



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO**

**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO
BIOLÓGICAS**

**“REACTIVIDAD DE SISTEMAS ESTEROIDALES
FRENTE A LA ADICIÓN DE COMPUESTOS
HETEROCÍCLICOS”**

T E S I S

**PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS QUÍMICAS**

PRESENTA:

Q.F.B. DANIELA FLORES ABAD

DIRECTORES DE TESIS:

**D.C. YLIANA LÓPEZ CASTRO
D.Q. JUAN PABLO GARCÍA MERINOS**



MORELIA, MICHOACÁN, ENERO 2019

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; bajo la dirección de la D.C. Yliana López Castro y el D.Q. Juan Pablo García Merinos, con apoyo financiero de los proyectos CONACYT (286638), CIC-UMSNH y con una beca otorgada por el CONACYT con número de registro (603321).

Los resultados de este trabajo fueron presentados en los siguientes foros:

- **Daniela Flores-Abad**, Alejandro Corona-Díaz, J. Pablo García-Merinos, Gabriela Rodríguez-García, Rosa E. del Río, Rosa Santillan, Maria E. Ochoa, Yliana López; con el cartel “*OBTENCIÓN DE NUEVOS DERIVADOS HEMICETÁLICOS A PARTIR DE (25R)-23-ESPIROSAPOGENINAS*” presentado en el 11° Congreso Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación y el Quinto Encuentro de Jóvenes Investigadores del Estado de Michoacán, en Morelia, Michoacán, los días 13 y 14 de Octubre de 2016.
- Alejandro Corona-Díaz, **Daniela Flores-Abad**, J. Pablo García-Merinos, Maria E. Ochoa, J. Betzabe González-Campos, Rosa E. del Río, Rosa Santillan, Yliana López; con el cartel “*NUEVAS SAPOGENINAS COLESTÁNICAS A PARTIR DE (25R)-23-ESPIROSAPOGENINAS*” presentado en la 13ª Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales, en Morelia, Michoacán, del 17 al 20 de Mayo de 2017.
- **Daniela Flores-Abad**, J. Pablo García-Merinos, Gabriela Rodríguez-García, J. Betzabe González-Campos, Judit Aviña-Verduzco, Rosa E. del Río, Yliana López; con la presentación oral titulada “*MODIFICACIONES EN EL ANILLO A DEL COLESTEROL*” presentado en el 1er Foro del Posgrado en Ciencias Químicas del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, en Morelia, Michoacán, del 31 de Julio al 4 de Agosto de 2017.
- **Daniela Flores-Abad**, J. Pablo García-Merinos, Gabriela Rodríguez-García, J. Betzabe González-Campos, Mario A. Gómez-Hurtado, Rosa E. del Río, Yliana López; con la presentación oral titulada “*OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE COMPUESTOS ESTEROIDALES CON SISTEMAS CARBONÍLICOS α,β -INSATURADOS*” presentado en el 12° Congreso Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación y el Sexto Encuentro de Jóvenes Investigadores del Estado de Michoacán, en Morelia, Michoacán, a 6 de Octubre de 2017.

- **Daniela Flores-Abad**, J. Pablo García-Merinos, J. Betzabe González-Campos, Gabriela Rodríguez-García, Rosa E. del Río, Yliana López; con el cartel “*NUEVOS DERIVADOS COLESTÁNICOS OBTENIDOS DE SAPOGENINAS ESTEROIDALES*” presentado en la 14ª Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales, en Cuernavaca, Morelos, del 23 al 26 de Mayo de 2018.
- **Daniela Flores-Abad**, J. Pablo García-Merinos, Gabriela Rodríguez-García, J. Betzabe González-Campos, Rosa E. del Río, Judit Aviña-Verduzco, Yliana López; con la presentación oral titulada “*ADICIÓN DE INDOL A CARBONILOS α,β -INSATURADOS ESTEROIDALES*” presentado en el 2do Foro del Posgrado en Ciencias Químicas del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, en Morelia, Michoacán, del 2 al 6 de Julio de 2018.
- **Daniela Flores-Abad**, J. Pablo García-Merinos, Gabriela Rodríguez-García, J. Betzabe González-Campos, Yliana López; con la presentación oral titulada “*REACTIVIDAD DE ESTEROIDES CARBONÍLICOS α,β -INSATURADOS FRENTE A LA ADICIÓN DE INDOL*” presentado en el 13º Congreso Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación y el 7º Encuentro de Jóvenes Investigadores del Estado de Michoacán, en Morelia, Michoacán, 18 y 19 de Octubre del 2018.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
ÍNDICE DE TABLAS	IX
ÍNDICE DE ESQUEMAS	X
ABREVIATURAS, SÍMBOLOS Y ACRÓNIMOS	XII
RESUMEN	XVI
ABSTRACT.....	XVII
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES.....	4
2.1 Esteroides con grupos carbonilos α,β -insaturados	4
2.2 Oxidaciones del anillo A.....	7
2.3 Reactividad de esteroides carbonílicos α,β -insaturados.....	9
2.4 Acoplamiento de indol a compuestos esteroidales.....	15
3. JUSTIFICACIÓN	19
4. OBJETIVOS	20
4.1 Objetivo general.....	20
4.2 Objetivos específicos	20
5. PARTE EXPERIMENTAL	21
5.1 Instrumentación y equipo.....	21
5.2 Oxidación de acetato de botogenina 88 con $\text{NaNO}_2/\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$	22
5.3 (23 <i>R</i> ,25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-16 β ,23:23,26-diepoxi-5-en-espiro-12, 22-diona (84)	22
5.4 (23 <i>Z</i> ,25 <i>R</i>)-3 β ,26-diacetoxi-16 β ,23-epoxi-colestan-5,23-dien-12, 22-diona (85) .23	

5.5 (23 <i>S</i> , 25 <i>R</i>)-3 β , 26-diacetoxi-16 β , 23-epoxi-5-en-23-(1 <i>H</i> -indol-3-il)-colestán-12, 22-diona (90).....	24
5.6 Oxidación de acetato de diosgenina 91 con NaNO ₂ /BF ₃ · OEt ₂	25
5.7 (23 <i>R</i> ,25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-16 β ,23:23,26-diepoxi-5-en-espiro -22-ona (86).....	26
5.8 (23 <i>Z</i> , 25 <i>R</i>)-3 β , 26-diacetoxi-16 β , 23-epoxi-5-en-colestán-23-en-22-ona (87).....	27
5.9 (23 <i>S</i> , 25 <i>R</i>)-3 β , 26-diacetoxi-16 β , 23-epoxi-5-en-23-(1 <i>H</i> -indol-3-il)-colestán-22-ona (93).....	27
5.10 Oxidación de colesterol 34 con PCC	28
5.11 Oxidación de colesterol 34 con Al(<i>O-i-Pr</i>) ₃ / Ciclohexanona	29
5.12 (5 ξ , 20 <i>R</i>)-22 <i>E</i> -colest-5-(1 <i>H</i> -indol-3-il)-3-ona (95).....	30
5.13 Oxidación de diosgenina 27 con PCC.....	31
5.14 Oxidación de diosgenina 27 con Al(<i>O-i-Pr</i>) ₃ / Ciclohexanona	32
5.15 (5 ξ , 25 <i>R</i>)-espirostan-5-(1 <i>H</i> -indol-3-il)-3-ona (98)	33
5.16 Hidrólisis de acetato de botogenina 88 con KOH/EtOH	34
5.17 Oxidación de botogenina 99 con Al(<i>O-i-Pr</i>) ₃ / Ciclohexanona.....	35
5.18 (5 ξ , 25 <i>R</i>)-espirostan-5-(1 <i>H</i> -indol-3-il)-3, 12-diona (100)	36
6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	37
6.1 Reactividad de los compuestos 85 y 87 frente a la adición de indol.....	37
6.2 Obtención de la cetona α,β -insaturada 35 a partir de colesterol 34	56
6.3 Reactividad de la enona 35 frente a la adición nucleofílica del indol.....	64
6.4 Obtención de la cetona α,β -insaturada 36 a partir de diosgenina 27	67
6.5 Reactividad de la enona 36 frente a la adición nucleofílica del indol.....	77
6.6 Obtención de la cetona α,β -insaturada 83 a partir de acetato de botogenina 88 ...	79
6.7 Reactividad de la enona 83 frente a la adición nucleofílica del indol.....	82
7. CONCLUSIONES	85

8. REFERENCIAS..... 87

9. APÉNDICE..... 94

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fármacos fusionados con heterociclos sobre el anillo D.	1
Figura 2. Fármacos fusionados con heterociclos nitrogenados sobre el anillo A.	2
Figura 3. Compuestos naturales con núcleo indol.	3
Figura 4. Hormonas naturales producidas y liberadas por la corteza suprarrenal presente en los seres vivos.	4
Figura 5. Ejemplo de corticoesteroides sintéticos.	5
Figura 6. Estructura química de los derivados naturales de pregnenolona.	5
Figura 7. Algunas hormonas esteroidales sintéticas que actúan a través de los SR.	6
Figura 8. Espectro de RMN ^1H (400 MHz) de 85 en CDCl_3	38
Figura 9. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de 90 en CDCl_3	41
Figura 10. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) de 90 en CDCl_3	42
Figura 11. Espectro de RMN de ^{13}C y DEPT para el compuesto 90	43
Figura 12. Espectro HSQC de 90 en CDCl_3	45
Figura 13. Espectro COSY de 90 en CDCl_3	46
Figura 14. Experimento HMBC para 90 en CDCl_3	48
Figura 15. Experimento NOESY para 90 en CDCl_3	49
Figura 16. Comparación de los espectros de RMN de ^1H (400 MHz) del compuesto 90 obtenidos con $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y Tiourea 105	52
Figura 17. Comparación de los espectros de RMN de ^1H (400 MHz) del compuesto 87 y el nuevo derivado 93 en CDCl_3	55
Figura 18. Comparación de los espectros de RMN de ^1H (400 MHz) de colesterol 34 y la colest-4-en-3,6-diona (94) en CDCl_3	59
Figura 19. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) de colest-4-en-3,6-diona (94) en CDCl_3	60
Figura 20. Comparación de los espectros de RMN de ^1H (400 MHz) de colesterol 34 y colestenoa 35 en CDCl_3	62
Figura 21. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) de colestenoa 35 en CDCl_3	63
Figura 22. Comparación de los espectros de RMN de ^1H (400 MHz) de colestenoa 35 y el nuevo derivado 95 en CDCl_3	66
Figura 23. Comparación de los espectros de RMN de ^1H (400 MHz) de diosgenina 27 y diosgenin-4-en-3,6-diona (96) en CDCl_3	69

