxígeno, el C-16 se observa en 81.0 ppm, seguido del C-26 con un desplazamiento químico de 68.1 ppm. El C-17 que es un

metino se aprecia en 66.8 ppm. Las correlaciones heteronucleares de estos carbonos con sus respectivos protones son corroboradas con ayuda del espectro HSQC, que nos permite observar la correlación de los carbonos con los protones que se han mostrado en frecuencias altas debido a su ambiente químico (Figura 125).

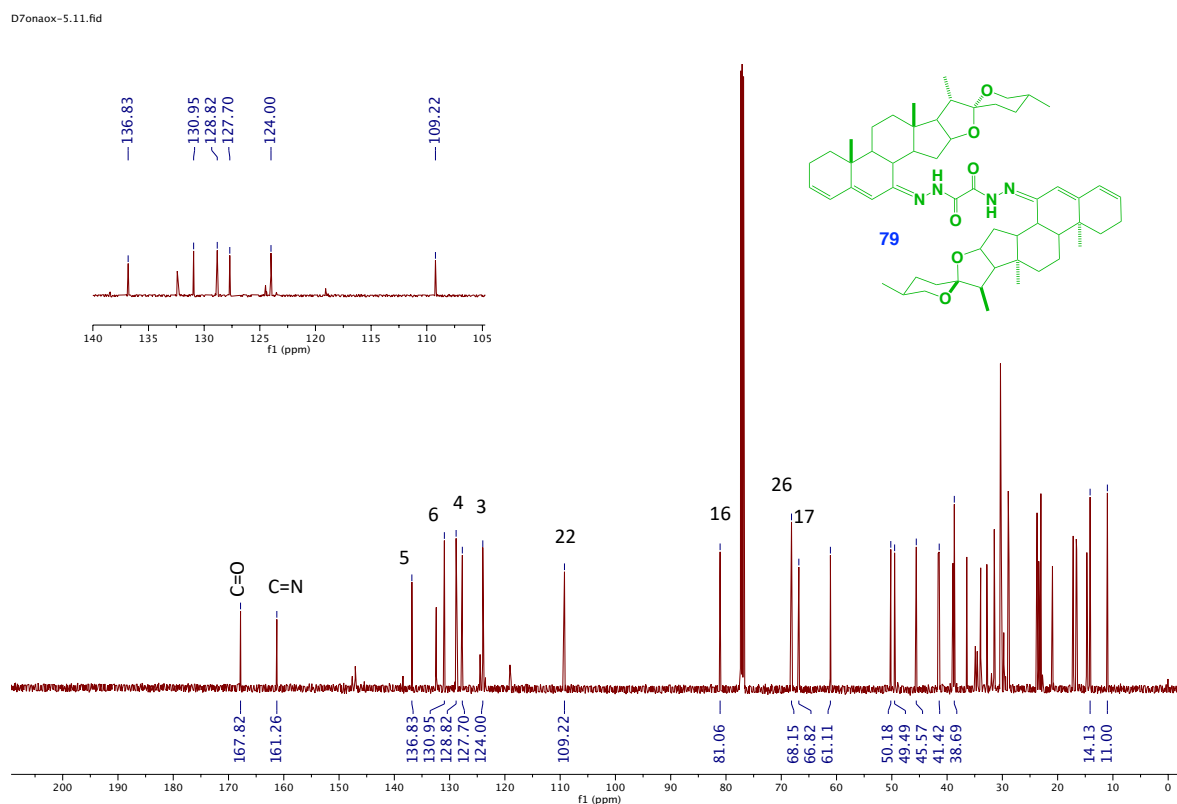


Figura 125. Espectro de RMN- ^{13}C a 125 MHz del biesteroide **79**.

Es importante considerar que este trabajo incluía trabajar con derivados de hecogenina, sin embargo, a la fecha no fue posible aislar una muestra adecuada del dímero proyectado, y el tiempo para concluir el trabajo experimental se agotó. El seguimiento de estos resultados se dará en el corto plazo y complementará lo reportado en este trabajo de tesis. Los compuestos biesteroidales obtenidos aquí descritos han resultado sumamente interesantes, debido a sus patrones en RMN por la simetría de las moléculas, por su comportamiento y capacidad gelificante, y todas estas características que los hacen tan peculiares. Estos resultados nos han motivado a estudiarlos y caracterizar sus propiedades de nuevos materiales; sin embargo, es necesario continuar con su obtención para contar con mayores datos que nos permitan concluir y comprobar nuestras presunciones, y ampliar

el estudio de sus propiedades en solución, en gel y en estado sólido, que parecen tan diferentes en su acomodo e interacción intermolecular según la polaridad del medio.

5 DESARROLLO EXPERIMENTAL

5.1 Equipos y técnicas utilizadas.

Puntos de Fusión

Los puntos de fusión fueron determinados por la técnica de capilar abierto en un equipo Melt Temp, utilizando la escala de grados Celsius y no fueron corregidos.

Resonancia Magnética Nuclear

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear se obtuvieron con un aparato Bruker de 500 MHz para los espectros de ^1H y de 125 MHz para ^{13}C . Como disolvente se utilizó cloroformo deuterado (CDCl_3), Piridina deuterada (Py-d_5) y Metanol deuterado (CD_3OD) conteniendo tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los desplazamientos químicos se expresan en ppm (δ). Las constantes de acoplamiento (J) están expresadas en Hertz (Hz). La multiplicidad de las señales en los diferentes espectros de ^1H se abrevia como s: señal simple, sa: simple ancha, d: señal doble, t: señal triple, dc: doble de cuádruples y m: señal múltiple.

Espectroscopía de Infrarrojo

Se utilizó un espectrofotómetro de Infrarrojo Agilent Cary 630 FTIR. Para el registro del espectro se emplearon las interfaces ATR con punta de diamante y DIAL PATH. La ubicación de cada banda de transmitancia se expresa en números de onda ν (cm^{-1}).

Polarimetría

Las rotaciones ópticas se midieron en un polarímetro Perkin-Elmer 241 empleando soluciones clorofórmicas en una microcelda de 10 cm de longitud y utilizando la línea de emisión D del Na ($= 589 \text{ nm}$) a temperatura ambiente. Las desviaciones levo- y dextrógiras se acompañan con el valor de la concentración empleada.

Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

El análisis morfológico de los ésteres biesteroides autoensamblados se realizó en un microscopio Philips XL30 ESEM. Las muestras SEM se prepararon revistiendo una película de oro sobre las muestras. El metal se aplicó de manera controlada en un dispositivo de recubrimiento por pulverización catódica.

Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

Las fracciones molares se midieron mediante Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC), dispositivo DSC Mettler Toledo Star 1 (Mettler-Toledo GmbH, Analytical, CH-8603 Schwerzenbach, Suiza), y las purezas estimadas fueron superiores a 0,98. Posteriormente, las muestras se colocaron en celdas de aluminio de 40 μ L herméticamente selladas y se calentaron bajo un flujo constante de atmósfera de nitrógeno seco con una velocidad de calentamiento de 10° C/min.

Termogravimetría/TGA

El análisis termogravimétrico se obtuvo en un dispositivo termogravimétrico Perkin Elmer Diamond (PerkinElmer Inc., Waltham, MA, EE. UU.) en atmósfera de argón utilizando un intervalo de temperatura de 25 a 350 °C con una velocidad de calentamiento de 10 °C/min.

Difracción de Rayos X de polvos

Los patrones de difracción de polvo se recolectaron en un difractómetro Bruker D-8 Advance (Bruker, Madison, WI, EE. UU.; Diffrac-Eva 4.3) (radiación Cu-K α , 40 kV, 30 mA), en el rango de 2 θ 5–60°, con un tamaño de paso de 0,02° (0,5 s por paso). Las muestras se montaron en un soporte de silicona.

Difracción de Rayos-X.

Los datos de difracción de Rayos-X monocristalinos de **10a** se recolectaron a temperatura ambiente con un difractómetro Xcalibur (Oxford Diffraction, Yarnton, Reino Unido; CrysAlisPro 1.171) equipado con un detector Atlas y una fuente de rayos X Enhance (radiación CuK α , λ = 1,5418 Å). Para la DRX del triol **112**, la 23-acetilhecogenina hidrato **11b** y de la diona **44**, se midieron usando intensidades de difracción de rayos X medidas en un difractómetro Stoe Stadivari a temperatura ambiente.⁹⁷ Los factores de refinamiento y estructura de cada muestra se han depositado en el CCDC.

Microondas Focalizado

La metodología de síntesis asistida por irradiación de microondas focalizado fue desarrollada en un microondas marca Anton Paar modelo Monowave 300, donde las reacciones fueron llevadas a cabo en un vial cerrado neumáticamente a presión, y monitoreada la presión y la potencia de salida entregada; la temperatura fue monitoreada

por un sensor infrarrojo sin termómetro de ruby. El enfriamiento del vial fue realizado con aire seco comprimido. Se utilizaron viales de 10 y 30 mL de vidrio borosilicato con septa. Se ensayaron diversos solventes polares grado reactivo transparentes a las MW.

Microreactor de Flujo Continuo.

Las reacciones de flujo continuo se llevaron a cabo en un Microreactor de Flujo Continuo modelo Asia de la marca Syrris con N₂ como gas acarreador para atmósfera inerte.

Cromatografía

Para la cromatografía analítica en capa fina (CCF) se utilizaron placas comerciales de gel de sílice grado 60 de 0.2 mm de espesor ALUGRAM Xtra SIL G/UV₂₅₄ de Macherey-Nagel, Alemania y como fase móvil sistemas de elución de acetato de etilo – éter de petróleo. Para su revelado se empleó luz ultravioleta de onda corta (254 nm, lámpara de UV-GL-58) y por calcinación de las placas, previo tratamiento con ácido sulfúrico al 50%.

Para la cromatografía en columna, se empleó gel de sílice de 230-400 mallas MN Kieselgel 60 de Macherey-Nagel, Alemania, de acuerdo a la técnica “flash” utilizando un sistema de eluyente de acetato de etilo – éter de petróleo en diversas proporciones.

5.2 Disolventes y Materias Primas.

A la diosgenina (**2**) comercial utilizada se le realizaron pruebas como: punto de fusión, cromatografía de placa fina, resonancia magnética nuclear sin mostrar ninguna impureza, por lo cual no fue necesaria su purificación. Se utilizaron acetato de hecogenina y acetato de sarsasapogenina comerciales marca Sigma-Aldrich. Los reactivos utilizados fueron de calidad grado analítico y se utilizaron directamente de su empaque. Todos los disolventes se purificaron y secaron de acuerdo con las técnicas descritas en la literatura.⁹⁸

5.3 Procedimientos generales. Preparación y Caracterización Estructural de Ésteres Biesteroides del Ácido Tereftálico.

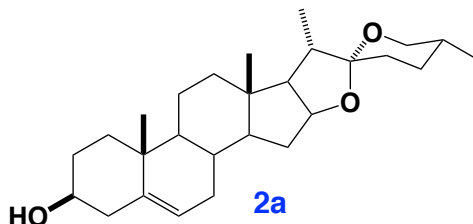
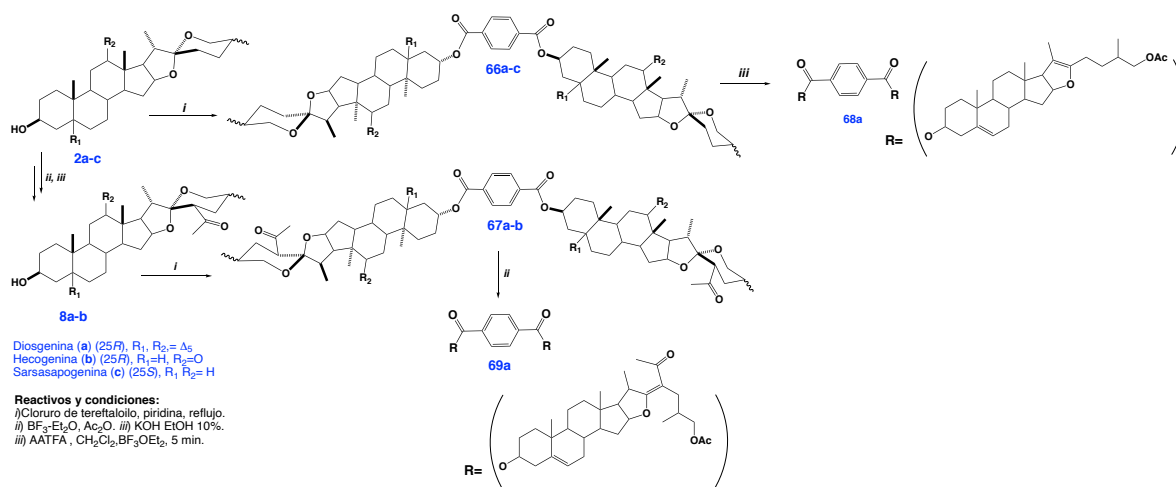


Figura 126. Estructura de diosgenina (**2a**).

La diosgenina (**2**), Figura 93, se utilizó tanto adquirida comercialmente como la extraída por extracción alcohólica de barbasco, y se caracterizó por métodos físicos y espectroscópicos, los datos fueron comparados con los de la literatura. Polvo amorfo, p.f. = 199-202 °C.⁹⁹

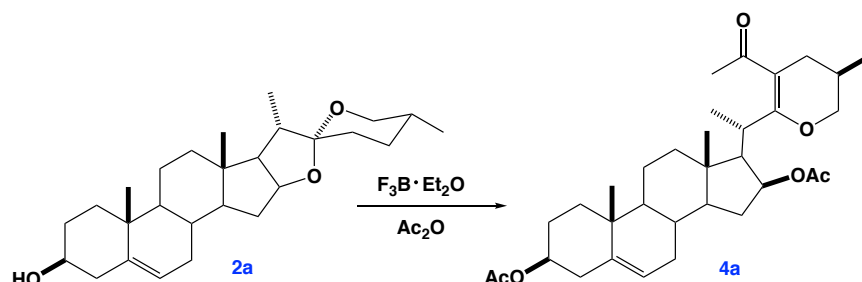
Las sapogeninas hecogenina y sarsasapogenina fueron adquiridas comercialmente, por lo que no fueron caracterizadas por RMN. El esquema general de síntesis involucró la obtención de biesteroides a partir de sapogeninas, a partir de 23-acetilsapogeninas, y la apertura de de la cadena lateral de esos derivados biesteroidales.



Esquema 37. Esquema general de obtención de tereftalatos de biesteroides.

5.4 Modificación de la cadena lateral y obtención de precursores de biesteroides.

5.4.1 Obtención del derivado epoxicolesténico 4a.

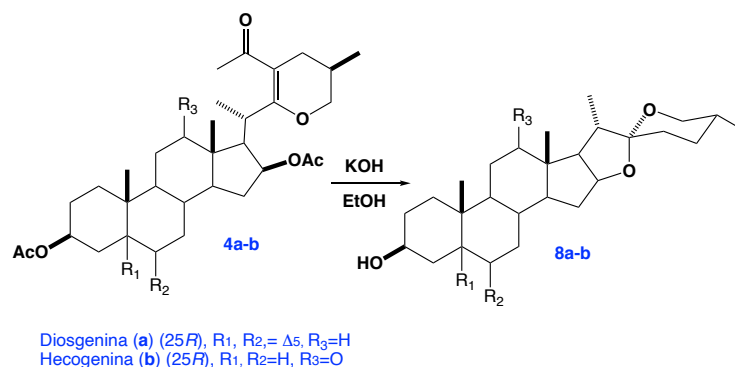


Esquema 39. Acetólisis de Diosgenina (**2a**).

Se disolvió 5.00 g (12 mmol) de sapogenina (**2**) en 25.0 mL de anhídrido acético (265 mmol) y 5 mL de BF₃·OEt₂ (39.46 mmol) la mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente por 10 min. La reacción se dio por terminada cuando ya no se observó materia prima por cromatografía en capa fina (CCF). El crudo de reacción se vertió a un matraz con 100 ml de agua destilada fría en agitación por una hora. La fase orgánica obtenida se neutralizó con NaHCO₃ hasta pH neutro, se realizó de 2 lavados con agua destilada, se extrajo con CH₂Cl₂, se secó con sulfato de sodio (Na₂SO₄) y se concentró. Se obtuvo una laca, para purificar la reacción se usó columna de cromatografía con gel de sílice, se empleó sistema 85:15 (hexano y acetato de etilo). Se obtuvo 4.89 g (75%) del compuesto **4a-c** (ver esquema 36) el cual se caracterizó debidamente y fue comparado con lo reportado en la literatura.¹⁰⁰

5.5 Regeneración del espirocetal sapogenínico en medio básico.

Obtención de la 23(*r*)-acetildiosgenina.



Esquema 40.

En un matraz balón de 250 mL que contenía 5.4 g (9.9 mmol) del derivado epoxicolesténico **4a-b**, se agregaron 100 mL de una solución etanólica de KOH al 20 %; la solución se mantuvo en agitación constante (30 min) y fue seguida por cromatografía en capa fina utilizando como eluyente éter de petróleo/acetato de etilo (7:3). La reacción se dio por terminada cuando por CCF se observó una mancha menos polar que la materia prima. Posteriormente la mezcla de reacción fue neutralizada con HCl y extraída con cloruro de metileno para filtrar al vacío y separar la fase orgánica de las sales formadas. Finalmente, la fase orgánica se lavó con agua destilada, se secó con sulfato de sodio anhidrido y se concentró a sequedad en el rotavapor. Los productos obtenidos se cristalizaron en AcOEt.

5.5.1 Caracterización de la 23(*R*)-acetildiosgenina (8a).

C₂₉H₄₄O₄ P. M. = 456.68 Rendimiento: 93%

Polvo blanco, punto de fusión: 181-183 °C (AcOEt), [α] = -129° (c= 0.2).

IR ($\bar{\nu}$): 3500 (νOH libre), 1685 (νC=O), 1636 (νC=C), 1054 (νC-O).

RMN ¹H

δ: 5.32 (1H, d, *J* = 4.8 Hz, H-6), 4.40 (1H, ddd, *J*_{16,17}=, *J*_{16,15a}= 16 Hz, *J*_{16,15e}= 7.6, H-16), 3.50 (1H, m, H-3), 3.48 (1H, ddd, *J*_{gem}=11 Hz, *J*_{26e-25a}= 4.4 *J*_{26e-24e}= 2.4 Hz, H-26e); 3.41 (1H, dd, *J*_{26e,25}= 4.2 Hz, *J*_{26e,26a}= 11 Hz, H-26a), 2.64 (1H, dd, *J*_{23a,24a}= 12.2 Hz, *J*_{23a,24e}= 4.2 Hz, H-23a), 2.28 (1H, ddd, *J*_{24a24e}= 13 Hz, *J*_{24a23a}= 12.2 Hz, *J*_{24a25e}= 5 Hz, H-24a), 2.20 (3H, s, 23²),

1.00 (3H, s, CH₃-19), 0.98 (3H, d, $J_{21,20}$ = 6.0 Hz, CH₃-21), 0.86 (3H, d, $J_{27,25}$ = 6.0 Hz, CH₃-27), 0.66 (3H, s, CH₃-18).

RMN ¹³C

δ: 14.4 (C-21), 16.4 (C-18), 17.2 (C-27), 19.7 (C-19), 20.8 (C-11), 28.6 (C-23²), 29.7 (C-8), 31.2 (C-9), 31.5 (C-2 y C-15), 32.0 (C-1 y C-12), 36.6 (C-7), 37.1 (C-20), 38.4 (C-4), 39.7 (C-10), 40.5 (C-13), 42.2 (C-24), 49.9 (C-25), 54.9 (C-23), 56.3 (C-14), 61.1 (C-17), 66.0 (C-26), 71.5 (C-3), 81.0 (C-16), 108.1 (C-22), 121.3 (C-6), 140.9 (C-5), 210.2 (C-23¹).

5.5.2 (23*R*)-acetilhecogenina (8b)

C₂₉H₄₄O₅ P. M. = 472.67 Rendimiento: 98%

Polvo blanco, punto de fusión: 242-244 °C (AcOEt), $[\alpha] = -10.6^\circ$ (c = 0.2),

IR ($\bar{\nu}$): 3498 (νOH), 1703 (νC=O cíclica), 1695 (νC=O), 1350 (νC-O), 1060 (νC-O).

RMN de ¹H, δ: 4.32 (1H, m, H-16), 3.57 (1H, m, H-3), 3.49 (1H, dd, $J_{26,25} = 4$ Hz, $J_{gem} = 11$ Hz, H-26a); 3.37 (1H, d, $J_{gem} = 11$ Hz, H-26e), 2.64 (1H, dd, $J_{23a,24e} = 4.2$ Hz, $J_{23a,24a} = 12.00$ Hz, H-23a), 2.54 (1H, dc, $J_{17,20} = 10$ Hz, H-17), 2.37 (1H, ddd, $J_{24e,23a} = 4$ Hz, $J_{gem} = J_{24e,25a} = 13$ Hz, H-24e), 2.20 (1H, dd, $J_{24a,23a} = J_{gem} = 10$ Hz, H-24a), 2.17 (3H, s, 23²), 1.04 (3H, d, $J_{21,20} = 6.0$ Hz, CH₃-21), 0.91 (3H, s, CH₃-19), 0.87 (3H, s, CH₃-18), 0.84 (3H, d, $J_{27,25} = 6.0$ Hz, CH₃-27).

