


# Obtención del glicoconjugado ácido litocólico-triazol-alofuranosa

Reyes García Itzel<sup>1</sup>, Ramírez Domínguez Elsie<sup>1</sup>, García Martínez Cirilo<sup>1</sup>, Lomas Romero Leticia<sup>2</sup>, Negrón Silva Guillermo Enrique\*<sup>1</sup>, Corona Sánchez Ricardo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma Metropolitana, Departamento de Ciencias Básicas. Av. San Pablo No. 420, Col. Nueva el Rosario, Azcapotzalco, Ciudad de México, C.P. 02128, México.

<sup>2</sup>Universidad Autónoma Metropolitana, Departamento de Química, Av. San Rafael Atlixco No. 186, Ciudad de México, C.P. 09340. México

\*Autor para correspondencia: gns@azc.uam.mx

ORCID : 0000-0002-0056-2105

## Recibido:

15/mayo/2023

## Aceptado:

09/octubre/2023

## Palabras clave:

Ácido litocólico,  
1,2,3 triazol,  
CuI (I)

## Keywords:

Lithocholic acid,  
1,2,3 triazole,  
CuI (I)

## RESUMEN

Los ácidos biliares son importantes compuestos naturales con propiedades ambifílicas y propiedades fisiológicas, entre los ácidos biliares la estructura con mayor contenido lipofílico se encuentra el ácido litocólico, el cual es producido principalmente por la microbiota intestinal y es eficaz en la regulación de procesos biológicos y además ha sido empleado como bloque sintético para la obtención de moléculas de carácter químico empleadas en diversas aplicaciones biológicas debido a la presencia de grupos hidroxilos. En la estructura del ácido litocólico es fácil llevar a cabo la transformación a otro grupo funcional como azidas o propargilos que permiten acceder a una reacción de ciclo adición [3+2] empleando como catalizador CuI (I) y de esta manera obtener 1,2,3 triazoles que funjan como "linker" entre otro grupo de compuestos con el objetivo de potencializar su actividad biológica.

## ABSTRACT

Bile acids are important natural compounds with ambiphilic properties and physiological properties. Among the bile acids, the structure with the highest lipophilic content is lithocholic acid, which is mainly produced by the intestinal microbiota and is effective in the regulation of biological processes and has also been used as a synthetic block to obtain chemical molecules used in various biological applications due to the presence of hydroxyl groups in the structure of lithocholic acid is easy to carry out the transformation to another functional group as azides or propargyls. These compounds can allow access to a cycle addition reaction [3 + 2] using CuI (I) as a catalyst and thus obtain 1, 2,3 triazoles that act as "linker" between another group of compounds in order to enhance their biological activity.

## Introducción

Los productos naturales son compuestos que producen los organismos vivos. Dentro de este grupo se encuentran los esteroides y un ejemplo de este grupo de compuestos son los ácidos biliares los cuales son importantes compuestos naturales con propiedades ambifílicas debido a su estructura y propiedades fisiológicas (Kloss F, et. Al), entre los ácidos biliares la estructura con mayor contenido lipofílico es el ácido litocólico, el cual es producido principalmente por el microbiota intestinal y es eficaz en la regulación de procesos biológicos, (AnandKumar, 2017) además tiene efecto antiproliferativo al inducir apoptosis en células de cáncer de mama (Dahmad, 2019) y presenta citotoxicidad selectiva para tumores cerebrales infantiles y en cáncer de próstata humano y en concentraciones altas no afecta las células sanas. El ácido litocólico (LCA) es un inhibidor moderado de la proteína tirosina fosfatasa-1B, PTP1B, que está reconocida como una potente diana para la terapia de la diabetes. Por otro lado, también se encuentra al grupo de los carbohidratos los cuales son bloques sintéticos ampliamente utilizados debido a su inherente quiralidad y su accesible transformación en otros carbohidratos a partir de uno de ellos. La síntesis de nuevos conjugados esteroidales conlleva a la posibilidad de obtener compuestos con alta aplicación biológica. El uso de la química “click” para sintetizar nuevos compuestos esteroidales es muy atractivo desde el punto de vista farmacológico y biológico ya que mediante esta metodología se pueden generar anillos con enlaces carbono-heteroátomos. Además de que esta química presenta una alta selectividad y condiciones simples de reacción como el uso de varios disolventes incluyendo agua y como consecuencia una fácil extracción del producto (Salunke et. al, 2006). La reacción de Huisgen (Sharpless et. al, 2004) es especialmente importante (ciclo adición 1,3 dipolar) y esta ocurre entre un alquino terminal y un azida en presencia de Cu (I) como catalizador y este es un método conveniente para la obtención de 1, 2, 3 triazoles ya que pueden utilizarse una variedad de catalizadores, temperaturas que son la causa de regioselectividad de las reacciones de ciclo adición. La combinación de estos dos grupos de compuestos permite acceder a moléculas híbridas complejas que pueden tener una amplia aplicación biológica (Valconet et. al).

