



**UNIVERSIDAD MICHUACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
QUÍMICO BIOLÓGICAS**

**“NUEVAS MODIFICACIONES EN EL ANILLO B DEL
COLESTEROL”**

TESIS

**PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS QUÍMICAS**

**PRESENTA
ISAÍ FLAVIO LÓPEZ MÁRQUEZ**

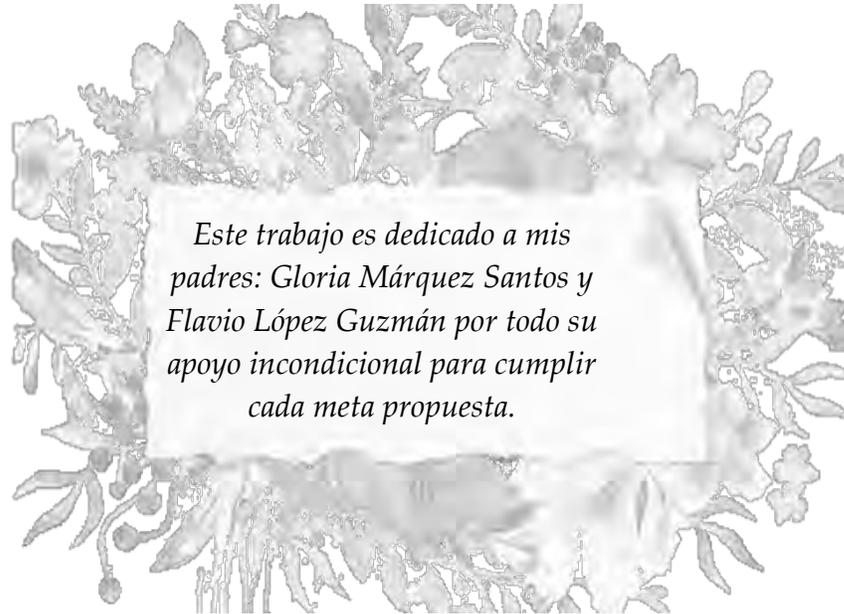
**DIRECTORAS DE TESIS
D.C. YLIANA LÓPEZ CASTRO**

D.C. ROSA LUISA SANTILLÁN BACA

MORELIA, MICHUACÁN.

DICIEMBRE 2018.

DEDICATORIA.



*Este trabajo es dedicado a mis
padres: Gloria Márquez Santos y
Flavio López Guzmán por todo su
apoyo incondicional para cumplir
cada meta propuesta.*

*Pon todo lo que hagas en manos de Dios,
y tus planes tendrán éxito.*

AGRADECIMIENTOS.

En primera instancia, agradezco a Dios, por permitirme cumplir esta meta, simplemente sin su ayuda esto no hubiera sido posible.

Con todo mi cariño, doy gracias a mi familia. Mis padres Gloria Márquez y Flavio López, así como mi hermana Salma Elizabeth, que siempre me han impulsado y dado los consejos necesarios, nada de esto hubiera sido posible sin ustedes.

A mi prima Saraí Romero, gracias por todas las palabras de motivación y apoyo, así como ser un ejemplo para superarme cada día. A mis abuelas Domitila Santos y Aurora Guzmán por todo su cariño que siempre me demostraron.

A mi comité tutorial conformado por la D.C. Rosa E. Norma del Río Torres, la D.C. Judit Araceli Aviña Verduzco y el D.C. Mario Armando Gómez Hurtado por el tiempo invertido en la revisión de este trabajo, sus consejos y aportaciones.

Al Q.F.B. José Manuel Zaragoza Ríos y la M.C. Concepción Armenta Rodríguez Salinas, por la determinación de los espectros de RMN, además por su amistad.

Agradezco a mis compañeros de laboratorio Cristhian, Alejandro, Daniela, Rocío, Juan Antonio y Juan Luis, por todo el apoyo, pero sobre todo por la amistad y momentos vividos.

A mis compañeros de generación Daniela, Odessa, Luis Javier y Gabriela por todos los momentos que pasamos juntos durante la maestría y por la amistad que siempre he encontrado en ustedes.

Especialmente agradezco al D.Q. Juan Pablo García Merinos, por sus consejos, apoyo y observaciones realizadas en este trabajo, pero sobre todo por su amistad y confianza brindada.

Con mucho respeto, agradezco a la D.C. Rosa Luisa Santillán Baca por aceptar colaborar en este proyecto como mi codirectora. Por el tiempo invertido en la revisión de este trabajo y todos sus valiosos comentarios y observaciones que fueron de gran ayuda para enriquecer el proyecto. Además de facilitar la obtención de los análisis espectroscópicos necesarios.

De manera muy especial agradezco a mi directora de tesis, la D.C. Yliana López Castro, porque inicialmente me aceptó en un verano de investigación y luego me permitió ser parte de su grupo de investigación. Gracias por el buen trato, además de la confianza, paciencia y sobre todo las enseñanzas que he recibido durante la realización de este trabajo.

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Síntesis de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo; bajo la dirección de la D.C. Yliana López Castro y la D.C. Rosa Luisa Santillán Baca, con apoyo financiero de los proyectos CONACYT (286638), CIC-UMSNH y con una beca otorgada por el CONACYT con número de registro 774900.

Los resultados de este trabajo han sido presentados en los siguientes foros:

Isaí López-Márquez, J. Pablo García-Merinos, Gabriela Rodríguez-García, Mario A. Gómez-Hurtado, Rosa Santillán, Yliana López; por la presentación del trabajo *“Derivados nitrogenados del colesterol”* en el 1er Foro del Posgrado en Ciencias Químicas del Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, celebrado del 31 de Julio al 4 de agosto de 2017 en Morelia, Michoacán, México.

Isaí López Márquez, C. Ovidio Pérez-Gómez, J. Pablo García-Merinos, Ramón Guzmán-Mejía, Rosa E. del Río, Rosa Santillán, Norberto Farfán, Yliana López; por la ponencia oral titulada *“Modificaciones en el Anillo B del Colesterol para la síntesis de azaesteroides”* en el marco de las actividades académicas del 12° Congreso de Ciencia, Tecnología e Innovación, celebrado el 6 de octubre de 2017 en Morelia, Michoacán, México.

Isaí López Márquez, J. Pablo García-Merinos, Gabriela Rodríguez-García, Mario A. Gómez-Hurtado, Rosa Santillán, Yliana López; por la presentación del trabajo titulado *“Modificaciones en el anillo B del colesterol”* en el 2° Foro del Posgrado en Ciencias Químicas realizado del 2 al 6 de julio de 2018 en Morelia, Michoacán.

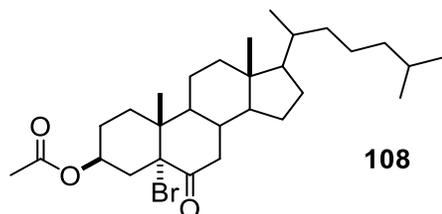
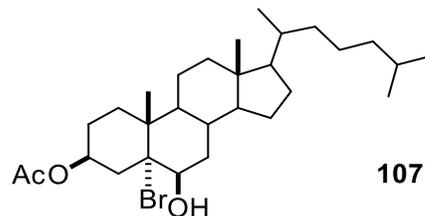
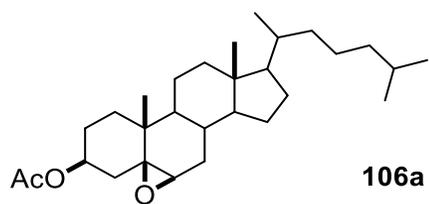
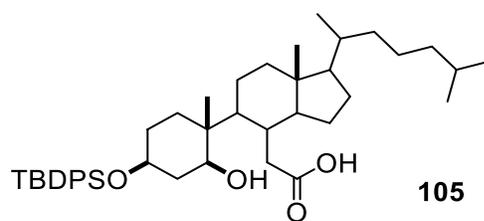
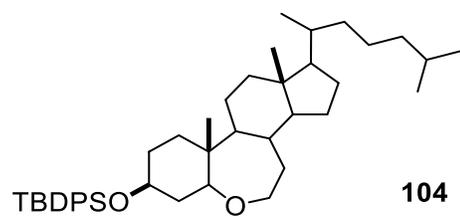
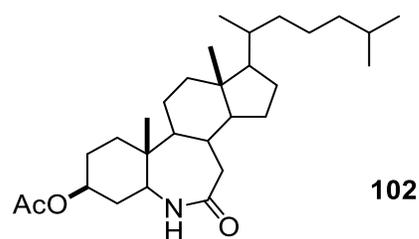
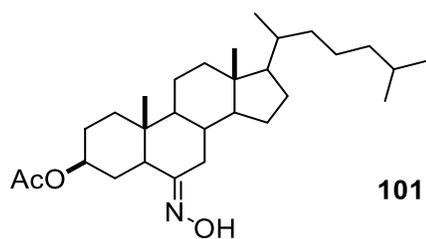
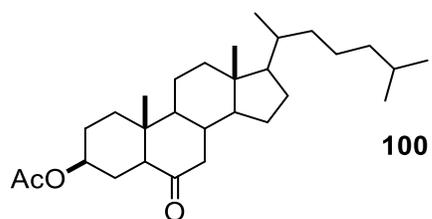
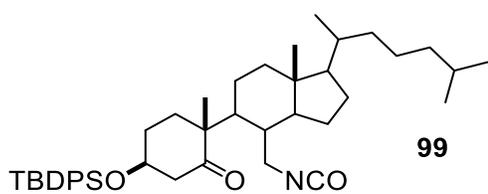
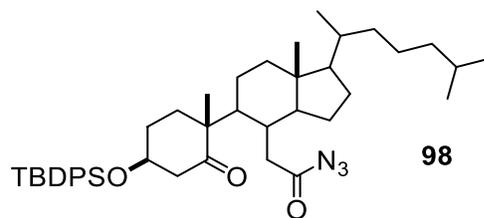
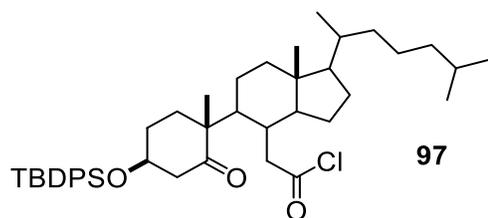
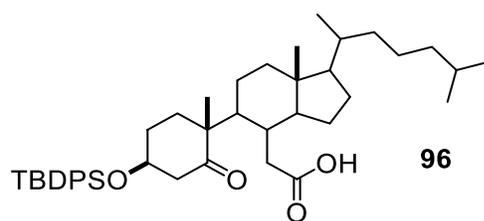
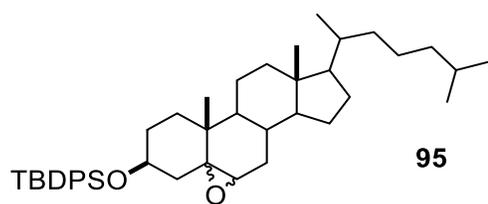
Isaí López Márquez, J. Pablo García-Merinos, J. Betzabé González Campos, Ramón Guzmán Mejía, Rosa E. del Río, Rosa Santillán, Yliana López; por la presentación del trabajo *“Nuevas Modificaciones en el Anillo B Del Colesterol”* en el marco de las actividades académicas del 13° Congreso de Ciencia, Tecnología e Innovación el 19 de octubre de 2018 en Morelia, Michoacán, México.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE COMPUESTOS _____	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS _____	IX
ÍNDICE DE TABLAS _____	XI
ÍNDICE DE ESQUEMAS _____	XII
ABREVIATURAS, SÍMBOLOS Y ACRÓNIMOS _____	XIV
RESUMEN _____	XVI
ABSTRACT _____	XVII
1. Introducción _____	1
2. Antecedentes _____	6
2.1. Importancia biológica del colesterol _____	6
2.2. Modificaciones sobre el anillo B del colesterol _____	7
2.3. Esteroides oxigenados _____	10
2.3.1. Éteres esteroidales _____	12
2.4. Esteroides nitrogenados _____	16
2.4.1. Lactamas esteroidales _____	17
3. Justificación _____	23
4. Objetivos _____	24
4.1. Objetivo General _____	24
4.2. Objetivos Específicos _____	24
5. Parte Experimental _____	26
5.1. Instrumentación y equipo _____	26
5.2. 3β - <i>Terc</i> -butildifenilsililoxi-colestan-5-eno (103) _____	27
5.3. 3β - <i>Terc</i> -butildifenilsililoxi-5,6-epoxi-colestan (95) _____	28
5.4. Ácido 3β - <i>terc</i> -butildifenilsililoxi-5-oxo-5,6- <i>seco</i> -colestan-6-oico (96) _____	29
5.5. Cloruro de 3β - <i>terc</i> -butildifenilsililoxi-5-oxo-5,6- <i>seco</i> -colesten-6-oilo (97) _____	30
5.6. 3β - <i>Terc</i> -butildifenilsililoxi-5-oxo-5,6- <i>seco</i> -colestan-6-acil-azida (98) _____	31
5.7. 3β - <i>Terc</i> -butildifenilsililoxi-5-oxo-5,7- <i>seco</i> -colestan-7-isocianato (99) _____	32
5.8. 3β - <i>Terc</i> -butildifenilsililoxi-5a-oxa-B-homocolestan (104) _____	33
5.9. Ácido- 3β - <i>terc</i> -butildifenilsililoxi-5 β -ol-5,6- <i>seco</i> -colestan-6-oico (105) _____	35
5.10. 3β -Acetoxi-colestan-5-eno (4) _____	36
5.11. 5,6 β -Epoxi-5 β -colestan-3 β -ol-acetato (106a) _____	37
5.12. 5-Bromo-5 α -colestan-3 β ,6 β -diol-3-acetato (107) _____	38

5.13. 3 β -Acetoxi-5-bromo-5 α -coleston-6-ona (108)	38
5.14. 3 β -Acetoxi-5 α -coleston-6-ona (100)	39
5.15. (6 <i>E</i>) 3 β -Acetoxi-6-hidroximinocolestan (101)	40
5.16. 3 β -Acetoxi-5 α -Aza-6-oxo-B-homocolestan (102)	41
6. Discusión de Resultados	43
6.1. Apertura del anillo B del colesterol, modificaciones vía el 5,6-seco-ácido 96	43
6.1.1. Obtención y caracterización espectroscópica de los compuestos 95 y 96	44
6.1.2. Funcionalización del seco-ácido 96	50
6.1.2.1. Reordenamiento de Curtius de 96	50
6.1.2.2. Reactividad del isocianato 99	55
6.1.2.3. Reactividad de la acil azida 98	56
6.1.3. Obtención y caracterización espectroscópica del nuevo éter esteroideal 104 vía reducción de la acil azida 98	57
6.2. Síntesis de una lactama a partir del colesterol	75
6.2.1. Acetilación del colesterol	76
6.2.2. Epoxidación del colesterol con KMnO ₄	79
6.2.3. Obtención de la 5-bromo-6-cetona 108	81
6.2.4. Obtención de la 6-cetona 100	85
6.2.5. Síntesis de la oxima 101	88
6.2.6. Síntesis de la lactama 102	92
7. Conclusiones	95
8. Bibliografía	96
9. Apéndice	104

ÍNDICE DE COMPUESTOS



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Compuestos esteroideos importantes. _____	2
Figura 2. Fármacos sintéticos. _____	3
Figura 3. Mecanismo de inhibición de la finasterida en la enzima 5 α -reductasa. _	4
Figura 4. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del compuesto 95 . _____	46
Figura 5. Espectros de RMN: A) de ^1H (400 MHz) y B) ^{13}C (100 MHz) de 96 . __	49
Figura 6. Comparación de espectros de RMN de ^1H (400 MHz) de 98 y 99 . ____	53
Figura 7. Comparación de espectros de RMN de ^{13}C (100 MHz) de 98 y 99 . ____	54
Figura 8. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz) en CDCl_3 del compuesto 104 . ____	60
Figura 9. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) en CDCl_3 del compuesto 104 . __	61
Figura 10. Experimento DEPT para 104 . _____	62
Figura 11. Experimento COSY para el compuesto 104 . _____	64
Figura 12. Experimento HSQC para el compuesto 104 . _____	65
Figura 13. Correlaciones de HMBC para 104 . _____	66
Figura 14. Experimento HMBC para 104 . _____	67
Figura 15. Correlaciones NOESY del compuesto 104 . _____	68
Figura 16. Experimento NOESY del compuesto 104 . _____	69
Figura 17. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CDCl_3 del compuesto 105 . __	73
Figura 18. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) en CDCl_3 del compuesto 105 . _	74
Figura 19. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de 4 . _____	78
Figura 20. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de 106a . _____	80
Figura 21. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) para 108 . _____	83
Figura 22. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) para 108 . _____	84
Figura 23. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) para 100 . _____	86
Figura 24. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) para 100 . _____	87
Figura 25. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz) para 101 . _____	90
Figura 26. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) para 101 . _____	91
Figura 27. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz) para 102 . _____	93
Figura 28. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) para 102 . _____	94
Figura 29. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) del compuesto 103 . _____	105
Figura 30. Experimento COSY del compuesto 101 . _____	106

Figura 31. Experimento NOESY del compuesto 101 .	107
Figura 32. Experimento DEPT del compuesto 101 .	108
Figura 33. Experimento HSQC del compuesto 101 .	109
Figura 34. Experimento HMBC del compuesto 101 .	110
Figura 35. Experimento COSY del compuesto 102 .	111
Figura 36. Experimento NOESY del compuesto 102 .	113
Figura 37. Experimento DEPT del compuesto 102 .	114
Figura 38. Experimento HSQC del compuesto 102 .	115
Figura 39. Experimento HMBC del compuesto 102 .	116
Figura 40. Espectro de IR del compuesto 104 .	117

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ensayos para la preparación de 109 .	55
Tabla 2. Comparación de los desplazamientos de RMN de ^1H y ^{13}C de la propuesta estructural 104 con otros análogos.	58

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Transformación oxidativa en el anillo B del colesterol. _____	7
Esquema 2. Heterociclos incorporados en el anillo B vía epóxidos. _____	8
Esquema 3. Síntesis de hidantoinas colestánicas. _____	8
Esquema 4. Heterociclos fusionados en el anillo B del colesterol. _____	9
Esquema 5. Oxiesteroides evaluados como inhibidores de células cancerosas. _____	10
Esquema 6. Síntesis de derivados del colesterol bioactivos. _____	11
Esquema 7. Síntesis de una lactona en el anillo B del colesterol. _____	11
Esquema 8. Síntesis del éter esteroidal 32 en el anillo A vía la enona 28 . _____	12
Esquema 9. Éteres esteroidales con actividad biológica 34 y 35 . _____	13
Esquema 10. Bis-esteroides unidos a través de la función éter. _____	13
Esquema 11. Síntesis de un éter esteroidal a partir del ácido cólico. _____	14
Esquema 12. Obtención de un éter en el anillo B. _____	14
Esquema 13. Apertura del ameristerenol 47 . _____	15
Esquema 14. Síntesis de los 6-aza-homoesteroide 54 y 55 . _____	16
Esquema 15. Síntesis de la 6-azaprogesterona 58 . _____	17
Esquema 16. Lactamas en el anillo D. _____	17
Esquema 17. Síntesis de una lactama en el anillo C del estradiol. _____	18
Esquema 18. Síntesis de una lactama en el anillo D de androstanona 67 . _____	18
Esquema 19. Síntesis de una lactama en el anillo A de la diosgenina. _____	19
Esquema 20. Síntesis de una lactama en el anillo A de la pregnenolona. _____	20
Esquema 21. Síntesis de una lactama en el anillo A del colesterol. _____	20
Esquema 22. Síntesis de una dilactama en el colesterol. _____	21
Esquema 23. Síntesis de una lactama en el anillo A de la progesterona. _____	21
Esquema 24. Síntesis de una lactama en el anillo A de la testosterona. _____	21
Esquema 25. Obtención de la lactama 94 . _____	22
Esquema 26. Modificaciones propuestas del 5,6-seco-ácido 96 . _____	44
Esquema 27. Metodología para la obtención de 95 . _____	44
Esquema 28. Metodología para la obtención de 96 . _____	48
Esquema 29. Reordenamiento de Curtius. _____	50
Esquema 30. Metodología para la obtención de 97 . _____	50

Esquema 31. Metodología para la obtención de 98 .	51
Esquema 32. Metodología para la obtención del isocianato 99 .	51
Esquema 33. Propuesta para la obtención de la amino cetona 109 .	55
Esquema 34. Metodología propuesta para la obtención de 110 .	56
Esquema 35. Metodología propuesta para la obtención de 111 .	57
Esquema 36. Obtención de 104 a partir de 98 .	58
Esquema 37. Propuesta para la obtención del éter 104 .	70
Esquema 38. Reducción de 96 adicionando el hidruro en éter vía cánula.	71
Esquema 39. Reducción de 96 .	71
Esquema 40. Ruta de síntesis para la obtención de la lactama 102 .	76
Esquema 41. Acetilación del colesterol.	76
Esquema 42. Metodología para la obtención de 106a/b .	79
Esquema 43. Metodología para la obtención de 107 .	81
Esquema 44. Metodología para la síntesis de 108 .	81
Esquema 45. Metodología para la obtención de 100 .	85
Esquema 46. Metodología para la obtención de 101 .	88
Esquema 47. Metodología para la obtención de 102 .	92

ABREVIATURAS, SÍMBOLOS Y ACRÓNIMOS

δ	Desplazamiento químico
$^{\circ}\text{C}$	Grados Celcius.
^1H	Protón
^{13}C	Carbono-13.
Ac_2O	Anhídrido acético
AcOEt	Acetato de etilo
AcOH	Ácido acético
AcONa	Acetato de sodio
AMCPB	Ácido <i>meta</i> -cloroperbenzoico
APTS	Ácido <i>para</i> -toluenosulfónico
<i>ax</i>	Axial
$\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$	Trifloruro de boro eterato.
CDCl_3	Cloroformo deuterado
COSY	COrelated Spectroscopy
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Sulfato de cobre pentahidratado
<i>d</i>	Doble
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer.
DCM	Diclorometano
<i>dd</i>	Doble de dobles
<i>ddd</i>	Doble de dobles de dobles
DMF	N,N-dimetilformamida
<i>ec</i>	Ecuatorial
EMHR	Espectro de masa de alta resolución (High Resolution Mass Spectrum)
<i>eq</i>	Equivalente
<i>h</i>	Hora
Het	Heterociclo
HETCOR	HETeronuclear CORrelation
HMBC	Heteronuclear Multiple-Bond High Resolution Mass Spectrum Correlation
HRMS	High Resolution Mass Spectrum
HSQC	Heteronuclear Simple Quantum Coherence
<i>Hz</i>	Hertz
IC_{50}	Concentración Inhibitoria Máxima Media
IR	Infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
KMnO_4	Permanganato de potasio
LiAlH_4	Hidruro de Litio y Aluminio
LC-ESI-MS	Liquid Chromatography–ElectroSpray Ionization–Mass Spectrometry
<i>m</i>	Múltiple
<i>mg.</i>	Miligramos
<i>mL</i>	Mililitros
<i>MHz</i>	Megahertz
<i>mmol</i>	Milimoles
<i>min</i>	Minutos

MO	Microondas
NaBH ₄	Borohidruro de sodio
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NADP	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NaIO ₄	Peryodato de sodio
NaN ₃	Azida de sodio
Na ₂ SO ₄	Sulfato de sodio
NBS	<i>N</i> -Bromosuccinimida
NH ₂ OH·HCl	Clorhidrato de hidroxilamina
NOESY	NOE Spectroscopy
ppm	Partes por millón
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
<i>R_f</i>	Factor de retardo
s	Simple
SOCl ₂	Cloruro de tionilo
v/v	Volumen sobre volumen
t	Triple
t.a.	Temperatura ambiente
TBDPSCI	Cloruro de <i>tert</i> -butildifenilsilano
THF	Tetrahidrofurano
TLC	Cromatografía en capa fina
TMS	Tetrametilsilano

RESUMEN

Los esteroides son compuestos que poseen un amplio rango de actividades biológicas, en consecuencia, sus modificaciones estructurales han cobrado relevancia. Dentro de ellas se encuentra la síntesis de heteroesteroides, que consiste en el reemplazo de uno o más átomos de carbono sobre el núcleo esteroideo por heteroátomos, dando como resultado modificaciones en sus propiedades químicas y biológicas a menudo interesantes.

Adicionalmente, el colesterol cuenta con aplicaciones biológicas debido a su capacidad de interactuar con las membranas celulares, por lo que se han efectuado diversas transformaciones químicas en la búsqueda de nuevos compuestos bioactivos.

Con estos antecedentes, en el presente trabajo se describen algunas modificaciones en el anillo B del colesterol haciendo uso de reacciones orgánicas conocidas, contribuyendo a la síntesis de oxo y aza esteroides.

Para la obtención del 6-oxo esteroide **104**, se llevó a cabo una síntesis lineal de siete etapas a partir del colesterol, en la que el intermediario principal 5,6-seco-ácido **96** se transforma en la acil azida **98** que mediante tratamiento reductivo con LiAlH_4 produce este nuevo compuesto. La formación de **104** se justifica por ciclación intramolecular de un intermediario tipo alcohol-imina, generado durante la reducción de **98**. Por otra parte, la síntesis del nuevo compuesto **105** se llevó a cabo en 4 pasos vía reducción de **96** con LiAlH_4 . Esta estructura es interesante por su potencial aplicación en la obtención de esteroides modificados en el anillo B. Adicionalmente se realizó la obtención de la lactama **102** por reordenamiento de Beckmann de la 6-oxima **101**.

La preparación de los derivados esteroidales **101-102** y **104-105** es de gran interés por su potencial aplicación en pruebas biológicas y para el caso del compuesto **104** por su estructura novedosa.

Palabras clave: Heteroesteroides, Jones, Lactama, Beckman, RMN.

ABSTRACT

Steroids are compounds that have a wide grade of biological activities, as a consequence, their structural transformations have gained relevance, within these, the heterosteroid synthesis, consisting of the replacement of one or more carbon atoms on the steroid nucleus by heteroatoms, resulting in more interesting modifications about their chemical and biological properties.

Otherwise, cholesterol has biological applications due its ability to interact with cell membranes, therefore, several chemical transformations have been carried out in the search for new bioactive compounds.

With these antecedents, this work describes some modifications in the B-ring in cholesterol, via conventional organic reactions, contributing to the oxa and aza steroids synthesis.

For the obtention of 6-oxo steroid **104**, a linear synthesis in seven-steps was carried out from cholesterol, in the which, the main intermediate 5,6-seco-acid **96** was transformed into acyl azide **98**, that by reduction with LiAlH_4 gives the new steroidal ether **104**. The new compound is formed by the intramolecular cyclization of an intermediate alcohol-imine produced by reduction of **98**. On the other hand, the synthesis of new compound **105** was made in 4 steps via reduction of **96** with LiAlH_4 . Moreover, the synthesis of lactam **102** was developed, from the Beckmann rearrangement of 6-oxime **101**.

The synthesis of steroidal derivatives **101-102** and **104-105** it's very interesting for their potential application in biological tests and for the case of compound **104** by it's unusual structure.

1. INTRODUCCIÓN

Los esteroides constituyen una clase de compuestos policíclicos que en su mayoría son biológicamente activos, por lo que son ampliamente empleados como reguladores de una variedad de procesos biológicos, y, por lo tanto, tienen el potencial de actuar como fármacos para el tratamiento de diferentes enfermedades.^{1,2}

Los compuestos esteroidales más importantes son:

- a) **Las hormonas sexuales:** Incluyen androstanos, pregnanos y estranos, que exhiben diversas actividades hormonales.³
- b) **Ácidos biliares:** Responsables de la digestión y absorción de los lípidos.⁴
- c) **Corticosteroides:** Están implicados en varios procesos fisiológicos, tales como la regulación de la inflamación, el metabolismo de los carbohidratos, el catabolismo de proteínas y el nivel de electrolitos en la sangre.⁵
- d) **Glucósidos cardíacos:** Utilizados para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca.⁶
- e) **Esteroles:** Constituyen parte importante de las membranas celulares que tienen un papel significativo en su estabilidad, crecimiento celular, proliferación, así como precursor de ácidos biliares y esteroides hormonales⁷ (Figura 1).

Distintos reportes señalan que la acción biológica de los esteroides podría deberse a las características estructurales del núcleo ciclopentanoperhidrofenantreno o de la cadena lateral, favoreciendo su capacidad para interactuar con las membranas celulares; esto ha formado parte del interés de varios grupos de investigación sobre el estudio de la reactividad del núcleo base.⁸

Gracias a las distintas transformaciones químicas, se han sintetizado un gran número de moléculas con diferentes aplicaciones, sobre todo en la industria farmacéutica, en donde muchos productos farmacéuticos que se han desarrollado, son a partir de la síntesis y modificaciones de esteroides. La relevancia de estos trabajos se muestra en las estadísticas, ya que un tercio de los medicamentos disponibles son o contienen esteroides que han sido modificados.⁹

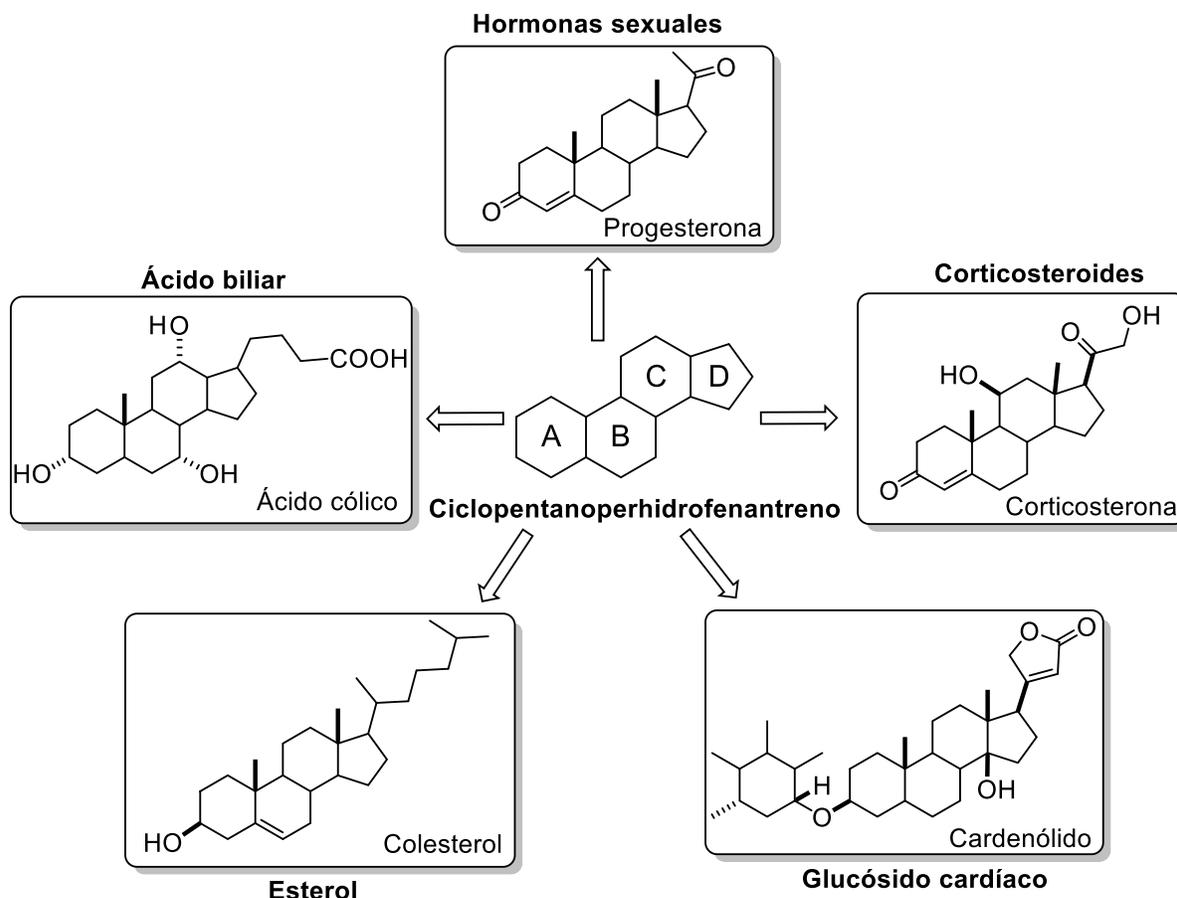


Figura 1. Compuestos esteroideos importantes.

Algunas de las estrategias sintéticas desarrolladas para modificar estructuralmente a los esteroides consideran la expansión de uno o más átomos en cualquiera de los anillos del ciclopentanoperhidrofenantreno, el acoplamiento con heterociclos o fármacos, así como, la incorporación de heteroátomos o modificación de grupos funcionales sobre dicho esqueleto.

Dentro de estas modificaciones se encuentra la síntesis de heteroesteroides que consiste en el reemplazo de uno o más átomos de carbono por heteroátomos, lo que afecta las propiedades químicas del esteroide resultando a menudo en propiedades biológicas interesantes,¹⁰ algunos ejemplos de estos son los azaesteroides, oxoesteroides y tioesteroides.

Los productos obtenidos por la introducción de heteroátomos en el núcleo de los esteroides se denominan heteroesteroides nucleares. Cuando los heteroátomos

forman parte del sistema de anillo fusionado, del grupo unido o de una cadena lateral del núcleo esteroideo, los productos se conocen como heteroesteroides extranucleares.¹¹

Algunos fármacos sintéticos empleados como medicamentos se muestran en la Figura 2. Como la Fluasterona y sus análogos, potenciales fármacos para el tratamiento de la lesión cerebral traumática.¹²

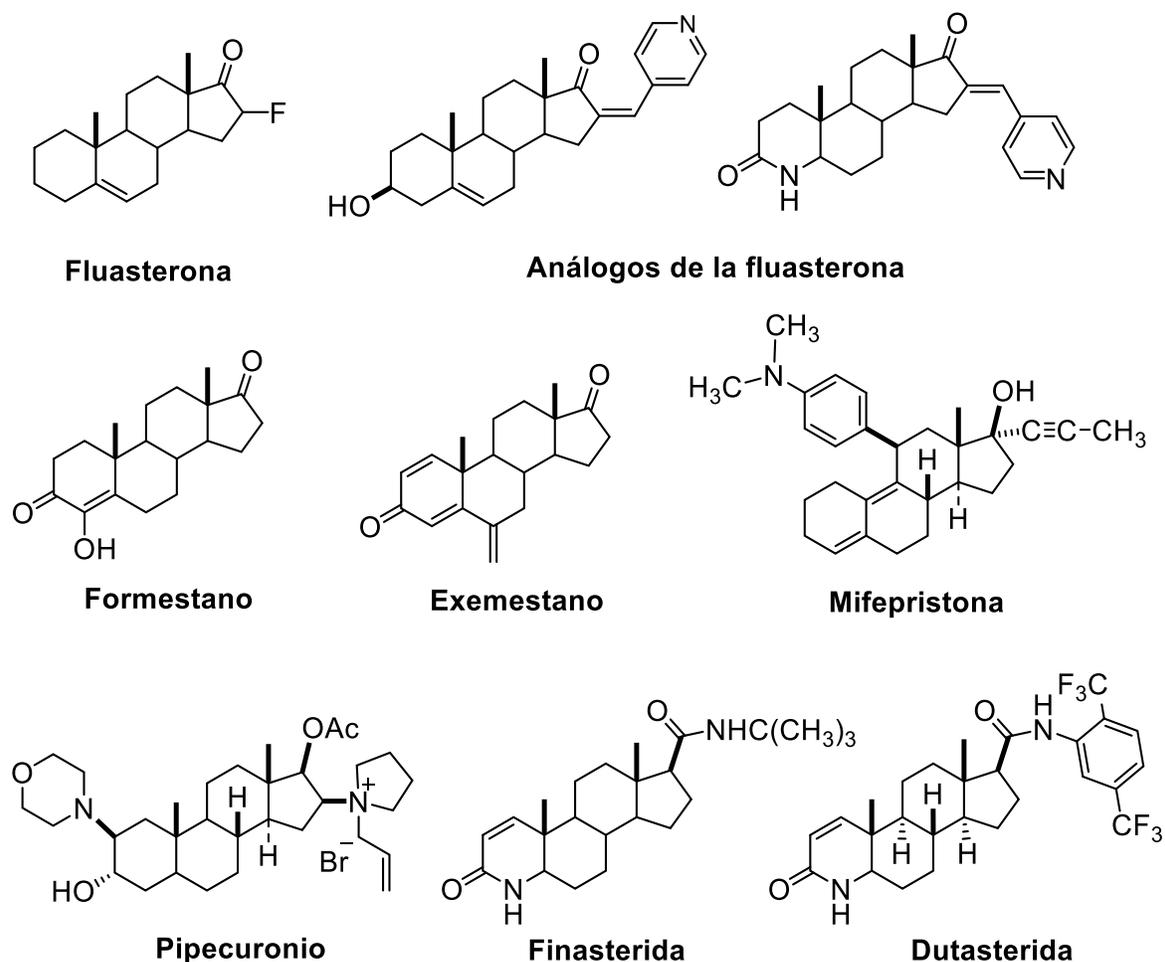


Figura 2. Fármacos sintéticos.

El formestano y el exemestano son fármacos empleados para el tratamiento del cáncer de mama ya que inhiben la actividad de la enzima aromatasa, responsable de la biosíntesis de estrógenos, que a su vez son promotores de algunos tipos de cáncer.¹³

La mifepristona es un fármaco utilizado como medicamento, por sus propiedades antiprogestágenas y antiglucocorticoides;¹⁴ distribuido como anticonceptivo o agente abortivo durante los primeros meses de embarazo. Mientras que el pipecuronio sintetizado a partir de la dehidroisoandrosterona ¹⁵ se emplea como relajante muscular actuando como agente de bloqueo de unión neuromuscular.

Por otra parte, la finasterida y la dutasterida son fármacos que inhabilitan las funciones de los esteroides 5α -reductasa humano, convirtiéndolos en candidatos potenciales para el tratamiento de la hiperplasia prostática benigna. En el caso de la finasterida, su actividad biológica se atribuye a que se reduce a dihidrofinasterida producida a través de un aducto de NADP-dihidrofinasterida unido a la enzima. Para algunos análogos de la finasterida que contienen un doble enlace en las posiciones 1,2, la reducción de C-1 permite el ataque nucleofílico de C-2 sobre el C-4 de la nicotinamida. Esta reducción da como resultado la formación de enolato de lactama, que no está posicionado para una protonación eficiente por parte de la enzima. En cambio, el enolato queda atrapado por el catión piridinio electrófilo del NADP, produciendo un aducto covalente al cofactor y a la proteína (Figura 3).¹⁶

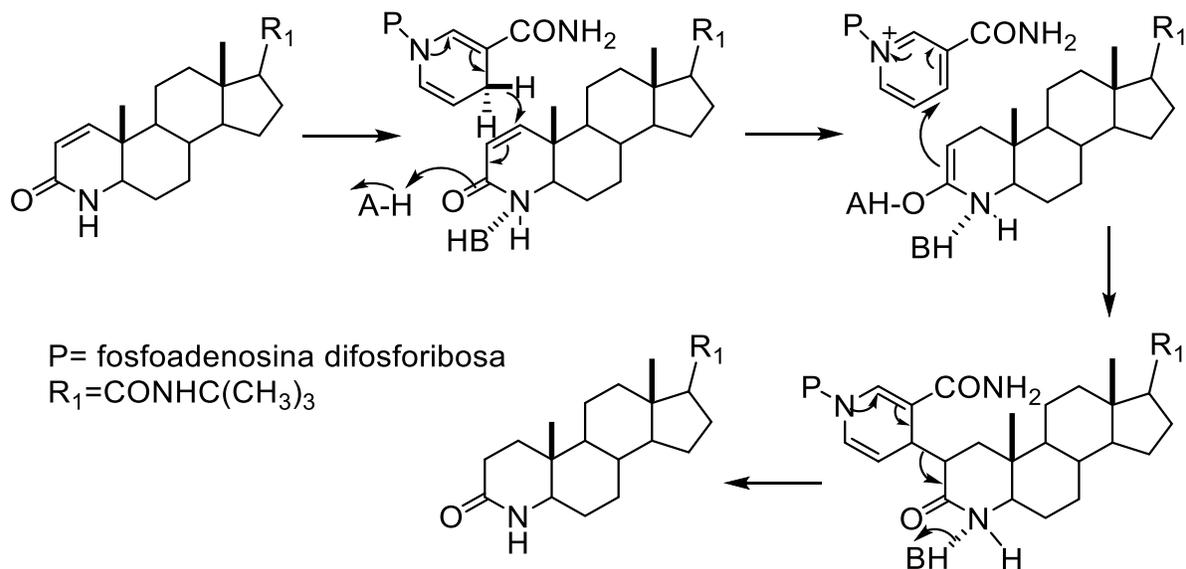


Figura 3. Mecanismo de inhibición de la finasterida en la enzima 5α -reductasa.

Con estos antecedentes y considerando que el colesterol es frecuentemente usado como modelo para ensayar nuevas reacciones orgánicas, por ser una materia prima económica y de fácil acceso sobre la que se pueden realizar diversas transformaciones químicas, en el presente proyecto se plantea la obtención de algunos derivados del colesterol bajo métodos sintéticos convencionales, aprovechando la reactividad que presenta el anillo B.

2. ANTECEDENTES

2.1. Importancia biológica del colesterol

El colesterol fue descubierto por el químico francés Francois Poulletier como un componente cristalino de los cálculos biliares humanos en 1879. Poco tiempo después, Antoine-François de Fourcroy informó que el compuesto era idéntico a un material ceroso en la grasa de los cadáveres putrefactos denominado adipocira. En 1829 Michael Chevreul lo aisló por primera vez; su estructura fue establecida en 1830 por difracción de rayos-X, mientras que en 1950 Woodward reportó su síntesis total. Posteriormente se demostró que el colesterol se distribuía ampliamente en el reino animal, por lo que fue considerado como uno de los primeros intentos de estudios de productos naturales de esteroides.¹⁷

En el siglo XX se descubrió que el colesterol desempeña múltiples funciones celulares asociadas con la membrana, además progresivamente se reportaron una gran cantidad de funciones biológicas relacionadas con este esteroide.¹⁸

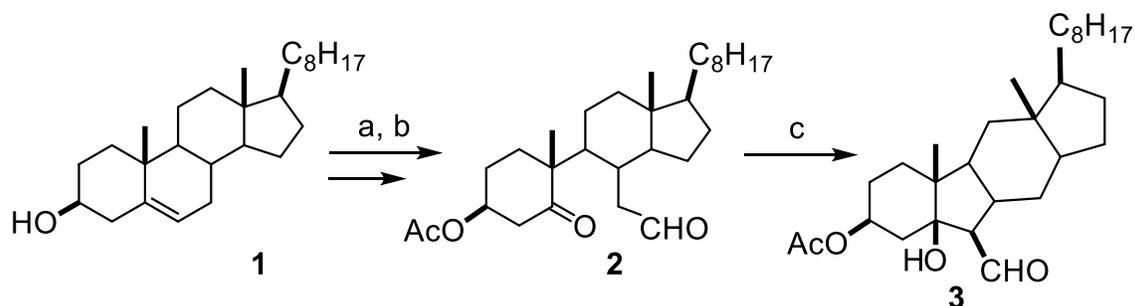
Distintos reportes demuestran que la conformación estructural del colesterol es determinante para ser considerado como un compuesto bioactivo, ya que la polaridad y configuración del grupo OH que se encuentra en el C-3 contribuye a las interacciones de los enlaces de hidrógeno. Los C-4 y C-14 afectan la conformación del anillo A y la planaridad de la cara posterior respectivamente. Así mismo, el doble enlace que se encuentra entre los C-5 y C-6 afecta la orientación del C-17. Además, la cadena lateral es fundamental para que el colesterol tenga interacción con otras biomoléculas de importancia.¹⁹

Todas estas características moleculares permiten que el colesterol interactúe en membranas celulares, dando como resultado diferentes aplicaciones relacionadas principalmente con funciones estructurales y metabólicas que son vitales en el ser humano. Por lo antes mencionado, el colesterol puede ser considerado como una molécula indispensable para la vida.²⁰

2.2. Modificaciones sobre el anillo B del colesterol

El colesterol presenta reactividad en el anillo B, debido al doble enlace que se encuentra entre C-5 y C-6, por lo que se han realizado distintas transformaciones aprovechando esta característica. A la fecha existe un sin número de reacciones relacionadas con modificaciones que van desde la transformación de alguno de sus anillos a la incorporación de algún grupo funcional.

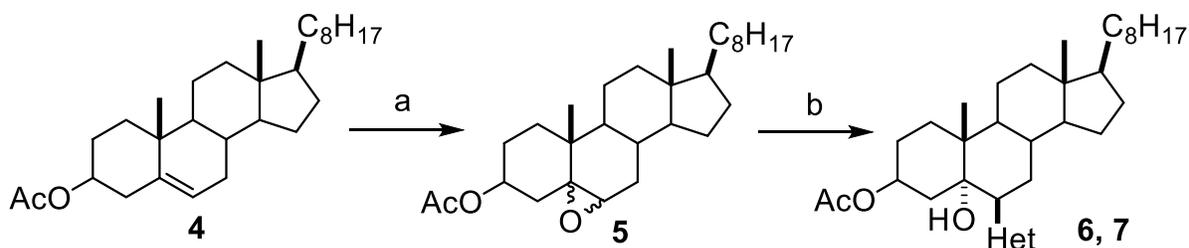
Por ejemplo, Wei,²¹ que describió la síntesis de algunos derivados colestánicos mediante la apertura del anillo B en condiciones oxidativas (Esquema 1).



