



**UNIVERSIDAD MICHUACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO**



FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE UN NUEVO
DERIVADO COLESTÁNICO A PARTIR DE HECOGENINA**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTA:

PABLO ANTONIO REYNA HUANTE

ASESOR:

D.C. YLIANA LÓPEZ CASTRO

MORELIA, MICHUACÁN.

NOVIEMBRE, 2011



DEDICATORIA

*Con todo mi amor y cariño para
mi hija Danna Paulett, quien
ha sido y será la esencia de mi
existir e impulsora de mi seguir
con gran impetu.*

*"Considero más valiente al que conquista
sus deseos que al que conquista a sus enemigos,
ya que la victoria más dura es la victoria sobre uno mismo."*

Aristóteles



AGRADECIMIENTOS

Antes que todo agradezco a dios por darme vida y salud para poder realizar parte de mis objetivos, así como mantener a mis seres queridos a mi lado.

Estoy profundamente agradecido con todas aquellas personas que hicieron posible la realización de esta tesis, en especial a mis padres Pahuacume Oracio Reyna Guido y Veronica Huante Carrillo por todo su apoyo incondicional, así como a mis hermanos Horacio Alejandro y Osvaldo Reyna Huante

A mis padres correspondo con un sincero y profundo agradecimiento que más que por su apoyo, por sus consejos acertados que siempre me han sabido dar cuando más los necesito.

A mis hermanos por darme esos gestos de amor y cariño además de estar presentes cuando los he necesitado.

Agradezco de manera muy especial a Sarahi mi esposa, amiga y madre de mi hija, por todo su amor y cariño que me ha sabido brindar sin importar que tan difíciles fueran los tiempos, pero aún más por toda su comprensión y paciencia que supo mantener durante todo este tiempo.

A todos mis amigos y compañeros de trabajo que no menciono por que la lista sería interminable, pero si puedo mencionar que estoy agradecido con todos y cada uno de ellos por todas sus observaciones, tips y consejos que supieron darme dentro y fuera de esas largas jornadas de estudio en el laboratorio.

A la Dra. Rosa Santillán por haberme permitido trabajar en su laboratorio y facilitar la obtención de análisis espectroscópicos necesarios para la elaboración de esta tesis.

Al Maestro en Química Juan Pablo García Merinos por realizar los experimentos de RMN que se requirieron durante el desarrollo de esta investigación, pero más agradecido estoy por haberme brindado su amistad y confianza.

A la Dra. Rosa E. Norma del Río Torres por haberme dado la oportunidad de ingresar al Instituto de Investigaciones Químico Biológicas y de esta manera poder desarrollar el gusto e interés por la investigación, así como también esas lecciones de humildad que siempre mostró ante uno.

A los sinodales D.C. Juan Diego Hernández Hernández, D.C. Rosa E. Norma del Río Torres, D.C. Mario Armando Gómez Hurtado y D.C. Judit Araceli Aviña Verduzco, M.Q. Juan Pablo García Merinos, por su revisión y comentarios aportados a esta tesis.

A la Dra. Yliana López Castro que más allá de haberme asesorado en la elaboración de esta tesis, agradezco el tiempo y paciencia que tuvo ante todo momento, por todas las observaciones que con mucha ética, dedicación y profesionalismo realizó, pero lo más importante, para mí, fue esa persona que desarrolló dentro de mí, despertando el interés por la investigación y de alguna manera poder ver las ciencias químicas desde otro punto de vista. También agradezco el apoyo con la beca otorgada para la realización de esta tesis y ese contagio de motivación en aquellos días de tantas reacciones fallidas que fueron necesarias para poder realizar y terminar este proyecto de investigación.

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Química del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo en la ciudad de Morelia Mich, bajo la asesoría de la D.C. Yliana López Castro, como asesor interno el M. Q. Juan Pablo García Merinos y con apoyo financiero de los proyectos PROMEP PTC-278 y CIC-UMSNH (2010-2011).

Parte de este trabajo fue presentado en:

- El marco de las actividades académicas del tercer encuentro Nacional sobre Ciencia, Tecnología e Innovación en México durante la última década: UNA VISIÓN CRÍTICA AL FUTURO y del 6to. Congreso Estatal de Ciencia y Tecnología, celebrado durante los días 1 al 3 de Septiembre de 2010 en la ciudad de Morelia, Michoacán.
- Dentro del programa del XV Verano de la Investigación Científica y Tecnológica del Pacífico, celebrado durante los días 25 al 28 de Agosto de 2010 en Nuevo Vallarta, Nayarit.
- La 7ª. Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales “*Dr. Pedro Joseph-Nathan*” celebrada durante los días 18 al 20 de Mayo de 2011; en la ciudad de Morelia, Michoacán.

ÍNDICE

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS	iv
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	2
3. ANTECEDENTES	4
3.1 Sapogeninas y características estructurales.....	4
3.2 Aperturas ácidas del sistema espirocetálico (anillos E/F).....	7
3.3 Oxidaciones del sistema espirocetálico.....	10
3.4 Reordenamiento de 23-cetosapogeninas.....	12
4. OBJETIVOS	14
4.1 Objetivo general.....	14
4.2 Objetivos específicos.....	14
5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	15
6. PARTE EXPERIMENTAL	42
6.1 Instrumentación y equipo.....	42
6.2 Oxidación de Acetato de Hecogenina (1) con NaNO ₂ /BF ₃ ·OEt ₂	44
6.3 Preparación de (23 <i>R</i> , 25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-16β,23:23,26-diepoxi-5α-colestan-12,22-diona (3).....	46
6.4 Preparación del compuesto (23 <i>R</i> ,25 <i>R</i>)-3β,23α,26-triacetoxi-16β,23-ciclo-5α-colest-17-en-12,22-diona (4).....	48
6.5 Preparación del triol 5	51
7. CONCLUSIONES	53
8. BIBLIOGRAFÍA	54

9. GLOSARIO DE TÉRMINOS.....	59
9.1 Acrónimos empleados.....	60

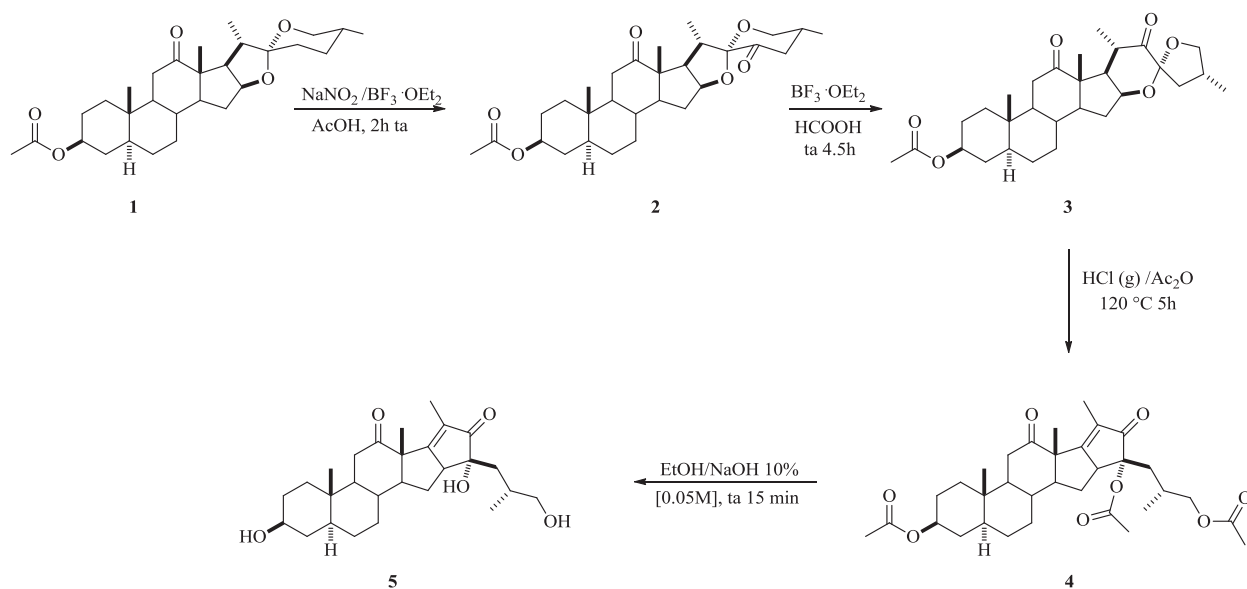
ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

Å	Angström
Ac ₂ O	Anhídrido acético
AcOEt	Acetato de etilo
AcOH	Ácido acético
<i>ax</i>	Axial
BSA	Anhídrido bencenselénico
CCF	Cromatografía en capa fina
DCM	Diclorometano
°C	Grados Celsius
δ	Desplazamiento químico
d	Doble
dd	Doble de dobles
ddd	Doble de doble de dobles
ddc	Doble de doble de cuádruples
DIB	Yodoxibenceno
<i>ec</i>	Ecuatorial
EM	Espectrometría de masas
EtOH	Etanol
f	Fuerte
(g)	Estado de agregación gaseoso
g	Gramos
h	Horas
HRME	Espectrometría de masas alta resolución

Hz	Hertz
IR	Infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
°K	Grados Kelvin
m	Múltiple
M	Molar
<i>m/z</i>	Relación masa carga
min	Minutos
mL	Mililitros
nm	Nanómetros
pf	Punto de fusión
ppm	Partes por millón
R _f	Factor de retención
RMN	Resonancia magnética nuclear
s	Simple
ta	Temperatura ambiente
THF	Tetrahidrofurano
TMS	Tetrametilsilano
UV	Ultravioleta
ν	Frecuencia

1. RESUMEN

El presente trabajo describe la preparación de un nuevo derivado colestánico (Esquema 1) con anillación tipo ciclopentenona a partir de Acetato de Hecogenina (**1**). El producto se obtuvo mediante la apertura del compuesto **3** con HCl (g) y anhídrido acético. La estereoquímica del nuevo compuesto (23*R*,25*R*)-3β,23α,26-triol-16β,23-ciclo-5α-colest-17-en-12,22-diona (**5**) se estableció mediante el análisis por difracción de rayos-X.



Esquema 1. Ruta sintética para la obtención del compuesto (**5**).

2. INTRODUCCIÓN

Los esteroides son todos aquellos compuestos que contienen el núcleo ciclopentanoperhidrofenantreno (Figura 1). Incluyen una gran variedad de compuestos de origen natural, por ejemplo, los ácidos biliares, las hormonas sexuales, las hormonas adrenocorticoideas, los glicósidos cardiotónicos, las sapogeninas, algunos alcaloides, los esteroides y otros grupos de menor importancia.^{1, 2}

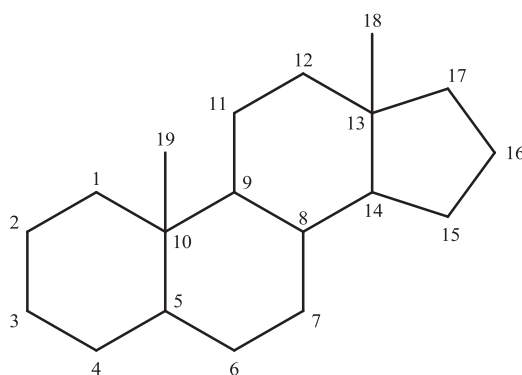


Figura 1. Núcleo esteroidal.

Las sapogeninas esteroidales son compuestos que se encuentran ampliamente distribuidos en plantas con propiedades medicinales, por esta razón hay un gran interés en la síntesis de este tipo de compuestos, así como en su caracterización estructural y estudio de sus propiedades biológicas. Las sapogeninas se encuentran en forma de glicósidos denominados saponinas que están constituidas por una o varias unidades de diferentes sacáridos condensados con la unidad esteroidal y que al ser sometidas a hidrólisis ácida producen la sapogenina y el glicósido en sus formas libres. Adicionalmente una gran cantidad de drogas esteroidales distribuidas en su forma comercial se preparan a partir de las sapogeninas espirostánicas, debido a ello la reactividad química de este tipo de compuestos resulta de gran interés.³

De lo anterior, se deriva la gran importancia que presentan las sapogeninas con diferentes grupos funcionales en el esqueleto esteroidal, en especial la presencia de grupos oxigenados en diferentes posiciones del núcleo esteroidal y con cierta estereoquímica que confieren a la molécula una actividad biológica definida (Figura 2). En base a esto, parte de este trabajo consiste en encontrar una nueva metodología para la preparación de compuestos esteroidales de tipo colestánicos con nuevas modificaciones en el esqueleto esteroidal.

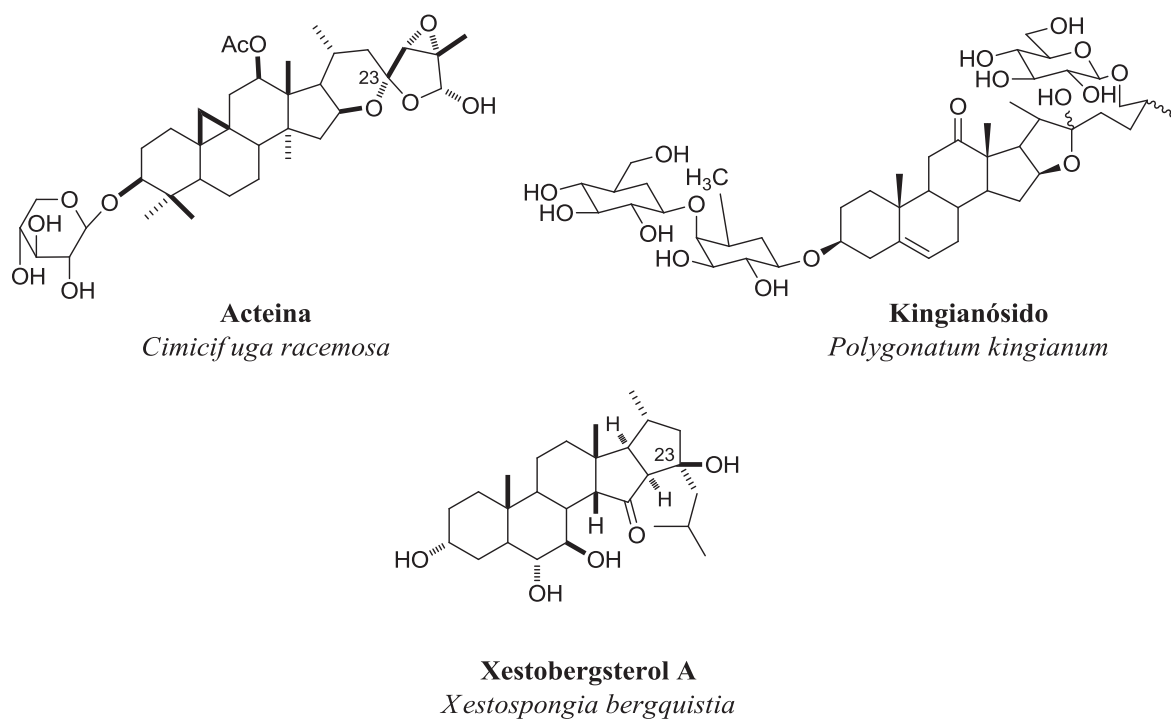


Figura 2. Ejemplos de esteroides de origen natural.

3. ANTECEDENTES

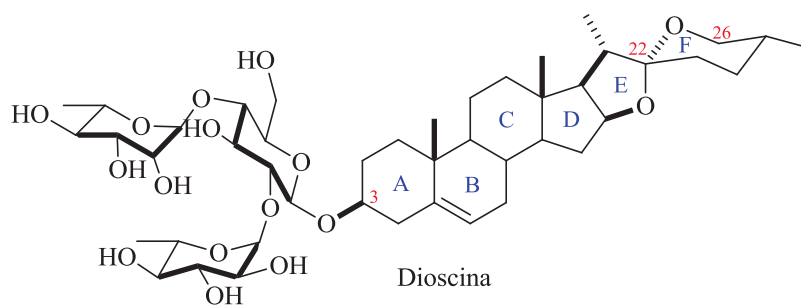
3.1 Sapogeninas y características estructurales

Las saponinas esteroidales se clasifican en tres grupos principales: espirostánicas, furostánicas y colestánicas,³ en la Figura 3 se muestra este tipo de clasificación. El primer grupo es uno de los más abundantes y son denominadas de esta forma por contener un espirocetal sobre la cadena lateral de la aglicona, el azúcar se encuentra unido en el átomo de C-3, y representan una de las especies más estudiadas debido a su actividad biológica y a su importancia económica en la síntesis industrial de hormonas esteroidales. El segundo grupo lo constituyen los glicósidos *furostanoles* que contienen un segundo azúcar unido en C-26 y por lo tanto pueden ser clasificadas como bidesmosídicas. El tercer grupo está constituido por los glicósidos colestánicos, algunos de éstos de interés ya que presentan actividad citostática, además suelen contener el azúcar unido sobre el átomo de C-16.

La dioscina y la metil protodioscina son ejemplos de saponinas espirostánicas y furostánicas.^{4,5} La primera fue aislada por primera vez de plantas del género *Dioscorea* por Makino en 1904 y más recientemente de otros géneros como: *Agave americana*, *Polygonatum kingianum*, *Dioscorea parviflora*⁶ y otros 20 géneros más de plantas, en especial las utilizadas en medicina tradicional. La dioscina presenta un gran número de bioactividades como son antitumoral,⁷ antiviral,⁸ antifungicida,⁹ antiinflamatoria,¹⁰ entre otras, por lo que el estudio de la reactividad química de la aglicóna estereoidal diosgenina es de gran importancia. La metil protodioscina se aisló por primera vez en 1974 de *Dioscorea gracillima* y a menudo se encuentra junto con la dioscina.

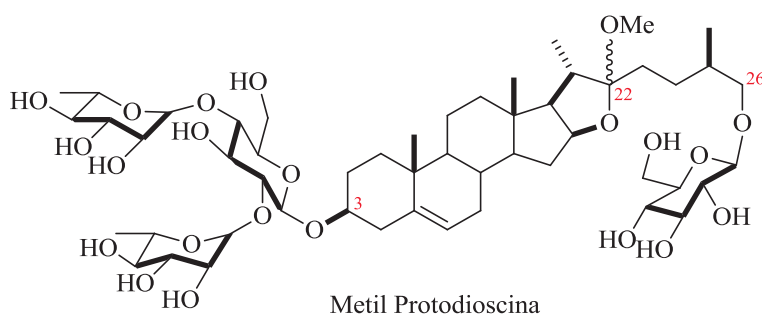
Por otra parte, Sashida¹¹ y colaboradores reportaron el aislamiento de una familia de glicósidos colestánicos con potente actividad citotóxica a partir de las plantas *Ornithogalum saundersiae*.