En este trabajo se presenta la obtención a partir de la azida derivada de la  $\alpha$ -D-glucofuranosa y un alquino terminal derivado a partir del ácido litocólico, con el objetivo de formar un 1,2,3-triazol-1,4-disustituido híbrido con potencial aplicación biológica.

## Metodología

### *Síntesis del metil, 3 $\alpha$ -hidroxi-5 $\beta$ -colane-24-oato (2)*

En un matraz de fondo redondo de 100 mL provisto de agitador magnético se adicionó ácido litocólico 0.5 g (1.32 mmol) y 2.35 mL de metanol, la mezcla se llevó a 0°C y entonces se añadió el cloruro de acetilo 0.48 mL (6.6 mmol). La reacción se mantuvo a 0°C durante 24 h y después de este tiempo se agregó agua (10 mL) a la mezcla de reacción. El precipitado resultante de metil litocolato fue filtrado y secado. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna con gel de sílice en un sistema 4:1 Hexano: AcOEt obteniendo un rendimiento del 98% y un punto de fusión de 127-128°C. Los datos espectroscópicos y punto de fusión corresponden a los reportados por (Karabulut et. al, 2020).

### *Obtención del Metil 3 $\alpha$ -Propargildeoicolato (3)*

A una solución de 2 0.51g (1.30 mmol) en 15 mL de tetrahidrofurano anhidro, fue adicionado hidruro de sodio 0.21 g, (5.2 mmol), la solución se agitó durante una hora a 50 °C, después se añadió bromuro de propargilo 0.34 mL (3.6 mmol), la mezcla de reacción se mantuvo durante 24 horas a 50°C y posteriormente se llevó a temperatura ambiente adicionando agua. entonces el disolvente fue evaporado bajo presión reducida y se adicionó 10 x 3 mL de acetato de etilo para su extracción. finalmente, el crudo de reacción se purificó por columna cromatografica en un sistema hexano/ acetato de etilo (8:1) obteniendo un rendimiento del 40%. Los datos espectroscópicos corresponden a los reportados en la literatura (Pandey et. al, 2011).

### *Obtención del azida 1,2:5,6-di-isopropiliden- $\alpha$ -D-alofuranosa (5)*

La preparación del azida se llevó a cabo mediante la metodología reportada por el grupo de trabajo (Pacheco et. al, 2020)

### *Preparación del 1, 2, 3 triazol (6)*

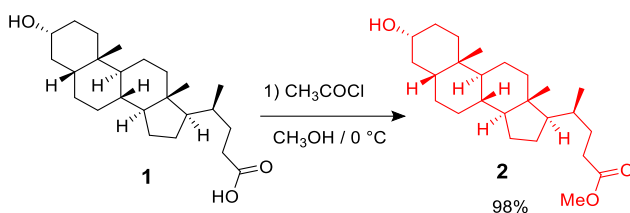
En un tubo de sellado, provisto de agitador magnético se pesó 0.1 g (0.23 mmol) del metil 3 $\alpha$ -propargildeoicolato (2) y la azida derivada (5) 0.08 g (0.28 mmol), así como también el yoduro de cobre 0.022 g, (0.12 mmol), la *N, N*-diisopropiletilamina 0.062 mL (0.23 mmol) y 0.003g (0.023 mmol) de ascorbato de sodio; una vez agregados los reactivos se añadió 5 mL de una mezcla etanol:agua (3:1). La reacción se llevó a 100° C con agitación constante, durante 24 horas y al finalizar, se adicionó 5 mL de etanol, se filtró con celita y el disolvente se evaporó bajo presión reducida.

El crudo de reacción se purificó en una columna cromatográfica con gel de sílice, en un sistema de disolventes acetato de etilo: hexano en relación 4:1. El producto se obtuvo como un líquido amarillo **6** con un rendimiento del 20 %.

## Resultados y discusión

Para poder llevar a cabo la reacción CuAAC fue necesario sintetizar los fragmentos azida y propargilo.

La síntesis inició llevando a cabo la esterificación del ácido litocólico empleando el cloruro de acetilo en metanol a 0°C para la obtención del derivado **2**, el cual se ocupó sin purificar como materia prima para la obtención del siguiente compuesto. Esquema 1



Esquema 1. Esterificación del ácido litocólico 2.

