

CIENCIA 22(3), 150 - 163, 2014
Maracaibo, Venezuela

Síntesis y caracterización del 3 β -tetrahidroxipirani- loxi-23,24-bisnor-5-coleno-22-malonamida, intermediario clave para la síntesis de nuevos azasteroles

Gonzalo Visbal^{1,2*} y Dioni Arrieche¹

¹Centro de Química, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas.
P.O. Box 20632, Caracas 1020A, Venezuela.

²Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia-INMETRO,
Av. Nossa Senhora das Graças, 50-Xerém Duque de Caxias-RJ-Brasil-CEP:25250-020.

Recibido: 06-11-13 Aceptado: 10-08-14

Resumen

Esteroles con átomos de nitrógenos en la cadena lateral (azasteroles), presentan excelentes efectos antiproliferativos contra hongos y parásitos patógenos al hombre, y su mecanismo de acción está relacionado directamente con la inhibición de la biosíntesis del ergosterol. Animados por estos hallazgos, fue diseñado racionalmente y sintetizado el 3 β -terahidroxipirani-23,24-bisnor-5-coleno-22-malonamida **5**, intermediario clave para la síntesis de nuevos azasteroles. Este compuesto fue obtenido a través de una serie de reacciones realizadas al ácido bisnor-5-colénico **1**, las cuales incluyeron protección del grupo 3 β -OH, reducción del ácido carboxílico, formación del haluro de alquilo mediante la reacción de Appel, sustitución nucleofílica (S_N2) del haluro con el dietilmalonato y finalmente una aminólisis, para un rendimiento total de 59%. Las estructuras de los compuestos sintetizados fueron confirmadas por las técnicas espectroscópicas de IR, MS y RMN tanto de ¹H como de ¹³C.

Palabras clave: esteroides, malonamida, azasteroides, biosíntesis del ergosterol.

Synthesis and characterization of 3 β -tetrahydroxy- pyranyloxy-23,24-bisnor-5-cholen-22-malonamide, key intermediate to synthesize new azasterols

Abstract

Sterols with nitrogen atom located in the side chain (azasterols) have excellent anti-proliferative effects against fungus and pathogenic parasites to man. Its mechanism of action is related to the inhibition of ergosterol biosynthesis. Encouraged by those finding, it was rationally designed and synthesized the 3 β -tetrahydroxypyran-23,24-bisnor-5-cholene-22-malonamide **5**; key intermediate to the synthesis of a new series of azasterols. Compound **5** was obtained through a series of reactions performed to 23,24-bisnor-5-cholenic acid, **1**, which included protection of 3 β -OH group, reduction of carboxylic acid group, generation of alkyl halide by Appel reaction, S_N2

* Autor para la correspondencia: ggsilva-prometro@inmetro.gov.br; gvisbal@gmail.com

displacement of alkyl halide with diethylmalonate and finally an aminolysis of esters in 59% overall yield. The compounds were also fully characterized by IR, MS and ^1H , ^{13}C NMR spectroscopy.

Keywords: sterols, malonamide, azasterols and sterol methyltransferase.

Introducción

Las enfermedades olvidadas son enfermedades que afectan a millares de personas en todo el mundo y en su mayoría se trata de enfermedades tropicales infecciosas causadas por protozoos, que afectan fundamentalmente a la población más pobre (1, 2). Entre las enfermedades olvidadas se encuentran la leishmaniasis, la enfermedad del sueño, la malaria y la enfermedad de Chagas, las cuales generan un impacto devastador en la humanidad. Otro aspecto importante del problema, es que los tratamientos tradicionales (figura 1) que se emplean para estas enfermedades poseen una eficacia limitada, causan efectos colaterales indeseables que pueden llevar a la interrupción del tratamiento y creciente resistencia a los mismos (1-5).

Por otra parte, en los últimos años las infecciones fúngicas o micóticas, en especial la micosis profunda o sistemática, han mostrado un sustancial aumento en todo el mundo debido a varios factores, tales como: (i) el incremento del uso de fármacos inmunosupresores tanto en pacientes con patología oncológica como en poblaciones con enfermedades autoinmunes, (ii) el aumento de número de trasplantes de órganos, (iii) la epidemia del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), (iv) el uso frecuente de procedimientos invasores como la nutrición parenteral, (v) la diálisis y la hemodiálisis, (vi) finalmente por tratamientos prolongados con antibióticos de amplio espectro, que han complicado la situación causando el desarrollo de mecanismos de resistencia, explicada en parte porque la mayoría de éstos son fungistáticos, permitiendo la selección de clones resistentes (figura 1) (6-9).

Esta situación pone de manifiesto la urgente necesidad de desarrollar nuevos compuestos más eficaces, menos tóxicos y que sean activos frente a cepas resistentes.

Afortunadamente, durante las últimas tres décadas se ha realizado un enorme esfuerzo dedicado al estudio de la fisiología y bioquímica de los agentes patógenos que causan las enfermedades antes mencionadas, tales como los protozoos de *Leishmania spp*, *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma brucei* y hongos (10, 11). El resultado de estos estudios científicos, ha mostrado que existen potenciales blancos diferenciales y sensibles respecto a las células humanas, para el desarrollo de nuevos antibióticos. Uno de ellos, es la ruta biosintética de esteroides, que es común en células eucariotas, y que involucra por lo menos 20 pasos catalizados por enzimas específicas (figura 2). Todos son sintetizados a partir de la acetil-coenzima A (acetil CoA), en un proceso común a todos los esteroides hasta el paso de síntesis de epóxido de escualeno. Posteriormente, la ruta se ramifica para producir lanosterol en animales superiores y eucariotas inferiores, o cicloartenol en plantas superiores, para luego dar origen en sucesivos pasos a los productos terminales de cada grupo filogenético (12-14).

El principal esteroide en los tejidos de animales superiores es el colesterol, sustituido por ergosterol en muchos hongos y paraistos (figura 2), mientras que en plantas superiores son el campesterol, sitosterol y estigmasterol (figura 3) (14).

Por lo tanto, es evidente que estos compuestos desempeñan roles críticos en el metabolismo celular, más allá de su rol pasivo en las propiedades físicas de la membrana celular. Esta idea es apoyada por los requerimientos particulares y específicos de los esteroides de cada uno de los grupos filogenéticos, que además han proporcionado la base para el desarrollo y el éxito de los inhibidores de la biosíntesis de esteroides (IBE) como principales agentes quimioterapéuticos contra infecciones causadas por hongos y parásitos en el hombre (13, 15).

