



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO



FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE UN SECO-ÁCIDO A PARTIR DE DIOSGENINA

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACOBIOLOGA

PRESENTA:

SAHARAIM AGUILERA URIBE

ASESORA:

DOCTORA EN CIENCIAS QUÍMICAS.

YLIANA LÓPEZ CASTRO

MORELIA, MICHOACÁN. SEPTIEMBRE 2013

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 Michoacán, bajo la asesoría de la D.C. Yliana López Castro y con apoyo financiero de CONACYT (Proyecto No. 183980), CIC-UMSNH y con una beca otorgada por CONACYT con número de registro: CB-2012/183980

Parte de este trabajo ha sido presentado en el siguiente foro:

“Síntesis y Caracterización de un seco-ácido a partir de diosgenina”. Josué Vazquez-Chavez, **Saharaim Aguilera-Urbe**, J. Pablo García-Merinos, Yliana López, Rosa E del Río, Rosa Santillan y Norberto Farfán; 48° Congreso Mexicano de Química, Guanajuato, Gto. México, del 31 de Agosto al 4 de Septiembre, 2013.

ÍNDICE

ABREVIATURAS, SÍMBOLOS Y ACRÓNIMOS	IV
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	2
3. ANTECEDENTES.....	6
4. JUSTIFICACIÓN	14
5. OBJETIVOS.....	15
5.1 Objetivo General.....	15
5.2 Objetivos Específicos.....	15
6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	16
6.1 Obtención del (25 <i>R</i>)-éter-3β-TBDPS-espirostan-5-eno (2).....	16
6.2 Obtención del epóxido 3a/b.....	19
6.3 Preparación de (25 <i>R</i>)-ácido-3β- <i>tert</i> -butildifenilsililoxi-5-oxo-5,6- <i>seco</i> - espirostan-6-oico (4).....	24
7. PARTE EXPERIMENTAL	30
7.1 Instrumentación y equipo	30
7.2 Protección de la diosgenina	32
7.3 (25 <i>R</i>)-éter-3β-TBDPS-5α,6α-epoxi-espirostanano (3a) y (25 <i>R</i>)-éter-3β- TBDPS-5β,6β-epoxi-espirostanano (3b).....	34
7.4 (25 <i>R</i>)-ácido-3β- <i>tert</i> -butildifenilsililoxi-5-oxo-5,6- <i>seco</i> -espirostan-6- oico (4).....	36

8. CONCLUSIONES	38
9. BIBLIOGRAFÍA	39
10. ANEXO	43

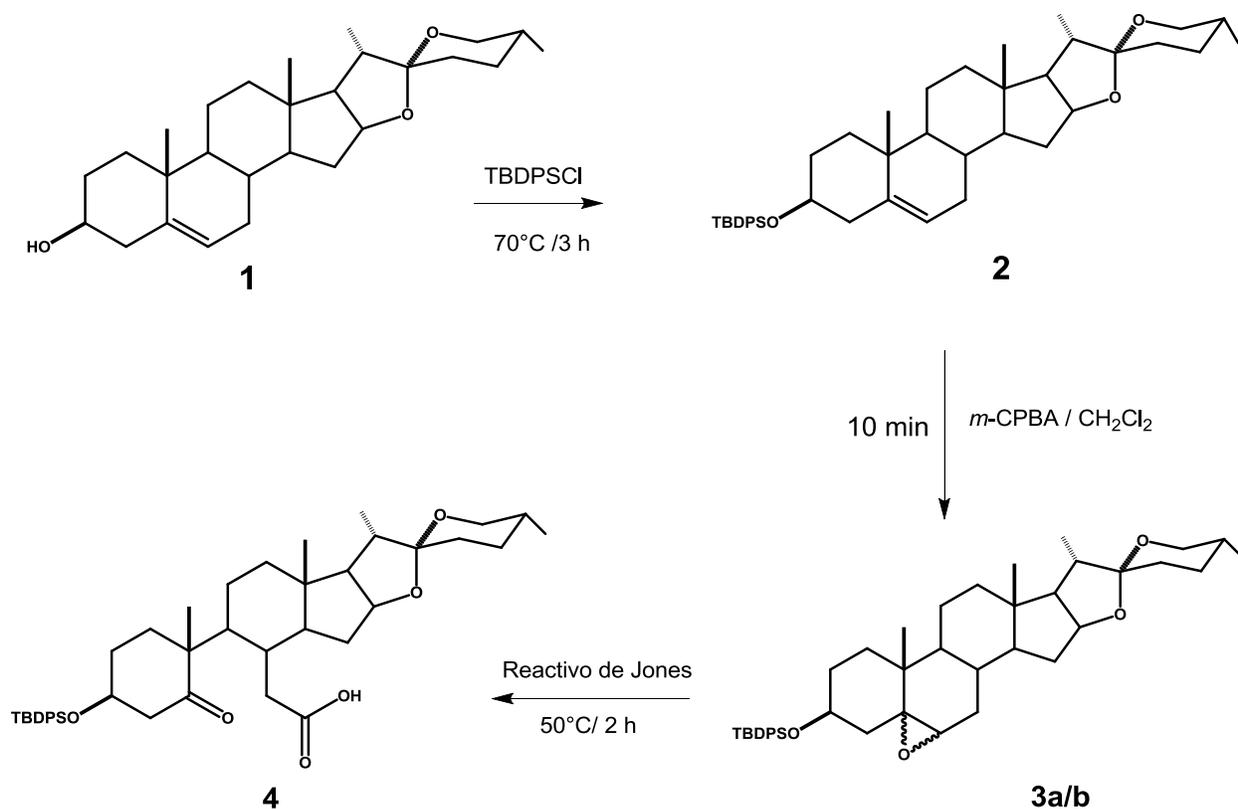
ABREVIATURAS, SÍMBOLOS Y ACRÓNIMOS

Å	Angström
AcOEt	Acetato de etilo
<i>ax</i>	Axial
CCF	Cromatografía en capa fina
COSY	Correlated Spectroscopy
DCM	Diclorometano
DMF	Dimetilformamida
°C	Grados Celsius
δ	Desplazamiento químico
Δ	Calentamiento
d	Doble
dd	Doble de dobles
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DHEA	Dehidroepiandrosterona
<i>ec</i>	Ecuatorial
EMIE	Espectrometría de masas de Impacto electrónico
gr	Gramos
<i>gem</i>	Geminal
hr	Horas
HETCOR	Heteronuclear Correlation
HMBC	Heteronuclear Multiple-Bond Correlation

HRMS	High Resolution Mass Spectrum
Hz	Hertz
IR	Infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
m	Múltiple
min	Minutos
<i>m</i> -CPBA	Ácido meta cloroperbenzoico
mL	Mililitros
mmol	Milimol
<i>m/z</i>	Masa carga
p.f.	Punto de fusión
ppm	Partes por millón
R_f	Factor de retención
RMN	Resonancia magnética nuclear
s	Simple
t.a.	Temperatura ambiente
TBDPSCI	Cloruro de <i>tert</i> -butildifenilsilano
TMS	Tetrametilsilano
ν	Frecuencia

1. RESUMEN

El presente trabajo describe una metodología en tres pasos para la preparación de un nuevo *seco*-ácido, a partir de diosgenina (**1**). El primer paso de la síntesis consistió en la protección del 3-OH del compuesto **1** con el grupo protector *tert*-butildifenilsilano. Posteriormente el compuesto **2** se trató con el ácido meta cloroperbenzoico para la obtención de la mezcla de los epóxidos **3a/b** en una relación (3:1) siendo mayoritario la orientación α sobre la β ; la estructura de este compuesto se confirmó mediante análisis por difracción de rayos-X (Figura 7). Finalmente el *seco*-ácido **4** se obtuvo mediante una apertura oxidativa con el reactivo de Jones (Esquema 1).



Esquema 1. Ruta sintética para la obtención del *seco*-ácido **4**.

2. INTRODUCCIÓN

La síntesis de compuestos orgánicos relevantes, tales como los productos naturales, hormonas esteroidales, fitohormonas, agroquímicos, entre otros, representan un tema principal en la química científica e industrial debido a su aprovechamiento en diferentes campos como el farmacéutico, industria alimentaria, colorantes, plaguicidas, y una gran diversidad de usos, por lo tanto son el punto de contacto de la investigación interdisciplinaria en química, biología y medicina.

En la industria farmacéutica una gran cantidad de fármacos comerciales son de tipo esteroidal, muchos de ellos con estructura novedosa y otros conteniendo grupos funcionales oxigenados, nitrogenados, entre otros, que destacan por su actividad biológica.¹ Por lo anterior en la síntesis de fármacos esteroidales es bien conocido que a nivel industrial muchos de estos se obtienen a partir de sapogeninas espirostánicas, debido a que son compuestos muy abundantes en la naturaleza; hecho que ha permitido su uso como materias primas económicas en la síntesis de esteroides medicinalmente importantes,² que pueden ser obtenidos mediante la degradación de Marker de la cadena lateral espirostánica.³ Es gracias al descubrimiento de esta degradación, que hormonas esteroidales como los estrógenos y corticosteroides continúan formando parte de los fármacos más utilizados en la historia de la medicina.²

Por otra parte, el reciente descubrimiento de nuevos productos naturales de tipo esteroidal con gran diversidad de actividades biológicas y farmacéuticas, ha dado lugar a grandes avances en el estudio de la química de los espirostanos desde el punto de vista sintético, por lo que las sapogeninas espirostánicas en los últimos años se han utilizado como material de partida en la síntesis de diversos derivados esteroidales de tipo furostánico, espirostánico, análogos de brasinoesteroides⁴, OSW-1,⁵ cefalostatinas,^{6,7} análogos de icogenina,⁸ y otras sapogeninas anticancerígenas.⁹ La actividad biológica en muchos de estos compuestos depende de los grupos funcionales unidos al núcleo esteroidal, asimismo, de la estereoquímica de los centros quirales localizados en diferentes partes del esqueleto esteroidal.

Los “seco-esteroides” son estructuras muy similares a los esteroides excepto porque dos de los átomos de carbono en cualquier parte de los anillos que conforman el núcleo steroidal no se encuentran unidos. La palabra deriva de los verbos latín: *secare* “cortar”, latín: *stere* "sólido tridimensional", oid, del griego: *eidos* “forma”. Por lo anterior el prefijo *seco* se adiciona cuando existe la fisión de un anillo con la adición de un átomo de hidrógeno a cada grupo terminal, manteniendo la numeración del esteroide original. Un ejemplo de un *seco*-esteroide de vital importancia para el ser humano, es la vitamina D encargada de regular el paso de calcio a los huesos (Figura 1).

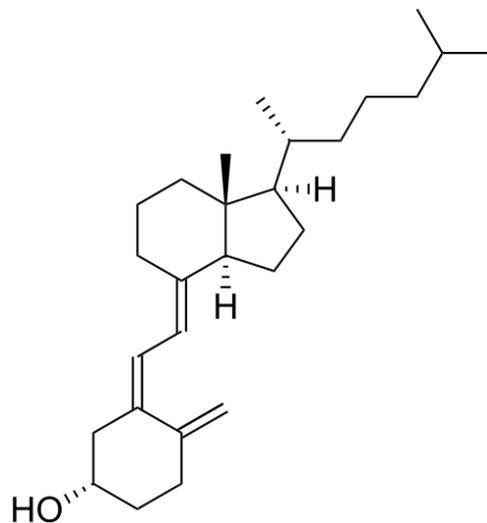


Figura 1. Vitamina D.

Muchos *seco*-esteroides se obtienen de productos naturales marinos y son metabolitos altamente funcionalizados en uno de los anillos del esqueleto tetracíclico mediante ruptura oxidativa.¹⁰ En cuanto a su estructura química estos metabolitos pueden dividirse en seis grupos principales, 5,6-, 8,9-, 8,14-, 9,10-, 9,11- y 13,17-*seco*-esteroides debido a la localización de la ruptura del anillo. Adicionalmente, se ha reportado que estos compuestos exhiben diferentes actividades biológicas, por ejemplo, citotóxica, antiinflamatoria, antimicrobiana, antiviral, etc.¹¹

Además se conoce que algunos *seco*-ácidos de tipo esteroidal poseen actividad antibacteriana, su efecto y probablemente el mecanismo de la actividad sobre el microorganismo es similar al del antibiótico ácido fusídico. Otro aspecto de gran relevancia de los *seco*-ácidos esteroidales es que son valiosos precursores en la síntesis de análogos de hormonas esteroidales y por lo tanto de especial interés en la química farmacéutica para la obtención de retro-esteroides los cuales no pueden ser preparados de manera natural.¹² Es así como la síntesis de nuevos derivados de *seco*-ácidos toma una gran importancia ya sea para la búsqueda de análogos del ácido fusídico o como bloques de construcción para la síntesis de análogos de productos naturales (Figura 2).¹³

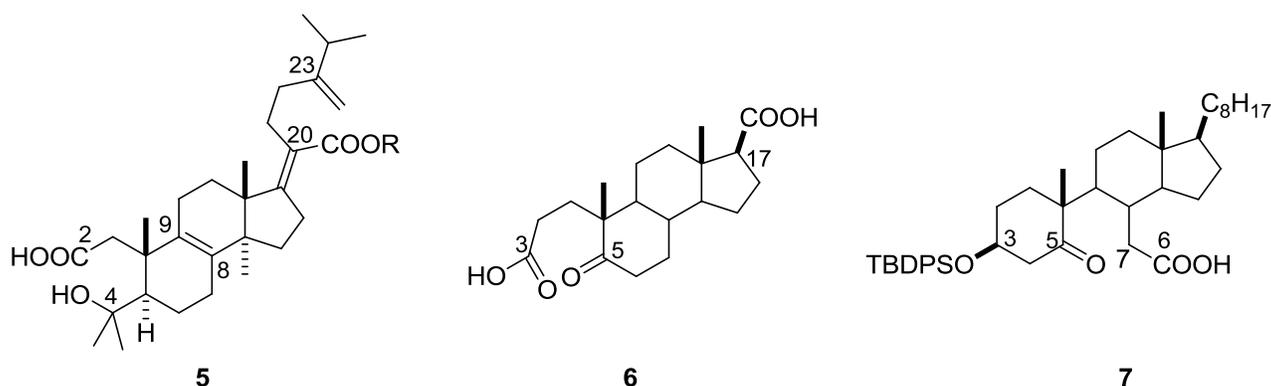


Figura 2. *Seco*-ácido análogo del ácido fusídico (5) y algunos intermediarios (6, 7) en la síntesis de azaesteroides.

Como ya se mencionó, diversas síntesis de productos naturales se han reportado en los últimos años⁴⁻⁸ a partir de sapogeninas espirostánicas, sin embargo, el uso de la diosgenina en la síntesis de *seco*-ácidos es un campo aun no explorado. Como consecuencia la obtención de un 5,6-*seco*-esteroide a partir de la diosgenina resulta de gran interés. Por lo anterior, parte de este trabajo consiste en la síntesis y caracterización de un *seco*-ácido a partir de diosgenina, debido a que es una sapogenina abundante y económica, además de contener un doble enlace en la posición cinco y seis que facilita la funcionalización en el anillo B del esqueleto esteroidal (Figura 3).

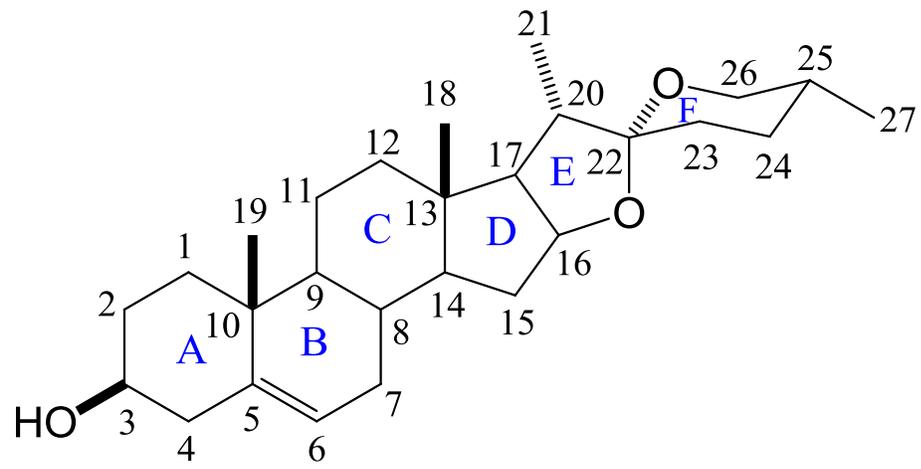
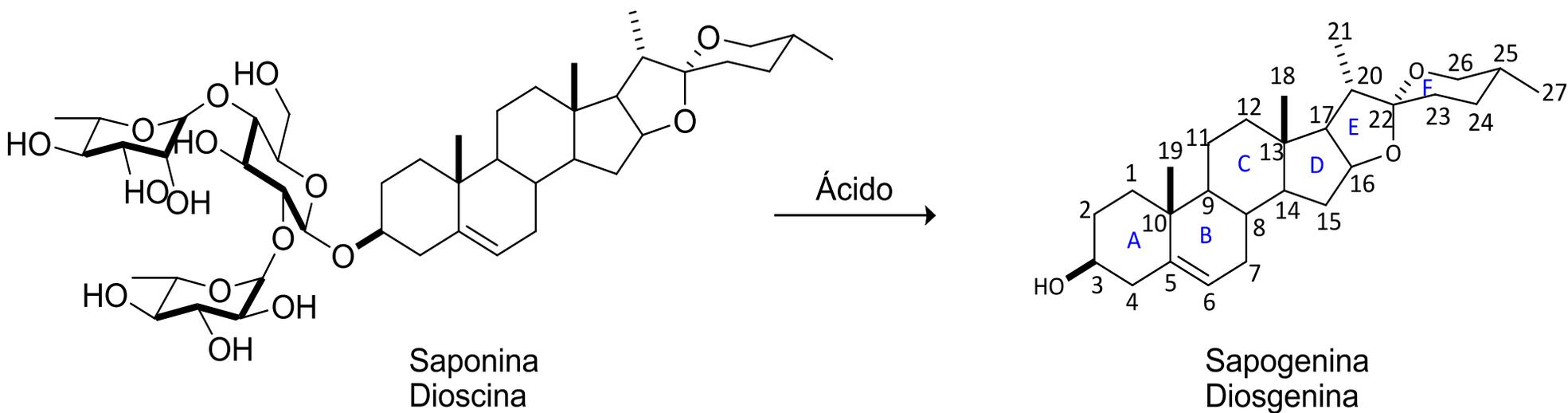


Figura 3. Estructura de la diosgenina.

