



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO



FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

“NUEVOS DERIVADOS HEMICETÁLICOS OBTENIDOS A PARTIR DE (25R)-23-ESPIROSAPOGENINAS”

**TESIS QUE PRESENTA:
DANIELA FLORES ABAD**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACOBIOLOGA**

**ASESOR:
D.C. YLIANA LÓPEZ CASTRO**

**CO-ASESOR:
M.C. ALEJANDRO CORONA DÍAZ**

MORELIA, MICHOACÁN, JULIO 2016.

DEDICATORIA

*Dedico esta tesis con
todo mi cariño y mi amor
para las personas que
hicieron todo en la vida
para que pudiera lograr
mis sueños, por motivarme,
apoyarme, darme la
confianza y la libertad
para decidir mi camino, a
ustedes papás.*

AGRADECIMIENTOS

A Dios y a la virgen de Guadalupe por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente, por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

A mis padres Rosa Abad y Pedro Flores por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me han permitido ser una persona de bien, gracias a su apoyo en todo momento, agradezco todo lo que hicieron para que yo terminara mis estudios, nunca voy a terminar de agradecerles lo que hacen por mí.

A mis familiares que estuvieron apoyándome en todo el camino de la carrera; a mi abuelita Antonia, a mi tía Adriana, a mi tía Julia, a mi tío Gil.

A Oscar por su amor, paciencia y apoyo, por sus consejos para que nunca me rinda y logre cumplir mis metas, aunque haya dificultades en el camino.

A mis compañeros y amigos de laboratorio de los cuales he aprendido mucho, despertando en mí el interés por la investigación: M.C. Alejandro por ser mi co-asesor en la realización de esta tesis, por su paciencia y tiempo para compartir sus conocimientos para que yo pudiera entender y desarrollarme experimentalmente en el trabajo realizado, por no haber dudado de mi trabajo en el laboratorio y mi capacidad. Por dedicar su tiempo en revisar mi tesis.

A Juan Antonio (Pepe) por dedicarme tiempo por explicarme, en una estancia de investigación en la cual me ayudo y aprendí mucho. Gracias a él por la preparación para la presentación todo salió muy bien, me gustó mucho ser tu chicharita, y gracias porque aún tiene tiempo de explicarme lo que no entiendo.

A Cristhian por su paciencia al explicarme las cosas con mucho detalle para poderlas entender, a su valioso tiempo que tuvo en poder revisarme la tesis, a motivarme a estudiar y por su confianza.

A mis sinodales por tener el tiempo de revisar la tesis, Dra. Rosa E. Norma del Río Torres, Dra. Gabriela Rodríguez García, Dr. Mario Armando Gómez Hurtado, Dr. Juan Diego Hernández Hernández y Dr. Juan Pablo García Merinos.

A mis amigos y excompañeros, que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional; Juan Luis, Rocío, Maira, Ana Laura, Sandra, Rosalba, Odessa, Sinuhe, Alejandro, Isaac y los vegetales (German, Kike, Ivan, Nayeli, Gari, Juan Carlos, Erik y Memo). El trabajo realizado ha sido posible gracias a todos.

A la Dra. Yliana López Castro de manera especial por aceptarme en su grupo de trabajo, en poder realizar el servicio social, y por aceptar se mi asesora en el proyecto de tesis, agradeciendo la atención, observaciones, consejos y paciencia para realizar este trabajo.

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Síntesis de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en la ciudad de Morelia Michoacán bajo la dirección de la D.C. Yliana López Castro y el M.C. Alejandro Corona Díaz, con apoyo financiero de los proyectos, CONACYT (183980) y CIC-UMSNH.

Parte de los resultados de este trabajo han sido presentados en los siguientes foros:

- Alejandro Corona-Díaz, **Daniela Flores-Abad**, J. Pablo García-Merinos, Yliana López, Rosa E. del Río, Rosa Santillan, “**NUEVOS DERIVADOS HEMICETÁLICOS PREPARADOS A PARTIR DE BOTOGENINA Y HECOGENINA**”, en la segunda semana del Posgrado en Ciencias Químicas en la Ciudad de Morelia, Michoacán, el 11 de Noviembre de 2015.
- **Daniela Flores-Abad**, Alejandro Corona-Díaz, J. Pablo García-Merinos, Rosa E. del Río, Judit A. Aviña-Verduzco, Rosa Santillan, Yliana López, “**MODIFICACIONES EN LA CADENA LATERAL DE 25R-23-ESPIROSAPOGENINAS**” en la XII reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica, celebrada en la Ciudad de Silao, Guanajuato, durante los días 7 al 11 de Marzo de 2016.

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
ABREVIATURAS, SÍMBOLOS Y ACRÓNIMOS	X
1. RESUMEN	1
2. ABSTRACT	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
4. ANTECEDENTES	7
4.1 Degradación de Marker y la síntesis de hormonas esteroidales	7
4.2 Reactividad de la cadena lateral de sapogeninas espirostánicas	10
5. JUSTIFICACIÓN.....	19
6. OBJETIVOS	20
6.1 Objetivo general	20
6.2 Objetivos específicos.....	20
7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	22
8. CONCLUSIONES.....	44
9. PARTE EXPERIMENTAL	45
9.1 Instrumentación y equipo	45
9.2 Oxidación de (25R)-3 β -acetoxi-5 α -espirostan-12-ona (1) con NaNO ₂ /BF ₃ ·OEt ₂ ..	46
9.3 Preparación de (23R, 25R)-3 β -acetoxi-16 β ,23:23,26-diepoxi-5 α -coleston-12,22-diona (7)	46
9.4 Preparación de (23Z,25R)-3 β ,26-diacetoxi-16 β ,23-epoxi-5 α -coleston-23-en-12,22-diona (10) y (25R, 22S)-3 β ,26-diacetoxi-16 β ,22-epoxi-5 α -coleston-22-ol-12,23-diona (13).....	47
9.4.1 (23Z, 25R)-3 β , 26-diacetoxi-16 β , 23-epoxi-5 α -coleston-23-en-12,22-ona (10) ..	47
9.4.2 (25R, 22S)-3 β ,26-diacetoxi-16 β ,22-epoxi-5 α -coleston-22-ol-12,23-diona (13) ..	48
9.5 Oxidación de acetato de diosgenina (25R)-3 β -acetoxi-espirostan-5-en (2) con NaNO ₂ /BF ₃ ·OEt ₂	49
9.6 Preparación de (23R,25R)-3 β -acetoxi-16 β ,23:23,26-diepoxi-5-en-coleston-22-ona (8).....	49
9.7 Preparación de (23Z,25R)-3 β ,26-diacetoxi-16 β ,23-epoxi-coleston-5,23-en-22-ona (11) y (25R, 22S)-3 β , 26-diacetoxi-16 β ,22-epoxi-5-en-coleston-22-ol-23-ona (14).....	50

9.7.1 (23Z, 25R)-3 β , 26-diacetoxi-16 β , 23-epoxi-colestan-5, 23-en-22-ona (11).....	50
9.7.2 (22S, 25R)-3 β , 26-diacetoxi-16 β ,22-epoxi-5-en-colestan-22-ol-23-ona (14)	51
9.8 Oxidación de acetato de tigogenina (25R)-3 β -acetoxi-5 α -espirostan (3) con NaNO ₂ /BF ₃ ·OEt ₂	51
9.9 Preparación de (23R,25R)-3 β -acetoxi-16 β ,23:23,26-diepoxi-5 α -colestan-22-ona (9).....	52
9.10 Preparación de (23Z,25R)-3 β ,26-diacetoxi-16 β ,23-epoxi-5 α -colestan-23-en-22- ona (12) y (25R, 22S)-3 β ,26-diacetoxi-16 β ,22-epoxi-5 α -colestan-22-ol-23-ona (15).	52
9.10.1 (23Z,25R)-3 β ,26-diacetoxi-16 β ,23-epoxi-5 α -colestan-23-en-22-ona (12).	53
9.10.2 (25R, 22S)-3 β ,26-diacetoxi-16 β ,22-epoxi-5 α -colestan-22-ol-23-ona (15).	54
10. BIBLIOGRAFÍA	55
11. APÉNDICE	58
Espectros de infrarrojo y Masa alta resolución	58
Figura 22. Espectro de IR para 13	59
Figura 23. Espectro de masa para 13	60
Figura 24. Espectro de IR para 14	61
Figura 25. Espectro de masa para 14	62
Figura 26. Espectro de masa para 15	63

ABREVIATURAS, SÍMBOLOS Y ACRÓNIMOS

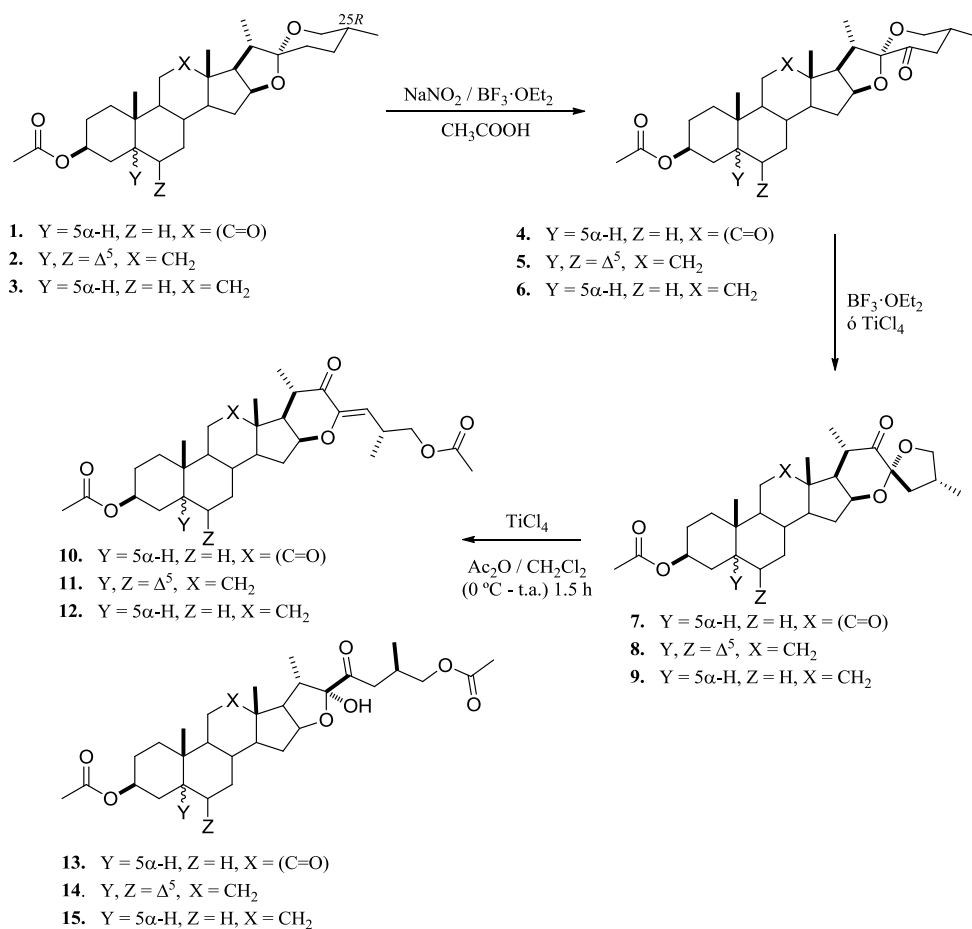
AcOH	Ácido acético
Ac ₂ O	Anhídrido acético
ax	Axial
CCF	Cromatografía en capa fina
CaSKi	Línea celular de cáncer cervical
CEM	Línea celular de leucemia crónica linfoblastica T
COSY	COrelated SpectroscopY
DCM	Diclorometano
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMDO	Dimetildioxirano
°C	Grados Celsius
δ	Desplazamiento químico
d	Doble
dd	Doble de dobles
ddd	Doble de doble de dobles
eq	Equivalente
g	Gramos
h	Horas
HeLa	Línea celular de cáncer cervical

HETCOR	HETeronuclear CORection
HMBC	Heteronuclear Multiple-Bond Correlation
HRMS	High-Resolution Mass Spectrometry
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
Hz	Hertz
IR	Infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
LPS	Lipopolisacarido
m	Señal múltiple
M	Molar
MCF 7	Línea celular de cáncer de seno
min	Minutos
mL	Mililitros
NOESY	Nuclear Overhauser Effect SpectroscopY
<i>p</i> -TsOH	Ácido <i>p</i> -toluenosulfónico
PCC	Clorocromato de piridina
p.f.	Punto de fusión
ppm	Partes por millón
<i>R_f</i>	Retardation factor
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
s	Simple

t	Triple
t.a.	Temperatura ambiente
ν	Frecuencia
ViBo	Línea celular de cáncer cervical
9-BBN	9-Borobiciclononano

1. RESUMEN

El presente trabajo describe una nueva metodología para la obtención de los derivados hemicetálicos **13**, **14** y **15**, a partir de acetato de hecogenina (**1**), acetato de diosgenina (**2**) y acetato de tigogenina (**3**). Los productos se obtuvieron mediante la apertura regioselectiva de las (25R)-23-espirosapogeninas **7**, **8** y **9** con TiCl_4 y anhídrido acético. La estructura de los nuevos compuestos **13**, **14** y **15** se asignó mediante RMN de una y dos dimensiones. Para el compuesto **13**, la estructura se confirmó mediante el análisis por difracción de rayos-X, determinando configuración 22S en el nuevo centro quiral de C-22.

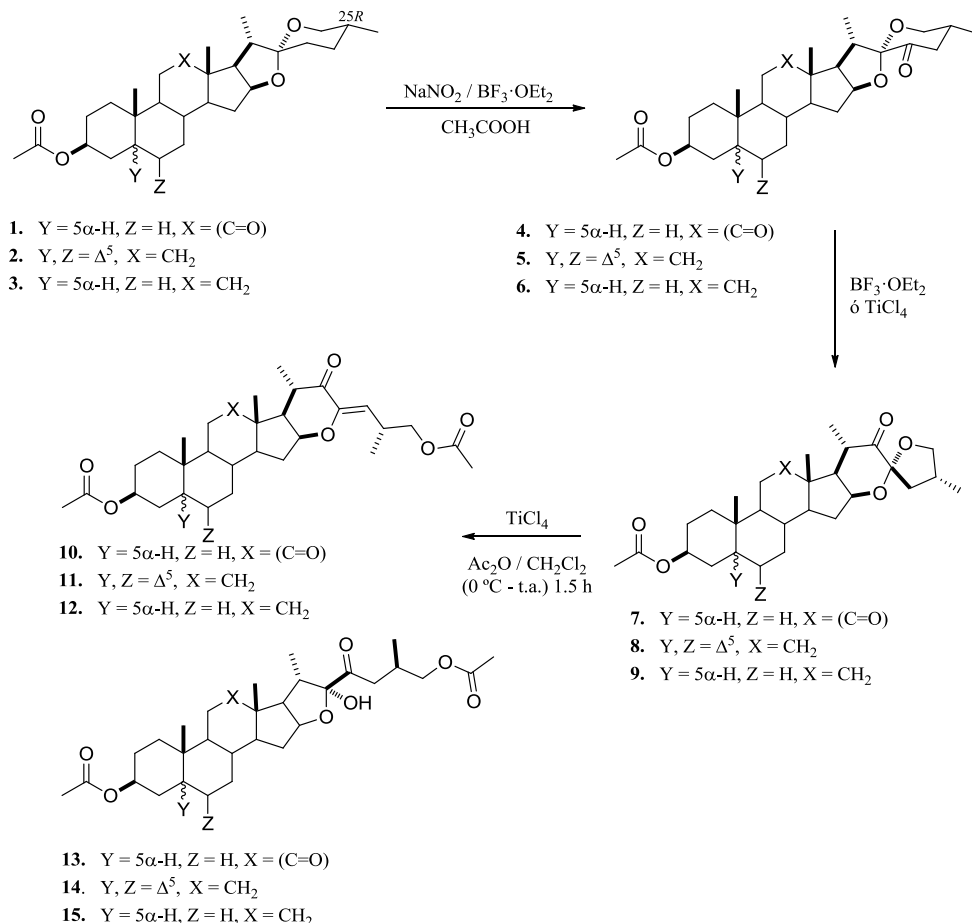


Esquema 1. Nuevos derivados hemicetálicos **13**, **14** y **15**.

Palabras clave: Sapogenina, Hecogenina, Tigogenina, Diosgenina, 22-ceto-23-espirocetales.

2. ABSTRACT

This work describes a new methodology for the synthesis of derivatives hemicetalic **13**, **14**, and **15** from hecogenin acetate (**1**), diosgenin acetate (**2**) and tigogenin acetate (**3**). The products were obtained via regioselective opening of (25*R*)-23-spirosapogenins **7**, **8** and **9** with TiCl_4 and acetic anhydride. The new compounds **13**, **14**, and **15** were established unequivocally by NMR one and two dimensions. For the new compound **13**, the structure was confirmed by X-ray analysis and the stereochemistry for the new chiral center in C-22 was assigned as *S*.



Scheme 1. New derivatives hemicetalic **13**, **14**, and **15**.

Keywords: Sapogenin, Hecogenin, Tigogenin, Diosgenin, 22-keto-23-spiroketal.

3. INTRODUCCIÓN

Las saponinas (del latín *sapo*, "jabón") son glucósidos de esteroides (Figura 1) o de triterpenoides, llamadas así por sus propiedades semejantes a las del jabón ya que forman espuma cuando se las agita en agua, cada molécula está constituida por un elemento soluble en lípidos (el esteroide o el triterpenoide) y un elemento soluble en agua (el azúcar).¹ Una gran variedad de plantas son conocidas por su contenido de saponinas, como son la yucca, el ginseng, la alfalfa, el aloe y la quinua.²

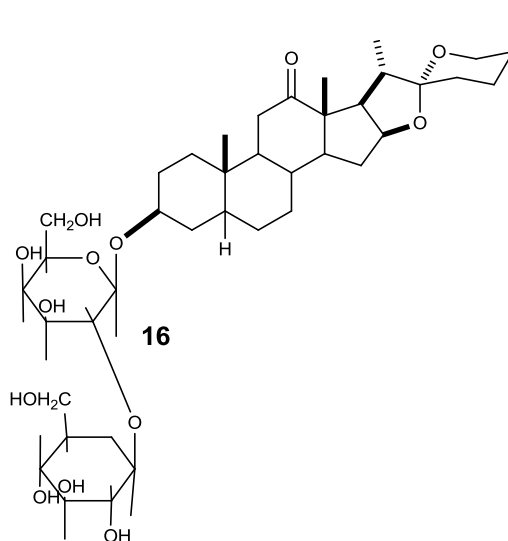


Figura 1. Timosaponina glicósido con esqueleto de sarsasapogenina.

Para la obtención de las sapogeninas, se realiza la hidrólisis ácida o enzimática de la saponina, obteniéndose carbohidratos y una aglicona,¹ dependiendo de la naturaleza de la aglicona puede tener un esqueleto esteroideal o triterpénico. Las sapogeninas esteroidales se clasifican en colestánicas, furostánicas y espirostánicas (Figura 2).^{3,4}

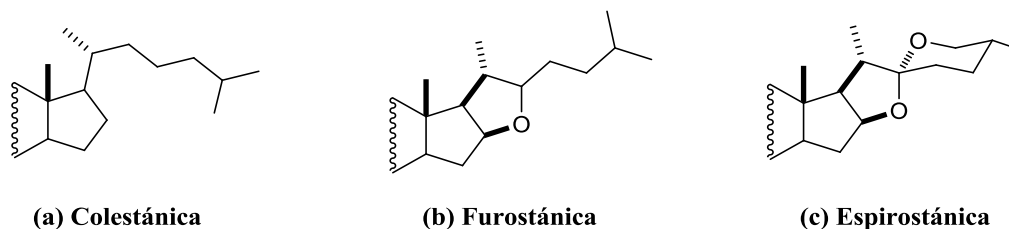


Figura 2. Clasificación de las sapogeninas esteroidales.

Las sapogeninas de tipo espiroestánicas representan una de las clases más abundantes en las plantas en comparación con las anteriores, estos compuestos contienen un espirocetal fusionado en el C-22 entre los anillos E y F, además se dividen en dos series (25R y 25S) según la orientación del metilo en C-25 ya sea ecuatorial o axial respectivamente, por ejemplo la tigogenina y sarsasapogenina (Figura 3).⁴

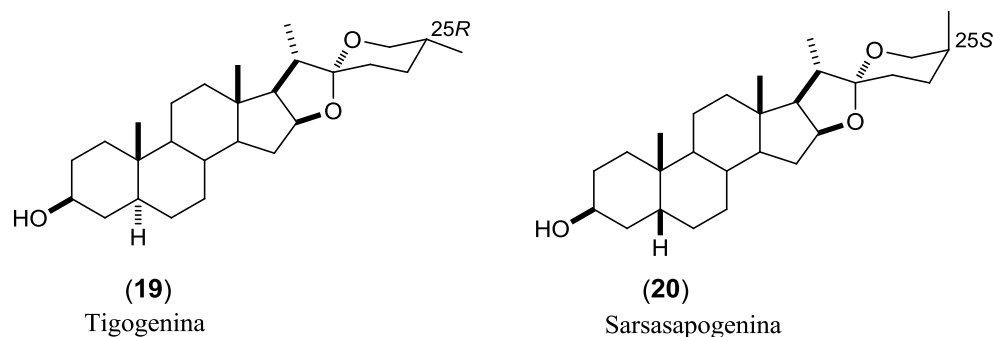
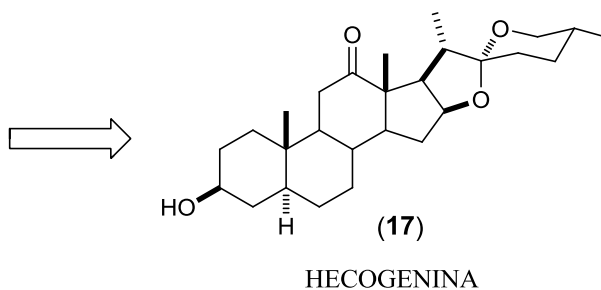


Figura 3. Sapogeninas espiroestánicas de la serie 25R y 25S.

La posibilidad de convertir las sapogeninas esteroidales en esteroides de importancia farmacéutica se descubrió por Russel E. Marker en 1940, cuando reportó el procedimiento de la degradación de la cadena lateral de una sapogenina espiroestánica, propiciando así una búsqueda exhaustiva de plantas productoras de esteroides investigando un gran número de especies de los géneros de *Agave* y *Yucca*, encontrando 13 nuevas sapogeninas (Figura 4); algunas de ellas fueron identificadas en plantas de otros géneros.

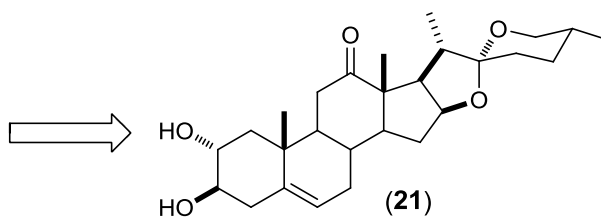


Agave sisalana





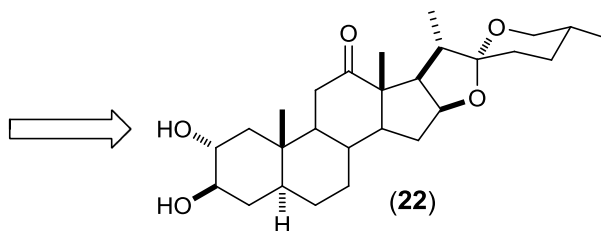
Yucca shottii



KAMOGENINA



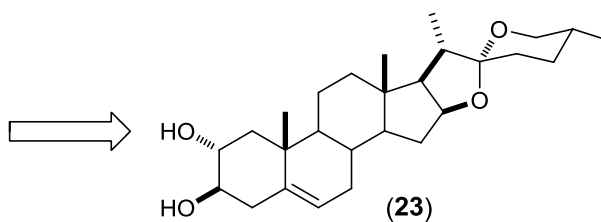
Manfreda maculosa



MANOGENINA



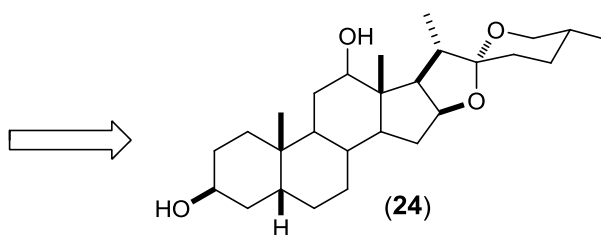
Yucca elata



YUCAGENINA



Agave gracilipes



ROCOGENINA

Figura 4. Ejemplo de sapogeninas obtenidas de las plantas.