El análisis del producto se llevó a cabo mediante espectroscopia infrarroja donde pudimos observar la disminución de la banda característica del grupo hidroxilo en  $3352.88\text{ cm}^{-1}$  y también se puede resaltar la banda del grupo carbonilo en  $1732.32\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al grupo carbonilo del éster formado. Figura 1

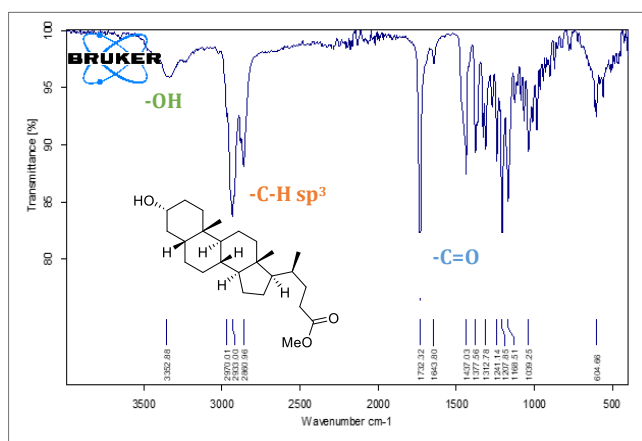
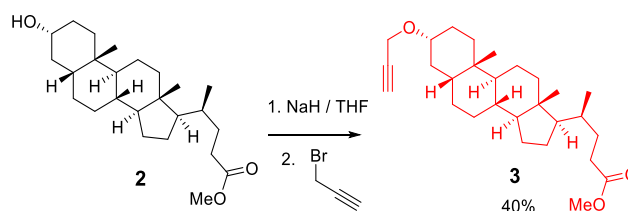


Figura 1. Espectro de IR del ácido litocólico esterificado.

Con el éster **2** a continuación se llevó a cabo la reacción de propargilación del alcohol secundario perteneciente a la estructura del ácido litocólico. La reacción se llevó a cabo empleando como base hidruro de sodio en tetrahidrofurano anhidro y la adición del bromuro de propargilo se mantuvo a una temperatura de  $50^\circ\text{C}$  durante 24 horas obteniendo de esta forma el primer fragmento necesario para llevar a cabo la reacción de ciclo adición. Esquema 2.



Esquema 2. Síntesis del alquino 3.

Para la elucidación del compuesto **3** también se analizó mediante espectroscopia de IR donde se observó la vibración característica  $-\text{C}-\text{C}-\text{sp}$  en  $3518.30\text{ cm}^{-1}$  y en  $1711.78\text{ cm}^{-1}$  la vibración perteneciente al grupo carbonilo, ver figura 2.

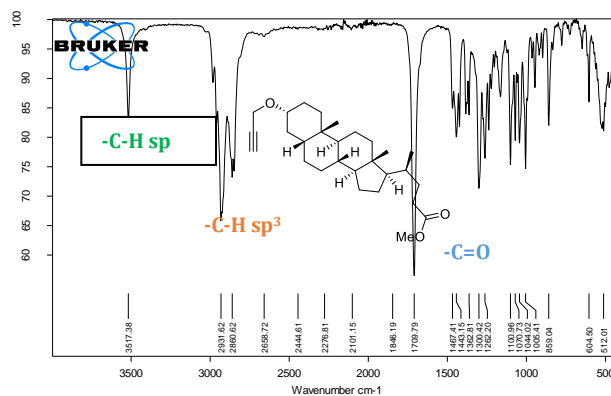
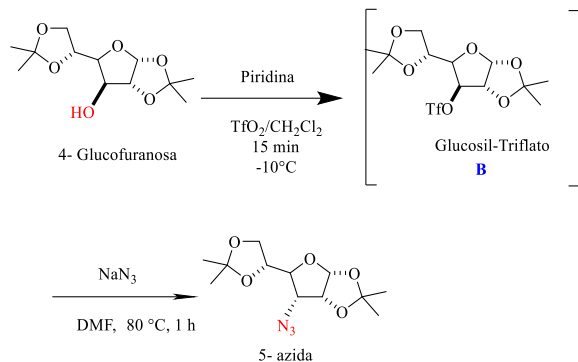


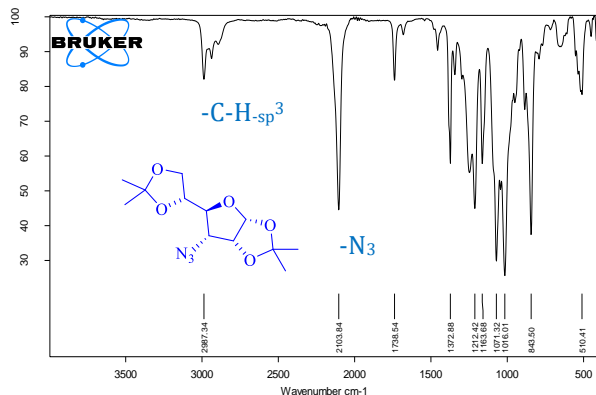
Figura 2. Espectro de IR del compuesto 3.