Espirostánica



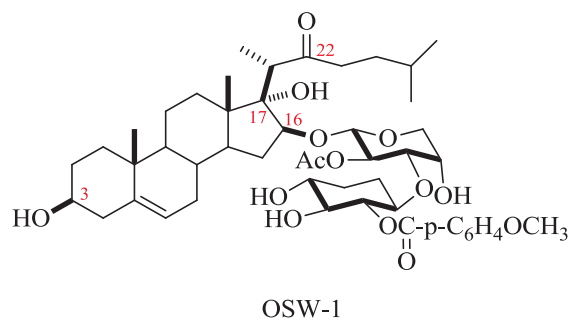
Dioscorea parviflora

Furostánica



Dioscorea gracillima

Colestánica



Ornithogalum saundersiae

Figura 3. Clasificación de las saponinas esteroidales.

Con relación a las características estructurales de las sapogeninas espiroestánicas, cabe mencionar que están constituidas por un esqueleto de 27 átomos de carbono y un sistema espirocetálico fusionado sobre los anillos E/F, por lo tanto, su reactividad química se ve favorecida hacia las aperturas ácidas y una gran variedad de funcionalizaciones sobre la cadena lateral, convirtiéndolas en materias primas accesibles para la síntesis de un número variado de compuestos esteroidales con importante actividad biológica, tales como, hormonas esteroidales,¹² cefalostatinas,¹³ brasinoesteroides,¹⁴ oxiesteroles, entre otros.¹⁵

Otra característica estructural de las sapogeninas espiroestánicas, es que según el tipo de configuración que presenten en los átomos de C-20 y C-22 se denominan, normal o *iso*, las más abundantes son las de tipo normal, mientras que las de origen menos común en su forma natural son las de tipo *iso*, éstas últimas pueden ser preparadas por epimerización con ácidos fuertes a elevadas temperaturas. Marker y Rohrmann¹⁶ sugirieron que esta isomerización consiste en un cambio, ya sea de la configuración en C-20 o C-22 que involucra la apertura y cierre del anillo F pasando por un intermediario de tipo pseudosapogenina (**A**) (Figura 4). Actualmente la clasificación aceptada como normal está referida a las sapogeninas que presentan configuración 20*S* y el enlace C22-O26 orientado en α (**B**). Por otra parte, las *iso* pueden presentar configuración 20*R* y/o el enlace C22-O26 orientado en β (**C**) aunque a la fecha no existen reportes de ejemplos de sapogeninas naturales o artificiales que presenten configuración 20*R* y 22*S* en una misma molécula.

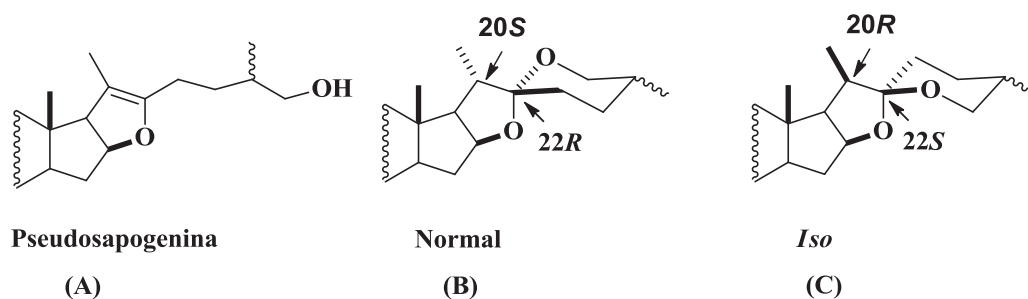
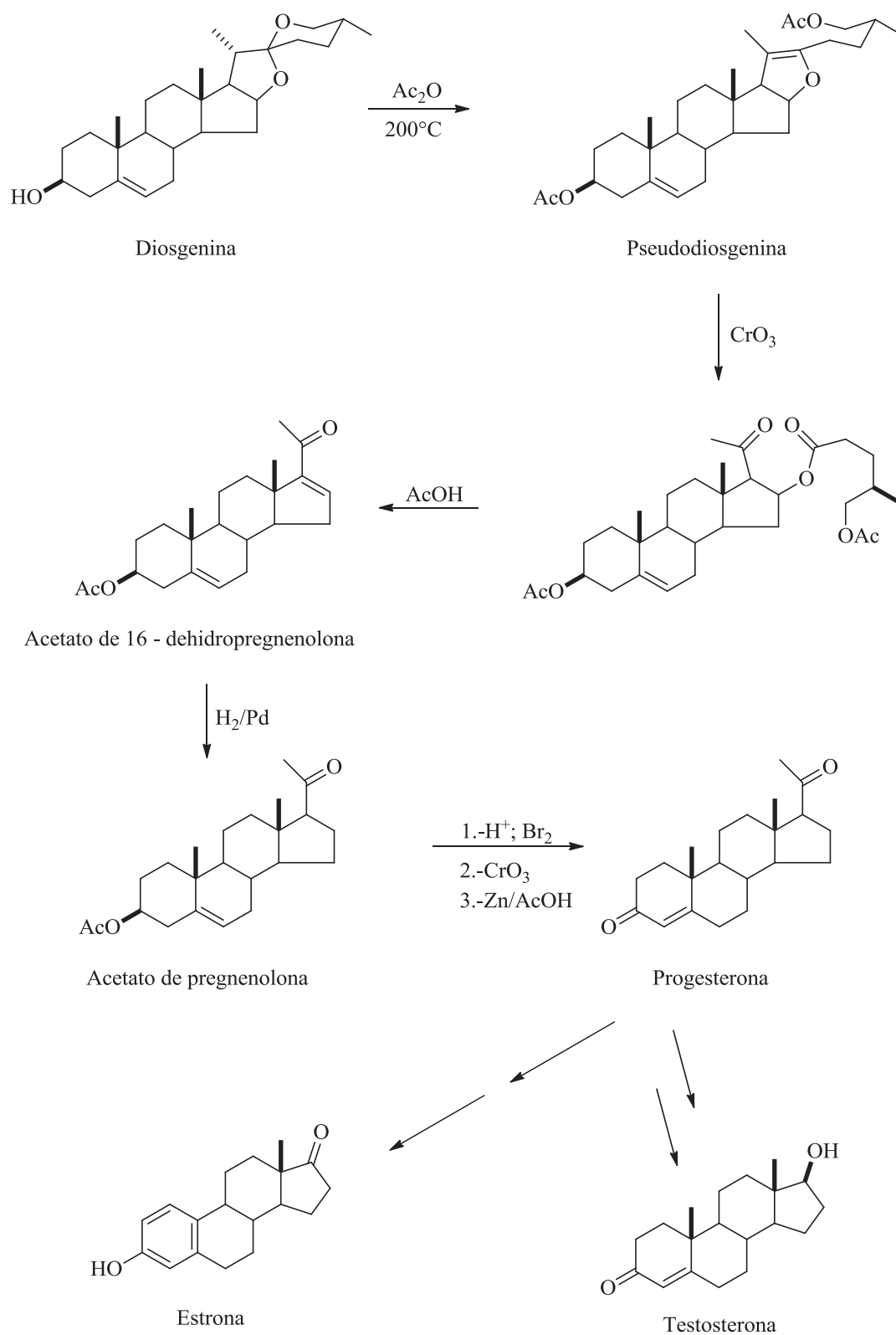


Figura 4. Sapogeninas de tipo pseudo, normal e iso.

Parte de lo mencionado ha dado origen a que en los últimos años se haya realizado una gran variedad de estudios acerca de la reactividad química de la cadena lateral de las sapogeninas espirostánicas que van desde aperturas ácidas y diferentes funcionalizaciones tales como oxidaciones, reducciones, solvólisis, isomerizaciones, etc.

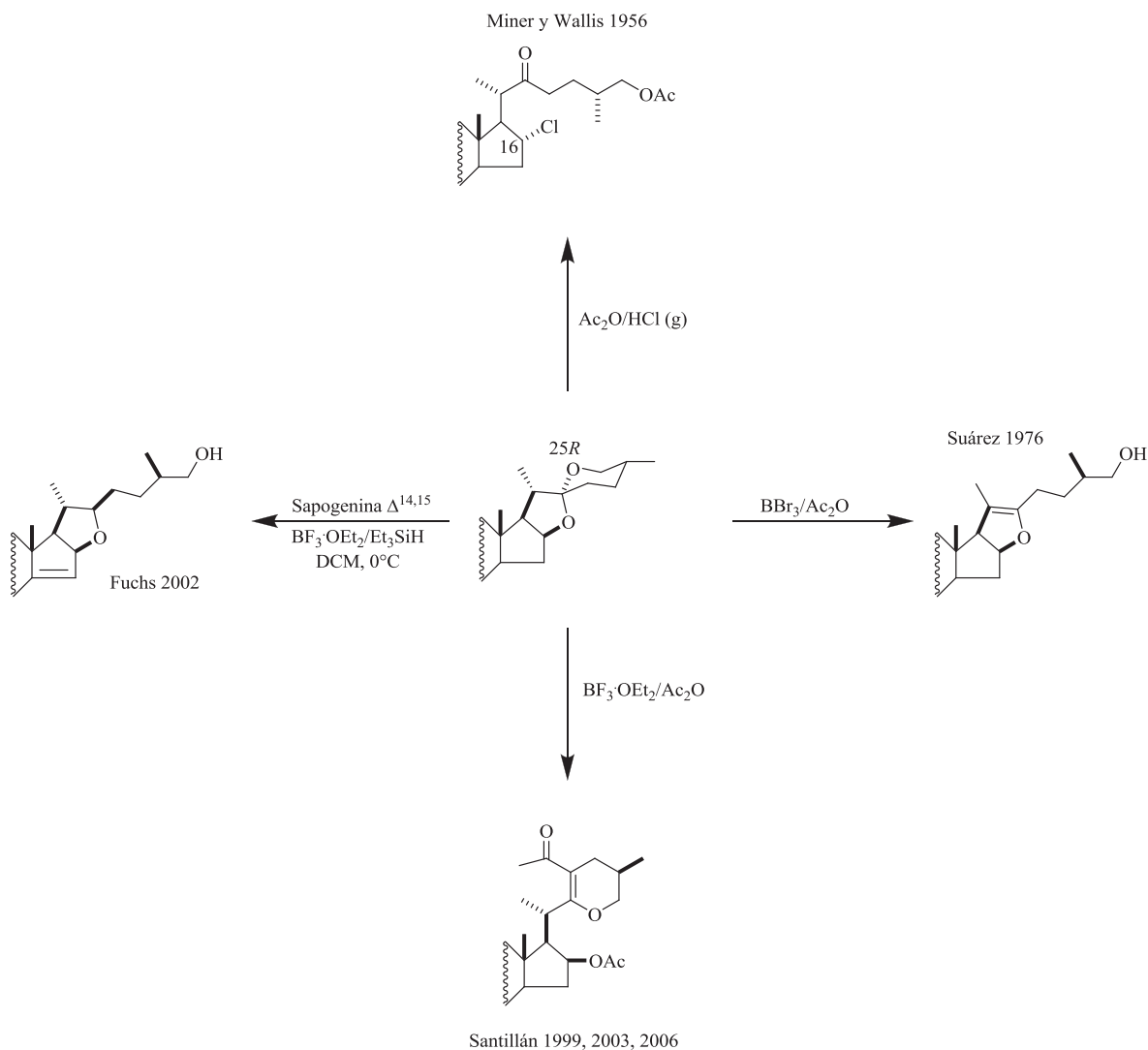
3.2 Aperturas ácidas del sistema espirocetálico (anillos E/F)

El estudio sobre la reactividad química de las sapogeninas espirostánicas comenzó en los años 40 con Marker,¹⁶ quien en 1943 reportó una ruta sintética que lleva su nombre “Degradación de Marker” (Esquema 2) la cual consiste en la degradación de la cadena lateral de la diosgenina con Ac_2O a 200°C , misma que conduce a la pseudodiosgenina que al ser oxidada con CrO_3 seguida por tratamiento ácido y una reducción permite obtener la pregnenolona, precursor importante en la preparación de hormonas esteroideas como la progesterona.¹⁷ A la fecha esta metodología se realiza a escala industrial.



Esquema 2. Degradación de Marker.

Después de la degradación de Marker las sapogeninas tomaron un gran valor ya que a partir de este descubrimiento se han explorado un gran número de reacciones sobre la cadena lateral de estas sapogeninas. Por otra parte se conoce que el tratamiento de las sapogeninas con distintos ácidos de Lewis o de Brönsted-Lowry dan lugar a la formación de diferentes esqueletos esteroidales, por ejemplo, la preparación de colestanos con un átomo de cloro en C-16 se ha reportado mediante tratamiento de las sapogeninas con Ac_2O y HCl gas.¹⁸ Suárez encontró que la apertura de las sapogeninas de la serie 25*R* bajo catálisis ácida con BBr_3 y Ac_2O dan como único producto pseudosapogeninas,¹⁹ y más recientemente Santillán y colaboradores reportaron que el tratamiento de estas sapogeninas con $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ en Ac_2O producen exclusivamente derivados de tipo epoxicolestanos,^{20a,b} metodología que posteriormente fue aplicada por el mismo grupo en la síntesis de análogos de brasinoesteroides con potencial actividad biológica.^{20c} En 2002 Fuchs reportó la preparación de un derivado furostánico como etapa principal en la síntesis de análogos de cefalostatinas²¹ (Esquema 3).

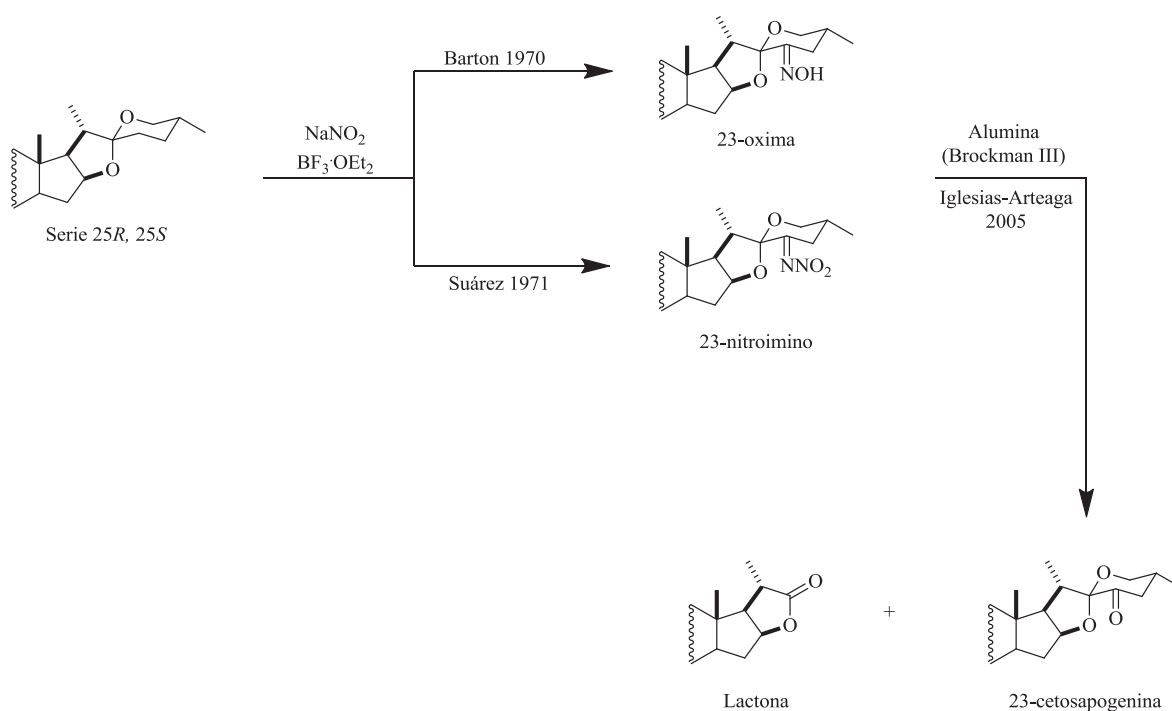


Esquema 3. Aperturas ácidas del sistema espirocetalico.

3.3 Oxidaciones del sistema espirocetalico

La primera oxidación para formar las 23-cetosapogeninas se llevó a cabo en 1938 por Fieser y Jacobsen, ellos reportaron que el tratamiento de las sapogeninas espirostánicas con ácido crómico en ácido acético a 60°C conduce a las 23-cetosapogeninas, sin embargo, la reacción procede en bajos rendimientos. En 1970 Barton²² propuso una nueva oxidación la cual consistió en el tratamiento de la 9(11)-dehidrohecogenina con NaNO₂/BF₃·OEt₂ en

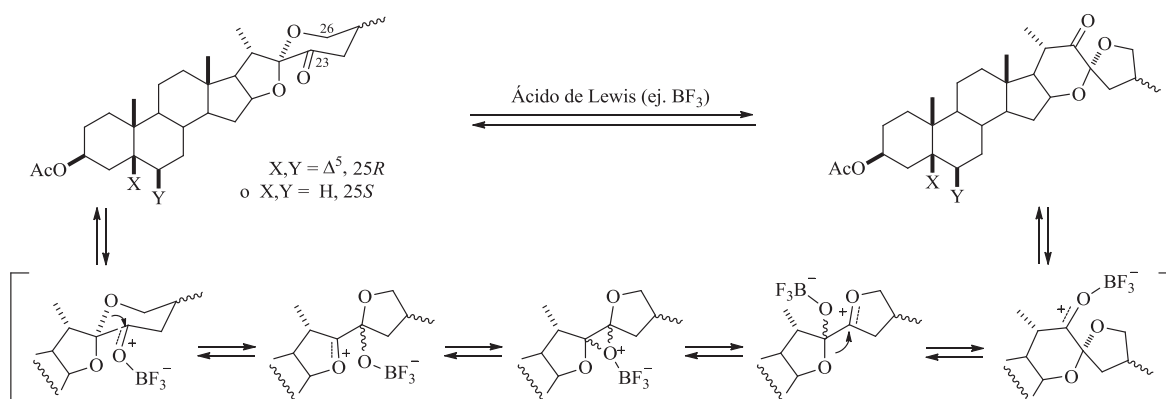
ácido acético glacial (Esquema 3). Con esta metodología las 23-cetosapogeninas serie 25R fueron obtenidas en un mejor rendimiento pero acompañadas con pequeñas cantidades de un derivado de tipo lactona bisnorcolánica. En este reporte se sugiere que con estas condiciones de reacción se produce un intermediario 23-oxima, el cual continúa reaccionando con un exceso de ácido nitroso para formar la 23-cetosapogenina (Esquema 3). Dos años más tarde Suárez²³ y colaboradores demostraron que la oxidación con $\text{NaNO}_2/\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ en ácido acético glacial produce un intermediario 23-nitroimino para el cual en 2005 se demostró que se hidroliza a la 23-cetona mediante el tratamiento con alúmina neutra grado III (Esquema 4).²⁴ A la fecha la oxidación de Barton ha tenido gran utilidad en la síntesis de otros análogos esteroidales, y ha dado lugar a la caracterización de nuevos subproductos con novedosa estructura esteroideal.²⁵



Esquema 4. Preparación de 23-cetosapogeninas.