3. ANTECEDENTES

Las saponinas esteroidales son glucósidos ampliamente distribuidos en el reino vegetal con varias actividades biológicas. Las del tipo espiroestánica son denominadas de esta forma por contener un espirocetal en la cadena terminal del aglicón, el azúcar se encuentra unido en el átomo de C-3, son las más abundantes 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. La hidrólisis ácida de las saponinas produce el aglicón denominado sapogenina (Esquema 2).¹⁴

La diosgenina (25*R*-spirostan-5-en-3β-ol) es el hidrolizado de la dioscina extraída de la rizoma del yame (*Dioscorea*), se encuentra ampliamente distribuida en varias plantas en forma de glucósido y representa una de las sapogeninas espiroestánicas más explotadas industrialmente a nivel mundial; está constituida por un esqueleto de 27 átomos de carbono y un sistema espirocetálico entre los anillos E y F de la cadena terminal. Presenta una fusión *trans* entre los anillos B/C y C/D, dos metilos angulares (Me-18, Me-19) orientados en el plano β, y un tercer metilo (Me-21) que se encuentra α-orientado (20*S*). El C-27 está α-orientado en posición ecuatorial por lo que tiene configuración 25*R*.



Esquema 2. Hidrólisis ácida de la dioscina.

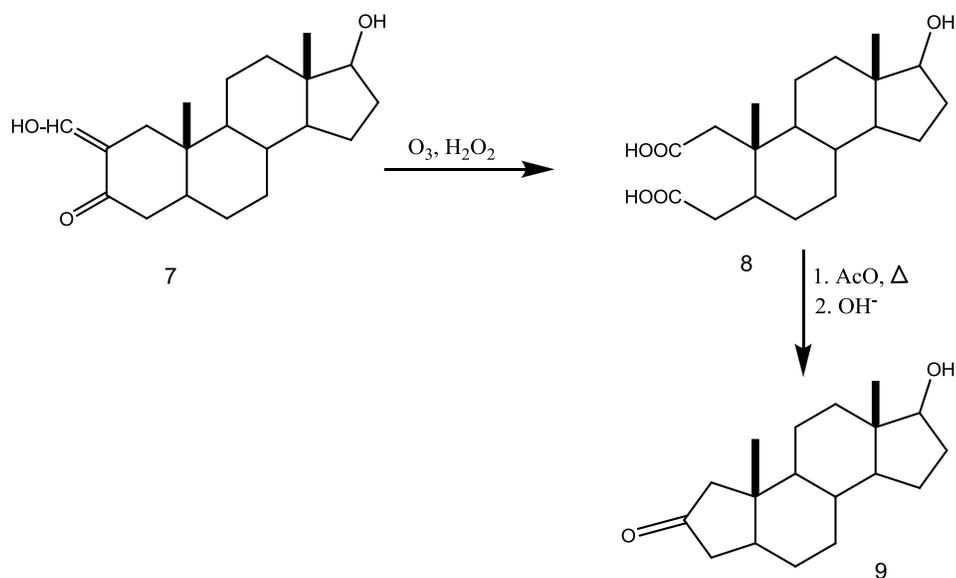
La diosgenina se encuentra distribuida en las familias de; *Dioscoreaceae* (*Dioscorea*), *Liliaceae* (*Smilax*, *Trillium*), *Solanaceae*, *Costaceae* y *Leguminosae*.^{15a-b} Principalmente se extrae de *Dioscorea*, *Costus* y *Trigonella* que son las más usadas para la obtención de diosgenina.^{15c}

La diosgenina presenta una amplia gama de actividades biológicas tales como: anti-cancerígenas,¹⁶ anti-viral,¹⁷ en enfermedades cardiovasculares,¹⁸ anti-inflamatorio,¹⁹ actividad osteogénica,²⁰ efectos prebióticos,²¹ anti-microbianos,²² además de ser un material de partida para la síntesis de anticonceptivos orales, hormonas sexuales y otros compuestos esteroidales.

Varias síntesis de productos naturales y sus análogos a partir de diosgenina han sido desarrolladas en los últimos años; algunos con potente actividad antitumoral,^{23a} análogos de norbrasinosteroides,^{23b} síntesis de oxiesteroides,^{23c-d} entre otros.^{23e-f}

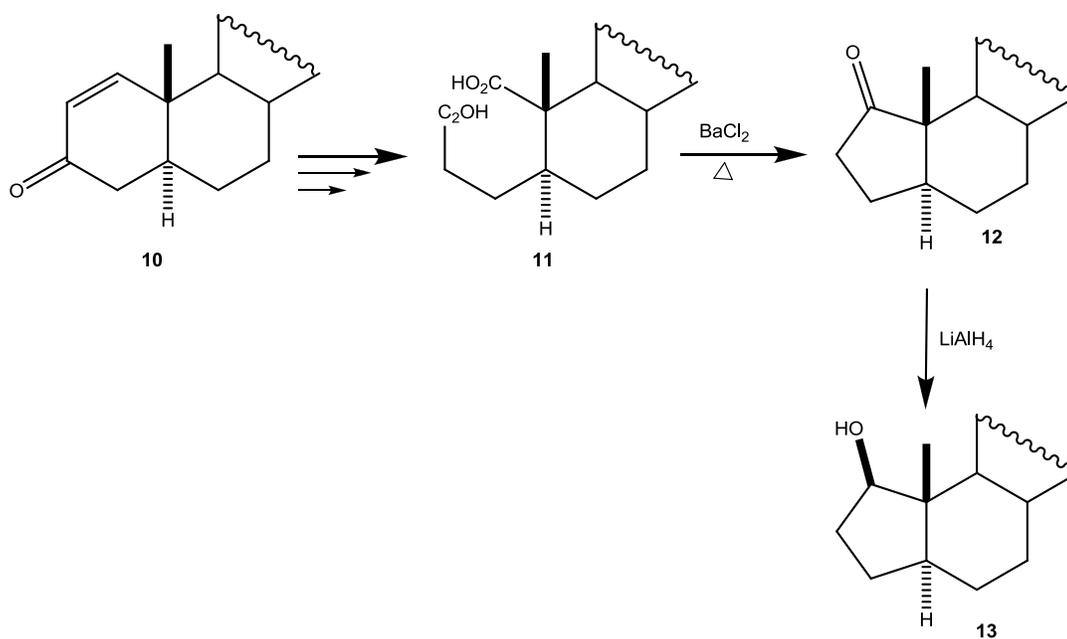
Sin embargo, el uso de esta materia prima en la síntesis de *seco*-ácidos es un campo aun no explorado. Como consecuencia la obtención de un 5,6-*seco*-esteroide a partir de la diosgenina resulta de gran interés. En síntesis orgánica una de las estrategias principales en la búsqueda de nuevos análogos esteroidales consiste en modificar algunas regiones específicas del núcleo esteroide a continuación se describen algunas de estas.

Los primeros reportes de la síntesis de algunos *seco*-ácidos, datan de los años 1959 y 1961. Weisenborn²⁴ en su interés por la obtención de A-Noresteroides realizó la ozonólisis del derivado de 2-hidroximetileno de testosterona (**7**), obteniendo el 2,3-*seco*-diácido (**8**) (Esquema 3) que posteriormente fue convertido mediante celentamiento al derivado de A-nortestosterona (**9**).



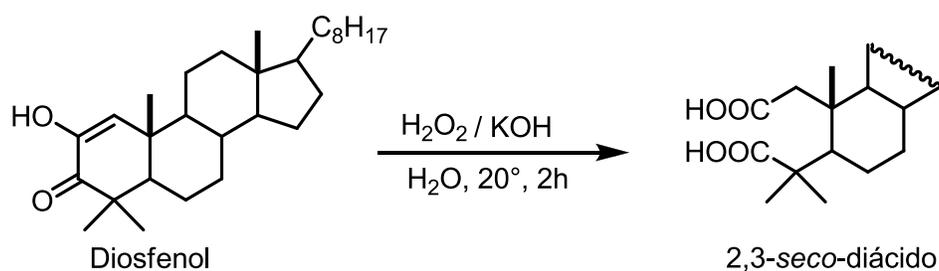
Esquema 3. Obtención de A-Nortestosterona (**9**) a partir de un 2,3-seco-diácido (**8**).

La preparación del ácido 1,2-seco-5 α -colestan-1,2-dioico (**11**) se realizó mediante una serie de varios pasos a partir del compuesto 5 α -colest-1-en-3-ona (**10**); la obtención de **11** se llevó a cabo vía ozonólisis de un intermediario de tipo 5 α -colestan-1 eno. La síntesis del seco-diácido **11** fue de gran interés ya que mediante un cierre intramolecular del anillo A, con calentamiento en $BaCl_2$ y posterior reducción con hidruro de litio y aluminio se transformó en el derivado esteroideal A-nor-5 α -colestan-1 β -ol (**13**) (Esquema 4).²⁵⁻²⁶



Esquema 4. Obtención del *A-nor-5α-colestan-1β-ol* (**13**) vía el *seco*-diácido **11**.

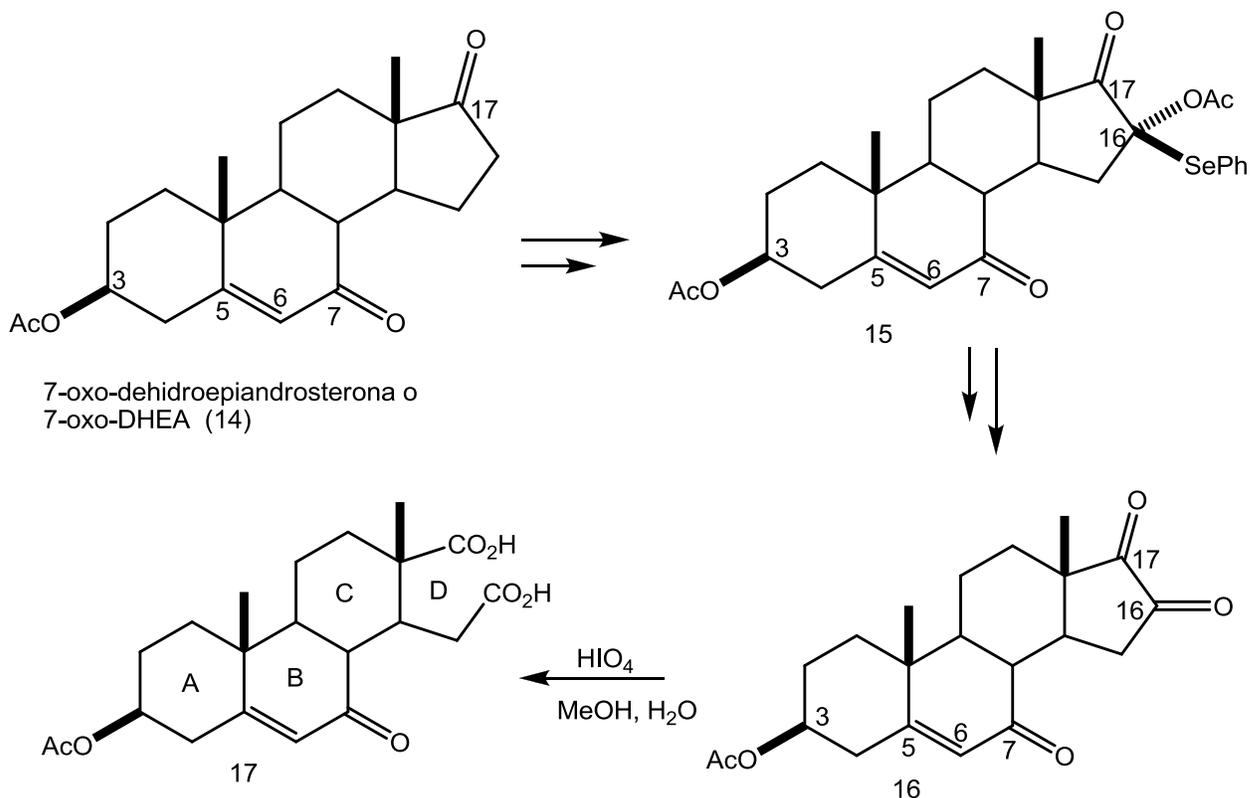
Chaudhry y colaboradores,²⁷ en su interés por el estudio de la reactividad química de triterpenos y compuestos relacionados, realizó la oxidación de algunos derivados de tipo 4,4-dimetilcolestan-3-ona obteniendo el *seco*-diácido en rendimientos del 72% mediante oxidación del diosfenol con peróxido de hidrógeno en medio alcalino (Esquema 5).



Esquema 5. Obtención del *seco*-diácido vía oxidación alcalina.

En 1998 se reportó la síntesis de *seco*-esteroides derivados de la 7-oxo-dehidroepiandrosterona o 7-oxo-DHEA (**14**), así como los resultados de las pruebas biológicas de estos compuestos sobre la inducción de enzimas termogénicas en

ratas. La obtención de 16,17-dionas (**16**) y D-seco-androsteronas (**17**) (Esquema 6) se realizó mediante una reacción de Seleno-Pummerer para oxidar la posición 16, esta ruta demostró ser eficiente en comparación con otros procedimientos previamente reportados. Como resultado de las pruebas biológicas encontraron que el ácido 16,17-dicarboxílico (**17**) obtenido vía apertura del anillo D indujo la formación de la enzima málica citosólica en ratas con dieta controlada.²⁸



Esquema 6. Obtención de 16,17-dionas y D-secoandrosteronas mediante reacción de Seleno-Pummerer.