RMN de ¹³C, δ: 12.0 (C-18), 12.9 (C-21), 16.0 (C-19), 17.0 (C-27), 28.3 (C-6), 28.9 (C-23²), 29.7 (C-5), 30.9 (C-7), 31.2 (C-1), 31.6 (C-2), 32.0 (C-4), 34.1 (C-8), 36.1 (C-15), 36.4 (C-10), 37.7 (C-24), 37.8 (C-11), 38.8 (C-9), 44.6 (C-25), 52.3 (C-20), 54.5 (C-23), 55.3 (C-13), 55.4 (C-14), 55.5 (C-17), 66.1 (C-26), 70.8 (C-3), 79.4 (C-16), 107.9 (C-22), 209.6 (C-23¹), 212.8 (C-12).

5.6 Procedimiento general. Preparación y Caracterización Estructural de Ésteres Biesteroidales del Ácido Tereftálico.

En un matraz de fondo redondo de 125 mL, la sapogenina **2a-c** o **8a-b** (3 g, 7,2 mmol) se disolvió en piridina (50 mL); luego se añadió cloruro de tereftaloílo (0,6 g, 10,8 mmol). La mezcla de reacción se agitó magnéticamente a 115 °C durante 3 h. Después de eso, la mezcla se enfrió. La fase orgánica se extrajo con CH₂Cl₂ (25 mL x 3), se lavó con salmuera (2 x 20 mL), seguido de neutralización con una solución de HCl al 5 %. El producto bruto se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a sequedad al vacío. Los biesteroides resultantes se purificaron mediante métodos de reparto de disolventes a partir del crudo. Los biespirostanos **66a-c** y **67a-b** se obtuvieron como sólidos incoloros. Se aplicó el mismo procedimiento para obtener el éster de bicolesterol (**72**) y el éster de bicolestanol (**73**) a partir de **70** o **71**, respectivamente.

5.6.1 Bicolesteril tereftalato (**72**).

Rendimiento (83%); P.f. 258-260 °C (hexano/AcOEt); [α]_D +33° (c= 0.0011). IR cm⁻¹: 2931 (CH₃–, –CH₂–); 1715 (C=O-O tereftalato), 1271, 1080 (C–O–C). EMAR (FAB) m/z para C₆₂H₉₄O₄ Calcd: 903.4574; obs: 903.4568.

¹H RMN δ: 8.08 (s, 4H, H-aromáticos), 5.45 (2H, m, H-6, H-6'), 5.10 (2H, m, H-3, H-3'), 2.29 (4H, m, H-4, H-4'), 1.09 (2H, m, H-17-H-17') 1.00 (6H, s, CH₃-19, CH₃-19'), 0.91 (6H, d, *J*₂₁₋₂₀= 7.2 Hz, CH₃-21, CH₃-21'), 0.86 (12H, s, CH₃-26, CH₃-26'), 0.68 (6H, d, *J*₂₇₋₂₅=6.4 Hz, CH₃-18- CH₃-18').

¹³C RMN δ: 37.2 (C-1, C-1'), 31.4 (C-2, C-2'), 74.8 (C-3, C-3'), 41.4 (C-4, C-4'), 140.8 (C-5, C-5'), 121.4 (C-6, C-6'), 50.0 (C-9, C-9'), 36.6 (C-10, C-10'), 20.8 (C-11, C-11'), 39.7 (C-12, C-12'), 40.2 (C-13, C-13'), 56.5 (C-14, C-14'), 31.8 (C-15, C-15'), 80.8 (C-16, C-16'), 62.0 (C-17, C-17'), 16.3 (C-18, C-18'), 19.4 (C-19, C-19'), 41.6 (C-20, C-20'), 14.5 (C-21, C-21'), 31.3 (C-23, C-23'), 28.7 (C-24, C-24'), 30.3 (C-25, C-25'), 28.5 (C-26, C-26'), 17.1 (C-27, C-27'), 129.5 (CH aromáticos); 134.3 (C-*ipso* 1,4; 1',4') 165.25 (COO-3, COO-3').

5.6.2 Bicolestan-3-il tereftalato (73).

Rendimiento (83%); P.f. 254-256 °C (hexano/AcOEt); $[\alpha]_D +6^\circ$ (c= 0.0014). IR cm^{-1} : 2930 (CH_3 -, $-\text{CH}_2$ -); 1716 ($\text{C}=\text{O}$ -O tereftalato), 1272, 1114 ($\text{C}-\text{O}-\text{C}$). EMAR (FAB) m/z para $\text{C}_{62}\text{H}_{98}\text{O}_4$ Calcd: 907.4620; obs: 907.4658.

^1H RMN δ : 8.08, (4H, s, H-aromáticos), 4.96 (2H, ddt, $J_{3-2a}=16.15$ Hz, $J_{3-4a}=11.35$ Hz, $J_{3-2e}=J_{3-4e}=4.88$ Hz, H-3, H-3'), 0.90 (6H, d, $J_{3-2a}=6.39$ Hz, CH_3 -21, CH_3 -21'), 0.87 (6H, s, CH_3 -18, CH_3 -18'), 0.87 y 0.86 (6H, d, $J_{3-2a}=2.56$, CH_3 -26 y CH_3 -26'), 0.66 (6H, s, CH_3 -19, CH_3 -19').

^{13}C RMN δ : 165.40 (COO -3, COO -3'), 131.3 (*C-ipso* 1,4; 1',4'), 129.4 (CH -aromáticos), 74.9 (C -3, C -3') 56.3 (C -17, C -17'), 56.2 (C -16, C -16'), 54.2 (C -5, C -5'), 44.6 (C -14, C -14'), 42.6 (C -11, C -11'), 39.5 (C -20, C -20'), 32.0 (C -1, C -1') 31.5 (C -15, C -15'), 28.6 (C -4, C -4'), 18.7 (C -21, C -21'), 12.3 (C -18, C -18'), 12.1 (C -19, C -19').

5.6.3 Bidiosgeninil 1,4-tereftalato (66a).

Rendimiento (85%); P.f. 317-320 °C (hexano/AcOEt); $[\alpha]_D -67.71^\circ$ (c= 0.0022). IR cm^{-1} : 2942 (CH_3 -, $-\text{CH}_2$ -); 1713 ($\text{C}=\text{O}$ -O tereftalato), 1274, 1116 ($\text{C}-\text{O}-\text{C}$). EMAR (FAB) m/z para $\text{C}_{62}\text{H}_{86}\text{O}_8$ Calcd: 959.6401; obs: 959.6414.

^1H RMN (600 MHz) δ : 8.08 (s, 4H, H-aromáticos), 5.44 (2H, d, $J=5.2$ Hz, H-6, H-6'), 4.91 (2H, ma, H-3, H-3'), 4.43 (2H, ddd, $J_{16-15a}=J_{16-15e}=J_{16-17}=7.6$ Hz, H-16, H-16'), 3.48 (2H, ddd, $J_{gem}=10.8$, $J_{26e-25a}=4.4$ $J_{26e-24e}=2.4$ Hz, H-26e, H-26e'), 3.38 (2H, dd, $J_{gem}=J_{26a-25a}=10.8$ Hz, H-26a, H-26a'), 2.50 (4H, d, $J_{4a-3}=8$ Hz, H-4, H-4'), 2.0 (2H, d, $J_{17-16}=7.6$ Hz, H-17-H-17') 1.10 (6H, s, CH_3 -19, CH_3 -19'), 0.99 (6H, d, $J_{21-20}=7.2$ Hz, CH_3 -21, CH_3 -21'), 0.80 (6H, s, CH_3 -18, CH_3 -18'), 0.79 (6H, d, $J_{27-25}=6.4$ Hz, CH_3 -27- CH_3 -27').

^{13}C RMN (150 MHz) δ : 37.2 (C -1, C -1'), 31.4 (C -2, C -2'), 75.2 (C -3, C -3'), 41.4 (C -4, C -4'), 140.8 (C -5, C -5'), 121.4 (C -6, C -6'), 32.0 (C -7, C -7'), 31.6 (C -8, C -8'), 50.0 (C -9, C -9'), 36.6 (C -10, C -10'), 20.8 (C -11, C -11'), 39.7 (C -12, C -12'), 40.2 (C -13, C -13'), 56.4 (C -14, C -14'), 31.8 (C -15, C -15'), 81.0 (C -16, C -16'), 62.0 (C -17, C -17'), 16.3 (C -18, C -18'), 19.4 (C -19, C -19'), 41.6 (C -20, C -20'), 14.5 (C -21, C -21'), 109.5 (C -22, C -22'), 31.3 (C -23, C -23'), 28.7

(C- 24, C-24'), 30.3 (C-25, C-25'), 66.9 (C-26, C-26'), 17.1 (C-27,C-27'), 129.7 (CH-aromáticos); 134.4 (C-*ipso* 1,4; 1',4'), 165.4 (COO-3, COO-3').

5.6.4 Bihecogeninil 1,4-tereftalato (66b).

Rendimiento (88%); P.f. 261-262 °C (hexano/AcOEt); $[\alpha]_D -6.62^\circ$ (c= 0.0018). IR cm^{-1} : 2928 (CH_3 -, $-\text{CH}_2$ -); 1702 (C=O-O tereftalato), 1672 (estrechamiento C=O C-), 1279, 1038 (C-O-C). EMAR (FAB) m/z para $\text{C}_{62}\text{H}_{86}\text{O}_{10}$ Calcd: 990.6621; obs: 990.6619.

^1H RMN δ : 8.06 (s, 4H, Ar), 4.95(2H, tt, $J_{3-2a} = J_{3-4a} = 11.0$ Hz, $J_{3-2e} = J_{3-4e} = 4.7$ Hz, H-3, H-3'), 4.34 (2H, ddd, $J_{16-15a} = 8.8$ Hz, $J_{16-15e} = 7.4$ Hz, $J_{16-17} = 6.2$ Hz, H-16, H-16'), 3.50 (2H, m, H-26e, H-26e'), 3.35 (2H, dd, $J_{gem} = J_{26a-25a} = 10.6$ Hz, H-26a, H-26a'), 2.53 (2H, dd, $J_{gem} = 14.2$ Hz, $J_{11a-10} = 13.2$ Hz, H-11a, H-11a'), 2.42 (2H, dd, $J_{gem} = 14.2$ Hz, $J_{11e-10} = 5.0$ Hz, H-11e, H-11e'), 1.08 (6H, d, $J_{21-20} = 7.2$ Hz, CH_3 -21, CH_3 -21'), 1.06 (6H, s, CH_3 -18, CH_3 -18'), 0.98 (6H, s, CH_3 -19, CH_3 -19'), 0.78 (6H, d, $J_{27-25} = 6.4$ Hz, CH_3 -27- CH_3 -27').

^{13}C RMN δ : 37.2 (C-1, C-1'), 31.4 (C-2, C-2'), 74.3 (C-3, C-3'), 41.4 (C-4, C-4'), 31.3 (C-7, C-7'), 30.1 (C-8, C-8'), 50.0 (C-9, C-9'), 36.1 (C-10, C-10'), 20.8 (C-11, C-11'), 213.3 (C-12, C-12'), 40.2 (C-13, C-13'), 39.3 (C-14, C-14'), 31.4 (C-15, C-15'), 79.1 (C-16, C-16'), 66.8 (C-17, C-17'), 16.0 (C-18, C-18'), 17.1 (C-19, C-19'), 41.6 (C-20, C-20'), 13.2 (C-21, C-21'), 109.2 (C-22, C-22'), 31.4 (C-23, C-23'), 28.7 (C-24, C-24'), 30.1 (C-25, C-25'), 66.8 (C-26, C-26'), 11.9 (C-27,C-27'), 130.0 (CH-aromáticos); 134.3 (C-*ipso* 1,4; 1',4'), 165.2 (COO-3,COO-3').

5.6.5 Bisarsasapogeninil tereftalato (66c).

Rendimiento (80%), P.f. 204-206 °C (hexano/AcOEt); $[\alpha]_D -23.33^\circ$ (c= 0.0018). IR cm^{-1} : 2929 (CH_3 -, $-\text{CH}_2$ -); 1718 (C=O-O tereftalato), 1269, 1117 (C-O-C). EMAR (FAB) m/z para $\text{C}_{62}\text{H}_{90}\text{O}_8$ Calcd: 962.6636; obs: 962.6619.

^1H RMN δ : 8.11 (s, 4H, Ar), 5.36 (2H, m, H-3, H-3'), 4.42 (2H, m, H-16, H-16'), 3.95 y 3.31 (4H, d, $J_{26e-25a} = 4.4$ Hz, H-26, H-26'), 1.09 (6H, d, $J_{21-20} = 7.2$ Hz, CH_3 -27, CH_3 -27'), 1.04 (6H, s,

CH₃-19, CH₃-19'), 1.0 (6H, d, J_{21-20} = 7.2 Hz, CH₃-21, CH₃-21'), 0.78 (6H, s, CH₃-18, CH₃-18').

¹³C RMN δ : 37.7 (C-1, C-1'), 31.4 (C-2, C-2'), 71.9 (C-3, C-3'), 40.0 (C-4, C-4'), 38.5 (C-5, C-5'), 28.5 (C-6, C-6'), 32.0 (C-7, C-7'), 31.6 (C-8, C-8'), 42.1 (C-9, C-9'), 36.6 (C-10, C-10'), 20.9 (C-11, C-11'), 40.2 (C-12, C-12'), 40.6 (C-13, C-13'), 56.3 (C-14, C-14'), 31.8 (C-15, C-15'), 80.9 (C-16, C-16'), 62.0 (C-17, C-17'), 16.0 (C-18, C-18'), 24.0 (C-19, C-19'), 41.6 (C-20, C-20'), 14.3 (C-21, C-21'), 109.7 (C-22, C-22'), 30.3 (C-25, C-25'), 65.1 (C-26, C-26'), 16.5 (C-27, C-27'), 129.4 (CH-aromáticos); 134.7 (C-*ipso* 1,4; 1',4') 165.1 (COO-3, COO-3').

5.6.6 Bi-(23*R*)-23-acetildiosgeninil tereftalato (67a).

Rendimiento (85%); P.f. 269-270 °C (hexano/AcOEt), [a]_D -67.93° (c= 0.0014).

IR cm⁻¹: 2949 (CH₃-, -CH₂-); 1715 (C=O-O tereftalato), 1695 (estrechamiento C=O C-), 1269, 1119 (C-O-C). EMAR (FAB) m/z para C₆₆H₉₀O₁₀ Calcd: 1043.6612; obs: 1043.6609.

¹H RMN δ : 8.08 (s, 4H, Ar), 5.42 (2H, d, J = 5.2 Hz, H-6, H-6'), 4.88 (2H, m, H-3, H-3'), 4.44 (2H, ddd, J_{16-15a} = J_{16-15e} = J_{16-17} = 7.6 Hz, H-16, H-16'), 3.50 (2H, ddd, J_{gem} = 10.8, $J_{26e-25a}$ = 4.4 $J_{26e-24e}$ = 2.4 Hz, H-26e, H-26e'), 3.43 (2H, dd, J_{gem} = $J_{26a-25a}$ = 10.8 Hz, H-26a, H-26a'), 2.65 (1H, dd, J = 12.00 Hz, H-23a), 2.46 (1H, ddd, J_{24a24e} = 13 Hz, J_{24a23a} = 13 Hz, J_{24a25e} = 5 Hz, H-24a), 2.21 (6H, m, CH₃CO-23), 1.07 (6H, s, CH₃-19, CH₃-19'), 0.98 (6H, d, J_{21-20} = 7.2 Hz, CH₃-21, CH₃-21'), 0.87 (6H, s, CH₃-18, CH₃-18'), 0.68 (6H, d, J_{27-25} = 6.4 Hz, CH₃-27- CH₃-27').

¹³C RMN δ : 37.2 (C-1, C-1'), 31.4 (C-2, C-2'), 75.2 (C-3, C-3'), 28.7 (C-4, C-4'), 139.6 (C-5, C-5'), 122.5 (C-6, C-6'), 32.0 (C-7, C-7'), 31.6 (C-8, C-8'), 55.1 (C-9, C-9'), 36.8 (C-10, C-10'), 20.8 (C-11, C-11'), 39.7 (C-12, C-12'), 49.9 (C-13, C-13'), 61.25 (C-14, C-14'), 31.8 (C-15, C-15'), 81.1 (C-16, C-16'), 56.4 (C-17, C-17'), 16.2 (C-18, C-18'), 19.4 (C-19, C-19'), 41.6 (C-20, C-20'), 14.2 (C-21, C-21'), 108.1 (C-22, C-22'), 55.1 (C-23, C-23'), 38.5 (C-24, C-24'), 31.3 (C-25, C-25'), 66.2 (C-26, C-26'), 17.0 (C-27, C-27'), 129.5 (CH-aromáticos); 134.4 (C-*ipso* 1,4; 1',4'), 165.3 (COO-3, COO-3'), 210.4 (CH₃CO-23, CH₃CO-23').

5.6.7 Bi-(23*R*)-acetilhecogeninil tereftalato (67b).

Rendimiento 80%; P.f. 240-241 °C (hexano/AcOEt), $[\alpha]_D^{20}$ -2° (c= 0.0013, metanol).

IR cm⁻¹: 2957 (CH₃-, -CH₂-); 1701 (C=O-O tereftalato), 1685 (estrechamiento C=O, C-O), 1280, 1045 (C-O-C). **EMAR** (FAB) m/z para C₆₆H₉₀O₁₂ Calcd:1074.4136; obs:1074.4144.

¹H RMN (Py-*d*₅) δ: 7.56 (s, 4H, Ar), 4.44 (2H, ddd, $J_{16-15a} = 8.8$ Hz, $J_{16-15e} = 7.4$ Hz, $J_{16-17} = 6.2$ Hz, H-16, H-16'), 3.81 (2H, tt, $J_{3-2a} = J_{3-4a} = 11.0$ Hz, $J_{3-2e} = J_{3-4e} = 4.7$ Hz, H-3, H-3'), 3.54 (2H, m, H-26e, H-26e'), 3.44 (2H, dd, $J_{gem} = J_{26a-25a} = 10.6$ Hz, H-26a, H-26a'), 2.78 (2H, m, H-23, H-23'), 2.72 (2H, dd, $J_{gem} = 14.2$ Hz, $J_{11e-10} = 5.0$ Hz, H-11e, H-11e'), 2.33 (6H, m, CH₃CO-23), 1.37 (6H, d, $J_{21-20} = 7.2$ Hz, CH₃-21, CH₃-21'), 0.90 (6H, s, CH₃-18, CH₃-18'), 0.82 (6H, s, CH₃-19, CH₃-19'), 0.71 (6H, d, $J_{27-25} = 6.4$ Hz, CH₃-27, CH₃-27').

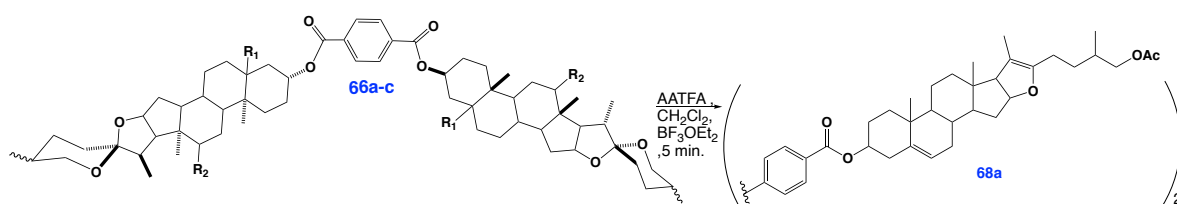
¹³C RMN (Py-*d*₅) δ: 30.9 (C-1, C-1'), 33.1 (C-2, C-2'), 70.0 (C-3, C-3'), 38.8 (C-4, C-4'), 33.5 (C-5, C-5'), 31.3 (C-6, C-6'), 32.0 (C-7, C-7'), 31.6 (C-8, C-8'), 33.9 (C-9, C-9'), 37.2 (C-10, C-10'), 28.7 (C-11, C-11'), 212.3 (C-12, C-12'), 40.2 (C-13, C-13'), 55.5 (C-14, C-14'), 31.8 (C-15, C-15'), 79.7 (C-16, C-16'), 55.3 (C-17, C-17'), 12.7 (C-18, C-18'), 16.9 (C-19, C-19'), 54.7 (C-20, C-20'), 14.3 (C-21, C-21'), 108.2 (C-22, C-22'), 55.2 (C-23, C-23'), 44.7 (C-24, C-24'), 30.3 (C-25, C-25'), 66.0 (C-26, C-26'), 17.8 (C-27, C-27'), 129.9 (CH-aromáticos); 135.1 (C-*ipso* 1,4; 1',4'), 168.3 (COO-3, COO-3'), 208.8 (CH₃CO-23, CH₃CO-23').

5.7 Procedimiento general. Preparación de Ésteres Biesteroidales del Ácido Tereftálico por Irradiación de Microondas.

En un vial de borosilicato de 10 mL, se colocaron 250 mg de sapogenina **2a-c** o **8a-b** (0.6 mmol) y 3 mL de piridina provistos con agitación magnética. Esta mezcla fue irradiada en un horno de microondas focalizado Monowave 300 Anton Paar a una temperatura de 180-200 °C y una presión de 6.4 bares en vial sellado neumáticamente por 3 minutos, y 3 minutos de enfriamiento con aire comprimido. La mezcla de reacción se llevó a temperatura ambiente. La fase orgánica se extrajo con CH₂Cl₂ (10 mL x 3), se lavó con salmuera (2 x 10 mL), seguido de neutralización con NaHCO₃. El crudo se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se

concentró a sequedad al vacío. Los biesteroides resultantes se purificaron mediante métodos de reparto de disolventes a partir del crudo. Los biespirostanos **66a-c** y **67a-b** se obtuvieron como sólidos incoloros. Se aplicó el mismo procedimiento para obtener el éster de bicolesterol (**72**) a partir de colesterol (**70**). El rendimiento en esta metodología fue siempre superior al 90%.