3.4 Reordenamiento de 23-cetosapogeninas

El reordenamiento de 23-cetosapogeninas a 22-ceto-23-espirocetales se reportó en 1992 por Suárez y colaboradores mediante el tratamiento con TiCl_4 en CH_2Cl_2 ,²⁶ originando que en los últimos años se hayan reportado algunas variaciones en las condiciones de reacción para la preparación de estos compuestos, muchas de ellas utilizando $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ como catalizador en diferentes disolventes (THF, ácido fórmico, CH_2Cl_2)²⁷⁻³¹ o en disolventes no polares como benceno,³² e incluso utilizando diferentes reactivos como yodóxibenceno (DIB) o anhídrido bencenselénico BSA, en presencia de un ácido de Lewis.^{28,33} Encontrando como característica principal que en todos los casos estas reacciones son promovidas por ácidos de Lewis y el producto obtenido es el 22-ceto-23-espirocetal con configuración 23*R*. En 2004 Morzycki³⁴ propuso un mecanismo para explicar el reordenamiento de las 23-cetosapogeninas a 22-ceto-23-espirocetales catalizado con $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ vía intermediarios iónicos. El primer paso consiste en la migración del oxígeno 26 al ión C-23 tipo oxocarbonio que se reordena al ión más estable sobre C-22 adoptando una estructura 23,26-epoxifurostano (Esquema 5). Este mecanismo fue confirmado mediante la transformación catalizada con TiCl_4 del compuesto 22,23-dihidroxi-23,26-epoxifurostano al correspondiente 22-ceto-23-espirocetal.^{25a}



Esquema 5. Reordenamiento de 23-cetoespirostanos a 22-ceto-23-espirocetales.

Considerando la gran variedad de actividades biológicas de los 22-ceto-23-espirocetales y la reactividad que presentan frente a condiciones ácidas, en nuestro grupo de trabajo estamos interesados en estudiar la regioselectividad que presentan en condiciones ácidas las sapogeninas de la serie 25*R* y 25*S*. En el presente trabajo reportamos la preparación de un derivado colestánico conteniendo una nueva ciclopentenona en el anillo E de la cadena lateral, mediante la apertura regioselectiva de un 22-ceto-23-espirocetal (**3**) de la serie 25*R*.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Estudiar la regioselectividad que presenta el compuesto (23*R*,25*R*)-3 β -acetoxi-16 β ,23:23,26-diepoxi-5 α -colestano-12,22-diona (**3**) frente a las aperturas ácidas.

4.2 Objetivos específicos.

Preparar el compuesto **3** a partir de Acetato de Hecogenina (**1**).

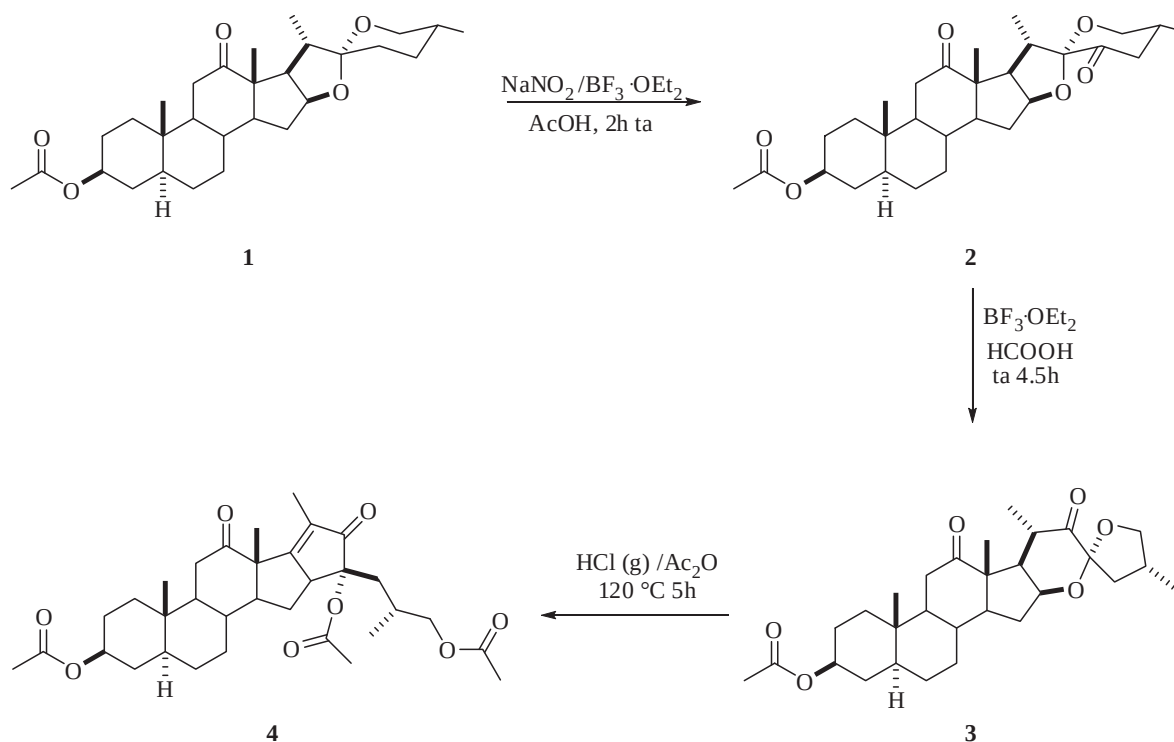
Caracterizar los compuestos por técnicas de resonancia magnética nuclear (RMN), espectroscopía de infrarrojo (IR), espectrometría de masas (EM) y en caso de obtener cristales adecuados, realizar estudios por difracción de rayos-X.

Proponer los mecanismos y analizar la estereoquímica de los nuevos productos obtenidos.

5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En nuestro grupo de trabajo hemos descrito el uso de 23-cetosapogeninas como una alternativa sintética para la preparación de nuevos compuestos esteroideos²⁵ debido a ello estamos interesados en encontrar nuevos derivados colestánicos con grupos carbonilos en C-22 y C-23 a partir de 23-cetosapogeninas.

De lo anterior, parte de este proyecto consistió en llevar a cabo un estudio sobre la regioselectividad que presenta el compuesto **3** de la serie (25*R*) frente a las aperturas en condiciones ácidas, para ello como primera parte el Acetato de Hecogenina (**1**) se trató con NaNO₂ y BF₃·OEt₂ en ácido acético glacial durante 2h (Esquema 6), terminada la reacción se realizó la extracción con diclorometano, enseguida el crudo se dejó reposar durante una noche en una columna empacada con Alúmina neutra Brockman III, posteriormente se realizó la purificación utilizando Hexano/AcOEt como fase móvil en un orden ascendente de polaridad, para obtener el derivado 23-cetona **2** en un rendimiento del 71 %.



Esquema 6. Ruta sintética para la obtención del compuesto 4.

La obtención del compuesto 2 previamente descrito³⁵ se confirmó mediante el análisis por RMN de ^1H y ^{13}C . De tal forma que en el espectro de ^1H (Figura 5) se observa una señal múltiple en 4.67 ppm correspondiente al H-3 base de oxígeno, así como otra señal múltiple en 4.54 ppm asignada para H-16 debido a su acoplamiento con los hidrógenos diastereotópicos de C-15 y con H-17, además en 3.76 ppm y 3.61 ppm se observan dos señales, una doble de dobles con $J_{gem} = J_{26ax-25ax} = 11.2$ Hz y otra doble de dobles con $J_{gem} = 11.2$ Hz y $J_{26ec-25ax} = 3.8$ Hz que corresponden a los hidrógenos diastereotópicos H-26 axial y H-26 ecuatorial respectivamente. En 2.02 ppm, 1.05 ppm y 0.92 ppm se observan señales simples que integran para tres hidrógenos cada una y corresponden al metilo de acetilo y metilos 18 y 19 respectivamente. Además se observan las señales de los metilos secundarios 21 y 27 en 1.02 ppm y 0.94 ppm.

En el espectro de RMN de ^{13}C (Figura 6) se observan señales en 213.0 ppm y 201.6 ppm, asignadas a los carbonos base de cetona de las posiciones 12 y 23 respectivamente, también se observa una señal en 170.6 ppm para el carbonilo del grupo acetilo sustituido en C-3. En 109.7 ppm se observa la señal característica del carbono hemiacetalico en C-22.

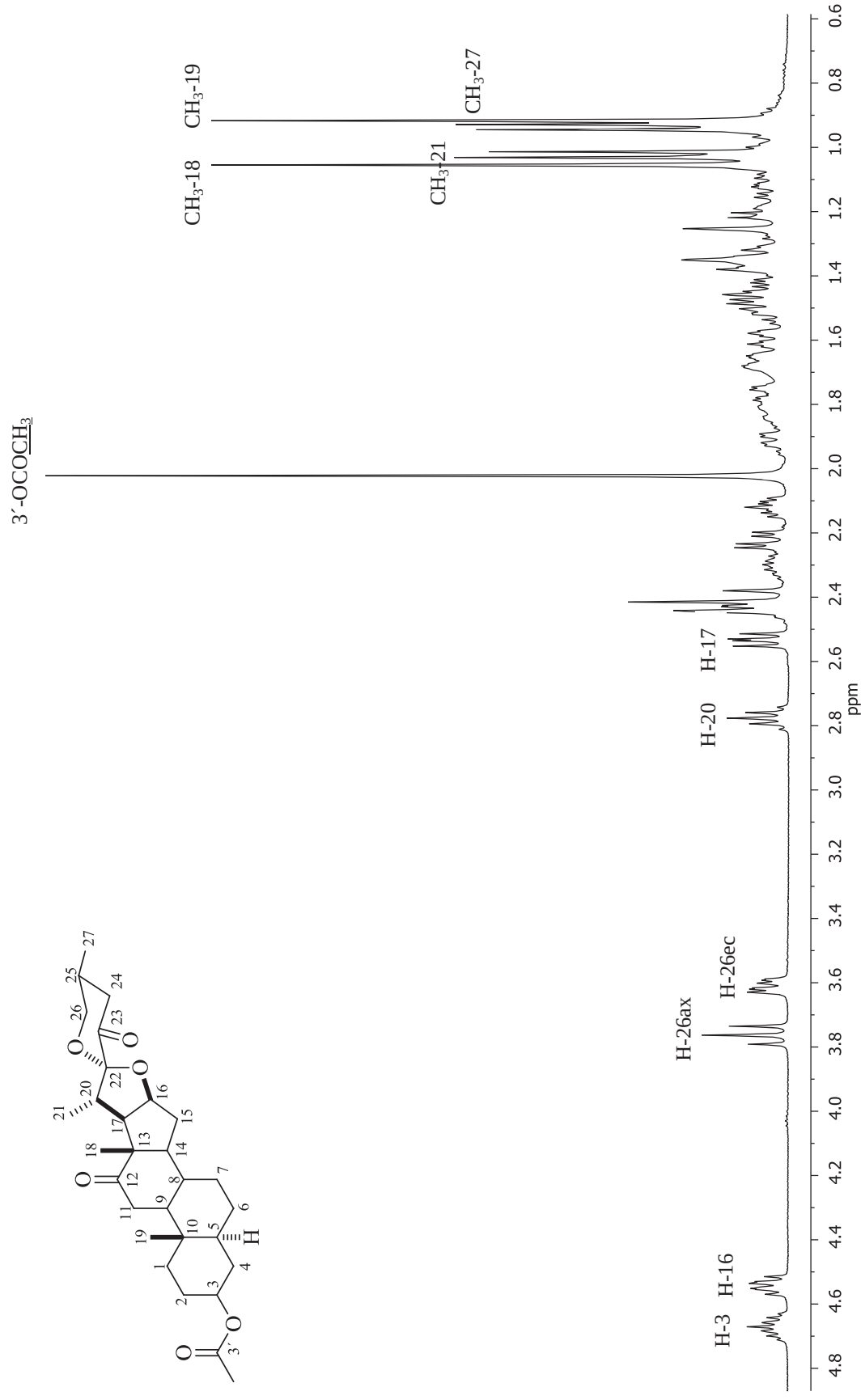


Figura 5. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) para el compuesto 2 en CDCl_3 .

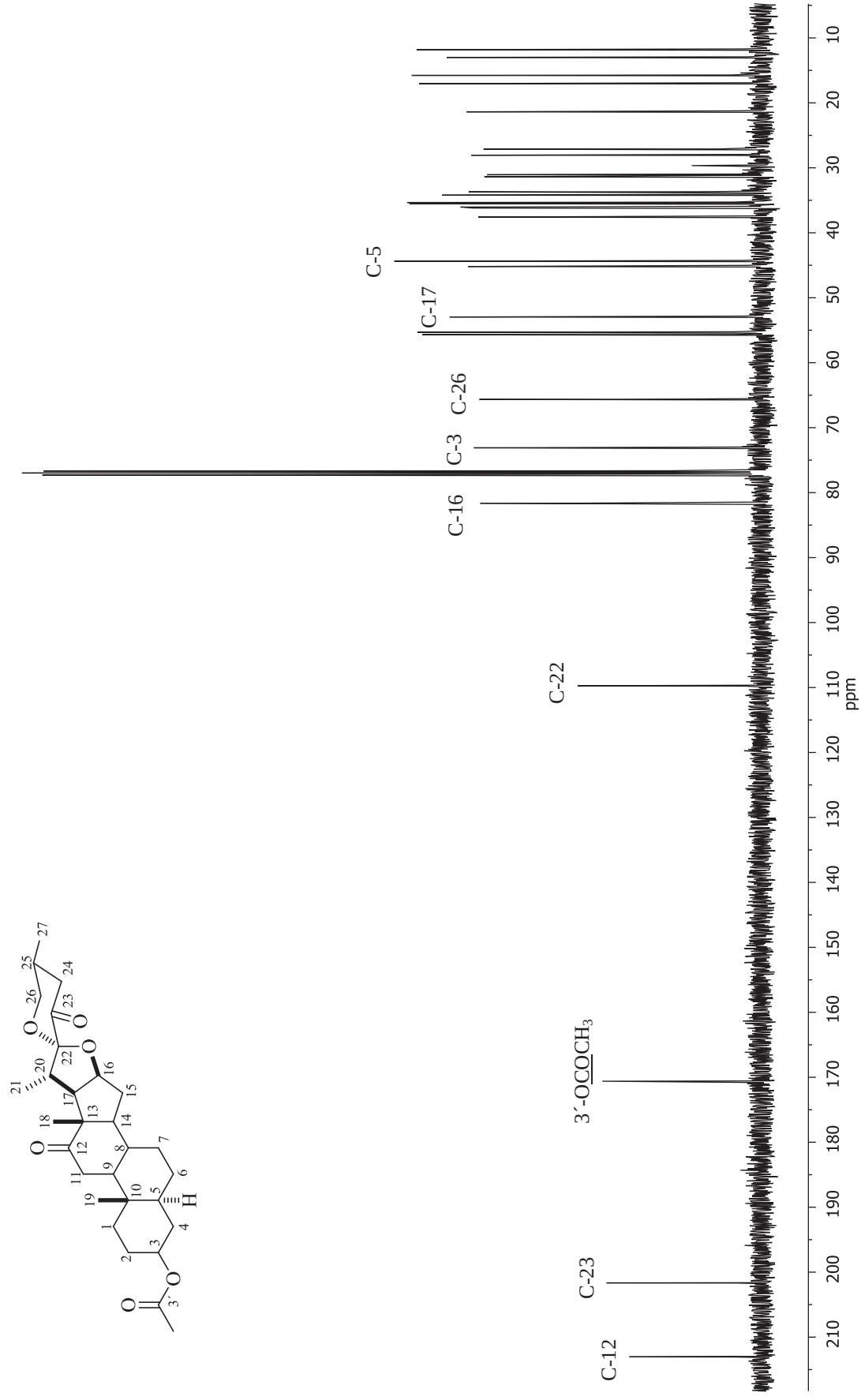


Figura 6. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) para el compuesto **2** en CDCl_3 .

Una vez preparado el compuesto **2**, se realizó la reacción de isomerización, la cual consistió en el tratamiento de la 23-cetona **2** con $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ y ácido fórmico durante 4.5 h (Esquema 6), terminado éste tiempo, la reacción se neutralizó con una solución saturada de NaHCO_3 y se extrajo con diclorometano, posteriormente el crudo se purificó mediante cromatografía en columna para obtener en una mezcla Hexano/ AcOEt (90:10) la materia prima **2** y el compuesto **3** en rendimientos del 30% y 23 % respectivamente.

La obtención del compuesto **3** previamente descrito³² se confirmó mediante el análisis por RMN de ^1H y ^{13}C .

En la RMN de ^1H del compuesto **3** se observan dos señales múltiples en 4.67 ppm y 4.38 ppm asignadas para los H-3 y H-16 base de oxígeno. La señal del H-26a se asignó en 4.14 ppm como una señal doble de dobles con $J_{\text{gem}} = J_{26a-25} = 7.6$ Hz, además el H-26b se asignó como otra señal doble de dobles con $J_{\text{gem}} = J_{26b-25} = 8.6$ Hz en 3.54 ppm. En 2.03 ppm, 1.26 ppm y 0.95 ppm se encuentran señales simples que integran para tres hidrógenos cada una y corresponden al metilo de acetilo sustituido en C-3 y a los metilos 18 y 19 respectivamente. Los metilos secundarios 21 y 27 se observan como dos señales dobles que integran para 3 hidrógenos cada una en 1.13 ppm y 1.06 ppm con $J = 6.6$ Hz y $J = 6.7$ Hz respectivamente (Figura 7).

En el espectro de ^{13}C del compuesto **3** se observan cambios significativos en la región de grupos carbonilos, por ejemplo, el carbonilo de la posición 12 se desplaza a menor frecuencia 212.4 ppm en comparación con el CO-12 en 213.0 ppm del compuesto **2**, además el CO-22 del compuesto **3**, se desplaza a mayor frecuencia 212.1 ppm comparado con el CO-23 de la materia prima **2** en 201.6 ppm. La señal del carbonilo de éster sustituido en C-3 se observa en 170.6 ppm, también se confirmó la presencia del carbono hemiacetalico en 107.6 ppm. Los carbonos base de oxígeno C-26, C-3 y C-16 se asignaron en 75.4 ppm, 73.1 ppm y 71.3 ppm respectivamente (Figura 8).