La síntesis del 4 α -(2-propenil)-5,6-seco-colestan-3 α -ol (**20**) análogo del agente hipocolesterolémico 4 α -(2-propenil)-5 α -colestan-3 α -ol o LY-295427 (Figura 4) se ha reportado en varios pasos vía un intermediario 5,6-seco-aldehído (**19**) (Esquema 7).²⁹

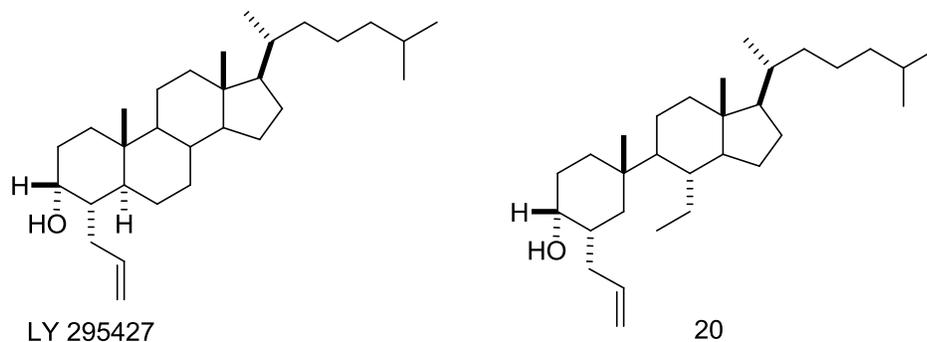
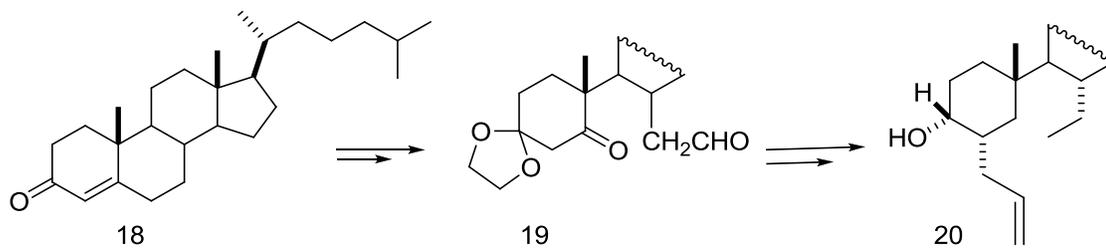
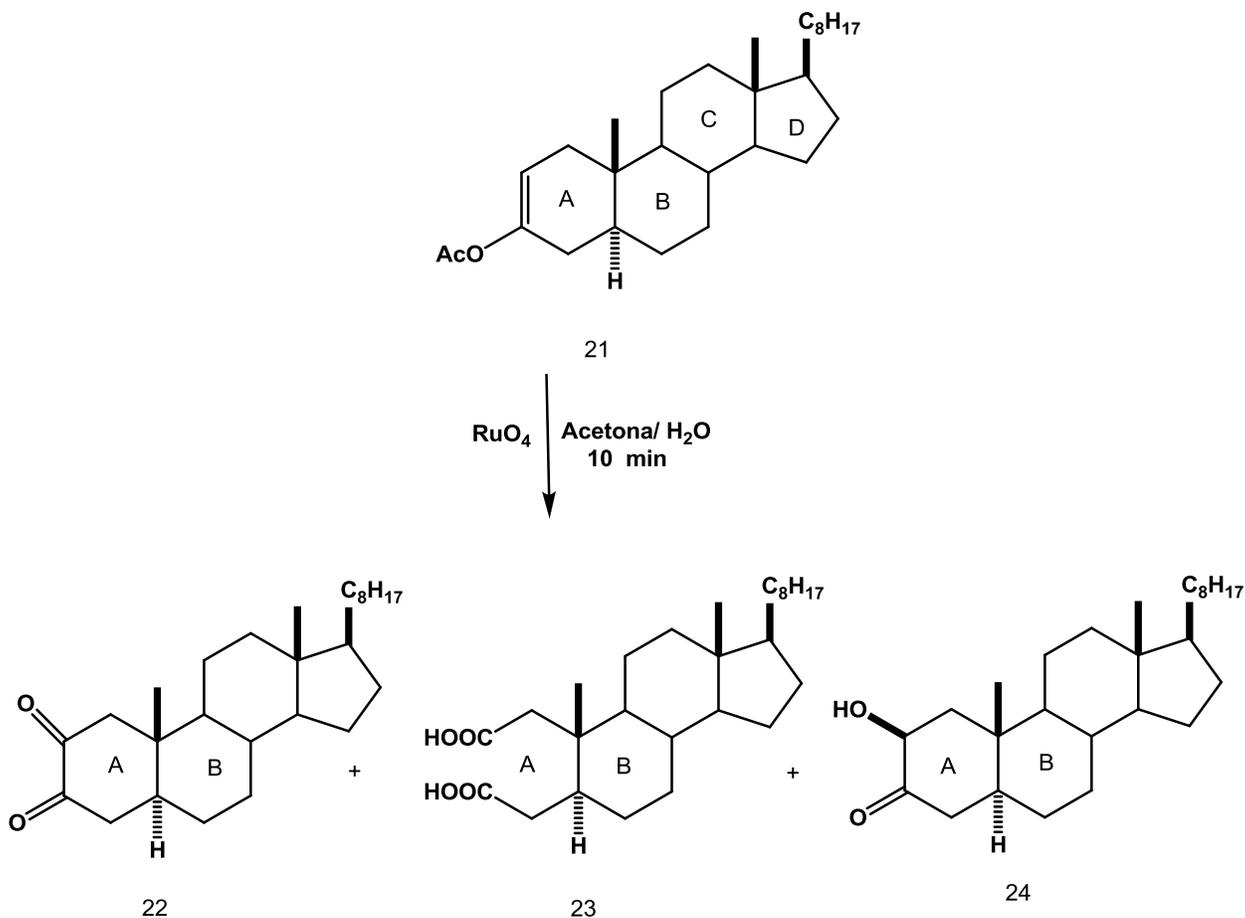


Figura 4



Esquema 7. Síntesis del 4 α -(2-propenil)-5,6-secocolestan-3 α -ol.

Musumeci en el 2004, con el interés de obtener nuevos derivados esteroidales funcionalizados en los anillos A y B, exploró la oxidación del compuesto 5 α -colest-2-en-3-acetato **21** con tetraóxido de rutenio obteniendo tres productos la dicetona **22**: un ácido seco-dicarboxílico **23** y la α -hidroxicetona **24**. Las estructuras de estos nuevos derivados esteroidales incluyendo los aspectos estereoquímicos fueron establecidas mediante el análisis de los datos espectroscópicos (Esquema 8).³⁰



Esquema 8. Obtención del *seco*-diácido mediante oxidación con RuO_4 .

Considerando la gran diversidad de actividades biológicas que presentan las sapogeninas espiroestánicas en su forma natural, así como la importancia de la síntesis de análogos de productos naturales a partir de estos compuestos, en nuestro grupo de trabajo estamos interesados en realizar diversas modificaciones en el núcleo estereoidal en estos compuestos espiroestánicos. Por ello, parte de este trabajo consistió en realizar la síntesis y caracterización espectroscópica de un nuevo *seco*-ácido a partir de diosgenina, este compuesto será de gran utilidad como intermedio en la síntesis de otros análogos estereoidales.

4. JUSTIFICACIÓN

Diferentes metodologías para la preparación de *seco*-ácidos se han llevado a cabo a partir de diversos sustratos con la finalidad de sintetizar nuevos derivados esteroidales,^{13a-13c} así mismo, a la fecha no existen reportes relacionados con la síntesis de *seco*-ácidos utilizando diosgenina como materia prima. En base a nuestra metodología propuesta en el esquema 1 y considerando que la diosgenina es una materia prima económica que contiene un doble enlace entre los carbonos 5 y 6, la ruta de la síntesis se dirigió principalmente a la funcionalización del anillo B del esqueleto esteroidal con el objetivo de obtener el *seco*-ácido con potencial aplicación como intermediario para preparar otros análogos esteroidales de interés en nuestro grupo de trabajo.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo General

Sintetizar y caracterizar el nuevo seco ácido **4** a partir de diosgenina (**1**)

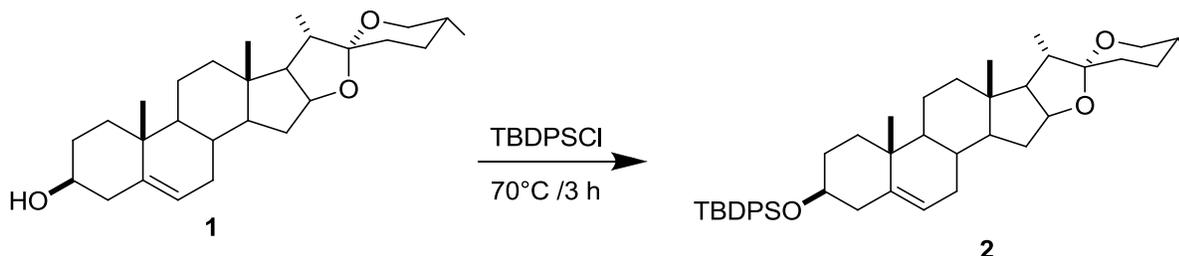
5.2 Objetivos Específicos

- a) Preparar los intermediarios **2** y **3** a partir de diosgenina (**1**).

- b) Purificar y caracterizar los compuestos obtenidos mediante métodos espectroscópicos: Resonancia Magnética Nuclear (RMN), Espectroscopía de Infrarrojo (IR), Espectrometría de Masas (EM) y de ser posible análisis por difracción de rayos-X.

6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1 Obtención del (25*R*)-éter-3β-TBDPS-espirostan-5-eno (2)



Esquema 9. Protección de la diosgenina con cloruro de *tert*-butildifenilsilano.

Se decidió proteger con un grupo voluminoso al hidroxilo de la diosgenina (1), debido a que existen antecedentes en los que reportan la pérdida del grupo acetato en la posición 3 al realizar la apertura oxidativa del anillo B en condiciones de Jones. Por lo anterior la diosgenina (1) se hizo reaccionar con cloruro de *tert*-butildifenilsilano en imidazol y DMF, obteniendo el compuesto(2) en forma de sólido blanco con punto de fusión 165-167°C y en 95% de rendimiento (Esquema 9).

La asignación de la estructura del compuesto 2 se realizó con ayuda de las técnicas espectroscópicas de tal forma que el espectro de infrarrojo para este compuesto mostró bandas de absorción características del benceno, (C-H) en 3071 cm⁻¹ y (Ar-H) en 699 cm⁻¹, así como las bandas de estiramiento de hidrocarburos y las de estiramiento asimétrico de éteres en 2941 cm⁻¹ (CH₂), 1076 cm⁻¹ (C-O-C) y 1050 cm⁻¹ (C-O-C) respectivamente. El espectro de masas alta resolución mostró el ion molecular 653.438451 [M+H]⁺ y en el de baja resolución se observó en 595 una el fragmento [M-*tert*-butilo]⁺. La obtención de este compuesto se confirmó mediante el análisis de su espectro de RMN de ¹H (Figura 5), observando 2 señales múltiples características de hidrógenos aromáticos en 7.70–7.63 ppm y 7.43–7.32 ppm que integran para un total de 10 protones, además a campos altos en 1.05 ppm aparece una señal simple que integra para 9 hidrógenos confirmando la protección del TBDPS en el grupo hidroxilo del C-3. En 5.11 ppm se encuentra una señal característica del protón vinílico (H-6) y

esta a su vez mostró correlación con la señal en 120.9 ppm (C-6) en el experimento HETCOR. Las dos señales múltiples en 4.39 ppm y 3.53 ppm se asignaron a los H-16 y H-3 base de oxígeno, además las señales doble de dobles características de los hidrógenos diastereotópicos de la posición 26, observadas en 3.46 ppm ($J_{gem} = 10.9$ Hz, $J_{26ec-25ax} = 4.2$ Hz) y 3.36 ppm ($J_{gem} = J_{26ax-25ax} = 10.9$ Hz) fueron asignadas al H-26 ecuatorial y H-26 axial respectivamente. Adicionalmente se encontraron dos señales doble de dobles en 2.33 ppm ($J_{gem} = J_{4ax-3\alpha} = 13.3$ Hz) y 2.13 ppm ($J_{gem} = 13.3$ Hz, $J_{4ec-3\alpha} = 6.8$ Hz) que se asignaron al H-4 axial y H-4 ecuatorial respectivamente. Las señales a campos más altos, asignadas a los metilos secundarios Me-21 ($J_{21-20\beta} = 7.0$ Hz), Me-27 ($J_{27-25ax} = 6.3$ Hz) y las de los metilos angulares Me-19 y Me-18 se asignaron en 0.95, 0.77, 0.99 y 0.76 ppm, respectivamente.

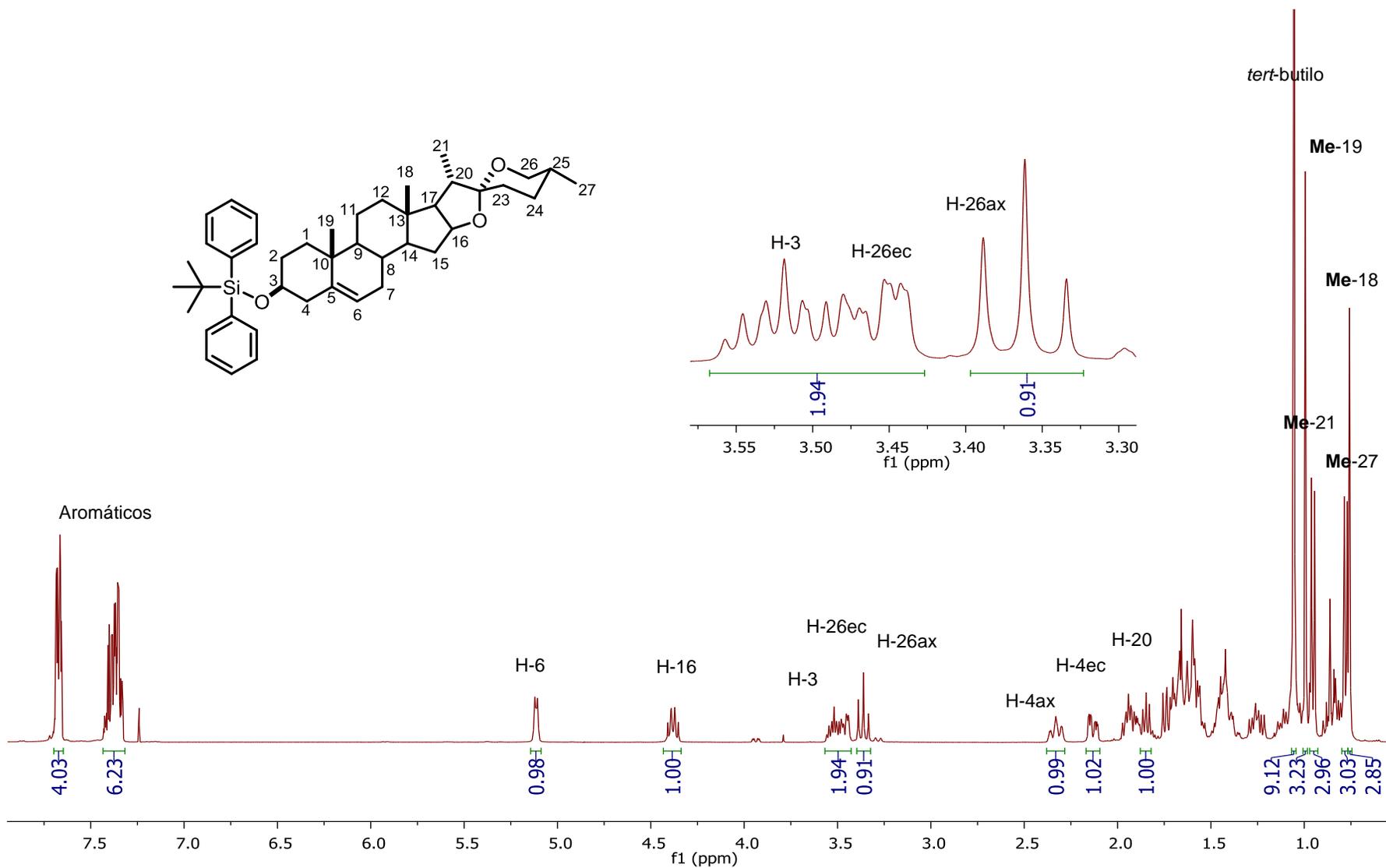
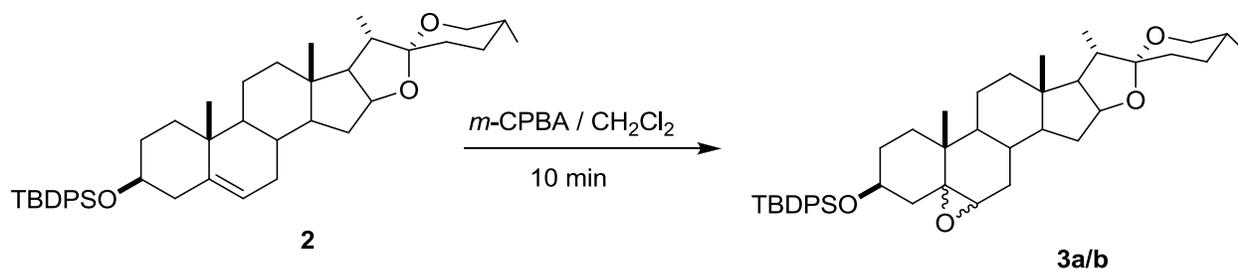


Figura 5. Espectro de RMN de ¹H del compuesto 2 a 400 MHz en CDCl₃.

6.2 Obtención del epóxido 3a/b



Esquema 10. Oxidación del compuesto **2** con ácido meta cloroperbenzoico.

Cuando el compuesto **2** se hizo reaccionar en iguales condiciones de reacción establecidas para la oxidación del colesterol,^{13c} se encontró que se obtenían otros subproductos. En nuestro interés por mejorar el rendimiento de la reacción, se probaron diferentes condiciones de reacción, de tal forma que el uso de una menor cantidad de equivalentes del ácido meta cloroperbenzoico y en un tiempo de reacción de 10 minutos permitió obtener los epóxidos **3a/b** en rendimiento del 91% (Esquema 10). Mediante el análisis del espectro de RMN de ¹H del crudo de la reacción se confirmó la obtención de la mezcla de epóxidos en una relación 3:1 de los diastereómeros α y β . De acuerdo a la literatura se sabe que la oxidación con perácidos es estereoselectiva hacia la orientación α .³¹

En el espectro de RMN de ¹H (Figura 6) la desaparición del protón vinílico H-6 en 5.11 ppm y la aparición de 2 señales dobles en 2.75 ppm y 2.73 ppm correspondientes al H-6 α y H-6 β desplazadas a campo alto confirmaron la formación de los epóxidos **3a/b**. El H-16 base de oxígeno se observa en 4.35 ppm como una señal múltiple mientras que las dos señales múltiples encontradas en 3.93 ppm y 3.61 ppm se asignaron al H-3 y H-3' base de oxígeno de la mezcla de epóxidos α/β .