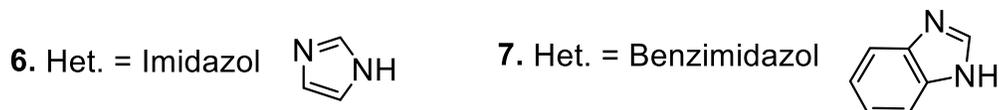
- a) Ac₂O, Piridina b) O₃/O₂, CH₂Cl₂, MeOH (4:1), -78 °C, Me₂S
c) Al₂O₃ neutra, benceno.

Esquema 1. Transformación oxidativa en el anillo B del colesterol.

En el 2014, Saikia²² reportó la preparación de una mezcla de epóxidos en el anillo B y su apertura con algunos heterociclos que contenían nitrógeno a través de irradiación de MO, como resultado, se incorporó imidazol o benzoimidazol sobre el C-6 (Esquema 2).

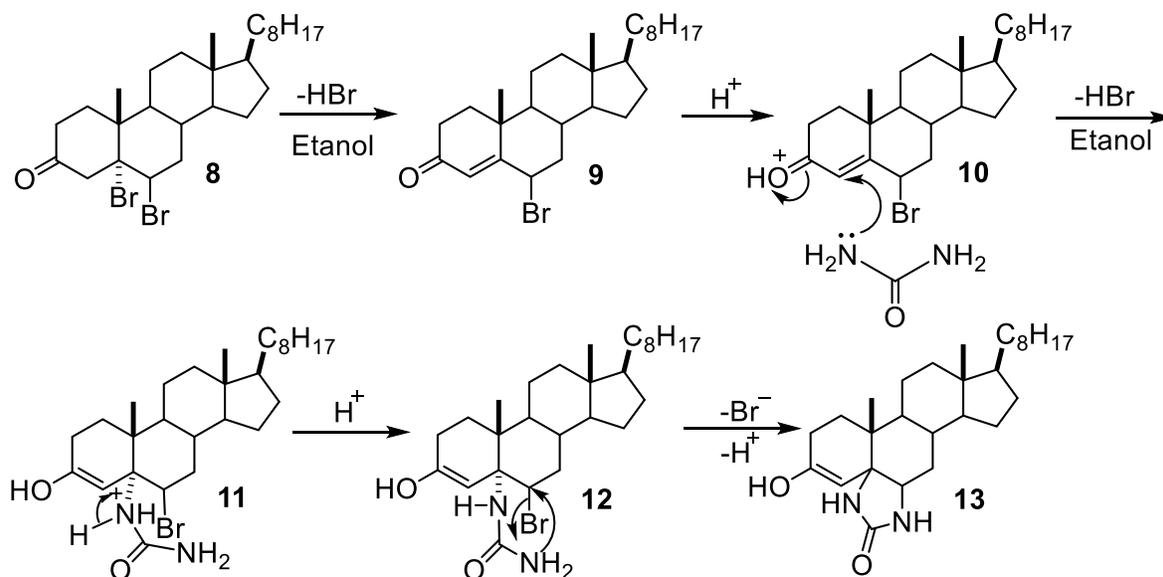


a) AMCPB, CHCl_3 , t.a. 5 h b) Heterociclo, tratamiento en MO.



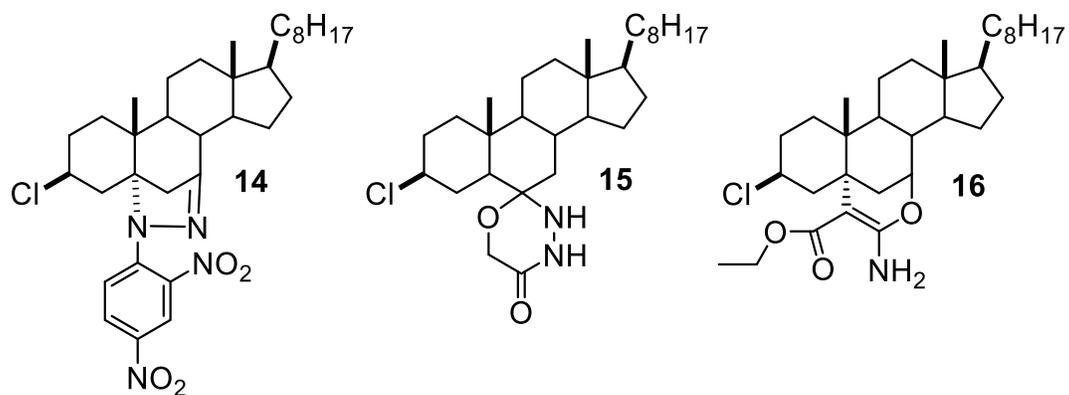
Esquema 2. Heterociclos incorporados en el anillo B vía epóxidos.

Shamsuzzaman realizó la síntesis de derivados con heterociclos fusionados en el anillo B vía el uso de urea,²³ la metodología involucró la bromación en el C-6, seguida de la adición de las ureas o tioureas en el C-5, para formar la hidantoina en el C-5 y C-6 (Esquema 3).



Esquema 3. Síntesis de hidantoinas colestánicas.

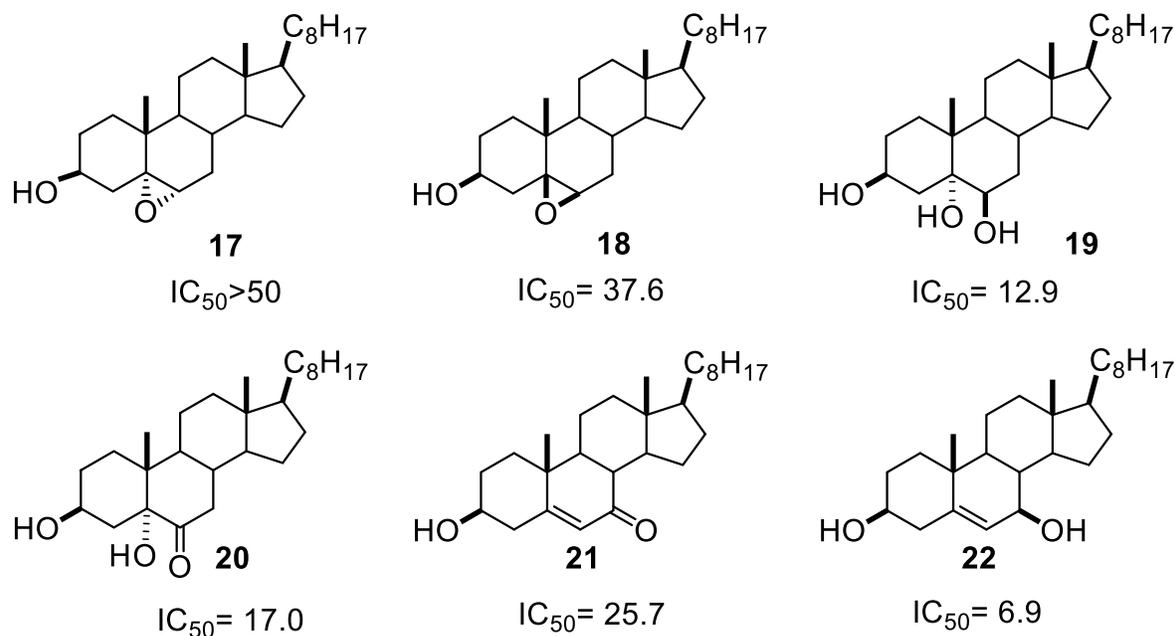
Recientemente Ali y colaboradores²⁴ reportaron la obtención de esteroides con heterociclos fusionados en el anillo B del colesterol. Algunos de estos compuestos presentan propiedades anticancerígenas (Esquema 4).



Esquema 4. Heterociclos fusionados en el anillo B del colesterol.

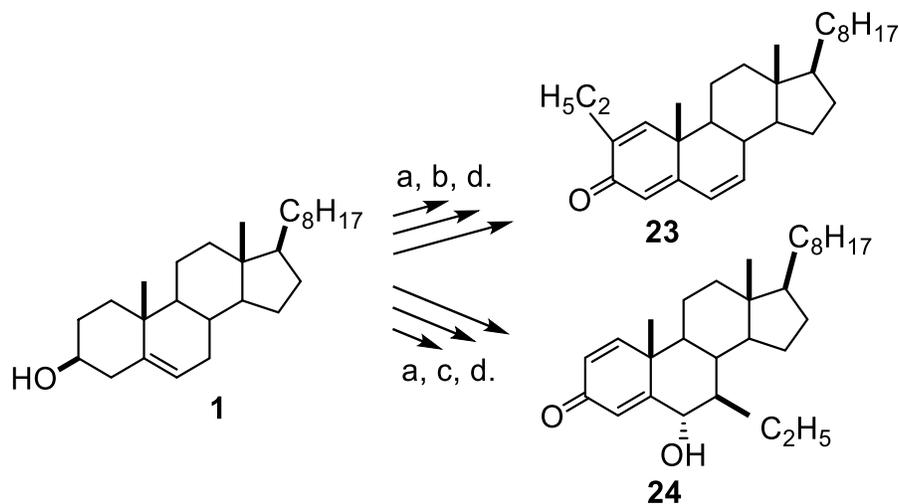
2.3. Esteroides oxigenados

Los esteroides oxigenados participan en distintas funciones biológicas, como son la biosíntesis de ácidos biliares y hormonas esteroideas. Otros investigadores han demostrado que tienen una función reguladora en la meiosis.²⁵ Además, se ha comprobado su actividad en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas como Alzheimer, Parkinson y esclerosis múltiple, inclusive, otros reportes señalan que estos compuestos presentan actividad anticancerígena como lo demostró Carvalho,²⁶ al reportar la capacidad para inhibir el crecimiento de células tumorales de algunos derivados oxigenados a partir del colesterol. Los compuestos con mejores resultados se presentan en el esquema 5. La IC₅₀ (μM) se determinó en células HT-29 de cáncer de colon después de 48 h (Esquema 5).



Esquema 5. Oxiesteroides evaluados como inhibidores de células cancerosas.

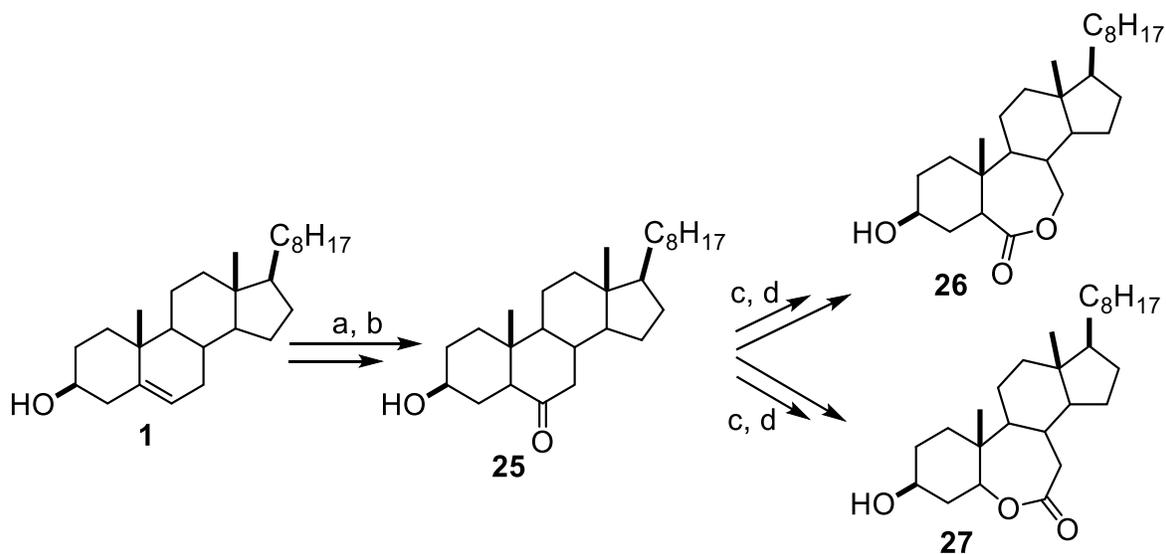
En este contexto, distintos grupos de trabajo han centrado su atención en los productos derivados de oxidaciones, como lo hizo Ma²⁷ en 2010 con la oxidación del colesterol para la obtención de algunos sustratos que se consideran bioactivos (Esquema 6).



- a) DDQ, dioxano, reflujo b) H_2O_2 , 5% NaOH/MeOH, MeOH
c) AMCPB, CHCl_3 d) Li, Etanol.

Esquema 6. Síntesis de derivados del colesterol bioactivos.

Por otra parte, dentro de los esteroides oxigenados se encuentran las lactonas, compuestos con estructuras interesantes y novedosas, por lo tanto, Gan y colaboradores,²⁸ describieron la síntesis de una lactona en el anillo B en 4 etapas a partir del colesterol (Esquema 7).

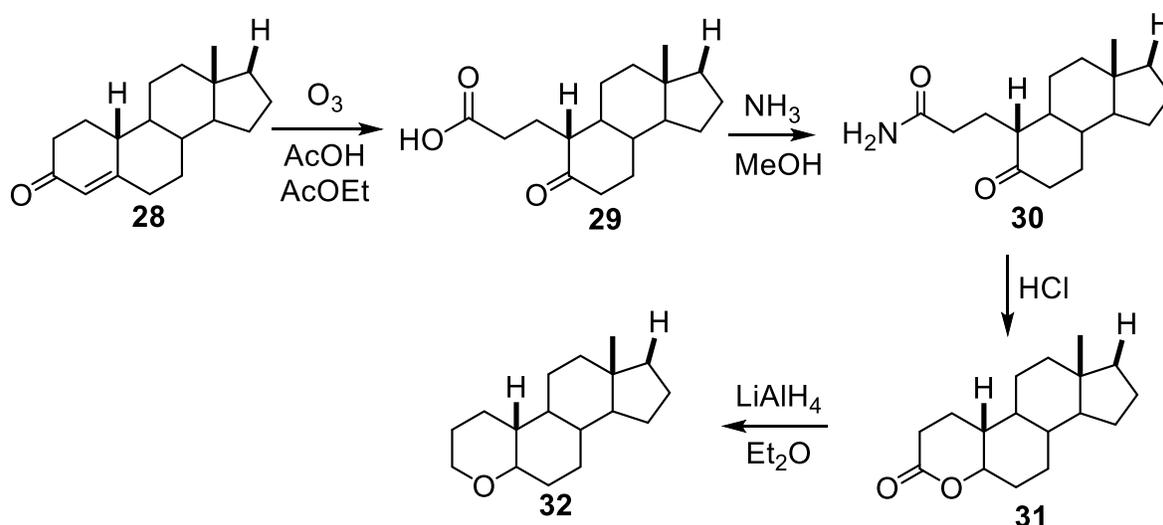


- a) PCC, DCM b) NaBH_4 , $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, CH_3OH
c) AMCPB, DCM d) Reactivo de Collins, DCM.

Esquema 7. Síntesis de una lactona en el anillo B del colesterol.

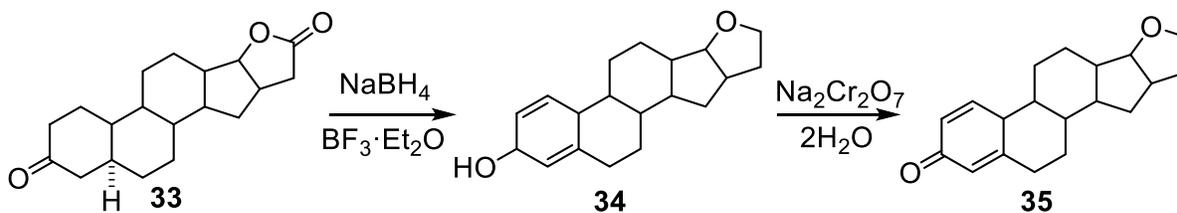
2.3.1. Éteres esteroidales

La síntesis de éteres esteroidales ha sido poco explorada, sin embargo, uno de los primeros reportes data de 1965 cuando Edward y Ferland²⁹ sintetizaron un éter esteroidal en 4 etapas a partir del 3-oxoestra-4-eno (**28**). Esta metodología consistió en la apertura del anillo A, luego el sustrato se trató con amoníaco y HCl. Finalmente, el derivado **32** se obtuvo a partir de la reducción con LiAlH_4 del compuesto **31** (Esquema 8).



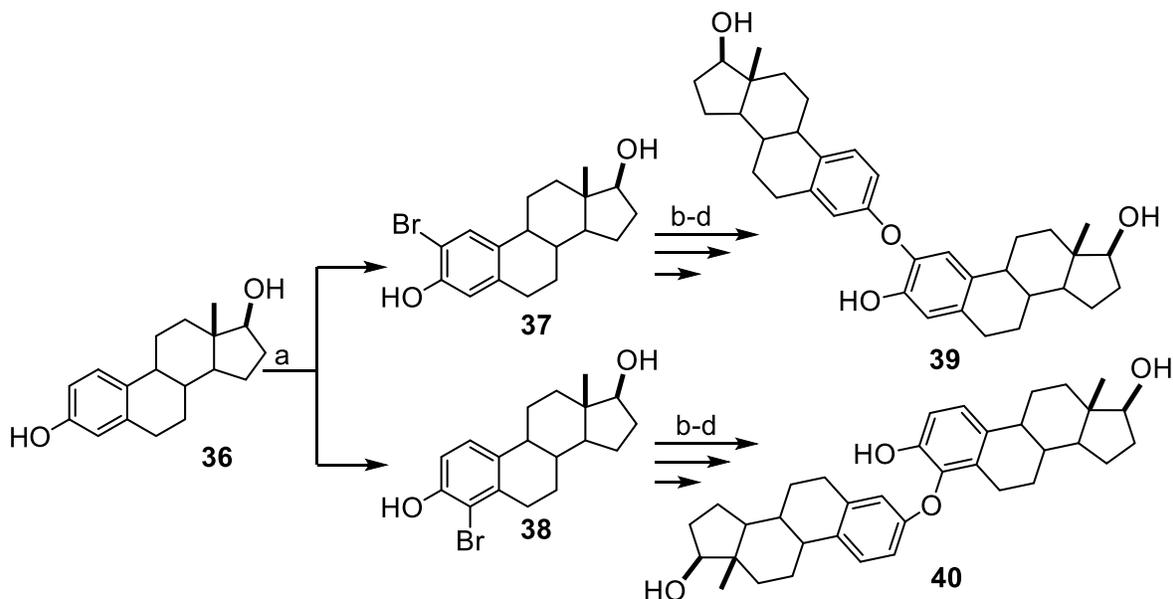
Esquema 8. Síntesis del éter esteroidal **32** en el anillo A vía la enona **28**.

En 1968 Kurath y Oslapas³⁰ prepararon una serie de éteres fusionados en el anillo D. Por lo tanto, la lactona **33** fue tratada bajo reducción con NaBH_4 en $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$; obteniendo el compuesto **34**. Para la síntesis del compuesto **35**, el éter **34** se oxidó con $\text{Na}_2\text{CrO}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Esquema 9). Los derivados **34** y **35** fueron probados para detectar efectos estrogénicos, antiestrogénicos, y actividades androgénicas obteniendo resultados positivos.



Esquema 9. Éteres esteroidales con actividad biológica **34** y **35**.

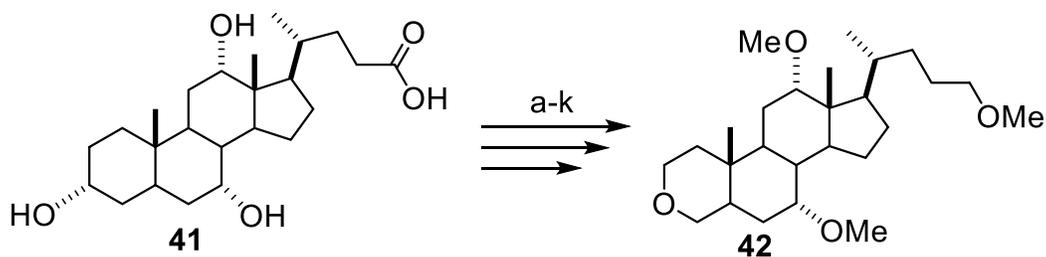
La función éter también ha sido empleada por el grupo de Zhu³¹ para la síntesis de los *bis*-esteroides **39** y **40**. El estradiol **36** se utilizó como material de partida; mediante 4 etapas prepararon dos dímeros unidos a través de un enlace diaril éter, entre el oxígeno fenólico C-3 de una molécula de estradiol y el carbono aromático de la posición 2 o 4 de otro estradiol (Esquema 10).



a) NBS, CHCl₃, Reflujo b) Bromuro de Bencilo, K₂CO₃, CH₃CN, Reflujo
c) K₂CO₃, picolina, 130 °C, 3h, 150 °C, 72 h d) H₂, Pd/C.

Esquema 10. *Bis*-esteroides unidos a través de la función éter.

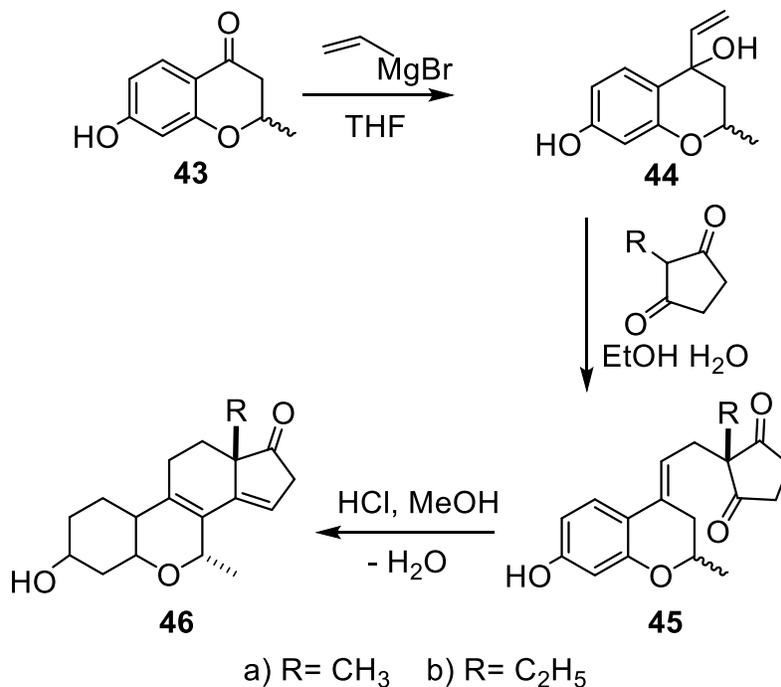
Por otra parte, Ibrahim-Ouali y colaboradores³² realizaron la primera síntesis del 3-*oxa*-5 β -esteroide (**42**) a partir del ácido cólico **41** vía 11 pasos (Esquema 11). Este compuesto contiene un éter en el anillo A del núcleo esteroidal.



- a) MeOH, APTS, 99% b) $\text{Ag}_2\text{CO}_3/\text{Celita}$, 90% c) Ac_2O , DMAP, 87%
 d) APTS, 89% e) LiAlH_4 , 95% f) CH_3I , NaH 100% g) HCl, 97%
 h) AMCPB, APTS, 75% i) DIBAL, 75% j) HgO-I_2 , UV, 90% k) MeLi, 76%.

Esquema 11. Síntesis de un éter esteroidal a partir del ácido cólico.

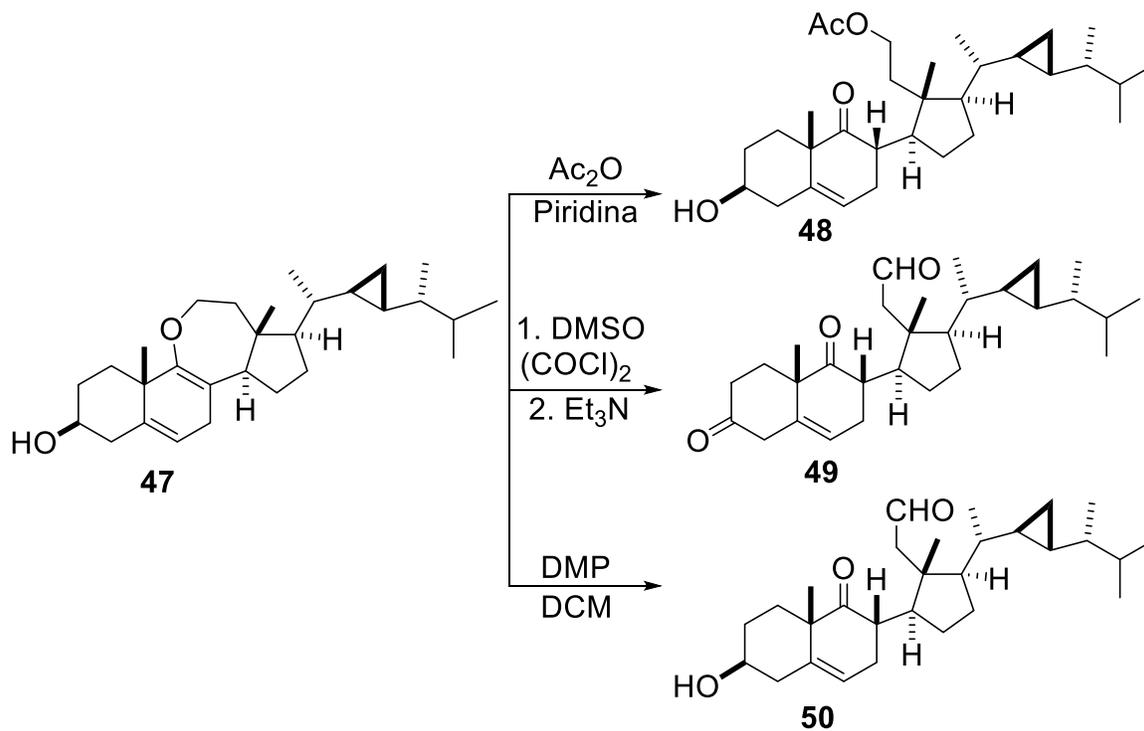
En 2014 Morozkina³³ describió la preparación de un éter sintético 7α -metil-6-oxaestrone (**46**) por medio de una síntesis lineal a partir del compuesto **43**. Posteriormente distintos análogos fueron obtenidos vía **46**; algunos de estos sustratos tienen propiedades osmoprotectoras y antioxidantes (Esquema 12).



Esquema 12. Obtención de un éter en el anillo B.

Recientemente, West³⁴ reportó la obtención del *ameristerenol* **47**, producto natural que se obtiene del extracto de metanol de la *Gorgonia Pseudoptercogorgia americana*. Este compuesto contiene un éter-enol cíclico de siete miembros en el

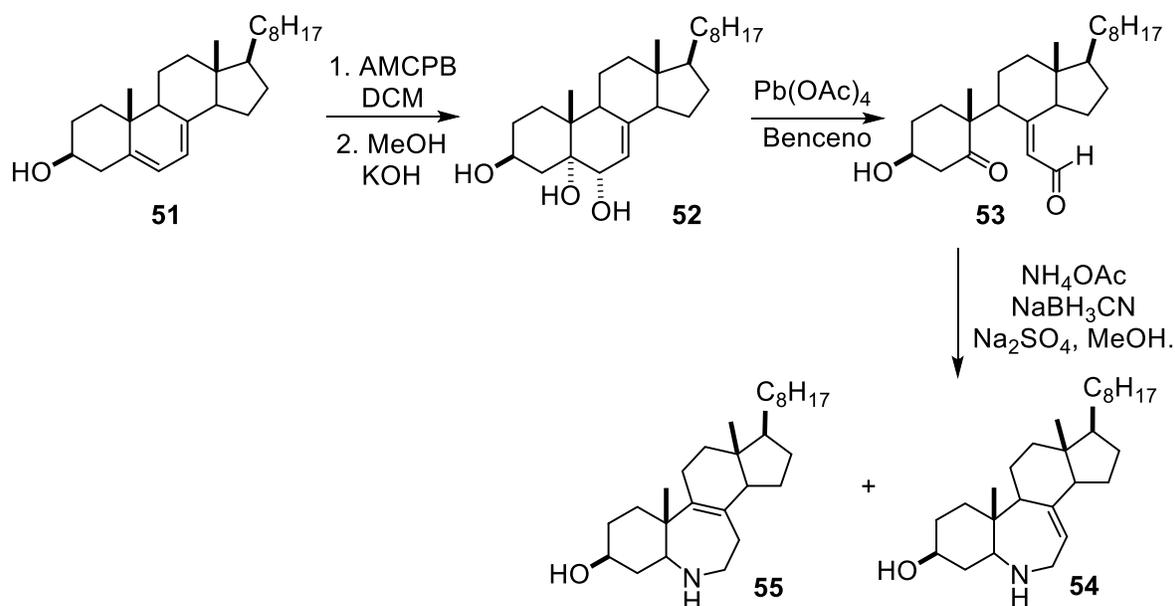
anillo C. Adicionalmente diversas reacciones de apertura fueron realizadas sobre **47**, estas se muestran en el esquema 13.



Esquema 13. Apertura del *ameristerenol* **47**.

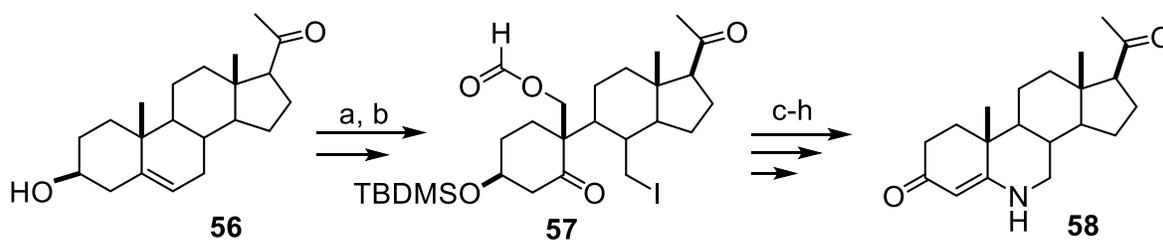
2.4. Esteroides nitrogenados

Los esteroides que contienen nitrógeno son conocidos como azaesteroides, estos compuestos han cobrado importancia ya que en su mayoría son bioactivos, por ejemplo, algunos presentan inhibición enzimática que permite inhabilitar las funciones de la enzima 5α -reductasa en el ser humano, convirtiéndolos en candidatos potenciales para el tratamiento de la hiperplasia prostática.³⁵ En los últimos años distintos grupos de investigación han dedicado esfuerzos para su síntesis. Por ejemplo, Rahier³⁶ describió la síntesis de dos 6-azaesteroides a partir del colest-5,7-dien- 3β -ol (**51**), en tres etapas (Esquema 14). Además, se demostró que los azaesteroides **54** y **55** presentan actividad inhibitoria en enzimas responsables de la producción de esteroides en los animales, plantas y hongos.



Esquema 14. Síntesis de los 6-aza-homoesteroide **54** y **55**.

En 2013 Martínez y colaboradores³⁷ describieron la síntesis de un 6-azaesteroide en 8 etapas a partir de la pregnenolona **56**, empleando como intermediario principal el compuesto **57**. Posteriormente la reacción de Staudinger en **57** permitió la ciclización para formar el azaesteroide **58** (Esquema 15).

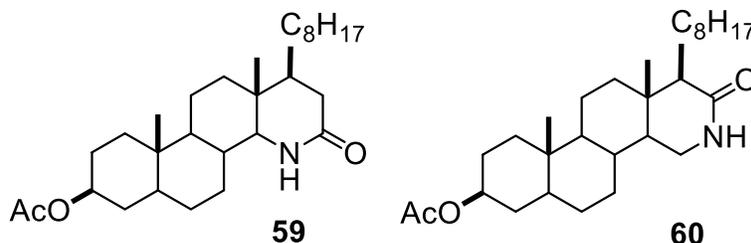


a) HCO_2H , NaOH , MeOH , TBDMSO (b) HgO , I_2 c) NaN_3 d) PPh_3
 e) Boc_2O , K_2CO_3 f) TBAF , K_2CO_3 g) MnO_2 h) Im_2 , 1,2 DCE ii) PH_2SiH_2 .

Esquema 15. Síntesis de la 6-azaprogesteron **58**.

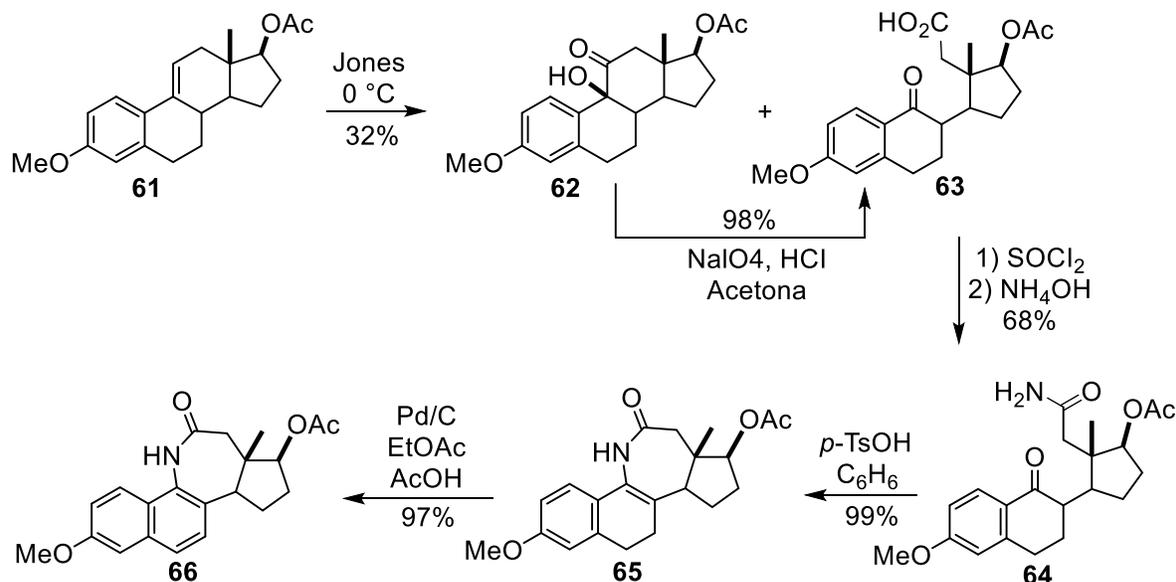
2.4.1. Lactamas esteroidales

Dentro de los azaesteroides, la síntesis de lactamas ha sido ampliamente descrita; por lo que se han desarrollado distintas metodologías para su preparación. Hayatsu y colaboradores³⁸ en 1956 hicieron la síntesis de algunas lactamas esteroidales en el anillo D del núcleo ciclopentanoperhidrofenantreno del colesterol (Esquema 16).



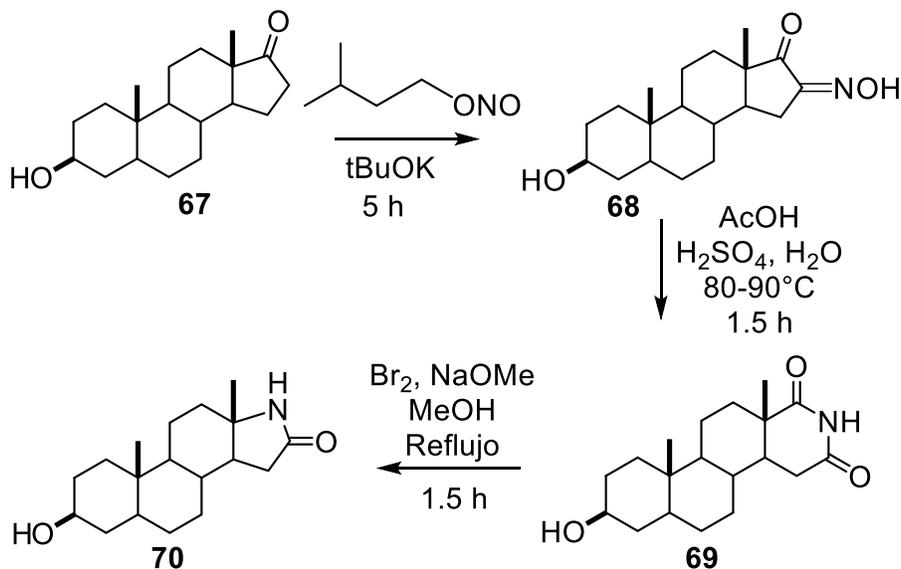
Esquema 16. Lactamas en el anillo D.

Back y colaboradores³⁹ llevaron a cabo la síntesis de una lactama en el anillo C del estradiol. Para la obtención de este sustrato, el estradiol se trató en condiciones oxidativas de Jones, produciendo los compuestos **62** y **63**. El compuesto **62** se hizo reaccionar con NaIO_4 para la obtención de **63**. La amida **64** se obtuvo a partir de la halogenación del *seco*-ácido **63** e inmediata aminólisis del cloruro de acilo. La ciclación se realizó en condiciones ácidas para obtener **65**. Finalmente, la deshidrogenación de **65** con Pd/C proporcionó el compuesto **66** (Esquema 17).



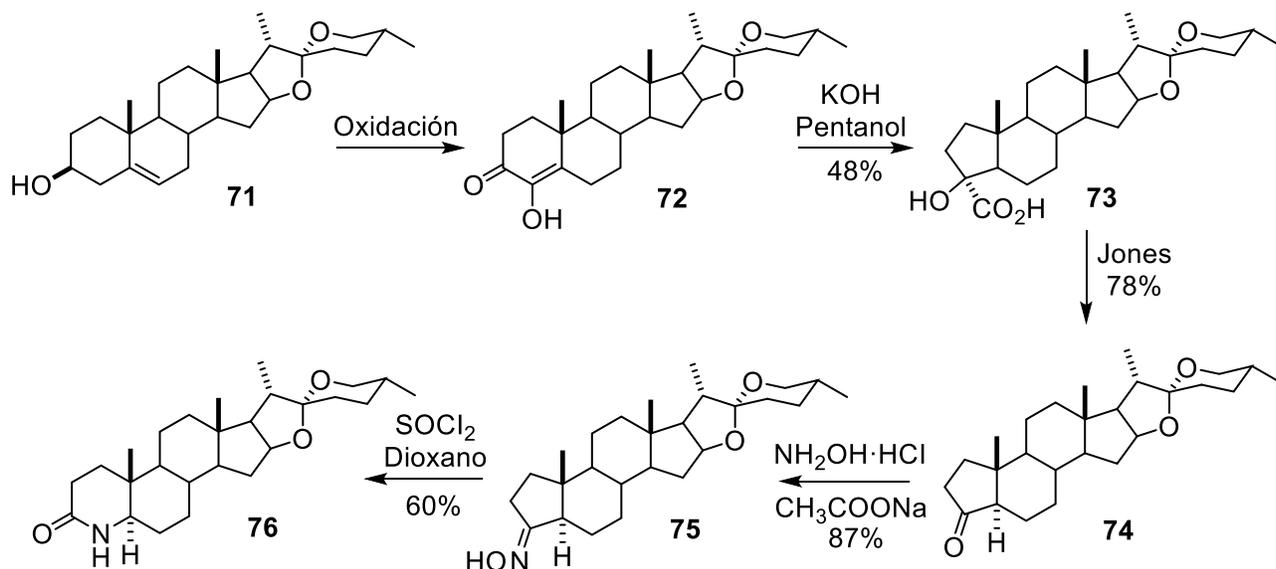
Esquema 17. Síntesis de una lactama en el anillo C del estradiol.

En 2001, Hu y colaboradores⁴⁰ describieron la preparación de lactamas en el anillo D de la 3-hidroxiandrostano-17-ona (**67**). Como primer paso **67** se transformó en la oxima **68** con nitrito de amilo, seguido de un tratamiento con H_2SO_4 y AcOH para obtener la imida **69**. La síntesis de la lactama **70** se llevó a cabo vía trasposición de Hofmann de **69** (Esquema 18).



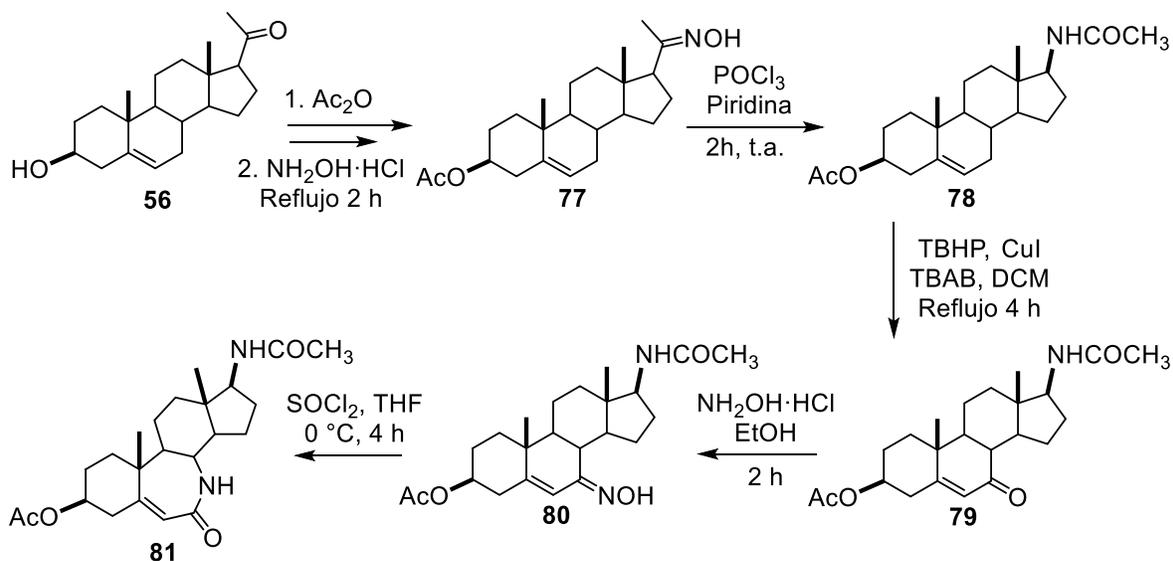
Esquema 18. Síntesis de una lactama en el anillo D de androstano-17-ona **67**.

Yadav⁴¹ reportó un método para la síntesis de lactamas en el anillo A de la diosgenina, que consistió en la conversión de la 4-hidroxi-4-espirosten-3-ona **72**, que en presencia de KOH forma el derivado **73**, la oxidación de este compuesto produce la cetona de 5 miembros **74**, que se transforma en la lactama **76** a partir de la oxima **75** (Esquema 19).



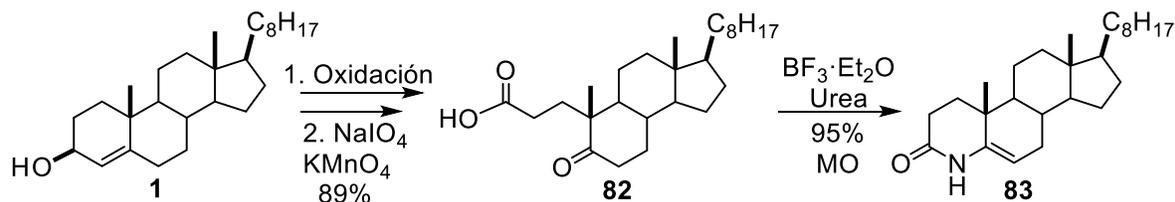
Esquema 19. Síntesis de una lactama en el anillo A de la diosgenina.

En 2008, Koutsourea⁴² describió la síntesis del 3β -acetoxi- 7α aza-B-homo- 17β -acetamido-androst-5-en-7-ona (**81**) a partir de la pregnenolona **56**. En este caso, se trata de una ruta de síntesis que implica 5 etapas de reacción como se muestra en el esquema 20. Una vez sintetizada la lactama **81**, se evaluó su actividad antileucémica reportando resultados prometedores.



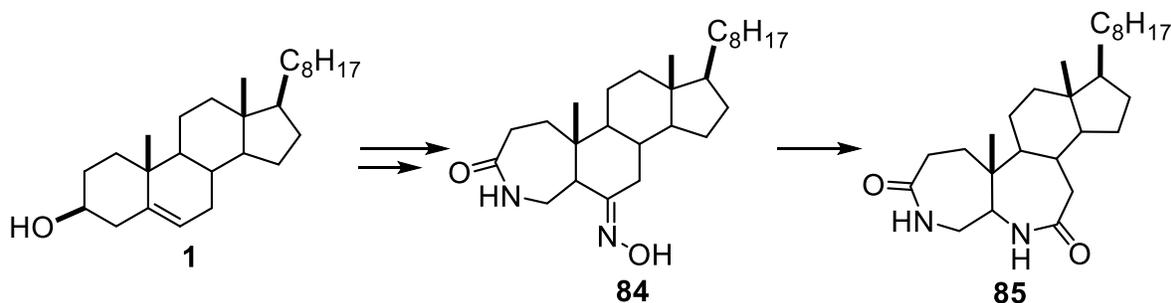
Esquema 20. Síntesis de una lactama en el anillo A de la pregnenolona.