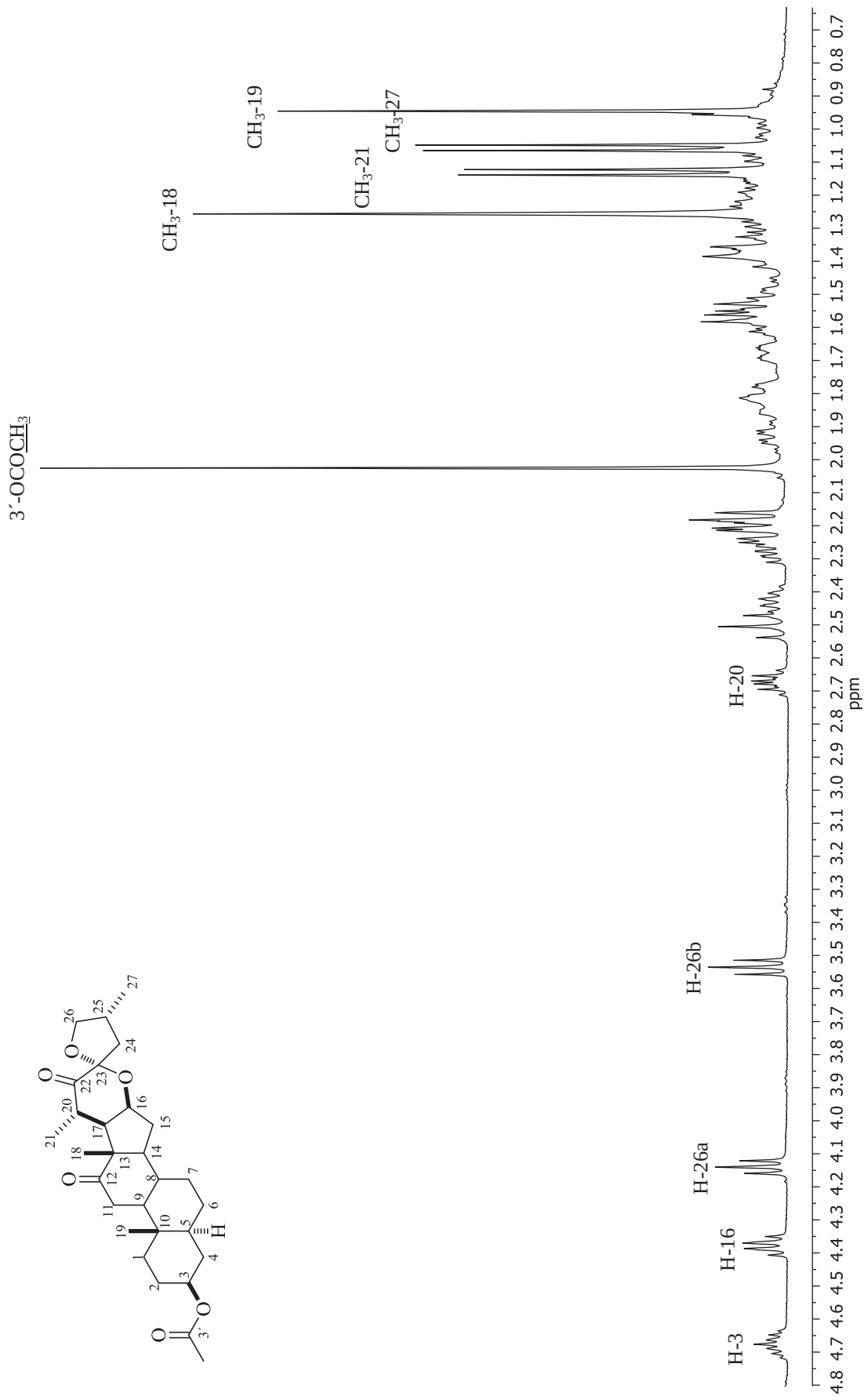


Figura 7. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) para el compuesto **3** en CDCl_3 .

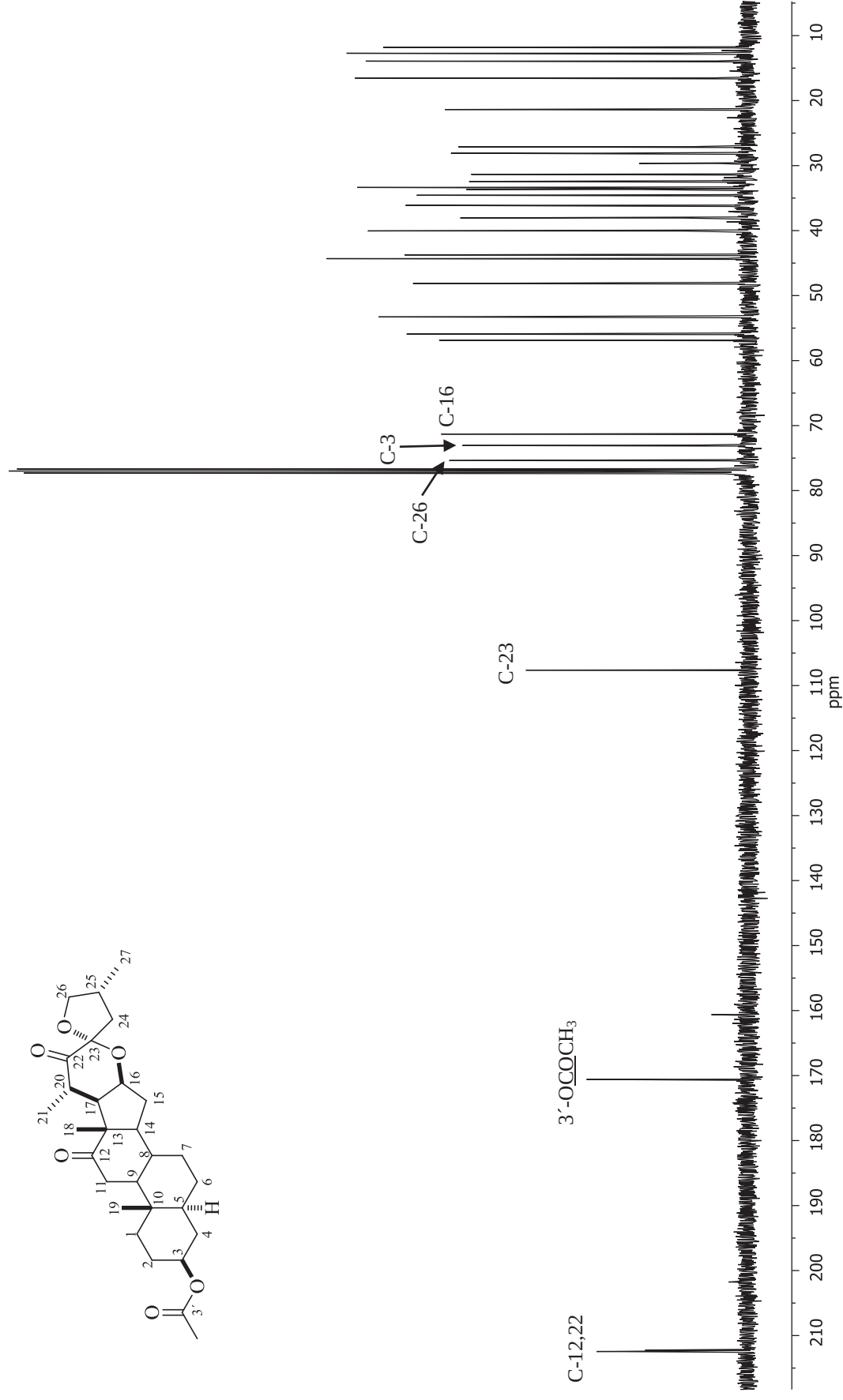
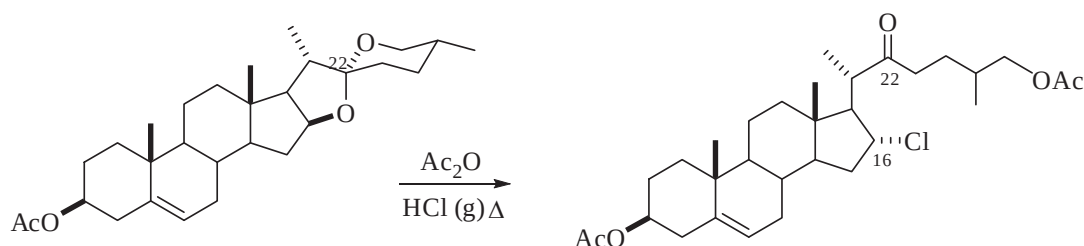


Figura 8. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) para el compuesto **3** en CDCl_3 .

En la literatura se encuentra descrito que las sapogeninas 22-espirocetálicas producen una amplia variedad de compuestos esteroidales bajo diferentes condiciones ácidas,^{18,20b,36-40} e incluso un mismo ácido lleva a diferentes productos,^{20b,37,40,41} además, que la presencia de los centros quirales en C-20, C-22 y C-25 con diferentes configuraciones, presentan una influencia muy marcada sobre la estereoquímica y regioselectividad de los productos obtenidos frente a diferentes ácidos de Lewis ó Brønsted-Lowry. Sin embargo, a la fecha la reactividad de los 23-espirocetales frente a las aperturas ácidas no ha sido explorada.

Partiendo del hecho que las sapogeninas 22-espirocetálicas en HCl (g) producen compuestos colestánicos con un grupo carbonilo en C-22 (Esquema 7), nos da pauta a explorar la reacción de apertura del compuesto **3**, en estas mismas condiciones.



Esquema 7. Apertura del anillo E y F con HCl (g) en anhídrido acético.

Como siguiente paso el compuesto **3** se hizo reaccionar con anhídrido acético y HCl (g) a 120°C durante 5 h, transcurrido el tiempo de reacción se realizó la extracción con diclorometano seguida de la neutralización con una solución saturada de NaHCO₃, posteriormente la purificación del crudo mediante cromatografía en columna utilizando Hexano/AcOEt como eluyente en orden ascendente de polaridad, permitió separar el nuevo compuesto **4** conteniendo una ciclopentenona en el anillo E (Esquema 6) en un rendimiento del 36%, a diferencia del compuesto esperado con grupos carbonilos en C-22 y C-23. En nuestro interés por obtener el compuesto **4**, en mejores rendimientos, el derivado **3** se hizo

reaccionar con $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ y anhídrido acético a temperatura ambiente, también se probaron estas condiciones a reflujo, obteniendo en ambos casos únicamente materia prima **3** recuperada.

La obtención del compuesto **4** bajo estas condiciones ácidas proviene de la apertura del anillo tetrahidrofuránico F. Esta regioselectividad puede ser atribuida a interacciones estéricas así como a la mayor basicidad del oxígeno tetrahidrofuránico con respecto al tetrahidropirano.³⁷ A diferencia de la apertura del anillo tetrahidrofurano en las sapogeninas 22-espirocetálicas que son gobernadas por interacciones estéricas.

El nuevo derivado colestánico **4** se obtuvo como un sólido amorfo amarillo claro, el espectro de IR mostró una banda de absorción característica de cetonas α , β -insaturadas en 1661 cm^{-1} . El espectro de masas mostró el ión molecular en 571 uma $[\text{M}^+ + 1]$ que corresponde a la estructura propuesta. En el espectro de RMN de ^1H (Figura 9) del compuesto se observa una señal múltiple en 4.67 ppm asignada para H-3. En 3.76 ppm y 3.72 ppm se observan las señales del sistema AB correspondiente al metileno en C-26 con una $J_{AB} = 10.9 \text{ Hz}$. Además se observa una señal doble de doble de cuádruples ancha en 3.57 ppm asignada para H-16 debido al acoplamiento con los hidrógenos diastereotópicos 15a, 15b y al acoplamiento homoalílico con CH_3 -21. La señal del hidrógeno 11 axial se asignó en 2.57 ppm como una doble de dobles con $J_{gem} = J_{11ax-9ax} = 13.8 \text{ Hz}$ y en 2.29 ppm se asignó una señal doble de dobles para H-11 ecuatorial con $J_{gem} = 13.8$, $J_{11ec-9ax} = 5.0$, Hz. La señal del metilo vinílico en posición 21 se observa desplazada a mayor frecuencia 2.01 ppm traslapada con el metilo de acetato en la posición 3. La presencia de una señal simple adicional en 2.01 ppm característica de metilo de acetato, y la nueva señal de un carbono cuaternario a mayor frecuencia 86.9 ppm permitió concluir la presencia de un grupo acetoxi en C-23 (Figura 10).

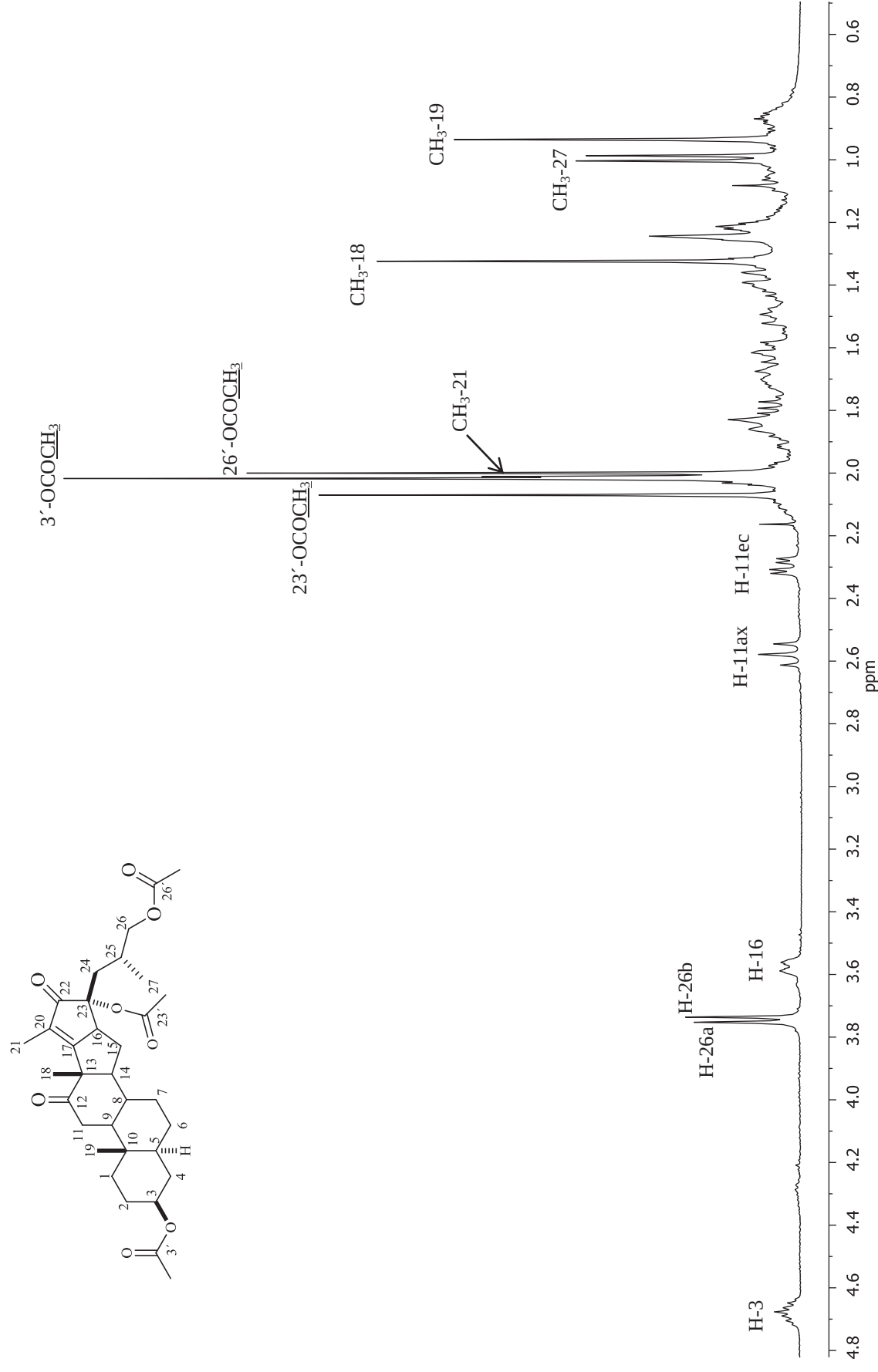


Figura 9. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) para el compuesto **4** en CDCl_3 .

En el espectro de RMN de ^{13}C se observaron señales en 208.8 ppm y 205.4 ppm, asignadas a los carbonos base de cetona de la posición 12 y 22 respectivamente, además en 171.1 ppm, y 170.6 ppm se asignaron los carbonilos de éster sustituidos en las posiciones 3, 23 y 26. En 170.2 ppm y 129.4 ppm se observan las señales de los carbonos olefínicos de la posición 17 y 20 respectivamente. También se observa en 86.9 ppm una señal asignada para C-23 base de oxígeno (Figura 10).

Para la asignación de este compuesto se realizaron los experimentos DEPT 90 y 135 de tal forma que se encontraron 7CH, 9CH₂, y 7 CH₃ además por diferencia con el espectro de RMN de ^{13}C , también fueron asignados 9 carbonos cuaternarios para dar un total de 32 señales debido a que los carbonilos base de acetilo en las posiciones 3' y 26' se encuentran traslapadas en 170.6 ppm (Figura 11).

