



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y CENTRO
DE QUÍMICA-INSTITUTO DE CIENCIAS**

POSGRADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**Síntesis de derivados esteroidales con
heteroátomos de N, O y Se con actividad
antiproliferativa**

**TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS EN EL
ÁREA DE QUÍMICA ORGÁNICA**

PRESENTA

M.C. Ailed Verónica Arenas González


DIRECTORES DE TESIS


Dra. SOCORRO MEZA REYES

Dr. JOSÉ LUIS VEGA BÁEZ

OCTUBRE 2016

Agradecimientos:

CONACYT (350168) por la beca otorgada  **CONACYT**
Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

VIEP (proyectos 2015 y 2016) por los apoyos durante congresos  **VIEP**
Vicerrectoría de Investigación
y Estudios de Posgrado

CONACYT (Proyecto 256495)  **CONACYT**
Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

PROFOCIE y PRODEP 

La Beca Mixta 2014-MZO2015 Movilidad en el Extranjero (290842) para realizar una estancia en la:



A la Universidad de la Laguna, Tenerife, España por las pruebas realizadas de actividad antiproliferativa





Contents lists available at ScienceDirect

Steroids

journal homepage: www.elsevier.com/locate/steroids



Synthesis of monomeric and dimeric steroids containing [1,2,4]triazolo [1,5-*a*]pyrimidines



Ailed Arenas-González^a, Luis Antonio Mendez-Delgado^a, Penélope Merino-Montiel^a, José M. Padrón^b, Sara Montiel-Smith^a, José Luis Vega-Báez^{a,*}, Socorro Meza-Reyes^{a,*}

^a Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Químicas, Ciudad Universitaria, C.P. 72570 Puebla, Pue., Mexico

^b BioLab, Instituto Universitario de Bio-Organica "Antonio González" (IUBO-AG), Universidad de La Laguna, C/ Astrofísico Francisco Sánchez 2, 38206 La Laguna, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 9 June 2016

Received in revised form 15 September 2016

Accepted 20 September 2016

Keywords:

Steroids

Heterocyclic compounds

α,β -Unsaturated ketones

Cycloaddition

[1,2,4]Triazol[1,5-*a*]pyrimidine

ABSTRACT

The synthesis of several monomeric and dimeric steroidal [1,2,4]triazolo[1,5-*a*]pyrimidines (TPs) derived from steroids are described. These derivatives were prepared from α,β -unsaturated carbonyl compounds through a Claisen Schmidt condensation and rearrangement of the spiro moiety followed by a cycloaddition with 3-amino-1,2,4-triazole. The antiproliferative activity of compounds **7**, **13–15** was tested against human cancer cells; several IC_{50} values were below 10 μ M.

© 2016 Elsevier Inc. All rights reserved.

CONTENIDO

Abreviaturas y acrónimos	1
Lista de figuras/esquemas	3
Lista de tablas	6
Índice de compuestos heteroesteroidales sintetizados	7
Resumen	9
Capítulo I. Introducción	12
Capítulo II. Antecedentes	17
2.1 Síntesis de isoxazoles e isoxazolininas	19
2.2 Síntesis de triazolopirimidinas	21
2.3 Síntesis de selenoderivados	24
2.4 Estudio estructura-actividad	26
Capítulo III. Objetivos	28
Capítulo IV. Discusión de Resultados	29
4. Análisis Químico	
4.1 Síntesis de nuevos derivados que poseen un heterociclo de isoxazolina.	30
4.1.1 Síntesis de 3'-metil-2 <i>H</i> -[1,2]oxazolo[5',4':16,17]androst-5-en-3β-ol (19)	31
4.1.2 Síntesis de 2' <i>H</i> -[1,2]oxazolo[5',4',3':4,5,6]pregn-5-eno-3,20-diona (23)	34
4.1.3 Síntesis de 5'-fenil-2',5'-dihidroisoxazolo[4',3':16,17]estra-1,3,5(10)-trien-3-ol (29)	37

SÍNTESIS DE DERIVADOS ESTEROIDALES CON HETEROÁTOMOS
DE N, O, Se, CON ACTIVIDAD ANTIPROLIFERATIVA

4.1.4 Síntesis de las isoxazolininas 34 y 35	38
4.2 Síntesis de nuevos derivados esteroideos monoméricos y diméricos [1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidinas.	39
4.2.1 Síntesis de derivados α,β -insaturados por condensación de Claisen-Schmith.	40
4.2.2 Síntesis de derivados α,β -insaturados por rearrreglo	44
4.2.3 Síntesis de los heterociclos de triazolopirimidinas	
4.3. Síntesis de azaesteroides.	48
4.3.1. Síntesis de (25 <i>R</i>)-12a-aza-homo-5 α -espirostan-3 β -ol (56)	49
4.4 Síntesis de nuevos derivados selenoesteroidales.	50
4.4.1 Selenoheterociclos esteroideos (análogos al ebselen)	
4.4.1.1 Obtención de derivados mesilados y azidas esteroideos	51
4.4.1.2 Obtención de las aminas esteroideos	
4.4.1.3 Obtención de los selenoheterociclos esteroideos (análogos al ebselen)	52
4.5 Síntesis de selenosemicarbazonas esteroideos	55
4. Análisis Espectroscópico	
4.6 Caracterización de nuevos derivados heteroesteroides.	
4.6.1 Derivados de isoxazolininas esteroideos.	59
4.6.1.1 Caracterización por RMN de las cetonas α,β -insaturadas.	
4.6.1.2 Caracterización por RMN de oximas α,β -insaturadas.	60
4.6.1.3 Caracterización de las isoxazolininas esteroideos fusionadas al C-16 y C-17; entre los anillos A y B.	62
4.6.1.4 Estructura del 3'-metil-2 <i>H</i> -[1,2]oxazolo [5',4':16,17]	

SÍNTESIS DE DERIVADOS ESTEROIDALES CON HETEROÁTOMOS
DE N, O, Se, CON ACTIVIDAD ANTIPROLIFERATIVA

androst-5-en-3 β -ol (**19**)

4.6.1.5 Estructura del 2' <i>H</i> -[1,2]oxazolo[5',4',3':4,5,6] pregn-5-eno-3,20-diona (23)	65
4.6.1.6 Estructura del 5'-fenil-2',5'-dihidroisoxazolo [4',3':16,17]estra-1,3,5(10)-trien-3-ol (29)	68
4.7 Caracterización de nuevos derivados esteroideos monoméricos y diméricos [1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidinas.	70
4.7.1 Preparación de las cetonas α,β -insaturadas monoméricas y diméricas	70
4.7.2 Obtención de los derivados monoméricos y diméricos [1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidinas esteroideos sustituidos o fusionados en diferentes posiciones del esqueleto esteroideo.	73
4.7.2.1 Estructura del 17 β -{7'-fenil[1,2,4]triazolo-[1,5-a]pirimidil}androstan-3 β -ol (47)	74
4.7.2.2 Estructura del 3-hidroxi-7'-fenilestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d][1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidina (48)	77
4.7.2.3 Estructura del 7'-fenil-5 α -androstano[17,16-d][1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidina (49)	80
4.7.2.4 Estructura del (25 <i>S</i>)-3 β ,26-Dihidroxi-16 β -23-epoxi-12-oxo-5 α -colestano[23,22-d][1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidina (52)	83
4.7.2.5 Estructura del <i>m</i> -{bis[3-hidroxiestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d][1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimid-7'-il]}benceno (50)	85
4.7.2.6 Estructura del <i>m</i> -{bis[3 β -hidroxi-5 α -androstano[17,16-d][1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimid-7'-il]}benceno (51)	87

SÍNTESIS DE DERIVADOS ESTEROIDALES CON HETEROÁTOMOS
DE N, O, Se, CON ACTIVIDAD ANTIPROLIFERATIVA

4.7.2.7 Estructura del (25 <i>R</i>)-12a-aza-homo-5 α -espirostan-3 β -ol (56)	91
4.8 Caracterización de nuevos derivados selenoesteroidales.	93
4.8.1 Selenoheterocilos esteroidales (análogos al ebselen)	93
4.8.1.1 Estructura del (25 <i>R</i>)-3-(3'-oxobenzod[<i>d</i>][1,2]selenazol-2'(3 <i>H</i>)-il)espirost-5-eno (60)	97
4.9 Síntesis de compuestos novedosos de tipo selenosemicarbazonas esteroidales	
4.9.1.1 Caracterización espectroscópica del 1-(4'-metilfenil)-4-[12''-(5 α -espirostan-3 β -il)]selenosemicarbazona (73)	103
4. Ensayos Antiproliferativos	108
Capítulo V. Desarrollo experimental.	113
Capítulo VI. Conclusiones.	167

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

AcOH	Ácido acético
Ac ₂ O	Anhídrido acético
Ax	Axial
BMS	Borano dimetilsulfóxido
C	Concentración
CCF	Cromatografía en capa fina
δ	Desplazamiento químico en RMN
d	Doble
dd	Doble de dobles
ddd	Doble de dobles de dobles
DMSO	Dimetilsulfóxido
<i>ec</i>	Ecuatorial
FAB	<i>Fast Atom Bombardment</i>
GI ₅₀	<i>50% Growth inhibition</i>
HREIMS	<i>High Resolution Electron Impact Mass Spectrometry</i>
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
Hz	Hertz
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
LDA	Diisopropilamida de litio
m	Múltiple
MHz	Megahertz

SÍNTESIS DE DERIVADOS ESTEROIDALES CON HETEROÁTOMOS
DE N, O, Se, CON ACTIVIDAD ANTIPROLIFERATIVA

μM	Micromolar
p.f.	Punto de fusión
Ppm	Partes por millón
Py	Piridina
RMN de ^1H	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
RMN de ^{13}C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono
S	Señal simple
sa	Señal simple ancha
t.a.	Temperatura ambiente
THF	Tetrahidrofurano
m/z	Relación masa/carga

LISTA DE FIGURAS/ESQUEMAS

- Figura 1.** Heterociclos esteroidales con diferentes actividades biológicas.
- Figura 2.** Algunos heterocíclicos presentes en la naturaleza.
- Figura 3.** Compuestos heterocíclicos ya sea fusionados o ligados al esqueleto esteroideal.
- Figura 4.** Estructura general de isoxazoles e isoxazolininas.
- Figura 5.** Isoxazoles bioactivos obtenidos de fuentes naturales.
- Figura 6** Formas isómeras de la 1,2,4-triazolo[1,5-a] y [1,5-c]pirimidinas.
- Figura 7.** Estructuras de 1,2,4-triazolo[1,5-a]pirimidinas.
- Figura 8.** Estructuras de los dímeros esteroidales cefalostatina 1 y ritterazina A que poseen actividad anticancerígena.
- Figura 9.** Derivados de Se con interés biológico.
- Figura 10.** Esteroides neuroactivos.
- Figura 11.** Difracción de rayos X de **25**.
- Figura 12.** Derivados esteroidales [1,2,4]-triazolo[1,5-a]pirimidinas.
- Figura 13.** Obtención de las aminas **62-64**.
- Figura 14.** Selenoderivados esteroidales **60, 69, 70 y 71**.
- Figura 15.** Isoxazolininas esteroidales **19, 23 y 29**.
- Figura 16.** Espectro de RMN de ^1H y ^{13}C (400 MHz y 100 MHz, Py-d_5) del compuesto **19**.
- Figura 17.** Experimento HMBC del compuesto **19**.
- Figura 18.** Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) del compuesto **23**.
- Figura 19.** Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) del compuesto **23**.
- Figura 20.** Experimento HMBC del compuesto **23**.
- Figura 21.** Espectro de RMN de ^1H y ^{13}C (400 MHz y 100 MHz, CDCl_3) del compuesto **29**.
- Figura 22.** Experimento HMBC del compuesto **29**.
- Figura 23.** Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) del compuesto **47**.
- Figura 24.** Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) del compuesto **47**.
- Figura 25.** Experimento HMBC del compuesto **47**.
- Figura 26.** Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) del compuesto **48**.
- Figura 27.** Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) del compuesto **48**.

- Figura 28.** Experimento HMBC del compuesto **48**.
- Figura 29.** Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del compuesto **49**.
- Figura 30.** Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del compuesto **49**.
- Figura 31.** Experimento HMBC del compuesto **49**.
- Figura 32.** Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del compuesto **52**.
- Figura 33.** Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del compuesto **52**.
- Figura 34.** Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del compuesto **50**.
- Figura 35.** Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del compuesto **50**.
- Figura 36.** Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del compuesto **51**.
- Figura 37.** Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del compuesto **51**.
- Figura 38.** Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del compuesto **56**.
- Figura 39.** Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del compuesto **56**.
- Figura 40.** Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) **58**.
- Figura 41.** Compuestos selenoderivados sobre el núcleo esteroidal **60**, **69**, **70** y **71**.
- Figura 42.** Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del compuesto **60**.
- Figura 43.** Espectro de RMN de ^{13}C (500 MHz, CDCl_3) del compuesto **60**.
- Figura 44.** Experimento HSQC de **60**.
- Figura 45.** Experimento HMBC de **60**.
- Figura 46.** Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CD_3Cl) del compuesto **73**.
- Figura 47.** Espectro de RMN de ^{13}C (500 MHz, CD_3Cl) del compuesto **73**.
- Figura 48.** Experimento HSQC de **73**.
- Figura 49.** Experimento HMBC de **73**.
- Figura 50.** Resultados del ensayo de antiproliferación.
- Figura 51.** Resultados del ensayo de antiproliferación.
- Esquema 1.** Síntesis del carboxaldehído **5** y su cicloadición a la isoxazolina **6**.
- Esquema 2.** Síntesis de Danazol **9**.
- Esquema 3.** Síntesis de 7'-aril-androstano[17,16,d][1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidinas (**13**).
- Esquema 4.** Síntesis de la isoxazolina **19**.

- Esquema 5.** Mecanismo de formación del compuesto **18**.
- Esquema 6.** Mecanismo de formación del compuesto **19**.
- Esquema 7.** Síntesis de isoxazolininas por Sato.
- Esquema 8.** Síntesis de la isoxazolinina **23**.
- Esquema 9.** Mecanismo de formación del compuesto **23**.
- Esquema 10.** Síntesis de la isoxazolinina **29**.
- Esquema 11.** Síntesis de las isoxazolininas **34 y 35**.
- Esquema 12.** Síntesis de los derivados bencilideno **25, 37 y 38**.
- Esquema 13.** Síntesis de las cetonas α,β -insaturadas diméricas **39 y 40**.
- Esquema 14.** Obtención de la tigogenina **42**.
- Esquema 15.** Mecanismo para la formación de **42**.
- Esquema 16.** Síntesis de la cetona α,β -insaturada **46**.
- Esquema 17.** Procedimiento general para la síntesis de los derivados [1,2,4]-triazolo[1,5-a]pirimidinas.
- Esquema 18.** Reacción del derivado carbonílico α,β -insaturado **53** para la obtención de heterociclo.
- Esquema 19.** Síntesis del 12-azaesteroide **56**.
- Esquema 20.** Síntesis de la formación de un heterociclo con selenio **60**.
- Esquema 21.** Obtención del cloruro de 2-cloroselenobenzoilo **68**.
- Esquema 22.** Mecanismo para la formación de **60**.
- Esquema 23.** Ruta sintética para obtener las selenosemicarbazonas.
- Esquema 24.** Obtención de las selenosemicarbazidas **83-85**.
- Esquema 25.** Obtención de las selenosemicarbazonas **73-76**.
- Esquema 26.** Mecanismo propuesto para la obtención de las selenosemicarbazonas.
- Esquema 27.** Síntesis del compuesto **86**.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Desplazamientos químicos de ^1H y ^{13}C -RMN de los carbonílicos α,β -insaturados.

Tabla 2. Datos más importantes de RMN de ^1H y ^{13}C para los compuestos **18**, **22** y **27**.

Tabla 3. Datos más importantes de ^1H y ^{13}C -RMN (CDCl_3 , δ en ppm) e IR (cm^{-1}) de las cetonas α,β -insaturadas **37**, **25**, **38**, **39** y **40**.

Tabla 4. Datos más importantes de RMN de ^1H y ^{13}C para el compuesto **46**.

Tabla 5. Desplazamientos químicos de ^1H y ^{13}C -RMN (δ , ppm, 500 MHz y 125.7 MHz, CDCl_3) e IR (cm^{-1}) de los compuestos [1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidinas.

Tabla 6. Datos seleccionados de RMN de ^1H y ^{13}C de los compuestos **58**, **87**, **88** y **89** (CDCl_3 , δ en ppm).

Tabla 7. Datos seleccionados de RMN de ^1H y ^{13}C de los compuestos **61**, **65**, **70** y **75** (CDCl_3 , δ en ppm).

Tabla 8. Desplazamientos de RMN (δ , ppm) de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) y ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) de los derivados **60**, **69** y **71**.

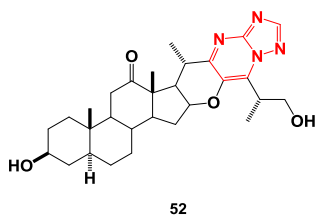
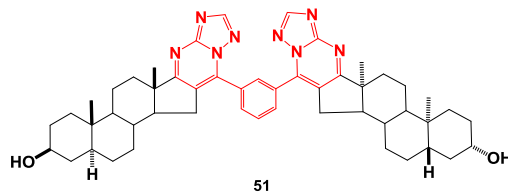
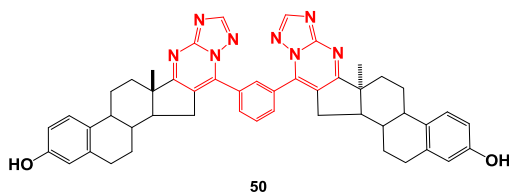
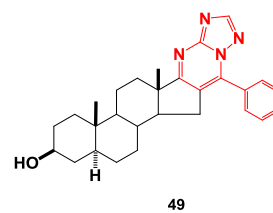
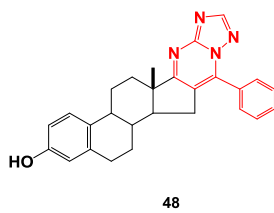
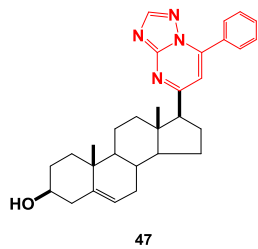
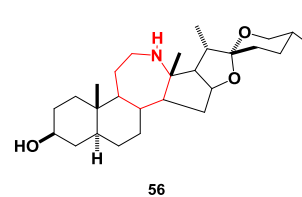
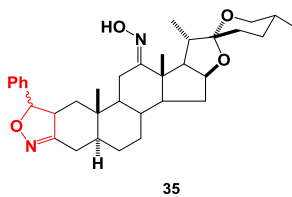
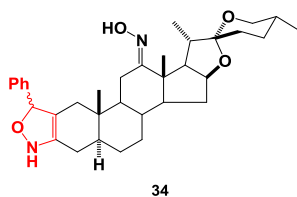
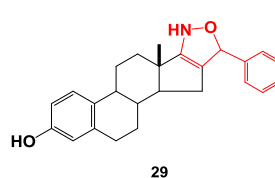
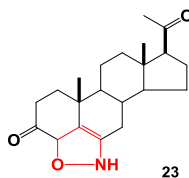
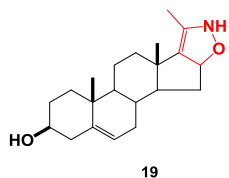
Tabla 9. Datos de ^1H -RMN de los compuestos **73-76** (δ , ppm).

Tabla 10. Datos de ^{13}C -RMN de los compuestos **73-76** (δ , ppm).

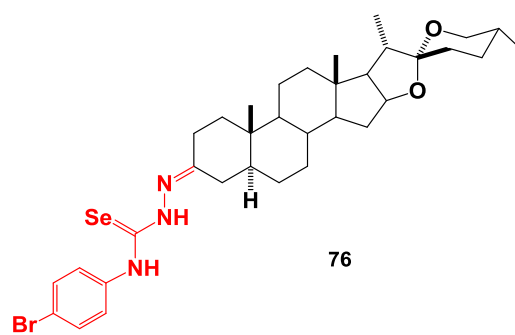
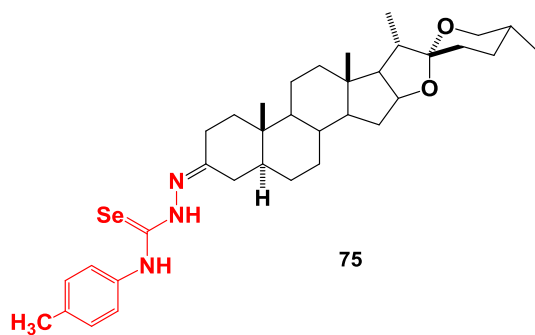
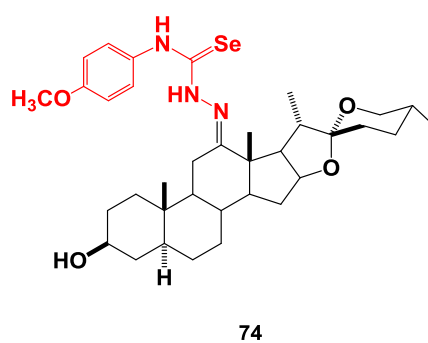
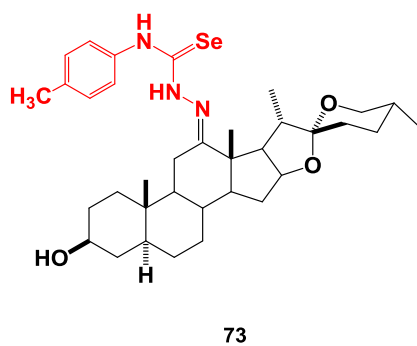
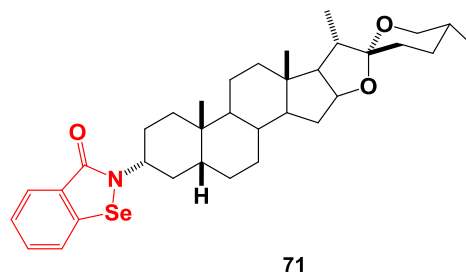
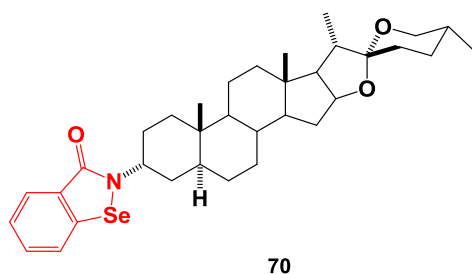
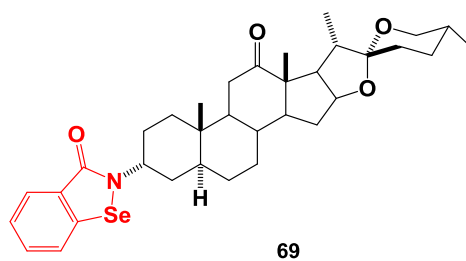
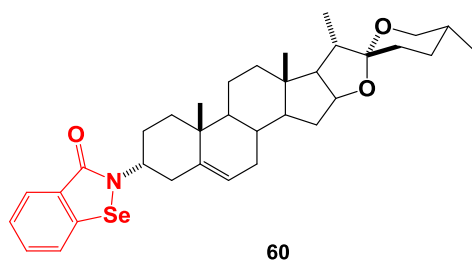
Tabla 11. Actividad antiproliferativa (GI_{50} , μM) frente a líneas celulares de tumores sólidos humanos.

Tabla 12. Actividad antiproliferativa (GI_{50} , μM) frente a líneas celulares de tumores sólidos humanos.

INDICE DE COMPUESTOS HETEROESTEROIDALES SINTETIZADOS



SÍNTESIS DE DERIVADOS ESTEROIDALES CON HETEROÁTOMOS
DE N, O, Se, CON ACTIVIDAD ANTIPROLIFERATIVA



RESUMEN

En la presente tesis doctoral se describe la síntesis y evaluación antiproliferativa de nuevos derivados esteroidales con heterociclos con distintos heteroátomos como nitrógeno, oxígeno que se encuentran fusionados o sustituidos en diferentes posiciones de los anillos A-D o de la cadena lateral del núcleo esteroidal, procedentes de diversos esqueletos esteroidales. Además de selenoesteroides que son compuestos que contienen heterociclos o una cadena con selenio en C-3.

Numerosos heteroesteroides han sido sintetizados y estudiados por sus importantes actividades biológicas que han mostrado, por ejemplo antitumoral, antiproliferativa, citotóxica, entre otras. Ya que es conocido que la modificación del esteroide por reemplazo de uno o más átomos de carbono o inserción de un heterociclo pueden alterar dichas propiedades.

Se obtuvieron diferentes esteroides con heterociclos como oxazolinas, [1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidinas monoméricos y diméricos, azaesteroides, selenoderivados, además de selenosemicarbazonas esteroidales.

Para la síntesis de los compuestos obtenidos se utilizaron diversas materias primas como 17 α -hidroxipregnenolona, estrona, pregnenolona, hecogenina, tigogenina y esmilagenina.

Para la obtención de los nuevos derivados que poseen un heterocíclico de isoxazolinas fue necesario formar un sistema carbonílico α - β -insaturadas y/o una oxima para llevar a cabo la ciclación y formación de las oxazolidinas.

Por otra parte, se describe la síntesis de derivados esteroideos [1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidinas monoméricos y diméricos. Los derivados se prepararon formando primero los derivados de carbonilos α,β -insaturados a través de una condensación de Claisen Schmidt, los monómeros se obtuvieron con benzaldehído mientras que los dímeros con isoftaldehído. En seguida el tratamiento con 3-amino-1,2,4-triazol para formación de los heterociclos esperados de triazolopirimidinas.

Además se ha llevado a cabo la obtención del 12-azaesteroide a partir de la hecogenina formando primero la oxima seguido de un reordenamiento de Beckmann que condujo a la lactama y la reducción de ésta generó el azaesteroide.

Fue interesante la preparación de selenoderivados esteroideos con análogos al ebselen. Se utilizaron diversas sapogeninas en la obtención de estos derivados. Se llevó a cabo primero la mesilación del hidroxilo en C-3 y posterior transformación a la azida, seguida de una reducción para formar la amina correspondiente, que al ser tratado con 2-cloroselenobenzoilo generó la benzoselenazolona esteroidea.

Las selenosemicarbazonas esteroideas se obtuvieron por condensación de selenosemicarbazidas con el grupo carbonilo de las sapogeninas.

Muchos derivados con heteroátomos en ciclos o en cadenas han mostrado tener actividades biológicas diversas, por ejemplo actividad antiproliferativa, antioxidantes, entre otras.

Se llevaron a cabo estudios de actividad antiproliferativa frente a diversas líneas celulares de cáncer a derivados de isoxazolina, [1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidinas y selenoderivados.



CAPITULO I

INTRODUCCIÓN



Este trabajo de doctorado describe la preparación de diversos heterociclos esteroidales fusionados o sustituidos en diferentes posiciones del esqueleto esteroide; debido a las importantes propiedades biológicas y farmacológicas que exhiben; estos nuevos derivados podrían tener un amplio abanico de aplicaciones, en diversas áreas.

Los esteroides han sido uno de los principales focos de investigación a lo largo de la historia científica.¹ Son una clase importante de compuestos naturales y sintéticos, que han mostrado diferentes propiedades biológicas,² por lo que pueden actuar como fármacos para el tratamiento de diversas enfermedades³ incluyendo: las cardiovasculares,⁴ insuficiencias suprarrenales,⁵ trastornos autoinmunes,⁶ infecciones fúngicas y microbianas,^{7,8} entre otras. También se han preparado diversos derivados esteroidales como agentes anticancerígenos: para el tratamiento de la leucemia,³ cáncer de mama⁹ y próstata¹⁰ así como en el tratamiento de tumores cerebrales.¹¹

¹ Monhareb, R. M.; Wardakhan, W. W.; Elmegeed, G. A.; Ashour, R. M.S. *Steroids* **2012**, *77*, 1560-1569.

² a) Mensah-Nyagan, A. G.; Meyer, L.; Schaeffer, V.; Kibaly, C.; Patte-Mensah, C. *Psychoneuroendocrino* **2009**, *34*, 169-177. b) Ibrahim-Ouali, M. *Steroids* **2007**, *72*, 475-508. c) Bhatti, H. N.; Khera, R. A. *Steroids* **2012**, *77*, 1267-1290.

³ Bansal, R.; Guleria, S.; Thota, S.; Bodhankar, S. L.; Patwardhan, M.R.; Zimmer, C.; Hartmann, R. W.; Harvey A. L. *Steroids* **2012**, *77*, 621-629.

⁴ Dubey, R. K.; Oparil, S.; Imthurn, B.; Jackson, E. K. *Cardiovasc. Res.* **2002**, *53*, 688-708.

⁵ Bhatti, H. N.; Khera, R. A. *Steroids* **2012**, *77*, 1267-1290.

⁶ Auci, D. L.; Reading, C. L.; Frincke, J. M. *Autoimmun. Rev.* **2009**, *8*, 369-372.

⁷ Jursic, B. S.; Upadhyay, S. K.; Creech, C. C.; Neumann, D. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 7372-7375.

⁸ Banday, A. H.; Zargar, M. I.; Ganaie, B. A. *Steroids* **2011**, *76*, 1358-1362.

⁹ a) Billich, A.; Nussbaumer, P.; Lehr, P. J. *Steroid Biochem.* **2000**, *73*, 225-235. b) Saha, P.; Fortin, S.; Leblanc, V.; Parent, S.; Asselin, E.; Bérubé, G.; *Steroids* **2012**, *77*, 1113-1122. c) Bansal, R.; Guleria, S.; Thota, S.; Hartmann, R. W.; Zimmer, C. *Chem. Pharm. Bull.* **2011**, *59*, 327-331.

¹⁰ Gauthier, S.; Martel, C.; Labrie, F. J. *Steroid Biochem.* **2012**, *132*, 93-104.

¹¹ P.J. Sheridan, K. Blum, M.C. Trachtenberg. *Marcel Dekker Inc* **1988**, 289-564.

Está comprobado que numerosas propiedades biológicamente importantes de diversos esteroides modificados depende de las características estructurales del sistema esteroidal y de la cadena lateral.¹² Las diversas modificaciones a los grupos funcionales presentes en la estructura esteroidal han generado un estudio interesante de relaciones estructura-actividad.^{13,14}

La química de los esteroides ha motivado una extensa investigación a través de décadas y una, revisión exhaustiva en la síntesis de nuevos esteroides bioactivos recientemente se publicó una.¹⁵ En particular, la síntesis de esteroides que contienen un heteroátomo o un anillo heterocíclico unido o fusionado al esqueleto esteroidal ha atraído la atención de muchos grupos de investigación debido a que presentan propiedades biológicas.¹⁶ En lo que a esto respecta, diversos autores han reportado que además de la actividad hormonal típica que poseen los esteroides, la introducción de heterociclos sobre la estructura del esteroide ha dado como resultado compuestos con actividad antimicrobiana, antioxidante y antiinflamatoria, entre otros.¹⁷ Además, de forma relevante se puede mencionar que diferentes heterociclos esteroidales han mostrado actividad anticancerígena en diversas líneas celulares,¹⁸ funcionando también como inhibidores de enzimas implicadas en el cáncer de mama y de próstata.

¹² a) Salvador, J. A. R.; Carvalho, J. S.; Neves, M. A. C.; Silvestre, S. M.; Leitão, A. J.; Silva, M. M. C.; Sá e Melo, M. L. *Nat. Prod. Rep.* **2013**, *30*, 324–374. b) Yu, B.; Shi, X. J.; Ren, J.; Sun, X. N.; Qi, P. P.; Fang, Y.; Ye, X. W.; Wang, M. M.; Wang, J. W.; Zhang, E.; Yu, D. Q.; Liu, H. M. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *66*, 171-179. c) Yu, B.; Sun, X. N.; Shi, X. J.; Qi, P. P.; Fang, Y.; Zhang, E.; Yu, D. Q.; Liu, H. M. *Steroids* **2013**, *78*, 1134–1140.

¹³ Singh, R.; Panda, G. *Tetrahedron* **2013**, *69*, 2853-2884.

¹⁴ Frank, E.; Schneider, G. *J. Steroid Biochem.* **2013**, *137*, 301–315.

¹⁵ Hanson, J. R.; *Nat. Prod. Rep.* **2010**, *27*, 887–899.

¹⁶ a) Kovács, D.; Kádár, Z.; Mótyán, G.; Schneider, G.; Wölfling, J.; Zupkó, I.; Frank, É. *Steroids* **2012**, *77*, 1075-1085. b) Haung, L. H.; Zheng, Y. F.; Song, C. J.; Wang, Y. G.; Xie, Z. Y.; Lai, Y. W.; Lu, Y. Z.; Liu, H. M. *Steroids* **2012**, *77*, 367-374.

¹⁷ a) Rapi, G.; Ginanneschi, M.; Chelli, M.; Chimichi, S. *Steroids* **1985**, *46*, 665-676. b) Abdelhalim, M. M.; El-Saidi, M. M.T.; Rabie, S. T.; Elmegeed, G. A. *Steroids* **2007**, *72*, 459-465.

¹⁸ a) Al-Mohizea, A. M.; Al-Omar, M. A.; Abdalla, M. M.; Amr, A.G. E. *Int. J. Biol. Macromol.* **2012**, *50*, 171-179. b) Abdelhalim, M. M.; Kamel, E. M.; Rabie, S. T.; Mohamed, N. R. *Steroids* **2011**, *76*, 78-84.

SÍNTESIS DE DERIVADOS ESTEROIDALES CON HETEROÁTOMOS DE N, O, Se, CON ACTIVIDAD ANTIPROLIFERATIVA

Otros derivados que han mostrado actividad farmacológica importante, son los dímeros esteroidales, una familia especial de compuesto ha llamado la atención de varios grupos de investigación.¹⁹ Por otro lado, son pocos los derivados esteroidales que poseen selenio en su estructura.²⁰ Recientemente en nuestro grupo de investigación se ha descrito la síntesis de una selenourea esteroidal con propiedades antioxidantes y anticancerígenas (figura 1).²¹

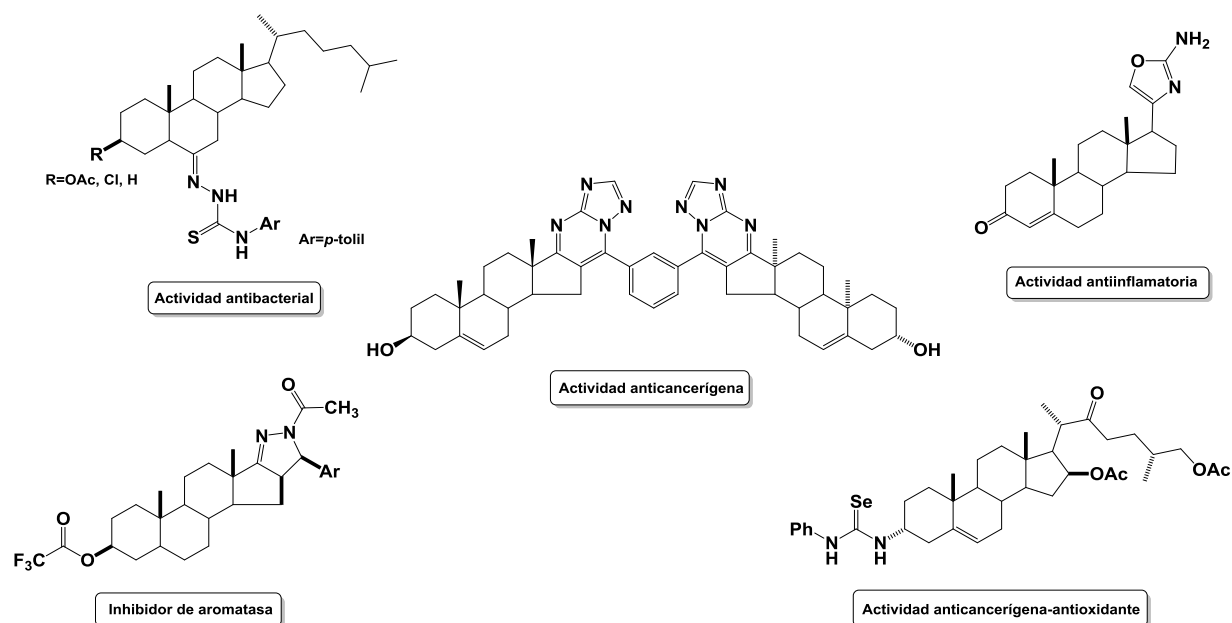


Figura 1. Heterociclos esteroidales con diferentes actividades biológicas.

En vista de estas observaciones resulta de gran interés la búsqueda de esteroides modificados, que presentan mayor actividad biológica que los ya reportados y que contribuyan al descubrimiento de nuevos fármacos esteroidales. Más selectivos y con menores efectos secundarios.

¹⁹ a) Li, Y.; Dias, J. R.; *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 283–304. b) Nahar, L.; Sarker, S. D.; Turner, A. B. *Curr. Med. Chem.* **2007**, *14*, 1349-1370.

²⁰ a) Segaloff, A.; Gabbard, R. B.; *Steroids* **1965**, *5*, 219-240. b) Fernández-Herrera, M. A.; Sandoval-Ramírez, J.; Sánchez-Sánchez, L.; López-Muñoz, H.; Escobar-Sánchez, M. L. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *74*, 451-460.

²¹ Romero-Hernández, L. L.; Merino-Montiel, P.; Montiel-Smith, S.; Meza-Reyes, S.; Vega-Báez, J. L.; Abasolo, I.; Schwartz Jr., S.; López, Ó.; Fernández-Bolaños, J. G. *Eur J Med Chem* **2015**, *99*, 67-81.

SÍNTESIS DE DERIVADOS ESTEROIDALES CON HETEROÁTOMOS
DE N, O, Se, CON ACTIVIDAD ANTIPROLIFERATIVA

Con base en las numerosas propiedades que muestran los compuestos heterociclos esteroidales, los dímeros esteroidales, así como los selenoderivados, en este trabajo se sintetizaron compuestos esteroidales y se probó su actividad antiproliferativa.



CAPITULO II

ANTECEDENTES



El crecimiento de la industria farmacéutica y su interés por encontrar nuevos y mejores fármacos, ha traído consigo la búsqueda de nuevas estructuras heterocíclicas. Para ello, una opción ha sido el uso de este grupo de compuestos que presentan una gran diversidad de propiedades farmacológicas por lo que su síntesis y transformación se ha convertido en un tema de interés. Los compuestos heterocíclicos constituyen un amplio grupo de compuestos orgánicos que son importantes no sólo por su abundancia, sino debido a que poseen diversas actividades biológicas. En la naturaleza podemos encontrarlos en vitaminas, antibióticos y alcaloides (figura 2), otros han sido sintetizados y utilizados en productos farmacéuticos, colorantes y herbicidas, entre otros.

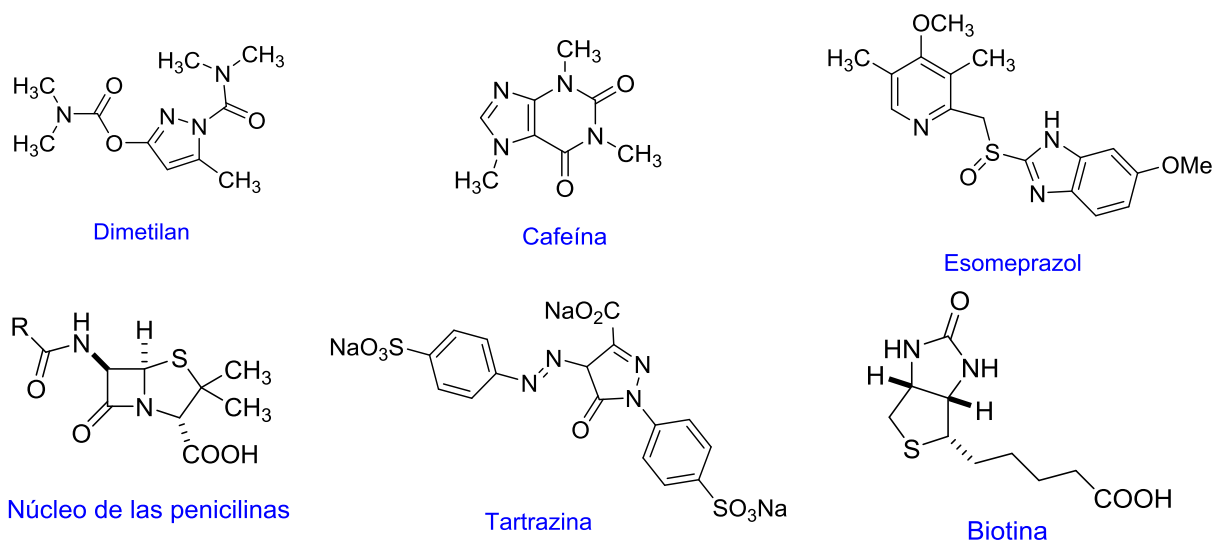


Figura 2. Compuestos heterocíclicos presentes en la naturaleza.

En esta búsqueda de nuevos compuestos con mejores propiedades terapéuticas que puedan funcionar como fármacos para las diferentes enfermedades que existen, se han realizado modificaciones en la cadena lateral de los esteroides, así como en los diferentes anillos del sistema tetracíclico, además de la transformación o inserción de distintos grupos funcionales.²²

En particular, se han introducido al núcleo esteroidal heterociclos como isoxazoles, isoxasolinas, tiazoles, tiadiazoles, pirimidinas, imidazoles, entre otros²³ (figura 3).

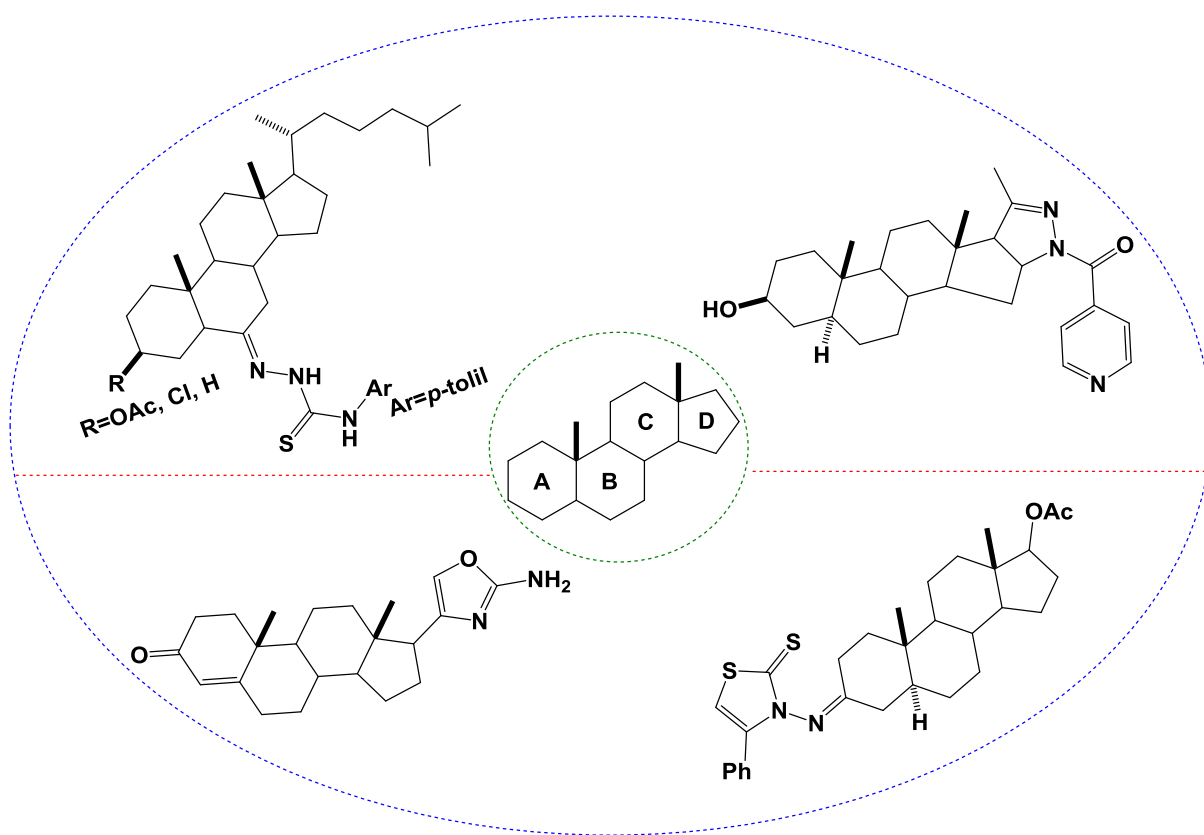


Figura 3. Compuestos heterocíclicos ya sea fusionados o ligados al esqueleto esteroidal.

²² El-far, M.; Elmegeed, G. A.; Eskander, E. F.; Rady, H. M.; Tantawy, M. A.; *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 3936-3946.

²³ Mori, D.; Kimura, Y.; Kitamura, S.; Sakagami, Y.; Yoshioka, Y.; Shintani, T.; Okamoto, T.; Ojika, M. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 7190-7198.

En este contexto, la síntesis de compuestos heterocíclicos esteroidales representa una alternativa atractiva para la generación de nuevos fármacos, por lo que a continuación se describen algunas metodologías para la obtención de este tipo de compuestos.

2.1 Síntesis de isoxazoles e isoxazolininas

Entre los compuestos heterocíclicos de cinco miembros que contienen oxígeno-nitrógeno (O, N) se encuentran las isoxazolininas e isoxazoles, pertenecen a la familia de los azoles (figura 4). Estos compuestos son de gran interés y juegan un rol importante en la síntesis de moléculas biológicamente activas con propiedades farmacológicas tales como: antitumorales, hipocolesterolémicos, anti-HIV, antifúngicos, antibacterianos, antiinflamatorios y recientemente se ha descrito que exhiben actividades antiproliferativas^{24, 25 26}.

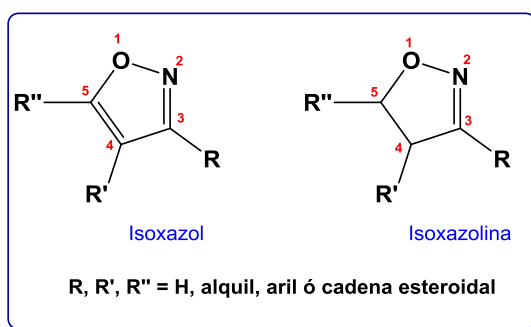


Figura 4. Estructura general de isoxazoles e isoxazolininas.

Son pocos los ejemplos de estos heterociclos aislados de fuentes naturales; entre estos se puede destacar el ácido iboténico y muscimol aislados a partir del hongo *Amanita muscaria*, *Amanita pantherina* y *Amanita cothurnata* (*Agaricaceae*).²⁷ Estos compuestos mostraron actividad sobre el sistema nervioso central.²⁸

²⁴ Camoutsis, Ch.; Nikolaropoulos, S. *J. Heterocycl. Chem.* **1998**, *35*, 731–759.

²⁵ Drach, S. V.; Litvinovskaya, R. P.; Khripach, V. A. *Chem. Heterocycl. Compds.* **2000**, *36*, 233–255.

²⁶ Bandy, A. H.; Singh, S.; Alam, M. S.; Reddy, D. M.; Gupta, B. D.; Kumar, H.M. S. *Steroids* **2008**, *73*, 370–374.

²⁷ Hall, A. H.; Spoerke, D. G.; Rumack, B. G. *Pediatr. Rev.* **1987**, *8*, 291-298.

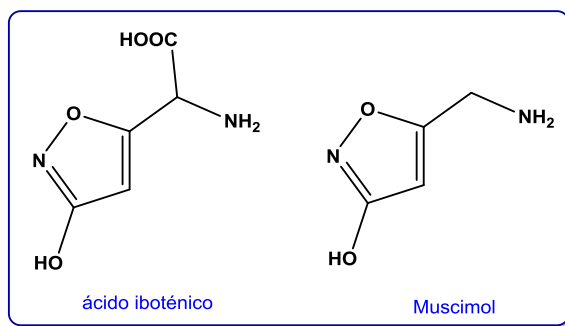
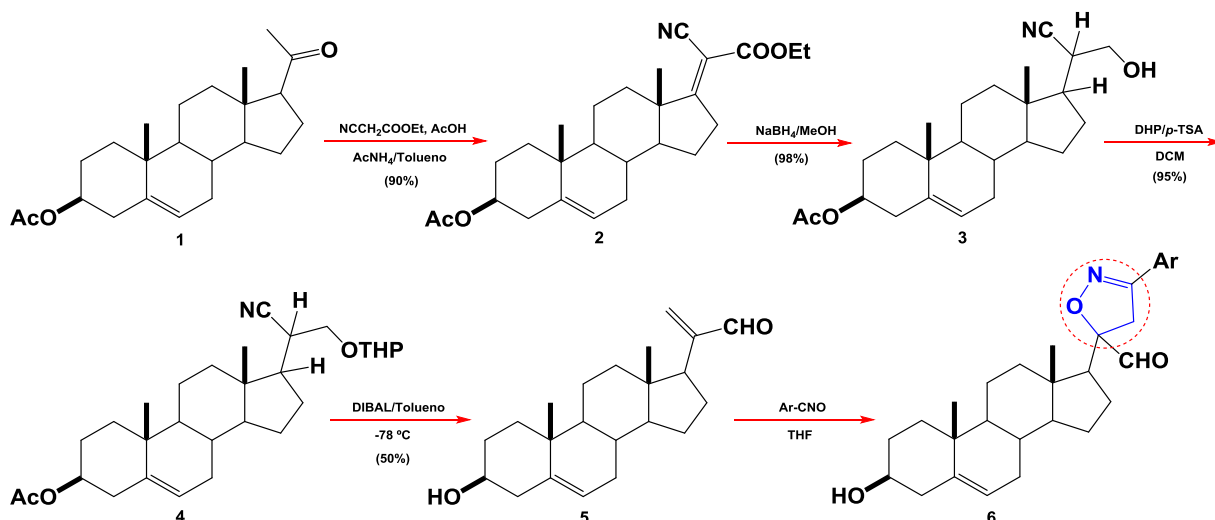


Figura 5. Isoxazoles bioactivos obtenidos de fuentes naturales.

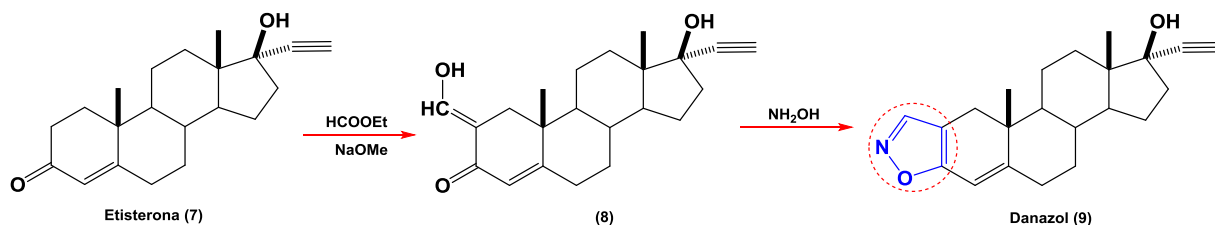
En cuanto a la síntesis de estos heterociclos, el grupo de Bandy y col.²⁶ reportó una síntesis fácil para obtener derivados de isoxazolina a partir del 17-oxoandrostando **1** por una reacción tipo Knoevenagel en la cadena lateral del anillo D (esquema 1), en la transformación al derivado **2** a partir de acetato de dehidroepiandrosterona, seguida de una reducción del grupo éster α,β -insaturado. La cicloadición se llevó a cabo a través del intermedio aldehído olefínico **5** que condujo a la síntesis de nuevos derivados de isoxazolina **6** en la cadena lateral.



Esquema 1. Síntesis del carboxaldehído **5** y su cicloadición a la isoxazolina **6**.

²⁸ (a) Jellestad, F. K.; Grahnstedt, S. *Br. Res.* **1985**, *340*, 229-234. (b) Gussin, H. A.; Tomlinson, I. D.; Little, D.M.; Warnement, M. R.; Qian, H.; Rosenthal, S. J.; Pepperberg, D. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 15701-15713.

El danazol es un derivado sintético de la etisterona **7**, fue el primer fármaco para tratar específicamente la endometriosis a principios de 1970. Se sintetizó a partir de **7** a través de una condensación de Claisen con formiato de etilo, seguido de la formación de la oxima y el cierre del anillo de isoxazol con hidroxilamina²⁹ (esquema 2).



Esquema 2. Síntesis de Danazol 9.

2.2 Síntesis de triazolopirimidinas

La fusión de un anillo 1,2,4-triazol con un anillo pirimidínico da lugar a la formación de heterociclos nitrogenados bicíclicos denominados 1,2,4-triazolopirimidinas, los cuales se dividen en familias diferentes de isómeros como: 1,2,4-triazolo[1,5-a]pirimidinas, 1,2,4-triazolo[1,5-c]pirimidinas (figura 6).

De estas familias isómeras, las 1,2,4-triazolo[1,5-a]pirimidinas son de las más estables termodinámicamente y algunas de ellas son comerciales, razón por la cual se han estudiado con más profundidad.

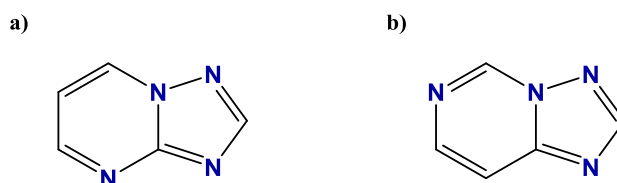


Figura 6. Formas isómeras de la 1,2,4-triazolo[1,5-a] y [1,5-c]pirimidinas

²⁹ Balogh, G.; Csizér, E.; Ferenczy, G. G.; Halmos, Z.; Herényi, B.; Horváth, P.; Laukó, A.; Görög, S. *Pharmaceut. Res.* **1995**, *12*, 295-298.

Las triazolopirimidinas (TPS) son compuestos análogos a la purina, han sido ampliamente investigados e identificados por presentar un amplio espectro de propiedades biológicas y farmacológicas (figura 7). Esto hace posible usar estos compuestos en medicina y agricultura.³⁰

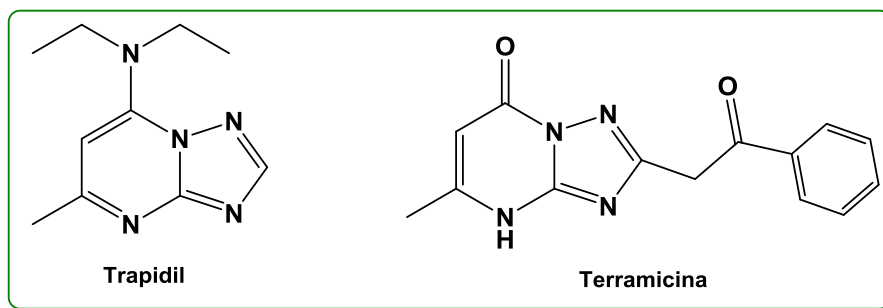


Figura 7. Estructuras de 1,2,4-triazolo[1,5-a]pirimidinas.

Li-Hua y col.³¹ describieron la preparación de nuevos heterociclos esteroidales que contienen una 1,2,4-triazolo[1,5-a]pirimidina 7-aryl sustituida o fusionada en las posiciones 16, 17 del núcleo esteroideal (esquema 3). Los compuestos obtenidos han sido evaluados contra diferentes líneas celulares de cáncer humano: PC-3 (carcinoma prostático humano), MCF-7 (carcinoma de mama humano) y EC9706 (carcinoma del esófago humano).

³⁰ Astakhov, A. V.; Chernyshev, V. M. *Chem. Heterocycl. Comp.* **2014**, *50*, 319-326.

³¹ a) Huang, L.H.; Zheng, Y.F.; Song, C.J.; Wanga, Y.G.; Xie, Z.Y.; Lai, Y.W.; Lu, Y.Z.; Liu, H.M. *Steroids* **2012**, *77*, 367–374. b) Huang, L.H.; Zheng, Y.F.; Song, C.J.; Wanga, Y.G.; Xie, Z.Y.; Lai, Y.W.; Lu, Y.Z.; Liu, H.M. *Steroids* **2012**, *77*, 710-715.

Figura 8. Estructuras de los dímeros esterooidales cefalostatina 1 y ritterazina A que poseen actividad anticancerígena.

2.3 Selenoderivados

Otros derivados que tienen gran interés y que han mostrado actividad biológica importante son aquellos compuestos que poseen selenio en su estructura.

El selenio es un micronutriente importante que se encuentra en los suelos y que normalmente entra en la cadena alimentaria a través de las plantas, de modo que se incorpora al organismo mediante la ingesta de diferentes alimentos entre los que se incluyen cereales, legumbres, verduras, carne y marisco.³⁴ Desde un punto de vista químico, el selenio es análogo al azufre, sin embargo, ambos elementos presentan una serie de diferencias, puesto que el selenio posee un mayor carácter metálico que el azufre, y por consiguiente es menos electronegativo, a la vez que más nucleófilo que el azufre debido a su mayor carácter polarizable.³⁵ En el organismo, el selenio se encuentra en algunas proteínas de manera natural como la glutatión peroxidasa (GPx); que actúa como un mecanismo de defensa contra el estrés oxidativo, debido precisamente a la presencia de selenio en el centro activo, y a su implicación en procesos redox con especies de tipo ROS.³⁶

Estudios epidemiológicos y clínicos llevados a cabo con derivados organoselénicos en humanos, así como ensayos de laboratorio, apoyan el papel preventivo del selenio frente al desarrollo del cáncer. Los resultados han demostrado que un suplemento de selenio en la dieta inhibe la proliferación de células cancerígenas, induce la apoptosis de las células tumorales, suprime la metástasis en animales y reduce en humanos el riesgo de cáncer de próstata, de pulmón, de mama y colorrectal.³⁷ Se ha demostrado que tanto la dosis como la forma química en la que se administre el selenio son factores críticos en la respuesta celular.^{38, 39}

³⁴ Ramoutar, R. R.; Brumaghim, J. L. *Cell. Biochem. Biophys.* **2010**, *58*, 1-23 y referencias contenidas.

³⁵ Witzack, Z. J.; Czernecki, S. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1998**, *53*, 143-199.

³⁶ Battin, E. E.; Brumaghaim, J. L. *Cell. Biochem. Biophys.* **2009**, *55*, 1-23.

³⁷ Chen, Y.C.; Prabhu, K. S.; Mastro, A. M. *Nutrients* **2013**, *5*, 1149-1168.

³⁸ Ip, C.; El-Bayoumy, k.; Upadhyaya, P.; Ganther, P.; Vadhanavikit, S.; Thompson, H. *Carcinogenesis* **1994**, *15*, 187-192.

³⁹ a) Grek, C. L.; Tew, K. D. *Curr Opin Pharmacol* **2010**, *10*, 362-368. b) Cilla, A.; De Palma, G.; Lagarda, M. J.; Barberá, R.; Farré, R.; Clemente, G.; Romero, F. *Ann. Nutr. Metab.* **2009**, *54*, 35-42.

Los compuestos organoselénicos han mostrado una mayor actividad anticancerígena en comparación con sus isómeros de azufre. De este modo, compuestos como el ebselén (2-fenil-1,2-bencisoselenazol-3-[2H]-ona), selenosemicarbazonas, selenoureas y selenoheterociclos, entre otros son considerados potenciales agentes anticancerígenos.

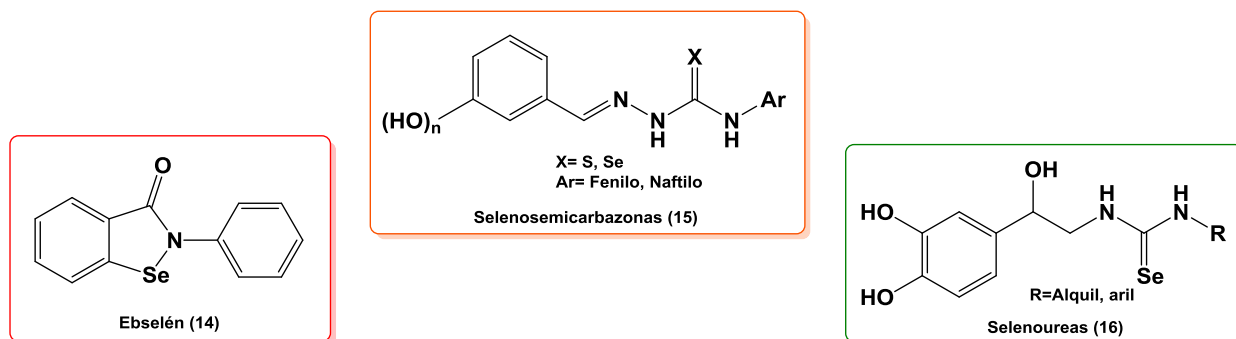


Figura 9. Derivados de Se con interés biológico.

