

**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
PUEBLA**

**POSGRADO EN CIENCIAS QUÍMICAS
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CENTRO DE QUÍMICA-INSTITUTO DE CIENCIAS (ICUAP)**



Síntesis de nuevos dímeros heteroesteroidales

Tesis presentada para obtener el grado de:
**Maestro en Ciencias Químicas
en el área de Química Orgánica**

Presenta:

Q. Gerardo Sánchez López

Directora

Dra. Socorro Meza Reyes

Co-director

Dr. José Luis Vega Báez

NOVIEMBRE 2018

AGRADECIMIENTOS

CONACYT (447492) por la beca otorgada.

CONACYT por la beca mixta de movilidad en el extranjero (291212)

CONACYT (No. de registro 21681): por el apoyo complementario

CONACYT (Proyecto CB-256495)

CONACYT



VIEP (número de solicitud 00087): Por el apoyo complementario para realizar estancias de investigación internacionales

Proyecto VIEP (Estudio de diversas metodologías para la obtención de compuestos heterocíclicos esteroidales)



A la universidad de Sevilla, España por aceptarme en la realización de la estancia en el extranjero.



A la universidad de la Laguna, Tenerife, España por las pruebas realizada de actividad antiproliferativa



Dra. Socorro Meza Reyes gracias por aceptarme en su grupo de trabajo, por confiar en mí, por su paciencia, por todo su apoyo, consejos, tiempo y dedicación durante este trabajo de maestría, en serio muchas gracias.

Dr. José Luis Vega Báez por los consejos brindados y confianza durante todo este tiempo, gracias.

Dr. Oscar López López. Un gran agradecimiento por haberme aceptado y permitido realizar una estancia de investigación en su grupo de trabajo. Quiero agradecer también, por todos los conocimientos, consejos que me brindo durante mi estadía, por su paciencia, por su hospitalidad y sobre todo por ser un gran ser humano.

A los miembros de mi comisión revisora

Dra. Penélope Merino Montiel

Dr. Dra. Sara Montiel Smith

Dr. Sylvain Bernés Flouriot

Dr. Eugenio Sánchez Arreola

Les agradezco el valioso tiempo que le dedicaron a la revisión de este trabajo así también sus comentarios y sugerencias aportadas las cuales fueron importantes y enriquecedoras.

Dr. José M. Padrón del laboratorio de laboratorio de Bio-Lab del Instituto Universitario de Bio-Orgánica “Antonio González”, de la universidad de la Laguna (Tenerife, España), por los estudios de actividad biológica realizados

Dr. Sylvain Bernés Flouriot del Instituto de Física. Por la realización del estudio de rayos X

DEDICATORIAS

A mis padres por todo su apoyo y cariño y comprensión incondicional brindado no solo durante esta etapa, si no durante toda mi vida.

A mis hermanas Diana y Pau, por ser mis mejores amigas y por motivarme cada día a ser mejor

A ti Isa por soportarme seis meses sé que fue difícil, pero lo lograste. Gracias por ser mi compañera de viajes y por cada aventura compartida, por tus consejos y comprensión.

A Moni por su amistad, sinceridad y por hacerme reír cada día en el laboratorio.

A Fany por convertirse en una gran amiga en tan poco tiempo.

A Rey y Cici por ser mis mentoras en el laboratorio, por tener paciencia para explicarme cada vez que no comprendía algo, muchas gracias por compartir su conocimiento y sobre todo por su gran amistad

A ti Adriana, el destino quiso que nos conociéramos en Sevilla y que nuestra amistad siguiera hasta ahora.

A Diana C. por tenerme confianza, por ser una gran compañera de campana, y sobre todo por hacerme trabajar los sábados.

A Luis y Alma por sus consejos, amistad, por aceptarme en su grupo y por aguantarme estos dos años y medio.

A, Paloma, Jesús, Julia, Clara y Valle por hacerme sentir como en casa durante mi estancia en Sevilla, por las tardes divertidas en el laboratorio, por su cariño y por la comida.

A mis amigos Andy, Fredy, Roy y Zeleny, gracias por todo este tiempo chicos

PARTICIPACIONES:

Asistencia a:

X Reunión de jóvenes farmacólogos de Andalucía



Asistencia a:

29th International Carbohydrate Symposium



TUNING THE ACTIVITIES OF IMINOSUGARS

Oscar López,^{1#F} Ana I. Ahuja,^{1#F} Gerardo Sánchez,^{1#F} Socorro Meza-Reyes,^{1#F} José L. Vega-Báez,^{1#F} Penélope Merino-Montiel,^{1#F} Sara Montiel-Smith,^{1#F} Irene Lagares,^{1#F} Alexis Galán,^{1#F} Miguel X. Fernandes,^{1#F} José M. Padrión,^{1#F} Inés Maya,^{1#F} and José G. Fernández-Bolaños^{1#F}

Participación con un resumen en extenso en el XXII Simposio Interno del Posgrado en Ciencias Químicas, BUAP, Puebla 2017

“Síntesis de nuevos dímeros heteroesteroidales”

INDICE

ABREVIATURAS Y SIMBOLOS	1
CAPITULO I	3
1.1 RESUMEN	4
1.1 INTRODUCCIÓN	6
1.2 ANTECEDENTES	10
Andrógenos	10
Dímeros esteroidales.....	13
Clasificación de los dímeros esteroidales.	15
Síntesis de dímeros esteroidales.	18
Heterociclos	21
Síntesis de tiazoles.....	23
Ureas y tioureas.	26
1.4 OBJETIVOS	30
1.5 DISCUSION DE RESULTADOS Y ANÁLISIS ESPECTROSCOPICO 31	
<i>trans</i> -Androsterona	31
1.5.1 Síntesis de dímeros esteroidales simétricos a partir de <i>trans</i> -androsterona.....	32
1.5.1.1 Obtención de dímeros a través de un grupo espaciador éter	32
1.5.1.2 Obtención de dímeros a través de un grupo espaciador glutarato	38
1.5.2 Síntesis de anillos de tiazolo fusionados al esqueleto esteroideal con diferente función ureido y tioureido y como espaciadores de dímeros esteroidales.	44
1.5.2.1 Obtención del derivado α -bromado de <i>trans</i> -androsterona.	45
1.5.2.2 Obtención del anillo de tiazol fusionado al esqueleto esteroideal.	50
1.5.3 Obtención del fragmento precursor de la función urea y tiourea.	55
1.5.4 Acoplamiento del sistema heteroesteroideal y el fragmento derivado de iso(tio)cianato.	57
1.5.4.1 Obtención de la tiazolotiourea de <i>p</i> -tolilo esteroideal (8)	58
1.5.4.2 Obtención de la tiazolotiourea de fenilo esteroideal (9)	61
1.5.4.3 Obtención de las tiazolotioureas esteroidales (10-12)	63

1.5.4.4 Obtención de tiazoloureas esteroidales	69
1.5.4.5 Obtención de la tiazolotiourea de fenilo esteroidal (13)	71
1.5.4.6 Obtención de la tiazolourea esteroidal de <i>p</i> -tolilo (14)	73
1.5.4.7 Obtención de la tiazolourea esteroidal de <i>p</i> -clorofenilo (15)	75
1.5.5 Condensación con 1,4-fenildiisocianato (ix)	76
1.5.6 Ensayos antiproliferativos	77
1.6 DESARROLLO EXPERIMENTAL	79
Equipo Y Técnicas Utilizadas	79
<i>trans</i> -Androsterona (1)	81
Síntesis de dímeros esteroidales	81
Obtención del etano de <i>bis</i> (5 α -androstan-17-on-3 β -ilo), (2)	81
Obtención del etano de <i>bis</i> (17 β -hidroxi-5 α -androstan-3 β -ilo) (3)	82
Obtención de glutarato de <i>bis</i> (5 α -androstan-17-on-3 β -ilo), (4)	83
Obtención de glutarato de <i>bis</i> (17 β -hidroxi-5 α -androstan-3 β -ilo), (5)	84
Síntesis de derivados esteroidales de ureas y tioureas.	85
Obtención del 3 β -acetato de 16 α -bromo- <i>trans</i> -androsterona (6)	85
Obtención del 3 β -acetato de 2'-amino[1,3]tiazolo[5',4':16,17]-5 α -andostano (7)	87
Método general para la obtención del fragmento precursor de tioureas y ureas aromáticas	88
Obtención de isotiocianatos	88
Obtención de isocianatos	88
Método general para la obtención de tioureas de tiazolo de <i>trans</i> -androsterona	89
Obtención del 3 β -acetato de 2'-(3''- <i>p</i> -metilfeniltioureido) [1,3]tiazolo[5',4':16,17]-5 α -andostano (8)	89
Obtención del 3 β -acetato de 2'-(3''-feniltioureido)[1,3]tiazolo[5',4':16,17]-5 α -andostano (9)	90
Obtención del 3 β -acetato de 2'-(3''- <i>p</i> -metoxifeniltioureido)[1,3]tiazolo[5',4':16,17]-5 α -andostano (10)	91
Obtención del 3 β -acetato de 2'-(3''- <i>p</i> -clorofeniltioureido) [1,3]tiazolo[5',4':16,17]-5 α -andostano (11)	92
Obtención del 3 β -acetato de 2'-(3''- <i>p</i> -fluorofeniltioureido)[1,3]tiazolo[5',4':16,17]-5 α -andostano (12)	92

Método general para la obtención de tiazoloureas de <i>trans</i> -androsterona.....	93
Obtención del 3 β -acetato de 2'-(3''-fenilureido)[1,3]tiazolo[5',4':16,17]-5 α -andostano (13).....	94
Obtención del 3 β -acetato de 2'-(3''- <i>p</i> -tolilureido)[1,3]tiazolo[5',4':16,17]-5 α -andostano (14).....	94
Obtención del 3 β -acetato de 2'-(3''- <i>p</i> -clorofenilureido)[1,3]tiazolo[5',4':16,17]-5 α -andostano (15).....	95
1.7 CONCLUSIONES.....	96
CAPITULO II	97
2.1 RESUMEN.....	98
2.2 INTRODUCCIÓN.....	102
2.3 ANTECEDENTES	106
Glicosidasas	106
Inhibidores de glicosidasas	107
Iminoazucares como inhibidores de glicosidasas	107
Desoxinojirimicina y derivados	110
Derivados <i>N</i> -alquilados de desoxinojirimicina.....	112
2.4 OBJETIVO GENERAL.....	115
2.5 DISCUSION DE RESULTADOS Y ANALISIS ESPECTROSCOPICO	116
Metil α -D-glucopiranosido (1)	116
2.5.1 Síntesis de 1-Desoxinojirimicina.....	117
2.5.1.1 Síntesis del metil 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -bencil- α -D-glucopiranosido (2)	117
2.5.1.2 Síntesis de la 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -bencil-D-glucosa (3).....	119
2.5.1.3 Síntesis del 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -bencil-D-glucitol (4)	120
2.5.1.4 Síntesis del 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -bencil-5-oxohexanal (5).....	123
2.5.1.5 Síntesis de la 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -bencil-1-desoxinojirimicina (6)...	124
2.5.2 Síntesis de derivados <i>N</i> -alquilados de 1- desoxinojirimicina	126
2.5.2.1 Síntesis del 1-azido-5-iodopentano (10).	126
2.5.2.2 Síntesis de la <i>N</i> -(5-azidopentil)-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -bencil-1-desoxinojirimicina (11).....	126

2.5.2.3 Síntesis de la <i>N</i> -(5-aminopentil)-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -bencil-1-desoxinojiromicina (12).....	129
2.5.3 Síntesis de ureas (13-15)	131
2.5.3.1 Obtención de las ureas hidroxiladas (16-18).....	136
2.5.3.2 Síntesis de la <i>N</i> -{5-[<i>N</i> - <i>p</i> -bromofenilureido]pentil}-1-desoxinojiromicina (20).....	140
2.5.4 Obtención de tioureas (21-23).....	143
2.5.5 Evaluación biológica	149
2.6 DESARROLLO EXPERIMENTAL	149
Metil α -D-glucopiranosido (1)	151
Obtención de 1-desoxinojirimicina.....	151
Obtención del metil 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -bencil- α -D-glucopiranosido (2).....	151
Obtención de la 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -bencil-D-glucosa (3)	152
Obtención del 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -bencil-D-glucitol (4).....	153
Obtención del 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -bencil-5-oxohexanal (5)	154
Obtención del 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -bencil-1-desoxinojiromicina (6).....	154
Obtención de derivados <i>N</i> -alquilados de 1- desoxinojirimicina.....	155
Obtención del 5-azidopentanol (8)	155
Obtención del 5-azidopentil tosilato (9)	156
Obtención del 1-azido-5-iodopentano (10).....	156
Obtención de la <i>N</i> -(5-azidopentil)-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -bencil-1-desoxinojirimicina (11)	157
Obtención de la <i>N</i> -(5-aminopentil)-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -bencil-1-deoxinojiromicina (12)	158
Obtención de la <i>N</i> -{5-[<i>N</i> - <i>p</i> -metoxifenilureido]pentil}-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -bencil-1-desoxinojiromicina (13).....	159
Obtención de la <i>N</i> -{5-[<i>N</i> - <i>p</i> -metilfenilureido]pentil}-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -bencil-1-desoxinojiromicina (14)	160
Obtención de la <i>N</i> -{5-[<i>N</i> - <i>p</i> -bromofenilureido]pentil}-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -bencil-1-desoxinojiromicina (15).....	161
Obtención de la <i>N</i> -{5-[<i>N</i> - <i>p</i> -metoxifenilureido]pentil}-1-desoxinojiromicina (16)	162
Obtención de la <i>N</i> -{5-[<i>N</i> - <i>p</i> -metilfenilureido]pentil}-1-desoxinojiromicina (17)	163
Obtención de la <i>N</i> -{5-[<i>N</i> -fenilureido]pentil}-1-desoxinojiromicina (18).	164

Obtención de la <i>N</i> -(5-aminopentil)-1-desoxinojiromicina (19)	165
Obtención de la <i>N</i> -{5-[<i>N</i> - <i>p</i> -bromofenilureido]pentil}-1-desoxinojiromicina (20)	165
Obtención de la <i>N</i> -{5-[<i>N</i> - <i>p</i> -metoxifeniltioureido]pentil}-1-desoxinojiromicina (21).....	166
Obtención de la <i>N</i> -{5-[<i>N</i> - <i>p</i> -metilfeniltioureido]pentil}-1-desoxinojiromicina (22)	167
Obtención de la <i>N</i> -{5-[<i>N</i> '- <i>p</i> -bromofeniltioureido]pentil}-1-desoxinojiromicina (23).....	168
2.7 CONCLUSIONES	170

ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

CC	Cromatografía en columna
CCF	Cromatografía en capa fina
Comp	Compuesto
COSY	C orrelation S pectroscopy
DEPT	D istortionless E nhancement by P olarization T ransfer
HSQC	H eteronuclear S ingle Q uantum C oherence
HMBC	H eteronuclear M ultiple B ond C orrelation
NOESY	N uclear O verhauser E ffect S pectroscopy
δ	Desplazamiento químico
Hz	Hertz
ppm	Partes por millón
RMN de ¹H	Resonancia Magnética nuclear de ¹ H
RMN de ¹³C	Resonancia Magnética nuclear de ¹³ C
RX	Rayos X
IR	Infrarrojo
m/z	Relación masa/carga
FAB	Fast Atom Bombardment
[\alpha]_D	Rotación específica
ν	Numero de onda en cm ⁻¹
p.eb	Punto de ebullición
t.a	Temperatura ambiente
m.p	Materia prima
I.f	Intervalo de fusión
DMF	Dimetil formamida
DMAP	4-Dimetilaminopiridina
DMSO	Dimetil Sulfoxido
1-DJN	1-Deoxinojirimicina
PyBr₃	Perbromuro de piridinio
J	Constante de acoplamiento
t	Triple
d	Doble
dd	Doble de dobles
m	Múltiple
s	Simple
ddd	Doble de dobles de dobles
a	axial

e	ecuatorial
TMS	Tetrametilsilano
MCF-7	Línea celular de cáncer de mama
HELA	Línea celular de cáncer cervicouterino
PC-3	Línea celular de cáncer de prostata
AChE	Acetil colinesterasa
WiDr	Línea celular de cáncer de colón
SW1573	Línea celular de cáncer de pulmón
K_i	Constante de inhibición
IC₅₀	Concentración inhibitoria media maxima

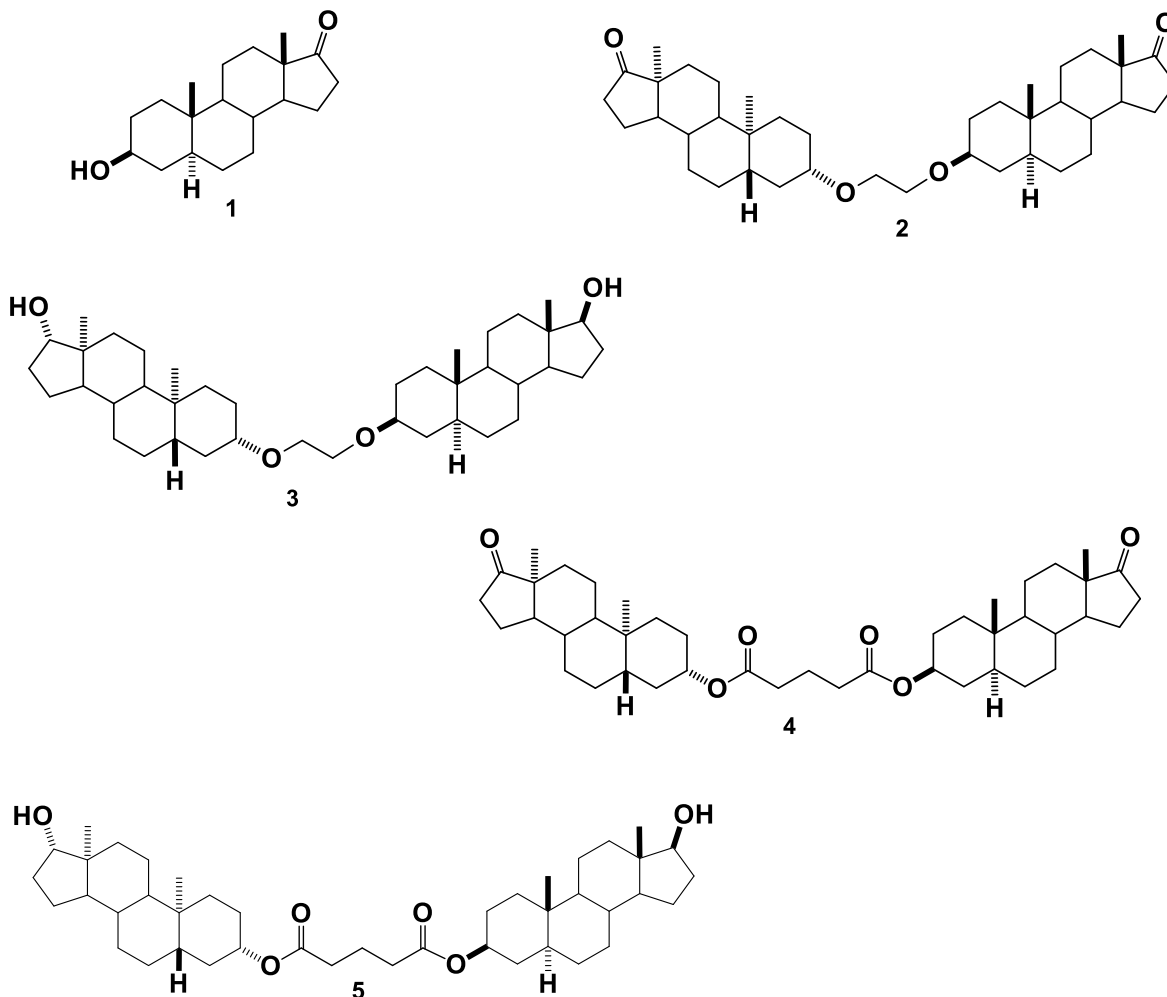
CAPITULO I



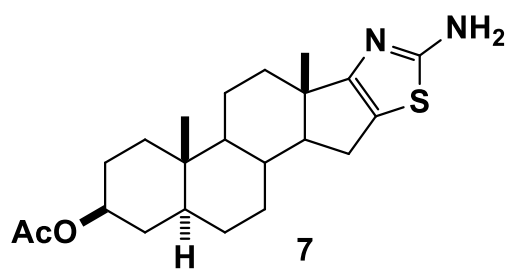
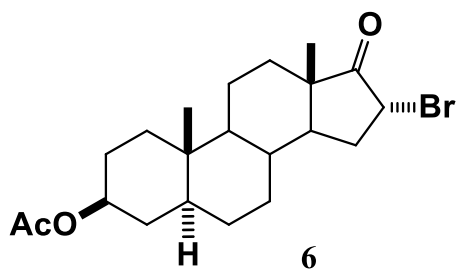
BUAP

1.1 RESUMEN

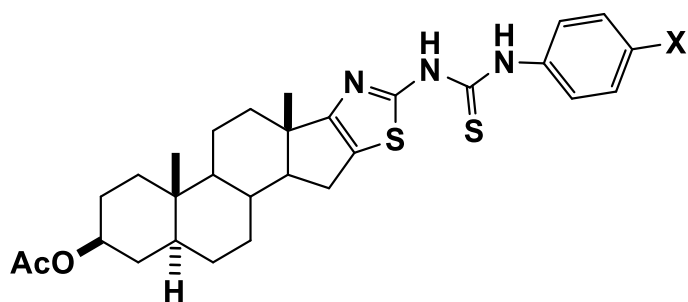
En el presente trabajo de maestría se llevó a cabo la síntesis de nuevas estructuras esteroidales diméricas derivadas de *trans*-androsterona (**1**), con un grupo éter como espaciador **2** y **3** y glutarato **4** y **5** sobre el anillo A de la *trans*-androsterona.



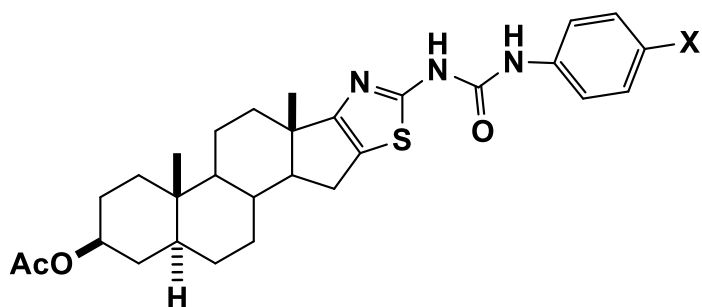
Posteriormente se preparó el derivado C-16 bromohalogenado **6** que se utilizó para la formación en el anillo D de un sistema heterocíclico de tiazol **7**.



Finalmente se obtuvieron diversos derivados esteroidales aromáticos **8 - 15** de ureas y tioureas monoméricas.



- (8) X = CH₃
- (9) X = H
- (10) X = OMe
- (11) X = Cl
- (12) X = F



- (13) X = H
- (14) X = CH₃
- (15) X = Cl

1.1 INTRODUCCIÓN

La palabra esteroide proviene del griego (*stereos* = sólidos), estos compuestos orgánicos son alcoholes sólidos que constituyen un amplio grupo de productos naturales los cuales se encuentran distribuidos en el reino vegetal y animal.¹ Los esteroides poseen un esqueleto derivado del ciclopenta[*a*]perhidrofenantreno (Figura 1), el cual está conformado por cuatro anillos fusionados denominados A, B, C y D y por lo general, contiene grupos metilo sobre las posiciones C-10 y C-13, mientras que en C-17 frecuentemente hay una cadena lateral hidrocarbonada.² La gran mayoría de los compuestos esteroideos poseen un grupo hidroxilo en C-3 y la numeración de los esteroides está definida por la IUPAC.³

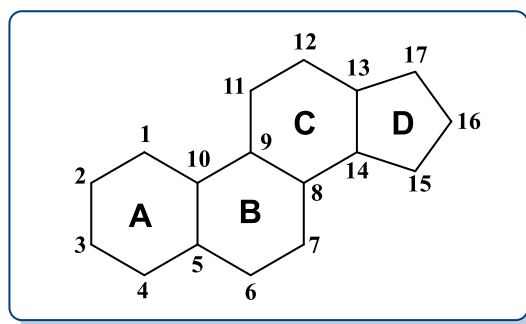


Figura 1. Estructura derivada del ciclopenta[*a*]perhidrofenantreno

Los dobles enlaces son también grupos funcionales usualmente observados en moléculas esteroideas naturales; un ejemplo de ello es el colesterol (Figura 2), uno de los derivados esteroideos más comunes presentes en la naturaleza que contiene un grupo alcohol en C-3

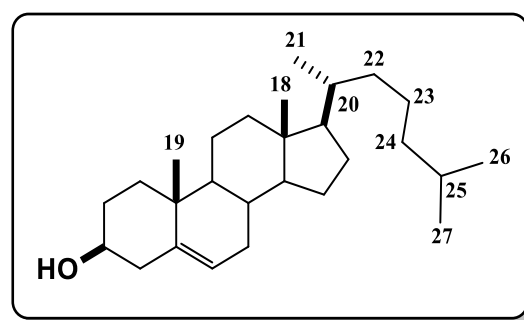


Figura 2. Estructura del colesterol

1. Challinor, V. L.; De Voss, J. J. *Nat. Prod. Rep.* **2013**, 30, 429–454.
2. Moss, J. P. *Pure Appl. Chem.* **1995**, 67, 1307-1375.
3. Panico, R.; Powell, W.; Richer, J. C.; *A guide to IUPAC nomenclature of organic compounds*, Blackwell Scientific Publications: Oxford, **1993**.³

Existen cuatro grandes familias de hormonas esteroidales: andrógenos (ej. dihidrotestosterona y androstenediona), estrógenos (ej. estradiol), progestinas (ej. progesterona) y corticoides (ej. cortisol)⁴ (Figura 3), las cuales tienen como precursor común al colesterol que mediante reacciones de dehidroxilación-oxidación e hidroxilación catalizadas por las enzimas citocromo P450 y deshidrogenasas las cuales permiten la biosíntesis de las familias antes mencionadas.⁵

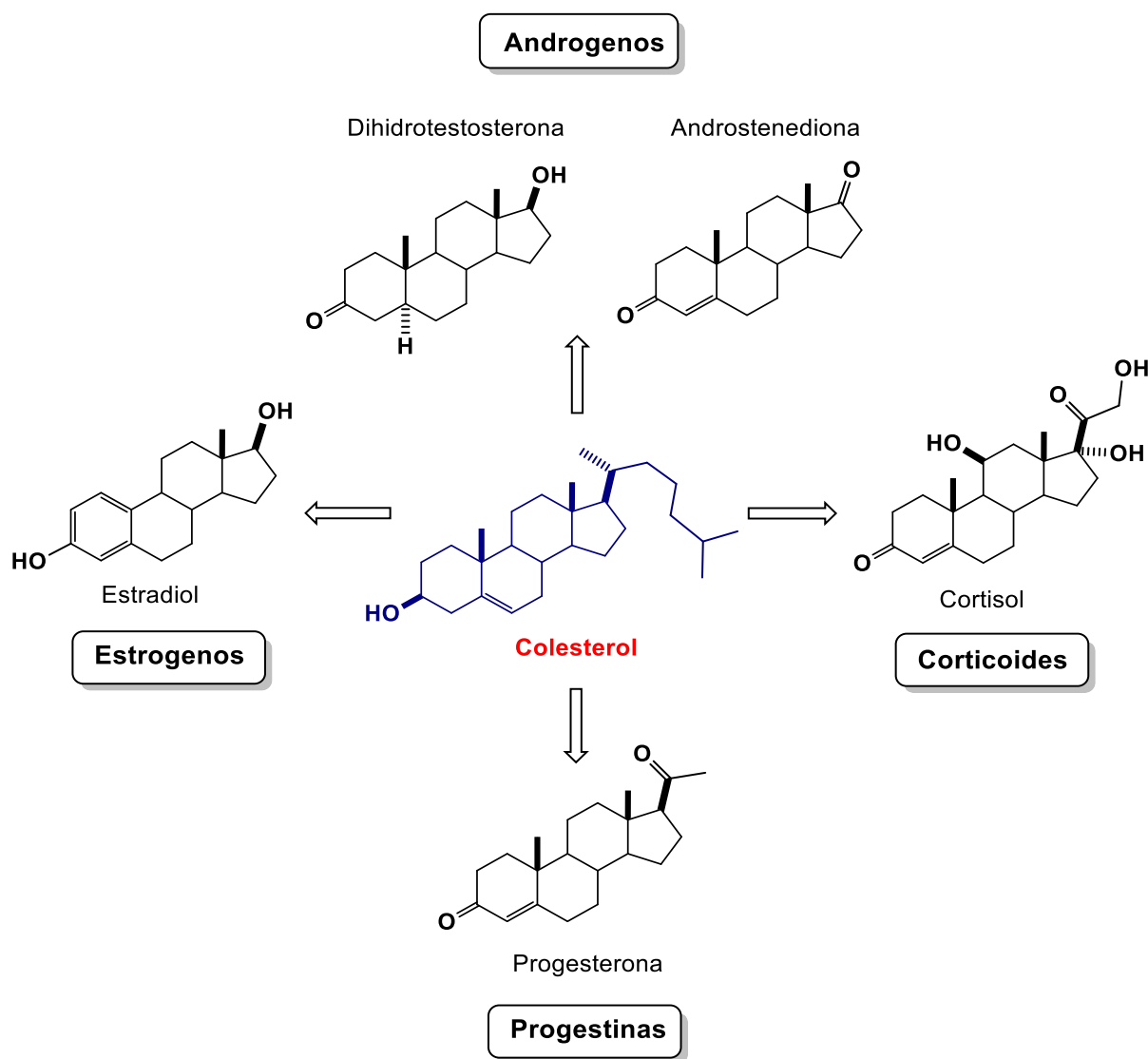


Figura 3. Familia de hormonas esteroidales

4. Poirier, D. *Drugs. Devel. Res.* **2008**, 69, 304-318.
5. Melmed, S.; Conn, P. M. *Endocrinology, basic and clinical principles*, 2nd Ed. Humna Press. Totowa, New Jersey, **2005**.

Los esteroides han sido uno de los principales focos de investigación a lo largo de la historia científica.⁶ Además de todo el grupo de esteroides naturales, hay otros compuestos derivados que en conjunto es muy extenso,⁷ la gran mayoría ha mostrado diferentes propiedades biológicas interesantes, por lo que pueden actuar como fármacos para el tratamiento de diversas enfermedades incluyendo: las cardiovasculares, insuficiencias suprarrenales, infecciones fúngicas y microbianas, entre otras.⁸ Por otro lado se han sintetizado diversos derivados esteroidales como agentes anticancerígenos; para el tratamiento del cáncer de mama, de próstata, tumores cerebrales y leucemia.^{9,10}

Se ha demostrado que pequeñas modificaciones en la estructura del sistema esteroidal pueden dar lugar a importantes cambios en la actividad biológica lo que ha llevado a muchos grupos de investigación al desarrollo y obtención de este tipo de compuestos.¹¹

A grandes rasgos la modificación estructural de los esteroides se puede dividir en dos categorías. La modificación del esqueleto esteroidal, mediante la sustitución de algún átomo de carbono del núcleo esteroidal por ciertos heteroátomos.¹² La segunda categoría implica la incorporación de nuevos grupos funcionales a la estructura del esteroide, esta última suele ser la más común debido al extenso trabajo sintético que es necesario para la incorporación de heteroátomos en el núcleo esteroidal lo que ha permitido la obtención de nuevas moléculas con mayor actividad biológica que las materias primas de partida.¹³ La síntesis de esteroides que contienen un heteroátomo o un anillo heterocíclico unido o fusionado al esqueleto del esteroide ha atraído la atención de muchos sectores científicos debido a que presentan propiedades biológicas interesantes.¹⁴ Diversos autores han reportado derivados esteroidales con fragmentos heterocíclicos en los anillos A o D, estos compuestos presentaron actividad antimicrobiana, antioxidante y antiinflamatoria entre otros.¹⁵ Cabe

-
6. Salvador, J. A.; Carvalho, J. F.; Neves, M. A.; Silvestre, S. M. *Nat. Prod. Rep.* **2013**, 30, 324-374.
 7. Bhatti, H. N.; Khera, R. A. *Steroids*. **2012**, 77, 1267-1290
 8. Gautier, S.; Martel, C.; Labrie, F. *J. Steroid Biochem.* **2012**, 132, 93-104.
 9. Billich, A.; Nussbaumer, P.; Lehr, P. *Steroid Biochem.* **2000**, 73, 225-235.
 10. Shang, S.; Zhang, Z.; Zhuang, X.; Luo, J.; Cao, X.; Li, H.; Tu, Z.; Lu, X.; Ren, X. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, 22, 1208-1212.
 11. Kopel, L. C.; Ahmed, M. S.; Abdelaziz, M. A.; *Steroids*. **2013**, 78, 1119-1125.
 12. Mohareb, R. M.; Ahmed, M. S.; Halawish, F. T.; *Steroids*. **2014** 86, 45-55.
 13. Kovács, D.; Kádár, Z.; Motyán, G.; Wölfling, J.; Zupko, I.; Frank, É. *Steroids*. **2012**, 77, 10725-1085.
 14. Shing, H.; Jindal, D. P.; Yadav, M. R.; Kumar, M. *Prog. Med. Chem.* **1991**, 28, 233-300.
Rapi, G.; Ginnanneshi, M.; Chelli, M.; Chimichi. *Steroids*. **1985**, 46, 665-676. (b) Abdelhalim, M. M.; El-Saidi, M. M. T.; Rabie, S. T.; Elmegeed, G. A. *Steroids*. **2007**, 72, 459-465

resaltar que diversos heterociclos esteroidales han mostrado actividad citotóxica y antiproliferativa en diversas líneas celulares cancerígenas.¹⁶ (Figura 4).

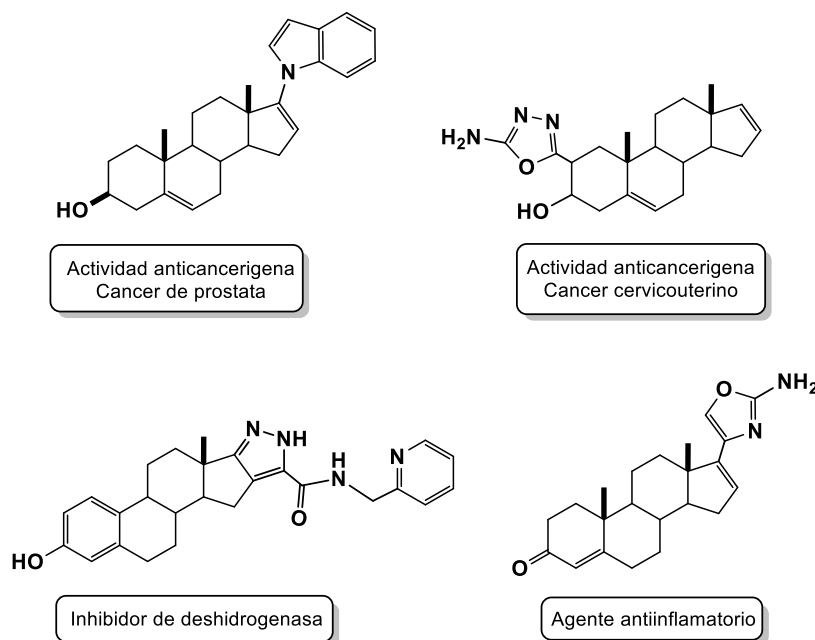


Figura 4. Compuestos esteroidales unidos o fusionados a heterociclos con diferente actividad biológica

Otro tipo de familia que ha sido objeto de estudios por parte de diversos grupos de investigación son los dímeros esteroidales debido a que han mostrado actividad farmacológica importante, además de que presentan propiedades que permiten su aplicación en diferentes campos de la ciencia. Por ejemplo, como catalizadores para diferentes reacciones orgánicas o como micelas para detergentes.¹⁷

Tomando en cuenta lo anterior, el presente trabajo de tesis está orientado en la búsqueda y desarrollo de nuevas metodologías, que permitan la obtención de derivados esteroidales diméricos y heterocíclicos con estructuras novedosas y, una posible actividad biológica semejante o mejorada con respecto a los núcleos ya reportados.

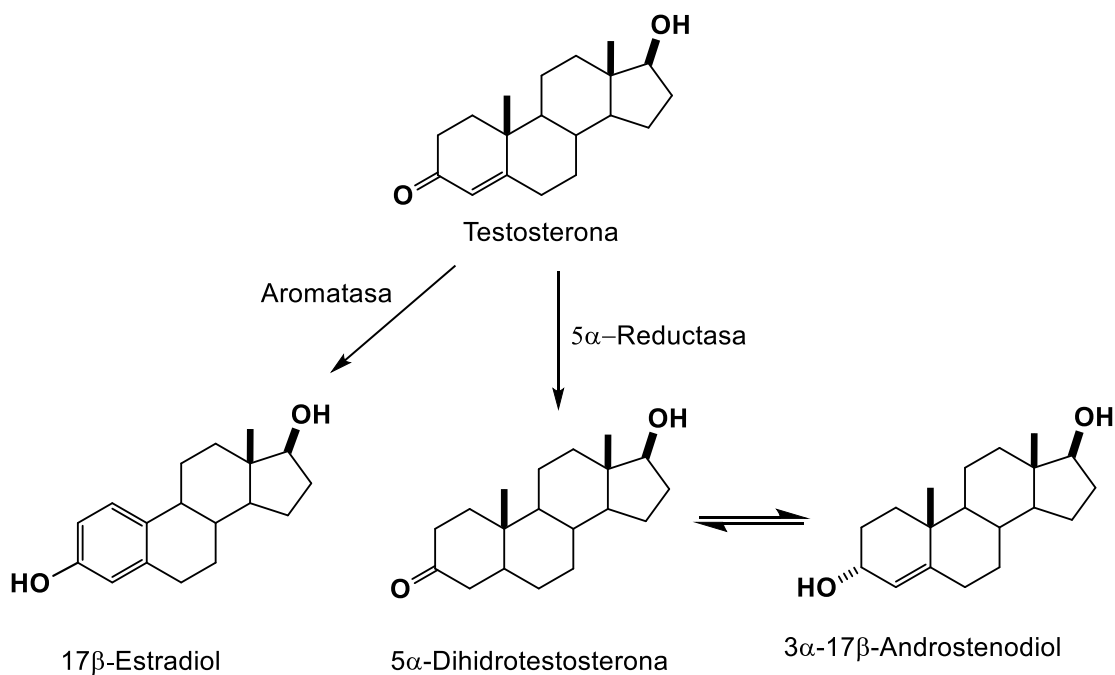
15. Tantawy, M. A.; Nafie, M. S.; Elmegeed, G. A.; Ali, I. A. I. *Bioorg Chem.* **2017**, 73, 128-146. (b) Gupta, A.; Kumar, B. S.; Negi, A. S. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* **2013**, 137, 242-270.

16. Kristic, N. M.; Matic, I. Z.; Juranic, Z. D.; Novacovic, I. T.; Sladi, D. M. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* **2014**, 143, 365-375

1.2 ANTECEDENTES

Andrógenos

Los andrógenos (del griego "*andro*" que significa hombre o masculino) son esteroides sexuales tradicionalmente considerados responsables de las características masculinas.¹⁸ La testosterona es la principal hormona esteroidea producida en el organismo y el principal andrógeno en los hombres. Muchos efectos de estas biomoléculas no están mediados por la testosterona sino más bien por los llamados "metabolitos activos". La enzima 5 α -reductasa convierte la testosterona en el más potente andrógeno la 5 α -dihidrotestosterona (DHT). Esta conversión es de suma importancia para el desarrollo de los genitales durante la gestación embrionaria. Así también la DHT sigue siendo el principal agente androgénico que actúa en la próstata durante la edad adulta. La aromatización de la testosterona da como resultado un segundo metabolito activo, el 17 β -estradiol (Esquema 1), el cual desempeña un papel importante en el desarrollo físico durante la etapa adulta en mujeres y hombres.¹⁹



Esquema 1. Producción de metabolitos activos a partir de la testosterona

17. Schiffer, L.; Arlt, W.; Storbeck, K. H. *Mol Cell Endocrinol.* **2018**, 465, 4-26.

18. Narayanan, R.; Coss, C. C.; Dalton, J. T. *Mol Cell Endocrinol.* **2018**, 465, 134-142

La enzima 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 3 (17 β -HSD3) juega un papel importante en el metabolismo de los andr3genos. Esta enzima es responsable aproximadamente de un 60% de la producci3n de andr3genos presentes en el cuerpo de los hombres.²⁰ La 17 β -HSD3 se encarga de la transformaci3n de 4-androsten-3,17-dione a testosterona, sin embargo, tambi3n es la responsable del origen del c3ncer de pr3stata ²¹ (Figura 5).²²

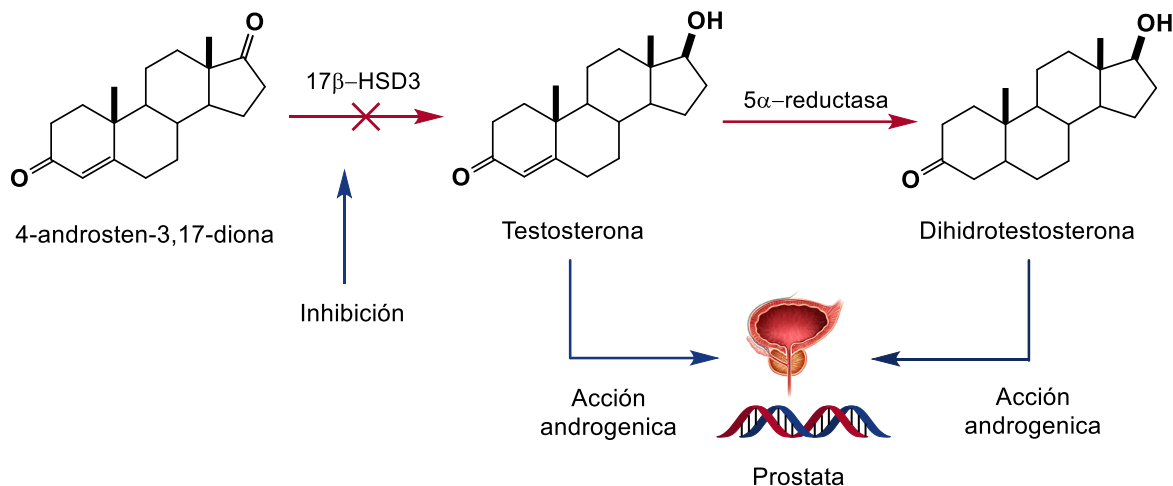
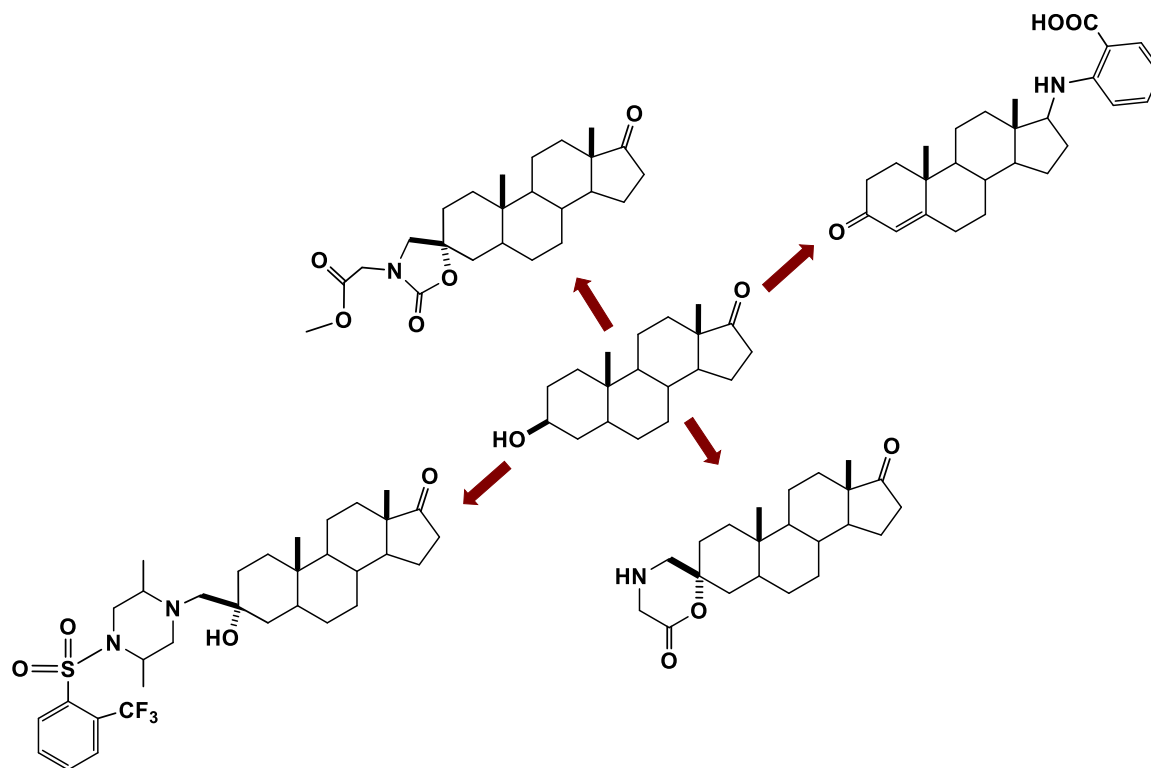


Figura 5. Bloqueo de la biosíntesis de testosterona y dihidrotestosterona mediante un inhibidor de 17 β -HSD3

En las últimas décadas se ha llevado a cabo el desarrollo y síntesis de inhibidores esteroidales y no esteroidales de esta enzima con el fin de combatir la proliferación tumoral sensible a andrógenos.²² En el esquema 2 se muestran algunos derivados esteroidales de *trans*-androsterona que resultaron ser buenos inhibidores de la enzima 17 β -HSD3.^{23, 24}

19. Andersson, S. J. *Steroid Biochem. Mol. Biol.* **1995**, 55, 533. (b) Luu-The, V. J. *Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2001**, 76, 143.
20. Mohler, M. L.; Naranayan, R.; He, Y.; Miller, D. D.; Dalton, T. D. *Recent Pat. Endocr. Metab. Immune Drug Discov.* **2007**, 1, 103.
21. Tchedam Ngatcha, B.; Luu-The, V.; Poirier, D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, 10, 2533.
22. Djigoué, G. B.; Kenmogne, L. C.; Roy, J.; Maltais, R.; Poirier, D. *Bioorg Med Chem* **2013**, 23, 6360-6362.
23. Huang, Y.; Cui, J.; Zhong, Z.; Gan, C.; Zhang, W.; Song, H. *Bioorg Med Chem.* **2011**, 21, 3641-3643.



Esquema 2. Derivados esteroidales inhibidores de la 17 β -HSD3

Se ha reportado la síntesis de diversos análogos androgénicos con pequeños fragmentos en su estructura de tipo amino, amido, urea, imino entre otros (Figura 6), este tipo de derivados presentaron actividad biológica frente a diversas líneas celulares de cáncer²⁵, los derivados con un átomo de azufre en su núcleo esteroidal presentaron inhibición de esteroide sulfatasa (STS), este tipo de inhibidores han recibido considerable interés debido a su papel en la producción local de andrógenos y estrógenos, por lo que han sido empleados en terapias de tratamiento de cáncer dependientes de hormonas esteroidales como el de mama, cervicouterino y próstata también en enfermedades dependientes de andrógenos como el acné y alopecia androgénica.²⁶

24. S, Ray.; I, Dwivedy. *Development of estrogen antagonists as pharmaceutical agents, Advances in Drug Research.* **1997**, 29, 171–270. (b) Perreault, M.; Maltais, R.; Dutour, R.; Poirier, D. *Steroids.* **2016**, 115, 105-113.

25. Pasqualini, J. R.; Gelly, C.; Nguyen, B. L.; Vella, C. J. *Steroid Biochem.* **1989**, 34, 155-163.

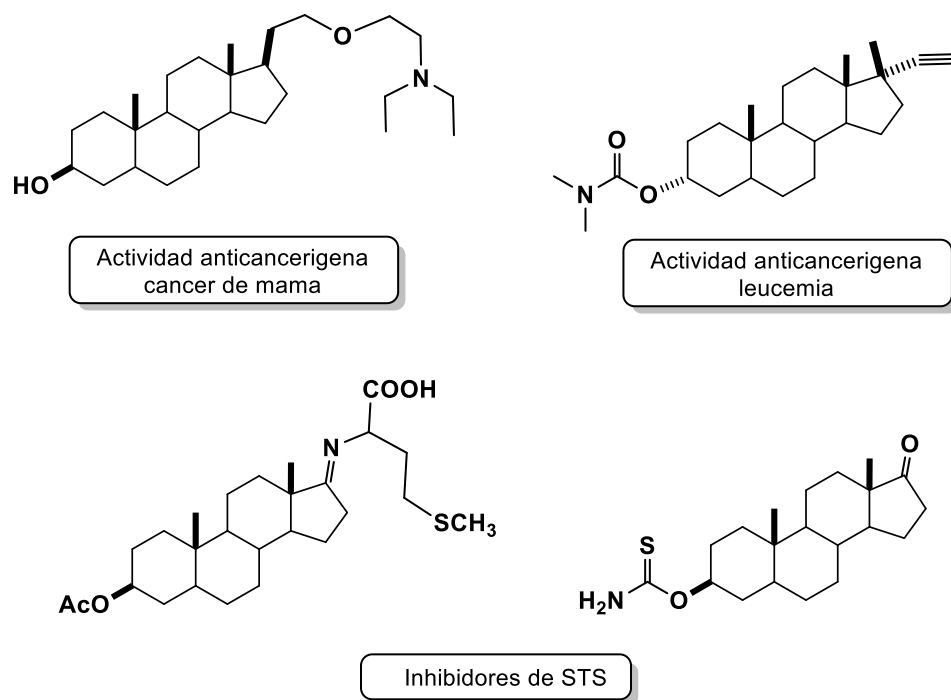


Figura 6. Derivados androgénicos con diferente actividad biológica

Dímeros esteroidales

Uno de los mayores retos de la química orgánica moderna es el diseñar moléculas nuevas que se encuentren diversamente funcionalizadas y que sean útiles para el estudio de diversos procesos biológicos y farmacológicos.¹⁷

En muchos de ellos, la simetría juega un papel crucial. Por ejemplo, numerosas proteínas responsables de la proliferación y diferenciación celular existen como homodímeros y se activan a través de la dimerización, un paso clave en sus respectivas cascadas de señalización.²⁷ Por esta razón se han desarrollado diversas síntesis de moléculas diméricas capaces no solo de interactuar con receptores biológicos específicos, sino también de inducir respuestas biológicas mayores que las correspondientes especies monoméricas.

26. Hadden, M. K.; Blagg, B. S. *J. Med. Chem.* **2008**, 8, 807–816.

Un dímero es una especie química que consiste en dos subunidades estructuralmente similares denominadas monómeros unidas por enlaces que pueden ser fuertes o débiles.²⁸

En particular, los dímeros esteroidales son un grupo de esteroides modificados pero más complejos que sus monómeros, y es muy conocido que conservan las características propias de los esteroides tales como su rigidez y su estructura inherentemente asimétrica. Además, contienen numerosos centros quirales que se encuentran presentes sus cuatro anillos fusionados tal como se muestra con el ácido cólico (Figura 7)

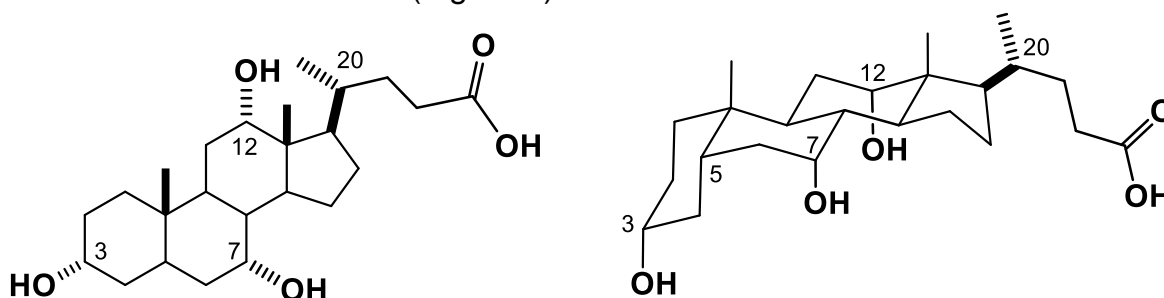


Figura 7. Estructura del ácido cólico

Estos derivados diméricos fueron descubiertos por primera vez en los 50s,²⁹ como subproductos en diversas síntesis y no adquirieron importancia sino hasta después de 1973, cuando fueron aislados en la naturaleza.³⁰ En la década de los 80s fue cuando comenzó a surgir el interés por estos análogos de los esteroides.³¹ La evidencia de que existían en la naturaleza otras formas diméricas esteroidales y, de que la dimerización del esqueleto esteroideal puede otorgar características y aplicaciones únicas, se reforzó con el descubrimiento de la transformación microbiana del ácido dehidrocólico.³² (Figura 8).

27. Nahar, L.; Sarker, S. D. *Steroids Dimers*. John Wiley & Sons, Ltd. **2012**.

28. Crabbe, P.; Zdeic, J. A.; *Bull. Soc. Chem. Belg.* **1961**, 70, 403

29. Fieser, L. F.; Fieser, M. *Steroids*. New York: Reinhold Publishing Corporation. **1960**.

30. Pettit, G. R.; Inoue, M.; Kamano, Herald, D. L.; Arm, C.; Dufresne, C.; Christie, N. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 2006-2007.

31. Nakao, K.; Iwadoh, A.; Hirota, T.; Hayakuwa, S. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1987**, 1, 1508-1509.

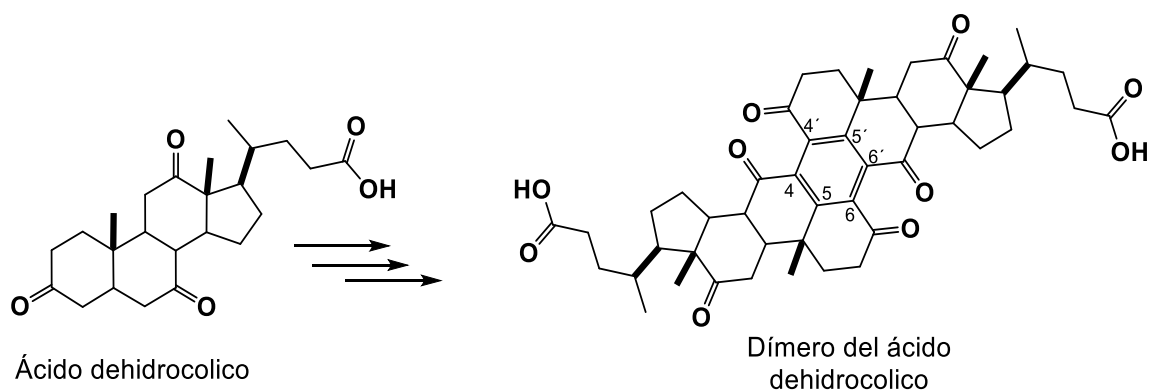


Figura 8. Síntesis microbiana de dímeros esteroidales

Debido a que los dímeros esteroidales han mostrado diversas propiedades que resultan interesantes, por ejemplo: muchos exhiben comportamiento micelar, son detergentes o cristales líquidos.³³ Por otra parte, muchos derivados son relevantes en el campo farmacéutico ya que muestran variadas actividades biológicas como citotoxicidad con potencial anticancerígeno,³⁴ antimalárico,³⁵ también han sido usados como paraguas moleculares,³⁶ bloques de construcción de receptores artificiales.³⁷ Muchos grupos de investigación se han interesado en realizar innumerables síntesis de dímeros esteroidales.

Clasificación de los dímeros esteroidales.

Dado que la estructura de una molécula es la que determina sus propiedades, los dímeros esteroidales pueden clasificarse de diversas maneras.

En primer lugar, se pueden clasificar de manera general según sean cíclicos o lineales. Los dímeros lineales (también conocidos como dímeros acíclicos) son aquellos que presentan la conexión por medio de los diferentes

32. Mc Kenna, J.; Mc Kenna, J. M.; Thornthwaite, D. W. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1977**, 809.

33. López- Antón, N.; Rudy, A.; Barth, N.; Schmitz, L. M.; Pettit, G.R.; Schulze- Osthoff, K.; Dirsch, V. M.; Vollmar, A.M. *J. Biol. Chem.* **2006**, 281, 33078-33086.

34. Opsenica, D.; Pocsfalvi, G.; Juranic, Z.; Tinant, B.; Declercq, J- P.; Kyle, D. E.; Milhous, W. K.; Solaja, B. A. *J. Med. Chem.* **2000**, 43, 3274-3282

35. Pandey, P. S.; Rai, R.; Singh, R. B. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **2002**, 918-923

36. Janout, V.; Jing, B.W.; Regent, S. L. *Bioconjugate Chem.* **2002**, 13, 351-354.

anillos del esqueleto esteroidal o a través de grupos espaciadores directos. Los dímeros cíclicos esteroidales, pueden estar unidos directamente, o por medio de espaciadores que generan nuevas estructuras macrocíclicas, por ejemplo, ciclocolatos o colafanos.³⁸ (Figura 9).

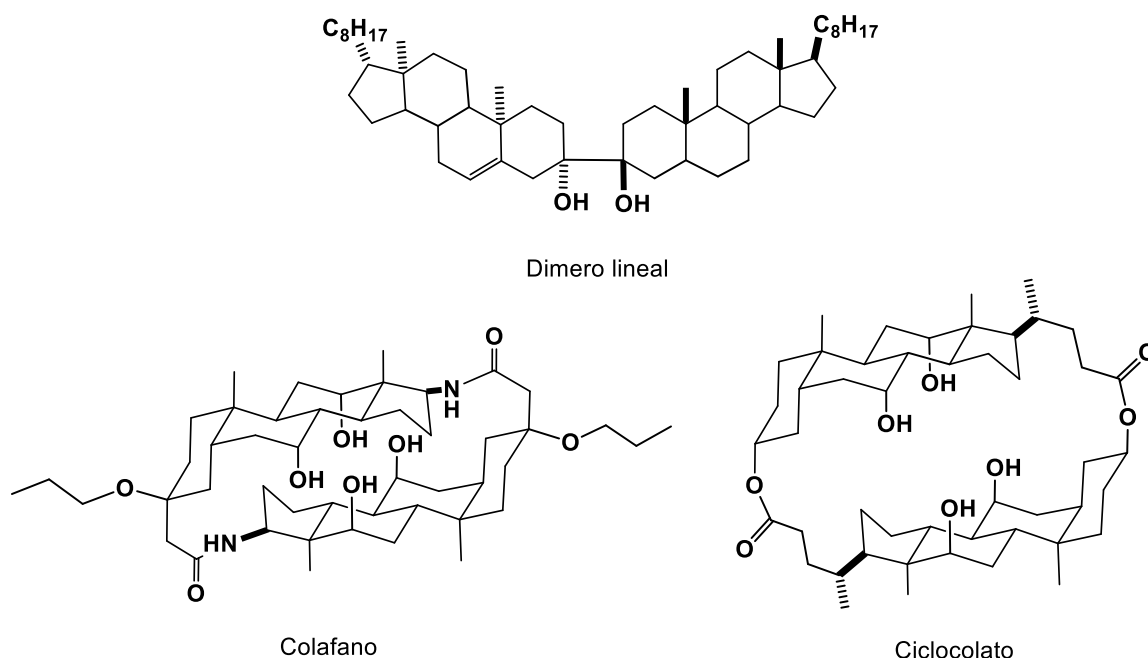


Figura 9. Ejemplo de dímeros esteroidales cíclicos y acíclicos

Los dímeros esteroidales también pueden clasificarse como dímeros simétricos y asimétricos;³⁹ cuando un derivado dímérico se encuentra formado por dos unidades esteroidales idénticas se denomina dímero simétrico, cuando dos unidades esteroidales diferentes o bien, cuando dos unidades esteroidales idénticas se unen de manera que no hay simetría en el dímero resultante se conoce como dímero asimétrico.⁴⁰ (Figura 10).

37. Yuexian, L.; Días, R. *J. Chem. Rev.* **1997**, 283-304

38. Jurasek, M.; Dzubák, P.; Sedlak D.; Dvorakova H.; Hajduch M.; Bartunek, P.; *Steroids*, **2013**, 78, 356-361.

39. Carrillo, R. M. B.; Pereira, M. M.; Moreno, M. J. S. M.; Takács, A.; Kollar, L.; *Tetrahedron Lett.* **2013**, 54, 2763-2765.

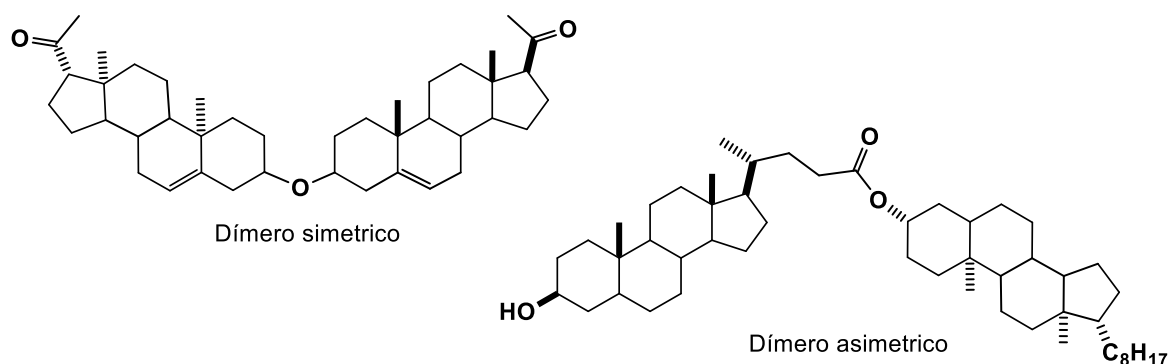


Figura 10. Derivados díméricos simétricos y asimétricos.

Una manera alternativa de clasificar los dímeros esteroidales es dividirlos en dímeros naturales y sintéticos.

La japindina fue el primer esteroide dimérico hallado en la naturaleza el cual fue aislado de la corteza de *Chonemorpha macrophylla* en 1973.⁴¹ Desde entonces, se han encontrado distintos derivados esteroidales aislados de diversas especies marinas y vegetales. Los más relevantes son las cefalostatinas aisladas y caracterizadas por Pettit y colaboradores³⁰ de la especie de gusano marino *Cephalodiscus gilchristi* y consideradas una de las citotoxinas más potentes que existen, las riterazinas aisladas de la esponja marina *Ritterella tokioka*⁴² y las crelastatinas aisladas de la esponja marina *Crella* sp (Figura 11).

40. Banerji, J.; Chatterjee, A. *Indian J. Chem.* **1973**, 11, 1056-1060.

41. Fukuzawa, S.; Matsunaga, S.; Fusetani, N. *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 6164-6166

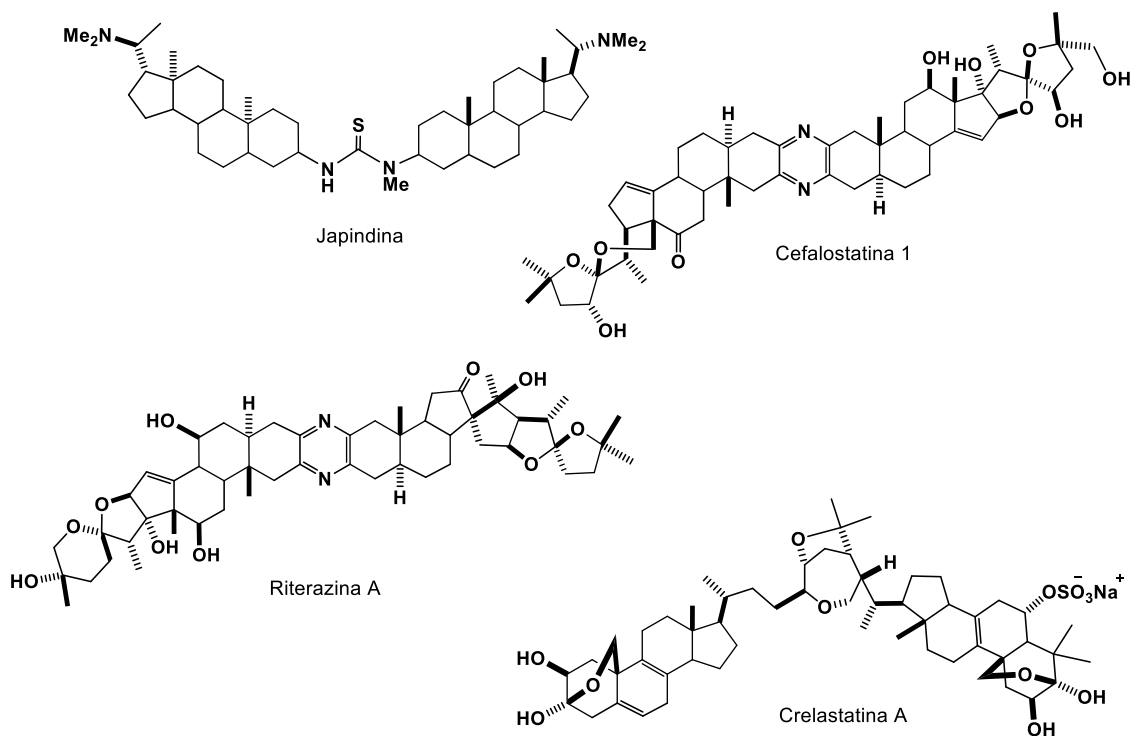


Figura 11. Dímeros esteroidales de origen natural.

Muchos de los derivados diméricos antes mencionados, son conocidos como agentes citotóxicos, por ejemplo, la cefalostatina 1 se encuentra entre las citotoxinas naturales más potentes ya evaluadas por el Instituto Nacional del Cáncer (NCI por sus siglas en inglés) este compuesto de origen natural demostró un prominente potencial anticancerígeno en líneas celulares de leucemia y cáncer de mama.^{43, 44}

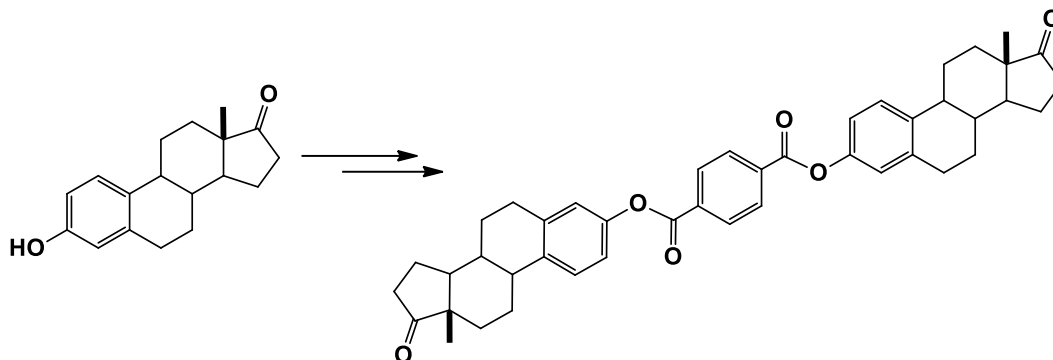
Síntesis de dímeros esteroidales.

Existen diversos métodos de variada eficacia para la preparación de un amplio rango de dímeros estructuralmente diferentes. A continuación, se presentan algunos ejemplos.

42. Pettit, G. R. *Pure & Appl. Chem.* **1994**, 66, 2271-2281

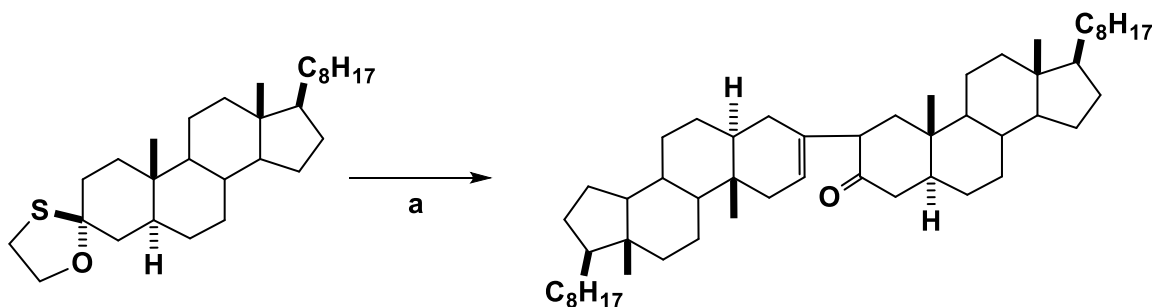
43. Muller, I. M.; Dirsch, V. M.; Rudy A.; Lopez-Anton, N.; Pettit, G. R.; Vollmar, A. M. *Mol. Pharmacol.* **2005**, 67, 1684-1689.

Una de las estrategias más sencillas para la síntesis de dímeros esteroideos es emplear grupos espaciadores a través de reacciones de acilación o esterificación, utilizando la función éster como *linker*, bajo esta línea de trabajo Hoffman y Kump⁴⁵ unieron dos moléculas de estrona mediante ácido teraftálico para obtener el derivado dímérico conectado por una función éster (Esquema 3).



Esquema 3. Dímero de estrona utilizando un *linker* teraftálico

Karmas y colaboradores⁴⁶ reportaron la síntesis de un nuevo tipo de esteroide dímérico asimétrico mediante la reacción de hemitioacetales de cetonas esteroideas (Esquema 4).