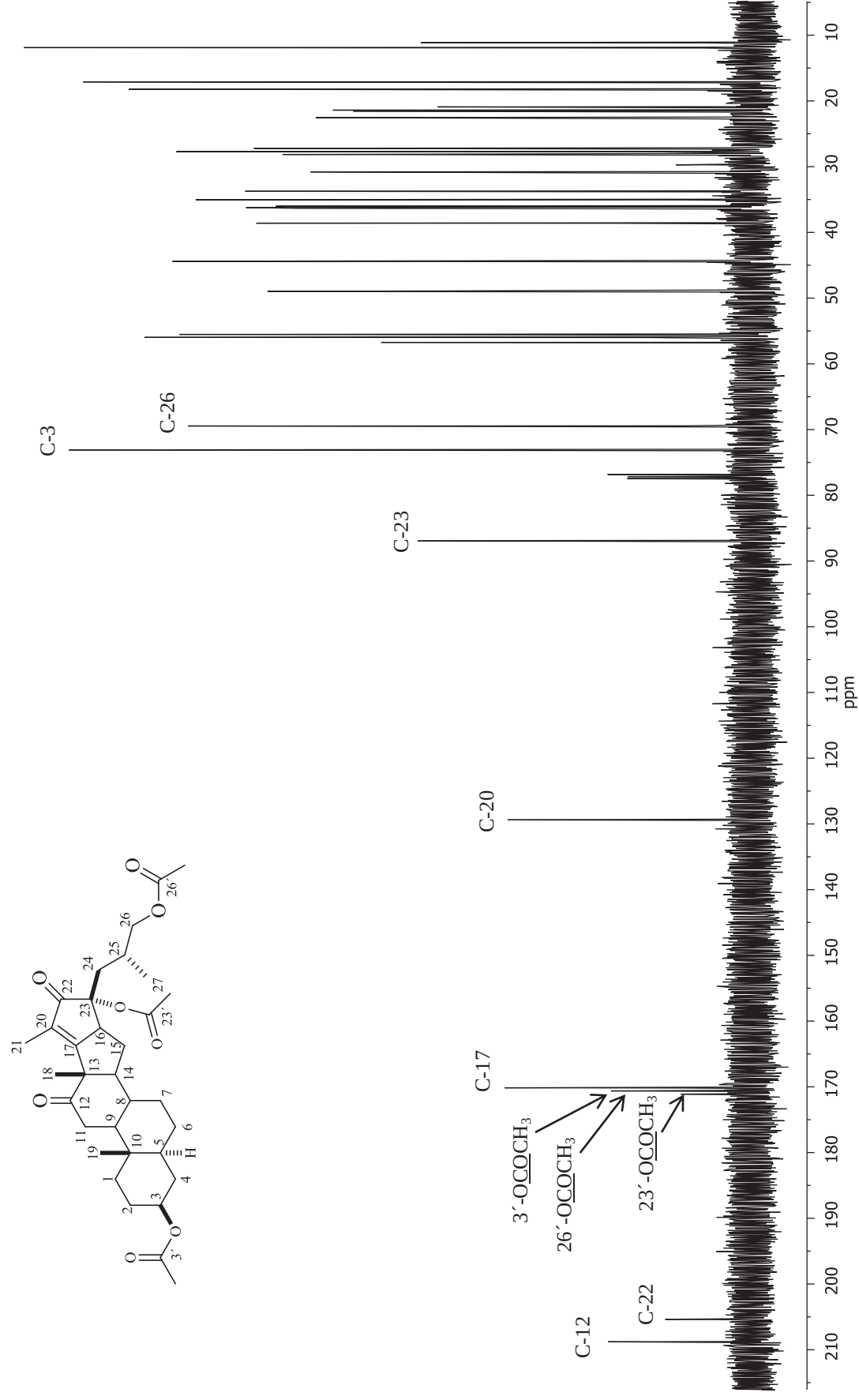


Figura 10. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) para el compuesto **4** en CDCl_3 .

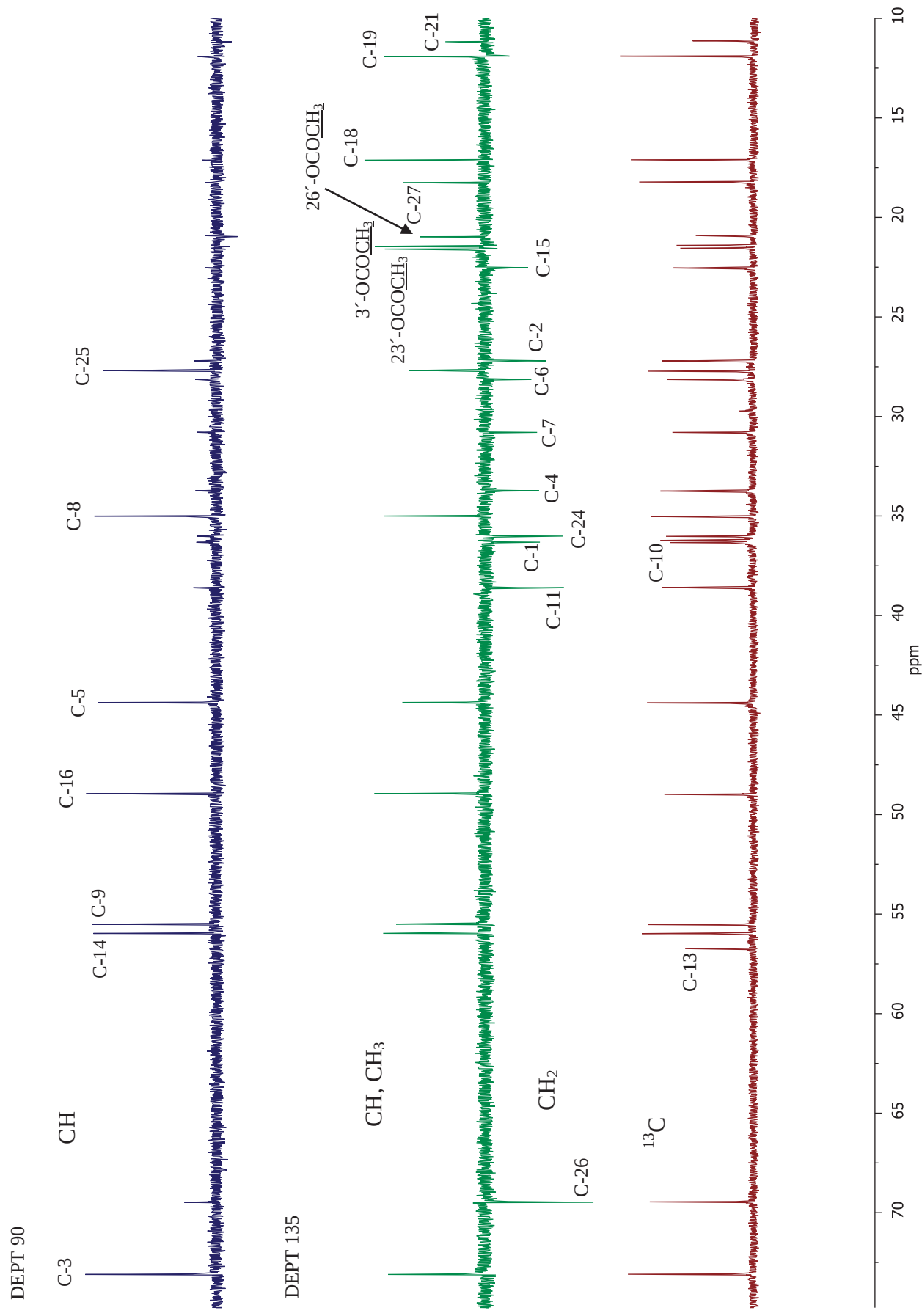


Figura 11. Espectro de RMN de ¹³C y DEPT para el compuesto **4**.

El experimento HETCOR (Figura 12) permitió realizar de manera más sencilla la asignación de algunos carbonos, de tal forma que el C-3 en 73.1 ppm correlaciona con la señal múltiple de H-3 en 4.67 ppm, la señal en 69.5 ppm de C-26 correlaciona con los dos hidrógenos diastereotópicos de 26 asignados en 3.76 ppm y 3.72 ppm, además C-16 en 48.9 ppm correlaciona con la señal del H-16 en 3.57 ppm. También se observa la correlación de los carbonos en 17.1 ppm y 11.9 ppm con las señales simples de los metilos 18 y 19 en 1.32 ppm y 0.93 ppm respectivamente. Además se observa la correlación de C-21 en 11.1 ppm con los hidrógenos en 2.01 ppm.

La asignación inequívoca de los hidrógenos del compuesto **4** se realizó con ayuda del experimento COSY, de tal forma que se observaron las siguientes correlaciones; H-3 en 4.67 ppm correlaciona con H-4a en 1.66 ppm y H-2a en 1.83 ppm; los dos H-26 en 3.76 ppm y 3.72 ppm correlacionan con H-25 en 2.10 ppm; también se observa la correlación de H-16 en 3.57 ppm con H-15a y H-15b en 1.99 ppm y 1.62 ppm respectivamente. Adicionalmente se observa la correlación de H-9 en 1.21 ppm con H-11ax en 2.57 ppm y H-11ec en 2.29 ppm, el resto de los hidrógenos fueron encontrados de manera similar (Figura 13).

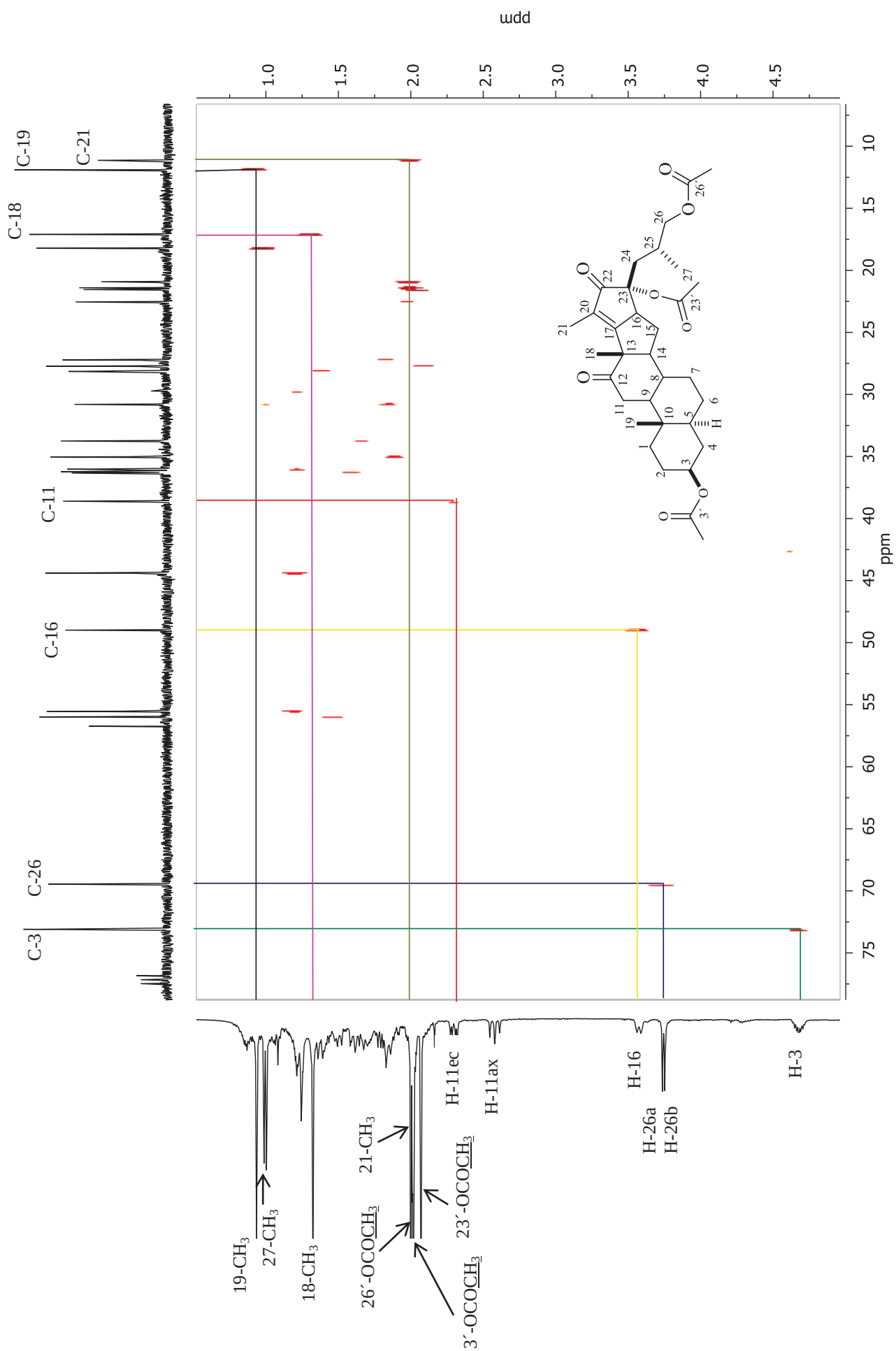


Figura 12. Espectro HETCOR del compuesto 4.

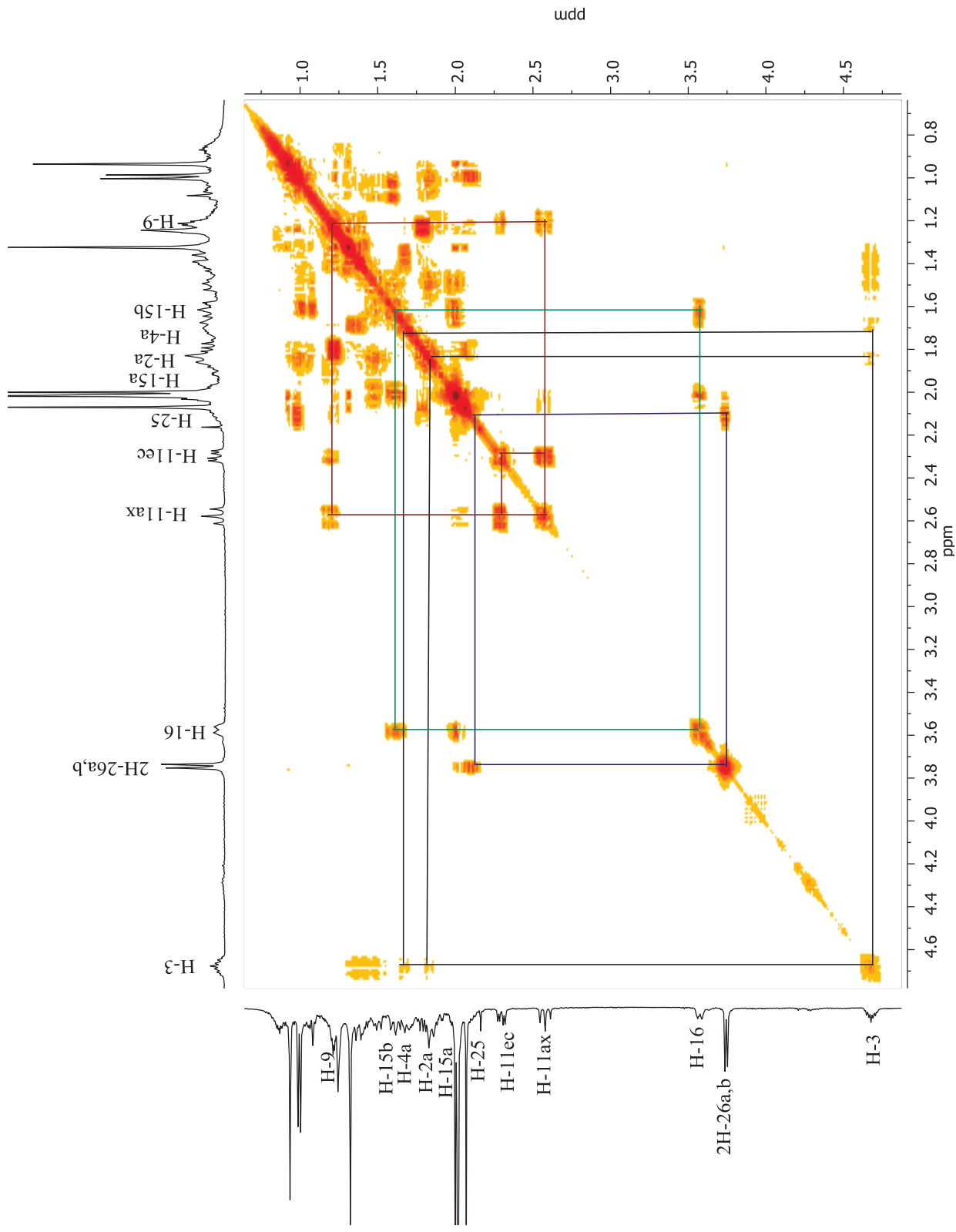


Figura 13. Espectro COSY para el compuesto 4.

La asignación inequívoca del resto de la molécula se realizó con ayuda del experimento HMBC, el cual nos permitió confirmar la correlación entre los dos hidrógenos de la posición 11 con los carbonos C-12, C-9 en 208.8 ppm y 55.5 ppm respectivamente, a su vez se observa la correlación de los dos hidrógenos de la posición 24 con C-16 en 48.9 ppm, C-23 en 86.9 ppm y C-26 en 69.5 ppm, adicionalmente CH₃-18 correlaciona con C-17 y C-12, también se observa la correlación de CH₃-21 con los carbonos en 48.9 ppm y 86.9 ppm correspondientes a C-16 y C-23. La sustitución de un grupo acetoxi en el átomo de C-23 se confirmó observando la correlación del metilo del grupo acetilo con el carbono cuaternario en 86.9 ppm, también el metilo base de acetilo sustituido en esta posición correlaciona con el carbonilo 23' en 171.1 ppm, de la misma forma los metilos de acetilo sustituidos en C-3 y C-26 correlacionaron con la señal en 170.6 ppm (Figura 14).

