



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Ciencias Químicas

Posgrado en Ciencias Químicas

**Síntesis de nuevos alcaloides esteroideos y
de β -aminoalcoholes con potencial actividad biológica**

**Tesis para obtener el título de
Maestra en Ciencias Químicas en el área de química orgánica**

Presenta

L.F. María Alejandra Cortés Percino

Directores

Dra. Sara Montiel Smith

Dr. José Luis Vega Báez

Abril 2017

El presente trabajo se realizó en dos partes, la primera se llevó a cabo en el laboratorio de Síntesis y Modificación de Productos Naturales de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla bajo la dirección de la Dra. Sara Montiel Smith y el Dr. José Luis Vega Báez. La segunda parte se realizó durante una estancia en el Instituto de Bio-Orgánica “Antonio González” (IUBO) de la Universidad de La Laguna, Tenerife, España, bajo la dirección del Dr. José Manuel Padrón Carrillo.

Los resultados obtenidos en este trabajo de tesis se presentaron en los siguientes congresos:

- XII Reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica. Silao, Gto., marzo 2016. Póster: Obtención del mesilato de (20*S*,25*R*)-16 β -acetoxi-3,6,22-trioxocolestan-4-en-26-ilo: intermediario en la síntesis de sapogeninas nitrogenadas.
- XXI Simposio Interno del Posgrado en Ciencias Químicas BUAP. Puebla, Pue., octubre 2016. Ponencia: Diseño y síntesis de *anti*- β -aminoalcoholes como inhibidores selectivos de CK1 ϵ .

Agradecimientos

CONACYT (664405) por la beca otorgada.



Programa de apoyos complementarios a la movilidad internacional
(Nivel posgrado) Dirección General de Desarrollo Internacional.



La Beca Mixta 2016 para realizar una estancia en la:



Abreviaturas.....	1
Capítulo I.....	3
1. Resumen	3
2. Introducción.....	5
3. Antecedentes	7
3.1 Alcaloides esteroidales	7
3.1.2 Aminas esteroidales de la familia Solanaceae.	7
3.1.3 Glicósidos esteroidales	8
3.1.4 Introducción a la síntesis orgánica.	11
3.1.5 Síntesis lineal y síntesis convergente.....	11
3.1.6 Grupos protectores	11
3.1.7 Importancia biológica del sistema Δ^4-3,6-dicetónicos en compuestos esteroidales.	12
3.2 Obtención de sistemas Δ^4-3,6-dicetónicos empleando diferentes condiciones de reacción.....	13
3.3 Metodologías empleadas para generar solasodina.....	15
3.4 Obtención de compuestos con un sistema 6-hidroximino- Δ^4-3-cetónico.	17
4. Objetivos.....	18
5. Discusión de resultados	19
5.1 Química.....	19
5.1.1 Cloroacetato de diosgenina.	21
5.1.2 Acetato de (20<i>S</i>,25<i>R</i>)-3β-cloroacetoxi-26-hidroxi-22-oxocolest-5-en-16-ilo (3). ...	23
Caracterización de 3.....	24
5.1.3 Diacetato de (20<i>S</i>,25<i>R</i>)-3β-cloroacetoxi-22-oxocolest-5-en-16β,26-diilo (4).....	26
5.1.4 Diacetato de (20<i>S</i>,25<i>R</i>)-3β-hidroxi-22-oxocolest-5-eno-16β,26-diilo (5).	29
5.1.5 Diacetato de (25<i>R</i>)-3,6,22-trioxocolest-4-eno-16β,26-diilo (6).....	31
5.1.6 Acetato de (20<i>S</i>,25<i>R</i>)-26-hidroxi-3,6,22-trioxocolest-4-en-16β-ilo (7).....	36

5.1.7 Metansulfonato de (20 <i>S</i> ,25 <i>R</i>)-16 β -acetoxi-3,6,22 trioxocolest-4-en-26-ilo (8).	39
5.1.8 Acetato de (22 <i>S</i> ,25 <i>R</i>)-3,6, 22-trioxo-26-azidocolest-4-en-16 β -ilo (9).	42
Formación de la cadena aminoespirocetalica (10)	47
5.2 Actividad biológica	48
6.2.1 Resultados de la actividad biológica.	48
6. Conclusiones	50
7. Parte experimental.	51
Purificación de diosgenina (1).	52
Cloroacetato de diosgenina (2).	52
16-acetato 3-cloroacetato de (20 <i>S</i> ,25 <i>R</i>)-26-hidroxi-22-oxocolest-5-eno-3 β ,16-diilo (3).	53
16,26-diacetato 3-cloroacetato de (20 <i>S</i> ,25 <i>R</i>)-22-oxocolest-5-eno-3 β ,16 β ,26-triilo (4).	54
Diacetato de (20 <i>S</i> ,25 <i>R</i>)-3 β -hidroxi-22-oxocolest-5-eno-16 β ,26-diilo (5).	55
Diacetato de (25 <i>R</i>)-3,6,22-trioxocolest-4-eno-16 β ,26-diilo (6).	56
Acetato de (20 <i>S</i> ,25 <i>R</i>)-26-hidroxi-3,6,22-trioxocolest-4-en-16 β -ilo (7).	58
Metanosulfonato de (20 <i>S</i> ,25 <i>R</i>)-16 β -acetoxi-3,6,22 trioxocolest-4-en-26-ilo (8).	58
Acetato de (22 <i>S</i> ,25 <i>R</i>)-3,6, 22-trioxo-26-azidocolest-4-en-3-ilo (9).	59
8. Referencias	61
Capítulo II	63
1. Resumen	61
2. Introducción	63
3. Antecedentes	66
4. Objetivos	72
5. Discusión de resultados	73
5.1 <i>Docking</i> molecular	73
5.1.1 Cálculos computacionales	73
5.1.2 Diseño.	76
5.2 Química	77
5.2.1 Obtención de <i>N,N</i> -dibencil-L-fenilalaninato de bencilo (2 y <i>ent</i> -2).	77
5.2.2 Obtención de 2- <i>N,N</i> -(dibencilamino)-3-fenilpropan-1-ol (3 y <i>ent</i> -3).	79
5.2.3 Obtención de los compuestos acoplados (4a-d y <i>ent</i>-4a-d).	82
(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i>)-2- <i>N,N</i> -(dibencilamino)-1-fenildodec-4-in-3-ol (4a).	83
5.2.4 Obtención de <i>anti</i>-β-aminoalcoholes (5a-d y <i>ent</i>-5a-d).	89
(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i>)-2-amino-1-fenildodecan-3-ol (5a).	89

5.3 Pruebas biológicas.	94
5.3.1 Actividad antiproliferativa.	94
6. Conclusiones	97
7. Parte experimental.....	98
<i>Docking molecular</i>	98
Procedimiento general para la obtención de aminoácido perbencilado (2 y <i>ent</i>-2).	99
Procedimiento general para la obtención <i>N,N</i>-2-(dibencilamino)-3-fenilpropan-1-ol....	100
Procedimiento general para la obtención de 4a-d y <i>ent</i>-4a-d	101
Procedimiento general para obtención de <i>anti</i>-β-aminoalcohol.	106
8. Referencias	110

Abreviaturas

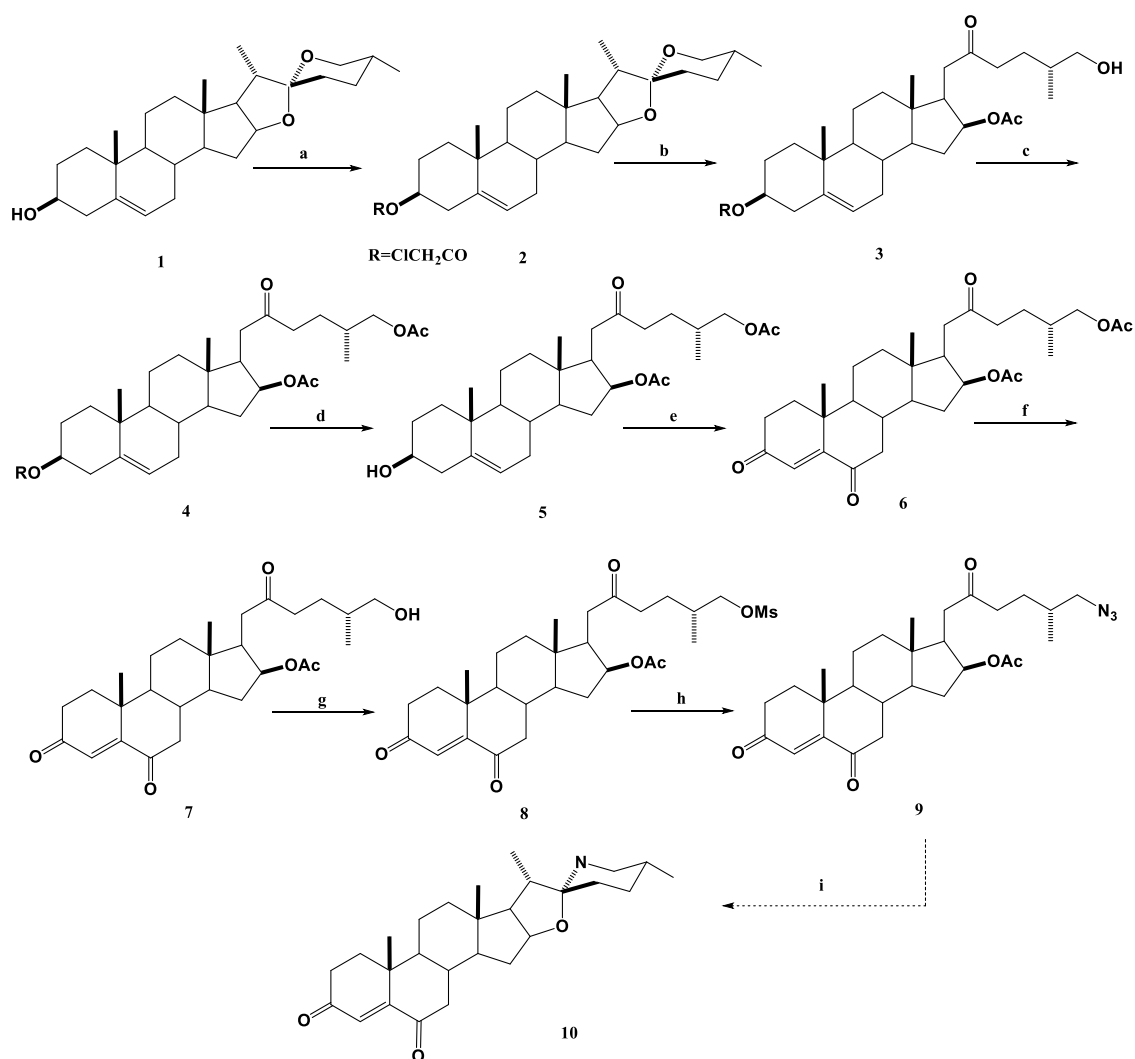
LPA	Ácido lisofosfatídico
<i>p</i> -TsOH	Ácido <i>p</i> -toluenosulfónico
BnBr	Bromuro de bencilo
EtMgBr	Bromuro de etil magnesio
BF ₃ ·OEt ₂	Trifluoruro de boro eterato
CK1ε	Caseína quinasa 1 épsilon
m/z	Carga/masa
CICOCOCI	Cloruro de oxalilo
SOCl ₂	Cloruro de tionilo
<i>p</i> -TsCl	Cloruro de <i>p</i> -toluensulfonilo
(CH ₃) ₃ SiCl/TMSCl	Cloruro de trimetilsilano
COSY	Correlation spectroscopy
IC ₅₀	Concentración máxima inhibitoria
IG ₅₀	Concentración del compuesto necesaria para inhibir el 50% del crecimiento celular
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
CCF	Cromatografía en capa fina
δ	Desplazamiento químico
DMAP	4-dimetilaminopiridina
DMSO	Dimetilsulfóxido
DEPT	Distortionless enhancement by polarization transfer
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
Δ	Doble enlace
HMBC	Heteronuclear multiple bond correlation
HSQC	Heteronuclear single quantum correlation

Hz	Hertz
DIBAL-H	Hidruro de isobutilaluminio
Pd(OH) ₂ /C	Hidroxido de paladio sobre carbono
IR	Infrarrojo
μM	Micromolar
ppm	Partes por millón
Py	Piridina
THF	Tetrahidrofurano
KSCN	Tiocianato de potasio
TEA	Trietilamina
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
[α] _D ²⁵	Rotación específica

Capítulo I

1. Resumen

En la primera parte se realizaron con éxito, ocho de diez etapas para la obtención de (22*R*, 25*R*)-espirosol-4-en-3,6-diona (**10**). La síntesis se inicia con una reacción de protección de la posición tres de la diosgenina con cloruro de cloroacetilo en CH₂Cl₂, catalizada con DMAP para obtener el compuesto **2** (esquema 1).



a. ClCH₂COCl/CH₂Cl₂, DMAP; b. Ac₂O, BF₃•OEt₂, -3 °C; c. Ac₂O/Py; d. Tiourea/EtOH/Py, 65 °C; e. Jones/CH₃COCH₃/CH₂Cl₂, -5 °C; f. KOH/CH₃OH (5%), 5 °C; g. CH₃SO₂Cl/Et₃N/CH₂Cl₂, -10 °C; h. NaN₃, CH₃CN, 60 °C, i. ref. 35.

Esquema 1. Esquema de trabajo para obtención de nuevos alcaloides espirosolanos.

Posteriormente por medio de una reacción de acetólisis catalizada con $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ se llevó a cabo la apertura de los anillos E y F del núcleo esteroideal generando el compuesto **3**, enseguida se protege el grupo hidroxilo de la posición 26 con anhídrido acético/Py (**4**), y se desprotege selectivamente el hidroxilo en C-3 con Tiourea/EtOH/Py obteniendo el compuesto **5**. A continuación, el sistema homoalílico (Δ^5 -3 β -OH) fue sometido a una reacción de oxidación con el reactivo de Jones (CrO_3 , H_2O , H_2SO_4) obteniendo de esta manera el compuesto **6**.

En seguida, **6** se sometió a una hidrolisis básica con KOH/MeOH al 5% para desproteger el grupo hidroxilo de la posición 26 (**7**). A continuación se transformó el grupo hidroxilo en un buen grupo saliente con $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{Cl}$ / Et_3N en CH_2Cl_2 formando el compuesto **8**, posteriormente se llevó a cabo una sustitución nucleofílica del grupo mesilato por N_3Na para obtener **9**. La síntesis formal de **10** se completa mediante la metodología desarrollada previamente [35].

2. Introducción

El cáncer representa uno de los más graves problemas de salud en todo el mundo, y el desarrollo de nuevos fármacos así como tratamientos más eficaces contra este padecimiento son estrategias de suma importancia en la actualidad. La Organización Mundial de la Salud (OMS) señala que en 2008, fallecieron 7.6 millones de personas, aproximadamente 13% del total de fallecimientos, y estima que para 2030, aumentará a 13.1 millones (OMS, 2013) [1]. En México de acuerdo a los registros del Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (INEGI) durante 2012, el cáncer de mama fue la segunda causa de muerte entre las mujeres con cáncer mayores de 20 años (15.38 de cada 100 mil mujeres de esa edad), [1] y según la Unión Internacional Contra el Cáncer (UICC), en México el cáncer es la tercera causa de muerte y se estima que cada año se detectan 128 mil nuevos casos (Secretaría de Salud [SSA], Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud [SPPS], 2013) [1].

La cirugía, las radiaciones y la quimioterapia son los tratamientos más empleados para tratar a pacientes con cáncer. No obstante la eficacia de estos procedimientos, con frecuencia se presentan fuertes efectos secundarios y, además no tienen la capacidad de curar a pacientes con el mal avanzado, además su acción con frecuencia es poco selectiva.

Los glicoalcaloides esteroidales presentes en especies del género *Solanum* se han empleado en la medicina china para tratar diferentes tipos de cáncer desde hace siglos [2].

La actividad biológica de los glicoalcaloides del género *Solanum* deriva principalmente de dos propiedades, (a) de la habilidad que presentan para acomplejarse con los 3 β -hidroxiesteroides y romper la integridad funcional de la membrana, y (b) la inhibición de la acetilcolinesterasa (enzima importante en la transmisión de impulsos nerviosos) y butirilcolinesterasa (enzima que presenta cierta función en contra de toxinas específicas) [2].

En general, con respecto a la relación estructura-actividad de las saponinas esteroidales y sus análogos nitrogenados, en la literatura está ampliamente documentado [3] que las

propiedades biológicas de estos compuestos dependen de las modificaciones estructurales realizadas tanto en los grupos funcionales del carbohidrato, como en las modificaciones realizadas en las funcionalidades de la aglicona, y en especial, la actividad citotóxica es muy sensible a la orientación de la unión glicosídica [4].

No obstante, consideramos que es necesario desarrollar nuevas rutas de síntesis que permitan la obtención de nuevas agliconas de tipo espirosolano de la serie (25*R*) con modificaciones sustanciales en el estado de oxidación de las funciones de los anillos A y B del núcleo esteroideal. La obtención y caracterización de nuevas sapogeninas nitrogenadas será una contribución importante a la química de esta clase de metabolitos secundarios, y será una fuente importante de nuevos compuestos con potencial anticancerígeno por los antecedentes que se tienen de sus actividades biológicas.

3. Antecedentes

3.1 Alcaloides esteroidales

Existen esteroides que contienen uno o más anillos heterocíclicos fusionados o sustituidos en el anillo D, estos esteroides se pueden agrupar en las siguientes familias: cardanólida, bufanólida, espirostando, furostando y alcaloides esteroidales [5].

Los espirosolanos forman un grupo de compuestos aislados a partir del género *Solanum*, se caracterizan por presentar un esqueleto de tipo colestano con 27 átomos de carbono, con una cadena espiroaminocetálica, estos se pueden dividir en dos grupos estereoisoméricos, (25*R*) y (25*S*)-espirosolanos, el grupo metilo de la posición 26 siempre ecuatorial, en conjunto forman un grupo de más de 40 compuestos, de estos la más común es la solasodina, detectada en 207 de 367 especies del género *Solanum* que dieron positivo para la prueba de alcaloides esteroidales [6].

Estos alcaloides pertenecen a una importante de metabolitos secundarios distribuidos en los organismos vivos, a diferencia de otros alcaloides, las estructuras esteroidales no se derivan de aminoácidos, las bases esteroidales son derivados de esteroides triterpenoides, por lo tanto se denomina como aminas esteroidales., las cuales se puede obtener a partir de diversas familias vegetales: a) Buxaceae, b) Liliaceae y c) Solanaceae [7].

3.1.2 Aminas esteroidales de la familia Solanaceae.

Diversas plantas de la familia de las solanáceas, especialmente las del género *Solanum*, son conocidas como fuentes de sustancias estructuralmente muy relacionadas con las saponinas esteroidales y son los llamados alcaloides esteroidales.

Las aminas esteroidales poseen un esqueleto de colestano con 27 átomos de carbono están presentes en las familias Solanaceae y Liliaceae y se pueden dividir en cinco tipos de estructuras [7].

- a) Solanidina (i)
- b) Espirosolano (ii)
- c) Solacongestidina (iii)

d) Solanocapsina (iv)

e) Jurbidina (v)

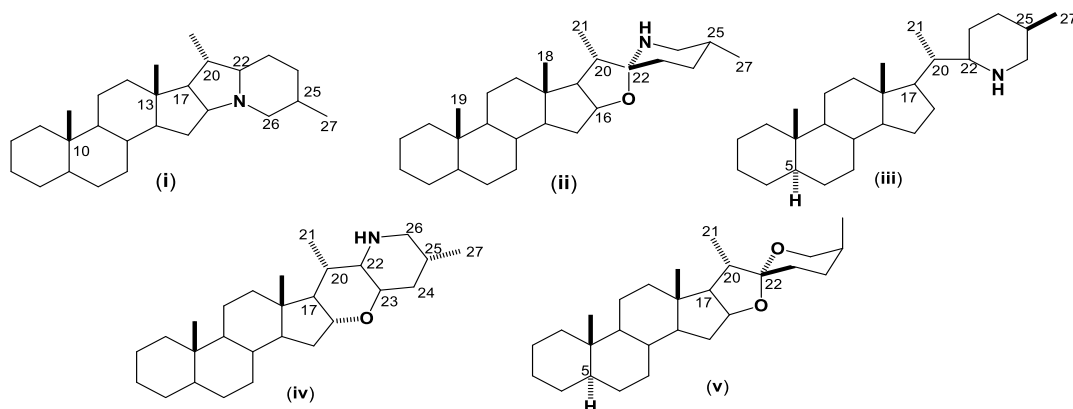


Figura 1. Diferentes estructuras colestánicas de esteroidales (i-v).

De la familia Solanaceae se han aislado un gran número de metabolitos secundarios, destacando los alcaloides tropánicos, fitoesteroides, terpenoides y glicósidos de flavonoides, estos metabolitos presentan una amplia gama de actividades biológicas.

El empleo de las plantas medicinales con fines curativos es una práctica que se ha utilizado desde tiempo inmemorial. Durante mucho tiempo los remedios naturales, y sobre todo las plantas medicinales, fueron el principal e incluso el único recurso del que disponían los "médicos" en épocas ancestrales. Esto hizo que se profundizara en el conocimiento de las especies vegetales con propiedades medicinales y ampliar así la experiencia en el empleo de los productos que de ellas se extraen.

Los alcaloides esteroidales y sus glicósidos de la especie de *Solanum*, se sabe que poseen una variedad de actividades biológicas incluyendo antitumoral, antifungico, teratogénico, antiviral.

3.1.3 Glicósidos esteroidales

Son moléculas complejas formadas por azúcares unidos a agliconas, se caracterizan por formar espuma cuando se disuelven en agua aún en bajas concentraciones [8].

La mayoría de los glicocalcoides de la especie de *Solanum* pertenecen al solanidano y espirosolano. Al menos de 90 esteroides estructuralmente únicos, de los cuales se han identificado alcaloides esteroidales en más de 350 especies de *Solanum* [9].

Las saponinas nitrogenadas desde el punto de vista fitoquímico, ecológico y comercial son un grupo importante de metabolitos secundarios aislados principalmente de plantas del género *Solanum* (familia Solanaceae).

Estudios realizados en los últimos 10 años han demostrado que los beneficios de los glicoalcaloides depende de la dosis y la forma de uso, ya que han sido utilizados como anticancerígenos, antiinflamatorios, anticonceptivos antipiréticos, disminuyen niveles de colesterol, antifungico y bacteriano.

Los glicoalcaloides han demostrado actividad antiproliferativa por medio de apoptosis y efectos quimiopreventivos contra diferentes carcinógenos conocidos.

Las especies del género *Solanum* son un recurso natural rico en alcaloides esteroidales, flavonoides y sus glicosidos, de los cuales, se ha sabido que poseen variada actividad biológica [10] lo que a permitido a diversos grupos de investigación nuevas alternativas de síntesis para la obtención de estos compuestos.

La solasodina importante alcaloide esteroidal, se extrae de numerosos géneros *Solanum* (Solanaceae) tiene una gran importancia dado que se ha empleado industrialmente como materia para obtener diversas estructuras esteroidales, la cual se encuentra presente en diferentes especies del genero *Solanum*.

Liu y colaboradores encontraron que la solasodina (**11**) presenta una potente actividad citotóxica y el clorhidrato de solasodina se encuentra en estudios preclínicos como agente antitumoral. Las plantas solanáceas, por ejemplo, *Solanum nigrum L.* y *Solanum Dulcamara L.*, son ampliamente utilizados como fármacos antitumorales tradicionales en China [11, 12].

Por su parte, la 3-acetilsolasodina (**12**) extraída de *Solanum umbrelliferum* es un producto natural con una significativa capacidad para dañar ADN asociado a la cadena espiroaminocetalica de su estructura [13].

La solamargina (**13**), importante glicoalcaloide del genero *Solanum* [14], puede inhibir el crecimiento de líneas celulares de cáncer de colon, próstata, mama y hepatoma humano, entre otros [15].

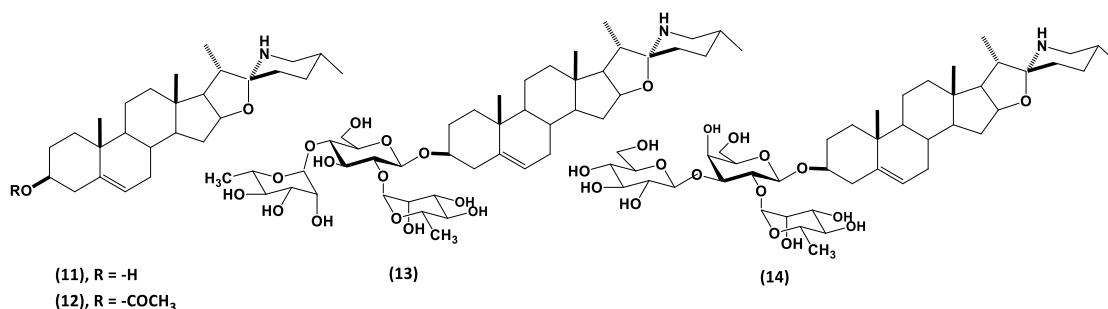


Figura 2. Estructuras de solasodina, solamargina y solasonina

Por otro lado, la SBP002 (Coramsine), una preparación que contiene solamargina (13) y solasonina (14) (glicosido de la solasodina), se encuentra en ensayos clínicos fase II para el tratamiento de cáncer de piel [8, 16,] (figura 2).

Otro tipo de compuesto con una importante actividad citotóxica son las saponinas furostánicas como la metil protodioscina (15) semejante a la dioscina (16), la cual han demostrado que presenta una potente acción anticancerígena al inducir la apoptosis en células de leucemia humana, pero carece de actividad hemolítica [17].

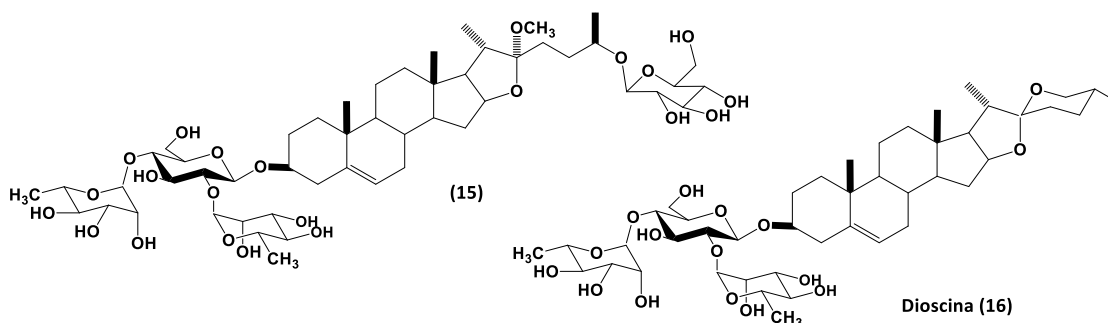


Figura 3. Estructura de metil protodioscina y dioscina.

En la literatura está documentado que la actividad citotóxica de un glicósido depende de las modificaciones de los grupos funcionales tanto del carbohidrato, así como de las modificaciones de los grupos funcionales de la parte esteroidal [18].

3.1.4 Introducción a la síntesis orgánica.

Se entiende como síntesis total o síntesis química de un compuesto a partir de compuestos relativamente sencillos, la síntesis parcial o semisíntesis hace referencia a la síntesis de un compuesto a partir de un precursor elaborado, que se obtiene a partir de fuentes naturales, procesos de fermentación.

3.1.5 Síntesis lineal y síntesis convergente.

Para que una síntesis resulte lo más eficaz posible, deben de realizarse el menor número de etapas y reacciones de elevados rendimientos.

Una síntesis lineal es aquella en la que la molécula objetivo se sintetiza paso a paso a partir de un único producto de partida hasta llegar al producto final, en el caso de la síntesis convergente el compuesto objetivo se prepara a partir de una serie de fragmentos moleculares, previamente sintetizados a partir de productos comerciales que se ensamblan de forma secuencial.

En la mayoría de los compuestos orgánicos que contienen más de un grupo funcional, y cada grupo funcional presenta una reactividad característica, por lo tanto hay que tomar en cuenta que grupo funcional va a reaccionar, donde y como lo va hacer.

Existen diferentes tipos de selectividad, las más frecuentes son: quimioselectividad, regioselectividad y estereoselectividad.

Se habla de quimioselectividad cuando un grupo funcional reacciona preferentemente en presencia de otros grupos funcionales similares o iguales. Una reacción es regioselectiva cuando puede dar lugar a dos o más isómeros constitucionales. Una reacción estereoespecífica cuando tiene un curso estereoquímico perfectamente definido por el mecanismo de reacción, en estas reacciones la estereoquímica del producto de partida determina la estereoquímica del producto final.

3.1.6 Grupos protectores

La necesidad de lograr selectividad en síntesis orgánica ha llevado a que se desarrolle una serie de grupos protectores para determinados grupos funcionales. Cuando se tiene un compuesto con varios grupos funcionales y se desea realizar una transformación selectiva en uno de ellos existen dos alternativas:

- ✓ Emplear un reactivo o condiciones selectivas, o

- ✓ Modificar temporalmente la funcionalidad del compuesto que se desea mantener intacto mientras reacciona el otro grupo funcional.

Protegiendo una función determinada se consigue que ésta sea temporalmente inerte en condiciones en las que sí reacciona el otro grupo, la funcionalidad se recupera al final del proceso. El grupo que se introduce modificando la funcionalidad y que luego se elimina se llama grupo protector.

Todo buen grupo protector debe de cumplir con las siguientes características generales:

- ✓ La etapa de protección debe poder realizarse en condiciones suaves, selectivamente y con buen rendimiento.
- ✓ El grupo debe de tener la mínima funcionalidad posible para evitar reacciones secundarias.
- ✓ La etapa de desprotección se debe poder realizar selectivamente y con buen rendimiento, y de forma que no se ataque al grupo funcional generado.
- ✓ El grupo protector protector debe de introducirse y eliminarse fácilmente.

La protección y desprotección de grupos funcionales es una operación que se debe de evitar, siempre que se pueda ya que implica dos pasos extra y puede disminuir el rendimiento.

3.1.7 Importancia biológica del sistema Δ^4 -3,6-dicetónicos en compuestos esteroidales.

En distintas referencias se encuentran reportes de compuestos con el sistema Δ^4 -3,6 dicetónico aislados originalmente de la esponja marina *Galaxura marginata* (figura 4) presentaron actividad contra diferentes líneas celulares P-338 (provenientes de leucemia linfocítica en ratón) y KB (provenientes de carcinoma oral epidermoide humano) [19].

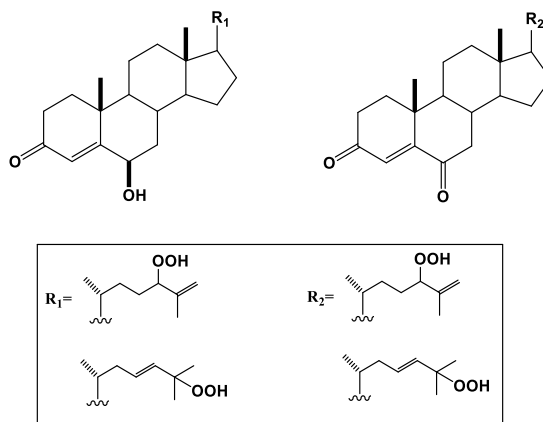


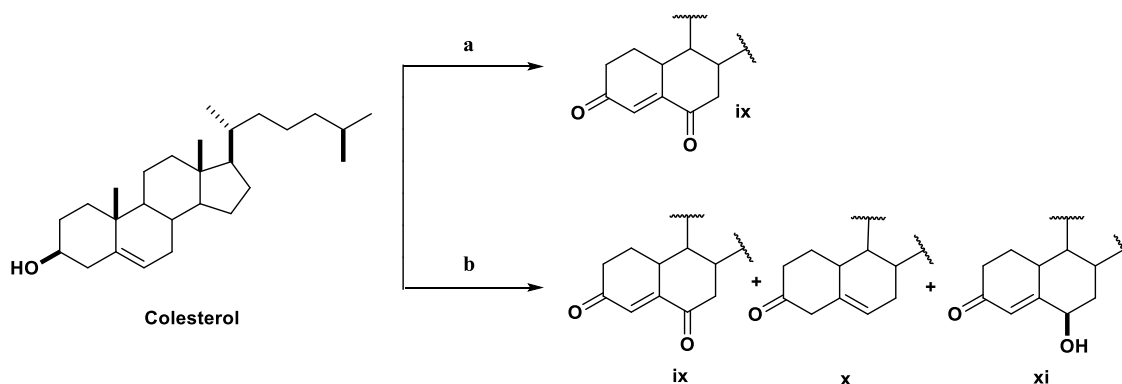
Figura 4. Ejemplos de metabolitos aislados de esponja marina *Galaxura marginata*.

Posteriormente de la alga *Turbinaria conoides* se aislaron compuestos con un sistema Δ^4 -3,6-dicetónico que presentaron actividad contra células P-388 (leucemia) y KB [20].

Los compuestos esteroidales Δ^4 -3,6-dicetónicos tienen importantes actividades biológicas, como potentes inhibidores de la enzima aromatasa [21] ya que la producción de estrógenos vía enzima aromatasa es un camino importante para el desarrollo y evolución de tumores malignos dependientes de estrógenos (ejemplo; carcinoma endometrial y cáncer de mama en mujeres) [22].

3.2 Obtención de sistemas Δ^4 -3,6-dicetónicos empleando diferentes condiciones de reacción.

Para obtener derivados con el sistema dicetónico en el anillo A y B de compuestos esteroidales se han empleado diferentes metodologías variando las condiciones de reacción.



Esquema 2; Síntesis de derivados dicetónicos.

a)

1. La oxidación del alcohol homoalílico a Δ^4 -3,6-dionas se ha logrado en altos rendimientos utilizando al colesterol como materia prima y 4-metilmorfolina *N*-óxido (NMO) como oxidante, en ultrasonido, realizándose la reacción a 25°C, por 90 min, donde el producto mayoritario fue el colesteno- Δ^4 -3,6-diona (**ix**) con un rendimiento del 80% [23] (Esquema 2).
2. Parish, E, reportó la oxidación de compuestos esteroidales con el sistema homoalílico utilizando PCC a reflujo con benceno y atmosfera de N_2 por 5 horas, dando así las correspondientes Δ^4 -3,6-dionas en excelentes rendimientos (80-90%) [21].

3. Otra metodología reportada fue la oxidación de Δ^5 -3-hidroxi esteroides en un solo paso con PCC, y CH_2Cl_2 anhidro a temperatura ambiente por 24 h. Obteniendo así el compuesto Δ^4 -3,6-diona con un alto rendimiento (80%) [24].
4. En 2006 Hunter y colaboradores reportaron la oxidación del colesterol basándose en la clásica oxidación de Jones usando cromo (VI) como oxidante, dando altos rendimientos del producto dicetónico en 86%, en periodos relativamente cortos de reacción [25].

b)

5. La oxidación de colesterol con el complejo de trióxido de cromo (VI) y piridina a 0°C por 30 minutos bajo atmosfera de nitrógeno obteniendo una mezcla de colest-4-en-3,6-diona (**ix**), colest-5-en-3-ona (**x**), y trazas de 6β -hidroxicolest-4-en-3-ona (**ix**) [26].
6. También se reportó la bioconversión oxidativa del colesterol por *Pseudomonas sp.* St-200. Este microorganismo modifica al colesterol disuelto en un solvente orgánico por hidrogenación u oxidación, en un lapso de tiempo de 8 días, obteniendo una mezcla de compuesto los cuales fueron **ix** en un porcentaje del 37% y **xi** con un rendimiento de 43% [27].

Un estudio realizado a partir de dos especies de esponjas marinas (*C. apion* y *C. alloclada*) encontraron compuestos con un sistema 6-hidroximino- Δ^4 -3-cetónico (figura 5) con cadenas de tipo colesterol también han presentado una marcada actividad citotóxica contra líneas celulares tumorales P-388 (leucemia), A-549 (pulmón), HT-29 (colon) y MEL-28 (melanona) [28].

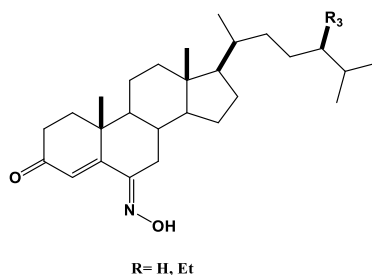


Figura 5. Esteroides aislados de la esponja marina *C. apion* and *C. alloclada*.

Se ha demostrado que el incremento de la actividad citotóxica se debe a dos factores:

- el grado de oxidación de los anillos A y B del esteroide
- la importancia de la cadena lateral, la cual potencializa la actividad biológica del esteroide (figura 6).

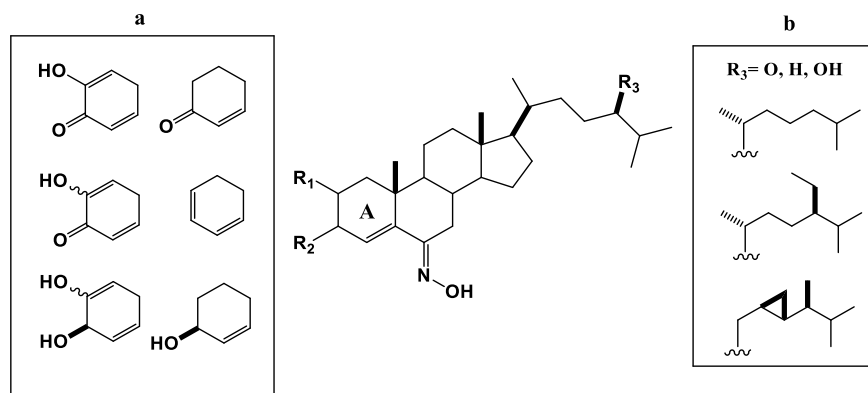
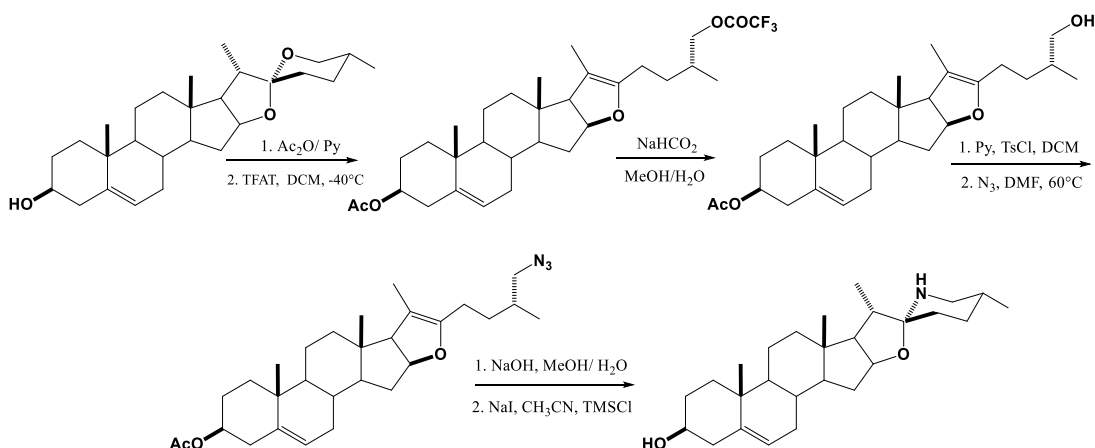


Figura 6. Ejemplos de esteroides con mayor actividad citotóxica.