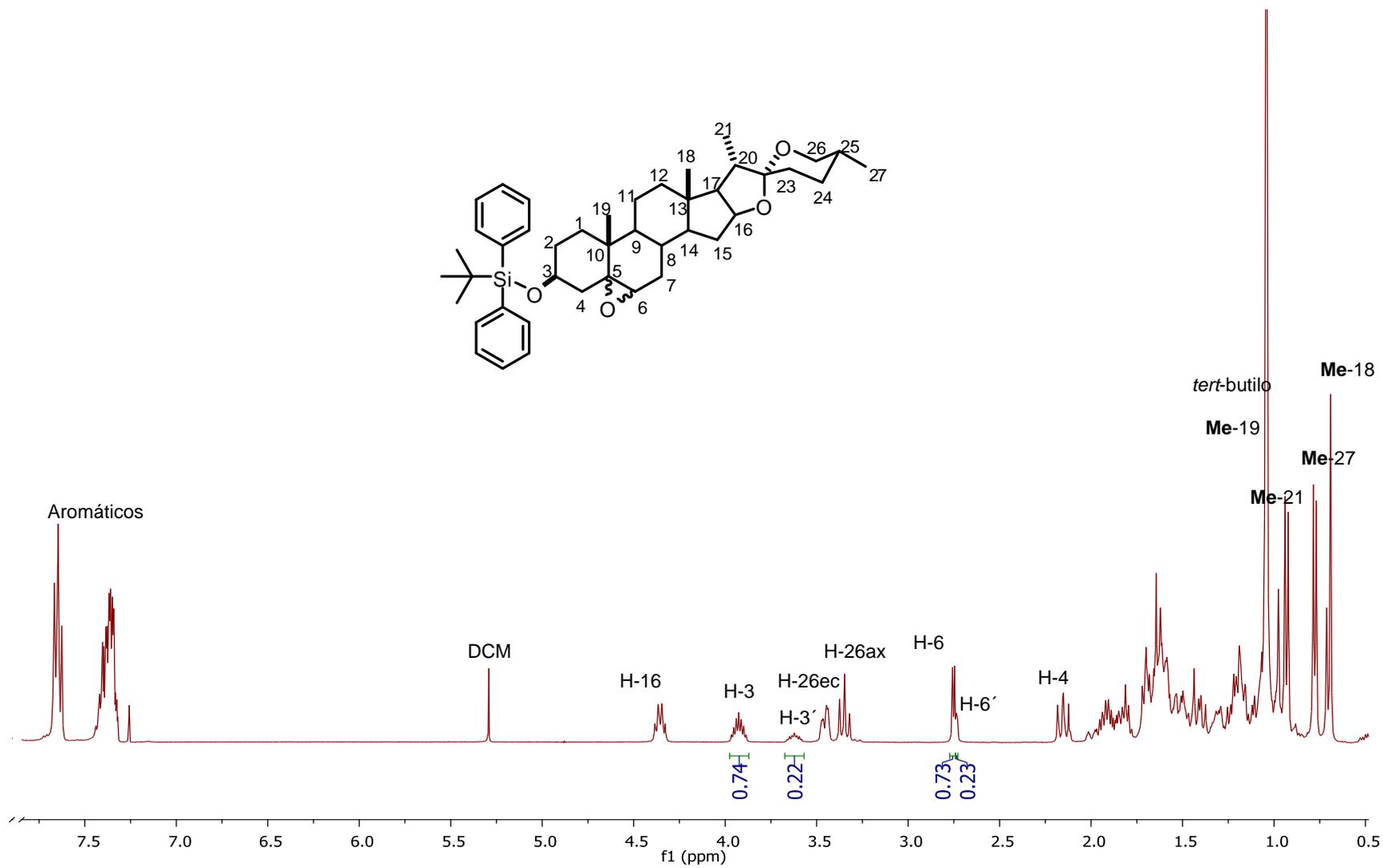


Figura 6. Espectro de RMN de ^1H de la mezcla del compuesto **3a/b** a 400 MHz en CDCl_3 .

La estructura del epóxido **3a** se confirmó mediante el análisis por difracción de rayos-X. En la (Figura 7) se muestra el diagrama ORTEP de **3a** que cristalizó en forma de solvato con una molécula de cloroformo en un sistema ortorrómbico, grupo espacial $P2_12_12_1$. En el diagrama se observa que el isómero obtenido es el que presenta la orientación α , que coincide con el que se obtiene en mayor proporción.

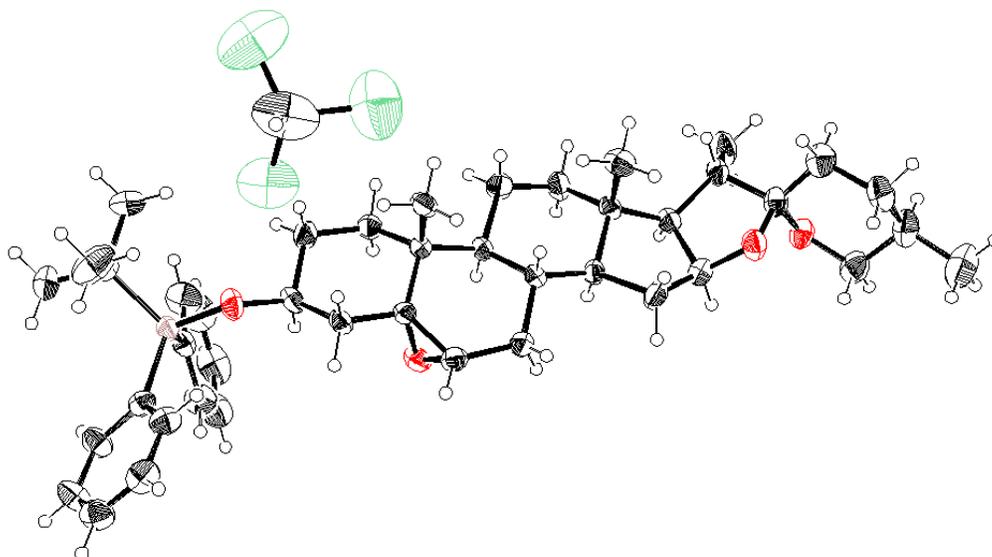


Figura 7. Diagrama ORTEP del compuesto **3a**.

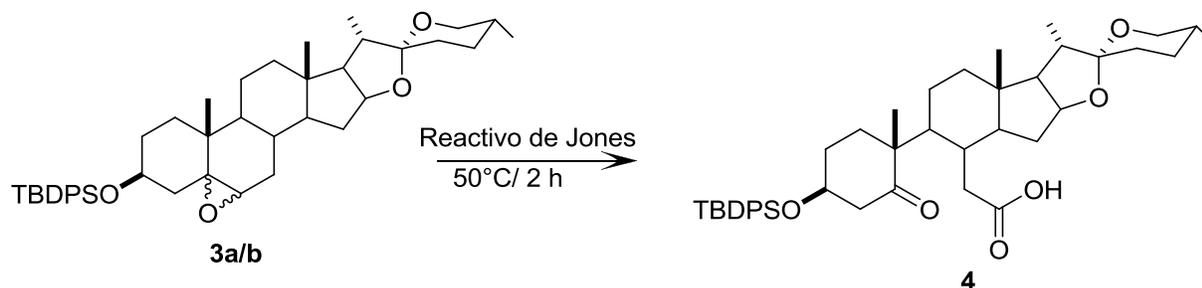
Tabla 1. Datos Cristalográficos del compuesto **3a**.

Datos del cristal	
Fórmula empírica	C ₄₄ H ₆₁ C ₁₃ O ₄ Si
Peso molecular (g mol ⁻¹)	788.37
Temperatura	293(2) °K
Longitud de onda	0.71073 Å
Sistema cristalino	Ortorrómbico
Grupo espacial	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
Parámetros de la celda	
a (Å)	7.5610(2)
b (Å)	16.0665(5)
c (Å)	35.9299(12)
α (°)	90°
β (°)	90°
γ (°)	90°
Volumen (Å) ³	4364.7(2)
Z	4
Densidad calculada (Mg/m ³)	1200
Coefficiente de absorción (mm ⁻¹)	0.277
F (000)	1688
Tamaño del cristal	0.2 x 0.18 x 0.09 mm
Datos de colección	
Intervalos del ángulo θ	2.98 a 27.68°
Reflexiones colectadas/únicas	10585/5445 [R(int) = 0.0490]
Amplitud del ángulo θ	27.68 68.6 %
Corrección de absorción	Ninguna
Método de refinamiento	Full-matrix least-squares on F ²
Datos/ restricciones/ parámetros	5445 / 0 / 473
Bondad de ajuste sobre F ²	1.037
Índices de R final [<i>I</i> >2σ(<i>I</i>)]	R1 = 0.0766, wR2 = 0.2105
Todos los datos R	R1 = 0.0952, wR2 = 0.2276
Parámetros absoluto de estructura	0.04(17)
Coefficiente de extinción	0.031(6)
ρ mínimo e(Å ³)	-0.353
ρ máximo e(Å ³)	0.747

Tabla 2. Distancias y ángulos de enlace selectos para el compuesto **3a**.

Distancias de enlace en Å			
C(3)-O(3)	1.425(6)	C(16)-O(16)	1.442(7)
C(3)-C(4)	1.511(7)	C(20)-C(22)	1.554(8)
C(4)-C(5)	1.506(7)	C(22)-O(16)	1.421(7)
C(5)-O(5)	1.460(6)	C(22)-O(26)	1.433(6)
C(5)-C(6)	1.469(7)	C(22)-C(23)	1.473(9)
C(6)-O(5)	1.457(7)	C(15)-C(16)	1.511(9)
C(5)-O(5)	1.460(6)	C(16)-O(16)	1.442(7)
C(15)-C(16)	1.511(9)	C(26)-O(26)	1.441(8)
C(34)-Si(1)	1.869(5)	C(26)-O(26)	1.441(8)
C(40)-Si(1)	1.894(5)	O(3)-Si(1)	1.640(4)
Ángulos de enlace (°)			
O(5)-C(5)-C(6)	59.7(3)	C(21)-C(20)-C(22)	114.1(5)
O(5)-C(5)-C(4)	112.0(4)	C(17)-C(20)-C(22)	103.2(5)
C(6)-C(5)-C(4)	120.4(4)	O(16)-C(22)-O(26)	109.1(4)
O(5)-C(5)-C(10)	114.4(4)	O(16)-C(22)-C(23)	109.1(5)
C(6)-C(5)-C(10)	120.4(5)	O(26)-C(22)-C(23)	111.7(5)
C(4)-C(5)-C(10)	115.9(4)	O(16)-C(22)-C(20)	104.3(5)
O(5)-C(6)-C(5)	59.9(3)	O(26)-C(22)-C(20)	106.7(4)
O(5)-C(6)-C(7)	114.4(5)	C(23)-C(22)-C(20)	115.6(5)
C(5)-C(6)-C(7)	122.5(5)	C(22)-C(23)-C(24)	112.2(6)
C(16)-C(15)-C(14)	101.8(4)	C(6)-O(5)-C(5)	60.5(3)
O(16)-C(16)-C(15)	111.2(5)	C(22)-O(16)-C(16)	106.7(4)
O(16)-C(16)-C(17)	105.1(4)	C(22)-O(26)-C(26)	112.8(4)
C(15)-C(16)-C(17)	107.8(4)		
C(20)-C(17)-C(16)	104.9(4)		
C(21)-C(20)-C(17)	115.0(5)		

6.3 Preparación de (25*R*)-ácido-3β-*tert*-butildifenilsililoxi-5-oxo-5,6-*seco*-espirostan-6-oico (4).



Esquema 11. Oxidación de Jones.

El compuesto **4** se obtuvo mediante la oxidación de Jones, reacción que promueve la apertura del epóxido y posteriormente la ruptura entre los carbonos C-5 y C-6 para generar una cetona y el correspondiente ácido carboxílico (Esquema 11). Para llevar a cabo esta reacción se inició utilizando 6 eq. del reactivo de Jones el cual se adicionó gota a gota a la mezcla de epóxidos previamente disuelto en acetona/CH₂Cl₂ manteniendo la reacción a temperatura ambiente para evitar la apertura de la cadena lateral, sin embargo, bajo estas condiciones no se observó la formación del *seco*-ácido **4**, debido a esto se decidió aumentar la temperatura a 50°C con el fin de propiciar la obtención de este derivado. Finalmente la obtención de **4** se favoreció cuando se utilizaron 12 eq. del reactivo de Jones manteniendo la reacción durante 2 h a 50°C. Después de la purificación del crudo mediante cromatografía en columna se obtuvo un sólido ligeramente amarillo con punto de fusión de 102-105°C en un rendimiento del 45%.

La asignación de la estructura del nuevo compuesto **4** se realizó con ayuda de las técnicas espectroscópicas, de tal forma que el espectro de infrarrojo para este compuesto mostró bandas de absorción características del benceno, (C-H) en 3071 cm⁻¹ y (Ar-H) en 701 cm⁻¹, así como las bandas de estiramiento de hidrocarburos y las de vibración de carbonilos de cetona y ácidos carboxílicos en 2928 cm⁻¹ (CH₂), 1731 (C=O_{ácido}) y 1703 (C=O_{cetona}) respectivamente (Figura 8). El espectro de masas para este compuesto mostró el ion molecular menos el fragmento del TBDPSO en 444 uma.

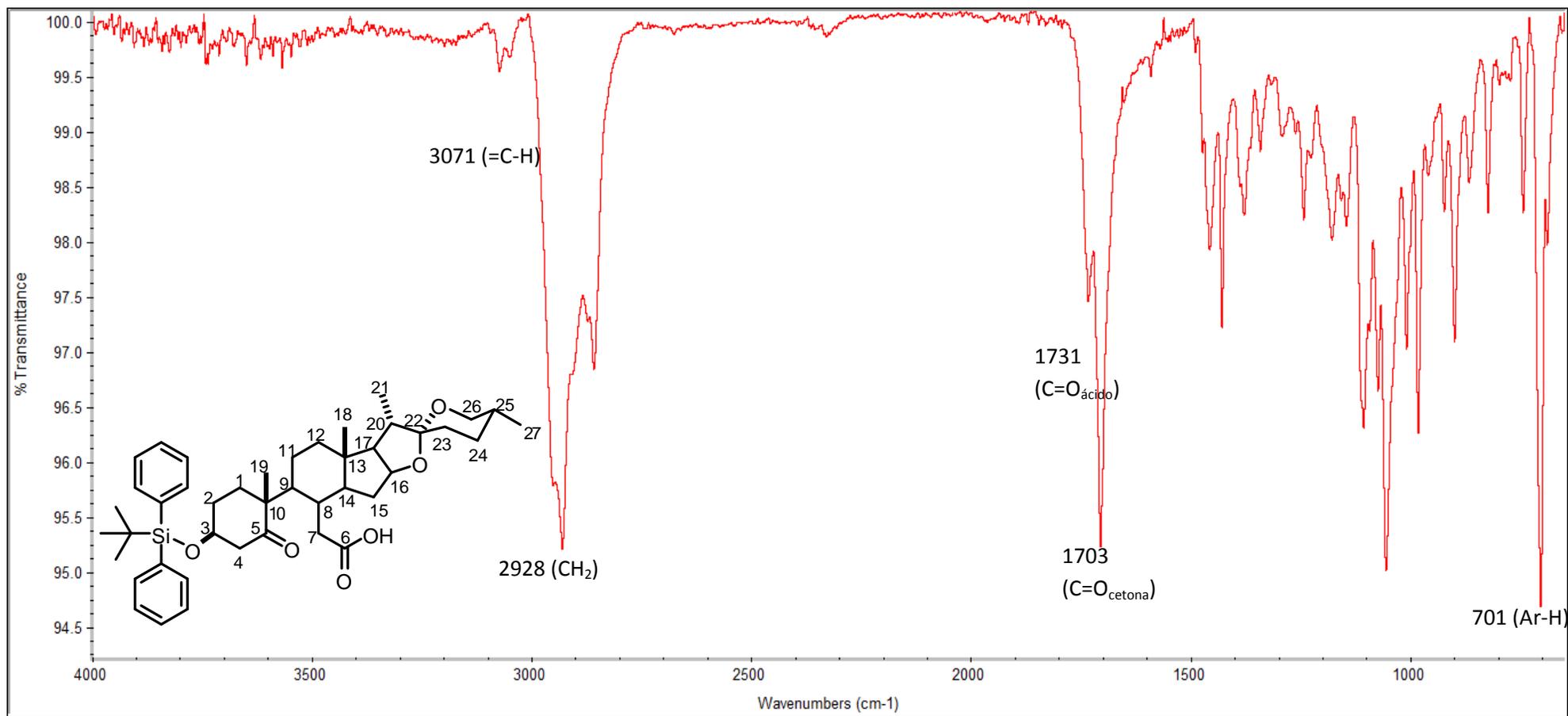


Figura 8. Espectro de IR del compuesto 4

En el espectro de RMN de ^1H del compuesto **4** (Figura 9) se observa que la señal del H-3 se desplaza 0.45 ppm hacia campos bajos con respecto a la señal que se observó para el H-3 del epóxido **3a/b** (Figura 6), debido a esto se traslapa con la señal múltiple de H-16 base de oxígeno asignada en 4.38 ppm. Los hidrógenos diastereotópicos de la posición 26 se observan como dos señales doble de dobles en 3.45 ppm ($J_{gem} = 11.0$ Hz, $J_{26ec-25ax} = 3.3$ Hz) y 3.34 ppm ($J_{gem} = J_{26ax-25ax} = 11.0$ Hz) para H-26 ecuatorial y H-26 axial respectivamente. En 2.91 ppm se observó una señal doble de dobles correspondiente al H-4 ecuatorial con una constante de acoplamiento de ($J_{gem} = 13.1$ Hz, $J_{4ec-3ax} = 3.7$ Hz) mientras que el H-4 axial se observó en 2.36 ppm ($J_{gem} = J_{4ax-3ax} = 13.1$ Hz) como una señal doble ancha. A campos altos los Me-19, *tert*-butilo, Me-21 ($J_{21-20\beta} = 6.9$ Hz), Me-18 y Me-27 ($J_{27-25ax} = 6.3$ Hz) se asignaron en 1.10, 1.03, 0.95, 0.80, y 0.77 ppm respectivamente.