5.8 Procedimiento general. Preparación y Caracterización Estructural de Biesteroides con Cadena Lateral Pseudocolestánica con Anhídrido Mixto (AATFA).



Esquema 41.

Se preparó el anhídrido acético-trifluoracético (AATFA) previamente y se utilizó de inmediato. En un matraz de balón de 50 mL provisto con agitación magnética se colocaron 1.6 mL de ácido acético (27.9 mmol) y 3.1 mL (21.8 mmol) de anhídrido trifluoracético y se mantuvo con agitación magnética durante 2 minutos.

Posteriormente, en un matraz de balón de 50 mL provisto de agitación magnética se colocó 1 g (2.18 mmol) de la bisapogenina **66a** y se disolvió en 10 mL de CH_2Cl_2 , 1 mL de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (7.96 mmol) y se adicionó inmediatamente el AATFA recién preparado. La mezcla de reacción se conservó en agitación magnética a temperatura ambiente por 5 minutos. Posteriormente, el crudo de reacción se vació en un matraz Erlenmeyer con 50 mL de salmuera en hielo finamente picado. Después de un rato, al crudo de la reacción lavó con salmuera (1 x 20 mL), con una solución de NaHCO_3 (2 x 30 mL) y agua destilada (1 x 30 mL). La fase orgánica se secó con Na_2SO_4 y se concentró en el rotavapor.

La caracterización espectroscópica y física de las Bipseudosapogenina **66a** obtenidas se muestra a continuación:

5.8.1 Acetato de Bi-(25*R*)-furosta-5,20(22)-dien-3 β ,26-diil-1,4-tereftalato.

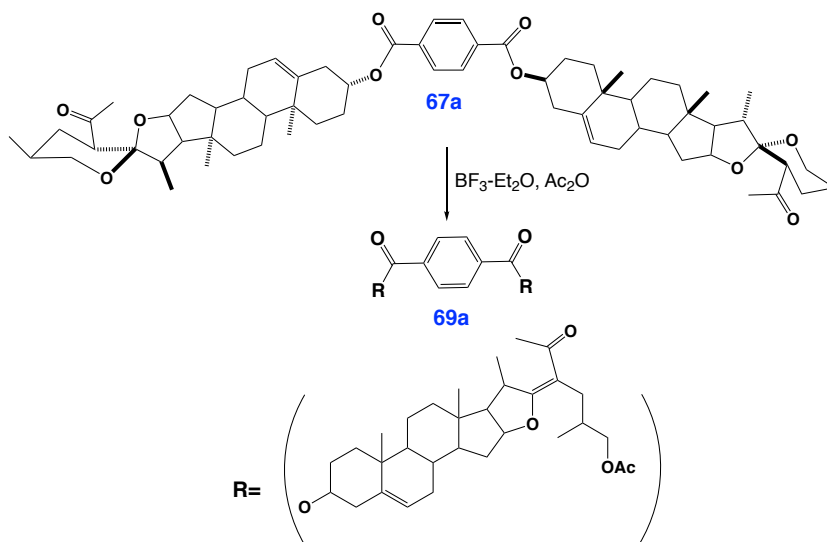
Rendimiento: 95 %, $[\alpha]_D -26$ ($c= 1.1$, CHCl_3)

IR cm^{-1} : 1732 (C=O éster), 1714 (C=O-O tereftalato), 1694 (C=C), 1375 (CH_3), 1236 (C-O).

$^1\text{H RMN}$ δ : 8.07 (s, 4H, H-aromáticos), 5.36 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-6), 4.72 (1H, ddd, $J_{16-17} = 10.4$ Hz, $J_{16-15e} = 8$ Hz, $J_{16-15a} = 5.6$ Hz, H-16), 4.58 (1H, m, H-3), 3.93 (1H, dd, $J_{26e-26a} = 10.6$ Hz, $J_{26e-25} = 5.6$ Hz, H-26e), 3.87 (1H, dd, $J_{26a-26e} = 10.6$ Hz, $J_{26a-25} = 5.6$ Hz, H-26), 2.47 (1H, d, $J_{17-16} = 10.4$ Hz, H-17), 2.04 (3H, s, $\text{CH}_3\text{COO-26}$), 1.58 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-21}$), 1.03 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-19}$), 0.94 (3H, d, $J_{27-25} = 7.2$ Hz, $\text{CH}_3\text{-27}$), 0.69 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-18}$).

$^{13}\text{C RMN}$ δ : 37.0 (C-1), 27.7 (C-2), 73.7 (C-3), 38.1 (C-4), 139.4 (C-5), 122.1 (C-6), 32.1 (C-7), 31.2 (C-8), 49.9 (C-9), 36.7 (C-10), 21.0 (C-11), 39.4 (C-12), 43.2 (C-13), 54.9 (C-14), 34.1 (C-15), 84.2 (C-16), 64.1 (C-17), 14.0 (C-18), 19.4 (C-19), 103.6 (C-20), 11.7 (C-21), 151.1 (C-22), 23.2 (C-23), 30.8 (C-24), 32.1 (C-25), 69.7 (C-26), 16.8 (C-27), 21.5 ($\text{CH}_3\text{COO-3}$), 21.0 ($\text{CH}_3\text{COO-26}$), 129.5 (CH-aromáticos); 134.4 (C-*ipso* 1,4; 1',4'), 171.0 ($\text{CH}_3\text{COO-26}$).

5.9 Procedimiento general. Preparación y Caracterización de Biesteroides Furosténicos por Apertura de la Cadena Lateral de Bisapogeninas.



Esquema 42.

En un matraz balón de 250 mL provisto de agitación magnética con 408 mg (0.39 mmol) de Bi-23-acetilsapogenina (**67a**), se agregaron 5 mL (52.89 mmol) de anhídrido acético (relación 1 g de Biesteroide/ 5 mL de anhídrido acético) y 1 mL (7.89 mmol) de BF₃-OEt₂ (relación 1 g de Biesteroide/ 1 mL de BF₃). La solución se mantuvo en agitación constante y temperatura ambiente (10 min) y fue monitoreada por cromatografía en capa fina, utilizando como eluyente AcOEt/Hexano (3:7). La reacción se dio por terminada cuando ya no se obtuvo materia prima por CCF revelando con H₂SO₄ al 50 % y calcinando. Posteriormente la mezcla de reacción se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 20 mL) y lavados con agua destilada. La fase orgánica obtenida se secó con sulfato de sodio anhídrido y la solución se concentró en el rotavapor. La separación de los productos fue realizada por cromatografía utilizando como fase estacionaria gel de sílice y como eluyente Hexano/AcOEt (8:2).

5.9.1 Bífurosteno (**69a**).

Rendimiento: 72%. P.f. = 296-299 °C.

IR cm⁻¹: 2949 (CH₃-, -CH₂-); 1717 (C=O-O tereftalato), 1695 (estrechamiento C=O C-), 1264, 1121 (C-O-C). 2300 (C=O estiramiento asimétrico del CO₂ del aire en la muestra)

RMN ¹H δ: 8.08 (4H, s, Ar H-2,3,5,6), 5.30 (1H, b s, H-6, H-6'), 4.91 (1H, m, H-16, H-16'), 4.53 (1H, m, H-3, H-3') 3.77 (2H, m, H-26, H-26'), 3.65 (1H, dq, J₂₀₋₁₇ = 11.1, J₂₀₋₂₁ = 6.8 Hz, H-20, H-20'), 2.15 (3H, s, CH₃-23², CH₃-23^{2'}), 1.99 (3H, s, CH₃COO-26, CH₃COO-26'), 1.12 (3H, d, J = 7.0 Hz, CH₃-21, CH₃-21'), 0.95 (3H, s, CH₃-19, CH₃-19'), 0.85 (3H, d, J₂₇₋₂₅ = 6.5 Hz, CH₃-27, CH₃-27'), 0.53 (3H, s, CH₃-18, CH₃-18').

RMN ¹³C δ: 13.1 (C-18, C-18'), 17.3 (C-27, C-27'), 19.3 (C-19, C-19'), 19.8 (C-21, C-21'), 20.3 (C-11, C-11'), 21.4 (CH₃COO- 3, CH₃COO- 3'), 22.0 (CH₃COO-26, CH₃COO-26'), 27.7 (C-2, C-2'), 29.2 (C-23², C-23^{2'}), 31.0 (C-8, C-8'), 31.2 (C-24, C-24'), 31.3 (C-25, C-25'), 31.9 (C-7, C-7'), 33.3 (C-15, C-15'), 33.6 (C-4, C-4'), 36.6 (C-10, C-10'), 36.9 (C-1, C-1'), 38.0 (C-12, C-12'), 38.1 (C-20, C-20'), 41.3 (C-13, C-13'), 50.0 (C-9, C-9'), 55.4 (C-14, C-14'), 62.3 (C-17, C-17'), 68.8 (C-26, C-26'), 73.8 (C-3, C-3'), 86.1 (C-16, C-16'), 108.0 (C-23, C-23'), 122.0 (C-6, C-6'), 129.4 (aromáticos C-2,3,5,6); 134.4 (C-*ipso* 1,4), 139.8 (C-5, C-5'), 170.5 (CH₃COO-3, CH₃COO-3'), 171.2 (CH₃COO-26, CH₃COO-26'), 179.0 (C-22, C-22'), 198.6 (C-23¹, C-23^{1'}).

5.10 Procedimiento general. Reacciones en Microrreactor de Flujo Continuo Syrris.

En un reservorio del equipo se colocó una solución que contiene 5.37 mmol de la sapogenina (diosgenina o hecogenina) en CH_2Cl_2 (20 mL) y 1 mL (8 mmol) de Trifluoruro de boro eterado con 3 mL de Ac_2O disueltos en 10 mL de CH_2Cl_2 se bombeó a 0.05 mL/min utilizando un equipo Syrris Asia (Syrris, Inglaterra). La solución se pasó a través del microrreactor a 0 °C, lo que llevó a un tiempo de residencia de 14 minutos. En el reservorio de la solución de salida, se recogió la mezcla de reacción, la cual se agregó a hielo picado, se extrajo con CH_2Cl_2 , se secó con Na_2SO_4 y se evaporó a presión reducida. El crudo obtenido fue separado por cromatografía en columna tipo flash, obteniéndose 4 productos, de los cuales se caracterizaron los mayoritarios.

5.10.1 (25*R*)-22-oxocolest-4-en-26-hidroxi-3,6-diona (75a).

Sólido blanco, punto de fusión: 172-174 °C (hexano/ AcOEt)

IR cm^{-1} : 3010 (OH); 2939 (CH, alifático); 1720 (tensión C=O); 1000 (tensión C-O).

EMAR (m/z): Calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{O}_6$:487.3060; observado 487.3065.

RMN ^1H δ : 6.18 (1H, s, H-4), 5.01 (1H, *m*, H-16), 3.45 (2H, d, $J_{25,26}$ = 5 Hz, H-26), 2.94 (1H, *dc*, J_{20-21} = 15 Hz, J_{20-17} = 10 Hz, H-20), 2.01 (3H, s, $\text{CH}_3\text{COO-16}$), 0.89 (3H, *d*, J_{27-25} = 10 Hz, $\text{CH}_3\text{-27}$), 1.12 (3H, *d*, J_{21-20} = 5 Hz, $\text{CH}_3\text{-21}$), 1.01 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-19}$), 0.85 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-18}$).

RMN ^{13}C δ : 37.0 (C-1), 27.9 (C-2), 201.5 (C-3), 126.0 (C-4), 160.9 (C-5), 199.5 (C-6), 31.8 (C-7), 31.4 (C-8), 49.9 (C-9), 36.7 (C-10), 20.9 (C-11), 39.8 (C-12), 42.0 (C-13), 54.1 (C-14), 35.0 (C-15), 75.9 (C-16), 55.2 (C-17), 13.4 (C-18), 19.5 (C-19), 43.7 (C-20), 16.8 (C-21), 213.8 (C-22), 38.7 (C-23), 27.3 (C-24), 35.6 (C-25), 67.6 (C-26), 17.1 (C-27), 170.7 (C- $\text{C}=\text{O}$ 16), 21.3 ($\text{CH}_3\text{COO-16}$).

5.10.2 Diacetato de 22-oxocolest-26OH-3 β ,16 β -diil-2,4-dien-6-ona (75b).

Rendimiento 23%, sólido blanco, punto de fusión: 165-168 °C (hexano/AcOEt)

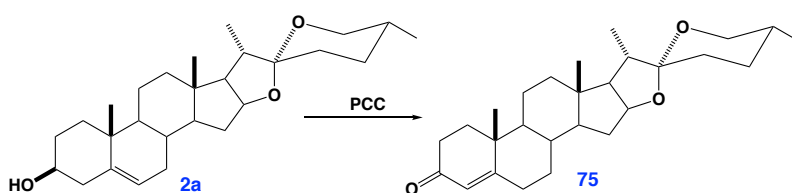
IR (cm⁻¹): 3015 (OH); 2939 (CH, alifático); 1721 (tensión C=O); 1010 (tensión C-O).

RMN ¹H δ : 6.18 (1H, s, H-4), 5.01 (1H, *m*, H-16), 3.45 (2H, d, $J_{25,26}$ = 5 Hz, H-26), 2.94 (1H, *dc*, J_{20-21} = 15 Hz, J_{20-17} = 10 Hz, H-20), 2.01 (3H, s, CH₃COO-16), 0.89 (3H, *d*, J_{27-25} = 10 Hz, CH₃-27), 1.12 (3H, *d*, J_{21-20} = 5 Hz, CH₃-21), 1.01 (3H, s, CH₃-19), 0.85 (3H, s, CH₃-18).

RMN ¹³C δ : 37.0 (C-1), 119.4 (C-2), 157.5 (C-3), 128.5 (C-4), 143.7 (C-5), 199.0 (C-6), 31.8 (C-7), 31.4 (C-8), 49.9 (C-9), 36.7 (C-10), 20.9 (C-11), 39.8 (C-12), 42.0 (C-13), 54.1 (C-14), 35.0 (C-15), 75.1 (C-16), 55.2 (C-17), 13.4 (C-18), 19.5 (C-19), 43.7 (C-20), 16.8 (C-21), 213.3 (C-22), 38.7 (C-23), 27.3 (C-24), 35.6 (C-25), 67.4 (C-26), 17.1 (C-27), 168.8 (C-C=O 16), 169.7 (C-C=O 3), 21.3 (CH₃COO-16).

5.11 Modificación de los anillos A y B para obtener precursores de biesteroides.

5.11.1 Síntesis de diosgenona.



Esquema 43.

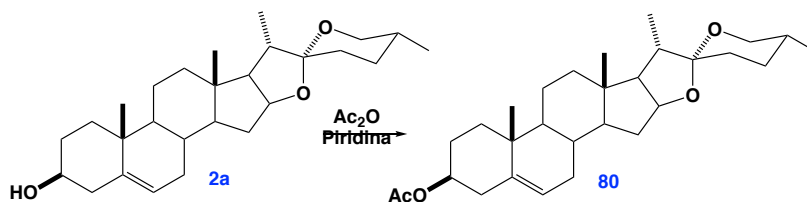
Al Clorocromato de Piridino (1.7 g, 4.0 mmol) fue agregada una mezcla de CaCO₃ (4.0 g, 4.0 mmol) pulverizado y diosgenina (2.0 g, 4.8 mmol) en CH₂Cl₂ (50 mL) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó por 1.5 h. Una vez transcurrido el tiempo, se extrajo con éter dietílico (50 mL), se filtró por una columna de florisil y se concentró a presión reducida. Una vez seca, se disolvió en CH₂Cl₂ (20 mL) y se agregaron cantidades catalíticas de TsOH dejándolo en agitación a temperatura ambiente por 20

minutos. Posteriormente se hicieron lavados con agua destilada, se secó con sulfato de sodio (Na_2SO_4) y se concentró en el rotavapor. La mezcla de reacción fue purificada en una columna cromatográfica con gel de sílice (sistema 9:1 hexano/ AcOEt). Se obtuvo 1.8 g (90 %) de un sólido blanco con p.f. = 185-187 °C (lit⁵⁵ 186-188 °C) correspondiente al compuesto **75**. HRMS: m/z 413.2775 $[\text{M}+1]^+$ (calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{41}\text{O}_3$: 413.3056).

RMN ^1H δ : 5.73 (1H, s, H-4), 4.41 (1H, ddd, $J_{16-15a}=J_{16-15e}=J_{16-17}=7.2$ Hz, H-16), 3.48 (1H, ddd, $J_{\text{gem}}=11.2$, $J_{26e-25a}=4.4$, $J_{26e-24e}=2.0$ Hz, H-26e), 3.37 (1H, dd, $J_{26-26}=J_{26a-25a}=10.8$ Hz, H-26a), 1.20 (3H, s, CH_3 -19), 0.97 (3H, d, $J_{21-20}=7.2$ Hz, CH_3 -21), 0.82 (3H, s, CH_3 -18), 0.79 (3H, d, $J_{27-25}=6.4$ Hz, CH_3 -27).

RMN ^{13}C δ : 35.6 (C-1), 33.9 (C-2), 199.6 (C-3), 123.8 (C-4), 171.2 (C-5), 32.8 (C-6), 32.1 (C-7), 35.2 (C-8), 53.7 (C-9), 38.6 (C-10), 20.8 (C-11), 39.6 (C-12), 40.3 (C-13), 55.6 (C-14), 31.7 (C-15), 80.6 (C-16), 62.0 (C-17), 16.3 (C-18), 17.4 (C-19), 41.6 (C-20), 14.5 (C-21), 109.2 (C-22), 31.3 (C-23), 28.8 (C-24), 30.2 (C-25), 66.8 (C-26), 17.1 (C-27).

5.11.2 Obtención del acetato de diosgenina.



Esquema 44.

A una solución de 2.0 g (4.82 mmol) de diosgenina (**2a**) en 10 mL de anhídrido acético (106 mmol) y 1 mL de piridina se colocó a reflujo por 1 h. Transcurrido este tiempo, se le adicionó agua fría (50 mL) para formar un precipitado blanco, el cual fue lavado con una solución saturada de NaHCO_3 (2x25 mL) y posteriormente con agua destilada (2x25 mL). Se obtuvo 1.87 g (85%) de un sólido blanco correspondiente a **80**.

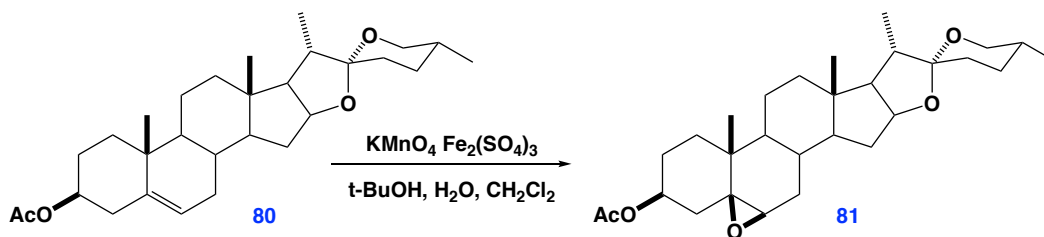
Fórmula condensada: $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{O}_4$, P.M= 456.66, punto de fusión: 194-196 °C, rendimiento 85%. $[\alpha]_D = -122^\circ$ (CHCl_3 , $c=1.0$)

IR: 2947 (CH), 1737 (AcO), 1243 (C-O) cm^{-1} .

RMN ^1H δ : 5.37 (1H, d, J = 5.2 Hz, H-6), 4.59 (1H, m, H-3), 4.41 (1H, m, H-16), 3.47 (1H, ddd, J_{gem} =10.8, $J_{26\text{e}-25\text{a}}$ = 4.4 $J_{26\text{e}-24\text{e}}$ = 2.4 Hz, H-26e), 3.37 (1H, dd, J_{gem} = $J_{26\text{a}-25\text{a}}$ =10.8Hz, H-26a), 2.03 (3H, s, CH_3COO -3), 1.02 (3H, s, CH_3 -19), 0.97 (3H, d, J_{21-20} = 7.2 Hz, CH_3 -21), 0.79 (3H, d, J_{27-25} =6.4 Hz, CH_3 -27), 0.79 (3H, s, CH_3 -18).

RMN ^{13}C δ : 37.2 (C-1), 31.4 (C-2), 73.8 (C-3), 42.2 (C-4), 140.8 (C-5), 121.4 (C-6), 32.0 (C-7), 31.6 (C-8), 50.0 (C-9), 36.6 (C-10), 20.8 (C-11), 39.7 (C-12), 40.2 (C-13), 56.5 (C-14), 31.8 (C-15), 80.8 (C-16), 62.0 (C-17), 16.3 (C-18), 19.4 (C-19), 41.6 (C-20), 14.5 (C-21), 109.3 (C-22), 31.3 (C-23), 28.7 (C-24), 30.3 (C-25), 66.8 (C-26), 17.1 (C-27), 170.4(CH_3COO -3), 21.4(CH_3COO -3).

5.11.3 Obtención del epóxido- β a partir de acetato de diosgenina.



Esquema 45.