3.3 Metodologías empleadas para generar solasodina.

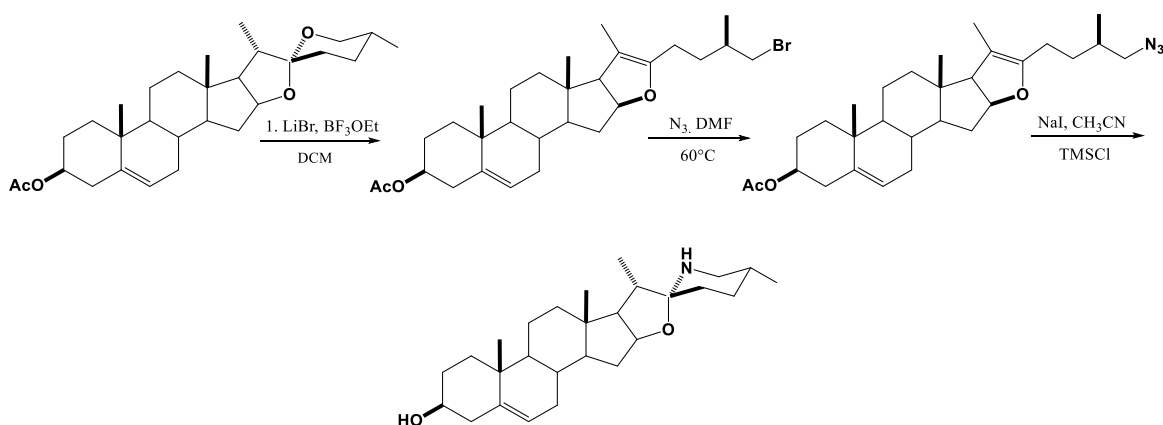
La importancia de los alcaloides esteroidales y su actividad biológica, ha motivado que diversos grupos de investigación hayan emprendido la síntesis de solasodina y otros compuestos relacionados. Entre los trabajos más representativos se tiene:

En 2011 el grupo de investigación de Zang y colaboradores [29] lograron obtener solasodina partiendo de diosgenina mediante la apertura del anillo espirocetálico con TFAT (Esquema 2). Para llegar a la molécula objetivo (solasodina) se protegió el hidroxilo de la posición 3, seguida de la apertura regioselectiva del anillo espirocetálico, la cual se realizó con TFAT a -40°C , la activación de la posición 26 se obtuvo por hidrólisis con $\text{NaHCO}_3/\text{MeOH}$; posteriormente se hizo reaccionar con *p*-TsCl y piridina para obtener el compuesto 26-*p*-toluensulfonato, una vez obtenido este compuesto, se logró una sustitución en el C-26 por un grupo azida, el cual se consiguió con NaN_3 en DMF. Se realizó una hidrólisis para eliminar el grupo éster que se encontraba en C-3 mediante una solución de NaOH, finalmente se consiguió la reducción de N_3 mediante cloruro de trimetilsilano (TMSCl)/NaI en MeCN; bajo condiciones ácidas la amina primaria obtenida se logra ciclar automáticamente dando como resultado la solasodina.



Esquema 3. Obtención de solasodina por Zang.

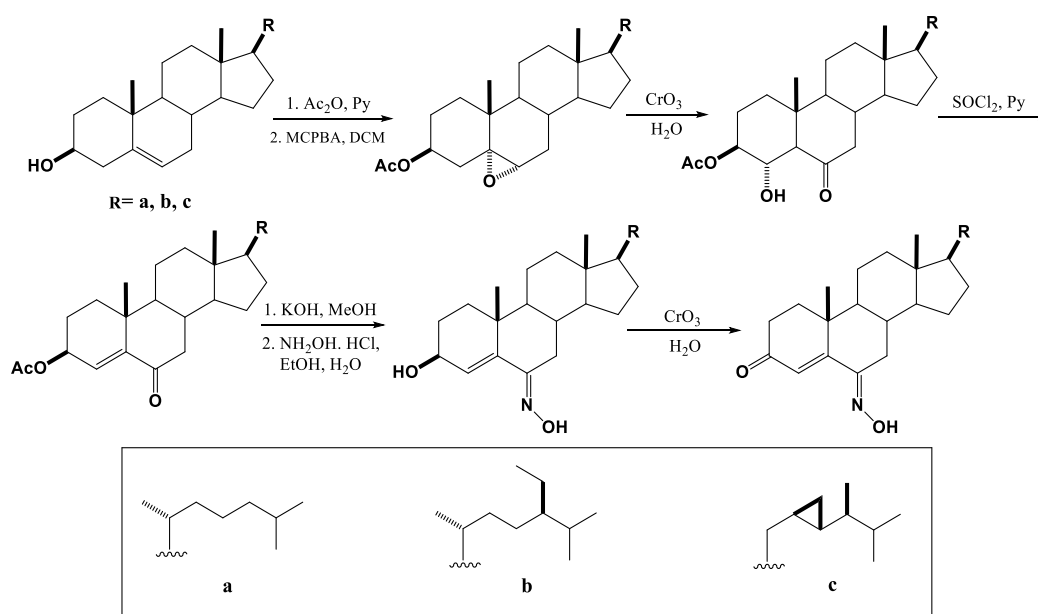
Recientemente Wu y colaboradores [30] obtuvieron solasodina en un rendimiento global de 50% a partir de acetato de diosgenina, mediante la apertura del anillo espirocetalico con LiBr generando el compuesto 26-bromo pseudogiosgenina, el cual es muy susceptible a sufrir reacciones de sustitución nucleofílica mediante NaN_3 en DMF, finalmente se consigue la reducción de N_3 mediante cloruro de trimetilsilano (TMSCl)/NaI en MeCN; bajo condiciones ácidas la amina primaria obtenida se logra ciclar automáticamente dando como resultado la solasodina (Esquema 3).



Esquema 4. Síntesis eficiente de solasodina por Wu.

3.4 Obtención de compuestos con un sistema 6-hidroximino- Δ^4 -3-cetónico.

En el 2001 Deive y colaboradores [31] sintetizaron compuestos con un sistema 6-hidroximino- Δ^4 -3-cetónico, utilizando como materia prima colesterol, β -sitosterol y gorgosterol. En la primera etapa de la síntesis se protegió del hidroxilo de la posición 3 con anhídrido acético y piridina, en seguida se llevó a cabo la formación del epóxido en Δ^5 , posteriormente se lleva a cabo una oxidación con CrO_3 . La eliminación del grupo hidroxilo de C-5 se llevó a cabo con cloruro de tionilo (SOCl_2/Py) para formar un sistema α,β -insaturada, el cual se hidrolizó el grupo acetato de la posición C-3, con KOH/MeOH , posteriormente se trató con clorhidrato de hidroxilamina para formar la oxima en C-6, finalmente para la obtención del compuesto con un sistema 6-hidroximino- Δ^4 -3-cetónico, se llevó a cabo una oxidación alílica con CrO_3 (Esquema 4).



Esquema 5. Síntesis de compuestos con un sistema 6-hidroximino- Δ^4 -3-cetónico.

4. Objetivos

Objetivo General

- ✓ Desarrollar nuevas rutas de síntesis para obtener alcaloides esteroidales de tipo espirosolano, con estructuras no reportadas en la literatura, generados a partir de la modificación de los anillos A, B y F de la diosgenina.

Objetivos Particulares

- ✓ Optimizar las condiciones que permitan transformar la diosgenina, en derivados 22-oxocolestánicos, mediante la apertura de los anillos E y F.
- ✓ Estudiar diversos grupos protectores para los grupos hidroxilo de las posiciones 3, 16 y/o 26 de las sapogeninas o los intermediarios empleados en las diferentes síntesis. En especial se optimizarán los reactivos y las condiciones que permitan la desprotección del alcohol homoalílico (Δ^5 -3 β -ol) de diversas estructuras esteroidales, manteniendo protegidas las posiciones 16 y 26 de los derivados 22 oxocolestánicos.
- ✓ Determinar las mejores condiciones para la preparación un sistema Δ^4 3,6-dicetónico, este sistema usualmente se obtiene mediante la oxidación de Jones en condiciones diluidas, de estructuras que contengan un alcohol homoalílico (Δ^5 -3 β -ol).
- ✓ Caracterizar los productos obtenidos mediante métodos físicos y espectroscópicos.
- ✓ Determinar la actividad antiproliferativa de los compuestos obtenidos.

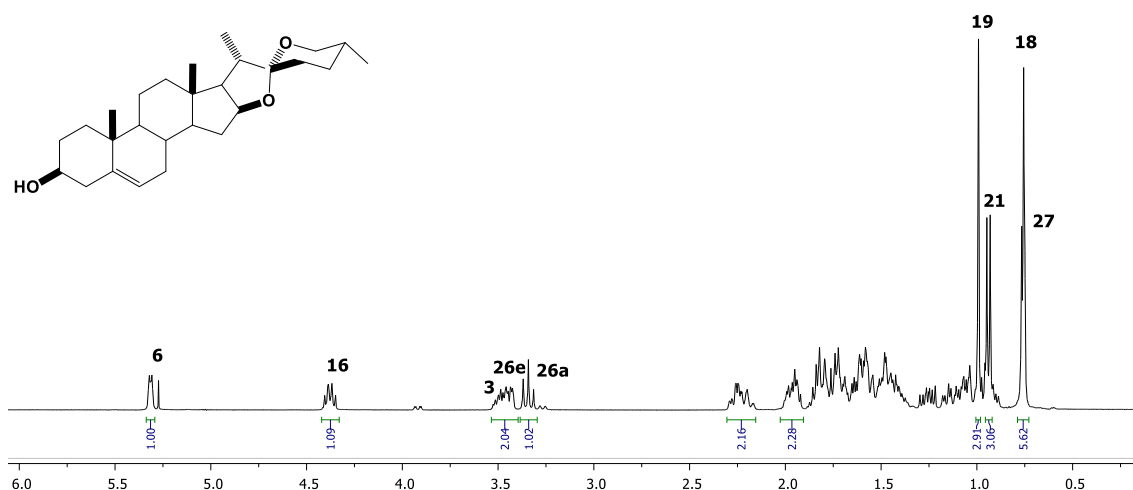
5. Discusión de resultados

5.1 Química

Como ya se ha mencionado anteriormente, las sapogeninas se han utilizado como materia prima durante muchos años para síntesis de diversos fármacos, por lo cual se puede resaltar a la industria farmacéutica, con el interés de buscar nuevas alternativas de medicamentos que provoquen el menor número de reacciones adversas; así minimizar el grado de interacción con otros medicamentos.

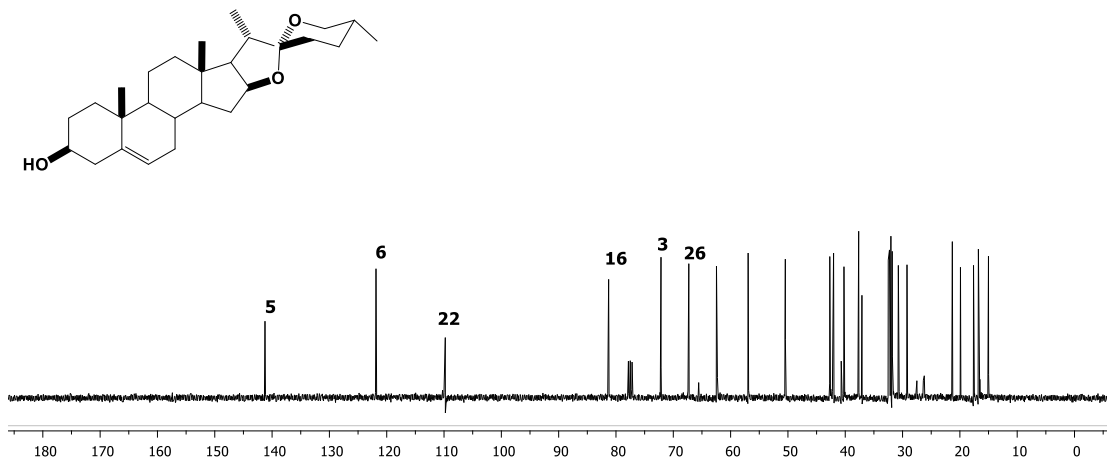
El trabajo experimental se inició con la purificación por cromatografía de diosgenina (**1**) utilizando un sistema 7:3 (hexano: AcOEt) para posteriormente llevar a cabo su caracterización.

A continuación se describe el espectro de RMN ^1H en el cual podemos observar en 5.34 ppm una señal doble con una $J = 5.2$ Hz la cual corresponde la hidrogeno vinílico H-6. En 4.40 ppm observamos una señal doble de doble de doble, que corresponde a H-16 con una $J_{16\alpha-17\alpha} = J_{16\alpha-15\alpha} = J_{16\alpha-15\beta} = 7.6$ Hz, en 3.52 ppm se observa una señal múltiple que corresponde al hidrogeno base de oxígeno H-3. En 3.45 y 3.37 se observan dos señales dobles de dobles asignadas a H-26 ecuatorial con $J_{26e-26a} = 11.0$ Hz y $J_{26e-25a} = 4.0$ Hz y H-26 axial $J_{26a-26e} = 11.0$ Hz y $J_{26a-25a} = 11.0$ Hz.



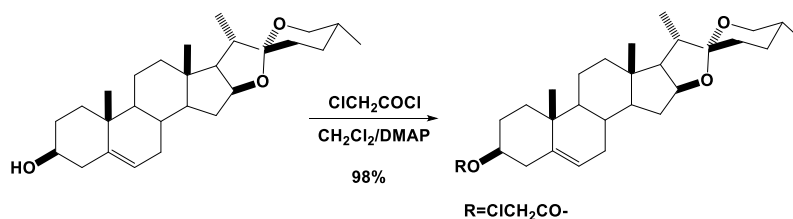
Espectro 1. Espectro RMN ^1H de compuesto 1.

A continuación se describe el espectro de RMN ^{13}C donde se observan 27 señales que corresponden con los átomos de carbono de la molécula de diosgenina. Las señales de los carbonos vinílicos C-5 y C-6 se encuentran en 140.8 y 121.4 ppm respectivamente. El carbono espirocetalico C-22 se observa en 109.3 ppm. A frecuencias bajas se observan las señales de los carbonos base de oxígeno C-3, C-16 y C-26 en 71.7, 80.8, 66.8 respectivamente.



Espectro 2. Espectro RMN ^{13}C de compuesto 2.

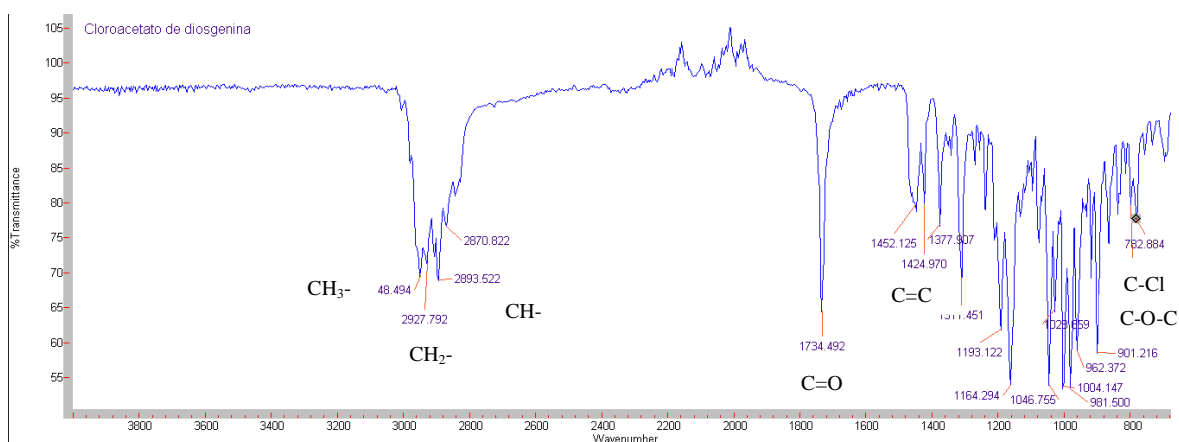
5.1.1 Cloroacetato de diosgenina.



Para iniciar con la síntesis para poder formar compuestos con sistema homoalílico de los anillos A y B y generar la dicetona α , β -insaturada, se protegió el grupo hidroxilo en C-3 utilizando el cloruro de cloroacetilo, pues además de ser de fácil formación con un rendimiento cuantitativo, tiene una gran estabilidad ante condiciones fuertemente acidas y su fácil hidrólisis sin acudir a condiciones drásticas de reacción.

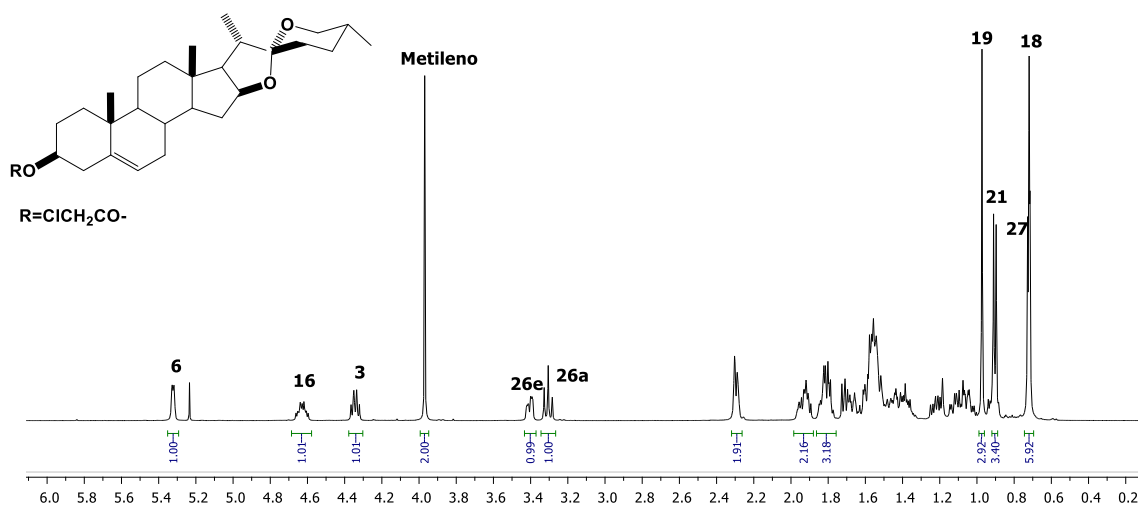
Caracterización de cloroacetato de diosgenina

En el espectro de IR del compuesto **2** se observa en 2948, 2927 y 2893 cm^{-1} una banda de tensión correspondiente al enlace C-H hibridación sp^3 (CH_3 -, CH_2 -, CH -), en 1734 cm^{-1} una banda de vibración correspondiente al grupo carbonilo de éster de la posición C-3, en 1150-1070 cm^{-1} se observa una banda correspondiente al enlace C-O-C de éster. Otra banda característica se puede apreciar en 798 cm^{-1} una banda de tensión al enlace C-Cl de nuestra molécula.



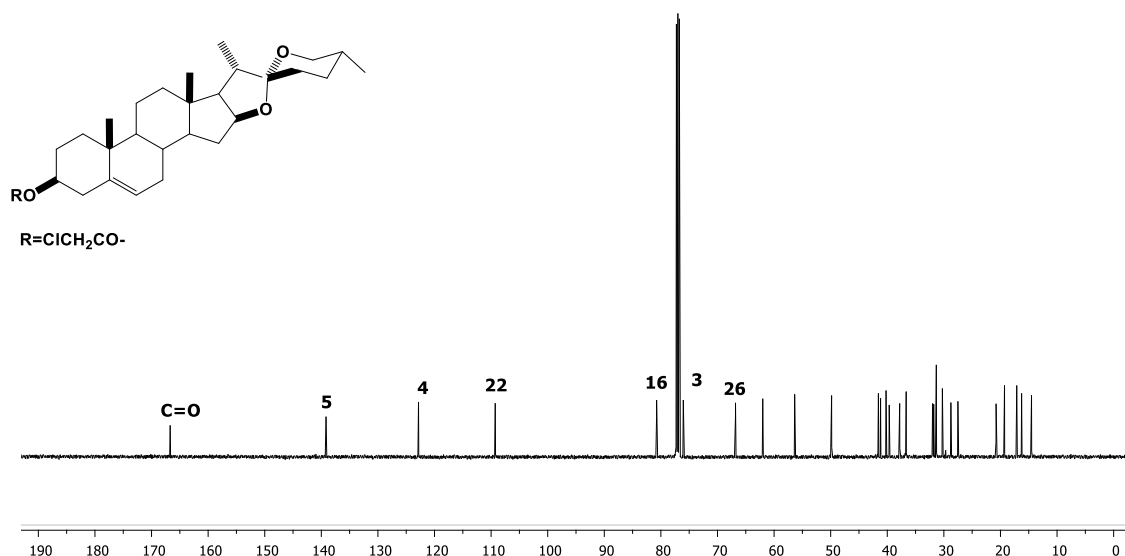
Espectro 3. Espectro IR compuesto **2**.

En el espectro de RMN ^1H se puede observar un cambio significativo del H-3 a frecuencias más altas (4.36 ppm) en comparación con el mismo protón de la materia prima (3.52 ppm), debido al efecto electroattractor que ejerce el grupo carbonilo del cloroacetato en C-3, otro cambio importante que se puede apreciar es una señal simple en 4.0 ppm la cual corresponde a metileno del cloroacetato, las demás señales no sufren cambios significativos con respecto a la materia prima (**1**).



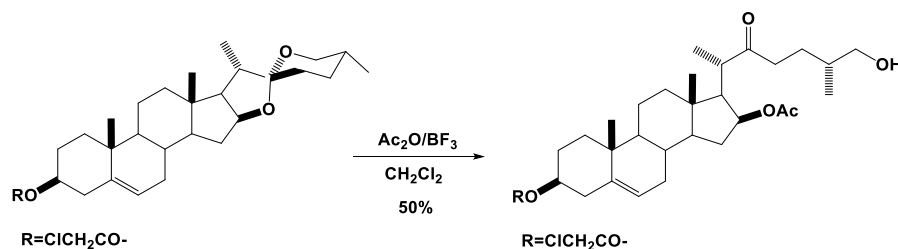
Espectro 4. Espectro RMN ^1H de compuesto **2**.

A continuación se describe el espectro de RMN ^{13}C donde se observan una señal a frecuencias altas que corresponde a carbono del carbonilo de C-3 y en 41.2 ppm se observa una nueva señal correspondiente al metileno del cloroacetato, las demás señales no sufren cambios significativos con respecto a la materia prima.



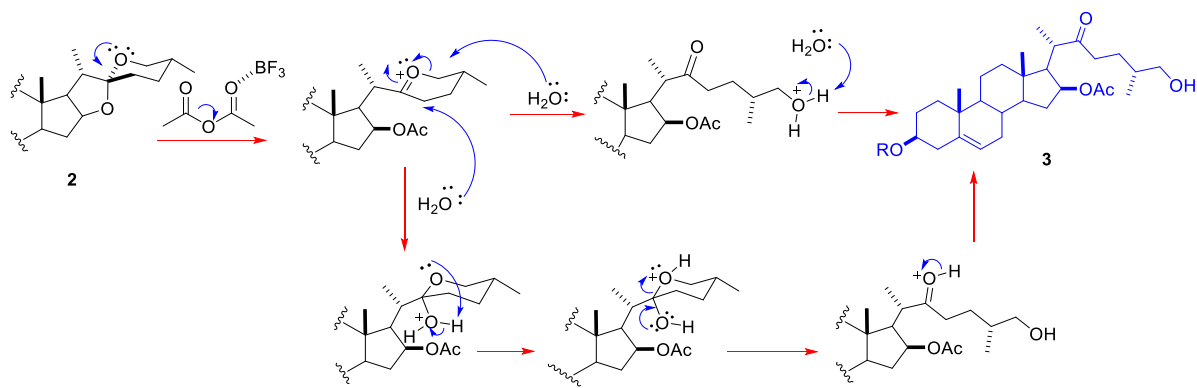
Espectro 5. Espectro RMN ^{13}C de compuesto **2**.

5.1.2 Acetato de (20*S*,25*R*)-3 β -cloroacetoxi-26-hidroxi-22-oxocolest-5-en-16-ilo (**3**).



El compuesto **3** se obtuvo mediante una reacción de acetólisis de **2**, donde se logra la apertura del anillo E y F, mediante la acción de un ácido de Lewis ($\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$) y anhídrido acético en un rendimiento del 51%, pues se obtienen otros subproductos en la reacción, ya que el tiempo de reacción interfiere con el rendimiento de la reacción. El mecanismo de formación de **3** puede ocurrir mediante 2 alternativas, que se presentan en el esquema 2.

Bajo condiciones controladas de acetólisis se conduce a la apertura regioselectiva del anillo F, mediante la formación de ion oxonio (i); este intermediario puede sufrir dos ataques ya sea por medio del ion acetato o con agua respectivamente para llevar a la formación del compuesto **3**.

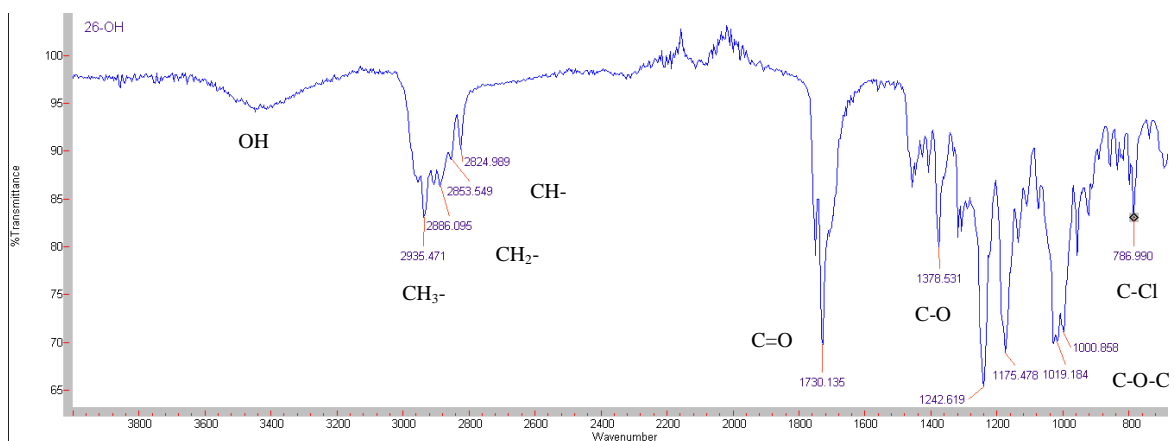


Esquema 2. Mecanismo de formación de acetólisis.

Caracterización de 3.

En el espectro de IR del compuesto **3** se observa una banda ancha en 3400 cm^{-1} que corresponde al grupo hidroxilo, en la región de 2935 , 2886 y 2853 cm^{-1} una banda de tensión correspondiente a los carbonos con hibridación sp^3 (CH_3 -, CH_2 -, CH -), en 1730 cm^{-1} se encuentra la banda de tensión correspondiente al enlace $\text{C}=\text{O}$ de éster.

En 1378 cm^{-1} se aprecia una banda de tensión del enlace $\text{C}-\text{O}$ éster, también podemos observar en 1019 cm^{-1} una banda de tensión de $\text{C}-\text{O}-\text{C}$, de éster. Finalmente se puede observar una señal característica de enlace $\text{C}-\text{Cl}$ en 789 cm^{-1} .

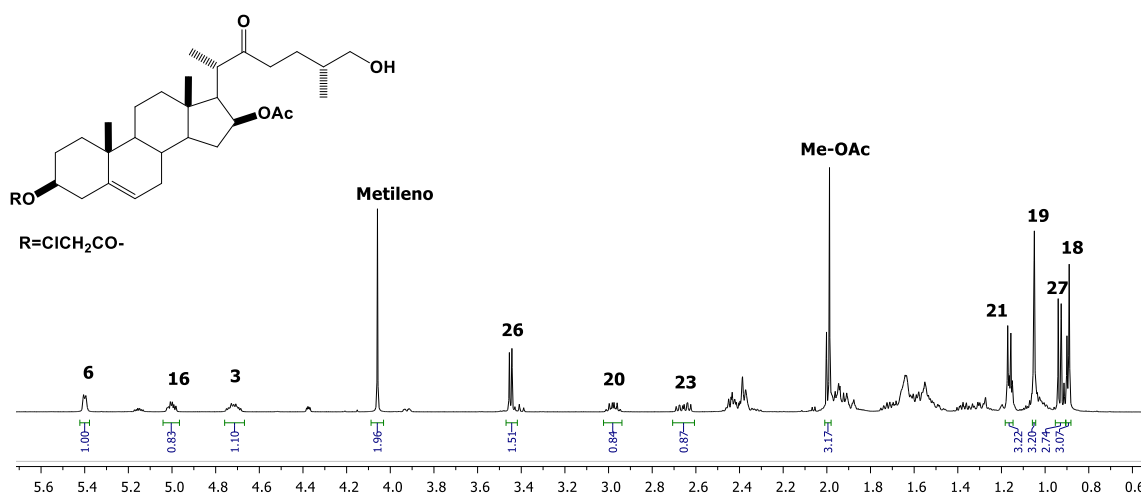


Espectro 6. Espectro IR compuesto **3**.

El espectro de RMN ^1H de este producto muestra un cambio importante en el desplazamiento de H-16, con respecto a la materia de partida, ya que ahora se encuentra

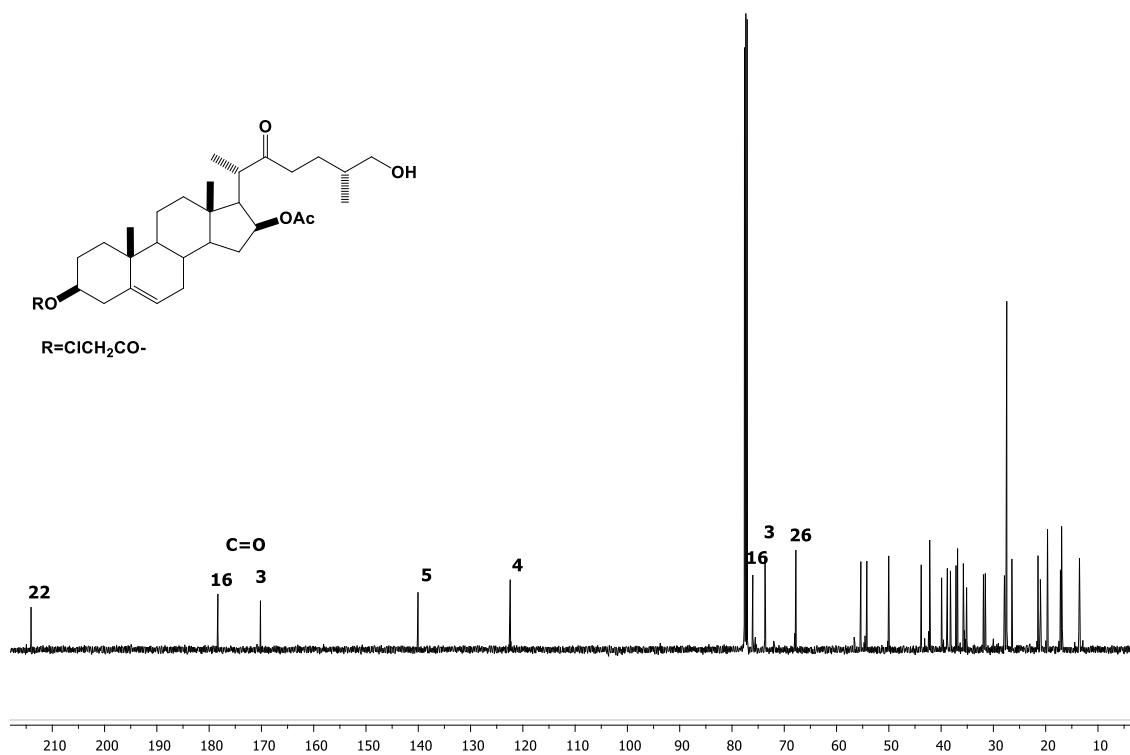
unido a un acetato y aparece en 4.95 ppm, como una señal múltiple que integra para un hidrogeno. Se puede observar también el cambio evidente de los hidrógenos de 26 que ahora se encuentran en una cadena lateral con giro libre y que al no formar parte ya del anillo tetrahidropiránico F (ya no se encuentran en posiciones axiales o ecuatoriales) su desplazamiento químico es muy similar, a pesar de que estos protones continúan siendo diastereotópicos, se observa una señal múltiple en 3.40 ppm.

El desplazamiento para H-20 a frecuencias más altas como una señal múltiple en 2.98 ppm debido a que sufre un efecto de desprotección que sufre el hidrogeno al estar cerca del carbonilo, del mismo modo el H-21 se desplaza a frecuencias mayores. Se observa una nueva señal simple en 1.96 ppm que corresponden a los hidrógenos magnéticamente equivalentes del metilo del acetato de C-16. No se observa cambio en H-6 con respecto al espectro de cloroacetato de diosgenina.



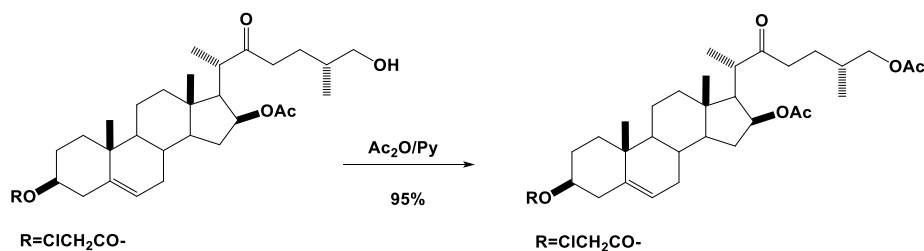
Espectro 7. Espectro RMN ¹H de compuesto 3.

En el espectro de RMN de ¹³C se observa un cambio significativo para C-22 a 214.2 ppm, al pasar de un carbono espirocetalico sp³ al carbono de un carbonilo. A frecuencias altas se observa una nueva señal correspondiente al carbono de carbonilos de C-16 (178.3 ppm). También hay un ligero cambio en el desplazamiento de C-16 a frecuencias bajas (con respecto a la materia prima) a 76.0 ppm



Espectro 8. Espectro RMN ^{13}C de compuesto 3.

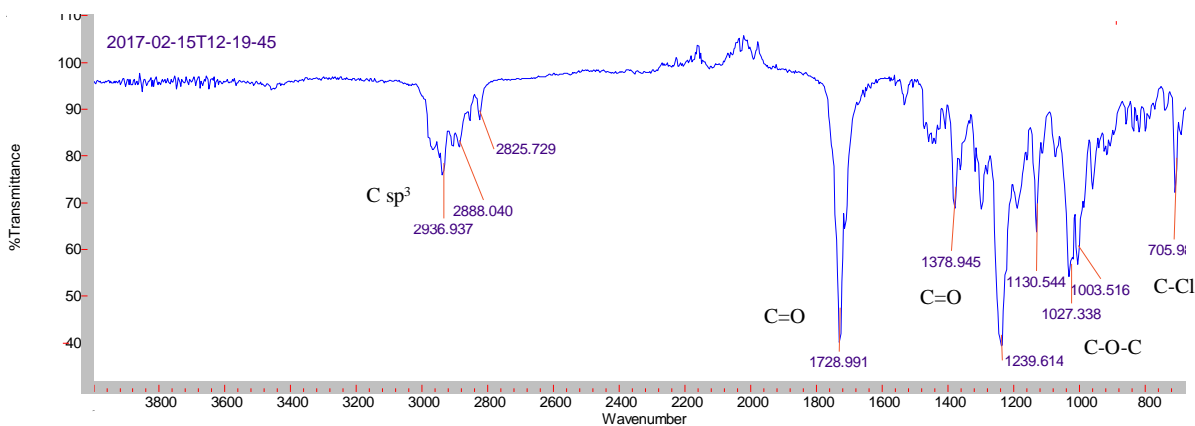
5.1.3 Diacetato de (20*S*,25*R*)-3 β -cloroacetoxi-22-oxocolest-5-en-16 β ,26-diilo (4).



El compuesto 4, se obtuvo después de tratar al derivado 22-oxocolestanico 3 con Ac_2O /piridina, para lograr la protección del grupo hidroxilo de 26, el cual se obtiene en un rendimiento del 95%, se logró purificar en un sistema 9/1 (hexano/ AcOEt).

Caracterización de 4.

En el espectro de IR del compuesto **4** se observa en la región de 2936 cm^{-1} una banda de tensión correspondiente al enlace C-H con hibridación sp^3 (CH_3 -, CH_2 -, CH -), en 1728 cm^{-1} se encuentra la banda de vibración correspondiente al enlace C=O de éster, también podemos observar en 1027 cm^{-1} una banda de tensión de C-O-C (éster). Finalmente se puede observar una banda característica de enlace C-Cl en 789 cm^{-1} .

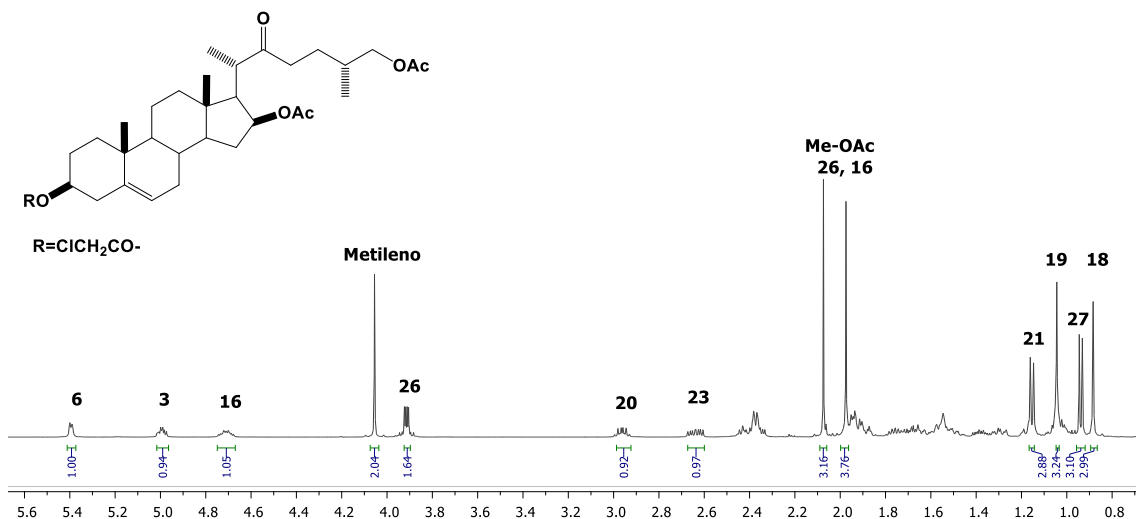


Espectro 9. Espectro IR compuesto **4**.

En el espectro de RMN ^1H se observa en 5.39 ppm una señal doble, que corresponde a la señal doble de doble del protón vinílico H-6 $J_{6-7\beta} = 5\text{ Hz}$ y $J_{6-7\alpha} = 0\text{ Hz}$ (debido al ángulo diedral que presenta H-6 con H-7 β). En 4.9 y 4.71 ppm se observan dos señales múltiples correspondientes a H-3 y H-16 debido al efecto de anisotropía que ejerce el grupo carbonilo. En 4.06 ppm se presenta una señal simple que integra para dos protones corresponde al metilénicos del grupo cloroacetilo.

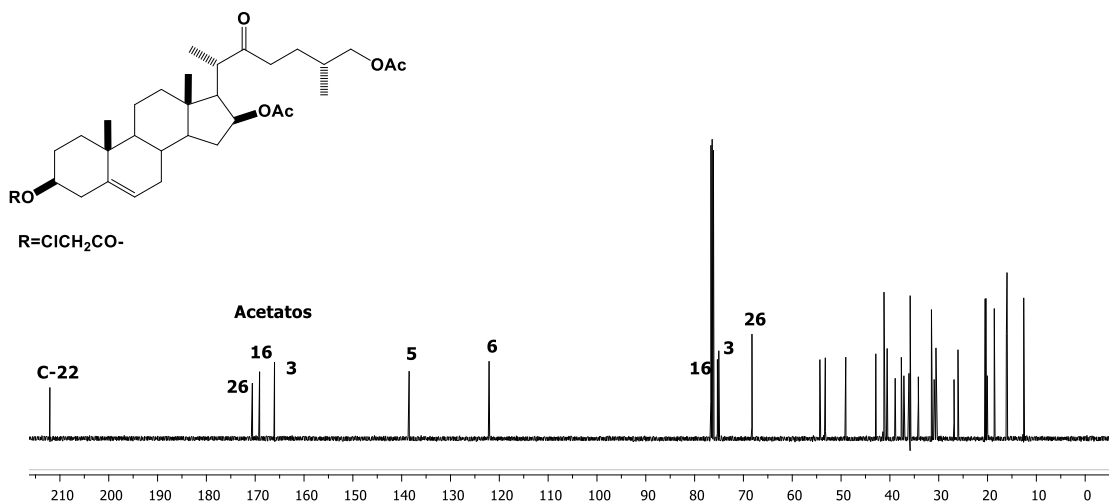
Los protones diastereotópicos H-26a y H-26b se presentan como una señal múltiple que integra para dos protones en 3.92 ppm. En 2.96 y 2.64 ppm se observan dos señales múltiples que integran para un protón que fueron asignadas a H-20 y H-23 y dos señales simples, en 2.02 y 1.96, características de los protones de éster; por lo cual se asignaron a los protones de los metilos de acetato que se encuentran en C-3 y C-16.