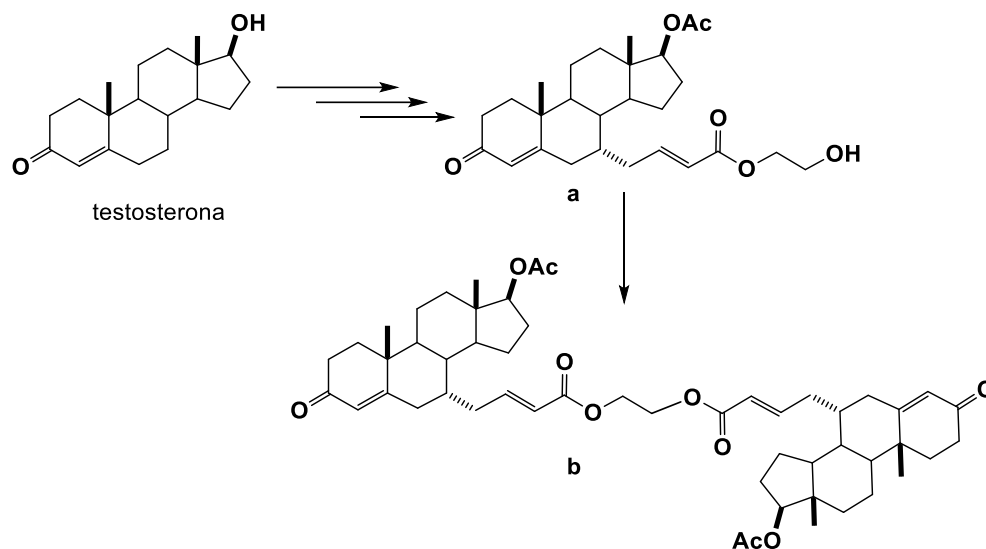
a) 1) TsOH, Ac₂O, 2) HCl, THF, 3) H₂O

Esquema 4. Dímeros asimétricos.

44. Hoffman, S.; Kumpf, W. *Z. Chem.* **1986**, *8*, 293

45. Karmas, G., *J. Org. Chem.* **1968**, *33*, 2436.

Recientemente Vesper y colaboradores,⁴⁷ reportaron la síntesis de derivados monoméricos y diméricos de testosterona, destacando el dímero **b** por su actividad antiproliferativa en líneas celulares de cáncer de próstata (Esquema 5)



Esquema 5. Derivado dimerico de testosterona con actividad antiproliferativa.

En nuestro grupo de investigación, Arenas-Gonzalez y colaboradores⁴⁸ reportaron la síntesis de dímeros esteroidales conteniendo heterociclos de triazolopirimidina en su estructura (Figura 12).

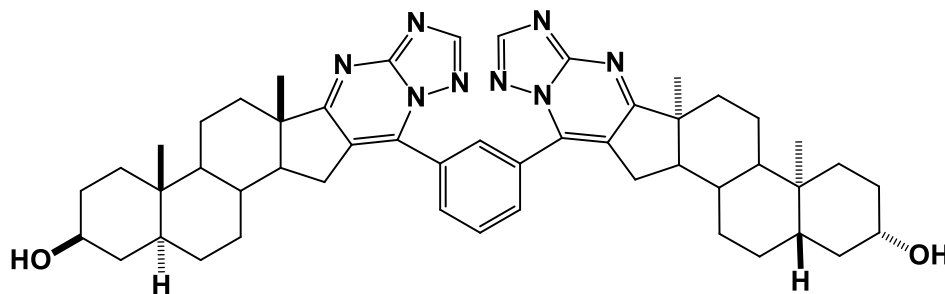


Figura 12. Dímero esteroidal con núcleos heterocíclicos

46. Vesper A, R.; Lacroix, J.; Gaudreault, R.; Tajmir-Rihai, H.A.; Bérubé, G. *Steroids*. **2016**, 115, 98-104

47. Arenas-Gonzalez, A.; Mendez-Delgado, L.A.; Merino-Montiel, P.; Padrón, J.M.; Montiel-Smith, S.; Vega-Baez, J.L.; Meza Reyes, S. *Steroids*. **2016**, 116, 13-19

Heterociclos

Los heterociclos juegan un papel importante en la química medicinal, son pieza clave en la estructura de cualquier fármaco, ya que poseen grupos donadores y aceptores de puentes de hidrógeno que permiten la interacción con enzimas y proteínas. Los heterociclos pueden mejorar la potencia *in vitro*, la lipofilia o la solubilidad del fármaco proporcionando así las propiedades farmacocinéticas y farmacéuticas deseadas.⁴⁹ Los compuestos heterocíclicos son de gran interés en el campo farmacéutico y de diversos campos como son: plaguicidas herbicidas, etc., debido a que poseen diversas propiedades biológicas. La versatilidad de los heterociclos en el descubrimiento de nuevos fármacos, abre la posibilidad al tratamiento de diversos padecimientos, ejemplos de estos derivados son; el axitinib,⁵⁰ ponatinib,⁵¹ dasatinib,⁵² y lapatinib,⁵³ fármacos utilizados en diferentes terapias contra el cáncer (Figura 13).

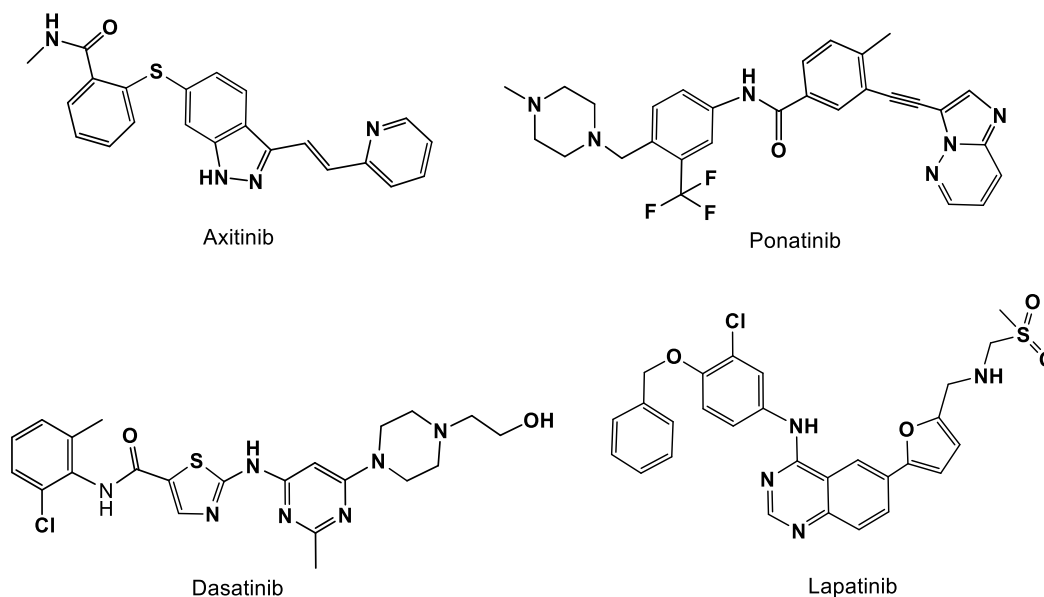


Figura 13. Compuestos heterocíclicos utilizados como fármacos.

48. Lewis, D. F.; Jacobs, M. N.; Dickins, M. *Drug Discover. Today*. **2004**, 9, 530-537

49. Escudier, B.; Gore, M.; *Drugs R. D.* **2012**, 11, 113-126

50. Huang, W.S.; Metcalf, C.A.; Sundaramoorthi, R.; Wang, Y.; Zou, D.; Thomas, R. M.; Zhu, X.; Cai, L. *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 4701-4719.

51. Goldman, J.M.; Melo, J. V. *N Engl J Med*, **2003**, 349, 1451-1464.

52. Mok, T. S.; Wu, Y. L.; Thongprasert, S.; Yang, C. H.; Chu, D. T.; Saijo, N.; Sunpaweravong, P.; Han, B.; Margono, B. *N. Engl. J. Med.* **2009**, 361, 947-957.

En la búsqueda de nuevos compuestos con mejores propiedades terapéuticas,⁵⁴ se han realizado diversas modificaciones en la estructura de los esteroides, ya sea en la cadena lateral o en cualquiera de los anillos del esqueleto esteroideal, mediante la introducción de heteroátomos o reemplazando uno o más átomos de carbono con diferentes grupos funcionales (Figura 14), este cambio en su estructura puede dar como resultado un cambio en sus actividades biológicas.^{55,56,57}

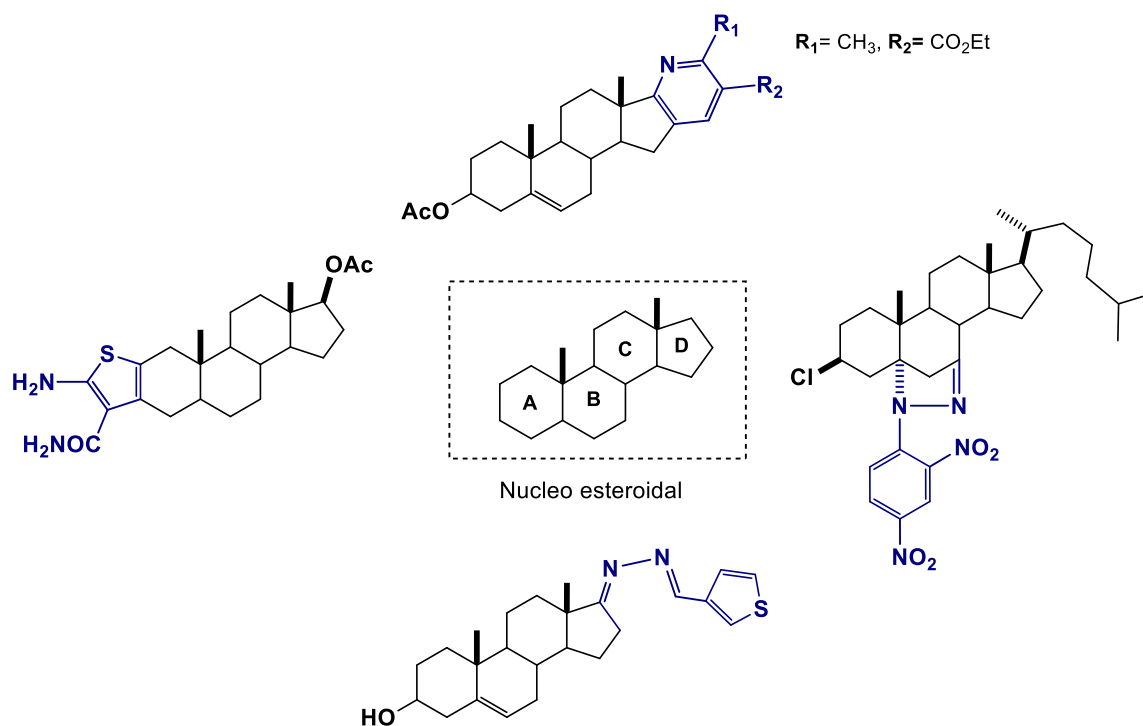


Figura 14. Derivados esteroidales con heterociclos fusionados o ligados a la estructura esteroideal.

53. Ibrahim-Ouali.; Santelli, M. *Steroids*. **2006**, 71, 1025-1044.
54. Hanson, R. *Nat. Prod. Rep.* **2006**, 23,100–107
55. Huang, L. H.; Zheng, Y. F.; Lu, Y. Z.; Song, C. J.; Wang, Y. G.; Yu, B.; Liu, H. M. *Steroids*, **2012**, 77, 710-715.
56. Uzzaman, S.; Khanam, H.; Mahmood, D. A.; Siddiqui, N.; Rehman, S. *J. Saudi. Chem. Soc*, **2016**, 20, 7-12.
57. Lewis, J. R. *Nat. Prod. Rep.* **1996**, 13, 435.
58. Metzger, J. V. *Thiazole and its Derivates*; John Wiley & Sons: New York, **1979**.
59. Kiryanov, A. A.; Sampson, P.; Seed, A. J. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 7925-7929.

Síntesis de tiazoles

Entre los compuestos heterocíclicos de cinco miembros se encuentra el tiazol. Este heterociclo se caracteriza por tener un átomo de nitrógeno y uno de azufre como parte de su estructura. Los tiazoles ocupan una posición prominente entre los heterociclos, en la naturaleza, el anillo de tiazol es el centro activo de la coenzima derivada de la vitamina B1 (tiamina) ⁵⁸ (Figura 15)

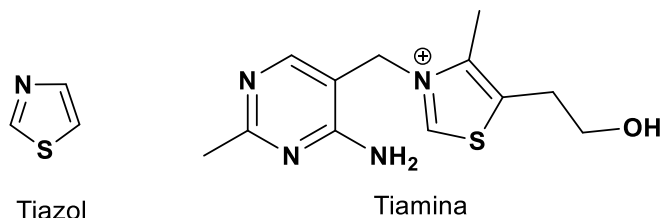


Figura 15. Estructura del tiazol y de la Viatamina B1 (tiamina)

Existe una gran cantidad de compuestos de origen natural y sintético (Figura 15), que presentan anillos de tiazol en su estructura, y los cuales exhiben importantes efectos biológicos, tales como antitumoral, actividades antifúngicas, antibióticas y antivirales, mientras que otros tienen diversas aplicaciones como; cristales líquidos, protectores solares o cosméticos. ⁵⁹

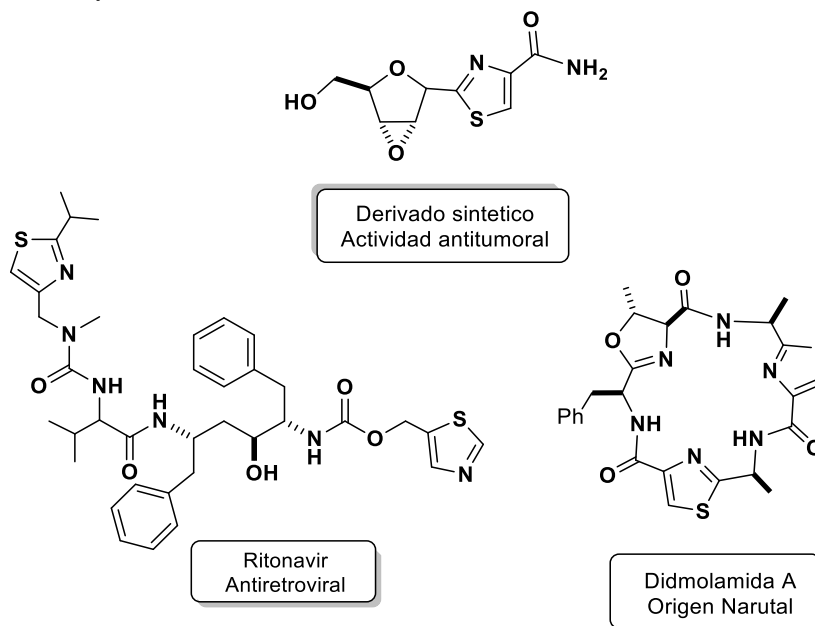
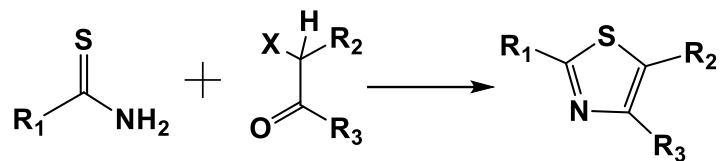


Figura 16. Derivados de tiazol con diversa actividad biológica

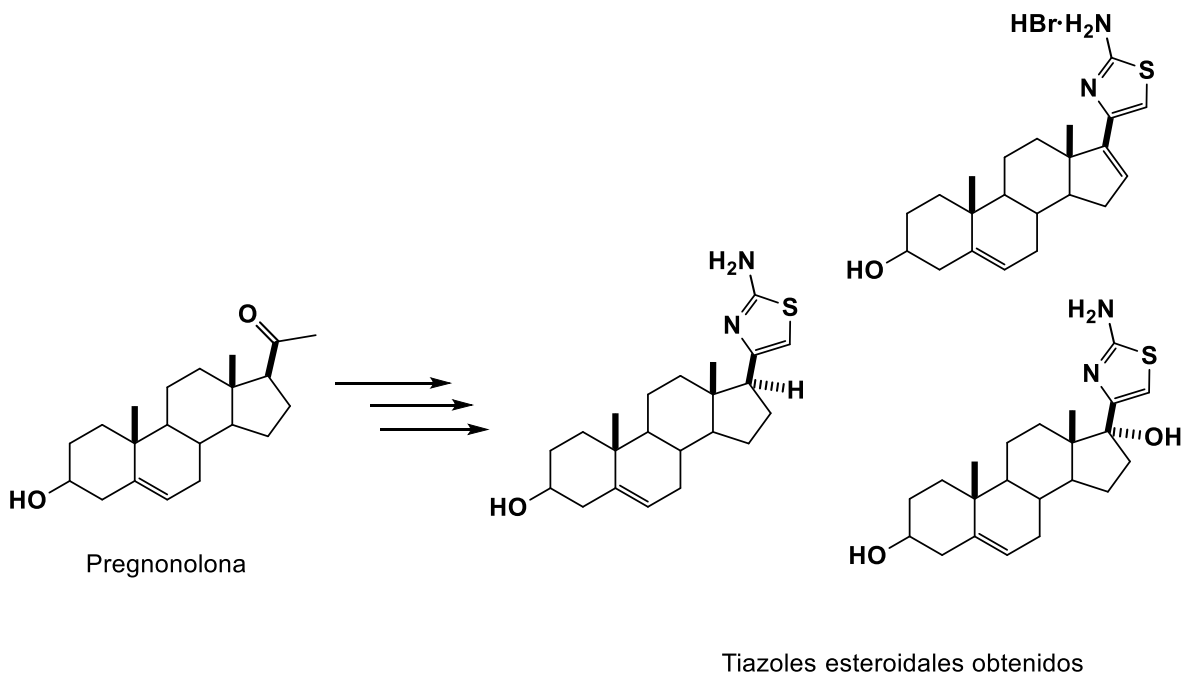
El método clásico para la síntesis de tiazoles es mediante la reacción Hantzsch, donde se condensa una α -haloacetona con una tioamida o tiourea (Esquema 6). Este método da excelentes rendimientos para ciclos simples.^{59,60}



X= Cl, Br, I, OTs, OMs

Esquema 6. Síntesis de tiazoles mediante la síntesis de Hantzsch

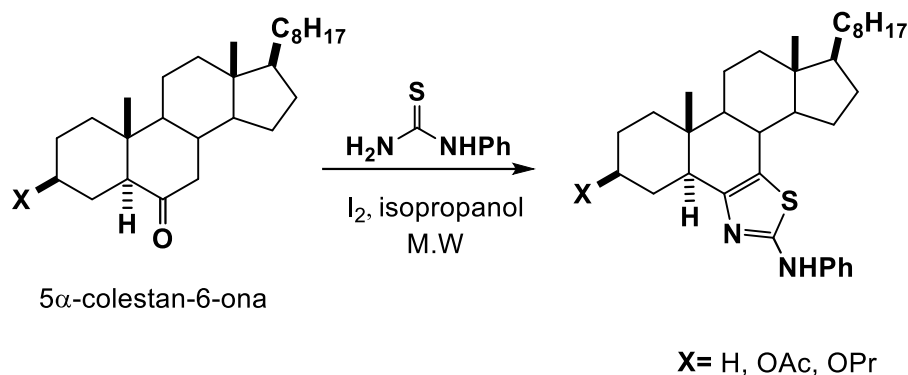
En cuanto a la obtención de estos heterociclos en esteroides, Burkhart y colaboradores⁶¹ reportaron la síntesis de diversos derivados de tiazol a partir de pregnenolona (Esquema 7), los derivados sintetizados resultaron buenos inhibidores de la enzima C₁₇₍₂₀₎ liasa, enzima involucrada en el origen de cáncer de mama y próstata.



Esquema 7. Síntesis de tiazoles esteroidales con actividad biológica

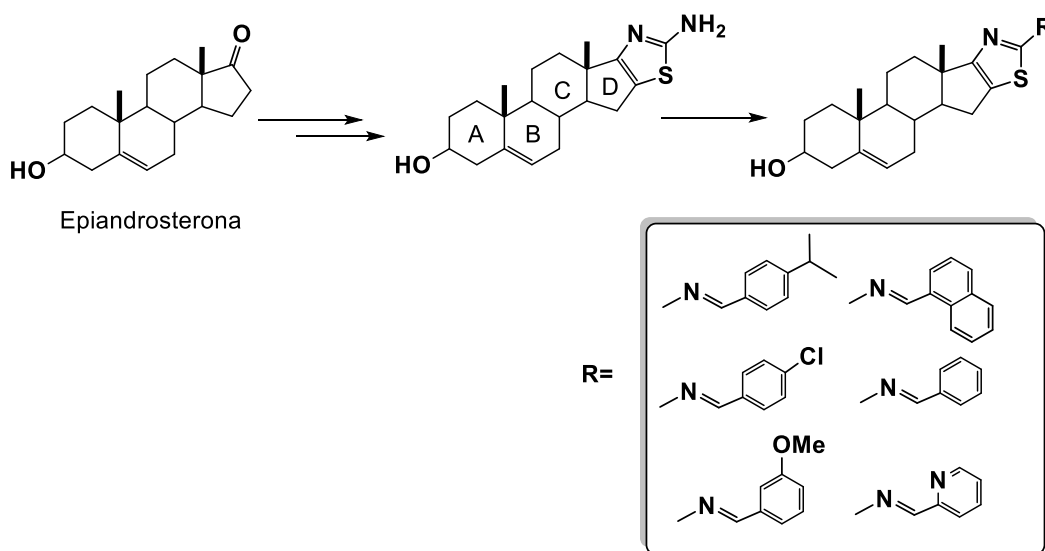
60. Burkhart, J. P.; Gates, C. A.; Laughlin, M. E.; Resvick, R. J.; Peet, N. P. *Bioorg Med Chem.* **1996**, *4*, 1411-1420.

En el 2008 Khan y colaboradores⁶² reportaron la síntesis one-pot mediante microondas de diversos tiazoles fusionados en el anillo B de 5 α -coleston-6-ona (Esquema 8).



Esquema 8. Síntesis de tiazoles fusionados al anillo B del esteroide

Posteriormente Zhang y colaboradores,⁶³ llevaron a cabo la síntesis de diferentes análogos esteroidales que contienen heterociclos derivados de imino tiazoles fusionados al anillo D del esteroide utilizando como materia de partida la dehidroepiandrosterona. (Esquema 9).

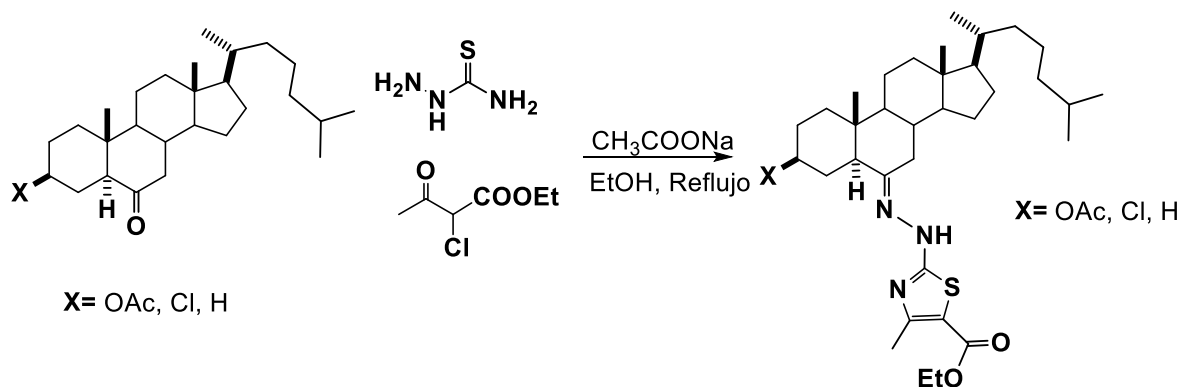


Esquema 9. Síntesis de iminotiazoles esteroidales

61. Khan, A.; Alam, A.; Mushfiq, M. *Chinese. Chem. Lett.* **2008**, 19, 1027-1030

62. Zhang, B. L.; Zhang, E.; Pang, L. P.; Song, L. X.; Li, Y. F.; Yu, B.; Liu, H. M. *Steroids.* **2013**, 78, 1200-1208.

Recientemente Ansari y colaboradores, reportaron la síntesis de multicomponentes one-pot de tiazoles acoplados al anillo B de diversas cetonas esteroidales derivadas del 5 α -coleston-6-ona, mediante el uso de tiosemicarbazida y 2-cloroacetato de etilo (Esquema 10). Los compuestos obtenidos presentaron actividad antifúngica y antimicrobiana.⁶⁴



Esquema 10. Tiazoles derivados de 5 α -coleston-6-ona

Ureas y tioureas.

Los derivados de urea y tiourea son una importante clase de compuestos que han sido utilizados en un gran número de campos; como el farmacéutico, agroquímico, y en la ciencia de materiales.⁶⁵ En el sector farmacéutico la utilidad de las ureas y tioureas se debe a la gran variedad de actividades biológicas que presentan, por ejemplo: son encontradas en compuestos antimalaricos, como inhibidores de las proteasas de la hepatitis C, como inhibidores de proteasas del VIH, como agente terapéutico contra la obesidad, como agentes anticancerígenos, antibióticos, anticonvulsivantes y antimicrobianos⁶⁶ (Figura 17). Además, de ser utilizadas como catalizadores, ligandos, reactivos, solventes y sustratos para una gran cantidad de transformaciones sintéticas.⁶⁷

63. Ansari, A.; Ali, A.; Asif, M.; Rauf, M. A.; Owais, M.; Shamsuzzaman. *Steroids*. **2018**, 134, 22-36.

64. Du, X.; Hansell, E.; Engel, J. C.; Caffrey, C. R.; Cohen, F. E.; McKerrow, J. H. *Chem. Biol.* **2000**, 7, 733–742.

65. Youssef, K. M.; Al-Abdullah, E.; El-Khamees, H. *Med. Chem. Res.* **2003**, 11, 481–503.

66. Štrukil, V. *Beilstein J. Org. Chem.* **2017**, 13, 1828–1849.

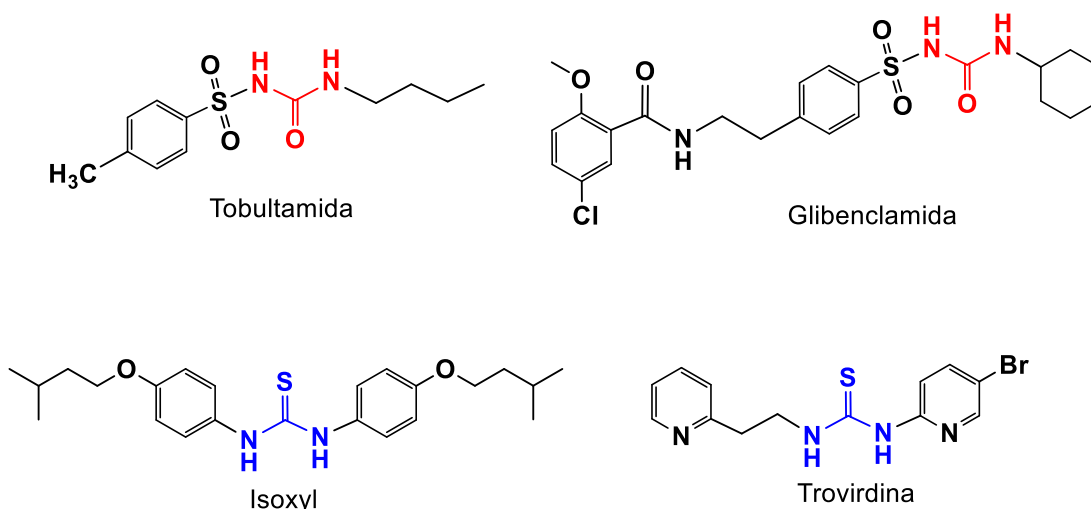


Figura 17. Fármacos con el grupo tiourea y urea en su estructura

En la literatura se ha descrito una variedad de compuestos que contienen la función tiourea y urea en su estructura, y que han mostrado actividad antiproliferativa y antitumoral en contra de diversas líneas celulares cancerosas sin embargo, a pesar de que diversas tioureas y ureas, así como estructuras esteroideas por si solas han presentado actividad biológica importante, son pocos los casos en que se han sintetizado esteroides con enlaces tioureido y ureido.

En 2006 Khan y colaboradores,⁶⁸ llevaron a cabo la síntesis de un derivado esteroideal con la función tiourea en el anillo B del colesterol (**Figura 18**), el compuesto sintetizado mostro ser un potente agente antibacteriano dando mejores resultados que el antibiótico cloranfenicol.

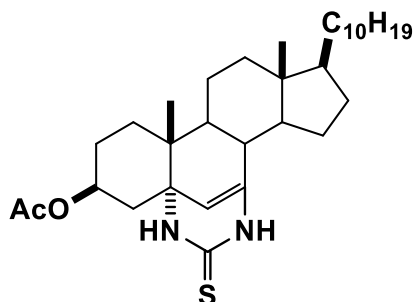
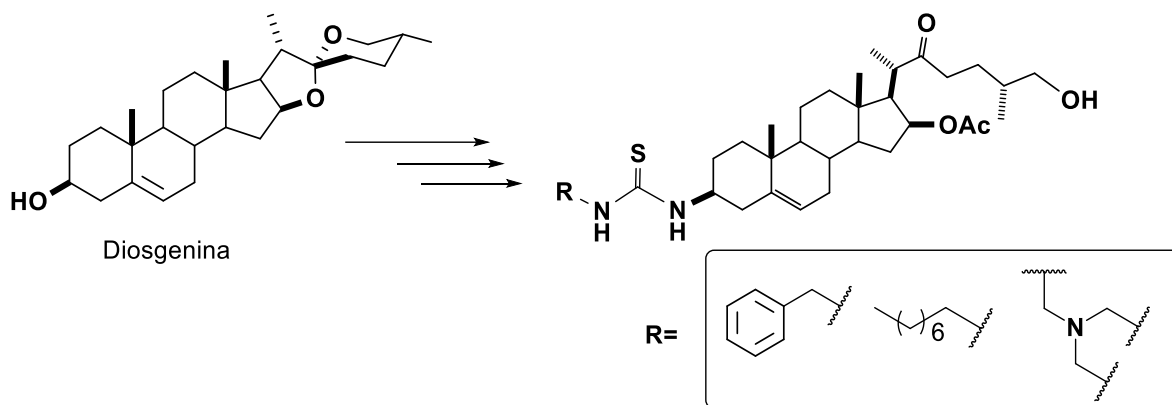


Figura 18. Tiourea esteroideal con actividad antibacteriana

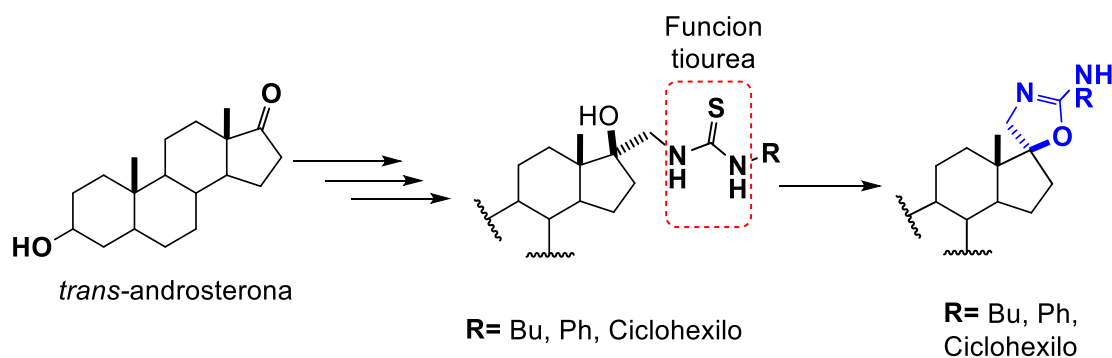
67. Khan, S. A.; Singh, N.; Saleem, K. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, 43, 2272-2277

En nuestro grupo de investigación, Romero-Hernández y colaboradores han reportado la síntesis de tioureas esteroidales unidas al anillo A de la diosgenina (Esquema 11) las cuales mostraron actividad antiproliferativa.⁶⁹



Esquema 11. Derivados de tiourea con actividad antiproliferativa

Recientemente, Romero-Hernández llevo a cabo la síntesis de 2-aminoxazolinas espirosteránicas utilizando como precursores de estos heterociclos diversas tioureas derivadas de la *trans*-androsterona⁷⁰ (Esquema12).

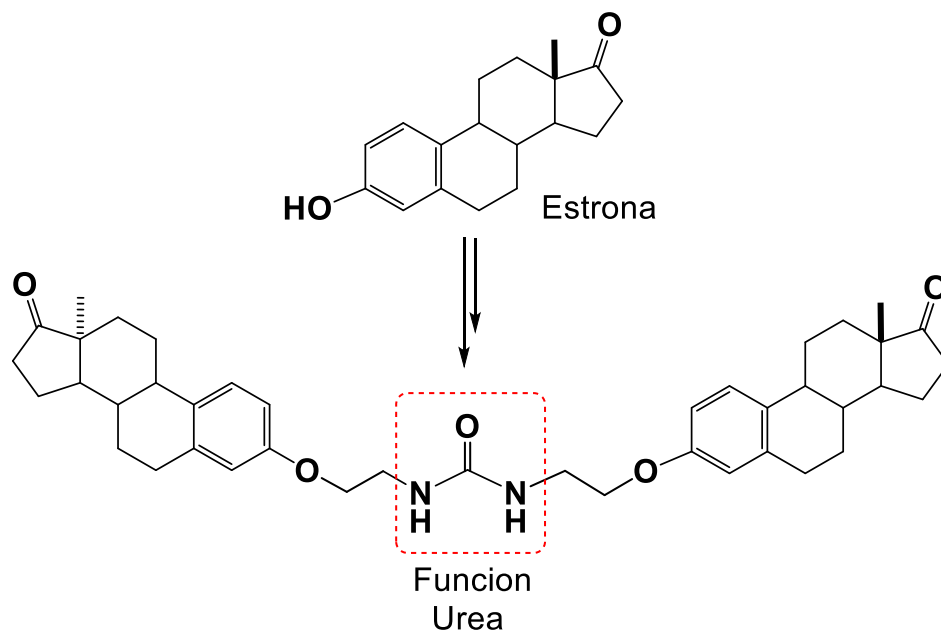


Esquema 12. Derivados de tiourea a partir de *trans*-androsterona

68. Romero-Hernández, LL.; Merino-Montiel, P.; Montiel-Smith, S.; Meza-Reyes, S.; Vega-Báez, JL.; Abasolo, I.; Schwartz, S. Jr.; López, Ó.; Fernández-Bolaños, JG. *Eur. J Med Chem.* **2015**, 99, 67-81.

69. Romero-Hernández, LL.; Merino-Montiel, P.; Meza-Reyes, S.; Vega-Baez, J.; López, Ó.; Padrón, JM.; Montiel-Smith, S. *Eur. J Med Chem.* **2018**, 143, 21-32.

Así también en nuestro grupo de investigación se llevó a cabo la síntesis de un dímero esteroidal a partir de estrona utilizando un *linker* de urea⁷¹



Esquema 13. Dímero esteroidal de estrona con un *linker* de urea

Como se ha citado anteriormente los compuestos esteroidales que presentan heterociclos de tiazol u oxazol, o espaciadores de ureas o tioureas en su estructura han mostrado propiedades biológicas interesantes. Por lo que basándonos en estos antecedentes se plantean los siguientes objetivos en este trabajo de investigación.

70. Fuentes-Aguilar, A. *Síntesis de heteroesteroides derivados de estrona y estudios de actividad biológica*. 2016.

1.4 OBJETIVOS

Sintetizar nuevos compuestos monoméricos derivados de la *trans*-androsterona con un heterociclo de tiazol diversamente funcionalizado en el anillo D del esqueleto esteroideal. Además de compuestos diméricos con diferentes grupos espaciadores con el fin de obtener estructuras con actividad biológica prometedora.

OBJETIVOS PARTICULARES

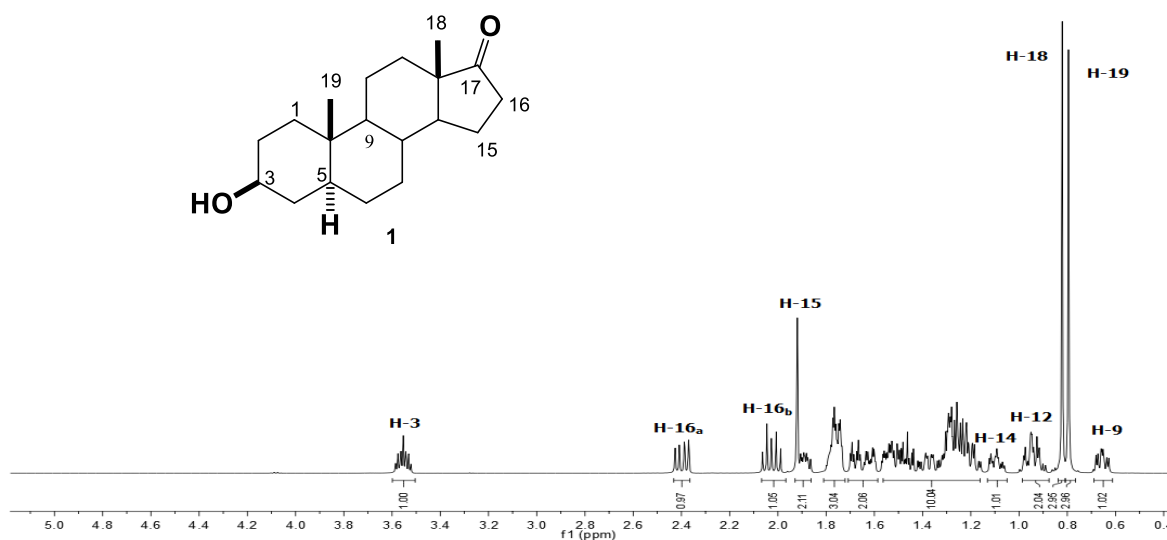
- Sintetizar nuevos dímeros esteroidales con diferentes grupos espaciadores en C-3 de la *trans*-androsterona.
- Sintetizar derivados esteroidales monoméricos y diméricos con heterociclos sobre el anillo D de la *trans*-androsterona.
- Diseñar rutas eficientes que permitan la formación de los nuevos derivados esteroidales.
- Proponer mecanismos de reacción para explicar la formación de los diferentes productos obtenidos.
- Caracterizar inequívocamente los diferentes derivados esteroidales obtenidos mediante las diferentes técnicas físicas y espectroscópicas como RMN, masas e IR.
- Realizar la evaluación biológica de los derivados esteroidales obtenidos en el presente trabajo.

1.5 DISCUSION DE RESULTADOS Y ANÁLISIS ESPECTROSCOPICO

trans-Androsterona (1)

La *trans*-androsterona es uno de los esteroides presentes en la naturaleza más importantes a nivel sintético y farmacológico, el cual presenta una función hidroxilo en C-3, por lo que puede ser empleado en la síntesis de nuevos derivados diméricos de tipo esteroidal. De la misma manera cuenta con un grupo carbonilo en posición C-17, el cual es pieza clave en la formación de sistemas heterociclos unidos o fusionados al esqueleto esteroidal esteroidal con potenciales actividades biológicas. Debido a la importancia de la *trans*-androsterona **1**, en este trabajo se utilizará como materia prima en la síntesis de novedosas estructuras esteroidales.

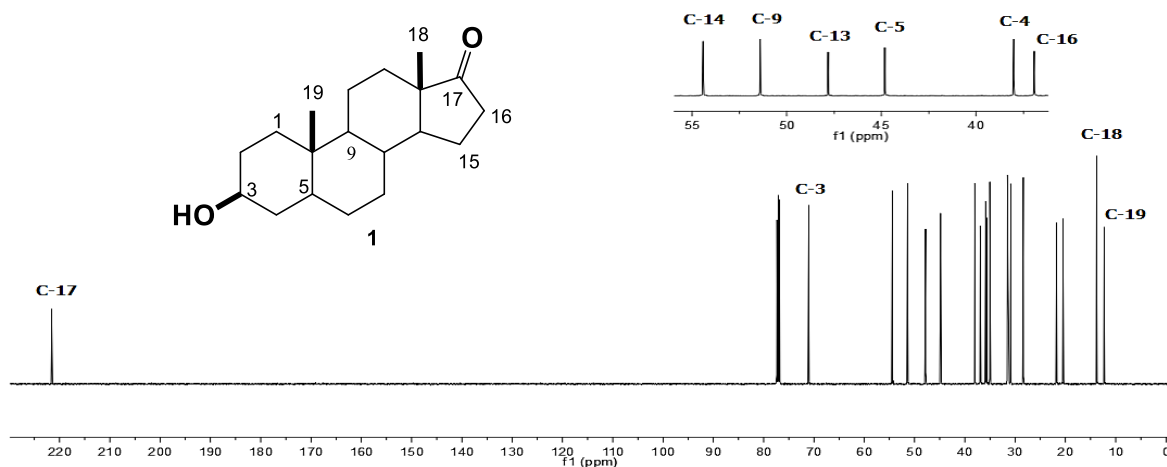
A continuación, se presenta el espectro de RMN de ^1H (Espectro 1) de la materia de partida **1**, en el cual se aprecian los desplazamientos de las señales más representativas: protón de base oxígeno H-3, protones en posición α al carbonilo de cetona (H-16_a y H-16_b), y los protones correspondientes a los CH₃ (H-18 y H-19)



Espectro 1. RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de *trans*-androsterona **1**

En el espectro de ^{13}C (Espectro 2), se puede apreciar la señal de carbono del carbonilo de cetona C-17 a frecuencias altas, el carbono base oxígeno C-3, el

carbono C-16 en posición α al carbonilo de cetona y los carbonos correspondientes a los metilos C-18 y C-19 como señales más destacadas.



Espectro 2. RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de *trans*-androsterona **1**

Los datos espectroscópicos para RMN de ^1H y ^{13}C fueron comparados con los reportados en la literatura.⁷²

1.5.1 Síntesis de dímeros esteroidales simétricos a partir de *trans*-androsterona

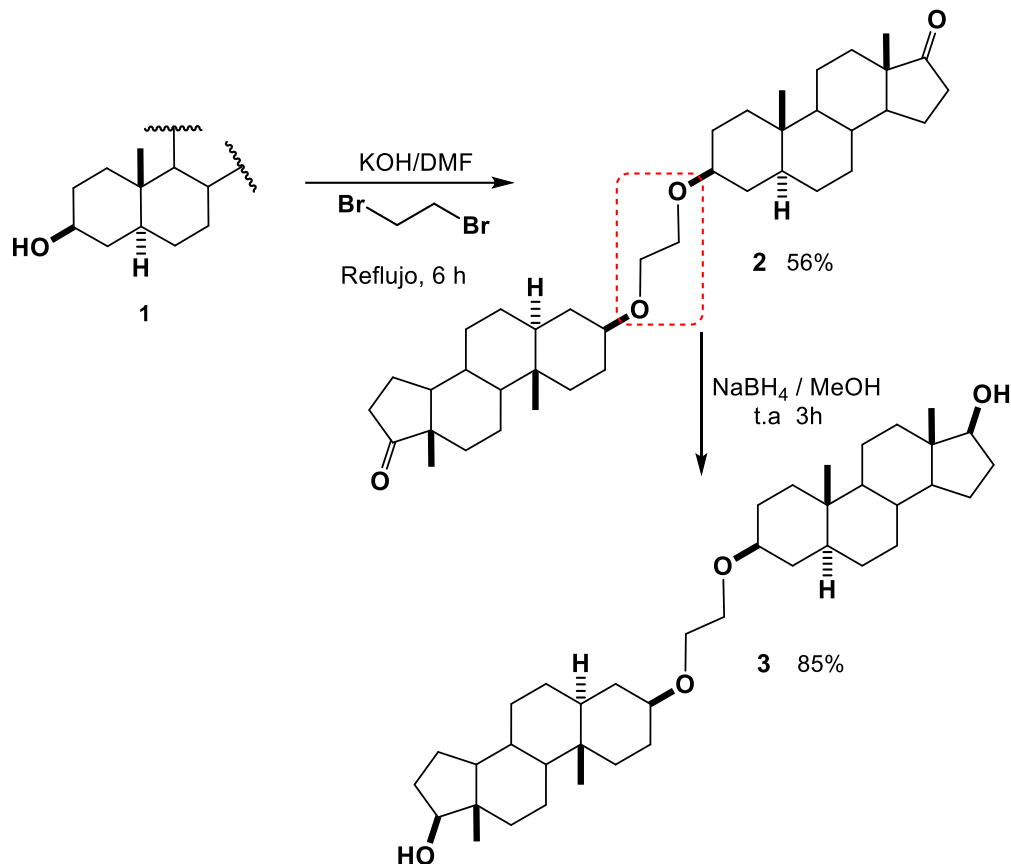
Existen pocos reportes de dímeros esteroidales derivados de *trans*-androsterona (**1**) por lo que se llevó a cabo la obtención de nuevos derivados esteroidales diméricos, utilizando al grupo éter y glutarato como *linkers* sobre el anillo A del esteroide.

1.5.1.1 Obtención de dímeros a través de un grupo espaciador éter

La unión de dos fragmentos esteroidales por medio del anillo A, se llevó a cabo mediante una reacción de Williamson sobre el hidroxilo en C-3 de la *trans*-

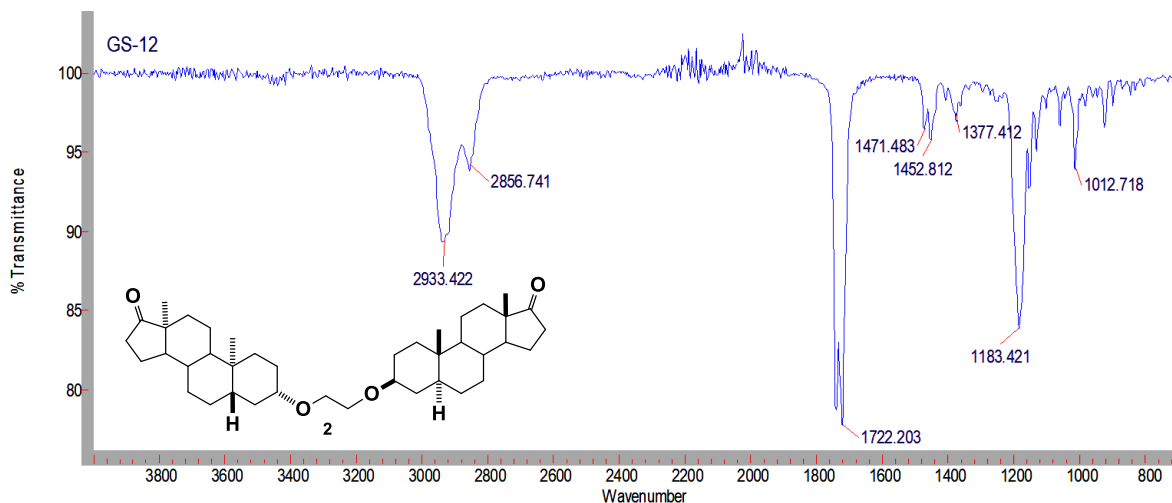
71. Bridgeman, J. E.; Cherry, P. C, Clegg, A.S.; Evans, J. M.; Jones, E. R.; Kasal, A.; Kumar, V.; Meakins, G. D.; Morisawa, Y.; Richards, E. E.; Woodgate, P. D. *J. Chem. Soc. Perkin 1*. **1970**, 2, 250-257

androsterona (**1**) con 1,2-dibromoetano como *linker*, hidróxido de potasio como base y DMF como disolvente de reacción generando **2** con un rendimiento del 56% aunque se ensayaron diversas condiciones de reacción no fue posible incrementar el rendimiento del nuevo derivado esteroidal (Esquema 11). Posteriormente, se llevó a cabo la reducción del grupo carbonilo en C-17 empleando un reductor suave como el borohidruro de sodio. lo que permitió obtener el derivado dimérico hidroxilado **3** con un rendimiento del 85% (Esquema 11).



Esquema 11. Síntesis de dímeros esteroidales con un *linker* tipo eter

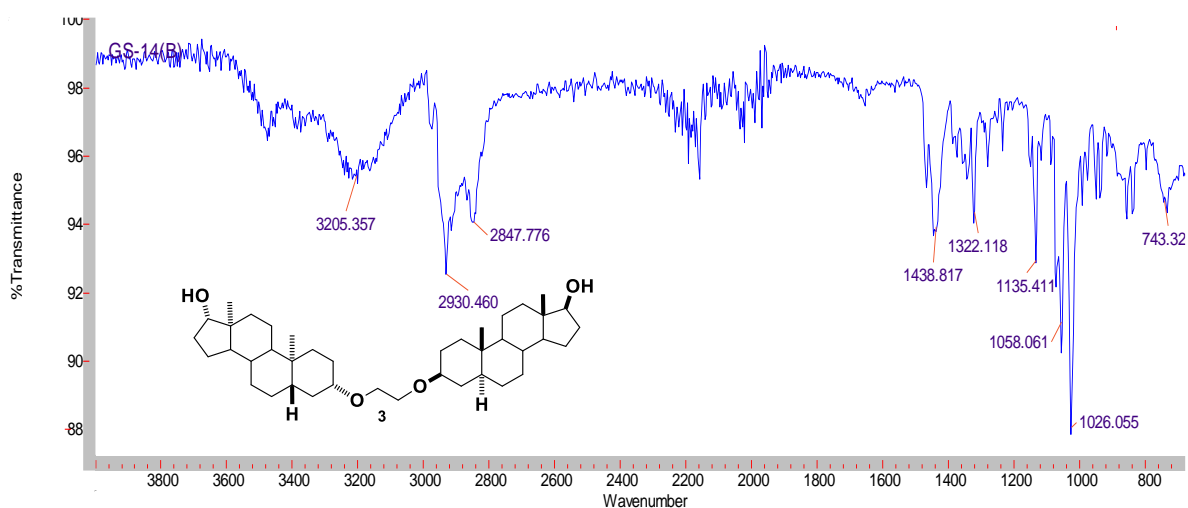
Mediante la técnica de IR, es posible observar los cambios en los grupos funcionales de la materia de partida con respecto a **2** (Espectro 3), se pueden apreciar las bandas de absorción en 1759 y 1722 cm^{-1} correspondientes a las vibraciones de tensión (C=O) de los carbonilos de cetona en C-17. Así también, se observa una banda ancha en 1183 cm^{-1} , la cual pertenece a las vibraciones de tensión (C-O) en C-3, indicando que el grupo espaciador éter está presente en la estructura



Espectro 3. IR del derivado dimérico 2

En el espectro de IR de del dímero **3** (Espectro 4), se observa una banda ancha en 3205 cm^{-1} la cual se debe a la vibración de tensión del enlace O-H, así también, resalta la ausencia de las bandas correspondientes a los grupos carbonilos de cetona lo que indica la reducción del carbonilo en C-17 generando la funcionalidad hidroxilo.

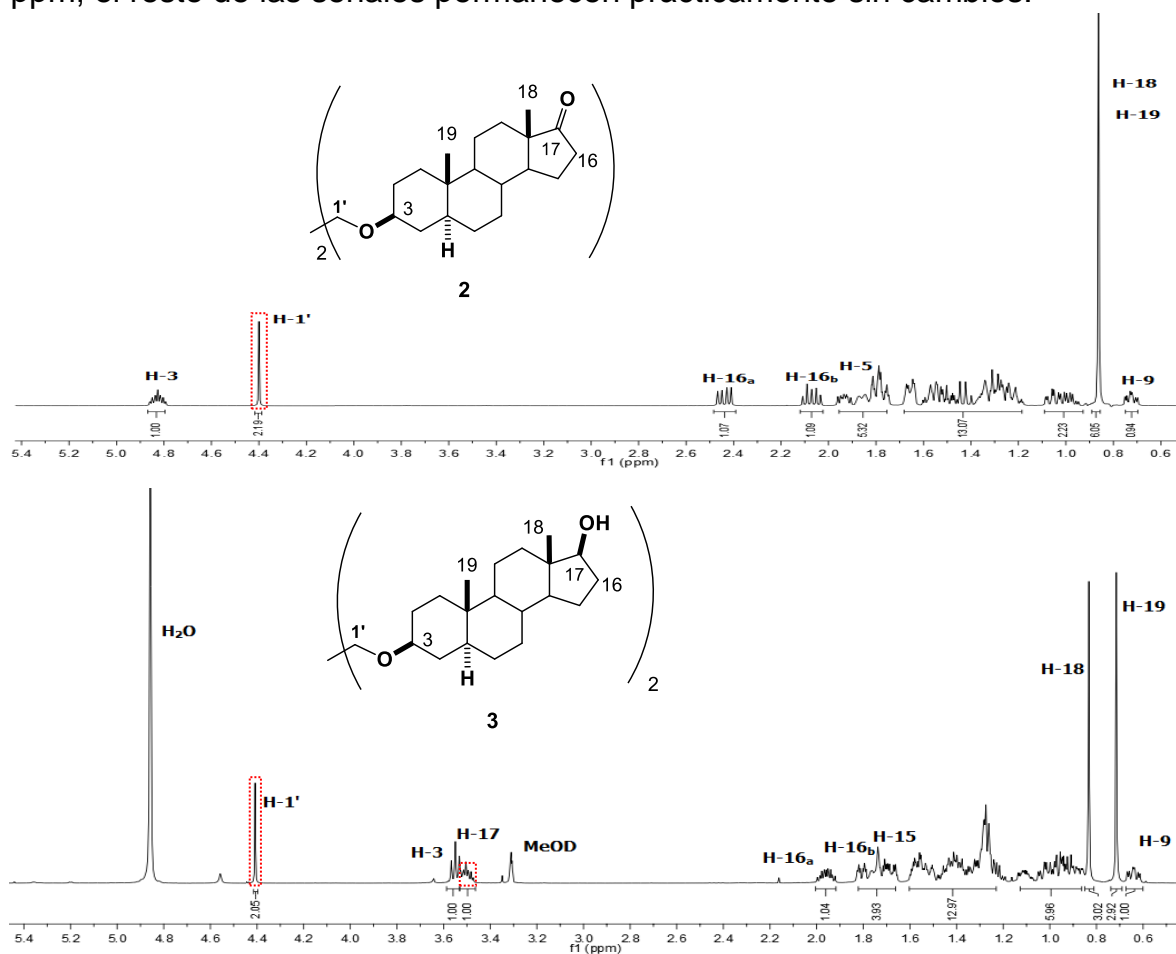
Así mismo, se observan dos bandas intensas en 1058 y 1026 cm^{-1} las cuales se deben a la vibración de tensión de (C-O) del éter dimérico en C-3 y al grupo hidroxilo en C-17



Espectro 4. IR del derivado dimérico 3

La formación de los dímeros **2** y **3** fueron confirmados por espectroscopia de RMN: dada la simetría de los productos, únicamente se observa un juego de señales tanto para el espaciador como para el núcleo esteroidal. En los espectros de ^1H se observa la presencia de una nueva señal simple en 4.41 ppm correspondiente a los protones de CH_2 ($\text{H-1}'$), lo que nos indica la presencia del grupo éter con respecto a la materia de partida **1**. (Espectro 5)

La reducción del grupo carbonilo en C-17 genera la funcionalidad OH en el dímero **3**, por lo que su espectro de ^1H muestra ahora una nueva señal correspondiente a H-17 en 3.50 ppm, la presencia de este grupo hidroxilo genera un desplazamiento a frecuencias menores de H-16_a de 2.44 a 1.96 ppm respecto al dímero **2**, provocado por el menor efecto de desprotección del nuevo grupo funcional OH, así también, se aprecia que los protones correspondientes al grupo metilo C-19 se desplazan ligeramente a frecuencias más bajas en 0.71 ppm, el resto de las señales permanecen prácticamente sin cambios.

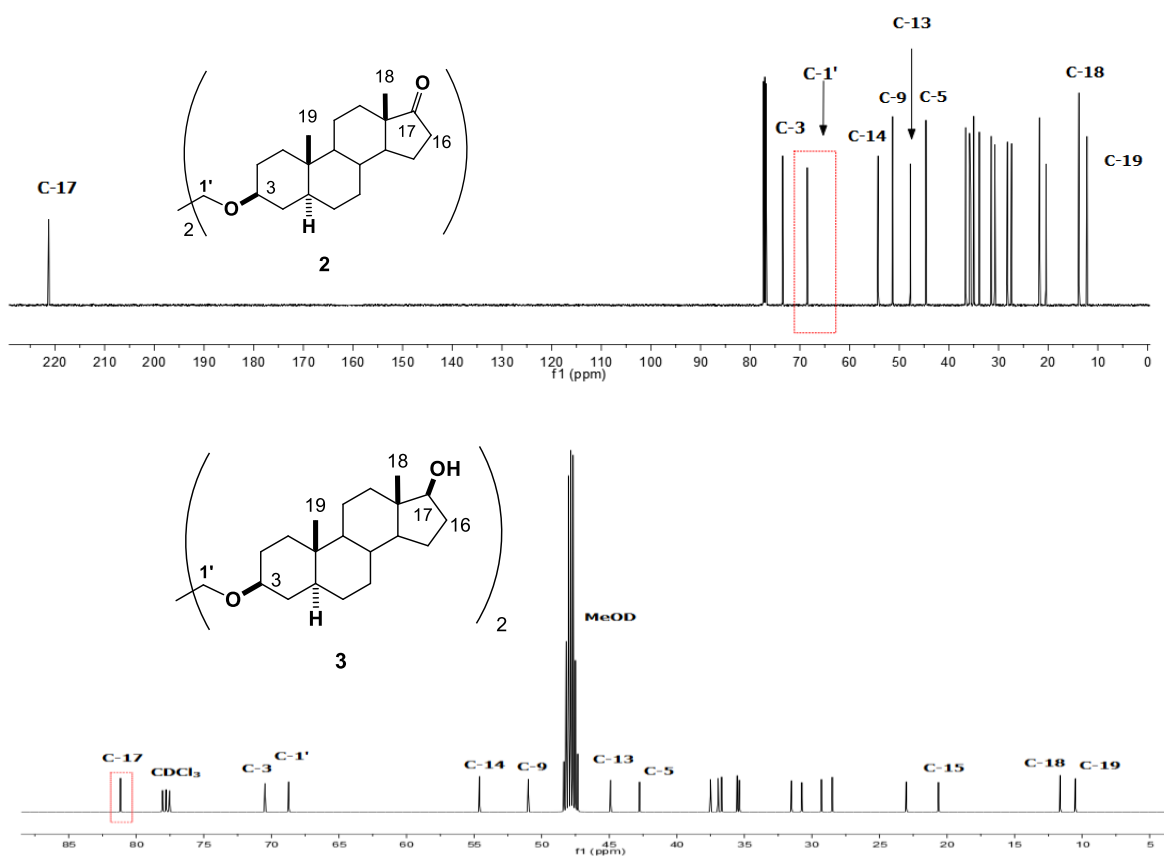


Espectro 5. RMN de ^1H (500 MHz) de los compuestos **2** y **3**

Los espectros de RMN de ^{13}C revelan los siguientes cambios:

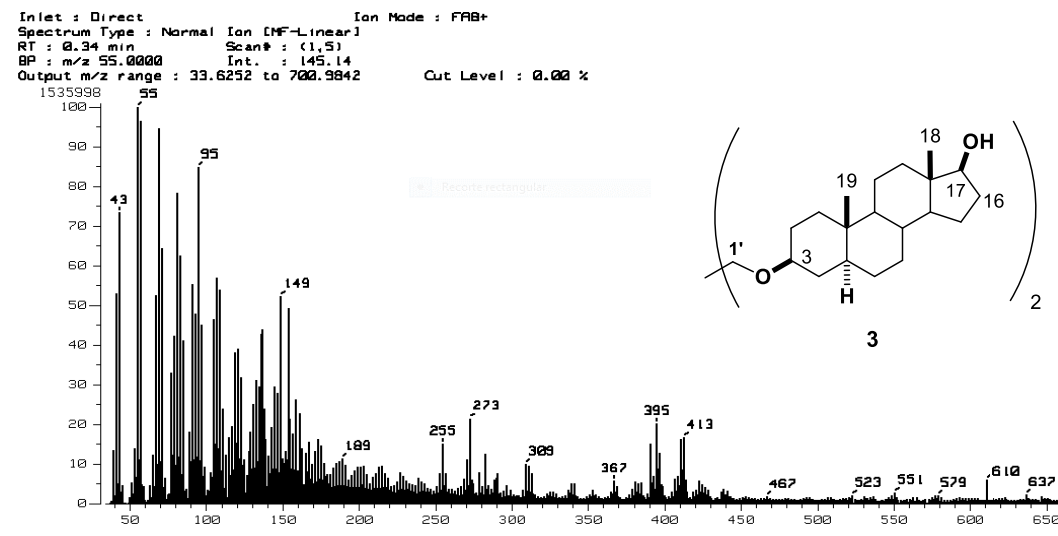
En el espectro del derivado **2** se observa una señal adicional en 68.2 ppm el cual corresponde al carbono (C-1') de la función éter, lo cual confirma que ambas unidades monoméricas han reaccionado para generar el derivado dímérico **2**. La señal de C-3 se desplaza ligeramente a frecuencias mayores, de 71.0 a 73.6 ppm respecto a la materia de partida **1**.

Por otro lado, en el espectro del compuesto **3**, la señal asignada a C-17 se ha desplazado a frecuencias menores (de 221 ppm a 81.2 ppm), al pasar de un carbono de cetona (C=O) a un carbono con un grupo hidroxilo (C-OH), por lo que el efecto electroattractor del oxígeno con hibridación sp^2 ya no está presente cuando se genera el dímero esteroidal **3** (Espectro 6).



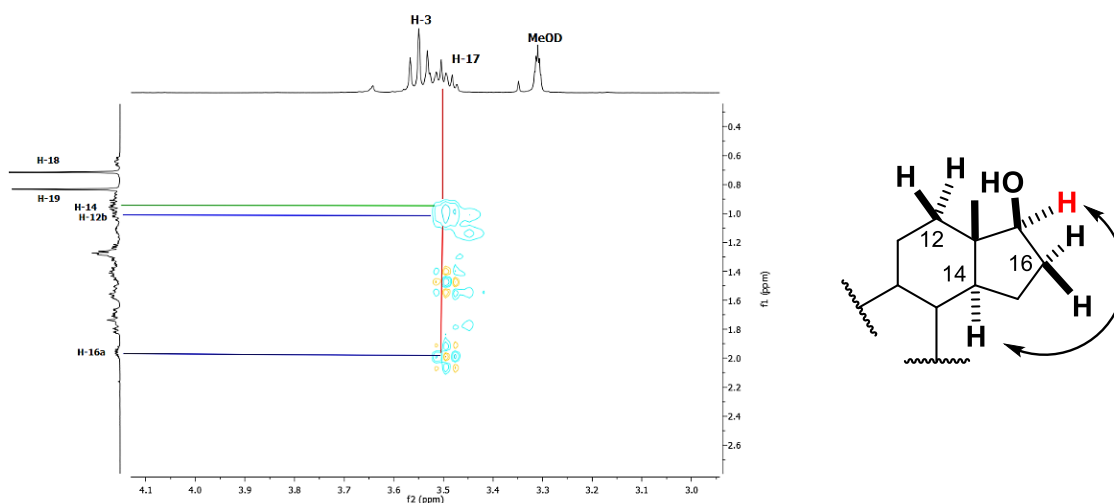
Espectro 6. RMN de ^{13}C (125 MHz) de los compuestos **2** y **3**

El experimento de masas del dímero **3** (Espectro 7) corrobora el pico ion molecular M^+ con una relación $m/z = 610$ para la fórmula química $\text{C}_{40}\text{H}_{66}\text{O}_4$ con una masa molecular de 610.1961 g/mol con una abundancia pequeña (8), lo que permite evidenciar que el éter formado está sustituido por dos fragmentos esteroidales.



Espectro 7. Espectro de masas para el dímero **3**

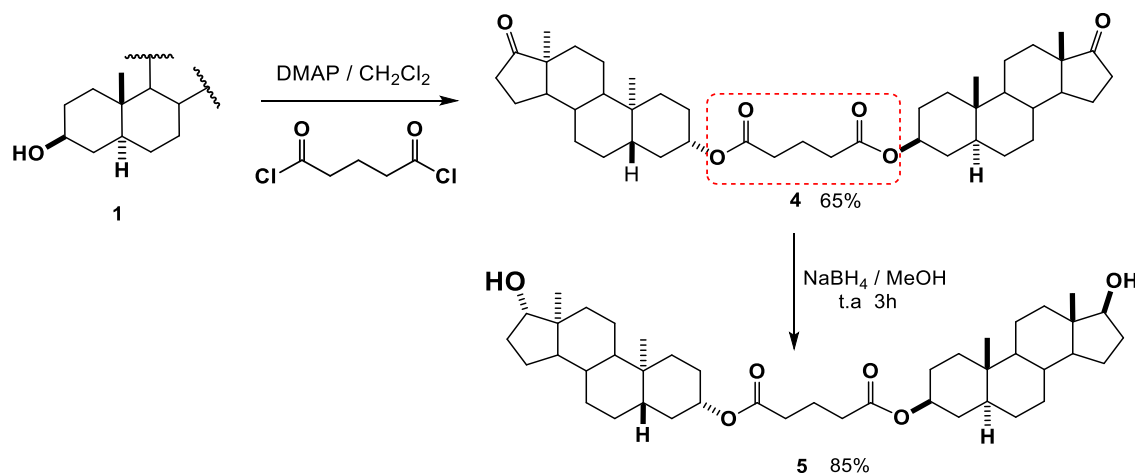
La configuración absoluta de C-17 en el derivado **3** fue asignada como el diastereoisómero (*S*) con ayuda del experimento de RMN 2D-NOESY. La correlación espacial NOESY se observa de manera clara entre el protón H-14 con H-17 esta correlación da evidencia de la configuración antes mencionada (Espectro 8).



Espectro 8. Experimento NOESY del derivado **5**

1.5.1.2 Obtención de dímeros a través de un grupo espaciador glutarato

Siguiendo la misma línea de trabajo se llevó a cabo la síntesis de derivados diméricos mediante la unión de dos fragmentos esteroidales utilizando un tipo de espaciador diferente mediante la reacción de acilación del hidroxilo en C-3 de la *trans*-androsterona (**1**) con cloruro de glutaloilo, DMAP y cloruro de metileno. (Esquema 12).



Esquema 12. Síntesis de dímeros esteroidales con un *linker* tipo glutarato

Las síntesis de este tipo de compuestos no se encuentran reportados en la literatura, por lo que fue necesario establecer las mejores condiciones para esta reacción (Tabla 1).

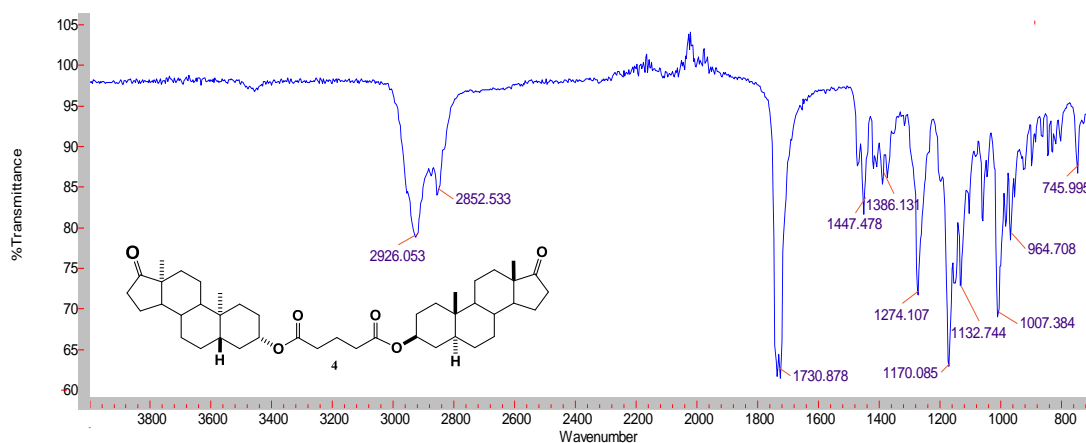
Exp.	DMAP	Cloruro de glutaloilo	Tiempo	Rendimiento
1	0.6	0.6	20 h	30 %
2	1	0.6	20 h	40%
3	1.5	0.6	4 h	65 %
4	2	0.6	8 h	65 %

Tabla 1. Optimización de la reacción de dimerización

De la tabla 1 se puede concluir que, cuando la reacción se mantiene durante tiempos prolongados, utilizando DMAP con una relación 1:0.6 con respecto al esteroide (Experimento 1), se observó la formación de subproductos y la presencia de materia prima **1** provocando rendimientos bajos.