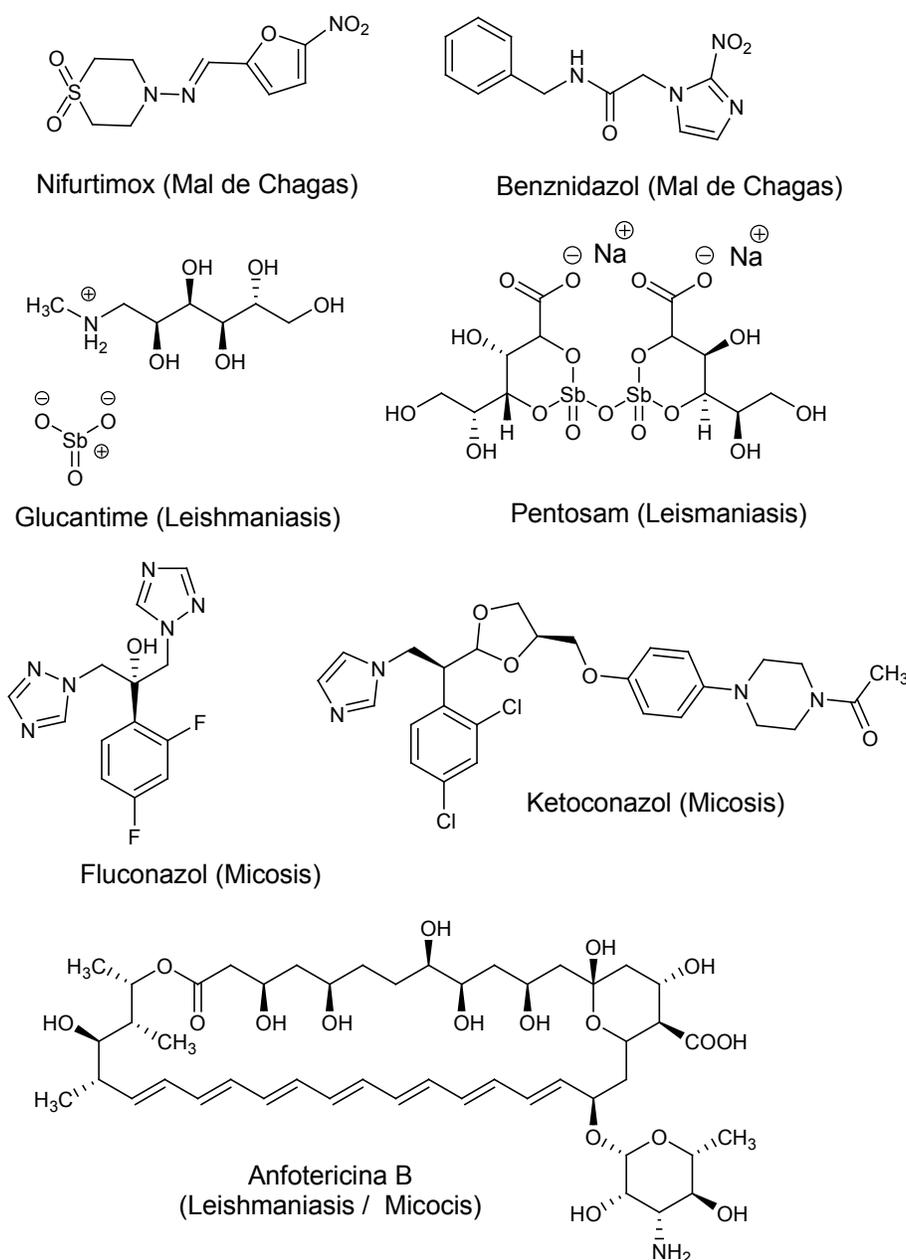


Figura 1. Estructuras y nombres de compuestos tradicionales para el tratamiento de algunas enfermedades infecciosas causadas por parásitos y hongos.

Un paso metabólico esencial y característico en la biosíntesis de esteroides en estos organismos, es la introducción de un grupo alquilo en el carbono C-24 de la cadena lateral del ergosterol, generando una pequeña diferencia estructural respecto al colesterol, con implicaciones bioquímicas y fisiológicas

muy importantes (figura 2). La enzima que se encarga de introducir este grupo alquilo es la (S)-adenosil-L-metionina: Δ^{24} -esterol metiltransferasa (EMT), y debido a su importancia se hace un blanco estratégico para el desarrollo de nuevas quimioterapias para enfermedades causadas por hongos y parásitos (14, 16).

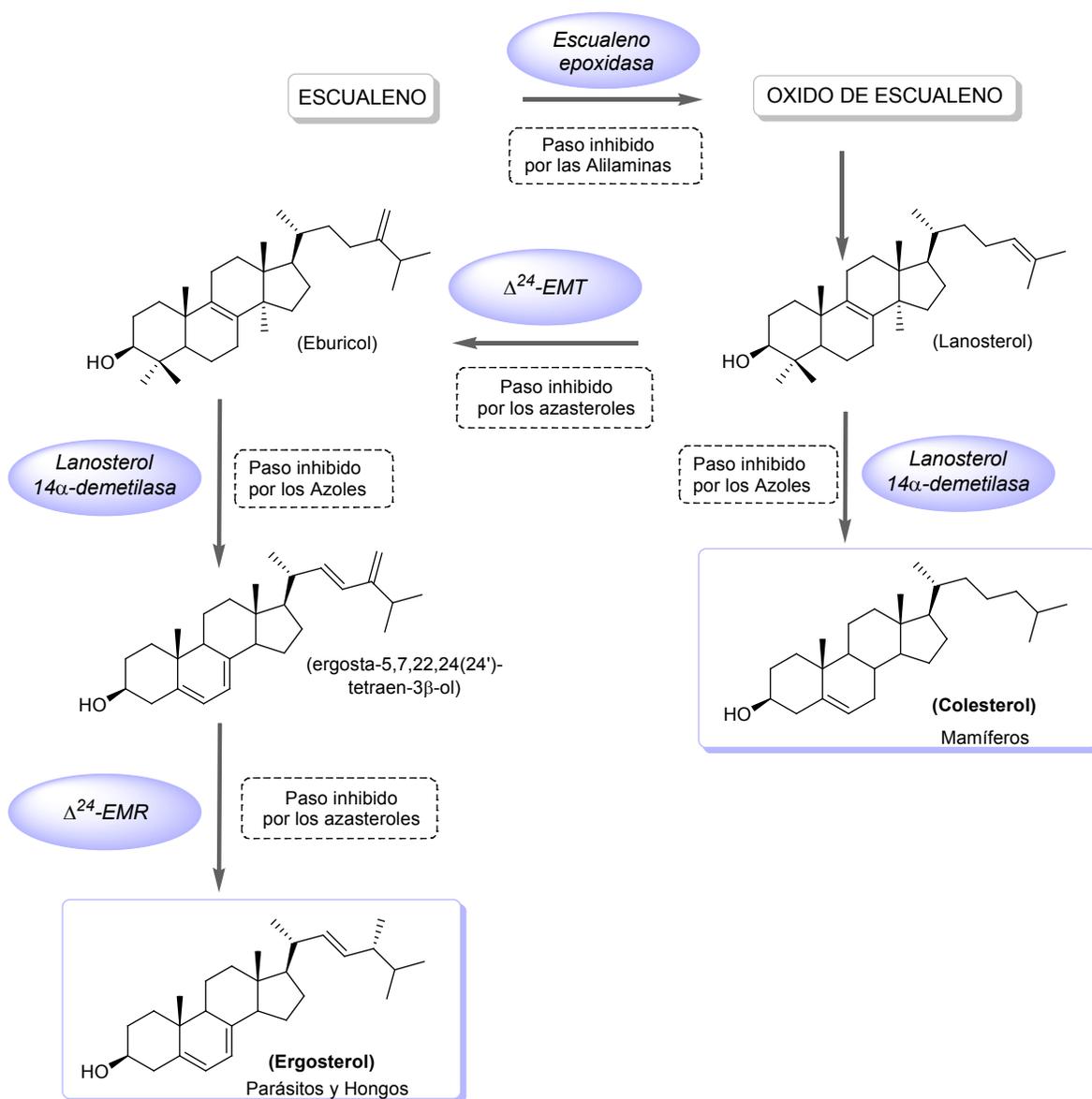


Figura 2. Ruta biosintética de esteroides en mamíferos, parásitos y hongos. Las flechas indican la ruta principal de reacción del escualeno hacia el colesterol o ergosterol. Los óvalos oscuros muestran las enzimas más importantes en la vía metabólica de esteroides. Los cuadros punteados resaltan los distintos tipos de inhibidores que actúan sobre las enzimas en cada paso metabólico.