Paralelamente se llevó a cabo la preparación del segundo fragmento derivado del carbohidrato 1,2:5,6-di-*o*-isopropilideno- $\alpha$ -D-*o*-alofuranosa a través de la metodología reportada por el grupo de trabajo [Pacheco et. al]. La cual se prepara a partir de la  $\alpha$ -glucofuranosa **4** y se hizo reaccionar con piridina como base y anhídrido triflico con el objetivo de convertir el grupo OH en buen grupo saliente; el crudo de este producto intermedio se hizo reaccionar con azida de sodio y dimetilformamida a  $80^\circ\text{C}$  durante 1 hora para la obtención del segundo fragmento clave para poder preparar el 1, 2, 3 triazol. Esquema 3.



**Esquema 3.** Obtención del azida 1,2:5,6-di-*O*-isopropilideno- $\alpha$ -D-alofuranosa 5.

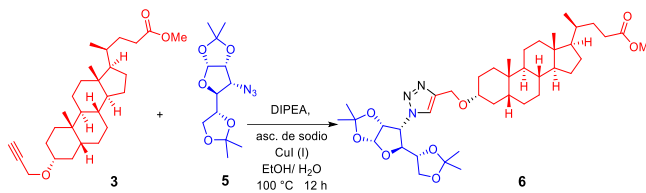
El análisis por espectroscopía de infrarrojo nos permitió determinar la presencia de los principales grupos funcionales dentro de la estructura **3**, en este sentido se observó una banda en  $2967\text{ cm}^{-1}$  la cual corresponde a las vibraciones de los grupos metilos característicos de los dioxolanos presentes en la  $\alpha$ -glucosil azida **3**, también se aprecia una vibración de estiramiento típica en una longitud de  $2987.92\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al grupo  $\text{N}_3$ . Figura 3.



**Figura 3.** Espectro de IR para la  $\alpha$ -azida **5**.

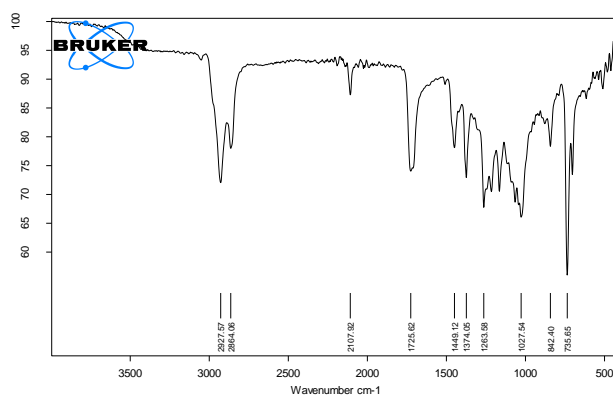
Una vez obtenidos los dos fragmentos claves se prosiguió en realizar a la reacción de CuAAC, esta reacción se llevó a cabo mediante condiciones térmicas adicionando DIPEA y ascorbato de sodio con el objetivo de mantener el número de oxidación del cobre (I) y se utilizó como disolvente una mezcla etanol: agua (3:1).

La reacción se mantuvo a esta temperatura durante 12 h para la obtención del 1,2,3 triazol **6**. Esquema 4.



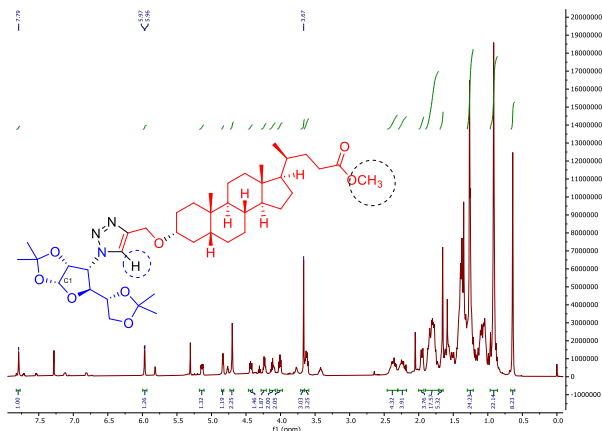
**Esquema 4.** Reacción CuAAC.

