

Universidad de Costa Rica

Facultad de Ciencias

Escuela de Química

**SÍNTESIS Y DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS
DE UN DÍMERO MIXTO CON DOS SALES BILIARES Y UN GRUPO AZO
COMO PUENTE:
POSIBLE MOLÉCULA ELECTROACTIVA**

Trabajo Final de Graduación presentado como requisito para optar por el grado de
Licenciatura en Química

María Zulema Brenes Solano

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio

San Pedro, San José Costa Rica

2018

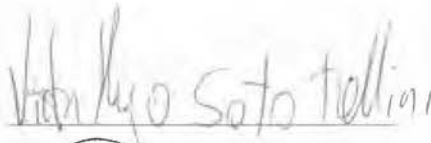
“Este trabajo final de investigación fue aceptado por la Comisión de Trabajos Finales de Graduación e Investigación de la Escuela de Química, Facultad de Ciencias Básicas de la Universidad de Costa Rica, como requisito para optar al grado y al título de Licenciatura en Química”.



Dr. Javier Trejos Zelaya

Decano

Facultad de Ciencias Básicas



Dr. Víctor Hugo Soto Tellini

Director de tesis




Dr. Cristian Campos Fernández

Asesor



Dra. Giselle Tamayo Castillo


Asesor



Dr. Cristian Campos Fernández

Director

Escuela de Química



María Zulema Brenes Solano

Candidata

“Dedicado a mis padres, quienes son la razón de todo. Especialmente a mi padre, te extraño.”

Agradecimientos

Dr. Víctor Hugo Soto Tellini

Por su comprensión, colaboración y guía en el desarrollo de este trabajo.

Compañeros del laboratorio 105 de la Escuela de Química

Marta León, Laura Calderón, Julio Otárola, Iris Martiño, Carlos y María José;
compañeros que siempre tuvieron un consejo o favor que brindar.

Facilitadores de datos espectroscópicos

Eduardo Valerio (Escuela de Química)

Dra. Giselle Tamayo Castillo (Escuela de Química)

Lorena Hernández y Godofredo Solano (CIPRONA)

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Página
Hoja de aprobación	iii
Dedicatoria	v
Agradecimientos	vii
ÍNDICE DE CONTENIDO	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
ÍNDICE DE TABLAS	xxii
ABREVIATURAS	xxv
RESUMEN	xxvii
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	1
1. Nanociencia y nanotecnología.	3
1.1. Historia.	3
1.2. Definición de nanotecnología y nanociencia.	4
1.3. Aplicaciones de la nanotecnología en la electrónica.	5
1.3.1. Dispositivos electroluminiscentes orgánicos: OLED's y PLED's.	7
1.3.2. Diferencias entre la tecnología OLED y las OPV's.	10
1.3.3. Funcionamiento de las celdas solares sensibilizadas con colorante (DSSC).	12
1.3.3.1. Componentes de las DSSC's y su funcionamiento.	14
1.3.4. Eficiencia en las celdas solares orgánicas.	19
1.3.5. Azo compuestos en la electrónica.	20
1.3.5.1. Estructuras, clasificación y síntesis de los azo compuestos.	20
1.3.5.2. Comportamiento fotoquímico de los azobencenos y el movimiento fotoinducido.	24

1.3.5.3.	Aplicaciones de los azo compuestos.	28
1.3.5.4.	Ejemplos de azo polímeros o polímeros con grupos azo que tienen posibles aplicaciones en el campo de la electrónica.	30
1.4.	Aplicaciones de la nanotecnología en la medicina.	34
1.4.1.	Química supramolecular: ensamblaje, y autoensamblaje.	35
1.4.1.1.	Derivados del colesterol: estructuras y aplicaciones en medicina.	40
1.4.1.2.	Aplicaciones de azo compuestos en la medicina: formación de dímeros.	42
1.5.	Dímero mixto con dos sales biliares y un grupo azo como puente sintetizado en la presente investigación.	45
CAPÍTULO 2: OBJETIVOS		47
CAPÍTULO 3: SECCIÓN EXPERIMENTAL		51
CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN		55
4.1.	Métodos sintéticos y caracterización espectroscópica de los intermediarios y del dímero mixto obtenidos.	59
4.1.1.	Reducción del compuesto <u>1</u> (ácido 4-nitrobenzoico).	59
4.1.2.	Obtención del compuesto <u>3</u> .	64
4.1.3.	Esterificación de la posición 24 del compuesto <u>4</u> .	68
4.1.4.	Adición del grupo amino en la posición 3 β en el compuesto <u>5</u> para la obtención del compuesto <u>6</u> .	78
4.1.5.	Obtención del compuesto <u>7</u> al hacer reaccionar el compuesto <u>3</u> con el compuesto <u>6</u> .	86
4.1.6.	Hidrólisis del éster del dímero.	93
4.2.	Análisis por espectroscopia ultravioleta del compuesto <u>8</u> .	102
4.3.	Análisis por espectrometría de masas del compuesto <u>8</u> .	102

4.4.	Rendimientos de la síntesis.	106
4.5.	Puntos de fusión de los compuestos de partida (<u>1</u> al <u>7</u>) y del compuesto final (<u>8</u>).	108
4.6.	Caracterización fisicoquímica del compuesto 8.	109
4.6.1.	Medidas de la cmc para el compuesto 8 con la balanza de tensión superficial.	109
CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		115
REFERENCIAS		119
ANEXOS		131
A. TÉCNICAS DE ANÁLISIS		133
A.1.	Espectroscopia infrarroja.	133
A.2.	Espectroscopia de Resonancia magnética nuclear (RMN).	135
A.2.1.	Espectroscopia de una dimensión.	138
A.2.2.	Espectroscopia de dos dimensiones.	141
A.3.	Espectrofotometría de Absorción UV-Visible.	144
A.4.	Espectrometría de masas.	146
A.5.	Balanza de tensión superficial (método de medición de fuerzas).	149
A.6.	Microscopía electrónica de transmisión (TEM)	150
B. PROCEDIMIENTOS		155
B.1.	Reducción del ácido 4-nitrobenzoico (compuesto <u>1</u>) para la obtención del compuesto <u>2</u> .	156
B.2.	Síntesis del compuesto <u>3</u> .	157
B.3.	Síntesis del compuesto <u>6</u> .	157
B.4.	Síntesis del compuesto <u>7</u> .	158
B.5.	Síntesis del compuesto <u>8</u> .	159

C. MECANISMOS DE REACCIÓN	161
C.1. Reducción del ácido 4-nitrobenzoico (compuesto <u>1</u>) para la obtención del compuesto <u>2</u> .	161
C.2. Síntesis del compuesto <u>3</u> .	162
C.3. Síntesis del compuesto <u>6</u> .	163
C.4. Síntesis del compuesto <u>7</u> .	167
C.5. Hidrólisis del éster del dímero.	168
D. ESPECTROS DE COMPUESTOS DE PARTIDA Y COMPUESTOS SINTETIZADOS.	171
D.1. Espectros de infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR) de los compuestos de partida y los compuestos sintetizados.	171
D.2. Espectros de una y dos dimensiones (¹ H-RMN, ¹³ C-RMN, COSY, HSQC y HMBC) de los compuestos de partida y los compuestos sintetizados.	175
D.3. Espectros UV-Visible y masas del compuesto <u>8</u> .	191

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura	
1. 1 . Imagen de la copa de Lycurgus (a) bajo luz reflejada; (b) vista por transmisión.	3
1. 2 . Bacteria <i>Magnetospirillum magnetotacticum</i> .	4
1. 3 . Representación esquemática que permite comprender el ámbito de trabajo de la nanotecnología.	5
1. 4 . Fotografías que muestran OLED's. a) Sobre sustrato flexible. b) Pantalla a color de Samsung.	7
1. 5 . Estructura básica desarrollada por Ching Tang y Steve van Slyke de un diodo electroluminiscente orgánico (OLED).	7
1. 6 . Estructura del aluminio tris(8-hidroxiquinolina) (Alq_3).	8
1. 7 . Pantalla LG PM9700, televisor PLED.	9
1. 8 . Comparación entre pantallas de televisión LED, PLED y de plasma.	9
1. 9 . a) Esquema más simple para dos dispositivos optoelectrónicos: un OLED y una celda OPV. b) Diseño de una celda solar orgánica (celda OPV) en la arquitectura de heterounión de volumen (BHJ).	11
1. 10 . a) Representación esquemática de las celdas solares de películas sólidas de estructura amorfa conocidas como celdas fotovoltaicas orgánicas (OPV's). b) Celda solar orgánica.	11
1. 11 . Representación esquemática de las celdas solares sensibilizadas (DSSC).	12
1. 12 . a) Procesos que ocurren en las celdas sensibilizadas. b) Presencia de multicapas en las celdas solares orgánicas sensibilizadas con colorantes.	13
1. 13 . Estructura de las bandas de valencia y de conducción en materiales conductores, semiconductores y aislantes.	14
1. 14 . Ejemplos de estructuras de azo compuestos.	20

1. 15	. a) Isómeros del azobenceno. b) Espectro UV-Vis de un azobenceno.	21
1. 16	. Espectro UV-Vis de un "pseudostilbena".	21
1. 17	. Estructura general de los polímeros de la serie pMAN.	23
1. 18	. Fotoisomerización trans-cis de azobeno y azobenceno sustituidos con grupos donadores y aceptores.	25
1. 19	. a) Orientación de los grupos azobenceno de alto momento dipolar en un fragmento de azopolímero, antes y después de ser irradiado con luz polarizada linealmente. b) Fotografía de los dominios esmécticos en una película del polímero p4MAN después de ser irradiado con luz polarizada linealmente. Imagen obtenida por microscopia de luz polarizada.	26
1. 20	. Medida de la birrefringencia en un azopolímero p4MAN.	27
1. 21	. 4-(4-nitrofenilazo)anilina (Colorante Disperse Orange 3).	30
1. 22	. Dendrímico PAMAM con núcleo de azobenceno.	32
1. 23	. Polímeros sintetizados por Alkskas y sus colaboradores a partir de unidades dietilcetona con unidades azobenceno.	33
1. 24	. Representación esquemática del ensamblaje macho-hembra en química supramolecular, representado por piezas de LEGO.	36
1. 25	. (a) Imagen de pompa de jabón y esquema de la autoagregación de moléculas de oleato que forman su membrana. (b) Representación esquemática de liposoma un liposoma (c) Imagen de microscopía confocal de un liposoma.	37
1. 26	. Estructuras químicas de los oligopéptidos 1; imágenes AFM del compuesto 1b en su configuración (a) trans y (b) cis. En el interior de las imágenes se muestra una representación de las hélices formadas.	38
1. 27	. Estructuras químicas de perilenodiimidias y la representación esquemática de las arquitecturas supramoleculares obtenidas tras su autoasociación.	39
1. 28	. Estructuras de ácidos biliares de origen natural más comunes. (a) Ácido litocólico. (b) Ácido desoxicólico. (c) Ácido cólico. En la estructura de (c) se indica la numeración de los grupos hidroxilo, metilo y el ácido carboxílico	40

terminal. También se indica la denominación usual de los cuatro anillos derivados del colesterol.

1.	29	.	Fórmula estructural del ácido cólico y vista de la superficie hidrófoba (cara β , en rojo) y superficie hidrófila (cara α , en azul).	41
1.	30	.	Representación esquemática de la forma en que se unen las unidades mesógenas: a) Cadena principal; b) Cadena lateral.	43
1.	31	.	Compuestos utilizados en la generación de un hidrogel fotoreactivo.	43
1.	32	.	Mezcla ternaria de los compuestos de la figura 30 para generar el hidrogel bajo fotoirradiación a) luz visible; b) luz ultravioleta.	43
1.	33	.	Estructura del Bis-(1,5-dimetil-4-[(E)-(3-metilpenil)diazenil]-2-fenil-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-ona.	44
1.	34	.	Azo colorantes derivados del 2-amino-6-metoxibenzotiazol.	44
1.	35	.	Esquema de reacciones propuesto para la síntesis del compuesto <u>6</u> (precursor).	45
1.	36	.	Esquema de reacciones propuesto para la síntesis del dímero mixto (compuesto <u>8</u>).	46
4.	1	.	Estructura del compuesto <u>8</u> .	57
4.	2	.	Reducción del compuesto <u>1</u> para la generación del compuesto <u>2</u> .	59
4.	3	.	Obtención de aminas mediante la reducción de nitrocompuestos.	59
4.	4	.	Esquema de reducciones de Haber.	60
4.	5	.	Estructura molecular del compuesto <u>2</u> .	62
4.	6	.	Ampliación del espectro HMBC del compuesto <u>2</u> .	64
4.	7	.	Reacción de adición-eliminación del compuesto <u>2</u> para la generación del compuesto <u>3</u> .	65
4.	8	.	Estructura molecular del compuesto <u>3</u> .	66
4.	9	.	Ampliación del espectro HMBC del compuesto <u>3</u> .	68

4. 10	. Esterificación de la posición 24 del compuesto <u>4</u> para la obtención del compuesto <u>5</u> .	69
4. 11	. Estructura molecular del compuesto <u>4</u> .	70
4. 12	. Estructura molecular del compuesto <u>5</u> .	70
4. 13	. Ampliación del espectro HMBC del compuesto <u>5</u> .	77
4. 14	. Correlaciones importantes a larga distancia entre carbonos y protones del compuesto <u>5</u> .	77
4. 15	. Proceso "One-pot" para la obtención del compuesto <u>6</u> .	78
4. 16	. Descripción de la reacción de Mitsunobu.	78
4. 17	. Estructura molecular del compuesto <u>6</u> .	81
4. 18	. Espectro ^1H -RMN del compuesto <u>6</u> .	82
4. 19	. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto <u>6</u> .	83
4. 20	. Síntesis del compuesto <u>7</u> .	86
4. 21	. Estructura molecular del compuesto <u>7</u> .	87
4. 22	. Espectro ^1H -RMN del compuesto <u>7</u> .	88
4. 23	. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto <u>7</u> .	89
4. 24	. Síntesis del compuesto <u>8</u> .	93
4. 25	. Estructura molecular del compuesto <u>8</u> .	94
4. 26	. Espectro ^1H -RMN del compuesto <u>8</u> .	95
4. 27	. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto <u>8</u> .	96
4. 28	. Ampliación del espectro HMBC del compuesto <u>8</u> .	101
4. 29	. Correlaciones importantes a larga distancia entre carbonos y protones del compuesto <u>8</u> .	101

4.	30	.	Patrones de fraccionamiento para la ruptura del grupo azo en espectrometría de masas para el compuesto <u>g</u> .	103
4.	31	.	Patrones de fraccionamiento para la ruptura de un sustituyente esteroideo en espectrometría de masas para el compuesto <u>g</u> .	104
4.	32	.	Patrones de fraccionamiento para la obtención de un derivado esteroideo junto con el puente azo en espectrometría de masas para el compuesto <u>g</u> .	105
4.	33	.	Patrones de fraccionamiento para la pérdida de moléculas de agua en espectrometría de masas para el compuesto <u>g</u> .	106
4.	34	.	Esquema para la obtención del rendimiento total en una reacción convergente de varios pasos y un paso final de una reacción lineal.	107
4.	35	.	Gráfico del log de la concentración contra la tensión superficial del compuesto <u>g</u> en el cálculo de la cmc (Réplica 1).	110
4.	36	.	Gráfico del log de la concentración contra la tensión superficial del compuesto <u>g</u> en el cálculo de la cmc (Réplica 2).	111
4.	37	.	Gráfico de la concentración contra la tensión superficial del compuesto <u>g</u> en el cálculo de la cmc (Réplica 1).	111
4.	38	.	Gráfico de la concentración contra la tensión superficial del compuesto <u>g</u> en el cálculo de la cmc (Réplica 2).	111
4.	39	.	Gráfica de tensión superficial vs logaritmo de la concentración para un surfactante típico que posee CMC.	112
a.	1	.	Modos vibracionales de los enlaces moleculares durante el análisis por infrarrojo.	134
a.	2	.	Representación esquemática del equipo de resonancia magnética nuclear.	137
a.	3	.	Valores aproximados de desplazamientos químicos en ^1H -RMN	140
a.	4	.	Esquema general para la obtención de espectros 2D de correlación heteronuclear. (P= preparación, E=evolución, M= mezcla y D= detección).	142
a.	5	.	Secuencia de pulsos para el COSY.	143

a.	6	. Secuencia de pulsos para experimento HSQC	143
a.	7	. Secuencia de pulsos para experimento HMBC.	144
a.	8	. Esquema de los OM de la capa de valencia y transiciones electrónicas.	145
a.	9	. Técnica ESI (electronebulización ó electroespray).	148
a.	10	. Esquema del aparato utilizado en el método de Wilhelmy (lado izquierdo) y del aparato utilizado en el método de Du Noüy (lado derecho).	149
a.	11	. Método de la placa de Wilhelmy.	149
a.	12	. Método de la placa. Balance de fuerzas.	150
a.	13	. Límite de resolución para las diferentes técnicas de imagen.	151
a.	14	. Partes de un microscopio TEM.	152
a.	15	. Ejemplo de imagen obtenida con un TEM.	153
b.	1	. Esquema de reacciones para la síntesis del dímero mixto (compuesto <u>8</u>).	155
b.	2	. Esquema de reacciones para la síntesis del compuesto <u>6</u> (precursor).	156
c.	1	. Reducción del ácido 4-nitrobenzoico (compuesto <u>1</u>) para la generación del ácido 4,4'-(diazén-1,2-diil)dibenzoico (compuesto <u>2</u>).	161
c.	2	. Reducción de compuestos nitro a compuestos nitroso.	161
c.	3	. Reducción de compuestos nitro a hidroxilamina.	161
c.	4	. Conversión de compuestos nitrosos a compuestos azoxi.	162
c.	5	. Reordenamiento de Wallach.	162
c.	6	. Reacción de adición-eliminación en la sustitución nucleofílica en el grupo acilo del ácido 4,4'-(diazén-1,2-diil)dibenzoico (compuesto <u>2</u>) para la generación del 4,4'-bi(clorocarbonil)azobenceno (compuesto <u>3</u>)	162
c.	7	. Mecanismo de adición-eliminación en la sustitución nucleofílica en el grupo acilo del compuesto <u>2</u> para la generación del compuesto <u>3</u> .	162-163

c.	8	. Esterificación de la posición 24 del ácido cólico (compuesto <u>4</u>) para la obtención del ácido 3, 7, 12 a-trihidroxi-5b-colan-24-oico metil éster (compuesto <u>5</u>).	163
c.	9	. Proceso "One-pot" para la obtención del ácido 3β-amino-7,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico metil éster (compuesto <u>6</u>).	164
c.	10	. Mecanismo de la esterificación del compuesto <u>4</u> para la obtención del compuesto <u>5</u> .	164
c.	11	. Mecanismo de la reacción de Mitsunobu para obtener el derivado azida.	165
c.	12	. Reducción de Staudinger del derivado azida para la obtención del compuesto <u>6</u> .	166
c.	13	. Síntesis del compuesto <u>7</u> .	167
c.	14	. Mecanismo de adición-eliminación en la sustitución nucleofílica en el grupo acilo sobre el compuesto <u>3</u> con el compuesto <u>6</u> .	167- 168
c.	15	. Síntesis del compuesto <u>8</u> .	168
c.	16	. Mecanismo de la hidrólisis del compuesto <u>7</u> para la obtención del compuesto <u>8</u> .	169
d.	1	. Espectro de FT-IR del ácido 4-nitrobenzoico (compuesto <u>1</u>).	171
d.	2	. Espectro de FT-IR del ácido 4,4'-(diazene-1,2-diil)dibenzoico (compuesto <u>2</u>).	171
d.	3	. Espectro de FT-IR del 4,4'-bi(clorocarbonil)azobenceno (compuesto <u>3</u>).	172
d.	4	. Espectro de FT-IR del ácido cólico (compuesto <u>4</u>).	172
d.	5	. Espectro de FT-IR del ácido 3, 7, 12 a-trihidroxi-5b-colan-24-oico metil éster (compuesto <u>5</u>).	173
d.	6	. Espectro de FT-IR del ácido 3β-amino-7,12α-dihidroxi-5β-colan-24-oico metil éster (compuesto <u>6</u>).	173
d.	7	. Espectro de infrarrojo el dímero mixto (compuesto <u>7</u>).	174
d.	8	. Espectro de infrarrojo el dímero mixto (forma hidrolizada; compuesto <u>8</u>).	174
d.	9	. Espectro ¹ H-RMN del compuesto <u>1</u> .	175
d.	10	. Espectro ¹³ C-RMN del compuesto <u>1</u> .	175

d. 11	. Espectro ^1H -RMN del compuesto <u>2</u> .	176
d. 12	. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto <u>2</u> .	176
d. 13	. Espectro HSQC del compuesto <u>2</u> .	177
d. 14	. Espectro HMBC del compuesto <u>2</u> .	177
d. 15	. Espectro ^1H -RMN del compuesto <u>3</u> .	178
d. 16	. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto <u>3</u> .	178
d. 17	. Espectro COSY del compuesto <u>3</u> .	179
d. 18	. Espectro HSQC del compuesto <u>3</u> .	179
d. 19	. Espectro HMBC del compuesto <u>3</u> .	180
d. 20	. Espectro ^1H -RMN del compuesto <u>4</u> .	180
d. 21	. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto <u>4</u> .	181
d. 22	. Espectro COSY del compuesto <u>4</u> .	181
d. 23	. Espectro HSQC del compuesto <u>4</u> .	182
d. 24	. Espectro HMBC del compuesto <u>4</u> .	182
d. 25	. Espectro ^1H -RMN del compuesto <u>5</u> .	183
d. 26	. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto <u>5</u> .	183
d. 27	. Espectro COSY del compuesto <u>5</u> .	184
d. 28	. Espectro HSQC del compuesto <u>5</u> .	184
d. 29	. Espectro HMBC del compuesto <u>5</u> .	185
d. 30	. Espectro ^1H -RMN del compuesto <u>6</u> .	185
d. 31	. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto <u>6</u> .	186
d. 32	. Espectro COSY del compuesto <u>6</u> .	186
d. 33	. Espectro HSQC del compuesto <u>6</u> .	187

d. 34	. Espectro HMBC del compuesto <u>6</u> .	187
d. 35	. Espectro COSY del compuesto <u>7</u> .	188
d. 36	. Espectro HSQC del compuesto <u>7</u> .	188
d. 37	. Espectro HMBC del compuesto <u>7</u> .	189
d. 38	. Espectro COSY del compuesto <u>8</u> .	189
d. 39	. Espectro HSQC del compuesto <u>8</u> .	190
d. 40	. Espectro HMBC del compuesto <u>8</u> .	190
d. 41	. Espectro UV/Vis del compuesto <u>8</u> .	191
d. 42	. Espectro de masas (ion molecular) del compuesto <u>8</u> .	191
d. 43	. Espectro de masas del compuesto <u>8</u> .	192

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Página
4. 1 . Asignación de bandas de absorción principales en el FT-IR para el compuesto <u>1</u> .	61
4. 2 . Asignación de bandas de absorción principales en el FT-IR para el compuesto <u>2</u> .	61
4. 3 . Asignación de las señales del espectro ^1H -RMN del compuesto <u>1</u> .	63
4. 4 . Asignación de las señales del espectro ^{13}C -RMN del compuesto <u>1</u> .	63
4. 5 . Asignación de las señales del espectro ^1H -RMN del compuesto <u>2</u> .	63
4. 6 . Asignación de las señales del espectro ^{13}C -RMN del compuesto <u>2</u> .	63
4. 7 . Correlaciones ^1H - ^{13}C a un enlace de distancia del compuesto <u>2</u> .	64
4. 8 . Correlaciones ^1H - ^{13}C a dos o más enlaces de distancia del compuesto <u>2</u> .	64
4. 9 . Asignación de bandas de absorción principales en el FT-IR para el compuesto <u>3</u> .	66
4. 10 . Asignación de las señales del espectro ^1H -RMN del compuesto <u>3</u> .	67
4. 11 . Asignación de las señales del espectro ^{13}C -RMN del compuesto <u>3</u> .	67
4. 12 . Correlaciones ^1H - ^1H del compuesto <u>3</u> obtenidos a partir del COSY.	67
4. 13 . Correlaciones ^1H - ^{13}C a un enlace de distancia del compuesto <u>3</u> .	67
4. 14 . Correlaciones ^1H - ^{13}C a dos o más enlaces de distancia del compuesto <u>3</u> .	68
4. 15 . Asignación de bandas de absorción principales en el FT-IR para el compuesto <u>4</u> .	69
4. 16 . Asignación de bandas de absorción principales en el FT-IR para el compuesto <u>5</u> .	70
4. 17 . Asignación de las señales del espectro ^1H -RMN del compuesto <u>4</u> .	72
4. 18 . Asignación de las señales del espectro ^{13}C -RMN del compuesto <u>4</u> .	72
4. 19 . Correlaciones ^1H - ^1H del compuesto <u>4</u> obtenidos a partir del COSY.	72
4. 20 . Correlaciones ^1H - ^{13}C a un enlace de distancia del compuesto <u>4</u> .	73

4. 21	. Correlaciones ^1H - ^{13}C a dos o más enlaces de distancia del compuesto <u>4</u> .	73-74
4. 22	. Asignación de las señales del espectro ^1H -RMN del compuesto <u>5</u> .	74
4. 23	. Asignación de las señales del espectro ^{13}C -RMN del compuesto <u>5</u> .	74
4. 24	. Correlaciones ^1H - ^1H del compuesto <u>5</u> obtenidos a partir del COSY.	75
4. 25	. Correlaciones ^1H - ^{13}C a un enlace de distancia del compuesto <u>5</u> .	75
4. 26	. Correlaciones ^1H - ^{13}C a dos o más enlaces de distancia del compuesto <u>5</u> .	75-76
4. 27	. Asignación de bandas de absorción principales en el FT-IR para el compuesto <u>6</u> .	80
4. 28	. Asignación de las señales del espectro ^1H -RMN del compuesto <u>6</u> .	83
4. 29	. Asignación de las señales del espectro ^{13}C -RMN del compuesto <u>6</u> .	84
4. 30	. Correlaciones ^1H - ^1H del compuesto <u>6</u> obtenidos a partir del COSY.	84
4. 31	. Correlaciones ^1H - ^{13}C a un enlace de distancia del compuesto <u>6</u> .	84
4. 32	. Correlaciones ^1H - ^{13}C a dos o más enlaces de distancia del compuesto <u>6</u> .	85
4. 33	. Asignación de bandas de absorción principales en el FT-IR para el compuesto <u>7</u> .	87
4. 34	. Asignación de las señales del espectro ^1H -RMN del compuesto <u>7</u> .	90
4. 35	. Asignación de las señales del espectro ^{13}C -RMN del compuesto <u>7</u> .	91
4. 36	. Correlaciones ^1H - ^1H del compuesto <u>7</u> obtenidos a partir del COSY.	91
4. 37	. Correlaciones ^1H - ^{13}C a un enlace de distancia del compuesto <u>7</u> .	91
4. 38	. Correlaciones ^1H - ^{13}C a dos o más enlaces de distancia del compuesto <u>7</u> .	92
4. 39	. Asignación de bandas de absorción principales en el FT-IR para el compuesto <u>8</u> .	94
4. 40	. Asignación de las señales del espectro ^1H -RMN del compuesto <u>8</u> .	98
4. 41	. Asignación de las señales del espectro ^{13}C -RMN del compuesto <u>8</u> .	99
4. 42	. Correlaciones ^1H - ^1H del compuesto <u>8</u> obtenidos a partir del COSY.	99
4. 43	. Correlaciones ^1H - ^{13}C a un enlace de distancia del compuesto <u>8</u> .	99
4. 44	. Correlaciones ^1H - ^{13}C a dos o más enlaces de distancia del compuesto <u>8</u> .	100
4. 45	. Rendimientos obtenidos en cada etapa de la síntesis del compuesto <u>8</u> y rendimiento total del proceso.	107

4.	46	.	Puntos de fusión teóricos y experimentales de los precursores y el compuesto objetivo (compuesto <u>g</u>).	108-109
A.	1	.	Valores aproximados de desplazamientos químicos en ^{13}C -RMN	141
A.	2	.	Espectro de la región visible con los colores complementarios.	146

ABREVIATURAS

DIAD: diisopropil azidocarboxilato

DPPA: difenilfosforilazida

FT: transformada de Fourier

PPh₃: trifenilfosfina

RMN: Resonancia magnética nuclear

¹H-RMN: espectroscopia de resonancia magnética nuclear de hidrogeno 1.

¹³C-RMN: espectroscopia de resonancia magnética nuclear de carbono 13

FT ¹³C-RMN:espectroscopia de resonancia magnética nuclear de carbono 13 com transformada de Fourier

THF: tetrahidrofurano

NaOH: hidróxido de sodio

RESUMEN

Los nuevos derivados del ácido cólico, han demostrado tener una actividad biológica variada, mientras que los derivados de ácidos 4,4'-azodibenzoicos son electroactivos por presentar deslocalización electrónica.

Por otro lado, un dímero con un grupo azo como puente actúan como interruptores moleculares, al ser sistemas discretos que pueden realizar movimientos mecánicos (cambios de conformación cis-trans) provocado por estímulos externos como por ejemplo la radiación con luz ultravioleta. La capacidad de transporte, reconocimiento de sustancias, propiedades redox, fluorescencia, formación de micelas y otras estructuras supramoleculares son algunas de las aplicaciones que han mostrado los dímeros con grupos azo como puente.

En el presente trabajo se muestra un método sintético para generar un nuevo surfactante mixto derivado del ácido cólico y del ácido 4-nitrobenzoico. Para el desarrollo de dicho surfactante mixto primero se genera la amina del ácido cólico en posición 3 β , la cual es unida a un puente azo derivado del ácido 4-nitrobenzoico mediante un enlace amida.

De esta forma, se logra obtener el surfactante mixto y caracterizarlo mediante experimentos de resonancia magnética nuclear (^1H -RMN, ^{13}C -RMN, COSY, HSQC y HMBC), espectrometría de masas, UV-Vis, puntos de fusión y medidas de tensión superficial. El dímero obtenido no es un surfactante y su CAC no se logró obtener debido a su baja solubilidad en agua.

Capítulo 1:
Introducción

1. Nanociencia y nanotecnología

1.1. Historia.

Las referencias iniciales a la nanotecnología se le atribuyen al físico norteamericano Richard Phillips Feynmann, quién en 1959 durante la conferencia titulada: “*There’s Plenty of Room at the Bottom*” (*Hay mucho sitio al fondo*), vislumbró la posibilidad de manipular materiales a escala atómica y molecular ^{1,2}.

Por otra parte el término “nanotecnología” fue introducido formalmente por primera vez en 1974 por un investigador de la Universidad de Tokio, Norio Taniguchi, quien señalaba así la capacidad de manejar materiales cuyo tamaño se encuentra en la escala nanométrica (100 nm o menos; donde 1 nm = 0,000000001 m). El término “nano” es un prefijo griego que significa “enano”, y al usarlo en términos y conceptos se hace referencia a átomos y moléculas, un diminuto universo con leyes propias ^{1,2}.

A través de la historia, el ser humano, fue capaz de obtener sorprendentes materiales cuyo tamaño se encuentra en la escala nanométrica, por ejemplo, nanopartículas de oro y plata fueron utilizadas como pigmentos colorantes para cristales y otros materiales desde el siglo X d.C por ejemplo en la Copa de Lycurgus (Figura 1.1), el colorante Azul Maya, y los vitrales de algunas catedrales; ya que dependiendo del tamaño de dichas nanopartículas, así como en función del modo de observación, los cristales podrían verse rojos, azules o dorados. El reto en la antigüedad fue lograr que todas las nanopartículas tuvieran el mismo tamaño, lo cual, aún hoy, constituye un desafío para los químicos modernos. Algunas teorías de cómo lograron la formación de éstas nanopartículas, reside en el uso de procesos de oxidación-reducción, o bien en el control de la temperatura durante el moldeo de los materiales ³⁻⁵.

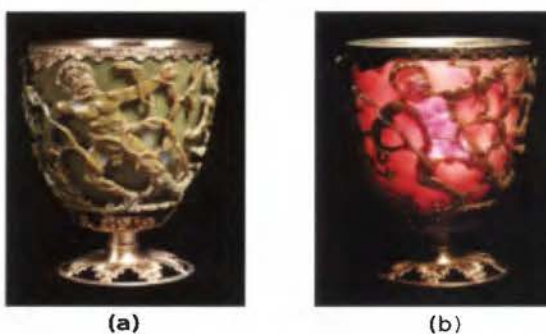


Figura 1.1. Imagen de la copa de Lycurgus (a) bajo luz reflejada; (b) vista por transmisión ⁴.

También de la antigüedad se ha estudiado a las Espadas de Damasco, éstas se caracteriza por su dureza y flexibilidad, donde el acero (conocido como acero wootz) que las constituye contiene nanotubos de carbono ocluidos en la matriz metálica del acero según lo reportado por el investigador Peter Paufler y sus colaboradores de la Universidad de Dresden en Alemania. Los anteriores ejemplos muestran materiales obtenidos al azar, a base de ensayos, con aciertos y errores, y sus propiedades eran inexplicables para los artesanos que los fabricaron ^{3,4}.

No sólo en la historia se encuentran ejemplos de materiales en la escala nanométrica. En la naturaleza, la cual puede ser considerada el nanotecnólogo por excelencia, se puede encontrar partículas nanométricas de magnetita (Fe_3O_4) y de greigita (Fe_3S_4) fabricadas por las bacterias *Magnetospirillum magnetotacticum* (bacterias gram-negativas aisladas por primera vez de aguas de charca por el microbiólogo Richard Blakemore en 1975; Figura 1.2); éstas partículas tienen una morfología específica, capaz de inducir propiedades magnéticas dentro de las bacterias, por lo que funcionan como imanes integrados que les permite migrar en función al campo magnético de la tierra, ayudando a las bacterias a encontrar ambientes favorable para su crecimiento ^{6,7}.

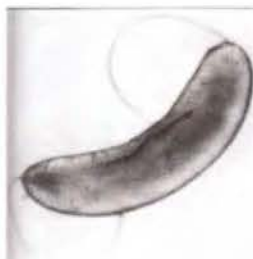


Figura 1.2. Bacteria *Magnetospirillum magnetotacticum* ^{6,7}.

1.2. Definición de nanotecnología y nanociencia.

La nanociencia se encarga del estudio de materiales cuyo tamaño se encuentra en la escala nanométrica (100 nm o menos; donde 1 nm = 0,000000001 m). Mediante la nanotecnología es posible desarrollar nuevos materiales y aparatos con precisión atómica, mediante el control de átomos y moléculas para formar nuevas estructuras, nuevas moléculas, nuevos materiales y dispositivos, conforme a necesidades específicas, en busca de encontrar beneficios para la sociedad. Tanto la nanociencia como la

nanotecnología se han venido desarrollando como tales, desde la década de 1980, por lo que son disciplinas cuyo potencial no se ha sido descubierto completamente ^{3,8,9}.

Para comprender la dimensión de un nanómetro (Figura 1.3), se puede observar que un cabello humano mide unos 80000 nm de ancho y los glóbulos rojos de la sangre miden unos 7000 nm de diámetro; también se puede visualizar que 1 nm es igual al tamaño que tendrían seis átomos de carbono juntos o diez moléculas de agua, lo que implica que un átomo es más pequeño que 1 nm, mientras que existen moléculas como las proteínas cuyo largo se encuentra en la escala de longitud milimétrica (1 mm = 0,001 m), que es más grande que la escala nanométrica ^{3,8,9}.

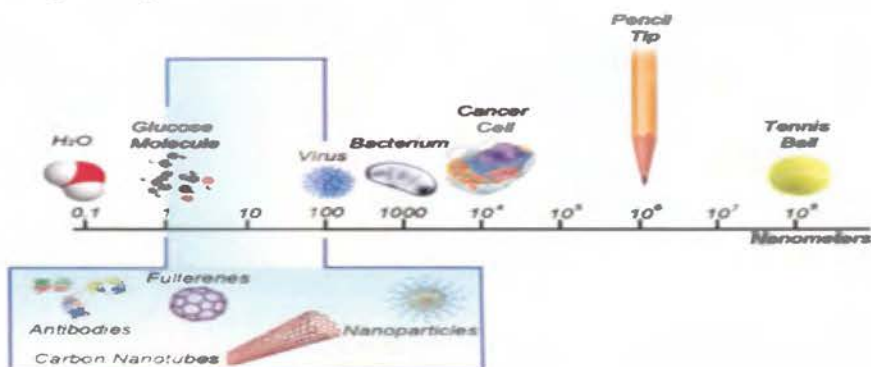


Figura 1.3. Representación esquemática que permite comprender el ámbito de trabajo de la nanotecnología ⁸.

Científicos e ingenieros de diversos campos se han dedicado al descubrimiento y desarrollo de nanomateriales a pesar de las dificultades experimentales de trabajar en una escala nanométrica. El trabajo de éstos investigadores ha permitido el descubrimiento de herramientas y aplicaciones de materiales nanométricas en diversas áreas como la electrónica, en física, química, biología molecular, medicina, el medio ambiente, industria, farmacéuticas, entre las principales áreas que pueden ser mencionadas ^{9,10}.

1.3. Aplicaciones de la nanotecnología en la electrónica.

La aplicación de compuestos orgánicos en materiales electrónicos presenta retos, pues es bien conocido que los compuestos orgánicos son malos conductores de la electricidad, sin embargo, una aplicación de la nanotecnología de gran interés, es el desarrollo de materiales orgánicos para su uso en electrónica molecular. En este sentido, uno de los grandes retos a los que se enfrenta la química moderna es la búsqueda y el

desarrollo de moléculas que presenten eficiencias de transporte electrónico a larga distancia que puedan ser utilizados en el campo de la electrónica ^{9,10,12}.

La electrónica molecular es un área interdisciplinaria que se encarga del estudio y la aplicación de bloques de construcción moleculares para la generación de componentes electrónicos; se sabe que gran parte de la actividad cotidiana de las personas implica la utilización de dispositivos que funcionan gracias a componentes electrónicos, estos componentes se han perfeccionado durante las últimas cuatro décadas utilizando básicamente componentes inorgánicos, entre los cuáles el silicio es el protagonista indiscutible. Sin embargo, la tecnología del silicio tiene sus limitaciones ya que para aumentar la capacidad de los componentes electrónicos se requiere de la miniaturización de los mismos, y si su tamaño se reduce hasta el tamaño del átomo, los electrones son regidos por las leyes de la física cuántica, y bajo ellas el comportamiento de éstos es probabilístico, lo que hace que el comportamiento de los materiales sea muy difícil de controlar. Por ello, desde principios de los años noventa, se han venido desarrollando nuevos materiales electrónicos basados en la utilización de materiales orgánicos con propiedades electroactivas ⁹⁻¹¹.

En particular, se trata de estudiar todos los procesos relacionados con el comportamiento de éstos materiales orgánicos como elementos activos (semiconductores, emisores de luz, materiales para el transporte de carga, fotoconductores entre otros) en diferentes dispositivos electrónicos y optoelectrónicos ^{9,10}.

Los componentes electrónicos pueden tener compuestos orgánicos depositados en películas o capas delgadas sobre la superficie de dichos componentes, las propiedades físicas y químicas de dichos componentes electrónicos son directamente afectadas por el tipo de compuesto orgánico usado en ellos. Durante mucho tiempo la estabilidad de los componentes electrónicos con compuestos orgánicos así como el rendimiento de los mismos fueron pobres con respecto a los dispositivos basados en materiales como silicio o arseniuro de galio; pero fue hasta que en 1987 Ching Tang y Steve van Slyke mientras trabajaban en *Eastman Kodak Research Laboratories* (Laboratorios de Investigación de Eastman Kodak) reportaron los primeros diodos orgánicos emisores de luz (OLED por sus siglas en inglés) basados en una capa electroluminiscente formada por una película de componentes orgánicos que reaccionan a una determinada estimulación eléctrica, generando y emitiendo luz por sí mismos ^{10,12}.

1.3.1. Dispositivos electroluminiscentes orgánicos: OLED's y PLED's

Los dispositivos electroluminiscentes orgánicos (Figura 1.4) presentan una serie de cualidades que los hacen muy atractivos: son más brillantes, ofrecen un mayor contraste, presentan un gran ángulo de visión (emisión lambertiana), tienen un mayor rango de colores en todo el rango visible, funcionan con bajos voltajes de alimentación con lo que consumen menos energía. Además, su fabricación es más sencilla (potencialmente más barata) que otras opciones como por ejemplo las basadas en los cristales líquidos (LCD) ya que no requieren retro-iluminación, por lo que su consumo es significativamente menor. En cuanto a su fabricación gozan de una serie de ventajas adicionales sobre los LED's convencionales, no se utilizan materiales cristalinos en su fabricación, siendo el proceso de aplicación de las finas capas de material orgánico relativamente sencillo (gran procesabilidad) lo que permite la fabricación de visualizadores ultra-finos. Además los sustratos pueden ser de cristal, de plástico flexible, o incluso láminas metálicas ^{12,13}.



Figura 1.4. Fotografías que muestran OLED's. a) Sobre sustrato flexible. b) Pantalla a color de Samsung ¹³⁻¹⁵.

Los OLED's se basan en materiales orgánicos electroluminiscentes, que constituyen una delgada película sobre un diodo (Figura 1.5), dicha película reacciona a determinado estímulo eléctrico, generando y emitiendo luz por sí mismos ^{10,12,13}.



Figura 1.5. Estructura básica desarrollada por Ching Tang y Steve van Slyke de un diodo electroluminiscente orgánico (OLED) ^{12,13}.

Los OLED's se clasifican en dos tipos, de pequeñas moléculas (transportadores de electrones, transportadores de huecos y anfitriones de gran banda de energía prohibida para emisión azul o blanca) o poliméricos (polímeros electroluminiscentes, dopados con colorantes fosforecentes, basados en dendrímeros, de entrecruzamiento, e híbridos con nanocristales semiconductores). Entre los de pequeñas moléculas se encuentra un dispositivo bicapa (Figura 1.5) constituido por sendas películas delgadas de triarilamina como transportador de huecos y Alq₃ (Figura 1.6) como transportador de electrones y emisor, situadas entre un electrodo transparente de materiales como óxido de indio-estaño (ITO por sus siglas en inglés) y un electrodo de Al/Mg. El aluminio tris(8-hidroxiquinolina) (Alq₃), fue descubierto en los primeros años de Van Slyke en Kodak; y tradicionalmente se deposita por evaporación bajo condiciones de vacío sobre el electrodo ^{10,12,13}.

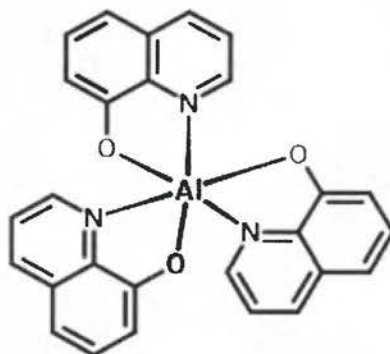


Figura 1.6. Estructura del aluminio tris(8-hidroxiquinolina) (Alq₃) ¹².

El otro tipo de OLED basado en materiales orgánicos electroluminiscentes son los que utilizan polímeros conjugados semiconductores (PLED's), éstos contienen materiales activos y son parte de una nueva generación de dispositivos electrónicos y ópticos; han mostrado las oportunidades comerciales asociadas a la implementación de PLED's en pantallas de matriz pasiva y activa (Figura 1.7). Por consiguiente, el desarrollo de PLED's que muestren emisión eficiente y estable en el azul, el verde y el rojo es un campo de investigación muy activa en laboratorios de Europa, Asia y Estados Unidos; mientras que los PLED's que emiten luz blanca son de interés y potencial importancia para su uso como iluminación posterior en pantallas de matriz activa altamente eficientes (con filtros de color) y por su aplicación en iluminación en estado sólido ^{10,12,13}.



Figura 1.7. Pantalla LG PM9700, televisor PLED ¹⁶.

El desarrollo de PLED's de gran superficie que emitan luz blanca estable se fabrican mediante el procesado en disolución, otros materiales poliméricos de alto peso molecular también pueden ser procesados bajo condiciones ambientales a partir de disoluciones o incluso ser impresos mediante técnicas de chorro de tinta (*ink-jet*). La Figura 1.8 muestra algunas de las ventajas que posee una pantalla PLED frente a las pantallas LED o las pantallas de plasma ^{10,12,13}.

LED	PLED	Plasma
1. Puntos de luz dependen de la retroiluminación (200)	1. Puntos de Luz independientes (6.220.800)	1. Puntos de luz independientes (6.220.800)
2. Pocos Hz MCL. dejan Estela. Menos nítido	2. No deja Estela (0%) Mayor Nitidez	2. No Deja Estelas. Mayor Nitidez
3. Colores Artificiales. Menos Naturales	3. Mayor Reproducción de colores. Mas Naturales	3. Mayor reproducción de colores. Más Naturales
4. Refleja Según modelos	4. No hay reflejo	4. El Cristal Refleja
5. Menor Consumo Energético	5. Menor Consumo Energético	5. Consumo Energético
6. Imagen Estable	6. Imagen Estable	6. Parpadea la Imagen
7. Poco calentamiento	7. Poco calentamiento	7. La pantalla se calienta
8. 3D activos pierden la imagen con las gafas a 90°	8. 3D activos mantiene la imagen con las gafas a 90°	8. 3D activos mantiene la imagen con las gafas a 90°
9. El Negro es Azul/Gris	9. Negros 100%	9. Negros con reflejo
10. Más Caro	10. Más Económico	10. Más Económico
11. Diseño	11. Diseño	11. Diseño
12. Ligero	12. Ligero	12. Mayor Peso

Figura 1.8. Comparación entre pantallas de televisión LED, PLED y de plasma ¹⁷.

Gran parte de la investigación en la electroluminiscencia se ha centrado en el estudio de materiales de bajo peso molecular o bien de peso molecular extremadamente altos. Excepción a ello se ha dado en el estudio de especies poliméricas de peso molecular intermedio como los basados en estructuras dendríticas, especies químicas macromoleculares con forma de fractal (una geometría ramificada exponencial en vez de una lineal iterativa) que contiene subunidades auto-similares. Éstos materiales pueden combinar las ventajas de una y otra tipologías extremas de OLED's: alto peso molecular, capacidad de procesado en disolución, capacidad de funcionalidad y ajuste con propiedades estructurales ^{10,12,13}.

1.3.2. Diferencias entre la tecnología OLED y las OPV's.

La maduración de la tecnología de OLED's ha permitido el desarrollo de otras tecnologías también basadas en materiales orgánicos como por ejemplo, las celdas solares de películas sólidas de estructura amorfa, conocidas como celdas OPV's (*Organic Photovoltaics*, siglas en inglés para celdas fotovoltaicas orgánicas) y las de estructuras semi-líquida e híbrida (orgánica-inorgánica), que contienen un electrolito líquido y colorantes sensibilizadores, conocidos como DSSC (*Dye Sensitized Solar Cells*) o celda solar Grätzel ^{12,13,18,19}.

Mientras que en los OLED's se aplica electricidad y se genera luz, en las celdas OPV's y DSSC se absorbe luz y se genera electricidad; lo que es importante en la sociedad actual que tiene grandes demandas energéticas y que debido a la reducción de las reservas de los combustibles fósiles (petróleo particularmente) se tiene la necesidad urgente de contar con fuentes de energía alternativas que sean preferiblemente renovables, limpias y económicas (tales como eólica, hidroeléctrica y la solar) ^{12,13,18,19}.

En los diodos semiconductores comunes (Figura 1.9) se tiene dos regiones o polaridades diferentes: una tipo-P (positiva) en función de ánodo y otra tipo-N (negativa) en función de cátodo, ambas regiones se unen formando el chip de un diodo tipo P-N y una vez formado, al energizar el diodo éste se polariza directamente permitiendo el paso de electrones por todo el circuito eléctrico. En cambio en el caso de los diodos orgánicos emisores de luz (OLED), la diferencia reside en que la electroluminiscencia se basa en la inyección de huecos libres (cargas positivas o tipo p) y electrones (cargas negativas, o tipo n) de los electrodos hacia la película orgánica. Éstos huecos y electrones se recombinan en la película orgánica para formar un excitón permitiendo la generación de luz. Un excitón es una pareja electrón-hueco fuertemente unida por atracción de Coulomb. Por el contrario, cuando una celda OPV se ilumina, la luz es absorbida por el material orgánico y se produce un excitón, luego este se desplaza entre las moléculas orgánicas ocurriendo una disociación de éste (esto es, la separación de los huecos y electrones), y son los huecos y los electrones libres quienes migran a sus respectivos electrodos produciendo un voltaje y una corriente. En la Figura 1.9, se representan ambos fenómenos, tanto para un OLED como para una celda OPV en su configuración más simple de una sola película orgánica entre dos electrodos (ánodo y cátodo) ^{16,18,19}.

Las celdas OPV también pueden ser diseñadas con dos películas orgánicas entre el cátodo y el ánodo (Figura 1.10), esto con el fin de absorber la mayor cantidad de luz solar, los investigadores están trabajando en celdas solares orgánicas de menor tamaño que las convencionales, combinando diferentes materiales con novedosas arquitecturas e ingeniería de las celdas y de los métodos de fabricación, para hacerlas de una manera más eficiente, aunque el objetivo actual de las celdas no es sustituir a las de silicio, sino complementar las fuentes de energía existentes ^{16,18-21}.m

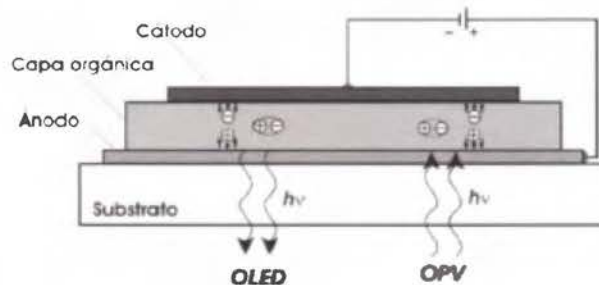


Figura 1.9. a) Esquema más simple para dos dispositivos optoelectrónicos: un OLED y una celda OPV. b) Diseño de una celda solar orgánica (celda OPV) en la arquitectura de heterounión de volumen (BHJ) ¹⁶.

Otras de las celdas antes mencionadas y diseñadas con compuestos orgánicos son las llamadas celdas sensibilizadas (DSSC) o celdas solares de Grätzel, constituyen una variante mucho menos costosa, en comparación con las tradicionales de silicio o de estado sólido en general, para la conversión fotovoltaica ²¹⁻²³.

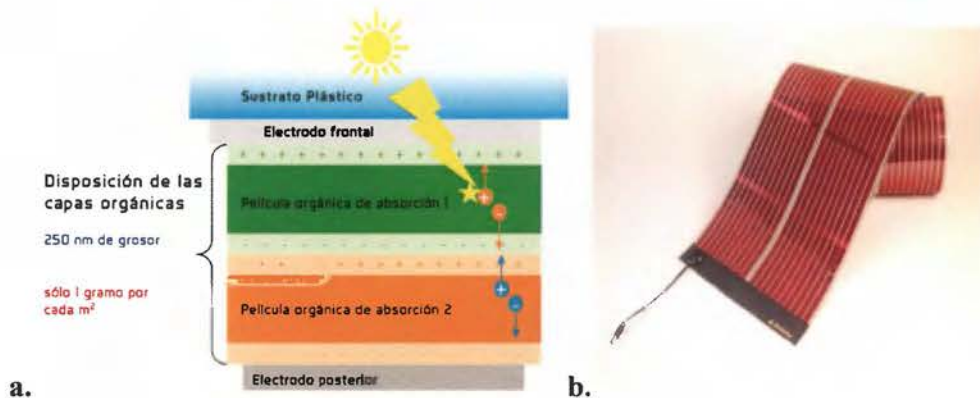


Figura 1.10. a) Representación esquemática de las celdas solares de películas sólidas de estructura amorfa conocidas como celdas fotovoltaicas orgánicas (OPV's) ²⁰. b) Celda solar orgánica ²¹.

Las dos estructuras de las celdas solares orgánicas, las OPV's y las DSSC, son las más ampliamente estudiadas siendo la de películas delgadas amorfas de estado sólido (las

OPV's) bastante prometedoras entre las mencionadas, pues las DSSC son celdas húmedas y tienen importantes limitaciones tecnológicas inherentes a su estructura como el proceso de inyectar el colorante orgánico entre él y el problema que da la recombinación de los electrones en el colorante orgánico ^{18,19,23,24,28-30}.

1.3.3. Funcionamiento de las celdas solares sensibilizadas con colorante (DSSC).

El interés en las DSSC se remonta a la década de 1970, cuando un semiconductor cristalino se utilizó como un apoyo para fotosensibilizadores, éstas poseían bajas eficiencias, debido a la pequeña área superficial disponible para el anclaje del tinte, que se traduce en una menor fracción de radiación que puede ser recogida por el mismo. Fue hasta 1991, cuando Grätzel y O'Regan desarrollaron un material nanoestructurado semiconductor mesoporoso que incrementó el área superficial hasta en 1000 veces, lo que permite mayor concentración de colorante que se ancla en la superficie del electrodo mejorando la eficiencia de la celda ²¹⁻²³.

Las DSSC (Figura 1.11) son celdas fotoelectroquímicas, están constituidas por un electrodo (ánodo) de un óxido semiconductor poroso, en general de TiO_2 (óxido de titanio (II)) nanocrystalino soportado sobre un vidrio conductor (TCO: óxido conductor transparente), recubierto de una monocapa de un compuesto orgánico que actúa como sensibilizador porque es capaz de absorber un amplio rango de longitudes de onda del espectro solar, a diferencia del TiO_2 (entre otros óxidos como el óxido de indio y el óxido de estaño) que es transparente a la luz visible; esta monocapa orgánica absorbida en el TiO_2 contiene un electrolito regenerador que contiene un par redox I^-/I_3^- que penetra toda la superficie interior del electrodo y contacta al fotoelectrodo permitiendo el flujo de corriente. El contraelectrodo (generalmente de platino) actúa como cátodo ²¹⁻²³.

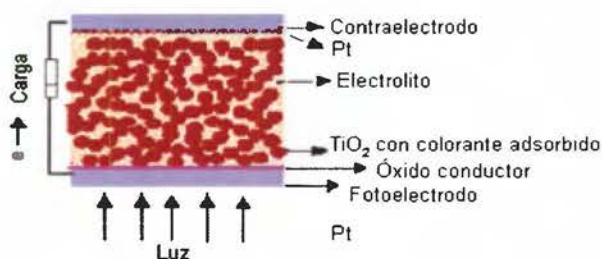


Figura 1.11. Representación esquemática de las celdas solares sensibilizadas (DSSC) ²¹.

El proceso que ocurre en las celdas solares sensibilizadas es comparado al que ocurre en las plantas durante el proceso de fotosíntesis; este se resume en cinco pasos: (1) excitación, (2) formación del excitón, (3) difusión del excitón, (4) disociación del excitón y (5) colección de cargas (Figura 1.12a). Por la disposición del material orgánico entre los dos electrodos se forma un escalonamiento de las bandas de energía, éstos escalones energéticos estimulan la disociación de los excitones y después separan las cargas que los componen. Una desventaja de la presencia de éstas bandas de energía es el tiempo que le toma recorrerlas al excitón, pues si se demora en disociarse por tener que moverse hasta las fronteras o uniones con los electrodos u otros materiales, las cargas se recombinan y disminuyen la eficiencia de la celda (menor cantidad de energía producida) (Figura 1.12b) ^{22,23}.

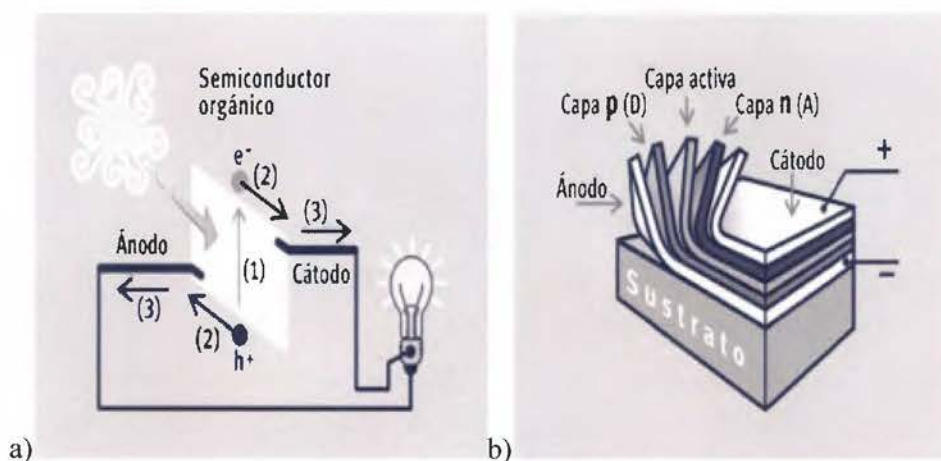


Figura 1.12. a) Procesos que ocurren en las celdas sensibilizadas. **b)** Presencia de multicapas en las celdas solares orgánicas sensibilizadas con colorantes ^{22,23}.

Al incidir radiación en la celda (Figura 1.12a) esta es absorbida por el colorante (el semiconductor es transparente y no absorbe radiación) que pasa a su estado excitado, desde el cual se produce la inyección de los electrones hasta el semiconductor (TiO_2), seguida de la difusión de los electrones hasta el vidrio conductor; el circuito se cierra externamente en el contraelectrodo donde los electrones reducen el I^{3-} a I^- , especie que repondrá los electrones en el colorante, cerrando el ciclo de corriente ^{22,23}.

1.3.3.1. Componentes de las DSSC's y su funcionamiento.

Debido al ciclo de generación de corriente antes mencionado, las DSSC's tienen varios procesos no deseados que limitan la eficiencia de la celda, como la recombinación antes mencionada; esta recombinación de los electrones ocurre en las interfaces TiO_2 / colorante / electrolito; con el colorante oxidado o con el electrolito presente. La eficiencia en las DSSC's no solo es limitada por el proceso de recombinación sino que también está definida en función de las propiedades del semiconductor, del colorante y del electrolito regenerador ²²⁻³⁰.

En el caso del semiconductor, tiene una banda de conducción y de valencia (Figura 1.13), al igual que los materiales conductores y los no conductores; la diferencia con éstos materiales reside en que en el caso de los materiales conductores las bandas están unidas lo que permite el libre movimiento de los electrones entre ellas, favoreciendo la conducción; en el caso de los no conductores las bandas están muy separadas (esta separación se llama band gap), los electrones no puede moverse entre las bandas y por ello los no conductores son materiales aislantes. En el caso de los semiconductores la band gap (separación entre las bandas de conducción y de valencia) es menor que en el caso de los materiales no conductores, así que al aumentar la temperatura los electrones tienen más energía y pueden pasar de la banda de valencia a la banda de conducción, es decir, con el aumento de la temperatura el material semiconductor se comporta como un material conductor ²²⁻²⁴.

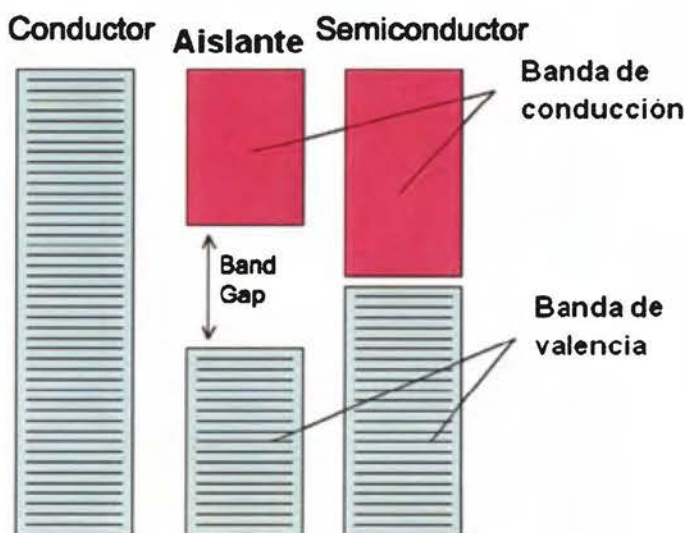


Figura 1.13. Estructura de las bandas de valencia y de conducción en materiales conductores, semiconductores y aislantes ²³.

El semiconductor este debe ser transparente para dar lugar al paso de la radiación incidente sobre el colorante, normalmente se utiliza óxido de titanio (II), pero se ha tratado de utilizar otros óxidos como ZnO, SnO₂ o Nb₂O₅ para aumentar la eficiencia, sin embargo las pruebas han mostrado que la eficiencia no ha aumentado de forma significativa por lo que el uso de éstos óxidos en lugar de TiO₂ no genera gran diferencia, y el escoger alguno de ellos se hace en muchos casos en base al costo económico asociado con la construcción de la celda ^{23,24,28-30}.

Algunas investigaciones han mostrado que para aumentar la eficiencia de las celdas solares sensibilizadas se puede dopar el TiO₂ con iones metálicos como el aluminio y el wolframio, como impurezas que mejoran las propiedades fotovoltaicas del semiconductor, ya que dichas impurezas modifican propiedades eléctricas de la superficie dando lugar a cambios en la agregación del polvo, en la cinética de transferencia de la carga y en las características de absorción del colorante. También se ha encontrado que se puede recubrir el TiO₂ con una capa homogénea de Al₂O₃ para retrasar la recombinación de los electrones en la interfase entre el colorante y el semiconductor, permitiendo hasta una mejora del 30% en la eficiencia de dispositivo fotovoltaico; ya que con ésta capa de Al₂O₃ se aumenta la separación física entre los electrones inyectados desde el colorante oxidado hacia el par redox, retardando de este modo las reacciones de recombinación. El SnO₂ recubierto con Al₂O₃ y el TiO₂ recubierto con Nb₂O₅ muestran resultados similares en el retardamiento de la recombinación de electrones como en el caso antes mencionado del TiO₂ recubierto con Al₂O₃ ^{23,24,28-30}.

En el caso del colorante se encarga de absorber la radiación, al oxidarse produce electrones que son inyectados en la banda de conducción del semiconductor, porque es la banda que está vacía de electrones. El colorante absorbe longitudes de onda específicas del espectro electromagnético; esto debido a las moléculas que lo constituyen, y a sus orbitales moleculares formados por la combinación de los orbitales atómicos; ya que cada orbital molecular posee una energía determinada. El orbital lleno con electrones y que tenga más energía se llama HOMO (*Highest Occupied Molecular Orbital*), y el orbital que está vacío de más baja energía se llama LUMO (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*). Para que un colorante absorba radiación luminosa, es necesario que la radiación tenga una energía igual que la necesaria para que un electrón pase del HOMO al LUMO;

si la energía de la radiación luminosa no es igual a la diferencia entre los estados HOMO y LUMO, no se absorberá ^{19,20,23,24}.

Mientras que las eficiencias más altas se han logrado con colorantes constituidos por complejos de rutenio, en los últimos años se ha incrementado el uso de colorantes completamente orgánicos en la construcción de celdas (por ejemplo eficiencias por encima del 12%, con colorantes basados en la porfirina). Éstos colorantes orgánicos presentan varias ventajas frente a aquellos que utilizan rutenio; la primera de ellas es facilidad en la síntesis y modificación de grupos funcionales en el esqueleto de los cromóforos, que permite optimizar la eficiencia, segundo el costo económico para el diseño de los colorantes puramente orgánicos es inferior al utilizado en el diseño de colorantes con rutenio; y tercero éstos colorantes absorben más radiación en el rango visible del espectro electromagnético, lo que facilita el proceso de captación de luz solar. También debe mencionarse que al no utilizarse metales raros como el rutenio para la construcción de las celdas, no existe la preocupación por el agotamiento de las materias primas ^{23,24}.

La recombinación dentro del colorante es un limitante a la eficiencia de las celdas sensibilizadas, esta recombinación se debe a la distancia recorrida por los electrones en las diferentes bandas de energía presentes en el colorante, entre mayor sea la cantidad de bandas presentes mayor contacto se tiene con el colorante, beneficiando el proceso de recombinación. Para reducir la recombinación de cargas algunos investigadores han optado por generar estructuras con dos o más capas finas de semiconductores orgánicos, ya que las diversas capas incrementan la absorción del colorante debido a la interacción con varios compuestos orgánicos y distribuyen el escalonamiento energético entre ellos, para mejorar la disociación de los excitones y la extracción de las cargas ^{22-24,28-30}.

En cuanto al electrolito regenerador, se encarga de reponer los electrones perdidos por el colorante (lo reducen) para que el proceso de inyección de electrones continúe, luego el electrolito se recupera al reducirse en el contraelectrodo con lo cual se cierra el circuito. Normalmente se utiliza como electrolito el par redox I^-/I_3^- (obtenido de adicionar KI/I_2), sin embargo el uso de los electrolitos líquidos presentan problemas tales como fugas, evaporación del disolvente, inestabilidad a altas temperaturas e inflamabilidad. Por lo que se han realizado investigaciones para utilizar líquidos iónicos y también para reemplazar el electrolito líquido con uno sólido, como electrolitos en gel de polímeros,

materiales de transporte de agujero orgánico y electrolitos de polímero sólido (PSE). Los electrolitos basados en polímeros facilitan mucho el montaje de la DSSC ^{23,25-27}.

En el caso de los líquidos iónicos se utilizan como posibles alternativas para los disolventes orgánicos volátiles debido a sus propiedades únicas, tales como la presión de vapor insignificante, excelente estabilidad electroquímica y térmica, así como alta conductividad iónica. Por otro lado, los procesos de transporte físico son más lentos en los líquidos iónicos que en los electrolitos convencionales debido a su alta viscosidad; sin embargo, actualmente los líquidos iónicos parecen ser los disolventes más prometedores para la construcción de las DSSC's; como ejemplo de estos líquidos iónicos se tiene la mezcla de dicianamida de 1-etil-3-metilimidazolio, yoduro de 1-metil-3-propilimidazolio (MPII por sus siglas en inglés) y yodo; esta mezcla proporciona el par redox I/I^{3-} , los resultados mostraron el aumento del coeficiente de difusión del triyoduro con la disminución en la concentración de MPII, causada por la disminución de la viscosidad del electrolito ^{23,25-27}.

Por medidas fotovoltaicas se sabe que la eficiencia en las DSSC's está limitada por la difusión de triyoduro a bajas temperaturas y bajas concentraciones de yodo, mientras que a altas temperaturas se limita por procesos de recombinación, dando lugar a un máximo para la eficiencia de la DSSC a cierta temperatura. El intercambio entre la limitación de difusión de triyoduro en la eficiencia de la DSSC y la limitación por la recombinación y por tanto el máximo de eficiencia que puede lograr la DSSC se cambia a temperaturas más bajas mediante el aumento en la concentración de yodo, es decir, la difusión de triyoduro es el proceso limitante de la eficiencia que predomina a bajas concentraciones de yodo en el rango de temperaturas de 25 – 60 °C ²³⁻³⁰.

En el caso de los electrolitos en estado sólido se habla de aquellos en forma de gel como los electrolitos poliméricos, éstos consisten en conductores iónicos formados por disoluciones de sales de polímeros de alto peso molecular tales como poli (óxido de etileno) (PEO) ó poli (óxido de propileno) (PPO). Estos electrolitos poliméricos han sido estudiados para su aplicación en dispositivos electroquímicos tales como baterías secundarias, debido a sus propiedades elásticas que les permiten una reducida resistencia de contacto interfacial entre el electrolito y los electrodos, así como configuraciones de películas delgadas. Por lo tanto, la alta conductividad iónica es importante para aplicaciones prácticas como su uso en las DSSC's ²³⁻²⁷.

Para mejorar el rendimiento de las DSSC's, el uso sólo de electrolitos poliméricos ha resultado ser inaplicable o utilizable con gran dificultad, de modo que se han estudiado una serie de métodos alternativos como la combinación de electrolitos poliméricos con otras sustancias, por ejemplo se tiene la combinación de PEO, KI e I₂ o el uso del sólido polimérico poli (vinilideno fluoruro co-hexafluoropropileno) (PVDF-HFP) ²³⁻²⁷.

La composición de PEO/KI/I₂ se caracteriza por optimizar al electrolito y mejorar el rendimiento en las DSSC's; esa optimización reside en una alta conductividad iónica así como una concentración moderada de I³⁻, que son factores asociados con el proceso de recombinación de los electrones en la superficie de nanopartículas de TiO₂. Medidas con difracción de rayos X (*XRD por sus siglas en inglés*) y de calorimetría de barrido diferencial (*DSC por sus siglas en inglés*) mostraron la formación de un complejo amorfo completo para esta composición de PEO/KI/I₂, cuya conductividad iónica máxima es 8,36 x 10⁻⁵ S/cm (Siemens por centímetro) a 303 K (temperatura ambiente) para la relación molar de PEO:KI 12:1 (relación óptima). El espectro de FTIR revela que los cationes del metal alcalino se coordinan con el oxígeno de éter del PEO. La formación de iones poliyoduro fue confirmada con mediciones espectroscópicas FT Raman, éstos iones poliyoduro aumentan la conductividad del electrolito polimérico de sales de PEO/KI/I₂. El resultado final para la DSSC fue una eficiencia de conversión de energía de 2.044% bajo una irradiación de 100 mW/cm² para una película delgada desarrollada con el gel polimérico ²³⁻²⁷.

En el otro caso del empleo del gel polimérico para aumentar el rendimiento de la DSSC se utiliza el PVDF-HFP junto con yoduro de 1-metil-3-propilimidazolio, esta combinación les permitió construir una película delgada con una densidad de corriente de cortocircuito (J_{sc}) superior al 70% al de una DSSC cuya película estaba constituida de un electrolito líquido; este resultado lo obtuvieron para una superficie activa de 0,152 cm² y manteniendo la iluminación al 5,3%. Observaron también una gran dependencia de la estructura de la DSSC para lograr la mayor eficiencia de conversión de la luz en electricidad, específicamente dependencia de la brecha entre los electrodos de la celda (brecha de celdas) debido al tamaño de la película de electrolito; una menor brecha entre celdas está asociada con una mayor J_{sc}, esta menor brecha también está asociada con una mayor difusión del ión I³⁻, ya que la mayor difusión de este ión disminuye la probabilidad que se dé el proceso de recombinación. Así en el caso de la DSSC con PSE esta brecha

entre celdas es mayor que las DSSC basadas en electrolitos líquidos, esto explica porque la DSSC basada en el electrolito líquido tiene una eficiencia de conversión mayor que la DSSC con PSE; sin embargo una DSSC basada en PSE con una separación de celdas de 20 μm alcanza una eficiencia comparable al de la DSSC a base de electrolito líquido. Este hecho indica que la eficiencia de conversión de la DSSC basada en PSE puede ser mejorada incluso a ser igual o mayor que las DSSC's basadas en electrolitos líquidos al optimizar la estructura de la celda así como los compuestos que son utilizados como parte de las películas delgadas de electrolitos ²³⁻³⁰.

1.3.4. Eficiencia en las celdas solares orgánicas.

Las celdas OPV's presentan actualmente una eficiencia alrededor de 9%, mientras que las celdas DSSC tienen una eficiencia típica de 11%; por su parte, las celdas inorgánicas (materiales cristalinos) poseen eficiencias que se encuentra por encima del 20%. Sin embargo las celdas de materiales inorgánicos, generalmente construidas en base a silicio, en las cuales la transformación directa de la luz se realiza mediante el efecto fotovoltaico (*PV effect*, debido al acrónimo en inglés) y que se encuentran en muchos dispositivos como calculadoras, relojes, alimentación de teléfonos de emergencia en las carreteras, etcétera; requieren condiciones de fabricación muy especializados que implican un alto costo que no es rentable para determinadas aplicaciones y que hasta ahora ha restringido su uso masivo; además, dichas condiciones de producción generan importantes residuos contaminantes como el dióxido de carbono. Una alternativa para abaratar los costos de fabricación, de producción masiva y de mínima generación de residuos es el uso de semiconductores orgánicos en sustitución del tradicional silicio ^{18,19,23,24,28}.

Actualmente, el tiempo de vida de las celdas solares orgánicas producidas en los laboratorios es de semanas a meses, aproximándose cada vez más al año (en comparación con las celdas en bases a materiales inorgánicos cuya vida útil es de 15-20 años). Se recomienda, ante esto, tener acumuladores eléctricos para el almacenaje de la energía fotogenerada, ya que, a pesar de lograr una alta eficiencia en las celdas solares, usualmente no será posible alimentar directamente a algún dispositivo con la sola conversión solar. Por ejemplo, las pequeñas lamparillas de decoración en jardines no se

encienden directamente con la conversión fotovoltaica, sino que durante el día esta energía eléctrica está siendo almacenada en una pequeña batería recargable. Bastaría tener una celda solar orgánica con baja eficiencia de conversión y un buen sistema de almacenaje para que esta conversión fotovoltaica de energía eléctrica pudiera ser de utilidad para ciertos usos ^{18,19,23,24,28}.

1.3.5. Azo compuestos en la electrónica.

1.3.5.1. Estructuras, clasificación y síntesis de los azo compuestos.

Los azo compuestos son una clase importante de compuestos orgánicos que contienen al menos un grupo azo conjugado (-N=N-) como cromóforo (Figura 1.14). Este resto cromóforo puede estar asociado con dos o más anillos aromáticos o heterocíclicos, lo que conlleva a la absorción de radiación en diferentes longitudes de onda del espectro electromagnético. Puede haber más de un grupo azo presente en las moléculas de colorante y así se clasifica como monoazo, diazo, triazo, y así sucesivamente de acuerdo con el número de restos azo presentes en la molécula. El grupo azo se caracteriza por la presencia de un orbital que contiene un par solitario de electrones en cada átomo de nitrógeno. La mayoría de estos compuestos se derivan del acoplamiento de aminas diazo con hidroxilo aromático y compuestos amino ^{31,32}.