Los compuestos que han sido desarrollados hasta el momento para interferir con el trabajo de la EMT, son esteroides con heteroátomos (nitrógeno o azufre) en la cadena lateral, reemplazando a los carbonos C-24 y C-25 con la intención de que ellos puedan ser estructural y electrónicamente satisfac-

torios en la imitación de los intermediarios carbocatiónicos (figura 4) y consecuentemente unirse con gran afinidad a la enzima EMT (14, 16-22).

Basándonos en los argumentos expuestos anteriormente, nuestra atención se cen-

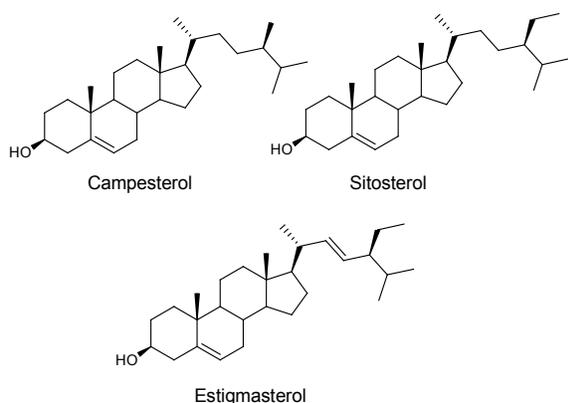


Figura 3. Estructuras y nombres de Esteroles en plantas superiores.

tró en sintetizar racionalmente un intermediario con una cadena lateral más versátil como es el 3 β -tetrahidroxipirani-23,24-bisnor-5-coleno-22-malonamida (5) (figura 5), para el desarrollo de nuevos azasteroles, con el objetivo de realizar futuros es-

tudios de correlación estructura-actividad e inhibición de la EMT.

Parte experimental

Métodos de purificación y análisis

La obtención de los diferentes compuestos orgánicos se llevó a cabo a partir del ácido 23,24-bisnor-5-colénico-3 β -ol (Steraloids, INC.); los productos o intermediarios obtenidos fueron purificados empleando columnas de sílica gel marca Scharlau (70-230 mesh ASTM) y las apropiadas mezclas de solventes. Los espectros infrarrojo (IR) se tomaron en un espectrómetro Nicolet Magna 560 FT-IR. Los espectros de resonancia magnética nuclear de protón (^1H -RMN) y de carbono (^{13}C -RMN) fueron realizados con los espectrómetros Bruker AVANCE de 300 y 500 MHz. El solvente empleado para los espectros de RMN fue cloroformo deuterado

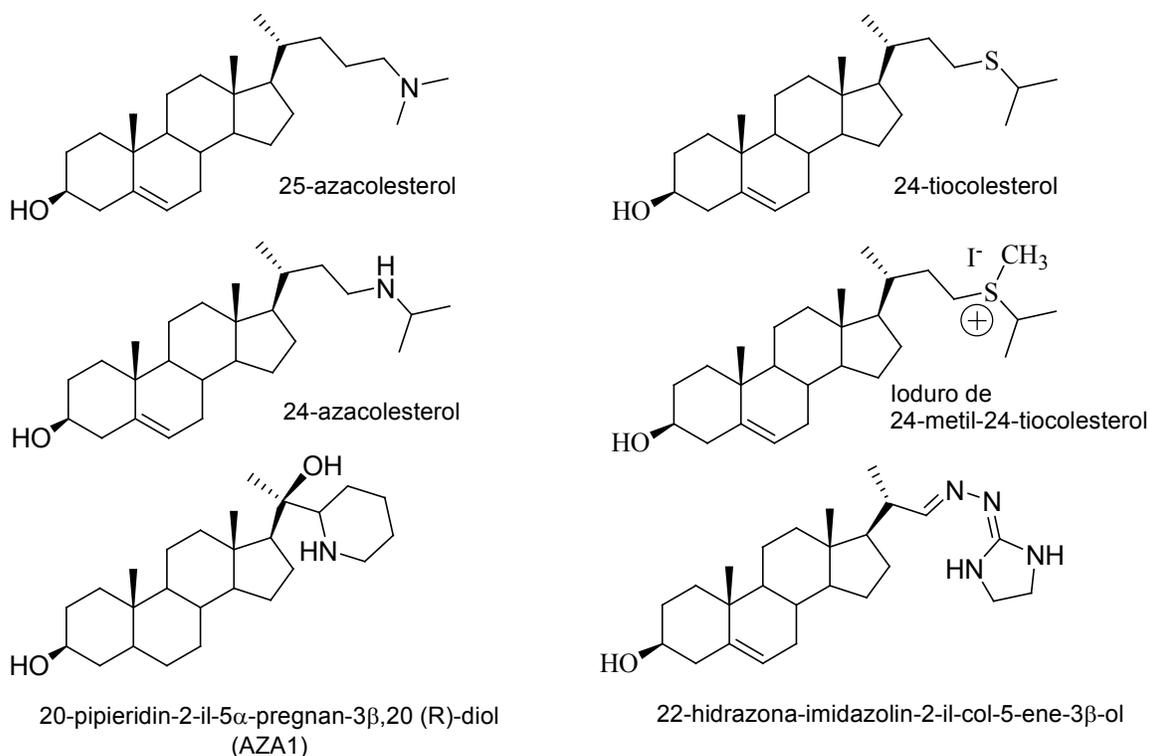


Figura 4. Estructuras de esteroides diseñados como intermediarios de alta energía. Inhibidores de la enzima Δ^{24} -EMT.

