

## Triazoles derivados de colesterol y diosgenina

Montoya Sánchez Karen Guadalupe<sup>1</sup>, Negrón Silva Guillermo Enrique<sup>1\*</sup>, Ángeles Beltrán Deyanira<sup>1</sup>,  
Lomas Romero Leticia<sup>2</sup>, Lara Corona Víctor Hugo<sup>2</sup>, Santillán Baca Rosa<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma Metropolitana, Departamento de Ciencias Básicas. Av. San Pablo No. 180, Azcapotzalco, Ciudad de México. C.P. 02200. México.

<sup>2</sup>Universidad Autónoma Metropolitana, Departamento de Química, Av. San Rafael Atlixco No. 186, Ciudad de México, C.P. 09340, México.

<sup>3</sup>Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Departamento de Química, Apartado Postal 14-740, Ciudad de México, 07000, México.

\*Autor para correspondencia: gns@azc.uam.mx

### Recibido:

21/julio/2019

### Aceptado:

03/septiembre/2019

### Palabras clave:

1,2,3-triazoles, colesterol, diosgenina

### Keywords:

1,2,3-triazole, cholesterol, diosgenin

### RESUMEN

Los conjugados de esteroides constituyen una extensa e importante clase de compuestos policíclicos biológicamente activos que se utilizan ampliamente con fines terapéuticos. En este trabajo, se describe la síntesis de dos tipos de derivados de esteroides unidos al núcleo de 1,2,3-triazol. Estos nuevos triazoles fueron sintetizados a través de una reacción de cicloadición [3 + 2] catalizada por un óxido de Cu/Al, entre la 4-bromobencilazida generada in situ y los derivados de colesterol y diosgenina O-propargilados. Con esta síntesis “click” multicomponente, los conjugados de triazol-esteroides se obtuvieron con buenos rendimientos y ambos compuestos fueron caracterizados por espectroscopía de infrarrojo (IR), y resonancia magnética nuclear de una y dos dimensiones (RMN).

### ABSTRACT

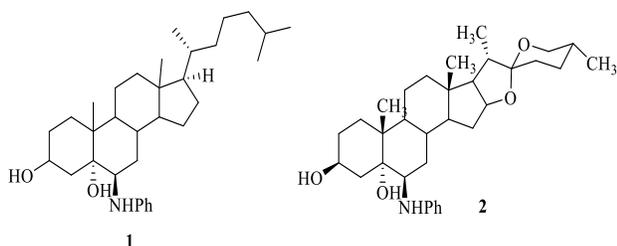
Steroid conjugates constitute an extensive and important class of biologically active polycyclic compounds that are widely used for therapeutic purposes. In this work, an expedient synthesis of two types of 1,2,3-triazole-linked steroids is described. These novel triazoles were prepared via Cu/Al mixed oxide-catalyzed [3 + 2] cycloaddition of in situ-generated 4-bromobenzylazide and either O-propargylated cholesterol or diosgenin. With this multicomponent click synthesis, the desired triazol-steroids conjugates were obtained in good yields and the compounds were properly characterized by infrared (IR), and two-dimensional nuclear magnetic resonance (NMR).

## Introducción

El colesterol es un constituyente esteroidal de las membranas celulares eucariotas y está ausente en los organismos procarióticos, es un componente esencial de la membrana celular, además es un sustrato para la biosíntesis de hormonas esteroidales, ácidos biliares y vitamina D. La diosgenina es un producto natural, que se extrae de las raíces de las especies *dioscorea composita* y *dioscorea floribunda* y se utiliza como materia prima en la producción sintética de hormonas esteroidales.

La cicloadición 1,3-dipolar de azidas y alquinos mediada por cobre (I), es una estrategia poderosa para sintetizar 1,2,3-triazoles 1,4-disustituídos, debido a su alta selectividad, confiabilidad y tolerancia a un amplio rango de grupos funcionales y altos rendimientos, (Negrón et al., 2016). Recientemente sintetizamos  $\beta$  aminoalcoholes derivados de colesterol y diosgenina (Rincón et al., 2017), que mostraron actividad anti proliferativa.