Las señales simples hacia 1.04 y 0.88 ppm se asignaron a los protones de los metilos angulares 19 y 18 respectivamente. Hacia frecuencias bajas se observan dos señales dobles 1.15 y 0.93 ppm, asignados a los metilos 21 y 27 respectivamente.



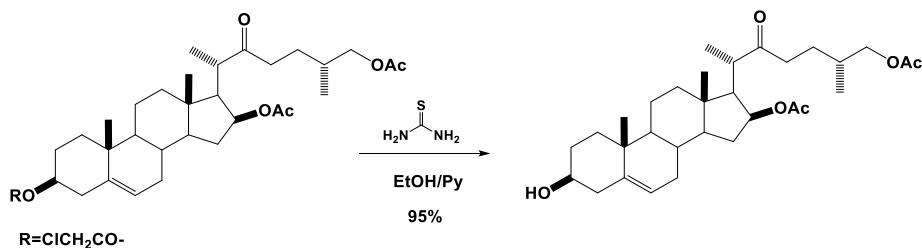
Espectro 10. Espectro RMN ^1H de compuesto 4.

En el espectro de RMN ^{13}C se pueden observar una nueva señal en 170.0 ppm correspondiente al carbonilo del acetato de 26, así como la aparición de una señal en 21.0 ppm que corresponde al carbono del metilo de este acetato. Las demás señales no sufrieron ningún cambio significativo.



Espectro 11. Espectro RMN ^{13}C de compuesto 4.

5.1.4 Diacetato de (20S,25R)-3β-hidroxi-22-oxocolest-5-eno-16β,26-diilo (5).

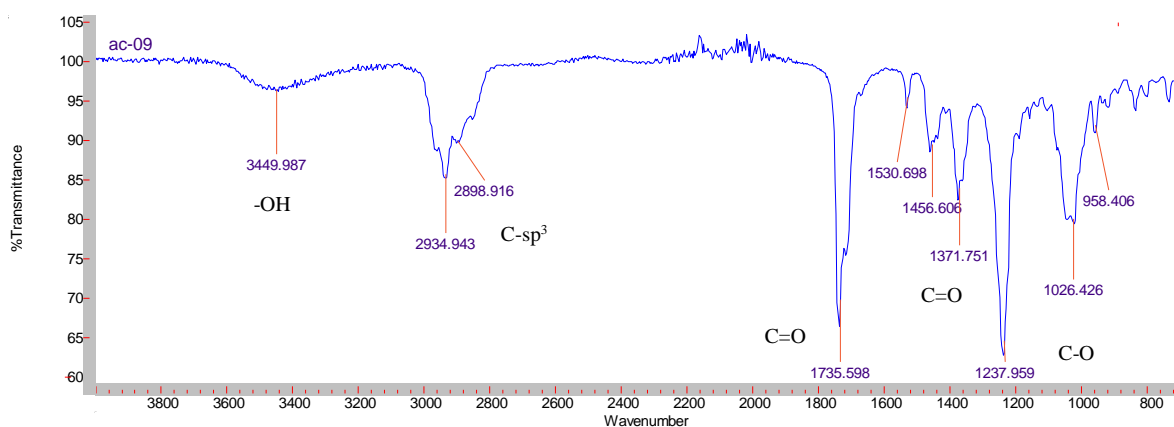


El grupo cloroacetilo se utiliza para la protección temporal de grupos hidroxilo, ya que es un grupo muy sensible a la base, puede ser removido selectivamente en presencia de otros grupos acilo.

Posteriormente mediante una hidrólisis regioselectiva utilizando tiourea en EtOH/Py [31] se obtuvo el compuesto **5**, el cual se purificó en un sistema 75/25 (hexano/AcOEt), con un rendimiento 95%.

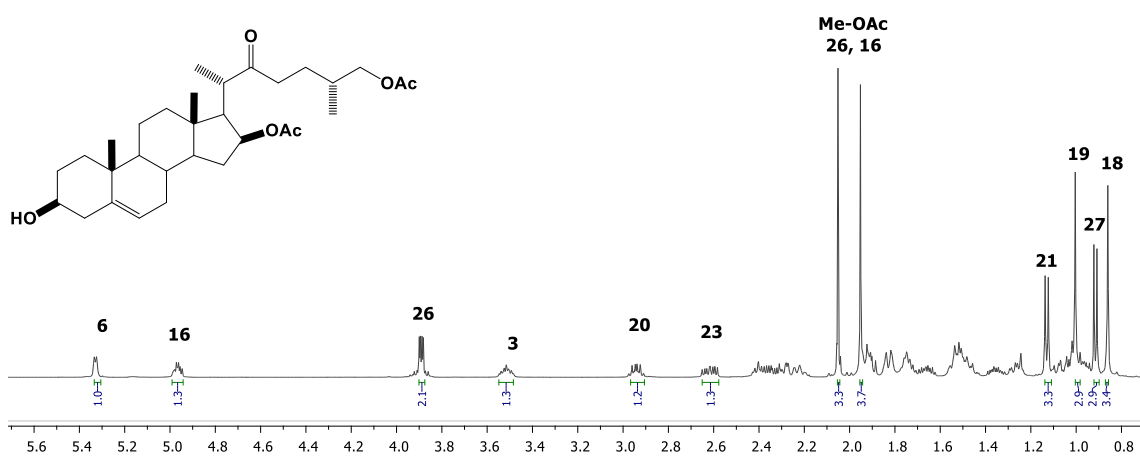
Caracterización de **5**.

En el espectro de IR podemos observar una banda ancha a 3449 cm^{-1} debida a la fuerte absorción del enlace O-H que corresponde al grupo hidroxilo. También se observan bandas características de los carbonos sp^3 entre 2934 y 2898 cm^{-1} correspondientes a la vibración de tensión de los enlaces C-H. Se observa las bandas de tensión características de los ésteres, para el grupo carbonilo en 1735 y para los enlaces C-O en 1237 y 1026 cm^{-1} .



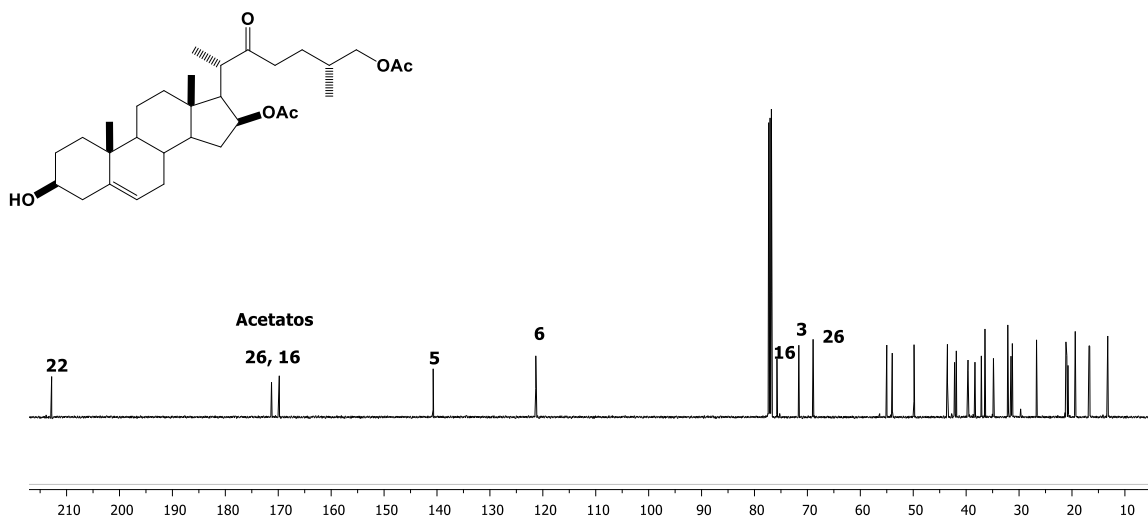
Espectro 12. Espectro IR compuesto **5**.

En el espectro de RMN ^1H se observan en 5.32 ppm una señal doble de doble que corresponde al protón vinílico H-6, en 4.97 ppm una señal múltiple que corresponde H-16. Los protones diasterotópicos H-26a y H-26b se presentan como una señal múltiple que integra para dos protones en 3.88 ppm. Se observa en 3.52 ppm un cambio significativo a frecuencias bajas H-3 debido a la ausencia del grupo cloroacetilo, con lo que se confirma la hidrólisis del grupo protector. Las demás señales no muestran un cambio significativo con respecto a aquellas de la materia prima (4).



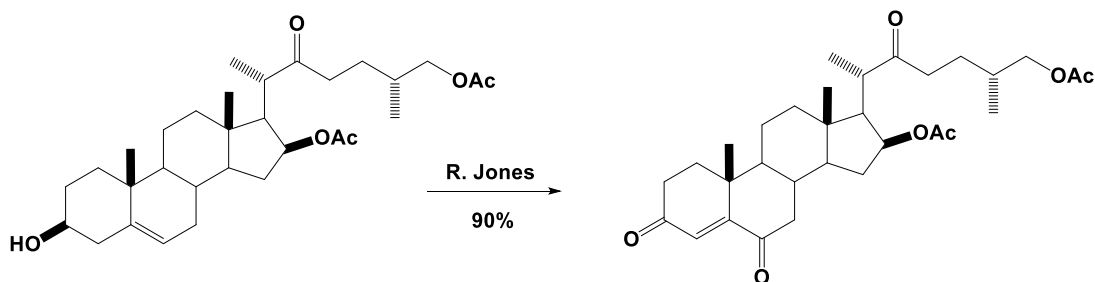
Espectro 13. Espectro RMN ^1H de compuesto 5.

El espectro de RMN ^{13}C de igual forma, muestra la ausencia carbono de carbonilo del grupo protector. El C-3 muestra un ligero cambio en su desplazamiento pasando de 75.7 a 71.6 ppm.



Espectro 14. Espectro RMN ¹³C de compuesto 5.

5.1.5 Diacetato de (25*R*)-3,6,22-trioxocolest-4-eno-16β,26-diilo (6).

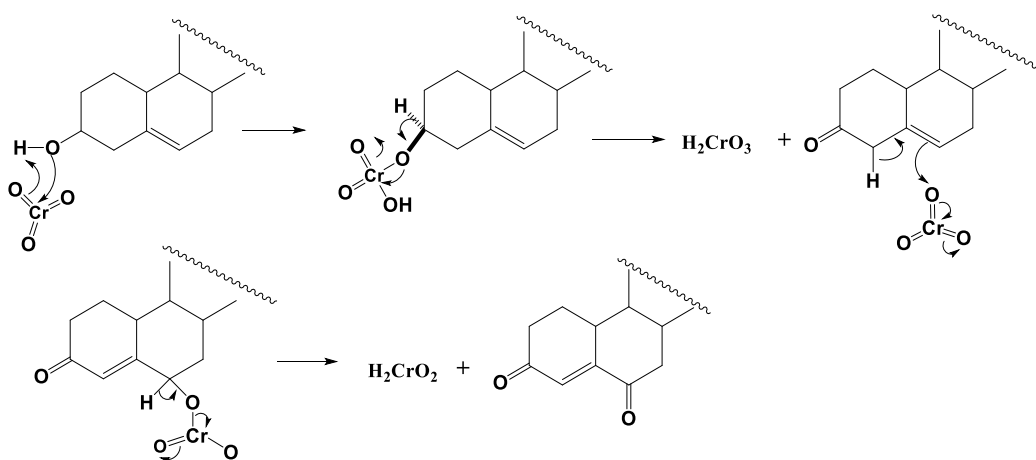


Los esteroides Δ^4 -3,6-dicetonicos son productos naturales y han sido utilizados como intermediarios importantes en la modificación de núcleos esteroidales [32].

En consecuencia la conversión de Δ^5 -3 β -alcohol es más importantes desde el punto de vista sintético y biológico Δ^4 -3,6-dionas han llamado la atención en diversos grupos de investigación por lo que el sistema homoalílico (Δ^5 -3 β -OH) del compuesto 5 se somete a una reacción de oxidación con el reactivo de Jones en condiciones diluidas (CrO_3 , H_2O , $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{CH}_3\text{COCH}_3$) [33], se colocaron 100 mg del compuesto 5 en un matraz de 50 mL se disolvió en 4 mL CH_2Cl_2 y 10 mL acetona, se mantiene en agitación constante, se adiciona el reactivo de Jones durante aproximadamente 10 minutos a -5°C , obteniendo como único producto el diacetato de (20*S*, 25*R*)-3,6,22-trioxocolesta-4-eno-3,16b-diilo (6), no obstante,

5 al ser sometido a un medio ácido ($\text{CrO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$) podría generar epimerización o eliminaciones.

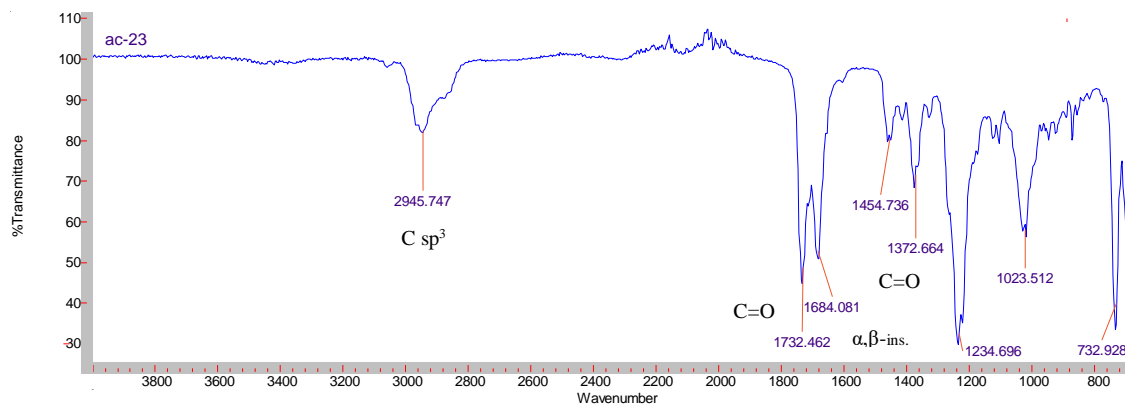
El reactivo de Jones oxida alcoholes primarios a ácidos carboxílicos y secundarios a cetonas el Cr(VI) se reduce a Cr(III), oxidando el alcohol. En el esquema 3 se muestra el mecanismo de reacción para la formación del compuesto dicetonico [32].



Esquema 3. Mecanismo de reacción para la formación de 4-en-3,6-diona.

Caracterización de 6.

En el espectro de IR se pueden observar una banda de tensión en 2945 cm^{-1} correspondiente al enlace C-H. En el espectro se observa una banda de tensión de los carbonilos de los acetatos a 1732 , y en 1234 cm^{-1} una banda del enlace C-O. Podemos apreciar una banda de vibración característica de carbonilo α,β - insaturada en 1684 .

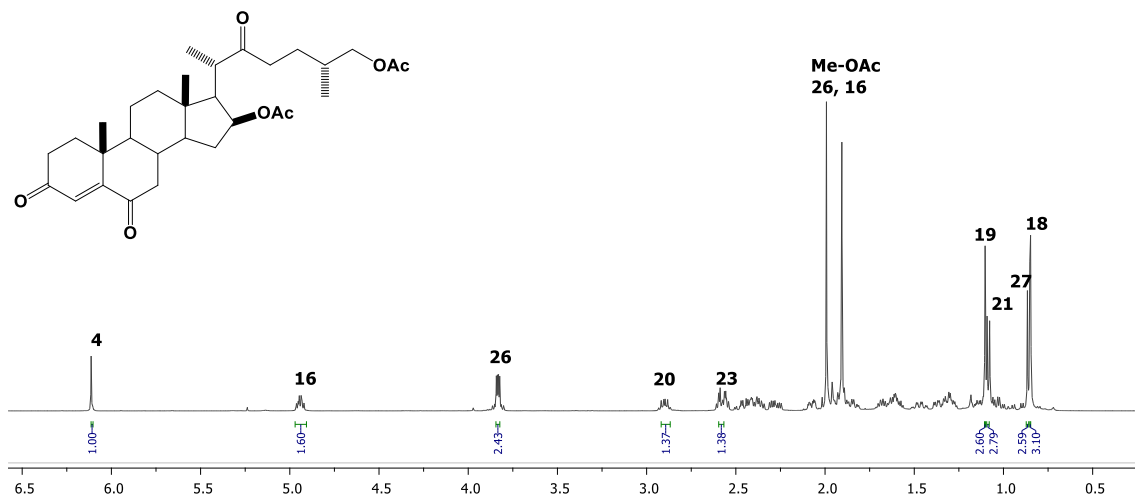


Espectro 15. Espectro IR compuesto **5**.

En el espectro de RMN¹H se observa en 6.11 ppm una señal simple que corresponde al protón vinílico H-4. En 4.94 se observa una señal múltiple para H-16 debido al efecto de anisotropía que ejerce el grupo carbonilo.

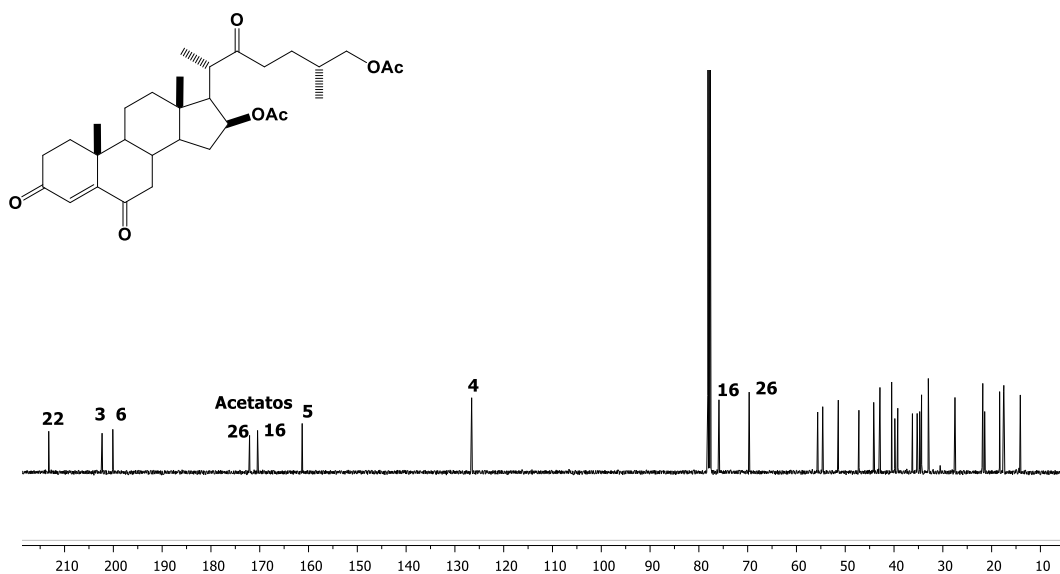
Los protones diastereotópicos H-26a y H-26b se presentan como una señal múltiple que integra para dos protones en 3.84 ppm. En 2.90 y 2.59 ppm se observan dos señales múltiples que integran para un protón que fueron asignadas a H-20 y H-23 y dos señales simples, en 1.99 y 1.91 ppm, características de los protones de éster; por lo cual se asignaron a los protones de los metilos de acetato que se encuentran en C-16 y C-26.

Las señales simples hacia 1.10 y 0.85 ppm se asignaron a los protones de los metilos angulares 19 y 18 respectivamente. Hacia frecuencias bajas se observan dos señales dobles 1.08 y 0.87 ppm, asignados a los metilos 21 y 27 respectivamente.



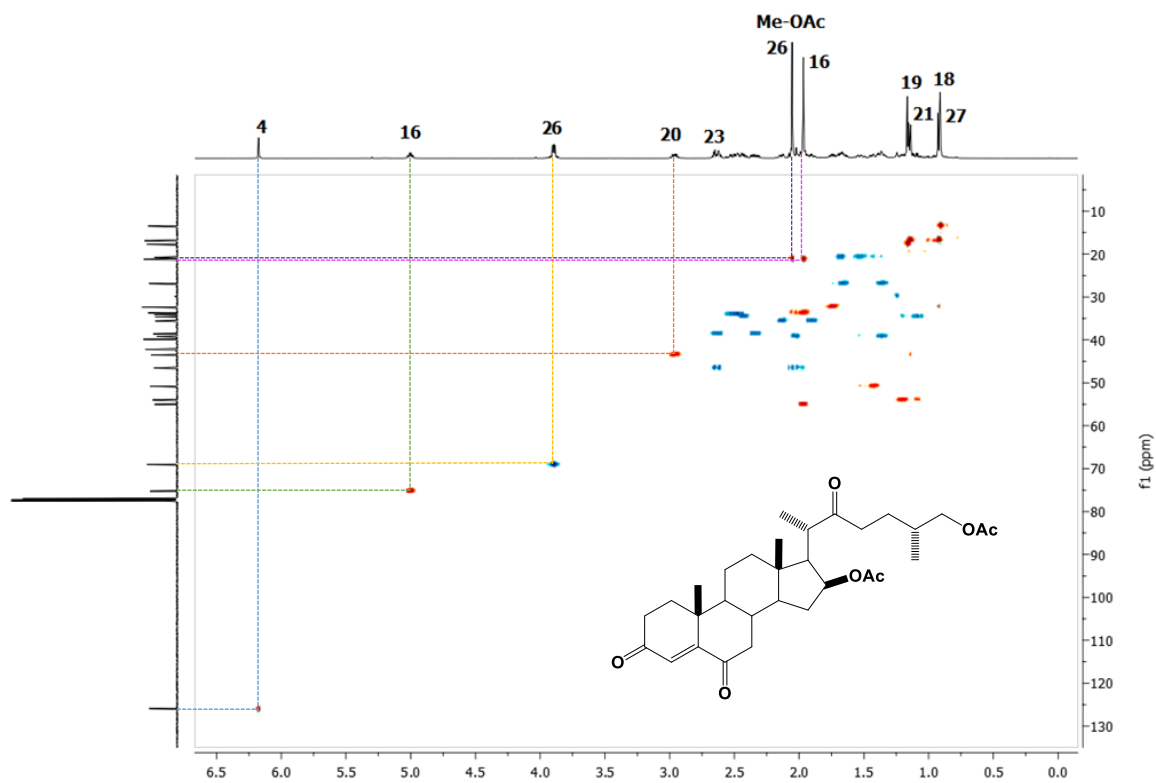
Espectro 16. Espectro RMN ^1H de compuesto **6**.

En el espectro de RMN ^{13}C se observa un cambio significativo en el desplazamiento de C-6 (200.1 ppm) al pasar de un carbono de un doble enlace $\text{C}=\text{C}$ a un carbono de una cetona α , β -insaturada, de forma similar con el carbono C-3 al transformarse de carbono sp^3 a uno sp^2 cetona en 202.3 ppm. Los desplazamientos de C-6 y C-3 indican que ambos carbonilos están conjugados ya que normalmente un carbonilo aislado se ubica hacia 210-215 ppm. Podemos observar también el cambio considerable en el desplazamiento de C-4 al transformarse en un carbono vinílico, ubicándose en 126.6 ppm. El desplazamiento de C-5 hacia frecuencias más altas nos muestra la desprotección que sufre este carbono al formar ahora parte del sistema conjugado; este carbono se observa en 161.3 ppm.



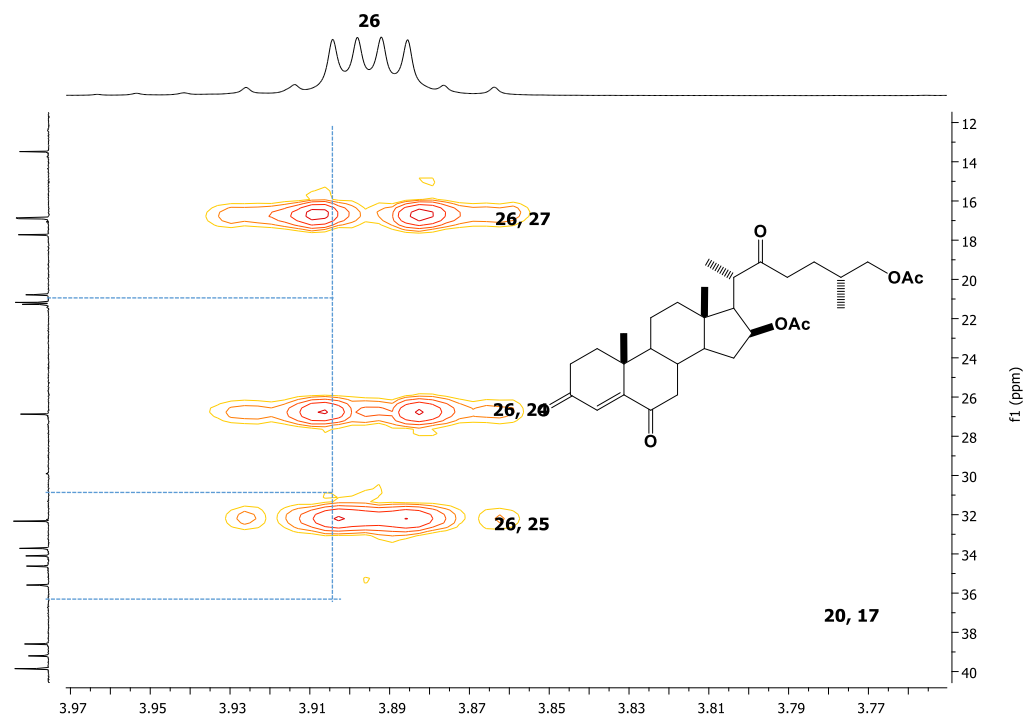
Espectro 17. Espectro RMN ¹³C de compuesto 6.

El experimento de dos dimensiones HSQC nos permitió observar la correlación de los protones unidos directamente con su carbono.



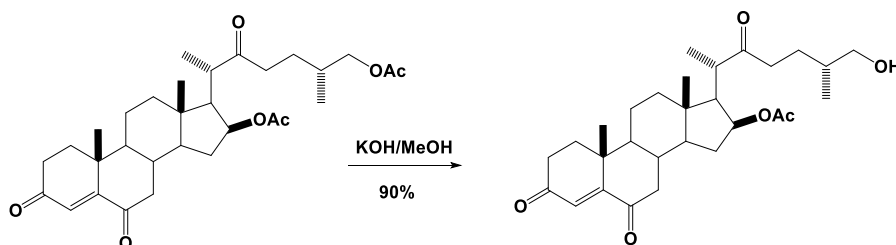
Espectro 18. Espectro RMN HSQC de compuesto 6.

Se realizó una expansión del experimento HMBC, en donde se observa las señales características de 26, en el espectro se observan los acoplamientos que tiene H-26 con C-27, C-24 y C-25.



Espectro 19. Espectro RMN HSQC de compuesto 6.

5.1.6 Acetato de (20*S*,25*R*)-26-hidroxi-3,6,22-trioxocolest-4-en-16 β -ilo (7).



Para poder formar la cadena espirocetalica, el primer paso fue llevar a cabo una hidrólisis básica regioselectiva utilizando una solución de KOH/MeOH al 5%, la cual se mantuvo en agitación constante a 5°C hasta consumir la materia prima, para hidrolizar el acetato de la posición C-26 [34]. El crudo de reacción se purificó con un sistema 75/25 (hexano: AcOEt).

Caracterización de 7.

Espectrometría de masas:

La espectroscopia de masas fue de gran importancia ya que ayudó a determinar con precisión el pico ion molecular, a continuación se muestra el espectro del compuesto **7** realizado mediante la técnica FAB en el que se observar $[M+Na]^+$ a $m/z = 487$.

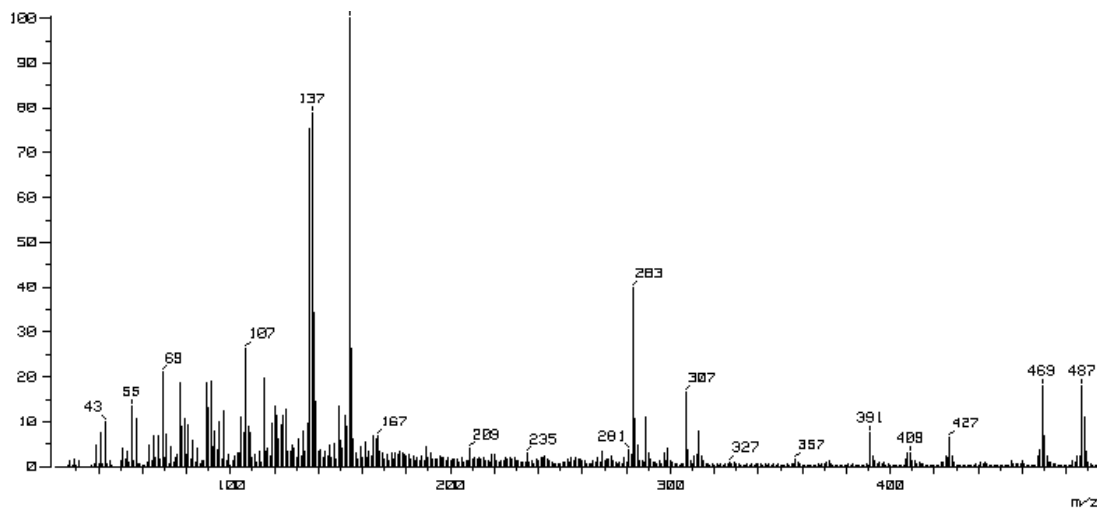
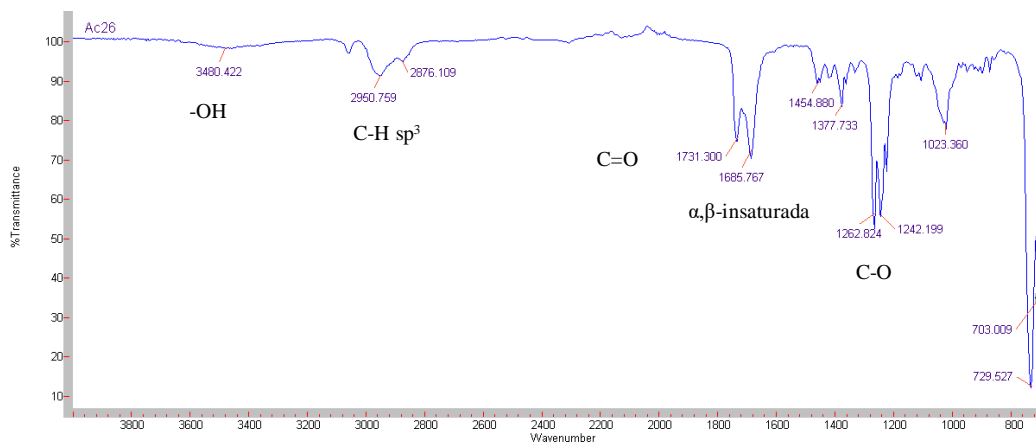


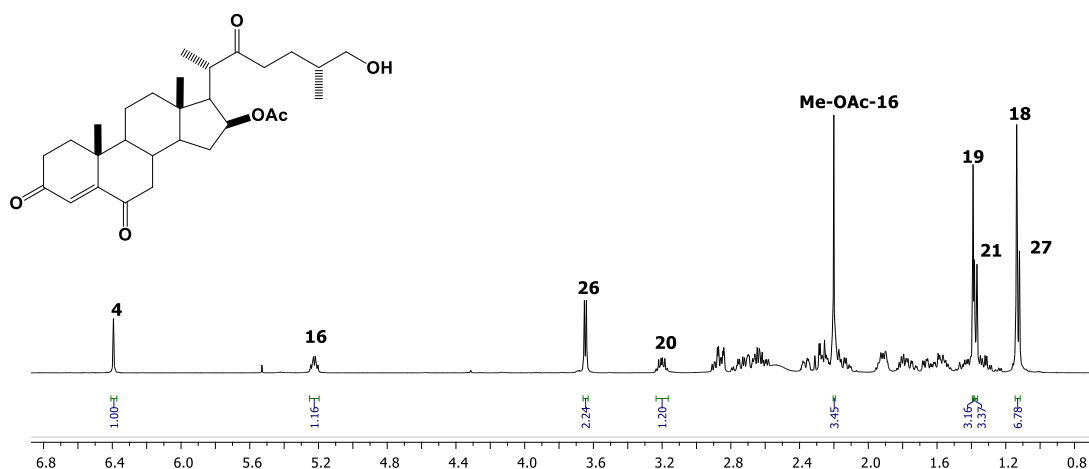
Figura 7. Espectro de masas de 7.

En el espectro de IR se puede observar una banda ancha en 3480 cm^{-1} debida a la absorción de enlace O-H. De igual manera se observa una banda de tensión en 2945 cm^{-1} correspondiente al enlace C-H. En el espectro se observa una banda de tensión de los carbonilos de acetato a 1732 y en 1234 cm^{-1} una banda del enlace C-O. Podemos apreciar una banda de vibración característica carbonilo de α,β - insaturada en 1685 cm^{-1} .



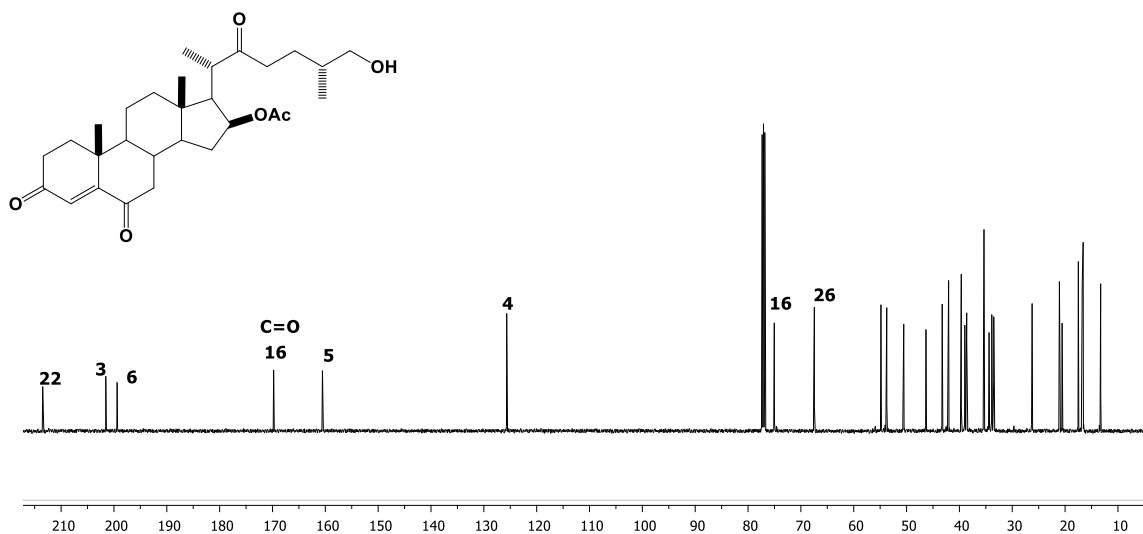
Espectro 20. Espectro IR compuesto **5**.

En el espectro de RMN ^1H se nota la ausencia del metilo del acetato de la posición C-26. Las demás señales no sufrieron cambios significativos con respecto a la materia prima.



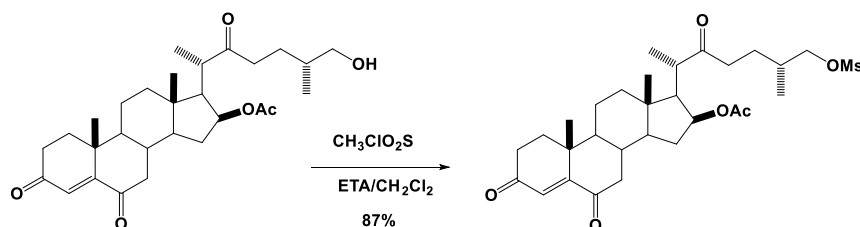
Espectro 21. Espectro RMN ^1H de compuesto **7**.

En el espectro de RMN ^{13}C de igual manera se puede observar la ausencia del carbono del carbonilo de C-26, por lo que corrobora que solo se llevó a cabo una hidrólisis selectiva. Para el C-26 sufrió un ligero desplazamiento a frecuencias bajas debido a la ausencia del acetato por lo que se encuentra en 67.5 ppm. Las demás señales no sufrieron cambios significativos.



Espectro 22. Espectro RMN ¹³C de compuesto **8**.

5.1.7 Metansulfonato de (20*S*,25*R*)-16β-acetoxi-3,6,22 trioxocolest-4-en-26-ilo (**8**).



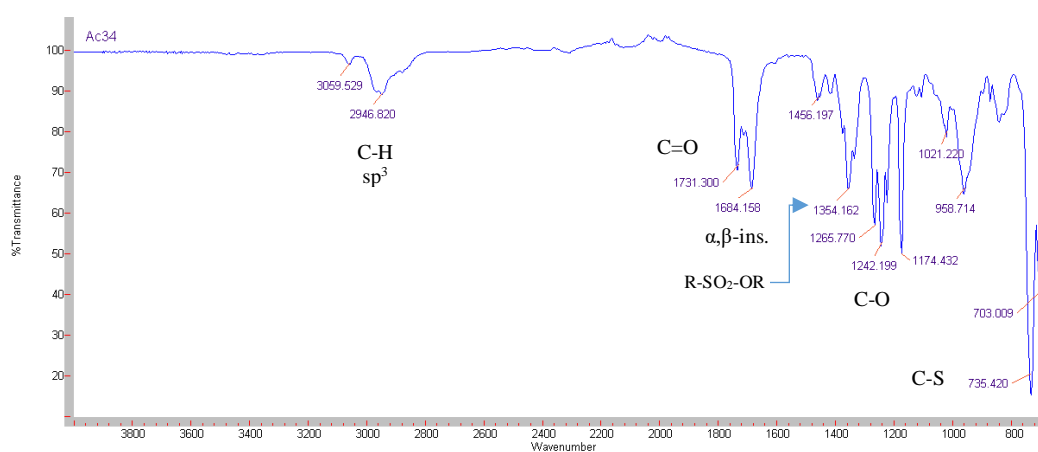
Con la finalidad de obtener un buen grupo saliente en la posición C-26 se obtuvo el compuesto **8** ya que los mejores grupos salientes son las especies menos básicas, puesto que enlazan débilmente al carbono. El anión sulfonato es un compuesto poco básico, por lo que es un buen grupo saliente en reacciones S_N2.

El hidroxilo sobre C-26 se transformó en un buen grupo saliente, para después llevar a cabo una sustitución del mismo, esto se consiguió mediante el tratamiento con CH₃ClO₂S (exceso molar 10%), trietilamina (exceso molar 50%) a <10°C [26].

Caracterización de 8.

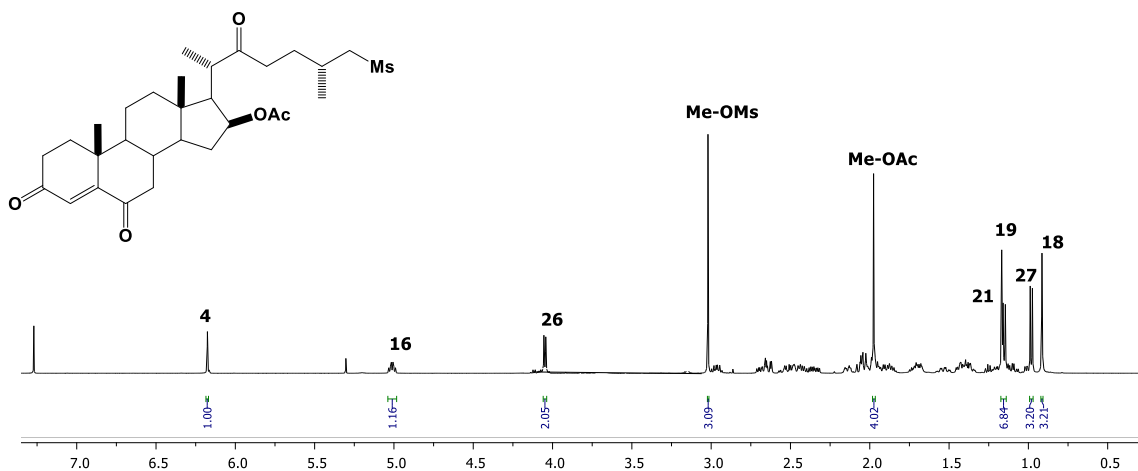
En el espectro de IR se pueden observar banda característica del grupo metanosulfonilo en 1354 cm^{-1} además se aprecia una banda de tensión o deformación en 735 cm^{-1} correspondiente al enlace C-S.

De igual manera se observa una banda de tensión en 2945 cm^{-1} correspondiente al enlace C-H. En el espectro se observa una banda de tensión de carbonilo de acetato a 1731 y en 1242 cm^{-1} una banda del enlace C-O. Podemos apreciar una banda de tensión característica de un carbonilo α,β - insaturada en 1684 cm^{-1} .



