



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Síntesis de azaesteroides a partir del colesterol

Tesis que para obtener el título de
Químico

Presenta:

Jacinto Hernández Cruz

Asesores

Dra. Sara Montiel Smith

Dr. José Luis Vega Báez

Asesora técnica

M.C. Roxana Martínez Pascual

Septiembre 2016

Abreviaturas y siglas

$\bar{\nu}$	Número de onda en cm^{-1}
c	Concentración
CC	Cromatografía en columna
CCF	Cromatografía en capa fina
COSY	C orrelation S pectroscopy
DEPT	D istortionless E nhancement by P olarization T ransfer
HMBC	H eteronuclear M ultiple B ond C orrelation
HSQC	H eteronuclear S ingle Q uantum C orrelation
d	Señal doble en RMN
dd	Señal doble de doble en RMN
ddd	Señal doble de doble de doble en RMN
MHz	Megahertz
Hz	Hertz
m	Señal múltiple en RMN
s	Señal simple en RMN
sa	Señal simple ancha en RMN
t	Señal triple en RMN
t. a.	Temperatura ambiente
IR	Infrarrojo
J	Constante de acoplamiento
p. f.	Punto de fusión
ppm	Partes por millón
RMN de ^{13}C	R esonancia M agnética N uclear de ^{13}C

RMN de ^1H	R esonancia M agnética N uclear de ^1H
nm	nanómetros
TMS	Tetrametilsilano
δ	Desplazamiento químico en RMN

Índice

Resumen	5
Introducción.....	8
Antecedentes.....	10
Objetivos	13
Discusión y Resultados	14
Parte Experimental.....	56
Obtención del compuesto 3a.....	58
Obtención de compuesto 4a.....	59
Obtención de compuesto 5	61
Obtención de compuesto 7	62
Obtención de compuesto 9	63
Obtención de compuesto 2b.....	64
Obtención de compuesto 3b.....	65
Obtención de compuesto 4b.....	66
Obtención de compuesto 5b.....	68
Obtención de compuesto 7b.....	69
Obtención de compuesto 9	70
Conclusiones.....	72
Bibliografía.....	74

Resumen

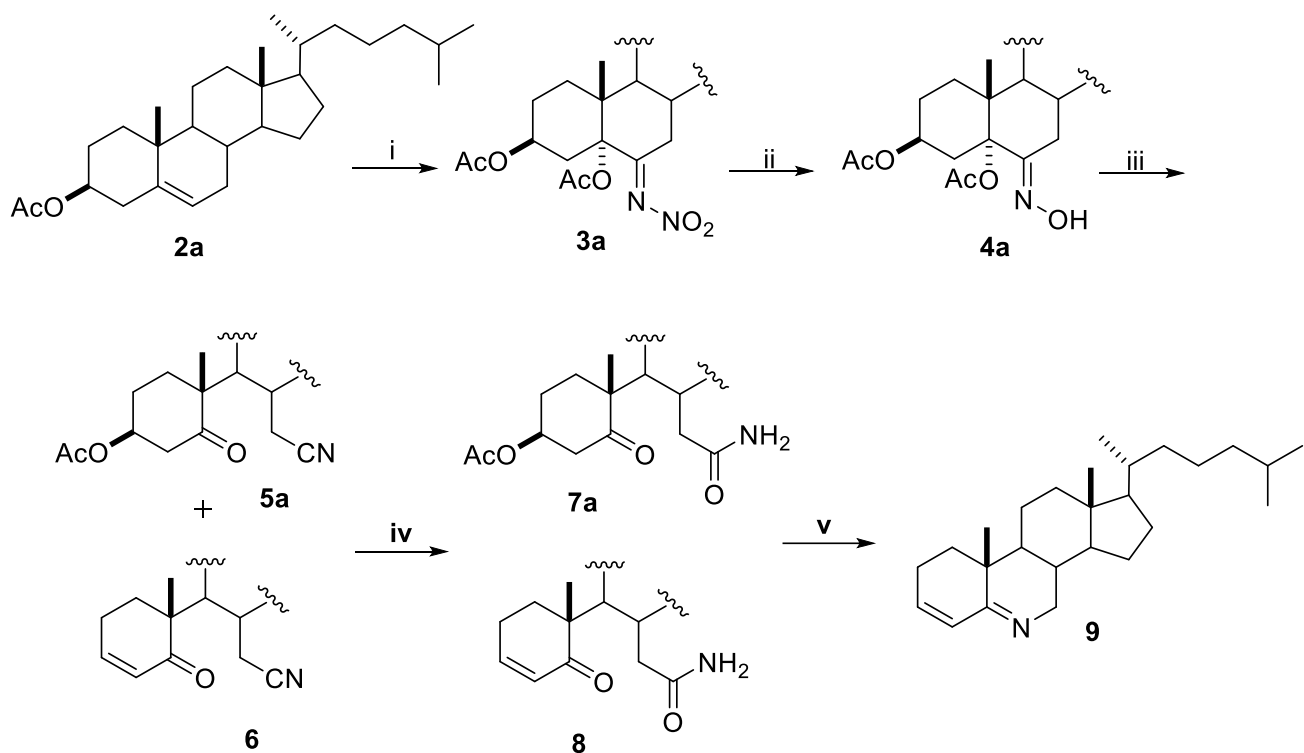
En el presente trabajo de tesis se describe una nueva metodología para la formación del 6-azacolesta-3,5-dieno. Para la introducción del nitrógeno, se utilizó como paso clave el rearreglo de Beckmann de un precursor tipo 5 α -acetoxi-6-hidroximino.

El intermediario 5 α -acetoxi-6-oxima se generó en dos pasos a partir del acetato de colesterilo (**2a**). Primero, a través de una reacción de nitrosación del alqueno se generó el derivado 5 α -acetoxi-6-nitroimino **3a**. Luego, el tratamiento con NH₂OH.HCl en etanol a reflujo de **3a** formó el intermediario deseado **4a**.

Un rearreglo de Beckmann de segundo orden de la oxima del C-6 con SOCl₂ permitió romper el anillo B hacia un derivado 3 β -acetoxi-5,6-seconitrilo como producto mayoritario (**5a**) y la cetona α,β -insaturada **6** como producto minoritario.

Formados los derivados 5,6-seconitrilo **5a** y **6**, se procedió a modificar la función nitrilo mediante una hidrólisis parcial hacia las amidas **7a** y **8**, utilizando acetaldoxima en tolueno a reflujo y el catalizador de Wilkinson [RhCl(PPh₃)₃].

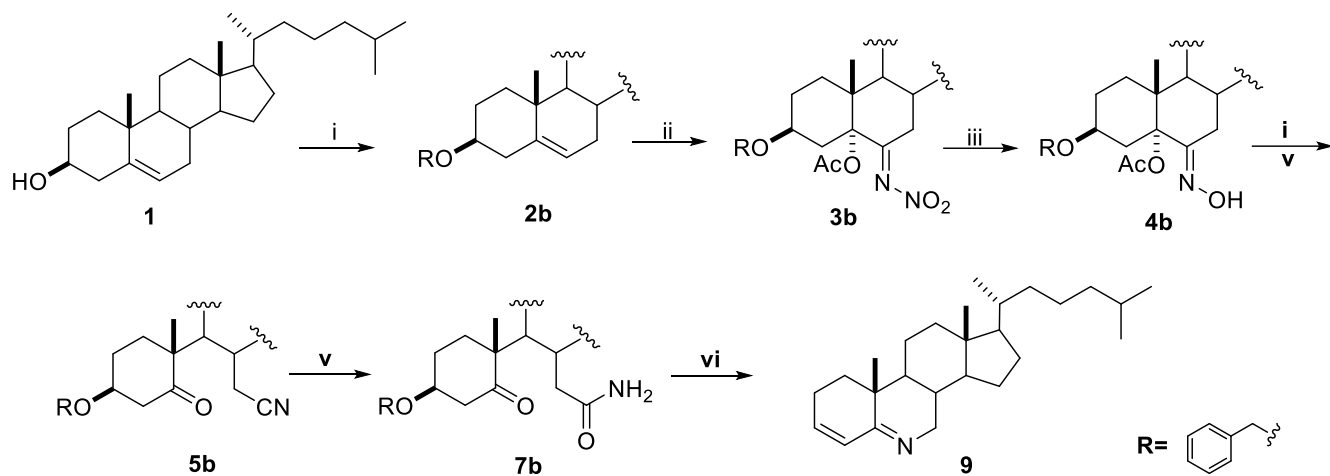
El último paso de la ruta se llevó a cabo un rearreglo de Hoffmann sobre las amidas **7a** y **8**, usando hidroxit(siloxi)iodobenceno en una mezcla 1:1 acetonitrilo-agua. Ambos derivados condujeron al mismo producto, dado que en el caso particular de **7a**, el grupo éster del C-3 se eliminó en las condiciones mencionadas (Esquema 1).



Condiciones: i) AcOH, $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, NaNO_2 ii) $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$, NaOAc, EtOH, reflujo iii) SOCl_2 , Dioxano iv) Acetaldoxima, cat. de Wilkinson, tolueno, reflujo v) $\text{PhI}(\text{OH})\text{OTs}$, $\text{CH}_3\text{CN}-\text{H}_2\text{O}$, reflujo

Esquema 1. Ruta sintética para obtener un 6-azaesteroide

De manera análoga se planteó probar la misma ruta a partir del colester-3 β -il benzil éter **2b**, con el fin de conservar la función hidroxilada en el producto final, sin embargo, al realizar la reacción hacia el 6-azaesteroide con $\text{PhI}(\text{OH})\text{OTs}$ el grupo protector es también eliminado conduciendo nuevamente al derivado 6-azaesteroide **9** (Esquema 2).



Condiciones: i) NaH, BnBr, DMF ii) AcOH, $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, NaNO_2 iii) $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$, NaOAc, EtOH, reflujo iv) SOCl_2 , Dioxano
 v) acetaldoxima, cat. de Wilkinson, tolueno, reflujo vi) $\text{PhI}(\text{OH})\text{OTs}$, $\text{CH}_3\text{CN} \cdot \text{H}_2\text{O}$, reflujo

Esquema 2. Ruta sintética para obtener 6-azaesteroides

Introducción

Los esteroides son una familia de metabolitos secundarios muy importante no sólo por la actividad biológica que desempeñan en los seres vivos que los biosintetizan, sino que al ser administrados a otros seres vivos pueden causar efectos fisiológicos extraordinarios, pues tienen la habilidad de entrar a las membranas celulares y asociarse con diversos receptores. Muchos compuestos esteroidales naturales o semisintéticos son utilizados como agentes terapéuticos y la investigación científica sobre estas moléculas es un tema de actualidad en química medicinal ya que se continúan aislando moléculas bioactivas y se han sintetizado un sinnúmero de análogos en la búsqueda de nuevos fármacos.

En el grupo de esteroides modificados hay una clase de compuestos denominados azaesteroides que se caracterizan por contener un nitrógeno dentro del sistema de anillos o en la cadena esteroidal. Los azaesteroides han mostrado una diversa actividad biológica, por ejemplo, como inhibidores de la enzima 5α -reductasa² y de la PI-PLC actividad antiinflamatoria^{3,4}, antiparasitaria^{5,6}, antifúngica^{7,8} y como agentes citotóxicos⁹.

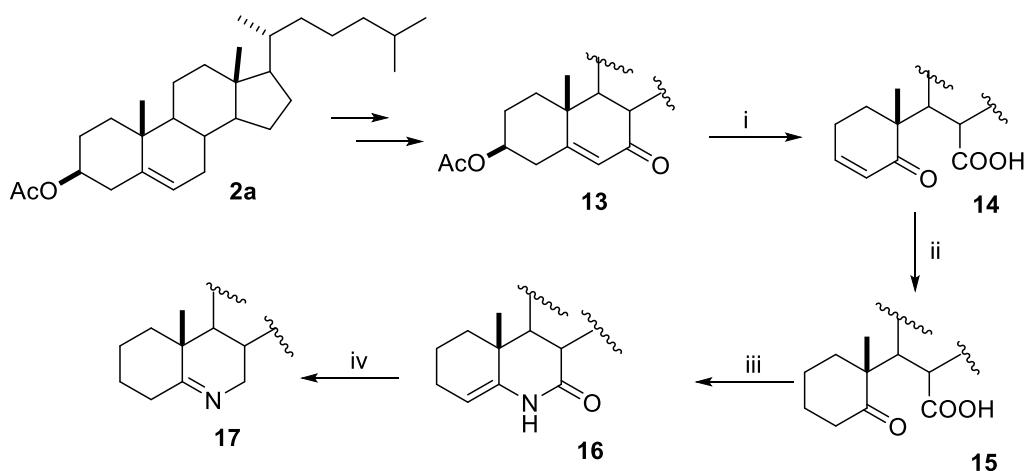
En la búsqueda de nuevas moléculas conteniendo nitrógeno se han sintetizado una variedad de aza-homosteroides que han mostrado actividad citotóxica,^{10,11} antibacteriana¹² y antiandrogénica.¹³ Estos estudios además han concluido que cuando existe la presencia del grupo NHCO en la molécula se observa una importante disminución en la toxicidad y aumento en la actividad anticancerígena. Huang *et al* sintetizaron una variedad de lactamas 3-aza-A-homosteroides, las cuales fueron evaluadas contra la proliferación de líneas celulares tumorales de estómago, cervicales y de hígado; los resultados mostraron inhibición de la proliferación de las líneas celulares tumorales e indujeron apoptosis de las mismas.¹³ Posteriormente este mismo grupo publicó la síntesis y estudios biológicos de derivados aza-B-homocolestanos con grupos hidroxilo, hidroximino y

tiosemicarbazonas en la posición del C-3; los compuestos evaluados provocaron una actividad citotóxica importante vía apoptosis e inhibición en la proliferación celular de líneas cancerosas gástricas y cervicales.¹⁴

Por lo anteriormente expuesto, en el presente trabajo se propone una nueva ruta sintética para sintetizar un 6-azaesteroide que pueda ser aplicada a otros núcleos esteroidales y que prescindiera del uso de agentes oxidantes fuertes a base de sales de cromo u metodologías difíciles de escalar como la ozonólisis, método utilizado para escindir el anillo B

Antecedentes

Jacob y Brownfield¹⁵ sintetizaron 6-azaesteroides en 1960 mediante una técnica de apertura-cierre de anillo, siendo el paso clave la oxidación con ozono de la doble ligadura en C-5 del esteroide α,β -insaturado (**13**) derivado del acetato de colesterilo (**2a**). La ruptura oxidativa de **13** produjo el 5,7-seco esteroide (**14**), tras una hidrogenación catalítica, el producto resultante **15** fue tratado con NH_3 en etanol a $0\text{ }^\circ\text{C}$ y posteriormente con calentamiento para ciclar formando la lactama **16**. Finalmente el azaesteroide con grupo imino en C-5 (**17**) se obtuvo luego de la reducción de la lactama **16** con hidruro de litio y aluminio en éter etílico (esquema 3).

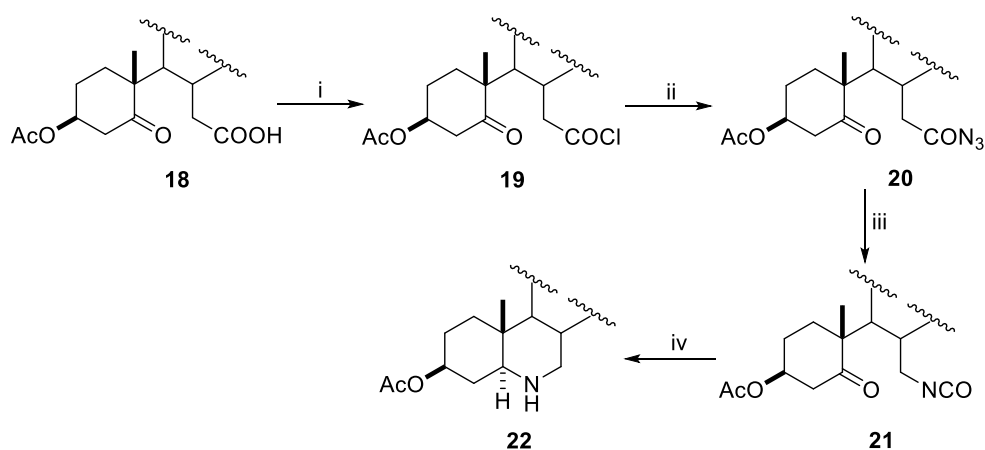


i) 1. O_3/AcOH 2. H_2O_2 , 3. NaOH ii) H_2/cat , iii) NH_3 , EtOH, D iv) LiAlH_4 , Et₂O

Esquema 3. Ruta sintética para obtener 6-azaesteroides reportada por Jacob y Brownfield.

Lettré¹⁶ y Brownfield reportaron en ese mismo año una estrategia similar de apertura-cierre, con la diferencia que se activó la función ácido carboxílico de **18** a través de la formación de un cloruro de ácido (**19**), el cual se transformó a la acil azida **20**. El isocianato **21** se generó mediante un rearrreglo de Curtius de **20**.

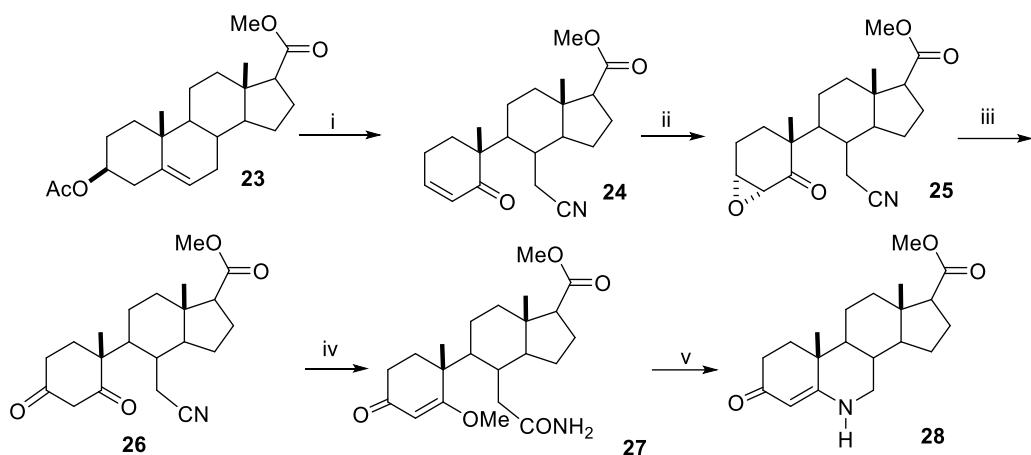
Por último, se realizó el cierre del anillo B mediante una hidrogenación catalítica en medio ácido para llegar a la estructura azaesteroidal **22** (esquema 4).



i) SOCl₂, Et₂O-DMF ii) NaN₃, acetona-H₂O iii) DMF, 100 °C/5 min iv) H₂/PtO₂

Esquema 4. Ruta sintética para obtener 6-azaesteroides de Lettré y Brownfield.

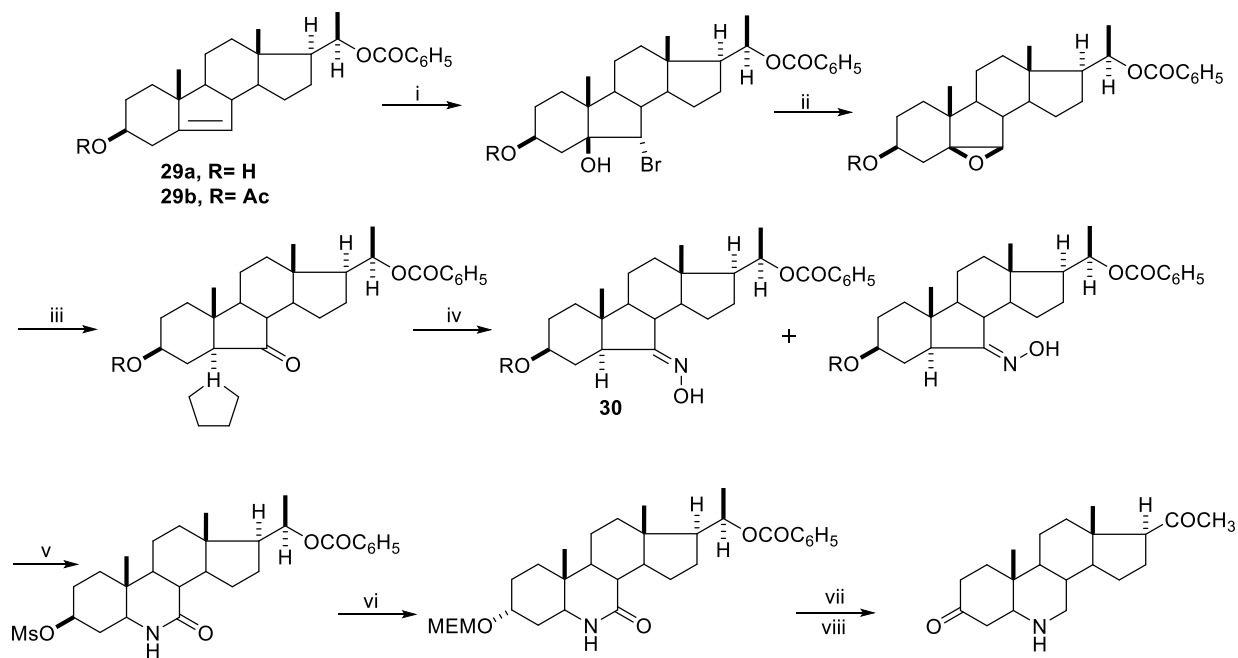
Fang y Sharp^{Error! No se encuentra el origen de la referencia.} reportaron en 1998 un proceso para producir nuevas estructuras azaesteroidales. La ruptura del anillo B en **23** la realizaron mediante una técnica novedosa utilizando un agente nitrosante para formar el derivado 5,6 seconitrilo **24**. Posteriormente realizaron una epoxidación del doble enlace en C-3 para generar **25**. El rearreglo del epóxido en presencia de paladio (0) formó **26**, que fue sometido a un tratamiento ácido fuerte en éter-metanol generando **27**. Finalmente, mediante un rearreglo de Hoffmann el compuesto **31** se transformó en el azaesteroides **28** (esquema 5).



i) HO_3SONO . ii) H_2O_2 , NaOH , $\text{H}_2\text{O-MeOH}$ iii) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, 1,2-bis(difenilfosfino)etano. iv) HCl , $\text{Et}_2\text{O/MeOH}$ a 0 °C. v) hidroxí(tosiloxi)iodobenceno, CH_3CN , H_2O , t.a.

Esquema 5. Ruta sintética para obtener 6-azaesteroides de Fang y Sharp.

Kasal¹⁷ reportó en 2005 la obtención de 6-azapregnanolonas con actividad neuronal, siendo el punto clave para la introducción del nitrógeno una reacción de tipo Beckmann sobre oximas en el anillo B **30** (Esquema 6).



i) HClO_4 , dioxano, N-bromoacetamida ii) K_2CO_3 , MeOH iii) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ iv) $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$, KHCO_3 , MeOH v) MsCl , py , 0°C, 4h vi) KNO_2 , DMSO , 115°C, luego protección del OH vii) KOH , luego PCC , luego HCl viii) LAH , luego CrO_3 , luego HCl

Esquema 6. Ruta sintética para obtener 6-azaesteroides de Kasal.

Objetivos

Objetivo general

- Desarrollar una nueva ruta sintética que evite el uso de oxidantes a base de cromo u ozono para generar un derivado 6-azaesteroideal a partir de colesterol que además pueda ser extendida a otros núcleos esteroidales.

Objetivos particulares

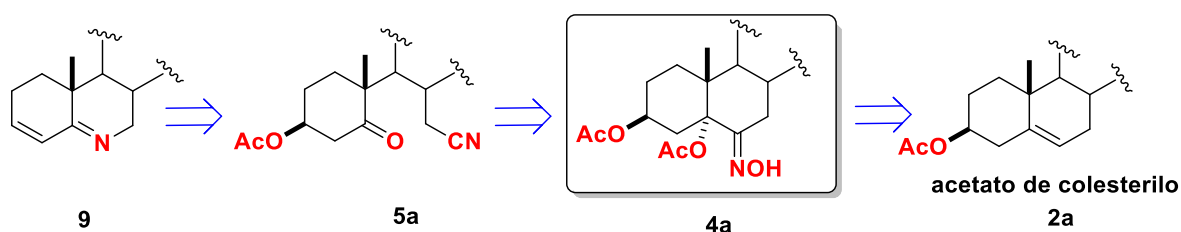
- Desarrollar una nueva metodología para introducir el grupo hidroximino en el C-6 del colesterol.
- Proponer los mecanismos de reacción que justifiquen los productos obtenidos.
- Caracterizar los nuevos productos obtenidos mediante métodos físicos y espectroscópicos.

Discusión y Resultados

En ruta retrosintética propusimos como primer objetivo formar el intermediario clave 5 α -acetoxi-6-hidroximino (**4a**) en una secuencia de dos pasos.

Una vez formado el derivado 6-hidroximino **4a**, y debido a las características estructurales de la oxima, se previó la escisión del anillo B hacia el derivado 5,6-seconitrilo **5a** con el tratamiento de SOCl₂ (reacción de Beckmann de segundo orden).

Por último, dos subsecuentes transformaciones sobre la función nitrilo nos permitirían volver a ciclar el anillo B con el nitrógeno incorporado. En estos dos pasos desconocíamos si el grupo éster se mantendría o procedería su eliminación (Esquema 7).

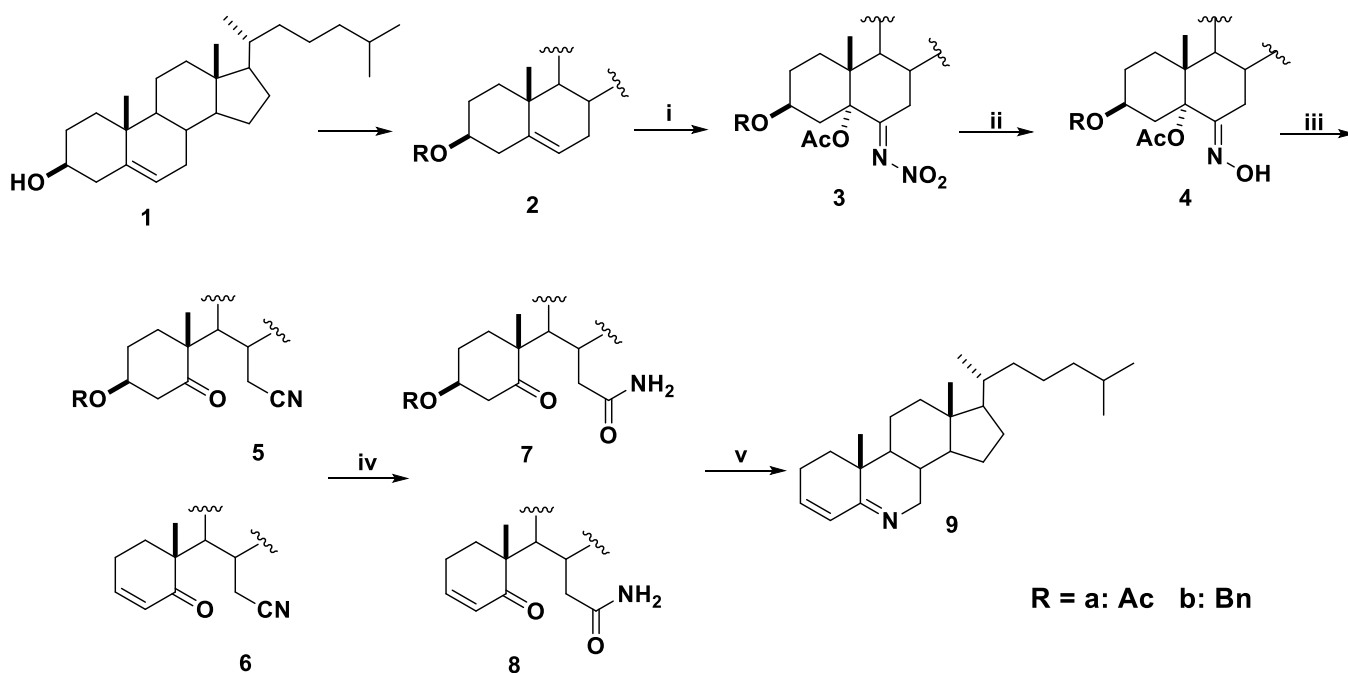


Esquema 7. Síntesis del 6-azaesteroide **9**

La síntesis del 6-azaesteroide **9**, se realizó de acuerdo a la vía sintética mostrada en el esquema 8.