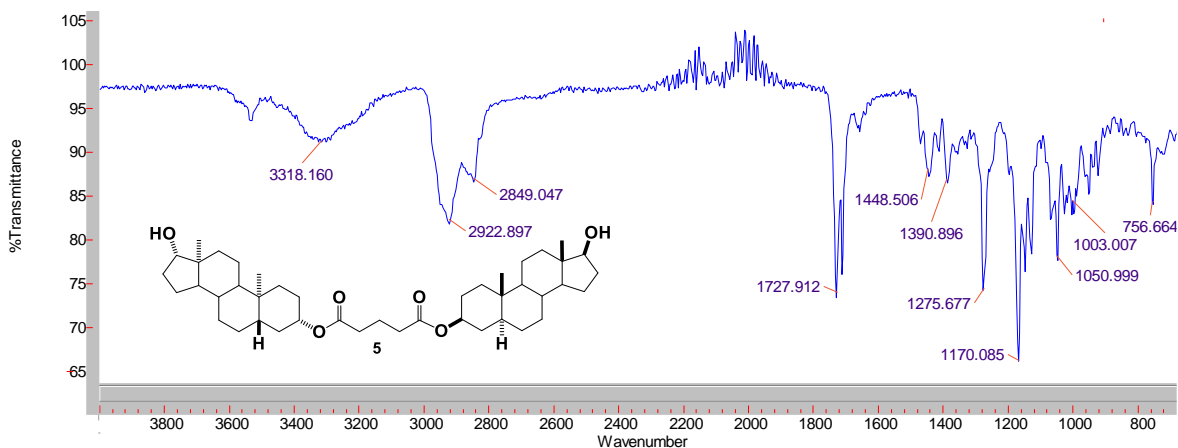
Al aumentar los equivalentes de DMAP en una relación 1:1.5 con respecto a **1** se observó que, aunque no se logra la conversión completa de la materia de partida, disminuyó a un producto de reacción en un tiempo de 4 horas recuperando materia prima como se muestra en el experimento 3. Un pequeño aumento en el tiempo de reacción y equivalentes de DMAP (Experimento 4), no mostro una diferencia significativa en el rendimiento con respecto al experimento 3, optando por las condiciones de reacción de este último.

En el espectro de IR del dímero **4**, se aprecia 2 bandas de absorción traslapadas en 1730 cm^{-1} correspondientes a las vibraciones de tensión (C=O) de los carbonilos de cetona en C-17 y de grupo éster, indicando que el grupo espaciador glutarato se encuentra presente en la estructura. Así mismo, dos bandas en 1274 y 1132 cm^{-1} asignadas a las vibraciones de tensión (C-O) en C-3 (Espectro 9).



Espectro 9. IR del derivado dimérico **4**

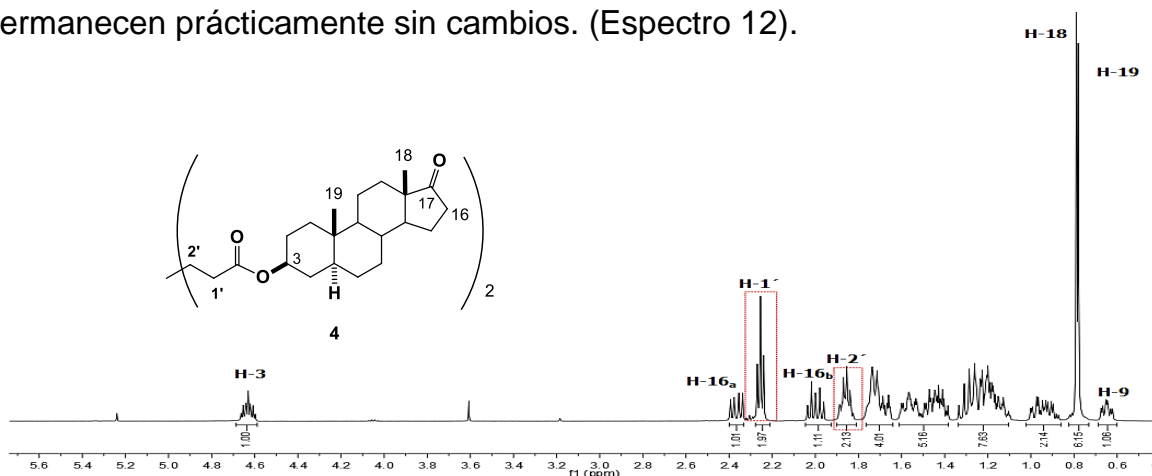
Por último, se llevó a cabo una reducción quimioselectiva sobre el carbonilo de cetona en C-17, empleando borohidruro de sodio para generar el compuesto dímero **5**. Su espectro de IR muestra una banda ancha característica del grupo hidroxilo en 3318 cm^{-1} , esta se debe a la vibración de tensión del enlace O-H. Así mismo, se observan dos bandas intensas en 1275 y 1170 cm^{-1} las cuales se deben a la vibración de tensión de (C-O) en C-3 y a la nueva función hidroxilo en C-17 (Espectro 10).



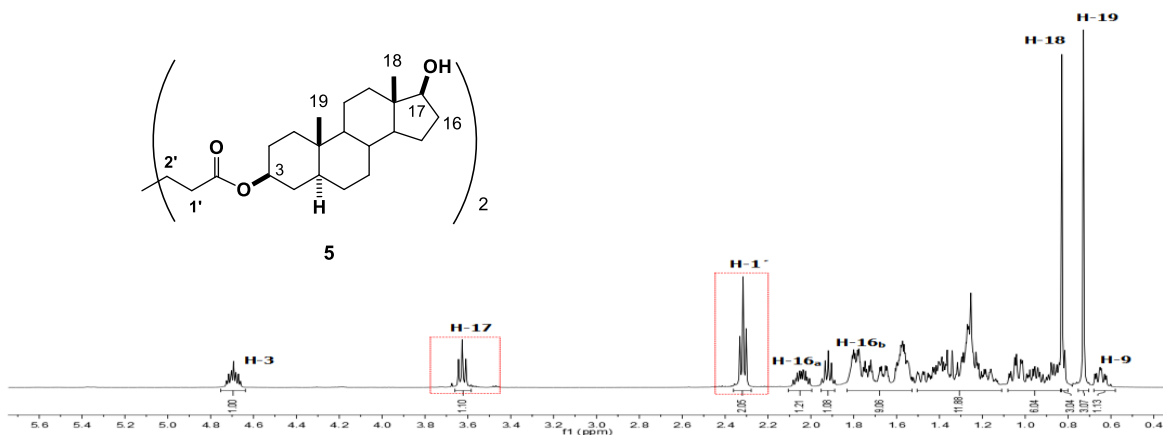
Espectro 10. IR del derivado dimérico **5**

Los productos obtenidos **4** y **5** también fueron caracterizados por RMN. En el espectro de ^1H del derivado **4**, se pueden apreciar cambios en los desplazamientos de las señales de H-3, observando un desplazamiento a frecuencias más altas de 3.55 a 4.62 ppm debido al efecto de desprotección generado por el grupo glutarato (Espectro 11). Así mismo se observa la presencia de dos nuevas señales correspondientes a los protones de CH_2 de la cadena espaciadora (H-1' y H-2') en 2.25 y 1.85 ppm, dichas señales nos permiten confirmar la dimerización de la materia de partida **1**.

La reducción de forma selectiva del carbonilo de C-17 permite generar un grupo hidroxilo en el dímero **5** por lo que su espectro de ^1H muestra ahora una nueva señal *t* en 3.62 ppm correspondiente a H-17, la presencia de este grupo hidroxilo genera un desplazamiento a frecuencias bajas de H-16_a, de 2.37 a 2.04 ppm con respecto al dímero **4**, provocado por el menor efecto de desprotección del nuevo grupo funcional OH en la posición C-17, el resto de las señales permanecen prácticamente sin cambios. (Espectro 12).



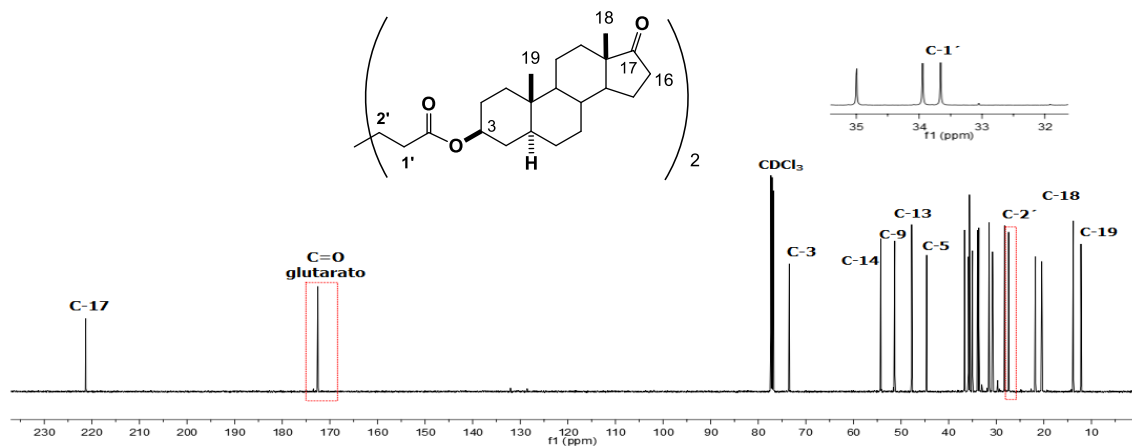
Espectro 11. RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del derivado **4**



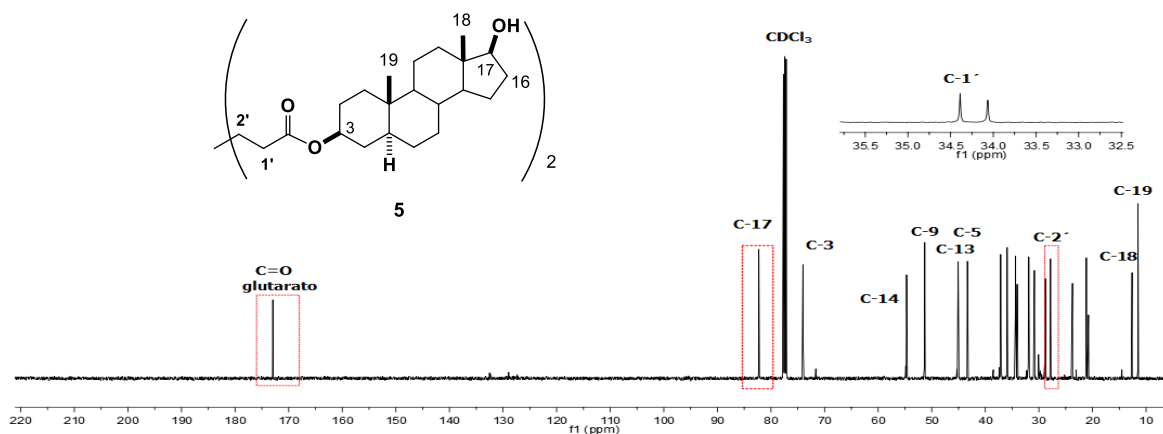
Espectro 12. RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del derivado **5**

Los espectros de RMN de ^{13}C de los derivados diméricos **4** y **5**, permiten obtener una mayor información de su estructura. A continuación, se realiza una comparativa entre ellos:

- En el espectro (13) correspondiente al derivado **4**, se aprecian 3 nuevas señales; La primera de ellas corresponde al carbono del grupo carbonilo de la función glutarato, la cual se observa en 174.4 ppm, las señales restantes pertenecen a C-1' y C-2' en 33.6 y 27.8 ppm, este conjunto de señales nos permite confirmar la unión de dos unidades monoméricas de **1** mediante un espaciador de tipo glutarato.
- En el espectro (14) del dímero **5**, se observa el desplazamiento a frecuencias menores de C-17 (de 221.2 ppm a 82.3 ppm), confirmando la reducción de C-17 de manera selectiva, al no verse afectado la señal del carbonilo del grupo glutarato. El resto de las señales no sufren un cambio significativo.

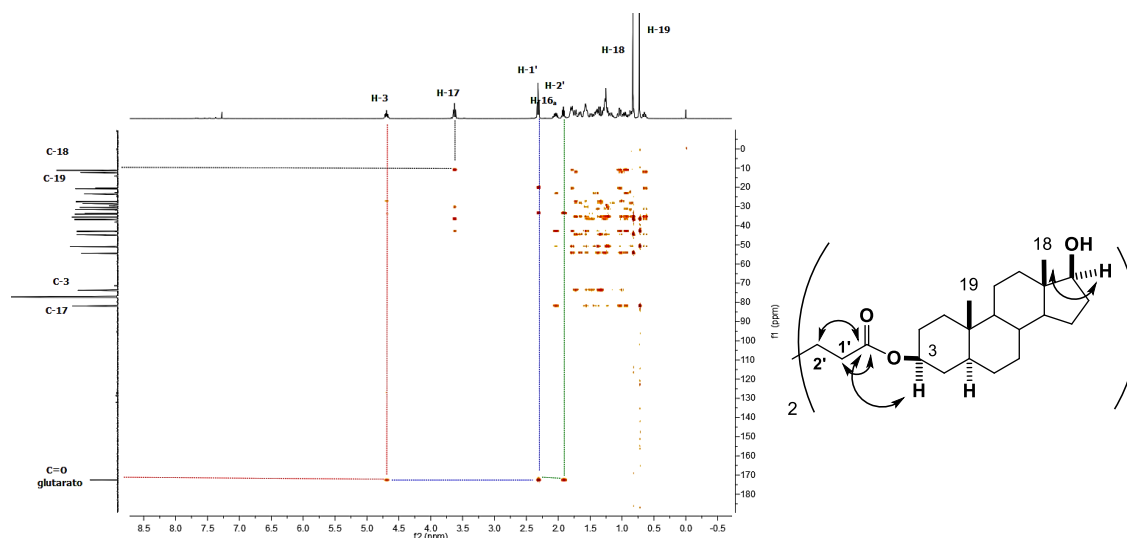


Espectro 13. RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del compuesto **4**



Espectro 14. RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del compuesto **5**

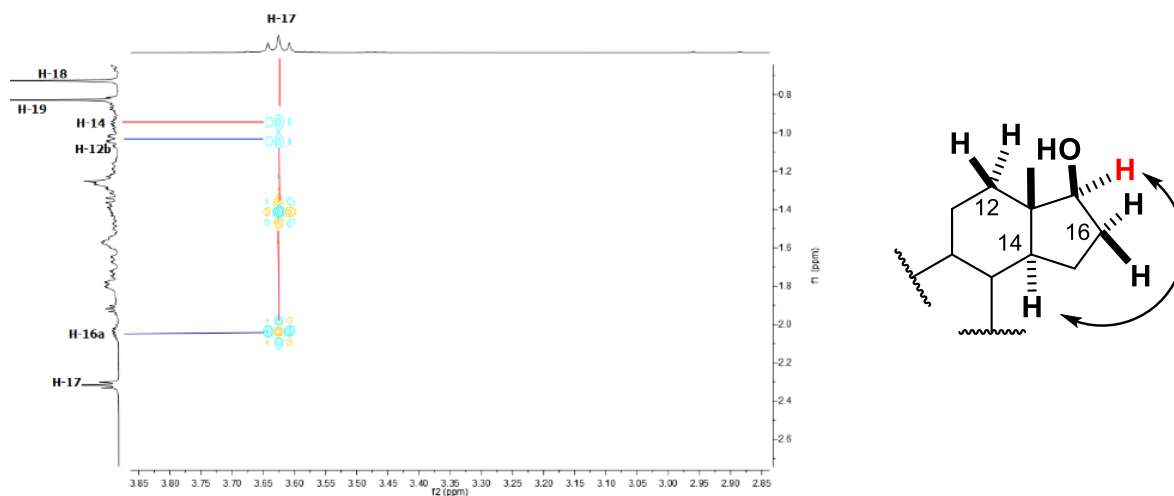
En el experimento de HMBC (Espectro 15) del dímero **5**, se observan las correlaciones C-H a tres enlaces entre el carbono del glutarato ($\text{C}=\text{O}$) y el hidrogeno H-3, el cual es fundamental para el establecimiento de la formación del dímero esteroide dimerico sobre la posición C-3 del esteroide. También resalta las relaciones de los protones H-1' y H-2' con el grupo carbonilo del glutarato.



Espectro 15. Experimento de HMBC del derivado **5**

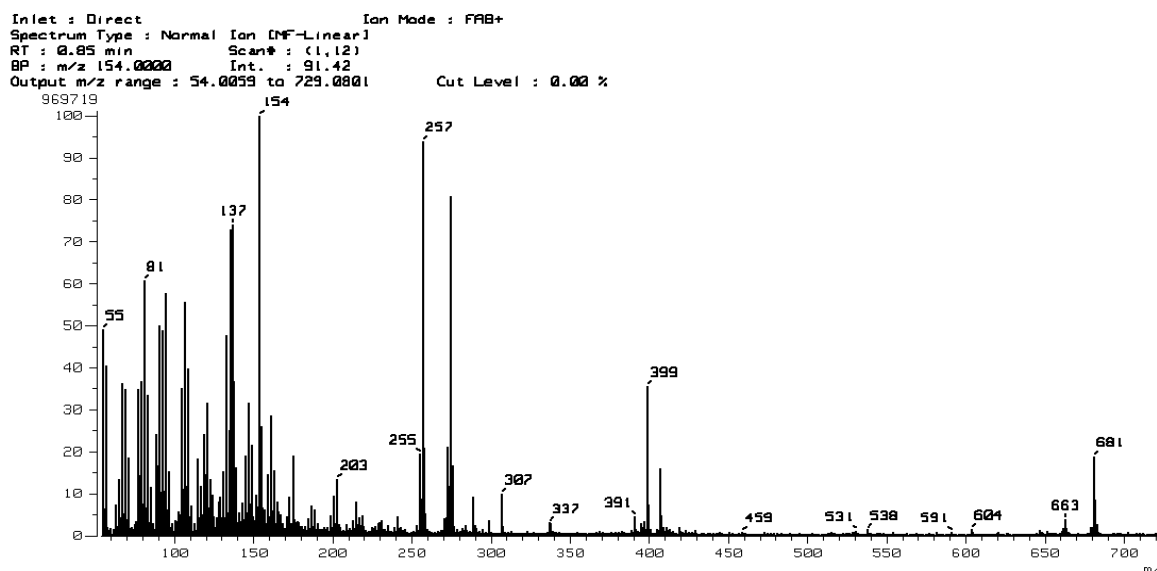
La configuración del nuevo centro estereogénico en C-17 del derivado **5** fue asignada como el diastereoisómero (*S*) con ayuda del experimento de RMN 2D-NOESY. La correlación espacial NOESY se observa de manera clara entre

el protón H-14 con H-17 esta correlación da evidencia de la configuración antes mencionada (Espectro 16).



Espectro 16. Experimento NOESY del derivado 5

El experimento de masas del dimer 5 (Espectro 17) corrobora el pico ion molecular $[M+H]^+$ con una relación $m/z = 681$ para la formula química $C_{43}H_{68}O_6$ con una masa molecular de 680.5016 g/mol con una abundancia pequeña (Espectro 17).

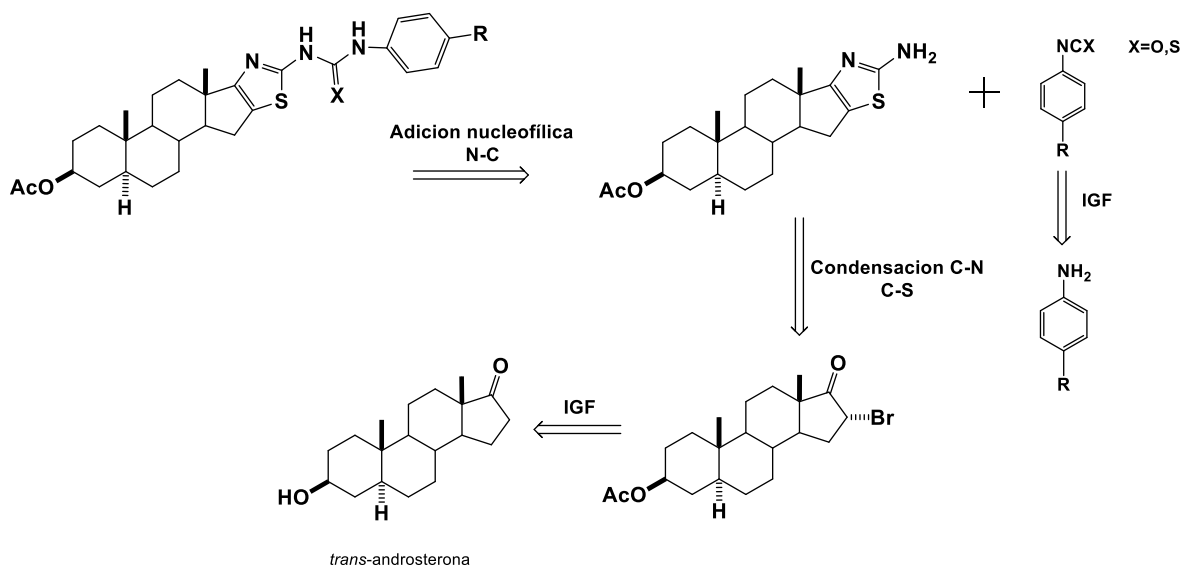


Espectro 17. Espectro de masas para el derivado 5

1.5.2 Síntesis de anillos de tiazolo fusionados al anillo D del esqueleto esteroidal con diferente función ureido y tioureido y como espaciadores de dímeros esteroidales.

La síntesis de estos compuestos fusionados al esqueleto del esteroide se planteó empezando por la modificación de la *trans*-androsterona para la obtención del precursor α -halogenado útil en la reacción de condensación con tiourea y la obtención del correspondiente anillo de tiazol y su posterior acoplamiento con diferentes isotiocianatos e isocianatos arílicos para generar las tiazolo (ureas) tioureas esteroidales correspondientes. Esta estrategia se aplicó en la síntesis de dímeros esteroidales con un heterociclo de tiazolo en su estructura utilizando al grupo ureido como *linker* de una novedosa estructura dimérica derivada de la *trans*-androsterona.

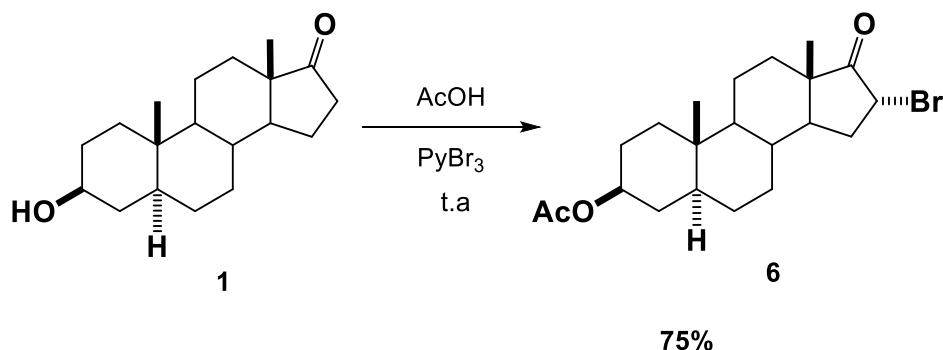
El correspondiente análisis retrosintético de la ruta de síntesis (Esquema 13), muestra la generación de las correspondientes ureas y tioureas mediante el acoplamiento del heterociclo 2-aminotiazol esteroidal con diferentes iso(tio)cianatos arílicos, los cuales fueron sintetizados a partir de anilinas comerciales. El derivado de tiazol, se obtuvo mediante la condensación de tioureas con el compuesto α -bromado previamente sintetizado a partir de la *trans*-androsterona.



Esquema 13. Análisis retrosintético para la generación de derivados heteroesteroidales.

1.5.2.1 Obtención del derivado α -bromado de *trans*-androsterona.

Haciendo uso de la materia de partida **1**, se llevó a cabo una reacción de halogenación en condiciones acidas para generar el compuesto esteroidal α -bromado **6**, el cual es un precursor importante en la síntesis de heterociclos fusionados al esqueleto esteroidal.



Esquema 14. Síntesis del derivado esteroidal α -bromado

Generalmente la síntesis de cetonas α -bromadas se realiza mediante el uso de bromo molecular, el cual es tóxico y difícil de manejar, por lo que se utilizó un nuevo método empleando una sal de bromo como el perbromuro de piridinio (PyBr_3) con el fin de evitar las dificultades antes mencionadas.

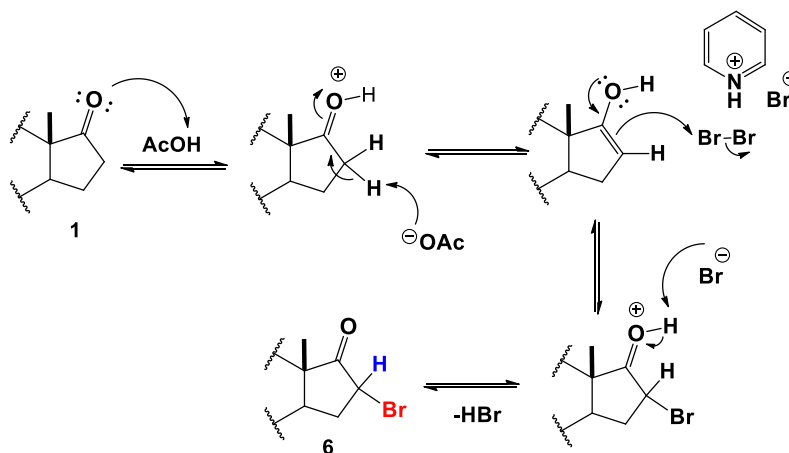
A continuación, se muestran las mejores condiciones encontradas para esta reacción (Tabla 2).

Exp.	AcOH	PyBr ₃	Temperatura	Tiempo	Rendimiento
1	25 eq.	1.5	25°C	8h	40 %
2	25 eq.	1.1	25 °C	3 h	60%
3	25 eq	1.1	35°C	2 h	75 %

Tabla 2. Optimización de la reacción α -halogenación

Si siguiendo el procedimiento descrito en el experimento 1 (Tabla 2) mediante CCF, se encontró la formación de una cantidad importante de subproductos haciendo difícil la separación del producto deseado y disminuyendo el rendimiento del compuesto. Utilizando PyBr_3 en relación 1.1:1 respecto al esteroide este cambio se tradujo en la reducción de los tiempos de reacción y, aumento de rendimiento de hasta un 60% (Exp. 2). Un ligero aumento en la temperatura nos permite disminuir los tiempos de reacción y aumentar el rendimiento del derivado **6** a un 75% (Exp. 3).

El mecanismo de reacción propuesto para la formación del derivado esterooidal **6** se muestra en el esquema 16. En la primera etapa el oxígeno de la cetona en C-17 se protona con el medio ácido presente, una posterior eliminación del protón α al carbonilo da lugar a la formación del enol, posteriormente el ataque nucleofílico por parte del par electrónico del oxígeno del enol a una molécula de PyBr_3 genera la bromación en posición α al carbonilo, finalmente la desprotonación por parte de la cetona en C-17 conduce al derivado **6**.



Esquema 15. Mecanismo propuesto para la formación del derivado **6**

Como se puede apreciar en el esquema anterior, se ha generado un centro estereogénico en C-16 que podría dar origen a los dos epímeros de configuración *R* o *S* en dicho carbono. Sin embargo, debido a que el metilo 19 tiene efecto estérico con el átomo de bromo, además de que el grupo carbonilo en C-17 ejerce cierta repulsión electrónica en la formación del esteroisomero 16*S*, por lo que se propone que el derivado α -halogenado **6** presenta una configuración *R* en C-16 (Figura 20).

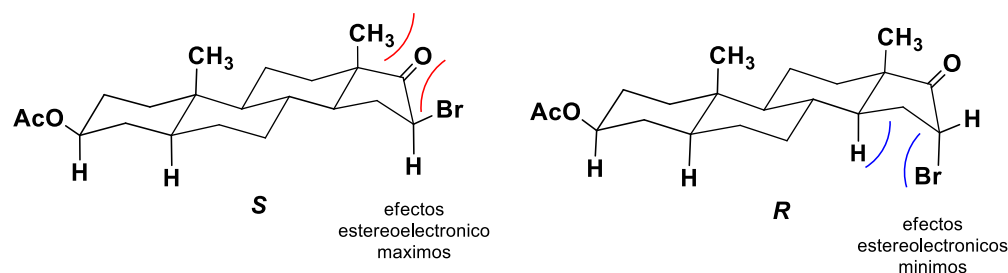


Figura 20. Posible estereoquímica de C-16

Se lograron obtener cristales adecuados para el estudio por difracción de rayos X del derivado **6**, el análisis por esta técnica nos permite confirmar la configuración *R* del centro estereogénico en C-16 (Figura 21), generando una estructura donde el átomo de bromo y el metilo C-18 son opuestos entre sí. Se muestran algunas distancias de enlace, por ejemplo, el enlace sencillo entre C-3 y el átomo de oxígeno de tipo éster con una distancia de enlace de 1.458 Å que difiere significativamente de los enlaces que presentan carácter de enlace simple. Así mismo, la longitud del enlace del grupo carbonilo de cetona (C=O) de 1.209 Å, es característica de un enlace con hibridación sp^2 . Cabe mencionar la longitud de enlace entre C-16 y el átomo de bromo de 1.942 Å, característico para este tipo de enlace. El enlace entre C-16 y C-17 no se ve afectado por la presencia de dos grupos electroattractores (Br y C=O), al mantener una distancia de enlace de 1.539 Å propio de un enlace sencillo carbono-carbono.

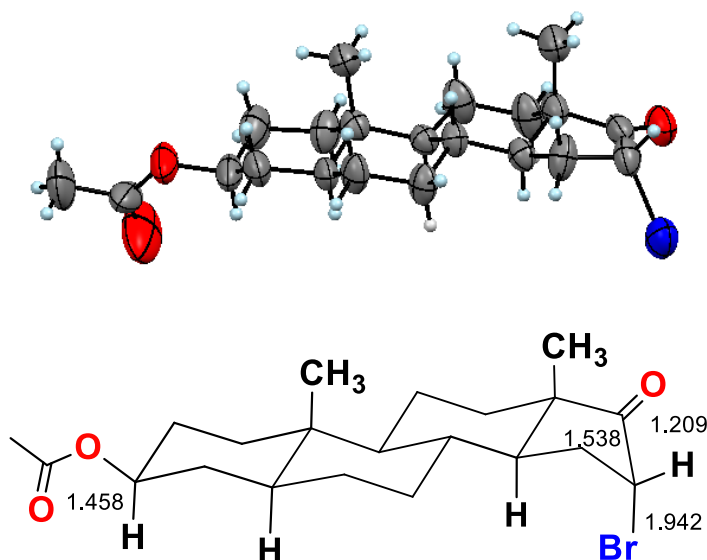


Figura 21. Diagrama ORTEP del derivado **2** y algunos valores de distancia de enlace.

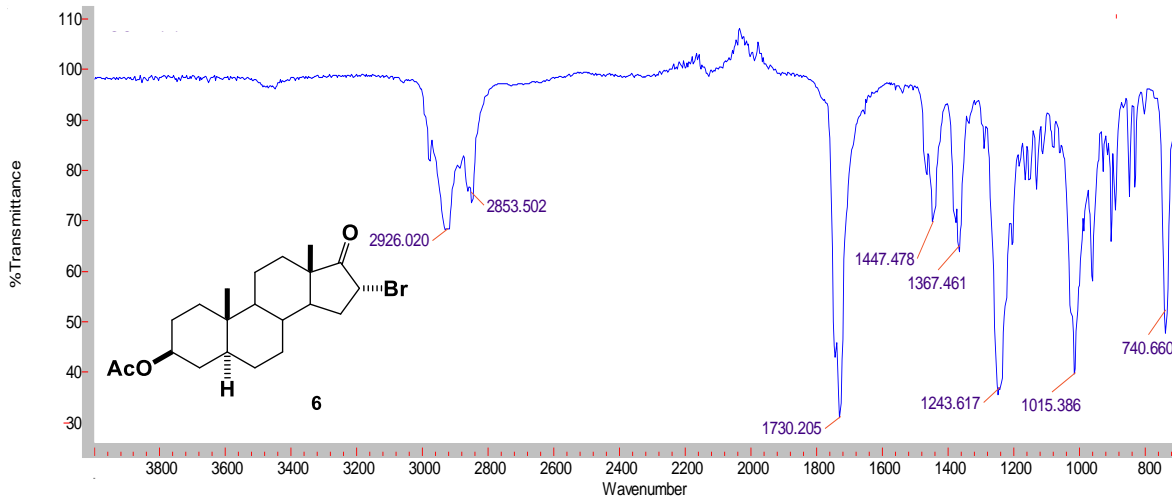
Datos cristalográficos y refinamiento de la estructura

Formula	$C_{21}H_{31}BrO_3$
Peso de la formula	411.37
Temperatura	295(2) K
Longitud de onda	0.56083 Å
Sistema cristalino	Monoclínico

Grupo espacial	P2 ₁	
Dimensiones de celda unidad	a = 10.1100(7) Å	α = 90°
	b = 7.2791(4) Å	β = 101.589(6)°
	c = 13.9807(11) Å	γ = 90°
Volumen	1007.89(12) Å ³	
Z	2	
Densidad (calculado)	1.355 g/cm ³	
Coeficiente de absorción	1.107 mm ⁻¹	
Factor-R (%)	4.32	

El derivado **6** fue lo suficientemente estable para poder ser caracterizado por IR, RMN y espectrometría de masas. A continuación, se muestran los datos más importantes.

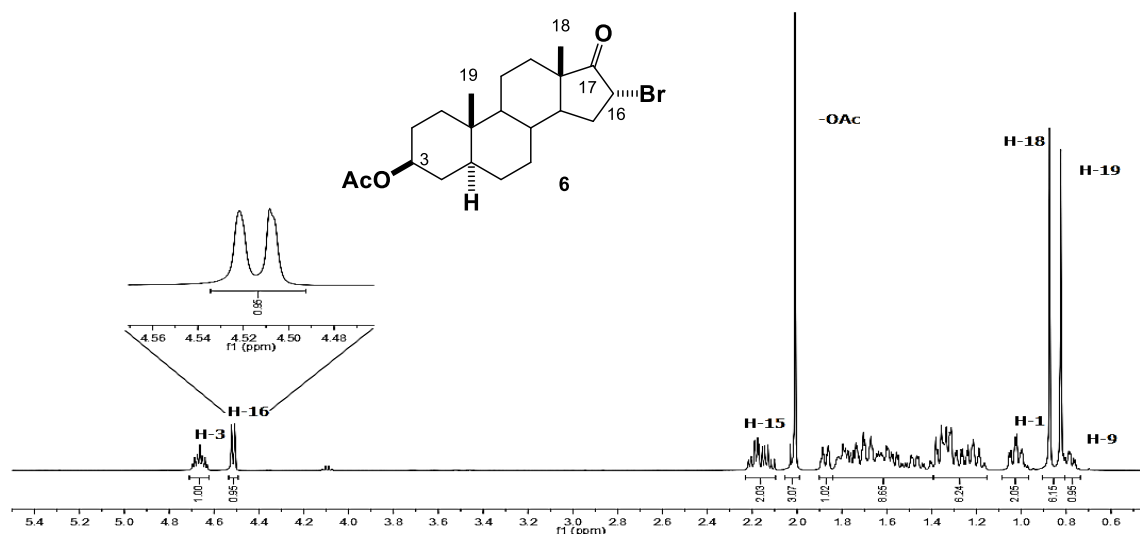
El espectro IR del derivado **6** muestra una banda intensa y angosta en 1730 cm⁻¹ correspondiente al estiramiento del enlace C=O del carbonilo de cetona en C-17 y éster en C-3. Dos señales en 1243 cm⁻¹ y 1015 cm⁻¹ características de las vibraciones de tensión del enlace C-O, una señal en 740 cm⁻¹ correspondiente a las vibraciones de tensión del enlace C-Br (Espectro 18).



Espectro 18. IR del derivado α -halogenado **6**

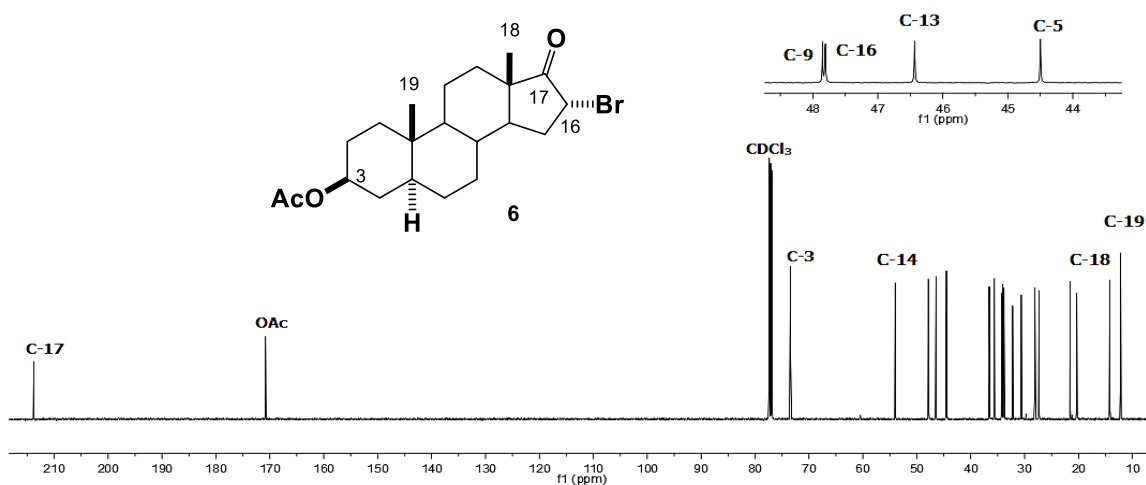
De acuerdo con el experimento de RMN de ¹H (Espectro 19), se observa una señal doble en 4.52 ppm correspondiente a H-16, este desplazamiento se aprecia a frecuencias mayores respecto a la materia prima se debe al efecto de desprotección generado por el átomo de bromo. Por último, se aprecia una señal

simple en 1.99 ppm correspondiente a los protones del grupo acetato en posición C-3.



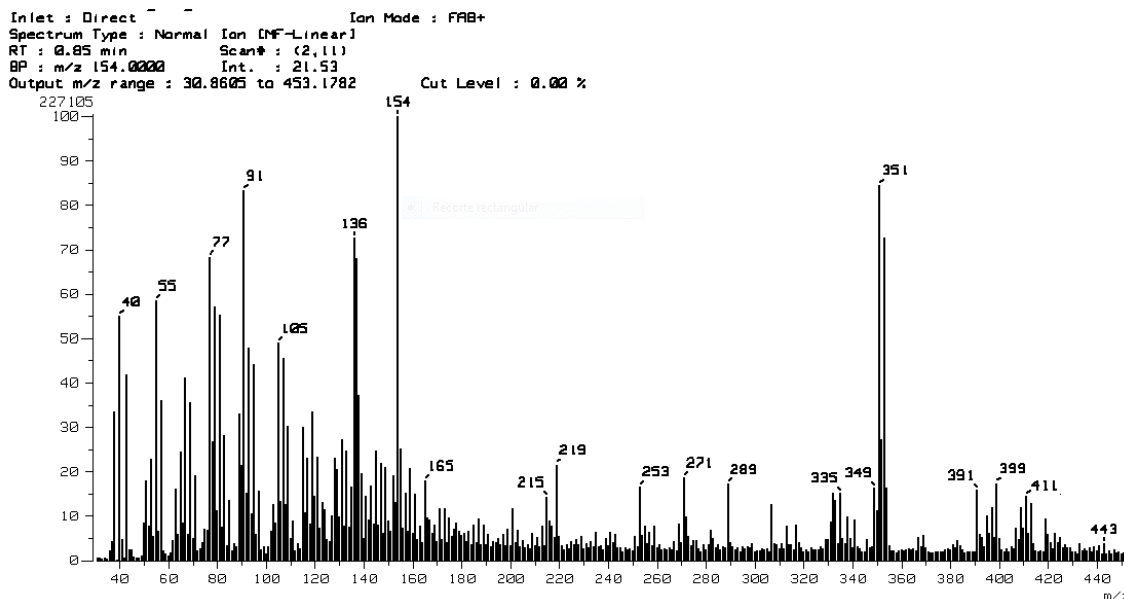
Espectro 19. RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del derivado **6**

En el experimento de ^{13}C (Espectro 20), muestra dos señales en la región del grupo carbonilo, siendo en 213.4 ppm, el carbono de cetona C-17, posteriormente se observa en 170,7 ppm el carbono de carbonilo del grupo acetato, en 73.4 ppm la señal correspondiente al carbono base oxígeno C-3 y en 47.8 ppm. La señal correspondiente a C-16 se ha desplazado a frecuencias más altas con respecto a la materia de partida (de 36.0 a 47.8 ppm) debido al efecto electrotractor del bromo.



Espectro 20. RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del derivado **6**

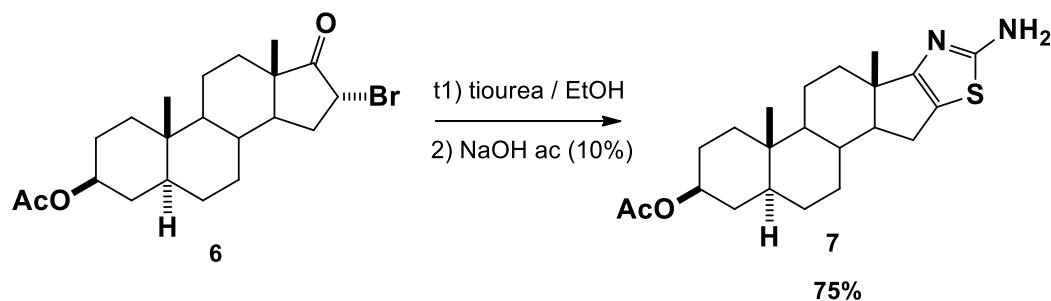
El experimento de masas del derivado **6** (Espectro 21) corrobora el pico ion molecular M^+ con una relación $m/z = 411$ para la formula química $C_{21}H_{31}BrO_3$ con una masa molecular de 411.17 g/mol.



Espectro 21. Espectro de masas para el derivado **6**

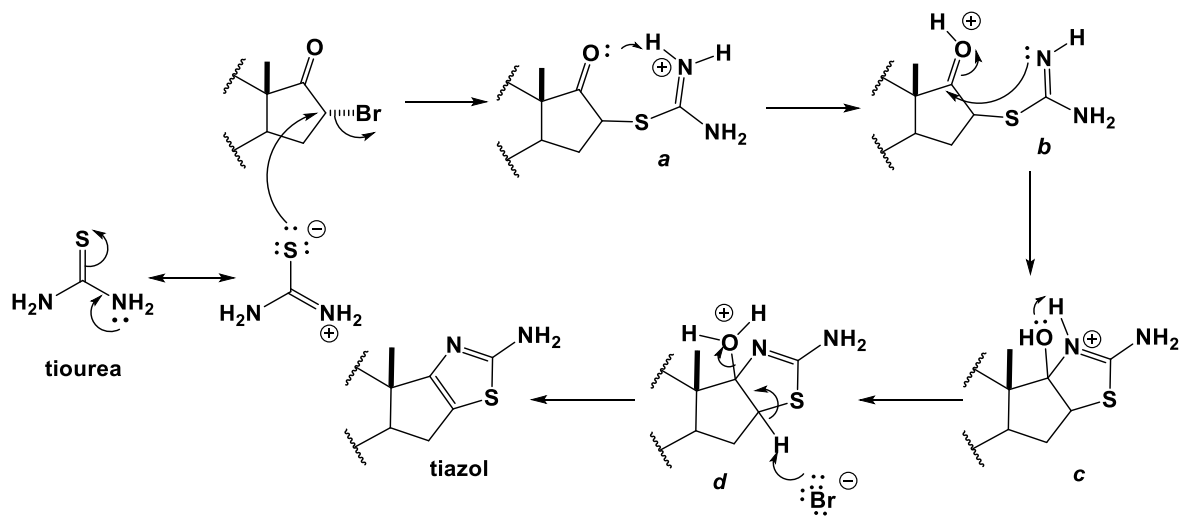
1.5.2.2 Obtención del anillo de tiazol fusionado al esqueleto esteroidal.

Se llevó a cabo la condensación del derivado bromado **6** con tiourea, para generar el correspondiente 2-aminotiazol esteroidal, utilizando las condiciones descritas a continuación. (Esquema 16).



Esquema 16. Síntesis del derivado 2-aminotiazol **7**

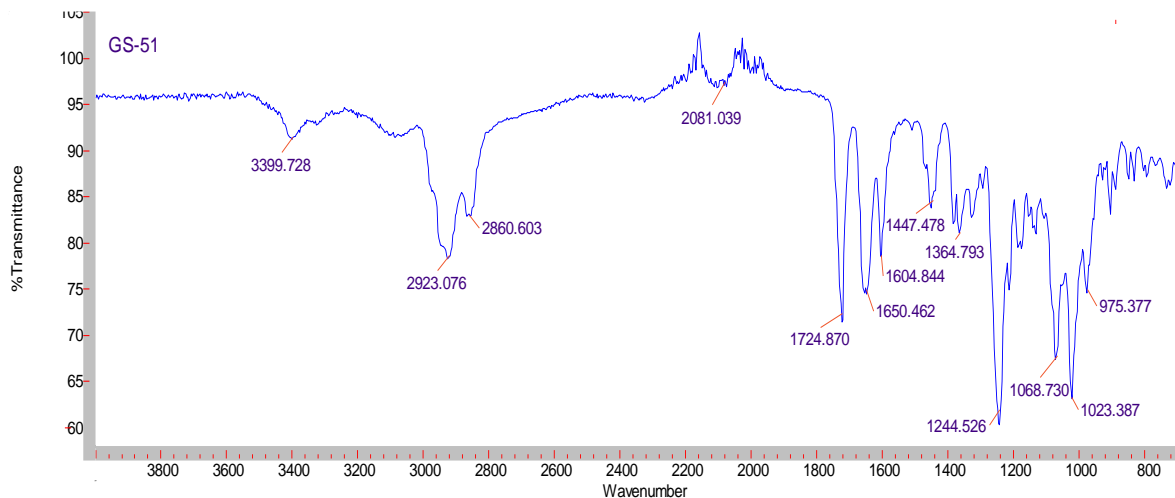
El mecanismo propuesto de formación de **7** se muestra en el esquema 17.



Esquema 17. Mecanismo propuesto para la formación del derivado **7**

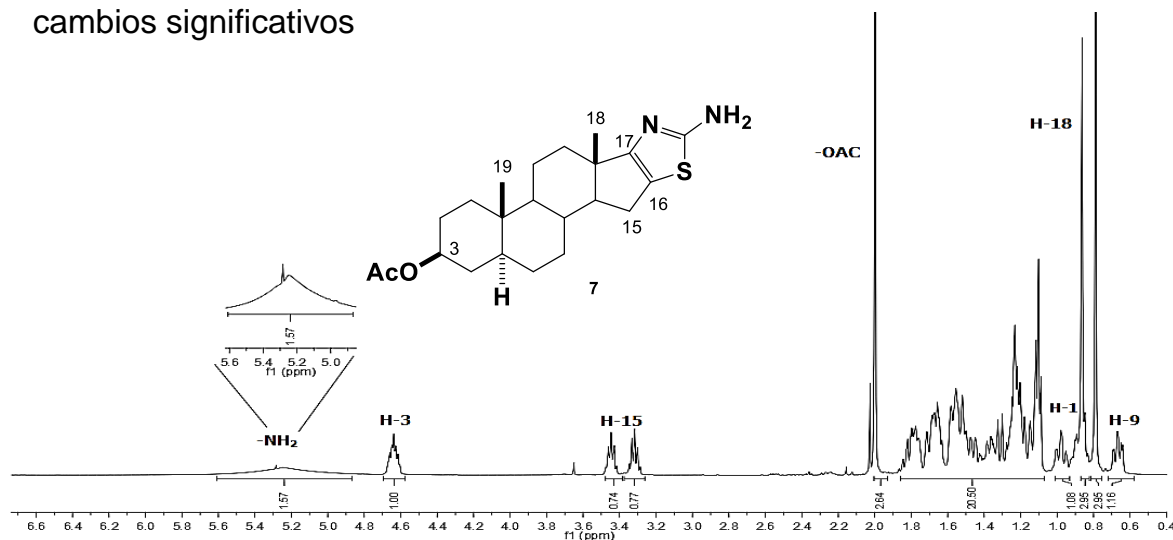
Comienza con el desplazamiento nucleofílico del átomo de bromo unido al carbono C-16 del esteroide generando el intermediario **(a)**, el cual es desprotonado por una reacción ácido-base para producir **(b)**. El ataque nucleofílico por parte del nitrógeno hacia el átomo de carbono del carbonilo provoca la ciclación intramolecular **(c)** generando un anillo de 5 miembros, nuevamente una reacción ácido-base provoca que se elimine agua **(d)** y por consecuencia la formación del anillo de tiazol fusionado al anillo D del esqueleto esteroide.

El espectro de IR (Espectro 22), muestra una banda débil en 3399 cm^{-1} debida a la vibración de tensión del enlace N-H, una banda intensa y aguda en 1724 cm^{-1} característica de la vibración de tensión del enlace C=O del grupo acetato en C-3. Desplazado a menor número de onda, se observa en 1650 cm^{-1} una señal común para la vibración C=C del anillo de tiazol. En 1604 cm^{-1} se aprecia una banda de menor intensidad correspondiente a la vibración de tensión del enlace C=N, la señal correspondiente a las vibraciones de tensión del enlace C-N se observan en 1244 cm^{-1} . En la misma región, alrededor de 1068 cm^{-1} se encuentra la vibración atribuible al enlace sencillo C-O. Una banda de baja intensidad atribuible al enlace C-S en 975 cm^{-1} .



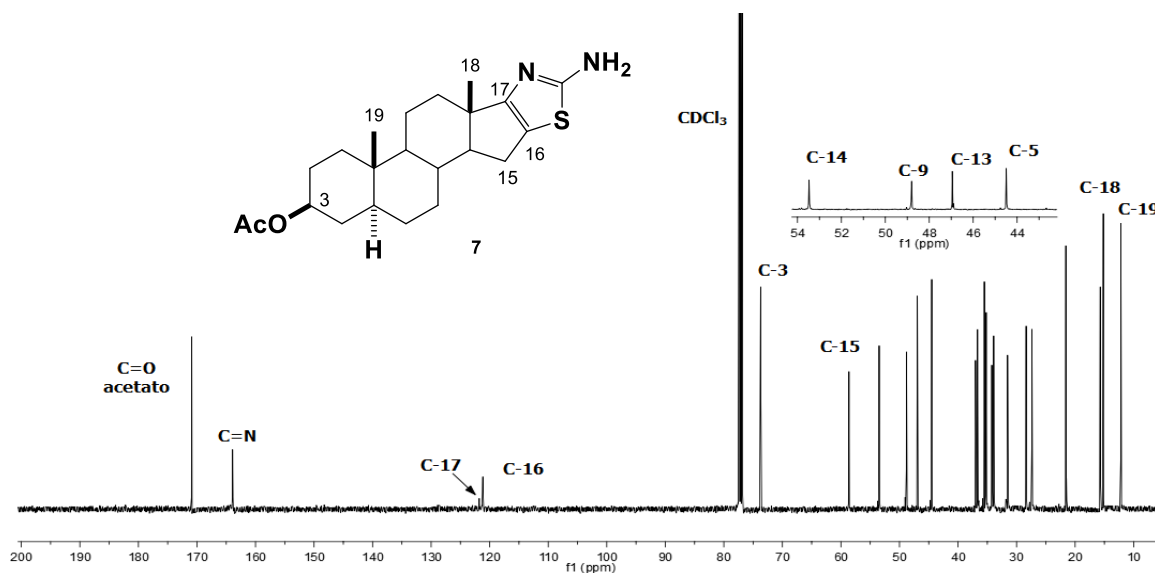
Espectro 22. IR correspondiente al heteroesteroid 7

El experimento de RMN de ^1H (Espectro 23), confirma la formación del producto, a frecuencias altas se observa en 5.27 ppm una señal simple y ancha correspondientes al grupo $-\text{NH}_2$, señal característica del fragmento amino. La ausencia de la señal de H-16 indica la condensación y posterior ciclación de la tiourea permitiendo obtener el anillo de tiazol fusionado entre las posiciones C-16 y C-17. Finalmente, las señales correspondientes a los protones diastereotópicos H-15 se han desplazado a frecuencias altas con respecto a la materia de partida (2.3 a 3.43 y 3.33 ppm). Las señales restantes no sufren cambios significativos



Espectro 23. RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del derivado 7

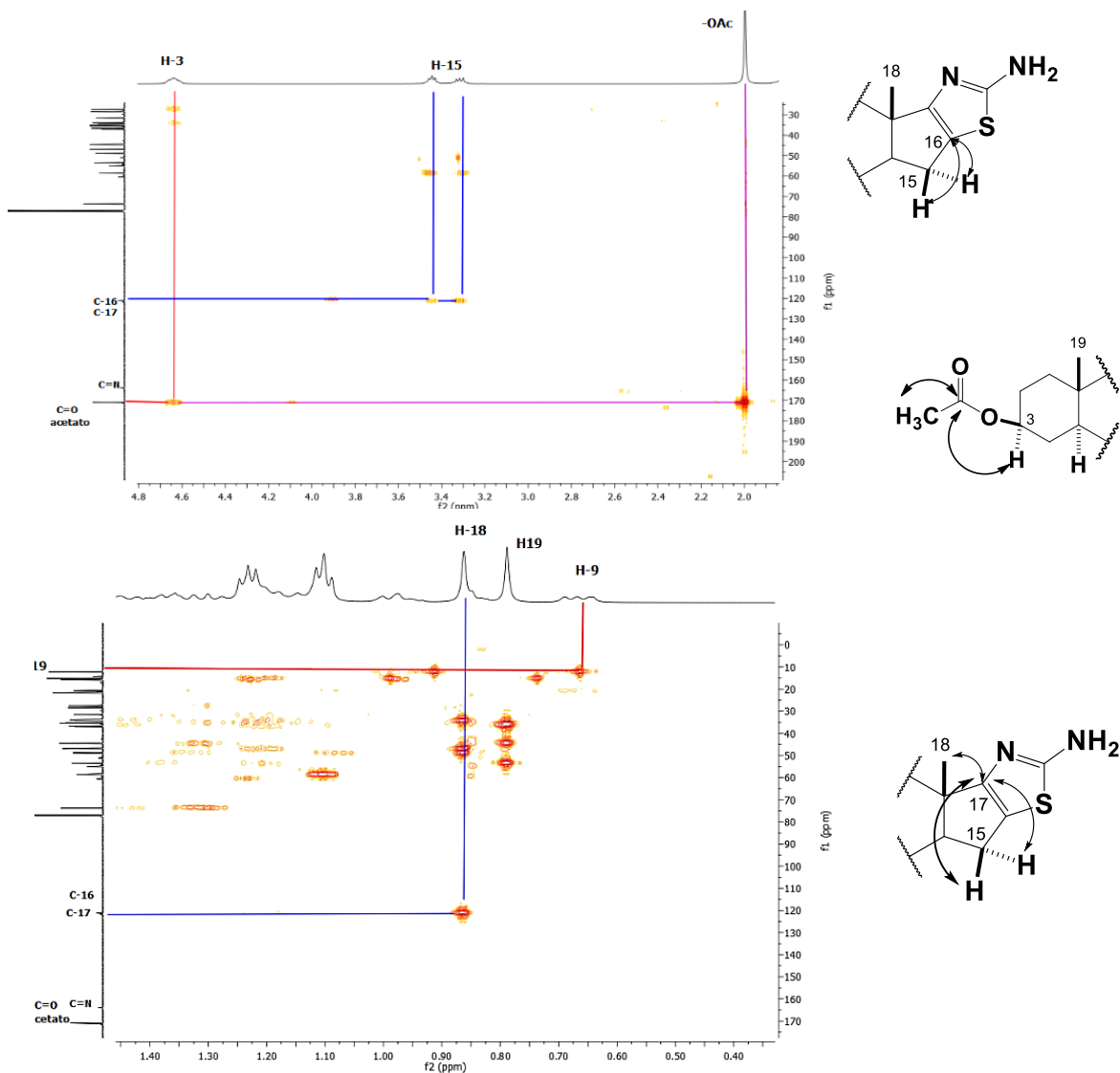
En el experimento de ^{13}C (Espectro 24), muestra en la región del grupo carbonilo, una señal correspondiente al carbonilo del grupo acetato en C-3 en 170.9 ppm y otra señal correspondiente al fragmento tipo imina ($\text{C}=\text{N}$) en 153.8 ppm imino del anillo de tiazol. En frecuencias menores se observa las señales correspondientes a C-17 y C-16 (121.8 y 121.1 ppm respectivamente), los cuales ahora forman parte del sistema heterocíclico de tiazol. Posteriormente, se observa la señal de C-3 en 77.2 ppm, y un desplazamiento a frecuencias mayores de C-15 (30.7 a 58.5 ppm), provocado por el efecto de desprotección del heterociclo formado.



Espectro 24. RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del derivado **7**

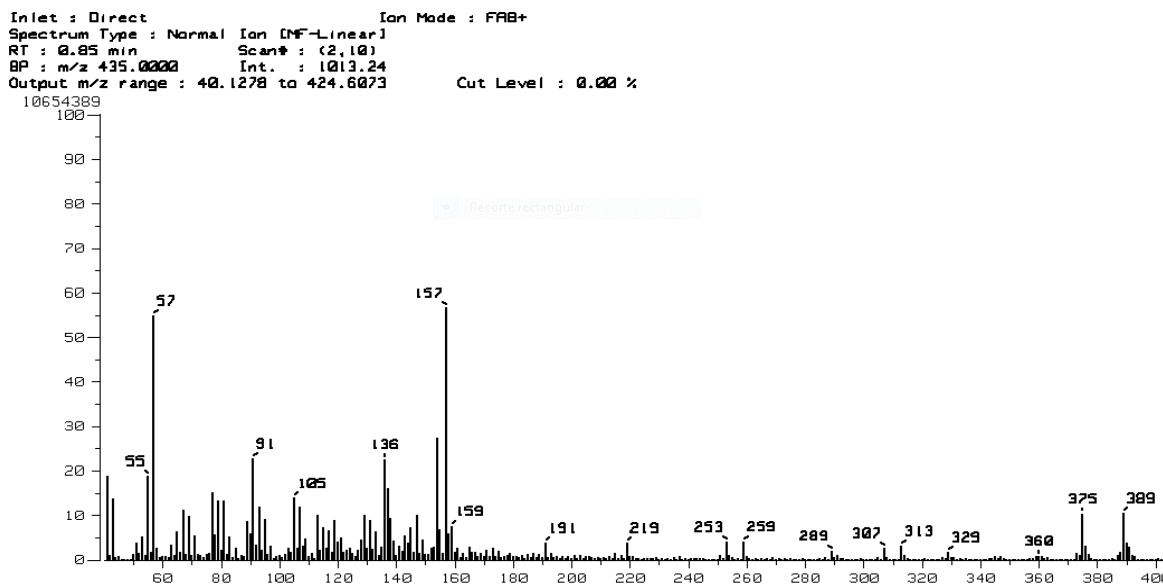
El experimento de HMBC (Espectro 25) del derivado **7** permite apreciar el acoplamiento C-H a dos enlaces entre C-16 y los protones H-15, también es posible observar las correlaciones C-H a tres enlaces entre los protones H-18 del grupo metilo y C-17, el acoplamiento C-H a tres enlaces entre C-17 y los protones H-15 también fue detectado mediante este experimento.

Por último, destacan las correlaciones a tres enlaces de H-3 con el carbonilo del grupo acetato ($\text{C}=\text{O}$) y la correlación a dos enlaces de este último con los hidrógenos del mismo grupo.



Espectro 25. Experimento HMBC del derivado 7

El experimento de masas del derivado 7 (Espectro 26) corrobora el pico ion molecular $[M+H]^+$ con una relación $m/z = 389$ para la formula química $C_{22}H_{32}N_2O_2S$ con una masa molecular de 388.21 g/mol.



Espectro 26. Espectro de masas para el derivado 7

1.5.3 Obtención del fragmento precursor de la función urea y tiourea.

Se llevó a cabo la síntesis de diversos isotiocianatos e isocianatos a partir de materias primas comerciales; anilinas sustituidas en C-4 (Figura 20).

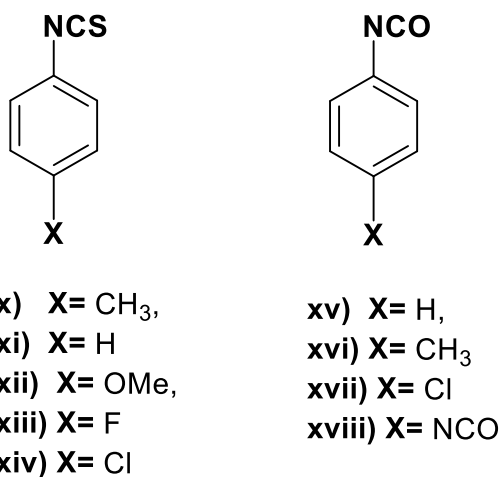
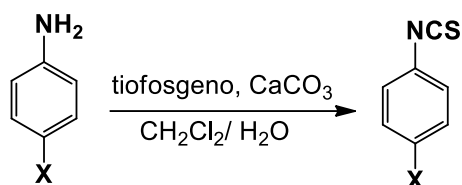


Figura 20. Iso(tio)cianatos utilizados en la síntesis de ureas y tioureas tiazolo esteroidales

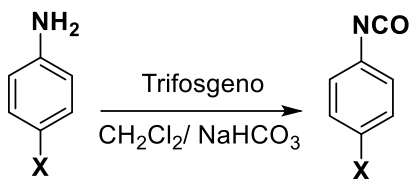
Inicialmente se prepararon los isotiocianatos aromáticos partiendo de las correspondientes anilinas obteniendo los productos con rendimientos cuantitativos (Esquema 18)



- i) X= CH₃
- ii) X= H
- iii) X= OMe,
- iv) X= F
- v) X= Cl

Esquema 18. Síntesis de isotiocianatos aromáticos

Posteriormente se sintetizaron los isocianatos derivados de la anilina (vi), *p*-toluidina (vii), *p*-cloroanilina (viii) y *p*-fenilendiamina (ix), usando la metodología reportada por Lopez y colaboradores⁷³ donde utilizando trifosgeno y un medio bifásico de reacción permite la obtención de los correspondientes isocianatos. (Esquema 19)



- vi) X= H,
- vii) X= CH₃
- viii) X= Cl
- ix) X= NH₂

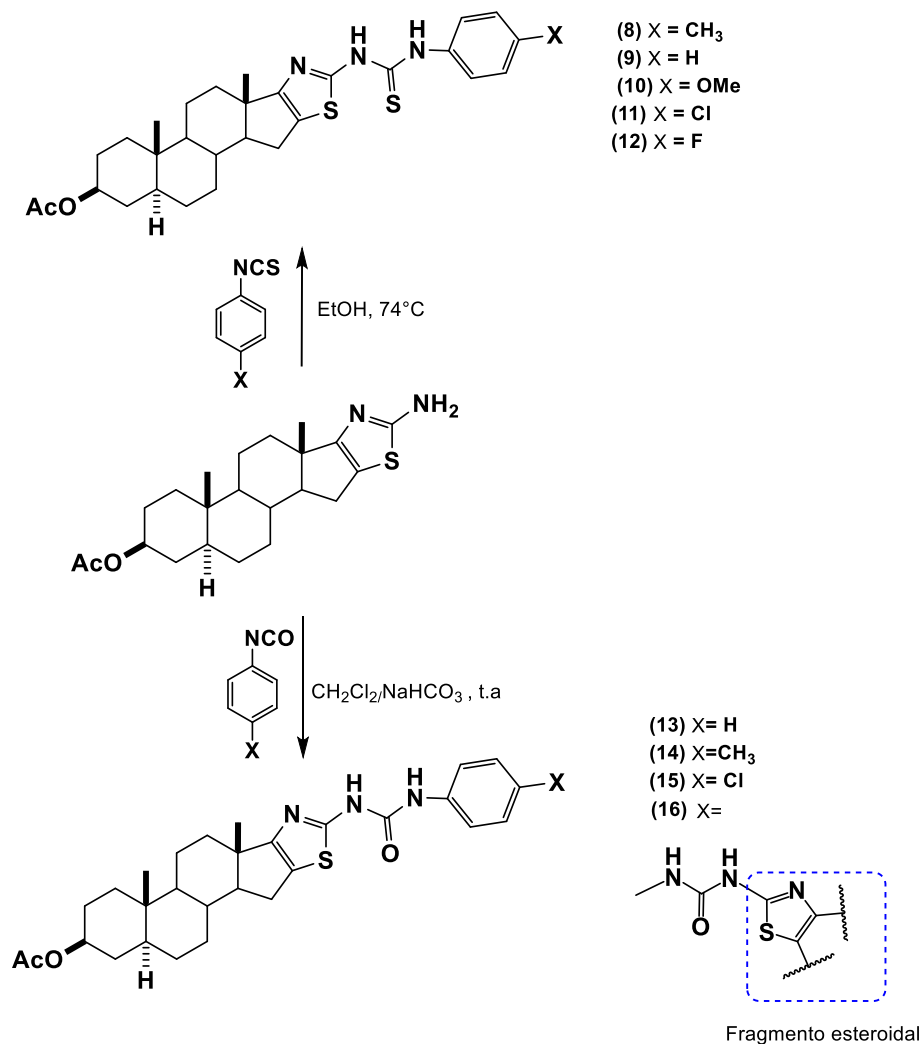
Esquema 19. Síntesis de isocianatos aromáticos

Es importante mencionar que los isocianatos preparados no son estables, por lo que son utilizados sin previa purificación e *in situ*, en la obtención ureas tiazoloesteroidales.

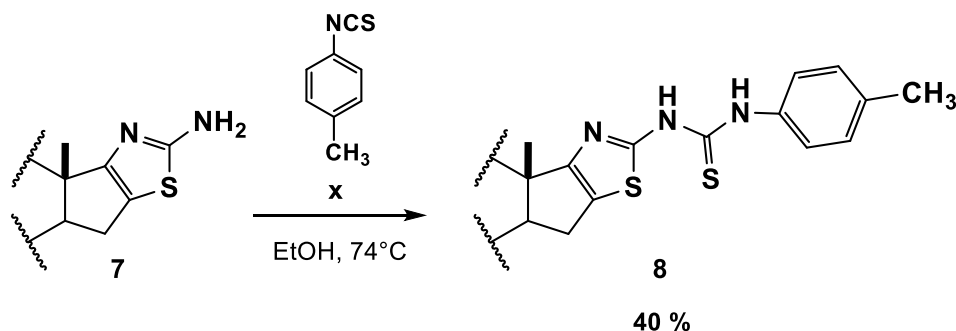
72. Lopez, O.; Maza, S.; Maya, I.; Fuentes, J.; Fernández-Bolaños, J.G. **2005.** *Tetrahedron*, 61, 9058-9069.

1.5.4 Acoplamiento del sistema heteroesteroidal y el fragmento derivado de iso(tio)cianato.

Se llevó a cabo el acoplamiento del 2-aminotiazolo **7** con los diferentes iso(tio) cianatos obtenidos previamente para generar las correspondientes tioureas y ureas esteroidales utilizando las condiciones descritas a continuación. (Esquema 20)

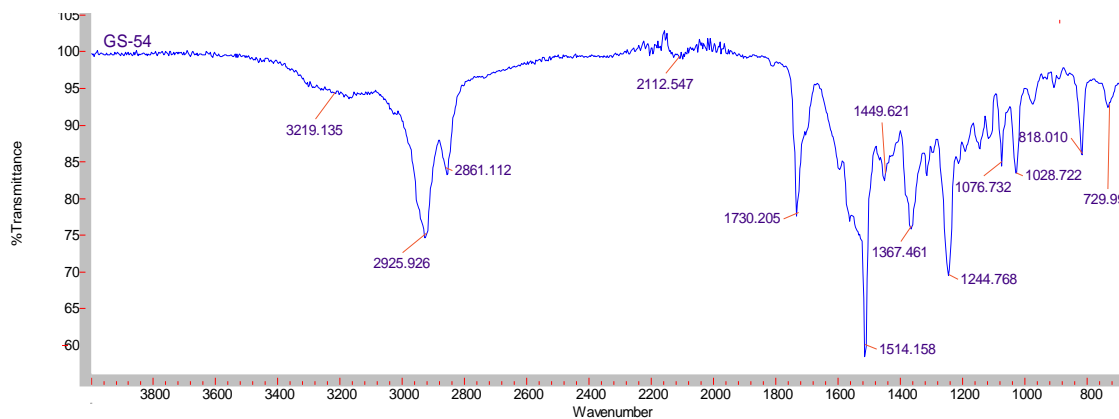


Esquema 20. Síntesis de tiazoloureas y tioureas esteroidales

1.5.4.1 Obtención de la tiazolotiurea de *p*-tolilo esteroidal (8)**Esquema 21. Síntesis de tiazolotiurea esteroidal**

La reacción de acoplamiento entre el derivado **7** y el *p*-tolil isotiocianato (i), se llevó a cabo de manera satisfactoria, generando la tiazolotiurea **8** como un producto mayoritario sin consumo total de materia prima, a pesar de que **x** se añadió con un exceso molar. El compuesto **8** fue caracterizado por técnicas espectroscópicas de RMN e IR

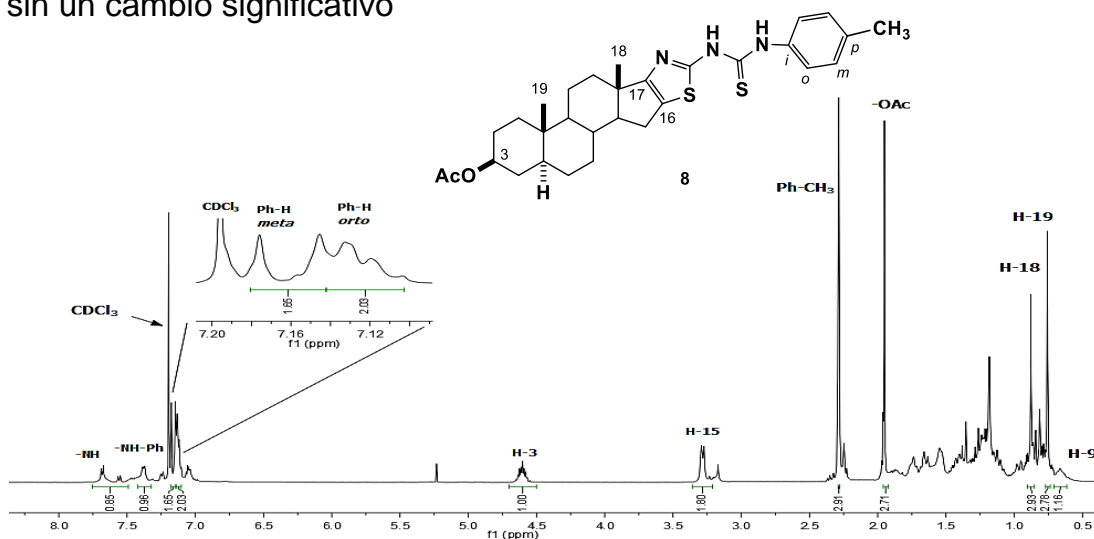
El espectro de IR (Espectro 27) muestra una banda débil en 3219 cm^{-1} debida a la vibración de tensión del enlace N-H, una banda intensa y aguda en 1730 cm^{-1} característica de la vibración de tensión del enlace C=O del grupo acetato en C-3 y desplazado a menor número de onda en 1514 cm^{-1} se aprecia una banda intensa correspondiente a la vibración C=N, cabe mencionar que en la región de $2650\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$ podría aparecer la banda característica del tiol (C-S-H) y no de la forma tiona (C=S), sin embargo, la ausencia de esta banda fácilmente visible confirma la existencia de la forma tiona C=S. En 1244 cm^{-1} se observan las vibraciones de tensión del enlace C-N. En la misma región, alrededor de 1076 cm^{-1} se encuentra la vibración atribuible al enlace sencillo C-O. Una banda de flexión fuera del plano perteneciente al sistema =C-H de baja intensidad en 818 cm^{-1} características de un anillo aromático *para*-sustituido, no es posible observar los sobretonos del sistema aromático en la región de $1800\text{-}1650\text{ cm}^{-1}$.