A una solución de 500 mg (1.1 mmol) de **110** en 20 mL de CH_2Cl_2 fue añadida una solución de 2.0 g (12.65 mmol) de KMnO_4 , 1.0 g (2.5 mmol) de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, 0.2 mL de H_2O y 5 mL de CH_2Cl_2 , la solución se colocó en agitación magnética a temperatura ambiente y se añadió 0.5 mL de $t\text{-BuOH}$, después de 30 min, la mezcla de reacción se filtró por una capa de gel de sílice para retirar el oxidante, se añadió 30 mL de CH_2Cl_2 para terminar de eluir, el crudo filtrado es lavado con agua (2x25 mL), secado con Na_2SO_4 y evaporado para obtener 482 mg (85%) de un polvo blanco correspondiente al compuesto **81**.

Fórmula condensada: $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{O}_5$, P.M=472.67, P.f.: 194-196 °C, rendimiento 85%. $[\alpha]_{\text{D}} = -54^\circ$ (CHCl_3 , $c=1.0$)

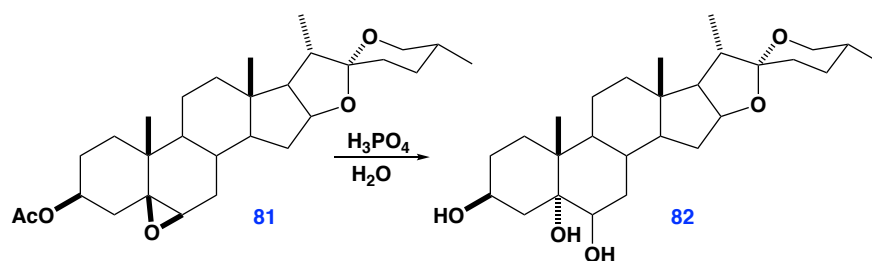
IR: 3050 (C-O-C epóxido), 2947 (CH), 1737 (AcO), 1243 (C-O) cm^{-1} .

RMN ^1H δ : 4.76 (1H, m, H-3), 4.32 (1H, m, H-16), 4.02 (1H, dd, $J_{26\text{e}-26\text{a}}$ =10.9 Hz, $J_{26\text{e}-25}$ = 5.6 Hz, H-26_e), 3.88 (1H, dd, $J_{26\text{a}-26\text{e}}$ = 10.9 Hz, $J_{26\text{a}-25}$ = 6.5 Hz, H-26_a), 3.02 (1H, m, H-6), 2.04

(3H, s, $\text{CH}_3\text{COO-3}$), 1.08 (3H, d, $J_{21-20} = 7.1$ Hz, $\text{CH}_3\text{-21}$), 0.97 (3H, d, $J_{27-25} = 6.8$ Hz, $\text{CH}_3\text{-27}$), 0.88 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-18}$), 0.82 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-19}$).

RMN ^{13}C δ : 37.2 (C-1), 31.4 (C-2), 73.8 (C-3), 42.2 (C-4), 61.5 (C-5), 60.0 (C-6), 32.0 (C-7), 31.6 (C-8), 50.0 (C-9), 36.6 (C-10), 20.8 (C-11), 39.7 (C-12), 40.2 (C-13), 56.5 (C-14), 31.8 (C-15), 80.8 (C-16), 62.0 (C-17), 16.3 (C-18), 19.4 (C-19), 41.6 (C-20), 14.5 (C-21), 109.3 (C-22), 31.3 (C-23), 28.7 (C-24), 30.3 (C-25), 66.8 (C-26), 17.1 (C-27), 170.4 ($\text{CH}_3\text{COO-3}$), 21.4 ($\text{CH}_3\text{COO-3}$).

5.11.4 Apertura del epóxido β del acetato de diosgenina (81).



Esquema 46.

Una solución de 1.0 g (2.11 mmol) de **111** en 30 mL de CH_2Cl_2 se adicionó 20 mL de una solución alcohólica al 5 % de H_3PO_4 y 4 mL de H_2O destilada y se colocó en agitación magnética a temperatura ambiente por 12 h, posteriormente se evaporó la mezcla de CH_2Cl_2 y alcohol a presión reducida, el sólido obtenido se lavó con una solución saturada de NaHCO_3 (2x25 mL) y H_2O destilada (2x25 mL), se obtuvo 789 mg (83%) de un polvo blanco correspondiente al compuesto **112**.

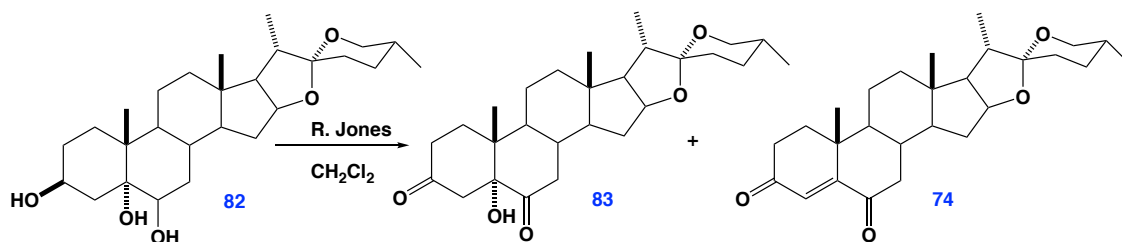
Fórmula condensada: $\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_5$, P.M= 448.64, punto de fusión: 194-196 $^\circ\text{C}$, rendimiento 83 %. $[\alpha]_D = -67^\circ$ (CHCl_3 , $c=1.0$)

IR: 3468 (OH), 2947 (CH), 1737 (AcO), 1243 (C-O) cm^{-1} . **EMAR:** Calc. 449.3267; Observ. 449.3269.

RMN ^1H δ : 4.64 (1H, m, OH-5), 4.40 (1H, m, H-16), 4.99 (1H, m, H-16), 4.02 (1H, dd, $J_{26e-26a}=10.9$ Hz, $J_{26e-25} = 5.6$ Hz, H-26_e), 3.88 (1H, ddd, $J_{16-15a} = 8.5$ Hz, $J_{16-15e} = 7.5$ Hz, $J_{16-17} = 6.0$ Hz, H-26_a), 1.08 (3H, d, $J_{21-20} = 7.1$ Hz, $\text{CH}_3\text{-21}$), 0.97 (3H, d, $J_{27-25} = 6.8$ Hz, $\text{CH}_3\text{-27}$), 0.88 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-18}$), 1.19 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-19}$).

RMN ^{13}C δ : 37.2 (C-1), 31.4 (C-2), 73.8 (C-3), 42.2 (C-4), 68.1 (C-5), 76.1 (C-6), 32.0 (C-7), 31.6 (C-8), 50.0 (C-9), 36.6 (C-10), 20.8 (C-11), 39.7 (C-12), 40.2 (C-13), 56.5 (C-14), 31.8 (C-15), 80.8 (C-16), 62.0 (C-17), 16.3 (C-18), 19.4 (C-19), 41.6 (C-20), 14.5 (C-21), 109.3 (C-22), 31.3 (C-23), 28.7 (C-24), 30.3 (C-25), 66.8 (C-26), 17.1 (C-27), 170.4(CH₃COO-3), 21.4(CH₃COO-3).

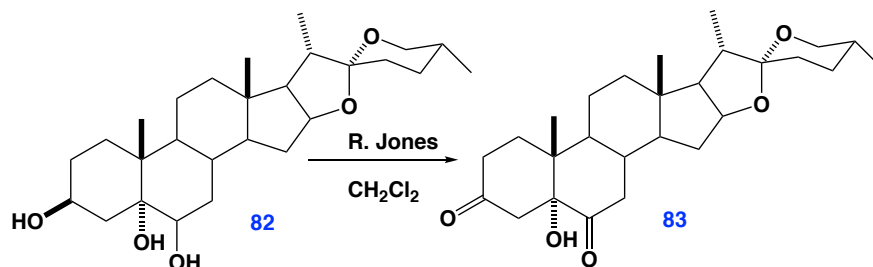
5.11.5 Oxidación del Triol de diosgenina 112.



Esquema 47.

Se disolvieron 1.00 g (2.23 mmol) de **82** en 20 ml de CH₂Cl₂ y 60 mL de acetona, la reacción se enfrió a -0°C en agitación, posteriormente se agregó 3.0 mL de reactivo el Jones gota a gota en un lapso de 10 min. Cuidando que no rebasara los 10°C, una vez agregado el reactivo la reacción se mantuvo en agitación constante a temperatura ambiente por 30 min; la mezcla de reacción se vertió a un embudo de separación y se extrajo con acetato de etilo, se realizaron de dos a tres lavados con agua destilada, se seca con Na₂SO₄. Se obtuvo una mezcla de productos menos polares, posteriormente se purificó en columna de cromatografía con gel de sílice utilizando sistema 9:1 (hexano y AcOEt) obteniendo 396 mg (40%) de **83** y 330 mg (35 %) de **74**.

5.11.6 Oxidación del triol 82 de diosgenina.



Esquema 48.

Se disolvieron 1.00 g (2.23 mmol) **82** en 20 ml de CH₂Cl₂ y 60 mL de acetona, la reacción se enfrió a -0°C en agitación, posteriormente se agregaron 3.0 mL de reactivo el Jones gota a gota en un lapso de 10 minutos, cuidando que no rebasara los 10°C; una vez agregado el reactivo, la reacción se mantuvo en agitación constante por 30 min. La mezcla de reacción se llevó a temperatura ambiente y se virtió a un embudo de separación, se extrajo con acetato de etilo; se realizaron tres lavados con agua destilada, y se secó con Na₂SO₄. Se obtuvo un producto menos polar, posteriormente se purificó en columna de cromatografía con gel de sílice utilizando sistema 9:1 (hexano/ AcOEt). Rend. 800 mg (80 %) de **83**.

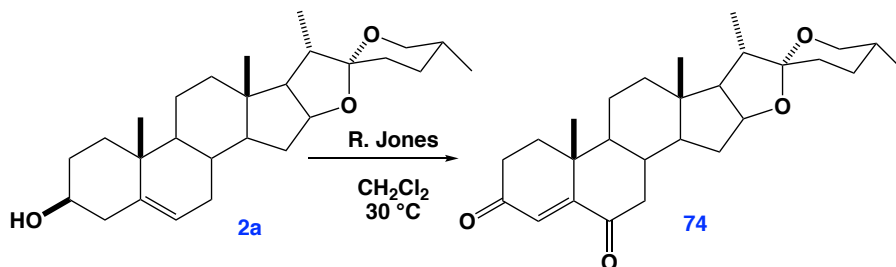
Fórmula condensada: C₂₇H₄₀O₅, P.M= 444.60, p.f. 193-194°C (AcOEt/ acetona), Rendimiento del 80%.

IR ν (cm⁻¹) 1685. (C=O) **EMAR**: Calc. 445. 2954; Observ. 445.2936.

RMN ¹H δ : 4.43 (1H, m, H-16), 3.48 (1H, m, H-26e), 3.36 (1H, dd, $J_{26-26} = J_{26a-25a} = 10.4$ Hz, H-26a), 3.02 (1H, m, OH-5), 2.89 (1H, d, $J_{4a,4e} = 15.8$ Hz), 2.30 (1H, dd, $J_{4a,4e} = 15.8$ Hz, $J_{4a,2e} = 2.0$ Hz), 2.78 (2H, dd, $J_{7a-7e} = J_{7a-8} = 12.4$ Hz, H-7a), 2.35 (2H, m, H-7e), 1.19 (3H, s, CH₃-19), 0.99 (3H, d, $J_{21-20} = 6.8$ Hz, CH₃-21), 0.84 (3H, s, CH₃- 18), 0.80 (3H, d, $J_{27-25} = 6.0$ Hz, CH₃-27).

RMN ¹³C δ : 36.6 (C-1), 33.9 (C-2), 211.3 (C-3), 38.5 (C-4), 83.1 (C-5), 210.8 (C-6), 32.1 (C-7), 35.1 (C-8), 53.7 (C-9), 38.6 (C-10), 20.8 (C-11), 39.6 (C-12), 40.3 (C-13), 55.6 (C-14), 31.6 (C-15), 80.6 (C-16), 61.9 (C-17), 17.3 (C-18), 16.3 (C-19), 41.6 (C-20), 14.5 (C-21), 109.2 (C-22), 31.3 (C-23), 28.7 (C-24), 30.2 (C-25), 66.8 (C-26), 17.1 (C-27).

5.11.7 Oxidación de diosgenina. Obtención de la 3,6-diona.



Esquema 49.

Se disolvieron 2.0 g (4.8 mmol) de diosgenina (**2**) en 40 mL de CH_2Cl_2 y 130 mL de acetona, la reacción se enfrió a -10°C en agitación, posteriormente se agregó el reactivo el Jones gota a gota en un lapso de 10 minutos cuidando que no rebasara los 10°C . Una vez agregado el reactivo, la reacción se mantuvo en agitación a temperatura ambiente; la reacción fue monitoreada con CCF, hasta que hubo un cambio de coloración (naranja a verde) que significa que el oxidante se ha agotado. Una vez que ya no existe materia prima en la placa de CCF y aun es naranja la solución, se agregó isopropanol para extinguir todo el reactivo de Jones; la mezcla de reacción se vertió a un embudo de separación y se extrajo con acetato de etilo, se realizaron de dos a tres lavados con agua destilada, se seca con Na_2SO_4 . Se obtuvo un producto menos polar que la materia prima, posteriormente se purificó en columna de cromatografía con gel de sílice utilizando sistema 9:1 (hexano y AcOEt) obteniendo 1.63 g (80%) de **114**.

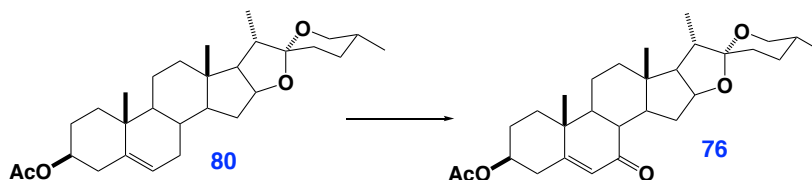
Fórmula condensada: $\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{O}_4$, P.M= 426.6, P.f.= $193-194^\circ\text{C}$ (AcOEt /acetona), Rend. 80%.

IR $\nu(\text{cm}^{-1})$ 2949 (C-H), 1685. (C=O) **EMAR**: $\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{O}_4$, Calculado: 426.6988, Observado: 426.6982.

RMN ^1H δ : 6.18 (1H, s, H-4), 4.43 (1H, m, H-16), 3.48 (1H, m, H-26e), 3.36 (1H, dd, $J_{26-26} = J_{26a-25a} = 10.4$ Hz, H-26a), 2.71 (2H, d, $J_{7-7} = 12.0$ Hz, H-7), 1.19 (3H, s, CH_3 -19), 0.99 (3H, d, $J_{21-20} = 6.8$ Hz, CH_3 -21), 0.84 (3H, s, CH_3 - 18), 0.80 (3H, d, $J_{27-25} = 6.0$ Hz, CH_3 -27).

RMN ^{13}C δ : 36.6 (C-1), 33.9 (C-2), 199.4 (C-3), 125.5 (C-4), 160.6 (C-5), 201.8 (C-6), 32.1 (C-7), 35.1 (C-8), 53.7 (C-9), 38.6 (C-10), 20.8 (C-11), 39.6 (C-12), 40.3 (C-13), 55.6 (C-14), 31.6 (C-15), 80.6 (C-16), 61.9 (C-17), 17.3 (C-18), 16.3 (C-19), 41.6 (C-20), 14.5 (C-21), 109.2 (C-22), 31.3 (C-23), 28.7 (C-24), 30.2 (C-25), 66.8 (C-26), 17.1 (C-27).

5.11.8 Obtención de (25R)-3 β -acetoxi-7-oxo-diosgenina (**76**).



Esquema 50.

Método A. A una solución de acetato de diosgenina **80** (1 g, 2.2 mmol) en 10 mL de ácido acético fue agregado lentamente a una solución de trióxido de cromo CrO₃ (1.36 g, 13.6 mmol) disuelto en 7 mL de ácido acético y 1.2 mL de H₂O, manteniendo la reacción en agitación a una temperatura entre 0-5 °C durante 3 h. Una vez transcurrido este tiempo, la mezcla de reacción se extrajo con CH₂Cl₂ y se pasó por una columna con celita para retirar el oxidante. La solución fue lavada con agua destilada, neutralizada con bicarbonato de sodio, separada, secada con sulfato de sodio anhidro y evaporada a sequedad en el rotavapor. La purificación se llevó a cabo en una columna cromatográfica con gel de sílice (sistema 9:1 hexano/AcOEt). Se obtuvo 280 mg (27 %) de un sólido blanco con p.f.= 193-195 °C correspondiente al producto **76**, el resto fue materia prima recuperada.

Método B. Preparación del reactivo de Collins. Se disolvió CrO₃ (9.5 g, 0.095 mmol) en 40 mL de CH₂Cl₂ y se introdujo a un baño a 0 °C. Posteriormente se agregó lentamente 15 mL de piridina durante 10 minutos y después de este tiempo, se dejó en agitación a temperatura ambiente por 20 minutos.

Al reactivo de Collins se agregó una solución de acetato de diosgenina **80** (1.5 g, 3.3 mmol) disuelto en 15 mL de CH₂Cl₂ llevando la reacción en agitación a temperatura ambiente por 12 h. El crudo de reacción se extrajo con CH₂Cl₂ y se pasó por una columna con SiO₂ para retirar el oxidante. La solución fue lavada con agua destilada y neutralizada con una solución de HCl al 15 % en agitación por 30 minutos. El crudo de reacción secado con sulfato de sodio anhidro y evaporado a sequedad en el rotavapor. La purificación se llevó a cabo en una columna cromatográfica con gel de sílice (sistema 9:1 hexano/AcOEt). Se obtuvo 732 mg (71 %) de un sólido blanco con p.f.= 193-195 °C correspondiente al producto **76**.

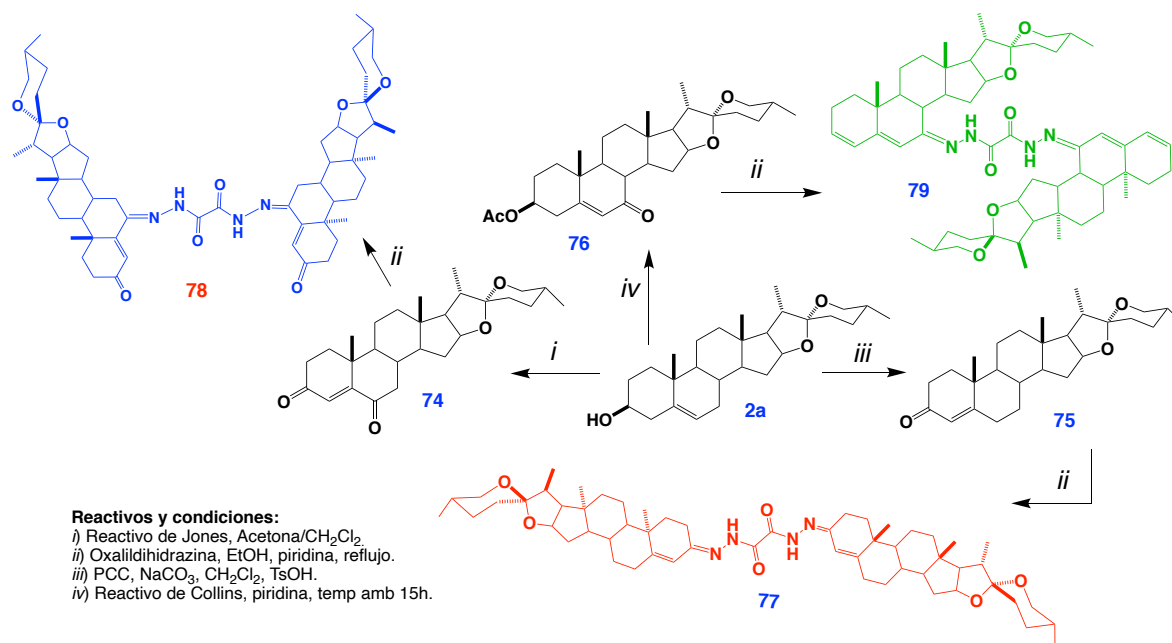
5.11.9 (25R)-3 β -acetoxi-7-oxo-diosgenina (76).

$[\alpha]_D = -123.05^\circ$ ($c = 0.0063$, CHCl_3), HRMS: m/z 471.3323 $[\text{M}+1]^+$ (calculado para $\text{C}_{33}\text{H}_{43}\text{O}_2$, 471.3263).

RMN ^1H δ : 5.71 (1H, sa, H-6), 4.71 (1H, m, H-3), 4.48 (1H, ddd, $J_{16-15a} = J_{16-15e} = J_{16-17} = 6.4$ Hz, H-16), 3.47 (1H, ddd, $J_{gem} = 11.2$, $J_{26e-25a} = 4.4$, $J_{26e-24e} = 1.6$ Hz, H-26e), 3.39 (1H, dd, $J_{gem} = J_{26a-25a} = 11.2$ Hz, H-26a), 2.88 (1H, m, H-15e), 2.56 (1H, ddd, $J_{gem} = 14$, $J_{4e-3a} = 7.2$, $J_{4e-2e} = 2$ Hz, H-4e), 2.49 (1H, dd, $J_{gem} = 11.2$, $J_{4a-3} = 1.6$ Hz, H-4a), 2.41 (1H, m, H-8), 2.05 (3H, s, $\text{CH}_3\text{COO-3}$), 1.23 (3H, s, CH_3 -19), 0.98 (3H, d, $J_{21-20} = 6.8$ Hz, CH_3 -21), 0.79 (3H, d, $J_{27-25} = 6.4$ Hz, CH_3 -27), 0.79 (3H, s, CH_3 -18).