Con el descubrimiento de Marker un gran número de aperturas ácidas han sido estudiadas en relación a la reactividad del anillo espirocetálico de las sapogeninas espirostánicas, convirtiéndolas en compuestos de gran importancia económica⁵ en la industria farmacéutica para la síntesis de corticosteroides, anticonceptivos orales y hormonas sexuales (Figura 5).^{6,7}

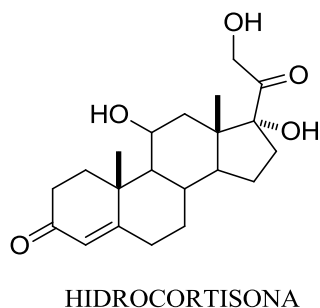


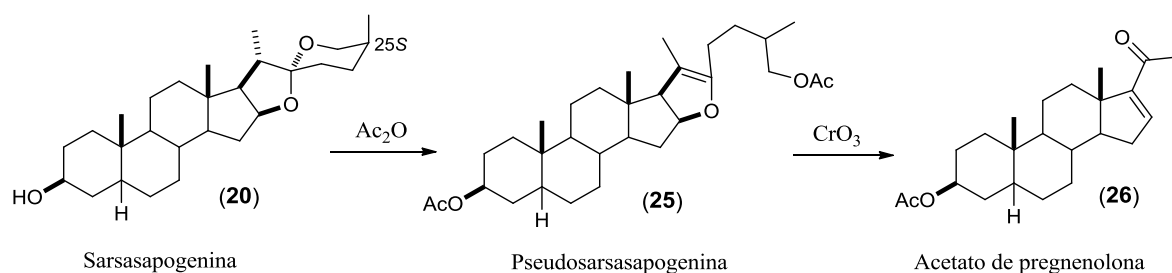
Figura 5. Ejemplo de un esteroide medicinal obtenidos de sapogenina espirostánica hidrocortisona (antiinflamatorio).

Debido a lo anterior diversas investigaciones relacionadas con las sapogeninas espirostánicas han dirigido su atención en torno a su reactividad química y actividad biológica. Por lo cual en la síntesis de compuestos esteroidales a partir de estas materias primas se buscan nuevas metodologías que permitan la preparación de esteroides con actividad biológica. Por lo tanto en este trabajo se decidió explorar la reactividad de las (25*R*)-23-espirosapogeninas frente al tratamiento en presencia de TiCl_4 .

4. ANTECEDENTES

4.1 Degradación de Marker y la síntesis de hormonas esteroidales

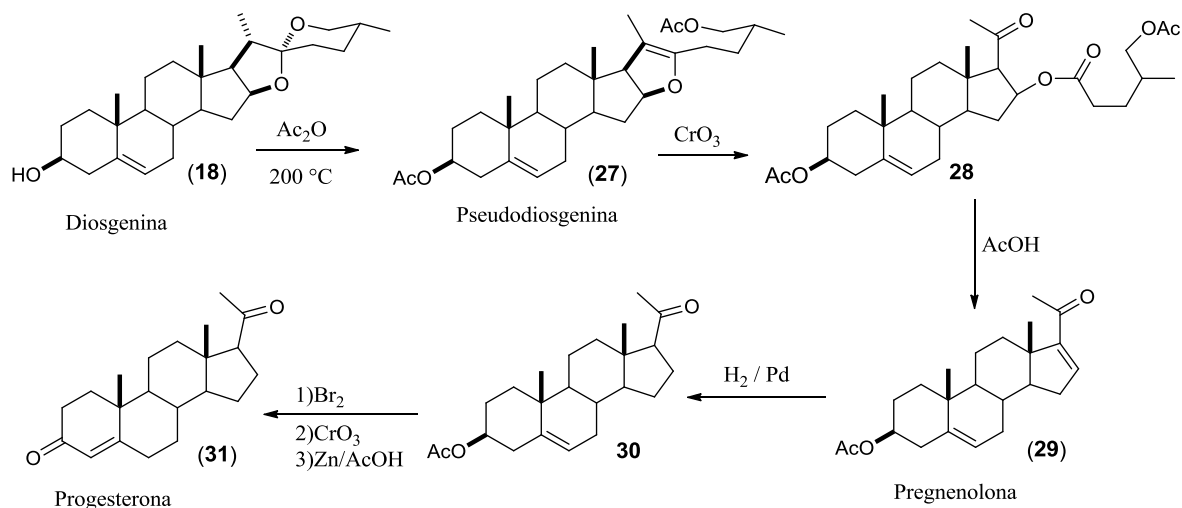
En 1940 Russel E. Marker realizó la degradación a la cadena lateral de sapogeninas esteroidales, transformando la sarsasapogenina en acetato de pregnenolona en buenos rendimientos, este último representó un intermediario de gran importancia para la síntesis de la progesterona (Esquema 2).¹



Esquema 2. Degradación de la cadena lateral de sarsasapogenina.

La sarsasapogenina fue aislada de la semilla de *Yucca filifera*, esta pertenece a la serie 25S y al tener fusión *cis* entre los anillos A y B se puede introducir con facilidad la doble ligadura que tienen la mayoría de las hormonas sexuales en C-4, como son, la testosterona, la progesterona y las hormonas de la corteza suprarrenal como la cortisona y la dihidrocortisona.

En 1940 T. Tsukamoto envió a Marker un lote de diosgenina, que fue aislado de un extracto de *Dioscorea tokoro* (Makino). Realizando el mismo procedimiento de degradación mencionado anteriormente (Esquema 2); la diosgenina (18) fue sometida a condiciones de apertura calentando a 200 °C con anhídrido acético, obteniendo pseudodiosgenina (27), la cual posteriormente se transformó a pregnenolona (29) que mediante una serie de reacciones permitía la obtención de progesterona (31) y facilitó la síntesis de otras hormonas sexuales y corticosteroides (Esquema 3).⁸



Esquema 3. Degradación de Marker de la diosgenina (18).

La disponibilidad de diosgenina y el hecho de que contiene un enlace doble en su núcleo sugirió que sería un compuesto ideal para la eliminación de la cadena lateral que conduce a derivados de la serie pregnano. Por lo anterior se hicieron estudios de contenido de diosgenina demostrando que la mejor fuente de ésta se encuentra en las Dioscóreas silvestres de los trópicos húmedos de México y Centroamérica (Figura 6).⁹

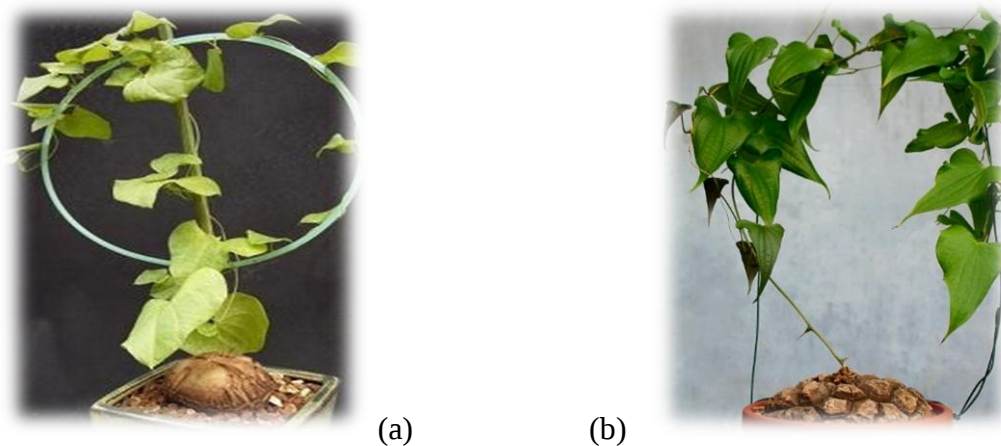


Figura 6. Algunas especies de Dioscoreas (a) *Dioscorea tokoro* y (b) *Dioscorea macrostachya*, fuentes de diosgenina.

Por otro lado la hecogenina, fue aislada por primera vez por Marker y colaboradores de los extractos de dos especies de la familia de *Bromeliaceae*, de *Hechtia texensis* de ahí su nombre, también fue obtenida de 16 especies de Agaves (magueyes) nativos de México y del sur de Estados Unidos (Figura 7).¹⁰

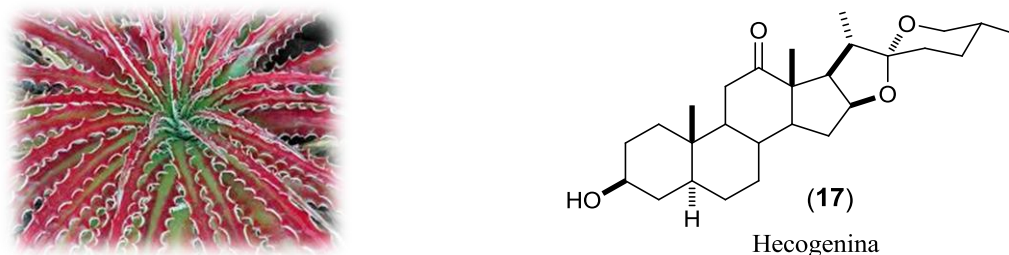
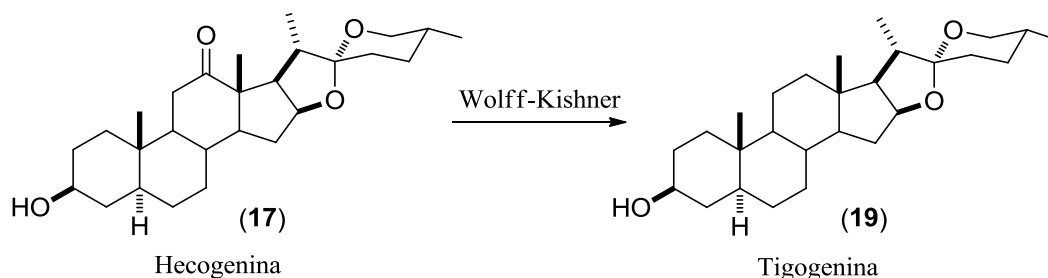


Figura 7. Agave *Hechtia texensis* fuente natural de hecogenina.

La estructura de la hecogenina (17) fue establecida por correlación con tigogenina (19) de estructura previamente establecida, cuando la hecogenina fue sometida a una reacción de Wolff-Kishner perdió la cetona de C-12 y se transformó en tigogenina (Esquema 4).¹⁰



Esquema 4. Tigogenina a partir de hecogenina.

Debido a la investigación de la síntesis de hormonas esteroidales, México ocupó durante varios años uno de los primeros lugares en la industria de hormonas a nivel mundial. Marker inició sus síntesis en 1944 en Syntex S. A. que fundó en la Ciudad de México con Emeric Somlo y Federico A. Lehmann, dando lugar a la producción de hormonas a partir de la cabeza de negro (*Dioscorea macrostachya*) como materia prima, convirtiéndose de esta manera la diosgenina el intermediario que mediante la degradación

de Marker, se utilizó para sintetizar corticosteroides y hormonas a bajo costos. En el año 1945 Marker abandonó Syntex S. A. y fundó una nueva empresa en Texcoco llamada Botánica-mex en donde aislaba más diosgenina de otra *Dioscorea composita* llamada por los nativos barbasco, sintetizando también la progesterona. En 1951 Djerassi y colaboradores describieron la síntesis de la noretindrona, el primer anticonceptivo oral comercializado, en este tiempo México se convirtió en una poderosa fuerza internacional en el desarrollo de esteroides como productos farmacéuticos de hormonas sexuales y corticosteroides (Figura 8).⁹

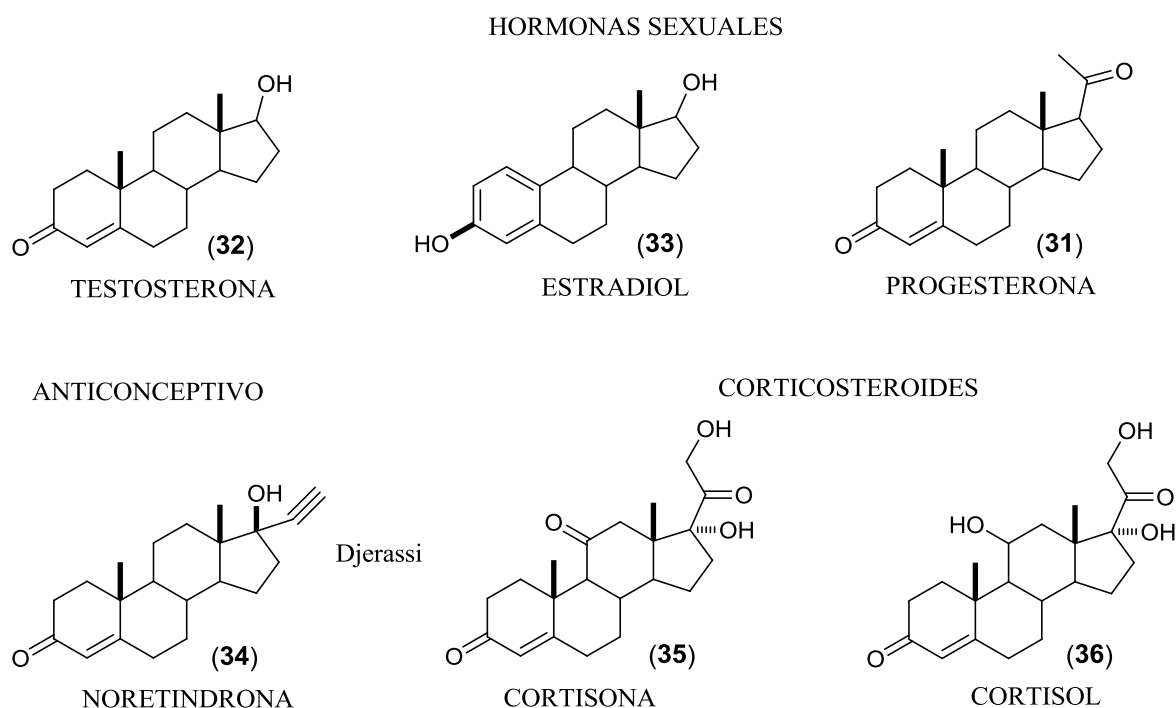


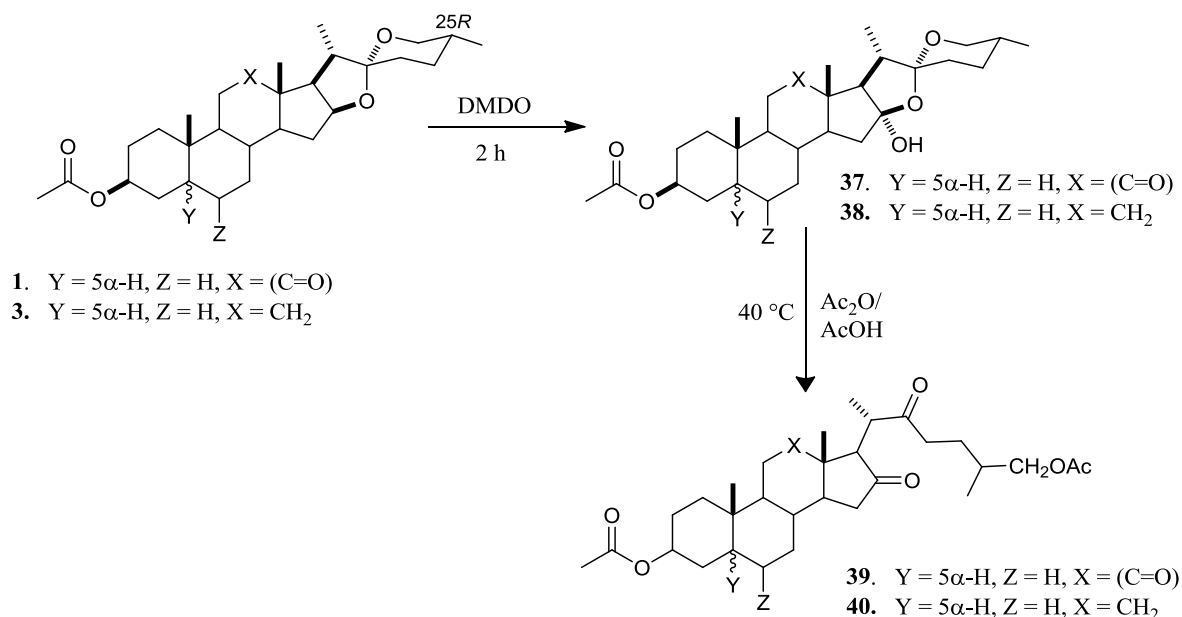
Figura 8. Ejemplo de hormonas sexuales y corticosteroides.

4.2 Reactividad de la cadena lateral de sapogeninas espirostánicas

En las últimas décadas la funcionalización de la cadena lateral de las sapogeninas se ha convertido en objeto de estudio debido a su aplicación en síntesis de productos naturales con importante actividad biológica,¹¹ por ejemplo, la síntesis de derivados de solasodina (antitumoral),¹² de galeterona (anticanceroso),¹³ cefalostatinas,¹⁴ análogos de brasinoesteroides,¹⁵ glicoespirostanos,¹⁶ etc. Actualmente, la síntesis de una variedad de

productos naturales de tipo esteroidal fija su atención en estudios previos de reactividad de la cadena lateral de las sapogeninas espirostánicas, algunas de las cuales se discuten a continuación.

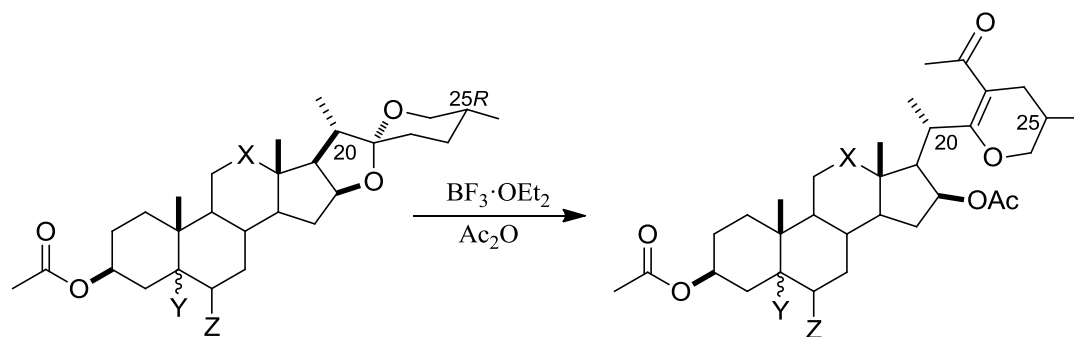
En 1994 se describió la apertura de los anillos E y F de acetato de hecogenina (**1**) y tigogenina (**3**) vía una oxidación selectiva del C-16 con DMDO y seguida por el tratamiento con anhídrido acético y ácido acético a 40 °C. Mediante estas condiciones de reacción se obtuvieron los derivados 16,22-diceto-26-acetoxicolestánicos **39** y **40** en rendimientos cuantitativos (Esquema 5).¹⁷



Esquema 5. Síntesis de los compuestos 16,22-diceto-26-acetoxicolestánicos.

En 1999 Sandoval-Ramírez y colaboradores^{18a} reportaron la obtención de los productos **41** y **42** a partir de acetato de hecogenina (**1**) y diosgenina (**2**), en rendimientos del 87% y 85% respectivamente; la conversión se realizó en un solo paso con BF₃·OEt₂ y Ac₂O manteniendo la quiralidad natural en C-20 y C-25 (Esquema 6). El mismo procedimiento se describió en el 2003 para la serie 25S a partir de acetato de sarsasapogenina (**43**) obteniendo el 22,26-epoxicolestano-22-eno **44** análogo a **41** y **42** (serie 25R) y tres derivados furostánicos **45**, **46** y **47** (Esquema 7). Con estos resultados se demostró que las sapogeninas de la serie 25R y 25S tienen una diferencia significativa en

términos de la regioselectividad de apertura de los anillos E y F de la fusión espirocetal cuando se hacen reaccionar con $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ y Ac_2O ,^{18b} la cual es gobernada por cuestiones mecanísticas relacionadas con impedimento estérico del Me-27 cuando este se encuentra en posición axial o ecuatorial.



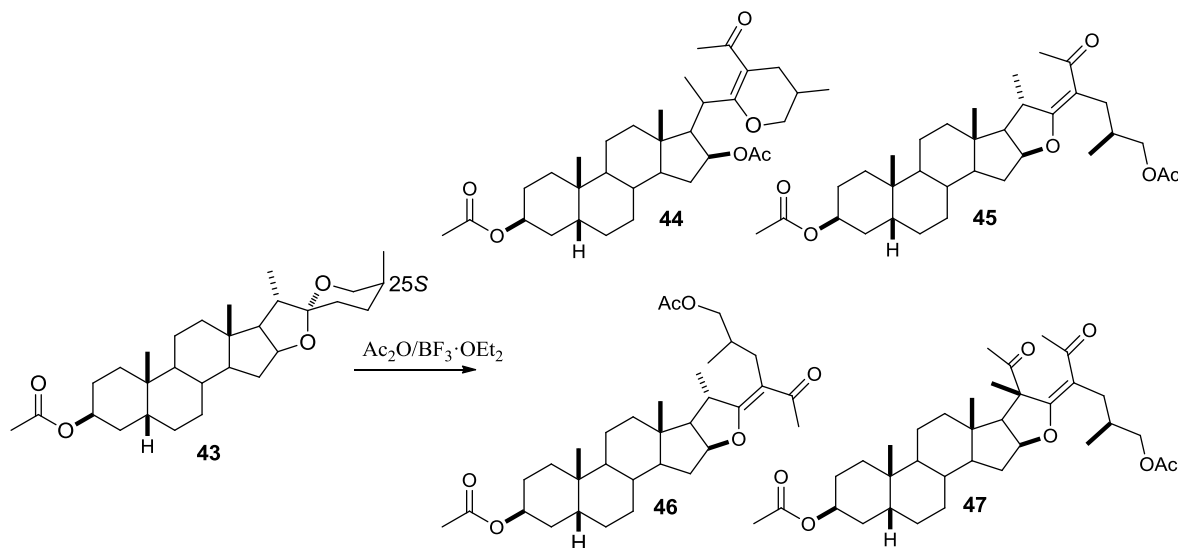
1. Y = $5\alpha\text{-H}$, Z = H, X = (C=O)

2. Y, Z = Δ^5 , X = CH_2

41. Y = $5\alpha\text{-H}$, Z = H, X = (C=O) 87%

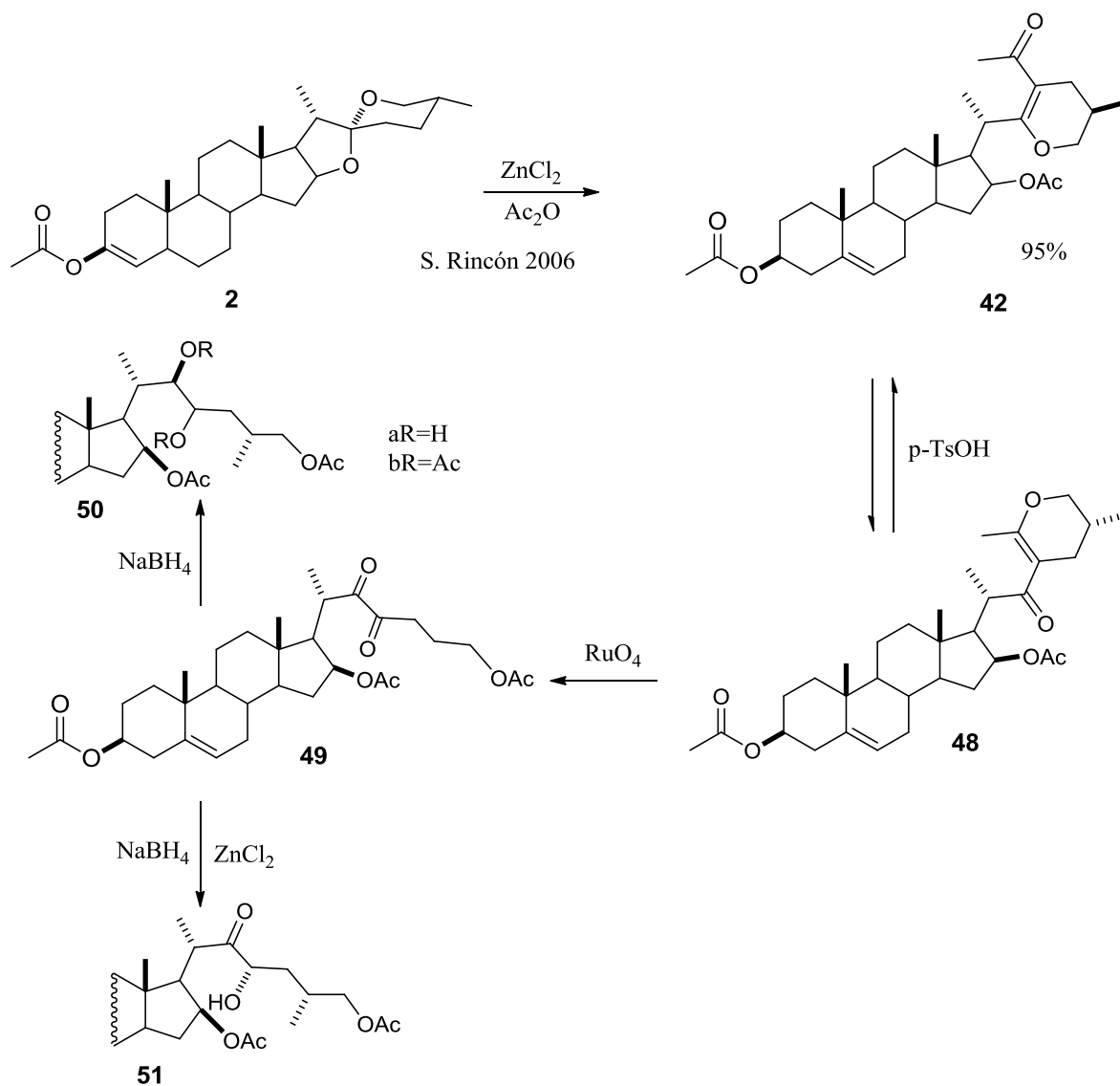
42. Y, Z = Δ^5 , X = CH_2 85%

Esquema 6. Síntesis de acetil dihidropiranos en un solo paso (serie 25R).