Espectro 27. IR correspondiente a la tiazolotiurea esteroidal **8**

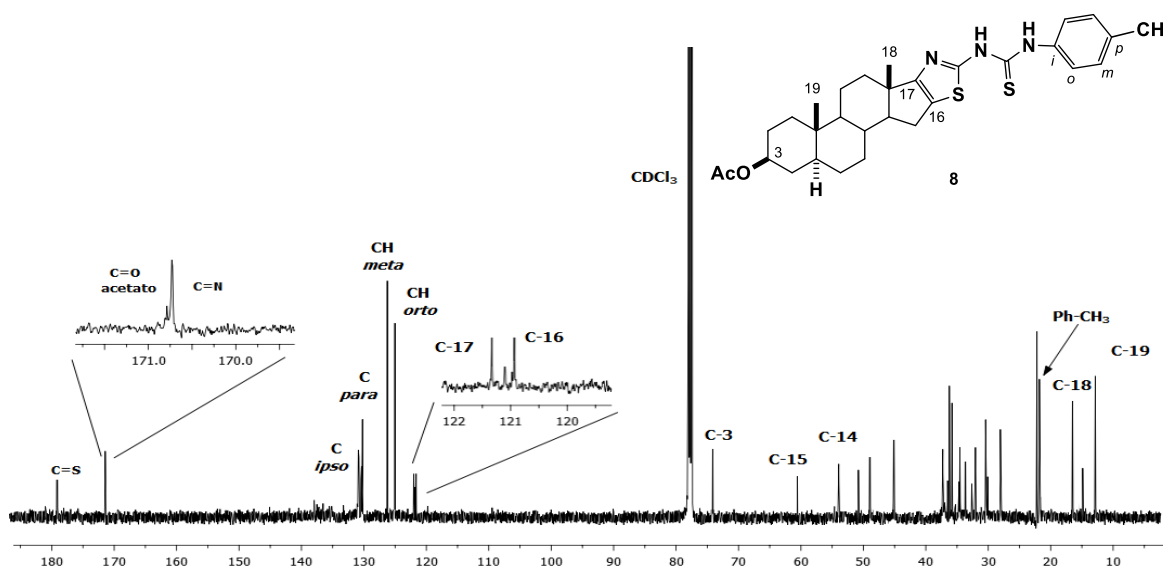
El espectro de RMN de ^1H (Espectro 28) de **8** muestra a frecuencias altas 7.67 y 7.38 ppm los hidrógenos correspondientes a los grupos N-H característicos del fragmento tiourea. Estos dos grupos pudieron ser distinguidos con base al experimento de dos dimensiones de (HMBC).

La región aromática del espectro muestra dos señales importantes, una de ellas se aprecia en 7.17 ppm como una señal múltiple que corresponde a los hidrógenos equivalentes de la posición *meta* del anillo aromático, a frecuencias menores es visible una señal en 7.11 ppm y que integra para dos hidrógenos la cual pertenece a los hidrógenos *orto*. A frecuencias menores se puede observar las señales de H-3 y H-15 en 4.63 y 3.27 ppm respectivamente. Resaltar la presencia de una señal simple en 2.28 ppm la cual integra para tres hidrógenos y que corresponde al grupo metilo unido a la posición *para* del anillo aromático. Las señales restantes que corresponden al esqueleto del esteroide permanecen sin un cambio significativo



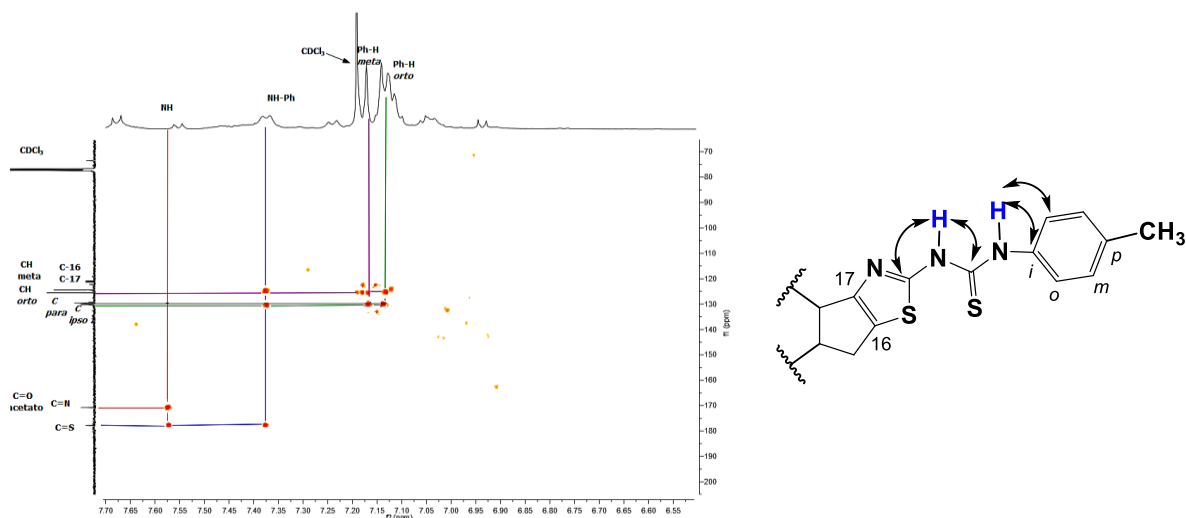
Espectro 28. RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del derivado **8**

En el experimento de RMN de ^{13}C (Espectro 29) del compuesto **8** se puede observar en la región de altas frecuencias una señal que corresponde al grupo tiocarbonil ($\text{C}=\text{S}$) de la nueva función tiourea en 177.9 ppm, así también es posible apreciar dos señales que se traslapan en 170.9 y 170.7 ppm correspondiente al carbonilo del grupo acetato en C-3 y otra debida al grupo $\text{C}=\text{N}$ del anillo de tiazol. En seguida se observan las señales debidas a los carbonos del grupo fenilo, el carbono C_{ipso} se aprecia en 130.3 ppm, a su vez el carbono C_{para} es visible en 129.5 ppm, los carbonos metínicos C_{meta} y C_{orto} se observan como dos señales intensas en 125.5 y 124.4 ppm respectivamente, los carbonos C-17 y C-16 los cuales forman parte del sistema heterocíclico muestran señales en 121.3 y 120.9 ppm respectivamente. El grupo metilo unido a la posición *para* del anillo aromático se aprecia en 21.1 ppm. Las señales restantes que corresponden al núcleo esteroidal se mantienen sin cambios significativos



Espectro 29. RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del derivado **8**

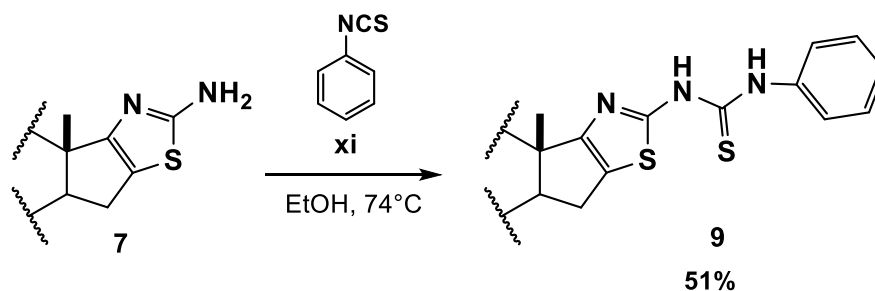
El experimento de HMBC (Espectro 30), permitió distinguir entre los grupos $-\text{NH}$, se puede observar el acoplamiento del carbono del grupo $\text{C}=\text{N}$ a dos enlaces con el hidrógeno del grupo NH enlazado al anillo de tiazol desplazado a mayores frecuencias, por otro lado, el acoplamiento entre el carbono C_{ipso} y el $-\text{NH}$ unido al anillo aromático, Destacar que ambos hidrógenos de los grupos $-\text{NH}$ muestran correlación a dos enlaces con el carbono del grupo $\text{C}=\text{S}$. También es posible observar los acoplamientos a dos y tres enlaces entre los hidrógenos H_{orto} y H_{meta} con los carbonos C_{ipso} y C_{para}



Espectro 30. Región expandida del experimento HMBC del derivado esteroidal **8**

1.5.4.2 Obtención de la tiazolotiurea de fenilo esteroidal (**9**)

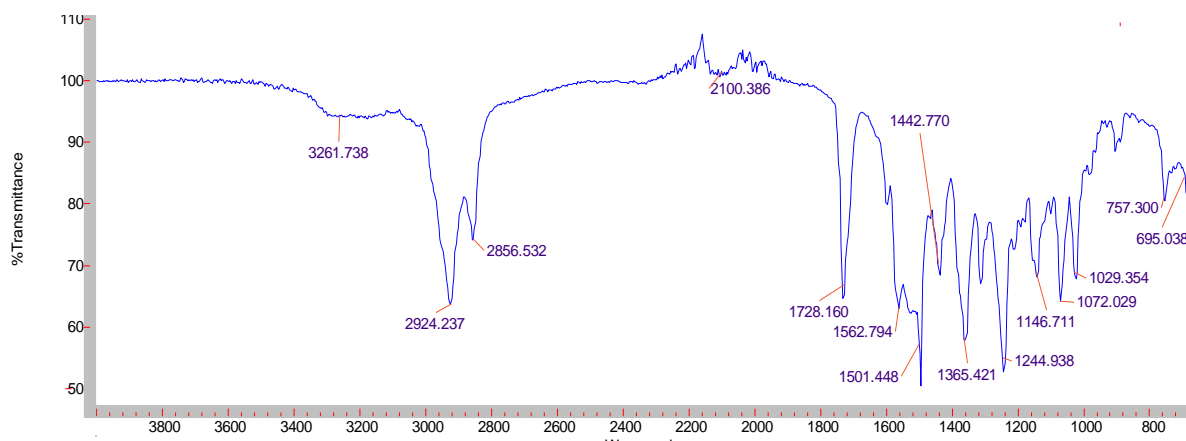
El acoplamiento entre el heteroesteroide **7** y el isotiocianato **xi** condujo a la obtención de la tiazolotiurea **9** como producto mayoritario con un rendimiento del 51% (Esquema 22).



Esquema 22. Síntesis del derivado heteroesteroidal **9**

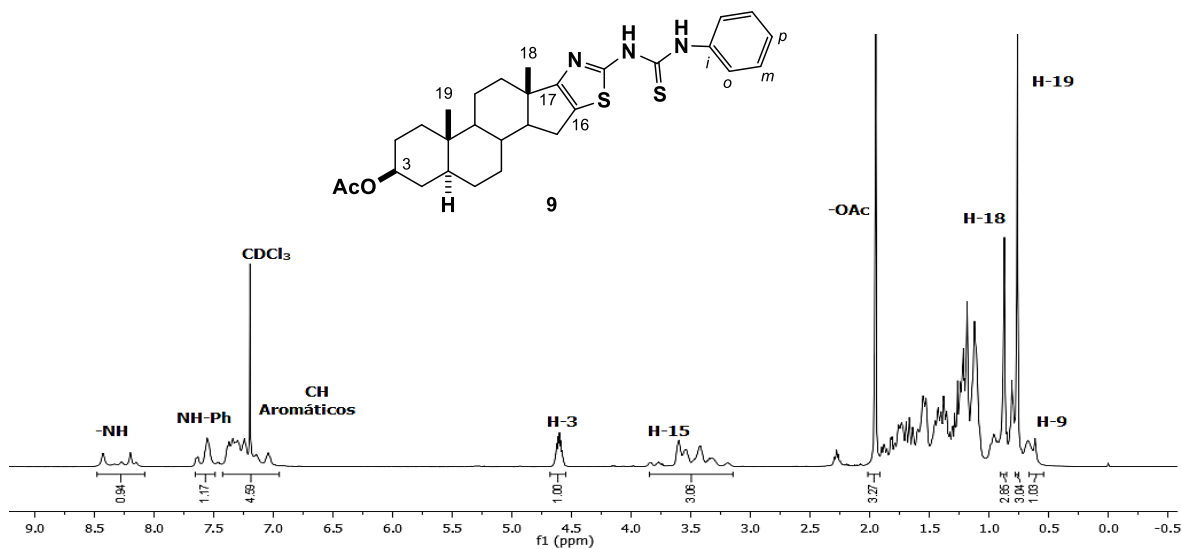
El espectro de IR (Espectro 31) muestra una banda débil en 3261 cm^{-1} la cual corresponde a la vibración de tensión del enlace N-H, una banda intensa y aguda en 1728 cm^{-1} característica de la vibración de tensión del enlace C=O del grupo acetato en posición C-3, a menor número de onda se aprecian dos bandas intensas solapadas en 1560 y 1501 cm^{-1} correspondientes a las vibraciones de enlace C=N y C=C respectivamente. En 1244 cm^{-1} se observan las vibraciones de tensión del enlace C-N. En la misma región, alrededor de 1072 cm^{-1} se

encuentra la vibración atribuible al enlace sencillo C-O. Dos bandas de flexión fuera del plano perteneciente al sistema =C-H de baja intensidad en 757 y 695 cm^{-1} características de un anillo aromático mono sustituido.



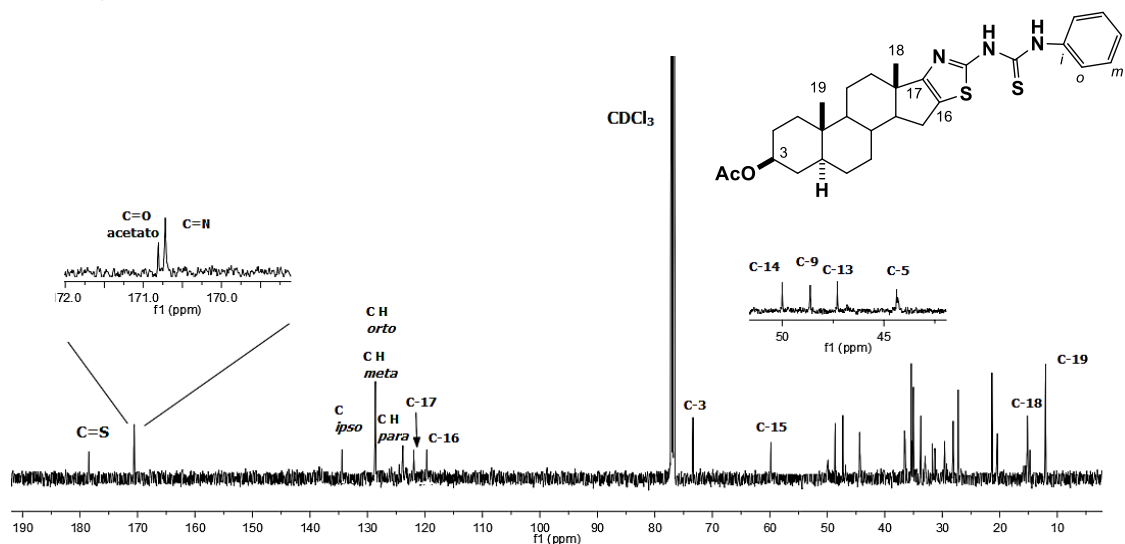
Espectro 31. IR correspondiente a la tiazolotiurea esteroidal **9**

El producto fue confirmado por RMN de ^1H (Espectro 32) donde se aprecia a frecuencias altas 8.36 y 7.62 ppm los hidrógenos correspondientes a los grupos N-H del fragmento tiurea. Una señal múltiple en 7.32 ppm que corresponde a los hidrógenos del sistema aromático la cual integra para cinco hidrógenos. También se presentan ligeros cambios en los desplazamientos de las señales de H-3 y H-15 pero concuerdan cuando se comparan con el tiazol **7**. Las señales restantes permanecen sin un cambio significativo.



Espectro 32. RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del derivado **9**

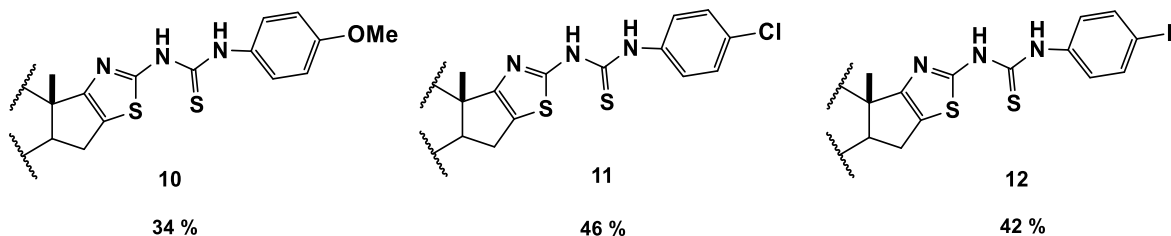
El experimento de RMN de ^{13}C (Espectro 33) muestra en la región de los carbonilos una señal que corresponde al grupo (C=S) de la función tiourea en 178.6 ppm, dos señales en 170.7 y 170.6 ppm correspondiente al carbonilo del grupo acetato en C-3 y otra debida al grupo C=N del anillo de tiazol. En seguida se observan las señales debidas a los carbonos aromáticos, el carbono C_{ipso} se aprecia en 134.0 ppm, mientras que los carbonos metínicos C_{meta} y C_{orto} se desplazan a frecuencias menores como una señal intensa y traslapada en 128.7 ppm, el carbono C_{para} se observa en 123.6 ppm, C-17 y C-16 muestran señales en 122.0 y 119.3 ppm respectivamente.



Espectro 33. RMN de ^{13}C (500 MHz, CDCl_3) del derivado **9**

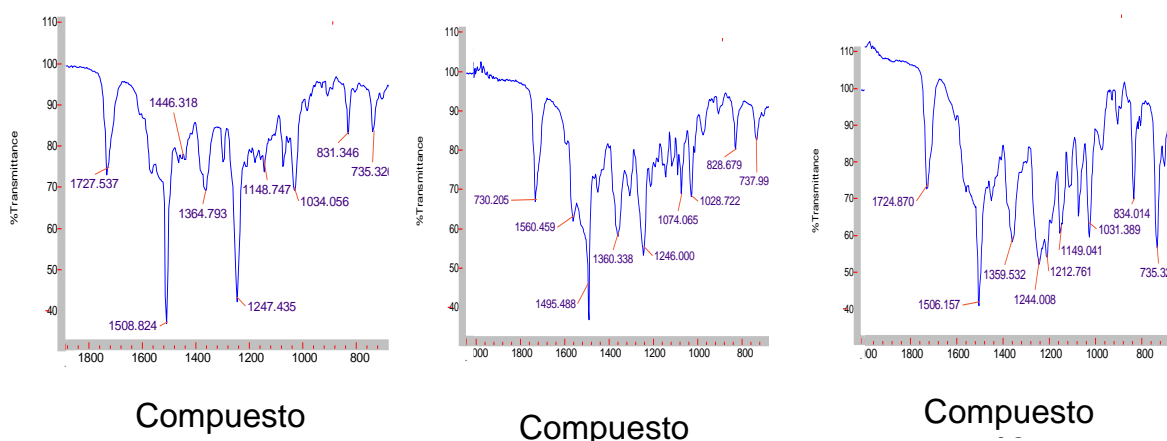
1.5.4.3 Obtención de las tiazolotioureas esteroidales (**10-12**)

La síntesis de los derivados **10**, **11**, **12** se llevó a cabo mediante la metodología antes descrita con rendimientos moderados. (Esquema 23)



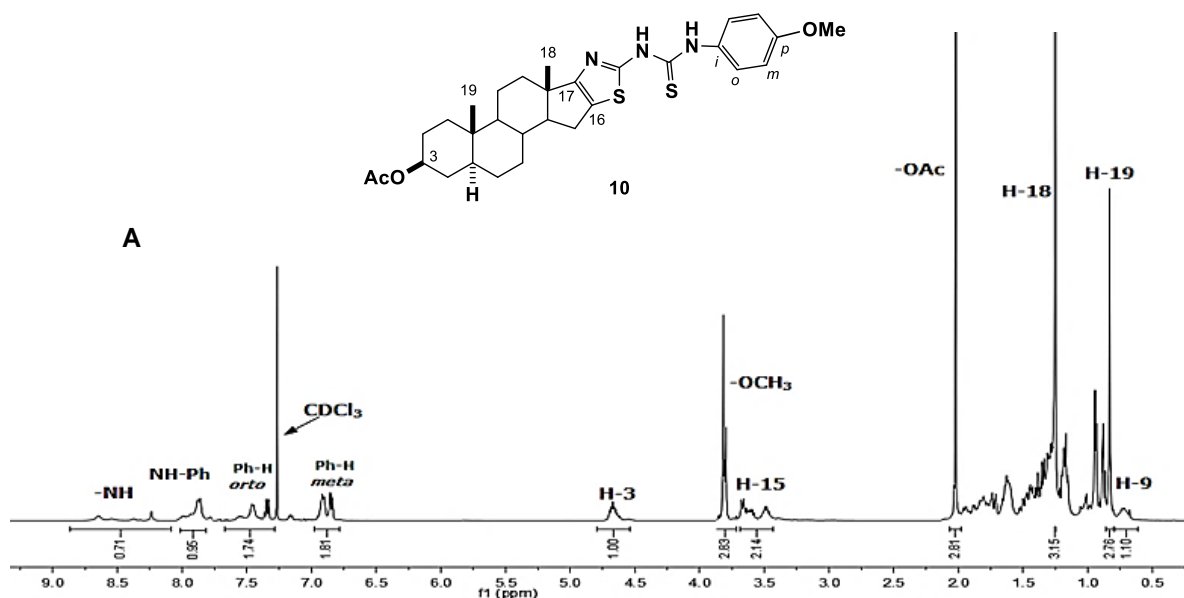
Esquema 23. Tiazolotioureas esteroidales sintetizadas

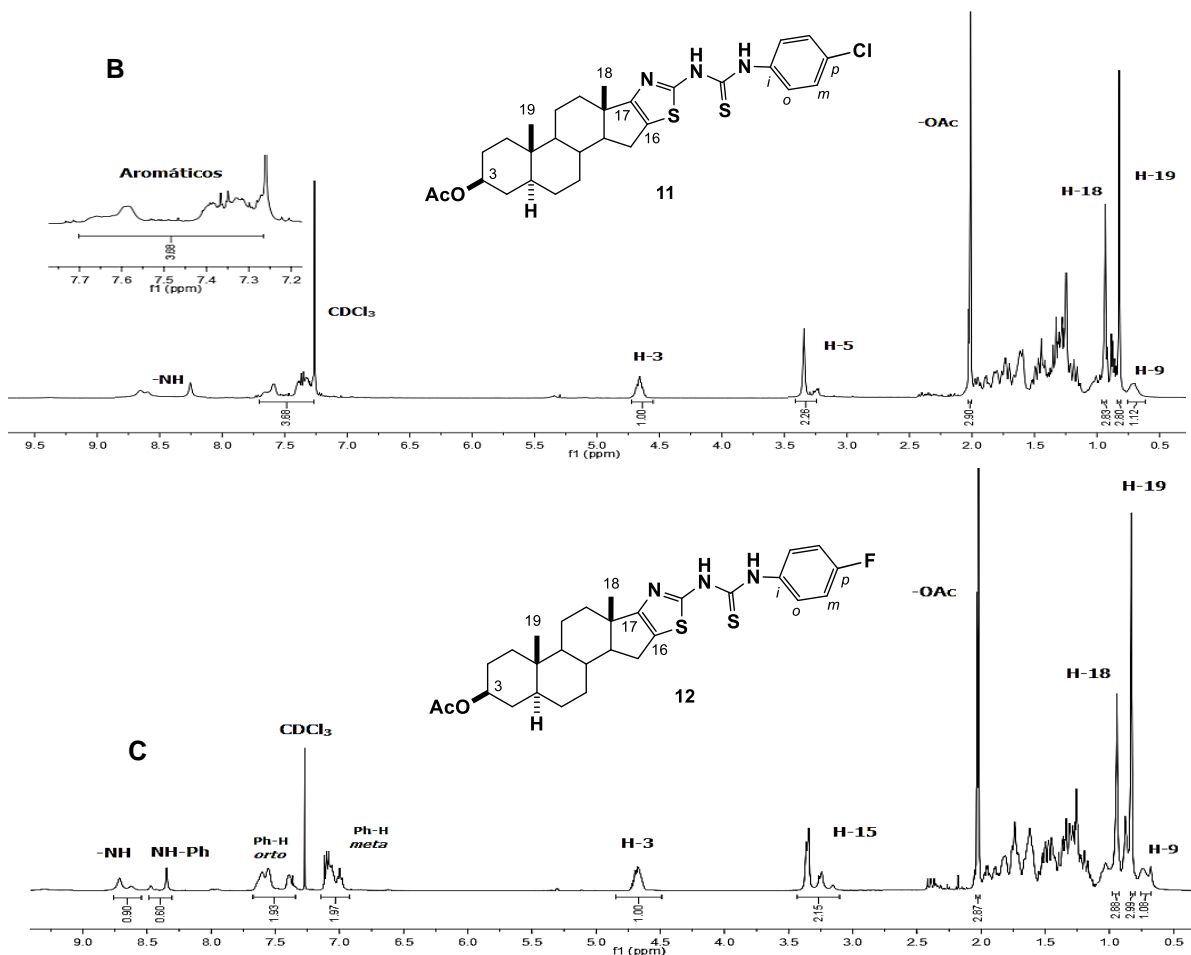
Los espectros IR de los derivados sintetizados (Espectro 34) muestran señales características en la región de 1750 a 700 cm^{-1} destacando la banda de flexión fuera del plano perteneciente al sistema =C-H de baja intensidad cercanas a 730 cm^{-1} características de un anillo aromático *para*-sustituido. Cabe destacar el espectro correspondiente al derivado **12**, en el cual se observa una banda intensa en 1212 cm^{-1} distintiva del enlace C-F.



Espectro 34. IR de las tiazolotiureas **10**, **11** y **12**.

Los productos obtenidos también han sido analizados por RMN de ^1H y ^{13}C . A continuación, se presentan los experimentos de ^1H para cada uno de ellos





Espectro 35. RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de los derivados **10**, **11**, **12**

En el espectro de ^1H de **10** (Espectro 35-A) se pueden observar los protones aromáticos en posición *orto* con respecto a la función tiourea en 7.40 ppm, los protones aromáticos en posición *meta* se aprecian en 6.85 ppm ambas señales se observan como una señal múltiple con una integral para dos hidrógenos cada una. La señal correspondiente al metilo de la función metoxilo del anillo aromático es visible en 3.80 ppm. Así también se aprecian dos señales de baja intensidad y ligeramente anchas en 8.47 y 7.95 ppm pertenecientes al grupo NH de la tiourea.

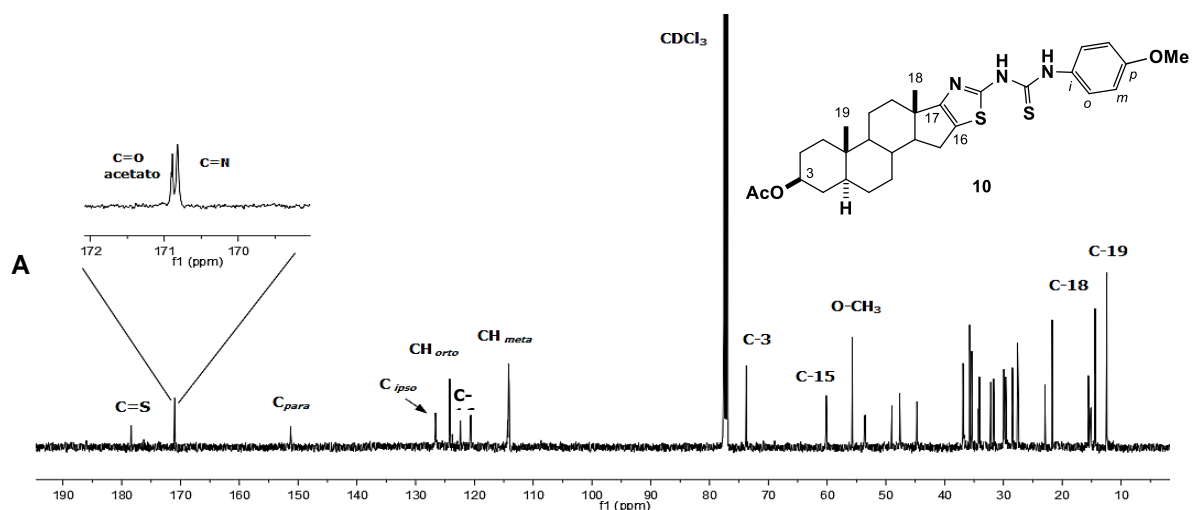
Por otro lado, el experimento de ^1H (Espectro 35-B) correspondiente al derivado **11** muestra las señales correspondientes a los protones del anillo aromático como una señal múltiple en 7.44 pm con una integral para cuatro hidrógenos, NH de la función tiourea se observan en 8.54 y 8.26 ppm.

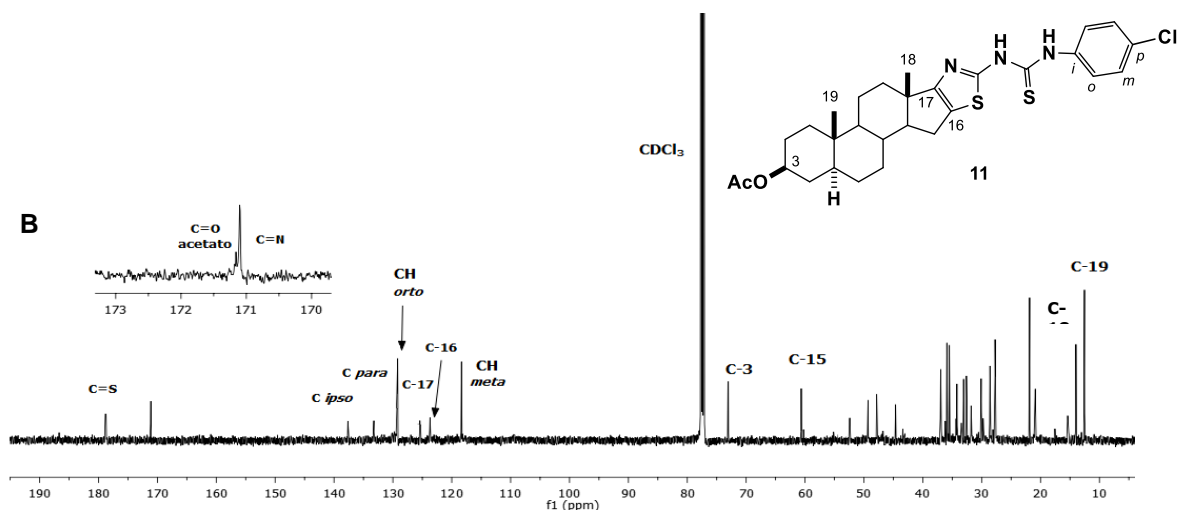
Finalmente, en el espectro de RMN de ^1H del compuesto **12** (Espectro 35-C) muestra las señales correspondientes a los protones aromáticos en posición *orto* con respecto a la tiourea en 7.5 ppm, los protones del sistema aromático en posición *meta* son visibles en 7.0 ppm. La señal correspondiente al grupo NH de la tiourea se aprecian en 8.6 y 8.4 ppm.

Los espectros de RMN de ^{13}C de los derivados **10** y **11** revelan los siguientes datos:

El espectro del heteroesteroide **10** (Espectro 36-A), muestra una señal en 178.3 ppm la cual corresponde al carbonilo de tiourea (C=S), a frecuencias menores se encuentran dos señales traslapadas en 170.9 y 170.8 ppm las cuales pertenecen al carbonilo del grupo acetato en posición C-3 y al grupo (C=N) del heterociclo. En 151.4 ppm se aprecia la señal del carbono aromático C_{para} y en 126.6 ppm la señal del carbono C_{ipso} , los carbonos metínicos C_{orto} son visibles en 124.1 ppm, a frecuencias menores se observan las señales de los carbonos del sistema heterocíclico C-17 y C-16 en 122.6 y 121.0 ppm respectivamente, los carbonos C_{meta} muestran una señal en 114.2 ppm. La señal correspondiente al carbono de la función metoxilo se puede apreciar en 55.7 ppm.

El experimento de ^{13}C del derivado **11** (Experimento 36-B) muestra las mismas señales con respecto al derivado **10** excepto por el desplazamiento a frecuencias bajas del carbono del sistema aromático C_{para} (de 151.4 ppm a 132.2 ppm) provocado por el menor efecto de desprotección por parte del halógeno. Así también destaca la ausencia del metilo de metoxilo. Las señales restantes permanecen sin un cambio significativo





Espectro 36. RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de los derivados **10**, **11**

El flúor 19 se encuentra en un 100% de abundancia, tiene un espín = 1/2, y se caracteriza por tener una relación giro magnética, la cual es casi proporcional a la del protón (94%), por lo que es casi tan sensible como el protón. Debido a que el espectro de ^{13}C no está desacoplado de ^{19}F , los acoplamientos con flúor pueden aparecer en los espectros 1D de ^{13}C .

A manera de referencia se presenta un el rango de constantes de acoplamiento para el fluorobenceno⁷⁴ (Figura 22).

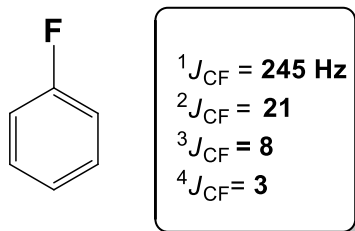
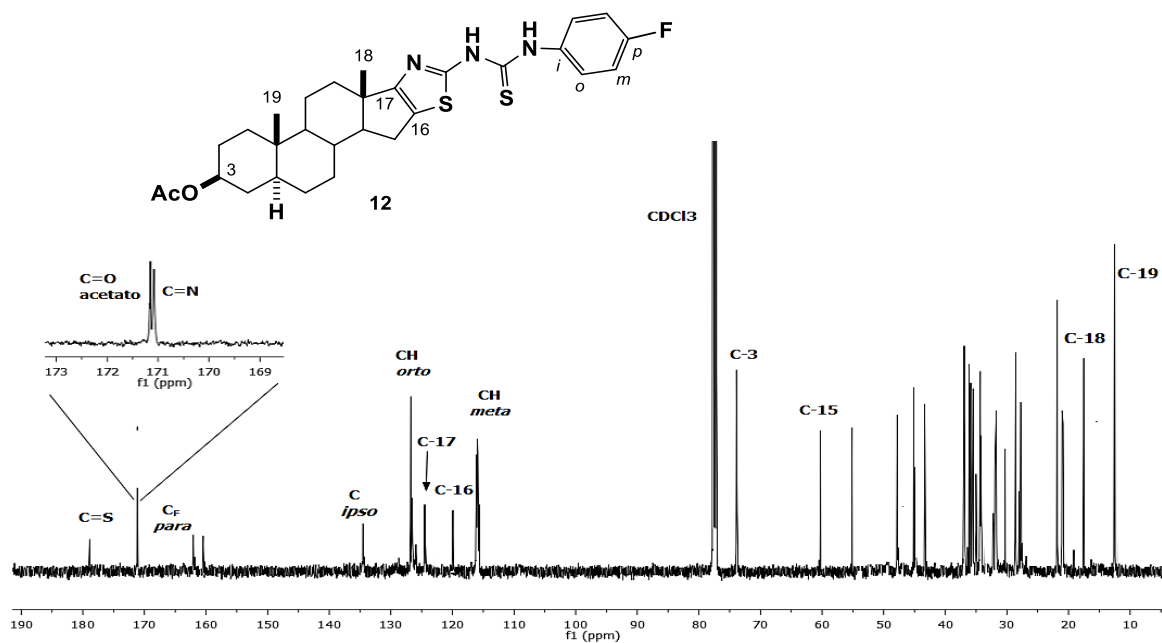


Figura 22. Valores de las constantes de acoplamiento C-F

Conociendo esta información procederemos a analizar el espectro de RMN de ^{13}C del derivado **12**

El experimento de ^{13}C (Espectro 37), muestra en frecuencias altas una señal que corresponde al carbonilo de tiourea (C=S) en 178.88 ppm, una señal debida al grupo carbonilo de acetato en C-3 en 171.15 ppm y una señal correspondiente a la función (C=N) del heterociclo en 171.08 ppm

73. Guide to fluorine NMR for organic chemists Dolbier, W. R Wiley, 2nd edition. **2016**, 106-109

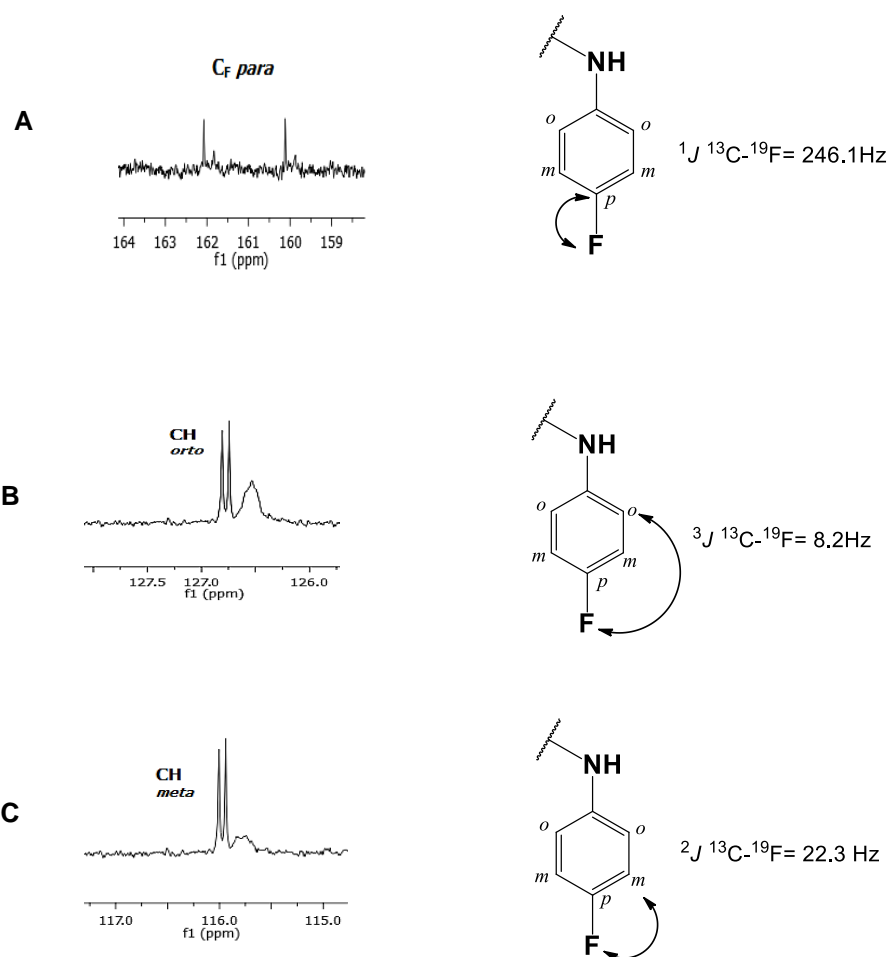


Espectro 37. RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del compuesto **12**

Dentro del acoplamiento heteronuclear ^{13}C - ^{19}F del derivado esteroideal **12** se puede destacar lo siguiente:

En el espectro 38-A a frecuencias altas se aprecia una señal doble de baja intensidad con una constante de acoplamiento extremadamente grande que es indicativo del acoplamiento ^{13}C - ^{19}F a un enlace, por lo que se infiere que dicha señal corresponde al carbono cuaternario del anillo aromático enlazado al átomo de flúor asignado como $\text{C}_\text{F para}$.

Por otro lado, el espectro 38-B se observa nuevamente una señal doble en 126.68 ppm con una constante de acoplamiento pequeña, característica para el acoplamiento ^{13}C - ^{19}F a tres enlaces, lo cual es indicio de que se trata de los carbonos en posición *orto* con respecto al grupo NH asignados como CH *orto*. Por último, en el espectro 38-C también es posible apreciar las señales correspondientes a los carbonos en posición *meta*, con respecto al grupo NH etiquetados como CH *meta* los cuales presentan una constante de acoplamiento típica para ^{13}C - ^{19}F a dos enlaces.

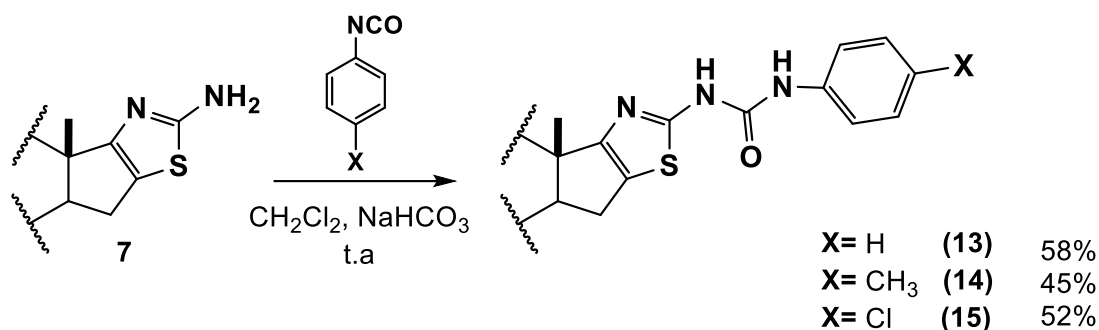


Espectro 38. Acoplamiento heteronuclear ${}^{13}\text{C}$ - ${}^{19}\text{F}$ para el derivado **12**.

1.5.4.4 Obtención de tiazoloureas esteroidales

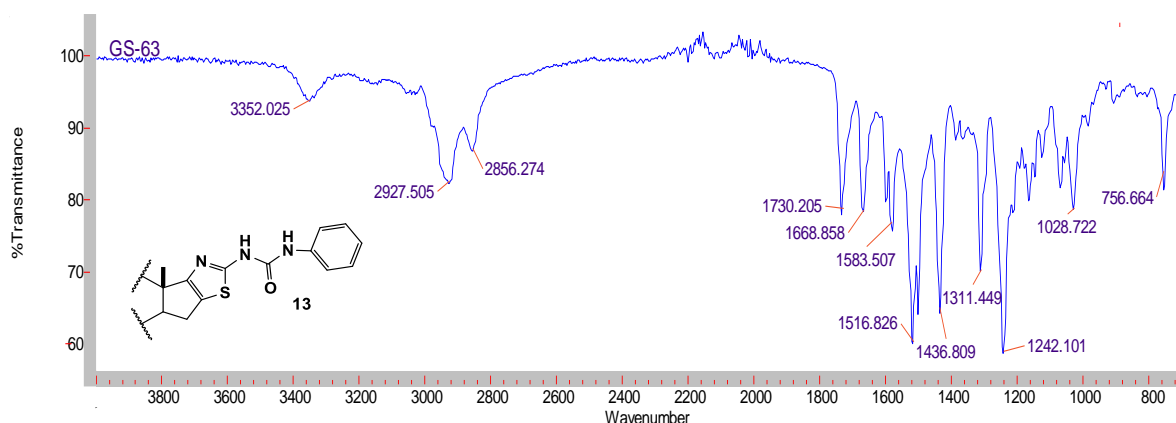
La síntesis de los isocianatos **xv-xvii**, que son utilizados como intermediarios en la formación de las tiazoloureas esteroidales **13-15**, fueron obtenidos previamente siguiendo el método antes descrito, dichos precursores presentan una alta reactividad por lo que fue necesario utilizarlos *in situ* para generar los diferentes derivados esteroidales.

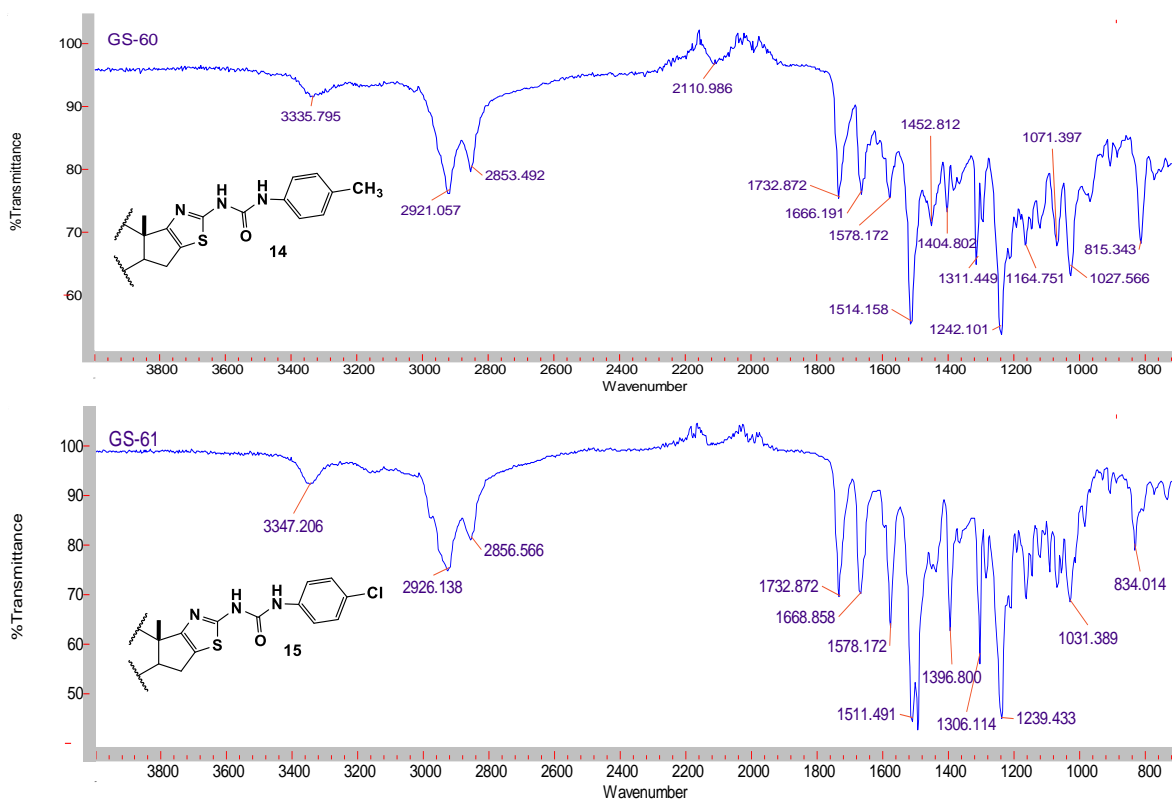
El acoplamiento entre el derivado **7** y los diferentes isocianatos condujo a la obtención de tiazoloureas como producto mayoritario con diferentes rendimientos (Esquema 24).



Esquema 24. Síntesis de tiazoloureas esteroidales

Los espectros de IR de los heteroesteroides sintetizados **13-15** (Espectro 39), muestran una banda débil cercana a 3350 cm^{-1} debida a la vibración de tensión del enlace N-H, también se puede apreciar una banda intensa y aguda cercana a 1730 cm^{-1} característica de la vibración de tensión del enlace C=O del grupo acetato en C-3, destacar la banda entre $1668\text{-}1663\text{ cm}^{-1}$ presente en los tres compuestos característica de la vibración de tensión del enlace C=O de la función urea, y desplazado a menor número de onda cercano a 1515 cm^{-1} es visible una banda intensa correspondiente a la vibración C=N. Entre 1242 y 1238 cm^{-1} se observan para los tres derivados una banda intensa la cual corresponde a las vibraciones de tensión del enlace C-N. En la misma región, próximo a 1030 cm^{-1} se encuentra la vibración atribuible al enlace sencillo C-O. Resaltar que el espectro correspondiente al derivado **13** presenta dos bandas de flexión fuera del plano perteneciente al sistema C=C-H de baja intensidad en 756 y 690 cm^{-1} característica de un anillo aromático mono sustituido. A su vez los derivados **14** y **15** presentan una banda de flexión fuera del plano cercana a 820 cm^{-1} características de un anillo aromático *p*-sustituido, en los tres casos no fue posible observar los sobretonos del sistema aromático en la región de $1800\text{-}1650\text{ cm}^{-1}$.





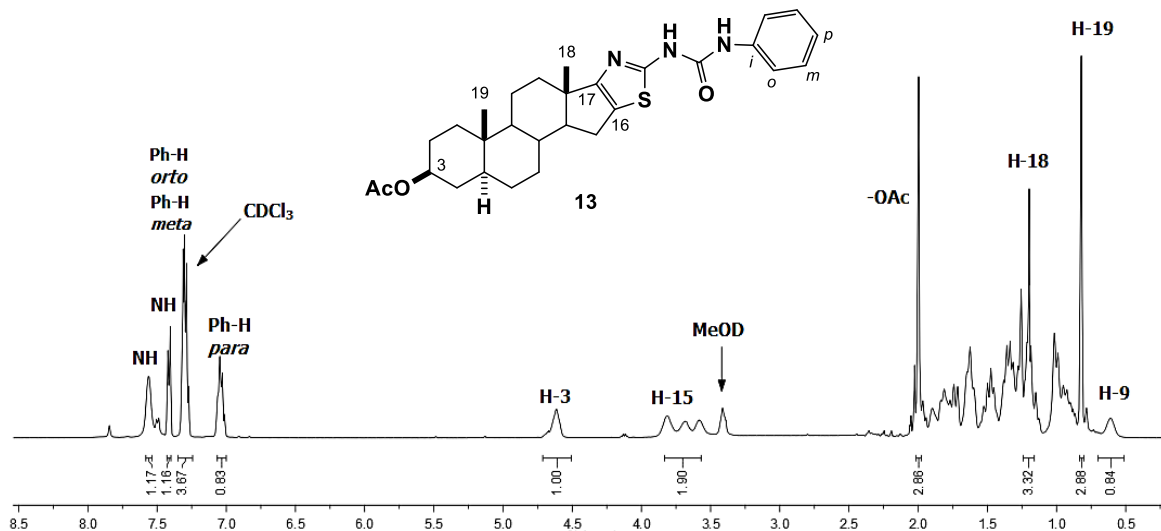
Espectro 39. IR de las tiazoloureas 13, 14 ,15

Los productos obtenidos también fueron caracterizados por RMN de ^1H y ^{13}C , cabe mencionar que los derivados **13-15** presentaron poca solubilidad en cloroformo, metanol y acetona deuterados, por lo que se optó en utilizar una mezcla de disolventes deuterados en este caso cloroformo/metanol generando en algunos casos que los hidrógenos de los grupos $-\text{NH}$ no sean visibles en el espectro.

1.5.4.5 Obtención de la tiazolotiurea de fenilo esteroidal (**13**)

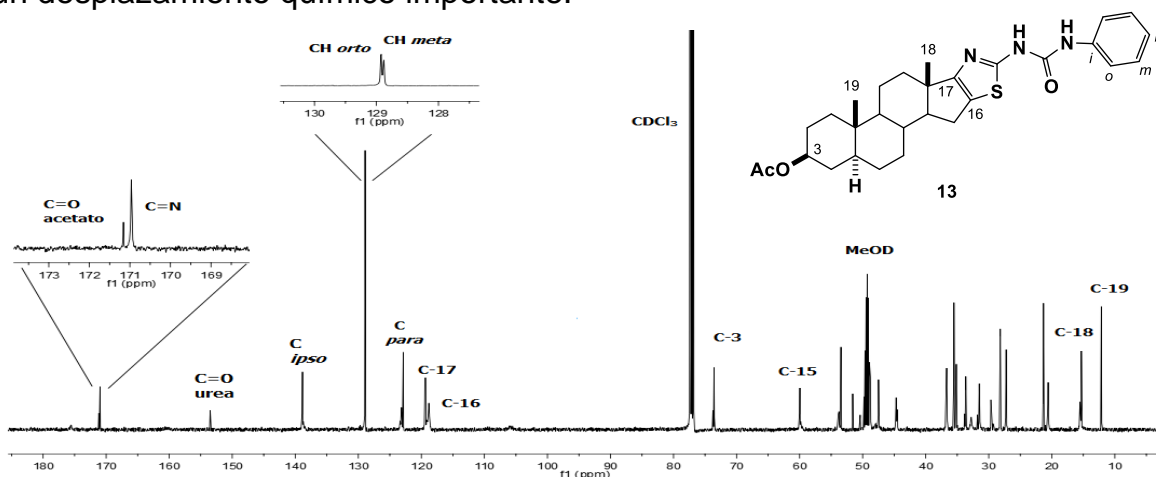
El experimento de RMN de ^1H (Espectro 40) del derivado **13** muestra a frecuencias altas 7.58 y 7.40 ppm los hidrógenos correspondientes a los grupos N-H característicos de la función urea. Estos dos grupos pudieron ser distinguidos con ayuda del experimento de dos dimensiones (HMBC). Una señal múltiple en 7.30 ppm que corresponde a los hidrógenos *orto* y *meta* del sistema aromático. A frecuencias menores, se aprecia una señal múltiple en 7.04 ppm asignada al hidrógeno en posición *para* del anillo aromático. También se presentan ligeros cambios en los desplazamientos de las señales de H-3 y H-15

pero concuerdan cuando se comparan con la materia de partida **7**. Las señales restantes permanecen sin un cambio significativo.



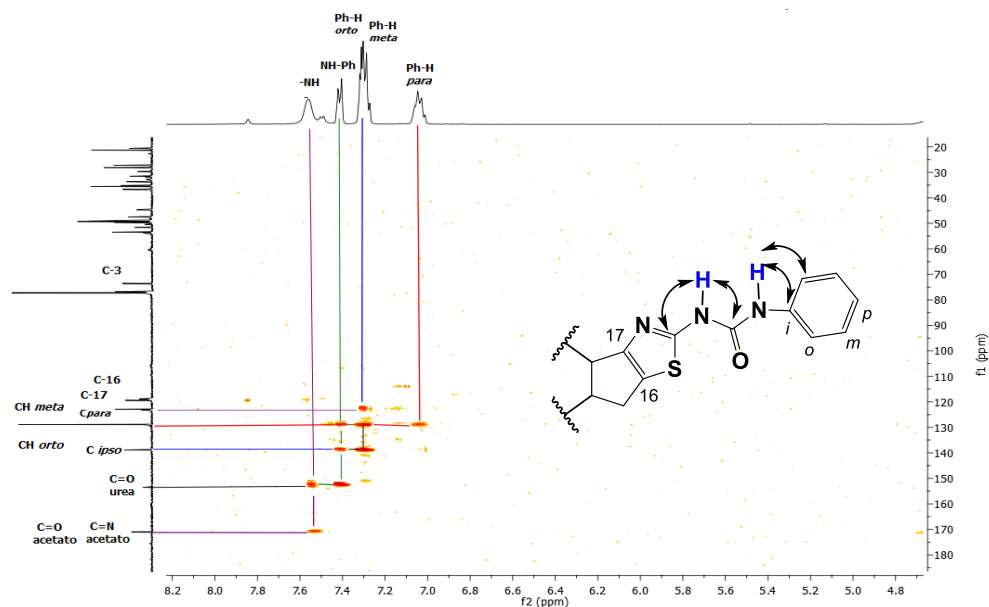
Espectro 40. RMN de ^1H (500 MHz) del derivado **13**

El espectro de RMN de ^{13}C (Espectro 41) muestra en la región de los carbonilos dos señales en 171.2 y 171.0 ppm correspondiente al carbonilo del grupo acetato en C-3 y otra al grupo C=N del anillo de tiazol, resaltar la señal en 154.2 ppm perteneciente al carbonilo de la función urea. En seguida se observan las señales debidas a los carbonos aromáticos, el carbono C_{ipso} se aprecia en 139.5 ppm, los carbonos metínicos C_{orto} y C_{meta} se desplazan a frecuencias menores como una señal intensa y traslapada en 129.6 ppm, el carbono C_{para} se observa en 123.5 ppm, C-1 muestran señales en 119.9 y 119.5 ppm respectivamente, las señales que pertenecen al núcleo del esteroide no sufren un desplazamiento químico importante.



Espectro 41. RMN de ^{13}C (125 MHz) del compuesto **13**

El experimento HMBC (Espectro 42) permitió distinguir entre los grupos –NH, se puede observar el acoplamiento del carbono del grupo C=N a dos enlaces con el hidrógeno del grupo NH enlazado al anillo de tiazol desplazado a mayores frecuencias, por otro lado, el acoplamiento entre el carbono *C*_{ipso} y el –NH unido al anillo aromático, destacar que ambos hidrógenos de los grupos –NH muestran correlación a dos enlaces con el carbonilo de urea. También es posible observar los acoplamientos a dos y tres enlaces entre los hidrógenos *H*_{orto} y *H*_{meta} con los carbonos *C*_{ipso} y *C*_{para}.

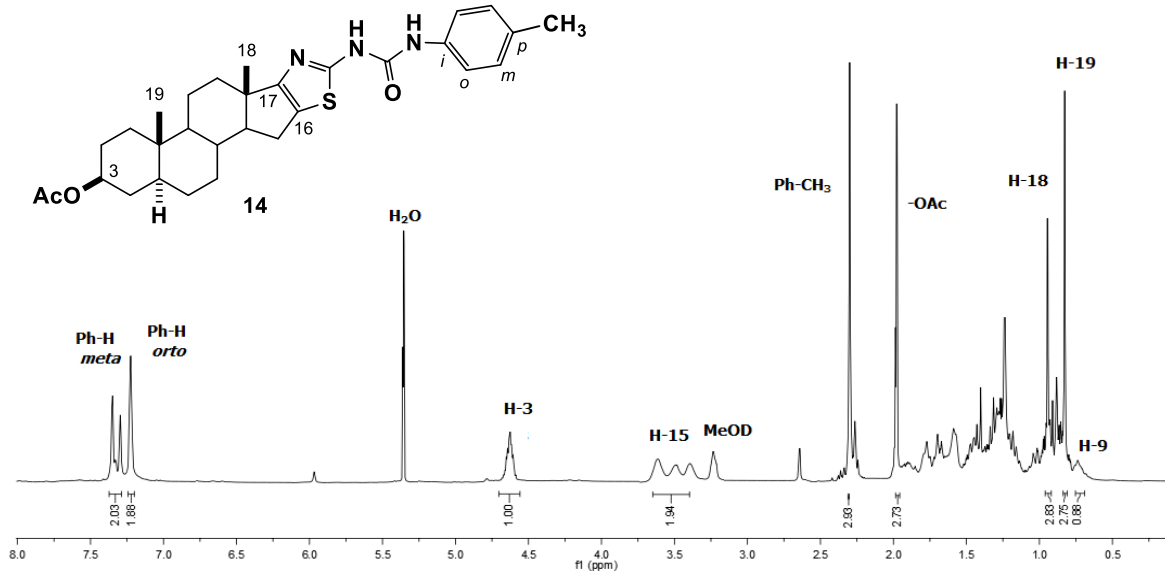


Espectro 42. Región expandida del experimento HMBC del derivado **13**

1.5.4.6 Obtención de la tiazolourea esteroidal de *p*-tolilo (**14**)

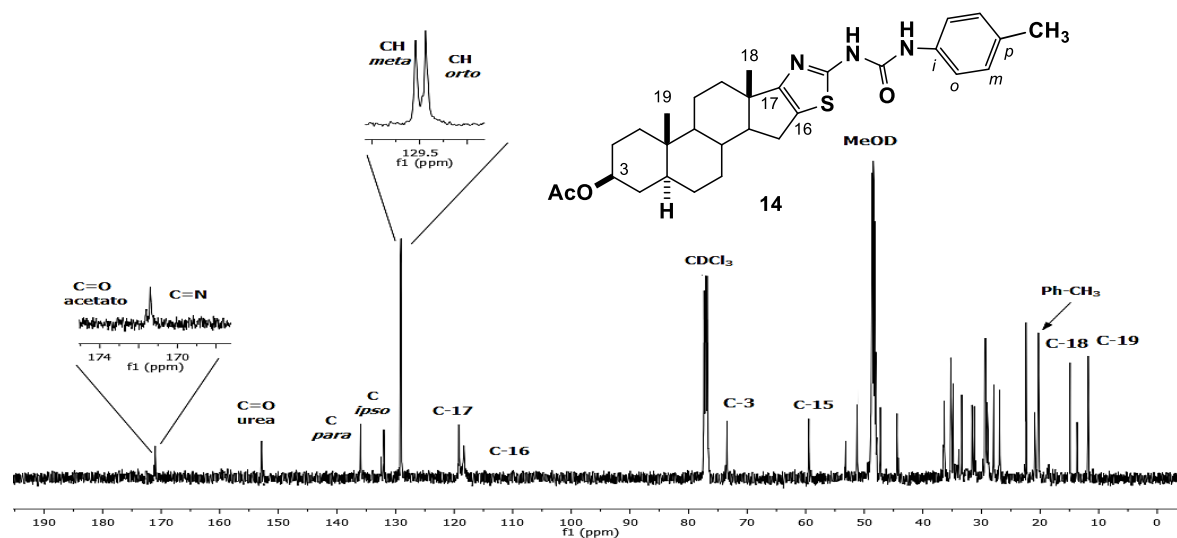
El espectro de ¹H del derivado esteroidal **14** (Espectro 43) muestra en la región aromática dos señales, una de ellas se aprecia en 7.38 ppm como una señal múltiple que corresponde a los hidrógenos equivalentes de la posición *meta* del anillo aromático, a frecuencias menores es visible una señal simple en 7.10 ppm y que integra para dos hidrógenos, la cual pertenece a los hidrógenos *orto*. La ausencia de las señales pertenecientes a los grupos –NH, se debe al uso de metanol deuterado para disolver la muestra. A frecuencias menores, se puede observar las señales de H-3 y H-15 en 4.62 y 3.53 ppm respectivamente. Resaltar la presencia de una señal simple en 2.30 ppm la cual integra para tres

hidrógenos y que pertenece al grupo metilo unido a la posición *para* del anillo aromático. Las señales del esteroide permanecen sin un cambio significativo.



Espectro 43. RMN de ¹H (500 MHz) del compuesto 14

El espectro de RMN de ¹³C (Espectro 44) muestra dos señales a frecuencias altas en 171.7 y 170.4 ppm las cuales pertenecen al carbonilo del grupo acetato en C-3 y otra al grupo C=N del sistema heterocíclico fusionado al esteroide, en 153.7 ppm es visible la señal correspondiente al carbonilo de la función urea. En seguida se observan las señales debidas a los carbonos aromáticos, el carbono C_{para} se aprecia en 136.1 ppm, en 132.1 ppm se aprecia el carbono C_{ipso}, mientras que los carbonos metínicos C_{meta} y C_{orto} se desplazan a frecuencias menores como una señal intensa y traslapada entre 129.5 y 129.4 ppm, C-17 y C-16 muestran señales en 119.2 y 118.6 ppm. En 73.5 ppm la señal correspondiente al carbono base oxígeno C-3, importante mencionar la presencia de una nueva señal correspondiente al grupo metilo unido a la posición *para* del anillo aromático se aprecia en 19.26 ppm.

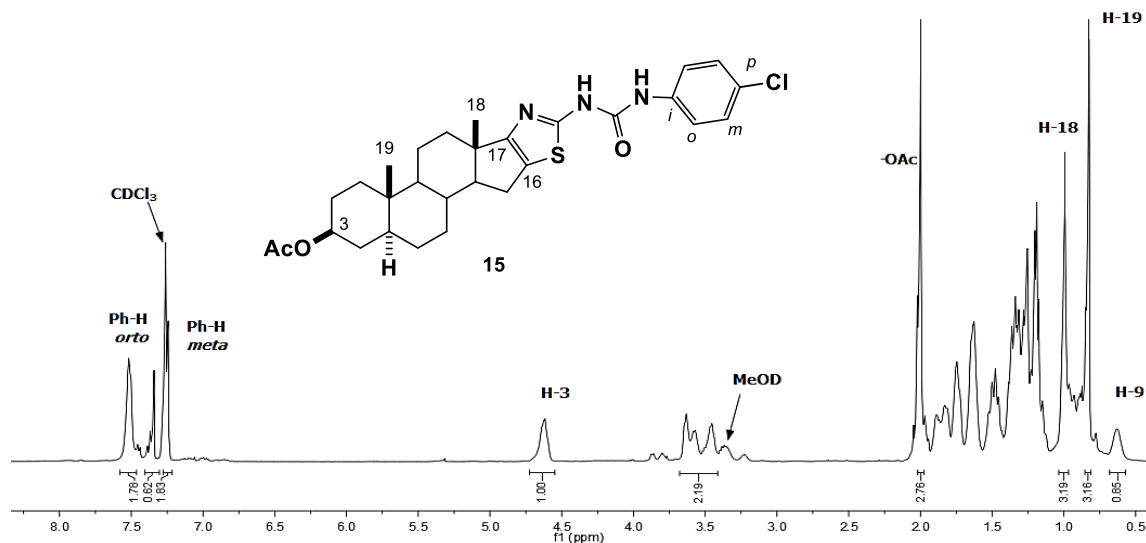
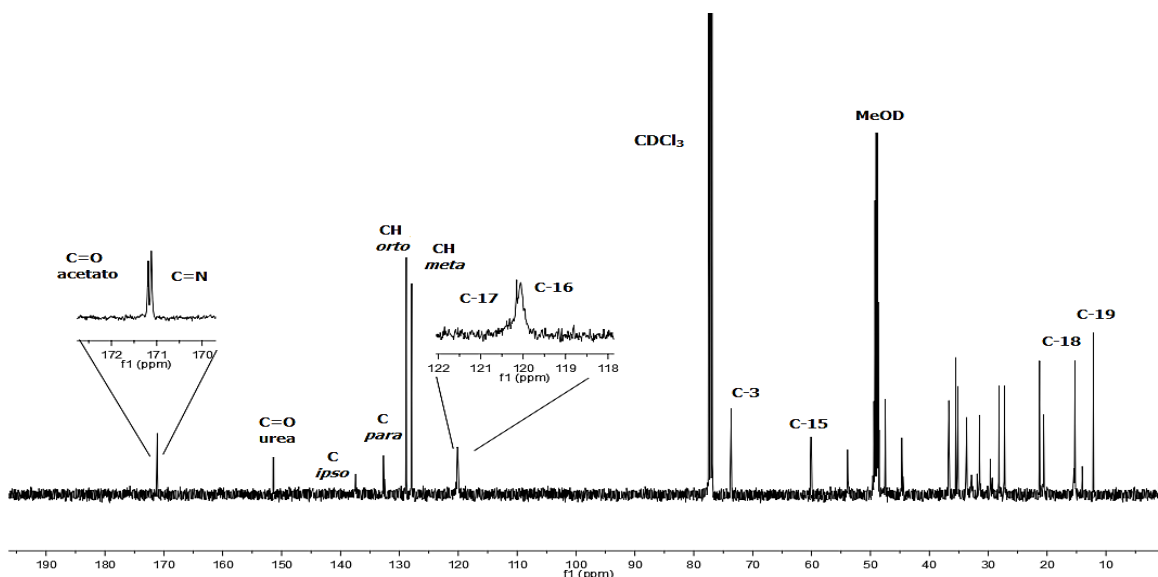


Espectro 44. RMN de ^{13}C (125 MHz) del compuesto **14**

1.5.4.7 Obtención de la tiazolourea esteroidal de *p*-clorofenilo (**15**)

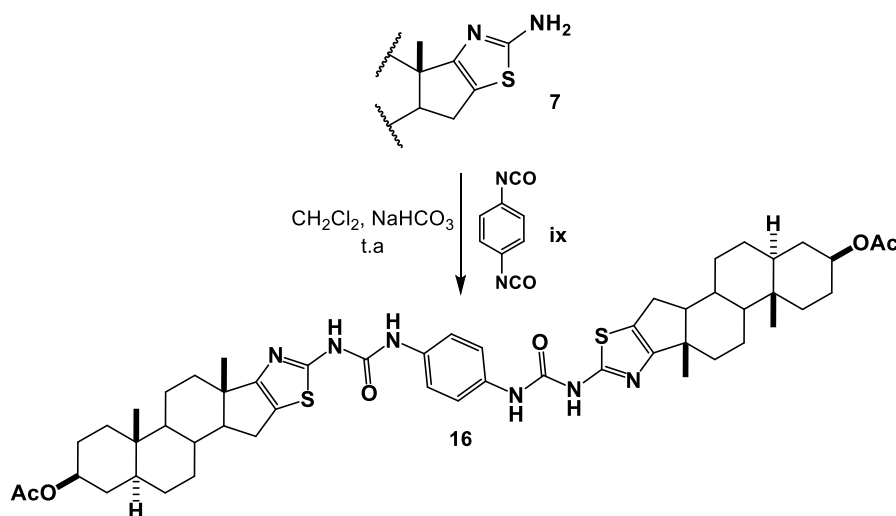
El espectro de RMN de ^1H del compuesto **15** (Espectro 45), muestra en la región aromática a frecuencias altas tres señales significativas: una señal ancha en 7.51 ppm que corresponde a los protones químicamente equivalentes en posición *orto* con respecto a la función urea. Una señal simple en 7.34 ppm para un protón correspondiente al hidrogeno de la función urea (-NH) y finalmente una señal múltiple en 7.24 que integra para dos protones correspondiente a los hidrógenos de la posición *meta* del anillo aromático. En seguida se observa una señal múltiple en 4.62 ppm perteneciente al hidrogeno en C-3, en 3.54 ppm se aprecia una señal correspondiente a los protones H-15. El resto de las señales se mantienen sin cambios significativos.