Figura 24. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) de diosgenin-4-en-3,6-diona (96) en CDCl_3	70
Figura 25. Comparación de los espectros de RMN de ^1H (400 MHz) de diosgenina 27 y diosgenin-5-en-3-ona (96) en CDCl_3	72
Figura 26. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) de diosgenin-5-en-3-ona (97) en CDCl_3 . 73	
Figura 27. Comparación de los espectros de RMN de ^1H (400 MHz) de diosgenina 27 y diosgenona 36 en CDCl_3	75
Figura 28. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) de diosgenona 36 en CDCl_3	76
Figura 29. Comparación de los espectros de RMN de ^1H (400 MHz) de diosgenona 36 y el nuevo derivado 98 en CDCl_3	78
Figura 30. Comparación de los espectros de RMN de ^1H (400 MHz) de botogenina 99 y el nuevo derivado 83 en CDCl_3	80
Figura 31. Espectros de RMN de ^{13}C (100 MHz) de la enona 83 en CDCl_3	81
Figura 32. Comparación de los espectros de RMN de ^1H (400 MHz) de la enona 83 y el nuevo derivado 100 en CDCl_3	84
Figura 33. Espectro de RMN de ^{13}C y DEPT para el compuesto 35 en CDCl_3	94
Figura 34. Espectro HETCOR de 35 en CDCl_3	94
Figura 35. Espectro COSY de 36 en CDCl_3	95
Figura 36. Espectro HETCOR de 36 en CDCl_3	95
Figura 37. Espectro de RMN de ^{13}C y DEPT para el compuesto 83 en CDCl_3	96
Figura 38. Espectro HETCOR de 83 en CDCl_3	96

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Oxidación de Oppenauer a diferentes tiempos.	56
Tabla 2. Ensayos de la oxidación del colesterol 34 con PCC.....	57
Tabla 3. Ensayos de la reactividad de la enona 35	64
Tabla 4. Ensayos de la reactividad de la enona 36	77
Tabla 5. Ensayos de la reactividad de la enona 83	82

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Degradación de Marker.	7
Esquema 2. Oxidación de Oppenauer.	8
Esquema 3. Oxidación de colesterol con PCC.	8
Esquema 4. Oxidación de Swern.	8
Esquema 5. Síntesis de galeterona 3 y su análogo 40	9
Esquema 6. Síntesis de heterociclos esteroidales.	10
Esquema 7. Síntesis asistida por microondas de quinolinas esteroidales.	11
Esquema 8. Síntesis del compuesto 51	12
Esquema 9. Incorporación de heterociclos en el C-3 vía 3,4-epoxi-esteroides.	12
Esquema 10. Síntesis de pirazolinas esteroidales.	13
Esquema 11. Síntesis del derivado de dihidropiridinil espirooxindoles esteroides.	13
Esquema 12. Derivado de hecogenina [1,2,4]-Triazol-[1,5- α]pirimidina.	14
Esquema 13. Síntesis de [1,2,4]-triazolo-[1,5- α]-pirimidinas.	14
Esquema 14. Condensación de acetato de 16-deshidropregnenolona con 2-aminobencimidazol.	15
Esquema 15. Acoplamiento de esteroides con indol en presencia de triflato de zinc.	16
Esquema 16. Adición de Michael en cetonas α,β -insaturadas.	16
Esquema 17. Incorporación del indol en el anillo D del esteroide.	17
Esquema 18. Obtención de 3-yodo-colesterol (80) con indol 6	18
Esquema 19. Adición catalítica de indol a la progesterona.	18
Esquema 20. Obtención del derivado colestánico 85	37
Esquema 21. Obtención del nuevo compuesto 90	39
Esquema 22. Esquema general de aplicación de ureas y tioureas bifuncionales en síntesis orgánica.	50
Esquema 23. Obtención del nuevo compuesto 90 vía el organocatalizador 105	51
Esquema 24. Obtención del compuesto colestánico 87	53
Esquema 25. Obtención del nuevo compuesto 93	53
Esquema 26. Oxidación del anillo A del colesterol 34	56
Esquema 27. Obtención de colest-4en-3,6-diona (94).	57
Esquema 28. Obtención de colestenona 35	61

Esquema 29. Obtención del nuevo compuesto 95	64
Esquema 30. Oxidaciones del anillo A de la diosgenina 27	67
Esquema 31. Obtención del nuevo compuesto 98	77
Esquema 32. Obtención del compuesto 83	79
Esquema 33. Obtención del nuevo compuesto 100	82

ABREVIATURAS, SÍMBOLOS Y ACRÓNIMOS

A-549	Línea celular de cáncer de pulmón
AcOEt	Acetato de etilo
Al (O- <i>i</i> -Pr) ₃	Isopropóxido de aluminio
CCF	Cromatografía en capa fina
CeCl ₃ ·7H ₂ O	Tricloruro de cerio heptahidratado
CH ₃ CN	Acetonitrilo
COSY	Correlation Spectroscopy
δ	Desplazamiento químico
d	Señal doble
dd	Señal doble de dobles
ddd	Señal doble de doble de dobles
DCM	Diclorometano
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropiletilamina
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPM	Dipivaloilmetano
EC-109	Línea celular de cáncer de esófago epitelial
EC9706	Línea celular de cáncer de esófago de células escamosas
EtOH	Etanol
eq	Equivalentes

h	Horas
HepG2	Línea celular de cancer de hígado
HFL-1	Línea celular de fibroblastos de pulmón no canceroso
HL-60	Línea celular de leucemia
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
LNCaP	Línea celular de cáncer de próstata de ganglio linfático
LAPC4	Línea celular epitelial de cáncer de próstata
m	Señal múltiple
MCF-7	Línea celular de cáncer de mama
MDA-MB-361	Línea celular de cáncer de mama ductal
mg	Miligramos
MHz	MegaHertz
min	Minutos
mL	Mililitros
M.O.	Microondas
M.P.	Materia prima
MTT	Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio
m/z	Relación masa carga

NaI	Yoduro de sodio
NOESY	Nuclear Overhauser Effects Spectroscopy
PCC	Clorocromato de piridinio
PC-3	Línea celular de cáncer de próstata
p.f.	Punto de fusión
ppm	Partes por millón
R _f	Factor de retención
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RM	Receptor Mineralocorticoide
s	Señal simple
S _N 1	Sustitución nucleofílica unimolecular
SNC	Sistema nervioso central
SR	Receptores de esteroides
t	Señal triple
t.a.	Temperatura ambiente
TBAI	Tetrabutilamonio
TCH	Tiocarbohidracida
TMS	Tetrametilsilano
T-47D	Línea celular de cáncer de mama del derrame pleural
ν	Frecuencia
WiDr	Línea celular de cáncer de colon
ξ	Símbolo de configuración no definida
[M ⁺]	Ion molecular

°C

Grados Celsius

RESUMEN

Los esteroides son un grupo de moléculas de gran interés estructural, ya que a partir de ellas se han preparado moléculas bioactivas con aplicación a nivel farmacéutico para el tratamiento de diversas enfermedades. La mayoría de estos principios activos contienen anillos heterocíclicos fusionados dentro o fuera del núcleo ciclopentanoperhidrofenantreno. Por otro lado, los compuestos heterocíclicos son estructuras interesantes por sus propiedades como, antibacteriales, antifúngicos y antiinflamatorios, como ejemplo de estos podemos citar al indol, que representa una de las estructuras más populares en química heterocíclica conocida como “*estructura privilegiada*”, ya que forma parte estructural de una variedad de compuestos naturales y sintéticos con propiedades farmacológicas interesantes, como analgésicos, antipiréticos, antidiabéticos, anticancerosos y antimicrobianos.

En relación a la reactividad química del indol la mayoría de las reacciones de sustitución electrofílica se efectúan principalmente en el C-3 del anillo pirrólico; mientras que el esqueleto esteroidal combina en una única estructura, rigidez, quiralidad y gran diversidad de sitios de funcionalización ya sea con disposiciones axiales o ecuatoriales, que le permiten imponer determinada preorganización conformacional a los grupos funcionales responsables de la actividad biológica. Con estos antecedentes, en el presente proyecto se trabajó explorando la reactividad de esteroides carbonílicos α,β -insaturados frente a la adición de indol; para ello durante el desarrollo de este trabajo se llevó a cabo la obtención de las materias primas **85** y **87** así como la preparación y optimización de los rendimientos de los compuestos **35-36**, y **83**.

Con las materias **35-36**, **83**, **85** y **87** se realizaron varios ensayos de adición de indol en diferentes condiciones de reacción, los mejores resultados fueron obtenidos a partir de las cetonas α,β -insaturadas **85** y **87** que producen diastereoselectivamente los derivados de indol **90** y **93**, mientras que las cetonas α,β -insaturadas en el anillo A, **35-36** y **83** no mostraron diastereoselectividad hacia la formación de los productos **95**, **98** y **100**, además de ser menos reactivas, ya que en iguales condiciones forman los compuestos en trazas.