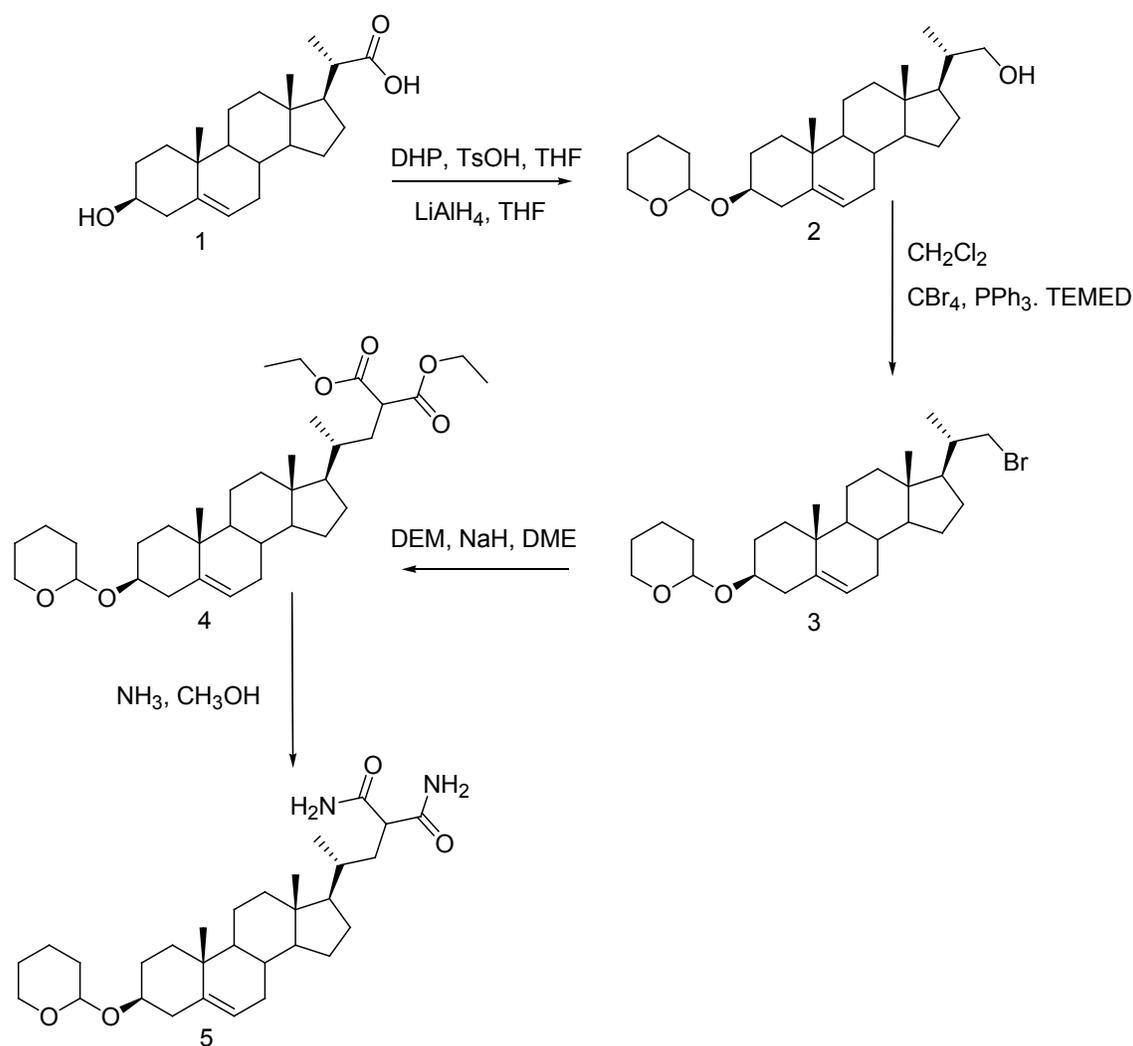


Figura 5. Estrategia general de la síntesis del 3 β -tetrahidropirani-oxi-23,24-bisnor-5-coleno-22-malona-
namida 5.

(CHCl₃-d₁/99,9%; Sigma). Los espectros de masas se tomaron utilizando un Thermofinnigan TSQ Quantum Ultra AMm por medio de la técnica de ionización por *electrospray* (ESI).

3 β -tetrahidropirani-oxi-23,24-bisnor-5-coleno-22-ol (2).

A una suspensión del ácido-23,24-bisnor-5-colénico-3 β -ol1 (1 g, 2,89 mmol) en 50 mL de tetrahidrofurano (THF), se le

agregó lentamente 1,36 mL (16,05 mmol) de dihidropirano y 0,114 g (0,66 mmol) de ácido *p*-toluensulfónico (TsOH). La mezcla se colocó en agitación constante durante 24 h. El seguimiento de la reacción se realizó a través de cromatografía de capa fina (TLC). Al finalizar la reacción, se agregó 5 mL de una solución de bicarbonato de sodio (NaHCO₃) al 5%. La mezcla fue extraída 3 veces con diclorometano CH₂Cl₂ (30 mL). La fase orgánica fue acidificada con 3 mL de una solución de ácido acético (CH₃COOH) al 5% y

lavada tres veces con agua, para luego ser secada y concentrada. El sólido beige obtenido sin purificar se disolvió en 10 mL de THF anhidro en atmósfera inerte a 0°C. Luego se agregó 0,440 mg (11,6 mmol) de hidruro de aluminio y litio (LiAlH₄) y la mezcla se colocó en agitación constante por 24 h. La reacción se detuvo agregando hielo y agua destilada, se ajustó el pH (4-5) con una solución HCl al 5%. La mezcla fue extraída 3 veces con 20 mL de CH₂Cl₂, luego la fase orgánica fue secada y concentrada. La purificación del producto se realizó a través de una cromatografía en columna de sílica gel, utilizando como fase móvil una mezcla de heptano-acetato de etilo (4:1). El compuesto obtenido fue un sólido blanco con un rendimiento de 85% (0,844 g) y punto de fusión de 142-146°C. IR (KBr) $\nu_{\text{máx}}$ (cm⁻¹): 3333 (O-H), 2933, 2880, 2840 (C-H-sp³), 1642 (C=C), 1360 (C-O-H), 1061 (C-O), 1033 (C-O). ¹H-MNR (500 MHz) (CDCl₃) ppm: 5.32 (1H,m,H-6), 4.70 (1H,m,H-1), 3.90 (1H,m,H-5'_{ec}), 3.62 (1H,m,H-22), 3.52 (1H,m,H-3), 3.47 (1H,m,H-5'_{ax}), 3.35 (1H,m,H-22'), 1.03 (3H,d, J= 1.33 Hz,H-21), 0.99 (3H,s,H-19), 0.68 (3H,s,H-18). ¹³C-MNR (CDCl₃) ppm: 141 (C-5), 121 (C-6), 97 (C-1'), 76 (C-3), 68 (C-22), 63 (C-5'), 19 (C-19), 18 (C-21), 12 (C-18). MS (ESI): *m/z* 439.38 (M+Na)⁺. Los datos espectroscópicos concuerdan con los reportados en la literatura (23, 24).

3β-tetrahidroxipirani-23,24-bisnor-5-coleno-22-bromo (3)

El compuesto **2** (0,844 g, 2,03 mmol) fue disuelto en 15 mL de diclorometano anhidro (CH₂Cl₂) y seguidamente le fueron agregados 320 μL (2,19 mmol) de N,N,N',N'-Tetra-metiletildiamina (TEMED), 0,740 g (2,23 mmol) de tetrabromuro de carbono (CBr₄) y 0,590 g (2,25 mmol) de trifenilfosfina (PPh₃). La mezcla de reacción se colocó en agitación constante a temperatura ambiente por 2 h. La reacción fue detenida agregando agua destilada (15 mL). La fase orgánica separada de la fase acuosa fue extraída tres veces con 10 mL de CH₂Cl₂. Las fases orgánicas fueron

unidas y lavadas con agua destilada, secadas y concentradas. La purificación se realizó por cromatografía en columna de sílica gel, empleando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo (6:1). El compuesto obtenido fue un sólido blanco, el cual presentó un rendimiento de 90% (0,812 g) y un punto de fusión de 142-146°C.

IR (KBr) $\nu_{\text{máx}}$ (cm⁻¹): 2937 (C-H-sp³), 1196 (CH₂-Br), 1033 (C-O-C), 583 (C-Br). ¹H-MNR (500 MHz) (CDCl₃) ppm: 5.32 (1H,m,H6), 4.71 (1H,m,H-1'), 3.89 (1H,m,H-5'_{ec}), 3.49 (3H,m,H-5'_{ax}, H-22 y H-3), 3.31 (1H,m,H-22'), 1.07 (3H,d, J= 1.3 Hz,H-21), 0.99 (3H,s,H-19), 0.68 (3H,s,H-18). ¹³C-MNR (CDCl₃) ppm: 141 (C-5), 121 (C-6), 97 (C-1'), 76 (C-3), 63 (C-5'), 44 (C-22), 19 (C-19), 18 (C-21), 12 (C-18). MS (ESI): *m/z* 377.19 y 379.53 (M-C₅H₉O₂)⁺.