RMN ^{13}C δ : 35.9 (C-1), 27.3 (C-2), 72.1 (C-3), 170.3 ($\text{CH}_3\text{COO-3}$), 21.2 ($\text{CH}_3\text{COO-3}$), 37.7 (C-4), 164.0 (C-5), 126.4 (C-6), 201.4 (C-7), 44.8 (C-8), 49.6 (C-9), 38.4 (C-10), 20.8 (C-11), 38.6 (C-12), 40.9 (C-13), 49.4 (C-14), 33.6 (C-15), 80.9 (C-16), 61.0 (C-17), 16.4 (C-18), 17.2 (C-19), 41.5 (C-20), 14.6 (C-21), 109.2 (C-22), 31.4 (C-23), 28.7 (C-24), 30.3 (C-25), 66.7 (C-26), 17.1 (C-27).

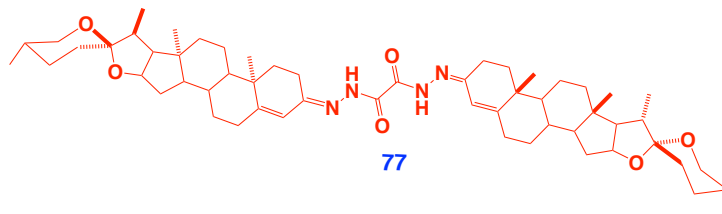
5.12 Procedimiento general. Preparación y Caracterización Estructural de biesteroides con oxalildihidrazina como grupo espaciador.



Esquema 51.

En un matraz de fondo redondo de 125 mL, la sapogenina cetónica **74-76** (3 g, 7,2 mmol) se disolvió en etanol (30 mL) y piridina (1 mL); a continuación se añadió oxalildihidrazina (0,6 g, 10,8 mmol). La mezcla de reacción se mantuvo en agitación magnética a 115 °C durante 15 h. Posteriormente, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente. La fase orgánica se extrajo con CH₂Cl₂ (25 mL x 3), se lavó con salmuera (2 x 20 mL), seguido de neutralización con una solución de HCl al 5 %. El crudo de reacción se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a sequedad al vacío. Los biesteroides resultantes se purificaron mediante métodos de reparto de disolventes a partir del crudo. Los biespirostanos **77-79** se obtuvieron como sólidos blancos o amarillo pálido (78 y 79). A continuación se muestra la caracterización espectroscópica de los biesteroides.

5.12.1 Caracterización de Bi-(25*R*)-espirost-4-en-3-dioxalildihidrazona.



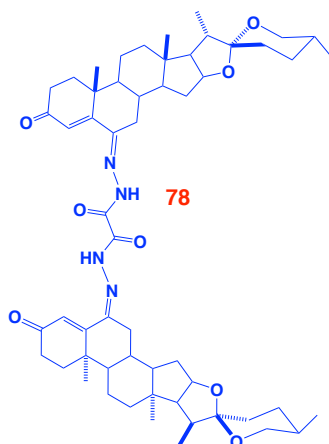
Fórmula condensada: $C_{56}H_{82}N_4O_6$, P.M= 906.6, p.f. 263-264°C (AcOEt). Rendimiento del 80%.

IR ν (cm^{-1}) 2949 (C-H), 1685. (C=O) **EMAR**: $C_{56}H_{82}N_4O_6$, Calculado: 906.6200, Observado: 906.6380.

RMN 1H δ : 5.91 (1H, s, H-4), 4.42 (1H, ddd, $J_{16-15a} = J_{16-15e} = J_{16-17} = 7.2$ Hz, H-16), 3.49 (1H, ddd, $J_{gem} = 11.2$, $J_{26e-25a} = 4.4$, $J_{26e-24e} = 2.0$ Hz, H-26e), 3.39 (1H, dd, $J_{26-26} = J_{26a-25a} = 10.8$ Hz, H-26a), 1.20 (3H, s, CH_3 -19), 0.97 (3H, d, $J_{21-20} = 7.2$ Hz, CH_3 -21), 0.82 (3H, s, CH_3 -18), 0.79 (3H, d, $J_{27-25} = 6.4$ Hz, CH_3 -27).

RMN ^{13}C δ : 35.6 (C-1), 33.9 (C-2), 158.1 (C-3), 121.9 (C-4), 161.5 (C-5), 32.8 (C-6), 32.1 (C-7), 35.2 (C-8), 53.7 (C-9), 38.6 (C-10), 20.8 (C-11), 39.6 (C-12), 40.3 (C-13), 60.4 (C-14), 31.7 (C-15), 80.7 (C-16), 62.0 (C-17), 16.3 (C-18), 17.4 (C-19), 41.6 (C-20), 14.5 (C-21), 109.2 (C-22), 31.3 (C-23), 28.8 (C-24), 30.2 (C-25), 66.8 (C-26), 17.1 (C-27), 171.2 (C=O grupo oxalil).

5.12.2 Caracterización de Bi-(25*R*)-espirost-4-en-3-oxo-6-dioxalildihidrazona.



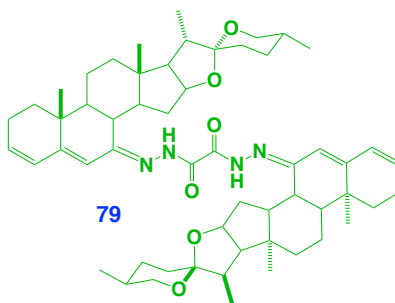
Rendimiento 65%, sólido amarillo. Fórmula condensada: $C_{56}H_{78}O_8$, P.M= 935.2, P.f.=249-251°C (AcOEt).

IR ν (cm^{-1}) 2949 (C-H), 1685. (C=O) **EMAR:** $C_{56}H_{78}O_8$, Calculado: 934.5888, Observado: 934.5960.

RMN 1H δ : 5.38 (1H, s, H-4), 4.43 (1H, m, H-16), 3.48 (1H, m, H-26e), 3.36 (1H, dd, $J_{26-26} = J_{26a-25a} = 10.4$ Hz, H-26a), 1.76 (1H, m, $J_{17-16} = 12.0$ Hz, H-17), 1.19 (3H, s, CH_3 -19), 0.99 (3H, d, $J_{21-20} = 6.8$ Hz, CH_3 -21), 0.84 (3H, s, CH_3 - 18), 0.80 (3H, d, $J_{27-25} = 6.0$ Hz, CH_3 -27).

RMN ^{13}C δ : 36.6 (C-1), 33.9 (C-2), 199.4 (C-3), 121.5 (C-4), 140.6 (C-5), 168.8 (C-6), 32.1 (C-7), 35.1 (C-8), 53.7 (C-9), 38.6 (C-10), 20.8 (C-11), 39.6 (C-12), 40.3 (C-13), 55.6 (C-14), 31.6 (C-15), 80.6 (C-16), 66.8 (C-17), 17.3 (C-18), 16.3 (C-19), 41.6 (C-20), 14.5 (C-21), 109.2 (C-22), 31.3 (C-23), 28.7 (C-24), 30.2 (C-25), 66.8 (C-26), 17.1 (C-27), 171.2 (C=O grupo oxalil).

5.12.3 Caracterización de Bi-(25*R*)-espirost-6-en-7-dioxalildihidrazona.



120 mg (55 %) de un sólido amarillo pálido, P.f.= 239-235 °C.

RMN ^1H δ : 6.18 (1H, m, H-3), 6.09 (1H, d, $J = 10$ Hz, H-4), 5.60 (1H, sa, H-6), 4.46 (1H, ddd, $J_{16-15a} = J_{16-15e} = J_{16-17} = 6.4$ Hz, H-16), 3.47 (1H, ddd, $J_{gem} = 11.2$, $J_{26e-25a} = 4.4$, $J_{26e-24e} = 1.6$ Hz, H-26e), 3.41 (1H, dd, $J_{gem} = J_{26a-25a} = 11.2$ Hz, H-26a), 2.90 (1H, m, H-15e), 2.54 (1H, ddd, $J_{gem} = 14$, $J_{4e-3a} = 7.2$, $J_{4e-2e} = 2$ Hz, H-4e), 2.29 (1H, dd, $J_{gem} = 11.2$, $J_{4a-3} = 1.6$ Hz, H-4a), 2.41 (1H, m, H-8), 1.29 (3H, s, CH₃-19), 0.92 (3H, d, $J_{21-20} = 6.8$ Hz, CH₃-21), 0.90 (3H, d, $J_{27-25} = 6.4$ Hz, CH₃-27), 0.80 (3H, s, CH₃-18).

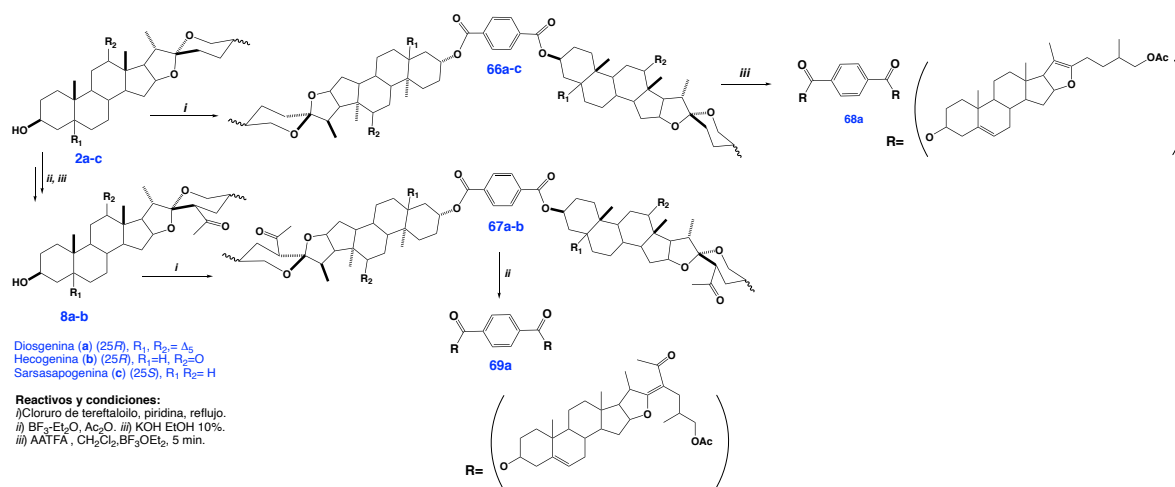
RMN ^{13}C δ : 35.9 (C-1), 27.3 (C-2), 124.0 (C-3), 128.8 (C-4), 136.8 (C-5), 130.9 (C-6), 201.4 (C-7), 44.8 (C-8), 49.6 (C-9), 38.4 (C-10), 20.8 (C-11), 38.6 (C-12), 40.9 (C-13), 49.4 (C-14), 33.6 (C-15), 80.9 (C-16), 61.0 (C-17), 16.4 (C-18), 17.2 (C-19), 41.5 (C-20), 14.6 (C-21), 109.2 (C-22), 31.4 (C-23), 28.7 (C-24), 30.3 (C-25), 66.7 (C-26), 17.1 (C-27), 161.2 (C=N), 167.8 (C=O grupo oxalil).

5.13 Procedimiento general para el análisis del comportamiento de Autoensamblaje de biesteroides.

Para los experimentos se añadieron 50 mg del derivado biesteroide a una mezcla de 10 mL de AcOEt y 250 mL de hexano o sobre AcOEt puro. Las soluciones se calentaron suavemente para lograr una solución clara y homogénea, se enfriaron a temperatura ambiente y se dejaron reposar durante tres días. Se eligió acetato de etilo puro para estudiar la influencia del disolvente puro o mixto en las morfologías de las estructuras supramoleculares debido a que posee una constante dieléctrica adecuada para la autoorganización de los materiales.

6 CONCLUSIONES

Se obtuvieron los biesteroides colestánicos, sapogeninicos, sapogeninicos 23-sustituídos, mediante la unión de los derivados esteroidales con dichas cadenas laterales con un grupo espaciador tereftalato en buenos rendimientos.

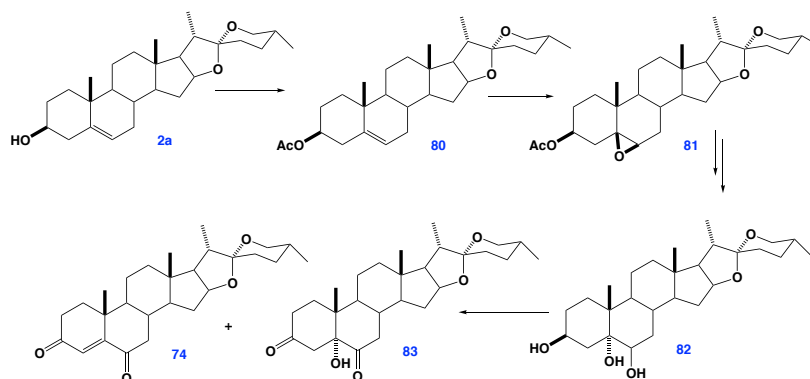


Esquema 52

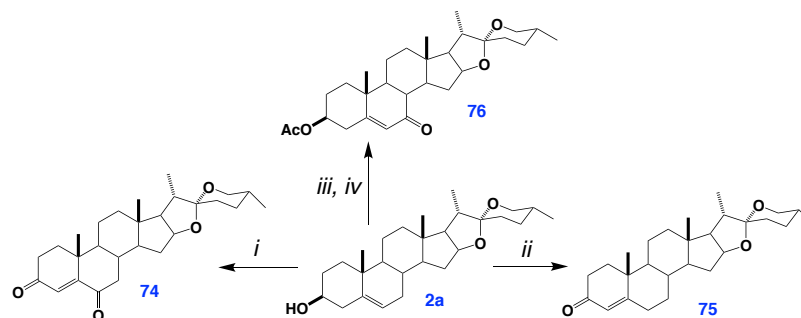
Se exploró la reactividad de la cadena lateral de las bisapogeninas para obtener biesteroides con cadenas laterales furosténicas y tipo pseudo mediante la apertura regioselectiva de la cadena lateral de las unidades esteroidales del dímero, obteniéndose resultados semejantes al aplicar las metodologías reportadas en la literatura con las sapogeninas (Esquema 36). La obtención de estos biesteroides y sus precursores, también se ensayó mediante el uso de metodologías de química verde como las microondas y la química de flujo continuo, con excelentes resultados y mejores condiciones de reacción menos contaminantes.

Se llevó a cabo la oxidación de diosgenina y acetato de diosgenina para generar cetonas y dicetonas en el esqueleto esteroide, para concluir con la formación de biesteroides unidos a un grupo espaciador con un grupo espaciador oxalildihidrazina, que derivó en la obtención de oxalildihidrazonas en dichas posiciones en buenos rendimientos. La primera ruta sintética (Esquema 53), consistió en la oxidación controlada que condujo a la modificación de los anillos A/B de diosgenina, para lo cual se oxidó el doble enlace Δ^5 resultando en la obtención del derivado β -epóxido **81** de manera estereoselectiva. Este derivado **81** se hidrolizó en medio ácido con la desprotección del alcohol de C-3 y la apertura

del epóxido, obteniendo el triol **82**, mismo que fue oxidado para conducir a las dicetonas **83** y **74** en rendimientos cuantitativos. La segunda ruta de síntesis involucró la obtención de diosgenin-3-ona **75** mediante la oxidación con PCC y reactivo de Jones; y la generación de una cetona en C-7 a partir de acetato de diosgenina y reactivo de Collins (Esquema 54).



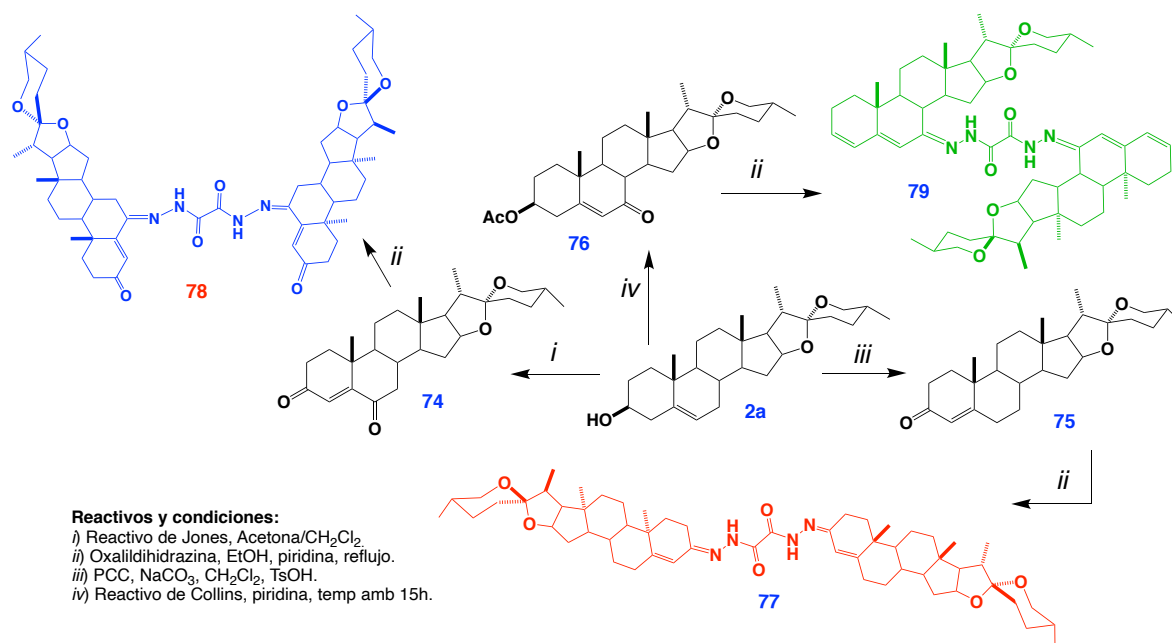
Esquema 53.



Reactivos y condiciones:
i) Reactivo de Jones, Acetona/CH₂Cl₂.
ii) PCC, NaCO₃, CH₂Cl₂, TsOH.
iii) Ac₂O, reflujo
iv) Reactivo de Collins, piridina, temp amb 15h.

Esquema 54.

Estos derivados cetónicos fueron materias primas para la obtención de biesteroides oxalildihidrazona, los cuales se obtuvieron en buenos rendimientos. En el caso del biesteroide de la diosgenin-3,6-diona, se obtuvo como producto mayoritario el biesteroide unidos a través de las posiciones 6 de cada unidad esteroideal. El biesteroide de la diosgenin-7-ona no pudo evitar la eliminación del acetato en el C-3, debido a la estabilidad extra que consigue de la formación de un sistema conjugado (Esquema 55).



Esquema 55

Todos los biesteroides obtenidos presentaron comportamiento *self-assembly* (CSA) provocado por el disolvente, el cual fue caracterizado mediante técnicas de microscopía (SEM, TEM), difracción de RX de polvos, fisisorción y por análisis calorimétricos (DSC y TGA) para estudiar su estabilidad térmica y pureza. En el caso de el biesteroide **10a**, obtuvimos cristales idóneos para su estudio por Rayos-X de monocristal. El resto de los biesteroides no cristalizó, presumiblemente por la preferencia a autoensamblarse formando un gel o estructuras como hilos, hebras, listones o membranas según el tipo de disolvente. (Figura 122).

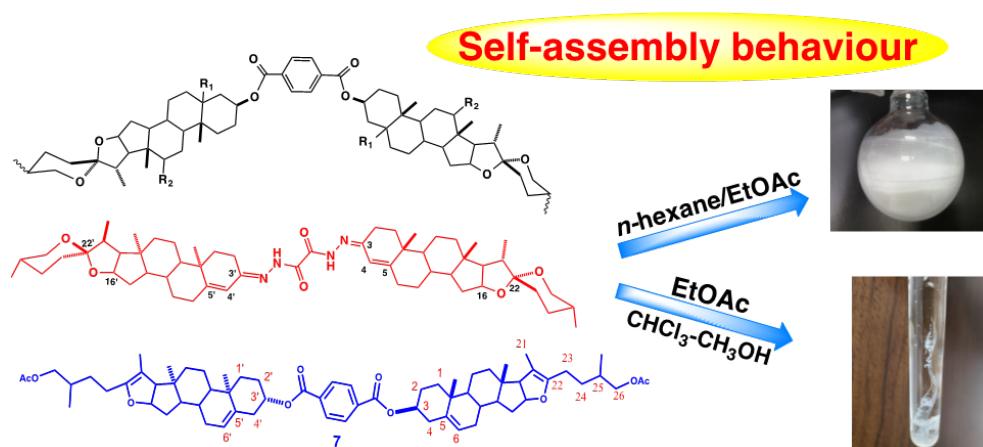


Figura 122

Concluimos que las interacciones no covalentes (fuerzas de van der Waals) entre los residuos de esteroides de la serie sintetizada de biesteroides simétricos y la polaridad de los sistemas solventes empleados podrían inducir a las moléculas a autoensamblarse en estructuras supramoleculares organizadas. Nuestros resultados también muestran que los biesteroides presentarán diferentes estructuras de autoensamblaje dependiendo de las características del solvente. Se encontró una relación directa entre la constante dieléctrica del disolvente y su capacidad de provocar la autorganización de los biesteroides en determinada forma (hebras o membranas impermeables) en sinergia con las interacciones de Van der Waals entre los grupos hidrófobos esteroidales

Con disolventes no polares, las estructuras autoensambladas tienden a organizarse en estructuras con forma de membrana. Mediante el empleo de disolventes polares, los ésteres de biesteroides se autoorganizaron en forma de hebras. Sin embargo, en el sistema $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ (solvente polar), se formaron hebras más delgadas debido a que las interacciones de Van der Waals entre los biesteroides son más débiles debido a la mayor solubilidad en dicho sistema. Las morfologías observadas son consistentes con los valores de la constante dieléctrica de los sistemas solventes, lo que confirma que un solvente con una constante dieléctrica cercana a 8 presentará estructuras autoensambladas mejor organizadas. En nuestro estudio, AcOEt fue el disolvente más efectivo para la formación de autoensamblajes. Dado que las aplicaciones y la importancia aún no se han establecido claramente para esta clase de compuestos, planeamos continuar nuestros estudios en esta dirección.