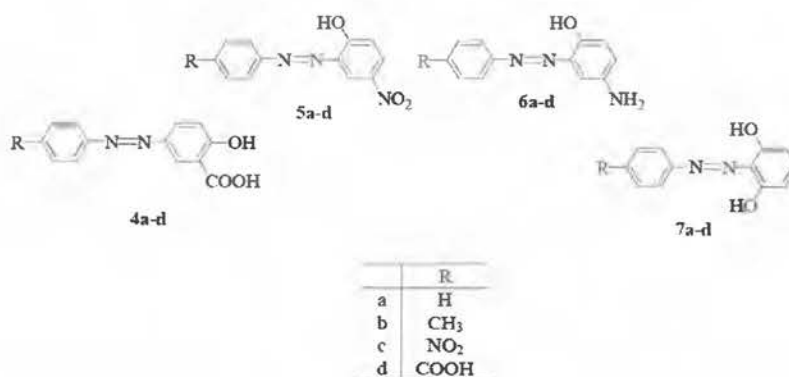


Figura 1.14. Ejemplos de estructuras de azo compuestos ³¹.

Los azo compuestos se pueden clasificar en tres categorías; el profesor Hermann Rau estableció esta clasificación en base a su comportamiento fotoquímico ^{32,33}.

En la primera categoría se encuentran los azobencenos no sustituidos o de bajo momento dipolar, llamados simplemente “azobencenos”. Los compuestos que pertenecen

a este grupo se consideran moléculas fotocromáticas ya que presentan dos isómeros, el isómero *trans* y el isómero *cis* (Figura 1.15a), cada uno de los cuáles presenta dos bandas bien diferenciadas en su espectro de absorción debido a las transiciones $\pi-\pi^*$ y $n-\pi^*$ respectivamente. En el caso del isómero *trans* la banda más intensa corresponde a la transición $\pi-\pi^*$, en cambio para el isómero *cis* la banda más intensa es la $n-\pi^*$, la sobreposición de ambas bandas para este tipo de azobencenos tiende a ser muy pobre. El tiempo de vida media del isómero *cis* es muy largo (minutos a horas, Figura 1.15b) ³³.

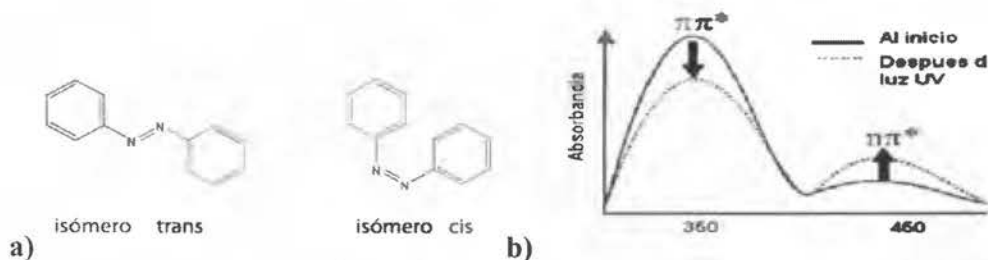


Figura 1.15. a) Isómeros del azobenceno. b) Espectro UV-Vis de un azobenceno ³³.

En la segunda categoría se clasifican a los azo compuestos como “aminoazobencenos”; éstos compuestos presenta una sobreposición apreciable de las bandas $\pi-\pi^*$ y $n-\pi^*$. El tiempo de vida media del isómero *cis* para los “aminoazobencenos” es mucho más corto que en el caso de los “azobencenos” y se encuentra en el orden de minutos ³³.

Finalmente, en la tercera categoría se encuentran a los “pseudostilbenos”. Esta categoría se caracteriza por azobencenos que contienen grupos electrodonantes y electroextractores. Para los “pseudostilbenos” las bandas $\pi-\pi^*$ y $n-\pi^*$ están invertidas en la escala de energía y están totalmente sobrepuestas, a tal grado que sólo se aprecia una banda (Figura 1.16). Además el tiempo de vida media del isómero *cis* es muy corto, en el rango de segundos a picosegundos ³³.

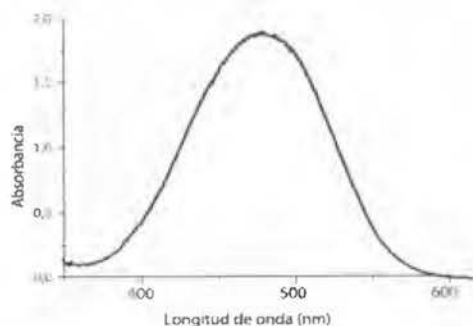


Figura 1.16. Espectro UV-Vis de un “pseudostilbeno” ³³.

Los azo compuestos constituyen una clase importante de compuestos en la síntesis orgánica, ya que se utilizan como precursores para la síntesis de una variedad de compuestos orgánicos que contienen grupos nitrógeno o azufre. Los azo compuestos se caracterizan por su facilidad de síntesis ya sea por diazotación (utilizando sales de diazonio), acoplamiento azo y en estudios recientes por medio de la resonancia de plasmones superficiales ³¹⁻³⁵.

Gran cantidad de compuestos reportados se obtienen por la variación de los componentes diazo y acoplamiento de componentes; por ejemplo las reacciones de Mills y Wallach son los métodos más comunes para la obtención de azo compuestos aromáticos. Otros métodos específicos incluyen acoplamiento con catalizadores metálicos, la oxidación de aminas aromáticas, el acoplamiento reductivo de compuestos nitro aromáticos, conversión y reducción de N-óxidos aromáticos, acoplamiento catalítico y descomposición térmica de azidas aromáticas y el acoplamiento catalítico de sales de diazonio aromático ³¹⁻³⁵.

Los métodos de síntesis antes mencionados requieren a veces de la utilización de metales pesados, así que un método alternativo para la síntesis de azo compuestos, con menos generación de desechos peligrosos para el ambiente, es la síntesis asistida por resonancia de plasmón de superficie (SPR por sus siglas en inglés). Este tipo de síntesis se reporta por primera vez en el 2010, presenta ventajas en comparación con los métodos tradicionales de síntesis química, como alta eficiencia, bajo consumo de energía y alta selectividad ³⁵.

La ruta sintética a los azo compuestos aromáticos y sus cinéticas pueden ser monitoreadas eficientemente por espectroscopia de Raman. De esta manera se ha confirmado que la catálisis asistida por SPR se produce en la superficie de nanopartículas de metales nobles (especialmente plata, oro y cobre). Mecánicamente, el proceso implica la transferencia de electrones excitados por el láser incidente desde la superficie del metal noble a tres moléculas de oxígeno en el aire para formar dos moléculas de O²⁻ (el oxígeno actúa como un aceptor de electrones), con ello se da la generación de SPR en la superficie de las nanopartículas de metal noble. El O²⁻ puede entonces reaccionar con el metal para formar óxidos o hidróxidos metálicos, que a su vez pueden reaccionar con la molécula sustrato. La molécula sustrato puede ganar un protón de un donante de protones o perder

un protón para formar un radical, que puede continuar con la reacción. Este mecanismo explica la conversión de 4-aminotiofenol (PATP) en 4,4-dimercaptoazobenceno (DMAB). El óxido o hidróxido metálico formado reacciona con PATP en un proceso de neutralización ácido-base. Los radicales PATP están formados por la pérdida de un protón, y el emparejamiento de dos radicales PATP conduce al producto intermedio DMHAB. La desprotonación de DMHAB da luego al producto final DMAB ³⁵.

Otros métodos como el uso de resinas de matriz o resinas de unión permiten obtener por ejemplo los azo colorantes fenólicos, utilizados en diversas aplicaciones, tienen alta disponibilidad y excelente propiedades tales como alta estabilidad de unión térmica, alta resistencia a los ácidos y al fuego por mencionar algunos aspectos. También se han obtenido azo polímeros conteniendo el grupo azo tanto en la cadena principal del polímero, o en grupos sustituyentes que están unidos a la cadena principal mediante un espaciador flexible; éstos últimos han mostrado ser la mejor opción para aplicaciones fotónicas, debido a que su flexibilidad facilita los movimientos inducidos. La cadena principal flexible más utilizada para la generación de los azo polímeros puede ser un poliacrilato o polimetacrilato, la Figura 1.17 muestra la estructura general de la serie de polímeros pnMAN. Donde p significa polímero, n indica el número de metilenos presentes en el espaciador flexible, M significa metacrilato y AN se refiere a una unidad de azobenceno amino-nitro sustituido ³¹⁻³⁵.

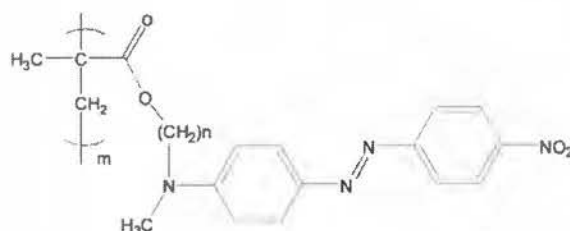


Figura 1.17. Estructura general de los polímeros de la serie pnMAN ³³.

La síntesis de azo compuestos presentan varias ventajas sobre la síntesis de otros compuestos, debido a que en los últimos años se han modificado para usar materias primas que tiene costos moderados y se pueden obtener con relativa sencillez como por ejemplo los naftoles; esto disminuye los costos de la síntesis. Otra ventaja es que la mayor parte de las síntesis se realizan a temperatura ambiente o por debajo de ella, por lo que el costo energético asociado a los procesos de síntesis es menor que para otro tipo de

compuestos; por último, se suele utilizar agua como disolvente en varias de sus reacciones lo que resulta en un bajo impacto al ambiente ³¹⁻³⁴.

1.3.5.2. Comportamiento fotoquímico de los azobencenos y el movimiento fotoinducido.

Como se menciona anteriormente los azo compuestos presentan dos isómeros (Figura 1.15a), el isómero *trans* y el *cis*. Cuando un azo polímero es constituido por unidades de azobenceno sustituidas con grupos donadores o aceptores de alto momento dipolar, se puede llevar a cabo movimientos fotoinducidos debido a la irradiación del azo polímero con luz polarizada linealmente; los movimientos fotoinducidos generados mediante la irradiación son de tres tipos ³³.

El primer movimiento fotoinducido es la fotoisomerización *trans-cis-trans* continua de los grupos azobencenos que se dan a nivel molecular; este movimiento es acompañado con un cambio de color, ya que el azobenceno es un material fotocromico que al ser irradiado con luz, no solo tiene el cambio de configuración *trans* a *cis* sino que éste es acompañado con el cambio de color que indica que los isómeros absorben radiación a diferentes longitudes de onda. El valor de la absorbancia máxima depende de los sustituyentes presentes; así en el caso del isómero *trans* no sustituido presenta una longitud de onda máxima de absorción a 313 nm debida a la transición $\pi-\pi^*$ del grupo azo (-N=N-), y el isómero *cis* a 436 nm debido a la transición $\pi-\pi^*$ del mismo (Figura 1.15b) ³³.

Debido a este primer movimiento fotoinducido, se puede emplear luz para promover la isomerización *trans-cis* y guardar información hasta la desactivación o isomerización en reversa *cis-trans*. En la práctica, esto no es posible por dos razones: primero porque el cambio en el color no es notable dada la absorptividad más baja del isómero *cis*; segundo, el isómero *cis* es muy inestable y sólo puede conservarse en la oscuridad hasta por un máximo de dos horas antes de regresar a la forma *trans* que es más estable ³³.

La isomerización también puede realizarse de forma térmica, como por ejemplo con el *cis*-azobenceno, sin embargo presenta complicaciones similares a las mostradas por la fotoisomerización³³.

En el caso de los azobencenos de bajo momento dipolar la velocidad de fotoisomerización es muy lenta (de minutos a horas); con sustituyentes donador-aceptor, las absorbancias de ambos isómeros *trans* y *cis* se sobreponen, dejan de ser compuestos fotocromáticos pero debido a que el tiempo de vida media del isómero *cis* es mucho más corto, los azobencenos sustituidos con grupos donador-aceptor pueden isomerizarse reversible y continuamente *trans-cis* por tanto tiempo como sean iluminados con luz polarizada linealmente en el rango de UV-Vis y la velocidad de fotoisomerización resulta ser mucho mayor que en el caso de los azobencenos no sustituidos o con bajos momentos dipolares (en el rango de picosegundos). La Figura 1.18 muestra un esquema de la fotoisomerización de azobencenos y azobencenos sustituidos³³.

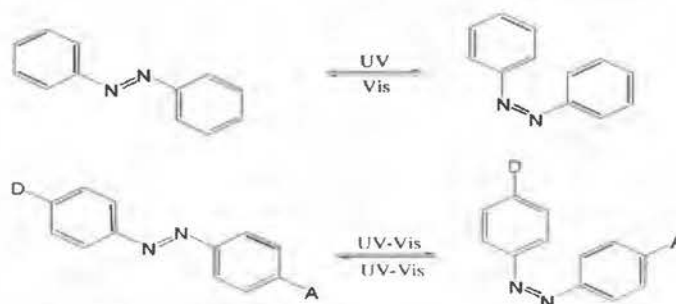


Figura 1.18. Fotoisomerización *trans-cis* de azobenceno y azobencenos sustituidos con grupos donadores y aceptores³³.

El segundo movimiento es el fotoalineamiento de los cromóforos azobenceno de forma perpendicular al eje de polarización de la luz láser con que son irradiados, el cual se da a nivel de microdominios. Esto ocurre porque generalmente en una película amorfa de azopolímeros las unidades azobenceno sustituidas con grupos donadores y aceptores y a temperatura de transición vítrea (T_g) alta, los grupos sustituyentes se encuentran distribuidos al azar; así al iluminar dicha película con luz polarizada linealmente se activa la fotoisomerización reversible *trans-cis* de los grupos azobenceno que tienen un componente de su dipolo paralelo a la dirección de la polarización de la luz; en otras palabras, si los grupos azobenceno están orientados perpendicularmente a la polarización de la luz no se fotoisomerizaran, en cambio, los grupos azobenceno que no estén orientados perpendicularmente si se fotoisomerizaran de manera reversible y continua, y

por consiguiente se moverán ligeramente en el proceso cambiando su posición paulatinamente y si al final del ciclo de fotoisomerización toman una posición perpendicular al eje de polarización de la luz se volverán inertes a ésta, dejando de moverse ³³.

Este alineamiento de los grupos azobenceno produce dicroísmo y birrefringencia, fenómenos que son medibles. Así pues, cuando una muestra con una orientación al azar de grupos azobenceno se ilumina con luz polarizada linealmente se obtiene una muestra fotoalineada birrefringente (Figura 1.19a), la cual se puede apreciar por microscopia de luz polarizada, ya que los dominios esmécticos formados (estructura liquido-cristalina donde los mesógenos están orientados en dos dimensiones) presentan una apariencia similar a una estrella (Figura 1.19b) ³³.

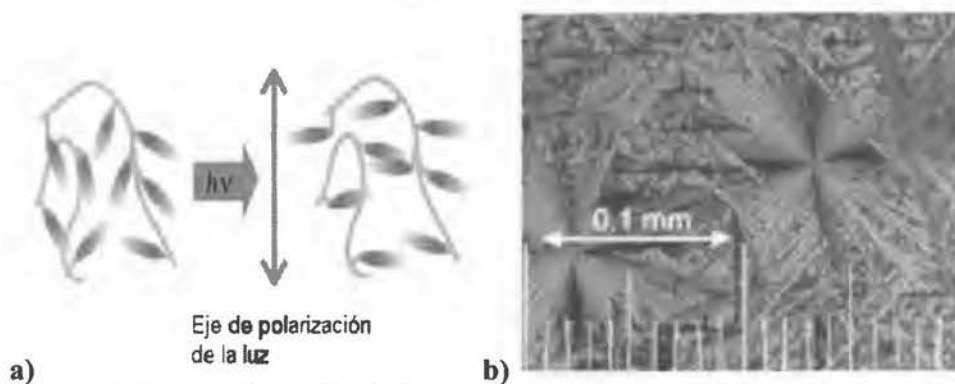


Figura 1.19. a) Orientación de los grupos azobenceno de alto momento dipolar en un fragmento de azopolímero, antes y después de ser irradiado con luz polarizada linealmente. b) Fotografía de los dominios esmécticos en una película del polímero p4MAN después de ser irradiado con luz polarizada linealmente. Imagen obtenida por microscopia de luz polarizada ³³.

El aspecto más interesante de este fenómeno es que al iluminar la muestra fotoalineada con luz polarizada circularmente los cromóforos azobenceno se vuelven a fotoisomerizar continuamente *trans-cis* y el cambio continuo de eje de polarización de la luz polarizada circularmente desordena o restaura la orientación inicial al azar de los grupos azobenceno, borrando la birrefringencia. Este proceso se puede monitorear midiendo el ciclo de birrefringencia a medida que el fotoalineamiento se lleva a cabo, lo cual se ilustra en la Figura 1.20 ³³.

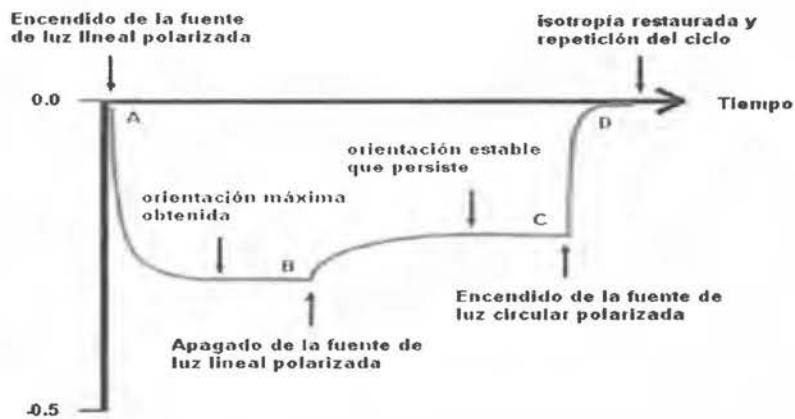


Figura 1.20. Medida de la birrefringencia en un azopolímero p4MAN ³³.

Finalmente, el tercer movimiento fotoinducido, consiste en el movimiento de cantidades masivas de material polimérico al irradiar una película de azo polímero con luz modulada a diferentes intensidades ³³⁻³⁵.

Este movimiento masivo ocurre al mismo tiempo que la fotoisomerización, ya que cuando la luz láser es modulada y golpea la superficie de una película de polímero a diferentes intensidades, es decir, en ciertas zonas con mayor intensidad y en otras con menor, un movimiento masivo de material polimérico puede acompañar a la fotoisomerización. Así pues, estos movimientos no están limitados al grupo azobenceno rígido, sino que involucra a varias cadenas poliméricas. Para explicar este fenómeno, se puede hacer la analogía entre un azopolímero y un tren, donde las unidades azobenceno son los únicos grupos móviles fotoquímicamente, actúan como las locomotoras mientras que el resto del polímero actúa como los vagones que se mueven arrastrados por los mesógenos móviles; el volumen afectado por este tipo de movimiento es tan grande que se pueden ver grabados en la superficie de las películas poliméricas. Dichos grabados no son borrables ópticamente al ser irradiados con luz polarizada circularmente, pero son borrables térmicamente al calentar la película por encima de la temperatura vítrea; además, es posible escribir sobre ellos conservando los grabados iniciales aún ahí ³³⁻³⁵.

Los estudios de relieves fotoinducidos están a la vanguardia a nivel mundial, por un lado porque el mecanismo de formación y control no está del todo esclarecido, y por otra parte las múltiples aplicaciones posibles ³³.

1.3.5.3. Aplicaciones de los azo compuestos

El grupo azo es fotocromico; lo que implica que puede sufrir modificaciones reversibles en su estructura, acompañada con cambios de color, que se debe a que las estructuras formadas absorben a diferentes longitudes de onda. Debido a esta propiedad, los azo compuestos se utilizan desde hace muchas décadas en tintes y pigmentos en la industria textil y en otras industrias como en la del cuero, plásticos, cosméticos y materiales alimenticios. Por ejemplo el azobenceno no sustituido es un compuesto de color amarillo, y dependiendo de los sustituyentes presentes en él puede adoptar tonalidades que van de naranja a rojo púrpura³¹⁻³³.

Los azo colorantes fenólicos tienen varias ventajas sobre otros colorantes comerciales, incluyendo su amplia gama de colores, solidez de color y capacidad para absorber luz. Estos grupos también se obtienen como resinas de matriz o resinas de unión para diversas aplicaciones, tienen alta disponibilidad y excelentes propiedades tales como alta estabilidad de unión térmica, alta resistencia a los ácidos y al fuego por mencionar algunos aspectos³¹⁻³³.

Los azo compuestos además se pueden utilizar como reactivos redox, suelen ser también compuestos sensibles a los cambios de pH y tienen la capacidad de estabilizar los estados de oxidación de baja valencia de los metales debido a la presencia de un orbital polar π^* ³¹⁻³³.

Pueden ser utilizados como indicadores de iones metálicos en las valoraciones ácido-base y en valoraciones complejométricas. Además se utilizan como pigmentos fluorescentes de la luz del día y tintes láser debido a sus excelentes características de color y alta fotoestabilidad; como sondas solvatocrómicas y como cromóforos ópticos no lineales de segundo orden (NLO) orgánicos y estables térmicamente.^{31,32}

En los campos de la electrónica y la óptica se han utilizado azo compuestos para producir polímeros altamente estables cuyo control de su configuración se basa en la isomerización cis-trans-cis del núcleo azo (-N=N)- bajo irradiación de luz visible o ultravioleta (Figura 15a); la fotoisomerización permite que además de ser fotosensibles, se produzca compuestos con dicroísmo y birrefringencia; esto permite además contener información que puede ser borrada mediante calentamiento o por método óptico; después de que la información es borrada a fondo, la muestra se puede volver a escribir. Este tipo

de compuestos tiene aplicación por tanto en el almacenamiento de información digital como en el caso del almacenamiento óptico de datos.^{31,32}

La isomerización de los polímeros funcionalizados con el grupo azo, también les permite la transferencia de cargas, el movimiento de iones mediante el dopaje dinámico y la actividad redox reversible; que han mostrado ser útiles en el campo de la holografía, en la generación de materiales con propiedades de fotoconmutación; y para la construcción de materiales conductores con películas de Langmuir-Blodgett; así que los polímeros con unidades azo son candidatos prometedores para ser utilizados como materiales fotoactivos ^{31,32}.

En el caso de las películas de Lagmuir-Blodgett, Ichimura y sus colaboradores en Japón explicaron que la fotoisomerización genera un comportamiento de “comandante de superficies” para las unidades azobenceno presentes en un polímero, haciendo que las películas líquido-cristalinas Langmuir Blodgett fueran los soldados que se alinean con el *trans* o el *cis*-azobenceno, este movimiento es promovido por la iluminación de las películas ³¹⁻³⁵.

En 1991, Natansohn y sus colaboradores en Canadá, se involucraron en el estudio de azo compuestos, tuvieron descubrimientos inesperados e interesantes que trajeron consigo adelantos prometedores en memoria óptica reversible y en aplicaciones fotónicas. Por ejemplo, la isomerización de los polímeros les permite tener propiedades mesomórficas generando estructuras que dan lugar a la formación de cristales líquidos; o películas poliméricas que al poseer características de unión adecuadas debido a la presencia del grupo $-N=N-$, pueden formar complejos con iones metálicos de metales de transición, lo que le confiere propiedades estructurales y magnéticas inusuales ^{31,35}.

En los últimos veinte años, la actividad de investigación ha crecido exponencialmente, y se cuenta con algunas revisiones útiles de los primeros trabajos efectuados: una de Natansohn que abarca toda la literatura hasta 1992, y una del grupo de Tripathy que revisa las investigaciones hechas en relieves grabados de superficie y una más reciente que aborda el fotoalineamiento en polímero de cristales líquidos. Por último se puede mencionar que Natansohn y Rochon realizan una revisión más reciente sobre la birrefringencia fotoinducida y relieves grabados fotoinducidos ³³⁻³⁵.

1.3.5.4. Ejemplos de azo polímeros o polímeros con grupos azo que tienen posibles aplicaciones en el campo de la electrónica.

Debido a sus diversas aplicaciones y un amplio rango de propiedades químicas, térmicas, fotoquímicas y biológicas; se usan no sólo como tintes y pigmentos clásicos, sino también en diversos materiales con propiedades fotoactivas como por ejemplo materiales híbridos orgánicos e inorgánicos basados en Ormosil; materiales poliméricos que contiene DO3 (Disperse Orange 3, colorante compuesto por 4-(4-nitrofenilazo)anilina) (Figura 1.21); dendrímeros de poliamidoamina centrados en azobenceno; y poliésteres insaturados basados en unidades de dietilcetona ^{32, 36-38}.

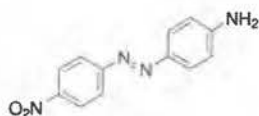


Figura 1.21. 4-(4-nitrofenilazo)anilina (Colorante Disperse Orange 3) ³⁶.

En el primero caso de ejemplos de azo compuestos con aplicaciones en la electrónica, se tiene a los materiales híbridos orgánicos e inorgánicos, que han sido ampliamente estudiados y cuyas propiedades ópticas pueden mejorarse en gran medida en comparación con materiales poliméricos únicamente orgánicos según investigadores como Xi Hu de la Escuela de Ciencia e Ingeniería de Materiales en la Universidad de Nanyang en Singapur. Por ejemplo los materiales híbridos orgánicos e inorgánicos basados en Ormosil (acrónimo de organilly modified silicates, silicatos orgánicamente modificados) han sido estudiados como un sistema prometedor para aplicaciones fotónicas en los últimos años; la razón se basa en que los grupos orgánicos están integrados en el vidrio de forma que los componentes orgánicos voluminosos llenan los poros entre las cadenas de óxido inorgánico ³².

El trabajo de Xi Hu y sus colaboradores muestran que al generar una película híbrida de unas cuantas micras de grosor, depositadas mediante un único procesamiento de recubrimiento por centrifugación y a bajas temperaturas, se permite la integración directa con semiconductoras, detectores y otros componentes optoelectrónicos. Además, la introducción de grupos orgánicos en una red inorgánica mejora las propiedades mecánicas, llevando a un procesamiento más fácil de la película delgada y la modificación de una estructura de red inorgánica con grupos orgánicos da un mayor espacio para la isomerización de moléculas fotoactivas orgánicas en comparación con las gafas

inorgánicas. Las pruebas en dichas películas muestran que el material es fotosensible, así el material híbrido con TiO₂, γ -glicidoxipropiltrimetoxisilano y metiltrimetoxisilano dopados con moléculas pequeñas de azobenceno para el almacenamiento óptico y aplicaciones de conmutación óptica ³².

En el segundo ejemplo, los materiales poliméricos con DO3 Antonela Orofino y sus colaboradores del Instituto de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de Materiales (INTEMA) de la Universidad Nacional del Mar de Plata en Argentina; desarrollaron polímeros modificados con grupos azobenceno (azo polímeros) ó copolímeros dibloque (CDB). Encontraron que la fotoisomerización reversible *trans-cis-trans* del grupo azobenceno es el centro de interés para la generación de polímeros que respondan a ser estimulados por la aplicación de luz; también la morfología resultante de la microseparación de fases y las estructuras autoensambladas organizadas, que se obtienen tanto en estado sólido como en disolución, son de interés, debido a la obtención de materiales con capacidades mejoradas ³⁶.

En el caso de estos materiales poliméricos que contienen DO3 (cromóforo conteniendo el grupo -N=N-) presenta movimientos inducidos por fotoisomerización, y al realizar repetidos movimientos fotoinducidos generan una anisotropía permanente que puede medirse mediante birrefringencia o dicroísmo. El movimiento fotoinducido es afectado no solo por la presencia del núcleo azo, sino también por la naturaleza de las moléculas orgánicas vecinas y el grado de unión de las mismas con la matriz, ya que ellas afectan la reorientación de los grupos azo, lo que afecta directamente las propiedades ópticas del material como la birrefringencia y con ello sus potenciales aplicaciones en dispositivos ópticos ³⁶.

La respuesta óptica de los polímeros con DO3, tanto en polímeros modificados como en copolímeros dibloque (CDB), resulta en materiales que transmiten de forma eficiente la luz incidente (sin dispersión de la misma) y propiedades ópticas mejoradas respecto a un sistema hospedador-huésped (*guest-host* en inglés); todos estos resultados son basados en las medidas de la birrefringencia fotoinducida (Δn), la cual aumenta cuando se confina el movimiento del grupo azo dentro de los polímeros y los copolímeros, causado por interacciones con las paredes de los nanodominios, que hacen más lento el proceso de relajación de las moléculas. Esta mejora en la anisotropía remanente es muy

molécula pequeña, teniendo fotoisomerización reversible *trans-cis-trans*, con luz ultravioleta en el rango de 260-320 nm y debido a ello tienen una posible aplicación en procesos de transporte fotoestimulados ³⁷.

En el cuarto y último ejemplo, se tiene la síntesis de poliésteres insaturados basados en unidades de dietilcetona por parte de Ismail A. Alkskas y sus colaboradores del Laboratorio de Polímeros en el Departamento de Química en la Facultad de Ciencias en la Universidad de Misurata en Libia. El poliéster fue preparado mediante polimerización interfacial de 2,4-bis-(4-hidroxibencilideno)-3-pentanona y 2,4-bis-(4-hidroxi-3-metoxibencilideno)-3-pentanona con cloruro de 4,4'-azodibenzoilo y cloruro de 3,3'-azodibenzoilo a temperatura ambiente (Figura 1.23). Los poliésteres son viscosos, solubles en disolventes apróticos y en particular el dopaje con yodo del polímero diseñado por este grupo de investigadores, le otorga un color marrón y muestra un dramático aumento de la conductividad (máxima conductividad $2,7 \times 10^{-6} \Omega^{-1} \text{cm}^{-1}$); las propiedades del poliéster son determinadas mediante SEM (microscopía electrónica de barrido) ^{38,39}.

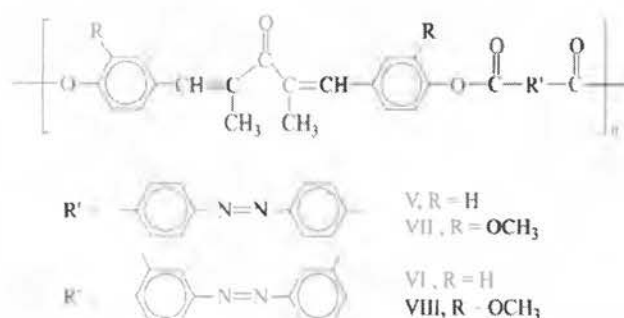


Figura 1.23. Polímeros sintetizados por Alkskas y sus colaboradores a partir de unidades dietilcetona con unidades azobenceno ^{38,39}.

Debido a las aplicaciones que tienen los poliésteres en diversos campos, como en el campo del revestimiento, en los automóviles, en la construcción, en el deporte y en los materiales autoextinguibles, se busca desarrollar propiedades para dichos materiales que sean aplicables en otras áreas, mediante la modificación de sus estructuras. Ya que los poliésteres insaturados que contienen grupos funcionales azo dentro de la cadena polimérica, se obtienen por policondensación de ácidos dicarboxílicos o cloruros de diácido con diferentes dioles, se obtienen polímeros con dobles enlaces, afectando según con la posición y número de éstos dobles enlaces la solubilidad del polímero, su estabilidad térmica y las propiedades mecánicas del mismo; también la presencia de

grupos éster, átomos de nitrógeno y anillos aromáticos afectan la estabilidad térmica y química de los polímeros obtenidos ^{38,39}.

La investigación de la combinación de los poliésteres con compuestos azoicos aromáticos, permite la obtención de materiales fotoreactivos, altamente estables y que permiten el control de la configuración del polímero vía isomerización trans-cis. Aunque la tendencia en investigaciones y desarrollo en el campo de los polímeros azoicos son mejorar la afinidad de la fibra de tinte y las propiedades de solidez del color en el teñido de textiles; la tendencia a generar polímeros con grupos cromóforos ha aumentado, ya que estos polímeros con los grupos azo han mostrado tener potencial para ser explotados para diversas aplicaciones ópticas tales como el almacenamiento halográfico y digital de información, en la formación de películas conductoras de Langmuir-Blodgett y también en materiales NLO (óptica no lineal), que tienen aplicaciones en el procesamiento de señales ópticas tales como amplificadores de duplicación de frecuencia, moduladores para la tecnología láser, almacenamiento de datos y telecomunicaciones ^{38,39}.

Además, debido a la presencia de grupos azo, los poliésteres tienen excelentes propiedades mesomórficas y sus moléculas pueden adoptar formas peculiares semejante al comportamiento de los cristales líquidos que puede llevar a la generación de nuevos materiales con diversas aplicaciones ^{38,39}.

1.4. Aplicaciones de la nanotecnología en la medicina.

Otra aplicación de interés en la nanotecnología es la nanomedicina; llamada así por la utilización de moléculas de tamaño nanométrico en el campo. Las investigaciones realizadas en el área de la salud humana son importantes para la sociedad, ya que la búsqueda y desarrollo de tratamientos, medicamentos e instrumentos que mantengan la salud de la población humana en condiciones óptimas es de gran interés; además el desarrollo de tratamientos y medicamentos es parte de un gran mercado económico a nivel mundial ^{1,2}.

El desarrollo de productos basados en compuestos orgánicos con aplicaciones médicas, mediante diversos procesos de síntesis en el laboratorio ha permitido preparar una amplia variedad de productos farmacéuticos y polímeros comerciales. Además el

desarrollo de estructuras moleculares únicas mediante ensamblajes supramoleculares, autoensamblaje e interacciones hospedador-huésped genera moléculas dispuestas en formas bien definidas, con propiedades de reconocimiento molecular dentro del cuerpo humano; lo que es especialmente importante para la aplicación de estos productos en medicina, ya que el diseño de dichos productos puede llevar a una configuración u ordenamiento específico que sean favorecidos debido a fuerzas intermoleculares no covalentes y covalentes, éstas interacciones favorecen el transporte de éste tipo de productos a través de las membranas celulares y con ello se reduce el riesgo de ser desechados del cuerpo por el hígado o el bazo antes de producir el efecto esperado, o bien de almacenarse dentro del cuerpo generando posibles efectos secundarios ^{1,2,9,10}.

1.4.1. Química supramolecular: ensamblaje, y autoensamblaje

Durante los últimos años la química ha evolucionado hacia un modelo multidisciplinar que ha llevado a la fusión de los campos clásicos, representados por la química orgánica, la química inorgánica, la química-física, la química analítica y la química teórica. Por otra parte, se han desarrollado extraordinariamente las interfaces entre la química y otras áreas científicas como la física, la biología y la ciencia de materiales. Campos relativamente nuevos como la química supramolecular, los materiales moleculares y los polímeros funcionales, entre otros, son aportaciones de la química a disciplinas emergentes englobadas dentro del término nanociencia ^{40,41}.

En química supramolecular, el ensamblaje y autoensamblaje de moléculas permite la obtención de productos con propiedades eléctricas y reconocimiento molecular por parte de células del cuerpo; como por ejemplo con polímeros conjugados y derivados de esteroides estudiados para su uso en terapias anticancerígenas, así como en el uso para transporte y administración de fármacos. También se puede encontrar a los derivados azo compuestos comúnmente como materiales electroactivos, en el campo de la medicina se pueden usar principalmente como transportadores de carga, ya que sus movimientos mecánicos debido a la fotoisomerización *trans-cis-trans*, permiten el acomplejamiento por ejemplo de fármacos iónicos; sin embargo también se han desarrollado investigaciones donde derivados de los azo compuestos, tanto naturales como sintéticos

presentan actividad biológica por lo que tienen potencial para ser aplicados en el campo de la medicina ^{10, 40-48}.

El proceso de ensamblaje de las moléculas se estudia en química supramolecular, dicho ensamblaje puede llevar a la formación de dímeros, trímeros, y estructuras con gran cantidad de unidades monoméricas conocidas como polímeros. Puede pensarse en el ensamblaje de moléculas como lo que sucede en las piezas del famoso juguete LEGO, donde se posee una interacción del tipo macho-hembra en cada monómero; a la parte macho de la molécula se le suele denominar también huésped o donante y al lado hembra como hospedador o aceptor. Tal dualidad, en la misma pieza, permite que, después del ensamblaje, la pieza resultante mantenga las características dual macho-hembra tal como se muestra en la Figura 1.24. La figura muestra también el sistema de unión mecánico entre las piezas, el cual permite que se mantengan unidas y estables en su posición, ilustrando como encajan macho y hembra tras su unión ^{42,49}.

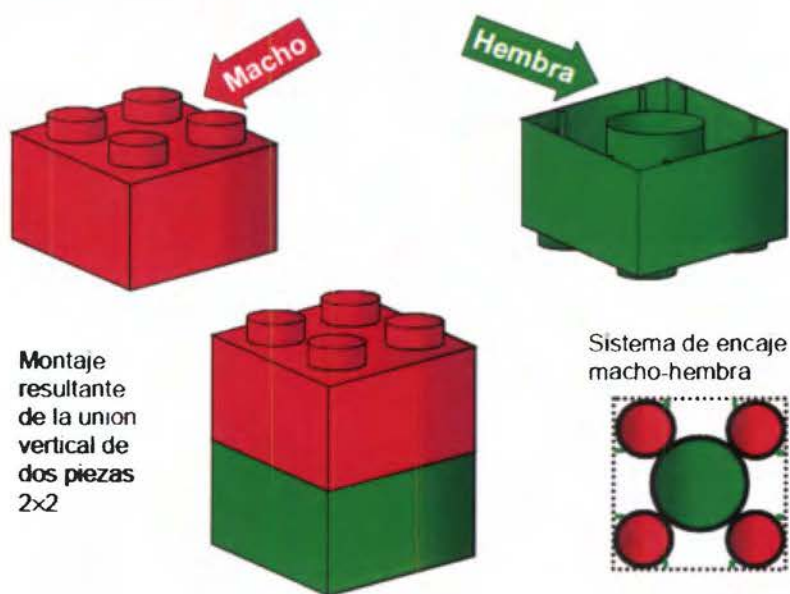


Figura 1.24. Representación esquemática del ensamblaje macho-hembra en química supramolecular, representado por piezas de LEGO ⁴⁹.

Mientras que en las piezas de LEGO la unión entre piezas es mecánico, en las moléculas la unión se da a través de las interacciones intermoleculares (fuerzas de Van der Waals, interacciones electrostáticas, puentes de hidrógeno entre otros). Algunas moléculas como las moléculas anfifílicas discretas (aquellas con una parte de su estructura hidrófila y otra parte hidrófoba) de naturaleza orgánica constituyen una familia

de compuestos muy utilizados para obtener arquitecturas supramoleculares altamente organizadas. La interacción de este tipo moléculas entre sí permite obtener ensamblajes con diferente morfología, dimensionalidad e incluso quiralidad, dependiendo de la naturaleza química de los fragmentos hidrofílicos e hidrofóbicos que constituyen la molécula anfifílica. Esta naturaleza química es la responsable de la autoasociación para formar estructuras complejas como las pompas de jabón, o la doble capa de fosfolípidos que constituyen la membrana celular y los liposomas naturales encargados de transportar principios activos, nutrientes o incluso genes en los seres vivos (Figura 1.25). El delicado balance entre fuerzas no covalentes (enlaces de hidrógeno, interacciones π - π , fuerzas de Van der Waals, entre otros), se puede alterar mediante pequeños cambios en la estructura química o en las condiciones externas de autoensamblaje, lo que permite interconvertir las estructuras supramoleculares. Las características químicas de los bloques anfifílicos han permitido obtener materiales útiles en aplicaciones biotecnológicas y en la fabricación de dispositivos ^{42,49}.

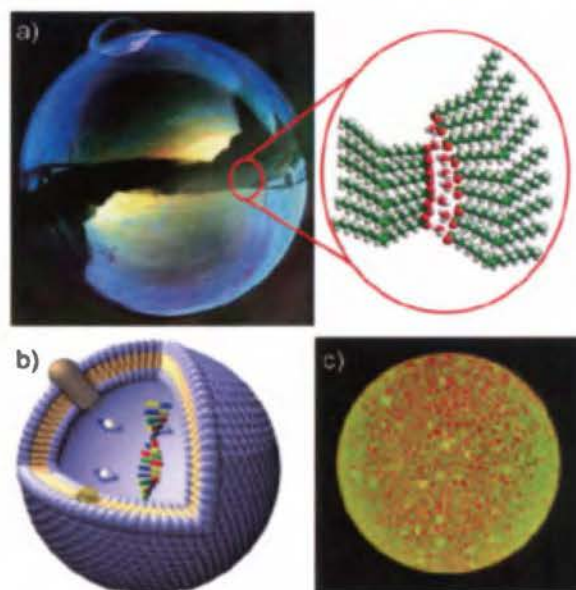


Figura 1.25. (a) Imagen de pompa de jabón y esquema de la autoagregación de moléculas de oleato que forman su membrana. (b) Representación esquemática de liposoma un liposoma (c) Imagen de microscopía confocal de un liposoma ⁴².

Con el fin de emular a la naturaleza en la construcción de arquitecturas supramoleculares complejas capaces de ejercer una función específica, muchos investigadores dedican un gran esfuerzo a la síntesis y el estudio de sistemas anfifílicos artificiales capaces de originar vesículas, redes o hilos tras su ensamblaje en disolución y su visualización por medio de técnicas de microscopía ^{42,49}.

Si el objetivo final del autoensamblaje de una molécula anfifílica es emular la naturaleza en la construcción de arquitecturas complejas capaces de desarrollar una actividad biológica, el ejemplo más adecuado es el de los oligopéptidos ^{42,49}.

Un ejemplo de las características de autoensamblaje de los oligopéptidos se muestra en la Figura 1.26, compuesto descrito por Stupp y sus colegas, la sal de tetraalquilamonio de dicho compuesto está constituida con una cabeza polar y un fragmento oligopeptídico con cadenas hidrofóbicas. La diferente demanda estérica del sustituyente R del oligopéptido 1 da lugar a hélices con diferente paso. Un ejemplo particularmente interesante es el compuesto 1b en el que dicho grupo R es un fragmento de diazobenceno que se puede isomerizar vía fotoquímica. Si dicho diazobenceno está en conformación trans, el paso de la hélice es de 78 nm, mientras que si se isomeriza al derivado cis el paso de hélice es de 56 nm dada la mayor demanda estérica (Figura 1.26) ^{42,49}.

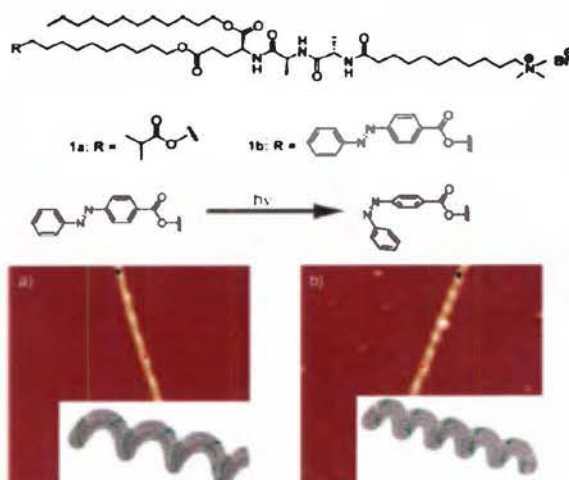


Figura 1.26. Estructuras químicas de los oligopéptidos 1; imágenes AFM del compuesto 1b en su configuración (a) trans y (b) cis. En el interior de las imágenes se muestra una representación de las hélices formadas ⁴².

Este ejemplo ilustra no sólo la capacidad de este tipo de compuestos para autoensamblarse sino también que este proceso de autoagregación se produce de forma quiral y con un paso de hélice específico para cada sustituyente. La obtención de homoquiralidad tras el autoensamblaje de estos sistemas oligopeptídicos representa un modelo muy útil para el estudio de un tema de investigación tan antiguo y a la vez tan importante como el conocimiento del origen de la quiralidad en las biomoléculas ^{42,49}.

Otro ejemplo de sustrato orgánico con características de autoensamblaje son las perilen diimidias (PDIs), utilizadas como unidades de construcción para la obtención de arquitecturas supramoleculares unidas mediante enlaces de hidrógeno, coordinación metal-ión o por medio de interacciones π - π . Respecto a su carácter electrónico, este tipo de compuestos están entre los oligómeros π -conjugados comportándose como materiales semiconductores del tipo n (aceptores de electrones). La fuerte tendencia de las PDIs a autoensamblarse junto con sus características electrónicas puede impulsar la aplicación de este tipo de compuestos como componentes activos de diferentes dispositivos optoelectrónicos ^{42,49}.

La Figura 1.27 muestra ejemplos de la construcción de objetos supramoleculares con morfología modulada a partir de PDIs anfifílicas descritas por Würthner y sus colegas en el 2007, 9a muestra una geometría triangular mientras que 9b una geometría rectangular ^{42,49}.

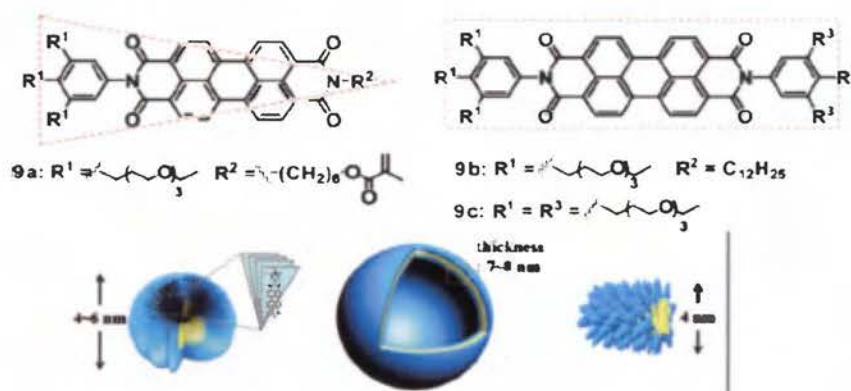


Figura 1.27. Estructuras químicas de perilendiimidias y la representación esquemática de las arquitecturas supramoleculares obtenidas tras su autoasociación ⁴².

El autoensamblaje de las PDIs (Figura 1.27) con geometría triangular (9a) puede llevar a micelas con grupos trietilenglicol en el exterior de ellas y las cadenas alquílicas en el interior de la micela; mientras que las PDIs con geometría rectangular (9b) forma hilos cilíndricos ^{42,49}.

Como se comenta anteriormente, así por muchos otros ejemplos encontrados en publicaciones, los oligómeros constituidos por sistemas aromáticos π conjugados están desempeñando un papel clave en el desarrollo de dispositivos optoelectrónicos de naturaleza orgánica como lo son los diodos emisores de luz, transistores de efecto campo o células solares orgánicas. Entre los oligómeros con propiedades electroactivas algunos

presentan geometría de varilla, ramificada, o bien un sistema anfifílico aromático con forma de disco ^{42,49}.

1.4.1.1. Derivados del colesterol: estructuras y aplicaciones en medicina.

Anteriormente se mencionaron varios tipos de compuestos que tienen tendencia a ensamblarse. Dentro de la química supramolecular el colesterol y sus derivados presentan no solo características estructurales para el ensamblaje y autoensamblaje sino también han mostrado tener aplicabilidad en el campo de la medicina, debido a su actividad biológica ^{42,49,50}.

El colesterol es parte de la familia de compuestos orgánicos denominados lípidos, después de varias biotransformaciones este compuesto da origen a las sales biliares, que son el componente principal de la bilis, sustancia de color dorado, ligeramente verdoso que se encarga de la digestión de grasas y aceites. Entre las sales biliares se encuentran el ácido litocólico, el ácido desoxicólico y el ácido cólico (Figura 1.28) ⁵⁰.

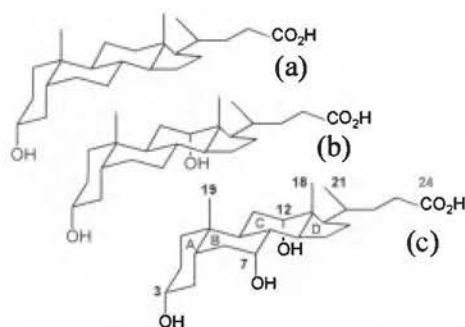


Figura 1.28. Estructuras de ácidos biliares de origen natural más comunes. (a) Ácido litocólico. (b) Ácido desoxicólico. (c) Ácido cólico. En la estructura de (c) se indica la numeración de los grupos hidroxilo, metilo y el ácido carboxílico terminal. También se indica la denominación usual de los cuatro anillos derivados del colesterol ⁵⁰.

El ácido cólico, es uno de los ácidos biliares derivados del colesterol, es parte de la familia de los esteroides naturales, se sintetiza en el retículo endoplasmático liso de los hepatocitos, posee un esqueleto que contiene veinticuatro átomos de carbono. Es además trihidroxilado y los tres grupos OH, se ubican en la “cara α ” de la molécula, esta cara es llamada hidrofílica y le permite solubilizarse en medios polares. La “cara β ” por el contrario posee características hidrófobas, por lo cual el ácido cólico pertenece al grupo de moléculas conocidas como anfífilas (Figura 1.29), ya que poseen tanto características

hidrófobas como hidrófilas. Esta propiedad les permite cumplir distintas funciones en el organismo, tales como la absorción de grasas y vitaminas liposolubles, además de procesos de reconocimiento molecular, entre otras ⁵⁰.

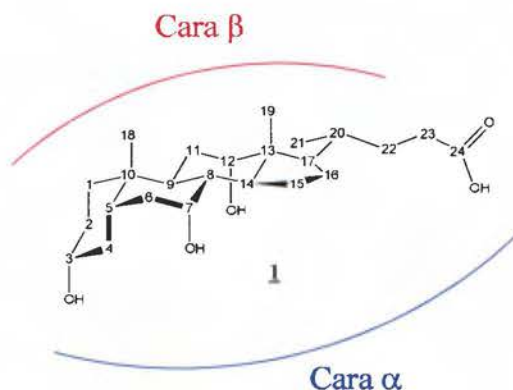


Figura 1.29. Fórmula estructural del ácido cólico y vista de la superficie hidrófoba (cara β, en rojo) y superficie hidrófila (cara α, en azul) ⁵⁰.

Los ácidos biliares generan procesos de agregación específicos, por lo que pueden generar ensamblajes específicos de carácter no covalente constituyéndose en “bloques inteligentes de construcción”. También debido al reconocimiento celular dentro del cuerpo humano, se han desarrollado investigaciones en donde se funcionaliza el esqueleto de los ácidos biliares para obtener una gran variedad de nuevos compuestos que han mostrado tener propiedades antimicrobianas, antifúngicas y antimaláricas; por ejemplo estudios han mostrado que las sales biliares presentan acción antibacterial contra la *Helicobacter pylori*, bacteria que infecta el epitelio gástrico humano generando úlceras y algunos tipos de gastritis, vive exclusivamente en el estómago humano pero al ser una bacteria espiral puede “atornillarse” para colonizar el epitelio estomacal enfermando a los humanos ⁵⁰⁻⁵⁴.

Algunos derivados del ácido cólico además son útiles para la permeabilización de la membrana externa de las bacterias Gram-negativas sensibilizándolas frente a antibióticos hidrófobos como la eritromicina MK ® y la rifamicina MK ®. Ya que las Gram-negativas presentan una doble membrana celular (una externa y otra citoplasmática), son bacterias muy resistentes frente antibióticos, colorantes y detergentes que normalmente dañarían la membrana interna o la pared celular; así que la utilización de éstos derivados del ácido cólico permiten el paso de los antibióticos antes mencionados permitiendo la destrucción de éstas bacterias, asociadas con muchas enfermedades como gonorrea, meningitis entre otros ^{53,54}.

Por último se puede mencionar el uso de sales biliares en el campo de la tecnología en Costa Rica; ya que derivados de las sales biliares funcionan como coabsorbentes (aditivos) dentro de los tintes orgánicos usados como componentes en las celdas solares sensibilizadas con tintes (DSSC's), ya que a pesar de no absorber en el espectro visible, usado en conjunto con el tinte permiten controlar en cierta forma las interacciones del tinte en la superficie del dióxido de titanio (TiO₂) con su entorno, disminuyendo el efecto negativo de los procesos implicados como la recombinación del tinte; generando un aumento en la fotocorriente, y en algunas pruebas también han mostrado un aumento en el fotovoltaje, lo que conlleva al aumento de la eficiencia final del dispositivo ⁵⁵⁻⁵⁷.

1.4.1.2. Aplicaciones de azo compuestos en la medicina: formación de dímeros.

Muchos azo compuestos naturales obtenidos a partir de hongos, plantas, bacterias e invertebrados, son diazenos que muestran actividad farmacológica confirmada, incluyendo propiedades antitumorales, antimicrobiales y antibacteriales ^{45,48}.

Estos azo compuestos pueden utilizarse para sintetizar dímeros. Un dímero consiste en un compuesto químico, formado por dos subunidades estructuralmente similares denominadas monómeros, unidos por enlaces que pueden ser fuertes o débiles dependiendo de los grupos funcionales presentes. En química supramolecular la unión de éstos dímeros puede realizarse mediante un tercer compuesto que funciona como puente entre ellos, ejemplo de esto son los dímeros con azo compuestos caracterizados por un doble enlace nitrógeno-nitrógeno (N=N) que le brinda flexibilidad y movimiento a los dímeros debido a la isomerización *trans-cis-trans* del núcleo azo ⁵⁸⁻⁶¹.

Cuando el dímero tiene movimiento debido a sus monómeros, se les conoce a estas subunidades como unidades mesógenas, las cuáles se pueden unir entre ellas mediante un conector o espaciador flexible formando así una cadena principal (Figura 1.30a), o bien, se unen mediante una cadena lateral flexible (Figura 1.30b) ^{62,63}.

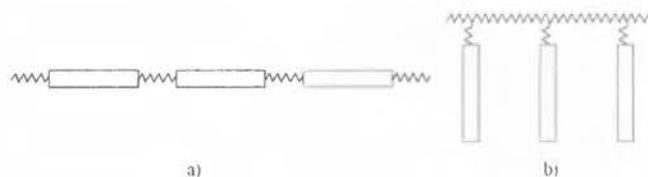


Figura 1.30. Representación esquemática de la forma en que se unen las unidades mesógenas: a) Cadena principal; b) Cadena lateral ⁶².

Los dímeros han mostrado tener diversas aplicaciones en industria, tanto dímeros con azo compuestos en cadenas principal o en la cadena lateral ⁵⁰⁻⁵⁴.

Las aplicaciones para los dímeros de azo compuestos, han sido principalmente como colorantes, pero se han desarrollado también como materiales para la transferencia electrónica, o como parte de polímeros con funciones de movimiento mecánico como por ejemplo el sistema de hidrogel fotoreactivo utilizando el reconocimiento celular de la α -ciclodextrina (α -CD), que se combina con poli(ácido acrílico) (p(AA/C₁₂)) modificado con dodecilo (C₁₂) y contiene un huésped competitivo como el ADA (el ácido 4,4'-azodibenzoico) (Figura 1.31); el resultado de este sistema es un hidrogel que sufre transición de gel a sólido y de sólido a gel debido a la fotoirradiación de luz visible y de luz ultravioleta (Figura 1.32) ⁶³.

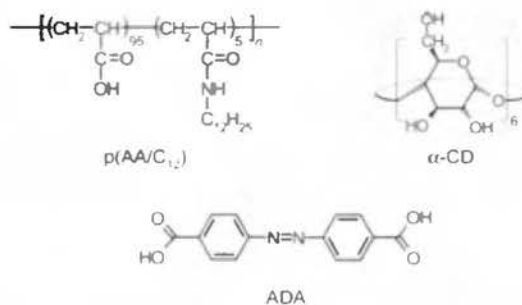


Figura 1.31. Compuestos utilizados en la generación de un hidrogel fotoreactivo ⁶³.

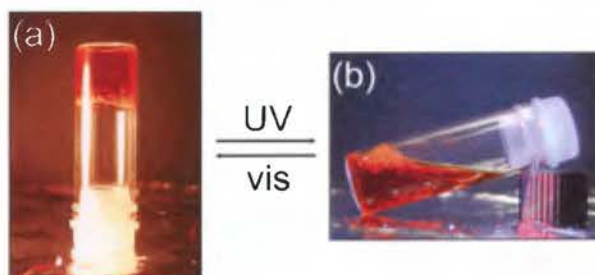


Figura 1.32. Mezcla ternaria de los compuestos de la figura 1.31 para generar el hidrogel bajo fotoirradiación a) luz visible; b) luz ultravioleta ⁶³.

También el acomplamiento de azo compuestos con metales, con otros grupos orgánicos e inclusive con compuestos cuya actividad biológica ya ha sido estudiada ha

permitido generar nuevas estructuras con aplicaciones biológicas. Por ejemplo una serie de nuevas bases del tipo azo Schiff muestran actividad biológica contra bacterias Gram-Negativas como *Salmonella typhi* y *Escherichia coli* y bacterias Gram-positivas como *Bacillus subtilis* y *Streptococcus aureus*, lo que demuestra la importancia de éstos compuestos en las áreas de la medicina y la farmacia. Por ejemplo se han realizado estudios de actividad biológica con el bis-(1,5-dimetil-4-[(E)-(3-metilpenil)diazetil]-2-fenil-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-ona (Figura 1.33) que presenta complejos con metales y actividad biológica contra algunas especies de caracoles de tierra; y estudios in vitro de actividad antibacteriana contra *Escherichia coli* y *Streptococcus aureus* de nuevos azo colorantes dispersos derivados de 2-amino-6-metoxibenzotiazol (Figura 1.34) ^{45-48,58, 61-65}.

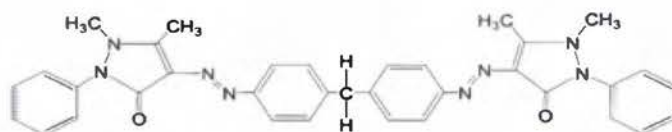


Figura 1.33. Estructura del bis-(1,5-dimetil-4-[(E)-(3-metilpenil)diazetil]-2-fenil-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-ona ⁵⁸.

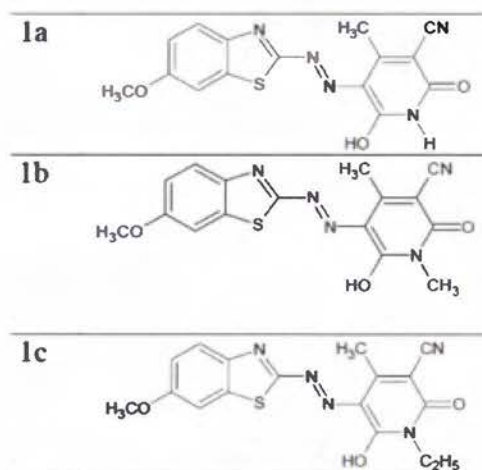


Figura 1.34. Azo colorantes derivados del 2-amino-6-metoxibenzotiazol ⁶⁵.

En el campo de la medicina, por tanto, se están probando la utilidad de algunos dímeros y sus derivados como vehículos para el transporte de agentes activos, su función como antibióticos y como medicamentos contra el cáncer. La capacidad de agregación de éste tipo de compuestos le da diversas propiedades físicas químicas lo que muestra interés en generar investigaciones con este tipo de compuestos ^{45-48,58, 61-65}.

1.5. Dímero mixto con dos sales biliares y un grupo azo como puente sintetizado en la presente investigación.

Debido a las aplicaciones previamente mencionadas en especial en el campo de la electrónica, se busca sintetizar este surfactante mixto derivado del ácido cólico cuyos derivados muestran ser excelentes coadsorbentes en los tintes utilizados en las DSSC's; y del ácido 4-nitrobenzoico, cuyos derivados muestran diversas aplicaciones en la electrónica debido a los estados de agregación que presentan y al movimiento mecánico trans-cis del núcleo azo (-N=N-) debido a la absorción de luz ultravioleta y visible.

Este surfactante mixto se obtiene al generar un diácido con un núcleo azo a través de una reducción del ácido 4-nitrobenzoico, luego el diácido se funcionaliza como un dicloruro para acoplarse con las aminas derivadas del ácido cólico, generando uniones amida y un puente flexible formado por un azo dibenceno.

En esta investigación se propuso una ruta de síntesis viable y favorable en términos de rendimiento y pureza. Para lograr los objetivos planteados y expuestos en el siguiente capítulo, se tomaron como sugerencia las rutas sintéticas mostradas en la Figura 1.35 y 1.36. Dichas rutas han sido propuestas basándose en lo reportado en la bibliografía, así como los resultados de trabajos anteriores⁹⁰⁻¹⁰⁵.

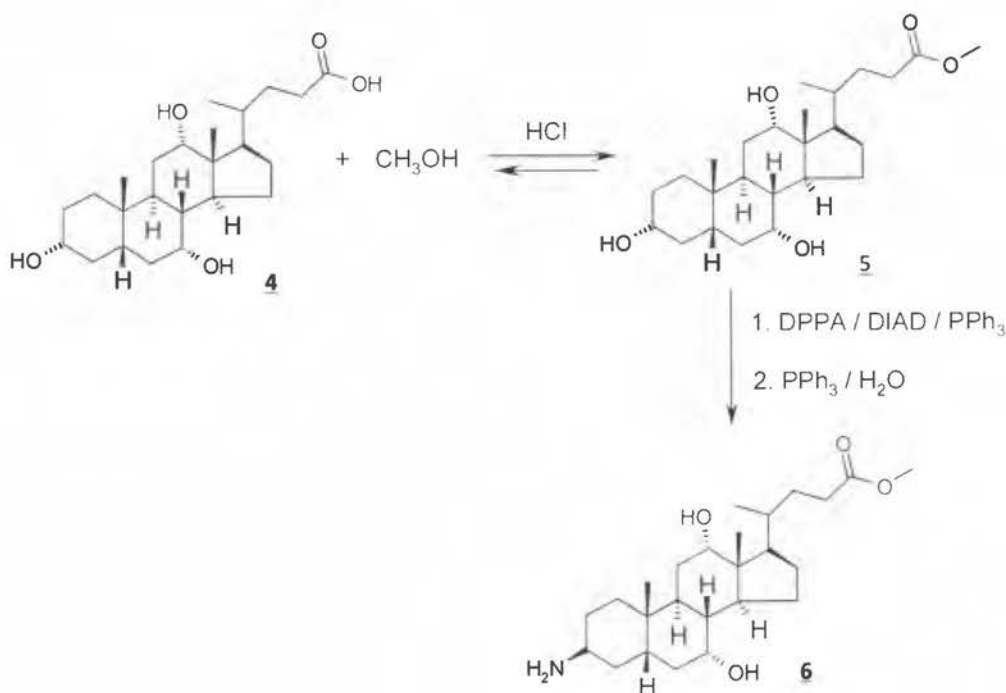


Figura 1.35. Esquema de reacciones propuesto para la síntesis del compuesto **6** (precursor).

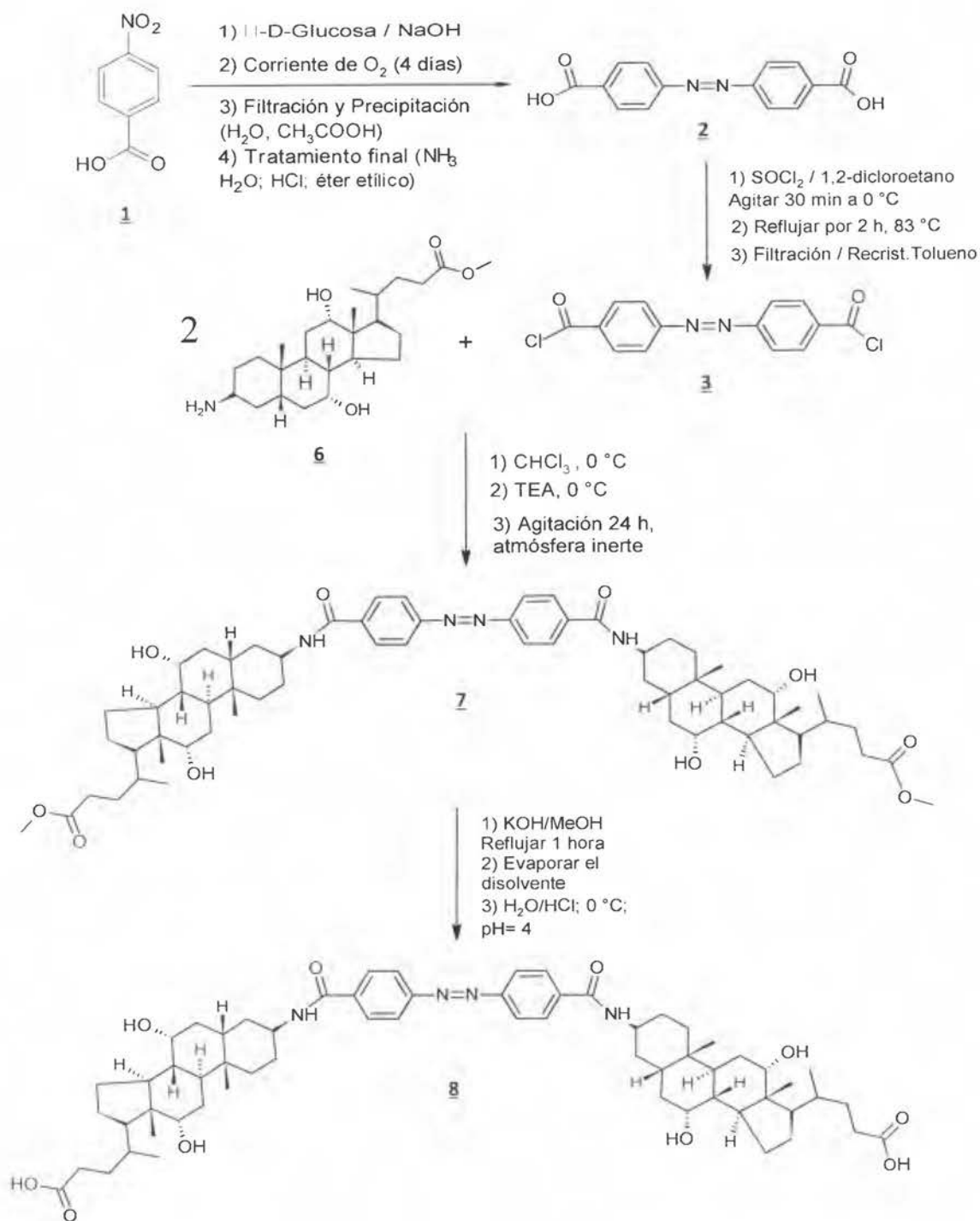


Figura 1.36. Esquema de reacciones propuesto para la síntesis del dímero mixto (**compuesto 8**).

Capítulo 2:

Objetivos

Objetivo General

Sintetizar y caracterizar un dímero mixto con dos sales biliares y un grupo azo como puente. Caracterizar su proceso de agregación y posible isomerización por efecto de la luz ultravioleta mediante diversas técnicas.

Objetivos Específicos

- Sintetizar el 3 β -aminocolato de metilo empleando metodología ya desarrollada en el laboratorio de Química Supramolecular de la Escuela de Química de la Universidad de Costa Rica a partir del ácido cólico.
- Sintetizar el 4,4'-bi-(clorocarbonil)azobenceno a partir del ácido 4-nitrobenzoico mediante una ruta sintética conocida.
- Sintetizar el dímero a partir de los compuestos sintetizados en los puntos 1 y 2.
- Caracterizar todos los compuestos de partida y derivados obtenidos empleando espectroscopia infrarroja (FT-IR), y espectroscopia de resonancia magnética nuclear (^1H -RMN y ^{13}C -RMN) de una y dos dimensiones (COSY, HSQC y HMBC).
- Caracterizar el compuesto final sintetizado mediante espectrometría de masas de alta resolución y puntos de fusión.
- Caracterizar los agregados formados por el compuesto sintetizado y su posible isomerización mediante tensión superficial, microscopía electrónica de transmisión (TEM), espectroscopia ultravioleta y espectroscopia de fluorescencia.

Capítulo 3:
Sección Experimental

Reactivos y consideraciones iniciales

Para llevar a cabo las rutas sintéticas propuestas se emplearon los siguientes reactivos:

- (+)-Glucosa (Sigma Aldrich $\geq 99,5\%$)
- Oxígeno industrial (Praxair)
- Ácido 4-nitrobenzoico
- Hidróxido de sodio (PCC Rokita $\geq 98\%$)
- Amoníaco (Quaron 32%)
- Ácido acético concentrado (Sigma Aldrich $\geq 99,8\%$)
- Ácido clorhídrico (Fermont 36,5 – 38%)
- Éter etílico (J.T. Baker)
- Nitrógeno industrial (Praxair)
- 1,2-Dicloroetano (Merck)
- Cloruro de tionilo (Sigma Aldrich)
- Trietilamina (Sigma Aldrich, $\geq 98\%$)
- Cloruro de calcio (Merck)
- Tolueno (Mallinckrodt)
- Ácido cólico (Sigma Aldrich, $\geq 98\%$)
- Metanol (Emsure)
- Tetrahidrofurano (THF)
- Trifenilfosfina (Sigma Aldrich, 99%)
- Diisopropil azodicarboxilato (DIAD) (Sigma Aldrich, 98%)
- Difenilfosforilazida (DPPA) (Sigma Aldrich, 98%)
- Cloroformo (J.T. Baker)
- Sílica gel (Sigma Aldrich, 60 Å, 70-230 mesh, 63-200 μm)
- Acetato de etilo (J.T. Baker)
- Hidróxido de potasio (Sigma Aldrich, $\geq 85\%$)

Se siguieron los tratamientos sugeridos por Armarego y Perrin para la purificación de la trietilamina almacenándola en atmósfera inerte sobre KOH ⁷⁰.

El THF fue previamente secado con KOH toda la noche; luego mediante reflujo con sodio metálico y benzofenona. Y el metanol se secó mediante reflujo con tiras de magnesio y yodo sublimado. El acetato de etilo y el 1,2-dicloroetano fueron destilados.

Para las reacciones que requerían de atmósfera inerte se empleó nitrógeno de alta pureza, marca Praxair.

Las purificaciones por cromatografía de columna se realizaron con gel de sílice (Sigma Aldrich, 60 Å, 70-230 mesh, 63-200 µm). Las mezclas de elución se prepararon con acetato de etilo y metanol como se describe en el Anexo B.

El seguimiento de la formación de los productos de reacción y el control de las fracciones de purificación, se realizaron por cromatografía de capa fina, utilizando folios de aluminio con gel de sílice 60 F₂₅₄ y el revelador de disolución etanólica de ácido fosfomolibdídico al 15%.

El disolvente deuterado utilizado para el análisis por resonancia magnética nuclear (DMSO-*d*₆) es de marca Aldrich.

Equipos utilizados para la caracterización estructural

- Punto fusión. Las mediciones de punto de fusión se llevaron a cabo en un Fisher-Johns.
- Para las mediciones de espectroscopia infrarroja se empleó un Perkin-Elmer Spectrum 1000 FT/IR en el ámbito de 4000-650 cm⁻¹ y espectrofotómetro Varian 640-IR (Escuela de Química, UCR).
- Las determinaciones de espectroscopia ultra violeta – visible se realizaron en un *Shimadzu UV-1700 PharmaSpec* UV-Vis (Escuela de Química, UCR).
- Los espectros de resonancia magnética nuclear de ¹H y ¹³C fueron tomados en un espectrómetro Bruker Avance III 400 MHz (Convenio Inbio-Escuela de Química, UCR) y Bruker Ascend 600 MHz controlado por una consola AVANCE III (CIPRONA, UCR) y el programa MesRENOVA.
- Los espectros de masas se obtuvieron con un espectrómetro MS QTOF Waters Synapt G1 (CIPRONA, UCR).

Capítulo 4:
Resultados y Discusión

En el presente capítulo se hace referencia al proceso de síntesis del surfactante mixto, denominado dímero mixto, partiendo del ácido cólico y del ácido 4-nitrobenzóico. Por tanto, se hace una breve referencia a los procesos sintéticos (para la síntesis detallada y los mecanismos de reacción consultar Anexo B y Anexo C respectivamente) llevados a cabo para obtener los intermediarios y el compuesto meta (Figura 4.1).

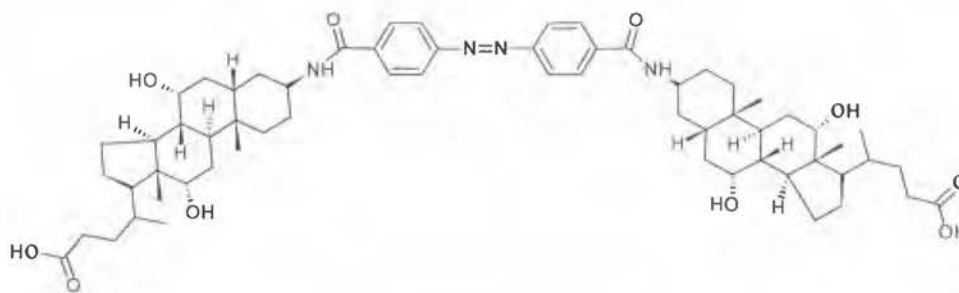


Figura 4.1. Estructura del compuesto **8**.

En lo referente a la caracterización, para los compuestos intermediarios, se comentan las bandas o señales más importantes de los espectros infrarrojos y de resonancia magnética nuclear. Se hace una descripción más detallada de los espectros del producto final, en la que se incluye también el análisis de espectrometría de masas. Finalmente se explicaran algunas de las medidas de tensión superficial realizadas. Los espectros citados se encuentran en el Anexo D. Los espectros FT-IR fueron tratados con el programa Spectragryph versión 1.2.6 mientras que los espectros RMN de una y dos dimensiones fueron tratados con MestReNova 11.0.