Palabras clave: Esteroide, Indol, Colesterol, Diogenina, Botogenina

ABSTRACT

Steroids are a group of molecules with great structural interest, since from these have been prepared bioactive molecules with application at pharmaceutical level for the treatment of various diseases. Most of these active principles contain heterocyclic rings fused in or out the cyclopentanoperhydrophenanthrene nucleus. On the other hand, heterocyclic compounds are interesting structures for their properties as, antibacterial, antifungal and anti-inflammatory, as an example of these, we can mention the Indole, which represents one of the most popular structures in heterocyclic chemistry, known as "privileged structure", by to form part in a wide variety of natural and synthetic compounds, with interesting pharmacological properties, such as, analgesics, antipyretics, antidiabetics, anticancer agents and antimicrobials.

In relation to the chemical reactivity of indole, most of the electrophilic substitution reactions are carried out mainly in the C-3 of the pyrrole ring; while the steroidal nucleus combines in a single structure, rigidity, chirality and great diversity of functionalization sites with either axial or equatorial dispositions, which allow it to impose certain conformational preorganization to the functional groups responsible for the biological activity. With this antecedents, in the development of this project we worked exploring the reactivity of α,β -unsaturated carbonyl steroids against the addition of indole; for this, the starting materials **85** and **87** preparation was carried out, as well as, obtention and optimization of the yields for the compounds **35-36**, and **83**.

With the starting materials **35-36**, **83**, **85** and **87** several addition essays were performed under different reaction conditions, the best results were obtained from the α,β -unsaturated ketones **85** and **87**, that produce the indole derivatives **90** and **93** diastereoselectively, whereas α,β -unsaturated ketones on A ring **35-36** and **83** did not show diastereoselectivity towards the formation of compounds **95**, **98** and **100**, in addition also were less reactive, giving traces of the products under the same reactions conditions.

1. INTRODUCCIÓN

Los esteroides se encuentran presentes en el reino animal y vegetal,¹ algunos son de gran importancia debido a su alta actividad biológica, además de su participación cumpliendo funciones diversas en los organismos vivos, por ejemplo, el colesterol, los ácidos biliares, hormonas sexuales, vitamina D, hormonas corticoides y agliconas cardíacas.²⁻³

La adición de anillos heterocíclicos a moléculas esteroidales conduce a cambios que han sido ampliamente estudiados en las últimas décadas⁴⁻⁵ ya que afectan las propiedades químicas y biológicas del esteroide, dando como resultado alteraciones de su actividad biológica a menudo interesantes,⁶ por ejemplo, en algunos casos potenciando la citotoxicidad contra algunas líneas celulares tumorales.³ Es por ello que estos compuestos podrían utilizarse para el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos, así como útiles herramientas para investigar la orientación espacial de aspectos importantes como son, el estudio sobre la respuesta de unión en macromoléculas diana. En los últimos años, se han aislado y sintetizado una serie de esteroides conteniendo anillaciones heterocíclicas con actividades interesantes.⁷ Algunos ejemplos de estos se describen a continuación; la digitoxigenina **1**, es una clase de cardanólidos de particular interés debido a su actividad cardíaca,⁸ otros ejemplos son la abiraterona⁹ **2** y galeterona **3**,¹⁰ fármacos para el tratamiento de cáncer de próstata avanzado, estos compuestos comparten características estructurales similares, son portadoras de un heterociclo nitrogenado en el anillo D.¹¹

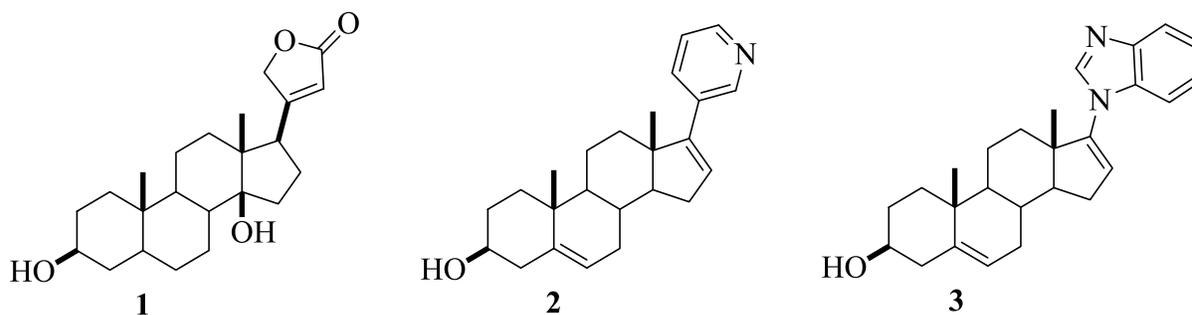


Figura 1. Fármacos fusionados con heterociclos sobre el anillo D.

Otro ejemplo, son el danazol **4** y el cortivazol **5**, el primero es un análogo de la etisterona compuesto de interés por su actividad anticonceptiva y tratamiento de la endometriosis; pertenece a una clase de medicamentos llamado hormonas androgénicas,¹²⁻¹³ el segundo compuesto es un heterociclo esteroideo importante por su actividad glucocorticoide, fármaco para el tratamiento de varias patologías por sus efectos antiinflamatorios e inmunosupresores,¹⁴ ambos contienen un heterociclo nitrogenado en el anillo A.

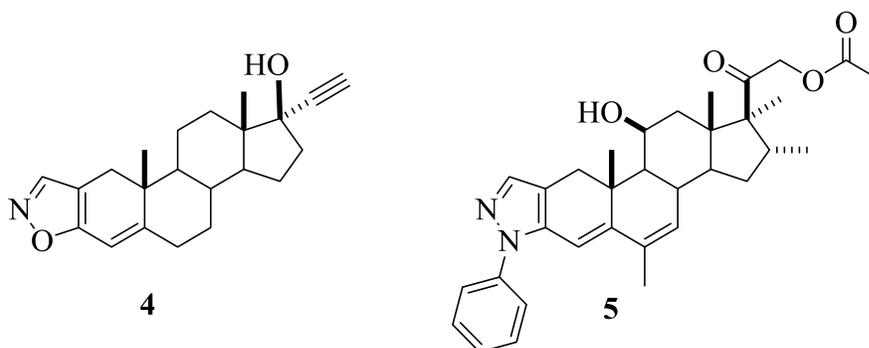


Figura 2. Fármacos fusionados con heterociclos nitrogenados sobre el anillo A.

Una característica fundamental en moléculas biológicamente activas, es que presentan heterociclos fusionados sobre los anillos A y D, como son, pirrol, pirimidina, indol, quinolina, purina, pirazol, piridina y pirazolina que forman parte de los heterociclos que han servido como plataformas para desarrollar agentes farmacéuticos con diversas aplicaciones.¹⁵⁻¹⁶

Dentro de los compuestos heterocíclicos de mayor importancia podemos citar al indol **6**, biciclo que contiene un anillo de pirrol fusionado a uno de benceno.¹⁷ Este compuesto es de gran importancia a nivel químico e industrial ya que se encuentra incorporado en diversos productos naturales con actividad biológica, además de formar parte estructural en sustancias químicas fundamentales para los seres humanos, como son el aminoácido esencial triptófano **7**, las hormonas melatonina **8** y serotonina **9**, encargadas de regular diversas funciones fisiológicas como el sueño, apetito y estado de ánimo.¹⁸⁻²⁰

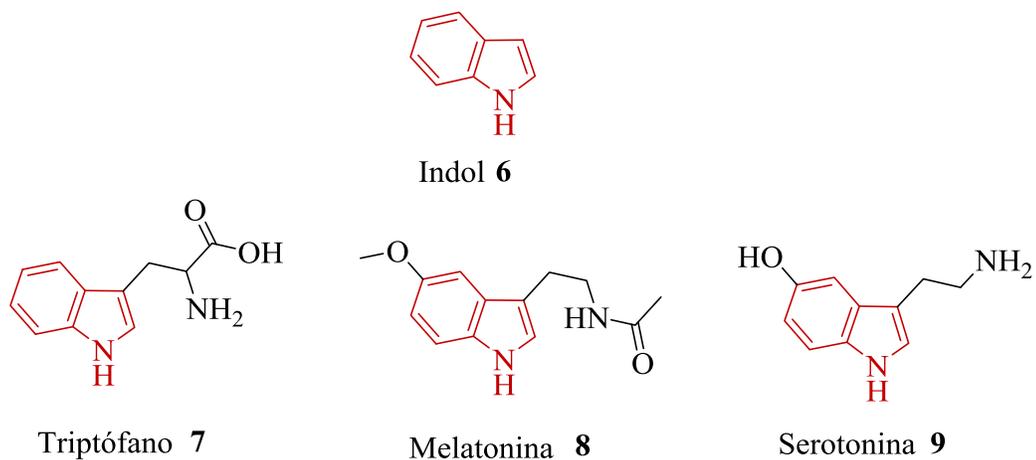


Figura 3. Compuestos naturales con núcleo indol.

El amplio rango de actividad biológica del indol **6** y la de muchos derivados de este, ha estimulado el constante interés por el desarrollo de estrategias sintéticas orientadas a la obtención de compuestos conteniendo el fragmento indol.¹⁸ Por tal motivo este proyecto consistió en evaluar la reactividad de diferentes sustratos esteroidales conteniendo carbonilos α,β -insaturados frente a la adición del indol **6**.