El ebselén es un compuesto organoselénico que actúa como mimético de las enzimas glutatión peroxidasa y de la fosfolípido-hidroperóxido-glutatión peroxidasa eliminando hidroperóxidos y lipoperóxidos.⁴⁰ Recientemente se ha demostrado también que el ebselén actúa como un mimético de sales de litio en el tratamiento del trastorno bipolar.⁴¹ Las selenosemicarbazonas que destacan como inhibidores de la α -glucosidasa y como agentes antirradicalarios y antiproliferativos;⁴² selenoureas, potentes miméticos de la GPx y buenos agentes antioxidantes y antiproliferativos.⁴³ En este contexto, existe un número reducido de selenoderivados esteroideos descritos en la literatura.

⁴⁰ a) Müller, A.; Cadenas, E.; Graf, P.; Sies, *Biochem. Pharmacol.* 1984, 33, 3235-3239. b) Maiorino, M.; Roveri, A.; Coassin, M.; Ursini, F. *Biochem. Pharmacol.* **1988**, 37, 2267-2271.

⁴¹ Singh, N.; Halliday, A.C.; Thomas, J.M.; Kuznetsova, O.; Baldwin, R.; Woon, E.C.Y.; Aley, P.K.; Antoniadou, I.; Sharp, T.; Vasudevan, S.R.; Churchill, G.C. *Nature Commun* **2013**, 4, 2320-2326.

⁴² Calcaterraet, V.; López, Ó.; Fernández-Bolaños, J. G.; Plata, G. B.; Padrón J. M. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, 94, 63-72.

⁴³ A. Marset-Castro, 2014, Síntesis de nuevos antioxidantes derivados del hidroxitirosol. Interacción con ciclodextrinas.

En cuanto a los análogos del ebselen y selenosemicarbazonas esteroideas descritos en el presente trabajo, no se encuentran aún reportes en la bibliografía.

2.4 Estudio estructura-actividad

Como consecuencia del intenso proceso de búsqueda de nuevos heterociclos esteroideas se han podido establecer algunas consideraciones generales sobre la relación estructura-actividad. Estos estudios incluyen diversos sustituyentes en los cuatro anillos del núcleo esteroideal, variaciones en las cadenas laterales, expansiones y contracciones de anillos y el agregado de anillos adicionales que han sido tema de algunos trabajos de revisión.

Compuestos con un grupo morfolino en 2 β o grupos piperidino en 2 β o 16 β son comerciales, por ejemplo ORG20599 y ORG-NC-45 (neurobloqueador muscular). El desarrollo de este tipo de análogos como potenciales agentes terapéuticos y/o anestésicos presenta un interés evidente (figura 10).

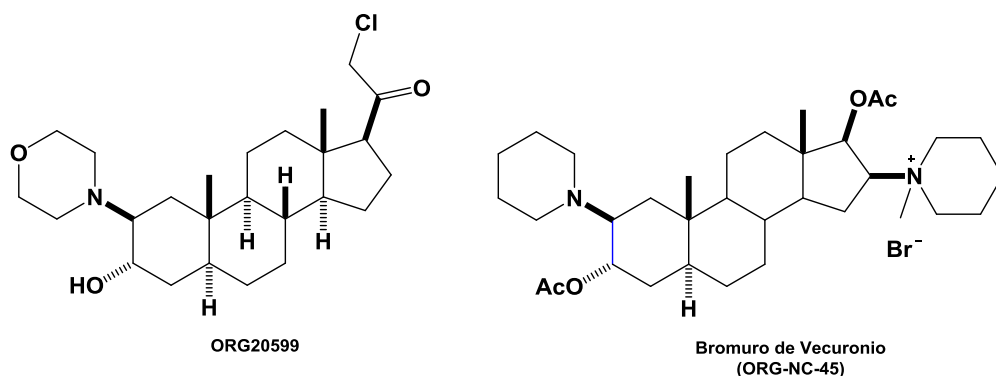


Figura 10. Esteroides neuroactivos.



CAPITULO III.

OBJETIVOS



Objetivo General

- ◆ El objetivo general de la presente tesis doctoral es sintetizar y caracterizar diversos heterociclos esteroidales fusionados o sustituidos a diferentes posiciones del esqueleto esteroidal, con objeto de obtener derivados con actividad antiproliferativa.

Objetivos particulares

- ◆ Preparar nuevos heterociclos esteroidales que contengan nitrógeno, oxígeno o selenio.
- ◆ Modificar o desarrollar metodologías sintéticas que permitan generar intermediarios útiles para la síntesis de derivados heterocíclicos esteroidales.
- ◆ Sintetizar derivados esteroidales que posean una selenosemicarbazona en su estructura, con objeto de llevar a cabo un análisis de estructura-actividad
- ◆ Realizar evaluaciones biológicas de los compuestos obtenidos en el presente trabajo.



CAPITULO IV
DISCUSIÓN DE
RESULTADOS



4. ANÁLISIS QUÍMICO

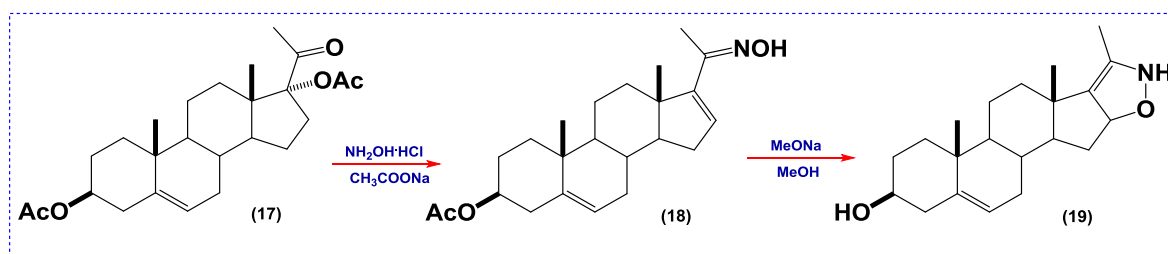
4.1 SÍNTESIS DE NUEVOS DERIVADOS QUE POSEEN UN HETEROCICLO DE ISOXAZOLINA.

Los anillos heterocíclicos con oxígeno o nitrógeno forman parte de estructuras de especial interés tanto en síntesis como en química médica, y están presentes además en un gran número de compuestos bioactivos. Dentro de la gran diversidad de heterociclos, los isoxazoles e isoxazolininas son dos grupos de estructuras orgánicas de igual interés, que poseen importancia tanto química como biológica.

En este capítulo se describe la síntesis de una serie de derivados esteroideos conteniendo como sustituyente o fusionado sobre el anillo A-D un heterociclo de isoxazolinina utilizando como precursores diferentes oximas α,β -insaturadas esteroideas.

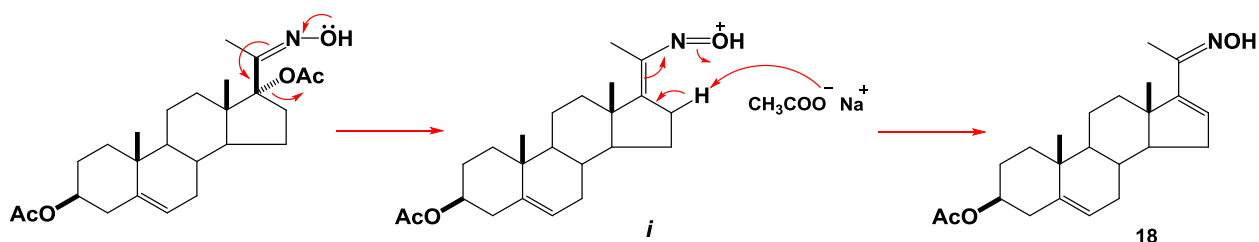
4.1.1 Síntesis de 3'-metil-2H-[1,2]oxazolo[5',4':16,17]androst-5-en-3 β -ol (**19**)

En primer lugar se sintetizó el derivado de isoxazolina esteroidal **19**. La metodología para su obtención se muestra en el esquema 4.



Esquema 4. Síntesis de la isoxazolina **19**.

Primero se realizó la formación de la oxima α,β -insaturada **18** a partir del diacetato de la 17 α -hidroxipregnenolona (**17**), siguiendo la metodología reportada en la literatura.⁴⁴ La reacción se llevó a cabo utilizando $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, CH_3COONa , en EtOH a reflujo por un tiempo de 2 horas obteniéndose con un rendimiento de 90%. El mecanismo propuesto para la formación de **18** (esquema 5) involucra la deslocalización electrónica del par de electrones del oxígeno con el doble enlace de la imina seguido de una eliminación del grupo acetato para la formación del intermediario *i* después la base extrae el protón llevándose a cabo una deslocalización para formar la oxima α,β -insaturada.

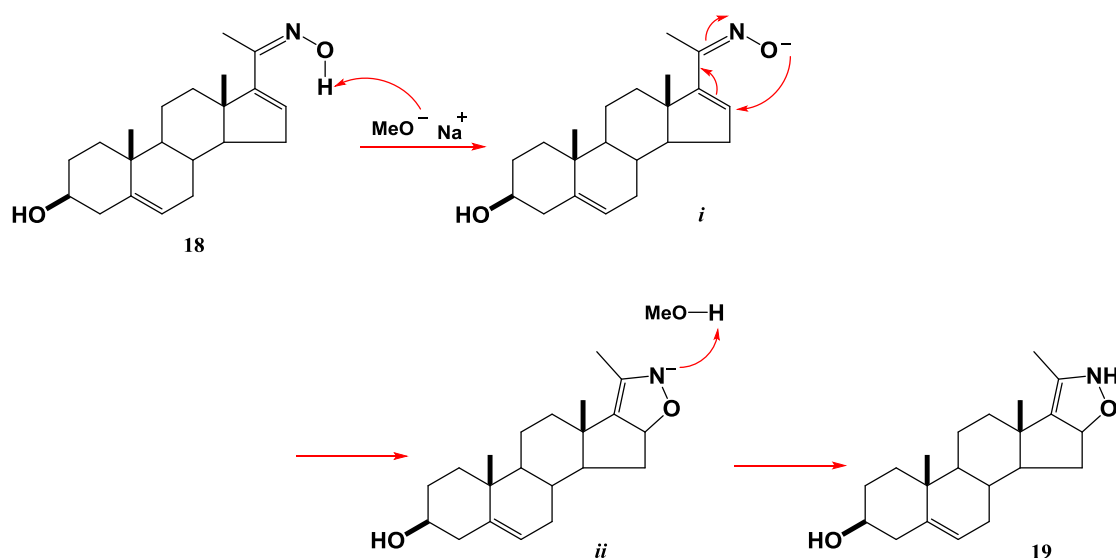


Esquema 5. Mecanismo de formación del compuesto **18**.

⁴⁴ Banday, A. H.; Akram, S.M.M.; Shameem, S. A.; *Steroids* **2014**, *84*, 64-69.

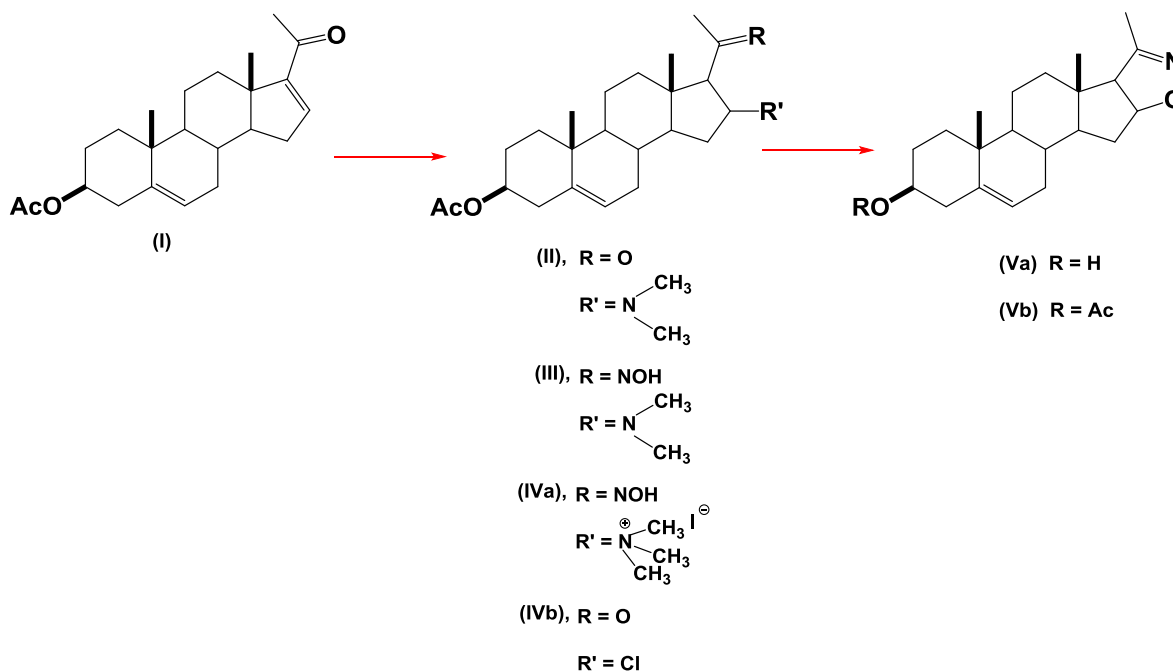
La oxima α,β -insaturada **18** en condiciones básicas (MeONa en MeOH anhidro) conduce al compuesto de isoxazolina **19**. La mezcla se mantuvo en agitación, a temperatura ambiente y fue monitoreada por CCF hasta completar la conversión de la materia prima (aproximadamente 10 min.). La purificación del producto se realizó por cromatografía en columna utilizando una mezcla hexano/AcOEt (8:2) proporcionando el heterociclo de isoxazolina **19** sobre el anillo D de núcleo esteroidal en un rendimiento moderado de 75%.

A continuación se propone el mecanismo de reacción para la obtención de la oxazolina (**19**) (esquema 6), que consiste en la extracción del protón de la oxima **18** en medio básico y formación del intermediario *i* que posteriormente reacciona con el doble enlace C=C que es desplazado hacia el doble enlace C=N y formación de *ii* el cual se neutraliza con metanol y formación de la oxazolina **19**.



Esquema 6. Mecanismo de formación del compuesto **19**.

En 1965 Sato y col.⁴⁵ reportaron la síntesis de un isómero de la isoxazolina **19** utilizando diversas condiciones de reacción; los datos: para el derivado **Va** descritos son: p.f. 261-263°C; $[\alpha]_D^{20}$ -64 (*c* 0.39, CHCl₃); para el derivado **Vb**: p.f. 201-203°C (esquema 7).



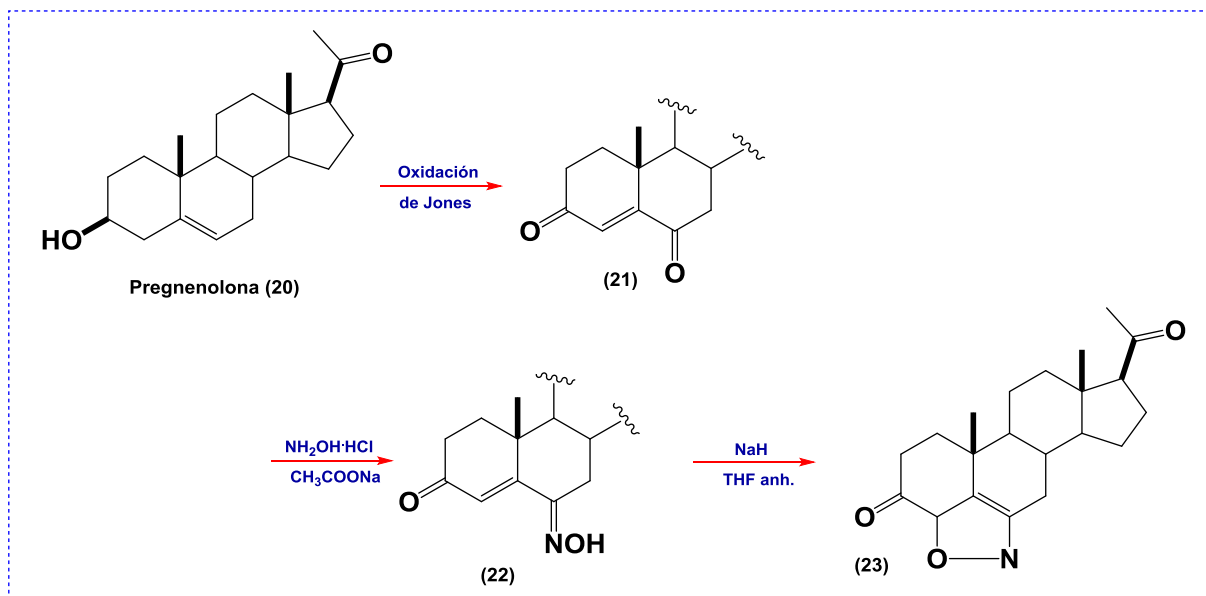
Esquema 7. Síntesis de isoxazolininas por Sato.

La isoxazolina **19** obtenida en nuestro laboratorio presentó datos físicos diferentes a los reportados para **Va** que a continuación se muestran: p.f. 190-192°C; $[\alpha]_D^{25}$ -78.2 (*c* 0.1, CHCl₃). Que nos confirma que la estructura de Sato es diferente a la obtenida en éste trabajo.

⁴⁵ Sato, Y.; Kaneko, H.; *Heterocyclic Steroids* **1965**, 5, 279-287.

4.1.2 Síntesis de 2'H-[1,2]oxazolo[5',4',3':4,5,6]pregn-5-eno-3,20-diona (23)

La síntesis de la oxazolina **23** fusionada a los anillos A y B del núcleo esteroidal se muestra en el esquema 8.

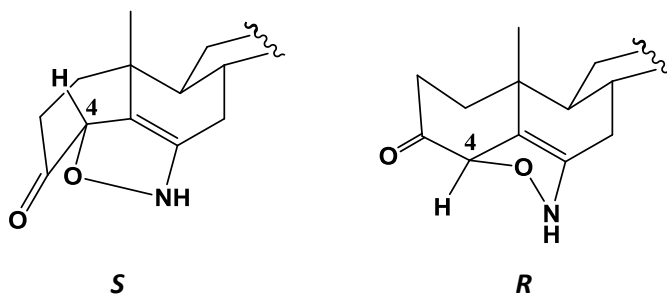


Esquema 8. Síntesis de la isoxazolina **23**.

El sistema Δ^4 -3,6-dicetónico **21** se obtuvo mediante una oxidación del alcohol homoalílico de la pregnenolona (**20**) con el reactivo de Jones durante 5 minutos al término de este período de tiempo se agregaron 10 mL de isopropanol para eliminar el excedente de oxidante. Posteriormente se llevó a cabo la formación de la oxima correspondiente **22** bajo las condiciones descritas anteriormente para el derivado **18**. Se observó por RMN que se formó regioselectivamente la oxima en C-6 manteniéndose los carbonilos de las posiciones C-3 y C-20.

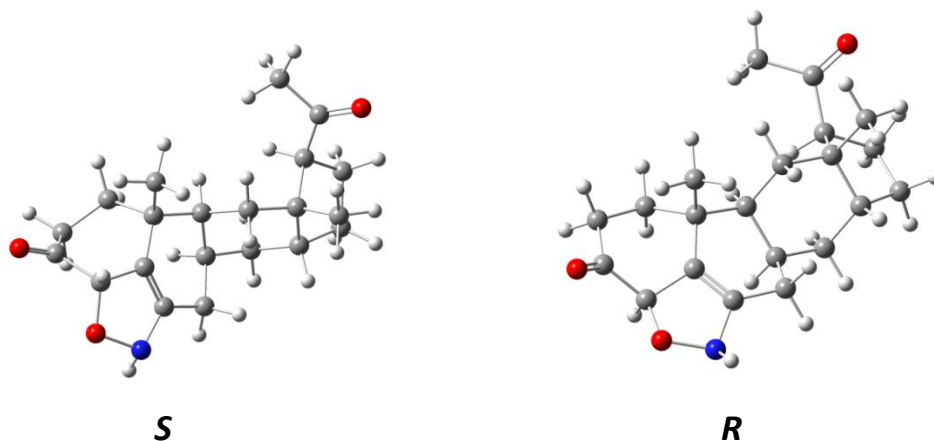
La obtención del heterociclo de isoxazolina **23** fusionado entre los anillos A y B se realizó por tratamiento de la oxima **22** con NaH a reflujo por aproximadamente 2h (esquema 8).

Se obtuvo un rendimiento del 30% ya que la materia prima no se consumió por completo y se observó la presencia de otros productos secundarios de los cuales no fue posible su caracterización. Como se puede observar el carbono 4 es un centro estereogénico que podría dar origen a dos isoxazolininas de configuración *R* y *S*. Sin embargo debido a que el protón 2 axial tiene efecto estérico con el metilo 19, además el carbono 6 tiene una hibridación sp^2 y presenta cierta tensión en la formación del estereoisómero *4R* por lo que se propone que la isoxazolinina **23** tiene la configuración *S*.



Al estudiar las geometrías de los puntos estacionarios para las dos isoxazolininas *S* y *R* que fueron optimizadas empleando la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) con el funcional híbrido de intercambio con tres parámetros tipo Becke's combinado con el funcional de correlación tipo Lee-Yang-Parr (B3LYP). Dichas geometrías fueron optimizadas usando el conjunto de funciones base doble- ξ . Además los puntos estacionarios para cada conformero fueron caracterizados por el análisis de las frecuencias vibracionales al mismo nivel de teoría.

Las geometrías de las isoxazolininas de configuración *S* y *R* se muestran en las siguientes figuras:

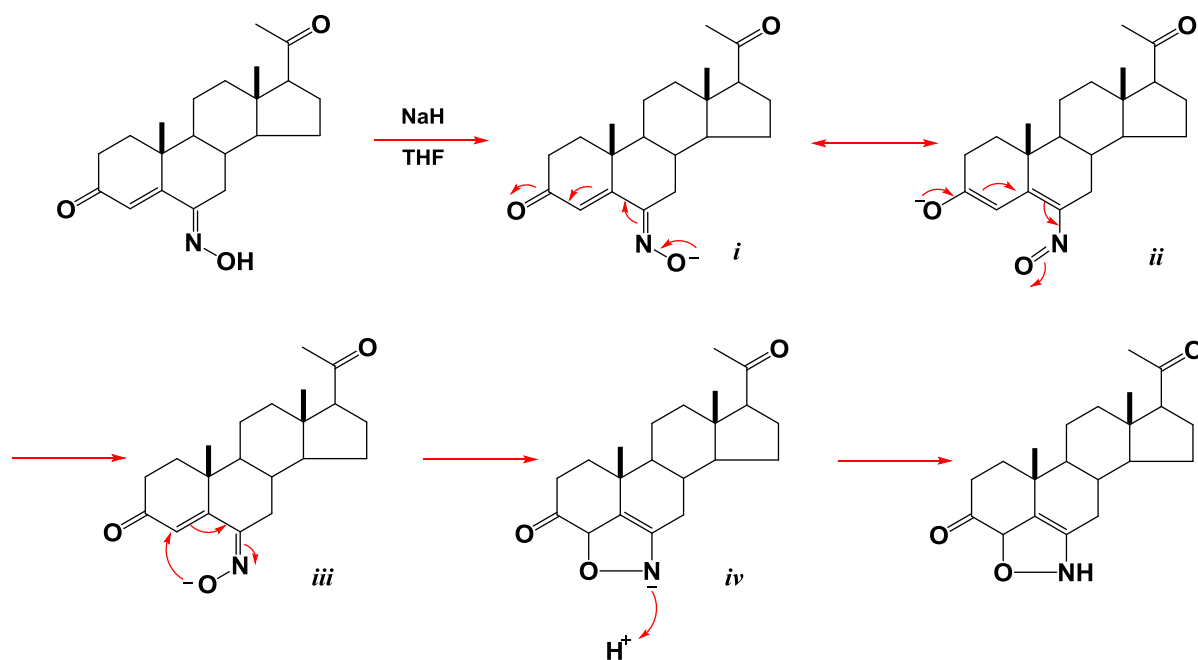


La siguiente tabla muestra los valores de las energías (u.a.), la diferencia de energía (kcal/mol), las entalpías de formación (u.a.), los momentos dipolares (Debye) y orbitales moleculares HOMO Y LUMO (u.a.) para los dos conformeros de las isoxazolinas.

	Oxígeno hacia atrás	Oxígeno hacia adelante	ΔE
Energía electrónica	-1098.036354	-1098.021516	9.310803983
momento dipolar	4.5858	2.8974	
Entalpía de Formación	-1097.539708	-1097.525334	
HOMO	-0.03155	-0.01899	
LUMO	-0.19585	-0.20084	

Con estos estudios se consideró que la oxazolina **23** obtenida tiene la configuración *S*.

El mecanismo propuesto para la formación de **23** (esquema 9).

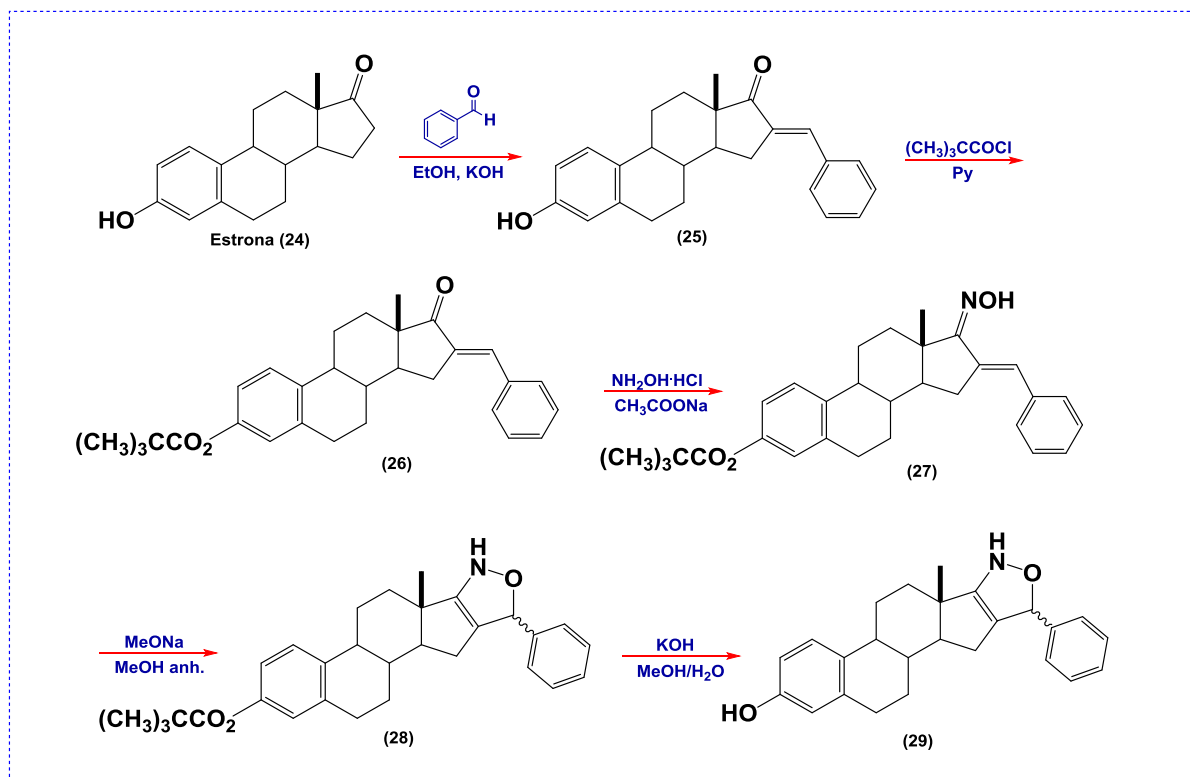


Esquema 9. Mecanismo de formación del compuesto **23**.

La base extrae el protón de la oxima *E* para dar el intermediario *i*, el par de electrones del oxígeno entra en resonancia con el sistema conjugado formando un ion alcoxido *ii* que al retornar en el sistema conjugado genera el anión oximinio *Z* *iii* el cuál presenta la configuración adecuada para la formación del heterociclo. Posteriormente el oxígeno ataca al carbono 4 para obtener el intermediario *iv*, el cual finalmente se protona para dar la oxazolina **23**.

4.1.3 Síntesis de 5'-fenil-2',5'-dihidroisoxazolo[4',3':16,17]estra-1,3,5(10)-trien-3-ol (**29**)

Para la obtención del compuesto **29** se planteó la siguiente ruta, de acuerdo al esquema sintético (esquema 10).



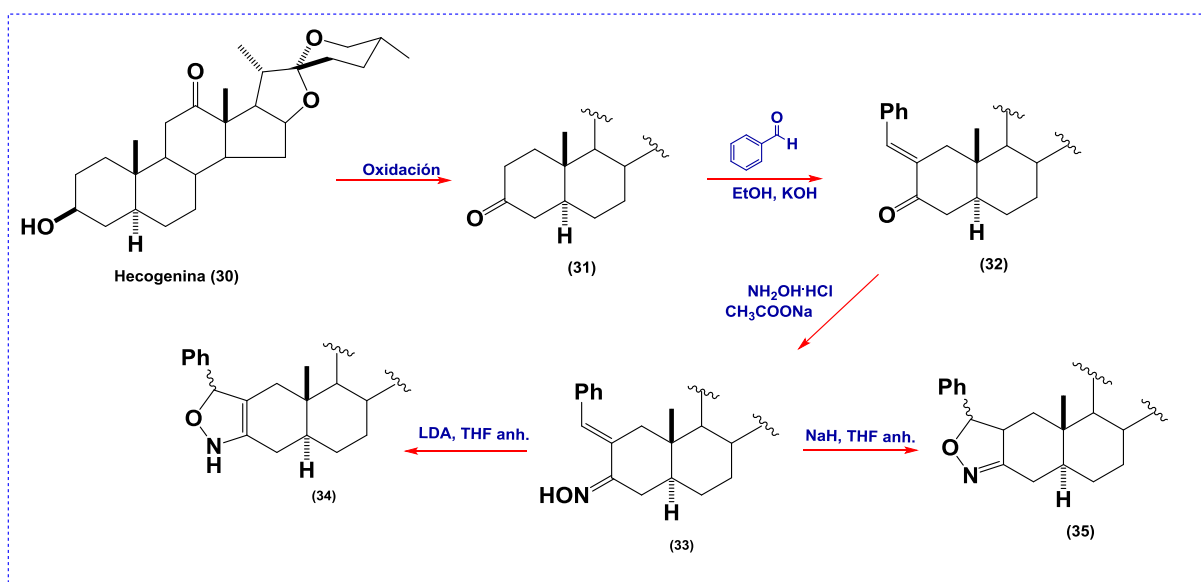
Esquema 10. Síntesis de la isoxazolina **29**.

La condensación aldólica de la estrona (**24**) utilizando benzaldehído y KOH en etanol condujo a la cetona α,β -insaturada **25** con excelentes rendimientos (esquema 10). La posterior protección de la posición 3 con cloruro de pivaloilo en piridina. Conduce a **26** como se confirmó mediante RMN de ^1H .

La formación de la oxima **27** se realizó utilizando las condiciones anteriormente descritas para compuesto **18** y fue caracterizada por RMN. El heterociclo de isoxazolina **28** se obtuvo empleando MeONa en MeOH anhidro a temperatura ambiente y bajo atmósfera inerte, cabe mencionar que aunque el rendimiento fue bajo, no se obtuvieron productos secundarios, debido a que no se consumió en su totalidad la materia prima, tiempos más prolongados no modificaron el consumo de la materia de partida.

Finalmente se realizó la desprotección de la posición 3 para obtener el producto **29** con una solución 5% de KOH/MeOH, bajo agitación magnética a temperatura ambiente durante 2 h, con rendimientos moderados.

4.1.4 Síntesis de las isoxazolininas 34 y 35



Esquema 11. Síntesis de las isoxazolininas **34** y **35**.

La síntesis se inició con la oxidación de Jones de la hecogenina (**30**) para generar la hecogenona (**31**), cuya estructura se confirmó por comparación con los datos reportados.^{ref} Posteriormente se realizó una condensación aldólica con benzaldehído para obtener el derivado carbonilo α,β -insaturado **32** con un rendimiento cuantitativo. Siguiendo la metodología descrita anteriormente para generar la dioxima **33** correspondientes, en seguida se trató con NaH en THF anhidro se mantiene a reflujo bajo atmósfera inerte durante 4 horas y se obtiene el heterociclo de la isoxazolina **35** pero si se emplea LDA en THF anhidro estuvo a una temperatura $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas se obtiene el isómero **34** esto se debe principalmente a la variación de la temperatura.

Los derivados obtenidos no se pudieron aislar puros y mostraron una rápida descomposición en el tubo de RMN.

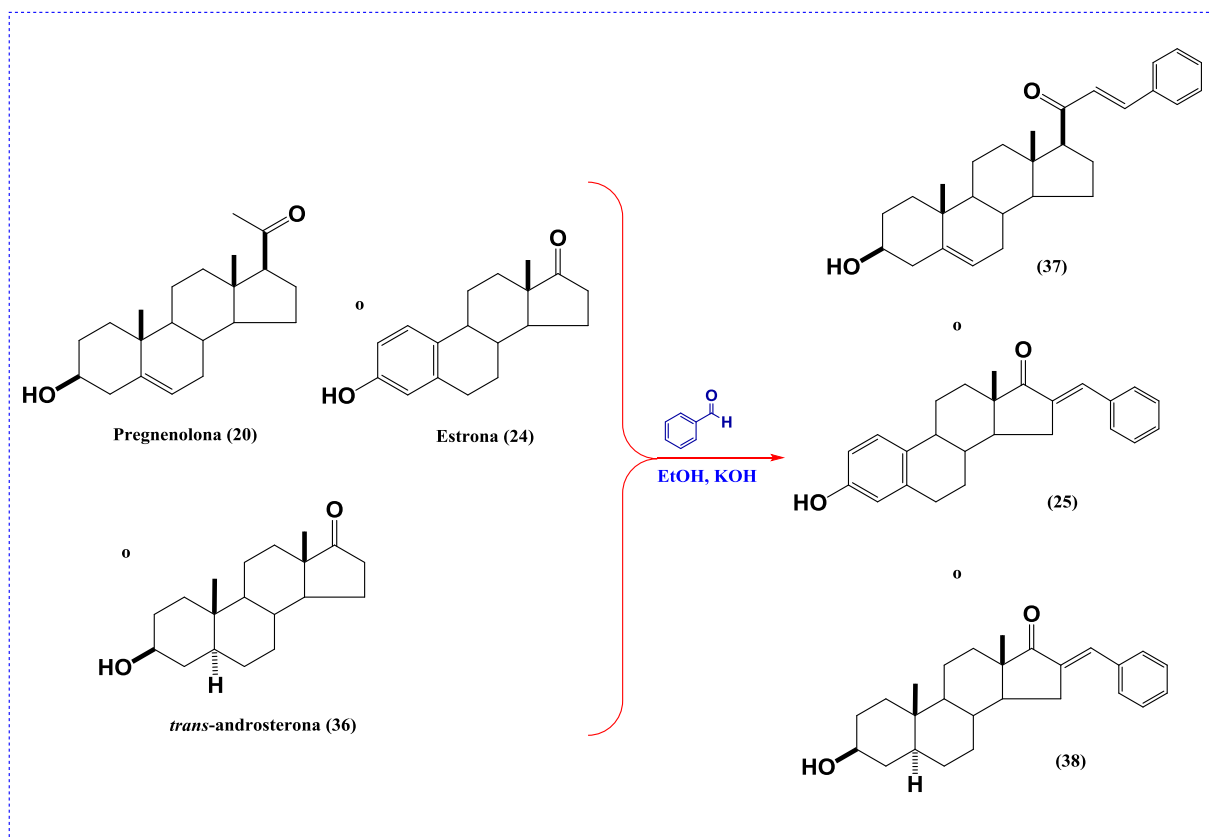
4.2 SÍNTESIS DE NUEVOS DERIVADOS ESTEROIDALES MONOMÉRICOS Y DIMÉRICOS [1,2,4]TRIAZOLO[1,5-a]PIRIMIDINAS.

Los derivados esteroideos conteniendo nitrógeno juegan un rol importante ya que poseen alto potencial farmacológico como anticancerígenos, antimicrobiales, antibacteriales⁴⁶; algunos de los compuestos son usados con éxito en la práctica medicinal. Los derivados 1,2,4-triazolo[1,5-a]pirimidinas (TPS), un subtipo de análogos de la purina, han sido ampliamente investigados e identificados por presentar propiedades farmacológicas muy diversas. De esta manera hemos centrado nuestra investigación en la síntesis y caracterización de compuestos monoméricos y diméricos [1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidinas fusionados o sustituidos en diferentes posiciones del esqueleto esteroidal.

⁴⁶ Banday, A. H.; Mir, B. P.; Lone, I. H.; Suri, K. A.; Sampath Kumar, H. M. *Steroids* **2010**, 75, 805-809.

4.2.1 Síntesis de derivados α,β -insaturados por condensación de Claisen-Schmith

Las cetonas α,β -insaturadas se obtuvieron a partir de la pregnenolona (**20**), estrona (**24**) y *trans*-androsterona (**36**) mediante una condensación de Claisen Schmidt empleando benzaldehído bajo condiciones básicas⁴⁷ para generar los derivados bencilidenos correspondientes **37**,⁴⁸ **25**,⁴⁹ **38**⁴⁸ (Esquema 12).



Esquema 12. Síntesis de los derivados bencilidenos **25**, **37** y **38**.

⁴⁷ Romero-López, A.; Montiel-Smith, S.; Meza-Reyes, S.; Merino-Montiel, P.; Vega-Baez, J. L. *Steroids* **2014**, *87*, 86–92.

⁴⁸ Banday, A. H.; Zargar, M. I.; Ganaie, B. A. *Steroids* **2011**, *76*, 1358–1362.

⁴⁹ Allan, G. M.; Lawrence, H. R.; Cornet, J.; Bubert, C.; Fischer, D. S.; Vicker, N.; Smith, A.; Tutill, H. J.; A. Purohit, Day, J. M.; Mahon, M. F.; Reed, M. J.; Potter, B. V. L. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 1325-1345.

La formación de la cetona α,β -insaturada **25** se corroboró por comparación con los datos reportados en la literatura, en los cuales se propone presenta una configuración *E*.⁴⁹ Esto se confirmó en este trabajo por la difracción de rayos X. La cristalización del compuesto **25** se realizó por evaporación lenta de una solución de cloruro de metileno-metanol (10:0.5). Este compuesto cristaliza con dos moléculas independientes.^{50, 51}

La cetona α,β -insaturada se caracteriza para distancias de enlace de 1.221(3) y 1.337(3) Å, C17=O2 y C16=C16', C-16=C17 1.488(4) Å y un ángulo de torsión O2-C17-C16-C16' 0.3(4)° (figura 11).

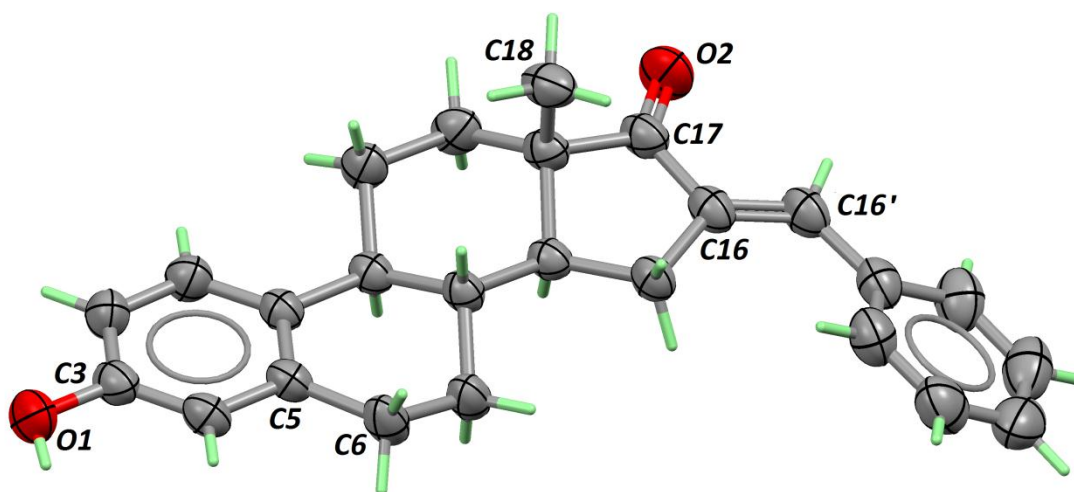


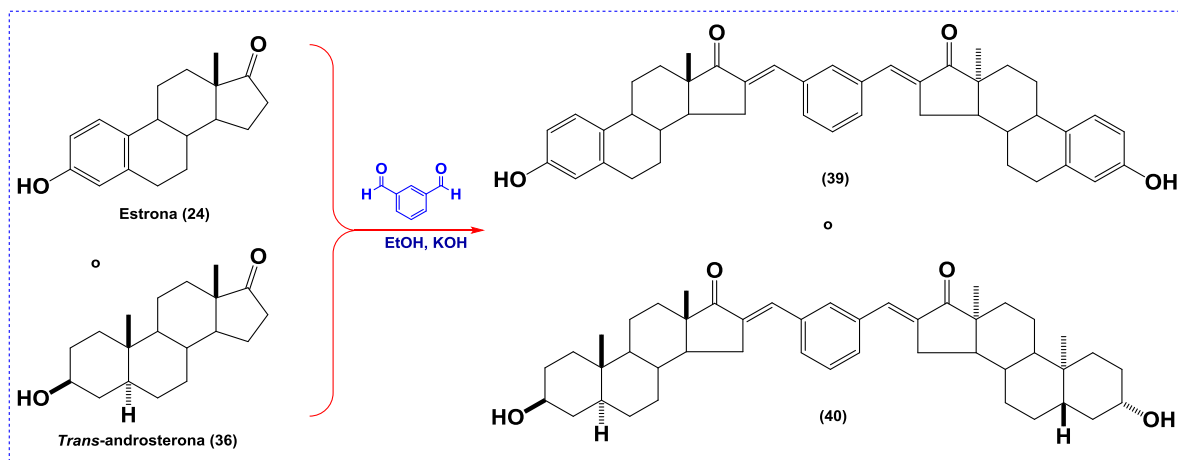
Figura 11. Difracción de rayos X de **25**.

Se sabe que en algunos casos los sistemas biológicos aprovechan las interacciones polivalentes para mejorar el efecto del farmacóforo;⁵² por lo que se propuso incrementar las interacciones biológicas potenciales del anillo, por lo que se sintetizaron las estructuras diméricas **39** y **40**. La reacción de condensación entre la estrona (**24**) ó *trans*-androsterona (**36**) con isoftaldehído a reflujo condujo a las cetonas α,β -insaturadas diméricas deseadas **39** y **40** en buenos rendimientos (Esquema 13).

⁵⁰ Suresh, J.; Thenmozhi, H.; Jeyachandran, V.; Kumarb, R.R.; Lakshman, P. L. N. *Acta Cryst.*(2013) E69 o111.

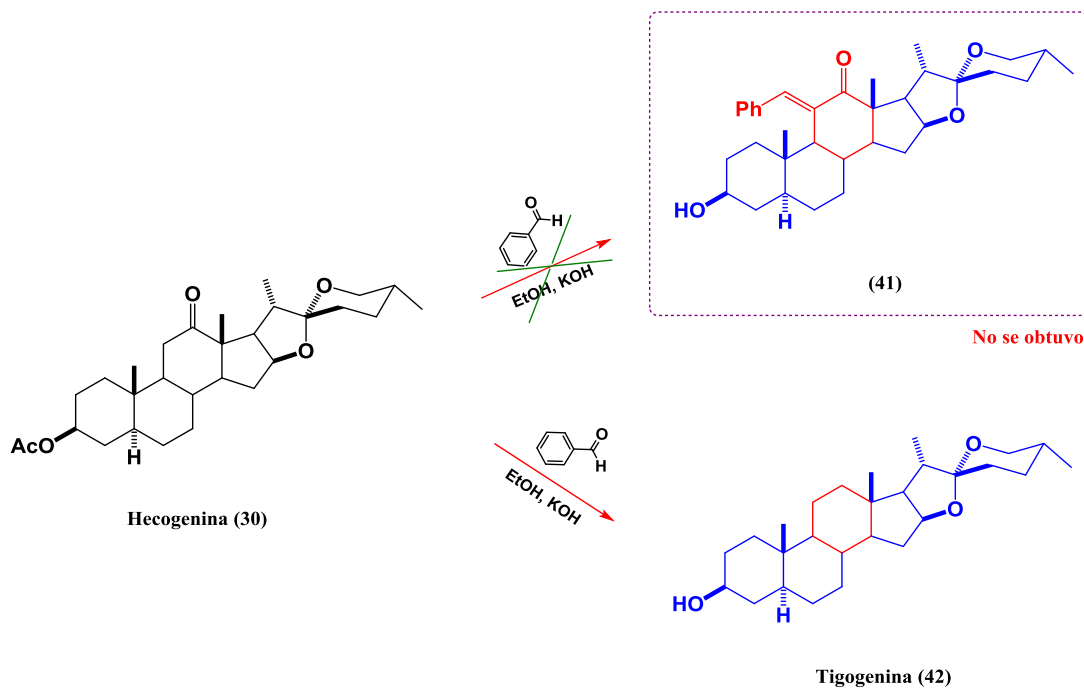
⁵¹ Gunasekaran, B.; Murugan, R.; Narayanan, S. S.; Manivannan, V. *Acta. Cryst.* (2009) E65, o73.

⁵² Mammen, M.; Choi, S-K; Whitesides, G. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 2754-2794.

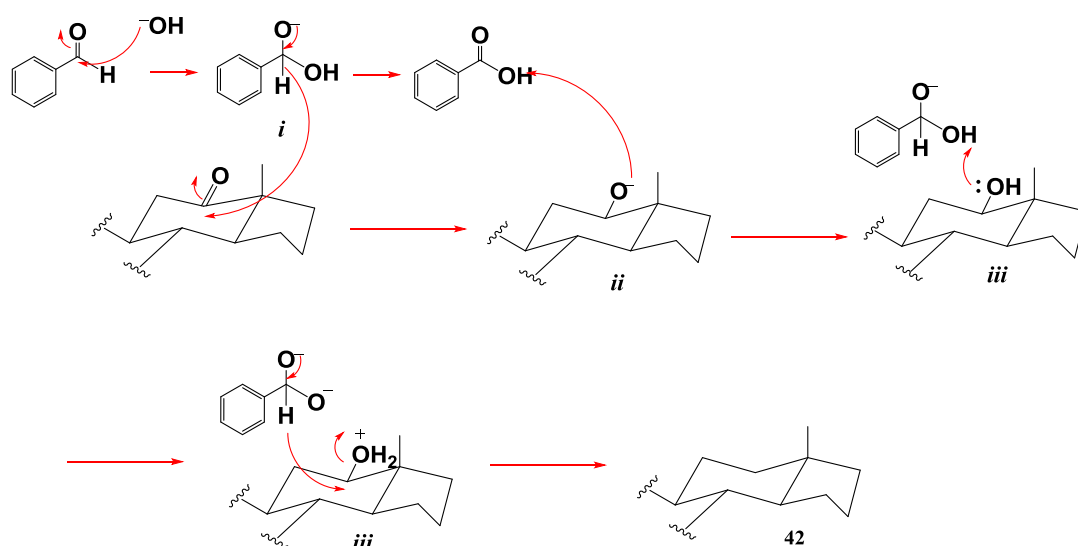


Esquema 13. Síntesis de las cetonas α,β -insaturadas diméricas **39** y **40**.

En el caso de la hecogenina (**30**) la reacción con benzaldehído y KOH en EtOH condujo sorpresivamente el compuesto **42** conocido como tigogenina en rendimiento del 90 % (esquema 14). El mecanismo propuesto para la formación de tigogenina **42** es a través de una reacción de Cannizzaro (esquema 15).



Esquema 14. Obtención de la tigogenina **42**.

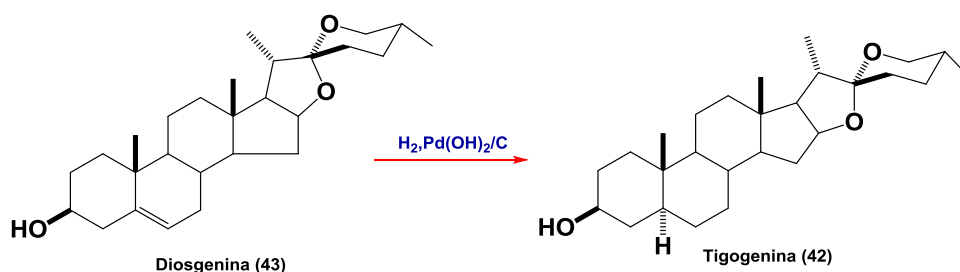


Esquema 15. Mecanismo para la formación de **42**.

El mecanismo sugerido procede inicialmente de una adición nucleofílica del anión hidróxido al carbono del carbonílico del benzaldehído formando el ion alcóxido *i*, posteriormente al retornar el par de electrones al carbono se transfiere un hidruro al carbono carbonílico de la cetona esteroidal para formar el intermediario *ii*, el ion alcóxido extrae un protón del benzaldehído para generar el aldol *iii*, por último para dar la tigogenina **42**.

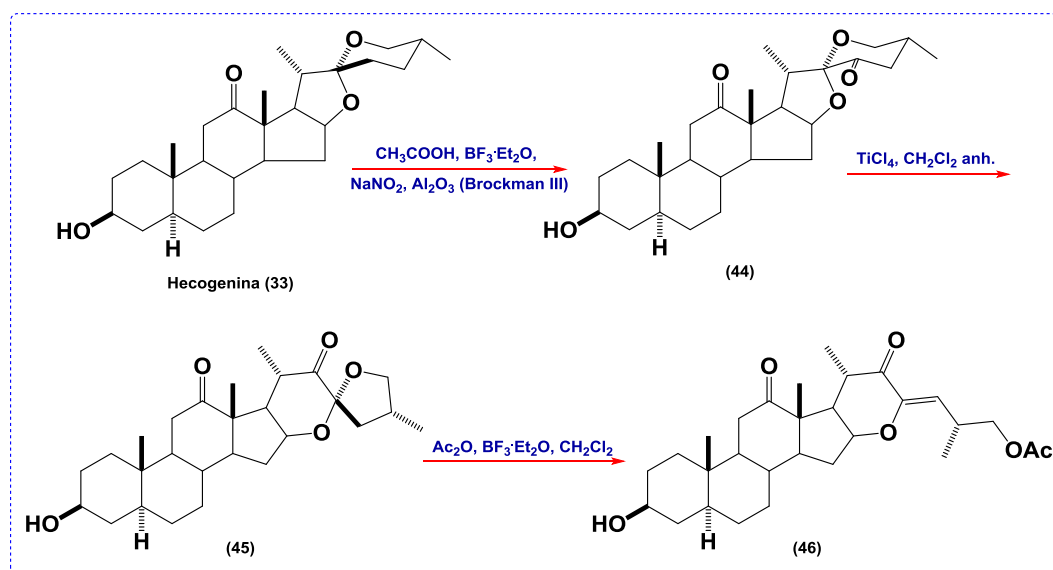
La tigogenina es una materia que fue utilizada en éste trabajo y que no es fácil de conseguir por lo que ésta fue una alternativa para su obtención.

Otra forma de obtención de la tigogenina fue realizar una reducción de la diosgenina. La diferencia entre ambas metodologías para obtener tigogenina es su rendimiento ya que con diosgenina era cuantitativo.



4.2.2 Síntesis de derivados α,β -insaturados por rearrreglo

Así mismo se presenta prepara la 23-oxohecogenina **44** y su posterior isomerización generó la cetona **45**, cuya importancia radica en la apertura regioselectiva del anillo F de 5 miembros para obtener la cetona α,β -insaturada **46**, ya descrito por Díaz Corona *et al.* (Esquema 16)⁵³.

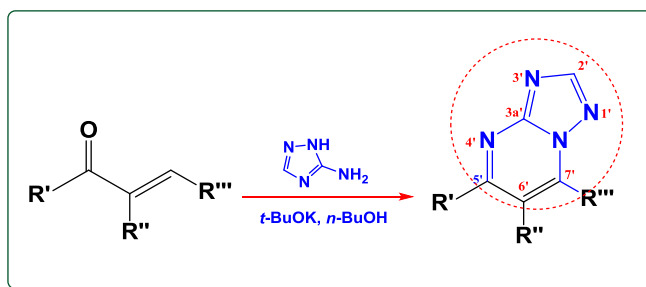


Esquema 16. Síntesis de la cetona α,β -insaturada **46**.

4.2.3 Síntesis de los heterociclos de triazolopirimidinas

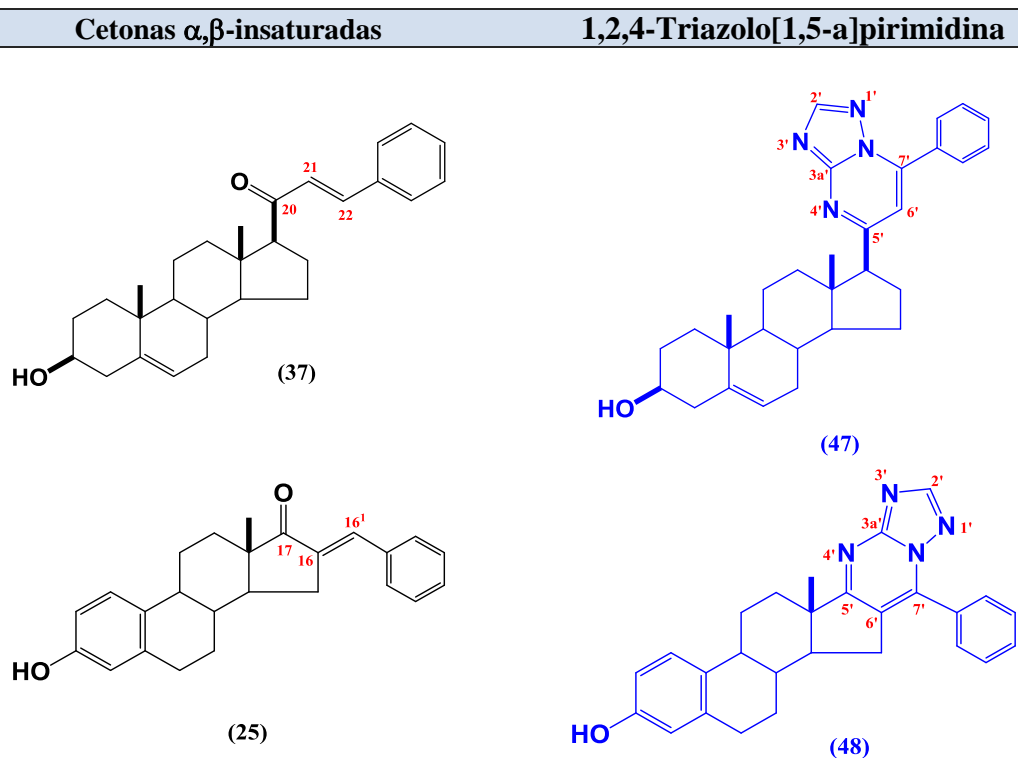
Los derivados [1,2,4]-triazolo[1,5-a]pirimidinas se obtuvieron por una reacción de tipo Michael empleando las cetonas α,β -insaturadas **37**, **25**, **38**, **39**, **40** y **46** y 3-amino-1,2,4-triazol en presencia de *t*-BuOK en *n*-BuOH (esquema 17 y figura 12). La mezcla de reacción se mantuvo a reflujo hasta la desaparición de la material de partida para obtener los heteroesteroides deseados en rendimientos moderados (50-68%).

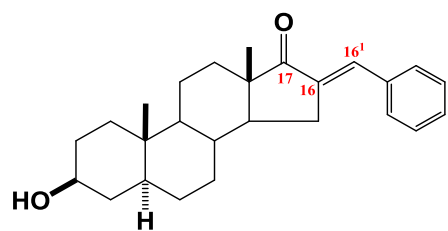
⁵³ Corona Díaz, A.; García Merinos, J. P.; López, Y.; González Campos, J. B.; del Río, R. E.; Santillan, R.; Farfán, N.; Morzycki, J. W. *Steroids* **2015**, *100*, 36-43.



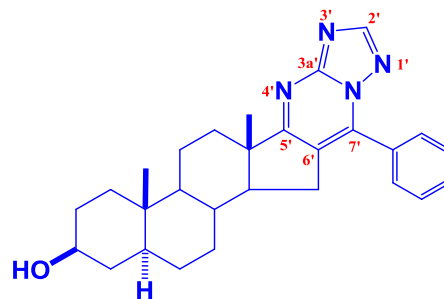
Esquema 17. Procedimiento general para la síntesis de los derivados [1,2,4]-triazolo[1,5-a]pirimidinas.

Figura 12. Derivados esteroidales [1,2,4]-triazolo[1,5-a]pirimidinas

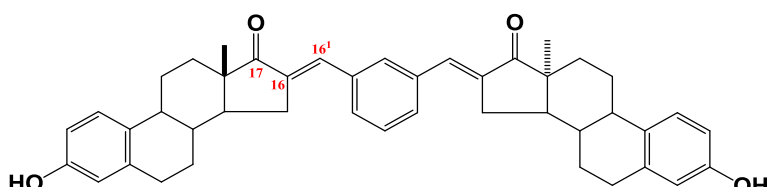




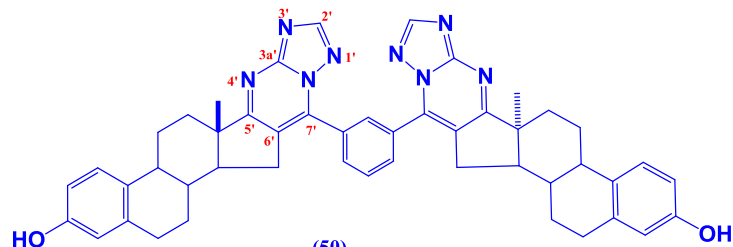
(38)



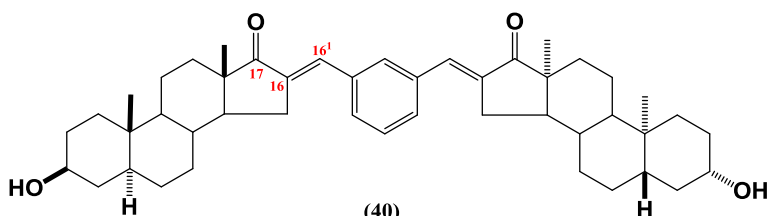
(49)



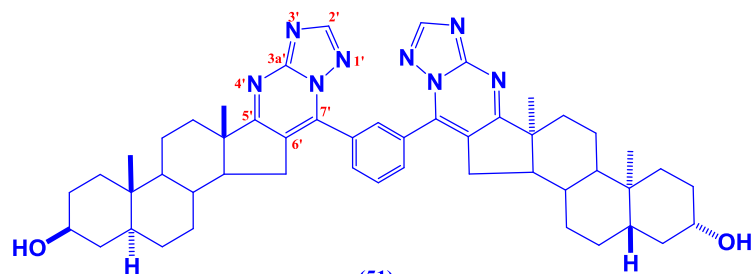
(39)



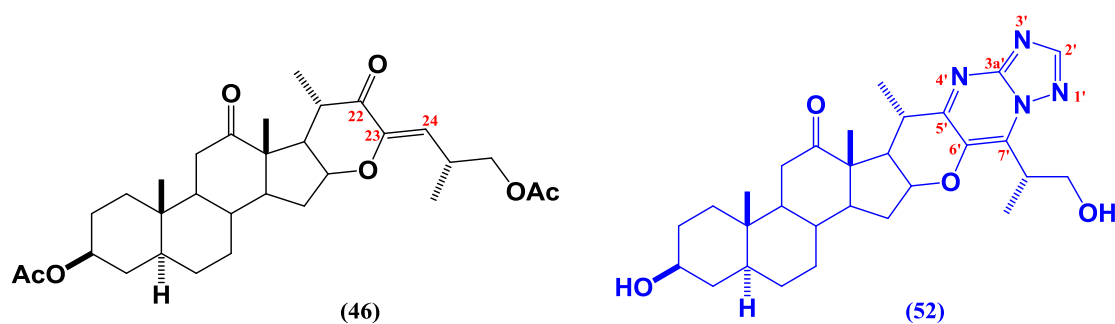
(50)



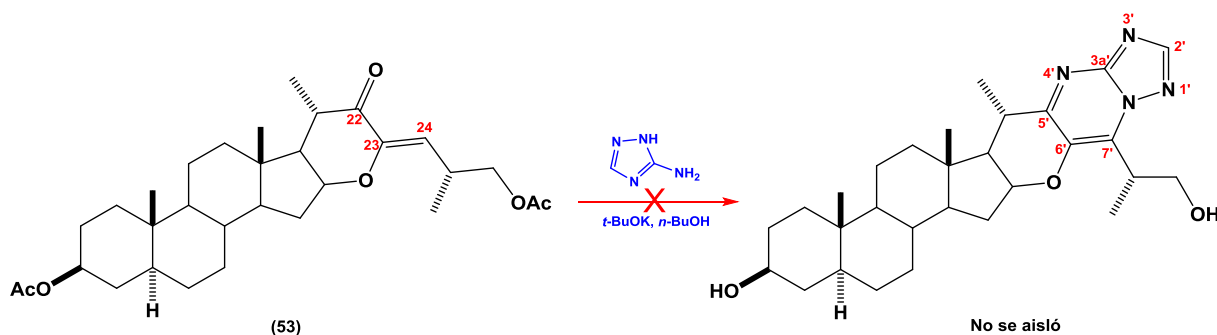
(40)



(51)



La formación del triazolopirimidina en el anillo E derivado de la tigogenina (**42**); a partir del sistema carbonílico α,β -insaturado **53**. Condujo a un producto que se descompone y no puede ser aislado ni caracterizado por RMN (esquema 18).