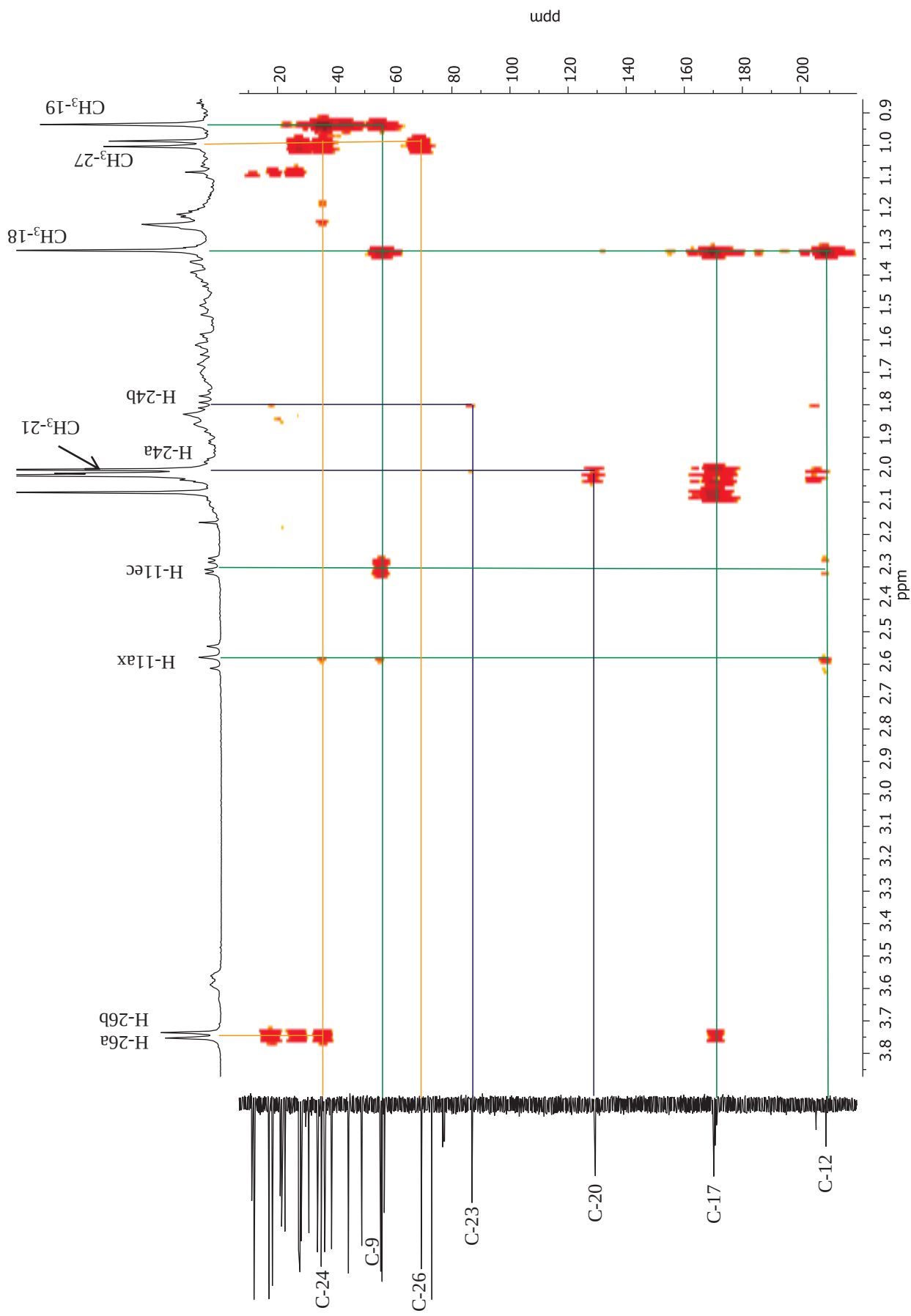
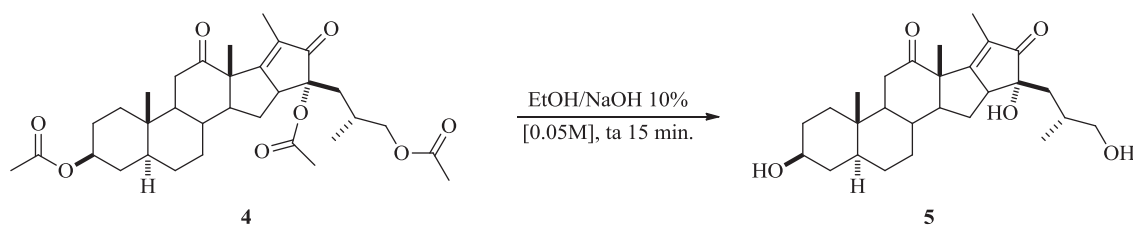


Figura 14. Espectro HMBC del compuesto 4.

Por otra parte debido a que mediante RMN del compuesto **4** no se tenía evidencia de la estereoquímica del nuevo centro estereogénico, se decidió confirmar la estructura del derivado **4** mediante el análisis por difracción de rayos-X, sin embargo, debido a que este compuesto se obtuvo en forma de sólido amorfo fue difícil llevar a cabo su cristalización, por ello en nuestro interés de obtener cristales adecuados para difracción de rayos-X se decidió realizar la hidrólisis básica de **4**, de tal forma que el triol **5** se obtuvo en forma de cristales incoloros (Esquema 8).



Esquema 8. Hidrólisis básica del compuesto **4**.

El compuesto **5** cristalizó con una molécula de agua en un sistema monoclinico, grupo espacial $P2_1$ con dos moléculas en la celda unitaria. La estructura de rayos-X (Figura 15) nos permitió establecer configuración $23R$ del nuevo centro estereogénico y la distancia de enlace de 1.356 (12) Å para C-17–C-20 confirmó la presencia de un doble enlace en esta posición.

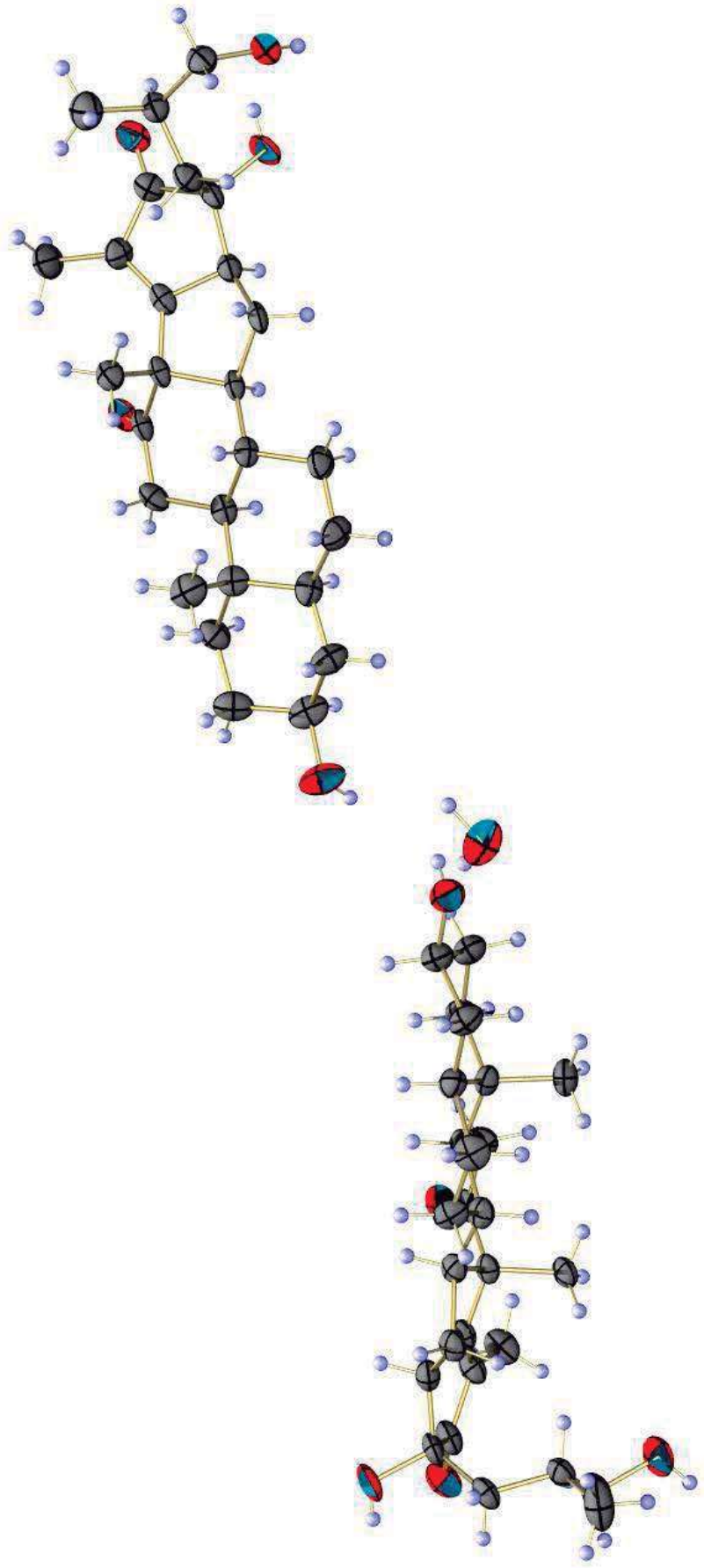


Figura 15. Perspectiva molecular del compuesto (23*R*,25*R*)-3 β ,23 α ,26-triol-16 β ,23-ciclo-5 α -colest-17-en-12,22-diona (5). Con elipses al 30% de probabilidad.

Tabla 1. Datos cristalográficos para el compuesto 5.

Datos del cristal	
Fórmula empírica	C ₂₇ H ₄₀ O ₅ ·H ₂ O
Peso molecular (g mol ⁻¹)	462.29
Temperatura	293(2) °K
Longitud de onda	0.71073 Å
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	P2 ₁
Parámetros de la celda	
a (Å)	11.795(5)
b (Å)	6.948(3)
c (Å)	30.461(14)
α (°)	90
β (°)	92.16(3) deg
γ (°)	90 deg.
Volumen (Å) ³	2494.6(19)
Z	4
Densidad calculada (Mg/m ³)	1.208
Coeficiente de absorción (mm ⁻¹)	0.083
F(000)	988
Tamaño del cristal	0.1 x 0.06 x 0.04 mm
Datos de colección	
Intervalos del ángulo θ	1.34 a 27.45
Reflexiones colectadas/únicas	7035 / 6080 [R(int) = 0.1312]
Amplitud del ángulo θ	27.45 76.2 %
Corrección de absorción	ninguna
Método de refinamiento	Full-matrix least-squares on F ²
Datos / restricciones / parámetros	6080 / 3 / 606
Bondad de ajuste sobre F ²	1.045
Índices de R final [I>2sigma(I)]	R1 = 0.1020, wR2 = 0.2640
Todos los datos R	R1 = 0.1740, wR2 = 0.3280
Parámetros absoluto de estructura	0.0 (3)
Coeficiente de extinción	0.19(2)
ρ mínimo e(Å ³)	-0.371
ρ máximo e(Å ³)	0.311

Tabla 2. Distancias y ángulos de enlace selectos para el compuesto 5.

Distancias de enlace Å			
C(3)-O(1)	1.415(11)	C(22)-O(3)	1.213(11)
C(12)-O(2)	1.189(11)	C(22)-C(23)	1.560(15)
C(15)-C(16)	1.550(13)	C(23)-O(4)	1.430(11)
C(16)-C(17)	1.481(12)	C(23)-C(24)	1.515(14)
C(16)-C(23)	1.526(13)	C(24)-C(25)	1.540(14)
C(17)-C(20)	1.356(12)	C(25)-C(26)	1.500(15)
C(20A)-C(21A)	1.459(14)	C(25)-C(27)	1.520(15)
C(20)-C(22)	1.485(14)	C(26)-O(5)	1.436(15)
Ángulos de enlace (°)			
C(17)-C(16)-C(23)	105.6(8)	O(3)-C(22)-C(20)	126.2(9)
C(17)-C(16)-C(15)	104.4(7)	O(3)-C(22)-C(23)	124.3(9)
C(23)-C(16)-C(15)	126.9(8)	C(20)-C(22)-C(23)	109.6(8)
C(20)-C(17)-C(16)	113.9(8)	O(4)-C(23)-C(24)	109.2(8)
C(20)-C(17)-C(13)	135.2(9)	O(4)-C(23)-C(16)	111.7(8)
C(16)-C(17)-C(13)	110.5(7)	C(24)-C(23)-C(16)	116.3(8)
C(17)-C(20)-C(21)	131.0(9)	O(4)-C(23)-C(22)	106.1(8)
C(17)-C(20)-C(22)	106.0(9)	C(24)-C(23)-C(22)	112.5(8)
C(21)-C(20)-C(22)	122.8(9)	C(16)-C(23)-C(22)	100.5(8)

Ángulos de torsión (°)			
C(16)-C(17)-C(20)-C(21)	178.0(10)	C(15)-C(16)-C(23)-C(22)	-142.3(9)
C(16)-C(17)-C(20)-C(22)	-6.4(11)	O(3)-C(22)-C(23)-O(4)	-46.6(13)
C(17)-C(20)-C(22)-O(3)	172.8(10)	C(20)-C(22)-C(23)-O(4)	133.9(8)
C(21)-C(20)-C(22)-O(3)	-11.1(16)	O(3)-C(22)-C(23)-C(24)	72.7(12)
C(17)-C(20)-C(22)-C(23)	-7.7(11)	C(20)-C(22)-C(23)-C(24)	-106.8(9)
C(21)-C(20)-C(22)-C(23)	168.4(9)	O(3)-C(22)-C(23)-C(16)	-163.0(10)
C(17)-C(16)-C(23)-O(4)	-132.3(8)	C(20)-C(22)-C(23)-C(16)	17.5(10)
C(15)-C(16)-C(23)-O(4)	105.6(11)	O(4)-C(23)-C(24)-C(25)	173.7(8)
C(17)-C(16)-C(23)-C(24)	101.5(9)	C(16)-C(23)-C(24)-C(25)	-58.8(12)
C(17)-C(16)-C(23)-C(22)	-20.2(9)	C(22)-C(23)-C(24)-C(25)	56.3(11)

El espectro de masas alta resolución del compuesto **5** mostró el ión molecular 445.2948 [$M^+ + 1$]. En el espectro de RMN de ^1H (Figura 16) se observa una señal doble de dobles en 3.71 ppm con $J = 11.0, 3.5$ Hz asignada para H-26a así como otra señal múltiple en 3.6 ppm para el H-3 base de alcohol. La señal de H-26b se observa como una señal doble de dobles en 3.21 ppm con $J = 11.0$ Hz. En 2.96 ppm se observa una señal múltiple correspondiente al H-16 debido a su acoplamiento con los dos hidrógenos diastereotópicos de C-15 y al acoplamiento homoalílico con CH_3 -21. La señal del H-11ax se asignó en 2.55 ppm como una señal doble de dobles con $J_{\text{gem}} = 14.8$, $J_{11\text{ax}-9\text{ax}} = 12.8$ Hz y en 2.37 ppm una señal doble de dobles para el H-11ec con $J_{\text{gem}} = 14.8$, $J_{11\text{ec}-9\text{ax}} = 5.6$ Hz. La señal del metilo vinílico CH_3 -21 se observa como una señal doble en 1.80 ppm con $J_{21-16} = 2.9$ Hz debido al acoplamiento homoalílico con H-16. Los metilos 18 y 19 se observan como señales simples en 1.22 y 0.91 ppm respectivamente, adicionalmente la señal del metilo secundario CH_3 -27 se observa como una señal doble en 0.77 ppm con $J_{27-25} = 6.8$ Hz. Por otra parte, en el espectro de ^{13}C (Figura 17) se observaron las 27 señales esperadas para este compuesto, encontrando en 82.1 ppm, 70.8 ppm, 68.5 ppm las señales correspondientes a los carbonos base de alcohol C-23, C-3, y C-26 respectivamente.

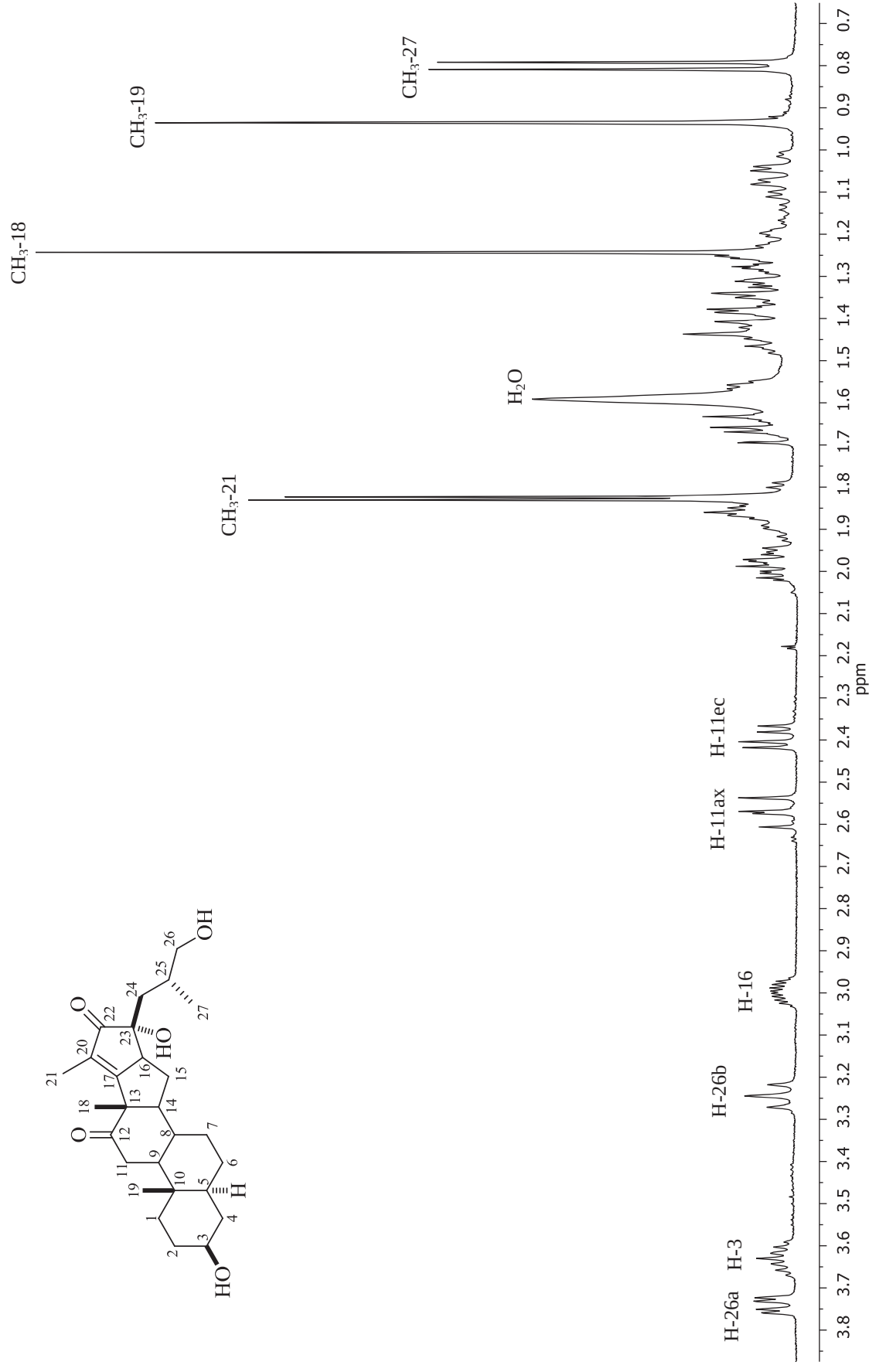


Figura 16. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) para el compuesto **5** en CDCl_3 .