Como primer paso se realizó la acetilación del colesterol (**1**) utilizando 1 mmol de colesterol, 10 mmol de Ac₂O y 50 mmol de piridina la mezcla se mantuvo en agitación durante 20 minutos, se obtuvo con un rendimiento del 97%. Mediante las señales en RMN de ¹H se observó la transformación al colesterol acetilado **2a** en 5.36 ppm para el H-6, 4.59 ppm el H-3, los protones de acetato en 2.30 ppm.

En el espectro de IR las bandas en 1710 cm^{-1} vibración de tensión (C=O), 1572 cm^{-1} tensión (C=C) y 1241 cm^{-1} tensión (C-O).



Condiciones: i) AcOH, $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, NaNO_2 ii) $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$, NaOAc, EtOH, reflujo iii) SOCl_2 , Dioxano iv) acetaldoxima, cat. de Wilkinson, tolueno, reflujo v) $\text{PhI}(\text{OH})\text{OTs}$, $\text{CH}_3\text{CN} \cdot \text{H}_2\text{O}$, reflujo

Esquema 8. Síntesis del 6-azaesteroide 9.

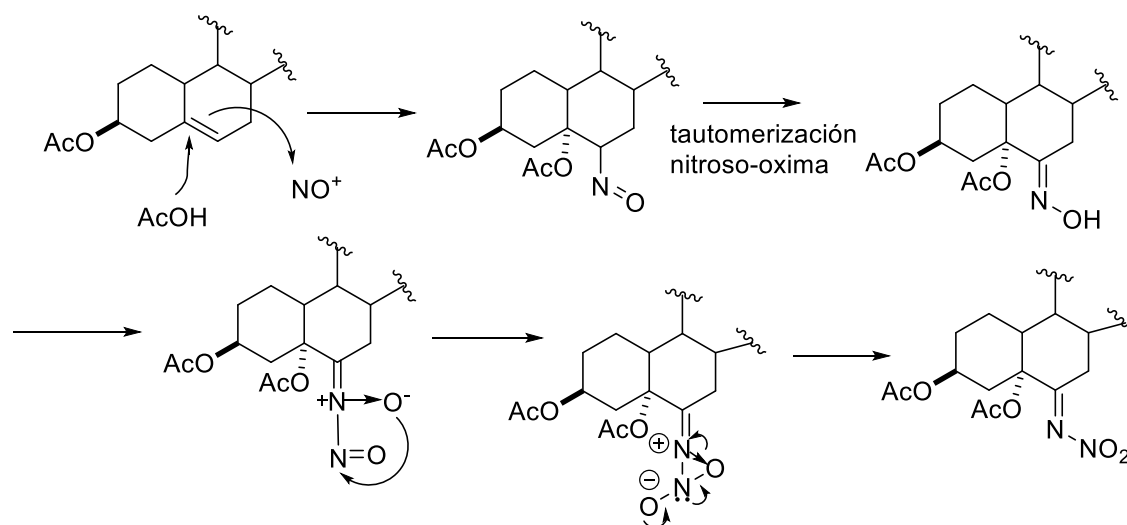
La formación del derivado nitroimino **3a** se llevó a cabo utilizando las condiciones de nitrosación del acetato de colesterilo **2a** reportadas por Iglesias *et al*, donde además de introducir la función nitroimino sobre el C-6, se formó un grupo acetato en la posición C-5. Tales condiciones involucran la presencia de NaNO_2 , AcOH y $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ a temperatura ambiente y en condiciones anhidras, pues se debe evitar la hidrólisis del $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ sensible a la humedad. El derivado obtenido es muy estable y se obtuvo con rendimiento moderado (49%), esto debido a que se observó la formación de algunos subproductos de reacción que no se identificaron, además de que el acetato de colesterilo (**2a**) no reacciona en su totalidad.

El objetivo de obtener un derivado 6-nitroimino consistió en probar su transformación hacia un grupo hidroximino con clorhidrato de hidroxilamina y la correspondiente base.

El mecanismo de reacción de la nitrosación de **2a**, fue establecido por Iglesias *et al* en el cual realizaron un estudio detallado del mecanismo de reacción de la nitrosación del acetato de colesterilo (**2a**). En dicho reporte se propuso que la oxima es el intermediario en la formación del derivado nitroimino **3a** (esquema 9).

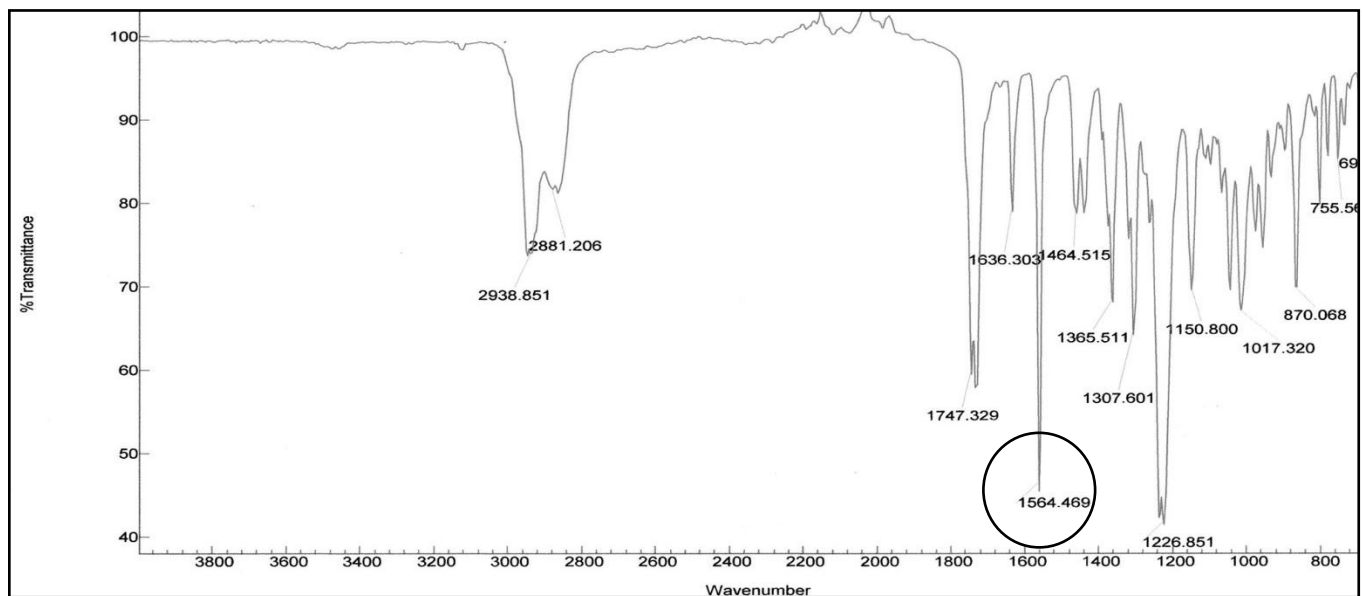
En el mecanismo se propone que el N_2O_3 producido por $NaNO_2$ en ácido acético se coordina al BF_3 resultando un equivalente del catión nitrosonio, que produciría la nitrosación de la doble ligadura del colesterol para proporcionar el compuesto derivado 6-nitroso seguido por la tautomerización nitroso-oxima que catalizada por ácido conduce a la oxima.

Freeman¹⁹ sugirió que la nitrosación de oximas proporciona el correspondiente nitroimino a través de la reordenación nitrosonitrona. Por lo tanto, posterior a la nitrosación se haría producir la nitrosonitrona que se debe reordenar para observar el colesterol 6-nitroimino **3a**.



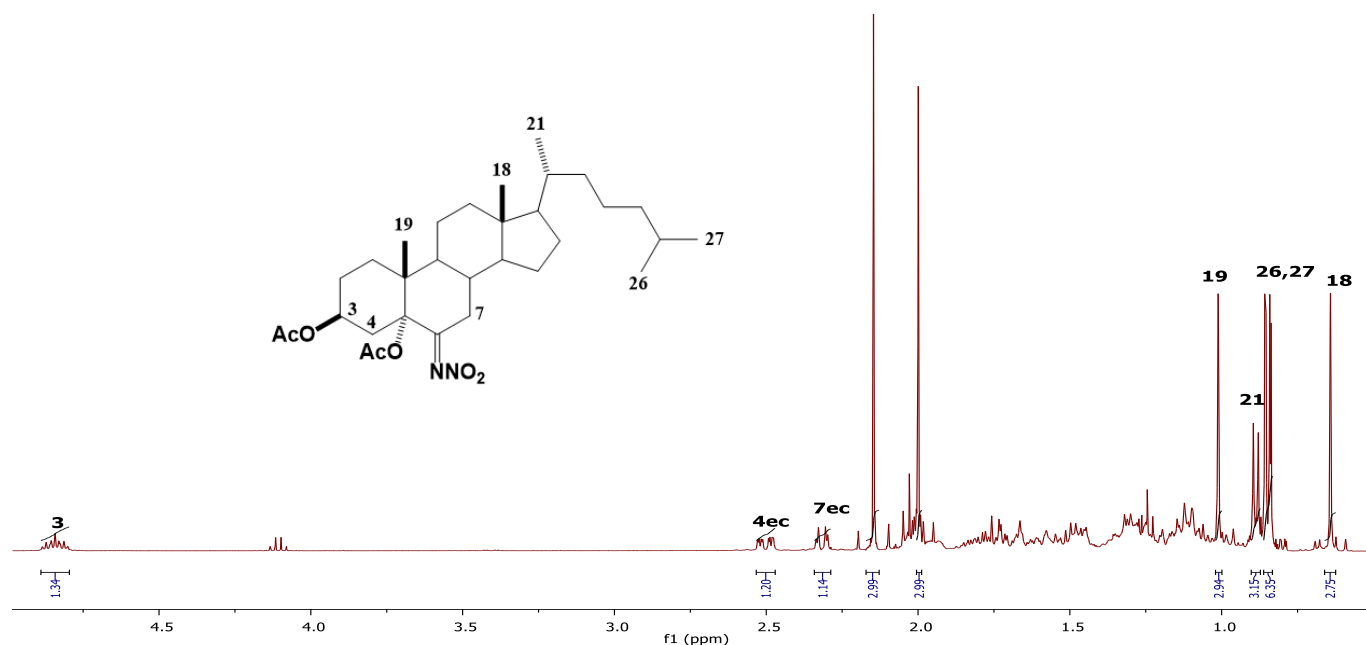
Esquema 9. Mecanismo de reacción del acetato de 6-nitroimino-5α-colesterano-3β,5α-diilo.

En el espectro 1 de IR se muestran las bandas características del derivado **3a**. Se distinguen 2 bandas de absorción fuertes en 1747 cm^{-1} , las cuales se deben a la vibración de tensión C=O de los grupos acetato en C-3 y C-5. Así mismo, una banda en 1226 cm^{-1} debida a las vibraciones de tensión C-O presentes en la estructura, de igual manera se observa una banda en 1564 cm^{-1} la cual se debe a la vibración de tensión NO_2 .



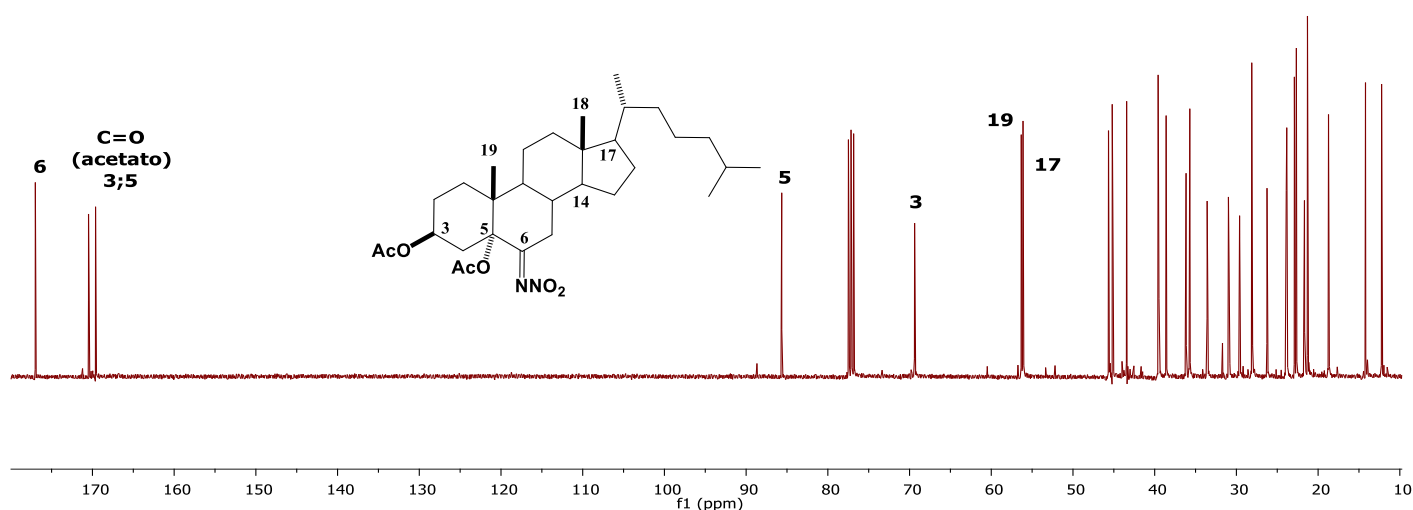
Espectro 1. Espectro de IR del compuesto **3a**.

En el espectro de RMN de ^1H del compuesto **3a** se observa a frecuencias altas en 4.85 ppm, la señal del protón base de oxígeno del C-3. En 2.51 ppm se observa la señal asignada al protón H-4ec y en 2.33 ppm la señal para el protón H-7ec; mientras que en 2.26 ppm y 2.01 ppm se observan los protones de los metilos de los grupos ésteres, en C-5 y C-3, respectivamente (Espectro 2).



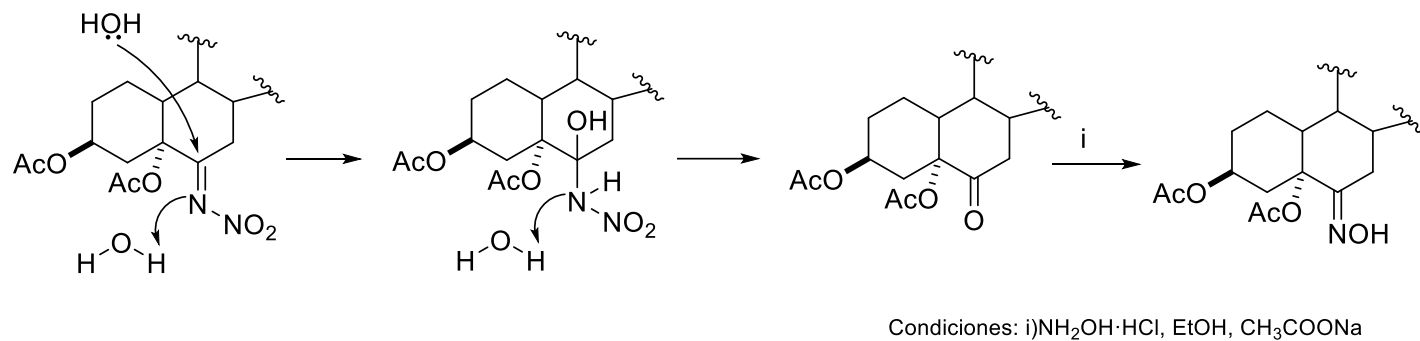
Espectro 2. Espectro de RMN de ^1H del compuesto **3a**.

En el espectro de RMN de ^{13}C se puede destacar la señal desplazada a frecuencias altas asignada al C-6 en 176.8 ppm debido al efecto electroatractor del nitrógeno sobre este carbono. De igual manera se puede observar las señales del carbonilo de los acetatos en C-3 y C-5 en 170.3 ppm y 169.4 ppm respectivamente, en 85.4 ppm se puede apreciar la señal de C-5, mientras que en 69.2 se observa la señal de C-3 (Espectro 3).



Espectro 3. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **3a**.

Es bien conocido que el grupo nitroimino puede ser hidrolizado hacia un carbonilo en presencia de agua y un catalizador. Por lo anterior, nos propusimos hidrolizar el grupo nitroimino hacia la cetona y luego realizar una condensación del carbonilo con la hidroxilamina para generar el precursor 6-hidroximino (Esquema 10).

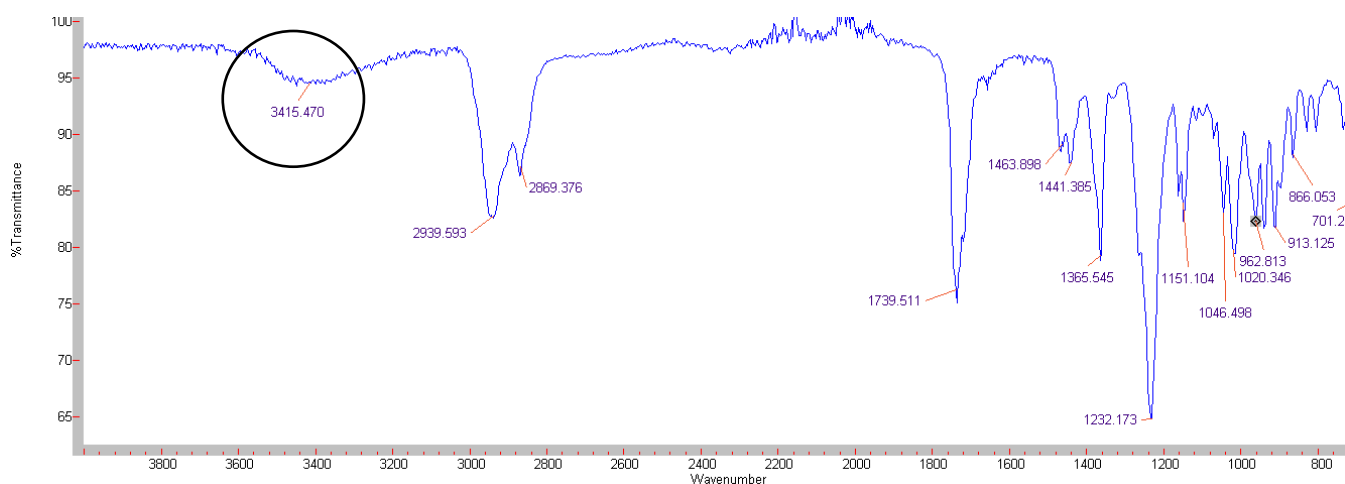


Esquema 10. Mecanismo de hidrolisis del 6-nitroimino **3a**.

Lo anterior se logró en un solo paso, mediante el tratamiento del derivado 5 α -acetoxi-6-nitroimino en presencia de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ en EtOH a reflujo por 1 h en 70% de rendimiento. Las condiciones permitieron mantener los grupos ésteres en las posiciones del C-3 y del C-5.

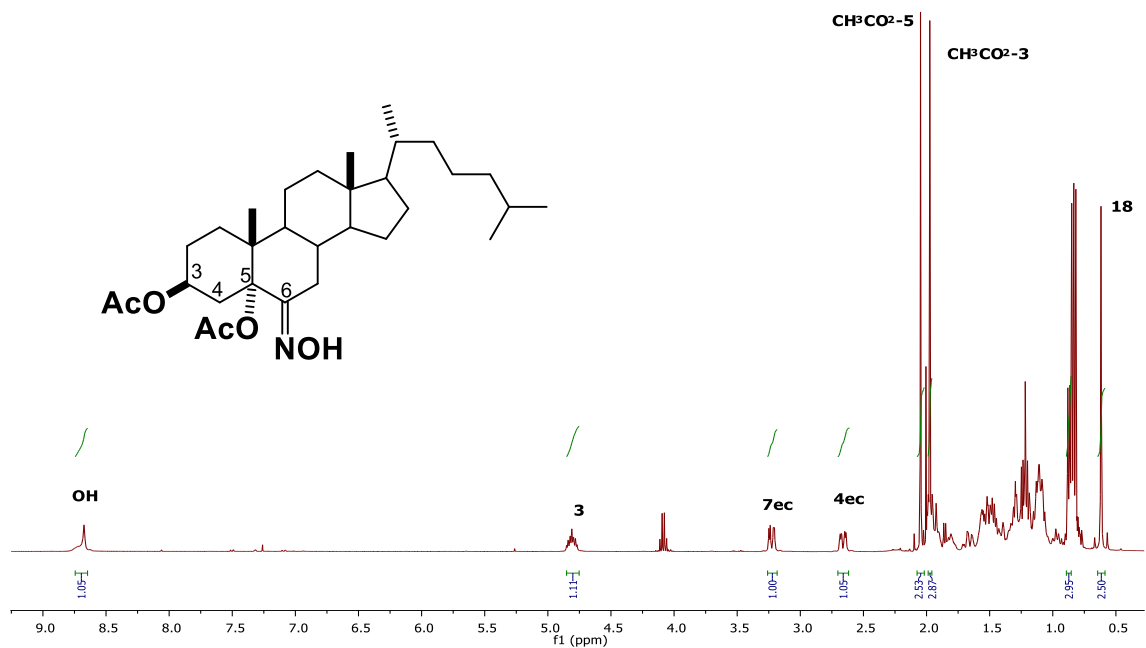
La cromatografía en capa fina reveló la formación de un solo compuesto y que la materia prima no se consumió totalmente. Se procedió a purificar el crudo de reacción por cromatografía en columna utilizando gel de sílice y como eluente una mezcla de disolventes hexano:AcOEt en una relación 9:1 para eliminar ligeras impurezas, después de purificado, se realizó la caracterización espectroscópica.

En el espectro de IR se observan las bandas características del derivado **4a**. Las señales más importantes que se aprecian son la aparición de una banda de absorción ancha a 3415 cm^{-1} debida a las vibraciones de tensión del grupo hidroxilo presente en la estructura. Se siguen observando las bandas de absorción en 1740 cm^{-1} la cual se debe a la vibración de tensión C=O de los grupos acetato en C-3 y C-5; también se mantiene con respecto a la materia prima la banda en 1232 cm^{-1} debida a las vibraciones de tensión C-O. Se puede notar la usencia de la banda de vibración de tensión NO_2 debido a que el grupo nitroimino se transformó a la oxima en el C-6 (Espectro 4).

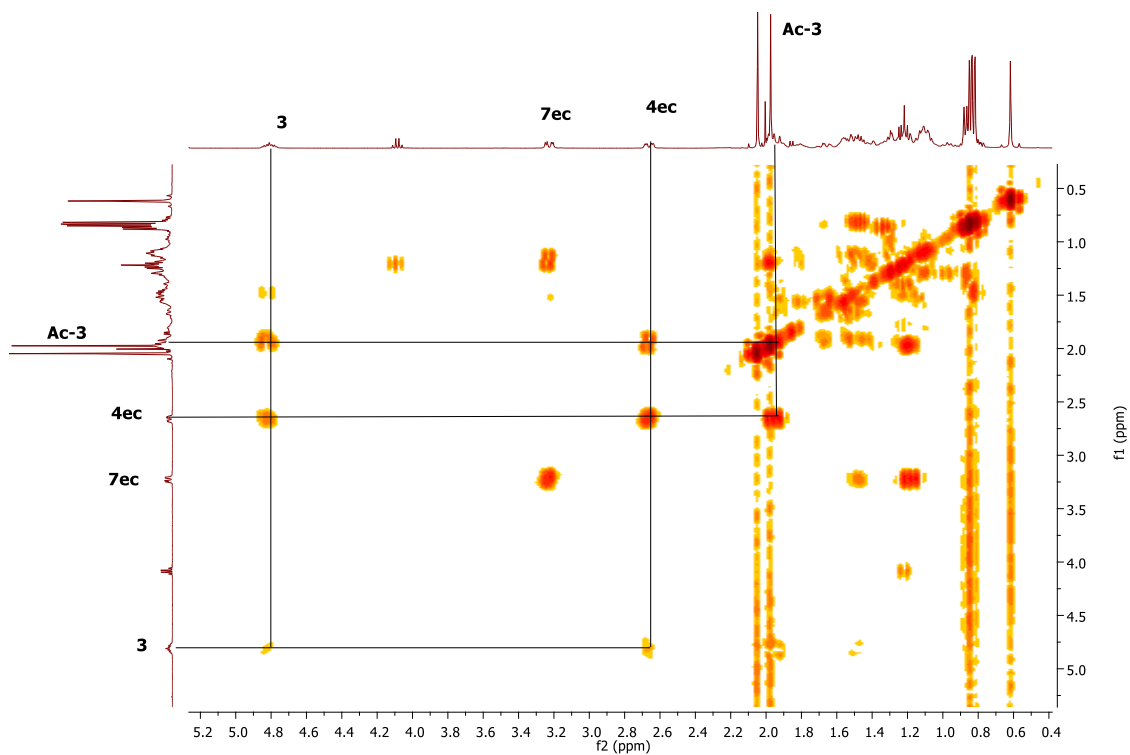


Espectro 4. Espectro de IR del compuesto **4a**.

En el espectro de RMN de ^1H del compuesto **4a** se observa a frecuencias altas la señal del protón del grupo hidroximino. En 4.85 ppm se observa la señal para H-3 en 3.26 ppm la señal para el protón de H-4ec y en 2.70 ppm una señal para el protón de H-7ec; mientras que en 2.08 ppm y 2.01 ppm se observan los protones de los acetatos en C-5 y C-3, respectivamente (Espectro 5).



Espectro 5. Espectro de ¹H de RMN del compuesto 4a.

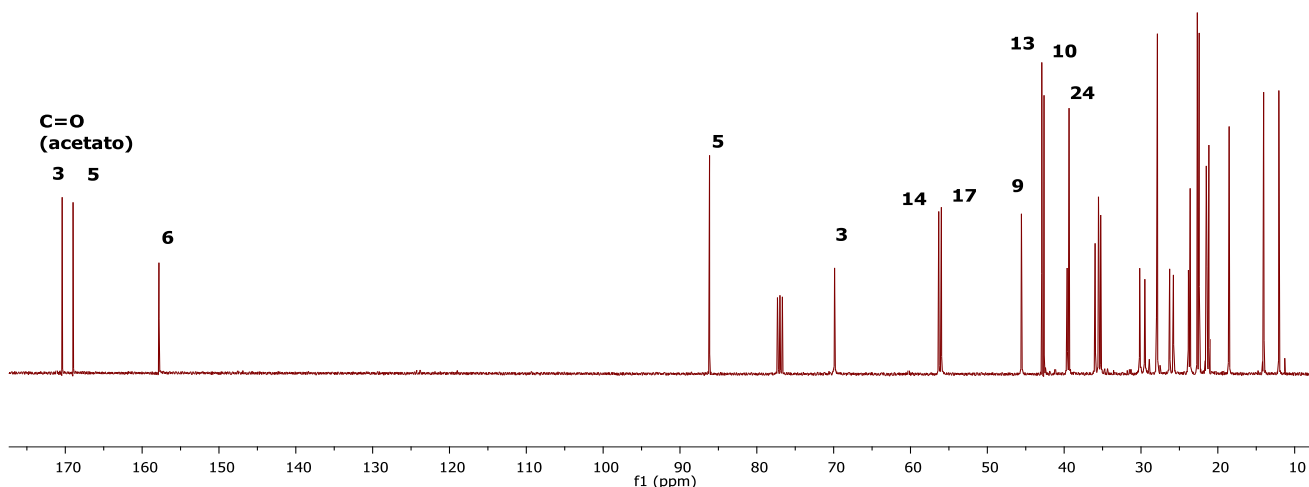


Espectro 6. Experimento COSY del compuesto 4a.