Esquema 18. Reacción del derivado carbonílico α,β -insaturado **53** para la obtención de heterociclo.

4.3. SÍNTESIS DE AZAESTEROIDES.

Los azaesteroides se caracterizan por contener un nitrógeno dentro del núcleo esteroidal o fuera de éste. Este tipo de estructuras frecuentemente se encuentran formando parte de nuevos fármacos y han mostrado una diversidad de actividad biológica, por ejemplo, inhibición de la enzima 5α -reductasa,⁵⁴⁻⁵⁵ antiinflamatoria,⁵⁶⁻⁵⁷ antiparasitaria,⁵⁸ antifúngica,⁵⁹ inhibidores PI-PLC⁶⁰ y como agentes citotóxicos.⁶¹ No obstante, la gran cantidad de derivados azaesteroidales que se han descrito en la literatura, los que se presentan en el presente trabajo.

4.3.1. Síntesis de (25R)-12a-aza-homo-5 α -espirostan-3 β -ol (56)

La ruta de síntesis de un nuevo azaesteroide derivado de la hecogenina (**30**), se muestra en el esquema 19.

⁵⁴ Singh, H.; Jindal, D.P.; Yadav, M.R.; Kumar, M. *Prog. Med. Chem.* **1991**, 28, 233-300.

⁵⁵ Frye, S. V.; Haffner, C. D.; Maloney, P. R.; Mook., Jr., R. A.; Dorsey, G. F.; Hiner, R. N.; Batchelor, K. W.; Bramson, H. N.; Stuart, J. D.; Schweiker, S. L.; van Arnold, J.; Bickett, D. M.; Moss, M. L.; Tian, G.; Unwalla, R. J.; Lee, F. W.; Tippin, T. K.; James, M. K.; Grizzle, M. K.; Long, J. E.; Schuster, S. V. *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 4313-4315.

⁵⁶ Hirschmann, R.; Steinberg, N. G.; Schoenevaldt, E. F.; Paleveda, W. J.; Tishler, M. *J. Med. Chem.* **1964**, 7, 352-355.

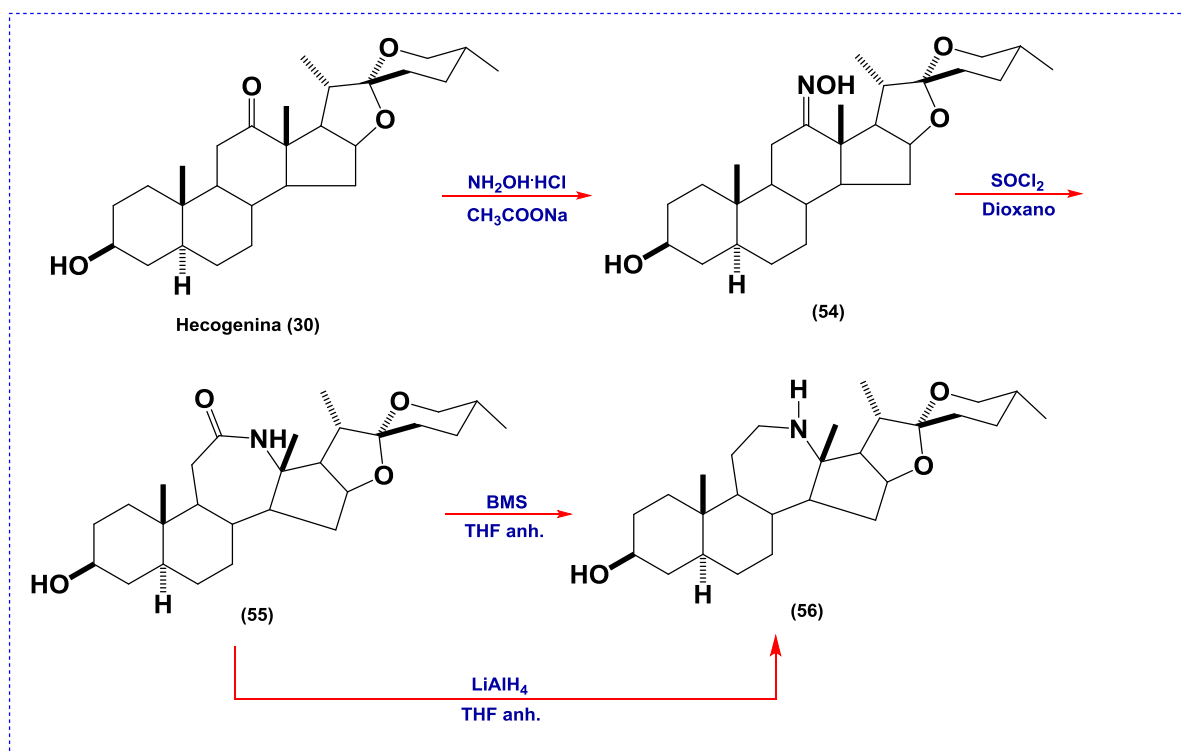
⁵⁷ Gupta, R.; Pathak, D.; Jindal, D.P. *Eur. J. Med. Chem.* **1996**, 31, 241-247.

⁵⁸ Gros, L.; Lorente, S. O.; Jiménez, C.; Yardley, V.; Rattray, L.; Wharton, H.; Little, S.; Croft, S. L.; Ruiz-Pérez, L. M.; González-Pacanowska, D.; Gilbert, I. H.; *J. Med. Chem.* **2006**, 49, 6094-6103.

⁵⁹ Burbiel, J.; Bracher, F.; *Steroids* **2003**, 68, 587-594.

⁶⁰ Xie, W.; Peng, H.; Kim, D.; Kunkel, M.; Powis, G.; Zalkow, L. H. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, 9, 1073-1083.

⁶¹ Catsoulacos, P.; Catsoulacos, D. *Anticancer Res.* **1993**, 13, 1203-1208.



Esquema 19. Síntesis del 12-azaesteroid **56**.

El tratamiento de la hecogenina (**30**) con clorhidrato de hidroxilamina y acetato de sodio en etanol a reflujo por 2 h. generó la oxima **54**. En reportes previos,⁶² se propone que se obtiene el isómero *E*, de manera cuantitativa debido al impedimento estérico con el metilo 18, el derivado obtenido fue caracterizado por RMN. La oxima de hecogenina **54** se sometió a condiciones de reacción de Beckmann usando SOCl_2 en dioxano por 15 min. a temperatura ambiente, lo que condujo a la lactama **55** como se corroboró por RMN.

La amida **55** se redujo empleando LiAlH_4 y BMS al utilizar el BMS/THF anhidro **56** se obtiene en 1:30 h a temperatura ambiente; mientras que cuando se utiliza LiAlH_4 /THF anhidro la reacción se realiza en 4:00 h a reflujo, en ambas reacciones la materia prima reacciona completamente. Es importante mencionar que se obtuvo un mejor rendimiento del 75% cuando se utiliza el BMS y el 25% de materia prima. La estructura del compuesto **55** fue elucidada con la ayuda de los datos espectroscópicos de RMN.

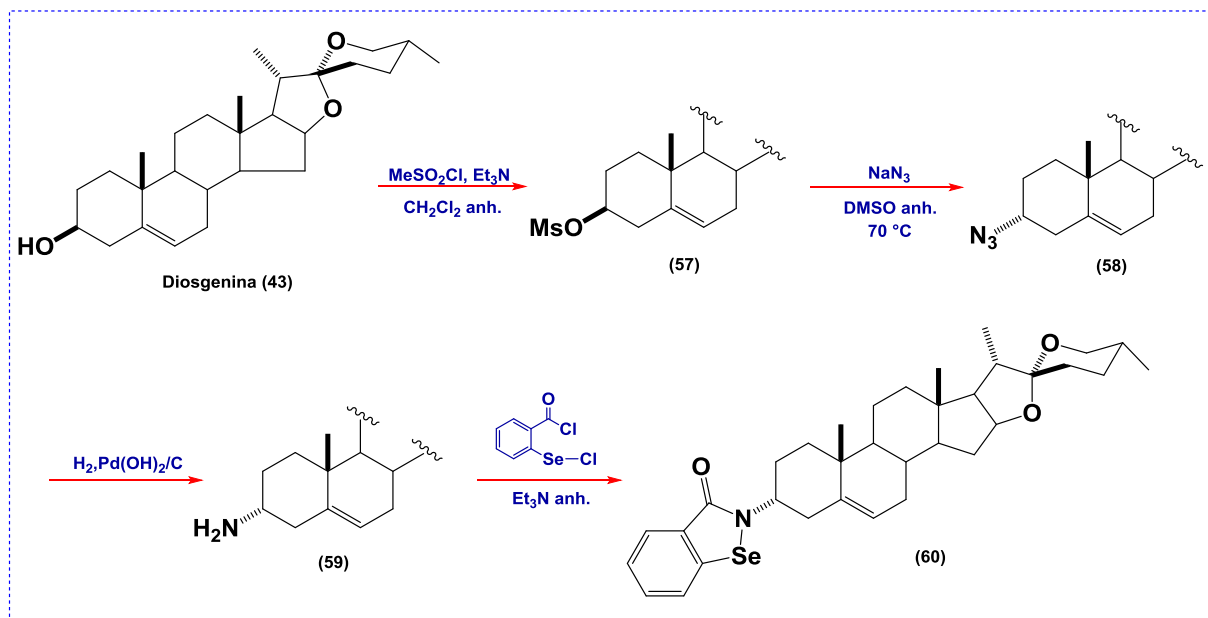
⁶² Mazur, R. H.; *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 1454-1456.

4.4 SÍNTESIS DE NUEVOS DERIVADOS SELENOESTEROIDALES.

Se describe la síntesis de nuevos derivados esteroidales que contienen un selenoheterociclo análogo al ebselen y selenosemicarbazona en su estructura; empleando como compuestos de partida la diosgenina (43), hecogenina (30), tigogenina (42), esmilagenina (61) y tigogenona (72).

4.4.1 Selenoheterociclos esteroidales (análogos al ebselen)

Para obtener los selenoheterociclos esteroidales análogos al ebselen se utilizó la siguiente metodología (esquema 20).



Esquema 20. Síntesis de la formación de un heterociclo con selenio 60.

4.4.1.1 Obtención de derivados mesilados y azidas esteroideas

En primer lugar se optimizaron las condiciones para introducir un buen grupo saliente en la posición C-3 del esteroide; mediante la formación del tosilato el cual resulto ser inestable como se encuentra reportado.⁶³ Por lo anterior se procedió a la formación del derivado mesilado.

Así, en primer lugar se ha llevado a cabo la obtención del derivado mesilado **57** utilizando MeSO₂Cl, Et₃N y CH₂Cl₂ bajo condiciones anhidras. Obteniendo el compuesto puro de manera rápida y con excelentes rendimientos.

En una segunda etapa, se llevó a cabo el desplazamiento nucleofílico del grupo mesilo con NaN₃ y DMSO anhidro,⁶⁴ conduciendo al derivado **58** por una reacción de tipo S_N2, con inversión de la configuración, por lo que la azida en C-3 se obtiene con configuración α en el derivado **58**. Esta etapa transcurrió con rendimientos excelentes. La azida 3α obtenida sólo difiere con respecto al derivado mesilado **57** en el desplazamiento de H-3, como consecuencia de la diferencia electrónica del grupo azido de **58** con respecto al mesilo de **57**; los datos fueron comparados con los reportados en la bibliografía, corroborando así la obtención del producto deseado.⁶⁴

4.4.1.2 Obtención de las aminas esteroideas

La reducción del azido derivado **58** se llevó a cabo mediante hidrogenación catalítica, empleando H₂ y Pd(OH)₂/C como catalizador. Nuevamente la reacción fue muy rápida y limpia con excelentes rendimientos, no siendo necesaria la purificación del producto **59** mediante cromatografía en columna. Los datos obtenidos fueron comparados con los ya reportados en la literatura.⁶⁵

⁶³ Romero-Hernández, L. L.; Merino-Montiel, P.; Montiel-Smith, S.; Meza-Reyes, S.; Vega-Báez, J. L.; Abasolo, I.; Schwartz Jr., S.; López, Ó.; Fernández-Bolaños, J. G. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *99*, 67-81.

⁶⁴ Sun, Q.; Cai, S.; Peterson, B. R. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 567-570.

⁶⁵ Rivera, D. G.; Labrada, K. P.; Lambert, L.; Dörner, S.; Westermann, B.; Wessjohann, L.A.; *Carbohydr. Res.* **2012**, *359*, 102-110.

Con respecto a la hecogenina (**30**), tigogenina (**42**) y esmilagenina (**61**) se siguió la misma metodología para la formación de las aminas correspondientes **62-64** (figura 13).

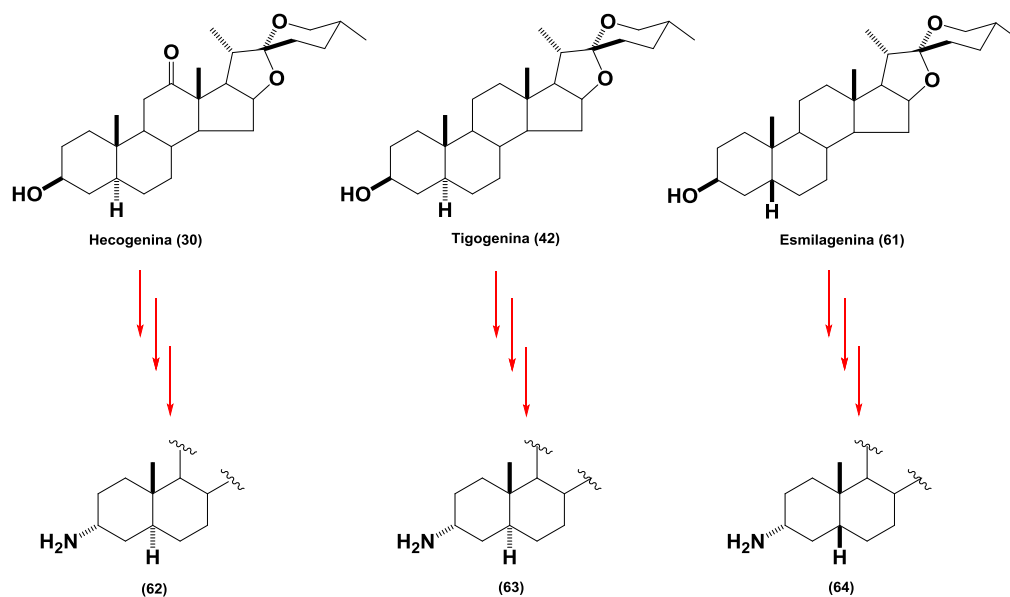
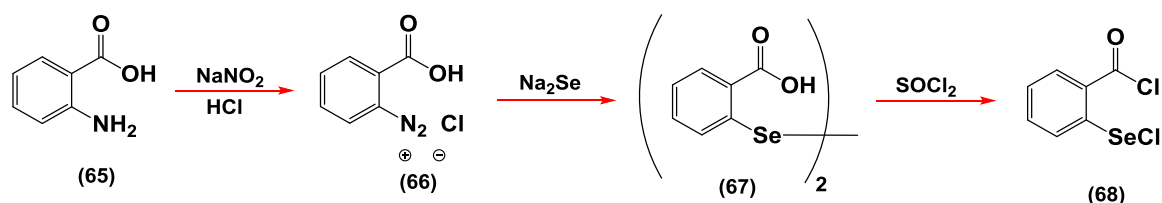


Figura 13. Obtención de las aminas **62-64**.

4.4.1.3 Obtención de los selenoheterociclos esteroidales (análogos al ebselen)

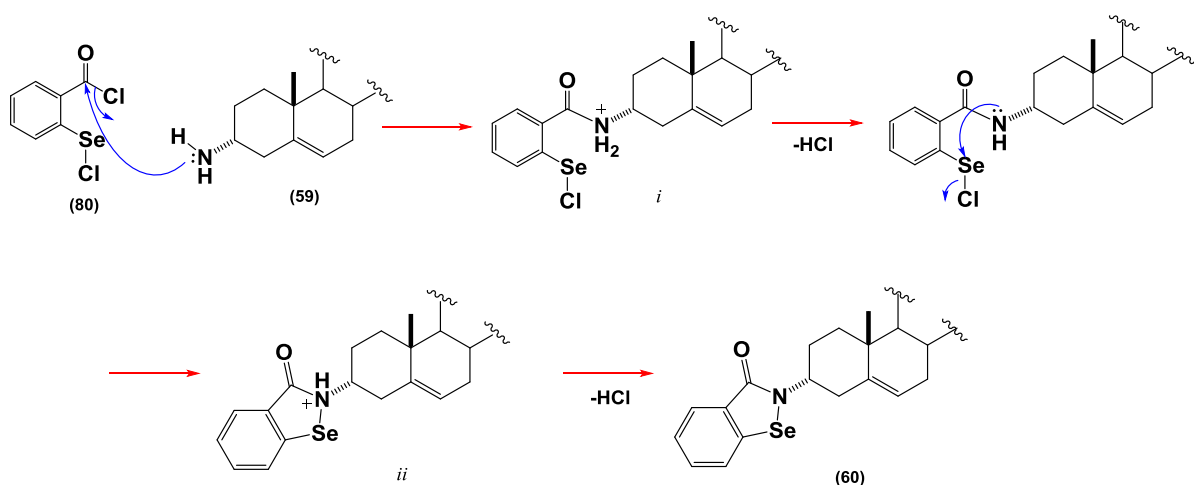
La síntesis del compuesto (**68**); se realizó empleando el fragmento selenoheterocíclico obtenido a partir del ácido antranílico (**65**). Este ácido se sometió a una reacción de diazotación con NaNO_2 y HCl para obtener la sal de diazonio **66** y posteriormente con Na_2Se_2 recién preparado por reducción de selenio elemental con NaBH_4 para dar el derivado **67**. Finalmente el tratamiento con SOCl_2 usando DMF como catalizador, permitió la obtención de **68**, que posee dos centros electrófilos, el cloruro de ácido, y el fragmento de tipo cloruro de selenilo (esquema 21).



Esquema 21. Obtención del cloruro de 2-cloroselenobenzoilo **68**.

Una vez obtenido **68**, se llevó a cabo el acoplamiento con diversas aminas esteroidales (**59**, **62**, **63** y **64**) en medio básico por ataque nucleofílico del grupo amino esteroidal y el átomo de selenio para dar los derivados **60**, **69**, **70** y **71** que pueden ser considerados como los primeros análogos esteroidales de ebselen. La reacción transcurre rápidamente con buenos rendimientos (74-76%).

El mecanismo de formación de **60** (esquema 22) consiste en el ataque nucleofílico por parte de la amina sobre el carbono carbonílico y desplazamiento del cloro para formación de *i*, posteriormente la desprotonación de y liberación del par electrónico del nitrógeno para llevar a cabo un ataque sobre el selenio y desplazamiento del cloro para la formación de *ii* que contiene un heterociclo con selenio finalmente la pérdida del protón del nitrógeno genera el compuesto **62**, que es un análogo esteroidal del ebselen, del que no existen antecedentes en la literatura.



Esquema 22. Mecanismo para la formación de **60**.

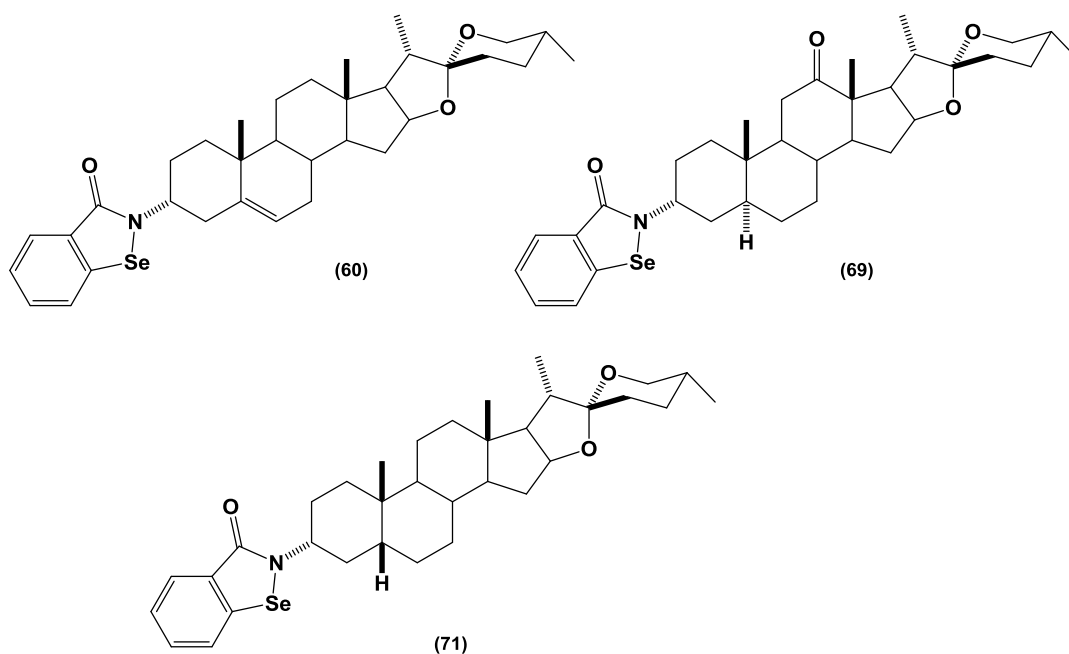
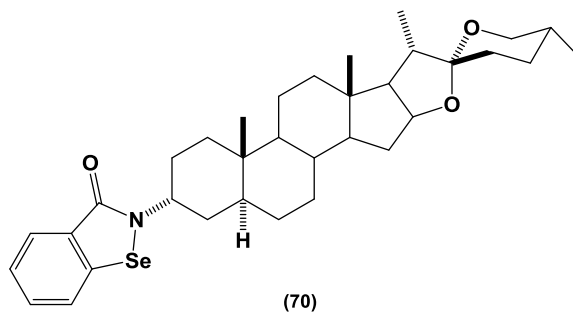


Figura 14. Selenoderivados esteroidales **60**, **69** y **71**.

Cabe destacar que la reacción y purificación de los compuestos **60**, **69** y **71** se llevó a cabo en la oscuridad pues los derivados de selenio son fotosensibles y se descomponen para formar selenio elemental.⁶⁶

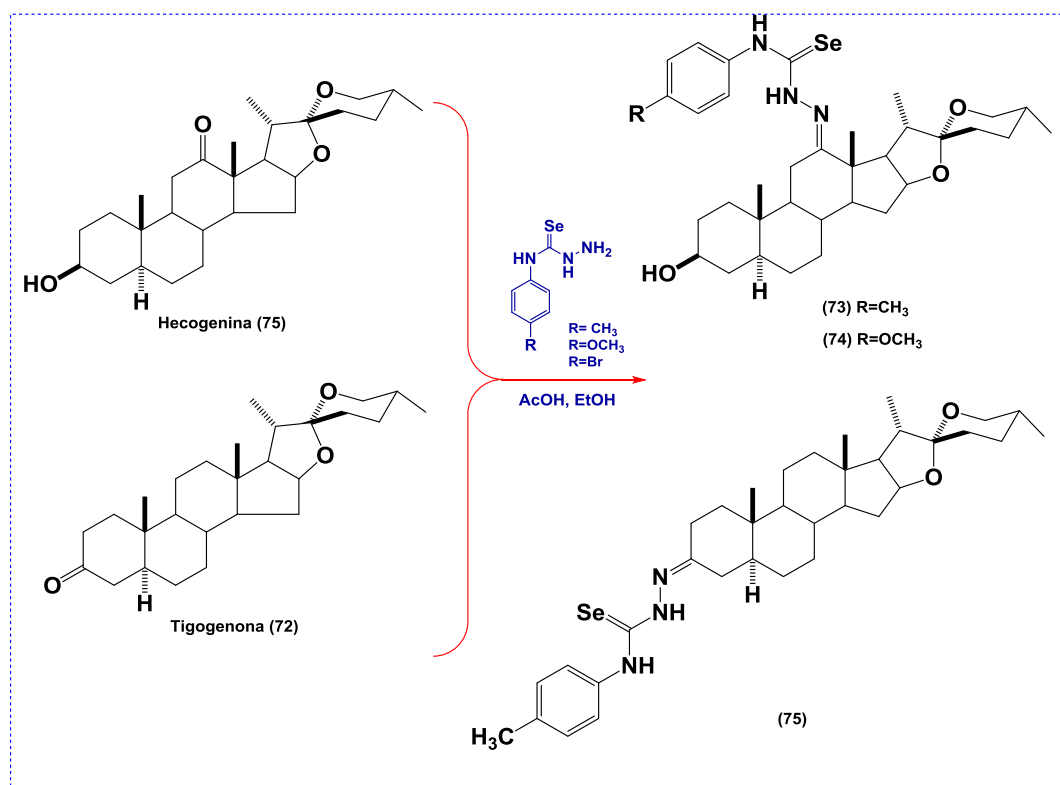
También se obtuvo el selenoderivado esteroideal análogo al ebselen **70**, no obstante, y a pesar de no observar ninguna descomposición del derivado obtenido éste no se pudo aislar completamente puro.



⁶⁶ López, Ó.; Maya, I.; Fuentes, J.; Fernández-Bolaños, J. G. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 61–72.

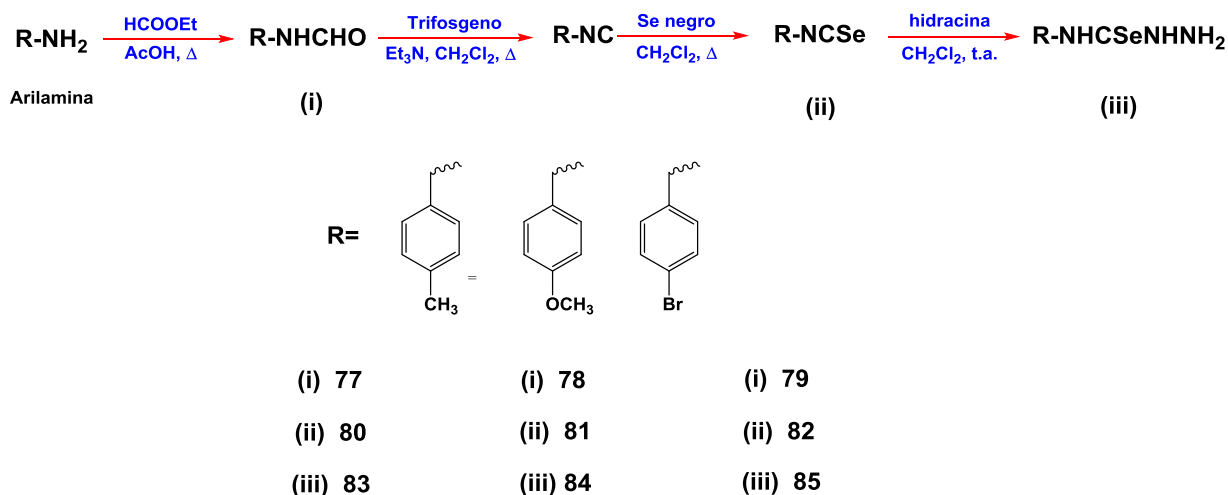
4.5 SÍNTESIS DE SELENOSEMICARBAZONAS ESTEROIDALES

En este apartado se describe la síntesis de selenosemicarbazonas esteroideas partiendo de la hecogenina (30) y tigogenona (72) usando la metodología mostrada en el esquema 23; cabe destacar que no hay ningún antecedente en la literatura de esta función sobre un núcleo esteroideal. La síntesis de los derivados mostrados procede mediante la condensación entre el grupo carbonilo del esteroide de partida y una selenosemicarbazida, que a su vez se obtiene mediante adición de hidracina sobre un isoselenocianato.



Esquema 23. Ruta sintética para obtener las selenosemicarbazonas.

Para proceder a la preparación de los isoselenocianatos se siguió el método descrito por López *et al.*; en primer lugar se lleva a cabo la transformación de: aril aminas comerciales en las correspondientes formamidas **77-79** con excelentes rendimientos mediante tratamiento a reflujo con formiato de etilo, en presencia de AcOH como catalizador (esquema 24).

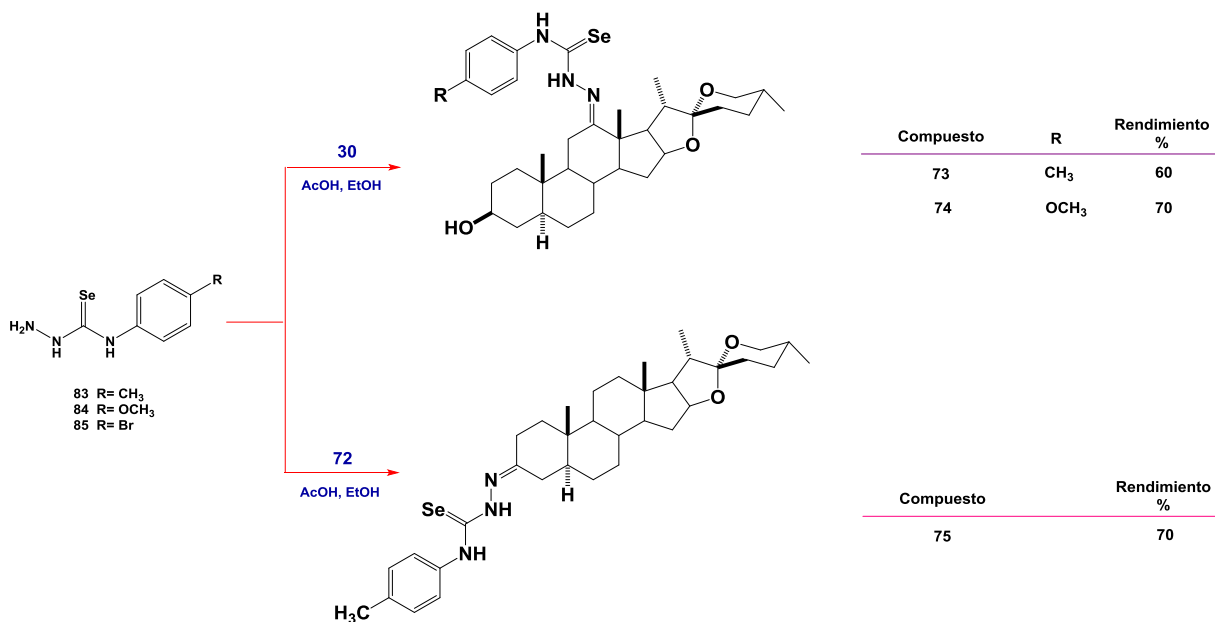


Esquema 24. Obtención de las selenosemicarbazidas **83-85**.

A continuación, las formamidas son transformadas en isoselenocianatos mediante un procedimiento *in situ* en dos etapas; en primer lugar se generan intermediarios isonitrilos por deshidratación de las formamidas promovida por trifosgeno. Los isonitrilos se transforman en los isoselenocianatos **80-82** mediante reacción con selenio negro elemental (esquema 24), cabe destacar que el trifosgeno es un sustituto eficaz del fosgeno, sin la toxicidad y riesgo inherentes a este.

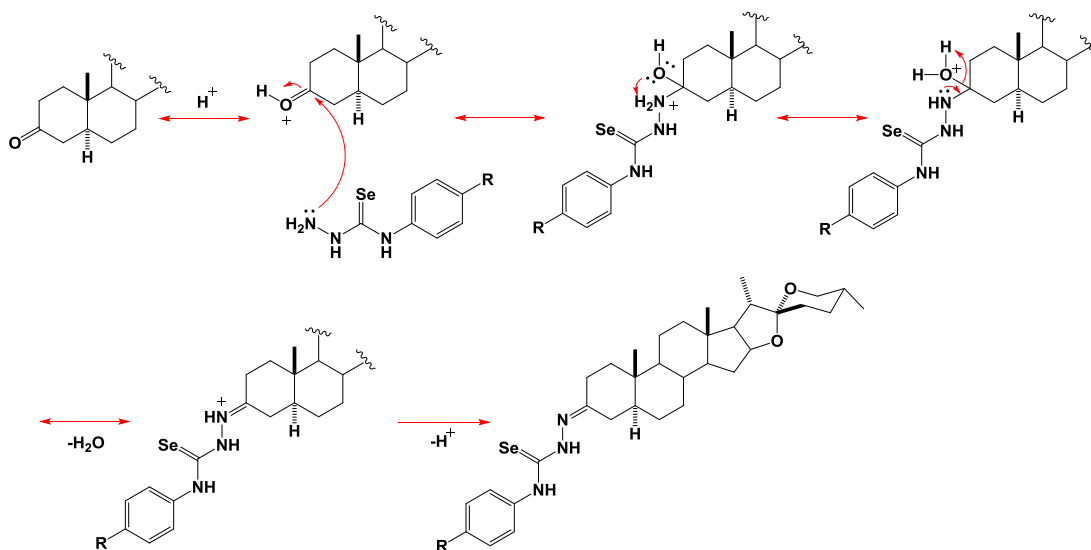
Los isoselenocianatos **80-82** reaccionaron finalmente con hidracina en CH_2Cl_2 anh. bajo atmósfera inerte en la oscuridad y a temperatura ambiente para dar lugar a las selenosemicarbazidas **83-85** (esquema 24).

Finalmente, el acoplamiento de la hecogenina (**30**) y tigogenona (**72**) con las selenosemicarbazidas usando catálisis ácida (AcOH) y a reflujo condujo a las correspondientes selenosemicarbazonas esteroideas con buenos rendimientos (60-70%) (esquema 25) en un procedimiento experimentalmente eficiente y sencillo.



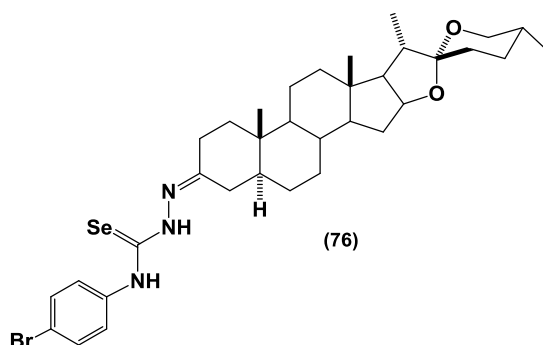
Esquema 25. Obtención de las selenosemicarbazonas **73-75**.

Para explicar la formación de las selenosemicarbazonas esteroideas se propone el siguiente mecanismo de reacción (esquema 26).

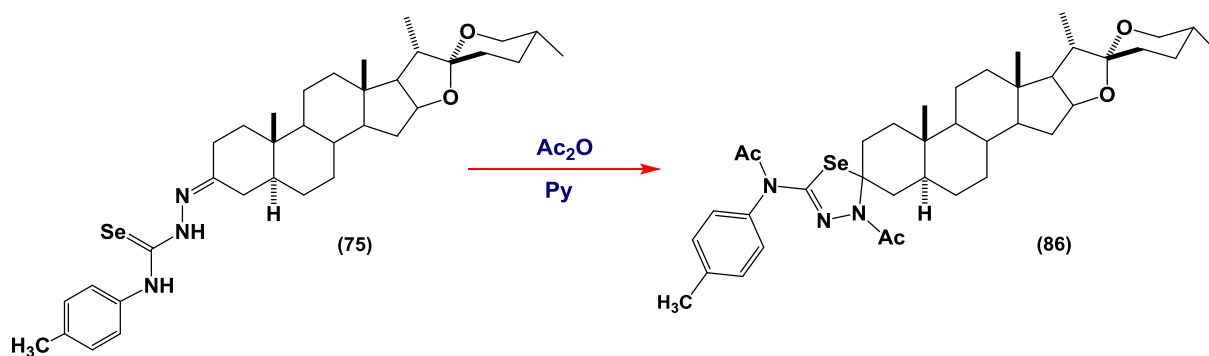


Esquema 26. Mecanismo propuesto para la obtención de las selenosemicarbazonas.

Así mismo se aisló la selenosemicarbazona **76** este compuesto a pesar de no observar ninguna descomposición no se pudo asilar completamente puro.



También se llevó a cabo la transformación de la selenosemicarbazona **75** en el derivado espiro-heterociclo **86**. El tratamiento de **75** con Ac_2O y Py (esquema 27) condujo a un producto que mostró la desaparición de las señales pertenecientes a los grupos NH en el espectro de ^1H , además de un cambio en el desplazamiento de los hidrógenos aromáticos. No obstante, y a pesar de no observar ninguna descomposición del derivado obtenido éste no se pudo asilar completamente puro. Masas también nos corroboró que se había obtenido el derivado **86**.



Esquema 27. Síntesis del compuesto **86**.

4. ANÁLISIS ESPECTROSCÓPICO

4.6 CARACTERIZACIÓN DE NUEVOS DERIVADOS HETEROESTEROIDALES.

A continuación se muestra la caracterización de nuevos derivados esteroidales que contienen un heterociclo de isoxazolina en su estructura; obtenidas: del diacetato de la 17 α -hidroxipregnenolona (**20**), pregnenolona (**23**), estrona (**27**) y hecogenina (**33**).

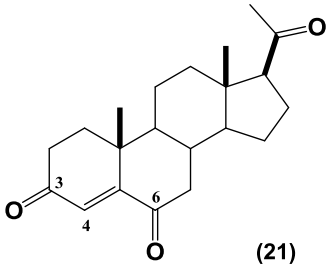
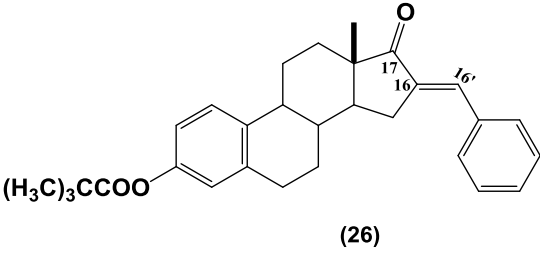
4.6.1 Derivados de isoxazolininas esteroidales.

4.6.1.1 Caracterización por RMN de las cetonas α,β -insaturadas.

Para generar las cetonas α,β -insaturadas **pregn-4-eno-3,6,20-triona (21)** y **(E)-3-trimetilacetato-16-bencilidenestra-1,3,5(10)-trien-17-ona (26)** precursoras de las oxazolininas **23** y **29** se aplicó las metodologías reportadas en la literatura.^{67, 49} En la tabla 1 se muestran los desplazamientos más característicos de RMN de ^1H y ^{13}C .

⁶⁷ Hunter, A. C.; Priest, S. M. *Steroids* **2006**, *71*, 30-33.

Tabla 1. Desplazamientos químicos de ^1H y ^{13}C -RMN de los carbonílicos α,β -insaturados.

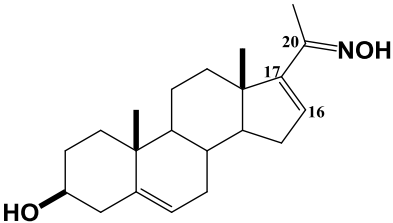
	Hidrógeno	δ (ppm)	Carbono	δ (ppm)
	H-4	6.01	C-3	199.9
			C-4	125.3
			C-5	160.8
			C-6	210.6
	H-16'	7.38	C-16	137.6
			C-16'	133.1
			C-17	209.2

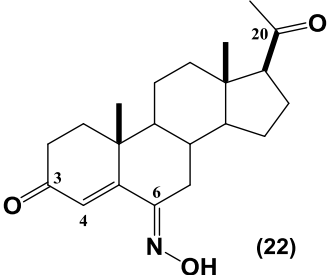
4.6.1.2 Caracterización por RMN de oximas α,β -insaturadas

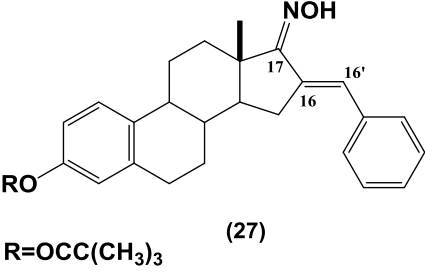
Para la formación de los heterociclos esteroidales se obtuvieron las oximas α,β -insaturadas: acetato de 20-hidroxiiminopregna-5,16-dien-3 β -ilo (18); (6*E*)-hidroximinopregn-4-eno-3,20-diona (22) y oxima de (*E*)-3-trimetilacetato-16-bencilidenestra-1,3,5(10)-trien-17-ona (27).

Las estructuras de las oximas α,β -insaturadas 18, 22 y 27 se corroboraron a partir de los datos espectroscópicos de ^1H y ^{13}C -RMN (tabla 2). Se muestran algunos de los desplazamientos más característicos de los compuestos sintetizados.

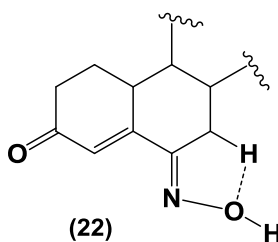
Tabla 2. Datos más importantes de RMN de ^1H y ^{13}C para los compuestos 18, 22 y 27.

 (18)	RMN ^1H (ppm)			RMN ^{13}C (ppm)		
	H-16	H-21	NOH	C-16	C-17	C-20
	6.04	1.99	8.53	132.9	151.4	153.9

 (22)	H-4	H-21	NOH	C-4	C-5	C-6
		6.69	2.01	8.45	126.8	147.9

 (27) R=OCC(CH ₃) ₃	H-16'	NOH	C-16	C-16'	C-17
		7.19	8.38	137.7	124.2

La configuración de la oxima **22** se propone que es *E* por el desplazamiento químico del H-7 β (2.99 ppm) de acuerdo a la literatura⁶⁸ que sugiere que existe interacción del protón H-7 con el oxígeno de la oxima.



⁶⁸ Rodríguez, J.; Nuñez, L.; Peixinho, S.; Jiménez, C. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 1833-1836.

4.6.1.3 Caracterización de las isoxazolininas esteroidales fusionadas al C-16 y C-17; entre los anillos A y B.

3'-Metil-2H-[1,2]oxazolo[5',4':16,17]androst-5-en-3 β -ol (19)

2'H-[1,2]Oxazolo[5',4',3':4,5,6]pregn-5-eno-3,20-diona (23)

5'-Fenil-2',5'-dihidroisoxazolo[4',3':16,17]estra-1,3,5(10)-trien-3-ol (29)

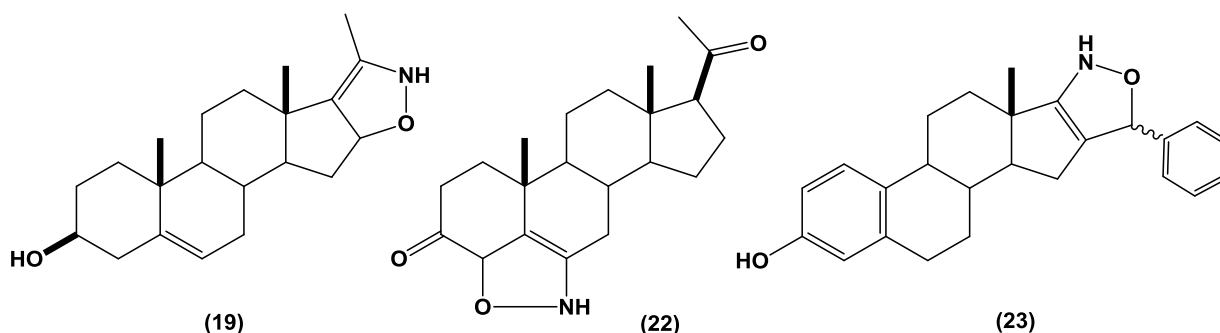


Figura 15. Isoxazolininas esteroidales 19, 23 y 29.

4.6.1.4 Estructura del 3'-Metil-2H-[1,2]oxazolo[5',4':16,17]androst-5-en-3 β -ol (19)

La caracterización del nuevo compuesto **19** se realizó con ayuda de las siguientes técnicas, en IR se observaron las bandas de los grupos funcionales OH (3408 cm^{-1}), NH (3279 cm^{-1}), así como C=C (1589 cm^{-1}) C-N (1415 cm^{-1}). En masas de alta resolución se observó el ion molecular calculado 330.2433 , encontrado 330.2459 .

La RMN de la isoxazolinina esteroidal **19** se efectuó en piridina deuterada ($\text{Py-}d_5$), ya que fue muy poco soluble en CDCl_3 .

La estructura del compuesto **19** se estableció con base en sus espectros de ^1H y ^{13}C (figura 16). En el primero, se muestra como señal en 8.76 ppm que pertenece al NH, el H-16 se desplaza en 7.14 ppm , comparado con el de **18** (6.04 ppm), esto debido al cambio en la hibridación del C-16 ya que pasa de sp^2 a sp^3 . En 6.55 ppm se observa una señal doble correspondiente al H-6 con $J_{6,7\text{ec}} = 4.4\text{ Hz}$. Una señal múltiple en 4.95 ppm asignada al H-3; dos señales múltiples más que corresponden a los protones metílenos H-12 y H-4 en 3.98 y

3.74 ppm. En 3.35, 2.24 y 2.18 ppm se encuentran las señales de los metilos de las posiciones 21, 19 y 18 respectivamente, las cuales fueron asignadas con ayuda del experimento HMBC. En el espectro de ^{13}C destacan las señales características del heterociclo de isoxazolina entre 167.2 y 166.4 ppm correspondientes a los carbonos vinílicos C-17 y C-20 respectivamente.

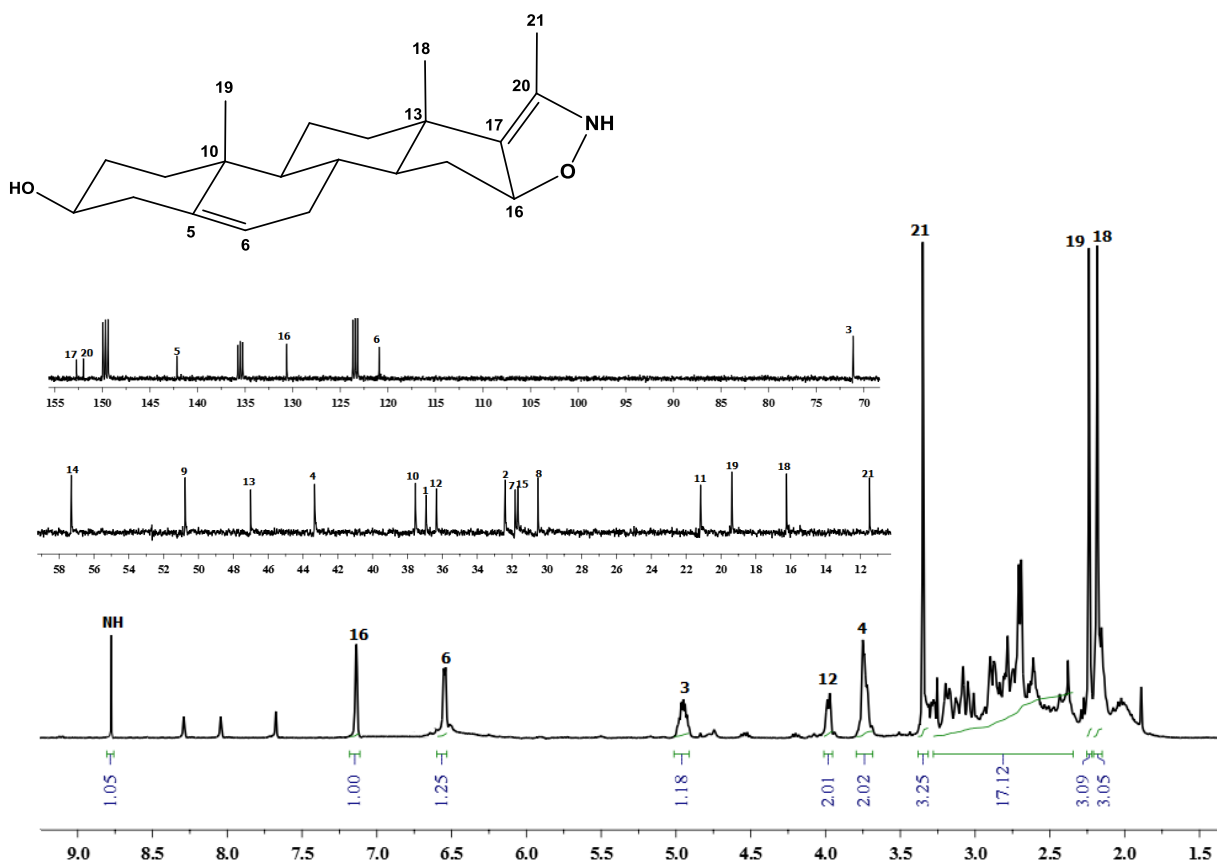


Figura 16. Espectro de RMN de ^1H y ^{13}C (400 MHz y 100 MHz, Py-d_5) del compuesto **19**.

En el experimento HMBC (figura 17) se muestra una zona del espectro en donde se pueden apreciar el acoplamiento del metilo 21 con los carbonos C-20 y C-17, mientras que el metilo 18 se correlaciona con el C-17, el protón H-16 se acopla con el C-17. Los dos carbonos cuaternarios vinílicos también fueron asignados con base a este experimento, en el cual se observa que la señal del protón en 7.14 ppm (H-16) correlaciona con el C-17, mientras que la señal del protón en 3.35 ppm (H-21) se acopla con el C-20.

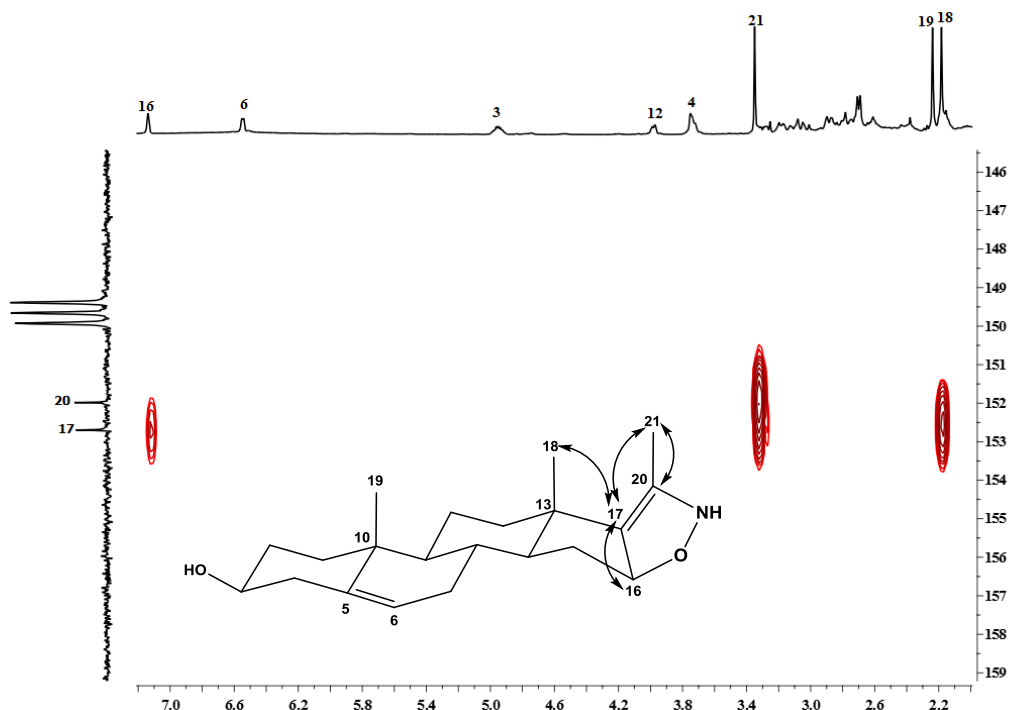
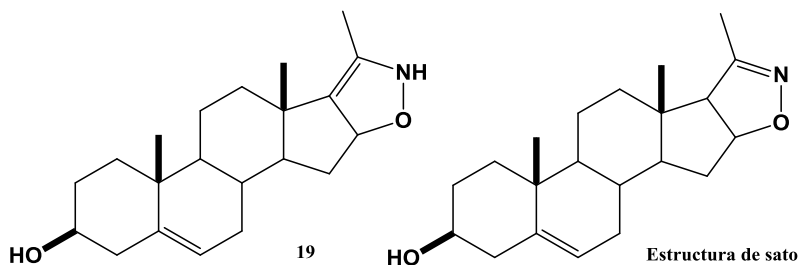


Figura 17. Experimento HMBC del compuesto **19**.

En 1965⁴⁶ se reportó por Sato la estructura la cuál mostró en RMN-¹H señales en 9.19 ppm (CH₃-18), 8.93 ppm (CH₃-19), 8.02 ppm (CH₃-21), 7.18 y 7.08 ppm (H-17), 5.07 ppm (H-16) no se observa ninguna señal que indique la presencia de un hidrógeno de N-H. En comparación con **19** que si mostró señal para el hidrógeno de NH y no se observa H-17, en 7.14 ppm (H-16) que apoya la estructura propuesta para la oxazolina obtenida, lo que nos confirma que no es la misma oxazolina obtenida por Sato.



4.6.1.5 Estructura del 2'H-[1,2]oxazolo[5',4',3':4,5,6]pregn-5-eno-3,20-diona (23)

La caracterización del compuesto **23** se realizó por métodos espectroscópicos. El espectro de IR muestra las bandas características de N-H en 3254 cm^{-1} , también se observaron las vibraciones de C=O en 1687 y 1673 cm^{-1} y de C=C en 1569 cm^{-1} . En masas de alta resolución se observó el ion molecular calculado 344.2226 , encontrado 344.2231 . Mientras que los resultados de RMN de ^1H y ^{13}C del producto obtenido evidenció la formación del nuevo heterociclo **23**. Como se observó en el espectro de RMN de ^1H (figura 18), se observan hacia frecuencias altas, las señales correspondientes al N-H (8.45 ppm), H-4 (6.69 ppm). En 2.28 y 2.16 ppm se encuentran dos señales múltiples correspondientes a los protones 2 y 17. Se observa una señal simple en 2.01 ppm , correspondiente al metilo 21. A frecuencias bajas destacan dos señales simples para protones metílicos correspondientes a 19 y 18.

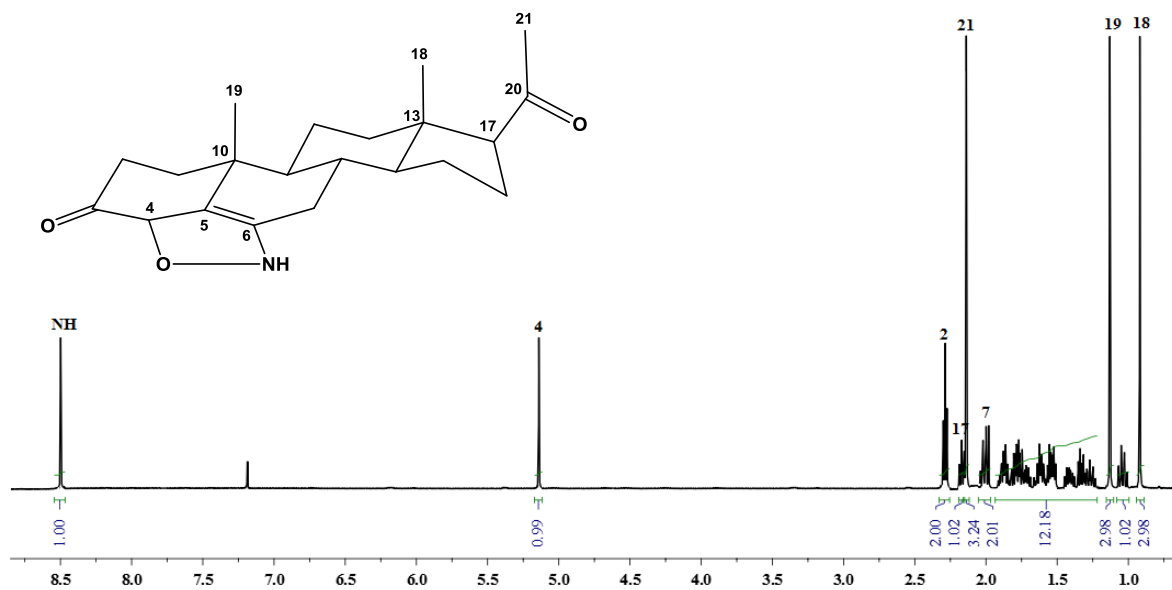


Figura 18. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) del compuesto **23**.

En el espectro de RMN de ^{13}C (figura 19), se observan las señales correspondientes a los grupos carbonilos 20 y 3, el C-4 que en el precursor es un carbono vinílico (126.8 ppm) y ahora es base de oxígeno (85.2 ppm). Los carbonos vinílicos se observaron en 117.9 ppm para

C-5, 144.5 ppm para C-6. Los metilos 21, 19 y 18 se asignaron a las señales en 31.1, 19.3 y 13.8 ppm respectivamente.

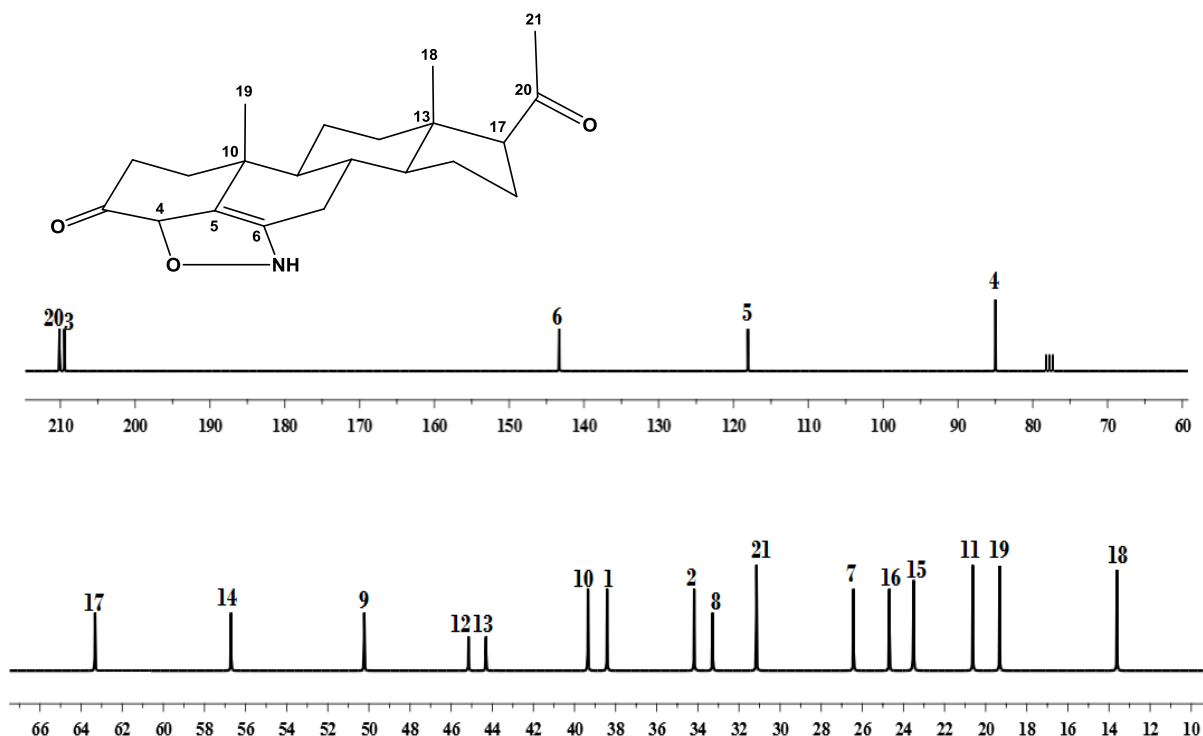


Figura 19. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) del compuesto **23**.