El espectro de RMN de ^{13}C (Figura 9) fue de gran utilidad para confirmar la formación del *seco*-ácido, ya que en 216.9 ppm se observó una señal característica para carbonilo de cetona, mientras que la aparición de la señal en 177.6 ppm confirmó la presencia de un carbonilo de ácido carboxílico, además se continua observando en 109.3 ppm, la señal de C-22 del espirocetal, con lo cual podemos concluir que el compuesto obtenido no se encuentra abierto de la cadena lateral.

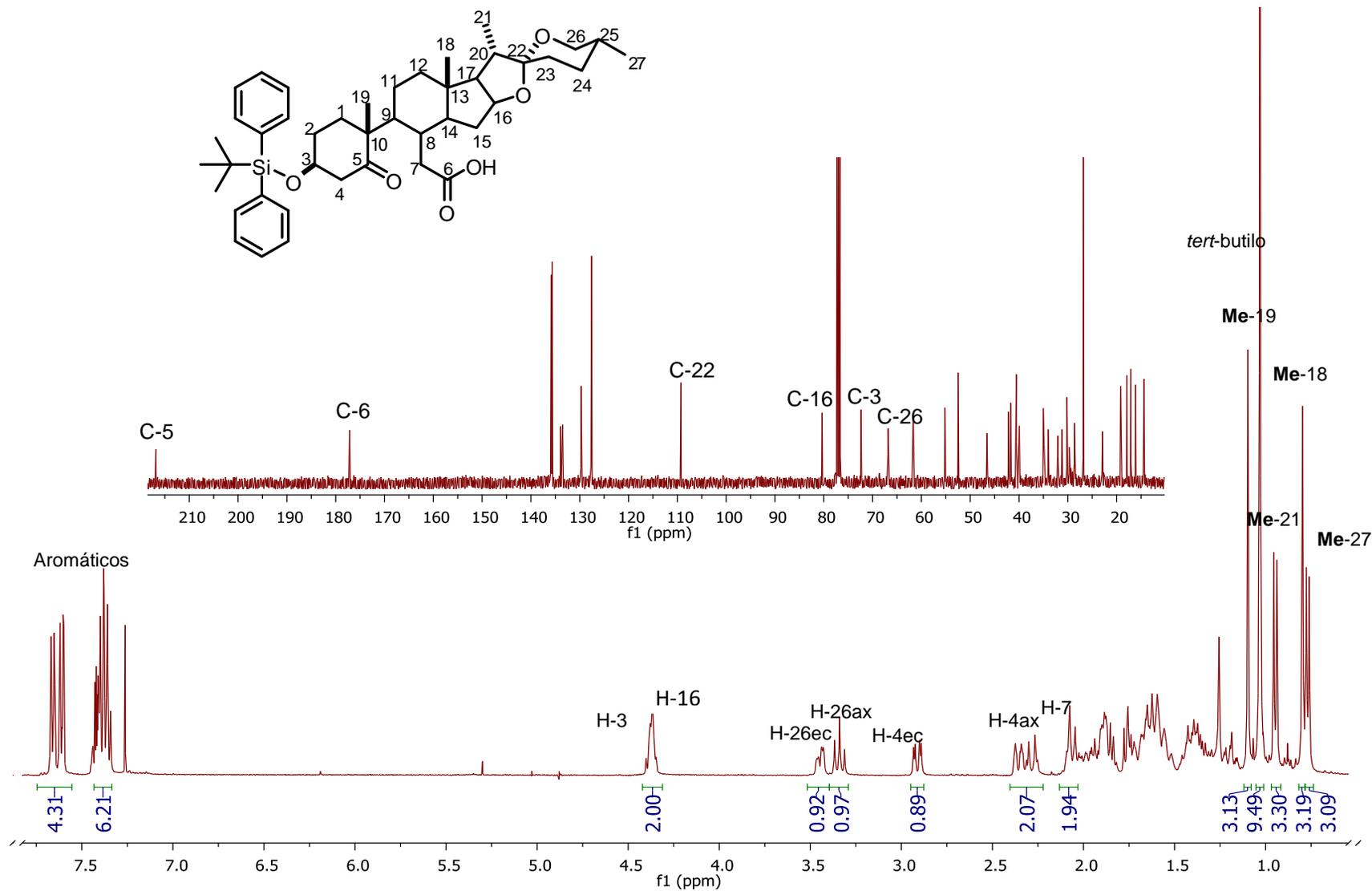


Figura 9. Espectro de RMN de ^1H y ^{13}C del compuesto 4 a 400 MHz en CDCl_3 .

El experimento HMBC (Tabla 3, ver Anexo) permitió establecer correlaciones heteronucleares (H-C) a larga distancia, a dos y tres enlaces por lo que resultó de gran utilidad en especial para la asignación inequívoca de carbonos cuaternarios, así como algunos CH, CH₂ y CH₃.

De tal forma que en el espectro HMBC para el compuesto **4** (Figura 10) se observaron las siguientes correlaciones: A dos enlaces del H-4_{ec} (2.91 ppm), H-4_{ax} (2.36 ppm) y a tres enlaces del H-3 (4.38 ppm) con el carbonilo C-5 (216.9 ppm); para el C-6 (177.6 ppm) se observó correlación a tres enlaces con H-8 (2.07 ppm); además C-22 (109.3 ppm) mostró correlación a tres enlaces con CH₃-21 (0.95 ppm), H-26_{ax} (3.34 ppm), H-26_{ec} (3.45 ppm) y a dos enlaces con H-20 (1.85 ppm). También se observaron otras correlaciones características como son las del C-26 (66.9 ppm) a tres enlaces con CH₃-27 (0.77 ppm); C-13 (40.6 ppm) a tres enlaces con H-20 (1.85 ppm), H-15 (1.94 ppm) y H-16 (4.38 ppm) y a dos enlaces con H-17 (1.76 ppm).

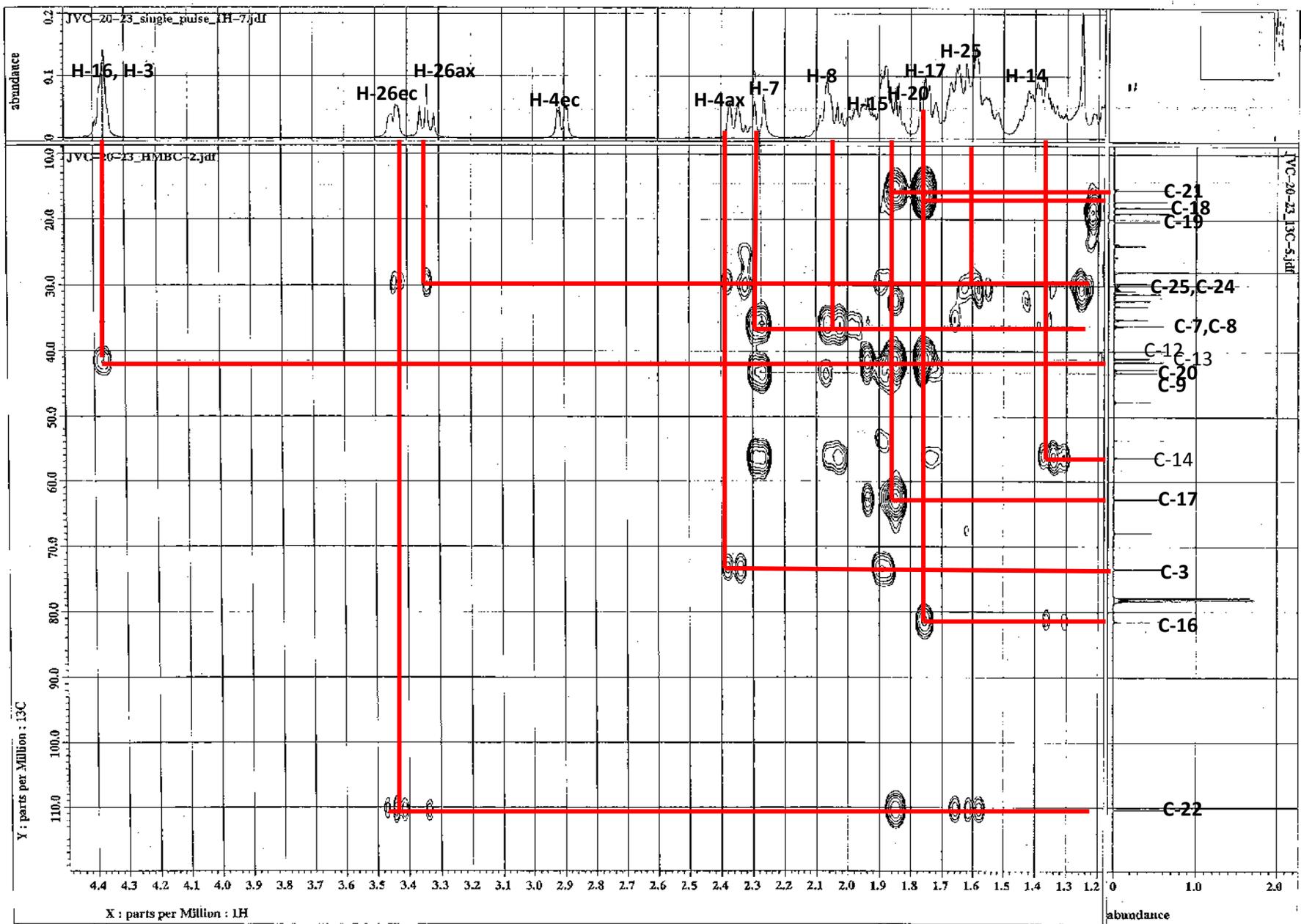


Figura 10. Espectro HMBC para 4.

7. PARTE EXPERIMENTAL

7.1 Instrumentación y equipo

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de una y dos dimensiones (^1H , ^{13}C , DEPT, COSY, HETCOR, y HMBC) se determinaron en un espectrómetro, Jeol ECA 500 MHz y Varian Mercury 400 MHz utilizando cloroformo deuterado (CDCl_3) como disolvente y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los desplazamientos químicos (δ) se expresan en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento (J) se describen en Hertz (Hz).

Los espectros de infrarrojo (IR) se determinaron en un Thermo Scientific Nicolet iS10 FT IR Spectrometer con accesorio ATR, cristal de ZnSe y región de 4000 a 650 cm^{-1} . Los datos se expresan en números de onda ν (cm^{-1}) para los máximos principales de absorción.

Los espectros de Masa (EM) se determinaron en un espectrómetro Hewlett Packard modelo 5989B, utilizando un detector de iones (multiplicador de electrones), y energía de ionización 70 eV, acoplado a un cromatógrafo de gases Hewlett Packard modelo 5890 Serie II plus. Los datos se expresan como relación masa carga (m/z), de los correspondientes fragmentos con respecto al pico base. El ión molecular se designó como $[\text{M}^+]$.

Las masas alta resolución fueron obtenidas en un equipo Agilent Technologies, modelo HPLC 1100 acoplado a un MSD TOF con una fuente APCI.

Los puntos de fusión fueron determinados utilizando un aparato Fisher-Johns y no están corregidos.

Los estudios de cristalografía de rayos-X se determinaron en un difractor 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 SHELXS-86 y SHELXS-97. Para el refinamiento y los datos finales del compuesto se utilizó SHELXL-97.

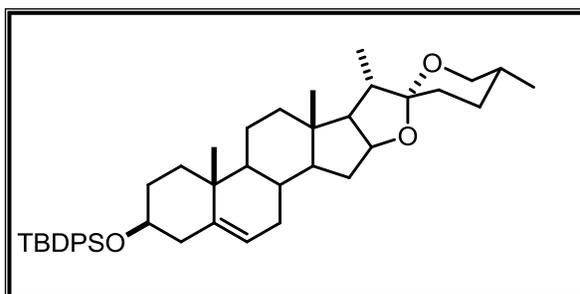
Los disolventes y reactivos se compraron de la casa comercial Aldrich. La diosgenina fue donada por la Dra. Rosa Luisa Santillan Baca.

El seguimiento de las reacciones se llevó a cabo por medio de cromatografía en capa fina (CCF), utilizando cromatoplasmas (4 cm x 3 cm) 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 (9:1) (6:4) y (7:3). El revelado de las cromatoplasmas se realizó con una lámpara de luz ultravioleta modelo de onda corta (254 nm) y también con una solución de H_2SO_4 /agua (50% v/v) aplicando calor con una parrilla de calentamiento.

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

7.2 Protección de la diosgenina

(25*R*)-éter-3β-TBDPS-espirostan-5-eno (2)



C₄₃H₆₀O₃Si

Sólido blanco

p.f. 165-167°C

Una suspensión de 2.0 gr (4.823mmol) de diosgenina (1), 0.918 gr (13.494mmol) de imidazol, en 11 mL de DMF anhidra se colocó en un baño de aceite a 50°C bajo atmósfera de nitrógeno. Después se adicionó lentamente 1.75 mL (6.747 mmol) del cloruro de *tert*-butildifenilsililano. Posteriormente se aumentó la temperatura a 70 °C y la mezcla de reacción se dejó durante 3 hr. Una vez transcurrido el tiempo se enfrió a 0 °C, se adicionó hielo al matraz, se extrajo con CH₂Cl₂, la fase orgánica se lavó con H₂O destilada, posteriormente se filtró sobre Na₂SO₄ anhidro y el disolvente se evaporó a sequedad en rotavapor. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna, empacada con gel de sílice (70-230 Mesh), de las fracciones obtenidas con la polaridad Hexano/AcOEt (98:2) se obtuvieron 2.93 gr de un sólido blanco, con un rendimiento del 95% correspondiente al (25*R*) éter 3β-TBDPS-espirostan-5-eno (2) con un punto de fusión de 165-167°C.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.70-7.32 (10H, m, difenilo del TBDPS), 5.11 (1H, d, *J* = 5.3 Hz, H-6), 4.39 (1H, m, H-16), 3.53 (1H, m, H-3), 3.46 (1H, dd, *J*_{26gem} = 10.9, *J*_{26ec-25ax} = 4.2 Hz, H-26 ec), 3.36 (1H, dd, *J*_{26gem} = *J*_{26ax-25ax} = 10.9 Hz, H-26 ax), 2.33 (1H, dd, *J*_{4gem} = *J*_{4ax-3ax} = 13.3 Hz, H-4 ax), 2.13 (1H, dd, *J*_{4gem} = 13.3, *J*_{4ec-3ax} = 6.8 Hz, H-4 ec), 1.74 (1H, dd, *J*_{17α-20β} = 13.9 Hz, *J*_{17α-16α} = 7.5 Hz, H-17), 1.05 (9H, s, *tert*-butilo), 0.99 (3H, s, Me-19), 0.95 (3H, d, *J*_{21-20β} = 7.0 Hz, Me-21), 0.77 (3H, d, *J*_{27-25ax} = 6.3 Hz, Me-27), 0.76 (3H, s, Me-18).

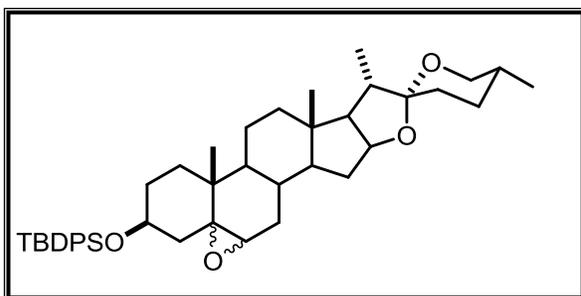
RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ : 141.3 (C-5), 135.8-127.5 (C-Aromáticos del TBDPS), 120.9 (C-6), 109.3 (C-22), 80.9 (C-16), 73.2 (C-3), 66.9 (C-26), 62.1 (C-17), 56.6 (C-14), 50.0 (C-9), 42.5 (C-4), 41.6 (C-20), 40.3 (C-13), 39.8 (C-12), 37.2 (C-1), 36.7 (C-10), 32.1 (C-7), 31.9 (C-2), 31.9 (C-15), 31.4 (C-8), 30.4 (C-25), 28.8 (C-24), 27.1 (-C-(CH_3)₃), 20.9 (C-11), 19.5 (C-19), 19.2 (-C-(CH_3)₃), 17.2 (C-27), 16.3 (C-18), 14.6 (C-21).

IR ν_{max} cm^{-1} (ATR): 3071 (C-H), 2941 (CH_2), 1076 (C-O-C), 1050 (C-O-C), 699 (Ar-H).