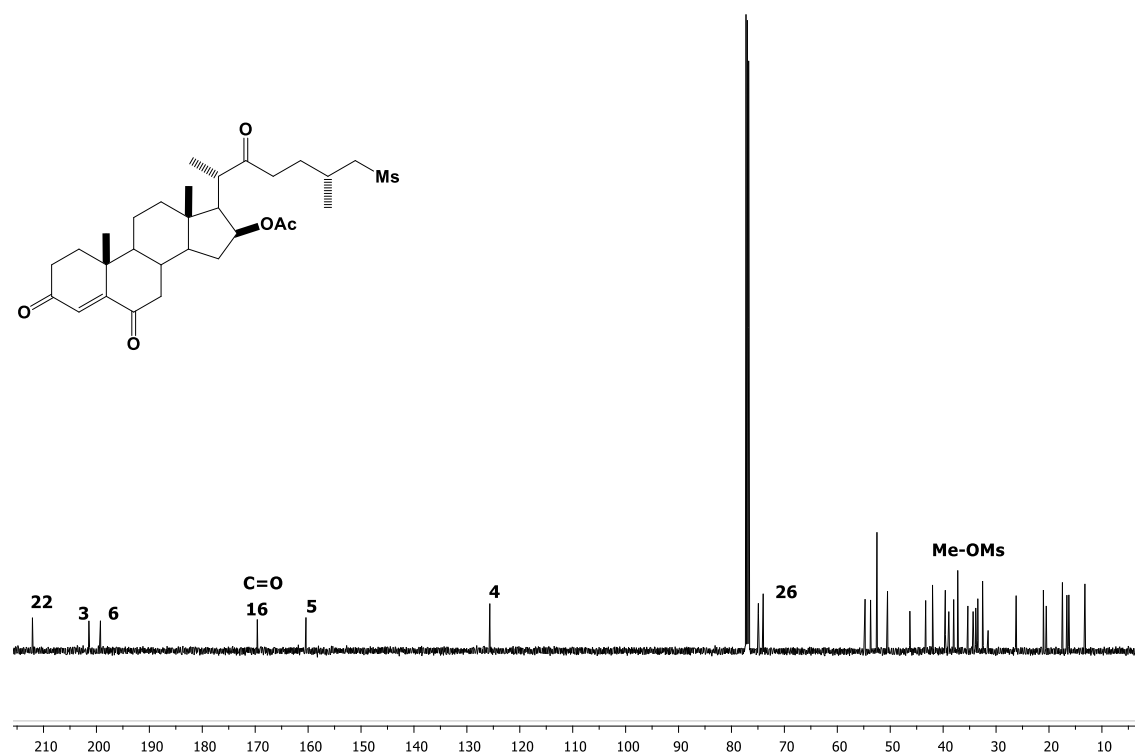
Espectro 23. Espectro IR compuesto **8**.

En el espectro de RMN ^1H del compuesto **8**, en 6.18 ppm se identifica una señal simple que corresponde al protón vinílico H-4, en 5.01 ppm se observa una señal múltiple que corresponde H-16. Los protones diasterotópicos H-26a y H-26b se presentan como una señal múltiple en 4.06 ppm, debido al efecto de desprotección del grupo mesilato. En 3.03 ppm se observa una señal nueva que corresponde a los protones del metilo del metansulfónilo (CH_3SO_3). Las demás señales no sufren ningún cambio significativo con respecto al espectro de RMN ^1H del compuesto **7**.



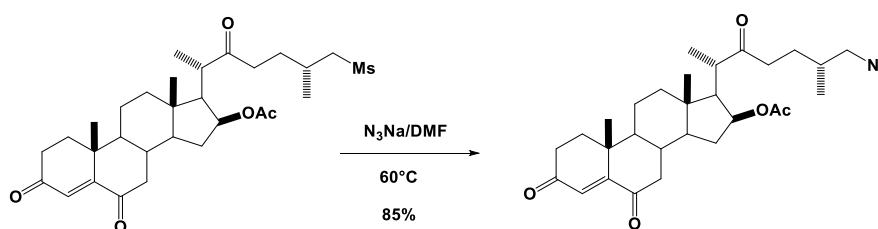
Especro 24. Espectro RMN ¹H de compuesto 8.

En el espectro de RMN ¹³C, en 37.2 ppm se observa una señal nueva que corresponde al metilo del mesilo. En 74.0 ppm se localiza C-26, observándose un desplazamiento a frecuencias altas en comparación del compuesto 7 (67.5 ppm), debido al efecto de desprotección del grupo mesilo. En 169.6 ppm se observan el carbono de carbonilo que corresponde al acetato C-16 respectivamente. El resto de las señales no presentan cambios significativos con respecto a los observados en el compuesto 7.



Espectro 25. Espectro RMN ^{13}C de compuesto **8**.

5.1.8 Acetato de (22*S*,25*R*)-3,6, 22-trioxo-26-azidocolest-4-en-16 β -ilo (**9**).



La obtención del compuesto **9** se realizó por una reacción de sustitución nucleófila mediante un mecanismo $\text{S}_{\text{N}}2$, el cual es un proceso concertado y consiste en el ataque del nucleófilo al carbono que soporta al grupo saliente, al mismo tiempo que ataca el nucleófilo se produce la ruptura enlace carbono- grupo saliente; de esta manera obteniendo el producto final.

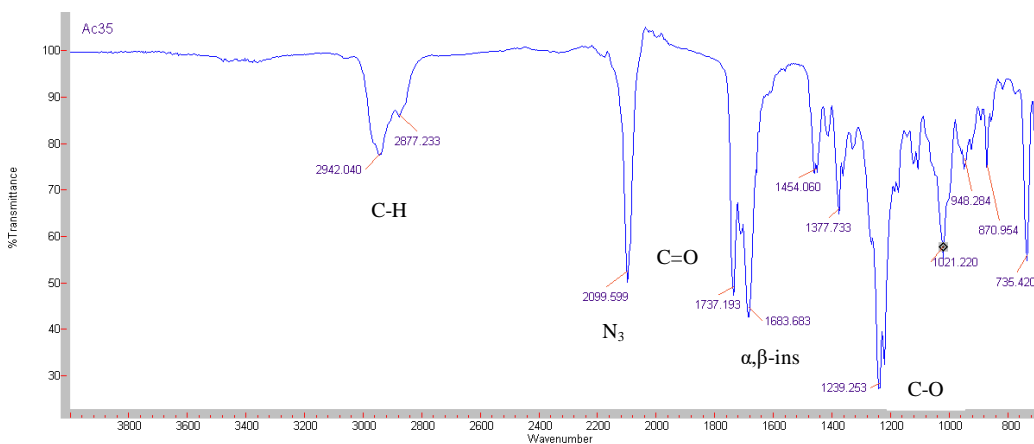
Los disolventes más adecuados para las $\text{S}_{\text{N}}2$ son los disolventes apróticos polares, ya que estos consiguen disolver los reactivos que generalmente son muy polares, pero rodean poco el nucleófilo dejándole libertad para atacar al sustrato.

Caracterización de 9.

Espectrometría de masas:

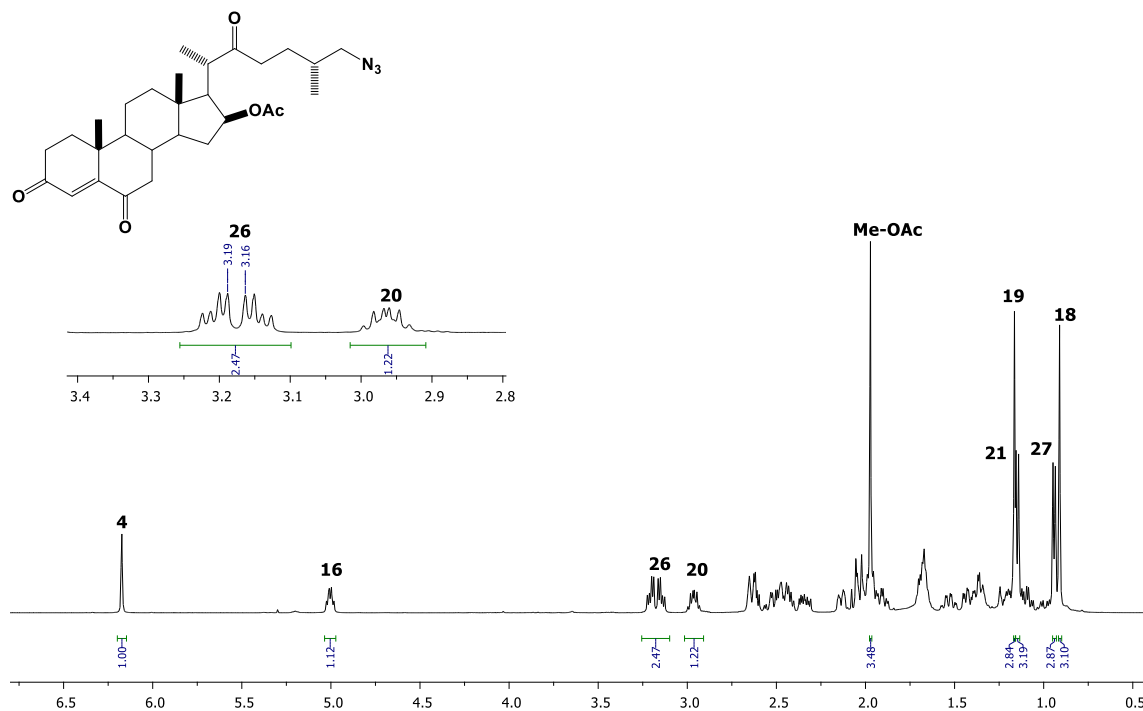
En el análisis que se realizó de espectroscopia de masas fue de gran importancia ya que nos ayudó a determinar con precisión el peso molecular con respecto a la formula molecular del compuesto **9**, obteniendo el valor observado: 512.31 y estimado: 511.66.

En el espectro de IR se observa una banda de tensión característica de N₃ en 2099 cm⁻¹ de la posición C-26. Se observan dos señales intensas correspondientes a los enlaces C=O de cetona y de una α,β-insaturada en 1737 y 1683 cm⁻¹. De igual manera observamos una banda de tensión del enlace C-O (éster) en 1239.25cm⁻¹.



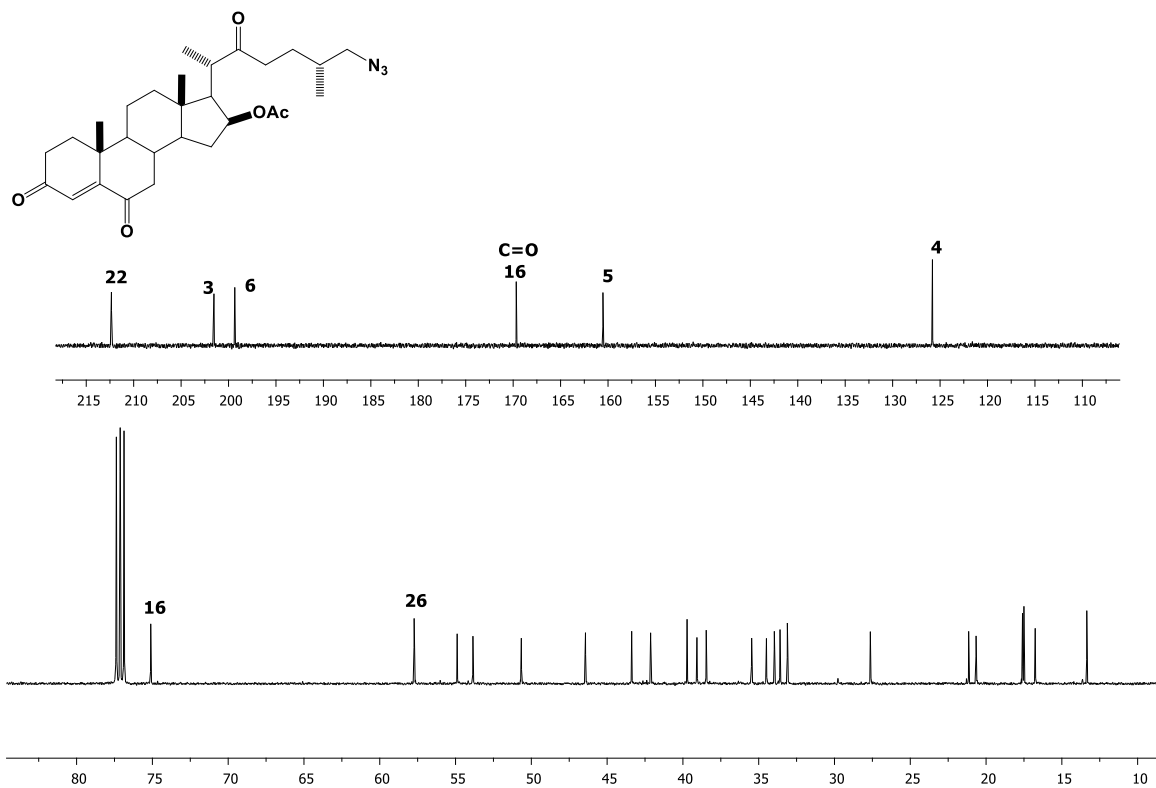
Espectro 26. Espectro IR compuesto **9**.

En el espectro de RMN de ¹H de **9**, no se observa en 3.03 ppm una señal que correspondía a los protones del metilo del metansulfónilo (CH₃SO₃), debido a que se llevó a cabo la sustitución por parte del grupo azida. Los protones de H-26a y H-26b se desplazaron a frecuencias bajas en comparación del espectro de ¹H del compuesto mesilado, encontramos una señal doble de doble de doble en 3.22 con H-26 con $J_{gem} = 12$ Hz, $J_{26a-25} = 5.8$ Hz, $J_{26b-25} = 6.6$ Hz.



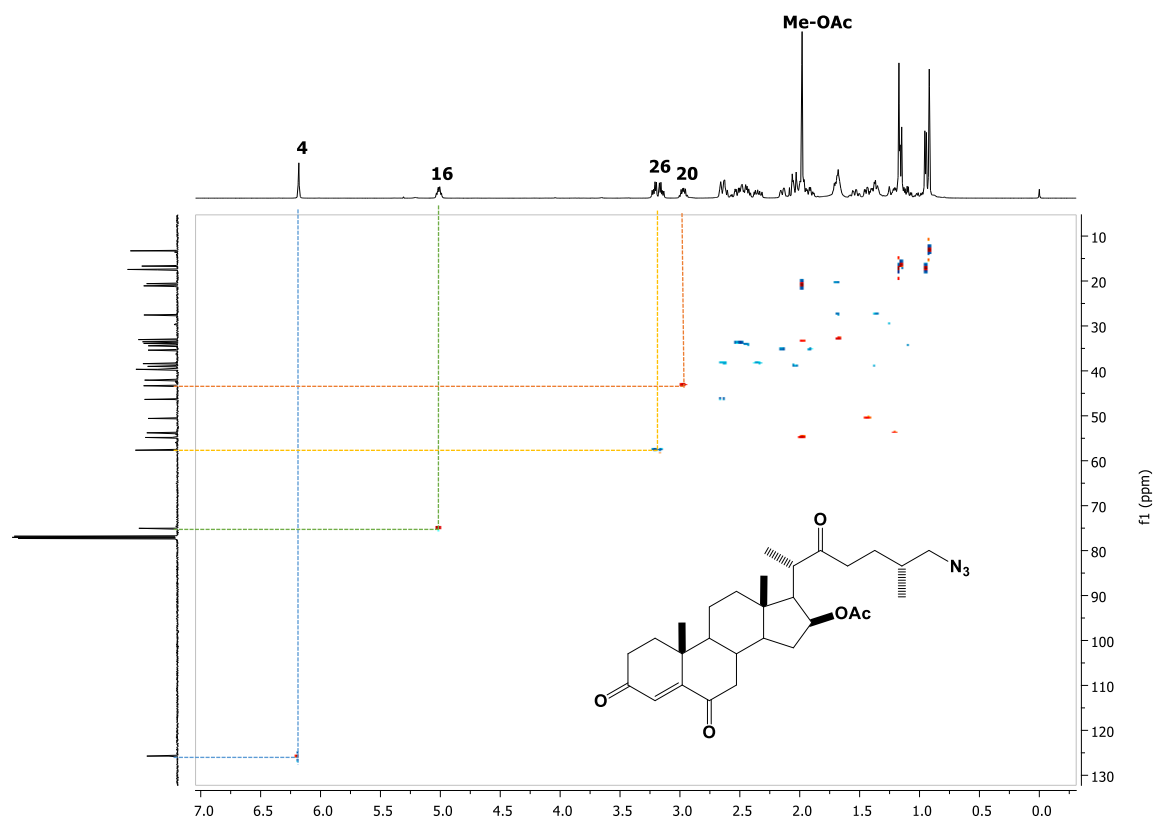
Espectro 27. Espectro RMN ^1H de compuesto **9**.

En el espectro de RMN ^{13}C se puede observar un cambio significativo con un desplazamiento a frecuencias bajas en 57.7 ppm corresponde C-26 en comparación al espectro RMN ^{13}C del compuesto **7** que se encontraba en 74.0 ppm, se observan señales características para C-22, C-3 y C-6 en 211.4, 201.3 y 198.2 ppm respectivamente. El carbono del acetato de C-16 en 169.3. Los carbonos vinílicos C-4 y C-5 se pueden observar en 125.4 y 160.1 ppm respectivamente.



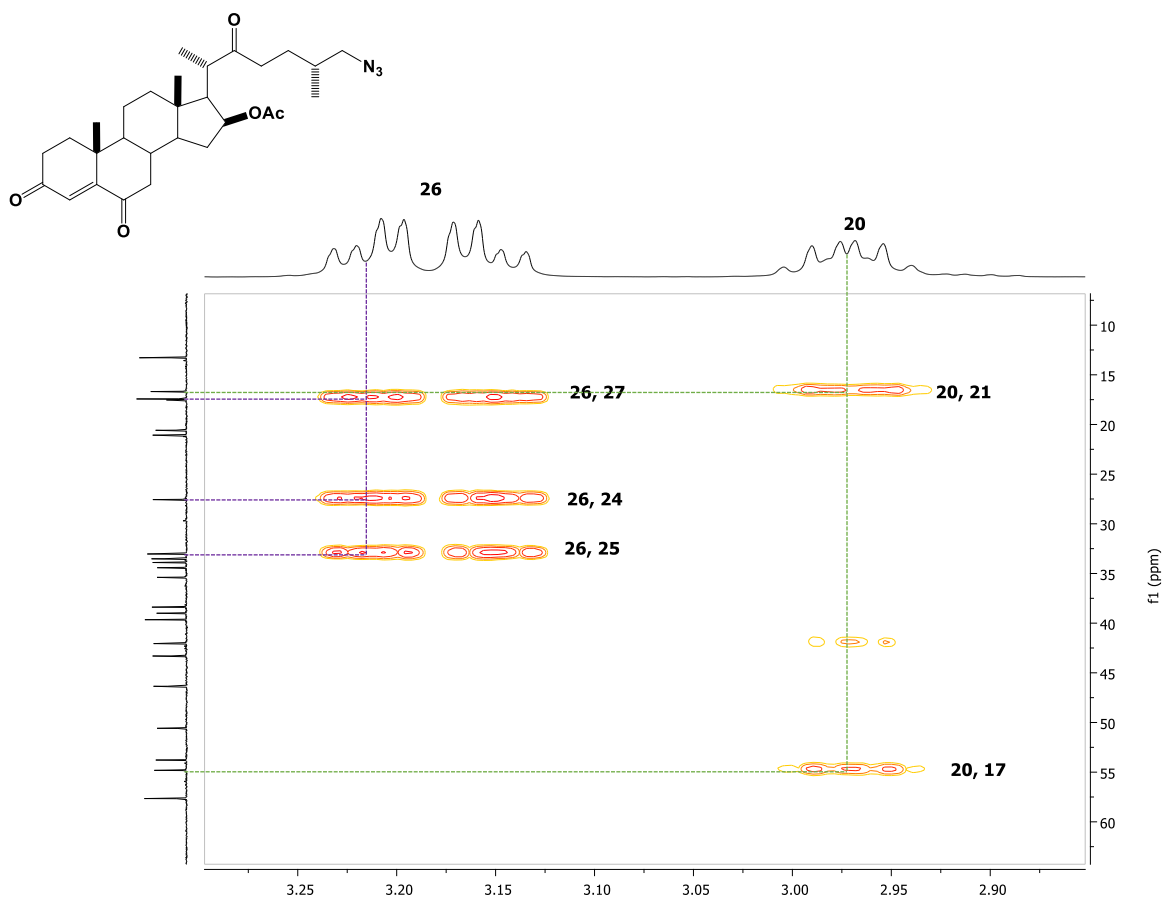
Espectro 28. Espectro RMN ^{13}C de compuesto **9**.

El experimento de HSQC nos permitió observar la correlación de los protones unidos directamente con su carbono.



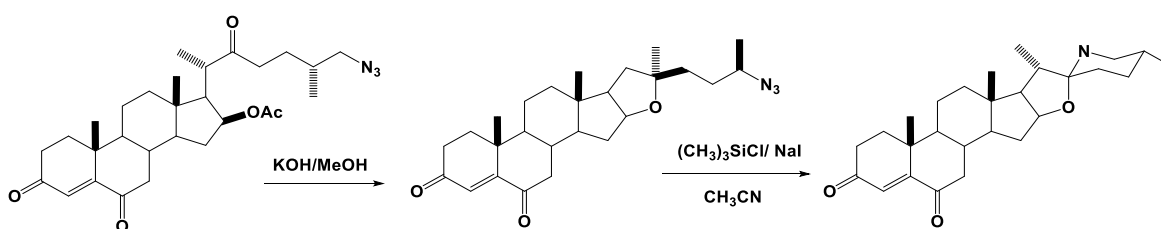
Espectro 29. Espectro RMN HSQC de compuesto **9**.

Se realizó una expansión del experimento HMBC, en donde se observa las señales más importantes del compuesto **8**, en el espectro se observa los acoplamientos que tiene H-26 con C-27, C-24, C-25 y H-20 con C-21, C-17 respectivamente.



Espectro 30. Espectro RMN HMBC de compuesto **9**.

Formación de la cadena aminoespírocetalica (**10**)



Para la formación de la cadena aminoespírocetalica el compuesto **9** se hidrolizo el acetato de la posición C-16 con una solución al 20% de KOH en MeOH, después de aproximadamente 2 h se observaba por cromatografía en capa fina la hidrolisis total del compuesto dando un compuesto más polar, pero se tuvo un inconveniente ya que al realizar la purificación del crudo de reacción este se degradaba en la columna, por lo que se intentó

la siguiente reacción, la cual consiste en la reducción del grupo azida que se encuentra en C-26, se utilizó una metodología empleando $(\text{CH}_3)_3\text{SiCl}/\text{NaI}$ en CH_3CN , optimizada por nuestro grupo de investigación [35].

Con la experiencia que se tiene al reducir la azida se llevaba la ciclación del mismo, por lo que en la placa de CCF se observa un compuesto aún más polar que el crudo que se sometió a reaccionar.

No se logró la caracterización del compuesto final, ya que al ser purificado este se degrada en la columna. Por esta razón y por cuestiones de tiempo se decidió concluir con la síntesis.

5.2 Actividad biológica

Para realizar uno de los objetivos que se propusieron al inicio de este trabajo, el llevar a cabo pruebas biológicas de actividad antiproliferativa, por lo que se llevaron al Bio-Lab, donde se realizó el *screening* correspondiente, por el Dr. José Manuel Padrón Carrillo del Instituto Universitario de Bio-Orgánica “Antonio González” de la Universidad de la Laguna (Tenerife).

Como modelo para estudiar la actividad antiproliferativa de los compuestos obtenidos en este trabajo, se emplearon las siguientes líneas celulares de tumores sólidos humanos: A549 (pulmón), HBL-100, (mama), HeLa (cervix), SW1573 (pulmón), T-47D (mama) y WiDr (colon).

6.2.1 Resultados de la actividad biológica.

Se pretendía hacer el análisis de ocho de los compuestos sintetizados (**2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9**), sin embargo, solo fue posible realizar el *screening* de 4 (compuestos **2, 5, 7 y 8**) debido a que los demás fueron insolubles en DMSO.

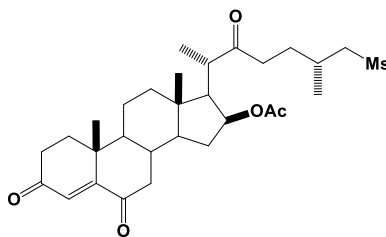
A continuación se muestra los valores de la actividad (IG_{50}) que se define como la concentración del compuesto necesaria para inhibir el 50% del crecimiento celular.

Tabla 1. Actividad antiproliferava (IG_{50}) contra células sólidas humanas.

Compuesto	A549	HBL-100	HeLa	SW1573	T-47D	WiDr
2	1.0E-04	1.0E-04	1.0E-05	2.3E-05	7.9E-06	1.0E-04
5	5.3E-06	9.7E-05	4.8E-06	6.6E-06	2.4E-06	3.8E-06
7	4.0E-05	5.0E-05	3.5E-05	4.1E-05	2.6 E-05	3.7E-05
8	3.1E-05	3.1E-05	2.8E-05	3.4E-05	2.9E-05	3.0E-05

Como podemos observar en la tabla 1, el compuesto que presento una IG_{50} en un rango menor a 7 μM fue el compuesto **5**, ya que inhibe a cinco líneas celulares y el compuesto **2** solo presento tener actividad biológica en una sola línea celular (T-47D).

La IG_{50} que presento el compuesto **5**, puede relacionarse con su estructura ya que presenta un grupo hidroxilo en el C-3 del esqueleto esteroidal y una cadena lateral semejante a la del colesterol.

**Figura x.** Estructura de **5**.

6. Conclusiones

- ✓ Se desarrolló nuevas rutas de síntesis para obtener alcaloides de tipo espirosolano, con modificaciones de los anillos A, B de la diosgenina.
- ✓ Se optimizaron las condiciones de reacción para obtener derivados 22-oxocolestánicos, mediante la apertura de los anillos E y F.
- ✓ Se logró la desprotección regio-selectiva del alcohol homoalílico (Δ^5 -3 β -ol), manteniendo, manteniendo protegidas las posiciones 16 y 26 del derivado 22 oxocolestánico.
- ✓ Se determinó las mejores condiciones para la obtención de un sistema Δ^4 3,6-dicetónico, utilizadas en nuestro grupo de investigación.
- ✓ Los compuestos obtenidos durante la síntesis fueron purificados y caracterizados mediante métodos físicos y espectroscópicos.
- ✓ Se realizaron ensayos de actividad antiproliferativa de los compuestos obtenidos.

7. Parte experimental

Cromatografía

La purificación de todos los productos esteroidales se realizó empleando la técnica de cromatografía tipo flash, utilizando columnas de vidrio empacadas con gel de sílice grado 60 Merck (230-400 mallas).

Para la cromatografía analítica en capa fina (CCF) se utilizaron placas comerciales de gel de sílice grado 60, con espesor de capa 0.25 mm que contiene indicador de fluorescencia (F₂₅₄) empleando para su revelado una lámpara de luz ultravioleta de onda (254 nm, lámpara de UVG-54) o por calcinación de las placas impregnadas con ácido sulfúrico al 5%.

Puntos de fusión:

Los puntos de fusión se midieron en un aparato Melt-Temp, con escala en grados Celsius, utilizando la técnica de capilar abierto.

Espectroscopia de infrarrojo:

Los espectros de infrarrojo se registraron en un espectrofotómetro Agilent Cary 630 FTIR, los datos se expresan en números de onda $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) utilizando interfaces como ATR con punta de diamante y DIAL PATH.

Disolventes:

Los disolventes utilizados se purificaron según las técnicas descritas en la literatura.

Polarimetría:

Las rotaciones específicas se midieron en un polarímetro Perkin-Elmer 343 usando cloroformo como disolvente. La fuente de radiación fue una lámpara de sodio de 589 nm.

RMN:

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN), se determinaron en espectrómetros Bruker Avance III TM-500 MHz, Varian-Mercury a 400 y a 300 MHz para ^1H , empleando CDCl_3 como disolvente, a menos que se indique lo contrario y tetrametilsilano como referencia interna.

Los desplazamientos químicos se reportan en ppm (δ), la multiplicidad se indica de la siguiente manera: s (señal simple), d (señal doble), da (señal doble ancha), t (señal triple), c (señal cuádruple), dd (señal doble de doble), ddd (señal doble de doble de dobles), dc (doble de cuartetos), m (señal múltiple), las constantes de acoplamiento (J) se expresan en Hertz (Hz).

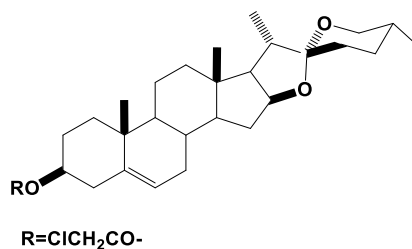
Purificación de diosgenina (1).

La diosgenina comercial se purificó por cromatografía por columna con soporte gel de sílice, empleando un sistema 7/3 (hexano/AcO-Et), los desplazamientos fueron comparados con los reportados en la literatura [36].

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 5.34 (1H, d, $J=5.2$ Hz, H-6), 4.40 (1H, ddd, $J_{16\alpha-17\alpha}=J_{16\alpha-15\alpha}=J_{16\alpha-15\beta}=7.6$ Hz, H-16), 3.51 (1H, m, H-3), 3.45 (1H, dd, $J_{\text{gem}}=11.0$ Hz, $J_{26e-25a}=4.0$ Hz, H-26e) 3.37, (1H, dd, $J_{\text{gem}}=11.0$ Hz, $J_{26e-25a}=11.0$ Hz, H26a), 0.79 (3H, s, CH_3 -,18) ppm.

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 14.5 (C-21), 16.3 (C-18), 17.1 (C-27), 19.4 (C19), 20.8 (C11), 28.7 (C-24), 30.3 (C-25), 31.3 (C-23), 31.4 (C-2), 31.6 (C-8), 31.8 (C-15), 32.0 (C-7), 36.6 (C10), 37.2 (C-1), 39.7 (C-12), 40.2 (C-13), 41.6 (C-20), 42.2 (C-4), 50.0 (C-9), 56.5 (C14), 62.0 (C-17), 66.8 (C-26), 71.7 (C-3), 80.8 (C16), 121.4 (C-6), 140.8 (C-5), 109.3 (C-22) ppm.

Cloroacetato de diosgenina (2).



En un matraz se colocó 1g (2.32 mmol) diosgenina, se disolvió en CH_2Cl_2 , se adiciono 0.40 mL de ClCH_2COCl (5 mmol)/ 1.63 mmol de DMAP, se mantuvo en agitación constante, la reacción se siguió por CCF hasta consumir la materia prima, se realizó el *work up*. El crudo de reacción se lavó con una solución saturada de NaHCO_3 (4×15 mL), salmuera (3×15 mL), después con H_2O destilada. La fase orgánica se secó con MgSO_4 anhidro, se filtró y el disolvente se evaporó a presión reducida. El crudo de reacción se purifico en un sistema 9/1 (hexano: AcOEt).

Pf: 206-209 °C

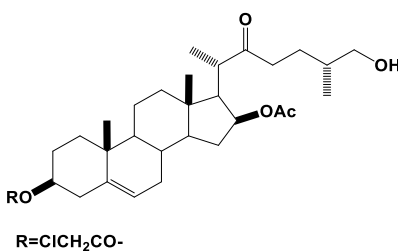
$[\alpha]_D^{25}$: -0.96 (*c* 0.11, CHCl_3)

IR (cm^{-1}): 2848 (vC-H), 1734 (vC=O ester), 1150 (vC-O-C éster), 798 (vC-Cl).

RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ : 5.37 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, H-6), 4.70 (1H, ddd, $J_{16\alpha-17\alpha} = J_{16\alpha-15\alpha} = J_{16\alpha-15\beta} = 7.6$ Hz, H-16), 4.40 (1H, m, H-3), 3.46 (1H, dd, $J_{\text{gem}} = 11.0$ Hz, $J_{26e-25a} = 4.0$ Hz, H-26e) 3.37, (1H, dd, $J_{\text{gem}} = 11.0$ Hz, $J_{26e-25a} = 11.0$ Hz, H26a), 1.01 (3H, s, H-19), 0.95 (3H, d, $J = 7$ Hz, H-21), 0.77(3H, d, $J = 5$ Hz, CH_3 , 27), 0.76 (3H, s, CH_3 , 18).

RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ : 14.5 (C-21), 16.3 (C-18), 17.1 (C-27), 19.3 (C19), 20.8 (C-11), 28.8 (C-24), 30.3 (C-25), 31.3 (C-23), 31.4 (C-2), 31.7 (C-15), 31.8 (C-8), 32.0 (C-7), 36.7 (C-10), 37.8 (C-1), 39.7 (C-12), 40.2 (C-13), 41.5 (C-20), 41.6 (C-4), 49.9 (C-9), 56.5 (C-14), 62.0 (C-17), 66.8 (C-26), 76.0 (C-3), 80.8 (C-16), 109.3 (C-22), 122.8 (C-6), 139.2 (C-5), 166.7 (ClCH_2CO), 41.2 (ClCH_2CO_2) ppm.

16-acetato 3-cloroacetato de (20S,25R)-26-hidroxi-22-oxocolest-5-eno-3 β ,16-diilo (3).



En un matraz de 50 mL, se colocaron 0.6 g (1.18 mmol) de **2** y se disolvió en 10 mL de CH_2Cl_2 , una vez disuelta se adicionaron 0.3 mL (3.17 mmol) de Ac_2O , se enfrió a -3 °C, enseguida se adicionaron 0.320 mL de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, la reacción se siguió por CCF durante 10

minutos con agitación constante, después se realizó el *work up* adicionando agua con hielo. La mezcla de reacción se extrajo con CH_2Cl_2 , después con una solución saturada de NaHCO_3 (hasta neutralizar), salmuera (3x15mL), posteriormente con agua destilada. Finalmente la fase orgánica se secó con MgSO_4 y se concentró a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna utilizando un sistema 85/15 (hexano: AOEt) como eluyente.

Pf: 188-192 °C

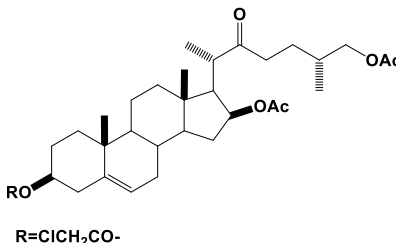
$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: + 0.73 (*c* 0.11, CHCl_3)

IR (cm^{-1}): 3400 ($\nu\text{O-H}$), 2935 ($\nu\text{C-H}$), 1730 ($\nu\text{C=O}$, éster), 1378 ($\nu\text{O-C-O}$), 1019 ($\nu\text{C-O-C}$), 789 ($\nu\text{C-Cl}$).

RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ : 5.39 (d, 1H, $J_{\text{H}_6-\text{H}_7\text{e}} = 5.2$ Hz, H-6), 4.99 (m, 1H, H-3), 4.71 (m, 1H, H-16), 4.04 (s, 2H, ClCH_2CO_2), 3.43 (d, 1H, $J = 6$ Hz, H-26a), 2.96 (m, 1H, H-20), 2.64 (m, 1H, H-23), 1.97 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{-C16}$), 1.15 (d, 3H, $J_{21-20} = 7$ Hz, $\text{CH}_3\text{-21}$), 1.03 (s, H-3, $\text{CH}_3\text{-19}$), 0.91 (d, 3H, $J_{27-25} = 7$ Hz, $\text{CH}_3\text{-27}$), 0.87 (s, H3, $\text{CH}_3\text{-18}$) ppm.

RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ : 13.2 (C-18), 16.7 (C-21), 16.9 (C-27), 19.3 (C-19), 20.7 (C-11), 26.1 (C-24), 27.5 (C-2), 31.2 (C-8), 31.6 (C-7), 34.8 (C-15), 35.5 (C-25), 36.5 (C-10), 36.7 (C-1), 37.8 (C-4), 38.5 (C-23), 39.6 (C-12), 41.2 ($\text{ClCH}_2\text{CO}_2\text{-C3}$), 41.9 (C-13), 43.5 (C-20), 49.7 (C-9), 53.9 (C-14), 55.0 (C-17), 67.5 (C-26), 73.4 (C-3), 75.7 (C-16), 122.8 (C-6), 139.1 (C-5), 214.1 (C-22), 170.2 (ClCH_2CO , C-3), 178.3 (CH_3CO , C-16), 21.2 ($\text{CH}_3\text{-CO}_2\text{-16}$) ppm.

16,26-diacetato 3-cloroacetato de (20S,25R)-22-oxocolest-5-eno-3 β ,16 β ,26-triilo (4).



En un matraz de 50 ml se colocaron 150 mg (0.272 mmol) de materia prima (3), se disolvió en 4 mL de CH_2Cl_2 :2 mL de Py a temperatura ambiente, se adicionaron lentamente 0.4 mL (4.23 mmol) Ac_2O , la mezcla de reacción se mantuvo en agitación constante hasta

consumir la materia prima (aprox. 2 h). La reacción se detuvo con una solución HCl al 5% (frio). La mezcla de reacción se lavó con una solución saturada de NaHCO_3 (3×20 mL), salmuera (3×20 mL) y finalmente con H_2O . La fase orgánica se secó con MgSO_4 , se filtró y el disolvente se evaporó a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna utilizando un sistema 8/2 (hexano: AOEt) como eluyente.

Pf: 180-183 °C

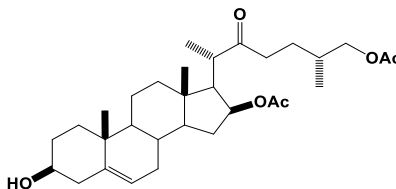
[α]_D²⁵: +0.46 (*c* 0.11, CHCl_3)

IR (cm^{-1}): 2936 (νC-H), 1730 (νC=O, éster), 1378 (νO-C-O), 1027 (νC-O-C), 789 (νC-Cl).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl_3) δ: 5.37 (d, 1H, $J_{\text{H6-7e}} = 5.0$ Hz, H-6), 4.97 (m, 1H, H-3), 4.68 (m, 1H, H-16), 4.02 (s, 2H, ClCH_2CO_2), 3.90 (ddd, 1H, $J_{26a-25} = 6$ Hz, $J_{26b-25} = 5.6$ y $J_{26gem} = 17.0$ Hz, H-26a, H-26b), 2.94 (m, 1H, H-20), 2.61 (m, 1H, H-23), 2.05 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{-C26}$), 1.95 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{-C16}$), 1.13 (d, 3H, $J_{21-20} = 7$ Hz, $\text{CH}_3\text{-21}$), 1.02 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-19}$), 0.91 (d, 3H, $J_{27-25} = 7$ Hz, $\text{CH}_3\text{-27}$), 0.86 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-18}$) ppm.

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl_3) δ: 13.2 (C-18), 16.6 (C-21), 16.8 (C-27), 19.3 (C-19), 20.7 (C-11), 26.7 (C-24), 27.5 (C-2), 31.2 (C-8), 31.6 (C-7), 34.8 (C-15), 36.5 (C-10), 36.7 (C-1), 37.8 (C-4), 38.3 (C-23), 39.6 (C-12), 41.2 ($\text{ClCH}_2\text{CO}_2\text{-C3}$), 41.8 (C-13), 43.5 (C-20), 49.7 (C-9), 53.9 (C-14), 55.0 (C-17), 68.9 (C-26), 75.7 (C-3), 76.0 (C-16), 122.7 (C-6), 139.1 (C-5), 212.7 (C-22), 166.7 ($\text{ClCH}_2\text{CO}_2\text{-C3}$), 169.8 (CH_3CO , C-16), 171.5 ($\text{CH}_3\text{-CO}$, C-26), 21.0 ($\text{CH}_3\text{-CO}_2\text{-26}$), 21.1 ($\text{CH}_3\text{-CO}_2\text{-16}$) ppm.

Diacetato de (20*S*,25*R*)-3β-hidroxi-22-oxocolest-5-eno-16β,26-diilo (5).