Considerando que los grupos triazoles forman parte de estructuras con actividad biológica, es importante preparar triazoles derivados de estos esteroides, para posteriormente transformarlos en los  $\beta$  aminoalcoholes correspondientes, y así verificar que la presencia del grupo triazol ejerce una actividad sinérgica en la actividad anti proliferativa. **Figura 1**



**Figura 1.** Compuestos esteroidales con actividad biológica.

## Metodología

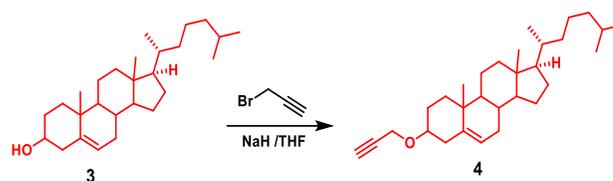
### Síntesis de 3-propargil colesterol 4

En un matraz de bola de 50mL con un agitador, se colocó el colesterol 3 comercialmente disponible (0.300g, 0.77mmol) disuelto en THF anhidro (7.14 mL por mmol) a 0°C, se adicióno NaH al 60% (0.096 g, 3.87 mmol) y se dejó en agitación la mezcla por 30min.

Posteriormente se adicióno bromuro de propargil (0.276g 2.32 mmol), el crudo de reacción se mantuvo a 60°C durante 12h, la evolución de la reacción se siguió por cromatografía en capa fina, al término de este tiempo, se adicióno 2mL de agua.

Posteriormente se extrajo con acetato de etilo y la fase orgánica se evaporó a presión reducida, el residuo resultante se purificó por columna cromatográfica (silica

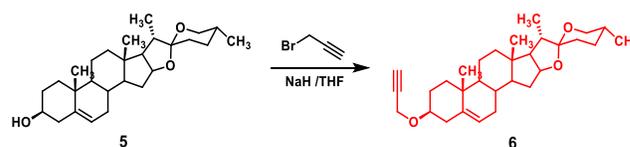
gel, hexano: acetato de etilo, 15:1) se obtuvo 0.190g de colesterol propargilado, como un sólido blanco p.f =108-111°C en un 60% de rendimiento 4, cuyos datos espectroscópicos corresponden a los previamente reportados por (Debabrata et al.,2015). Esquema 1.



**Esquema 1.** Propargilación de colesterol.

### Síntesis de 3-propargil diosgenina 6

El procedimiento empleado en la propargilación de la diosgenina 5 es el mismo que se utilizó para el caso del colesterol, se obtuvo 0.183g de compuesto 6 como un sólido blanco p.f=149-152°C en un 56% de rendimiento. Los datos espectroscópicos corresponden a los ya reportados (Debabrata et al., 2015). Esquema 2.



**Esquema 2.** Propargilación de diosgenina.

### Síntesis del triazol derivado del colesterol 7

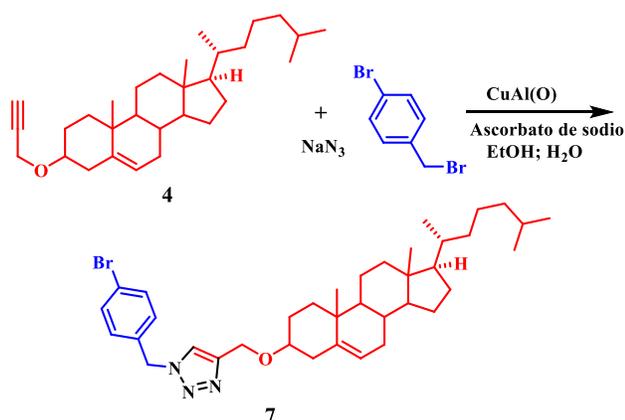
En un tubo para microondas, se colocó, el colesterol propargilado 4 (0.030g 0.068 mmol), ascorbato de sodio (0.0013g, 0.0006 mmol), 4-bromobencil-bromuro (1 g, 4.71mmol) azida de sodio (0.0260 g, 5.65 mmol), 1mL de una solución EtOH/H<sub>2</sub>O (1:1) y 0.010g de hidróxido doble laminar (HDL) Cu/Al calcinado, también denominado óxido mixto CuAl.