3β-tetrahidroxipirani-23,24-bisnor-5-coleno-22-dietilmalonato (4)

A una suspensión de hidruro de Sodio (NaH) (0,812 g, 30 mmol) en dimetoxietano anhidro (DME) (15 mL) a 0°C, fue agregado lentamente 4,55 mL (30 mmol) de dietilmalonato. La mezcla fue agitada hasta cesar la efervescencia. Luego el compuesto **3** (0,904 g, 1,89 mmol) fue disuelto en 15 mL de DME y seguidamente añadido gota a gota a la suspensión. La reacción se colocó en reflujo por 24 horas y detenida agregando 10 mL de una solución saturada de cloruro de amonio (NH₄Cl). La mezcla fue extraída 3 veces con 10 mL de CH₂Cl₂. La fase orgánica fue lavada con agua, para luego ser secada y concentrada. La purificación se realizó por gradiente de solventes. Para esto, el compuesto fue disuelto en hexano y se usó este mismo solvente como eluyente. Luego de haber pasado un volumen de hexano, se hizo pasar una mezcla de hexano-acetato de etilo (6:1). El compuesto fue concentrado y lavado con una mezcla de agua: etanol (7:3). Finalmente se disolvió el sólido en CH₂Cl₂, se secó y se concentró. El sólido blanco obtenido presentó un rendimiento de 77% (0,628 g) y un punto de fusión de 66-70°C. IR (KBr) $\nu_{\text{máx}}$ (cm⁻¹): 2937,

2847 (C-H-sp³), 1728 (C=O), 1196 (C-C=O-O), 1150 (O-C-C), 1033 (C-O). ¹H-MNR (500 MHz) (CDCl₃) ppm: 5.32 (1H,m,H-6), 4.69 (1H,m,H-1'), 4.18 (4H,m,H-25 y H-25'), 3.89 (1H, m, H-5'_{cc}), 3.49 (2H, m, H-5'_{ax} y H-3), 3.41 (1H,dd, *J*=11.05 Hz, *J*=3.95 Hz,H-23), 1.23 (6H,m,H-26 y H-26'), 0.96 (3H,s,H-19), 0.91 (3H,d, *J*= 9Hz, H-21), 0.73 (3H,s,H-18). ¹³C-MNR (CDCl₃) ppm: 170 y 169 (C-24 y 24'), 141 (C-5), 121 (C-6), 97 (C-1'), 76 (C-3), 63 (C-5'), 61 y 62 (C-25 y 25'), 50 (C-23), 19 (C-19), 18 (C-21), 14 y 15 (C-26 y 26'), 12 (C-18). MS (ESI): *m/z* 559.43 (M+1)⁺, 457.39 (M-C₅H₉O₂)⁺. Los datos espectroscópicos concuerdan con los reportados en la literatura (25, 26).

3β-tetrahidroxipirani-23,24-bisnor-5-coleno-22-malonamida (5)

El compuesto **4** (0,628 g, 1,40 mmol) fue disuelto en 120 mL metanol (CH₃OH) anhidro y la mezcla fue enfriada a 0°C. Se burbujeó amoníaco (NH₃) sobre la solución hasta saturación. Esta mezcla se mantuvo a una temperatura de 5°C durante 3 días. Luego se colocó en baño de maría, se concentró y se recristalizó en acetonitrilo. El sólido blanco obtenido presentó un rendimiento cuantitativo (0,628 g) y un punto de fusión de 237-241°C. IR (KBr) $\nu_{\text{máx}}$ (cm⁻¹): 3190,3399 (N-H), 1660 (C=O), 1660 (N-H), 1437 (C-N), 796 (N-H), 2941 (C-H-sp³). ¹H-RMN (300 MHz) (CDCl₃) ppm: 5.32 (1H,m,H-6), 4.69 (1H,m,H-1'), 3.89 (1H,m,H-5'_{cc}), 3.49 (3H,m,H-5'_{ax} y H-3), 3.15 (1H,d, *J*=11.55 Hz, H-23), 1.24 (3H,s,H-21), 1.03 (3H,s,H-19), 0.65 (3H,s,H-18). ¹³C-MNR (CDCl₃) ppm: 170 y 171 (C-24 y 24'), 140 (C-5), 121 (C-6), 96 (C-1'), 76 (C-3), 63 (C-5'), 52 (C-23), 19 (C-19), 18 (C-21), 12 (C-18). MS (ESI) *m/z* 523.48 (M+Na)⁺, 421.29 (M-C₃H₅N₂O₂)⁺, 298.25 (M-C₅H₉O₂)⁺.

Resultados y discusión

La síntesis del alcohol **2** (figura 5), fue previamente reportada por nuestro grupo empleando tres pasos de síntesis; este-

rificación del grupo carboxílico del ácido 23,24-bisnor-5-colénico-3β-ol**1**, protección del grupo 3β-OH con dihidropirano (DHP) y por último la reducción del éster metílico con LiAlH₄, para obtener un rendimiento total de 84% (23). Sin embargo, en este trabajo empleamos la metodología reportada por Li *et al.* (24), que posee la ventaja de sintetizar el alcohol en dos pasos de síntesis, permitiendo la reducción del uso de solventes y otros materiales para obtener un rendimiento similar al nuestro de 85%. Cabe destacar que los datos espectroscópicos de IR, ¹H-RMN, ¹³C-RMN y Masas, concuerdan con los reportados en la literatura (23, 24).

La conversión del alcohol **2** al halogenuro de alquilo **3** (figura 5), ha sido reportado previamente en dos pasos de síntesis; el primero, consiste en la modificación del alcohol **2** al respectivo grupo tosilo o mesilo, y el segundo es la sustitución nucleofílica (S_N2) con bromuro de litio para obtener el haluro **3** con un rendimiento promedio de 71% (25, 26). Mientras que, en este trabajo presentamos la obtención del haluro de alquilo **3** en un paso de síntesis, en condiciones suaves y un rendimiento de 90%, empleando la reacción de Appel.

En cuanto a los datos espectroscópicos de RMN de ¹H y ¹³C, podemos decir que existe una alta correlación a los datos reportados para este compuesto (25,26). Adicionalmente, se han presentado nuevos datos como el de IR, Masas y punto de fusión, como una contribución a los datos ya existentes en la literatura. También, es importante resaltar que los protones H-22 y el carbono C-22 del compuesto **3** presentan cambios importantes en sus desplazamientos químicos hacia campo alto; esta apreciación se hace notoria al comparar el desplazamiento químico del carbono C-22 del compuesto **2** en 68 ppm, y luego el mismo carbono en el haluro **3** con un desplazamiento de 44 ppm con una diferencia de 24 ppm. Este efecto es debido a la diferencia de capacidad electronegativa que poseen los átomos de oxígeno (3.44) y bromo (2.96). También hay que resaltar que en el

espectro IR del compuesto **3**, la banda característica del grupo OH en 3333 cm^{-1} desapareció, confirmando la conversión al haluro correspondiente.

El diéster **4** (figura 5), fue sintetizado a través de una reacción de sustitución nucleofílica bimolecular (S_N2), empleando el haluro **3**, dietilmalonato e hidruro de sodio (NaH), en dimetoxietano (DME), durante 24 h en reflujo y rendimiento de 77% (27).

Del análisis estructural del compuesto **4** podemos resaltar la siguiente información espectroscópica: El espectro de IR mostró una banda intensa en 1728 cm^{-1} atribuida al alargamiento del enlace C=O del grupo carbonilo del diéster, tres bandas en 1196 , 1150 y 1033 cm^{-1} características del alargamiento del enlace C-O asimétrico de los grupos funcionales del diéster, 3β-OH y del éter (THP), respectivamente.

El análisis de masas mediante la técnica ESI, mostró dos iones intensos de 98 y 100% de abundancia, correspondientes al ion molecular ($M+1$) m/z 559,43, y el otro fragmento importante de m/z 457,39 ($M-C_5H_9O_2$)⁺ correspondiente al ion molecular con pérdida de 101 unidades de masas del grupo protector (THP), respectivamente.