En la figura 20 se muestran dos fragmentos del experimento HMBC en donde se pueden apreciar las correlaciones del protón 2' con los carbonos 4, 5 y 6; además se corroboró la señal del protón 4 mediante las correlaciones a tres enlaces con el C-6 y a dos enlaces con los C-3 y C-5; los protones 7 se acoplan con los carbonos 6 y 5; el acoplamiento de H-2 permitió asignar al C-3. En el segundo fragmento se pudieron asignar los metilos 18, 19 con los carbonos cuaternarios que los soportan C-13 y C-10 en 38.8 y 44.2 ppm respectivamente; se muestra el acoplamiento entre las señales de los protones de C-21 con los carbonos 20 y 17.

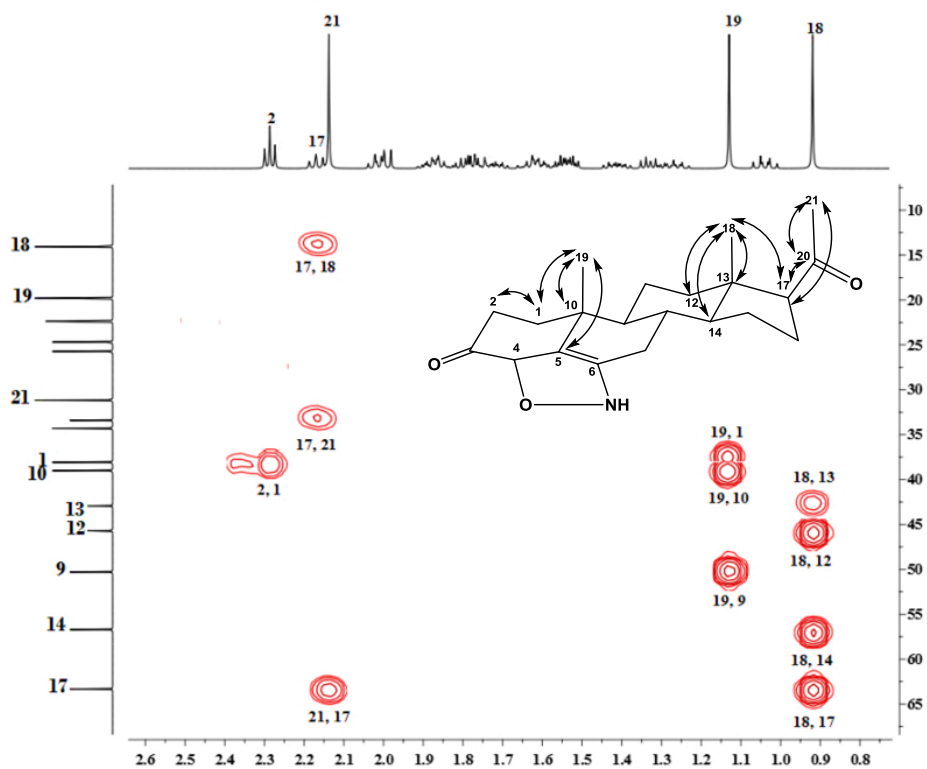
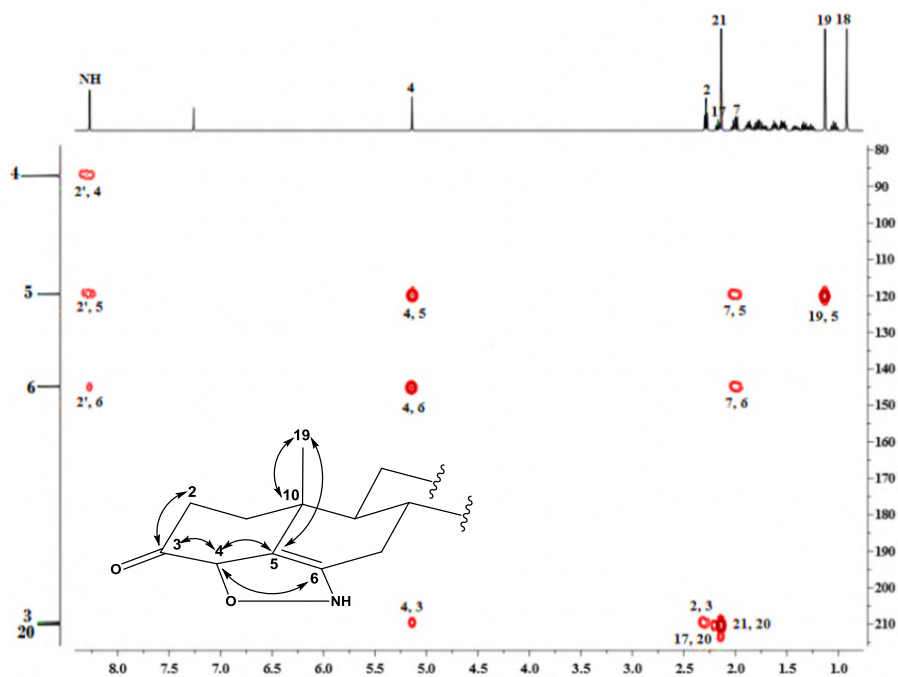


Figura 20. Experimento HMBC del compuesto **23**.

4.6.1.6 Estructura del 5'-fenil-2',5'-dihidroisoxazolo[4',3':16,17]estra-1,3,5(10)-trien-3-ol (29)

El espectro de RMN de ^1H (figura 21) se muestra la aparición de las nuevas señales pertenecientes: al hidrógeno $-\text{NH}$ en 9.1 ppm y las señales de los hidrógenos aromáticos en 7.35 y 7.28 ppm y en 5.56 ppm, se observa una señal simple correspondiente al heterociclo formado. En el espectro de ^{13}C se distinguen las señales de los carbonos que forman el heterociclo de isoxazolina los cuales se aprecian en 144.5, 136.0, 128.9, 127.6, 127.1 y 117.9 ppm asignados a los C-17, C-1'', C-2'', C-6'', C-4'', C-5'', C-3'' y C-16 respectivamente. Así mismo en el espectro de infrarrojo se observaron las vibraciones de OH en 3350 cm^{-1} , N-H en 3230 cm^{-1} , C=C en 1590 cm^{-1} y C-O en 1205 cm^{-1} .

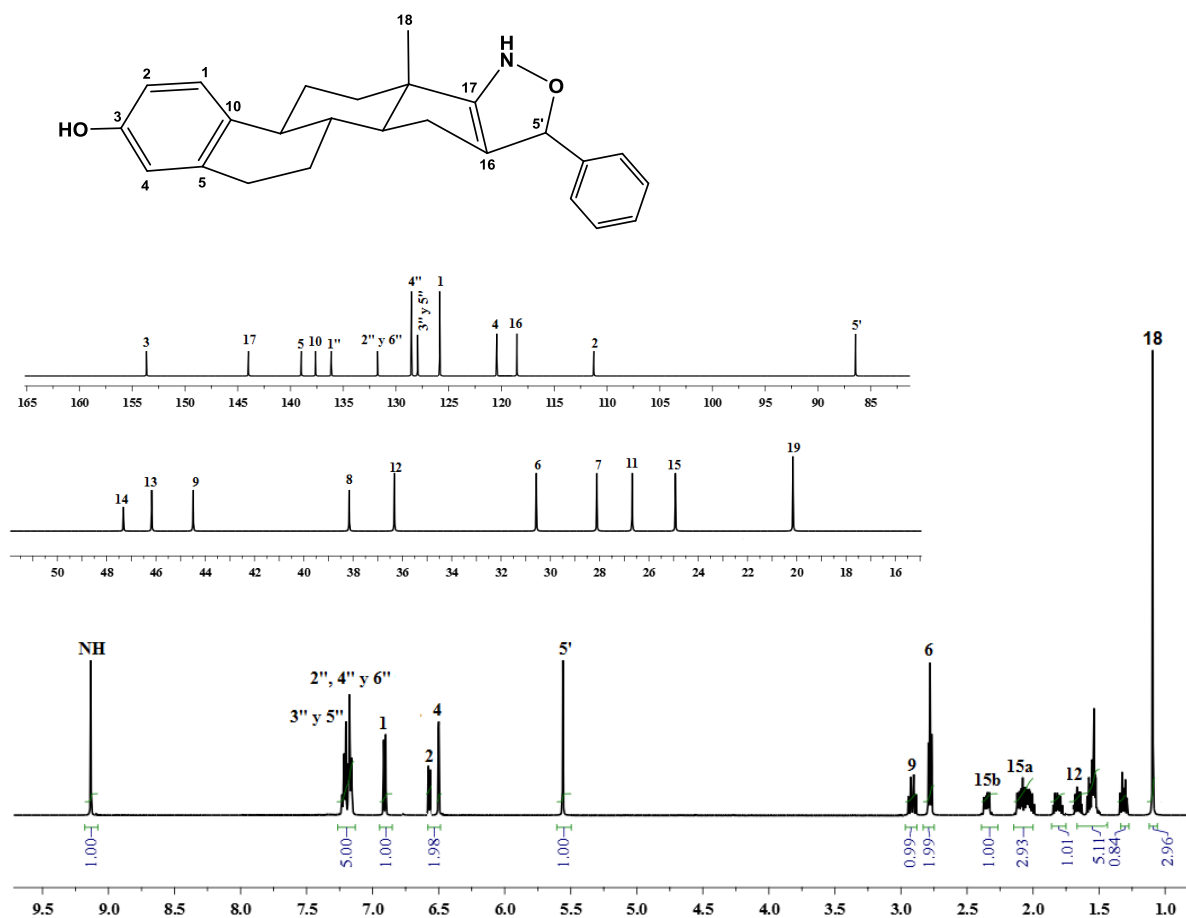


Figura 21. Espectro de RMN de ^1H y ^{13}C (400 MHz y 100 MHz, CDCl_3) del compuesto 29.

En la fracción del experimento HMBC que se ilustra en la figura 22, fue de gran ayuda para asignar correctamente cada una de las señales; los protones metínicos de C-1, C-2 y C-4 se asignaron con base en los acoplamientos. Se asignó a C-16, C-1'' y C-17 gracias a la correlación que guardan con el protón metínico de C-5'.

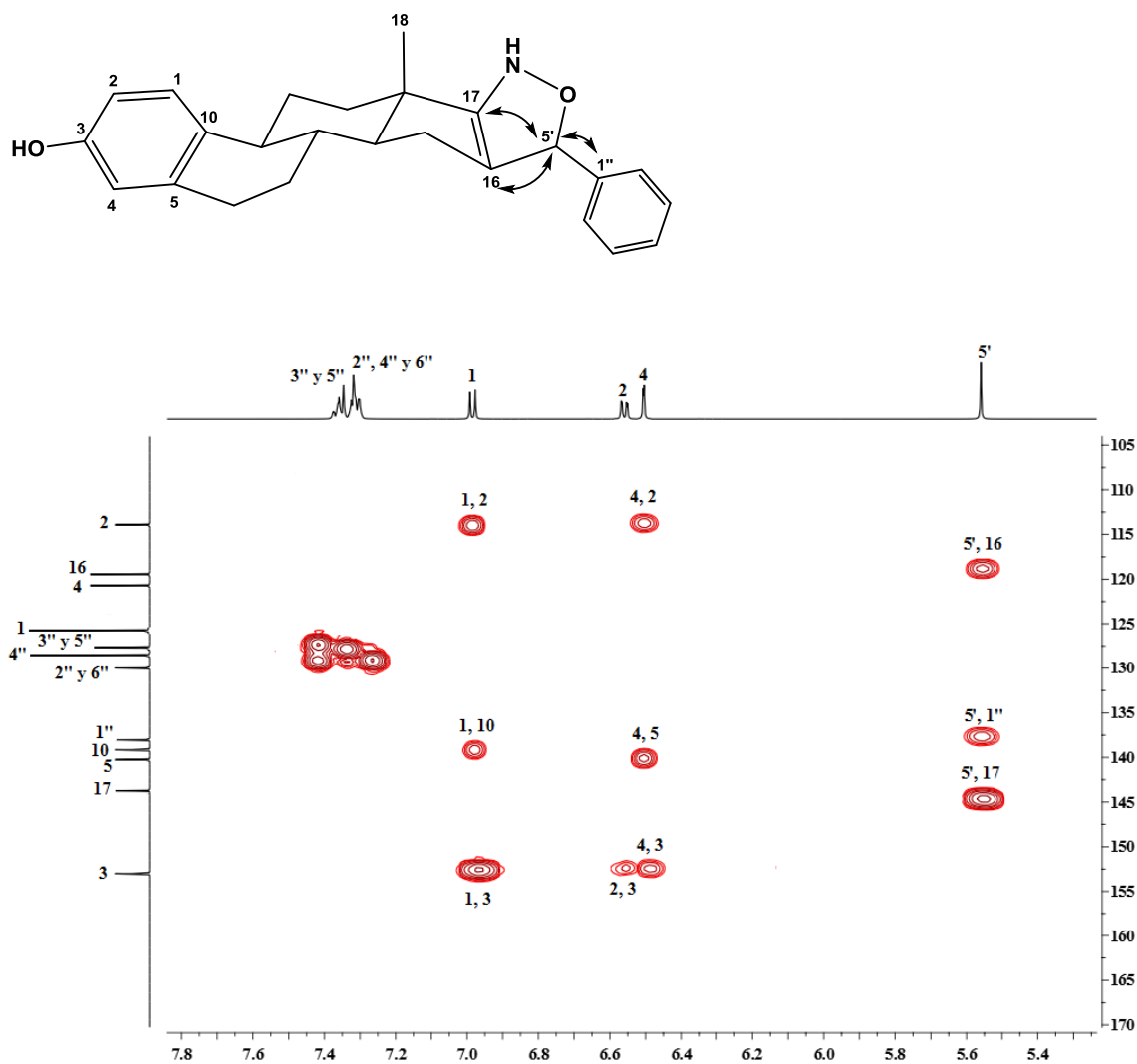


Figura 22. Experimento HMBC del compuesto 29.

4.7 CARACTERIZACIÓN DE NUEVOS DERIVADOS ESTEROIDALES MONOMÉRICOS Y DIMÉRICOS [1,2,4]TRIAZOLO[1,5-a]PIRIMIDINAS.

En este apartado, se describe la caracterización de nuevos derivados esteroideos monoméricos y dimericós [1,2,4]-triazolo[1,5-a]pirimidinas fusionados o sustituidos en diferentes posiciones del esqueleto esteroideal.

4.7.1 Preparación de las cetonas α,β -insaturadas monoméricas y diméricas

Se prepararon y se caracterizaron diversas cetonas α,β -insaturadas monoméricas y diméricas utilizando diferentes núcleos esteroideos como la pregnenolona (20), estrona (24) y hecogenina (30).

(E)-21-Benzilideno-3 β -hidroxipregn-5-en-20-ona (37)

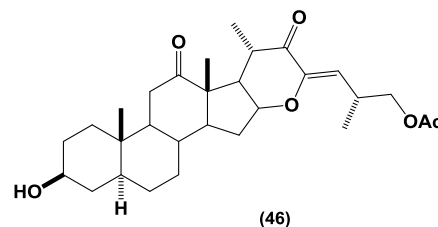
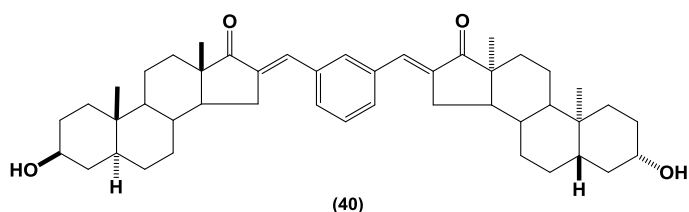
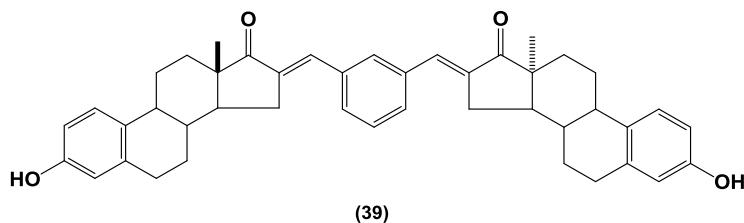
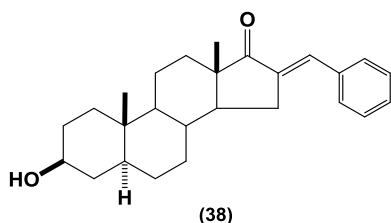
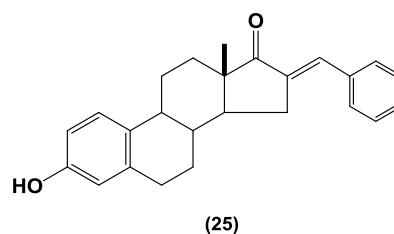
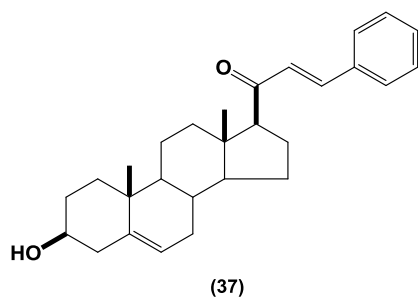
(E)-16-Benzilideno-3 β -hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-17-ona (25)

(E)-16-Benzilidene-3 β -hidroxi-5 α -androstan-17-ona (38)

***m*-Bis[(E)-3 β -hidroxi-16-metilen-17-oxaestra-1,3,5(10)-trien-16¹-il]benceno (39)**

***m*-Bis[(E)-3 β -hidroxy-16-metilen-17-oxa-5 α -androstan-16¹-il]benceno (40)**

Diacetato de (23Z, 25R)-12,22-dioxo-16,23 epoxi-5 α -colestano-23-eno-3 β -26-diilo (46)



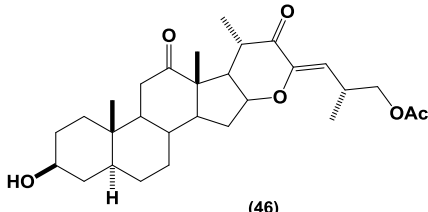
Debido a la simetría molecular de las nuevas estructuras, los datos de RMN de los compuestos **39** y **40** son muy similares a los correspondientes a sus análogos monoméricos de **25** y **38** (tabla 3). En el espectro de ^1H -RMN de los compuestos **25**, **38**, **39** y **40** se observa el protón vinílico en 7.4 ppm, consistente para el isómero *E*. En el espectro de RMN de ^{13}C se puede observar la señal del carbonilo de la cetona en 210 ppm y los carbonos vinílicos (C-16 y C-16¹) en 132.3 a 137.4 ppm indicando la presencia de las cetonas α,β -insaturadas. Los espectros de IR de los compuestos **37**, **25**, **38**, **39** y **40** muestran las bandas correspondientes a OH en aproximadamente $3320\text{-}3424\text{ cm}^{-1}$ como se observa en la Tabla 3, además de las bandas correspondientes a C=O en aproximadamente $1681\text{-}1715\text{ cm}^{-1}$. Las bandas de C=C se encuentran entre $1603\text{-}1632\text{ cm}^{-1}$. En masas de alta resolución se observó el ion molecular esperado.

Tabla 3. Datos más importantes de ^1H y ^{13}C -RMN (CDCl_3 , δ en ppm) e IR (cm^{-1}) de las cetonas α,β -insaturadas **37**, **25**, **38**, **39** y **40**.

Posición	Compuestos				
	37	25	38	39	40
H $_{\alpha}$	6.78	7.43	7.31	7.51	7.39
H $_{\beta}$	7.55	---	---	---	---
C-16	---	137.4	136.1	136.6	136.8
C-16 ¹	---	133.5	132.9	132.7	132.3
C-17 (C=O)	---	210.8	210.0	210.4	209.8
C-20 (C=O)	200.5	---	---	---	---
IR (C=O)	1681	1700	1715	1710	1715

En la tabla 4 se muestra los desplazamientos de ^{13}C -RMN de las señales más características de la cetona α,β -insaturada **46**, se presenta aparte por ser una cetona α,β -insaturada estructuralmente diferente a las anteriores. Los datos obtenidos fueron comparados con los ya reportados en la literatura.⁵⁴

Tabla 4. Datos más importantes de RMN de ^1H y ^{13}C para el compuesto **46**.

	H $_{\beta}$	C-22 (C=O)	C-23	C-24
	(46)	5.59	199.5	150.6

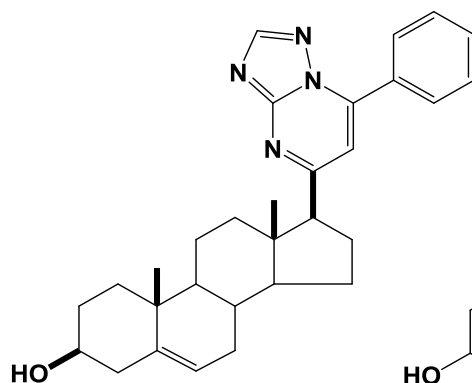
4.7.2 Obtención de los derivados monoméricos y diméricos [1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidinas esteroidales sustituidos o fusionados en diferentes posiciones del esqueleto esteroidal.

17 β -{7'-fenil[1,2,4]triazolo-[1,5-a]pirimidil}androstan-3 β -ol (47)

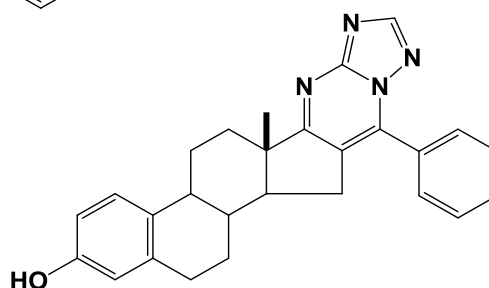
3-hydroxy-7'-fenilestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d][1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidina (48)

7'-fenil-5 α -androstando[17,16-d][1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidina (49)

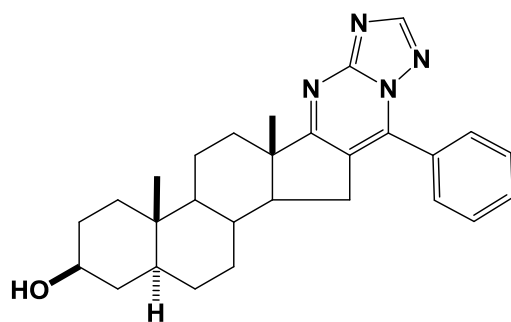
**(25S)-3 β ,26-Dihidroxi-16 β -23-epoxi-12-oxo-5 α -colestano[23,22-d][1,2,4]triazolo
[1,5-a]pirimidina (52)**



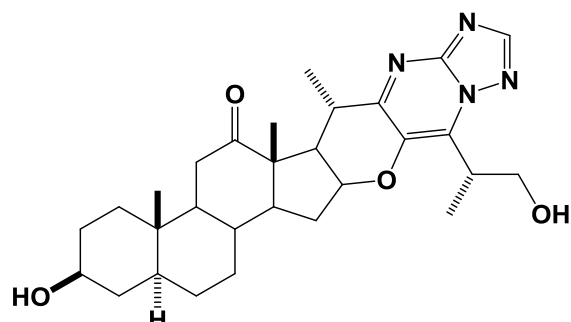
(47)



(48)



(49)



(52)

4.7.2.1 Estructura del 17 β -{7'-fenil[1,2,4]triazolo-[1,5-a]pirimidil}androstan-3 β -ol (**47**)

El espectro de IR muestra las bandas características de OH en 3357 cm⁻¹, C=N en 1614 cm⁻¹, C=C en 1535 cm⁻¹. En masas de alta resolución se observó el ion molecular calculado 429.2967, encontrado 469.2950. Los datos espectroscópicos de RMN de ¹H confirmaron la formación del compuesto **47** (figura 23). Se observa a frecuencias altas una señal simple en 8.41 ppm que corresponde al H-2', los hidrógenos aromáticos entre 7.99 y 7.54 ppm. En 6.96 ppm se observa una señal simple que se asignó al protón de C-6'. En 5.31 se observa una señal doble correspondiente al protón vinílico H-6, el cual presenta una multiplicidad doble y $J_{6,7ec} = 5.2$ Hz. En 3.46, 2.96 y 2.72 ppm se observan los protones metínicos correspondientes a H-3, H-17 y H-16 como señales múltiples. Los metilos 19 y 18 se presentan como dos señales simples en 0.93 y 0.54 ppm.

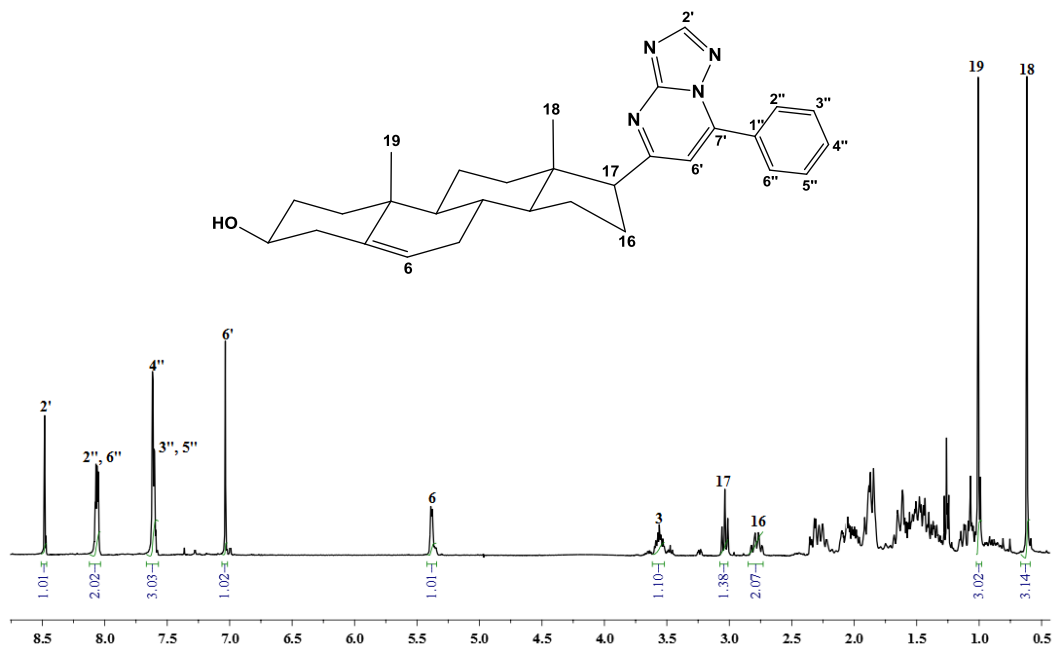


Figura 23. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) del compuesto **47**.

En la figura 24 de RMN de ¹³C de la triazolopirimidina **47**, se observar una señal característica en 155.8 ppm correspondiente al C-3a'. Muestra también las señales de los

carbonos pertenecientes al heterociclo entre 168.4-146.3 ppm y el C-6' (110.3 ppm). Así como las señales de los carbonos aromáticos entre 131.6 y 128.9 ppm.

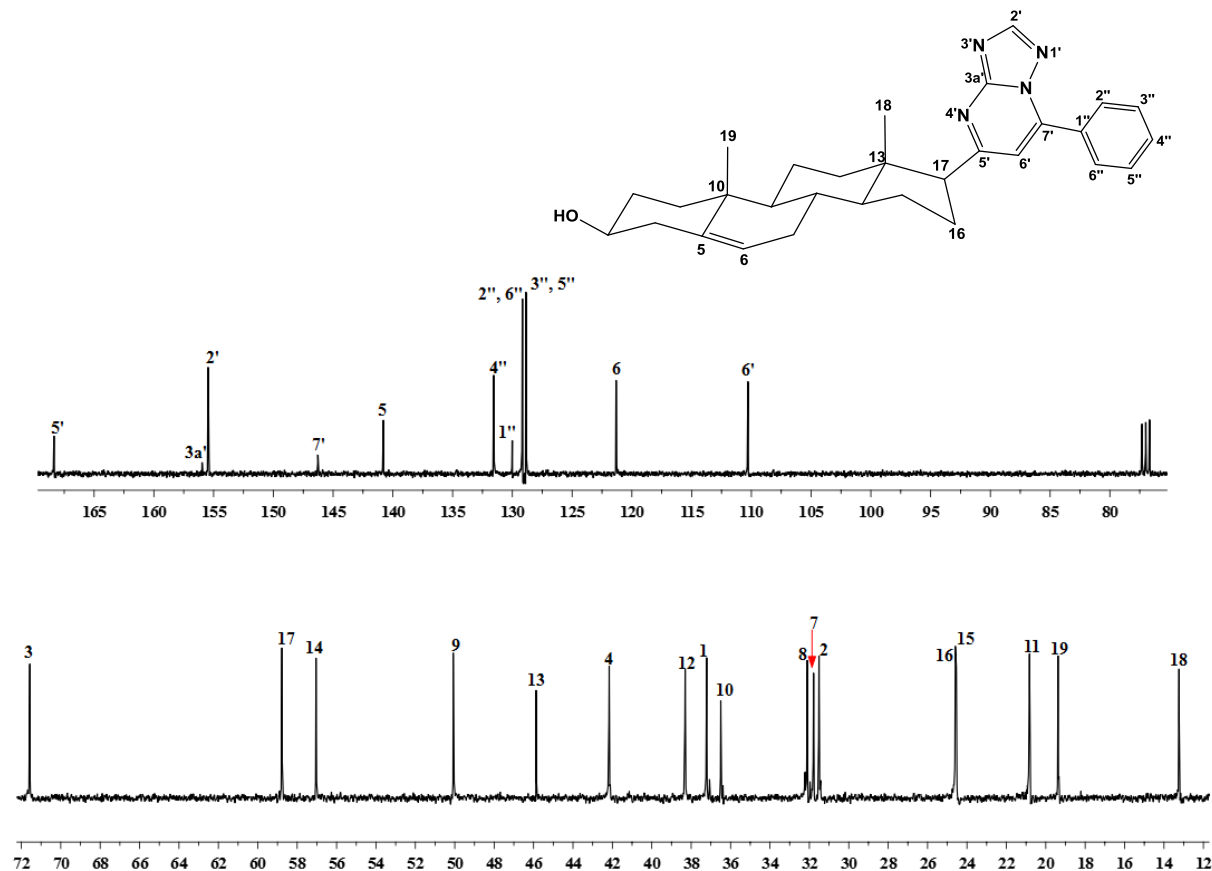


Figura 24. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) del compuesto **47**.

El experimento HMBC (figura 25) se muestra las correlaciones del heterociclo de triazolopirimidina, por ejemplo, la correlación del H-2' con el C-3a'. Los acoplamientos de H-6' permitieron asignar los carbonos 7', 5', 17 y 1''. El H-2'' correlaciona con C-4'', C-5'' y C-7'. El H-4'' se correlaciona con C-3'' y C-2'' y finalmente el H-17 se correlaciona con el C-6' y C-5'.

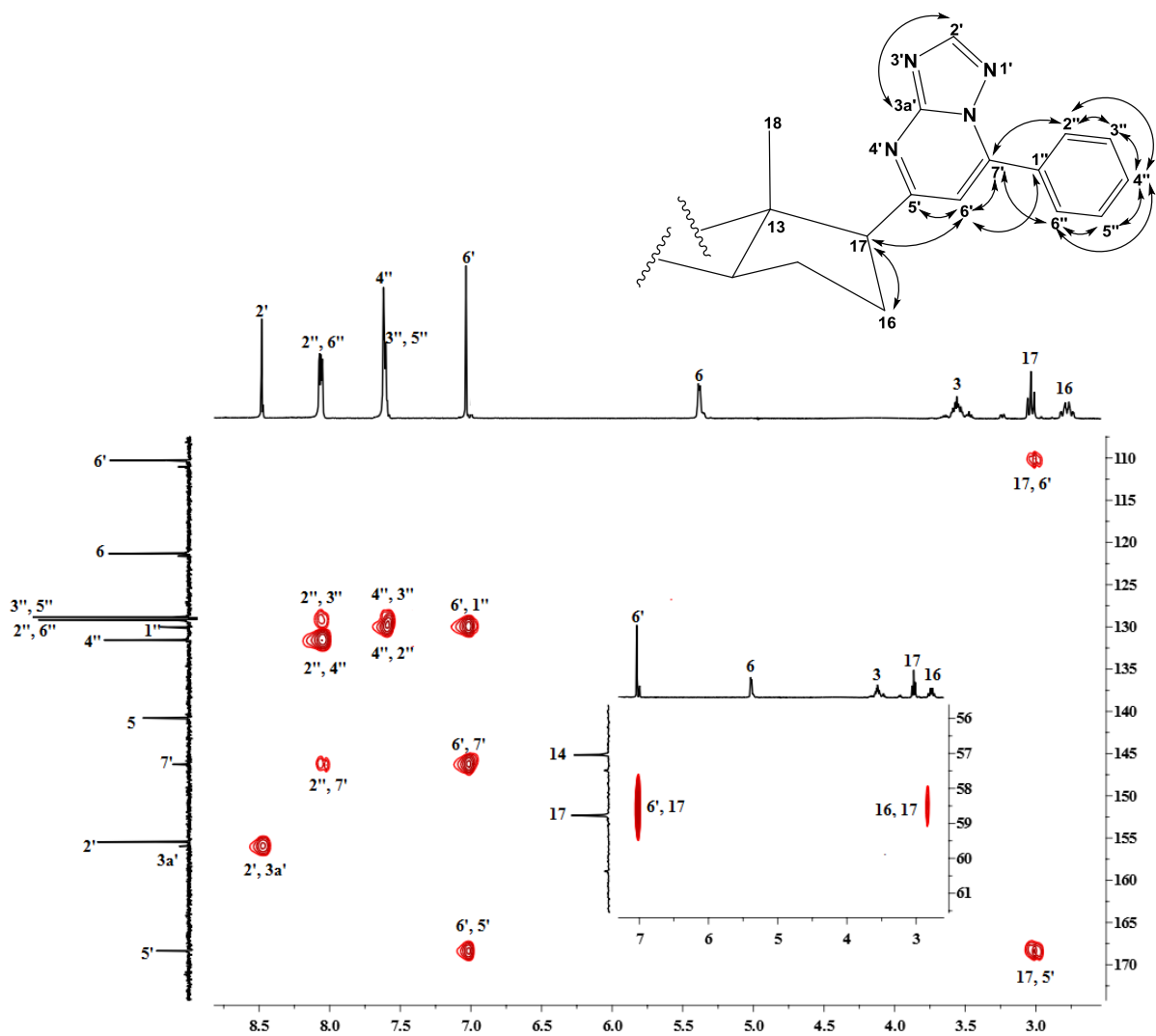


Figura 25. Experimento HMBC del compuesto 47.

4.7.2.2 Estructura del 3-hidroxi-7'-fenilestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d][1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidina (48)

En el espectro de IR se observaron las vibraciones de OH en 3223 cm^{-1} , C=N en 1621 cm^{-1} , C=C en 1525 cm^{-1} . En masas de alta resolución se observó el ion molecular calculado 423.2185, encontrado 423.2159. En el espectro de RMN de ^1H (figura 26) se observa una señal simple en 8.27 ppm característica para el protón del anillo de triazol, también apreciamos los protones aromáticos del grupo fenilo que aparecen entre 7.73 y 6.53 ppm correspondientes a los carbonos C-2'', C-3'', C-4'', C-5'' y C-6'' respectivamente. Además observamos los protones metínicos de las posiciones 1, 2 y 4 entre 7.05 y 6.53 ppm. La señal del protón de OH unido al C-3 se observa en 3.17 ppm como una señal simple ancha. A frecuencias bajas se observan dos señales múltiples correspondientes al H-6 y H-15 en 2.79 y 2.73 ppm. En 1.11 ppm se observa una señal simple que integra para tres protones que se asignó al metilo 18.

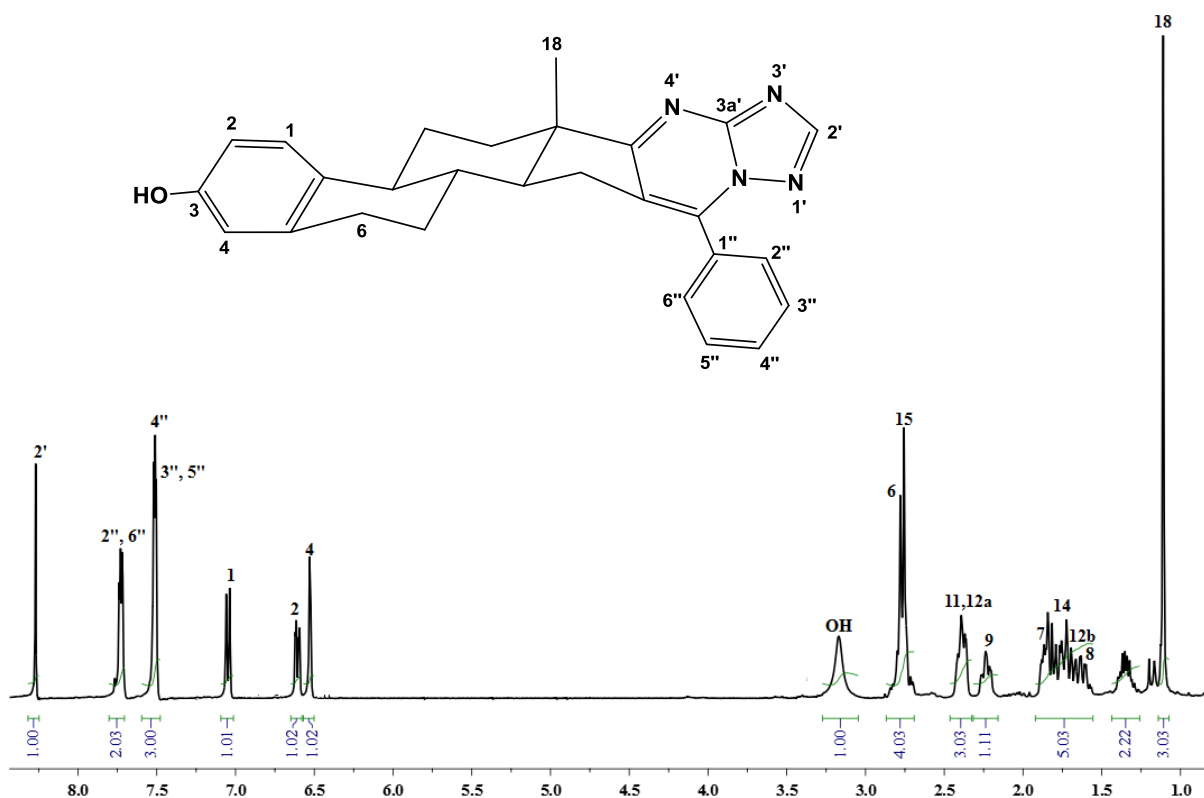


Figura 26. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) del compuesto 48.

En el espectro de RMN de ^{13}C de **48** (figura 27) se observan las señales pertenecientes al heterociclo de triazolopirimidina C-17 (181.2 ppm), C-3a' (155.4 ppm), C-2' (154.0 ppm), C-7' (142.9 ppm), C-16 (123.0 ppm) y las señales de los carbonos aromáticos se muestran en la región comprendida entre 131.1 y 128.5 ppm.

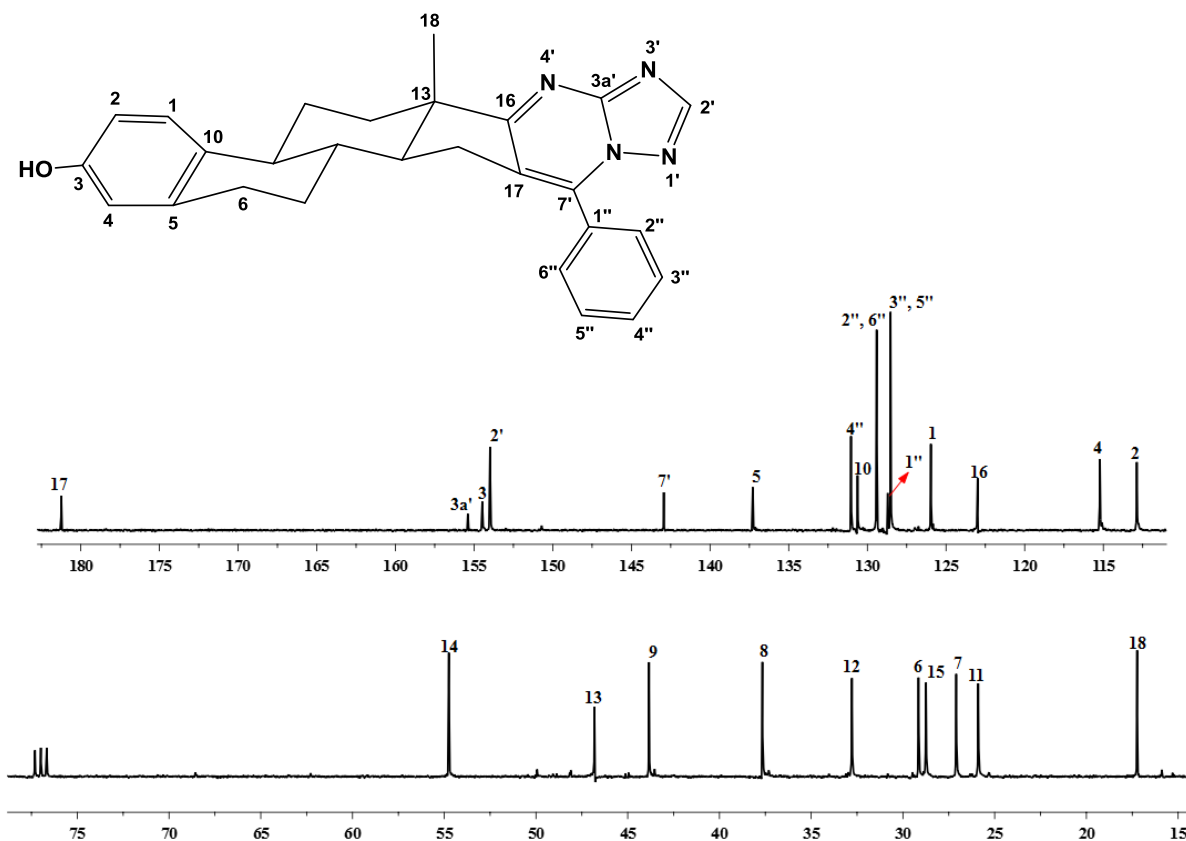


Figura 27. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) del compuesto **48**.

Por otra parte, con el experimento HMBC (figura 28) se muestran dos fragmentos en donde se pueden apreciar las correlaciones del C-2'' con los protones de las posiciones 4'', 3'', 1'' y 7' respectivamente. El protón de C-4'' se correlaciona con las señales de C-3'' y C-5''; mientras que la señal del protón de C-2' se correlaciona con el carbono 3a'. En el segundo fragmento se muestra el acoplamiento de la posición 6 con C-5 y C-10, las señales de los protones de 15 se acoplan con los carbonos 17, 7' y 16. Se aprecia el acoplamiento entre el protón 9 con los carbonos 5 y 10.

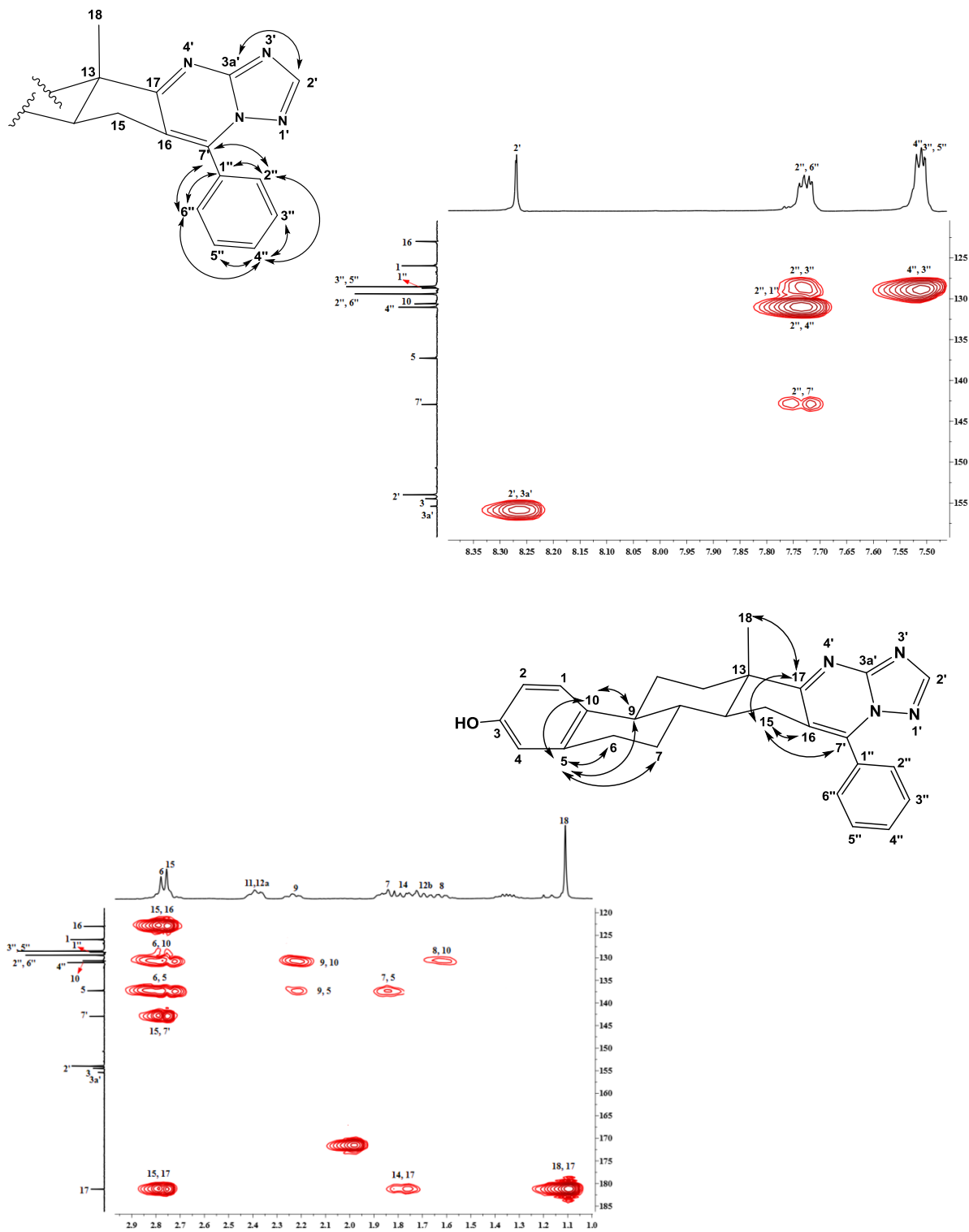


Figura 28. Experimento HMBC del compuesto 48.

4.7.2.3 Estructura del 7'-fenil-5 α -androstando[17,16-d][1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidina (49)

Así mismo en el espectro de IR se observaron las vibraciones de OH en 3284 cm^{-1} , C=N en 1632 cm^{-1} , C=C en 1585 cm^{-1} . En masas de alta resolución se observó el ion molecular calculado 443.2811, encontrado 443.2843. A continuación se describen los datos obtenidos de los espectros de RMN unidimensionales y bidimensionales, los cuales muestran la formación del compuesto **49**. En RMN de ^1H (figura 29) observamos una señal simple hacia frecuencias altas que corresponde al hidrógeno aromático del anillo de triazol H-2' en 8.28 ppm, así mismo se observan los hidrógenos aromáticos unidos al heterociclo entre 7.72 y 7.51 ppm, la señal múltiple en 3.52 ppm corresponde a H-3; entre 2.64 y 2.28 ppm se observan dos señales múltiples que corresponden a los protones 15. Finalmente los metilos 18 y 19 se observan en 1.08 y 0.82 ppm.

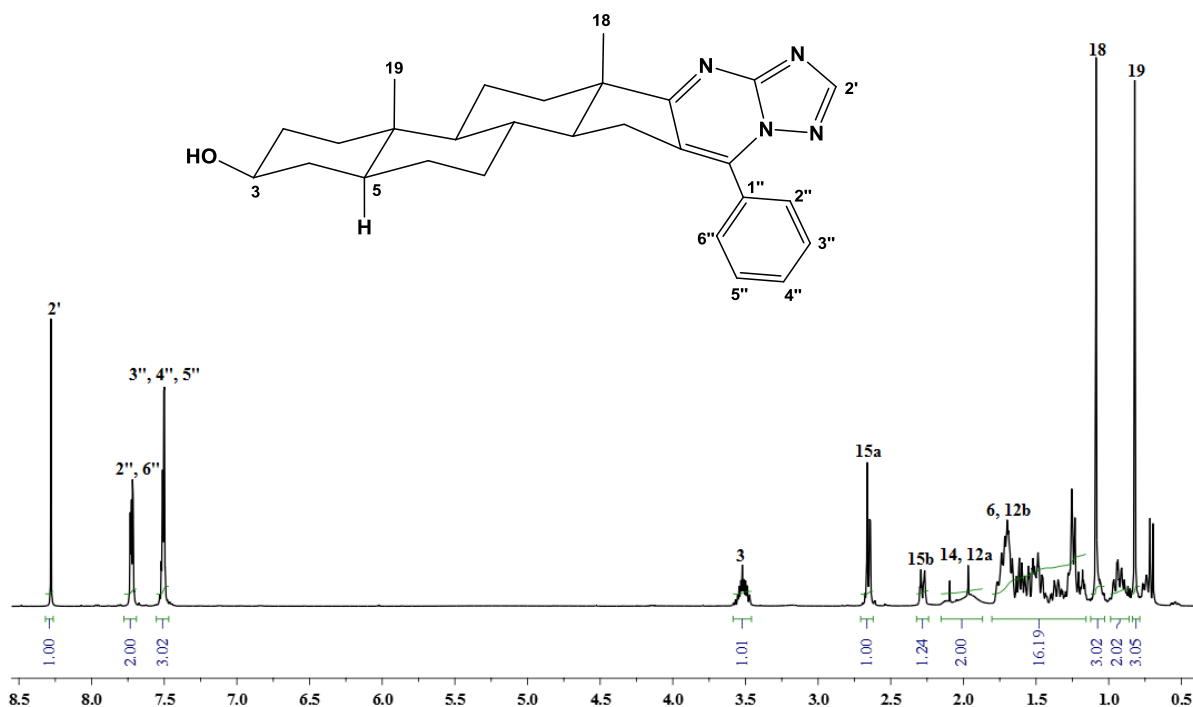


Figura 29. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del compuesto **49**.

En la RMN de ^{13}C del compuesto **49** (figura 30) se observan las señales de los carbonos que forman el heterociclo de triazolopirimidina en 180.9, 155.8, 154.5, 142.5 y 122.6 ppm asignados a los carbonos 17, 3a', 2', 7' y 16 respectivamente. Los carbonos aromáticos aparecen en 131.1 y 128.6 ppm, mientras que en 71.0 ppm resuena C-3. Hacia frecuencias bajas se observan los carbonos de los metilos 18 y 19.

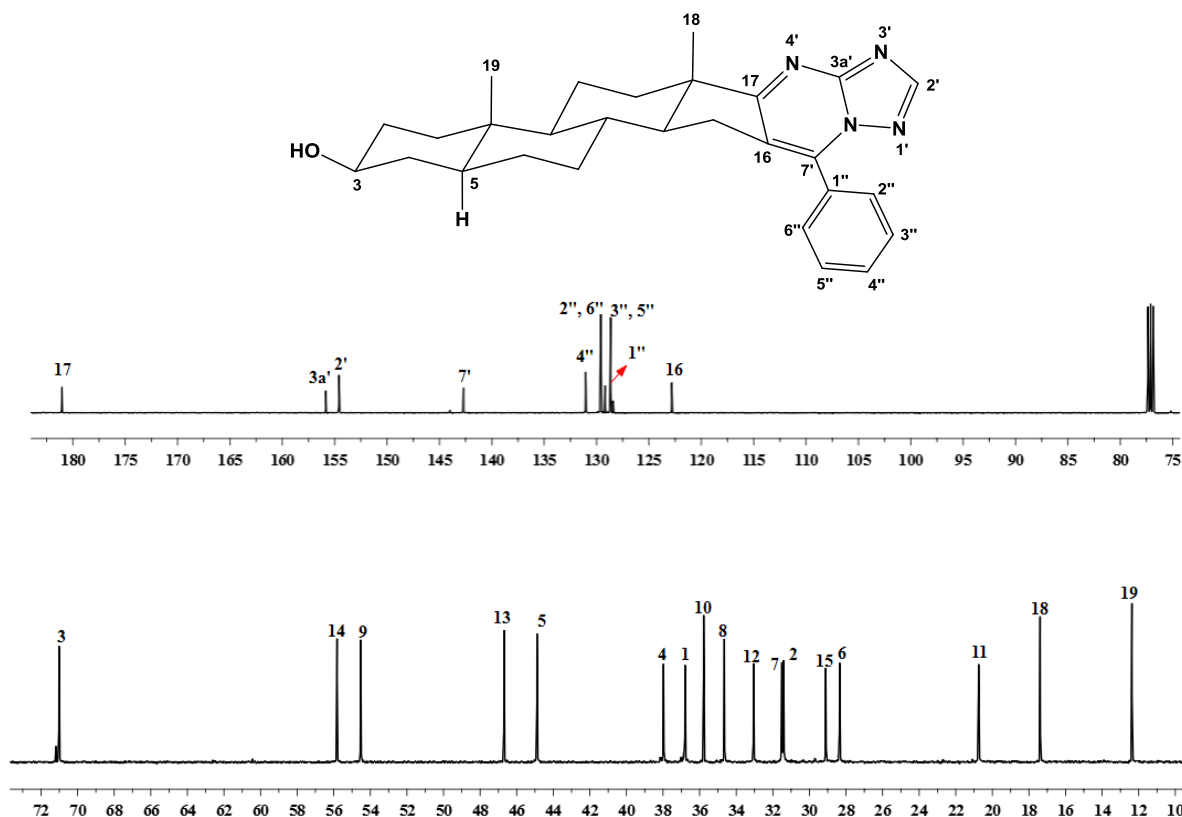


Figura 30. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del compuesto **49**.

En el experimento HMBC (figura 31) se presenta las expansiones de la región del compuesto **49**. Una evidencia más del acoplamiento es la correlación del H-2' con el C-3a'; el H-2'' con C-4'', C-1'', C-3''; el H-4'' con el C-3'' y el H-3'' con el C-2''. Permitió corroborar la asignación de los metilos 18 y 19. El CH_3 -19 se acopla con los C-1, C-5, C-9 y C-10 y finalmente el CH_3 -18 con C-12, C-13, C-14 y C-17.

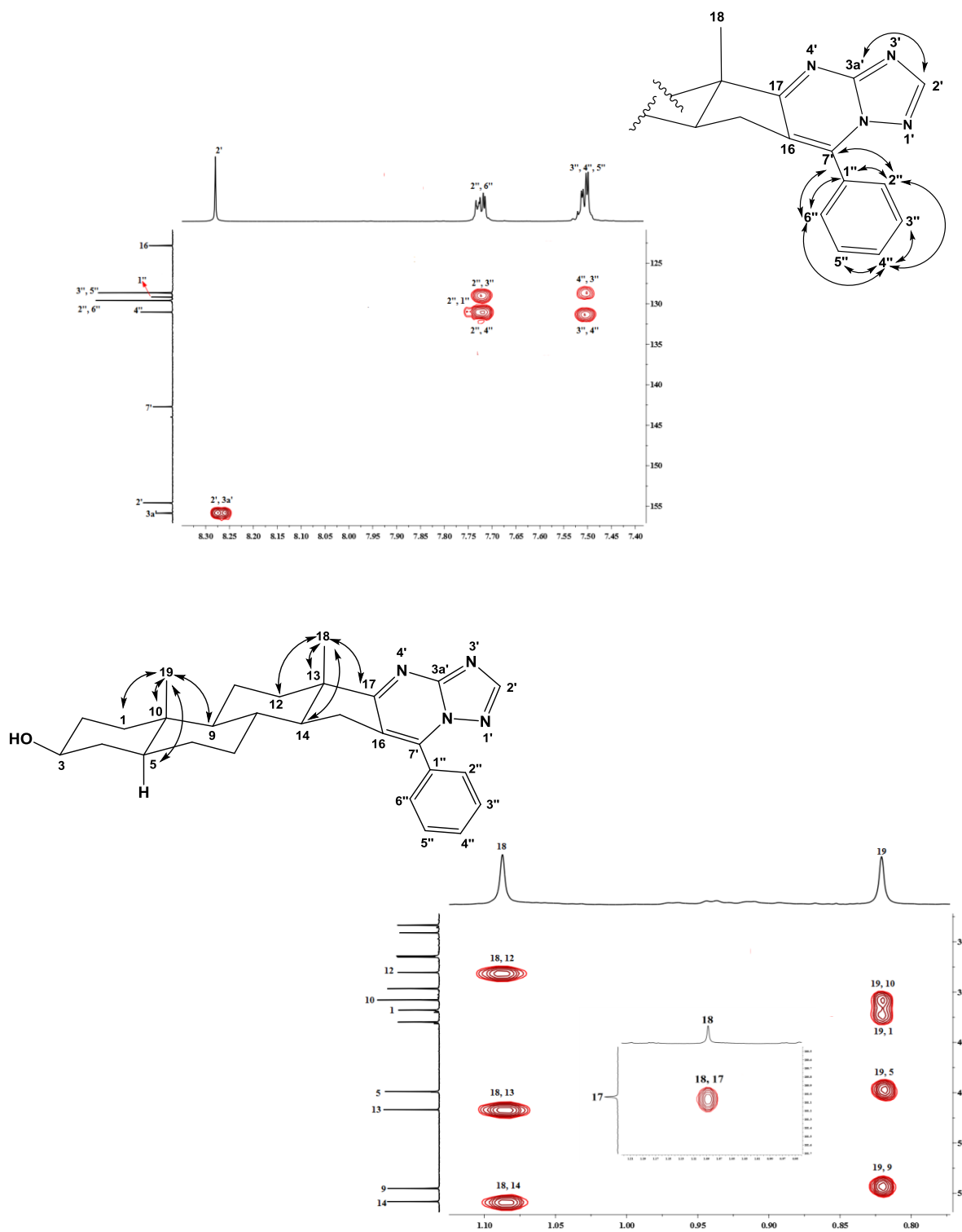


Figura 31. Experimento HMBC del compuesto 49.

4.7.2.4. Estructura del (25*S*)-3 β ,26-Dihidroxi-16 β -23-epoxi-12-oxo-5 α -colestano[23,22- d][1,2,4]triazolo [1,5-a]pirimidina (52)

En el espectro de RMN de ^1H para el derivado **52** (figura 32) se observa en 8.27 ppm una señal simple característica del protón aromático H-2' del anillo de triazol. Se observan en 3.98 y 3.66 ppm los desplazamientos para los protones diastereotópicos de C-26, ambas señales se observan como dobles de dobles; este patrón de desplazamiento y acoplamiento es indicativo de que la cadena lateral es abierta. Las señales características para los protones unidos a carbonos directamente enlazados a un átomo de oxígeno, como el C-3 (sa, 3.43 ppm) y C-16 (m, 3.61 ppm); el H-25 se observa como una señal múltiple en 3.20 ppm. En 2.68 ppm se observa también una señal múltiple que corresponde al protón 20, los metilos 21 y 27 presentan cada uno una señal doble en 1.41 y 1.40 ppm respectivamente con $J_{21-20} = 6.6$ Hz y $J_{27-25} = 6.7$ Hz; los metilos 18 y 19 se observan como señales simples en 1.15 y 0.98 ppm.