La mezcla se hizo reaccionar en un reactor de microondas a 80°C/ 30 Watts de potencia y máxima agitación por 30 minutos. El progreso de la reacción se evaluó mediante cromatografía en capa fina (TLC).

El crudo de reacción se extrajo con acetato y se lavó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, el disolvente se evaporó a presión reducida.

El residuo resultante se purificó por columna cromatográfica (silica gel, hexano: acetato de etilo, 3:1) para dar 0.0033g del compuesto 7 como un sólido blanco con un p.f =176-178°C en un 75% de rendimiento.

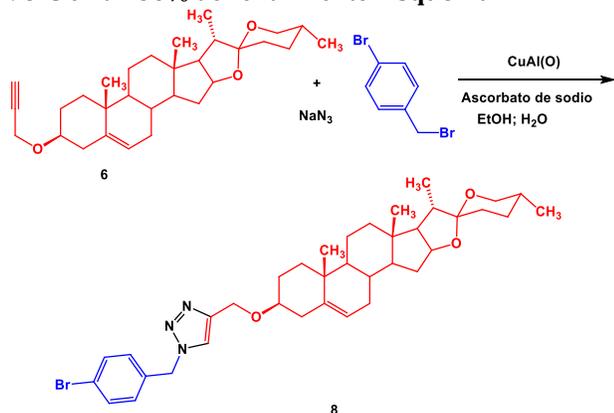
**Esquema 3.**



Esquema 3. Síntesis del triazol derivado de colesterol.

### Síntesis del triazol derivado de la diosgenina 8

El procedimiento empleado es el mismo que se utilizó para la obtención triazol colesterol 7. Se obtuvieron 0.024 g de compuesto 8 como sólido blanco p.f = 196-198°C en un 56% de rendimiento. Esquema 4.



Esquema 4. Síntesis del triazol derivado de diosgenina.

### Resultados y discusión

La síntesis de los triazoles derivados de colesterol y diosgenina, comenzó con la propargilación de ambos esteroides por separado en medio básico, a través de una reacción de sustitución nucleofílica S<sub>N</sub>2, donde el colesterol y la diosgenina actúan como nucleófilos y el bromuro de propargilo como electrófilo, usando como disolvente tetrahidrofurano (THF) anhidro, se obtuvieron los productos propargilados correspondientes en buenos rendimientos. Esquema 1 y Esquema 2.

El análisis de espectroscopía de infrarrojo nos permitió demostrar la presencia de los grupos funcionales de acuerdo a las vibraciones correspondientes, en ambos esteroides propargilados, vibraciones (sp-sp) que se encuentra en 2111cm<sup>-1</sup> y sp-s, 3235 cm<sup>-1</sup>. Figura 2.

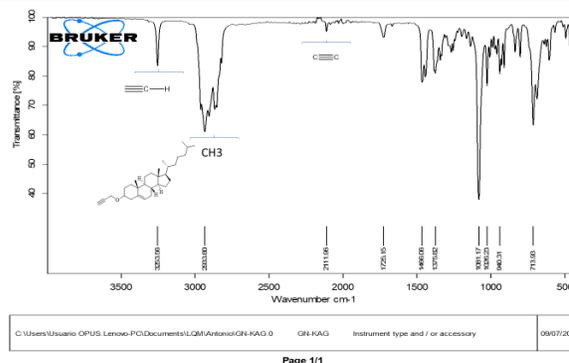


Figura 2. Espectro de infrarrojo del compuesto 4.

De igual manera para el propargilo derivado de la diosgenina, pueden apreciarse las mismas vibraciones, Figura 3.