Se colocaron 100 mg de materia prima (**4**) en un matraz de 50 mL, se disolvió en 5 mL Et/1 mL Py, se colocó en un baño maría a 65°C, se adicionó 20 mg (0.26 mmol) tiourea, la reacción se mantuvo en agitación constante hasta consumir materia prima. Se realizó el *work up* (H_2O /hielo), se realizaron las extracciones CH_2Cl_2 , se lavó con solución de HCl 5%

(3×15 mL), NaHCO₃ (3×15 mL), salmuera (3×15 mL) y finalmente con H₂O destilada. La fase orgánica se secó con MgSO₄ y se concentró a presión reducida. El crudo de reacción se purificó con un sistema 8/2 (hexano: AcOEt) como eluyente.

Pf: 142-145 °C

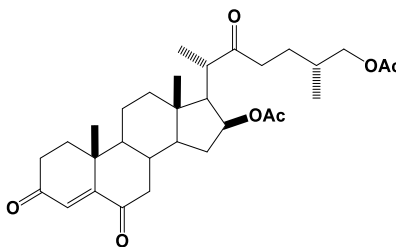
[α]_D²⁵: +0.14 (*c* 0.1, CHCl₃)

IR (cm⁻¹): 3449 (νO-H), 2934 (νC-H), 1735 (νC=O), 1371 (νO-C-O).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 5.34 (d, 1H, *J*_{6-7_{ec}} = 5 Hz, H-6), 4.97 (m, 1H, H-16), 3.90 (ddd, *J*_{26a-25} = 3 Hz, *J*_{26b-25} = 3 Hz *J*_{gem} = 6 Hz, 2H, H-26), 3.50 (m, 1H, H-3), 2.95 (m, 1H, H-20), 2.06 (s, 3H, CH₃CO₂ C26), 1.96 (s, 3H, CH₃CH₂, C16), 1.14 (d, *J*_{H21-H20} = 7.0 Hz, 3H, H-21), 1.01 (s, 3H, H-19), 0.92 (d, *J*_{H27-H25} = 7.0 Hz, 3H, H-27), 0.87 (s, 3H, H-18).

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ: 13.2 (C-18), 16.6 (C-21), 16.8 (C-27), 19.4 (C-19), 20.7 (C-11), 26.7 (C-24), 31.2 (C-8), 31.6 (C-7), 34.8 (C-15), 36.4 (C-10), 37.1 (C-1), 38.3 (C-23), 39.6 (C-12), 41.9 (C-13), 42.2 (C-4), 43.5 (C-20), 49.8 (C-9), 53.9 (C-14), 55.0 (C-17), 68.9 (C-26), 71.6 (C-3), 75.8 (C-16), 121.6 (C-6) 140.7 (C-5), 212.8 (C-22), 169.8 (CH₃CO, C-16), 171.3 (CH₃CO, C-26), 21.0 (CH₃-CO₂, C-26), 21.1 (CH₃-CO₂-16) ppm.

Diacetato de (25*R*)-3,6,22-trioxocolest-4-eno-16β,26-diilo (6).



a) Preparación del reactivo de Jones

En un vaso de precipitado se pesó CrO₃ (0.14 g, 1.4 mmol) y se disolvió en 0.43 mL de H₂O destilada y 0.12 mL de H₂SO₄.

b) Preparación del compuesto 6

En un matraz de bola de 25 mL se colocó el compuesto **5** (0.18 g, 0.34 mmol) y se disolvió con 3 mL de CH₂Cl₂ y 10 mL de acetona. A continuación, se agregaron 0.5 mL del reactivo de Jones con lo que la solución pasó de transparente a naranja y se formó un precipitado

color verde-azul. Después de 5 minutos de agitación constante a $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ se agregó la mínima cantidad de isopropanol, para eliminar el exceso de reactivo de Jones, hasta que la solución cambió de naranja a color verde-azul. El crudo de reacción se filtró en un matraz kitazato para detener las sales de cromo, la fase orgánica se lavó con una solución saturada de Na_2SO_3 ($3\times 20\text{ mL}$) y salmuera ($3\times 15\text{ mL}$). La fase orgánica se secó con MgSO_4 anhidro, se filtró y el disolvente se evaporó a presión reducida.

El compuesto se purificó por cromatografía en columna utilizando como eluyente una mezcla de disolventes 85/15 (hexano: AcOEt).

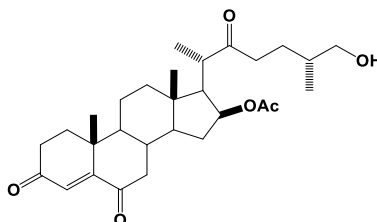
Pf: 175-177 $^{\circ}\text{C}$

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: +0.46 (*c* 0.1, CHCl_3)

IR (cm^{-1}): 2945 ($\nu\text{C-H}$), 1732 ($\nu\text{C=O}$), 1684 ($\nu\text{C=O}$, cetonas α,β -insaturadas), 1234 ($\nu\text{C-O}$).

RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ : 6.17 (s, 1H, H-4), 5.00 (m, 1H, H-16), 3.89 (dd, $J_{\text{H}26-\text{H}25} = 3.0\text{ Hz}$, $J_{\text{gem}} = 6.0\text{ Hz}$, 2H, H-26), 2.96 (m, 1H, H-20), 2.05 (s, 3H, CH_3CO_2 , C26), 1.96 (s, 3H, CH_3CO_2 , C-16), 1.10 (s, 3H, H-19), 1.08 (d, $J_{21-20} = 7.5\text{ Hz}$, 3H, H-21), 0.87 (d, $J_{27-25} = 7.0\text{ Hz}$, 3H, H-27), 0.85 (s, 3H, H-18).

RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ : 14.1 (C-18), 17.5 (C-21), 17.5 (C-27), 18.4 (C-19), 21.9 (C-11), 26.7 (C-24), 32.1 (C-25), 35.4 (C-1), 38.9 (C-12), 39.6 (C-10), 42.0 (C-13), 43.3 (C-20), 50.6 (C-9), 53.8 (C-14), 54.8 (C-17), 68.8 (C-26), 75.0 (C-16), 126.6 (C-4), 161.3 (C-5), 200.1 (C-6), 202.3 (C-3), 213.3 (C-22), 170.4 (CH_3CO , C-16), 170.4 (CH_3CO -C-26), 21.4 (CH_3 -CO, C-26), 21.8 (CH_3 -CO₂-16) ppm.

Acetato de (20*S*,25*R*)-26-hidroxi-3,6,22-trioxocolest-4-en-16β-ilo (7).

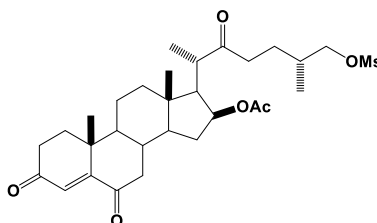
En un matraz se colocaron 100 mg de compuesto trictetónico **6** y se adiciono una solución de KOH/ MeOH al 5%, se mantuvo en agitación constante a 5°C durante aproximadamente 3 h. Se extrajo con CH₂Cl₂, la fase orgánica se lavó con salmuera (3×15 mL) y H₂O, la fase orgánica se secó con MgSO₄ y se evaporo a presión reducida. El crudo de reacción se purifico por cromatografía en columna utilizando un sistema 75/25 (hexano: AcOEt) como eluyente.

[α]_D²⁵: +0.46 (*c* 0.11, CHCl₃)

IR (cm⁻¹): 3480 (νO-H), 2945 (νC-H), 1732 (νC=O), 1685 (νC=O), 1234 (νC-O).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 6.15 (s, 1H, H-4), 4.98 (m, 1H, H-16), 3.40 (m, 2H, 2H, H-26), 2.95 (m, 1H, H-20), 1.95 (s, 3H, CH₃CO₂, C-16), 1.14 (s, 3H, H-19), 1.13 (d, *J*₂₁₋₂₀ = 7.0 Hz, 3H, H-21), 0.89 (s, 3H, H-18), 0.88 (d, *J*₂₇₋₂₅ = 8.0 Hz, 3H, H-27).

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ: 13.3 (C-18), 16.6 (C-21), 16.7 (C-27), 17.5 (C-19), 21.0 (C-11), 26.2 (C-24), 34.4 (C-7), 35.3 (C-1), 39.0 (C-12), 39.6 (C-10), 42.0 (C-13), 43.2 (C-20), 50.5 (C-9), 53.7 (C-14), 54.8 (C-17), 67.4 (C-26), 75.0 (C-16), 125.7 (C-4), 160.5 (C-5), 199.4 (C-6), 201.5 (C-3), 213.5 (C-22), 169.8 (CH₃CO, C-16), 20.6 (CH₃-CO₂-16) ppm.

Metanosulfonato de (20*S*,25*R*)-16β-acetoxi-3,6,22 trioxocolest-4-en-26-ilo (8).

En un matraz de 50 mL se colocaron 0.1 g (0.20 mmol) del compuesto **7**, se disolvió en 100 μL trietilamina (exceso molar 50%) y 2 mL CH₂Cl₂, se adicionó lentamente 84 μL MsCl

(exceso molar 10%) en un periodo 5-10 min a -10°C . La reacción se siguió por CCF hasta consumir la materia prima. La reacción se vertió en un vaso de precipitado con agua/ hielo durante 20 minutos. Posteriormente el crudo de reacción se extrajo con CH_2Cl_2 (3×15 mL), la fase orgánica se lavó con una solución saturada de NaCl (3×10 mL), se secó con MgSO_4 anhidro, se filtró y el disolvente se evaporó a presión reducida. El crudo de reacción se purificó con un sistema 7/3 (hexano: AcOEt).

Pf: 120-123 $^{\circ}\text{C}$

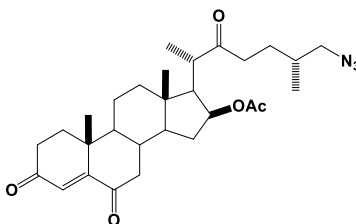
$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: + 0.8 (c 0.11, CHCl_3)

IR (cm^{-1}): 2945 ($\nu\text{C-H}$), 1731 ($\nu\text{C=O}$), 1684 ($\nu\text{C=O}$, α,β -insaturada), 1354 ($\nu\text{RO}_2\text{OR}$), 1242 ($\nu\text{C-O}$), 735 ($\nu\text{C-S}$).

RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ : 6.17 (s, 1H, H-4), 5.01 (m, H1, H-16), 4.04 (m, 2H, H-26), 3.02 (s, 3H, CH_3SO_2^-), 1.97 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{-C16}$), 1.16 (s, 3H, H-19), 1.15 (d, 3H, $J_{21-20} = 7.0$ Hz), 0.98 (d, 3H, $J_{27-25} = 6.5$ Hz), 0.91 (s, 3H, H-19) ppm.

RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ : 13.2 (C-18), 16.2 (C-27), 16.7 (C-21), 17.2 (C-19), 20.8 (C-11), 26.0 (C-24), 32.3 (C-25), 34.0 (C-7), 35.0 (C-1), 37.2 (CH_3SO_2^-), 38.7 (C), 39.3 (C-12), 41.7 (C-13), 43.0 (C-20), 50.3 (C-9), 52.2 (C-14), 54.5 (C-17), 74.0 (C-26), 75.0 (C-16), 125.4 (C-4), 160.1 (C-5), 198.9 (C-6), 201.1 (C-3), 211.4 (C-22), 169.3 ($\text{CH}_3\text{CO-}$, C-16), 20.6 ($\text{CH}_3\text{-CO-}$, C-16) ppm.

Acetato de (22S,25R)-3,6, 22-trioxo-26-azidocolest-4-en-3-ilo (9).



En un matraz de 50 mL se colocaron 0.1 g (0.18 mmol) del compuesto **8** y se disolvió en 3 mL de DMF, se adicionó 30 mg de NaN_3 , se mantuvo en agitación constante a 60°C , hasta consumir la materia prima (**8**), posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente, se realizaron las extracciones con CH_2Cl_2 , posteriormente se lavó con solución saturada de NaCl (3×15 mL) y H_2O destilada. Finalmente la fase orgánica se secó con MgSO_4 y se

eliminó el disolvente a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna con un sistema 85/15 (hexano: AcOEt) como eluyente.

Pf: 156-158 °C

[α]_D²⁵: - 0.5 (*c* 0.11, CHCl₃)

IR (cm⁻¹): 2099 (νN₃), 1737 (νC=O), 1683 (νC=O, α,β-insaturada), 1239 (νC-O).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 6.17 (s, 1H, H-4), 5.0 (m, H1, H-16), 3.17 (ddd, 2H, *J*_{26a-25} = 6 Hz, *J*_{26b-25} = 6 Hz, *J*_{26gem} = 12 Hz, H-26), 2.96 (m, H1, H-20), 1.97 (s, 3H, CH₃CO₂-C16), 1.16 (s, 3H, H-19), 1.14 (d, 3H, *J*₂₁₋₂₀ = 7 Hz, H-21), 0.94 (d, 3H, *J*₂₇₋₂₅ = 7 Hz, H-27), 0.91 (s, 3H, H-19) ppm.

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) 13.4 (C-18), 16.5 (C-21), 17.5 (C-27), 17.6 (C-19), 20.6 (C-11), 27.5 (C-24), 33.0 (C-25), 34.5 (C-7), 35.5 (C-1), 39.0 (C-12), 39.7 (C-23), 42.1 (C-13), 43.4 (C-20), 46.4 (C-17), 50.6 (C-9), 53.8 (C-14), 57.7 (C-26), 75.1 (C-16), 125.8 (C-4), 160.5 (C-5), 199.3 (C-6), 201.5 (C-3), 212.3 (C-22), 169.7 (CH₃CO-C-16), 21.5 (CH₃-CO-, C-16) ppm.

8. Referencias

[1]

<http://www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/Contenidos/estadisticas/2014/cancer0.pdf>.

[2] Eckart E. *Solanaceae and Convolvulaceae: Secondary Metabolites*, Springer, Berlin, 413, 453.

[3] Podolak, I.; Galanty, A.; Sobolewska, D. *Phytochem Rev* **2010**, 9, 425.

[4] Miyashita, H.; Ikeda, T.; Nohara, T. *Carbohydr. Res.* **2007**, 341, 2182.

[5] *Pure Appl Chem "The Nomenclature of Steroids"* **1989**, 61, 1783.

[6] Dewick, Paul M. "*Medicinal Natural Products*", John Wiley & Sons, Chichester, 1997, 240.

[7] Loyola-V., V. M.; Sanchez-I., P.; Gutierrez, L. C.; Galaz, P., R. *Quim. Méx* **2004**, 48, 67.

[8] Millward, M.; Powell, A.; Tyson, S. *J. Clin Oncol* **2005**, 23 218.

[9] Roddick, J., G. *Phytochemistry*, **1989**, 28, 2631.

[10] Mejía, L., F.; Gómez, R. *Act. Div. Cient.* **2013**. 16 (1) 215.

[11] Liu, L. Faming, Z.; Shenqing, G. [CN1552724], 1-5, 2004.

[12] Liu, L. Faming, Z.; Shenqing, G. [CN1629182], 1-3, 2005.

[13] Kim, Y. C.; Che, Q. M.; Gunatilaka, A. A. L.; Kingston, D. G. I. *J. Nat. Prod.* **1996**, 59, 283.

[14] Wanyonyi, A. W.; Chhabra, S. C.; Mkoj, G.; Eilert, U.; Njue, W. M. *Phytochemistry* **2002**, 59, 79.

[15] Hu, K.; Kobayashi, H.; Dong, A. J.; Jing, Y. K.; Iwasaki, S.; Yao, X. S. *Planta Med.* **1999**, 65, 35.

[16] Cham, B. E.; Daunter, B.; Evans, R. A. *Cancer Lett.* **1991**, 59, 183.

[17] Li, M.; Yu, B. *Org. Lett.* **2006**, 8, 2679.

[18] Pérez-L., K.; Brouatd, I.; Estévez, S.; Marrer, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, 20, 2690.

- [19] Sheu, J.; Huang, S.; Duch, C. *Nat. Prod.* **1997**, *60*, 900.
- [20] Sheu, J.; Wang, G.; Sun, P.; Duh, C. *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 224.
- [21] Parish, E.; Kisito, S.; Heidepriem, W. *Synth. Commun.* **1993**, *23*, 223.
- [22] Oprea, T. I.; García, A. *J. Comput. Aided Mol. Des.* **1996**, *10*, 186.
- [23] Moreno, M.; Melo, S.; Campos, A. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 3201.
- [24] Nangia, A.; Anthony A. *Synth. Commun.* **1996**, *26*, 225.
- [25] Hunter, A.; Priest, S. *Steroids* **2006**, *71*, 30.
- [26] Piers, E.; Worster, P. *Can. J. Chem.* **1977**, *55*, 733.
- [27] Aono, R.; Noriyuki, D.; Kobayashi, H.; Nakajima H.; Horikoshi, K. *Appl. Environ. Microbiol.* **1994**, *60*, 2518.
- [28] Rodríguez, J.; Jiménez, C.; *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 2612.
- [29] Zang, G.; Shen, S.; Lei, M.; Hu, L. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 5894.
- [30] Wu, J. J.; Shi, Y.; Tian, W.S. L. *Tetrahedron* **2015**, *56*, 1215.
- [31] Lefebvre, D. J.; Kamerling, J. P.; Vliegendaert, J. F.; *Organic. Lett.* **2000**, *2* (5), 701.
- [32] Li, S.-H.; Li, T-S. *Steroids* **1998**, *63*, 76.
- [33] Calvario, G., V. *Tesis de Maestría en Ciencias Químicas*, Facultad de Ciencias Químicas, BUAP. 2009.
- [34] Rosas, C., V. H. *Tesis de licenciatura*, Facultad de Ciencias Químicas BUAP. Diciembre, 2014.
- [35] Cortés, P., M.A. *Tesis de licenciatura*, Facultad de Ciencias Químicas, BUAP. Junio, 2014.
- [36] Ruri, R., Wong, T. *Magn. Reson. Chem.* **1993**, *31*, 278.

Capítulo II

1. Resumen

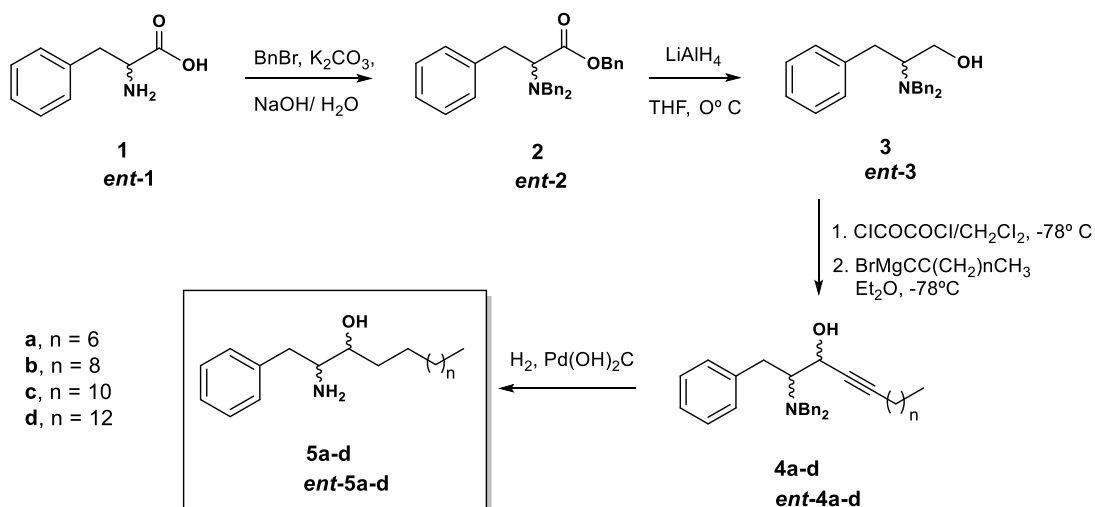
En el presente trabajo se describe el diseño y síntesis de nuevos aminoalcoholes inhibidores de CK1ε empleando como materia prima L y D-Fenilalanina, mediante la metodología enantio- y regioselectiva para la síntesis de aminoalcoholes.

El trabajo para obtener los *anti*-β-aminoalcoholes se inició con el *docking molecular*. Esta técnica nos permitió predecir la conformación preferente de nuestros compuestos, con el fin formar un complejo estable (proteína-ligando), obteniendo las energías de interacción (proteína-ligando) de nuestros compuestos con posible actividad frente a nuestra diana molecular, en este caso la CK1ε.

Se utilizó esta metodología (Esquema 1) para seguir explorando las relaciones estructura actividad de esta familia de compuestos bioactivos.

El trabajo experimental para obtener los *anti*-β-aminoalcoholes, se inició con la protección del grupo amino de la materia prima **1** y *ent*-**1** (L, D-fenilalanina), mediante una esterificación obteniendo el aminoácido perbencilado (**2**). A continuación se llevó la reducción de los compuesto **2** y *ent*-**2** en THF utilizando LiAlH₄ a 0°C. Posteriormente el compuesto **3** y *ent*-**3** se oxidó mediante las condiciones de Swern, en DMSO, ClCOCOC/CH₂Cl₂ a -78° C, en paralelo a una solución del alquino correspondiente (n = 6, 8, 10, 12) en Et₂O seco se añadió EtMgBr (3 M, en THF), la mezcla se calentó a reflujo y se adicionó lentamente a una solución del aldehído previamente formado en Et₂O. Finalmente se llevó a cabo una hidrogenación de **4** y *ent*-**4** obteniendo los correspondientes *anti*-β-aminoalcoholes (**5** y *ent*-**5**).

Por último se efectuó la evaluación biológica de los compuestos obtenidos en un panel de seis líneas celulares.



Esquema 1. Síntesis de nuevos *anti*-β-aminoalcoholes.

2. Introducción

Los *anti*-β-aminoalcoholes son compuestos orgánicos de origen natural o sintético. Durante los últimos años han llamado la atención en diversos grupos de investigación debido a su versatilidad que estos presentan, ya que pueden ser utilizados como ligandos quirales en síntesis asimétrica, sintones quirales en la síntesis de productos naturales, así como en la síntesis de compuestos que presentan diversas actividades biológicas [1].

Una clase importante de aminoalcoholes son los esfingolipidos, son lípidos de membrana que incluyen en su estructura las denominadas bases esfingoides conocidas también como bases de cadena larga o esfingosinas [2]. En particular los *anti*-β-aminoalcoholes de cadena larga han demostrado significativa actividad como antitumorales y citotóxicos [3]. Algunos ejemplos representativos incluyen compuestos marinos, dihidroesfingosina **6**, esfinganina **7** y clavaminol A y C (figura 1).

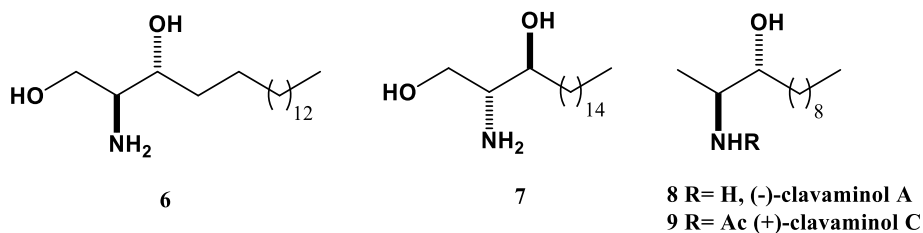


Figura 1. Esfingolipidos de compuestos marinos.

Además de formar parte estructural de la membrana, controlan diversos procesos celulares como crecimiento, proliferación y apoptosis, siendo una base para el diseño y síntesis de nuevos compuestos con actividad anticancerígena.

El genoma humano está formado por 518 genes que codifican más de 2000 proteínas quinasas diferentes. Estas proteínas son específicas de serina, treonina y tirosina, es decir fosforilan estos aminoácidos en las proteínas sustrato.

Las proteínas quinasas son enzimas responsables de la regulación de mecanismos celulares como muerte o división, el transporte y secreción de moléculas, el metabolismo o la síntesis de proteínas. La irregularidad de la actividad de las proteínas quinasas es la responsable de muchas enfermedades, como son el cáncer, la inflamación o desordenes neuronales [4].

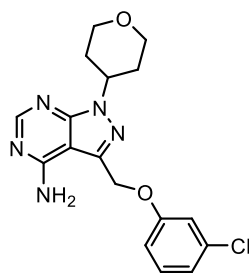
En la década de 1970 se caracterizó por primera vez, identificando a dos diferentes caseínas quinasas, caseína quinasa 1 (CK1) y caseína quinasa 2 (CK2). CK1 es una familia monómera Serina/ Treonina (Ser/Thr). La familia de la CK1 está formada por siete isoformas, CK1_α, CK1_β, CK1_{γ1}, CK1_{γ2}, CK1_{γ3}, CK1_δ y CK1_ε [5].

Las isoformas CK1 son las principales reguladoras del crecimiento celular, control de ciclo celular, reparación del DNA y apoptosis. Diversos estudios realizados demuestran que la CK1 juega un rol importante en la oncogénesis. La CK1_ε ha sido implicada en cáncer de colon, páncreas y mama, siendo la progresión del cáncer a través de la supresión de la apoptosis.

Para poder diseñar un nuevo fármaco se pueden seguir diferentes metodologías en función de que se conozca la estructura tridimensional de la diana farmacológica de interés. Una diana farmacológica es una macromolécula, generalmente de naturaleza proteica, ubicada en la célula, en un área fisiológica concreta, como la membrana celular, citoplasma o en el núcleo, capaz de reconocer un sustrato produciendo una respuesta celular

Con respecto al diseño y síntesis de inhibidores CK1, se han desarrollado 3 diferentes estrategias:

- I. Sobre el sustrato: se han desarrollado diversas modificaciones de los inhibidores de la CK1 (**PF-4800567**).
- II. Para la segunda estrategia, se ha seguido el surgimiento de una nueva familia de inhibidores selectivos de la CK1_ε, capaz de reducir la fosforilación TDP-43 (TAR-DNA-Binding protein-43) y presentar excelentes propiedades farmacocinéticas.
- III. La tercera estrategia, consiste en encontrar un cribado virtual, la cual se ha convertido en una ventaja prometedora para la síntesis de nuevos inhibidores de la CK1_ε [6].

**PF-4800567****Figura 2.** Estructura de PF-4800567.

3. Antecedentes

Los β -aminoalcoholes se encuentran presentes en una gran variedad de compuestos naturales y farmacológicamente activos. La estereoquímica de los aminoalcoholes es muy importante para su actividad biológica de estos compuestos, estos también se pueden utilizar como auxiliares quirales en sistemas asimétricos [7, 8, 9].

Existe una estrecha relación entre la cadena hidrofóbica de los aminoalcoholes, incluyendo a los esfingolípidos y sus propiedades citotóxicas que hacen de este tipo de compuestos sean de interés como anticancerígenos.

Los esfingolípidos se han reconocido por su participación en funciones celulares y eventos de señalización que controlan una amplia gama de actividades celulares [10].

Se encontró que D-eritro-esfingosina (**10**) promueve la detención del ciclo celular y la apoptosis mediante la fuerte inhibición de la proteína quinasa [11].

Los metabolitos esfingolípidos esfingosina **11** y ceramida **13** son potentes inductores de la apoptosis y producen detención del ciclo celular [3], mientras que la esfingosina-1-fosfato **12** promueve el crecimiento celular y angiogénesis [11].

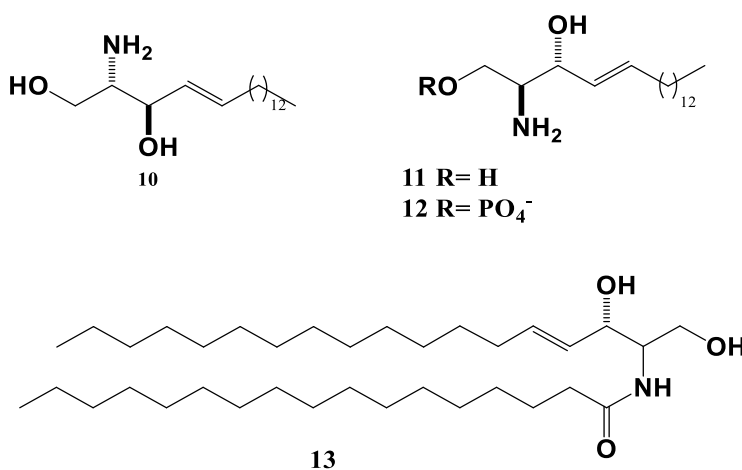


Figura 3. Ejemplos de esfingolípidos.

La episulosina (**14**) se aisló por primera vez de la almeja *Spisula polynyma* (*Syn Mactrometris polynyma*) mostro muy fuerte citotóxica tanto en leucemia como en células cancerosas sólidas con una IC₅₀ valores con un rango nanomolar [12].

En el 2000 Cuadros y colaboradores informaron que este compuesto causa perdida de fibras de estrés de actina, probablemente debido a su parecido con el ácido lisofosfatídico (LPA) por una interacción con el receptor LPA, el cual modula los niveles las proteínas Rho [13]. Sánchez reporto que la episulosina se encuentra actualmente en ensayos de fase I contra tumores sólidos en Europa [14].

En el 2015 Padrón y colaboradores revelaron que espirosulina (**14**) se comportó como un inhibidor selectivo de CK1 ϵ y demostró su notable actividad antiproliferativa en varias células de cáncer (HBL-100, HeLa, SW1573, T-47D y WiDr) [15].

Bittman y colaboradores han encontrado que la episulosina bloquea selectivamente esfingosina quinasa (SphK1) para inducir mediante ubiquitina- proteasomal, mediante la degradación en células de musculo liso arterial pulmonar humano (PASMC) con una IC₅₀ de $7.1 \pm 0.75\mu\text{M}$. [16].

Otro análogo es el Xestoaminol C (**15**) de la esponja *Xestospongia sp* y posteriormente fue aislada de *Pseudodistoma obscurum*, el cual presenta actividad contra la transcriptasa inversa [17] así como una notable actividad citotóxica y antiproliferativa en diversas líneas celulares: A-549, HT-29, MeL-28, DU-145 y SHG-44.

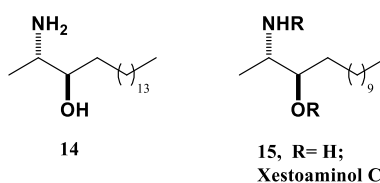
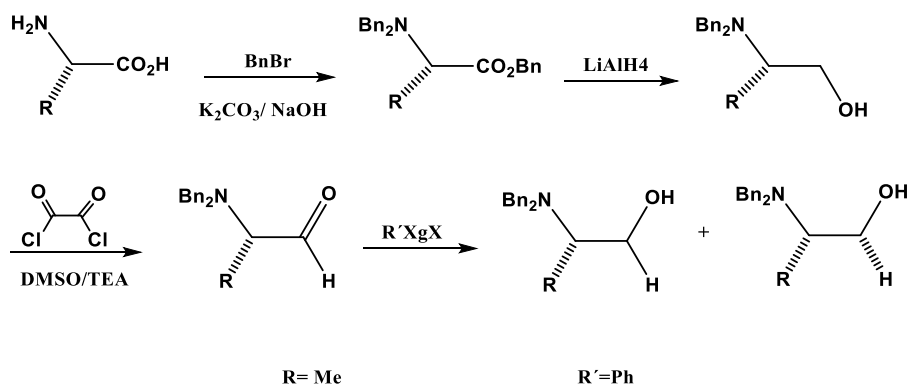


Figura 4. Estructura de episulosina y xestoaminol C.

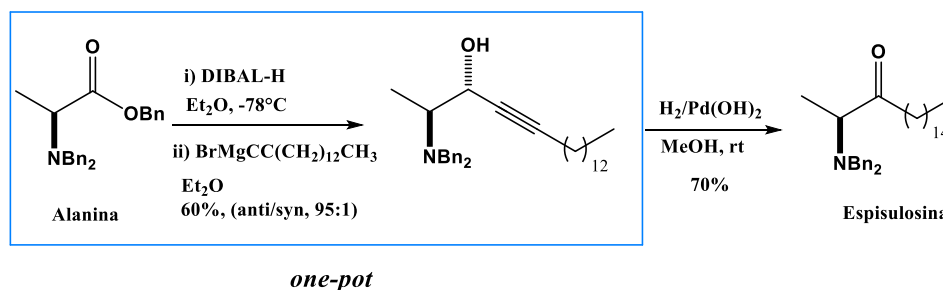
La estructura química simple de estos compuestos ha conducido a varias estrategias para su síntesis total para determinar su actividad biológica. Estos métodos han contribuido al desarrollo y estudio biológico de varios análogos que presentan diversos grados de modificación a partir de la estructura original.

En 1999 Reetz reportó una metodología para la obtención de aminoalcoholes partir de un aminoácido el cual involucra 3 simples etapas: bencilación (BnBr, K₂CO₃/NaOH), seguida de una reducción (LiAlH₄) y posteriormente una oxidación de Swern (ClCOCOCi/ DMSO; TEA), para obtener el aldehído correspondiente. Posteriormente se trató con un reactivo organometálico obteniendo *N,N*-dibencilamino alcohol [18].



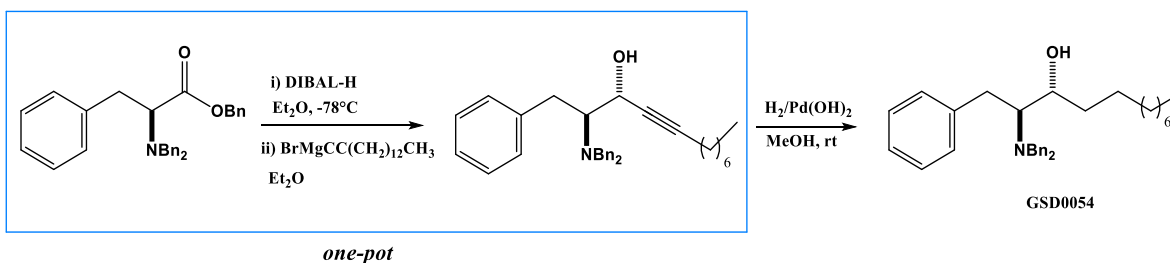
Esquema 2. Síntesis de aminoalcohol.

En el 2014 el grupo de investigación de Padrón reportaron una metodología para la obtención de *anti*-β-aminoalcohol (Esquema 3), los cuales fueron sintetizados a partir de esteres α-(*N,N*-dibencilamino) bencilo ópticamente puros, derivados de α-aminoácidos, posteriormente por la reducción secuencial a aldehído con DIBAL-H a -78°C y la adición in situ del reactivo de Grignar (*one-pot*), finalmente se llevó a cabo una hidrogenación catalítica con H₂/Pd(OH)₂ [1].



Esquema 3. Síntesis de espisulosina mediante *one-pot*.

En la búsqueda de nuevos inhibidores selectivos de la CK1ε, el grupo de Padrón se ha dado a la tarea de continuar con la búsqueda de nuevos inhibidores selectivos de la CK1ε. En el año 2015, tras realizar un estudio computacional se encontró que el compuesto **GSD0054** presentó el mejor acoplamiento sobre el complejo (proteína-ligando). Por lo cual después de la síntesis con diferentes aminoácidos y teniendo en cuenta el tamaño de la cadena hidrocarbonada (Esquema 4), se demostró que el compuesto **GSD0054**, inhibe el crecimiento de cinco líneas celulares comparado con el compuesto **PF-4800567** ($IC_{50} = 32$ nM), el cual no inhibe el crecimiento células de cáncer humano a 1 μM, incluso después de siete días de tratamiento [15].



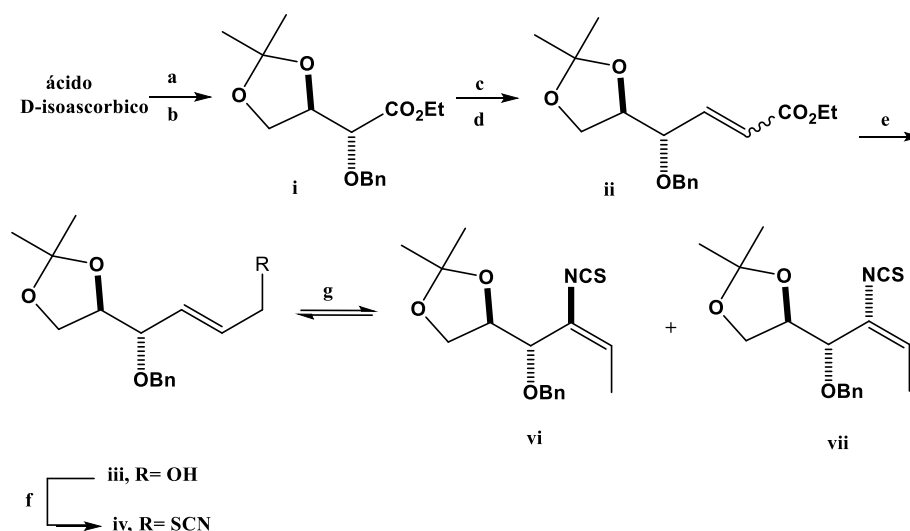
Esquema 4. Síntesis de **GSD0054** inhibidor selectivo de CK1ε.

En el 2016 Fabíková y colaboradores reportan la síntesis de espisulosina a partir del ácido D-isoascorbico preparado mediante método reportado por el grupo de Fabíková [19 b], a continuación se protegió el grupo hidroxilo libre con BnBr, Ag₂O (i), seguida de una reducción (LiAlH₄, THF). Para continuar la síntesis se obtuvo α, β-insaturado (ii) mediante una reacción *one pot* (oxidación/Reacción Wittig). La reducción con DIBAL-H generó el alcohol alílico (iii), seguida de una sustitución nucleofílica de MsCl por KSCN (iv), Posteriormente por un reordenamiento de aza-Claisen se generó la mezcla de isocianatos (vi y vii, Esquema 5).

Continuando con la síntesis, partieron del isocianato vi, que fue el que se obtuvo en mayor rendimiento y se logró cristalizar, el cual se convirtió en carbamato, posteriormente mediante una ozonólisis seguida de una reducción con NaBH₄ se obtuvo el compuesto viii, a continuación el grupo hidroxilo se convirtió en un buen grupo saliente (ix).

Una vez que obtuvieron el compuesto ix, Fabíková y colaboradores se dieron a la tarea de buscar condiciones adecuadas para la deshalogenación-reductora, después de varios

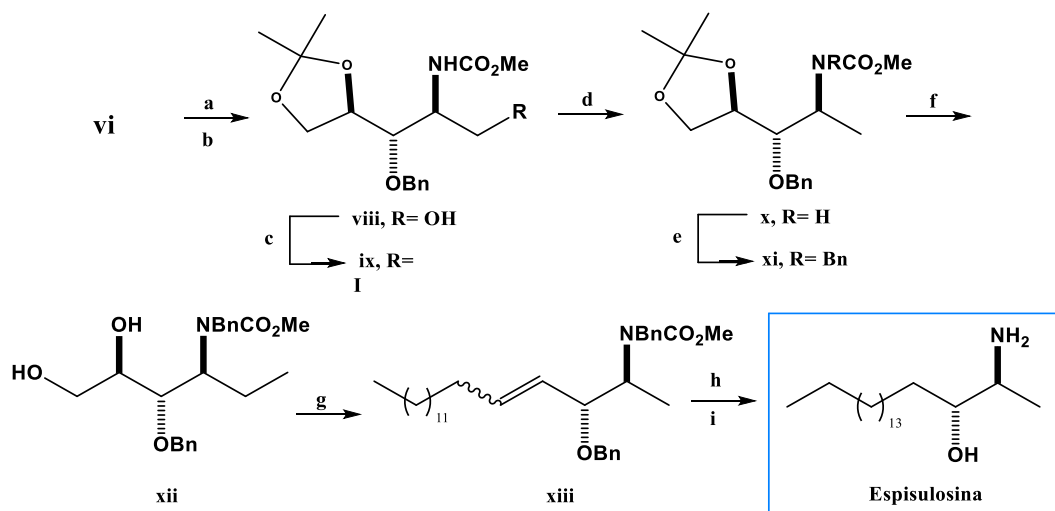
ensayos encontraron que la hidrogenación catalítica con H₂, Pd/C (10%) en presencia de Et₃N, lograron obtener el compuesto **x**.



a. Ref. [19b]; b. BnBr, Ag₂O, CH₂Cl₂, rt; c. LiAlH₄, THF, rt; d. 1. IBX, MeCN, reflujo, 2. Ph₃PCHCO₂, CH₂Cl₂, rt; e. DIBAL-H, CH₂Cl₂, -50°C; f. 1. MsCl, Et₃N, CH₂Cl₂, 0°C-rt. 2. KSCN, MeCN. 0°C-rt; g. Heptano, 90°C.