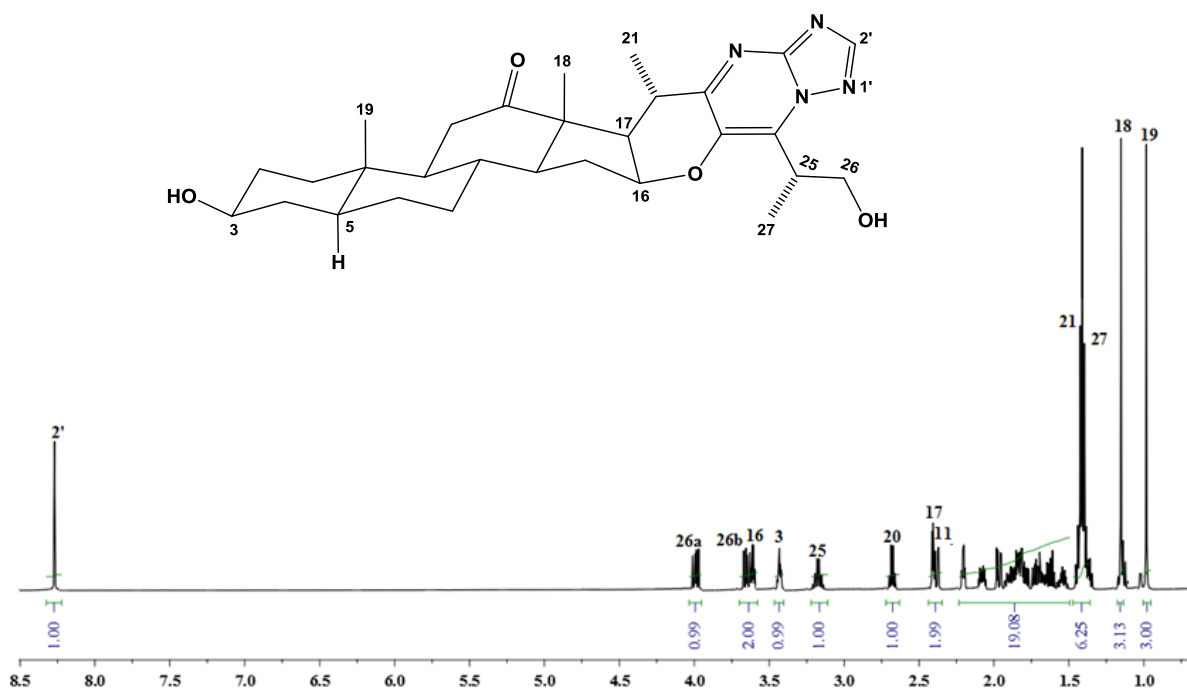


Figura 32. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del compuesto **52**.

En la figura 33 se señalan las asignaciones más relevantes de RMN de ^{13}C del derivado **52**, a frecuencias altas se observa en 210.8 ppm la señal del carbonilo de cetona 12; también se observa la señal del C-2' del anillo de triazol a 156.9 ppm y las señales que forman el heterociclo de triazolopirimidina las cuales aparecen en 156.9, 142.5 y 119.0 ppm asignadas a los carbonos C-2', C-3a' y C-7' respectivamente. Las señales que comprende de 80.0 ppm a 14.0 ppm se resaltan los carbonos 16, 3 y 26; a frecuencias bajas se observan las señales de los metilos 18, 19, 21 y 27 entre 17.9 y 14.4 ppm.

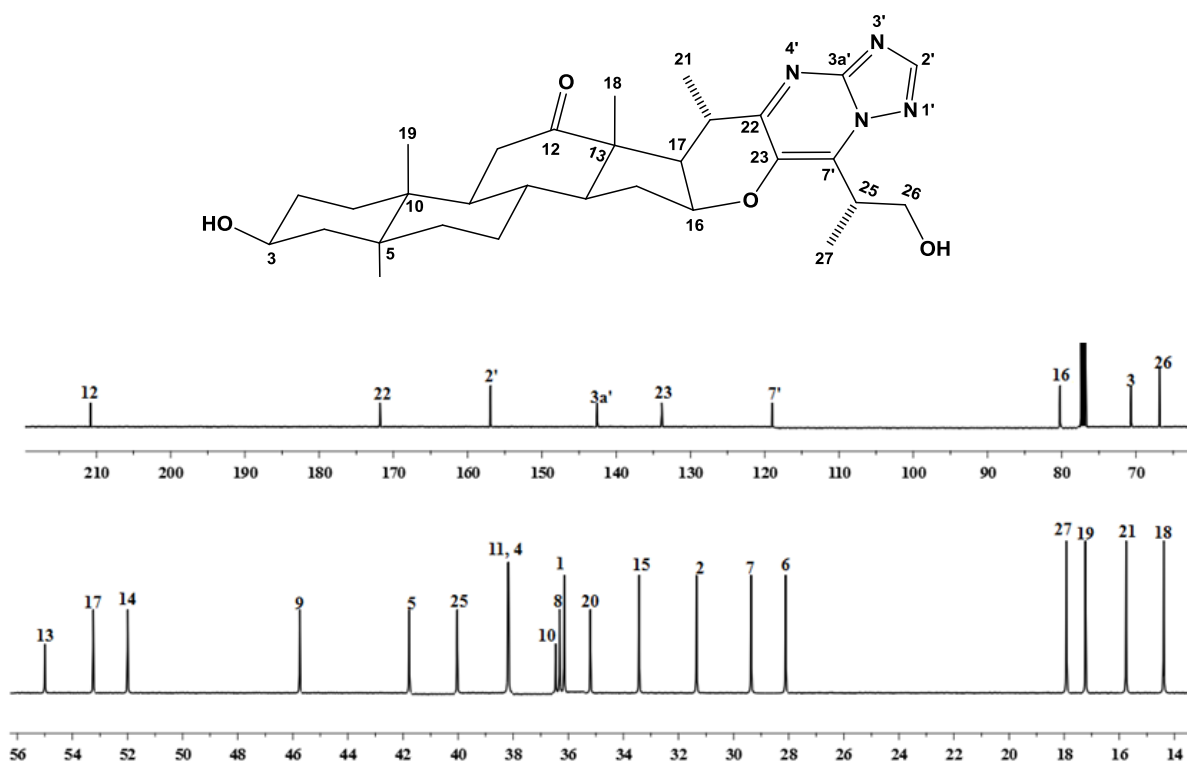
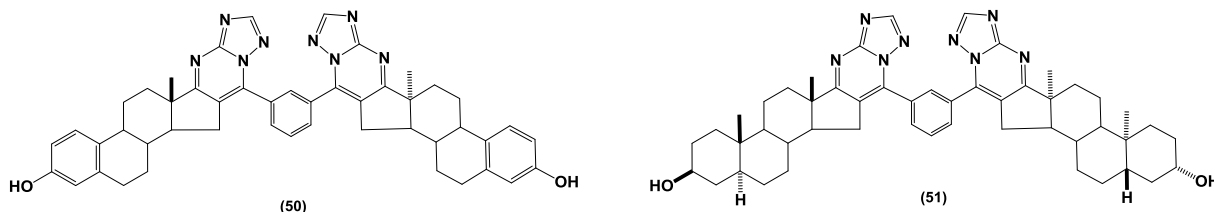


Figura 33. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del compuesto **52**.

m-{bis[3-hidroxiestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d][1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimid-7'-
il]}benceno (50)

m-{bis[3 β -hidroxi-5 α -androstano[17,16-d][1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimid-7'-il]}benceno
(51)



4.7.2.5. Estructura del *m*-{bis[3-hidroxiestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d][1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimid-7'-il]}benceno (50)

El compuesto **50** se caracterizó mediante técnicas espectroscópicas de IR, RMN de ^1H y ^{13}C , así como por espectrometría de masas. En el espectro de IR se observaron las bandas de los grupos funcionales de OH en 3362 cm^{-1} , C=N en 1624 cm^{-1} , C=C en 1527 cm^{-1} . En masas de alta resolución se observó el ion molecular calculado 767.3822, encontrado 767.3854. En el espectro de RMN de ^1H (figura 34) mostró una señal simple en 8.26 ppm asignada al protón H-2', esta señal es característica del anillo de triazol y las señales de los hidrógenos aromáticos entre 7.86 y 7.61 ppm correspondientes a los H-2'', H-4''; 5'' y H-6''; mientras los protones metínicos de las posiciones 1, 2 y 4 entre 6.81 y 6.40 ppm. Para los protones diastereotópicos en C-15 encontramos en 3.29 ppm una señal doble de doble para el protón H-15b con $J_{15b-14} = 4.9\text{ Hz}$ y otra señal doble de doble para el protón H-15a con $J_{15a-14} = 4.9\text{ Hz}$. El H-9 aparece en 2.81 ppm como señal múltiple. Se observa una señal simple correspondiente al CH_3 -18 en 1.39 ppm.

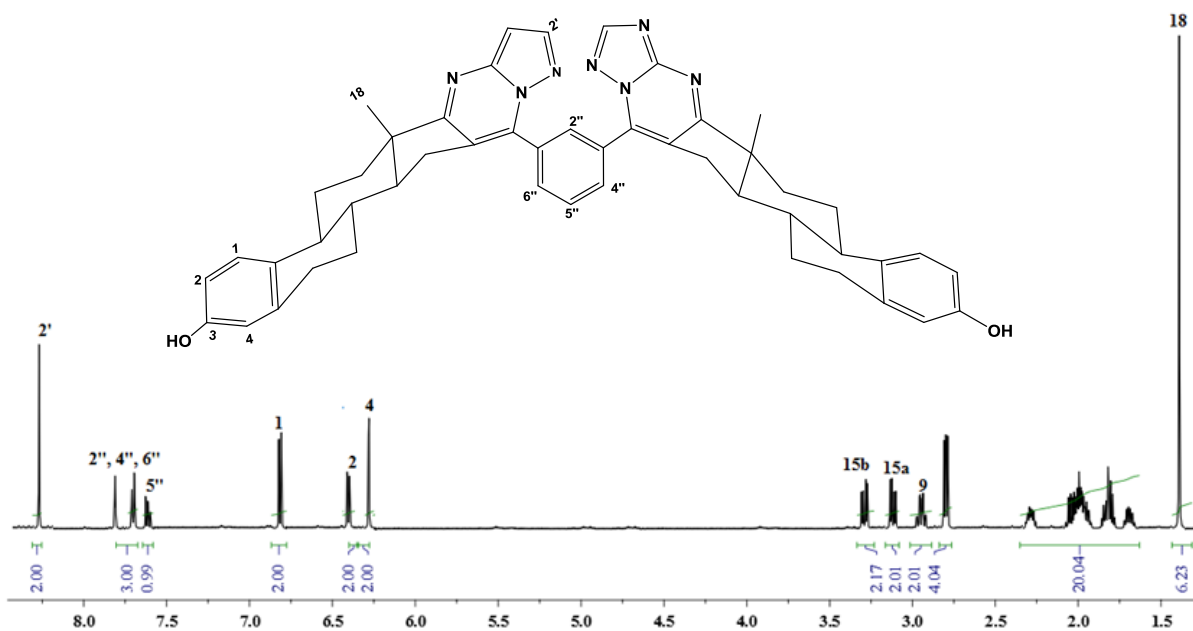


Figura 34. Espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) del compuesto **50**.

En la RMN de ¹³C de **50** (figura 35) muestra también las señales de los carbonos correspondientes al heterociclo, el C-17 en 162.7 ppm, el C-3a' en 159.0 ppm, el C-2' en 157.4 ppm y el C-7' en 136.6 ppm, además las señales entre 135.5 y 128.3 ppm corroboran la presencia del grupo fenilo presente en la estructura.

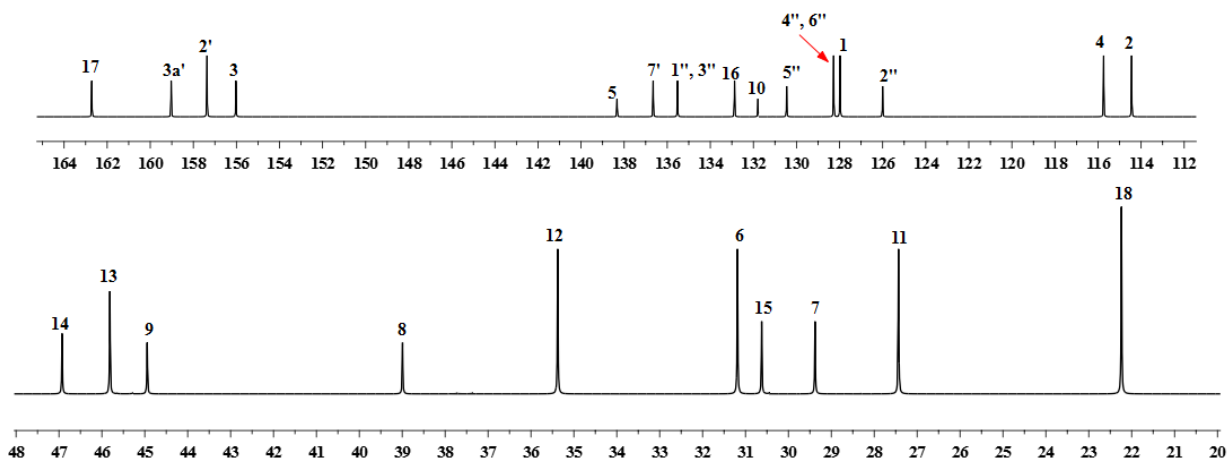


Figura 35. Espectro de RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃) del compuesto **50**.

4.7.2.6. Estructura del *m*-{bis[3 β -hidroxi-5 α -androstano[17,16-d][1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimid-7'-il]}benceno (**51**)

La estructura del compuesto **51** se corroboró con base a sus espectros de ^1H y ^{13}C (figura 36 y 37). En el primero se aprecian las señales que muestran la formación del heterociclo del anillo de triazolopirimidina. En primer lugar, a frecuencias altas en 8.52 ppm observamos una señal simple que corresponde al hidrógeno aromático del anillo de triazol H-2', así mismo se observan los hidrógenos aromáticos entre 7.94 y 7.73 ppm. En 3.54 ppm se observa una señal múltiple asignada a H-3. Se puede ver además los hidrógenos diastereotópicos de C-15 en 2.67 y 2.35 ppm como señales múltiples. A frecuencias bajas destacan las señales de los grupos metilos 18 y 19.

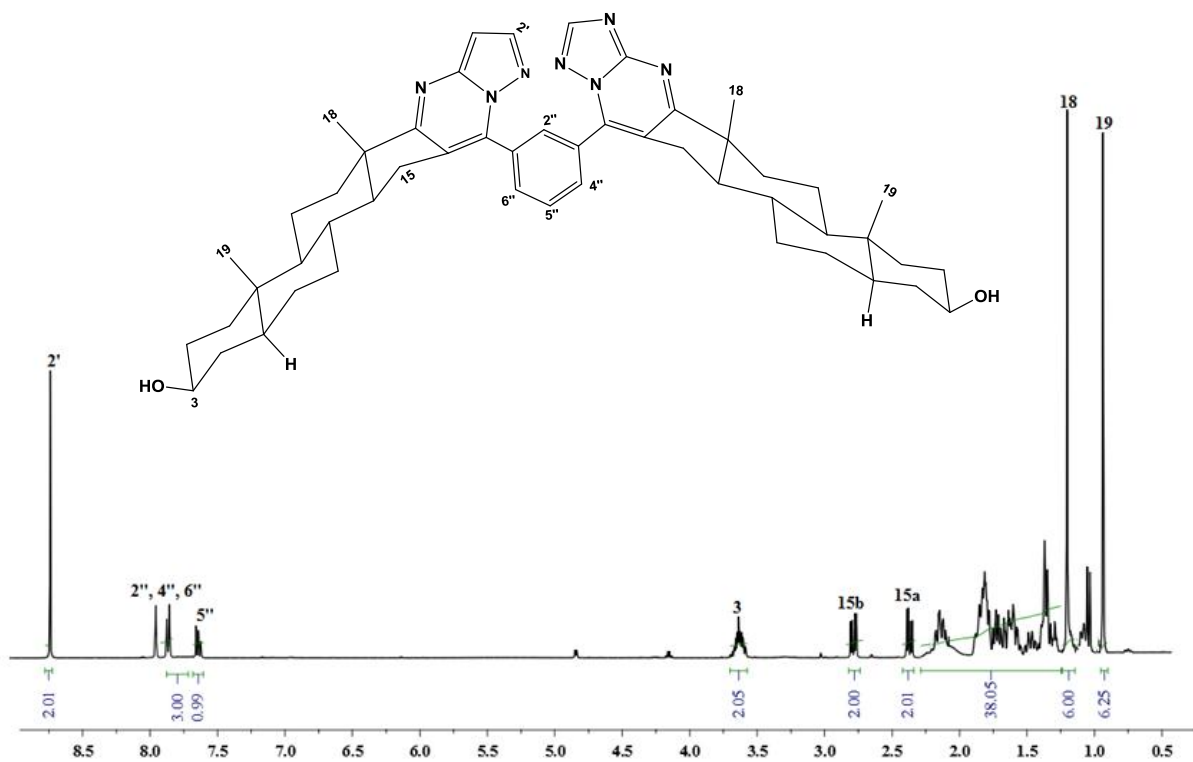


Figura 36. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del compuesto **51**.

+

En el espectro de carbono ^{13}C (figura 37) del compuesto **51**, se observaron las señales de los carbonos pertenecientes al heterociclo del anillo del triazolopirimidina en 163.5, 159.6, 158.3, 137.5 y 133.8 ppm correspondientes a los carbonos C-17, C-3a', C-2', C-7' y C-16 respectivamente. Se observa además la región entre 136.1 y 125.9 ppm que corresponde a los hidrógenos aromáticos del grupo fenilo.

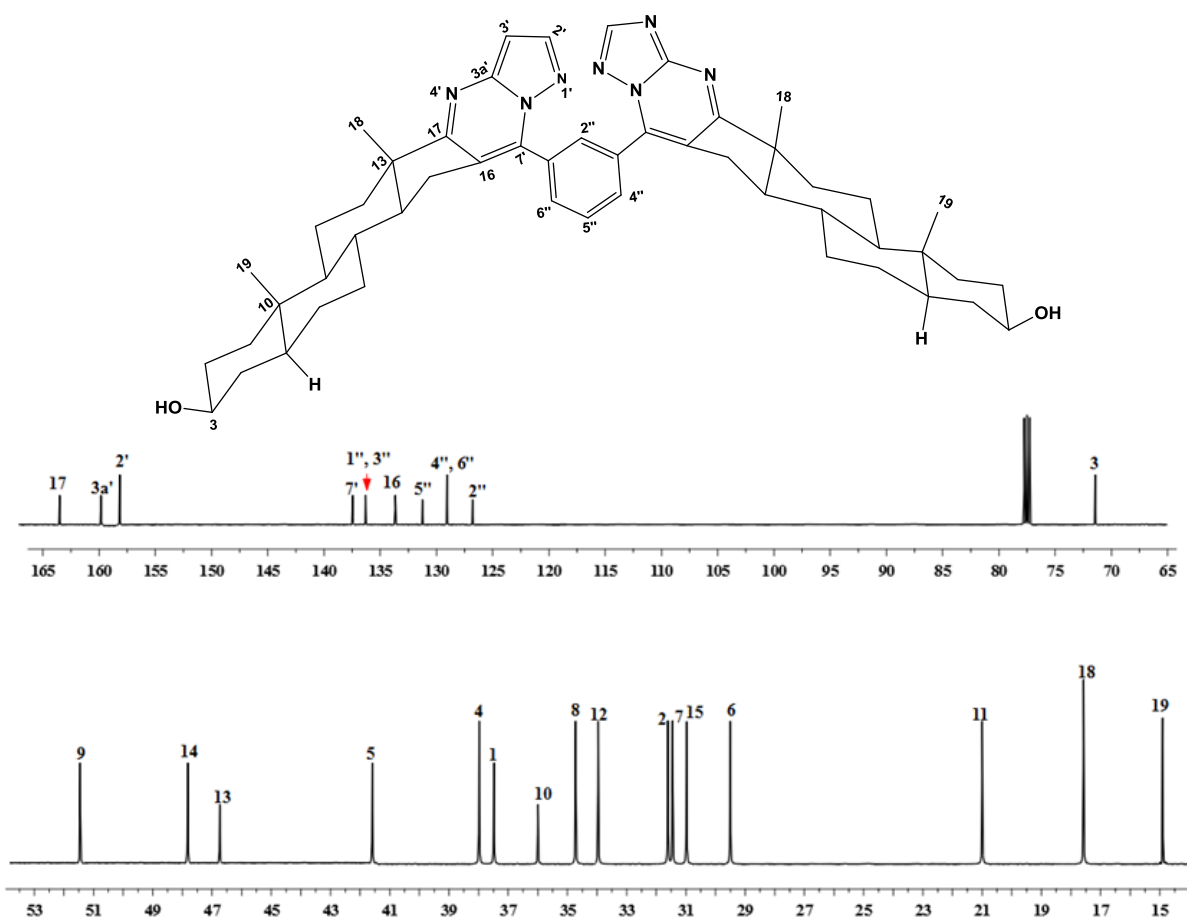


Figura 37. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del compuesto **51**.

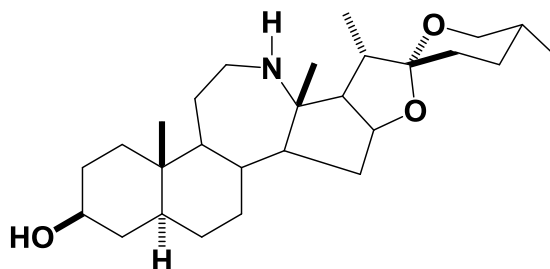
Así mismo en el espectro de IR se observaron las bandas de los grupos funcionales de OH en 3363 cm^{-1} , C=N en 1627 cm^{-1} , C=C en 1525 cm^{-1} . En masas de alta resolución se observó el ion molecular calculado 807.5074, encontrado 807.5042.

Los desplazamientos químicos de RMN de ^1H y ^{13}C de los compuestos [1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidinas **47**, **48**, **49**, **50**, **51** y **52** se muestra en la tabla 5. En el espectro de ^1H -RMN se observa una señal característica correspondiente al H-2' (N-CH=N) 8.26-8.52 ppm perteneciente al anillo de triazol y la desaparición de la señal alrededor de 7.4 ppm correspondiente al protón vinílico. Además, para el compuesto **47** se observa una señal simple en 6.96 ppm, que se asigna al H-6'. En el espectro de ^{13}C -RMN, muestra una señal característica en 154.0-158.3 ppm correspondiente al C-2' y las señales de los carbonos pertenecientes al heterociclo se encuentran en 142.5-159.6, 162.7-181.2, 110.3-133.9 y 119-146.3 ppm (C-3a, C-5, C-6 'y C-7, tabla 3). Además, el cambio de la señal alrededor de 210 ppm correspondiente al grupo carbonilo (C-17, C-20 y C-22, tabla 1 y 2) 162,7 y 181.2 ppm (tabla 5) evidencia la formación del heterociclo esteroideal [1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidinas.

Los nuevos compuestos **47-52** se caracterizaron completamente usando una combinación de experimentos COSY, HSQC y HMBC, para completar el ^1H y ^{13}C -NMR. Los espectros de IR de los compuestos **47**, **48**, **49**, **50**, **51** muestran las bandas de alargamiento N=C entre 1525-1632 cm^{-1} como se observa en la Tabla 5, además de las bandas correspondientes a OH en aproximadamente 3363-3223 cm^{-1} . Las bandas de alargamiento C-O se encuentran entre 1195–1268 cm^{-1} . Estos resultados muestran que efectivamente los compuestos obtenidos tienen en su estructura los grupos funcionales antes mencionados. En los espectros de masas de alta resolución se observó el ion molecular esperado.

Tabla 5. Desplazamientos químicos de ^1H y ^{13}C -RMN (δ , ppm, , 500 MHz y 125.7 MHz, CDCl_3) e IR (cm^{-1})
de los compuestos [1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidinas

	47	48	49	50	51	52
H- 2'	8.41	8.27	8.28	8.26	8.52	8.27
H- 6'	6.96	---	---	---	---	---
H- 17	2.96	---	---	---	---	---
C-2'	155.5	154.0	154.5	157.4	158.3	156.9
C-3a'	155.8	155.4	155.8	159.0	159.6	142.5
C-5'	168.5	181.2	180.9	162.7	163.5	171.8
C-6'	110.3	123.0	122.6	132.9	133.8	133.9
C-7'	146.3	142.9	142.5	136.6	137.5	119.0
IR						
OH	3357	3223	3384	3362	3363	
C=N	1535-1614	1525-1621	1585-1632	1527-1624	1525-1627	

4.7.2.7. Estructura del (25*R*)-12a-aza-homo-5 α -espirostan-3 β -ol (56)

En el espectro de RMN de ^1H del compuesto **56** (figura 38) se observaron dos señales múltiples correspondientes a H-16 y H-3 en 4.19 y 3.86 ppm. Los protones de la posición 26 se observan como dos señales en 3.55 y 3.43 ppm para H-26 $_{ec}$ (ddd) y H-26 $_{ax}$ (dd) respectivamente, presentan $J_{gem} = 10.0$ Hz, $J_{26ec-25} = 5.4$ Hz, $J_{26ec-24} = 2.6$ Hz y $J_{gem} = J_{26ax-25} = 10.0$ Hz; el valor de sus constantes de acoplamiento y su multiplicidad son típicos de un anillo F espiroestánico. Hacia 2.69 y 2.62 ppm se observaron dos señales múltiples que corresponden a los protones alílicos H-12a y H-12b, lo que indicó la reducción del carbonilo en C-12. La señal de H-20 se presenta como múltiple en 1.96 ppm. Los metilos 18 y 19 se presentan como dos señales simples en 1.09 y 1.01 ppm y los metilos 21 y 27 como dos señales dobles en 1.04 y 0.96 ppm con $J_{21-20} = 5.1$ Hz y $J_{27-25} = 5.3$ Hz.

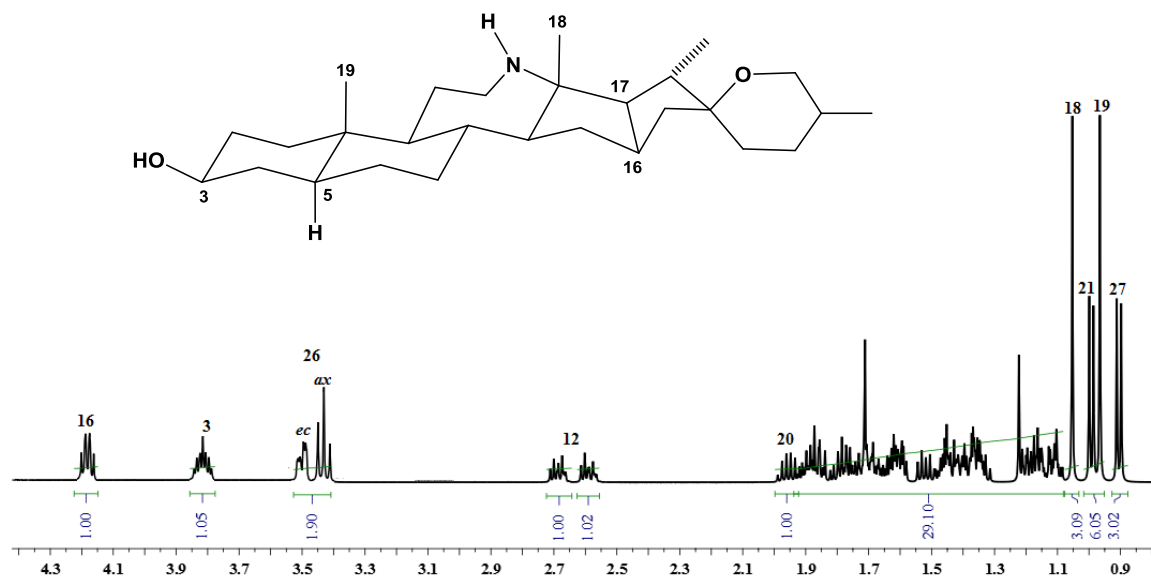


Figura 38. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del compuesto **56**.

En el espectro de RMN de ^{13}C (figura 39) se señalan algunos de los carbonos más relevantes para la caracterización de la estructura, se observa la desaparición del carbono de la lactama que se ubicaba alrededor de 176.5 ppm ahora se observa en 42.4 ppm

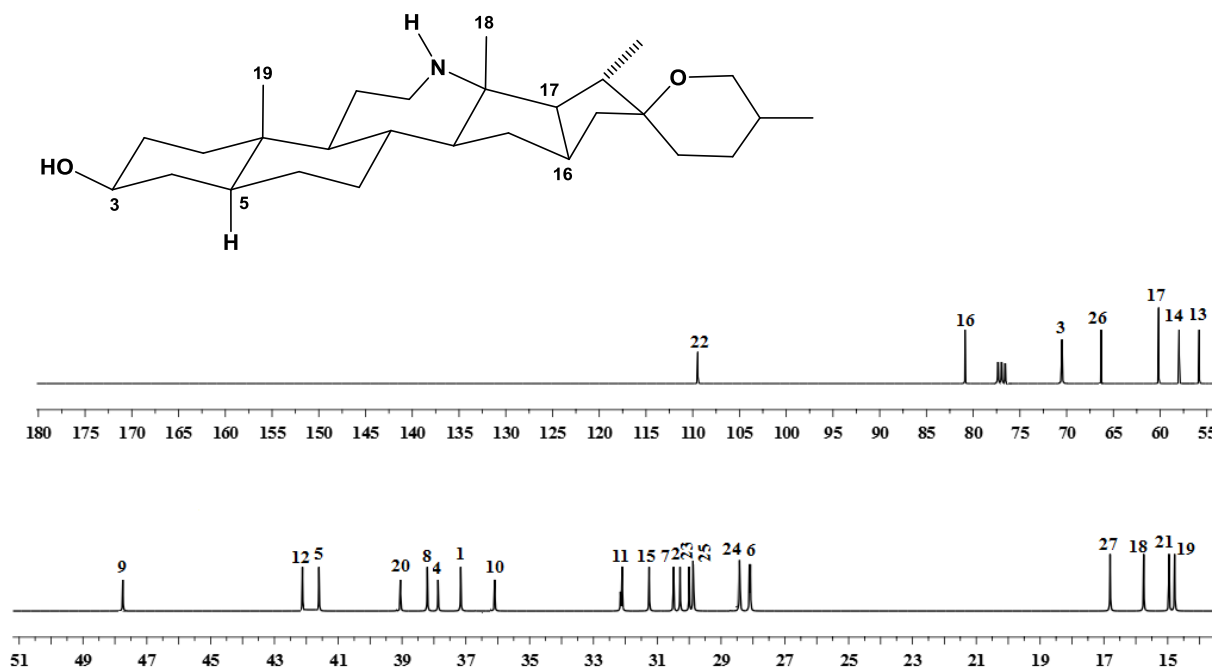


Figura 39. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del compuesto **56**.

4.8 CARACTERIZACIÓN DE NUEVOS DERIVADOS SELENOESTEROIDALES.

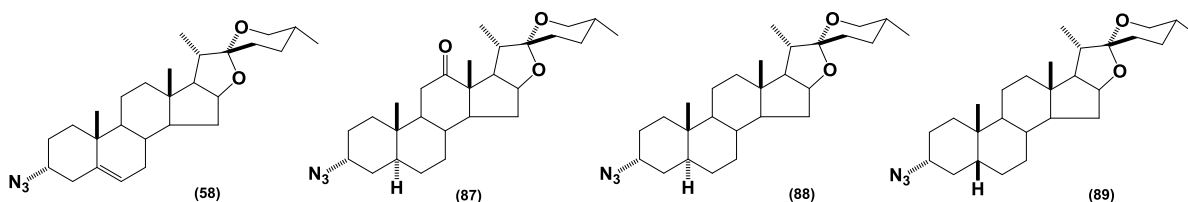
Se presenta la caracterización de nuevos derivados esteroidales que contienen un selenoheterociclo análogo al ebselen o un grupo de tipo selenosemicarbazona en su estructura compuestos obtenidos a partir de diosgenina (**43**), hecogenina (**30**), tigogenina (**42**), esmilagenina (**61**) y tigogenona (**72**).

4.8.1 Selenoheterociclos esteroidales (análogos al ebselen)

- **Caracterización de azidas**

Los selenoheterociclos esteroidales análogos al ebselen se obtuvieron y caracterizaron los siguientes compuestos:

(25*R*)-3 α -azidoespirost-5-eno (**58**), (25*R*)-3 α -azidoespirost-12-ona (**87**), (25*R*)-3 α -azido-5 α -espiroetano (**88**) y (25*R*)-3 α -azido-5 β -espiroetano (**89**)



En el espectro de RMN de ¹H para **58** se observa un cambio significativo con respecto al derivado mesilado **57**, donde H-3 se observa a frecuencias más altas (4.20 ppm) mientras que el de **58** se sitúa en 3.80 ppm, siendo los desplazamientos químicos de las demás señales son muy similares a los de la materia prima **57** (Figura 40). Esta misma observación se encontró para la azidas **87**, **88** y **89**.

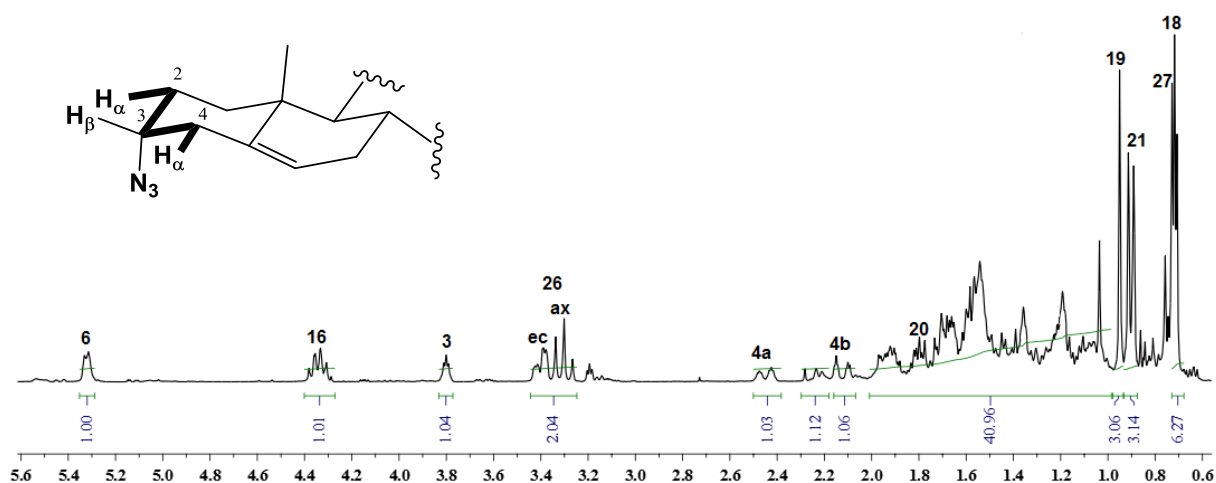


Figura 40. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) **58**.

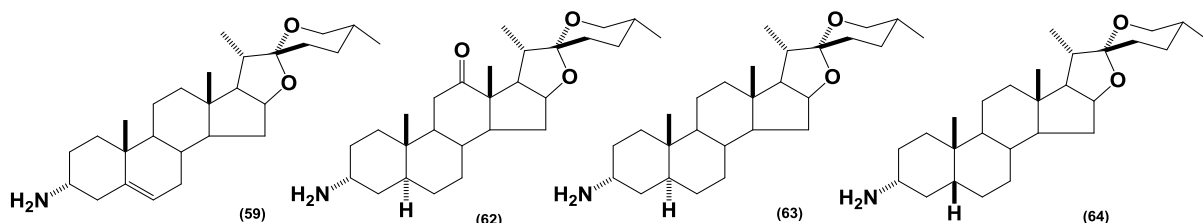
En la tabla 6 se muestran los desplazamientos de ^1H y ^{13}C -RMN de las señales más representativas de los derivados de azidas **58**, **87**, **88** y **89**; obtenidos a partir de los derivados mesilados **57**, **90**, **91** y **92**. Se puede observar que el protón 3 se desplazan considerablemente hacia campo bajo.

Tabla 6. Datos seleccionados de RMN de ^1H y ^{13}C de los compuestos **58**, **87**, **88** y **89** (CDCl_3 , δ en ppm).

Posición	Compuestos							
	60 (Δ^5)		64 (12 C=O)		68 (5α)		72 (5β)	
	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
1	---	33.6	---	37.3	---	32.6	---	30.3
2	---	26.3	---	25.4	---	32.0	--	24.7
3	3.80	58.1	3.81	55.2	3.89	58.1	3.96	58.7
4	2.13(b) 2.78(a)	36.3	---	28.8	---	32.8	--	31.9

- **Caracterización de aminas esteroideas**

(25*R*)-espirost-5-en-3 α -amina (**59**), (25*R*)-3 α -amino-5 α -espirost-12-ona (**62**), (25*R*)-3 α -amino-5 α -espirostano (**63**) y (25*R*)-3 α -amino-5 β -espirostano (**64**)



En la tabla 7 se muestran los desplazamientos de RMN de ^1H y ^{13}C de las señales más características de las aminas **59**, **62**, **63** y **64**. Solamente se observan cambios significativos en aquellos protones o carbonos cercanos al carbono C-3 donde se realizó la transformación. Por ejemplo en el espectro de ^1H del derivado **59** se observa el cambio de H-3 de 3.80 a 2.94 ppm; en 5.13 ppm se observa una señal doble para el protón vinílico 6 con una $J_{6-7\text{eq}} = 5.2$ Hz, mientras que en el espectro de ^{13}C el cambio en el desplazamiento del C-3 de 58.1 a 46.8 ppm es el más evidente respecto a la azida **68**. Para el compuesto **62** nuevamente el cambio más significativo que se observa en el espectro de ^1H es el desplazamiento de H-3 que ahora se encuentra en 3.81-3.86 ppm; es importante hacer notar que en RMN de ^{13}C se observa en 213.6 ppm la señal del carbonilo de la cetona 12 y el cambio en el desplazamiento químico de C-3 hacia frecuencias más altas 53.6 ppm. Los carbonos cercanos a C-3 muestran un cambio ligero en sus desplazamientos químicos, con una variación de aproximadamente 3 ppm. Los espectros de **63** y **64** son muy similares entre sí, la única diferencia que se observa es en el desplazamiento de los metilos 21 y 19.

Tabla 7. Datos seleccionados de RMN de ^1H y ^{13}C de los compuestos **61, 65, 70 y 75** (CDCl_3 , δ en ppm).

Posición	Compuestos							
	59 (Δ^5)		62 (12 C=O)		63 (5α)		64 (5β)	
	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
2	---	26.3	---	31.1	---	32.0	--	26.6
3	2.94	46.8	3.36	44.2	3.12	46.2	3.25	46.2
4	2.36 (a)	36.3	---	37.4	---	32.8	--	33.8
5	---	138.2	---	44.2	---	40.2	--	36.4
6	5.14	122.8	---	27.8	---	25.6	--	26.8
12	---	39.7	---	213.6	---	40.0	--	40.3
16	4.19	80.6	4.39	79.2	4.40	80.7	4.40	80.9
18	0.56	16.4	1.03	15.6	0.71	16.5	0.77	16.5
19	0.80	19.2	0.87	10.8	0.89	11.5	0.98	24.0
21	0.75	14.2	1.06	132.	0.93	14.4	0.97	14.5

- **Caracterización de los selenoheterociclos esteroidales (análogos al ebselen)**

(25*R*)-3-(3'-Oxobenzod[1,2]selenazol-2'(3*H*)-il)espirost-5-eno (**60**), (25*R*)-3-(3'-oxobenzod[1,2]selenazol-2'(3*H*)-il)-5 α -espirost-12-ona (**69**), (25*R*)-3-(3'-oxobenzod[1,2]selenazol-2'(3*H*)-il)-5 α -espirostano (**70**) y (25*R*)-3-(3'-oxobenzod[1,2]selenazol-2'(3*H*)-il)-5 β -espirostano (**71**)

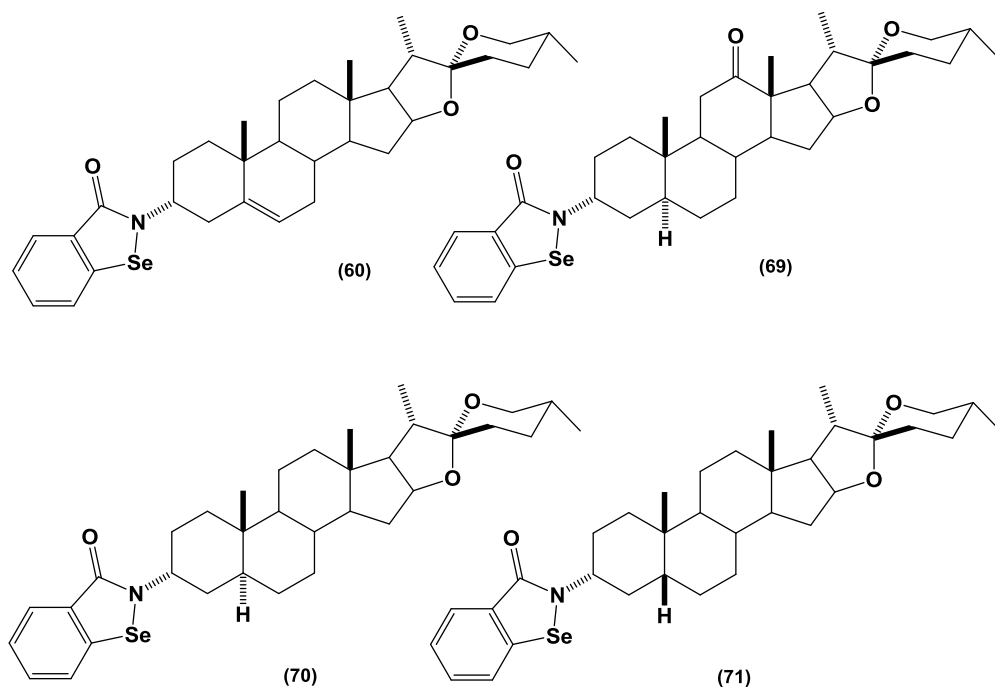


Figura 41. Compuestos selenoderivados sobre el núcleo esteroideal **60**, **69**, **70** y **71**.

4.8.1.1 Estructura del (25*R*)-3-(3'-oxobenzod[1,2]selenazol-2'-il)espirost-5-eno (**60**)

En el espectro de RMN de ^1H del compuesto **60**, obtenido a partir de la amina **61**, la característica principal de esta serie de compuestos se encuentra en el desplazamiento del H-3 a frecuencias más altas hacia 4.95 ppm anillo de tipo benzoselenazolona. Otro cambio evidente es la aparición de las señales de los protones aromáticos entre 7.40-8.1 ppm.

En 5.34 ppm se observa una señal doble que corresponde al protón vinílico de la posición 6 con $J_{6,7ec} = 4.8$ Hz. En 4.45 ppm se encuentran una señal múltiple correspondiente al protón 16. El protón diastereotópico H-26 axial se presenta como un doble de dobles con dos constantes grandes debidas al acoplamiento en geminal con H-26 en ecuatorial ($J_{26ax-26ec}=10.9$ Hz) y al acoplamiento axial-axial con H-25 ($J_{26ax-25ax}=10.9$ Hz). El protón diastereotópico H-26 ecuatorial se desdobra en un doble de dobles de dobles con una constante grande ($J_{26ax-26ec}=11$ Hz) y dos pequeñas ($J_{26ec-25ax}=4.2$ y $J_{26ec-24ec}=3.7$ Hz). En 2.88 y 2.36 ppm se centran las señales para H-4a y H-4b y entre 1.11 y 0.81 ppm dos señales dobles y dos señales simples que pertenecen a los metilos 18, 19, 21 y 27 ($J_{21,20} = 6.9$ Hz y $J_{27,25} = 6.3$ Hz).

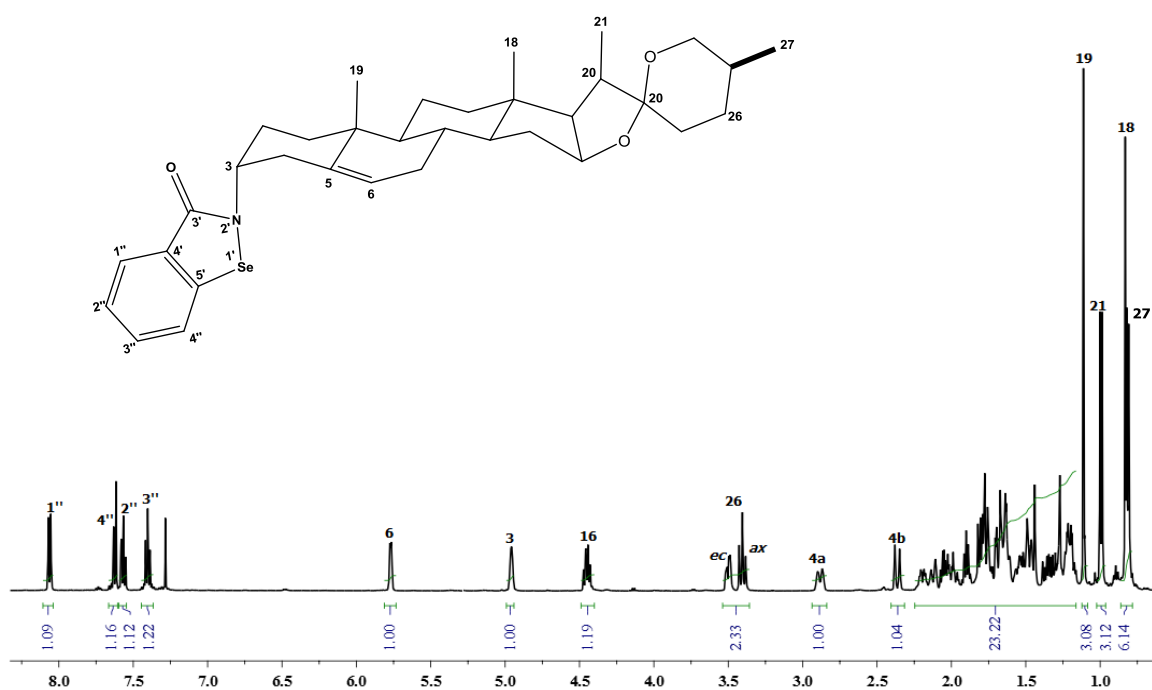


Figura 42. Espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) del compuesto **60**.

En la RMN de ^{13}C de **60** (figura 43) en el primer recuadro se observa la aparición de una señal a frecuencias altas hacia 176.6 ppm correspondiente al grupo carbonilo de la benzoselenazolona; además resaltan las señales de los carbonos del anillo aromático entre 123.2 y 139.9 ppm así como las señales de los carbonos vinílicos (C-5 y C-6) entre 138.9 y 127.1 ppm, en 109.5 ppm se observa el carbono 22 lo cual indica que el espirocetal se mantiene intacto. En el segundo recuadro se muestran los carbonos desplazados a frecuencias bajas y se resaltan los metilos 19 y 27 los cuales se encuentran en 19.3 y 17.2 ppm por otro lado, 18 y 21 se observan en 16.3 y 14.5 ppm.

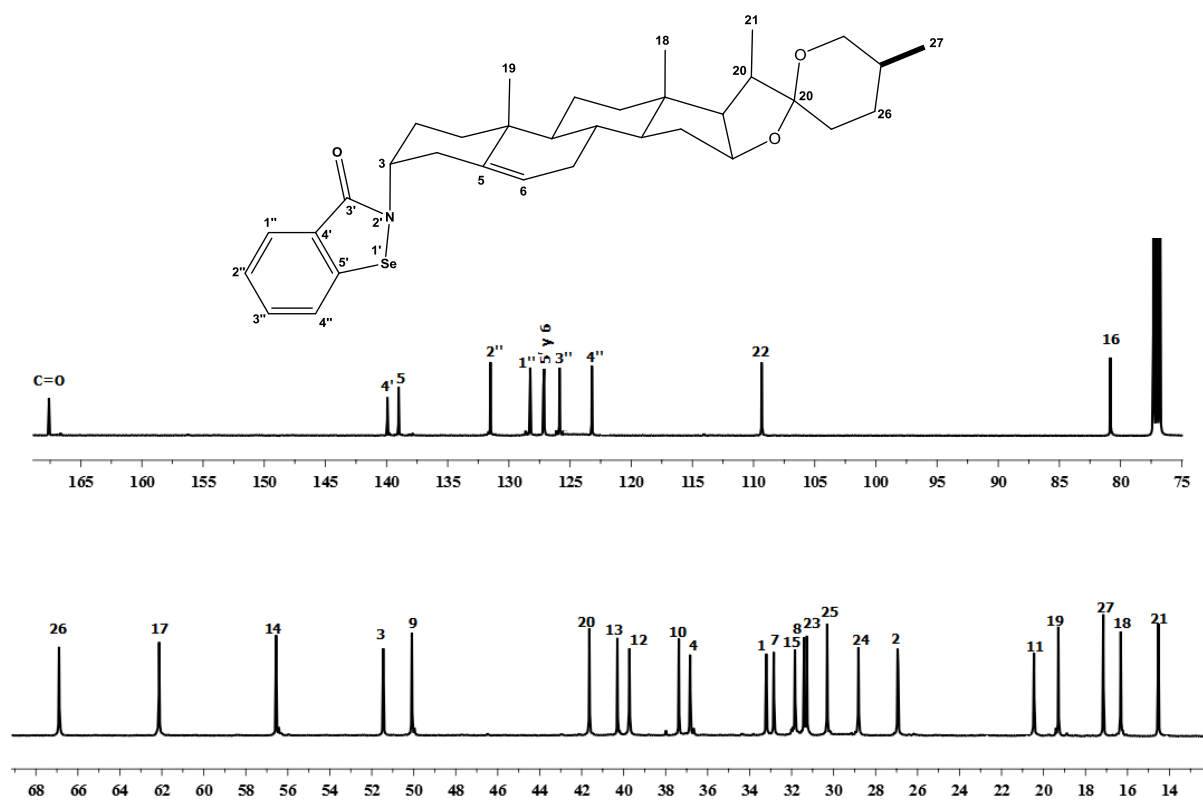


Figura 43. Espectro de RMN de ^{13}C (500 MHz, CDCl_3) del compuesto **60**.

En la figura 44 se muestra el espectro HSQC, así como un ampliación del mismo, para el compuesto **60**.

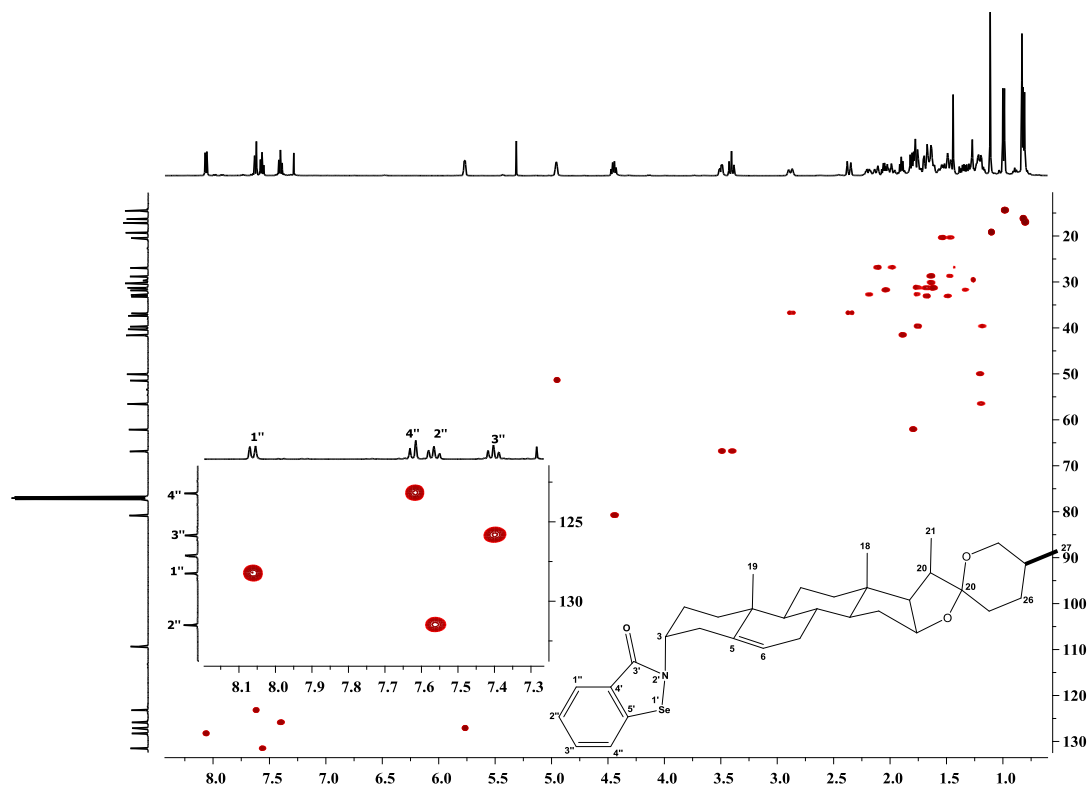


Figura 44. Experimento HSQC de **60**.

El experimento HMBC permite observar correlaciones ^1H - ^{13}C a dos y tres enlaces. En el figura 45 se muestran tres fragmentos en donde se pueden apreciar las correlaciones de las señales de los protones aromáticos. En el primer fragmento se observan las correlaciones de H-1'' con C-3', C-4' y C-2''. El H-4'' correlaciona con C-5' y C-3''. El H-2'' con C-4' y C-1'' y finalmente el H-3'' con C-2'', C-5' y C-4''. En el segundo fragmento se observa cómo los protones de C-4a y C-4b se acoplan con los carbonos. En el tercer fragmento se ilustra la correlación del metilo 19 con C-21, C-1, C-10 y C-9, el metilo 21 con C-20 y C-14; el metilo 18 correlaciona con C-13, C-14 y C-17 y por último el metilo 27 con C-24, C-25 y C-26. La ubicación de estas correlaciones permite una asignación inequívoca de las señales de los metilos, las cuales son de gran importancia en la determinación estructural de moléculas esteroidales.

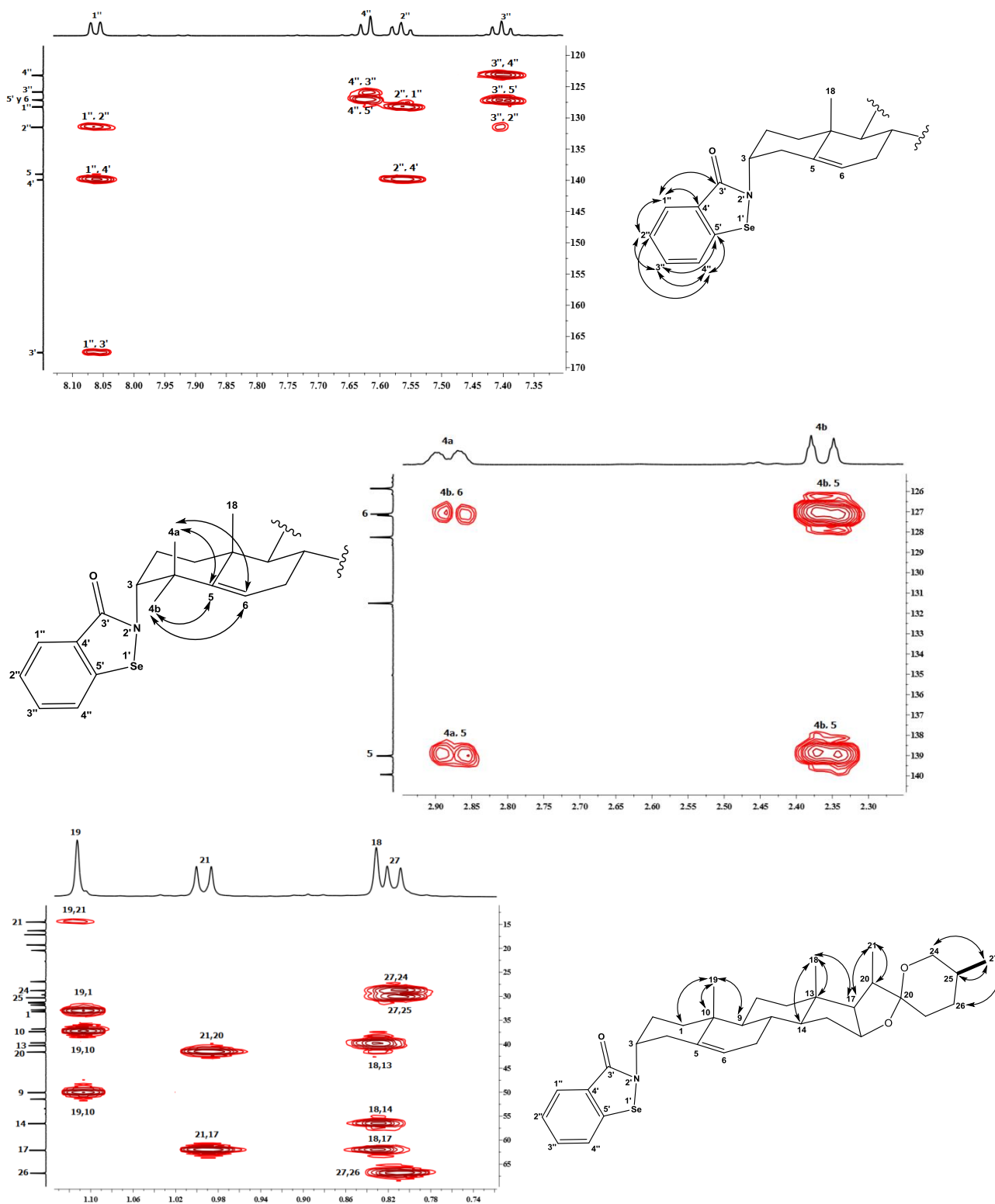


Figura 45. Experimento HMBC de 60.

Para una mejor comparación de los datos espectroscópicos los δ de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN de los derivados **60**, **69** y **71** se muestran en la tabla 8.

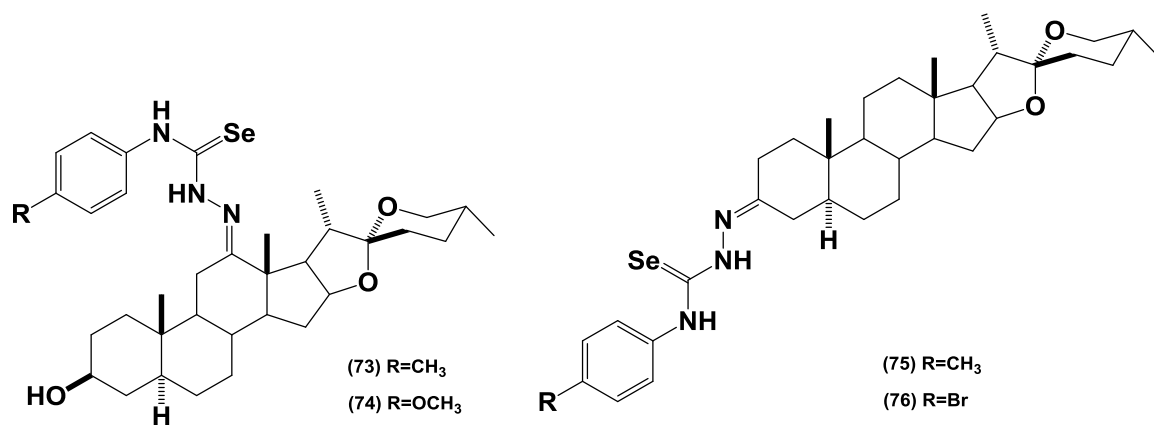
Tabla 8. Desplazamientos de RMN (δ , ppm) de ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) y ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) de los derivados **60**, **69** y **71**.

Posición	Compuestos							
	60 (Δ^5)		69 (12 C=O)		70 (5 α)		71 (5 β)	
	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C
1		33.2		34.4		33.4		31.4
2		26.9		26.2		31.9		25.2
3	4.95 (sa)	51.4	4.82 (sa)	50.2	4.93 (sa)	50.4	4.96 (sa)	51.2
4	2.36 (m, a) 2.88 (m, b)	36.8		33.2		34.7	1.67 (m, b) 2.32 (m, a)	32.4
5		138.9		40.9		40.5		38.5
6	5.77 (m)	127.1		28.1		26.9		26.4
18	0.83 (s)	16.3	0.99 (s)	16.0	0.81 (s)	16.5	0.79 (s)	16.4
19	1.11(s)	19.3	0.87 (s)	11.1	0.91 (s)	11.5	1.07 (s)	24.0
3'		167.5		167.4		167.3		167.4
4'		139.9		138.0		138.1		138.3
1''	8.1 (d)	130.0	7.97 (d)	128.3	8.1 (d)	128.4	8.1 (d)	128.6
2''	7.56 (dd)	131.5	7.51 (dd)	131.8	7.59 (dd)	131.7	7.58 (dd)	131.7
3''	7.40 (dd)	125.8	7.34 (dd)	126.2	7.44 (dd)	126.1	7.42 (dd)	126.1
4''	7.62 (d)	123.2	7.56 (d)	123.5	7.63 (d)	123.3	7.63 (d)	123.4
5'		128.2		127.3		127.5		127.5

4.9 SÍNTESIS DE COMPUESTOS NOVEDOSOS DE TIPO SELENOSEMICARBAZONAS ESTEROIDALES

En este apartado se describe la caracterización de nuevas selenosemicarbazonas esteroideas derivadas de la hecogenina (30) y tigogenona (72).