En el espectro de ^{13}C (Espectro 46) muestra en la región de altas frecuencias dos señales en 170.8 y 170.8 ppm correspondiente al carbonilo del grupo acetato en C-3 y otra al grupo C=N del anillo de tiazol, destaca la señal en 151.4 ppm perteneciente al carbonilo de urea formado. En frecuencias menores, se observan las señales debidas a los carbonos aromáticos, el carbono C_{ipso} se aprecia en 137.6 ppm, el carbono C_{para} es visible en 132.6 ppm, a su vez los carbonos metínicos C_{orto} y C_{orto} se desplazan a frecuencias menores como dos señales intensas en 128.8 ppm y 127.9 ppm respectivamente, los carbonos del sistema heterocíclico; C-17 y C-16 muestran dos señales que se solapan en 120.1 y 119.5 ppm, las señales correspondientes a C-3 y C-15 se mantienen sin cambios significativos en 73.6 y 60.2 ppm.

Espectro 45. RMN de ^1H (500 MHz) del compuesto **15**Espectro 46. RMN de ^{13}C (125 MHz) del compuesto **15**

1.5.5 Condensación con 1,4-fenildiisocianato (xviii)

Finalmente se llevó a cabo el acoplamiento de los fragmentos **7** y **xviii** (Esquema 25) lo que condujo a un derivado mayoritario observado por CCF. En los espectros de IR y RMN de ^1H y ^{13}C del crudo de reacción se observan señales que son características del producto deseado, sin embargo, no fue posible el aislamiento del dímero heteroesteroidal **16** en forma pura debido a que este se degrada durante la purificación por CC y en placa preparativa.



Esquema 25. Síntesis de tiazoloureas diméricas esteroidales

1.5.6 Ensayos antiproliferativos

La actividad antiproliferativa *in vitro* de los compuestos **2**, **4**, **5**, **7** y **8** se evaluó usando el protocolo del Instituto Nacional del Cáncer (NCI) de los Estados Unidos.⁷⁵ Este estudio fue realizado por el Dr. José M. Padrón en el laboratorio BioLab del Instituto Universitario de Bio-Orgánica “Antonio González”, de la Universidad de la Laguna (Tenerife). Los compuestos se evaluaron contra un panel de seis líneas celulares cancerosas: A549 (pulmón), HBL-100, (mama), HeLa (cérvix), SW1573 (pulmón), T-47D (mama) y WiDr (colon). Los datos referentes a la actividad antiproliferativa de los compuestos sintetizados se muestran en la tabla 3 y se expresan como GI_{50} , es decir, la concentración del compuesto que inhibe el 50% del crecimiento de células cancerosas tratadas en relación con las no tratadas.

COMPUESTOS	LINEAS CELULARES					
	A549 Pulmón	HBL-100 Seno	HeLa Cervix	SW1573 Pulmón	T-47D mama	WiDr Colon
2	29±3.5µM	24±2.3µM	16±1µM	27±5.4µM	26±0.96µM	12±2.2µM
4	>100µM	>100µM	>100µM	>100µM	>100µM	>100µM
5	9.4±4.4µM	21±4.4µM	18±4.2µM	57±2.5µM	34±1.4µM	33±4.2µM
7	11±1.3µM	13±0.76µM	3.9±0.4µM	9.9±1.6µM	9.1±1.9µM	5.8±0.68µM
8	>100µM	>100µM	>100µM	>100µM	>100µM	>100µM
Etoposido	-----	1.4±0.9µM	3.3±1.6µM	15±1.5µM	22±5.5µ	23±3.1µM
Cisplatino	4.9±0.2 µM	1.9±0.2µM	1.8±0.5µM	2.7±0.4µM	17±3.3µ	23±4.3µM

Tabla 3. Actividad antiproliferativa (GI_{50} , µM) frente a diversas líneas celulares cancerosas.

75. Monks, A.; Scudiero, D.; Skedan, P.; Shoemaker, R.; Paull, K.; Vistica, D.; Hose, C.; Langley, J.; Cronice, P.; Vaigro-Wolf, M.; GaRY-Goodrich, M. Campbell, H.; Mayo, M. *J. Natl. Cancer Inst.* **1991**,83,757-766.

En la figura 23 se muestra una comparación de la actividad antiproliferativa de los compuestos activos (**2**, **5** y **7**) en las diferentes líneas celulares cancerosas ensayadas. Los compuestos que no se incluyen en esta tabla presentan un GI_{50} mayor a $100 \mu\text{M}$ y como se menciona en el protocolo se clasifican como inactivos.

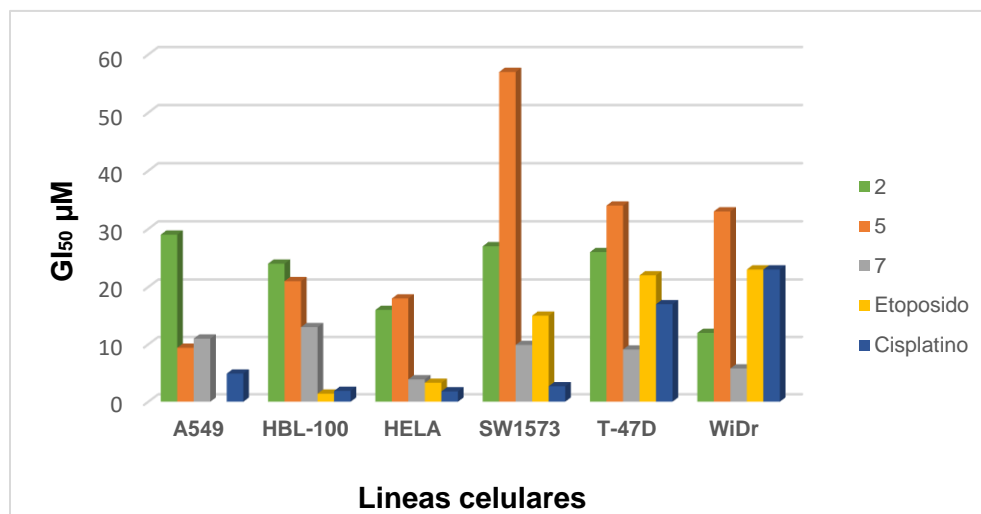


Figura 23. Resultados del ensayo de antiproliferación.

Todos los compuestos fueron comparados contra cisplatino y etopósido, un par de fármacos antiproliferativos de uso actual. De los compuestos evaluados el que presentó mejores resultados fue el derivado **7** observando valores inferiores de GI_{50} que el etoposido y el cisplatino en líneas celulares de cáncer de colon y de mama, así también el derivado **7** presentó valores inferiores de GI_{50} en la línea celular de cáncer de pulmón en comparación con el etoposido.

Los derivados diméricos en general **2** y **5** no presentaron buenos resultados en las líneas cancerosas evaluadas, destacar que el compuesto **2** presentó valores inferiores de GI_{50} en la línea celular de cáncer de colon con respecto a los fármacos utilizados como control.

1.6 DESARROLLO EXPERIMENTAL

Equipo Y Técnicas Utilizadas

Punto de fusión

Los puntos de fusión fueron determinados por técnica de capilar abierto en un equipo Melt-temp, con escala de grados Celsius y no fueron corregidos.

Espectroscopia Infrarrojo

Los espectros de infrarrojo se obtuvieron en un espectrofotómetro Agilent Cary 630 FT-IR con interface ATR de punta de diamante y los datos se expresan en números de onda (ν) en cm^{-1}

Resonancia Magnética Nuclear

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) de ^1H y ^{13}C se adquirieron en los espectrómetros Varian-Mercury multinuclear a 300 MHz, para pruebas rápidas y Bruker Avance III a 500 MHz para la caracterización completa de las estructuras. Como disolvente se empleó cloroformo deuterado (CDCl_3) y metanol deuterado (CD_3OD). Los desplazamientos químicos se presentan en ppm (δ), las constantes de acoplamiento (J) se expresan en Hz. La multiplicidad de las señales de los espectros de ^1H se describe como: *s* para una simple, *d* para una señal doble, *dd* para una señal doble de doble, *ddd* para una señal doble de doble de doble, *dc* para una señal doble de cuádruple, *t* para una señal triple y *m* para una señal múltiple.

Espectrometría de Masas

Los datos de pico ión molecular $[\text{M}+\text{H}]^+$ para cada compuesto se determinaron en un espectrofotómetro JEOL JMS-AX505 HA, a 70 eV.

Cromatografía

Para monitorear las reacciones se utilizó la cromatografía en capa fina (CCF) y placas comerciales de gel de sílice grado 60 de 0.25 mm de espesor con

indicador de fluorescencia, para su revelado se empleó luz ultravioleta de onda corta (254 nm), lámpara de UV-G-54 o bien por calcinación, previo tratamiento con revelador de ácido sulfúrico al 5%, vainillina al 1% y nihidrina al 10%.

La purificación de los productos esteroidales se realizó empleando la técnica de cromatografía en columna (CC) tipo *flash* [18], utilizando columnas de vidrio las cuales fueron empacadas con gel de sílice grado 60 Merck (230-400 mallas).

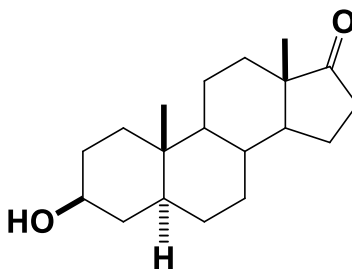
Rayos X

Las pruebas de difracción se llevaron a cabo por el Dr. Sylvain Bernes en el instituto de Física de la BUAP. Se realizó la cristalización y recristalización de los polvos obtenidos de las reacciones realizadas en diferentes sistemas de disolventes bajo la evaporación lenta a temperatura ambiente de manera que se obtuvieran cristales capaces de difractar.

Disolventes y materias primas

Los reactivos que se utilizaron fueron de calidad grado analítico. Algunos de los disolventes se purificaron y secaron de acuerdo con las técnicas reportadas en la literatura.⁷⁶

76. Perrin, D.P.; Armarego, W. L. F "Purification of laboratory chemicals" 6a Ed. USA, **2009**

trans-Androsterona (1)

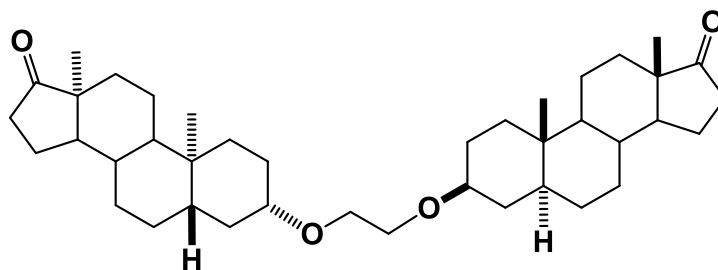
Los datos espectroscópicos de RMN de ^1H y ^{13}C de la materia prima **1** obtenidos se compararon con la literatura.⁷²

RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3)

δ : 3.53 (1H, m, H-3), 2.40 (1H, dd, $J=9, 11$ Hz, H-16a), (1H, td, $J=9, 10$ Hz, H-16b), 1.89 (2H, m, H-15), 1.09 (1H, m, H-5), 0.94 (2H, m, H-1), 0.82 (3H, s, H-18), 0.79 (3H, s, H-19). 0.66 (1H, m, H-9)

RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3)

221.8 (C-17), 71.0 (C-3), 54.1 (C-14), 51.3 (C-9), 47.8 (C-13), 45.1 (C-5), 38.0 (C-4), 36.0 (C-16), 31.4 (C-2), 30.1 (C-7), 28.4 (C-6), 21.8 (C-15), 20.5 (C-11), 13.8 (C-18), 12.3 (C-19).

Síntesis de dímeros esteroidales**Obtención del etano de *bis*(5 α -androstan-17-on-3 β -ilo), (2)**

En un matraz de bola se disuelven 250 mg (0.86 mmol, 1 eq.) de **1** en 6.0 mL de DMF, se añaden 97 mg (1.72 mmol, 2 eq.) de KOH, el crudo de reacción se coloca en agitación a 40°C durante 25 minutos. Posteriormente se añaden 37.0 μ L (246.4 mmol, 0.5 eq) de dibromoetano. La mezcla de reacción se deja en agitación a temperatura de reflujo de la DMF durante 8 horas, después de comprobar por cromatografía en capa fina hexano/AcOEt (7:3), la transformación de la materia prima, se agregan 5 mL de agua destilada y se deja en agitación por 20 minutos. La fase orgánica se extrae con AcOEt y se realizan lavados con salmuera (4x30 mL) y agua destilada (3x30 mL); a continuación, se seca con MgSO₄, se filtra y se evapora a presión reducida, posteriormente se purifica por cromatografía en columna con un sistema 95:5 hexano/AcOEt, se obtiene un sólido color crema con un rendimiento del 55% (287 mg).

l.f = 111-113 °C

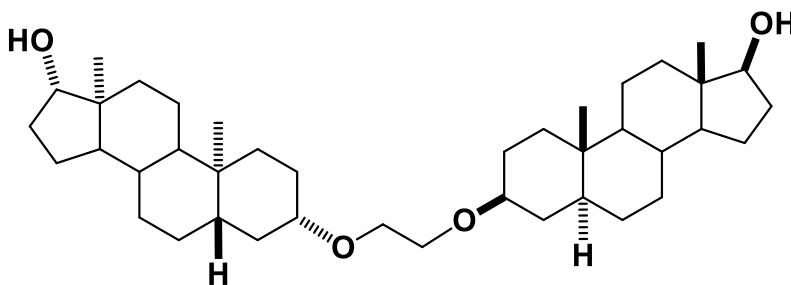
RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃)

δ : 4.83 (1H, m, H-3), 4.41 (2H, s, H-1'), (1H, dd, $J = 19.3, 8.3$ Hz, H-16a), (1H, m, H-16b), 1.84 (2H, m, H-15), 1.05 (2H, m, H-1), 0.85 (3H, s, H-18), 0.84 (3H, s, H-19). 0.72 (1H, m, H-9)

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃)

221.8 (C-17), 73.2 (C-3), 68.2 (C-1'), 54.2 (C-14), 51.5 (C-9), 47.8 (C-13), 45.0 (C-5), 38.0 (C-4), 36.0 (C-16), 31.9 (C-12), 30.8 (C-2), 28.2 (C-7), 27.4 (C-6), 21.6 (C-15), 20.5 (C-11), 14.1 (C-18), 12.6 (C-19).

Obtención del etano de *bis*(17 β -hidroxi-5 α -androstan-3 β -ilo) (**3**)



En un matraz de bola se disuelven 100 mg (0.16 mmol, 1eq.) de **4** en 5.0 mL de MeOH, el crudo de reacción se deja en agitación a temperatura ambiente por 20

minutos posteriormente se añaden 16.45 mg (0.32 mmol, 2 eq.) de NaBH₄ la mezcla de reacción se coloca en agitación a temperatura ambiente durante 3 horas, después de comprobar por cromatografía en capa fina CH₂Cl₂/MeOH (100:1), la transformación de la materia prima, se añaden 0.5 mL de agua destilada y se deja en agitación por 20 minutos. Se evapora el disolvente a presión reducida posteriormente se purifica por cromatografía en columna con un sistema 100:0.2 CH₂Cl₂/MeOH, obteniéndose un sólido blanco con un rendimiento del 87% (84.0 mg).

l.f = 155-158 °C

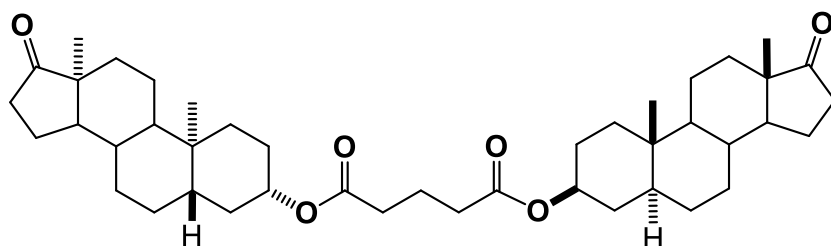
RMN ¹H (500 MHz, CD₃Cl₃)

δ: 4.2 (2H, s, H-1'), 3.55 (1H, m, H-3), 3.50 (1H, m, H-17), 1.95 (1H, m, H-16a), 1.81 (1H, m, H-16b), 1.70 (2H, m, H-15), 0.83 (3H, s, H-18), 0.71 (3H, s, H-19), 0.62 (1H, m, H-9)

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃)

81.2 (C-17), 70.5 (C-3), 69.0 (C-1'), 54.6 (C-14), 50.9 (C-9), 44.8 (C-13), 42.7 (C-5), 37.5 (C-4), 36.9 (C-16), 31.5 (C-12), 30.7 (C-2), 29.3 (C-7), 28.5 (C-6), 23.0 (C-15), 20.6 (C-11), 11.6 (C-18), 10.5 (C-19).

Obtención de glutarato de *bis*(5α-androstan-17-on-3β-ilo), (4)



En un matraz de bola se disuelven 200 mg (0.68 mmol, 1eq.) de **1** en 8.0 mL de CH₂Cl₂, se añaden 83 mg (0.68 mmol, 1eq.) de DMAP y 52.7 μL (0.40 mmol, 0.6 eq) de cloruro de glutarilo la mezcla de reacción se coloca en agitación a temperatura ambiente durante 4 horas, después de comprobar por

cromatografía en capa fina hexano/AcOEt (7:3), la transformación de la materia prima, se realizan lavados con NaHCO₃ (3x30 mL), salmuera (3x30 mL) y agua destilada (3x30 mL), la fase orgánica se extrae con CH₂Cl₂ a continuación se seca con MgSO₄ se filtró y se evapora a presión reducida, luego se purifica por cromatografía en columna con un sistema con un sistema 85:15 hexano/AcOEt, se obtuvo un sólido blanco amorfo con un rendimiento del 65% (303.0 mg).

I.f = 204-206 °C

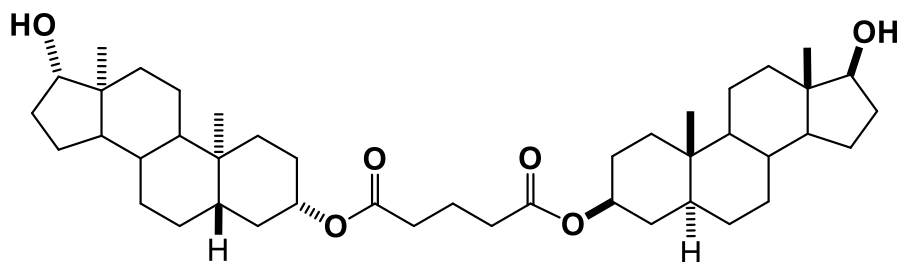
RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃)

δ: 4.63 (1H, m, H-3), 2.37 (1H, dd, J= 9, 11.5 Hz, H-16a), 2,25 (2H, t, J= 7.4, H-1'), 2.0 (1H, m, H-16b), 1.86 (2H, m, H-2'), 0.94 (2H, m, H-1), 0.79 (3H, s, H-18), 0.78 (3H, s, H-19). 0.64 (1H, m, H-9)

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃)

221.3 (C-17), 172.3 (C=O glutalato), 73.4 (C-3), 54.3 (C-14), 51.2 (C-9), 47.7 (C-13), 44.6 (C-5), 36.7 (C-4), 35.8 (C-16), 33.9 (C-12), 33.6 (C-1'), 31.4 (C-2), 30.1 (C-7), 28.2 (C-2'), 27.5 (C-6), 21.7 (C-15), 20.4 (C-11), 14.1 (C-18), 12.4 (C-19).

Obtención de glutarato de *bis*(17β-hidroxi-5α-androstan-3β-ilo), (5)



En un matraz de bola se disuelven 150 mg (0.22 mmol, 1eq.) de **2** en 5.0 mL de MeOH, el crudo de reacción se deja en agitación a temperatura ambiente por 20 minutos posteriormente se añaden 16.45 mg (0.44 mmol, 2 eq.) de NaBH₄ la mezcla de reacción se coloca en agitación a temperatura ambiente durante 3 horas, después de comprobar por cromatografía en capa fina CH₂Cl₂/MeOH (100:1), la transformación de la materia prima, se añaden 0.5 mL de agua destilada y se deja en agitación por 20 minutos. Se evapora el disolvente a presión reducida posteriormente se purifica por cromatografía en columna con

un sistema 100:0.5 CH₂Cl₂/MeOH, obteniéndose un sólido blanco con un rendimiento del 85% (128.0 mg).

I.f = 217-220 °C

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃)

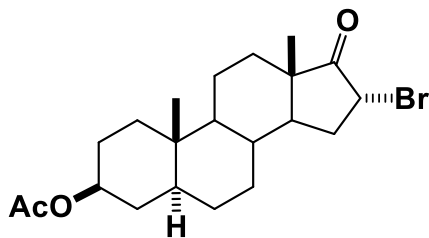
δ: 4.69 (1H, m, H-3), 3.63 (1H, t, *J* = 8.6 Hz, H-17), 2.32 (1H, t, *J* = 7.4, H-1'), 2.03 (1H, m, H-16a), 1.81 (2H, m, H-16b), 0.93 (2H, m, H-1), 0.82 (3H, s, H-18), 0.72 (3H, s, H-19). 0.65 (1H, m, H-9)

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃)

172.0 (C=O glutalato), 82.3 (C-17) 73.8 (C-3), 54.7 (C-14), 51.4 (C-9), 45.1 (C-13), 43.3 (C-5), 37.0 (C-4), 36.8 (C-16), 34.8 (C-12), 34.4 (C-1'), 31.9 (C-2), 30.1 (C-7), 28.8 (C-2'), 27.5 (C-6), 21.3 (C-15), 20.7 (C-11), 12.6 (C-18), 11.5 (C-19).

Síntesis de derivados esteroidales de ureas y tioureas.

Obtención del 3β-acetato de 16α-bromo-*trans*-androsterona (6)



En un matraz de bola se disuelven 200 mg (0.68 mmol, 1eq.) de **1** en 1.0 mL de AcOH (25 eq.) el crudo de reacción se deja en agitación a temperatura ambiente por 20 minutos posteriormente se añaden 236.7 mg (0.74 mmol, 1.1 eq.) de PyBr₃, la mezcla de reacción se coloca en agitación a temperatura de 35 °C ambiente durante 2 horas, después de comprobar por cromatografía en capa fina hexano/AcOEt (7:3) la transformación de la materia prima, se colocó en un baño de hielo durante 15 minutos y se realizan lavados con NaHCO₃ (4x30 mL), salmuera (3x30 mL) y agua destilada (3x30 mL), la fase orgánica se extrae con CH₂Cl₂ a continuación se seca con MgSO₄ se filtra y se evapora a presión

reducida, luego se purifica por cromatografía en columna con un sistema 95:5 hexano/AcOEt, se obtuvo un sólido blanco amorfo con un rendimiento del 75% (159.0 mg). Parte del producto se recristaliza por evaporación lenta de una disolución (Hex:AcOEt) obteniéndose cristales incoloros.

l.f = 186-189 °C

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃)

δ: 4.66 (1H, m, H-3), 4.52 (1H, d, *J* = 6.7 Hz, H-16), 2.15 (2H, m, H-15), 2.0 (3H, s, CH₃COO), 1.02 (2H, m, H-1), 0.87 (3H, s, H-18), 0.82 (3H, s, H-19). 0.76 (1H, m, H-9)

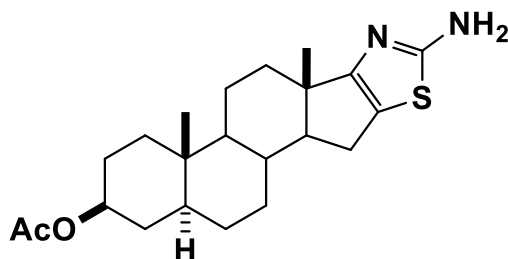
RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃)

213.7 (C-17), 170.8 (C=O acetato), 73.7 (C-3), 54.0 (C-14), 47.8 (C-9), 47.8 (C-16), 46.4 (C-13), 44.5 (C-5), 36.6 (C-4), 31.5 (C-12), 30.7 (C-15), 29.3 (C-7), 28.5 (C-6), 27.3 (CH₃COO), 21.8 (C-2), 20.3 (C-11), 14.2 (C-18), 11.9 (C-19)

Datos cristalográficos y refinamiento de la estructura

Formula	C ₂₁ H ₃₁ BrO ₃	
Peso de la formula	411.37	
Temperatura	295(2) K	
Longitud de onda	0.56083 Å	
Sistema cristalino	Monoclínico	
Grupo espacial	P2 ₁	
Dimensiones de celda unidad	a = 10.1100(7) Å	α = 90°
	b = 7.2791(4) Å	β = 101.589(6)°
	c = 13.9807(11) Å	γ = 90°
Volumen	1007.89(12) Å ³	
Z	2	
Densidad (calculado)	1.355 g/cm ³	
Coefficiente de absorción	1.107 mm ⁻¹	
Factor-R (%)	4.32	

Obtención del 3β-acetato de 2'-amino[1,3]tiazolo[5',4':16,17]-5α-andostano (7)



En un matraz de bola se disuelven 100 mg (0.27 mmol, 1eq.) de **6** en 6.0 mL de EtOH, el crudo de reacción se deja en agitación a temperatura ambiente por 20 minutos posteriormente se añaden 51 mg (0.67 mmol, 2.5 eq.) de tiourea, la mezcla de reacción se coloca en agitación a temperatura de reflujo durante 3 horas, después de comprobar por cromatografía en capa fina hexano/AcOEt (7:3), la transformación de la materia prima, se colocó en un baño de hielo durante 15 minutos y se añade gota a gota una solución de NaOH al 10% hasta alcanzar un pH≈8 posteriormente se evapora el disolvente a presión reducida, se purifica por cromatografía en columna con un sistema 8:2 hexano/AcOEt (conteniendo 1.0 mL de NH₄OH), obteniéndose un sólido blanco con un rendimiento del 75% (84.0 mg).

l.f = 152-155 °C

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃)

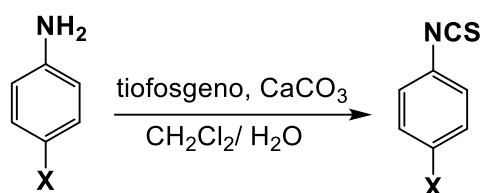
δ: 5.24 (2H, s, NH₂), 4.62 (1H, m, H-3), 3.43 (1H, m, H-15a), 3.31 (1H, m, H-15b), 1.98 (3H, s, CH₃COO), 0.97 (2H, m, H-1), 0.84 (3H, s, H-18), 0.78 (3H, s, H-19), 0.66 (1H, m, H-9)

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃)

170.9 (C=O acetato), 163.8 (C=N), 121.8 (C-17), 121.2 (C-19), 73.2 (C-3), 58.5 (C-15), 53.5 (C-14), 48.8 (C-9), 46.9 (C-13), 44.5 (C-5), 36.7 (C-4), 31.5 (C-12), 28.4 (C-7), 27.4 (C-6), 27.3 (CH₃COO), 21.6 (C-2), 20.7 (C-11), 15.2 (C-18), 12.9 (C-19).

Método general para la obtención del fragmento precursor de tioureas y ureas aromáticas

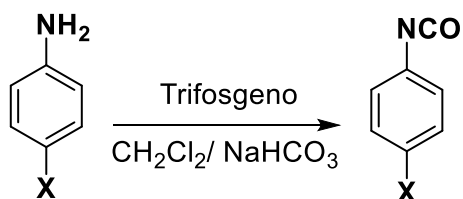
Obtención de isotiocianatos



X= H, CH₃, OMe, Cl, F

En un matraz de bola se disuelve (1.0 eq) de la correspondiente amina aromática en un sistema 1:1 CH₂Cl₂/H₂O (50 mL), posteriormente se agregan (3.0 eq) de CaCO₃ seguido de (1.4 eq) de tiosfosgeno el crudo de reacción se deja en agitación a temperatura ambiente por 3 horas, después de comprobar por cromatografía en capa fina hexano/AcOEt (7:3) la transformación total de la materia prima, se filtra sobre papel filtro y se lava con CH₂Cl₂, al filtrado es tratado con CH₂Cl₂ (3x30 mL) a continuación se seca con MgSO₄ se filtra y se concentra a sequedad obteniendo los isotiocianatos correspondientes. Los productos fueron utilizados sin previa purificación.

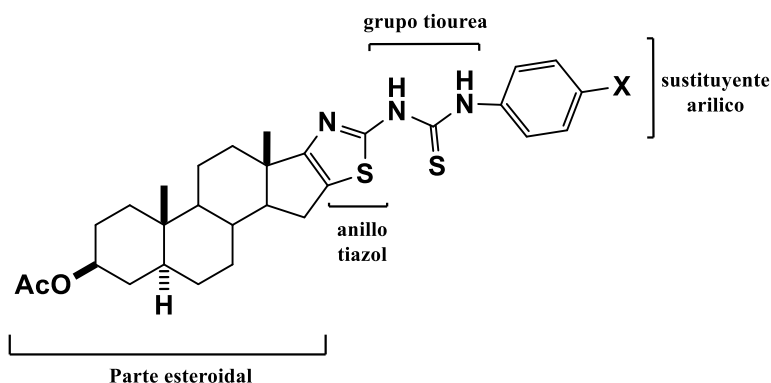
Obtención de isocianatos



X= H, CH₃, Cl, NCO

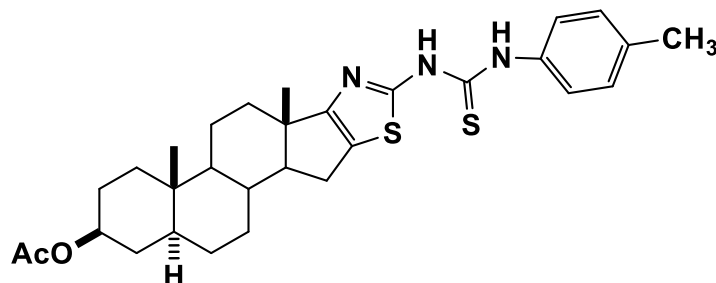
En un matraz de bola se disuelve (1.0 eq) de la correspondiente amina aromática en un sistema 1:1 CH₂Cl₂/NHCO₃ (8 mL), se coloca en baño de hielo durante 15 minutos posteriormente se agregan (0.44 eq) de trifosgeno y se deja en agitación la mezcla de reacción durante 20 minutos. El crudo de reacción es utilizado *in situ* sin previa purificación debido a la reactividad de los isocianatos.

Método general para la obtención de tioureas de tiazolo de *trans*-androsterona



En un matraz de bola se disuelve (1.0 eq) del heteroesteroide **7** en 8.0 mL de EtOH, el crudo de reacción se deja en agitación a temperatura ambiente por 15 minutos posteriormente se añaden (2.5 eq.) del correspondiente isotiocianato aromático, la mezcla de reacción se coloca en agitación a temperatura de reflujo durante 12 horas, después de comprobar por cromatografía en capa fina hexano/AcOEt (7:3), la transformación de la materia prima, se evapora el disolvente a presión reducida y se disuelve con CH₂Cl₂. Se soporta sobre gel de sílice y el producto se purifica por cromatografía en columna obteniendo así las tioureas esteroidales deseadas

Obtención del 3β-acetato de 2'-(3''-*p*-metilfeniltioureido) [1,3]tiazolo[5',4':16,17]-5α-andostano (**8**)



I.f = 152-155 °C

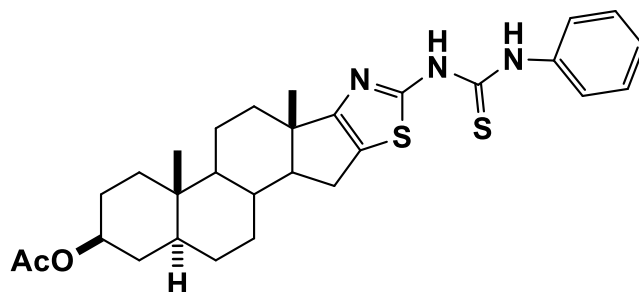
RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃)

δ: 7.67 (1H, s, NH₁), 7.38 (1H, s, Ph-NH), 7.17 (2H, m, H_{meta}) 7.11 (2H, m, H_{orto}), 4.60 (1H, m, H-3), 3.27 (2H, m, H-15), 2.28 (3H, s, Ph-CH₃), 1.96 (3H, s, CH₃COO), 0.94 (2H, m, H-1), 0.88 (3H, s, H-18), 0.78 (3H, s, H-19). 0.70 (1H, m, H-9)

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃)

177.9 (C=S), 170.9 (C=O acetato), 170.7 (C=N), 130.3 (Ph-C_{ipso}), 129.5 (Ph-C_{para}), 125.5 (Ph-C_{meta}), 124.4 (Ph-C_{orto}), 121.3 (C-17), 121.1 (C-19), 73.3 (C-3), 59.4 (C-15), 54.5 (C-14), 49.3 (C-9), 47.1 (C-13), 44.5 (C-5), 36.7 (C-4), 31.5 (C-12), 28.6 (C-7), 27.8 (C-6), 27.2 (C-2), 21.2 (CH₃COO), 21.1 Ph-CH₃, 20.7 (C-11), 13.9 (C-18), 12.3 (C-19).

**Obtención del 3β-acetato de 2'-(3''-
feniltioureido)[1,3]tiazolo[5',4':16,17]-5α-andostano (9)**



l.f = 201-203 °C

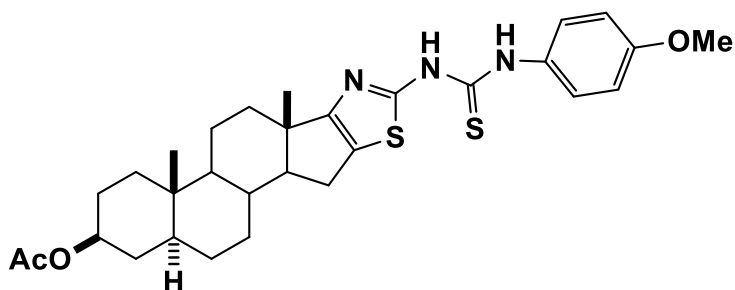
RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃)

δ: 8.36 (1H, s, NH₁), 7.62 (1H, s, Ph-NH), 7.32 (5H, m, H_{meta}, H_{orto}, H_{para}), 4.65 (1H, m, H-3), 3.60 (2H, m, H-15), 1.97 (3H, s, CH₃COO), 0.97 (2H, m, H-1), 0.93 (3H, s, H-18), 0.82 (3H, s, H-19). 0.70 (1H, m, H-9)

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃)

178.4 (C=S), 170.8 (C=O acetato), 170.6 (C=N), 134.6 (Ph-C_{ipso}), 126.6 (Ph-C_{para}), 128.5 (Ph-C_{orto}), 124.6 (Ph-C_{meta}), 122.1 (C-17), 119.8 (C-16), 73.5 (C-3), 60.0 (C-15), 54.5 (C-14), 49.9 (C-9), 47.9 (C-13), 44.6 (C-5), 36.6 (C-4), 31.1 (C-12), 28.3 (C-7), 28.0 (C-6), 27.4 (C-2), 21.5 (CH₃COO) 20.6 (C-11), 15.1 (C-18), 11.9 (C-19).

Obtención del 3β-acetato de 2'-(3''*p*-metoxifeniltioureido)[1,3]tiazolo[5',4':16,17]-5α-andostano (10)

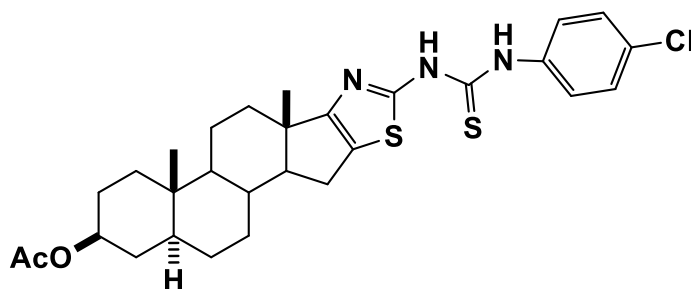
**RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃)**

δ: 8.64 (1H, s, NH), 8.23 (1H, s, Ph-NH), 7.32 (2H, m, H_{orto}), 6.85 (2H, m, H_{orto}), 4.68 (1H, m, H-3), 3.80 (3H, m, -OCH₃), 3.54 (2H, m, H-15), 2.02 (3H, s, CH₃COO), 1.09 (3H, s, H-18), 0.96 (2H, m, H-1), 0.85 (3H, s, H-19), 0.72 (1H, m, H-9)

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃)

178.3 (C=S), 170.9 (C=O acetato), 170.8 (C=N), 151.4 (Ph-C_{para}), 126.6 (Ph-C_{ipso}), 124.1 (Ph-C_{orto}), 122.6 (C-17), 121.0 (C-16), 124.1 (Ph-C_{meta}), 73.7 (C-3), 59.8 (C-15), 55.7 (Ph-OCH₃), 54.5 (C-14), 47.4 (C-9), 46.0 (C-13), 44.1 (C-5), 36.1 (C-4), 30.3 (C-12), 27.9 (C-7), 27.2 (C-6), 27.3 (C-2), 21.6 (CH₃COO) 20.7 (C-11), 14.4 (C-18), 12.2 (C-19).

Obtención del 3 β -acetato de 2'-(3''-*p*-clorofeniltioureido)
[1,3]tiazolo[5',4':16,17]-5 α -andostano (11)



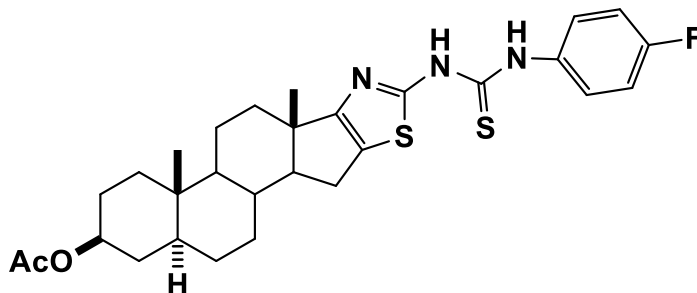
RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃)

δ : 8.66 (1H, s, NH₂), 8.25 (1H, s, Ph-NH), 7.58 (2H, m, H_{orto}), 7.33 (2H, m, H_{orto}), 4.64 (1H, m, H-3), 3.39 (2H, m, H-15), 2.02 (3H, s, CH₃COO), 0.93 (3H, s, H-18), 0.86 (2H, m, H-1), 0.82 (3H, s, H-19). 0.72 (1H, m, H-9)

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃)

179.0 (C=S), 171.2 (C=O acetato), 171.0 (C=N), 137.5 (Ph-C_{ipso}), 132.3 (Ph-C_{para}), 128.4 (Ph-C_{orto}), 125.6 (C-17), 123.0 (C-16), 118.2 (Ph-C_{meta}), 73.7 (C-3), 60.7 (C-15), 53.8 (C-14), 47.0 (C-9), 46.6 (C-13), 44.6 (C-5), 36.9 (C-4), 30.9 (C-12), 28.6 (C-7), 28.0 (C-6), 27.5 (C-2), 21.8 (CH₃COO), 20.8 (C-11), 14.6 (C-18), 12.6 (C-19).

Obtención del 3 β -acetato de 2'-(3''-*p*-
fluorofeniltioureido)[1,3]tiazolo[5',4':16,17]-5 α -andostano (12)

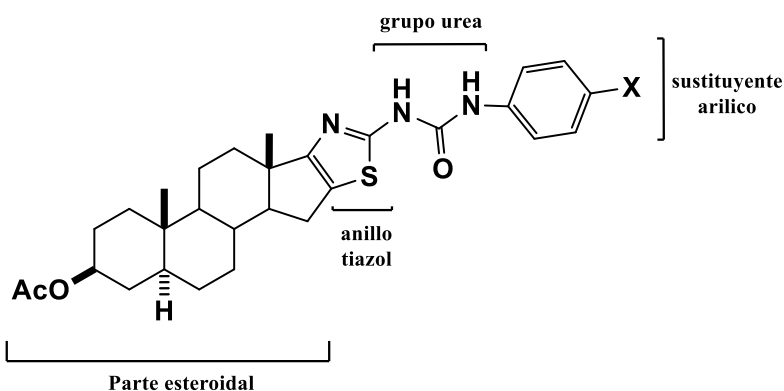


RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃)

δ: 8.65 (1H, s, NH₂), 8.43 (1H, s, Ph-NH), 7.55 (2H, m, H_{orto}), 7.04 (2H, m, H_{orto}), 4.67 (1H, m, H-3), 3.30 (2H, m, H-15), 2.03 (3H, s, CH₃COO), 0.98 (3H, s, H-18), 0.92 (2H, m, H-1), 0.88 (3H, s, H-19), 0.70 (1H, m, H-9)

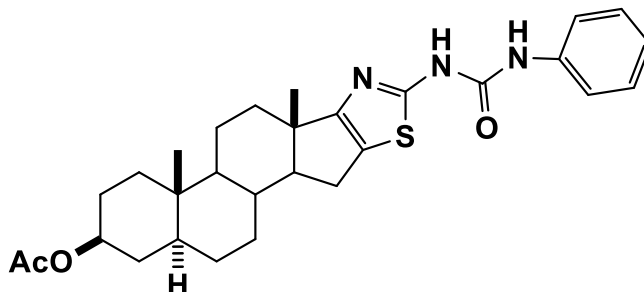
RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃)

178.9 (C=S), 171.1 (C=O acetato), 171.1 (C=N), 162.1 (Ph-C_{para}), 134.8 (Ph-C_{ipso}), 126.1 (Ph-C_{orto}), 124.5 (C-17), 122.4 (C-16), 115.9 (Ph-C_{meta}), 73.6 (C-3), 60.5 (C-15), 55.1 (C-14), 47.6 (C-9), 45.2 (C-13), 44.2 (C-5), 36.5 (C-4), 29.4 (C-12), 27.5 (C-7), 25.3 (C-6), 22.7 (C-2), 21.9 (CH₃COO), 21.0 (C-11), 15.5 (C-18), 12.6 (C-19).

Método general para la obtención de tiazoloureas de *trans*-androsterona

En un matraz de bola se disuelve (1.2 eq) de la correspondiente amina aromática en una mezcla 1:1 de CH₂Cl₂ y una solución saturada de NaHCO₃ (8 mL), se coloca en agitación sobre un baño de hielo durante 15 minutos. Posteriormente se añade trifosgeno (0.44 eq.) se deja en agitación a 0°C durante 15 minutos, luego se añaden (1 eq) de 7, la mezcla de reacción se mantiene en agitación a 0°C por 20 minutos y posteriormente a temperatura ambiente durante 3 horas, después de comprobar por cromatografía en capa fina hexano/AcOEt (7:3), la transformación de la materia prima, se extrae la fase orgánica con CH₂Cl₂ (3x30 mL) a continuación se secó con MgSO₄ se filtró y se evapora a presión reducida, Se soporta sobre gel de sílice y el producto se purifica por cromatografía en columna obteniendo así las ureas esteroidales deseadas.

Obtención del 3β-acetato de 2'-(3''-fenilureido)[1,3]tiazolo[5',4':16,17]-5α-andostano (13)



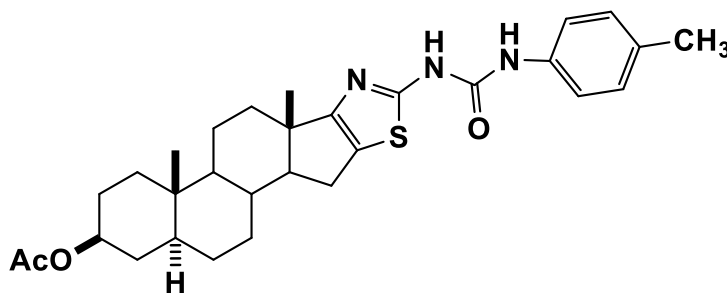
RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃)

δ: 7.58 (1H, s, NH₂), 7.40 (1H, s, NH), 7.30 (4H, m, H_{orto}, H_{para}), 7.04 (1H, m, H_{para})
4.61 (1H, m, H-3), 3.68 (2H, m, H-15), 1.99 (3H, s, CH₃COO), 1.19 (3H, s, H-18),
0.95 (2H, m, H-1), 0.82 (3H, s, H-19). 0.61 (1H, m, H-9).

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃)

171.2 (C=O acetato), 171.0 (C=N), 154.2 (C=O urea), 139.5 (Ph-C_{ipso}), 129.6 (Ph-C_{orto}), 129.2 (Ph-C_{meta}), 123.5 (Ph-C_{para}), 119.9 (C-17), 119.5 (C-16), 74.2 (C-3), 60.8 (C-15), 54.1 (C-14), 52.2 (C-9), 47.9 (C-13), 44.3 (C-5), 37.3 (C-4), 30.3 (C-12), 28.8 (C-7), 27.9 (C-6), 22.1 (CH₃COO) 21.2 (C-2), 21.0 (C-11), 16.0 (C-18), 12.6 (C-19).

Obtención del 3β-acetato de 2'-(3''-p-tolilureido)[1,3]tiazolo[5',4':16,17]-5α-andostano (14)



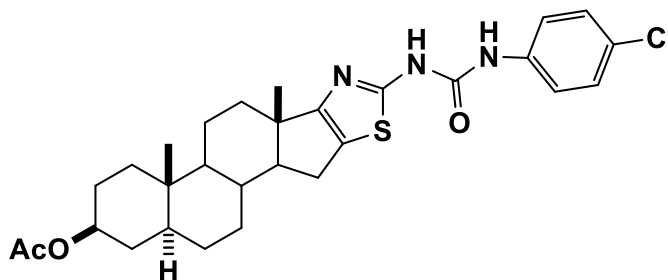
RMN ¹H (500 MHz, CD₃OD)

δ: 7.38 (2H, m, H_{meta}), 7.10 (2H, m, H_{meta}) 4.62 (1H, m, H-3), 3.59 (2H, m, H-15), 2.30 (3H, s, Ph-CH₃), 2.01 (3H, s, CH₃COO), 1.20(3H, s, H-18), 0.88 (2H, m, H-1), 0.75 (3H, s, H-19). 0.66 (1H, m, H-9).

RMN ¹³C (125 MHz, CD₃OD)

171.7 (C=O acetato), 170.4 (C=N), 153.7 (C=O urea)), 136.1 (Ph-C_{para}), 132.1 (Ph-C_{ipso}), 129.5 (Ph-C_{meta}), 129.4 (Ph-C_{orto}), 119.2 (C-17), 118.6 (C-16), 73.5 (C-3), 59.9 (C-15), 53.6 (C-14), 51.2 (C-9), 47.6 (C-13), 44.1 (C-5), 37.0 (C-4), 3.1 (C-12), 28.8 (C-7), 28.1 (C-6), 22.4 (CH₃COO) 21.9 (C-2), 21.2 (C-11), 19.7 (Ph-CH₃), 15.3 (C-18), 12.9 (C-19).

Obtención del 3β-acetato de 2'-(3''-p-clorofenilureido)[1,3]tiazolo[5',4':16,17]-5α-andostano (15)

**RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃)**

δ: 7.51 (2H, m, H_{orto}), 7.34 (1H, s, NH), 7.24 (2H, m, H_{meta}), 4.61 (1H, m, H-3), 3.62 (2H, m, H-15), 1.99 (3H, s, CH₃COO), 0.99 (3H, s, H-18), 0.92 (2H, m, H-1), 0.83 (3H, s, H-19). 0.62 (1H, m, H-9).

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃)

170.8 (C=O acetato), 170.7 (C=N), 151.4 (C=O urea)), 137.5 (Ph-C_{ipso}), 132.6 (Ph-C_{para}), 128.8 (Ph-C_{orto}), 128.0 (Ph-C_{meta}), 120.1 (C-17), 119.5 (C-16), 73.6 (C-3), 60.2 (C-15), 53.3 (C-14), 51.2 (C-9), 47.2 (C-13), 44.6 (C-5), 36.6 (C-4), 31.5 (C-12), 28.2 (C-7), 27.5 (C-6), 21.5 (CH₃COO) 21.0 (C-2), 20.3 (C-11), 15.2 (C-18), 12.1 (C-19).

1.7 CONCLUSIONES

- Se sintetizaron 4 nuevos dímeros esteroidales derivados de *trans*-androsterona a través de reacciones como lo son la acilación y la síntesis de Williamson con rendimientos de moderados a buenos (50-80%).
- Se diseñó una ruta corta y eficiente para la síntesis de tiazolo-tioureas y ureas monoméricas y diméricas fusionadas al anillo D de la *trans*-androsterona que permitió la obtención de derivados deseados con rendimientos moderados y de manera selectiva.
- Se llevó a cabo la síntesis del derivado **6** mediante una nueva metodología con un rendimiento del 70%. Se logró obtener cristales del compuesto esteroideal permitiendo así confirmar su estructura.
- Se propusieron mecanismos de reacción para explicar la formación de los distintos productos.
- Se obtuvo la caracterización completa de los mismos utilizando diferentes técnicas físicas y espectroscópicas.
- Se realizaron pruebas de actividad antiproliferativa de algunos compuestos obtenidos, siendo el derivado **7** el que presentó mayor actividad antiproliferativa en diferentes líneas celulares cancerosas en comparación al Etoposido y Cisplatino.

CAPITULO II

Síntesis de ureas y tioureas derivadas de iminoazúcares. Evaluación biológica



El presente trabajo se desarrolló en el laboratorio investigación de Química Orgánica de la Facultad de Química de la Universidad de Sevilla, España bajo la dirección del Dr. Óscar López López

2.1 RESUMEN

La presente investigación se desarrolló en el laboratorio de investigación de Química Orgánica de la Facultad de Química de la Universidad de Sevilla, España, bajo la dirección del Dr. Óscar López López. En el presente capítulo se aborda la síntesis de ureas y tioureas derivadas de 1-desoxinojirimicina alquilada en el nitrógeno endocíclico con un fragmento hidrocarbonado de distinta longitud. De esta forma, se llevará a cabo un análisis estructura-actividad donde se estudiará la influencia de la longitud del espaciador, la naturaleza del heteroátomo (oxígeno y azufre), así como los sustituyentes en el anillo aromático sobre la actividad biológica (inhibición de β -glicosidasas y acetilcolinesterasa)

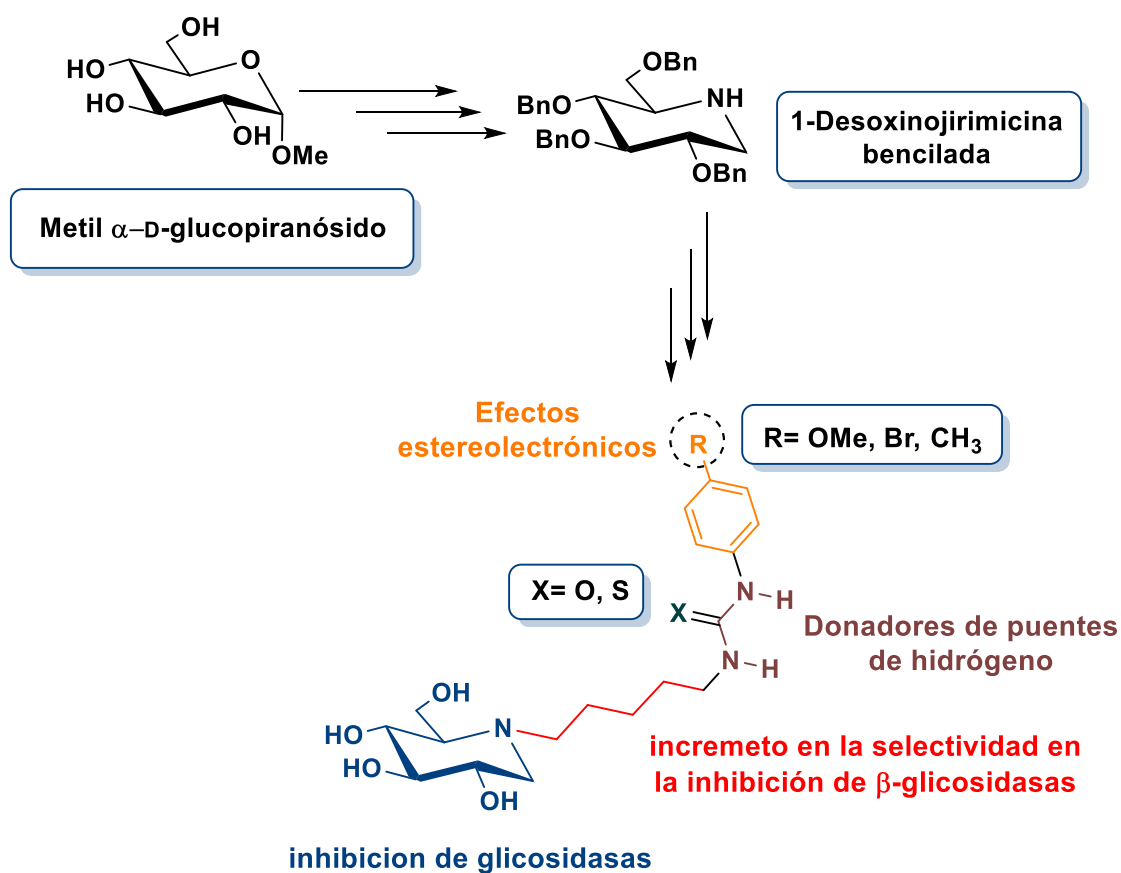
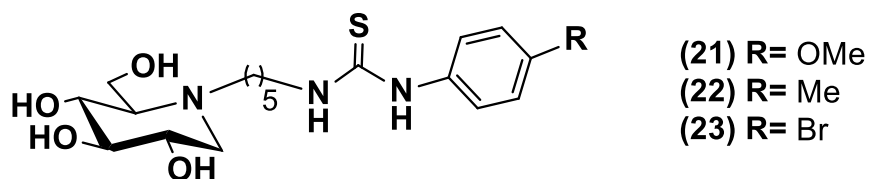
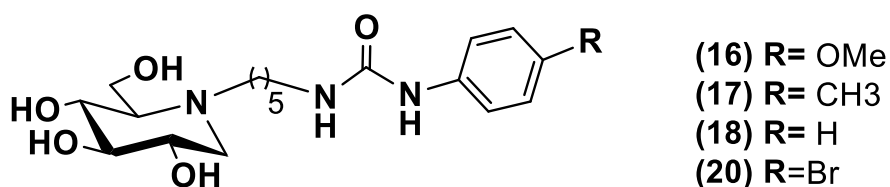
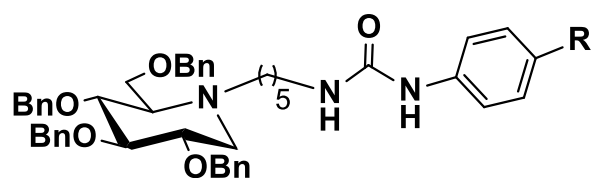
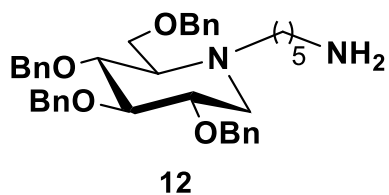
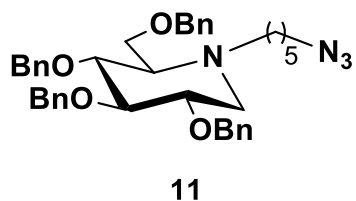
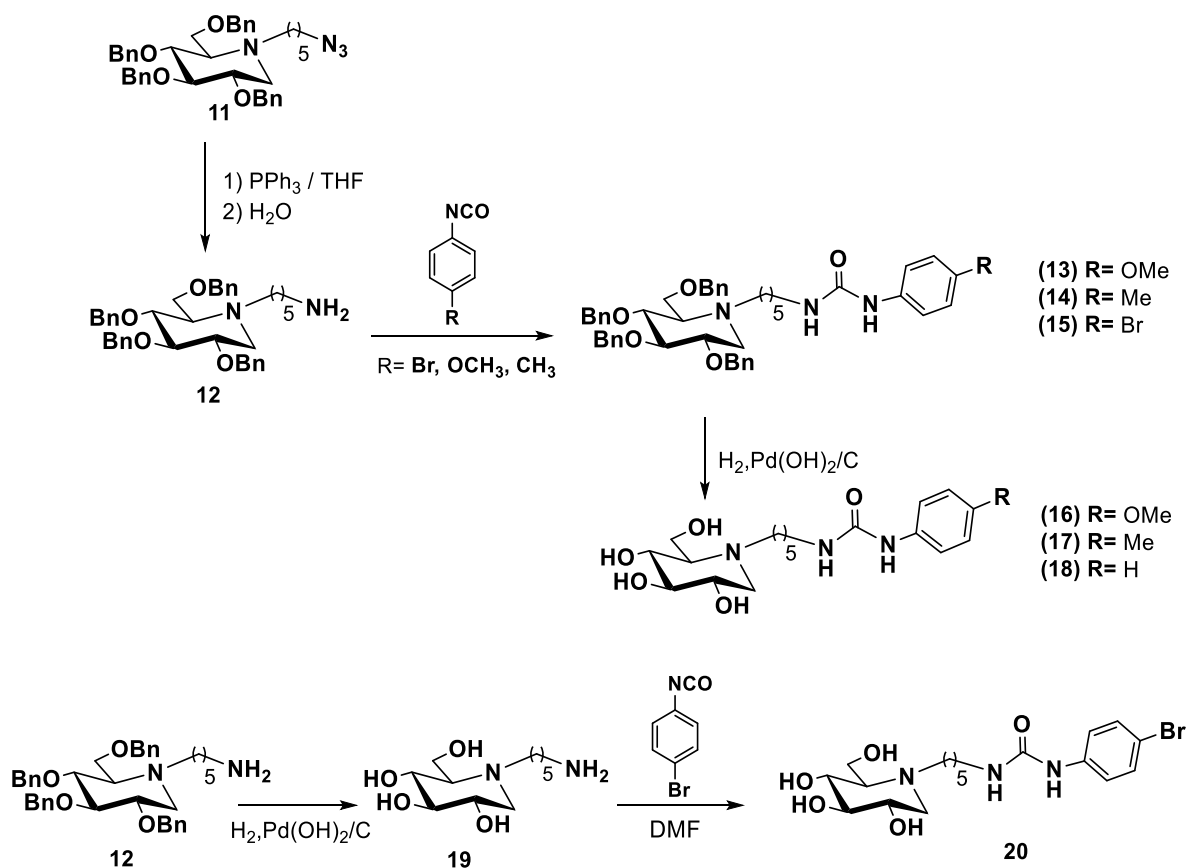


Figura 1. Diseño de nuevos derivados de 1-desoxinojirimicina con grupos ureido y tioureido

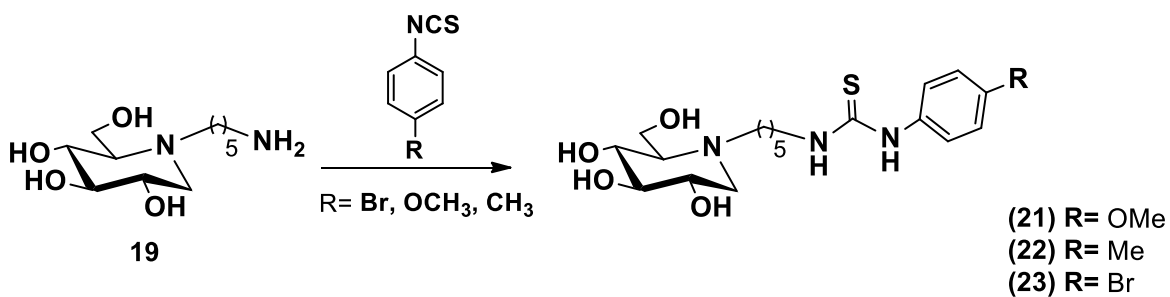
Los nuevos derivados obtenidos fueron caracterizados mediante las técnicas espectroscópicas, espectrométricas habituales.



El intermedio clave en el presente trabajo de investigación fue la 1-desoxinojirimicina per-O-bencilada **6**, obtenida a partir del metil α -D-glucopiranosido comercial **1** mediante 5 etapas de reacción (bencilación



Esquema 2. Síntesis de ureas derivadas de 1-desoxinojirimicina.



Esquema 3. Síntesis de tioureas derivadas de 1-desoxinojirimicina.

2.2 INTRODUCCIÓN

Han pasado aproximadamente más de cinco décadas desde el reporte del aislamiento del primer iminoazúcar, nojirimicina (Figura 2), el cual fue descubierto a partir de un cultivo de la especie *Streptomyces*.⁷⁷

Los iminoazúcares son análogos de monosacáridos y presentan en su estructura un átomo de nitrógeno reemplazando al átomo de oxígeno endocíclico; esta sustitución aparentemente simple plantea muchos desafíos sintéticos y abre el camino a notables propiedades biológicas.⁷⁸

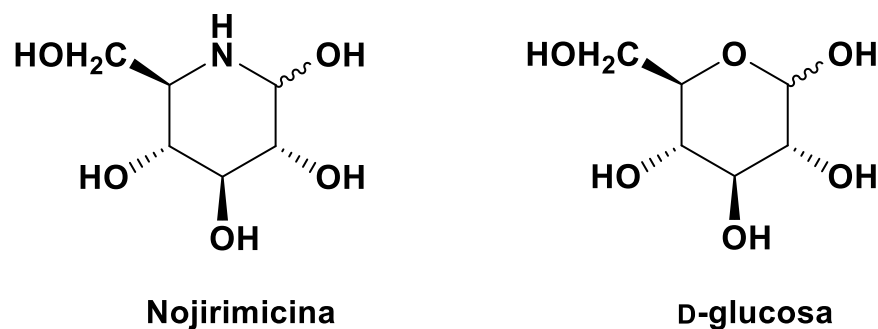


Figura 2. Estructura básica de los iminoazúcares

Los iminoazúcares actúan como miméticos de los carbohidratos, provocando que sean agentes atractivos desde el punto de vista farmacológico debido a sus propiedades inhibitorias frente a glucosidasas y glicosiltransferasas a causa de su parecido estructural con la fracción del azúcar del sustrato natural.⁷⁹

Estos análogos de los carbohidratos se dividen en: piperidinas (ej. nojirimicina y desoxinojirimicina), pirrolidinas (ej. CYB3), indolizidinas (ej. castanospermina y swainsonina), pirrolizidinas (ej. alaxina) y nortropanos (ej. calistegina A₃) (Figura 3).⁸⁰

77. Inoue, S.; Tsuruoka, T.; Niida, T. *J. Antibiot.* **1966**, *19*, 288–292.

78. Asano, N. *Glycobiology.* **2003**, *13*, 93–104.

79. Diot J.; Garcia, I.; Twigg, G. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 7757-7768.

80. M. Bols, Ó. López, F. Caballero. *Glycosidase Inhibitors: Structure, Activity, Synthesis, and Medical Relevance*. En: *Comprehensive Glycoscience-From chemistry to systems biology*; J. P. Kamerling (Ed.), Elsevier Science, Oxford, **2007**, Vol. 3, pp. 820-822.

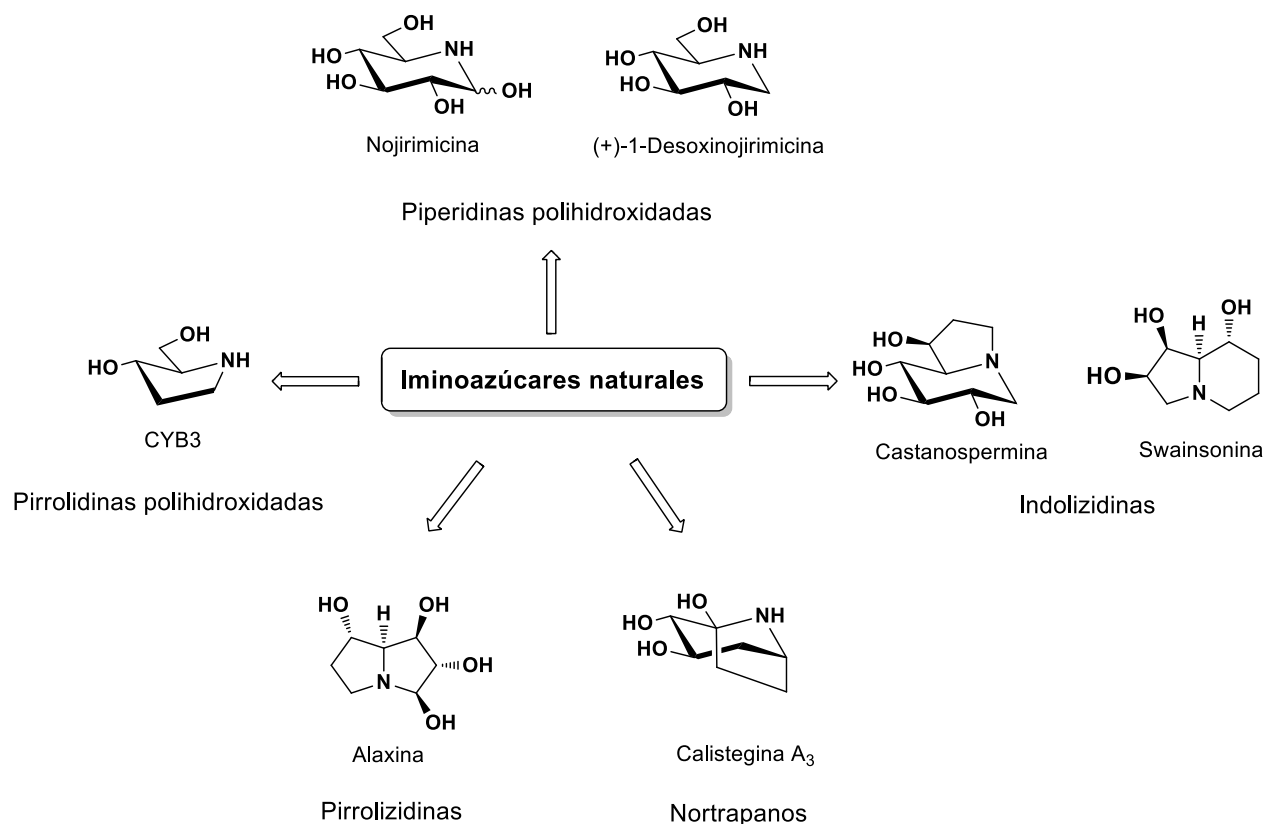


Figura 3. Diferentes tipos de iminoazúcares

Los iminoazúcares son de interés particular debido a su potencial terapéutico en el tratamiento de enfermedades mediadas por carbohidratos, así como infecciones virales, metástasis tumoral, diabetes o enfermedades de almacenamiento lisosomal, también actúan como antimicrobianos, anticancerígenos e inmunosupresores.⁸¹

El origen de su uso terapéutico se remonta a la antigua China con el empleo de hierbas y extractos en su medicina tradicional. En Occidente en el siglo XVII, el aceite de Haarlem fue el primer medicamento producido a escala industrial el cual era utilizado para el tratamiento de la diabetes y blanqueamiento de la piel. Uno de los componentes principales del aceite de Haarlem, era el extracto de hojas de mora blanca (*Morus alba*), una fuente extremadamente rica en iminoazúcares.⁸²

81. Ghisaidoobe, A.; Bikker, P.; de Bruijn, A. *Med. Chem. Lett.* **2011**, 2, 119-123.

82. Asano, N.; Tamioka, E.; Kizu, K.; Matsui, K. *Carbohydr. Res.* **1994**, 253, 235-240.

La historia científica de los iminoazúres comienza en la década de 1960 con las primeras síntesis y obtención de derivados de azúcar con un átomo de nitrógeno en su estructura, reportados por los grupos de Paulsen ⁸³, Jones ⁸⁴ y Hanessian.⁸⁵ Posteriormente en 1966, Inouye y colaboradores lograron aislar de *Streptomyces roseochromogenes* y *Streptomycesnojiriensis* el primer alcaloide polihidroxilado, conocido como nojirimicina (NJ) **1** ⁸⁶, la cual demostró inhibir las α - y β -glucosidasas. Los *mano* y *galacto*-epímeros **2** y **3** de NJ (Figura 4), también fueron aislados de cepas de *Streptomyces* y mostraron ser potentes inhibidores de glucosidasas.⁸⁷

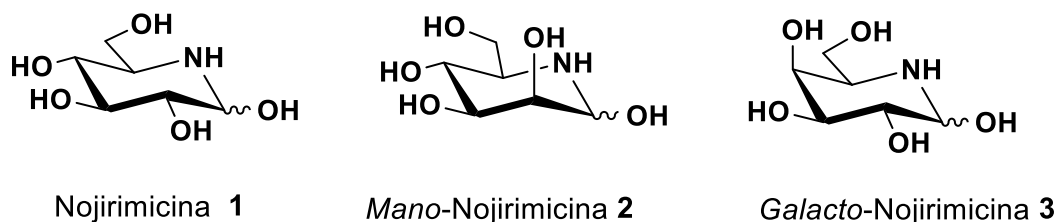


Figura 4. Inhibidores de glucosidasas de origen natural

Sin embargo, la presencia del grupo hidroxilo en la posición anomérica de estos iminoazúcares reducía su estabilidad química ya que sufrían el reordenamiento o transposición de Amadori (Figura 5). Este reordenamiento implica la deshidratación de la función hemiaminal lo cual conduce a la formación del correspondiente ion iminio, que evoluciona hasta un intermedio cetónico, que es hidratado ⁸⁸ Esta inestabilidad química de los iminoazúcares de tipo hemiaminal representó una fundamental limitación a sus usos *in vivo* obstaculizando así sus aplicaciones terapéuticas.