Esquema 5. Síntesis para la obtención de Espisulosina

Una vez que se obtuvo **x**, se centraron en la inserción de la cadena lateral de alquilo por una reacción de Wittig, seguido por la bencilación del carbamato **x**, generando el compuesto **xi** (Esquema 6). A continuación se generó la formación del diol, el cual se consiguió *p*-TsOH en MeOH, el cual sometieron a una fragmentación oxidativa para generar el compuesto **xiii**.



a. 1. MeONa , MeOH , 0°C -rt, 2. Óxido de mesitil-nitrilo (MNO), MeCN , rt; b. 1. O_3 , $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, -78°C , 2. NaBH_4 , -78°C - 0°C ; c. Ph_3P , I_2 , Imidazol, $\text{Et}_2\text{O}/\text{MeCN}$, rt; d. H_2 , 10% Pd/C , MeOH ; Et_3N , rt; e. BnBr , NaH , TBAI, DMF , 0°C -rt; f. $p\text{-TsOH}$, MeOH , rt; g. 1. NaIO_4 , $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1), rt; 2. LHMDS , THF , rt; h. H_2 , 10% Pd/C , MeOH , 60°C ; j. 2M. ac. NaOH , EtOH , reflujo.

Esquema 6. Síntesis final de Espisulosina.

Para completar la síntesis total del compuesto objetivo (episulosina) se llevó a cabo una hidrogenación catalítica con H_2 , 10% Pd/C , en MeOH , seguida de una hidrólisis básica con NaOH en EtOH (2 M).

4. Objetivos

Objetivo General.

- ✓ Obtención de nuevos compuestos que produzcan inhibición selectiva de la actividad catalítica de la enzima CK1 ϵ .

Objetivo Particulares

- ✓ Determinar las energías de acoplamiento mediante estudios de *docking* molecular.
- ✓ Síntesis de nuevos anti- β -aminoalcoholes, en una primera aproximación se estudiarán dos parámetros:
 - a) Configuración estereoquímica de los dos centros quirales
 - b) Longitud de cadena lipofílica.
- ✓ Caracterizar los productos que se generen, mediante los diferentes métodos físicos y espectroscópicos.
- ✓ Realizar pruebas antiproliferativas de los compuestos obtenidos.

5. Discusión de resultados

5.1 *Docking* molecular

El presente trabajo para obtener anti- β -aminoalcoholes se inició con el *docking* molecular, esta técnica nos ayuda a predecir la conformación preferente de nuestros compuestos, con el fin formar un complejo estable (proteína-ligando).

En 2015 el grupo de investigación de Padrón reportaron la conformación acoplada de un nuevo inhibidor selectivo de la CK1 ϵ (**GSD0054**), el complejo proteína-ligando predicho muestra que la cola hidrófoba del compuesto **GSD0054**, se inserta en el sitio estrecho y profundo del unión de CK1 ϵ , el cual se encuentra alineándose con residuos hidrofóbicos [15], (Figura 5b). Los átomos polares forman 4 enlaces por puente de hidrógeno con los residuos Ser88, Asp91 y Asp132 de CK1 ϵ .

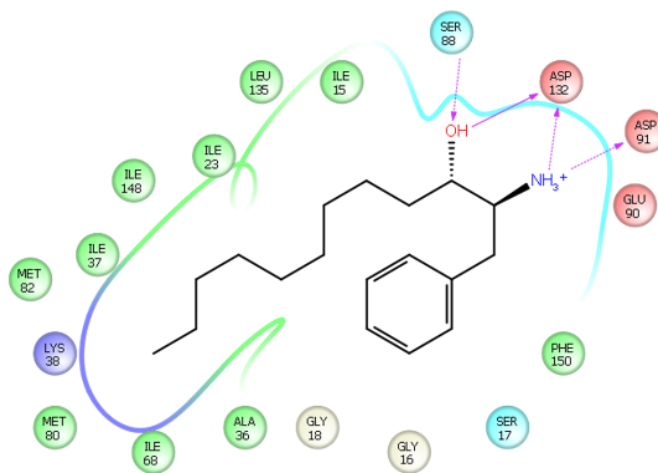


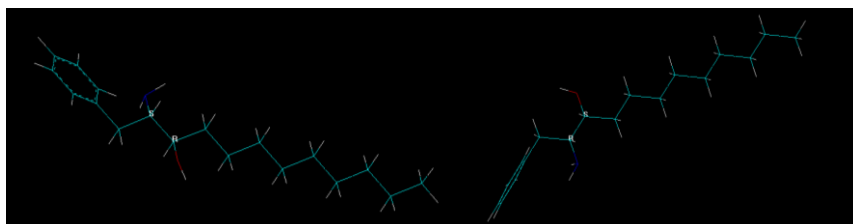
Figura 5. Predicción del complejo proteína-ligando del compuesto **GSD0054**, solo con aminoácidos que establecen puente de hidrógeno.

5.1.1 Cálculos computacionales

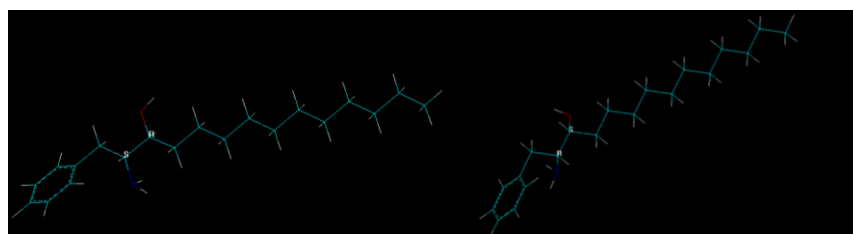
El primer paso en el modelado molecular basado en cálculo es dibujar y optimizar las estructuras moleculares para poder utilizarlas para cálculos de acoplamiento, por lo que se dibujaron las estructuras propuestas (**5a-d** y **ent-5a-d**), teniendo cuidado con los centros

quirales, la longitud de la cadena y los átomos presentes. Las estructuras optimizadas se muestran en la figura 6.

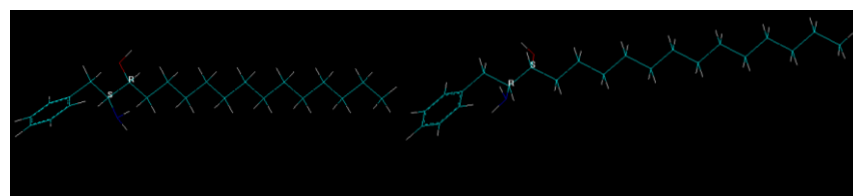
a)



b)



c)



d)

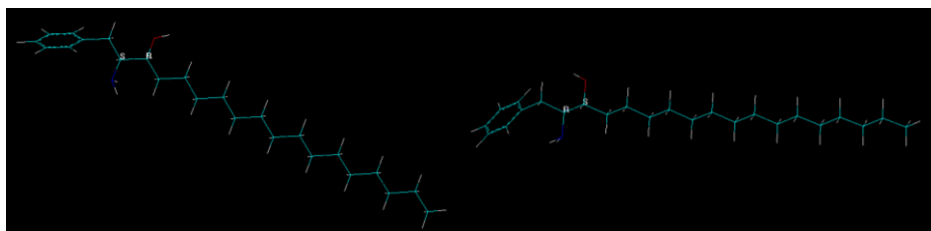


Figura 6. Estructura molecular de (a) 5a (derecha) y *ent*-5a (izquierda), (b) 5b, *ent*-5b, (c) 5c, *ent*-5c, (d) 5d, *ent*-5d en Software Hyperchem. Se añadieron átomos de hidrógeno y se utilizó mecánica molecular para alcanzar su conformación óptima.

Una vez que hemos optimizado la estructura de las moléculas que realizó cálculos de acoplamiento contra CK1 ϵ .

Se criba la base de datos deseada, obteniendo las energías relativas de unión CK1 ϵ (proteína-ligando) de nuestros compuestos con posible actividad frente a nuestra diana molecular.

El software proporcionó valores de energía de cada compuesto que es una manera de predecir cuál favorable es la interacción entre la proteína y el ligando. Por lo tanto, menores valores de acoplamiento (menor energía) indican una mejor interacción.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 1. Donde podemos observar que el compuesto **ent-5d** es el que presenta menor energía de interacción (-22.52 Kcal/mol), correspondiente al aminoácido D-fenilalanina, con respecto a los demás compuestos.

Se observa que no existe una relación lineal entre la longitud de cadena y la energía de acoplamiento, aunque la interacción mayor en ambas series la poseen los compuestos de cadena más larga ($n = 12$).

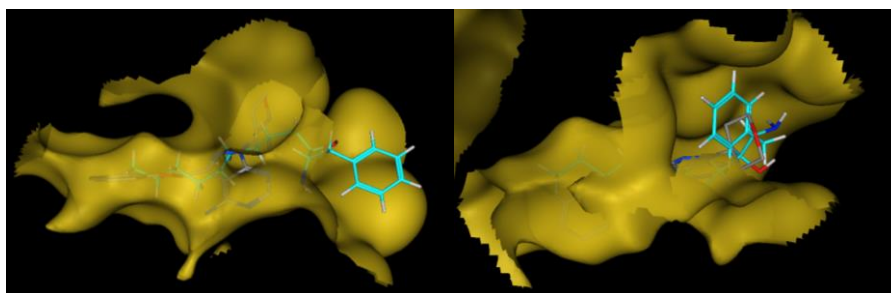
Tabla 1. Energía de acoplamiento de anti- β -aminoalcoholes de la serie L y D con la proteína CK1 ϵ

	Compuesto	n	S (UA)
5 Serie L	5a	6	-17.95
	5b	8	-19.21
	5c	10	-18.71
	5d	12	-20.49
6 Serie D	ent-5a	6	-21.17
	ent-5b	8	-17.56
	ent-5c	10	-17.70
	ent-5d	12	-22.52

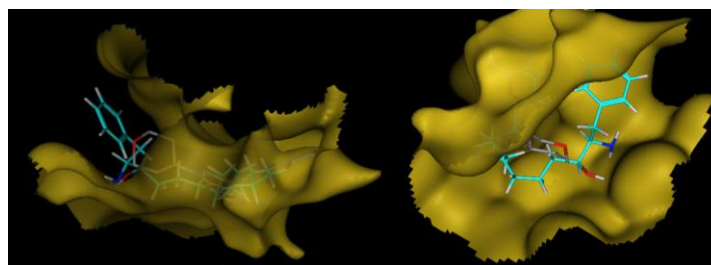
5.1.2 Diseño.

En la figura 7 se muestra la pose de los compuestos en el sitio de acción de CK1 ϵ . Donde se aprecia como las cadenas hidrofóbicas se acomodan dentro del bolsillo hidrofóbico del centro activo de la proteína.

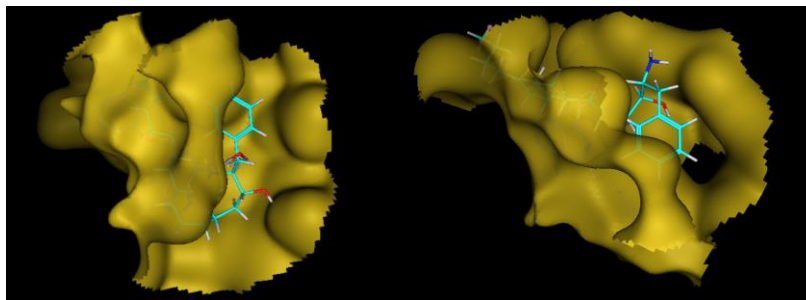
a.



b.



c.



d.

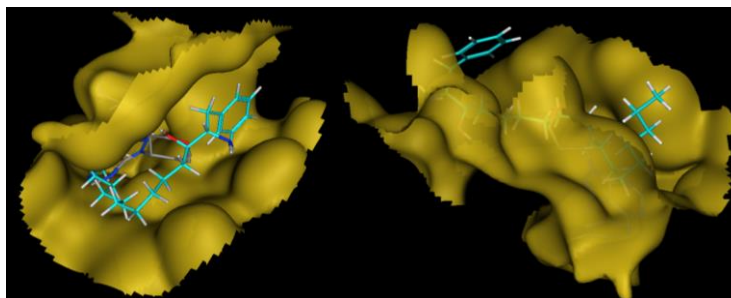


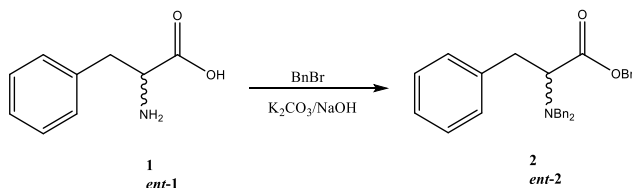
Figura 7. Conformación del compuesto (a) 5a (derecha) y *ent*-5a (izquierda), (b) 5b, *ent*-5b, (c) 5c, *ent*-5c, (d) 5d, *ent*-5d dentro de sitio de unión de la CK1 ϵ (PDB ID: 4HNI).

5.2 Química

El trabajo experimental para obtener los *anti*- β -aminoalcoholes, se inició con la protección del grupo hidroxilo y amino de la materia prima **1** y *ent*-**1** (L, D-fenilalanina), mediante una esterificación obteniendo el aminoácido perbencilado.

5.2.1 Obtención de *N,N*-dibencil-L-fenilalaninato de bencilo (**2** y *ent*-**2**).

1. Reacción

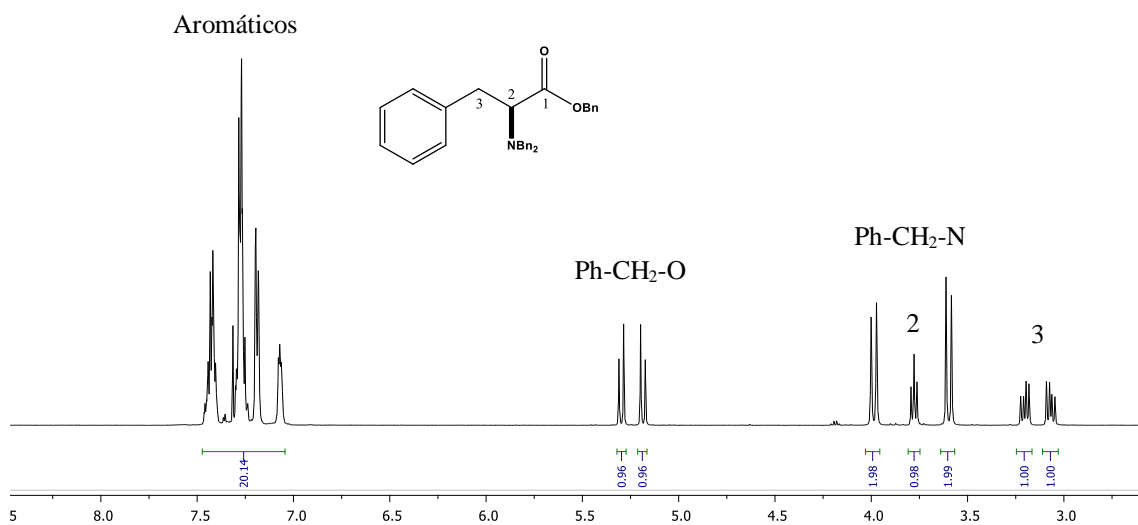


El compuesto **2** y *ent*-**2** se obtuvo mediante una reacción de bencilación, siguiendo la metodología ya reportada por el grupo de investigación de Padrón en el 2014, en la cual se disolvió en un matraz una solución de K_2CO_3 y de NaOH en H_2O , posteriormente se adiciono L, o D- Fenilalanina. La solución se mantuvo a reflujo hasta disolver completamente, posteriormente se adiciono por goteo BnBr, se mantuvo a reflujo hasta

consumir la materia prima (*L*, o *D*-fenilalanina), posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente. El crudo de reacción se purificó en un sistema 9: 1 (hexano: AcOEt). El compuesto **2** y *ent*-**2** se obtuvo en un rendimiento del 98%.

Caracterización de *N,N*-dibencil-*L*-fenilalaninato de bencilo (**2** y *ent*-**2**).

En el espectro de RMN¹H se observa dos señales dobles de dobles correspondientes a los hidrógenos diastereotópicos de H-3a y H-3b en 3.06 y 3.21 respectivamente. En 3.60 y 3.97 ppm observamos dos señales dobles que integran para dos hidrógenos, los cuales corresponden a metileno que se encuentra unido al nitrógeno (Ph-CH₂-N-). Aproximadamente 3.77 ppm se aprecia una señal triple que corresponde a H-2. A frecuencias altas (5.17 y 5.28 ppm), debido al efecto diamagnético que ejerce el grupo éster (O-C=O) y el grupo aromático se observan dos señales dobles que al metileno (O-CH₂-Ph). Aproximadamente en 7.15 ppm se observa una señal múltiple que corresponde a los hidrógenos aromáticos. Para el espectro de hidrógeno del compuesto *ent*-**2** presenta las mismas señales que el compuesto **2**. Los compuestos se pudieron diferenciar ya que determinamos su actividad óptica.

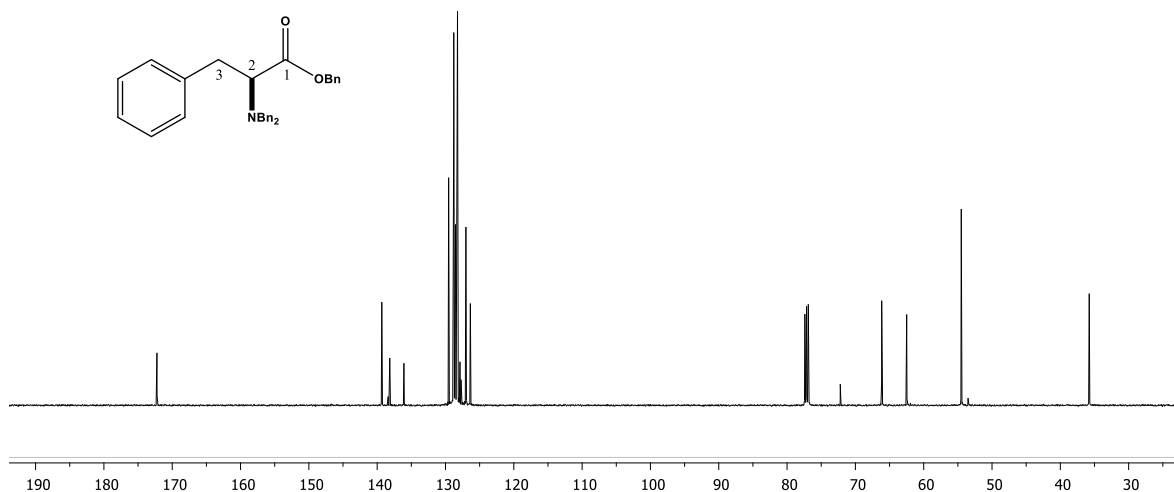


Espectro 1. Espectro RMN ¹H de compuesto **2**.

En el espectro de RMN¹³C se observa una señal que se encuentra en 54.5 y 62.5 ppm que corresponde al CH₂-N y CH₂-O, hay una ligera diferencia de desplazamientos debido a que el átomo de oxígeno es más electronegativo que el nitrógeno. En 66.1 se observa una señal

correspondiente al C-2. Aproximadamente en 130 ppm se encuentran los carbonos aromáticos y en 140 observamos las señales de los C_{ipso}.

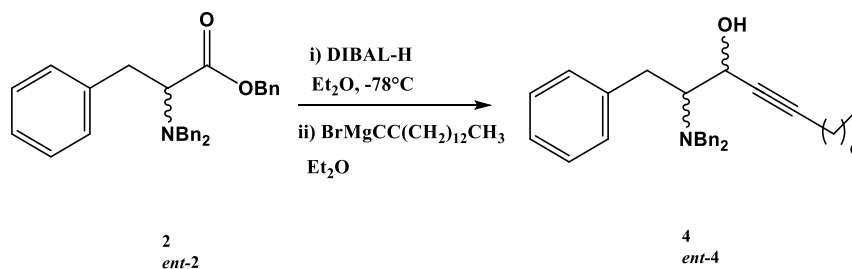
En 172.2 ppm se observa el carbono del carbonilo que corresponde al éster. El resto de las señales corresponden al compuesto. Para el espectro de carbono del compuesto *ent-2* presenta las mismas señales que el compuesto **2**.



Espectro 2. Espectro RMN ¹³C de compuesto **2**

5.2.2 Obtención de 2-*N,N*-(dibencilamino)-3-fenilpropan-1-ol (**3** y *ent-3*).

Siguiendo la metodología reportada por el grupo de Padrón en el 2014, la siguiente etapa de reacción para la obtención de *anti*-β-aminoalcoholes propuestos en este proyecto era realizar una reacción *one-pot* como se muestra en el esquema 7.



Esquema 7. Reacción *one-pot*.

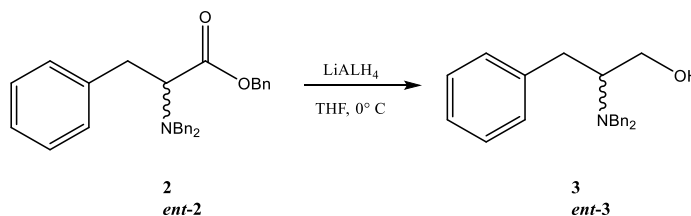
Se realizó un ensayo para familiarizarse con la metodología, pero surgió un inconveniente, no se obtenía el compuesto de acoplamiento, por lo que se realizaron varios ensayos a diferentes temperaturas y equivalentes (Tabla 2) para obtener el compuesto objetivo, pero el resultado no era favorable, ya que el reactivo DIBAL-H para obtener el aldehído correspondiente, se lograba la reducción total del aminoácido perbencilado.

Tabla 2. Condiciones de reacción para obtener el compuesto 4.

Pruebas	Temperatura (°C)	Tiempo de reacción	Equivalentes (DIBAL-H)	Reacción
1	-85	18 h	1.3	No procedió
2	-80	18 h	1.3	No procedió
3	-78	18 h	1.3	No procedió
4	-75	18 h	1.3	No procedió
5	-85	10	0.75	No procedió
6	-78	10	0.75	No procedió

Por lo que se decidió llevar a cabo la reducción total del aminoácido perbencilado de la serie L y D para obtener el correspondiente alcohol del aminoácido.

1. Reacción

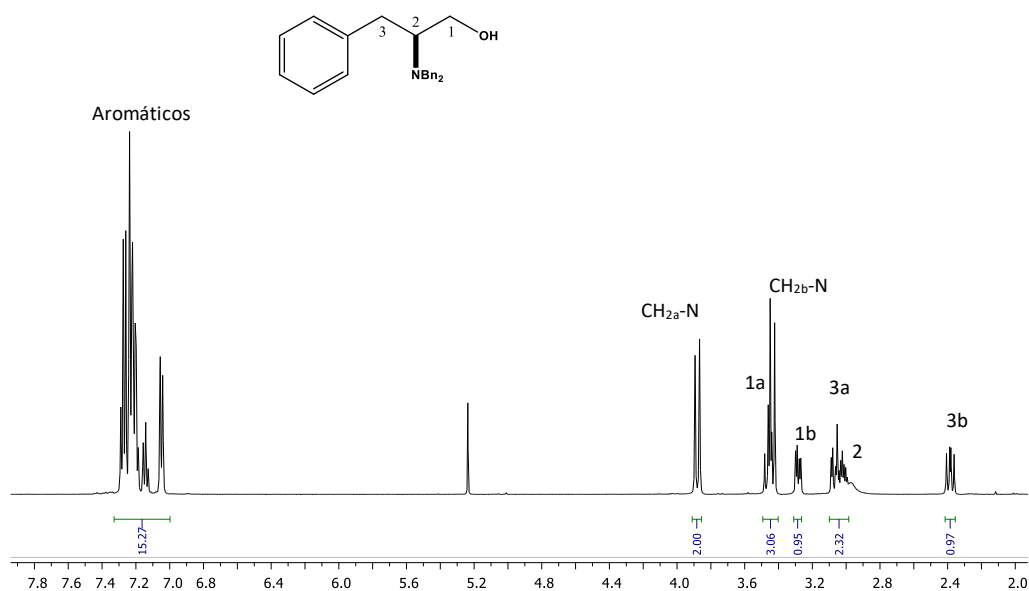


El compuesto **3** y *ent-3* se obtuvo mediante una reducción utilizando LiAlH_4 en THF a 0°C en una atmósfera de argón hasta consumir la materia prima. El crudo de reacción se purificó con un sistema 9:1 (Hexano: AcOEt) en un rendimiento 95%.

Caracterización del compuesto 2-N,N-(dibencilamino)-3-fenilpropan-1-ol (3 y *ent-3*).

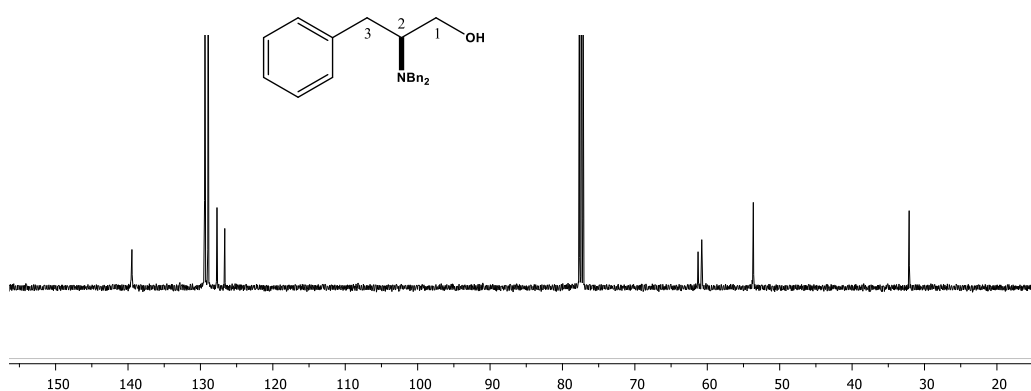
En el espectro de RMN^1H se encuentran a frecuencias altas una señal múltiple correspondiente a los hidrógenos aromáticos de los bencilos. Aproximadamente 4.0 y 3.5 ppm se observan dos señales dobles correspondientes a los metilenos que se encuentran unidos al átomo de Nitrógeno ($\text{CH}_{2a}\text{-N}$ y $\text{CH}_{2b}\text{-N}$). En 3.36 y 3.56 se observa dos señales doble de dobles ya que existe un acoplamiento de H-2 con H-1a y H-1b respectivamente.

Para el espectro de hidrogeno del compuesto *ent*-**3** presenta las mismas señales que el compuesto **3**.



Espectro 3. Espectro RMN ¹H de compuesto **3**.

En el espectro de RMN ¹³C se observa la ausencia (172.2 ppm) del carbono del carbonilo, las demás señales corresponden al compuesto **3**. Para el espectro de carbono del compuesto *ent*-**3** presenta las mismas señales que el compuesto **3**.

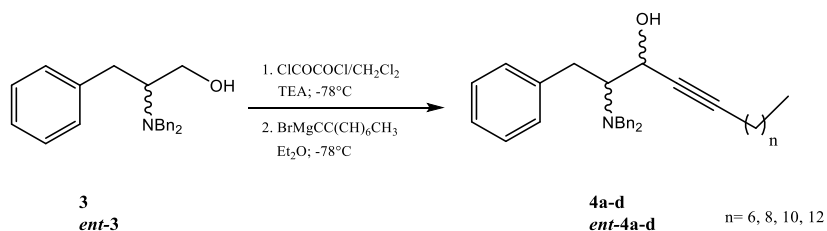


Espectro 4. Espectro RMN ¹³C de compuesto **3**.

5.2.3 Obtención de los compuestos acoplados (**4a-d** y *ent*-**4a-d**).

Para poder obtener los compuestos de acoplamiento (**4a-d** y *ent*-**4a-d**), se obtuvieron en dos pasos, el primero de ellos fue realizar una oxidación de Swern en DMSO, ClCOCOCl en CH₂Cl₂ para poder formar el aldehído y llevar a cabo una reacción de adición nucleofílica por parte del alquino (n= 6, 8, 10, 12) previamente formado para estudiar el efecto de cadenas de alquilo cortas y largas, respectivamente en Et₂O seco se añadió EtMgBr (3 M, en THF), la mezcla se calentó a reflujo durante 2.5 h y se dejó enfriar a temperatura ambiente, y se adicione lentamente a una solución del aldehído previamente formado en Et₂O a -78° C, se dejó calentar a -10° C.

1. Reacción:

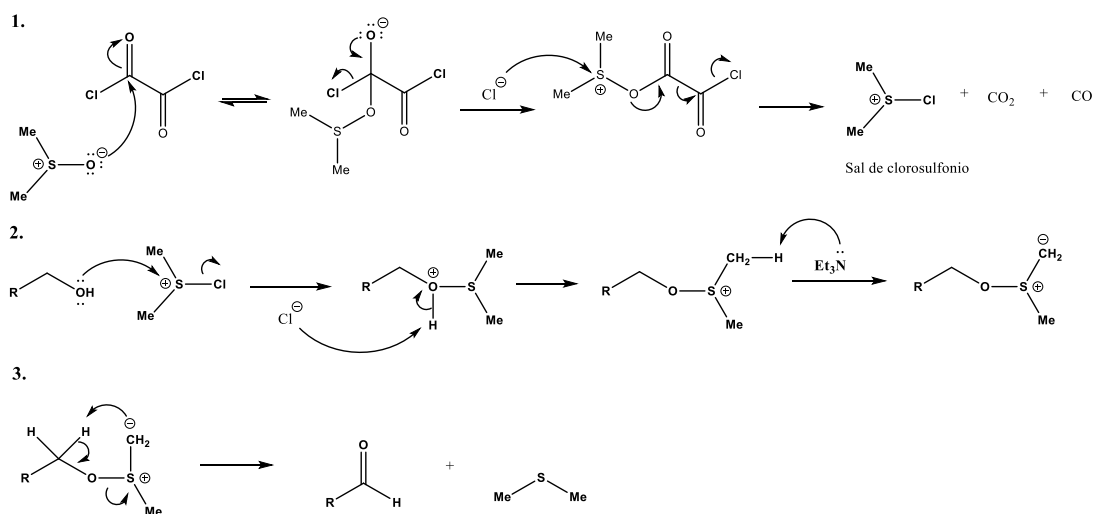


Mecanismo de reacción Oxidación de Swern:

El primer paso es la activación del dimetilsulfóxido, quien reacciona con un carbono del carbonilo del cloruro de oxálilo como se observa en el esquema 7. Posteriormente el ion cloruro ataca al azufre de del DMSO generando la sal de clorosulfonio, dióxido y monóxido de carbono.

El segundo paso, el alcohol ataca a la sal de clorosulfonio generando ácido clorhídrico, posteriormente la trietilamina (Et₃N) abstrae un hidrogeno del DMSO generando el iluro de alcoxisulfonio.

Finalmente hay un reordenamiento intramolecular del iluro formando de esta manera el tioéster y el correspondiente aldehído.



Esquema 7. Mecanismo de reacción de la oxidación de Swern.

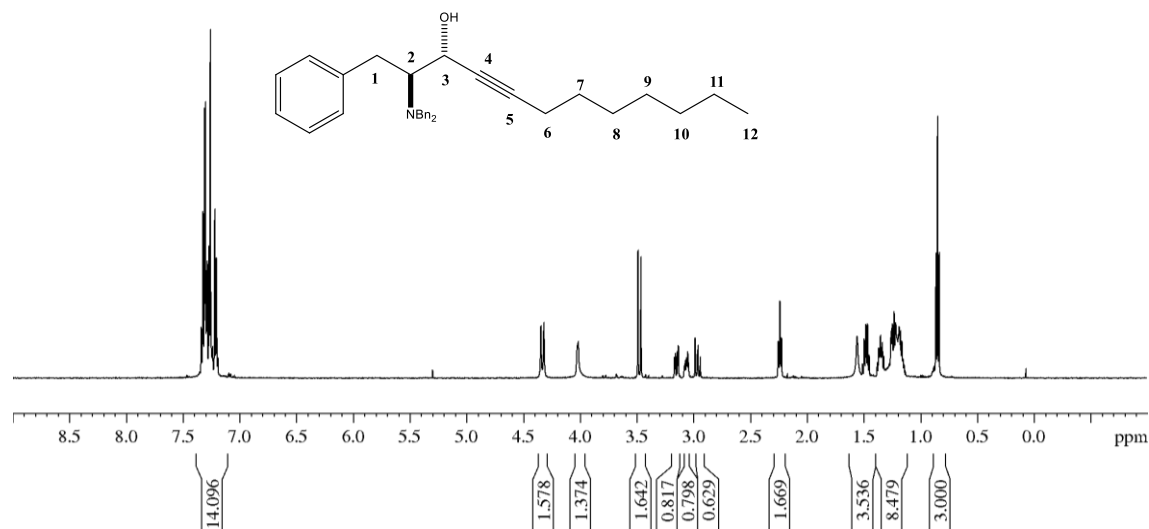
Caracterización de los compuestos de acoplamiento

(2*S*,3*R*)-2-*N,N*-(dibencilamino)-1 fenildec-4-in-3-ol (**4a**).

En el espectro RMN ^1H se observa en 0.86 ppm una señal triple correspondiente a H-10, en 1.38 ppm se observa una señal múltiple que integra para ocho hidrógenos correspondientes a H-6, H-7, H-8, H-9, en 1.55 ppm se observa una señal múltiple que integra para dos hidrógenos que corresponden al H-5, en 2.25 ppm se observa una señal triple, debido al efecto que ejerce el triple enlace (efecto túnel), el cual integra para dos hidrógenos que fue asignada para H-4, con una $J = 7.0$ Hz. En 3.07 ppm se observa una señal múltiple que integra para un hidrogeno, que fue asignada para H-2, en 2.98 y 3.07 ppm se observan dos señales doble de doble que fueron asignadas a los hidrógenos diastereotopicos H-1_a con $J_{\text{Ha-Hb}} = 5$ Hz, $J_{\text{Ha-H-2}} = 10.0$ Hz y H1_b con $J_{\text{Hb-Ha}} = 10.0$ Hz y $J_{\text{Hb-H-2}} = 10.0$ Hz.

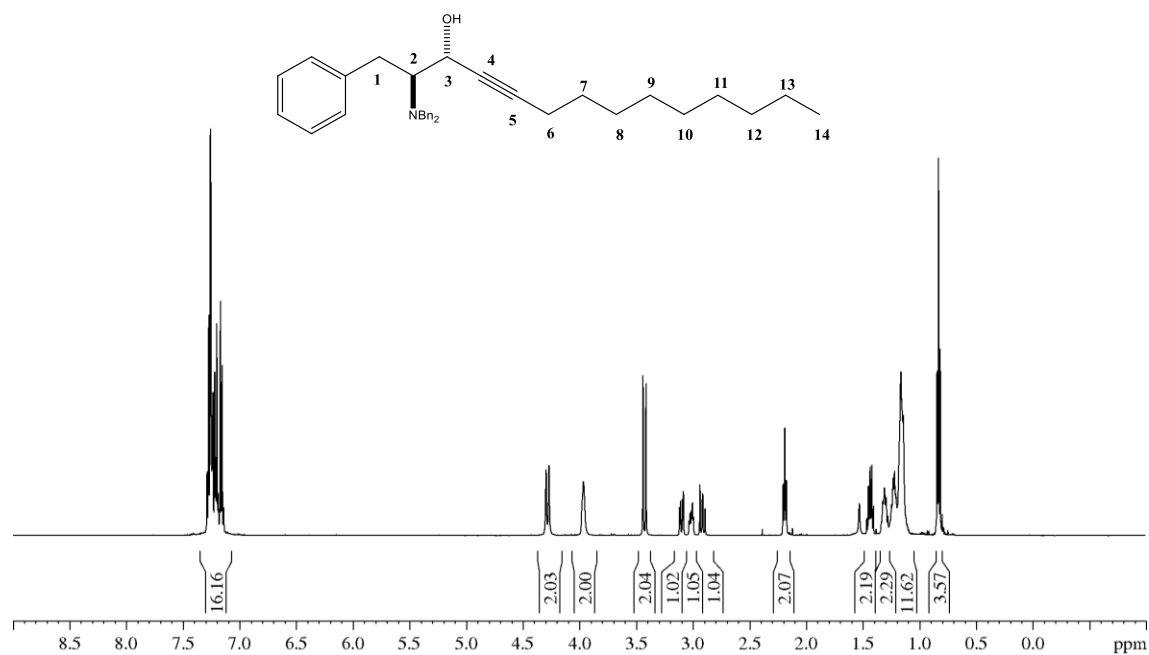
En 3.48 ppm se observa una señal doble que integra para dos hidrógenos fue asignada para los metilenos de H-11, con $J = 13.0$ Hz, aproximadamente en 4.02 se observa una señal simple ancha debido al efecto que ejerce el grupo hidroxilo. A frecuencias altas en 4.34 se observa una señal doble que integra para dos hidrógenos con una $J = 13.0$ Hz, la cual fue asignada para H-2. En 7.32 ppm se observa una señal múltiple que corresponde a los hidrógenos aromáticos.

Para el espectro de hidrogeno del compuesto **ent-4a** presenta las mismas señales que el compuesto **4a**.

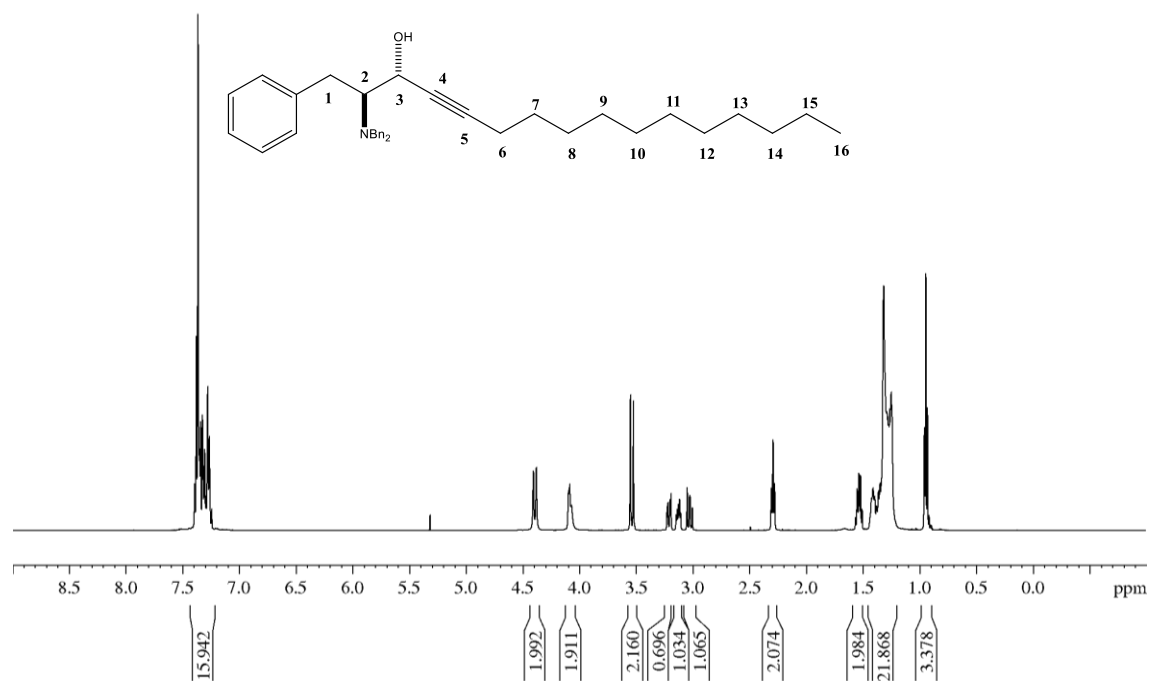


Espectro 5. Espectro RMN ^1H de compuesto **4a**.