Por otro lado, Borthakur⁴³ realizó la preparación de una lactama en el anillo A del colesterol a partir del *seco*-ácido **82**. En este trabajo se empleó el BF_3 como ácido de Lewis y urea para la generación de amoníaco; además la ciclación se realizó en irradiación de MO, logrando obtener **83** con un rendimiento global del 84% (Esquema 21).



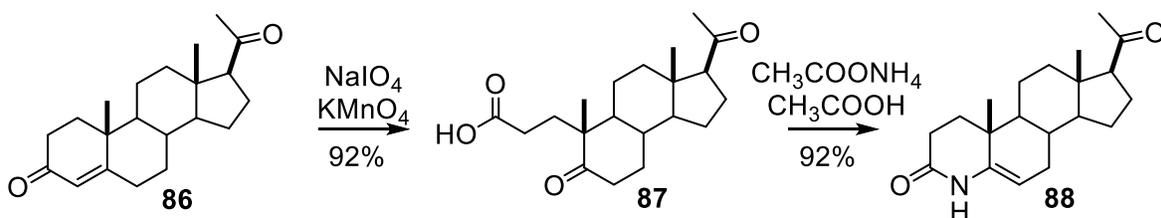
Esquema 21. Síntesis de una lactama en el anillo A del colesterol.

En 2014, Cui y colaboradores,⁴⁴ describieron la síntesis de la dilactama **85** a partir del colesterol (Esquema 22). Este compuesto fue evaluado biológicamente demostrando ser un potencial agente antitumoral.



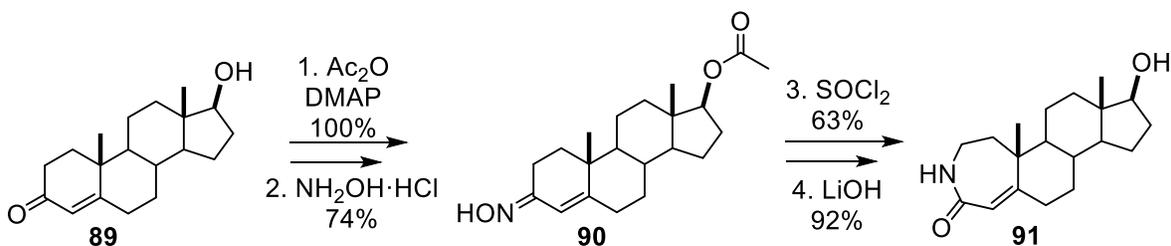
Esquema 22. Síntesis de una dilactama en el colesterol.

En 2015, Yuan⁴⁵ preparó una lactama en el anillo A de la progesterona **86** en 3 etapas de reacción. La apertura del anillo y formación de **87** se realizó con NaIO_4 y KMnO_4 . Este compuesto se trató con formiato de amonio para obtener el compuesto **88** en un rendimiento global del 84% (Esquema 23).



Esquema 23. Síntesis de una lactama en el anillo A de la progesterona.

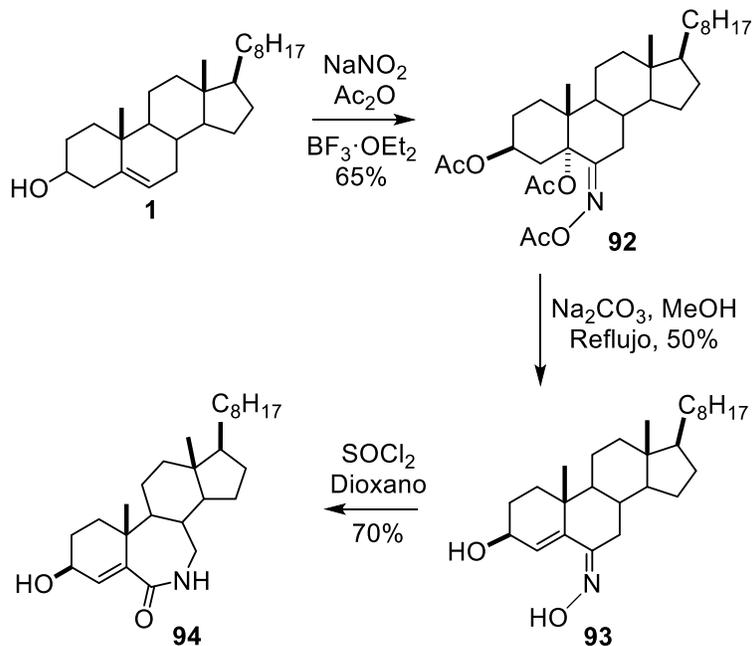
Asimismo, Sarli⁴⁶ describió la obtención de la lactama **91** a partir de la testosterona **89** en 4 etapas de reacción (Esquema 24). Este sustrato es bioactivo, ya que se evaluó su actividad antileucémica observando buenos resultados.



Esquema 24. Síntesis de una lactama en el anillo A de la testosterona.

Recientemente Montiel Smith⁴⁷ realizó la preparación de la lactama **94** del colesterol; vía el intermediario 6-imina **92**, obtenido por tratamiento con NaNO_2 , y $\text{BF}_3\text{O}\cdot\text{Et}_2$ de **1**. Posteriormente la 6-imina **92** reacciona con Na_2CO_3 para la

obtención de la 6-oxima **93** que por tratamiento a reflujo con SOCl_2 , produce la lactama **94** en un rendimiento global de 23 % (Esquema 25).



Esquema 25. Obtención de la lactama **94**.

3. JUSTIFICACIÓN

El colesterol juega un papel importante en el transporte de sustancias a través de las membranas celulares y proporciona fluidez y permeabilidad en éstas. También es precursor para la biosíntesis de hormonas esteroideas, ácidos biliares y la vitamina D; siendo de importancia en la síntesis de derivados bioactivos. Algunos de estos, con distintas aplicaciones sobre todo en la industria farmacéutica.

Por otra parte, la síntesis química ofrece un campo de investigación amplio para el desarrollo de nuevas metodologías y obtención de estructuras esteroidales. En este contexto, en nuestro grupo de investigación se han descrito diferentes métodos relacionados con la modificación estructural de compuestos esteroidales, la importancia de éstos, ha impactado en su uso como intermediarios para la síntesis de esteroides con actividad biológica.⁴⁸ Con estos antecedentes, en el presente trabajo se realizaron modificaciones en el anillo B del colesterol con el interés de obtener esteroides nitrogenados y oxigenados, haciendo uso de un intermediario de tipo 5,6-seco-ácido **96**.

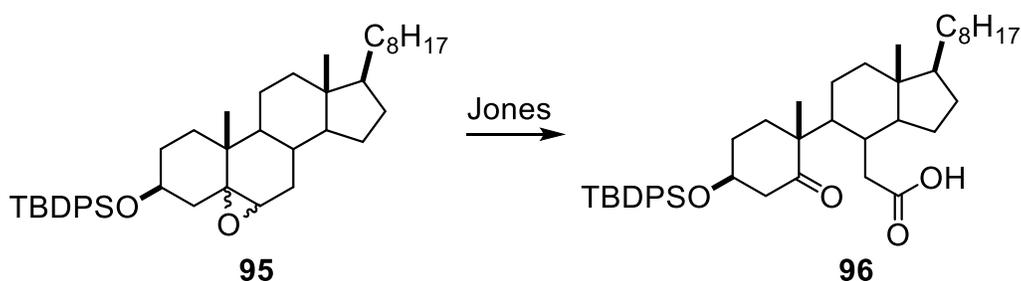
4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

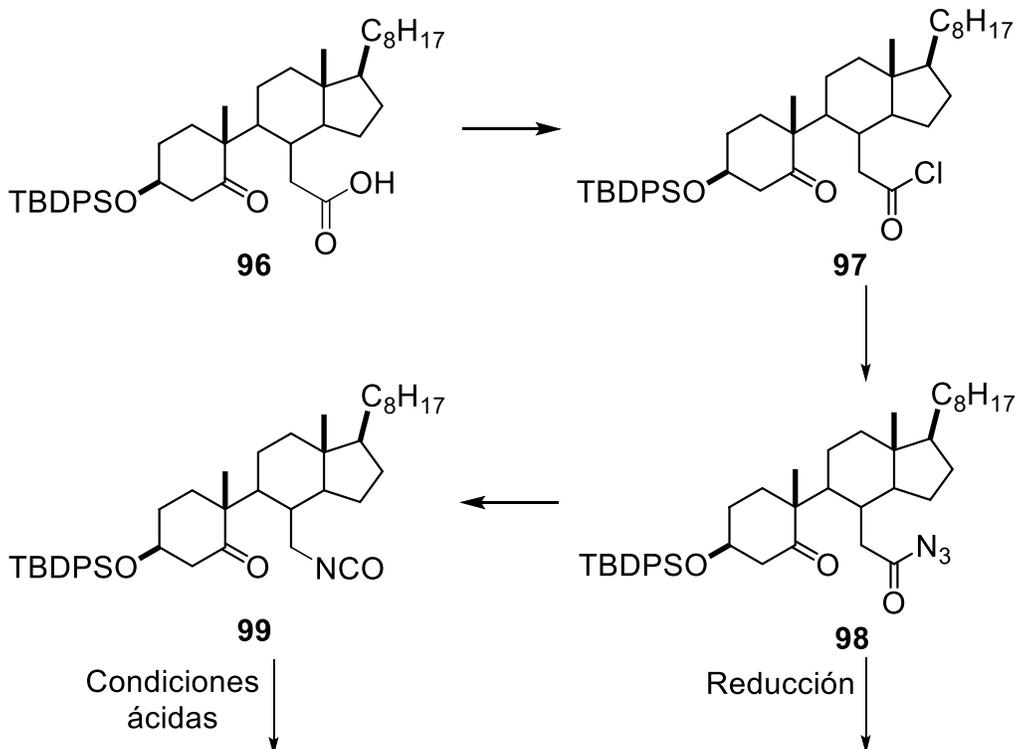
Realizar modificaciones en el anillo B del colesterol.

4.2. Objetivos Específicos

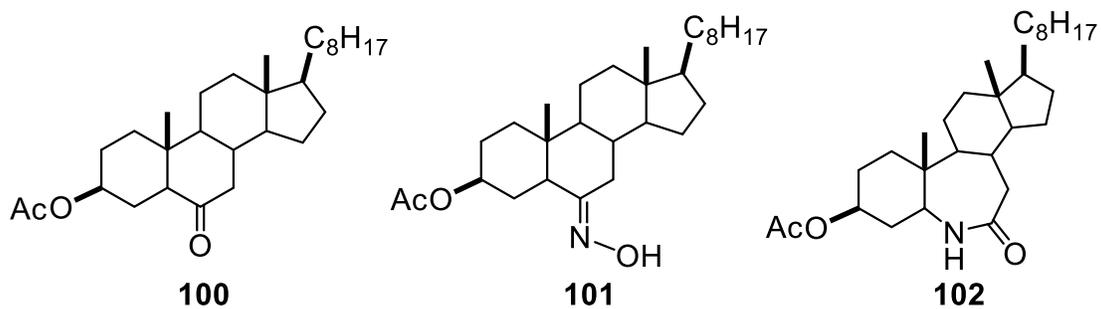
- a) Obtener el 5,6-*seco*-ácido **96** del colesterol vía oxidación de Jones del 5,6-epoxi-colesterol **95**.



- b) Explorar la reactividad del 5,6-*seco*-ácido **96** para la síntesis de nuevos compuestos esteroidales, a través de los intermediarios **98** y **99** preparados por reordenamiento de Curtius.



c) Síntesis de los esteroides nitrogenados **101** y **102** a partir de la 6-cetona **100**.



d) Caracterización estructural de los nuevos compuestos mediante métodos espectroscópicos y físicos.

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1. Instrumentación y equipo

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H , ^{13}C , DEPT, COSY, HETCOR, HSQC, NOESY y HMBC se determinaron en los espectrofotómetros Varian Mercury Plus 400 y ECA 500, expresando los desplazamientos químicos (δ) en ppm y las constantes de acoplamiento (J) en Hertz (Hz), empleando tetrametilsilano (TMS) como referencia interna para ^1H y ^{13}C . Las muestras se disolvieron en CDCl_3 .

Los espectros de infrarrojo (IR) se determinaron en Thermo Scientific Nicolet iS10 usando reflectancia total atenuada ($\bar{\nu}$, cm^{-1}). Además, el espectro de masa de alta resolución (HRMS) fue adquirido en un espectrómetro Agilent Technologies, modelo 1100 que se encuentra acoplado a un cromatógrafo de gases TOF con una fuente APCI (*Atmospheric Pressure Chemical Ionization-Time of Flight*). Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Scientific y Fisher-Johns, y no están corregidos. Los espectros de masa baja resolución fueron adquiridos en un espectrómetro Agilent Technologies LC/MS SQ electrospray (ESI) acoplado a HPLC-1200.

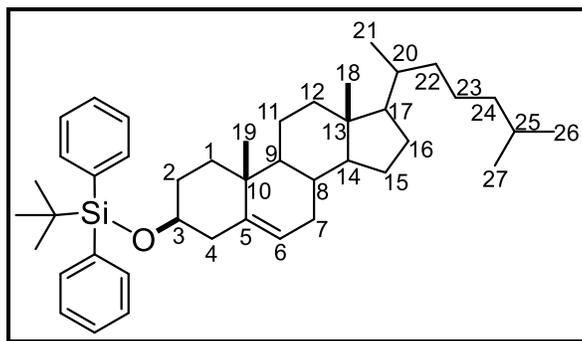
El seguimiento de las reacciones se llevó a cabo por medio de cromatografía en capa fina, utilizando cromatoplasmas (4 cm x 2 cm) de silica gel de 0.2 mm de espesor soportado en placas de aluminio, provistos además de un factor de revelado F_{254} usando como fase móvil Hexano/AcOEt en distintas polaridades. El revelado de las cromatoplasmas se realizó con una lámpara de luz ultravioleta a 254 nm, además se utilizó una solución de H_2SO_4 /agua (30% v/v), empleando calentamiento en una parrilla.

La purificación de los productos se realizó mediante cromatografía en columna de distintos diámetros, empacadas con silica gel (70-230 Mesh). Para su elución se emplearon sistemas de Hexano/AcOEt a distintas polaridades.

El destilado de los disolventes éter etílico y THF se realizó en un sistema de destilación utilizando sodio metálico para la eliminación de humedad y benzofenona como indicador. Los reactivos se compraron de la casa comercial Sigma-Aldrich.

Para la preparación del reactivo de Jones; el CrO_3 se disolvió en agua, luego esta mezcla se llevó a baño de hielo y a continuación se agregó gota a gota el H_2SO_4 concentrado, la mezcla se agitó con precaución hasta su completa disolución.

5.2. 3β -Terc-butildifenilsililoxi-colestan-5-eno (103)



Características físicas: Fórmula: $\text{C}_{43}\text{H}_{64}\text{OSi}$. Aspecto: Polvo blanco. Punto de fusión: 95-98 °C. R_f : 0.66 en 95:5 Hexano/AcOEt.

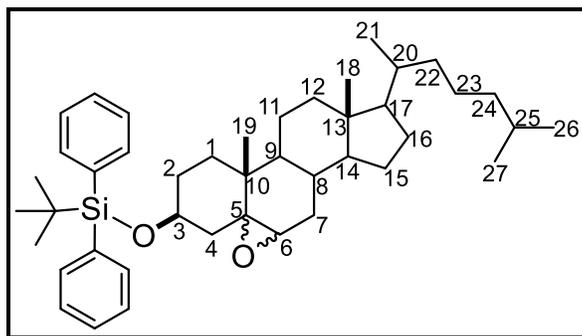
Procedimiento: En un matraz balón provisto de atmósfera de nitrógeno se adicionaron, colesterol (5.66 g, 14.64 mmol) e imidazol (2,9 g, 43.92 mmol). Luego se disolvió en DMF (45 mL) a 50 °C, posteriormente se agregó gota a gota TBDPSCI (5.7 mL, 21.96 mmol) y la mezcla de reacción se mantuvo en agitación a 70 °C por 2 h. Al término de este tiempo, se añadió hielo a la mezcla de reacción y se extrajo con DCM y agua. La fase orgánica se filtró sobre Na_2SO_4 y se eliminó el disolvente en rotavapor. La purificación del crudo de reacción se realizó por cromatografía en columna empacada con silica gel, eluida en un sistema Hexano/AcOEt 95:5 obteniendo 9.17 g del compuesto **103** en forma de sólido blanco con un 92% de rendimiento.

$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.67-7.37 (m, 10H, difenilo del TBDPS), 5.12 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H, H-6), 3.53 (m, 1H, H-3), 2.33 (m, 1H, H-4 α), 2.13 (ddd, $J = 13.3, 4.9, 2.1$ Hz, 1H, H-4 β), 1.05 (s, 9H, *terc*-butilo), 0.98 (s, 3H, Me-19), 0.89 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, Me-21), 0.86 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, Me-27), 0.85 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, Me-26), 0.64 (s, 3H, Me-18).

$^{13}\text{C RMN}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 141.2 (C-5), 135.7-127.4 (C aromáticos del TBDPS), 121.1 (C-6), 73.2 (C-3), 56.7 (C-14), 56.1 (C-17), 50.0 (C-9), 42.4 (C-13), 42.2 (C-4), 39.7 (C-12), 39.5 (C-24), 37.2 (C-1), 36.4 (C-10), 36.1 (C-22), 35.8 (C-

20), 31.8 (C-7), 31.8 (C-8), 31.6 (C-2), 28.2 (C-16), 28.0 (C-25), 27.0 (-C-(CH₃)₃), 24.2 (C-15), 23.8 (C-23), 22.8 (C-27), 22.5 (C-26), 21.0 (C-11), 19.4 (C-19), 19.1 (-C-(CH₃)₃), 18.6 (C-21), 11.8 (C-18).

5.3. 3β -Terc-butildifenilsililoxi-5,6-epoxi-colestan (95)



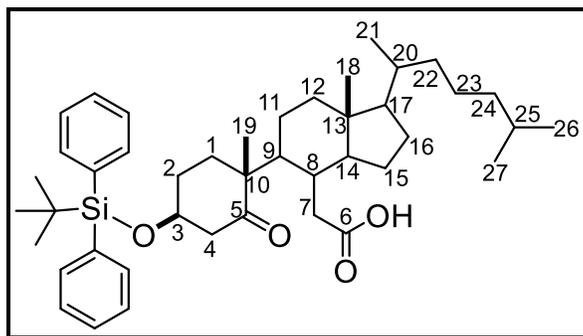
Características físicas: Fórmula: C₄₃H₆₄O₂Si. Aspecto: Polvo blanco. *R_f*: 0.33 en 95:5 Hexano/AcOEt.

Procedimiento: A una solución de 3β-terc-butildifenilsililoxi-colestan-5-eno (**103**) (2.0 g, 3.20 mmol) disuelto en DCM (14 mL) se adicionó AMCPB (0.62 g, 3.84 mmol) en porciones pequeñas durante 15 minutos. La reacción procede después de 16 h. de reacción a temperatura ambiente. Luego, se adicionó hielo a la mezcla de reacción y para su extracción se empleó DCM y solución saturada de NaHCO₃. La fase orgánica se filtró sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a sequedad en rotavapor, obteniendo como crudo de reacción una miel color amarilla. La purificación del crudo de reacción se realizó por cromatografía en columna empacada con silica gel y utilizando como eluyente una mezcla de Hexano/AcOEt 95:5. Se obtuvieron 1.93 g de 3β-terc-butildifenilsililoxi-5,6-epoxi-colestan (**95**) como polvo blanco con un rendimiento del 94%.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.67-7.37 (m, 10H, difenilo del TBDPS), 3.93 (m, 1H, H-3, epóxido α), 3.63 (m, 1H, H-3', epóxido β), 2.74 (dd, *J* = 4.0 Hz, 1H, H-6), 2.15 (ddd, *J* = 14.9, 11.4, 3.6 Hz, 1H, H-4α), 1.04 (s, 9H, *terc*-butilo), 0.87 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H, Me-21), 0.86 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H, Me-27), 0.84 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H, Me-26), 0.58 (s, 3H, Me-18).

^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ : 135.7-127.4, 70.3, 65.7, 59.0, 56.8, 55.7, 51.1, 42.4, 42.2, 40.1, 39.4, 37.0, 36.1, 35.7, 34.7, 32.3, 31.5, 31.4, 29.8, 28.8, 27.9, 26.9, 24.0, 23.7, 22.8, 22.5, 21.9, 20.5, 19.2, 19.1, 18.6, 11.8.

5.4. Ácido 3β -*terc*-butildifenilsililoxi-5-oxo-5,6-*seco*-colestano-6-oico (96)



Características físicas: Fórmula: $\text{C}_{43}\text{H}_{64}\text{O}_4\text{Si}$ Aspecto: Polvo blanco. Punto de fusión: 118-120 °C, Lit (119-122 °C).⁴⁹ R_f : 0.63 en 8:2 Hexano/AcOEt.

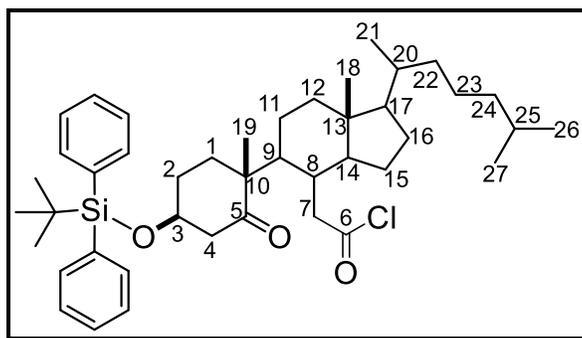
Procedimiento: La mezcla de epóxidos **95** (4.35 g, 6.78 mmol) se disolvieron en acetona (38 mL) y DCM (25 mL). Posteriormente se adicionó gota a gota el reactivo de Jones recién preparado (CrO_3 (1.6 g, 16.06 mmol) disuelto en H_2O (4.5 mL) y H_2SO_4 concentrado (1.5 mL) en baño de hielo) durante 45 minutos, adicionalmente la reacción se mantuvo en agitación vigorosa por 1.5 h a temperatura ambiente. A continuación, se añadió isopropanol hasta vire azul turquesa; inmediatamente la mezcla de reacción se filtró a presión reducida en una bomba de vacío y luego la fase orgánica se evaporó a sequedad en rotavapor.

Después, se realizó una extracción convencional con DCM y salmuera, la fase orgánica se filtró sobre Na_2SO_4 anhidro y el disolvente se eliminó a presión reducida en el rotavapor. La purificación del crudo de reacción se realizó por cromatografía en columna empacada en sílica gel y utilizando como eluyente un sistema Hexano/AcOEt 9:1. Se obtuvieron 2.56 g del compuesto **96** en forma de polvo blanco con un rendimiento del 57%.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.65-7.37 (m, 10H, difenilo del TBDPS), 4.37 (s, 1H, H-3), 2.94 (dd, $J = 13.2, 3.6$ Hz, 1H, H-4 *ec*), 2.35 (d, $J = 13.2$ Hz, 1H, H-4 *ax*), 1.05 (s, 3H, Me 19), 1.03 (s, 9H, H-*terc-butilo*), 0.89 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Me-21), 0.87 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Me-27), 0.85 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Me-26), 0.67 (s, 3H, Me-18).

^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3). δ : 217.2 (C-5), 178.8 (C-6), 135.8 127.5 (C, aromáticos del TBPDS), 72.3 (C-3), 55.8 (C-14), 55.1 (C-17), 52.4 (C-9), 46.5 (C-4), 42.5 (C-13), 41.8 (C-12), 39.8 (C-24), 39.4 (C-1), 35.9 (C-10), 35.6 (C-22), 35.5 (C-20), 34.6 (C-7), 33.9 (C-8), 31.5 (C-2), 28.4 (C-16), 27.9 (C-25), 26.8 ($-\text{C}-(\text{CH}_3)_3$), 24.2 (C-15), 23.7 (C-23), 23.1 (C-27), 22.7 (C-26), 22.5 (C-11), 19,1 ($-\text{C}-(\text{CH}_3)_3$), 18.5 (C-19), 17.8 (C-21), 11.8 (C-18).

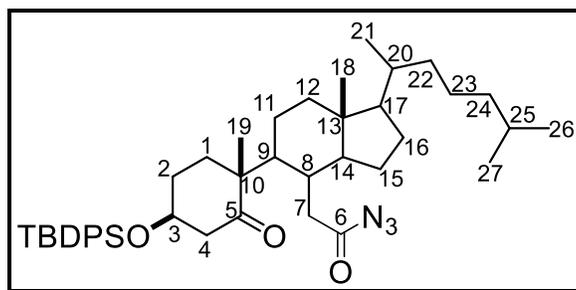
5.5. Cloruro de 3β -*terc*-butildifenilsililoxi-5-oxo-5,6-*seco*-colesteno-6-oilo (97)



Características físicas. Fórmula: $\text{C}_{43}\text{H}_{63}\text{ClO}_3\text{Si}$. Aspecto: Laca amarilla.

Procedimiento. Bajo atmósfera inerte, el ácido 3β -*terc*-butildifenilsililoxi-5-oxo-5,6-*seco*-colestano-6 (96) (500 mg, 0.7432 mmol) se disolvió en éter etílico recién destilado (5 mL) y DMF (0.5 mL). A la mezcla, se adicionó gota a gota SOCl_2 (0.25 mL, 3.42 mmol). La reacción procede después de 1 h de agitación a temperatura ambiente. Para su extracción se empleó éter etílico y salmuera. La fase orgánica se filtró sobre Na_2SO_4 anhidro y luego se evaporó hasta sequedad en el rotavapor. Se obtuvo el crudo de reacción en forma de laca amarilla, que se empleó inmediatamente para la obtención del compuesto 98.

5.6. 3β -Terc-butildifenilsililoxi-5-oxo-5,6-seco-colestan-6-acil-azida (**98**)



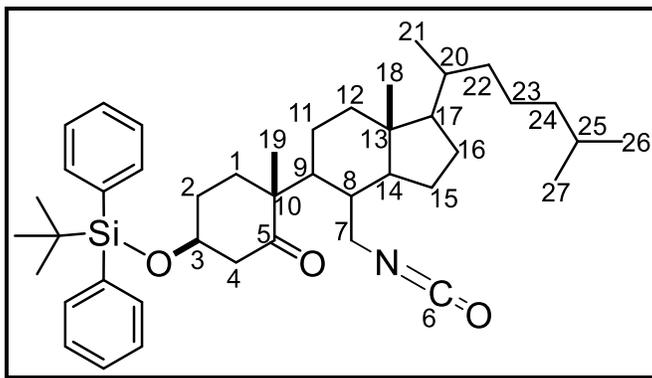
Características físicas. Fórmula: $C_{43}H_{63}N_3O_3Si$. Aspecto: Laca amarilla.

Procedimiento. A una solución de cloruro de 3β -terc-butildifenilsililoxi-5-oxo-5,6-seco-colesterol-6-oilo (**97**) (520 mg, 0.75 mmol) en acetona (10.5 mL) se agregó lentamente una solución de NaN_3 (160 mg, 2.52 mmol) en agua (1.5 mL), la reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente por 15 min. Posteriormente se adicionaron 0.8 mL de agua y la agitación permaneció por otros 15 min. A continuación, se añadió un poco de hielo sobre la mezcla de reacción y se extrajo con DCM y salmuera, después la fase orgánica se filtró sobre Na_2SO_4 anhidro y el disolvente se eliminó a presión reducida en el rotavapor, obteniéndose el compuesto **98** en forma de laca amarilla.

1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$). δ : 7.63-7.39 (m, 10H, difenilo del TBDPS), 4.40 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H, H-3), 3.35 (dd, $J = 13.9, 2.6$ Hz, 1H, H-7 isocianato), 3.21 (dd, $J = 13.9, 2.6$ Hz, 1H, H-7 isocianato), 3.06 (dd, $J = 13.9, 3.6$ Hz, 1H, H-7 isocianato), 2.95 (dd, $J = 13.3, 3.5$ Hz, 1H, H-4a), 1.03 (s, 9H, *terc*-butilo), 0.89 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, Me-19), 0.85 (d, $J = 6.9$ Hz, 6H, Me-26, Me-27), 0.66 (s, 3H, Me-18).

^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$). δ : 216.5, 180.3, 135.8-127.6, 72.2, 56.2, 54.2, 51.7, 46.6, 43.2, 41.4, 39.6, 39.4, 38.8, 35.9, 35.7, 35.6, 33.7, 28.3, 27.9, 27.8, 26.8, 24.1, 23.7, 22.8, 22.7, 22.5, 19.1, 18.5, 17.8, 11.8.

5.7. 3β -Terc-butildifenilsililoxi-5-oxo-5,7-seco-colestan-7-isocianato (**99**)



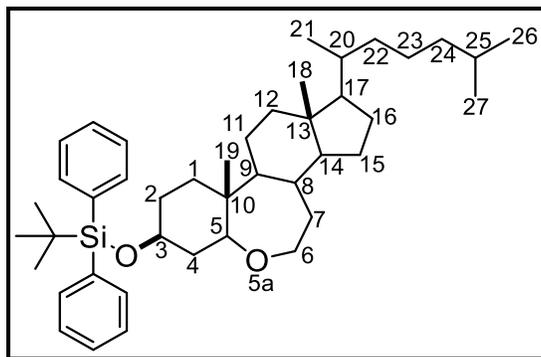
Características físicas. Fórmula: $C_{43}H_{63}NO_3Si$. Aspecto: Laca anaranjada.

Procedimiento. La acil azida **98** (528.6 mg, 0.78 mmol) se disolvió en tolueno (2.5 mL, 23.68 mmol) y se calentó a 80 °C durante 30 minutos. Posteriormente, el solvente se evaporó a presión reducida en el rotavapor, obteniendo 444.6 mg del 3β -terc-butildifenilsililoxi-5-oxo-5,7-seco-colesterol-7-isocianato (**99**) en forma de una laca de color anaranjado.

1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$). δ : 7.64-7.39 (m, 10H, difenilo del TBDPS) 4.41 (m, 1H, H-3), 3.35 (dd, $J = 14.0, 2.5$ Hz, 1H, H-7a), 3.22 (dd, $J = 14.0, 2.5$ Hz, 1H, H-7b), 3.06 (dd, $J = 13.4, 3.6$ Hz, 1H, H-4 ec), 2.44 (d, $J = 13.4$, Hz, 1H, H-4 ax) 1.04 (s, 9H, *terc*-butilo), 1.02 (s, 3H, Me-19), 0.89 (d, $J = 6.5$ Hz, 6H, Me-21), 0.86 (d, $J = 6.6$ Hz, 6H, Me-26, Me-27), 0.66 (s, 3H, Me-18).

^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$). δ : 216.5, 135.8-127.6 121.6, 72.2, 56.2, 52.1, 51.7, 46.6, 43.2, 42.2, 39.7, 39.6, 39.4, 38.8, 35.9, 35.7, 33.7, 28.3, 27.9, 27.8, 26.8, 24.1, 23.7, 22.8, 22.7, 22.5, 19.2, 18.5, 17.7, 11.8.

5.8. 3β-Terc-butildifenilsililoxi-5a-oxa-B-homocolestan (104)



Características físicas. Fórmula: C₄₃H₆₆O₂Si. Aspecto: Laca transparente. *R_f*: 0.63 en 8:2 Hexano/AcOEt.

Procedimiento.

Método A: En un matraz balón provisto de agitación y atmósfera de nitrógeno se colocó la acil azida **98**, (250 mg, 0.36 mmol) enseguida se disolvió en 20 mL de éter etílico recién destilado. Por otro lado, en condiciones de atmósfera de nitrógeno y baño de hielo se disolvieron 1.5 eq de LiAlH₄ (20.13 mg, 0.54 mmol) en 10 mL de éter etílico anhidro. La mezcla de LiAlH₄/éter etílico se adicionó gota a gota vía cánula a la mezcla de azida/éter conservando las condiciones de atmósfera de nitrógeno y baño de hielo. Posteriormente se dejó reaccionar 1.5 h a temperatura ambiente en agitación vigorosa, transcurrido este tiempo, a la mezcla de reacción se adicionó hielo y se extrajo con DCM y salmuera. La fase orgánica se filtró sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró en rotavapor hasta sequedad. La purificación del compuesto se realizó por medio de cromatografía en columna empacada con silica gel, empleando como eluyente un sistema Hexano / AcOEt 9:1. Se obtuvieron 121 mg del nuevo compuesto **104** con aspecto de una laca transparente y rendimiento del 53 %.

Método B: En un matraz balón provisto de agitación y atmósfera inerte se colocó la acil azida **98** (233 mg, 0.30 mmol) que se disolvió en 26 mL de THF anhidro recién destilado. Esta mezcla se llevó a baño de hielo y se le adicionaron en porciones pequeñas 1.5 eq de LiAlH₄ (18.78 mg, 0.53 mmol). La reacción procede después de 1.5 h de reacción a temperatura ambiente y agitación vigorosa. Después se agregó hielo y se realizó su extracción con AcOEt y salmuera. La fase orgánica

se filtró sobre Na₂SO₄ y el disolvente se evaporó en rotavapor hasta sequedad. La purificación del compuesto se realizó por cromatografía en columna empacada con sílica gel y utilizando como eluyente un sistema Hexano/AcOEt 9:1, obteniendo 39.3 mg del compuesto **104** con aspecto de una laca transparente en un 19% de rendimiento.

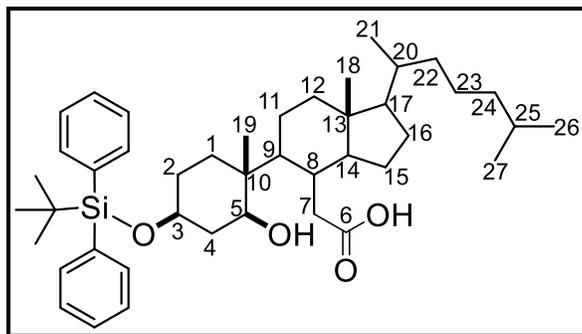
¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ: 7.67-7.36 (m, 10H, difenilo del TBDPS) 4.01 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H, H-5), 3.96 (m, 1H, H-3), 3.76 (m, 1H, H-6 α), 3.56 (m, 1H, H-6 β) 1.04 (s, 9H, *tert*-butilo), 0.91 (s, 1H, Me-19), 0.86 (d, *J* = 2 Hz, 1H Me-27), 0.85 (d, *J* = 2 Hz, 1H Me-26), 0.61 (s, 1H Me-18).

¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) δ: 135.7-127.4 (C, aromáticos del TBPDS), 73.2 (C-5), 67.4 (C-3), 59.4 (C-6), 56.0 (C-14), 53.1 (C-17), 41.8 (C-13), 40.2 (C-12), 40.1 (C-9), 40.0 (C-10), 39.4 (C-24), 39.0 (C-4), 36.0 (C-22), 35.8 (C-8), 35.5 (C-20), 33.1 (C-7), 31.8 (C-2), 30.5 (C-1), 27.9 (C-25), 27.8 (C-16), 27.0 (-C-(CH₃)₃), 25.4 (C-15), 23.8 (C-23), 23.7 (C-11), 22.8 (C-27), 22.5 (C-26), 19.1(-C-(CH₃)₃), 18.5 (C-21), 15.6 (C-19), 11.5 (C-18).

EMHR: C₄₃H₆₇O₂Si [M+H]⁺, calculado 642.48, encontrado 643.4904.

IR ν_{max} cm⁻¹(ATR): 2930.57, 2858.17, 1734.89, 1634.35, 1466.73, 1427.27, 1372.54, 1260.36, 1147.06, 1009.29, 866.22, 821.51, 738.36, 700.31.

5.9. Ácido-3β-terc-butildifenilsiloxi-5β-ol-5,6-seco-colestan-6-oico (105)



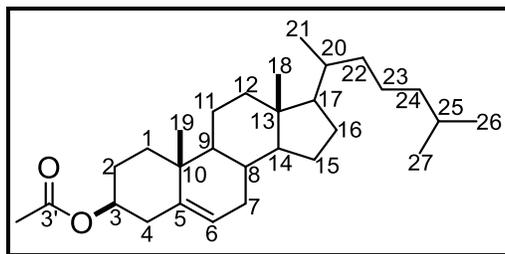
Características físicas: Fórmula: C₄₃H₆₆O₄Si. Aspecto: Laca transparente. *R_f*: 0.30 en 9:1 Hexano/AcOEt.

Procedimiento: En un matraz balón provisto de agitación y atmósfera de nitrógeno, se colocó *seco*-ácido **96** (205 mg, 0.31 mmol) y se disolvió en THF anhidro (24 mL). Esta mezcla se llevó a baño de hielo y se le agregó en porciones pequeñas 1.5 eq de LiAlH₄ (17.12 mg, 0.46 mmol). La reacción procede después de 1.5 h de reacción a temperatura ambiente y agitación vigorosa. Después se adicionó hielo y se realizó su extracción con AcOEt y salmuera. La fase orgánica se filtró sobre Na₂SO₄ y el disolvente se evaporó en rotavapor hasta sequedad. La purificación del compuesto se realizó por medio de cromatografía en columna empacada con silica gel, empleando como eluyente un sistema Hexano/AcOEt 9:1. Se obtuvieron 94 mg del compuesto deseado con aspecto de una laca transparente que corresponden al 46% de rendimiento y recuperación de materia prima en 8% de rendimiento.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.65-7.38 (m, 10H, difenilo del TBDPS), 4.22 (s, 1H, H-3), 4.04 (s, ancha, 1H, OH), 2.88 (t, *J* = 12.9, 10.6 Hz, 1H, H-5), 2.37 (d, *J* = 14.5 Hz, 1H, H-4a), 2.08 (d, *J* = 14.5 Hz, 1H, H-4b), 1.05 (s, 9H, *terc*-butilo), 0.88 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, Me-21), 0.85 (d, *J* = 6.8 Hz, 6H, Me-27, Me-26), 0.63 (s, 3H, Me-18).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃). δ: 173.9 (C-6), 135.6-127.4 (C, aromáticos del TBPDS), 81.6 (C-5), 67.7 (C-3), 55.7 (C-14), 55.5 (C-17), 48.5 (C-9), 42.4 (C-4), 39.4 (C-13), 38.9 (C-12), 37.9 (C-24), 36.5 (C-1), 36.4 (C-10), 35.9 (C-22), 35.6 (C-20), 32.1 (C-7), 30.9 (C-8), 30.8 (C-2), 27.9 (C-16), 27.3 (C-25), 26.9 (-C-(CH₃)₃), 25.3 (C-15), 23.7 (C-23), 22.8 (C-27), 22.5 (C-26), 21.9 (C-11), 19.1 (-C-(CH₃)₃), 18.5 (C-19), 17.0 (C-21), 11.5 (C-18).

5.10. 3 β -Acetoxi-colestan-5-eno (4)



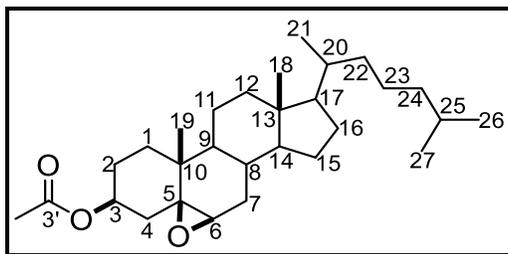
Características físicas. Fórmula: C₂₉H₄₈O₂. Aspecto: Polvo blanco. *R_f*: 0.33 en 95:5 Hexano/AcOEt.

Procedimiento. A una solución de colesterol (6 g, 15.52 mmol) disuelto en DCM (20.5 mL) y piridina (20 mL) se le agregó gota a gota Ac₂O (3.5 mL). La reacción procede después de 18 h en agitación a temperatura ambiente. Enseguida se añadió hielo y se extrajo la mezcla de reacción, lavando 3 veces con HCl al 7.5% y DCM, seguida de 3 lavados con solución saturada de NaHCO₃ y DCM, por último, un lavado con H₂O y DCM. La fase orgánica se filtró sobre Na₂SO₄ y el disolvente se evaporó a presión reducida en rotavapor. La purificación se hizo por cromatografía en columna empleándose silica gel y como eluyente un sistema Hexano/AcOEt 9:1. El compuesto se obtuvo como un polvo blanco, 5.7 g con un rendimiento del 86%.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃). δ: 5.37 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H, H-6), 4.59 (dd, *J* = 10.7, 5.5 Hz, 1H, H-3), 2.32 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-4), 2.03 (s, 3H, C- OCOCH₃), 1.02 (s, 3H, Me-19), 0.91 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H, Me-21), 0.86 (dd, *J* = 6.6, 1.7 Hz, 6H, Me-26, Me-27), 0.68 (s, 3H Me-18).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃). δ: 170.4 (3'-OCOCH₃), 139.6 (C-5), 122.6 (C-6), 73.9 (C-3), 56.6, (C-14), 56.1 (C-17), 50.0 (C-9), 42.3 (C-13), 39.7 (C-12), 39.5 (C-24), 38.1 (C-4), 36.9 (C-1), 36.5 (C-10), 36.1 (C-22), 35.7 (C-20), 31.9 (C-7), 31.8 (C-8), 28.2 (C-16), 27.9 (C-25), 27.7 (C-2), 24.2 (C-15), 23.8 (C-23), 22.8 (C-27), 22.5 (C-26), 21.4 (C- OCOCH₃), 21.0 (C-11), 19.3 (C-19), 18.7 (C-21), 11.8 (C-18).

5.11. 5,6 β -Epoxi-5 β -colestano-3 β -ol-acetato (**106a**)



Características físicas. Fórmula: C₂₉H₄₈O₃. Aspecto: Polvo blanco. Punto de fusión: 108-110 °C, Lit (110-111 °C).⁵⁰ R_f: 0.43 en 9:1 Hexano/AcOEt.

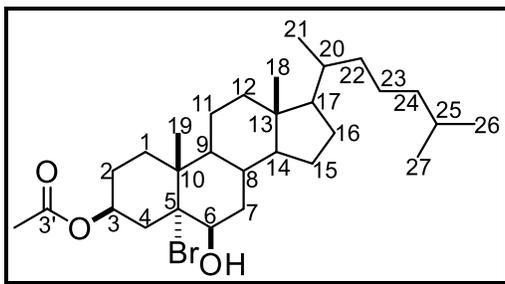
Procedimiento. En un matraz balón se adicionaron KMnO₄ (11.66 g, 73.77 mmol) y CuSO₄·5H₂O (5,82 g, 23.32 mmol) previamente triturados. A la mezcla se añadieron 0.5 mL de H₂O. Posteriormente, se adicionó acetato de colesterol **4** (2.5 g, 5.83 mmol) y 26.5 mL de DCM. Para homogenizar la mezcla de reacción se adicionaron 2.5 mL de *tert*-butanol, continuando la agitación vigorosa por 5 h a temperatura ambiente. Para la extracción, el crudo de reacción se filtró en un embudo Büchner con celita y bomba de vacío realizando lavados con DCM. La fase orgánica se concentró a presión reducida en rotavapor.

Se obtuvo el compuesto deseado en un 72% de rendimiento, que corresponde a la mezcla de α,β epóxidos en una relación 4:1, siendo el β epóxidos producto mayoritario. Después de la purificación del crudo de reacción por cromatografía en columna empacada con gel de sílice y utilizando como disolvente una mezcla de Hexano/AcOEt 99:1. Se logro aislar 1.2 g del β epóxido **106a** en forma de polvo blanco que corresponde 46% del producto esperado.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃). δ : 4.76 (m, 1H, H-3), 3.07 (d, J = 2.6 Hz, 1H, H-6), 2.03 (s, 3H, C- OCOCH₃), 1.00 (s, 3H, Me-19), 0.89 (d, J = 6.5 Hz, 3H, Me-21), 0.86 (d, J = 6.6 Hz, 6H, Me-26, Me-27), 0.64 (s, 3H, Me-18).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃). δ : 170.4 (3'-OCOCH₃), 71.2 (C-3), 63.5 (C-6), 62.4 (C-5), 56.1 (2C, C-9, C-17), 50.9 (C-14), 42.1 (C-13), 39.7 (C-24), 39.4 (C-12), 37.9 (C-4), 36.6 (C-7), 36.0 (C-22), 35.6 (C-20), 34.9 (C-10), 32.3 (C-8), 29.6 (C-1), 28.1 (C-16), 27.9 (C-25), 27.1 (C-2), 24.1 (C-15), 23.7 (C-23), 22.7 (C-27), 22.5 (C-26), 21.8 (C-11), 21.2 (C- OCOCH₃), 18.6 (C-21), 16.9 (C-19), 11.7 (C-18).