7 ANEXOS



Article

Mesoscale Assembly of Bisteroidal Esters from Terephthalic Acid

Gabriel Guerrero-Luna ¹, María Guadalupe Hernández-Linares ^{2,3,*}, Sylvain Bernès ⁴, Alan Carrasco-Carballo ¹, Diana Montalvo-Guerrero ⁵, María A. Fernández-Herrera ⁵ and Jesús Sandoval-Ramírez ¹

¹ Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 72570 Puebla, Pue., Mexico; gabrielgluna@hotmail.com (G.G.-L.); alcdack@gmail.com (A.C.-C.); jesus.sandoval@correo.buap.mx (J.S.-R.)

² Centro de Química, Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 72570 Puebla, Pue., Mexico

³ Laboratorio de Investigación, Herbario y Jardín Botánico Universitario, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 72570 Puebla, Pue., Mexico

⁴ Instituto de Física, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 72570 Puebla, Pue., Mexico; sylvain_bernes@hotmail.com

⁵ Departamento de Física Aplicada, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados–Unidad Mérida, km 6 Antigua Carretera a Progreso, Cordemex, 97310 Mérida, Yuc., Mexico; diana.montalvo@cinvestav.mx (D.M.-G.); marietafernandezh@gmail.com (M.A.F.-H.)

* Correspondence: guadalupe.mghl@correo.buap.mx

Academic Editor: Angelina Angelova

Received: 22 January 2020; Accepted: 1 March 2020; Published: 8 March 2020



Abstract: A new series of bisteroidal esters was synthesized using a spacer group, sterols and sapogenins as substrates. Steroidal dimers were prepared in high yields employing diesters of terephthalic acid as linkages at the 3 β , 3' β steroidal positions. In all attempts to crystallize bisteroids, it was observed that the compounds tended to self-organize in solution, which was detected when employing various solvent systems. The non-covalent interactions (van der Waals) of the steroidal moieties of this series of symmetrical bisteroids, the polarity of the solvents systems, and the different solubilities of the bisteroid aggregates, indeed induce the molecules to self-assemble into supramolecular structures with well-defined organization. Our results show that the self-assembled structures for the bisteroidal derivatives depend on the solvent system used: with hexane/EtOAc, membrane-shaped structures were obtained, while pure EtOAc afforded strand-shaped arrangements. In the CHCl₃/CH₃OH system, thin strands were formed, since van der Waals interactions are lowered in this system, as a consequence of the increased solubility of the bisteroids in CHCl₃. Based on the characterization by SEM and XRD, we show evidence that the phenomenon of self-assembly of bisteroids occurs presenting different morphologies depending on the solvent used. The new steroidal dimer derivatives were characterized by NMR, TGA, DSC, SEM, and XRD. Finally, the molecular structure of one bisteroid was confirmed by single-crystal X-ray analysis.

Keywords: sapogenins; bisteroidal terephthalic esters; spacer groups; self-assembly behaviour

1. Introduction

In the chemistry of steroids, there is a constant interest in performing structural modifications on steroids to optimize their biological and pharmacological activities or to search new properties. Steroid dimers are a particular group that are well known for their rigid, predictable, and inherently asymmetric architecture [1].

Steroid dimers belong to an essential group of pharmacologically active compounds that are predominantly biosynthesized by marine organisms [2,3]. The synthesis of steroid dimers was first



Received 20 August 2020

Accepted 31 August 2020

Edited by O. Blacque, University of Zürich, Switzerland

Keywords: crystal structure; steroids; diosgenin; polymorphism.

CCDC reference: 2026501

Structural data: full structural data are available from iucrdata.iucr.org

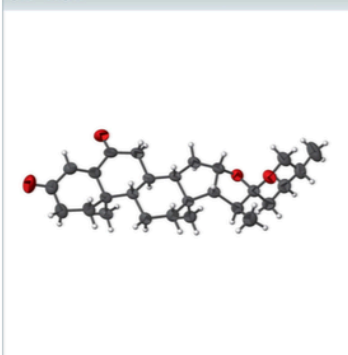
Diosgenin-3,6-dione: second polymorph in space group $P2_12_12_1$

Gabriel Guerrero-Luna,^a Jaquelin Reyes Melchor,^b Sylvain Bernès^{c*} and María-Guadalupe Hernández-Linares^{d,e}^aFacultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 72570 Puebla, Pue., Mexico,^bLicenciatura en Biotecnología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 72570 Puebla, Pue., Mexico, ^cInstituto de Física, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 72570 Puebla, Pue., Mexico, ^dCentro de Química, Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 72570 Puebla, Pue., Mexico, and ^eLaboratorio de Investigación, Herbario y Jardín Botánico Universitario, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 72570 Puebla, Pue., Mexico.

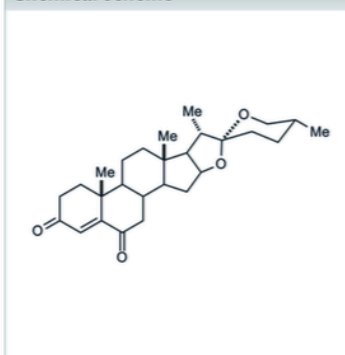
*Correspondence e-mail: sylvain_bernes@hotmail.com

The title steroid, [(25*R*)-spirost-4-en-3,6-dione, $C_{27}H_{38}O_4$], is obtained by oxidation of diosgenin, using the Jones reagent (CrO_3/H_2SO_4). The crystal structure was previously reported in space group $P2_12_12_1$, but nonetheless with the wrong absolute configuration and omitting positions for H atoms [Rajnikant *et al.* (2000). *Mol. Cryst. Liq. Cryst. Sci. Technol. Sect. C*, **12**, 101–110]. The diffraction data set reported herein is for a second polymorph in the same space group, as evidenced by simulated powder patterns. Both forms are characterized by a similar orthorhombic unit cell, and a similar arrangement of the molecules in the crystal structure. However, the conformation of the *A/B* rings in the steroid nucleus is slightly modified, leading to the observed polymorphism.

3D view



Chemical scheme



Structure description

Diosgenin [(3*β*,25*R*)-spirost-5-en-3-ol, $C_{27}H_{42}O_3$] is a natural product that has played a pivotal role in the early stages of the industry of steroidal compounds, including the large-scale synthesis of cortisone, and the manufacturing of the first combined oral contraceptive pills, at Syntex S.A., in Mexico (Djerassi, 1992). Diosgenin treated with the Jones reagent gives the expected oxidation product, with carbonyl groups at C3 and C6. This compound was characterized by X-ray crystallography, and its structure reported twenty years ago (Rajnikant *et al.*, 2000). The reported refinement is rather technically unsound, since all H atoms were omitted in the model and the wrong absolute configuration was assigned to the molecule (see refcode QUPKUH in the CSD; Groom *et al.*, 2016). Since



OPEN ACCESS



Azasteroids from diosgenin: Synthesis and evaluation of their antiproliferative activity

Anselmo A. Martínez-Gallegos^a, Gabriel Guerrero-Luna^b, Alejandra Ortiz-González^c, Maura Cárdenas-García^c, Sylvain Bernès^d, María Guadalupe Hernández-Linares^{e,f,*}

^a Universidad del Papaloapan, Tuxtpec, Oaxaca 68301, Mexico

^b Posgrado en Ciencias Químicas, Benemérita, Universidad Autónoma de Puebla, 72570 Puebla, Pue, Mexico

^c Laboratorio de Fisiología Celular, Facultad de Medicina, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 72570 Puebla, Pue, Mexico

^d Instituto de Física, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 72570 Puebla, Pue, Mexico

^e Centro de Química, Instituto de Ciencias, Benemérita, Universidad Autónoma de Puebla, 72570 Puebla, Pue, Mexico

^f Laboratorio de Investigación Herbario y Jardín Botánico Universitario, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 72570 Puebla, Pue, Mexico

ARTICLE INFO

Keywords:

Sapogenins
Azasteroids
Seco-steroids
β-Lactam
Antiproliferative activity

ABSTRACT

In this work, we report the synthesis of two new azasteroids through the modification of the A and B rings of diosgenin **1**. The 4-azasteroid derivative **12** was prepared in three steps using the α,β -unsaturated-3-keto compound **11** as a precursor, which was first oxidized with $\text{KMnO}_4/\text{KIO}_4$ followed by an oxidative cleavage of ring A, and subsequently cyclized with an ammonium salt, under focused microwave irradiation for a short time of 3 min. A second azasteroid was synthesized, for which the key step was the Beckmann rearrangement of ring B of the oxime **16**, affording the lactam-type enamide **17** in good yield. The methodologies developed for the synthesis of the precursors derivatives **10** and **11** contribute to improved yields, compared to those reported in the literature. The biological activity of the azasteroidal compounds **12** and **17** and their precursors has been evaluated in cervical cancer cells (HeLa), colon (HCT-15), and triple negative breast cancer (MDA-MB-231) lines.

1. Introduction

Steroids have an extensive base of therapeutic uses and have been probed in the treatment of several cancer diseases [1,2], leading to the discovery of some derivatives with selective anticancer activity. For a long time, chemotherapy and therapies based primarily on surgery or radiation therapy have been the only choice to treat cancers of different etiology, with often limited effectiveness [3]; hence, steroidal derivatives are considered to have a great potential as alternative therapies [4], and the interest for the synthesis of modified natural steroids has increased in recent years. Some inactive and active steroidal compounds can be transformed into forms that are more potent by performing modifications on the basic steroid skeleton, using derivatization by the introduction of heteroatoms [5–9], which can generate advantageous alterations in their biological activities. The widely available natural compound diosgenin (**1**, Fig. 1) is used in the pharmaceutical industry as a primary precursor in the synthesis of steroids [10–13]. This fact has stimulated the search for new routes to synthesize steroidal derivatives with optimal biological activity from this starting material.

Some modifications of **1** have resulted in the formation of oxo-, thio- and aza-steroids [14]. The introduction of a heteroatom or the substitution of one or more carbon atoms in the steroid scaffold by a heteroatom affects the chemical properties of the molecule and can modify its biological activity. In recent years, there has been a growing development in the synthesis of azasteroids, which present a range of biological activities, including cytotoxicity, antiatherogenicity, anticarcinogenicity, antifungal and antilipidemic activity. These molecules may also be used as local anesthetic, neuromuscular blocking agents, and inhibitors of steroidal reductases [4,15–24]. An example of this is the inhibition of the enzyme 5α -reductase [25–27] during the conversion of testosterone into 5α -dihydrotestosterone. The formation of the latter is related to adverse health conditions such as benign prostatic hypertrophy, acne, hirsutism in women, and baldness in men [28]. Some azasteroidal compounds active as 5α -reductase inhibitors [29–34] are shown in Fig. 2. Azasteroids have also shown promising activity against benign prostatic hyperplasia (BPH) and prostate cancer [4,35].

Within this class of compounds, 4-azasteroids have been known for their 5α -reductase inhibition activity and some derivatives were

* Corresponding author.

E-mail address: guadalupe.mghl@correo.buap.mx (M.G. Hernández-Linares).

<https://doi.org/10.1016/j.steroids.2020.108777>

Received 28 August 2020; Received in revised form 17 November 2020; Accepted 1 December 2020

Available online 10 December 2020

0039-128X/© 2020 Elsevier Inc. All rights reserved.

7. Espectros de Infrarrojo (IR).

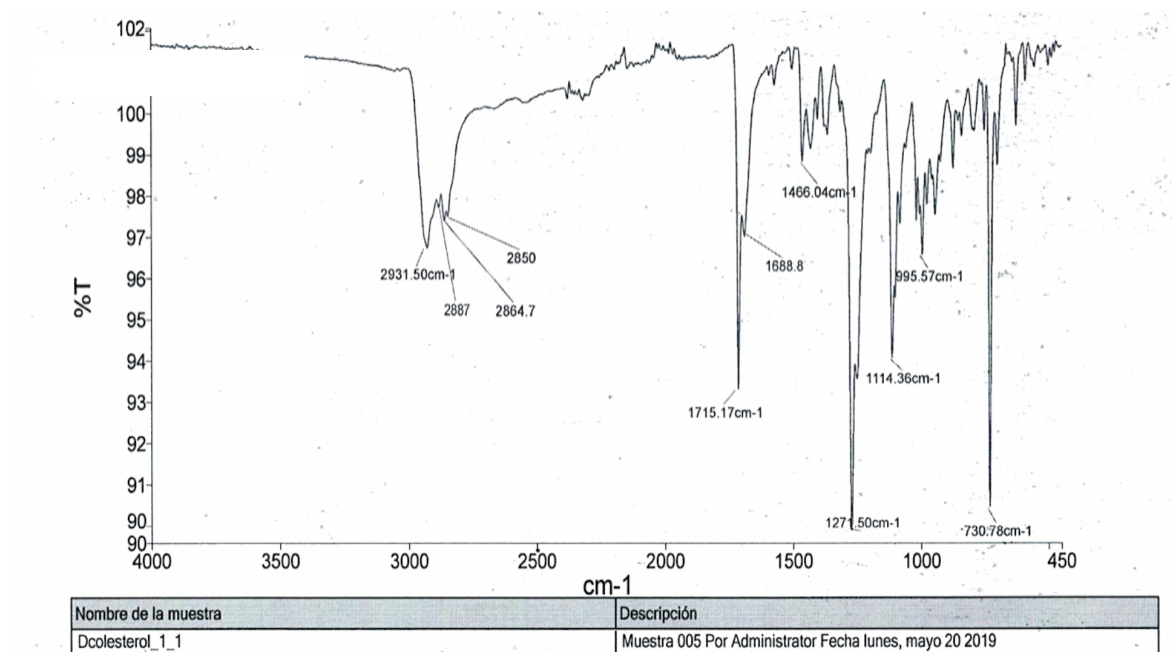


Figura 123. Espectro de IR del bicolesterol **72**.

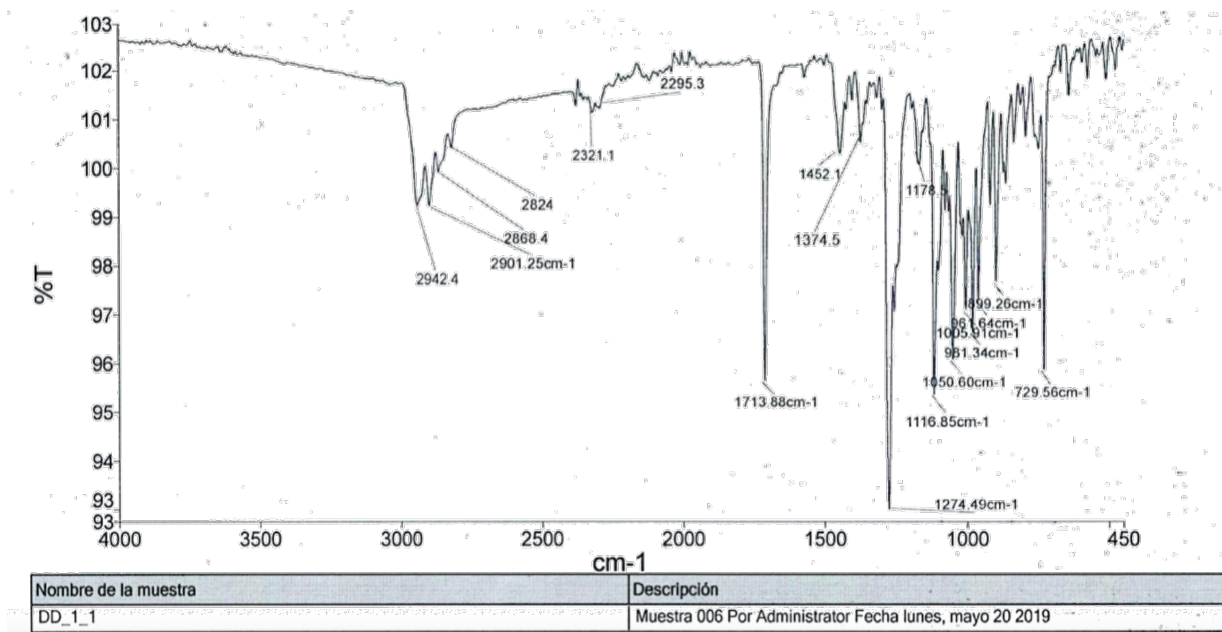


Figura 124. Espectro IR de bidiosgenina **66a**.

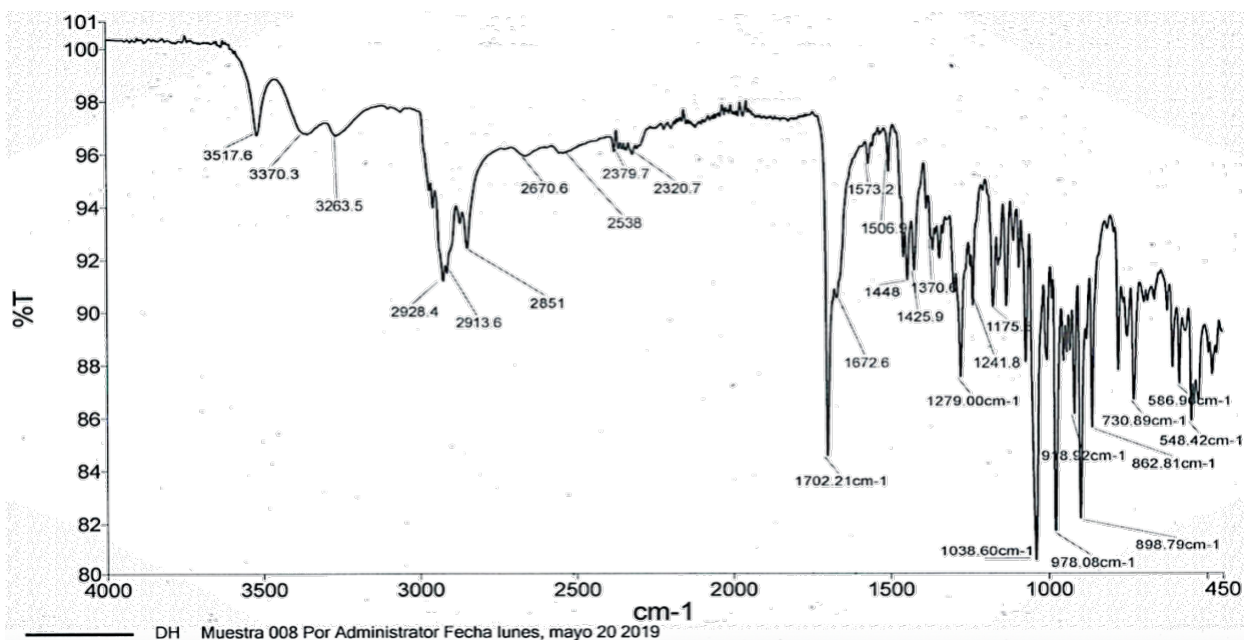


Figura 125. Espectro de IR de Bihecogenina 66b.

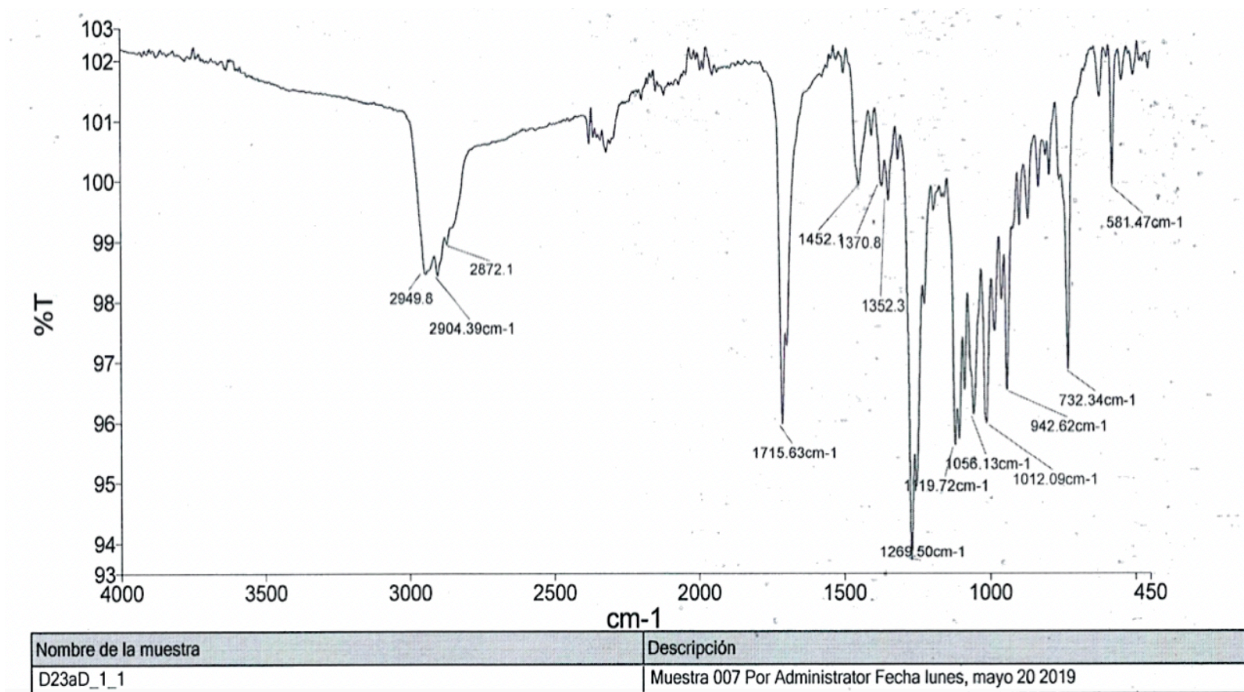


Figura 126. Espectro de IR de la Bi-23-acetildiosgenina 67a.