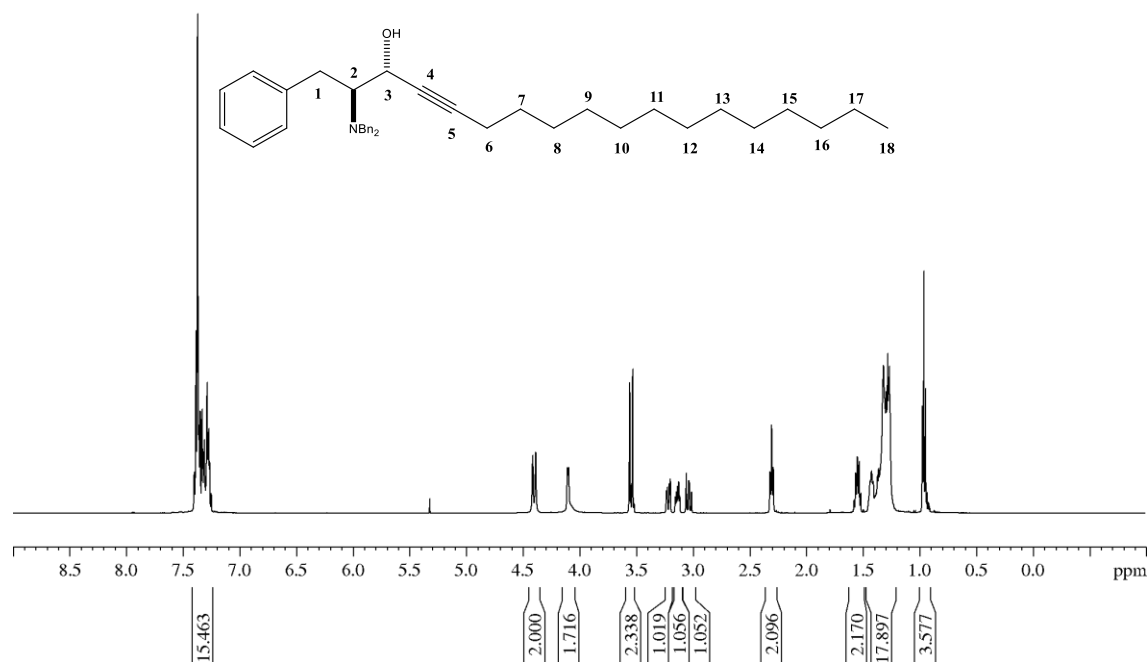
Para los espectros de hidrogeno de los compuestos **4b-d** y **ent-4b-d** presenta las mismas señales que el compuesto **4a**, el único cambio significativo que se aprecia observar en la región de 1.26-1.45 (m, 12H, **4b**), 1.24-1.42 (m, 18H, **4c**), 1.13-1.30 (m, 20H, **4d**) un incremento en el valor de integración de los hidrógenos de los metilenos al hacer el acoplamiento con diferentes alquinos.



Especro 6. Espectro RMN ^1H de compuesto **4b**.

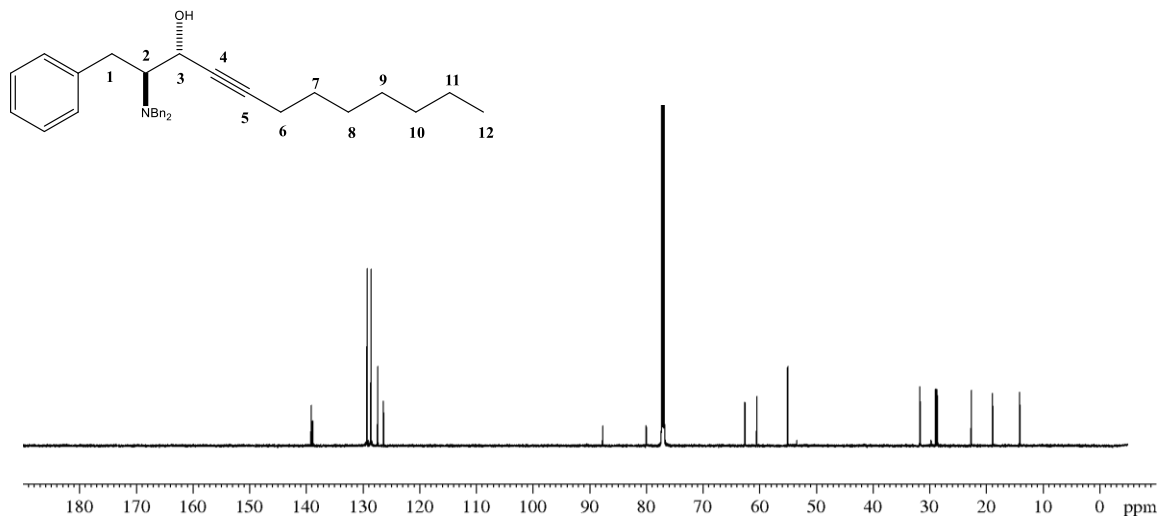


Especro 7. Espectro RMN ^1H de compuesto **4c**.



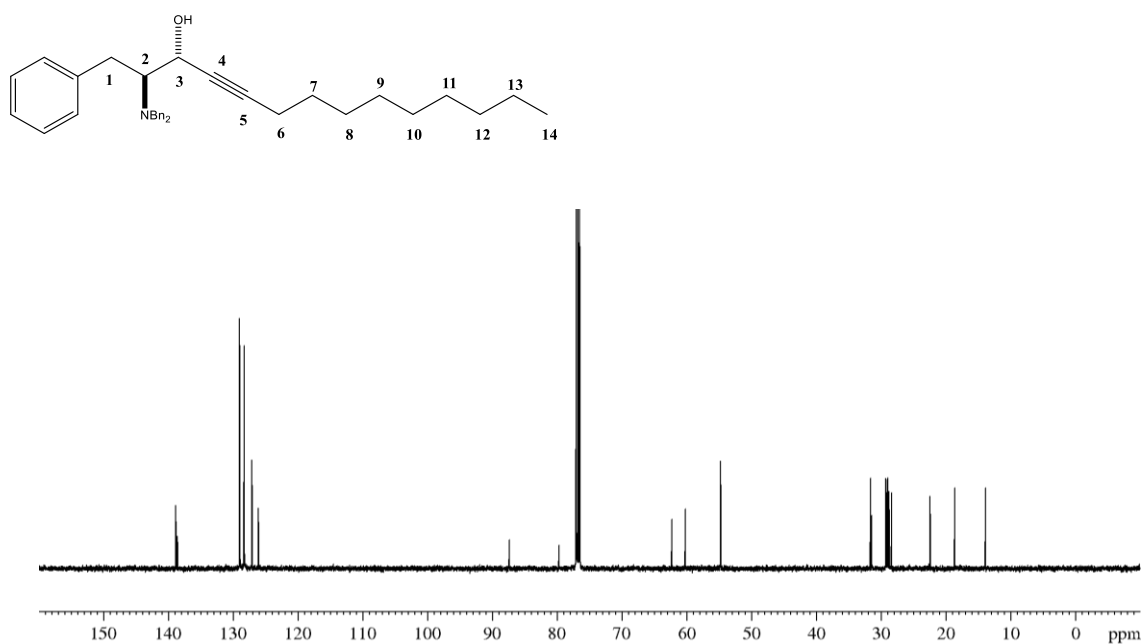
Espectro 8. Espectro RMN ¹H de compuesto **4d**.

En el espectro de RMN ¹³C se observa las señales más significativas del compuesto **4a**, en 31.7 se observa a C-1, en 60.5 y 62.5 ppm se observan a los carbonos C-3 y C-2 respectivamente. Los carbonos cuaternarios C-4 y C-5 se observan a frecuencias medianamente altas debido al efecto que ejerce el triple enlace aproximadamente en 79.9 y 87.6 ppm. Finalmente se observan a frecuencias altas aproximadamente en 130.0 ppm se encuentran los carbonos aromáticos y en 140.0 los carbonos ipso de los grupo bencilo. Las demás señales corresponden al compuesto **4a**. Para el compuesto *ent-4a* se observa las mismas señales que el compuesto **4a**.

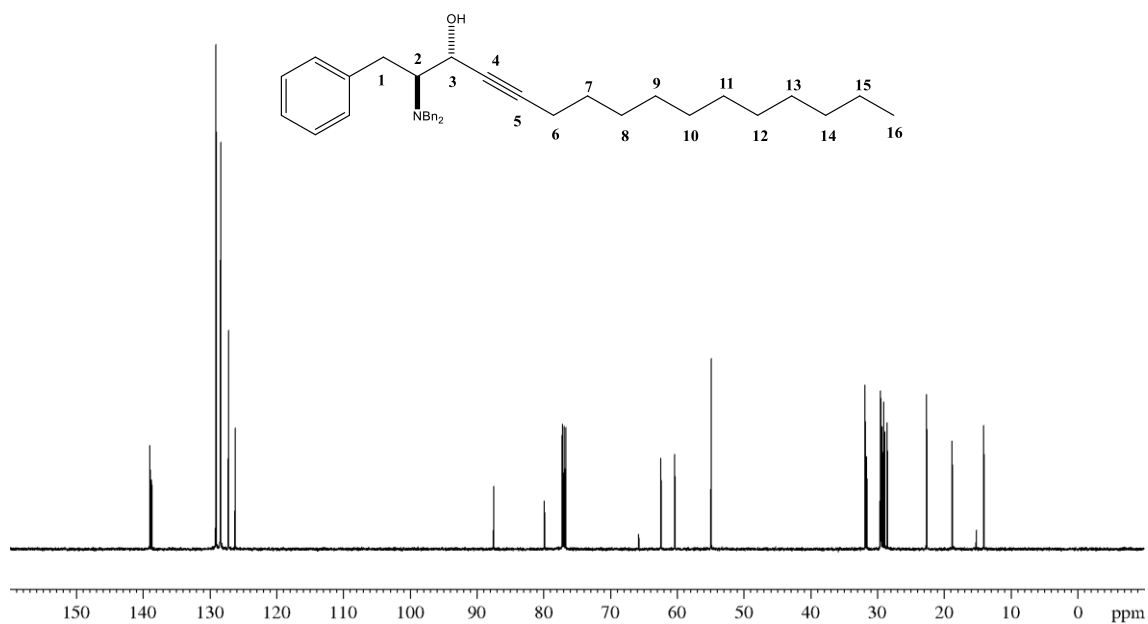


Espectro 9. Espectro RMN ^{13}C de compuesto **4a**.

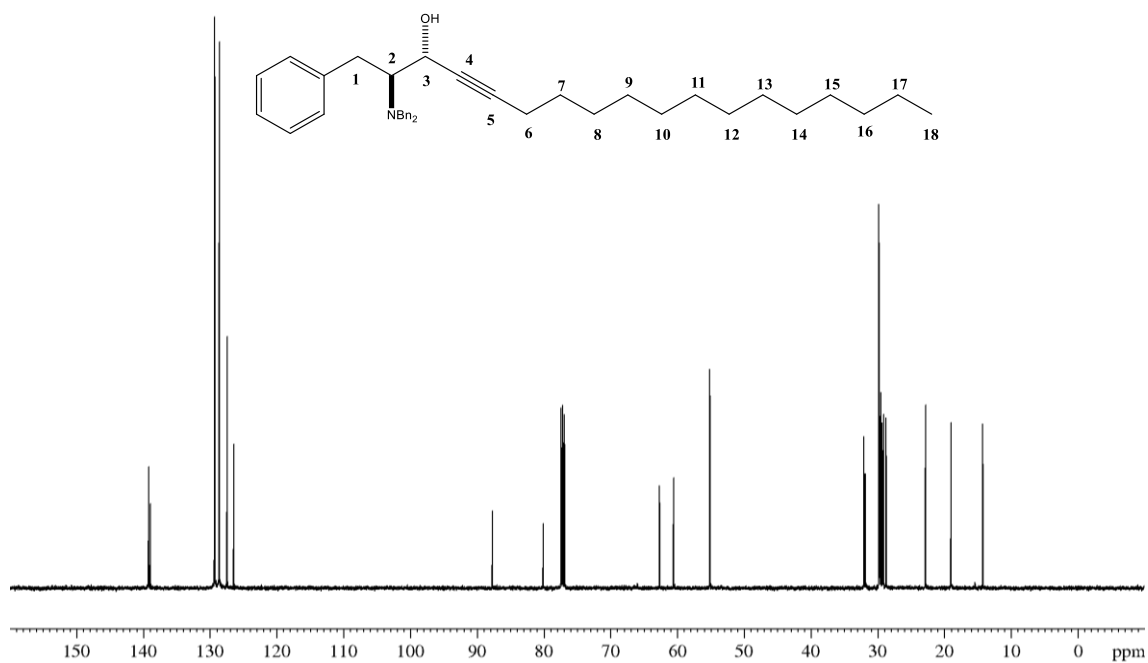
Para los compuestos **4b-d** y *ent-4b-d* se aprecian las mismas señales características del compuesto **4a**, la única diferencia que se logra observar es aproximadamente en 30 ppm el incremento de número de señales que correspondientes a los metilenos de la cadena lipofílica.



Espectro 10. Espectro RMN ^{13}C de compuesto **4b**.



Espectro 11. Espectro RMN ¹³C de compuesto **4c**.



Espectro 12. Espectro RMN ¹³C de compuesto **4d**.

5.2.4 Obtención de anti-β-aminoalcoholes (5a-d y ent-5a-d).

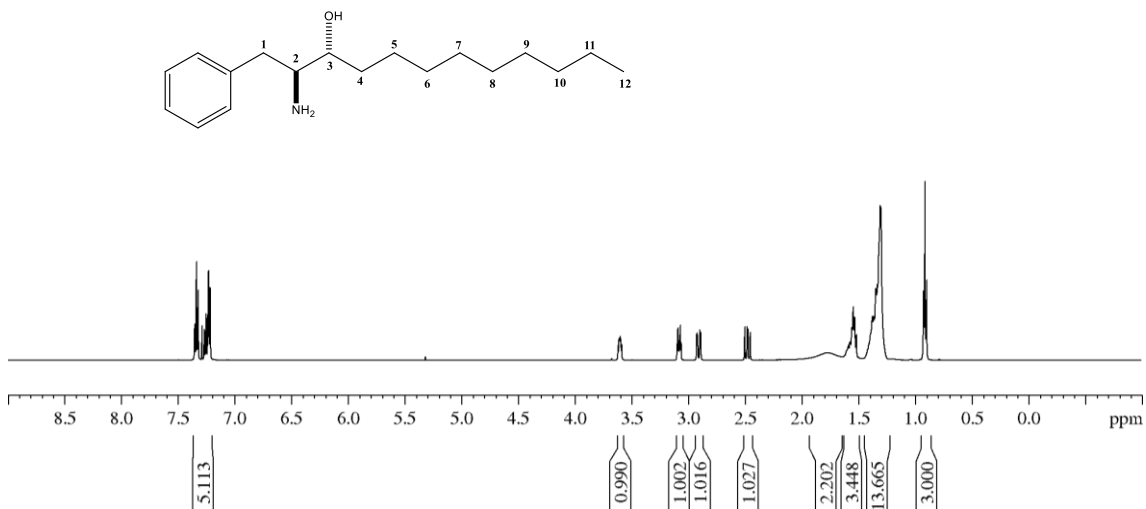
Finalmente para la obtención de los anti-β-aminoalcoholes se llevó a cabo la reducción de los compuestos acoplados (**4a-d** y **ent-4a-d**) en MeOH seco y Pd(OH)₂/C, la mezcla se agito bajo 4 atm de H₂ a temperatura ambiente durante 18 h, la reacción se controló por CCF. Después de la terminación de la reacción, el catalizador se eliminó por filtrado a través de celita y se lavó con 20 mL de MeOH. El disolvente se evaporo bajo presión reducida para obtener el correspondiente anti-β-aminoalcohol.

Caracterización anti-β-aminoalcohol.

(2*S*,3*R*)-2-amino-1-fenildodecan-3-ol (**5a**).

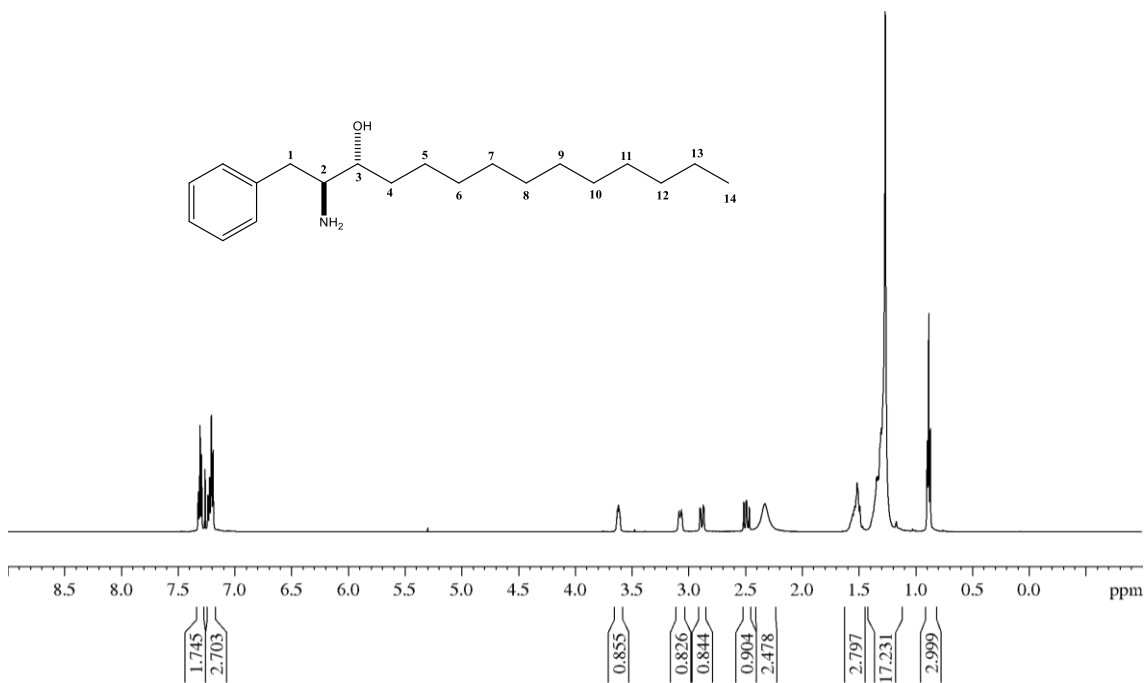
En el espectro de RMN ¹H se observa en 0.92 una señal triple que integra para tres hidrógenos corresponde con una $J = 7.0$ Hz correspondientes a H-12, en 1.40 ppm se encuentra una señal múltiple que integra para 14 hidrógenos de los metilenos H-5, H-6, H-7, H-8, H-9, H-10, H-11. Aproximadamente en 1.58 ppm se encuentra una señal múltiple asignada a H-4, en 1.74 ppm observamos una señal simple ancha que integra para dos hidrógenos, la cual fue asignada para los hidrógenos del grupo amino. En 2.50 y 2.95 ppm se observan dos señales doble de dobles que fueron asignadas a los hidrógenos diastereotopicos H_a y H_b con una $J_{H_a-H_b} = 4.0$ Hz, $J_{H_a-H-2} = 10.0$ Hz y $J_{H_b-H_a} = 10.0$ Hz, $J_{H_b-H-2} = 14$ Hz. Se observa una señal múltiple en 3.09 ppm, la cual integra para un hidrogeno que corresponde a H-2. A frecuencias altas, aproximadamente en 3.61 ppm se observa una señal múltiple que fue asignada a H-3. Finalmente en 7.35 ppm encontramos una señal múltiple correspondiente a los hidrógenos aromáticos.

Para el espectro de hidrogeno del compuesto **ent-4a** presenta las mismas señales que el compuesto **4a**.

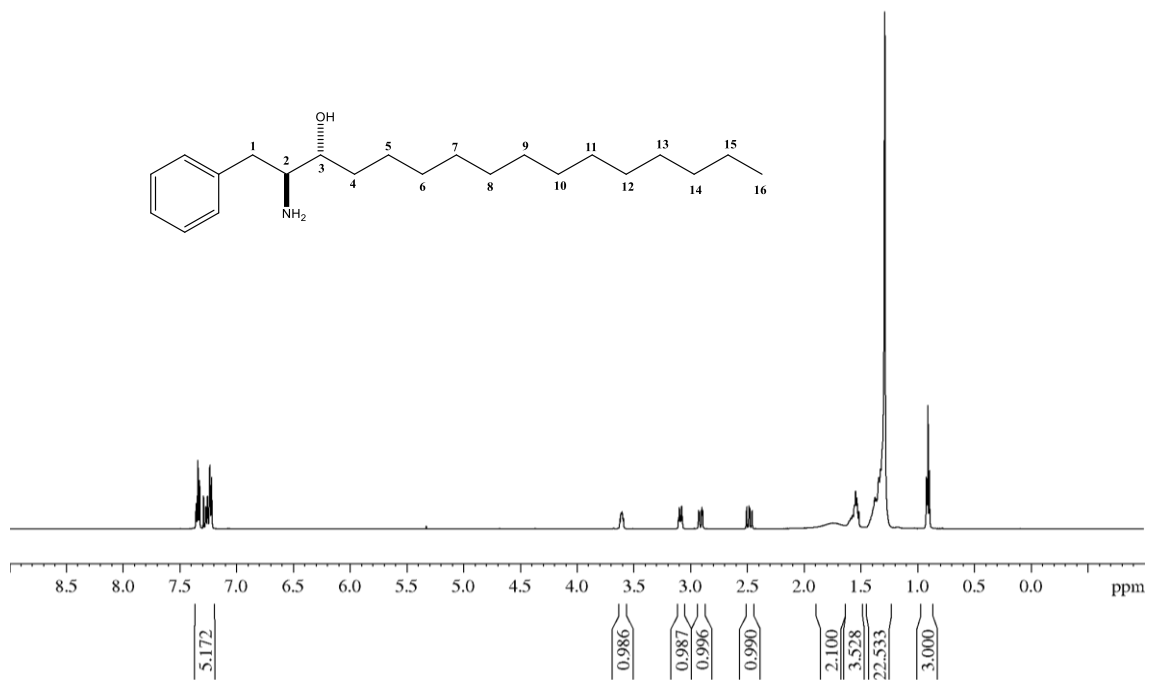


Espectro 13. Espectro RMN ^1H de compuesto **5a**.

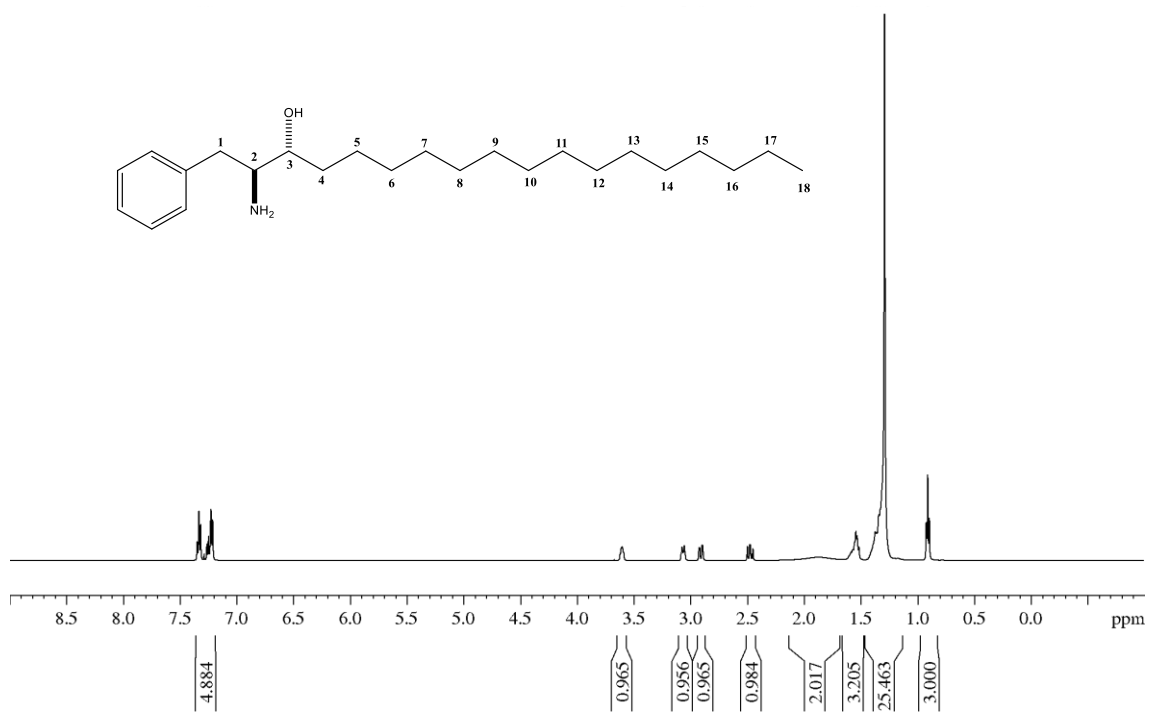
Para los espectros de hidrogeno de los compuestos **5b-d** y *ent-5b-d* presenta las mismas señales que el compuesto **5a**, el único cambio significativo que se aprecia observar en la región de 1.29-1.40 (m, 17H, **45**), 1.2-1.37 (m, 22H, **5c**), 1.26-1.34 (m, 25H, **5d**) un incremento en el valor de integración de los hidrógenos de los metilenos al incrementar la cadena lipofílica.



Espectro 14. Espectro RMN ^1H de compuesto **5b**.

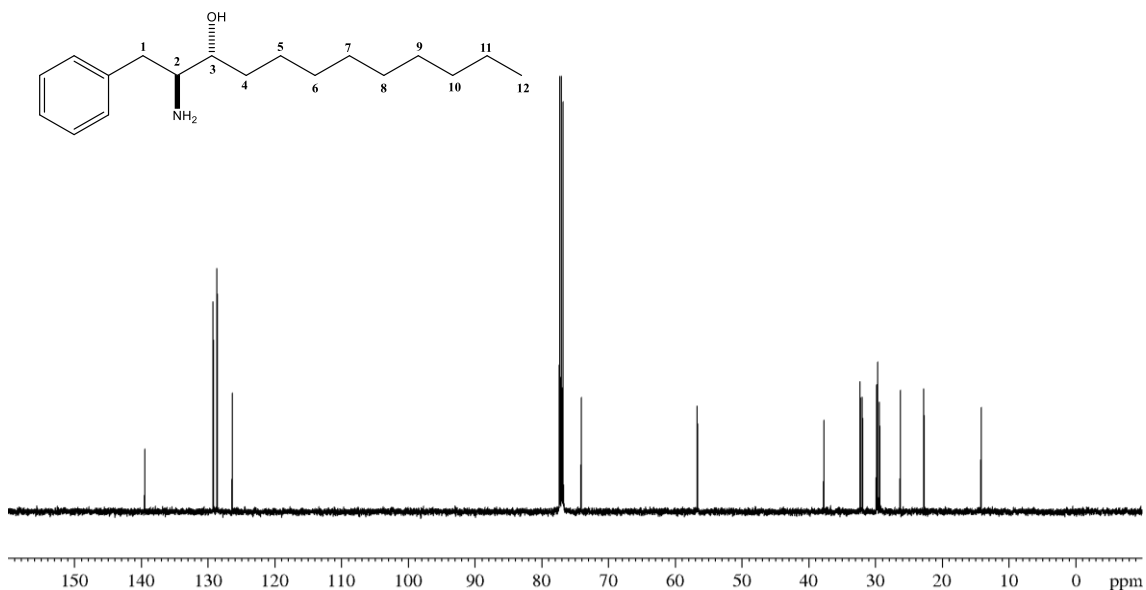


Espectro 15. Espectro RMN ¹H de compuesto **5c**.



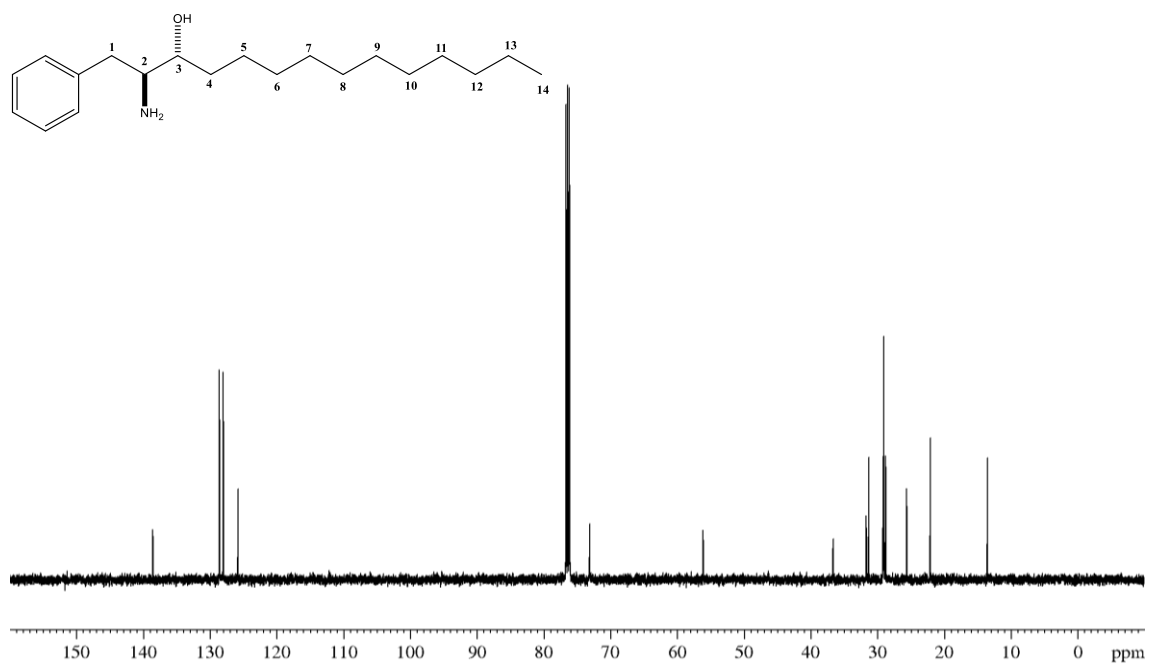
Espectro 16. Espectro RMN ¹H de compuesto **5a**.

En el espectro de RMN ^{13}C se observa en 57.3 y 74.3 ppm Dos señales que corresponden a C-3 y C-2 respectivamente se encuentran a frecuencias altas debido al efecto que ejercen los átomos de oxígeno y nitrógeno respectivamente. Se logra apreciar un cambio significativo a frecuencias bajas para C-4 y C-5 debido a la ausencia del triple enlace. En 130.0 y 140.0 ppm se observan los carbonos aromáticos, el resto de las señales corresponden al resto de la estructura. Para el compuesto *ent*-**5a** se observa las mismas señales que el compuesto **5a**.

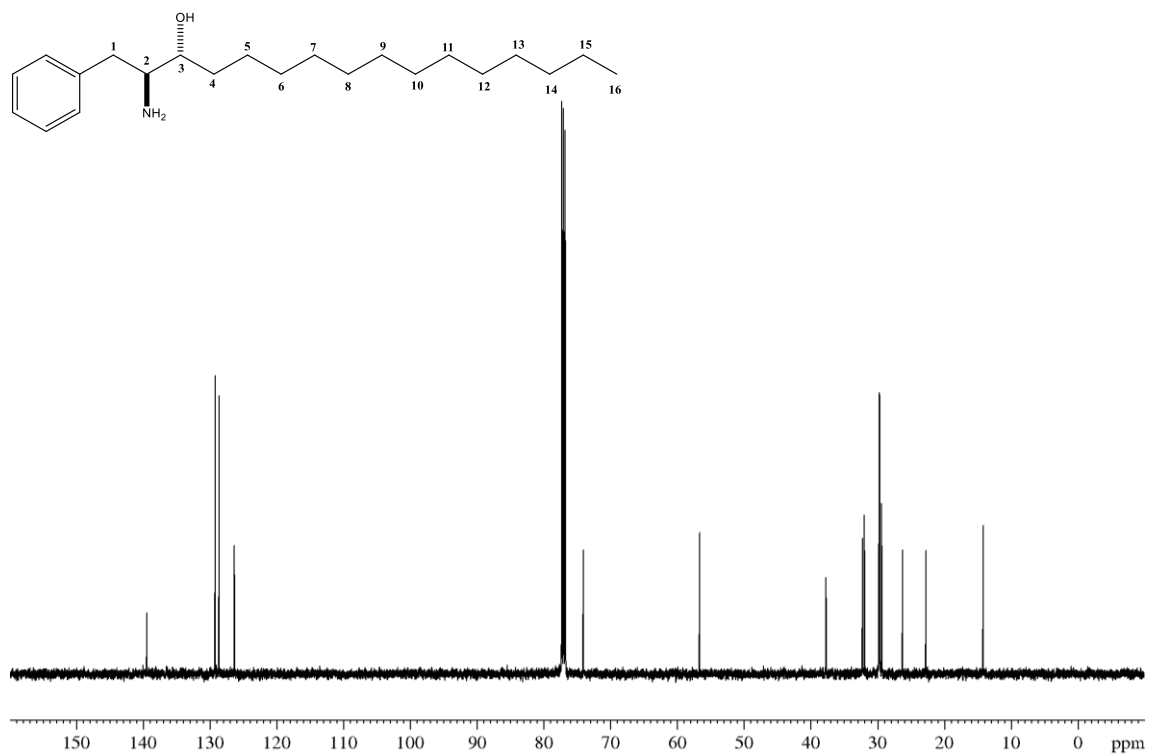


Espectro 17. Espectro RMN ^{13}C de compuesto **5a**.

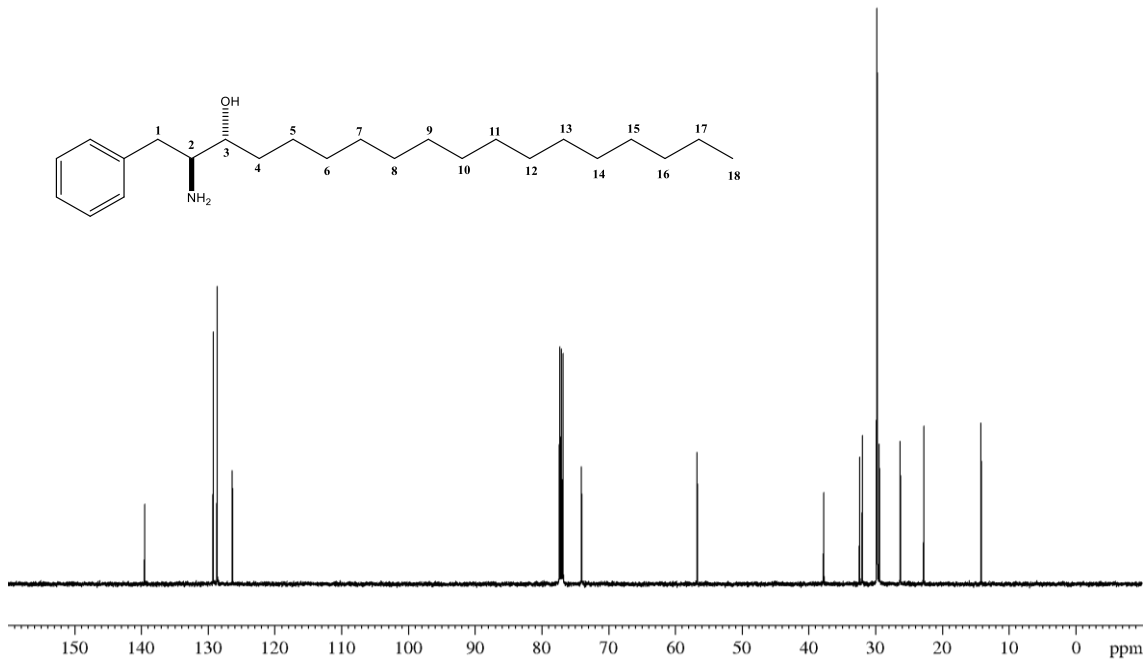
Para los compuestos **5b-d** y *ent*-**5b-d** se aprecian las mismas señales características del compuesto **4a**, la única diferencia que se logra observar es aproximadamente en 30 ppm el incremento de número de señales que correspondientes a los metilenos de la cadena lipofílica.



Espectro 18. Espectro RMN ^{13}C de compuesto **5b**.



Espectro 19. Espectro RMN ^{13}C de compuesto **5c**.



Espectro 20. Espectro RMN ^{13}C de compuesto 5d.

5.3 Pruebas biológicas.

5.3.1 Actividad antiproliferativa.

Para finalizar los objetivos que se propusieron en este proyecto se evaluó la actividad antiproliferativa de los compuestos sintetizados, se emplearon las siguientes líneas celulares de tumores sólidos humanos: A549 (pulmón), HBL-100, (mama), HeLa (cérvix), SW1573 (pulmón), T-47D (mama) y WiDr (colon). Este estudio ha sido realizado por el Dr. José Manuel Padrón, del Instituto Universitario de *Bio-Orgánica* “Antonio González”, de la Universidad de la Laguna (Tenerife).

La actividad antiproliferativa *in vitro* se evaluó después de 48 h de exposición al fármaco utilizando el ensayo de la sulforodamina B (SRB) del Instituto Nacional del Cáncer (NCI) de los Estados Unidos.

Se empleó una placa de siembra de 96 pocillos (figura 1), se incuban a 37°C, 95% de humedad y 5% de CO_2 durante toda la noche para que las células se adhieran a la superficie de los pocillos.

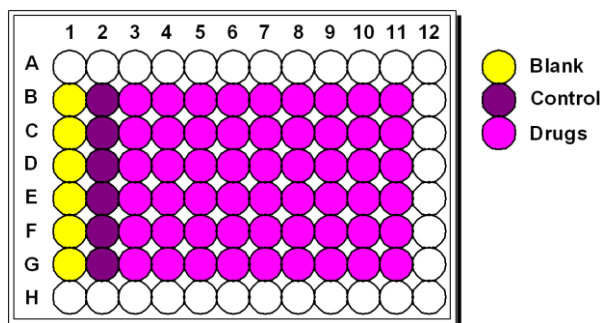


Figura 6. Placa de 96 pocillos.

El método de tinción con sulforodamina B (SRB) permite, mediante análisis colorimétrico, evaluar la actividad citotóxica de los compuestos sintetizados. La SRB es un colorante aniónico que se une electrostáticamente a los aminoácidos de las proteínas de las células que han sido fijados previamente.

Tras la solubilización de los complejos SRB-proteínas con un buffer (Tris), se mide la densidad óptica mediante espectrofotometría. Esta medida será directamente proporcional al número de células presentes en cada pocillo. Para ello se calcula el valor de GI_{50} que se define como la concentración del compuesto necesaria para inhibir el 50% del crecimiento celular.

Se evaluaron ocho compuestos acoplados (Tabla 3) y ocho *anti*- β -aminoalcoholes (Tabla 4).

Tabla 3. Actividad antiproliferativa (IG_{50}) contra células sólidas humanas de compuestos acoplados.

Compuesto	A549	HBL-100	HeLa	SW1573	T-47D	WiDr
4a	2.5 E-05	5.2 E-05	5.1 E-05	2.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04
4b	1.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04
4c	1.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04
4d	1.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04
<i>ent-4a</i>	1.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04
<i>ent-4b</i>	1.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04
<i>ent-4c</i>	1.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04
<i>ent-4d</i>	1.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04	1.0 E-04

En la tabla 3 podemos observar los valores de IG_{50} de los compuestos acoplados, en los cuales podemos observar que no presentaron ninguna actividad contra las seis líneas celulares, ya se encuentran en un rango arriba de 100 μ M.

Tabla 4. Actividad antiproliferativa (IG₅₀) contra células sólidas humanas de anti- β -aminoalcohol. IG₅₀

Compuesto	A549	HBL-100	HeLa	SW1573	T-47D	WiDr
5a	2.2 E-06	2.0 E-06	2.2 E-06	2.1 E-06	2.1 E-06	2.0 E-06
5b	2.0 E-06	2.0 E-06	1.7 E-06	1.8 E-06	1.8 E-06	2.0 E-06
5c	1.6 E-06	1.6 E-06	1.3 E-06	1.2 E-06	1.7 E-06	1.5 E-06
5d	1.9 E-06	2.2 E-06	1.8 E-06	1.6 E-06	1.9 E-06	1.4 E-06
ent-5a	1.2 E-05	4.6 E-06	2.9 E-06	3.2 E-06	2.3 E-06	3.4 E-06
ent-5b	1.8 E-06	2.0 E-06	1.9 E-06	1.9 E-06	1.7 E-06	1.9 E-06
ent-5c	1.7 E-06	2.2 E-06	2.1 E-06	2.0 E-06	2.5 E-06	2.3 E-06
ent-5d	1.7 E-06	2.2 E-06	2.1 E-06	2.0 E-06	2.5 E-06	2.3 E-06

En la tabla 4 podemos observar que después que se llevó a cabo la reducción de los compuestos acoplados mediante una hidrogenación catalítica, estos presentaron tener una importante actividad anticancerígena ya que los ocho compuesto que se evaluaron presentaron tener una IG₅₀ en un rango menor a 5 μ M.

Se observa de manera general que no existe influencia del tamaño de la cadena ni de la configuración estereoquímica de los centros quirales sobre la actividad biológica.