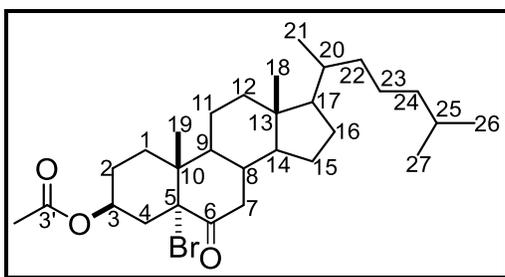
5.12. 5-Bromo-5 α -coleston-3 β ,6 β -diol-3-acetato (107)



Características físicas. Fórmula: C₂₉H₄₉BrO₃. Aspecto: Polvo blanco. *R_f*: 0.70 en 95:5 Hexano/AcOEt.

Procedimiento. A una solución de epoxi-5 β -coleston-3 β -ol-acetato (**106a**) (1.74 g, 3.69 mmol) disuelto en DCM (57 mL) se adicionó lentamente HBr (18.5 mL, 339.35 mmol). La reacción procede después de 3 h en agitación a temperatura ambiente. Enseguida se añadió hielo a la mezcla de reacción y se realizó la extracción con DCM, salmuera y solución saturada de NaHCO₃. La fase orgánica se filtró sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró en rotavapor hasta sequedad, obteniendo 1.8 g de una laca amarilla que se empleó inmediatamente en la siguiente reacción.

5.13. 3 β -Acetoxi-5-bromo-5 α -coleston-6-ona (108)



Características físicas. Fórmula: C₂₉H₄₇BrO₃. Aspecto: Polvo blanco. 0.8 en 9:1 Hexano/AcOEt.

Procedimiento. El crudo de reacción del compuesto **107** (1.8 g, 3.26 mmol) se disolvió en DCM (51 mL), luego se adicionó gota a gota por 45 minutos el reactivo de Jones recién preparado. (CrO₃ (1.3 g, 13.05 mmol) disuelto en H₂O (4 mL, 216.17 mmol) y H₂SO₄ concentrado (1 mL, 19.58 mmol) en baño de hielo), posteriormente se dejó en agitación vigorosa por 1 h. Enseguida se agregó isopropanol a la mezcla

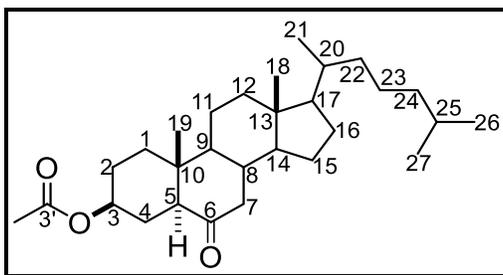
de reacción hasta vire azul turquesa y se filtró en bomba de vacío, realizando lavados con DCM. La fase orgánica se concentró en rotavapor hasta sequedad.

Posteriormente al crudo de reacción se le hizo una extracción con DCM y salmuera, filtrando la fase orgánica sobre Na_2SO_4 ; enseguida, se eliminó el disolvente a presión reducida en el rotavapor hasta la obtención de una laca verde. La purificación se realizó por cromatografía en columna empacada con gel de sílice empleando como eluyente un sistema Hexano/AcOEt 98:2, obteniendo 0.89 g del producto deseado en forma de un polvo blanco y con un rendimiento del 50%.

$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 5.32 (m 1H, H-3), 3.16 (dd, $J_{7ax-7ec}$, $J_{7ax-8ax}$ = 14.8, 12.3 Hz, 1H, H-7 *ax*), 2.39 (ddd, $J_{4ec-4ax}$ 14.5, $J_{4ec-3ax}$ 5.1, $J_{4ec-2ec}$ 1.8 Hz, 1H, H-4 *ec*), 2.28 (dd, $J_{7ax-7ec}$ 14.8, $J_{7ec-8ax}$ 5.3 Hz, 1H, 7 *ec*), 2.03 (s, 3H, C- OCOCH₃), 0.98 (s, 3H, Me-19), 0.91 (d, J_{21-20} = 6.5 Hz, 3H, Me-21), 0.86 (d, J = 6.6 Hz, 6H, Me-26, Me-27), 0.65 (s, 3H, Me-18).

$^{13}\text{C RMN}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 204.1 (C-6), 170.3 (3'-OCOCH₃), 79.6 (C-5), 70.9 (C-3), 56.1 (C-17), 55.9 (C-14), 47.2 (C-9), 43.0 (C-13), 42.6 (C-10), 40.4 (C-7), 39.4 (C-12), 39.2 (C-24), 36.2 (C-8), 36.0 (C-22), 35.6 (C-20), 34.8 (C-4), 30.3 (C-1), 28.1 (C-16), 28.0 (C-25), 26.0 (C-2), 23.7 (2C, C-15, C-23), 22.8 (C-27), 22.5 (C-26), 21.7 (C-11), 21.2 (C- OCOCH₃), 18.6 (C-21), 14.4 (C-19), 12.0 (C-18).

5.14. 3β -Acetoxi- 5α -colestan-6-ona (100)



Características físicas. Fórmula: $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}_3$. Aspecto: Polvo blanco. Punto de fusión: 138 °C-139 °C, Lit (141-142 °C).⁵⁰ R_f : 0.33 en 95:5 Hexano/AcOEt.

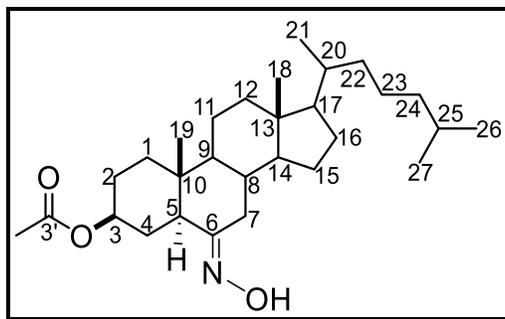
Procedimiento. A una solución del compuesto **108** (887 mg, 1.62 mmol) disuelto en AcOH (17.4 mL) se le adicionaron 4 eq de Zn (421.58 mg, 6.45 mmol). La mezcla de reacción se dejó en calentamiento hasta disolución completa y se llevó a reflujo (117 °C) por 1 h. A continuación, se añadió hielo y se extrajo con AcOEt,

salmuera y solución saturada de NaHCO₃. La fase orgánica se filtró sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida en rotavapor. Para la purificación del crudo de reacción se empleó una columna cromatográfica empacada con silica gel eluida con Hexano/AcOEt 9:1. Se obtuvieron 776.20 mg de un polvo blanco que corresponden al compuesto deseado con un rendimiento del 87%.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 4.65 (m, 1H, H-3), 2.30 (dd, *J* = 13.1, 4.5 Hz, 1H, H-5 α), 2.25 (d, *J* = 12.2 Hz, 1H, H-7 β), 2.01 (s, 3H, C- OCOCH₃), 1.93 (d, *J* = 12.7 Hz, 1H, H-7 α), 0.90 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H, Me-21), 0.85 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H, Me-26, Me-27), 0.75 (s, 3H, Me-19), 0.65 (s, 3H, Me-18).

¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ: 210.4 (C-6), 170.5 (3'-OCOCH₃), 72.8 (C-3), 56.6 (C-5), 56.4 (C-14), 56.0 (C-17), 53.7 (C-9), 46.6 (C-10), 42.9 (C-13), 40.9 (C-12), 39.4 (C-24), 39.3 (C-8), 37.9 (C-1), 36.3 (C-20), 36.0 (C-22), 35.6 (C-7), 28.0 (C-2), 27.9 (C-4), 26.7 (C-16), 26.0 (C-25), 23.9 (C-15), 23.7 (C-23), 22.7 (C-26), 22.5 (C-27), 21.4 (C- OCOCH₃), 21.3 (C-11), 18.6 (C-21), 13.0 (C-19), 11.9 (C-18).

5.15. (6E) 3 β -Acetoxi-6-hidroiminocolestan (101)



Características físicas. Fórmula: C₂₉H₄₉NO₃. Aspecto: Polvo blanco. Punto de fusión: 198-200 °C, Lit (202-204 °C).⁵¹ *R_f*: 0.6 en 7:3 Hexano/AcOEt.

Procedimiento. En un matraz balón se adicionó el compuesto **100** (300 mg, 0.68 mmol) y se disolvió en etanol (56 mL). A continuación, se agregó en porciones pequeñas NH₂OH·HCl (93.70 mg, 1.35 mmol) y AcONa (91.86 mg, 1.98 mmol). La reacción se mantuvo en agitación a 55 °C por 3 h, inmediatamente se agregó hielo y se extrajo con AcOEt, salmuera, filtrando la fase orgánica sobre Na₂SO₄ anhidro y eliminando el disolvente a presión reducida en el rotavapor. La purificación del producto se realizó en cromatografía por columna empacada con gel de sílice y se

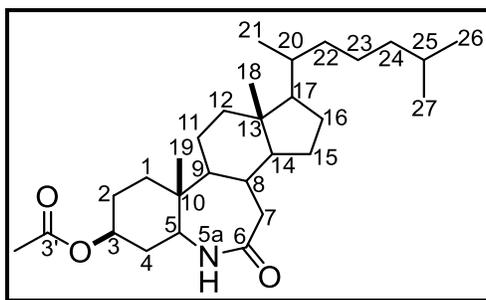
eluyó con Hexano/AcOEt 9:1. Se obtuvieron 237.87 mg del compuesto deseado en forma de un polvo blanco con un rendimiento del 77%.

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃). δ: 8.72 (s, ancha, 1H, N-OH), 4.70 (m, 1H, H-3), 3.34 (dd, *J* = 13.7, 4.5 Hz, 1H, H-7α), 2.05 (s, 1H, C- OCOCH₃), 0.93 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, Me-21), 0.88 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H, Me-26, Me-27), 0.79 (s, 3H, Me-19), 0.67 (s, 3H, Me-18).

¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃) δ: 170.7 (3'-OCOCH₃), 160.0 (C-6), 73.3 (C-3), 56.6 (C-14), 56.1 (C-17), 54.3 (C-9), 49.3 (C-5), 42.9 (C-13), 39.6 (C-12), 39.5 (C-24), 38.9 (C-10), 36.1 (C-4), 36.0 (C-1), 35.8 (C-20), 35.7 (C-8), 29.6 (C-7), 28.1 (C-22), 28.0 (C-25), 27.5 (C-2), 27.1 (C-16), 24.1 (C-15), 23.8 (C-23), 22.8 (C-26), 22.6 (C-27), 21.4 (2C- OCOCH₃, C-11), 18.6 (C-21), 12.5 (C-19), 12.1 (C-18).

LC-ESI-MS: *m/z* (%): = 460.4 (M⁺ +H, 100), 919.7 (8), 518.5 (11), 502.5 (7), 501.5 (23), 462.4 (5), 461.4 (33).

5.16. 3β-Acetoxi-5α-Aza-6-oxo-B-homocolestan (102)



Características físicas. Fórmula: C₂₉H₄₉NO₃. Aspecto: Polvo blanco. Punto de fusión: 223-225 °C, Lit (222-223 °C).⁵² *R_f*: 0.43 en 3:7 Hexano/AcOEt.

Procedimiento. En un matraz balón provisto de atmósfera de nitrógeno se disolvió la oxima **101** (100 mg, 0.22 mmol) en 3.5 mL de THF anhidro recién destilado. Enseguida se adicionó gota a gota SOCl₂ (0.5 mL, 7.56 mmol) disuelto en 1 mL de THF anhidro. Después de 15 minutos de agitación en baño de hielo, a la mezcla de reacción se agregó hielo y se realizó la extracción; se realizaron 3 lavados con solución de amoníaco y DCM, posteriormente 3 lavados con solución saturada de NaHCO₃, salmuera y DCM; la fase orgánica se filtró sobre Na₂SO₄ anhidro y el crudo de reacción se evaporó a presión reducida en rotavapor. La

purificación del compuesto se realizó en columna cromatográfica empacada con gel de sílice empleando como eluyente un sistema de Hexano/AcOEt 1:1. El producto deseado se obtuvo en forma de polvo blanco, 52 mg y 52% de rendimiento.

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃). δ: 5.58 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H, NH), 4.65 (m, 1H, H-3), 3.43 (m, 1H, H-5), 2.29 (m, 1H, H-7a), 2.04 (s, 1H, C- OCOCH₃), 0.90 (s, 3H, Me-21), 0.87 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H, Me-26, Me-27), 0.86 (s, 3H, Me-19), 0.67 (s, 3H, Me-18).

¹³C RMN (125 MHz, CDCl₃), δ: 176.2 (C-6), 170.4 (C-3'-OCOCH₃), 70.9 (C-3), 58.6 (C-14), 56.6 (C-17), 56.4 (C-5), 55.5 (C-9), 42.4 (C-13), 40.2 (C-7), 39.8 (C-12), 39.4 (C-24), 38.6 (C-10), 35.9 (C-22), 35.6 (C-20), 35.3 (C-1), 34.6 (C-8), 34.4 (C-4), 27.9 (C-25), 27.5 (C-16), 26.7 (C-2), 25.5 (C-23), 23.7 (C-15), 22.9 (C-11), 22.7 (C-27), 22.5 (C-26), 21.2 (C- OCOCH₃), 18.5 (C-21), 12.4 (C-19), 11.7 (C-18).

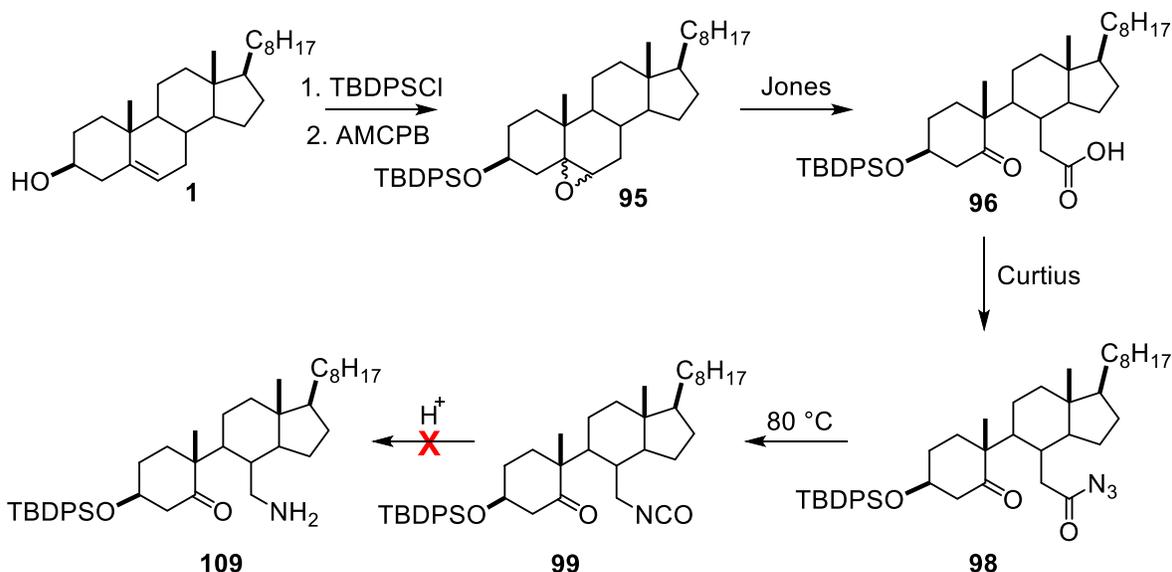
LC-ESI-MS: *m/z* (%): = 460.4 (M⁺ +H, 100), 921.7 (5), 920.8 (23), 919.8 (30), 460.4 (M⁺ +H, 100), 518.5 (5), 502.4 (5), 501.5 (25), 462.4 (5), 461.4 (30).

6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Considerando algunas reacciones estudiadas en las que se emplearon sapogeninas espiroestánicas portadoras de un doble enlace en los C-5 y C-6,^{53,54} decidimos explorar estas metodologías en el anillo B del colesterol, los resultados de estos objetivos se discuten a continuación.

6.1. Apertura del anillo B del colesterol, modificaciones vía el 5,6-seco-ácido 96

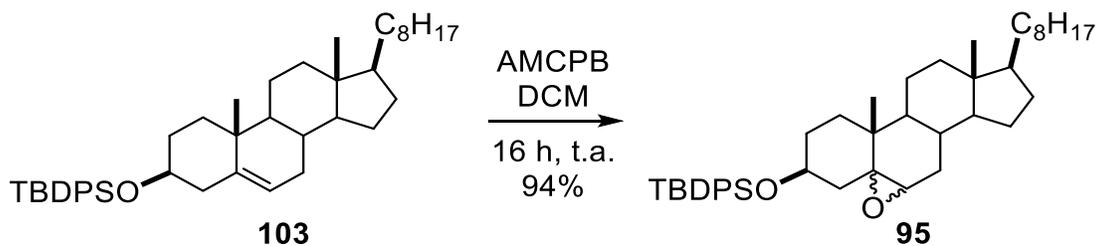
En los primeros ensayos sobre el desarrollo de este trabajo se inició tratando de obtener la aminocetona **109** vía la ruta azida-isocianato, para ello se decidió proteger el colesterol con el TBDPSCI, ya que por ser un grupo protector voluminoso, se conoce que es estable frente a las condiciones del reactivo de Jones, evitando la pérdida del TBDPSCI y transformaciones no deseadas en el anillo A. Posteriormente, se realizó la epoxidación con AMCPB sobre el doble enlace del anillo B, para el subsecuente tratamiento oxidativo en condiciones de Jones y preparación del 5,6-seco-ácido **96** descrito por del Río y colaboradores.⁴⁹ El reordenamiento de Curtius de **96** formó el isocianato **99**; este compuesto se ensayó en diferentes condiciones ácidas. Sin embargo, bajo esta propuesta no fue posible la obtención de la aminocetona **109**, los resultados se discuten a continuación (Esquema 26).



Esquema 26. Modificaciones propuestas del 5,6-seco-ácido **96**.

6.1.1. Obtención y caracterización espectroscópica de los compuestos **95** y **96**

La obtención del intermediario **96** se llevó a cabo mediante la metodología descrita por del Río y colaboradores,⁴⁹ que consiste en la preparación del epóxido **95**; este compuesto se obtuvo en forma de polvo blanco que corresponde a la mezcla de epóxidos α y β en una relación 3.8:1 y un rendimiento del 94% (Esquema 27).



Esquema 27. Metodología para la obtención de **95**.

La obtención del α -epóxido como producto mayoritario se atribuye a que la epoxidación con peroxiacidos produce predominantemente el α por el impedimento estérico de los grupos metilo angulares en C-10 y C-13.⁵⁵

A manera de ejemplo en la Figura 4 se muestra el espectro de hidrógeno, en el que se observa la desaparición de la señal del hidrógeno vinílico en 5.12 ppm, también se observa una señal doble de dobles en 2.74 ppm ($J = 4.0$ Hz, 1H) que corresponden al H-6 del epóxido. En 3.93 ppm y 3.63 ppm se encuentran dos señales múltiples asignadas al H-3 y H-3' de los epóxidos α y β respectivamente. El resto de las señales no presentan cambios significativos.

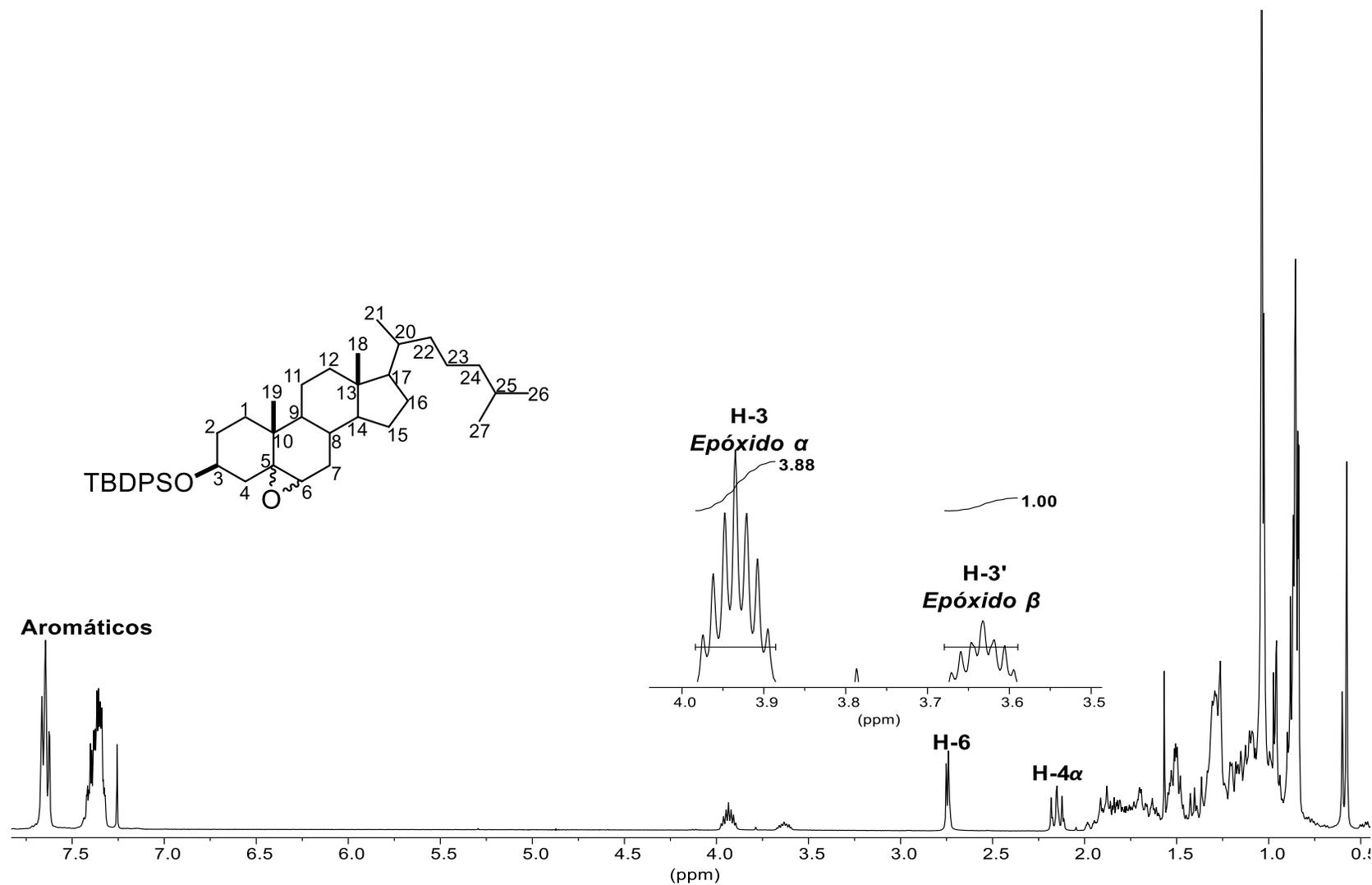


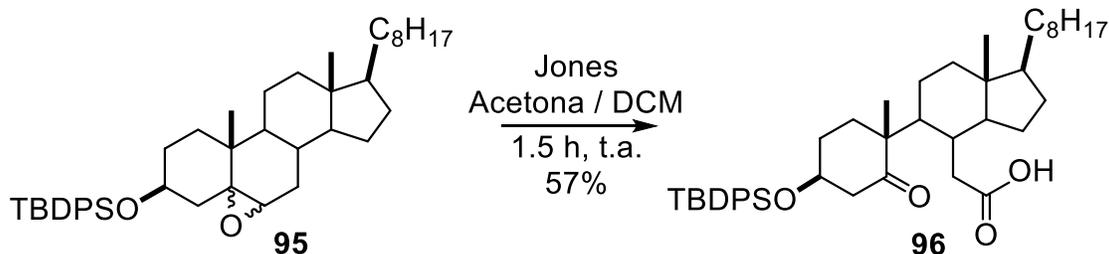
Figura 4. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) del compuesto 95.

Para la apertura oxidativa de anillos esteroidales han sido descritos distintos trabajos, algunos por métodos enzimáticos^{56,57} y otros por métodos convencionales, algunos ejemplos de estos últimos son los reportados por Gumulka para la obtención un *seco*-ácido vía ozonólisis,⁵⁸ Magyar sintetizó un *seco*-ácido por fragmentación de Beckmann⁵⁹ y Borthakur obtuvo un *seco*-ácido en el anillo A empleando NaIO_4 y KMnO_4 ⁴³. Estas oxidaciones han sido reportadas para compuestos esteroidales como las hormonas sexuales y esteroides.

No obstante, la metodología de Jones, descrita por del Río⁴⁹ y previamente ensayada con otras sapogeninas espirostánicas^{53,54} nos ha sido útil como una excelente alternativa para la preparación de este tipo de compuestos; el reactivo de Jones es un agente oxidante fuerte que consiste en una mezcla de óxido crómico y ácido sulfúrico en agua, donde el cromo en estado de oxidación (VI) se reduce a cromo en estado de oxidación (III).⁶⁰

Bajo estas condiciones sucede la apertura del anillo; en primera instancia, el epóxido esteroideal reacciona con agua para formar glicoles, a continuación, estos alcoholes que son de tipo secundario y primario para los C-5 y C-6 respectivamente son oxidados por el CrO_3 a la cetona y ácido carboxílico según corresponde, obteniendo un *seco*-ácido.⁶⁰

La preparación del reactivo de Jones se realizó disolviendo el CrO_3 en agua y luego se adicionó lentamente ácido sulfúrico hasta obtener una mezcla homogénea, la cual se adicionó gota a gota a una mezcla del epóxido **95** disuelto en acetona/DCM. Al término de la adición se dejó reaccionar por 1.5 h a temperatura ambiente bajo agitación vigorosa (Esquema 28). Después de su extracción y purificación por cromatografía en columna se obtuvo el producto en forma de polvo blanco con rendimiento del 57%. Los datos de RMN de ^1H y ^{13}C del compuesto fueron comparados con los descritos.⁴⁹



Esquema 28. Metodología para la obtención de **96**.

En la Figura 5A se muestran los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C ; en relación al hidrógeno, la desaparición de la señal correspondiente a H-6 del epóxido indicó la formación del producto deseado, además del desdoblamiento de las señales de los hidrógenos diastereotópicos de la posición cuatro, que se desplazan a mayor frecuencia como señales dobles de dobles en 2.94 ppm H-4 *ec* ($J = 13.2, 3.6$ Hz, 1H) y 2.35 ppm H-4 *ax* (d, $J = 13.2$ Hz, 1H). Así mismo, las señales simples en 1.05 ppm y 0.67 ppm que corresponden a los Me-19 y Me-18 se desplazan a campos bajos con relación al compuesto **95**. Los dobletes que se observan en 0.89 ($J = 6.9$ Hz, 3H), 0.86 ($J = 6.9$ Hz, 3H) y 0.85 ppm ($J = 6.9$ Hz, 3H) pertenecen a los Me- 21, Me-27 y Me-26 respectivamente.

En la Figura 5B de ^{13}C se confirma la formación de **96** ya que en 217.2 ppm aparece la señal del grupo carbonilo de la cetona en C-5. En 178.8 ppm aparece la señal característica del carbonilo de ácido del C-6. Las señales en el rango de 135.8 ppm a 127.5 ppm y la de 26.8 ppm corresponden a los carbonos aromáticos y los metilos del grupo *terc*-butilo, lo que confirma que el grupo protector se mantiene después de la oxidación.

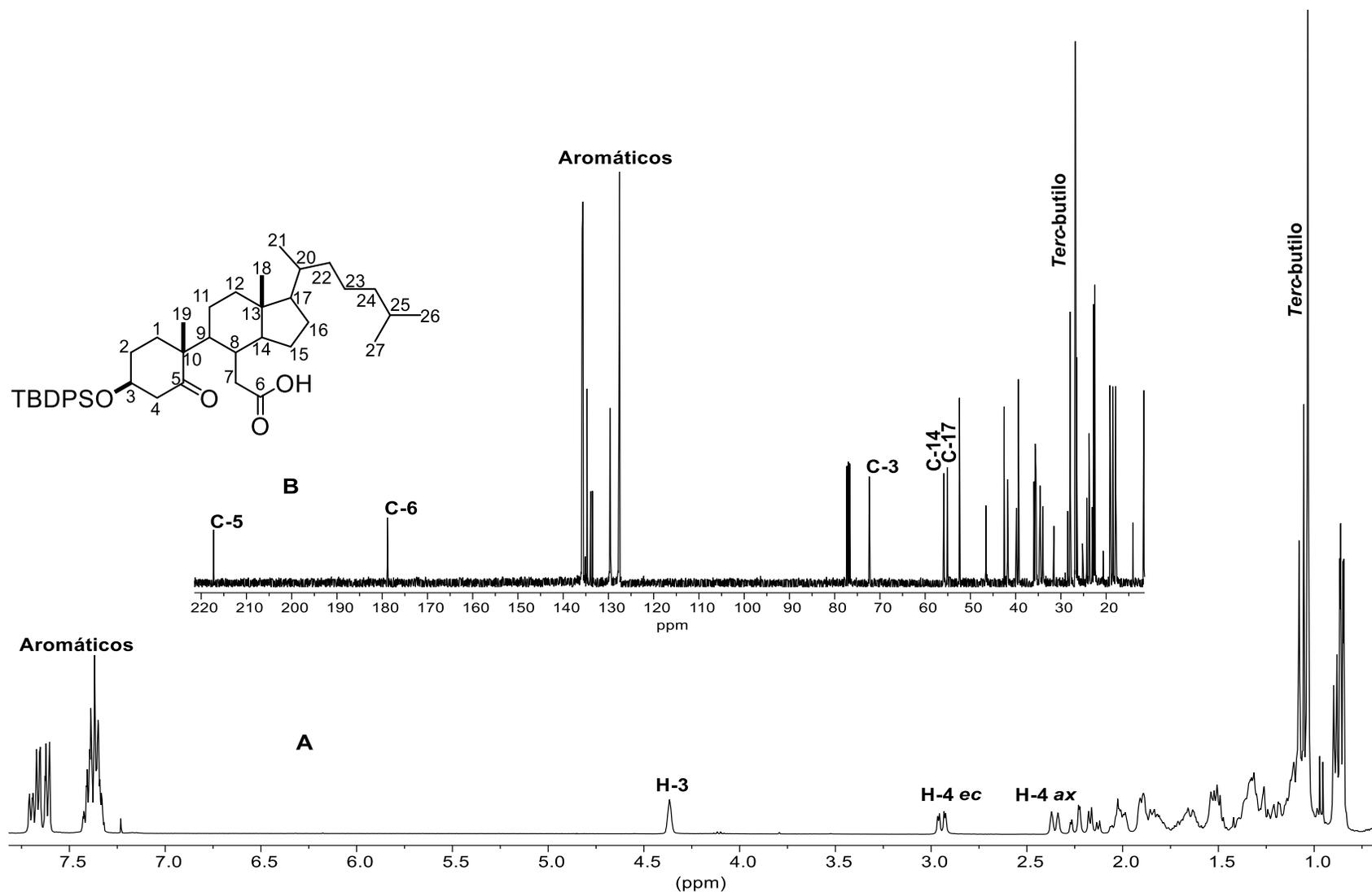
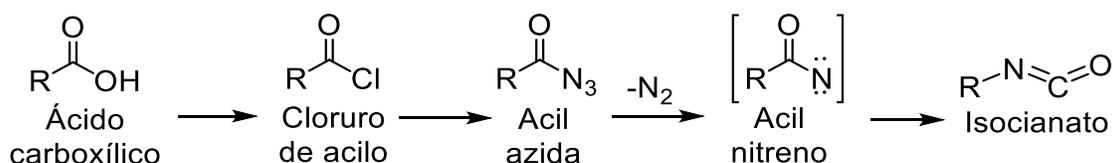


Figura 5. Espectros de RMN: A) de ^1H (400 MHz) y B) ^{13}C (100 MHz) de **96**.

6.1.2. Funcionalización del *seco*-ácido **96**

6.1.2.1. Reordenamiento de Curtius de **96**

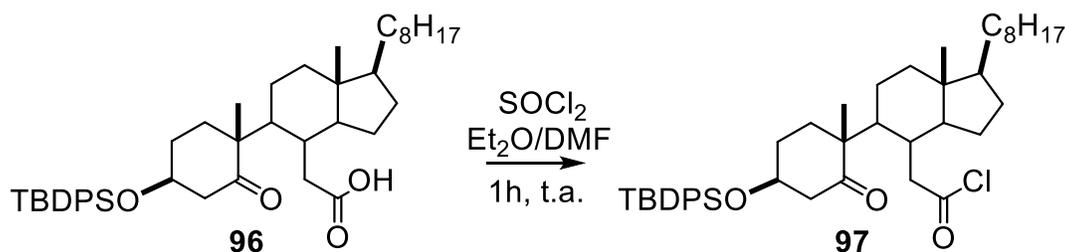
El reordenamiento de Curtius consiste en la descomposición térmica de una acil azida derivada de ácido carboxílico para producir un isocianato como se muestra en el esquema 29.⁶¹



Esquema 29. Reordenamiento de Curtius.

Tomando en cuenta que la síntesis de aminas ha sido descrita a partir de isocianatos,^{59,62} se decidió realizar el reordenamiento de Curtius utilizando como materia prima el *seco*-ácido **96**, esto con el interés de explorar la reactividad del isocianato **99** en la preparación de la aminocetona **109** (Esquema 26).

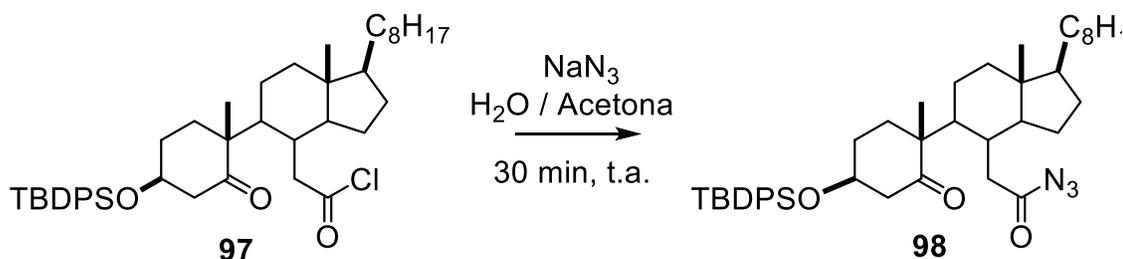
Para iniciar la obtención de **97**, el derivado **96** se hizo reaccionar con SOCl_2 y DMF en presencia de éter etílico. La reacción procede a temperatura ambiente después de 1 h. La extracción de la mezcla con éter etílico y lavados con salmuera, forma un sólido con forma de laca color amarillo (Esquema 30).



Esquema 30. Metodología para la obtención de **97**.

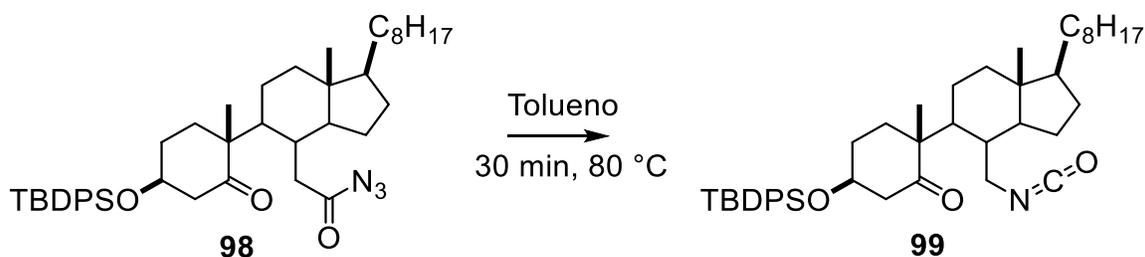
Debido a que los cloruros de acilo son muy reactivos, el crudo de reacción del compuesto **97** se trató inmediatamente con NaN_3 y una mezcla de cetona y agua durante 30 minutos a temperatura ambiente. Después de la extracción con DCM y

salmuera se obtiene otro sólido en forma de laca color amarilla correspondiente al compuesto **98** (Esquema 31).



Esquema 31. Metodología para la obtención de **98**.

Finalmente, la obtención del isocianato **99** se realizó a partir del crudo de reacción de **98**, previa disolución en tolueno y calentamiento a 80 °C por 30 minutos (Esquema 32).



Esquema 32. Metodología para la obtención del isocianato **99**.

En las Figuras 6 y 7 se muestra la comparación de los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C de los crudos de reacción de la acil azida **98** y el isocianato **99**.

En la figura 6 el espectro de ^1H para la azida **98** la señal doble que aparece en 4.40 ppm ($J = 12.1$ Hz, 1H) se asignó a la de H-3 base de oxígeno. Las señales dobles que se encuentran en 3.35 ($J = 13.9, 2.6$ Hz, 1H), 3.21 ppm ($J = 13.9, 2.6$ Hz, 1H) y 3.06 ppm ($J = 13.9, 3.6$ Hz, 1H) corresponden al H-7 del isocianato debido a que en este tipo de reacciones se obtiene la mezcla acil-azida / isocianato como lo reportan algunos trabajos.^{53,54} Las señales dobles de dobles en 2.95 ppm ($J = 13.3, 3.5$ Hz, 1H) se asignaron al H-4a. Mientras tanto, para la asignación del isocianato **99** en el espectro de ^1H se observan nuevas señales dobles en 3.35 ppm ($J = 14.0, 2.5$ Hz, 1H) y 3.22 ppm ($J = 14.0, 2.5$ Hz, 1H) que fueron asignadas a los

H-7 a/b, confirmando la presencia del nitrógeno del isocianato por el desplazamiento a mayor frecuencia de estos hidrógenos. El resto de las señales se observan sin cambios significativos.

En la figura 7, el espectro de RMN de ^{13}C de **98** confirma la obtención de la azida por desaparición de la señal en 178.8 ppm correspondiente al C-6 del seco-ácido, en su lugar se encuentra una señal en 180.3 ppm asignada al C-6, del carbonilo de azida. Esta señal desaparece cuando se obtiene el isocianato **99** y se observa una nueva señal en la región vinílica en 121.6 ppm que corresponde al carbono del -NCO. Para ambos compuestos se conserva la señal del C5 en 216.5 ppm, así como las del sistema aromático en el rango de 135.8 ppm a 127.6 ppm, y del grupo *terc*-butilo en 26.85 ppm, confirmando la presencia del grupo protector y el resto de la molécula sin cambio aparente.

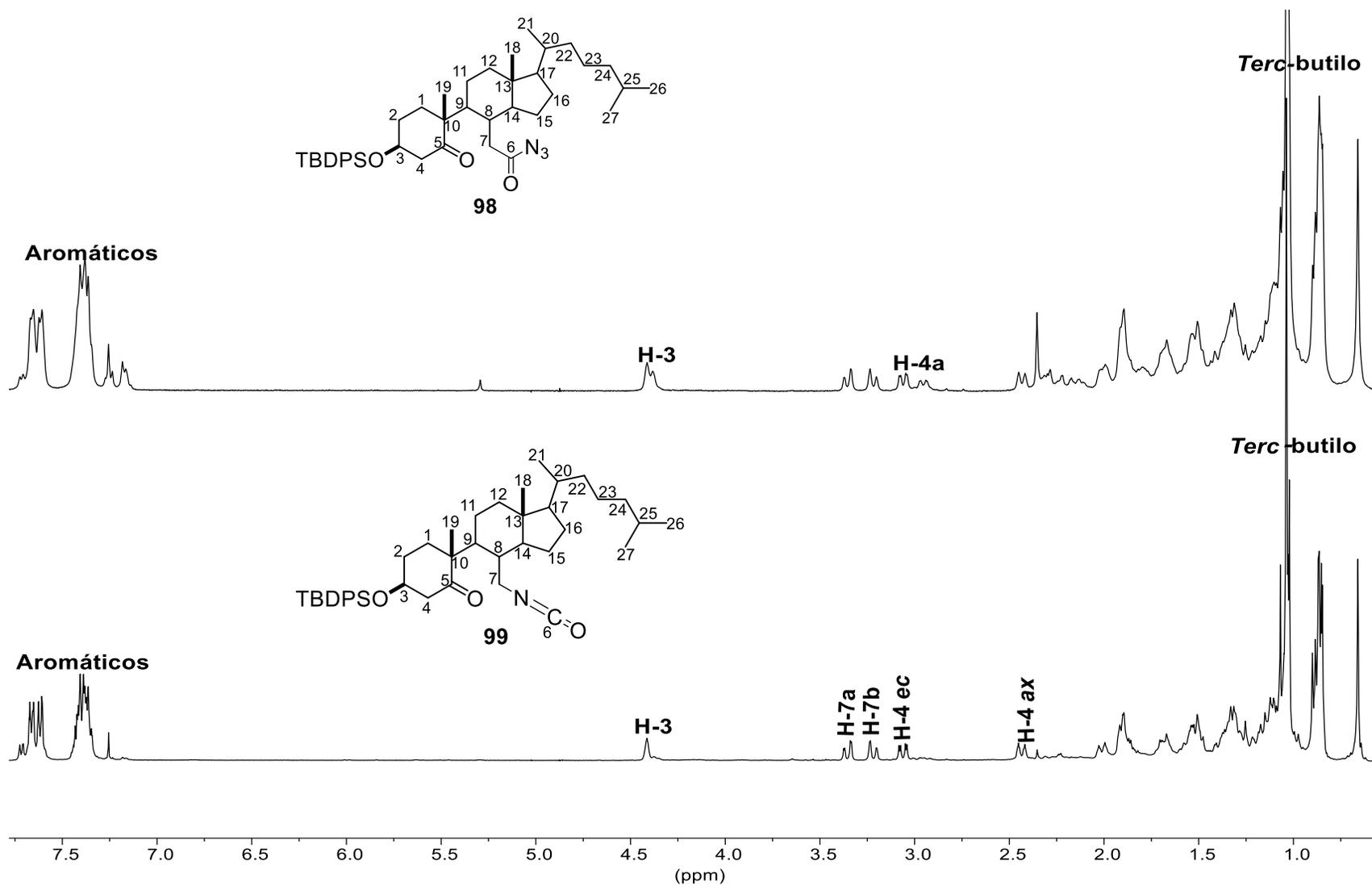


Figura 6. Comparación de espectros de RMN de ¹H (400 MHz) de **98** y **99**.

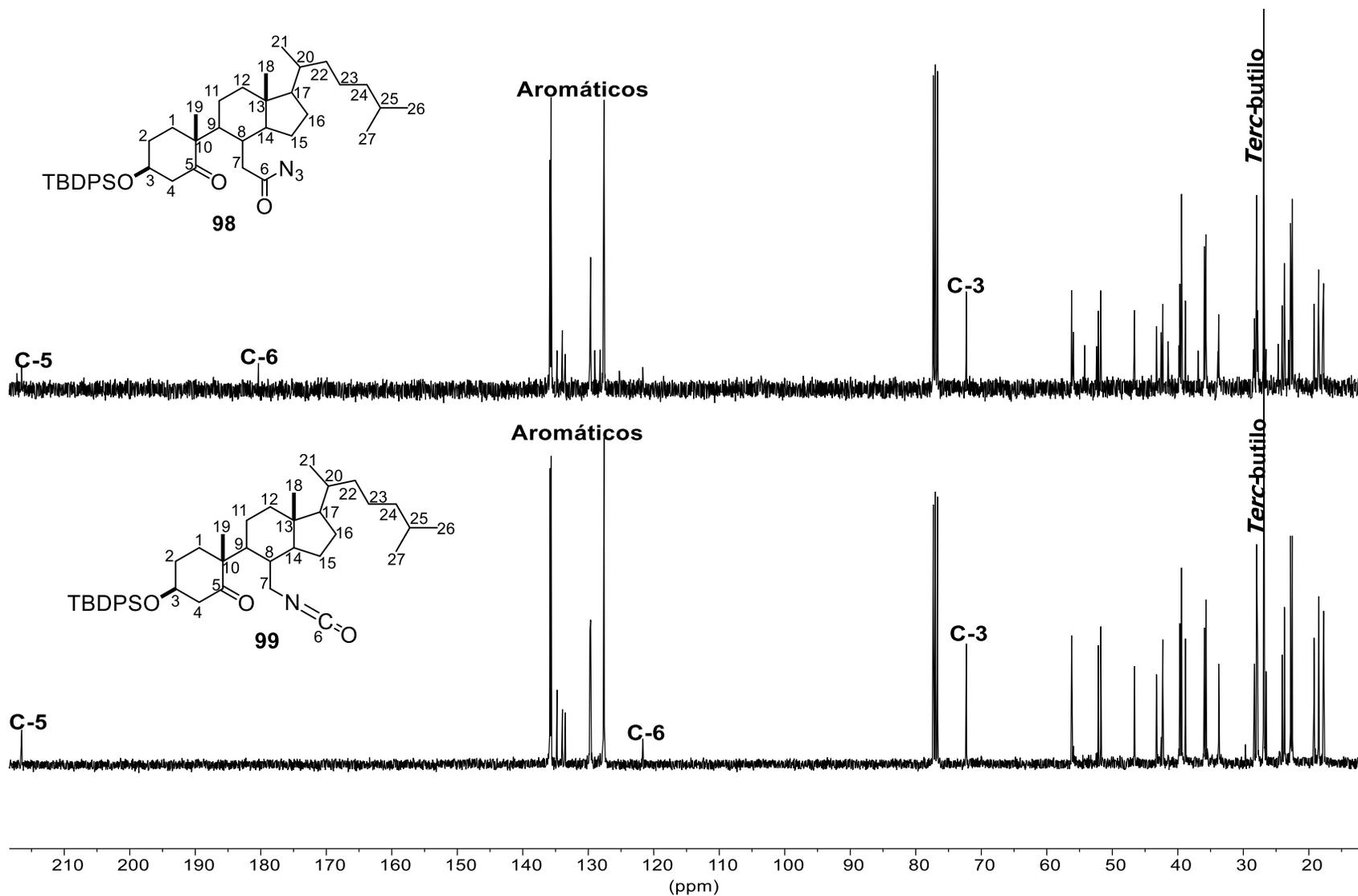
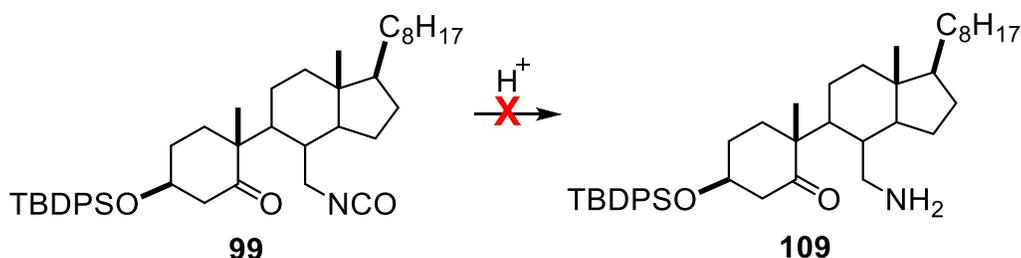


Figura 7. Comparación de espectros de RMN de ¹³C (100 MHz) de **98** y **99**.