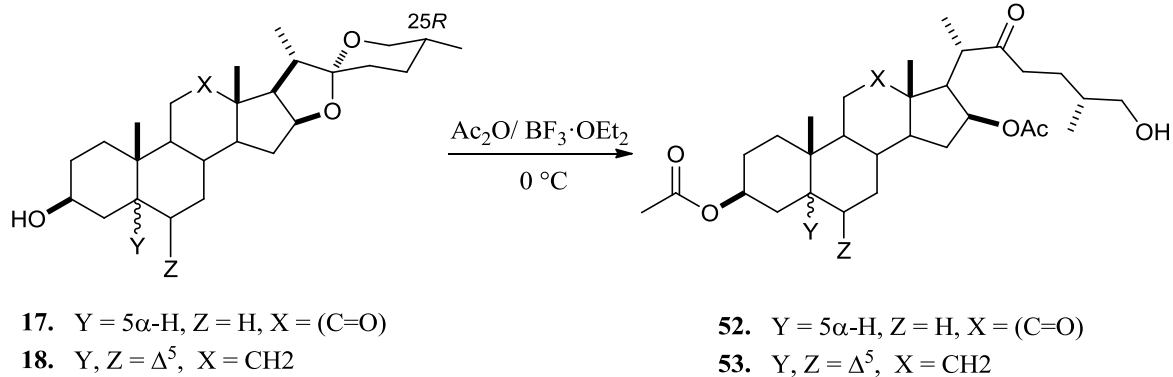
Esquema 7. Síntesis de acetil dihidropiranos y derivados furosténicos (serie 25S).

Como continuación a los trabajos anteriores Rincón y colaboradores,^{18c} realizaron la apertura del anillo E de acetato de diosgenina (**2**) en presencia de $\text{ZnCl}_2/\text{Ac}_2\text{O}$ en lugar de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2/\text{Ac}_2\text{O}$ obteniendo **42** en mejor rendimiento, posteriormente con este compuesto llevaron a cabo diferentes transformaciones químicas con el objetivo de evaluar la reactividad química y preparar análogos de brasinoesteroides (Esquema 8).



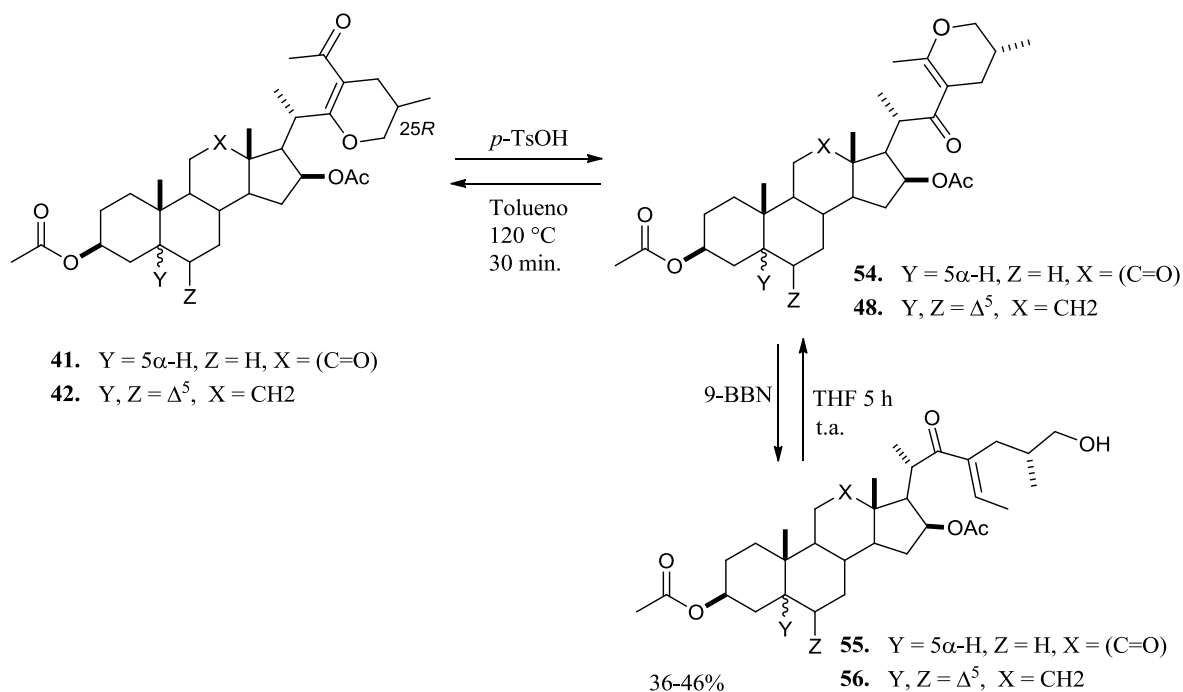
Esquema 8. Síntesis de brasinoesteroides a partir de diosgenina.

En el 2010 se describió una metodología para la apertura regioselectiva del anillo E y F de hecogenina (**17**) y diosgenina (**18**) mediante condiciones que evitan la acetilación de C-26, para los compuestos obtenidos se realizaron ensayos de actividad biológica demostrando actividad anticancerosa en líneas celulares CaSki, HeLa y ViBo cérvico uterinas, probando la inducción de apoptosis en dichas células (Esquema 9).^{19a-b}



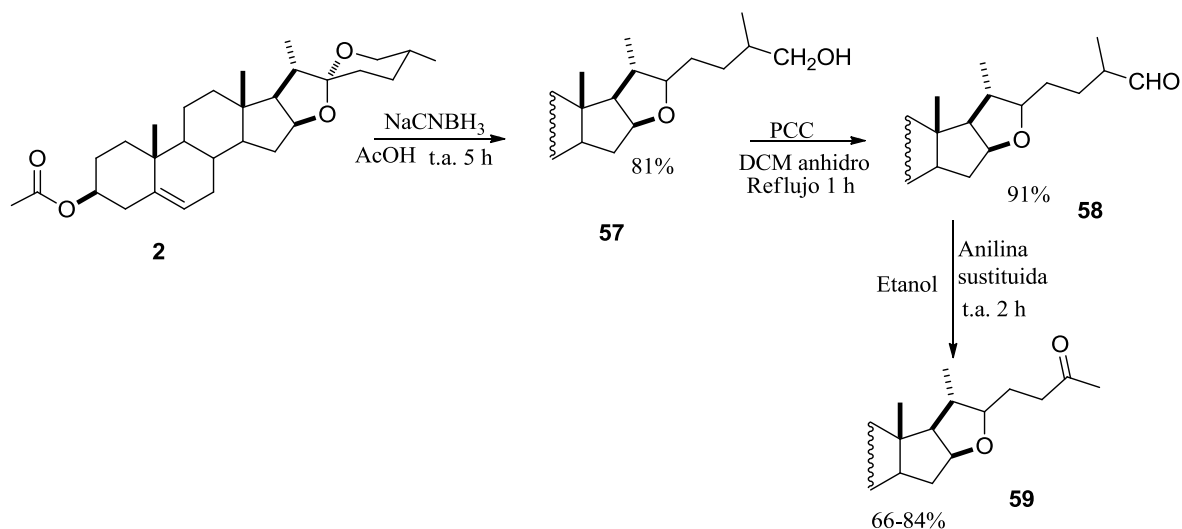
Esquema 9. Compuestos con actividad anticancerosa.

Pérez-Díaz y colaboradores²⁰ sintetizaron y evaluaron biológicamente tres nuevos esqueletos colestánicos, a partir de los compuestos **41** y **42** de la serie 25R aplicando metodologías previamente reportadas en el grupo de trabajo de Santillan y Sandoval.^{18a-c} Mediante el uso del ácido *p*-TsOH obtuvieron los derivados 22-ceto-23,26-epoxicolestanos **48** y **54**; posteriormente mediante una apertura reductiva del anillo F con 9-BBN generaron los 23-etiliden-26-hidroxi-22-cetocolestanos **55** y **56** (Esquema 10). Estos derivados modificados presentaron actividad citotóxica frente a células CEM y MCF7 demostrando su capacidad para inducir apoptosis en ellas.



Esquema 10. Síntesis de 23-etiliden-26-hidroxi-22-cetocolestanos.

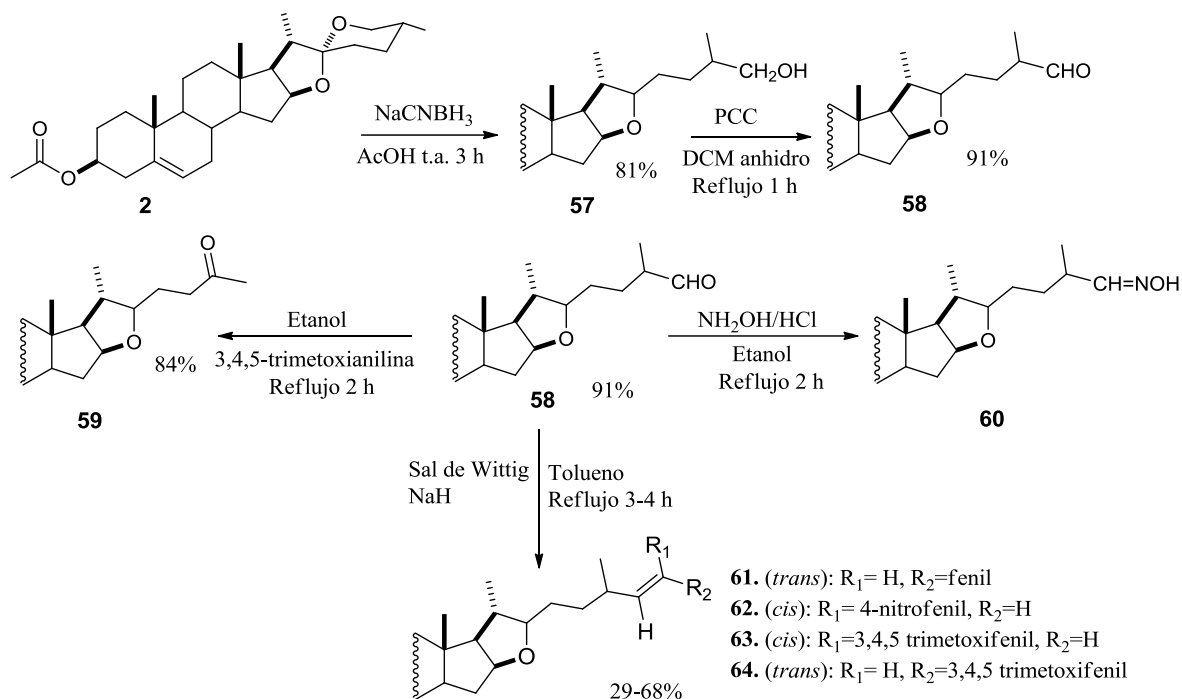
En 2014 Hamid y colaboradores²¹ describieron la síntesis de esteroides derivados de acetato de diosgenina (**2**) a través de la apertura del anillo F, la apertura regioselectiva de este anillo se promovió con el uso del cianoborohidruro de sodio en AcOH a temperatura ambiente, produciendo el alcohol **57**, el posterior tratamiento con clorocromato de piridina (PCC) genera el aldehído **58** que enseguida se transforma a la cetona **59** (Esquema 11). Estudios de actividad biológica demostraron que el compuesto **57** fue el compuesto más activo inhibiendo la proliferación celular mediante la detención en la fase G₀/G₁ del ciclo celular. El mecanismo de acción de esta molécula es a través de la inducción de la caspasa que promueve la apoptosis para que no haya proliferación de células cancerosas.



Esquema 11. Obtención de derivados colestánicos de acetato de diosgenina (**2**).

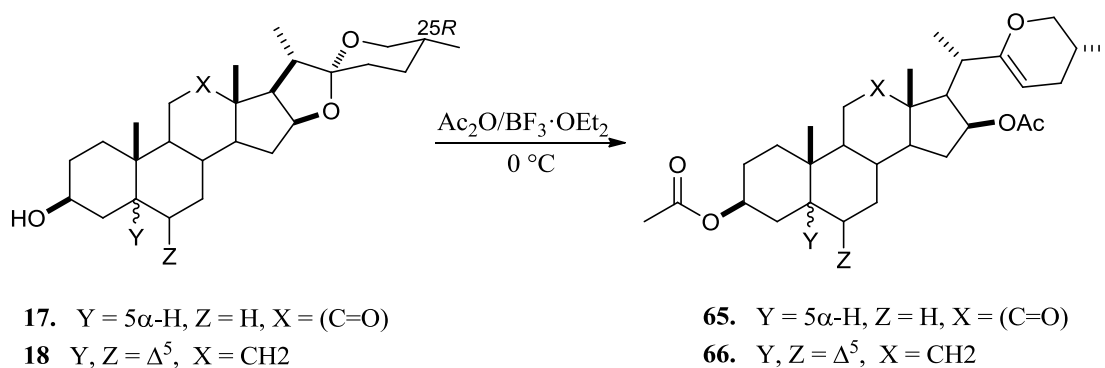
La síntesis de otros análogos de acetato de diosgenina (**2**), también se ha descrito mediante el uso de NaCNBH₃ promoviendo la apertura reductiva del anillo F de tal forma que el derivado 26-OH esteroidal **57** se oxida al aldehído **58** con PCC; este compuesto en presencia de una amina aromática con etanol produce la cetona **59**. Otros análogos se obtuvieron a partir del aldehído **58** con clorhidrato de hidroxilamina para formar la aldoxima **60** y con la sal de Wittig para generar los derivados furosténicos **61-64**. Estos compuestos fueron evaluados en perfil anti-inflamatorio *in-vitro* inducido por lipopolisacarido (LPS) en macrófago peritoneales primarios aislados de ratones (Esquema 12).²²

El análogo **64** mostró actividad anti-inflamatoria significativa mediante la inhibición de LPS en macrófagos sin ninguna citotoxicidad.



Esquema 12. Análogos sintetizados de diosgenina con actividad antiinflamatoria.

Recientemente se ha descrito que la apertura regioselectiva de hecogenina (**17**) y diosgenina (**18**) produce los derivados de dihidropirona **65** y **66**, mediante la acetólisis con $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ y Ac_2O a 0°C en rendimientos del 85-90% (Esquema 13).²³



Esquema 13. Síntesis de dihidropiranos.

Considerando la gran diversidad de compuestos esteroidales que han sido obtenidos mediante la apertura de la cadena lateral de las sapogeninas espirostánicas, en el presente trabajo se planteó el estudio sobre la reactividad de las (25*R*)-23-espirosapogeninas.

5. JUSTIFICACIÓN

Una gran cantidad de estudios en el área de química orgánica se encuentra dirigida al descubrimiento y síntesis de nuevos compuestos que puedan tener algún beneficio al ser humano, ya sea por sus propiedades biológicas o como intermediarios de compuestos biológicamente activos, de ahí la importancia por desarrollar nuevas y mejores metodologías de síntesis. Por otra parte la funcionalización de la cadena terminal vía catálisis ácida de las sapogeninas espirostánicas constituye una herramienta principal en la síntesis de compuestos esteroidales con amplio espectro terapéutico, que van desde el control natal, cáncer de seno y prostático, manejo del asma, inmunosupresores, antiinflamatorios y enfermedades cutáneas entre muchos otros. En este sentido se han desarrollado nuevas metodologías de aperturas en la cadena lateral con potencial aplicación en la síntesis de una gran variedad de compuestos esteroidales.

Estudios previos en nuestro grupo de trabajo^{5,24} han demostrado que el tratamiento de las sapogeninas espirostánicas con diferentes ácidos de Lewis o de Brønsted-Lowry o incluso el uso de un mismo ácido, producen diferentes esqueletos esteroidales con estructuras novedosas y análogas a otros esteroides de origen natural con actividad biológica.

Recientemente⁵ reportamos que la apertura con $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ de 22-ceto-23-espirostanos de la serie 25*R* produce en buenos rendimientos derivados colestánicos análogos a la saponina de origen natural Galtoniósida con actividad anticancerígena. Considerando los resultados obtenidos en este trabajo y que existen pocos reportes relacionados con la reactividad de los 22-ceto-23-espirostanos, en el presente proyecto se propone estudiar el comportamiento químico de las 25*R*-23-espirosapogeninas frente a la apertura con TiCl_4 .

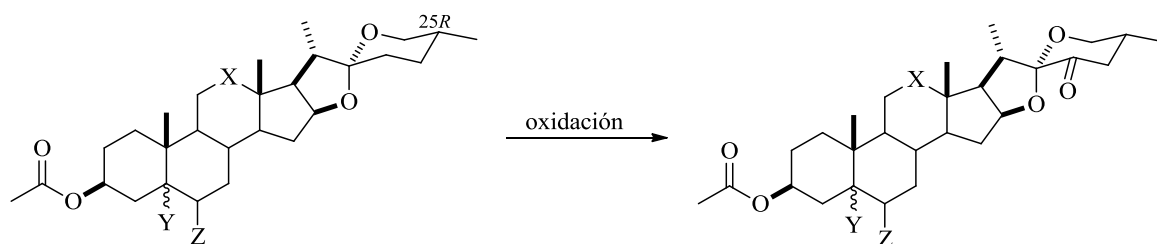
6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Estudio de la regio y estereoselectividad de la apertura de los 22-ceto-23-espirostanos de la serie 25R (hecogenina, diosgenina y tigogenina) frente al tratamiento con TiCl_4 .

6.2 Objetivos específicos

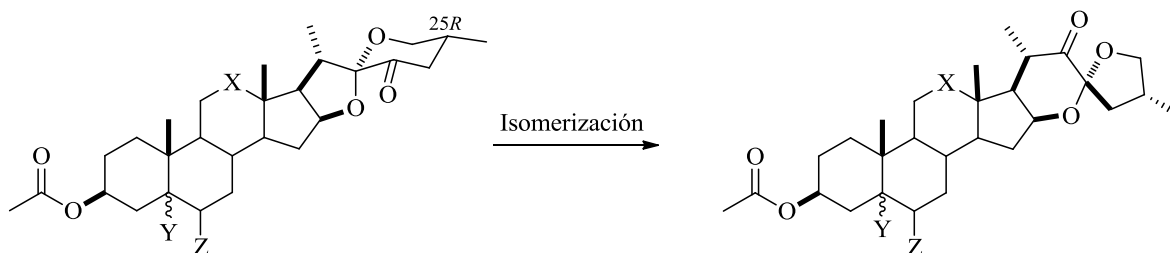
- Obtener las 23-cetosapogeninas a partir de hecogenina, diosgenina y tigogenina vía oxidación de Barton.



1. $\text{Y} = 5\alpha\text{-H}$, $\text{Z} = \text{H}$, $\text{X} = (\text{C}=\text{O})$
2. $\text{Y}, \text{Z} = \Delta^5$, $\text{X} = \text{CH}_2$
3. $\text{Y} = 5\alpha\text{-H}$, $\text{Z} = \text{H}$, $\text{X} = \text{CH}_2$

4. $\text{Y} = 5\alpha\text{-H}$, $\text{Z} = \text{H}$, $\text{X} = (\text{C}=\text{O})$
5. $\text{Y}, \text{Z} = \Delta^5$, $\text{X} = \text{CH}_2$
6. $\text{Y} = 5\alpha\text{-H}$, $\text{Z} = \text{H}$, $\text{X} = \text{CH}_2$

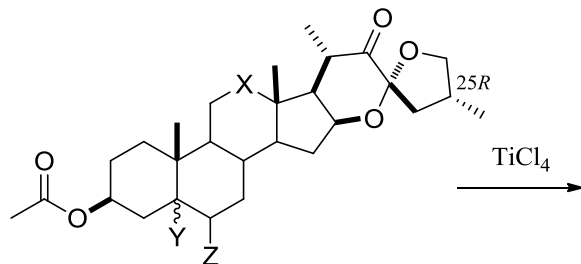
- Obtener los 22-ceto-23-espirostanos a partir de las 23-cetosapogeninas.



4. $\text{Y} = 5\alpha\text{-H}$, $\text{Z} = \text{H}$, $\text{X} = (\text{C}=\text{O})$
5. $\text{Y}, \text{Z} = \Delta^5$, $\text{X} = \text{CH}_2$
6. $\text{Y} = 5\alpha\text{-H}$, $\text{Z} = \text{H}$, $\text{X} = \text{CH}_2$

7. $\text{Y} = 5\alpha\text{-H}$, $\text{Z} = \text{H}$, $\text{X} = (\text{C}=\text{O})$
8. $\text{Y}, \text{Z} = \Delta^5$, $\text{X} = \text{CH}_2$
9. $\text{Y} = 5\alpha\text{-H}$, $\text{Z} = \text{H}$, $\text{X} = \text{CH}_2$

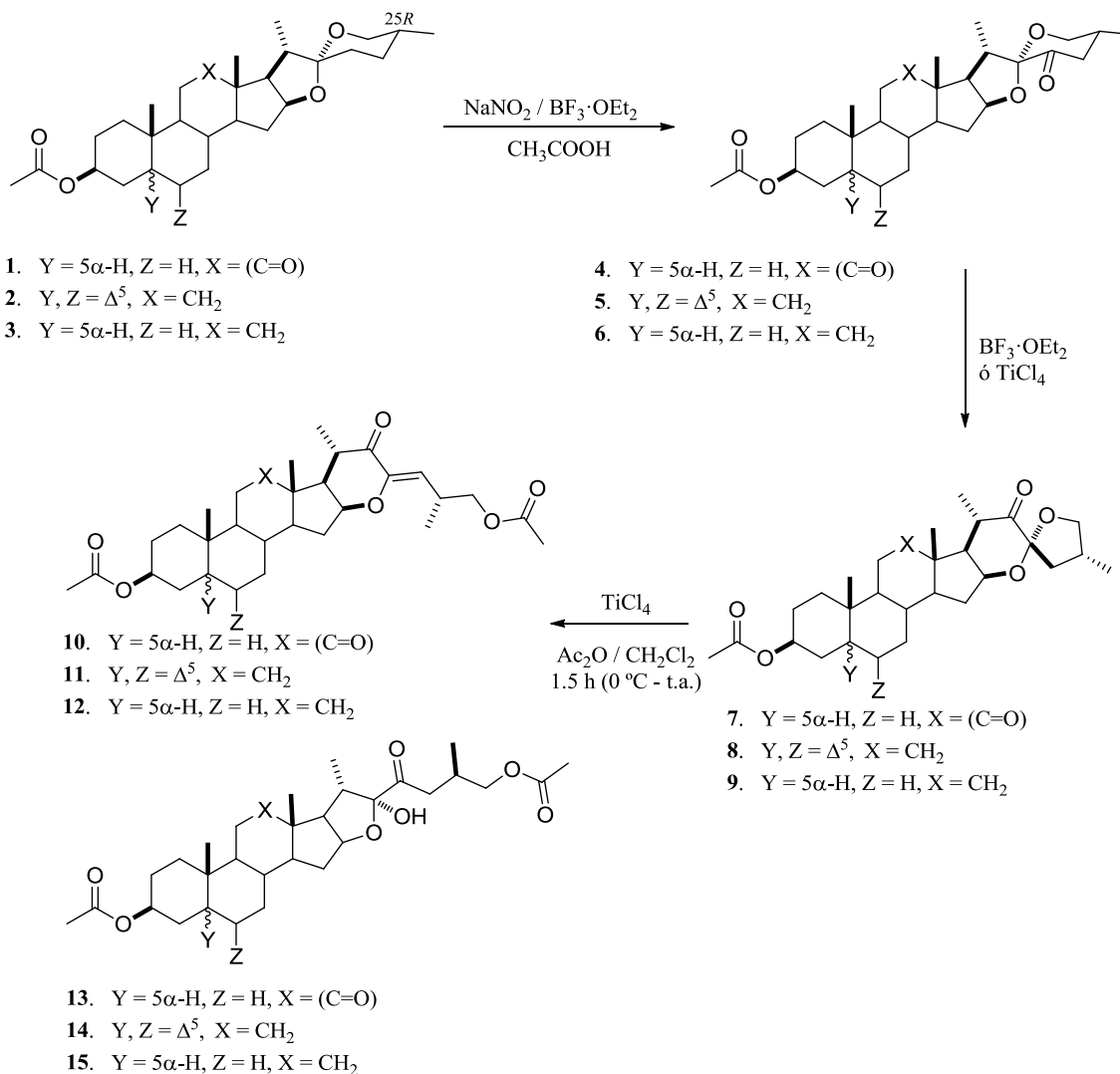
- Estudiar el comportamiento químico de los 22-ceto-23-espirostanos frente a las condiciones de apertura con TiCl_4 , purificar, caracterizar y evaluar la regio y estereoselectividad de los nuevos compuestos.