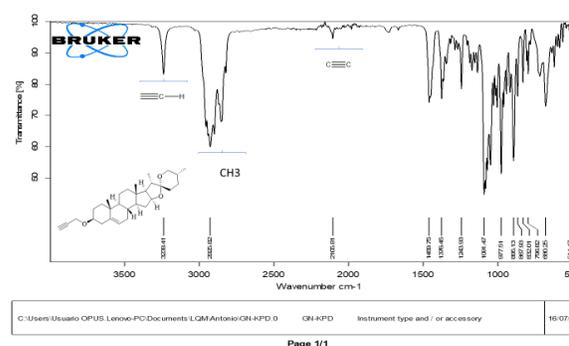
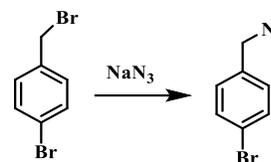


Figura 3. Espectro de infrarrojo de la diosgenina propargilada.

La síntesis de los triazoles derivados del colesterol y diosgenina se llevaron a cabo, mediante una ración de multicomponente catalizada por cobre, conocida como CuAAC, por sus siglas en inglés asistida por micondas, tipo multicomponente, ya que la azida orgánica se genera "in situ" por la reacción de la azida de sodio con el 4-bromo bromuro de bencilo. Esquema 5.



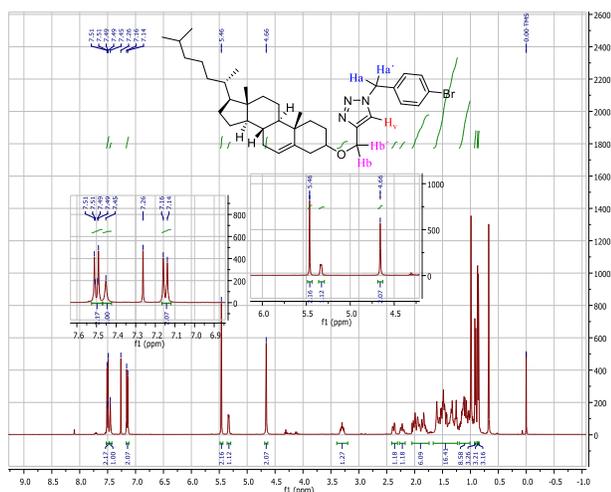
Esquema 5. Generación "in situ" de la azida orgánica.

El catalizador utilizado es el LDH Cu/Al calcinado, en presencia de ascorbato de sodio como agente reductor del Cu(II) a Cu(I).

Las estructuras de los policiclos 7 y 8 se determinaron a través de análisis por <sup>1</sup>H RMN, <sup>13</sup>C RMN.

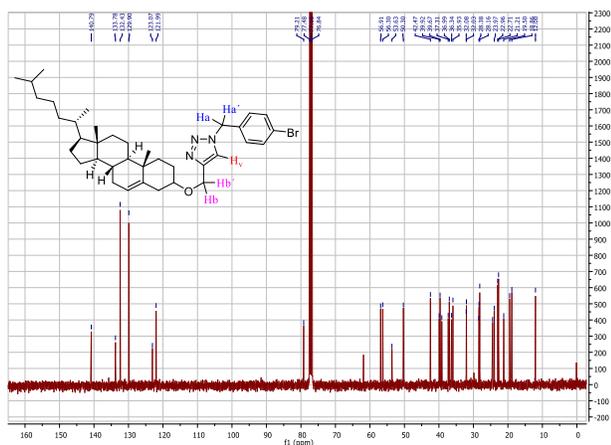
Para el triazol 7, se observa una señal simple clave correspondiente al protón vinílico H<sub>v</sub>, que se desplaza en 7.45ppm, presente en el anillo del triazol y que integra

para  $^1\text{H}$  hidrógeno, otra de las señales escalares importantes son los hidrógenos bencílicos  $\text{H}_a$  y  $\text{H}_a'$  que aparecen como una señal simple en 4.66 ppm y que integra para 2 hidrógenos, finalmente una señal importante son los hidrógenos alílicos  $\text{H}_b$  y  $\text{H}_b'$  que se desplazan en 5.1 ppm y que aparecen como una señal simple e integran para 2 hidrógenos. **Figura 4.**