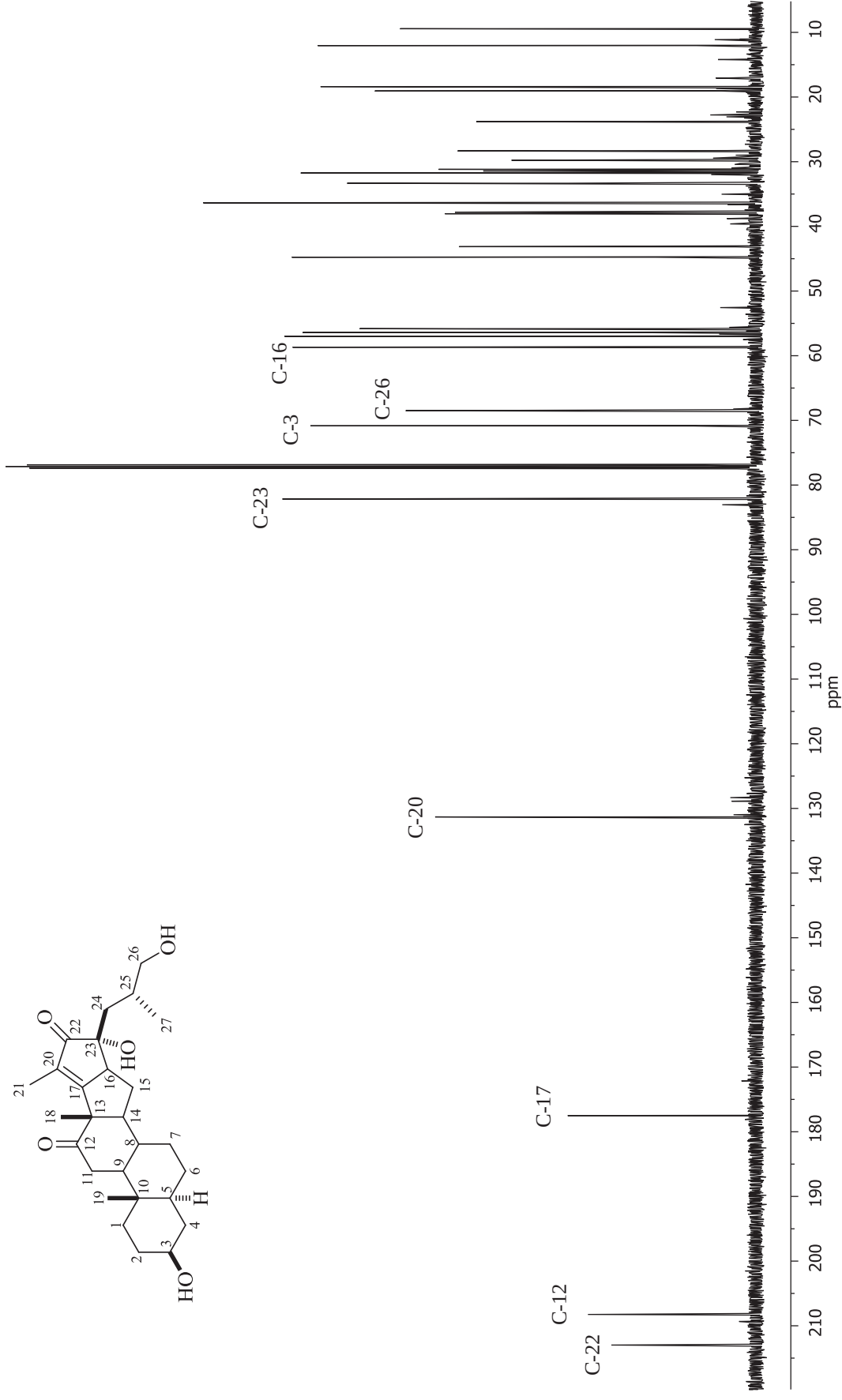
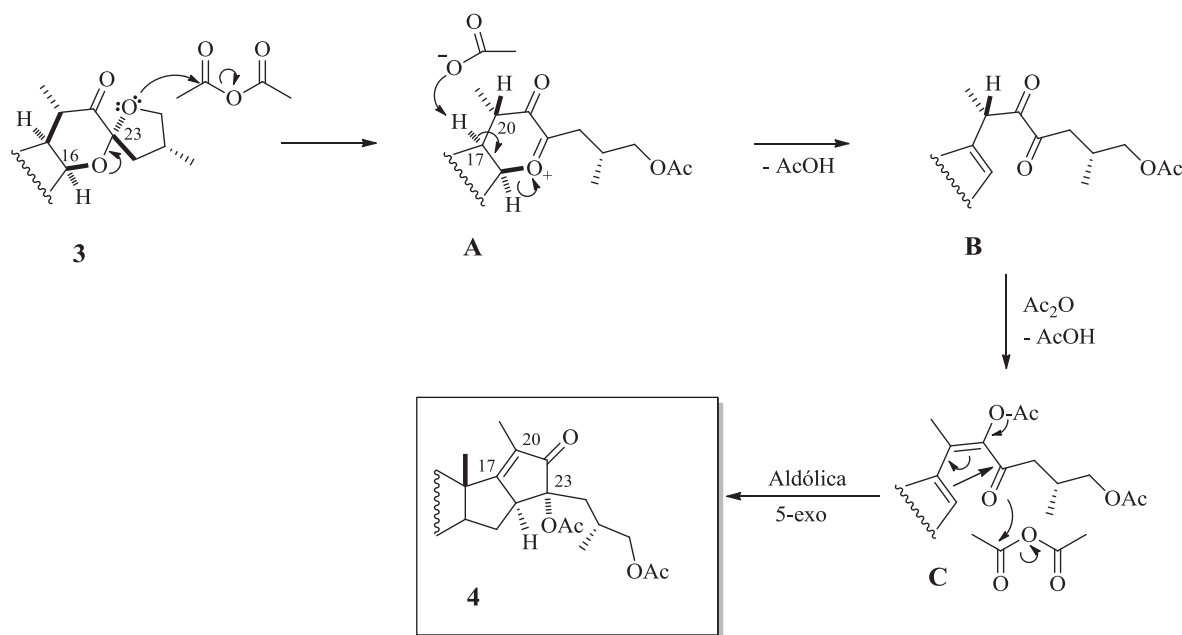


Figura 17. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz) para el compuesto **5** en CDCl_3 .

El mecanismo sugerido para la formación del compuesto **4** se explica vía la formación del ión oxonio **A** (Esquema 9) que mediante la ruptura del enlace C(16)-O(16) con salida simultánea del protón 17α da lugar a la dicetona **B**, la cual es transformada a su forma ceto enólica **C**. La reciclización del anillo E en este intermediario principal procede vía ciclización 5-exo (reacción aldólica) que explica la formación del anillo de la ciclopentenona. La prioridad de estas transformaciones de los sistemas dienona (similar a la **C**) ha sido discutida recientemente por nuestro grupo de trabajo.⁴² Como se puede observar en el Esquema 9 la posición 16 también es susceptible de epimerizar, sin embargo, mediante el análisis por difracción de rayos-X se comprueba la estereoquímica sugerida para C-23 y C-16 en el mecanismo de reacción.



Esquema 9. Mecanismo de formación del derivado esteroidal **4**.

6. PARTE EXPERIMENTAL

6.1 Instrumentación y equipo

Los espectros de infrarrojo (IR) se determinaron en los espectrómetros FT-IR Perkin Elmer Spectrum GX y Nicolet serie II Magna-IR 550 FT-IR. Los datos se expresan en números de onda ($\nu \text{ cm}^{-1}$) para los máximos principales de absorción. Las muestras fueron analizadas en pastillas de KBr y solución de cloroformo respectivamente.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C se determinaron en espectrofotómetros JEOL eclipse +400, Varian Mercury Plus 400 y Jeol ECA 500. Los desplazamientos químicos (δ) se expresan en (ppm) y las constantes de acoplamiento (J) se describen en Hertz (Hz), utilizando tetrametilsilano (TMS) como referencia interna para ^1H y ^{13}C . Todas las muestras fueron disueltas en CDCl_3 .

Los espectros de masas (EM) se determinaron en un espectrómetro Hewlett Packard 5989A-MS-Engine, acoplado a un cromatógrafo de gases Hewlett Packard 5890A serie II para masas baja resolución (EM) y para masas alta resolución (HRME) en un espectrómetro Agilent Technologies, modelo 1100 acoplado a un cromatógrafo de gases TOF con una fuente APCI.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Scientific y Fisher-Johns, y no están corregidos.

Los estudios de cristalografía se determinaron en un difractómetro Enraf-Nonius-Kappa CCD ($\lambda_{\text{MOK}\alpha} = 0.71073 \text{ \AA}$) con monocromador de grafito, $\omega/2 \Theta$ en el intervalo $2 < \Theta < 25$. Para la solución de la estructura se emplearon métodos directos utilizando SHELXS-86⁴³ y SHELXS-97 para el refinamiento.⁴⁴

Los disolventes y reactivos se compraron de la casa comercial Aldrich. La Hecogenina fue donada por la compañía Proquina.

El seguimiento de las reacciones se llevó a cabo por medio de cromatografía en capa fina (CCF), utilizando cromatoplas (4 cm x 3cm) de gel de sílice de 0.2 mm de espesor soportado en placas de aluminio, provistos además de un factor de revelado F_{254} usando como fase móvil hexano/AcOEt (70:30) y AcOEt/MeOH (30:1). El revelado de las cromatoplas se realizó con una lámpara de luz ultravioleta a 254 nm, también con una solución de H_2SO_4 /agua (50% V/V) y solución etanólica de vainillina aplicando calor con una pistola de calentamiento en los últimos dos reveladores mencionados.

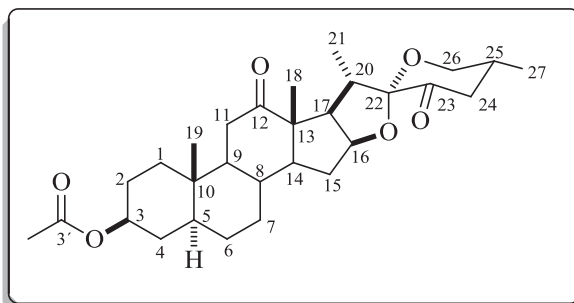
La separación de los productos obtenidos se realizó mediante cromatografía en columna, empacadas con gel de sílice grado (70-230 Mesh) y alúmina (Brockman III) utilizando mezclas de Hexano/AcOEt como eluyente.

6.2 Oxidación de Acetato de Hecogenina (1) con $\text{NaNO}_2/\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$

A una solución de 8.00 g (16.92 mmol) de Acetato de Hecogenina (1) en AcOH glacial (169.20 mL) se le adicionó 13.14 mL (106.60 mmol) de $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$ y 13.43 g (194.63 mmol) de NaNO_2 en pequeñas porciones durante 1 h a temperatura ambiente. La agitación se mantuvo por 1 h adicional, posteriormente la mezcla se adicionó en agua y se extrajo con CH_2Cl_2 . La fase orgánica se lavó con solución saturada de NaHCO_3 , se filtró sobre Na_2SO_4 anhidro y se evaporó a sequedad.

Posteriormente la purificación se realizó disolviendo el crudo de reacción en la mínima cantidad de benceno y se dejó reposar toda la noche sobre una columna empacada con alúmina neutra (Brockman III). La posterior purificación con una mezcla Hexano/ AcOEt (90:10) dio 5.80 g, (71%) de (25*R*)-3 β -acetoxi-5 α -espirostan-23-ona (2).

(25*R*)-3 β -acetoxi-5 α -espirostan-23-ona (2)



$\text{C}_{28}\text{H}_{41}\text{O}_5$

R_f : 0.63 (70:30 Hexano/ AcOEt)

Propiedades físicas: cristales incoloros

Los datos de RMN del compuesto 2 se confirmaron por comparación con los de la lit.³⁵

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.67 (1H, m, H-3), 4.54 (1H, m, H-16), 3.76 (1H, dd, $J_{\text{gem}} = J_{26\text{ax}-25\text{ax}} = 11.2$ Hz, H-26ax), 3.61 (1H, dd, $J_{\text{gem}} = 11.2$ Hz, $J_{26\text{ec}-25\text{ax}} = 3.8$ Hz, H-26ec), 2.78 (1H, m, H-20), 2.53 (1H, dd, $J = 8.8, 6.5$ Hz, H-17), 2.02 (3H, s, 3'-OCOCH₃), 1.05 (3H, s, CH₃-18), 1.02 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, CH₃-21), 0.94 (3H, d, $J = 6.5$, CH₃-27), 0.92 (3H, s, CH₃-19).

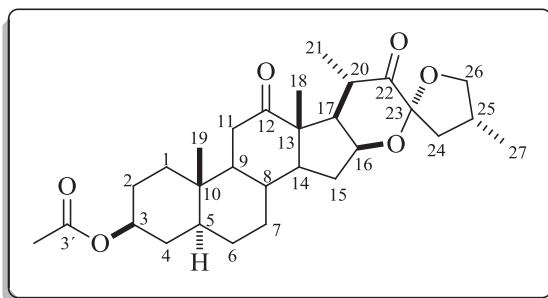
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 213.0 (C-12), 201.6 (C-23), 170.6 (3'-OCOCH₃), 109.7 (C-22), 81.6 (C-16), 73.1 (C-3), 65.6 (C-26), 55.7 (C-14), 55.4 (C-13), 55.3 (C-9), 52.9 (C-17), 45.1 (C-24), 44.3 (C-5), 37.5 (C-11), 36.1 (C-1), 36.0 (C-10), 35.5 (C-25), 35.3 (C-20), 34.2 (C-8), 33.7 (C-4), 31.3 (C-7), 31.0 (C-15), 28.0 (C-6), 27.1 (C-2), 21.3 (3'-OCOCH₃), 17 (C-27), 15.77 (C-18), 13.0 (C-21), 11.8 (C-19).

6.3 Preparación de (23*R*, 25*R*)-3β-acetoxi-16β,23:23,26-diepoxi-5α-colestan-12,22-diona (3)

A una solución de 600 mg (1.23 mmol) de (25*R*)-3β-acetoxi-5α-espirostan-23-ona (2) en ácido fórmico se le adicionó lentamente 1.72 mL (13.93 mmol) de BF₃·OEt, posteriormente la reacción se mantuvo en agitación magnética a temperatura ambiente durante 4.5 h, La reacción se extrajo con CH₂Cl₂ y se le hicieron 3 lavados con solución saturada de NaHCO₃, despues se filtró sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a sequedad.

El crudo de reacción se purificó en una columna empacada con silica gel (70-230 Mesh) y el compuesto se obtuvo en una solución Hexano/AcOEt (90:10) para obtener 135 mg, (23 %) del compuesto (23*R*, 25*R*)-3β-acetoxi-16β,23:23,26-diepoxi-5α-colestan-12,22-diona (3) con recuperación de la materia prima 2 (180 mg, 30 %).

(23*R*, 25*R*)-3β-acetoxi-16β,23:23,26-diepoxi-5α-colestan-12,22-diona (3)



C₂₉H₄₂O₆

R_f: 0.43 (70:30 Hexano/AcOEt)

Propiedades físicas: cristales incoloros

p.f. 179-181 Lit.³² 180-182°C.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.67 (1H, m, H-3), 4.38 (1H, m, H-16), 4.14 (1H, dd, $J_{\text{gem}} = J_{26a-25} = 7.6$ Hz, H-26a), 3.54 (1H, dd, $J_{\text{gem}} = J_{26b-25} = 8.6$ Hz, H-26b), 2.67 (1H, m, H-20), 2.03 (3H, s, 3'-OCOCH₃), 1.26 (3H, s, CH₃-18), 1.13 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, CH₃-21), 1.06 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, CH₃-27), 0.95 (3H, s, CH₃-19).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 212.4 (C-12), 212.1 (C-22), 170.5 (3'-OCOCH₃), 107.6 (C-23), 75.4 (C-26), 73.1 (C-3), 71.3 (C-16), 56.9 (C-13), 56.0 (C-14), 53.3 (C-9), 48.2 (C-17), 44.4 (C-5), 43.8 (C-24), 40.1 (C-20), 38.1 (C-11), 36.2 (C-1), 36.2 (C-10), 34.6 (C-8), 33.7 (C-4), 33.4 (C-25), 32.5 (C-15), 31.4 (C-7), 28.1 (C-6), 27.2 (C-2), 21.4 (3'-OCOCH₃), 16.6 (C-27), 13.9 (C-18), 12.8 (C-21), 11.8 (C-19).

6.4 Preparación del compuesto (23*R*,25*R*)-3 β ,23 α ,26-triacetoxi-16 β ,23-ciclo-5 α -colest-17-en-12,22-diona (4)

Preparación de HCl (g)

Un matraz balón de dos bocas conteniendo 15.86 g de NaCl se acondicionó con un embudo de adición de líquidos provisto de 12 mL de H₂SO₄ y un tubo en U con salida al matraz de la reacción. Posteriormente el H₂SO₄ se dejó caer lentamente sobre el NaCl generando HCl (g) que mediante burbujeo se adiciona sobre la muestra.

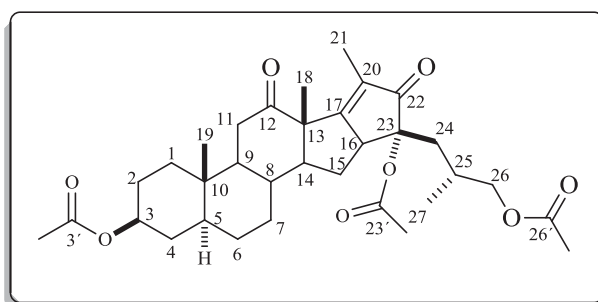


Esquema 10. Sistema para la preparación de HCl (g).

Reacción de apertura del anillo F en medio ácido

A una solución de 183 mg (0.37 mmol) de (23*R*, 25*R*)-3β-acetoxi-16β,23:23,26-diepoxi-5α-colestan-12,22-diona (**3**) en 20 mL de anhídrido acético se burbujeó HCl (g) (generado *in situ*) durante 5 h a 120°C. Una vez finalizada la reacción el crudo se vertió cuidadosamente sobre hielo. La fase orgánica se extrajo con CH₂Cl₂, se le hicieron 5 lavados con solución saturada de NaHCO₃ y un último lavado con solución saturada de NaCl. Posteriormente se filtró sobre Na₂SO₄ anhidro y el disolvente se evaporó a sequedad. El crudo de reacción se purificó en una columna empacada con silica gel (70-230 Mesh) utilizando una solución Hexano/AcOEt (85:15) para obtener 76 mg (36%) del compuesto (23*R*,25*R*)-3β,23α,26-triacetoxi-16β,23-ciclo-5α-colest-17-en-12,22-diona (**4**).

(23*R*,25*R*)-3β,23α,26-triacetoxi-16β,23-ciclo-5α-colest-17-en-12,22-diona (**4**)



C₃₃H₄₆O₈

R_f: 0.23 (70:30 Hexano/AcOEt)

Propiedades físicas: sólido amorfo
amarillo claro.

p.f. indeterminable.

IR $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹(KBr): 2929, 2863, 1731, 1656, 1466, 1377, 1248, 1036.

EM, m/z (%): C₃₃H₄₆O₈ 571 (M⁺ + H, 2), 528 (0.8), 468 (3), 450 (100), 407 (15), 389 (1).