7. $\text{Y} = 5\alpha\text{-H}$, $\text{Z} = \text{H}$, $\text{X} = (\text{C}=\text{O})$
 8. $\text{Y}, \text{Z} = \Delta^5$, $\text{X} = \text{CH}_2$
 9. $\text{Y} = 5\alpha\text{-H}$, $\text{Z} = \text{H}$, $\text{X} = \text{CH}_2$
- Proponer el mecanismo de reacción, así como la estereoquímica y asignación estructural de los nuevos compuestos.

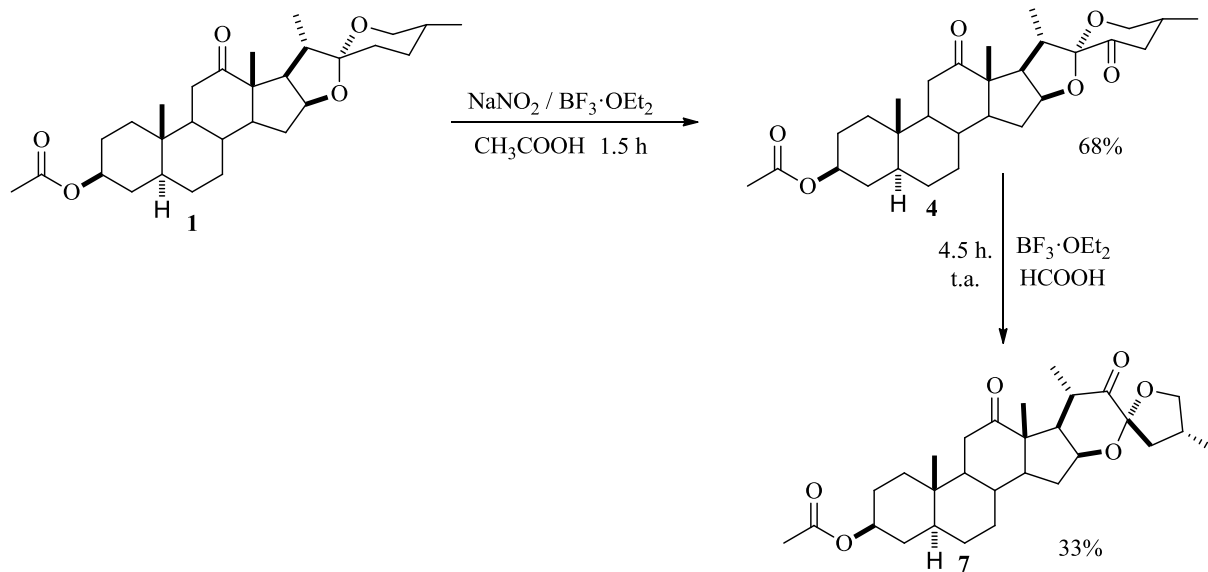
7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

A partir de las sapogeninas **1-3** de la serie 25*R*, se obtuvieron los 22-ceto-23-espirostanos (**7-9**) los cuales posteriormente fueron sometidos a las condiciones de apertura previamente desarrolladas en nuestro grupo de trabajo⁵ y modificando el ácido de Lewis; se utilizó TiCl_4 en lugar de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, encontrando que con el cambio del ácido de Lewis se tiene la formación de los derivados colestánicos **10-12** previamente reportados y además se observó la formación de los nuevos compuestos 22-hemicetálicos **13-15** (Esquema 14).



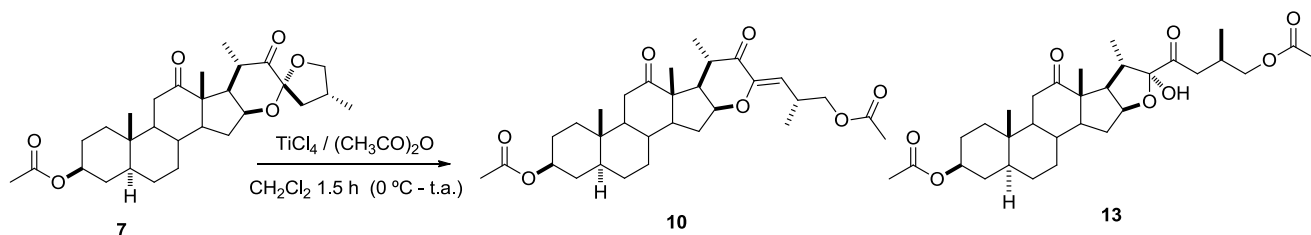
Esquema 14. Obtención de los nuevos derivados hemicetálicos **13-15**.

Para la obtención de **13**, se inició con la preparación de la 22-ceto-23-espirohecogenina (**7**) la cual se obtuvo en un rendimiento del 33% a partir de la metodología mostrada en el esquema 15.



Esquema 15. Preparación del 22-ceto 23-espirohecogenina (**7**).

Posteriormente la 22-ceto-23-espirohecogenina (**7**) se hizo reaccionar con TiCl_4 en diclorometano de 0 °C a temperatura ambiente durante 1.5 h (Esquema 16). Encontrando que en estas condiciones el compuesto **7**, produce el derivado colestánico **10** en 36% de rendimiento y el nuevo compuesto **13** en 30%.



Esquema 16. Apertura del compuesto **7**.

La asignación del compuesto **10** se realizó por comparación con los datos espectroscópicos previamente reportados.⁵

En la figura 9 se muestra el espectro de RMN de ^1H en el que se observa la presencia de una señal doble en 5.67 ppm con $J_{24-25} = 9.3$ Hz, asignada a H-24, además una señal múltiple en 3.96 ppm que corresponde a los hidrógenos diastereotópicos de 26. También se observan dos señales múltiples en 2.96 ppm y 2.60 ppm asignadas para H-25 y H-20 respectivamente, así como las señales simples que pertenecen a los metilos 18 y 19 en 1.27 y 0.96 ppm respectivamente y dos señales dobles para los metilos secundarios 21 y 27 en 1.18 ppm y 1.04 ppm.

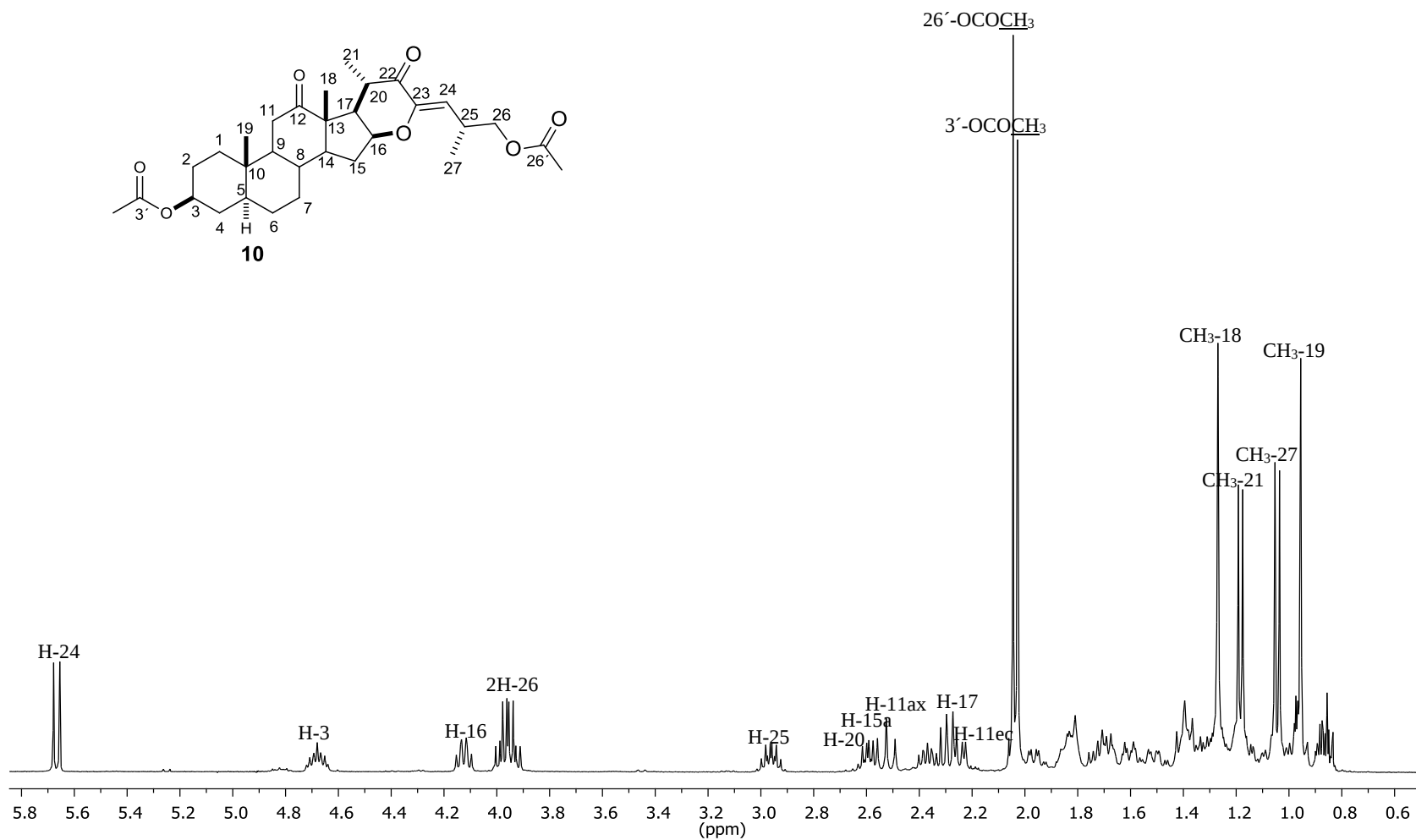


Figura 9. Espectro de RMN ^1H (400 MHz) de **10** en CDCl_3 .

La asignación del nuevo compuesto **13** se realizó con ayuda de los siguientes datos espectroscópicos. En el espectro de infrarrojo se observó una banda de absorción característica de grupos hidroxilo en 3437 cm^{-1} , además en la región de 1727 y 1707 cm^{-1} se observaron dos bandas asignadas a los grupos carbonilos en C-12, y C-22 respectivamente.

Para el nuevo compuesto **13** el espectro de RMN de ^1H (Figura 10) mostró en 4.69 ppm una señal múltiple asignadas a los H-16 y H-3. En 4.09 ppm se observa una señal simple ancha asignada al 22-OH, además los hidrógenos diastereotópicos de la posición 26 se observaron como una señal múltiple en 3.96 ppm confirmando la apertura del anillo F de la cadena terminal. También se observan las señales características que corresponden a los metilos cuaternarios CH₃-18 y CH₃-19 en 1.18 ppm y 0.95 ppm respectivamente así como los metilos secundarios CH₃-21 y CH₃-27 en 1.04 ppm y 0.96 ppm.

En el espectro de RMN de ^{13}C de **13** (Figura 11) se observaron las 31 señales esperadas, dentro de las que destacan dos señales características de grupos carbonilos en 212.6 y 207.1 ppm asignadas a los C-12 y C-22 con ayuda del experimento de HMBC. Las dos señales de los carbonilos de acetato sustituidos en C-26 y C-3 se asignaron en 171.0 y 170.5 ppm. Con ayuda del experimento HSQC fueron asignados los carbonos base de oxígeno C-16, C-3 y C-26 en 82.5, 73.1 y 68.3 ppm respectivamente.

Para el compuesto **13** se asignó un total de seis metilos, nueve metilenos, nueve metinos y siete carbonos cuaternarios con ayuda del experimento DEPT (Figura 12) los cuales corresponden a la estructura propuesta.

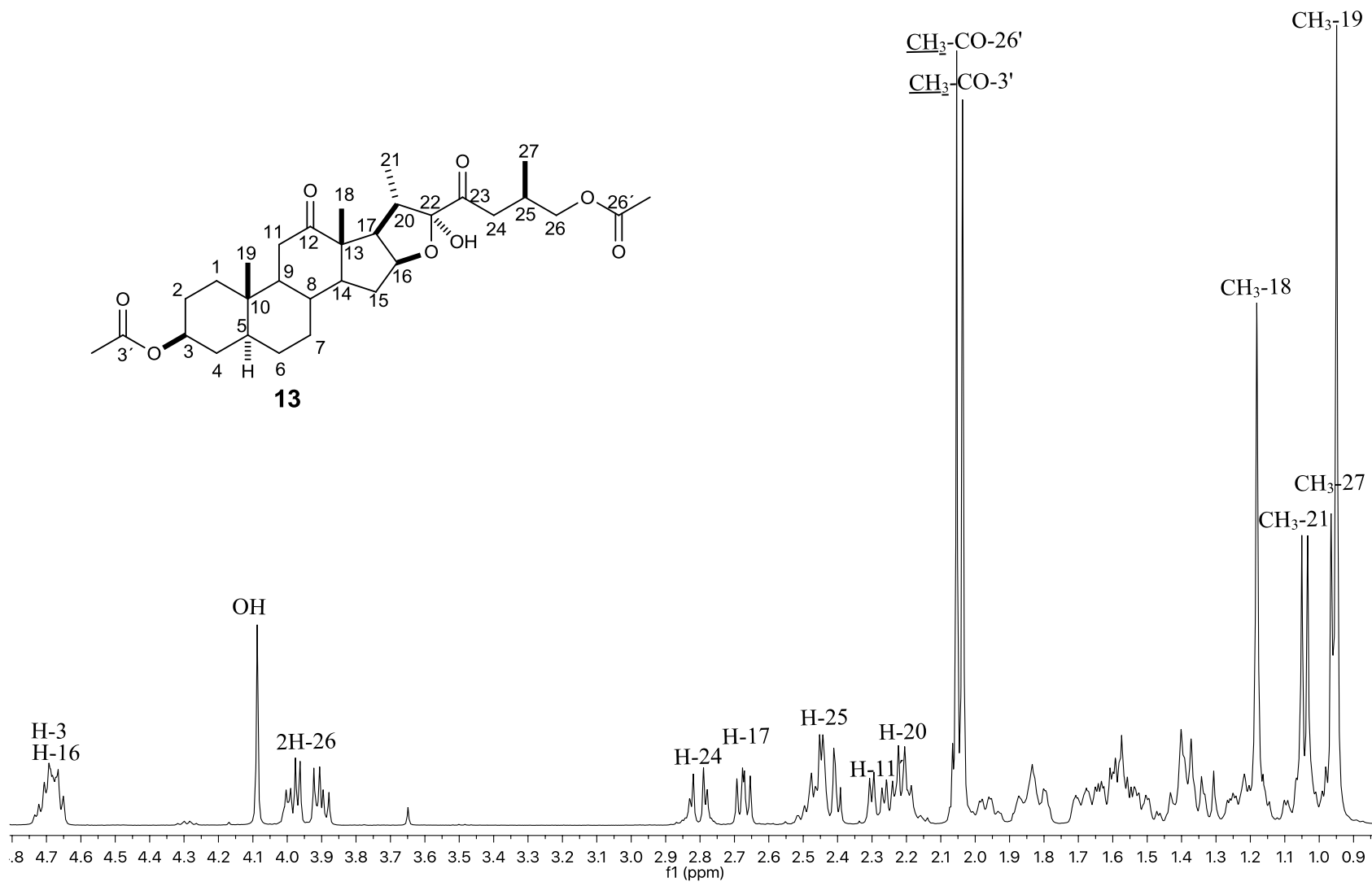


Figura 10. Espectro de RMN ^1H (400 MHz) de **13** en CDCl_3 .

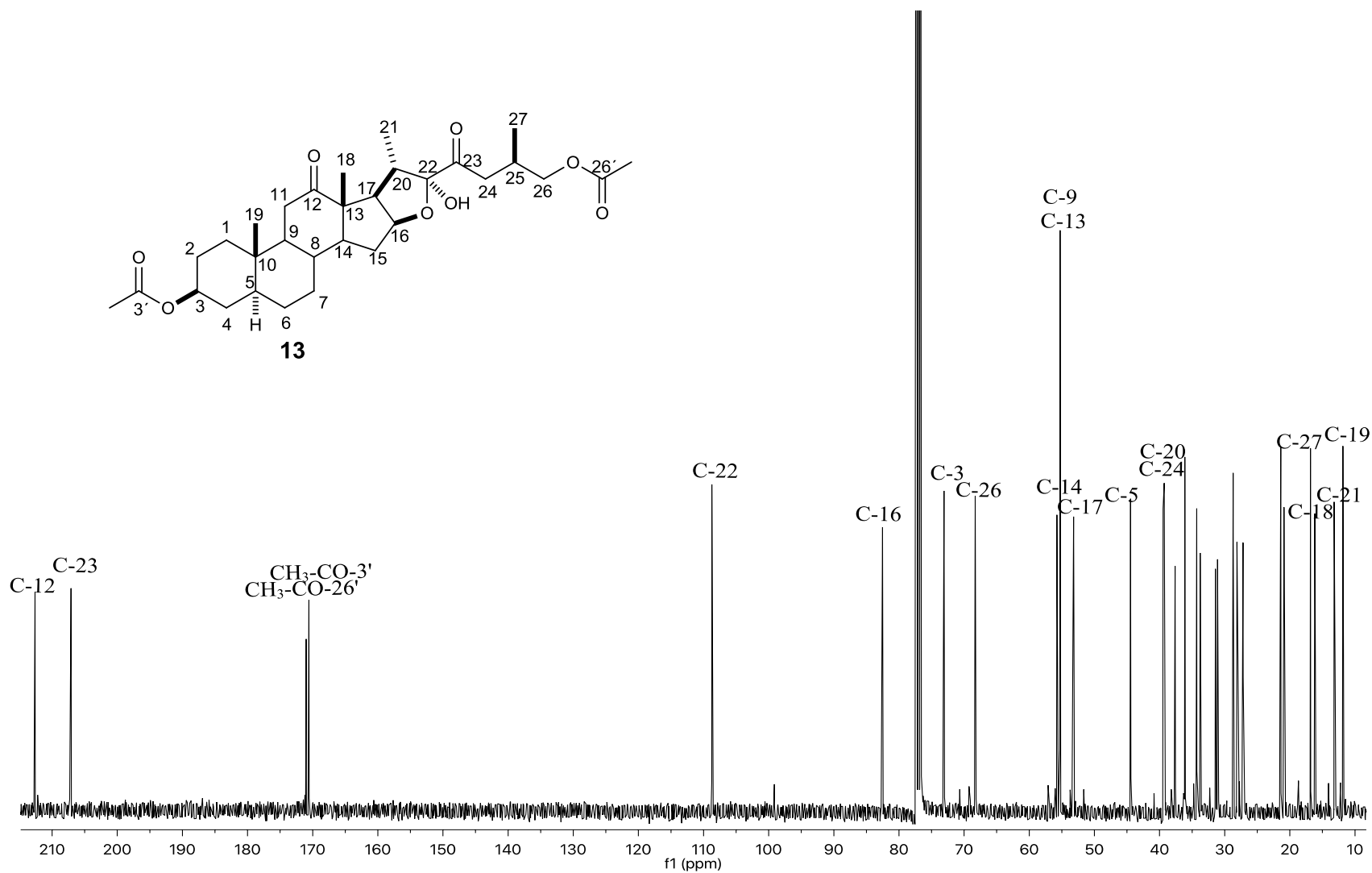


Figura 11. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) de **13** en CDCl_3 .

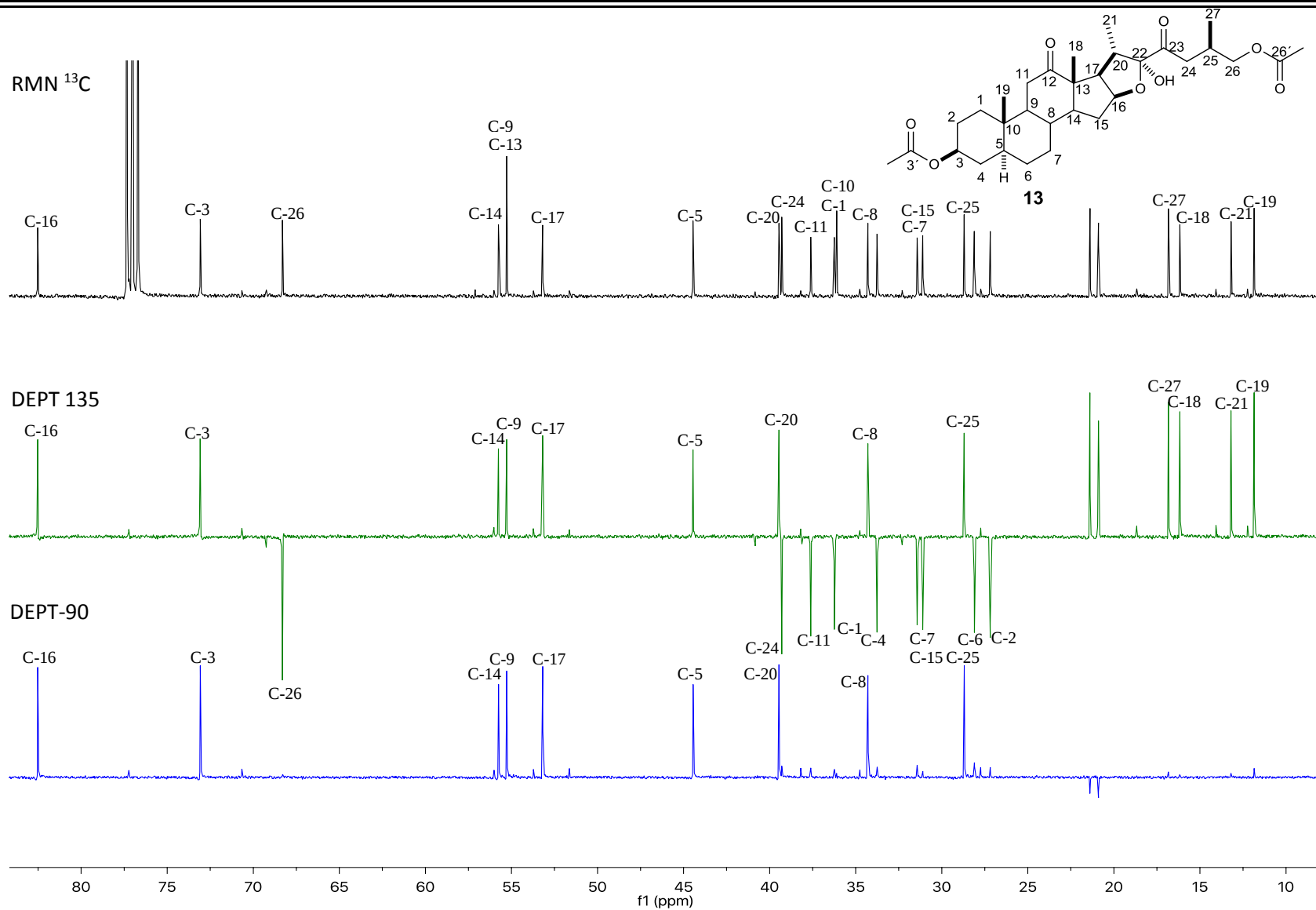


Figura 12. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) DEPT 135 y 90 de **13** en CDCl_3 .

Con ayuda del experimento HSQC (Figura 13) fue posible asignar los carbonos a sus hidrógenos por ejemplo, los carbonos unidos a oxígeno C-16 en 82.5 ppm con H-16 en 4.69 ppm, C-3 en 73.1 ppm con el H-3 en 4.69 ppm y el C-26 en 68.3 ppm con la señal múltiple asignada en 3.96 ppm que integra para dos hidrógenos asignada a 2H-26. Por otra parte C-17 localizado en 53.2 ppm y el C-24 en 39.3 ppm correlacionaron con los protones H-17 en 2.67 ppm e H-24 en 2.80 ppm respectivamente y C-20 en 39.4 ppm con H-20 en 2.23 ppm (Figura 16).