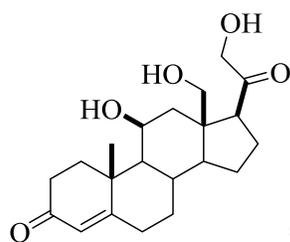
2. ANTECEDENTES

2.1 Esteroides con grupos carbonilos α,β -insaturados

Algunos esteroides conteniendo carbonilos α,β -insaturados en el anillo A son de gran importancia ya que actúan como mensajeros químicos regulados por el sistema nervioso central (SNC). Todas las hormonas esteroidales se sintetizan a partir del colesterol mediante la acción de diferentes enzimas mitocondriales o del retículo endoplásmico liso. Los esteroides hormonales pueden clasificarse como aquellos que tienen importantes efectos sobre el metabolismo intermedio y la función inmunitaria (glucocorticoides), los que tienen una actividad principalmente de autorretención de sal (mineralocorticoides) y aquellos con actividad androgénica o estrogénica (hormonas gonadales o sexuales), siendo biosintetizados a partir de colesterol.²¹⁻²²

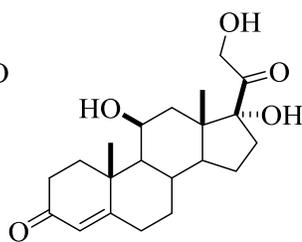
Un ejemplo de esteroides con carbonilos α,β -insaturados en el anillo A son los corticoesteroides,²³⁻²⁴ estos son sintetizados en la corteza suprarrenal, dividido en mineralocorticoides (aldosterona **10**) y glucocorticoides (cortisol **11**, cortisona **12** y corticosterona **13**).²⁵⁻²⁶

MINERALOCORTICOIDE

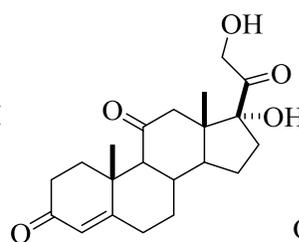


Aldosterona **10**

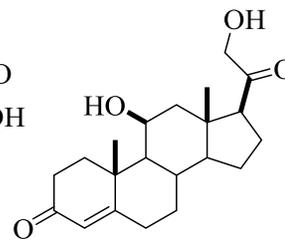
GLUCOCORTICOIDES



Cortisol **11**



Cortisona **12**



Corticosterona **13**

Figura 4. Hormonas naturales producidas y liberadas por la corteza suprarrenal presente en los seres vivos.

Los corticoesteroides sintéticos se han convertido en fármacos importantes para el tratamiento de muchos trastornos inflamatorios, inmunitarios y hematológicos, lo que ha llevado a modificar diversos esteroides sintéticos con actividad antiinflamatoria e inmunosupresora; a continuación se muestran algunos ejemplos: como la betametasona **14**

(inmunosupresor y antiinflamatorio) y la eplerenona **15** (antihipertensivo como consecuencia del bloqueo del Receptor Mineralocorticoide (RM)).²⁷

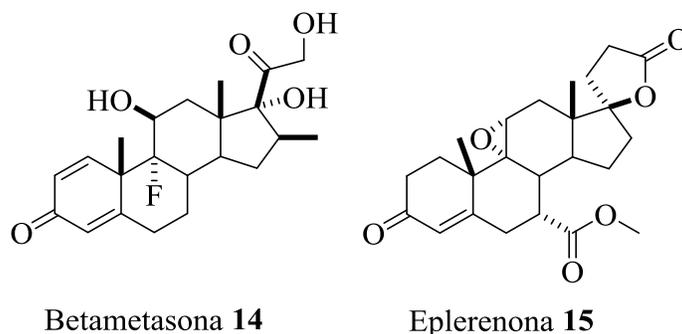


Figura 5. Ejemplo de corticoesteroides sintéticos.

Otro ejemplo de esteroides conteniendo cetonas α,β -insaturadas está representado por hormonas sexuales como son algunas de tipo gestágenas o progestágenos (progesterona **16**, 17α -hidroxiprogesterona **17**) y andrógenos (testosterona **18** y androstenodiona **19**).^{21, 28}

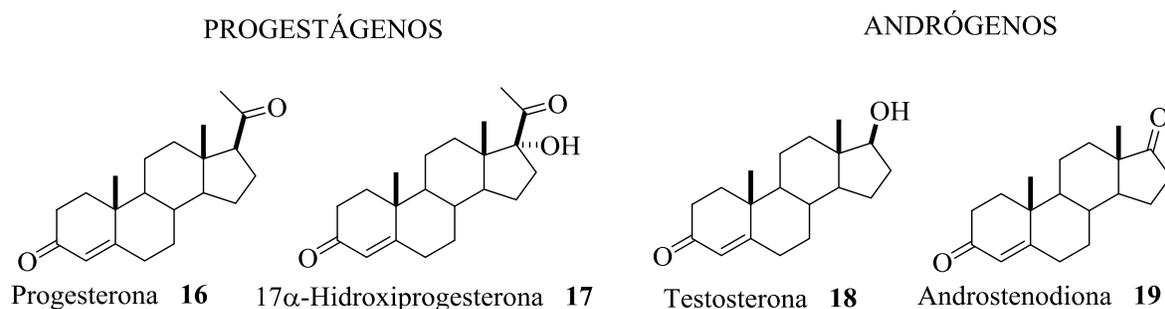


Figura 6. Estructura química de los derivados naturales de pregnenolona.

Actualmente existen en el mercado compuestos sintetizados principalmente a base de hormonas esteroidales conteniendo carbonilos α,β -insaturados, ya que estos actúan a través de su unión a los denominados receptores de esteroides (SR), los cuales constituyen uno de los blancos terapéuticos más importantes para el desarrollo de fármacos, en vista de que varias enfermedades son tratadas mediante la acción de estos medicamentos, aunque por el momento no se encuentran libres de efectos adversos,²¹ como son los siguientes compuestos: la etisterona **20** (confiere actividad gestágena, siendo la primera progestina),^{21,24} medroxiprogesterona **21** (regula los períodos menstruales),²⁷ noretindrona **22** (sintetizada por primera vez por el mexicano Luis E. Miramontes en 1951 siendo la base del primer

anticonceptivo oral, más conocido como píldora anticonceptiva),^{22,29} levonorgestrel **23** (anticonceptivos de emergencia),²¹ mifepristona **24** (interrupción embarazos tempranos),²⁷ dienogest **25** (actividad agonista selectiva del receptor de progesterona y progestacional oral en el endometrio),^{21,30} acetato de ciproterona **26** (antiandrógeno potente que actúa por inhibición competitiva bloqueando los andrógenos como la testosterona).²⁷

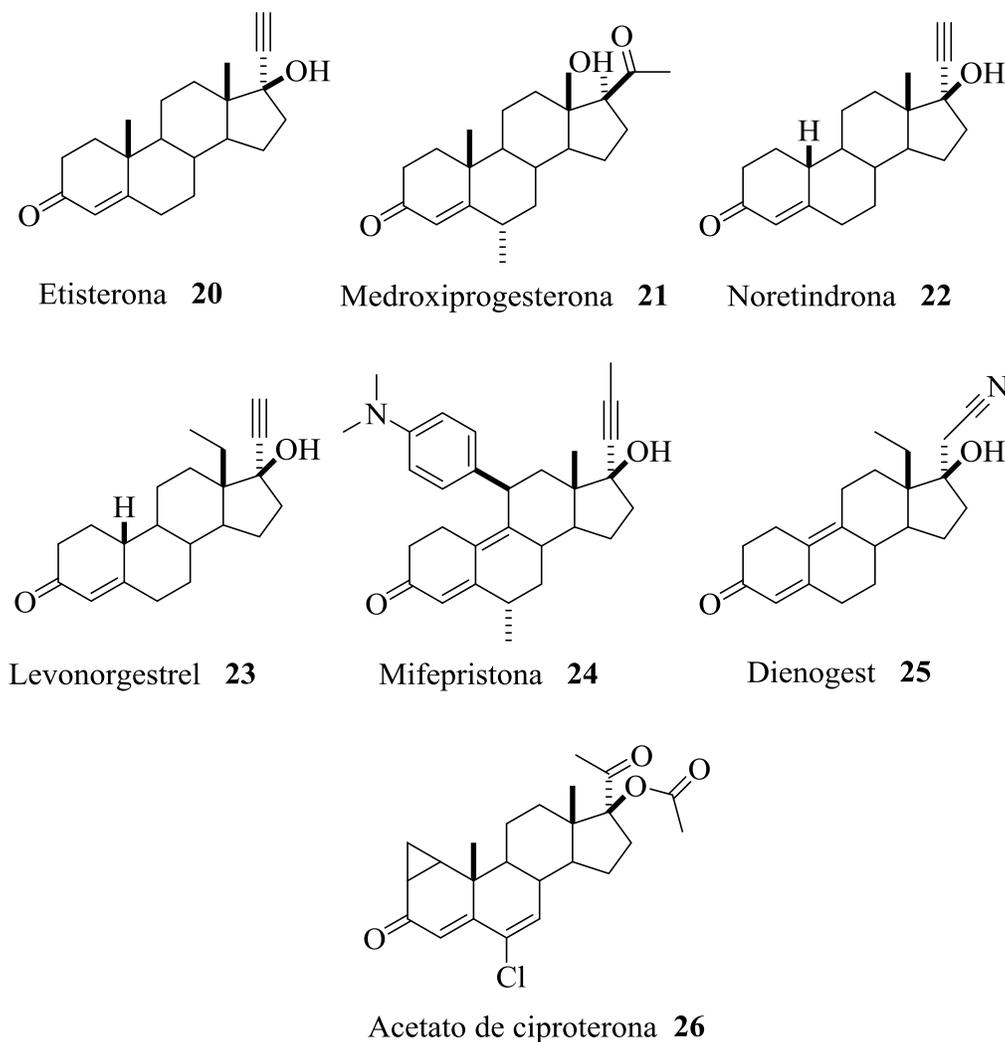
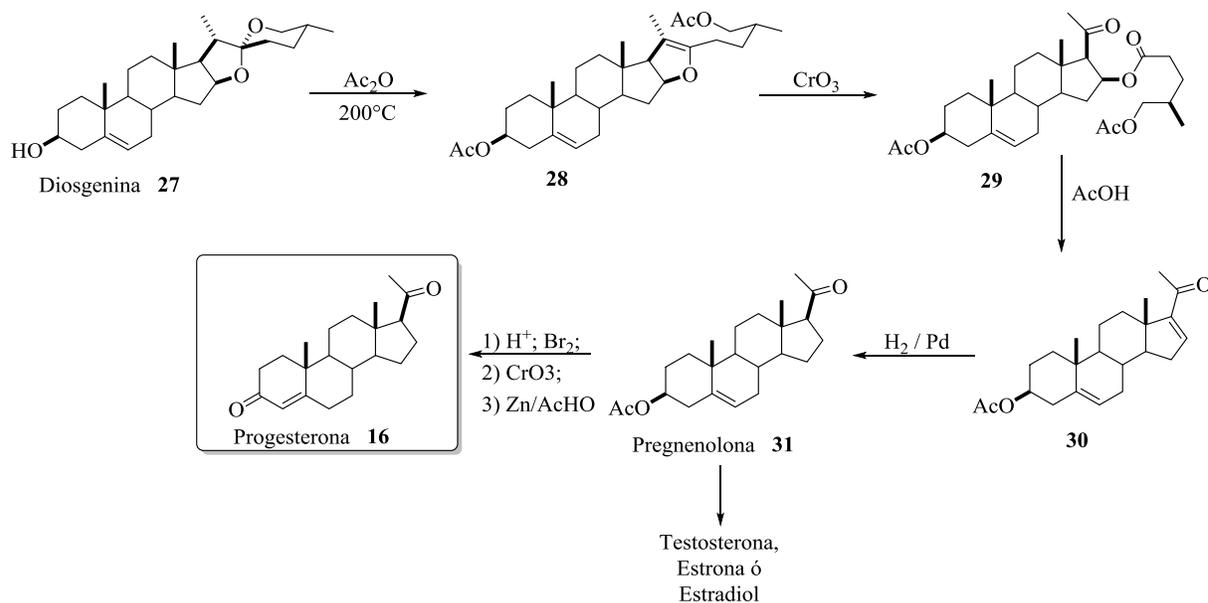