-
83. a) Paulsen, H. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1962**, *1*, 597. b) Paulsen, H., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1962**, *1*, 454.
 84. Jones, J.; Turner, J. C. *J. Chem. Soc.* **1962**, *5*, 4699–4703. (b) Jones, J.; Szarek, W. A. *Can. J. Chem.* **1963**, *41*, 636–640.
 85. Hanessian, S.; Haskell, T. H. *J. Org. Chem.*, **1963** *28*, 2604–2610. (b) Hanessian, S. *Chem. Commun.* **1966**, 796–798.
 86. Inouye, S.; Tsuruoka, T.; Niida, T. *J. Antibiot* **1966**, *19*, 288–292. (b) Inouye, S.; Tsuruoka, T.; Koaze, Y.; Niida, *Tetrahedron* **1968**, *24*, 2125–2144.
 87. Stütz, A. E. *Iminosugars as glycosidase Inhibitors: Nojirimycin and beyond*; Wiley-VCH (Ed.), **1999**, pp 8-14.
 88. Kondo, K.; Adachi, H.; Shitara, E.; Kojima, F.; Nishimura, Y. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9* 1091-1095.

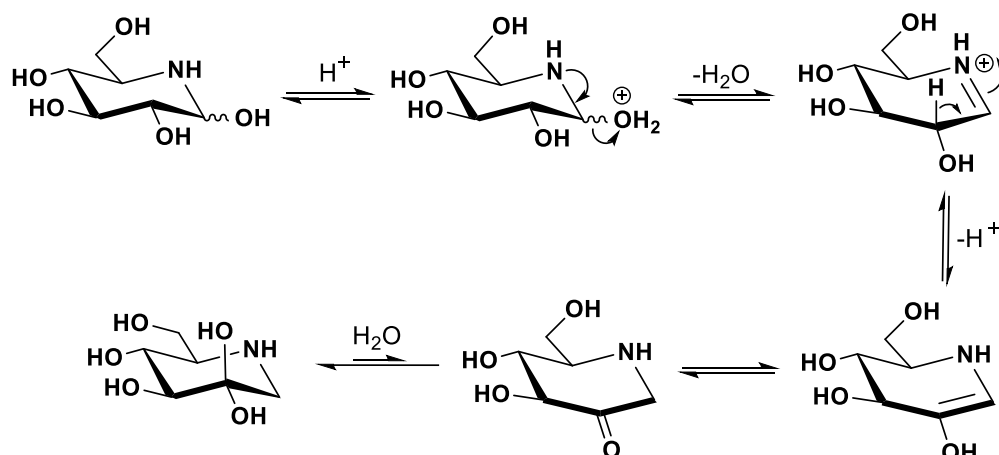


Figura 5. Rearreglo de Amadori de la nojirimicina

Este problema pudo ser superado mediante la reducción del grupo hidroxilo anomérico con borohidruro de sodio lo cual resultó en la formación del correspondiente 1-desoxiderivado, la 1-desoxinojirimicina (1-DNJ), además de mostrar una gran estabilidad, la DNJ mostró ser un potente inhibidor de α -glucosidasas.⁸⁹ Por lo tanto, a lo largo de los años, los desoxiaminoazucars fueron exclusivamente seleccionados como candidatos a fármacos (ej. Zavesca® y Glyset®) (Figura 6).

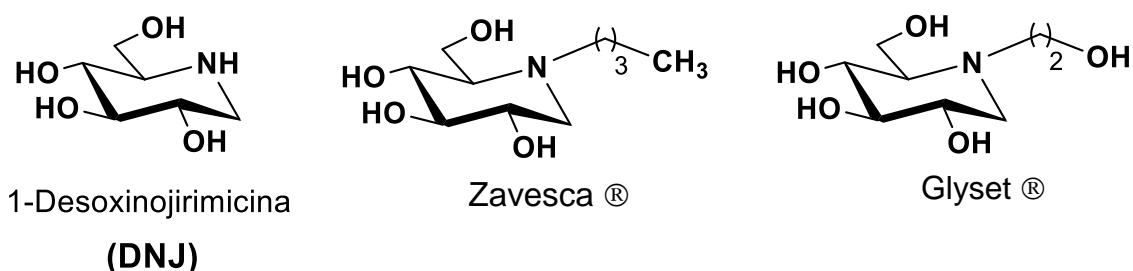


Figura 6. Ejemplo de deoxiiminoazucars

89. Paulsen, H.; Sangster, I.; Heyns, K. *Chem. Ber.* **1967**, *100*, 802-815. (b) Yagi, M.; Kouno, T.; Aoyagi, Y.; Murai, H. *Nippon Nogei Kagaku Kaishi* **1976**, *50*, 571-572.

2.3 ANTECEDENTES

Glicosidasas

Las glicosidasas y las glicosiltransferasas son enzimas importantes las cuales son responsables de la hidrólisis y formación de enlaces glicosídicos (Figura 7). Generalmente las glicosidasas tienen dos grupos ácidos carboxílicos en el sitio activo y solo es catalítico cuando uno de estos está protonado y el otro en la forma de carboxilato. Esto significa que la actividad de la enzima es dependiente del pH, ya que a un pH donde ambos carboxilatos están protonados o no protonados la enzima es inactiva.⁹⁰

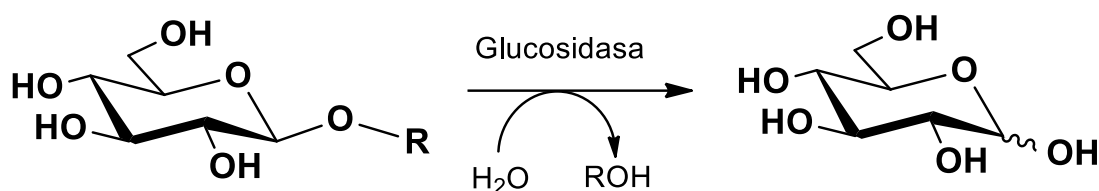


Figura 7. Reacción general catalizada por una glucosidasa

Estas enzimas juegan un papel fundamental en el control del metabolismo de los carbohidratos (descomposición y síntesis), en la formación de paredes celulares e incluso en el reconocimiento celular.⁹¹ Las glicosidasas también están involucradas en una variedad de trastornos metabólicos y otros procesos mediados por carbohidratos, enfermedades como diabetes, trastornos de almacenamiento lisosomal, infección viral y bacteriana, cáncer.⁹² Debido a la importancia de estas enzimas en una amplia gama de procesos biológicos, se ha desarrollado un interés en los inhibidores de glicosidasas como posibles agentes terapéuticos.

90. (a) Asano, N.; Kato, A.; Watson, A. *Med. Chem.* **2001**, *1*, 145–154. (b) Compain, P.; Martin, O. R. *Curr. Top. Med. Chem.* **2003**, *3*, 541–560.

91. Ó. López. *Carbohydrate Chemistry-Specialist Report*, P. Rauter, T.K. Lindhorst (Eds.), RSC, **2012**, *38*, 215-262.

92. Gloster, T. M.; Madsen, R.; Davies, G. J. *ChemBioChem.* **2006**, *7*, 738.

Inhibidores de glicosidasas

Como se mencionó anteriormente, las glicosidasas también glicósido-hidrolasas, son enzimas implicadas en fundamentales procesos como; el metabolismo de glicoproteínas y glucolípidos, la digestión o la hidrólisis lisosómica de glicoconjugados.⁹³ Actúan catalizando la hidrólisis del enlace C-O exocíclico en glucósidos; por lo tanto, la modificación o bloqueo de estos procesos puede ser de interés terapéutico.⁹⁴

Hasta ahora se han sintetizado y aislado centenares de inhibidores de glicosidasas de los cuales se han estudiado sus propiedades inhibitorias con el objetivo de desarrollar nuevos fármacos con aplicaciones como antidiabéticos, agentes antivirales o anticancerígenos o en trastornos metabólicos.⁹⁵ En general, se acepta que un compuesto que imita en términos de carga y geometría el estado de transición de la hidrólisis del sustrato de las glicosidasas puede ser un potente inhibidor de estas.⁹⁶

Iminoazúcares como inhibidores de glicosidasas

Entre las familias de inhibidores de glicosidasas reportados hasta ahora se encuentran los iminoazúcares. Las propiedades miméticas de los iminoazúcares se atribuyen a la similitud estructural y electrónica del estado de transición catiónico de la hidrólisis de los glicósidos naturales. A pH fisiológico, el átomo de nitrógeno de los iminoazúcares se encuentra protonado (Figura 8). Esto permite que el iminoazúcar compita con los sustratos de la enzima por el sitio activo de las glicosidasas, impidiendo así la hidrólisis del hidrato de carbono natural.⁹⁷

93. Kato, A.; Kato, N.; Kano, E.; Adachi, I.; Ikeda, K. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 2036–2044

94. Compain, P.; Martin, O. R. *Curr. Top. Med. Chem.* **2003**, *3*, 541-560. (b) Dwek, R. A.; Butters, T. D.; Platt, F. M.; Zitzmann, N. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2002**, *1*, 65–75.

95. Asano, N. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2000**, *15*, 215–234. (b) Yamada, H.; Nagai, T. *Recent Res. Dev. Phytochem.* **1998**, *2*, 413–428.

96. Bols, M. *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 1–8. (b) Heightman, T. D.; Vasella, A. T. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1999**, *38*, 750–770.

97. Jensen, H. H.; Lyngbye, L.; Bols, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3447-3449. (b) Varrot, A.; Tarling, C. A.; Macdonald, J. M.; Stick, R. V.; Zechel, D. L.; Withers, S. G.; Davies, G. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 7496-7497.

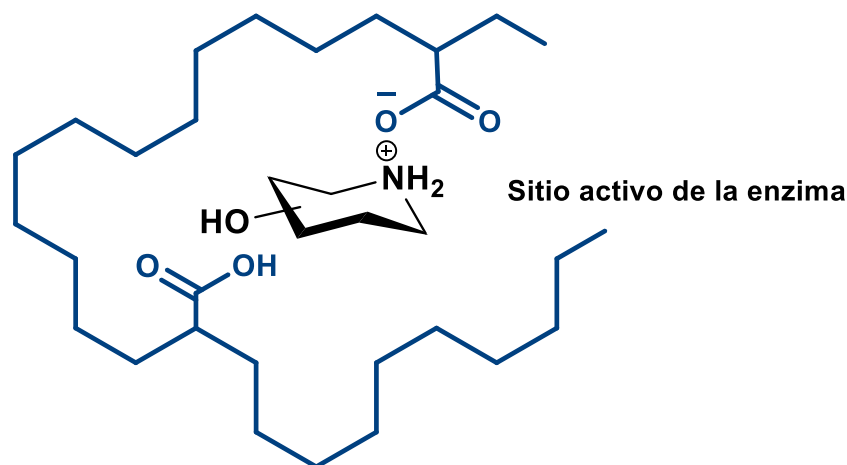


Figura 8. Iminoazúcar protonado

Inspirado por la actividad biológica observada en los iminoazúcares presentes en la naturaleza, los químicos han buscado métodos eficientes para sintetizar estas moléculas u obtener análogos de ellas, lo que podría conducir a compuestos con actividad biológica y selectividad mejoradas.

La siastatina B descubierta en 1974 fue aislada de un cultivo de *Streptomyces*; este iminoazúcar de origen natural se caracterizaba por tener el átomo de nitrógeno endocíclico en posición pseudo anomérica lo cual estimuló la síntesis de análogos de este compuesto. Este tipo de miméticos de carbohidratos, donde el átomo de nitrógeno sustituye un átomo de carbono se denomina azaazúcar. La Siastatina B demostró ser un potente inhibidor de la β -D-glucuronidasa y N-acetil- β -D-glucosaminidasa.⁹⁸ En 1994 Jespersen y colaboradores⁹⁹ sintetizaron el primer iminoazúcar que pertenece a este nuevo tipo de análogos a partir de levoglucosano el cual fue llamado isofagomina debido a su gran parecido con la fagomina (Figura 9)

Se observó que la posición del átomo de nitrógeno en posición pseudo anomérica conduce a un aumento importante en la capacidad inhibitoria hacia ciertas glucosidasas.

98. Umezawa, H.; Aoyagi, T.; Komiyama, H.; Morishima, M.; Hamada, M.; Takeuchi, T. *J. Antibiot.* **1974**, *27*, 963-969.

99. Jespersen, T. M.; Dong, W.; Sierks, M. R.; Skrydstrup, T.; Lundt, I.; Bols, M. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 1778-1779.

Dong y colaboradores¹⁰⁰ realizaron una comparación interesante entre dos inhibidores de α y β glucosidasas; la DNJ y la isofagomina, se observó que DNJ es un inhibidor de α -glucosidasas tres veces más potente, mientras que la isofagomina es aproximadamente 400 veces más potente para β -glucosidasas.

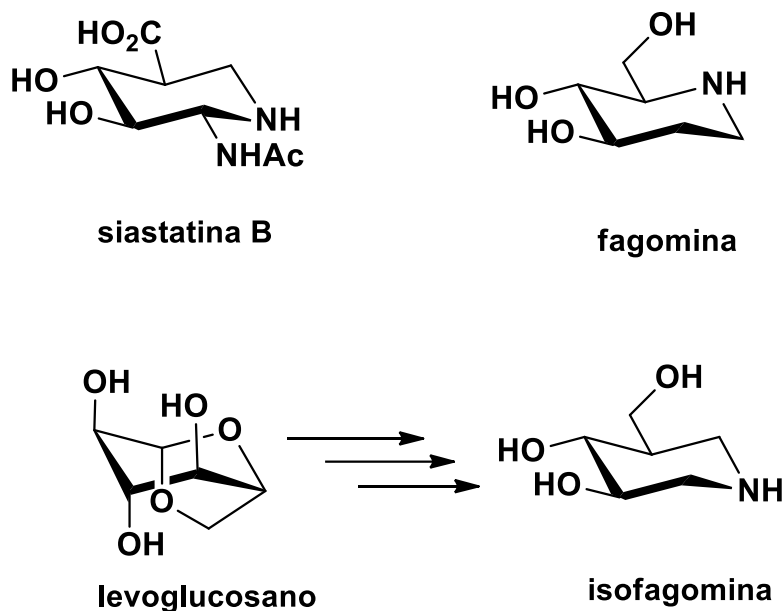


Figura 9. Diversos iminoazúcares con propiedades inhibitorias

Aunque la isofagomina es un potente inhibidor de glicosidasas, no es un buen mimético del sustrato natural de glucosa. En el año 2000 Liu y colaboradores (Universidad de Aarhus, Dinamarca)¹⁰¹ descubrieron la noeuromicina (Figura 10), la cual por su estructura es un análogo natural de la nojirimicina y un buen mimético de la glucosa. El nombre noeuromicina procede de la analogía estructural con la nojirimicina y al hecho de que fue descubierto el mismo día que Dinamarca decidió, mediante referéndum, no acogerse al euro como moneda (28 de septiembre del año 2000). La noeuromicina resulto ser 4000 veces más potente que la isofagomina al inhibir las α -glucosidasas.

100. Dong, W.; Jespersen, T.; Bols, M.; Skrydstrup, T.; Sierks, M. R. *Biochemistry*. **1996**, *35*, 2788-2795.

101. Liu, H.; Liang, X.; Sohoel, H.; Bülow, A.; Bols, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5116-5117

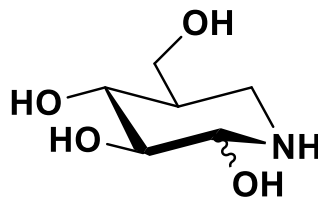


Figura 10. Estructura de la noeuromicina

Sin embargo, como se mencionó anteriormente la presencia de la función hemiaminal en C2 causa la inestabilidad de este tipo de compuestos provocando la descomposición del iminoazúcar mediante el rearreglo de Amadori lo cual representa una problemática en las diferentes pruebas de actividad biológica.

Desoxinojirimicina y derivados

En 1960 Paulsen y colaboradores¹⁰² realizaron la primera síntesis de la desoxinojirimicina a partir de L-sorbofuranosa (Figura 11). Desde entonces se han desarrollado una gran variedad de métodos para su obtención.^{103,104,105}

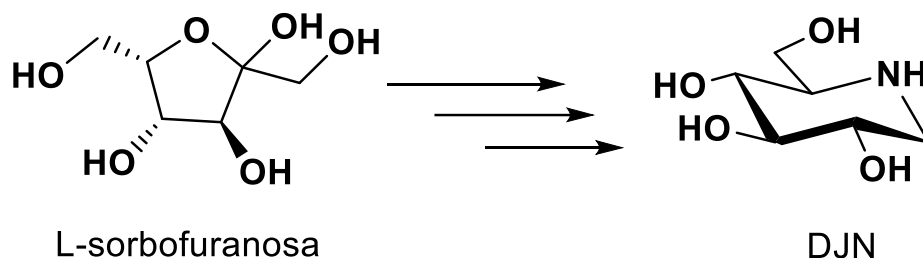


Figura 11. Obtención de la desoxinojirimicina a partir de la L-sorbofuranosa

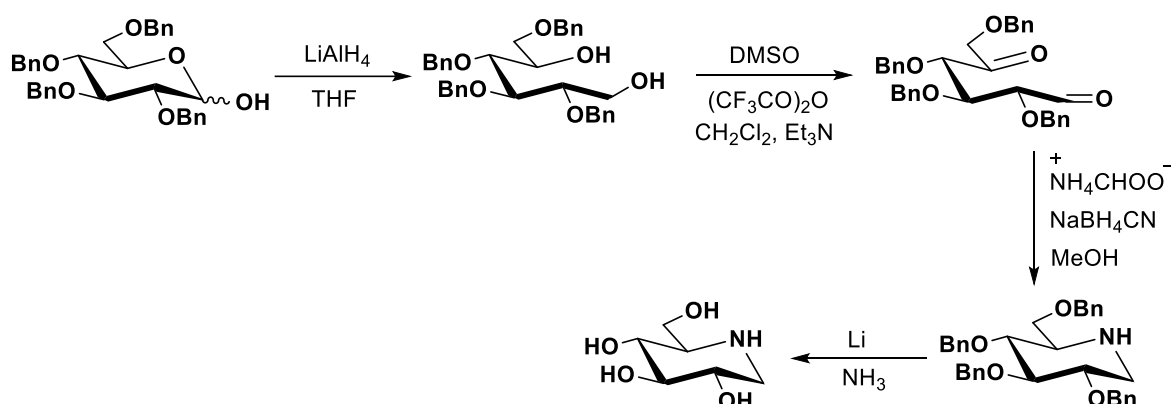
102. Paulsen, H.; Todt, K. *Adv. Carbohydr. Chem.* **1968**, 23, 115–232.

103. Takahata, H.; Banba, Y.; Sasatani, M.; Remoto, H.; Kato, A.; Adachi, I. *Tetrahedron*, **2004**, 8199–8205.

104. Pistia-Brueggeman, G.; Hollingsworth, R. I. *Tetrahedron* **2001**, 57, 8773–8778.

105. Comins, D. L.; Fulp, A. B. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 6839–6841

Matos reportó en 1999,¹⁰⁶ una simple y eficiente metodología para la obtención de la 1-desoxinojirimicina a partir del 2,3,4,6-tetra-O-bencil-D-glucopiranosido (Esquema 4).



Esquema 4. Síntesis de 1-desoxinojirimicina

Barili y colaboradores¹⁰⁷ llevaron a cabo la síntesis eficiente de la 1-desoxigalactonojirimicina (Figura 12) a partir del metil β -D-galactopiranosido. El desoxiderivado obtenido mostro ser un potente inhibidor de β -galactosidasas.

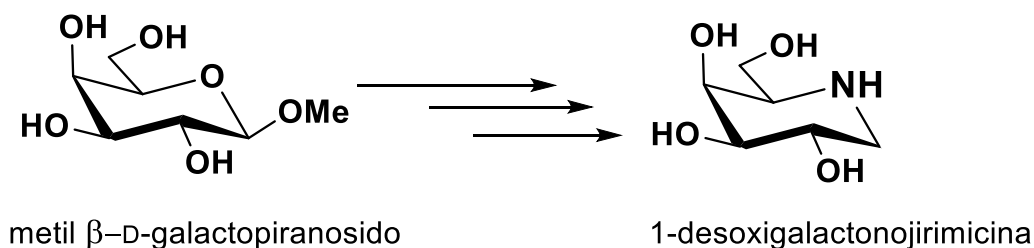


Figura 12. Obtención de 1-desoxigalactonojirimicina.

106. Matos, C. R. R.; Lopes, R. S. C.; Lopes, C. C. *Synthesis* **1999**, 4 571–573.

107. (a) Barili, P. L.; Berti, G.; Catelani, G.; D'Andrea, F.; De Rensis, F.; Puccioni, L. *Tetrahedron* **1997**, 53, 3407–3416. (b) Barili, P. L.; Berti, G.; Catelani, G.; D'Andrea, F. *Gazz. Chim. Ital.* **1992**, 122, 135–142.

Derivados *N*-alquilados de desoxinojirimicina

Se ha observado que la presencia de una cadena alquílica en el átomo de nitrógeno endocíclico de la desoxinojirimicina, no solo mantiene la capacidad inhibitoria del iminoazúcar, sino que muchas veces ha sido incrementada. Un ejemplo de ello es la *N*-butil-desoxinojirimina (Zavesca®), el cual resultó ser un potente inhibidor de la ceramida glucosiltransferasa.¹⁰⁸

En el año 2000 fue aprobado para su uso clínico en terapias contra la enfermedad de Gaucher.¹⁰⁹ Debido a las propiedades inhibitoras de este tipo de compuestos, muchos derivados *N*-alquilados de deoxinojirimicina han sido sintetizados y probados como posibles inhibidores de glucosidasas.¹¹⁰

Por ejemplo, se ha reportado que el aumento en la longitud de la cadena alquílica hasta 9 o 10 átomos de carbono (Figura 13) genera una mayor capacidad inhibitoria y selectividad hacia α -glucosidasa en comparación con desoxinojirimicina.¹¹¹

Otro ejemplo de este tipo de compuestos es el derivado **6** el cual presenta un grupo adamantilo en el extremo de la cadena alifática; este análogo de la desoxinojirimicina resultó ser un inhibidor selectivo de la enzima glucoceramidasa no lisosomal.¹¹²

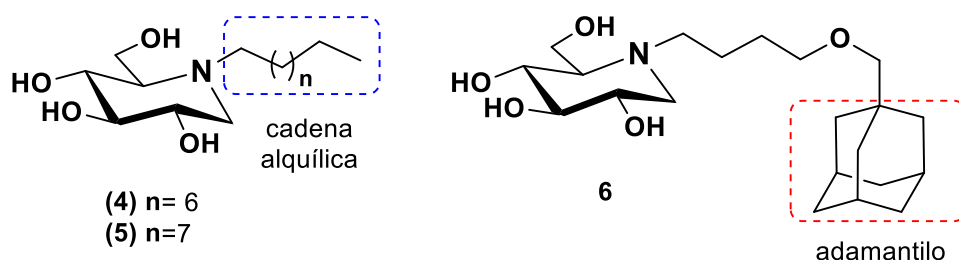


Figura 13. Ejemplo de derivados *N*-alquilados de desoxinojirimicina

108. Butters, T. D.; Dwek, R. A.; Platt, F. M. *Curr. Top. Med. Chem.* **2003**, *3*, 561–574.

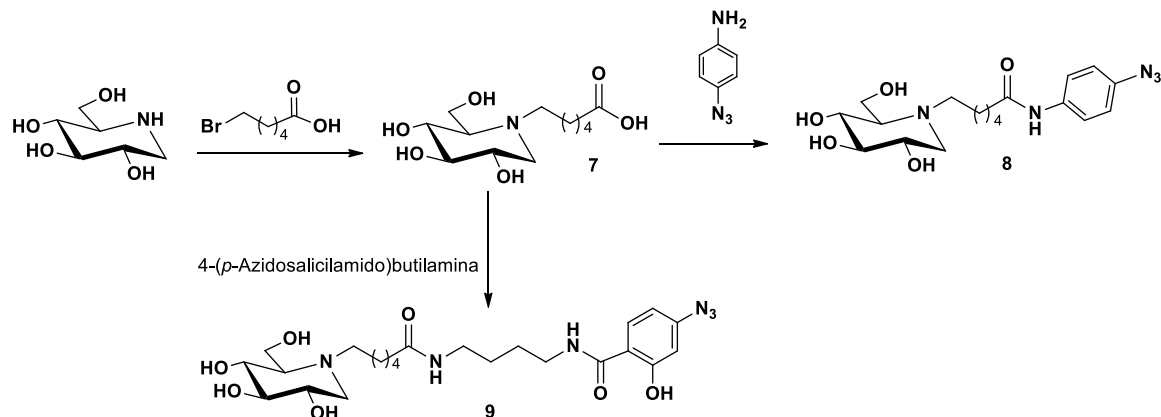
109. Butters, T. D.; van den Broek, L. A. G. M.; Fleet, G. W. J.; Krulle, T. M.; Wormald, M. R.; Dwek, R. A.; Platt, F. M. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 113–124.

110. (a) Mellor, H. R.; Platt, F. M.; Dwek, R. A.; Butters, T. D. *Biochem. J.* **2003**, *374*, 307–314.
(b) Asano, N.; Kizu, H.; Oseki, K.; Tomioka, E.; Matsui, K.; Okamoto, M.; Baba, M. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2349–2356.

111. Mellor, H. R.; Nolan, J.; Pickering, L.; Wormald, M. R.; Platt, F. M.; Dwek, R. A.; Fleet, G. W. *Biochem. J.* **2002**, *366*, 225–233.

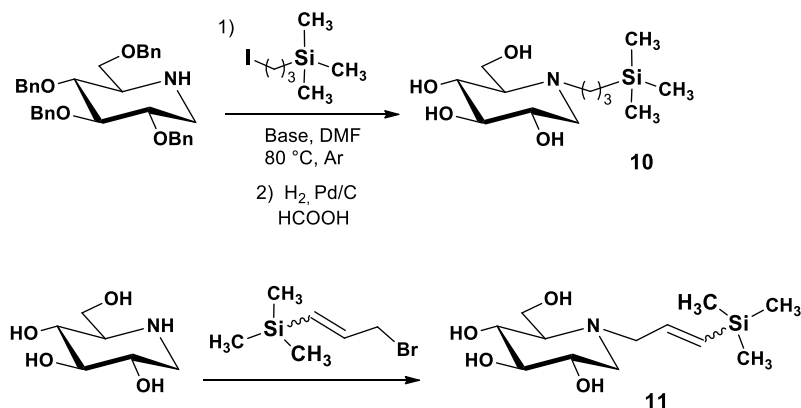
112. Andersson, U.; Butters, T. D.; Dwek, R. A.; Platt, F. M. *Biochem. Pharmacol.* **2000**, *59*, 821–829.

Romaniouk y colaboradores¹¹³ llevaron a cabo la síntesis de amidas de 1-desoxinojirimina mediante la reacción ácidos ω -carboxílicos con el grupo amino endocíclico (Esquema 5). Los compuestos obtenidos **8** y **9** presentaron potente inhibición frente a β -glucosidasa 1.



Esquema 5. Síntesis de amidoderivados de desoxinojirimicina

Lesur y colaboradores¹¹⁴ sintetizaron derivados sililados de desoxinojirimicina (Esquema 6). Los compuestos obtenidos **10** y **11** resultaron ser inhibidores extremadamente potentes de sacarasa, con valores de K_i de 8 y 0.15 nM, respectivamente.

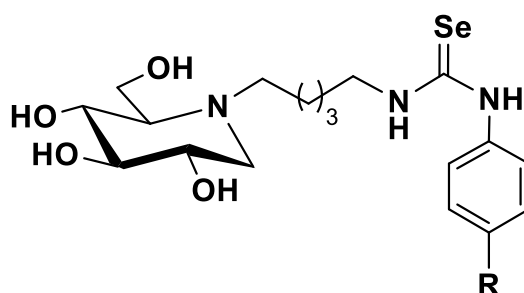


Esquema 6. Análogos de desoxinojirimicina con silicio en su estructura

113. Romaniouk, A. V.; Silva, A.; Feng, J.; Vijay, I. K. *Glycobiology* **2004**, *14*, 301–310.

114. Lesur, B.; Ducep, J.B.; Lalloz, M.N.; Ehrhard, A.; Danzin, C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 355–360.

Recientemente Olsen y colaboradores¹¹⁵ reportaron la síntesis de *N*-alquil derivados de deoxinojirimicina conteniendo diferentes tipos de selenoureas aromáticas (Figura 14); dichos compuestos mostraron actividad dual ya que presentaron inhibición tanto de β -glucosidasa como de la enzima acetilcolinesterasa (AChE), enzimas implicadas en la enfermedad de Gaucher y en los desórdenes neurológicos de un cierto porcentaje de pacientes.



R= OMe, Me, Br

Figura 14. Síntesis de selenoureas derivadas de desoxinojirimicina.

Como se ha citado en este capítulo los compuestos derivados de iminoazúcares, en especial de 1-deoxinojirimicina, han resultado buenos miméticos de los glicósidos naturales y presentado actividades biológicas importantes hacia glicosidasas específicas. Por lo que basándonos en esto se plantean en el presente trabajo de investigación los objetivos específicos mostrados a continuación.

115. Olsen, J. I.; Plata, G. B.; Padrón, J. M.; López, Ó.; Bols, M.; Fernández-Bolaños, J.G.; *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, 123, 155-160.

2.4 OBJETIVO GENERAL

Llevar a cabo la síntesis de nuevas tioureas y ureas aromáticas derivadas de la 1-desoxinojirimicina, las cuales puedan presentar propiedades de inhibición enzimática en β -glucosidasa y acetilcolinesterasa (AChE).

OBJETIVOS PARTICULARES

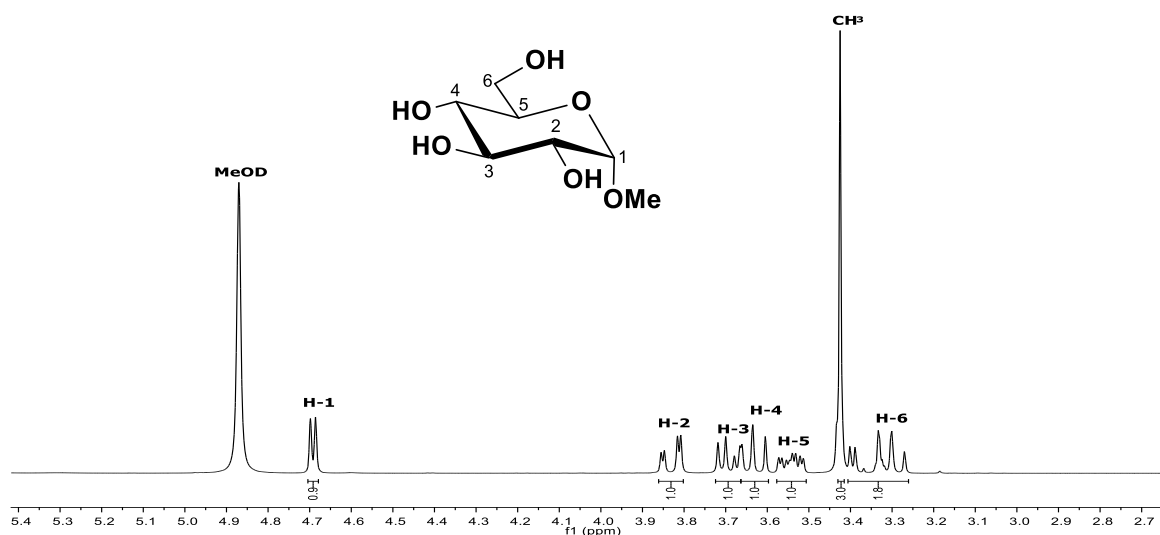
- Llevar a cabo la síntesis de la 1-desoxinojirimicina adecuadamente protegida a partir de una materia prima de fácil acceso como el metil α -D-glucopiranosido comercial.
- Preparar las materias primas correspondientes (cadenas alifáticas, isocianatos e isotiocianatos) para llevar a cabo la obtención de los derivados ureido y tioureido del correspondiente iminoazúcar.
- Establecer condiciones de reacción óptimas, quimio- y regioselectivas para la síntesis de cada uno de los compuestos, las cuales permitan obtener derivados con buenos rendimientos y alta pureza.
- Proponer mecanismos de reacción para explicar la formación de los diferentes productos obtenidos.
- Caracterizar las moléculas obtenidas por los diferentes métodos físicos y espectroscópicos.
- Aprender la metodología de la medición de inhibición de glicosidasas: glicosidasas y acetilcolinesterasa (AChE).

2.5 DISCUSION DE RESULTADOS Y ANALISIS ESPECTROSCOPICO

Metil α -D-glucopiranosido (1)

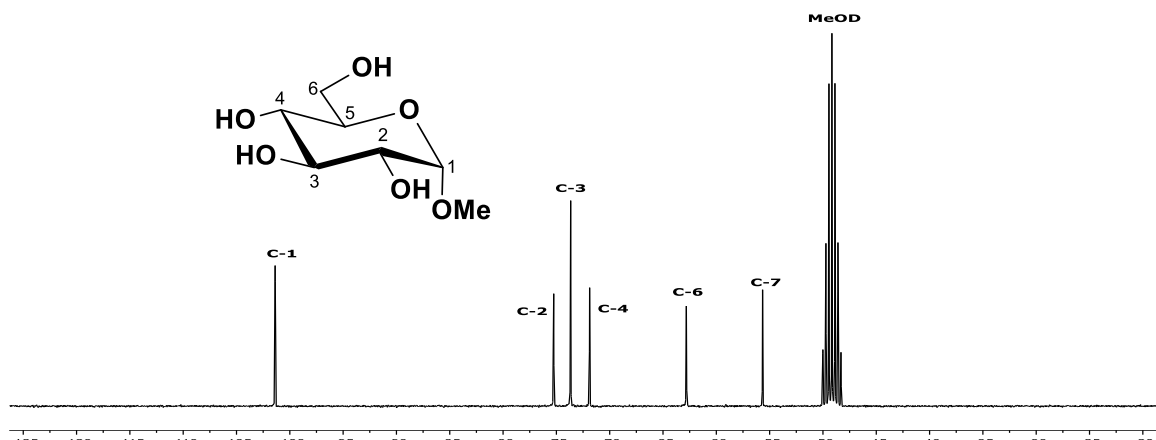
El metil α -D-glucopiranosido presenta cuatro grupos hidroxilo en posiciones C-2, C-3, C-4 y C-6 respectivamente y una función acetal en C-1 la cual es susceptible a diversas modificaciones, por lo que puede ser empleado en la síntesis de nuevos derivados de carbohidratos. En este trabajo se utilizará el metil α -D-glucopiranosido **1** como núcleo base de nuevos derivados de iminoazúcares.

A continuación, se presenta el espectro de RMN de ^1H (Espectro 1) de la materia de partida **1** en el cual se observan los desplazamientos de las señales más representativas, protón anomérico (H-1), una señal *dd* para el protón base oxígeno (H-2), señal simple para los protones de CH_3 (OMe), señal *ddd* para el protón (H-5).



Espectro 1. RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) del metil α -D-glucopiranosido (**1**).

En el espectro de ^{13}C (Espectro 2) se presenta 7 señales de carbonos que corresponden a los carbonos que conforman la molécula, destacando la señal de C-1 a frecuencias altas correspondiente al carbono anomérico, la señal de C-6 y C-7 correspondiente al grupo metileno y metilo respectivamente y las señales pertenecientes a los carbonos base oxígeno C-2, C-3, C-4 y C-5.



Espectro 2. RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) de Metil α -D-glucopiranosido (1).

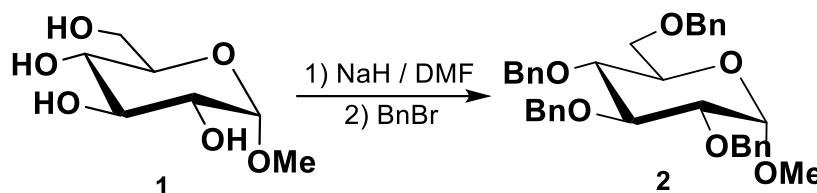
Los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C de la materia prima fueron obtenidos y los datos se compararon con la literatura.¹¹⁶

2.5.1 Síntesis de 1-Desoxinojirimicina

Existen diversos reportes de la obtención de la 1-Desoxinojirimicina, a continuación se presenta una síntesis de 4 etapas para obtener el iminoazúcar deseado, el cual es un intermediario clave en las moléculas objetivo.

2.5.1.1 Síntesis del metil 2,3,4,6-tetra-O-bencil- α -D-glucopiranosido (2)

La síntesis de derivados de iminoazúcares se inició con la protección exhaustiva de los grupos hidroxilos de la materia prima con un grupo bencilo para generar **2** con un rendimiento del 86% y así evitar futuros inconvenientes de reactividad con dichas posiciones.

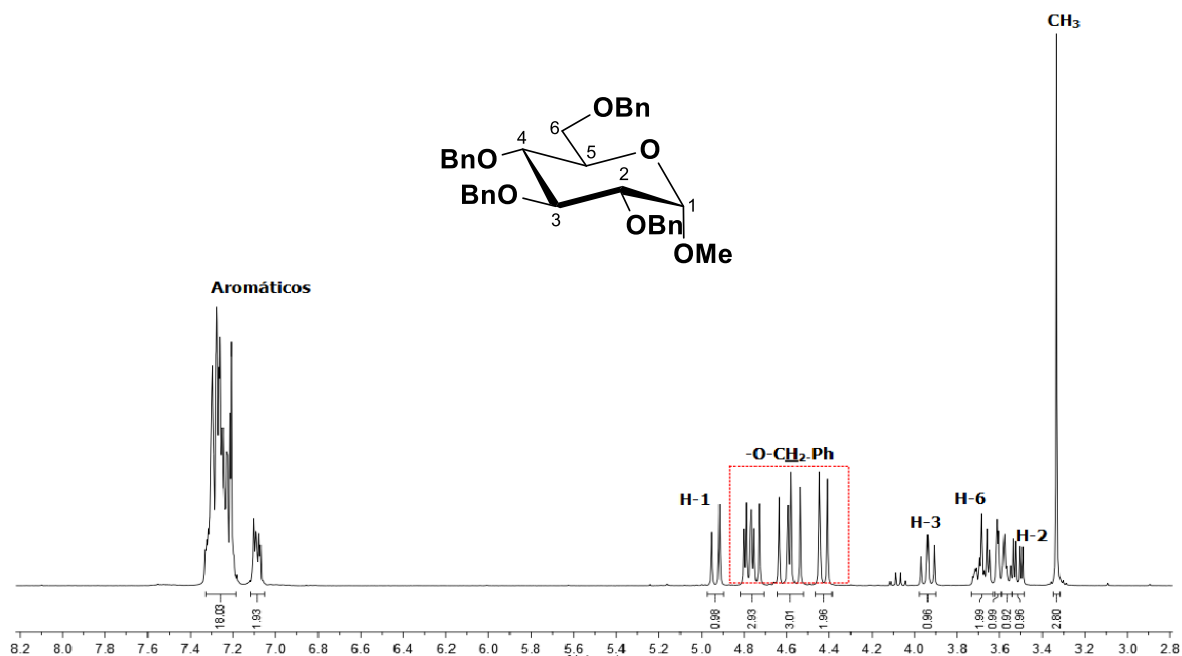


Esquema 7. Obtención del derivado **2**

116. Kovac, P.; Lerner, L. *Carbohydr. Res.* **1988**, *31*, 87-112.

El espectro de RMN de ^1H (Espectro 3) nos permite corroborar la protección de los grupos hidroxilo de la materia prima **1** con grupos bencilo permitiendo observar las siguientes señales.

Señales múltiples en frecuencias altas en 7.25 y 7.08 ppm características de los protones aromáticos. Una señal *d* en 4.9 ppm correspondiente al protón anomérico; la constante de acoplamiento $J_{1,2} = 3.8$ Hz muestra la anomería α del compuesto. Posteriormente un conjunto de señales de 4.8-4.4 ppm correspondientes a los protones de CH_2 de los grupos bencilo una señal *t* para el protón base oxígeno (H-3) y en frecuencias más bajas una señal simple para los protones de CH_3 del grupo OMe.

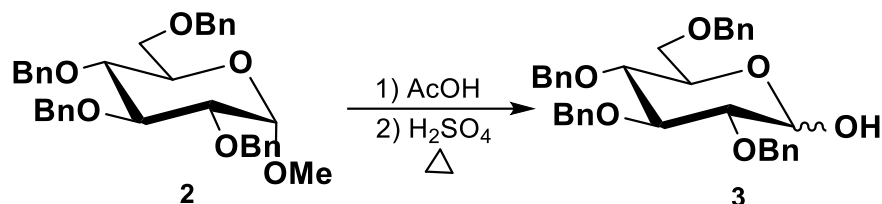


Espectro 3. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) del derivado **2**.

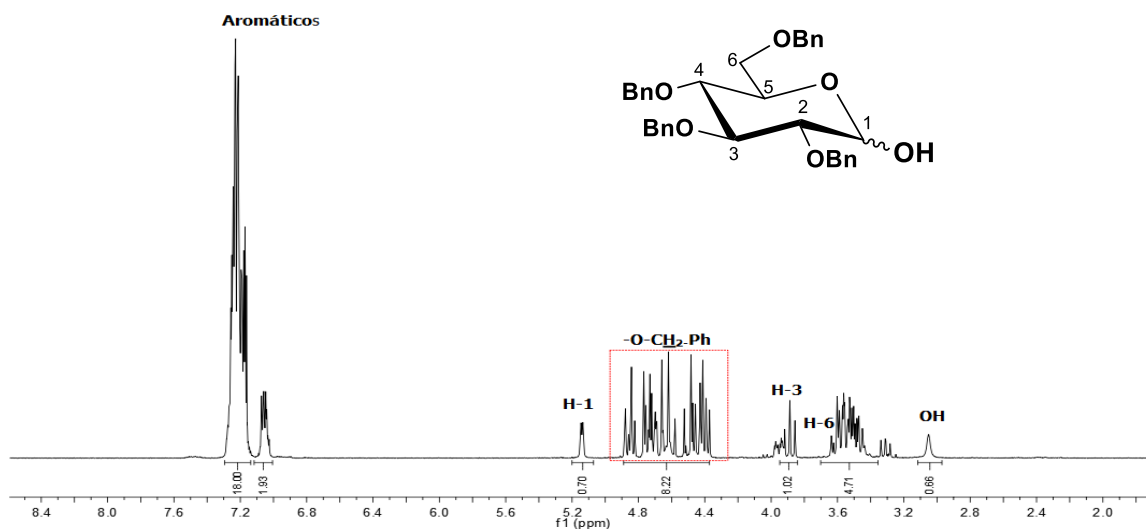
Los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C de la materia prima fueron obtenidos y los datos se compararon con los ya reportados.¹¹⁷

2.5.1.2 Síntesis de la 2,3,4,6-tetra-*O*-bencil-D-glucosa (**3**)

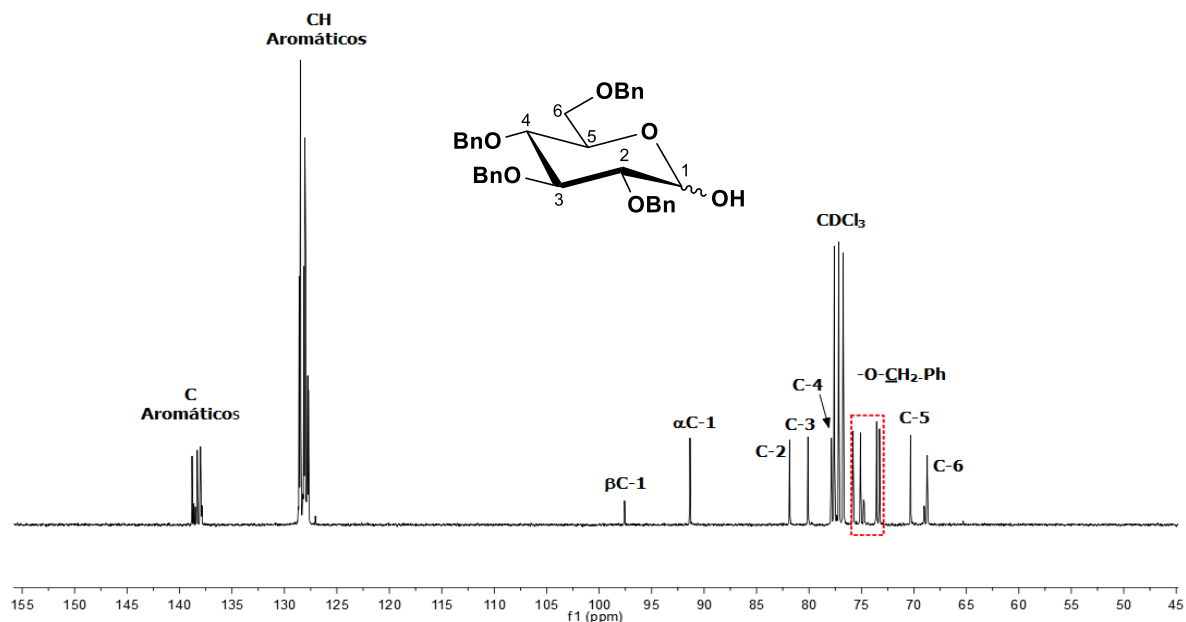
Haciendo uso del derivado **2** sintetizado previamente, se llevó a cabo una hidrólisis ácida del enlace glicosídico para generar el derivado de glucosa **3** con un rendimiento del 70%

Esquema 8. Obtención del derivado **3**

El análisis por RMN de ¹H (Espectro 4) para el compuesto **3** confirma la ruptura del enlace glicosídico de manera exitosa mediante la desaparición de la señal correspondiente a CH₃ y la nueva presencia de una señal correspondiente al grupo hidroxilo de C-1 en 3.04 ppm. El espectro muestra una mezcla de los anómeros α y β de **3**, en el cual puede observarse por ejemplo el protón anomérico para el anómero α ($\delta = 5.14\text{ppm}$, $J_{1,2} = 3.3\text{ Hz}$).

Espectro 4. RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) del derivado **3**.

En el espectro de RMN de ^{13}C (Espectro 5) los cambios más significativos que se observan son la ausencia de la señal del grupo OMe, el cual formaba parte del enlace glicosidico. Destacar la presencia de dos señales en frecuencias más bajas correspondientes a los anómeros β y α de **3** en 97.6 y 91.3 ppm



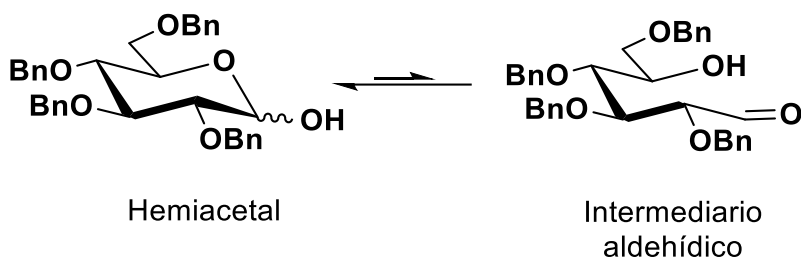
Espectro 5. RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) del derivado **3**

Los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C del compuesto **3** fueron obtenidos y los datos se compararon con los ya reportados.¹¹⁸

2.5.1.3 Síntesis del 2,3,4,6-tetra-O-bencil-D-glucitol (**4**)

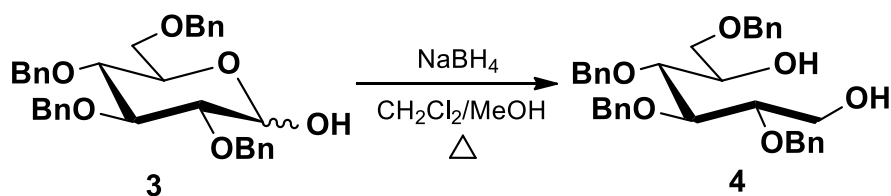
Los azúcares generalmente se encuentran en su forma cíclica. En solución existe un equilibrio entre el hemiacetal y la forma abierta del correspondiente azúcar generando así un intermediario con un grupo aldehído e hidroxilo en la misma molécula (Esquema 9) Sin embargo este intermediario no es estable por lo que el equilibrio tiende a desplazarse a su forma hemiacetálica.

118. Reddy, G.; Raju, P.; Satyanarayana, K.; Ravindra, V.; Vyala, S.; Venkateshwarlu, G. J. *Chem. Biol. Interfaces*. **2012**, 2, 251-257.



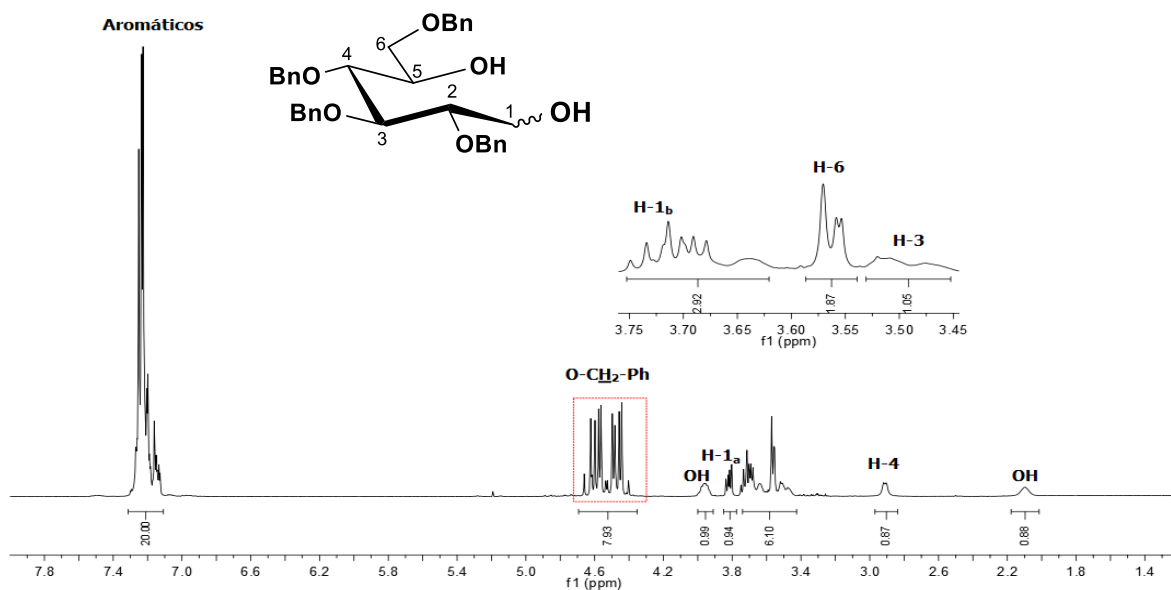
Esquema 9. Equilibrio entre la forma hemiacetálica y abierta del compuesto **3**

Aprovechando esta condición de los azúcares se llevó a cabo la reducción del intermediario aldehídico del derivado **3** utilizando borohidruro de sodio y un sistema $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 75:25 generando así el diol correspondiente **4** un excelente rendimiento (95%, Esquema 10).



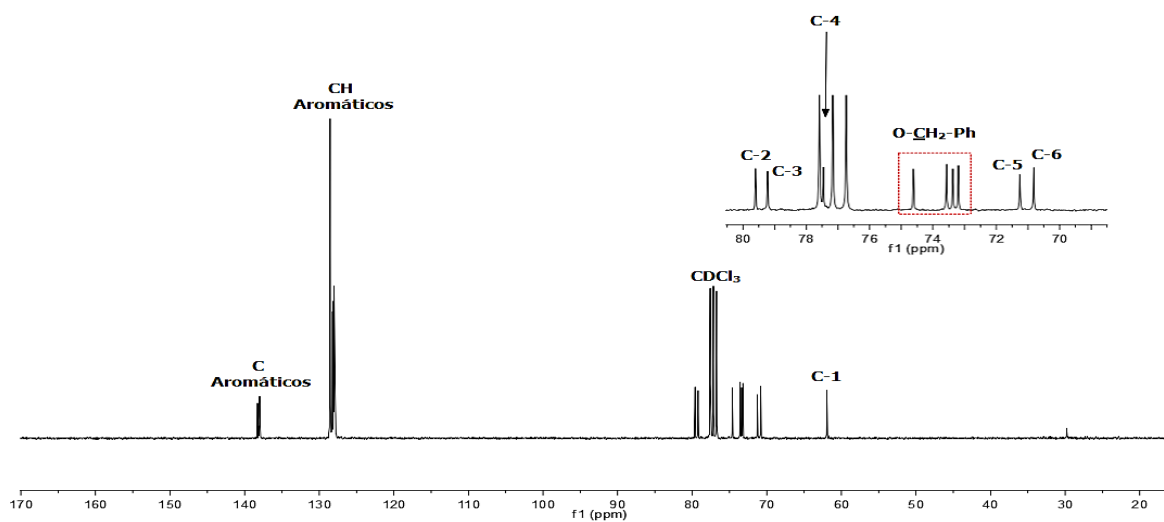
Esquema 10. Obtención del derivado **4**

El espectro de RMN de ^1H (Espectro 6) nos permite observar la reducción del hemiacetal **3** lo cual genera que la señal de H-1 se observe como un par de señales en frecuencias más bajas en 3.82 y 2.9 ppm correspondiente a los nuevos protones diastereotópicos generados H-1a y H-1b, con una constante geminal ($J_{1a,1b} = 11.7$ Hz). Así también se observan dos señales correspondientes a los grupos hidroxilo de C-1 en 3.95 ppm y C-5 en 2.09 ppm; además, al tratarse de un sistema de tipo alditol, ya no existen juegos de señales correspondientes a los anómeros α y β , sino un solo conjunto. Las señales correspondientes a los protones de los grupos bencilos y los protones restantes de la estructura del azúcar no sufren un cambio significativo.



Espectro 6. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) del derivado 4.

En el espectro de RMN de ^{13}C (Espectro 7) el cambio más relevante se observa en el desplazamiento a frecuencias más bajas de la señal de C-1 en 61.9 ppm, el cual formaba parte del sistema hemiacetalico siendo ahora un carbono unido a un grupo hidroxilo.

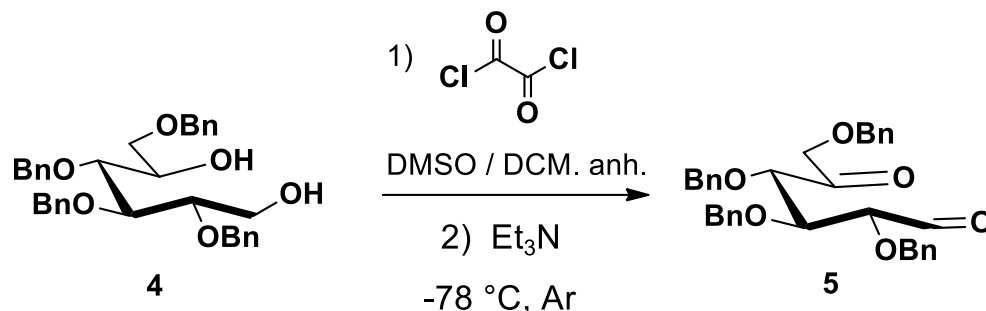


Espectro 7. RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) del derivado 4.

Los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C del derivado 4 fueron obtenidos y los datos se compararon con los ya reportados.⁴²

2.5.1.4 Síntesis del 2,3,4,6-tetra-O-bencil-5-oxohexanal (5)

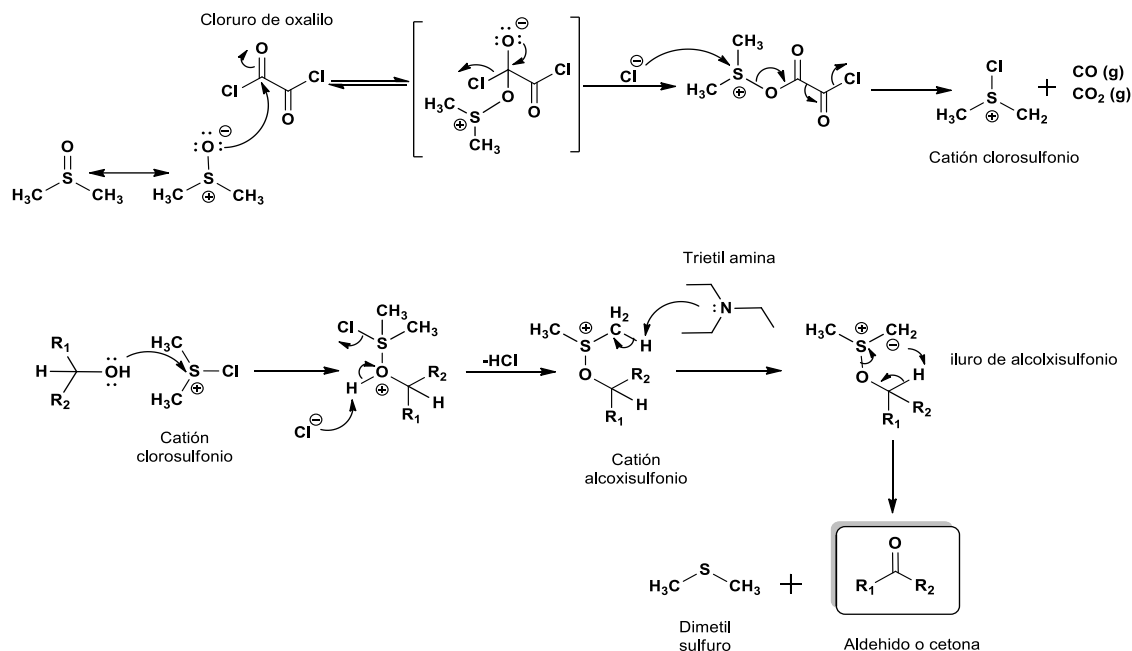
La formación del derivado dicarbonílico **5** (Esquema 11) reportado ya en la bibliografía¹¹⁹ se llevó a cabo mediante una oxidación del compuesto **4** en condiciones de Swern. El derivado obtenido es bastante inestable debido a la reactividad del sistema 1-5 dicarbonílico, por lo que la reacción se llevó a cabo bajo condiciones anhidras a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, y se empleó directamente para la siguiente reacción, sin ningún tipo de purificación.

Esquema 11. Obtención del derivado **5**

Swern y colaboradores¹²⁰ propusieron el mecanismo para la oxidación de alcoholes primarios a aldehídos y alcoholes secundarios a cetonas bajo las condiciones antes descritas, el cual se presenta en el esquema 12. El mecanismo se inicia con la adición nucleofílica del DMSO a uno de los carbonilos del cloruro de oxalilo provocando la expulsión del ión cloruro el cual actúa como nucleófilo atacando al átomo de azufre cargado positivamente generando el catión clorosulfonio además de monóxido y dióxido de carbono como subproductos. Posteriormente el alcohol ataca al catión clorosulfonio liberando cloruro de hidrógeno, conduciendo a la formación del catión alcoxisulfonio, el cual es desprotonado en posición alfa por la trietilamina generando así el iluro de alcoxisulfonio. Por último, el iluro de alcoxisulfonio evoluciona al correspondiente aldehído o cetona y sulfuro de dimetilo como subproducto.

119. Wennekes, T.; Lang, B.; Leeman, M.; van der Marel, GA.; Smits, E.; Weber, M.; Wiltenburg, J.; Wolberg, M.; Overkleeft, HS. *Org. Process Res. Dev.* **2008**, *12*, 414-423

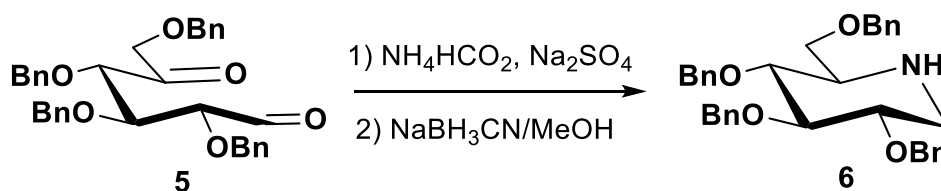
120. Omura, K.; Swern, D. *Tetrahedron.* **1978**, *34*, 1651-1660



Esquema 12. Mecanismo de la oxidación de Swern

2.5.1.5 Síntesis de la 2,3,4,6-tetra-*O*-bencil-1-desoxinojirimicina (6)

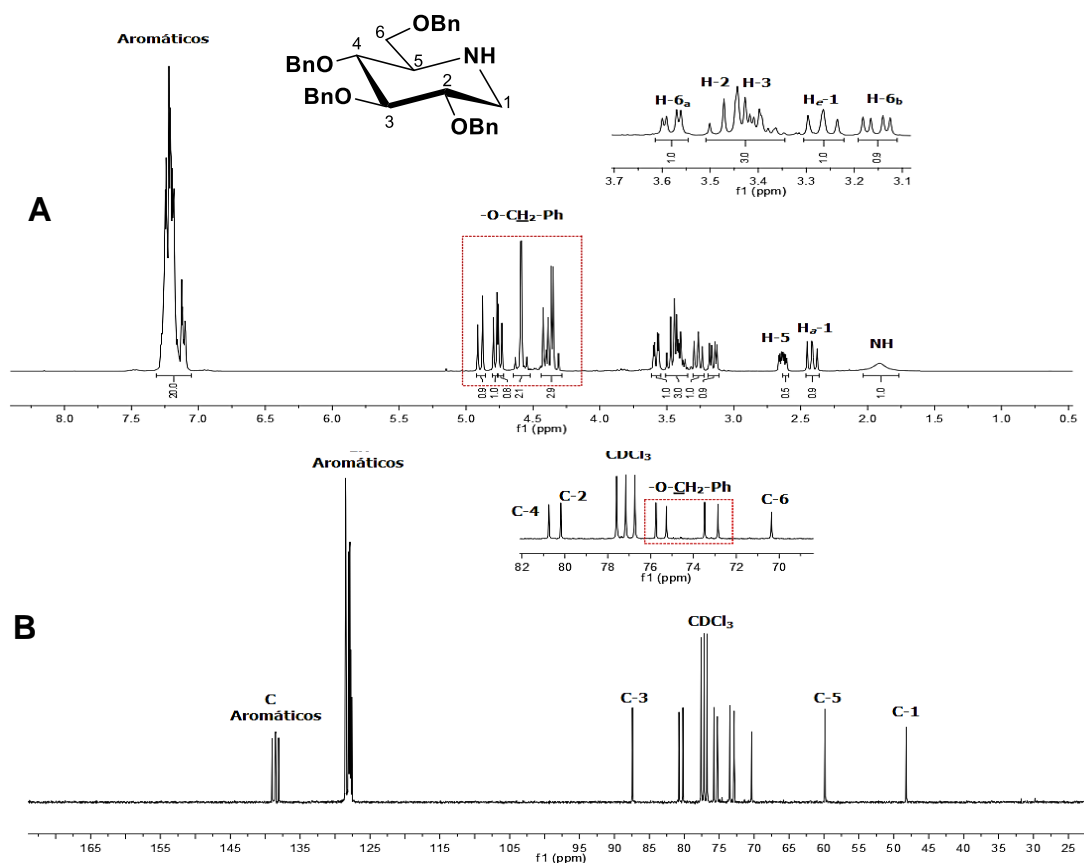
El crudo de reacción del derivado **5** fue sometido a una aminación reductiva con formiato de amonio y cianoborohidruro de sodio para obtener el derivado de desoxinojirimicina bencilado. La CCF nos permitió observar la formación de un producto mayoritario y la presencia de varios subproductos los cuales se atribuyen sean originados durante la oxidación de Swern. Una purificación minuciosa en CC nos permitió obtener el derivado **6** con un rendimiento moderado de 60%.



Esquema 13. Obtención del derivado 6

Los datos espectroscópicos de RMN de ^1H (Espectro 8-A) muestran la ausencia de las señales correspondientes a los protones de los grupos hidroxilos de C-1 y C-5, sin embargo, ahora se puede observar una nueva señal ancha en 1.9 ppm la cual pertenece al protón del grupo amino lo que permite corroborar la formación del iminoazúcar **6**; también se puede apreciar la señal de H-5 como un ddd en 2.63 ppm. Por otro lado, se observa un desplazamiento a frecuencias más bajas de las señales de los protones diastereotópicos $\text{H}_a\text{-1}$ y $\text{H}_b\text{-1}$ en 3.26 y 2.41 ppm debido al menor efecto desapantallante del grupo amino con respecto al hidroxilo.

En el espectro de RMN de ^{13}C el cambio más significativo se aprecia en el desplazamiento de C-5 y C-1 a frecuencias menores con respecto a la materia de partida, dichas señales se observan en 59.83 y 48.2 ppm respectivamente, concordando con lo reportado en la literatura.¹²¹



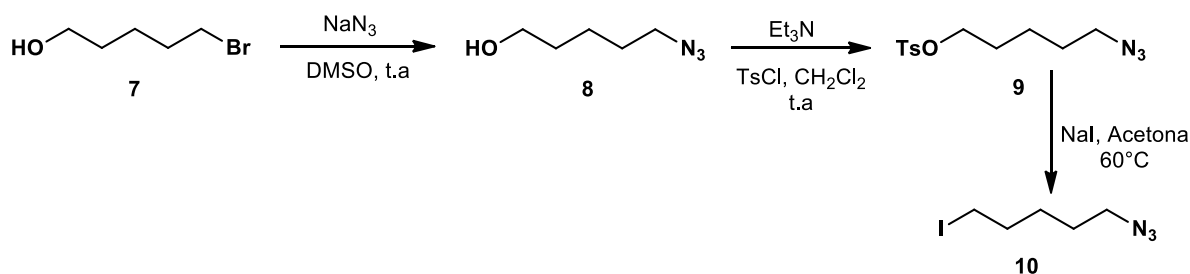
Espectro 8. Espectros de RMN para el derivado **6**.

121. Wennekes, T.; van den Berg, R.J.; Donker, W.; van der Marel, G.A.; Strijland, A.; Aerts, J.M.; Overkleeft, H.S. *J Org Chem.* **2007**, 72, 1088-1097.

2.5.2 Síntesis de derivados *N*-alquilados de 1- desoxinojirimicina

2.5.2.1 Síntesis del 1-azido-5-iodopentano (10).

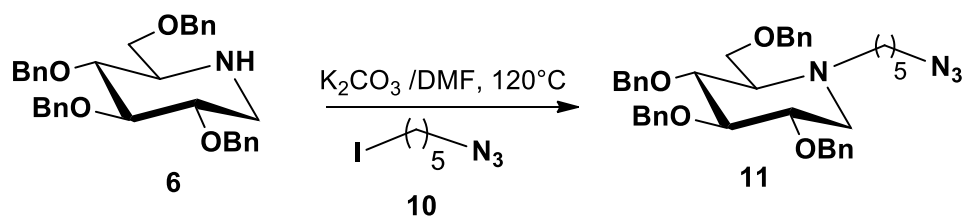
Se llevó a cabo la síntesis del fragmento hidrocarbonado a partir de 5-bromopentanol **7** el cual se hizo reaccionar con azida de sodio para obtener la azida **8**;¹²² la posterior tosilación del hidroxilo condujo al derivado **9** el cual fue convertido mediante una reacción de Finkelstein en el compuesto **10**.¹²³



Esquema 14. Obtención del fragmento hidrocarbonado **10**

2.5.2.2 Síntesis de la *N*-(5-azidopentil)-2,3,4,6-tetra-*O*-bencil-1-desoxinojirimicina (**11**)

Haciendo uso del derivado de desoxinojirimicina **6** sintetizado previamente se llevó a cabo una reacción de alquilación para generar el derivado **11** el cual es un precursor importante en la síntesis de ureas y tioureas derivadas de iminoazúcares del presente proyecto.



Esquema 15. Obtención del derivado **11**

122. Asano, K.; Matsubara, S. *Org Lett.* **2010**, *12*, 4988-4991.

123. Suleymanov, A. A.; Scopelliti, R.; Tirani, F. F.; Kay, Severin. *Org Lett.* **2016**, *20*, 3323-3326.

Se utilizó la metodología reportada en la literatura,¹²⁴ pero no se lograron buenos rendimientos por lo que se decidió optimizar las condiciones de reacción para generar mejores resultados.