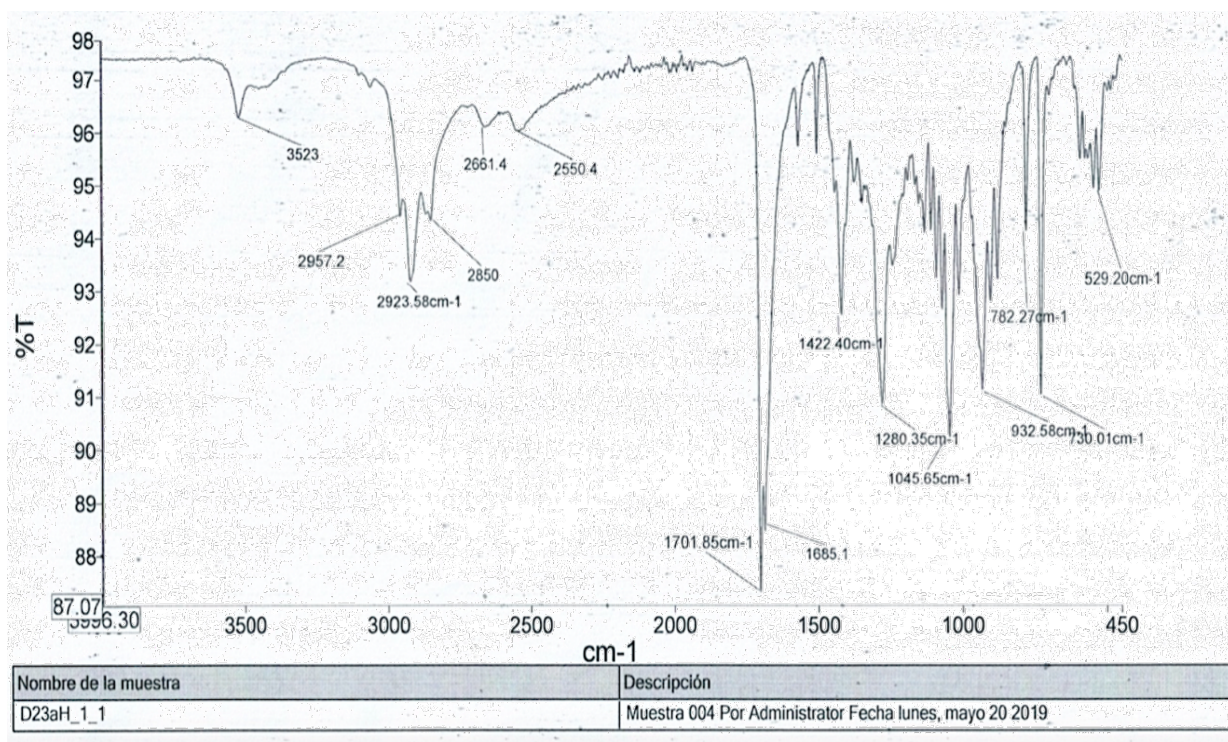


Figura 127. Espectro de IR de Bi-23-acetilhecogenina **10b**.

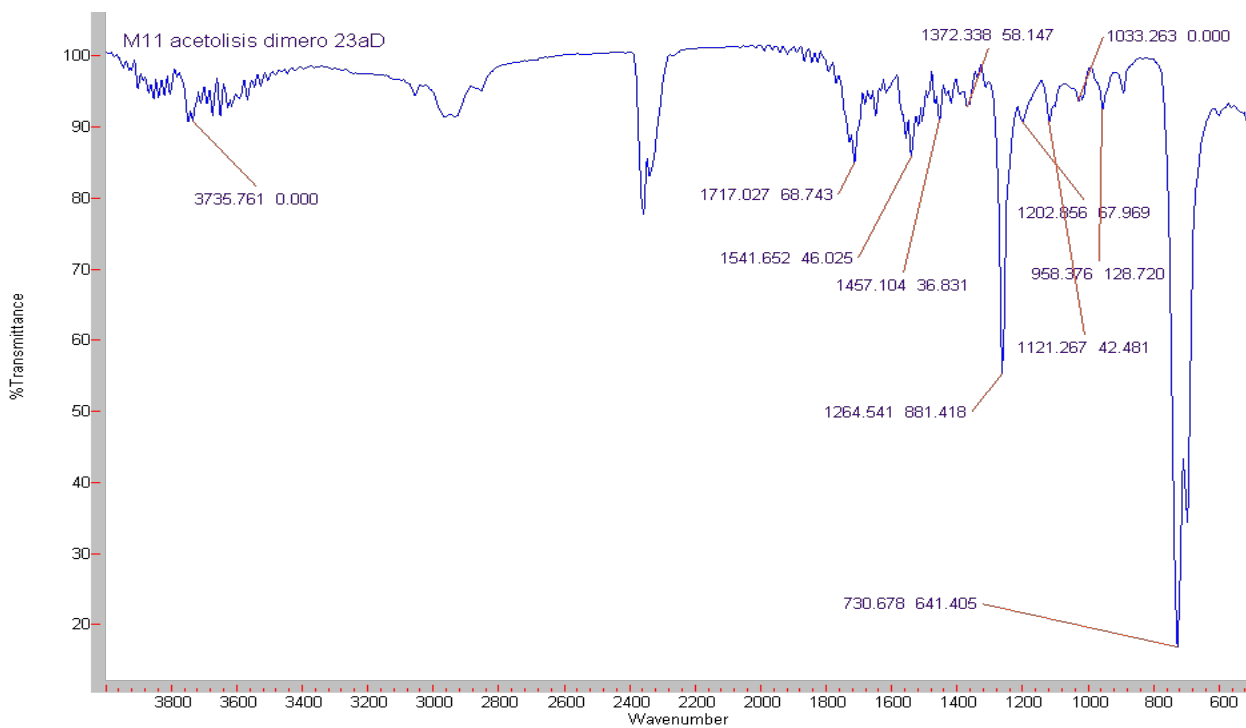


Figura 128. IR del Bifurosteno **69a**.

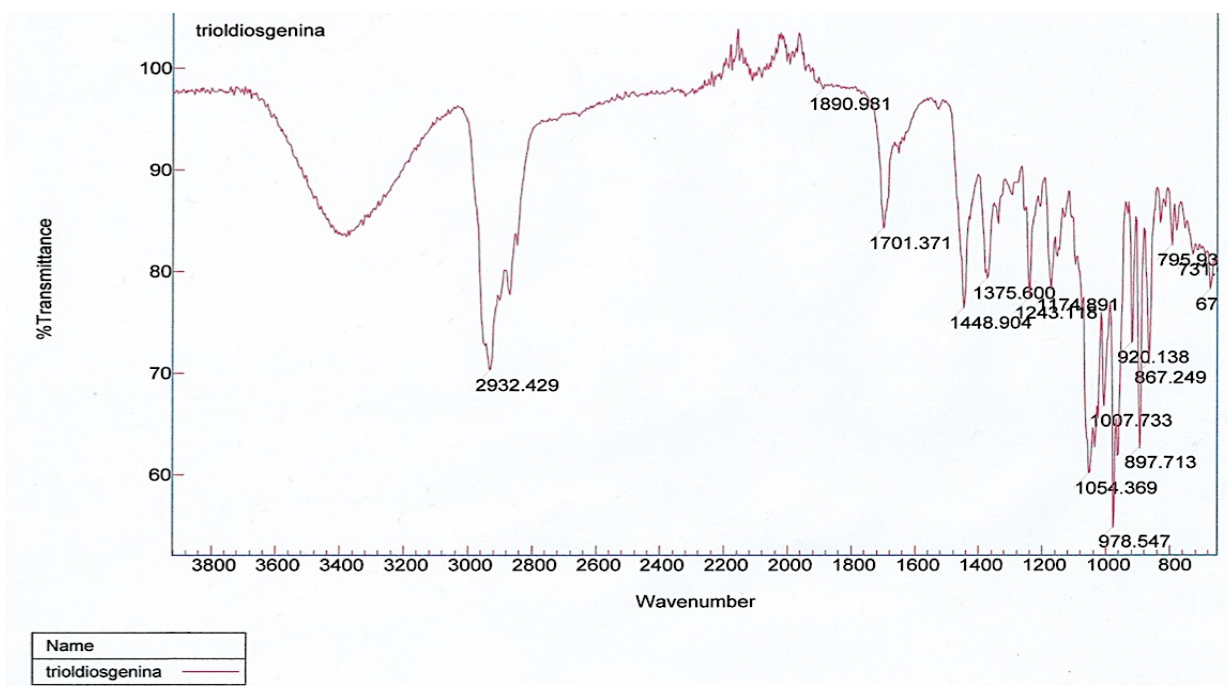


Figura 129. Espectro de IR del triol de diosgenina **82**.

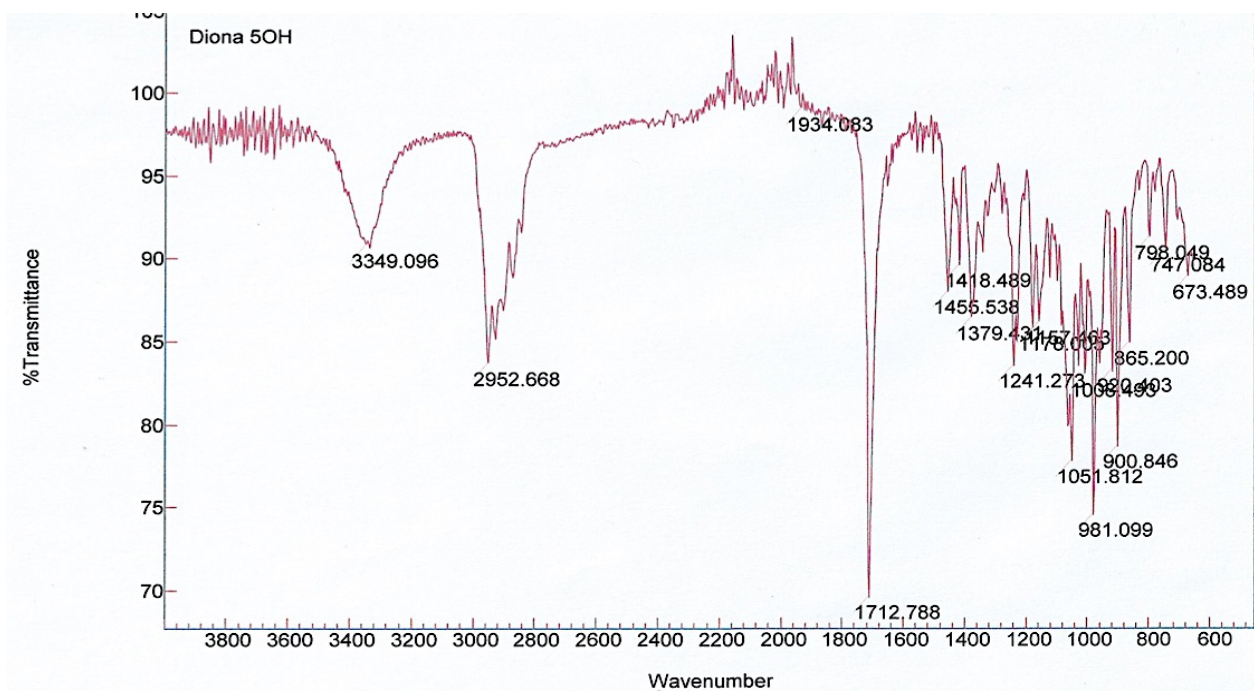


Figura 130. Espectro de IR de la 5-hidroxi-3,6-diona **83**.

Espectros de RMN-HMBC.

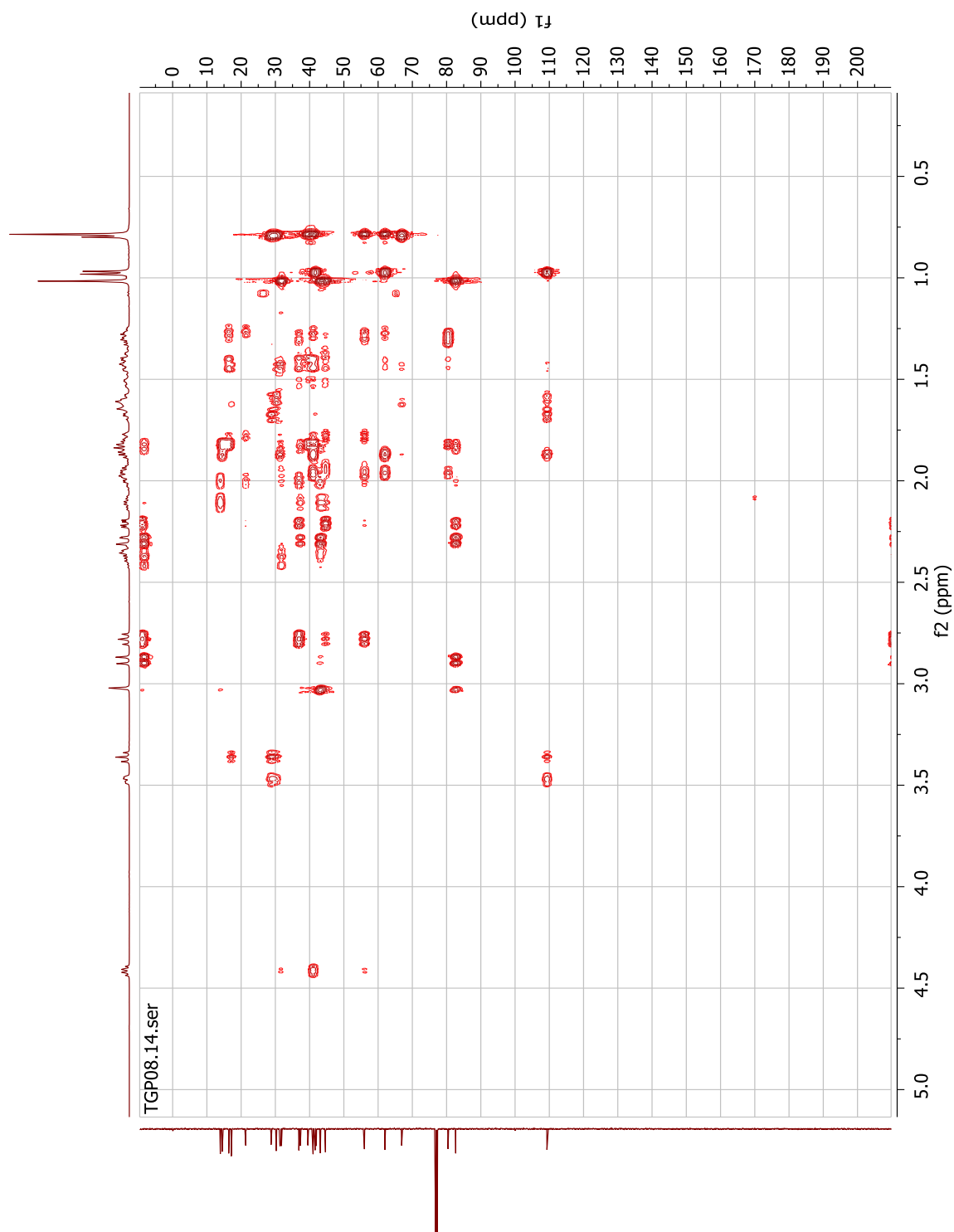


Figura 131. Espectro de RMN HMBC de la 5-hidroxi-3,6-diona **83**.

8 BIBLIOGRAFIA

-
- ¹ Sarker, S. D.; Nahar, L. Chemistry for pharmacy students: general, organic and natural product chemistry. **2007**, John Wiley & Sons, London.
- ² Klyne, W.; Química de los Esteroides 1a. Ed., CECSA, **1970**.
- ³ Griffin, R. W. *Química orgánica moderna*. Nueva York : McGraw-Hill, **1981**, 494.
- ⁴ Dewick, P. M. *John Wiley & Sons. Medicinal Natural Products*. **1997**, 1.
- ⁵ Agrawal, P. K.; Jain, D. C.; Gupta, R. K.; Thakur, R. S. *Phytochemistry* **1985**, 24, 11, 2479.
- ⁶ a) Marker, R.E.; Rohrmann, E. *J. Am. Chem. Soc.* **1939**, 61, 588. b) Marker, R. E.; Rohrmann, E. *J. Am. Chem. Soc.* **1939**, 61, 846. c) Marker, R. E.; Rohrmann, E. *J. Am. Chem. Soc.* **1939**, 61, 3592.
- ⁷ a) Zeferino-Díaz, R.; Hilario-Martínez, J. C.; Rodríguez-Acosta, M.; Sandoval-Ramírez, J.; Fernández-Herrera, M. A.; *Steroids*, **2015**, 98, 126. b) Hilario-Martínez, J. C.; Zeferino-Díaz, R.; Muñoz-Hernández, R.; Hernández-Linares M. G.; Cabellos, J. L.; Merino, G.; Sandoval-Ramírez, J.; Jin, Z.; Fernández-Herrera, M.A. *Org. Lett.* **2016**, 18, 1772. c) Hamid, A; Kaushal, T.; Ashraf, R.; Singh, A.; Gupta, A. C.; Prakash, O.; Sarkar, J.; Chanda, D.; Bawankule, D.U.; Khan, F.; Shanker, K.; Aiyelaagbe, O.O.; Negi, A.S. *Steroids* **2017**, 119, 43-52. d) Martínez-Pascual, R.; Meza-Reyes, S.; Vega-Baez, J.; Merino-Montiel, P. *Steroids* **2017**, 122, 24-33.
- ⁸ Nahar, L.; Sarker, S. D.; Turner, A. B. A review on synthetic and natural steroid dimers:1997-2006. *Curr. Med. Chem.* **2007**, 14, 1349-1370.
- ⁹ Černý, I.; Buděšínský, M.; Pouzar, V.; Drašar, P. Steroids linked with amide bond-extended cholesterol. *Steroids*, **2009**, 74, 88-94.
- ¹⁰ a) M.A. Iglesias-Arteaga, R. Pérez Gil, C.S. Pérez Martínez, F. Coll Manchado. *J Chem Soc Perkin Trans I*, **2001**, 3, 26-66. b) Y. Lopez, R. Santillan, N. Farfan. *Steroids*, **2006**, 71,12-17. c) S. Lee, P.L. Fuchs, *Can J Chem*, **2006**, 84, 1442-1447.
- ¹¹ Meza-Reyes, S., Sandoval-Ramírez, J., Montiel-Smith, S., Hernández-Linares, G., Viñas-Bravo, O., Martínez-Pascual, R., Farfán, N. *Arkivoc*, **2005**, 6, 307-320.
- ¹² Barton, D. H. R.; Magnus, P. D.; Smith, G.; Zurr, D. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1971**, 861-863.
- ¹³ Hernández, R.; Marrero-Tellado, J. J.; Prout, K.; Suárez, E. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 3, 275-277.
- ¹⁴ Díaz, A. C., Merinos, J. P. G., López, Y., Campos, J. B. G., Rosa, E., Santillán, R., Farfán, N., Morzycki, J. W. *Steroids*, **2015**, 100, 36-43.
- ¹⁵ a) Montiel-Smith, S.; Meza-Reyes, S.; Viñas-Bravo, O.; Fernández-Herrera, M. A.; Martínez-Pascual, R.; Sandoval-Ramírez, J.; Fuente, A.; Reyes, M.; Ruiz, J. A. *Arkivoc* **2005** (vi) 127-135. b) Viñas-Bravo, O.; Martínez-Pascual, R.; Vega-Baez, J. L.; Gómez-Calvario, V.; Sandoval-Ramírez, J.; Montiel-Smith, S.; Meza-Reyes, S.; López-De Rosas, A.; Martínez-Montiel, M.; Reyes, M.; Ruiz, J. A. *Steroids* **2012**, 77, 59-66.
- ¹⁶ a) Fernández-Herrera, M. A.; Sandoval-Ramírez, J.; Meza-Reyes, S.; Montiel-Smith, S. *J. Mex. Chem. Soc.* **2009**, 53,126-130. b) Fernández-Herrera, M. A.; López-Muñoz, H.;