4.1. Métodos sintéticos y caracterización espectroscópica de los intermediarios y del dímero mixto obtenidos.

4.1.1. Reducción del compuesto **1** (ácido 4-nitrobenzoico).

Para realizar la reducción del ácido 4-nitrobenzoico (compuesto **1**) se utilizó un medio fuertemente básico y una disolución de glucosa. El objetivo de este paso, fue generar un acoplamiento entre dos moléculas del ácido 4-nitrobenzoico luego de su reducción, para obtener el núcleo azo (-N=N-). La reacción realizada se muestra en la figura 4.2.

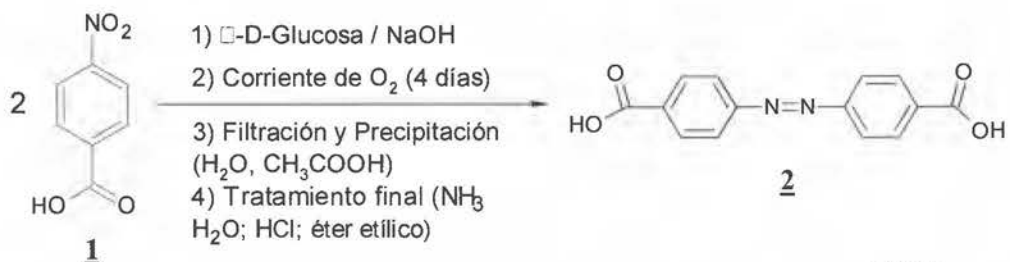


Figura 4.2. Reducción del compuesto **1** para la generación del compuesto **2** ^{90-93,97}.

Los nitrocompuestos aromáticos presentan diversas reacciones, siendo la generación de aminas aromáticas una de las más importantes. Por ejemplo la figura 4.3, muestra como un benceno se nitra y luego este grupo nitro se reduce a una amina; este sencillo proceso de dos pasos es un método fácil y práctico para sintetizar aminas aromáticas ⁶⁶.

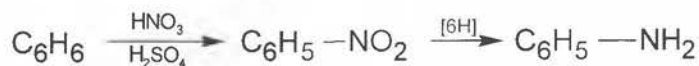


Figura 4.3. Obtención de aminas mediante la reducción de nitrocompuestos ⁶⁶.

La reducción de nitrocompuestos a aminas, puede llevarse a cabo con gran variedad de reactivos como por ejemplo, hidrógeno en presencia de un catalizador (Ni, Pt ó Pd); hierro, estaño o zinc con un ácido mineral; cloruro de estaño(II) con ácido clorhídrico; hidracina con un catalizador de Pd; ditionito sódico (Na₂S₂O₄); sulfuros o polisulfuros sódicos o amónicos; cloruro de cromo(II); hidróxido de hierro(II); así como especies reductoras débiles como la glucosa ⁶⁶.

La reducción de un grupo nitro a un grupo amino, supone la reducción de un átomo de nitrógeno en su estado de oxidación más alto al más bajo. Cuando se reduce un nitrocompuesto en ausencia de un ácido fuerte, se pueden aislar productos de reducción en un estado de oxidación intermedio; muy a menudo estos productos experimentan

condensaciones posteriores que conducen a productos de reacción bimoleculares. La figura 4.4, muestra un esquema de algunas reducciones de nitrocompuestos propuestas por Haber en 1898 ⁶⁶.

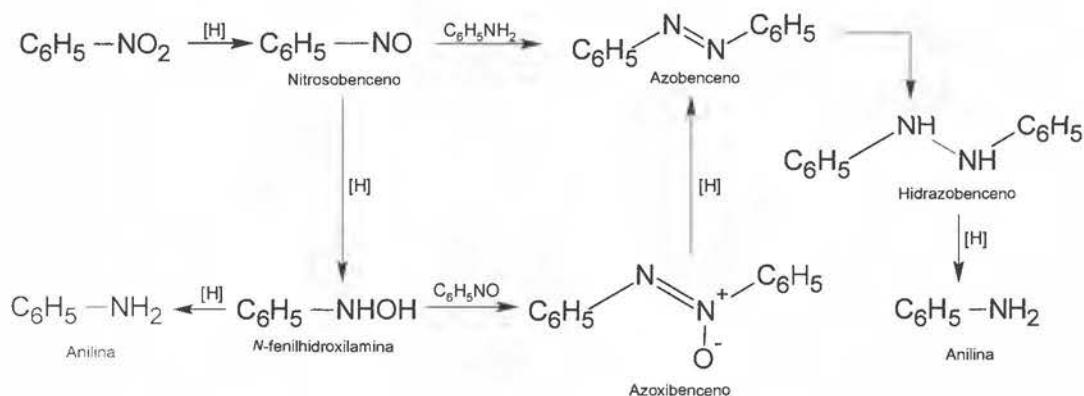


Figura 4.4. Esquema de reducciones de Haber ⁶⁶.

Un procedimiento para la obtención de un azo compuesto, es que después del proceso de reducción que permite la formación de derivados hidrazo (compuestos nitrosos y derivados hidroxilamina), se aplique una corriente de aire que permite la oxidación y acoplamiento de éstos derivados, dando como resultado el derivado azo ⁹².

La reacción de la figura 4.2, se mantuvo a una temperatura de 70 °C, el objetivo de este control de la temperatura fue mantener un ambiente reductor adecuado y evitar que la glucosa se descompusiera antes de reaccionar con el compuesto **1**.

Para que la temperatura se mantenga controlada, la adición de la disolución de glucosa a la disolución básica del compuesto **1**, debe de ser lenta. Durante el proceso de adición, la reacción también puede ser controlada de manera visual, ya que la disolución de color verde claro comienza a tornarse amarilla al iniciar la adición de la glucosa, después de unos minutos la disolución se torna de un color café claro y debe mantenerse con este color, pues si la disolución se torna de color negro, significa que la glucosa se ha descompuesto debido al aumento de la temperatura y la reacción no tendrá un rendimiento óptimo.

Finalizada la reacción y el proceso de purificación, se obtiene un producto de color anaranjado claro (compuesto **2**). En esta etapa se obtiene un rendimiento del 83% (tabla 4.45).

Se realizaron los espectros de FT-IR a los compuesto **1** y **2**, para comprobar que todo el compuesto **1** reaccionó generando el intermediario deseado (compuesto **2**)

(Figuras d.1 y d.2). En las tablas 4.1 y 4.2 muestran las asignaciones de las bandas más importantes de estos compuestos.

Tabla 4.1. Asignación de bandas de absorción principales en el FT-IR para el compuesto **1**.

Número de onda (cm ⁻¹)	Asignación	Inferencia
3466	Estiramiento O–H	Ácido carboxílico
929	Flexión O–H	
1694	Estiramiento C=O	
1283	Estiramiento C–O	
1542 y 1350	Estiramiento N–O	Grupo nitro
877	Flexión C–N	
3115 y 3064	Estiramiento =C–H	Anillo aromático
2950, 2858, 2666 y 2543	Estiramiento –C–H	
1605 y 1427	Estiramiento C=C	
799	Flexión =C–H	

Tabla 4.2. Asignación de bandas de absorción principales en el FT-IR para el compuesto **2**.

Número de onda (cm ⁻¹)	Asignación	Inferencia
3466	Estiramiento O–H	Ácido carboxílico
937	Flexión O–H	
1687	Estiramiento C=O	
1292	Estiramiento C–O	
1425	Estiramiento –N=N–	Grupo azo
3070	Estiramiento =C–H	Anillo aromático
2976-2823 y 2661-2545	Estiramiento –C–H	
1603-1579 y 1497	Estiramiento C=C	
870	Flexión =C–H	

Se observa de las tablas anteriores, que las bandas de vibración de estiramiento del grupo nitro en 1542 cm⁻¹ y 1350 cm⁻¹, así como la banda de flexión en 877 cm⁻¹ debido al enlace C-NO₂ ya no se encuentran en el espectro del compuesto **2**; lo que implica que no hay presencia del compuesto **1** en el compuesto **2** purificado. En la tabla 4.2 se observa que el resto de bandas mantienen su desplazamiento casi sin cambios con respecto a la tabla 4.1, pues aunque el grupo –NO₂, (grupo fuertemente extractor de densidad electrónica) es reducido a un grupo azo (-N=N-) (grupo medianamente extractor de densidad electrónica) no se produce un cambio significativo, en los desplazamientos de las bandas. Se observa una banda a 1425 cm⁻¹ que corresponde a la vibración de estiramiento asimétrica del enlace –N=N–; esta banda se caracteriza por tener una intensidad media y ser delgada. Los resultados descritos, concuerdan con el análisis previo de los espectros, para el compuesto **2**, realizado por Leriche et al ⁹³.

La figura 4.5 muestra la estructura del compuesto **2** con los átomos etiquetados para poder identificarlos y asignarlos en las tablas 4.3 a 4.8.

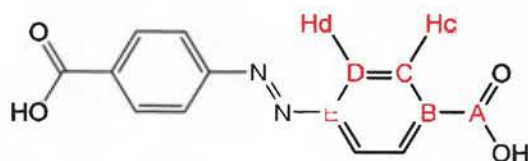


Figura 4.5. Estructura molecular del compuesto **2**.

Los espectros ^1H -RMN (figuras d.9 y d.11) son muy sencillos para los compuestos **1** (ácido p-nitrobenzónico) y **2** (azo compuesto), constando únicamente de dos señales en ambos casos; lo anterior se puede atribuir a la simetría de las moléculas⁷⁹. El espectro ^1H -RMN (figura d.11 y tabla 4.5), muestra que los protones H_d del compuesto **2** (figura 4.5) aparecen a 8.0 ppm, es decir ligeramente a campo más alto que los protones H_d del compuesto **1** (Anexo D, figura d.9 y tabla 4.3) que aparecen a 8.2 ppm; esto se debe a que el grupo azo es un extractor de densidad electrónica más débil que el grupo nitro. Mientras que los protones H_c del compuesto **2** aparecen a 8.2 ppm, es decir ligeramente a campo más bajo que los protones H_c del compuesto **1** que aparecen a 8.1 ppm, debido a la resonancia que se da entre ambos anillos aromáticos^{93,97}.

Las tablas 4.3 y 4.5 resumen los desplazamientos de los protones, la multiplicidad y las constantes de acoplamiento de los compuestos **1** y **2**; características de los compuestos aromáticos^{79,93,97}.

Los espectros ^{13}C -RMN (Anexo D, figuras d.10 y d.12) para los compuestos **1** y **2**, muestran únicamente 5 señales para los carbonos de cada uno de éstos compuestos, también, debido a la simetría de dichas moléculas; los desplazamientos se muestran en las tablas 4.4 y 4.6⁹³.

La figura d.13 (Anexo D) muestra el espectro HSQC del compuesto **2**, con dicho espectro se confirma la posición de los protones H_d y H_c mediante su correlación con los carbonos C_D y C_C respectivamente; las asignaciones se muestran en la tabla 4.7.

Se termina de elucidar la estructura del compuesto **2** con el espectro HMBC (Anexo D, figura d.14) que muestra las correlaciones a larga distancia entre protones y carbonos, permite observar como los protones H_d ($\delta_{\text{H}_d} = 8.0$ ppm) correlaciona con los carbonos C_D ($\delta_{\text{C}_D} = 122.8$ ppm), C_B ($\delta_{\text{C}_B} = 133.4$ ppm) y C_E ($\delta_{\text{C}_E} = 154.2$ ppm) mientras que los protones H_c ($\delta_{\text{H}_c} = 8.2$ ppm) correlacionan con los carbonos C_C ($\delta_{\text{C}_C} = 130.7$ ppm), C_E ($\delta_{\text{C}_E} = 154.2$ ppm) y C_A ($\delta_{\text{C}_A} = 166.6$ ppm) (figura 4.6; tabla 4.8).

Los resultados obtenidos muestran que si se obtuvo el compuesto **2**, cuyos espectros coinciden con los reportados por Leriche et al. ⁹³; sin embargo los espectros en una y dos dimensiones (Anexo D, figuras d.11 a la d.14) muestran que el compuesto **2** se encuentra levemente impuro a pesar del proceso de purificación realizado. Las impurezas son pequeñas en comparación con las señales del compuesto. Al tomar el punto de fusión del compuesto **2**, se observa que se descompone antes de fundir a 298 °C (tabla 4.46) y según lo reportado debería fundir a una temperatura mayor a los 300 °C. ^{92,93,97}. A pesar de los intentos realizados, el método de purificación utilizado para aumentar la pureza del compuesto **2** no fue suficiente, así que, debería realizarse un proceso alternativo, tal vez, una cristalización del compuesto en DMSO. El producto sin embargo, posee la calidad suficiente para poder utilizarse en la siguiente etapa, como se muestra en el siguiente apartado, dicha impureza no afecta la siguiente etapa del proceso.

Tabla 4.3. Asignación de las señales del espectro ¹H-RMN del compuesto **1**.

¹ H-RMN (400 MHz, DMSO-d ₆)			
δ (ppm)	Asignación	Multiplicidad	Constante de acoplamiento J (Hz)
8.2	H _d	m	8.9
8.1	H _c	m	8.9

Tabla 4.4. Asignación de las señales del espectro ¹³C-RMN del compuesto **1**.

¹³ C-RMN (100 MHz, DMSO-d ₆)			
δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación
123.7	C _D	150.0	C _E
130.7	C _C	165.9	C _A
136.5	C _B		

Tabla 4.5. Asignación de las señales del espectro ¹H-RMN del compuesto **2**.

¹ H-RMN (400 MHz, DMSO-d ₆)			
δ (ppm)	Asignación	Multiplicidad	Constante de acoplamiento J (Hz)
8.0	H _d	d	8.6
8.2	H _c	d	8.6

Tabla 4.6. Asignación de las señales del espectro ¹³C-RMN del compuesto **2**.

¹³ C-RMN (100 MHz, DMSO-d ₆)			
δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación
122.8	C _D	154.2	C _E
130.7	C _C	166.6	C _A
133.4	C _B		

Tabla 4.7. Correlaciones ^1H - ^{13}C a un enlace de distancia del compuesto **2**.

Correlaciones				
Protón	δ (ppm)		δ (ppm)	Carbono
H _d	8.0	con	122.8	C _D
H _c	8.2	con	130.7	C _C

Tabla 4.8. Correlaciones ^1H - ^{13}C a dos o más enlaces de distancia del compuesto **2**.

f1 (ppm)	f2 (ppm)	Correlación
122.84	8.0	H _d -C _D
130.70	8.2	H _c -C _C
133.39	8.0	H _d -C _B
154.18	8.0	H _d -C _E
154.18	8.2	H _c -C _E
166.63	8.2	H _c -C _A

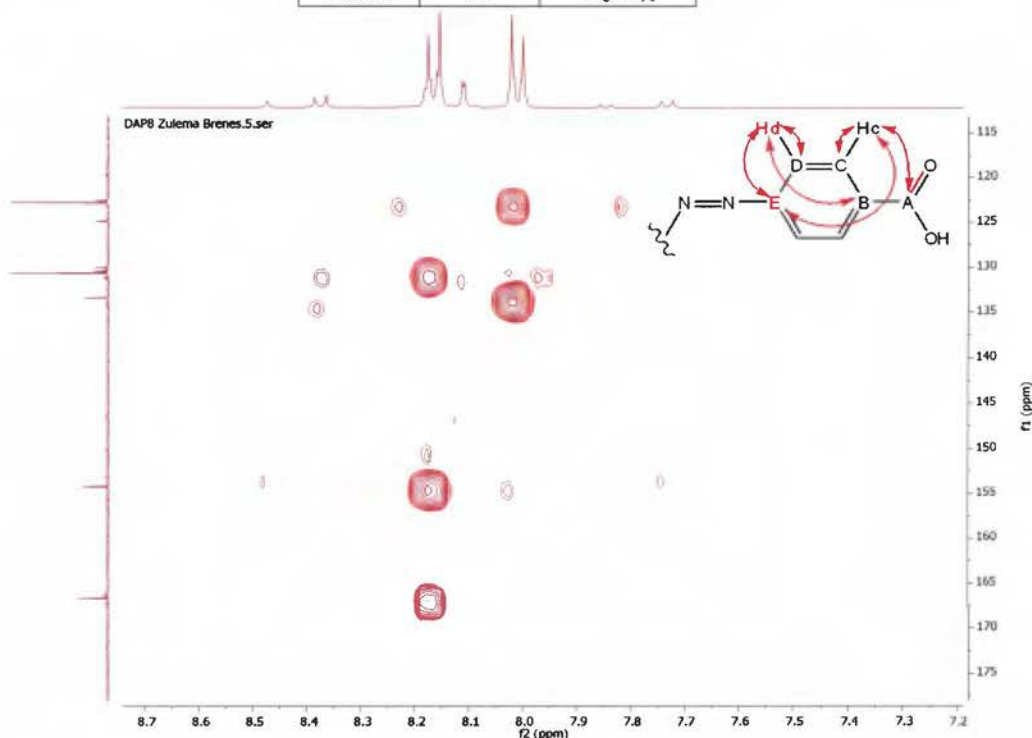


Figura 4.6. Ampliación del espectro HMBC del compuesto **2**.

4.1.2. Obtención del compuesto **3**.

El compuesto **3** se obtiene a partir de la conocida reacción de adición-eliminación en el grupo acilo del compuesto **2** con cloruro de tionilo. El objetivo de este paso es generar el compuesto **3** más reactivo. Éste compuesto, se hará reaccionar más adelante con los monómeros derivados del ácido cólico (compuesto **6**), funcionando como puente entre dichos monómeros. La reacción realizada se muestra a en la figura 4.7 ⁹⁴⁻⁹⁷.

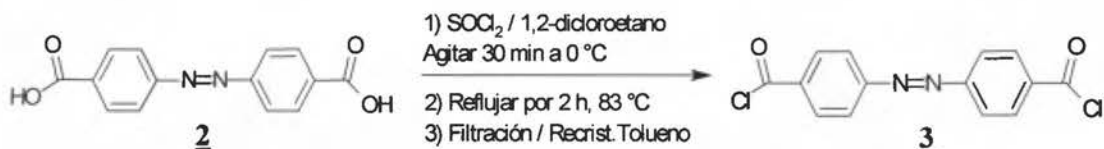


Figura 4.7. Reacción de adición-eliminación del compuesto **2** para la generación del compuesto **3**⁹⁴⁻⁹⁷.

La generación de un cloruro de acilo es una reacción muy utilizada en química orgánica para activar el grupo carbonilo para una posterior reacción de adición-eliminación. Se pueden utilizar diversos reactivos como el cloruro de tionilo, cloruro de oxalilo y pentacloruro de fósforo entre otros, para generar los cloruros de ácido⁶⁷.

El proceso de la figura 4.7 se inicia primero a 0 °C y bajo atmósfera de nitrógeno, en este punto lo que se tiene es una suspensión del compuesto **2** en 1,2-dicloroetano conteniendo al cloruro de tionilo; luego de un tiempo de agitación bajo éstas condiciones, se refluja con una trampa de cloruro de calcio y se observa como parte del sólido suspendido se disuelve y cambia de color, de anaranjado claro a rojo oscuro. Después del proceso de purificación (recristalización en tolueno) se obtiene el producto de color rojo (compuesto **3**). El porcentaje de rendimiento de esta etapa es de 34% (tabla 4.45).

El bajo rendimiento de esta etapa se debe a la pobre solubilidad que tiene el compuesto **2**. Se probaron varios disolventes para la reacción, como CHCl_3 y éter etílico puros y en mezclas. El compuesto resultó ser siempre insoluble por lo cual, no se hicieron cambios en el procedimiento seguido en esta etapa⁹³⁻⁹⁷.

Para determinar que el compuesto **3**, se obtuvo, se obtiene el espectro de FT-IR (Anexo D, figura d.3). Las bandas importantes se muestran en la tabla 4.9; siendo la vibración que aparece en 1773 cm^{-1} característica del estiramiento del enlace $\text{C}=\text{O}$ para carbonilos en cloruro de ácido. Otras bandas que caracterizan al grupo cloruro de ácido son la banda a 1194 cm^{-1} que corresponde a la vibración de estiramiento de un enlace de tipo $\text{C}-\text{O}$, esta banda se produce por efecto de la conjugación entre el carbonilo y el anillo aromático, que le confiere carácter de enlace simple al mencionado carbonilo. La banda que aparece a 646 cm^{-1} corresponde a la vibración de flexión del enlace carbono-cloro ($\text{C}-\text{Cl}$)^{68,79}.

Tabla 4.9. Asignación de bandas de absorción principales en el FT-IR para el compuesto **3**.

Número de onda (cm ⁻¹)	Asignación	Inferencia
3452	Sobretono C=O	Cloruro de ácido
1773	Estiramiento C=O	
1194	Estiramiento C-O	
646	Flexión C-Cl	
1405	Estiramiento -N=N-	Grupo azo
3091	Estiramiento =C-H	Anillo aromático
2925	Estiramiento -C-H	
1591 y 1458	Estiramiento C=C	
887	Flexión =C-H	

En el espectro de la figura d.3 también se observa un pico en 1733 cm⁻¹; este pico se debe a la vibración de estiramiento del carbonilo del ácido carboxílico, lo que implica que el compuesto **3** está contaminado con compuesto **2** sin reaccionar. La banda a 3452 cm⁻¹ se debe a contaminación por presencia de agua en el compuesto **3** sintetizado ^{68,79}.

La figura 4.8 muestra la estructura del compuesto **3** con la asignación de protones y carbonos utilizada desde la tabla 4.10 a la tabla 4.14.

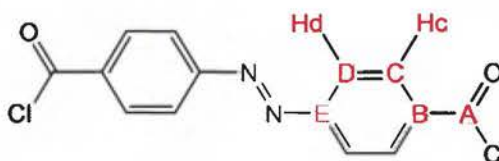


Figura 4.8. Estructura molecular del compuesto **3**.

En los espectros ¹H-RMN y ¹³C-RMN (Anexo D, figuras d.15 y d.16), así como en las tablas 4.10 y 4.11 se muestran los desplazamientos (δ/ppm) químicos, las constantes de acoplamiento y las asignaciones de los protones y de los carbonos del compuesto **3**, éstos muestran cercanía a los valores de δ/ppm del compuesto **2**, pues los cloruros tienen un efecto inductivo extractor similar al de los ácidos carboxílicos, sobre los anillos aromáticos presentes en los compuestos mencionados ^{79,93,97}.

El espectro COSY (Anexo D, figura d.17) confirma la correlación entre los protones H_d y H_c del compuesto **3**, los resultados se muestran en la tabla 4.12.

Con el espectro HSQC (Anexo D, figura d.18) se observa como los protones H_d correlacionan con los carbonos C_D y los protones H_c con los carbonos C_C, los resultados se muestran en la tabla 4.13.

Por último con el espectro HMBC (Anexo D, figura d.19) que establece las correlaciones a larga distancia entre carbonos y protones, permite observar como los

protones H_d ($\delta_{H_d} = 8.0$ ppm) correlaciona con los carbonos C_D ($\delta_{C_D} = 122.9$ ppm), C_B ($\delta_{C_{24}} = 133.4$ ppm) y C_E ($\delta_{C_{24}} = 154.2$ ppm) mientras que los protones H_c ($\delta_{H_c} = 8.1$ ppm) correlacionan con los carbonos C_C ($\delta_{C_C} = 130.8$ ppm), C_E ($\delta_{C_{24}} = 154.2$ ppm) y C_A ($\delta_{C_{24}} = 166.6$ ppm) (Anexo D, figura 4.9; tabla 4.14); con ello se confirma la estructura del compuesto **3** (figura 4.8).

Los resultados obtenidos concuerdan con el espectro FT-IR y la caracterización por RMN realizada por He et al ^{96,97}.

Finalmente, el compuesto funde a 163,3 °C (tabla 4.46) y el valor teórico, se encuentra en el ámbito: 163 °C a 164 °C ^{96, 97}. El punto de fusión muestra poca contaminación del compuesto **3**, al igual que los espectros de RMN de una y dos dimensiones, sin embargo el espectro FT-IR muestra que el compuesto **3** está contaminado con el compuesto **2** a pesar de que el proceso de cristalización en tolueno se repitió varias veces.

Tabla 4.10. Asignación de las señales del espectro 1H -RMN del compuesto **3**.

1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6)			
δ (ppm)	Asignación	Multiplicidad	Constante de acoplamiento J (Hz)
7.96	H_d	d	8.49
8.13	H_c	d	8.49

Tabla 4.11. Asignación de las señales del espectro ^{13}C -RMN del compuesto **3**.

^{13}C -RMN (100 MHz, DMSO- d_6)			
δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación
122.89	C_D	154.25	C_E
130.75	C_C	166.58	C_A
133.40	C_B		

Tabla 4.12. Correlaciones 1H - 1H del compuesto **3** obtenidos a partir del COSY.

Protón analizado		Correlación observada		Protón analizado		Correlación observada	
δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación
7.96	H_d	7.96	H_d	8.13	H_c	7.96	H_d
		8.13	H_c			8.13	H_c

Tabla 4.13. Correlaciones 1H - ^{13}C a un enlace de distancia del compuesto **3**.

Correlaciones				
Protón	δ (ppm)		δ (ppm)	Carbono
H_d	7.96	con	122.89	C_D
H_c	8.13	con	130.75	C_C

Tabla 4.14. Correlaciones ^1H - ^{13}C a dos o más enlaces de distancia del compuesto **3**.

f1 (ppm)	f2 (ppm)	Correlación
122.89	7.96	$\text{H}_d\text{-C}_D$
130.75	8.13	$\text{H}_c\text{-C}_C$
133.40	7.96	$\text{H}_d\text{-C}_B$
154.25	7.96	$\text{H}_d\text{-C}_E$
154.25	8.13	$\text{H}_c\text{-C}_E$
166.58	8.13	$\text{H}_c\text{-C}_A$

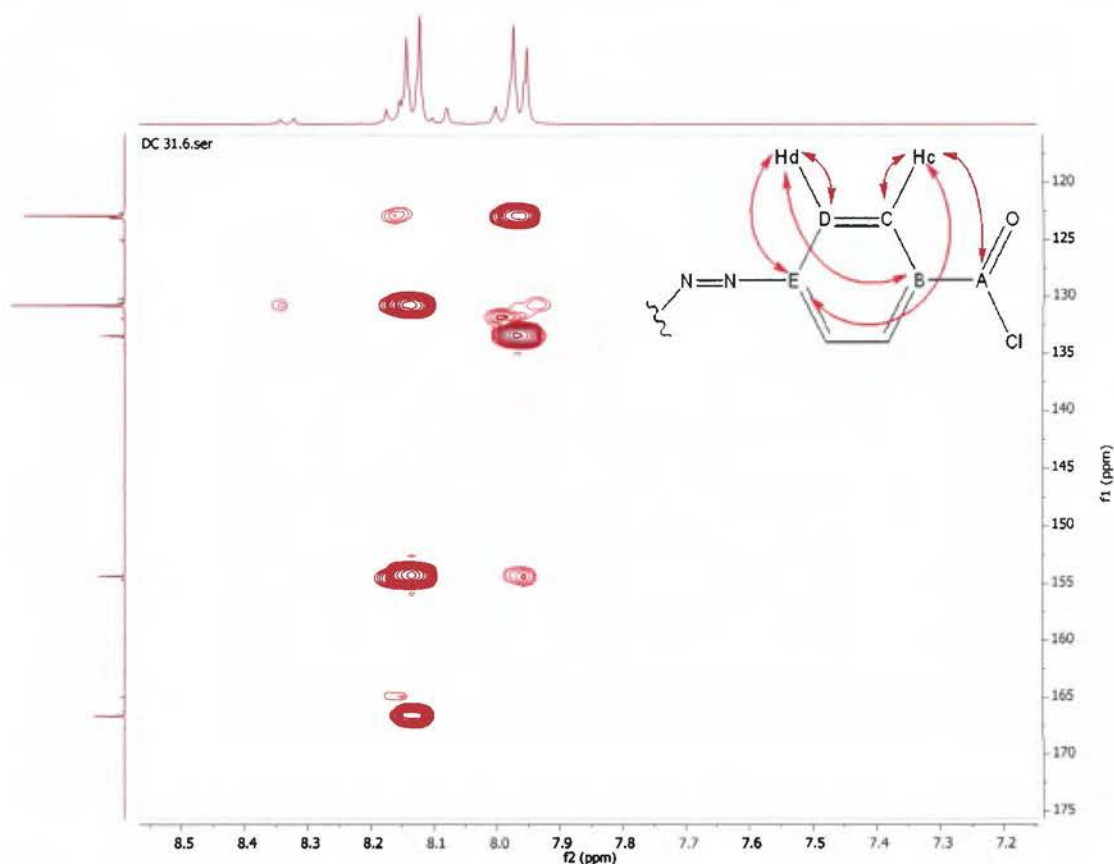


Figura 4.9. Ampliación del espectro HMBC del compuesto **3**.

4.1.3. Esterificación de la posición 24 del compuesto **4**.

Como se mencionó anteriormente, se requieren dos unidades de un monómero derivado del ácido cólico para que reaccionen con el compuesto **3** previamente descrito. Para ello primero es necesario proteger la posición 24 (figura 4.11) del ácido cólico (compuesto **4**) y así evitar que esta posición reaccione en los pasos descritos a continuación, y que implican la transformación de la posición 3 (figura 4.11, compuesto **4**). La reacción realizada se muestra en la figura 4.10.

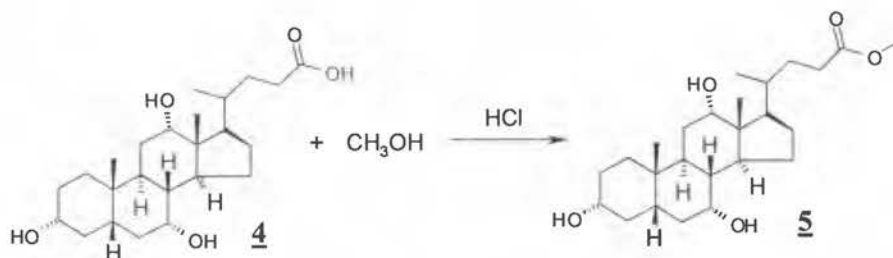


Figura 4.10. Esterificación de la posición 24 del compuesto **4** para la obtención del compuesto **5**⁹⁸⁻¹⁰⁰.

Una forma de proteger al ácido carboxílico frente a una reacción es transformarlo en un éster; el método más sencillo para producir ésteres es mediante la esterificación de Fisher, la cual es una reacción ampliamente usada. Para dicha reacción se requiere de un ácido como catalizador para que la reacción se concrete con buen rendimiento. La pérdida de un protón después del ataque nucleofílico por parte del alcohol da lugar a un hidrato del éster, que se deshidrata en presencia del catalizador ácido dando lugar como producto al éster⁶⁷.

La esterificación de la posición 24 (figura 4.10) se realiza mediante un proceso de reflujo, que permite el contacto del compuesto **4** con el metanol y el ácido clorhídrico. Después del proceso de cristalización, se obtiene fácilmente, un sólido cristalino de color blanco (compuesto **5**). El rendimiento de esta etapa es del 97% (tabla 4.45).

Se obtuvieron los espectros de FT-IR de los compuesto **4** y **5** (Anexo D, figura d.4 y d.5). Las tablas 4.19 y 4.20 muestran las bandas importantes de los compuestos anteriores.

Tabla 4.15. Asignación de bandas de absorción principales en el FT-IR para el compuesto **4**.

Número de onda (cm ⁻¹)	Asignación	Inferencia
3525	Estiramiento O-H	Ácido carboxílico
3326		Alcohol
3198		
1715	Estiramiento C=O	Ácido carboxílico
1289	Estiramiento C-O	Alcohol
1248		
2935	Estiramiento -C-H (metilenos)	Cuerpo esteroideo
2874		
1448	Flexión -C-H (metilenos)	
1375	Flexión -C-H (metilos)	

Tabla 4.16. Asignación de bandas de absorción principales en el FT-IR para el compuesto **5**.

Número de onda (cm ⁻¹)	Asignación	Inferencia
3423	Estiramiento O–H	Alcohol
1258	Estiramiento C–O	
1738	Estiramiento C=O	Éster
1195	Estiramiento C–O	
2930	Estiramiento –C–H) (metilenos)	Cuerpo esteroideo
2868		
1443	Flexión –C–H (metilenos)	
1375	Estiramiento –C–H (metilos)	
1303	Estiramiento –C–H (metilos)	

Los espectros de infrarrojo del éster, coinciden con los espectros obtenidos en trabajos previos⁹⁸⁻¹⁰⁰. Se observa en la figura d.5, que la banda a 3423 cm⁻¹, es bastante más fina que la del espectro de **4**, ya que, corresponde a la vibración de estiramiento del enlace O–H, únicamente de los grupos hidroxilo secundarios ya que el grupo ácido ha desaparecido. Además, la banda a 1738 cm⁻¹ que corresponde a la vibración del enlace carbonilo es característica para el carbonilo de un grupo éster.

Las figuras 4.11 y 4.12 muestran la estructura de los compuestos **4** y **5** respectivamente con la numeración de protones y carbonos utilizada desde la tabla 4.17 a la tabla 4.26.

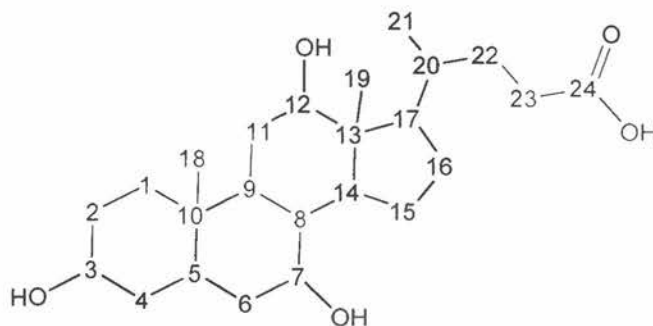


Figura 4.11. Estructura molecular del compuesto **4**.

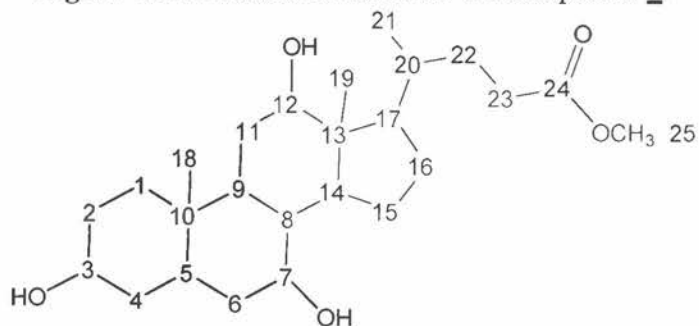


Figura 4.12. Estructura molecular del compuesto **5**.

En los espectros ¹H-RMN y ¹³C-RMN de las figuras d.20, d.21, d.25 y d.26 (Anexo D); así como en las tablas 4.17, 4.18, 4.22 y 4.23 se muestran los δ/ppm de los

protones y de los carbonos de los compuestos **4** y **5**. En estas tablas también se puede encontrar la multiplicidad y las constantes de acoplamiento. Estos valores coinciden con lo publicado en trabajos previos^{98-100, 117, 118}.

El acoplamiento entre los protones unidos a carbonos vecinos se comprueba con los espectros COSY, tanto para el compuesto **4** como para el compuesto **5** (Anexo D, figuras d.22 y d.27); los resultados se muestran en las tablas 4.19 y 4.24.

En los espectros de HSQC y HMBC (Anexo D, figuras d.23, d.24, d.28 y d.29), se muestran las correlaciones a la distancia de un enlace y las correlaciones a larga distancia respectivamente, entre protones y carbonos. Los resultados se muestran en las tablas 4.20, 4.21, 4.25 y 4.26,

En la figura 4.13 se muestra la ampliación del espectro HMBC del compuesto **5** y en la figura 4.14 se muestran las correlaciones a larga distancia entre carbonos y protones mediante el uso de flechas.

Los resultados espectroscópicos permiten observar las diferencias estructurales entre el compuesto **4** y **5**, las cuales son mínimas pues el proceso sintético consistió en una esterificación del grupo ácido carboxílico. Así, los resultados obtenidos muestran que el compuesto **5** ya no presenta una señal a 11.9 ppm (¹H: figura d.25 y tabla 4.22) como si lo hace el compuesto **4** (¹H: figura d.20 y tabla 4.17). En su lugar se puede observar una señal de un protón (H₂₅) a 3.6 ppm, que según el espectro de HSQC (figuras d.28; tabla 4.25) correlaciona con un carbono (C₂₅) a 51.2 ppm; estas señales corresponden a un grupo metilo unido al oxígeno de un éster.

La presencia del grupo éster, se confirma también, mediante el espectro HMBC (figuras d.29 y 4.13) ya que, el carbonilo C₂₄ ($\delta_{C24} = 173.8$ ppm) del compuesto **5** correlaciona con los H₂₅ ($\delta_{H25} = 3.6$ ppm). No existe una correlación similar en el HMBC (Anexo D, figura d.24; tabla 4.21) del compuesto **4**. Finalmente, las figuras 4.13 y 4.14 también muestran las correlaciones entre los protones y carbonos del sistema tetracíclico de la sal biliar.

En todos los espectros antes mencionados del compuesto **5**, no se aprecian impurezas, salvo una pequeña cantidad de agua ($\delta_{H_2O/DMSO-d_3} = 3.4$ ppm) que no pudo ser removida aún con el secado a vacío. Al medir el punto de fusión del compuesto **5**, se obtiene un ámbito de fusión de 149,0 °C a 154,3°C, que difiere del reportado en la bibliografía (155 °C-156°C) probablemente por este remante no eliminado de agua⁹⁹ (tabla 4.46). Los resultados espectroscópicos permiten confirmar la obtención del compuesto **5** deseado para esta etapa del proceso sintético.

Tabla 4.17. Asignación de las señales del espectro ^1H -RMN del compuesto **4**.

^1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6)							
δ (ppm)	Asignación	Multiplicidad	Constante de acoplamiento J (Hz)	δ (ppm)	Asignación	Multiplicidad	Constante de acoplamiento J (Hz)
1.2 y 1.4	H2	m	—	1.2 y 1.7	H16	m	—
3.2	H3	s	—	1.8	H17	m	—
2.2	H4	m	—	1.3 y 1.8	H20	m	—
1.2	H5	m	—	0.9	H21	m	—
0.8 y 1.6	H1	m	—	1.2 y 1.6	H22	m	—
1.4 y 1.8	H6	m	—	2.1 y 2.2	H23	m	—
3.6	H7	s	—	11.9	H24*	s	—
1.3 y 1.4	H8	m	—	0.6	H19	s	—
2.1	H9	m	—	4.1	H12*	s	—
2.0	H14	m	—	4.0	H7*	s	—
3.8	H12	s	—	4.3	H3*	s	—
1.4	H11	m	—	0.8	H18	m	—
1.0 y 1.6	H15	m	—				

* Los protones con asterisco están unidos a oxígenos de los grupos hidroxilo y del ácido carboxílico.

Tabla 4.18. Asignación de las señales del espectro ^{13}C -RMN del compuesto **4**

^{13}C -RMN (100 MHz, DMSO- d_6)			
δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación
30.4	C2	71.1	C12
70.5	C3	28.6	C11
39.6	C4	22.8	C15
41.6	C5	27.3	C16
34.4	C10	46.1	C17
35.4	C1	35.1	C20
34.9	C6	17.0	C21
66.3	C7	30.8	C22
39.6	C8	30.9	C23
26.2	C9	175.0	C24
41.4	C14	12.4	C19
45.8	C13	22.6	C18

Tabla 4.19. Correlaciones ^1H - ^1H del compuesto **4** obtenidos a partir del COSY.

Protón analizado		Correlación observada		Protón analizado		Correlación observada	
δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación
1.2	H2	3.2	H3	2.0	H14	1.0	H15
1.4	H2	3.2	H3	2.0	H14	1.6	H15
1.2	H2	1.6	H1	3.8	H12	1.4	H11
1.4	H2	0.8	H1	3.8	H12	4.1	H12*
3.2	H3	2.2	H4	1.0	H15	1.2	H16
2.2	H4	1.2	H5	1.0	H15	1.7	H16
1.2	H5	1.4	H6	1.2	H16	1.8	H17
1.2	H5	1.8	H6	1.8	H17	1.8	H20
1.8	H6	3.6	H7	1.3	H20	0.9	H21
3.6	H7	1.3	H8	1.3	H20	1.2	H22
3.6	H7	1.4	H8	1.3	H20	1.6	H22
3.6	H7	4.0	H7*	1.8	H20	1.2	H22
1.3	H8	2.1	H9	1.8	H20	1.6	H22
1.4	H8	2.1	H9	1.2	H22	2.1	H23
1.3	H8	2.0	H14	1.2	H22	2.2	H23
1.4	H8	2.0	H14	1.6	H22	2.1	H23
2.1	H9	1.4	H11	1.6	H22	2.2	H23

* Los protones con asterisco están unidos a oxígenos de los grupos hidroxilo.

Tabla 4.20. Correlaciones ^1H - ^{13}C a un enlace de distancia del compuesto **4**.

Correlaciones									
Protón	δ (ppm)		δ (ppm)	Carbono	Protón	δ (ppm)		δ (ppm)	Carbono
H2	1.2 y 1.4	con	30.4	C2	H11	1.4	con	28.6	C11
H3	3.2	con	70.5	C3	H15	1.0 y 1.6	con	22.8	C15
H4	2.2	con	39.6	C4	H16	1.2 y 1.7	con	27.3	C16
H5	1.2	con	41.6	C5	H17	1.8	con	46.1	C17
H1	0.8 y 1.6	con	35.4	C1	H20	1.3 y 1.8	con	35.1	C20
H6	1.4 y 1.8	con	34.9	C6	H21	0.9	con	17.0	C21
H7	3.6	con	66.3	C7	H22	1.2 y 1.6	con	30.8	C22
H8	1.3 y 1.4	con	39.6	C8	H23	2.1 y 2.2	con	30.9	C23
H9	2.1	con	26.2	C9	H19	0.6	con	12.4	C19
H14	2.0	con	41.4	C14	H18	0.8	con	22.6	C18
H12	3.8	con	71.1	C12					

Tabla 4.21. Correlaciones ^1H - ^{13}C a dos o más enlaces de distancia del compuesto **4**.

Correlaciones									
Protón	δ (ppm)		δ (ppm)	Carbono	Protón	δ (ppm)		δ (ppm)	Carbono
H3	3.2	con	30.4	C2	H8	1.3 y 1.4	con	45.8	C13
H1	0.8 y 1.6				H14	2.0			
H2	1.2				H12	3.8			
H4	2.2	con	70.5	C3	H11	1.4			
H5	1.2				H15	1.6			
H1	0.8 y 1.6				H16	1.2			
H2	1.2 y 1.4	con	39.6	C4	H17	1.8			
H3	3.2				H20	1.3 y 1.8			
H5	1.2				H19	0.6			
H6	1.4 y 1.8	con	41.6	C5	H12*	4.1			
H4	2.2				H9	2.1			
H1	1.6				H14	2.0			
H6	1.8				H11	1.4			
H7	3.6				H17	1.8			
H18	0.8	con	71.1	C12	H19	0.6			
H2	1.2 y 1.4				H9	2.1			
H4	2.2				H12	3.8			
H5	1.2				H8	1.3 y 1.4			
H1	0.8 y 1.6				H14	2.0			
H6	1.4 y 1.8				H16	1.2 y 1.7			
H8	1.4				H14	2.0			
H9	2.1				H15	1.0 y 1.6			
H18	0.8				H17	1.8			
H2	1.2 y 1.4				H20	1.3 y 1.8			
H3	3.2	con	34.4	C10	H14	2.0			
H5	1.2				H12	3.8			
H18	0.8				H15	1.6			
H4	2.2	con	46.1	C17	H16	1.2			
H5	1.2				H20	1.3 y 1.8			
H7	3.6				H21	0.9			
H8	1.4				H22	1.6			
H7*	4.0				H19	0.6			
H5	1.2				H16	1.2			
H6	1.4				H17	1.8			
H9	2.1				H21	0.9			
H14	2.0				con	66.3	C7	H22	1.2 y 1.6
H7*	4.0							H23	2.1 y 2.2
H6	1.4 y 1.8	H17	1.8						

* Los protones con asterisco están unidos a oxígenos de los grupos hidroxilo.

Continuación de la tabla 4.21. Correlaciones ^1H - ^{13}C a dos o más enlaces de distancia del compuesto **4**.

Correlaciones									
Protón	δ (ppm)		δ (ppm)	Carbono	Protón	δ (ppm)		δ (ppm)	Carbono
H9	2.1	con	39.6	C8	H20	1.3 y 1.8	con	17.0	C21
H14	2.0				H22	1.2 y 1.6			
H11	1.4				H17	1.8	con	30.8	C22
H7*	4.0				H20	1.3 y 1.8			
H5	1.2	H21	0.9						
H7	3.6	con	26.2	C9	H23	2.1 y 2.2	con	30.9	C23
H8	1.3				H20	1.3 y 1.8			
H14	2.0				H22	1.2 y 1.6	con	175.0	C24
H12	3.8				H22	1.2 y 1.6			
H11	1.4				H23	2.1 y 2.2			
H18	0.8	con	41.4	C14	H14	2.0	con	12.4	C19
H7	3.6				H12	3.8			
H12	3.8				H17	1.8	con	22.6	C18
H15	1.6				H5	1.2			
H16	1.2				H1	0.8 y 1.6			
H17	1.8				H9	2.1			
H19	0.6								

* Los protones con asterisco están unidos a oxígenos de los grupos hidroxilo.

Tabla 4.22. Asignación de las señales del espectro ^1H -RMN del compuesto **5**.

^1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6)							
δ (ppm)	Asignación	Multiplicidad	Constante de acoplamiento J (Hz)	δ (ppm)	Asignación	Multiplicidad	Constante de acoplamiento J (Hz)
1.2 y 1.4	H2	m	—	1.1 y 1.7	H16	m	—
3.2	H3	d	9.4	1.8	H17	m	—
2.2	H4	m	—	1.3 y 1.8	H20	m	—
1.2	H5	m	—	0.9	H21	m	—
0.8 y 1.6	H1	m	—	1.2 y 1.7	H22	m	—
1.4 y 1.8	H6	m	—	2.2 y 2.3	H23	m	—
3.6	H7	s	—	0.6	H19	s	—
1.3 y 1.4	H8	m	—	4.1	H12*	s	—
2.1	H9	m	—	4.0	H7*	s	—
2.0	H14	m	—	4.3	H3*	d	4.3
3.8	H12	s	—	0.8	H18	d	4.2
1.4	H11	m	—	3.6	H25	s	—
1.0 y 1.6	H15	m	—				

* Los protones con asterisco están unidos a oxígenos de los grupos hidroxilo.

Tabla 4.23. Asignación de las señales del espectro ^{13}C -RMN del compuesto **5**.

^{13}C -RMN (400 MHz, DMSO- d_6)			
δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación
30.4	C2	28.5	C11
70.5	C3	22.8	C15
39.5	C4	27.3	C16
41.6	C5	46.0	C17
34.4	C10	35.1	C20
35.4	C1	16.9	C21
34.9	C6	30.8	C22
66.3	C7	30.5	C23
39.5	C8	173.8	C24
26.2	C9	12.3	C19
41.4	C14	22.6	C18
45.8	C13	51.2	C25
71.0	C12		

Tabla 4.24. Correlaciones ^1H - ^1H del compuesto **5** obtenidos a partir del COSY.

Protón analizado		Correlación observada		Protón analizado		Correlación observada	
δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación
1.2	H2	3.2	H3	2.0	H14	1.0	H15
1.4	H2	3.2	H3	2.0	H14	1.6	H15
1.4	H2	0.8	H1	3.8	H12	1.4	H11
1.4	H2	1.6	H1	3.8	H12	4.1	H12*
3.2	H3	2.2	H4	1.0	H15	1.2	H16
3.2	H3	4.3	H3*	1.0	H15	1.7	H16
2.2	H4	1.2	H5	1.6	H15	1.7	H16
1.2	H5	1.4	H6	1.2	H16	1.8	H17
1.2	H5	1.8	H6	1.8	H17	1.3	H20
1.8	H6	3.6	H7	1.8	H17	1.8	H20
3.6	H7	1.3	H8	1.3	H20	0.9	H21
3.6	H7	4.0	H7*	1.8	H20	1.7	H22
1.3	H8	2.1	H9	1.2	H22	2.3	H23
1.3	H8	2.0	H14	1.7	H22	2.2	H23
2.1	H9	1.4	H11	1.7	H22	2.3	H23

* Los protones con asterisco están unidos a oxígenos de los grupos hidroxilo.

Tabla 4.25. Correlaciones ^1H - ^{13}C a un enlace de distancia del compuesto **5**.

Correlaciones									
Protón	δ (ppm)		δ (ppm)	Carbono	Protón	δ (ppm)		δ (ppm)	Carbono
H2	1.2 y 1.4	con	30.4	C2	H11	1.4	con	28.5	C11
H3	3.2	con	70.5	C3	H15	1.0 y 1.6	con	22.8	C15
H4	2.2	con	39.5	C4	H16	1.2 y 1.7	con	27.3	C16
H5	1.2	con	41.6	C5	H17	1.8	con	46.0	C17
H1	0.8 y 1.6	con	35.4	C1	H20	1.3 y 1.8	con	35.1	C20
H6	1.4 y 1.8	con	34.9	C6	H21	0.9	con	16.9	C21
H7	3.6	con	66.3	C7	H22	1.2 y 1.7	con	30.8	C22
H8	1.3 y 1.4	con	39.5	C8	H23	2.2 y 2.3	con	30.5	C23
H9	2.1	con	26.2	C9	H19	0.6	con	12.3	C19
H14	2.0	con	41.4	C14	H18	0.8	con	22.6	C18
H12	3.8	con	71.0	C12	H25	3.6	con	51.6	C25

Tabla 4.26 Correlaciones ^1H - ^{13}C a dos o más enlaces de distancia del compuesto **5**.

Correlaciones									
Protón	δ (ppm)		δ (ppm)	Carbono	Protón	δ (ppm)		δ (ppm)	Carbono
H4	2.2	con	30.4	C2	H15	1.0 y 1.6	con	41.4	C14
H1	1.6				H16	1.2			
H3*	4.3				H17	1.8			
H2	1.2 y 1.4	con	70.5	C3	H19	0.6	con	45.8	C13
H4	2.2				H8	1.3 y 1.4			
H1	0.8 y 1.6				H14	2.0			
H3*	4.3	con	39.5	C4	H12	3.8	con	71.0	C12
H2	1.2 y 1.4				H11	1.4			
H5	1.2				H16	1.7			
H6	1.4 y 1.8	con	41.6	C5	H17	1.8	con	71.0	C12
H3*	4.3				H19	0.6			
H4	2.2				H12*	4.1			
H1	1.6	con	34.4	C10	H14	2.0	con	71.0	C12
H6	1.4 y 1.8				H11	1.4			
H7	3.6				H17	1.8			
H18	0.8	con	34.4	C10	H19	0.6	con	71.0	C12
H2	1.2 y 1.4				H12*	4.1			

* Los protones con asterisco están unidos a oxígenos de los grupos hidroxilo.

Continuación de la tabla 4.26. Correlaciones ^1H - ^{13}C a dos o más enlaces de distancia del compuesto **5**.

Correlaciones												
Protón	δ (ppm)		δ (ppm)	Carbono	Protón	δ (ppm)		δ (ppm)	Carbono			
H4	2.2	con	34.4	C10	H9	2.1	con	28.5	C11			
H5	1.2				H12*	4.1						
H1	0.8 y 1.6				H14	2.0						
H6	1.4				H16	1.2 y 1.7						
H8	1.3 y 1.4				H17	1.8						
H9	2.1				H15	1.0 y 1.6						
H11	1.4				H17	1.8						
H18	0.8				H14	2.0						
H2	1.4	con	35.4	C1	H12	3.8	con	46.0	C17			
H18	0.8				H15	1.6 y 1.7						
H4	2.2	con	34.9	C6	H20	1.3 y 1.8						
H5	1.2				H21	0.9						
H8	1.4				H22	1.7						
H7*	4.0				H19	0.6						
H5	1.2	con	66.3	C7	H16	1.2 y 1.7				con	35.1	C20
H6	1.4				H17	1.8						
H8	1.3				H21	0.9						
H9	2.1				H22	1.2 y 1.7						
H14	2.0				H23	2.2 y 2.3						
H7*	4.0				H17	1.3 y 1.8						
H6	1.4 y 1.8	con	39.5	C8	H20	1.3 y 1.8	con	16.9	C21			
H9	2.1				H22	1.2 y 1.7						
H14	2.0				H17	1.8						
H11	1.4				H20	1.8						
H15	1.0				H21	0.9						
H7*	4.0				H23	2.2 y 2.3						
H5	1.2	con	26.2	C9	H20	1.3 y 1.8	con	30.5	C23			
H7	3.6				H22	1.2 y 1.7						
H8	1.3 y 1.4				H22	1.2 y 1.7						
H14	2.0				H23	2.2 y 2.3						
H12	3.8				H25	3.6						
H11	1.4				H14	2.0						
H18	0.8				H12	3.8						
H7	3.6				H17	1.8						
H8	1.3	con	41.4	C14	H1	0.8	con	12.3	C19			
H9	2.1				H9	2.1						
H12	3.8											

* Los protones con asterisco están unidos a oxígenos de los grupos hidroxilo.

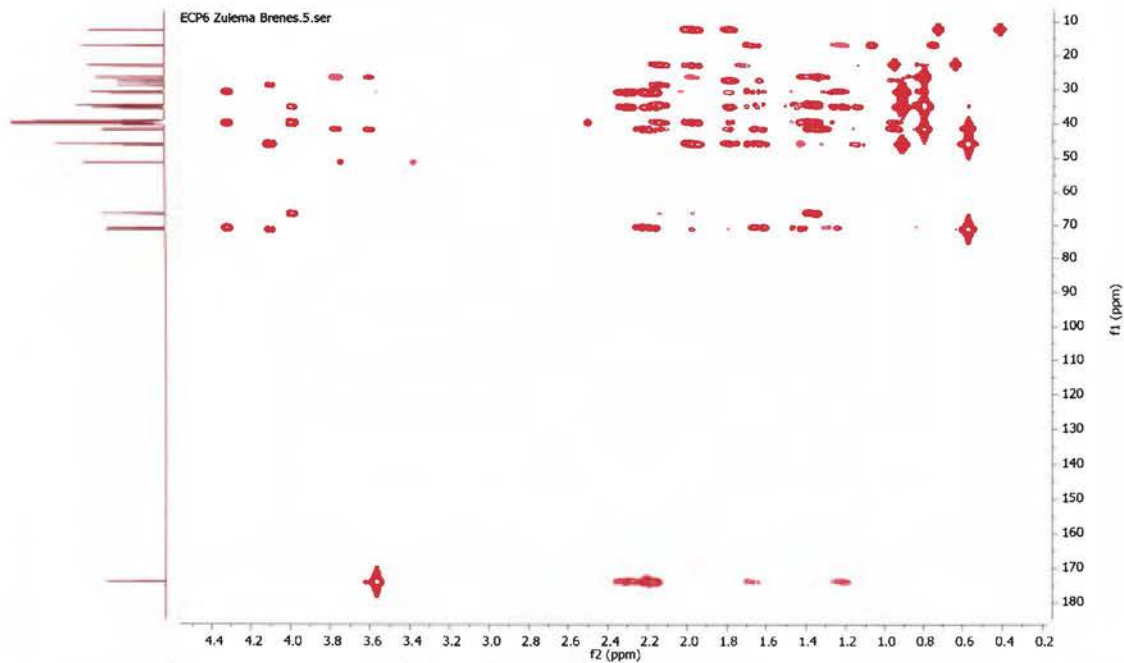


Figura 4.13. Ampliación del espectro HMBC del compuesto 5.

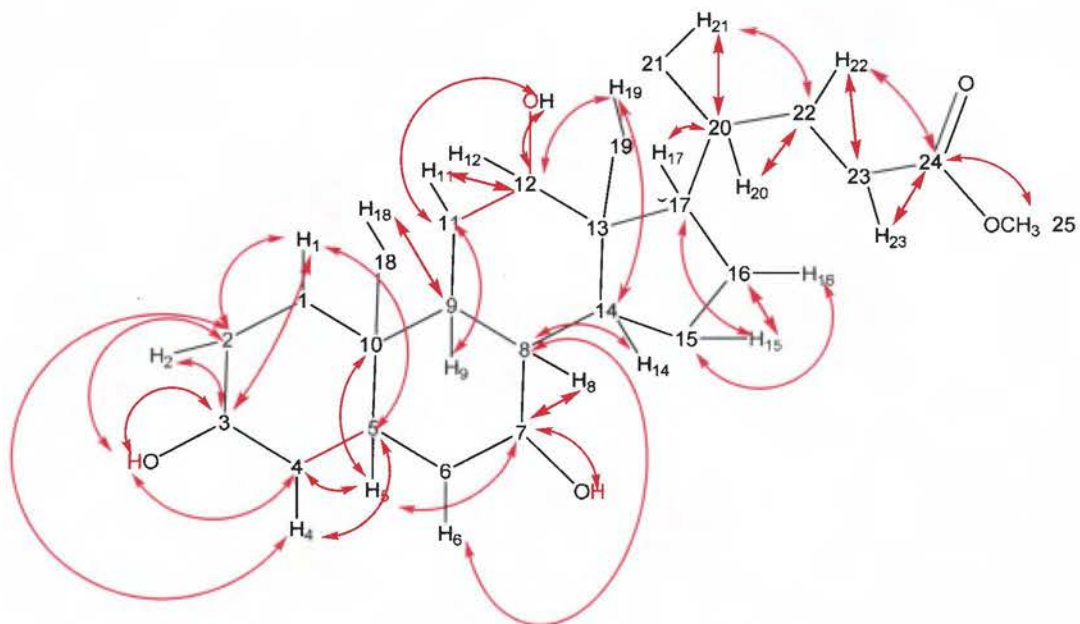


Figura 4.14. Correlaciones importantes a larga distancia entre carbonos y protones del compuesto 5.

4.1.4. Adición del grupo amino en la posición 3β en el compuesto **5** para la obtención del compuesto **6**.

Para la obtención de la amina en la posición 3β del compuesto **5**, se realiza un proceso de dos pasos en un solo recipiente (“one-pot”). Primero ocurre una reacción de sustitución de Mitsunobu, para la obtención de una azida que se redujo mediante la reacción de Staudinger para dar la amina denominada compuesto **6**. Las reacciones realizadas se muestran en la figura 4.15.

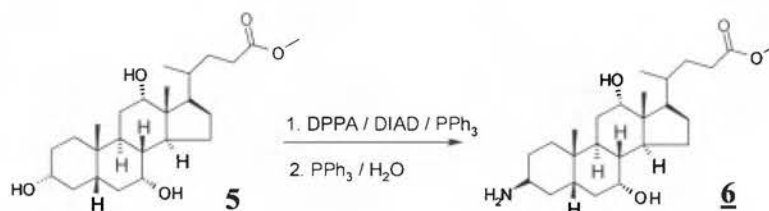


Figura 4.15. Proceso “One-pot” para la obtención del compuesto **6** ¹⁰¹⁻¹⁰³.

La reacción de Mitsunobu (figura 4.15) consiste en deshidratar un alcohol primario o secundario (en algunas ocasiones terciario), con el fin de convertirlo en un grupo funcional de naturaleza nucleofílica; la reacción es mediada por un alquil azodicarboxilato y una trialquil- o triarilfosfina. En este proceso las especies azo se reducen a un derivado de hidrazina, mientras que la fosfina se oxida a óxido de trifenilfosfina. Cuando el alcohol que se emplea como producto de partida es secundario y quiral se observa una inversión completa de la configuración, lo que indica que la reacción ocurre mediante un mecanismo S_N2 (Sustitución nucleofílica bimolecular) ^{69,70}.

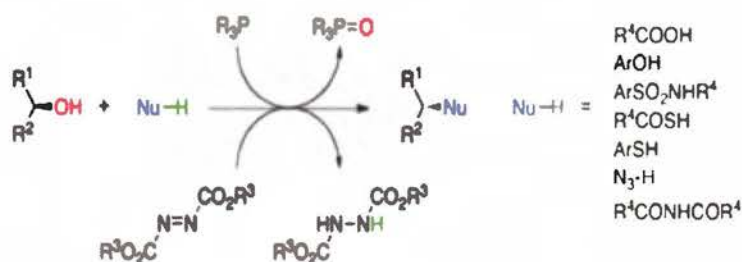


Figura 4.16. Descripción de la reacción de Mitsunobu ^{69,70}.

En la reacción de Mitsunobu, se pueden utilizar diferentes especies para reemplazar el grupo -OH, por ejemplo, imidas, sulfanamidas, fenoles, tiofenoles, ácidos

carboxílicos entre otros, que permiten la formación de nuevos enlaces C–O, C–S y C–N^{69,70}.

Durante el proceso, se utiliza difenil fosforilazida (DPPA), diisopropil azodicarboxilato (DIAD) y trifenilfosfina; mientras que los disolventes comúnmente empleados son tetrahidrofurano, éter etílico, diclorometano y tolueno^{69,70}.

Además, el generador del nucleófilo que se utilice debe tener una pKa cercana a 11 para que reaccione de manera exitosa con los reactivos utilizados. Esta “regla” de la pKa se debe a que entre el DIAD con la trifenilfosfina se genera una betaína con una pKa de 13, esta betaína debe abstraer un protón ácido del generador del nucleófilo, por ello es necesario que la pKa de dicho generador del nucleófilo sea menor que la de la betaína para que el protón sea más ácido y sea abstraído^{69,70}.

El proceso de la figura 4.15 ocurre en dos pasos en un único balón en presencia de THF seco, trifenilfosfina, DIAD y DPPA; bajo atmósfera inerte.

Como se mencionó anteriormente, el primer proceso consiste en una reacción de Mitsunobu, en este primer paso la trifenilfosfina activa al DIAD y luego es atacado por el grupo hidroxilo de la posición 3 (Anexo C, figura c.11) del compuesto **5**, es decir, el grupo hidroxilo se transforma en un mejor grupo saliente, como lo es el –OPPh₃.

Una vez generado un mejor grupo saliente, la adición lenta de difenil fosforilazida (DPPA), libera azida en el medio de reacción que sustituye el grupo –OPPh₃ por un grupo azida (–N=N⁺=N⁻) mediante una reacción S_N2. Se utiliza este tipo de compuesto (DPPA) en lugar de especies como azida de sodio (NaN₃), pues debido a la solubilidad de la sal biliar se requiere una azida también soluble en el medio de reacción, además es bien conocido que la utilización de la azida de sodio en los procesos de sustitución con esteroides genera mezcla de productos y lo que se busca es una azida que permita el control de la configuración del carbono dónde se realiza la sustitución.

También se debe considerar además que la NaN₃ es una especie dura (base dura), mientras que el carbono 3 dónde se realizará la sustitución es suave, por otra parte, el DPPA es suave (como el carbono 3), razón por la cuál a través de una interacción suave-suave se favorece el proceso de sustitución.

En el segundo proceso se da la reducción de Staüdinger del grupo azida de la posición 3 (Anexo C, figura c.12), para ello se utiliza trifenilfosfina y agua, este proceso da como resultado la obtención del compuesto **6** con un grupo amino en la posición 3, donde la configuración relativa del carbono unido al grupo amino esta invertida respecto al grupo hidroxilo de la posición 3 del compuesto **5**.

Debido al uso de trifenilfosfina durante la reacción, se genera óxido de trifenilfosfina como un subproducto que es difícil de eliminar y que tiende a contaminar el compuesto **6** producido; por ello, se realiza un proceso de purificación mediante cromatografía de columna con gel de sílice como fase estacionaria. En este proceso, se eluye la columna primero con una mezcla acetato de etilo: metanol (1:1), para separar inicialmente, el óxido de trifenilfosfina, ya que este compuesto es menos polar que el producto deseado (compuesto **6**). Luego se eluye la columna con una mezcla más polar de metanol: trietilamina (95:5) con las que corre en la columna el producto deseado.

A pesar de los esfuerzos para la purificación de este compuesto siempre se arrastra una muy pequeña cantidad de óxido de trifenilfosfina, que se descubrió con los espectros de RMN que se comentan a continuación. Se obtiene el compuesto **6** de color crema con un rendimiento del 37% (tabla 4.45).

Se obtiene el espectro de FT-IR del compuesto **6**, (Anexo D, figura d.6). Las bandas importantes se muestran en la tabla 4.27; los desplazamientos de las bandas coinciden con análisis previos realizados a este compuesto ¹⁰¹⁻¹⁰⁴.

De la figura d.6 y de la tabla 4.27, las bandas que se observan debido al grupo amina primaria, corresponden a la banda de vibración de flexión (de deformación) del enlace carbono-nitrógeno (C–N) en 1620 cm⁻¹ y la banda a 1037 cm⁻¹ que corresponde a la vibración de estiramiento del enlace C–N. Debido a la presencia de grupos hidroxilo, la banda característica debido al estiramiento de vibración del enlace N–H del grupo amino no se logra observar, ya que es apantallada con la banda ancha debido a las vibraciones de estiramiento de los enlaces O–H de los grupos hidroxilo de las posiciones 7 y 12 (figura 4.16).

Tabla 4.27. Asignación de bandas de absorción principales en el FT-IR para el compuesto **6**.

Número de onda (cm ⁻¹)	Asignación	Inferencia
1620	Flexion C–N	Amina primaria
1037	Estiramiento C–N	
3433	Estiramiento O–H	Alcohol
1253	Estiramiento C–O	
1736	Estiramiento C=O	Éster
1196	Estiramiento C–O	
1172	Estiramiento C–O	
2867 y 2927	Estiramiento –C–H (metilenos)	Cuerpo esteroideo
1379 y 1307	Estiramiento –C–H (metilos)	
1441	Estiramiento P–C	Trifenilfosfina

La banda a 1441 cm^{-1} corresponde a la vibración de estiramiento del enlace P–C que implica cierta contaminación del óxido de trifenilfosfina en el compuesto **6** purificado.

La figura 4.16 muestra la estructura del compuesto **6** con la asignación de protones y carbonos utilizada desde la tabla 4.28 a la tabla 4.31.

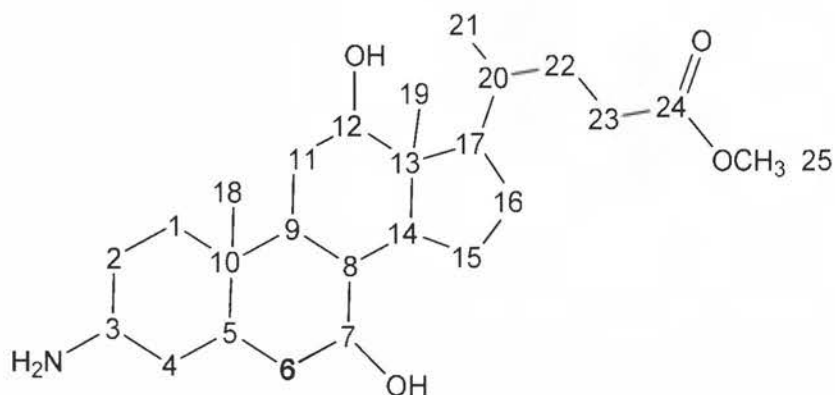


Figura 4.17. Estructura molecular del compuesto **6**.

Los espectros RMN de una y dos dimensiones antes mencionados permiten corroborar la formación del compuesto **6** y son apoyados por la caracterización realizada por Tato *et al*^{102,104}.

El compuesto **6** (amina del colato de metilo) posee señales muy similares a las del compuesto **5** (éster de partida). En las figuras 4.17 y 4.18 se pueden ver los espectros de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN respectivamente del compuesto **6**; en el espectro ^1H -RMN se observa una señal en 8.3 que corresponde a los protones unidos al nitrógeno y el único cambio relevante en el espectro ^{13}C -RMN, consiste en que la señal del carbono C3 se desplaza a campo más alto: 46.0 ppm porque cambia de un grupo hidroxilo entrando al plano a un grupo amino saliendo del plano. La configuración relativa del carbono 3 se conoce con seguridad al seguir el procedimiento establecido en la figura 4.15. El resto de los espectros se puede observar desde la figura d.30 a la figura d.34 del Anexo D y las señales asignadas se muestran desde la tabla 4.28 a la tabla 4.32.

Aunque el espectro COSY (Anexo D, figura d.32) no fue claro, a diferencia de los espectros HSQC (Anexo D, figura d.33) y HMBC (Anexo D, figura d.34), la asignación

realizada de las señales, es coincidente y se basa en la elucidación realizada previamente por Tato et al. y Ryu et al., ya que este compuesto **6** ha sido ampliamente utilizado en trabajos previos para la síntesis de diversos derivados del ácido cólico aún en Costa Rica. 102,104,121.

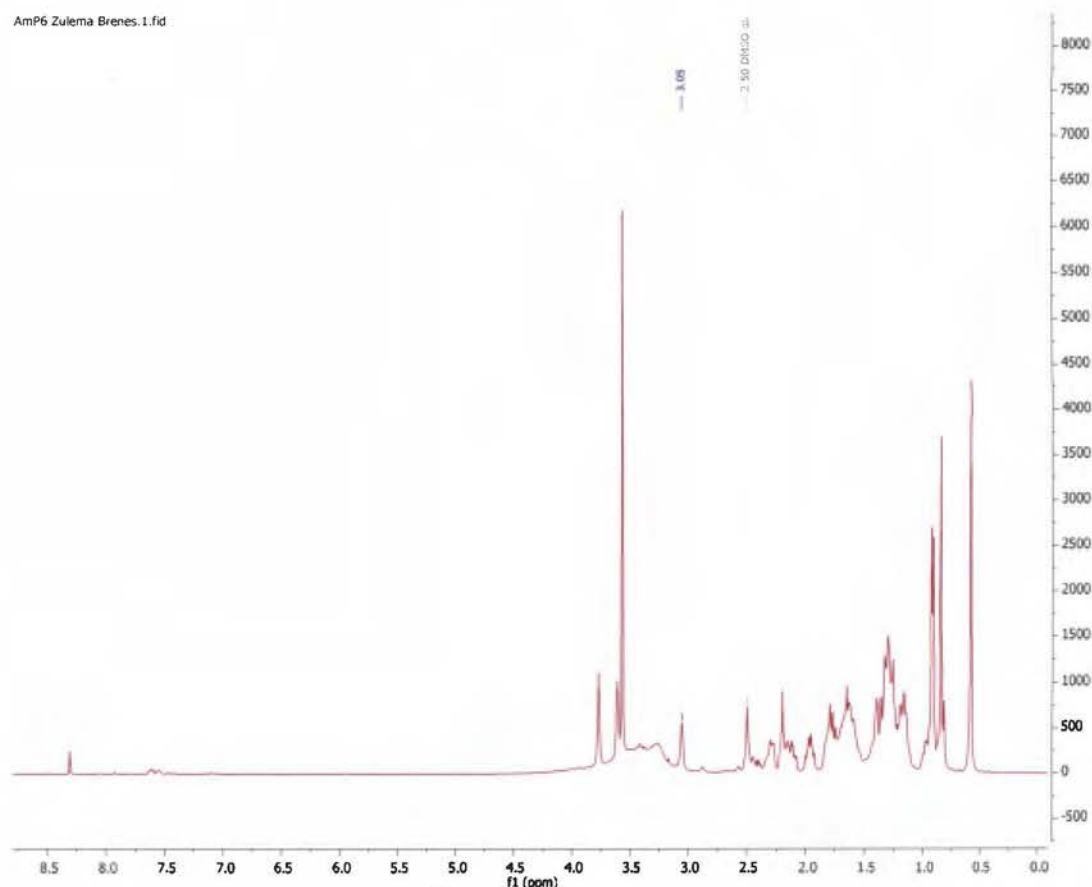


Figura 4.18. Espectro ^1H -RMN del compuesto **6**.

El punto de fusión del compuesto **6** sintetizado se encuentra en el ámbito de $197,0\text{ }^\circ\text{C} - 199,0\text{ }^\circ\text{C}$; el valor teórico reporta que descompone entre $225\text{ }^\circ\text{C} - 230\text{ }^\circ\text{C}$ (tabla 4.46)¹⁰².

No se realiza más proceso de purificación de este compuesto además del descrito en el procedimiento, pues el objetivo del trabajo es la obtención del compuesto **8**, así que con la elucidación de la estructura se llega a la decisión que el compuesto **6** obtenido, está suficientemente puro para continuar con el esquema de reacciones propuesto (figuras b.1 y b.2 en el Anexo B).