6.1.2.2. Reactividad del isocianato **99**

La reactividad de los isocianatos en medio ácido^{59,62} es bien conocida, por lo cual en nuestro interés para obtener la amino cetona esteroidal **109** se llevaron a cabo diferentes ensayos con el isocianato **99** en condiciones ácidas (Esquema 33). Los resultados se muestran en la tabla 1.



Esquema 33. Propuesta para la obtención de la amino cetona **109**.

Tabla 1. Ensayos para la preparación de **109**.

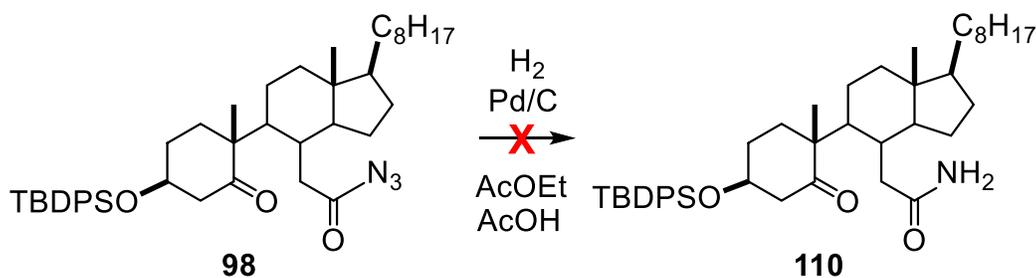
Ensayo	Ácido	Tiempo	Disolvente	Condiciones	Productos
1	HBr	15 min	Sin disolvente	El compuesto 99 fue tratado con HBr a temperatura ambiente e inmediatamente se adicionó NaOH al 20% hasta pH neutro.	Recuperación de Materia prima
2	HBr	15 min	DCM	Debido a que en la prueba anterior 99 no era miscible con el HBr; 99 se disolvió en DCM y luego se trató en iguales condiciones del ensayo 1.	Recuperación de Materia prima
3	HCl	18 h	Benceno	El isocianato 99 se disolvió en benceno, y se trató con HCl. Luego se llevó a reflujo por 9 h, al término de este tiempo se eliminó el benceno a presión reducida y se llevó a reflujo por otras 9 h. Después el crudo de reacción se trató con NaOH al 20%, y se extrajo con DCM.	Descomposición de materia prima

4	HBr	18 h	Benceno	El isocianato 99 fue disuelto en benceno y se adicionó HBr llevando esta mezcla a reflujo por 9 h. Posteriormente se trató el crudo de reacción con NaOH al 20% y se extrajo con DCM.	Descomposición de materia prima
5	HCl	9 h	Benceno	Se repitieron las condiciones del ensayo anterior cambiando el HBr por HCl.	Descomposición de materia prima
6	HCl	15 min	Benceno	El isocianato 99 se trató con benceno y HCl, posteriormente se llevó a reflujo por 15 min. Enseguida el crudo de reacción se trató con NaOH al 20% y se extrajo con DCM.	Descomposición de materia prima

Debido a que las condiciones ácidas no funcionaron para obtener la amino cetona **109**, se planteó como una segunda alternativa trabajar con la acil azida **98**.

6.1.2.3. Reactividad de la acil azida **98**

Tomando como base algunos antecedentes,⁶³ se decidió intentar la obtención de la amida **110** a partir de la reducción catalítica de la acil azida **98** (Esquema 34).



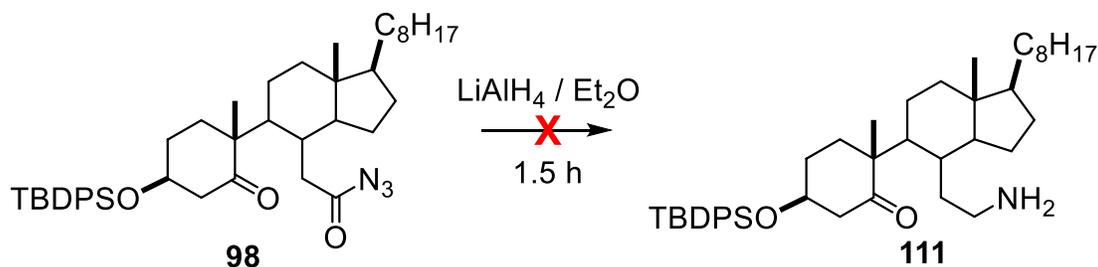
Esquema 34. Metodología propuesta para la obtención de **110**.

La azida **98** se trató bajo las condiciones de hidrogenación catalítica con Pd/C. Después de 48 h y seguimiento de la reacción por TLC únicamente se observó

materia prima. La RMN de Hidrógeno del crudo de reacción también confirmó la recuperación de la materia prima.

6.1.3. Obtención y caracterización espectroscópica del nuevo éter esteroidal **104** vía reducción de la acil azida **98**

Con los resultados anteriores y tomando en cuenta las características del hidruro de litio y aluminio (LiAlH_4),⁶⁴⁻⁶⁶ se decidió ensayar la reducción de **98** con este reactivo, para ello la reacción se realizó en un tiempo de 1.5 h, pensando en la posibilidad de obtener un derivado de tipo **111** (Esquema 35). El análisis de RMN de ^1H del crudo, confirmó la obtención de un producto diferente a la materia prima. Por tal motivo se procedió a la purificación de la reacción, logrando aislar un compuesto en forma de laca transparente.



Esquema 35. Metodología propuesta para la obtención de **111**.

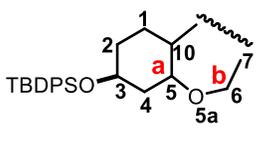
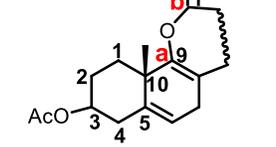
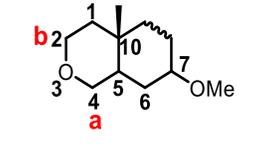
El análisis de RMN de ^{13}C del nuevo compuesto puro, permitió identificar la desaparición del carbonilo en cinco, mientras que la RMN de hidrógeno mostraba un patrón de desplazamientos característicos para esteroides ciclados en el anillo B, por tal motivo, en un inicio se pensó en la posibilidad de la formación de un 6-azaesteroide, derivado de la ciclación intramolecular de la cetoamina **111**. Sin embargo, el análisis de masa alta resolución del nuevo compuesto mostró un ion molecular $[\text{C}_{43}\text{H}_{67}\text{O}_2 + \text{H}]^+$ $m/z = 643.49$.

Por lo anterior se procedió a realizar la prueba de Dragendoff para descartar la presencia de nitrógeno en el producto. El resultado de dicha prueba fue negativo. El análisis por espectroscopia de IR no mostró la banda característica para aminas

en 3000 cm⁻¹, pero si se observó una banda en 1107 cm⁻¹ correspondiente a enlaces C-O.

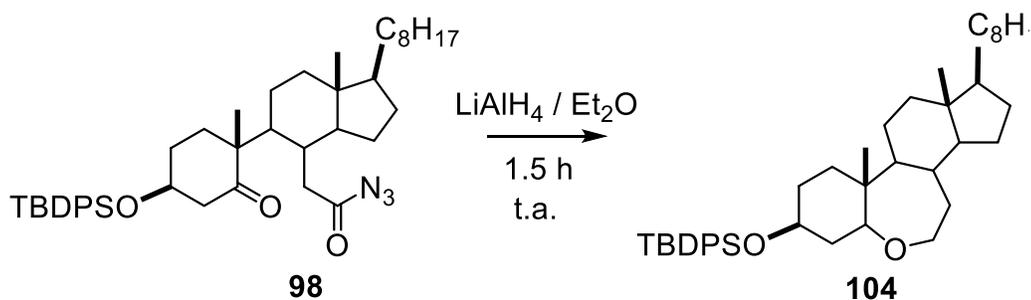
Para realizar la propuesta estructural del nuevo compuesto se hizo una búsqueda de esteroides con estructuras análogas. En la tabla 2, se muestra la comparación de la propuesta estructural **104** con otros esteroides oxigenados.

Tabla 2. Comparación de los desplazamientos de RMN de ¹H y ¹³C de la propuesta estructural **104** con otros análogos.

Posición						
	Estructura propuesta 104		Reportado ³⁴		Reportado ³²	
	¹ H,	¹³ C	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C
a	4.01	73.2	---	---	3.45	73.6
b	3.76 y 3.56	59.4	3.63 y 4.03	68.0	3.65	68.3

El desplazamiento químico del C-6 para **104** es menor al observado en estructuras análogas, por lo que se realizó una nueva búsqueda para los desplazamientos de metilenos unidos a oxígeno,⁶⁷ encontrando que el desplazamiento asignado para el C-6 del compuesto **104** se encuentra dentro del rango (80- 55 ppm) descrito para este tipo de carbonos.

Por lo tanto, la reducción de la acil azida **98** con LiAlH₄ durante 1.5 h de reacción a temperatura ambiente produce el éter esteroide **104** como se muestra en el Esquema **36**.



Esquema 36. Obtención de **104** a partir de **98**.

Con base al análisis anterior, se procedió a confirmar la estructura de **104** mediante la espectroscopia de RMN de 1D y 2D.

En el espectro de ^1H mostrado en la Figura 8 para el compuesto **104** se observa una señal doble en 4.01 ppm que se asignó al H-5. La señal múltiple que se encuentra en 3.96 ppm corresponde al H-3 mientras que las señales múltiples en 3.76 ppm y 3.56 ppm fueron asignadas a los H-6 α/β .

Por otra parte, en el espectro de ^{13}C de **104** (Figura 9) se conservan las señales del sistema aromático en el rango de 135.7 ppm a 127.4 ppm, así como la señal de los metilos en 27.0 ppm que confirman la presencia del grupo protector. La señal en 73.2 ppm corresponde al C-5, mientras que las señales que se encuentran en 67.4 ppm y 59.4 ppm se asignaron a los C-3 y C-6 para este compuesto.

En el experimento DEPT se encontraron un total seis metilos, once metilenos (las señales de C-11 y C-23 se encuentran traslapadas) y ocho metinos. Además, por diferencia con el espectro de RMN de ^{13}C , también fueron asignados 3 carbonos cuaternarios, confirmando las 29 señales esperadas para la estructura propuesta, omitiendo las señales aromáticas del grupo protector (Figura 10).

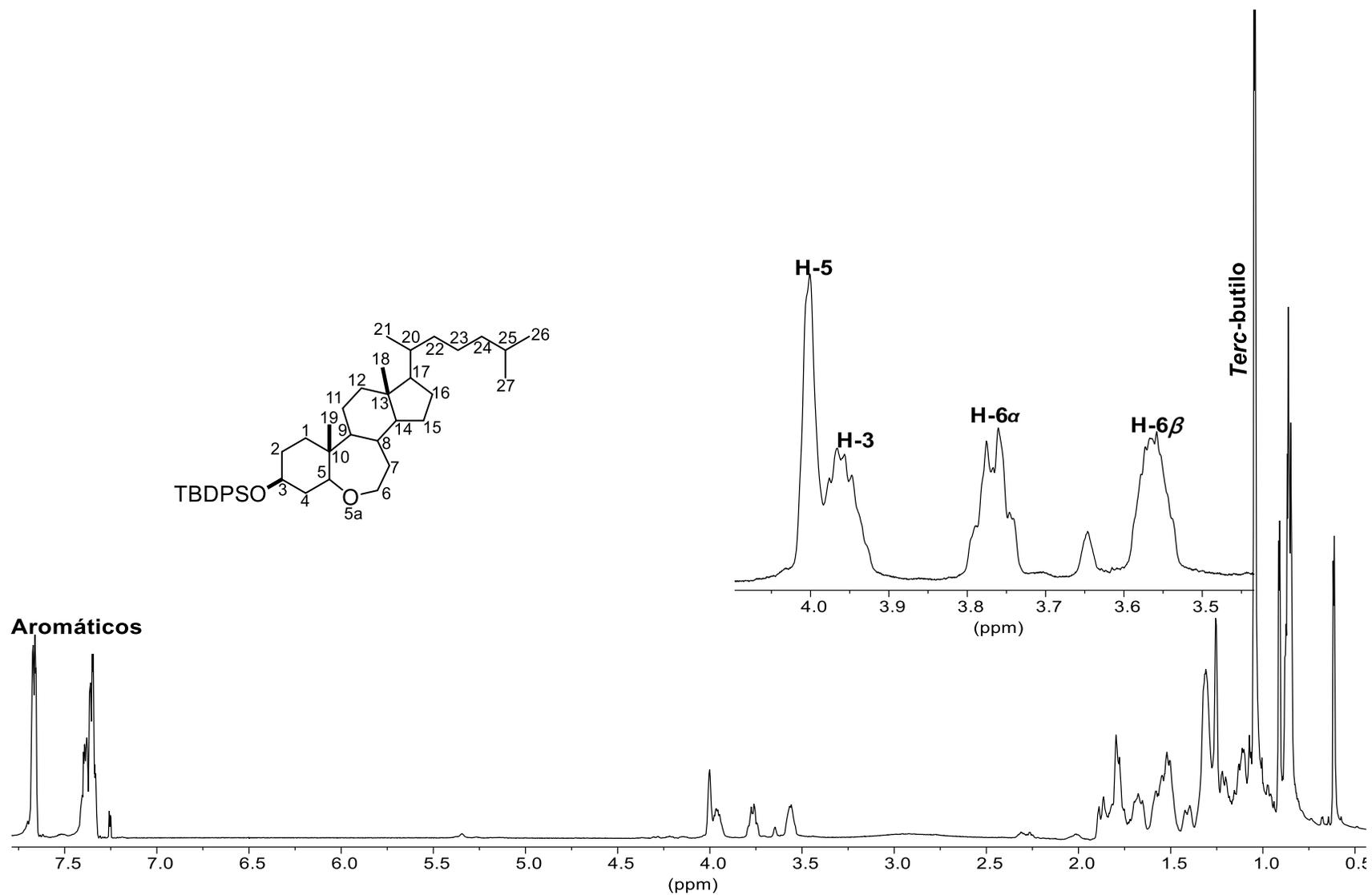


Figura 8. Espectro de RMN de ¹H (500 MHz) en CDCl₃ del compuesto **104**.

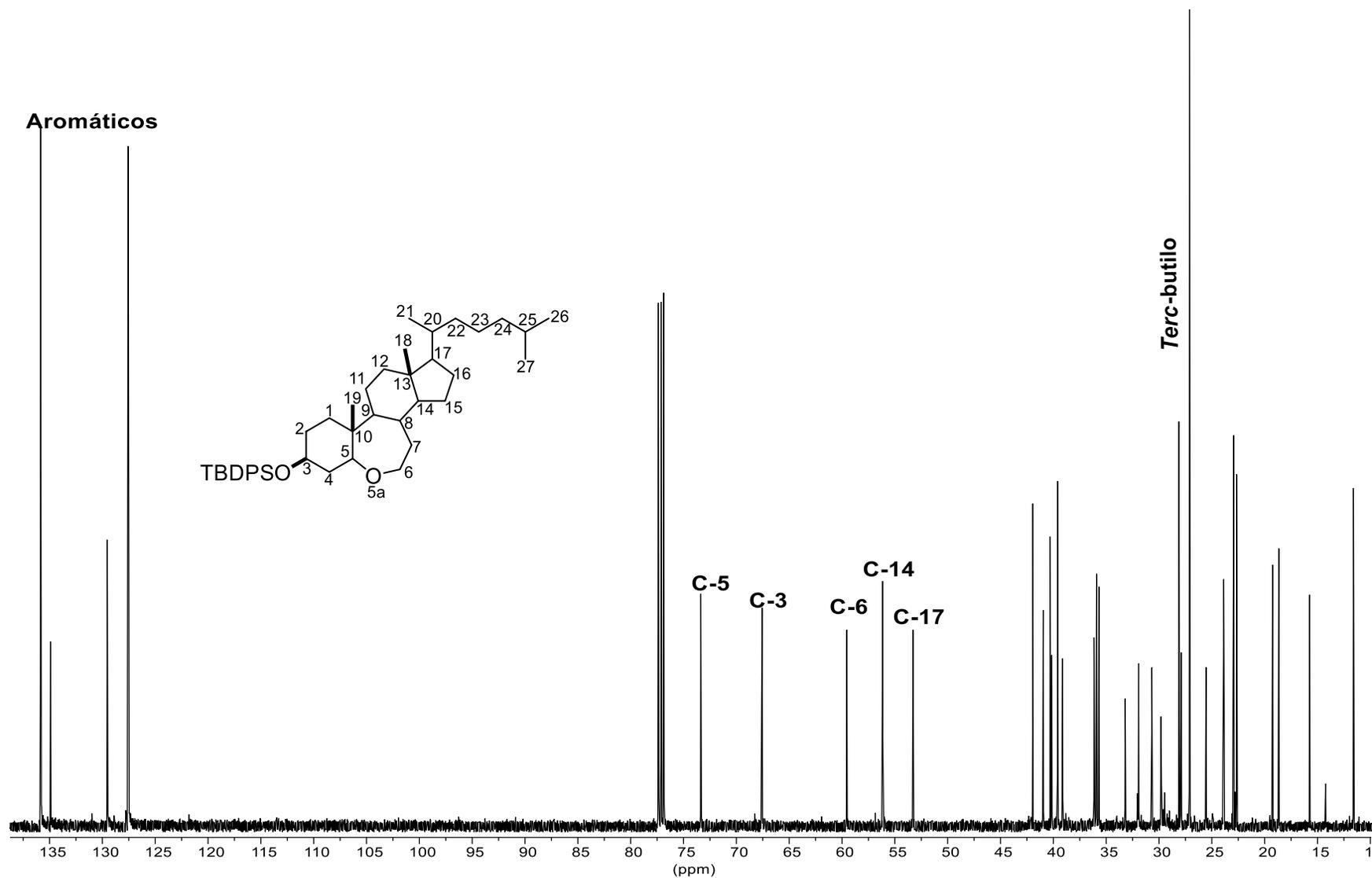


Figura 9. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) en CDCl_3 del compuesto 104.

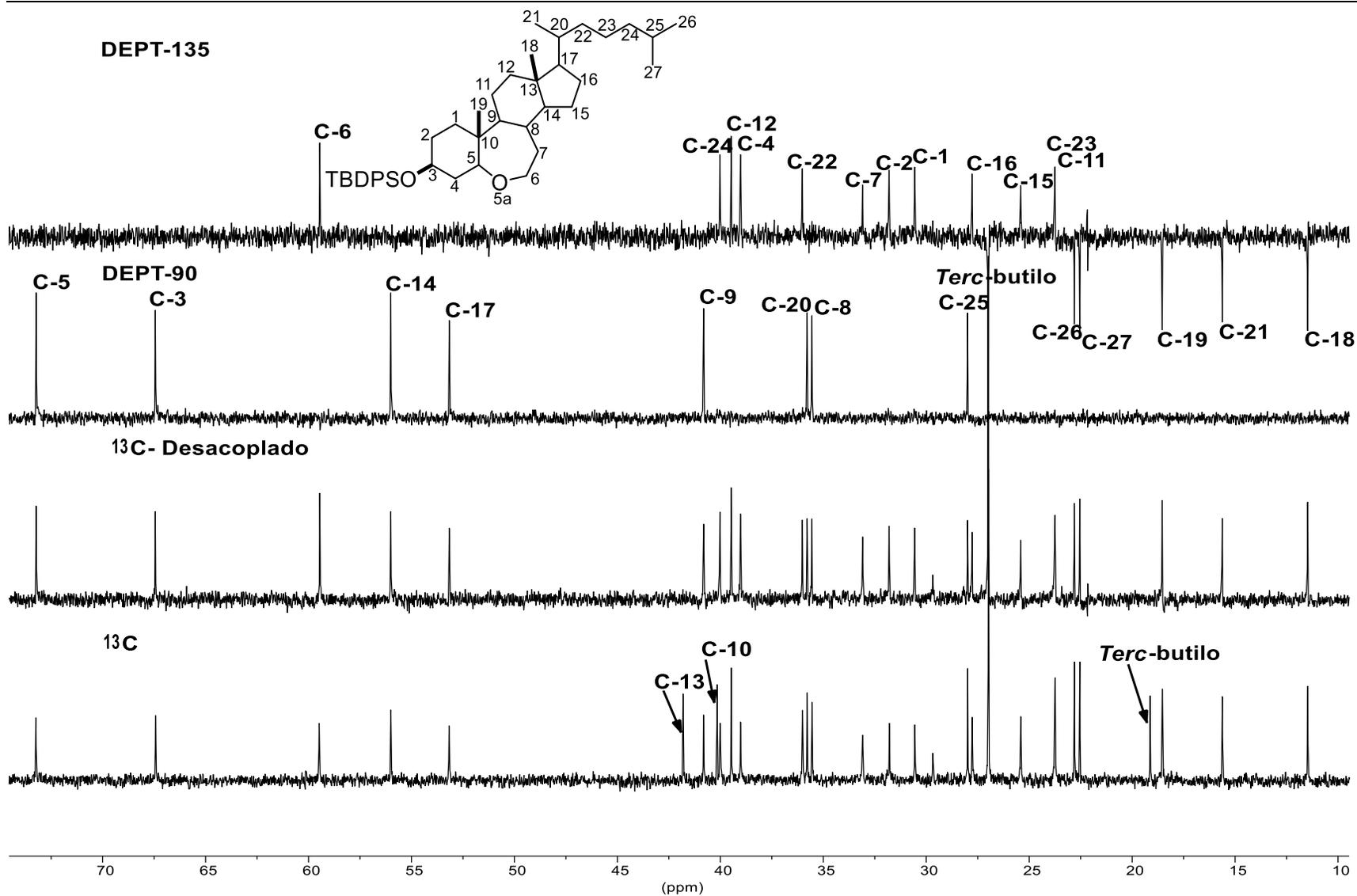


Figura 10. Experimento DEPT para 104.

El experimento COSY (Figura 11) fue de gran ayuda para la asignación inequívoca de los hidrógenos, observándose una correlación entre los H-6 α y 6 β en 3.76 y 3.56 ppm respectivamente, de igual manera, las señales en 3.56 ppm y 1.84 ppm correlacionan ya que corresponden a los H-6 β y H-7. Además, la señal del H-3 en 3.95 ppm correlaciona con la señal en 1.79 ppm que fue asignada al H-4.

Por otra parte, el experimento HSQC (Figura 12) permitió establecer las correlaciones C-H, observando la correlación del H-5 en 4.01 ppm con la señal en 73.2 ppm, adicionalmente la señal del C-3 en 67.4 ppm correlaciona con el H-3 en 3,96 ppm; mientras que las señales de los H-6 α y H-6 β en 3.76 y 3.56 ppm correlacionan con la señal en 59.4 ppm del C-6.

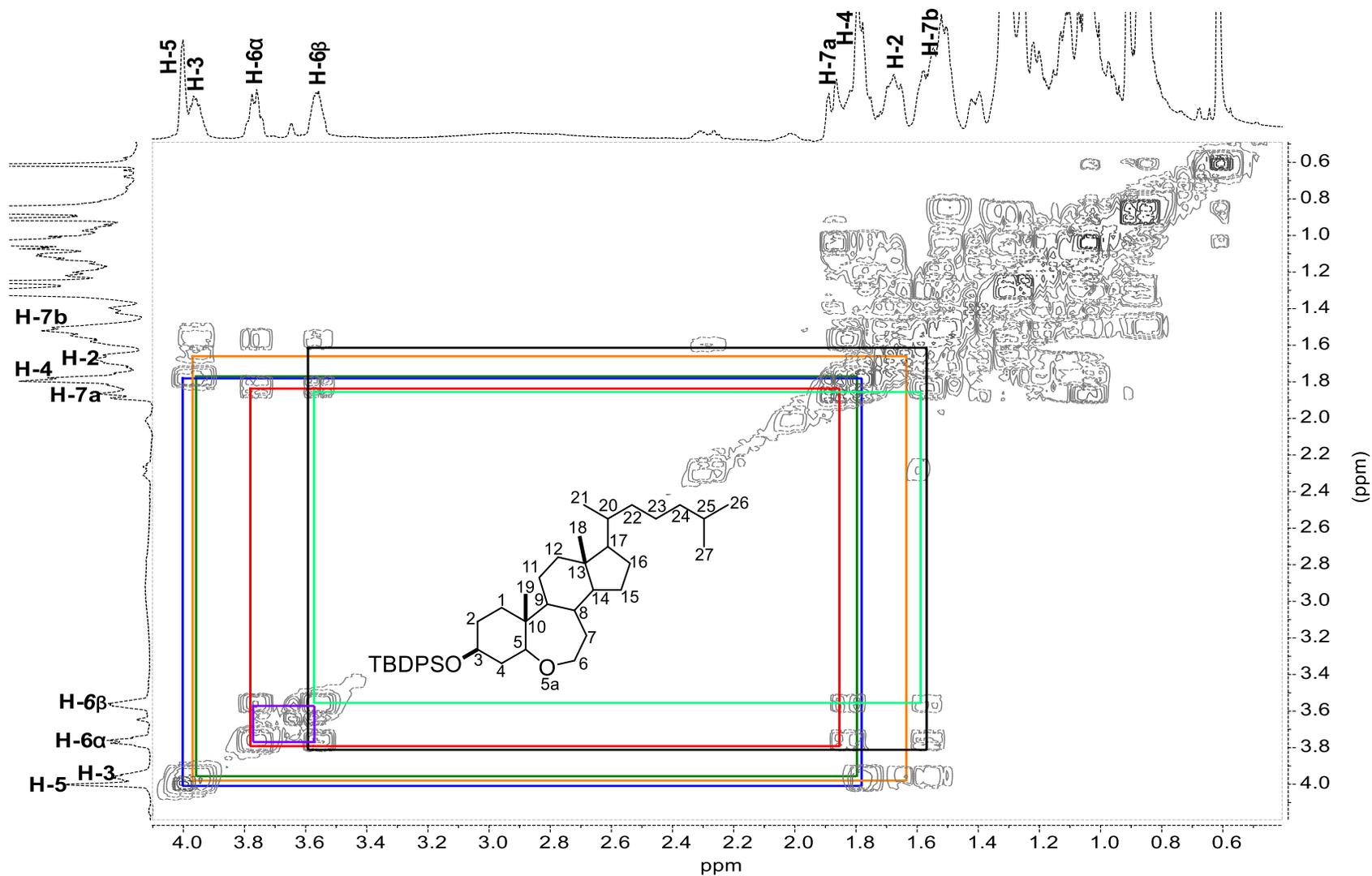


Figura 11. Experimento COSY para el compuesto 104.

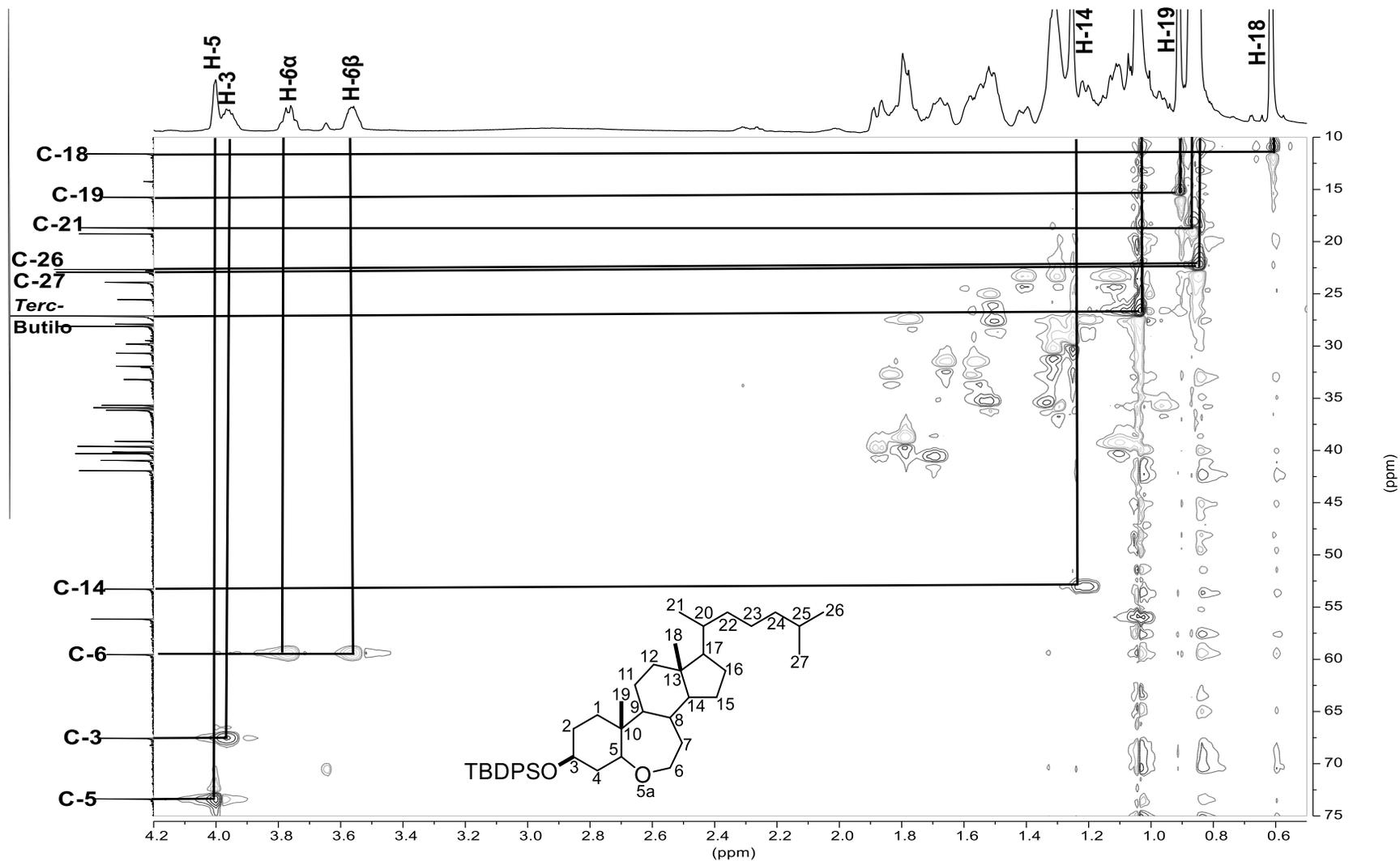


Figura 12. Experimento HSQC para el compuesto 104.

El experimento HMBC permitió establecer correlaciones heteronucleares a larga distancia, lo que resultó de gran ayuda para la asignación inequívoca de los carbonos cuaternarios. De tal manera, que se observan correlaciones a dos enlaces de distancia del C-13 en 41.8 ppm con el H-14 en 1.21 ppm, y con H-18 en 0.61 ppm. Para el C-10 en 40.0 ppm se muestran las correlaciones con H-2 a tres enlaces de distancia y con el H-19 en 0.91 ppm a dos enlaces. Además, se observan otras correlaciones relevantes como son la del C-5 en 73.2 ppm con el H-4 en 1.79 ppm a dos enlaces de distancia y a tres enlaces con H-1 en 1.32 ppm e H-19 en 0.91 ppm. Para el C-3 en 67.4 ppm se muestran correlaciones con H-5 en 3.96 ppm, H-1 en 1.32 ppm, H-2 en 1.72 ppm y el H-4 en 1.79 ppm. El C-6 mostró correlación a dos enlaces con H-7 y a tres enlaces con H-8. En cuanto a los carbonos metínicos 17 y 14 en 56.0 y 53.1 ppm, ambos mostraron correlación con el H-18 en 0.61 ppm, adicionalmente, C-17 también correlacionó con H-21 en 0.87 ppm a 3 enlaces de distancia. En las figuras 13 y 14 se muestran las correlaciones.

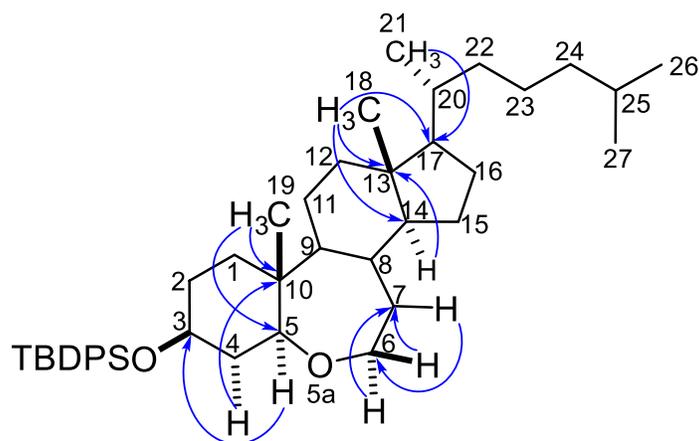


Figura 13. Correlaciones de HMBC para **104**.

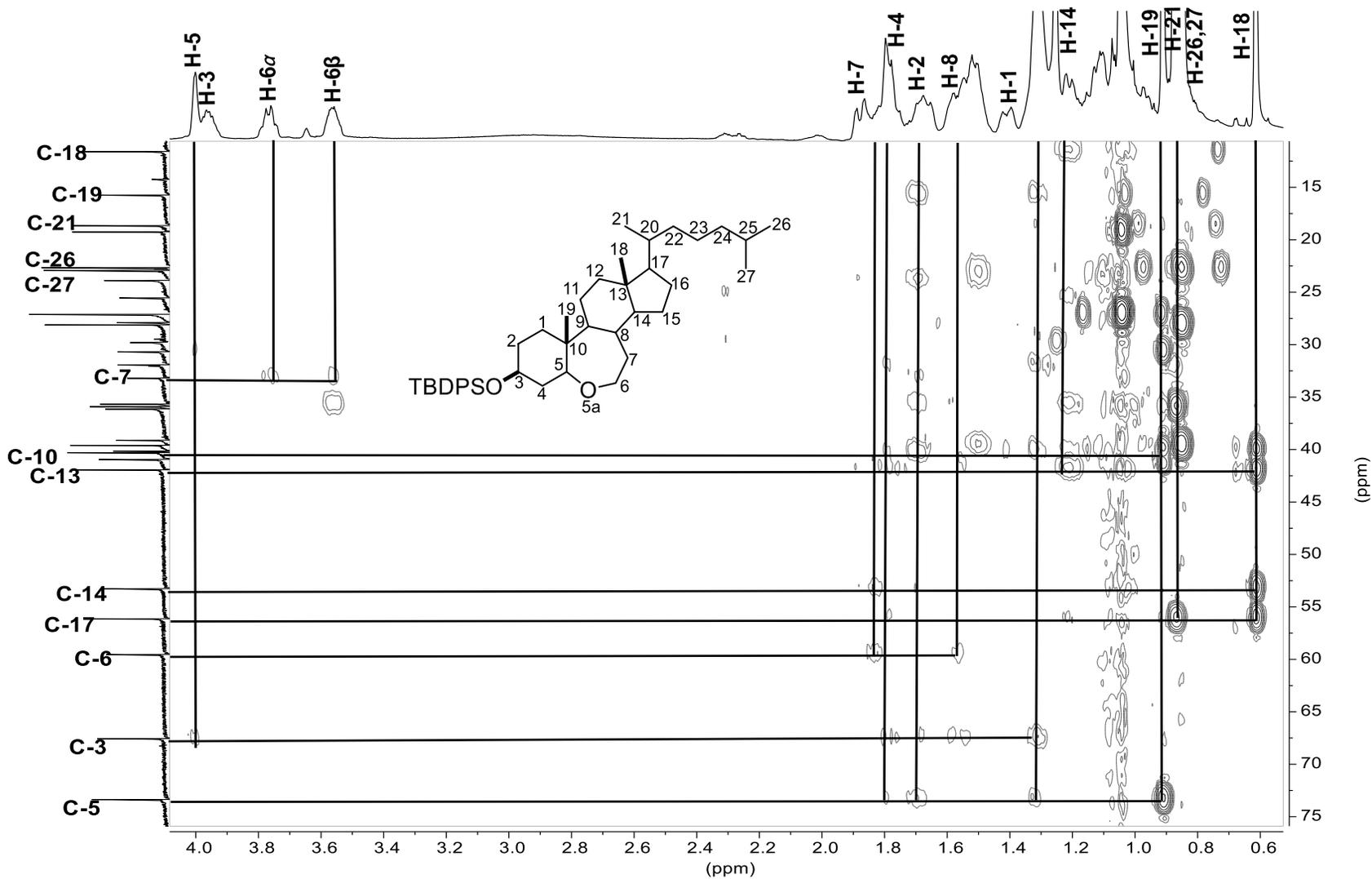


Figura 14. Experimento HMBC para 104.

En el experimento NOESY se observaron algunas correlaciones importantes a través del espacio. El H-5 en 4.01 ppm presentó correlación con los H-3 α , H-6 α y H-4 α en 3.95 ppm, 3.76 ppm y 1.79 ppm respectivamente. La correlación en el espacio de H-5 con el CH₃-19 en 0.91 ppm no fue observada; por lo que se propone que este hidrógeno está sustituido en alfa presentando una fusión *trans* entre los anillos A/B. En la figura 15 y 16 se muestran las interacciones a través del espacio.

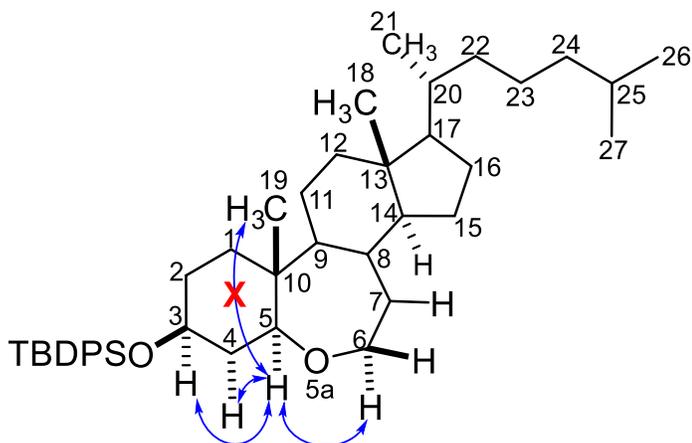


Figura 15. Correlaciones NOESY del compuesto 104.

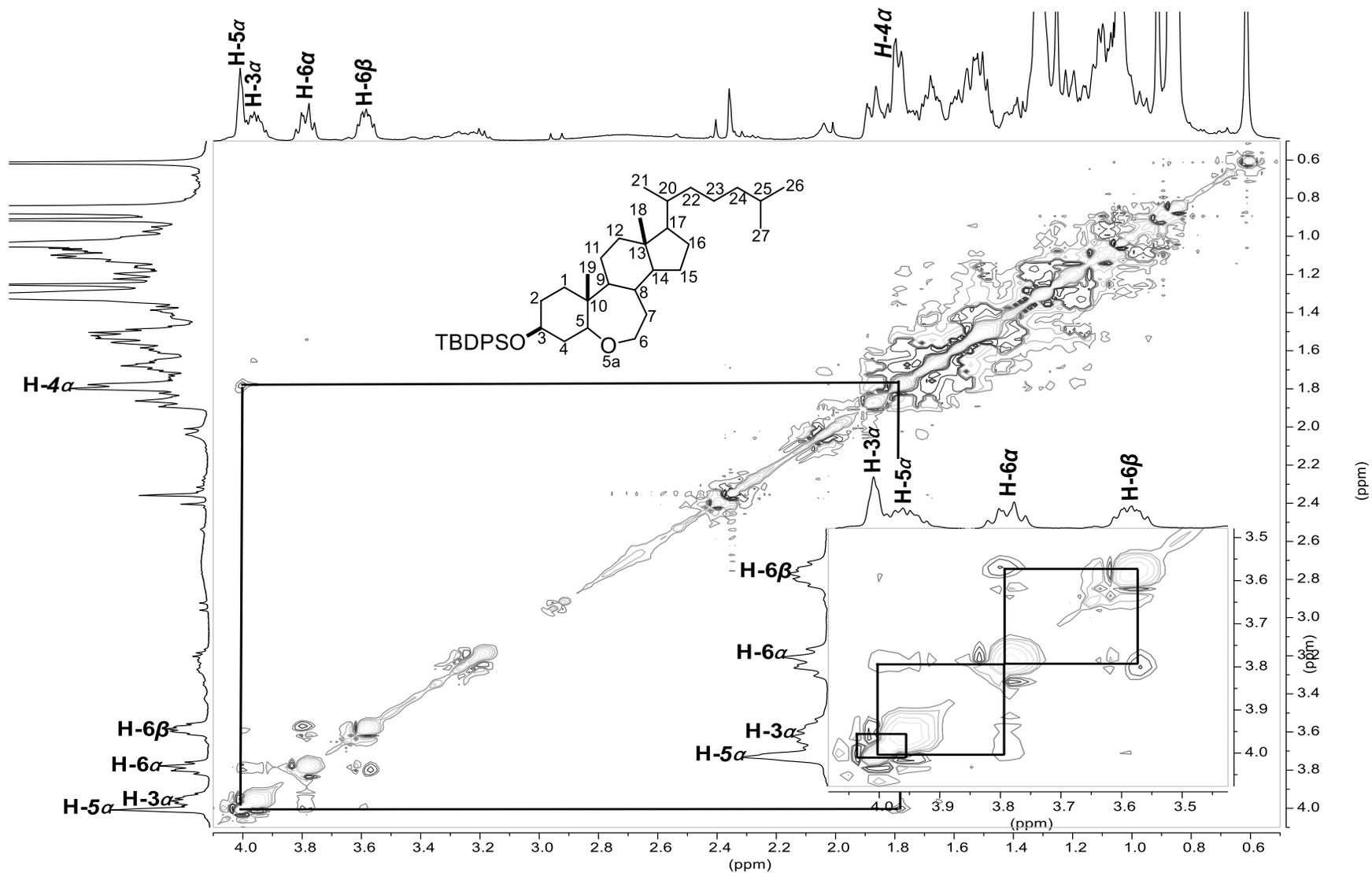
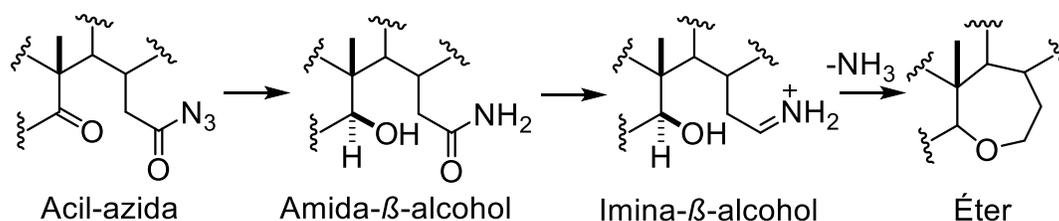


Figura 16. Experimento NOESY del compuesto 104.

Para explicar la formación de **104** se realizó una búsqueda de antecedentes relacionada con la reducción de acil azidas. Algunos reportes señalan que a partir de iminas en presencia de alcoholes con compuestos metálicos ocurre una eliminación de las aminas que se obtienen a partir de la reducción de iminas.⁶⁸ Por otra parte, la reactividad de iminas frente al ataque nucleofílico del grupo hidroxilo es bien conocido para la regeneración de iminas a grupos carbonilo.⁶⁹

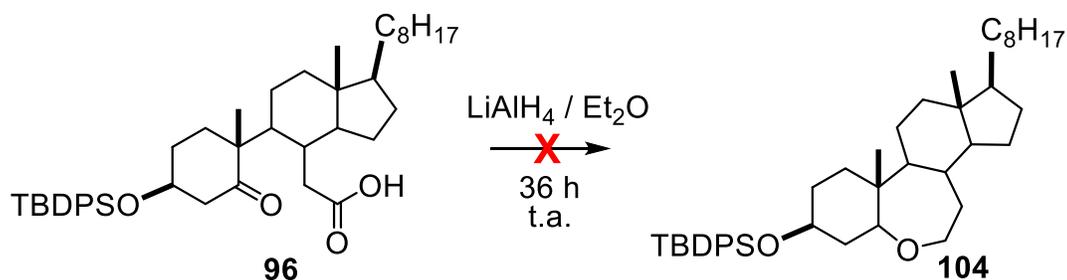
Considerando lo anterior, se propone la reducción de **98** a la amida, que en presencia del agente reductor forma el intermediario imina β -alcohol que lleva a cabo una ciclación intramolecular con eliminación de amoníaco, dando lugar a la formación del éter **104** (Esquema 37).^{70,71} Para esta propuesta mecanística se descarta la reducción completa de la amida a un intermediario de tipo amina, ya que de llevarse a cabo de esta forma, el producto de condensación intramolecular sería un 6-azaesteroide.⁷²



Esquema 37. Propuesta para la obtención del éter **104**.