Exp.	Base	Compuesto 10	Temperatura	Tiempo	Rendimiento
1*	3 eq. K ₂ CO ₃	1.5 eq.	85 °C	15 h	62 %
2	3 eq. K ₂ CO ₃	1.5 eq.	85°C	15 h	40%
3	3 eq. K ₂ CO ₃	2 eq.	120 °C	6 h	65 %
4	3 eq. K ₂ CO ₃	2 eq.	140 °C	6 h	40 %

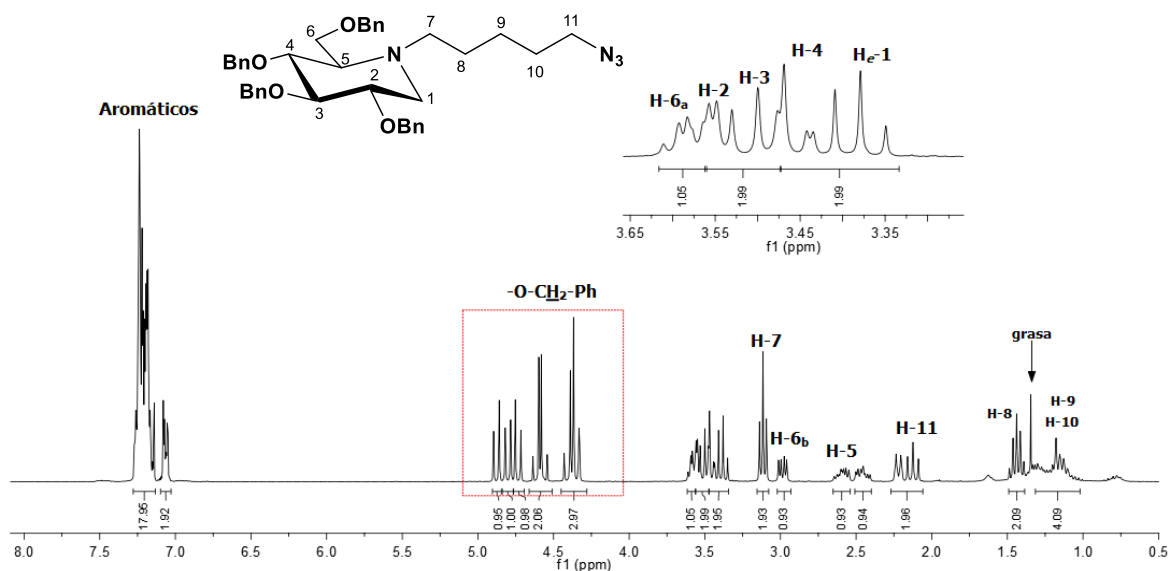
* Condiciones utilizadas por Kooij y colaboradores empleando 1-bromohexano como agente alquilante.

Tabla 2. Optimización de la reacción de alquilación

Siguiendo el procedimiento descrito en el experimento 1 (Tabla 2), por CCF se encontró la presencia de un porcentaje importante de materia de partida provocando bajos rendimientos lo cual hacen que esta metodología no sea adecuada (Exp. 2). Utilizando el derivado **10** en relación 2:1 respecto al iminoazúcar **6** manteniendo la misma relación molar de base y un aumento en la temperatura de reacción, estos cambios se tradujeron en el aumento del rendimiento hasta un 65 % (Exp. 3). A pesar que la transformación de la materia de partida no fue completa, es posible su recuperación debido a su diferencia de polaridad, por lo que es posible su reutilización en otros experimentos. Cabe mencionar que al aumentar la temperatura de reacción a 140 °C (Exp. 4) se observó la descomposición del derivado **10** en el correspondiente producto de eliminación provocando que los rendimientos disminuyeran considerablemente.

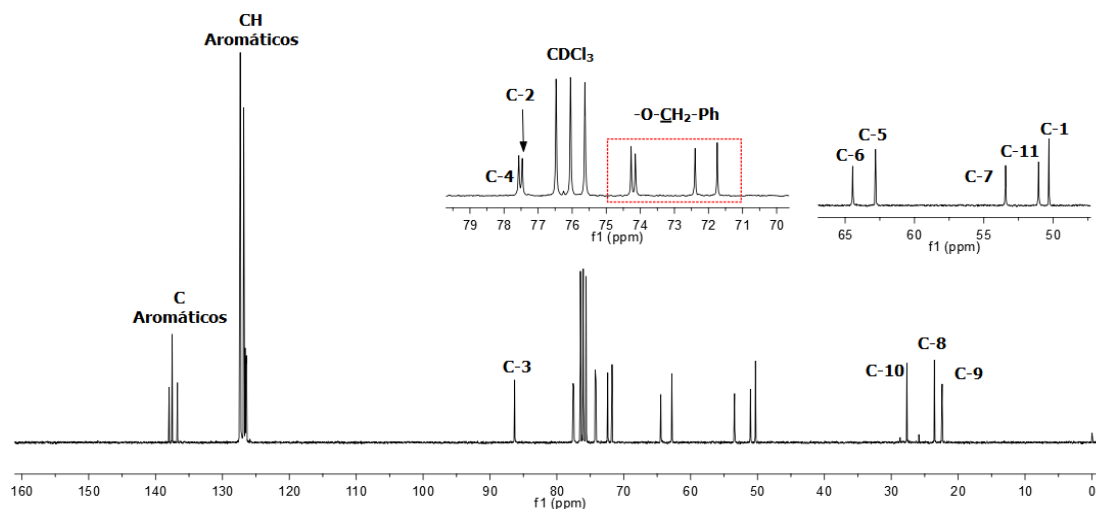
De acuerdo con el espectro de RMN de ¹H (Espectro 9) se puede observar la presencia de nuevas señales confirmando la introducción de la cadena alquílica, por ejemplo, en 3.11 ppm una señal *t* correspondiente a los protones H-7; así también se aprecia en 2.15 ppm la señal correspondiente a H-11, en 1.43 ppm se observa una señal perteneciente a H-8 ppm y entre 1.31-1.05 ppm un conjunto de señales traslapadas pertenecientes a los protones H-9 y H-10. Por otro lado, se puede observar la desaparición de la señal correspondiente al protón del grupo amino lo que corroborara la formación del derivado **11**.

124. Kooij, R.; Branderhorst, H. M.; Bonte, S.; Wieclawska, S.; Martin, N. I.; Pieters, J. R. *Med. Chem Comm.* **2013**, *4*, 387-393.



Espectro 9. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) del derivado 11.

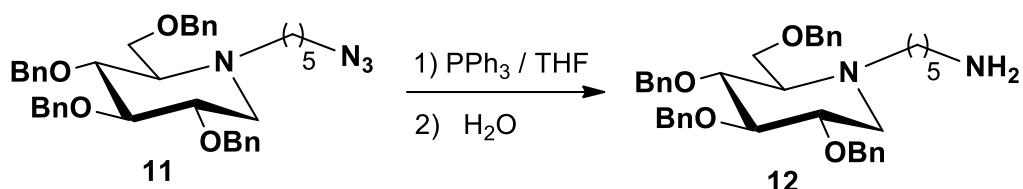
El espectro de RMN de ^{13}C (Espectro 10) muestra 5 nuevas señales correspondientes al fragmento alquílico introducido, dichas señales se aprecian en 53.44 y 50.9 ppm las cuales pertenecen a C-7 y C-11 y en frecuencias menores se observan las señales de C-10 en 27.9 ppm, C-8 en 23.56 ppm y C-9 en 22.38 ppm. Las señales restantes correspondientes a la estructura del iminoazúcar no muestran un cambio significativo.



Espectro 10. RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) del derivado 11.

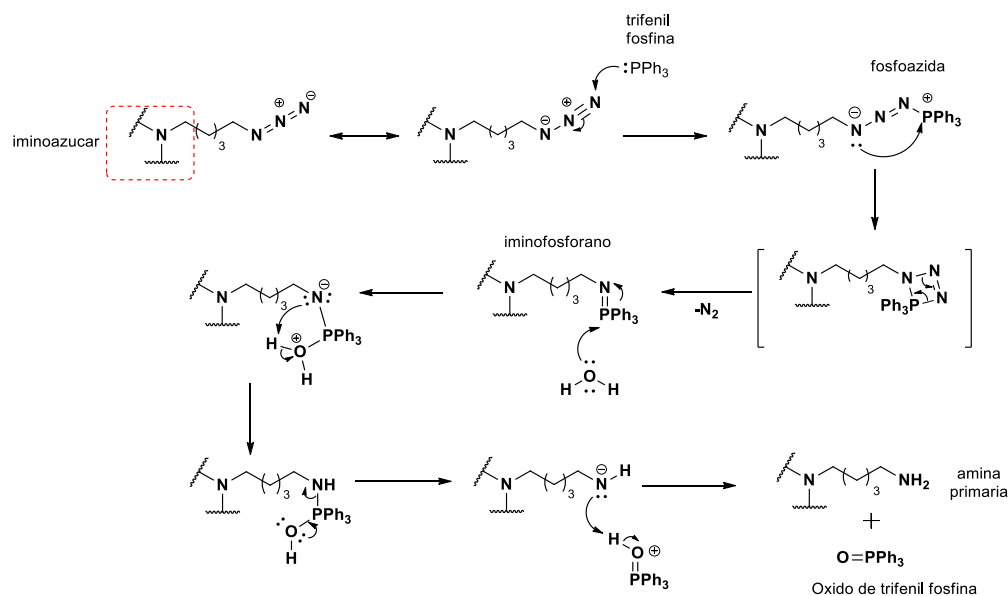
2.5.2.3 Síntesis de la *N*-(5-aminopentil)-2,3,4,6-tetra-*O*-bencil-1-desoxinojirimicina (**12**)

El derivado **11** fue sometido a una reducción de Staudinger¹²⁵ para evitar algún inconveniente de reactividad con la estructura del iminoazúcar y así para generar la amina primaria **12** (Esquema 16) con un rendimiento del 85%.



Esquema 16. Obtención del derivado **12**

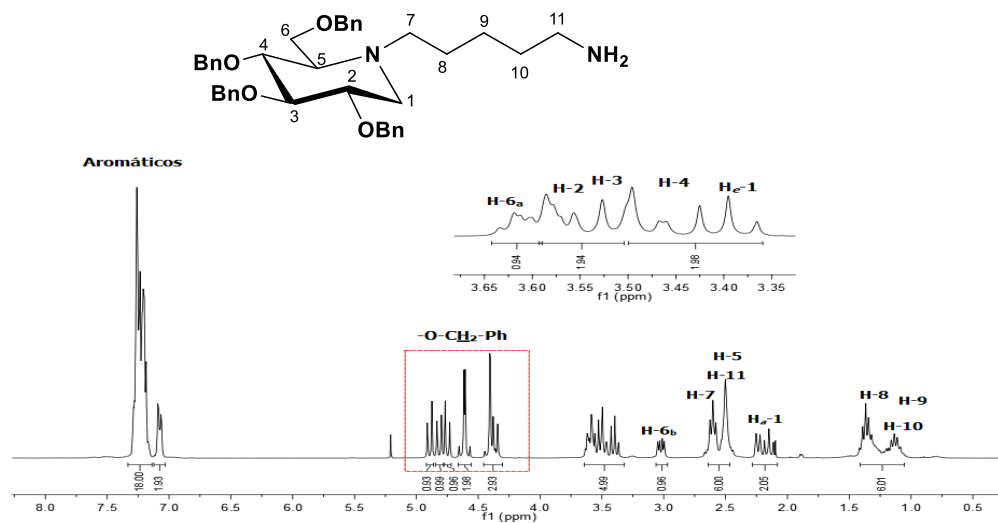
El mecanismo de formación de **12** (Esquema 17) se inicia con el ataque del fósforo de la trifenilfosfina al nitrógeno terminal del grupo azido provocando un desplazamiento del par electrónico por parte del átomo de nitrógeno generando así una fosfoazida la cual forma un intermedio cíclico de 4 miembros el cual es inestable y se descompone liberando nitrógeno gaseoso y el correspondiente iminofosforano. En presencia de agua el iminofosforano es hidrolizado formando el compuesto **12**



Esquema 17. Mecanismo de formación de la amina **12**

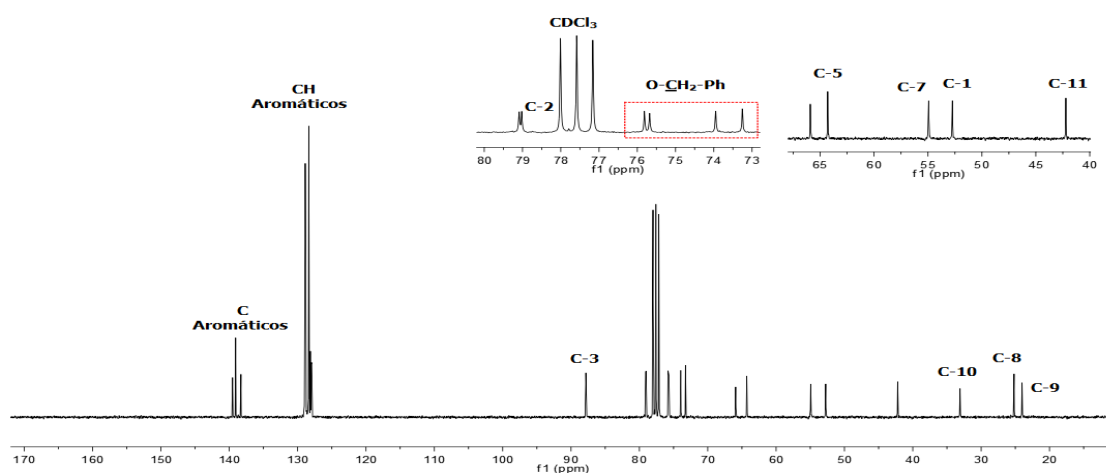
125. Gololobov, Y. G.; Zhmurova, I. N.; Kasukhin, F. L. *Tetrahedron*. **1981**, *37*, 437-472

El análisis por RMN de ^1H (Espectro 11) para el compuesto **12** confirma la reducción del grupo azido mediante el desplazamiento a frecuencias mayores de la señal correspondiente a los protones H-11; dicha señal se encuentra traslapada por las señales de H-7 y H-5 entre 2.65-2.47 ppm



Espectro 11. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) del derivado **12**.

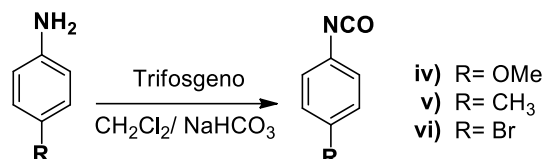
En el espectro de RMN de ^{13}C (Espectro 12) el cambio más significativo se aprecia en el desplazamiento de C-11 a frecuencias menores con respecto a la materia de partida, esta señal se observa en 42.2 ppm. Las señales restantes correspondientes a la estructura del iminoazúcar no muestran un cambio importante.



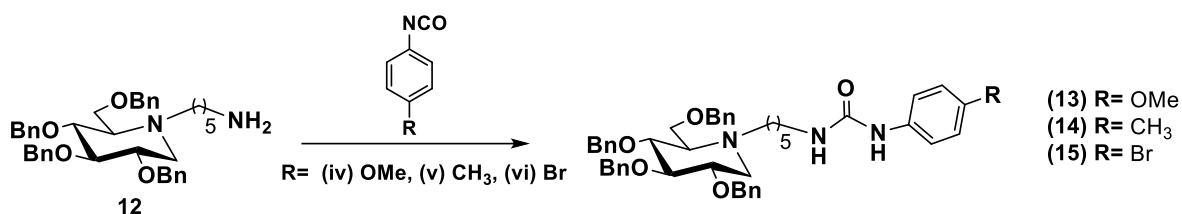
Espectro 12. RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) del derivado **12**.

2.5.3 Síntesis de ureas (13-15)

La síntesis de los isocianatos de fenilo **iv-vi** utilizados en la reacción se sintetizaron a partir anilinas comerciales **i-iii** siguiendo el método descrito por López y colaboradores.⁷³ En esta metodología se utiliza trifosgeno como sustituto del fosgeno por ser más seguro de usar (Esquema 17). Resaltar que los isocianatos preparados fueron utilizados *in situ* debido a su gran reactividad

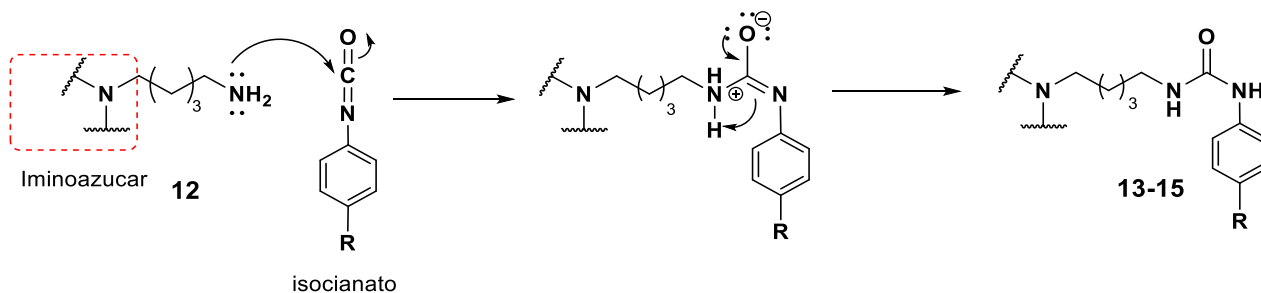
Esquema 17. Síntesis de isocianatos de fenilo (**iv-vi**)

Una vez formados los isocianatos **iv-vi** se hicieron reaccionar con el iminoazúcar **12** para dar las ureas correspondientes **13, 14** y **15** (Esquema 18)



Esquema 18. Ureas sintetizadas.

El mecanismo de formación de los derivados **13-15** (Esquema 19) consiste en el ataque nucleofílico por parte de la amina **12** sobre al carbono del isocianato; la posterior desprotonación del grupo amino conduce a la formación de las ureas deseadas.

Esquema 19. Mecanismo de formación de las ureas **13-15**

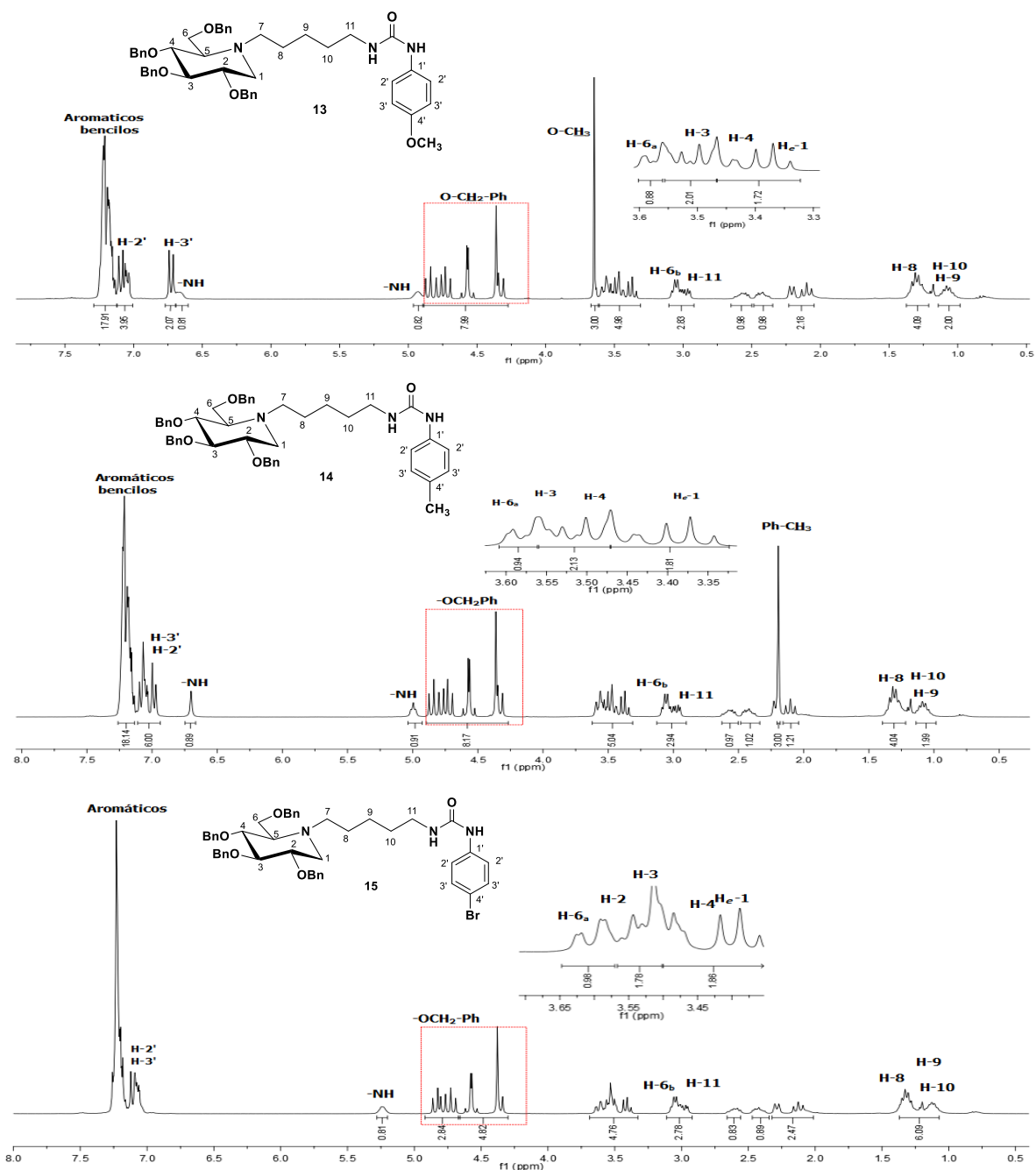


Figura 15. Comparación de los espectros de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) de los derivados 13-15

Los espectros de ^1H de las ureas se muestran en la Figura 15. En los tres espectros se pueden observar las señales de los protones aromáticos correspondientes a los bencillos y al grupo fenilo unido directamente con la

nueva función urea entre 7.31-6.70 ppm; resaltar que en el espectro del derivado **13** los hidrógenos H-3' los cuales se encuentran en posición *meta* con respecto al grupo –NH del fragmento de urea, se desplazan ligeramente a frecuencias menores (6.71 ppm) en comparación con los espectros de los compuestos **14** y **15** debido al efecto electrodonador del grupo metoxilo. Los tres espectros de ^1H presentan las señales correspondientes a los hidrógenos bencílicos entre 4.80-4.30 ppm, las señales anchas de los hidrógenos de urea –NH en 6.66 y 4.92 ppm, así como las señales correspondientes a la estructura del iminoazúcar y a la cadena alquílica. La principal diferencia entre los espectros de **13**, **14** y **15** radica en la presencia de una señal simple en 3.67 ppm que pertenece a los hidrógenos del grupo metoxilo unido en posición *para* al anillo aromático en el compuesto **13**. El espectro del derivado **14** presenta una señal simple en 2.19 ppm que corresponde a los hidrógenos del grupo metilo unido al anillo aromático, mientras que el derivado **15** no presenta ninguna señal de este tipo.

En los espectros de ^{13}C (Figura 16) se puede observar la aparición de una señal en 156 ppm correspondiente al carbonilo del grupo urea (C=O), así también se aprecian las señales correspondientes a los carbonos aromáticos de los grupos bencilos y del grupo fenilo unido directamente a la función urea; destacar que el desplazamiento químico de C-4' para los tres casos es diferente; para el derivado **13** se aprecia en frecuencias altas en 156.4 ppm mientras que para el derivado **14** y **15** se desplaza a frecuencias menores en 129.6 ppm y 115.3 ppm respectivamente, esto es provocado por los diferentes efectos electrónicos de los diversos grupos unidos en posición *para* del anillo aromático del fragmento urea. Los tres espectros presentan las señales características de los carbonos bencílicos entre 75-71 ppm, así como las señales correspondientes a la estructura del iminoazúcar y al fragmento de la cadena alquílica. Cabe mencionar que para el compuesto **13** se puede apreciar una nueva señal característica de los carbonos base oxígeno en 56.7 ppm perteneciente al carbono del grupo metoxilo; a su vez el derivado **14** presenta una señal adicional correspondiente al carbono del grupo metilo unido en posición *para* del anillo aromático en 20.8 ppm.

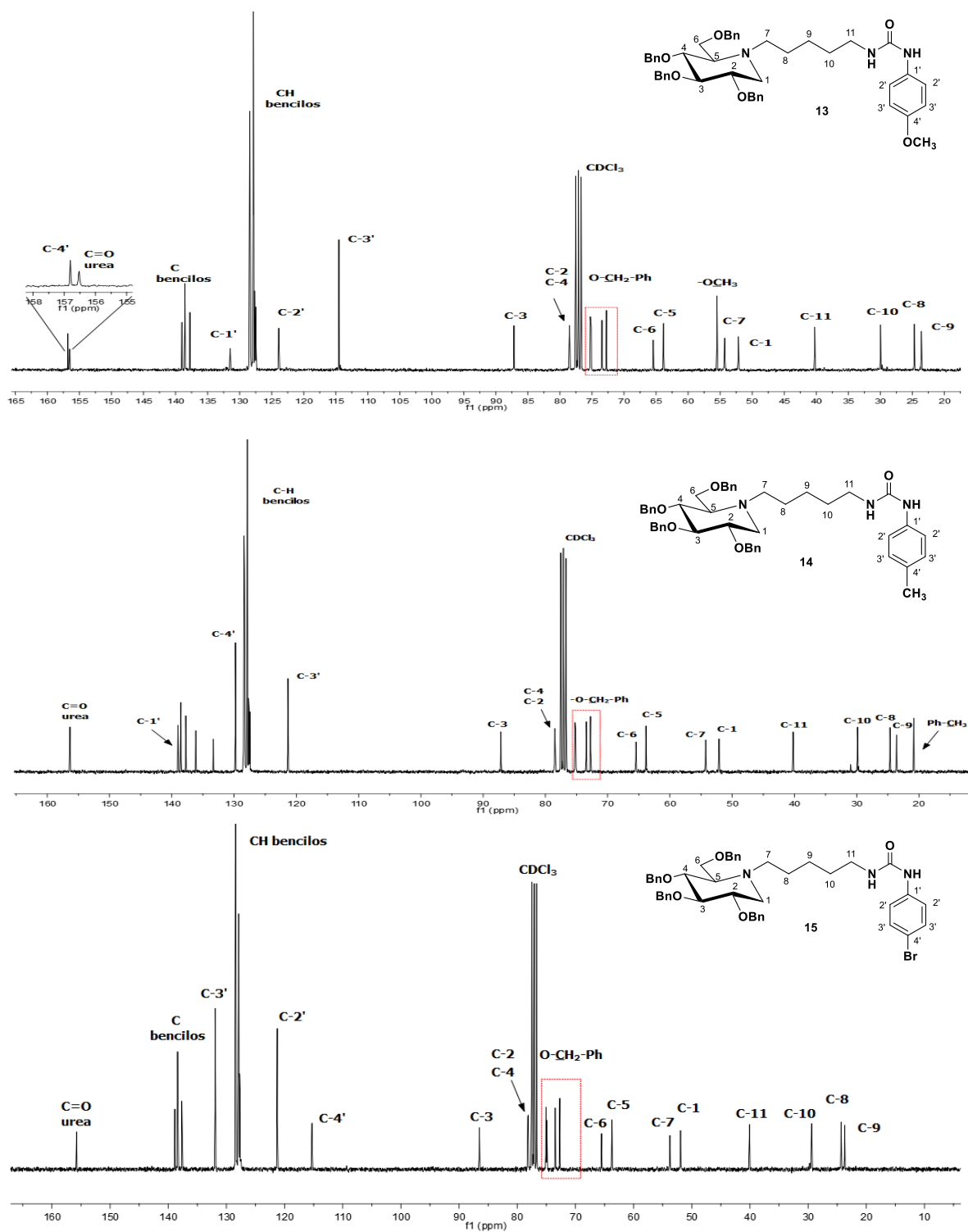


Figura 16. Comparación de los espectros de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) de los derivados 13-15

Los experimentos de masas de los derivados **13-15** (Figura 17) corroboran la fórmula molecular para cada una de las ureas formadas.

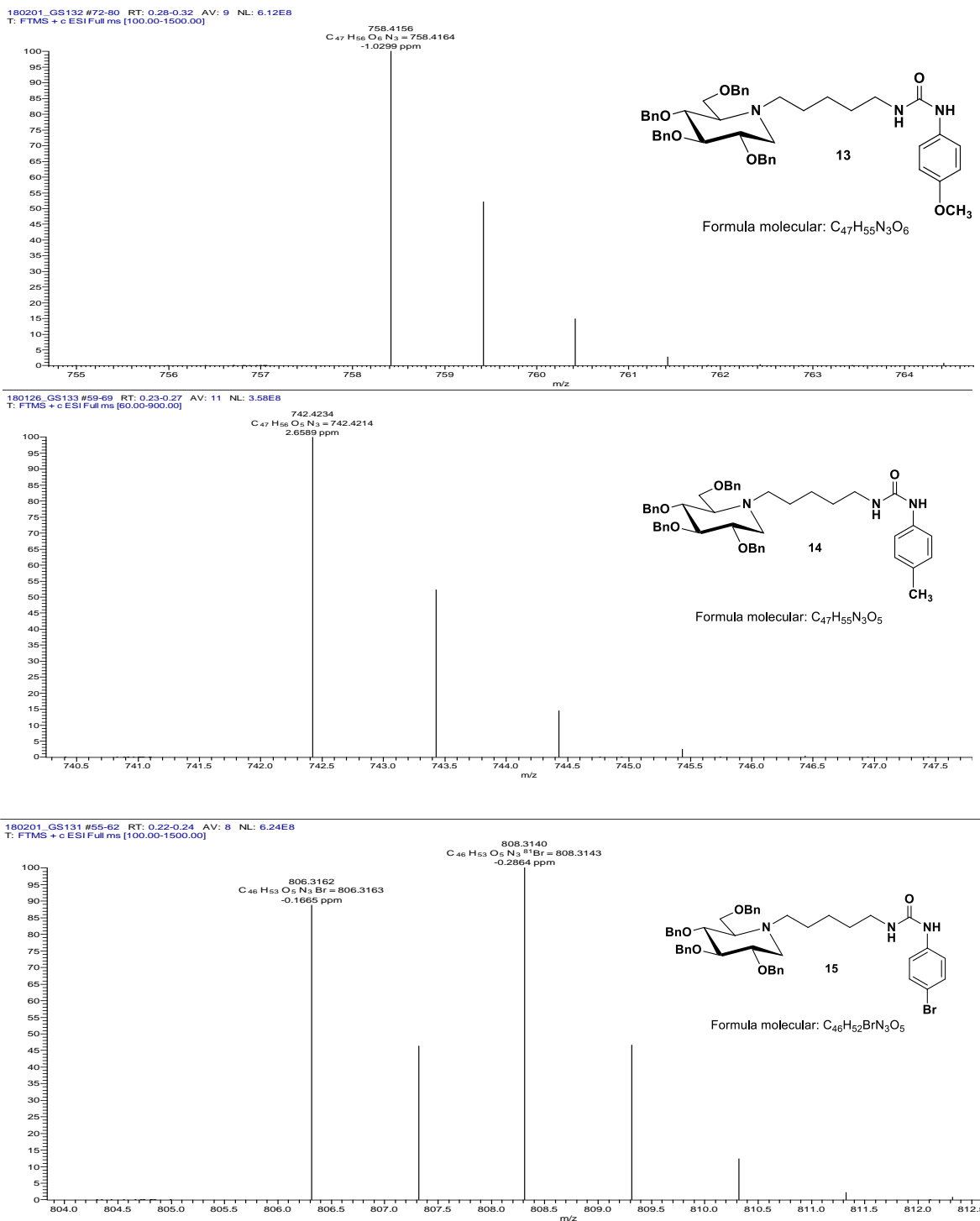
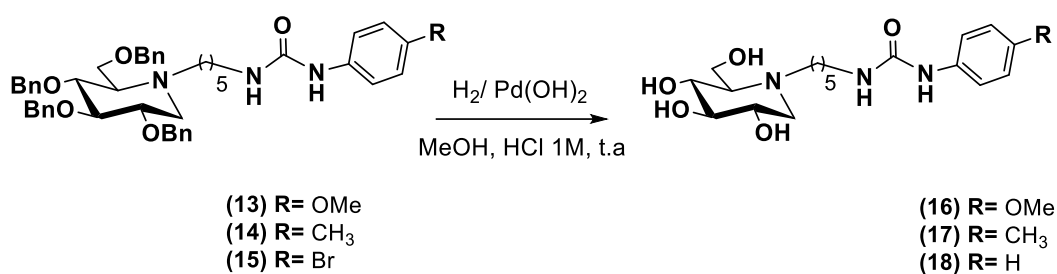


Figura 17. Espectros de masas de los derivados **13-15**

2.5.3.1 Obtención de las ureas hidroxiladas (16-18)

La desprotección de los hidroxilos de los derivados de desoxinojirimicina se realizó utilizando H_2 y $Pd(OH)_2/C$ durante 12 horas (Esquema 20); los espectros de RMN corroboraron la completa desprotección, y por consiguiente la formación de **16** y **17**. Sin embargo, bajo estas condiciones, el derivado **15** sufrió una deshalogenación del anillo aromático generando el compuesto **18**, la deshalogenación de haluros de arilo utilizando condiciones de hidrogenación catalítica ya ha sido reportada.^{126,127} (Esquema 20).



Esquema 20. Desprotección de los derivados **13-15** para obtener los derivados **16-18**

En los espectros de RMN de 1H se puede apreciar la desaparición de las señales correspondientes a los hidrógenos aromáticos, así como de los hidrógenos bencílicos.

Se observa un cambio en el desplazamiento de los hidrógenos pertenecientes al iminoazúcar hacia frecuencias ligeramente altas. Las señales del sistema aromático para los derivados **16** y **17** no sufren modificación alguna ya que es visible para el compuesto **16** una señal simple en 3.66 ppm que pertenece a los hidrógenos del grupo metoxilo unido en posición *para*, a su vez el derivado **17** presenta una señal característica del grupo metilo en 2.17 ppm. La deshalogenación del derivado **15** pudo ser comprobada mediante la presencia de una señal múltiple en la región aromática en 6.94 ppm con una integral para un hidrogeno correspondiente a H-4' lo que permitió confirmar la formación del compuesto **18** (Figura 18).

126. Ramanathan, A.; Jimenez, L. *Synthesis*, **2010**, 2, 217-220

127. Akita, Y.; Inous, A.; Ishida, K.; Terui, K.; Ohta, A. *Syn. Comm.* **1986**, 16, 1067-1072

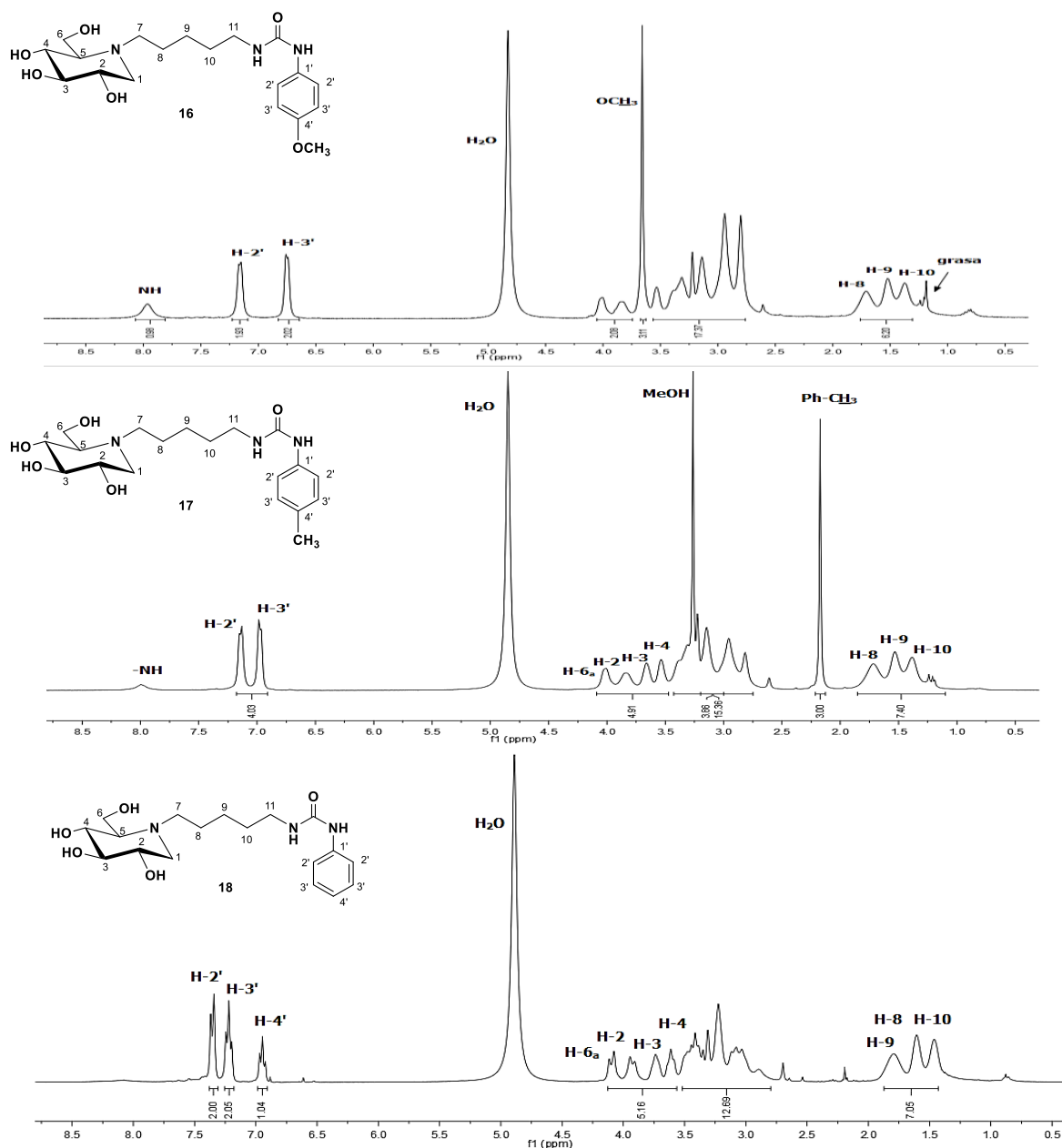


Figura 18. Comparación de los espectros de RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) de los derivados **15-18**

En el espectro de RMN ^{13}C (Figura 19) de los derivados **16-18** se observa también la desaparición de los carbonos aromáticos correspondientes a los grupos bencilos, así como los carbonos metilénicos de los bencilos entre 75 y

72 ppm. Las señales pertenecientes a la estructura del iminoazúcar y del fragmento de urea no sufren cambios significativos para los derivados **16** y **17**, sin embargo, en el espectro del compuesto **18** podemos apreciar un desplazamiento a frecuencias ligeramente altas del carbono C-4' en 122.1 ppm con respecto a la materia de partida **15** provocado por la eliminación del átomo de bromo.

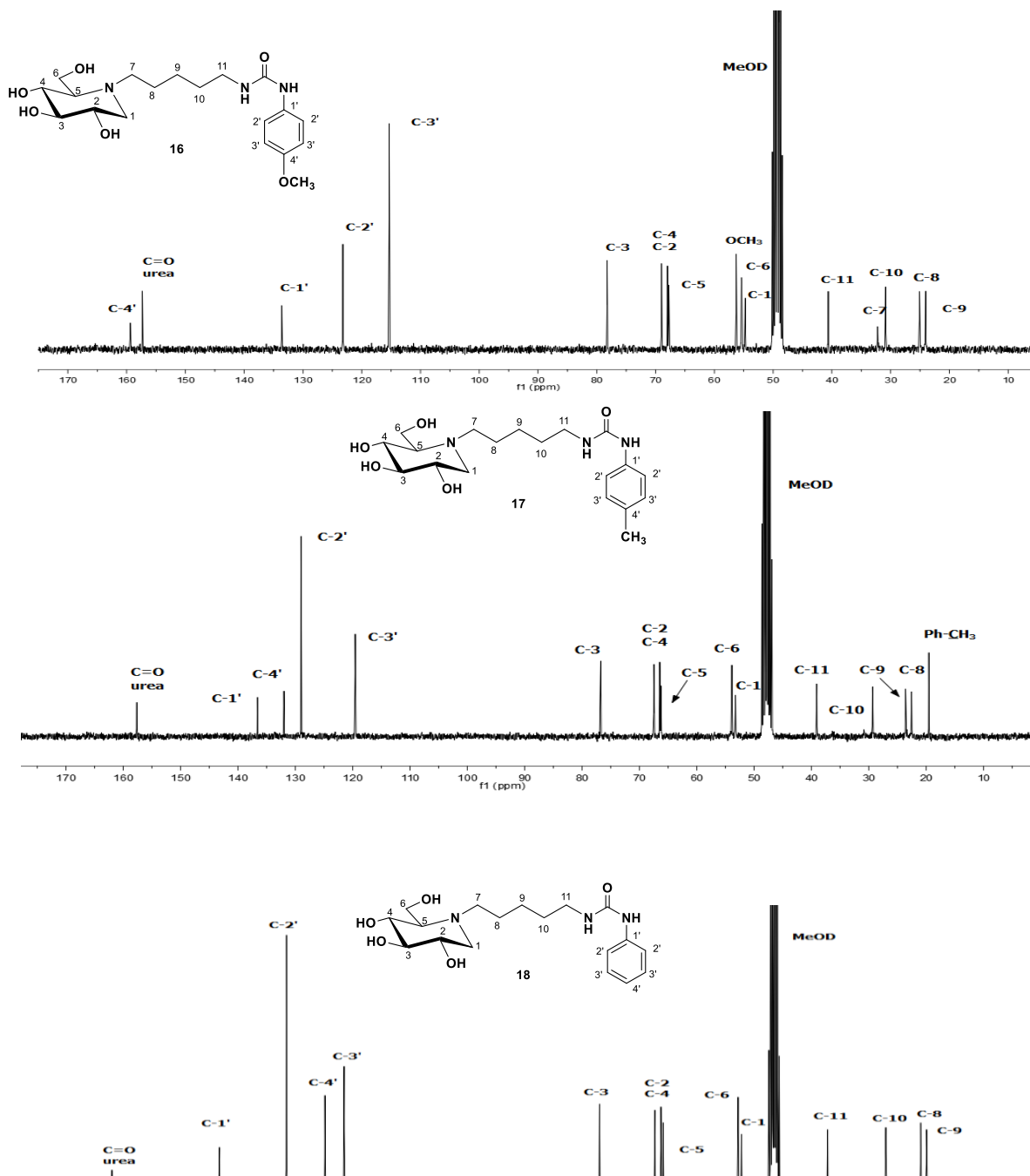


Figura 19. Comparación de los espectros de RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) de los derivados **15-18**

La espectrometría de masas nos permitió corroborar la obtención de los derivados **16** y **17** mediante la presencia de los picos ion molecular $[M+H]^+$ correspondientes, La desprotección y deshalogenación del derivado **15** fue confirmado mediante la presencia pico ion molecular $[M+H]^+$ con una relación $m/z = 368$ para la formula química $C_{18}H_{30}N_3O_5$ con una masa molecular de 367.21 g/mol confirmando la obtención de **18** (Figura 20), y por consiguiente, la ausencia del átomo de bromo.

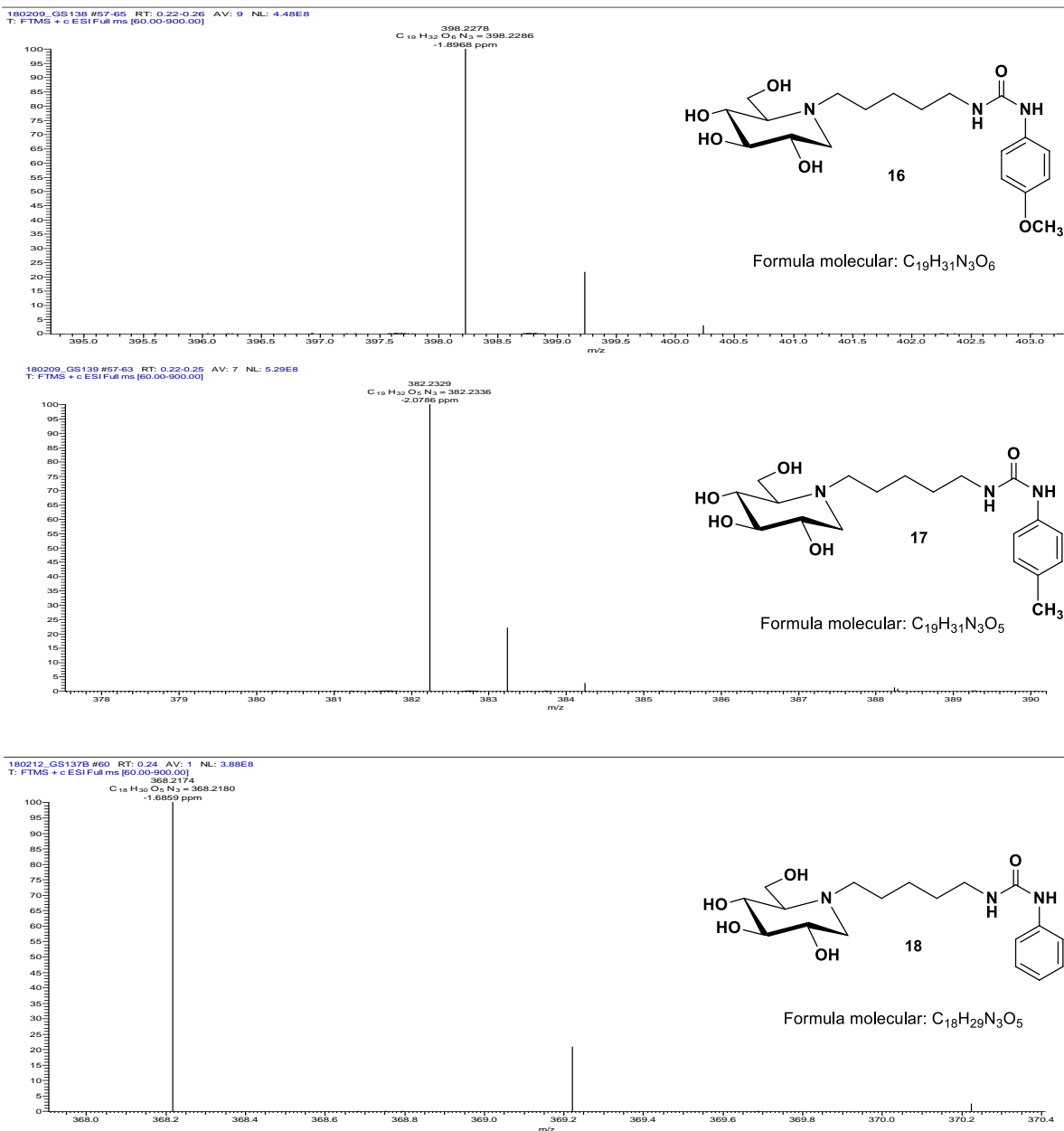
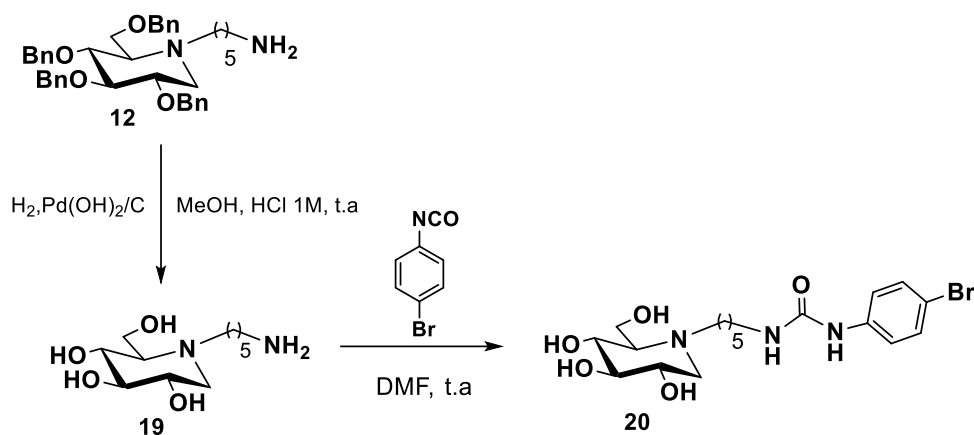


Figura 20. Espectros de masas de los derivados **16-18**

2.5.3.2 Síntesis de la *N*-{5-[*N*'-*p*-bromofenilureido]pentil}-1 desoxinojirimicina (**20**)

Considerando el producto obtenido (**18**) en la hidrogenación catalítica del derivado **15** se decidió modificar la ruta de sintética, esta vez desprotegiendo los hidroxilos del iminoazúcar **12** para generar el amino derivado **19** desprotegido, el cual se acopló con el isocianato de *p*-bromofenilo previamente sintetizado para obtener la urea **20** (Esquema 20).

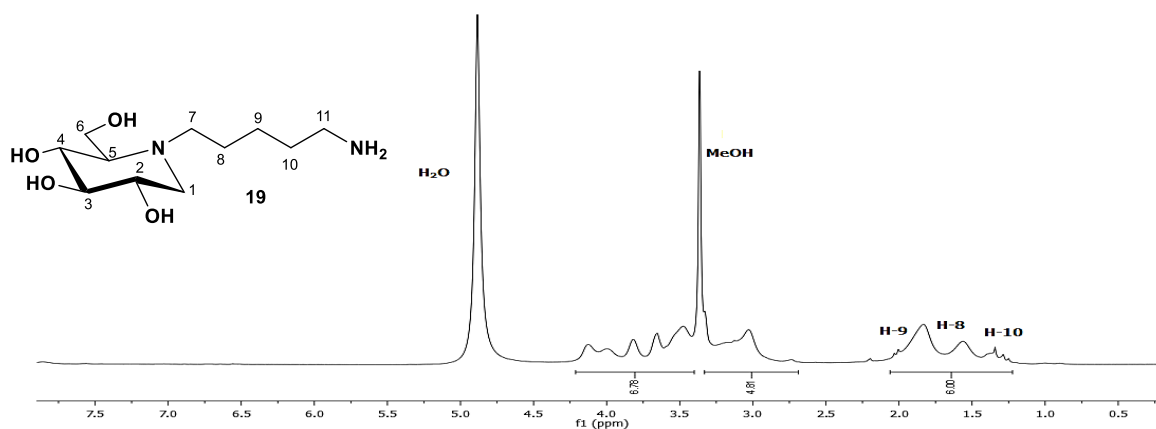


Esquema 20. Metodología para la obtención del derivado **20**

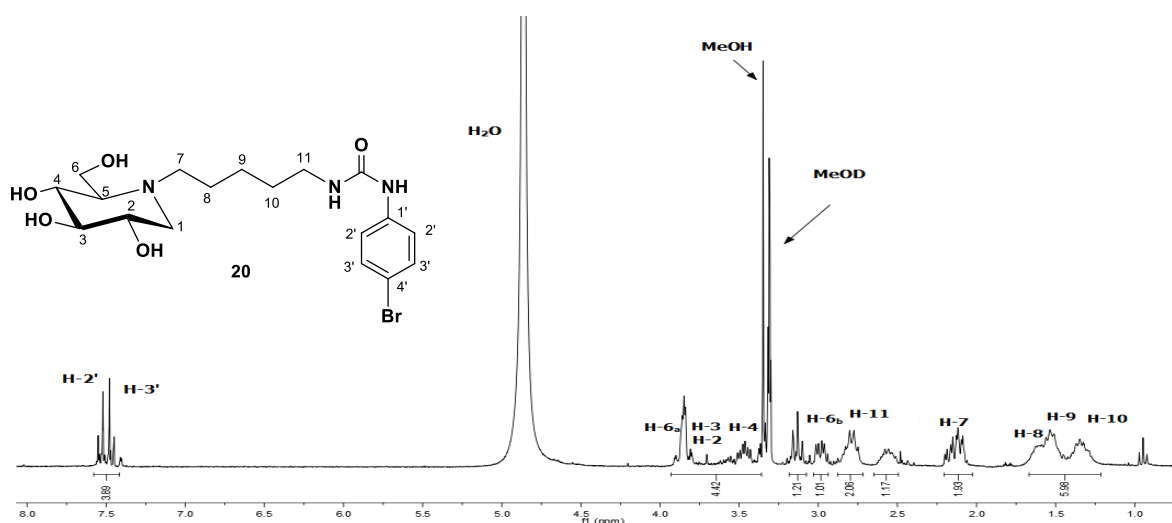
La estructura de los derivados **19** y **20** fue confirmada mediante RMN de ^1H y ^{13}C .

En el espectro de ^1H del iminoazúcar **19** se observa la desaparición de las señales correspondientes a los hidrógenos aromáticos, así como de los hidrógenos bencílicos. Se puede apreciar un cambio en el desplazamiento de los hidrógenos pertenecientes al núcleo del iminoazúcar hacia frecuencias ligeramente más altas; las señales correspondientes a la cadena hidrocarbonada no sufren un cambio significativo (Espectro 13).

El acoplamiento entre la amina **19** y el isocianato de *p*-bromofenilo permite generar la correspondiente urea con un sustituyente aromático **20** por lo que su espectro de ^1H muestra una señal múltiple con una integral para cuatro hidrógenos entre 7.53-7.44 ppm, correspondientes a los protones en posición *orto* (H-2') y en posición *meta* (H-3') del anillo aromático. Las señales correspondientes a la estructura del iminoazúcar y a la cadena hidrocarbonada se mantienen sin cambios importantes (Espectro 14).



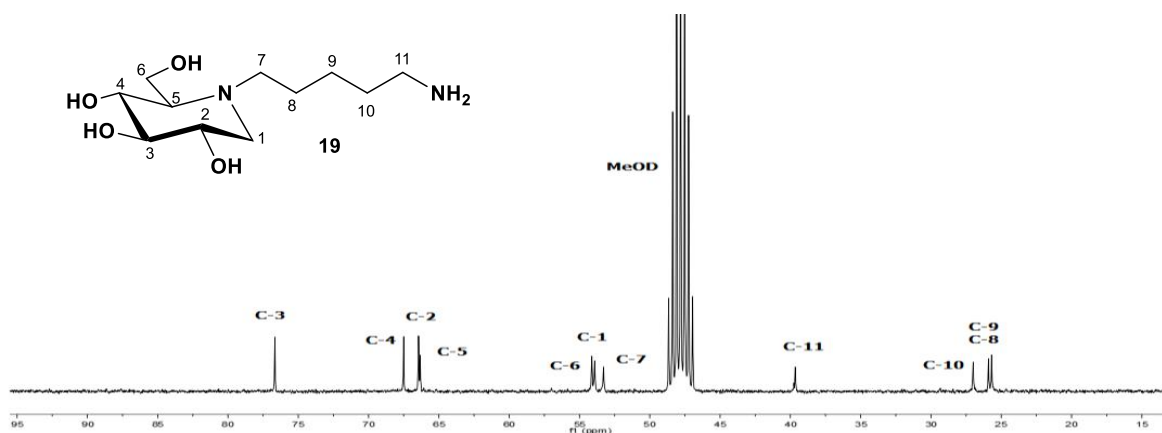
Espectro 13. Experimento de RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) del derivado **19**



Espectro 14. Experimento de RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) del derivado **20**

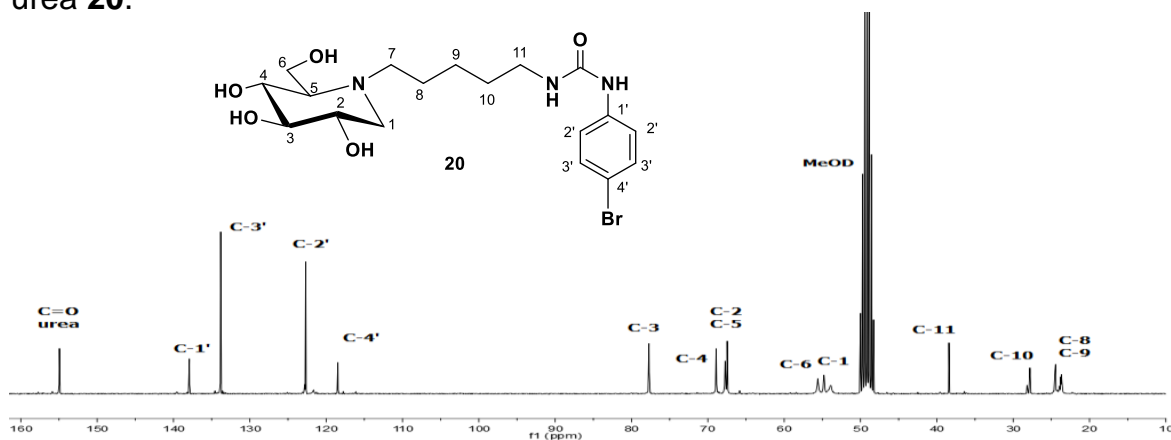
Los espectros de RMN de ^{13}C revelan los siguientes cambios:

En el espectro del derivado **19** se observa la desaparición de los carbonos aromáticos correspondientes a los grupos bencilos entre 138 y 128 ppm, así como los carbonos metilénicos de los bencilos entre 75 y 72 ppm. Las señales pertenecientes a la estructura del iminoazúcar se ven desplazadas ligeramente a frecuencias más bajas con respecto a la materia de partida **12** (Espectro15).



Espectro 15. RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) del derivado **19**.

Por otro lado, el experimento de RMN de ^{13}C (Espectro 16) del derivado **20** se aprecia en región de altas frecuencias una señal que corresponde al grupo carbonilo ($\text{C}=\text{O}$) de la nueva función urea en 154.9 ppm; a frecuencias más bajas, entre 137.8 y 118.3 ppm, se observan las señales correspondientes a los carbonos metínicos del anillo aromático, lo que nos permite confirmar el acoplamiento entre la amina **19** y el isocianato de *p*-bromofenilo para generar la urea **20**.



Espectro 16. RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) del derivado **20**.

Los espectros de masas de los derivados **19** y **20** (Figura 21) corroboran los picos ion molecular $[\text{M}+\text{H}]^+$ para cada uno de los compuestos obtenidos, la obtención del derivado **20** fue confirmada mediante la presencia pico ion molecular $[\text{M}+\text{H}]^+$ con una relación $m/z = 446$ para la fórmula química $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{BrN}_3\text{O}_5$ con una masa molecular de 445.12 g/mol.

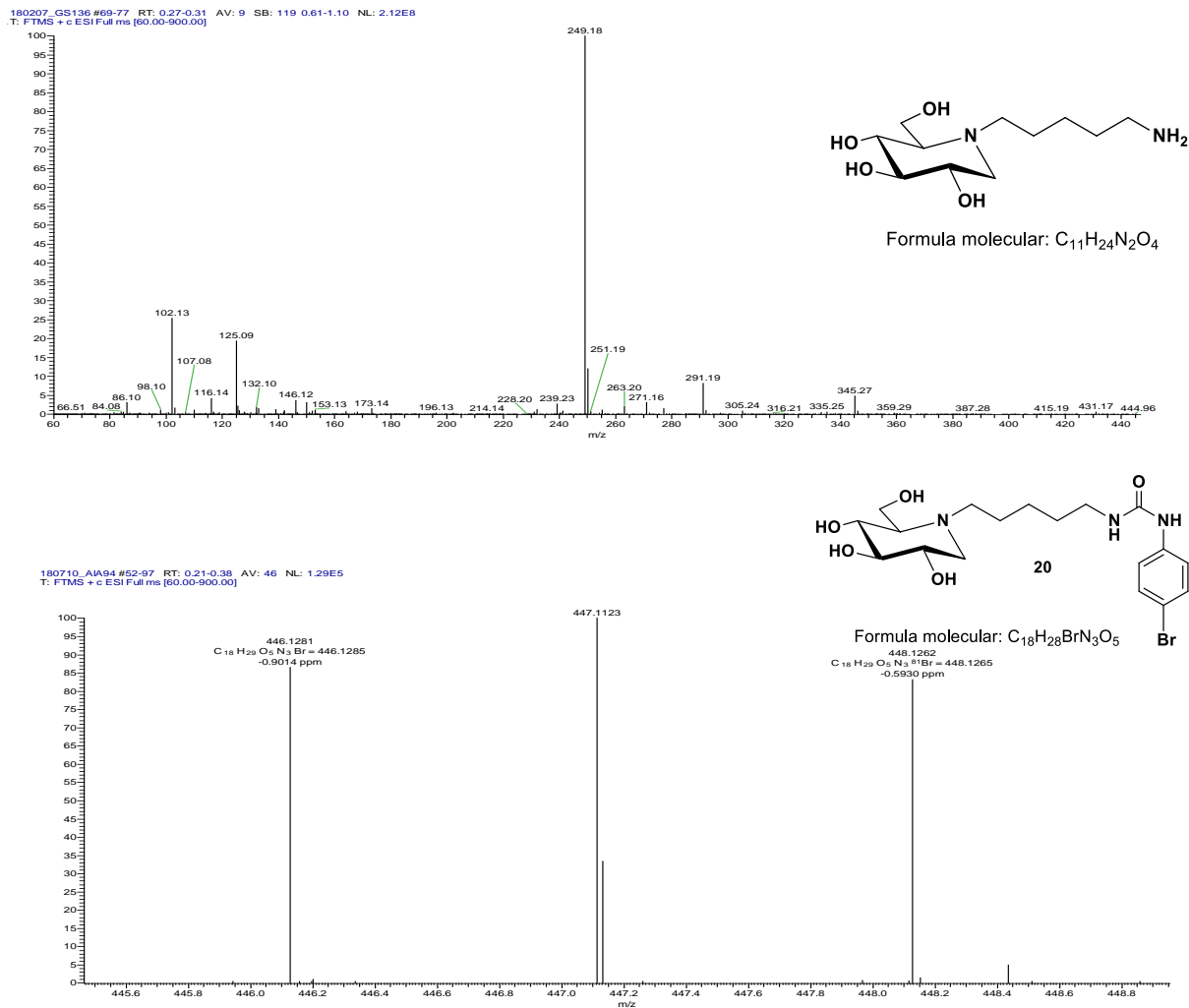
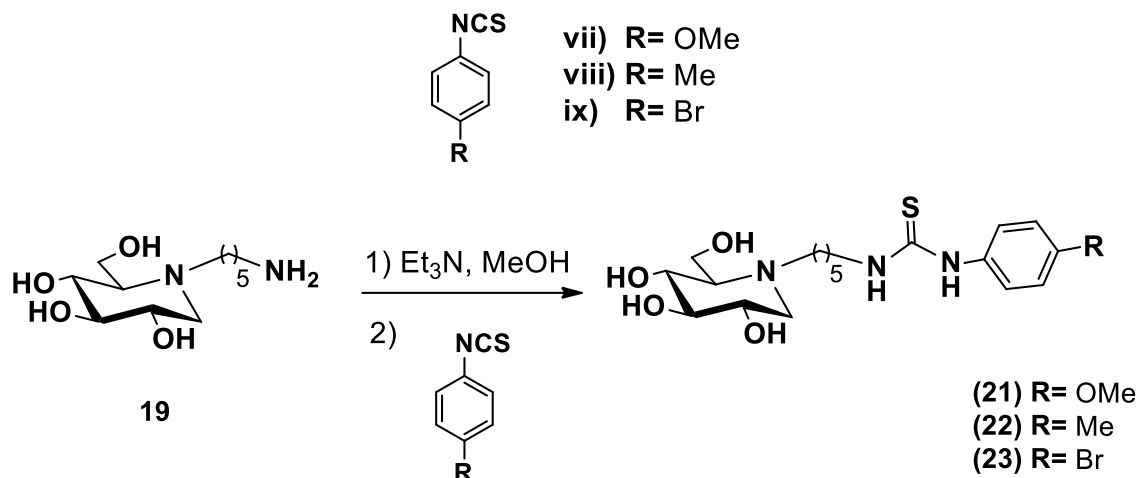


Figura 21. Espectros de masas de los derivados 19 y 20

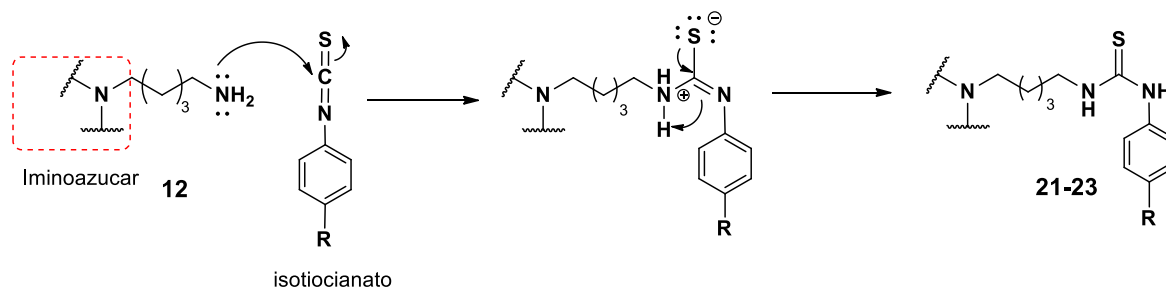
2.5.4 Obtención de tioureas (21-23)

La síntesis de las tioureas derivadas de la deoxinojirimicina se realizó mediante la reacción de la amina **19** con los correspondientes isotiocyanatos comerciales (**vii-ix**) para dar los derivados **21**, **22** y **23** (Esquema 21). La reacción se lleva a cabo con la amina desprotegida **19** en lugar del derivado per-*O*-bencilado **12** porque la presencia de azufre envenenaría el catalizador de paladio en la etapa de desprotección.



Esquema 21. Tioureas sintetizadas.

El mecanismo de formación de los derivados **21-23** (Esquema 22) al igual que en la formación de las ureas, consiste en el ataque nucleofílico por parte de la amina **19** sobre al carbono del isotiocianato; la posterior desprotonación del grupo amino conduce a la formación de las tioureas deseadas

Esquema 22. Mecanismo de formación de las tioureas **21-23**

Los espectros de ^1H de las tioureas **21**, **22** y **23** se muestran en la Figura 22. En los tres espectros se pueden observar dos grupos de señales correspondientes a los hidrógenos aromáticos del grupo fenilo unido directamente a la nueva función tiourea entre 7.30-7.10 ppm. Es posible apreciar un ligero desplazamiento a frecuencias altas de las señales correspondientes a la estructura del iminoazúcar con respecto a la materia de partida **19**. La principal

diferencia entre los espectros de **21**, **22** y **23** radica en la presencia de una señal simple en 3.80 ppm que pertenece a los hidrógenos del grupo metoxilo unido en posición *para* al anillo aromático en el compuesto **21**. A su vez el espectro del derivado **22** presenta una señal simple en 2.33 ppm que corresponde a los hidrógenos del grupo metilo unido al anillo aromático, mientras que el derivado **23** no presenta ninguna señal de este tipo debido a que presenta un átomo de bromo unido en posición *para* del grupo arilo. Las señales correspondientes a la cadena alquílica no sufren algún cambio significativo.

En los espectros de ^{13}C (Figura 23) se puede observar la aparición de una señal en 182.7 ppm correspondiente al grupo tiocarbonilo de la tiourea ($\text{C}=\text{S}$); también se aprecian las señales correspondientes a los carbonos aromáticos del grupo fenilo unido directamente a la función urea entre 160 y 115 ppm. Destacar que el desplazamiento químico de C-4' para los tres casos es diferente; para el derivado **21** se aprecia en frecuencias altas en 159.6 ppm mientras que para los derivados **22** y **23** se desplaza a frecuencias menores en 132. ppm y 117.7 ppm respectivamente; esto es provocado por los diferentes efectos electrónicos de los diversos grupos unidos en posición *para* del anillo aromático del fragmento tiourea. Los tres espectros presentan las señales características correspondientes a la estructura del iminoazúcar y al fragmento de la cadena alquílica. Cabe mencionar que para el compuesto **21** se puede apreciar una nueva señal característica de los carbonos base oxígeno en 56.3 ppm perteneciente al carbono del grupo metoxilo, a su vez el derivado **22** presenta una señal adicional correspondiente al carbono del grupo metilo unido en posición *para* del anillo aromático en 24.7 ppm.