HRME calculada para: C₃₃H₄₆O₈ [M+H]⁺ 571.3251. Encontrada 571.32654

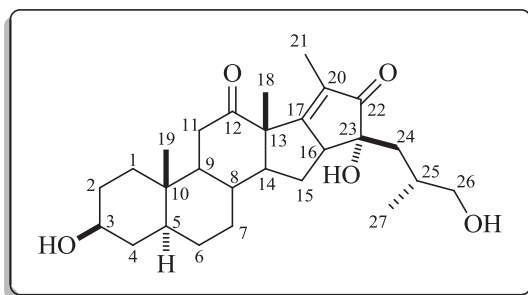
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.67 (1H, m, H-3), 3.76, 3.72 (2H, d, AB, $J_{AB} = 10.9$ Hz, H-26a, H-26b), 3.57 (1H, ddc, $J_{16-15a} = 11.2$ Hz, $J_{16-15b} = 2.4$ Hz, $J_{16-21} = 2.4$ Hz, H-16), 2.57 (1H, dd, $J_{gem} = J_{11ax-9ax} = 13.8$ Hz, H-11ax), 2.29 (1H, dd, $J_{gem} = 13.8$ Hz, $J_{11ec-9ax} = 5.0$, Hz, H-11ec), 2.06 (3H, s, 23'-OCOCH₃), 2.01 (3H, d traslapada, CH₃-21), 2.01 (3H, s, 3'-OCOCH₃), 1.99 (3H, s, 26'-OCOCH₃), 1.32 (3H, s, CH₃-18), 0.99 (3H, d, $J_{27-25} = 6.7$ Hz, CH₃-27), 0.93 (3H, s, CH₃-19)

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 208.8 (C-12), 205.4 (C-22), 171.1 (23'-OCOCH₃), 170.6 (3'-OCOCH₃, 26'-OCOCH₃), 170.2 (C-17), 129.4 (C-20), 86.9 (C-23), 73.1 (C-3), 69.5 (C-26), 56.7 (C-13), 55.9 (C-14), 55.5 (C-9), 48.9 (C-16), 44.4 (C-5), 38.6 (C-11), 36.3 (C-1), 36.2 (C-10), 36.0 (C-24), 35.0 (C-8), 33.8 (C-4), 30.8 (C-7), 28.1 (C-6), 27.7 (C-25), 27.2 (C-2), 22.5 (C-15), 21.5 (23'-OCOCH₃), 21.4, 20.9 (3'-OCOCH₃, 26'-OCOCH₃), 18.2 (C-27), 17.1 (C-18), 11.9 (C-19), 11.1 (C-21).

6.5 Preparación del triol 5

En un matraz bola de 50 mL se colocaron 55 mg (0.0963 mmol) del compuesto **4**, se adicionaron 2 mL de una solución etanólica de NaOH al 10%, la reacción se mantuvo en agitación magnética durante 15 min, a temperatura ambiente. Una vez transcurrido el tiempo la reacción se extrajo con AcOEt, se lavó 3 veces con agua, y se filtró sobre Na₂SO₄ anhidro. Después de evaporar a sequedad, el crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna, utilizando una mezcla de AcOEt/Hexano (70:30), para obtener 37 mg (81%) del compuesto (23*R*,25*R*)-3β,23α,26-triol-16β,23-ciclo-5α-colest-17-en-12,22-diona (**5**).

(23*R*,25*R*)-3β,23α,26-triol-16β,23-ciclo-5α-colest-17-en-12,22-diona (**5**)



C₂₇H₄₀O₅

R_f: 0.44 (30:1 AcOEt/MeOH)

Propiedades físicas: cristales incoloros.

p.f. 214-216 °C.

IR ν_{máx} cm⁻¹(KBr): 2919, 2851, 1707, 1659, 1377, 1339, 1138, 1081, 1037, 977, 612, 584.

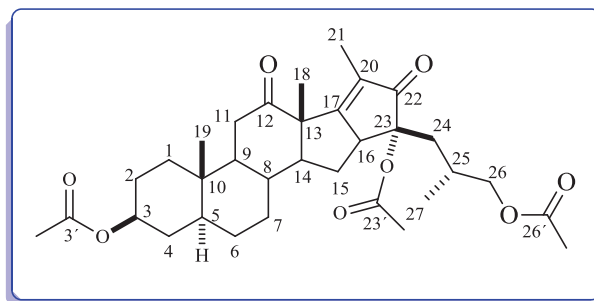
HRME calculada para: C₂₇H₄₀O₅ [M+H]⁺ 445.2948. Encontrada 445.2947.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 3.71 (1H, dd, $J = 11.0, 3.5$, Hz, H-26a), 3.60, (1H, m, H-3), 3.21 (1H, dd, $J = 11.0$ Hz, H-26b), 2.96 (1H, m, H-16), 2.55 (1H, dd, $J_{gem} = 14.8$ Hz, $J_{11ax-9ax} = 12.8$ Hz, H-11ax), 2.37 (1H, dd, $J_{gem} = 14.8$ Hz, $J_{11ec-9ax} = 5.6$ Hz, H-11ec), 1.80 (3H, d, $J_{21-16} = 2.9$ Hz, CH_3 -21), 1.22 (3H, s, CH_3 -18), 0.91 (3H, s, CH_3 -19), 0.77 (3H, d, $J_{27-25} = 6.8$ Hz, CH_3 -27).

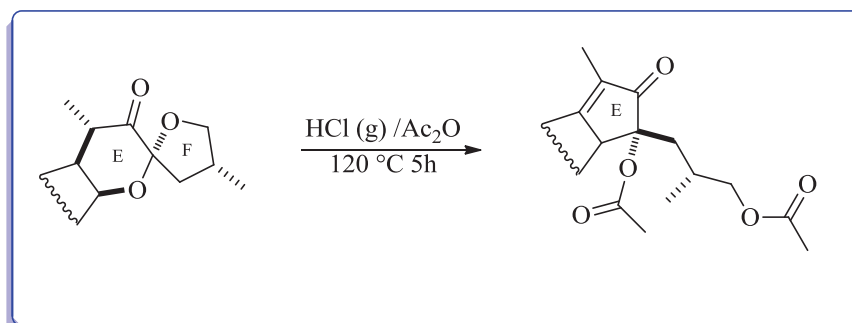
RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ : 212.9 (C-22), 208.2 (C-12), 177.5 (C-17), 131.3 (C-20), 82.1 (C-23), 70.8 (C-3), 68.5 (C-26), 58.6 (C-16), 57.0 (C-13), 56.4 (C-14), 55.8 (C-9), 44.7 (C-5), 43.1 (C-24), 38.0 (C-11), 37.8 (C-4), 36.4 (C-1), 36.3 (C-10), 33.3 (C-8), 31.7 (C-25), 31.4 (C-7), 31.1 (C-2), 28.3 (C-6), 23.8 (C-15), 19.0 (C-27), 18.3 (C-18), 12.0 (C-19), 9.4 (C-21).

7. CONCLUSIONES

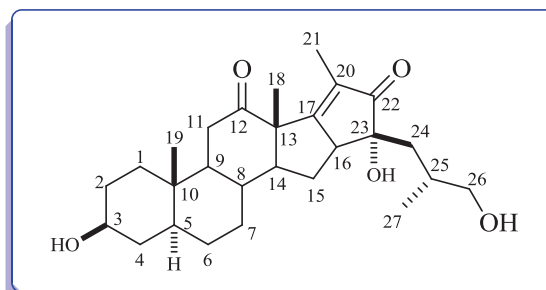
La apertura ácida del 22-oxo-23-espirocetal (**3**) dio como producto un nuevo derivado colestánico con una ciclopentenona en el anillo E de la cadena lateral **4**.



Se demostró que la apertura del anillo F tetrahidrofuránico reacciona de manera regioselectiva frente a condiciones ácidas.



Para el compuesto **5** se determinó configuración $23R$ mediante el análisis por difracción de rayos-X.



Se propuso un mecanismo para la formación del compuesto **4** que coincide con la estereoquímica observada mediante el análisis de difracción de rayos-X del compuesto **5**.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. M.A. Iglesias Arteaga, R. Pérez Gil, F. Coll Manchado, *CENIC Ciencias Químicas*, **28**, 67 (1997).
2. Tesis Licenciatura Juan Pablo García Merinos CINVESTAV-IPN (2002).
3. K. Hostettmann, A. Marston, Saponins, Cambridge University Press, Cambridge, UK, 1995.
4. J. Honda, *Arch. Exptl. Pharmacol. Path.*, **51**, 211 (1904).
5. T. Kawasaki, T. Komari, K.T. Miyahara, T. Nohara, I. Hosokawa, K. Mihashi, *Chem. Pharm. Bull.*, **22**, 2164 (1974).
6. C.R. Yang, Y. Zhang, M.R. Jacob, S.I. Khan, Y.J. Zhang, X.C. Li, *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, **50**, 1710 (2006).
7. K. Hu, A.J. Dong, X.S. Yao, H. Kobayashi, S. Iwasaki, *Planta Med.* **62**, 573 (1996).
8. T. Ikeda, J. Ando, A. Miyazono, X.-H. Zhu, H. Tsumagari, T. Nohara, K. Yokomizo, M. Uyeda, *Biol. Pharm. Bull.*, **23**, 363 (2000).
9. M. Takechi, S. Shimada, Y. Tanaka, *Phytochem.*, **30**, 3943 (1991).
10. Y. Mimaki, O. Nakamura, Y. Sashida, T. Nikaido, T. Ohmoto, *Phytochem.*, **38**, 1279 (1995).

11. Y. Mimaki, M. Kuroda, A. Kameyama, Y. Sashida, T. Hirano, K. Oka, R. Maekawa, T. Wada, K. Sugita, J.A. Beutler, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **7**, 633 (1997).
12. A. Goswami, R. Kotoky, R.C. Rastogi, A.C. Ghosh, *Org. Process Res. Dev.*, **7**, 306 (2003).
13. S. Lee, T.G. LaCour, D. Lantrip, P.L. Fuchs, *Org. Lett.*, **4**, 313 (2002).
14. M.A. Iglesias-Arteaga, R. Pérez Gil, C.S. Pérez Martínez, F.C. Manchado, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 261 (2001).
15. G. Gu, Y. Du, R.J. Linhardt, *J. Org. Chem.*, **69**, 5497 (2004).
16. a) R.E. Marker, T. Tsukamoto, D.L. turner, *J. Am. Chem. Soc.*, **62**, 2525 (1940), b) R.E. Marker, E. Rohrmann, *J. Am. Chem. Soc.*, **61**, 3592 (1939), c) R.E. Marker, E. Rohrmann, *J. Am. Chem. Soc.*, **61**, 846 (1939), d) R.E. Marker, Rohrmann, E. Crooks, E.L. Wittle, E.M. Jones, D.L. Turner, *J. Am. Chem. Soc.*, **62**, 525 (1940), e) R.E. Marker, E. Rohrmann, *J. Am. Chem. Soc.*, **62**, 518 (1940), f) R.E. Marker, E. Rohrmann, *J. Am. Chem. Soc.*, **62**, 587 (1940)
17. R.E. Marker, D.L. Turner, P.R. Ulshafer, *J. Am. Chem. Soc.*, **62**, 2542 (1940).
18. R.S. Miner, E.S. Wallis, *J. Org. Chem.*, **21**, 715 (1956).
19. A.G. González, C.G. Francisco, R. Freire, R. Hernández, J.A. Salazar, E. Suárez, *Tetrahedron Lett.*, 1325 (1976).
20. a) J. Sandoval, A. Castro, S. Meza, F. Reyes, R. Santillán, N. Farfán, *Tetrahedron Lett.*, **22**, 2405 (1999), b) J. Sandoval, S. Meza, R. del Rio, G. Hernández, A.

- Suarez, S. Rincon, N. Farfán, R. Santillan, *Steroids*, **68**, 199 (2003), c) S. Rincon, R.E. Del Río, J. Sandoval-Ramírez, S. Meza-Reyes, S. Montiel-Smith, M.A. Fernández, N. Farfán, R. Santillan, *Tetrahedron*, **62**, 2594 (2006).
21. S. Lee, T.G. La Cour, D. Lantrip, P.L. Fuchs, *Org. Lett.*, **4**, 313 (2002).
22. D.H.R Barton, P.G. Sammes, M.V. Taylor, E. Werstiuk, *J. Chem. Soc. (C)* 1977 (1970).
23. a) A.G. González, R. Freire, M.G. García-Estrada, J.A. Salazar, E. Suarez, *Ann. Quím.*, **67**, 903 (1971), b) A.G. González, R. Freire, M.G. García-Estrada, J.A. Salazar, E. Suárez, *Tetrahedron*, **28**, 1289 (1972).
24. A.G. González, R. Freire, M.G. García-Estrada. J.A. Salazar, E. Suárez, *Tetrahedron*, **28**, 1289 (1972).
25. a) Y. López, R. Santillan, N. Farfán, *Steroids*, **71**, 12 (2006), b) Y. López, I. Jastrzębska, R. Santillan, J.W. Morzycki, *Steroids*, **73**, 449 (2008), c) Y. López, KM. Ruíz-Pérez, R. Yépez, R. Santillan, M. Flores-Alamo, MA. Iglesias Arteaga, *Steroids*, **73**, 657 (2008).
26. R. Hernandez, J.J. Marrero-Tellado, K. Prout, E. Suárez, *J Chem Soc Chem Commun.*, 275 (1992).
27. M.K. Cyrański, J. Frelek, I. Jastrzębska, J.W. Morzycki, *Steroids*, **69**, 395 (2004).
28. M. Iglesias-Arteaga, R.O. Arcos-Ramos, J.M. Méndez-Stivalet, *Tetrahedron Lett.*, **48**, 7485 (2007).

29. I. Vázquez-Ramírez, M. Macías-Alonso, R.O. Arcos-Ramos, K.M. Ruíz-Pérez, D.O. Solano-Ramírez, M. Iglesias Arteaga, *Steroids*, **73**, 642 (2008).
30. M. Macías-Alonso, M. Flores-Alamo, M. Iglesias-Arteaga, *Steroids*, **74**, 112 (2009).
31. M. Macias-Alonso, J.W. Morzycki, M. Iglesias-Arteaga, *Steroids*, **76**, 317- (2011).
32. I. Jastrzębska, L. Siergiejczyk, A.M. Tomkiel, Z. Urbańczyk-Lipkowska, D. Wójcik, J.W. Morzycki, *Steroids*, **74**, 675 (2009).
33. I. Jastrzębska, A. Dobrogowska, E. Lutostańska, J.W. Morzycki, *Steroids*, **66**, 5024 (2010).
34. M.K. Cyrański, J. Frelek, I. Jastrzębska, J.W. Morzycki, *Steroids*, **69**, 395 (2004).
35. M. Iglesias-Arteaga, R. Perez Gil, C.S. Pérez Martínez, F. Coll. Manchado, *Synthetic. Communications.*, **30**, 163 (2000).
36. W.S. Tian, HP. Guan, XF. Pan, *Chin Chem Lett*, **5**, 1013 (1994).
37. A.G. González, C.G. Francisco, R. Freire, R. Hernández, J.A. Salazar, E. Suárez, *Tetrahedron Lett.*, **17**, 1325 (1976).
38. G.R. Pettit, W.J. Bowyer, *J Org Chem*, **25**, 84 (1960).
39. G.R. Pettit, T.R. Kasturi, *J Org Chem*, **26**, 4553 (1961).
40. J. Sandoval-Ramírez, A. Castro-Méndez, S. Meza-Reyes, F. Reyes-Vázquez, R. Santillán, N. Farfán, *Tetrahedron Lett*, **40**, 5143 (1999).

41. J.O.H. Pérez-Díaz, J.L. Vega-Baez, J. Sandoval-Ramírez, S. Meza-Reyes, S. Montiel-Smith, N. Farfán, R. Santillan, *Steroids*, **75**, 1127 (2010).
42. a) Y. López, L. Rodríguez, R.E. del Río, N. Farfán, J.W. Morzycki, R. Santillan, *Steroids*, (**2011** Enviado), b) B.G. Pujanauski, B.A. Prasad, R. Sarpong, *J Am Chem Soc*, **128**, 6786 (2006).
43. G.M. Sheldrick, SHELXS-86. Programa para la solución de estructuras cristalinas. Germany: University of Göttingen; (1986).
44. G.M. Sheldrick, SHELXL-97. Programa de Refinamiento de las estructuras cristalinas. Germany: University of Göttingen; (1997).

9. GLOSARIO DE TÉRMINOS

ESPECTRO DE RMN. Gráfica que relaciona la intensidad contra la frecuencia o las n frecuencias si se trata de espectros en n dimensiones.

RESONANCIA. Señal observada en un espectro de RMN.

ESPECTRO EN DOS DIMENSIONES. Espectro de RMN en el que cada señal depende de dos frecuencias.

MULTIPLICIDAD. Número e intensidad relativa de las señales debido al acoplamiento entre espines.

DESPLAZAMIENTO QUÍMICO (δ). Cantidad que determina la posición relativa de una señal con respecto a la frecuencia de la referencia, su unidad es ppm.

CAMPO ALTO. Que genera un mayor campo inducido por lo cual su detección se realiza con un barrido de campo más pequeño, en la actualidad se utiliza, menor frecuencia.

CAMPO BAJO. Que genera un menor campo inducido por lo cual su detección se realiza con un barrido de campo más grande, en la actualidad se utiliza, mayor frecuencia.

PICOS CRUZADOS. Señales de correlación que se muestran en los espectros de RMN de dos dimensiones y que dependen de dos frecuencias diferentes.

CORRELACIÓN A LARGA DISTANCIA. Pico cruzado que se observa en un espectro de RMN de dos dimensiones que se debe a la interacción a más de tres enlaces.

CORRELACIÓN VECINAL. Pico cruzado que se observa en un espectro de RMN de dos dimensiones a través de dos enlaces.

FRECUENCIA ALTA. Que se observa a mayor frecuencia respecto a otra señal o al centro del espectro.

FRECUENCIA BAJA. Que se observa a menor frecuencia respecto a otra señal o al centro del espectro.

ESPECTRÓMETRO. Instrumento empleado para realizar mediciones de frecuencia en el espectro electromagnético, en RMN los aparatos consisten normalmente de un imán, un transmisor/receptor, una consola y una o más computadoras.

9.1 ACRÓNIMOS EMPLEADOS

Los acrónimos se utilizan de acuerdo al idioma inglés.

DEPT	D istortionless E nhancement by P olarization T ransfer, Mejoramiento sin distorsión por medio de transferencia de polarización.
COSY	C orrelated S pectroscop Y , Correlación espectroscópica.
HMBC	H eteronuclear M ultiple- B ond C orrelation, Correlación heteronuclear vía múltiples enlaces.
HETCOR	H ETeronuclear C ORrelation, Correlación heteronuclear.