¹HRMN mostró claramente un multiplete en 4.18 ppm que integra para cuatro protones asignado a los dos metilenos del diéster. Un doblete de dobletes ($J=11.05$ y $J=3.95\text{ Hz}$) en 3.41 ppm que integra para un protón correspondiente al protón H-23, su desplazamiento a campo bajo es debido al efecto desapantallante de los carbonilos del diéster. En 1.23 ppm se aprecia un multiplete que integra para seis protones asignada a los metilos de la fracción del diéster. Los protones H-6, H-1', H-3, H-5', H-18, H-19, no presentaron desplazamientos significativos con respecto a los compuestos anteriores. Sin embargo los protones H-21 del metilo del núcleo esteroide presentaron un ligero desplazamiento a campo alto (0.92 ppm; $\Delta 0.17\text{ ppm}$), debido probablemente a que estos protones están influenciados por los gru-

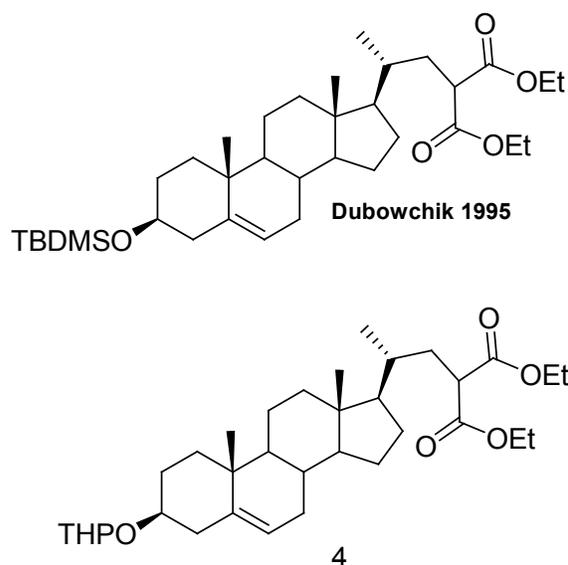


Figura 6. Estructura química de los compuestos 3β-ter-butildimetilsililo-23,24-bisnor-5-coleno-22-dietilmalonato y **4**.

pos funcionales de la cadena lateral, quizás se encuentren dentro del cono apantallante de uno de los carbonilos.

Es de resaltar que en 1995, Dubowchik (26) y colaboradores reportaron la síntesis en cinco pasos de un compuesto estructuralmente similar al compuesto **4**, el 3β-ter-butildimetilsililo-23,24-bisnor-5-coleno-22-dietilmalonato (figura 6), con un rendimiento de 81%; mientras que en este trabajo el compuesto **4** fue sintetizado en tres pasos con rendimiento de 77%. La diferencia entre los compuestos radica en las estrategias de síntesis y los grupos protectores empleados para la protección del grupo 3β-OH del esteroide.

Finalmente, la diamida **5** fue sintetizada a través de una reacción de aminólisis, empleando el compuesto **4**, y una solución saturada de amoníaco (NH_3) en metanol (CH_3OH) a 5°C durante 3 días (28).

El espectro de IR (figura 7) mostró dos bandas en $3399-3190\text{ cm}^{-1}$ asignadas a la zona de alargamiento del enlace N-H de amida primaria, una banda en 1660 cm^{-1} atri-

buida al alargamiento del enlace C=O del grupo carbonilo de la di-amida, fácilmente diferenciable del compuesto **4**, ya que la banda de este último aparece en 1728 cm^{-1} .

El espectro de masas (figura 8), mediante la técnica ESI muestra el ion molecular (M+Na) m/z 523,48 bien intenso correspondiente a la masa molecular del compuesto **5**. Un fragmento m/z 421,29 ($\text{M}-\text{C}_3\text{H}_5\text{N}_2\text{O}_2$)⁺

correspondiente al ión molecular con pérdida de 101 unidades de masas asignada a la fracción de la diamida, un fragmento m/z 298,25 ($\text{M}-\text{C}_8\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$)⁺ asignado al ion molecular con pérdida de 170 unidades de masa debido a la pérdida de fracción de la diamida y el grupo protector THP.

El espectro de ¹HRMN (figura 9) junto a sus ampliaciones, muestra claramente dos

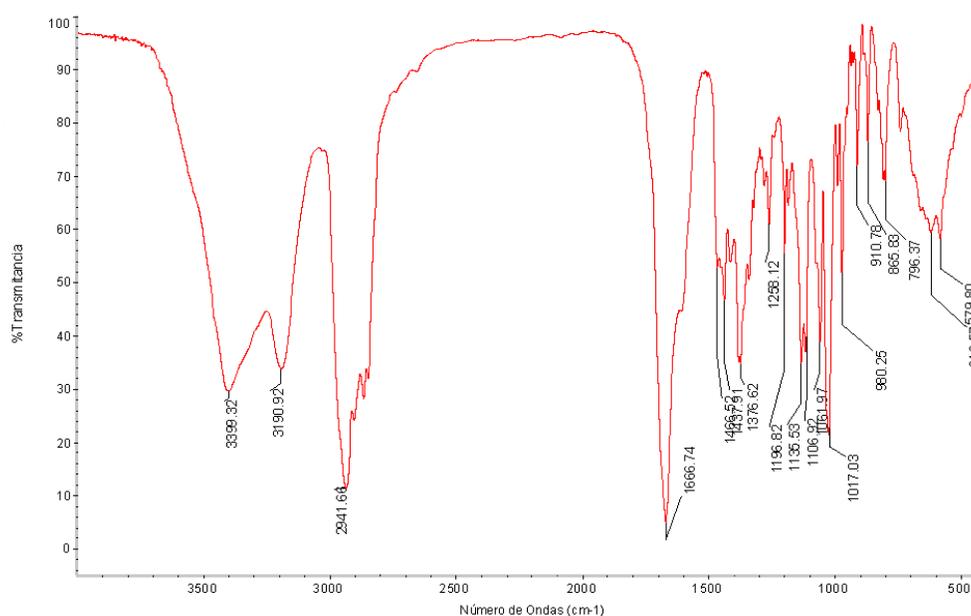


Figura 7. Espectros de IR del 3β-tetrahydroxipirani-oxi-23,24-bisnor-5-coleno-22-malonamida **5**.

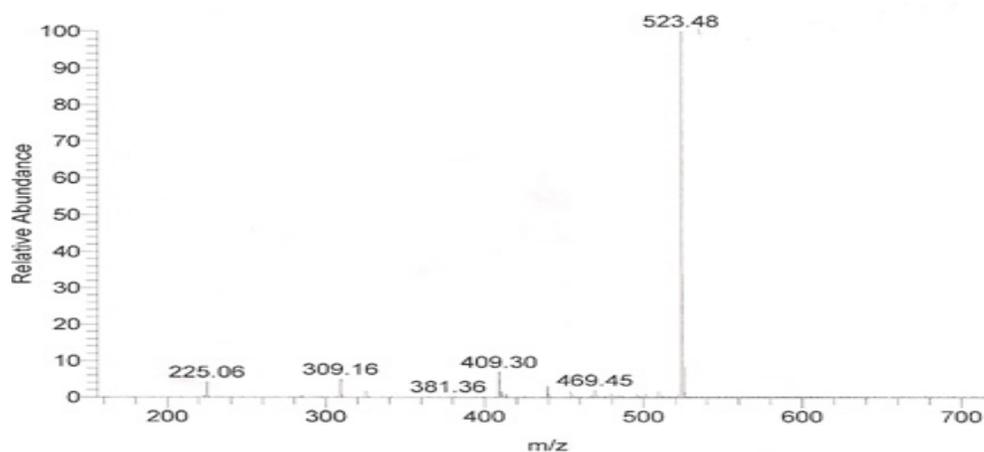


Figura 8. Espectro de Masas del 3β-tetrahydroxipirani-oxi-23,24-bisnor-5-coleno-22-malonamida **5**.