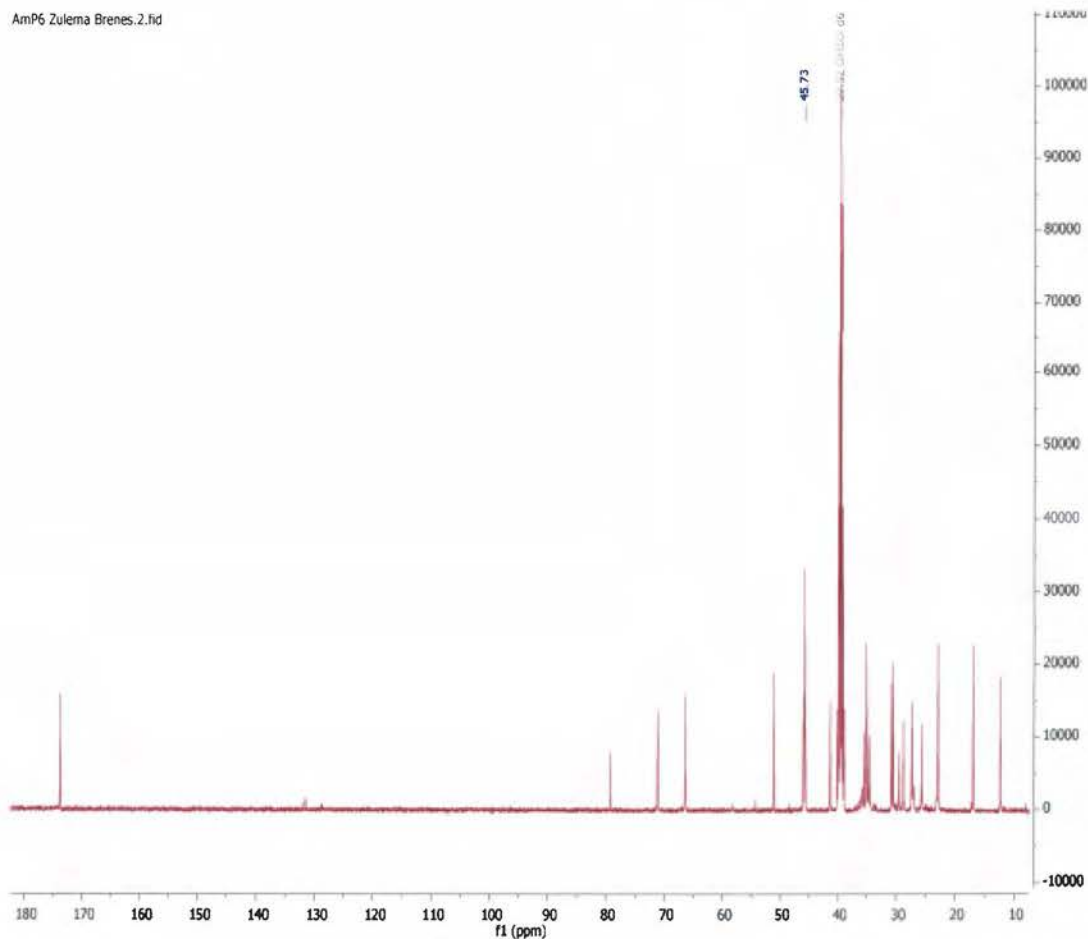


Figura 4.19. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto **6**.

Tabla 4.28. Asignación de las señales del espectro ^1H -RMN del compuesto **6**.

^1H -RMN (400 MHz, DMSO- d_6)							
δ (ppm)	Asignación	Multiplicidad	Constante de acoplamiento J (Hz)	δ (ppm)	Asignación	Multiplicidad	Constante de acoplamiento J (Hz)
1.3 y 2.1	H2	m	—	1.2 y 1.7	H16	m	—
3.0	H3	s	—	1.8	H17	h	5.3 y 6.9
1.2 y 1.6	H4	m	—	1.8	H20	m	—
2.0	H5	d	6.9	0.9	H21	d	6.0
1.3	H1	m	—	1.2 y 1.7	H22	m	—
1.8	H6	m	—	2.2 y 2.3	H23	s	—
3.6	H7	d	16.8	0.6	H19	s	—
1.3 y 1.3	H8	m	—	3.4	H12*	s	—
1.3 y 2.1	H9	m	—	3.6	H7*	d	16.8
2.0	H14	d	6.9	8.3	H3*	s	—
3.8	H12	s	—	0.8	H18	d	10.8
1.4	H11	m	—	3.6	H25	s	—
1.0 y 1.6	H15	m	—				

* Los protones con asterisco están unidos a oxígenos de los grupos hidroxilo y al nitrógeno del grupo amina.

Tabla 4.29. Asignación de las señales del espectro ^{13}C -RMN del compuesto **6**.

^{13}C -RMN (400 MHz, DMSO- d_6)			
δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación
25.7	C2	28.7	C11
45.8	C3	22.8	C15
35.5	C4	27.3	C16
35.0	C5	46.0	C17
34.6	C10	35.0	C20
29.4	C1	16.9	C21
35.0	C6	30.8	C22
66.4	C7	30.5	C23
39.5	C8	173.8	C24
25.6	C9	12.3	C19
41.4	C14	22.8	C18
45.8	C13	51.2	C25
71.2	C12		

Tabla 4.30. Correlaciones ^1H - ^1H del compuesto **6** obtenidos a partir del COSY 121 .

Protón analizado		Correlación observada		Protón analizado		Correlación observada	
δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación
2.1	H1	3.0	H2	2.1	H10	1.4	H14
1.3	H1	1.3	H6	2.0	H11	1.0	H15
2.1	H1	1.3	H6	2.0	H11	1.6	H15
3.0	H2	1.2	H3	3.8	H13	1.4	H14
3.0	H2	1.6	H3	3.8	H13	3.4	H26
1.6	H3	2.0	H4	1.0	H15	1.2	H16
2.0	H4	1.8	H7	1.0	H15	1.7	H16
1.8	H7	3.6	H8	1.2	H16	1.8	H17
3.6	H8	1.3	H9	1.7	H16	1.8	H17
3.6	H8	1.3	H9	1.8	H17	2.0	H18
3.6	H8	3.6	H27	2.0	H18	0.9	H19
1.3	H9	1.3	H10	2.0	H18	1.7	H20
1.3	H9	1.3	H10	1.2	H20	2.2	H21
1.3	H9	2.1	H10	1.2	H20	2.3	H21
1.3	H9	2.0	H11	1.7	H20	2.2	H21
1.3	H9	2.0	H11	1.7	H20	2.3	H21
2.1	H10	1.3	H14				

Tabla 4.31. Correlaciones ^1H - ^{13}C a un enlace de distancia del compuesto **6**.

Correlaciones									
Protón	δ (ppm)		δ (ppm)	Carbono	Protón	δ (ppm)		δ (ppm)	Carbono
H2	1.3 y 2.1	con	25.7	C2	H11	1.4	con	28.7	C11
H3	3.0	con	45.8	C3	H15	1.0 y 1.6	con	22.8	C15
H4	1.2 y 1.6	con	35.5	C4	H16	1.2 y 1.7	con	27.3	C16
H5	2.0	con	35.0	C5	H17	1.8	con	46.0	C17
H1	1.3	con	29.4	C1	H20	1.8	con	35.0	C20
H6	1.8	con	35.0	C6	H21	0.9	con	16.9	C21
H7	3.6	con	66.4	C7	H22	1.2 y 1.7	con	30.8	C22
H8	1.3 y 1.3	con	39.5	C8	H23	2.2 y 2.3	con	30.5	C23
H9	1.3 y 2.1	con	25.6	C9	H19	0.6	con	12.3	C19
H14	2.0	con	41.4	C14	18	0.8	con	22.8	C18
H12	3.8	con	71.2	C12	H25	3.6	con	51.2	C25

Tabla 4.32. Correlaciones ^1H - ^{13}C a dos o más enlaces de distancia del compuesto **6**.

Correlaciones									
Protón	δ (ppm)		δ (ppm)	Carbono	Protón	δ (ppm)		δ (ppm)	Carbono
H1	1.3	con	25.7	C2	H14	2.0	con	45.8	C13
H2	1.3	con	45.8	C3	H11	1.4			
H4	1.2 y 1.6				H15	1.6			
H5	2.0				H16	1.2			
H1	1.3	con	35.5	C4	H17	1.8			
H3	3.0				H19	0.6			
H6	1.8				H14	2.0			
H9	2.1	con	35.0	C5	H11	1.4	con	71.2	C12
H2	1.3 y 2.1	con	34.6	C10	H17	1.8			
H4	1.2 y 1.6				H19	0.6			
H1	1.3				H9	2.1			
H6	1.8				H12	3.8			
H9	2.1				H14	2.0			
H11	1.4				H16	1.2 y 1.7			
H18	0.8	con	29.4	C1	H15	1.0 y 1.6	con	27.3	C16
H3	3.0				H17	1.8			
H18	0.8				H14	2.0			
H2	2.1	con	35.0	C6	H15	1.6	con	46.0	C17
H3	3.0				H16	1.2			
H4	1.2				H20	1.8			
H5	2.0	H21	0.9						
H6	1.8	H19	0.6						
H8	1.3	con	66.4	C7	H16	1.2 y 1.7	con	35.0	C20
H9	2.1				H17	1.8			
H14	2.0				H21	0.9			
H6	1.8	con	39.5	C8	H22	1.2	con	16.9	C21
H7	3.6				H23	2.2 y 2.3			
H9	2.1				H17	1.8			
H14	2.0	con	25.6	C9	H22	1.2 y 1.7	con	30.8	C22
H11	1.4				H17	1.8			
H5	2.0				H20	1.8			
H1	1.3				H21	0.9			
H7	3.6				H23	2.2 y 2.3			
H8	1.3				H20	1.8			
H14	2.0	con	41.4	C14	H22	1.2 y 1.7	con	173.8	C24
H12	3.8				H22	1.2 y 1.7			
H11	1.4				H23	2.2 y 2.3			
H18	0.8	con	41.4	C14	H25	3.6	con	12.3	C19
H8	1.3				H14	2.0			
H12	3.8				H12	3.8			
H15	1.0				H17	1.8			
H16	1.2				H5	2.0			
H19	0.6	con			H1	1.3	con	22.8	C18
					H9	2.1			

4.1.5. Obtención del compuesto **7** al hacer reaccionar el compuesto **3** con el compuesto **6**.

Para la obtención del surfactante mixto meta en su forma éster, (compuesto **7**) se realiza el proceso de adición–eliminación final entre el dicloruro **3** y el aminoesteroide **6**. Las reacciones entre cloruros de ácido y aminas para la generación de amidas son también reacciones comunes en química orgánica⁶⁷ El proceso realizado se muestra en la figura 4.20.

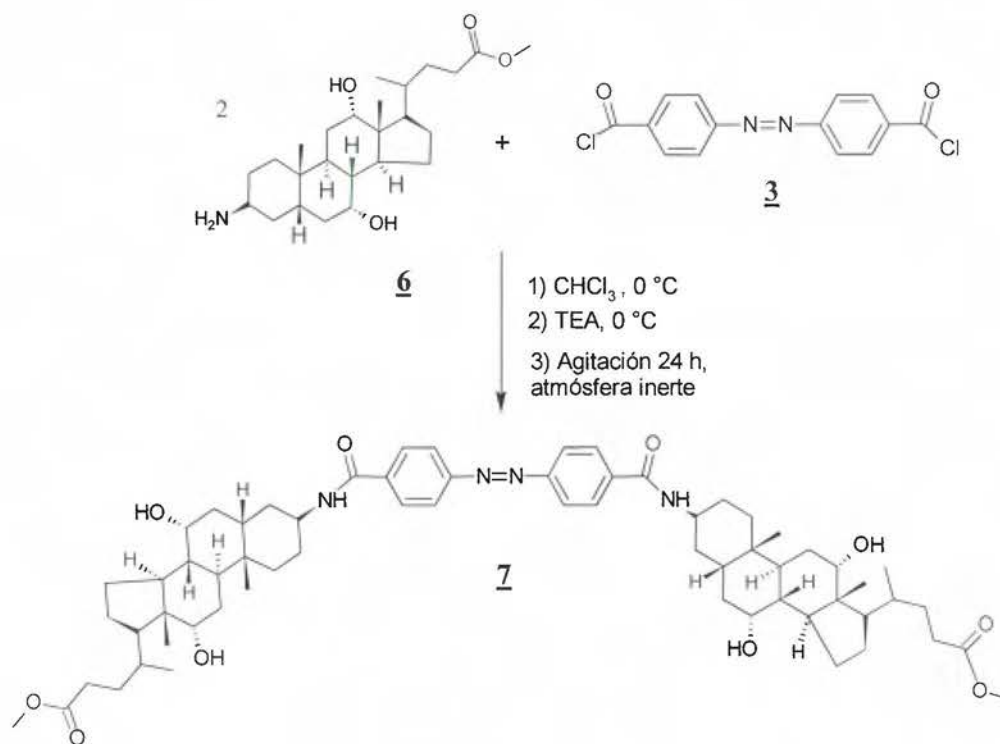


Figura 4.20. Síntesis del compuesto **7**¹⁰⁴.

El producto obtenido es de color naranja y se purifica mediante cromatografía de columna con sílica gel como fase estacionaria y con acetato de etilo como fase móvil. Después de llevar a cabo la purificación el producto de color anaranjado, se obtiene para esta etapa del proceso, un rendimiento del 54% (tabla 4.45).

Se obtiene el espectro de FT-IR al compuesto **7**, (figura d.7). Las bandas importantes y su interpretación, se muestran en la tabla 4.33.

En 3450 cm^{-1} se encuentran tanto la banda de estiramiento debido al enlace N–H de la amida secundaria, como la banda de estiramiento del enlace O–H de los grupos hidroxilo presentes en el compuesto, dichas bandas se superponen. La presencia de los grupos hidroxilo se confirma con la banda a 1273 cm^{-1} que corresponde al estiramiento

del enlace C–O; mientras que la bandas a 1651 cm^{-1} corresponde al estiramiento del enlace carbonilo (C=O) en una amida y la banda a 1522 cm^{-1} corresponde a la superposición de las bandas debido a la vibración de estiramiento del enlace C–N y a la vibración de deformación del enlace N–H.

Tabla 4.33. Asignación de bandas de absorción principales en el FT-IR para el compuesto **7**.

Número de onda (cm^{-1})	Asignación	Inferencia
1651	Estiramiento C=O	Amida II
1522	Estiramiento C–N	
1522	Deformación N–H	
3450	Estiramiento O–H	Alcohol
1273	Estiramiento C–O	
1723	Estiramiento C=O	Éster
1172	Estiramiento C–O	
2868 y 2934	Estiramiento –C–H (metilenos)	Cuerpo esteroideo
1376	Estiramiento –C–H (metilos)	

La presencia del grupo éster se confirma mediante las bandas a 1723 cm^{-1} , que corresponde a la vibración de estiramiento del enlace carbonilo (C=O) del éster y 1273 y 1172 cm^{-1} del enlace C–O respectivamente. El resto de bandas analizadas corresponden al cuerpo esteroideo y se muestran en la tabla 4.33.

La figura 4.21 muestra la estructura del compuesto **7** con la numeración de protones y carbonos utilizada desde la tabla 4.34 a la tabla 4.38.

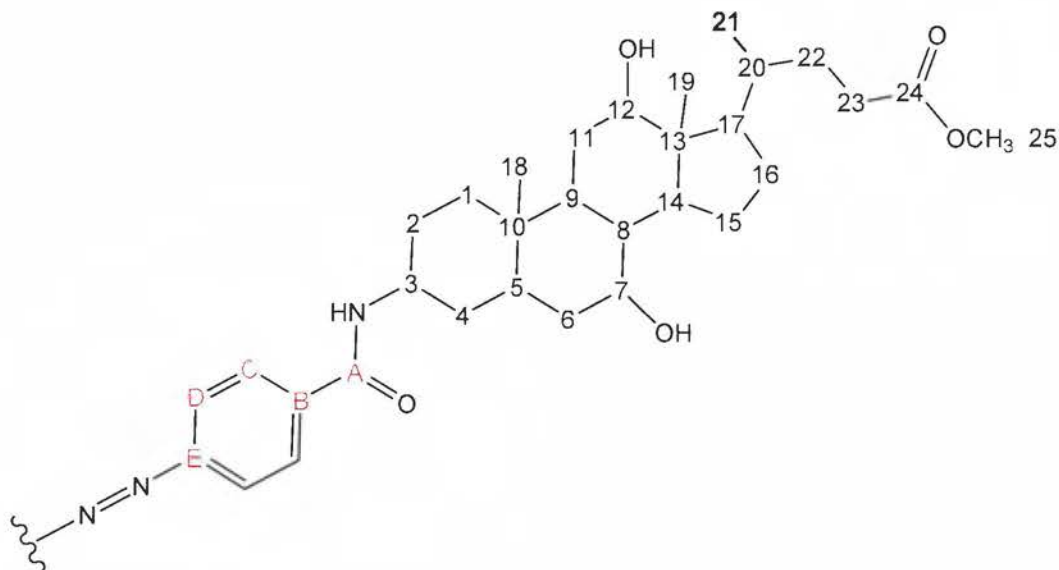


Figura 4.21. Estructura molecular del compuesto **7**.

Se muestra a continuación en la figura 4.22 el espectro ^1H RMN del compuesto 7.

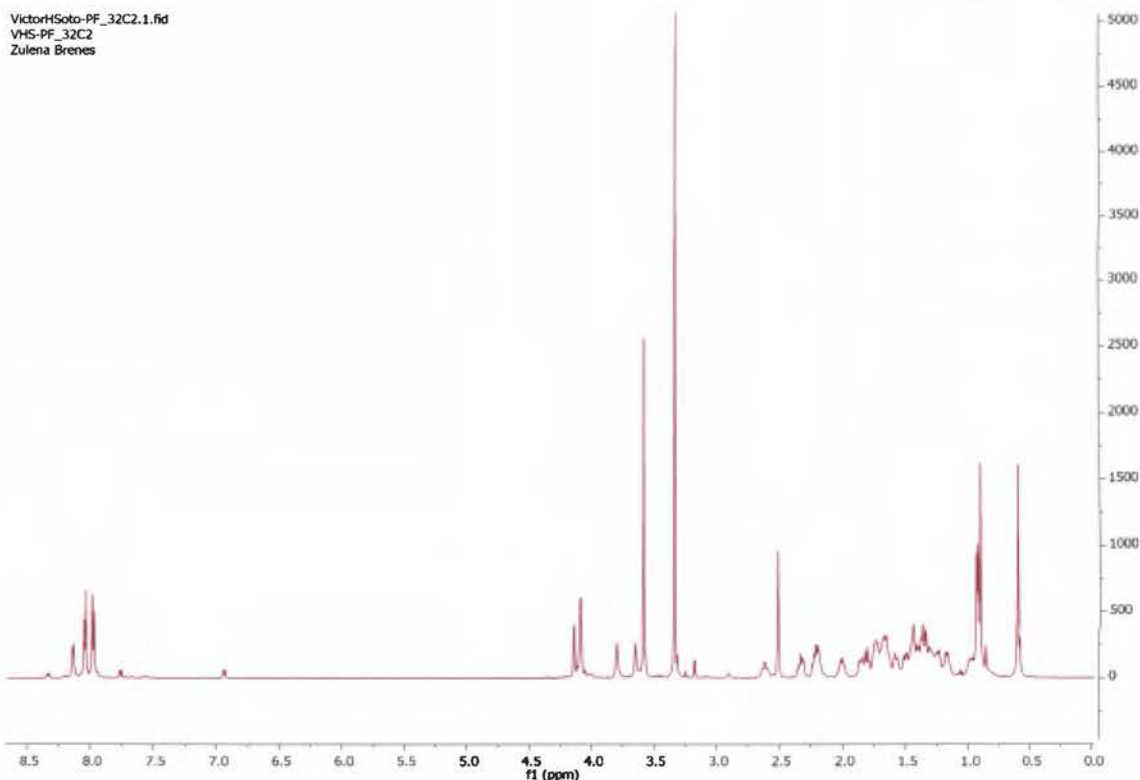


Figura 4.22. Espectro ^1H -RMN del compuesto 7.

En el mismo, se pueden observar básicamente tres zonas características: la región de las señales a campo más bajo (figuras 4.22; tabla 4.34) y que corresponden a protones aromáticos (δ_{Hb} : 7.97 ppm y δ_{Hc} : 8.04 ppm) y el protón del grupo amida de (δ_{H3} : 8.13 ppm).

La región central (figuras 4.22; tabla 4.34) corresponde a desplazamientos de los protones unidos a los oxígenos de los grupos hidroxilo (δ_{H7} : 4.08 ppm y δ_{H12} : 4.14 ppm) y los protones de los carbonos unidos a éstos grupos hidroxilos (δ_{H7} : 3.65 ppm y δ_{H12} : 3.80 ppm). También en esta área se encuentran los protones del grupo metilo unido al oxígeno de un éster (δ_{H25} : 3.58 ppm).

Y por último la región a campo más alto (figuras 4.22) dónde se encuentran el resto de los protones del cuerpo esteroideo, los desplazamientos para esta zona se muestran en la tabla 4.34; en esta tabla también se muestran la multiplicidad y las constantes de acoplamiento para el compuesto 7.

En la figura 4.23 se muestra el espectro ^{13}C -RMN del compuesto 7. Este espectro también muestra tres zonas características. La primera región (tabla 4.35) a campo más

bajo corresponde a los carbonos aromáticos (δ_{CE} : 153.50 ppm; δ_{CD} : 122.76 ppm; δ_{CC} : 129.40 ppm y δ_{CB} : 138.35 ppm), el carbono del carbonilo del grupo amida (δ_{CA} : 166.15 ppm) y el carbono del carbonilo del grupo éster (δ_{C24} : 174.28 ppm).

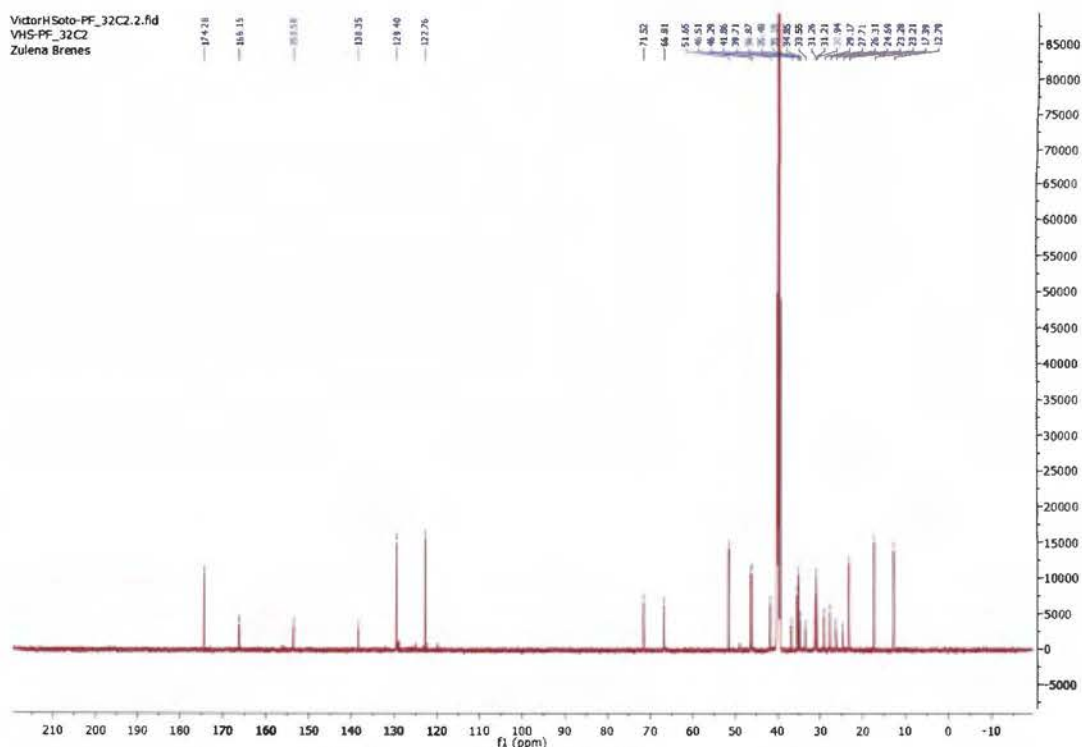


Figura 4.23. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto **7**.

En la segunda región (figuras 4.23; tabla 4.35) se encuentran los carbonos unidos a los oxígenos de los grupos hidroxilo (δ_{C7} : 66.81 ppm y δ_{C12} : 71.52 ppm), el carbono unido al nitrógeno de la amida secundaria (δ_{C3} : 46.51 ppm) y el carbono del grupo metilo unido al oxígeno del grupo éster (δ_{C25} : 51.65 ppm).

En la tercera región a campo más alto (figuras 4.23), se encuentran el resto de los carbonos del cuerpo esteroideo cuyos desplazamientos se muestran en la tabla 4.35.

Utilizando los espectros RMN de una dimensión, antes mencionados y el espectro HSQC (figura d.36) se corrobora la estructura propuesta en la figura 4.21 para el compuesto **7**. Los resultados se muestran en la tabla 4.37.

Con el espectro COSY (figuras d.35; tabla 4.36) se comprueba la formación del grupo amida (δ_{CA} = 166.15 ppm; δ_{H3^*} = 8.13 ppm), cuyo protón (δ_{H3^*} = 8.13 ppm) unido al nitrógeno de la amida secundaria correlaciona con el protón vecino H3 unido al carbono C3 a la distancia de un enlace (δ_{H3} = 4.08 ppm) que forma parte del cuerpo esteroideo.

También se observan en el espectro COSY los protones del anillo aromático ($\delta_{H_b} = 7.97$ ppm; $\delta_{H_c} = 8.04$ ppm) que acoplan entre sí con constantes de acoplamiento orto (tablas 4.34 y 4.36).

Con el espectro HMBC (figuras d.37; tabla 4.38) también se confirma la presencia de la amida secundaria pues el protón de la misma ($\delta_{H3^*} = 8.13$ ppm) correlaciona a larga distancia con los carbonos C2 ($\delta_{C2} = 24.69$ ppm); C3 ($\delta_{C3} = 46.51$ ppm); y C4 ($\delta_{C4} = 33.55$ ppm) del cuerpo esteroideo y con el carbono C_A ($\delta_{C_A} = 166.15$ ppm), que es el carbono del carbonilo de la amida.

Con el espectro HMBC también se comprueba que los protones aromáticos H_c ($\delta_{H_c} = 8.04$ ppm) acoplan a larga distancia con el carbono del carbonilo de la amida secundaria ($\delta_{C_A} = 166.15$ ppm); con ello se comprueba la presencia del puente azo.

La correlación del protón de la amida (H3*) con el carbono C3 y el protón H3 unido a este carbono; así como la correlación de los protones aromáticos con el carbonilo del grupo amida, confirman la unión del cuerpo esteroideo al puente azo sintetizado mediante el enlace amida.

Los espectros muestran poca contaminación del compuesto **7** sintetizado; al mismo se le realiza la medida de punto de fusión sin embargo este se descompone sin fundir a 340,0 °C (tabla 4.46).

Tabla 4.34. Asignación de las señales del espectro ¹H-RMN del compuesto **7**.

¹ H-RMN (600 MHz, DMSO-d ₆)							
δ (ppm)	Asignación	Multiplicidad	Constante de acoplamiento J (Hz)	δ (ppm)	Asignación	Multiplicidad	Constante de acoplamiento J (Hz)
7.97	H _d	m	7.3	1.44	H11	m	—
8.04	H _c	dt	7.3	0.98 y 1.65	H15	m	—
8.13	H3*	m	—	1.17 y 1.73	H16	m	—
1.58	H2	m	—	1.81	H17	m	—
4.08	H3	m	—	1.30	H20	m	—
1.50 y 2.61	H4	m	—	0.93	H21	m	—
1.74	H5	m	—	1.24 y 1.68	H22	m	—
1.34 y 1.44	H1	m	—	2.22 y 2.32	H23	m	—
1.35 y 1.86	H6	m	—	0.60	H19	s	—
3.65	H7	m	—	4.14	H12*	m	—
1.37	H8	m	—	4.08	H7*	m	—
2.19	H9	m	—	0.91	H18	m	—
2.01	H14	m	—	3.58	H25	m	—
3.80	H12	m	—				

* Los protones con asterisco están unidos a oxígenos de los grupos hidroxilo y al nitrógeno del grupo amida.

Tabla 4.35. Asignación de las señales del espectro ^{13}C -RMN del compuesto **7**.

^{13}C -RMN (600 MHz, DMSO- d_6)					
δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación
153.50	C _E	31.27	C1	27.71	C16
122.76	C _D	34.85	C6	46.51	C17
129.40	C _C	66.81	C7	35.48	C20
138.35	C _B	39.71	C8	17.39	C21
166.15	C _A	26.31	C9	31.21	C22
24.69	C2	41.86	C14	30.94	C23
46.51	C3	46.29	C13	174.28	C24
33.55	C4	71.52	C12	12.79	C19
36.87	C5	29.17	C11	23.21	C18
35.19	C10	23.28	C15	51.65	C25

Tabla 4.36. Correlaciones ^1H - ^1H del compuesto **7** obtenidos a partir del COSY.

Protón analizado		Correlación observada		Protón analizado		Correlación observada	
δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación
7.97	H _d	8.04	H _c	2.01	H14	0.98	H15
1.58	H2	4.08	H3	2.01	H14	1.65	H15
1.58	H2	1.34	H1	3.80	H12	1.44	H11
1.58	H2	1.44	H1	3.80	H12	4.14	H12*
4.08	H3	8.13	H3*	0.98	H15	1.17	H16
4.08	H3	2.61	H4	0.98	H15	1.73	H16
1.50	H4	1.74	H5	1.65	H15	1.73	H16
2.61	H4	1.74	H5	1.17	H16	1.81	H17
1.74	H5	1.35	H6	1.73	H16	1.81	H17
1.74	H5	1.86	H6	1.81	H17	1.30	H20
1.35	H6	3.65	H7	1.30	H20	0.93	H21
1.86	H6	3.65	H7	1.30	H20	1.24	H22
3.65	H7	4.08	H7*	1.30	H20	1.68	H22
3.65	H7	1.37	H8	1.24	H22	2.22	H23
1.37	H8	2.19	H9	1.68	H22	2.22	H23
1.37	H8	2.01	H14	1.24	H22	2.32	H23
2.19	H9	1.44	H11	1.68	H22	2.32	H23

* Los protones con asterisco están unidos a oxígenos de los grupos hidroxilo y al nitrógeno del grupo amida.

Tabla 4.37. Correlaciones ^1H - ^{13}C a un enlace de distancia del compuesto **7**.

Correlaciones									
Protón	δ (ppm)		δ (ppm)	Carbono	Protón	δ (ppm)		δ (ppm)	Carbono
H _d	7.97	con	122.76	C _D	H12	3.80	con	71.52	C12
H _c	8.04	con	129.40	C _C	H11	1.44	con	29.17	C11
H2	1.58	con	24.69	C2	H15	0.98 y 1.65	con	23.28	C15
H3	4.08	con	46.51	C3	H16	1.17 y 1.73	con	27.71	C16
H4	1.50 y 2.61	con	33.55	C4	H17	1.81	con	46.51	C17
H5	1.74	con	36.87	C5	H20	1.30	con	35.48	C20
H1	1.34 y 1.44	con	31.27	C1	H21	0.93	con	17.39	C21
H6	1.35 y 1.86	con	34.85	C6	H22	1.24 y 1.68	con	31.21	C22
H7	3.65	con	66.81	C7	H23	2.22 y 2.32	con	30.94	C23
H8	1.37	con	39.71	C8	H19	0.60	con	12.79	C19
H9	2.19	con	26.31	C9	H18	0.91	con	23.21	C18
H14	2.01	con	41.86	C14	H25	3.58	con	51.65	C25

Tabla 4.38. Correlaciones ^1H - ^{13}C a dos o más enlaces de distancia del compuesto **7**.

Correlaciones									
Protón	δ (ppm)		δ (ppm)	Carbono	Protón	δ (ppm)		δ (ppm)	Carbono
H22	1.24 y 1.68	con	174.28	C24	H22	1.24 y 1.68	con	35.48	C20
H23	2.22 y 2.32				H17	1.81			
H25	3.58				H23	2.22 y 2.32			
H _c	8.04	con	166.15	C _A	H18	0.91	con	35.19	C10
H3*	8.13				H1	1.34			
H _d	7.97	con	153.50	C _E	H6	1.35			
H _e	8.04				H4	1.50			
H _d	7.97	con	138.35	C _B	H7*	4.08	con	34.85	C6
H _d	7.97	con	129.40	C _C	H5	1.74	con	33.55	C4
H _e	8.04				H6	1.86			
H _d	7.97	con	122.76	C _D	H3*	8.13			
H _e	8.04				H18	0.91			
H19	0.60	con	71.52	C12	H5	1.74	con	31.27	C1
H12*	4.14				H9	2.19			
H6	1.35	con	66.81	C7	H21	0.93	con	31.21	C22
H8	1.37				H20	1.30			
H7*	4.08				H17	1.81			
H4	1.50	con	46.51	C3	H23	2.22 y 2.32			
H3*	8.13				H22	1.24 y 1.68			
H19	0.60	con	46.51	C17	H20	1.30	con	30.94	C23
H21	0.93				H9	2.19	con	29.17	C11
H16	1.17 y 1.73				H12*	4.14	con	27.71	C16
H14	2.01	H15	1.65						
H16	1.17 y 1.73	con	46.29	C13	H17	1.81	con	26.31	C9
H15	1.65				H18	0.91			
H17	1.81				H8	1.37			
H14	2.01				H11	1.44			
H12*	4.14	con	41.86	C14	H7	3.65	con	24.69	C2
H19	0.60				H12	3.80			
H15	0.98 y 1.65	con	39.71	C8	H4	1.50			
H8	1.37				H3*	8.14			
H15	0.98	con	39.71	C8	H16	1.17	con	23.28	C15
H6	1.35				H14	2.01	con	23.21	C18
H11	1.44				H1	1.34			
H14	2.01				H9	2.19	con	17.39	C21
H9	2.19				H22	1.24 y 1.68			
H7*	4.08	con	36.87	C5	H17	1.81	con	12.79	C19
H18	0.91				H17	1.81			
H6	1.35 y 1.86				H14	2.01			
H21	0.93	con	35.48	C20	H12	3.80			
H16	1.17 y 1.72								

* Los protones con asterisco están unidos a oxígenos de los grupos hidroxilo y al nitrógeno del grupo amida.

4.1.6. Hidrólisis del éster del dímero.

El último paso es la obtención del dímero mixto en su forma ácida (compuesto **8**) mediante un proceso de saponificación⁶⁷. La reacción realizada se muestra en la figura 4.24.

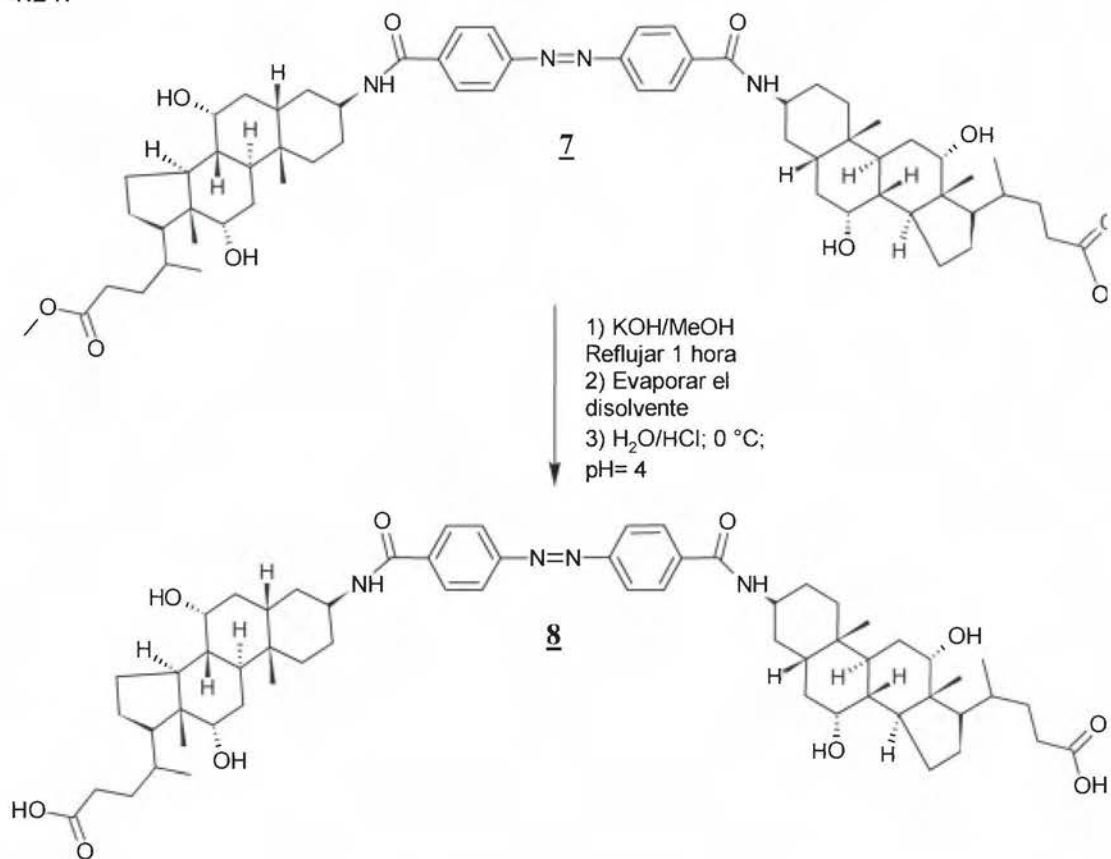


Figura 4.24. Síntesis del compuesto **8**^{105,106}.

Después de llevado a cabo el proceso mostrado en la figura 4.24 el compuesto de color naranja se disuelve en agua y se precipita a pH ácido con ácido clorhídrico concentrado (pH = 4). El precipitado naranja se filtra y se seca. El rendimiento para esta etapa fue del 65%; mientras que el rendimiento total de todo el proceso (figuras 1.35 y 1.36) para la obtención del compuesto **8** es de 11% (tabla 4.45).

Se realiza el espectro de FT-IR al compuesto **8**, para comprobar su presencia (figura d.8). Las bandas importantes se muestran en la tabla 4.39.

Tabla 4.39. Asignación de bandas de absorción principales en el FT-IR para el compuesto **8**.

Número de onda (cm ⁻¹)	Asignación	Inferencia
1698	Estiramiento C=O	Amida II
1515	Deformación N-H Estiramiento C-N	
3854	Estiramiento O-H	Alcohol
1051	Estiramiento C-O	
3854	Estiramiento O-H	Ácido carboxílico
1740	Estiramiento C=O	
1262	Estiramiento C-O	
2927	Estiramiento -C-H (metilenos)	Cuerpo esteroideo
2859		

Se comprueba la presencia del compuesto **8** mediante las bandas de vibración de estiramiento del enlace O-H a 3854 cm⁻¹, la del enlace C=O a 1740 cm⁻¹ y la del enlace C-O a 1262 cm⁻¹ que corresponden al grupo ácido carboxílico. La banda debido a la vibración de estiramiento del enlace N-H no se observa pues se encuentra apantallada por la banda O-H de los hidroxilos y del ácido carboxílico; mientras que el enlace C=O aparece en 1698 cm⁻¹ debido a la presencia de la amida secundaria. El resto de bandas analizadas corresponden a la presencia de los grupos hidroxilo, de los metilenos y metilos del compuesto **8** y se muestran en la tabla 4.39.

La figura 4.25 muestra la estructura del compuesto **8** con la numeración de protones y carbonos utilizada desde la tabla 4.40 a la tabla 4.44.

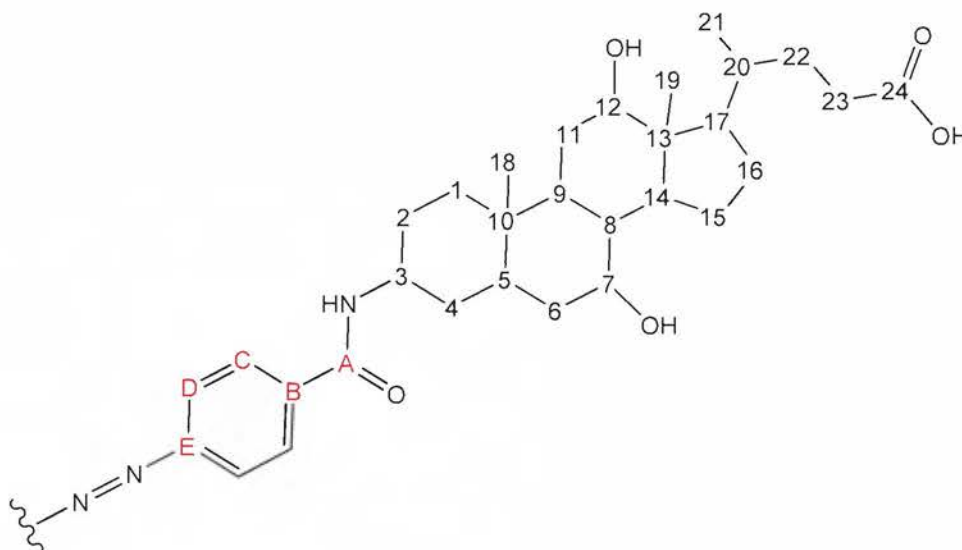


Figura 4.25. Estructura molecular del compuesto **8**.

Se muestra a continuación en la figura 4.26 el espectro ¹H RMN del compuesto **8**.

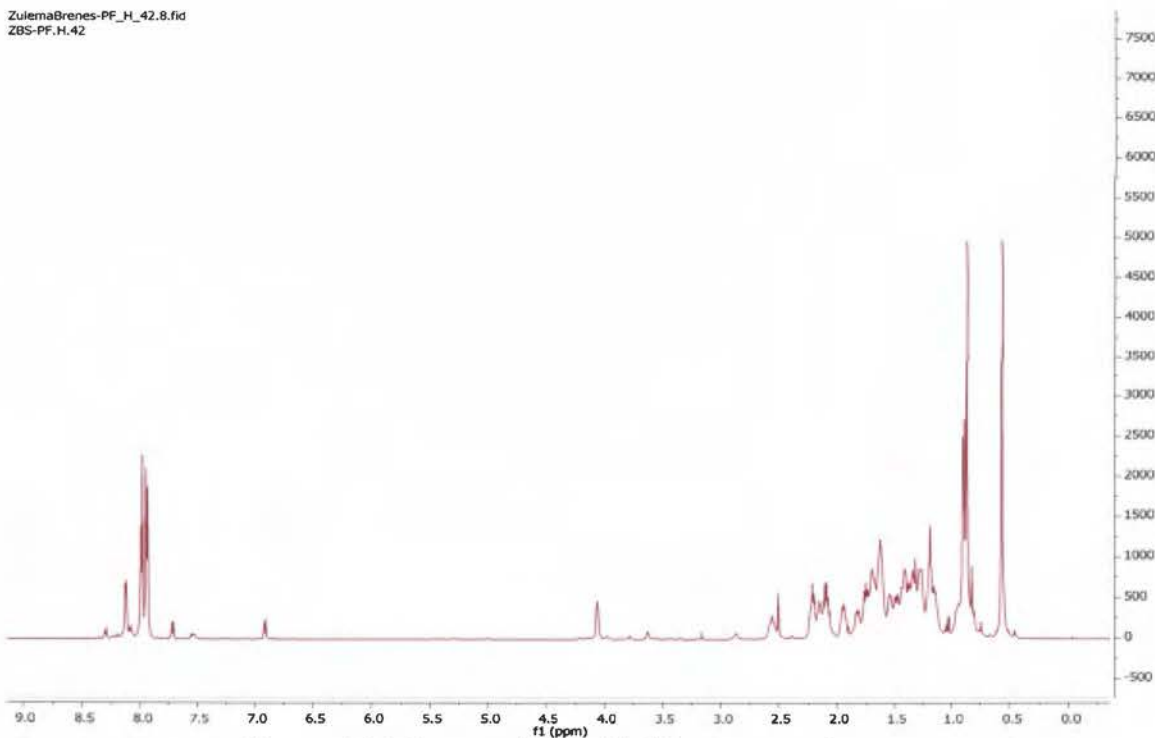


Figura 4.26. Espectro ^1H -RMN del compuesto **8**.

Al igual que en el caso del compuesto **7**, para el compuesto **8** se pueden observar básicamente tres zonas características: la región de las señales a campo más bajo (figura 4.26; tabla 4.40) y que corresponden a protones aromáticos (δ_{Hd} : 7.95 ppm y δ_{Hc} : 8.00 ppm) y el protón del grupo amida de ($\delta_{\text{H3*}}$: 8.14 ppm).

La región central (figura 4.26; tabla 4.40) corresponde a desplazamientos de los protones unidos a los oxígenos de los grupos hidroxilo ($\delta_{\text{H7*}}$, H_{12*} : 4.06 ppm) y los protones de los carbonos unidos a éstos grupos hidroxilos (δ_{H7} : 3.63 ppm y $\delta_{\text{H}_{12}}$: 3.78 ppm). En esta área ya no se observan los protones del grupo metilo unido al oxígeno de un éster que aparecían a 3.58 ppm para el compuesto **7** (figura 4.22), lo que implica que el compuesto se encuentra en su forma ácida sin contaminación del dímero en su forma éster.

Y por último la región a campo más alto (figuras 4.26) dónde se encuentran el resto de los protones del cuerpo esteroideo, los desplazamientos para esta zona se muestran en la tabla 4.40; en esta tabla también se muestran la multiplicidad y las constantes de acoplamiento para el compuesto **8**.

En la figura 4.27 se muestra el espectro ^{13}C -RMN del compuesto **8**.

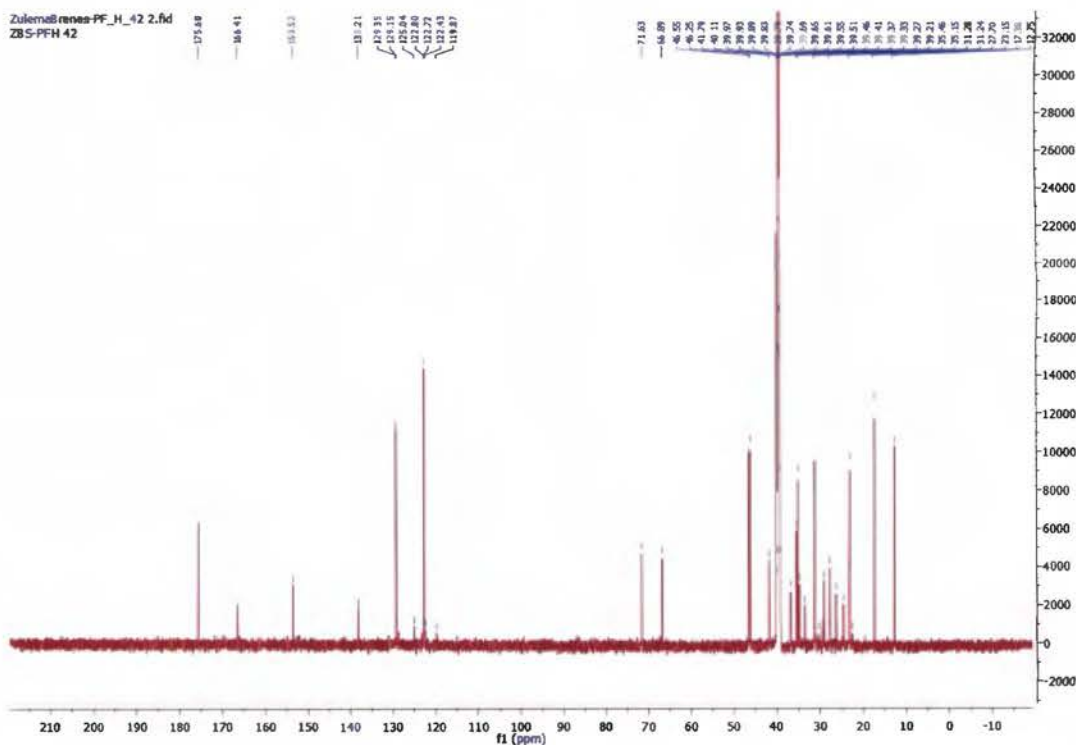


Figura 4.27. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto **8**.

Este espectro también muestra tres zonas características. La primera región (figura 4.27; tabla 4.41) a campo más bajo corresponde a los carbonos aromáticos (δ_{CE} : 153.52 ppm; δ_{CD} : 122.76 ppm; δ_{CC} : 129.40 ppm y δ_{CB} : 138.21 ppm), el carbono del carbonilo del grupo amida (δ_{CA} : 166.41 ppm) y el carbono del carbonilo del grupo ácido carboxílico (δ_{H24} : 175.60 ppm).

En la segunda región (figura 4.27; tabla 4.41) se encuentran los carbonos unidos a los oxígenos de los grupos hidroxilo (δ_{C7} : 66.89 ppm y δ_{C12} : 71.63 ppm) y el carbono unido al nitrógeno de la amida secundaria (δ_{C3} : 46.55 ppm). Esta región ya no muestra el carbono del grupo metilo unido al oxígeno del grupo éster que aparecía en 51.65 ppm para el compuesto **7** (figura 4.23).

En la tercera región a campo más alto (figura 4.27), se encuentran el resto de los carbonos del cuerpo esteroideo cuyos desplazamientos se muestran en la tabla 4.41.

Utilizando los espectros RMN de una dimensión, antes mencionados y el espectro HSQC (figura d.39) se corrobora la estructura propuesta en la figura 4.25 para el compuesto **8**. Los resultados obtenidos con este espectro se muestran en la tabla 4.43.

Con el espectro COSY (figura d.38; tabla 4.42) se ubican los grupos hidroxilos en el cuerpo esteroideo (figura 4.25) mediante la correlación entre protones unidos a

carbonos vecinos; ya que el protón H7 ($\delta_{H7} = 3.63$ ppm) correlaciona con los protones H6 ($\delta_{H6} = 1.34$ ppm y 1.83 ppm), H8 ($\delta_{H8} = 1.36$ ppm) y H7* ($\delta_{H7^*} = 4.08$ ppm).

Mientras que el protón H12 ($\delta_{H12} = 3.78$ ppm) correlaciona con los protones H11 ($\delta_{H11} = 1.41$ ppm) y H12* ($\delta_{H12^*} = 4.06$ ppm).

Además el espectro COSY comprueba la formación del grupo amida ($\delta_{CA} = 166.41$ ppm; $\delta_{H3^*} = 8.14$ ppm) por medio de la correlación de su protón H3* ($\delta_{H3^*} = 8.14$ ppm) con el protón H3 ($\delta_{H3} = 4.07$ ppm); esta correlación comprueba la unión de los monómeros esteroideos al puente azo por medio del enlace amida.

También se observan en el espectro COSY los protones del anillo aromático ($\delta_{Ha} = 7.95$ ppm; $\delta_{Hc} = 8.00$ ppm) que acoplan entre sí con constantes de acoplamiento orto (tablas 4.39 y 4.41).

Por último se menciona el espectro HMBC (figura d.40; tabla 4.44); este espectro muestra las correlaciones a la distancia de dos o más enlaces entre protones y carbonos. Con ello se corrobora la presencia de los metilos del cuerpo esteroideo, del ácido carboxílico, los grupos hidróxido y el resto de carbonos del cuerpo esteroideo. Y la presencia del puente azo enlazado mediante enlaces amida a los monómeros esteroideos.

Así del cuerpo esteroideo se observa que el metilo de la posición 21 ($\delta_{C21} = 17.38$ ppm) correlaciona con los protones H17 ($\delta_{H17} = 1.76$ ppm) y H22 ($\delta_{H22} = 1.20$ ppm y 1.64 ppm). El metilo de la posición 18 ($\delta_{C18} = 23.15$ ppm) correlaciona con los protones H9 ($\delta_{H9} = 2.16$ ppm) y H1 ($\delta_{H1} = 1.30$ ppm). Y el metilo en la posición 19 ($\delta_{C19} = 12.75$ ppm) correlaciona con los protones H14 ($\delta_{H14} = 1.96$ ppm); H12 ($\delta_{H12} = 3.78$ ppm) y H17 ($\delta_{H17} = 1.76$ ppm).

También se observa el grupo hidroxilo de la posición 7 ($\delta_{C7} = 66.89$ ppm) que correlaciona con los protones H6 ($\delta_{H6} = 1.34$ ppm) y H8 ($\delta_{H8} = 1.36$ ppm); mientras el grupo hidroxilo de la posición 12 ($\delta_{C12} = 71.63$ ppm) correlaciona con los protones H19 ($\delta_{H19} = 0.58$ ppm).

Se corrobora la presencia del grupo ácido carboxilo por medio de la correlación del carbonilo C24 ($\delta_{C24} = 175.60$ ppm) con los protones H22 ($\delta_{H22} = 1.20$ ppm y 1.64 ppm) y H23 ($\delta_{H23} = 2.10$ y 2.21); este grupo carbonilo del ácido carboxílico ya no presenta la correlación con protones a 3.58 ppm como ocurre en el compuesto **7** (figura d.36; tabla 4.37) lo que significa que el proceso de hidrólisis fue óptimo y por tanto ya no hay rastros del dímero en su forma éster en el compuesto **8** sintetizado.

Además se observa que el protón (H3*) de la amida ($\delta_{H3^*} = 8.14$ ppm) correlaciona con los carbonos C_A ($\delta_{CA} = 166.41$ ppm); C2 ($\delta_{C2} = 24.60$ ppm); C3 ($\delta_{C3} = 46.55$ ppm); y C4 ($\delta_{C4} = 33.45$ ppm).

Y se comprueba también que los protones aromáticos H_c ($\delta_{Hc} = 8.00$ ppm) acoplan a larga distancia con el carbono del carbonilo de la amida secundaria ($\delta_{CA} = 166.41$ ppm); con ello se comprueba la presencia del puente azo.

La correlación del protón de la amida (H3*) con el carbono C3 y el protón H3 unido a este carbono; así como la correlación de los protones aromáticos con el carbonilo del grupo amida, confirman la unión del cuerpo esteroideo al puente azo sintetizado mediante el enlace amida.

Las correlaciones antes mencionadas del espectro HMBC junto con otras importantes se muestran en las figuras 4.28 y 4.29

Con todos los resultados espectroscópicos se comprueba la estructura del compuesto **8** (figura 4.24). Los espectros muestran poca contaminación del compuesto **8**; al mismo se le realiza la medida de punto de fusión sin embargo este se descompone sin fundir en el ámbito 313,0 °C – 316 °C (tabla 4.46).

Tabla 4.40. Asignación de las señales del espectro ¹H-RMN del compuesto **8**.

¹ H-RMN (600 MHz, DMSO-d ₆)							
δ (ppm)	Asignación	Multiplicidad	Constante de acoplamiento J (Hz)	δ (ppm)	Asignación	Multiplicidad	Constante de acoplamiento J (Hz)
7.95	H _d	d	8.0	1.41	H11	m	—
8.00	H _c	d	8.3	0.95 y 1.62	H15	m	—
8.14	H3*	d	6.3	1.15 y 1.71	H16	m	—
1.55 y 1.61	H2	m	—	1.76	H17	m	—
4.07	H3	m	—	1.27	H20	m	—
1.49 y 2.57	H4	m	—	0.91	H21	m	—
1.70	H5	m	—	1.20 y 1.64	H22	d	—
1.30 y 1.43	H1	s	—	2.10 y 2.21	H23	m	—
1.34 y 1.83	H6	dt	6.8	0.58	H19	s	—
3.63	H7	m	—	4.06	H12*	s	—
1.36	H8	d	—	4.06	H7*	s	—
2.16	H9	m	—	0.88	H18	m	—
1.96	H14	m	—	11.93	H24*	s	—
3.78	H12	s	—				

* Los protones con asterisco están unidos a oxígenos de los grupos hidroxilo, del ácido carboxílico y al nitrógeno del grupo amida

Tabla 4.41. Asignación de las señales del espectro ^{13}C -RMN del compuesto **8**.

^{13}C -RMN (600 MHz, DMSO- d_6)					
δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación
153.52	C _E	31.30	C1	27.70	C16
122.76	C _D	34.75	C6	46.55	C17
129.40	C _C	66.89	C7	35.46	C20
138.21	C _B	39.19	C8	17.38	C21
166.41	C _A	26.24	C9	31.30	C22
24.60	C2	41.79	C14	31.30	C23
46.55	C3	46.25	C13	175.60	C24
33.45	C4	71.63	C12	12.75	C19
36.84	C5	29.05	C11	23.15	C18
35.15	C10	23.26	C15		

Tabla 4.42. Correlaciones ^1H - ^1H del compuesto **8** obtenidos a partir del COSY.

Protón analizado		Correlación observada		Protón analizado		Correlación observada	
δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación	δ (ppm)	Asignación
7.95	H _d	8.00	H _c	1.96	H14	0.95	H15
8.00	H _c	8.00	H _c	1.96	H14	1.62	H15
7.95	H _d	7.95	H _d	3.78	H12	1.41	H11
1.62	H2	4.07	H3	3.78	H12	4.06	H12*
1.62	H2	1.30	H1	0.95	H15	1.15	H16
4.07	H3	8.14	H3*	0.95	H15	1.71	H16
4.07	H3	1.49	H4	1.62	H15	1.15	H16
4.07	H3	2.57	H4	1.62	H15	1.71	H16
2.57	H4	1.70	H5	1.15	H16	1.76	H17
1.70	H5	1.34	H6	1.71	H16	1.76	H17
1.70	H5	1.83	H6	1.76	H17	1.27	H20
1.34	H6	3.63	H7	1.27	H20	0.94	H21
1.83	H6	3.63	H7	1.27	H20	1.20	H22
3.63	H7	4.06	H7*	1.27	H20	1.64	H22
3.63	H7	1.36	H8	1.20	H22	2.10	H23
1.36	H8	2.16	H9	1.64	H22	2.10	H23
1.36	H8	1.96	H14	1.20	H22	2.21	H23
2.16	H9	1.41	H11	1.64	H22	2.21	H23

* Los protones con asterisco están unidos a oxígenos de los grupos hidroxilo y al nitrógeno del grupo amida

Tabla 4.43. Correlaciones ^1H - ^{13}C a un enlace de distancia del compuesto **8**.

Correlaciones									
Protón	δ (ppm)		δ (ppm)	Carbono	Protón	δ (ppm)		δ (ppm)	Carbono
H _d	7.95	con	122.76	C _D	H12	3.78	con	71.63	C12
H _c	8.00	con	129.40	C _C	H11	1.41	con	29.05	C11
H2	1.55 y 1.62	con	24.60	C2	H15	0.95 y 1.62	con	23.26	C15
H3	4.07	con	46.55	C3	H16	1.15 y 1.71	con	27.70	C16
H4	1.49 y 2.57	con	33.45	C4	H17	1.76	con	46.55	C17
H5	1.70	con	36.84	C5	H20	1.27	con	35.46	C20
H1	1.30 y 1.43	con	31.30	C1	H21	0.94	con	17.38	C21
H6	1.34 y 1.83	con	34.75	C6	H22	1.20 y 1.64	con	31.30	C22
H7	3.63	con	66.89	C7	H23	2.10 y 2.21	con	31.30	C23
H8	1.36	con	39.19	C8	H19	0.58	con	12.75	C19
H9	2.16	con	26.24	C9	H18	0.88	con	23.15	C18
H14	1.96	con	41.79	C14					

Tabla 4.44. Correlaciones ^1H - ^{13}C a dos o más enlaces de distancia del compuesto **8**.

Correlaciones									
Protón	δ (ppm)		δ (ppm)	Carbono	Protón	δ (ppm)		δ (ppm)	Carbono
H22	1.20 y 1.64	con	175.60	C24	H17	1.76	con	35.46	C20
H23	2.10 y 2.21				H23	2.10 y 2.21			
H _c	8.00	con	166.41	C _A	H18	0.88	con	35.15	C10
H3*	8.14				H1	1.30			
H _d	7.95	con	153.52	C _E	H6	1.34			
H _c	8.00				H4	1.49			
H _d	7.95	con	138.21	C _B	H7*	4.06	con	34.75	C6
H _d	7.95	con	129.40	C _C	H5	1.70	con	33.45	C4
H _c	8.00				H6	1.83			
H _d	7.95	con	122.76	C _D	H3*	8.14	con	31.30	C1
H _c	8.00				H18	0.88			
H19	0.58	con	71.63	C12	H5	1.70	con	31.30	C22
H6	1.34	con	66.89	C7	H9	2.16			
H8	1.36				H21	0.91			
H21	0.91	con	46.55	C17	H20	1.27	con	31.30	C23
H20	1.27				H17	1.76			
H19	0.58				H23	2.10 y 2.21			
H16	1.15 y 1.71				H22	1.20 y 1.64			
H14	1.96	con	46.55	C3	H20	1.27	con	29.05	C11
H4	1.49				H9	2.16			
H3*	8.14	con	46.25	C13	H12*	4.06	con	27.70	C16
H16	1.15 y 1.71				H15	1.62			
H15	1.62				H17	1.76			
H17	1.76				H18	0.88			
H14	1.96				H8	1.36			
H12*	4.06	con	41.79	C14	H11	1.41	con	26.24	C9
H19	0.58				H7	3.63			
H15	0.95 y 1.62	con	46.25	C13	H12	3.78	con	24.60	C2
H8	1.36				H4	1.49			
H15	0.95	con	39.19	C8	H3*	8.14	con	23.26	C15
H6	1.34				H16	1.15			
H11	1.41				H14	1.96			
H14	1.96				H1	1.30			
H9	2.16				H9	2.16			
H7*	4.06	con	36.84	C5	H22	1.20 y 1.64	con	17.38	C21
H18	0.88				H17	1.76			
H6	1.34 y 1.83	con	35.46	C20	H17	1.76	con	12.75	C19
H21	0.91				H14	1.96			
H16	1.15 y 1.71	con	35.46	C20	H12	3.78			
H22	1.20 y 1.64								

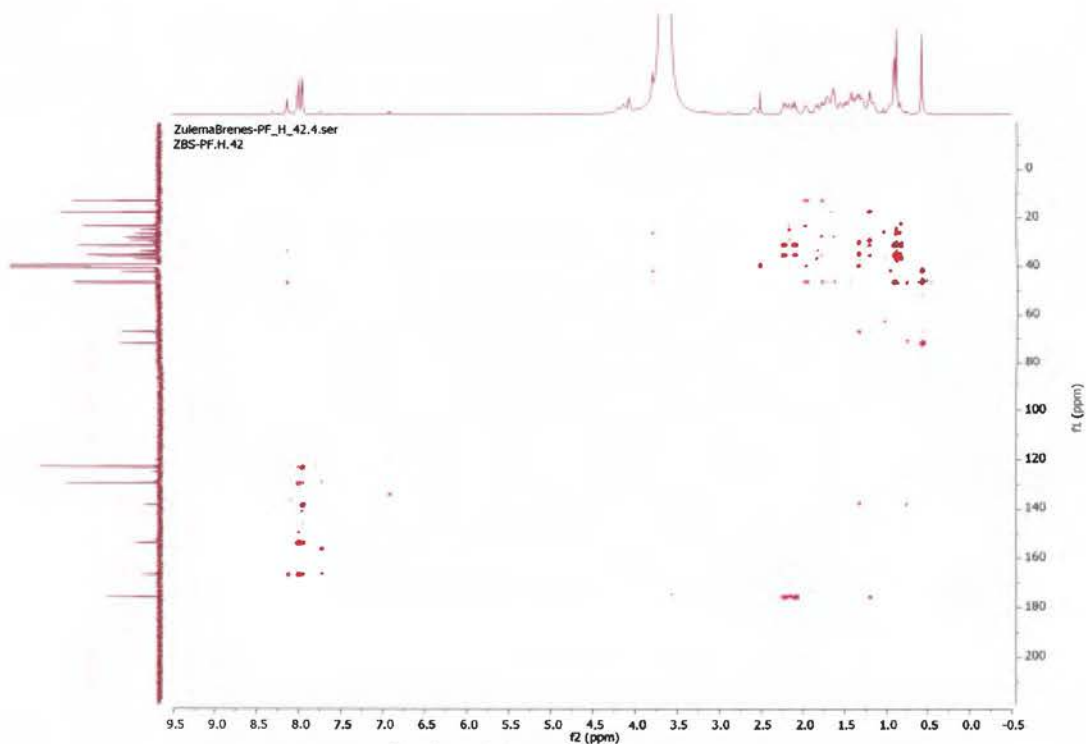


Figura 4.28. Ampliación del espectro HMBC del compuesto **8**.

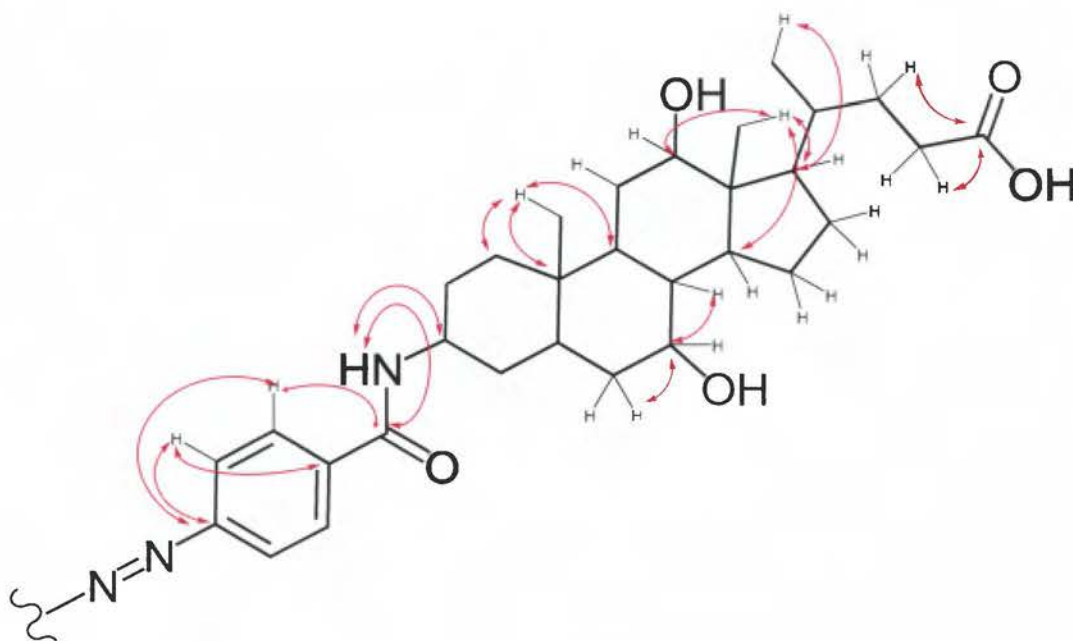


Figura 4.29. Correlaciones importantes a larga distancia entre carbonos y protones del compuesto **8**.

4.2. Análisis por espectroscopia ultravioleta del compuesto **8**.

Se analizó el compuesto **8** sintetizado mediante espectroscopia UV-Visible; para ello se preparó una disolución 1 mM en metanol grado HPLC.

El resultado se observa en la figura d.41; en este gráfico se obtienen tres máximos de absorción en longitudes de onda típicas para los cromóforos presentes en el compuesto. La banda a λ : 332,0 nm se debe a la presencia del grupo azo aromático conjugado y sustituido; esta banda corresponde a la sobreposición de las bandas $n \rightarrow \pi^*$ y $\pi \rightarrow \pi^*$; pues como menciona el profesor Hermann Rau los azo compuestos sustituidos denominados “pseudoestilbenos” tienen este comportamiento (figura 1.16). La apariencia de esta banda y la teoría apoya que el dímero azo sintetizado (compuesto **8**) se encuentra en su isómero trans pues el isómero cis tiene un tiempo de vida media de segundos a picosegundos^{33,79}.

Las bandas a λ : 203,0 nm y a λ : 231,0 nm corresponden a las transiciones de banda $\pi \rightarrow \pi^*$ para los anillos aromáticos presentes. La banda a λ : 203,0 nm corresponde a la banda α (banda primaria) y la banda a λ : 231,0 nm corresponde a la banda ρ , mientras que la banda β (banda secundaria) de los anillos aromáticos está sobrepuesta con la banda del azo compuesto y por ello no se observa, las bandas aparecen a mayores longitudes de onda que en el caso del compuesto benceno por efecto de la resonancia (efecto batocrómico)⁷⁹.

Las absorciones de los cromóforos carbonilo tanto del ácido carboxílico (λ : 217 nm, $n \rightarrow \pi^*$) como de la amida (λ : 216 nm, $n \rightarrow \pi^*$) no se observan pues son apantalladas por las bandas de los anillos aromáticos⁷⁹.

4.3. Análisis por espectrometría de masas del compuesto **8**.

Con el análisis por espectrometría de masas ESI-TOF (ionización por electrospray, con tiempo de vuelo) para el compuesto **8** se corrobora la estructura de este, ya que como muestra el ion molecular de la figura d.42, la masa de este compuesto corresponde a $m/z = 1049,6580$, que concuerda con la estructura propuesta en la figura 4.25 y con la fórmula molecular $C_{62}H_{88}O_{10}N_4$.

También el patrón de fraccionamiento mostrado en la figura d.43, coinciden con la relación masa/carga de los fragmentos esperados debido a la presencia de un grupo azo aromático que funciona como puente en el dímero sintetizado y con la presencia de los

sustituyentes esteroideos según resultados publicados en estudios pasados de derivados de sales biliares ⁹⁹⁻¹⁰⁶.

De acuerdo con el espectro de masas del compuesto **8** de la figura d.43, los fragmentos $m/z = 159,1180$; $m/z = 211,1489$ y $m/z = 247,1700$ corresponden a la pérdida del grupo azo con parte de los anillos aromáticos como se muestra en la figura 4.30. Esta pérdida es congruente con la presencia de un grupo azo aromático en el dímero sintetizado que funciona como puente, y con estudios de patrones de fragmentación mostrados en diversos azo colorantes realizados por los grupos de investigación de Bruins et al., Pardo et al.; y Calbiani et al ¹⁰⁷⁻¹⁰⁹.

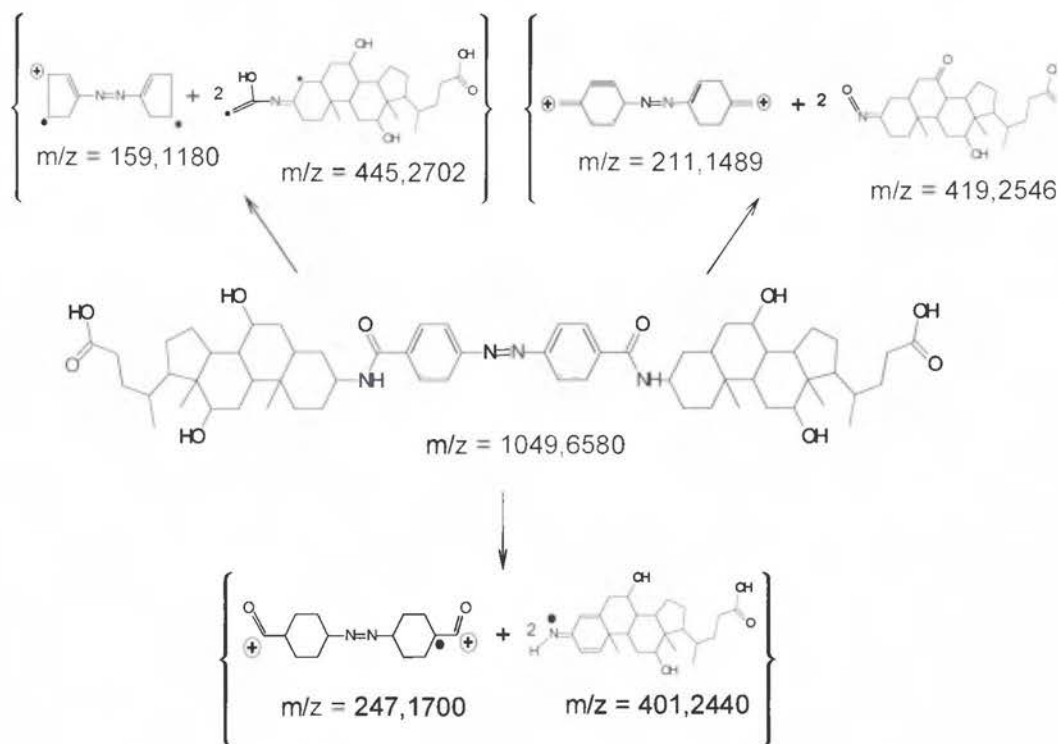


Figura 4.30. Patrones de fraccionamiento para la ruptura del grupo azo en espectrometría de masas para el compuesto **8**.

Los fragmentos $m/z = 319,2411$; $m/z = 337,5278$; y $m/z = 355,2625$ de la figura d.43; muestran un patrón de fraccionamiento donde se libera uno de los sustituyentes esteroideos del compuesto **8** como se muestra en la figura 4.31.

Este núcleo esteroideo además pierde moléculas de agua; lo que concuerda con lo publicado por Avula et al., sobre glicósidos esteroideos, dónde se pierde, del núcleo esteroideo, una molécula de agua y a la vez se gana un protón ¹⁰⁵.

Con las masas de los fragmentos de la figura d.43, y las estructuras de la figura 4.31, se corroboran la presencia de dos sustituyentes esteroideos unidos al grupo azo que funciona como puente en este dímero que constituye el compuesto **8**.