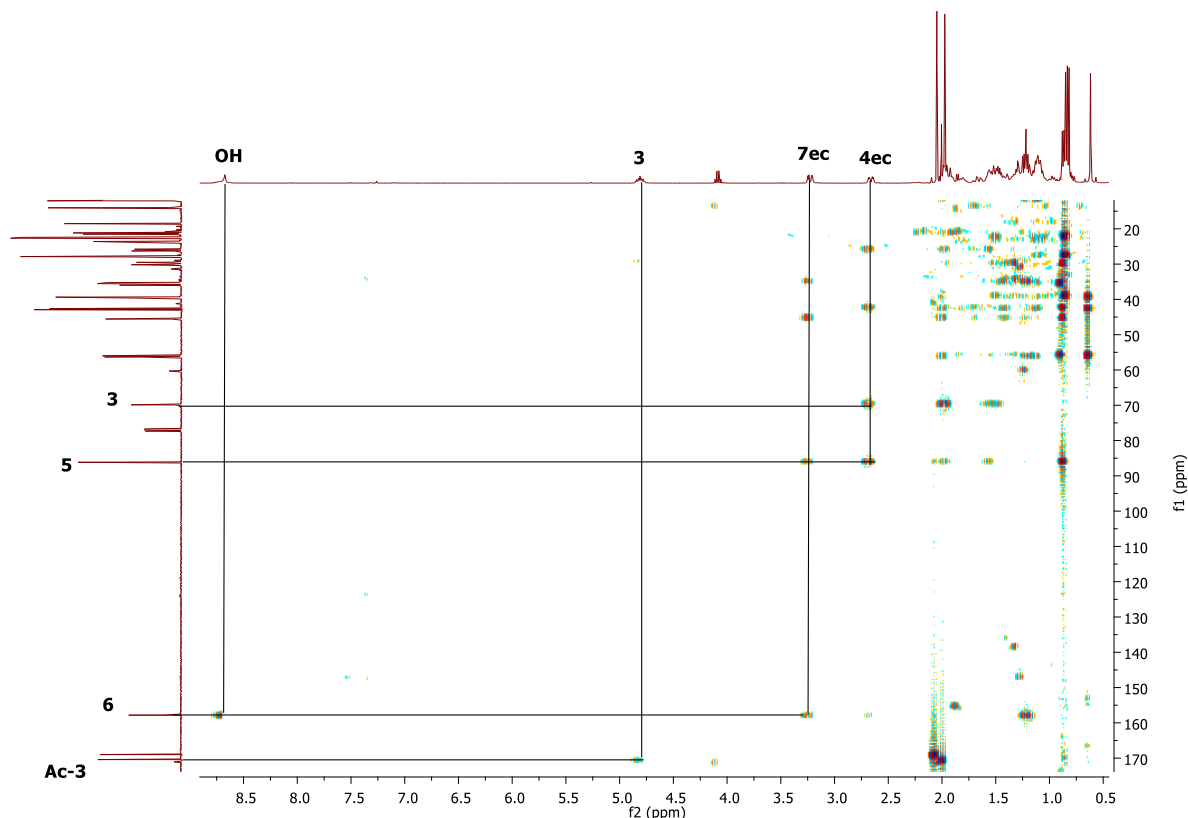
Mediante el experimento COSY se pudieron correlacionar los protones H-3 con el protón H-4ec, el cual mostró una multiplicidad ddd; también se observa la interacción del protón H-4ec con el protón H-4ax Ac-3, en 2.0 ppm (Espectro 6).

En el espectro de RMN de ^{13}C se pueden destacar las señales desplazadas a frecuencias altas asignadas a los carbonilos de los acetatos C=O en C-3 y C-5 en 170.4 ppm y 169.0 ppm, respectivamente; de igual manera se puede apreciar a 157.8 ppm la señal asignada al C-6 debido al efecto electroattractor de la oxima en este carbono. Así mismo, se puede observar la señal de C-5 en 86.1 ppm, mientras que a 69.8 ppm se puede apreciar la señal de C-3, seguido de las señales correspondientes a C-14 y C-17 a 56.3 ppm y 55.9 ppm, respectivamente. (Espectro 7).

En el experimento HMBC (espectro 8) se distinguen las correlaciones a dos enlaces y a tres enlaces entre el C-5 con el protón en el C-4 y C-5 con el protón en el C-7, respectivamente. De igual manera se observa la correlación a tres enlaces, entre el C-6 con el protón de la oxima.



Espectro 7. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **4a**.



Espectro 8. Experimento HMBC del compuesto **4a**.

Los datos espectroscópicos de este producto nos indican que se llevó a cabo la hidrólisis regioselectiva de la función nitroimino 3 en el anillo B con la consecuente formación de la oxima sin afectar el grupo éster en el C-5. Asimismo, se observó que, si la reacción sobrepasa el tiempo según lo reportado en la parte experimental, las condiciones afectan hacia el grupo éster hidrolizándolo hacia el alcohol.

En la tabla 1 se presentan los ensayos realizados y la optimización de la reacción. Se observa que el rendimiento de la reacción aumenta en un 9 % al agregar un equivalente más de CH_3COONa en el (ensayo 2). Sin embargo, cuando se llega a los 6.6 equivalentes, el rendimiento ya no se incrementa considerablemente.

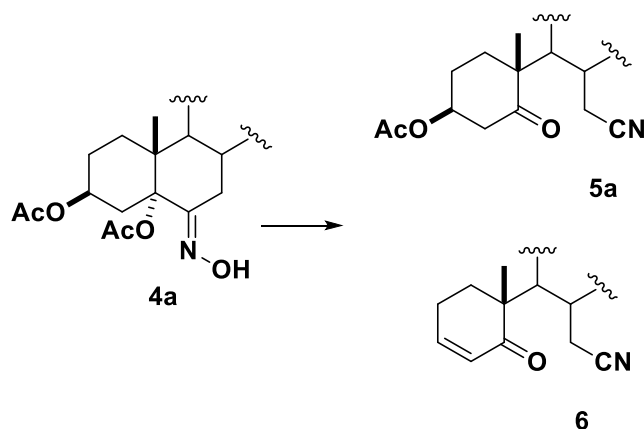
Ensayo	Nitroimino (eq)	$\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (eq)	EtOH (mL)	CH_3COONa (eq)	Rendimiento
1	1 eq.	5.40	18	4.6	61 %
2	1 eq.	5.40	18	5.6	70 %
3	1 eq.	5.40	18	6.6	71%

Tabla 1. Ensayos realizados para la oxima **4a**.

Fang y Sharp^{Error! No se encuentra el origen de la referencia.} mostraron que una de las rutas descritas para obtener 6-azaesteroides es mediante un precursor 5,6-seconitrilo, el cual se puede generar mediante un rearrreglo de segundo orden de Beckmann.

La reacción de Beckmann es una de las reacciones que más se ha estudiado, se utilizan tanto ácidos de Lewis como ácidos próticos. Aunque la fragmentación se considera como una reacción colateral, en algunas ocasiones donde es posible formar un carbocatión estable, la ruptura puede ser la reacción principal. Por lo anterior, si en la posición C-5 del esteroide se tiene un carbono cuaternario con un buen grupo saliente ocurre la ruptura del anillo B.ref

La síntesis del derivado 5,6-seconitrilo **5a** se realizó mediante el tratamiento del derivado 6-hidroximinocolesterol **4a** con SOCl_2 y dioxano a $25\text{ }^\circ\text{C}$. La reacción es muy rápida y limpia, sin embargo, se observó que dependiendo el tiempo de reacción se puede favorecer el producto **5a** o el producto **6** (Esquema 11).



Esquema 11. Formación del 5-6 seconitrilo.

En la tabla 2 se observan los resultados obtenidos de tres ensayos en los que se varió el tiempo de reacción y los equivalentes de SOCl_2 .

Ensayo	Oxima (mg)	SOCl ₂ (eq)	Dioxano (mL)	Tiempo (min)	Rendimiento (%)	Relación 5a:6
1	300	2.37	2	15	37	-----
2	300	3.78	2	9	50.5	4:1
3	300	3.78	2	14	70	1: 6

Tabla 2. Condiciones del reordenamiento de Beckmann.

El primer ensayo se realizó con 2.37 equivalentes de SOCl₂, bajo estas condiciones se obtuvo un bajo rendimiento, además de que la materia prima no se consumió totalmente y se formaron varios subproductos de reacción que no se identificaron.

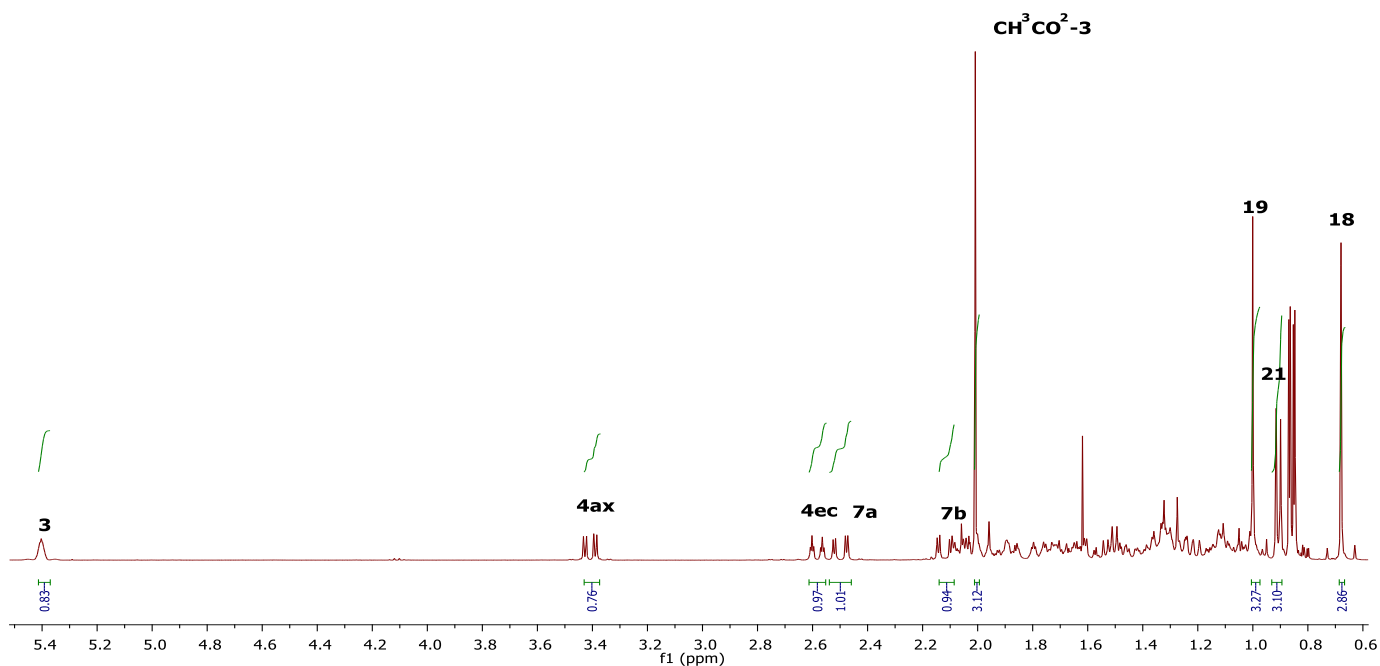
La segunda prueba realizada muestra claramente un aumento del rendimiento debido al incremento en la cantidad de equivalentes de SOCl₂. En el monitoreo por CCF solo se mostró dos compuestos por lo que decidimos identificar, correspondieron al derivado 5,6-seconitrilo 5a (producto mayoritario) y como subproducto la cetona α,β -insaturada **6** (Esquema 9).

La tercera prueba consistió en mantener los equivalente de SOCl₂ utilizados en el segundo ensayo pero se incrementó el tiempo de reacción, en estas condiciones se observó que un mayor tiempo de reacción se elimina el grupo éster del C-3 generando la cetona α,β -insaturada **6** con un rendimiento del 70%.

Debido a que los compuestos 5a y 6 poseen un grupo nitrilo, se concluyó que ambos podían utilizarse para continuar con la ruta sintética. (Esquema 7).

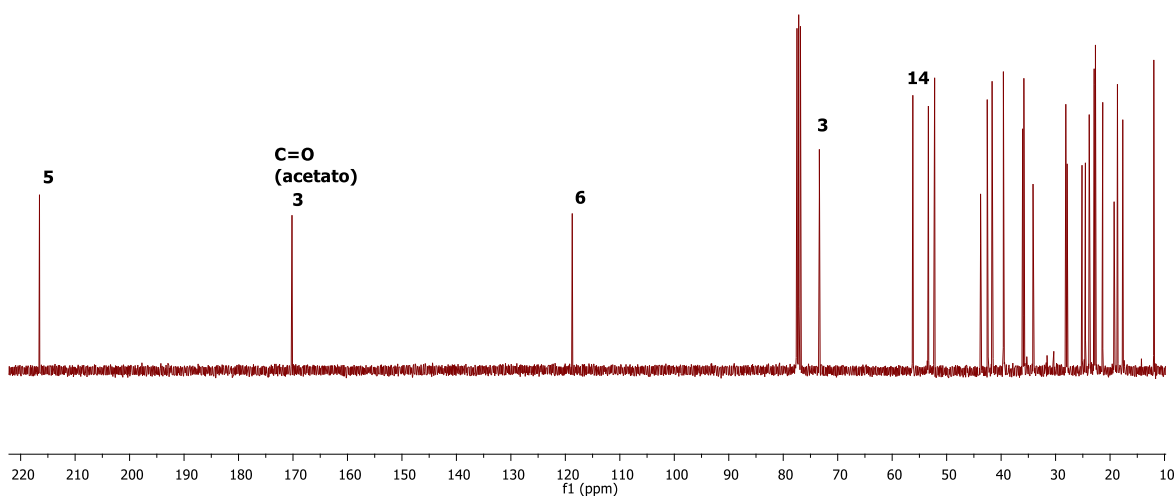
Un factor importante en esta reacción es la temperatura, dado que si ésta se eleva o disminuye el rendimiento baja considerablemente.

En el espectro de RMN de ^1H del derivado **5a** se puede observar la señal de H-3 a frecuencias altas debido a la desprotección por el átomo de oxígeno, tal señal está a 5.40 ppm; se muestran las señales para los protones diasterotópicos asignadas al protón axia y ecuatorial, respectivamente en 3.41 ppm y 2.58 ppm. Este desplazamiento a campos bajos se puede explicar debido a la influencia de los grupos carbonilo del éster y de la cetona en los carbonos α al C-4. En 2.50 ppm y 2.12 ppm se asignaron las señales para los protones diasterotópicos del C-7. En 2.01 ppm se observa la señal para los protones del acetato en C-3. Se puede notar la ausencia de la señal de los protones del acetato en C-5 debido a que este grupo funcional dio paso a la cetona en el C-5 con respecto a la materia prima (Espectro 9).



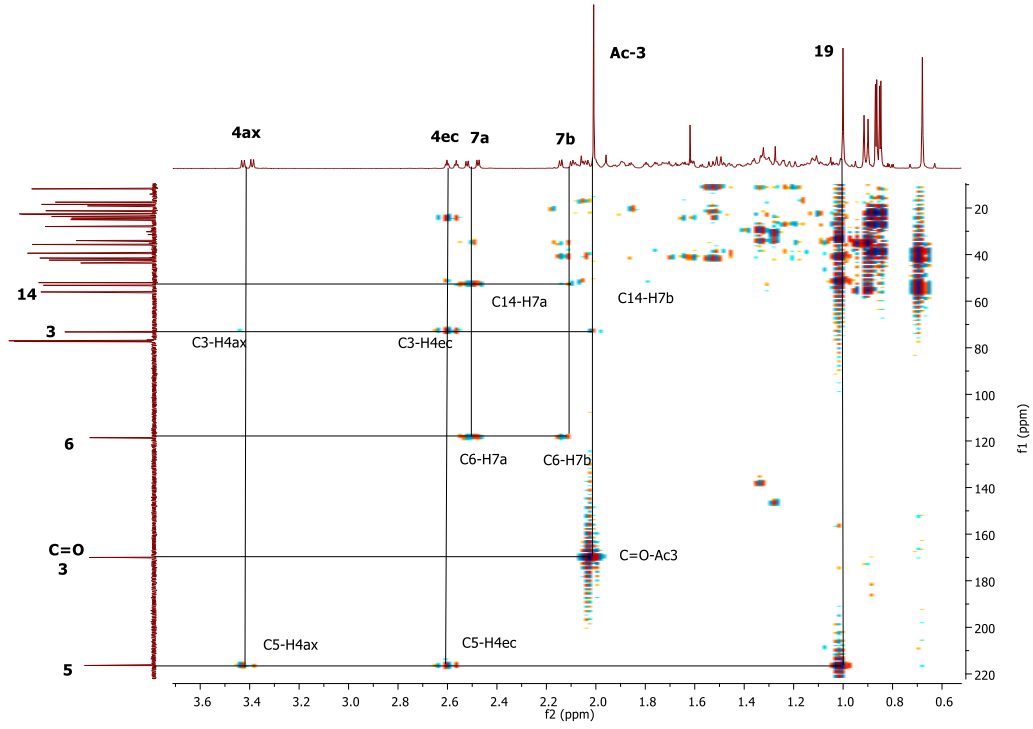
Espectro 9. Espectro de ^1H de RMN del compuesto **5a**.

En el espectro de RMN de ^{13}C , a frecuencias altas se distingue la señal del carbonilo de la cetona de C-5 a 216.4 ppm debido a la transformación del grupo acetato hacia cetona. La señal asignada al carbonilo del éster no sufre cambios significativos observándose en 170.0 ppm. La señal en 118.6 ppm fue un claro indicativo de que el producto contiene un grupo nitrilo, ya que este desplazamiento es distintivo para el carbono del nitrilo. La señal de 73.2 ppm es congruente con el carbono base de oxígeno del C-3.

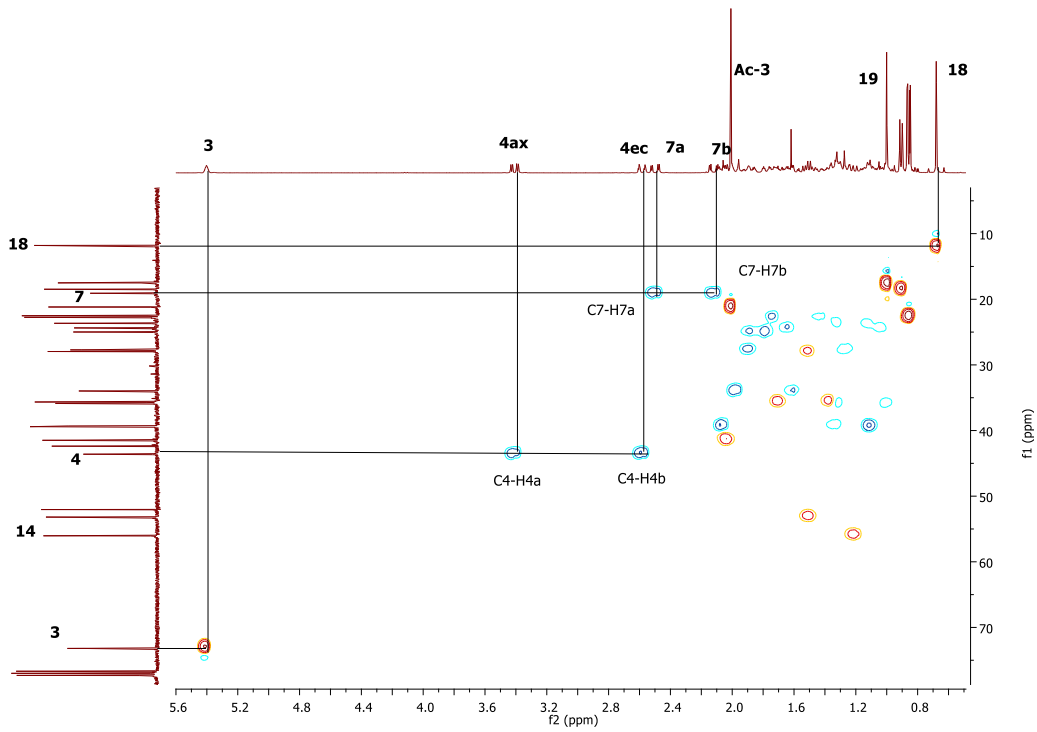


Espectro 10. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **5a**.

En el experimento de HMBC se observan correlaciones a dos y a tres enlaces, como por ejemplo entre C-5 y C-3 con los protones diastereotópicos del C-4, además, a tres enlaces se observa la correlación de C-5 con los protones metílicos del C-19, de manera análoga, el C-6 correlaciona con los protones diastereotópicos del C-7 a dos enlaces y con el C-14 a tres enlaces (Espectro 11)



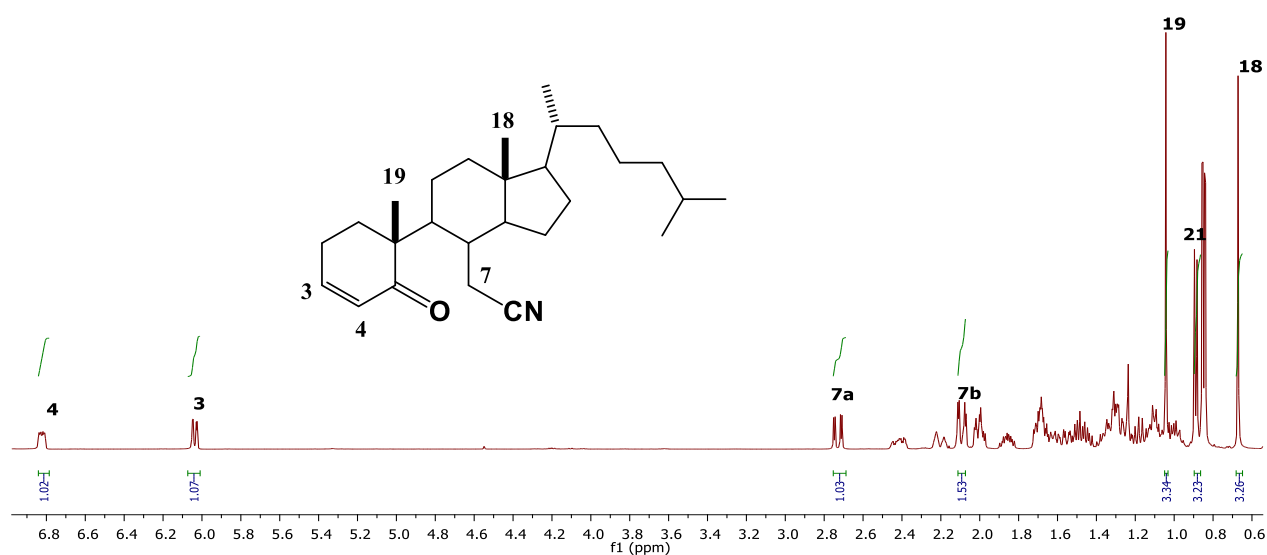
Espectro 11. Espectro de HMBC del compuesto 5a.



Espectro 12. Espectro de HSQC del compuesto 5a.

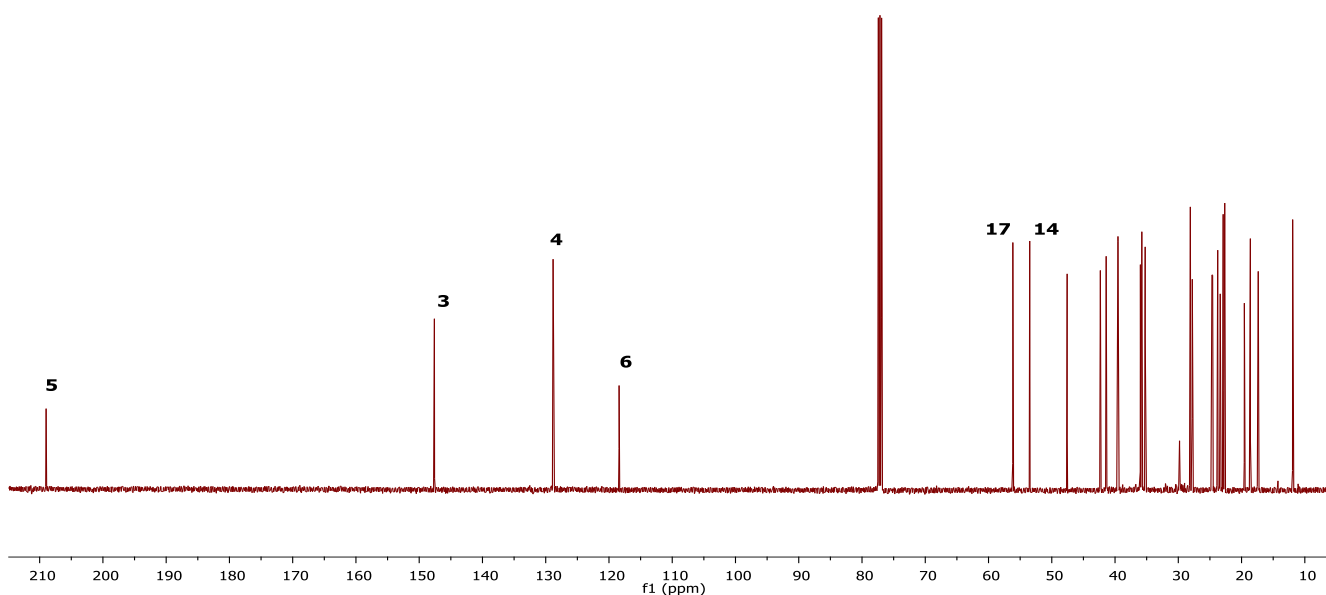
En el experimento HSQC se observan las correlaciones a un enlace C-H. Este experimento nos permitió asignar de manera inequívoca algunos carbonos, principalmente C-3, C-4, C-7 y algunos carbonos metílicos (Espectro 12)

En el espectro de RMN de ^1H del derivado **6** se observan en 6.8 ppm y 6.04 ppm, las señales de los protones vinílicos en C-3 y C-4, respectivamente. En 2.71 ppm y 2.08 ppm se muestran las señales para los protones diasterotópicos del C-7, por otra parte, ya no se observa la presencia de la señal simple alrededor de 2.1 ppm típica para protones metílicos de un éster, con respecto a la materia prima **2^a** (Espectro 13).



Espectro 13. Espectro de ^1H de RMN del compuesto **6**.

En el espectro de RMN de ^{13}C se distingue la señal del C-5 a frecuencias altas en 208.8 ppm lo que corrobora la presencia de una cetona, en 147.4 ppm y 128.6 ppm se pueden apreciar las señales de C-3 y C-4, cuyos desplazamientos son distintivos de carbonos vinílicos. La señal en 118.3 ppm corresponde al C-6 que no cambio de desplazamiento comparada con el compuesto **5a**. Se puede notar la ausencia de la señal del carbonilo del acetato lo que confirma que el grupo éster se eliminó. (Espectro 14).



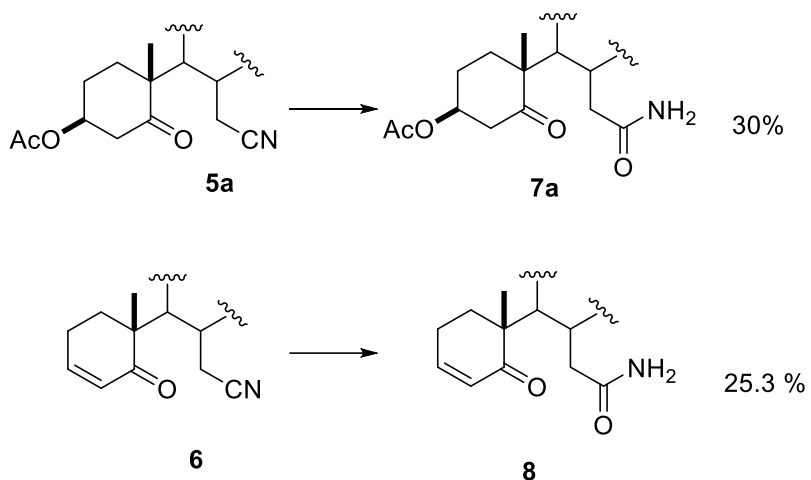
Espectro 14. Espectro de ^{13}C de RMN del compuesto **6a**.

Posteriormente, se buscaron procedimientos en la literatura para realizar la hidrólisis parcial de un grupo nitrilo hacia la amida. Lee *et al* reportaron una metodología para lograr dicha transformación, la cual se realiza utilizando acetaldoxima en tolueno a reflujo y el catalizador de Wilkinson ($\text{RhCl}(\text{PPh}_3)_3$).

La síntesis de los derivados 5,6-secoamida **7a** y **8** se realizó mediante el tratamiento de los derivados 5,6-seconitrilo **5a** y **6** con las condiciones descritas en la bibliografía²⁰. Se ensayaron diferentes tiempos y cantidades de reactivo, el rendimiento más alto que se consiguió fue del 30% para el derivado 5,6-secoamida **7a**, dado que en ambas reacciones no se consume completamente la materia prima (Tabla 3), (Esquema 12).