En la figura 14 se muestra el espectro COSY, el cual fue de gran utilidad para asignar hidrógenos vecinales mediante correlaciones homonucleares; por ejemplo el H-17 en 2.67 ppm mostró correlaciones con el H-20 en 2.23 ppm y H-16 en 4.69 ppm. Los dos H-26 en 3.96 ppm correlacionaron con el H-25 en 2.46 ppm y a su vez este con H-24 en 2.80 ppm.

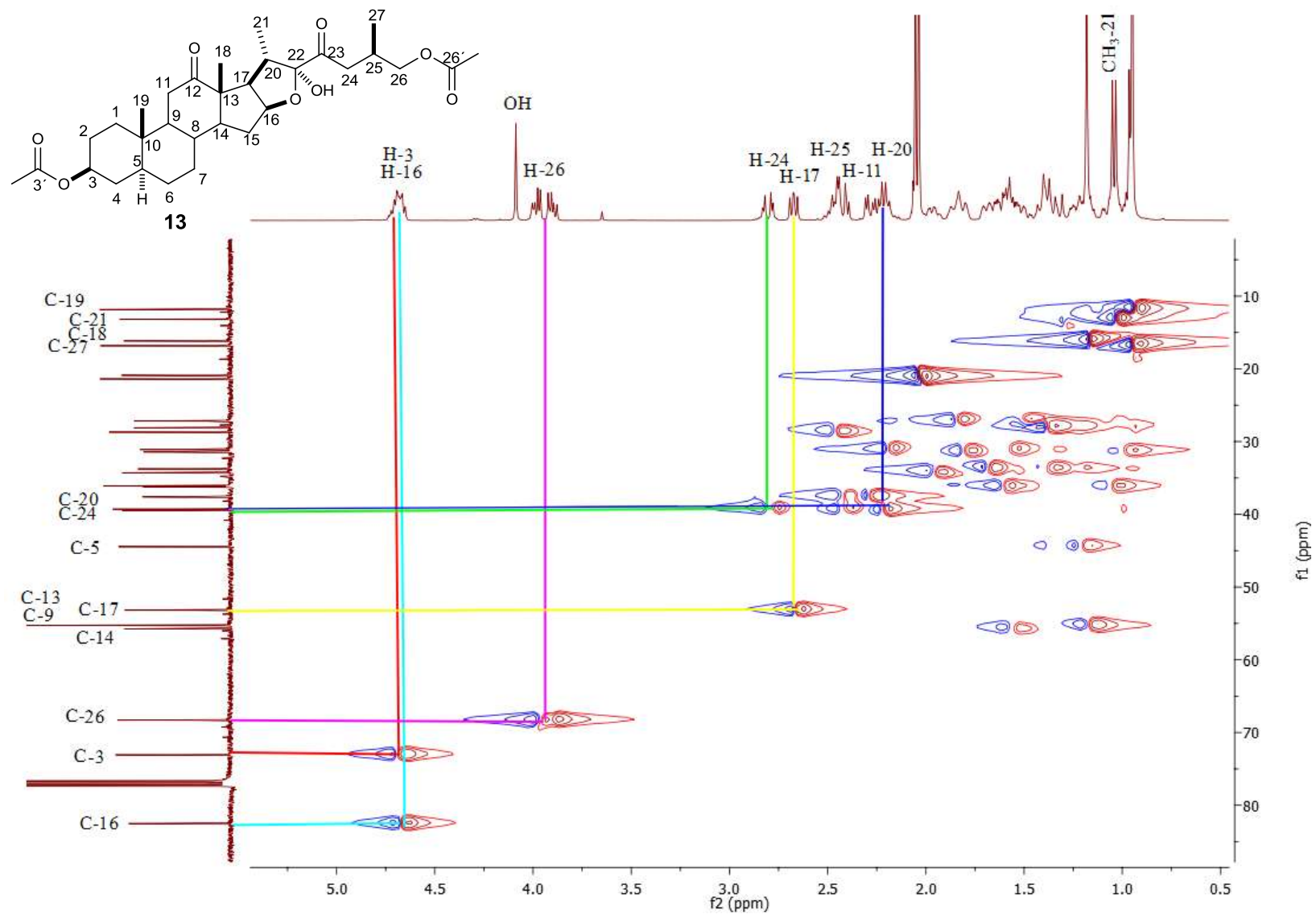


Figura 13. Espectro HSQC de **13** en CDCl₃.

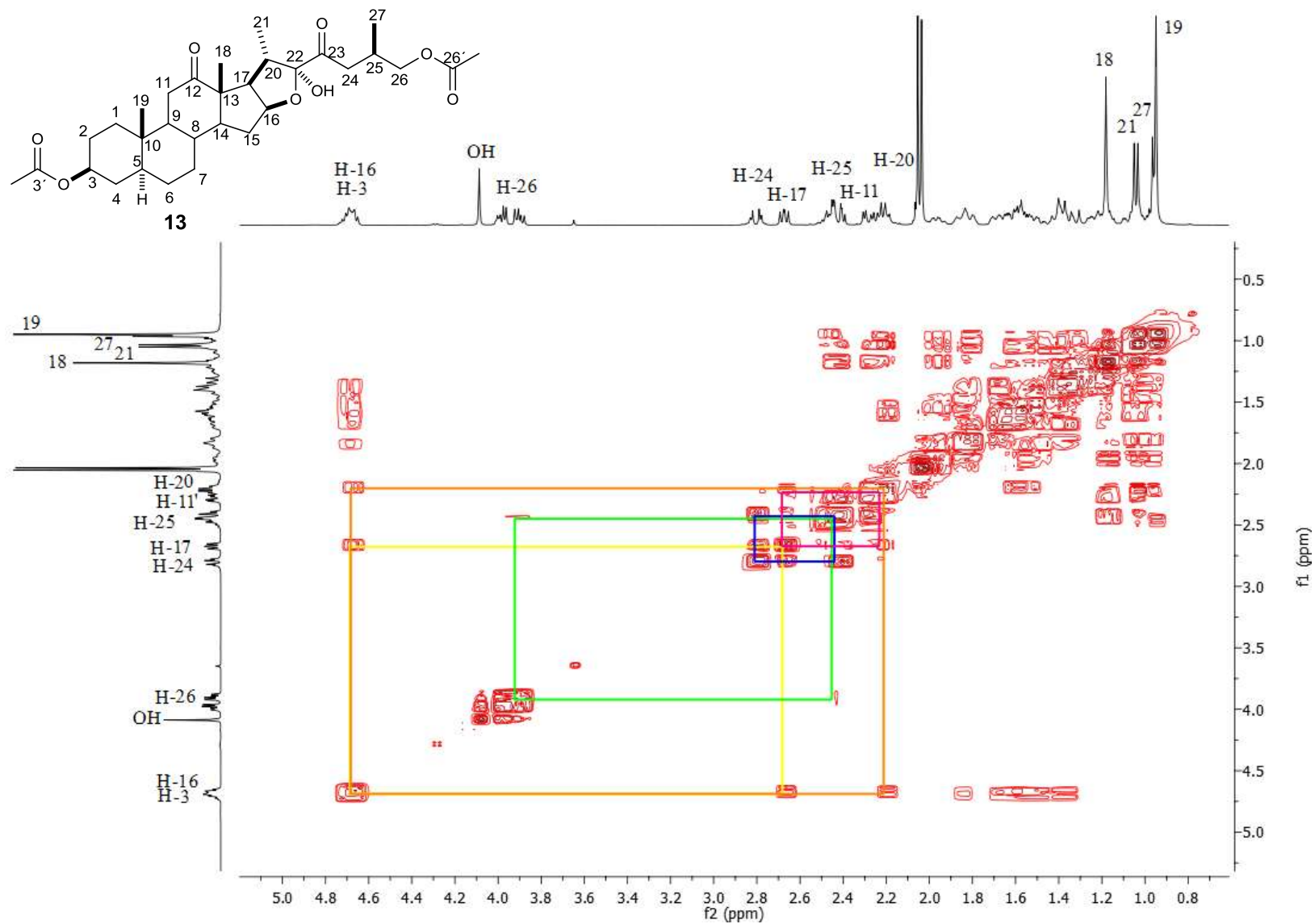


Figura 14. Espectro COSY de **13** en CDCl_3 .

El experimento HMBC (Figura 15) se utilizó para asignar inequívocamente algunos carbonos cuaternarios; a continuación se describen estas correlaciones a larga distancia: El carbono en 212.6 ppm se asignó como C-12 debido a que correlacionó a 3 enlaces con CH₃-18 en 1.18 ppm y a dos enlaces con los hidrógenos diasterotópicos de H-11 en 2.40 ppm y 2.28 ppm, también mostró correlación a tres enlaces con el H-17 en 2.67 ppm. Por otra parte, para el C-23 se observó correlación a dos y tres enlaces con los H-24, H-25 y H-20 localizados en 2.80 ppm, 2.46 ppm y 2.23 ppm respectivamente. Mediante este experimento fue posible asignar inequívocamente los carbonilos de acetilo sustituidos en la posición 26' y 3', estos se asignaron en 171.0 ppm y 170.5 ppm respectivamente por correlación a tres enlaces de distancia con los H-26 en 3.96 ppm e H-3 en 4.69 ppm.

Adicionalmente con el experimento NOESY (Figura 16) de **13** fue posible determinar la configuración del nuevo centro quiral en C-22. Esto debido a que se conoce que los hidrógenos del CH₃-21 se encuentran en α , y considerando que en el espectro se observa una correlación a través del espacio del CH₃-21 en 1.04 ppm y el hidroxilo sustituido en C-22 en 4.09 ppm; por lo tanto se concluye que este sustituyente se encuentra en posición α , de tal manera que la estereoquímica para este nuevo centro quiral es 22S.

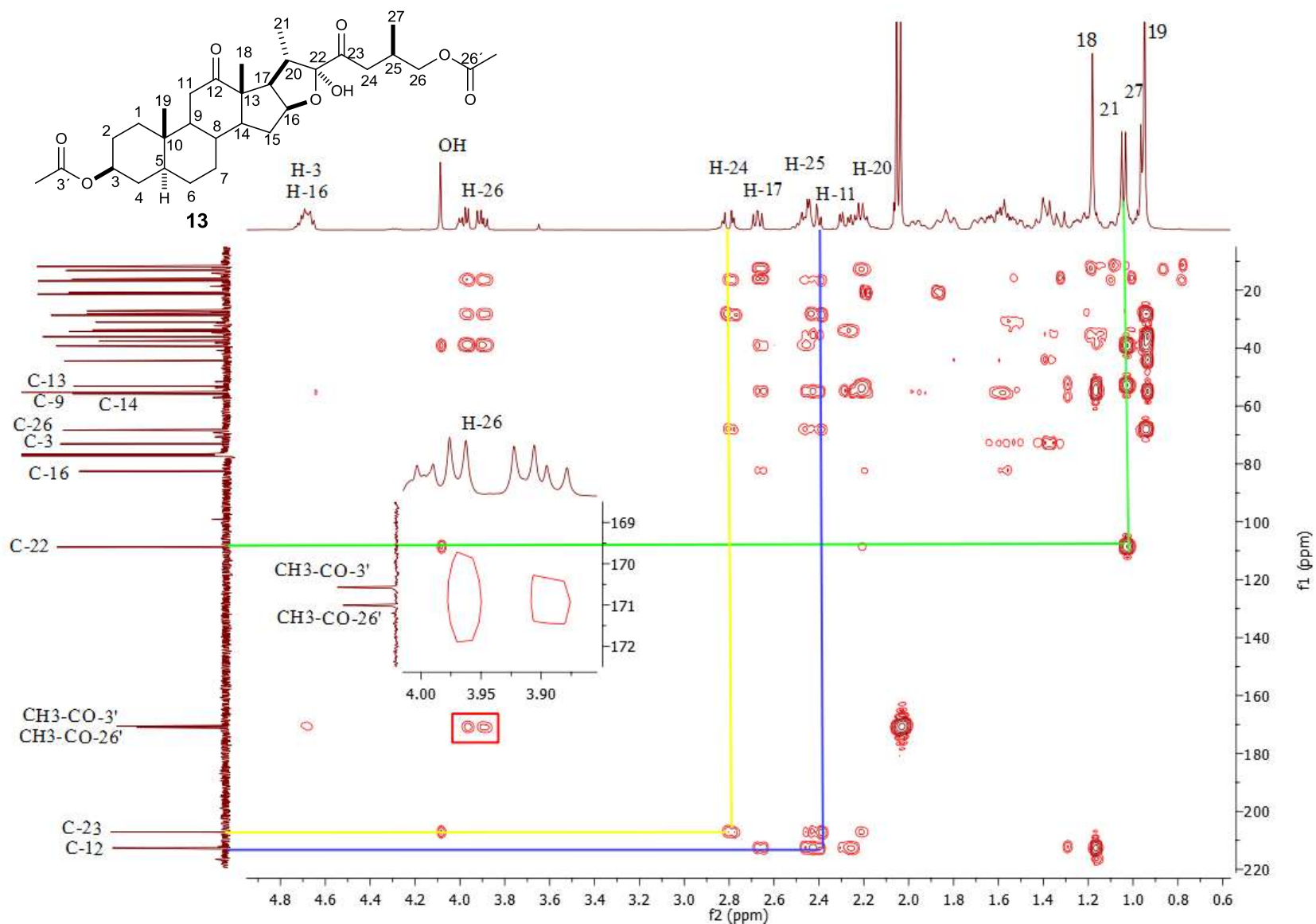


Figura 15. Espectro HMBC de **13** en CDCl_3 .

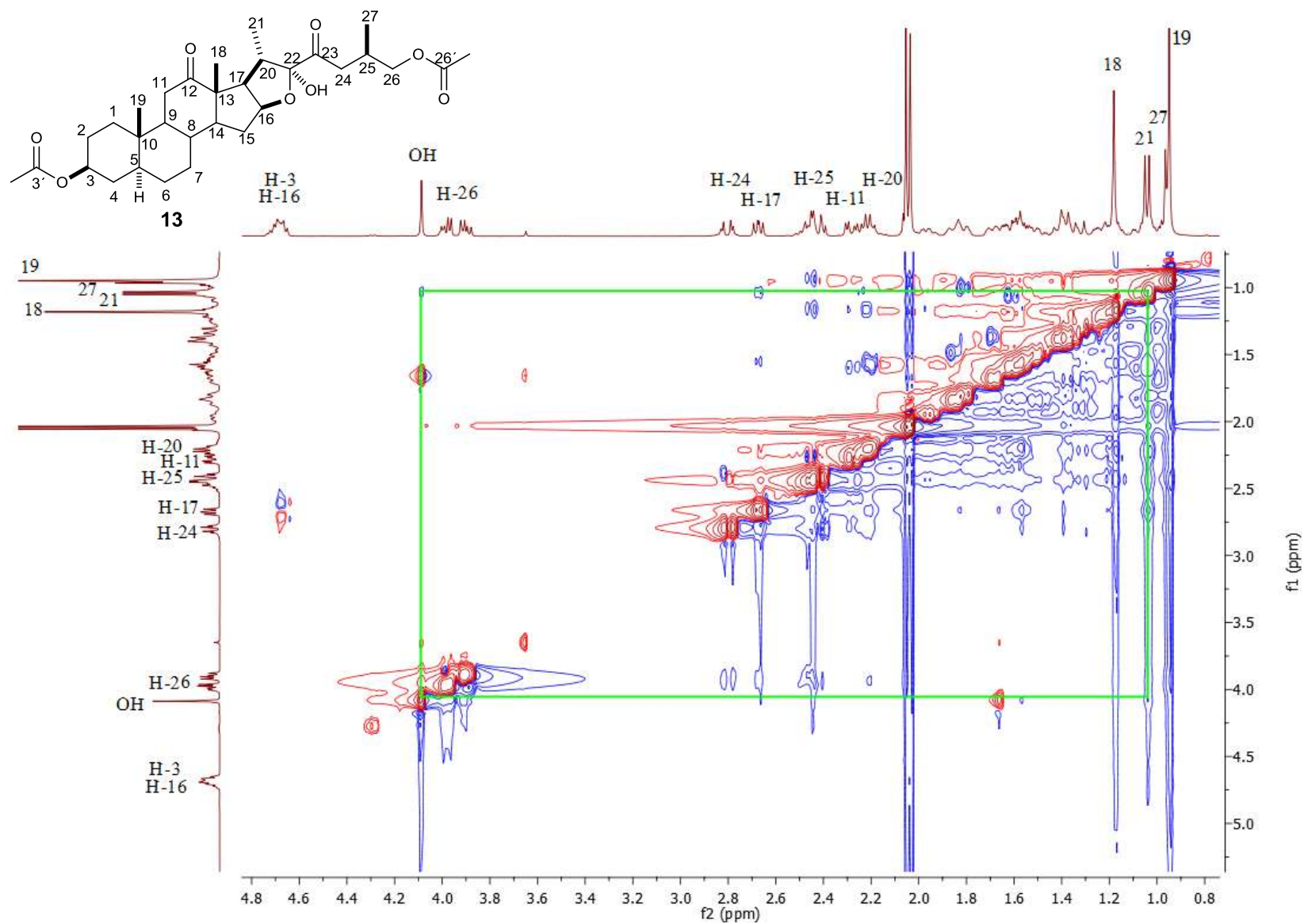


Figura 16. Espectro NOESY de **13** en CDCl₃.

En nuestro interés por obtener más información acerca de la estereoquímica presente en C-22, realizamos pruebas de cristalización. Por lo tanto el compuesto **13** se sometió a evaporación lenta en una mezcla de disolvente éter etílico/hexano 5:5, obteniendo cristales adecuados para difracción de rayos-X. El compuesto cristalizó en sistema cristalino monoclinico. En la figura 17 se observa que la configuración en los centros estereogénicos C-20S y C-25R se mantiene intacta, además mediante este análisis se observa que el OH en C-22 se encuentra α asignando y configuración S en C-22 (Figura 17). La fusión de los anillos A/B, B/C, C/D es *trans* mientras que para los D/E es *cis*. Algunas distancias de doble enlace características son las de 1.179 Å y 1.215 Å para C₁₂=O₁₂ y C₂₃=O₂₃.

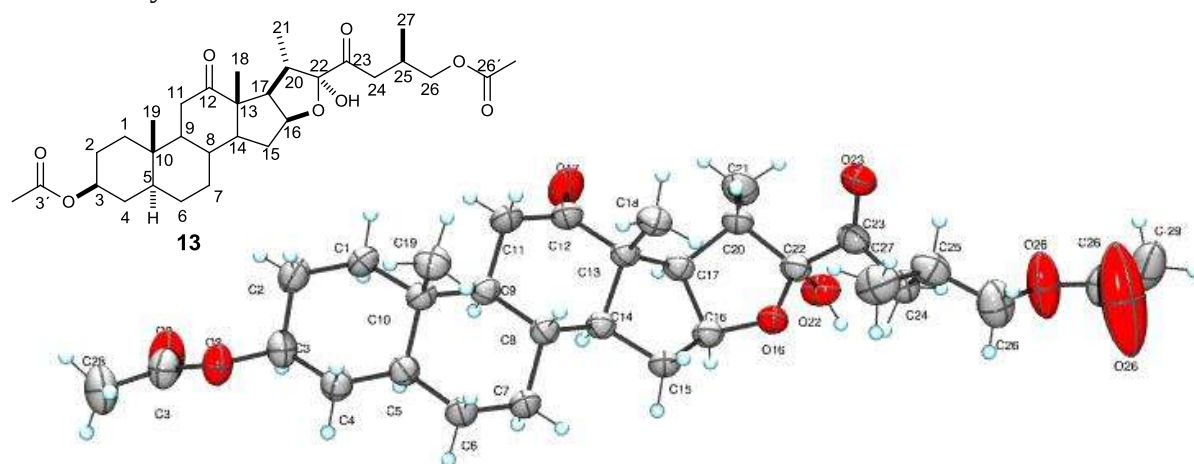
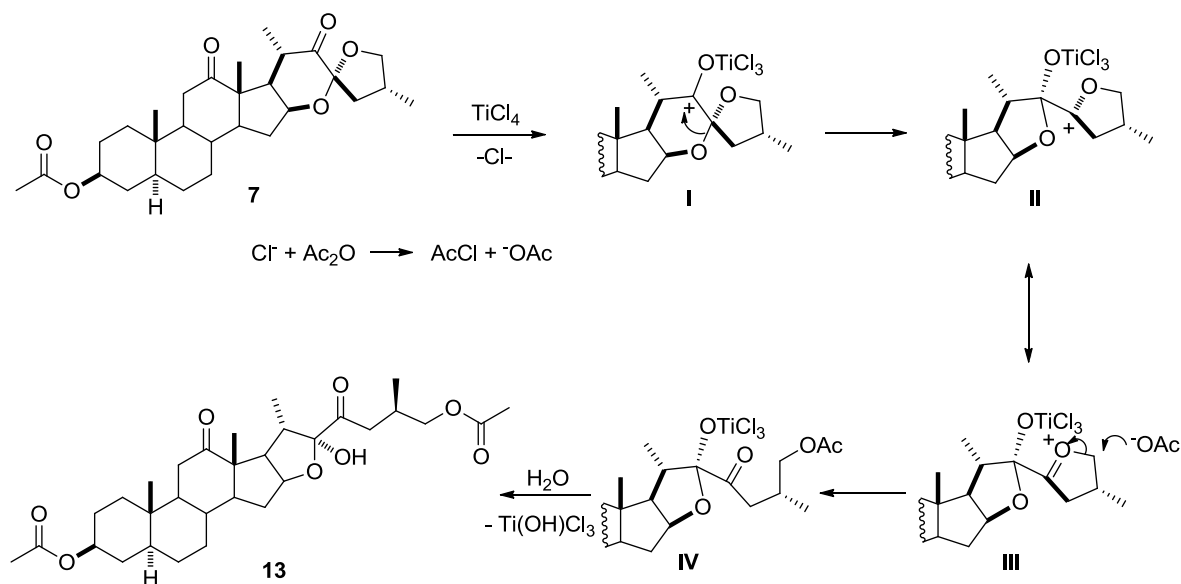


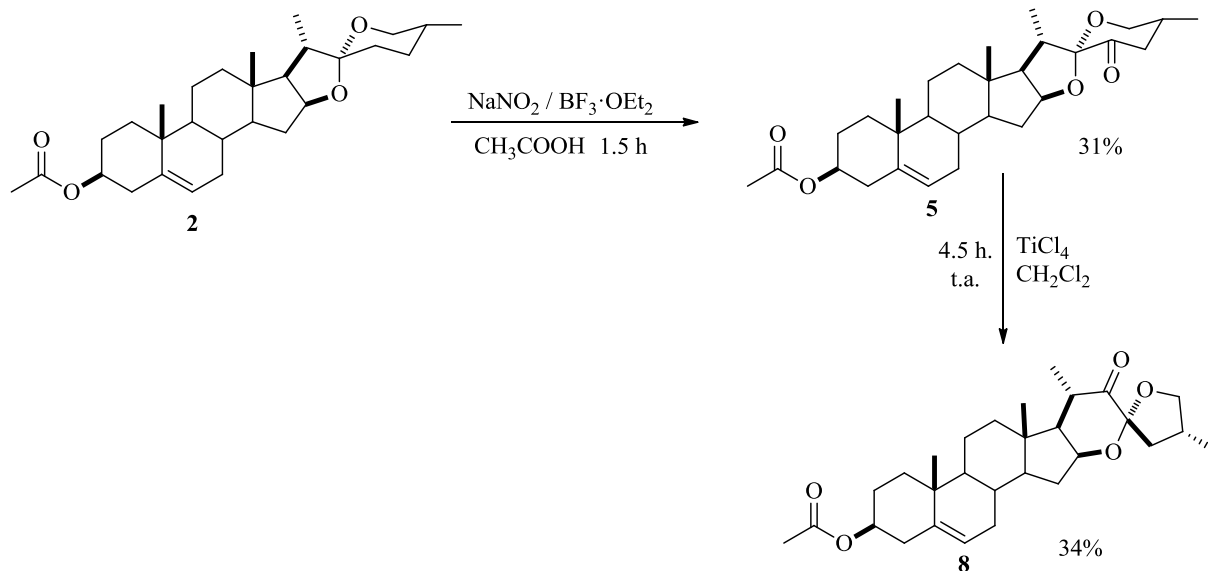
Figura 17. Estructura molecular de (25R, 22S)-3β,26-diacetoxi-16β,22-epoxi-5α-colestan-22-ol-12,23-diona (**13**). Con elipses al 35% de probabilidad.