EMIE m/z (%): 595 (19) [M-*tert*-butilo]⁺, 395 (10), 253 (14), 200 (17), 199 (100), 139 (22), 105 (10), 69 (33), 57 (13), 55 (23).

EMHR calculada para: $\text{C}_{43}\text{H}_{60}\text{O}_3\text{Si}$, 653.4385 [M+H]⁺ Encontrado: 653.438451 con un error 0.001254 ppm.

7.3 (25R)-éter-3β-TBDPS-5α, 6α-epoxi-espirostanos (3a) y (25R)-éter-3β-TBDPS-5β,6β-epoxi-espirostanos (3b).



C₄₃H₆₀O₄Si

Cristales incoloros

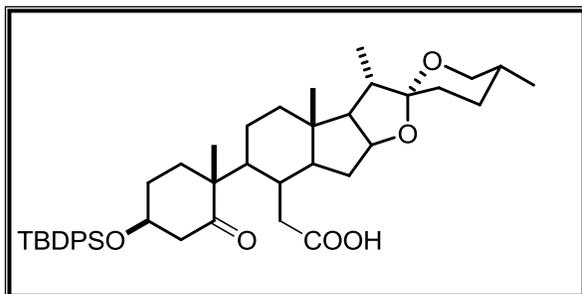
A una solución de 100 mg (0.1532 mmol) del éter-TBDPS de diosgenina (**2**) en 1 mL de CH₂Cl₂ a temperatura ambiente se le adicionaron lentamente 39 mg (0.2298 mmol) de ácido *m*-cloroperbenzoico y se dejó reaccionar por 10 min. Transcurrido este tiempo la solución se vertió sobre hielo, se agregó una solución saturada de NaHCO₃, se extrajo con CH₂Cl₂ y la fase orgánica se lavó nuevamente con solución saturada NaHCO₃ para neutralizar, seguida de tres lavados con H₂O destilada. Finalmente se filtró sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró en rotavapor. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna, empacada con gel de sílice (70-230 Mesh) obteniendo en la polaridad Hexano/AcOEt (97:3) 92 mg, con un rendimiento del 91% de un sólido blanco correspondiente a la mezcla de epóxidos α/β (**3a/b**) en una relación 3:1

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.70-7.32 (10H, m, difenilo del TBDPS), 4.36 (1H, m, H-16), 3.93 (1H, m, H-3 α), 3.62 (1H, m, H-3β), 3.45 (1H, dd, *J*_{26gem} = 10.9, *J*_{26ec-25ax} = 2.7 Hz, H-26ec), 3.35 (1H, dd, *J*_{26gem} = *J*_{26ax-25ax} = 10.9 Hz, H-26ax), 2.75 (1H, d, H-6α), 2.73 (1H, d, H-6β), 1.04 (12H, s, *tert*-butilo, Me-19), 0.93 (3H, d, Me-21), 0.78 (3H, d, Me-27), 0.69 (3H, s, Me-18 α).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 135.7, 134.5, 135.3, 129.5, 127.4, 109.2, 80.55, 70.5, 70.1, 66.7, 65.6, 61.9, 58.7, 56.6, 55.8, 51.09, 42.4, 41.6, 40.2, 40.0, 39.3, 34.8, 32.2, 31.5, 31.3, 31.2, 31.0, 30.2, 29.3, 28.9, 28.7, 26.9, 20.3, 19.1, 17.1, 16.2, 15.9, 14.4.

EMIE m/z (%): 611 (9) [*M-tert-butilo*]⁺, 395 (24), 281 (7), 251 (14), 199 (100), 197 (12), 183 (18), 139 (57), 121 (14), 115 (17), 105 (21), 81 (17), 69 (70), 57 (43), 55 (63).

7.4 (25*R*)-ácido-3β-*tert*-butildifenilsililoxi-5-oxo-5,6-*seco*-espirostan-6-oico (4)



C₄₃H₆₀O₆Si

Sólido amarillo pálido

p.f. 102-105°C

Preparación de reactivo de Jones

Se disolvieron 186 mg (3.5904 mmol) de CrO₃ en 0.6 mL de H₂O, posteriormente esta solución se colocó en un baño de hielo y se adicionó 0.2 mL de H₂SO₄. Finalmente la mezcla se dejó enfriar para ser utilizada.^{13c}

A una solución de 200 mg (0.2992 mmol) de la mezcla de epóxidos (**3a/b**) en 2.2 mL de acetona y 1.4 mL de CH₂Cl₂ a 50°C se adicionó gota a gota el reactivo de Jones (aprox. 0.8 mL) hasta observar la aparición constante de un color rojizo. Finalizada la adición del reactivo la reacción se dejó durante 2 horas en agitación magnética manteniendo la temperatura a 50°C. Al finalizar este tiempo se enfrió a temperatura ambiente y se agregó isopropanol hasta vire a azul turquesa, enseguida se filtró y se evaporó a sequedad. Posteriormente se extrajo con CH₂Cl₂ y la fase orgánica se lavó con solución saturada de NaCl y agua destilada, se filtró sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a sequedad en rotavapor obteniendo una miel amarilla. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna, empacada con gel de sílice (70-230 Mesh). De la mezcla Hexano/AcOEt (8:2) se obtuvieron 93 mg con un rendimiento del 45% de un sólido ligeramente amarillo con p.f. 102-105°C correspondiente al (25*R*)-ácido-3β-*tert*-butildifenilsililoxi-5-oxo-5,6-*seco*-espirostan-6-oico (**4**).

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.68-7.33 (10H, m, difenilo del TBDPS), 4.38 (2H, m, H-16, H-3), 3.45 (1H, dd, $J_{26gem} = 11.0$, $J_{26ec-25ax} = 3.3$ Hz, H-26 *ec*), 3.34 (1H, dd, $J_{26gem} = J_{26ax-25ax} = 11.0$ Hz, H-26 *ax*), 2.91 (1H, dd, $J_{4gem} = 13.1$, $J_{4ec-3ax} = 3.7$ Hz, H-4 *ec*), 2.36 (1H, d, $J_{gem} = J_{4ax-3ax} = 13.1$ Hz, H-4 *ax*), 1.10 (3H, s, Me-19), 1.03 (9H, s, *tert*-butilo), 0.95 (3H, d, $J_{21-20\beta} = 6.9$ Hz, Me-21), 0.80 (3H, s, Me-18), 0.77 (3H, s, $J_{27-25ax} = 6.3$ Hz, Me-27).

RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ : 216.9 (C-5), 177.6 (C-6), 135.9-127.6 (C-Aromáticos del TBDPS), 109.3 (C-22), 80.4 (C-16), 72.4 (C-3), 66.9 (C-26), 61.8 (C-17), 55.3 (C-14), 52.6 (C-10), 46.6 (C-4), 42.3 (C-9), 41.8 (C-20), 40.6 (C-13), 40.0 (C-12), 35.1 (C-8, C-7), 34.1 (C-1), 32.1 (C-15), 31.3 (C-2), 30.3 (C-25), 28.6 (C-24), 28.7 (C-23), 26.9 ($-\text{C}-(\underline{\text{CH}_3})_3$), 23.0 (C-11), 19.3 ($-\underline{\text{C}}-(\text{CH}_3)_3$), 18.0 (C-19), 17.2 (C-27), 16.2 (C-18), 14.5 (C-21).

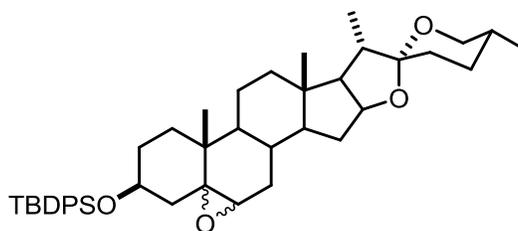
IR ν_{max} cm^{-1} (ATR): 3071 (=C-H), 2928 (CH_2), 1731 ($\text{C}=\text{O}_{\text{ácido}}$), 1703 ($\text{C}=\text{O}_{\text{cetona}}$), 701 (Ar-H).

EMIE m/z (%): 444 (2) $[\text{M-TBDPSO}]^+$, 335 (9), 312 (9), 199 (100), 181 (11), 139 (39), 121 (11), 110 (19), 105 (11), 77 (29), 68 (58), 55 (39).

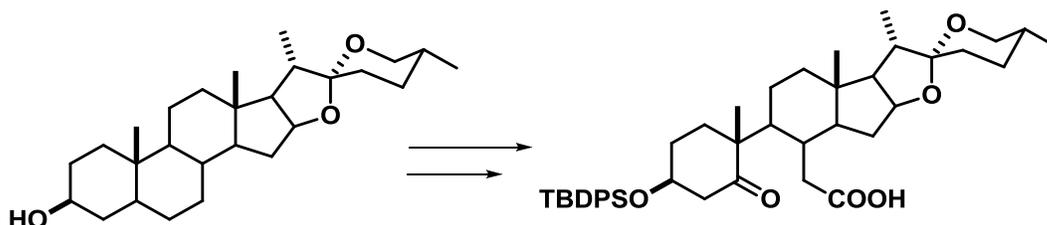
8. CONCLUSIONES

La reacción de epoxidación del compuesto **2** es estereoselectiva prefiriéndose la formación del compuesto **3a** con orientación α , debido a que el isómero β , se encuentra desfavorecido por el impedimento estérico del Me-19.

La estructura del compuesto **3a** se confirmó mediante el análisis por difracción de rayos-X.



A partir de diosgenina (**1**) se obtuvo el nuevo seco-ácido **4**, logrando conservar el espirocetal en la cadena terminal bajo las condiciones de oxidación de Jones, este compuesto se asignó inequívocamente mediante la técnicas espectroscópicas de RMN en una y dos dimensiones; actualmente se está utilizando como intermediario en la síntesis de oxaziridinas con potencial aplicación en reacciones de oxidación asimétrica.



9. BIBLIOGRAFÍA

1. Ibrahim-Ovali M., Rocheblave L. *Steroids*. 73 (2008) 375.
2. (a) Jastrzebska I., *Current Organic Chemistry*. 16 (2012) 353. (b) Tobarí A.; Teshima M.; Koyanagi J.; Kawase M.; Miyamae H., Yoza, K., Takasaki A., Nagamura Y., Saito S., *Eur. J. Med. Chem.* 35 (2000) 511.
3. (a) Marker, R.E.; Rohrmann E., *J. Am. Chem. Soc.* 62 (1940) 518. (b) Marker R.E., Rohrmann E., *J. Am. Chem. Soc.* 62 (1940) 898.
4. (a) Iglesias-Arteaga M. A., Pérez R., Pérez C. S., Coll F. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* (2001) 261. (b) Iglesias-Arteaga M. A., Pérez R., Pérez C. S., Coll F. *Steroids*. 67 (2002) 159.
5. Morzycki J.W., Wojtkielewicz A., *Phytochem. Rev.* 4 (2005) 259.
6. (a) Gryszkiewicz-Wojtkielewicz A., Jastrzebska I., Morzycki J.W., Romanowska D. B. *Org. Chem.* 7 (2003) 1257. (b) LaCour T.G., Guo C., Bhandaru S., Boyd M.R., Fuchs P. L., *J. Am. Chem. Soc.* 120 (1998) 692.
7. Lee S., LaCour T. G., Fuchs P. L. *Chem. Rev.* 109 (2009) 2275.
8. Wang H. Su F., Zhou L., Chen X., Lei P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19 (2009) 2796.
9. (a) Fernández-Herrera M. A., López-Muñoz H., Hernández-Vázquez J. M. V., López-Dávila M., Escobar-Sánchez M. L., Sánchez-Sánchez L., Pinto B. M. Sandoval-Ramírez J. *J. Bioorg. Med. Chem.* 18 (2010) 2474. (b) Fernández-Herrera M. A., Mohan S., López-Muñoz H., Hernández-Vázquez J. M. V., Pérez-Cervantes E., Escobar-Sánchez M. L., Sánchez-Sánchez L., Regla I., Pinto B. M., Sandoval-Ramírez J. *Eur. J. Med. Chem.* 45 (2010) 4827. (c) Fernández-Herrera M. A., López-Muñoz H., Hernández-Vázquez J. M. V., López-Dávila M., Mohan S., Escobar-Sánchez M. L., Sánchez-Sánchez L., Pinto B. M., Sandoval-Ramírez J. *Eur. J. Med. Chem.* 46 (2011)

3877. (d) Jiang B., Shi H., Tian W., Zhou W. *Tetrahedron*. 64 (2008) 469. (e) López Y., Jastrzębska I., Santillan R., Morzycki J. W., *Steroids*. 73 (2008) 449. (f) Czajkowska D., Morzycki J. W., Santillan R., Siergiejczyk L. *Steroids* 74 (2009) 1073.
10. Sun P., Meng L-Y., Tang H., Liu B-S., Li L., Yi Y., Zhang W. *J. Nat. Prod.* 75 (2012) 1656.
11. Sica D., Musumeci D., *Steroids*. 69 (2004) 743.
12. Schomer U., Warner F. *European J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 10 (1980) 99.
13. a) Rasmusson G. H., Reynolds G. F., Steinberg N. G., Walton E., Patel G. F., Liang T., Cascieri M. A., Cheung A. H., Brooks J. R., Berman C. *J. Med. Chem.* 29 (1986) 2298. b) Lettré H., Knof L. *Chem. Ber.* 93 (1960) 2860. c) del Río R. E., Wang B., Achab S., Bohe L. *Org. Lett.* 9 (2007) 2265.
- 14.- Peng Y., Yang Z., Wang Y., Liu Z., Bao J., Hong Y. *Chem. Eng. Res. Des.* 89 (2011) 2620.
15. a) Paul M Dewick. *Medicinal Natural Products: a Biosynthetic Approach*. 2nd Edition. b) Man S., Gao W., Zhang Y., Huang L., Liu C. *Fitoterapia* 81 (2010) 703. c) Patel K., Gadewar M., Tahilyani V., Kumar Patel D. *Nat. Prod. Biospect.* 2 (2012) 46.
16. a) Lepage C., Léger D. Y., Bertrand J., Martin F., Beneytout J. L., Liagre B. *Cancer Lett.* 301 (2011) 193. b) Cailleateau C., Liagre B., Battu S., Jayat-Vignoles C., Beneytout J. L. *Anal. Biochem.* 380 (2008) 26. c) Li F., Fernandez P., Rajendran P., Hui K.M., Sethi G. *Cancer Lett.* 292 (2010) 197.

17. Wang Y., Pan K., Hsieh T., Chang T., Lin W., Hsu J. *J. Nat. Prod.* 74 (2011) 580.
18. a) Liu K., Zhao W., Gao X., Huang F., Kou J., Liu B. *Atherosclerosis* 223 (2012) 350. b) Gong G., Qin Y., Huang W., Zhou S., Wu X., Yang X., Zhao Y., Li D. *Chemico-Biological Interactions*. 184 (2010) 366.
19. Jung D., Park H., Byun H.; Park Y., Kim T., Kim B., Um S., Pyo S., *Int. Immunopharmacol.* 10 (2010) 1047.
20. Alcantara E. H., Shin M., Sohn H., Park Y., Kim T., Lim J., Jeong H., Kwon S., Kwun I. *J. Nutr. Biochem.* 22 (2011) 1055.
21. Huang C., Cheng J.; Deng M.; Chou C., Jan T., *Food Chemistry*. 132 (2012) 428.
22. Sautour M., Mitaine-Offer A. C., Miyamoto T., Dongmo A., Lacaille-Dubois M. A. *Planta Med.* 70 (2004) 90.
23. a) Jiang B., Shi H., Tian W., Zhou W. *Tetrahedron*. 64 (2008) 469. b) Rincón S., Del Río R.E., Sandoval-Ramírez J., Meza-Reyes S., Montiel-Smith S., Fernández M.A., Farfán N., Santillan R. *Tetrahedron*. 62 (2006) 2594. c) Williams J.R., Gong H., Hoff N., Olubodun O.I., Carroll P. *Org. Lett.* 6 (2004) 269. d) Williams J. R., Gong H., Hoff N., Olubodun O. I. *J. Org. Chem.* 70 (2005) 10732. e) Zhang G., Shen S., Lei M., Hu L. *Tetrahedron*. 67(2011) 5894. f) López Y., Rodríguez L., del Río R. E., Farfán N., Morzycki J. W., Santillan R. *Steroids*. 77 (2012) 534.
24. Weisenborn L.F., Applegat E. H. *J. Am. Chem. Soc.* 81 (1959) 1960.
25. Shoppee C. W., Sly J. C. P. *J. Chem. Soc.* (1959) 345.