1-(4'-metilfenil)-4-[12''-(5 α -espirostan-3 β -il)]selenosemicarbazona (73); 1-(4'-metoxifenil)-4-[12''-(5 α -espirostan-3 β -il)]selenosemicarbazona (74); 1-(4'-metilfenil)-4-[3''-(5 α -espirostan-3 β -il)]selenosemicarbazona (75); 1-(4'-bromo)-4-[3''-(5 α -espirostan-3 β -il)]selenosemicarbazona (76).



4.9.1.1 Caracterización espectroscópica del 1-(4'-metilfenil)-4-[12''-(5 α -espirostan-3 β -il)]selenosemicarbazona (73)

El espectro de RMN de ¹H del compuesto **73**, que mostró las señales correspondientes de los grupos -NH característicos de la selenosemicarbazona a 9.48 y 9.10 ppm y las señales de los protones aromáticos en 7.48 y 7.18 ppm. Se observan las señales de los protones de C-16 (m, 4.41 ppm) y C-3 (m, 3.62 ppm). Los protones de la posición 26 se observan como dos señales en 3.48 y 3.37 ppm para H-26ec (ddd) y H-26ax (dd) respectivamente, que presentan $J_{26ec,25} = 3.1$ Hz, $J_{gem} = 11.6$ Hz, $J_{26ec,24ec} = 1.8$ Hz y $J_{26ax,25} = 11.6$ Hz; el valor de sus constantes de acoplamiento y su multiplicidad son típicos de un anillo F espiroestánico.

En 2.35 ppm se observa una señal simple que corresponde al próton de CH₃-Ar. Entre 1.15 y 0.80 se encuentran las señales de los metilos 18, 19, 21 y 27.

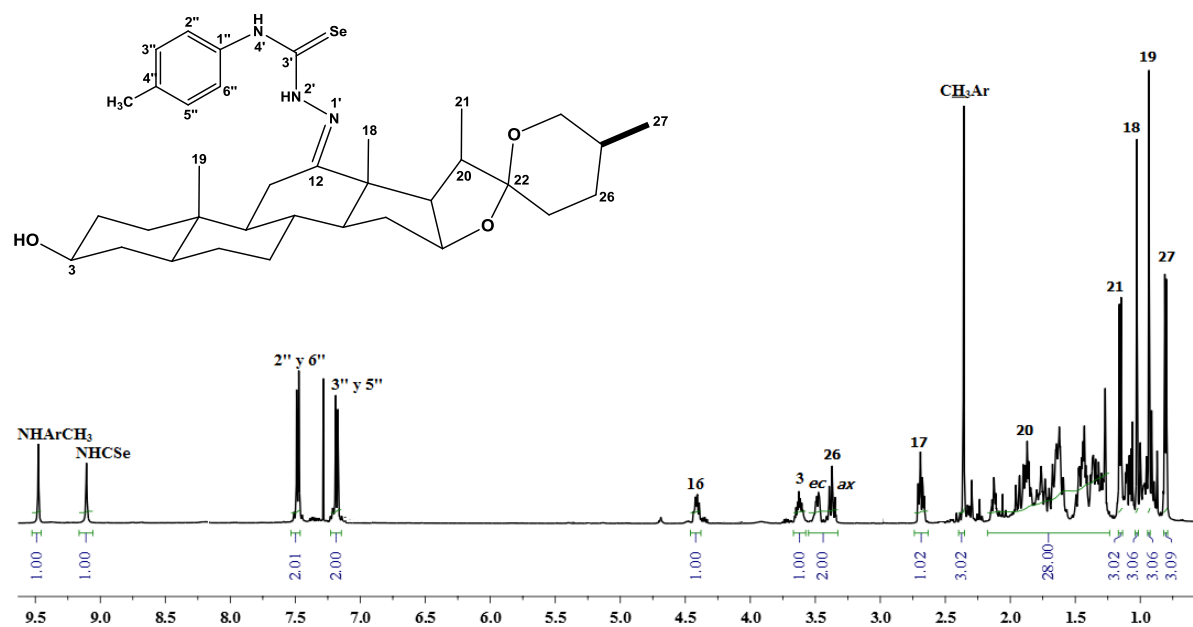


Figura 46. Espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) del compuesto **73**.

En el figura 47 se presenta la RMN de ¹³C de **88** en la cual resalta la señal del C=Se en 175.2 ppm, por otro lado, las señales de los carbonos aromáticos se muestran en la región comprendida entre 136.4 y 124.8 ppm.

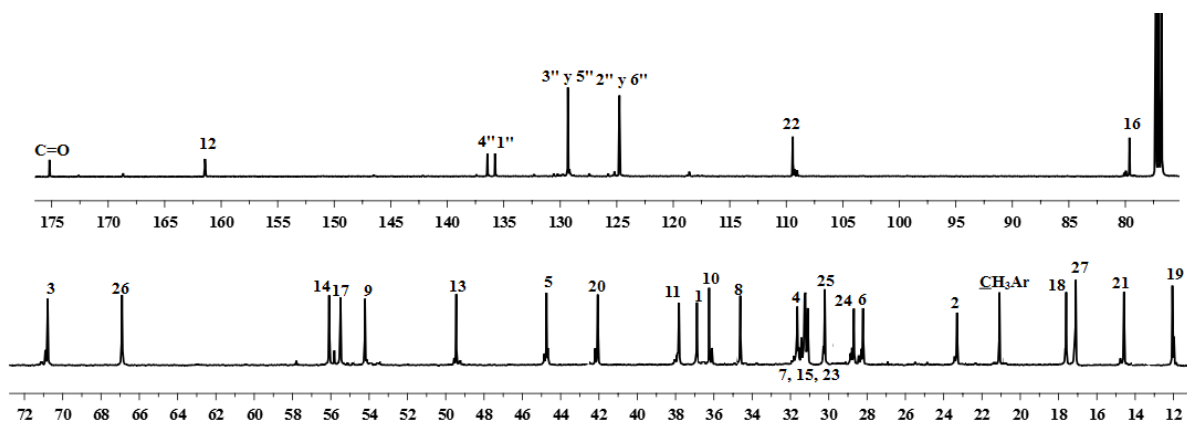


Figura 47. Espectro de RMN de ¹³C (500 MHz, CDCl₃) del compuesto **73**.

Con el experimento HSQC (figura 48) se hizo la asignación inequívoca de los carbonos C-2'' y C-6'' así como los carbonos C-3'' y C-5''.

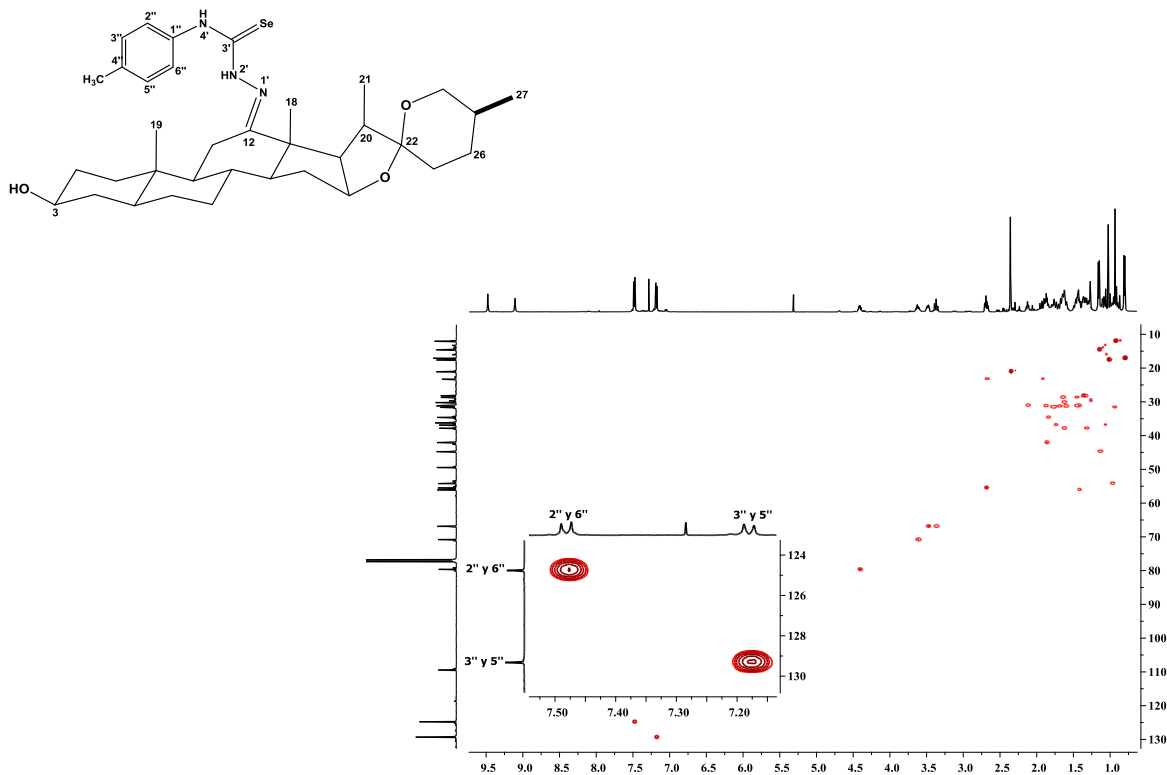


Figura 48. Experimento HSQC de **73**.

El experimento HMBC del compuesto **73** se presenta en la figura 49, y muestra algunas de las correlaciones principales de la molécula que ayudaron a la inequívoca caracterización de las diferentes posiciones. La señal en 9.48 ppm tiene correlación con los carbonos 2'', 6'', 1'' y 3''. Por otra parte, la señal en 9.10 se acopla con los carbonos 2'', 6'', 1'' y 3''. Los protones de C-17 y C-18 con el carbono 12 y finalmente el acoplamiento CH₃-Ar con C-3'', C-5'' y C-4''.

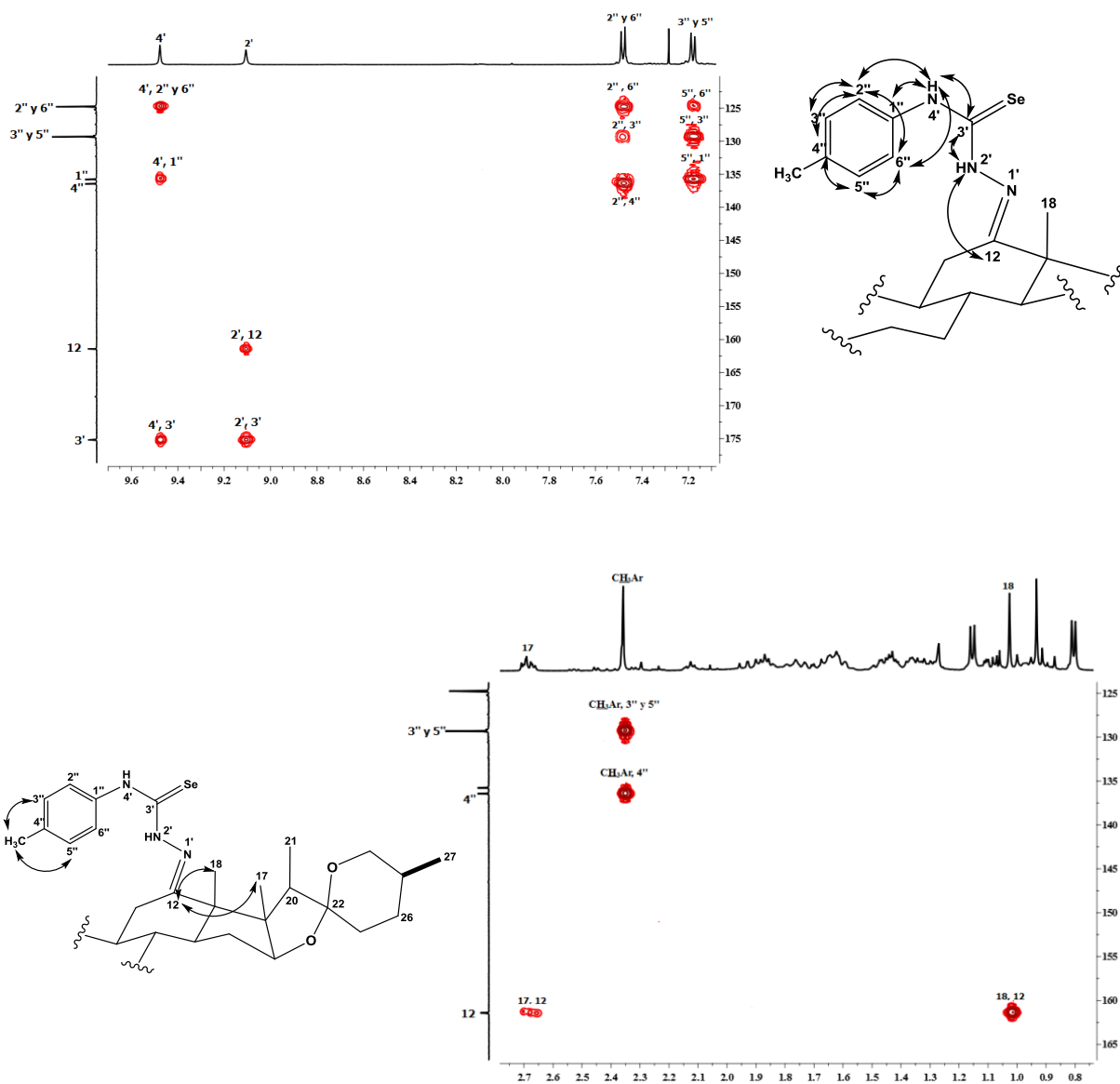


Figura 49. Experimento HMBC de **73**.

En las tablas 9 y 10 se muestran algunas de las señales características de ^1H y ^{13}C -RMN para las selenosemicarbazonas **73-76**.

Tabla 9. Datos de ^1H -RMN de los compuestos **73-76** (δ , ppm).

Comp.	$\underline{\text{CH}}_3\text{-Ar}$	$\underline{\text{OCH}}_3\text{-Ar}$	H-3'' y H-5''	H-2'' y H-6''	NHCSe	NHAr
73	2.35 (s)	---	7.18 (d)	7.48 (d)	9.10 (sa)	9.48 (sa)
74	---	3.84 (s)	6.92 (d)	7.49 (d)	8.91 (sa)	9.42 (sa)
75	2.23 (s)	---	7.18 (d)	7.47 (d)	8.98 (sa)	9.39 (sa)
76	---	---	7.41 (d)	8.99 (d)	8.99 (sa)	9.39 (sa)

Tabla 10. Datos de ^{13}C -RMN de los compuestos **73-76** (δ , ppm).

Comp.	$\underline{\text{CH}}_3\text{-Ar}$	$\underline{\text{OCH}}_3\text{-Ar}$	C-3'' y C-5''	C-2'' y C-6''	C-1''	C-4''	C-3	C-12	C=Se
73	21.1	---	129.3	124.8	135.8	136.4	---	161.4	175.2
74	---	55.5	126.2	113.9	131.1	158.2	--	161.5	175.5
75	21.1	---	129.3	125.2	136.0	136.5	156.9	---	175.0
76	---	---	131.7	126.5	119.7	137.7	157.6	---	175.0

Los datos espectroscópicos confirman las estructuras propuestas. En los espectros de ^1H -RMN se puede distinguir en todos los casos la aparición de las señales de los hidrógenos aromáticos entre 6.92-8.99 ppm y las nuevas señales pertenecientes a los grupos NH. La asignación de los $-\text{NH}$ se realizó con ayuda del experimento de RMN de 2D HMBC.

4. ENSAYOS ANTIPROLIFERATIVOS

La actividad antiproliferativa *in vitro* de los compuestos **39**, **48**, **49**, **47**, **19**, **60**, **69**, **73**, **74** y **75** se evaluó usando el protocolo del Instituto Nacional del Cáncer (NCI) de los Estados Unidos.⁶⁹ Este estudio ha sido realizado por el Dr. José M. Padrón en el laboratorio BioLab del Instituto Universitario de Bio-Orgánica “Antonio González”, de la Universidad de la Laguna (Tenerife). Como modelo para estudiar la actividad antiproliferativa de los compuestos sintetizados en el presente Proyecto, 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).

Los datos referentes a la actividad antiproliferativa de los compuestos sintetizados se muestran en la tabla 11 y se expresan como GI₅₀, es decir, la concentración del compuesto que inhibe el 50% del crecimiento de células tumorales tratadas en relación con las no tratadas.

Tabla 11. Actividad antiproliferativa (GI₅₀, μM) frente a líneas celulares de tumores sólidos humanos

Compuestos	Líneas celulares					
	A549	HBL-100	HeLa	SW1573	T-47D	WiDr
39	>100	>100	>100	>100	>100	>100
47	34±8.3	44±6.6	35±8.1	34±4.0	27±4.4	36±5.4
48	9.2±2.9	13±1.5	9.2±1.9	20±0.5	6.3±1.8	5.9±1.1
49	4.1±1.5	5.8±1.3	5.4±0.9	4.8±0.7	4.2±0.7	4.8±0.3
19	2.3±0.2	6.6±0.2	0.9±0.3	3.5±0.3	4.5±0.1	4.3±0.1
Etopósido	---	1.4±0.9	3.3±1.6	15±1.5	22±5.5	23±3.1
Cisplatino	4.9±0.2	1.9±0.2	1.8±0.5	2.7±0.4	17±3.3	23±4.3

^aLos datos se expresan como la media de 2-4 medidas, incluyendo la desviación estándar

⁶⁹ Monks, A.; Scudiero, D.; Skedan, P.; Shoemaker, R.; Paull, K.; Vistica, D.; Hose, C.; Langley, J.; Cronice, P.; Vaigro-Wolf, M.; Gary-Goodrich, M.; Campbell, H.; Mayo, M. *J. Natl. Cancer Inst.* **1991**, *83*, 757-766.

En la figura 50 se muestra una comparación de la actividad antiproliferativa de los compuestos activos en las diferentes líneas celulares de tumores sólidos humanos ensayadas. Los compuestos que no se incluyen en esta tabla presentan un GI_{50} mayor $100 \mu\text{M}$ y como se mencionó en el protocolo se clasifica como inactivos.

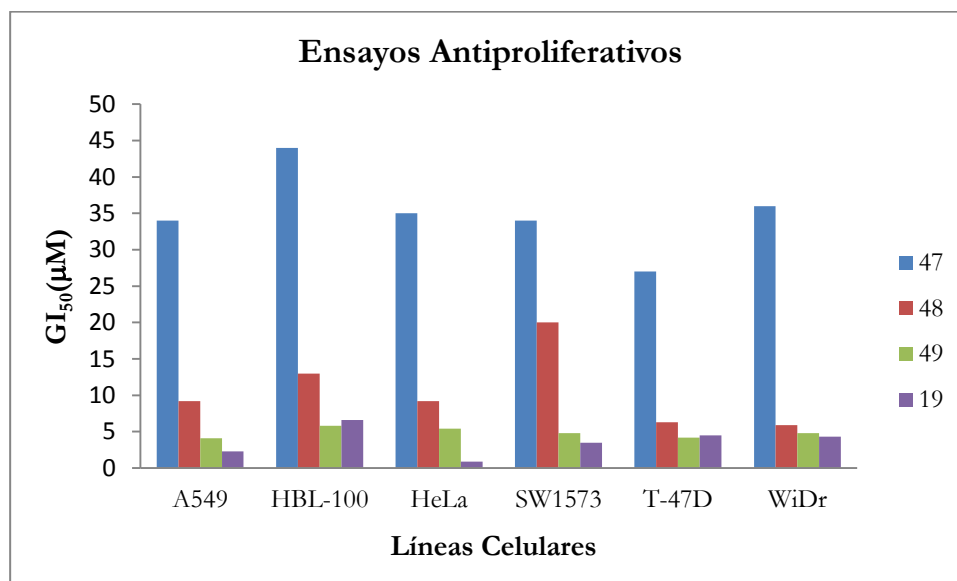


Figura 50. Resultados del ensayo de antiproliferación.

En la tabla 12 se muestran los resultados finales obtenidos para los productos sintetizados. Los valores se expresan como GI_{50} , definido como la concentración del compuesto necesaria para reducir al 50% el crecimiento celular

Tabla 12. Actividad antiproliferativa (GI_{50} , μM) frente a líneas celulares de tumores sólidos humanos^a

Compuestos	Líneas celulares					
	A549	HBL-100	HeLa	SW1573	T-47D	WiDr
73	3.7±0.9	3.8±1.0	3.3±1.5	2.9±0.5	13±1.7	8.1±0.3
74	4.6±1.1	33±14	4.9±1.6	4.5±1.6	58±28	31±15
75	69±12	89±19	89±20	86±20	83±23	>100
60	>100	38±11	33±4.0	32±2.6	>100	>100
69	35±6.2	45±6.8	27±0.7	32±3.2	83±23	88±17
Etopósido	---	1.4±0.9	3.3±1.6	15±1.5	22±5.5	23±3.1
Cisplatino	4.9±0.2	1.9±0.2	1.8±0.5	2.7±0.4	17±3.3	23±4.3

^aLos datos se expresan como la media de 2-4 medidas, incluyendo la desviación estándar

En la figura 51 se muestra una comparación de la actividad antiproliferativa de los compuestos activos en las diferentes líneas celulares de tumores sólidos humanos ensayadas. El análisis de estos datos nos permitió establecer una serie de relaciones estructura-actividad.

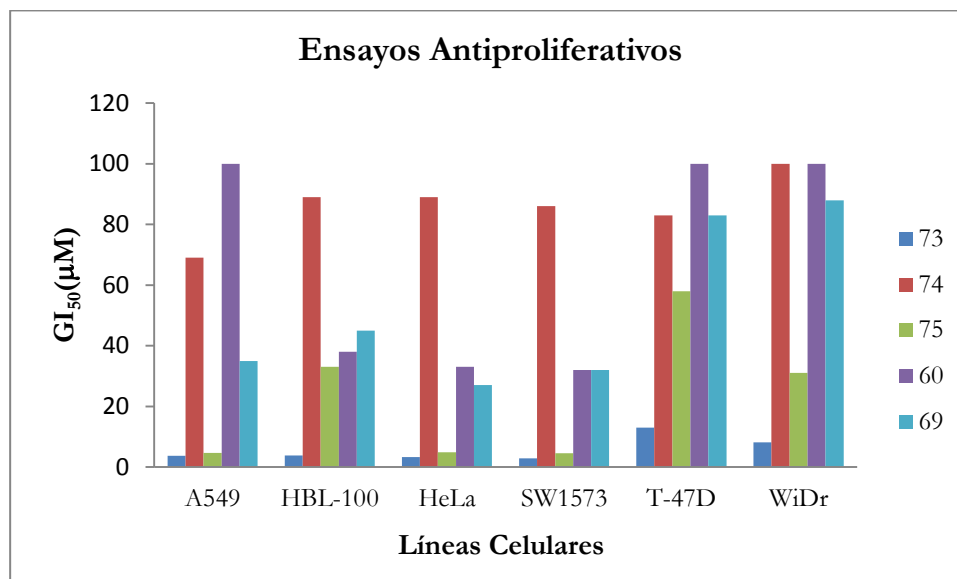


Figura 51. Resultados del ensayo de antiproliferación.

Al comparar la influencia de los diferentes grupos funcionales, la selenosemicarbazona **73** es el mejor en casi todas las líneas celulares, presentando valores inferiores de GI_{50} que el 5-fluorouracilo, un fármaco anticancerígeno ampliamente usado en quimioterapia para el tratamiento de cáncer del tracto gastrointestinal, mama, cabeza y cuello. En la línea celular de cáncer de colón es también mejor antiproliferativo que el cisplatino un fármaco anticancerígeno usado para el tratamiento de varios tipos de cáncer, tales como sarcomas, carcinomas (pequeños cáncer de pulmón y ovario), linfomas y tumores de células germinales.⁷⁰

⁷⁰ Prestayko, A. W.; D'Aoust, J. C.; Issell, B. F.; Crooke, S. T. *Cancer Treatment Reviews*, **1979**, *6*, 17-39.



CAPITULO V
DESARROLLO
EXPERIMENTAL



5.1. Métodos generales

Los **puntos de fusión** se midieron en un aparato Melt-Temp, con escala en grados centígrados, utilizando la técnica de capilar abierto y no fueron corregidos.

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 fluoresceína como indicador (F₂₅₄) empleando para su revelado una lámpara de luz ultravioleta de onda corta (254 nm, lámpara de UVG-54), o bien por calcinación de las placas impregnadas con H₂SO₄ al 10 %, una solución de vainillina (1.5 g) en EtOH con un 1% de H₂SO₄, ninhidrina etanólica al 0.1% o ácido fosfomolibdico (2 g de ácido fosfomolibdico en 100 mL MeOH).

Para la **cromatografía en columna** se ha empleado como fase estacionaria gel de sílice (Merck Silica Gel 60, tamaños de partícula 0.040-0.063 y 0.063-0.200 mm), como fase móvil los distintos eluyentes indicados en cada caso. Se ha eluido por gravedad o sometiendo a una ligera presión.

Las **rotaciones ópticas** se midieron en los polarímetros Perkin-Elmer 341 y Jasco P-2000, empleando la línea de emisión del Na ($\lambda = 589$ nm).

Los **espectros de RMN** se obtuvieron en espectrómetros Varian-Mercury (multinuclear a 400 MHz para ¹H y 100 MHz para ¹³C), Bruker, Avance-300 (300 MHz para ¹H y 75 MHz para ¹³C), Avance-500 (500 MHz para ¹H y 125 MHz para ¹³C). Para algunas muestras, se empleó una criosonda TCI 500. Se emplearon como disolventes CDCl₃, CD₃OD según se indica en cada caso. Los valores de desplazamiento químico (δ) se expresan en ppm y los valores de las constantes de acoplamiento (J), se expresan en Hz. Los espectros se calibraron usando las señales del disolvente como referencias internas.⁷¹

⁷¹ Gottlieb, H. E.; Kotlyar, V.; Nudelman, A. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7512-7515.

Los **espectros de masas** se determinaron en espectrómetros Jeol-JMS-700 MS Station y QExactive. La fuente de ionización empleada es electrospray (ES). En los datos incluidos de los espectros de masas de alta resolución se compara con el valor de m/z encontrado hasta la cuarta cifra decimal para el ion pseudomolecular o molecular, con el calculado a partir de los isótopos más abundantes.

Difracción de Rayos X

Los estudios de cristalografía de rayos-X se determinaron en un difractor Agilent Gemini. Para la solución y el refinamiento se utilizaron métodos directos SHELXD⁷² para los datos finales se usó SHELXL-97.⁷³ Los datos del compuesto **25** fueron depositados en la base de datos Cambridge Crystallographic Center No. CCDC 1447704.

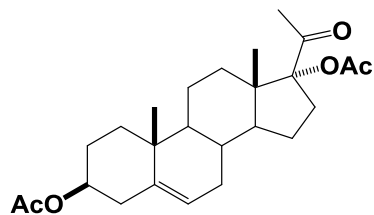
Todos los disolventes empleados se purificaron y se secaron según los métodos reportados en la literatura.⁷⁴

⁷² G.M Sheldrick, (2008). Acta Cryst. A64, 112122.

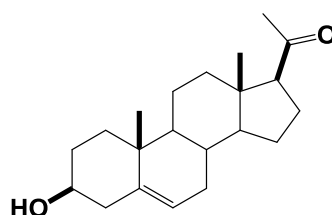
⁷³ G.M. Sheldrick, (2015). Acta Cryst. C71, 38.

⁷⁴ Perrin, D. D.; Armarego, W. L. F. *Purification of Laboratory Chemicals*. Butterworth Heinemann: Oxford, 4^a ed. **1996**.

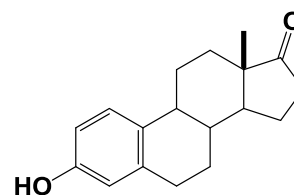
MATERIAL PRIMAS UTILIZADAS



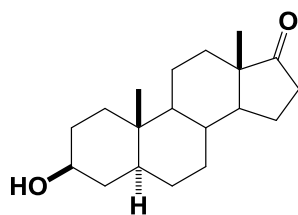
(17)



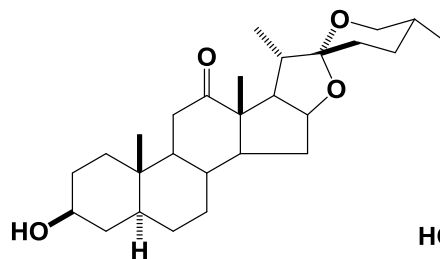
Pregnenolona (20)



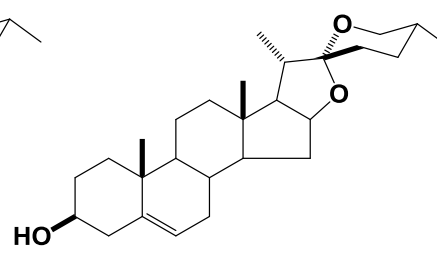
Estrona (24)



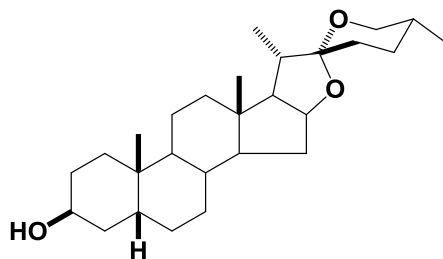
Trans-androsterona (36)



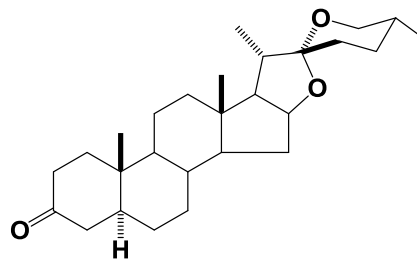
Hecogenina (30)



Diosgenina (43)



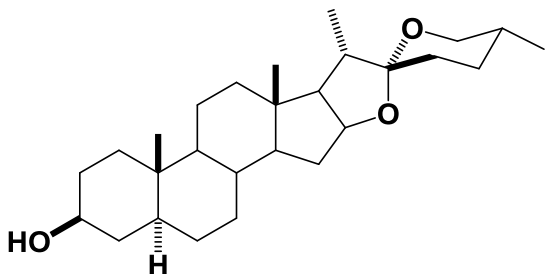
Esmilagenina (61)



Tigogenona (72)

5.1 Obtención de tigogenina a partir de diosgenina

5.5.1 Tigogenina (42)

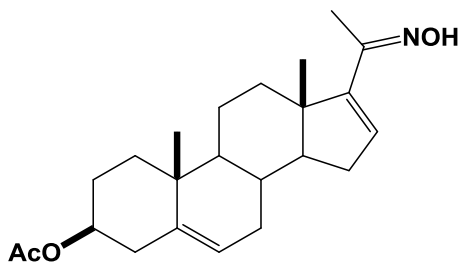


Método 1: A una disolución de diosgenina (**43**) (200 mg, 0.48 mmol) en AcOEt (10 mL) se añade Pd(OH)₂/C al 20% (200 mg), se hidrogena a presión atmosférica bajo agitación por 24 horas. A continuación se filtra sobre celita y el filtrado

se concentra a sequedad para dar el compuesto deseado. Rendimiento: Cuantitativo.

Método 2: A una disolución de hecogenina (**30**) (500 mg, 1.16 mmol) en EtOH (5.0 mL) se añade benzaldehído (1.0 mmol) y una solución etanólica de KOH al 10%. La reacción se agita a temperatura ambiente durante 10 minutos, precipitando un sólido que se filtra se lava con agua y se seca a vacío para dar **42** como un sólido blanco. Rendimiento: 400 mg, 83%. Los datos espectroscópicos fueron comparados los reportados en la literatura.⁷⁵

⁷⁵ Agrawal, P.K.; Jain, D. C.; Gupta, R. K.; Thakur, R. S. *Phymchemisfry*, **1985**, 24, 2479-2496.

5.2. Acetato de 20-hidroximinopregna-5,16-dien-3 β -ilo (18)

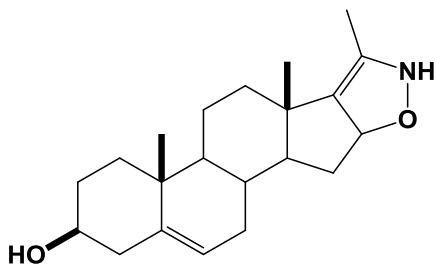
A una disolución del diacetato 17 α -hidroxipregnenolona (**17**) (1.0 g, 2.40 mmol) en EtOH (20 mL) se añade NH₂OH·HCl (2 mmol) y CH₃COONa (2 mmol). La mezcla de reacción se mantiene a reflujo bajo atmósfera inerte durante 2 horas. La fase orgánica se extrae CH₂Cl₂ (2x50 mL) y se lava con una disolución de NaCl (3x10 mL), se seca con Na₂SO₄, se filtra y el filtrado se concentra a sequedad. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (Hexano-AcOEt 9:1) para dar **18** como un sólido blanco.

Rendimiento: 800 mg, 90%; $[\alpha]_D^{25}$ -39° (*c* 0.1, CHCl₃); p.f. 149-150°C.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 0.92 (s, 3H, CH₃-18), 1.02 (s, 3H, CH₃-19), 1.99 (s, 3H, CH₃COO-21), 2.01 (s, 3H, CH₃COO-3), 2.17 (m, 1H, H-15b), 2.20 (m, 1H, H-15a), 2.29 (m, 1H, H-4a), 2.31 (m, 1H, H-12a), 4.57 (m, 1H, H-3), 5.36 (d, 1H, *J* = 4.8 Hz, H-6), 6.04 (m, 1H, H-16), 8.53 (a, 1H, NOH).

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ : 11.6 (CH₃COO-21), 15.8 (C-18), 19.2 (C-19), 20.8 (C-11), 21.4 (CH₃COO-3), 27.7 (C-2), 30.2 (C-8), 31.5 (C-15), 31.6 (C-7), 35.5 (C-12), 36.7 (C-10), 36.8 (C-1), 38.1 (C-4), 46.5 (C-13), 50.2 (C-9), 57.0 (C-14), 73.9 (C-3), 122.2 (C-6), 132.9 (C-16), 140.0 (C-5), 151.4 (C-17), 153.9 (C-20), 170.7 (CH₃COO-3).

HRMS-FAB (*m/z*): calculado para C₂₃H₃₄NO₃ [M+H]⁺: 372.2539, encontrado 372.2534.

5.3. 3'-Metil-2H-[1,2]oxazolo[5',4':16,17]androst-5-en-3β-ol (**19**)

A una disolución del derivado **18** (300 mg, 0.81 mmol) en MeOH anhidro (10 mL) se añade MeONa (10 mL). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 10 minutos, bajo atmósfera inerte. El crudo de reacción se disuelve en CH₂Cl₂ (20 mL) y se lava con una disolución de NaCl (3x10 mL) y H₂O (2x10 mL). La fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra y el filtrado se concentra a sequedad, el residuo se purifica mediante cromatografía en columna (Hexano-AcOEt 8:2) para dar **19** como un sólido blanco.

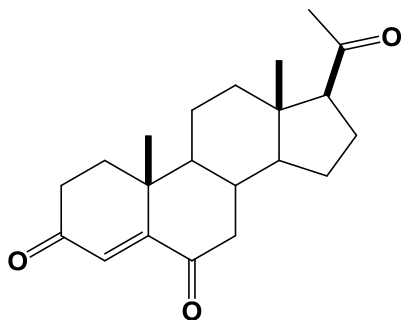
Rendimiento: 200 mg, 75%; $[\alpha]_D^{25}$ -60.3° (*c* 0.1, CHCl₃); p.f. 163-165 °C.

IR ($\bar{\nu}_{\max}$): 3408, 3279, 1589, 1415.

¹H NMR (C₅D₅N, 400 MHz) δ: 2.18 (s, 3H, CH₃-18), 2.24 (s, 3H, CH₃-19), 3.35 (s, 3H, CH₃-21), 3.74 (m, 1H, H-4), 3.98 (m, 1H, H-12), 4.95 (m, 1H, H-3), 6.55 (d, 1H, *J*_{6,7ec} = 4.4 Hz, H-6), 7.14 (m, 1H, H-16), 8.76 (s, 1H, NH).

¹³C NMR (C₅D₅N, 100 MHz) δ: 25.9 (C-21), 30.7 (C-18), 37.8 (C-19), 35.6 (C-11), 44.9 (C-8), 46.1 (C-15), 46.2 (C-7), 46.8 (C-2), 50.8 (C-12), 51.3 (C-1), 51.9 (C-10), 57.8 (C-4), 61.4 (C-13), 65.2 (C-9), 71.7 (C-14), 85.6 (C-3), 135.3 (C-6), 145.0 (C-16), 156.6 (C-5), 166.4 (C-20), 167.2 (C-17).

HRMS-FAB (*m/z*): calculado para C₂₁H₃₂NO₂ [M+H]⁺: 330.2433, encontrado 330.2459.

5.4. Pregn-4-eno-3,6,20-triona (21)

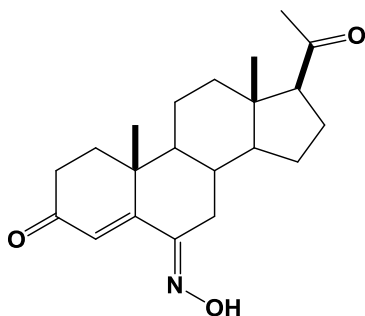
A una disolución de la pregnenolona (**20**) (1.0 g, 3.16 mmol) en CH₂Cl₂ (10.0 mL) se añade acetona (83.4 mL) y gota a gota el reactivo de Jones (4.2 mL) La mezcla de reacción agita a temperatura ambiente durante 5 minutos. Posteriormente se adiciona isopropanol para consumir el reactivo de Jones excedente. Se disuelve en AcOEt (30 mL) y se lava con una disolución de bisulfito de sodio (3x15 mL) y NaCl (3x15 mL). La fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra y el filtrado se concentra a sequedad, obteniéndose **21** como un sólido amarillo claro.

Rendimiento: cuantitativo; $[\alpha]_D^{25} +30.6^\circ$ (*c* 0.1, CHCl₃); p.f. 185-187°C.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ: 0.53 (s, 3H, CH₃-18), 1.03 (s, 3H, CH₃-19), 2.01 (s, 3H, CH₃-21), 2.55 (dd, 1H, *J*_{gem} = 16.0 Hz, *J*_{7b-8} = 4.0 Hz, H-7b) 6.01 (s, 1H, H-4).

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ: 12.9 (C-18), 17.1 (C-19), 20.6 (C-11), 22.5 (C-15), 23.8 (C-16), 31.1 (C-21), 33.6 (C-2), 33.8 (C-8), 35.1 (C-1), 37.8 (C-12), 39.5 (C-10), 43.7 (C-13), 46.2 (C-7), 50.4 (C-17), 56.2 (C-14), 62.9 (C-9), 125.3 (C-4), 160.8 (C-5), 199.9 (C-3), 201.9 (C-6), 209.9 (C-20).

HRMS-FAB (*m/z*): calculado para C₂₁H₂₈NaO₃ [M+Na]⁺: 351.1936, encontrado 351.1930.

5.5. (6E)-hidroximinopregn-4-eno-3,20-diona (**22**)

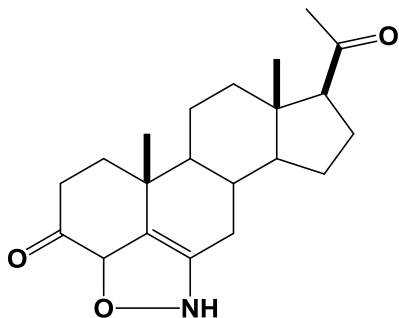
A una disolución del dicetonico **21** (500 mg, 1.52 mmol) en EtOH (25 mL) se añade NH₂OH·HCl (3 mmol) y CH₃COONa (3 mmol). La mezcla de reacción se refluxe durante 2 horas. La mezcla se diluye con CH₂Cl₂ (2x50 mL) y se lava con una disolución de NaCl (3x10 mL). La fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra y el filtrado se concentra a sequedad. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (Hexano-AcOEt 8:2) para dar **22** como un sólido amorfo blanco.

Rendimiento: 300 mg, 57%; [α]_D²⁵ -39.8° (c 0.1, CHCl₃); p.f. 153-155°C.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 0.56 (s, 3H, CH₃-18), 0.95 (s, 3H, CH₃-19), 2.01 (s, 3H, CH₃-21), 2.11 (m, 1H, H-15a), 2.16 (m, 1H, H-14), 2.19 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 18.8$ Hz, $J_{7a-8} = 5.6$ Hz, H-7a), 2.99 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 18.8$ Hz, $J_{7b,8} = 3.6$ Hz, H-7b) 6.69 (s, 1H, H-4).

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ : 13.0 (C-18), 18.6 (C-7), 18.8 (C-19), 21.0 (C-11), 22.5 (C-15), 23.9 (C-16), 31.3 (C-21), 32.9 (C-8), 33.3 (C-2), 38.0 (C-1), 38.5 (C-10), 43.7 (C-13), 45.4 (C-12), 49.4 (C-9), 56.4 (C-14), 63.1 (C-17), 126.8 (C-4), 147.9 (C-5), 154.9 (C-6), 200.6 (C-3), 209.7 (C-20).

HRMS-FAB (m/z): calculado para C₂₁H₃₀NO₃ [M+H]⁺: 344.2226, encontrado 344.2240.

5.6. 2'H-[1,2]Oxazolo[5',4',3':4,5,6]pregn-5-eno-3,20-diona (**23**)

A una disolución de la oxima **22** (200 mg, 0.58 mmol) en THF anhidro (15 mL) se añade NaH (1 mmol). La mezcla de reacción se refluje bajo atmósfera inerte durante 2 horas. El crudo de reacción se disuelve en CH₂Cl₂ (20 mL) y se lava con una disolución de NaCl (3x10 mL) y H₂O (2x10 mL). La fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra y el filtrado se concentra a sequedad, el residuo se purifica mediante cromatografía en columna (Hexano-AcOEt 8:2) para dar **23** como un aceite incoloro.

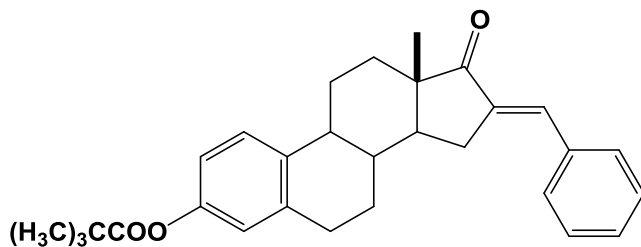
Rendimiento: 60 mg; 30 % [α]_D²⁵ -84° (c 0.1, CHCl₃).

IR ($\bar{\nu}_{\max}$): 3254, 1673, 1687, 1569.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 0.92 (s, 3H, CH₃-18), 1.13 (s, 3H, CH₃-19), 1.78 (m, 2H, H-7), 1.95 (m, 1H, H-15), 2.02 (m, 1H, H-7b), 2.01 (s, 3H, CH₃-21), 2.16 (m, 1H, H-17), 2.28 (m, 2H, H-2), 6.69 (s, 1H, H-4), 8.45 (s, 1H, NH).

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ : 13.8 (C-18), 19.3 (C-19), 20.8 (C-11), 23.4 (C-15), 23.8 (C-16), 26.7 (C-7), 31.1 (C-21), 33.3 (C-8), 34.2 (C-2), 37.5 (C-1), 38.8 (C-10), 44.2 (C-13), 45.6 (C-12), 50.3 (C-9), 55.7 (C-14), 63.3 (C-17), 85.2 (C-4), 117.9 (C-5), 144.5 (C-6), 207.3 (C-3), 209.8 (C-20).

HRMS-FAB (m/z): calculado para C₂₁H₃₀NO₃ [M+H]⁺: 344.2226, encontrado 344.2231.

5.7. (E)-3-Trimetilacetato-16-bencilidenestra-1,3,5(10)-trien-17-ona (26)

A una disolución de la cetona α,β -insaturada **25** (263 mg, 0.73 mmol) en piridina (4.0 mL) se añade PvCl (5.86 mmol, 0.72 mL). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 2

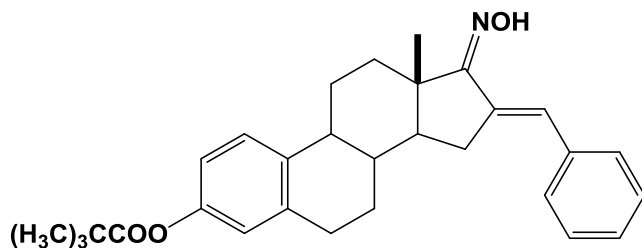
horas. Una vez transcurrido ese tiempo la disolución se diluye en CH_2Cl_2 (40 mL); la fase orgánica se lava con HCl 5% (3x15 mL), una disolución acuosa de NaHCO_3 (3x15 mL), NaCl (3x15 mL) y H_2O (2x10 mL), se seca sobre Na_2SO_4 , se filtra y el filtrado se concentra a sequedad, el residuo se purifica mediante cromatografía en columna (Hexano-AcOEt 8:2) para dar **26** como un sólido amorfo blanco.

Rendimiento: cuantitativo; $[\alpha]_D^{25} -49^\circ$ (*c* 0.1, CHCl_3); p.f. 160-162°C.

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 0.9 (s, 3H, CH_3 -18), 1.13 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.71 (m, 1H, H-8), 2.04 (m, 1H, H-7b), 2.09 (m, 1H, H-12b), 2.28 (m, 1H, H-9), 2.41(m, 1H, H-11a), 2.52 (dd, $J_{\text{gem}} = 15.6$ Hz, $J_{15a-14} = 2.8$ Hz, 1H, H-15a), 2.90 (m, 1H, H-6), 2.98 (dd, $J_{\text{gem}} = 15.6$ Hz, $J_{15b-14} = 8.0$ Hz, 1H, H-15b), 6.79 (d, $J_{4,2} = 2.0$ Hz, 1H, H-4), 6.83 (dd, $J_{2,1} = 8.5$ Hz, $J_{2,4} = 2.0$ Hz, 1H, H-2), 7.26 (d, $J_{1,2} = 8.5$ Hz, 1H, H-1), 7.38 (m, 4H, H-3', H-4', H-5', H-16'), 7.55 (m, 2H, H-2', H-6').

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 14.4 (C-18), 25.6 (C-11), 26.5 (C-7), 27.0 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 28.9 (C-15), 29.2 (C-6), 31.5 (C-12), 37.4 (C-8), 38.8 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 43.9 (C-9), 47.6 (C-13), 48.4 (C-14), 118.5 (C-2), 121.3 (C-4), 126.1 (C-1), 128.6 (C-3' y C-5'), 129.1 (C-4'), 130.2 (C-2' y C-6'), 133.1 (C-16'), 135.4 (C-1'), 135.7 (C-10), 136.9 (C-5), 137.6 (C-16), 148.8 (C-3), 177.1 ($-\text{OCOC}(\text{CH}_3)_3$), 209.2 (C-17).

HRMS-FAB (*m/z*): calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 443.2586, encontrado 443.2596.

**5.8. Oxima de (E)-3-trimetilacetato-16-bencilidenestra-
1,3,5(10)-trien-17-ona (27)**

A una disolución del derivado **26** (300 mg, 0.68 mmol) en EtOH (10 mL) se añade $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (2 mmol) y CH_3COONa (2 mmol). La mezcla de reacción se refluxe bajo atmósfera inerte

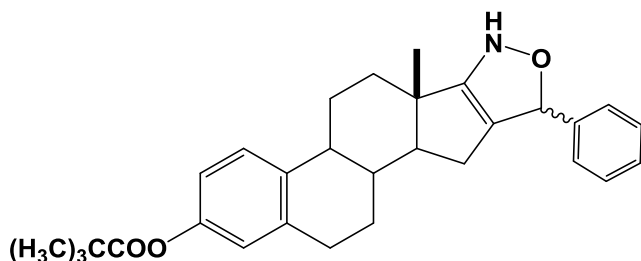
durante 2 horas. La mezcla se diluye con CH_2Cl_2 (2x30 mL) y se lava con una disolución de NaCl (3x10 mL). La fase orgánica se seca con Na_2SO_4 , se filtra y el filtrado se concentra a sequedad. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (Hexano-AcOEt 8:2) para dar **27** como un sólido blanco.

Rendimiento: 200 mg; 65% $[\alpha]_D^{25}$ -84° (*c* 0.1, CHCl_3); p.f. 179-181°C.

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 0.9 (s, 3H, CH_3 -18), 1.13 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.97 (m, 1H, H-12b), 2.33 (m, 1H, H-9), 2.37 (m, 1H, H-11a), 2.45 (m, 1H, H-15a), 2.88 (m, 1H, H-6), 2.95 (m, 1H, H-15b), 6.78 (d, $J_{4,2} = 2.4$ Hz, 1H, H-4), 6.82 (dd, $J_{2,1} = 8.4$ Hz, $J_{2,4} = 2.4$ Hz, 1H, H-2), 7.19 (m, 1H-H-16'), 7.26 (d, $J_{1,2} = 8.4$ Hz, 1H, H-1), 7.27 (m, 1H, H-4'), 7.39 (m, 4H, H-3', H-5', H-2', H-6'), 8.38 (a, 1H-NOH).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 14.1 (C-18), 26.2 (C-11), 27.0 (C-7), 27.1 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 29.3 (C-15), 31.3 (C-6), 35.2 (C-12), 37.1 (C-8), 38.9 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 43.6 (C-9), 46.3 (C-13), 51.7 (C-14), 118.5 (C-2), 121.4 (C-4), 124.2 (C-16'), 126.2 (C-1), 127.3 (C-3' y C-5'), 128.3 (C-4'), 129.2 (C-2' y C-6'), 135.8 (C-1'), 137.1 (C-10), 137.4 (C-5), 137.7 (C-16), 148.9 (C-3), 166.2 (C-17), 177.3 ($-\text{OCOC}(\text{CH}_3)_3$)

HRMS-FAB (*m/z*): calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{NO}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 458.2695, encontrado 458.2675.

**5.9. 3-Trimetilacetato de 5'-fenil-2',5'-dihidroisoxazolo[4',3':16,17]
estra-1,3,5(10)-trien-3-ol (28)**

A una disolución del derivado **27** (150 mg, 0.33 mmol) en MeOH anhidro (10 mL) se añade MeONa (10 mL). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 3 h, bajo atmósfera inerte. El crudo

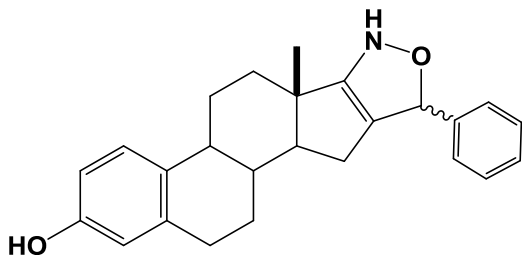
de reacción se disuelve en CH₂Cl₂ (20 mL) y se lava con una disolución de NaCl (3x10 mL) y H₂O (2x10 mL). La fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra y el filtrado se concentra a sequedad. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (Hexano-AcOEt 8:2) para dar **28** un aceite incoloro.

Rendimiento: 60 mg; 39.4% [α]_D²⁵ -23° (c 0.1, CHCl₃).

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 1.26 (s, 3H, CH₃-18), 1.34 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.67 (m, 1H, H-12b), 2.33 (m, 1H, H-9), 2.37 (m, 1H, H-11a), 2.10 (m, 1H, H-15a), 2.35 (m, 1H, H-15b), 5.56 (s, 1H, H-5'), 6.67 (d, $J_{4,2} = 1.1$ Hz, 1H, H-4), 6.82 (dd, $J_{2,1} = 8.0$ Hz, $J_{2,4} = 1.1$ Hz, 1H, H-2), 7.26 (d, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, 1H, H-1), 7.27 (m, 3H, H-2'', H-4'', H-6''), 7.39 (m, 2H, H-3'', H-5''), 9.1 (s, 1H-NH).

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ : 19.1 (C-18), 24.3 (C-15), 26.8 (C-11), 27.4 (C(CH₃)₃), 27.6 (C-7), 30.6 (C-6), 36.4 (C-12), 38.1 (C-8), 40.3 (C(CH₃)₃), 44.9 (C-9), 46.6 (C-13), 47.4 (C-14), 85.5 (C-5'), 118.5 (C-2), 120.3 (C-16), 121.6 (C-4), 126.4 (C-1), 127.3 (C-3' y C-5'), 127.6 (C-4'), 128.9 (C-2' y C-6'), 136.1 (C-1'), 137.0 (C-10), 138.4 (C-5), 144.5 (C-17), 148.3 (C-3), 177.4 (-OCOC(CH₃)₃)

HRMS-FAB (m/z): calculado para C₃₀H₃₆NO₃ [M+H]⁺: 458.2695, encontrado 458.2702.

5.10. 5'-Fenil-2',5'-dihidroisoxazolo[4',3':16,17]estra-1,3,5(10)-trien-3-ol (29)

A una disolución del derivado **28** (60 mg, 0.13 mmol) se añade una solución 5 % de KOH/MeOH. La mezcla de reacción se mantiene en agitación bajo atmósfera inerte a temperatura ambiente durante 2 h.

Transcurrido ese tiempo, el crudo de reacción se disuelve en CH₂Cl₂ (20 mL) y se lava con una disolución de NaCl (3x10 mL) y H₂O (2x10 mL). La fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra y el filtrado se concentra a sequedad, para dar **29** un aceite incoloro.

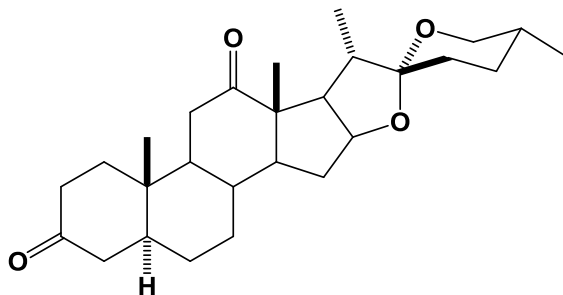
Rendimiento: cuantitativo; $[\alpha]_D^{25} -39^\circ$ (*c* 0.1, CHCl₃).

IR ($\bar{\nu}_{\max}$): 3350, 3230, 1590, 1205.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 1.29 (s, 3H, CH₃-18), 1.67 (m, 1H, H-12b), 2.10 (m, 1H, H-15a), 2.35 (m, 1H, H-15b), 2.65 (m, 2H, H-6), 2.83 (m, 1H, H-9), 5.56 (s, 1H, H-5'), 6.49 (d, $J_{4,2} = 1.1$ Hz, 1H, H-4), 6.54 (dd, $J_{2,1} = 8.0$ Hz, $J_{2,4} = 1.1$ Hz, 1H, H-2), 6.90 (d, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, 1H, H-1), 7.28 (m, 3H, H-2'', H-4'', H-6''), 7.35 (m, 2H, H-3'', H-5''), 9.1 (s, 1H-NH).

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ : 19.0 (C-18), 24.9 (C-15), 26.8 (C-11), 27.6 (C-7), 30.6 (C-6), 36.4 (C-12), 38.4 (C-8), 44.9 (C-9), 46.5 (C-13), 47.4 (C-14), 85.5 (C-5'), 114.5 (C-2), 117.9 (C-16), 120.6 (C-4), 126.7 (C-1), 127.1 (C-3'' y C-5''), 127.6 (C-4''), 128.9 (C-2'' y C-6''), 136.0 (C-1''), 137.0 (C-10), 138.1 (C-5), 144.5 (C-17), 154.0 (C-3).

HRMS-FAB (*m/z*): calculado para C₂₅H₂₈NO₂ [M+H]⁺: 374.2120, encontrado 374.2140.

5.11. (25R)-5 α -espiroetano-3,12-diona (31)**Hecogenona**

A una disolución de la hecogenina (**30**) (2.0 g, 4.66 mmol) en CH₂Cl₂ (20 mL) se añade acetona (166.8 mL) y gota a gota el reactivo de Jones (9.2 mL). La mezcla de reacción agita a temperatura ambiente durante 5 minutos.

Posteriormente se adiciona isopropanol para consumir el reactivo de Jones excedente. Se disuelve en AcOEt (60 mL) y se lava con una disolución de bisulfito de sodio (3x15 mL) y NaCl (3x15 mL). La fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra y el filtrado se concentra a sequedad, obteniéndose **31** como un sólido amarillo claro.

Rendimiento: cuantitativo; $[\alpha]_D^{25} +76.5^\circ$ (c 0.1, CHCl₃); p.f. 222-223°C.

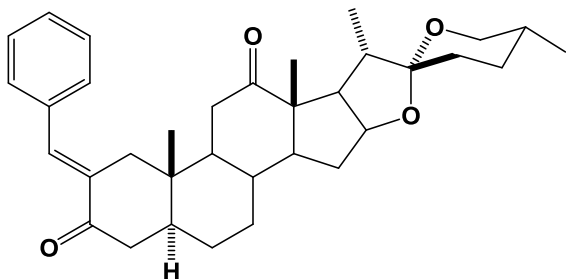
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 0.70 (d, $J_{27,25} = 6.4$ Hz, 3H, CH₃-27), 0.97 (d, $J_{27,25} = 7.0$ Hz, 3H, CH₃-21), 0.99 (s, 3H, CH₃-18), 1.02 (s, 3H, CH₃-19), 2.05 (m, 1H, H-4 α), 2.15 (m, 1H, H-11 α), 2.19 (m, 1H, H-4 β), 2.24 (m, 1H, H-11 β), 2.44 (m, 1H, H-17), 3.25 (dd, $J_{gem} = J_{26ax-25} = 10.9$ Hz, 1H, H-26ax), 3.40 (ddd, $J_{gem} = 10.9$ Hz, $J_{26ec-25} = 4.0$ Hz, $J_{26ec-24} = 2.2$ Hz, 1H, H-26ec), 4.26 (m, 1H, H-16).

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ : 11.2 (C-19), 13.4 (C-21), 16.0 (C-18), 17.3 (C-27), 28.6 (C-6), 28.9 (C-24), 30.2 (C-25), 31.2 (C-23 y C-15), 31.5 (C-7), 34.3 (C-8), 36.2 (C-10), 37.8 (C-1), 37.9 (C-11 y C-2), 42.2 (C-20), 44.4 (C-4), 46.2 (C-5), 53.7 (C-17), 54.8 (C-9), 55.1 (C-13), 55.5 (C-14), 66.9 (C-26), 79.1 (C-16), 109.2 (C-22), 210.6 (C-3), 212.6 (C-12).

HRMS-FAB (m/z): calculado para C₂₇H₄₁O₄ [M+H]⁺: 429.2927, encontrado 429.3022.

5.12. (2*E*)-(25*R*)-2-benciliden-5 α -espiroetano-3,12-diona (32)

(E)-2-Bencilidenohecogenona



A una disolución del derivado **31** (500 mg, 1.16 mmol) en EtOH (5 mL) se añade benzaldehído (1.0 mmol) y una solución etanólica de KOH al 10%. La reacción se agita a temperatura ambiente durante 20 minutos, precipitando un sólido que se filtra se lava con agua y se seca a vacío para dar

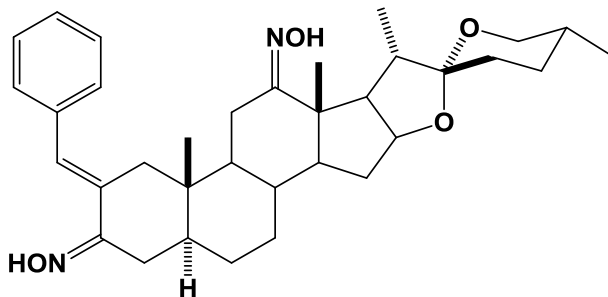
32 como un sólido blanco.