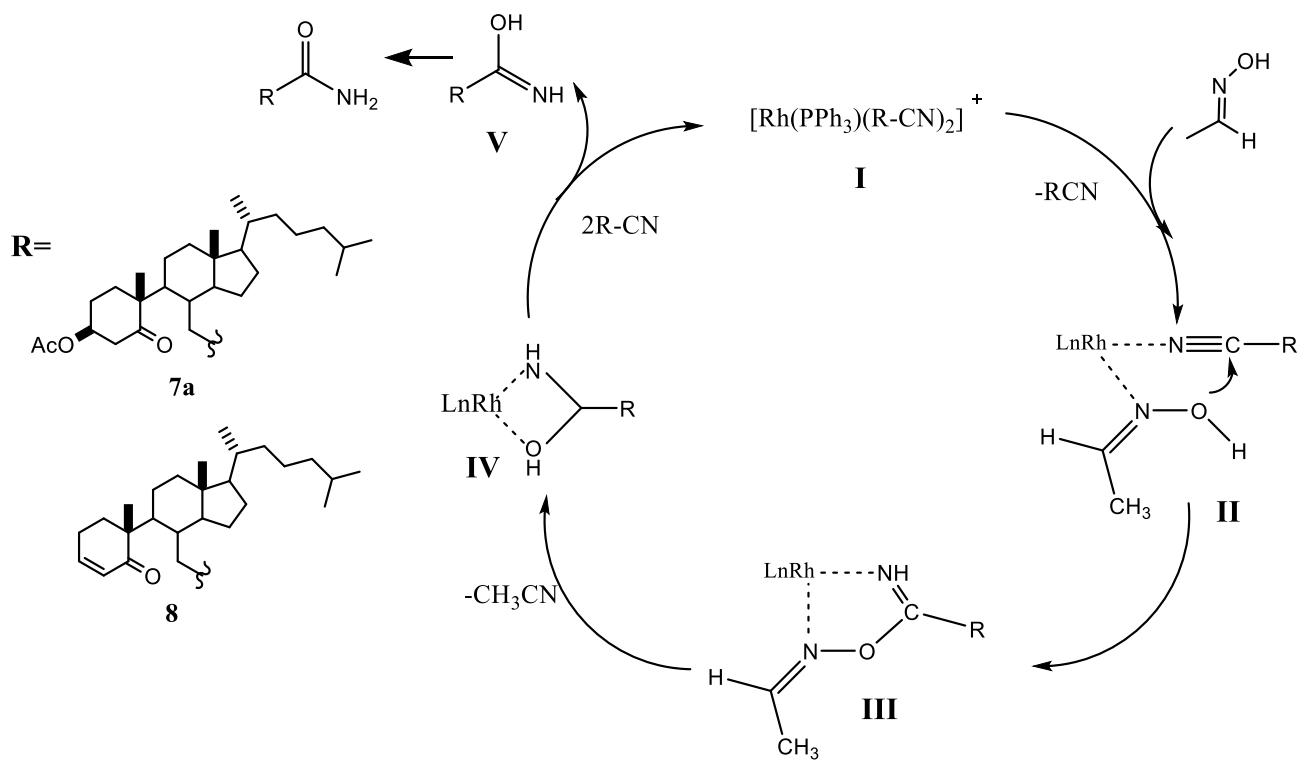
Compuesto	5,6-seconitrilo (mmol)	Acetaldoxima (eq)	Tolueno (ml)	Rendimiento (%)	Tiempo (h)
8a	0.5090	5	3	30.0	4
9	1.176	5	6	25.3	4

Tabla 3. Obtención de los derivados 5,6-secoamida.



Esquema 12. Obtención de los derivados 5,6-secoamida.

El mecanismo propuesto por Lee²¹ *et al* es el que se muestra a continuación (Esquema 13).

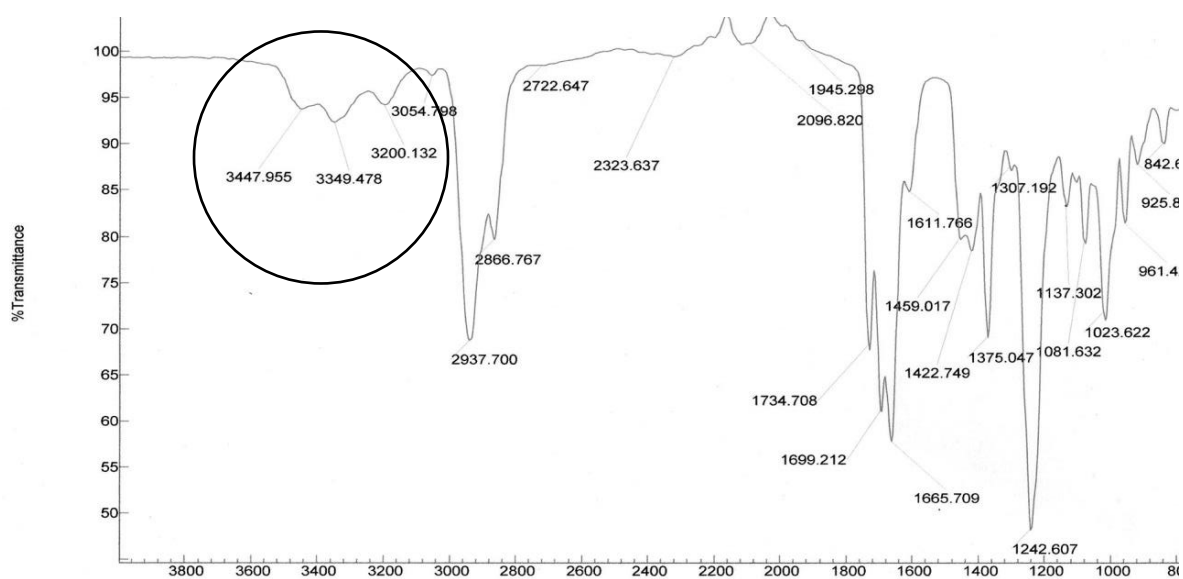


Esquema 13. Mecanismo propuesto por Lee *et al*.

El complejo de rodio se convierte en su especie catiónica por la acción de un ácido de Brönsted, posteriormente el nitrilo se asocia con el complejo catiónico de Rh resultando el intermediario **I**. Se propone que el átomo de nitrógeno de la acetaldoxima se coordina con el centro metálico Rh para dar el complejo **II**. Seguido de un ataque intramolecular del oxígeno de la acetaldoxima sobre el nitrilo unido al metal, lo que conduce a un quelato **III** de rodio. A continuación, una molécula de acetonitrilo se libera para proporcionar el quelato **IV**. Finalmente se libera ácido imídico **V** que se tautomeriza a la amida.

Cuando la reacción tiene lugar durante 5 horas se observa ciclación del anillo B y eliminación el grupo éster del C-3, la formación de este compuesto es de una cantidad muy mínima y difícil de purificar por la formación de varios subproductos de reacción. La RMN y el IR fueron herramientas fundamentales para corroborar las estructuras **7a** y **8**.

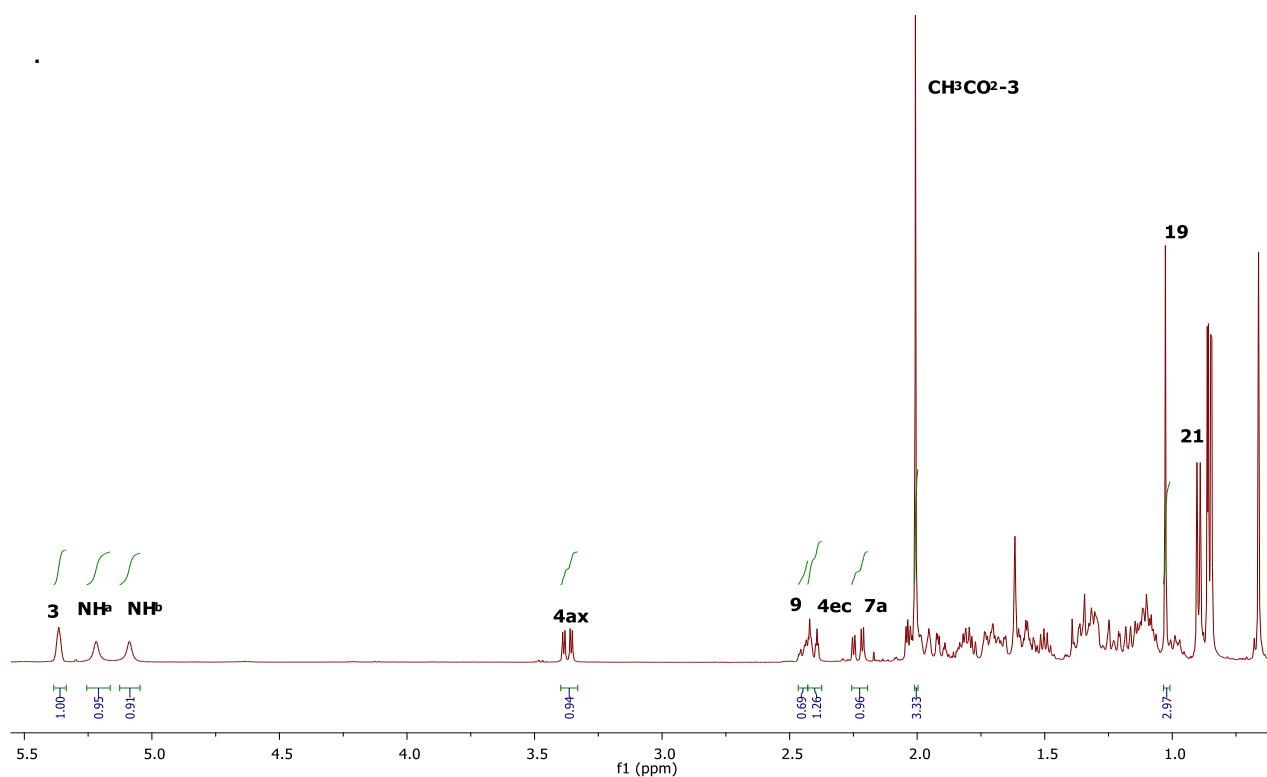
En el espectro de IR se observan las bandas características del derivado **7a**. Las señales más importantes que se aprecian son, la aparición de una banda de absorción múltiple a 3448 cm^{-1} y 3200 cm^{-1} debida a las vibraciones de tensión de -NH característica de la amida primaria presente en la estructura.



Espectro 15. Espectro de IR del compuesto **7a**.

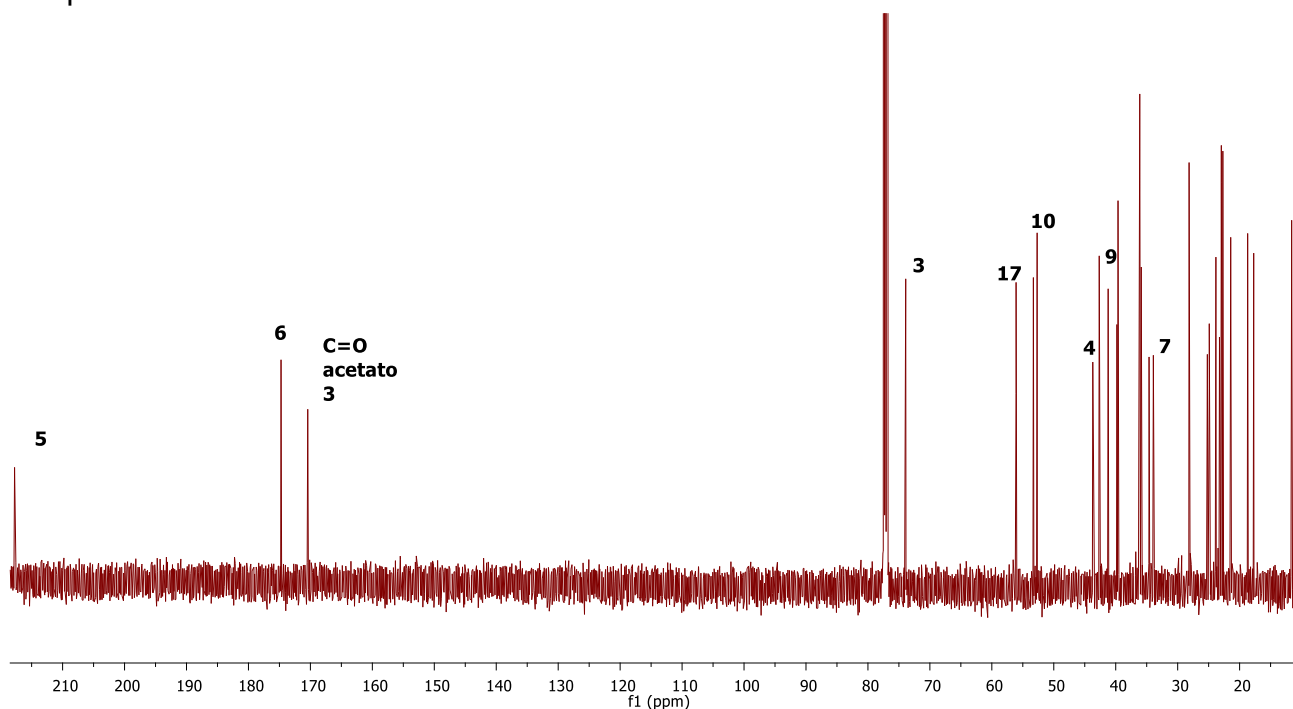
Se siguen observando las bandas de absorción fuerte en 1734 cm^{-1} y 1666 cm^{-1} las cuales se deben a la vibración de tensión C=O de los grupos acetato y cetona en C-3 y C-6, finalmente se observa la banda en 1243 cm^{-1} debida a las vibraciones de tensión C-O (Espectro 15).

En el espectro de RMN de ^1H del derivado **7a** se puede observar que no hubo cambios significativos en la señal del protón base de oxígeno en el C-3, así como de los protones metílicos del acetato, con respecto a la materia prima, en 5.21 ppm y 5.08 se encuentran las señales asignadas a los protones de la amida. Se observa en 3.36 ppm y 2.38 ppm los protones diasterotópicos del C-4 y la señal del protón del C-9 en 2.45 ppm (Espectro 15)



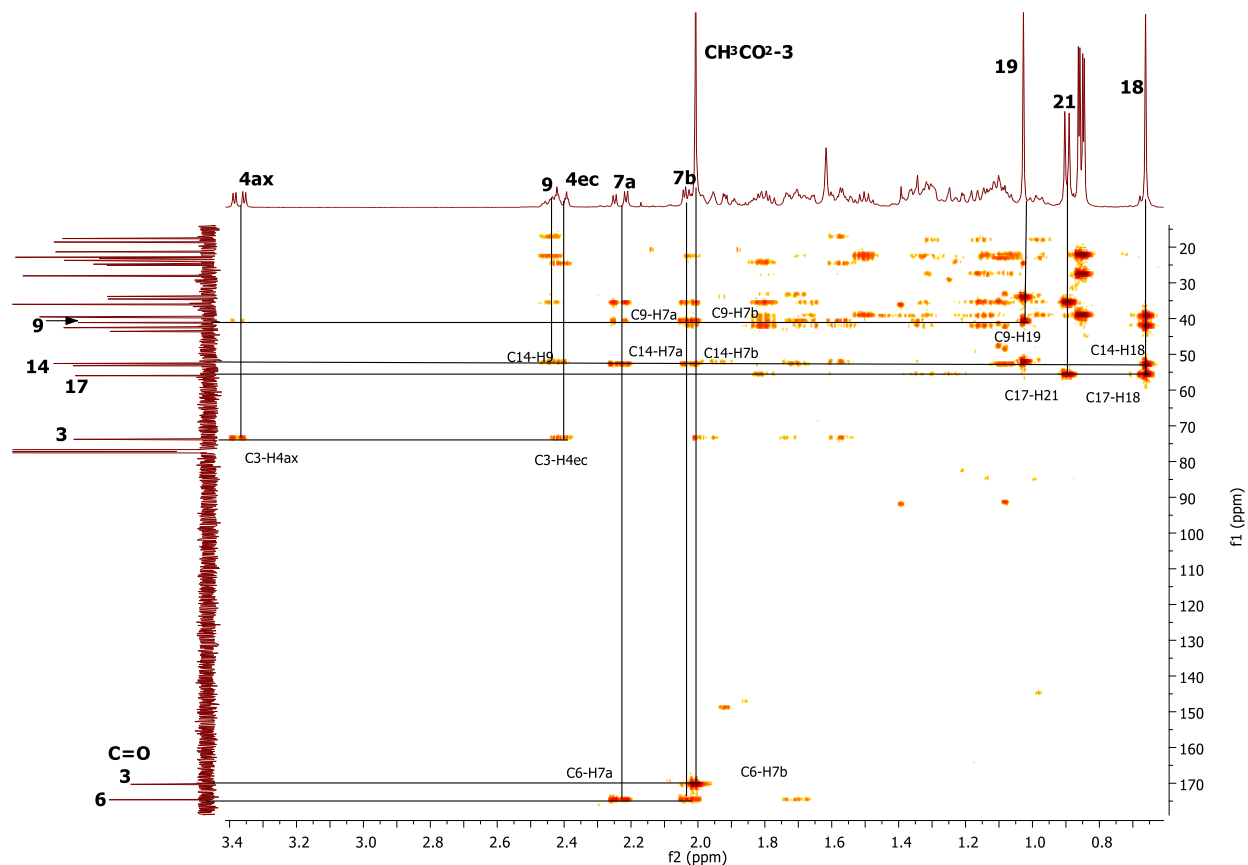
Espectro 15. Espectro de ^1H de RMN del compuesto **7a**.

En el espectro de RMN de ^{13}C se puede apreciar la señal del carbonilo en C-5 a 217.6 ppm, mientras que la señal del C-6 se observa desplazada a frecuencias altas en 174.5 ppm debido a la transformación del nitrilo a la amida. Las señales de C-3 y del carbonilo del éster no tienen diferencias significativas con respecto a la materia prima.



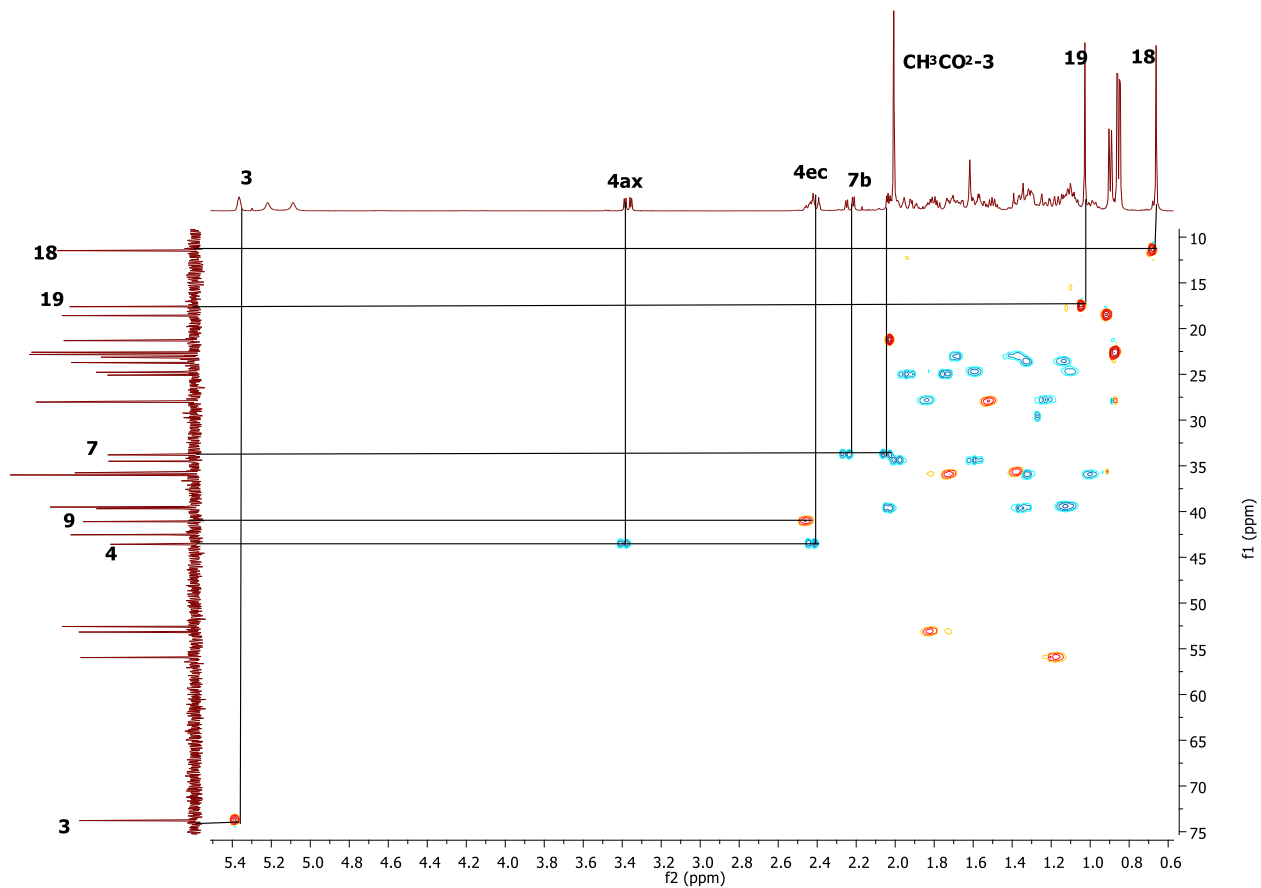
Espectro 16. Espectro de ^{13}C de RMN del compuesto **7a**.

El experimento HMBC nos permitió corroborar la asignación inequívoca de los protones metílicos de C-18, dado que correlacionan con el C-17, con el carbono cuaternario C-13 y con el carbono metilénico C-12. Mientras que los protones metílicos de C-19 correlacionan con el carbono metínico C-9 y el carbono cuaternario C-10. Además, confirmamos las señales de los protones distereotópicos C-7 al correlacionarse con la señal del carbonilo de la amida (C6) (Espectro 17).

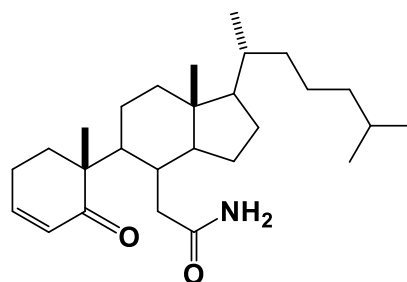


Espectro 17. Espectro de HMBC del compuesto **7a**.

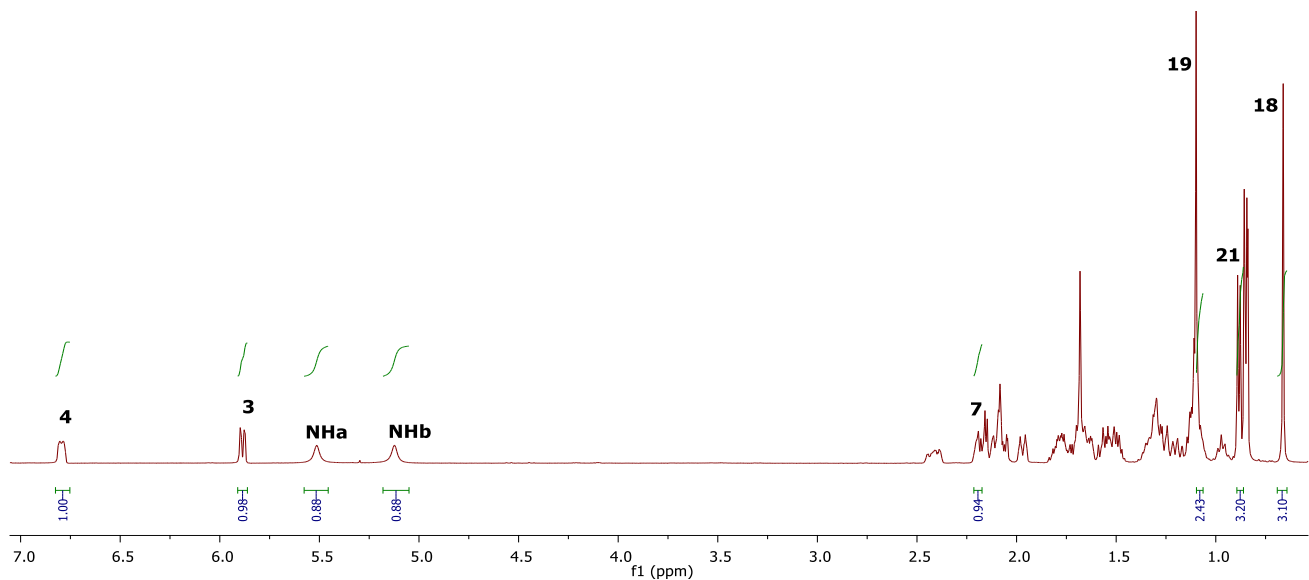
En el experimento HSQC se observan las correlaciones a un enlace C-H, el cual destaca el C-3 con su protón, el C-4 y C-7 correlacionan con sus 2 hidrógenos diastereotópicos magnéticamente diferentes, por lo que se observan desplazamientos diferentes para los protones H-4 y H-7, también se observa que los C-18 y C-19 correlacionan con sus protones, además se observa el acoplamiento de C-9 con el H-9 (Espectro 18) los C-18 y C-19 correlacionan con sus protones, además se observa el acoplamiento de C-9 con el H-9 (Espectro 18).



Espectro 18. Espectro de HSQC del compuesto **7a**.

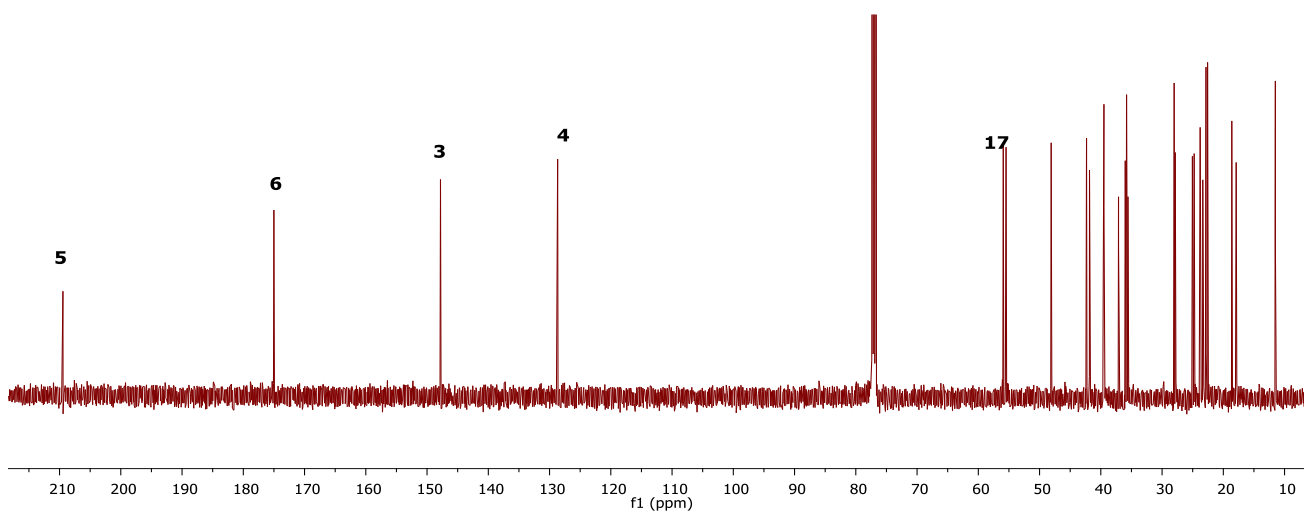


En el espectro de RMN de ^1H del derivado **8** Se pueden apreciar las señales de los protones vinílicos en el C-3 y C-4. Se observó el mismo patrón que para el compuesto **5a**, dos protones del grupo amida, entre 5.5 y 5 ppm. Cabe destacar la ausencia de la señal simple de los protones metílicos del grupo acetato con respecto al espectro de ^1H del compuesto **7a**, lo que confirma que el grupo éster se ha eliminado. El resto de las señales no muestra cambios significativos con respecto al compuesto **7a** (Espectro 19).



Espectro 19. Espectro de ^1H de RMN del compuesto **8**.

En el espectro de RMN de ^{13}C del derivado esteroide **8** se distingue la señal de C-5 a frecuencias altas en 209.5 ppm, en 175.0 ppm se observa una señal cuyo desplazamiento químico es típico del carbonilo de una amida, por último, las señales en 147.8 y 128.5, confirman la presencia de una doble ligadura (Espectro 20).