La caracterización del nuevo compuesto **104** en un inicio fue complicada de observar por TLC, ya que presenta un factor de retención similar al del *seco*-ácido **96**, por lo tanto, su identificación se llevó a cabo por análisis de RMN de ¹H del crudo de reacción. Adicionalmente se decidió explorar la reducción del *seco*-ácido para observar si el derivado éter **104** podría obtenerse directamente de **96**.

La primera reducción se realizó adicionando gota a gota el LiAlH₄ disuelto éter etílico anhidro vía cánula, a una mezcla *seco*-ácido en éter, dejándola reaccionar por un tiempo de 36 h, sin embargo, la RMN de ¹H mostró únicamente la recuperación de la materia prima (Esquema 38).

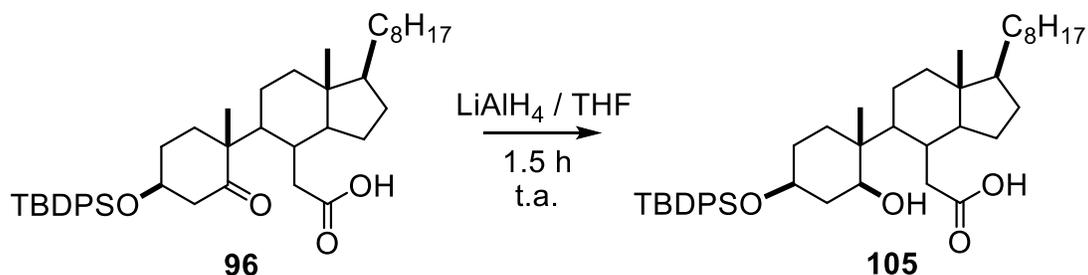


Esquema 38. Reducción de **96** adicionando el hidruro en éter vía cánula.

Con el resultado anterior, se decidió llevar a cabo la reducción disolviendo el compuesto **96** en THF y adicionando directamente 1.5 eq de LiAlH_4 , después de 1.5 h de reacción se observó en TLC la obtención de un producto mayoritario y materia prima (Esquema 39).

De acuerdo a la RMN ^1H y ^{13}C se propone que la estructura del nuevo compuesto **105** corresponde a la mostrada en el Esquema 39, con la posición β del alcohol en C-5, esto con base a la ciclación intramolecular observada en **104** y por comparación de la RMN de análogos del compuesto **105**.⁷³ Por otra parte, mecanísticamente, la adición del hidruro se encuentra más favorecida en la orientación alfa, ya que una adición por la orientación opuesta presentaría interacción estérica del agente reductor con el Me-19 y el grupo 3-TBDPS del esteroide.

Cabe destacar que la reducción de **96** procede regio y diastereoselectivamente ya que se obtiene como producto principal el derivado **105**.



Esquema 39. Reducción de **96**.

En el espectro de ^1H (Figura 17) para el compuesto **105** se observa una señal simple en 4.22 ppm que se asignó al H-3, mientras que la señal simple y ancha en

4.02 ppm corresponde al OH. Por otra parte, la señal triple en 2.88 ppm ($J = 12.9$, Hz, 1H), se asignó al H-5, además las señales dobles en 2.37 ppm ($J = 14.5$ Hz, 1H), 2.08 ppm (d, $J = 14.5$ Hz, 1H) se asignaron a los H-4a y H-4b; a su vez, el resto de las señales no mostraron cambio significativo.

En la figura 18 se muestra el espectro de RMN de ^{13}C de **105** en el cual el desplazamiento de C-5 a menor frecuencia 81.6 ppm y la señal del C-6 en 173.9 ppm confirmaron la obtención del producto.

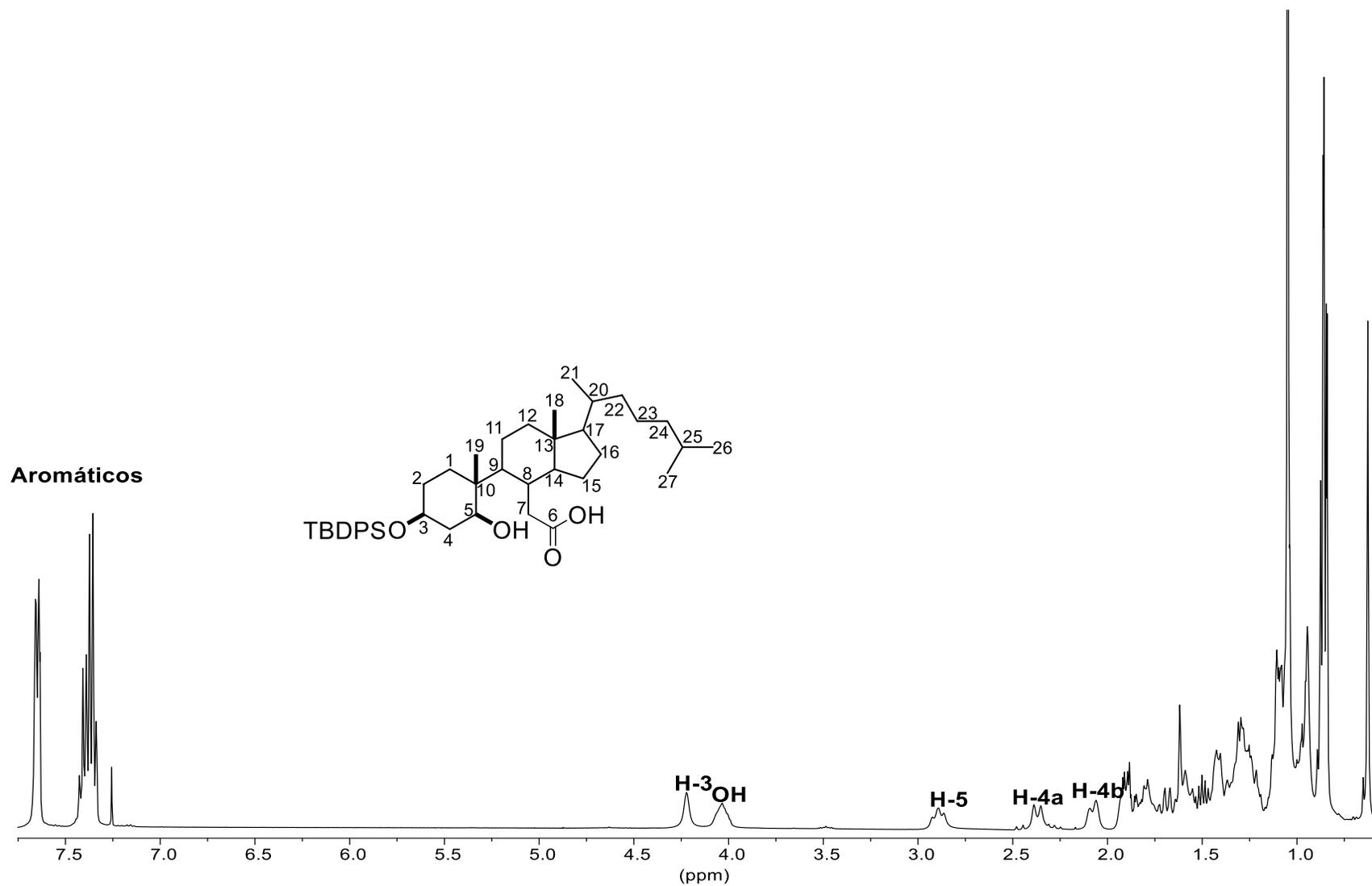


Figura 17. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) en CDCl₃ del compuesto 105.

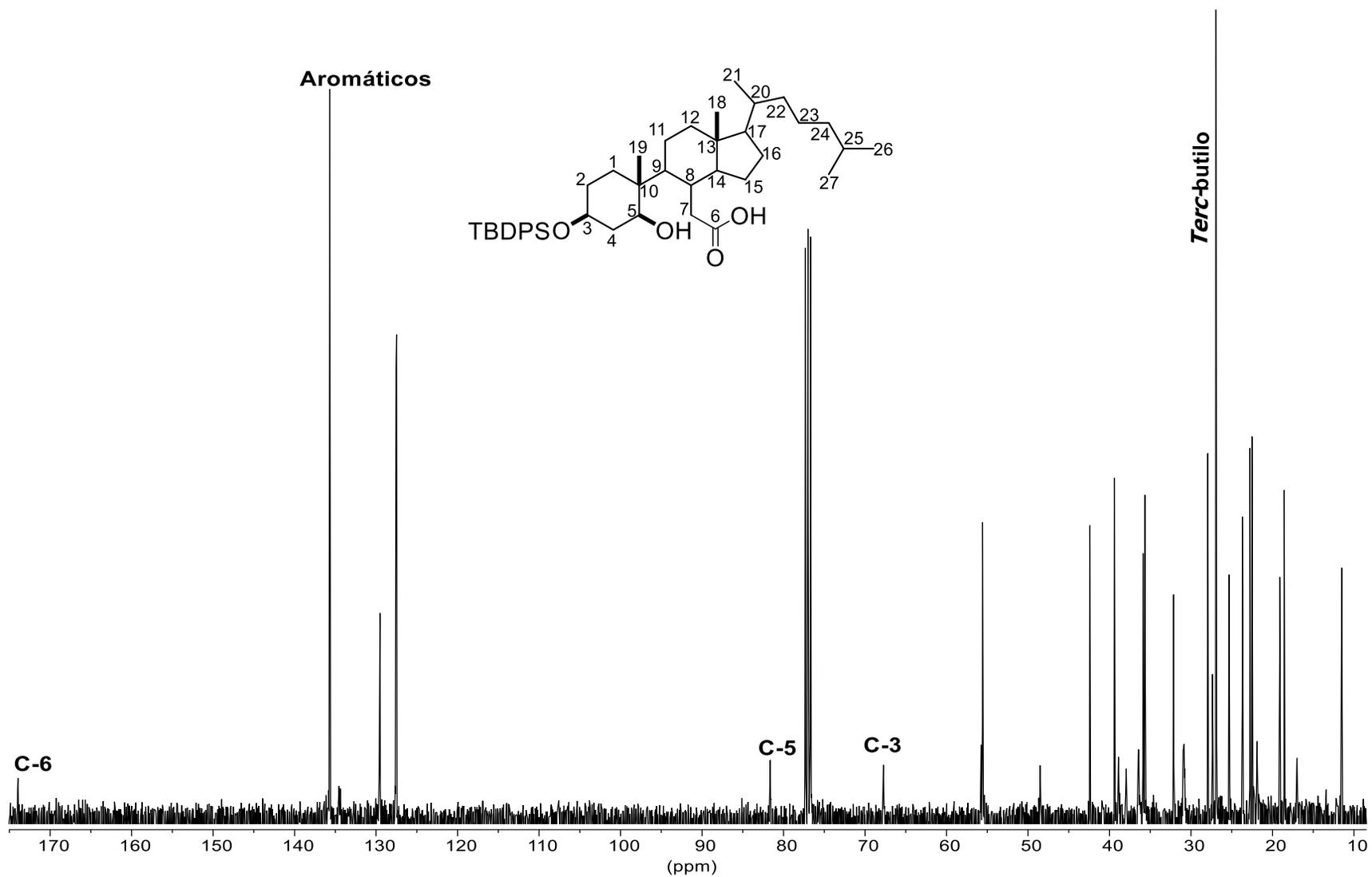
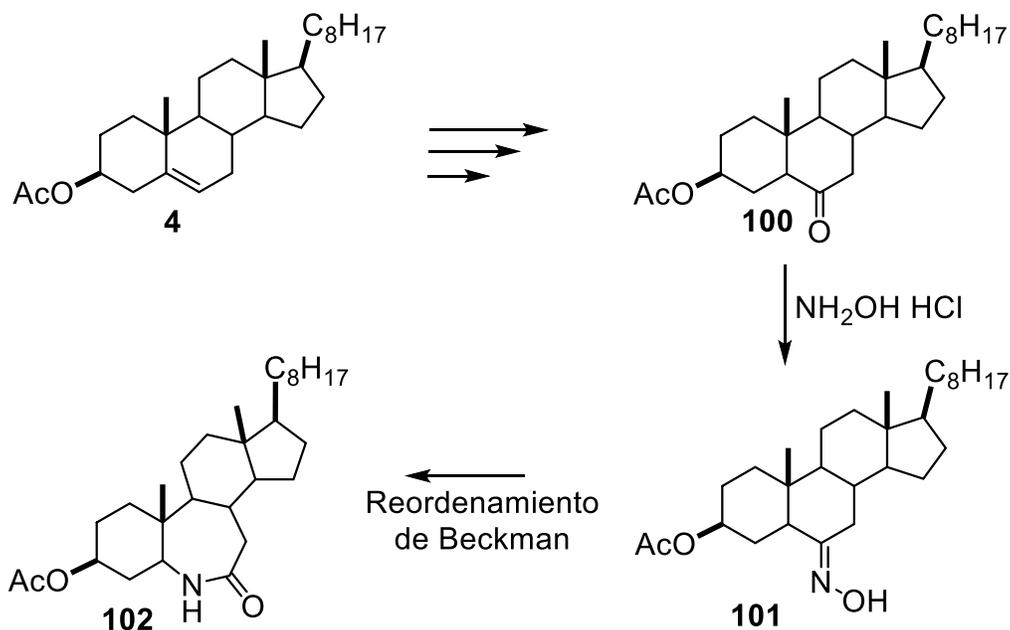


Figura 18. Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz) en CDCl₃ del compuesto 105.

6.2. Síntesis de una lactama a partir del colesterol

Las lactamas son compuestos con estructuras interesantes y se les considera bioactivos, por lo que existen reportes para su obtención. Algunos de ellos consisten en la apertura del anillo y posterior ciclación con hidróxido de amonio vía un cloruro de acilo,³⁹ empleo de ureas⁴³ o el formiato de amonio.⁴⁵ Además, en otros trabajos se obtienen lactamas con intermediarios imidas a través del reordenamiento de Hoffmann.⁴⁰ Sin embargo, a pesar que estas metodologías implican una menor cantidad de etapas, algunas de ellas emplean condiciones de reacción drásticas o el uso de métodos no convencionales como el MO, en este sentido uno de los métodos más utilizados consiste en el empleo de cetonas como material de partida, que son transformadas a oximas y en condiciones ácidas producen lactamas.^{41,42,44-46}

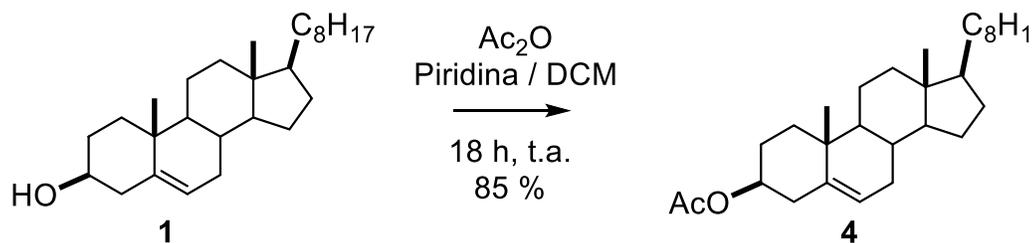
Por lo anterior, en este trabajo se preparó la 6-cetona **100** a partir del acetato de colesterol **4**, la síntesis procede en 4 etapas vía la metodología reportada por Iglesias para otros sustratos.⁵⁰ Posteriormente, a partir de **100** se preparó la oxima **101** usando las condiciones descritas por Cui.⁵¹ La lactama **102** en un inicio se trató de obtener utilizando las condiciones descritas por otros autores, sin embargo, el uso de estos métodos no funcionaron para este sustrato, por lo que se llevaron a cabo diferentes ensayos para obtener **102** a partir de **101** (Esquema 40). Los detalles de la caracterización y obtención de los intermediarios sintéticos se describen a continuación.



Esquema 40. Ruta de síntesis para la obtención de la lactama **102**.

6.2.1. Acetilación del colesterol

La ruta de síntesis inició con la acetilación del colesterol, que se llevó a cabo con Ac_2O , piridina y DCM a temperatura ambiente por 18 h. Después de realizar su extracción con DCM y purificación por cromatografía en columna se obtuvo el compuesto **4** en forma de polvo blanco con un rendimiento del 85% (Esquema 41).



Esquema 41. Acetilación del colesterol.

En la figura 19 se anexa el espectro de ^1H para el compuesto **4** que muestra una señal doble en 5.37 ppm ($J = 5.1$ Hz, 1H) asignada al H-6 vinílico, las señales dobles de dobles en 4.59 ppm ($J = 10.7, 5.5$ Hz, 1H) corresponden al H-3 base de oxígeno. Mientras que la señal doble en 2.32 ppm se asignó al H-4. Posteriormente,

la señal simple en 2.03 ppm fue de gran ayuda para confirmar que la acetilación se había llevado a cabo; el resto de la estructura se mantiene sin cambio aparente.

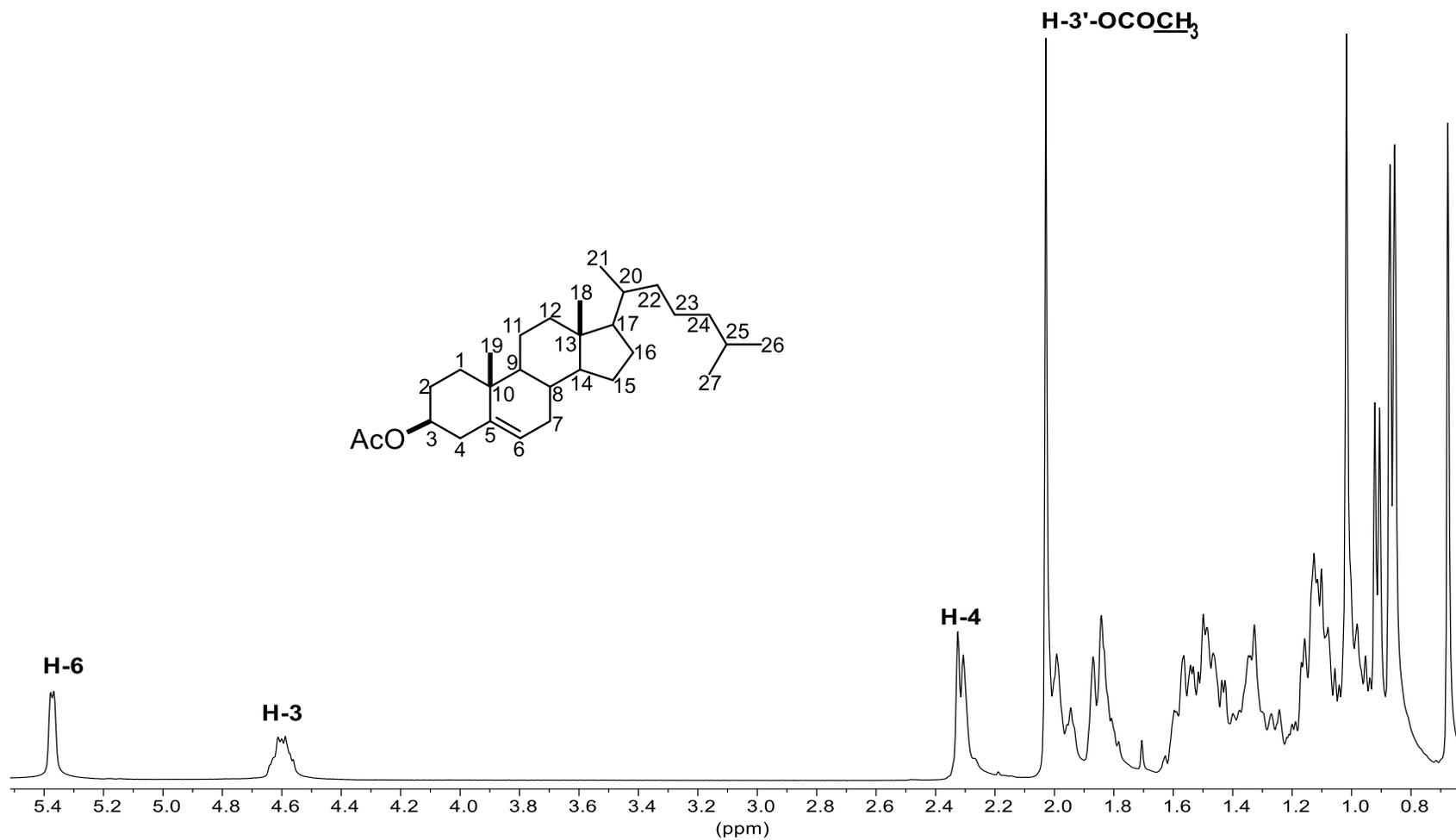


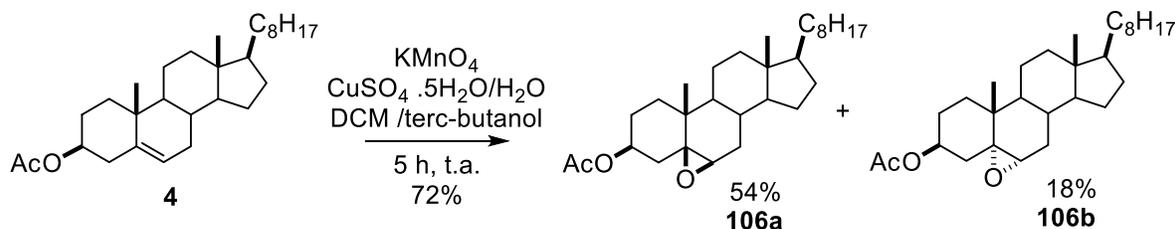
Figura 19. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) de 4.

6.2.2. Epoxidación del colesterol con KMnO_4

Para la obtención de β -epóxidos algunas metodologías reportan el uso de halohidrinás y yodobenceno en presencia de diacetato de cromilo. Otras, utilizan catalizadores de vanadio y molibdeno con hidroperóxidos de alquilo, además del acetilacetato férrico y peróxido de hidrógeno.⁵⁵ Sin embargo, la epoxidación con KMnO_4 y $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ representa una de las vías más accesibles para la obtención de β -epóxidos. Bajo este procedimiento la estereoquímica en posición β es favorecida debido a que el cobre se coordina en la cara menos impedida formando un complejo π con el doble enlace; ocasionando que este último se debilite y permita el ataque del permanganato a la cara más impedida.^{55,74}

La preparación del compuesto **106** se realizó en las condiciones descritas en el esquema 42.⁷⁵ La reacción procede a temperatura ambiente después de 5 h. Posteriormente, se realizó la extracción y filtración a presión reducida en un embudo Büchner con celita.

El compuesto deseado se obtiene con un rendimiento del 72% sin embargo, después de medir la integral de las señales correspondientes en el espectro de protón de RMN de la mezcla de α,β epóxidos, se determinó que se encuentran en una relación 4:1; siendo el β -epóxido producto mayoritario.



Esquema 42. Metodología para la obtención de **106a/b**.

Con la purificación en columna de la mezcla de epóxidos se logró aislar el β -epóxido puro en un 46% de rendimiento. En el espectro de RMN de ^1H del compuesto **106a** se destaca principalmente la señal doble en 3.07 ppm que fue asignada al H-6 β y de acuerdo a la literatura se confirma la presencia de epóxido en β (Figura 20).⁵⁰ El resto de las señales permanece sin cambio significativo.

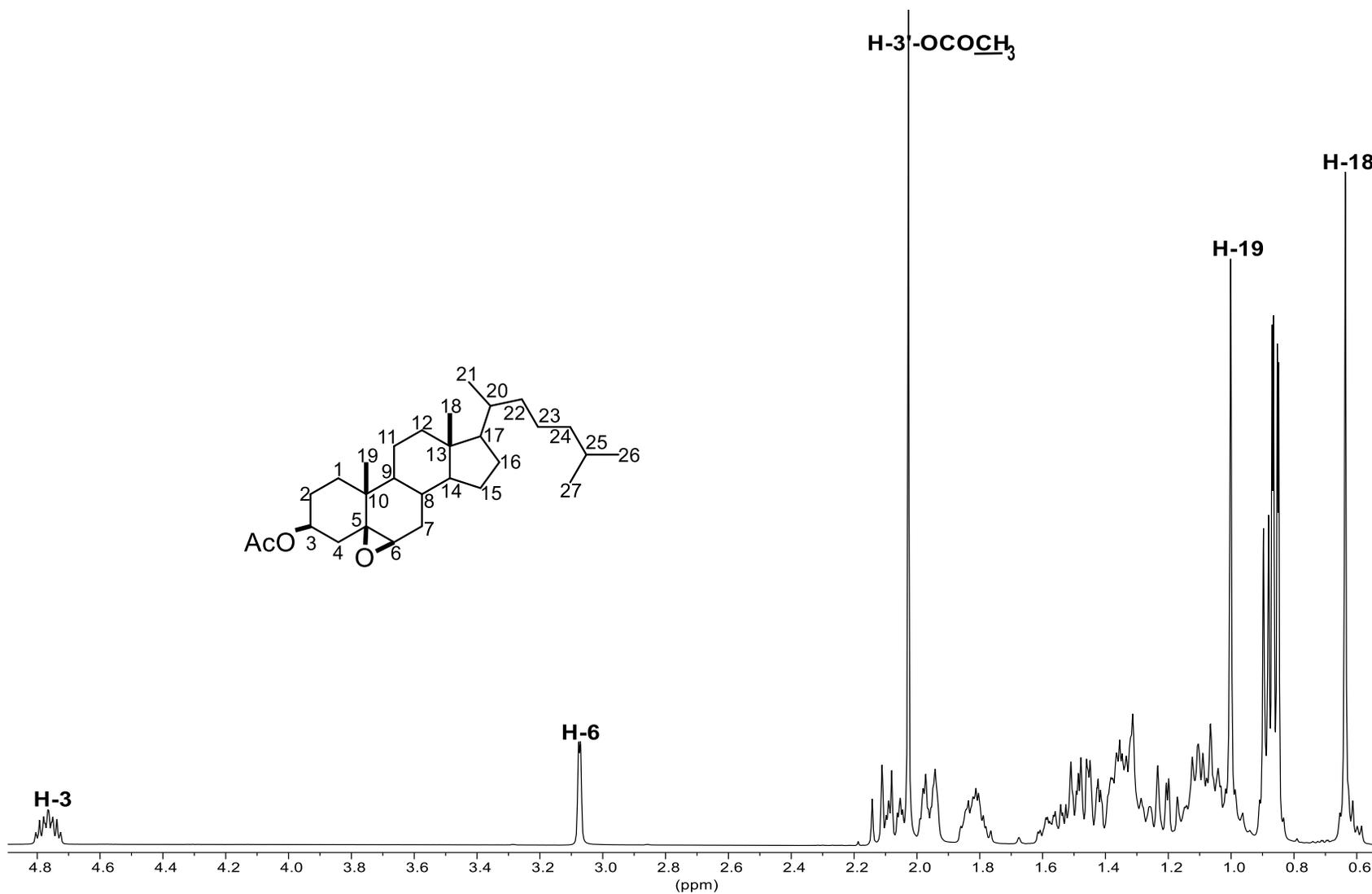
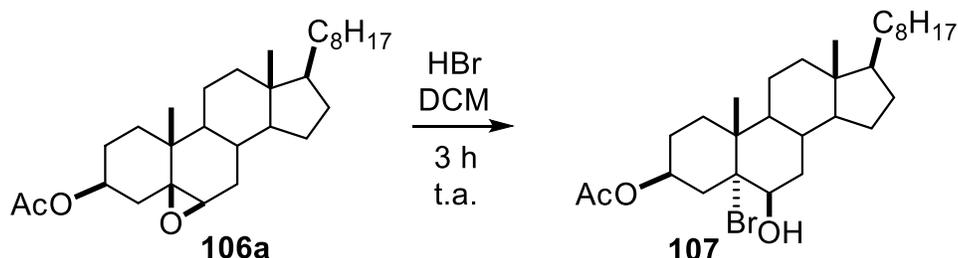


Figura 20. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) de 106a.

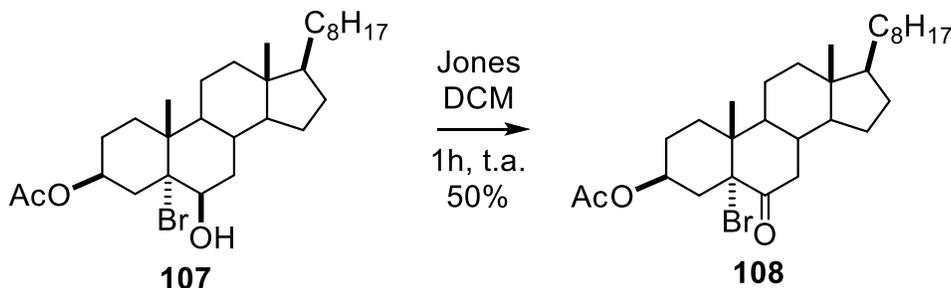
6.2.3. Obtención de la 5-bromo-6-cetona **108**

La apertura del epóxido **106a** se realizó con HBr en DCM;⁵⁰ después de 3 h se obtuvo el producto **107** en forma de una laca amarilla (Esquema 43).



Esquema 43. Metodología para la obtención de **107**.

Enseguida el crudo de reacción del compuesto **107** se trató en las condiciones de Jones a temperatura ambiente por 1 h (Esquema 44). Después de la extracción y purificación por cromatografía en columna, se obtuvo el producto **108** en forma de polvo blanco en 50% de rendimiento. La obtención de **107** se confirmó por comparación de los datos RMN de ¹H y ¹³C con los descritos.⁵⁰



Esquema 44. Metodología para la síntesis de **108**.

En la Figura 21 se muestra el espectro de RMN de ¹H de **108** en el que se observa una señal múltiple en 5.32 ppm asignada al H-3. La señal dd que se encuentra en 3.16 ppm ($J_{7\text{ax}-7\text{eq}}, J_{7\text{ax}-8\text{ax}} = 14.8, 12.3$ Hz, 1H) corresponde al H-7 ax, mientras que las ddd en 2.39 ppm ($J_{4\text{eq}-4\text{ax}} 14.5, J_{4\text{eq}-3\text{ax}} 5.1, J_{4\text{ec}-2\text{ec}} 1.8$ Hz, 1H) y 2.28 ppm ($J_{7\text{ax}-7\text{ec}} 14.8, J_{7\text{ec}-8\text{ax}} 5.3$ Hz, 1H) corresponden a los hidrógenos H-4 ec y H-7 ec respectivamente.

En el espectro de ^{13}C (Figura 22) de **108** la aparición de las señales en 204.1 ppm y 79.6 ppm asignadas al C-6 y C-5 respectivamente confirmaron la obtención del compuesto.

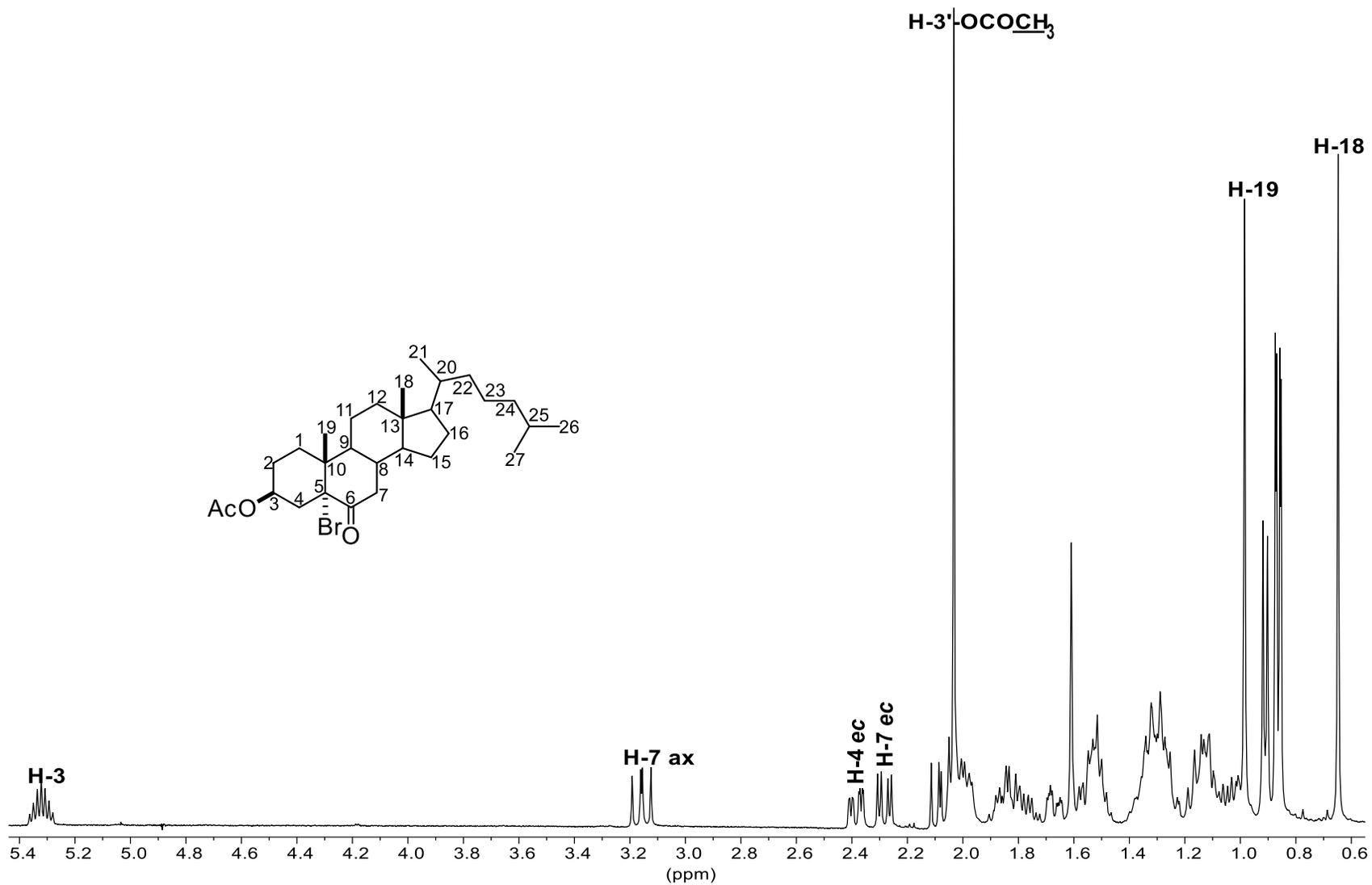


Figura 21. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) para 108.

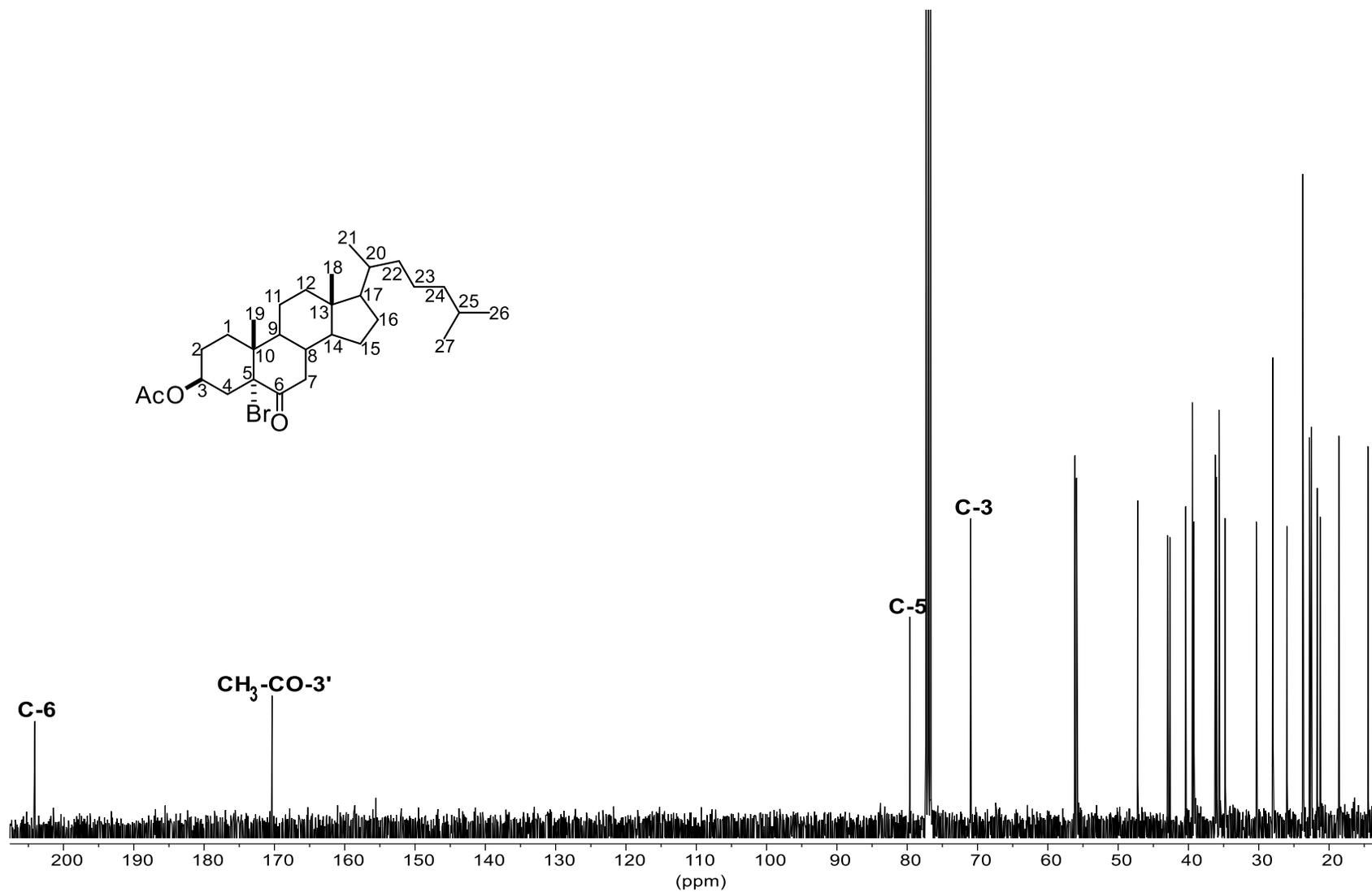
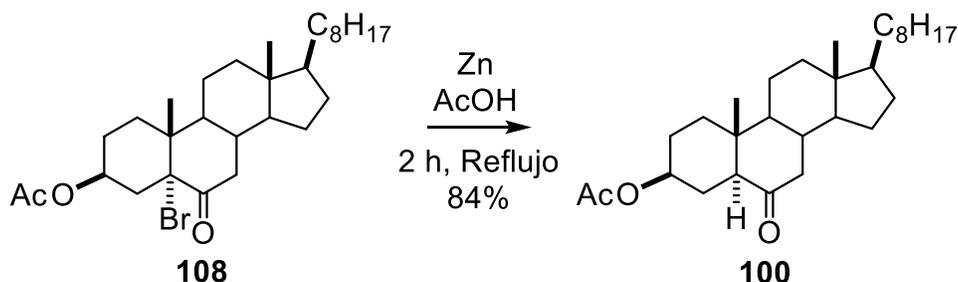


Figura 22. Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz) para 108.

6.2.4. Obtención de la 6-cetona **100**

Para la eliminación del bromo se empleó el zinc en ácido acético a reflujo por 2 h. Al término de la purificación del crudo se obtuvo el producto en forma de polvo blanco en 87% de rendimiento (Esquema 45).



Esquema 45. Metodología para la obtención de **100**.

En la figura 23 se muestra el espectro de RMN de ^1H de **100** en el que la señal múltiple en 4.65 ppm del H-3, la doble de dobles en 2.30 ppm del H-5 α ($J = 13.1, 4.5$ Hz, 1H) y la señal doble en 2.25 ppm ($J = 12.2$ Hz, 1H) asignada al H-7 β confirman la obtención del compuesto.

Por otra parte, en el espectro de RMN de ^{13}C se conserva la señal en 210.4 ppm del carbonilo en la posición 6, mientras que el corrimiento de la señal localizada anteriormente en 79.6 ppm del C5-Br a menor desplazamiento 56.6 ppm también fueron indicativas de la obtención de **100** (Figura 24). Los datos espectroscópicos fueron comparados con los descritos en reportes previos.⁵⁰

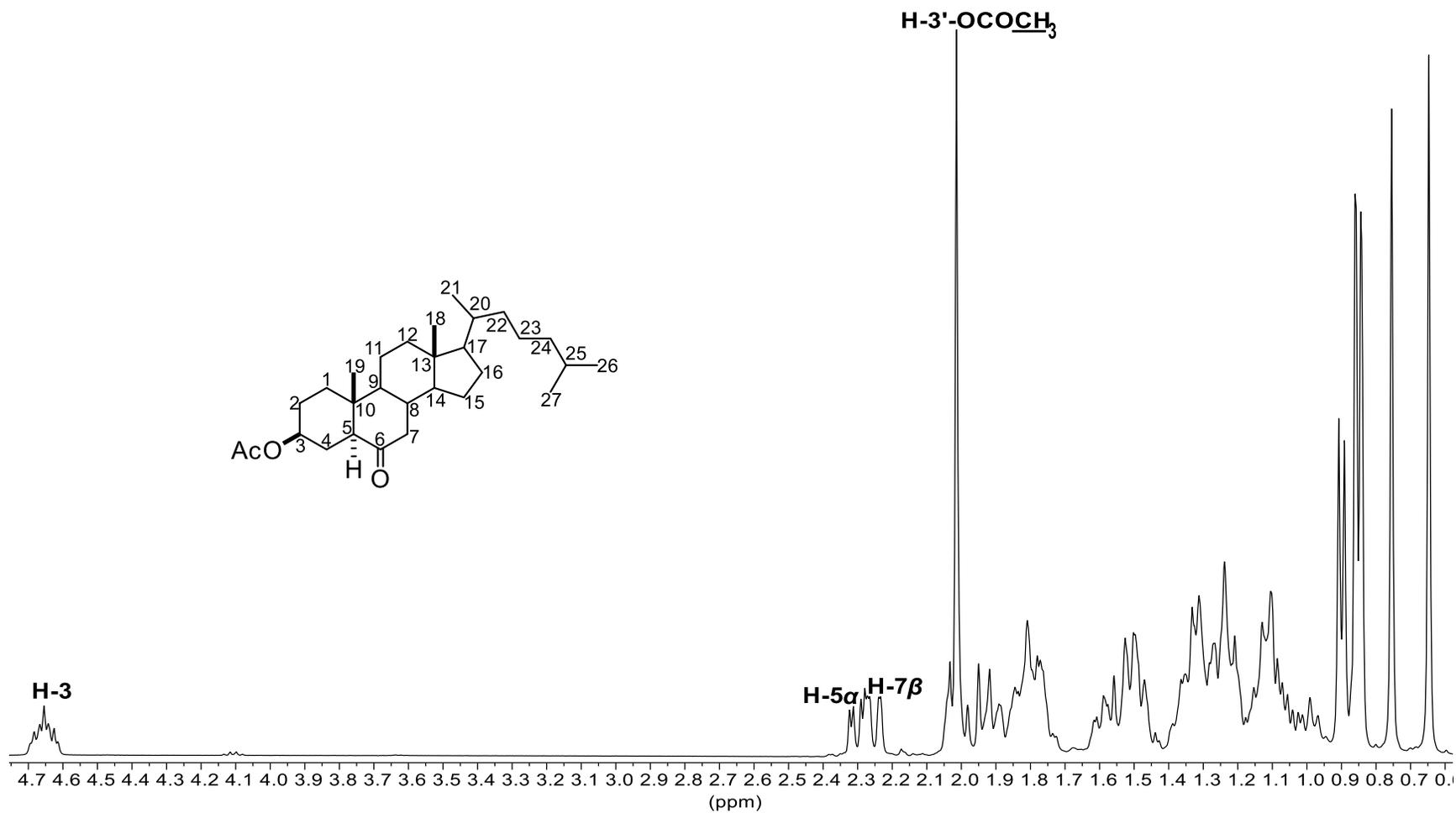


Figura 23. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) para **100**.