En el esquema 17, se propone un mecanismo para la formación del compuesto **13**. Como primer paso se sugiere que el ácido de Lewis TiCl₄ libera un Cl el cual reacciona con una molécula del anhídrido acético formando el TiCl₃, este se coordina al O-22 lo que promueve la migración del enlace O-16 hacia C-22 para formar el intermediario II el cual se transforma en un intermediario oxonio III altamente reactivo; el Cl liberado previamente, activa al anhídrido acético generando cloruro de acilo y el ion acetil el cual ataca al C-26 susceptible de ataque nucleofílico promoviendo la apertura del anillo F y por último la presencia de agua genera la pérdida de la coordinación entre O-22 y el TiCl₃ justificando la formación de **13**.



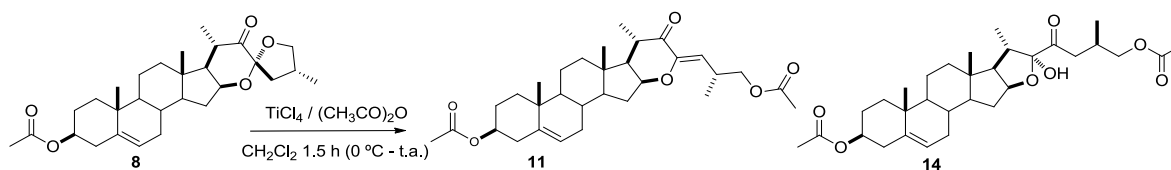
Esquema 17. Mecanismo de reacción para la formación del compuesto 13.

Adicionalmente continuando con la metodología anterior se trabajó con el acetato de diosgenina (2) para obtener la 22-ceto-23-espirodiosgenina **8** en un rendimiento del 34% (Esquema 18).



Esquema 18. Preparación del 22-ceto 23-espirodiosgenina **8**.

Enseguida la 22-ceto-23-espirodiosgenina (**8**) se hizo reaccionar con TiCl_4 en diclorometano de 0 °C a temperatura ambiente durante 1.5 h (Esquema 19), observando nuevamente la formación de los compuestos colestánicos **11** y **14**.



Esquema 19. Apertura del compuesto **8**.

Al igual que **10** la asignación del compuesto **11** se realizó por comparación con los datos espectroscópicos previamente reportados en nuestro grupo de trabajo.⁵ Para el nuevo compuesto **14** el infrarrojo mostró una banda de absorción característica de grupos hidroxilo en 3481 cm^{-1} , además en la región de 1731 cm^{-1} se observó únicamente una banda asignada al carbonilo de la posición 23. A diferencia de los hemicetales obtenidos a partir de hecogenina para el caso de diosgenina en los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C del derivado **14** se observó la presencia de otro compuesto por placa cromatográfica con similar factor de retención, la mezcla epimérica del alcohol en β (Figura 18 Y 19).

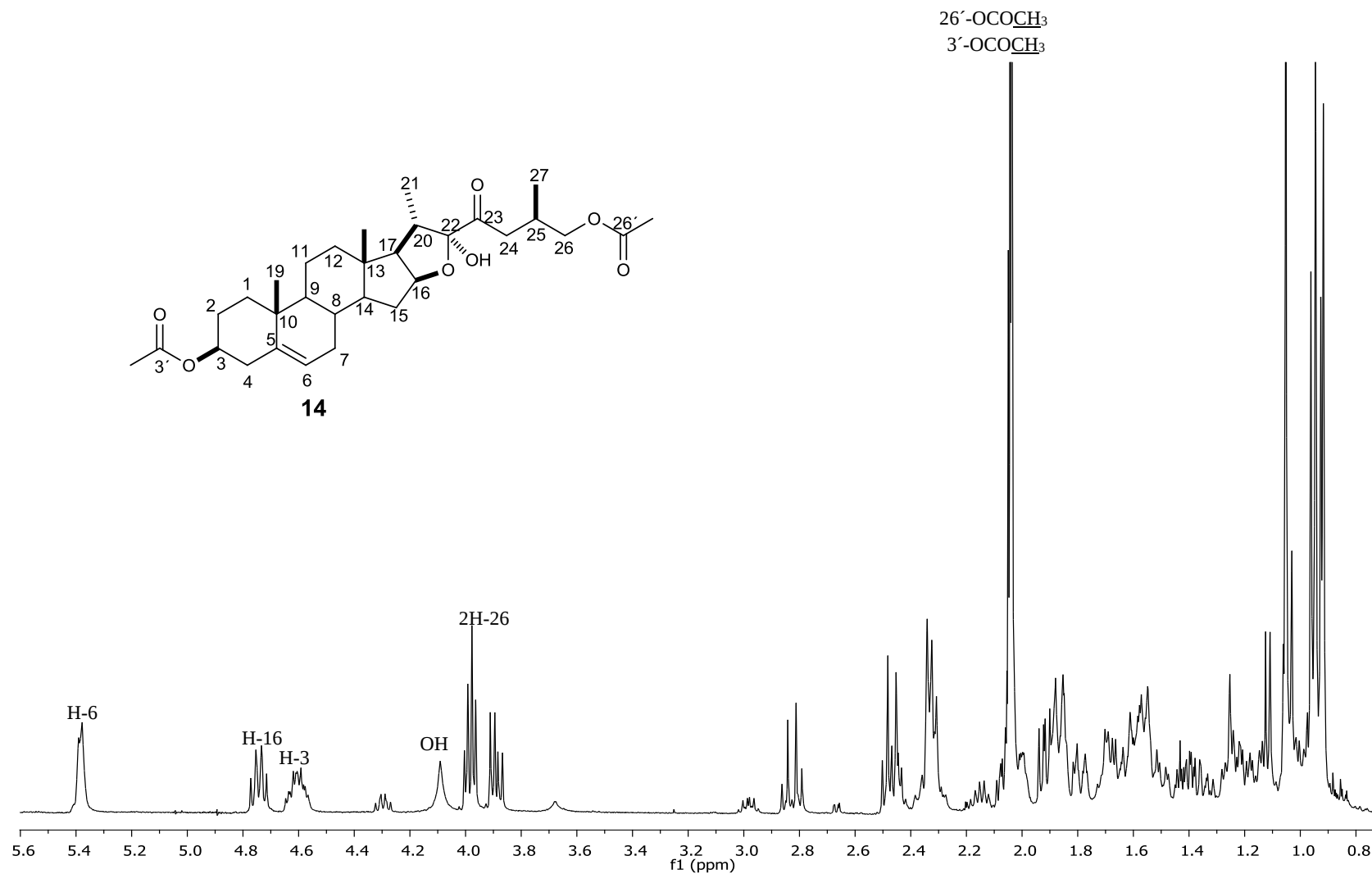


Figura 18. Espectro de RMN ^1H (400 MHz) de **14** en CDCl_3 .

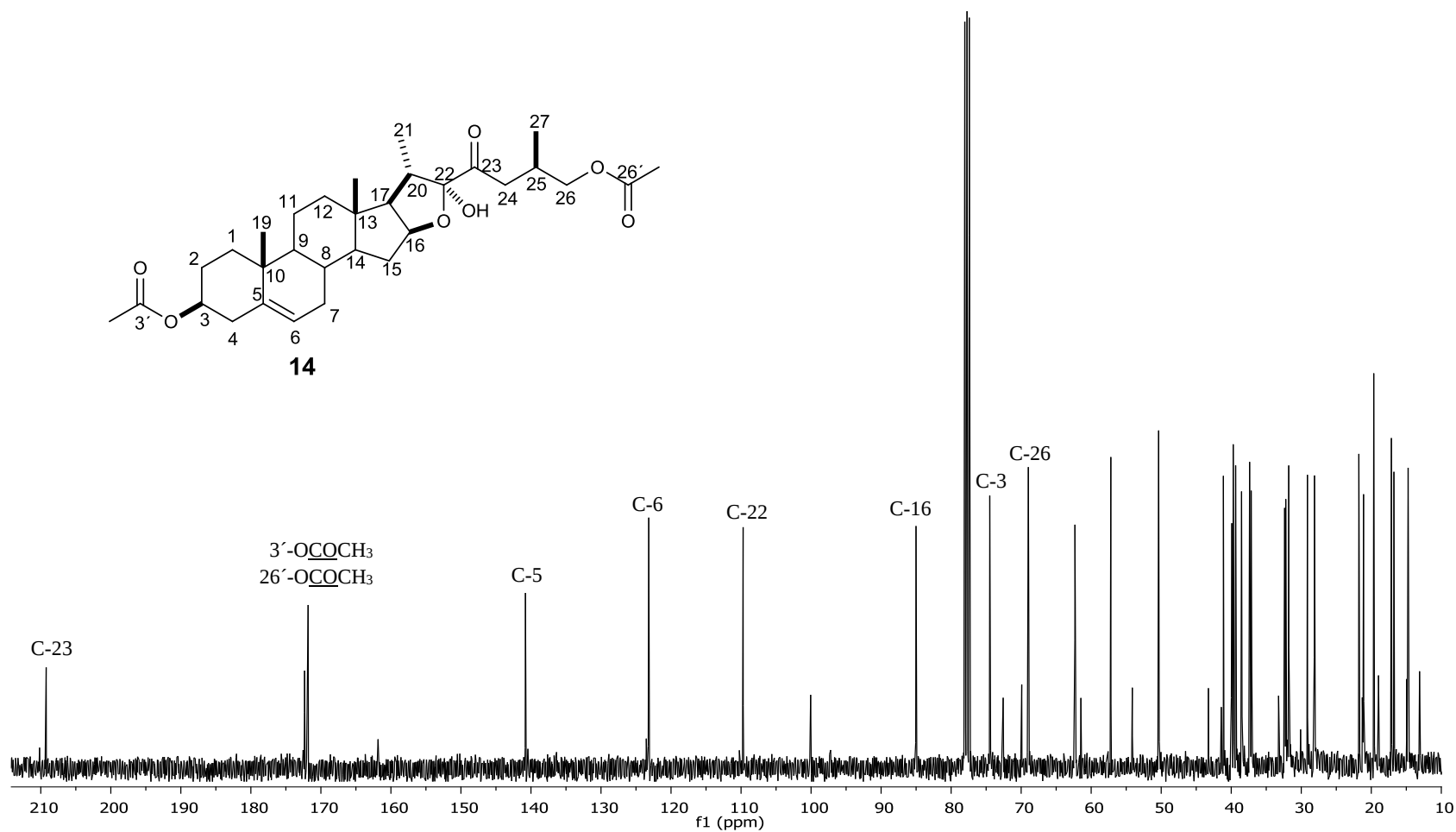
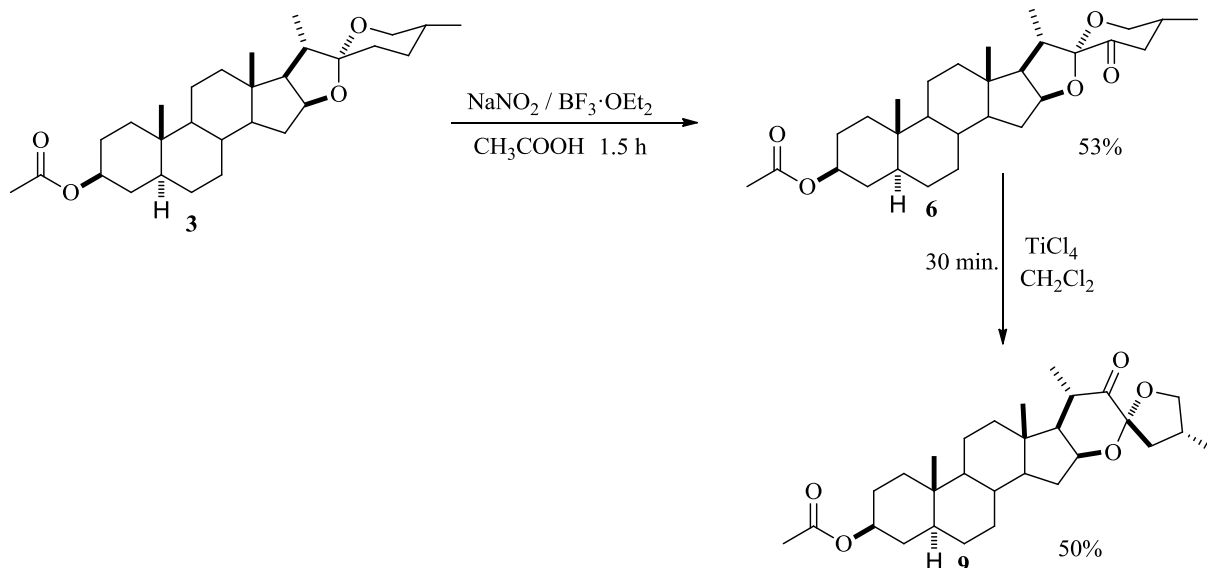


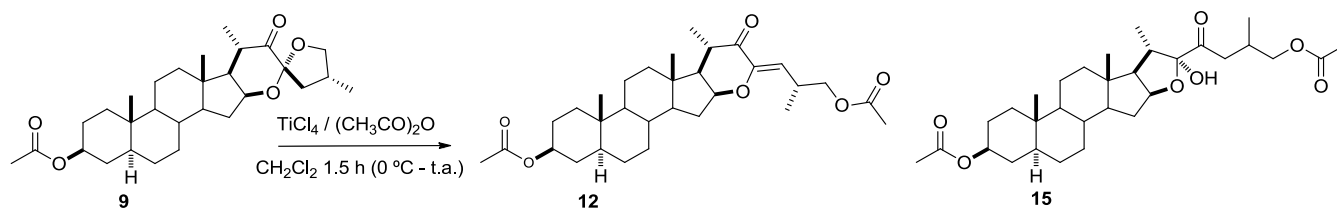
Figura 19. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) de **14** en CDCl_3 .

Finalmente se realizó un experimento adicional obteniendo la 22-ceto-23-espirotigogenina (**9**) a partir del acetato de tigogenina (**3**) (Esquema 20).



Esquema 20. Preparación del 22-ceto 23-espirodiosgenina (**9**).

La 22-ceto-23-espirotigogenina (**9**) se hizo reaccionar con TiCl_4 en diclorometano de 0 °C a temperatura ambiente durante 1.5 h (Esquema 21), observando que en estas condiciones el compuesto **9** también da lugar a la formación de los compuestos **12** y **15**.



Esquema 21. Apertura regioselectiva del compuesto **9**.

La asignación del compuesto **12** se realizó por comparación con los análogos previamente descritos.⁵ La asignación del compuesto **15** se realizó con la RMN de ^1H y ^{13}C (Figura 20 y Figura 21). Con estos resultados se observó que al igual que la diosgenina el hemiacetal derivado de tigogenina también se obtiene en mezcla con trazas de otro subproducto que también muy probablemente se debe a la formación de su epímero en C-22.

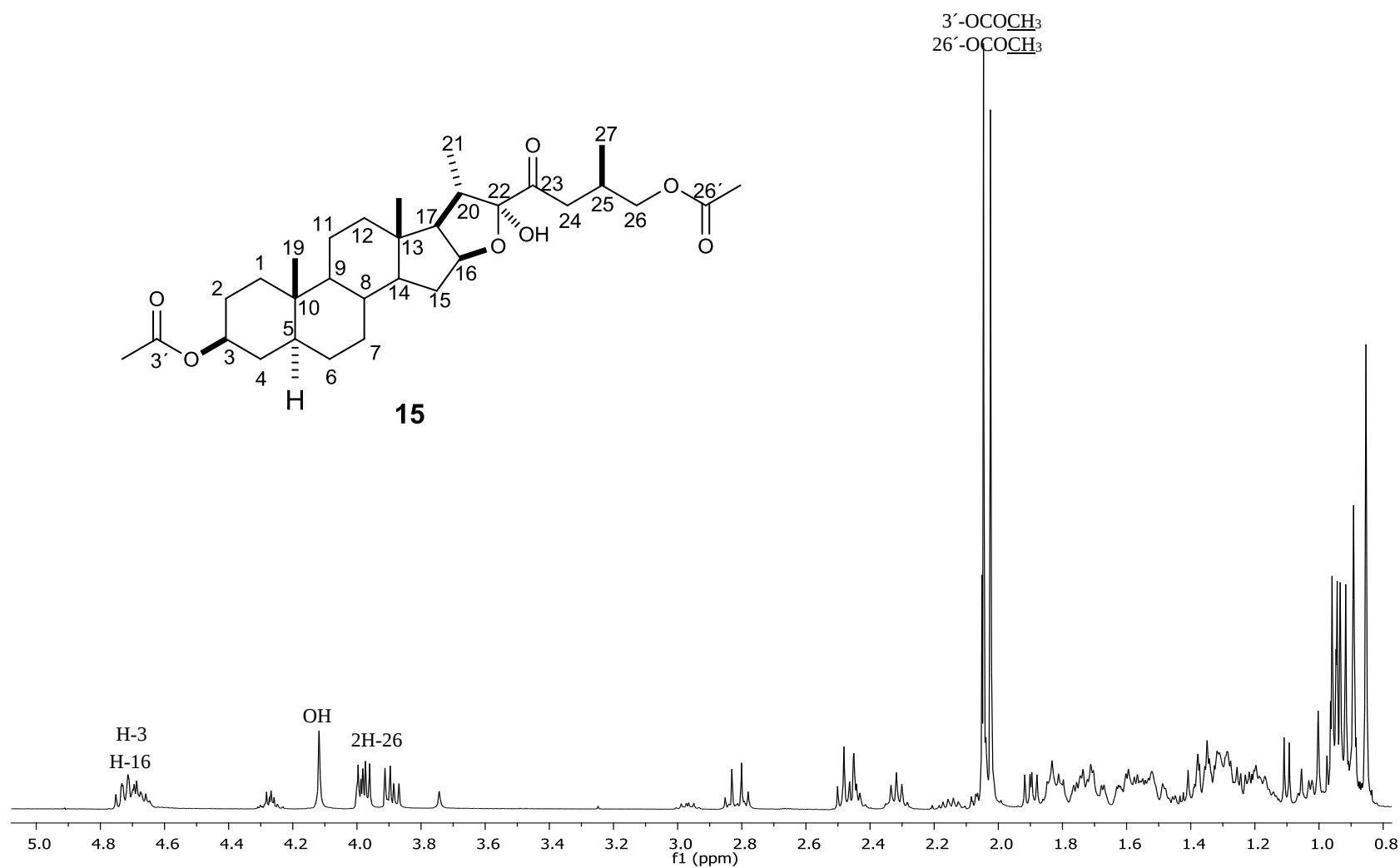


Figura 20. Espectro de RMN ^1H (400 MHz) de **15** en CDCl_3

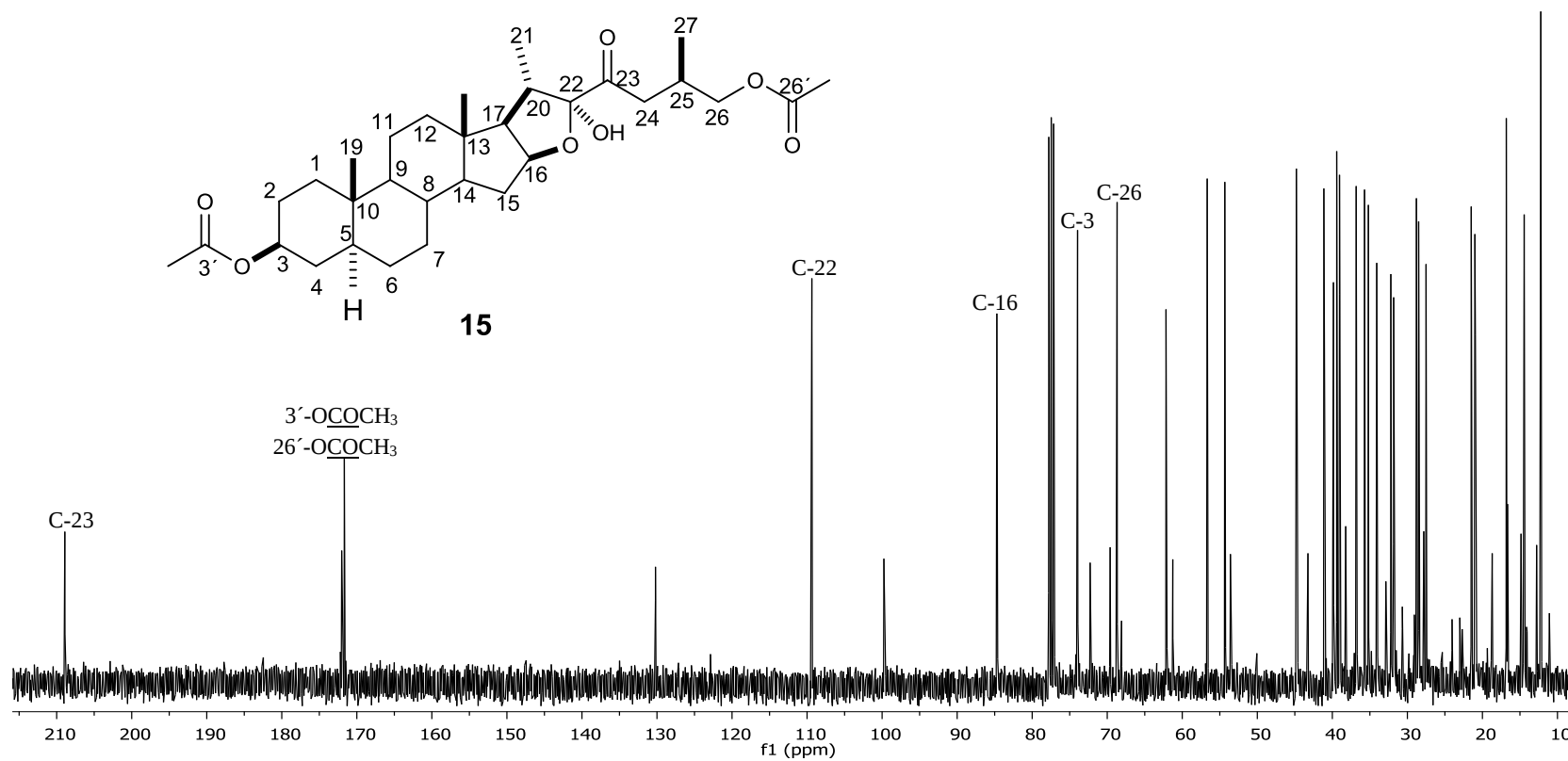
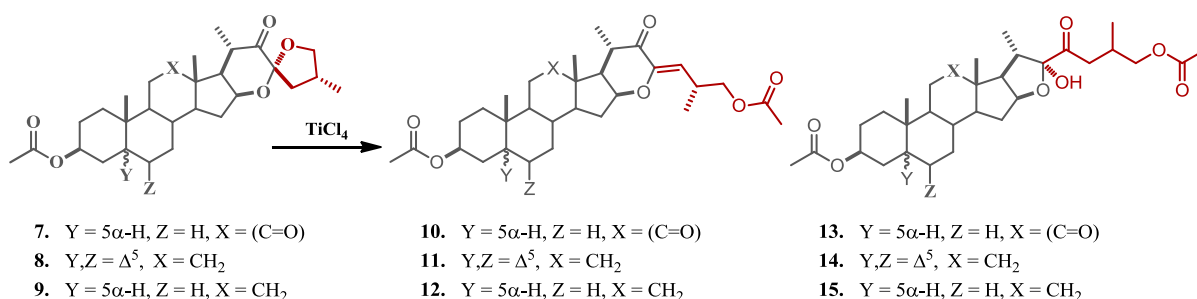


Figura 21. Espectro de RMN ¹³C (100 MHz) de **15** en CDCl₃

8. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos demuestran que la reacción es regioselectiva obteniendo únicamente los compuestos provenientes de la apertura del anillo F de los 23-espirocetales **7-9**. La apertura del compuesto **7** para formar el hemiacetal **13** es estereoselectiva produciendo únicamente el alcohol α a diferencia de la apertura de los compuestos **8** y **9**. La obtención de cristales adecuados para análisis por difracción de rayos-X de **13** permitió confirmar la estructura, y estereoquímica del carbono-22, la cual por analogía se asignó a los compuestos **14** y **15** obtenidos en mezcla con su epímero.



9. PARTE EXPERIMENTAL

9.1 Instrumentación y equipo

Los espectros de infrarrojo (IR) se determinaron en los espectrómetros Thermo Scientific Nicolet iS10 usando reflectancia total atenuada ($\bar{\nu}$, cm^{-1}). Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Scientific y Fisher-Johns y no están corregidos. Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de (^1H , ^{13}C , DEPT, HSQC, COSY, NOESY y HMBC) se determinaron en los espectrofotómetros Varian Mercury Plus 400 y Bruker Acend 400 MHz. 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 fueron obtenidos a 70 eV en Spectrometro thermoscientific trace 1300-ISQ. Los espectros de masas de alta resolución (HRMS) fueron adquiridos en un espectrómetro Agilent Technologies, modelo 1100 acoplado a un cromatógrafo de gases TOF con una fuente APCI. Los reactivos se adquirieron de la casa comercial Sigma-Aldrich.