Figura 7. Algunas hormonas esteroidales sintéticas que actúan a través de los SR.

Lo anterior sustenta las bases sobre la importancia e interés en continuar trabajando en la reactividad de esteroides carbonílicos α,β -insaturados, con la finalidad de contribuir con nuevas metodologías sintéticas para la obtención de moléculas esteroidales con potencial aplicación biológica.

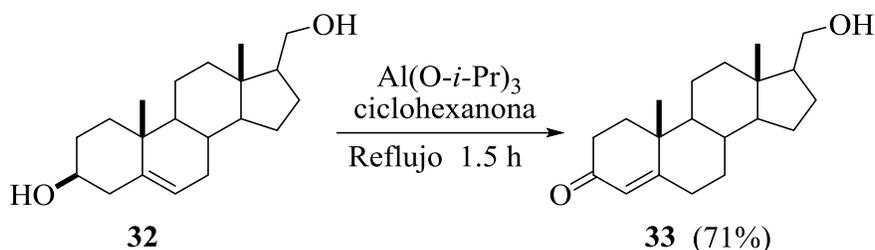
2.2 Oxidaciones del anillo A

Una de las primeras oxidaciones en el anillo A se llevó a cabo en 1940 por Russel E. Marker, quien logró la primera síntesis práctica de la hormona del embarazo, “progesterona”, la cual presenta un carbonilo α,β -insaturado en el anillo A. Esto a partir de la sapogenina espirostánica diosgenina **27**; esta síntesis se denomina degradación de Marker, y es conocida debido a su aplicación a nivel industrial.³¹



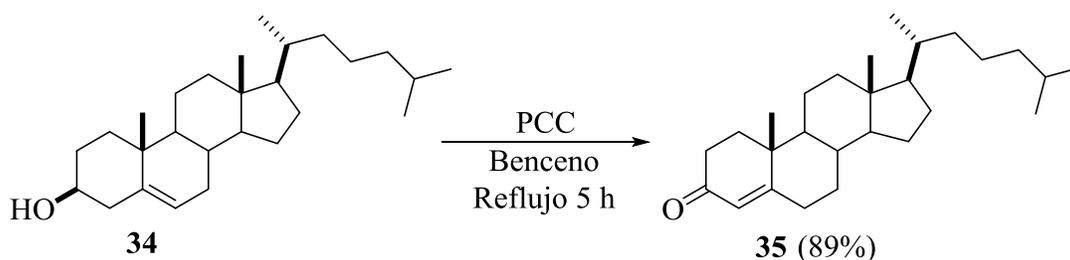
Esquema 1. Degradación de Marker.

La oxidación de Oppenauer es una de las más comunes en compuestos esteroidales,^{32-33a-f} ha sido descrita como un método para la oxidación selectiva del anillo A (Esquema 2). La reacción procede en presencia del catalizador de isopropóxido de aluminio y ciclohexanona,³⁴⁻³⁵ convirtiendo los Δ^5 -3-hidroxi esteroides **32** a Δ^4 -3-ona esteroides **33**³² en rendimientos que pueden variar del 37 % al 71 %.



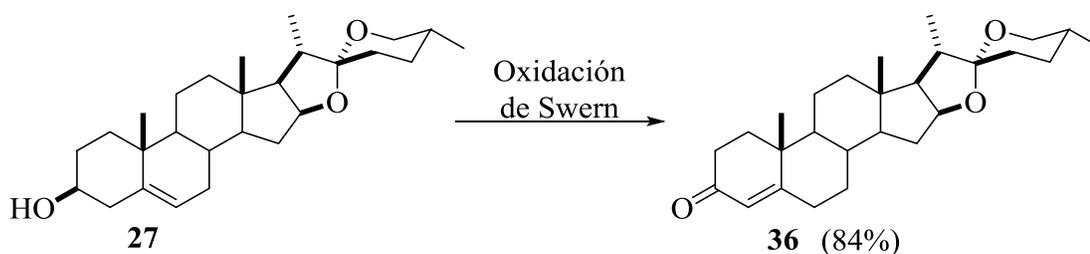
Esquema 2. Oxidación de Oppenauer.

Otra metodología para la oxidación del anillo A, es la descrita en 1990 por Parish y colaboradores, oxidando el colesterol **34** con clorocromato de piridinio (PCC) en benceno a reflujo por 5 h, obteniendo la colestenoa **35**, en rendimientos del 89 % (Esquema 3).³⁶



Esquema 3. Oxidación de colesterol con PCC.

La oxidación de Swern propuesta por Pabón en 2013, produce la diosgenona **36** a partir de diosgenina **27**. La reacción se lleva a cabo en dos etapas ya que previamente se prepara una mezcla de ácido oxálico en diclorometano con dimetilsulfóxido en agitación a -60°C durante 5 min. Posteriormente la diosgenina **27** en DCM se adiciona sobre la mezcla anterior, hasta alcanzar la temperatura de -10°C , enseguida se agrega la *N,N*-diisopropiletilamina y la reacción se mantiene en agitación hasta temperatura ambiente, para obtener la diosgenona **36** en 84 % (Esquema 4).³⁷

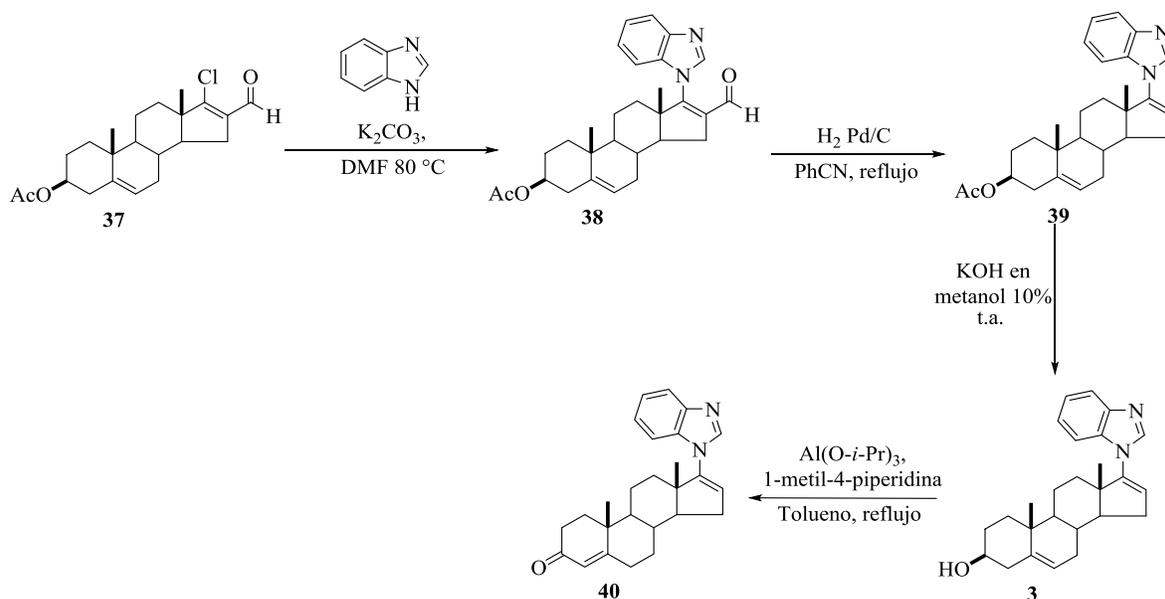


Esquema 4. Oxidación de Swern.