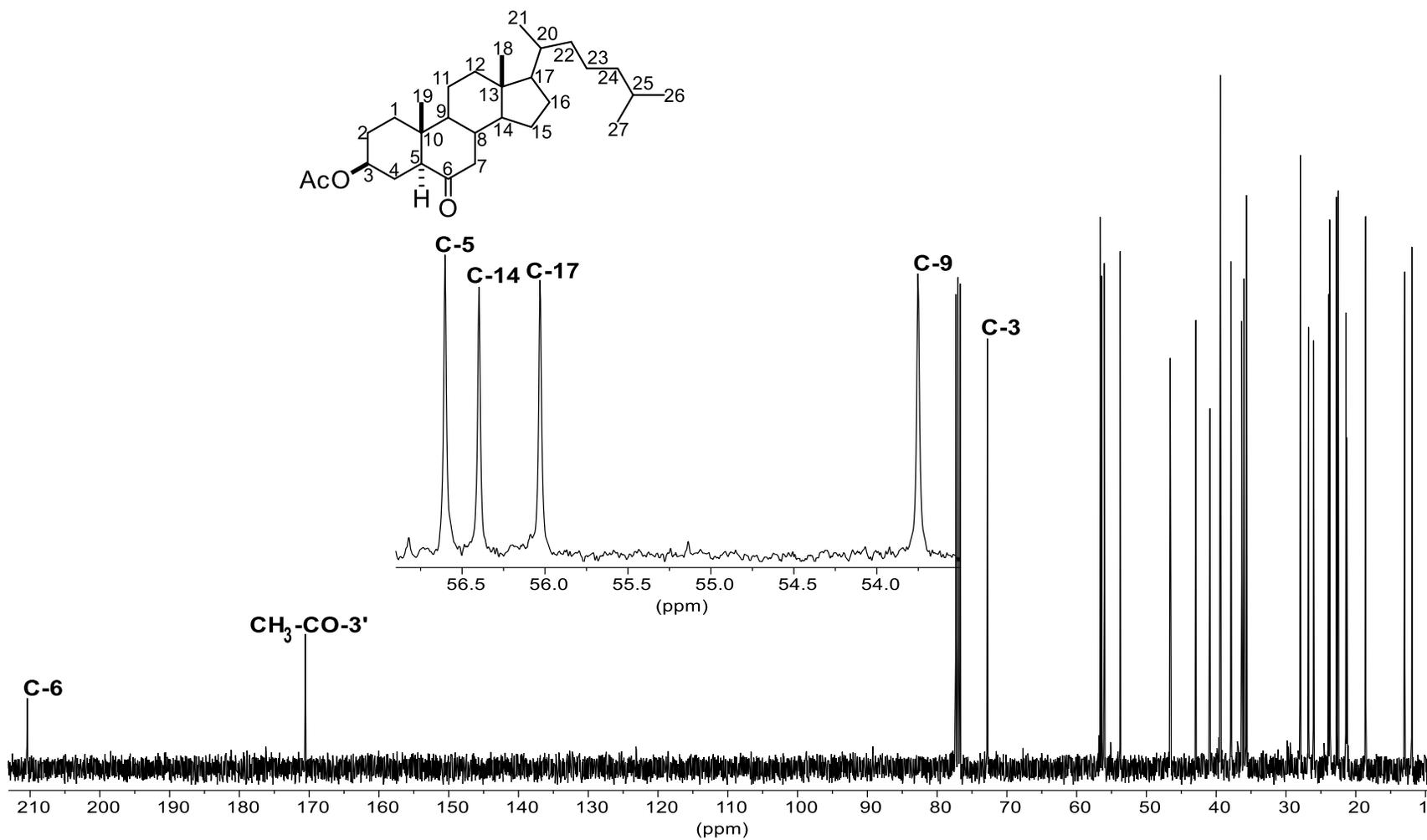


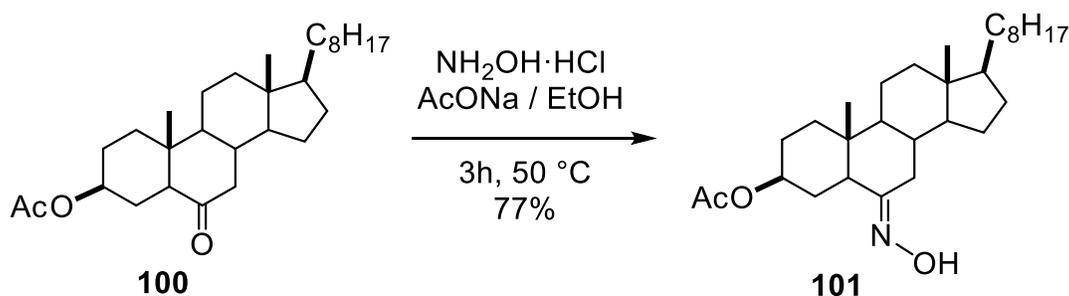
Figura 24. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) para 100.

6.2.5. Síntesis de la oxima **101**

La mayoría de las oximas son compuestos bioactivos, ya que distintos derivados de estos sustratos son utilizados con éxito como antimicrobianos, antiinflamatorios, diuréticos, entre otros. Las oximas se usan frecuentemente en química sintética como intermediarios para la transformación de nitrilos, amidas, óxidos de nitrilo, aminas, compuestos nitro y también sirve como grupo protector para los compuestos carbonílicos.⁷⁶

Distintos reportes señalan que las oximas se obtienen a partir de iminas,⁴⁷ sin embargo, el método más común es la condensación de aldehídos o cetonas empleando clorhidrato de hidroxilamina en presencia de acetato de sodio o piridina^{42,44-46} o también se utiliza nitrito de amilo.⁴⁰

Para la preparación de la oxima **101**, la 6-cetona se disolvió en etanol y enseguida se trató con $\text{-NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ y AcONa a $50\text{ }^\circ\text{C}$ por 3 h (Esquema 46).⁵¹ Al término de este tiempo, el crudo de reacción se extrajo con AcOEt y salmuera; después de la purificación del crudo de reacción por cromatografía en columna, se obtuvo el compuesto **101** en forma de un polvo blanco en un rendimiento del 77%.



Esquema 46. Metodología para la obtención de **101**.

En la Figura 25 se muestra el espectro de RMN de ^1H de **101**, la señal simple y ancha que se observa en 8.72 ppm se asignó al OH, la múltiple en 4.70 ppm se asignó al H-3 base de oxígeno, mientras que la doble de dobles en 3.34 ppm ($J = 13.7, 4.5\text{ Hz}, 1\text{H}$) corresponde al H-7 α , de acuerdo a otros reportes para este tipo de compuestos.⁵¹

La confirmación de la obtención del compuesto **101** se realizó con ayuda del espectro de RMN de ^{13}C (Figura 26). La señal del C-6 se desplaza de 210.4 ppm a 160.0 ppm base de imina. Las señales en 170.7 ppm y 73.3 ppm corresponden al carbonilo de acetilo y al C-3 base de oxígeno respectivamente.

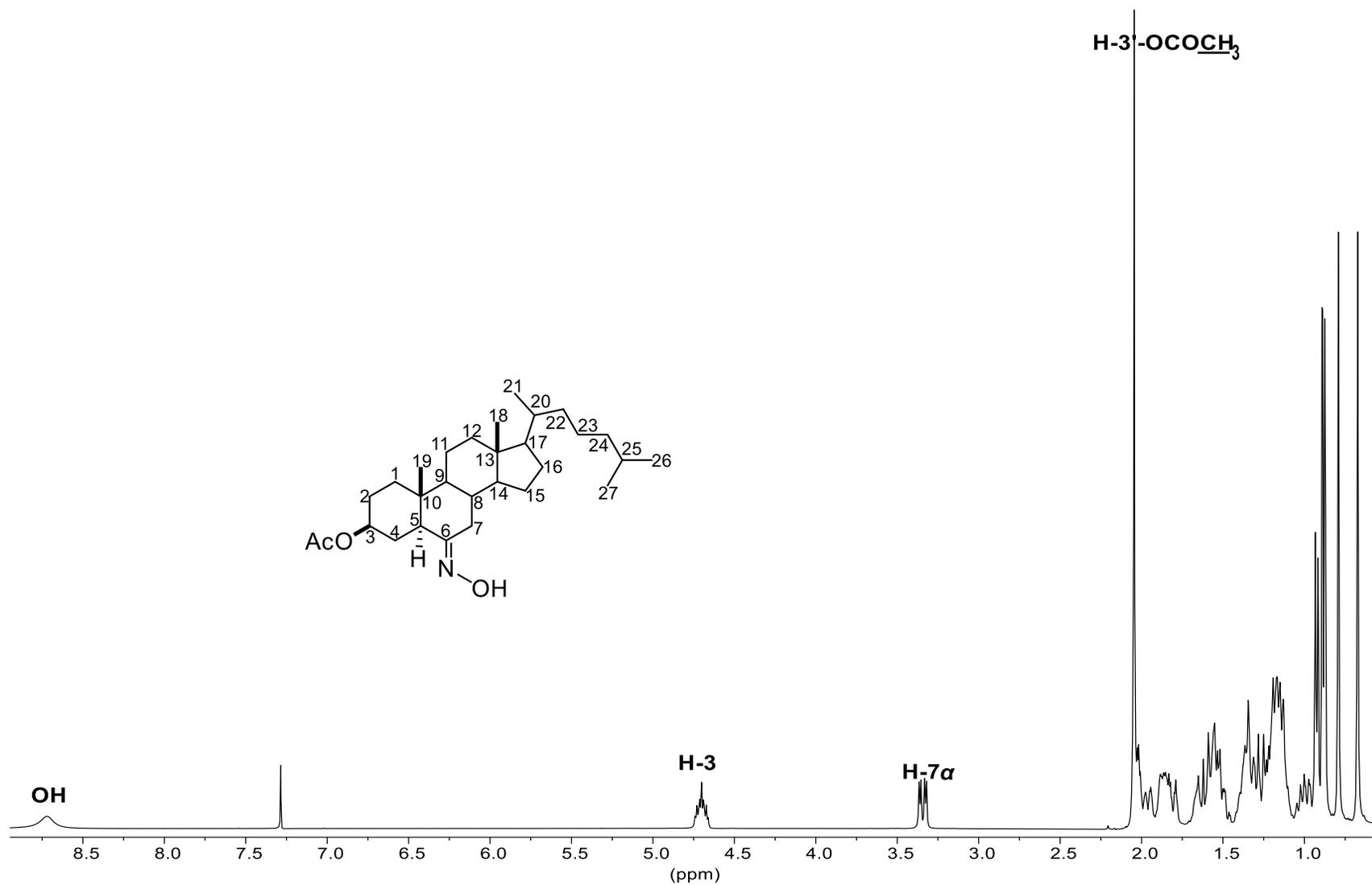


Figura 25. Espectro de RMN de ¹H (500 MHz) para 101.

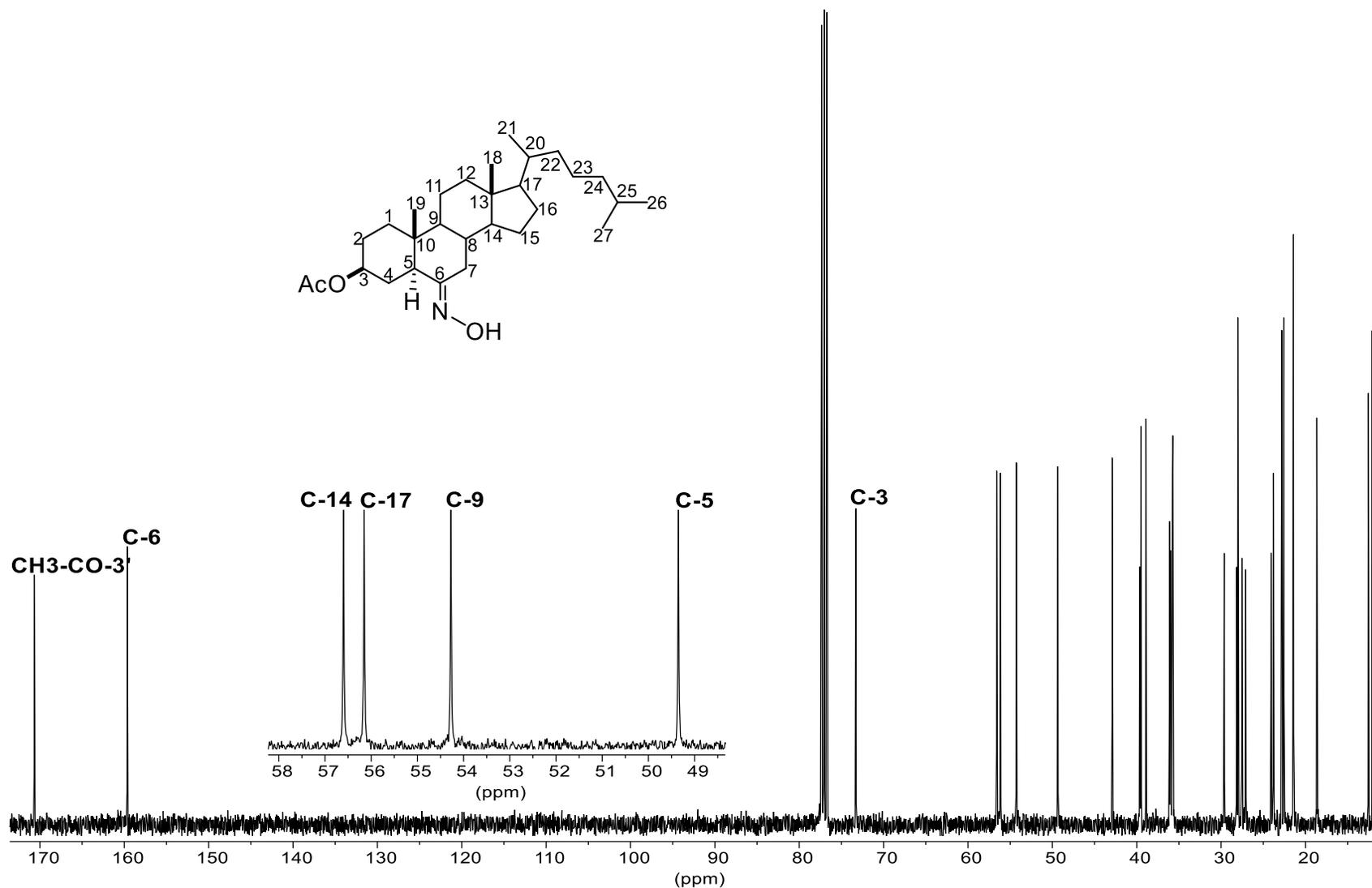
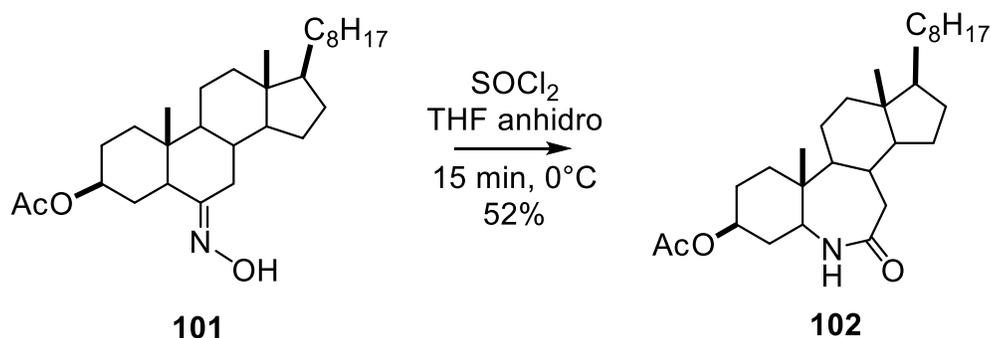


Figura 26. Espectro de RMN de ¹³C (125 MHz) para 101.

6.2.6. Síntesis de la lactama **102**

El reordenamiento de Beckmann consiste en la reacción en la que una oxima se convierte a una amida por acción de un ácido de Lewis o un ácido prótico fuerte. Para esto en un inicio la oxima **101** se trató utilizando las condiciones de Beckmann reportadas por otros autores, sin embargo, el uso de estos métodos no funcionó para este sustrato, ya que únicamente se observaba descomposición de la materia prima por TLC; después de varios ensayos modificando el tiempo de reacción y monitoreando por TLC a intervalos de 10 minutos, se encontró que la oxima reacciona en THF a 0 °C con el SOCl₂ formando el producto de Beckmann **102** después de 15 min. El producto se obtuvo en 52% de rendimiento después de la purificación en columna cromatográfica (Esquema 47).



Esquema 47. Metodología para la obtención de **102**.

La asignación del espectro de RMN de ¹H del compuesto **102** se muestra en la Figura 27, en el que aparece una nueva señal doble en 5.58 ppm (d, *J* = 4.8 Hz, 1H) correspondiente al NH, se continua observando la señal en 4.65 ppm del H-3 base de oxígeno, la señal que aparece en 3.43 ppm corresponde al H-5 y la señal del H-7a se asignó a las señales múltiples que se observan en 2.29 ppm.

En el espectro de RMN de ¹³C (Figura 28) el desplazamiento a frecuencias mayores del C-6 en 176.2 ppm correspondiente al carbonilo de lactama, confirma la obtención del producto **102**.

Los datos de RMN fueron comparados con los descritos en otros reportes.⁵²

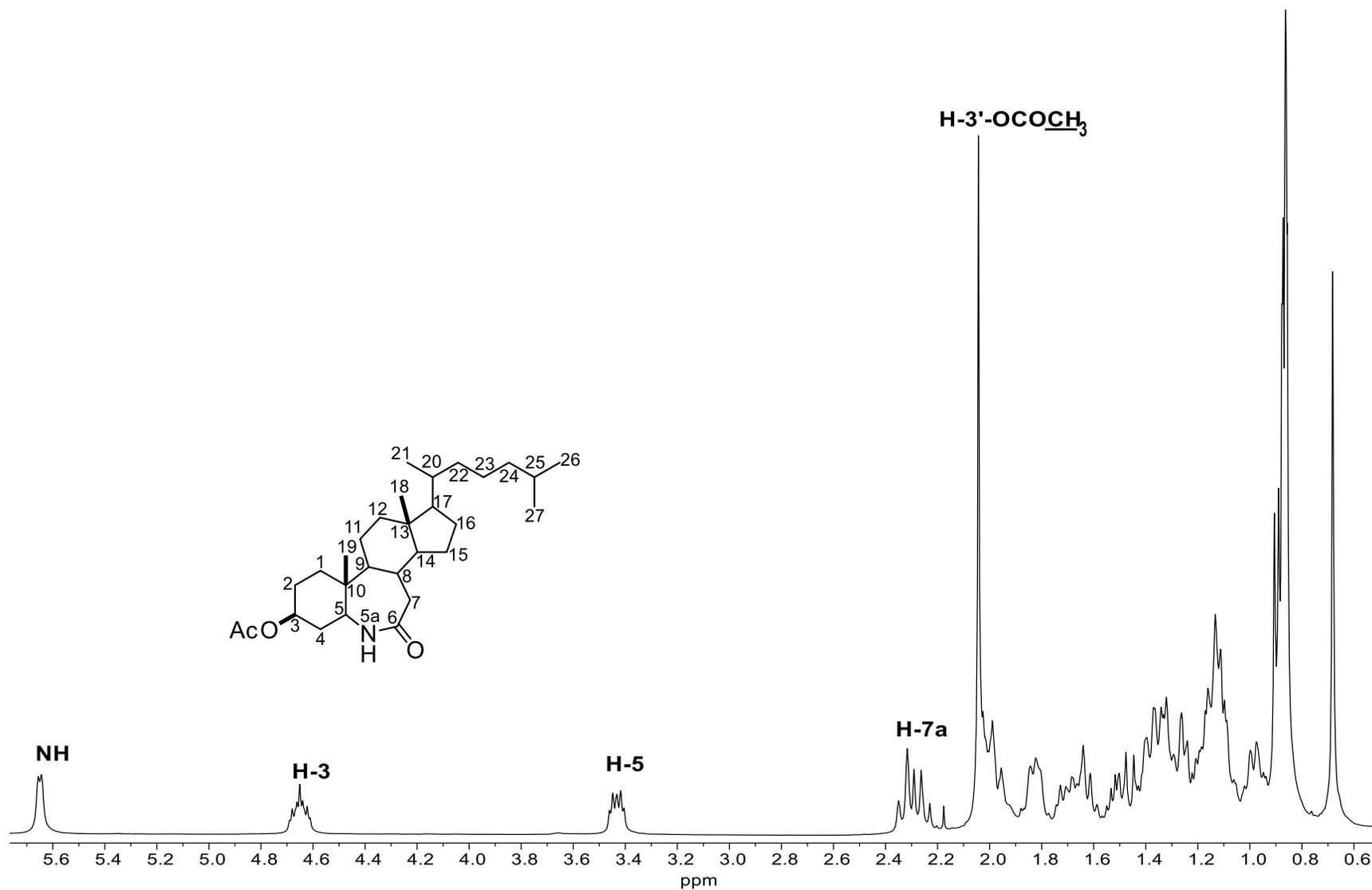


Figura 27. Espectro de RMN de ¹H (500 MHz) para 102.

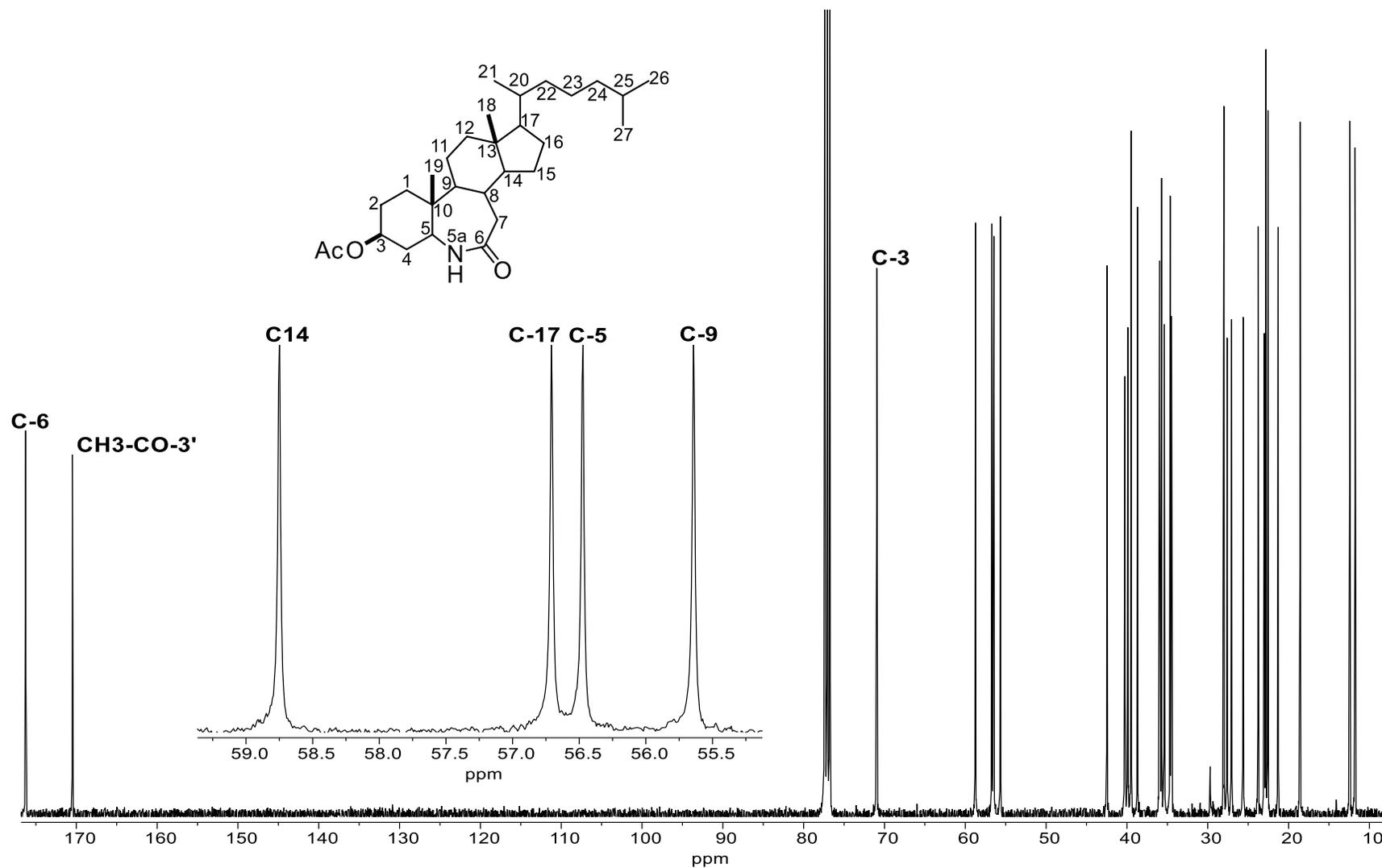
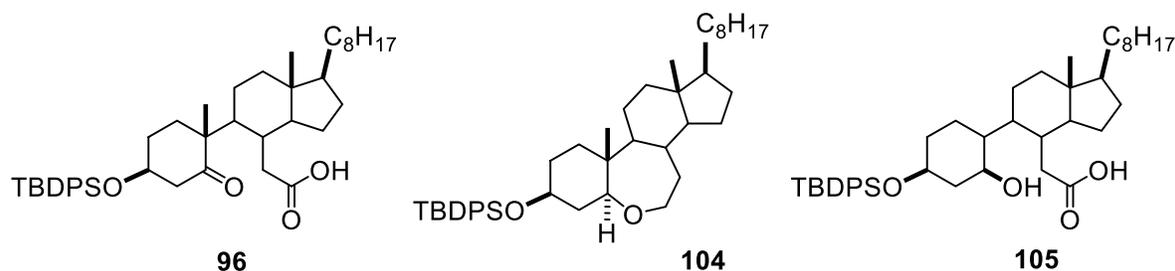


Figura 28. Espectro de RMN de ¹³C (125 MHz) para 102.

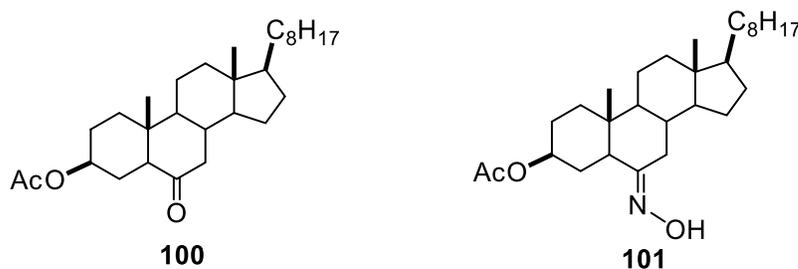
7. CONCLUSIONES

A través del *seco*-ácido **96** se logró la obtención de los nuevos compuestos **104** y **105**. El primero es un éter esteroidal de estructura novedosa e inusual. Para este derivado se propuso fusión *trans* de los anillos A/B con ayuda del experimento NOESY; observando la correlación en el espacio del H-5 α en 4.01 ppm con los H-3 α , H-6 α y H-4 α en 3.95 ppm, 3.76 ppm y 1.79 ppm respectivamente.

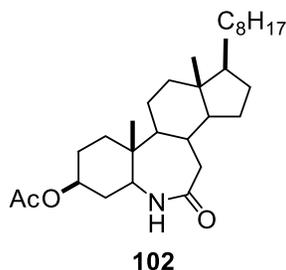
El derivado **105** es un intermediario interesante que mediante ciclación intramolecular podría dar lugar a la formación de heteroesteroides modificados en el anillo B. La reducción del *seco*-ácido **96** con 1.5 equivalentes de LiAlH₄, produce regio y diastereoselectivamente el derivado **105**.



La síntesis de la oxima **101** se realizó en buen rendimiento vía la 6-cetona **100**.



La obtención de la lactama **102** se llevó a cabo por reordenamiento de Beckman de **101** en condiciones suaves de reacción y menor tiempo (15 min) en comparación con otros reportes.



8. BIBLIOGRAFÍA

1. Biellmann, J. F. (2003). Enantiomeric *Steroids*: Synthesis, physical, and biological properties. *Chem. Rev.*, (103), 2019-2033.
2. Li, H., Guo, H., y Li, H. (2013). Cholesterol loading affects osteoblastic differentiation in mouse mesenchymal stem cells. *Steroids*, (78), 426-433.
3. Thakur, M., y Paramanik, V. (2009). Role of steroid hormone coregulators in health and disease. *Karger*, (71), 194-200.
4. Chiang, J. (2009). Bile acids: Regulation of synthesis. *J. Lipid Res.*, (50), 1955-1966.
5. Stephen, N., y Saffron, W. (2001). *Endocrinology, an integrated approach*. Londres: St. George hospital medical school.
6. Singh, B., y Rastogi, R. (1969). Cardenolides-glycosides and genins. *Pergamon Press*, (9), 315-331.
7. Bloch, K. (2014). Sterol structure and membrane function. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, (14), 47-92.
8. Nawaz-Bhatti, H., y Ahmad-Khera, R. (2012). Biological transformations of steroidal compounds: A review. *Steroids*, (77), 1267-1290.
9. Ibrahim-Ouali, M. (2015). Total synthesis of steroids and heterosteroids from BISTRO. *Steroids*, (98), 9-28.
10. Pratim-Kaishap, P., Baruah, S., Shekarrao, K., Gogoi, S., y Boruah, R. (2014). A facile method for the synthesis of steroidal and nonsteroidal 5-methyl pyrazolo [1,5- α] pyrimidines. *Tetrahedron Lett.*, (55), 3117-3121.
11. Bansal, R., Guleria, S., Thota, S., Bodhankar, S. L., Patwardhan, M. R., Zimmer, C., Hartmann R. W., y Harvey, A. L. (2012). Design, synthesis and evaluation of novel 16-imidazolyl substituted steroidal derivatives possessing potent diversified pharmacological properties *Steroids*, (77), 621-629.
12. Singh, R., Thota, S., y Bansal, R. (2017). Studies on 16,17-pyrazoline substituted heterosteroids as anti-alzheimer and anti-parkinsonian agents

- using LPS induced neuroinflammation models of mice and rats. *ACS Chem. Neurosci.*, 9(2), 272-283.
13. Carlini, P., Frassoldati, A., De Marco, S., Casali, A., Ruggeri, E. M., Nardi, M., Papaldo, P., Fabi, A., Paoloni F., y Cognetti, F. (2001). Formestane, a steroidal aromatase inhibitor after failure of non-steroidal aromatase inhibitors (anastrozole and letrozole): Is a clinical benefit still achievable? *Ann. Surg. Oncol.*, (12), 1539-1543.
 14. Gemzell-Danielsson, K., Marions, L., y Bygdeman, M. (2003). Effects of mifepristone on endometrial receptivity. *Steroids*, (68), 1069-1075.
 15. Tuba, Z., Maho, S., y Vizi, E. (2002). Synthesis and structure-activity relationships of neuromuscular blocking agents. *Curr. Med. Chem.*, (9), 1507-1536.
 16. Aggarwala, S., Thareja, S., Verma, A., Raj-Bhardwaja, T., y Kumar, M. (2010). An overview on 5 α -reductase inhibitors. *Steroids*, (75), 109-153.
 17. Gibbons, G. F. (2002). From gallstones to genes: two hundred years of sterol research. a tribute to George J. Schroepfer Jr. *Lipids*, 37(12), 1153-1162.
 18. Miao, L., Nielsen, M., Thewalt, J., Ipsen, J., Bloom, M., Zuckermann, M., y Mouritsen, O. (2002). From lanosterol to cholesterol: structural evolution and differential effects on lipid bilayers. *Biophys. J.*, (82), 1429-1444.
 19. Nes, W. (2011). Biosynthesis of cholesterol and other sterols. *Chem. Rev.*, (111), 6423–6451.
 20. Maldonado-Saavedra, O., Ramírez-Sánchez, I., García-Sánchez, J. R., Ceballos-Reyes, G. M., y Méndez-Bolaina, E. (2012). Colesterol: Función biológica e implicaciones médicas. *Revista mexicana de ciencias farmaceuticas*, 43(2), 7-22.
 21. Gan, C., Fan, L., Cui, J., Huang, Y., Jiao, Y., y Wei, W. (2012). Synthesis in vitro and antiproliferative evaluation of some ring B abeo-sterols. *Steroids*, (77), 1061-1068.
 22. Saikia, P., Pratim-Kaishap, P., Goswami, J., Kumar-Singh, A., Deka-Boruah, H. P., Gogoi, S., y Boruah, R. C. (2014). Synthesis of steroidal and
-

- nonsteroidal vicinal heterocyclic alcohols, N-(1-cycloalkenyl) heterocycles and their antibacterial studies. *Steroids*, (84), 36-45.
23. Shamsuzzaman, Aaftab, K., y Abdul-Baqi, A. (2014). Synthesis of steroidal diazolidinone, diazolidinthione and diazoles: Reaction of steroidal dibromoketones with nucleophilic nitrogen. *J. Chil. Chem. Soc.*, 59(3), 2537-2538.
24. Tantawy, M. A., Nafie, M. S., Elmegeed, G. A., y Ali, I. A. (2017). Auspicious role of the steroidal heterocyclic derivatives as a platform for anti-cancer drugs. *Bioorg. Chem.*, (73), 128-146.
25. Brunel, J. M., Loncle, C., Vidal, N., Dherbomez, M., y Letourneux, Y. (2005). Synthesis and antifungal activity of oxygenated cholesterol derivatives. *Steroids*, (70), 907-912.
26. Carvalho, J. F., Cruz-Silva, M., Moreira, J., Simões, S., y Melo, L. (2010). Sterols as anticancer agents: Synthesis of ring-B oxygenated steroids, cytotoxic profile, and comprehensive SAR analysis. *J. Med. Chem.*, (53), 7632-7638.
27. Eunsook, M., Kim, H., y Kim, E. (2005). Epoxidation and reduction of cholesterol, 1,4,6-cholestatrien-3-one and 4,6-cholestadien-3 β -ol. *Steroids*, (70), 245-250.
28. Gan, C., Cui, J., Huang, Y., Jia, L., y Wei, W. (2012). Synthesis and antiproliferative activity of some steroidal lactone compounds. *Steroids*, (77), 255-259.
29. Edward, J. T., y Ferland, J. M. (1966). Stereochemical studies. Reactions of 3 β -hydroxy-4-oxa-5 α -estreno and 3 α , 17 β -dihydroxy-4oxa-5 α -estreno. *Can. J. Chem.*, (44), 1299-1309.
30. Paul, K., y Raymond, O. (1969). Steroidal cyclic ethers. *J. Med. Chem.*, 12(1), 5-8.
31. Lee, A. J., Sowell, J., Cotham, W. E., y Zhu, B. T. (2004). Chemical synthesis of two novel diaryl ether dimers of estradiol-17 β . *Steroids*, (69), 61-65.
-

32. Ibrahim-Ouali, M., Botsi-Nkomendi, N., y Rocheblave, L. (2010). Synthesis of heterosteroids. First synthesis of oxa steroid from cholic acid. *Tetrahedron Lett.* (51), 93-95.
33. Morozkina, S. N., Chentsova, A. S., Selivanov, S. I., y Shavva, A. G. (2014). Synthesis and investigation of biological properties of modified 6-oxa-estra-1,3,5(10),8(9)-tetraenes. *Steroids*, (88), 90-94.
34. He, Y. Q., Lee-Caplan, S., Scesa, P., y West, L. M. (2017). Cyclized 9,11-*seco*-sterol enol-ethers from the *Gorgonian Pseudopterogorgia americana*. *Steroids*, (125), 47-53.
35. Xie, W., Peng, H., Kim, D.-I., Kunkel, M., Powis, G., y Leon, Z. H. (2001). Structure-activity relationships of aza-steroids as PI-PLC inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.*, (9), 1073-1083.
36. Rahier, A., y Taton, M. (1996). Sterol biosynthesis: Strong inhibition of maize-sterol-reductase by novel. *Biochemistry*, (35) 7069-7076.
37. Martínez, M. D., Edelsztejn, V. C., Durán, F. J., Di Chenna, P. H., y Burton, G. (2013). Synthesis of 6-azaprogesterone and 19-hydroxy-6-azasteroids. *Steroids*, (78), 34-37.
38. Tsuda, K., y Hayatsu, R. (1956). Cholesterol and related compounds. V. synthesis of aza-D-homosteroids. *J. Am. Chem. Soc.*, (16), 4107-4111.
39. Thomas, B. G., Chau, J., y Parvez, M. (1995). A convenient synthesis of 11-aza-C-homoestrans. *Synthesis*, (1), 162-163.
40. Jianga, X., Wang, J., Hua, J., Ge, Z., Hu, Y., Hu, H., y Covey, D. (2001). Synthesis of (5 α)-17-azaandrostan-3-ol and (5 α)-17-aza-D-homoandrostan-3-ols and their N-acylated derivatives. *Steroids*, (66), 655-662.
41. Yadav, M. R., Ganesh, M. M., Giridhar, R., y Kumar, M. (2004). Synthesis of 3-oxo-4-aza-5 β -steroid from (25*R*) 3-oxo-A-norspirostane. *Asian J. Chem.*, 16(2), 1027-1033.
42. Koutsourea, A. I., Fousteris, M. A., Arsenou, E. S., Papageorgiou, A., Pairas, G. N., y Nikolaropoulos, S. (2008). Rational design, synthesis, and

- in vivo evaluation of the antileukemic activity of six new alkylating steroidal esters. *Bioorg. Med. Chem.*, (16), 5207-5215.
43. Borthakur, M., y Boruah, R. (2008). A microwave promoted and Lewis acid catalysed solventless approach to 4-azasteroids. *Steroids*, (73), 637-641.
44. Cui, J., Lin, Q., Gan, C., Yao, Q., Su, W., y Huang, Y. (2014). Synthesis and cytotoxic activity of some 4, 6-diaza-A, B-dihomo-steroid bilactams. *Steroids*, (79), 14-18.
45. Chen, S.-R., Shena, F.-J., Feng, G.-L., y Yuan, R.-X. (2015). Synthesis and anticancer activity of 4-azasteroidal-20-oxime derivatives. *J. Chem. Res.*, (39) 527–530.
46. Trafalis, D., Geromichalou, E., Dalezis, P., Nikoleousakos, N., y Sarli, V. (2016). Synthesis and evaluation of new steroidal lactam conjugates with aniline mustards as potential antileukemic therapeutics. *Steroids*, (115), 1-8.
47. Martínez-Pascual, R., Meza-Reyes, S., Vega-Baez, J. L., Merino-Montiel, P., Padrón, J. M., Mendoza, Á., y Montiel-Smith, S. (2017). Novel synthesis of steroidal oximes and lactams and their biological evaluation as antiproliferative agents. *Steroids*, (122), 24-33.
48. Arenas González, A., Mendez Delgado, L. A., Merino Montiel, P., Padrón, J. M., Montiel Smith, S., Vega Báez, J. L., y Meza Reyes, S. (2016). Synthesis of monomeric and dimeric steroids containing [1,2,4] triazolo [1,5 α] pyrimidines. *Steroids*, (116), 13–19.
49. del Río, R., Wang, B., Achab, S., y Bohe, L. (2007). Highly enantioselective oxidation of sulfides to sulfoxides by a new oxaziridinium salt. *Org. Lett.*, 9(12), 2265-2268.
50. Iglesias-Arteaga, M. A., Símuta-Lopez, E. M., Xochihua-Moreno, S., Viñas-Bravo, O., Montiel-Smith, S., Meza-Reyes, S., y Sandoval-Ramírez, J. (2005). A convenient procedure for the synthesis of 3 β -hydroxy-6-oxo-5 α -steroids. Application to the synthesis of laxogenin. *J. Braz. Chem. Soc.*, 16(3A), 381-385.
-

51. Cui, J., Fan, L., Huang, Y., Xin, Y., y Zhou, A. (2009). Synthesis and evaluation of some steroidal oximes as cytotoxic agents: Structure/activity studies (II). *Steroids*, (74), 989-995.
52. Huang, Y., Cui, J., Chen, S., Lin, Q., Song, H., Gan, C., Su, B., y Zhou, A. (2014). Synthesis and evaluation of some new aza-B-homocholestane derivatives as anticancer agents. *Drugs*, (1), 1715-1731.
53. Pérez-Chavez, C. O. (2016). *Evaluación de una oxaziridina esteroideal como agente oxidante*. Morelia: Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo.
54. Vázquez-Chavez, J. (2014). *Síntesis y caracterización de una oxaziridina a partir de diosgenina*. Morelia: Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo.
55. Parish, E. J., y Li, S. (1996). A one-step synthesis of 6 β -hydroxy-3-ketones. novel oxidation of homoallylic sterols with permanganate ion. *J. Org. Chem.*, (61), 5665-5666.
56. Hunter, A. C., Watts, K. R., Dedi, C., y Dodd, H. T. (2009). An unusual ring-A opening and other reactions in steroid transformation by the thermophilic fungus *Myceliophthora Thermophila*. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, (116), 171-177.
57. Horinouchi, M., Hayashi, T., Yamamoto, T., y Kudo, T. (2003). A new bacterial steroid degradation gene cluster in *Comamonas Testosteroni* TA441 which consists of aromatic-compound degradation genes for *seco*-steroids and 3-ketosteroid dehydrogenase genes. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(8) 4421-4430.
58. Gumulka, M., Ibrahim, I. H., Boncza-Tomaszewski, Z., y Engel, C. (1984). Steroids and related products. LIII. 11-aza steroids. Part IV. The synthesis of 11-aza-9 α -steroids. II. Synthesis of 11-aza-4,5 α -dihydrotestosterone. *Can. J. Chem.*, 63(3) 766-768.
59. Magyar, A., Schönecker, B., Günther, W., y Görls, H. (2003). Synthesis of 16,17-*seco*-steroids with iminomethyl-2-pyridine and aminomethylene-2-

- pyridine structures as chiral ligands for copper ions and molecular oxygen activation. *Tetrahedron: Asymmetry*, (14), 2705–2715.
60. Reyes-Moreno, M., Alvarez-Ginarte, Y., Ruiz-Garcia, J., y Velez-Castro, H. (2000). La reacción de oxidación con el reactivo de Jones en esteroides. *CENIC Ciencias Químicas*, 31(2), 127-131.
61. Ghosh, A., Brindisi, M., y Sarkar, A. (2018). The Curtius rearrangement: Applications in modern drug discovery and medicinal chemistry. *ChemMedChem*, 13(22), 1-24.
62. White, J. D., y Shaw, S. (2011). *Cis*-2,5-diaminobicyclo [2.2.2] octane, a new scaffold for asymmetric catalysis via salen metal complexes. *Org. Lett.*, 13(9), 2488–2491.
63. Rivera, D. G., Pérez-Labrada, K., Lambert, L., Dörner, S., Westermann, B., y Wessjohann, L. A. (2012). Carbohydrate-steroid conjugation by Ugi reaction: One-pot synthesis of triple sugar/*pseudo*-peptide/spirostane hybrids. *Carbohydr. Res.*, (359), 102–110.
64. Boyer, J. H. (1951). Reduction of organic azides to primary amines with lithium aluminum hydride. *J. Am. Chem. Soc.*, 12(73), 5865–5866.
65. Hossain, M. T. y Timberlake, J. W. (2001). Rearrangements in the reduction of 3-iodobicyclo [1.1.1] pentyl azide with lithium aluminum hydride: Mechanistic evidence of intermediates. *J. Org. Chem.*, (66), 4409-4412.
66. Scriven, E. F. y Turnbull, K. (1988). Azides: their preparation and synthetic uses. *Chem. Rev.*, 2(88), 297-368.
67. Joseph-Nathan, P. (1982). *Resonancia magnética nuclear de hidrógeno-1 y de carbono-13*. Mexico, D.F.: Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, IPN.
68. Longley, C., Goodwin, T. J., y Wilkinson, G. (1986). Hydrogenation of imines by rhodium-phosphine complexes. *Polyhedron*, 5(10), 1625-1628.
69. López, Y., Ruíz, K. M., Yépez, R., Santillan, R., Flores-Alamo, M., e Iglesias-Arteaga, M. A. (2008). Mechanistic insights and new products of the reaction of steroid sapogenins with NaNO₂ and BF₃·Et₂O in acetic acid. *Steroids*, (73), 657-668.
-

70. Escobar, G. (2008). *Síntesis orgánica*. Medellín, Colombia: Universidad de Antioquia.
71. Micovic, V. C. y Mihailovic, M. L. (1953). The reduction of acid amides with aluminum hydride. *J. Org. Chem.*, 18(9), 1190-1200.
72. Blackburn, L. y Taylor, R. J. (2001). In situ oxidation-imine formation-reduction routes from alcohols to amines. *Org. Lett.*, 3(11), 1637-1639.
73. Suginome, H., Yamada, S., y Wang, J. B. (1990). Photoinduced molecular transformations; a versatile substitution of a carbonyl group of steroidal ketones by a heteroatom. The synthesis of aza-, oxa-, thia-, seleno-, and tellurasteroids. *J. Org. Chem.*, (55), 2170-2176 .
74. Hanson, J. R., Terry, N., y Uyanik, C. (1998). The stereochemistry of epoxidation of steroids with sodium perborate and potassium permanganate. *J. Chem. Res.*, (S), 50–51.
75. Salvador, J. A., Melo, M. L., y Campo, A. S. (1996). Oxidations with potassium permanganate-metal sulphates and nitrates. β -selective epoxidation of unsaturated steroids. *Tetrahedron Lett.*, 37(5), 687-690.
76. Alam, M., y Lee, D.-U. (2015). Green synthesis, biochemical and quantum chemical studies of steroidal oximes. *Korean J. Chem. Eng.*, 32(6), 1142-1150.