El seguimiento de las reacciones se llevó a cabo por medio de cromatografía en capa fina (CCF), utilizando cromatoplasas (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 F254 usando como fase móvil Hexano/AcOEt (7:3). El revelado de las cromatoplasas se realizó con una lámpara de luz ultravioleta a 254 nm, también con una solución de H_2SO_4 /agua (30% V/V).

La separación de los productos obtenidos se realizó mediante cromatografía en columna, empacadas con gel de sílice grado (70-230 Mesh).

9.2 Oxidación de (25*R*)-3β-acetoxi-5α-espirostan-12-ona (1) con NaNO₂/BF₃·OEt₂

A una solución de 1.00 g (2.180 mmol) de (25*R*)-3β-acetoxi-5α-espirostan-12-ona (1) en Ácido acético glacial (42.30 mL) se le adicionaron 3.28 mL (26.64 mmol) de BF₃·OEt₂ y 3.33 g (48.64 mmol) de NaNO₂ en pequeñas porciones durante 1 h a t.a., transcurrido este tiempo la agitación se mantuvo por 1 h adicional a t.a., posteriormente la mezcla se adicionó en agua y se extrajo con CH₂Cl₂. La fase orgánica se lavó con solución saturada de bicarbonato de sodio (NaHCO₃), se filtró sobre sulfato de sodio (Na₂SO₄) anhidro y se evaporó a sequedad. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna empacada con silica gel (70-230 Mesh) obteniendo en una mezcla de Hexano/AcOEt (9:1) el compuesto (25*R*)-3β-acetoxi-5α-espirostan-23-ona (4) (1.4026 g, 68 %).

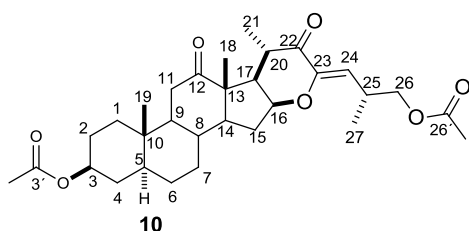
9.3 Preparación de (23*R*, 25*R*)-3β-acetoxi-16β,23:23,26-diepoxi-5α-colestan-12,22-diona (7)

A una solución de 900 mg (1.84 mmol) de (25*R*)-3β-acetoxi-5α-espirostan-23-ona (4) en ácido fórmico (18.49 mL) se le adicionó lentamente 2.57 mL (20.89 mmol) de BF₃·OEt₂, 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, después se filtró sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a sequedad para obtener 890 mg del crudo de reacción. Posteriormente el crudo se purificó en una columna empacada con silica gel (70-230 Mesh) obteniendo en una mezcla de Hexano/AcOEt (9:1) (292.60 mg, 33%) del compuesto (23*R*, 25*R*)-3β-acetoxi-16β,23:23,26-diepoxi-5α-colestan-12,22-diona (7) con recuperación de la materia prima 4 (473.9 mg, 53%).

9.4 Preparación de (23Z,25R)-3 β ,26-diacetoxi-16 β ,23-epoxi-5 α -colestan-23-en-12,22-diona (10) y (25R, 22S)-3 β ,26-diacetoxi-16 β ,22-epoxi-5 α -colestan-22-ol-12,23-diona (13)

A una solución de 300 mg (0.616 mmol) del compuesto **7** previamente disuelto en 6.1 mL de CH₂Cl₂ destilado y en atmósfera de nitrógeno, se le adicionaron 0.65 mL de Ac₂O (6.96 mmol) en baño de hielo, después se agregó lentamente 0.33 mL de TiCl₄ (3.082 mmol), la reacción se mantuvo 30 min en baño de hielo, transcurrido este tiempo se dejó en agitación magnética a t.a. durante 1 h adicional. La extracción se realizó usando CH₂Cl₂ como fase orgánica, realizando el primer lavado con H₂O, posteriormente se efectuaron tres lavados con una solución saturada NaHCO₃, posteriormente se filtró sobre NaSO₄ anhidro y se evaporó a sequedad. Finalmente el crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna empacada con silica gel (70-230 Mesh) obteniendo en una mezcla Hexano/AcOEt (8:2) (118.5 mg, 36%) del compuesto (23Z, 25R)-3 β ,26-diacetoxi-16 β ,23-epoxi-5 α -colestan-23-en-12,22-ona (**10**) y (103 mg, 30%) del compuesto (25R, 22S)-3 β ,26-diacetoxi-16 β ,22-epoxi-5 α -colestan-22-ol-12,23-diona (**13**).

9.4.1 (23Z, 25R)-3 β , 26-diacetoxi-16 β , 23-epoxi-5 α -colestan-23-en-12,22-ona (10)



C₃₁H₄₄O₇

R_f: 0.24 (7:3 Hexano/AcOEt)

Miel incolora

IR $\nu_{\max}$ cm⁻¹(KBr): 2934, 2859, 2358, 2159, 1977, 1731, 1708, 1644, 1452, 1367, 1233, 1155, 1032, 905, 607, 570.

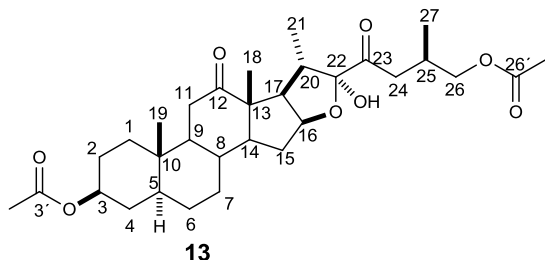
HRMS calculada para: C₃₁H₄₄O₇ 528.3087. Encontrada [M+H]⁺ 529.3159.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 5.67 (1H, d, *J* = 9.3 Hz, H-24), 4.68 (1H, m, H-3), 4.12 (1H, dd, *J* = 15.1, 7.9 Hz, H-16), 3.96 (1H, m, 2H-26), 2.96 (1H, m, H-25), 2.60 (1H, m, H-20), 2.52 (1H, t, *J* = 13.6 Hz, H-11ax), 2.37 (1H, ddd, *J* = 13.7, 7.7, 6.2 Hz, H-15a), 2.29 (1H, dd, *J* = 17.0, 7.2 Hz, H-17), 2.25 (1H, dd, *J* = 13.6, 5.3 Hz, H-11ec), 2.04 (3H, s, 3, 26'-

OCOCH₃), 2.03 (3H, s, 3'-OCOCH₃), 1.7 (1H, m, H-15b), 1.27 (3H, s, H-18), 1.18 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-21), 1.04 (3H, d, *J* = 6.9 Hz, H-27), 0.96 (3H, s, H-19).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ: 212.2 (C-12), 199.1 (C-22), 170.9 (26'-OCOCH₃), 170.5 (3'-OCOCH₃), 150.6 (C-23), 117.1 (C-24), 77.8 (C-16), 72.9 (C-3), 67.7 (C-26), 56.8 (C-13), 55.9 (C-14), 52.9 (C-9), 47.4 (C-17), 44.3 (C-5), 39.9 (C-20), 37.9 (C-11), 36.1 (C-1), 36.1 (C-10), 34.3 (C-8), 33.6 (C-4), 32.3 (C-15), 31.3 (C-7), 29.3 (C-25), 28.0 (C-6), 27.0 (C-2), 21.3 (3'-OCOCH₃), 20.8 (26'-OCOCH₃), 16.7 (C-27), 14.1 (C-18), 12.8 (C-21), 11.7 (C-19).

9.4.2 (25*R*, 22*S*)-3β,26-diacetoxi-16β,22-epoxi-5α-colestan-22-ol-12,23-diona (13)



C₃₁H₄₆O₈

*R*_f: 0.20 (7:3 Hexano/AcOEt)

Cristales blancos

Pf: 127-129 °C

IR ν_{max}cm⁻¹(KBr): 3437, 2931, 2853, 1727, 1707, 1454, 1365, 1239.

HRMS calculada para: C₃₁H₄₆O₈ 546.3193. Encontrada [M -OH]⁺ 529.3159.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 4.69 (2H, m, H-3 y H-16), 4.09 (1H, s, OH-22), 3.96 (2H, m, H-26a, H-26b), 2.80 (1H, dd, *J* = 16.4, 4.4 Hz H-24), 2.67 (1H, dd, *J* = 9.0, 6.6 Hz H-17), 2.46 (1H, m, H-25), 2.40 (1H, dd, *J* = 5.8, 2.0 Hz, H-11ec), 2.28 (1H, dd, *J* = 14.6, 5.1 Hz, H-11ax), 2.23 (1H, m, H-20), 2.19 (1H, H-15a), 2.05 (3H, s, 26'-OCOCH₃), 2.03 (3H, s, 3'-OCOCH₃), 1.18 (3H, s, H-18), 1.04 (3H, d, *J* = 6.9 Hz, H-21), 0.96 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, H-27), 0.95 (3H, s, H-19).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ: 212.6 (C-12), 207.1 (C-23), 171.0 (26'-OCOCH₃), 170.5 (3'-OCOCH₃), 108.7 (C-22), 82.5 (C-16), 73.1 (C-3), 68.3 (C-26), 55.7 (C-14), 55.2 (C-13), 55.2 (C-9), 53.2 (C-17), 44.4 (C-5), 39.4 (C-20), 39.3 (C-24), 37.6 (C-11), 36.2 (C-10), 36.1 (C-1), 34.2 (C-8), 33.7 (C-4), 31.4 (C-15), 31.1 (C-7), 28.7 (C-25), 28.1 (C-6), 27.1

(C-2), 21.3 (3'-OCOCH₃), 20.8 (26'-OCOCH₃), 16.8 (C-27), 16.1 (C-18), 13.1 (C-21), 11.8 (C-19).

9.5 Oxidación de acetato de diosgenina (25*R*)-3β-acetoxi-espirostan-5-en (2) con NaNO₂/BF₃·OEt₂

A una solución de 500 mg (1.094 mmol) de acetato de diosgenina (2) en ácido acético glacial (9.1 mL) se le adicionaron 0.5 mL (4.058 mmol) de BF₃·OEt₂ y 300 mg (4.37 mmol) de NaNO₂ en pequeñas porciones durante 75 min transcurrido este tiempo, la agitación se mantuvo por 15 min adicionales a t.a. posteriormente la mezcla se adicionó en hielo y se extrajo con AcOEt. La fase orgánica se lavó con solución saturada de NaHCO₃, se filtró sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a sequedad. 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 (98:2) dando 161 mg, (31.5%) de (25*R*)-3β-acetoxi-espirostan-5-en-23-ona (5).

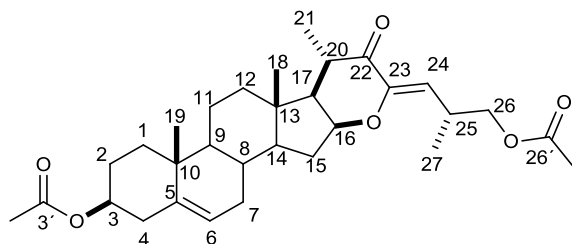
9.6 Preparación de (23*R*,25*R*)-3β-acetoxi-16β,23:23,26-diepoxi-5-en-colestan-22-ona (8)

A una solución de 709 mg (1.507 mmol) de (25*R*)-3β-acetoxi-espirostan-5-en-23-ona (5) en ácido fórmico (15.07 mL) se le adicionó lentamente 2.1 mL de BF₃·OEt₂, posteriormente la reacción se mantuvo en agitación magnética a t.a. durante 4 h. La reacción se extrajo con CH₂Cl₂ y se le hicieron 3 lavados con solución saturada de NaHCO₃, después se filtró sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a sequedad para obtener 668.6 mg del crudo de reacción. Posteriormente el crudo se purificó en una columna empacada con silica gel (70-230 Mesh) obteniendo en una mezcla de Hexano/AcOEt 9:1 (246.2 mg, 34.72%) del compuesto (23*R*,25*R*)-3β-acetoxi-16β,23:23,26-diepoxi-5-en-colestan-22-ona (8) con recuperación de la materia prima 5 (257.2 mg, 36.27 %).

9.7 Preparación de (23Z,25R)-3 β ,26-diacetoxi-16 β ,23-epoxi-colestan-5,23-en-22-ona (11) y (25R, 22S)-3 β , 26-diacetoxi-16 β ,22-epoxi-5-en-colestan-22-ol-23-ona (14)

A una solución de 300 mg (0.637 mmol) del compuesto **8** previamente disuelto en 6.37 mL de CH₂Cl₂ destilado y en atmósfera de nitrógeno se le adicionaron 0.62 mL de Ac₂O (2.06 mmol) en un baño de hielo, se le adicionó lentamente 0.34 mL de TiCl₄ (3.18 mmol), y la reacción se mantuvo 30 min en baño de hielo, transcurrido este tiempo la reacción se dejó en agitación magnética a t.a. durante 1 h adicional. La extracción se realizó usando CH₂Cl₂ como fase orgánica y efectuando tres lavados con una solución saturada NaHCO₃, posteriormente se filtró sobre NaSO₄ anhidro y se evaporó a sequedad. Finalmente el crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna empacada con silica gel (70-230 Mesh) obteniendo en una mezcla Hexano/AcOEt (8:2) (46 mg, 14%) del compuesto (23Z,25R)-3 β ,26-diacetoxi-16 β ,23-epoxi-colestan-5,23-en-22-ona (**11**) y (43.8 mg, 12.56%) del compuesto (25R, 22S)-3 β ,26-diacetoxi-16 β ,22-epoxi-5-en-colestan-22-ol-23-ona (**14**).

9.7.1 (23Z, 25R)-3 β , 26-diacetoxi-16 β , 23-epoxi-colestan-5, 23-en-22-ona (11)



C₃₁H₄₄O₆
Laca amarilla
R_f: 0.44 (7:3 Hexano/AcOEt)

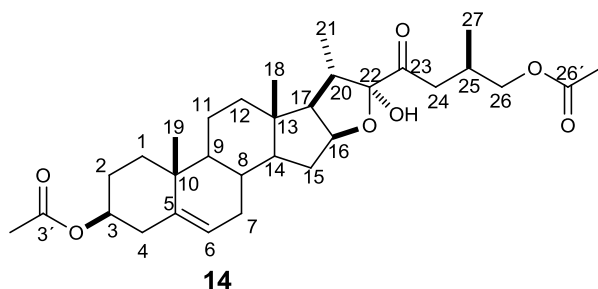
IR $\nu_{\max}$ cm⁻¹(ATR): 2970, 2939, 2903, 2850, 1731 (C=O), 1643 (C=O), 1454, 1374, 1236, 1137, 1033, 907, 753.

HRMS calculada para: C₃₁H₄₄O₆ 512.3138. Encontrado [M+H]⁺ 513.3213.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 5.60 (1H, d, J_{24-25} = 9.3 Hz, H-24), 5.39 (1H, m, H-6), 4.61 (1H, m, H-3), 4.13 (1H, m, H-16), 3.99 (1H, dd, J_{gem} = 10.6 Hz J_{26a-25} = 6.3 Hz, H-26a), 3.94 (1H, dd, J_{gem} = 10.6 Hz J_{26a-25} = 6.6 Hz, H-26b), 2.97 (1H, m, H-25), 2.72 (1H, m, H-20), 2.04 (6H, s, 3,26'-OCOCH₃), 1.15 (3H, d, J = 6.5 Hz, CH₃-21), 1.06 (3H, s, CH₃-19), 1.04 (3H, d, J = 6.9 Hz, CH₃-27), 1.0 (3H, s, CH₃-18).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 201.2 (C-22), 172.1 (26'- OCOCH_3), 171.6 (3'- OCOCH_3), 152.3 (C-23), 140.6 (C-5), 122.8 (C-6), 117.1 (C-24), 79.7 (C-16), 74.2 (C-3), 68.3 (C-26), 57.2 (C-17), 53.4 (C-14), 50.1 (C-9), 42.8 (C-13), 40.0 (C-20), 39.7 (C-12), 38.3 (C-4), 37.1 (C-1), 36.8 (C-10), 33.2 (C-15), 32.1 (C-7), 31.5 (C-8), 29.6 (C-25), 27.8 (C-2), 21.5, 21.0 (3',26'- OCOCH_3), 20.9 (C-11), 19.4 (C-19), 16.9 (C-27), 14.9 (C-18), 13.5 (C-21).

9.7.2 (22S, 25R)-3 β , 26-diacetoxi-16 β ,22-epoxi-5-en-colestan-22-ol-23-ona (14)



$\text{C}_{31}\text{H}_{46}\text{O}_7$
Laca amarilla
 R_f : 0.41 (7:3 Hexano/AcOEt)

IR $\nu_{\text{max}}\text{cm}^{-1}$ (ATR): 3481, 2937, 2905, 2871, 2848, 1731, 1452, 1375, 1238, 1030.

HRMS calculada para: $\text{C}_{31}\text{H}_{46}\text{O}_7$ 530.3244. Encontrado $[\text{M}-\text{OH}]^+$ 513.3210.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 5.38 (1H, m, H-6), 4.74 (1H, m, H-16), 4.61 (H-3), 3.94 (2H, m, H-26a, H-26b).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 209.2 (C-23), 171.3 (26'- OCOCH_3), 171.8 (3'- OCOCH_3), 140.7 (C-5), 123.1 (C-6), 109.7 (C-22), 85.0 (C-16), 74.4 (C-3), 68.9 (C-26).

9.8 Oxidación de acetato de tigogenina (25R)-3 β -acetoxi-5 α -espirostan (3) con $\text{NaNO}_2/\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$

A una solución de 1.00 g (2.180 mmol) de acetato de tigogenina (3) en ácido acético glacial (18,1 mL) se le adiciona 1 mL (8.153 mmol) de $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$ y 0.600 g (8.72 mmol) de NaNO_2 en pequeñas porciones durante 1 h a t.a., transcurrido este tiempo, la agitación se mantuvo por 30 min posteriormente la mezcla se vertió sobre hielo y se extrajo con CH_2Cl_2 . La fase orgánica se lavó por tres veces con solución saturada de NaHCO_3 , se filtró sobre Na_2SO_4 anhidro y se evaporó a sequedad. El crudo de reacción se disolvió en la mínima

proporción de benceno y se colocó en alúmina Brockman III, dejando reposar una noche se eluyó con Hexano/AcOEt (95:5), pero requirió ser repurificado en sílice gel 70-230 mesh, en una mezcla de Hexano/AcOEt (95:5) del (25*R*)-3 β -acetoxi-5 α -espirostan-23-ona **6** (0.551 g, 53.5 %).

9.9 Preparación de (23*R*,25*R*)-3 β -acetoxi-16 β ,23:23,26-diepoxi-5 α -colestán-22-ona (9**)**

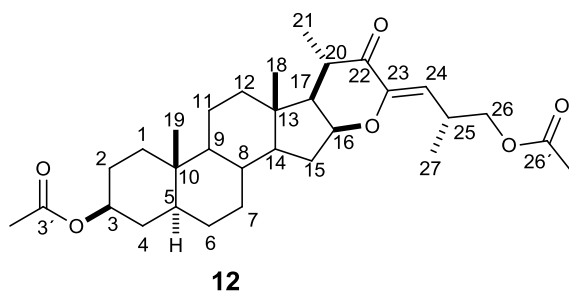
A una solución de 322 mg (0.68 mmol) de (25*R*)-3 β -acetoxi-5 α -espirostan-23-ona (**6**) en diclorometano anhidro 6.8 mL y en atmósfera de nitrógeno se le adicionaron lentamente 0.074 mL (0.68 mmol) de TiCl₄, la reacción se mantuvo en agitación magnética durante 30 min, transcurrido ese tiempo la reacción se extrajo usando CH₂Cl₂ y se le hizo un lavado con agua destilada y tres lavados con solución saturada de NaHCO₃, después se filtró sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a sequedad. Posteriormente el crudo se purificó en una columna empacada con sílica gel (70-230 Mesh) obteniendo en una mezcla de Hexano/AcOEt 9:1 (163.5 mg, 50.1 %) del compuesto (23*R*,25*R*)-3 β -acetoxi-16 β ,23:23,26-diepoxi-5 α -colestán-22-ona (**9**).

9.10 Preparación de (23*Z*,25*R*)-3 β ,26-diacetoxi-16 β ,23-epoxi-5 α -colestán-23-en-22-ona (12**) y (25*R*, 22*S*)-3 β ,26-diacetoxi-16 β ,22-epoxi-5 α -colestán-22-ol-23-ona (**15**).**

A una solución de 300 mg (0.634 mmol) del compuesto **9** previamente disuelto en 6.34 mL de CH₂Cl₂ destilado y en atmósfera de nitrógeno se le adicionaron 0.618 mL de Ac₂O (6.537 mmol) en un baño de hielo, después se adicionó lentamente 0.347 mL de TiCl₄ (3.173 mmol) y la reacción se mantuvo 1 h en baño de hielo, transcurrido éste tiempo la reacción se dejó en agitación magnética a t.a. durante 30 min. La extracción se realizó usando CH₂Cl₂ como fase orgánica, realizando un lavado con H₂O destilada y posteriormente efectuando tres lavados con una solución saturada NaHCO₃, posteriormente se filtró sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a sequedad. Finalmente el crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna empacada con sílica gel (70-230 Mesh) obteniendo en una mezcla Hexano/AcOEt (9:1) (172.4 mg, 57%) del compuesto (23*Z*,25*R*)-

3 β ,26-diacetoxi-16 β ,23-epoxi-5 α -colestan-23-en-22-ona (**12**) y (86.9 mg, 29 %) del (25R, 22S)-3 β ,26-diacetoxi-16 β ,22-epoxi-5 α -colestan-22-ol-23-ona (**15**).

9.10.1 (23Z,25R)-3 β ,26-diacetoxi-16 β ,23-epoxi-5 α -colestan-23-en-22-ona (**12**).



$C_{31}H_{46}O_6$

R_f : 0.57 (7:3 Hexano/AcOEt)

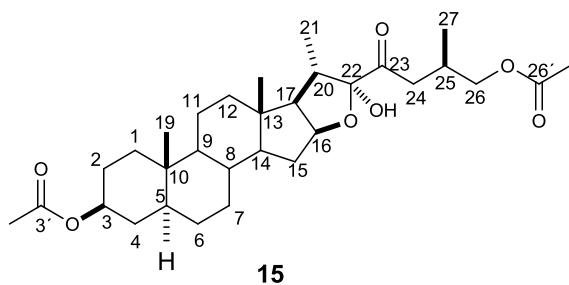
IR $\nu_{\max} \text{cm}^{-1}$ (ATR): 2932, 2871, 2850, 1732 (C=O), 1643 (C=O), 1451, 1367, 1235, 1023, 959, 913, 782, 661.

HRMS calculada para: $C_{31}H_{46}O_6$ 514.3294. Encontrado $[M+H]^+$ 515.3367.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 5.59 (1H, d, $J_{24-25} = 9.3$ Hz, H-24), 4.69 (1H, m, H-3), 4.10 (1H, m, H-16), 3.99 (1H, dd, $J_{\text{gem}} = 10.6$ Hz $J_{26a-25} = 6.3$ Hz, H-26a), 3.92 (1H, dd, $J_{\text{gem}} = 10.6$ Hz $J_{26a-25} = 6.7$ Hz, H-26b), 2.97 (1H, m, H-25), 2.71 (1H, m, H-20), 2.04 (3H, s, 26'-OCOCH₃), 2.03 (3H, s, 3'-OCOCH₃), 1.14 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, CH₃-21), 1.04 (3H, d, $J = 6.9$ Hz CH₃-27), 0.97 (3H, s, CH₃-19), 0.86 (3H, s, CH₃-18).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 201.2 (C-22), 172.1 (26'-OCOCH₃), 171.7 (3'-OCOCH₃), 152.3 (C-23), 116.9 (C-24), 79.7 (C-16), 73.9 (C-3), 68.2 (C-26), 57.3 (C-17), 54.4 (C-5), 53.1 (C-14), 44.8 (C-9), 43.1 (C-13), 40.0 (C-20), 39.9 (C-12), 36.8 (C-1), 35.7 (C-10), 35.2 (C-8), 34.1 (C-4), 33.0 (C-15), 32.2, 28.5 (C-6, C-7), 29.5 (C-25), 27.5 (C-2), 21.5 (26'-OCOCH₃), 21.0 (C-11, 3'-OCOCH₃), 16.8 (C-27), 15.1 (C-18), 13.4 (C-21), 12.2 (C-19).

9.10.2 (25*R*, 22*S*)-3*β*,26-diacetoxi-16*β*,22-epoxi-5*α*-colestan-22-ol-23-ona (15).



$C_{31}H_{48}O_7$

R_f : 0.43 (7:3 Hexano/AcOEt)

HRMS calculada para: $C_{31}H_{48}O_7$ 532.3400. Encontrado $[M-OH]^+$ 515.3367.