**Figura 4.** RMN  $^1\text{H}$  para el triazol derivado del colesterol.

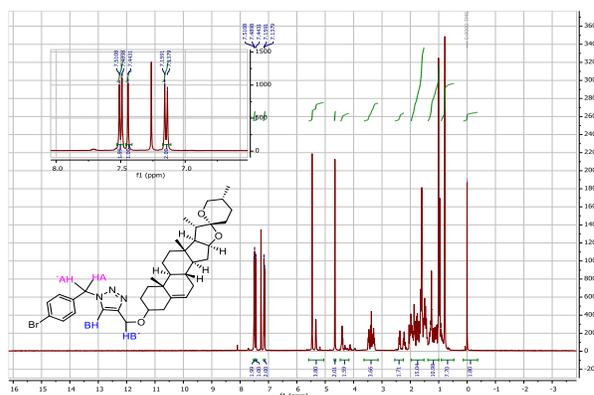
De igual manera la caracterización se realizó mediante RMN de  $^{13}\text{C}$ , mostró la presencia de los carbonos correspondientes a nuestro compuesto esperado. **Figura 5.**



**Figura 5.**  $^{13}\text{C}$  RMN para el triazol-colesterol.

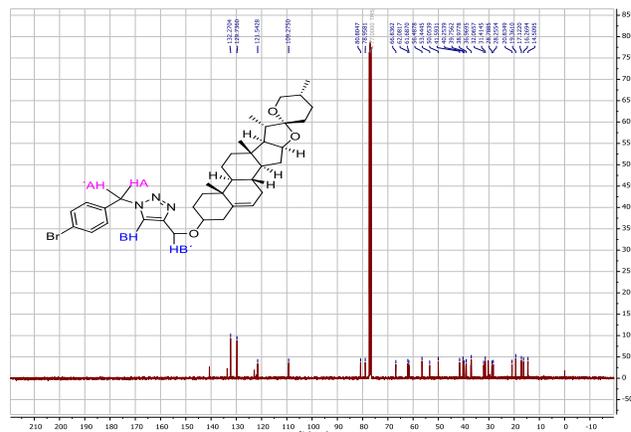
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.5 – 7.4 (m, 2H), 7.4 (s, 1H), 7.1 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 5.4 (s, 2H), 5.3 (d,  $J = 5.2$  Hz, 1H), 4.6 (s, 2H), 3.3 (s, 1H), 2.3 (s, 1H), 2.2 – 2.1 (m, 3H), 2.0 – 1.7 (m, 6H), 1.6 – 1.2 (m, 16H), 1.2 – 1.0 (m, 8H), 0.9 (d,  $J = 6.5$  Hz, 3H), 0.8 (d,  $J = 1.7$  Hz, 3H), 0.8 (d,  $J = 1.7$  Hz, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  140.7, 133.7, 132.4, 129.9, 123.0, 121.9, 79.2, 77.4, 77.1, 76.8, 56.9, 56.3, 53.6, 50.3, 42.4, 39.9, 39.6, 39.1, 37.3, 36.9, 36.3, 35.9, 32.0, 32.0, 28.4, 28.3, 28.1, 24.4, 23.97, 22.9, 22.7, 21.2, 19.5, 18.8, 12.0.

El subsecuente análisis estructural para el policiclo 8 se llevó a cabo por  $^1\text{H}$  RMN,  $^{13}\text{C}$  RMN, de esta manera una señal clave es la señal simple correspondiente al protón vinílico  $\text{H}_v$ , que se desplaza en 7.44 ppm, presente en el anillo del triazol y que integra para 1 hidrógeno, otra de las señales escalares importantes son los hidrógenos bencílicos  $\text{H}_b$  y  $\text{H}_b'$  que aparecen como una señal simple en 4.65 y que integra para 2 hidrógenos, finalmente otras señales importantes son los hidrógenos alílicos  $\text{H}_a$  y  $\text{H}_a'$  que aparecen en 5.46 ppm como una señal simple que integra para 2H. **Figura 6.**



**Figura 6.** RMN  $^1\text{H}$  para el triazol derivado de la diosgenina.

De igual manera la caracterización se realizó mediante RMN de  $^{13}\text{C}$ , observando la presencia de los carbonos correspondientes al compuesto esperado. **Figura 7.**