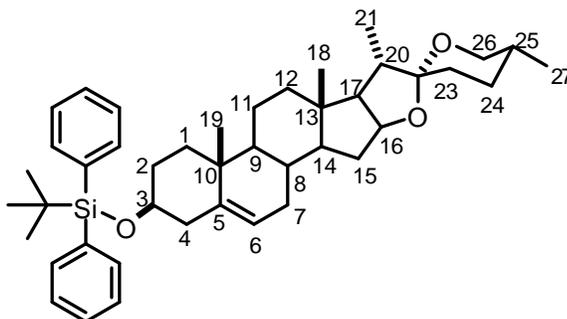
26. Shoppee C. W., Roy S. K., Goodrich B. S. *J. Chem. Soc.* (1961) 1583.
27. Chaudhry G. R., Halsall T. G., Jones E. R. H. *J. Chem. Soc.* (1961) 2725.
28. Reich I. L., Lardy H., Wei Y., Marwath P., Kneer N., Powell D.R., Reich H.J. *Steroids*. 63 (1998) 542.
29. Lin H-S., Rampersaud A. A., Richett M. E., Beavers L. S., McClure D. B., Gadski R. A. *Steroids*. 63 (1998) 202.
30. Musumeci D., Roviello G. N., Sica D. *Steroids*. 69 (2004) 173.
31. Medina P., Paillasse M. R., Payré B., Silvente-Poirot S., Poirot M. *J. Med. Chem.* 52 (2009) 7765.
32. Agrawal P. K., Jain D. C., Gupta R. K., Thakur R. S., *Phytochemistry*. 24 (1985) 2479.

10. ANEXO

Tabla 4.- Desplazamientos químicos del espectro de RMN ^{13}C para los compuestos **2,4**.

C	Diosgenina (1)³² δ (ppm)	2 δ (ppm)	4 δ (ppm)
1	37.3	37.2	34.1
2	31.4	31.9	31.3
3	71.6	73.2	72.4
4	42.3	42.5	46.6
5	140.9	141.3	216.9
6	121.3	120.9	177.6
7	32.0	32.1	35.1
8	31.4	31.4	35.1
9	54.8	50.0	42.3
10	36.3	36.7	52.6
11	20.7	20.9	23.0
12	40.2	39.8	40.0
13	40.6	40.3	40.6
14	56.5	56.6	55.3
15	31.8	31.9	32.1
16	80.8	80.9	80.4
17	62.3	62.1	61.8
18	16.5	16.3	16.2
19	12.3	19.5	18.0
20	41.6	41.6	41.8
21	14.5	14.6	14.5
22	109.0	109.3	109.3
23	31.4	31.4	28.7
24	28.9	28.8	28.6
25	30.3	30.4	30.3
26	66.7	66.9	66.9
27	17.1	17.2	17.2
C-<i>tert</i>-butilo		19.2	19.3
CH₃-<i>tert</i>-butilo		27.1	26.9
C-<i>ipso</i>		134.8	134.0, 133.6
C-<i>orto</i>		135.8	135.9, 135.7
C-<i>meta</i>		127.5	127.7, 127.6
C-<i>para</i>		129.5	129.8, 129.7

Tabla 5.- Datos característicos de RMN para el compuesto **2**.



C	δ C ppm	^{13}C	^1H (δ ppm) [J en Hz]	HMBC (ppm) [número de enlaces]
5	141.3	C		CH ₃ -19 (0.99) [3], H-4ax (2.33) [2], H-4ec (2.13) [2]
6	120.9	CH	H-6 d (5.11) [5.3]	H-7b (1.44) [2], H-7a (1.94) [2], H-4ax (2.33) [3], H-4ec (2.13) [3]
22	109.3	C	-	CH ₃ -21 (0.95) [3], H-20 (1.85) [2], H-26ec (3.46) [3], H-26ec (3.36) [3]
16	80.9	CH	H-16 m (4.39)	H-15a (1.94) [2], H-15b (1.25) [2], H-17 (1.75) [2]
26	66.9	CH ₂	H-26ec dd (3.46) [10.9, 4.2] H-26ax t (3.36) [10.9]	CH ₃ -27 (0.77) [3], H-25 (1.63) [2]
14	56.6	CH	H-14 (traslapado con <i>tert</i> -butilo)	CH ₃ -18 (0.76) [3], H-15a (1.94) [2], H-15b (1.25) [2]
4	42.5	CH ₂	H-4ax dd (2.33) [13.3] H-4ec dd (2.13) [13.3, 6.8]	H-6 (5.11) [3]
13	40.3	C	-	CH ₃ -18 (0.76) [2], H-20 (1.85) [3], H-15a (1.94) [3], H-16 (4.39) [3],
10	36.7	C	-	CH ₃ -19 (0.99) [2], H-4ec (2.13) [3], H-6 (5.11) [3]
25	30.4	CH	H-25 m (1.63)	CH ₃ -27 (0.77) [2]

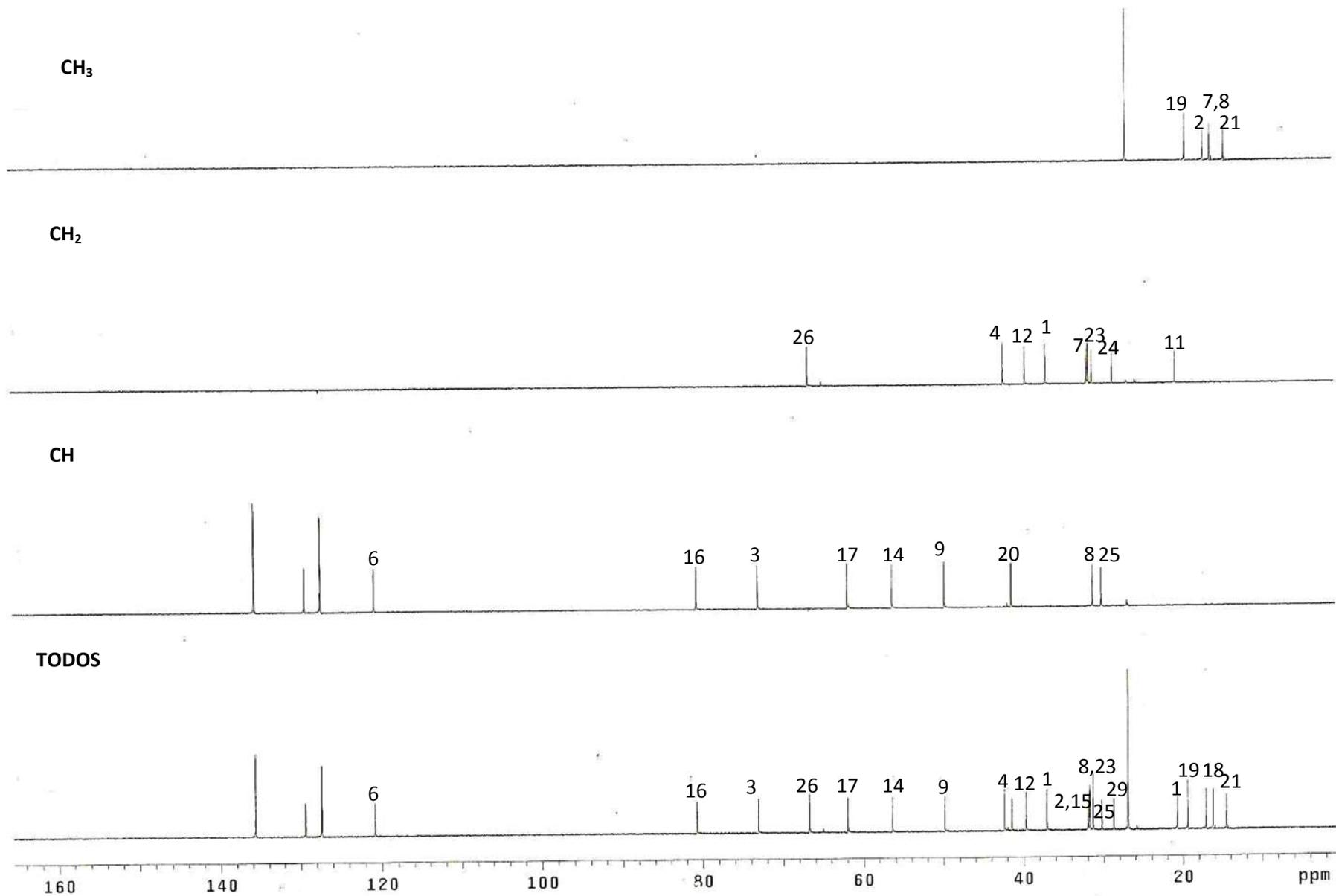


Figura 11. Espectro DEPT del compuesto 2

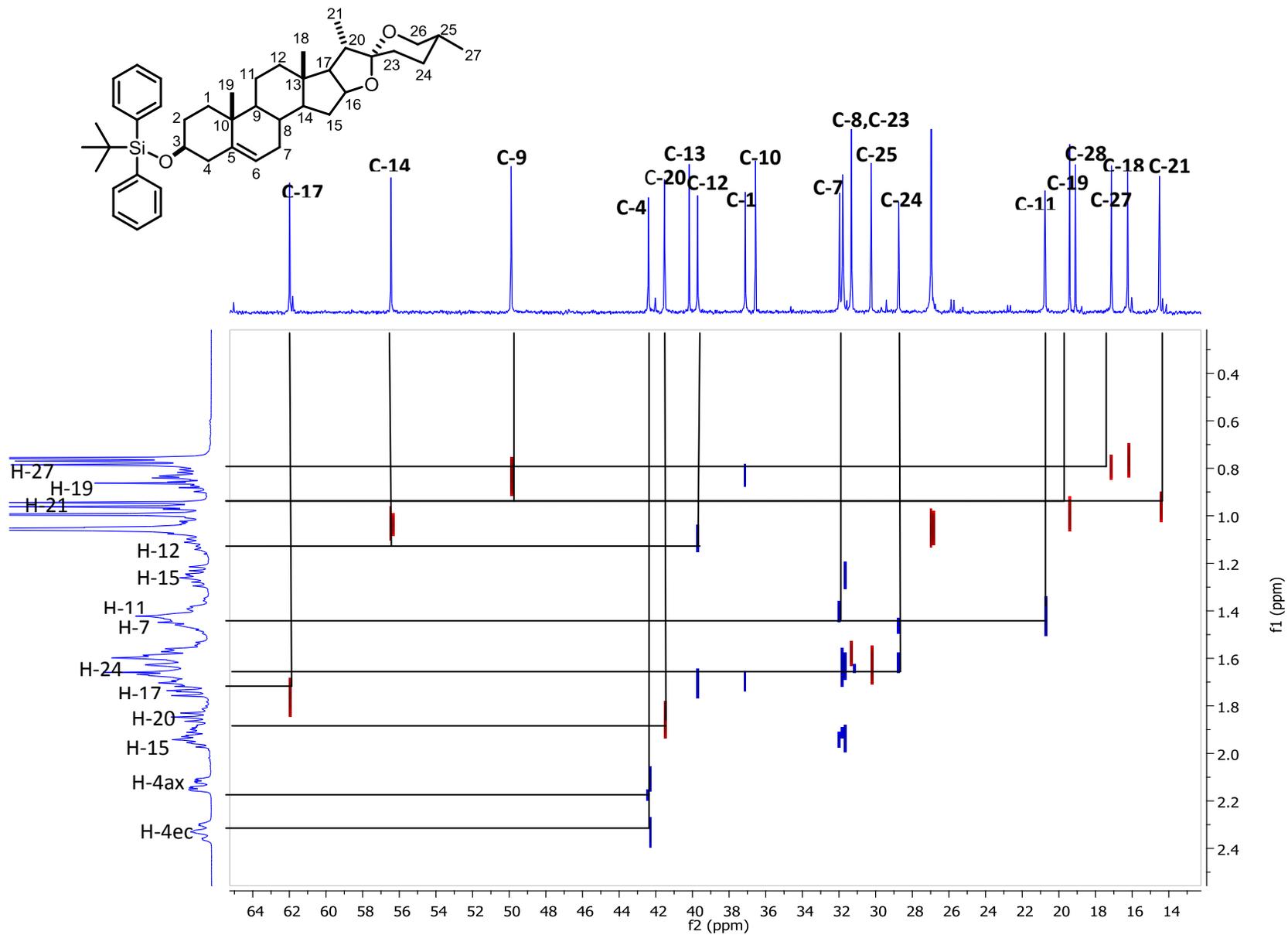


Figura 12. Espectro HETCOR del compuesto 2

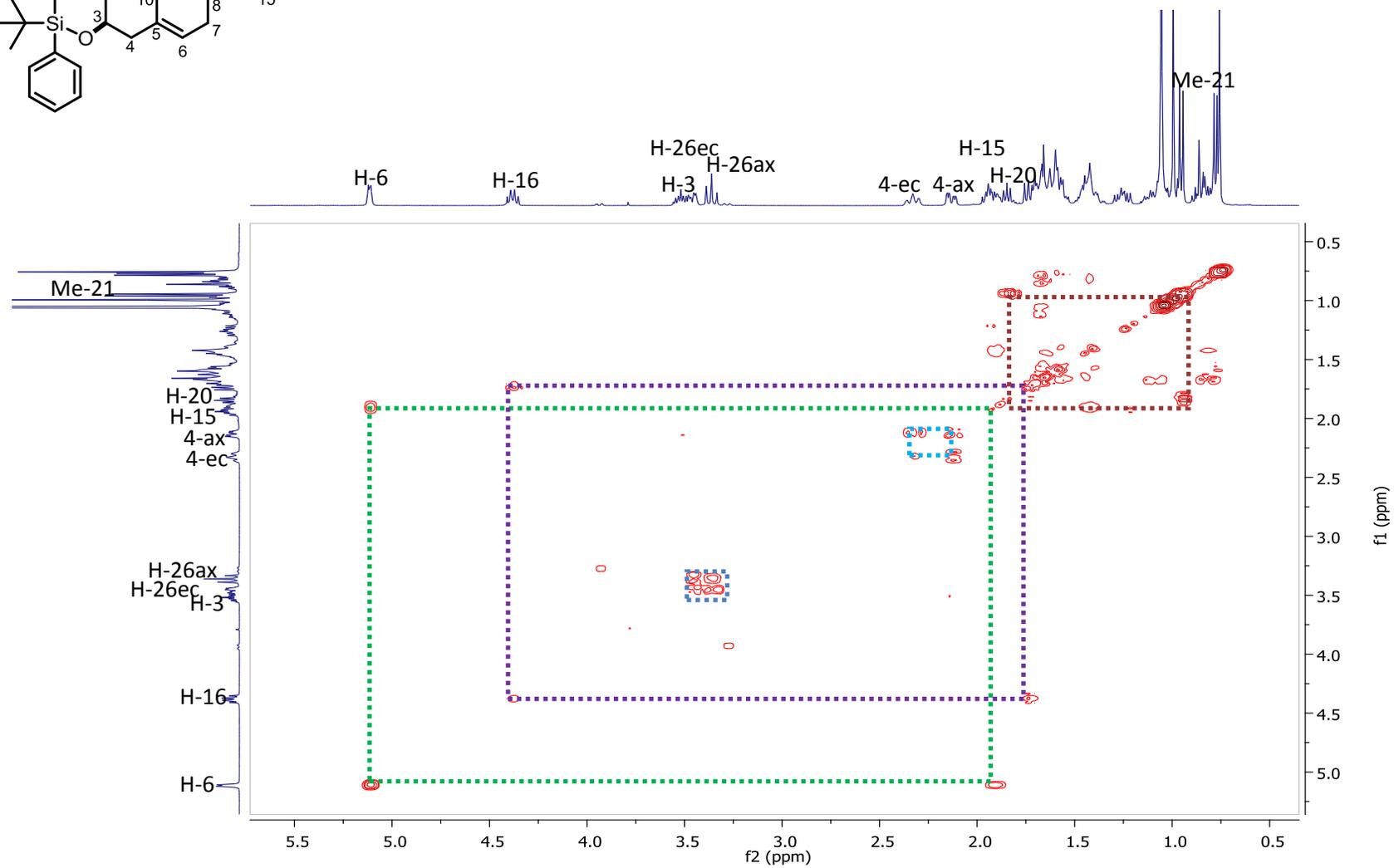
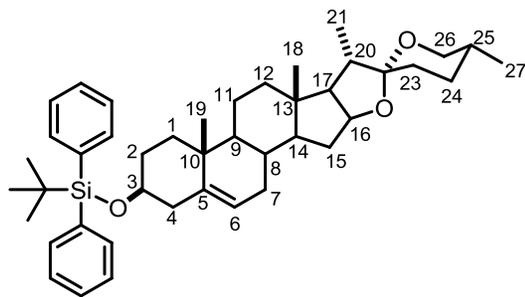