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 4.70 (2H, m, H-3 y H-16), 3.94 (2H, m, H-26a, H-26b).

RMN ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 208.9 (C-23), 172.02 (26'- $\underline{OCOCH_3}$), 171.6 (3'- $\underline{OCOCH_3}$), 109.3 (C-22), 84.7 (C-16), 73.9 (C-3), 68.6 (C-26).

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Romo de Vivar A. Productos naturales de la flora mexicana. Editorial Limusa 1985.
2. Morzycki, J. W.; López, Y.; Ploszynska, J.; Santillan, R.; Siergiejczyk, L.; Sobkowiak, A.; *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **2007**, 610, 205.
3. López, Y.; Santillan, R.; Farfán, N.; *Steroids*, **2006**, 71, 12.
4. Jastrzebska, I.; *Current Organic Chemistry*, **2012**, 16, 353.
5. Corona-Díaz, A.; García-Merinos, J.P.; López, Y.; González-Campos, J.B.; del Río, R.E.; Santillan, R.; Farfán, N.; Morzycki, J.W.; *Steroids*, **2015**, 100, 36.
6. López, Y.; Ruíz-Pérez K.M.; Yépez, R.; Santillan, R.; Flores-Alamo, M.; Iglesias-Arteaga, M.A.; *Steroids*, **2008**, 73, 657.
7. Brunton Laurence L., Lazo John S y Parker Keint L. Goodman y Gilman Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, Mc Graw Hill, 11ª Edición, **2006**, paginas 1542, 1597.
8. Marker, R. E.; Tsukamoto, T.; Turner, T. L.; *Journal of the American Chemical Society*, **1940**, 62, 2525.
9. American Chemical Society International Historic Chemical Landmarks. The “Marker Degradation” and Creation of the Mexican Steroid Hormone Industry 1938.,<http://www.acs.org/content/acs/en/education/whatischemistry/landmarks/progestronesynthesis.html> (acceso mayo 27, 2016).
10. Marker, R.E.; Wagner, R.B.; Ulshafer, P.R.; Wittbecker, E.L.; Goldsmith, D.P.J.; Ruof, C.H.; *Journal of the Chemical Society*, **1947**, 69, 2167.

11. Jiang, B.; Shi, H.; Tian, W.; Zhou, W.; *Tetrahedron*, **2008**, 64, 469.
12. Wu, J.-J.; Gao, R.; Shi, Y.; Tian, W.-S.; *Tetrahedron Letters*, **2015**, 56, 6639.
13. He, X.; Kassab, S. E.; Heinzl, G.; Xue, F.; *Tetrahedron. Letters*, **2015**, 56, 1034.
14. Fortner, K. C., Kato, D.; Tanaka, Y.; Shair, M. D.; *Journal of the American Chemical Society*, **2010**, 132, 275.
15. Iglesias-Arteaga, M. A.; Pérez Gil, R.; Pérez Martínez, C. S.; Coll Manchado, F.; *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions*, **2001**, 1, 261.
16. Pérez-Labrada, K.; Brouard, I.; Estévez, S.; Marrero, M. T.; Estévez, F.; Bermejo, J.; Rivera, D. G., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2012**, 20, 2690.
17. Bovicelli, P.; Lupatelli, P.; Fracassi, D.; *Tetrahedron Letters*, **1994**, 35, 935.
18. a) Sandoval-Ramírez, J.; Castro-Méndez, A.; Meza-Reyes, S.; Reyes-Vázquez, F.; Santillan, R.; Farfán, N.; *Tetrahedron Letters*, **1999**, 40, 5143. b) Sandoval-Ramírez, J.; Meza-Reyes, S.; del Río, R.E.; Hernández Linares, G.; Suárez-Rojas, A.; Rincón, S.; Farfán, N.; Santillan, R.; *Steroids*, **2003**, 68, 199. c) Rincón, S.; del Río, R.E.; Sandoval-Ramírez, J.; Meza-Reyes, S.; Montiel-Smith, S.; Fernández, M.A.; Farfán, N.; Santillan, R.; *Tetrahedron*, **2006**, 62, 2594.
19. a) Fernández-Herrera, M. A.; López-Muñoz, H.; Hernández-Vázquez, J. M. V.; López-Dávila, M.; Escobar-Sánchez, M. L.; Sánchez-Sánchez, L.; Pinto M.; Sandoval-Ramírez, J.; *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2010**, 18, 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.; *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2010**, 45, 4827.

20. Pérez-Díaz, J. O. H.; Rárová, L.; Muñoz Ocampo, J. P.; Magaña-Vergara, N. E.; Farfán N.; Strnad, M.; Santillan, R.; *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2012**, 51, 67.
21. Hamid, A.A.; Hasanain, M.; Singh, A.; Bhukya, B.; Omprakash; Vasudev, P.G.; Sarkar, J.; Chanda, D.; Khan, F.; Aiyelaagbe, O.O.; Negi, A.S.; *Steroids*, **2014**, 87, 108.
22. Singh, M.; Hamid, A.A.; Maurya, A.K.; Prakash, O.; Khan, F.; Kumar, A.; Aiyelaagbe, O.O.; Negi, A.S.; Bawankule, D.U.; *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, **2014**, 143, 323.
23. Hilario-Martínez, J.C.; Zeferino-Díaz, R.; Muñoz-Hernández, M.A.; Hernández-Linares, M.G.; Cabellos, J.L.; Merino, G.; Sandoval-Ramírez, J.; Jin, Z; Fernández-Herrera, M.A.; *Organic Letters*, **2016**.
24. López, Y.; Rodríguez, L.; del Río, R.E.; Farfán, N.; Morzycki, J. W.; Santillan, R.; *Steroids*, **2012**, 77, 534.

11. APÉNDICE

Espectros de infrarrojo y Masa alta resolución

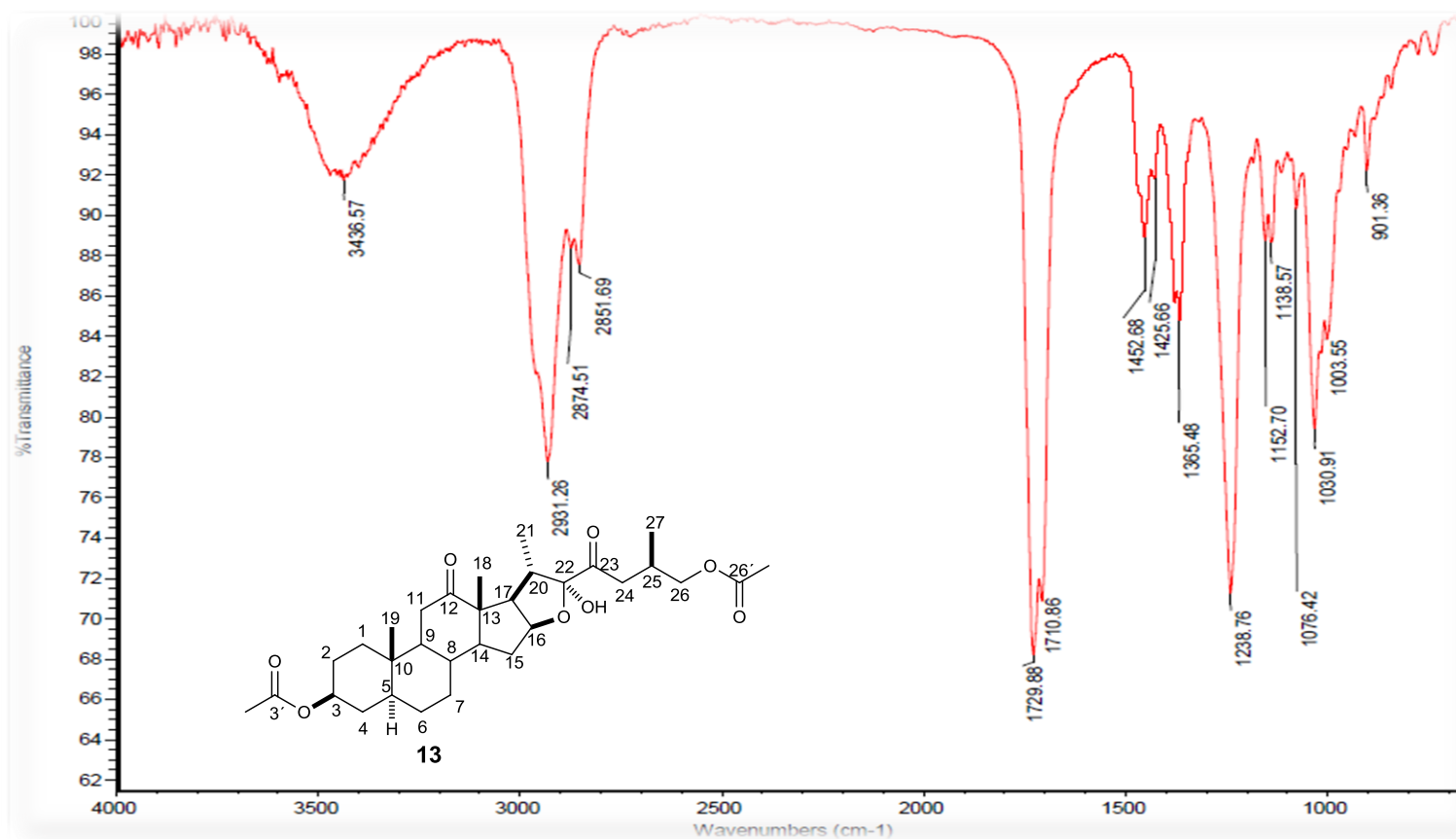


Figura 22. Espectro de IR para 13.

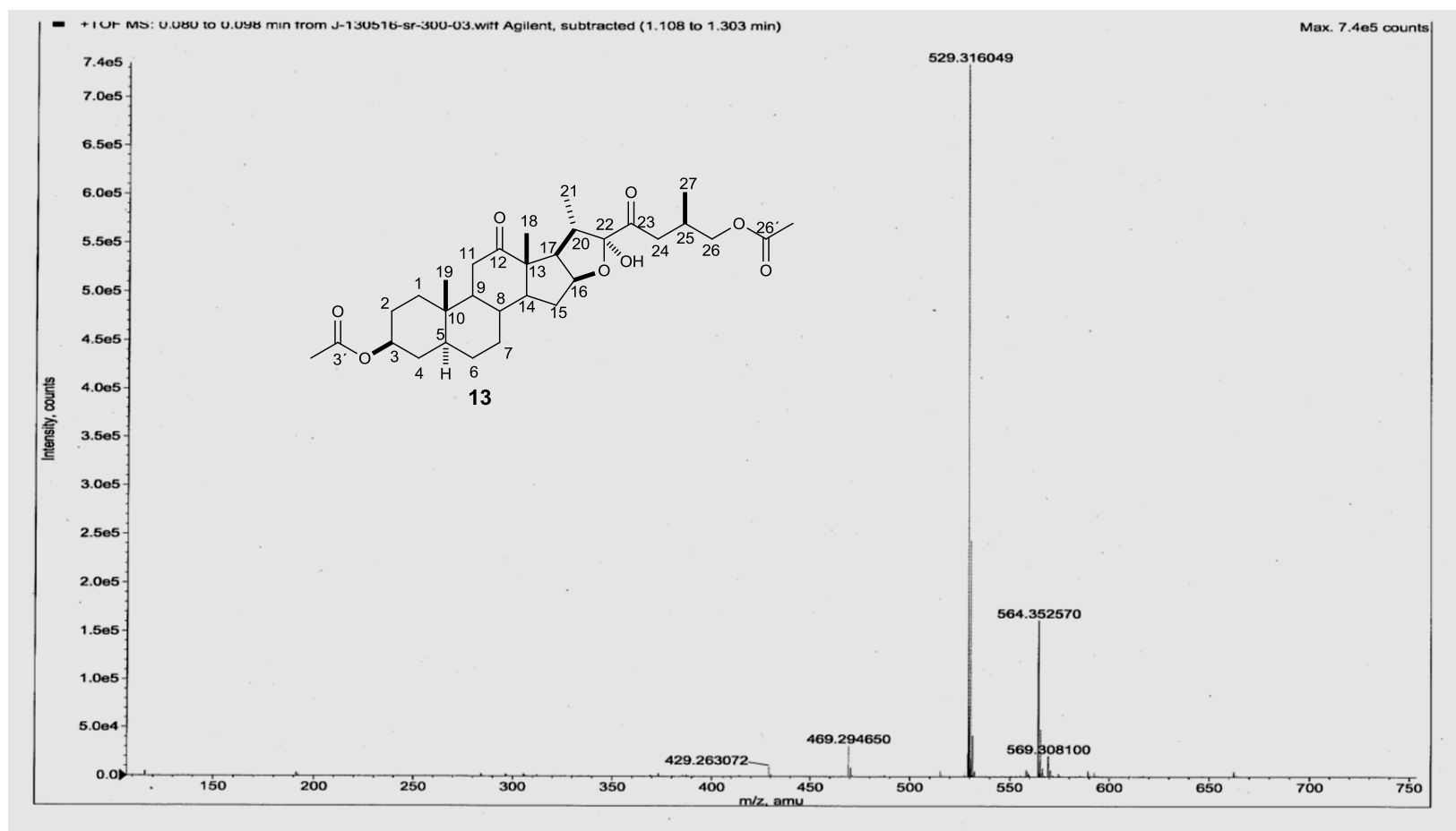


Figura 23. Espectro de masa para 13.

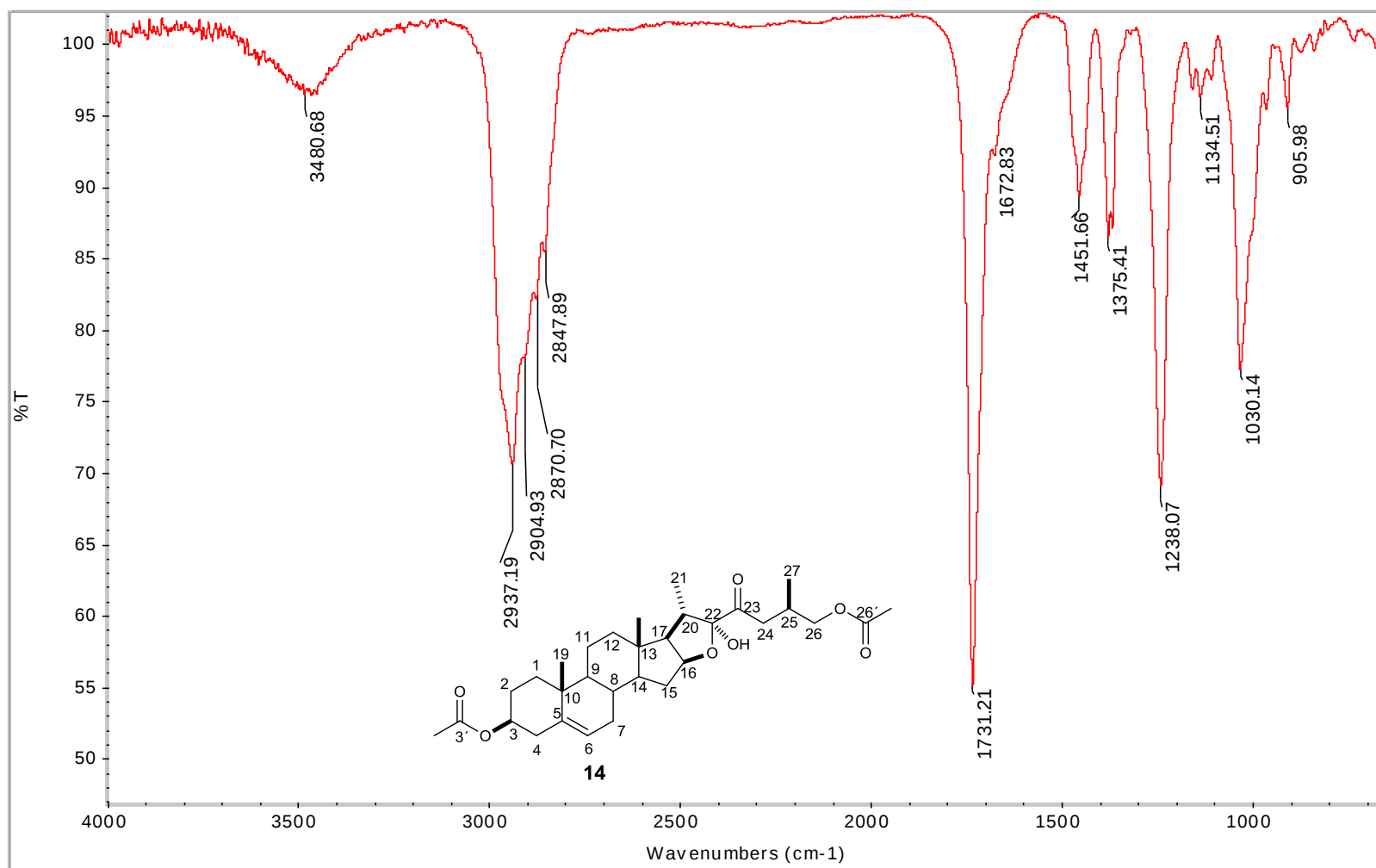


Figura 24. Espectro de IR para 14.

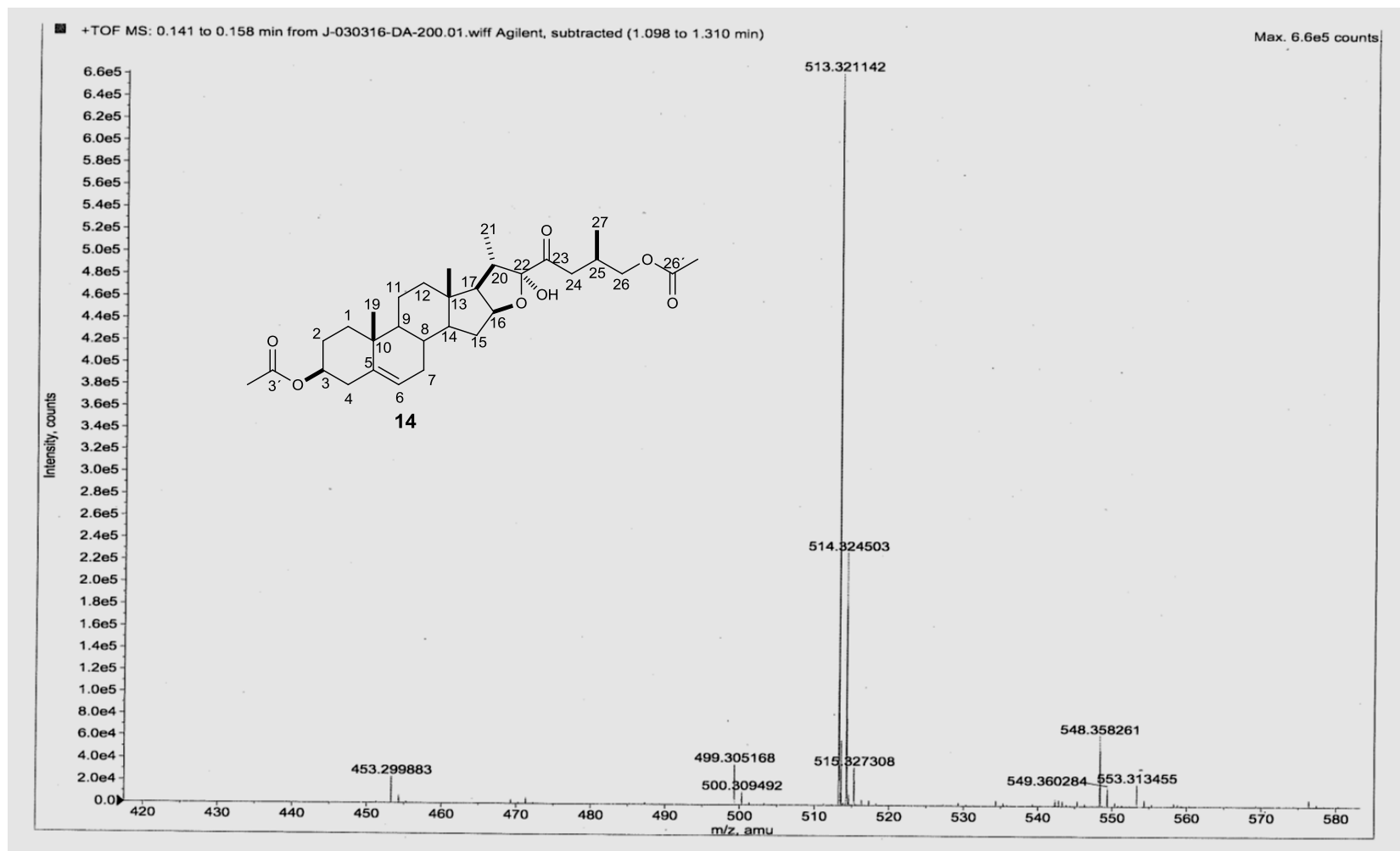


Figura 25. Espectro de masa para 14.

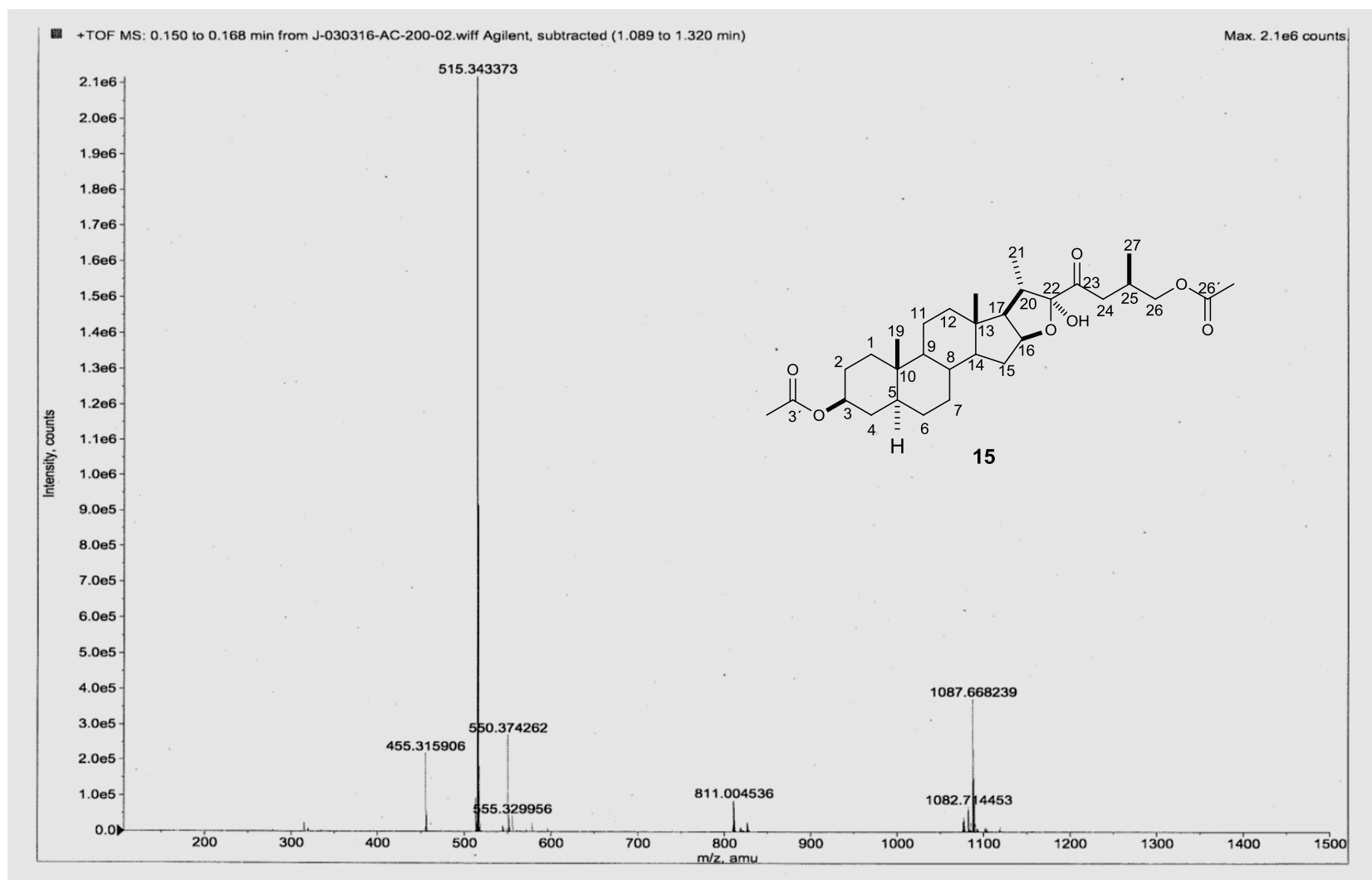


Figura 26. Espectro de masa para 15.