Rendimiento: cuantitativo; $[\alpha]_D^{25} +47^\circ$ (*c* 0.1, CHCl₃); p.f. 149-150°C.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 0.74 (d, $J_{27,25} = 6.3$ Hz, 3H, CH₃-27), 0.82 (s, 3H, CH₃-19), 0.99 (s, 3H, CH₃-18), 1.02 (d, $J_{27,25} = 7.0$ Hz, 3H, CH₃-21), 2.20 (m, 1H, H-4 α), 2.24 (m, 1H, H-11 α), 2.41 (m, 1H, H-11 β), 2.50 (m, 1H, H-17), 2.89 (m, 1H, H-4 β), 3.30 (dd, $J_{gem} = J_{26ax-25} = 11.0$ Hz, 1H, H-26ax), 3.44 (ddd, $J_{gem} = 11.0$ Hz, $J_{26ec-25} = 2.6$ Hz, $J_{26ec-24} = 2.1$ Hz, 1H, H-26ec), 4.30 (m, 1H, H-16), 7.31 (m, 5H, H-2'', H-3'', H-4'', H-5'', H-6''), 7.54 (a, 1H, H-2').

¹³C NMR (CDCl₃, 75.5 MHz) δ : 11.4 (C-19), 13.1 (C-21), 15.7 (C-18), 16.9 (C-27), 28.1 (C-6), 28.6 (C-24), 29.9 (C-25), 30.8 (C-23), 30.9 (C-15), 31.2 (C-7), 34.0 (C-8), 36.3 (C-10), 37.5 (C-1), 40.9 (C-4), 41.8 (C-20), 41.9 (C-11), 42.3 (C-5), 53.2 (C-17), 54.5 (C-9), 54.8 (C-13), 55.4 (C-14), 66.7 (C-26), 78.9 (C-16), 109.0 (C-22), 128.3 (C-3'' y C5''), 128.6 (C-4''), 130.1 (C-2'' y C-6''), 133.9 (C-2), 135.0 (C-1''), 137.9 (C-2'), 200.3 (C-3), 212.8 (C-12).

HRMS-FAB (*m/z*): calculado para C₃₄H₄₅O₄ [M+H]⁺: 517.3318, encontrado 517.3324.

5.13. Oxima de (2E)-2-bencilidenohecogenona (33)**(2E)-(25R)-2-benciliden-5 α -espirostan-3,12-diona**

A una disolución del compuesto **32** (300 mg, 0.58 mmol) en EtOH (10 mL) se añade $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (3 mmol) y CH_3COONa (3 mmol). La mezcla de reacción se refluxe bajo atmósfera inerte durante 2 horas. Transcurrido ese tiempo la mezcla se diluye con CH_2Cl_2 (30 mL) y se lava con una disolución de NaCl (3x10 mL). La fase orgánica se seca con Na_2SO_4 , se filtra y el filtrado se concentra a sequedad. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (Hexano-AcOEt 85:15) para dar **33** como un sólido blanco.

Rendimiento: cuantitativo; $[\alpha]_D^{25}$ -88° (c 0.1, CHCl_3); p.f. 156-158°C.

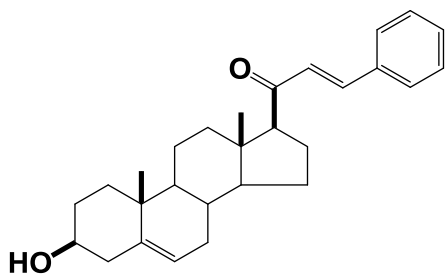
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 0.78 (d, $J_{27,25} = 6.8$ Hz, 3H, CH_3 -27), 0.79 (s, 3H, CH_3 -19), 0.93 (s, 3H, CH_3 -18), 1.06 (d, $J_{27,25} = 6.4$ Hz, 3H, CH_3 -21), 1.67 (m, 1H, H-1 1α), 1.92 (m, 1H, H-20), 2.06 (m, 1H, H-4 α), 2.59 (m, 1H, H-17), 3.00 (m, 2H, H-6), 3.04 (m, 1H, H-4 β), 3.29 (m, 1H, H-11 β), 3.37 (dd, $J_{\text{gem}} = J_{26\text{ax}-25} = 10.8$ Hz, 1H, H-26ax), 3.49 (ddd, $J_{\text{gem}} = 10.8$ Hz, $J_{26\text{ec}-25} = 3.5$ Hz, $J_{26\text{ec}-24} = 2.2$ Hz, 1H, H-26ec), 4.39 (m, 1H, H-16), 6.98 (a, 1H, H-2'), 7.33 (m, 5H, H-2'', H-3'', H-4'', H-5'', H-6'').

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 11.3 (C-19), 13.2 (C-21), 16.9 (C-18 y C-27), 19.7 (C-11), 28.0 (C-6), 28.3 (C-24), 28.6 (C-7), 30.1 (C-25), 30.8 (C-23), 31.1 (C-7), 31.2 (C-1), 34.6 (C-8), 37.3 (C-10), 41.1 (C-4), 42.1 (C-20), 42.4 (C-5), 46.9 (C-13), 52.8 (C-9), 54.8 (C-17), 56.2 (C-14), 66.6 (C-26), 79.9 (C-16), 109.3 (C-22), 127.1 (C-3'' y C-5''), 128.1 (C-4''), 128.9 (C-2'), 129.5 (C-2'' y C-6''), 132.8 (C-2), 136.5 (C-1''), 159.2 (C-3), 164.1 (C-12).

HRMS-FAB (m/z): calculado para $\text{C}_{34}\text{H}_{47}\text{N}_2\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 547.3536, encontrado 547.3541.

5.14. Método general para la síntesis de cetonas α,β -insaturadas esteroideas.

A una disolución de los compuestos **20**, **24** o **36** (1.0 mmol) en EtOH (5.0 mL) se añade benzaldehído (1.0 mmol) y una solución etanólica de KOH al 10%. La reacción se agita a temperatura ambiente durante 20 minutos, precipitando un sólido que se filtra se lava con agua y se seca a vacío para dar **37**, **25** o **38**.

5.14.1. (E)-21-Benzilideno-3 β -hidroxipregn-5-en-20-ona (37)

Rendimiento: 395 mg, 98%; $[\alpha]_D^{25}$ -14.9 (*c* 0.1, CHCl₃);
p.f. 108-110 °C.

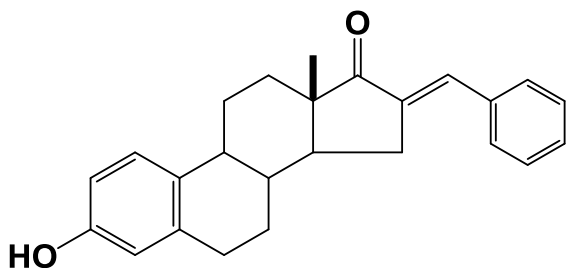
IR $\bar{\nu}_{\max}$: 3320, 2939, 1681, 1603.

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 0.63 (s, 3H, CH₃-18), 1.00 (s, 3H, CH₃-19), 2.86 (t, 1H, *J* = 9.0 Hz, H-17), 3.52 (m, 1H, H-3), 5.36 (d, 1H, *J* = 5.2 Hz, H-6), 6.78 (d, 1H, *J* = 16.0 Hz, H-21), 7.39 (m, 3H, H-3', H-4', H-5'), 7.55 (m, 3H, H-2', H-6', H-22).

¹³C NMR (CDCl₃, 125.7 MHz) δ : 13.5 (C-18), 19.5 (C-19), 21.2 (C-11), 22.7 (C-15), 24.7 (C-16), 31.6 (C-2), 31.8 (C-7), 32.1 (C-8), 36.5 (C-10), 37.3 (C-1), 39.1 (C-4), 42.2 (C-12), 45.0 (C-13), 50.1 (C-9), 57.2 (C-14), 62.2 (C-17), 71.7 (C-3), 121.3 (C-6), 126.7 (C-21), 128.3 (C-2' y 6'), 128.9 (C-3' y 5'), 130.3 (C-4'), 134.8 (C-1'), 140.8 (C-5), 141.5 (C-22), 200.5 (C-20). Los datos espectroscópicos fueron comparados los reportados en la literatura.⁸

HRMS-FAB (*m/z*): calculado para C₂₈H₃₇O₂ [M+H]⁺: 405.2794, encontrado 405.2786.

5.14.2. (E)-16-Benzilideno-3β-hidroxiestra-1,3,5(10)-trien-17-ona (25)



Rendimiento: 350 mg, 98%; $[\alpha]_D^{25} +149.3$ (c 0.1, CHCl₃); p.f. 245-247 °C.

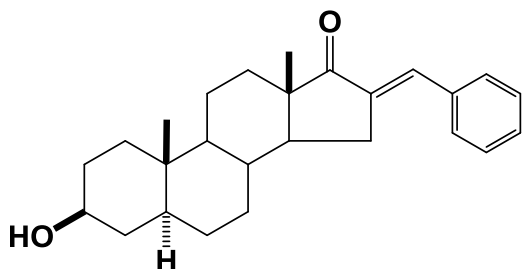
IR ($\bar{\nu}_{\max}$): 3352, 2924, 1700, 1613.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ: 1.00 (s, 3H, CH₃-18), 2.56 (dd, $J_{15a-14} = 12.6$ Hz, $J_{\text{gem}} = 15.6$ Hz, 1H, H-15a), 2.90 (m, 1H, H-6), 3.00 (dd, $J_{15b-14} = 5.6$ Hz, $J_{\text{gem}} = 15.6$ Hz, 1H, H-15b), 4.18 (s, 1H, H of OH), 6.60 (d, $J_{4,2} = 2.7$ Hz, 1H, H-4), 6.66 (dd, $J_{2,1} = 8.5$ Hz, $J_{2,4} = 2.7$ Hz, 1H, H-2), 7.14 (d, $J_{1,2} = 8.5$ Hz, 1H, H-1), 7.43 (m, 4H, H-4', H-3', H-5', H-16'), 7.60 (m, 2H, H-2', H-6').

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ: 14.3 (C-18), 25.6 (C-11), 26.5 (C-7), 28.9 (C-15), 29.2 (C-6), 31.3 (C-12), 37.7 (C-8), 43.7 (C-9), 47.7 (C-13), 48.2 (C-14), 112.6 (C-2), 115.0 (C-4), 126.0 (C-1), 128.4 (C-3' y C-5'), 129.2 (C-4'), 130.1 (C-2' y C-6'), 130.6 (C-10), 133.5 (C-16'), 135.1 (C-1'), 135.6 (C-5), 137.4 (C-16), 154.3 (C-3), 210.8 (C-17).

HRMS-FAB (m/z): calculado para C₂₅H₂₇O₂ [M+H]⁺: 359.2011, encontrado 359.2037.

5.14.3. (E)-16-Benzilidene-3β-hidroxi-5α-androstan-17-ona (38)



Rendimiento: 360 mg, 95%; $[\alpha]_D^{25} +23.1^\circ\text{C}$ (c 0.1, CHCl₃); p.f. 162-164 °C.

IR ($\bar{\nu}_{\max}$): 3353, 2922, 1715, 1632.

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 0.79 (s, 3H, CH₃-19), 0.87 (s, 3H, CH₃-18), 2.34 (m, 1H, H-15a), 2.79 (m, 1H, H-15b), 3.53 (m, 1H, H-3), 7.31 (m, 4H, H-16', H-3', H-4', H-5'), 7.47 (m, 2H, H-2', H-6').

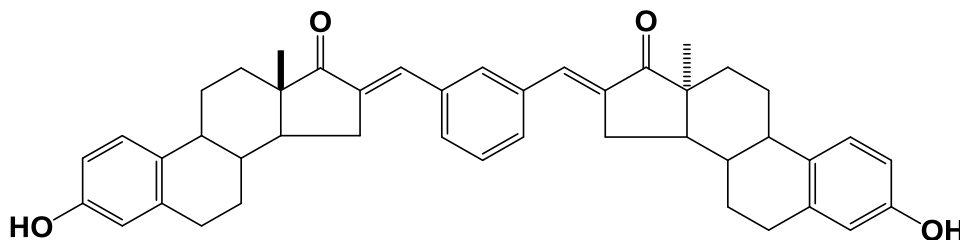
¹³C NMR (CDCl₃, 125.7 MHz) δ: 12.3 (C-19), 14.5 (C-18), 20.6 (C-11), 28.4 (C-6), 29.5 (C-15), 31.1 (C-7), 31.5 (C-12), 31.8 (C-2), 34.7 (C-4), 35.7 (C-1), 36.8 (C-10), 38.0 (C-8), 44.5 (C-5), 47.6 (C-13), 49.5 (C-14), 54.5 (C-9), 71.1 (C-3), 128.5 (C-3' y C-5'), 129.3 (C-4'), 130.1 (C-2' y C-6'), 132.9 (C-16), 135.7 (C-1'), 136.1 (C-16), 210.0 (C-17). Los datos espectroscópicos se compararon con los reportados en la literatura.⁴⁸

HRMS-FAB (*m/z*): calculado para C₂₆H₃₅O₂ [M+H]⁺:379.2637, encontrado 379.2638.

5.15. Método general para la síntesis de dímeros catónicos α,β-insaturados esteroideos.

A una disolución de los compuestos **24** o **36** (1.0 mmol) en EtOH (10 mL) se añade isophthaldehído (0.8 mmol) y una solución etanólica de KOH al 10%. La mezcla de reacción se refluxe durante 3 horas. La mezcla de reacción se diluyó con CH₂Cl₂ (25 mL) y se lavó con salmuera (3x20 mL). La fase orgánica se secó con NaSO₄ anhidro, se filtró y el disolvente se eliminó a presión reducida, el residuo se purifica mediante cromatografía en columna (hexano:AcOEt 8:2) para dar **39** o **40**.

5.15.1. *m*-bis[(*E*)-3 β -hidroxi-16-metilen-17-oxaestra-1,3,5(10)-trien-16¹-il]benceno (39)



Rendimiento: 500 mg, 78%; $[\alpha]_D^{25} +89.6$ (c 0.1, CHCl₃); p.f. 230-232 °C.

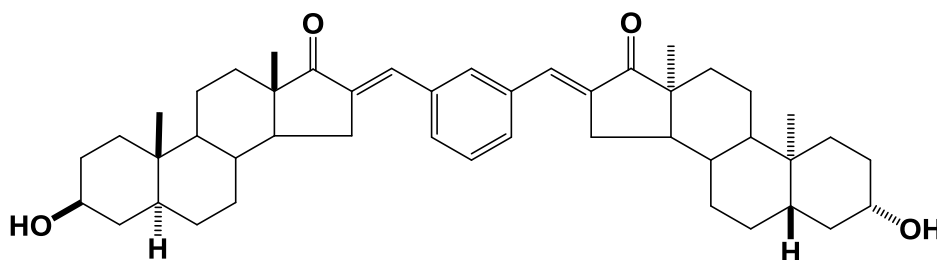
IR ($\bar{\nu}_{\max}$): 3413, 2926, 1710, 1616.

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 0.99 (s, 6H, CH₃-18), 2.55 (dd, $J_{\text{gem}} = 14.0$ Hz, 15a-14 = 13.1 Hz, 2H, H-15a), 2.85 (m, 4H, H-6), 2.98 (dd, $J_{\text{gem}} = 14.0$ Hz, $J_{15b-14} = 5.4$ Hz, 2H, H-15b), 6.85 (d, $J_{4,2} = 2.7$ Hz, 2H, H-4), 6.64 (dd, $J_{2,1} = 8.4$ Hz, $J_{2,4} = 2.7$ Hz, 2H, H-2), 6.64 (d, $J_{1,2} = 8.4$ Hz, 2H, H-1), 7.51 (m, 8H, H-4', H-6', H-5', H-16'), 7.72 (m, 2H, H-2').

¹³C NMR (CDCl₃, 125.7 MHz) δ : 14.5 (C-18), 25.9 (C-11), 26.8 (C-7), 29.2 (C-15), 29.4 (C-6), 31.5 (C-12), 37.9 (C-8), 43.9 (C-9), 47.9 (C-13), 48.4 (C-14), 112.7 (C-2), 115.1 (C-4), 126.3 (C-1), 129.0 (C-5'), 131.0 (C-10), 131.1 (C-4' y C-6'), 131.9 (C-2'), 132.7 (C-161), 135.9 (C-1' y C-3'), 136.6 (C-16), 137.6 (C-5), 154.4 (C-3), 210.4 (C-17).

HRMS-FAB (m/z): calculado para C₄₄H₄₇O₄ [M+H]⁺: 639.3474, encontrado 639.34348.

5.15.2. *m*-bis[(*E*)-3 β -hidroxi-16-metilen-17-oxa-5 α -androstan-16¹-il]benceno (40)



Rendimiento: 575 mg, 85%; $[\alpha]_D^{25} + 7.0$ (c 0.1, CHCl₃); p.f. 205-207 °C.

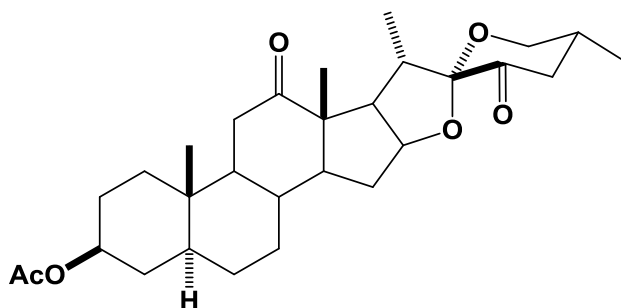
IR ($\bar{\nu}_{\max}$): 3424, 2922, 1715, 1624.

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 0.79 (s, 6H, CH₃-19), 0.87 (s, 6H, CH₃-18), 2.34 (m, 2H, H-15a), 2.77 (dd, 2H, H-15b), 3.51 (m, 2H, H-3), 7.39 (m, 8H, H-16', H-6', H-4', H-5'), 7.47 (m, 2H, H-2').

¹³C NMR (CDCl₃, 125.7 MHz) δ : 12.3 (C-19), 14.5 (C-18), 20.5 (C-11), 28.4 (C-6), 29.3 (C-15), 31.1 (C-7), 31.2 (C-12), 31.6 (C-2), 34.7 (C-8), 35.7 (C-10), 36.8 (C-4), 37.8 (C-1), 44.8 (C-5), 47.6 (C-13), 49.4 (C-14), 54.4 (C-9), 70.8 (C-3), 128.8 (C-5'), 130.5 (C-4' y C-6'), 131.9 (C-2'), 132.3 (C-16), 135.8 (C-1' y C-3'), 136.8 (C-16), 209.8 (C-17).

HRMS-FAB (*m/z*): calculado para C₄₆H₆₃O₄ [M+H]⁺: 679.4726, encontrado 679.4706.

5.16. Acetato de (22*S*,25*R*)-12,23-dioxo-16,22:22,26 diepoxi-5 α -colestano-3 β -ilo (acetato de 23-oxohecogenina) (**44**)



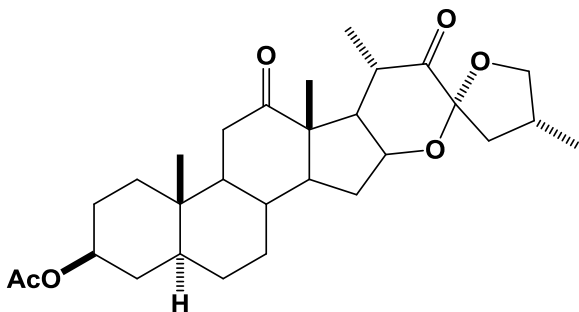
Para la síntesis del derivado 23-oxosapogenina **44** se utilizó la metodología reportada en la literatura. A una disolución de hecogenina (1.0 mmol) en ácido acético (20 mL) y CH₂Cl₂ (4 mL) se añade BF₃·OEt₂ (0.8 mL, 6.48 mmol), se agita a temperatura

ambiente por 10 minutos. A continuación se agrega poco a poco pequeñas NaNO₂ (200 mg, 2.9 mmol) se mantiene con agitación a t.a. durante 4 horas. Transcurrido ese tiempo el crudo de reacción se vertió en hielo finamente picado con H₂O (30 mL), se disuelve en CH₂Cl₂ (30 mL) se neutralizo con una solución al 5 % de NaHCO₃ hasta pH entre 6-7 y se lava con H₂O (2x15 mL). La fase orgánica se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra a sequedad. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (Hexano-AcOEt 95:5) obteniéndose **44** como un sólido blanco.

Rendimiento: 340 mg, 70%; [α]_D²⁵ +10.8 (*c* 0.1, CHCl₃); p.f. 170-172 °C.

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 0.85 (s, 3H, CH₃-19), 0.87 (d, J_{27-25} = 6.4 Hz, 3H, CH₃-27), 0.95 (d, J_{21-20} = 7.1 Hz, 3H, CH₃-21), 0.98 (s, 3H, CH₃-18), 1.95 (s, 3H, 3'-OCOCH₃), 2.42 (dd, 1H, J_{17-16} = 7.9 Hz, J_{17-20} = 7.3 Hz, H-17), 2.71 (m, 1H, H-20), 3.54 (dd, J_{gem} = 10.0 Hz, $J_{26ec-25ax}$ = 5.0 Hz, 1H, H-26ec), 3.69 (dd, J_{gem} = $J_{26ax-25ax}$ = 10.0 Hz, 1H, H-26ax), 4.47 (m, 1H, H-16), 4.60 (m, 1H, H-3).

¹³C NMR (CDCl₃, 125.7 MHz) δ : 11.8 (C-19), 13.0 (C-21), 15.8 (C-18), 17.1 (C-27), 21.4 (3'-OCOCH₃), 27.2 (C-2), 28.1 (C-6), 31.1 (C-7), 31.4 (C-15), 33.7 (C-4), 34.2 (C-8), 35.3 (C-20), 35.5 (C-25), 36.1 (C-1), 36.2 (C-10), 37.6 (C-11), 44.4 (C-5), 45.2 (C-24), 53.0 (C-17), 55.3 (C-13), 55.4 (C-9), 55.7 (C-14), 65.4 (C-26), 72.8 (C-3), 81.6 (C-16), 109.4 (C-22), 170.3 (3'-OCOCH₃), 201.4 (C-23), 212.9 (C-12).

5.17. Acetato de (23R,25R)-12,22-dioxo-16,23:23,26 diepoxi-5 α -colestano-3 β -ilo (45)

Se siguió el método descrito por Corona Díaz⁷⁶. A una disolución de 23-oxohecogenina **44** (1.0 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (15 mL) se añade TiCl₄ (0.4 mL, 3.3 mmol), se mantiene con agitación a temperatura ambiente y bajo atmósfera inerte durante 7 horas. Transcurrido

ese tiempo el crudo de reacción se vertió en H₂O fría (30 mL), la disolución se diluye en 30 mL de CH₂Cl₂ se lava con NaCl (1x15 mL) y H₂O (1x50 mL). La fase orgánica se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra a sequedad. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (hexano-AcOEt 9:1) obteniéndose **45** como un sólido blanco. Los datos espectroscópicos del derivado **46** fueron comparados con los reportados en la literatura.

Rendimiento: 250 mg, 50%; $[\alpha]_D^{25}$ -20 (*c* 0.1, CHCl₃); p.f. 167-169 °C.

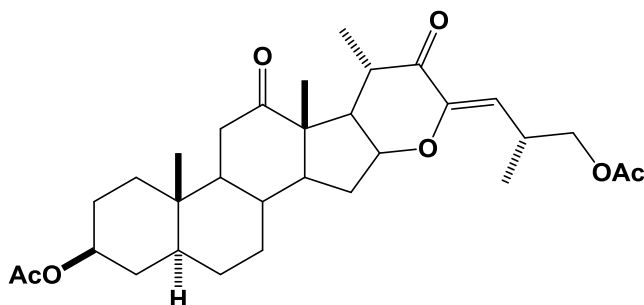
¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 0.95 (s, 3H, CH₃-19), 1.05 (d, J_{27-25} = 6.8 Hz, 3H, CH₃-27), 1.12 (d, J_{21-20} = 6.0 Hz, 3H, CH₃-21), 1.25 (s, 3H, CH₃-18), 2.01 (s, 3H, CH₃COO-3'), 2.41 (dd, J_{17-16} = 7.2 Hz, J_{17-20} = 6.8 Hz, 1H, H-17), 2.5 (dd, $J_{11\alpha-11\beta}$ = 13.2 Hz, $J_{11\alpha-9\alpha}$ = 13.2 Hz, 1H, H-11ax), 2.66 (m, 1H, H-20), 3.52 (dd, $J_{26b-26a}$ = J_{26-25} = 8.4 Hz, 1H, H-26b), 4.12 (dd, $J_{26a-26b}$ = 8.4 Hz, J_{26-25} = 7.6 Hz, 1H, H-26a), 4.37 ($J_{16-15\alpha}$ = 6.4 Hz, $J_{16-15\beta}$ = 7.5 Hz, J_{16-17} = 7.2 Hz, 1H, H-16), 4.66 (m, 1H, H-3).

¹³C NMR (CDCl₃, 125.7 MHz) δ : 11.9 (C-19), 12.9 (C-21), 14.0 (C-18), 16.7 (C-27), 21.3 (CH₃COO-3'), 27.2 (C-2), 28.8 (C-6), 31.4 (C-7), 32.5 (C-15), 33.4 (C-25), 33.7 (C-4), 34.6 (C-8), 36.2 (C-1), 36.2 (C-10), 38.1 (C-11), 40.1 (C-20), 43.7 (C-24), 44.4 (C-5), 48.2 (C-17), 53.3 (C-14), 56.0 (C-9), 56.8 (C-13), 71.2 (C-16), 73.0 (C-3), 75.3 (C-26), 107.5 (C-23), 170.2 (CH₃COO-3'), 211.7 (C-22), 211.9 (C-12).

⁷⁶ A. Corona Díaz, J.P. García Merinos, Y. López, J.B. González Campos, R.E. del Río, R. Santillan, N. Farfán, J.W. Morzycki, *Steroids* 100 (2015) 36-43.

HRMS-FAB (*m/z*): calculado para C₂₉H₄₂O₆ [M+H]⁺: 486.2981, encontrado 486.2975.

5.18. Diacetato de (23*Z*, 25*R*)-12,22-dioxo-16,23 epoxi-5 α -colestano-23-eno-3 β ,26-diilo (46)



Se siguió el método descrito por Corona Díaz. A una disolución del compuesto **45** (0.61 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (5.0 mL) se añade anhídrido acético (0.5 mL, 5.2 mmol) y BF₃·OEt₂ (0.5 mL, 5.2 mmol), se mantiene con agitación a temperatura

ambiente y bajo atmósfera inerte durante 10 minutos. Transcurrido ese tiempo el crudo de reacción se vertió en hielo finamente picado con H₂O (30 mL), la disolución se diluye en 25 mL de CH₂Cl₂ se lava con NaCl (1x15 mL) y H₂O (1x50 mL). La fase orgánica se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra a sequedad. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (hexano-AcOEt 9:1) obteniéndose **46** como un sólido blanco.

Rendimiento: 274 mg, 85%; [α]_D²⁵ -21 (*c* 0.1, CHCl₃); p.f. 167-169 °C.

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 0.88 (s, 3H, CH₃-19), 0.97 (d, J_{27-25} = 6.9 Hz, 3H, CH₃-27), 1.11 (d, J_{21-20} = 6.6 Hz, 3H, CH₃-21), 1.19 (s, 3H, CH₃-18), 1.96 (s, 3H, CH₃COO-3), 1.97 (s, 3H, CH₃COO-26), 2.29 (m, 1H, H-17), 2.45 (dd, $J_{11\beta-11\alpha}$ = $J_{11\beta-9\alpha}$ = 13.3 Hz, 1H, H-11ax), 2.53 (m, 1H, H-20), 2.89 (m, 1H, H-25), 3.86 (dd, J_{26-26} = 10.6 Hz, J_{26b-25} = 6.6 Hz, 1H, H-26b), 3.91 (dd, J_{26-26} = 10.6 Hz, J_{26a-25} = 6.3 Hz, 1H, H-26a), 4.05 (m, 1H, H-16), 4.62 (m, 1H, H-3) 5.59 (d, J_{24-25} = 9.3 Hz, 1H, H-24).

¹³C NMR (CDCl₃, 125.7 MHz) δ : 11.8 (C-19), 12.9 (C-21), 14.2 (C-18), 16.8 (C-27), 20.9 (CH₃COO-26), 21.4 (CH₃COO-3), 27.1 (C-2), 28.1 (C-6), 29.6 (C-25), 31.3 (C-7), 32.4 (C-15), 33.8 (C-4), 34.5 (C-8), 36.1 (C-10), 36.2 (C-1), 38.1 (C-11), 40.1 (C-20), 44.4 (C-5), 47.5

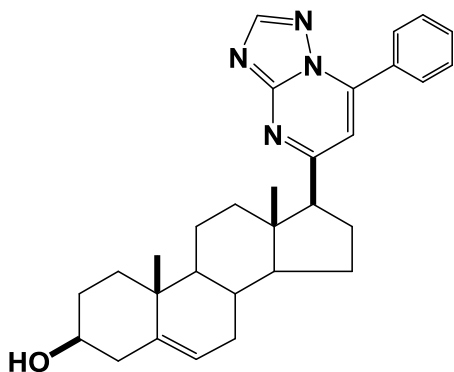
(C-17), 53.0 (C-9), 56.0 (C-14), 56.9 (C-13), 67.8 (C-26), 73.1 (C-3), 77.8 (C-16), 117.1 (C-24), 150.6 (C-23), 170.7 (CH₃C=O-3'), 171.0 (CH₃C=O-26), 199.5 (C-22), 212.1 (C-12).

HRMS-FAB (*m/z*): calculado para C₃₁H₄₄O₇ [M+H]⁺: 529.3165, encontrado 529.3169.

5.19. Método general para la síntesis de derivados esteroideos triazolopirimidinas.

A una disolución de los compuestos **40**, **28**, **41**, **42**, **43** o **46** (1.0 mmol) en *n*-BuOH (7 mL) se añade 3-amino-1,2,4-triazolo (2.0 mmol) y *t*-BuOK (2.0 mmol). La mezcla de reacción se refluxe durante 4 horas. Posteriormente, se diluyo con CH₂Cl₂, la solución se filtró y el disolvente se evaporó a presión reducida, el residuo se purifica mediante cromatografía en columna (CH₂Cl₂:MeOH 80:1.5) para dar lugar a **47**, **48**, **49**, **50**, **51** o **52**.

5.18.1. 17β-{7'-fenil[1,2,4]triazolo-[1,5-a]pirimidil}androstan-3β-ol (**47**)



Rendimiento: 262 mg, 56%; $[\alpha]_D^{25} +73.5$ (*c* 0.1, CHCl₃);
p.f. 155-157 °C.

IR ($\bar{\nu}_{\max}$): 3357, 1614, 1535, 1454, 1195.

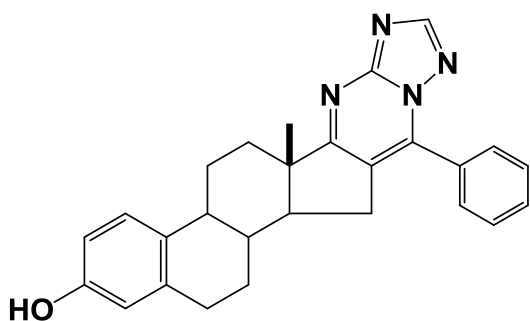
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 0.54 (s, 3H, CH₃-18), 0.93 (s, 3H, CH₃-19), 2.96 (m, 1H, H-17), 3.46 (m, 1H, H-3), 5.31 (d, 1H, $J_{6,7ec} = 5.2$ Hz, H-6), 6.96 (s, 1H, H-6'), 7.54 (m, 3H, H-3'', H-4'', H-5''), 7.99 (m, 2H, H-2'', H-6''), 8.41 (s, 1H, H-2').

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ : 13.3 (C-18), 19.4 (C-19), 20.8 (C-11), 24.5 (C-15), 24.6 (C-16), 31.6 (C-2), 31.8 (C-7), 32.1 (C-8), 36.5 (C-10), 37.2 (C-1), 38.4 (C-12), 42.2 (C-4), 45.9 (C-13), 50.1 (C-9), 57.1 (C-14), 58.8 (C-17), 71.6 (C-3), 110.3 (C-6'), 121.4 (C-6), 128.9

(C-3'' y C-5''), 129.2 (C-2'' y C-6''), 130.1 (C-1''), 131.6 (C-4''), 140.8 (C-5), 146.3 (7'), 155.5 (C-2'), 155.8 (3a'), 168.4 (C-5').

HRMS-FAB: (*m/z*): calculado para C₃₀H₃₇N₄O [M+H]⁺: 429.2967, encontrado 469.2950.

**5.19.2. 3-Hidroxi-7'-fenilestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d][1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidina
(48)**



Rendimiento: 235 mg, 56%; $[\alpha]_D^{25}$ -3.5 (*c* 0.5, CHCl₃); p.f. 195-197 °C.

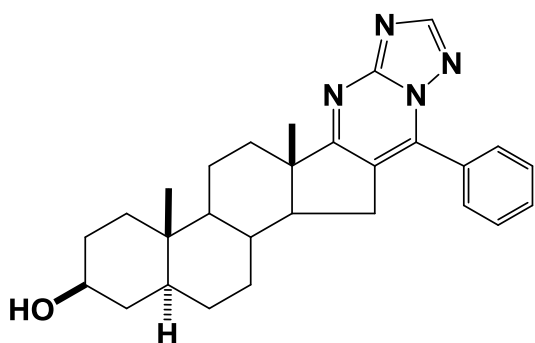
IR ($\bar{\nu}_{\max}$): 3223, 1621, 1525, 1446, 1200.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 1.11 (s, 3H, CH₃-18), 2.73 (m, 2H, H-15), 2.79 (m, 2H, H-6), 3.17 (s, 1H, H of OH), 6.53 (d, $J_{4,2}$ = 2.4 Hz, 1H, H-4), 6.61 (dd, $J_{2,1}$ = 8.4 Hz, $J_{2,4}$ = 2.4 Hz, 1H, H-2), 7.05 (d, $J_{1,2}$ = 8.4 Hz, 1H, H-1), 7.51 (m, 3H, H-4'', H-3'', H-5''), 7.73 (m, 2H, H-2'', H-6''), 8.27 (s, 1H, H-2').

¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ : 17.2 (C-18), 25.9 (C-11), 27.1 (C-7), 28.7 (C-15), 29.1 (C-6), 32.8 (C-12), 37.7 (C-8), 43.8 (C-9), 46.8 (C-13), 54.8 (C-14), 112.9 (C-2), 115.2 (C-4), 123.0 (C-16), 125.9 (C-1), 128.5 (C-3'' y C-5''), 128.7 (C-1''), 129.4 (C-2'' y C-6''), 130.6 (C-10), 131.1 (4''), 137.3 (C-5), 142.9 (C-7'), 154.0 (C-2'), 154.5 (3), 155.4 (C-3a'), 181.2 (C-17).

HRMS-FAB: (*m/z*): calculado para C₂₇H₂₇N₄O [M+H]⁺: 423.2185, encontrado 423.2159.

5.19.3. 7'-fenil-5 α -androstando[17,16-d][1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidina (49)



Rendimiento: 345 mg, 78%; $[\alpha]_D^{25}$ -252.5 (*c* 0.2, CHCl₃); p.f. 159-161 °C.

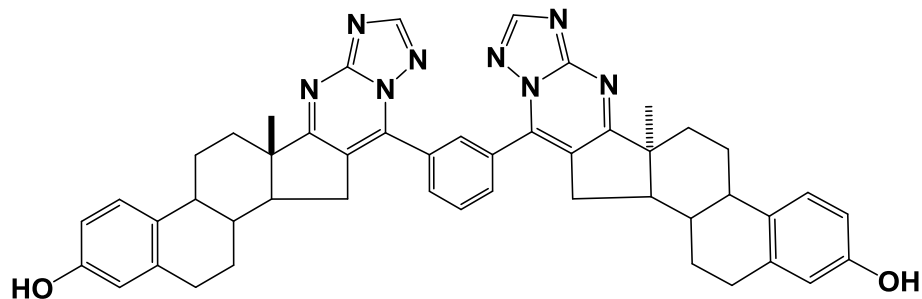
IR ($\bar{\nu}_{\max}$): 3384, 1632, 1585, 1445, 1041.

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 0.82 (s, 3H, CH₃-19), 1.08 (s, 3H, CH₃-18), 2.28 (m, 1H, H-15b), 2.64 (m, 2H, H-15a), 3.52 (m, 1H, H-3), 7.51 (m, 3H, H-3'', H-5'', H-4''), 7.72 (m, 2H, H-2'', H-6''), 8.28 (s, 1H, H-2').

¹³C NMR (CDCl₃, 125.7 MHz) δ : 12.4 (C-19), 17.4 (C-18), 20.7 (C-11), 28.3 (C-6), 29.1 (C-15), 31.4 (C-2), 31.5 (C-7), 33.0 (C-12), 34.6 (C-8), 35.8 (C-10), 36.8 (C-1), 37.9 (C-4), 44.8 (C-5), 46.7 (C-13), 54.5 (C-9), 55.8 (C-14), 71.0 (C-3), 122.6 (C-16), 128.6 (C-3'' y C-5''), 129.2 (C-1''), 129.6 (C-2'' y C-6''), 131.1 (C-4''), 142.5 (C-7'), 154.5 (C-2'), 155.8 (3a'), 180.9 (C-17).

HRMS-FAB (*m/z*): calculado para C₂₈H₃₅N₄O [M+H]⁺: 443.2811, encontrado 443.2843.

5.19.4. *m*-{bis[3-hidroxiestra-1,3,5(10)-trieno[17,16-d][1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimid-7'-
il]}benceno (50)



Rendimiento: 525 mg, 68%; $[\alpha]_D^{25}$ -30.6 (*c* 0.1, CHCl₃).

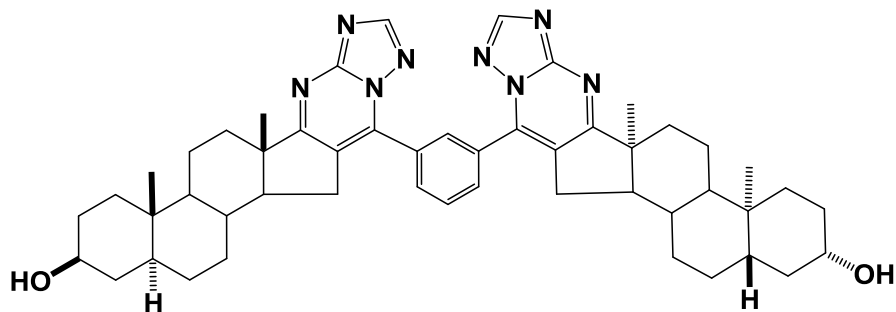
IR ($\bar{\nu}_{\max}$): 3362, 1624, 1527, 1446, 1268.

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 1.39 (s, 6H, CH₃-18), 2.81(m, 2H, H-9), 3.11 (dd, $J_{\text{gem}} = 12.4$ Hz, $J_{15a-14} = 4.9$ Hz, 2H, H-15a), 3.29 (dd, $J_{\text{gem}} = 12.4$ Hz, $J_{15b-14} = 4.9$ Hz, 2H, H-15b), 6.40 (d, $J_{2,4} = 1.4$ Hz, 2H, H-4), 6.46 (dd, $J_{2,1} = 7.5$ Hz $J_{2,4} = 1.4$ Hz, 2H, H-2), 6.81 (dd, $J_{1,2} = 7.5$ Hz, 2H, H-1), 7.61 (m, 2H, H-5''), 7.86 (m, 6H, H-4'', H-6'', H-2''), 8.26 (s, 2H, H-2').

¹³C NMR (CDCl₃, 125.7 MHz) δ : 21.0 (C-18), 27.4 (C-11), 29.4 (C-7), 30.6 (C-15), 31.2 (C-6), 35.4 (C-12), 38.9 (C-8), 44.9 (C-9), 45.8 (C-13), 46.9 (C-14), 114.4 (C-2), 115.7 (C-4), 126.0 (C-2''), 127.9 (C-1), 128.3 (C-4'' y C-6''), 131.1 (C-5''), 131.8 (C-10), 132.9 (C-16), 135.5 (C-1'' y C-3''), 136.6 (C-7'), 138.3 (C-5), 156.0 (C-3), 157.4 (C-2'), 159.0 (C-3a'), 162.7 (C-17).

HRMS-FAB (*m/z*): calculado para C₄₈H₄₇N₈O₂ [M+H]⁺: 767.3822, encontrado 767.3854.

5.19.5. m-{bis[3 β -hidroxi-5 α -androstano[17,16-d][1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimid-7'-
il]}benceno (51)



Rendimiento: 360 mg, 45%; $[\alpha]_D^{25}$ -53.8 (c 0.1, CHCl₃).

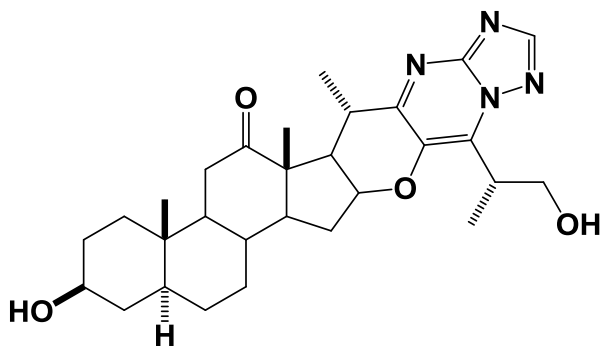
IR ($\bar{\nu}_{\max}$): 3363, 1627, 1525, 1445, 1271.

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 0.81 (s, 6H, CH₃-19), 1.37 (s, 6H, CH₃-18), 2.35 (m, 2H, H-15a), 2.67 (m, 2H, H-15b), 3.54 (m, 2H, H-3), 7.73 (m, 2H, H-5''), 7.94 (m, 6H, H-2'', H-4'', H-6''), 8.52 (s, 2H, H-2'').

¹³C NMR (CDCl₃, 125.7 MHz) δ : 14.9 (C-19), 17.6 (C-18), 21.2 (C-11), 29.3 (C-6), 31.1 (C-15), 31.7 (C-7), 31.6 (C-2), 33.9 (C-12), 34.7 (C-8), 36.0 (C-10), 37.2 (C-1), 38.0 (C-4), 41.8 (C-5), 46.9 (C-13), 48.0 (C-14), 51.6 (C-9), 70.6 (C-3), 125.9 (C-2''), 129.4 (C-4'' y C-6''), 131.4 (C-5''), 133.8 (C-16), 136.1 (C-1'' y C-3''), 137.5 (C-7'), 158.3 (C-2'), 159.6 (C-3a'), 163.5 (C-17).

HRMS-FAB (m/z): calculado para C₅₀H₆₃N₈O₂ [M+H]⁺: 807.5074, encontrado 807.5042

**5.19.6. (25S)-3 β ,26-Dihidroxi-16 β -23-epoxi-12-oxo-5 α -colestano[23,22-d][1,2,4]triazolo
[1,5-a]pirimidina (52)**



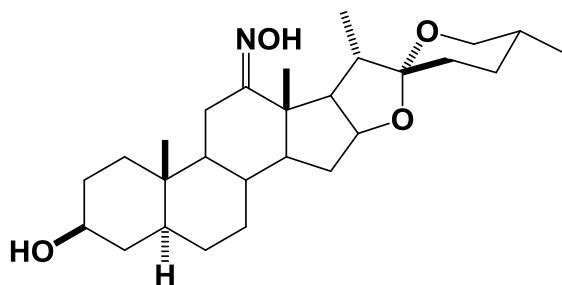
Rendimiento: 295 mg, 58%; $[\alpha]_D^{25}$ -109.1 (c 0.1, CHCl₃).

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 0.98 (s, 3H, CH₃-19), 1.15 (s, 3H, CH₃-18), 1.40 (d, J_{27-25} = 6.7 Hz, 3H, CH₃-27), 1.41 (d, J_{21-20} = 6.6 Hz, 3H, CH₃-21), 2.68 (m, 1H, H-20), 3.20 (m, 1H, H-25), 3.43 (m, 1H, H-3), 3.61 (m, 1H, H-16), 3.66 (dd, J_{gem} = 10.6 Hz, J_{26b-25} = 6.6 Hz, 1H, H-26b), 3.98 (dd, J_{gem} = 10.6 Hz, J_{26a-25} = 6.3 Hz, 1H, H-26a), 8.27 (s, 1H, H-2').

¹³C NMR (CDCl₃, 125.7 MHz) δ : 14.4 (C-18), 15.7 (C-21), 17.2 (C-19), 17.9 (C-27), 28.1 (C-6), 29.4 (C-7), 31.3 (C-2), 33.4 (C-15), 35.2 (C-20), 36.1 (C-1), 36.3 (C-8), 36.5 (C-10), 38.1 (C-4), 38.2 (C-11), 40.0 (C-25), 41.7 (C-5), 45.7 (C-9), 51.9 (C-14), 53.2 (C-17), 54.9 (C-13), 66.8 (C-26), 70.6 (C-3), 80.2 (C-16), 119.0 (C-7'), 133.9 (C-23), 142.5 (C-3a'), 156.9 (C-2'), 171.8 (C-22), 210.8 (C-12).

HRMS-FAB (*m/z*): calculado para C₂₉H₄₁N₄O₄ [M+H]⁺: 509.3128, encontrado 509.3162.

5.20. Oxima de hecogenina (54)



A una disolución de hecogenina (**30**) (500 mg, 1.16 mmol) en EtOH (20 mL) se añade $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (2 mmol) y CH_3COONa (2 mmol). La mezcla de reacción se refluxe bajo atmósfera inerte durante 2 horas. Transcurrido ese tiempo el crudo de reacción se diluye con CH_2Cl_2 (2x50 mL)

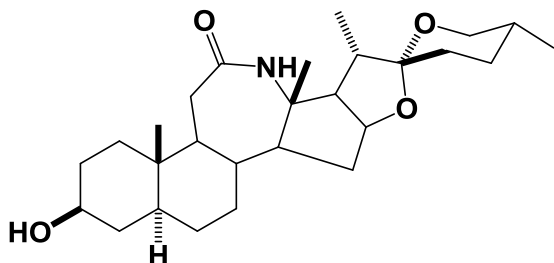
y se lava con una disolución de NaCl (3x10 mL). La fase orgánica se seca con Na_2SO_4 , se filtra y el filtrado se concentra a sequedad. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (Hexano-AcOEt 9:1) para dar **54** como un sólido blanco.

Rendimiento: 400 mg, 77%; $[\alpha]_D^{25} +50^\circ$ (c 0.1, CHCl_3) p.f. 127-128 °C.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 0.79 (d, $J_{27-25} = 6.0$ Hz, 3H, CH_3 -27), 0.88 (s, 3H, CH_3 -19), 0.95 (s, 3H, CH_3 -18), 1.06 (d, $J_{21-20} = 7.2$ Hz, 3H, CH_3 -21), 1.62 (m, 1H, H-11 α), 1.85 (m, 1H, H-20), 2.06 (m, 1H, H-23), 2.55 (m, 1H, H-17), 3.29 (m, 1H, H-11 β), 3.37 (dd, $J_{\text{gem}} = J_{26\text{ax}-25} = 11.2$ Hz, 1H, H-26ax), 3.49 (ddd, $J_{\text{gem}} = 11.2$ Hz, $J_{26\text{ec}-25} = 4.0$ Hz, $J_{26\text{ec}-24} = 2.4$ Hz, 1H, H-26ec), 3.56 (m, 1H, H-3), 4.38 (m, 1H, H-16), 9.00 (s, 1H, NOH).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 125.7 MHz) δ : 11.7 (C-19), 12.9 (C-21), 16.8 (C-27), 16.9 (C-18), 19.8 (C-11), 28.1 (C-6), 28.4 (C-24), 29.9 (C-25), 30.6 (C-23), 30.6 (C-2), 31.2 (C-7), 31.5 (C-15), 34.5 (C-8), 35.7 (C-10), 36.4 (C-4), 37.3 (C-1), 41.9 (C-20), 44.5 (C-5), 46.9 (C-13), 53.3 (C-9), 54.9 (C-17), 56.1 (C-14), 66.6 (C-26), 70.4 (C-3), 79.9 (C-16), 109.3 (C-22), 163.9 (C-12).

HRMS-FAB (m/z): calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{NO}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 446.3298, encontrado 446.3324.

5.21. (25R)-3 β -acetoxi-12,13-seco-5 α -espirostan-12,13-lactama (55)**Acetato de (25R)- 12a-azahecogenina**

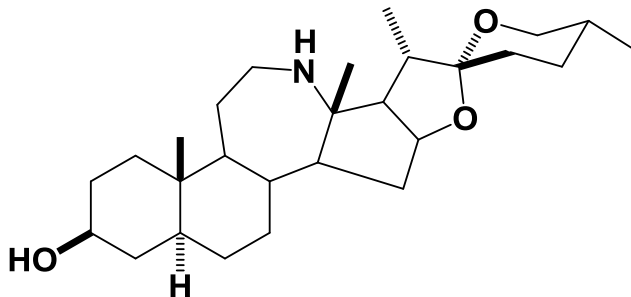
A una disolución del derivado **54** (225 mg, 0.50 mmol) en dioxano (4.5 mL) se añade SOCl_2 (6 equiv.). La mezcla de reacción se mantiene en agitación a temperatura ambiente durante 15 minutos. A continuación, el crudo de reacción se diluye con CH_2Cl_2 (50 mL) y se lava con una disolución de NaCl (3x10 mL) y H_2O (3x10 mL). La fase orgánica se seca con Na_2SO_4 , se filtra y el filtrado se concentra a sequedad, obteniéndose **55** como un sólido blanco.

Rendimiento: cuantitativo $[\alpha]_D^{25} +69.3^\circ$ (c 0.1, CHCl_3); p.f. 149-152 $^\circ\text{C}$.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 0.77 (s, 3H, CH_3 -19), 0.79 (d, $J_{27-25} = 6.5$ z, 3H, CH_3 -27), 1.02 (d, $J_{21-20} = 6.9$ Hz, 3H, CH_3 -21), 1.31 (s, 3H, CH_3 -18), 2.01 (m, 1H, H-17), 2.12 (m, 1H, H-20), 2.27 (m, 1H, H-15 β), 2.49 (m, 1H, H-11 β), 3.32 (dd, $J_{\text{gem}} = J_{26\text{ax}-25} = 11.2$ Hz, 1H, H-26ax), 3.47 (ddd, $J_{\text{gem}} = 11.2$ Hz, $J_{26\text{ec}-25} = 5.6$ Hz, $J_{26\text{ec}-24} = 3.4$ Hz, 1H, H-26ec), 3.59 (m, 1H, H-3), 4.39 (m, 1H, H-16), 6.14 (a, 1H, CONH).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 11.4 (C-19), 14.1 (C-21), 16.8 (C-27), 18.8 (C-18), 28.1 (C-6), 28.4 (C-24), 29.8 (C-25), 30.9 (C-23), 31.0 (C-2), 32.4 (C-7), 34.5 (C-15), 36.3 (C-10), 36.7 (C-1), 36.9 (C-11), 37.8 (C-4), 38.7 (C-11), 41.9 (C-20), 43.4 (C-5), 49.8 (C-9), 58.7 (C-13), 58.8 (C-14), 63.9 (C-17), 66.6 (C-26), 66.7 (C-3), 76.7 (C-16), 108.6 (C-22), 176.5 (C-12).

HRMS-FAB (m/z): calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{NO}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 446.3298, encontrado 446.3399.

5.22. (25R)-12a-aza-homo-5 α -espirostan-3 β -ol (**56**)(25R)-12a-aza-homo-5 α -tigogenina

Método 1: A una disolución del derivado **55** (100 mg, 0.22 mmol) en THF anh. (10 mL) se añade LiAlH₄ (57 mg, 1.5 mmol). La mezcla de reacción se refluxe durante 4 bajo atmósfera inerte. A continuación, la disolución se diluye con eter (50 mL) y

una solución de H₂O:THF (0.05:0.34 mL) y H₂O (3x10 mL). Posteriormente, se filtró y el filtrado se concentra a sequedad; el residuo se purifica mediante cromatografía en columna (Hexano-AcOEt 7:3) para dar lugar a **56** como un aceite incoloro.

Rendimiento: 45 mg, 50%.

Método 2: A una disolución del derivado **55** (100 mg, 0.22 mmol) en THF anh. (10 mL) se añade BMS (0.2 mL, 2.00 mmol). La mezcla de reacción se mantiene en agitación a t.a. y atmósfera inerte durante 1:30 hora y media. Posteriormente se adiciono MeOH para destruir el BMS, el disolvente se evapora bajo presión reducida. El residuo se diluye con CH₂Cl₂ (50 mL) y se lava con una solución de NaHCO₃ (2x20 mL), una solución de NaCl (2x20 mL) y H₂O (2x20 mL). La fase orgánica se seca sobre Na₂SO₄ se filtra y el filtrado se concentra a sequedad; el residuo se purifica mediante cromatografía en columna (Hexano-AcOEt 8:2) para dar lugar a **55** como un aceite incoloro.

Rendimiento: 72 mg, 77%. $[\alpha]_D^{25}$ -37° (c 0.1, CHCl₃).

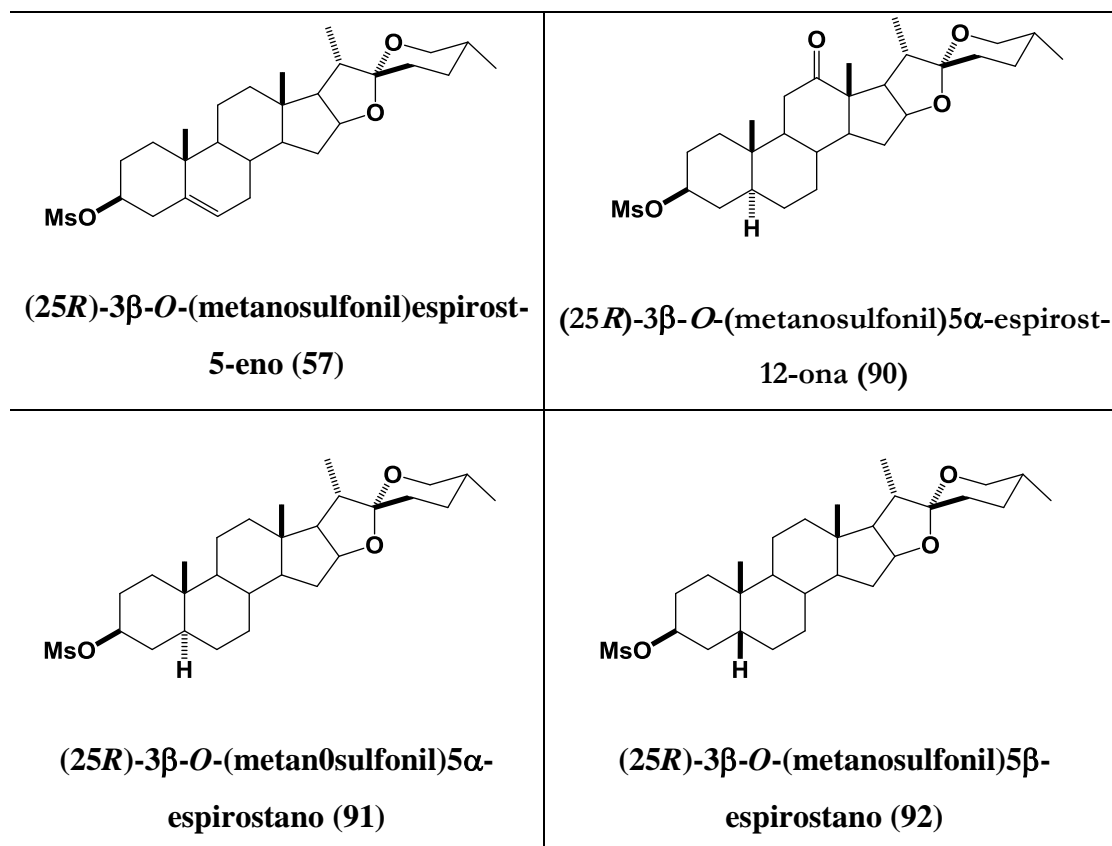
^1H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 0.96 (d, $J_{27-25} = 5.3$ Hz, 3H, CH₃-27), 1.01 (s, 3H, CH₃-19), 1.04 (d, $J_{21-20} = 5.1$ Hz, 3H, CH₃-21), 1.09 (s, 3H, CH₃-18), 1.96 (m, 1H, H-20), 2.62 (m, 1H, H-12b), 2.69 (m, 1H, H-12a), 3.43 (dd, $J_{\text{gem}} = J_{26\text{ax}-25} = 10.0$ Hz, 1H, H-26ax), 3.55 (ddd, $J_{\text{gem}} = 10.0$ Hz, $J_{26\text{ec}-25} = 5.4$ Hz, $J_{26\text{ec}-24} = 2.6$ Hz, 1H, H-26ec), 3.86 (m, 1H, H-3), 4.19 (m, 1H, H-16).

^{13}C NMR (CDCl₃, 125.7 MHz) δ : 14.8 (C-19), 14.9 (C-21), 15.8 (C-27), 16.8 (C-18), 28.1 (C-6), 28.2 (C-24), 30.1 (C-25), 30.2 (C-23), 30.4 (C-2), 30.6 (C-7), 31.3 (C-15), 32.3 (C-11), 36.0 (C-10), 37.5 (C-1), 37.9 (C-4), 38.2 (C-8), 39.3 (C-20), 41.8 (C-5), 42.4 (C-12), 47.8 (C-9), 56.2 (C-13), 58.5 (C-14), 59.8 (C-17), 67.2 (C-26), 70.6 (C-3), 81.9 (C-16), 109.5 (C-22).

HRMS-FAB (m/z): calculado para C₂₆H₄₄NO₃ [M+H]⁺: 418.3321, encontrado 418.3376.

5.23. Método general para la síntesis de derivados mesilados en C-3

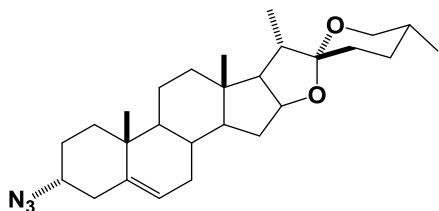
A una disolución del esteroide (0.48 mmol) en CH₂Cl₂ (10 mL) se añade Et₃N (4.31 mmol) y MeSO₂Cl (10.34 mmol). La mezcla de reacción se mantiene con agitación a 0 °C durante 30 minutos. Transcurrido este tiempo la mezcla se agita a t. a. bajo atmósfera inerte durante 2 horas. A continuación, el producto se lavó con una solución saturada de NaHCO₃ (3x 15 mL) y H₂O destilada. La fase orgánica se seca sobre MgSO₄ anhidro, se filtra y el filtrado se concentra a sequedad y el sólido resultante se utiliza sin ninguna purificación adicional. Y se utilizaron directamente para la siguiente reacción.



5.24. Método general para la síntesis de las azidas esteroideas

A una disolución del derivado mesilado (0.41 mmol) en DMSO anhidro (7.0 mL), se añade NaN₃ (2.11 mmol). La mezcla se agita a 70 °C bajo atmósfera inerte durante toda la noche. El crudo de reacción se disuelve en AcOEt (20 mL) y se lava con salmuera (3x20 mL). La fase orgánica se seca sobre MgSO₄ anhidro, se filtra y el filtrado se concentra a sequedad, el residuo se purifica mediante cromatografía en columna (hexano-AcOEt 9:1).

5.24.1. (25R)-3 α -azidoespirost-5-eno (58)

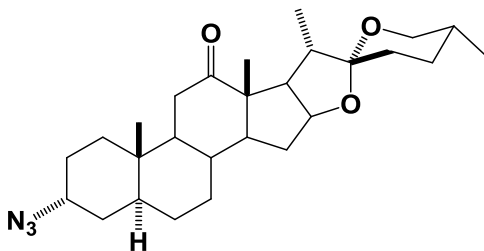


Rendimiento: 162 mg, 90%.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 0.71 (s, 3H, CH₃-18), 0.72 (d, $J_{27,25} = 3.1$ Hz, 3H, CH₃-27), 0.90 (d, $J_{27,25} = 6.8$ Hz, 3H, CH₃-21), 0.95 (s, 3H, CH₃-19), 1.79 (m, 1H, H-20), 2.13 (m, 1H, H-4b), 2.78 (m, 1H, H-4a), 3.30 (dd, $J_{gem} = J_{26ax-25} = 10.7$ Hz, 1H, H-26ax), 3.40 (ddd, $J_{gem} = 10.7$ Hz, $J_{26ec-25} = 5.5$ Hz, $J_{26ec-24} = 3.9$ Hz, 1H, H-26ec), 3.80 (m, 1H, H-3), 4.34 (m, 1H, H-16), 5.32 (m, 1H, H-6).