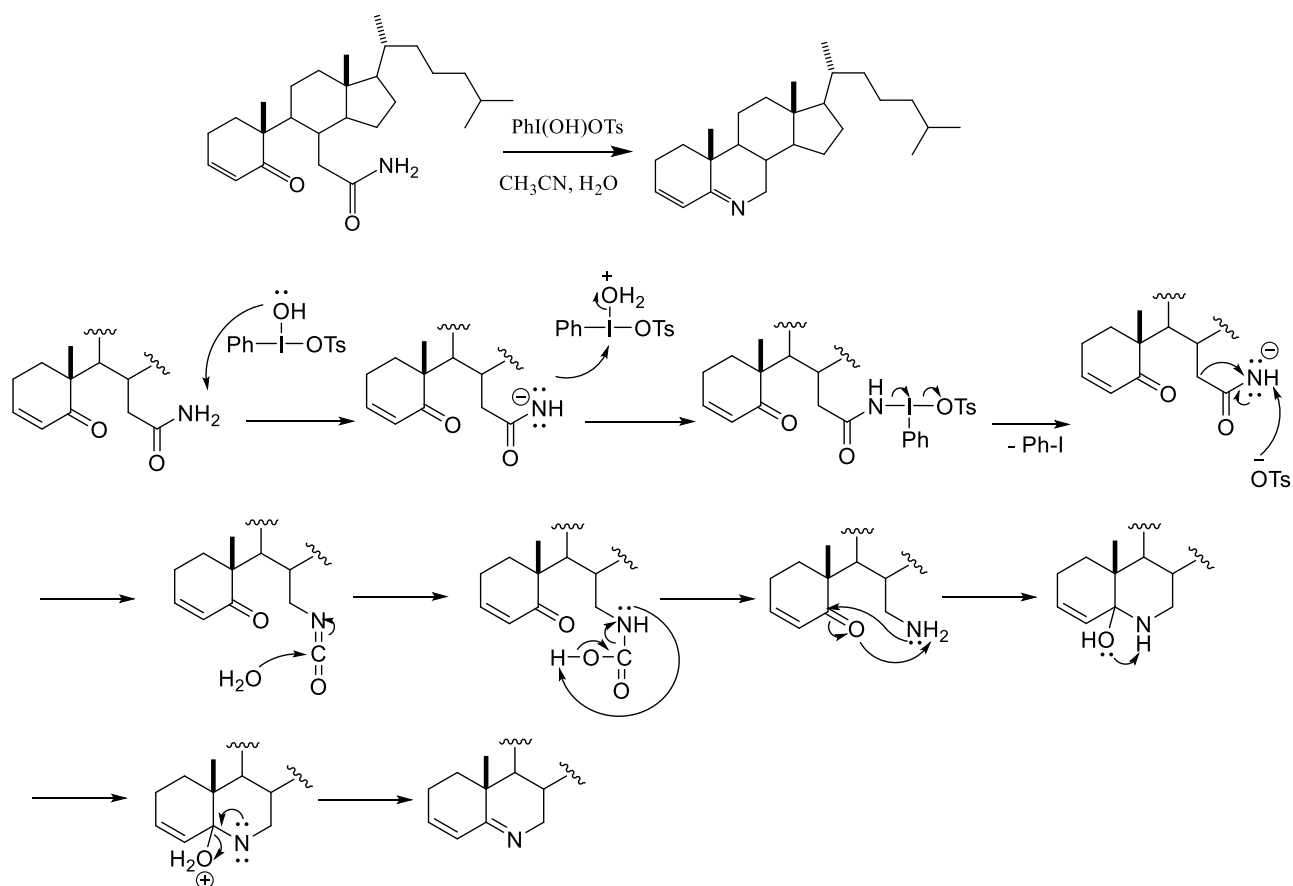


Espectro 20. Espectro de ^{13}C de RMN del compuesto **8**.

La síntesis del derivado 6-azaesteroide de colesterol **9** se llevó a cabo utilizando el rearrreglo de Hoffmann de **7a** y **8**, usando hidrox(i)tosiloxiiodobenceno en una mezcla 1:1 acetonitrilo-agua por 40 minutos, posteriormente en el mismo medio de reacción ocurrió la ciclación hacia el 6-azaesteroide **9**. La reacción es rápida y limpia, fue posible observar su formación mediante CCP.

Se trató de purificar el derivado **9** por cromatografía tipo flash, sin embargo resultó ser muy inestable y se degradó a numerosos productos, por lo que su caracterización no fue posible. El crudo de reacción observado por RMN mostró que las condiciones de reacción utilizadas eliminaron el acetato en C-3 generándo el azaesteroide **9**.

Un mecanismo^{22,23} posible es el que se muestra a continuación a partir del derivado 5,6-secoamida **8** (Esquema 14).

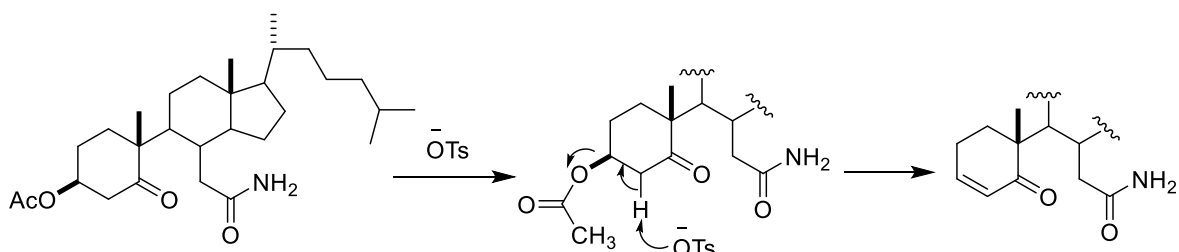


Esquema 14. Mecanismo del 6-azaesteroide.

En esta propuesta de mecanismo de reacción se sugiere que inicialmente, se produce el reordenamiento de Hofmann, donde se forma la especie amidato la cual reacciona con el $\text{PhI}(\text{OH})\text{OTs}$ seguido de su deshidratación para la formación del iodonio N-feniloamida. A continuación, sucede la transposición de Hofmann resultando la especie isocianato. La hidratación del isocianato resulta en la formación del ácido carbámico, su posterior descarboxilación y protonación da como producto la amina.

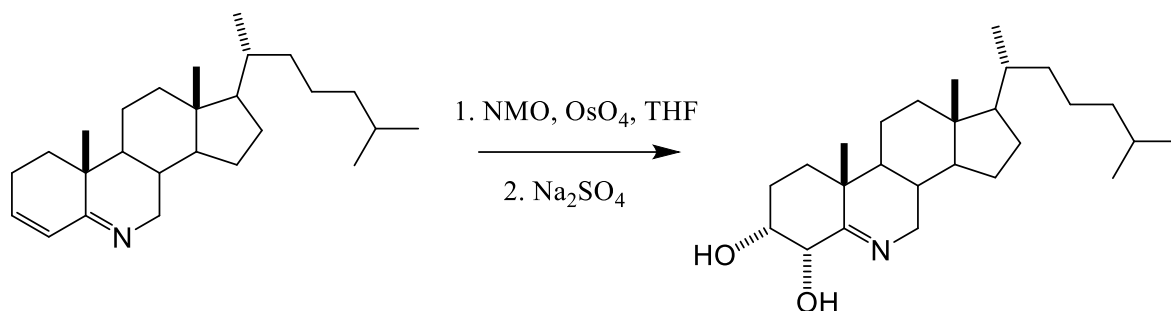
En el mismo medio de reacción ocurre la ciclocondensación, mediante el ataque nucleofílico de la amina al carbonilo en C-5 del colesterol seguido de una protonación, finalmente la deshidratación en C-5 da como resultado el compuesto 6-azaesteroide de colesterol **9**.

Para explicar la formación de la doble ligadura del compuesto **8** en la reacción del 6-azaesteroide se propone una eliminación del acetato a través del tosilato, base formada en el curso de la reacción, el cual tomaría un protón ácido de C-4 formando el doble enlace y eliminando el grupo acetato (Esquema 15).



Esquema 15. Mecanismo de formación de la doble ligadura en el C-3, C-4.

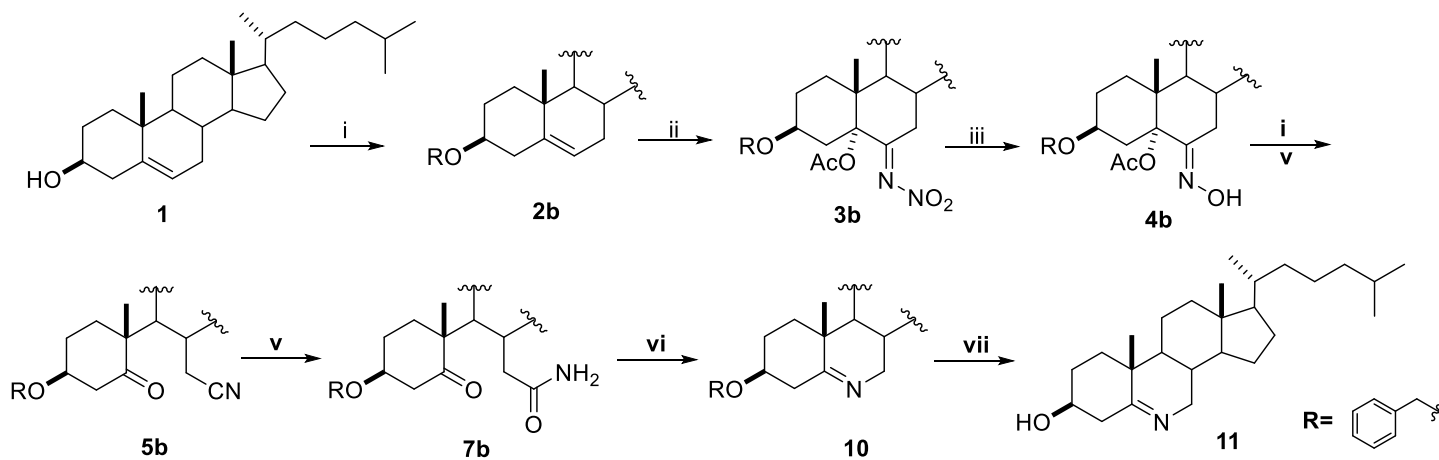
Con el fin de funcionalizar nuevamente el anillo A, se ensayaron las condiciones para introducir un diol sobre C-3 y C-4 mediante una metodología ensayada previamente por nuestro grupo de investigación, usando *N*-óxido de *N*-metilmorfolina, tetrahidrofurano y tetróxido de osmio (Esquema 16).



Esquema 16. Introducción de hidroxilo en el C-3, C-4.

Sin embargo, al realizar tal metodología se observó la formación de muchos productos de reacción por lo que la purificación no pudo ser realizada debidamente por tal razón no fue posible identificar el compuesto resultante de síntesis propuesta.

Vistos los resultados anteriores se probó la misma ruta de síntesis a partir de colesterol protegido con un grupo bencilo en el C-3 para evitar su eliminación y al final de la ruta regenerar el grupo hidroxilo (Esquema 17).



Condiciones: i) NaH, BnBr, DMF ii) AcOH, BF₃·OEt₂, NaNO₂ iii) NH₂OH·HCl, NaOAc, EtOH, reflujo iv) SOCl₂, Dioxano v) acetaldoxima, cat. de Wilkinson, tolueno, reflujo vi) PhI(OH)OTs, CH₃CN-H₂O, reflujo vii) H₂, Pd.

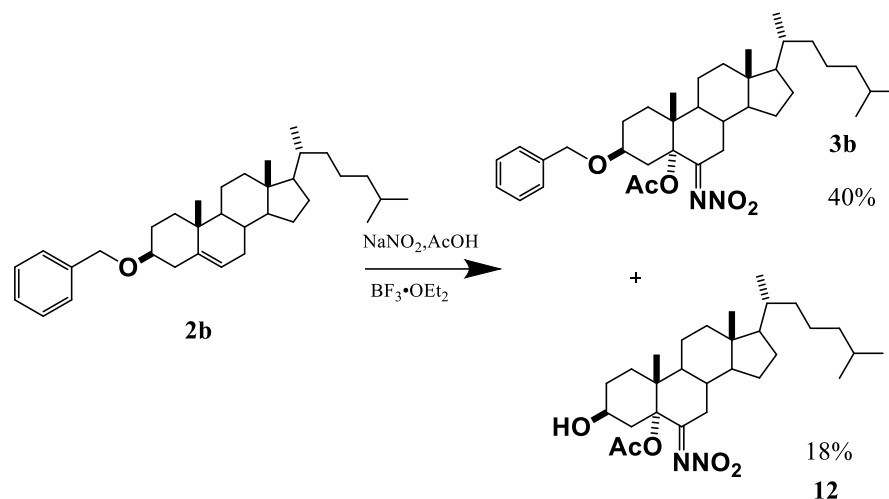
Esquema 17. Ruta de síntesis con colesterol bencilado.

El colesterol **1** se trató en condiciones de bencilación para proteger el hidroxilo en C-3. La reacción realizada es conocida como la síntesis de Williamson, e involucra la formación de un éter a partir de un halogenuro de alquilo y un alcóxido mediante una reacción S_N2 (sustitución nucleofílica bimolecular).

La síntesis se realizó utilizando bromuro de bencilo e hidruro de sodio en dimetilformamida. La reacción fue lenta y el colesterol no reacciona en su totalidad, pero se puede observar la formación del derivado bencilado por CCF, el cual no pudo aislarse completamente para su caracterización por RMN debido a la baja polaridad del derivado. El BnBr presente que no reacciona es muy difícil de remover aun purificando solo con hexano. Un punto clave y decisivo para realizar la reacción es que los reactivos y disolventes deben estar totalmente anhidros ya que la presencia de agua en el medio de reacción afecta la formación del alcóxido y por ende no se realiza tal reacción pues el halogenuro de alquilo no reacciona.

El hidruro de sodio reacciona con el colesterol en presencia de DMF, un disolvente polar aprótico que favorece las reacciones S_N2 para dar el correspondiente alcóxido, a su vez el alcóxido realiza una sustitución nucleofílica bimolecular que pasa por un estado de transición seguido de la eliminación del bromo para dar el colesterol bencilado **2b**.

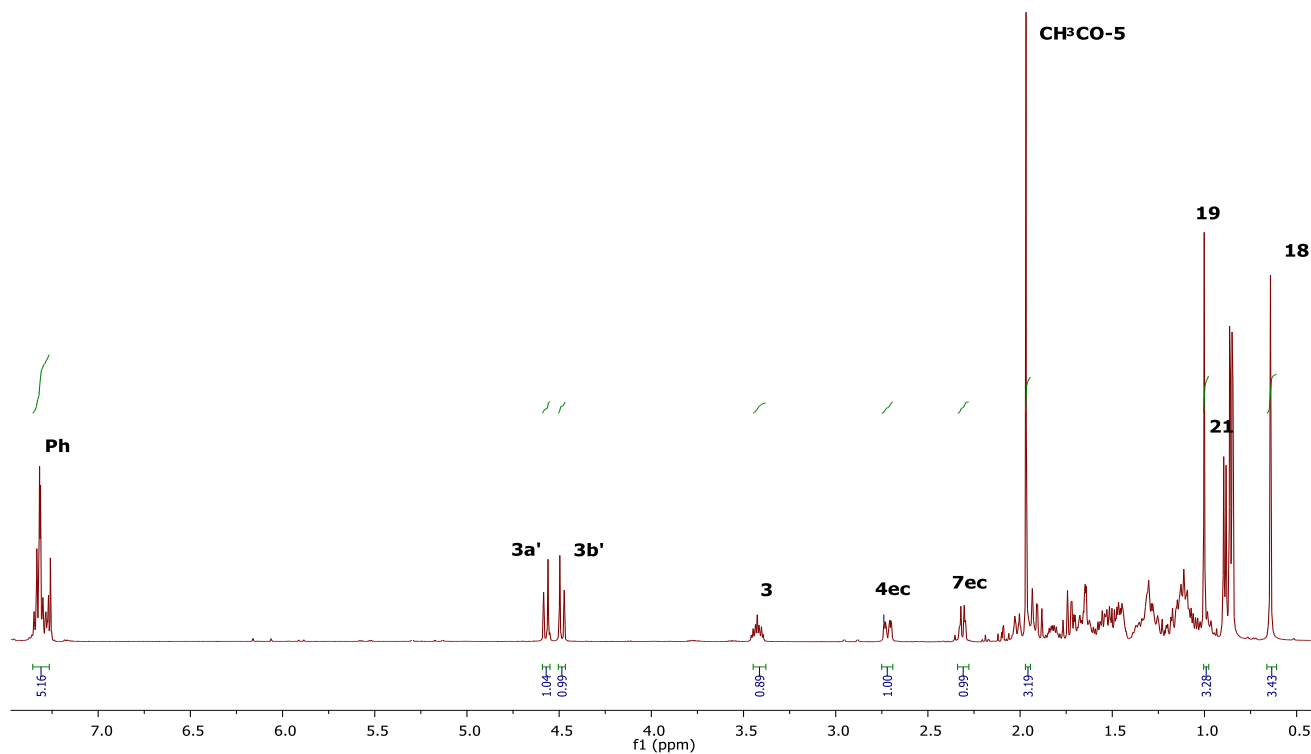
La formación del derivado nitroimino bencilado **3b** se llevó a cabo utilizando las mismas condiciones reportadas que para el acetato de 6-nitroimino-5 α -coleston-3 β ,5 α -diilo **3a**, dichas condiciones involucran la reacción de $NaNO_2$, AcOH y $BF_3 \cdot OEt_2$ a temperatura ambiente y en condiciones anhidras. El compuesto obtenido es muy estable y se obtuvo con un rendimiento moderado (40%) debido a que no reacciona toda la materia prima y se observa la formación de 2 productos mayoritarios que fueron identificados (Esquema 18). La purificación se realizó 2 veces porque se forma una cantidad importante de benzaldehído que es removida en la primera purificación mientras que la segunda es para obtener el compuesto nitroimino bencilado.



Esquema 18. Productos de la reacción de nitrosación.

Los mecanismos probables de reacción de la reacción de nitrosación de **3b** son los mismos que se revisaron en la síntesis del acetato de 6-nitroimino-5 α -colestano-3 β ,5 α -diilo **3a**.

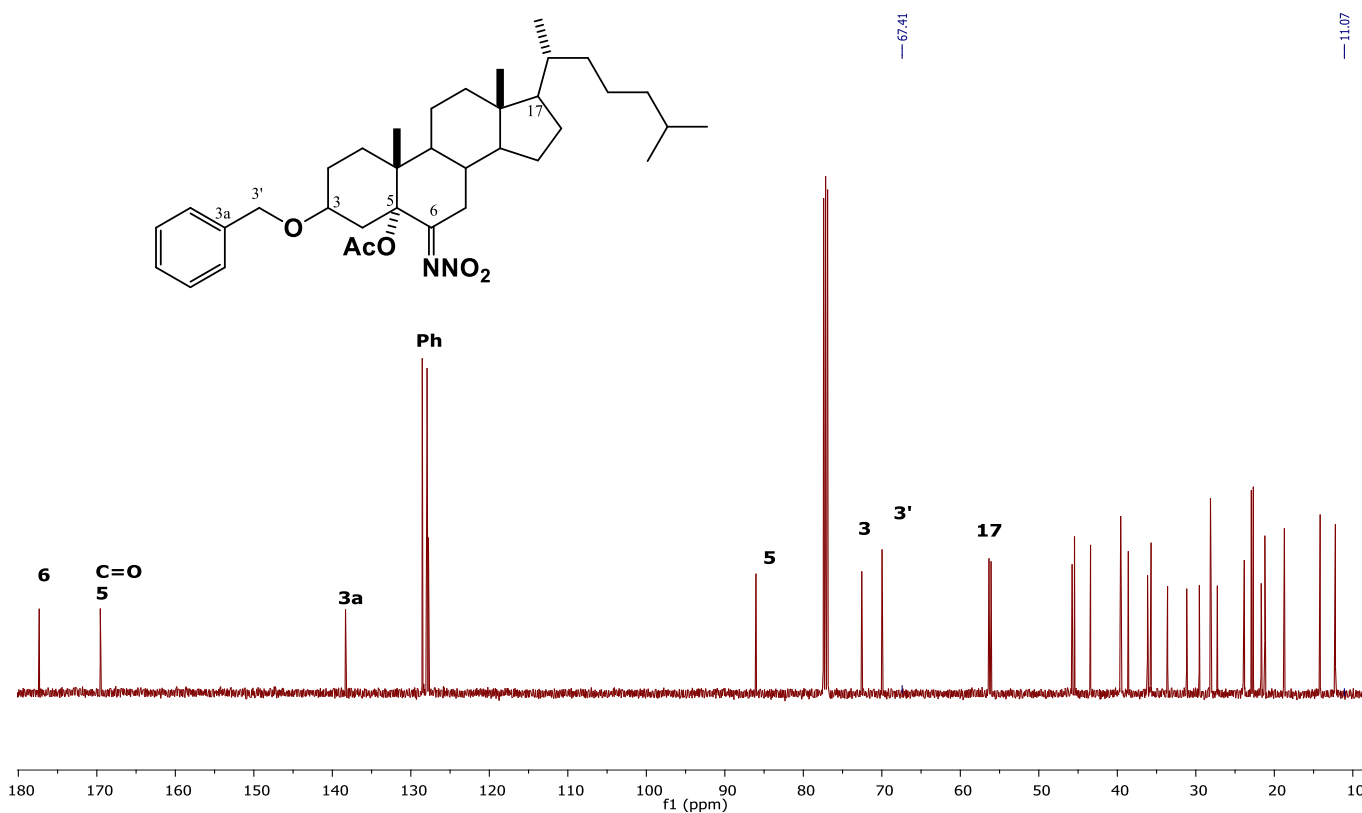
En el espectro de RMN de ^1H del compuesto **3b** se observan a frecuencias altas las señales para los protones del fenilo en C-3 a 7.31 ppm.



Espectro 21. Espectro de ^1H de RMN del compuesto **3b**.

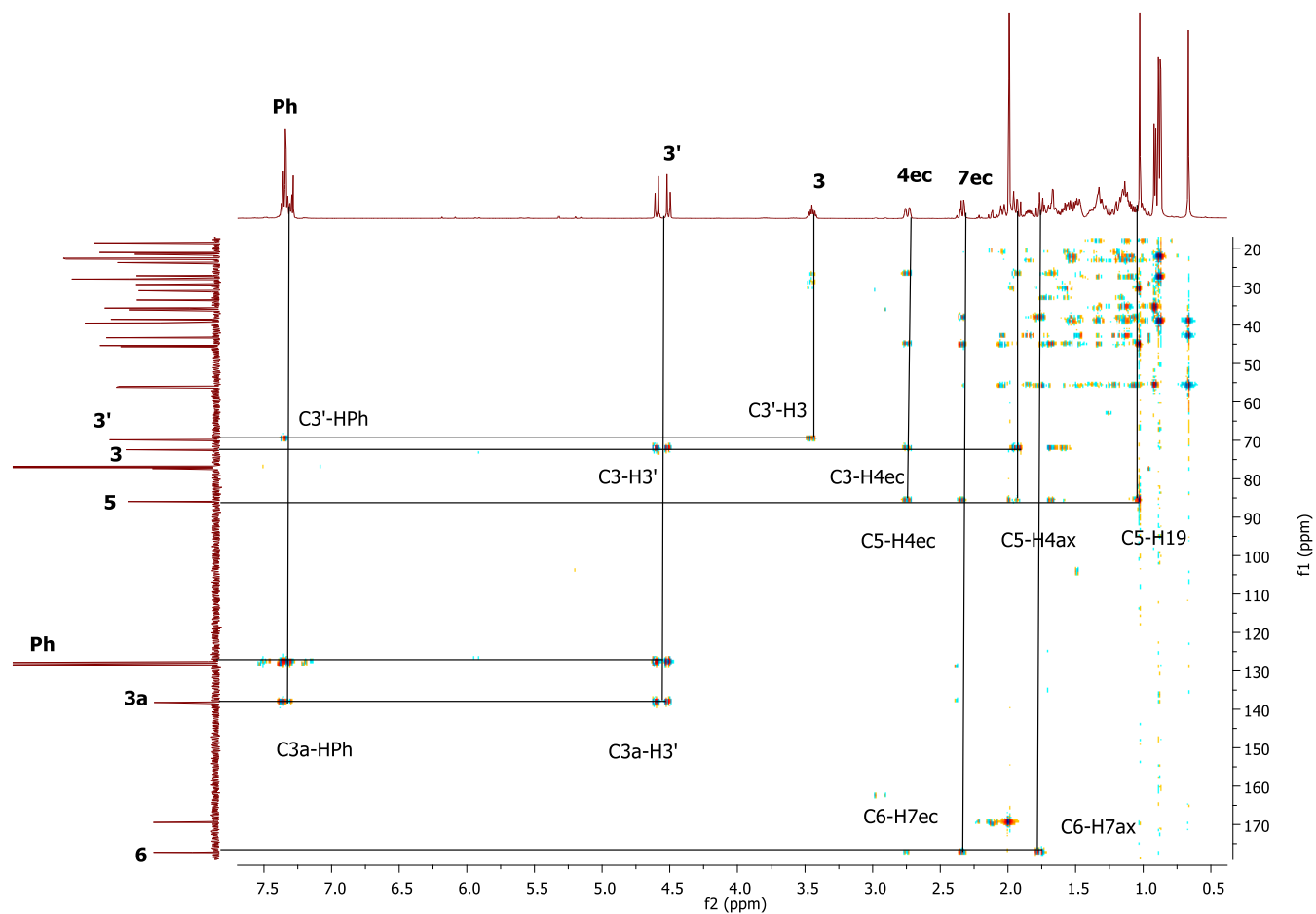
Posteriormente aparecen las señales para los protones del CH₂ del grupo bencilo en 4.57 ppm y 4.48 ppm debido a la desprotección por parte del fenilo; mientras que a 3.42 ppm se muestra una señal múltiple que corresponde al H-3. Al igual que su análogo se observan las señales para H-4ec y H-7ec a 2.71 ppm y 2.13 ppm (Espectro 21).

En el espectro de RMN de ¹³C del derivado nitroimino **3b** se puede destacar la señal del C-6 en 177.3 ppm. Con respecto a su análogo **3a**, aparecen nuevas señales que demuestran la presencia del bencilo como a 138.3 ppm que corresponde al C-*ipso* del fenilo, así como también los carbonos en 128.54 ppm y 127.93 ppm. De igual manera se puede observar la señal del carbón bencílico en 69.97 ppm. (Espectro 22).



Espectro 22. Espectro de ¹³C de RMN del compuesto **3b**.

En el experimento HMBC (Espectro 23) se distinguen las correlaciones de C-6 y C-5 a 2 enlaces con los protones diasterotópicos H-7 y H-4 respectivamente, el C-*ipso* se acopla con los protones del fenilo y a 2 enlaces con los protones del CH₂ bencílico. El C-3 correlaciona a 3 enlaces con los protones bencílicos y a dos enlaces con los protones H-4 diasterotópicos.



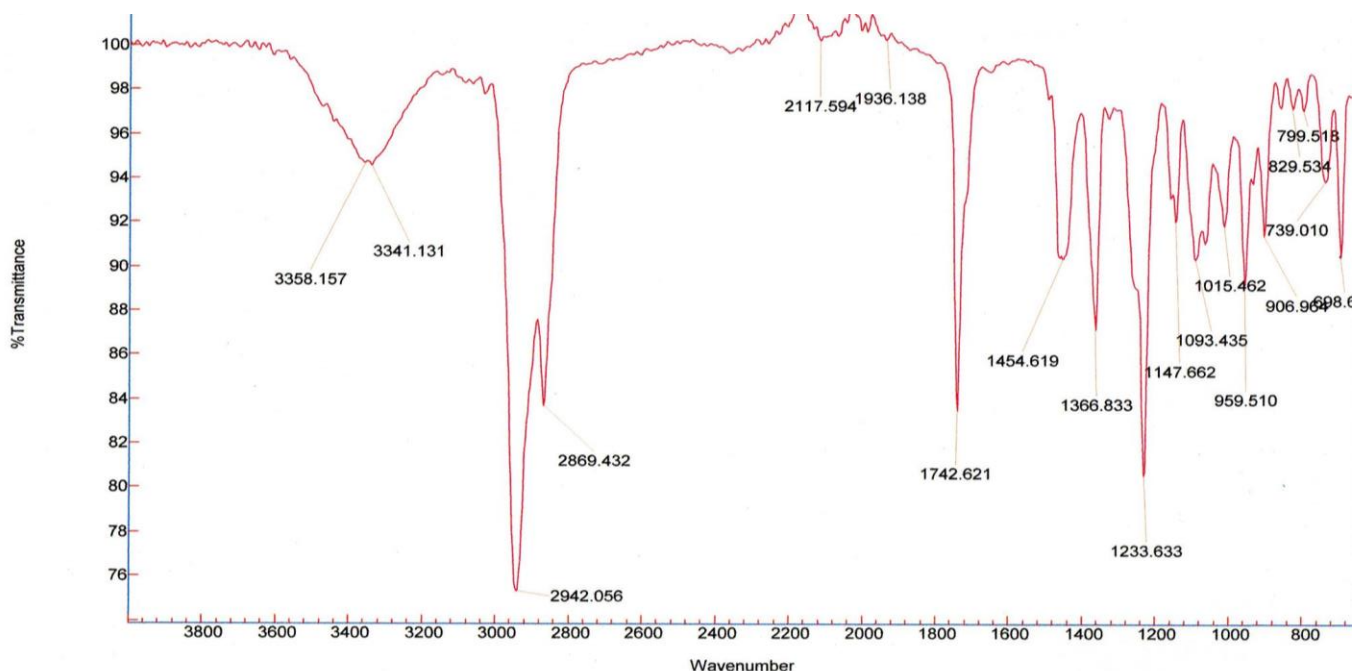
Espectro 23. Experimento HMBC del compuesto **3b**.