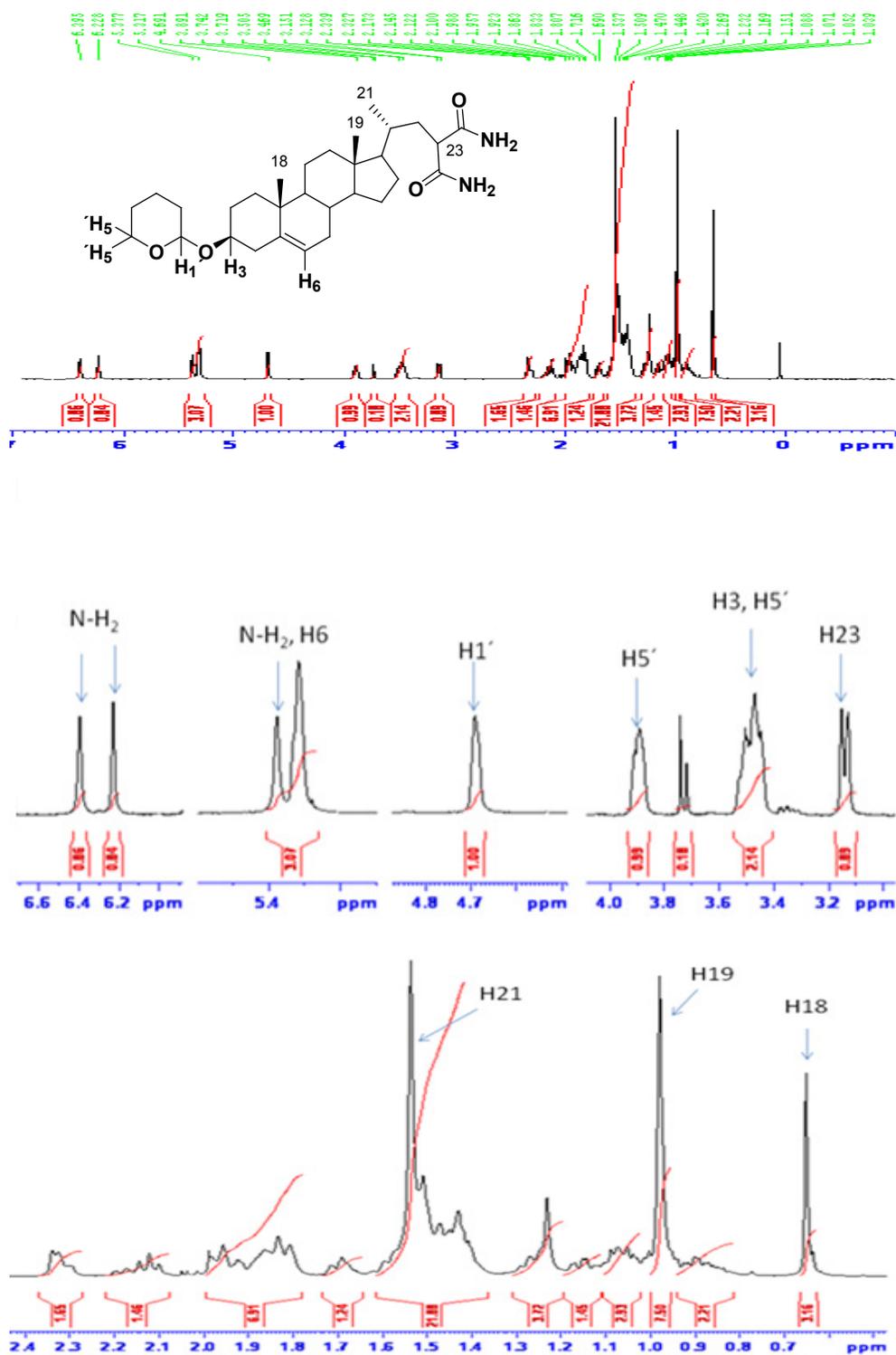


Figura 9. Espectro de ¹H-RMN del 3β-tetrahidropirani-23,24-bisnor-5-coleno-22-malonamida 5 y sus ampliaciones.

singletes, uno en 6.38 y otro en 6.23 ppm, asignados a dos protones N-H de la diamida. Un multiplete en 5.32 ppm que integra para tres protones correspondientes al protón unido al doble enlace C=C del núcleo esterooidal y dos protones N-H de la diamida. Un doblete ($J=11.55$ Hz) en 3.15 ppm que integra para un protón correspondiente al protón H-23, desplazado a campo alto debido al menor efecto desapantallante de los carbonilos de la diamida, lo cual lo hace claramente diferenciable del protón H-23 del compuesto **4**. Los protones H-1', H-3, H-5' y los protones del grupo amido fueron asignados a través del intercambio de estos con agua deuterada (espectros no mostrados), los cuales al intercambiarse con el deuterio causan la desaparición de las señales en 6.38, 6.23 y 5.32 ppm.

El espectro de ^{13}C -RMN (figura 10), presenta las siguientes señales características: dos señales a 173 y 172 ppm, asignadas a los carbonilos de la diamida; una señal en 141 ppm asignada al C-5, carbono vinílico del núcleo esterooidal; una señal a 121 ppm perteneciente al C-6, carbono insaturado con hibridación sp^2 del núcleo esterooidal; una se-

ñal a 97 ppm correspondiente al C-1' carbono α al átomo de oxígeno del grupo protector THP (O-CH-O); señal a 76 y 63 ppm asignadas a los carbonos C-3 y C-5', carbonos α al átomo de oxígeno; una señal en 52 ppm correspondiente al C-23, el cual aparece desplazado a campo bajo debido al efecto desapantallante de los carbonilos de la diamida; señales a 19, 18 y 12 ppm, fueron asignadas a los carbonos C-19, C-21 y C-18 respectivamente. El resto de las señales de ^{13}C asignadas para el compuesto **5** se encuentran en la tabla 1.

Con la ayuda de la secuencia de pulso HMQC (figura 11), y el espectro bidimensional de ^1H RMN (figura 9) donde fue determinado el protón H-23, se logró la asignación del carbono C-23.

Conclusión

Se ha descrito la estrategia sintética y caracterización química de un nuevo azasterol: 3β -tetrahidroxipirani-23,24-bisnor-5-coleno-22-malonamida **5** con un rendimiento de 59%. Intermediario clave para la síntesis de nuevos Azasteroles.

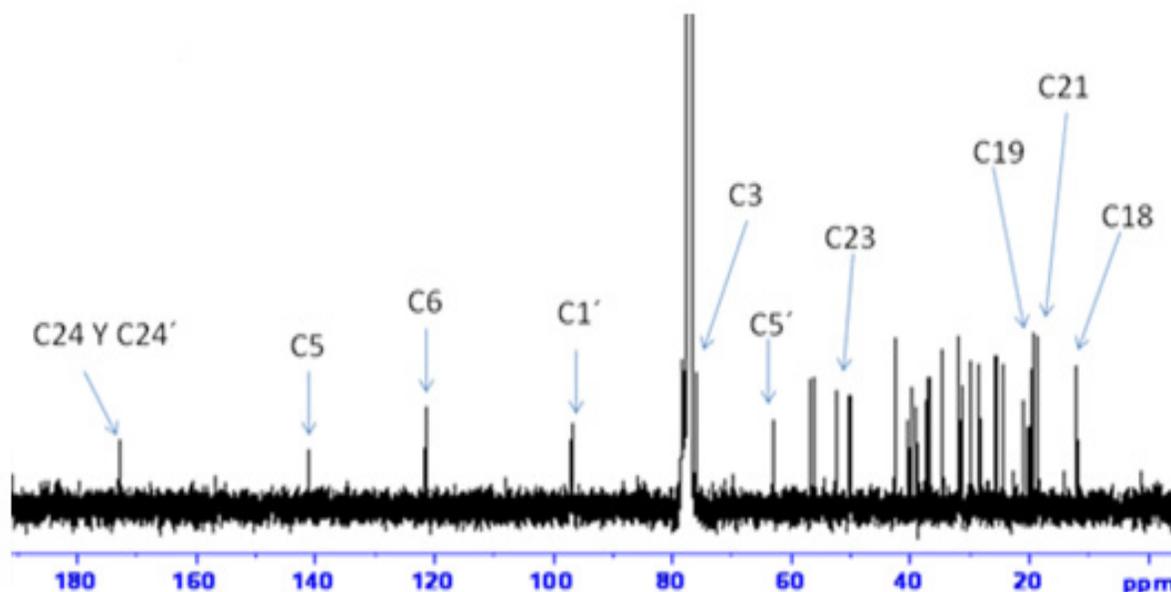


Figura 10. Espectro de ^{13}C -RMN del 3β -tetrahidroxipirani-23,24-bisnor-5-coleno-22-malonamida **5**.