2.3 Reactividad de esteroides carbonílicos α,β -insaturados

Una de las reacciones de mayor interés en química orgánica son las adiciones nucleofílicas a carbonilos α,β -insaturados. La conjugación del doble enlace en estos sistemas confiere el carácter electrofílico del carbonilo al carbono β del doble enlace.³⁸

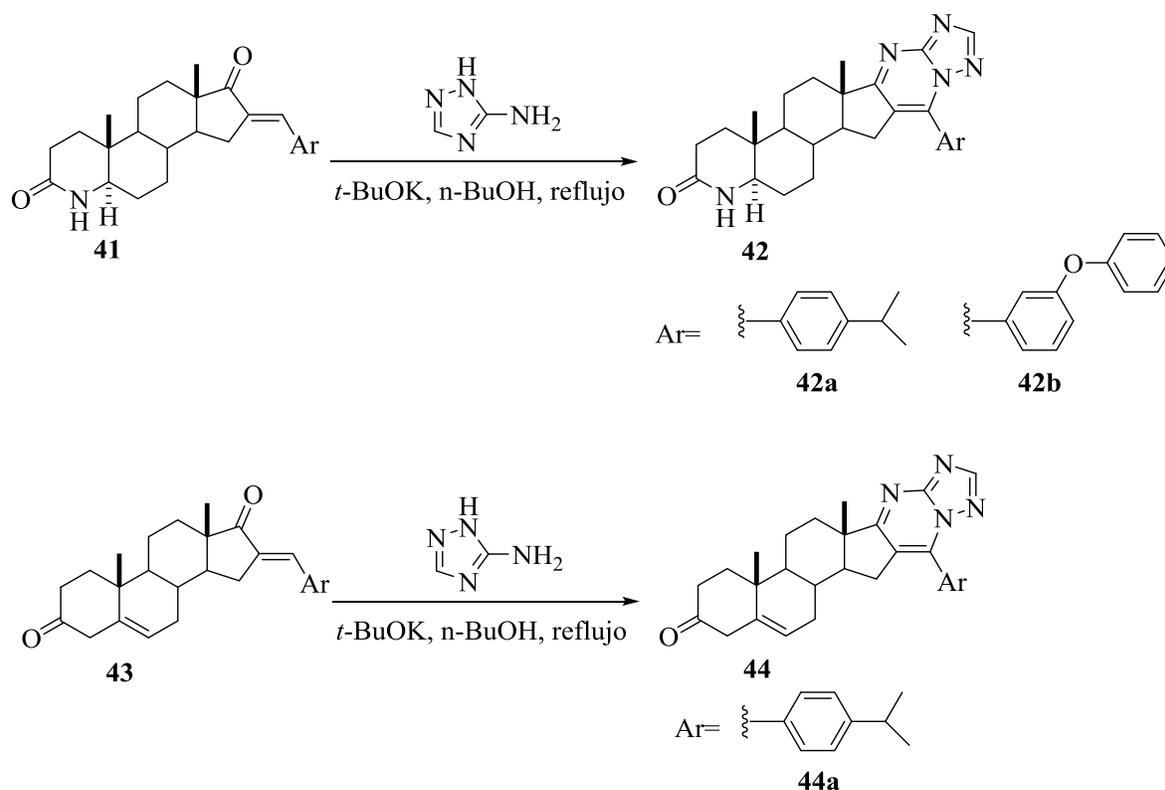
Handratta y colaboradores prepararon benzimidazoles esteroideos en C-17, a partir de 3 α -acetoxi-17-cloro-16-formilandrosta-5-16-dieno (**37**); el derivado **37** se trató con benzimidazol en presencia de K₂CO₃ produciendo el 3 α -acetoxi-17-1H-benzimidazol (**38**) en rendimiento casi cuantitativo. La posterior hidrólisis catalítica en benzonitrilo a reflujo produce **39**, que por hidrólisis básica forma la galeterona **3**, que mediante oxidación de Oppenauer produce **40**, los estudios de crecimiento celular mostraron que **3** y **40** inhiben el crecimiento de células de cáncer de próstata LNCaP y LAPC4.³⁹



Esquema 5. Síntesis de galeterona **3** y su análogo **40**.

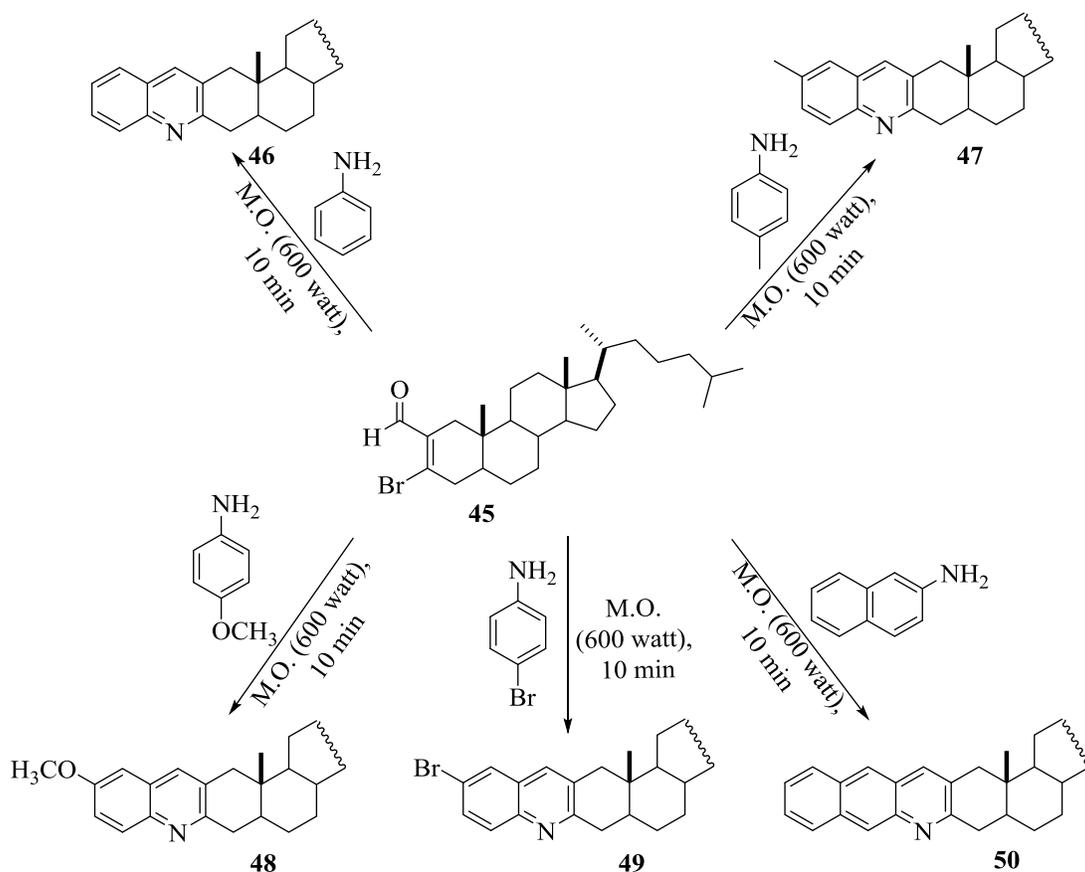
La obtención de los heteroesteroides **42a**, **42b** y **44** ha sido descrita vía la reacción de condensación de 3-amino-1,2,4-triazol con 16-aryliden-17-cetoesteroides **41** y **43**. Todos los compuestos sintetizados se evaluaron para su actividad anticancerígena *in vitro* contra líneas celulares PC-3 (línea celular de cáncer de próstata), MCF-7 (línea celular de cáncer de mama) y EC9706 (línea celular de cáncer de estómago). Entre los compuestos seleccionados, **42a**,

42b y **44** mostraron actividad inhibitoria significativa en las tres líneas celulares (Esquema 6).⁴⁰



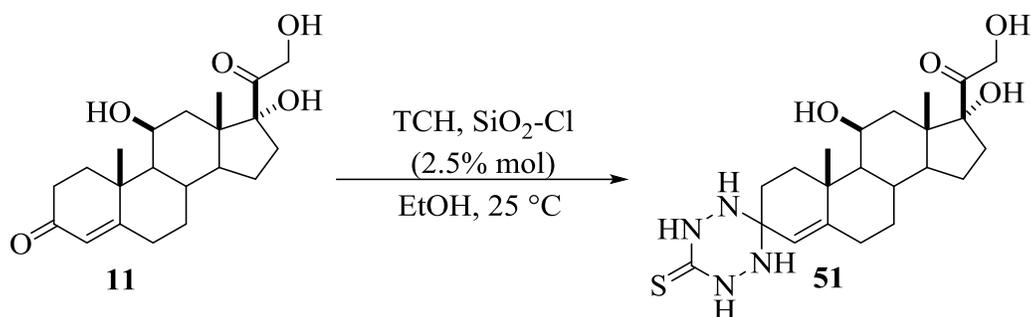
Esquema 6. Síntesis de heterociclos esteroidales.

En el 2012 Gogoi y su grupo de trabajo,⁴¹ prepararon quinolinas esteroidales fusionadas en el anillo A, a partir de β -bromo-vinil-aldehídos esteroideos y arilaminas en condiciones libres de disolvente y sin catalizador, vía irradiación de microondas en 10 min. Los compuestos obtenidos se probaron mediante ensayo de difusión en agar y método de macrodilución en caldo. Los compuestos **47-48** mostraron actividad *in vitro* prometedora cuando se probaron contra el patógeno fúngico *Aspergillus niger*, mientras que los derivados **46, 48** y **50** presentaron actividad cuando fueron ensayados con el patógeno fúngico *Candida albicans*. Los compuestos mostraron potente inhibición contra el crecimiento de las bacterias gramnegativas *Pseudomonas aeruginosa* y los compuestos **47, 48** y **50** inhibieron el crecimiento de las bacterias grampositivas *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus* (Esquema 7).



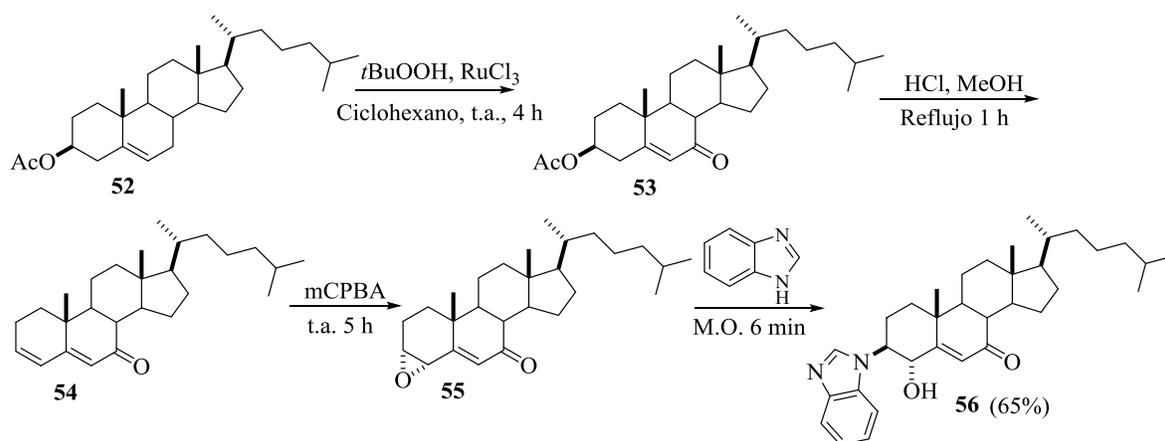
Esquema 7. Síntesis asistida por microondas de quinolinas esteroidales.