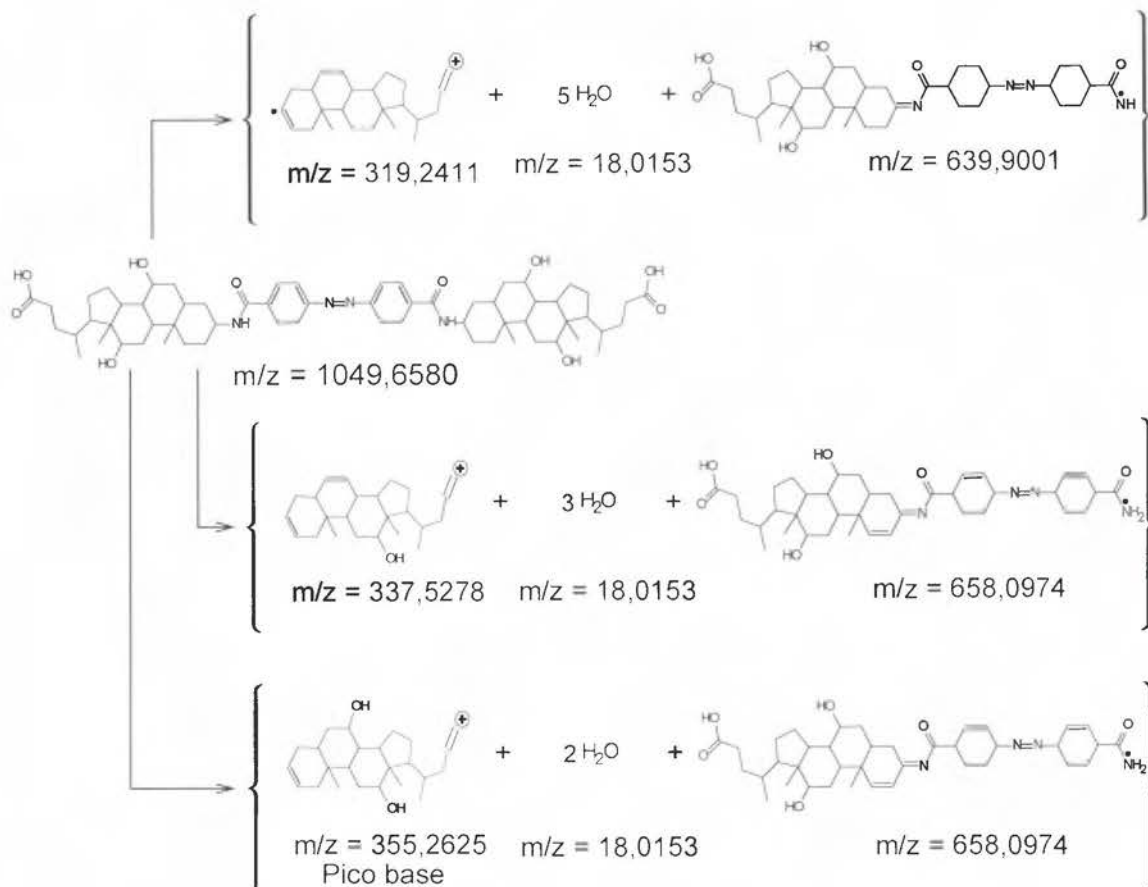


Figura 4.31. Patrones de fraccionamiento para la ruptura de un sustituyente esteroideo en espectrometría de masas para el compuesto **8**.

Siguiendo el patrón de fragmentación del compuesto **8** de la figura d.43, los fragmentos $m/z = 587,3383$; $m/z = 605,3517$ y $m/z = 623,3610$ corresponden al grupo azo unido a uno de los sustituyentes esteroideos y lo que se pierde es el otro sustituyente y moléculas de hidroxilo como se muestra en la figura 4.32.

En el caso particular del fragmento a $m/z = 623,3610$, los anillos aromáticos han sido protonados por lo que aparecen como ciclohexanos. La pérdida de moléculas de hidroxilo de un núcleo esteroideo también concuerda con lo reportado por Avula et al ¹⁰⁵.

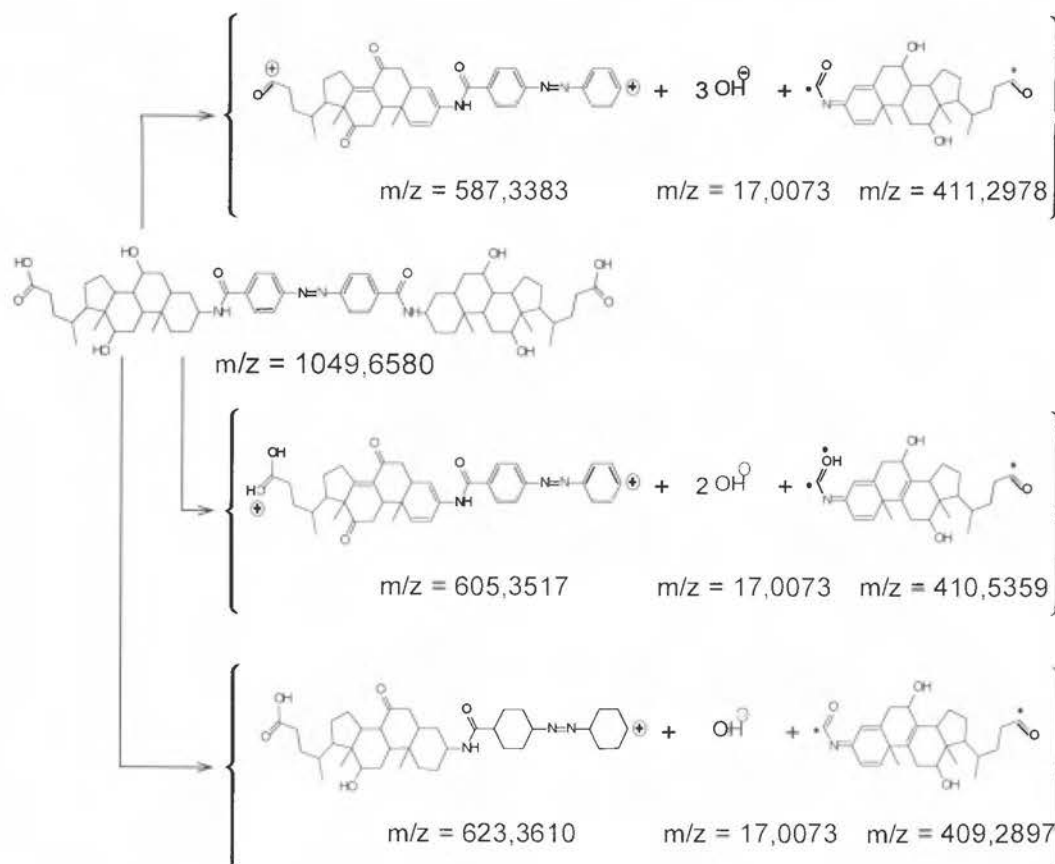


Figura 4.32. Patrones de fraccionamiento para la obtención de un derivado esteroideo junto con el puente azo en espectrometría de masas para el compuesto **8**.

Por último los fragmentos $m/z = 941,6016$; $m/z = 959,6100$; $m/z = 977,6168$; $m/z = 995,6298$; y $m/z = 1013,6380$ de la figura d.43; corresponden al dímero del compuesto **8** que pierde moléculas de agua como se muestra en la figura 4.33. Ésta pérdida de moléculas de agua de ambos sustituyentes esteroideos concuerda con lo publicado por Musharraf et al., en el cual se emplea la técnica ESI-TOF y muestra una deshidratación en el núcleo esteroideo para un derivado de alcaloide ¹⁰⁶.

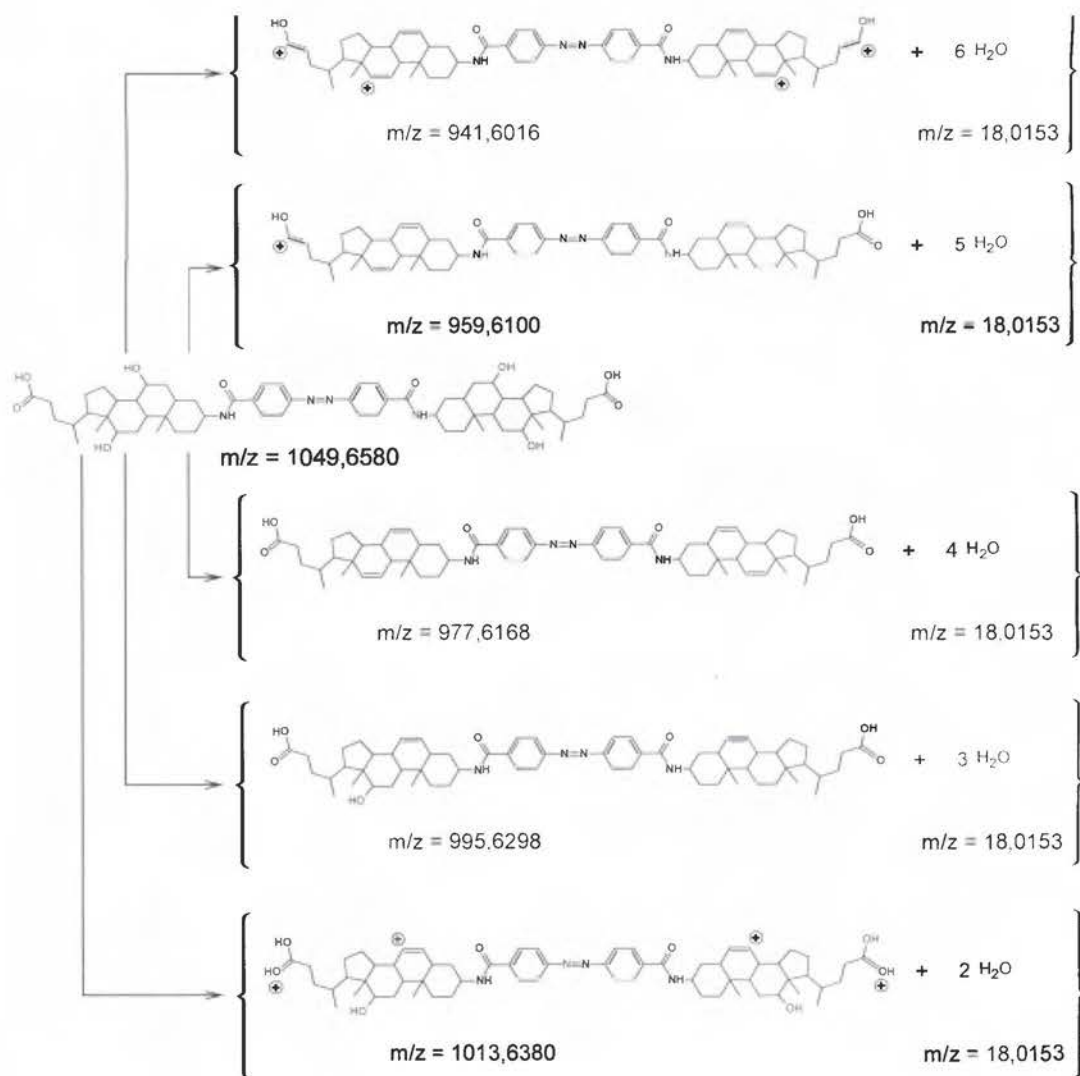
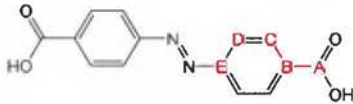
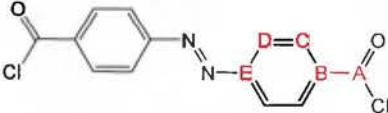
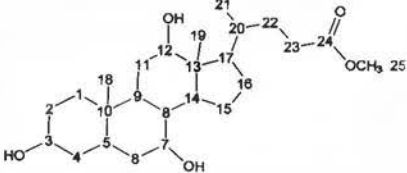
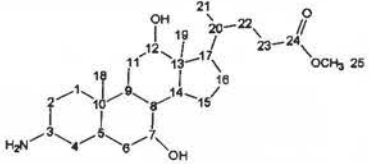
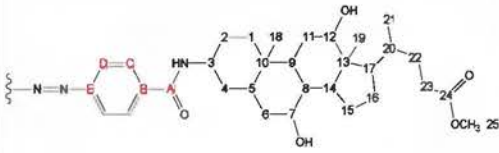
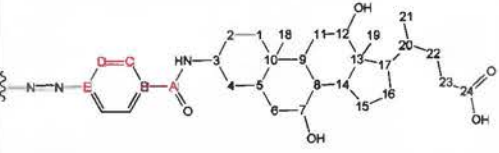


Figura 4.33. Patrones de fraccionamiento para la pérdida de moléculas de agua en espectrometría de masas para el compuesto **8**.

4.4. Rendimientos de la síntesis.

En la tabla 4.49 se muestran los porcentajes de rendimiento obtenidos para las distintas etapas de la síntesis realizada así como los del producto final. Para la obtención del rendimiento total de la reacción se sigue el esquema mostrado en la figura 4.34 para una reacción convergente de varios pasos hasta la obtención del compuesto **7** y la reacción en serie para la obtención del compuesto **8**.

Tabla 4.45. Rendimientos obtenidos en cada etapa de la síntesis del compuesto **8** y rendimiento total del proceso.

Etapa de la síntesis	Porcentaje de rendimiento
Obtención del compuesto 2 (B ₁) 	83%
Obtención del compuesto 3 (C ₁) 	34%
Obtención del compuesto 5 (B ₂) 	97%
Obtención del compuesto 6 (C ₂) 	37%
Obtención del compuesto 7 (D) 	54%
Obtención del compuesto 8 (E) 	65%
Rendimiento total del proceso	11%

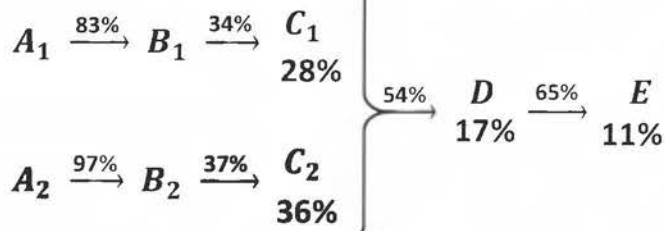
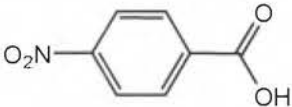
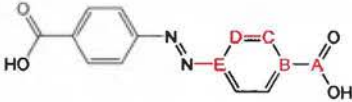
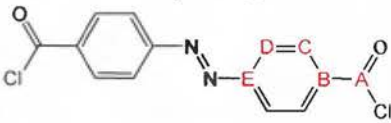
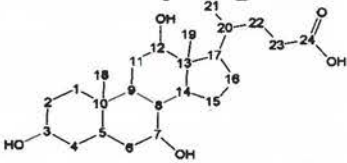
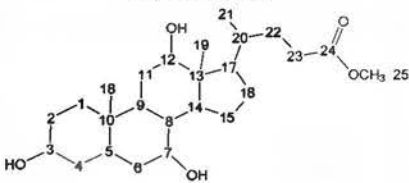
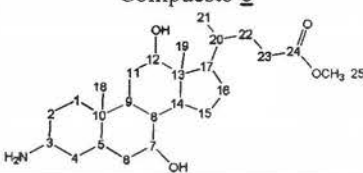


Figura 4.34. Esquema para la obtención del rendimiento total en una reacción convergente de varios pasos y un paso final de una reacción lineal.

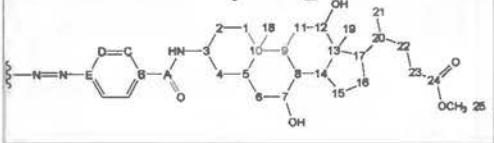
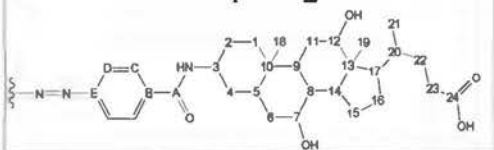
4.5. Puntos de fusión de los compuestos de partida (1 al 7) y del compuesto final (8).

Se determinó el punto de fusión de cada uno de los materiales iniciales, compuestos intermedios y del compuesto final (compuesto 8) utilizando el equipo de Fisher Johns (tabla 4.50). Se presenta los valores teóricos para los compuestos de partida y precursores; no se cuenta con referencias para los valores de puntos de fusión del compuesto final en su forma éster e hidrolizada. Estos datos experimentales, servirán de referencia para futuras investigaciones.

Tabla 4.46. Puntos de fusión teóricos y experimentales de los precursores y el compuesto objetivo (compuesto 8).

Compuestos	Ámbito de fusión	Valores teóricos
<p>Compuesto 1</p> 	238,1 °C - 240,4 °C	237 °C – 240 °C ^{92, 93, 97}
<p>Compuesto 2</p> 	Descompone sin fundir a 298 °C	> 300 °C ^{92, 93, 97}
<p>Compuesto 3</p> 	163,3 °C	163 °C – 164 °C ^{96, 97}
<p>Compuesto 4</p> 	199,2 °C – 200,9 °C	200 °C – 201 °C ⁹⁸
<p>Compuesto 5</p> 	149,0 °C – 154,3 °C	155 °C – 156 °C ⁹⁹
<p>Compuesto 6</p> 	197,0 °C – 199,0 °C	Descompone sin fundir a 225 °C – 230 °C ¹⁰²

Continuación de la tabla 4.46. Puntos de fusión teóricos y experimentales de los precursores y el compuesto objetivo (compuesto **8**).

Compuestos	Ámbito de fusión	Valores teóricos
<p data-bbox="366 253 502 282">Compuesto 7</p> 	<p data-bbox="705 322 1059 351">Descompone sin fundir a 340,0 °C</p>	<p data-bbox="1198 331 1228 351">—</p>
<p data-bbox="366 425 502 453">Compuesto 8</p> 	<p data-bbox="705 486 1059 547">Descompone sin fundir a 313,0 °C — 316 °C</p>	<p data-bbox="1198 494 1228 515">—</p>

4.6. Caracterización fisicoquímica del compuesto **8**.

Como siguiente paso en el análisis de los nuevos derivados, se realizó la búsqueda de las propiedades fisicoquímicas más importantes, como por ejemplo la concentración micelar crítica (cmc).

4.6.1. Medidas de la cmc para el compuesto **8** con la balanza de tensión superficial.

Se emplearon las medidas de tensión superficial con el fin de obtener la concentración de agregación crítica (cac) del compuesto **8**. La tensión superficial del agua (72 mN/m) se ve reducida a 30-40 mN/m cuando la concentración de surfactante alcanza el valor de CAC para la mayoría de surfactantes comunes, en general la CAC para una gran cantidad de surfactantes se denomina CMC o sea concentración micelar crítica, ya que, el primer estado de la agregación de este tipo de compuestos, consiste en la formación de micelas.⁷³⁻⁷⁵

Si se toma una disolución y se van realizando diluciones, se generan disoluciones cada vez más diluidas de un surfactante dado, por tanto, la tensión superficial va aumentando en cada una hasta alcanzar el valor de la tensión superficial del agua. Dicho incremento no se produce de forma lineal, sino que puede sufrir cambios, estos dependen de los diferentes agregados generados y destruidos al variar la concentración de surfactante (transiciones de monómero a micelas, de micelas a vesículas, tubos, entre otros)⁷³⁻⁷⁵.

Para realizar este estudio se necesita una gran cantidad de disoluciones, por lo que habría que gastar mucha muestra. Por este motivo, se optó por seguir el método de dilución-extracción⁷⁶. Con dicho método se ahorra tiempo y producto, este procedimiento consiste en tres pasos principales, primero se prepara una disolución del derivado a analizar relativamente concentrada a la cual se le determina la tensión superficial, en el segundo paso se agrega un volumen exactamente medido de disolvente a esta disolución, en el tercer paso se extrae el mismo volumen que se agregó en el paso anterior, y se determina la tensión superficial de esta segunda disolución. Para obtener los otros puntos de la gráfica se repiten los pasos segundo y tercero sucesivamente. Con esto se consigue mantener un volumen inicial fijo con microcambios en la concentración, después de cada adición-extracción se realizan las mediciones en la balanza de tensión.

El volumen que se debe agregar y extraer en cada paso antes de realizar la medición, se determina mediante una serie de cálculos que tienen por objetivo final que se dé una dilución por paso del 10-20%⁷⁶.

De las figuras 4.35 a la figura 4.38 se pueden observar los resultados que se obtuvieron una vez procesados los valores de tensión superficial del compuesto **8**, las medidas se obtuvieron después de tres ensayos por duplicado.

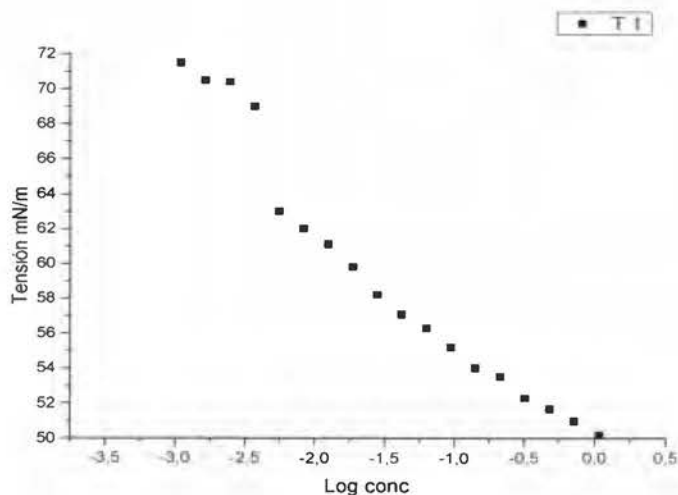


Figura 4.35. Gráfico del log de la concentración contra la tensión superficial del compuesto **8** en el cálculo de la cmc (Réplica 1).

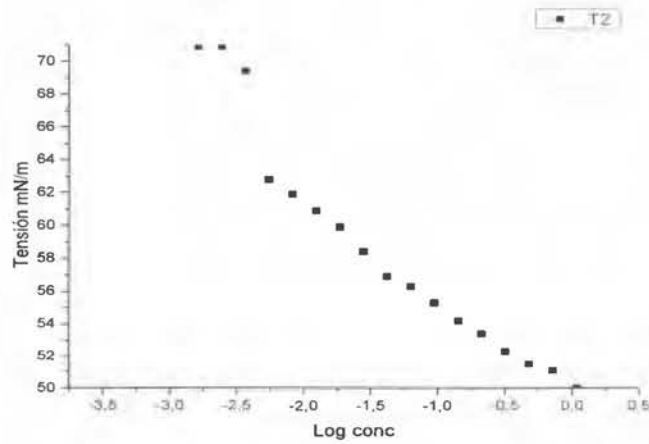


Figura 4.36. Gráfico del log de la concentración contra la tensión superficial del compuesto 8 en el cálculo de la cmc (Réplica 2).

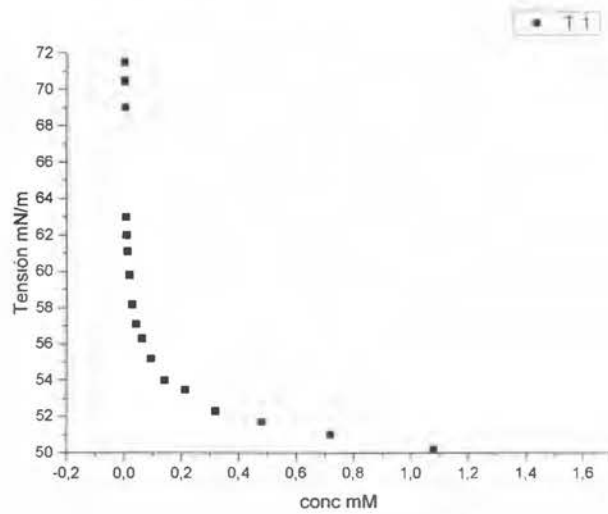


Figura 4.37. Gráfico de la concentración contra la tensión superficial del compuesto 8 en el cálculo de la cmc (Réplica 1).

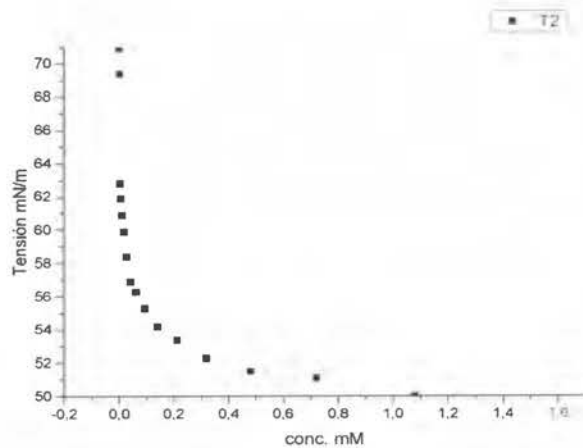


Figura 4.38. Gráfico de la concentración contra la tensión superficial del compuesto 8 en el cálculo de la cmc (Réplica 2).

Los gráficos 4.35 al 4.38 muestran que el compuesto **8**, apenas disminuye la tensión superficial del agua, pues los datos muestran que las disoluciones más concentradas bajan la tensión superficial del agua a 50 mN/m. Se considera como primera conclusión de estos análisis, que el compuesto **8** es muy mal surfactante, se debe de mencionar además, que la solubilidad de esta sustancia, no es adecuada para trabajar con ella como surfactante ya que, las disoluciones más concentradas de 1,08 mM, son turbias. Un buen surfactante normalmente disminuye la tensión superficial del agua entre 20 y 40 mN/m, así por ejemplo el dodecil sulfato disminuye la tensión superficial a 25 mN/m con una cmc aproximada de 8,2 mM y el número de agregación es considerado alrededor de 50 siendo la fracción de ionización de micelas (α) de alrededor 0,30 (o 30%) ¹¹⁹.

Las gráficas tensión superficial vs logaritmo de la concentración, (Figuras 4.35 y 4.36) no muestran de forma clara que el compuesto **8** posea una CAC.

Como se aprecia en la ilustración de la Figura 4.39, cuando un compuesto posee CMC, se pueden apreciar de forma clara la región de alta dilución del surfactante (a: Figura 4.39), la región de formación de una monocapa del surfactante en la superficie del agua y monómeros diluidos (b: Figura 4.39) y la región en la cual se encuentran las micelas (c: Figura 4.39).

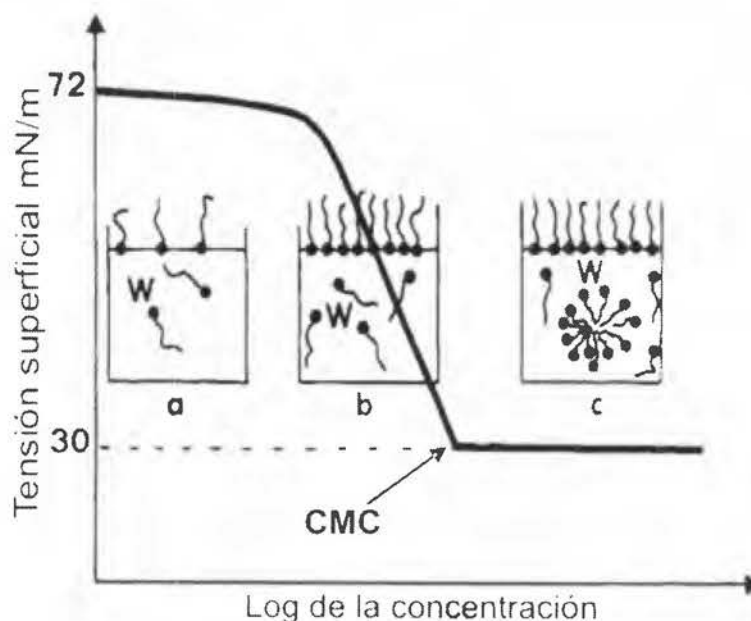


Figura 4.39 Gráfica de tensión superficial vs logaritmo de la concentración para un surfactante típico que posee CMC ¹²⁰.

Como se aprecia en las Figuras 4.35 y 4:36, la tensión superficial sube de forma gradual sin mostrar la zona identificada como c en la ilustración de la Figura 4.39. No se aprecia para este compuesto, aun realizando varias repeticiones de las medidas de tensión superficial, una inflexión en los puntos de las rectas que sugieran un cambio de fase o sea de agregación en este caso. El corte que se aprecia a un valor de 65 mN/m, podría sugerir que el compuesto sufre un cambio menor de fase o genera algún tipo de agregado en la superficie de la disolución. No se dedicó más esfuerzo para resolver las dudas generadas ya que como se dijo, el nuevo compuesto es muy mal surfactante, tiene una solubilidad muy limitada y un cambio de fase a 65 mN/m no es de interés puesto que este valor es muy cercano a la tensión superficial del agua. Se concluye por tanto que este compuesto no tiene CAC y que su uso como surfactante no tendría sentido alguno. Debido a esto no se realizaron los ensayos tendientes a establecer las condiciones de isomerización del azo compuesto, pues el objetivo de realizar la isomerización era determinar el cambio en el comportamiento del compuesto **8** como surfactante. Se debe de mencionar que aunque no se reportan en este trabajo, fueron obtenidas algunas imágenes de TEM, en las que solo se podían ver estructuras cristalinas como las del cloruro de sodio.

Capítulo 5:
Conclusiones y recomendaciones

En este último capítulo se exponen las conclusiones de los resultados obtenidos en la investigación así como las recomendaciones para personas investigadoras en el campo

Conclusiones y recomendaciones

1. La obtención del compuesto **2** requiere de control de la temperatura, la reacción debe mantenerse en todo momento a 70 °C para mejorar el porcentaje de rendimiento.
2. El compuesto **3** es sensible a la humedad del ambiente, una vez obtenido debe ponerse a reaccionar de inmediato o ser conservado en una estufa al vacío a una temperatura no mayor de 40 °C.
3. El compuesto **3** recristalizado dos veces en tolueno mostró mayor pureza en el FT-IR que aquel recristalizado una sola vez; aunque repetir la recristalización mejora la pureza afecta bastante el porcentaje de rendimiento de dicho compuesto.
4. Para mejorar el porcentaje de rendimiento en la reacción de generación de la amina (compuesto **6**) en la posición 3 β , se debe realizar una cabeza con sílica gel con una columna con barrido de polaridad.
5. La obtención del compuesto **3** y del compuesto **6** son los pasos que limitan el porcentaje de rendimiento de la reacción total. Pues como se observa los porcentajes de rendimiento de estos compuestos son de 34% y 37% respectivamente.
6. El rendimiento total de la reacción es de 11%, el cual es un rendimiento bajo considerando las cantidades de las cuáles se parte desde el principio del proceso.
7. No se logra determinar el punto de fusión del compuesto **8** pues se descompone antes de fundir quedando como un compuesto de color negro.
8. Mediante análisis de los espectros FT-IR, se determinan los grupos funcionales y sus transformaciones a lo largo de toda la secuencia de reacción.
9. Mediante la espectroscopia de RMN de ^1H y ^{13}C en una dimensión; y COSY, HSQC y HMBC de dos dimensiones, se pueden identificar los productos intermediarios y el producto final. Especialmente con los espectros bidimensionales se pudo establecer la conectividad entre carbonos e hidrógenos y así elucidar las estructuras de todos los compuestos intermediarios y el compuesto **8**.
10. El análisis por espectroscopia UV-Vis corrobora la presencia del grupo azo trans en el compuesto **8** a una λ : 332,0 nm que corresponde a la transición de banda $n \rightarrow \pi^*$.
11. Los iones moleculares, así como los fragmentos más significativos analizados del compuesto **8**, corrobora la estructura propuesta para este compuesto final.

12. El análisis por tensión superficial usando el método de Wilhelmy, muestra que el compuesto 8 no funciona como un buen surfactante ya que disminuye la tensión superficial del agua a un valor mínimo de 50mN/m. Las medidas en esta técnica fueron afectadas por la baja solubilidad que muestra el compuesto 8 en agua al ser voluminoso y bastante rígido, es decir, no se agrega en el medio acuoso.

REFERENCIAS

1. Uribe, G. M.; López, J. L. R. La nanociencia y la nanotecnología: una revolución en curso. *Revista Perfiles Latinoamericanos*, **2007**, *14*(29), 161-186.
2. Mejias, S. Y.; et al. La nanotecnología y sus posibilidades de aplicación en el campo científico-tecnológico. *Revista Cubana de Salud Pública*, **2009**, *35*(3), 01-09.
3. Morales-Luckie, R. A; Guadarrama-Reyes, S. C. Nanotecnología, el gran mundo de lo realmente pequeño (donde el tamaño sí importa) Nanotechnology, the big word of the really small (where the size does matter). *Consejo Editorial*, 6.
4. Gamio-Aranda, J; Tutor-Sánchez, J. D. Enseñar nanotecnología a través de nuestros antepasados. *MOMENTO-Revista de Física*, (50), 56-67.
5. Chiari, G.; Giustetto, R.; Carson, D. Azul Maya: una maravillosa nanotecnología precolombina. *Boletín de Monumentos Históricos*, **2008**, (12), 39-48.
6. Velázquez, A. M. Una revolución en miniatura: nanotecnología al servicio de la humanidad. *Universitat de València*, **2011**, pp. 24-26.
7. “*magnetospirillum magneticum*” (n.d). En Google. Consultado el 30 de julio del 2016, de:
<https://centroterapiasmagneticas.com/2015/11/29/la-magnetorreccion/>
8. “*nanotecnología*” (n.d). En Google. Consultado el 30 de julio del 2016, de:
<http://inl.int/inl-outreach-3>
9. Villegas Jiménez, C. Transferencia electrónica fotoinducida en díadas y tríadas electroactivas derivadas de mono y dímeros de fullerenos, **2013**.
10. Forrest, S.R.; Thompson, M. E. Introduction: organic electronics and optoelectronics. *Chemical Reviews*, **2007**, *107*(4), 923-925.
doi: 10.1021/cr0501590
11. Ortí, E. Introducción a la Electrónica Molecular. En Dr. Moliner (Presidencia). Seminario para la UIMP “Nanotecnología y Nanociencia”. Congreso llevado a cabo en Valencia, España, **2003**.
12. Chamorro, P.P; Martín, G.J; Martín, R.P.; Navas, G.L.M. Fundamentos de la tecnología OLED, **2008**, pp 1-100. **ISBN:** 978-84-936644-0-4

13. Fabuel, R.D. Sistemas electrónicos para la caracterización de la conductividad y electroluminiscencia de materiales inorgánicos y poliméricos. Modelado de dispositivos OLED's precomerciales. **2010**. Tesis Doctoral.
14. "fotografias que muestran OLEDs sustrato flexible" (n.d). En Google. Consultado el 31 de octubre del 2016, de: <http://www.androidsis.com/xiaomi-huawei-emplearian-oleds-flexibes-proximos-smartphones/>
15. "fotografias que muestran OLEDs pantalla a color de samsung" (n.d). En Google. Consultado el 31 de octubre del 2016, de:
<http://www.lavoz.com.ar/tecnologia/samsung-lanzo-super-tv-con-pantalla-de-110-pulgadas-ultra-hd-de-us-150-mil>
16. "ejemplos de PLED's" (n.d). En Google. Consultado el 05 de noviembre del 2016, de: <http://www.xataka.com/televisores/lg-pm9700-el-primer-televisor-pled>
17. "ejemplos de PLED's" (n.d). En Google. Consultado el 05 de noviembre del 2016, de: <http://www.blogdelg.es/televisor-pled-resumen-lg-led-plasma/>
18. Barbosa, O.; Maldonado, J. L.; Ramos, G; Rodríguez, M.; Pérez, E.; et al. Celdas solares orgánicas como fuente de energía sustentable. *Acta Universitaria*, **2012**, 22(5), 36-48.
19. Gutiérrez, E. P.; Rivera, J. L. M. Fuente alterna de energía renovable: Celdas solares orgánicas. *Entreciencias: diálogos en la Sociedad del Conocimiento*, **2013**, 1(1), 19-29.
20. "celdas fotovoltaicas orgánicas" (n.d). En Google. Consultado el 06 de noviembre del 2016, de: <http://ccea.mx/energia-solar/nuevo-record-mundial-en-celdas-fotovoltaicas-organicas/>
21. "celdas solares orgánicas" (n.d). En Google. Consultado el 06 de noviembre del 2016, de:
<http://www.scoop.it/t/el-autoconsumo-es-el-futuro-energetico/?tag=celdas>
22. "celdas solares sensibilizadas" (n.d). En Google. Consultado el 25 de noviembre del 2016, de:
<http://www.cubasolar.cu/biblioteca/Ecosolar/Ecosolar16/HTML/articulo01.htm>
23. Formentín V.R. Estudio de las características electrónicas de dispositivos fotovoltaicos moleculares: células Grätzel. **2014**. Tesis Doctoral

24. Ko, K. H.; Lee, Y. C.; Jung, Y. J. Enhanced efficiency of dye-sensitized TiO₂ solar cells (DSSC) by doping of metal ions. *Journal of colloid and interface science*. **2005**, *283*(2), 482-487.
doi: 10.1016/j.jcis.2004.09.009
25. Kalaignan, G. P.; Kang, M. S. Effects of compositions on properties of PEO–KI–I₂ salts polymer electrolytes for DSSC. *Solid State Ionics*. **2006**, *177*(11), 1091-1097.
doi:10.1016/j.ssi.2006.03.013
26. Wachter, P.; Zistler, M.; Schreiner, C.; et al. Characterisation of DSSC-electrolytes based on 1-ethyl-3-methylimidazolium dicyanamide: Measurement of triiodide diffusion coefficient, viscosity, and photovoltaic performance. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. **2008**, *197*(1), 25-33.
doi:10.1016/j.jphotochem.2007.12.001
27. Asano, T.; Kubo, T.; Nishikitani, Y. Electrochemical properties of dye-sensitized solar cells fabricated with PVDF-type polymeric solid electrolytes. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. **2004**, *164*(1), 111-115.
doi:10.1016/j.jphotochem.2003.12.021
28. Palomares, E.; Clifford, J. N.; Haque, S. A.; Lutz, T.; Durrant, J. R. Slow charge recombination in dye-sensitised solar cells (DSSC) using Al₂O₃ coated nanoporous TiO₂ films. *Chemical Communications*. **2002**, (14), 1464-1465.
doi: 10.1039/B202515A
29. Günes, S.; Neugebauer, H.; Sariciftci, N. S. Conjugated polymer-based organic solar cells. *Chemical reviews*. **2007**, *107*(4), 1324-1338.
doi: 10.1021/cr050149z
30. Garnica, I.; Pérez, S. A.; Gochi-Ponce, Y.; Paraguay-Delgado, F. Caracterización de películas delgadas de SnO₂ obtenidas sobre vidrio por aspersion pirolítica intermitente para celdas solares tipo Grätzel. *Superficies y vacío*. **2013**, *26*(2), 36-41.
31. Patni, N.; Patni, M. Diazotization and coupling reactions of differently substituted aromatic amines and investigation of their solvatochromic behaviour. *Der Chemica Sinica*. **2016**, *7*(2), 93-100.

32. Que, W.; Hu, X.; Xia, X. L.; Zhao, L. Photo-responsive properties of azobenzene small molecules in sol-gel hybrid TiO₂/ormosil organic-inorganic matrices. *Optics express*. **2007**, *15*(2), 480-485.
doi: [org/10.1364/OE.15.000480](https://doi.org/10.1364/OE.15.000480)
33. Rivera, E.; et al. Los azopolímeros: materiales inteligentes con respuesta a la luz. *Bol. Soc. Quím. Méx.* **2008**, *2*(1), 24-34.
34. Vidal, F. J. G.; Moreno, L. M. Plasmones superficiales. *Investigación y Ciencia*. **2008**, 67.
35. Wu, S.; Wang, J.; Song, P.; Xia, L. New Insight into the Synthesis of Aromatic Azo Compounds Assisted by Surface Plasmon Resonance. *Plasmonics*. **2016**, 1-10.
doi: [10.1007/s11468-016-0305-3](https://doi.org/10.1007/s11468-016-0305-3)
36. Orofino, A.; Zucchi, I.; Galante, M. J.; Oyanguren, P. Materiales poliméricos fotosensibles micro y nano-estructurados para almacenamiento óptico.
37. Ghosh, S.; Banthia, A. K.; Chen, Z. Synthesis and photoresponsive study of azobenzene centered polyamidoamine dendrimers. *Tetrahedron*. **2005**, *61*(11), 2889-2896.
dx.doi.org/10.1016/j.tet.2005.01.052
38. Alkskas, I. A.; El-gnidi, B. A.; Ghalieo, K. M.; Azam, F. Synthesis and characterization of polyesters based on diethylketone moiety. *Chinese Journal of Polymer Science*. **2014**, *32*(11), 1450-1459.
doi: [10.1007/s10118-014-1531-9](https://doi.org/10.1007/s10118-014-1531-9).
39. Thayumanaswamy, S. M.; Rajendran, V. Film studies of certain new aromatic-aliphatic polyamides. *Journal of applied polymer science*. **2004**, *93*(3), 1305-1316.
doi: [10.1002/app.20477](https://doi.org/10.1002/app.20477)
40. Cebada, T. T. Nanoquímica y nanotecnología: Nuevos materiales, polímeros y máquinas moleculares. Fundación General de la Universidad Autónoma de Madrid, **2002**. pp. 16-21.
41. Araki, K. Estrategia supramolecular para a nanotecnologia. *Química Nova*. **2007**, *30*(6), 1484-1490.
42. Fernández, G.; García, F.; Aparicio, F.; Sánchez, L. Moléculas anfífilicas orgánicas: auto-ensamblajes con morfología y dimensionalidad moduladas. *In Anales de la Real*

- Sociedad Española de Química*. Real Sociedad Española de Química, **2009**, *105*(2), 89-94.
- 43.** Duncan, R. Polymer conjugates as anticancer nanomedicines. *Nature Reviews Cancer*, **2006**, *6*(9), 688-701.
doi:10.1038/nrc1958
- 44.** Li, C.; Lewis, M.R.; et al. Antimicrobial Activities of Amine- and Guanidine-Functionalized Cholic Acid Derivatives. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. **1999**, *43*(6), 1347-1349.
- 45.** Dembitsky, V. M.; Glorizova, T. A.; Poroikov, V. V. Pharmacological and Predicted Activities of Natural Azo Compounds. *Natural Products and Bioprospecting*. **2017**, 1-19.
doi: 10.1007/s13659-016-0117-3
- 46.** Mahmoud, W. H.; Omar, M. M.; Sayed, F. N. Synthesis, spectral characterization, thermal, anticancer and antimicrobial studies of bidentate azo dye metal complexes. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. **2016**, *124*(2), 1071-1089.
doi: 10.1007/s10973-015-5172-1
- 47.** Mohammed, M. N. (2012). Preparation, Characterization and Biological Activity Studies of New Azo Compounds. *Journal of Chemistry and Chemical Engineering*. **2012**, *6*(10), 885-888.
- 48.** Keerthi Kumar, C. T.; Keshavayya, J.; Rajesh, T. N.; Peethambar, S. K., & Shoukat Ali, A. R. Synthesis, characterization, and biological activity of heterocyclic azo dyes derived from 2-aminobenzothiozole. *Int. J. Pharm Sci*, **2013**, *5*(1), 296-301.
- 49.** Tato, J. V. Química Supramolecular. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. **2005**, *6*(1), 44-80.
- 50.** Meijide, F.; Antelo, A.; Álvarez, M.; Soto V. H.; Trillo, J. V.; Jover, A.; Vázquez Tato, J. Spontaneous Formation in the Solid State of Carbamate Derivatives of Bile Acids. *Crystal Growth & Design*. **2010**, *11*(1), 356-361.
doi: 10.1021/cg101424a
- 51.** Salunke, D. B.; Hazra, B. G.; Pore, V. S.; Bhat, M. K.; Nahar, P. B.; Deshpande, M. V. New steroidal dimers with antifungal and antiproliferative activity. *Journal of medicinal chemistry*. **2004**, *47*(6), 1591-1594.

- doi:** 10.1021/jm030376y
52. di Gregorio, M. C.; Vázquez Tato, J.; et al. Catanionic gels based on cholic acid derivatives. *Langmuir*. **2013**, 29(40), 12342-12351.
dx.doi.org/10.1021/la402602d
53. Schmidt, E. J.; Boswell, J. S.; et al. Activities of cholic acid-derived antimicrobial agents against multidrug-resistant bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **2001**, 47(5), 671-674.
doi.org/10.1093/jac/47.5.671
54. Itoh, M.; Wada, K.; et al. Antibacterial action of bile acids against *Helicobacter pylori* and changes in its ultrastructural morphology: effect of unconjugated dihydroxy bile acid. *Journal of Gastroenterology*. **1999**, 34(5), 571-576.
doi: 10.1007/s005350050374
55. Lim, J.; Kwon, Y.S.; Park, T. Effect of coadsorbent properties on the photovoltaic performance of dye-sensitized solar cells. *Chemical Communications*. **2011**, 47, 4147-4149.
doi: 10.1039/C0CC04999A
56. Yum, J.; Jang, S.; Humphry-Baker, R.; Grätzel, M.; Cid, J.; Torres, T.; Nazeeruddin, K.M. Effect of coadsorbent on the Photovoltaic Performance of Zinc Pthalocyanine-Sensitized Solar Cells. *Langmuir*. **2008**, 24, 5636-5640.
doi: 10.1021/la800087q
57. “*Celdas Solares en Costa Rica*” (n.d). En Google. Consultado el 30 de noviembre del 2016, de: <http://www.celeq.ucr.ac.cr/investigacion/grupos-de-trabajo/25-nanofem>
58. AbouEl-Enein, S. A.; Emam, S. M.; Polis, M. W.; Emara, E. M. Synthesis and characterization of some metal complexes derived from azo compound of 4, 4'-methylenedianiline and antipyrine: Evaluation of their biological activity on some land snail species. *Journal of Molecular Structure*. **2015**, 1099, 567-578.
dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2015.06.072
59. Hrozhyk, U. A.; Serak, S. V.; et al. Azobenzene liquid crystalline materials for efficient optical switching with pulsed and/or continuous wave laser beams. *Optics express*. **2010**, 18(8), 8697-8704.
doi.org/10.1364/OE.18.008697

60. Paterson, D. A.; Xiang, J.; et al. Reversible isothermal twist–bend nematic–nematic phase transition driven by the photoisomerization of an azobenzene-based nonsymmetric liquid crystal dimer. *Journal of the American Chemical Society*. **2016**, *138*(16), 5283-5289.
doi: 10.1021/jacs.5b13331
61. Rakotondradany, F.; Whitehead, M. A.; Lehuis, A. M.; Sleiman, H. F. Photoresponsive Supramolecular Systems: Self-Assembly of Azodibenzoic Acid Linear Tapes and Cyclic Tetramers. *Chemistry-A European Journal*. **2003**, *9*(19), 4771-4780.
doi: 10.1002/chem.200304864
62. Berart, S. D. *Estudio dieléctrico de cristales líquidos con geometrías especiales: dímeros y "bananas"* (Doctoral dissertation, PhD thesis, University of the Basque Country, Bilbao, 2003 Search PubMed).
63. Tomatsu, I.; Hashidzume, A.; Harada, A. Photoresponsive hydrogel system using molecular recognition of α -cyclodextrin. *Macromolecules*. **2005**, *38*(12), 5223-5227.
doi: 10.1021/ma050670v.
64. Eissa, H. H. Synthesis and characterization of new azo-schiff bases and study biological activity. *Journal of current research in science*. **2013**, *1*(2), 96.
65. Harisha, S.; Keshavayya, Jathi; Patil, Sameer R.; Maliyappa, M. R. Synthesis, Characterization and Antibacterial activity of new disperse Azo dyes derived from 2-amino 6-methoxy Benzothiazole. *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research*. **2015**, *5*(3), 82-100.
66. Allinger, N.; Jhonson, C.; Lebel, N. Química Orgánica. Editorial Reverté S.A. 2da Edición. España. 1986. pp. 809-811 y 817-819.
67. Wade, L.G. Química Orgánica. Editorial Pearson Education. 5ta Edición. Madrid, España. **2004**. pp. 925-928, 957, 968.
68. Olsen, E.D. Métodos ópticos de análisis. Editorial Reverté S.A. 2da Edición. España. **2010**. pp. 178-186.
69. Anelli, P.; Lattuada, L.; Uggeri, F. One-Pot Mitsunobu-Staudinger Preparation of 3-Aminocholan-24-oic Acid Esters from 3-Hydroxycholan-24-oic Acid Esters. *Synthetic Communications*. **1998**, *28*, 109-117.

70. Fletcher, S. The Mitsunobu reaction in the 21st century. *Organic Chemistry Frontiers*, **2015**, 2, 739-752.
71. Palop, J. Tutorial para la interpretación de espectros de resonancia magnética nuclear. Consultado el 03 de enero del 2017, de: http://www.unav.es/ocw/avanzada_q/TUTOR_RMN.pdf.
72. Field, L.; Sternhell, S. Kalman, J. Organic Structures from Spectra. 4ta ed. *John Wiley and Sons, LTD: Inglaterra*. **2008**. pp. 53-56.
73. Gallardo, B.; Metcalfe, K. and Abbott, N. *Langmuir* **1996**, 12, 4116-4124
74. Nave, S.; Eastoe, J.; Penfold, J. *Langmuir*. **2000**, 16, 8733.
75. Volonte, M; Marano, C y Reinoso, M. Determinación de la Concentración Micelar Crítica (CMC) de Sales Biliares por el Método de Tensión Superficial. *Acta Farm. Bonaerense*.**1989**, 8 (1), 31-5.
76. Jover, A.; Meijide, F.; Mosquera, V. and Vázquez, J. J. *Chem. Educ.* **1990**, 67, 530.
77. Cross, A.D. An Introduction to Practical Infrared Spectroscopy. Butterworth Scientific Publications. 3ra Edición. London. **1960**. pp. 1-86.
doi: 10.1002/ange.19610731225
78. Hof, M. Handbook of Spectroscopy. Edt. G.Gaulitz y T. Vo-Dinh., Wiley-VGH, Weinheim. **2003**. pp. 39-47.
79. Pavia, D.; Lampman, G.; Kriz, G. y Vyvyan, J. Introduction to Spectroscopy. 4ta ed. Brooks/Cole Cengage Learning: USA. 2009. pp. 1-441.
80. Calderón, L. Síntesis de nuevos surfactantes derivados de adamantano y su aplicación en superficies. Tesis sometida a la consideración de la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Química para optar por el grado y título de Maestría Académica en Química. Universidad de Costa Rica. 2015.
81. Otárola, J. Síntesis y caracterización de nuevos surfactantes electroactivos. Tesis sometida a la consideración de la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Química para optar por el grado y título de Maestría Académica en Química. Universidad de Costa Rica. 2015.
82. “Química orgánica” (n.d). En Google. Consultado el 08 de marzo del 2017, de: <http://www.quimicaorganica.org/resonancia-magnetica-nuclear/800-rmn-tabla-de-desplazamientos-quimicos.html>

83. Gavin, A. Espectroscopia 2D de correlación heteronuclear. Instituto Bio-Orgánica IUBO. Universidad La Laguna, Tenerife. En Google. Consultado el 08 de marzo del 2017, de: http://www.germn.org/documentacion/doc_download/14-espectroscopia-2d-de-correlacion-heteronuclear-francisco-j-blanco.
84. Corral, A. Fundamentos y funciones de la espectrometría de masas. Universidad de Valencia. 2006. En Google. Consultao el 08 de marzo del 1027, de: <http://mural.uv.es/calooan/>.
85. Watson, J. Sparkman, O. Introduction to Mass Spectrometry. *John Wiley & Sons, Ltd.* 4ta Edition. Inglaterra. pp. 53-161, 485-570.
86. "Nanotechnology solutions" (2003). En Google. Consultado el 08 de marzo del 2017, de: <http://nanotechnologysolutions.wordpress.com/category/electrospray>.
87. Hansen, F. K. A Program System for Interfacial Tension and Contact Angle Measurements by Image Analysis. University of Oslo. 2008.
88. Salager, J. y Anton, R. Métodos de Medición de la Tensión Superficial o Interfacial. Universidad de los Andes, Mérida, 2005.
89. Measuring principles of KRÜSS tensiometers. (n.d.). En Google. Consultado el 20 de julio del 2017, de: <http://www.kruss.info/>.
90. Chisholm, M.H.; D'Acchioli, J.S.; Hadad, C.M.; Patmore, N.J. Concerning the Electronic Coupling of MoMo Quadruple Bonds Linked by 4,4'-Azodibenzoate and Comparison with t2g6-Ru(II) Centers by 4,4'-Azodiphenylcyanamido Ligands. *Inorg. Chem.* 2006, 45 (26), 11035-11042.
doi: 10.1021/ic060956w.
91. Mukherjee, P. S.; Das, N.; Kryschenko, Y. K.; Arif, A. M.; Stang, P.J. *J. Am. Chem. Soc.* 2004, 126, 2464-2473.
92. Reid, E.B.; Pritchett, E.G. p,p'-Azoxy- and p,p'-Azo-dibenzoic Acids. *J. Org. Chem.* 1953, 18(6), 715-719.
doi: 10.1021/jo01134a017.
93. Leriche, G.; Budin, G.; Brino, L.; Wagner, A. Optimization of the Azobenzene Scaffold for Reductive Cleavage by Dithionite; Development of an Azobenzene Cleavable Linker for Proteomic Applications. *European Journal of Organic Chemistry.* 2010, 23, 4360-4364.

doi: 10.1002/ejoc.201000546

94. Kijima, M.; Se, K.; Fujimoto, T. Photochemical isomerization of p,p'-bis(chloromethyl)azobenzene incorporated in poly(tertiary aminostyrene)s by cross linkage. *Polymer*. **1992**, 33(11), 2402-2407.
doi:10.1016/0032-3861(92)90534-4
95. Al-Muaikel, N.S.; El-Emary, T. Synthesis and characterization of new polyhydrazides base don 2,5-bis(mercapto-acetichydrazide)-1,3,4-thiadiazole moiety. *European Polymer Journal*. **2003**, 39(2), 211-218.
doi:10.1016/S0014-3057(02)00201-X.
96. Al-Ghamdi, R.F.; Fahmi, M.M; Mohamed, N.A. Thermal stability and degradation behavior of novel cholly aromatic azopolyamide-hydrazides. *Polymer Degradation and Stability*. **2006**, 91(7), 1530-1544.
doi:10.1016/j.polymdegradstab.2005.10.001.
97. He, L.; Wang, G.; Tang, Q.; Fu, X.; Gong, C. Synthesis and characterization of novel electrochromic and photoresponsive materials based on azobenzene-4,40-dicarboxylic acid dialkyl ester. *J. of Mat. Chem. C*. **2014**, 2, 8162-8169.
doi: 10.1039/c4tc01205d
98. Coufalóva, L.; Mrozek, L.; Raróva, L.; et al. New propanoyloxy derivatives of 5 β -cholan-24-oic acid as drug adsorption modifiers. *Steroids*. **2013**, 78, 435-453.
99. Gouin, S.; Zhu, X. Synthesis of 3 α - and 3 β -dimers from selected bile acids. *Steroids*. **1996**, 61, 664-669.
100. Hu, X.; Zhang, Z.; Zhang, X.; Li, Z.; Zhu, X.X. Selective acylation of cholic acid derivatives with multiple methacrylate groups. *Steroids*. **2005**, 70, 531-537.
101. Swamy, K. K.; Kumar, N. B.; Balaraman, E.; Kumar, K. P. Mitsunobu and related reactions: advances and applications. *Chemical reviews*. **2009**, 109(6), 2551-2651.
doi: 10.1021/cr800278z.
102. Vázquez Tato, J.; Soto, V. H.; Trillo, J.; Mejjide, F.; Álvarez, M.; Antelo, A.; Carrazana, J.; Jover, A. Nuevos aminoderivados de ácidos biliares funcionalizados en la posición 3 del anillo A. Procedimientos para su obtención y aplicaciones. Patente de España 2296463, Marzo 16, **2008**.
103. Marvel, C.S. *Org. Syn.*, Coll. **1955**, 3, 495.

104. Vázquez Tato, J.; Soto Tellini, V. H.; Trillo Novo, J. V.; Alvarez Alcalde, M.; Antelo Queijo, A.; Carrazana García, J.; Jover Ramos, A.; Meijide del Río, F. Spain P200501843, July 13, 2005.
105. Avula, B; Wang, Y.; PAwar, R.; Shukla, Y.; Smillie, T.; Khan, I. Identification and structural characterization of steroidal glycosides in *Hoodia gordonii* by ion-trap tandem mass spectrometry and liquid chromatography coupled with electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass spectrom.* 2008; 22: 2587-2596.
doi: 10.1002/rcm.3651
106. Musharraf, S.; Goher, M.; Shahnaz, S; Choudhary, M.; Rahman, A. Structure-fragmentation relationship and rapid dereplication of *Buxus* steroidal alkaloids by electrospray ionization-quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass spectrom.* 2013; 27: 169-178.
doi: 10.1002/rcm.6441
107. Bruins, A.P.; Weidolf, L.O.G.; Henion, J.D. Determination of sulfonated azo dyes by liquid chromatography/atmospheric pressure ionization mass spectrometry. *Anal. Chem.* 1987; 59 (22): 2647-2652.
108. Pardo, O.; Yusà, V.; León, N.; Pastor, A. Development of a method for the analysis of seven banned azo-dyes in chilli and hot chilli food samples by pressurised liquid extraction and liquid chromatography with electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *Talanta.* 2009; 78 (1): 178-186.
doi: 10.1016/j.talanta.2008.10.052
109. Calbiani, F.; Careri, M.; Elviri, L.; Mangia, A.; Zagnoni, I. Accurate mass measurements for the confirmation of Sudan azo-dyes in hot chilli products by capillary liquid chromatography–electrospray tandem quadrupole orthogonal-acceleration time of flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A.* 2004, 1058 (1-2): 127-135
doi:10.1016/j.chroma.2004.08.159
110. Worsfold, P. Overview of Spectrophotometry. Módulo de Referencia en Química, Ciencias Molecular e Ingeniería Química. *Enciclopedia de Ciencia Analítica.* 2^{da} ed. 2005. pp. 318-321

111. Kaech, A. An Introduction to Electron Microscopy, Instrumentation, Imaging and Preparation. Center for Microscopy and Image Analysis. *University of Zurich, Alemania*. 2013. pp. 2-7.
112. March, J. Advanced organic chemistry: reactions, mechanisms and structure. 4th ed. John Wiley & sons: New York. 1992. pp. 638, 1155, 1217, 1218, 1255, 1256.
113. Alfaro, A. Síntesis y caracterización fisicoquímica de amidas derivadas de ácidos biliares modificados. Tesis para optar por el grado y título de Maestría Académica en Química. Universidad de Costa Rica, 2013.
114. Kumara, K.; Bhuvan, N.; Balaraman, E.; Pavan, K. Mitsunobu and Related Reactions: Advanced and Applications. *Chem. Rev.* 2009, 109, 2551-2651.
115. Camp, D.; Itzstein, M.; Jenkins, I. The mechanisms of the first step of the Mitsunobu reaction. *Tetrahedron*. 2015, 71, 4946-4948.
116. Staudinger, H.; Meyer, J. *Helv. Chim. Acta*. 1919, 2, 635-646.
117. Kim, H. J.; Yim, S.; Lee, I. A Cholesterol Biosynthesis Inhibitor from *Rhizopus oryzae*. *Arch. Pharm. Res.* 2004, 27(6), 624-627
118. Dias, J.R.; Gao, H.; Kolehmainen, E. ¹³C nuclear magnetic resonance data of bile acid derivatives. Elsevier. 2000, 56^a(1), 53-7.
119. Mysels, K.J. Surface Tension of Solutions of Pure Sodium Dodecyl Sulfate. *Langmuir*. 1986, 2, 423-428.
120. Raiger, L.J.; López, N. Los biosurfactantes y la industria petrolera. *Revista Química Viva*. 2009, 3(8), 146-161.
121. Ryu, E.; Ellern, A.; Zhao, Y. High guest inclusion in 3 β -amino-7,12 α -dihydroxycholan-24-oic acid enable by charge-assisted hydrogen bonds. *Tetrahedron*. 2006, 62, 6808-6813.
- doi: 10.1016/j.tet.2006.04.094

Anexos

ANEXO A

A. TÉCNICAS DE ANÁLISIS

A continuación se describe brevemente las técnicas que se utilizaron para realizar las mediciones y caracterización del nuevo compuesto sintetizado. No se profundiza en los detalles, ya que todas ellas son de amplio uso y algunas veces hasta rutinario.

A.1. Espectroscopia infrarroja

EL equipo de FT-IR se basa en la absorción de radiación electromagnética, de la región comprendida entre 2.5 y 50 μm o lo que es lo mismo entre 4000 y 200 cm^{-1} (espectroscopia infrarroja o IR). Dicha absorción no es lo suficientemente energética como para provocar transiciones electrónicas, pero si se puede conseguir vibraciones de los enlaces del compuesto de interés. La energía que se necesita para provocar una transición vibracional dada depende de los tipos de átomos involucrados y del tipo de enlace que los mantiene unidos por lo que con esta información se puede detectar grupos funcionales específicos dentro de una molécula dada. En el detector del aparato se aumenta la resistencia debido al calentamiento que produce la radiación incidente, por lo que la resistencia del detector depende de la intensidad de la radiación ⁷⁷.

Es un método rápido, sensible y fácil de manejar. Genera información tanto cualitativa como cuantitativa de diferentes tipos de muestras, como gases, sólidos o líquidos. Generalmente se realizan los análisis en el infrarrojo cercano-medio que comprende de los 750 nm y los 2500 nm (13300 cm^{-1} a 400 cm^{-1}) ^{77,78}.

Cuando una sustancia es introducida en el haz radiante del equipo, se observa que ciertas longitudes se encuentran asociadas con diferencias estructurales de las moléculas absorbentes. Dicha interacción origina en las moléculas transiciones energéticas vibracionales. Para que este proceso se dé, las moléculas o parte de ella, debe presentar un momento dipolar ^{78,79}.

Cuando una molécula está absorbiendo en el infrarrojo puede presentar varios modos vibracionales, como de tensión (estiramiento) o de flexión (balanceo), como se muestra en la figura a.1, las cuales ocurren a diferentes frecuencias. Los enlaces más fuertes generalmente son más rígidos, requiriéndose más energía para alargarlos o comprimirlos. Como consecuencia, los enlaces más fuertes vibran más deprisa que los enlaces más

débiles, esto origina que las vibraciones se den a frecuencias mayores. En general la frecuencia aumenta al aumentar la energía del enlace ^{78,79}.

Se puede utilizar la ley de Hooke, para establecer el efecto que generan las masas atómicas sobre la frecuencia de oscilación (ecuación A1.) ^{78,79}.

$$\bar{\nu} = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{K}{\mu}} \quad (\text{Ecuación A1.})$$

Donde μ es la masa reducida de los dos átomos que forman el enlace, K es una constante de fuerza y c es la velocidad.

Al analizar ecuación A1, se indica que entre mayor las diferencias de masas entre los átomos, menor será la frecuencia de oscilación.



Figura a.1. Modos vibracionales de los enlaces moleculares durante el análisis por infrarrojo ^{80,81}.

Existen varios factores que afectan la frecuencia de oscilación de un enlace, como los que se pueden citar:

- Energía de enlace. (Entre mayor la energía mayor la frecuencia).
- Masa de los átomos. (Entre mayor la diferencia de masa entre los átomos, menor la frecuencia).

- Tipo de vibración de enlace. (Los movimientos de tensión presentan mayores frecuencias que los de flexión. Y las tensiones asimétricas presentan mayores frecuencias que las tensiones simétricas).

- La hibridación. (Entre mayor la hibridación de un átomo más fuerte es el enlace, por lo que mayor será la frecuencia).

- Resonancia. (Afecta la longitud y fuerza de enlace, por lo que a mayor conjugación menor frecuencia de oscilación)⁷⁹.

A.2. Espectroscopia de Resonancia magnética nuclear (RMN)

La espectroscopia de RMN fue desarrollada a finales de los años cuarenta para estudiar los núcleos atómicos. En 1951, los químicos descubrieron que la espectroscopia de resonancia magnética nuclear podía ser utilizada para determinar las estructuras de los compuestos orgánicos. Esta técnica espectroscópica puede utilizarse sólo para estudiar núcleos atómicos con un número impar de protones o neutrones (o de ambos). Esta situación se da en los átomos de ^1H , ^{13}C , ^{19}F y ^{31}P . Este tipo de núcleos son magnéticamente activos, es decir poseen espín, igual que los electrones, ya que los núcleos poseen carga positiva y poseen un movimiento de rotación sobre un eje que hace que se comporten como si fueran pequeños imanes⁷⁹⁻⁸¹.

En ausencia de campo magnético, los espines nucleares se orientan al azar. Sin embargo cuando una muestra se coloca en un campo magnético, tal y como se muestra en la siguiente figura, los núcleos con espín positivo se orientan en la misma dirección del campo, en un estado de mínima energía denominado estado de espín α , mientras que los núcleos con espín negativo se orientan en dirección opuesta a la del campo magnético, en un estado de mayor energía denominado estado de espín β ⁷⁹⁻⁸¹.

Existen más núcleos en el estado de espín α que en el β pero aunque la diferencia de población no es enorme sí que es suficiente para establecer las bases de la espectroscopia de RMN. La diferencia de energía entre los dos estados de espín α y β , depende de la fuerza del campo magnético aplicado B_0 . Cuanto mayor sea el campo magnético, mayor diferencia energética habrá entre los dos estados de espín⁷⁹⁻⁸¹.

Cuando una muestra que contiene un compuesto orgánico es irradiada brevemente por un pulso intenso de radiación, los núcleos en el estado de espín α son promovidos al estado de espín β . Esta radiación se encuentra en la región de las radiofrecuencias (rf) del espectro electromagnético por eso se le denomina radiación rf. Cuando los núcleos vuelven a su estado inicial emiten señales cuya frecuencia depende de la diferencia de energía (ΔE) entre los estados de espín α y β . El espectrómetro de RMN detecta estas señales y las registra como una gráfica de frecuencias frente a intensidad, que es el llamado espectro de RMN. El término resonancia magnética nuclear procede del hecho de que los núcleos están en resonancia con la radiofrecuencia o la radiación rf. Es decir, los núcleos pasan de un estado de espín a otro como respuesta a la radiación rf a la que son sometidos. La siguiente ecuación muestra la dependencia entre la frecuencia de la señal y la fuerza del campo magnético H_0 (medida en Teslas, T) ⁷⁹⁻⁸¹.

$$\Delta E = h \nu = h \frac{\gamma}{2\pi} H_0 \quad \text{donde } \gamma = \text{radio giromagnético} \quad \text{(Ecuación A2.)}$$

El valor del radio giromagnético depende del tipo de núcleo que se está irradiando; en el caso del ^1H es de $2.675 \times 10^8 \text{ T}^{-1}\text{s}^{-1}$. Si espectrómetro de RMN posee un imán potente, éste debe trabajar a una mayor frecuencia puesto que el campo magnético es proporcional a dicha frecuencia. Así por ejemplo, un campo magnético de 14.092 T requiere una frecuencia de trabajo de 600 MHz. Hoy en día los espectrómetros de RMN trabajan a 200,300, 400, 500 y 600 MHz ⁷⁹⁻⁸¹.

En la figura a.2 se muestra de forma esquemática los principales componentes de un equipo para medidas de resonancia magnética nuclear. Es equipo de RMN consta de cuatro partes:

1. Un imán estable, con un controlador que produce un campo magnético preciso.
2. Un transmisor de radiofrecuencias, capaz de emitir frecuencias precisas.
3. Un detector para medir la absorción de energía de radiofrecuencia de la muestra.
4. Un ordenador y un registrador para realizar las gráficas de los espectros ⁷⁹⁻⁸¹.

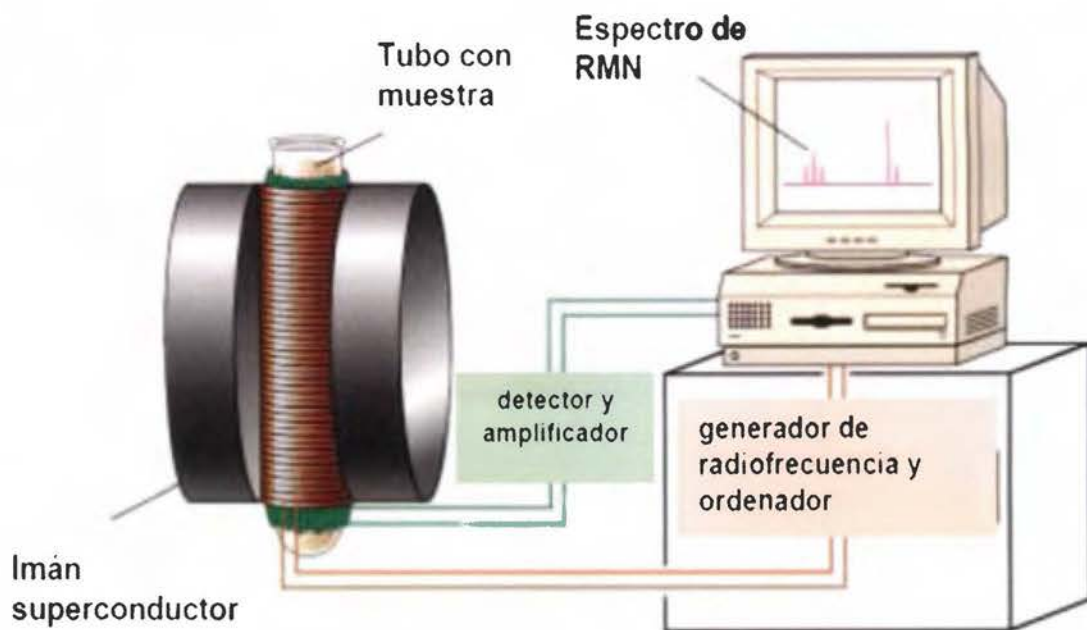


Figura a.2. Representación esquemática del equipo de resonancia magnética nuclear ⁷⁹⁻⁸¹.

Para obtener un es espectro de RMN, se coloca una pequeña cantidad del compuesto orgánico puro de interés disuelto en medio mililitro de un disolvente deuterado (esto para que el disolvente no afecte el espectro) en un tubo de vidrio largo específico para el equipo. Dicho tubo se sitúa dentro del campo magnético constante del aparato ⁷⁹⁻⁸¹.

El tubo con la muestra se hace girar alrededor de su eje vertical, así la muestra absorbe la radiación rf, con lo que se excitan todos los núcleos de forma simultánea, entrando en resonancia (cambian de estado de espín). A medida que dichos núcleos vuelven a su estado inicial emiten una radiación de frecuencia igual a la diferencia de energía entre estados de espín. La intensidad de esta frecuencia disminuye con el tiempo a medida que todos los núcleos vuelven a su estado inicial ⁷⁹⁻⁸¹.

Un ordenador recoge la intensidad respecto al tiempo y convierte dichos datos en intensidad respecto a frecuencia, esto es lo que se conoce como transformada de Fourier (FT-RMN). Un espectro FT-RMN puede registrarse en 2 segundos utilizando menos de 5 mg de muestra ⁷⁹⁻⁸¹.

A.2.1. Espectroscopia de una dimensión.

Los núcleos ^1H y ^{13}C pueden concebirse como pequeños imanes que expuestos a un campo magnético, se alinean a favor o en contra del mismo. Los dos estados que se general poseen distinta energía y ello es lo que permite obtener la medida de espectroscopia de resonancia magnética nuclear. Cuando se produce resonancia, la energía de la radiofrecuencia es absorbida por los núcleos que experimentan transiciones del estado α al estado β . Los núcleos en el estado β se relajan hasta el estado α cediendo una pequeña cantidad de calor. La frecuencia de resonancia es característica del núcleo y de su entorno, y es proporcional a la intensidad del campo magnético externo ⁷⁹⁻⁸¹.

Los núcleos, como pueden ser los protones o los carbonos que forman las moléculas orgánicas, no se encuentran aislados sino que están rodeados de electrones, esta nube electrónica que existe alrededor de cada núcleo actúa como una corriente eléctrica en movimiento que, como respuesta al campo magnético externo, genera una pequeña corriente inducida que se opone a dicho campo. El resultado de este hecho es que los electrones generan un pequeño campo magnético propio que se opone al campo magnético externo al que se ven sometidos, por tanto, el campo magnético que realmente llega al núcleo es más débil que el campo magnético externo aplicado, y se dice que el núcleo está protegido o apantallado. Este apantallamiento es muy importante desde el punto de vista experimental ya que el campo magnético efectivo (H_{ef}) que siente un protón dentro de una molécula es siempre menor que el campo externo, y por lo tanto, para que el núcleo entre en resonancia dicho campo externo debe ser mayor ⁷⁹⁻⁸¹.

Si todos los protones (^1H) de una molécula orgánica estuvieran apantallados de igual forma, todos entrarían en resonancia con la misma combinación de frecuencia y campo magnético. Sin embargo, los protones se hallan dentro de entornos electrónicos diferentes y, por tanto, se encuentran diferentemente protegidos o apantallados.

Por lo general, los efectos de protección o apantallamiento de las nubes electrónicas que rodean a cada protón son diferentes, lo que provoca diferentes frecuencias de emisión. El resultado es un espectro de diversas frecuencias donde cada conjunto de núcleos específicos da origen a una señal única de RMN. Así pues, un espectro de RMN es una gráfica de la intensidad de señal en función de la frecuencia de la energía electromagnética que liberan los diversos núcleos de una muestra.

Las variaciones en las frecuencias de absorción de resonancia magnética nuclear, que tienen lugar debido al distinto apantallamiento de los núcleos, reciben el nombre de desplazamientos químicos (unidades δ ó ppm).

Por ejemplo los protones afectados por grupos extractores de densidad electrónica resuenan a campo más bajo (mayor δ) porque se encuentran desprotegidos y sienten el campo magnético aplicado; que aquellos protones en ambientes ricos en electrones que se encuentran protegidos como los metilos en hidrocarburos y por tanto aparecen a campo más alto (menor δ)⁷⁹⁻⁸¹.

En la práctica es difícil medir el campo magnético al que un protón absorbe con suficiente exactitud para distinguir protones individuales ya que las absorciones sólo varían en unas pocas milésimas. Un método más exacto para expresar desplazamientos químicos es determinar el valor respecto a un compuesto de referencia que se añade a la muestra. La diferencia en la intensidad del campo magnético necesario para la resonancia de los protones de la muestra y de los protones de referencia se puede medir con mucha exactitud⁷⁹⁻⁸¹.