9. Apéndice

**RESONANCIA MAGNÉTICA
NUCLEAR**

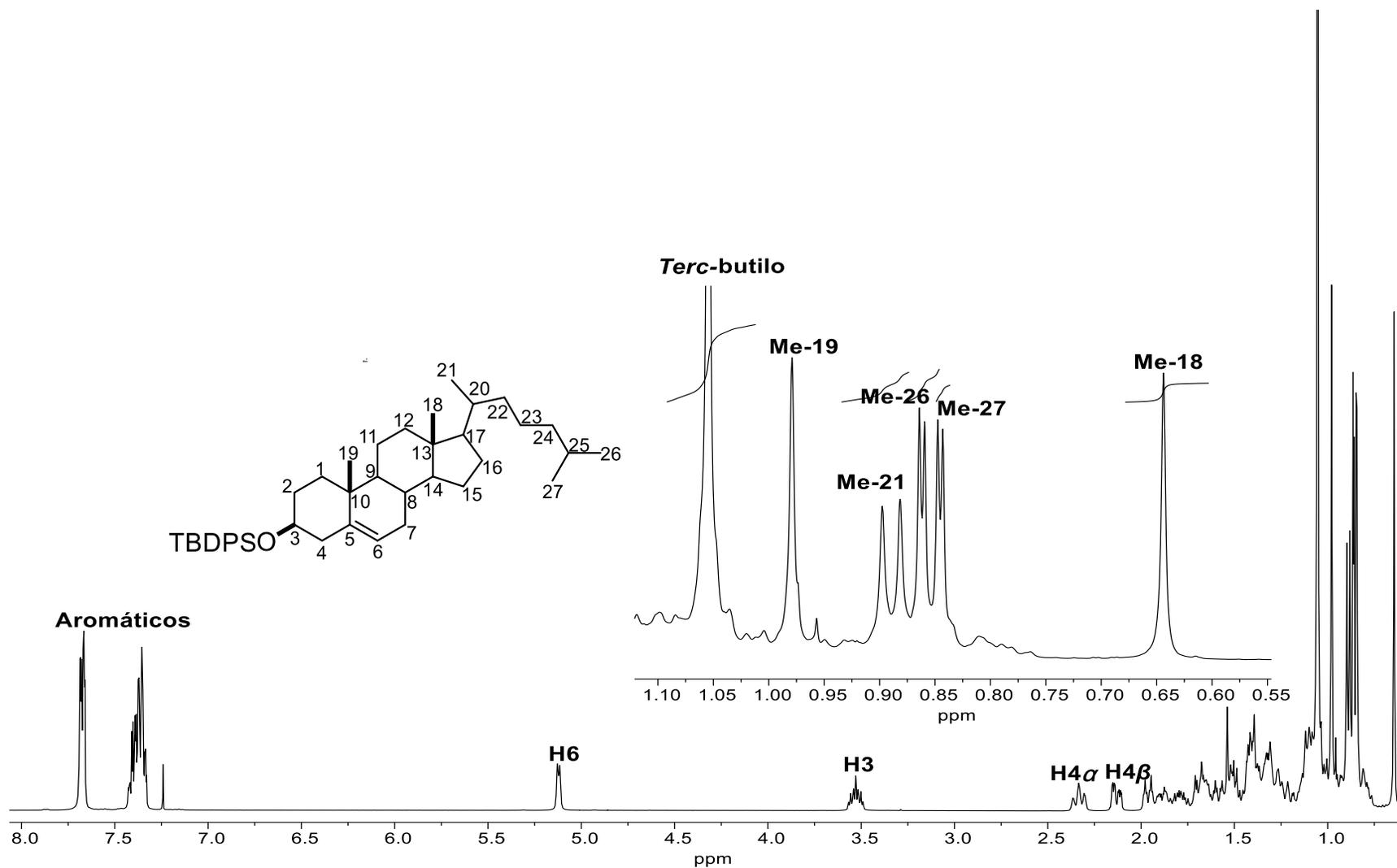


Figura 29. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) del compuesto 103.

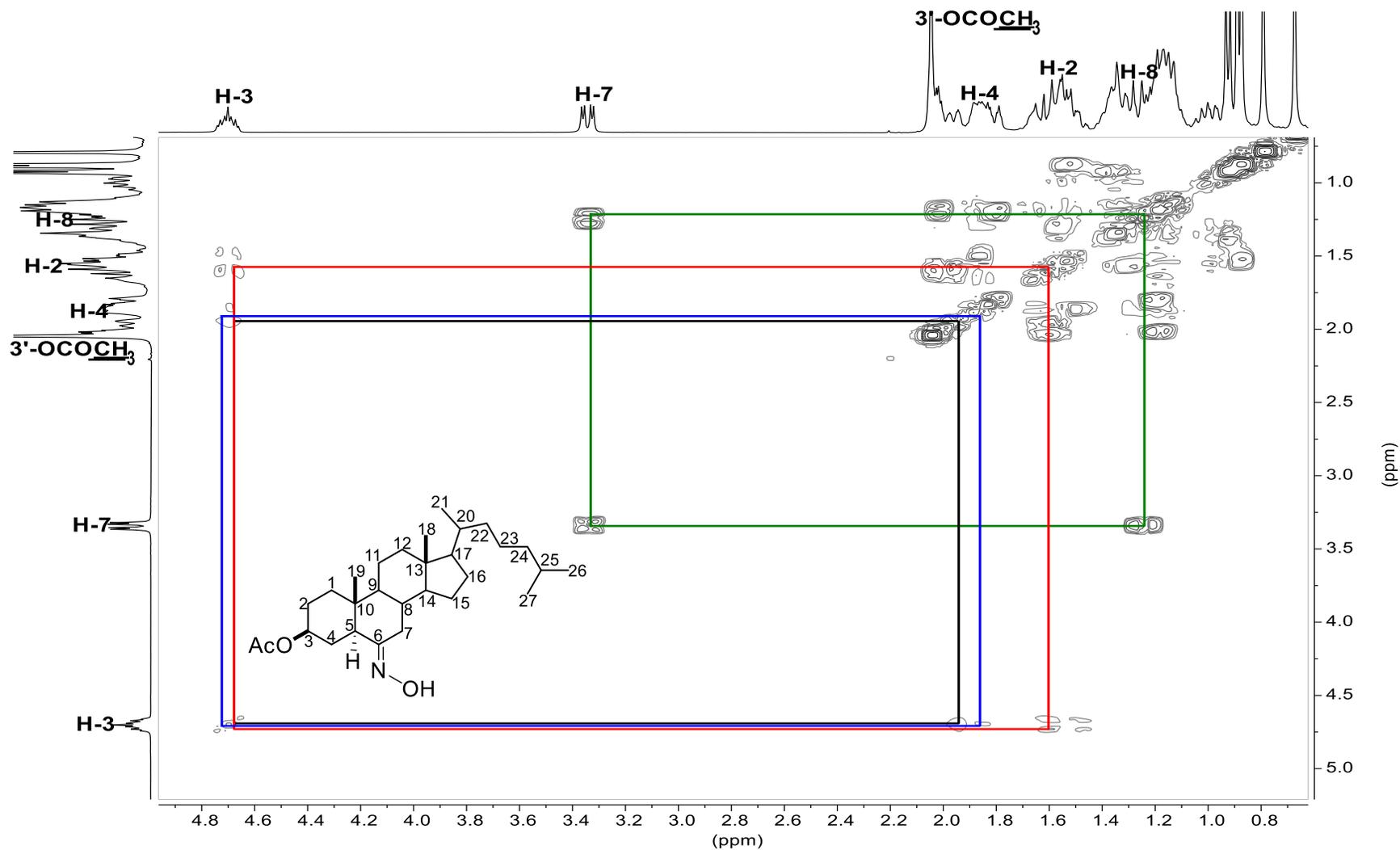


Figura 30. Experimento COSY del compuesto 101.

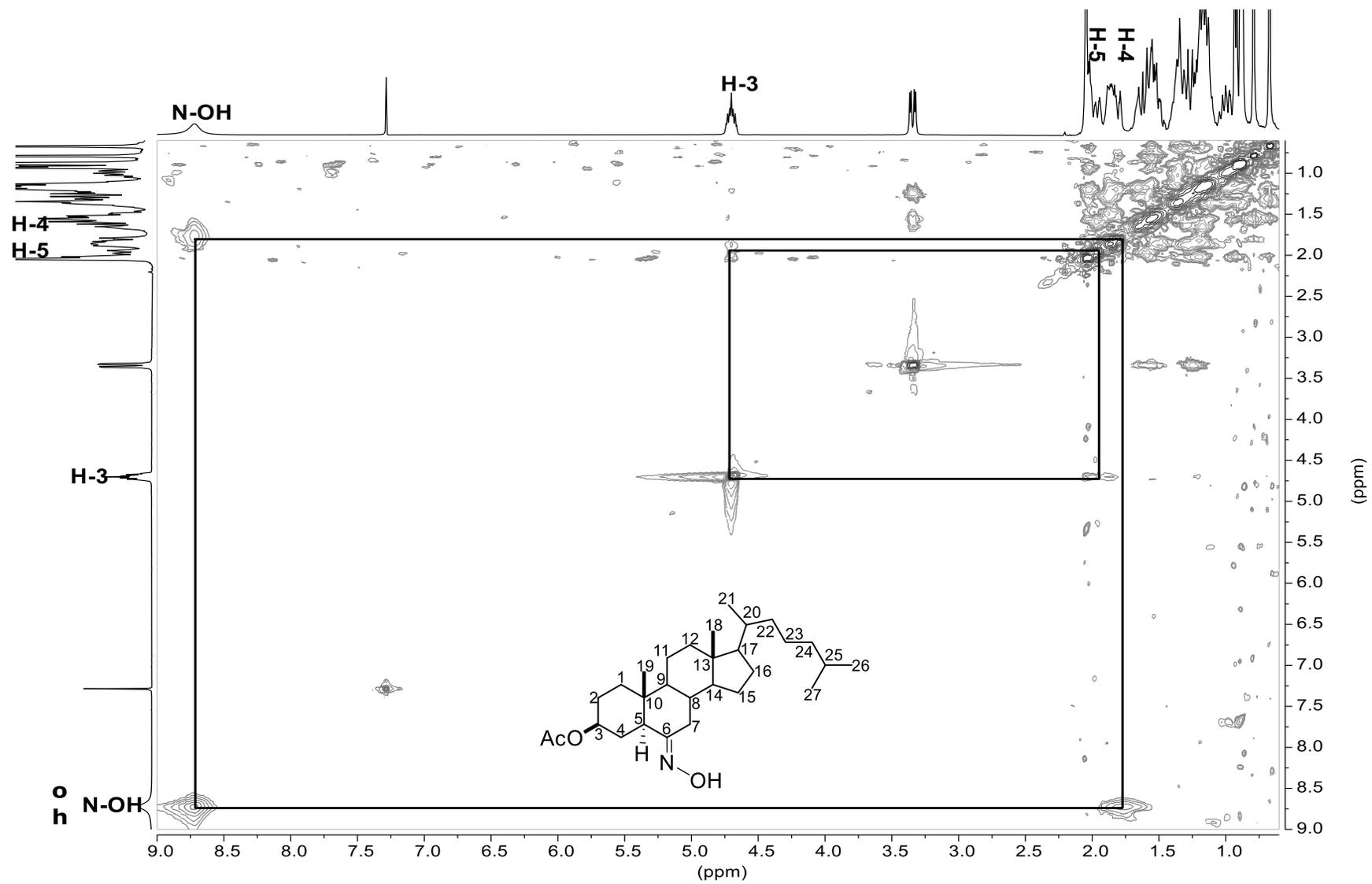


Figura 31. Experimento NOESY del compuesto 101.

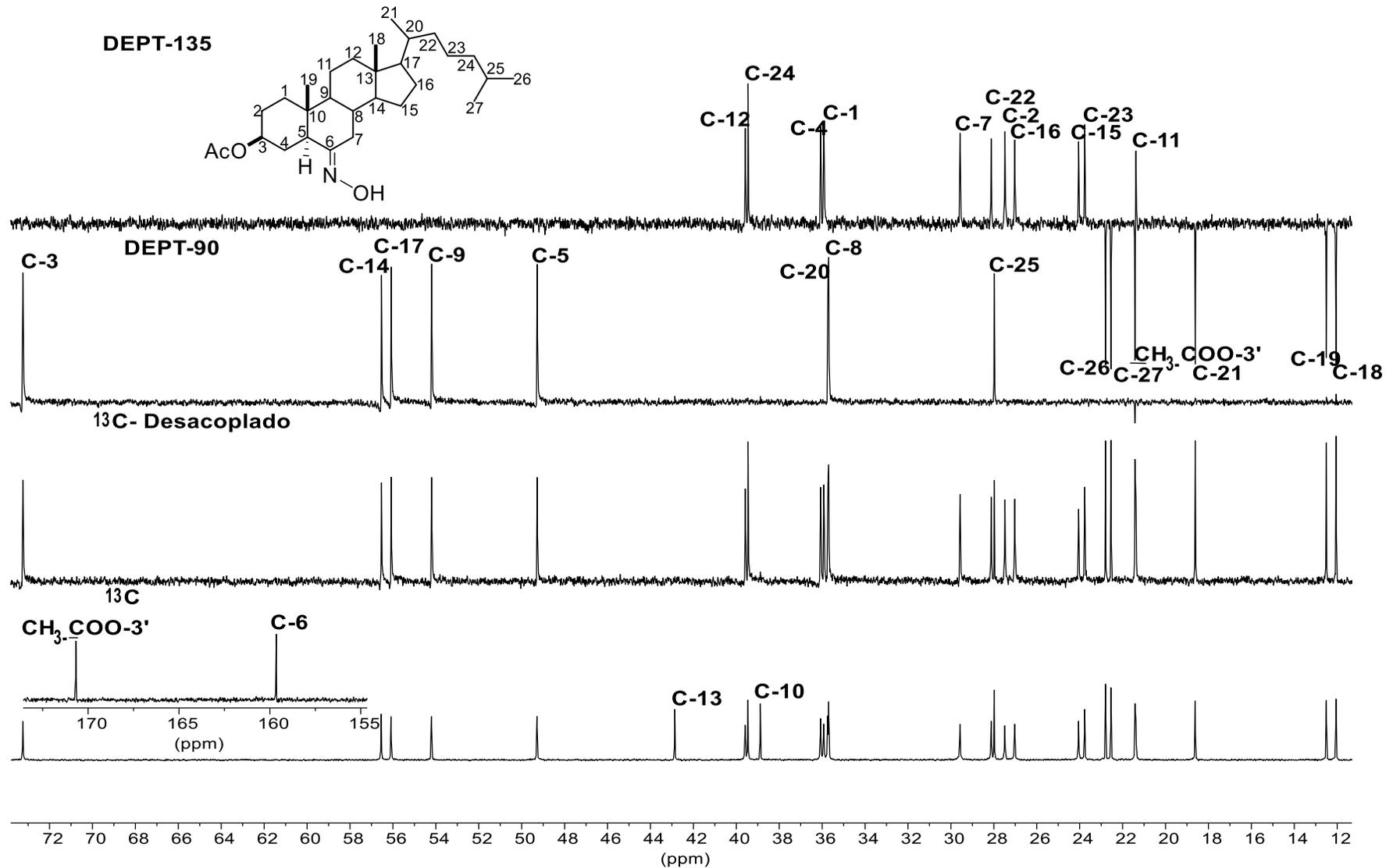


Figura 32. Experimento DEPT del compuesto 101.

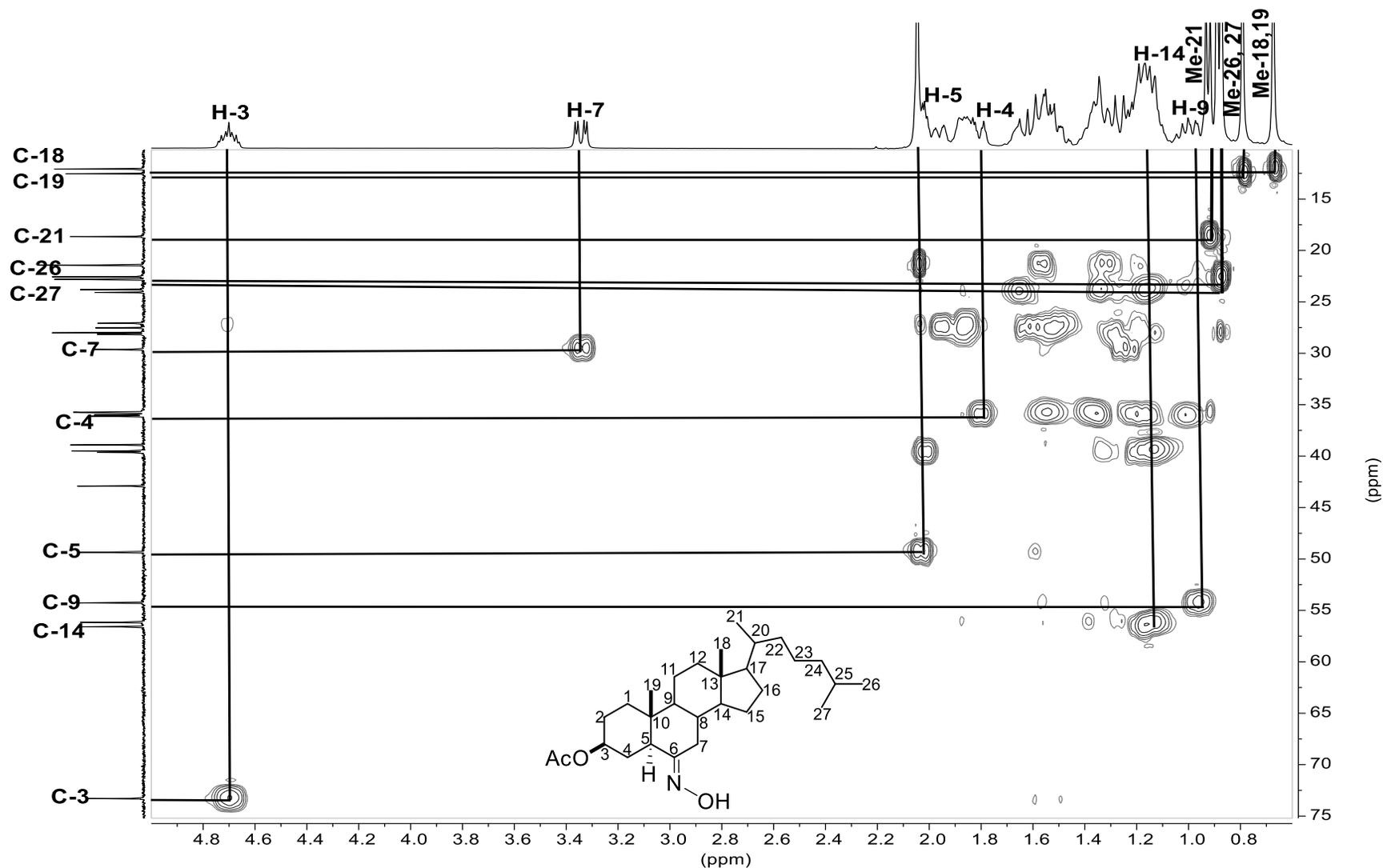


Figura 33. Experimento HSQC del compuesto 101.

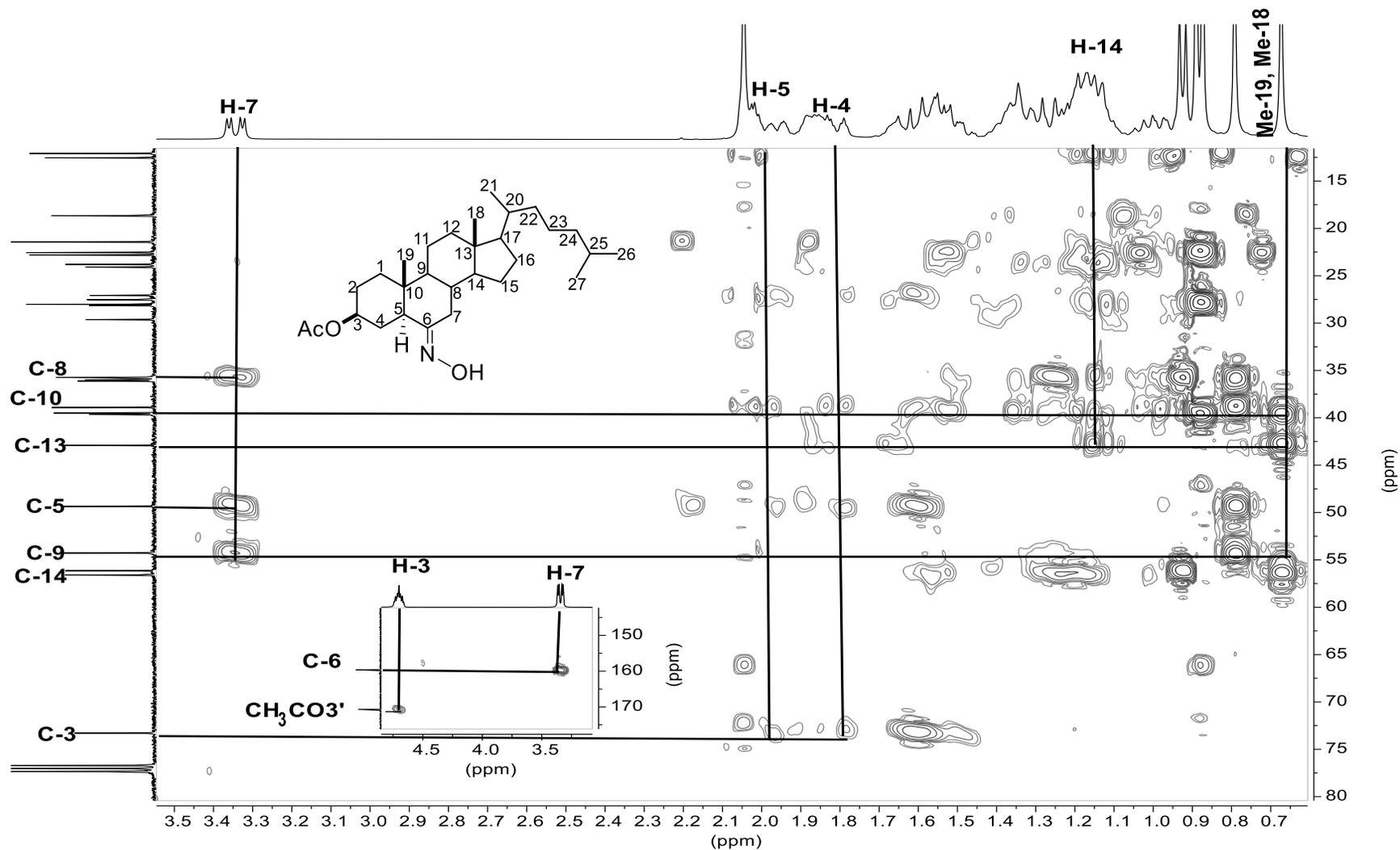


Figura 34. Experimento HMBC del compuesto 101.

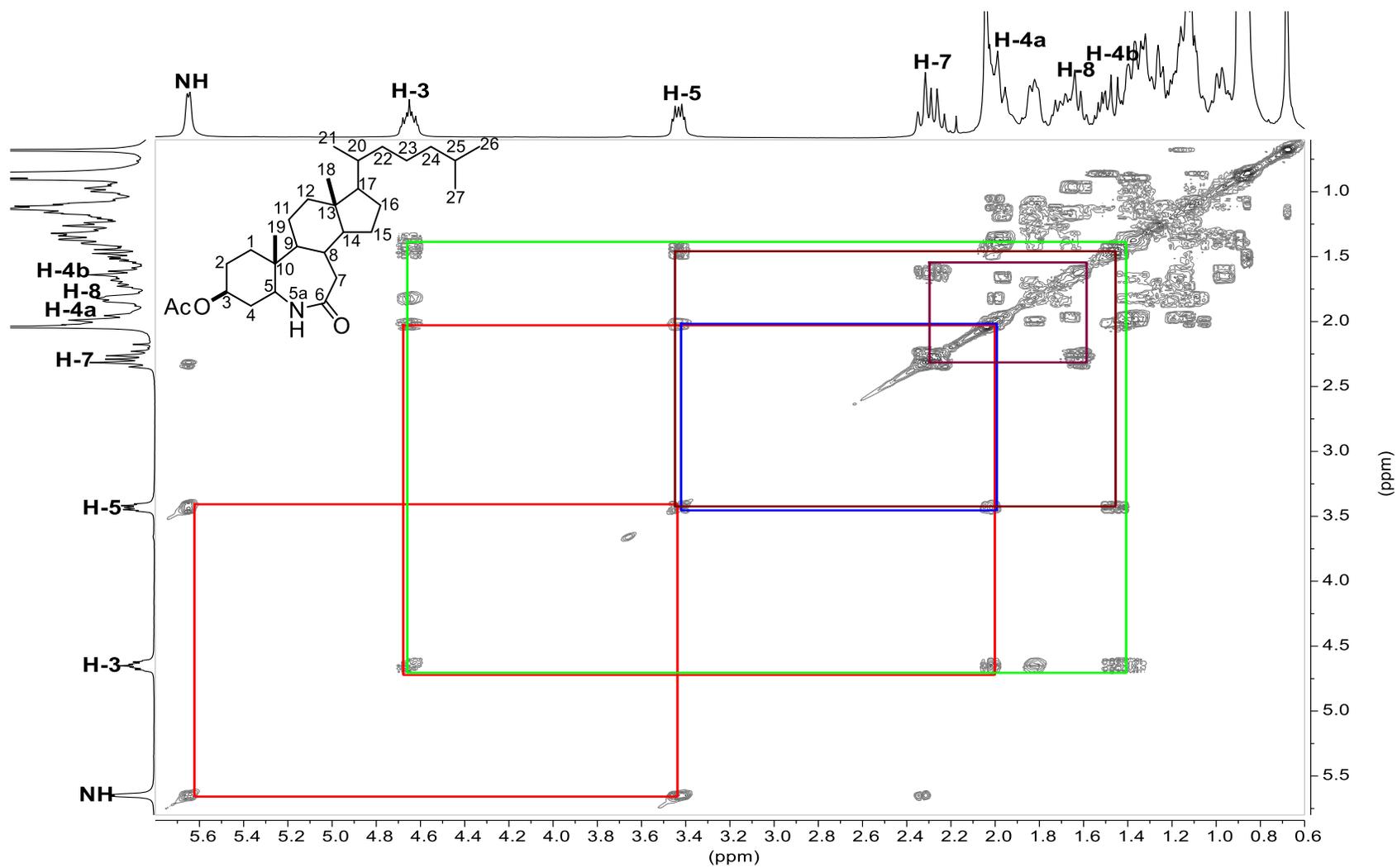


Figura 35. Experimento COSY del compuesto 102.

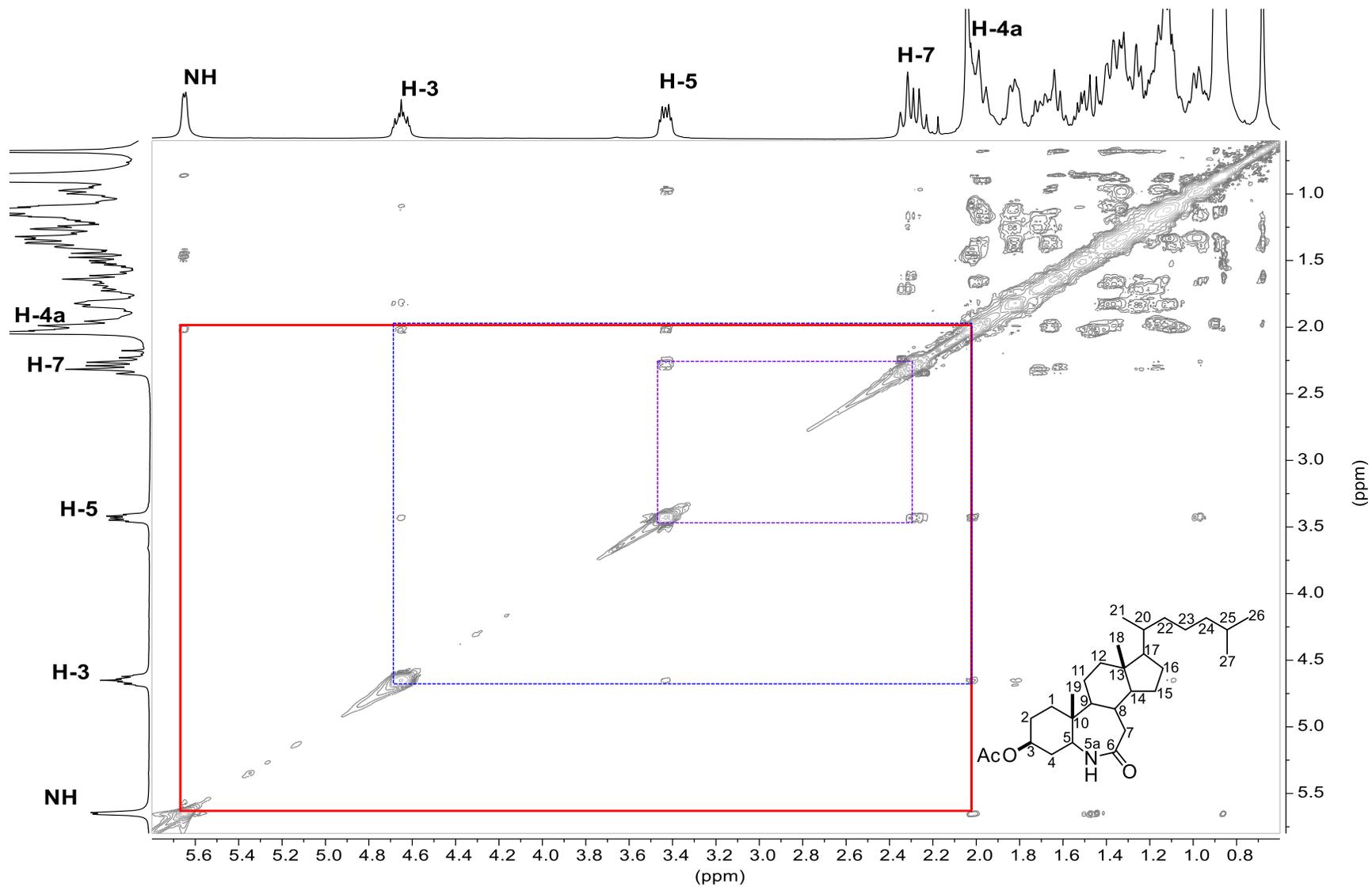


Figura 36. Experimento NOESY del compuesto **102**.

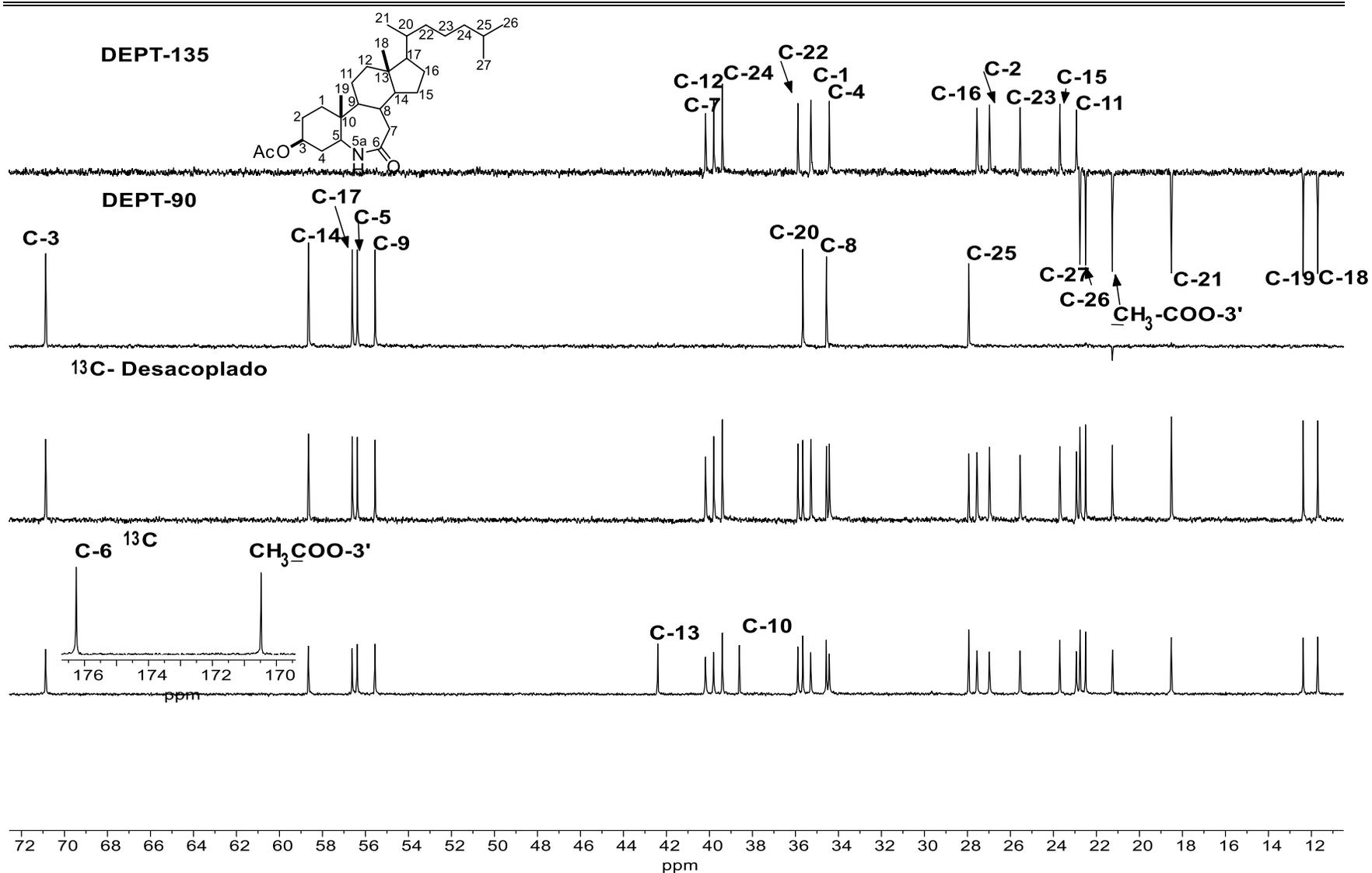


Figura 37. Experimento DEPT del compuesto 102.

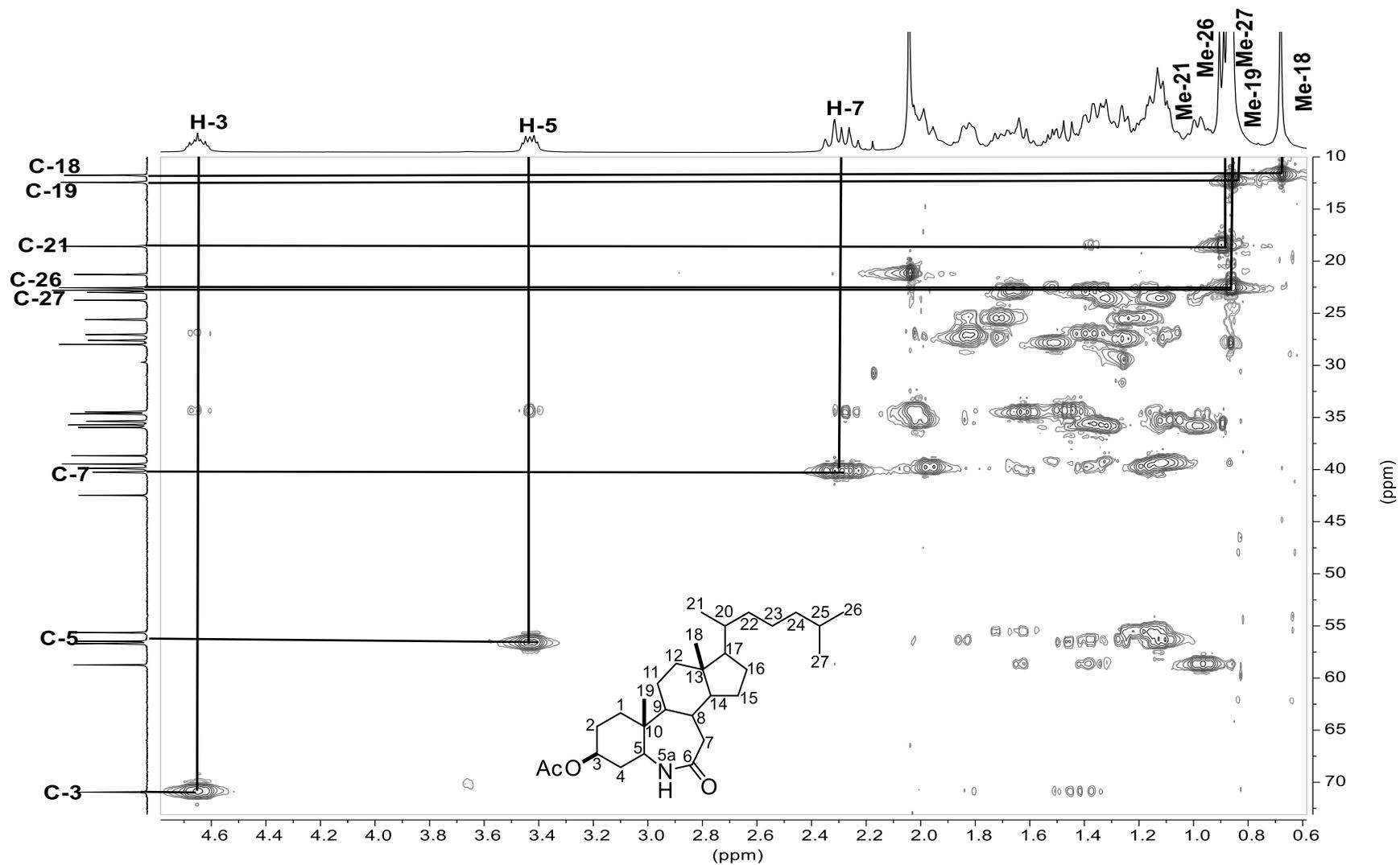


Figura 38. Experimento HSQC del compuesto 102.

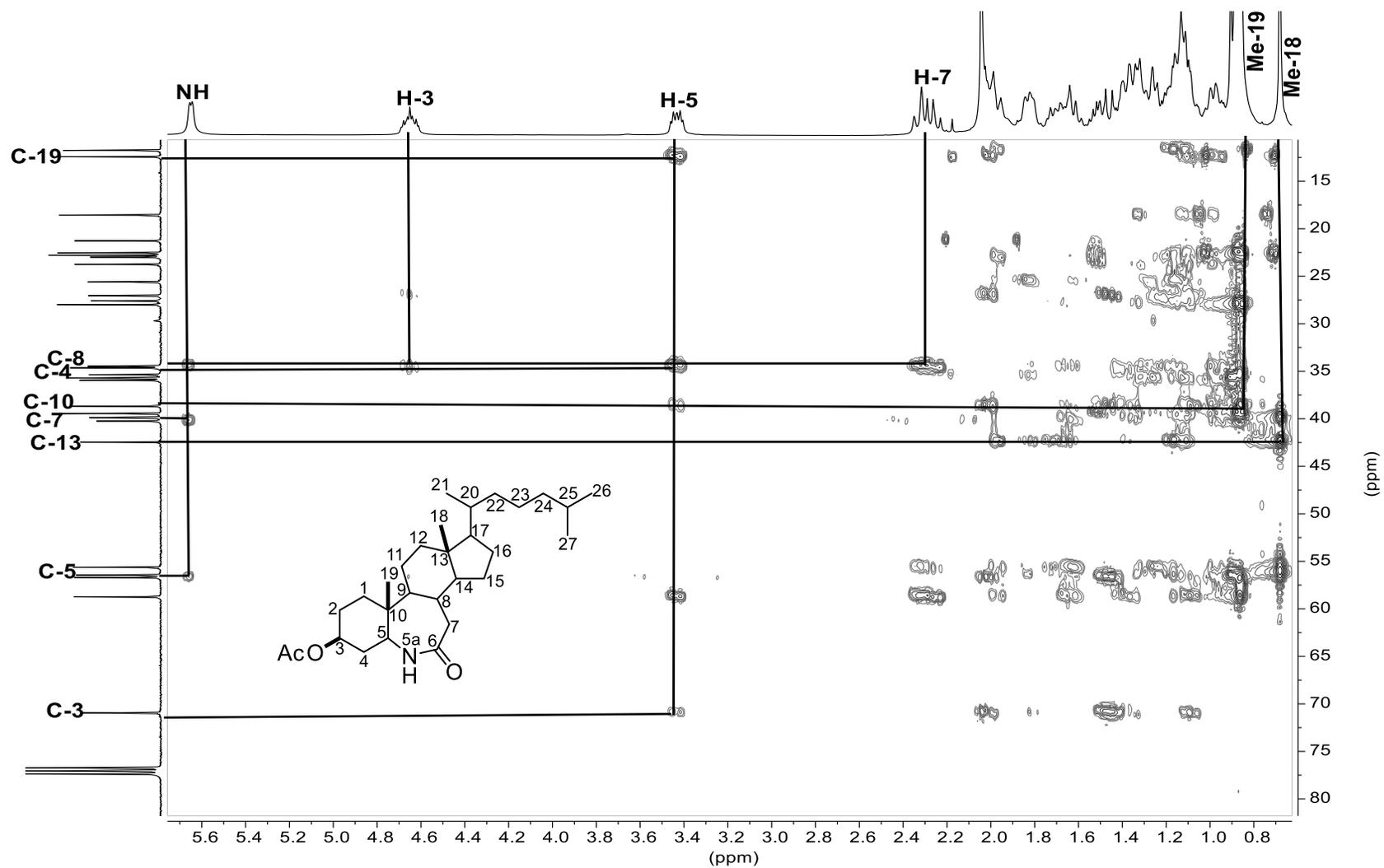


Figura 39. Experimento HMBC del compuesto 102.

ESPECTROSCOPIA DE INFRAROJO

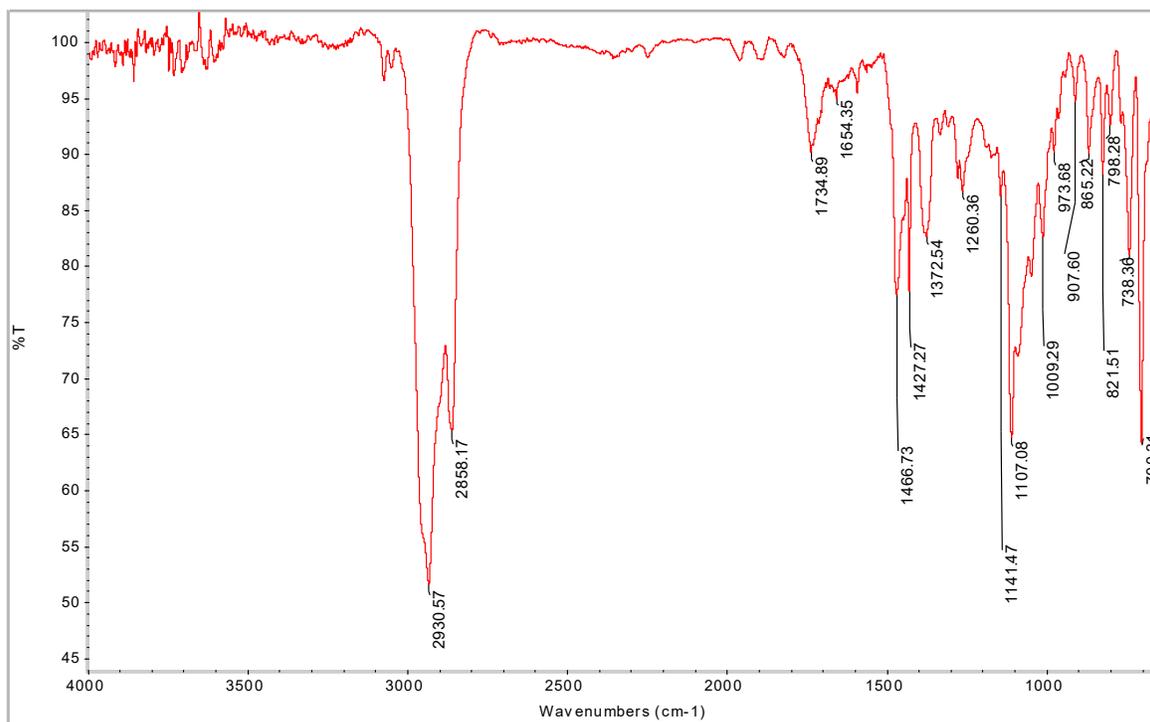


Figura 40. Espectro de IR del compuesto 104.