La síntesis de la oxima esteroidal bencilada **4b** intermediario clave para la formación de los compuestos 5,6-seconitrilo se realizó mediante la hidrólisis regioselectiva del nitroimino **3b** utilizando EtOH, CH₃COONa y NH₂OH·HCl obteniendo un buen rendimiento del 80%, la cromatografía en capa fina reveló la formación de un solo compuesto mientras que la materia prima no se consumió

totalmente. Se procedió a purificar el crudo de reacción por cromatografía en columna para eliminar ligeras impurezas.

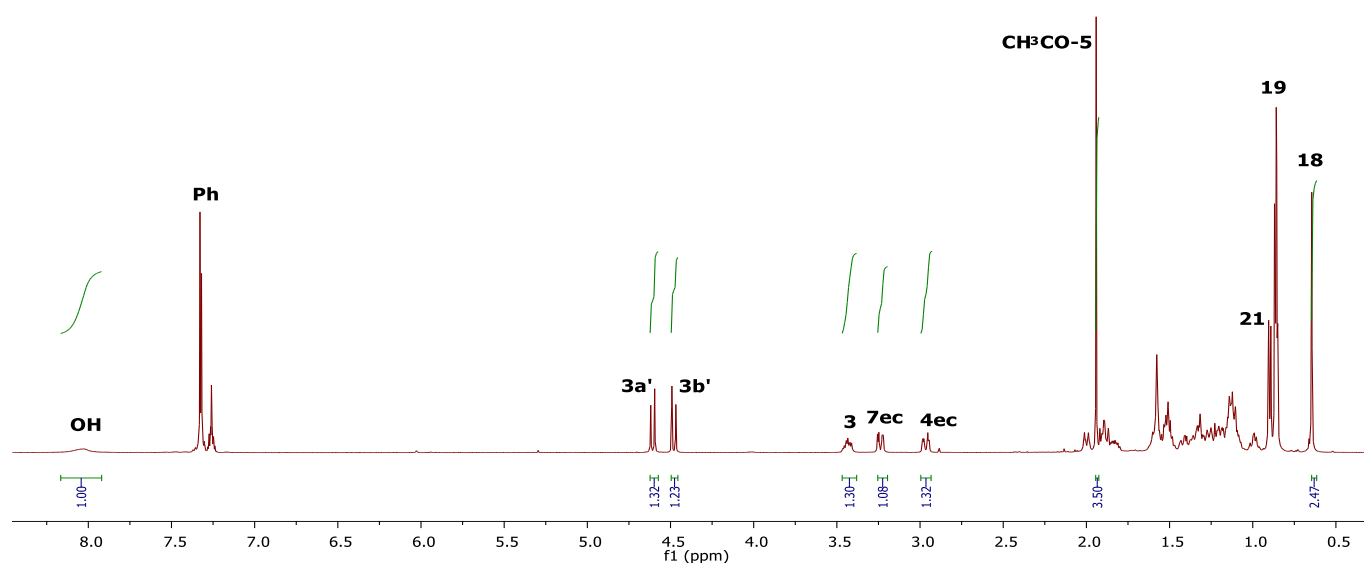
Los datos obtenidos de la RMN indican que se llevó a cabo la hidrólisis regioselectiva del grupo funcional nitroimino en el anillo B con la consecuente formación de la oxima sin afectar el grupo acetato en el C-5 ni el grupo protector bencilo en C-3.

En el espectro de IR (Espectro 24) se observan bandas características del derivado 4b. Las señales más significativas son, la aparición de una banda de absorción ancha a 3358 cm^{-1} debida a las vibraciones de tensión de OH características del grupo hidroxilo presente en la estructura. La banda de absorción fuerte en 1742 cm^{-1} la cual se debe a la vibración de tensión C=O del grupo carbonilo en C-5, la banda de absorción en 1454.6 cm^{-1} se debe a la flexión de las dobles ligaduras presentes en el grupo bencilo; también se observa la banda en 1232.1 cm^{-1} debida a las vibraciones de tensión C-O.



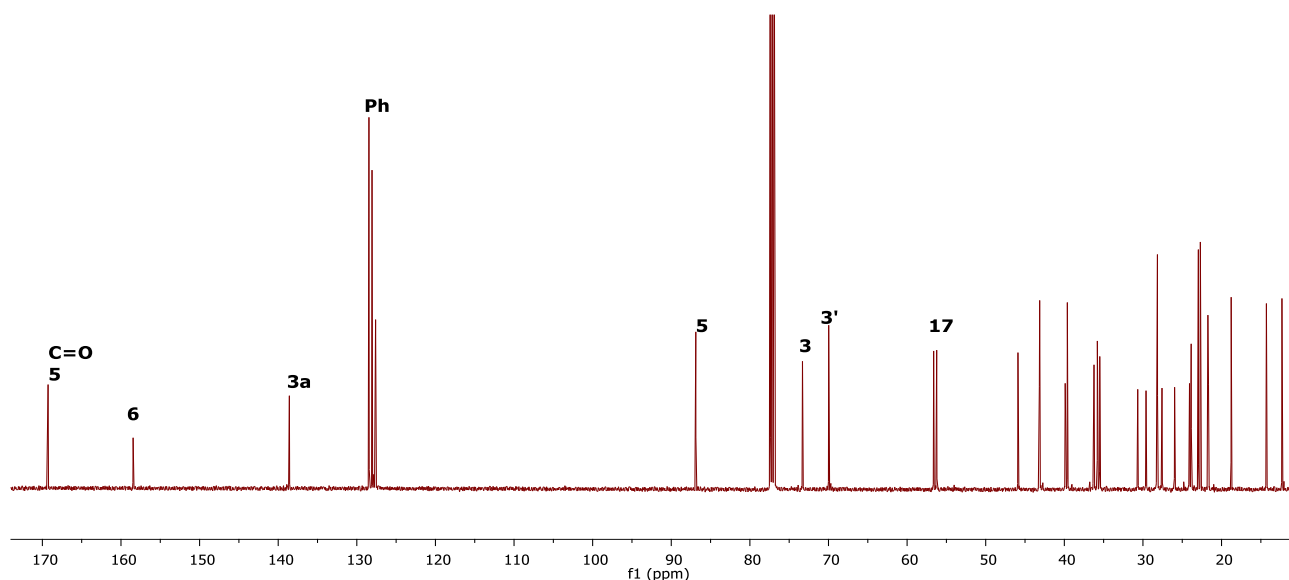
Espectro 24. Espectro de IR del compuesto **4b**.

Las señales características más importantes en el espectro de RMN de ^1H del compuesto **4b** son, el protón NOH de la oxima el cual se desplaza a frecuencias altas en 8.0 ppm, los protones del fenilo en 7.31 ppm muestra de que el compuesto sigue protegido, los protones bencílicos aparecen en 4.60 ppm y 4.48 ppm respectivamente, de igual manera se siguen observando los H-7ec y H-4ec en 3.23 ppm y 2.97 ppm, con la diferencia de que ahora el H-7ec aparece desplazado a frecuencias más altas debido al cambio de grupo funcional sobre el C-6 (Espectro 25).



Espectro 25. Espectro de ^1H de RMN del compuesto **4b**.

En el espectro de RMN de ^{13}C de **4b** se puede destacar la señal del C-6 que ahora aparece desplazada a frecuencias más bajas en 158.4 ppm debido al cambio de grupo funcional sobre este carbono, mientras que la señal del carbonilo C=O del acetato en C-5, C-*ipso*, C-5, C-3 y algunas otras señales siguen apareciendo en los mismos desplazamientos que la materia prima, en 169.2 ppm, 138.5 ppm, 86.8 ppm y 73.3 ppm respectivamente (Espectro 26).



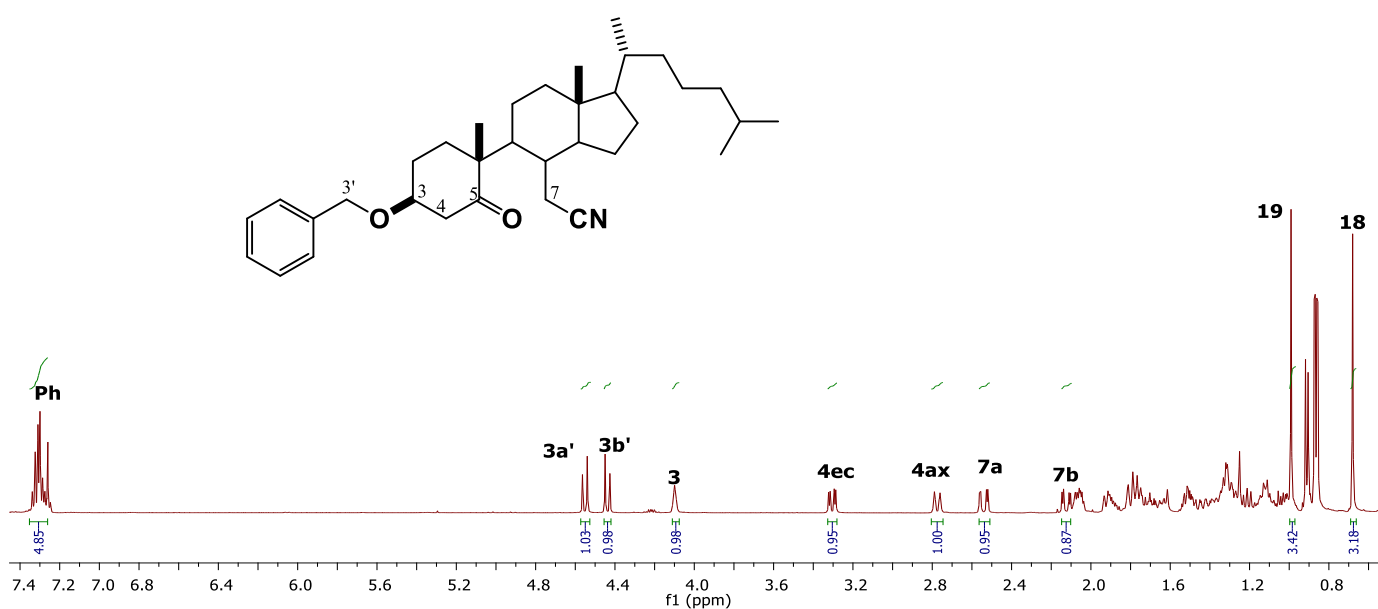
Espectro 26. Espectro de ^{13}C de RMN del compuesto **4b**.

La síntesis del derivado 5,6-seconitrilo **5b** se realizó mediante el tratamiento del derivado 6-hidroximinocolesterol **4b** con SOCl_2 y dioxano a 25°C . Al igual que su análogo **4a**, la reacción es muy limpia, sin embargo, el tiempo de reacción se ve afectado incrementándose a 30 minutos, el rendimiento en este caso es mejor, siendo de 87.10%. Por CCF se observó la formación del producto mayoritario con ligeras impurezas que no fueron identificadas además, a diferencia del análogo **4a** el compuesto resulta ser más estable que **5a**.

Una vez identificado el derivado por RMN se observó que se favoreció la ruptura regioselectiva del anillo B, generándose como producto mayoritario el derivado 5,6-seconitrilo **5b** sin que se eliminara o desprotegiera el C-3 como resultaba en la ruta anterior, siendo este producto crucial para continuar la ruta de síntesis propuesta.

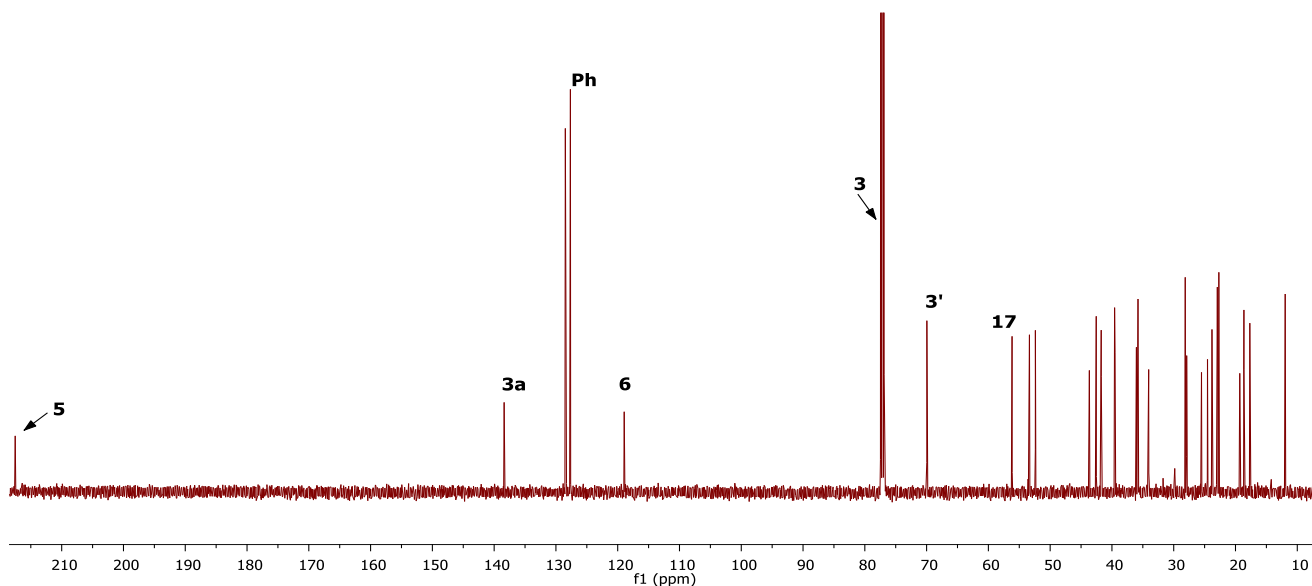
Un factor muy importante antes mencionado en esta reacción es el tiempo, ya que modificarlo afecta considerable la síntesis del derivado 5,6-seconitrilo **5b** resultando la formación de varios subproductos que afectan el rendimiento.

En el espectro de RMN de ^1H los cambios más significativos que se pueden apreciar son la ausencia de la señal de OH de la oxima, en cambio se puede notar que las señales de los protones diasterotópicos H-4ec y H-4ax se desplazaron a frecuencias altas en 2.30 ppm y 2.77 ppm debido a la desprotección de estos hidrógenos por parte del carbonilo C-5, así mismo se nota la ausencia de la señal para, los protones del metilo del C-5 debido a la transformación a la cetona correspondiente. Las señales del fenilo siguen apareciendo en 7.3 ppm, al igual que las del CH_2 del bencilo en 4.55 ppm y 4.44 ppm (Espectro 27).



Espectro 27. Espectro de ^1H de RMN del compuesto **5b**.

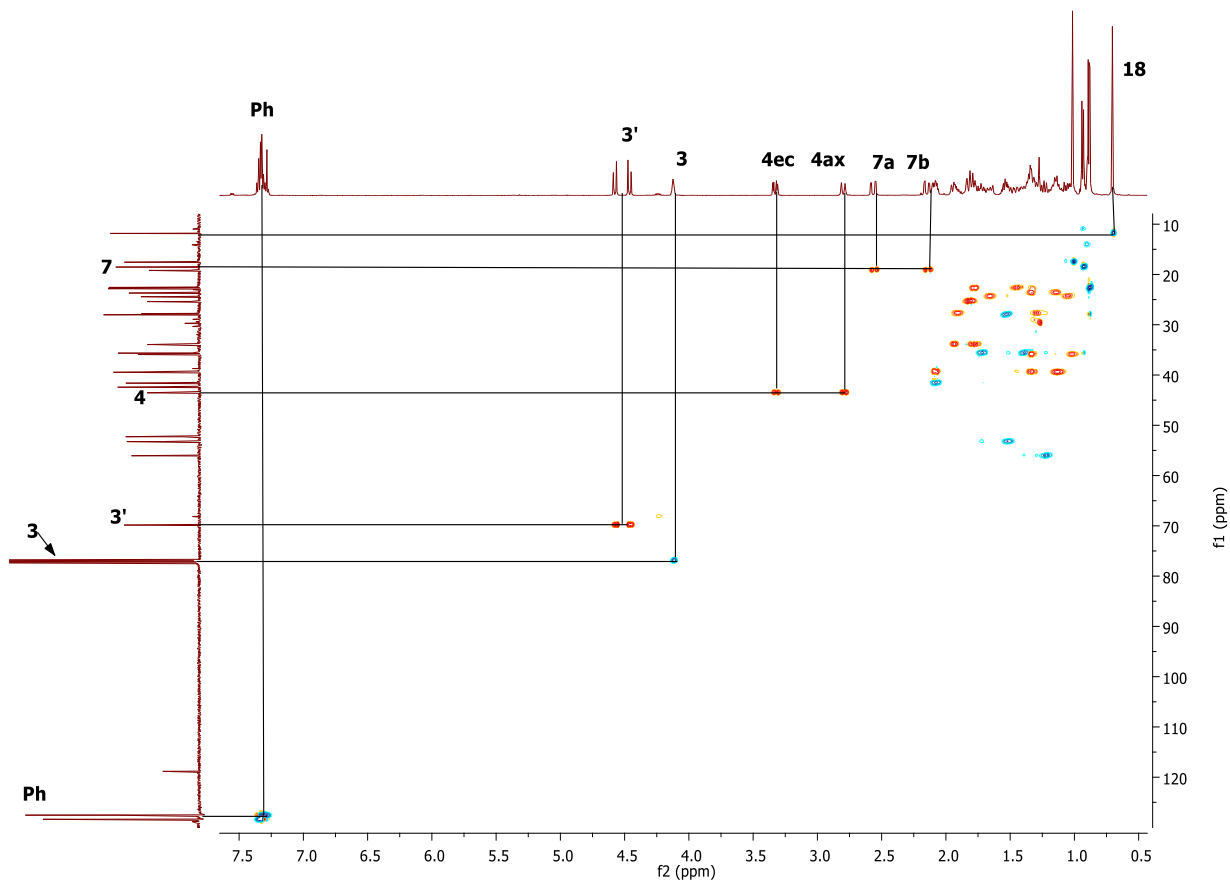
En el espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **5b** se observa que la señal del C-5 se desplazó a frecuencias altas en 217.4 ppm debido a que se transformó a la cetona presente en la estructura, esto también afectó al C-3 desplazándolo ligeramente a frecuencias más altas en 76.93 ppm, en cambio la señal de C-6 pasó a frecuencias más bajas en 118.8 ppm, algunas otras señales conservaron su desplazamiento tal es el caso de C-*ipso*, CH_2 del bencilo y los carbonos del fenilo en 69.94 ppm, 138.2 ppm y 128 ppm, también se observa la ausencia de la señal del carbonilo del acetato en C-5 (Espectro 28).



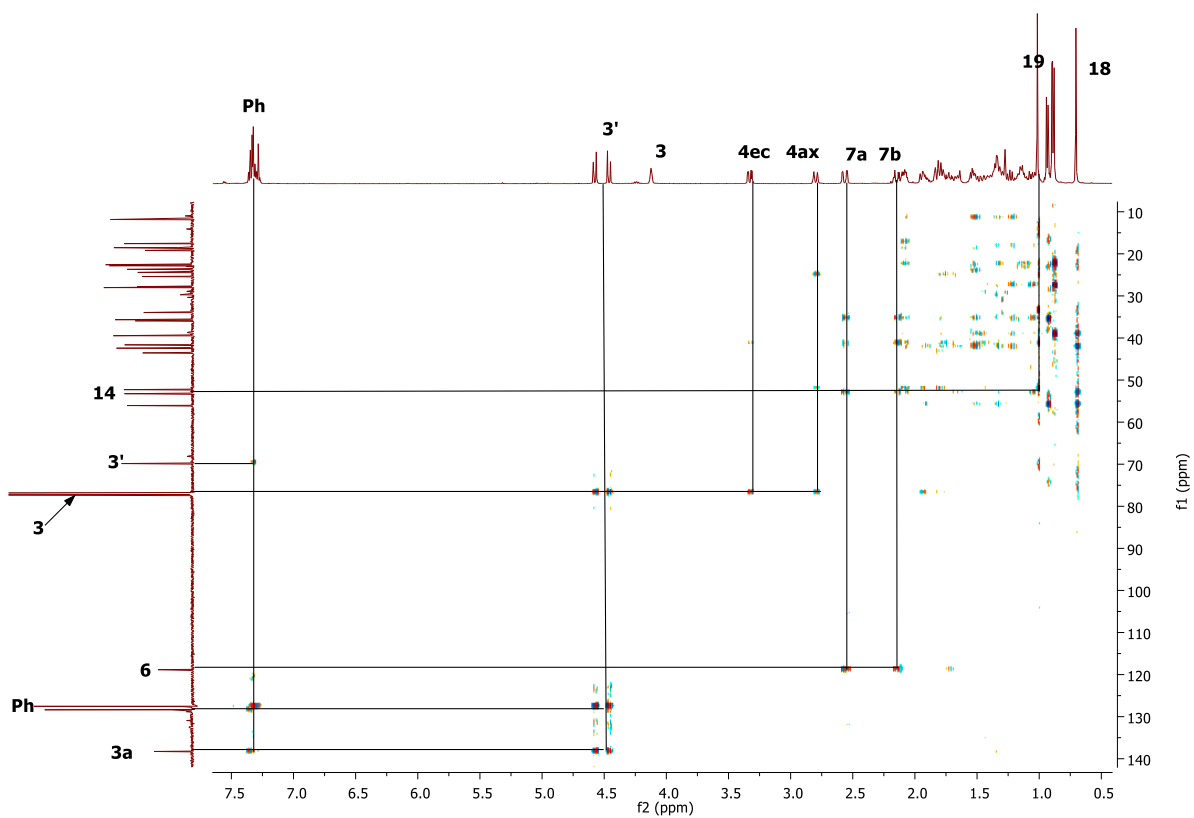
Espectro 28. Espectro de ^{13}C de RMN del compuesto **5b**.

En el experimento HSQC (Espectro 29) se pueden apreciar las correlaciones C-H a un enlace como la de los carbonos del fenilo con sus protones, también el C-3 con su protón H-3, mientras que las señales que más destacaron fueron las de C-4 y C-7 para corroborar los H-4 y H-7 diasterotópicos.

En el experimento HMBC se pueden observar las correlaciones C-H a 2 y 3 enlaces, siendo los más destacados la correlación a 2 enlaces de C-6y C-3 con los protones diasterotópicos H-7 y H-4, el CH_2Ph que correlaciona con los hidrógenos bencílicos así como del fenilo a 2 y 3 enlaces, mientras que los C-aromáticos correlacionan con los H-aromáticos y los hidrógenos bencílicos (Espectro 30).



.Espectro 29. Experimento HSQC del compuesto 5b.

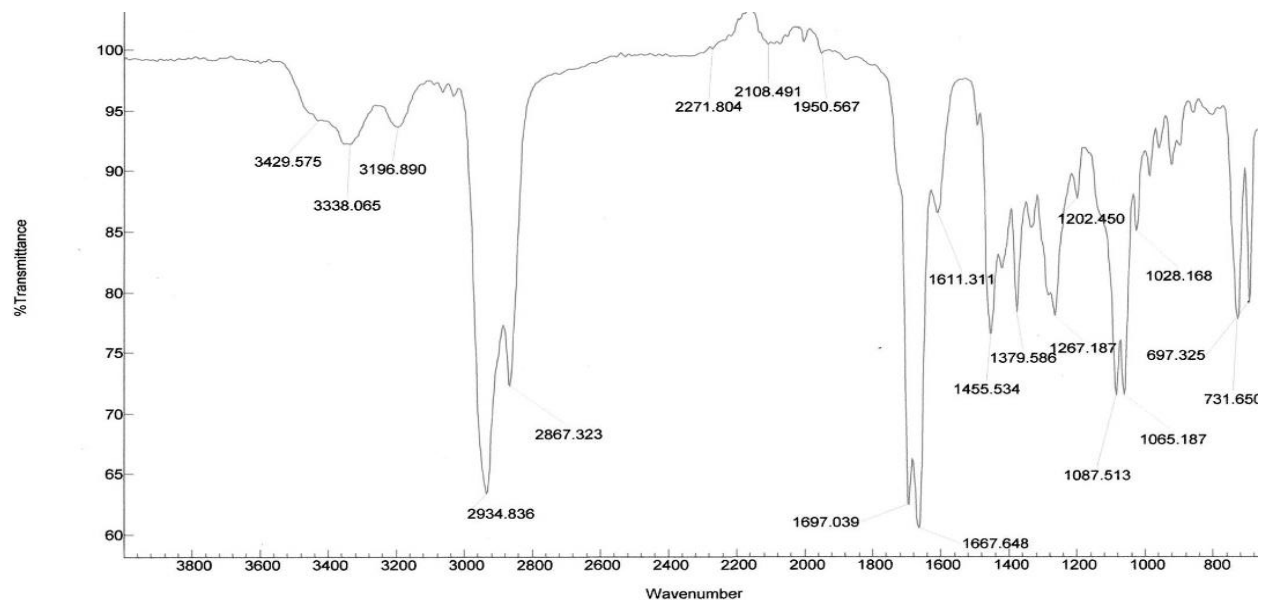


Espectro 30. Experimento HMBC del compuesto 5b.

Una vez obtenido el derivado de colesterol **5b** se hidrolizó parcialmente la función nitrilo del C-6 para conseguir el grupo funcional amida. Al igual que su análogo **5a**, el derivado fue tratado conforme a la metodología reportada por Lee *et al*¹, las condiciones usadas fueron acetaldoxima en tolueno a reflujo y el catalizador de Wilkinson (RhCl(PPh₃)₃).

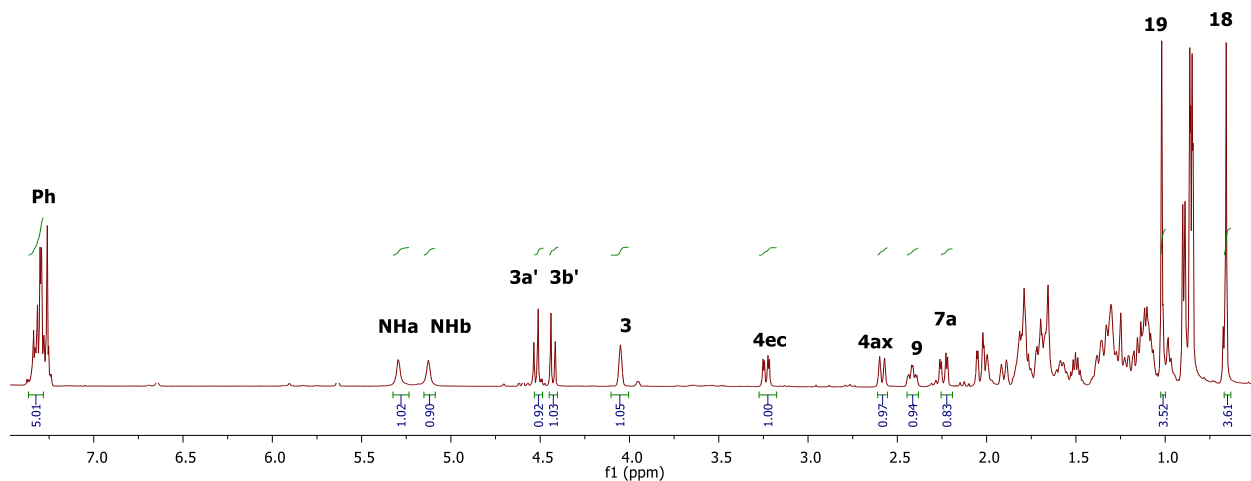
Se ensayaron diferentes tiempos y cantidades de reactivo, el rendimiento más alto que se consiguió fue del 60% para el derivado 5,6-secoamida **7b**, dado que en la reacción no se consume completamente la materia prima.

En el espectro de IR se observan bandas características del derivado **7b**. Entre las señales que más destacan son, las bandas entre 3429.5 cm⁻¹ y 3196.8 cm⁻¹ resultado de las vibraciones N-H, las bandas de 1697.0 cm⁻¹ y 1667.6 cm⁻¹ se deben a la vibración de tensión C=O del grupo carbonilo en C-3 y C-6 (Espectro 31).