El compuesto de referencia más común en resonancia magnética nuclear es el tetrametilsilano (TMS ó $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$). Como el silicio es menos electronegativo que el carbono, los grupos metilo del TMS son relativamente ricos en electrones, es decir, sus protones están fuertemente apantallados. Como consecuencia de este apantallamiento, estos protones absorben a una intensidad de campo mayor que el resto de protones enlazados al carbono o a otros elementos, de manera que casi todas las señales de resonancia magnética nuclear aparecen a campos más bajos (hacia la izquierda de la señal del TMS). Además todos los protones del TMS absorben con el mismo desplazamiento químico dando una única absorción intensa. La escala más común de desplazamiento químico es la escala δ (delta) en la que la absorción del tetrametilsilano (TMS) se define como 0.00 ppm. La mayor parte de los protones absorben a campos menores que el TMS, de modo que la escala δ aumenta hacia campos menores. La mayoría de las señales de protones (^1H) varían entre 0 y 12 ppm, mientras que las señales del ^{13}C varía del 0 a 250 ppm⁷⁹⁻⁸¹.

En la figura a.3 se presentan los valores aproximados de desplazamientos químicos para distintas clases de protones⁸².

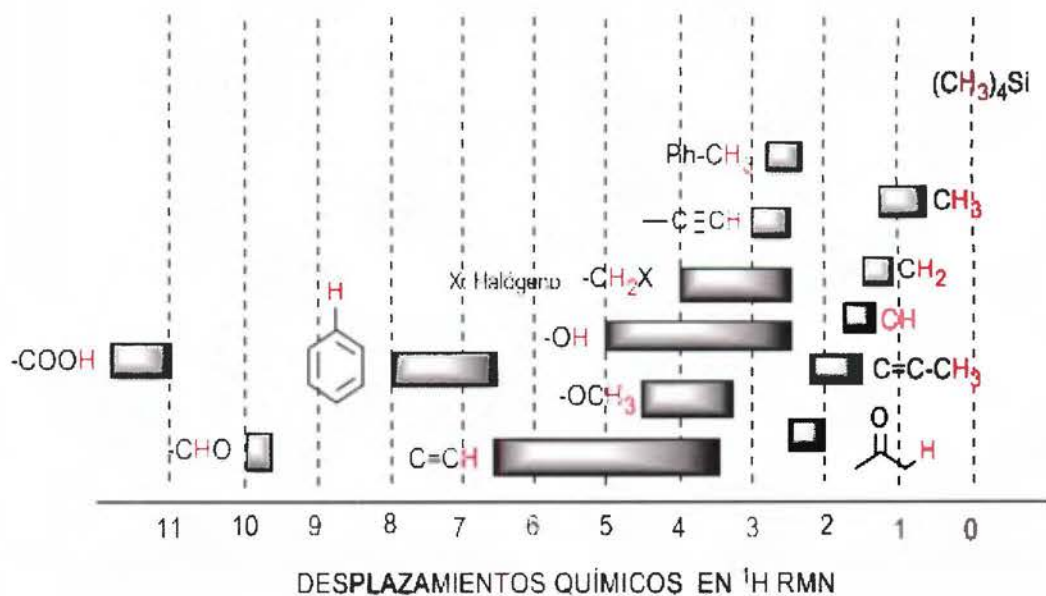


Figura a.3. Valores aproximados de desplazamientos químicos en ^1H -RMN ⁸².

El número de señales en un espectro de ^{13}C -RMN indica cuántas tipos o clases distintas de carbono tiene un compuesto. El principio de esta técnica es en esencial igual al de ^1H -RMN, aunque existen algunas diferencias que facilitan la interpretación de los espectros ^{13}C -RMN ⁷⁹⁻⁸¹.


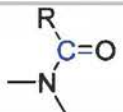
En ^{13}C -RMN se requieren técnicas de transformada de Fourier porque las señales obtenidas con una sola adquisición son demasiado débiles para distinguirse del ruido electrónico de fondo. Pese a ello, las adquisiciones en la ^{13}C -FT-RMN se pueden repetir con rapidez de tal forma que se puede registrar y sumar una gran cantidad de adquisiciones. Cuando se combinan gran cantidad de adquisiciones, las señales del ^{13}C se destacan porque el ruido electrónico es aleatorio y su suma es cercana a cero ⁷⁹⁻⁸¹.

Las señales individual de ^{13}C -RMN son débiles porque el isótopo ^{13}C del carbono solo forma un 1.11% del carbono natural; se debe recordar que el isótopo más abundante del carbono es el ^{12}C , pero este no tiene espín nuclear y por ello no puede producir señales en RMN. La poca abundancia del ^{13}C equivale a que la intensidad de las señales en ^{13}C -RMN sean más débiles que las que hay en ^1H -RMN por un factor aproximado de 100 ⁷⁹⁻⁸¹.

Una ventaja de la espectroscopia de ^{13}C -RMN es que los desplazamiento químicos de los átomos de carbono se extienden sobre unas 220 ppm, en comparación con unas 12 ppm para los protones, por ello es menos probable que se traslapen señales ⁷⁹⁻⁸¹.

En la tabla A.1 se muestran los valores aproximados de desplazamientos químicos en ^{13}C -RMN ⁷⁹⁻⁸¹.

Tabla A.1. Valores aproximados de desplazamientos químicos en ^{13}C -RMN ⁷⁹⁻⁸¹.

Tipo carbono	Desplazamiento químico aproximado (ppm)	Tipo carbono	Desplazamiento químico aproximado (ppm)
$(\text{CH}_3)_4\text{Si}$	0	$=\text{C}$	100 - 150
$\text{R}-\text{CH}_3$	8 - 35		110 - 170
$\begin{array}{c} \text{R} \\ \\ \text{R}-\text{CH}_2 \end{array}$	15 - 50	$\text{N}-\text{C}$	40 - 60
$\begin{array}{c} \text{R} \\ \\ \text{R}-\text{CH} \\ \\ \text{R} \end{array}$	20 - 60	$\text{O}-\text{C}$	50 - 80
$\begin{array}{c} \text{R} \\ \\ \text{R}-\text{C}-\text{R} \\ \\ \text{R} \end{array}$	30 - 40		165 - 175

Una desventaja de la ^{13}C -RMN es que, el área bajo una señal no es proporcional al número de carbonos que la producen; el número de carbonos que produce una señal en ^{13}C -RMN, no se puede determinar por integración ⁷⁹⁻⁸¹.

A.2.2. Espectroscopia de dos dimensiones.

Con el experimento de RMN de una dimensión (^1H y ^{13}C), se pueden identificar los diferentes protones y carbonos presentes en una molécula, lo cual permite iniciar su elucidación. Pero con solo la información de estos dos experimentos, no se puede realizar una elucidación completa, por lo que es necesario el uso de experimentos bidimensionales, los cuales dan información de correlaciones entre átomos ⁷⁹⁻⁸¹.

La figura a.4, muestra el esquema general de un experimento bidimensional, preparar el análisis. Se debe aplicar un pulso, se da un tiempo de evolución, se aplica nuevamente un pulso para mezclar y se realiza la detección ⁸³.

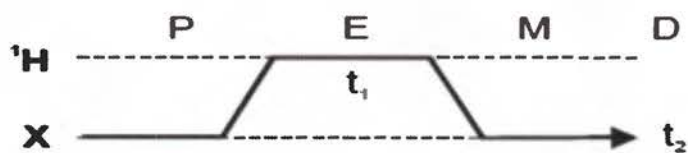


Figura a.4. Esquema general para la obtención de espectros 2D de correlación heteronuclear. (P= preparación, E=evolución, M= mezcla y D= detección ⁸³).

Los espectros RMN bidimensionales presentan señales como una función de dos dimensiones de frecuencia. Y la adquisición de un espectro bidimensional simple envuelve el uso de dos pulsos de radiofrecuencia, separados por un período de tiempo intermedio, t_1 ⁸³.

El primer pulso de Rf excita los núcleos en la muestra, durante el tiempo t_1 , interaccionan entre sí a través del acoplamiento espín-espín, interacciones dipolares o a través de otro mecanismo. Después de que el segundo pulso es aplicado el FID es adquirido de igual forma que en la técnica de una dimensión. El valor de t_1 es incrementado sistemáticamente varias veces (generalmente 512 o 1024) y se adquieren varios FID para cada valor de t_1 . Varios experimentos 2D-RMN utilizan más de 2 pulsos ⁸³.

De forma general existen cuatro períodos importantes en la secuencia de pulsos usada para adquirir un espectro 2D. El primero es la secuencia de preparación, que excita los núcleos en la muestra, los cuales interaccionan en el período de evolución t_1 . Posteriormente la secuencia de mezclado produce la magnetización que es observada durante el período de detección t_2 . El valor de t_1 se cambia ligeramente y el proceso es repetido para adquirir un nuevo FID. La secuencia de preparación y la secuencia de mezclado pueden consistir de varios pulsos de Rf separados por intervalos de tiempo fijos. Hay una gran variedad de experimentos 2D-RMN diferentes debido a la secuencias de preparación y de mezcla utilizadas Los cuales se discutirán a continuación ⁸³.

COSY (Correlation Spectroscopy): En esta técnica se registra la correlación directa de núcleos de la misma especie, en este caso entre dos protones acoplados ya sea con una relación geminal o vecinal. La secuencia general de pulsos para el COSY se puede observar en la figura a.5., aquí los tiempos de evolución t_1 y de detección t_2 tiene una duración variable ⁸³.

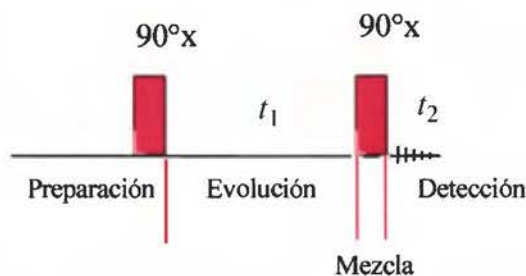


Figura a.5. Secuencia de pulsos para el COSY ⁸³.

HSQC (Heteronuclear single Quantum Correlation): esta es una técnica de detección inversa, la cual correlaciona heteronuclearmente a un enlace. El esquema de secuencia de pulso se muestra en la figura a.6 ⁸³.

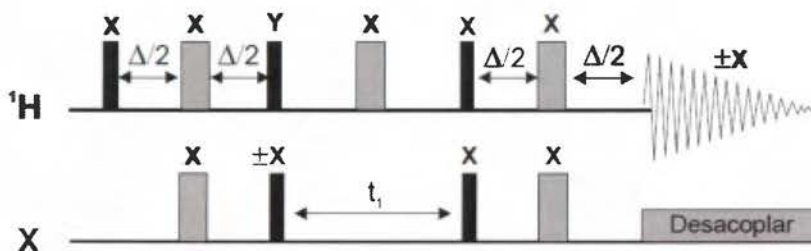


Figura a.6. Secuencia de pulsos para experimento HSQC ⁸³.

HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation): esta también es una técnica heteronuclear que correlaciona protones con átomos de carbono cercanos, no al carbono al cual está directamente enlazado (típicamente a 2 y 3 enlaces). Debido a que las correlaciones pueden ocurrir a través de carbonos cuaternarios o heteroátomos, esta es una poderosa técnica, para unir o conectar fragmentos de una molécula ⁸³.

Es una técnica que hace uso de la mayor sensibilidad asociada a la detección de protones. Se puede decir que es un HMQC optimizado. El experimento es muy similar al HMQC, pero presenta mayor tiempo de preparación para que se logren generar los pequeños acoplamiento. La figura C-10, muestra la secuencia de pulsos ⁸³.

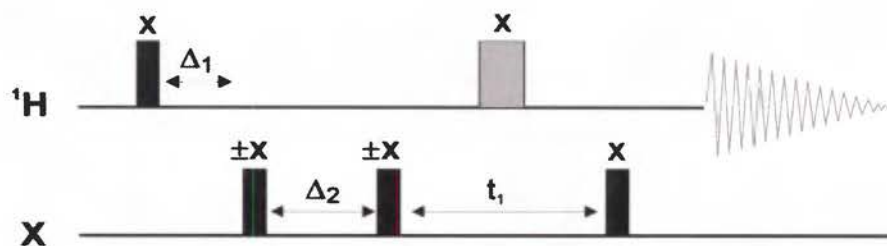


Figura a.7. Secuencia de pulsos para experimento HMBC ⁸³.

A.3. Espectrofotometría de Absorción UV-Visible

Las bandas de absorción en las regiones Ultravioleta y Visible que presentan los compuestos orgánicos se asocian con transiciones electrónicas en la capa de valencia. Los electrones involucrados en dichas transiciones corresponden a aquellos más débilmente atraídos por el conjunto de núcleos atómicos que componen la molécula y cuyos estados pueden ser descritos a través de orbitales moleculares que se expresan como combinaciones lineales de orbitales atómicos de la capa de valencia. Las transiciones electrónicas a orbitales moleculares más externos dan lugar a las denominadas transiciones Rydberg presentes en el Ultravioleta de Vacío. Por otra parte las transiciones electrónicas que involucran a los electrones de las capas internas son muy energéticas y se presentan en la región de los rayos X del espectro electromagnético ⁷².

A estos efectos resulta conveniente recordar la clasificación convencional de los orbitales moleculares en la capa de valencia de los compuestos orgánicos ⁷².

Orbitales σ y σ^* : son orbitales moleculares localizados a lo largo del eje de unión de los átomos. Los orbitales σ generan una densidad electrónica elevada en la región internuclear teniendo un carácter fuertemente enlazante mientras los orbitales σ^* , como todos los orbitales antienlazantes, presentan un plano nodal perpendicular al eje del enlace en la región internuclear y tienen un acentuado carácter antienlazante ⁷².

Orbitales π y π^* : Estos orbitales se emplean en la descripción de los enlaces múltiples. Las regiones de mayor densidad electrónica correspondiente a los mismos son aquellas colaterales al eje del enlace. El carácter enlazante o antienlazante de estos orbitales es menos acentuado que el de los orbitales σ ⁷².

Orbitales n: Estos orbitales moleculares tienen un acentuado carácter local y describen pares electrónicos libres asociados con heteroátomos (O, S, N y halógenos). Energéticamente tienen carácter no-enlazante ⁷².

En la Figura a.8., se representan esquemáticamente la distribución energética de los orbitales moleculares antes mencionados ⁷².

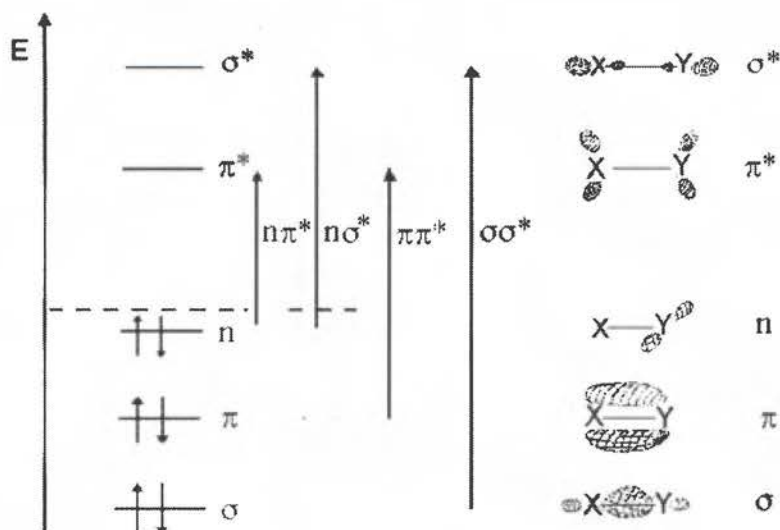


Figura a.8. Esquema de los OM de la capa de valencia y transiciones electrónicas ⁷².

Según el esquema anterior las transiciones electrónicas posibles dentro de la capa de valencia son ⁷²:

1.- Transiciones $\sigma\sigma^*$: Se presentan en todos los compuestos orgánicos. Son en general de gran energía (UV de vacío) e intensidad ⁷².

2.-Transiciones $\sigma\pi^*$ y $\pi\sigma^*$: Son posibles solo en compuestos insaturados. Son transiciones de baja intensidad (regiones de definición de los orbitales involucrados diferentes) en el UV lejano. Carecen de interés práctico ⁷².

3.-Transiciones $n\sigma^*$: Se presentan en compuestos con heteroátomos (O, N, S y halógenos), generalmente en la región cercana a los 200 nm. La intensidad es variable dependiendo de la naturaleza del orbital n ⁷².

4.- Transiciones $\pi\pi^*$: Presentes solo en compuestos insaturados. En ausencia de conjugación estas transiciones se presentan en UV de vacío. Dan lugar a bandas intensas que pueden aparecer en UV cercano si está presente insaturación conjugada ⁷².

5.-Transiciones $n\pi^*$. Presentes en compuestos insaturados con heteroátomos (grupos carbonilo, nitro, azo, tiocarbonilo). Dan lugar a bandas débiles usualmente en la región UV cercana (baja energía de transición) ⁷².

Para que un compuesto absorba en el visible debe presentar una alta conjugación, la cual puede ser aumentada por cromóforos que generan desplazamientos batocrómicos (hacia el rojo), originando que el compuesto presente color, como se muestra en la tabla A.2 ⁷².

Tabla A.2. Espectro de la región visible con los colores complementarios ^{72, 110}.

Longitud de onda (nm)	Color absorbido	Color observado
390-420	Violeta	Verde-Amarillo
420-440	Violeta-azul	Amarillo
440-470	Azul	Anaranjado
470-500	Azul-Verde	Rojo
500-520	Verde	Púrpura
520-550	Amarillo-Verde	Violeta
550-580	Amarillo	Violeta-Azul
580-620	Anaranjado	Azul
620-680	Rojo	Azul-Verde
680-780	Púrpura	Verde

A.4. Espectrometría de masas

Es una técnica analítica usada para identificar compuestos desconocidos, cuantificar compuestos conocidos, elucidar la estructura de un compuesto o establecer propiedades químicas de una molécula. Se ocupa muy poca muestra para llevar a cabo el análisis, dado que es una técnica muy sensible ⁷⁹.

El espectrómetro de masas es un instrumento que permite la obtención de iones a partir de moléculas (en su mayoría orgánicas), que posteriormente se separan en función de su relación masa-carga (m/z), y finalmente se pueden detectar mediante dispositivos adecuados. Por el proceso que sufre la muestra en este caso se habla de una técnica destructiva ⁷⁹.

El espectro de masas se representa mediante parámetros que están relacionados con la abundancia de los diferentes tipos de iones presentes en los compuestos y su relación

(m/z), para obtener dicho espectro se debe calentar el compuesto a analizar hasta ionizarlo, y los iones producidos generan un patrón específico para cada compuesto en el detector ⁷⁹.

Este aparato tiene una fuente de ionización química, el cual usa una fuerte descarga que produce un plasma de iones reactivos del disolvente que origina el mecanismo de ionización de la muestra, normalmente por adición o cesión de un protón. Este mecanismo, que coexiste con el de evaporación iónica, produce abundantes iones (M+H)⁺ positivos, y (M-H)⁻ negativos ⁷⁹.

Uno de los disolventes más comunes es el metano, que reacciona con electrones de elevada energía para dar varios iones como CH⁴⁺, CH³⁺ y CH²⁺. Los dos primeros predominan y representan alrededor del 90% de los productos de reacción. Estos iones reaccionan rápidamente con más moléculas de metano siguiendo un esquema de reacciones que dan los iones positivos o negativos de la muestra ⁷⁹.

Para que una muestra pueda ser analizada por esta técnica es necesaria la ionización de la misma. Existen varias formas de ionización, como por ejemplo ⁷⁹:

- Ionización por impacto electrónico (EI)
- Ionización química (CI)
- Ionización por electronebulización (ESI)
- Ionización por desorción de láser asistida por matriz (MALDI).

De las cuales, ESI y MALDI, se discutirán brevemente más adelante.

Para llevar a cabo el proceso de espectrometría de masas, se deben realizar básicamente cuatro etapas ⁷⁹:

1. Ionización de la muestra.
2. Aceleración de los iones por un campo eléctrico.
3. Dispersión de los iones según su masa/carga.
4. Detección de los iones y producción de la correspondiente señal eléctrica.

La ionización por electronebulización (ESI), es una de las técnicas más usadas para estudiar biomoléculas de peso molecular alto o compuestos no volátiles. La muestra debe estar en disolución, la cual es nebulizada al final de un fino capilar dentro de una cámara de calentamiento, que está a presión atmosférica. El capilar presenta un alto potencial a través de su superficie, que origina que las gotas de las muestras salgan cargadas. Dichas gotas

son sujetas a un flujo de gas seco (N_2) que evapora el disolvente, originando iones en fase gas. Posteriormente estos iones son acelerados y analizados ⁷⁹.



Figura a.9. Técnica ESI (electronebulización ó electrospray) ⁸⁴⁻⁸⁶.

En el caso de la ionización por MALDI, el proceso está aún en investigación, ya que dependiendo de la matriz empleada, es posible la formación de diferentes aductos del analito. En forma general, la muestra es mezclada en disolución con un exceso de una sustancia matriz que absorbe la radiación. La disolución restante se evapora en la superficie de una sonda metálica que se utiliza para introducción de la muestra. La mezcla sólida se expone a la acción de un haz de láser pulsante, provocando la sublimación del analito a iones que son introducidos a un analizador ^{84,85}.

Los analizadores que se pueden usar son muy variados, los cuales dependerán de los tipos muestras a analizar y del costo económico. Algunos de los analizadores empleados son el tiempo de vuelo (TOF), cuadrupolo, trampa de iones o de sector magnético. En el caso de tiempo de vuelo, este puede ser utilizado también como detector ^{84,85}.

Generalmente los detectores están formados por un cátodo emisor que al recibir el impacto de las partículas cargadas emite electrones. Estos electrones son acelerados a un diodo, el cual emite más electrones, proceso que se repite una y otra vez hasta generar una señal amplificada ^{84,85}.

A.5. Balanza de tensión superficial (método de medición de fuerzas).

La balanza de tensión superficial utiliza una placa rectangular o anillo de platino suspendida verticalmente y conectada a una balanza de gran precisión, este método se basa en las fuerzas de adherencia que se encuentran relacionadas a la tensión superficial. El lado inferior de la placa se pone en contacto con la superficie del líquido o disolución que se desea medir (método de Wilhelmy, lado izquierdo figura a.10.) o también se puede utilizar un anillo de platino (método de Du Noüy, lado derecho figura a.10.)^{87,88}.

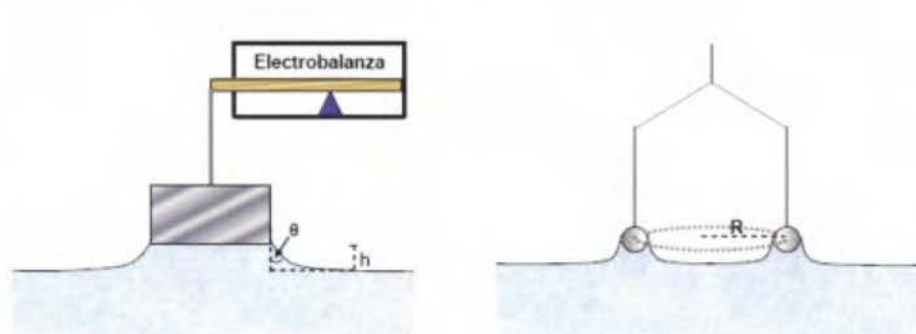


Figura a.10. Esquema del aparato utilizado en el método de Wilhelmy (lado izquierdo) y del aparato utilizado en el método de Du Noüy (lado derecho)⁸⁹.

En ambos casos se ejerce una fuerza vertical sobre la placa o el anillo para levantarlos, estos se levantan poco a poco, hasta separarlos del líquido (figura a.10 y a.11).

En la posición justo antes de separarse la placa se puede calcular el equilibrio de fuerzas entre las fuerzas de tensión que se aplican en ambos lados de la placa (por eso el factor 2) y la fuerza de levantamiento (F) (figura a.12)^{87,88}.

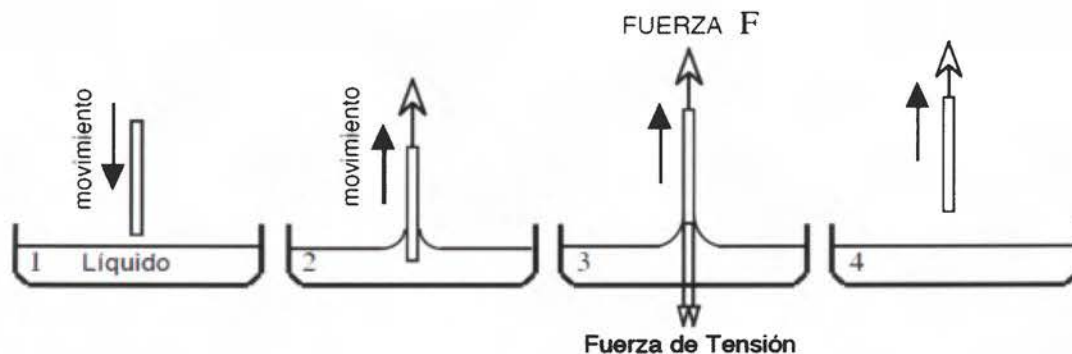
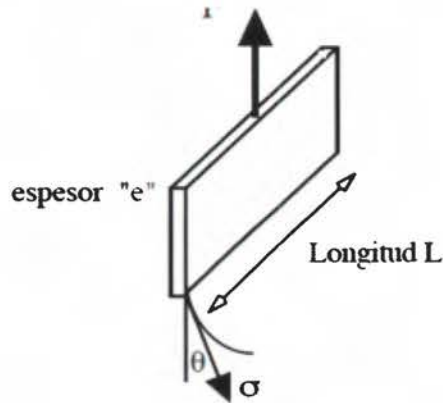


Figura a.11. Método de la placa de Wilhelmy^{87,88}.



Balance de Fuerzas

$$F = 2 (L+e) \sigma \cos \theta$$

pero $e \ll L$ y $\theta = 0$

$$\sigma = \frac{F}{2 L}$$

Figura a.12. Método de la placa. Balance de fuerzas ^{87,88}.

Usualmente la placa es de platino levemente rugoso, de tal forma que el ángulo de contacto sea lo más pequeño posible, y se pueda suponer igual a cero. La placa mide típicamente 29,9 mm de largo (L) y 0,1 mm de espesor (e), en cuyo caso el perímetro completo es de 60 mm ^{87,88}.

Por otra parte este método no produce una superficie nueva al momento de producirse la medición. En la práctica se puede colocar el líquido dentro del recipiente varias horas antes y dejar equilibrarse la superficie. Por lo tanto este método es particularmente bien adaptado a los sistemas que contienen sustancias surfactantes cuyo tiempo de adsorción puede ser largo. Nótese que permite sin embargo medir la tensión dinámica; basta con verter el líquido en el recipiente justo antes de tomar la medida ^{87,88}.

Para llevar a cabo la determinación de la cmc por los métodos de tensión en general se preparan varias disoluciones (aumentando la concentración de producto), posteriormente se calcula la tensión superficial por los diferentes métodos, y se grafica el logaritmo de la concentración contra la tensión obtenida en el cálculo anterior, por último se identifica la cmc donde se cortan las dos rectas resultantes ^{87,88}.

A.6. Microscopía electrónica de transmisión (TEM).

La microscopia permite la obtención de una imagen “directa” de organismos, tejidos, ensamblajes moleculares e incluso proteínas individuales. Por lo que es una importante técnica complementaria para visualizar las estructuras macro y/o microscópicas, que permite asignar a la estructura una función y viceversa ¹¹¹.

En la figura a.13 se pueden observar los límites de resolución de las diferentes técnicas de imagen. Ciertos objetos requieren el uso de técnicas de microscopía electrónica, las cuales presentan un mayor poder de resolución que los microscopios de luz ¹¹¹.

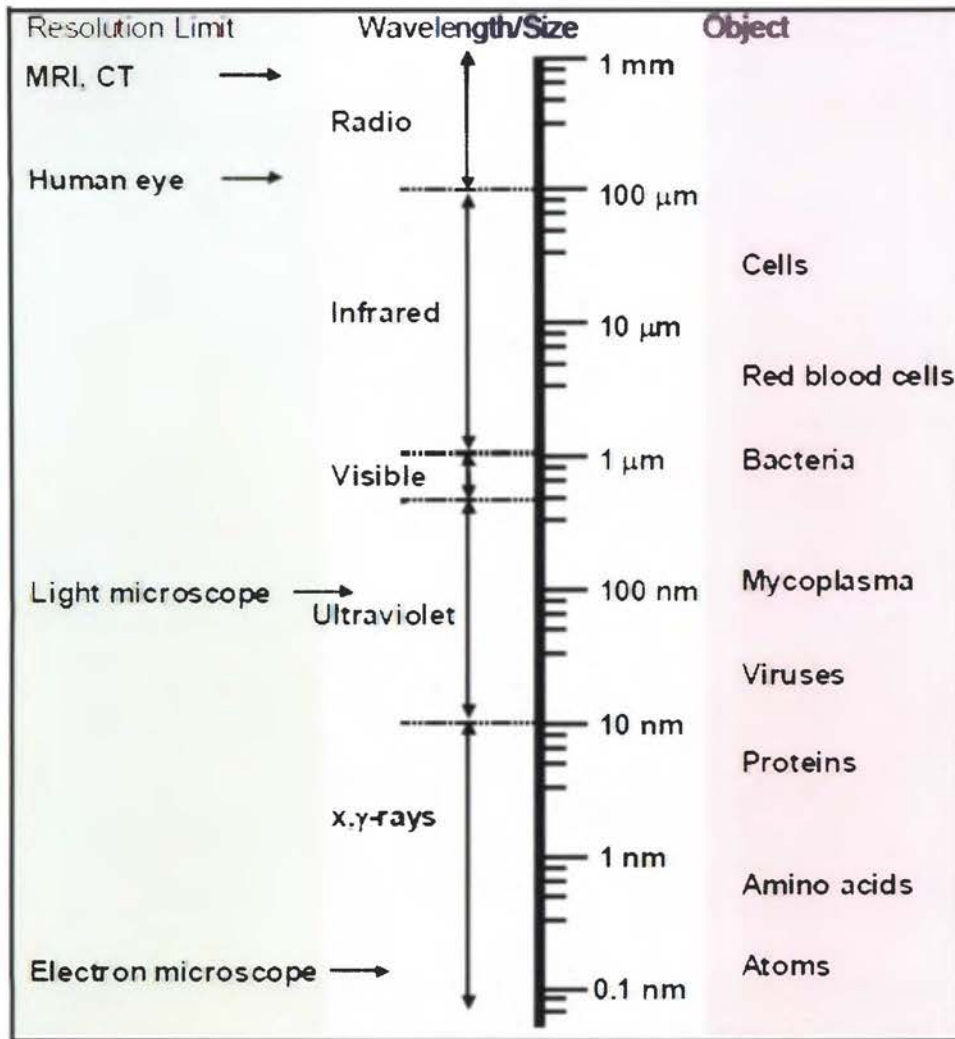


Figura a.13. Límite de resolución para las diferentes técnicas de imagen ¹¹¹.

El límite de resolución de un sistema óptico depende de la apertura numérica y de la longitud de onda de luz (ley de Ernst Abbé). Esta ley sostiene que para los electrones su velocidad determina la longitud de onda: mayor velocidad, menor longitud de onda y mejor resolución. En la práctica la resolución para el TEM a 100 kV (voltaje de aceleración) es de aproximadamente 0,5 nm, lo cual sobrepasa por muchos a los microscopios de luz ¹¹¹.

En un microscopio electrónico la luz es sustituida con electrones y los lentes de vidrio son sustituidos por lentes electromagnéticos/electroestáticos, además es un sistema de alto vacío (10^{-5} a 10^{-7} mbar) ¹¹¹.

En la figura a.14 se puede observar las partes del microscopio TEM ¹¹¹.

Microscopio electrónico de transmisión

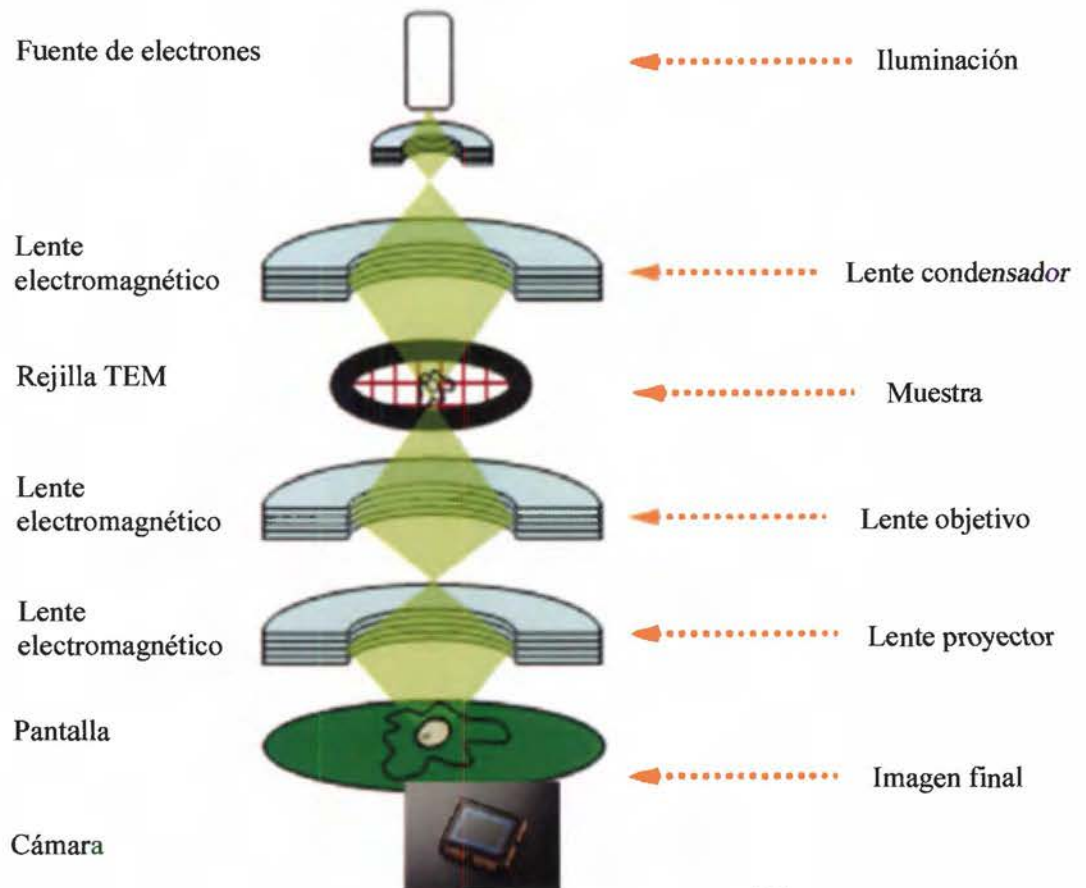


Figura a.14. Partes de un microscopio TEM ¹¹¹.

En la técnica TEM, al tener un alto potencial de aceleración (50 kV), la longitud de onda se contrae aproximadamente 5 pm, tal que los electrones de alta energía pueden penetrar grandes distancias (μm) De manera que en el TEM, los electrones penetran muestras delgadas y son reflejados por lentes apropiados (lentes magnéticas), para generar imágenes (proyecciones), en analogía con los microscopios de luz (figura a.15) ¹¹¹.

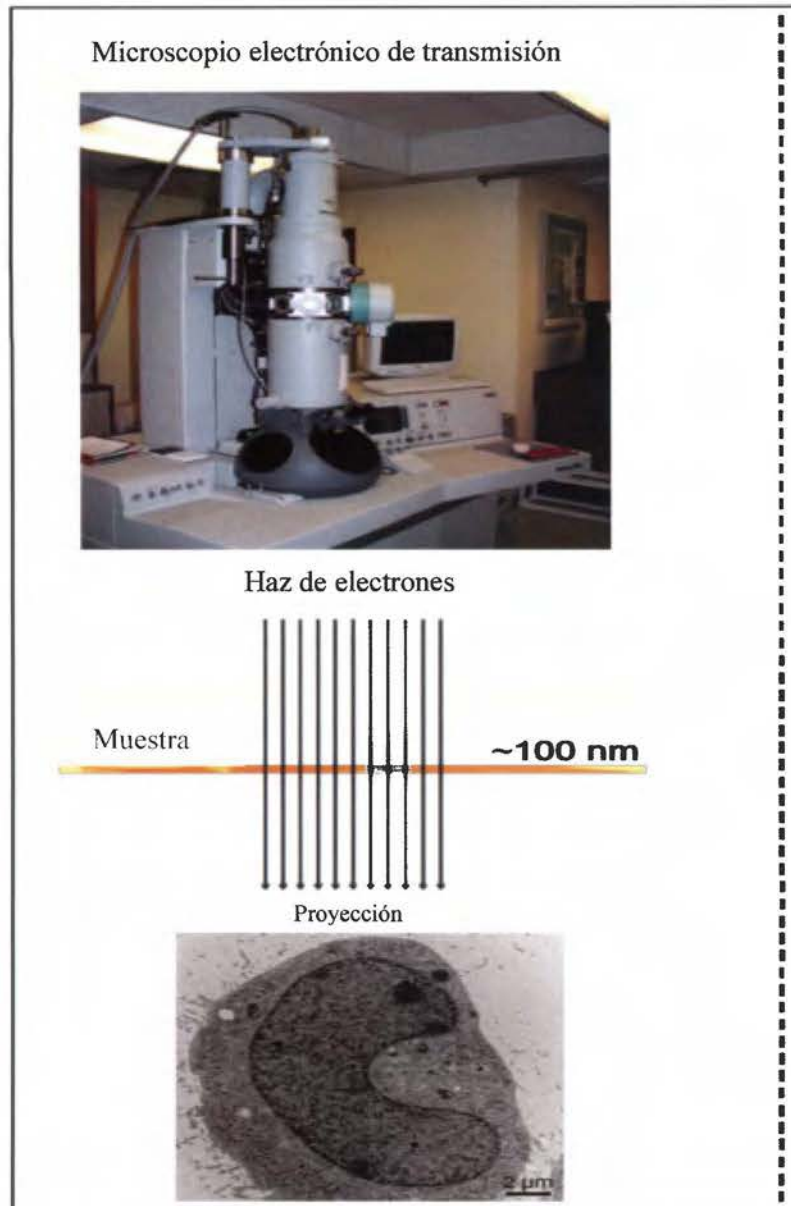


Figura a.15. Ejemplo de imagen obtenida con un TEM ¹¹¹.

La imagen es generada de forma simultánea, con una gran capacidad de aumento, permitiendo así observar estructuras. Las imágenes obtenidas se pueden producir de dos maneras, a partir de los electrones difractados (imágenes de campo oscuro) o a partir de los electrones que atraviesan la muestra sin interactuar (imágenes de campo claro/brillante) ¹¹¹.

Una limitante de esta técnica es que a menos que la muestra sea muy delgada, los electrones son fuertemente dispersados dentro de esta o incluso absorbidos en lugar de transmitidos ¹¹¹.

ANEXO B

B. PROCEDIMIENTOS.

A continuación se muestran los esquemas experimentales y pasos que se siguieron para la obtención del dímero mixto con dos sales biliares y un grupo azo como puente (compuesto **8**).

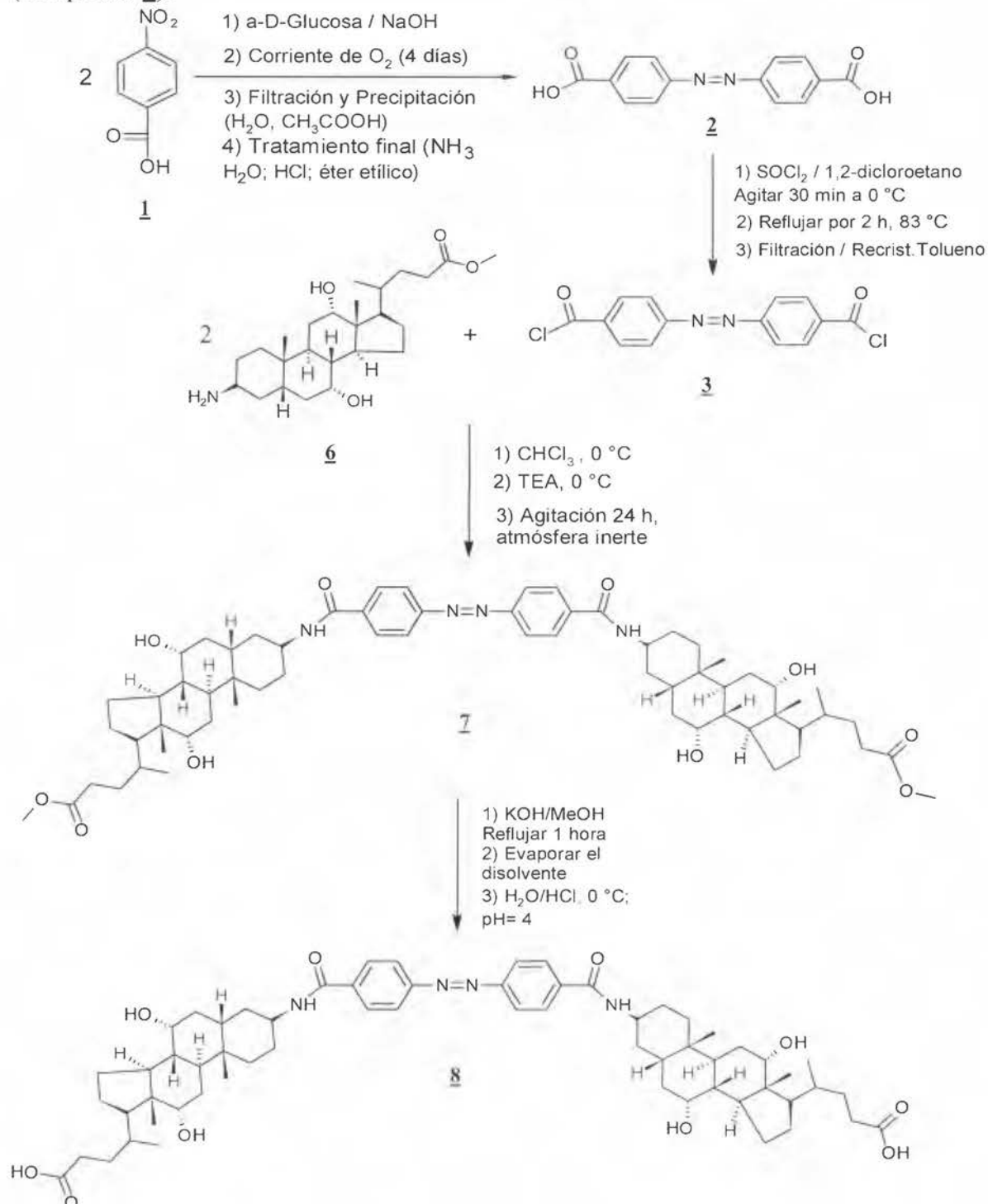


Figura b.1. Esquema de reacciones para la síntesis del dímero mixto (compuesto **8**).

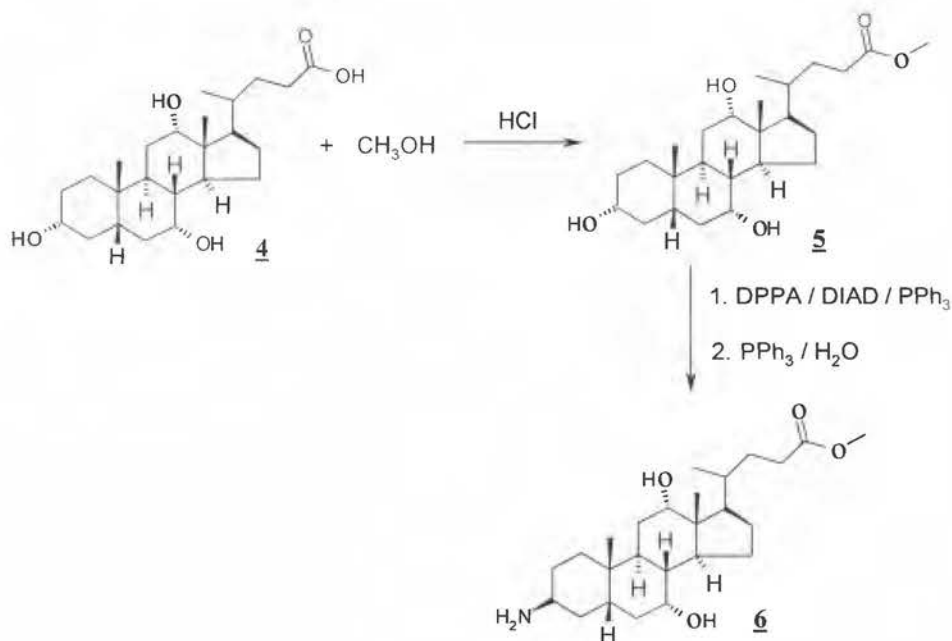


Figura b.2. Esquema de reacciones para la síntesis del compuesto **6** (precursor).

B.1. Reducción del compuesto **1** para la obtención del compuesto **2** (Figura b.1).

La obtención del compuesto **2** requiere primero de una reducción con glucosa y luego una oxidación con oxígeno ^{90-93,97}.

En un erlenmeyer de 250,00 mL, provisto de pastilla de agitación, se disuelve el ácido 4-nitrobenzoico (42 mmol; 7,0 g) en hidróxido de sodio, NaOH 40 M (4,0 mol; 100,00 mL), se coloca en una plantilla y se calienta a 70 °C con agitación constante; y se le adiciona lentamente y manteniendo esta temperatura una disolución de α -D-Glucosa (333 mmol; 60 g) en agua (5,55 mol; 100,00 mL) que se encuentra también a 70 °C ^{90-93,97}.

Finalizada la adición, se deja la disolución con agitación constante y una corriente de oxígeno durante 4 días. Al finalizar este período se filtra el sólido obtenido, se lava con agua fría (20 mL por lavado, tres veces) y se disuelve en agua caliente para ser reprecipitado utilizando ácido acético ^{90-93,97}.

La purificación del compuesto se realiza disolviendo en amoníaco diluido 1,0 M (0,16 mol; 160 mL), se reprecipita con ácido acético y se adiciona HCl concentrado en cantidad suficiente para que la disolución este al 10% v/v en HCl , se filtra, se lava con agua

(5 mL por lavado, tres veces) y éter etílico (5 mL por lavado, tres veces). El compuesto sólido de color anaranjado claro se pone a secar en la estufa al vacío un día a 60 °C^{90-93,97}.

B.2. Síntesis del compuesto 3 (Figura b.1.).

En un balón de 3 bocas 24/40 de 250,00 mL con condensador, termómetro y en una bañera de hielo, se agrega el compuesto 2 (33 mmol; 9,0 g) bajo atmósfera inerte. Posteriormente y con agitación constante se le adiciona 1,2-dicloroetano (1,83 mol; 145 mL), se enfría la disolución a 0 °C y se adiciona cloruro de tionilo (210 mmol; 15,3 mL)⁹⁴⁻⁹⁷.

Se deja en el bañero de agua-hielo con agitación durante 30 min. Luego de este tiempo, se retira el bañero de hielo, se cambia la atmósfera inerte por una trampa de cloruro de calcio cuya salida se coloca sobre un beaker con una disolución básica. Se pone a reflujo por 2 horas, controlando la temperatura a 83 °C. Finalizada la reacción se enfría y los cristales rojos que se producen, se filtran por gravedad y se recristalizan repetidamente en tolueno⁹⁴⁻⁹⁷.

B.3. Síntesis del compuesto 6 (Figura b.2.).

El compuesto 6 (amina en la posición 3 β del ácido cólico) se obtiene mediante un proceso de dos pasos en uno, (“one-pot”): una reacción de Mitsunobu y una reducción de Staudinger^{98-103,114}.

Para poder llevar a cabo la síntesis del compuesto 6, se protege previamente la posición 24 del ácido biliar (compuesto 4), mediante su éster de metilo (compuesto 5); a través de una esterificación de Fisher. Para esto, en un balón 24/40 con una boca de 1,00 L con condensador, se refluja el ácido cólico (245 mmol; 100 g), con metanol (14,8 mol; 600 mL) y ácido clorhídrico (6 mL; 189,2 mmol) por 1 hora⁹⁸⁻¹⁰⁰.

Al terminar la reacción, el crudo se filtra y se coloca en refrigeración donde el éster de metilo cristaliza. Posteriormente se filtra, se lava con metanol frío (20 mL por lavado, tres veces), y se seca en estufa al vacío por un día ⁹⁸⁻¹⁰⁰.

Posteriormente, en un balón de 3 bocas de 5,00 L con adaptador 24/40 y con un embudo de adición igualador de presiones, se prepara una disolución de **5** (99 mmol; 42 g) en tetrahidrofurano seco (THF) (12,34 mol; 1000 mL), a esta se le adicionan trifenilfosfina, PPh₃ (99 mmol; 26 g), diisopropil azocarboxilato, DIAD, (99 mmol; 20 mL); y luego se adiciona por medio del embudo de adición una disolución de difenil fosforilazida, DPPA (99 mmol; 22 mL) en THF seco (1,23 mol; 100 mL) durante un periodo de media hora, y bajo atmósfera inerte (nitrógeno). Al finalizar esta adición se agita por veinticuatro horas bajo atmósfera inerte ^{101-103,114}.

Transcurrido ese tiempo se adiciona de nuevo PPh₃ (99 mmol; 26 g) y DIAD (99 mmol; 20 mL), y se agita por otras cuatro horas. Posteriormente, se agrega más PPh₃ (99 mmol; 26 g) y agua (3,33 mol; 60 mL), finalmente, se deja con agitación por cuatro días en atmósfera inerte ^{101-103,114}.

Al finalizar este tiempo, se elimina el disolvente al vacío, la pasta que se obtiene, se disuelve en cloroformo (la mínima cantidad), se agrega sílica gel (60 g) para adsorber la mezcla que posteriormente se purifica por cromatografía de columna con sílica gel como adsorbente y una mezcla acetato de etilo/metanol en una proporción 1:1 como eluente para eliminar impurezas. El compuesto se eluye posteriormente con una mezcla de metanol/trietilamina (TEA) en una proporción 95:5. El compuesto **6** se obtiene con una pureza adecuada para reacciones posteriores, evaporando el disolvente a vacío ^{101-103,114}.

B.4. Síntesis del compuesto **7 (Figura b.1.).**

En un balón 14/20 de 25,00 mL bajo atmosfera inerte se prepara una disolución del compuesto **6**, (0,33 mmol; 0,1 g) en cloroformo (62,4 mmol; 5 mL). A continuación se adiciona una disolución de **3** (0,95 mmol; 0,4 g) en cloroformo (62,4 mmol; 5 mL) a 0°C

con agitación constante por unos 10 min; luego se le adiciona trietilamina, TEA (3,59 mmol ; 0,50 mL) y se agita por media hora manteniendo la temperatura de 0°C ¹⁰⁴.

Transcurrido este tiempo, se quita el baño de hielo y se deja en agitación por 24 horas. Al finalizar este tiempo, se elimina el disolvente al vacío y el producto se purifica por cromatografía de columna con sílica gel como absorbente y una mezcla de acetato de etilo/metanol 20:1 como fase móvil. El compuesto se obtiene luego de eliminar el disolvente al vacío ¹⁰⁴.

B.5. Síntesis del compuesto 8 (Figura b.1.).

El último paso consiste en la hidrólisis del compuesto 7. En un balón 14/20 de 25,00 mL con condensador se adiciona el compuesto 7 (0,76 mmol; 0,5 g) con hidróxido de potasio (1,0 N; 1,0 g) y metanol, MeOH (0,25 mmol; 25 mL), se refluja por 3 horas ^{105,106}.

Terminado este tiempo se elimina el disolvente al vacío, el sólido se disuelve en agua (400 mL) y se acidifica con HCl 1 M a 0 °C, hasta un pH=3, en el cual el ácido precipita y se filtra. Se lava a continuación con abundante agua hasta que el pH sea mayor de 5 ^{105,106}.

ANEXO C

C. MECANISMOS DE REACCIÓN

C.1. Reducción del compuesto 1 para la obtención del compuesto 2.

La reducción del compuesto 1 ocurre en un medio básico y en presencia de glucosa con lo que se produce un derivado azoxi que sigue reaccionando en condiciones oxidantes hasta producir el derivado azo (compuesto 2) (figura c.1.) ¹¹²

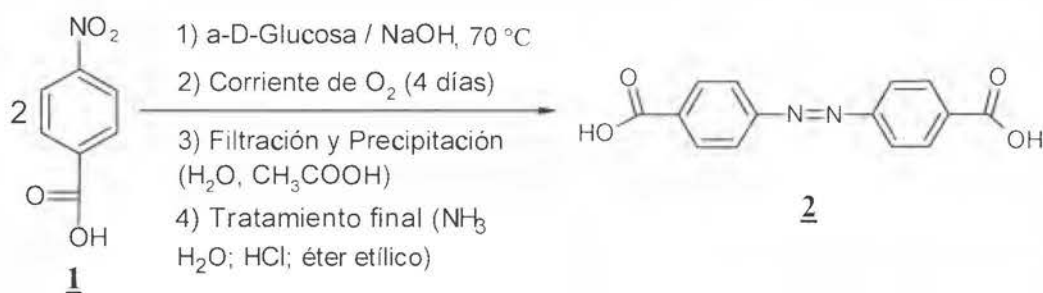


Figura c.1. Reducción del compuesto 1 para la generación del compuesto 2 ^{90-93,97}.

El mecanismo más probable para la transformación mostrada en la figura c.1 de acuerdo a investigaciones previas, propone que una de las moléculas del nitro compuesto (compuesto 1) se reduce a un compuesto nitroso (figura c.2) y otra molécula del compuesto nitro (compuesto 1) se reduce a una hidroxilamina (figura c.3). Las especies reducidas nitroso e hidroxilamina entonces se combinan formando una especie azoxi (figura c.4); este paso de combinación es rápido en comparación con los procesos de reducción ¹¹².

La especie azoxi, sufre entonces un reordenamiento intermolecular y se convierte en un azo compuesto (figura c.5). Este reordenamiento es similar al reordenamiento de Wallach y el mecanismo no está completamente establecido ¹¹².

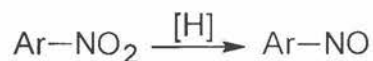


Figura c.2. Reducción de compuestos nitro a compuestos nitroso ¹¹².

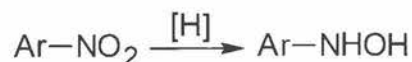


Figura c.3. Reducción de compuestos nitro a hidroxilamina ¹¹².

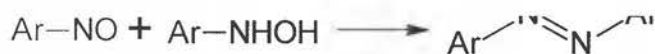


Figura c.4. Conversión de compuestos nitrosos a compuestos azoxi ¹¹².



Figura c.5. Reordenamiento de Wallach ¹¹².

C.2. Síntesis del compuesto 3.

La obtención del compuesto 3 consiste en una adición-eliminación en el grupo acilo, dónde los grupos ácidos carboxílicos se convierten en cloruros de ácido mediante la adición de cloruro de tionilo al compuesto 2 (figura c.6.)

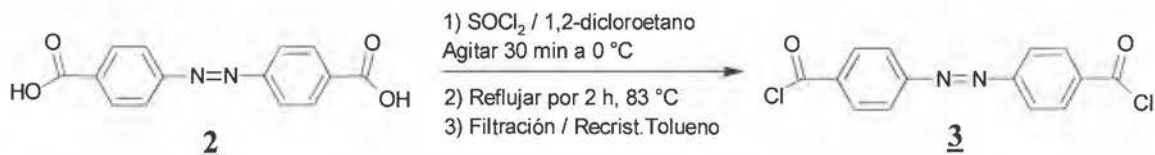


Figura c.6. Reacción de adición-eliminación en el grupo acilo del compuesto 2 para la generación del compuesto 3 ⁹⁴⁻⁹⁷.

El mecanismo para la obtención del compuesto 3 se muestra en la figura c.7.

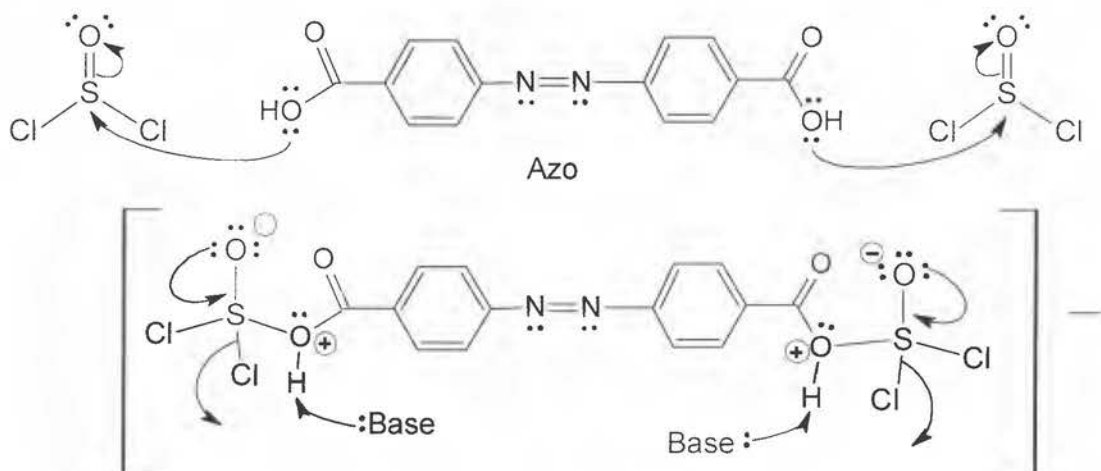


Figura c.7. Mecanismo de adición-eliminación en el grupo acilo del compuesto 2 para la generación del compuesto 3 (continua) ⁶⁷.

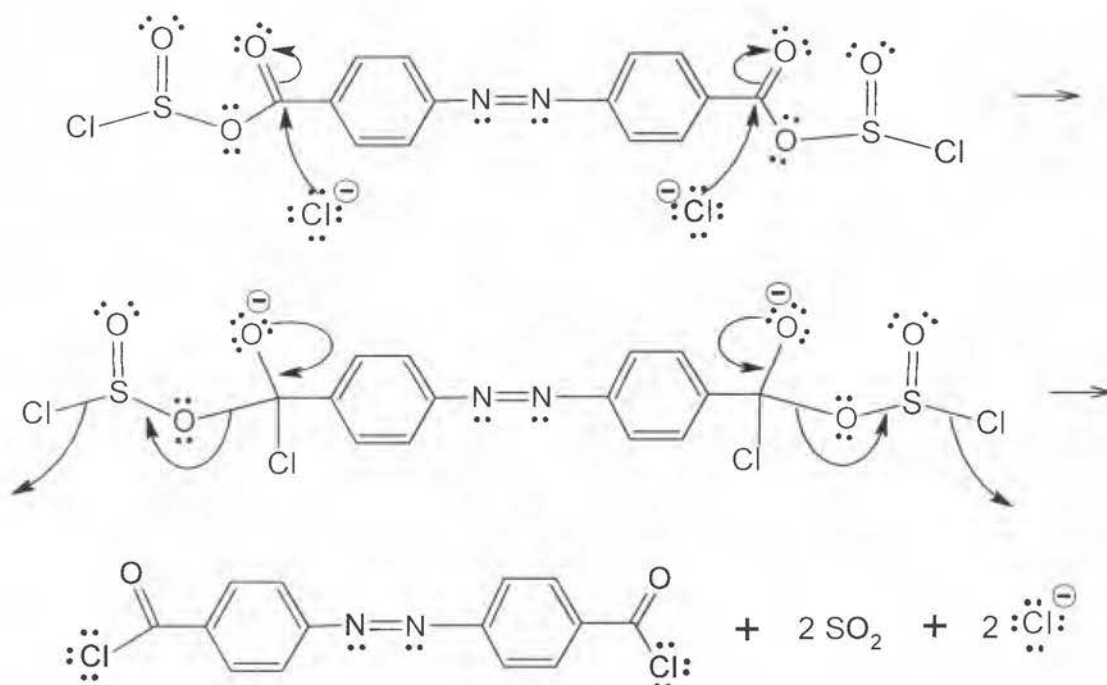


Figura c.7. Mecanismo de adición-eliminación en el grupo acilo del compuesto **2** para la generación del compuesto **3**⁶⁷.

C.3. Síntesis del compuesto **6**.

Para preparar el 3- β -aminocolato de metilo (compuesto **6**) se realizó primero una esterificación de Fisher entre el ácido cólico (compuesto **4**) y el metanol en medio ácido, como se muestra en la figura c.8; con el fin de proteger la posición 24 formando un éster de metilo (compuesto **5**). Posteriormente se introduce un grupo amino en la posición 3 mediante un proceso “one-pot” constituido por las reacciones de sustitución de Mitsunobu y la reducción de Staudinger y así obtener el 3- β -aminocolato de metilo (compuesto **6**), como se muestra en la figura c.9.

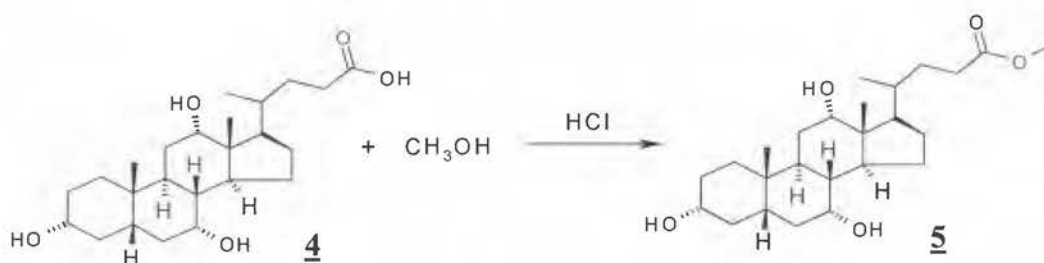


Figura c.8. Esterificación de la posición 24 del compuesto **4** para la obtención del compuesto **5**⁹⁸⁻¹⁰⁰.

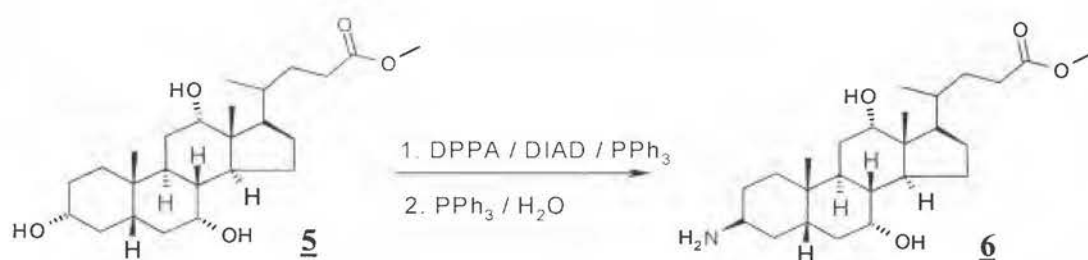


Figura c.9. Proceso “One-pot” para la obtención del compuesto **6** ¹⁰¹⁻¹⁰³.

El mecanismo para la obtención del compuesto **5** se observa en la figura c.10.; mientras que la figura c.11 y c.12 muestran respectivamente los mecanismos de la reacción de Mitsunobu y la reducción de Staudinger para la obtención del compuesto **6**.

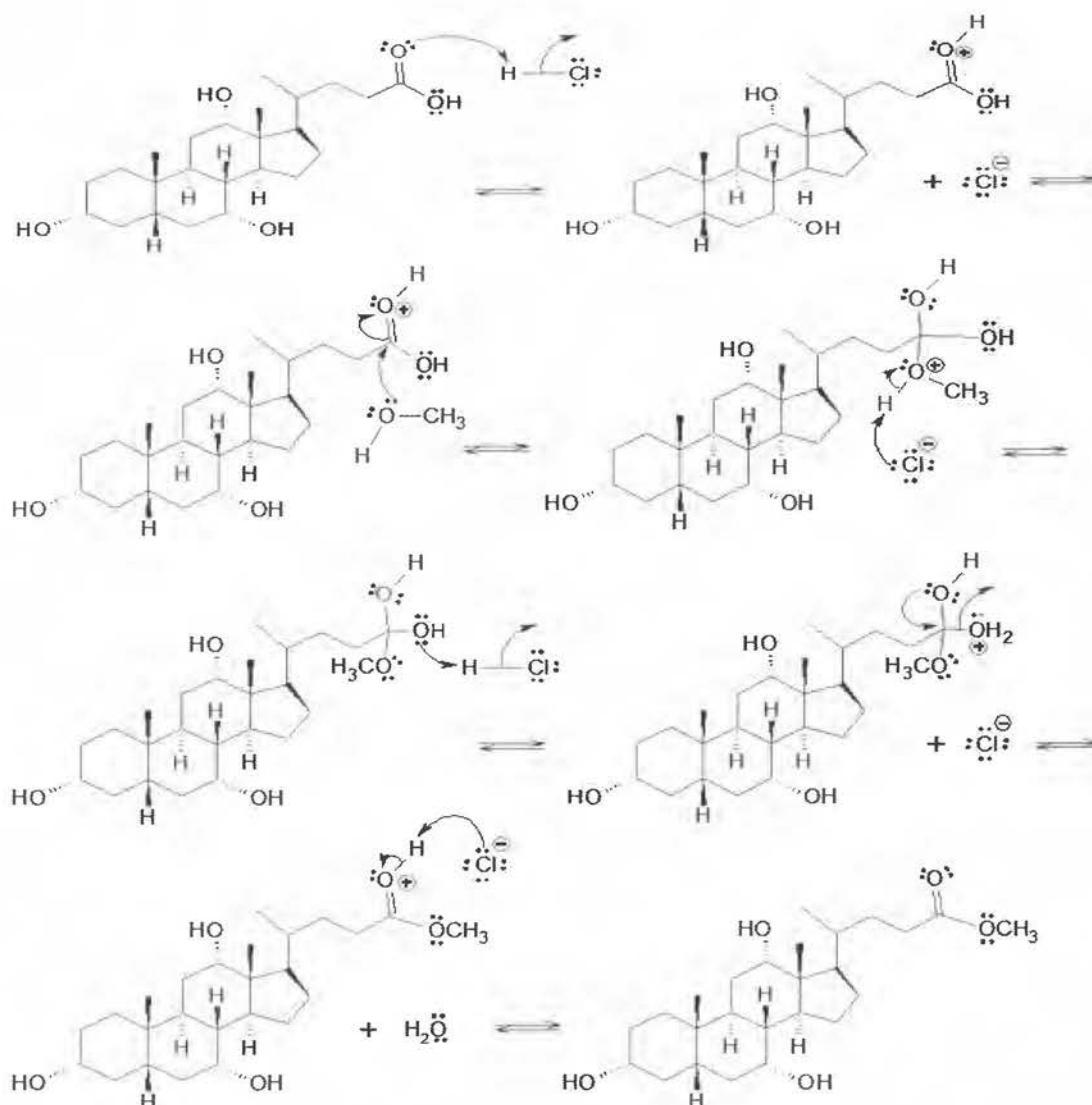


Figura c.10. Mecanismo de la esterificación del compuesto **4** para la obtención del compuesto **5** ¹¹².

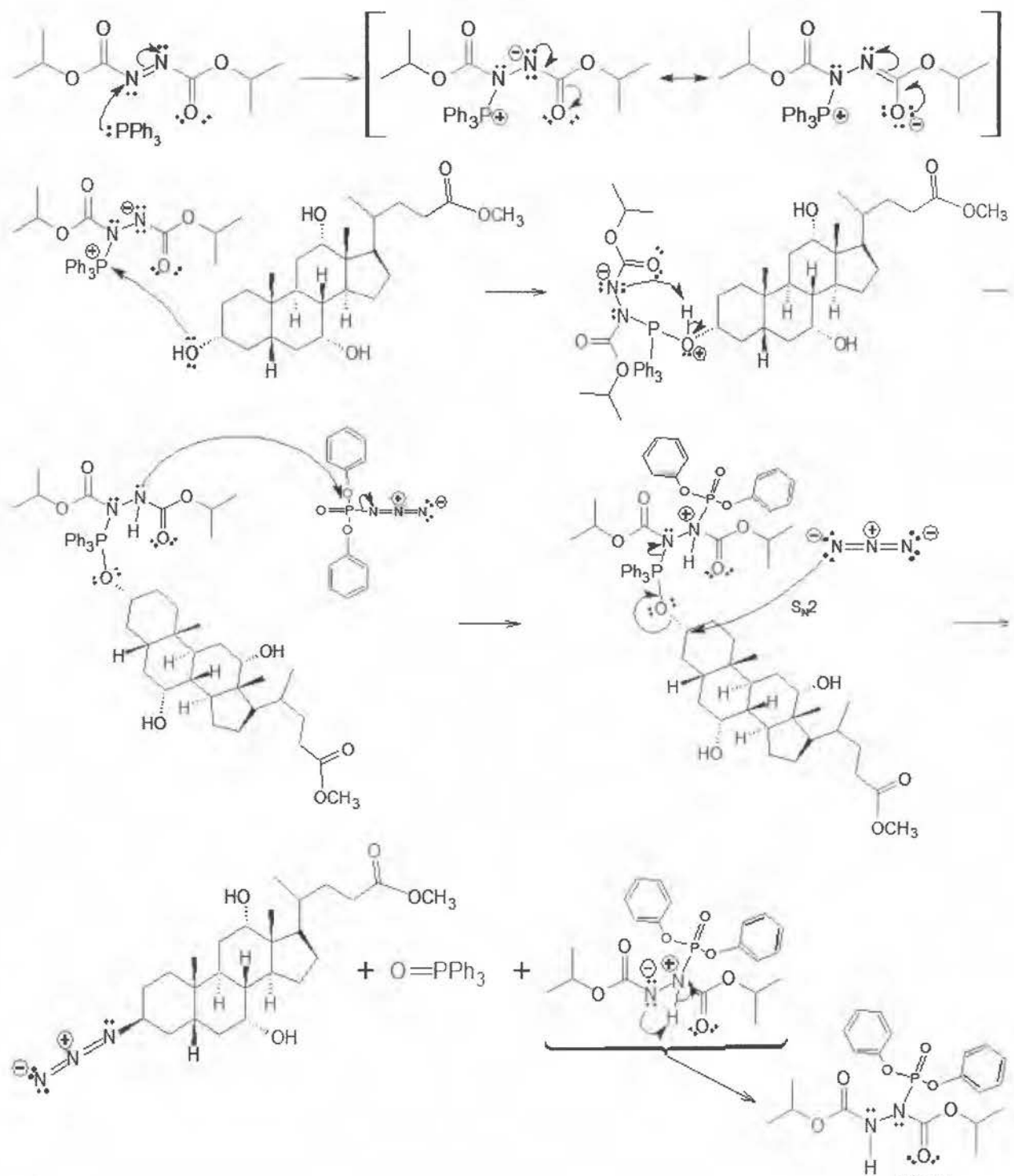


Figura c.11. Mecanismo de la reacción de Mitsunobu para obtener el derivado azida 70, 113-

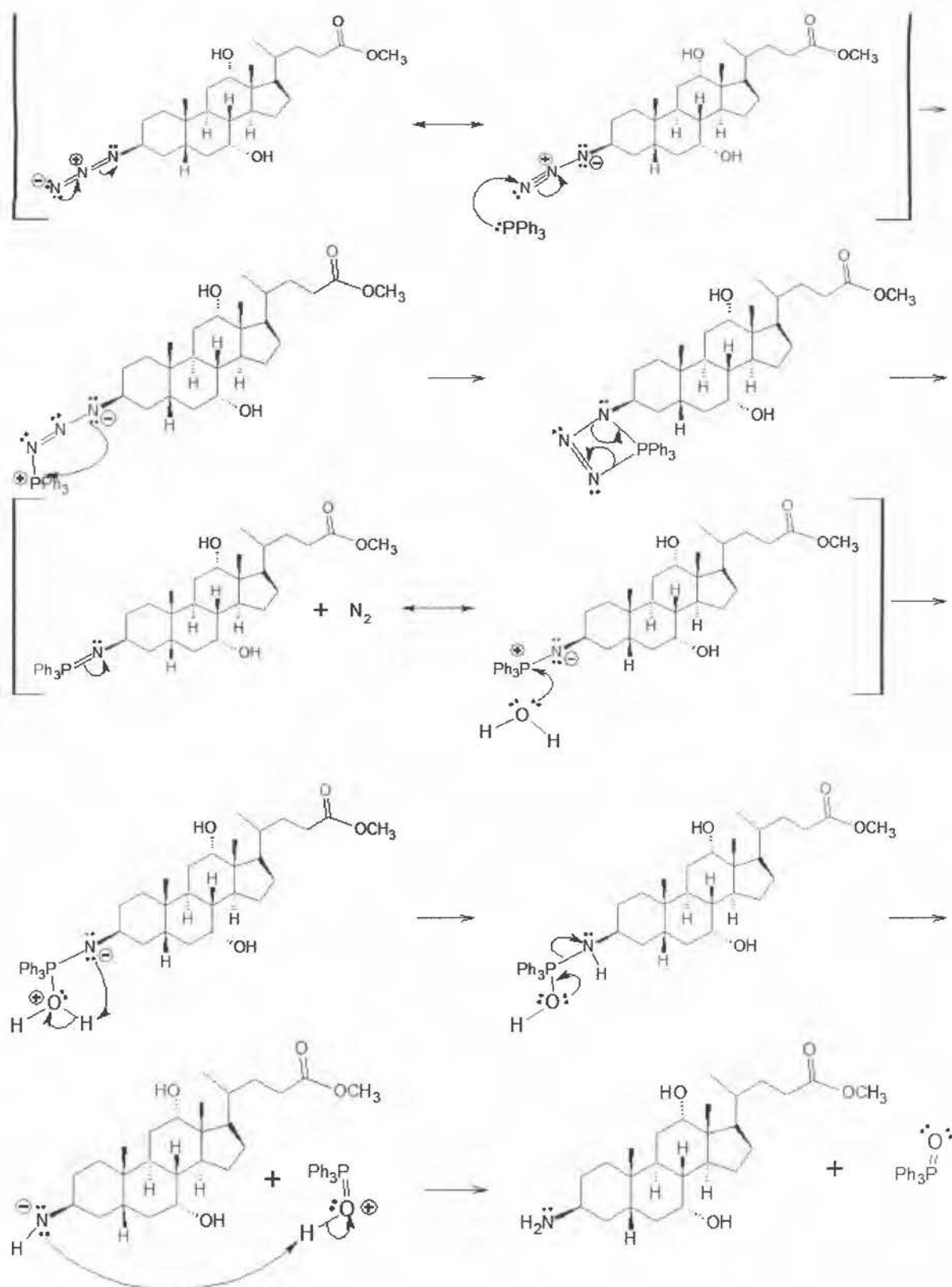


Figura c.12. Mecanismo de reducción de Staudinger del derivado azida para la obtención del compuesto **6** ^{70, 113-116}.