6. Conclusiones

- ✓ Se diseñaron análogos de **GSD0054**, que presentan variaciones en la longitud de la cadena hidrofóbica y en la estereoquímica de los dos centros quirales.
- ✓ Mediante docking molecular determinamos la energía de interacción CK1 ϵ -ligando de ocho anti- β -aminoalcoholes correspondientes a las series L y D de la fenilalanina.
- ✓ Se sintetizaron los ocho productos propuestos que fueron debidamente caracterizados por métodos físicos y espectroscópicos habituales.
- ✓ La actividad biológica no se alteró significativamente por la longitud de la cadena hidrofóbica ni por la estereoquímica de los centros quirales.

7. Parte experimental

Docking molecular

La estructura de CK1 ϵ (PDB ID: 4HNI) se descargó de Protein Data Bank. Utilizamos el software HyperChem para dibujar y optimizar las estructuras moleculares y la aplicación OpenBabel para convertir los archivos en formato adecuado antes de exportarlos al software de docking MOE.

Para el propósito de los cálculos de acoplamiento, eliminamos ligandos y moléculas de agua presentes en la estructura cristalina y agregamos átomos de hidrógeno polares a la cadena de proteínas antes de ejecutar cualquier cálculo de acoplamiento.

Cromatografía

La purificación de todos los productos esteroidales se realizó empleando la técnica de cromatografía tipo flash, utilizando columnas de vidrio empacadas con gel de sílice grado 60 Merck (230-400 mallas).

Para la cromatografía analítica en capa fina (CCF) se utilizaron placas comerciales de gel de sílice grado 60, con espesor de capa 0.25 mm que contiene indicador de fluorescencia (F₂₅₄) empleando para su revelado una lámpara de luz ultravioleta de onda (254 nm, lámpara de UVG-54) o por calcinación de las placas impregnadas con ácido sulfúrico al 5%.

Disolventes

Los disolventes utilizados se purificaron según las técnicas descritas en la literatura.

Polarimetría

Las rotaciones específicas se midieron en un polarímetro Perkin-Elmer 343 usando cloroformo como disolvente. La fuente de radiación fue una lámpara de sodio de 589 nm.

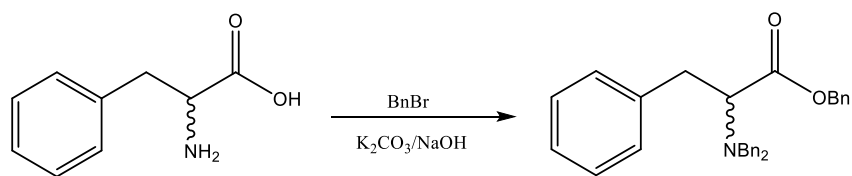
RMN

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN), se determinaron en espectrómetros Varian-Mercury multinuclear a 500 MHz para ¹H, y 125 MHz para ¹³C, empleando CDCl₃

como disolvente, a menos que se indique lo contrario y tetrametilsilano como referencia interna.

Los desplazamientos químicos se reportan en ppm (δ), la multiplicidad se indica de la siguiente manera: s (señal simple), brs (señal ancha), d (señal doble), da (señal doble ancha), t (señal triple), dd (señal doble de doble), m (señal múltiple), las constantes de acoplamiento (J) se expresan en Hertz (Hz).

Procedimiento general para la obtención de aminoácido perbencilado (2 y *ent*-2).



En un matraz de bola se coloca una solución de 1.67 g (6.05 mmol) de K_2CO_3 y 0.48 g (12.1 mmol) de NaOH en 12 mL de H_2O , posteriormente se adiciono 1 gr (6.05 mmol) de L-fenilalanina. La solución se calentó a reflujo hasta observar una solución clara, luego se adiciono por goteo 2.5 mL (21.85 mmol) de BnBr, se calentó a reflujo durante 1 h y se deja enfriar a temperatura ambiente. La fase orgánica se lavó con una solución saturada de NaCl y se secó con $MgSO_4$. El crudo de reacción se purifico sistema 9/1 (hexano: AcOEt).

N,N-dibencil-*L*-fenilalaninato de bencilo (2).

(m/z) [$M+H$] $^+$ = calculado $C_{30}H_{29}NO_2$ 435.57, encontrado 435.29.

$[\alpha]_D^{25}$: -67.63 (c 0.10, $CHCl_3$)

RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 3.06 (dd, 1H, $J_{gem} = 14.0$ Hz, $J_{3a-2} = 8.0$ Hz, H-3a), 3.21 (dd, 1H, $J_{gem} = 14.0$ Hz, $J_{3b-2} = 7.0$ Hz. H-3b), 3.60 (d, 2H, $J = 14.0$ Hz, CH_{2a-N}), 3.77 (t, 1H, $J = 8.0$ Hz), 3.97 (d, 2H, $J = 14.0$ Hz, CH_{2b-N}), 5.17 (d, 1H, $J = 12.0$ Hz, CH_{2b-O}), 5.28 (d, 1H, $J = 12.0$ Hz, CH_{2a-O}), 7.04-7.06 (m, 2H, H-aromáticos), 7.17-7.30 (m, 13H, H-aromáticos), 7.39-7.45 (m, 5H, H-aromáticos) ppm.

RMN ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 35.8 (C-3), 54.5 (CH_2-N), 62.5 (CH_2-O), 66.1 (C-2), 126.3, 127.0, 128.2, 128.3, 128.4, 128.6, 128.8, 129.5 (C-aromáticos), 136.1 ($C_{ipso-CH_2}$), 138.1 ($C_{ipso-CH_2-O}$), 139.3 ($C_{ipso-CH_2-N}$), C-1 (172.2, C=O) ppm.

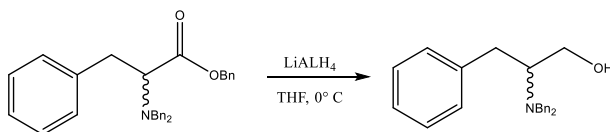
***N,N*-dibencil-D-fenilalaninato de bencilo (*ent*-2).**

(*m/z*) [**M+H**]⁺ = calculado C₃₀H₂₉NO₂ 435.57, encontrado 435.38.

[α]_D²⁵: +86.14 (*c* 0.23, CHCl₃)

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 3.06 (dd, 1H, *J*_{gem} =14.0 Hz, *J*_{3a-2} = 8.0 Hz, H-3a), 3.21 (dd, 1H, *J*_{gem} =14.0, *J*_{3b-2} = 7.0 Hz. H-3b), 3.60 (d, 2H, *J* = 14.0 Hz, CH_{2a}-N), 3.77 (t, 1H, *J* = 8.0 Hz), 3.97 (d, 2H, *J* = 14.0 Hz, CH_{2b}-N), 5.17 (d, 1H, *J* =12.0 Hz, CH_{2b}-O), 5.28 (d, 1H, *J* = 12.0 Hz, CH_{2a}-O), 7.04-7.06 (m, 2H, H-aromáticos), 7.17-7.30 (m, 13H, H-aromáticos), 7.39-7.45 (m, 5H, H-aromáticos) ppm.

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ: 35.8 (C-3), 54.5 (CH₂-N), 62.5 (CH₂-O), 66.1 (C-2), 136.1 (C_{ipso}- CH₂), 138.1 (C_{ipso}- CH₂-O), 139.3 (C_{ipso}-CH₂-N), 126.3, 127.0, 128.2, 128.3, 128.4, 128.6, 128.8, 129.5 (C-aromáticos), 172.2 (C-1) ppm.

Procedimiento general para la obtención *N,N*-2-(dibencilamino)-3-fenilpropan-1-ol.

A una solución de aminoácido perbencilado 1g (2.29 mmol) en 20 mL de THF, se mantuvo a 0° C hasta disolver, en otro matraz se colocó 0.16 g (4.21 mmol) LiAlH₄ en atmosfera de argón a 0° C, se adicionó la solución de aminoácido en la suspensión de LiAlH₄, mantener en agitación hasta consumir la materia prima.

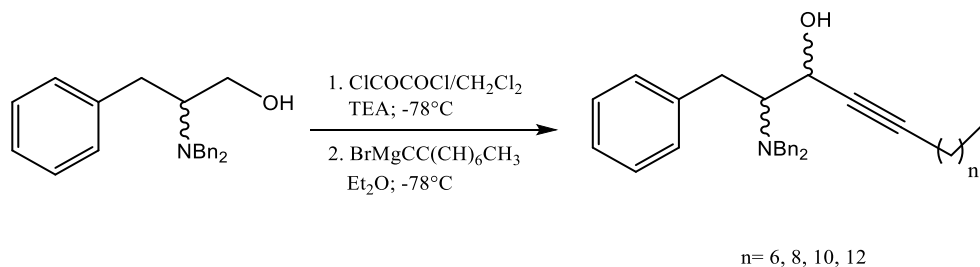
Se realizó el *work up* con agua, 20% de NaOH, y solución saturada de NaCl. Se secó con MgSO₄ y el disolvente se eliminó a presión reducida. El crudo de reacción se purifico con un sistema 9/1 (hexano/AcOEt).

PM= g/mol

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 2.46 (dd, 1H, *J*_{gem}= 13.0 Hz, *J*_{3a-2}= 10.0 Hz, H-3a), 3.10 (m, 1H, H-2), 3.14 (dd, 2H, *J*_{gem}= 13.0 Hz, *J*_{3b-2}= 4.0 Hz, H-3b), 3.36 (dd, 1H, *J*_{gem}=13 Hz, *J*_{2-1b} = 10.0 Hz, 1-Hb), 3.53 (d, 1H, *J* = 13.0 Hz, CH_{2b}-N), 3.56 (dd, 1H, *J*_{gem}=11, Hz *J*_{2-1b} = 10.0 Hz, H-1a), 3.98 (d, 2H, *J* = 13 Hz, CH_{2a}-N), 7.0-7.3 (m, 15H, H-aromáticos).

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ: 31.7 (C-3), 53.2 (CH₂-N), 60.3 (C-1), 60.8 (C-2), 129.0, 128.9, 128.5, 127.3, 126.2 (C-aromáticos), 139.2 (C_{ipso}).

Procedimiento general para la obtención de 4a-d y ent-4a-d



1. Se añadió 1.6 mL (1.5 mmol) DMSO gota a gota a una solución de 1.3 mL (1.5 mmol) Cl(CO)₂Cl en 5 mL de CH₂Cl₂ seco, se mantuvo en atmosfera de argón a una temperatura de -78° C. Después de 5 minutos se añadió una solución del alcohol (0.5 g, 1.5 mmol) en 5 mL CH₂Cl₂ gota a gota y se dejó la solución a temperatura ambiente, después de 10 min a -78°C se añadió 1 mL (7.17 mmol) de Et₃N y la solución se dejó a temperatura ambiente. Se realizó el *work up* añadiendo H₂O, se extrajo con CH₂Cl₂ (3×10 mL); posteriormente se lavó con HCl (3M, 3×10 mL) y finalmente se secó con Na₂SO₄.
2. En paralelo se colocó en un balón el alquino correspondiente (n= 6, 8, 10, 12) disuelto en Et₂O seco; se adiciono lentamente EtMgBr (0.241mL, 0.72 mmol, 3M) se mantuvo a reflujo durante 2.5 h y se dejó enfriar a temperatura ambiente.
3. Una vez que se formó el aldehído, se adiciono mediante una cánula el alquinuro previamente formado a una temperatura de -78°C, de dejo calentar a -10 °C.
4. Se realizó el *work up* con solución saturada de NH₄Cl, se extrajo con Et₂O, la fase orgánica se lavó con solución saturada de NaCl, el disolvente se evaporó a presión reducida. El crudo de reacción se purifico con 95/5 (hexano: AcOEt).

Reactivo	PM	m (g)	n (mmol)	δ (g/mL)	V (mL)
Non-1-ino	124.22	0.090	0.72	0.759	0.120
Undec-1-ino	152.28	0.110	0.719	0.773	0.145
Tridec-1-ino	180.33	0.132	0.732	0.79	0.167
Pentadec-1-ino	208.39	0.153	0.735	0.79	0.193

(2S,3R)-2-N,N-(dibencilamino)-1-fenildocec-4-in-3-ol

(*m/z*) [**M+H**]⁺ = calculado C₃₂H₃₉NO 453.67, encontrado 453.29.

[α]_D²⁵: +19.38 (*c* 0.10, CHCl₃)

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0.71 (t, 3H, *J* = 7.0 Hz, H-12), 0.99-1.12 (m, 7H, CH₂), 1.18-1.24 (m, 2H, H-8), 1.31-1.37 (m, 2H, H-7), 1.42 (brs, 2H, OH), 2.10 (t, 2H, *J* = 7 Hz, H-6), 2.81 (dd, 1H, *J*_{gem} = 13 Hz, *J*_{1b-2H} = 10 Hz, H-1b), 2.90-2.94 (m, 1H, H-2), 3.01 (dd, 1H, *J*_{gem} = 13.0, *J*_{1a-2H} = 4.0 Hz, H-1a), 3.33 (d, 2H, *J* = 13.0 Hz, H-CH_{2a}-N), 3.87 (d, 1H, *J* = 5.0 Hz, H-3), 4.20 (d, 2H, *J* = 13.0 Hz, H-CH_{2b}-N), 7.05-7.20 (m, 15H, H-aromáticos) ppm.

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ: 14.0 (C-12), 18.9 (C-6), 22.6 (C-11), 28.6 (C-7), 28.8 (C-8), 28.9 (C-9), 31.7 (C-1), 55.0 (CH₂-N), 60.5 (C-3), 62.5 (C-2), 79.9 (C-4), 87.6 (C-5), 126.3, (C_p-N), 128.5, 128.57, 129.2, 129.3 (C-aromáticos), 138.8 (C_{ipso}), 139.1(C_{ipso}-CH₂-N) ppm.

(2S,3R)-2-N,N-(dibencilamino)-1-feniltetradec-4-in-3-ol.

(*m/z*) [**M+H**]⁺ = calculado C₃₄H₄₃NO 481.72, encontrado 481.32

[α]_D²⁵: +48 (*c* 0.10, CHCl₃)

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0.94 (t, 3H *J* = 7.0 Hz, H-14), 1.26-1.45 (m, 14H, H-8, H-9, H-13), 1.52-1.58 (m, 2H), 2.31 (t, 2H, *J* = 7.0 Hz), 3.05 (dd, 1H, *J*_{gem} = 13Hz, *J*_{1b-2H} = 10 Hz, H-1b), 3.11-3.15 (m, 1H, H-2), 3.22 (dd, 1H, *J*_{gem} = 13.0, *J*_{1b-2H} = 4.0 Hz, H-1a), 3.56 (d, 2H, *J* = 13.0 Hz, CH_{2a}-N), 4.08 (brs, 2H), 4.41 (d, 2H, *J* = 13.0 Hz, CH_{2b}-N), 7.28 (m, 16H, H-aromaticos) ppm.

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ: 14.1(C-14), 18.9 (C-6), 22.7 (C-13), 28.6 (C-7), 29.0 (C-8), 29.2 (C-9), 29.3 (C-11), 29.5 (C-10), 31.7 (C-1), 31.9 (C-12), 55.0 (CH₂-N), 60.4 (C-3), 62.5 (C-2), 79.9 (C-4), 87.6 (C-5), 126.3 (C_p), 127.4 (C_p-N), 128.5, 128.57, 129.2, 129.3 (C-aromáticos), 138.8 (C_{ipso}), 139.1(C_{ipso}-CH₂-N) ppm.

(2S,3R)-2-N,N-(dibencilamino)-1-fenilhexadec-4-in-3-ol.

(m/z) $[M+H]^+$ = calculado $C_{36}H_{47}NO$ 509.77, encontrado 509.35.

$[\alpha]_D^{25}$: +49 (c 0.15, $CHCl_3$)

RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.94 (t, 3H J = 7.0 Hz, H-15), 1.24-1.42 (m, 17H, CH_2), 1.50-1.56 (m, 2H, H-7), 2.29 (td, 2H, J = 7.0 Hz, H-6), 3.02(dd, 1H, J_{gem} = 13 Hz, J_{1b-2H} = 10 Hz, H-1b), 3.10-3.14 (m, 1H, H-2), 3.20 (dd, 1H, J_{gem} = 13.0 Hz, J_{1a-2H} = 4.0 Hz, H-1a), 3.53 (d, 2H, J = 13.0 Hz, CH_{2a-N}), 4.08 (d, 2H, J = 5.0 Hz, H-3), 4.38 (d, 2H, J = 13.0 Hz, CH_{2b-N}), 7.23-7.38 (m, 15H) ppm.

RMN ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 14.1 (C-16), 18.8 (C-6), 22.7 (C-15), 28.6 (C-8), 28.9, (C-9), 29.2 (C-7), 29.4 (C-13), 29.6 (C-10), 29.7 (C-11), 29.7 (C-12), 31.7 (C-2), 31.9 (C-1), , 55.0 (CH_2-N), 60.4 (C-3), 62.6 (C-2), 76.8, 77.1, 77.3, 79.4 (C-4), 87.5 (C-5), 126.3 (C_p), 127.3, 128.4, 128.5, 129.1, 129.2 (C-aromáticos), 138.8 (C_{ipso}), 139.0 ($C_{ipso-CH_2-N}$) ppm.

(2S,3R)-2-N,N-(dibencilamino)-1-feniloctadec-4-in-3-ol.

(m/z) $[M+H]^+$ = calculado $C_{38}H_{51}NO$ 537.83, encontrado 537.38.

$[\alpha]_D^{25}$: +51 (c 0.10, $CHCl_3$)

RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.83 (t, 3H, J = 7.0 H, H-3), 1.13-1.30 (m, 20H, CH_2), 1.39-1.45 (m, 2H, H-7), 2.17 (td, 2H, J = 7 Hz, H-6), 2.90 (dd, 1H, J_{gem} 13.0 Hz, , J_{1b-2H} = 10 Hz, H-1b), 2.99-2.02 (m, 1H, H-2), 3.09 (dd, J_{gem} = 13.0 Hz, , J_{1a-2H} = 4.5 Hz), 3.41 (d, 2H, J = 13 Hz, CH_{2a-N}), 3.97 (d, 1H, J = 5 Hz, H-3), 4.27 (d, 2H, J = 13 Hz, CH_{2b-N}) 7.12-7.27 (m, 15H, H-aromáticos) ppm.

RMN ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 14.2 (C-18), 18.8 (C-6), 22.8 (C-15), 28.6 (C-7), 28.9 (C-8), 29.8 (C-9), 29.4 (C-13), 29.6 (C-8), 29.7 (C-12), 29.7 (C14), 29.8 (C-7), 31.8 (C-17), 32.0 (C-1), 55.0 (CH_2-N), 60.4 (C-3), 62.5(C-2), 79.9 (C-4), 87.6 (C-5), 126.4 (C_p), 127.4, 128.6, 128.6, 129.3, 129.3 (C-aromáticos), 138.8 (C_{ipso}), 139.0 ($C_{ipso-CH_2-N}$) ppm.

14.2 (C-18), 18.8 (C-6), 22.8 (C-15), 28.6 (C-8), 28.9 (C-9), 29.8 (C-7), 29.4 (C-13), 29.6

(2R,3S)-2-N,N-(dibencilamino)-1-fenildodec-4-in-3-ol.

(*m/z*) [**M+H**]⁺ = calculado C₃₂H₃₉NO 435.67, observado 535.22.

[α]_D²⁵: -76.3 (*c* 0.1, CHCl₃)

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0.93 (t, 3H, *J* = 7.0 Hz, H-12), 1.22-1.35 (m, 6H, CH₂), 1.41-1.46 (m, 2H, H-8), 1.53-1.59 (m, 2H, H-7), 2.32 (t, 2H, *J* = 7.0 Hz, H-6), 3.05 (dd, 1H, *J*_{gem} = 13 Hz, *J*_{1b-2H} = 10 Hz, H-1b), 3.13-3.17 (m, 1H, H-2), 3.23 (dd, 1H, *J*_{gem} = 13.0 Hz, *J*_{1a-2H} = 4.0 Hz, H-1a), 3.56 (d, 2H, *J* = 13.0 Hz, H-CH_{2a}-N), 4.12 (d, 2H, *J* = 3.0 Hz, H-3), 4.41 (d, 2H, *J* = 13.0 Hz, H-CH_{2b}-N), 7.27-7.42 (m, 15H, H-aromáticos) ppm.

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ: 14.2 (C-12), 18.9 (C-6), 22.7 (C-11), 28.7 (C-7), 28.8 (C-8), 28.9 (C-9), 31.8 (C-1), 55.0 (CH₂-N), 60.5 (C-3), 62.4 (C-2), 80.1 (C-4), 87.6 (C-5), 126.4 (C_p-N), 127.4, 128.6, 129.3, 129.3 (C-aromáticos), 138.9 (C_{ipso}), 139.2 (C_{ipso}-CH₂-N) ppm.

(2R,3S)-2-N,N-(dibencilamino)-1-feniltetradec -4-in -3-ol.

(*m/z*) [**M+H**]⁺ = calculado C₃₄H₄₃NO 481.72, observado 580.31.

[α]_D²⁵: -36.92 (*c* 0.10, CHCl₃)

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0.81 (t, 3H, *J* = 7.0 Hz, H-14), 1.12-1.22 (m, 6H, CH₂), 1.25-1.31(m, 2H, H-8), 1.38-1.44(m, 2H, H-7), 2.16 (t, 2H, *J* = 7.0 Hz, H-6), 2.99 (dd, 1H, *J*_{gem} = 13 Hz, *J*_{1b-2H} = 10 Hz, H-1b), 2.98-3.01 (m, 1H, H-2), 3.08 (dd, 1H, *J*_{gem} = 13 Hz, *J*_{1a-2H} = 4 Hz, H-1a), 3.41 (d, 2H, *J* = 13.0 Hz, CH_{2a}N), 3.93 (brs, 1H, OH), 3.96 (d, 1H, *J* = 5 Hz,), 4.26 (d, 2H, *J* = 13.0 Hz, CH_{2b}N), 7.12-7.27 (m, 15H) ppm.

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ: 14.1 (C-14), 18.9 (C-6), 22.7 (C-13), 28.6 (C-7), 29.0 (C-8), 29.2 (C-9), 29.3 (C-11), 29.5 (C-10), 31.7 (C-1), 32.0 (C-13), 55.0 (CH₂-N), 60.5 (C-3), 66.3 (C-2), 80.0 (C-4), 87.6 (C-5), 126.4 (C_p), 127.4 (C_p-N), 128.5, 128.57, 129.2, 129.3 (C-aromáticos), 138.9 (C_{ipso}), 139.1(C_{ipso}-CH₂-N) ppm.

(2R,3S)-2-N,N-(dibencilamino)-1-fenilhexadec-4-in-3-ol.

(*m/z*) [**M+H**]⁺ = calculado C₃₆H₄₇NO 509.77, observado 509.33.

[α]_D²⁵: -52.61 (*c* 0.10, CHCl₃)

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0.84 (t, 3H, *J* = 7.0 Hz, H-16), 1.15-1.32 (m, 16H, CH₂), 1.41-1.47 (m, 2H, H-7), 2.19 (t, 2H, *J* = 7.0 Hz, H-6), 2.9 (dd, 1H, *J*_{gem} = 13 Hz, *J*_{1b-2H} = 10 Hz, H-1b), 3.0-3.04 (m, 1H, H-2), 3.11 (dd, 1H, *J*_{gem} = 13.0 Hz, *J*_{1a-2H} = 4.0 Hz, H-1a), 3.43 (d, 2H, *J* = 13.0 Hz), 3.98 (brs, 2H, H-3, OH), 4.29 (d, 2H, *J* = 13.0 Hz), 7.15-7.29 (m, 15H) ppm.

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ: 14.1 (C-16), 18.7 (C-6), 22.7 (C-15), 28.6 (C-8), 28.9 (C-9), 29.1 (C-7), 29.3 (C-13), 29.5 (C-10), 29.6 (C-11), 29.6 (C-12), 31.7 (C-1), 31.9 (C-15), 55.0 (CH₂-N), 60.4 (C-3), 62.5 (C-2), 79.9 (C-4), 87.6 (C-5), 126.3 (C_p), 127.3, 128.5, 128.5, 129.1, 129.2 (C-aromáticos), 138.8 (C_{ipso}), 139.0 (C_{ipso}-CH₂-N) ppm.

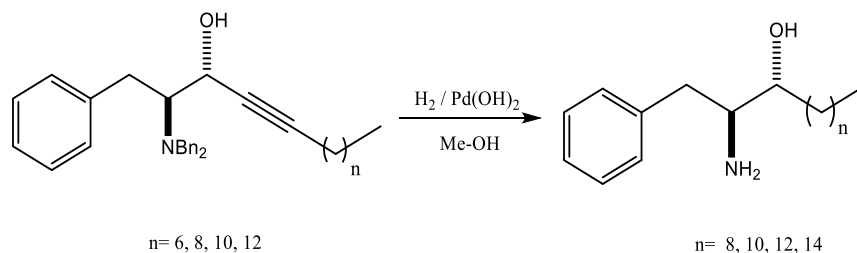
(2R,3S)-2-N,N-(dibenzylamino)-1-feniloctadec-4-in-3-ol.

(*m/z*) [**M+H**]⁺ = calculado C₃₈H₅₁NO 537.83, observado 538.38.

[α]_D²⁵: -39.3 (*c* 0.1, CHCl₃)

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0.97 (t, 3H, *J* = 7.0 Hz, H-18), 1.28-1.45 (m, 20H, CH₂), 1.53-1.59 (m, 2H, H-7), 2.31 (t, 2H, *J* = 7.0 Hz, H-6), 3.05 (dd, 1H, *J*_{gem} = 13.0 Hz, *J*_{1b-2H} = 10 Hz, H-1b), 3.14-3.17 (m, 1H, H-2), 3.22 (dd, 1H, 4.0 Hz *J*_{gem} = 13.0 Hz, *J*_{1a-2H} = 4 Hz, H-1a), 3.56 (d, 2H, 13.0 Hz, CH_{2a}-N), 4.07 (brs, 1H, OH), 4.13 (d, 1H, H-3), 4.41 (d, 1H, CH_{2b}-N), 7.25-7.43 (m, 15H, H-aromáticos).

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ: 14.2 (C-18), 18.8 (C-6), 22.8 (C-15), 28.6 (C-8), 28.9 (C-9), 29.8 (C-7), 29.4 (C-13), 29.6 (C-10), 29.7 (C-11), 29.7 (C-12), 29.8 (C-14), 31.7 (C-17), 32.0 (C-1), 55.0 (CH₂-N), 60.4 (C-3), 62.5 (C-2), 79.9 (C-4), 87.6 (C-5), 126.4 (C_p), 127.4, 128.6, 128.6, 129.3, 129.3 (C-aromáticos), 138.8 (C_{ipso}), 139.0 (C_{ipso}-CH₂-N) ppm.

Procedimiento general para obtención de anti-β-aminoalcohol.

A una disolución de *N,N*-dibencilamino alcohol (0.2 g) en metanol seco (5 mL), se añadieron 25 mg de Pd(OH)₂/C. La mezcla se agitó bajo 4 atm de H₂ a temperatura ambiente durante 48 h, la reacción se controló por CCF. Después de la terminación de la reacción, el catalizador se eliminó por filtrado a través de celite y se lavó con 20 mL de MeOH. El disolvente se evaporó bajo presión reducida para obtener el correspondiente anti-β-amino alcohol correspondiente.

(2*S*,3*R*)-2-amino-1-fenildodecan-3-ol.

(*m/z*) [M+H]⁺ = calculado C₁₈H₃₁NO 277.45, observado 277.13.

[α]_D²⁵: -55.0 (*c* 0.1, CHCl₃)

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0.89 (t, 3H, *J* = 7.0 Hz, H-12), 1.26-1.35 (m, 14H, CH₂), 1.51-1.58(m, 3H, H-4), 1.84 (brs, 2H, NH₂), 2.50 (dd, 1h, *J*_{gem} = 13.0 Hz, *J*_{1b-2H} = 10.0 Hz, H-1b), 2.92 (dd, 1H, *J*_{gem} = 13.0 Hz, *J*_{1a-2H} = 3.0 Hz), 3.09 (d, 1H, *J* = 10.0 Hz, H-2), 3.59-3.61 (m, 1H, H-3), 7.21-7.35 (m, 5H, H-aromáticos).

33.61-3.65 (m, 1H, H-3), 7.2-7.33 (m, 6H, H-aromáticos) ppm.

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ: 14.6 (C-12), 23.2 (C-11), 26.7 (C-7), 29.8 (C-9), 30.1 (C-6), 30.1 (C-8) 30.2 (C-10), 32.4 (C-4), 32.8 (C-1), 57.3 (C-2), 74.3 (C-3), 126.9 (C_p), 129.2 (C_m), 129.7 (C_o), 139.6 (C_{ipso}) ppm.

(2S, 3R)-2-amino-1-feniltetradecan -3-ol.

(*m/z*) [**M+H**]⁺ = calculado C₂₀H₃₅NO 305.51, observado 305.16.

[α]_D²⁵: -9.17 (c 0.1, CHCl₃)

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: = 0.90 (t, 3H, 7.0 Hz, H-14), 1.29-1.40 (m, 17H, CH₂), 1.51-1.58 (m, 3H, H-4), 2.32 (brs, 2H, NH₂, OH), 2.47 (dd, 1H, *J*_{gem} = 14.0 Hz, *J*_{1b-2H} = 10.0 Hz), 2.90 (dd, 1H, *J*_{gem} = 14.0, *J*_{1a-2H} = 3.0 Hz, H-1b), 3.08 (d, 1H, *J* = 9 Hz, H-2), 3.60-3.61 (m, 1H, H-3), 7.21-7.35 (m, 5H, H-aromaticos) ppm.

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ: 14.4 (C-14), 22.9 (C-13), 26.5 (C-11), 29.6 (C-7), 29.8 (C-8), 29.9 (C-9), 30.0 (C-6), 32.1 (C-4), 32.5 (C-12), 37.5 (C-1), 56.9 (C-2), 73.9 (C-3), 126.6 (C_p), 128.9 (C_m), 129.5 (C_o), 139.4 (C_{ipso}) ppm.

q

(2S,3R)-2-amino-1-fenilhexadecan-3-ol.

(*m/z*) [**M+H**]⁺ = calculado C₂₂H₃₉NO 333.56, observado 333.76

[α]_D²⁵: -21.0 (c 0.1, CHCl₃)

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0.90 (t, 3H, *J* = 7.0 Hz, H-14), 1.29-1.37 (m, 22H, CH₂), 1.51-1.58 (m, 3H, H-4), 1.77 (brs, 2H, NH₂), 2.47 (dd, 1H, *J*_{gem} = 13.0 Hz, *J*_{1b-2H} = 10 Hz, H-1b), 2.90 (dd, 1H, *J*_{gem} = 13.0 Hz, *J*_{1a-2H} = 3 Hz, H-1a), 3.08 (dt, 1H, *J*_{H2-H1} = 10 Hz, *J*_{H2-H3} = 4 Hz, H-2), 3.58-3.61 (m, 1H, H-3), 7.21-7.35 (m, 5H, H-aromaticos).

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ: 14.6 (C-16), 23.2 (C-15), 26.2 (C-13), 29.9 (C-6), 30.1 (C-5), 30.1 (C-4), 30.3 (C-), 37.7 (C-1), 57.1 (C-2), 74.5 (C-3), 126.8 (C_p), 129.1 (C_m), 129.8 (C_o), 139.5 (C_{ipso}) ppm.

(2S, 3R)-2-amino-1-feniloctadecan-3-ol.

(*m/z*) [**M+H**]⁺ = calculado C₂₄H₄₃NO 361.61, observado 361.32.

[α]_D²⁵: -14.0 (c 0.1, CHCl₃)

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0.88 (t, 3H, *J* = 7.0 Hz), 1.26-1.34 (m, 25H, CH₂), 1.50-1.58 (m, 3H, H-4), 1.76 (brs, 2H, NH₂), 2.48 (dd, 1H, *J*_{gem} = 13.0 Hz, *J*_{1b-2H} = 10.0 Hz, H-

1b), 2.89 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 13.0$, $J_{1a-2H} = 3.0$ Hz, H-1a), 3.09 (d, 1H, $J = 5$ Hz, H-2), 3.58-3.61 (m, 1H, H-3), 7.20-7.34 (m, 5H, H-aromáticos).

RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ : 14.1 (C-18), 22.7 (C-17), 26.2 (C-11), 29.3 (C-5), 29.6 (C-7), 29.7 (C-8), 29.7 (C-9), 29.8 (C-6), 31.9 (C-16), 32.2 (C-4), 37.6 (C-1), 56.6 (C-2), 74.0 (C-3), 126.3 (C_p), 128.6 (C_m), 129.2 (C_o), 139.4 (C_{ipso}) ppm.

(2R,3S),-2-amino-1-fenildodecan-3-ol.

(m/z) [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ = calculado $\text{C}_{18}\text{H}_{31}\text{NO}$ 277.45, observado 277.06.

[α] $_D^{25}$: +9.9 (c 0.1, CHCl_3)

RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.89 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz, H-12), 1.26-1.35 (m, 15H, CH_2), 1.50-1.56 (m, 3H, H-4), 1.94 (brs, 3H, NH_2), 2.50 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 13.0$ Hz, $J_{1b-2H} = 10$ Hz, H-1b), 2.89 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 13.0$ Hz, $J_{1a-2H} = 3.0$ Hz, H-1a), 3.10 (d, 1H, $J = 10.0$ Hz, H-2), 3.61-3.65 (m, 1H, H-3), 7.2-7.33 (m, 6H, H-aromáticos) ppm.

RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ : 14.6 (C-12), 23.2 (C-11), 26.7 (C-7), 29.8 (C-9), 30.1 (C-6), 30.1 (C-8), 30.2 (C-10), 32.4 (C-4), 32.8 (C-1), 57.3 (C-2), 74.3 (C-3), 126.9 (C_p), 129.2 (C_m), 129.7 (C_o), 139.6 (C_{ipso}) ppm.

(2R,3S),-2-amino-1-feniltetradecan-3-ol.

(m/z) [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ = calculado $\text{C}_{20}\text{H}_{35}\text{NO}$ 305.51, observado 305.99.

[α] $_D^{25}$: +15.0 (c 0.1, CHCl_3)

RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ : = 0.90 (t, 3H, 7.0 Hz, H-14), 1.29-1.40 (m, 17H, CH_2), 1.51-1.58 (m, 3H, H-4), 2.32 (brs, 2H, NH_2 , OH), 2.47 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 14.0$ Hz, $J_{1b-2H} = 10.0$ Hz), 2.90 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 14.0$, $J_{1a-2H} = 3.0$ Hz, H-1b), 3.08 (d, 1H, $J = 9$ Hz, H-2), 3.60-3.61 (m, 1H, H-3), 7.21-7.35 (m, 5H, H-aromáticos) ppm.

RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ : 14.4 (C-14), 22.9 (C-13), 26.5 (C-11), 29.6 (C-7), 29.8 (C-8), 29.9 (C-9), 30.0 (C-6), 32.1 (C-4), 32.5 (C-12), 37.5 (C-1), 56.9 (C-2), 73.9 (C-3), 126.6 (C_p), 128.9 (C_m), 129.5 (C_o), 139.4 (C_{ipso}) ppm.

(2R,3R),-2-amino-1-fenilhexadecan-3-ol.

(*m/z*) [**M+H**]⁺ = calculado C₂₂H₃₉NO 333.56, observado 333.55.

[α]_D²⁵: +16.5 (*c* 0.1, CHCl₃)

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: = 0.92 (t, 3H, *J* = 7.0 Hz), 1.28-1.37 (m, 22H, CH₂), 1.51-1.58 (m, 3H, H-4), 1.78 (brs, 4H; NH₂), 2.50 (dd, 1H, *J*_{gem} = 13 Hz, *J*_{1b-2H} = 10.0 Hz, H-1b), 2.92 (dd, 1H, *J*_{gem} = 13.0, *J*_{1a-2H} = 3.0 Hz, H-1a), 3.07- (dt, 1H, *J*_{H2-H1} = 10 Hz, *J*_{H2-H3} = 4 Hz, H-2), 3.59-3.62 (m, 1H, H-3), 73.21-7.35 (m, 5H, H-aromáticos).

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ: 14.6 (C-16), 23.2 (C-15), 26.2 (C-13), 29.9 (C-6), 30.1 (C-5), 30.1 (C-4), 30.3 (C-), 37.7 (C-1), 57.1 (C-2), 74.5 (C-3), 126.8 (C_p), 129.1 (C_m), 129.8 (C_o), 139.5 (C_{ipso}) ppm.

(2R,3R),-2-amino-1-feniloctadecan-3-ol.

(*m/z*) [**M+H**]⁺ = calculado C₂₄H₄₃NO 361.61, observado 362.51.

[α]_D²⁵: +11.0 (*c* 0.1, CHCl₃)

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0.88 (t, 3H, *J* = 7.0 Hz, H-18), 1.26- 1.34 (m, 26H, CH₂), 1.49- 1.58 (m, 4H, H-4), 1.70 (brs, 2H, NH₂), 2.50 (dd, 1H, *J*_{gem} = 14.0 Hz, *J*_{1b-2H} = 10.0 Hz), 2.88 (dd, 1H, *J*_{gem} = 14.0 Hz, *J*_{1a-2H} = 4.0 Hz, H-1a), 3.07 (dt, 1H, *J* = 10.0 Hz, *J* = 4.0 Hz, H-2), 3.57-3.60 (m, 1H, H-3), 7.20- 7.33 (m, 5H, H-aromáticos).

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ: 14.1 (C-18), 22.7 (C-17), 26.2 (C-11), 29.3 (C-5), 29.6 (C-7), 29.7 (C-8), 29.7 (C-9), 29.8 (C-6), 31.9 (C-16), 32.2 (C-4), 37.6 (C-1), 56.6 (C-2), 74.0 (C-3), 126.3 (C_p), 128.6 (C_m), 129.2 (C_o), 139.4 (C_{ipso}) ppm.

8. Referencias

- [1] Silveira-D., G.; Donadel, O. J.; Martín, V. S.; Padrón, J. M.; *J. Org Chem.* **2014**, *79*, 6775.
- [2] Pruett, S. H.; Busheney, A.; Hagedor, K.; Adiga, M.; Haynes, C. A; Sullards, M. C.; Liota, D. N. *J. Lipid. Res.* **2008**, *49*, 1621.
- [3] Padrón, J. M. *Curr. Med. Chem.* **2006**, *13* (7), 755.
- [4] Cheng, H. C.; Paudel, H.; Zhu, H. J. *Enzyme Res.* **2011**, *2011*, 794089.
- [5] Cheong, J. K. *Biomechem. Biol.* **2011**, *43*, 465.
- [6] Solado, I. *Tesis de Doctorado*, Universidad complutense de Madrid. 2014.
- [7] Ager, D. J.; Prakash, I.; Schaad, D. R. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 835.
- [8] Keiniche, L.; Fristrup, P.; Norrby, P.; Madsen, R.; *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15756.
- [9] Cooper, T. S.; Larigo, A. S.; Laurent, P.; Moody, C. J. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 1252.
- [10] Gatt, S.; Dagan, A. *Chem Phys Lipids.* **2012**, *165*(4), 462.
- [11] Martinková, M.; Gonda, J.; Jacková, D. *Tetrahedron: Asymmetry.* **2016**, *27*, 1187.
- [12] Rinehart, K. L.; Fergeau, L. N.; Warwick, R. A. *Spisulosine compounds*. U.S. Patent 6107520A, 2000.
- [13] Cuadros, R.; Montejo de G., E. Wandosella, F.; Fairclothb, G.; Fernández, J. M.; Ávila, J. *Cancer Letters.* **2000**, *152*, 23.
- [14] Sánchez, A. M.; Cazanave, S. M.; Olea, N.; Vara, D.; Cuevas, C.; Díaz-L., I. *J. Pharmacol.* **2008**, *584*, 237.
- [15] Silveira-D., G.; Sausa, I. J.; Fernandes, M. X.; Martín, V. S.; Padrón, J. M. *J. Med. Chem.* **2015**, *96*, 308.
- [16] Byun, H-S.; Pyne, S.; MacRitchie, N.; Pyne, N. J.; Bittman, R. *Med. Chem. Comm.* **2013**, *4*, 1394.
- [17] Jiménez, C.; Crews, P.J. *Nat. Prod.* **1990**, *53*, 978.

[18] Reetz, M. T. *Chem Rev.* **1999**, 99, 1221-1162.

[19]

- a) Fabisíková, M.; Martinkova, M.; Hirkova, S.; Gonda, J.; Pilatova, M. B.; Gönciová, G. *Carbohydrate Res.* **2016**, 435, 26.
- b) Abushanab, E.; Vemishetti, P.; Leiby, R. W.; Singh, H. K.; Mikkilineni, A. B.; Saibaba, D. C.; Panzina, R. P. *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 2598-2602.