- Hernández-Vázquez, J. M. V.; López-Dávila, M.; Escobar-Sánchez, M. L.; Sánchez-Sánchez, L.; Pinto, B.M.; Sandoval-Ramírez, J. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 2474-2484.
- ¹⁷ Zeferino-Díaz, R.; Olivera-Castillo, L.; Davalos, A.; Grant, G.; Kantún-Moreno, N.; Rodríguez-Canul, R.; Bernès, S.; Sandoval-Ramírez, J.; Fernandez-Herrera, M.A. 22-Oxcholestane oximes as potential anti-inflammatory drug candidates. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2019**, *168*, 78-86
- ¹⁸ Martínez-Gallegos, A.; Guerrero-Luna, G.; Ortiz-González, A.; Cárdenas-García, M. Bernès, S.; Hernández-Linares, M.G. Azasteroids from diosgenin: Synthesis and evaluation of their antiproliferative activity, *Steroids* **2021**, *166*, 108777 doi: <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2020.108777>.
- ¹⁹ Hilario-Martínez, J. C.; Huerta, A.; Amaro-Lopez, J.C.; Alatríste, V.; De los Santos, M.G.; Martínez, I.; Bernès, S.; Sandoval-Ramírez, J.; Merino, G.; Luna, F.; Fernandez-Herrera, M.A. Stereoselective synthesis of (26*R*)-26-hydroxydiosgenin and its effect on the regulation of rat ovarian function. *Bioorganic Chemistry* **2021**, *115*, 105189.
- ²⁰ Nahar, L.; Sarker, S. D. Steroid dimers: chemistry and applications in drug design and delivery. **2012**. John Wiley & Sons, London.
- ²¹ Banerji, J.; Chatterjee, A. *Indian J. Chem.* **1973**, *11*, 1056.
- ²² a) Moser, B. R. Review of cytotoxic cephalostatins and ritterazines: isolation and synthesis. *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 487-491. b) Ganesan, A. The dimeric steroid-pyrazine marine alkaloids: challenges for isolation, synthesis, and biological studies. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 611-615.
- ²³ Windaus, A.; Borgeaud, P. Ober die photochemische Dehydrierung des Ergosterins. *Liebig's Annu.* **1928**, *460*, 235-237.
- ²⁴ Bonar-Law, R. P.; Davis, A. P. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 1050.
- ²⁵ a) Bonar-Law, R. P.; Davis, A. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 9829. b) Bonar-Law, R. P.; Davis, A. P.; Dorgan, B. J. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 9855.
- ²⁶ Bonar-Law, R. P.; Davis, A. P.; Murray, B. A. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 1407.
- ²⁷ Bhattarai, K. M.; Bonar-Law, R. P.; Davis, A. P.; Murray, B. A. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 752.
- ²⁸ Pandey, P. S.; Rai, R.; Singh, R. B. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2002**, 918-923
- ²⁹ a) Li, Y.; Dias, J. R. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 283-304. b) Perez-Labrada, K.; Morera, C.; Brouard, I.; Rivera, D.G. Multicomponent ligation of steroids: Creating diversity at the linkage moiety of bis-spirostanic conjugates by Ugi reactions, *ACS Comb. Sci.* **2013**, *15*, 320-330.
- ³⁰ Dulou, R.; Chopin, J.; Raoul, Y. *Memoires Presentes A la Soc. Chim.* **1951**, 616.
- ³¹ McMurry, J. E. Titanium-induced dicarbonyl-coupling reactions. *Acc Chem Res* **1983**, *16*, 405-411.
- ³² Doering, W.; Birladeanu, L.; Cheng, X.; Kitagawa, T.; Sarma, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 4558.
- ³³ Schmidt, A.; Beckert, R.; Weiss, D. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 4299.
- ³⁴ Devaquet, A.; Salem, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 3793.
- ³⁵ Williams, J. R.; Mattei, P. L.; Abdel-Magid, A.; Blount, J. F. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 769.
- ³⁶ Cerny, I.; Budesinsky, Milos, Milos, Pouzar, V.; Drasar, P.. Steroids linked with amide bond-Extended cholesterol. *Steroids* **2009**, *74*, 88-94. 10.1016/j.steroids.2008.09.010.

- ³⁷ Wang, G.T.; Zhao, X.; Li, Z.T. Hydrogen bonded arylamide-linked cholesteryl dimesogenic liquid crystals: A study of the length and side chain effects. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 48-57.
- ³⁸ Alarcón-Manjarrez, C.; Arcos-Ramos, R.; Flores Álamo, M.; Iglesias-Arteaga, M.A. Synthesis, NMR and crystal characterization of dimeric terephthalates derived from epimeric 4,5-seco-cholest-3-yn-5-ols. *Steroids* **2016**, *109*, 66-72. ISSN 0039-128X, <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2016.03.001>.
- ³⁹ Pettit, G. R.; Inoue, M.; Kamano, Y.; Herald, D. L.; Arm, C.; Dufresne, C.; Christie, N. D.; Schmidt, J. M.; Doubek, D. L.; Krupa, T. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 2006.
- ⁴⁰ Mayorquín-Torres, M. C.; Navarro-Huerta, A.; Maldonado-Domínguez, M.; Flores-Álamo, M.; Rodríguez-Molina, B.; Iglesias-Arteaga, M. Palladium-Catalyzed Generation of ortho-Quinone Methides. A Three-Component Synthesis of L-Shaped Dimeric Steroidal Scaffolds. *J. Org. Chem.* **2021**, *86*, 4112-4120.
- ⁴¹ Hoffman, S.; Kumpf, W., Z. *Chem.*, **1986**, *8*, 293.
- ⁴² Shawakfeh, K. Q.; Al-Ajlouni, A., M.; Ibdah, A. *Acta Chim. Slov.* **2002**, *49*, 805-813.
- ⁴³ Nahar, L. and Turner, A. B. Synthesis of ester-linked lithocholic acid dimers. *Steroids* **2003**, *68*, 1157-1161.
- ⁴⁴ Gouin, S.; Zhu, X. X. Synthesis of 3a- and 3b-dimers from selected bile acids. *Steroids* **1996**, *61*, 664-669.
- ⁴⁵ Paryzek, Z.; Piasecka, M.; Joachimiak, R.; Luks, E.; Radecka-Paryzek, W. New steroid dimer derived from cholic acid as receptor for lanthanum (III) and calcium (II) nitrates. *Journal of Rare Earths* **2010**, *28*, 56-60.
- ⁴⁶ McKenna, J.; McKenna, J. M.; Thornthwaite, D. W. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1977**, 809.
- ⁴⁷ Guthrie, J. P.; Cullimore, P. A.; McDonald, R. S.; O'Leary, S. *Can. J. Chem.* **1982**, *60*, 747.
- ⁴⁸ Burrows, C. J.; Sauter, R. A. *J. Inclusion Phenom.* **1987**, *5*, 117.
- ⁴⁹ Kobuke, Y.; Nagatani, T., *J. Org. Chem.*, **2001**, *66*, 5094.
- ⁵⁰ Phutdhawong, W.S.; Ruensamran, W.; Phutdhawong, W. Synthesis and preliminary evaluation of dimeric-28- homobrassinosteroids for plant growth regulators. *Steroids* **2016**, *116*, 38-44
- ⁵¹ Mayorquín-Torres, M.; Colin-Molina, A.; Pérez-Estrada, S.; Annia Galano, A.; Rodríguez-Molina, B.; Iglesias-Arteaga, M A. *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 3768.
- ⁵² Ramos-Enríquez, M. A.; Lucie Rárová, L.; Iglesias-Arteaga, M. A. Synthesis of dimeric spirostanols linked through a 1,4-dimethylidenebenzene moiety by double BF₃·Et₂O-catalyzed aldol condensation of steroid sapogenins and terephthalaldehyde. *Steroids* **2018**, *140*, 58-61.
- ⁵³ Ramos-Enríquez, M.A.; Romero-Avila, M.; Iglesias-Arteaga, M.A. Reductive desymmetrization of steroid dimers. *Steroids* **2021** *176*, 108918
- ⁵⁴ Nahar, L.; Sarker, S.D. A review on steroid dimers: 2011-2019. *Steroids* **2020**, *164*, 108736.
- ⁵⁵ Ramanathan, N.; Currie, A.L.; Ross Colvin, J., *Nature*, **1961**, *190*, 779.
- ⁵⁶ Martin-Borret, O.; Ramasseul, R.; Rassat, R., *Bull. Soc. Chim. Fr. II*, **1979**, 401-408.
- ⁵⁷ Wang, J.; W.; Qi, W.; Lei, N.; Chen, X. *Colloids Surf. A* **2019** *570*, 462-470.

- ⁵⁸ Huang, J.L.; Wang, S.; Wu, G.L.; Yan, L.; Dong, L.; Lai, X.P.; Yin, S.C.; Song, B. Mono-molecule-layer nano-ribbons formed by self-assembly of bolaamphiphiles. *Soft Matter* **2014**, *10*, 1018–1023.
- ⁵⁹ Dhinakaran, M.K.; Soundarajan, K.; Das, T.M. Synthesis of novel benzimidazole-carbazole-N-glycosylamines and their self-assembly into nanofibers. *N. J. Chem.* **2014**, *38*, 4371–4379.
- ⁶⁰ Zhao, H.Y.; Chen, H.B.; Gao, Y.; Li, H.M. Self-assembly of sodium 4-(4, 5-diphenyl-1H-imidazol-2-yl) benzoate into ultralong microbelts. *Cryst. Eng. Comm.* **2014**, *16*, 7507–7514.
- ⁶¹ Tambara, K.; Olsen, J.C.; Hansen, D.E.; Dan Panto, G. The thermodynamics of the self-assembly of covalently linked oligomeric naphthalenediimides into helical organic nanotubes. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 607–614.
- ⁶² Liu, X.X.; Wu, F.C.; Tian, Y.; Wu, M.; Zhou, Q.; Jiang, S.D.; Niu, Z.W. Size dependent cellular uptake of rod-like bionanoparticles with different aspect ratios. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 24567.
- ⁶³ a) Gao, Y.X.; Lu, J.R.; Wu, J.D.; Huand, J.; Ju, Y. Water tuned nano/micro-structures in a redox-responsive supramolecular gel. *RSC Adv.* **2014**, *4*, 63539–63543. b) Gao, Y.X.; Hao, J.; Wu, J.D.; Zhang, X.; Huand, J.; Ju, Y. Solvent-directed assembly of a pyridinium-tailored methyl oleanolate amphiphile: Stepwise growth of microrods and nanofibers. *Langmuir* **2016**, *32*, 1685–1692. c) Yang, H.K. Structure and solvent-triggered influences in the self-assembly of polyoxometalate–steroid conjugates. *RSC Adv.* **2016**, *6*, 66431–66437.
- ⁶⁴ Koshkina, O.; Lang, T.; Thiermann, R.; Docter, D.; Stauber, R.H.; Secker, C.; Schlaad, H.; Weidner, S.; Mohr, B.; Maskos, M.; et al. Temperature-triggered protein adsorption on polymer-coated nanoparticles in serum. *Langmuir* **2015**, *31*, 8873–8881.
- ⁶⁵ a) Draper, E.R.; Mears, L.L.E.; Castilla, A.M.; King, S.M.; McDonald, T.O.; Akhtar, R.; Adams, D.J. Using the hydrolysis of anhydrides to control gel properties and homogeneity in pH-triggered gelation. *RSC Adv.* **2015**, *5*, 95369–95378. b) Zhang, S.; Yang, S.; Zang, J.; Yang, R.; Zhao, G.; Xu, C. Self-assembly of NH₂-(α , l-lysine)5-COOH and SDS into nanodiscs or nanoribbons regulated by pH. *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 9943–9946.
- ⁶⁶ Sutar, P.; Suresh, V.M.; Maji, T.K. Tunable emission in lanthanide coordination polymer gels based on a rationally designed blue emissive gelator. *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 9876–9879.
- ⁶⁷ Xie, F.; Qin, L.; Liu, M.H. A dual thermal and photo-switchable shrinking–swelling supramolecular peptide dendron gel. *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 930–933.
- ⁶⁸ Xie, F.; Qin, L.; Liu, M.H. *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 930–933.
- ⁶⁹ Wang, Y.Y.; Zhou, D.Y.; Li, H.N.; Li, R.R.; Zhong, Y.Y.; Sun, X. *J. Mater. Chem. C*, **2014**, *2*, 6402–6409.
- ⁷⁰ Dai, J.D.; Wei, X.; Cao, Z.J.; Zhou, Z.P.; Yu, P.; Pan, J.M.; Zou, T.B.; Li, C.X.; Yan, Y.S. *RSC Adv.*, **2014**, *4*, 7967–7978.
- ⁷¹ Majumder, P.; Singh, A.; Wang, Z.; Dutta, K.; Pahwa, R.; Liang, C.; Andrews, C.; Patel, N.; Shi, J.; de Val, N.; Walsh, S.; Jeon, A. B.; Karim, B.; Hoang C.; Schneider, J.P. *Nanotechnol.* **2021**, <https://doi.org/10.1038/s41565-021-00961-w>.
- ⁷² Gawande, M.; Shelke, S.; Zboril, R.; Varma, R.S. *Acc. Chem. Res.* **2014**, *47*, 1338–1348

- ⁷³ a) *Tetrahedron*, **2001**, 57, 9225-9283. b) Kappe, C. O.; Stadler, A. *Microwaves in Organic and Medicinal Chemistry Methods and Principles in Medicinal Chemistry*, Vol. 25, 1ra Edición, 2005. ISBN 3-527-31210-2 - Wiley-VCH, Weinheim
- ⁷⁴ Porta, R.; Benaglia, M.; Puglisi, A. *Org. Process Res. Dev.* **2016**, 20, 2-25
- ⁷⁵ Hernández-Linares, M.G.; Guerrero-Luna, G.; Pérez-Estrada, S.; Ellison, M.; Ortin-Avilés, M.M.; Garcia-Garibay, M. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, 137 (4), 1679.
- ⁷⁶ a) Hwang, J.J.; Iyer, S.N.; Li, L.S.; Claussen, R.; Harrington, D.A.; Stupp, S.I. Self-assembling biomaterials: Liquid crystal phases of cholesteryl oligo (L-lactic acid) and their interactions with cells. *PNAS* **2002**, 99, 9662-9667. b) Dahl, J. S.; Dahl, C. E.; Bloch, K. Effect of cholesterol on macromolecular synthesis and fatty acid uptake by *Mycoplasma capricolum*. *J. Biol. Chem.* **1981**, 256, 87-91. c) Dahl, J. S.; Dahl, C. E. Proteolipid formation in *Mycoplasma capricolum*. Influence of cholesterol on unsaturated fatty acid acylation of membrane proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1983**, 80, 692-696. d) Yeagle, P. L. Cholesterol and the cell membrane. *Biochim. Biophys. Acta* **1985**, 822, 267-287. e) Yeagle, P. L. Modulation of membrane function by cholesterol. *Biochimie* **1991**, 73, 1303-1310. f) Guo, Z.H.; Liu, X.F.; Hu, J.S.; Yang, L.Q.; Chen, Z.P. Synthesis and Self-Assembled Behavior of pH-Responsive Chiral Liquid Crystal Amphiphilic Copolymers Based on Diosgenyl-Functionalized Aliphatic Polycarbonate. *Nanomaterials* **2017**, 7, 169.
- ⁷⁷ a) Soto, V.H.; Alvarez, M.; Meijide, F.; Trillo, J.V.; Antelo, A.; Jover, A.; Galantini, L.; Vázquez-Tato, J. Ice-like encapsulated water by two cholic acid moieties. *Steroids* **2012**, 77, 1228-1232. b) Campanelli, A.R.; Candeloro de Sanctis, S.; Giglio, E.; Pavel, N.V.; Quagliata, C. From crystal to micelle: a new approach to the micellar structure. *J. Incl. Phenom. Macromol. Chem.* **1989**, 7, 391-400. c) Soto VH, Jover A, Galantini L, Meijide F, Vázquez Tato J. Crystal structure of the supramolecular linear polymer formed by the self-assembly of mono-6-deoxy- 6-adamantylamide-b-cyclodextrin. *Acta Crystallogr. B* **2004**, B60, 204-210.
- ⁷⁸ Bertolasi, V.; Bortolini, O.; Fantin, G.; Fogagnolo, M.; Perrone, D. Preparation and characterization of some keto-bile acid azines. *Steroids* **2007**, 72, 756-764.
- ⁷⁹ Bai, X.; Barnes, C.; Pascal, R.A.; Chen, X.; Dias, J.R. Bile acid-based cage compounds with lipophilic outer shells and inner cavities. *Org. Lett.* **2011**, 13, 3064-3067.
- ⁸⁰ Ghosh, S.; Choudhury, A.R.; Guru, R.T.N.; Maitra, U. Selective and unusual fluoride ion complexation by a steroidal receptor using OH---F and CH---F interactions: a new motif for anion coordination? *Org. Lett.* **2005**, 7, 1441-1444.
- ⁸¹ Dias, J.R.; Pascal, Jr. R.A.; Morrill J.; Holder, A.J.; Gao, H.; Barnes, C. Remarkable structures of cyclotri(deoxycholate) and cyclotetra(24-norcholate) acetate esters. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 4647-4652.
- ⁸² Spek, A. L. Structure validation in chemical crystallography. *Acta Cryst.* **2009**, D65, 148-155.
- ⁸³ Spek, A. L. PLATON SQUEEZE: a tool for the calculation of the disordered solvent contribution to the calculated structure factors. *Acta Cryst.* **2015**, C71, 9-18.
- ⁸⁴ Loskyl, J.; Maier, W.F.; Stoewe, K. Application of a Simultaneous TGA-DSC Thermal Analysis System for High-Throughput Screening of Catalytic Activity. *ACS Comb. Sci.* **2012**, 14, 600-604.
- ⁸⁵ Frizon, T.E.A.; Vieira, AA.; Giacomelli, FC.; Cercena, R.; Dal Bo, A. ; Zapp, E.; Junca, E. ; Chepluki, AA.; Tomasi, CD.; Ribeiro, LB.; Saba, S. ; Rafique, J. Synthesis of cholesterol

containing unsymmetrical dimers: a new series of liquid crystals. *Liquid Crystals*, **2021**, DOI10.1080/02678292.2021.2007424

⁸⁶ Vyazovkin, S.; Burnham, A.K.; Favregeon, L.; Koga, N.; Moukhina, E.; Pérez-Maqueda, L.A.; Sbirrazzuoli, N. ICTAC Kinetics Committee recommendations for analysis of multi-step kinetics. *Thermochimica Acta* **2020**, 689, 178597.

⁸⁷ *Macromolecules* **2022**, 55, 1139-1152.

⁸⁸ Jehannin, M.; Rao, A.; Cölfen, H. New horizons of nonclassical crystallization. *J. Am. Chem. Soc.* **2019** 141 (26), 10120-10136

⁸⁹ Nahar, L.; Turner, A. B. Synthesis of ester-linked lithocholic acid dimers. *Steroids* **2003**, 68, 1157-1161.

⁹⁰ Dollase, W.A. [Correction of intensities for preferred orientation in powder diffractometry: application of the March model](#). *J. Appl. Cryst.* **1986**, 19, 267-272.

⁹¹ Zolotoyabko, E. Determination of the degree of preferred orientation within the March–Dollase approach. *J. Appl. Cryst.* **2009**, 42, 513-518.

⁹² Macrae, C.F.; Bruno, I.J.; Chisholm, J.A.; Edgington, P.R.; McCabe, P.; Pidcock, E.; Rodriguez-Monge, L.; Taylor, R.; van de Streek, J.; Wood, P.A. [Mercury CSD 2.0 - new features for the visualization and investigation of crystal structures](#). *J. Appl. Cryst.* **2008**, 41, 466-470.

⁹³ Montiel-Smith, S.; Meza-Reyes, S.; Viñas-Bravo, O.; Fernández-Herrera, M. A.; Martínez-Pascual, R.; Sandoval-Ramírez, J.; Fuente, A.; Reyes, M.; Ruiz, J. *Arkivoc*, **2005**, vi, 127-135

⁹⁴ Iglesias-Arteaga, M.A.; Símuta-López, E.M.; Xochihua-Moreno, S.; Viñas-Bravo, O.; Montiel Smith, S.; Meza Reyes, S.; Sandoval-Ramírez, J. *J. Braz. Chem. Soc.* **2005**, 16, 381-385.

⁹⁵ Rajnikant, V., Goswami, K. N., Gupta, V. K., Bhutani, K. K., Magotra, D. K. *Mol. Cryst. Liq. Cryst. Sci. Technol. Sect. C*, **2000**, 12, 101-110.

⁹⁶ Martínez-Gallegos, A.; Guerrero-Luna, G.; Ortiz-González, A.; Cárdenas-García, M. Bernès, S.; Hernández-Linares, M.G. Azasteroids from diosgenin: Synthesis and evaluation of their antiproliferative activity, *Steroids* **2021**, 166, 108777.

⁹⁷ Stoe & Cie, X-Area and X-RED32, Stoe & Cie, Darmstadt, Germany, **2018**.

⁹⁸ Perrin, P. D.; Armarego, W. D. F. *Purification of Laboratory Chemicals* 3a Ed. Pergamon Press: Oxford **1989**.

⁹⁹ Kaufman, S.; Rosenkranz, G., *J. Org. Chem.* **1978**, 70, 3502.

¹⁰⁰ Sandoval-Ramírez, J.; Castro-Méndez, A.; Meza-Reyes, S.; Reyes-Vázquez, F.; Santillán, R.; Farfán, N. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 5143.