¹³C NMR (CDCl₃, 75.5 MHz) 14.3 (C-21), 16.5 (C-18), 17.1 (C-27), 19.2 (C-19), 20.3 (C-11), 26.3 (C-2), 28.8 (C-24), 30.2 (C-25), 31.1 (C-23), 31.2 (C-8), 31.7 (C-15), 31.7 (C-7), 33.6 (C-1), 36.3 (C-4), 37.3 (C-10), 39.8 (C-12), 40.1 (C-13), 41.5 (C-20), 49.6 (C-9), 56.5 (C-14), 58.1 (C-3), 62.3 (C-17), 66.8 (C-26), 80.6 (C-16), 109.4 (C-22), 122.8 (C-6), 138.2 (C-5).

5.24.2. (25R)-3 α -Azido-5 α -espirost-12-ona (87)

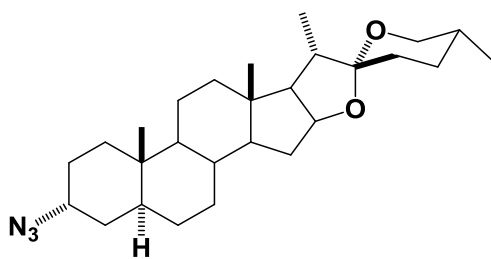


Rendimiento: 172 mg, 93%.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ : 0.72 (d, $J_{27,25} = 6.4$ Hz, 3H, CH₃-27), 0.81 (s, 3H, CH₃-19), 0.97 (s, 3H, CH₃-18), 0.99 (d, $J_{27,25} = 6.9$ Hz, 3H, CH₃-21), 2.22 (m, 1H, H-11 β), 2.44 (m, 1H, H-11 α), 3.28 (dd, $J_{gem} = J_{26ax-25} = 10.8$ Hz, 1H, H-26ax), 3.40 (ddd, $J_{gem} = 10.8$ Hz, $J_{26ec-25} = 1.7$ Hz, $J_{26ec-24} = 1.5$ Hz, 1H, H-26ec), 3.81 (m, 1H, H-3), 4.28 (m, 1H, H-16).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75.5 MHz) δ : 12.1 (C-19), 13.3 (C-21), 16.1 (C-18), 17.2 (C-27), 25.4 (C-2), 27.8 (C-6), 28.8 (C-24), 30.3 (C-25), 31.1 (C-23), 31.5 (C-15), 31.7 (C-7), 33.9 (C-4), 34.3 (C-8), 36.3 (C-10), 37.3 (C-1), 37.8 (C-11), 42.2 (C-20), 44.5 (C-5), 55.1 (C-13), 55.2 (C-3), 55.3 (C-9), 55.7 (C-14), 55.8 (C-17), 66.8 (C-26), 79.1 (C-16), 109.2 (C-22), 213.2 (C-12).

5.24.3. (25R)-3 α -Azido-5 α -espirostanos (88)

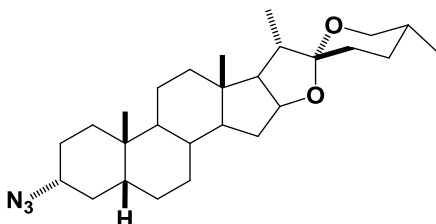


Rendimiento: 161 mg, 89%.

^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 0.78 (s, 3H, CH_3 -18), 0.81 (d, $J_{27,25} = 3.5$ Hz, 3H, CH_3 -27), 0.82 (s, 3H, CH_3 -19), 0.98 (d, $J_{27,25} = 6.9$ Hz, 3H, CH_3 -21), 1.78 (m, 1H, H-17), 1.86 (m, 1H, H-20), 2.01 (m, 1H, H-15), 3.30 (dd, $J_{\text{gem}} = J_{26\text{ax}-25} = 10.8$ Hz, 1H, H-26ax), 3.49 (ddd, $J_{\text{gem}} = 10.8$ Hz, $J_{26\text{ec}-25} = 4.5$ Hz, $J_{26\text{ec}-24} = 4.2$ Hz, 1H, H-26ec), 3.89 (m, 1H, H-3), 4.41 (m, 1H, H-16).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 125.7 MHz) δ : 11.6 (C-19), 14.5 (C-21), 16.5 (C-18), 17.1 (C-27), 20.6 (C-11), 25.6 (C-6), 28.2 (C-7), 28.8 (C-24), 30.3 (C-25), 30.3 (C-25), 31.4 (C-23), 31.7 (C-15), 32.0 (C-2), 32.6 (C-1), 32.8 (C-4), 35.1 (C-8), 35.9 (C-10), 40.0 (C-12 y C-5), 40.5 (C-13), 41.6 (C-20), 54.1 (C-9), 56.3 (C-14), 58.1 (C-3), 62.2 (C-17), 66.8 (C-26), 80.8 (C-16), 109.2 (C-22).

5.24.4. (25*R*)-3 α -Azido-5 β -espirostanos (89)



Rendimiento: 165 mg, 90%.

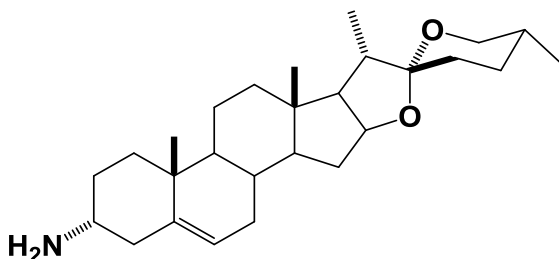
¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 0.78 (s, 3H, CH₃-18), 0.81 (d, $J_{27,25} = 6.3$ Hz, 3H, CH₃-27), 0.98 (d, $J_{27,25} = 7.1$ Hz, 3H, CH₃-21), 0.99 (s, 3H, CH₃-19), 1.87 (m, 1H, H-20), 3.39 (dd, $J_{\text{gem}} = J_{26\text{ax}-25} = 10.9$ Hz, 1H, H-26ax), 3.49 (ddd, $J_{\text{gem}} = 10.8$ Hz, $J_{26\text{ec}-25} = 4.4$ Hz, $J_{26\text{ec}-24} = 4.1$ Hz, 1H, H-26ec), 3.96 (m, 1H, H-3), 4.41 (m, 1H, H-16).

¹³C NMR (CDCl₃, 125.7 MHz) δ : 14.5 (C-21), 16.5 (C-18), 17.1 (C-27), 20.8 (C-11), 23.8 (C-19), 24.7 (C-2), 26.5 (C-6), 26.6 (C-7), 28.8 (C-24), 30.2 (C-25), 30.3 (C-1), 30.7 (C-23), 31.4 (C-15), 31.9 (C-4), 35.1 (C-8), 35.3 (C-10), 37.3 (C-5), 40.3 (C-12 y C-9), 40.7 (C-13), 41.6 (C-20), 56.4 (C-14), 58.7 (C-3), 62.3 (C-17), 66.9 (C-26), 80.9 (C-16), 109.2 (C-22).

5.25. Método general para la síntesis de las aminas esteroidales

A una disolución de la azida (150 mg, 0.34 mmol) en AcOEt (10 mL), se añade Pd(OH)₂/C al 20% (90mg), se hidrogena a presión atmosférica y a t.a. por 2 horas. A continuación se filtra sobre celita y el filtrado se concentra a sequedad para dar el compuesto deseado.

5.25.1. (25R)-Espirost-5-en-3 α -amina (59)

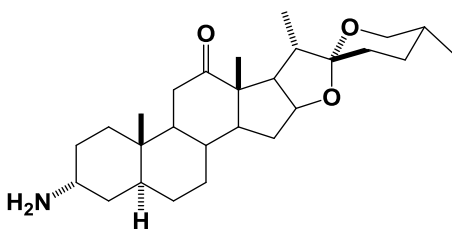


Rendimiento: 134 mg, 94%.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 0.56 (s, 3H, CH_3 -18), 0.58 (d, $J_{27,25} = 2.5$ Hz, 3H, CH_3 -27), 0.75 (d, $J_{27,25} = 6.8$ Hz, 3H, CH_3 -21), 0.80 (s, 3H, CH_3 -19), 2.36 (m, 1H, H-4a), 2.94 (sa, 1H, H-3), 3.15 (dd, $J_{\text{gem}} = J_{26\text{ax}-25} = 10.8$ Hz, 1H, H-26ax), 3.40 (ddd, $J_{\text{gem}} = 10.8$ Hz, $J_{26\text{ec}-25} = 4.2$ Hz, $J_{26\text{ec}-24} = 2.7$ Hz, 1H, H-26ec), 4.19 (m, 1H, H-16), 5.14 (m, 1H, H-6).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75.5 MHz) 14.2 (C-21), 16.4 (C-18), 17.3 (C-27), 19.2 (C-19), 20.3 (C-11), 26.3 (C-2), 28.8 (C-24), 30.3 (C-25), 31.1 (C-23), 31.3 (C-8), 31.7 (C-15), 31.8 (C-7), 33.6 (C-1), 36.3 (C-4), 37.2 (C-10), 39.7 (C-12), 40.3 (C-13), 41.5 (C-20), 46.8 (C-3), 49.6 (C-9), 56.5 (C-14), 62.3 (C-17), 66.8 (C-26), 80.6 (C-16), 109.4 (C-22), 122.8 (C-6), 138.2 (C-5).

5.25.2. (25R)-3 α -Amino-5 α -espirost-12-ona (62)

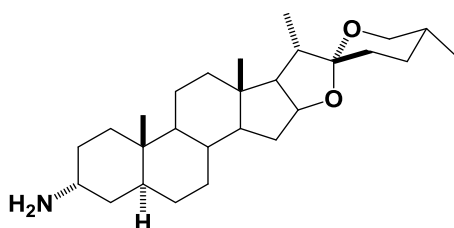


Rendimiento: 125 mg, 85%.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 0.78 (d, $J_{27,25} = 6.4$ Hz, 3H, CH_3 -27), 0.87 (s, 3H, CH_3 -19), 1.03 (s, 3H, CH_3 -18), 1.06 (d, $J_{27,25} = 6.9$ Hz, 3H, CH_3 -21), 2.21 (m, 1H, H-11 β), 2.35 (m, 1H, H-11 α), 3.34 (dd, $J_{\text{gem}} = J_{26\text{ax}-25} = 11$ Hz, 1H, H-26ax), 3.36 (ddd, $J_{\text{gem}} = 11$ Hz, $J_{26\text{ec}-25} = 2.7$ Hz, $J_{26\text{ec}-24} = 2.5$ Hz, 1H, H-26ec), 3.48 (m, 1H, H-3), 4.39 (m, 1H, H-16).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75.5 MHz) δ : 10.8 (C-19), 13.2 (C-21), 15.6 (C-18), 17.1 (C-27), 26.4 (C-2), 27.8 (C-6), 28.7 (C-24), 30.2 (C-25), 31.1 (C-23), 31.4 (C-15), 31.6 (C-7), 31.8 (C-4), 34.3 (C-8), 35.6 (C-10), 36.7 (C-1), 37.4 (C-11), 40.0 (C-20), 42.2 (C-5), 44.2 (C-3), 53.6 (C-9), 55.1 (C-13), 55.5 (C-14), 55.8 (C-17), 66.9 (C-26), 79.2 (C-16), 109.2 (C-22), 213.6 (C-12).

5.25.3. (25R)-3 α -amino-5 α -espirostanos (63)

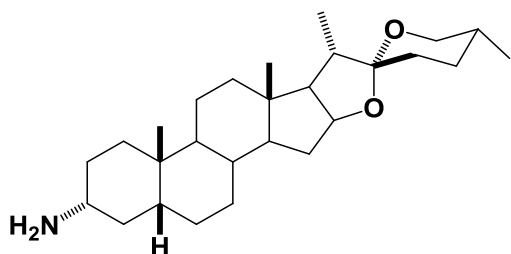


Rendimiento: 128 mg, 90%.

^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 0.71 (s, 3H, CH_3 -18), 0.72 (d, $J_{27,25} = 5.5$ Hz, 3H, CH_3 -27), 0.89 (s, 3H, CH_3 -19), 0.93 (d, $J_{27,25} = 6.9$ Hz, 3H, CH_3 -21), 1.91 (m, 1H, H-20), 3.12 (sa, 1H, H-3), 3.30 (dd, $J_{\text{gem}} = J_{26\text{ax}-25} = 10.8$ Hz, 1H, H-26ax), 3.42 (ddd, $J_{\text{gem}} = 10.8$ Hz, $J_{26\text{ec}-25} = 4.6$ Hz, $J_{26\text{ec}-24} = 4.1$ Hz, 1H, H-26ec), 4.40 (m, 1H, H-16).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 125.7 MHz) δ : 11.5 (C-19), 14.4 (C-21), 16.5 (C-18), 17.1 (C-27), 20.6 (C-11), 25.6 (C-6), 28.2 (C-7), 28.8 (C-24), 30.3 (C-25), 30.3 (C-25), 31.4 (C-23), 31.7 (C-15), 32.0 (C-2), 32.6 (C-1), 32.8 (C-4), 35.1 (C-8), 35.9 (C-10), 40.0 (C-12), 40.2 (C-5), 40.5 (C-13), 41.6 (C-20), 46.2 (C-3), 54.1 (C-9), 56.3 (C-14), 62.1 (C-17), 66.8 (C-26), 80.7 (C-16), 109.2 (C-22).

5.25.4. (25R)-3 α -Amino-5 β -espirostanos (64)

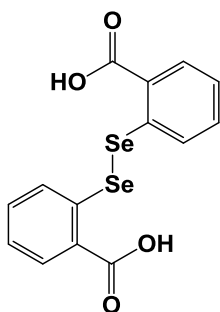


Rendimiento: 128 mg, 90%.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 0.77 (s, 3H, CH_3 -18), 0.79 (d, $J_{27,25} = 6.3$ Hz, 3H, CH_3 -27), 0.97 (d, $J_{27,25} = 7.0$ Hz, 3H, CH_3 -21), 0.98 (s, 3H, CH_3 -19), 1.77 (m, 1H, H-17), 1.87 (m, 1H, H-20), 3.25 (sa, 1H, H-3), 3.53 (dd, $J_{\text{gem}} = J_{26\text{ax}-25} = 10.9$ Hz, 1H, H-26ax), 3.48 (ddd, $J_{\text{gem}} = 10.8$ Hz, $J_{26\text{ec}-25} = 5.9$ Hz, $J_{26\text{ec}-24} = 4.1$ Hz, 1H, H-26ec), 4.40 (m, 1H, H-16).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 125.7 MHz) δ : 14.5 (C-21), 16.5 (C-18), 17.1 (C-27), 20.8 (C-11), 24.0 (C-19), 26.6 (C-2), 26.8 (C-6), 28.1 (C-7), 28.8 (C-24), 29.9 (C-25), 30.3 (C-23), 31.4 (C-1), 31.8 (C-15), 33.8 (C-4), 35.3 (C-8), 35.5 (C-10), 36.4 (C-5), 39.8 (C-9), 40.3 (C-12), 40.7 (C-13), 41.6 (C-20), 46.2 (C-3), 56.5 (C-14), 62.3 (C-17), 66.8 (C-26), 80.9 (C-16), 109.2 (C-22).

5.26. Ácido 2,2'-diselenobisbenzoico (67)



Solución 1: A una suspensión de selenio negro (2.0 g, 25.30 mmol) y NaOH (1.0 g, 25.00 mmol) en 25 mL de H_2O en un matraz de dos bocas se añade a 0°C y gota a gota una disolución de NaBH_4 (0.12 g, 3.17 mmol) y NaOH (166.0 mg, 4.15 mmol) en H_2O (10 mL). Una vez finalizada la adición se retira el baño de hielo y se deja reaccionar durante 1h; posteriormente se calienta a reflujo durante 30 min para la formación del Na_2Se_2 .

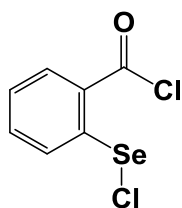
Solución 2: Se prepara una disolución de ácido antranílico (65) (1.71 g, 12.66 mmol) en HCl 37% (2.4 mL) y H_2O (14 mL). A esta disolución se le añade gota a gota a 0°C una disolución de NaNO_2 (912.0 mg, 13.22 mmol) en H_2O (12 mL), que se mantiene en el baño de hielo para formar la sal de diazonio 66.

Solución 3: Cuando se ha formado el Na_2Se_2 se deja enfriar y se le añade gota a gota la sal de diazonio sobre el crudo de la solución 2. La mezcla de reacción se mantiene con agitación bajo atmósfera inerte, oscuridad a t.a durante 30 min.

Por último, se lleva a ebullición; una vez alcanzada la temperatura se deja enfriar y se filtra sobre celita. Al filtrado se le adiciona HCl 10% hasta pH ácido. El precipitado de color amarillo se filtra y, posteriormente, se le añade MeOH (20 mL) y se mantiene a ebullición durante 5-10 minutos; finalmente se filtra en caliente para eliminar el sólido en suspensión y el filtrado se concentra a sequedad, obteniéndose **67**, que se usa directamente para la siguiente reacción sin ninguna purificación adicional.⁷⁷

Rendimiento: 1.2 g, 47%. Los datos espectroscópicos coinciden con los de la bibliografía.

5.27. Cloruro de 2-cloroselenobenzoilo (**68**)



A una disolución del Ácido 2,2'-diselenobisbenzoico **67** (100 mg, 0.25 mmol) se añade SOCl_2 (1.6 mL, 20.2 mmol) y DMF anhidro (49 μL , 0.65 mmol) se calienta a reflujo bajo atmósfera inerte y oscuridad durante 2 horas. A continuación el crudo de reacción se concentra a sequedad, obteniéndose **868** como un sirupo marrón. Los datos espectroscópicos fueron comparados con los reportados en la literatura⁷⁸.

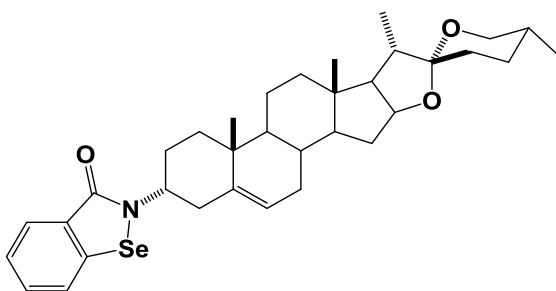
⁷⁷ Nascimento, V.; Ferreira, N. L.; Canto, R. F. S.; Schott, K. L.; Waczuk, E. P.; Sancineto, L.; Santi, C.; Rocha, J. B. T.; Braga, A. L. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *87*, 131-139.

⁷⁸ J. Mlochowski, K. Kloc, L. Syphen, A.D. Inglot, E. Piasecki, *Liebigs Ann. Chem.* (1993) 1239-1244.

5.28. Método general para la síntesis de (25R)-3-(3'-Oxobenzod[1,2]selenazol-2'(3H)-il)espirostanos

A una disolución de la amina **59** (92 mg, 0.22 mmol), **62** (100 mg, 0.23 mmol), **63** (61 mg, 0.15 mmol) o **64** (40 mg, 0.096 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (7 mL) se añade el compuesto **68** (88 mg, 0.35 mmol) para **60**, (72 mg, 0.28 mmol) para **69** y **70** o (90 mg, 0.35 mmol) para **71** (38 mg, 0.15 mmol); disuelto en CH₂Cl₂ anhidro (1 mL) y Et₃N (97 µL, 0.69 mmol) para **60**, (60 µL, 0.41 mmol) para **69**, (64 µL, 0.44 mmol) para **70** y (42 µL, 0.29 mmol) para **71**. La mezcla de reacción se mantiene en agitación bajo atmósfera inerte y a t.a. durante 2 horas. Transcurrido ese tiempo, el crudo de reacción se diluye con CH₂Cl₂ y se lava con H₂O destilada (3 x 10 mL). La fase orgánica se seca sobre MgSO₄ anhidro y se concentra a sequedad. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (hexano-AcOEt 8:2) para dar **60**, **69**, **70** y de (hexano-AcOEt 85:15) para **71** para dar en todos los casos un sólido amarillo.

5.28.1. (25R)-3α-(3'-Oxobenzod[1,2]selenazol-2'(3H)-il)espirost-5-eno (**60**)



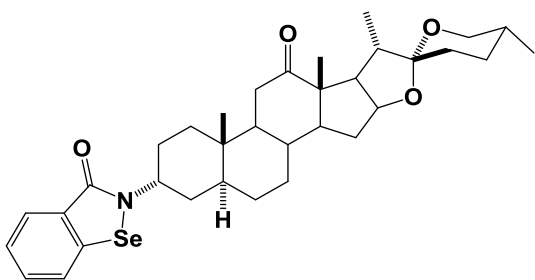
Rendimiento: 42mg, 32 %; $[\alpha]_D^{26}$ -92 (*c* 0.25, CH₂Cl₂).

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 0.81 (d, $J_{27,25}$ = 6.3 Hz, 3H, CH₃-27), 0.83 (s, 3H, CH₃-18), 0.99 (d, $J_{21,20}$ = 6.9 Hz, 3H, CH₃-21), 1.11 (s, 3H, CH₃-19), 2.36 (m, 1H, H-4b), 2.88 (m, 1H, H-4a), 3.40 (dd, $J_{gem} = J_{26ax-25} = 10.9$ Hz, 1H, H-26ax), 3.50 (ddd, $J_{gem} = 10.9$ Hz, $J_{26ec-25} = 4.2$ Hz, $J_{26ec-24} = 3.7$ Hz, 1H, H-26ec), 4.45 (m, 1H, H-16), 4.95 (sa, 1H, H-3), 5.77 (d, $J_{6,7ec} = 4.8$ Hz, 1H, H-6), 7.40 (dd, $J_{3'',2''} = 8.2$ Hz, $J_{3'',4''} = 7.8$ Hz, 1H, H-3''), 7.56 (dd, $J_{2'',1''} = 7.8$ Hz, $J_{2'',3''} = 8.2$ Hz, 1H, H-2''), 7.62 (d, $J_{4'',3''} = 7.8$ Hz, 1H, H-4''), 8.1 (d, $J_{1'',2''} = 7.8$ Hz, 1H, H-1'').

^{13}C NMR (CDCl_3 , 125.7 MHz) 14.5 (C-21), 16.3 (C-18), 17.2 (C-27), 19.3 (C-19), 20.4 (C-11), 26.9 (C-2), 28.8 (C-24), 30.4 (C-25), 31.3 (C-23), 31.5 (C-8), 31.8 (C-15), 32.8 (C-7), 33.2 (C-1), 36.8 (C-4), 37.4 (C-10), 39.7 (C-12), 40.4 (C-13), 41.6 (C-20), 50.1 (C-9), 51.4 (C-3), 56.5 (C-14), 62.1 (C-17), 66.9 (C-26), 80.3 (C-16), 109.5 (C-22), 123.2 (C-4''), 125.8 (C-3''), 127.1 (C-6), 128.2 (C-5'), 130.0 (C-1''), 131.5 (C-2''), 138.9 (C-5), 139.9 (C-4'), 167.5 (C=O).

HRESIMS (m/z): calculado para $\text{C}_{34}\text{H}_{45}\text{O}_3\text{NNaSe}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 618.2457, encontrado 618.2442.

5.28.2. (25R)-3 α -(3'-Oxobenzo[d][1,2]selenazol-2'(3H)-il)-5 α -espirost-12-ona (69)



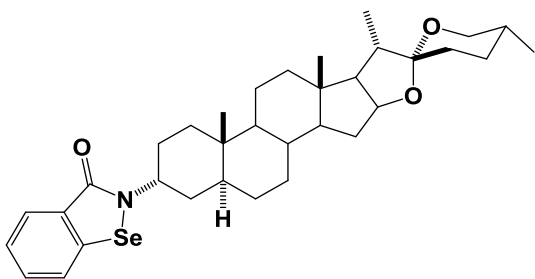
Rendimiento: 40 mg, 29%; $[\alpha]_D^{26} +37$ (c 0.19, CH_2Cl_2).

^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 0.72 (d, $J_{27,25} = 6.3$ Hz, 3H, CH_3 -27), 0.87 (s, 3H, CH_3 -19), 0.99 (s, 3H, CH_3 -18), 1.00 (d, $J_{27,25} = 5.5$ Hz, 3H, CH_3 -21), 2.19 (m, 1H, H-11 β), 2.36 (m, 1H, H-11 α), 2.47 (m, 1H, H-20), 3.28 (dd, $J_{\text{gem}} = J_{26\text{ax}-25} = 10.9$ Hz, 1H, H-26ax), 3.42 (ddd, $J_{\text{gem}} = 10.9$ Hz, $J_{26\text{ec}-25} = 3.2$ Hz, $J_{26\text{ec}-24} = 3.1$ Hz, 1H, H-26ec), 3.81 (m, 1H, H-3), 4.27 (m, 1H, H-16), 4.82 (sa, 1H, H-3), 7.34 (dd, $J_{3'',2''} = 7.3$ Hz, $J_{3'',4''} = 7.4$ Hz, 1H, H-3''), 7.51 (dd, $J_{2'',1''} = 7.7$ Hz, $J_{2'',3''} = 7.3$ Hz, 1H, H-2''), 7.56 (d, $J_{4'',3''} = 7.4$ Hz, 1H, H-4''), 7.97 (d, $J_{1'',2''} = 7.7$ Hz, 1H, H-1'').

^{13}C NMR (CDCl_3 , 75.5 MHz) δ : 11.1 (C-19), 13.3 (C-21), 16.0 (C-18), 17.1 (C-27), 26.2 (C-2), 28.1 (C-6), 28.8 (C-24), 29.7 (C-25), 30.2 (C-23), 31.1 (C-15), 31.4 (C-7), 33.2 (C-4), 34.3 (C-8), 34.4 (C-1), 36.3 (C-10), 37.4 (C-11), 40.9 (C-5), 42.2 (C-20), 50.2 (C-3), 53.5 (C-14), 55.1 (C-13), 55.9 (C-9 y C-17), 66.9 (C-26), 79.2 (C-16), 109.3 (C-22), 123.5 (C-4''), 126.2 (C-3''), 127.3 (C-5'), 128.3 (C-1''), 131.8 (C-2''), 138.0 (C-4'), 167.4 (C=O), 213.4 (C-12).

HRESIMS (m/z): calculado para $C_{34}H_{45}O_4NNaSe$ $[M+Na]^+$: 634.2406, encontrado 634.2380.

5.28.3. (25R)-3 α -(3'-Oxobenzo[d][1,2]selenazol-2'(3H)-il)-5 α -espiroetano (70)



Rendimiento: 20 mg.

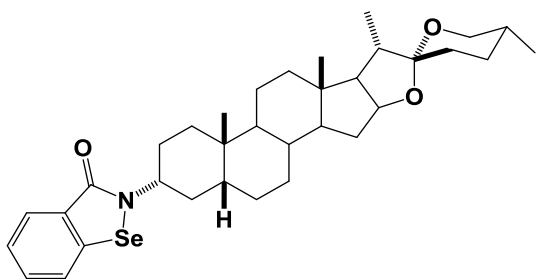
1H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ : 0.81 (s, 3H, CH_3 -18), 0.89 (d, $J_{27,25} = 4.3$ Hz, 3H, CH_3 -27), 0.91 (s, 3H, CH_3 -19), 1.00 (d, $J_{27,25} = 6.9$ Hz, 3H, CH_3 -21), 1.79 (m, 1H, H-20), 3.40 (dd, $J_{gem} = J_{26ax-25} = 10.9$

Hz, 1H, H-26ax), 3.49 (ddd, $J_{gem} = 10.9$ Hz, $J_{26ec-25} = 5.3$ Hz, $J_{26ec-24} = 4.2$ Hz, 1H, H-26ec), 4.42 (m, 1H, H-16), 4.93 (sa, 1H, H-3), 7.44 (dd, $J_{3'',2''} = 7.2$ Hz, $J_{3'',4''} = 7.5$ Hz, 1H, H-3''), 7.59 (dd, $J_{2'',1''} = 7.8$ Hz, $J_{2'',3''} = 7.2$ Hz, 1H, H-2''), 7.63 (d, $J_{4'',3''} = 7.5$ Hz, 1H, H-4''), 8.1 (d, $J_{1'',2''} = 7.8$ Hz, 1H, H-1'').

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125.7 MHz) δ : 11.5 (C-19), 14.5 (C-21), 16.5 (C-18), 17.1 (C-27), 20.6 (C-11), 26.9 (C-6), 29.4 (C-7), 29.7 (C-24), 30.2 (C-25), 31.4 (C-25), 31.4 (C-23), 31.7 (C-15), 31.9 (C-2), 33.4 (C-1), 34.7 (C-4), 35.1 (C-8), 35.9 (C-10), 40.0 (C-12), 40.5 (C-5), 41.4 (C-13), 41.6 (C-20), 50.4 (C-3), 54.9 (C-9), 56.4 (C-14), 62.2 (C-17), 66.9 (C-26), 80.8 (C-16), 109.3 (C-22), 123.3 (C-4''), 126.1 (C-3''), 127.5 (C-5'), 128.4 (C-1''), 131.7 (C-2''), 138.1 (C-4'), 167.3 (C=O).

HRESIMS (m/z): calculado para $C_{34}H_{48}O_3NSe$ $[M+H]^+$: 598.2794, encontrado 598.2780.

5.28.4. (25R)-3 α -(3'-Oxobenzod[1,2]selenazol-2'(3H)-il)-5 β -espiroetano (71)



Rendimiento: 33 mg, 58%; $[\alpha]_D^{26}$ -49 (c 0.20, CH₂Cl₂).

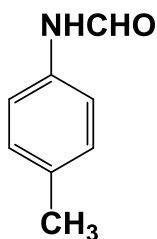
¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 0.79 (s, 3H, CH₃-18), 0.81 (d, $J_{27,25}$ = 6.4 Hz, 3H, CH₃-27), 0.99 (d, $J_{27,25}$ = 6.9 Hz, 3H, CH₃-21), 1.07 (s, 3H, CH₃-19), 1.67 (m, 1H, H-4b), 2.32 (m, 1H, H-4a), 3.39 (dd, J_{gem} = $J_{26ax-25}$ = 10.9 Hz, 1H, H-26ax), 3.49 (ddd, J_{gem} = 10.9 Hz, $J_{26ec-25}$ = 8.3 Hz, $J_{26ec-24}$ = 4.2 Hz, 1H, H-26ec), 4.43 (m, 1H, H-16), 4.96 (sa, 1H, H-3), 7.42 (dd, $J_{3'',2''}$ = 6.9 Hz, $J_{3'',4''}$ = 7.9 Hz, 1H, H-3''), 7.58 (dd, $J_{2'',1''}$ = 7.6 Hz, $J_{2'',3''}$ = 6.9 Hz, 1H, H-2''), 7.63 (d, $J_{4'',3''}$ = 7.9 Hz, 1H, H-4''), 8.1 (d, $J_{1'',2''}$ = 7.6 Hz, 1H, H-1'').

¹³C NMR (CDCl₃, 125.7 MHz) δ : 14.5 (C-21), 16.4 (C-18), 17.1 (C-27), 20.8 (C-11), 24.0 (C-19), 25.2 (C-2), 26.4 (C-6), 26.5 (C-7), 28.8 (C-24), 29.7 (C-25), 30.3 (C-23), 31.4 (C-1), 31.8 (C-15), 32.4 (C-4), 34.9 (C-8), 35.2 (C-10), 38.5 (C-5), 40.2 (C-12), 40.6 (C-9), 40.7 (C-13), 41.6 (C-20), 51.2 (C-3), 56.3 (C-14), 62.3 (C-17), 66.9 (C-26), 80.9 (C-16), 109.2 (C-22), 123.4 (C-4''), 126.1 (C-3''), 127.5 (C-5'), 128.6 (C-1''), 131.7 (C-2''), 138.3 (C-4'), 167.4 (C=O).

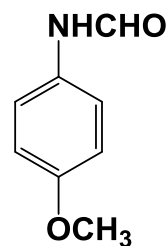
HRESIMS (m/z): calculado para C₃₄H₄₇O₃NNaSe [M+Na]⁺: 620.2613, encontrado 620.2598.

5.29. Método general para la síntesis de las formamidas 77-79

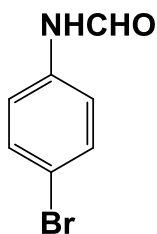
Las formamidas se han sintetizado siguiendo el método descrito López, *et al.*⁷⁹ Una disolución de la amina correspondiente (2.79 mmol) en formiato de etilo (4.0 mL) y AcOH (0.5 mL, 8.74 mmol) se mantiene a reflujo por 5 horas o toda la noche en el último caso. A continuación, se concentra a sequedad y el sólido resultante se utiliza sin ninguna purificación adicional.

***N*-(*p*-Metilfenil)formamida (77)**

Rendimiento: 371 mg, 98%.

***N*-(*p*-Metoxifenil)formamida (78)**

Rendimiento: 415 mg, 98%.

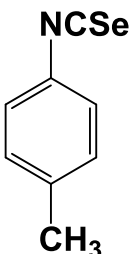
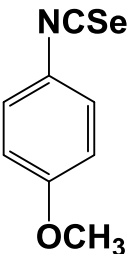
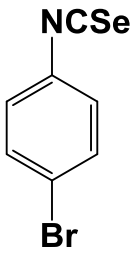
***N*-(*p*-Bromofenil)formamida (79)**

Rendimiento: 550 mg, 98%.

⁷⁹ López, O.; Maza, S.; Ulgar, V.; Maya, I.; Fernández-Bolaños, J.G. *Tetrahedron*, **2009**, 65, 2556-2566.

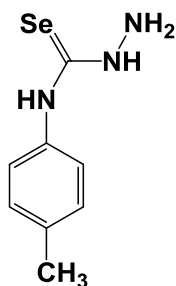
5.30. Método general para la síntesis de los isoselenocianatos.

La síntesis de los isoselenocianatos se basa en la metodología descrita por López *et al.*⁸² A una disolución de la formamida correspondiente: y Et₃N (5.5 mmol) con tamiz molecular de 4 Å en CH₂Cl₂ anhidro (10.0 mL) se añade gota a gota una solución de trifosgeno (0.69 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (5.0 mL) bajo atmósfera de argón durante 30 minutos. Finalizada la adición, la mezcla se calienta a reflujo en la oscuridad, se añade Se negro (5.2 mmol) durante el tiempo indicado en cada caso. A continuación se filtra sobre celita, el filtrado se concentra a sequedad y el residuo se purifica mediante cromatografía en columna.

Isoselenocianato de <i>p</i> -tolilo (80)	Isoselenocianato de <i>p</i> -metoxifenilo (81)	Isoselenocianato de <i>p</i> -bromofenilo (82)
		
<i>N</i> -(<i>p</i> -tolil)formamida (200 mg), el reflujo transcurre durante 4 h. Rendimiento: 270 mg, 93%.	<i>N</i> -(<i>p</i> -metoxi)formamida (223 mg), el reflujo transcurre durante 3 h. Rendimiento: 265 mg, 85%.	<i>N</i> -(<i>p</i> -bromo)formamida (350 mg), el reflujo transcurre durante toda la noche. Rendimiento: 400 mg, 87%.

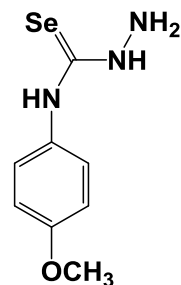
5.31. Método general para la síntesis de las selenosemicarbazidas

A una disolución del isoselenocianato correspondiente (0.76 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (5.0 mL) tapada para estar con oscuridad y a temperatura ambiente el tiempo necesario. Transcurrido ese tiempo, se concentra a sequedad y el sólido resultante se utiliza sin ninguna purificación adicional.



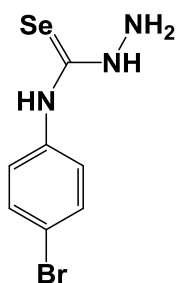
N-(*p*-tolil)selenosemicarbazida (83)

Rendimiento: 170 mg, 97%.



N-(*p*-metoxifenil)selenosemicarbazida
(84)

Rendimiento: 180 mg, 96%.



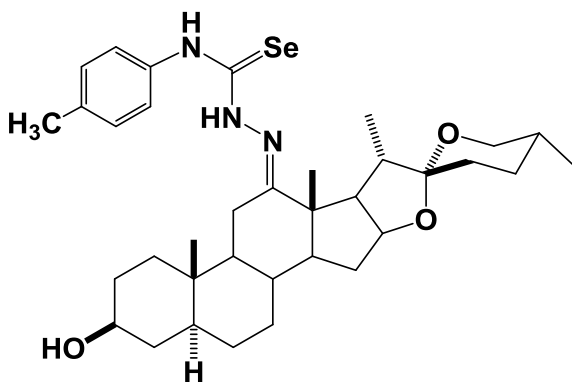
N-(*p*-bromofenil)selenosemicarbazida (85)

La reacción transcurre durante 3 h.

5.32. Método general para la síntesis de las selenosemicarbazonas

A una disolución de hecogenina **30** (100 mg, 0.23 mmol), **72** (100 mg, 0.241 mmol), en EtOH (22 mL) se añade gota a gota ácido acético glacial hasta alcanzar un pH 5 y después la selenosemicarbazida correspondiente. La mezcla se mantiene en agitación a 70 °C bajo atmósfera inerte y en la oscuridad durante toda la noche. A continuación se concentra a sequedad y el residuo se purifica mediante cromatografía en columna de sílica fina (CH₂Cl₂-MeOH 75:1) para dar en todos los casos un sólido amarillo.

5.32.1 1-(5 α -Espirosan-3 β -hidroxi-12''-ilideno)-4-(4''-metilfenil)-3-selenosemicarbazona (73)



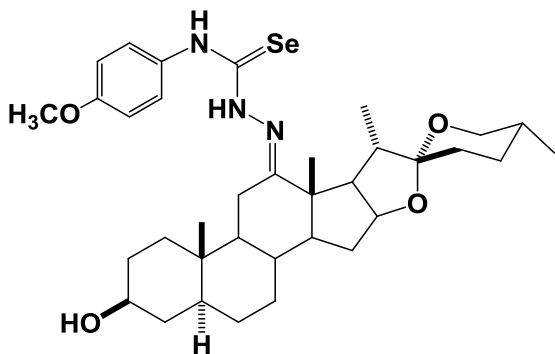
Rendimiento: 27 mg, 18%; $[\alpha]_D^{27} +13$ (c, 0.21, CH₂Cl₂).

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 0.80 (d, $J_{27,25} = 6.3$ Hz, 3H, CH₃-27), 0.93 (s, 3H, CH₃-19), 1.02 (s, 3H, CH₃-18), 1.15 (d, $J_{27,25} = 6.9$ Hz, 3H, CH₃-21), 1.86 (m, 1H, H-20), 2.35 (s, 3H, CH₃-Ar), 2.68 (m, 1H, H-17), 3.37 (dd, $J_{gem} = J_{26ax-25} = 11.06$ Hz, 1H, H-26ax), 3.48 (ddd, $J_{gem} = 11.06$ Hz, $J_{26ec-25} = 3.1$ Hz, $J_{26ec-24} = 1.8$ Hz, 1H, H-26ec), 3.62 (m, 1H, H-3), 4.41 (m, 1H, H-16), 7.18 (d, $J = 8.09$ Hz, 2H, H-3'' y H-5''), 7.48 (d, $J = 8.09$ Hz, 2H, H-2'' y H-6''), 9.10 (sa, 1H, NHCSe), 9.48 (sa, 1H, NHPh).

¹³C NMR (CDCl₃, 125.7 MHz) δ : 12.1 (C-19), 14.6 (C-21), 17.1 (C-27), 17.6 (C-18), 21.1 (CH₃Ph), 23.3 (C-2), 28.2 (C-6), 28.7 (C-24), 30.2 (C-25), 31.1 (C-23), 31.2 (C-15), 31.7 (C-7), 31.6 (C-4), 34.6 (C-8), 36.2 (C-10), 36.9 (C-1), 37.8 (C-11), 42.1 (C-20), 44.7 (C-5), 49.4 (C-13), 54.2 (C-9), 55.5 (C-17), 56.1 (C-14), 66.9 (C-26), 70.8 (C-3), 79.6 (C-16), 109.4 (C-22), 124.8 (C-2'' y C-6''), 129.3 (C-3'' y C-5''), 135.8 (C-1''), 136.4 (C-4''), 161.4 (C-12), 175.2 (C=Se).

HRESIMS (m/z): calculado para C₃₅H₅₂N₃O₃Se [M+H]⁺: 642.3168, encontrado 642.152.

5.32.2 1-(5' α -Espirosan-3 β -hidroxi-12''-ilideno)-4-(4''-metoxifenil)-3-selenosemicarbazona (74)



Rendimiento: 88 mg, 58%; $[\alpha]_D^{25} +1$ (*c*, 0.17, CH₂Cl₂).

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 0.81 (d, $J_{27,25} = 6.4$ Hz, 3H, CH₃-27), 0.95 (s, 3H, CH₃-19), 1.03 (s, 3H, CH₃-18), 1.15 (d, $J_{27,25} = 6.9$ Hz, 3H, CH₃-21), 1.9 (m, 1H, H-20), 2.70 (m, 1H, H-17),

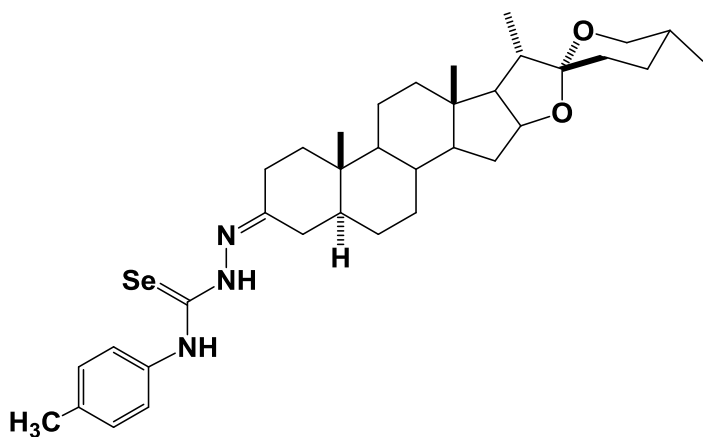
3.38 (dd, $J_{gem} = J_{26ax-25} = 11.06$ Hz, 1H, H-26ax), 3.49 (ddd, $J_{gem} = 11.06$ Hz, $J_{26ec-25} = 5.6$ Hz, $J_{26ec-24} = 3.9$ Hz, 1H, H-26ec), 3.64 (m, 1H, H-3), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 4.42 (m, 1H, H-16), 6.92 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, H-3'' y H-5''), 7.49 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, H-2'' y H-6''), 8.91 (sa, 1H, NHCSel), 9.42 (sa, 1H, NHPh).

¹³C NMR (CDCl₃, 125.7 MHz) δ : 12.0 (C-19), 14.5 (C-21), 17.1 (C-27), 17.6 (C-18), 28.3 (C-2), 28.7 (C-6), 29.7 (C-24), 30.2 (C-25), 31.1 (C-23), 31.2 (C-15), 31.2 (C-7), 31.6 (C-4), 34.6 (C-8), 36.2 (C-10), 36.9 (C-1), 37.8 (C-11), 42.1 (C-20), 44.7 (C-5), 49.4 (C-13), 53.3 (C-9), 54.2 (C-14), 55.5 (C-17 y OCH₃Ph), 67.0 (C-26), 70.9 (C-3), 79.6 (C-16), 109.3 (C-22), 113.9 (C-2'' y C-6''), 126.2 (C-3'' y C-5''), 131.3 (C-1''), 158.2 (C-4''), 161.5 (C-12), 175.5 (C=Se).

HRESIMS (*m/z*): calculado para C₃₅H₅₂N₃O₄Se [M+H]⁺: 658.3118, encontrado 658.3094.

5.32.3 1-(5 α -Espirosan-3''-ilideno)-4-(4''-metilfenil)-3-selenosemicarbazona

(75)



Rendimiento: 45 mg, 30%; $[\alpha]_D^{25}$ -36
(c, 0.35, CH₂Cl₂).

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 0.79
(d, $J_{27,25}$ = 8.5 Hz, 3H, CH₃-27), 0.79
(s, 3H, CH₃-18), 0.94 (s, 3H, CH₃-19),
0.96 (d, $J_{27,25}$ = 11.5 Hz, 3H, CH₃-21),
1.11 (m, 1H, H-14), 1.8 (m, 1H, H-

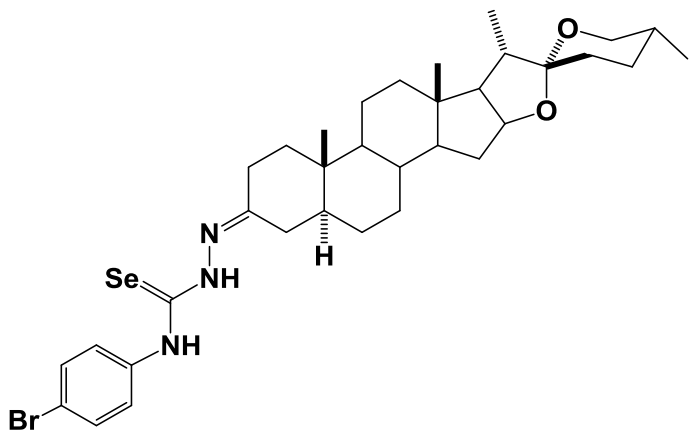
17), 1.9 (m, 1H, H-20), 2.23(s, 3H, CH₃Ar), 3.36 (dd, J_{gem} = 19.0 Hz, $J_{26ax-25}$ = 17.0 Hz, 1H,
H-26ax), 3.47 (ddd, J_{gem} = 19.0 Hz, $J_{26ec-25}$ = 6.7 Hz, $J_{26ec-24}$ = 5.5 Hz, 1H, H-26ec), 4.39 (m,
1H, H-16), 7.18 (d, J = 13.6 Hz, 2H, H-3'' y H-5''), 7.47 (d, J = 13.6 Hz, 2H, H-2'' y H-6''),
8.98 (sa, 1H, NHCSe), 9.39 (sa, 1H, NHPh).

¹³C NMR (CDCl₃, 125.7 MHz) δ : 11.7 (C-19), 14.5 (C-21), 16.5 (C-18), 17.1 (C-27), 21.1
(C-11 y CH₃Ar), 28.8 (C-24), 29.7 (C-6), 30.3 (C-25), 31.4 (C-23), 31.7 (C-7), 31.8 (C-2),
34.9 (C-15), 36.3 (C-8), 37.5 (C-10), 37.7 (C-1), 38.4 (C-4), 39.9 (C-12), 40.5 (C-13), 41.6 (C-
20), 46.7 (C-5), 53.9 (C-9), 56.1 (C-14), 62.2 (C-17), 66.9 (C-26), 80.7 (C-16), 109.2 (C-22),
125.2 (C-2'' y C-6''), 129.3 (C-3'' y C-5''), 136.0 (C-1''), 136.5 (C-4''), 156.9 (C-3), 175.0
(C=Se).

HRESIMS (m/z): calculado para C₃₅H₅₂N₃O₂Se [M+H]⁺: 626.3219, encontrado 626.3203.

5.32.4 1'-(3-metilen-5 α -espirostan)-4'-(4''-bromofenil)-3'-selenosemicarbazona (76)

1-(4'-bromo)-4-[3''-(5 α -espirostan-3 β -il)]selenosemicarbazona



Rendimiento: 119 mg, 72%.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 0.72 (d, $J_{27,25} = 5.0$ Hz, 3H, CH_3 -27), 0.73 (s, 3H, CH_3 -18), 0.88 (s, 3H, CH_3 -19), 0.93 (d, $J_{27,25} = 11.5$ Hz, 3H, CH_3 -21), 1.11 (m, 1H, H-14), 1.8 (m, 1H, H-17), 1.9 (m, 1H, H-20), 3.29 (dd, $J_{\text{gem}} = J_{26\text{ax}-25} = 18.0$ Hz, 1H, H-26ax), 3.40 (ddd, $J_{\text{gem}} = 18.0$ Hz, $J_{26\text{ec}-25} = 6.3$ Hz, $J_{26\text{ec}-24} = 5.6$ Hz, 1H, H-26ec), 4.32 (m, 1H, H-16), 7.41 (d, $J = 14.5$ Hz, 2H, H-3'' y H-5''), 7.49 (d, $J = 14.5$ Hz, 2H, H-2'' y H-6''), 8.99 (sa, 1H, NHCSe), 9.39 (sa, 1H, NHPh).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 125.7 MHz) δ : 11.5 (C-19), 14.5 (C-21), 16.5 (C-18), 17.1 (C-27), 21.2 (C-11), 28.8 (C-24), 29.7 (C-6), 30.3 (C-25 y C-23), 31.4 (C-7), 31.8 (C-2), 31.9 (C-15), 35.0 (C-8), 35.7 (C-10), 38.1 (C-1), 38.5 (C-4), 40.0 (C-12), 40.6 (C-13), 41.6 (C-20), 46.6 (C-5), 53.8 (C-9), 56.1 (C-14), 62.2 (C-17), 66.8 (C-26), 80.8 (C-16), 109.2 (C-22), 119.7 (C-1''), 126.5 (C-2'' y C-6''), 131.7 (C-3'' y C-5''), 137.7 (C-4''), 157.6 (C-3), 175.0 (C=Se).

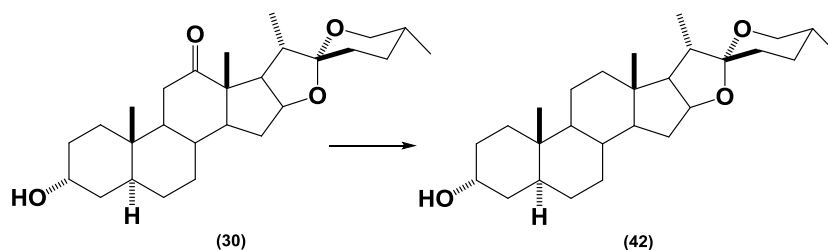
HRESIMS (m/z): calculado para $\text{C}_{34}\text{H}_{47}\text{N}_3\text{O}_2^{81}\text{BrSe}$ $[\text{M}-\text{H}]^+$: 690.1991, encontrado 690.1961.



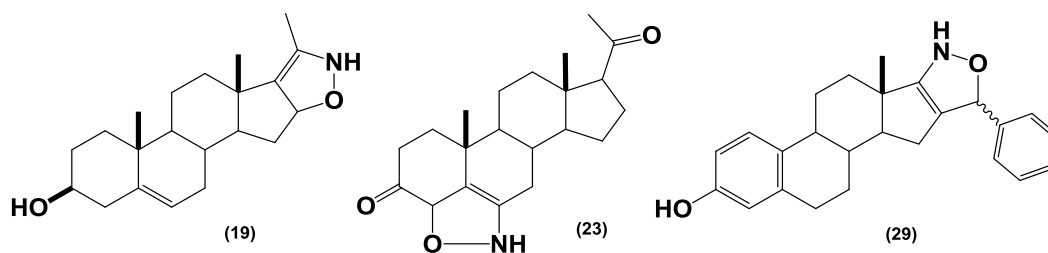
CAPITULO VIII
CONCLUSIONES



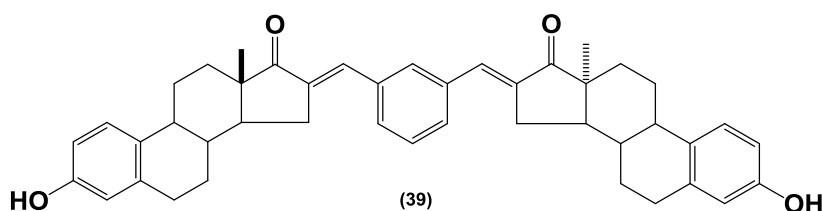
- Se desarrolló un método alternativo para obtener la tigogenina la cual es una materia prima importante en el desarrollo de este trabajo de tesis, a partir de hecogenina.

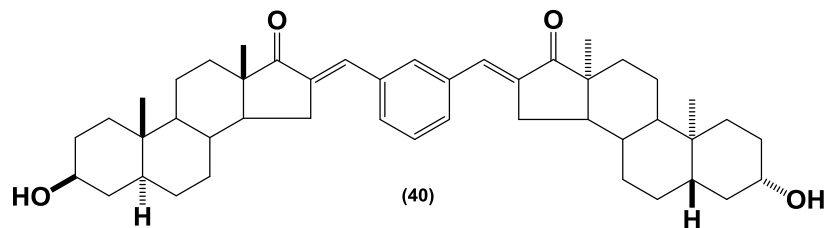


- Se sintetizaron diferentes oximas α,β -insaturadas esteroidales que sirvieron como intermediarios para la formación de nuevos heterociclos de isoxazolininas fusionadas sobre el o los anillos A-D del núcleo esteroidal.

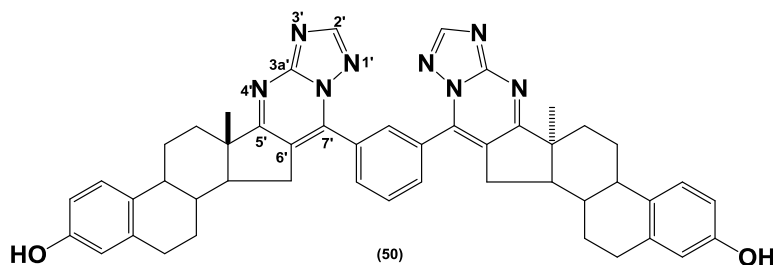
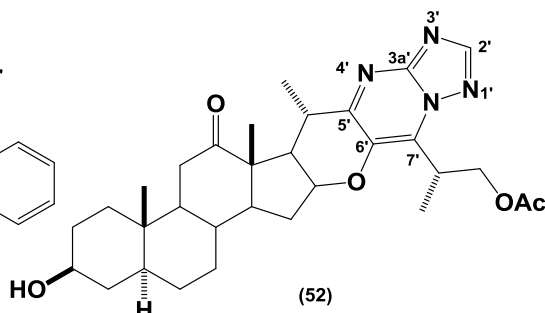
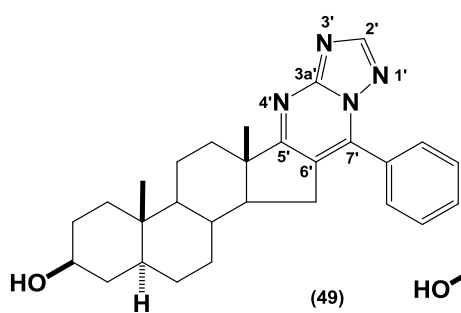
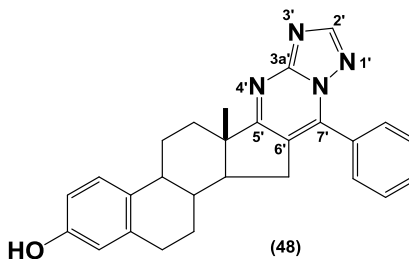
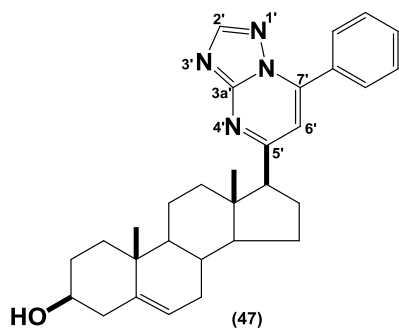


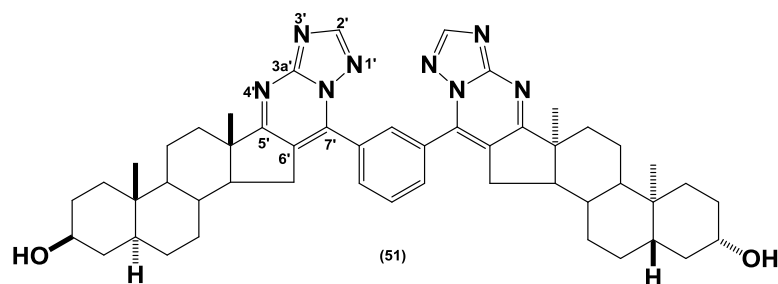
- Se prepararon diferentes cetonas α,β -insaturadas esteroidales, utilizando metodologías optimizadas para obtener mejores rendimientos y tiempos de reacción.
- Se sintetizaron nuevos dímeros derivados de estrona y *trans*-androsterona con excelentes rendimientos de 78% y 85% respectivamente.



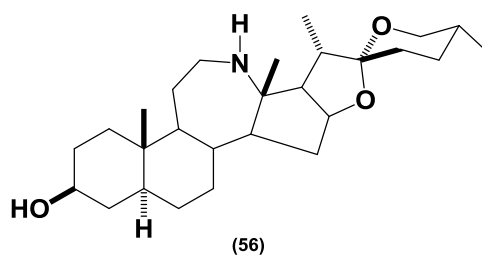


- Se obtuvieron nuevos derivados esteroideos monoméricos y diméricos 1,2,4-triazolo[1,5-a]pirimidinas a partir de diferentes carbonilos α,β -insaturados.

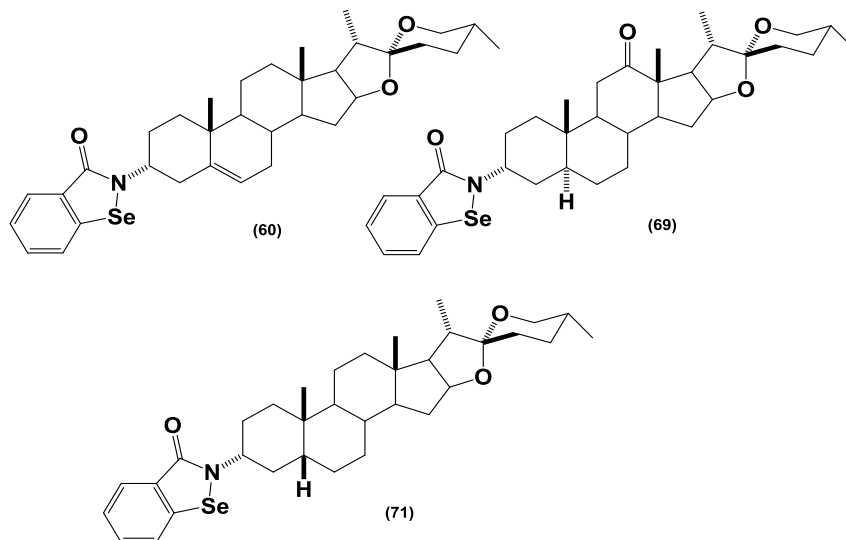




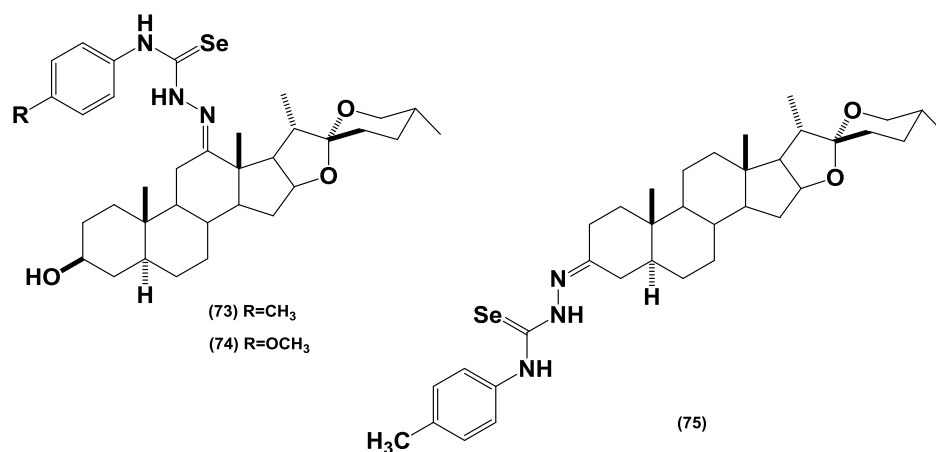
- Mediante una reducción de la lactama se obtuvo un derivado azaesteroidal a través de dos vías diferentes.



- A partir de diosgenina, hecogenina, tigogenina y esmilagenina, se logró sintetizar una familia de derivados selenoheterociclos esteroideos análogos al ebselen que contienen un grupo selenazil (**60**, **69** y **71**), la síntesis desarrollada es eficiente y selectiva, proporcionando nuevos y diferentes compuestos.



- Se logró efectuar la síntesis de una serie de novedosos compuestos de tipo selenosemicarbazonas esteroideas en la posición C-12 (**73** y **74**) y en C-3 (**75**) respectivamente.



- Referente a la actividad antiproliferativa los mejores resultados se obtuvieron con los compuestos **19** y **47** con valores menores de 10 μ M en todas las líneas celulares. El compuesto **49** se comportó como un potente agente antiproliferativo frente a líneas celulares de A549 (cáncer de pulmón), Hela (cáncer cérvicocouterino), T-47D (cáncer de mama) y WiDr (cáncer de colón) con GI₅₀ menores a 10 μ M. Pero el compuesto **48**, mostro una actividad moderada exhibiendo valores de GI₅₀ entre 27 y 44 μ M.