C.4. Síntesis del compuesto **7**.

La obtención del compuesto **7** (figura c.13.) se logra al realizar una reacción de adición-eliminación en el grupo acilo, entre el compuesto **3** y el compuesto **6**, con ello se obtiene el enlace amida entre el puente azo y los derivados del ácido cólico.

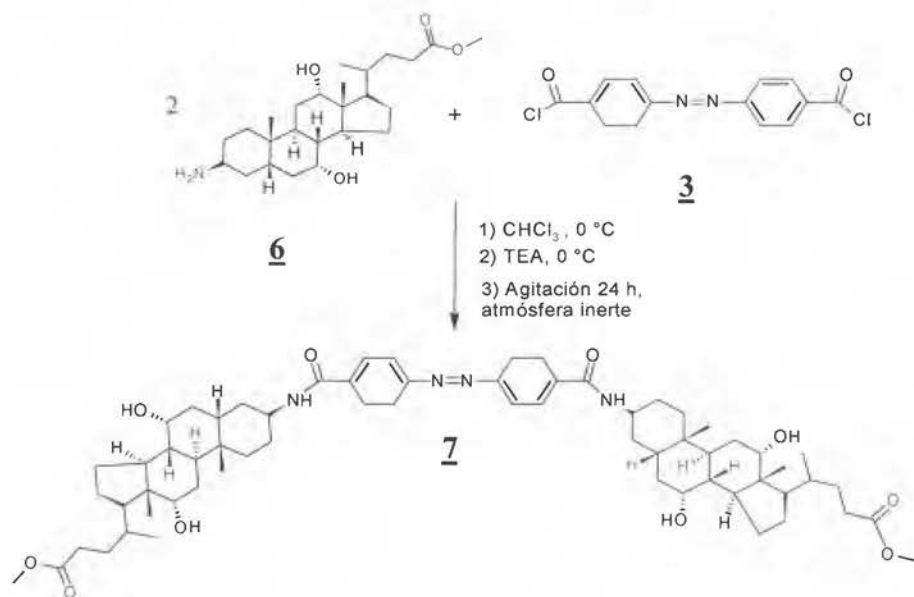


Figura c.13. Síntesis del compuesto **7** ¹⁰⁴.

El mecanismo de adición-eliminación en el grupo acilo para la obtención del compuesto **7** se muestra en la figura c.14.

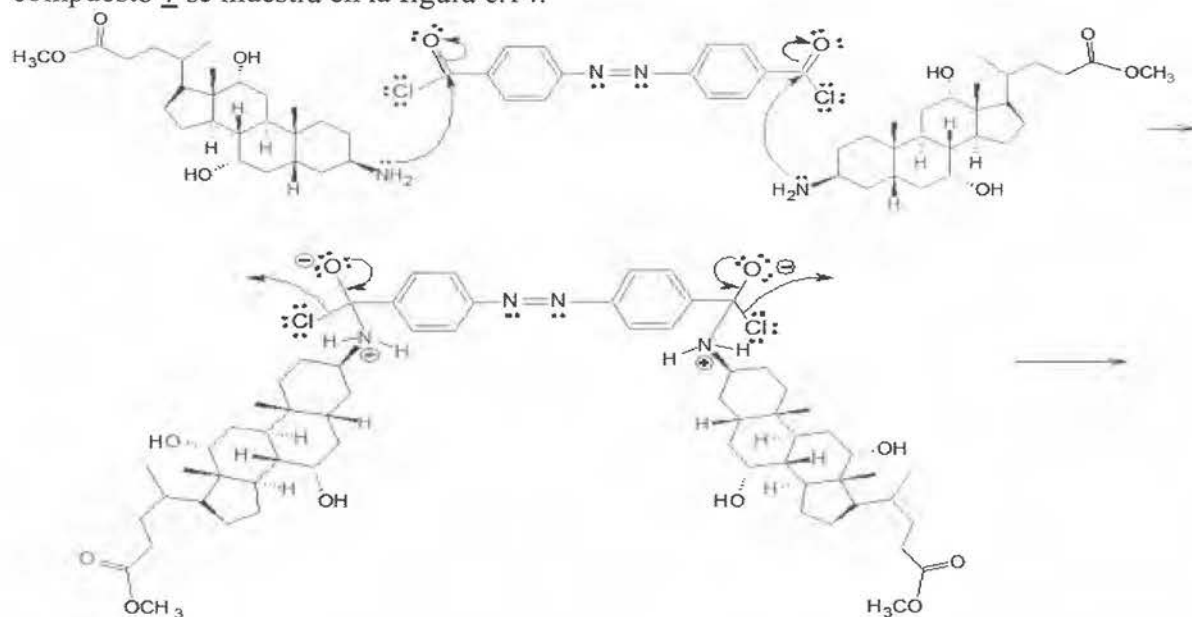


Figura c.14. Mecanismo de adición-eliminación en el grupo acilo sobre el compuesto **3** con el compuesto **6** (continua) ⁶⁷.

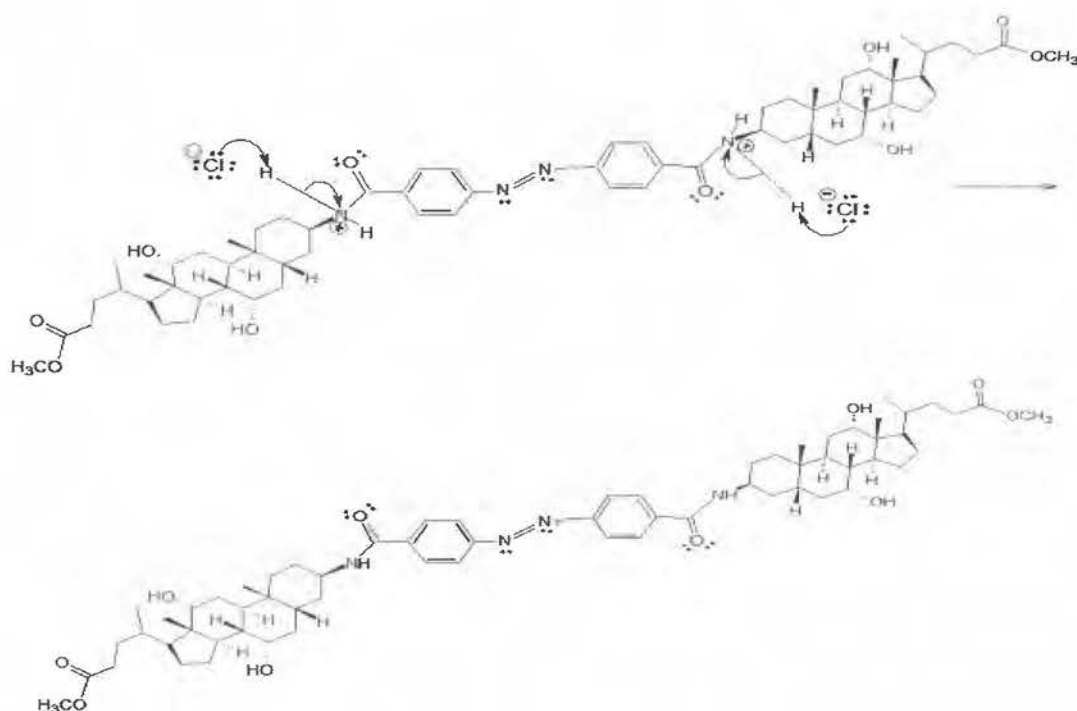


Figura c.14. Mecanismo de adición-eliminación en el grupo acilo sobre el compuesto **3** con el compuesto **6**⁶⁷.

C.5. Hidrólisis del compuesto **7**.

El último paso es la obtención del dímero mixto en su forma ácida (compuesto **8**) mediante un proceso de hidrólisis básica⁶⁷. La reacción realizada se muestra en la figura c.15.

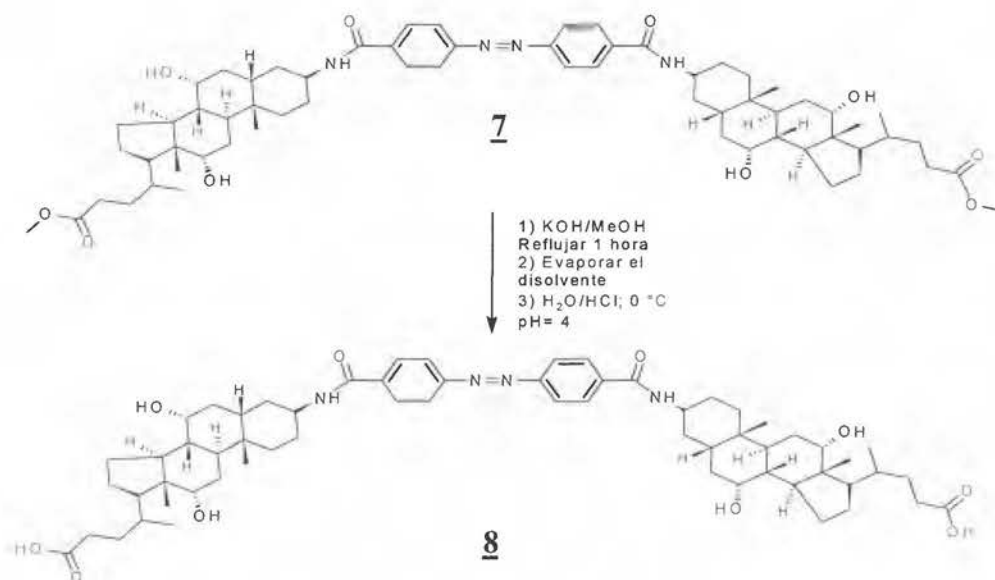


Figura c.15. Síntesis del compuesto **8**^{105,106}.

El mecanismo de la hidrólisis básica del compuesto **7** para la obtención del compuesto **8** se muestra en la figura c.16.

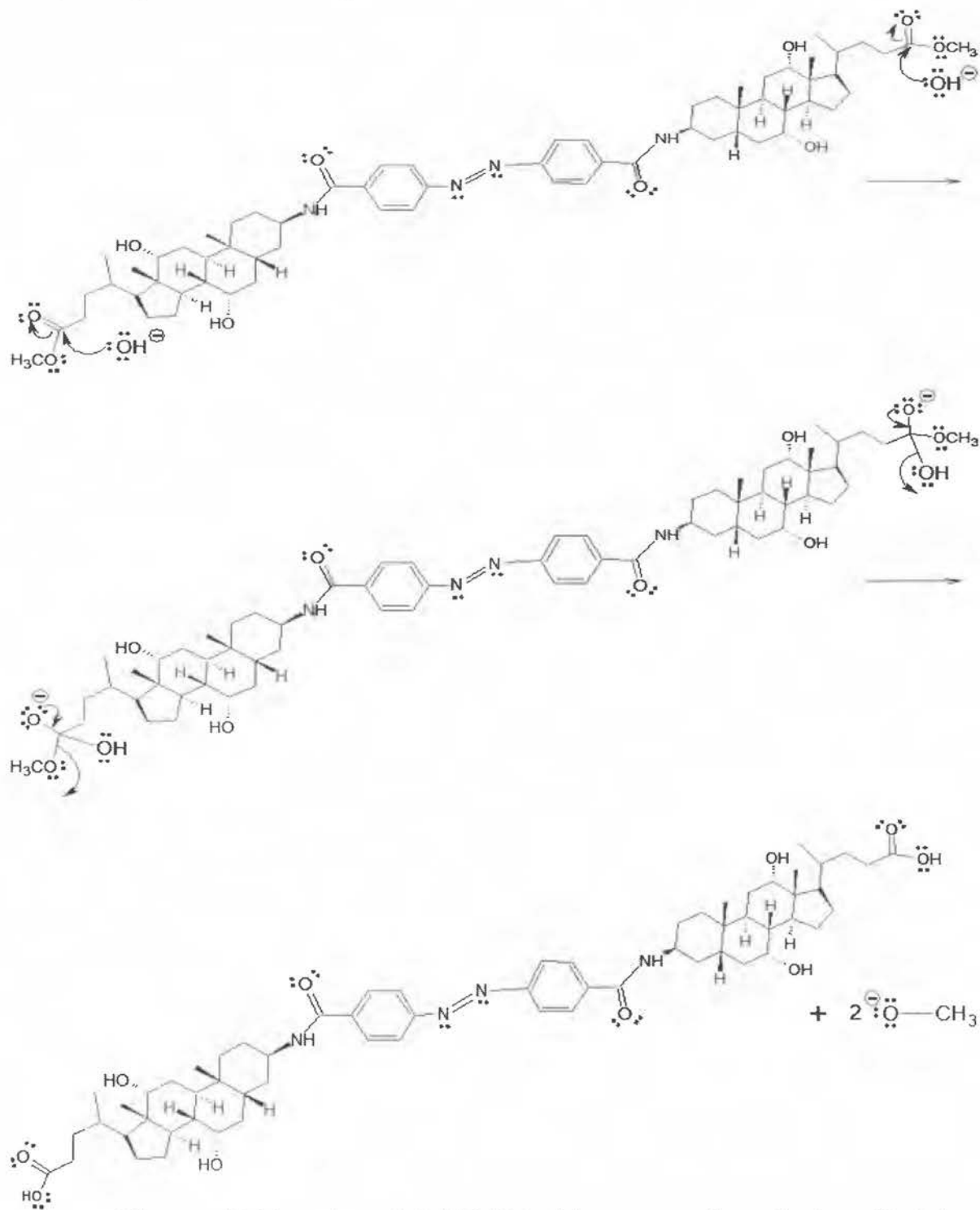


Figura c.16. Mecanismo de la hidrólisis del compuesto **7** para la obtención del compuesto **8** ⁶⁷.

ANEXO D

D. ESPECTROS DE COMPUESTOS DE PARTIDA Y COMPUESTOS SINTETIZADOS.

D.1. Espectros de infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR) de los compuestos de partida y los compuestos sintetizados.

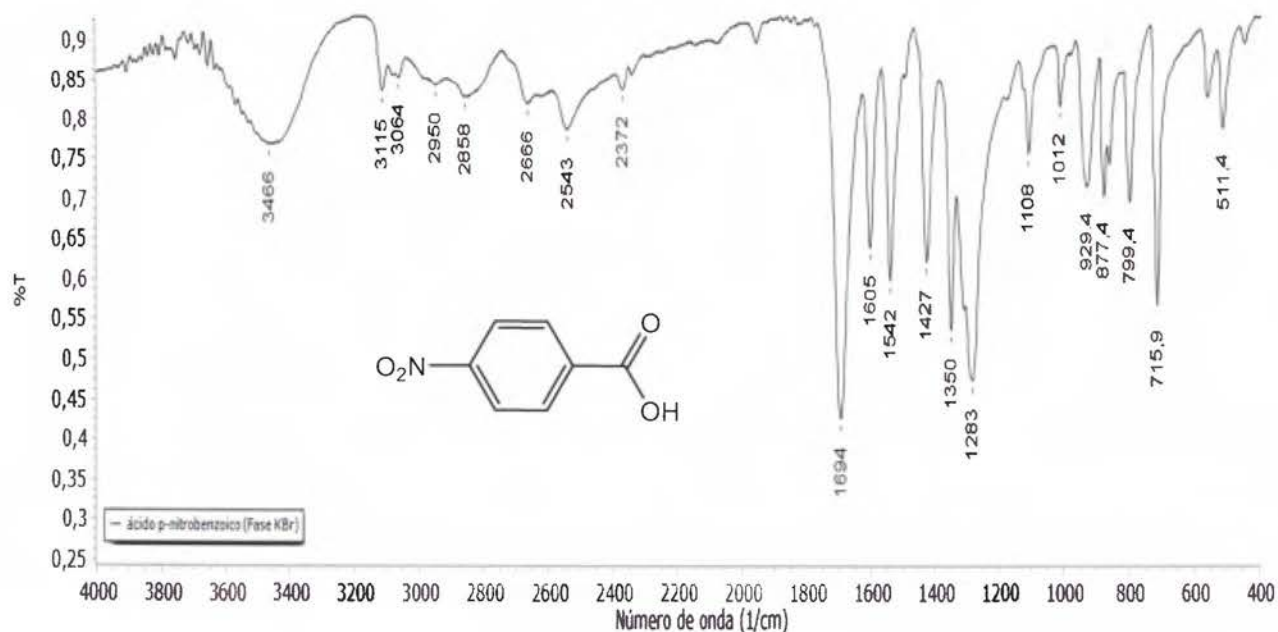


Figura d.1. Espectro de FT-IR del compuesto 1 (ácido 4-nitrobenzoico).

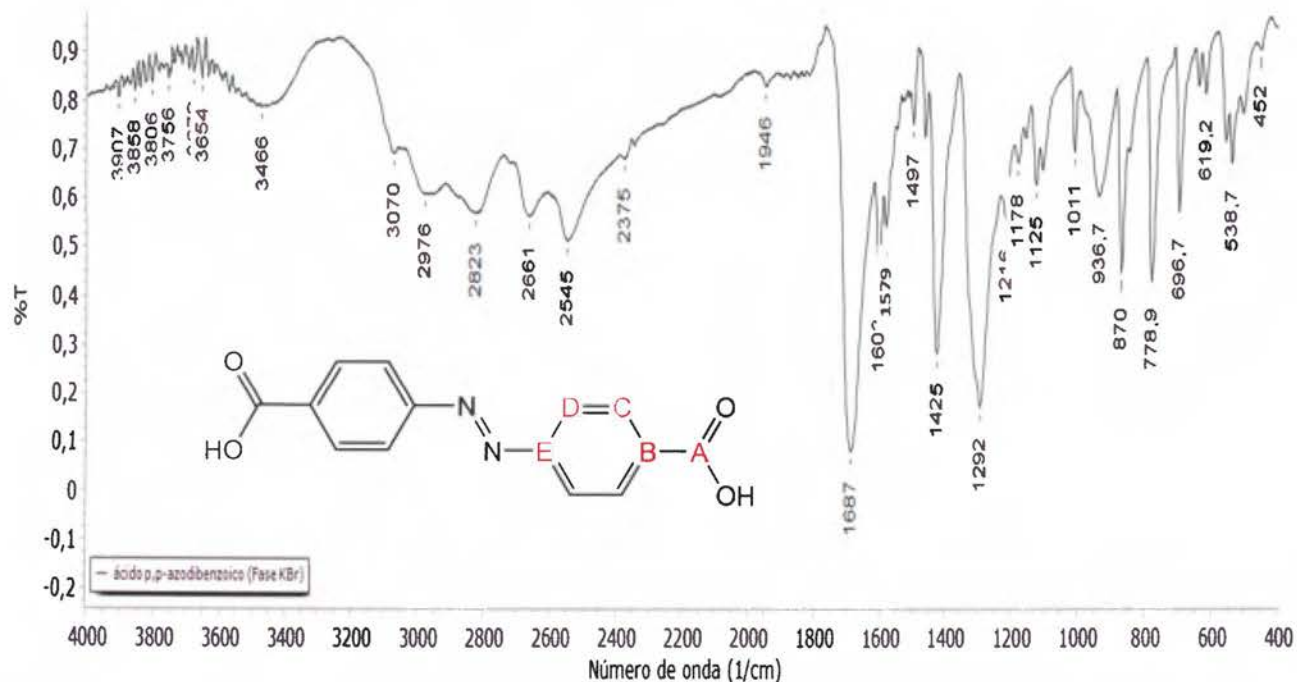


Figura d.2. Espectro de FT-IR del compuesto 2 (ácido 4,4'-(diazen-1,2-diil)dibenzoico).

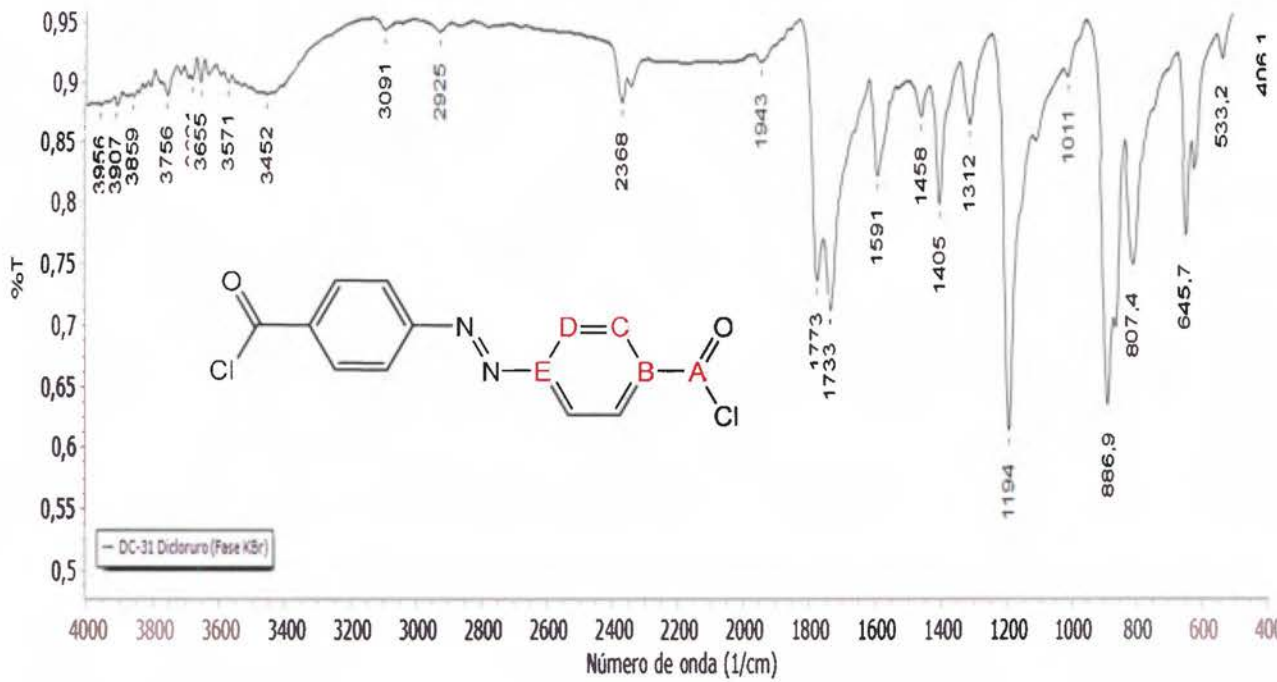


Figura d.3. Espectro de FT-IR del compuesto **3** (4,4'-bi(chlorocarbonyl)azobenceno).

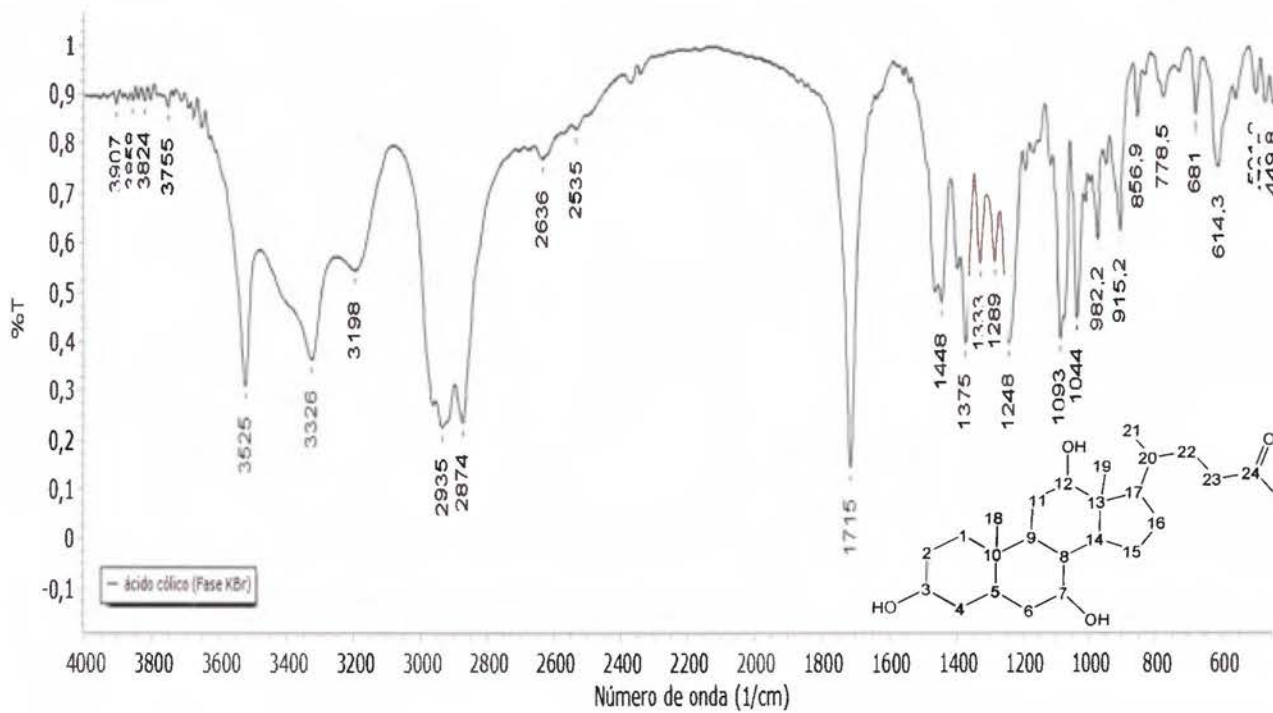


Figura d.4. Espectro de FT-IR del compuesto **4** (ácido cólico o ácido 3, 7, 12 α -trihidroxi-5 β -colan-24-oico).

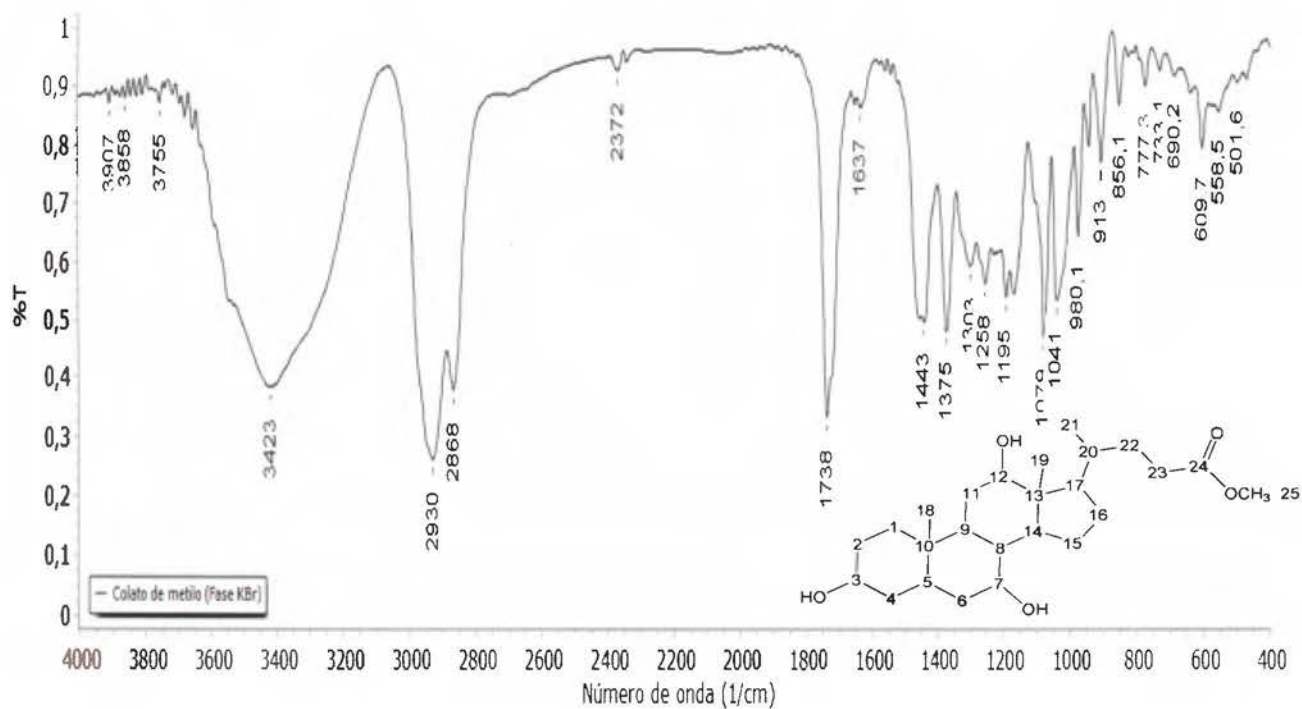


Figura d.5. Espectro de FT-IR del compuesto **5** (ácido 3, 7, 12 α -trihidroxi-5 β -colan-24-oico metil éster).

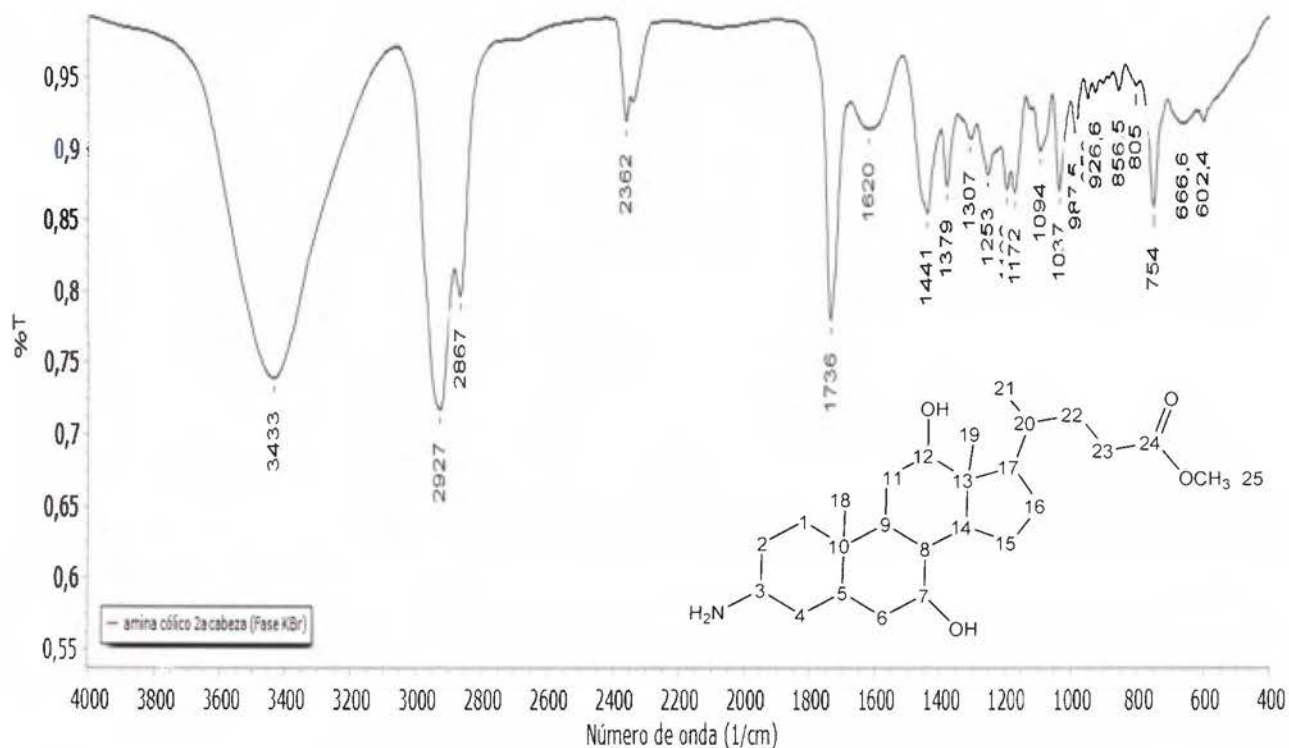


Figura d.6. Espectro de FT-IR del compuesto **6** (ácido 3 β -amino-7, 12 α -dihidroxi-5 β -colan-24-oico metil éster).

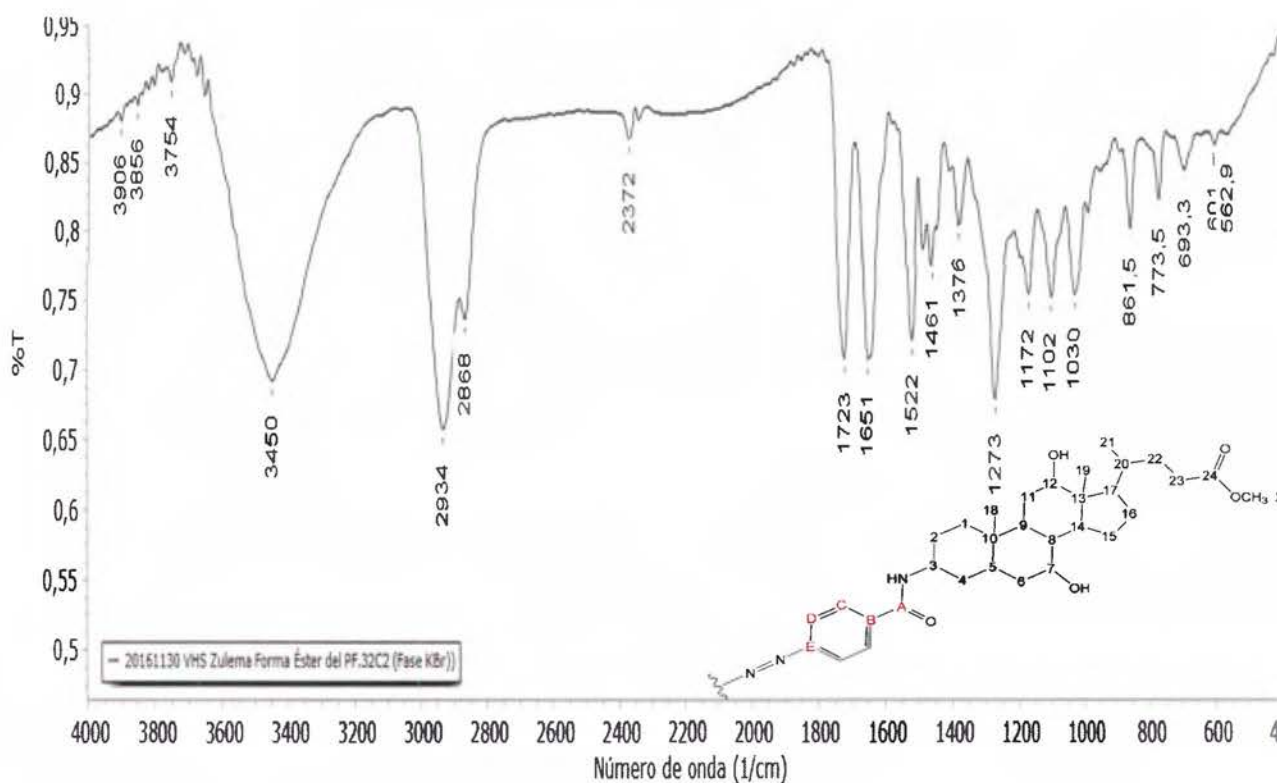


Figura d.7. Espectro de FT-IR del compuesto 7 (forma éster del dímero mixto).

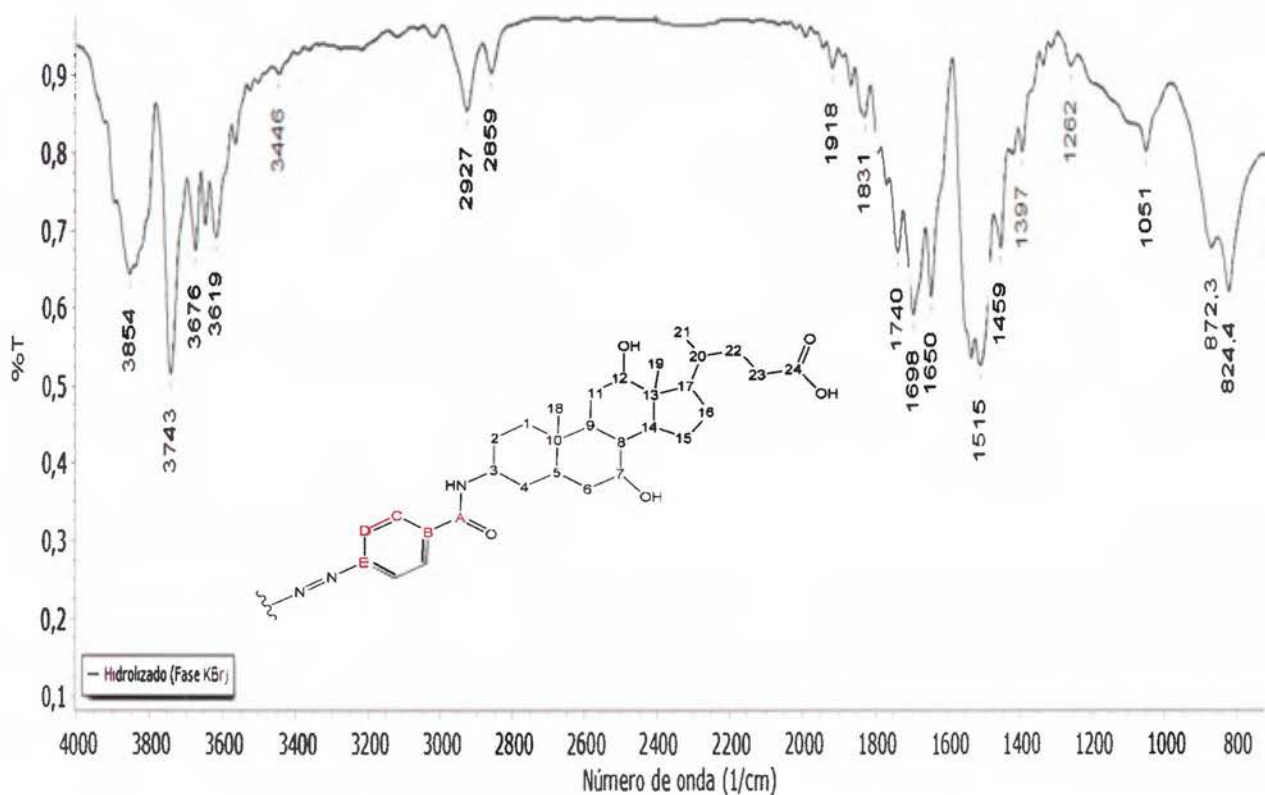


Figura d.8. Espectro de FT-IR del compuesto 8 (forma hidrolizada del dímero mixto).

D.2. Espectros de una y dos dimensiones (^1H -RMN, ^{13}C -RMN, COSY, HSQC y HMBC) de los compuestos de partida y los compuestos sintetizados.

APNIP8 Zulema Brenes.1.fid

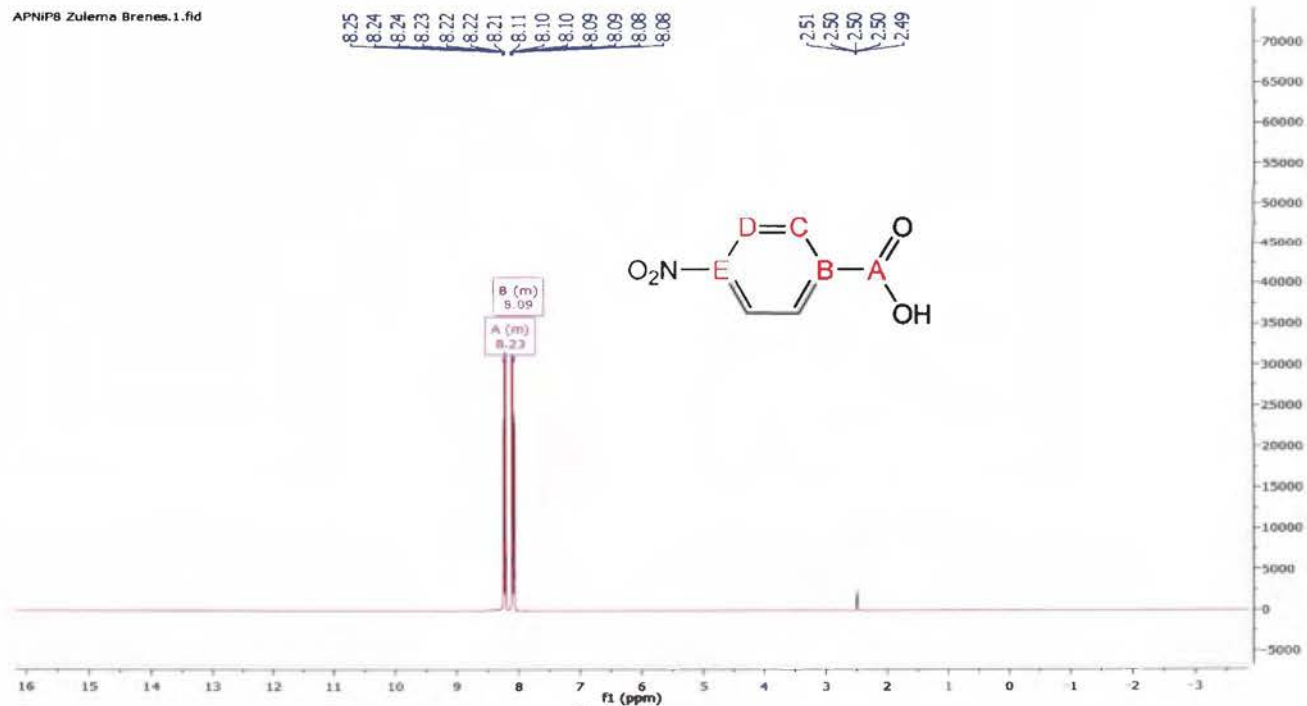


Figura d.9. Espectro ^1H -RMN del compuesto 1.

APNIP8 Zulema Brenes.2.fid

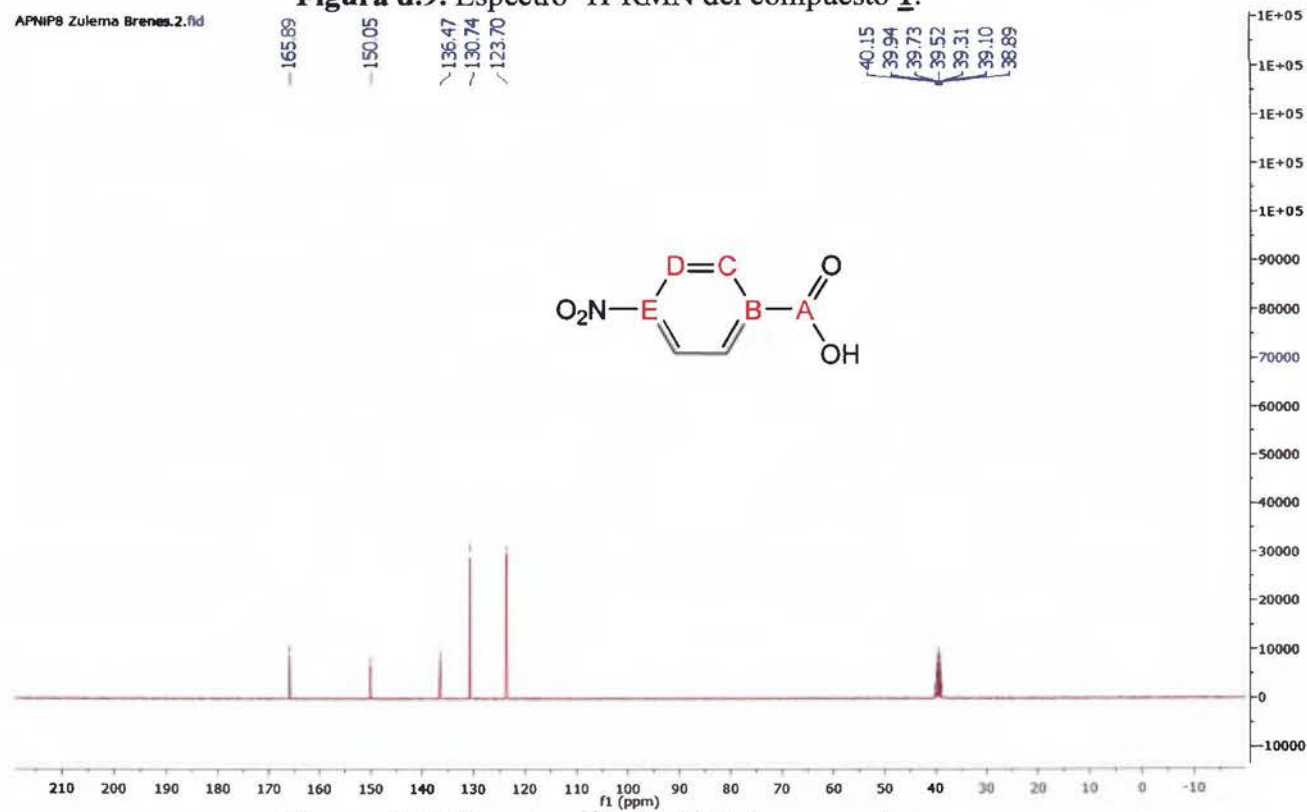


Figura d.10. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto 1.

DAP8 Zulema Brenes.1.fid

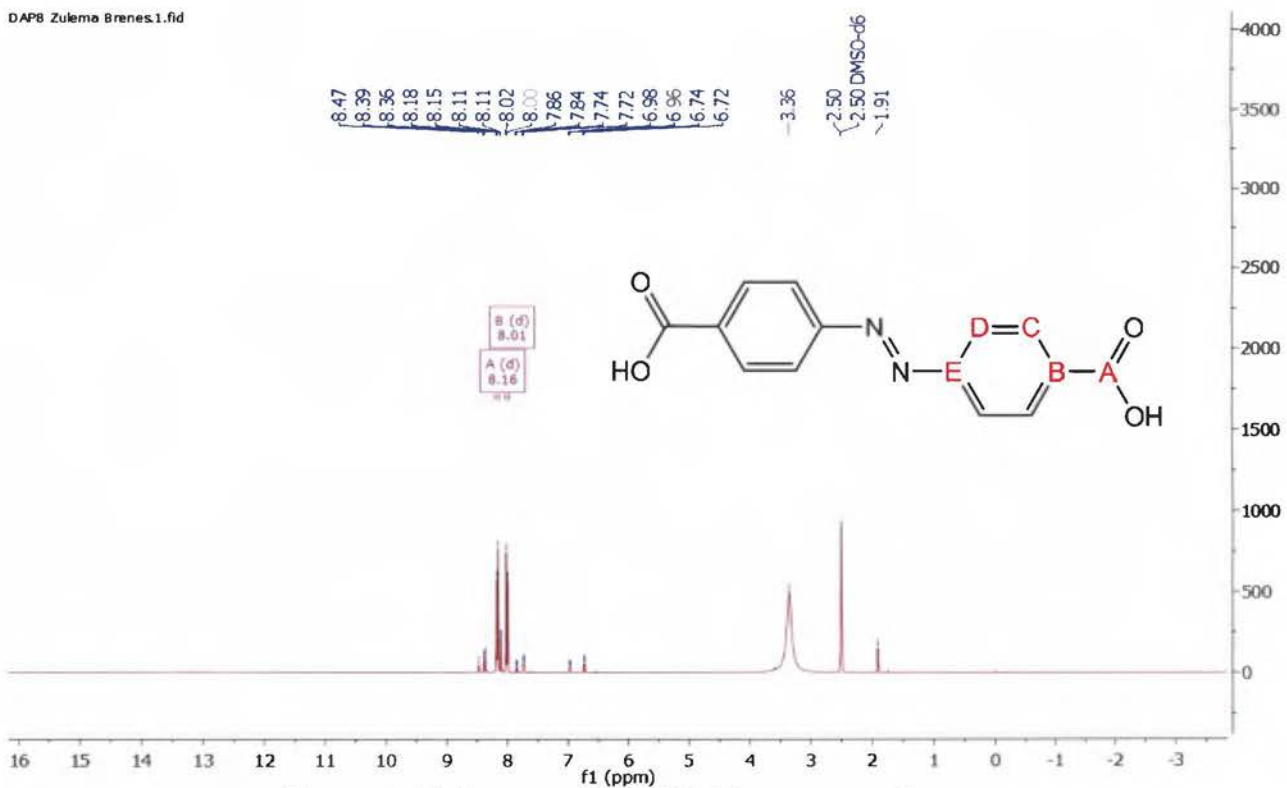


Figura d.11. Espectro ^1H -RMN del compuesto 2.

DAP8 Zulema Brenes.2.fid

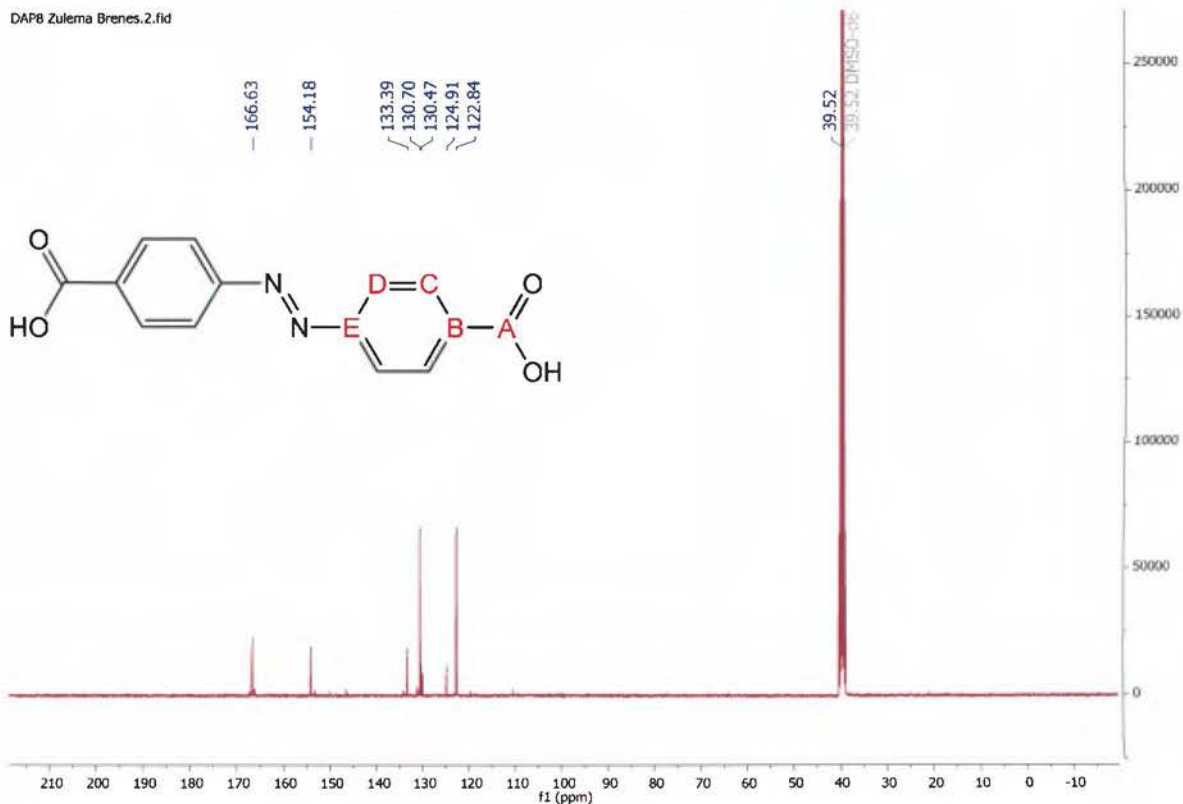


Figura d.12. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto 2.

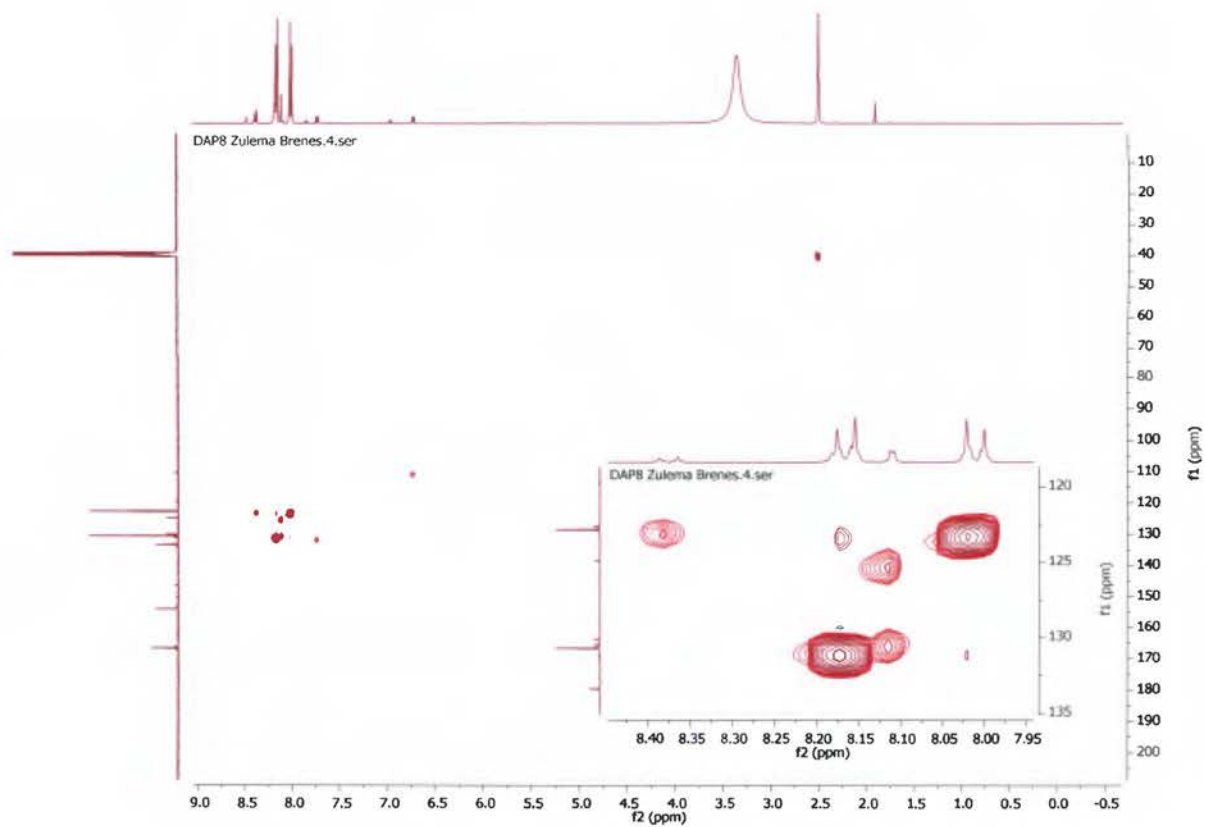


Figura d.13. Espectro HSQC del compuesto 2.

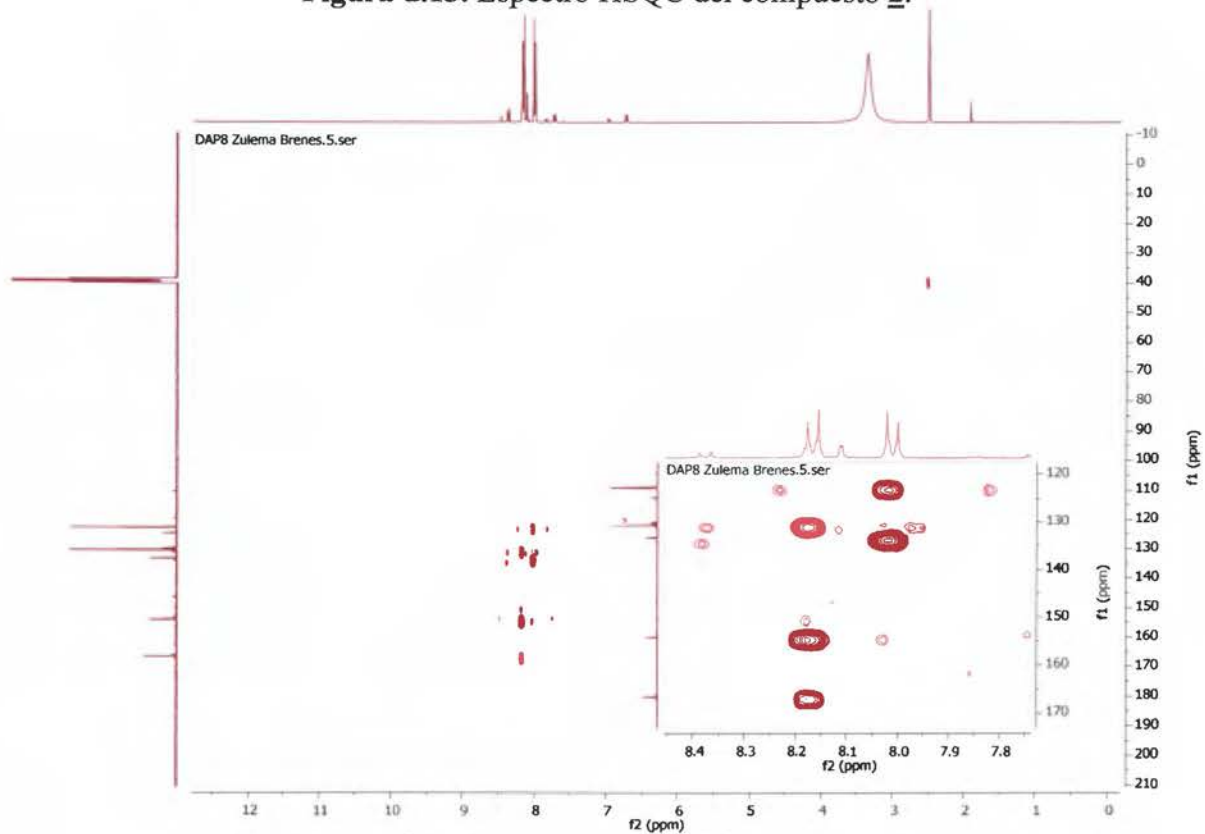
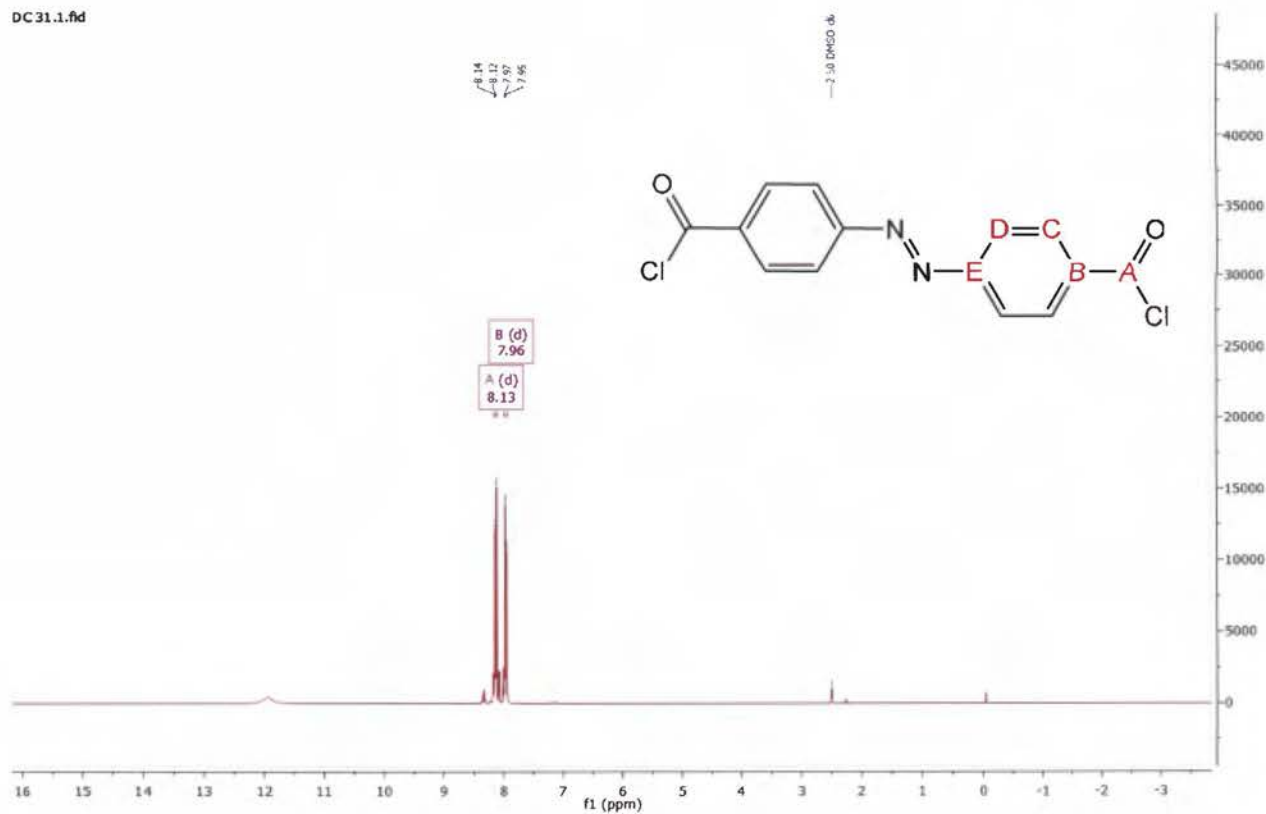
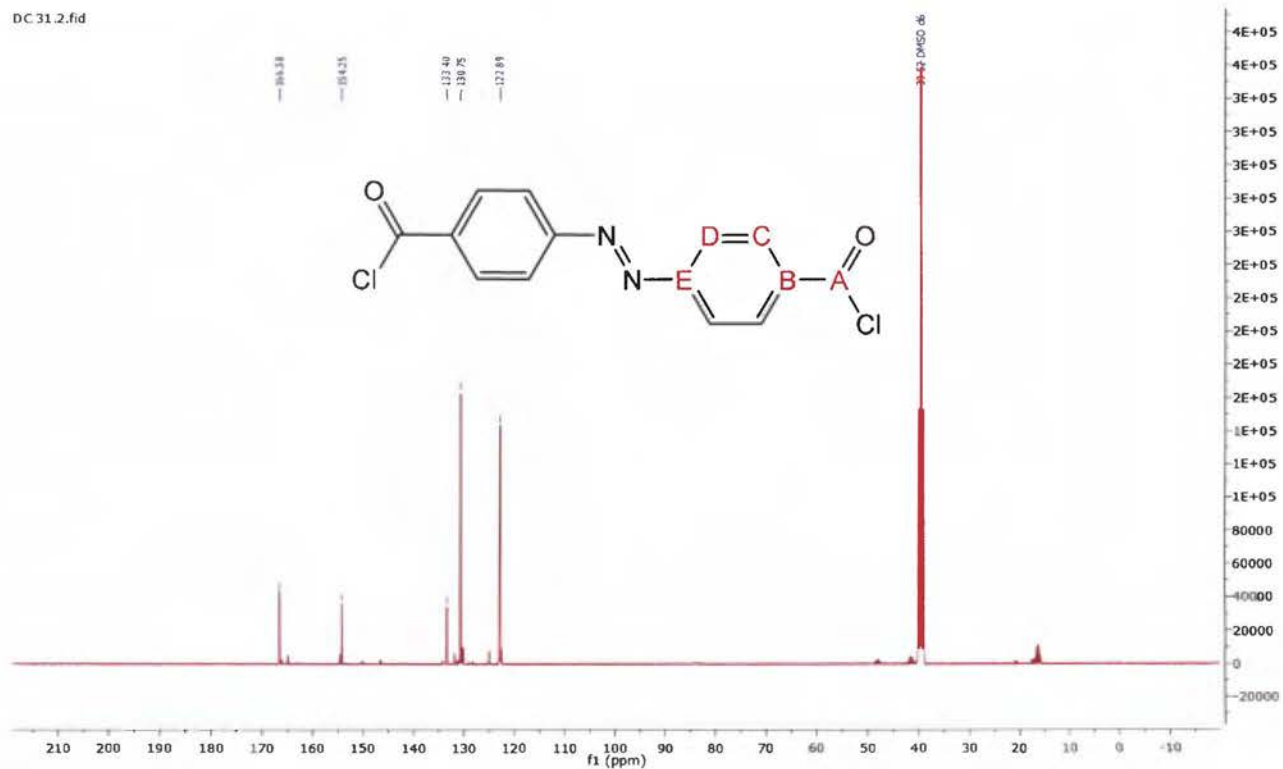


Figura d.14. Espectro HMBC del compuesto 2.

DC 31.1.fid

Figura d.15. Espectro ^1H -RMN del compuesto **3**.

DC 31.2.fid

Figura d.16. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto **3**.

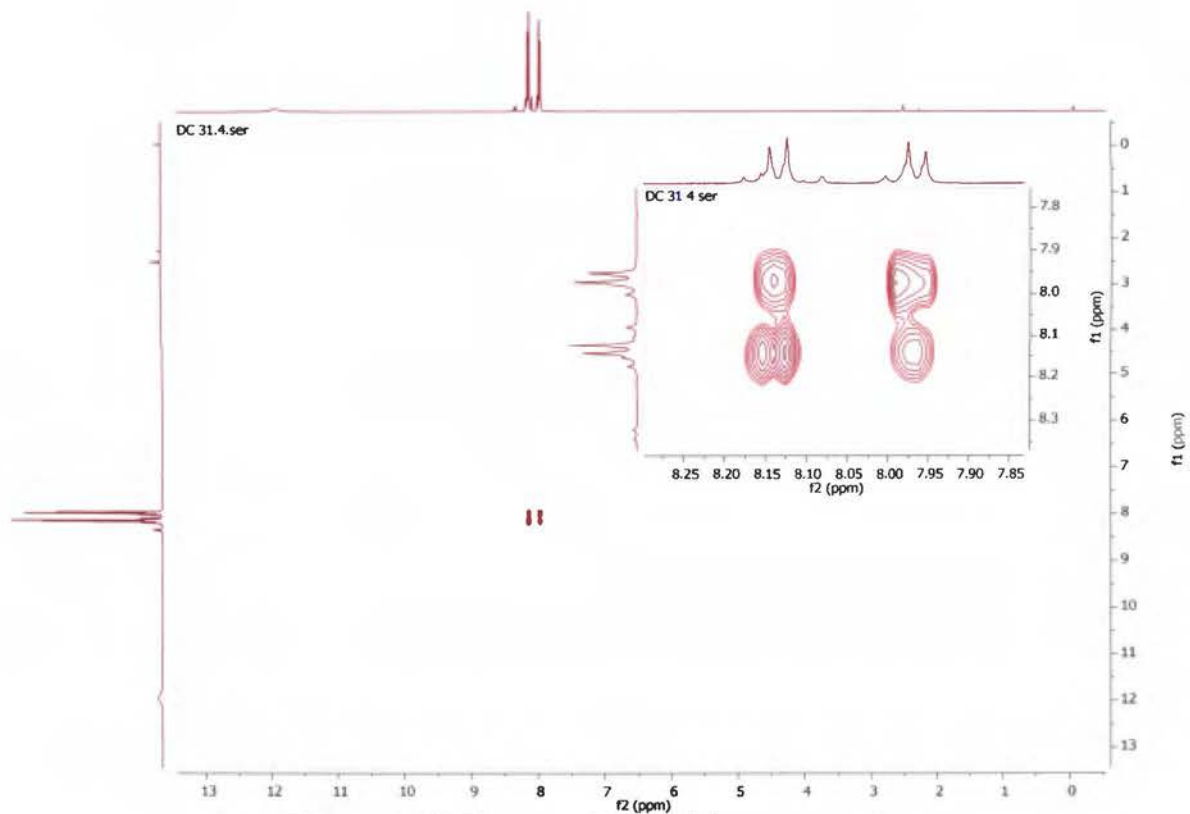


Figura d.17. Espectro COSY del compuesto 3.

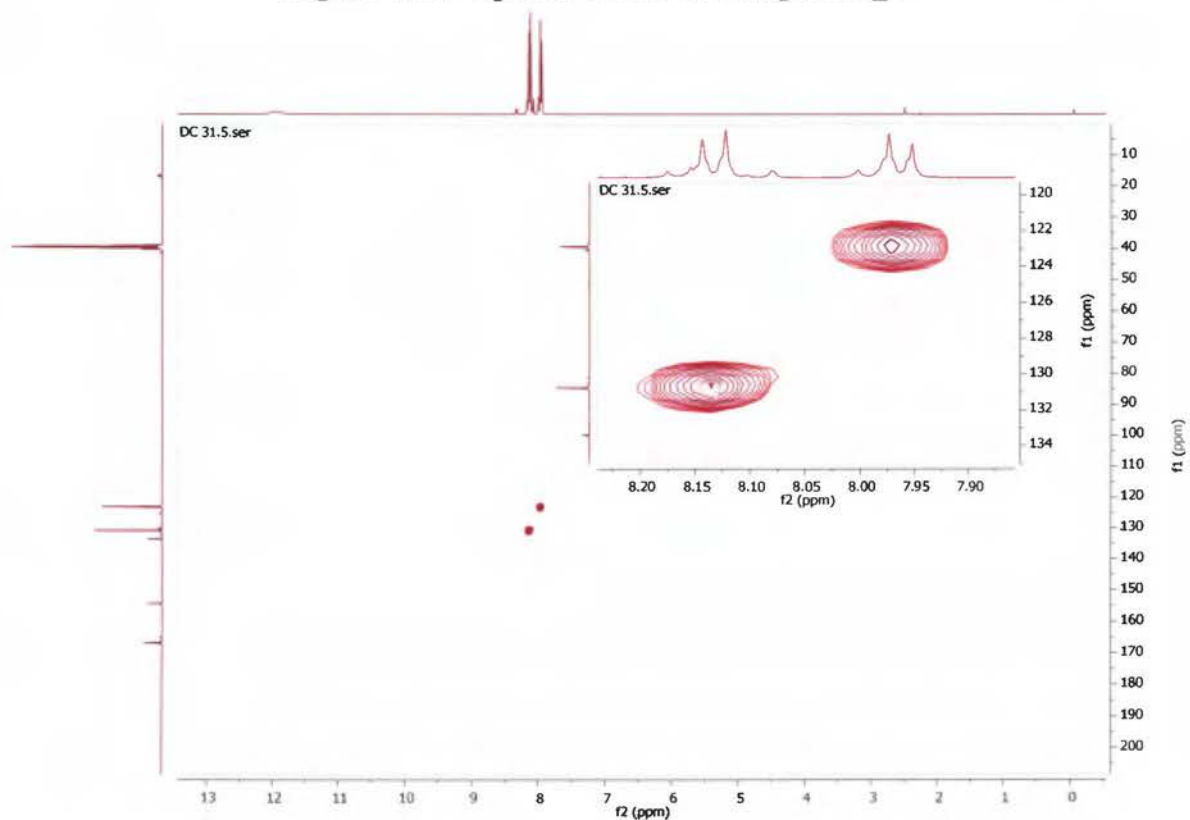


Figura d.18. Espectro HSQC del compuesto 3.

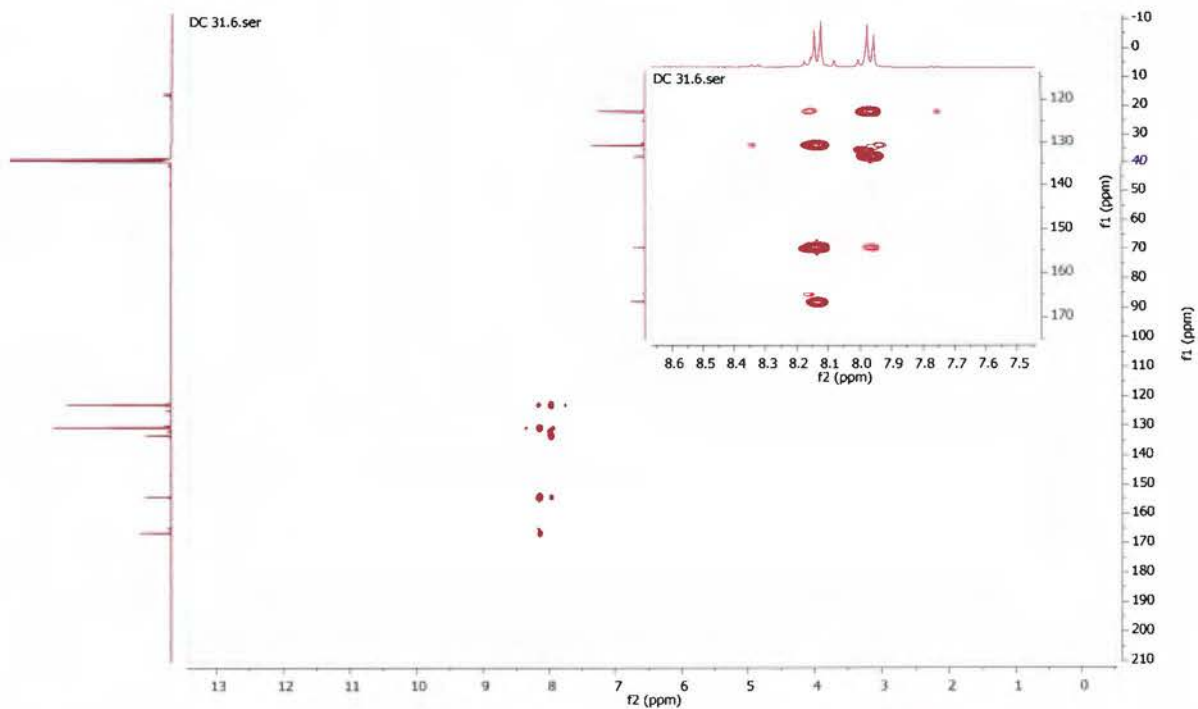


Figura d.19. Espectro HMBC del compuesto 3.