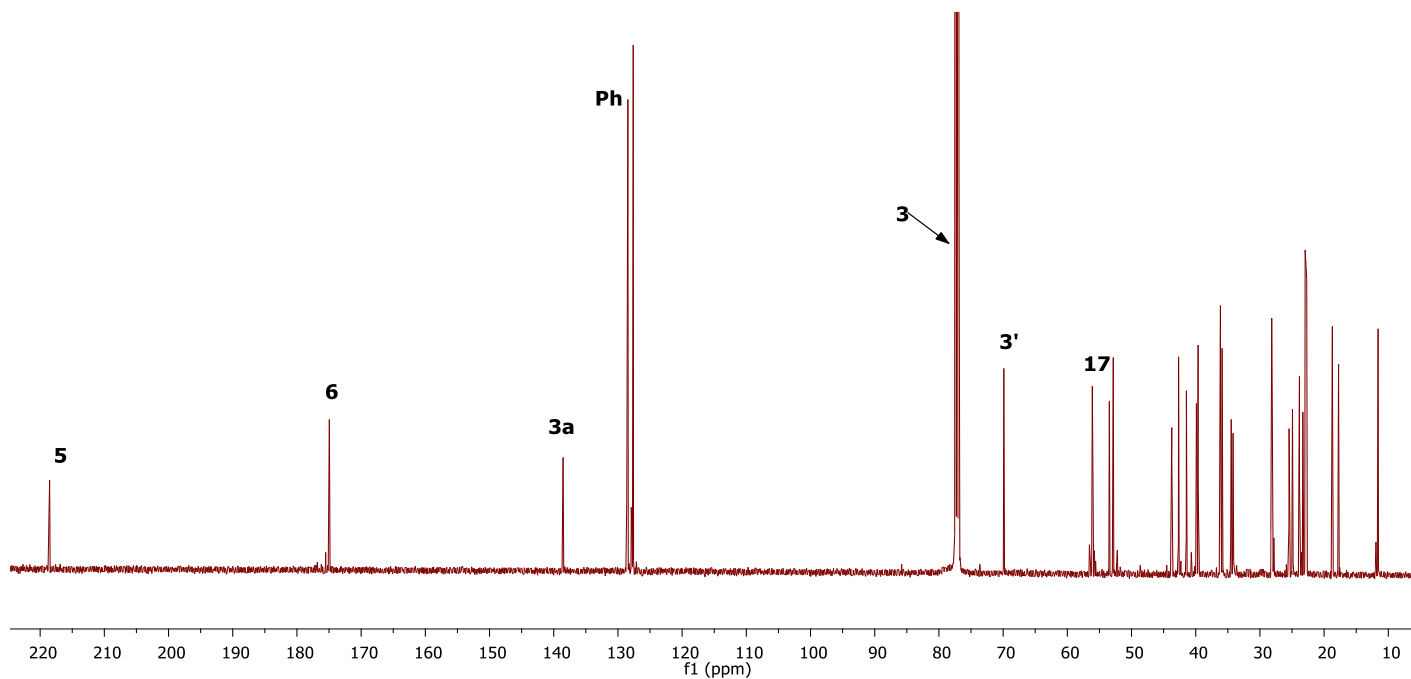
Espectro 31. Espectro de IR del compuesto **7b**.

En el espectro de RMN de ^1H para el compuesto **7b** se pueden apreciar señales nuevas a frecuencias altas, las señales en 5.29 ppm y 5.12 ppm fueron asignadas para los protones de la amida, mientras que las demás señales se encuentran desplazadas casi a la misma frecuencia, los protones del fenilo en 7.30 ppm, los protones bencílicos en 4.52 ppm y 4.43 ppm. Las señales para los protones diastereotópicos H-4 asignadas en 3.23 ppm y 2.58 ppm para H-4ec y H-4ax respectivamente (Espectro 32).

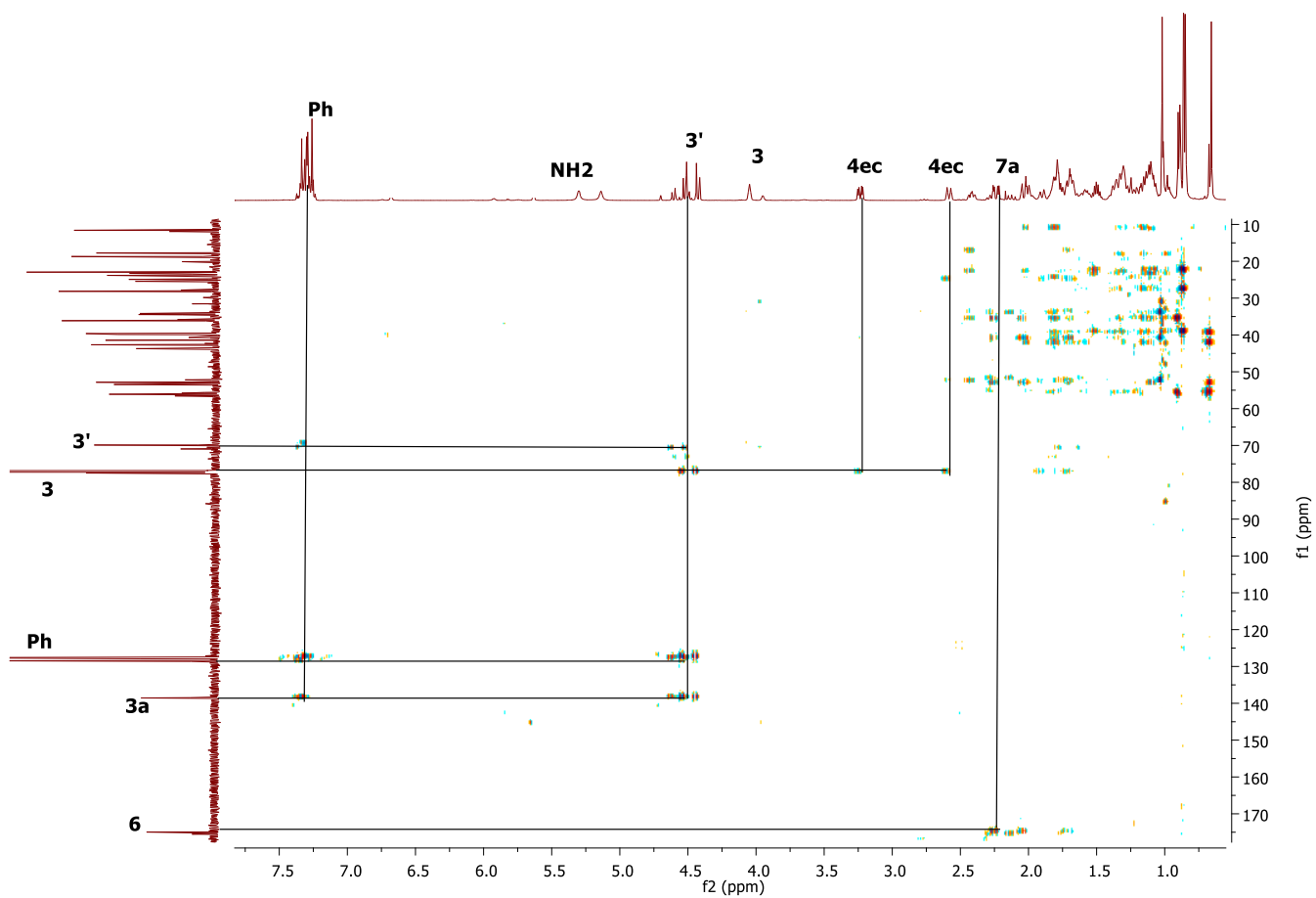


Espectro 32. Espectro de ^1H de RMN del compuesto **7b**.

En el espectro de RMN de ^{13}C se puede apreciar la señal del C-6 desplazada a frecuencias altas en 174.94 ppm debido al carbonilo de la amida en dicho carbono, sin embargo, las demás señales se encuentran desplazadas casi a las mismas frecuencias, tal es el caso de la señal del carbonilo en C-5 a 214.5 ppm; en 138.54 ppm y 69.89 ppm se encuentran las señales de $\text{C}_{\text{-ipso}}$, y $\text{-CH}_2\text{Ph}$. Los carbonos del fenilo siguen alrededor de 128.0 ppm (Espectro 33).



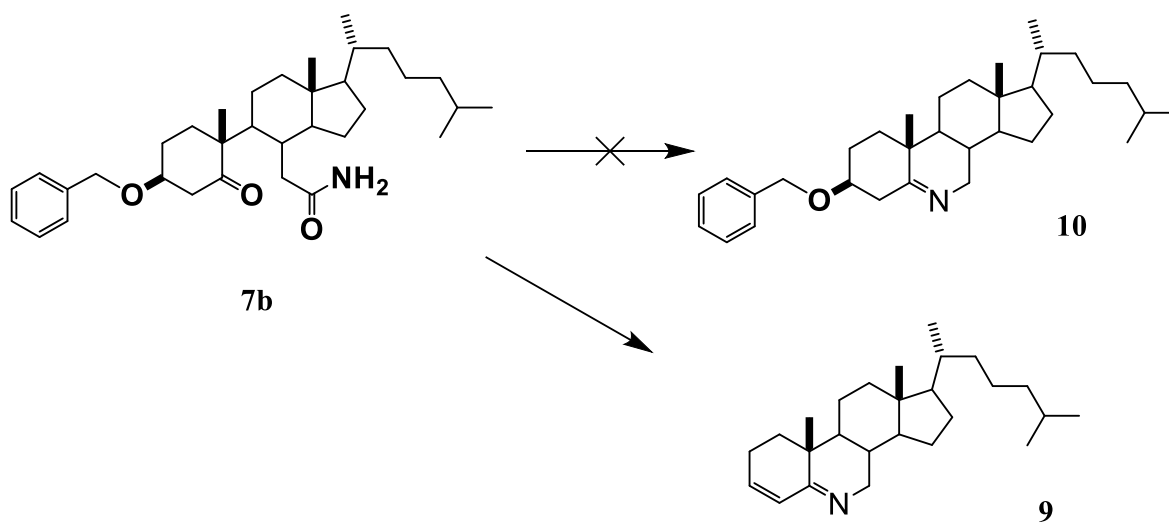
Espectro 32. Espectro de ^{13}C de RMN del compuesto **7b**.



Espectro 33. Experimento HMBC del compuesto **7b**.

En el experimento HMBC se pueden observar las correlaciones de los C-H a 2 y 3 enlaces, siendo las más importantes para corroborar la estructura el C-6 que correlaciona a 2 enlaces con H-7, el C-*ipso* que correlaciona con los protones del fenilo y los hidrogenos bencílicos a 2 y 3 enlaces, así mismo el C-3 correlaciona con los protones bencílicos y los protones diasterotópicos H-4 a 3 y 2 enlaces (Espectro 33).

La síntesis del derivado 6-azaesteroide de colesterol **9** se realizó utilizando el rearrreglo de Hoffmann del compuesto **7b**, usando hidroxit(siloxi)iodobenceno en una mezcla 1:1 acetonitrilo-agua por 40 minutos, posteriormente en el mismo medio de reacción ocurrió la ciclación hacia el 6-azaesteroide **9**. Al igual que la reacción análoga es rápida, limpia, sin embargo es difícil de observar por CCF y es visible solo en la cámara de luz ultravioleta.

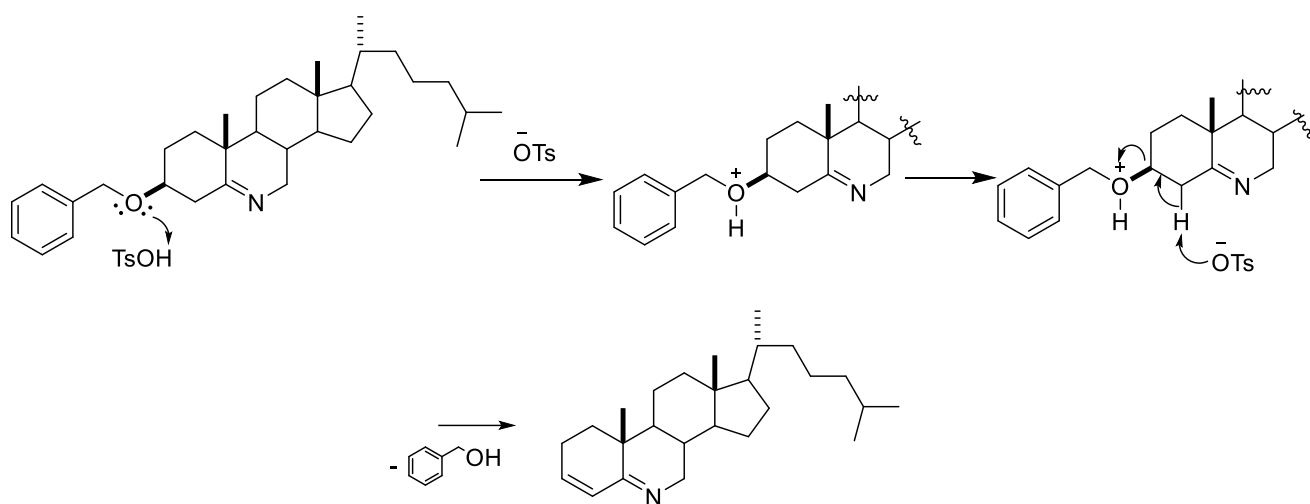


Esquema 19. Formación del 6-azaesteroide.

Se purificó el derivado **9** por cromatografía tipo flash en alúmina obteniéndose el compuesto aun con impurezas, sin embargo se observó que es muy inestable ya que al cabo de un tiempo se degradó a numerosos productos que no fueron identificados. Se observó el derivado **9** por RMN y se mostró que utilizando las condiciones antes descritas ocurre el reordenamiento de Hoffman y su posterior ciclación, pero además ocurrió la eliminación del bencilo y la formación de una doble

ligadura sobre el C-3 y C-4 generándose nuevamente el 6-azaesteroide **9** (Esquema 19).

Para explicar la formación de la doble ligadura del compuesto **9** en el 6-azaesteroide se propone una eliminación del éter bencílico a través del tosilato, base formada en el medio de reacción. El 6-azaesteroide protegido por el bencilo se protona al estar en contacto con el ácido *p*-toluensulfónico a reflujo, posteriormente ocurre la extracción de H-4 por el tosilato, seguido de la eliminación del alcohol bencílico para dar lugar al derivado 6-azaesteroide **9**. (Esquema 20).



Esquema 20. Mecanismo de formación de la doble ligadura en el C-3, C-4.

Parte Experimental

Puntos de fusión

Los puntos de fusión se determinaron por la técnica de capilar abierto en un aparato de punto de fusión Melt-temp.

RMN

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) se obtuvieron en espectrómetros Varian-Mercury multinuclear 300 MHz y Bruker Avance III 500 MHz empleando como disolvente cloroformo deuterado (CDCl_3).

Los desplazamientos químicos (δ) se expresan en ppm utilizando TMS como referencia interna. La multiplicidad se indica de la siguiente manera: s (señal simple), d (señal doble), t (señal triple), c (señal cuádruple), m (señal múltiple), dd (señal doble de dobles). Los valores de las constantes de acoplamiento (J) se expresan en Hz.

IR

Los espectros de infrarrojo IR se determinaron en un espectrofotómetro Agilent Cary 630 FTIR, los datos se expresan en números de onda ($\bar{\nu}$) en cm^{-1} y se utilizaron las interfaces ATR con punta de diamante y DIAL PATH.

Cromatografía

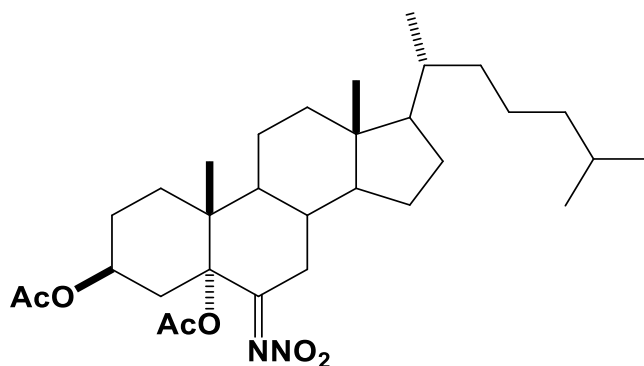
La cromatografía en capa fina se realizó utilizando placas comerciales de gel de sílice grado 60 con indicador de fluorescencia UV254. Para el revelado de las placas se utilizó la radiación con luz ultravioleta de onda corta de 254 nm utilizando una lámpara modelo UVG-54, H_2SO_4 al 5% o una solución de vainillina (1.5% en EtOH en presencia de 1% de H_2SO_4).

La purificación de los productos esteroideos se realizó mediante la técnica de cromatografía en columna (CC) tipo flash, utilizando columnas de vidrio empacadas con gel de sílice grado 60 Merk.

Disolventes y materias primas

Todos los disolventes utilizados fueron de calidad grado analítico. Los disolventes utilizados se purificaron y secaron de acuerdo a los métodos reportados en la literatura²⁴.

Obtención del compuesto 3a



En un matraz de bola de 250 mL provisto de agitación magnética se añade acetato de colesterilo (2) (1.3 g, 3.03 mmol), se disuelve en CH₃COOH (13 mL) posteriormente se adiciona BF₃•Et₂O (3.25 mL, 25.64 mmol) lentamente y se deja en agitación por 10 minutos.

A continuación, se agrega (1.8 g, 26.09 mmol) NaNO₂ en pequeñas porciones constantes durante 3 horas y se deja reaccionar durante 1 hora más a temperatura ambiente. Después de este tiempo, el crudo de reacción se vierte en un matraz erlenmeyer con 40 ml de H₂O con hielo picado. Se lava el producto con una solución saturada de NaHCO₃ (3×20 mL) y salmuera (2×20 mL). Se seca la fase orgánica sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtra y el disolvente se elimina a presión reducida. El compuesto se purifica mediante cromatografía flash utilizando como eluyente un sistema de disolventes 9:1 Hexano:AcOEt.

Se obtuvo 0.8 g del compuesto **3**. Rendimiento experimental: 49%.

$[\alpha]_D^{25}$: -0.5 (*c*=1.0, CHCl₃)

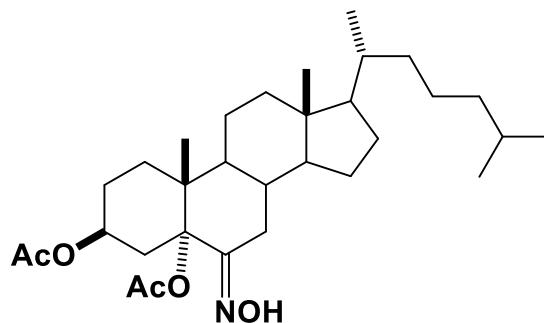
Propiedades Físicas: Aceite Amarillo

IR: 1747 cm⁻¹ vibración de tensión C=O, 1564 cm⁻¹ tensión NO₂, 1226 cm⁻¹ tensión C-O.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 4.85 (m, 1H, H-3), 2.51 (ddd, $J_{4ec-4ax}$ = 14 Hz, J_{4e-3ax} = 4.8 Hz, J_{4e-2ec} = 1.6 Hz, 1H, H-4_{ec}), 2.33 (dd, $J_{7ec-7ax}$ = 12.4 Hz, $J_{7ec-8ax}$ = 3.2 Hz, 1H, H-7_{ec}), 2.16, 2.01 (s, 6H, CH₃CO₂-5, CH₃CO₂-3), 1.02 (s, 3H, CH₃-19), 0.90 (d, J = 6.8 Hz, 3H, CH₃-21), 0.863, 0.858 (d, J = 6.6 Hz, 6H, CH₃-26, CH₃-27), 0.65 (s, 3H, CH₃-18).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ: 176.83 (C-6), 170.32 (CH₃CO₂-3), 169.46 (CH₃CO₂-5), 85.49 (C-5), 69.22 (C-3), 56.17 (C-14), 55.95 (C-17), 45.49 (C-9), 45.03 (C-10), 43.27 (C-13), 39.42 (C-24), 39.33 (C-12), 38.44 (C-8), 36.00 (C-22), 35.54 (C-20), 33.42 (C-7), 30.81 (C-1), 29.45 (C-4), 27.96 (C-16), 27.89 (C-25), 26.09 (C-2), 23.74 (C-15), 23.68 (C-23), 22.74 (C-26 o C-27), 22.50 (C-26 o C-27), 21.51 (C-11), 21.14 (CH₃CO₂-5), 21.14 (CH₃CO₂-3), 18.56 (C-21), 14.04 (C-19), 12.07 (C-18).

Obtención de compuesto 4a



A una solución del derivado nitroimino **3a** (0.8 g, 1.463 mmol) en EtOH anhidro (18 mL) se añade NH₂OH·HCl (0.52 g, 7.48 mmol) y CH₃COONa (0.647 g, 7.89 mmol). La mezcla de reacción se mantiene en agitación a reflujo por 1.5 horas. Posteriormente se vierte en hielo, se lava el producto con H₂O (2x40 mL), seguido por un lavado con salmuera (2x30 mL). La fase orgánica se seca sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. Se purifica el compuesto **4a** en cromatografía flash utilizando como eluyente un sistema de disolventes 4:1 Hexano:AcOEt.

Se obtuvieron 0.525 g del compuesto 3. Rendimiento experimental 70%.

$[\alpha]_D^{25}$: -0.5 ($c=1.0$, CHCl_3)

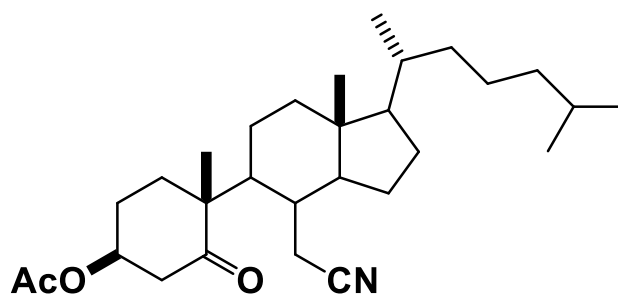
Propiedades Físicas: Espuma Blanca

IR: 3415 cm^{-1} (-OH), 1739 cm^{-1} vibración de tensión C=O, 1232 cm^{-1} tensión C-O.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.85 (m, 1H, H-3), 3.26 (dd, 1H, $J_{7\text{ec}-7\text{ax}}=13.6\text{ Hz}$, $J_{7\text{ec}-8\text{ax}}=4.4\text{ Hz}$, H-7_{ec}), 2.70 (ddd, 1H, $J_{4\text{ec}-4\text{ax}}=14\text{ Hz}$, $J_{4\text{e}-3\text{ax}}=4.8\text{ Hz}$, $J_{4\text{e}-2\text{ec}}=1.6\text{ Hz}$, H-4_{ec}), 2.08, 2.01 (CH_3CO_2 -5, CH_3CO_2 -3), 0.91 (d, 3H, $J=6.8\text{ Hz}$, CH_3 -21), 0.89 (s, 3H, CH_3 -19), ,0.87, 0.86 (d, 6H, $J=6.6\text{ Hz}$, CH_3 -26, CH_3 -27), 0.65 (s, 3H, CH_3 -18).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 170.41 ($\text{CH}_3\text{C}\underline{\text{O}}_2$ -3), 169.00 ($\text{CH}_3\text{C}\underline{\text{O}}_2$ -5) , 157.82 (C-6), 86.16 (C-5) , 69.89 (C-3), 56.33(C-14), 55.99 (C-17), 45.57 (C-9), 42.92 (C-13), 42.63 (C-10), 39.62 (C-12), 39.37 (C-24), 35.98 (C-22), 35.54 (C-20), 35.26 (C-8), 30.18 (C-1), 29.51 (C-4), 27.98 (C-16), 27.87 (C-25), 26.28 (C-2), 25.79 (C-7), 23.83 (C-15), 23.61 (C-23), 22.68 (C-26 o C-27), 22.43 (C-26 o C-27), 21.51 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{CO}_2$ -5), 21.42 (C-11), 21.17 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{CO}_2$ -3), 18.54 (C-21), 14.05 (C-19), 12.07 (C-18).

Obtención de compuesto 5



A una solución del derivado esteroidal oxima **4** (0.3 g, 0.58 mmol) en dioxano anhidro (2 mL) se añade SOCl_2 (0.159 mL, 2.19 mmol). La mezcla de reacción se mantiene en agitación a temperatura ambiente por 13 minutos. Una vez concluido el tiempo se vierte la mezcla sobre un matraz Erlenmeyer con 50 mL de H_2O y hielo finamente picado, seguido se hacen 3 extracciones con CH_2Cl_2 , se lava con H_2O (2x10 mL) y salmuera (2x10 mL). Se seca sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtra y el disolvente se evapora a presión reducida. Se purifica el compuesto utilizando cromatografía flash y como eluyente un sistema de disolventes 9:1 Hexano:AcOEt, se obtuvieron 162 mg (70 % de rendimiento) de **5**.

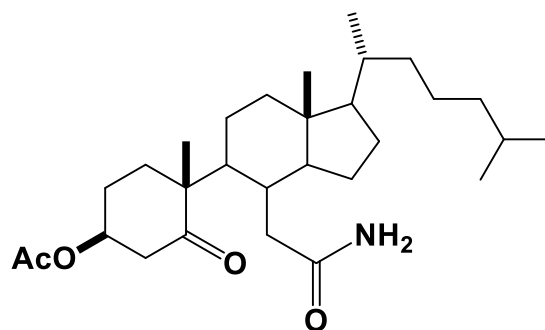
$[\alpha]_D^{25}$: +67 ($c=0.2$, CHCl_3)

Propiedades Físicas: Aceite incoloro.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : 5.40 (m, 1H, H-3), 3.41 (dd, 1H $J_{4ax,4ec}= 15$ Hz, $J_{4ax,3ax}= 4.8$ Hz, H-4ax), 2.58 (ddd, 1H, $J_{4ec,4ax}= 15$ Hz, $J_{4ec,3ax}=2.4$ Hz, $J_{4ec,2ec}= 2.4$ Hz, H-4ec), 2.5 (dd, 1H, $J_{7a,7b}= 17.6$ Hz, $J_{7a,8a}= 3.6$ Hz, H-7a), 2.01 (s, 3H, CH_3CO_2 -3), 1.00 (s, 3H, CH_3 -19), 0.90 (d, 1H, $J_{21,20}= 6.4$ Hz, CH_3 -21), 0.86 (d, 3H, $J= 6.4$ Hz, CH_3 -27 o CH_3 -26), 0.85 (d, 3H, $J= 6.4$ Hz, CH_3 -27 o CH_3 -26), 0.68 (s, 3H, CH_3 -18).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 216.44 (C-5), 170.18 (CH_3CO_2 -3) 118.69 (C-6), 73.36 (C-3), 56.20 (C-14), 53.31 (C-17), 52.2, 43.77 (C-4), 42.52 (C-13), 41.62 (C-10), 39.57 (C-20), 39.46 (C-23), 36.04, 35.82, 35.78, 34.13, 28.12, 27.87, 25.15, 24.52, 23.82, 22.91, 22.87, 22.67 (C-26 o C-27), 21.34 (CH_3CO_2 -3 y C-26 o C-27), 19.25 (C-7), 18.64 (C-21), 17.66 (C-19), 11.96 (C-18).

Obtención de compuesto 7



A un matraz de bola de 250 mL provisto de agitación magnética (0.468 g, 1.214 mmol) se añade el compuesto esteroide 5-6 seconitrilo **5a** disuelto en tolueno (6 mL) posteriormente se adiciona CH_3CHNOH (369 μL , 6.06 mmol) y cantidades catalíticas del catalizador de Wilkinson $[\text{RhCl}(\text{PPh}_3)_3]$. La mezcla se mantiene a reflujo durante 4 horas. Al cumplir el tiempo la mezcla se deja enfriar a temperatura ambiente, posteriormente se evapora el disolvente a presión reducida y se purifica el compuesto utilizando cromatografía flash. Para recuperar la materia prima se utiliza como eluyente un sistema de disolventes 4:1 Hexano:AcOEt, a continuación se eluye con un sistema 1:4 para obtener el derivado amida **5**, se obtuvieron 124 mg (25.3 % de rendimiento) de **7**.

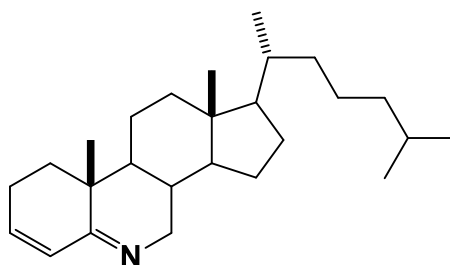
Propiedades Físicas: Aceite incoloro.

IR: Múltiple 3447 cm^{-1} y $3200\text{ (-NH}_2\text{)}$, 1734 cm^{-1} y 1665 cm^{-1} vibración de tensión C=O , 1242 cm^{-1} tensión C-O .