La comprobación del triazol generado **6**. La estructura del triazol obtenido se comprobó bajo la misma técnica analítica de IR donde se observa la vibración  $-\text{C}-\text{H}-\text{sp}^3$  en  $2972.57\text{ cm}^{-1}$ , también se sigue observando la señal en  $1725.62\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al grupo carbonilo del éster.



**Figura 4.** Espectro de IR del producto 1, 2, 3 triazol **6**.

El análisis espectroscópico del 1,2,3 triazol **6** también se realizó mediante resonancia magnética nuclear de hidrógeno donde se puede observar una señal simple en 7.79 ppm que integra para un hidrógeno correspondiente al protón alílico del anillo triazólico, así como una señal doble perteneciente al hidrogeno anomérico (C1) del carbohidrato en 5.96 ppm, en 3.67 ppm se observa una señal simple que integra para 3 H correspondiente al grupo metilo del éster. Otro grupo de señales importantes son las señales simples correspondientes a los grupos metilos de las fusiones *cis* y *trans* del esteroide integran para 6H en 0.92 ppm y una señal simple en 0.64 ppm y que integra para 3H. También es importante mencionar que debido a que el producto es sensible a la acidez de la sílice durante la purificación, hasta el momento solo se consiguió aislar una pequeña cantidad suficiente para poder demostrar mediante el análisis espectroscópico por RMN-H la presencia de las principales señales claves antes descritas (ver Figura 5).



**Figura 5.** Espectro de resonancia magnética nuclear de hidrógeno del 1,2,3 triazol 6.

## Conclusiones

En conclusión, podemos resaltar que se llevó exitosamente la obtención de los precursores en rendimientos moderados y con ello se logró llevar a cabo la reacción de ciclo adición [3+2] empleando como catalizador CuI (I) obteniendo el triazol híbrido con potencial actividad biológica y también servirá como síntón para la preparación de derivados con el objetivo de probarlos como inhibidores de corrosión.

## Agradecimientos

Se agradece a la UAM-I y BUAP por la determinación de los espectros de resonancia magnética nuclear de hidrógeno y carbono 13.

## Referencias

Anandkumar D y Rajakumar P. (2017). Synthesis and anticancer activity of bile acid dendrimers with triazole as bridging unit through click chemistry. *Steroids* 125, 37

Dahmad T, R., Haeusler R, A., (2019). Bile acids in glucose metabolism and insulin signalling-mechanisms and research needs. *Nat Rev Endocrinol.* 15, 701–712

Florian Kloss, Uwe Kçhn, Burkhard O. Jahn, Martin D. Hager, Helmar Gçrls, and Ulrich S. Schubert. (2011). Metal-Free 1,5-Regioselective Azide-Alkyne [3+2]-Cycloaddition. *J. Chem. Asian.* 6, 2816 – 2824.

Kolb H. C., Finn M. G., Sharpless K. B. (2004). *Angew. Chem., Int. Ed.* 40.

Karabulut H. R. F, Karatavuk A. O, Hasan Ozyildirim, uzhan Dğanlar, Zeynep Banu Doğanlar. (2020). Synthesis of novel dimeric compounds containing triazole using click method and their selective antiproliferative and proapoptotic potential via mitochondrial apoptosis signaling. *Medicinal Chemistry Research.* 643-655.

Valkonen A. Lahtinen M. Virtanen, E. Kaikkonen S., Kolehmainen E., (2004), 3a-Hydroxy-N-(3-hydroxypropyl)-5b cholán-24-amide. *Biosens. Bioelectron.* 20, 1233.

Rajesh K. Chhatra, Anjul Kumar, and Pramod S. Pandey\*, (2011), Synthesis of a Bile Acid-Based Click-Macrocycle and Its Application in Selective Recognition of Chloride Ion. *J. Org. Chem.* 76, 9086–9089.

Pacheco J. O. (2020). Síntesis de di-isopropiliden-a-D-glucofuranosa-triazol-teobromina, como potencial inhibidor de la corrosión. Proyecto de Integración en Ingeniería Química, Universidad Autónoma Metropolitana-Azcapotzalco.

Pikuleva I. A., Pharmacol. Ther. (2006). G. Zollner, H.-U. Marschall, M. Wagner, M. Trauner, *Mol. Pharm.* 3, 231. 112- 761. D. B. Salunke, B. G. Hazra, V. S. Pore, *Curr. Med. Chem.* (2006), 13, 813.