En los últimos años, el uso de reactivos y catalizadores soportados en sólido ha recibido gran atención, por ejemplo, Mehtab y col. en 2014, describieron que el tratamiento de cortisol **11** y tiocarbohidracida (TCH) en mezcla con cloruro de sílice (SiO₂-Cl) y etanol en agitación durante 1.5 h a t.a. produce **51** en 77 % de rendimiento; este compuesto se evaluó frente a cuatro líneas celulares de cáncer como carcinoma de pulmón humano (A-549), células de carcinoma hepático humano (HepG2), células de leucemia humana (HL-60), carcinoma de mama ductal (MDA-MB-361) y líneas celulares de fibroblastos de pulmón humano no canceroso (HFL-1). Encontrando que exhibe actividad antiproliferativa prometedora hacia este tipo de líneas celulares de cáncer.⁴²



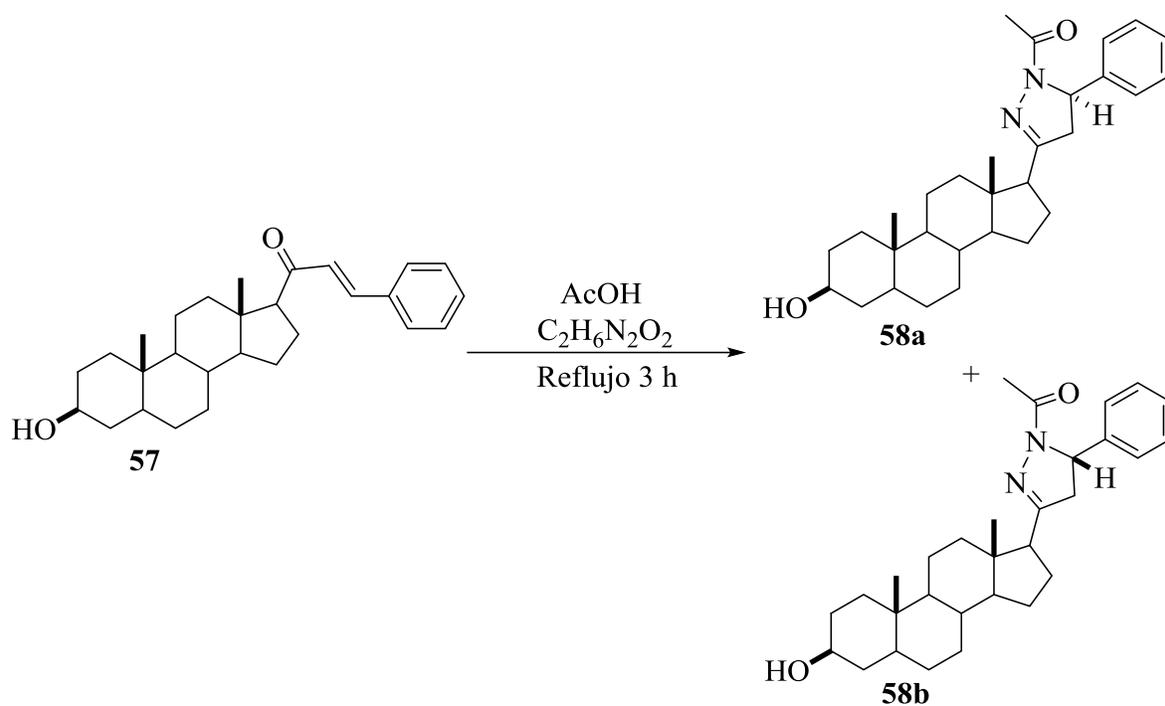
Esquema 8. Síntesis del compuesto **51**.

En el 2014 se describió la incorporación de heterociclos nitrogenados en el C-3 del núcleo esteroideal en rendimientos del 65 %, esto por apertura del epóxido en el anillo A, la reacción se describe como un método verde ya que procede sin disolvente-catalizador, y se lleva a cabo en 6 min con microondas; esto a partir de acetato de colesterol en cuatro pasos a través de la síntesis mostrada en el esquema 9.



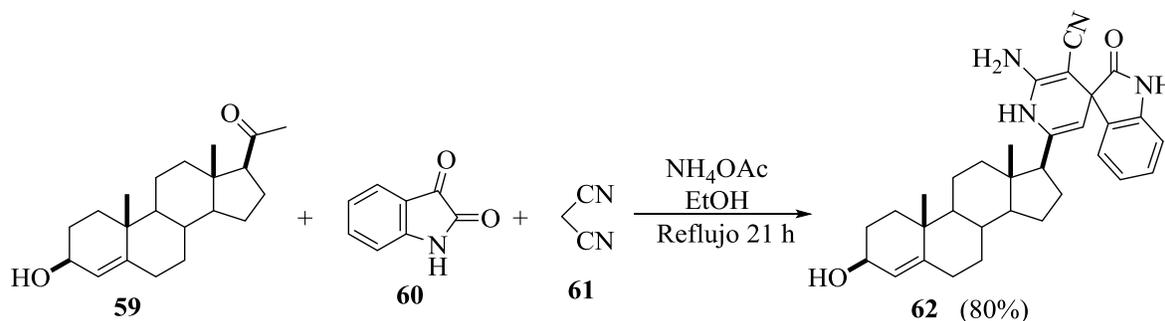
Esquema 9. Incorporación de heterociclos en el C-3 vía 3,4-epoxi-esteroides.

También en 2014 Romero-López reportó la obtención de las pirazolinas **58a** y **58b** a partir de la reacción de la (*E*)-21-benciliden-3 β -hidroxi-pregnan-20-ona (**57**) con acetato de hidracina en ácido acético a reflujo (Esquema 10).⁴⁴



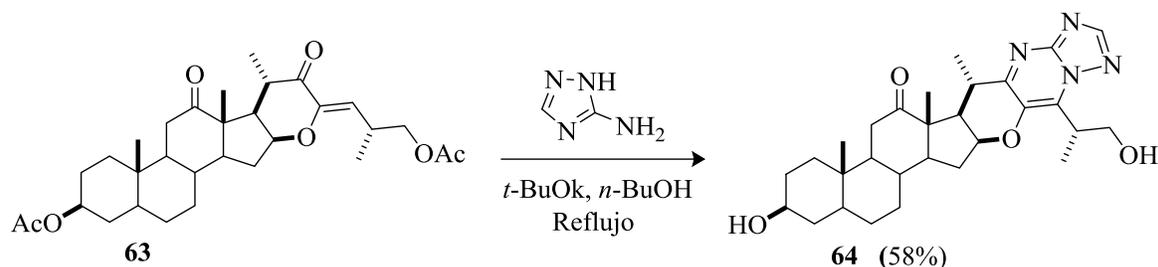
Esquema 10. Síntesis de pirazolinas esteroidales.

Zhang y su grupo de trabajo⁴⁵ reportaron el ensamblaje multicomponente de dihidropiridinil espirooxindoles esteroides a partir de pregnenolona **59**, isatina **60**, propanodinitrilo **61** y acetato de amonio; durante la reacción se generan dos enlaces C-C, dos enlaces C-N y un centro estereogénico en una solo paso. Los ensayos de MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio) mostraron que el compuesto **62** presenta actividad antiproliferativa frente a la línea celular de cáncer de esófago humano EC-109.



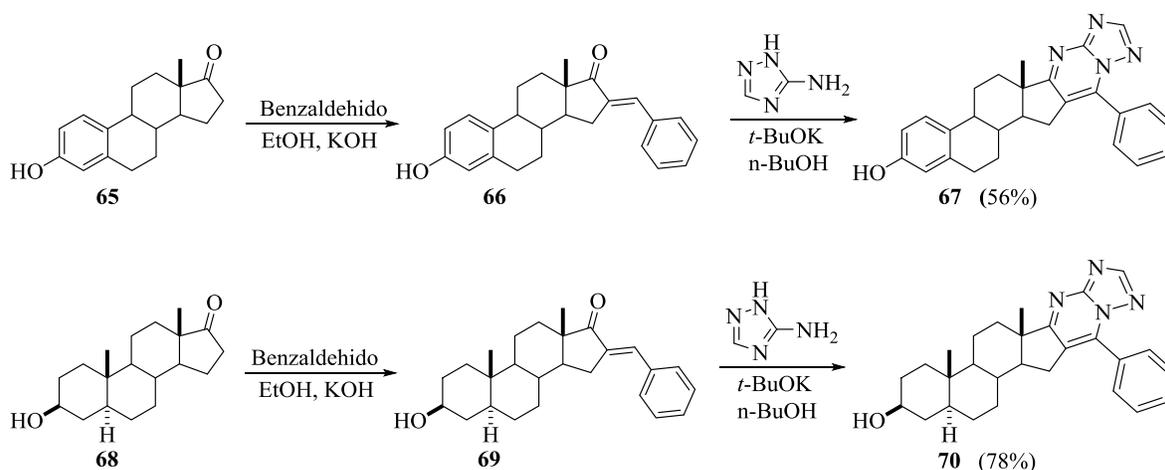
Esquema 11. Síntesis del derivado de dihidropiridinil espirooxindoles esteroides.