Figura 13. Espectro COSY para el compuesto 2

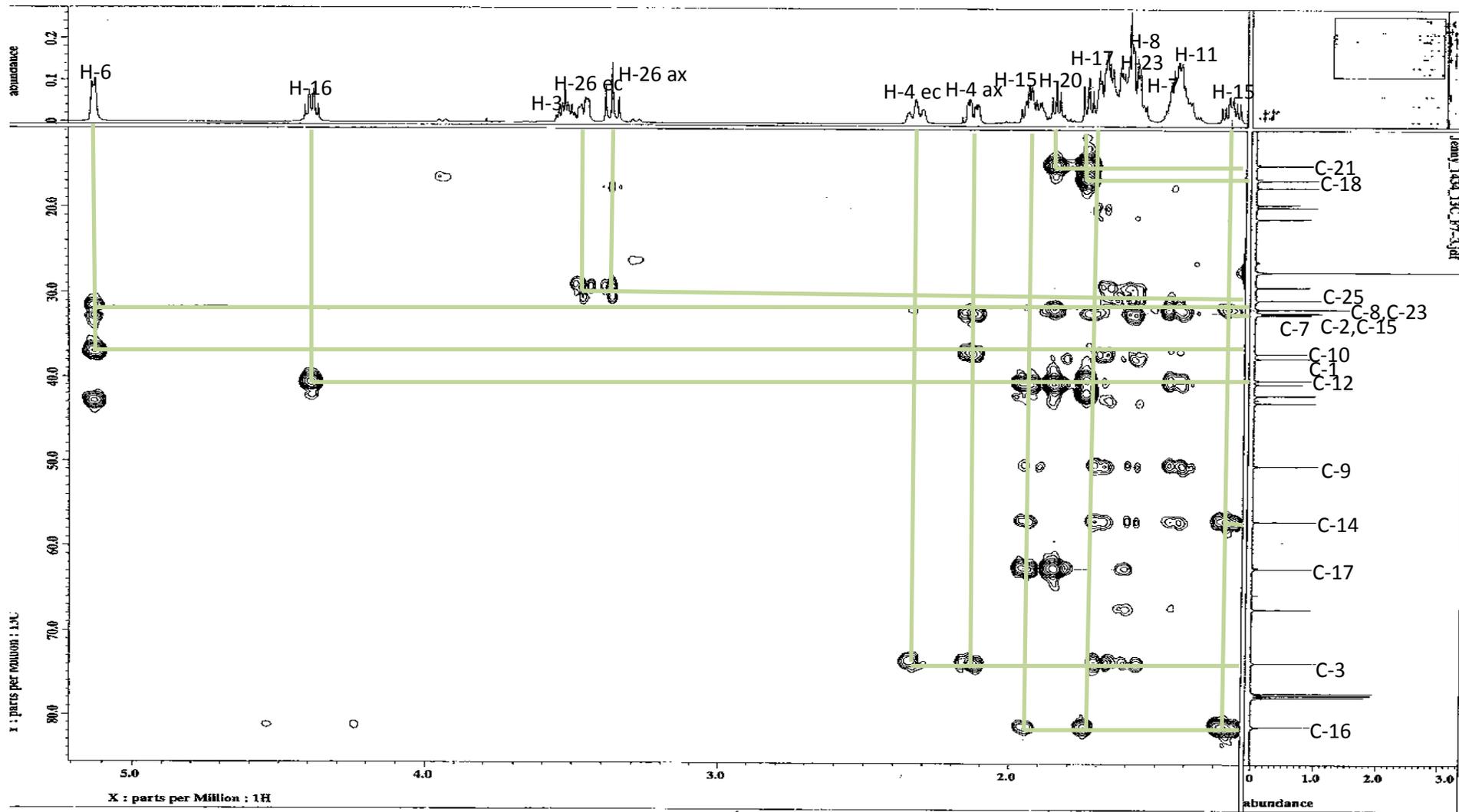
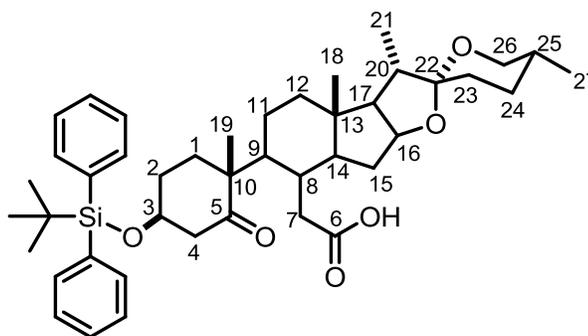


Figura 14. Espectro HMBC del compuesto 2.

Tabla 6.- Datos característicos de RMN para el compuesto **4**.



C	δ C ppm	^{13}C	^1H (δ ppm) [J en Hz]	HMBC (ppm) [número de enlaces]
5	216.9	C	-	H-4ec (2.91) [2], H-4ax (2.36) [2], H-3 (4.38) [3]
6	177.6	C	-	H-8 (2.07) [3]
22	109.3	C	-	CH ₃ -21 (0.95) [3], H-20 (1.85) [2], H-26ax (3.34) [3], H-26ec (3.45) [3]
16	80.4	CH	H-16 m (4.38)	H-17 (1.76) [2]
3	72.4	CH	H-3 m (4.38)	H-4ax (2.36) [2]
26	66.9	CH ₂	H-26ec dd (3.45) [11.0, 3.3] H-26ax t (3.34) [11.0]	CH ₃ -27 (0.77) [3]
17	61.8	CH	H-17 dd (traslapada con H-12)	CH ₃ -18 (0.80) [3], CH ₃ -21 (0.95) [3], H-20 (1.85) [2]
14	55.3	CH	H-14 m (1.38)	CH ₃ -18 (0.80) [3]
9	42.3	CH	H-9 m (1.98)	CH ₃ -19 (1.10) [3], H-8 (2.07) [2]
20	41.8	CH	H-20 m (1.85)	CH ₃ -21 (0.95) [2],
13	40.6	C	-	H-17 (1.76) [2], H-20 (1.85) [3], H-15a (1.94) [3], H-16 (4.38) [3]
1	34.1	CH ₂	H-1 m (1.89)	CH ₃ -19 (1.10) [3]
21	14.5	CH ₃	H-21 d (0.95) [6.9]	H-20 (1.85) [2]

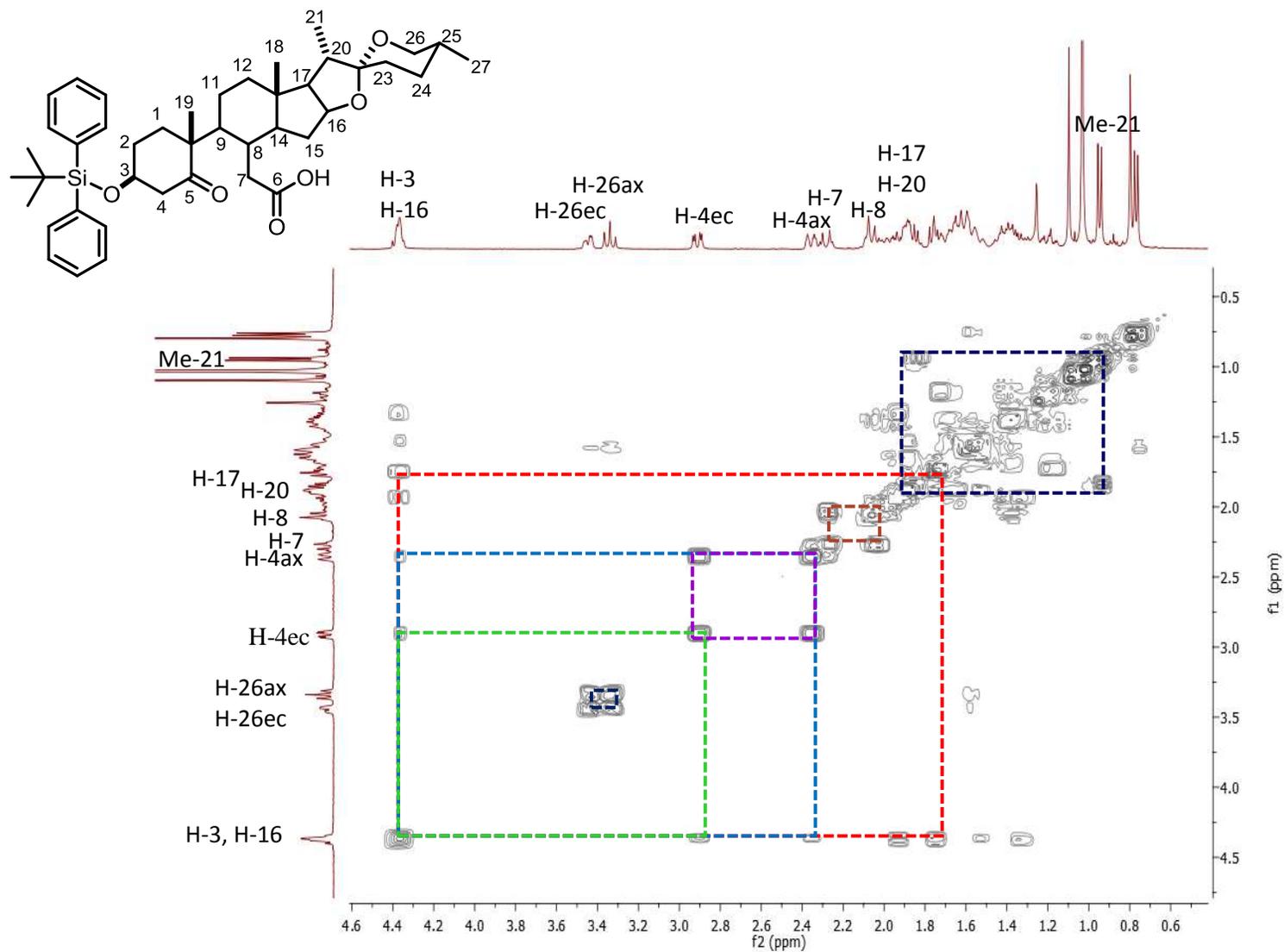


Figura 15. Espectro COSY del compuesto **4** a 400 MHz en CDCl₃.

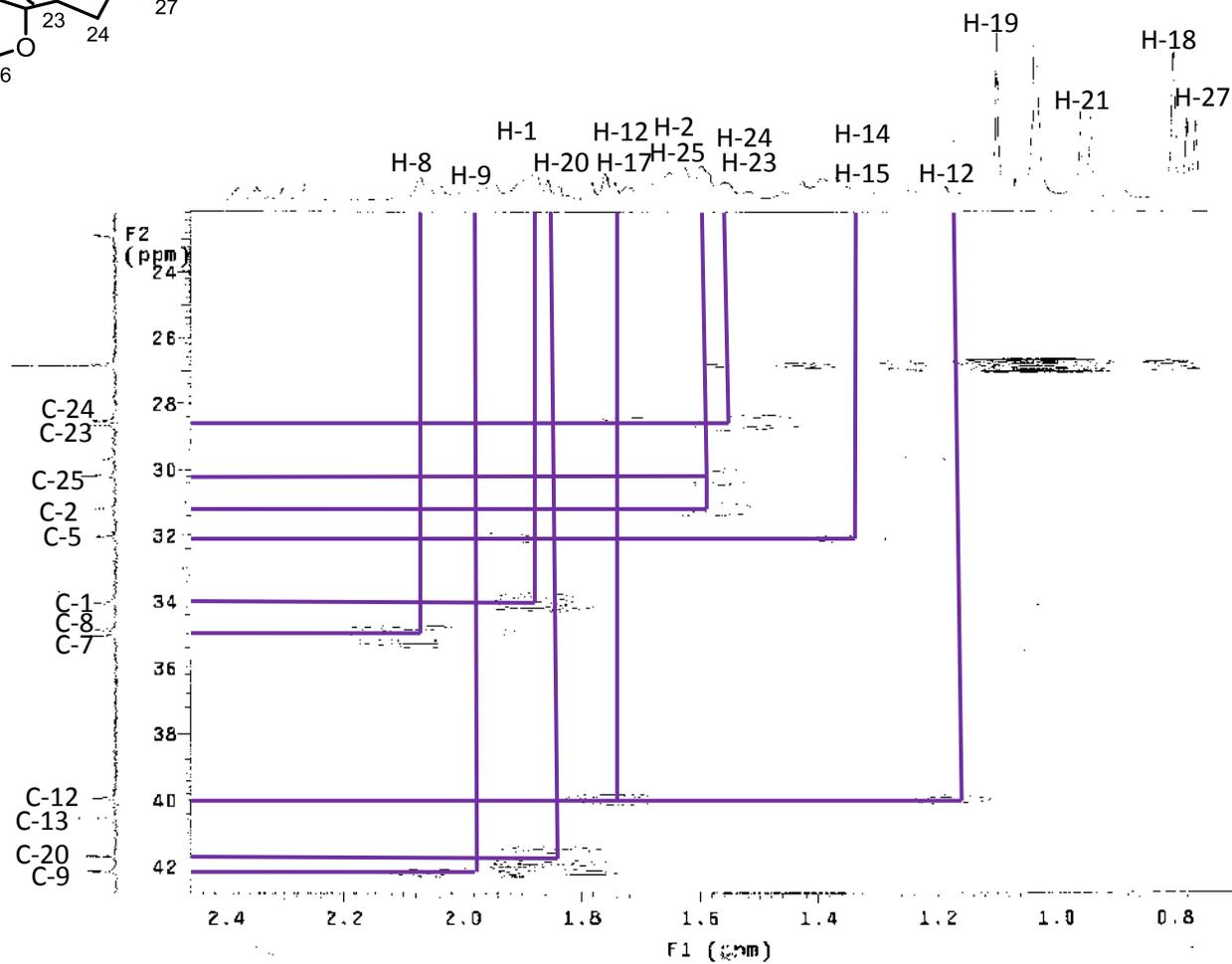
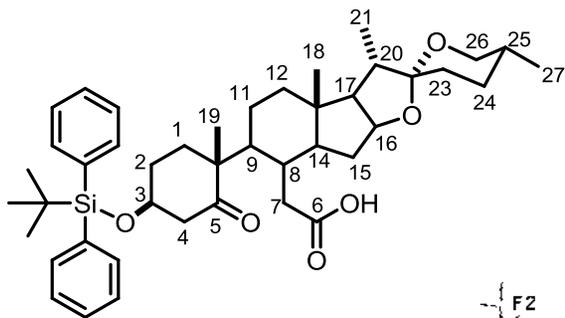


Figura 16. Espectro HETCOR del compuesto 4

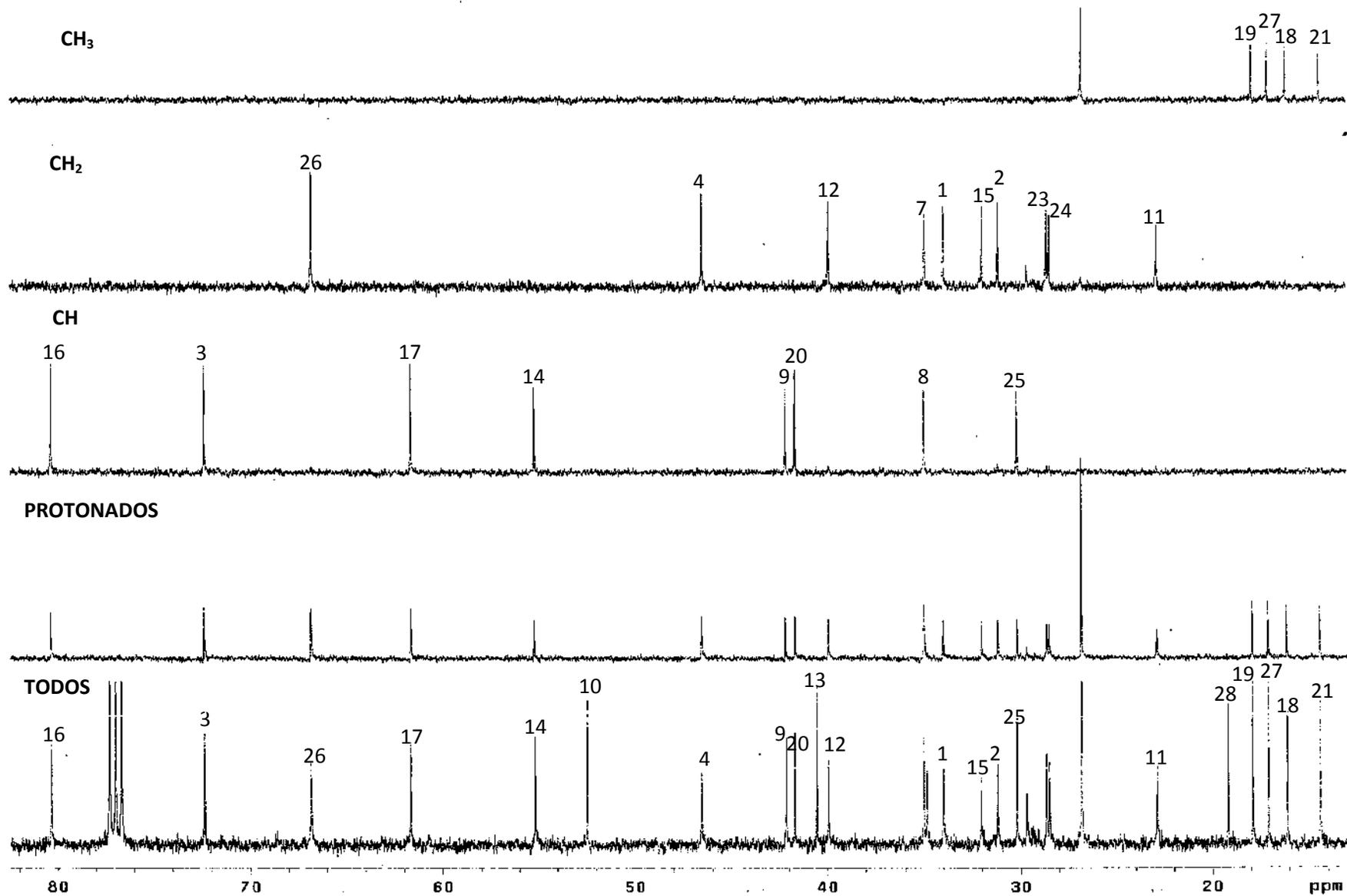


Figura 17. Espectro DEPT del compuesto 4.