Tabla 1
Asignaciones de ^{13}C del 3β-tetrahidropirani-23,24-bisnor-5-coleno-22-malonamida 5.
Desplazamientos químicos (δ) en ppm

Carbonos CH		Carbonos CH ₂	
δ -ppm	Asignación	δ -ppm	Asignación
76	C ₃	37	C ₁
121	C ₆	30	C ₂
32	C ₈	39	C ₄
51	C ₉	32	C ₇
57	C ₁₄	21	C ₁₁
56	C ₁₇	40	C ₁₂
39	C ₂₀	24	C ₁₅
97	C _{1'}	28	C ₁₆
52	C ₂₃	34	C ₂₂
		31	C _{2'}
		20	C _{3'}
		25	C _{4'}
		63	C _{5'}
Carbonos CH ₃		Carbonos C cuaternarios	
δ -ppm	Asignación	δ -ppm	Asignación
12	C ₁₈	141	C ₅
19	C ₁₉	37	C ₁₀
18	C ₂₁	42	C ₁₃
		173 y 172	C ₂₄ y C _{24'}

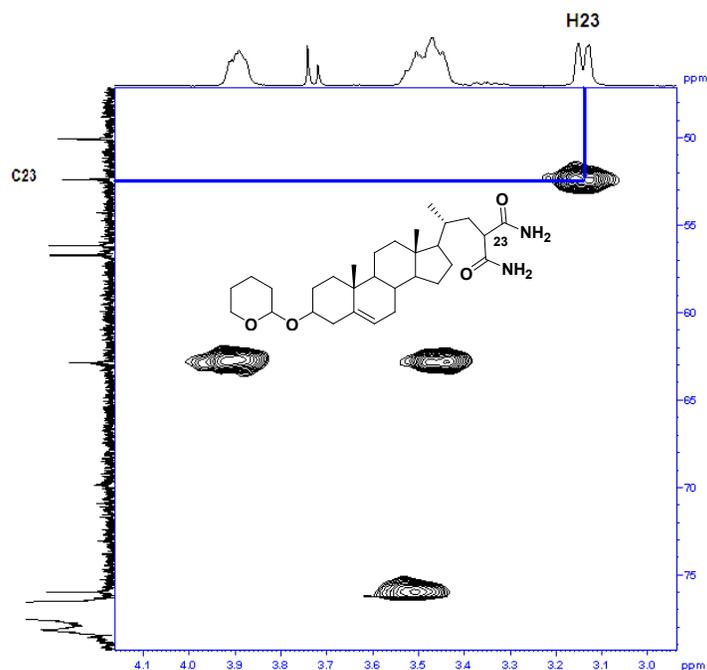


Figura 11. Espectro de HMQC del 3β-tetrahidropirani-23,24-bisnor-5-coleno-22-malonamida 5.

Agradecimientos

Al Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) por el apoyo financiero que permitió la realización del presente trabajo.

Al laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear y Espectrometría de Masas del IVIC, por su valiosa colaboración en la toma de los espectros de los diferentes compuestos.

Referencias

- HIRST S.I., STAPLEY L.A. Parasitology: the dawn of a new millennium. *Parasitol Today* 16(1): 1-3, 2000.
- <http://www.gsk.com/media/downloads/WHO-report-on-NTD.PDF> 2012.
- RODRIGUEZ C.J., ALBAJAR V.P. *Nature* 465(7301): S6-S7, 2010.
- RODRIGUEZ C.J., ALBAJAR V.P. *Nature*, 465(7301): S3-S22, 2010.
- ZAVITSANOU A., KOUTIS C., BABATSIKOU F. *Health Sci J* 2(4): 196-205, 2008.
- THIEL R. *Orig Inter* 17(3): 119-128, 2010.
- NOSANCHUCK J.D. *Recent Pat AntiInfect Drug Discov* 1: 75-84, 2006.
- CATALAN M., MONTEJO J.C. *Rev Iberoam Micol* 23: 39-49, 2006.
- PACHON J., CISNEROS J.M., COLLADO-ROMACHO A.R., LOMAS-CABEZAS J.M., LOZANO DE LEON-NARANJO F., PARRA-RUIZ J., RIVERO-ROMAN A. *Enferm Infec Microbiol Clin* 24(4):254-263, 2006.
- CORREA A.A., FERNANDEZ I., SOBREIRA G., SOARES F. *Genet Mol Res* 4(2):430-449, 2005.
- MAJUNDER H.K., DE SOUZA W., CHANG K.P. *Mol Biol Int* 2011:1-3, 2011.
- ESPENCHADE P.J., HUGHES A.L. *Annu Rev Genet* 41: 401-427, 2007.
- DE SOUZA W., FERNANDES RODRIGUEZ J.C. *Interdiscip Perspect on Infect Dis* 2009: 1-19, 2009.
- VISBAL G., SAN-BLAS G., MURGICH J., FRANCO H. *Curr Drug Targets: Infect Disord* 5: 211-226, 2005.
- URBINA J.A. *Parasitology* 117: S91-S99, 1997.
- NES W.D. *Biochem Biophys Acta* 1529: 63-88, 2000.
- DE BACKER M.D., LUYTEN W., VANDEN BOSSCHE H.F. *In pathogen Genomics: Impact on Human Health*; Shaw, K.J. Ed.; Humana Press Inc.: Totowa, N.J 167-196, 2002.
- MERCER E. *Prog Lipid Res* 32: 357-416, 1993.
- NARULA A.S., BENVENISTE P., SCHUBER F. *J Am Chem Soc* 103(9): 1408-2409, 1981.
- RAHIER A., TATON M., BOUVIER-NAVE P., SCHMITT P., BENVENISTE P., SCHUBER F., et al. *Lipids* 21(1): 52-62, 1986.
- LIU J., NES W.D. *Molecules* 14: 4609-4706, 2009.
- VISBAL G., SAN-BLAS G., MALDONADO A., ALVAREZ-AULAR A., CAPPARELLI M.V., MURGICH J. *Steroids* 76: 1069-1081, 2011.
- VISBAL G., ALVAREZ-AULAR A. *Synthetic Commun* 34(3): 553-540, 2004.
- Li Z., MINTZER E., BITTMAN R. *J Org Chem* 71: 1718-1721, 2006.
- VILCHÉZE C., BITTMAN R. *J Chem Soc Perkin Trans 1*: 2937-2940, 1995.
- DUBOWCHIK G.M., RAYMOND A F. *Tetrahedron Lett* 35(26): 4523-4526, 1994.
- LI Z., BITTMAN R. *J Org chem* 72: 8376-8382, 2007.
- SUBRAMANIAN R., COLONY J., SHABAN S., SIDRAK H., HASPEL M.V., POMATO N., HANNA Jr. M.G., McCABE R.P. *Bioconjug Chem* 3(3): 248-255, 1992.