**Figura 7.**  $^{13}\text{C}$  RMN para el triazol-diosgenina 8.

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.5 – 7.4 (m, 2H), 7.4 (s, 1H), 7.1 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 5.4 (s, 2H), 5.3 (d,  $J = 5.2$  Hz, 1H), 4.4 (m, 1H), 3.3 (m, 4H), 1.9-1.5 (m, 17H), 1.48-1.40 (m, 14), 0.9 (d,  $J = 6.5$  Hz, 3H), 0.9 (d,  $J = 1.7$  Hz, 3H), 0.8 (d,  $J = 1.7$  Hz, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 140.6, 133.0, 132.7, 129.0, 123.0, 121.4, 109.4, 80.9, 78.9, 66.8, 62.0, 61.6, 56.4, 53.4, 50.0, 41.5, 40.2, 39.7, 38.7, 36.9, 32.0, 31.4, 28.7, 28.2, 20.8, 19.3, 17.1, 16.2, 14.5.

## Conclusiones

Se logró la síntesis de los triazoles derivados de colesterol y diosgenina mediante la reacción de cicloadición de Huisgen usando como catalizador HDL Cu/Al calcinado, las reacciones se realizaron asistidas por microondas obteniendo un rendimiento favorable del 75% y 56%. A los triazoles derivados de colesterol y diosgenina se les determinará posteriormente su actividad anti proliferativa.

## Agradecimientos

A los laboratorios de Resonancia Magnética Nuclear de la UAM-A y de la UAM-I, a los proyectos CONACYT y Divisional CB010-13 UAM-A, así como a la beca SNI 2139.

## Referencias

Bhunja-Preethi D., M.C. Pallavi S.R. Bonam-Sandeep A. Reddy Y. Verma M., Sampath-Kumar. (2015). Halmuthur Design, Synthesis, and Evaluation of Novel 1,2,3-Triazole-Tethered Glycolipids as Vaccine Adjuvants, 689-703

González-Olvera R.C.I. Urquiza-Castro, G.E. Negrón-Silva, D. Angeles-Beltrán, L. Lomas-Romero, A. Gutiérrez-Carrillo, V.H. Lara, R. Santillan, J.A. Morales-Serna. (2016). Cu-Al mixed oxide catalysts for the azide-alkyne 1,3-cycloaddition in ethanol-water, *RSC Advances*, 6, 63660-63666

Greenwood P.D., E. Grenet, J. Waser (2019). Palladium-Catalyzed Carbo-Oxygenation of Propargylic Amines using in Situ Tether Formation. *Chemistry-A European Journal*, 25(12), 3010-3013

Huisgen R. (1963). Centenary Lecture - 1,3-Dipolar Cycloadditions. Proceedings of the Chemical Society of London. Huisgen, R. *Angew. Chem. Int*, 2, 633.

Mohamed Ramadan El Sayed Aly, Hosam Ali Saad., Shams Hashim Abdel-Hafez. (2015). Synthesis, antimicrobial and cytotoxicity evaluation of new cholesterol congeners. *Beilstein J. Org. Chem.*, vol. 11, 1922-1932,

Seldon P., R. Smit F.J. Aucamp J. Jordaan A. Warner D.F., N'Da, D.D. (2019). Design, synthesis and antimycobacterial activity of novel ciprofloxacin derivatives. *Chemical biology & drug design*. 1-19

Soto-Castro D., R. C. Lara-Contreras, M. S. Pina-Canseco, R. Santillán, M. T. Hernández-Huerta, G. E. Negrón-Silva, E. Pérez-Campos S. Rincón. (2017). Solvent-free synthesis of 6 $\beta$ -phenylamine-cholestan-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -diol and (6 $\beta$ ,25R)-phenylamine-spirostan-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -diol as potential antiproliferative agents. *Steroids*. 126, 92-100

Tornøe C.W., Christensen C., Meldal M.J. (2002). Peptidotriazoles on Solid Phase: [1,2,3]-Triazoles by Regiospecific Copper(I)-Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloadditions of Terminal Alkynes to Azides, *Org. Chem.*, 41, 2596,