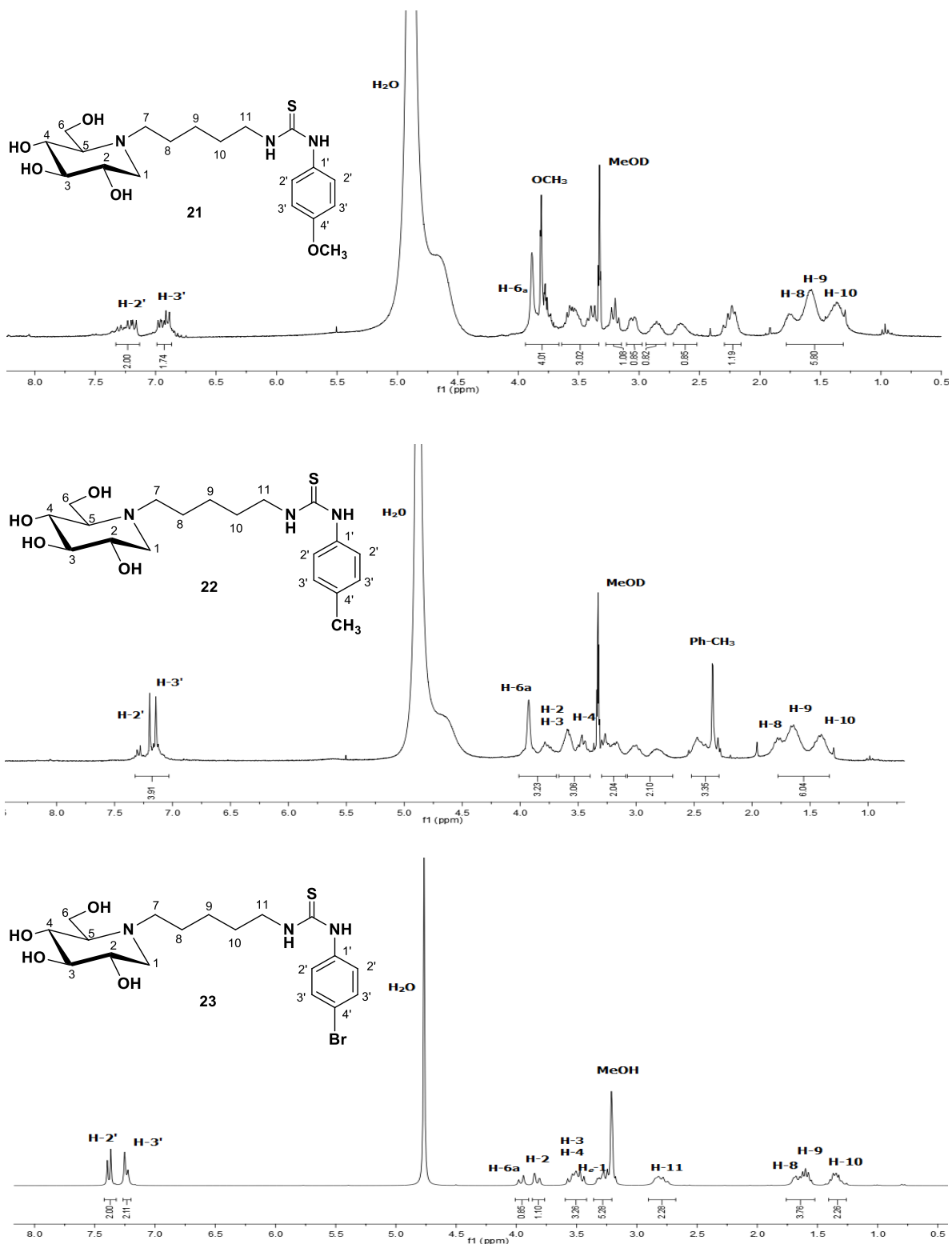


Figura 22. Comparación de los espectros de RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) de los derivados **21-23**

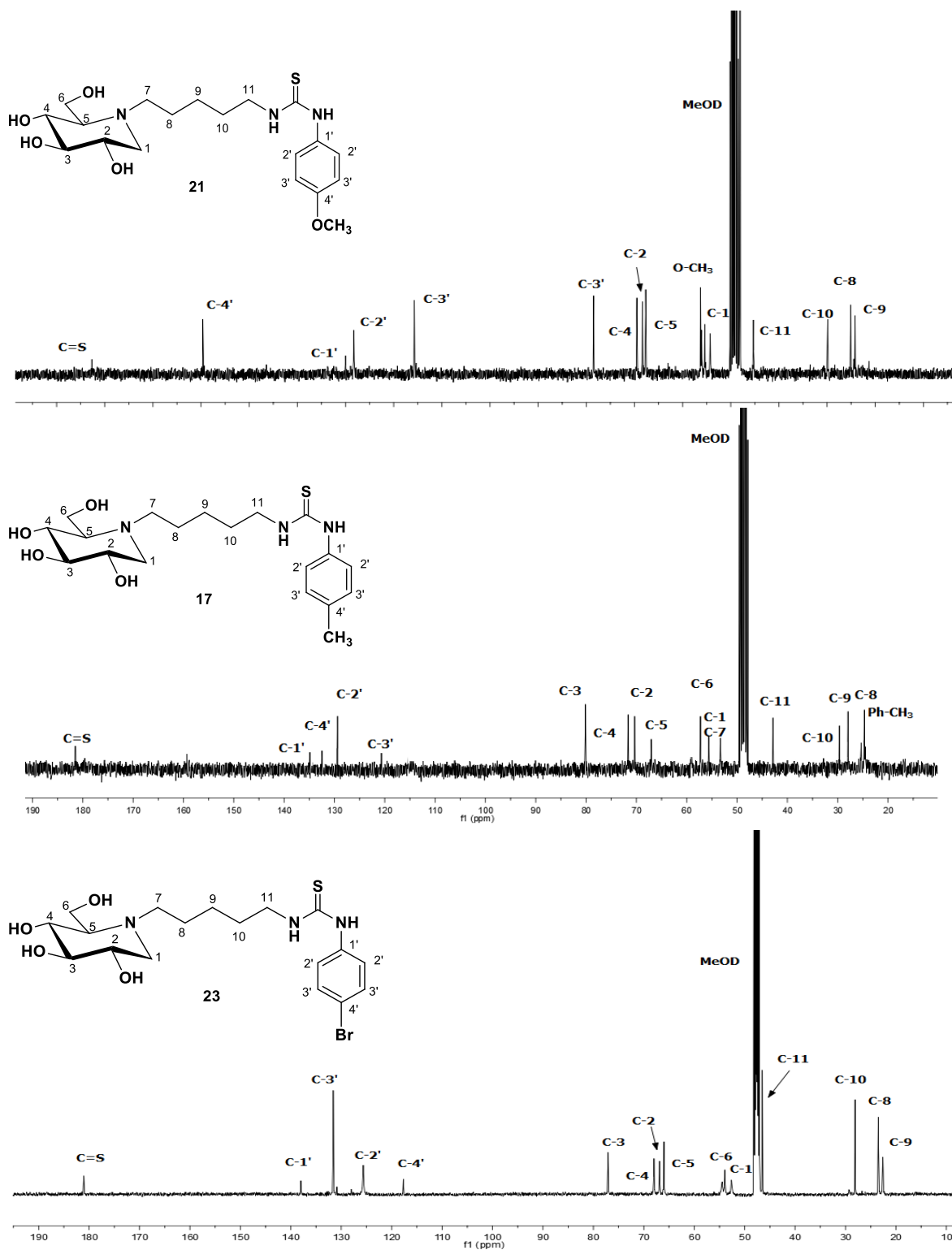


Figura 23. Comparación de los espectros de RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) de los derivados 21-23

CAPITULO II

Los espectros de masas nos permitieron corroborar la obtención de los derivados **21**, **22** y **23** mediante la presencia de los picos ion molecular $[M+H]^+$ correspondientes (Figura 23).

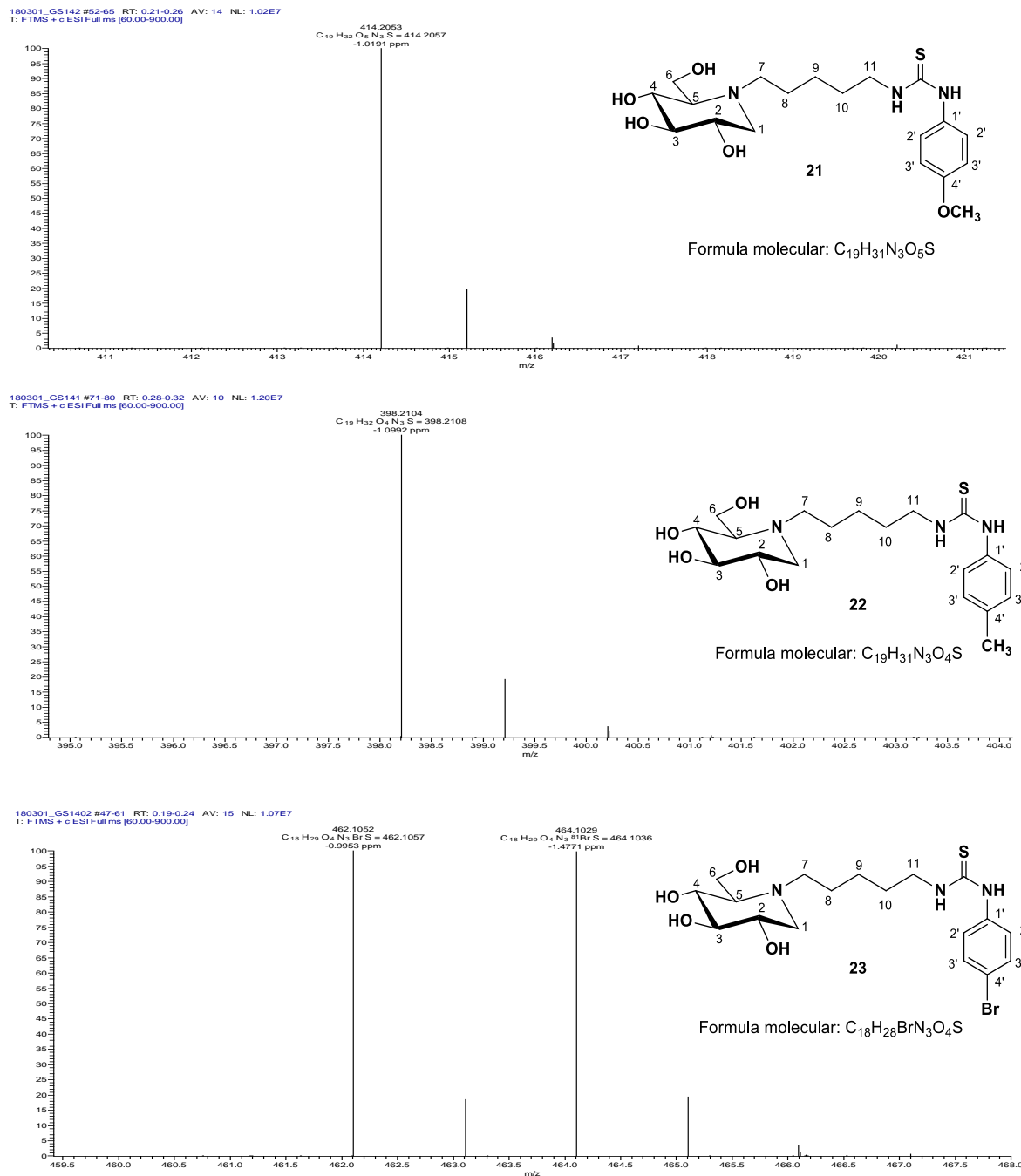


Figura 23. Espectros de masas de los derivados **21-23**

2.5.5 Evaluación biológica

Se realizó un estudio de inhibición enzimática de algunos de los derivados obtenidos. Los compuestos **16-18** y **23** se probaron como posibles inhibidores de β -glucosidasa (almendras) utilizando la metodología descrita por Bols y colaboradores¹²⁸ los datos referentes a la actividad inhibitoria de los compuestos sintetizados se muestran en la figura 24 y se expresan como K_i (constante de inhibición), los compuestos obtenidos presentaron una mejor actividad inhibitoria con relación a los valores presentados por la 1-desoxinojirimicina, observándose una inhibición de tipo competitiva, sin embargo, estos fueron mayores a $10\mu\text{M}$, valor considerado en compuestos con buena actividad inhibitoria.

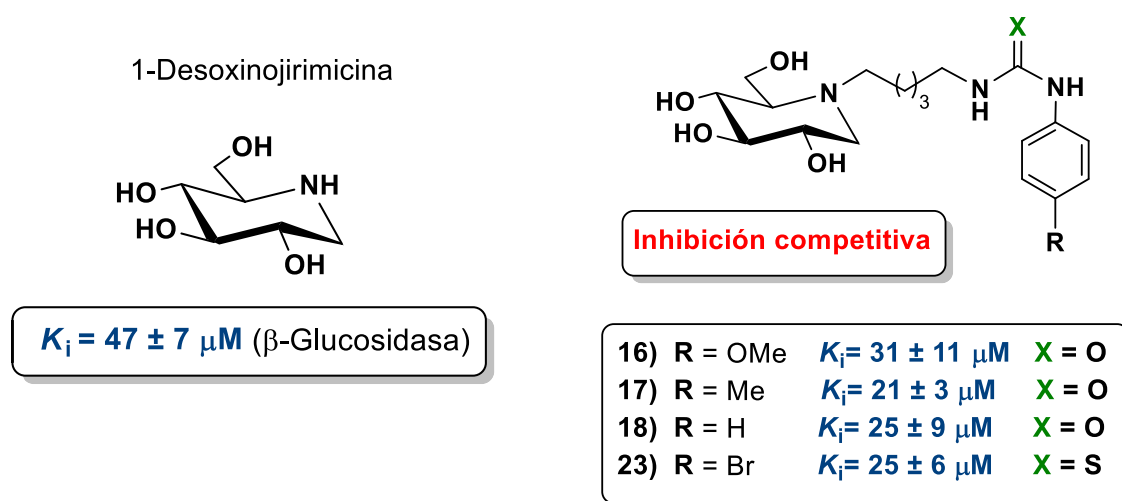


Figura 24. Resultados del ensayo de inhibición frente β -glucosidasa

Los derivados sintetizados serán evaluados frente a otras glicosidasas, con el fin de obtener la selectividad del compuesto como inhibidor; (α -glucosidasa (*Saccharomyces cerevisiae*), α -galactosidasa (granos de café verde), β -galactosidasa (*Aspergillus oryzae*) y β -galactosidasa (*Escherichia coli*), así también se evaluarán frente dos colinesterasas acetilcolinesterasa (raya eléctrica), butilcolinesterasa (serum bovino), relacionadas con la enfermedad de Alzheimer

127. Bols, M.; Hazell, R. G.; Thomsen, I. *Chem. Eur. J.* **1997**, 3, 940-947

2.6 DESARROLLO EXPERIMENTAL

Equipos y técnicas Utilizadas

Todos los espectros tanto de RMN como de masas, se realizaron en el Centro de Investigación Tecnológicas e Innovación de la Universidad de Sevilla (CITIUS).

Resonancia Magnética Nuclear

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) de ^1H y ^{13}C se adquirieron en los espectrómetros Bruker Avance III a 300 MHz con sonda de banda ancha BBFO Plus de 5mm, y Bruker Avance III a 500 MHz con criosonda de TCI de 5 mm. Como disolvente se empleó cloroformo deuterado (CDCl_3) y metanol deuterado (CD_3OD). Los desplazamientos químicos se presentan en ppm (δ), las constantes de acoplamiento (J) se expresan en Hz. La multiplicidad de las señales de los espectros de ^1H se describe como: *s* para una simple, *d* para una señal doble, *dd* para una señal doble de doble, *ddd* para una señal doble de doble de doble, *dc* para una señal doble de cuádruple, *t* para una señal triple y *m* para una señal múltiple.

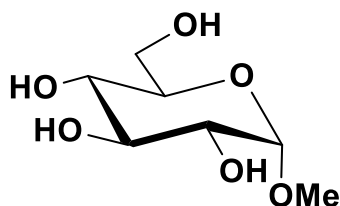
Espectrometría de Masas

Los datos de pico ión molecular $[\text{M}+\text{H}]^+$ para cada compuesto se determinaron en un espectrofotómetro ThermoFisher Scientific Orbitrap ELITE.

Cromatografía

Para monitorear las reacciones se utilizó la cromatografía en capa fina (CCF) y placas comerciales de gel de sílice grado 60 de 0.25 mm de espesor con indicador de fluorescencia, para su revelado se empleó luz ultravioleta de onda corta (254 nm), lámpara de UV-G-54 o bien por calcinación, previo tratamiento con revelador de ácido sulfúrico al 5%, vainillina, ninhidrina o ácido fosfomolibdico según sea el caso.

La purificación de los derivados de los iminoazúcares se realizó empleando la técnica de cromatografía en columna (CC) tipo *flash*, utilizando columnas de vidrio empacadas con gel de sílice grado 60 Merck (230-400 mallas).

Metil α -D-glucopiranosido (1)

Los datos espectroscópicos de RMN de ^1H y ^{13}C de la materia prima **1** obtenidos se compararon con la literatura.⁴⁰

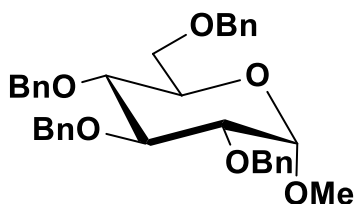
RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD)

δ : 5.34 (1H, d, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1), 4.41 (1H, dd, $J_{2,3} = 11.8$, $J_{2,1} = 2.3$ Hz, H-2), 3.70 (1H, m, H-3), 3.63 (1H, m, H-4), 3.54 (1H, ddd, $J_{5,4} = 9.8$, $J_{5,6a} = 5.5$, $J_{5,6b} = 2.3$ Hz, H-5), 3.42 (3H, s, H-7), 3.34 (2H, m, H-6).

RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD)

δ : 101.3 (C-1), 75.2 (C-2), 73.6 (C-3), 71.8 (C-4), 62.8 (C-6), 65.6 (C-7).

Obtención de 1-desoxinojirimicina

Obtención del metil 2,3,4,6-tetra-O-bencil- α -D-glucopiranosido (2)

Una disolución del metil- α -D-glucopiranosido 6.0 g (30.9 mmol) en DMF (20 mL) se mantiene durante 15 minutos en agitación a 0°C . Posteriormente se añaden 9.8 g (246.4 mmol) de NaH y la mezcla se mantiene en agitación durante 20 minutos más. Una vez transcurrido dicho tiempo se agregan gota a gota 29.3 mL (246.4 mmol) de BnBr. La mezcla de reacción se deja en agitación a temperatura ambiente durante 15 horas.

El crudo de reacción se coloca sobre un baño de hielo y se añaden 20 mL de agua destilada y se deja en agitación por 20 minutos. La fase orgánica se extrae con AcOEt y se realizan lavados con salmuera (4x40 mL) y agua destilada (3x40 mL); a continuación, se seca con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora a presión reducida, luego se purifica por cromatografía en columna con un sistema 95:5 hexano/AcOEt, se obtiene un sólido blanco amorfo con un rendimiento del 85% (14.7g).

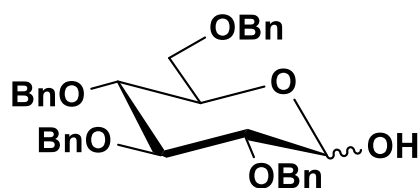
Los datos espectroscópicos de ¹H del derivado **2** se compararon con la literatura.

108

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃)

δ: 7.31-7.20 (18H, m, Ph-H), 7.11-7.05 (2H, m, Ph-H), 4.93 (1H, d, *J*_{1,2}=3.8 Hz, H-1), 4.80-4.72 (3H, m, -O-CH₂-Ph), 4.63-4.53 (3H, m, -O-CH₂-Ph), 4.43 (2H, d, *J*_{gem}= 12.1 Hz, -O-CH₂-Ph), 3.93 (1H, t, H-3), 3.72-3.64 (2H, m, H-6), 3.61-3.54 (2H, m, H-4, H-5), 3.51 (1H, dd, *J*_{2,3}= 9.6, *J*_{2,1}=3.6, H-2), 3.33 (3H, s, H-7).

Obtención de la 2,3,4,6-tetra-O-bencil-D-glucosa (**3**)



Se disuelven 14.7 g de **1** en 45 mL de AcOH, la mezcla de reacción resultante se coloca en agitación sobre un baño de hielo. Posteriormente se agregan 36 mL de H₂SO₄ 1M, el crudo de reacción se mantiene en agitación y reflujo (120°C) durante 15 horas. La suspensión formada se enfría durante una hora (0-10°C) el precipitado formado se separa por filtración al vacío y se lava con agua (50 mL) luego se purifica por cromatografía en columna con un sistema 9:1 y 75:25 hexano/AcOEt, se obtiene un sólido blanco con un rendimiento del 70% (10.0 g)

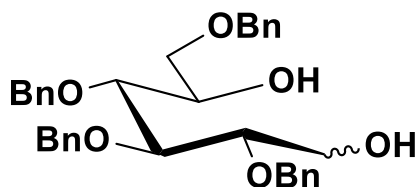
Los datos espectroscópicos de ¹H y ¹³C del derivado **2** se compararon con la literatura.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃)

δ: 7.23-7.15 (18H, m, Ph-H), 7.07-7.01 (2H, m, Ph-H), 5.14 (1H, d, $J_{1,2} = 3.3$ Hz, H-1), 4.89-4.36 (8H, m, O-CH₂-Ph), 3.93 (1H, dd, $J_{3,4} = J_{3,2} = 11.3$ Hz, H-3), 3.63-3.35 (5H, m, H-2, H-4, H-6, H-5), 3.04 (1H, s, OH).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃)

δ: 138.8 (C_{Ph}), 138.3 (C_{Ph}), 137.9 (C_{Ph}), 138.0 (C_{Ph}), 128.6 (CH_{Ph}), 128.5 (CH_{Ph}), 128.2 (CH_{Ph}), 128.1 (CH_{Ph}), 128.1 (CH_{Ph}), 128.1 (CH_{Ph}), 128.0 (CH_{Ph}), 127.8 (CH_{Ph}), 127.8 (CH_{Ph}), 127.7 (CH_{Ph}), 91.3 (C-1), 81.8 (C-2), 80.1 (C-3), 77.9 (C-4), 62.8 (C-6), 65.6 (C-7), 75.8 (-O-CH₂-Ph), 75.1 (-O-CH₂-Ph), 73.5 (-O-CH₂-Ph), 73.3 (-O-CH₂-Ph), 70.31 (C-5), 68.7 (C-6).

Obtención del 2,3,4,6-tetra-O-bencil-D-glucitol (4)

Se disuelven 6g (11.1 mmol) del derivado **3**, en una mezcla CH₂Cl₂/MeOH, 75:25 (50 mL), se deja en agitación por 15 minutos, posteriormente se agregan 2.1g (55.5 mmol) de NaBH₄, la mezcla de reacción se calienta a reflujo (40-45°C) durante 6 horas.

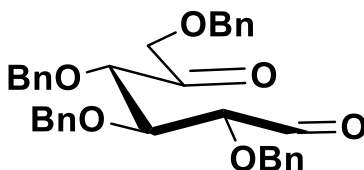
Una vez concluida la reacción se añaden 30 mL de agua destilada y se deja en agitación por 20 minutos. La fase orgánica se extrae con CH₂Cl₂ (3x40 mL). a continuación, se seca con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora a presión reducida, obteniéndose un aceite incoloro, con un rendimiento del 95% (5.7 g).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃)

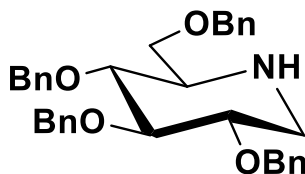
δ: 7.30-7.11 (20H, m, Ph-H), 4.64 (1H, d, $J_{gem} = 11.3$ Hz, O-CH₂-Ph), 4.89-4.36 (7H, m, O-CH₂-Ph), 3.96 (1H, s, OH), 3.82 (1H, d, $J_{1a,2} = 6.3$, $J_{gem} = 11.7$ Hz, H-1_a), 3.74-3.63 (3H, m, H-3, H-2, H-1_b), 3.55 (2H, dd, $J_{6a,5} = 5.7$, $J_{6b,5} = 4.3$ Hz, H-6), 3.52-3.45 (1H, m, H-3), 2.90 (1H, d, $J_{4,5} = 4.5$ Hz, H-4), 2.09 (1H, s, OH).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃)

δ: 138.3 (C_{Ph}), 138.1 (C_{Ph}), 138.0 (C_{Ph}), 138.0 (C_{Ph}), 128.6 (CH_{Ph}), 128.5 (CH_{Ph}), 128.5 (CH_{Ph}), 128.2 (CH_{Ph}), 128.1 (CH_{Ph}), 128.0 (CH_{Ph}), 127.9 (CH_{Ph}), 127.9 (CH_{Ph}), 79.6 (C-2), 79.2 (C-3), 77.5 (C-4), 74.6 (-O-CH₂-Ph), 73.6 (-O-CH₂-Ph), 73.4 (-O-CH₂-Ph), 73.2(-O-CH₂-Ph), 77.2 (C-5), 76.8 (C-6).

Obtención del 2,3,4,6-tetra-O-bencil-5-oxohexanal (5)

Se disuelven 3.8 mL (10.5 mmol) de cloruro de oxalilo en 7.5 mL de CH₂Cl₂ anhidro, esta solución se coloca en agitación a -78°C bajo una atmosfera de argón durante 20 minutos. Posteriormente se adicionan de manera lenta, gota a gota una solución de DMSO anhidro 4 mL (55.7 mmol) disueltos en 7.4 mL de CH₂Cl₂ anhidro bajo una temperatura de -78°C. La mezcla de reacción resultante se mantiene en agitación y a la temperatura antes mencionada durante 30 minutos. Luego se agregan de manera lenta gota a gota 5.7 g de **4** (10.50 mmol) disueltos en 10 mL de CH₂Cl₂ anhidro, se mantiene en agitación a -78°C durante 2 horas bajo una atmosfera de argón. Posteriormente se añaden 15.8 mL (113.4 mmol) de Et₃N anhidra, la mezcla de reacción se mantiene en agitación a -78 °C durante 4 horas. El crudo de reacción obtenido no es purificado y se utiliza para la siguiente reacción.

Obtencion del 2,3,4,6-tetra-O-bencil-1-desoxinojirimicina (6)

Se pesan 6.6 g (105 mmol) de NH₄HCO₂, 4.5 g (31.5 mmol) de Na₂SO₄ y 2.63 g (42 mmol) de NaBH₃CN y se disuelven en 25 mL de MeOH, la mezcla de reacción resultante se coloca en un baño de hielo y agitación durante 40 minutos, posteriormente a la solución resultante se le añade el crudo de reacción del derivado **5**. Se deja en agitación a temperatura ambiente durante 15 horas. Una

vez concluido el tiempo de reacción se realizan lavados con salmuera (4x40 mL) y agua destilada (3x40 mL); la fase orgánica es extraída con CH₂Cl₂ a continuación se seca con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora a presión reducida, posteriormente se purifica por cromatografía en columna con un par de sistemas 85:15 y 7:3 hexano/AcOEt, obteniéndose un aceite amarillo con un rendimiento del 60 % (3.3 g).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃)

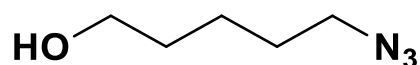
δ: 7.28-7.08 (20H, m, Ph-H), 4.89 (1H, d, $J_{gem} = 10.9$ Hz, O-CH₂-Ph), 4.78 (1H, d, $J_{gem} = 7.9$ Hz, O-CH₂-Ph), 4.75 (1H, d, $J_{gem} = 7.9$ Hz, O-CH₂-Ph) 4.63-4.53 (2H, m, O-CH₂-Ph) 4.42-4.31 (3H, m, O-CH₂-Ph) 3.58 (1H, dd, $J_{gem} = 9.0$, $J_{6a,5} = 2.6$ Hz, H-6_a). 3.50-3.36 (3H, m, H-2, H-3, H-4), 3.27 (1H, dd, $J_{gem} = 12.2$, $J_{1e,2} = 6.2$ Hz, H_e-1), 3.15 (1H, dd, $J_{gem} = 12.3$, $J_{6b,5} = 4.7$ Hz, H-6_b), 2.63 (1H, ddd, $J_{5,4} = 9.6$, $J_{5,6a} = 6.9$, $J_{5,6b} = 2.6$, Hz, H-5), 2.41 (1H, dd, $J_{gem} = 12.2$, $J_{1a,2} = 10.1$ Hz, H_a-1), 1.91 (1H, simple y ancha, N-H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃)

δ: 139.0 (C_{Ph}), 138.6 (C_{Ph}), 138.5 (C_{Ph}), 138.1 (C_{Ph}), 128.5 (CH_{Ph}), 128.5 (CH_{Ph}), 128.4 (CH_{Ph}), 128.4 (CH_{Ph}), 128.1 (CH_{Ph}), 128.0 (CH_{Ph}), 127.9 (CH_{Ph}), 127.8 (CH_{Ph}), 127.8 (CH_{Ph}), 127.6 (CH_{Ph}), 87.4 (C-3), 80.7 (C-4), 80.1 (C-2), 75.7 (-O-CH₂-Ph), 75.3 (-O-CH₂-Ph), 73.5 (-O-CH₂-Ph), 72.8 (-O-CH₂-Ph), 70.3 (C-6), 59.8 (C-5), 48.2 (C-1).

Obtención de derivados *N*-alquilados de 1- desoxinjirimicina

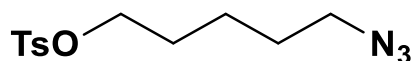
Obtención del 5-azidopentanol (8)



Se pesan 2g (12 mmol) de 5-bromopropanol los cuales se disuelven en 20 mL de DMSO, se deja en agitación a temperatura ambiente por 15 minutos posteriormente se añaden 3.9g (59.9 mmol) de azida de sodio, la mezcla de reacción de mantiene en agitación a temperatura ambiente por 15 horas. Una vez concluida la reacción se añaden 20 mL de agua destilada y se mantiene en agitación por 20 minutos. La fase orgánica se extrae con CH₂Cl₂ y se realizan

lavados con salmuera (3x30 mL) y agua destilada (3x30 mL); a continuación, se seca con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora a presión reducida posteriormente se purifica por cromatografía en columna con éter etílico obteniéndose un aceite incoloro con un rendimiento del 95% (1.47 g)

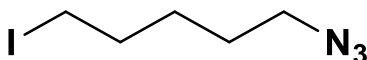
Obtención del 5-azidopentil tosilato (9)



Se disuelven 1.5 g (11.4 mmol) de **8** en 12 mL de CH₂Cl₂, posteriormente se agregan 2 mL (14.80 mmol) de Et₃N, la mezcla de reacción se coloca en agitación a temperatura ambiente. Transcurridos 15 minutos se añaden 2.8 g (14.8 mmol) de cloruro de *p*-toluensulfonilo. La mezcla de reacción se mantiene en agitación a temperatura ambiente durante 12 horas.

Una vez concluida la reacción se añaden 10 mL de agua destilada, se mantiene en agitación por 20 minutos. La fase orgánica se extrae con CH₂Cl₂ y se realizan lavados con salmuera (3x30 mL) y agua destilada (3x30 mL); a continuación, se seca con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora a presión reducida luego se purifica por cromatografía en columna con un par de sistemas 95:5 y 85:15 hexano/AcOEt, obteniéndose un aceite incoloro con un rendimiento del 70 % (2.25 g).

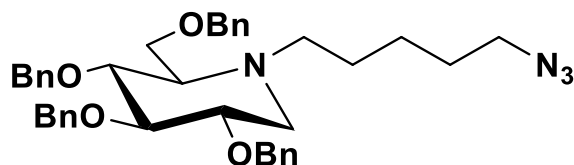
Obtención del 1-azido-5-iodopentano (10)



Se disuelven 2.3 g (7.9 mmol) de **9** en 15 mL de acetona, se deja en agitación a temperatura ambiente por 15 minutos posteriormente se añaden 4.8 g (31.8 mmol) de yoduro de sodio, la mezcla de reacción se mantiene en agitación y reflujo por 2 horas.

Transcurrido el tiempo de reacción se evapora el disolvente a presión reducida, se realizan lavados con salmuera (3x30 mL) y agua destilada (3x30 mL), la fase orgánica se extrae con CH₂Cl₂ a continuación se seca con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora a presión reducida obteniéndose un aceite amarillo con un rendimiento del 95 % (1.80 g).

Obtención de la *N*-(5-azidopentil)-2,3,4,6-tetra-*O*-bencil-1-desoxinojirimicina (11)



Se pesan 2g (3.8 mmol) del compuesto **6** y 1.5 g (11.43 mmol) de K_2CO_3 los cuales se disuelven en 15 mL de DMF, la mezcla de reacción se deja en agitación a temperatura ambiente por 20 minutos posteriormente se añaden 2g (8.4 mmol) del derivado **10**, el crudo de reacción se mantiene en agitación y calentamiento (120 °C) durante 5 horas. Una vez transcurrido el tiempo de reacción se agregan 10 mL de agua destilada y se deja en agitación por 20 minutos. La fase orgánica se extrae con AcOEt y se realizan lavados con salmuera (4x30 mL) y agua destilada (3x30 mL); a continuación, se seca con Na_2SO_4 anhidro, se filtra y se evapora a presión reducida, luego se purifica por cromatografía en columna con un sistema 95:5 hexano/AcOEt, se obtiene un aceite incoloro con un rendimiento del 65% (1.57 g).

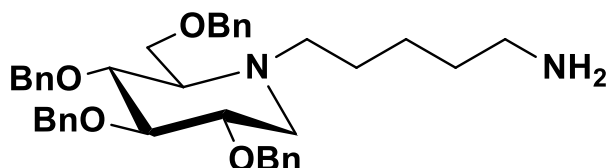
RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$)

δ : 7.27-7.13 (18H, m, Ph-H), 7.08-7.04 (2H, m, Ph-H), 4.88 (1H, d, $J_{gem} = 11.1$ Hz, O-CH₂-Ph), 4.80 (1H, d, $J_{gem} = 10.9$ Hz, O-CH₂-Ph), 4.73 (1H, d, $J_{gem} = 11.1$ Hz, O-CH₂-Ph) 4.63-4.52 (2H, m, O-CH₂-Ph) 4.43-4.29 (3H, m, O-CH₂-Ph) 3.61-3.58 (1H, m, H-6_a). 3.55-3.47 (2H, m, H-2, H-3), 3.46-3.36 (2H, m, 4H, H_e-1), 3.12 (2H, t, $J_{7,8} = 6.8$ Hz, H-7), 2.99 (1H, dd, $J_{gem} = 11.1$, $J_{6b,5} = 4.9$ Hz, H-6_b), 2.60 (1H, ddd, $J_{5,4} = 13.5$, $J_{5,6a} = 10.1$, $J_{5,6b} = 5.8$ Hz, H-5) 2.45 (1H, m, H_a-1), 2.15 (1H, m, H-11). 1.44 (2H, m, H-8), 1.31-1.02 (4H, m, H-9, H-10).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$)

δ : 138.0 (C_{Ph}), 137.5 (C_{Ph}), 136.7 (C_{Ph}), 127.4 (CH_{Ph}), 127.3 (CH_{Ph}), 127.3 (CH_{Ph}), 127.3 (CH_{Ph}), 126.8 (CH_{Ph}), 128.8 (CH_{Ph}), 126.6 (CH_{Ph}), 126.5 (CH_{Ph}), 126.4 (CH_{Ph}), 86.2 (C-3), 77.6 (C-4), 77.3 (C-2), 74.3 (-O-CH₂-Ph), 74.1 (-O-CH₂-Ph), 72.4 (-O-CH₂-Ph), 71.7 (-O-CH₂-Ph), 64.4 (C-6), 62.8 (C-5), 53.4 (C-7), 51.1 (C-11), 50.3 (C-1). 27.7 (C-10). 23.5 (C-8), 22.4 (C-9).

Obtención de la *N*-(5-aminopentil)-2,3,4,6-tetra-*O*-bencil-1-deoxinojirimicina (12)



Una mezcla de derivado **11** 500 mg (0.8 mmol) y de PPh₃ 266 mg (1 mmol) se disuelven en 6 mL de THF anhidro. La mezcla de reacción se coloca en agitación a temperatura ambiente en atmósfera de argón por 3 horas. Posteriormente se agregan 57.6 μ L (3.2 mmol) de agua destilada y se mantiene en agitación a temperatura ambiente durante 12 horas. Transcurrido el tiempo de reacción se evapora el disolvente a presión reducida, se realizan lavados con NaHCO₃ (3x30 mL) y agua destilada (3x30 mL), la fase orgánica se extrae con AcOEt a continuación se seca con Na₂SO₄ anhidro se filtra y se evapora a presión reducida, luego se purifica por cromatografía en columna con un sistema 19:1 CH₂Cl₂/MeOH (conteniendo 0.5% de Et₃N), se obtiene un sólido blanco con un rendimiento del 85% (407 mg).

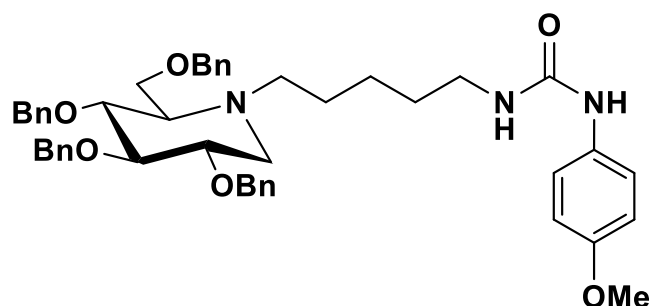
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃)

δ : 7.28-7.16 (18H, m, Ph-H), 7.09-7.06 (2H, m, Ph-H), 4.89 (1H, d, J_{gem} = 11.1 Hz, O-CH₂-Ph), 4.82 (1H, d, J_{gem} = 10.9 Hz, O-CH₂-Ph), 4.75 (1H, d, J_{gem} = 11.1 Hz, O-CH₂-Ph) 4.65-4.56 (2H, m, O-CH₂-Ph) 4.44-4.34 (3H, m, O-CH₂-Ph) 3.63-3.60 (1H, m, H-6_a). 3.58-3.52 (2H, m, H-2, H-3), 3.46-3.34 (2H, m, 4H, H_e-1), 3.02 (1H, dd, J_{gem} = 11.1, $J_{6b,5}$ = 4.8 Hz, H-6_b), 2.66-2.45 (6H, m, H-7, H-11-H-5, N-H) 2.25-2.09 (2H, m, H_a-1, NH), 1.41-1.04 (6H, m, H-8, H-9, H-10).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃)

δ : 138.0 (C_{Ph}), 137.5 (C_{Ph}), 136.7 (C_{Ph}), 127.4 (CH_{Ph}), 127.3 (CH_{Ph}), 127.3 (CH_{Ph}), 127.2 (CH_{Ph}), 126.8 (CH_{Ph}), 126.7 (CH_{Ph}), 126.6 (CH_{Ph}), 126.5 (CH_{Ph}), 126.4 (CH_{Ph}), 86.2 (C-3), 77.6 (C-4), 77.3 (C-2), 74.3 (-O-CH₂-Ph), 74.1 (-O-CH₂-Ph), 72.4 (-O-CH₂-Ph), 71.7 (-O-CH₂-Ph), 64.4 (C-6), 62.8 (C-5), 53.4 (C-7), 51.1 (C-11), 50.3 (C-1). 27.6 (C-10). 23.5 (C-8), 22.4 (C-9).

Obtención de la *N*-{5-[*N*-*p*-metoxifenilureido]pentil}-2,3,4,6-tetra-*O*-bencil-1-desoxinojirimicina (13)



Se disuelven 33 mg (0.3 mmol) de *p*-anisidina en una mezcla 1:1 de CH₂Cl₂ y una solución saturada de NaHCO₃ (8 mL), se coloca en agitación sobre un baño de hielo durante 15 minutos. Posteriormente se añaden 29 mg de trifosgeno (0.1 mmol) se deja en agitación a 0°C durante 10 minutos, posteriormente se añaden 135.5 mg (0.2 mmol) de **12**, la mezcla de reacción se mantiene en agitación a 0°C 20 minutos y después a temperatura ambiente durante 1 hora. Transcurrido el tiempo de reacción se extrae la fase orgánica con CH₂Cl₂ (3x30 mL) a continuación se seca con Na₂SO₄ anhidro se filtra y se evapora a presión reducida, luego se purifica por cromatografía en columna con un par de sistemas 85:15 y 6.4 hexano/AcOEt, obteniéndose un sólido blanco con un rendimiento del 69% (117 mg).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃)

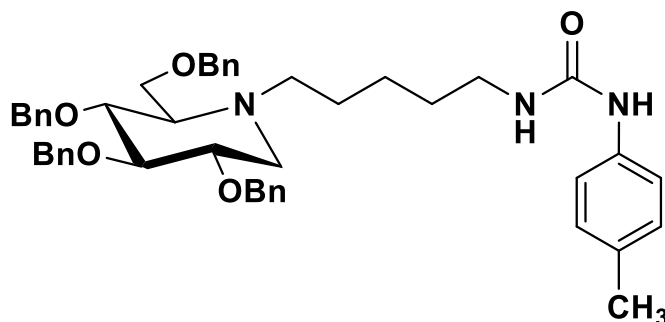
δ: 7.24-7.14 (18H, m, Ph-H), 7.11-7.03 (4H, m, Ph-H, H-2'), 6.73 (2H, m, H-3'), 6.66 (1H, s, N-H), 4.86 (1H, d, *J*_{gem}= 11.1 Hz, O-CH₂-Ph), 4.78 (1H, d, *J*_{gem}= 10.9 Hz, O-CH₂-Ph), 4.71 (1H, d, *J*_{gem}= 11.1 Hz, O-CH₂-Ph) 4.61-4.52 (2H, m, O-CH₂-Ph) 4.44-4.30 (3H, m, O-CH₂-Ph) 3.63 (3H, s, Ph-O-CH₃), 3.59-3.56 (1H, m, H-6_a), 3.55-3.46 (2H, m, H-2, H-3), 3.46-3.33 (2H, m, 4H, H_e-1), 3.08-2.95 (3H, m, H-11, H-6_b), 2.55 (1H, m, H-5) 2.43 (1H, m, H_a-1), 1.35-1.03 (6H, m, H-8, H-9, H-10).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃)

δ: 156.8 (C-4'), 156.5 (C=O urea), 138.8 (C_{Ph}), 138.5 (C_{Ph}), 137.7 (C_{Ph}), 131.5 (C-1'), 128.5 (CH_{Ph}), 128.4 (CH_{Ph}), 128.3 (CH_{Ph}), 128.3 (CH_{Ph}), 127.9 (CH_{Ph}), 127.8 (CH_{Ph}), 127.7 (CH_{Ph}), 127.6 (CH_{Ph}), 127.5 (CH_{Ph}), 123.9 (C-2'), 114.5 (C-3'), 87.1 (C-3), 78.5 (C-4), 78.4 (C-2), 75.3 (-O-CH₂-Ph), 75.1 (-O-CH₂-Ph), 73.4 (-O-CH₂-Ph), 72.7 (-O-CH₂-Ph), 65.4 (C-6), 63.7 (C-5), 55.5 (Ph-O-CH₃) 54.3 (C-7), 52.2 (C-1), 40.1 (C-1). 29.3 (C-10). 24.3 (C-8), 23.3 (C-9).

EMAR-ES (m/z): Calc. para C₁₉H₅₅N₃O₆ [M+H]⁺ 758.4124, observada: 758.5164

Obtención de la *N*-{5-[*N*-*p*-metilfenilureido]pentil}-2,3,4,6-tetra-*O*-bencil-1-desoxinojirimicina (14)



Se disuelven 29.6 mg (0.3 mmol) de *p*-toluidina en una mezcla 1:1 de CH₂Cl₂ y una solución saturada de NaHCO₃ (8 mL), se coloca en agitación sobre un baño de hielo durante 15 minutos. Posteriormente se añaden 29.7 mg de trifosgeno (0.1 mmol) se deja en agitación a 0°C durante 10 minutos, posteriormente se añaden 140.0 mg (0.2 mmol) de **12**, la mezcla de reacción se mantiene en agitación a 0°C 20 minutos y después a temperatura ambiente durante 1 hora. Transcurrido el tiempo de reacción se extrae la fase orgánica con CH₂Cl₂ (3x30 mL) a continuación se seca con Na₂SO₄ anhidro se filtra y se evapora a presión reducida, luego se purifica por cromatografía en columna con un par de sistemas 85:15 y 6.4 hexano/AcOEt, obteniéndose un sólido blanco con un rendimiento del 61% (104 mg).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃)

δ: 7.24-7.13 (18H, m, Ph-H), 7.09-6.97 (6H, m, Ph-H, H-2', H-3'), 6.70 (1H, s, N-H), 4.99 (1H, s, N-H) 4.86 (1H, d, *J*_{gem} = 11.1 Hz, O-CH₂-Ph), 4.78 (1H, d, *J*_{gem} = 10.9 Hz, O-CH₂-Ph), 4.71 (1H, d, *J*_{gem} = 11.1 Hz, O-CH₂-Ph) 4.61-4.52 (2H, m, O-CH₂-Ph) 4.43-4.31 (3H, m, O-CH₂-Ph), 3.59-3.56 (1H, m, H-6_a), 3.55-3.45 (2H, m, H-2, H-3), 3.46-3.34 (2H, m, 4H, H_e-1), 3.07-2.94 (3H, m, H-11, H-6_b), 2.56 (1H, m, H-5), 2.41 (1H, m, H_a-1), 2.19 (3H, s, Ph-CH₃), 1.36-1.04 (6H, m, H-8, H-9, H-10).

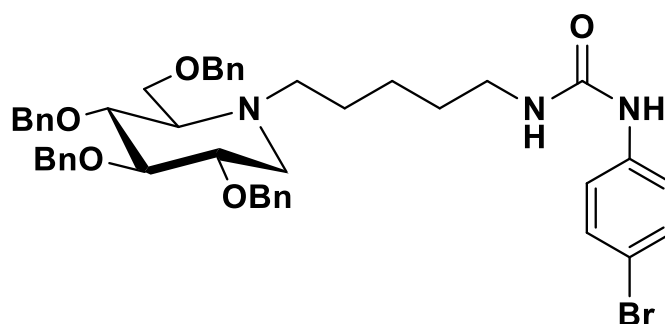
RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃)

δ: 156.3 (C=O urea), 139.0 (C-1'), 138.5 (C_{Ph}), 137.7 (C_{Ph}), 135.9 (C_{Ph}), 133.1 (C_{Ph}), 129.8 (C-4'), 128.5 (CH_{Ph}), 128.4 (CH_{Ph}), 128.3 (CH_{Ph}), 128.3 (CH_{Ph}), 127.9

(CH_{Ph}), 127.9 (CH_{Ph}), 127.8 (CH_{Ph}), 127.6 (CH_{Ph}), 127.5 (CH_{Ph}), 127.5 (CH_{Ph}), 121.3 (C-3'), 87.0 (C-3), 78.5 (C-4), 78.4 (C-2), 75.2 (-O-CH₂-Ph), 75.1 (-O-CH₂-Ph), 73.4 (-O-CH₂-Ph), 72.7 (-O-CH₂-Ph), 65.3 (C-6), 63.8 (C-5), 54.2 (C-7), 52.1 (C-1), 40.20 (C-1). 29.7 (C-10). 24.5 (C-8), 23.3 (C-9), 20.8 (Ph-CH₃).

EMAR-ES (m/z): Calc. para C₁₉H₅₅N₃O₆ [M+H]⁺ 742.4175, observada: 742.4214

Obtención de la *N*-{5-[*N*-*p*-bromofenilureido]pentil}-2,3,4,6-tetra-*O*-benzil-1-desoxijirimicina (**15**)



Se disuelven 47.3 mg (0.3 mmol) de *p*-bromoanilina en una mezcla 1:1 de CH₂Cl₂ y una solución saturada de NaHCO₃ (8 mL), se coloca en agitación sobre un baño de hielo durante 15 minutos. Posteriormente se añaden 30 mg de trifosgeno (0.1 mmol) se deja en agitación a 0°C durante 10 minutos, luego se añaden 140 mg (0.2 mmol) de **12**, la mezcla de reacción se mantiene en agitación a 0°C 20 minutos y después a temperatura ambiente durante 1 hora. Transcurrido el tiempo de reacción se extrae la fase orgánica con CH₂Cl₂ (3x30 mL) a continuación se seca con Na₂SO₄ anhidro se filtra y se evapora a presión reducida, luego se purifica por cromatografía en columna con un par de sistemas 85:15 y 6.4 Hexano/AcOEt, obteniéndose un sólido blanco con un rendimiento del 72% (134 mg).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃)

δ: 7.26-7.14 (20H, m, Ph-H), 7.12-7.06 (4H, m, H-2', H-3'), 5.23 (1H, s, N-H), 4.87 (1H, d, *J*_{gem} = 11.1 Hz, O-CH₂-Ph), 4.79 (1H, d, *J*_{gem} = 10.9 Hz, O-CH₂-Ph),

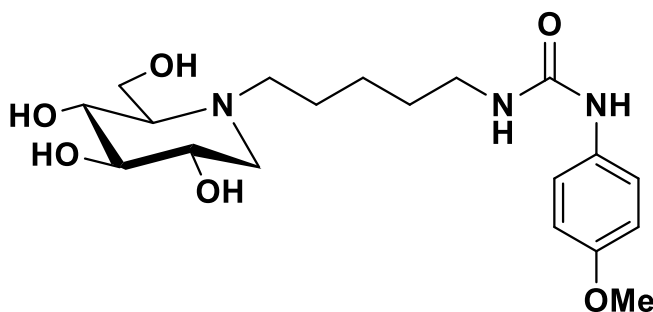
4.71 (1H, d, $J_{\text{gem}} = 11.1$ Hz, O-CH₂-Ph) 4.61-4.52 (2H, m, O-CH₂-Ph) 4.44-4.30 (3H, m, O-CH₂-Ph), 3.62-3.59 (1H, m, H-6_a), 3.56-3.48 (2H, m, H-2, H-3), 3.48-3.36 (2H, m, 4H, H_e-1), 3.07-2.95 (3H, m, H-11, H-6_b), 2.58 (1H, m, H-5), 2.42 (1H, m, H_a-1), 1.36-1.08 (6H, m, H-8, H-9, H-10).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃)

δ: 155.9 (C=O urea), 138.8 (C_{Ph}), 138.4 (C_{Ph}), 138.3 (C_{Ph}), 137.7 (C_{Ph}), 131.9 (C-3'), 128.4 (CH_{Ph}), 128.4 (CH_{Ph}), 128.4 (CH_{Ph}), 128.4 (CH_{Ph}), 128.0 (CH_{Ph}), 127.9 (CH_{Ph}), 127.9 (CH_{Ph}), 127.8 (CH_{Ph}), 127.7 (CH_{Ph}), 127.6 (CH_{Ph}), 127.5 (CH_{Ph}), 121.2 (C-2'), 115.3 (C-4'), 86.2 (C-3), 78.2 (C-4), 78.1 (C-2), 75.1 (-O-CH₂-Ph), 74.9 (-O-CH₂-Ph), 73.5 (-O-CH₂-Ph), 72.7 (-O-CH₂-Ph), 65.5 (C-6), 63.7 (C-5), 53.6 (C-7), 51.6 (C-1), 40.0 (C-11). 29.3 (C-10). 24.4 (C-8), 24.3 (C-9).

EMAR-ES (m/z): Calc. para C₁₉BrH₅₃N₃O₆ [M+H]⁺ 806.3124, observada: 806.3183

Obtención de la *N*-{5-[*N'*-*p*-metoxifenilureido]pentil}-1-desoxinojirimicina (16)



Se disuelven 105 mg (1.4 mmol) de **13** en 10 mL de MeOH, posteriormente se añaden 20% Pd(OH)₂/C (100 mg) la suspensión formada es acidificada con HCl 1M. La mezcla de reacción se coloca en agitación a temperatura ambiente en atmosfera de hidrogeno por 15 horas. Una vez transcurrido el tiempo de reacción, el crudo se filtra sobre Celite y se concentra al vacio obteniendo un aceite incoloro con un rendimiento del 98% (54 mg).

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD)

δ: 7.97 (1H, s, N-H), 7.15 (2H, m, H-2'), 6.75 (2H, m, H-3'), 4.06-3.82 (2H, m, H-6_a, H-3), 3.66 (3H, s, Ph-O-CH₃), 3.57-3.37 (2H, m, H-2, H-3), 3.36-3.24 (2H, m,

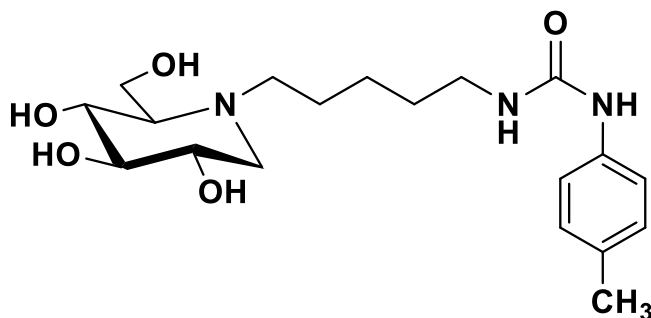
4-H, H_e-1), 3.24-3.11 (3H, m, H-11, H-6_b), 3.10-2.98 (2H, m, H-5, H_a-1), 2.95-2.74 (4H, m, H-7, H-11) 1.76-1.36 (6H, m, H-8, H-9, H-10).

RMN ¹³C (75 MHz, CD₃OD)

δ: 159.1 (C-4'), 157.3 (C=O urea), 133.4 (C-1'), 123.3 (C-2'), 115.3 (C-3'), 78.1 (C-3), 69.1 (C-4), 67.7 (C-5), 56.5 (Ph-O-CH₃), 55.3 (C-6), 54.6 (C-1), 40.1 (C-11), 32.3 (C-7), 30.7 (C-10). 25.1 (C-8), 23.9 (C-9).

EMAR-ES (m/z): Calc. para C₁₉H₃₂N₃O₆ [M+H]⁺ 398.2246, observada: 398.2286

Obtención de la *N*-{5-[*N*-*p*-metilfenilureido]pentil}-1-desoxinojirimicina (17)



Se disuelven 90 mg (1.4 mmol) de **14** en 10 mL de MeOH, posteriormente se añadier 20% Pd(OH)₂/C (70 mg) la suspensión formada es acidificada con HCl 1M. La mezcla de reacción se coloca en agitación a temperatura ambiente en atmosfera de hidrogeno por 15 horas. Una vez transcurrido el tiempo de reacción, el crudo se filtra sobre Celite y se concentra al vacio obteniendo un aceite amarillo con un rendimiento del 98% (45 mg).

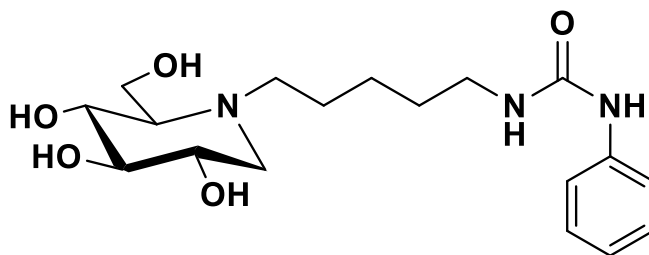
RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD)

δ: 7.96 (1H, s, N-H), 7.13 (2H, m, H-2'), 7.96 (2H, m, H-3'), 4.02-3.81 (2H, m, H-6_a, H-2), 3.66-3.53 (3H, m, H_e-1, H-3, H-4), 3.49-3.41 (2H, m, H-5, H_a-1), 2.17 (3H, s, Ph-CH₃) 1.76-1.36 (6H, m, H-8, H-9, H-10).

RMN ¹³C (75 MHz, CD₃OD)

δ: 157.4 (C=O urea), 136.4 (C-1'), 131.7 (C-4'), 129.0 (C-2'), 119.6 (C-3'), 76.6 (C-3), 67.4 (C-4), 66.4 (C-5), 53.9 (C-6), 53.3 (C-1), 38.9 (C-11), 32.2 (C-7), 29.48 (C-10). 23.3 (C-8), 22.3 (C-9), 19.3 (Ph-CH₃).

EMAR-ES (m/z): Calc. para C₁₉H₃₂ N₃O₅ [M+H]⁺ 382.2297, observada: 382.2336.

Obtención de la *N*-{5-[*N'*-fenilureido]pentil}-1-desoxinojirimicina (18)

Se disuelven 120 mg (1.4 mmol) de **15** en 10 mL de MeOH, posteriormente se añaden 20% Pd(OH)₂/C (100 mg) la suspensión formada es acidificada con HCl 1M. La mezcla de reacción se coloca en agitación a temperatura ambiente en atmosfera de hidrogeno por 15 horas. Una vez trascurrido el tiempo de reacción, el crudo se filtra sobre Celite y se concentra al vacío obteniéndose un aceite incoloro con un rendimiento del 98% (360 mg).

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD)

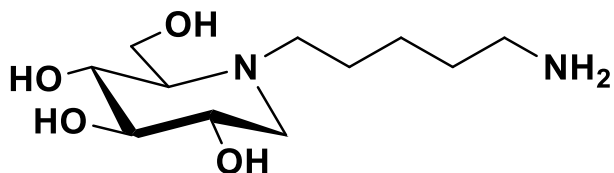
δ: 7.34 (2H, m, H-2'), 7.22 (2H, m, H-3'), 6.94 (1H, m, H-4'), 4.07 (1H, m, H-6_a) 3.94 (1H, m, H-2), 3.73-3.61 (2H, m, H-3, H-4), 3.54 (1H, m, H_e-1) (2H, m, H-5, H_a-1), 3.15-2.79 (4H, m, H-7, H-11) 1.78-1.38 (6H, m, H-8, H-9, H-10).

RMN ¹³C (75 MHz, CD₃OD)

δ: 157.4 (C=O urea), 139.6 (C-1'), 128.4 (C-2'), 122.1 (C-4'), 118.8 (C-3'), 76.6 (C-3), 67.4 (C-4), 66.5 (C-2), 66.1 (C-5), 53.7 (C-6), 53.1 (C-1), 38.9 (C-11), 32.2 (C-7), 29.2 (C-10). 23.5 (C-8), 22.5 (C-9).

EMAR-ES (m/z): Calc. para C₁₉H₃₀O₅N₃ [M+H]⁺ 368.2141, observada: 368.2180

Obtención de la *N*-(5-aminopentil)-1-desoxinojirimicina (19)



Se disuelven 900 mg (1.4 mmol) de **12** en 40 mL de MeOH, posteriormente se añaden 20% Pd(OH)₂/C (400 mg) la suspensión formada es acidificada con HCl 1M. La mezcla de reacción se coloca en agitación a temperatura ambiente en atmosfera de hidrogeno por 15 horas.

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD)

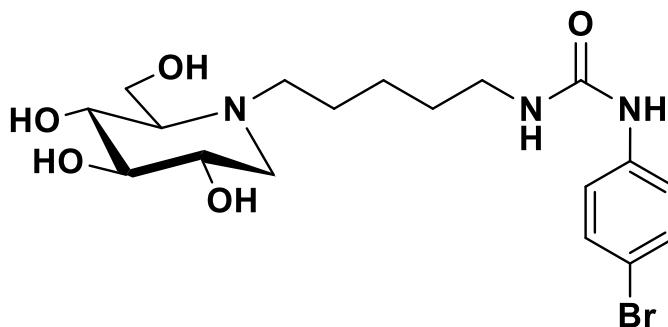
δ: 4.12 (1H, m, H-6_a) 4.05-3.75 (1H, m, H-2), 3.65-3.47 (3H, m, H-3, H-4, H_e-1), 3.27-3.09 (2H, m, H-5, H_a-1), 1.83-1.34 (6H, m, H-8, H-9, H-10).

RMN ¹³C (75 MHz, CD₃OD)

76.7 (C-3), 67.5 (C-4), 66.4 (C-2), 66.3 (C-5), 54.1 (C-6), 53.9 (C-1), 53.4 (C-7), 39.6 (C-11), 29.2 (C-10). 25.9 (C-8), 22.7 (C-9).

EMAR-ES (m/z): Calc. para C₁₁H₂₄N₂O₆ [M+H]⁺ 249.1770, observada: 249.1810

Obtención de la *N*-{5-[*N'*-*p*-bromofenilureido]pentil}-1-desoxinojirimicina (20)



Se disuelven 99.4 mg (0.6 mmol) de *p*-bromoanilina en DMF (6 mL), se coloca en agitación sobre un baño de hielo durante 15 minutos. Posteriormente se

añaden 63 mg de trifosgeno (0.2 mmol) se deja en agitación a 0°C durante 10 minutos, posteriormente se añaden 120 mg (0.5 mmol) del aminoazúcar desprotegido **19**, la mezcla de reacción se mantiene en agitación a 0°C 20 minutos y después a temperatura ambiente durante 1 hora, Transcurrido el tiempo de reacción se extrae la fase orgánica con AcOEt (3x30 mL) y se realizan lavados con salmuera (3x30mL) y agua destilada (3x30mL) a continuación se seca con Na₂SO₄ anhidro se filtra y se evapora a presión reducida, luego se purifica por cromatografía en columna con un sistema CH₂Cl₂/MeOH 100.1 obteniéndose un aceite incoloro con un rendimiento del 42% (90.6 mg).

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD)

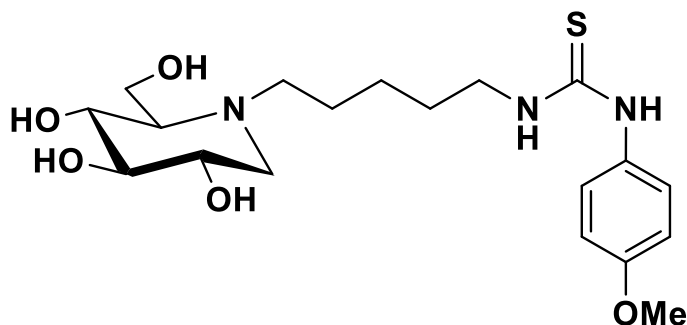
δ: 7.53-7.44 (4H, m, H-2',H-3'), 3.90-3.79 (2H, m, H-6_a, H-3), 3.72-3.35 (3H, m, H-4, H-2, H-1), 3.01 (1H, m, H-6_b), 2.80 (2H, m, H-11), 2.55 (1H, m, H_a-1), 2.12 (2H, m, H-7,) 1.67-1.29 (6H, m, H-8, H-9, H-10).

RMN ¹³C (75 MHz, CD₃OD)

δ: 154.9 (C=O urea), 137.9 (C-1'), 133.8 (C-3'), 122.7 (C-2'), 118.6 (C-4'), 77.7 (C-3), 67.7 (C-4), 67.5 (C-5), 55.5 (C-6), 54.80 (C-1), 38.2 (C-11), 32.3 (C-7), 27.80 (C-10). 24.5 (C-8), 23.7 (C-9).

EMAR-ES (m/z): Calc. para C₁₉BrH₄₉N₃O₆ [M+H]⁺ 446.1246, observada: 446.1281

Obtención de la *N*-{5-[*N*-*p*-metoxifeniltioureido]pentil}-1-desoxinojirimicina (**21**)



Se disuelven 95.4 mg (0.40 mmol) de **17** en 5 mL de MeOH, se añaden 0.1 mL (0.7 mmol) de Et₃N, la mezcla de reacción se coloca en agitación a temperatura

ambiente durante 15 minutos. Posteriormente se agregan 110 mg (0.67 mmol) de 4-metoxifenilisotiocianato y se deja en agitación a temperatura ambiente durante 4 horas. Transcurrido el tiempo de reacción se evapora el disolvente a presión reducida, luego se purifica por cromatografía en columna con un sistema 8:2 y 1:1 CH₂Cl₂/MeOH (conteniendo 0.5% de Et₃N), obteniéndose un sólido color crema con un rendimiento del 67% (91 mg).

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD)

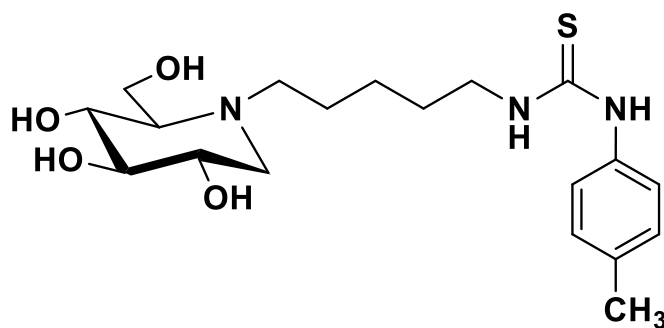
δ: 7.20 (2H, m, H-2'), 6.90 (2H, m, H-3'), 3.88 (1H, m, H-6_a), 3.80 (3H, s, O-CH₃), 3.63-3.37 (3H, m, H-2, H-4, H-3), 3.19 (1H, m, H-6_b), 3.06 (1H, m, H_a-1) 2.23 (2H, m, H-7) 1.75-1.35 (6H, m, H-8, H-9, H-10).

RMN ¹³C (75 MHz, CD₃OD)

δ: 182.6 (C=S tiourea), 158.6 (C-4'), 130.0 (C-1'), 128.2 (C-2'), 115.7 (C-3'), 78.5 (C-3), 69.4 (C-4), 68.34 (C-2), 67.6 (C-5), 56.3 (O-CH₃), 55.3 (C-6), 54.4 (C-1), 45.5. (C-11), 29.4 (C-10). 25.0 (C-8), 24.1 (C-9).

EMAR-ES (m/z): Calc. para C₁₉H₃₂N₃O₅S [M+H]⁺ 414.2018, observada: 414.2053

Obtención de la *N*-{5-[*N'*-*p*-metilfeniltioureido]pentil}-1-desoxinojirimicina (22)



Se disuelven 100 mg (0.4 mmol) de **17** en 5 mL de MeOH, se añaden 0.1 mL (0.7 mmol) de Et₃N, la mezcla de reacción se coloca en agitación a temperatura ambiente durante 15 minutos. Posteriormente se agregan 110 mg (0.7 mmol) de 4-metoxifenilisotiocianato y se deja en agitación a temperatura ambiente durante 4 horas.

Transcurrido el tiempo de reacción se evapora el disolvente a presión reducida, luego se purifica por cromatografía en columna con un sistema 8:2 y 1:1 CH₂Cl₂/MeOH (conteniendo 0.5% de Et₃N), obteniéndose un sólido color crema con un rendimiento del 81% (86 mg).

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD)

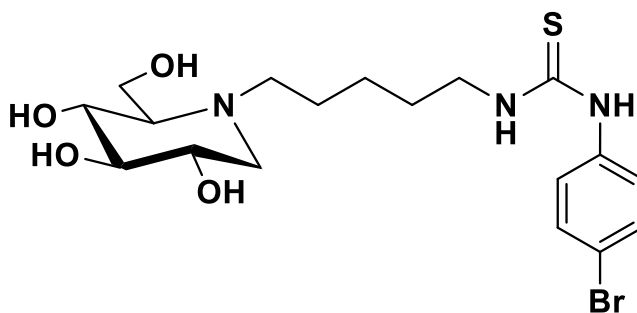
δ: 7.30 (2H, m, H-2'), 7.16 (2H, m, H-3'), 3.93 (1H, m, H-6_a), 3.83-3.57 (3H, m, H-2, H-4, H-3), 3.25-3.15 (2H, m, H-6_b, H_a-1), 2.79 (2H, m, H-7), 2.33 (3H, s, Ph-CH₃), 1.77-1.37 (6H, m, H-8, H-9, H-10).

RMN ¹³C (75 MHz, CD₃OD)

δ: 181.9 (C=S tiourea), 134.7 (C-1'), 132.4 (C-4'), 129.5 (C-2'), 121.2 (C-3'), 80.4 (C-3), 71.8 (C-4), 70.5 (C-2), 67.1 (C-5), 57.2 (C-6), 55.6 (C-1), 53.4 (C-7), 43.70 (C-11), 29.7 (C-10). 27.8 (C-8), 25.5 (C-9), 24.7 (Ph-CH₃).

EMAR-ES (m/z): Calc. Para C₁₉H₃₂N₃O₄S [M+H]⁺ 398.2069, observada: 398.2110

Obtención de la N-{5-[N'-p-bromofeniltioureido]pentil}-1-desoxinojirimicina (23)



En un matraz de bola se disuelven 100 mg (0.40 mmol) de **17** en 5 mL de MeOH y se añaden 0.11 mL (0.80 mmol) de Et₃N, la mezcla de reacción se coloca en agitación a temperatura ambiente durante 15 minutos. Posteriormente se agregan 139 mg (0.6 mmol) de 4-bromofenil isotiocianato y se deja en agitación a temperatura ambiente durante 4 horas.

Transcurrido el tiempo de reacción se evapora el disolvente a presión reducida, luego se purifica por cromatografía en columna con un sistema 85:15 y 1:1 CH₂Cl₂/MeOH (conteniendo 0.5% de Et₃N), obteniéndose un sólido color crema con un rendimiento del 70% (130 mg).

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD)

δ: 7.35 (2H, m, H-2'), 7.23 (2H, m, H-3'), 3.98 (1H, m, H-6_a), 3.83 (1H, dd, $J_{3,2}=12.3$, $J_{3,4}=11.9$ Hz, H-3), 3.57-3.43 (3H, m, H-2, H-4, H_e-1), 3.32-3.24 (5H, m, H-6_b, H_a-1, H-7,), 2.78 (2H, m, H-7) 1.69-1.25 (4H, m, H-8, H-9), 1.23 (2H, m, H-10).

RMN ¹³C (75 MHz, CD₃OD)

δ: 181.1 (C=S tiourea), 138.0 (C-1'), 131.6 (C-3'), 125.6 (C-2'), 117.7 (C-4'), 77.1 (C-3), 67.8 (C-4), 66.7 (C-2), 66.0 (C-5), 53.8 (C-6), 52.6 (C-1), 46.5 (C-11), 27.9 (C-10). 23.2 (C-8), 22.60 (C-9).

EMAR-ES (m/z): Calc. para C₁₉BrH₂₉N₃O₆ [M+H]⁺ 462.1017, observada: 462.1057

2.7 CONCLUSIONES

- Se obtuvo mediante la modificación de la metodología ya reportada la desoxinojiromicina bencilada en 4 etapas con un rendimiento del 60%.
- Se prepararon como intermedios clave amino-derivados de 1-desoxinojirimicina, tanto protegida como desprotegida, con un puente hidrocarbonado de 5 átomos de carbono.
- El acoplamiento entre los correspondientes isocianatos y el derivado **12** permitió obtener las ureas benciladas deseadas con buenos rendimientos.
- La eliminación de los grupos bencilo de los derivados 13 y 14 se logró sin ningún problema con rendimientos cuantitativos, en el derivado **15** la desprotección de los grupos hidroxilos condujo a una deshalogenación del grupo fenilo generando el derivado **18**.
- Se obtuvo la caracterización completa de los mismos utilizando diferentes técnicas espectroscópicas.
- Algunos de los productos obtenidos se sometieron a pruebas biológicas de inhibición enzimática frente a β -glucosidasa, los derivados sintetizados presentaron mejores valores de actividad inhibitoria en comparación con la 1-Desoxinojirimicina.