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ: 5.36 (m, 1H, H-3), 5.22 (s, 1H, NH₂CO-6), 5.01 (s, 1H, NH₂CO-6), 3.37 (dd, 1H, *J*_{4ax,4ec}= 14.5 Hz, *J*_{4ax,3ax}= 4.5 Hz, H-4ax), 2.23 (dd, 1H, *J*_{4ec,4ax}= 17.25 Hz, *J*_{4ec,3ax}= 5 Hz, H-4ec), 2.23 (dd, 1H, *J*_{7a,7b}= 17.5 Hz, *J*_{7a,8a}= 4.6 Hz, H-7a), 2.01 (s, 3H, CH₃CO₂-3), 1.02 (s, 3H, CH₃-19), 0.89 (d, 1H, *J*_{21,20}= 6.5 Hz, CH₃-21), 0.86 (d, 3H, *J*= 6.5 Hz, CH₃-27 o CH₃-26), 0.85 (d, 3H, *J*= 6.5 Hz, CH₃-27 o CH₃-26), 0.66 (s, 3H, CH₃-18).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 217.86 (C-5), 174.74 (CH₃CO₂-5), 170.42 (C-6), 73.90 (C-3), 56.08 (C-17), 53.29 (C-14), 52.68 (C-10), 43.70 (C-4), 42.66 (C-13), 41.80 (C-9), 39.80 (C-24), 39.62 (C-23), 23.12 (C-8, C-22), 35.88 (C-20), 34.62, 33.92, 28.15, 28.07, 25.20, 24.89, 23.83, 23.25, 22.95, 22.71 (C-26), 21.49 (C-27), 18.70 (C-21), 17.70 (C-19), 11.60 (C-18).

Obtención de compuesto 9

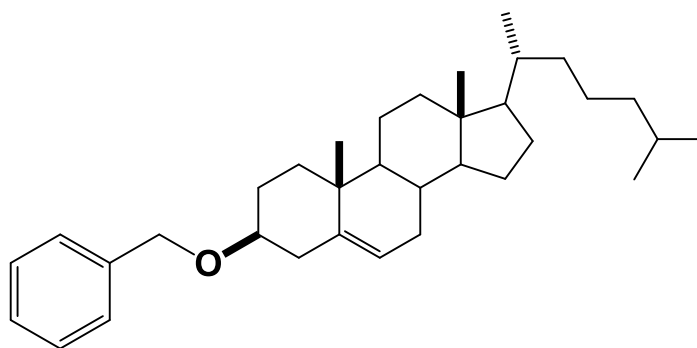


A una solución del derivado **7a** (283 mg, 0.6 mmol) en un sistema 1:1 Acetonitrilo:H₂O (6 mL) se añade PhI(OH)OTs (350 mg, 0.892 mmol) . La mezcla de reacción se mantiene en agitación a reflujo durante 40 minutos, posteriormente se vierte sobre un embudo de separación agregando una solución de NaOH al 5%, extrayendo con CH₂Cl₂ y se hace un lavado con H₂O (1×10 mL), finalmente la fase orgánica se seca sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtra y el disolvente se evapora a presión

reducida. Se obtuvo el compuesto **9** como un aceite amarillo-rojizo en rendimiento cuantitativo.

El compuesto se descompone al purificarlo por lo que se determinó su estructura mediante el análisis de los datos espectroscópicos del crudo de reacción.

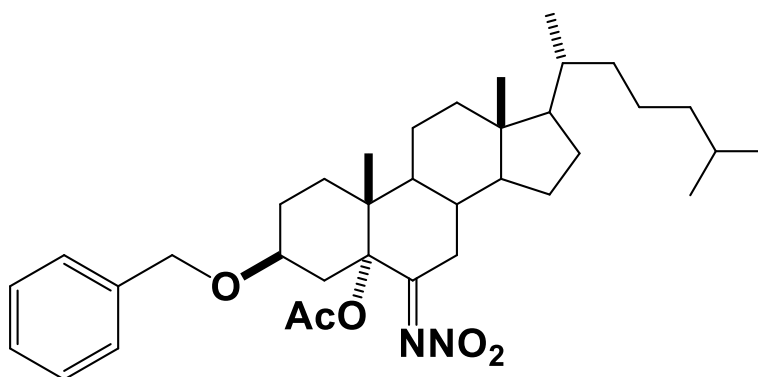
Obtención de compuesto **2b**



A una solución de colesterol (**1**) (2 g, 5.17 mmol) en DMF anhidra (10 mL), se adiciona NaH (0.412 g, 17.16 mmol). La mezcla de reacción se deja en agitación en condiciones anhidras durante 4 horas sobre un baño de agua a t.a. Posteriormente se adiciona el BnBr (1.212 mL, 10.2 mmol), y la reacción se mantiene en agitación por 6 horas más. A continuación, se añade cuidadosamente al matraz de reacción MeOH y H₂O, se realizan lavados con salmuera (2x30 mL), H₂O (2x30 mL), se extrae con CH₂Cl₂. Se seca sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtra y el disolvente se evapora a presión reducida.

El compuesto no se pudo purificar aun eluyendo solo con Hexano, por lo que se procedió a la siguiente reacción, sin mayor purificación.

Obtención de compuesto 3b



A un matraz de bola de 250 mL provisto de agitación magnética se añade colesterol bencilado (**2b**) (1 g, 4.2 mmol), se disuelve en CH₃COOH (10 mL) posteriormente se adiciona BF₃•OEt₂ (2.25 mL, 17.8 mmol) lentamente y se deja en agitación por 10 minutos.

En seguida se agrega (1.24 g, 18 mmol) NaNO₂ en pequeñas porciones constantes durante 3 horas y se deja reaccionar durante 1 hora más a temperatura ambiente. Después de este tiempo, el crudo de reacción se vierte en un matraz erlenmeyer con 40 mL de H₂O y hielo picado. El producto se lava con una solución saturada de NaHCO₃ (3x20 mL), salmuera (2x20 mL) y se extrae con CH₂Cl₂. Se seca la fase orgánica sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se elimina el disolvente a presión reducida. Se purifica el compuesto mediante 2 cromatografías tipo flash, la primera se utiliza como eluyente Hexano y la segunda se eluye con un sistema de disolventes 98:02 Hexano:AcOEt.

Se obtuvieron 498 mg del compuesto **11**. Rendimiento experimental: 40%.

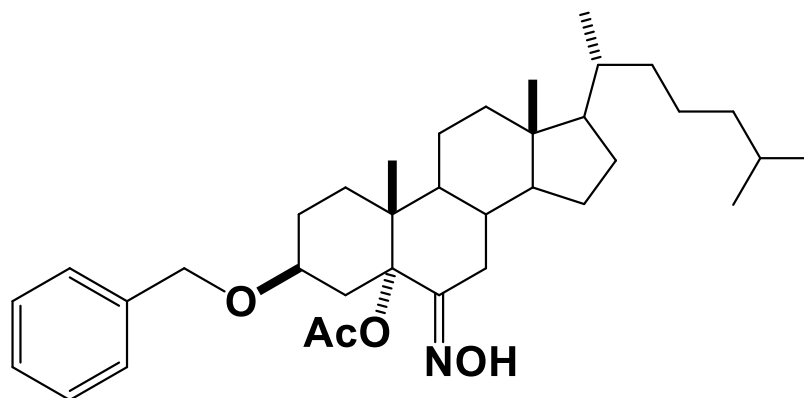
Propiedades Físicas: Aceite translúcido.

IR: 1741 cm⁻¹ vibración de tensión C=O, 1568 cm⁻¹ tensión NO₂, 1454 cm⁻¹ flexión C=C, 1264 cm⁻¹ tensión C-O.

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ: 4.57 (d, 1H $J_{3a',3b'}$ = 12 Hz, H-bencilico), 4.48 (d, 1H $J_{3b',3a'}$ = 12 Hz, H-aromático), 3.42 (m, 1H, H-3), 2.71(ddd, 1H, $J_{4ec,4ax}$ = 14.25 Hz, $J_{4ec,3ax}$ = 4.5 Hz, $J_{4ec,2ax}$ = 2 Hz, H-4ec), 2.13 (dd, 1H, $J_{7ec,7ax}$ = 12 Hz, $J_{7ec,8ax}$ = 3 Hz, H-7ec), 1.96 (s, 3H, CH₃CO₂-5), 1.00 (s, 3H, CH₃-19), 0.89 (d, 1H, $J_{21,20}$ = 6.5 Hz, CH₃-21), 0.86 (d, 3H, J = 6.4 Hz, CH₃-27 o CH₃-26), 0.85 (d, 3H, J = 6.4 Hz, CH₃-27 o CH₃-26), 0.68 (s, 3H, CH₃-18).

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ: 177.33 (C-6), 169.59 (CH₃CO₂-5), 138.32 (C-aromático), 128.54 (C-aromático, Caromático), 127.93 (C-aromático, C-aromático), 127.76 (C-aromático), 86.03 (C-5), 72.55 (C-3), 69.97 (C-bencilico), 56.35 (C-14), 56.08 (C-17), 45.76, 45.45, 43.41, 29.56, 39.50, 38.59, 36.14, 35.69, 33.59 (C-7), 31.15, 29.85 (C-4), 28.13, 28.06, 27.25 (C-2), 23.90, 23.82, 22.92, 22.67, 21.66 (C-11), 21.20 (CH₃CO₂-5), 18.71(C-21), 14.15 (C-19), 12.22(C-18).

Obtención de compuesto 4b



A una solución del derivado nitroimino **3b** (0.390 g, 0.655 mmol) en EtOH anhidro (4 mL) se añade NH₂OH•HCl (0.316 g, 4.58 mmol) y CH₃COONa (0.373 g, 4.55 mmol). La mezcla se mantiene en agitación a refluxo por 1.5 horas. Posteriormente se vierte en hielo, se lava el producto con H₂O (2x20 mL) y salmuera (2x15 mL). Se seca la fase orgánica sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora el disolvente a

presión reducida. Finalmente se purifica el compuesto **4b** en cromatografía flash utilizando como eluyente un sistema de disolventes 4:1 Hexano:AcOEt.

Se obtuvieron 0.295 g del compuesto **12**. Rendimiento experimental 80%.

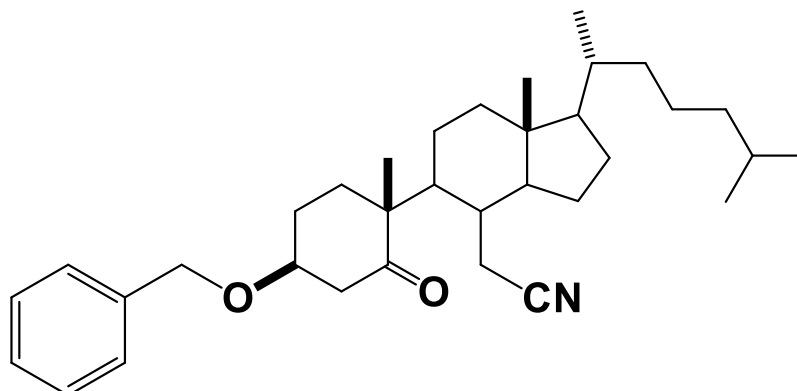
Propiedades Físicas: Espuma Blanca

IR: 3358 cm^{-1} (-OH), 1742 cm^{-1} vibración de tensión C=O, 1454 cm^{-1} flexión C=C, 1232 cm^{-1} tensión C-O.

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ : 4.57 (d, 1H $J_{3a',3b'} = 12$ Hz, H-bencilico), 4.48 (d, 1H $J_{3b',3a'} = 12$ Hz, H-aromático), 3.42 (m, 1H, H-3), 2.71 (ddd, 1H, $J_{4ec,4ax} = 14.25$ Hz, $J_{4ec,3ax} = 4.5$ Hz, $J_{4ec,2ax} = 2$ Hz, H-4ec), 2.13 (dd, 1H, $J_{7ec,7ax} = 12$ Hz, $J_{7ec,8ax} = 3$ Hz, H-7ec), 1.96 (s, 3H, CH_3CO_2 -5), 1.00 (s, 3H, CH_3 -19), 0.89 (d, 1H, $J_{21,20} = 6.5$ Hz, CH_3 -21), 0.86 (d, 3H, $J = 6.4$ Hz, CH_3 -27 o CH_3 -26), 0.85 (d, 3H, $J = 6.4$ Hz, CH_3 -27 o CH_3 -26), 0.68 (s, 3H, CH_3 -18).

RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ : 169.27 (CH_3CO_2 -5), 158.45 (C-6), 138.58 (C-aromático), 128.45 (C-aromático, C-aromático), 128.06 (C-aromático, C-aromático), 127.61 (C-aromático), 86.87 (C-5), 73.31 (C-3), 69.97 (C-3'), 56.62 (C-14), 56.23 (C-17), 45.89 (C-9), 43.17 (C-13), 39.89 (C-24), 39.61, 36.22 (C-22), 35.74, 35.49 (C-7), 30.66, 29.60 (C-4), 28.24, 28.15 (C-25), 27.57 (C-2), 25.97 (C-7), 24.07, 23.86, 22.94 (C-26 o C-27), 22.69 (C-26 o C-27), 21.73 (CH_3CO_2 -5), 21.66 (C-11), 18.77 (C-21), 14.29 (C-19), 12.31 (C-18).

Obtención de compuesto 5b



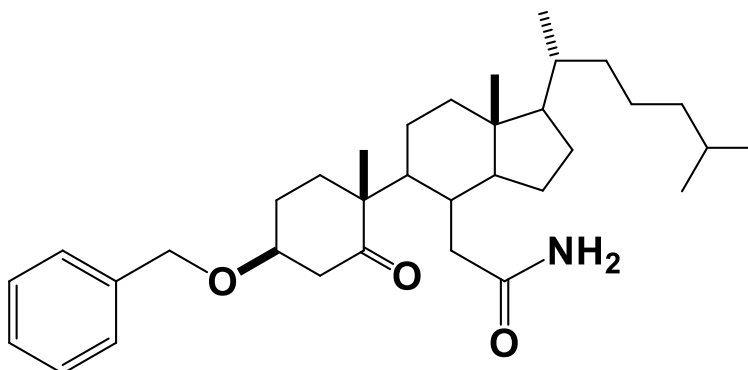
A una solución del derivado esteroidal oxima **4b** (0.140 g, 0.248 mmol) en dioxano anhidro (2 mL) se añade SOCl_2 (88 μL , 1.25 mmol). La mezcla de reacción se mantiene en agitación a temperatura ambiente por 12 minutos. Pasado ese tiempo se vierte sobre un matraz Erlenmeyer con 50 mL de H_2O en hielo finamente picado, posteriormente se hacen 3 extracciones con CH_2Cl_2 , se lava con H_2O (2x10 mL) y salmuera (2x10 mL). Se seca sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtra y evapora el disolvente a presión reducida. El compuesto se purifica utilizando cromatografía flash y como eluyente un sistema de disolventes 17:3 Hexano:AcOEt, se obtuvieron 109 mg (87.10% de rendimiento) de **13**.

Propiedades Físicas: Aceite translúcido.

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ : 4.55 (d, 1H $J_{3a',3b'} = 12$ Hz, H-bencilico), 4.44 (d, 1H $J_{3b',3a'} = 12$ Hz, H-aromático), 4.09 (m, 1H, H-3), 3.31 (dd, 1H $J_{4ec,4ax} = 14$ Hz, $J_{4ec,3ax} = 4$ Hz, H-4ec), 2.77 (m, 1H, H-4ax), 2.54 (dd, 1H, $J_{7a,7b} = 18$ Hz, $J_{7a,8a} = 3.5$ Hz, H-7a), 2.12 (dd, 1H, $J_{7b,7a} = 17.75$ Hz, $J_{7b,8a} = 4$ Hz, H-7b), 0.99 (s, 3H, CH_3 -19), 0.91 (d, 1H, $J_{21,20} = 6.5$ Hz, CH_3 -21), 0.87 (d, 3H, $J = 2.5$ Hz, CH_3 -27 o CH_3 -26), 0.85 (d, 3H, $J = 3$ Hz, CH_3 -27 o CH_3 -26), 0.68 (s, 3H, CH_3 -18).

RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ : 217.47 (C-5), 138.20 (C-aromático), 128.45 (C-aromático, C-aromático), 127.67 (C-aromático, C-aromático), 118.89 (C-6), 76.93 (C-3), 69.94 (C-bencilico), 56.04(C-17), 53.29 (C-14), 52.39 (C-9), 43.61 (C-4), 42.42 (C-12), 41.55 (C-8), 39.55, 39.47, 36.00, 35.77, 35.74, 34.04 (C-1), 28.13, 27.89, 25.49 (C-2), 24.52, 23.80, 22.93 (C-27), 22.87, 22.67 (C-26), 19.30 (C-7), 18.64 (C-21), 17.66 (C-19), 11.94 (C-18).

Obtención de compuesto 7b



En un matraz de bola de 250 mL provisto de agitación magnética se coloca (0.135 g, 0.266 mmol) el compuesto esterooidal nitrilo **13** disuelto en tolueno (6 mL) posteriormente se adiciona CH_3CHNOH (82 μL , 1.35 mmol) y cantidades catalíticas del catalizador de Wilkinson $[\text{RhCl}(\text{PPh}_3)_3]$. La mezcla se mantiene a reflujo durante 4 horas. Al cumplir el tiempo se deja enfriar a temperatura ambiente, posteriormente se evapora el disolvente a presión reducida y se purifica el compuesto utilizando cromatografía flash, para recuperar la materia prima se eluye con un sistema de disolventes 4:1 Hexano:AcOEt, seguido de un sistema 1:4 Hexano:AcOEt. Se obtuvieron 84 mg (60% de rendimiento) de **14**.

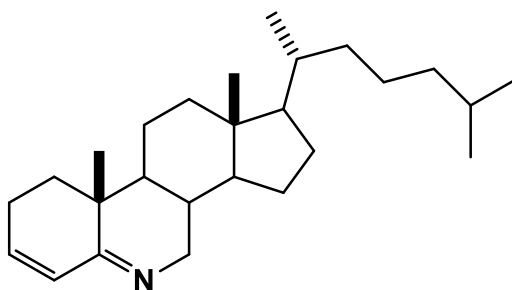
Propiedades Físicas: Aceite incoloro.

IR: 3429 cm^{-1} y 3192 ($-\text{NH}_2$), 1697 cm^{-1} vibración de tensión $\text{C}=\text{O}$, 1455 cm^{-1} flexión $\text{C}=\text{C}$, 1267 cm^{-1} tensión $\text{C}-\text{O}$.

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ: 7.30 (m, 5H, H-aromático), 5.29 (s, 1H, NH₂CO-6), 5.12 (s, 1H, NH₂CO-6), 4.52 (d, 1H $J_{3a',3b'}$ = 12 Hz, H-bencilico), 4.42 (d, 1H $J_{3b',3b'}$ = 12 Hz, H-aromático), 4.05 (sa, 1H, H-3), 3.23 (dd, 1H $J_{4ec,4ax}$ = 14 Hz, $J_{4ec,3ax}$ = 4 Hz, H-4ec), 2.58 (m, 1H, H-4ax), 2.42 (m, 1H, H-9), 2.24 (dd, 1H, $J_{7a,7b}$ = 17 Hz, $J_{7a,8a}$ = 3.5 Hz, H-7a), 2.03 (dd, 1H, $J_{7b,7a}$ = 17.75 Hz, $J_{7b,8a}$ = 4 Hz, H-7b), 1.01 (s, 3H, CH₃-19), 0.90 (d, 1H, $J_{21,20}$ = 6.5 Hz, CH₃-21), 0.86 (d, 3H, J = 2.4 Hz, CH₃-27 o CH₃-26), 0.85 (d, 3H, J = 2.3 Hz, CH₃-27 o CH₃-26), 0.65 (s, 3H, CH₃-18).

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ: 218.52 (C-5), 174.94 (C-6), 138.54 (C-aromático), 128.44 (C-aromático, C-aromático), 127.61 (C-aromático, C-aromático), 77.49 (C-3), 69.89 (C-bencilico), 56.10 (C-17), 53.45 (C-14), 52.84 (C-9), 43.72 (C-4), 43.66 (C-12), 41.45 (C-8), 39.88, 39.63, 36.15, 35.88, 34.47, 34.17 (C-7), 28.15, 25.46, 24.92, 23.30, 22.95 (C-26), 21.70 (C-27), 18.71 (C-21), 17.75 (C-19), 11.59 (C-18).

Obtención de compuesto 9

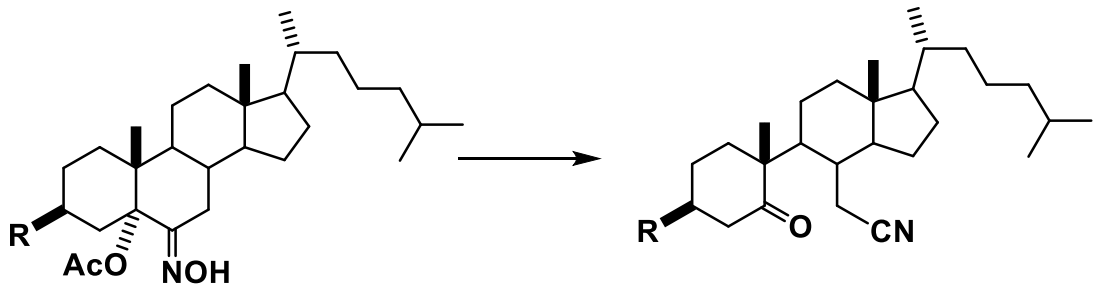


A una solución del derivado **14** (66.8 mg, 0.13 mmol) en un sistema 1:1 Acetonitrilo:H₂O (2 mL) se añade PhI(OH)OTs (62.8 mg, 0.16 mmol). La mezcla de reacción se mantiene en agitación a refluxo durante 40 minutos, posteriormente se vierte sobre un embudo de separación agregando una solución de NaOH al 5%, se extrae con CH₂Cl₂ y se lava con H₂O (1×10 mL), finalmente se seca la fase orgánica sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. Se obtuvo el compuesto **9** como un aceite amarillo-rojizo en rendimiento cuantitativo.

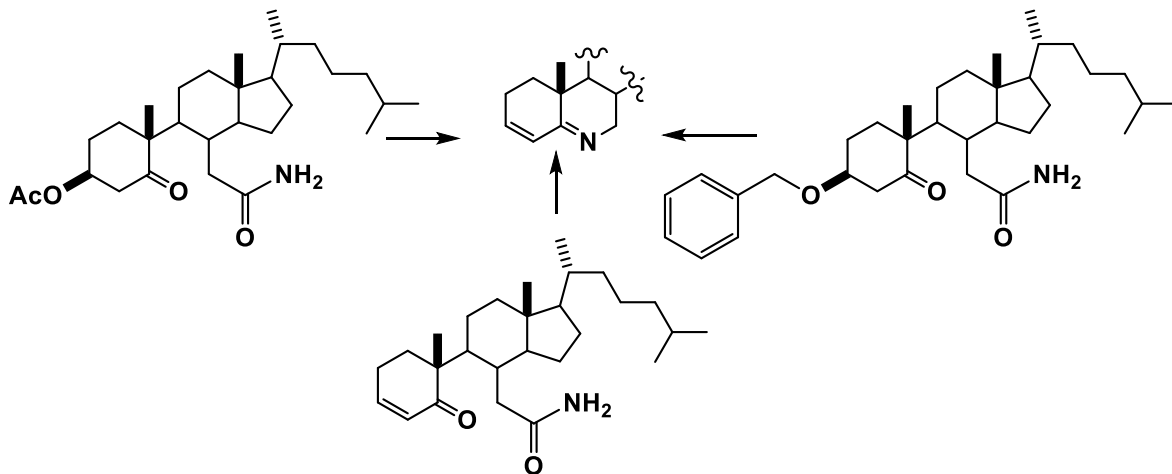
No se pudo caracterizar el compuesto **9** debido a que se descompone en poco tiempo, se pudo observar mediante RMN el 6-azaesteroide en el crudo de reacción.

Conclusiones

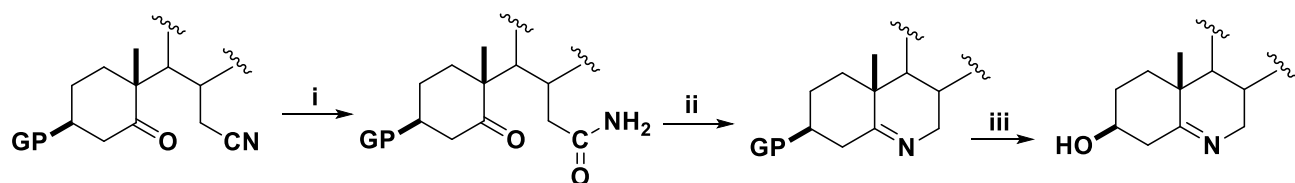
- Los derivados 6-hidroximino de colesterol al ser tratados con SOCl_2 condujeron a la apertura regioselectiva del anillo B para obtener los derivados 5,6-seconitrilo de colesterol.



- Se realizó la hidrolisis parcial exitosamente para la obtención de los derivados 5,6-secoamida de colesterol, intermediarios clave para la obtención del 6-azaesteroide.



- Se observó que utilizando el reactivo PhI(OH)OTs en la mezcla CH₃CN: H₂O se eliminan los grupos protectores acetato y bencilo, se tendrá que encontrar un grupo protector ideal en la posición C-3 del colesterol para mantener el grupo alcohol hasta el final de la síntesis.



Condiciones: i) acetaldoxima, cat. de Wilkinson, tolueno ii) PhI(OH)OTs, CH₃CN-H₂O iii) desprotección

- Los productos se caracterizaron por métodos espectroscópicos (IR y RMN).

Bibliografía

1. Sharp, M. J.; Fang, F. G.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 3291.
2. Singh, H.; Jindal, D. P.; Yadav, M. R.; Kumar, M.; *Prog. Med. Chem.* **1991**, *28*, 233.
3. 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.
4. Hirschmann, R.; Steinberg, N. G.; Schoenevaldt, E. F.; Paleveda, W. J.; Tishler, M. J.; *Med. Chem.* **1964**, *7*, 352.
5. Gupta, R.; Pathak, D.; Jindal, D. P.; *Eur. J. Med. Chem.* **1996**, *31*, 241.
6. 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.
7. Burbiel, J. ; Bracher, F. ; *Steroids* **2003**, *68*, 587.
8. Xie, W. ; Peng, H. ; Kim, D. ; Kunkel, M. ; Powis, G. ; Zalkow, L. H. ; *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 1073.
9. Catsoulacos, P.; Catsoulacos, D.; *Anticancer Res.* **1993**, *13*, 1203.
10. Ibrahim-Ouali, M.; Rocheblave, L.; *Steroids* **2008**, *73*, 375.
11. Koutsourea, A. I.; Fousteris, M. A.; Arsenou, E. S.; Papageorgiou, A.; Pairas, G. N.; Nikolaropoulos, S. S.; *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 5207.
12. Vatmurge, N. S.; Hazra, B. G.; Pore, V. S.; Chavan, P. S.; Deshpande, M. V.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 2043.
13. Dhingra, N.; Bhardwaj, T.R.; Mehta N.; Mukhopadhyay, T.; Kumar, A.; Kumar, M.; *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 2229.
14. Huang, Y.M.; Cui, J.G.; Zeng, Q. X.; Zeng, C.; Chen, Q.; Zhou, A.M.; *Steroids* **2012**, *77*, 829.
15. Jacobs, T. L.; Brownfield, R. B.; *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 4033.

16. Lettré, H.; Knof, L.; *Chem. Ber.* **1960**, *93*, 2860.
17. Kasal, A.; Matyáš, L.; Buděšínský, M.; *Tetrahedron* **2005**, *61*, 2269.
18. López, I.; Ruíz-Pérez, K. M.; Yépez, R.; Santillán, R.; Flores-Álamo, M.; Iglesias-Arteaga, M. A.; *Steroids*, **2008**, *73*, 657.
19. Freeman, J.P.; *J Org Chem* **1961**, *26*, 4190.
20. Lee, J.; Kim, M.; Chang, S.; Lee, H.-Y.; *Org. Lett.* **2009**, *11*, 5598.
21. Kim, M.; Lee, J.; Lee, H.-Y.; Chang, S.; *Adv. Synth. Catal.* **2009**, *351*, 1807–1812.
22. Yoshimura, A.; Matthew, W.; Luedtke, and Viktor V. Zhdankin*; *J. Org. Chem.*, **2012**, *77*, 2087
23. Lazbin, I. M.; Koser, G. F. ; *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 2669.
24. Perrin, D. P.; Armarego, W. L. F.; “*Purification of laboratory chemicals*” 6a. Ed. USA, **2009**