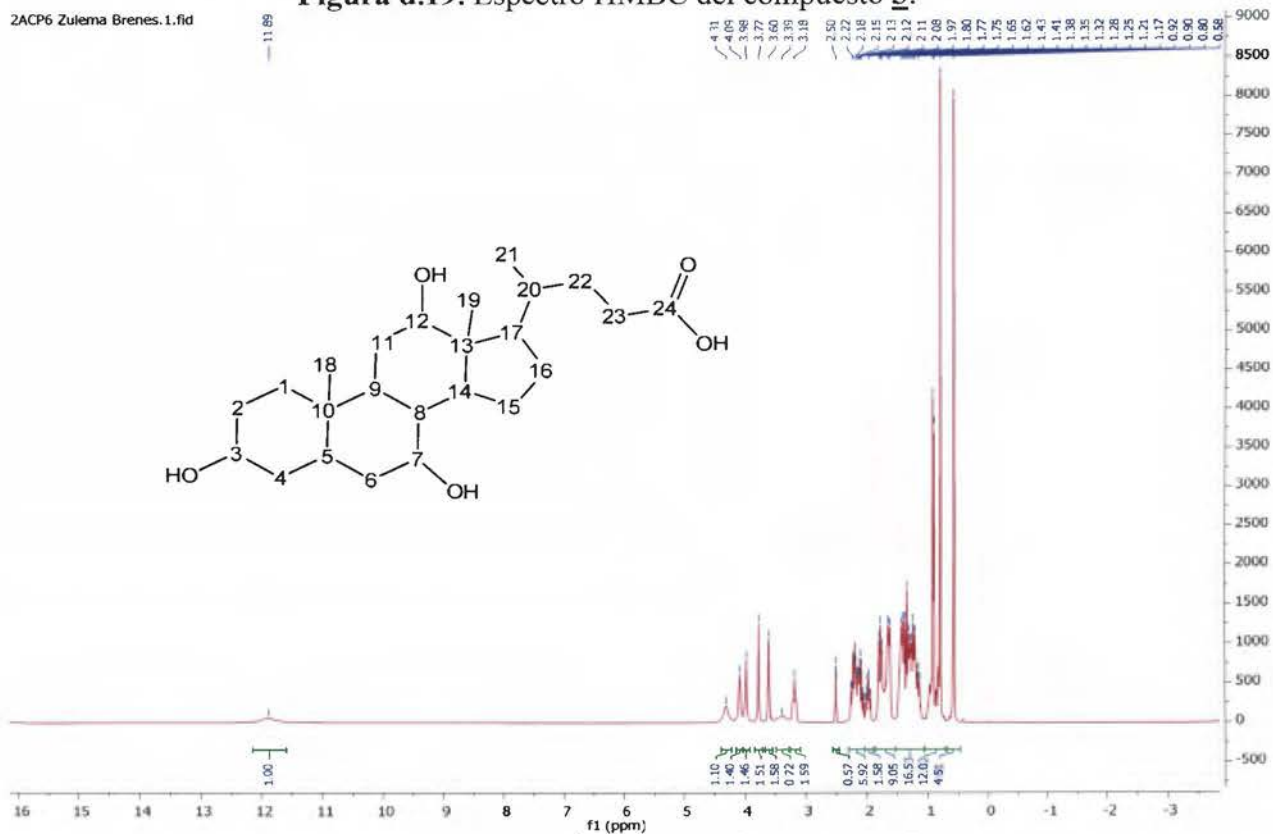


Figura d.20. Espectro ^1H -RMN del compuesto 4.

2ACP6 Zulema Brenes.2.fid

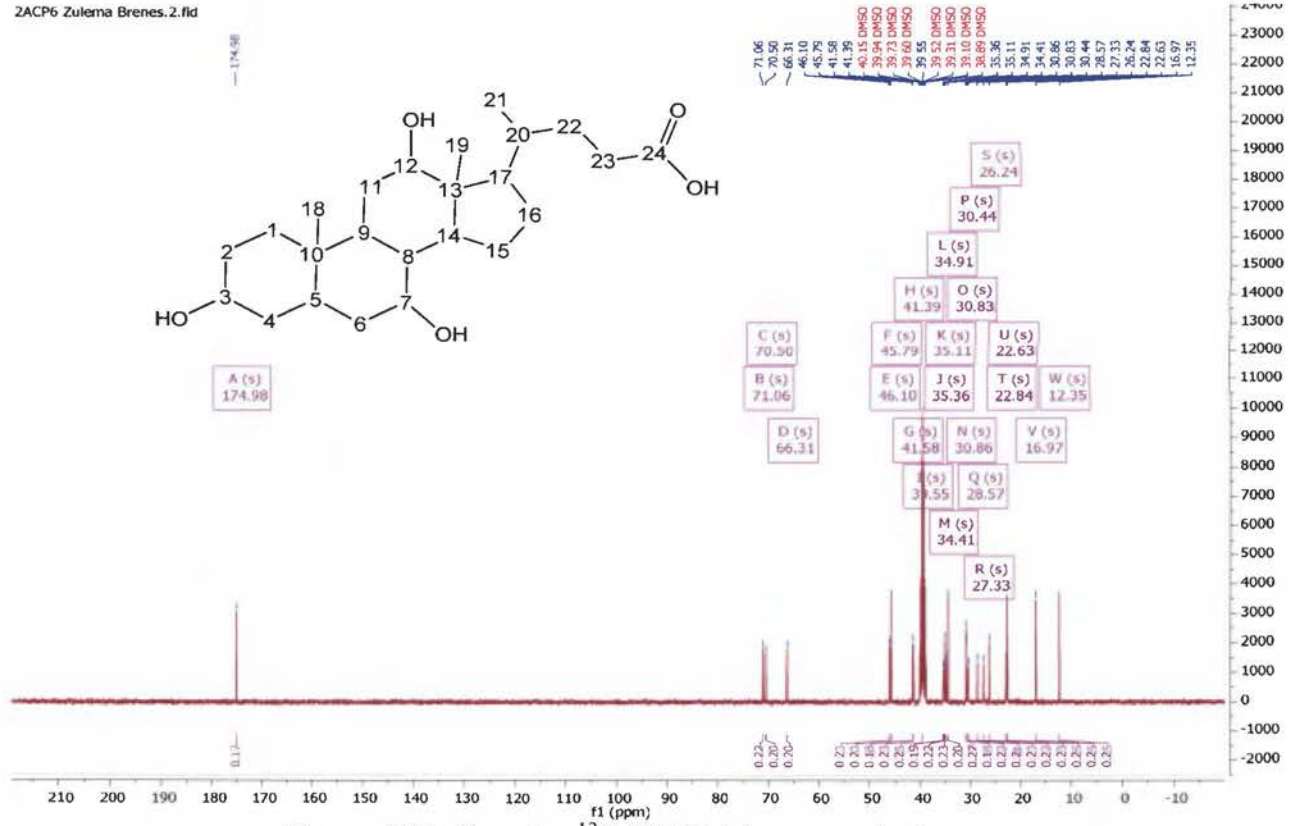


Figura d.21. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto 4.

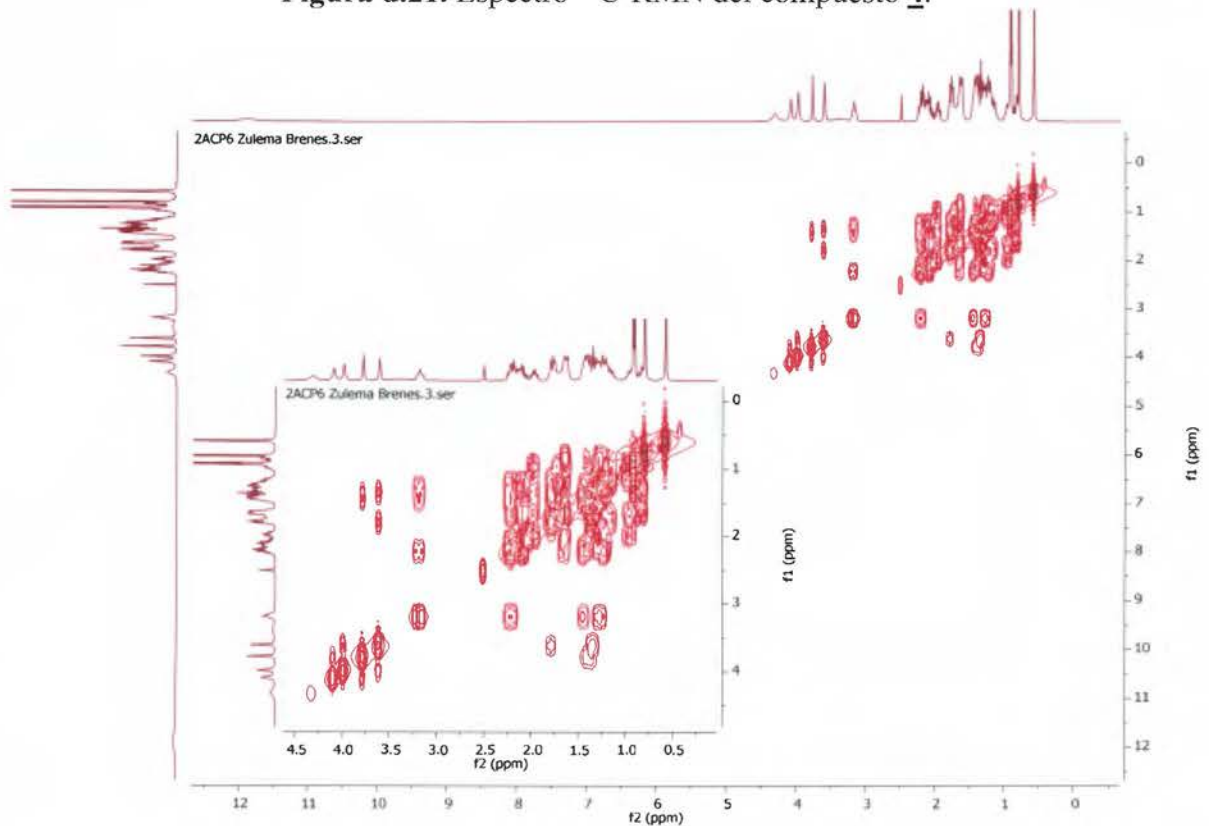


Figura d.22. Espectro COSY del compuesto 4.

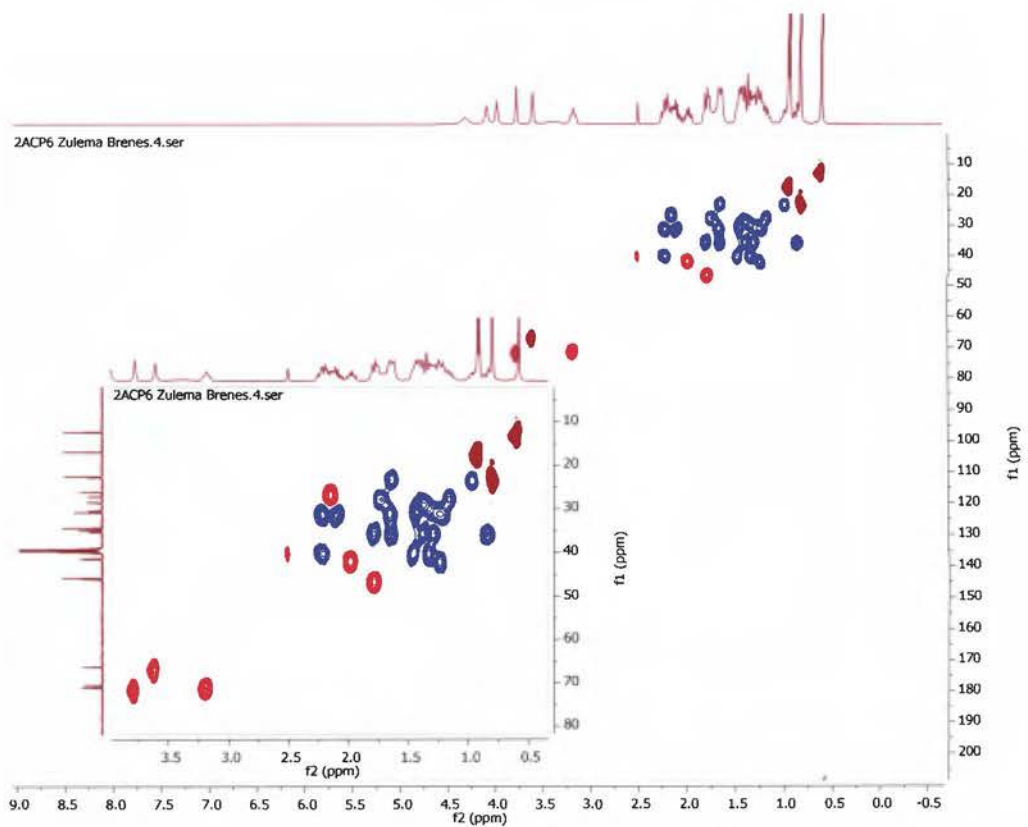


Figura d.23. Espectro HSQC del compuesto 4.

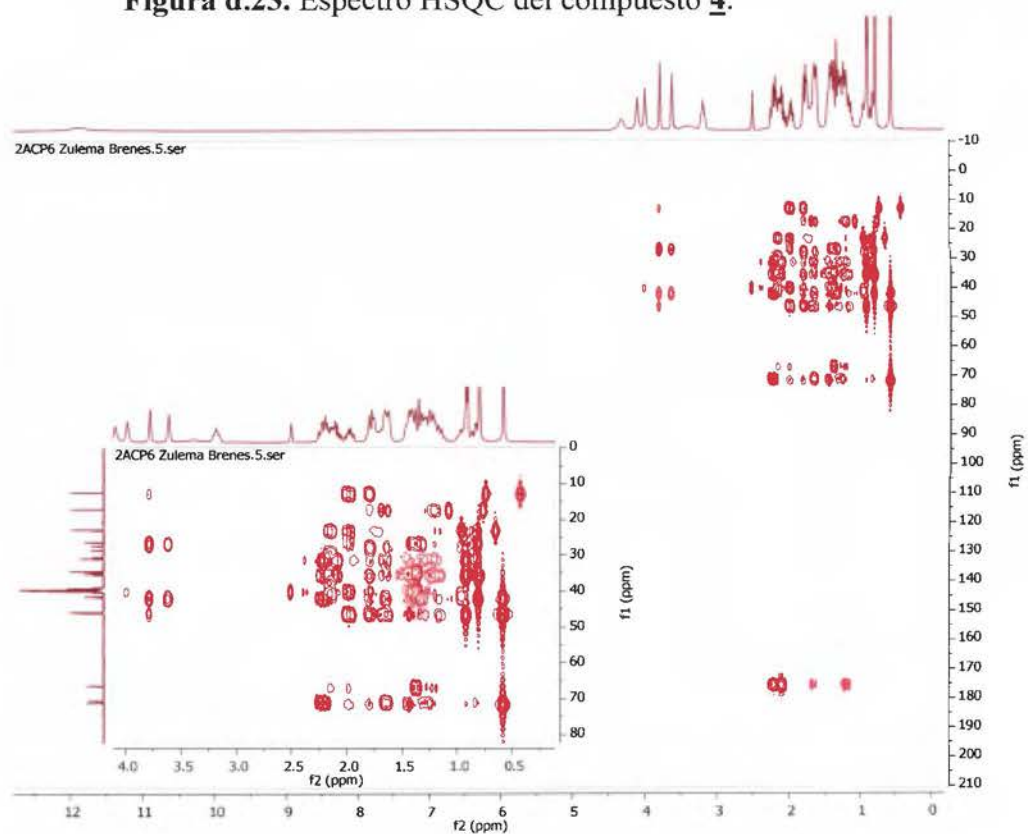
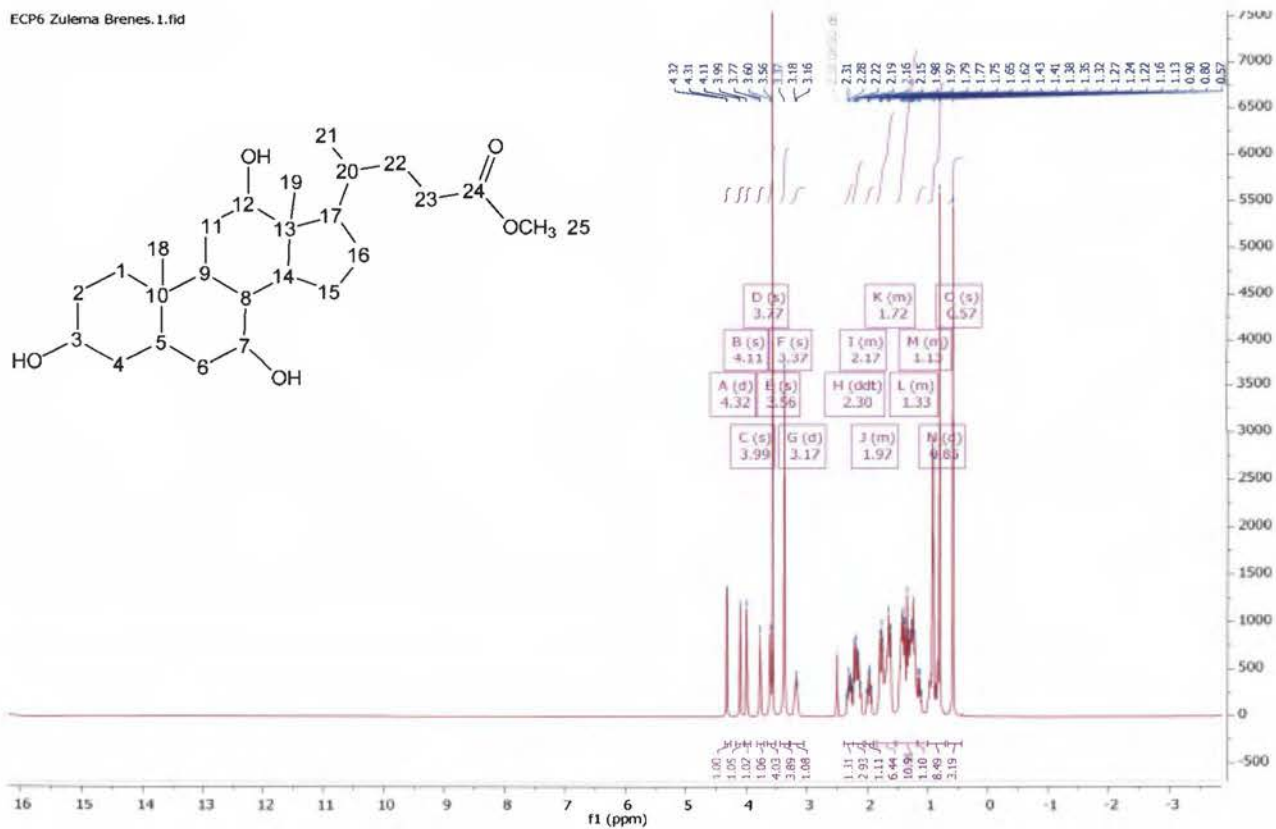
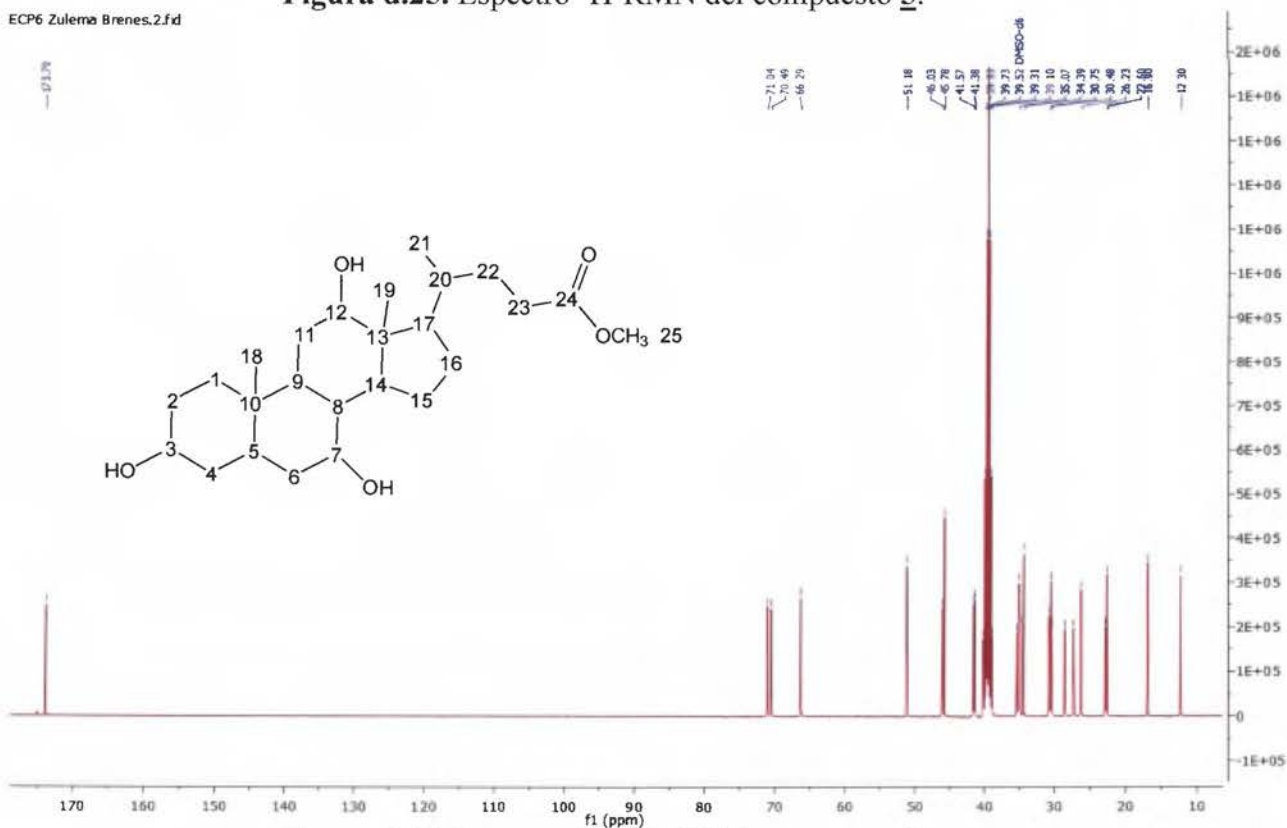


Figura d.24. Espectro HMBC del compuesto 4.

Figura d.25. Espectro ^1H -RMN del compuesto **5**.Figura d.26. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto **5**.

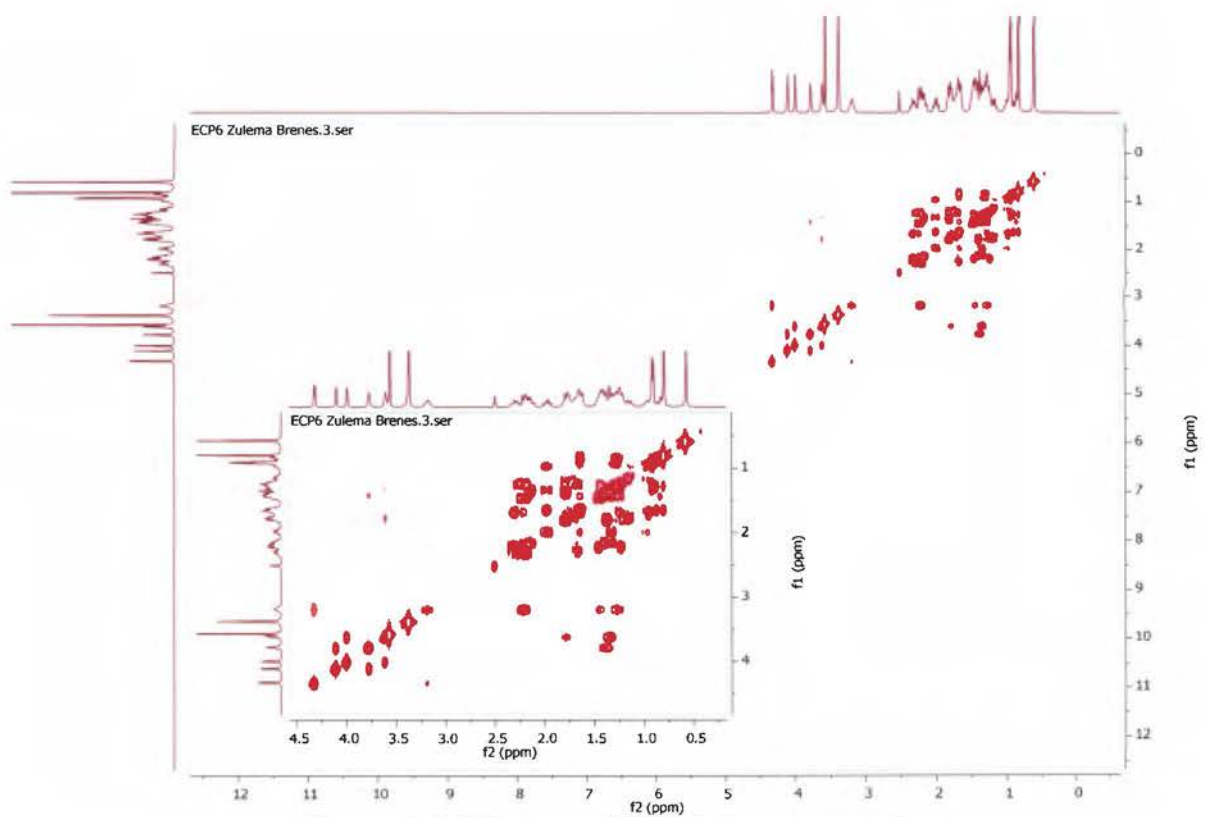


Figura d.27. Espectro COSY del compuesto 5.

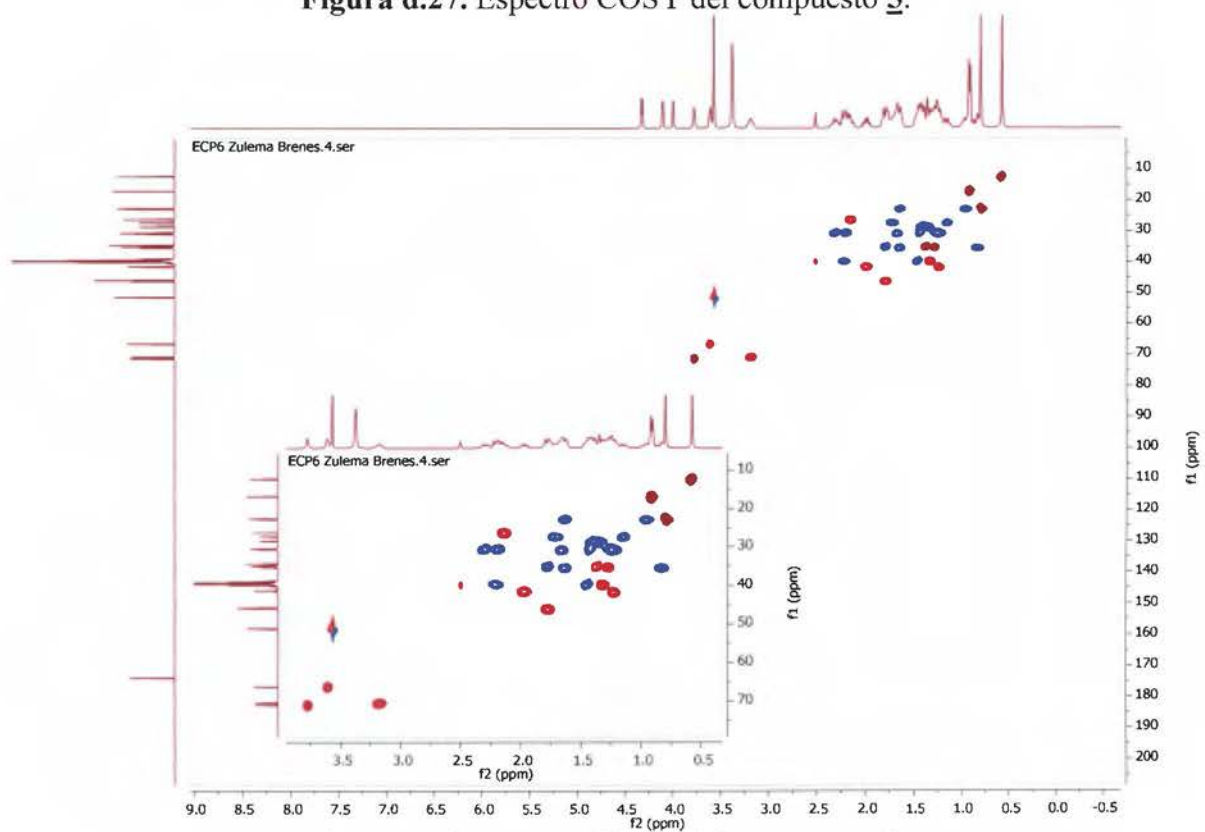


Figura d.28 Espectro HSQC del compuesto 5.

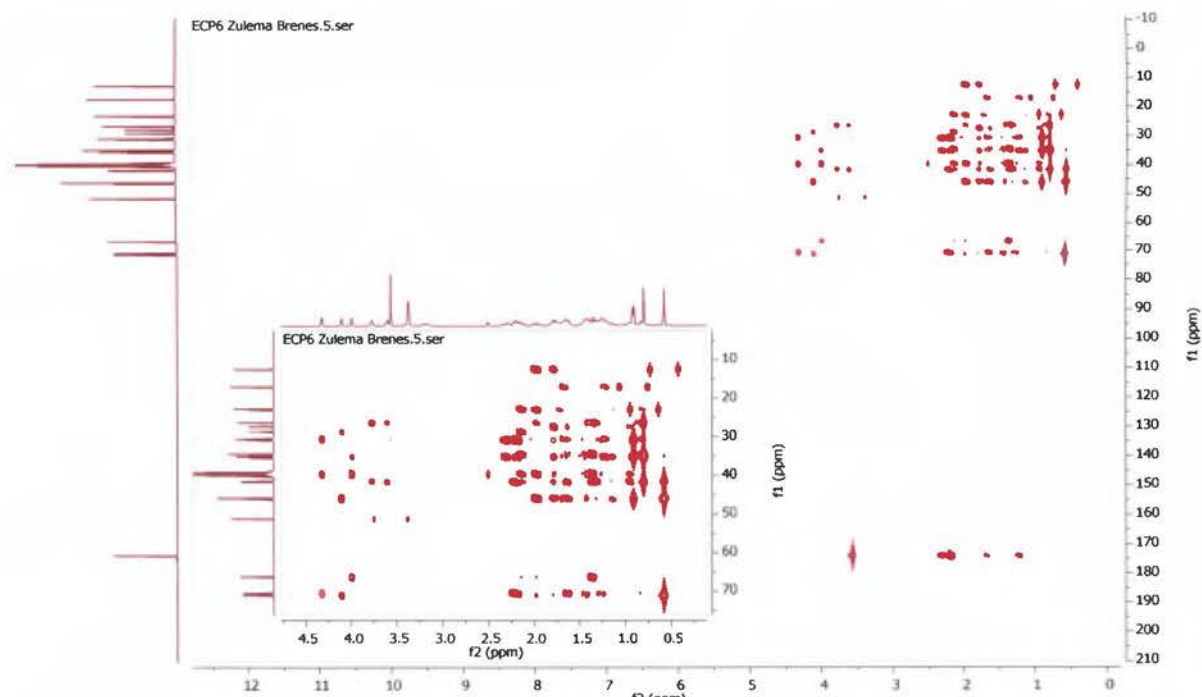


Figura d.29. Espectro HMBC del compuesto **5**.

AmP6 Zulema Brenes.1.fid

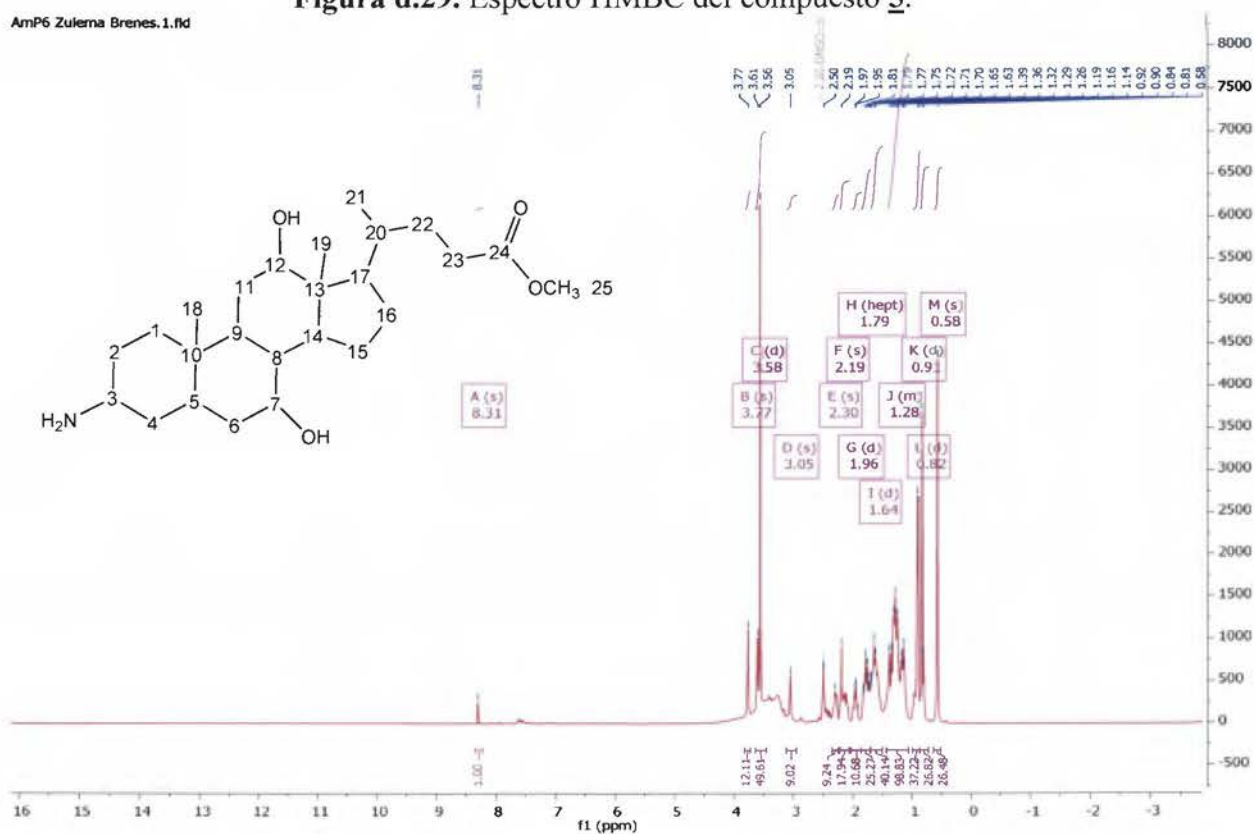


Figura d.30. Espectro ^1H -RMN del compuesto **6**.

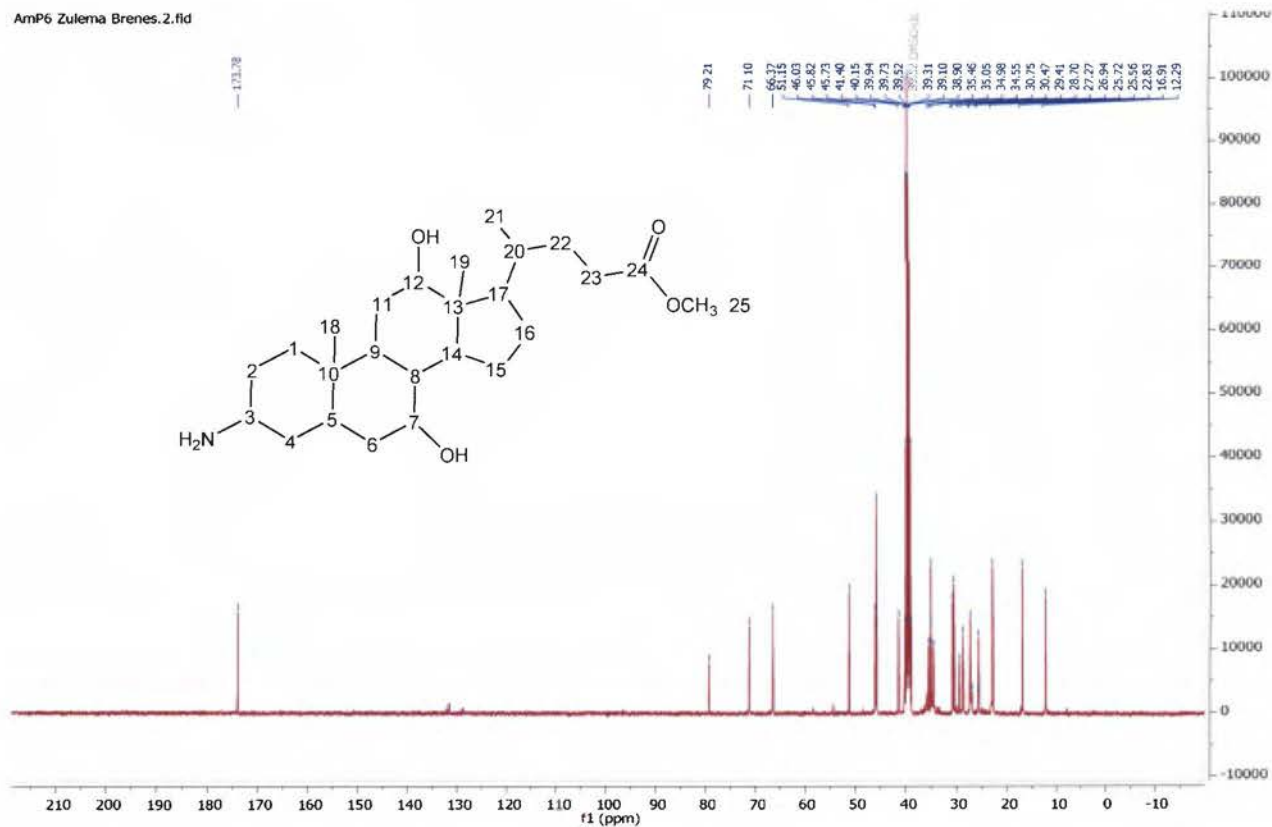


Figura d.31. Espectro ^{13}C -RMN del compuesto **6**.

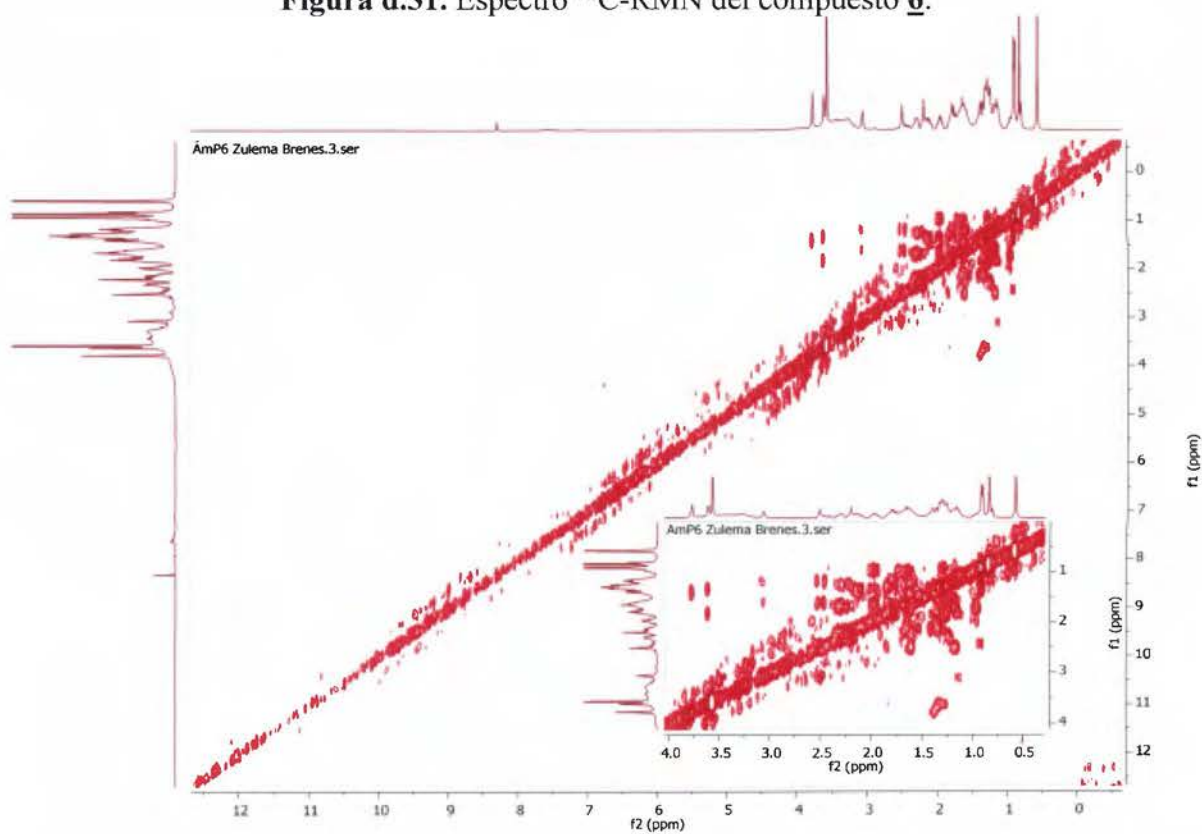


Figura d.32. Espectro COSY del compuesto **6**.

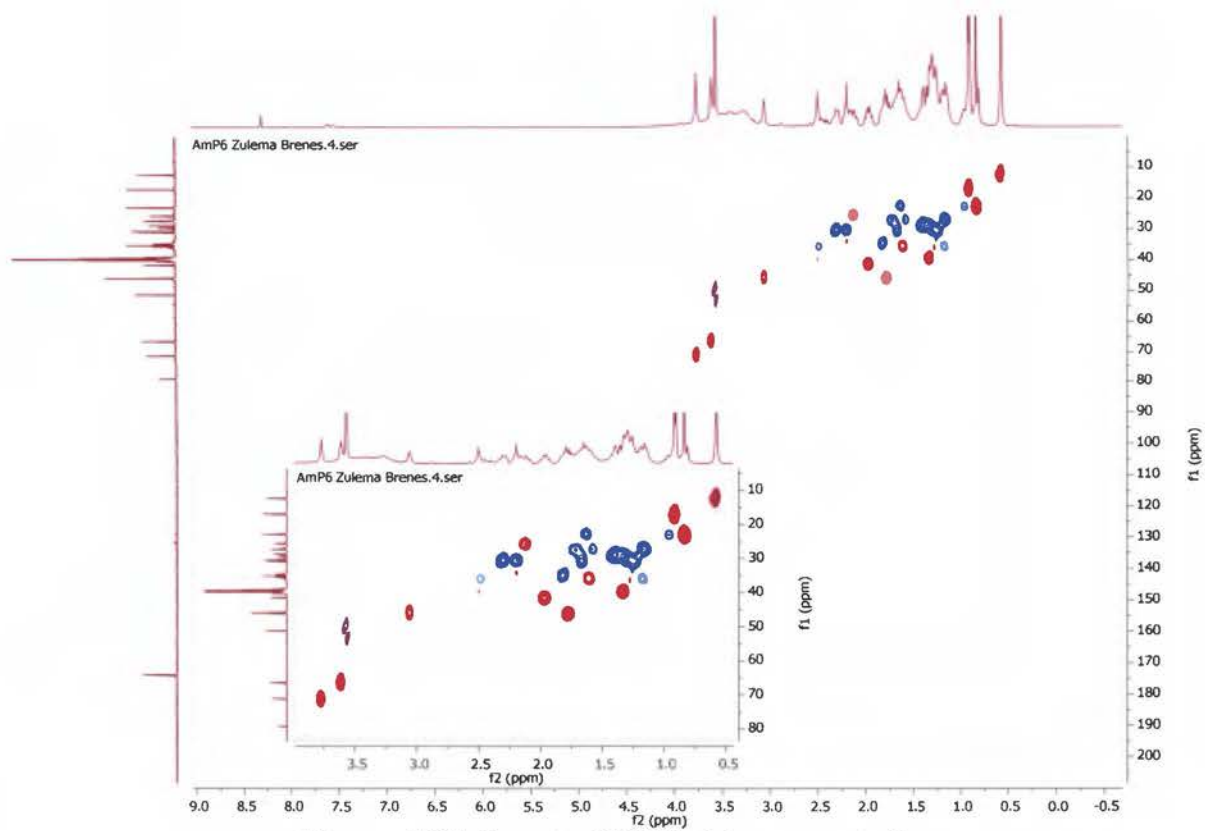


Figura d.33. Espectro HSQC del compuesto 6.

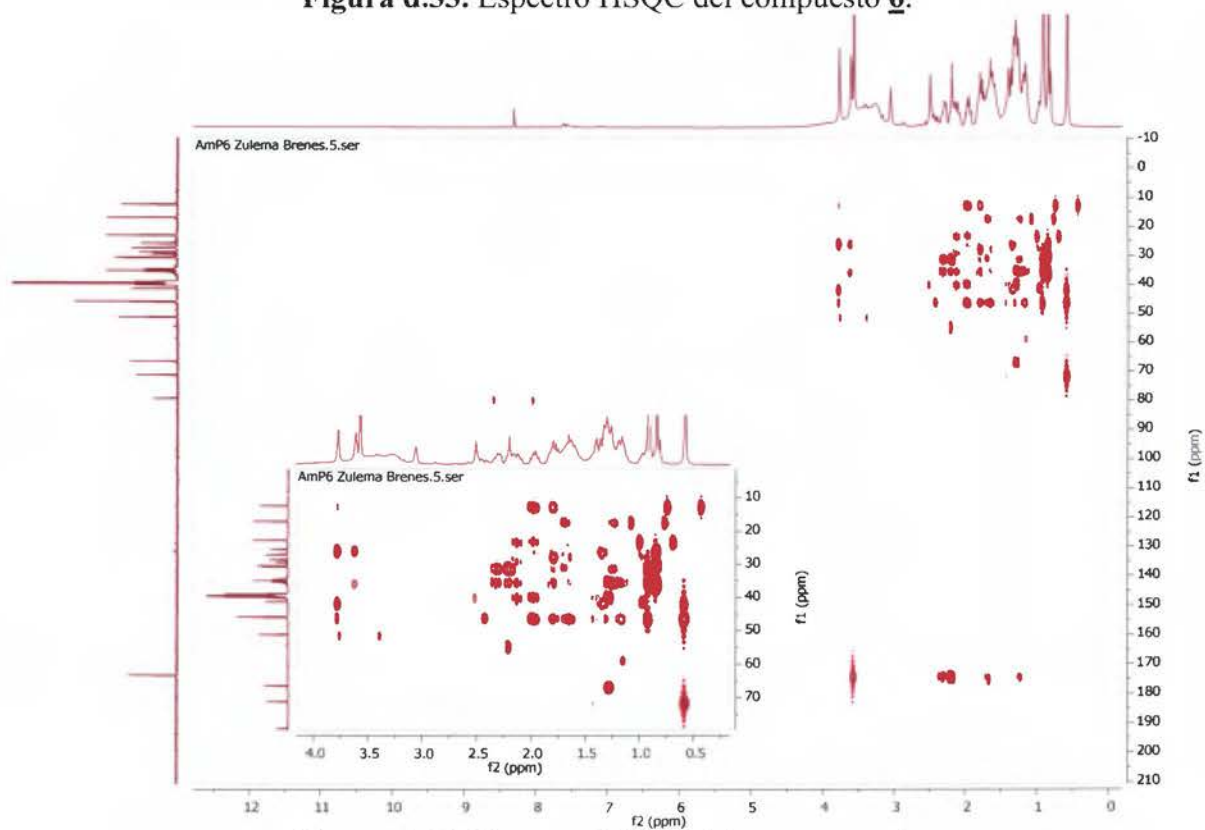


Figura d.34. Espectro HMBC del compuesto 6.

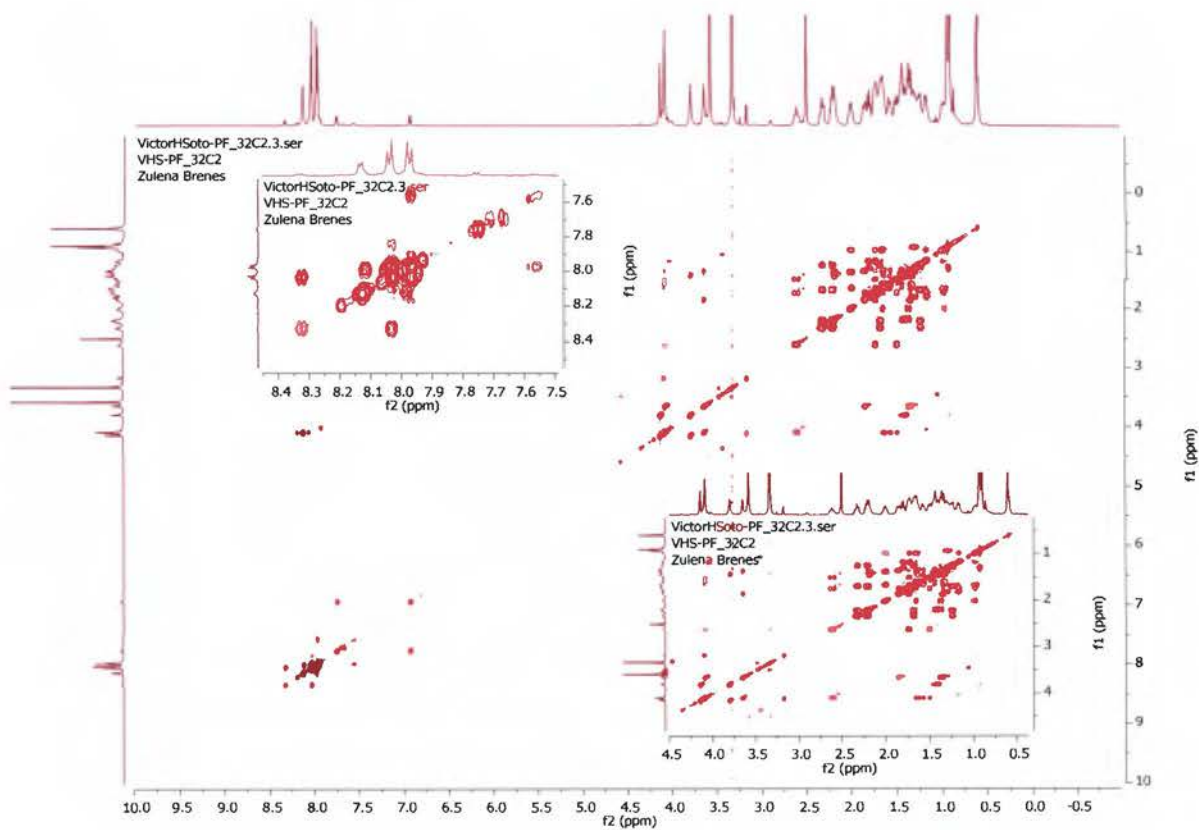


Figura d.35. Espectro COSY del compuesto 7.

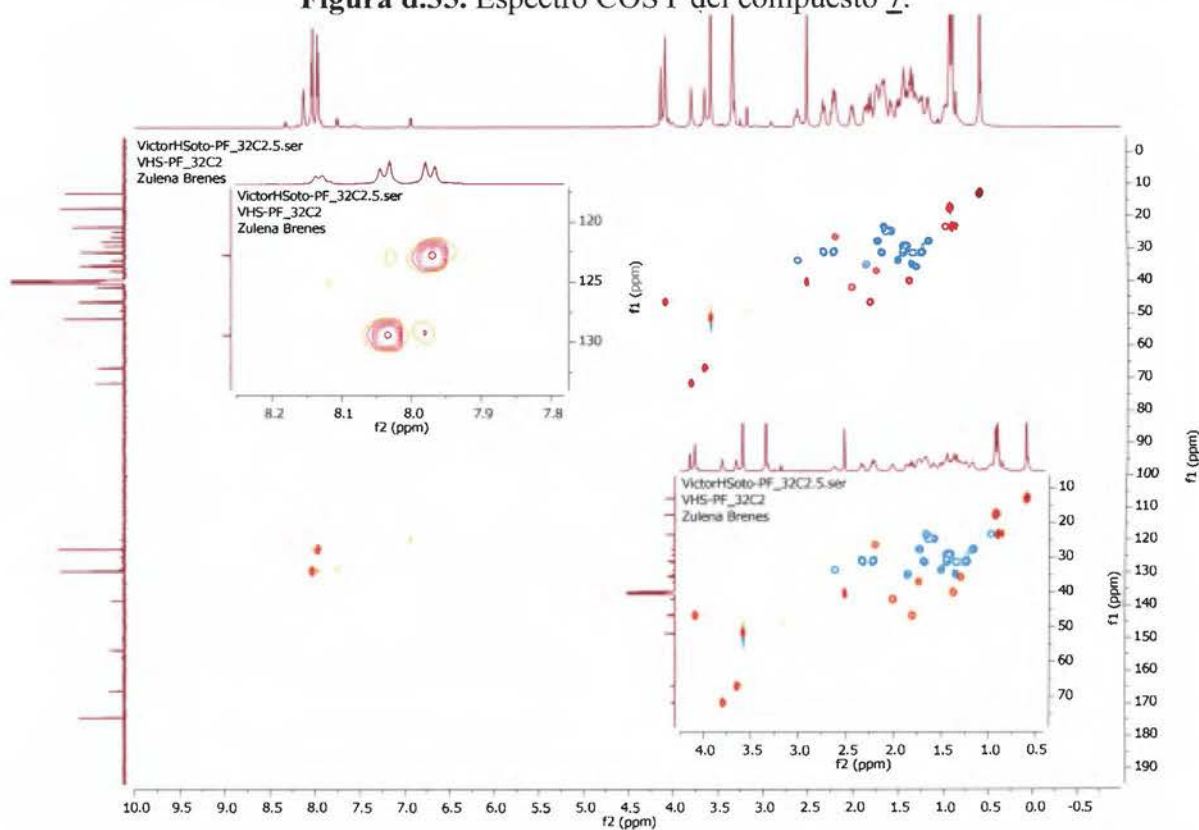


Figura d.36. Espectro HSQC del compuesto 7.

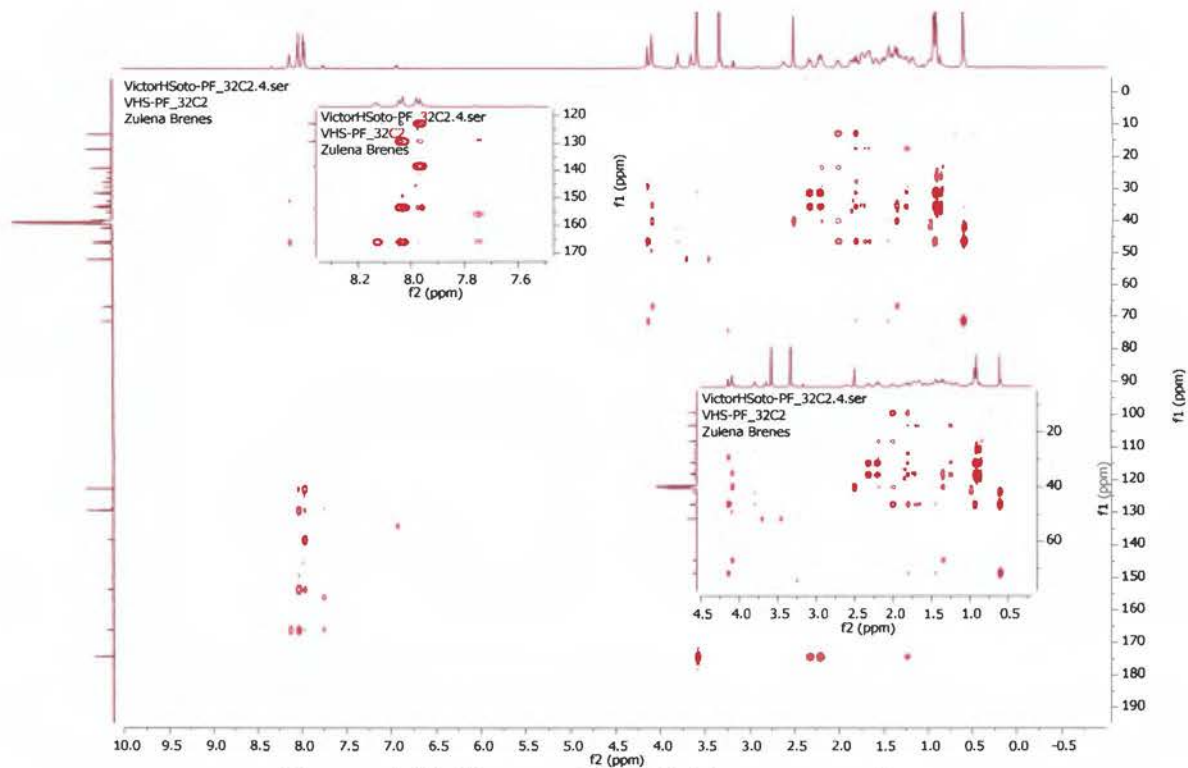


Figura d.37. Espectro HMBC del compuesto 7.

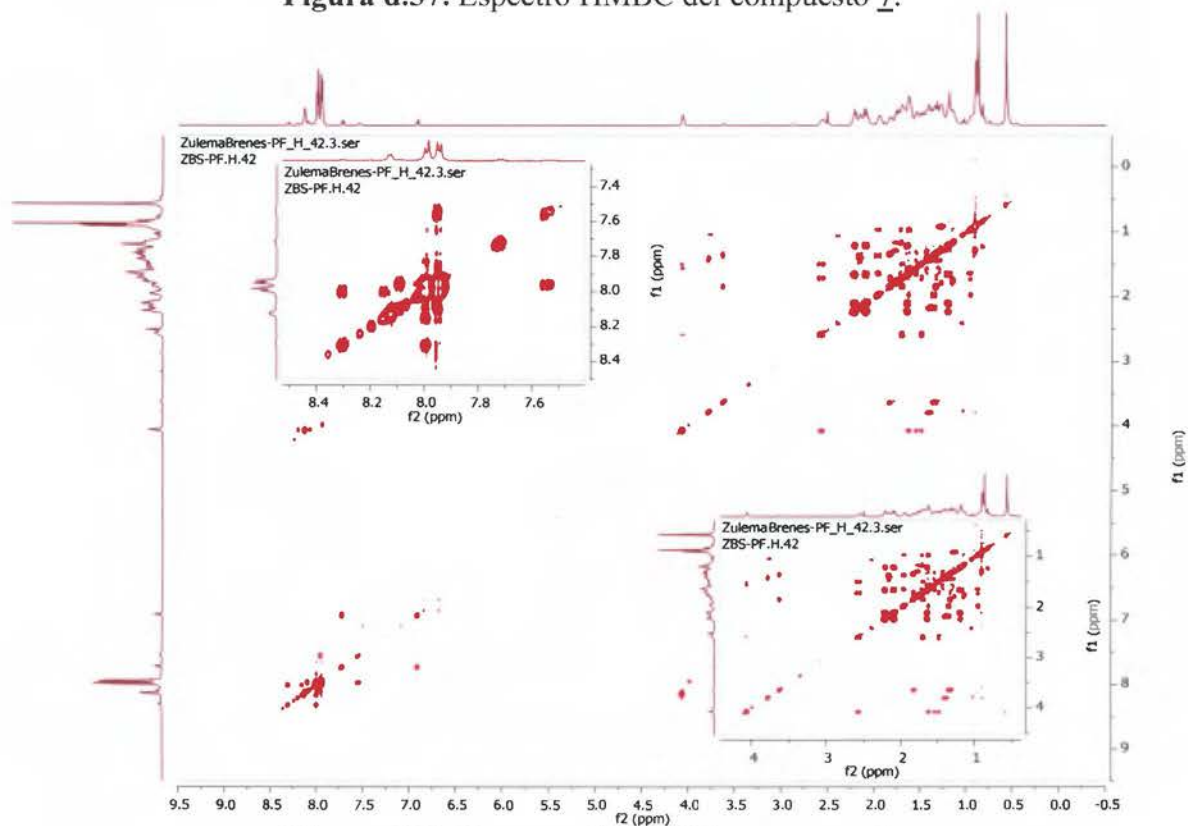


Figura d.38. Espectro COSY del compuesto 8.

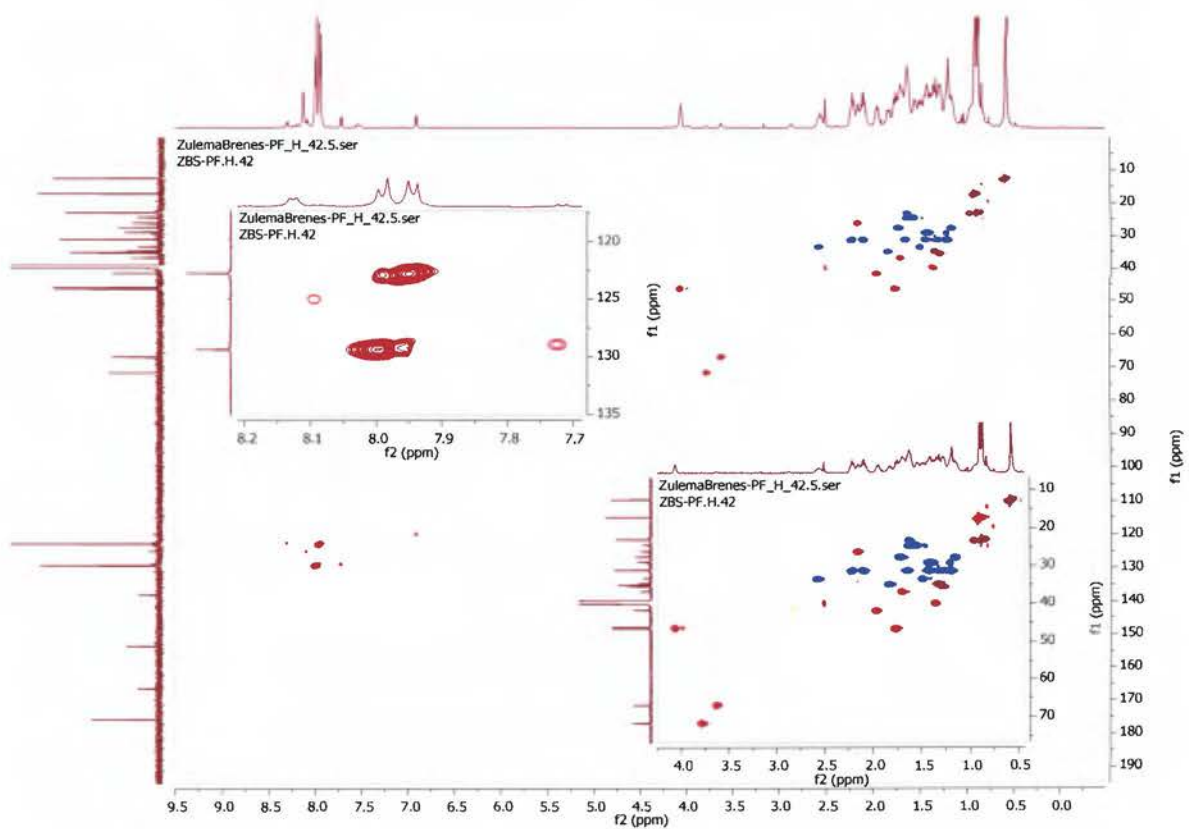


Figura d.39. Espectro HSQC del compuesto **8**.

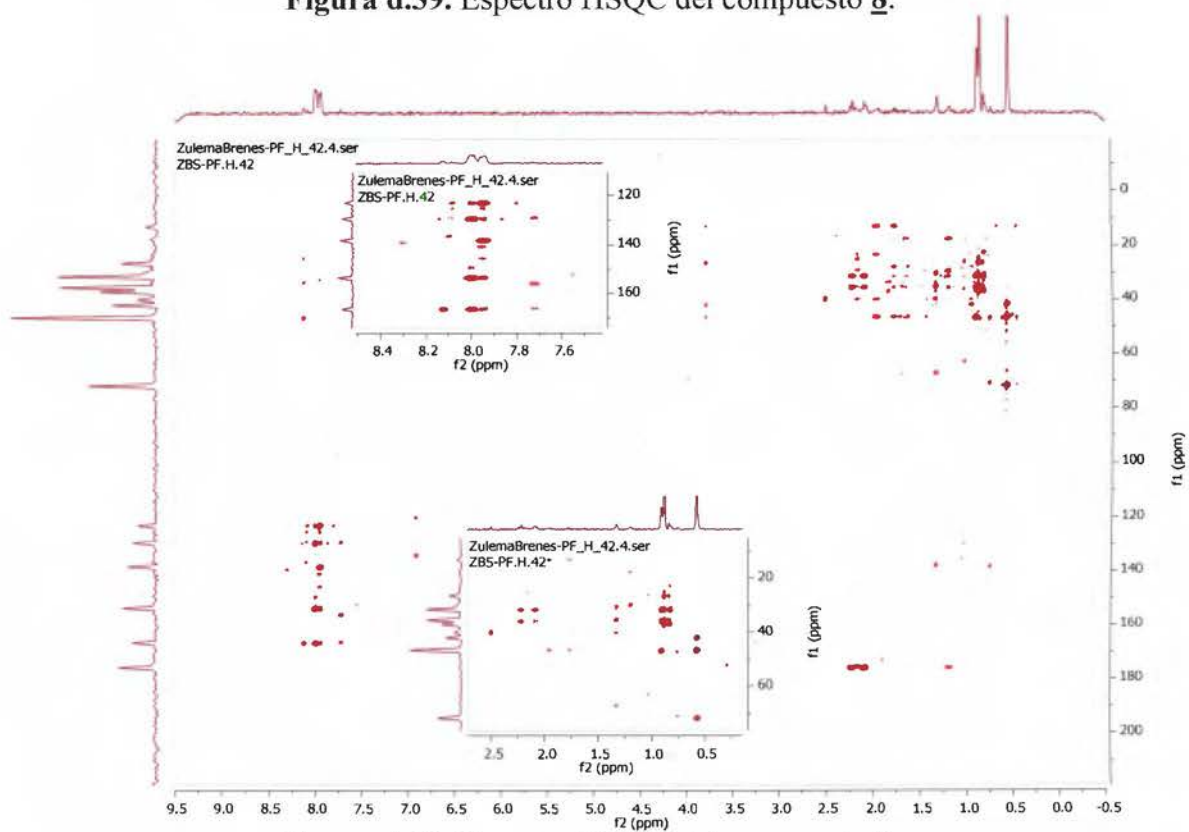


Figura d.40. Espectro HMBC del compuesto **8**.

D.3. Espectros UV-Visible y masas del compuesto **8**.

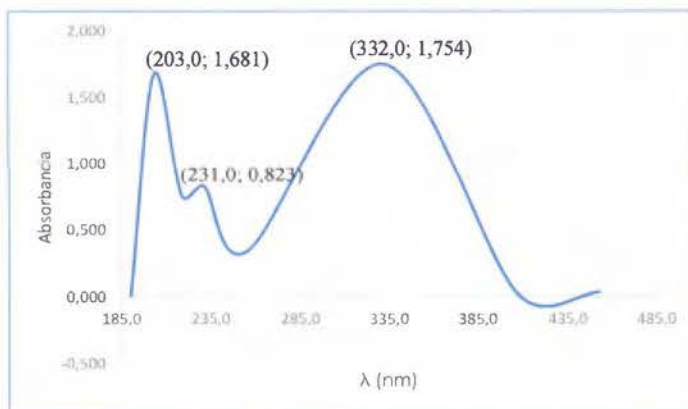


Figura d.41. Espectro UV/Vis del compuesto **8**.

Elemental Composition Report

Page 1

Single Mass Analysis

Tolerance = 3.0 PPM / DBE: min = -2.0, max = 200.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for i-FIT = 5

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

46 formula(e) evaluated with 1 results within limits (all results (up to 1000) for each mass)

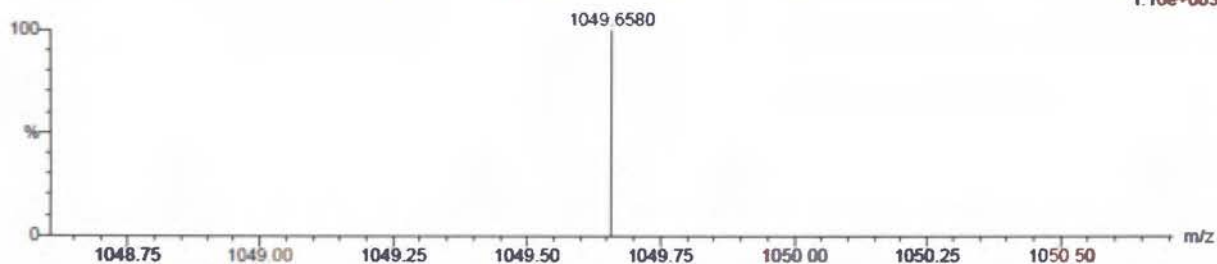
Elements Used:

C: 0-62 H: 0-89 N: 0-4 O: 0-10

BRENES Z/VHST/TESIS

PFH42 17 (1.350) AM (Cen,4, 80.00, Ar 9500 0 556 28,0 70,LS 10) Sm (SG, 2x3.00), Sb (3 10.00)

15625
4: TOF MS ES+
1.16e+003



Minimum: -2.0
Maximum: 10.0 3.0 200.0

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	i-FIT	i-FIT (Norm)	Formula
1049.6580	1049.6579	0.1	0.1	20.5	34.2	0.0	C62 H89 N4 O10

Figura d.42. Espectro de masas (ion molecular) del compuesto **8**.

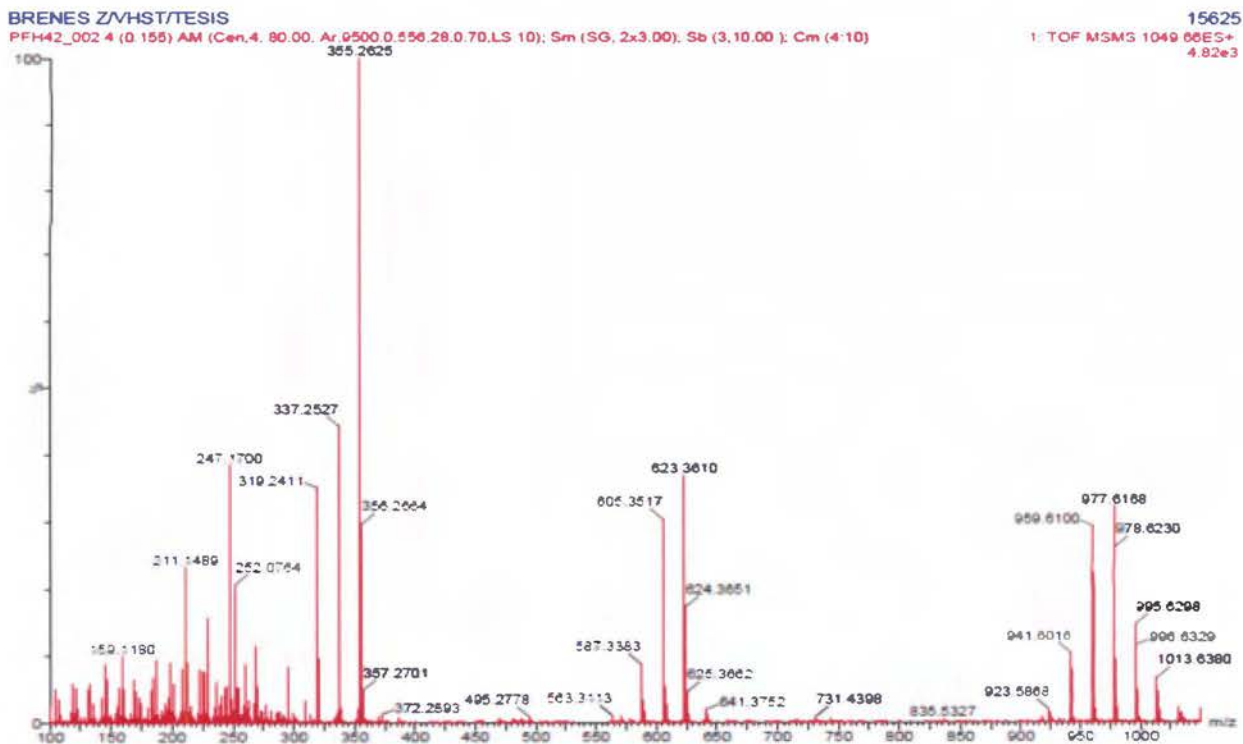


Figura d.43. Espectro de masas del compuesto 8.