En el 2016 el grupo de Meza-Reyes⁴⁶ describió la síntesis del esteroide [1,2,4]triazol[1,5- α]pirimidina **64**, fusionado en el anillo E; la reacción procede utilizando como intermediario principal el derivado carbonílico α,β -insaturado **63** que obtienen mediante la metodología reportada en nuestro grupo de trabajo.⁴⁷ La reacción de anillación la describen por condensación de Claisen Schmidt y reordenamiento del fragmento espiro, seguido de una cicloadición con el 3-amino-1,2,4-triazol (Esquema 12).



Esquema 12. Derivado de hecogenina [1,2,4]-Triazol-[1,5- α]pirimidina.

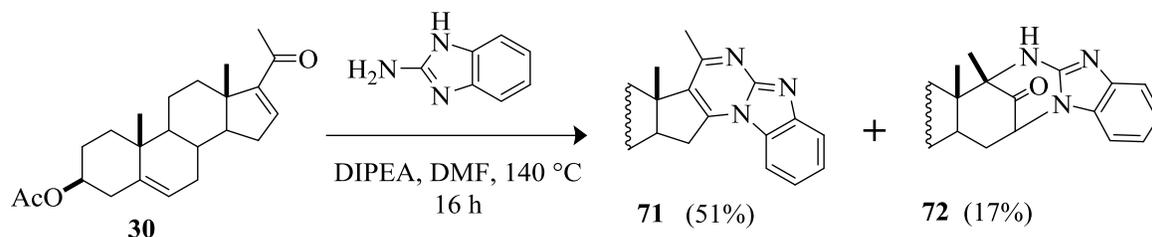
Adicionalmente obtuvieron los compuestos heterocíclicos esteroideos sustituidos en C-17; probando la actividad biológica de los compuestos **67** y **70** contra células cancerosas, obteniendo buena actividad antiproliferativa frente a las células T-47D de cáncer de mama y WiDr cáncer de colon (Esquema 13).⁴⁶



Esquema 13. Síntesis de [1,2,4]-triazolo-[1,5- α]pirimidinas.

En el 2017 Morzycki y colaboradores,⁴⁸ demostraron que la condensación de acetato 16-dehidropegnenolona **30** con 2-aminobenzimidazol, forma productos policíclicos

aromáticos regioisoméricamente, por reacción de cascada que comprende la adición, ciclación, auto-oxidación y aromatización, además del producto D-homo reorganizado en menor proporción.

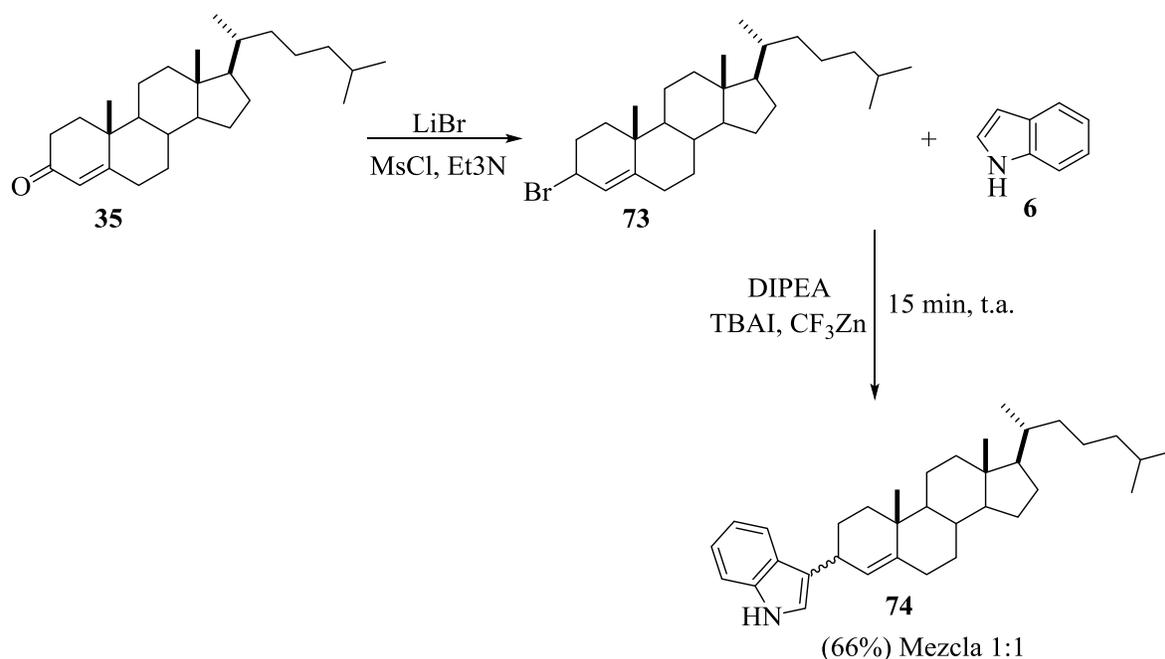


Esquema 14. Condensación de acetato de 16-deshidropregnenolona con 2-aminobenzimidazol.

2.4 Acoplamiento de indol a compuestos esteroidales

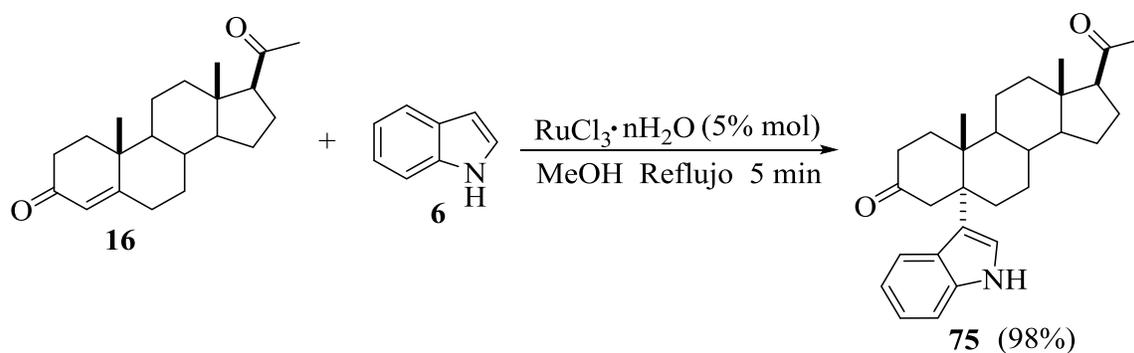
En la actualidad varios esteroides sintéticos han sido preparados por acoplamiento con otro fragmento de actividad biológica conocida. En este sentido diversas síntesis de esteroides unidas con moléculas heterocíclicas de importancia biológica han sido reportadas. A continuación se mencionan algunos ejemplos de esteroides acoplados con indol **6**.

La incorporación de indol **6** en el C-3 al núcleo del colesterol fue descrito en el 2002 a partir de colesteno **35** y una posterior alquilación con bromuro de litio para formar **73**, que reacciona con indol, triflato de zinc junto con la base *N,N*-diisopropiletilamina (DIPEA) y yoduro de tetrabutilamonio (TBAI). Este método de síntesis, procede vía una síntesis similar a S_N1, llegando a obtener una mezcla (1:1) de los diastereoisómeros.⁴⁹



Esquema 15. Acoplamiento de esteroides con indol en presencia de triflato de zinc.

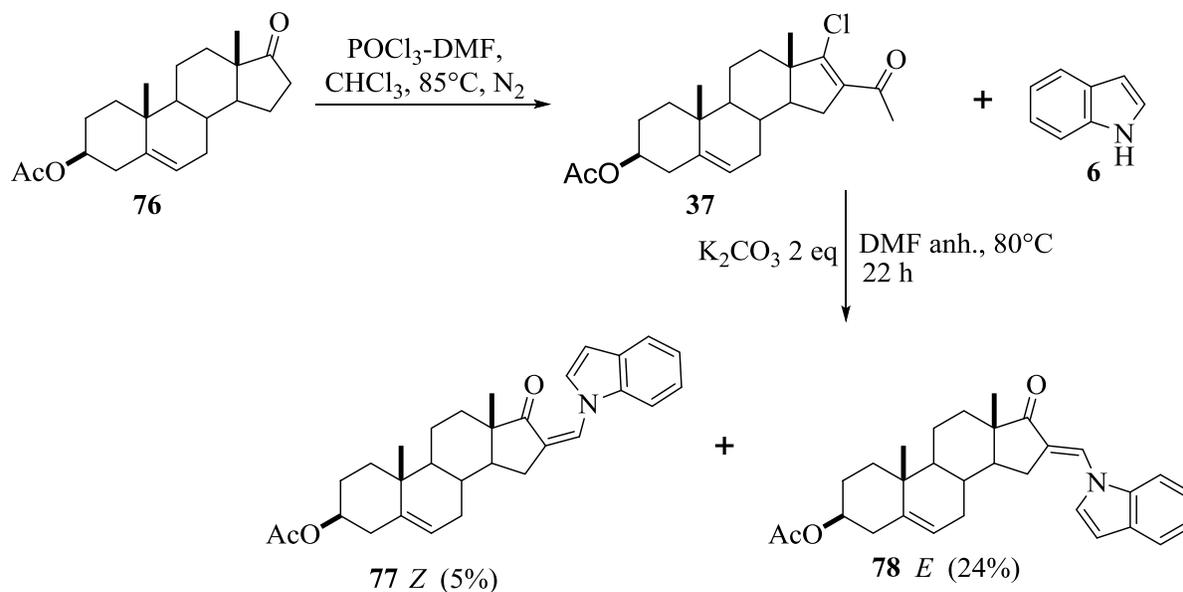
En 2010 Tabatabaeian y colaboradores,⁵⁰ reportaron la adición 1,4 del indol en la progesterona **16**, la reacción procede en presencia de rutenio, y representa una ruta eficiente para la obtención diastereoselectiva de compuestos esteroidales derivados de indol (Esquema 16).



Esquema 16. Adición de Michael en cetonas α,β -insaturadas.

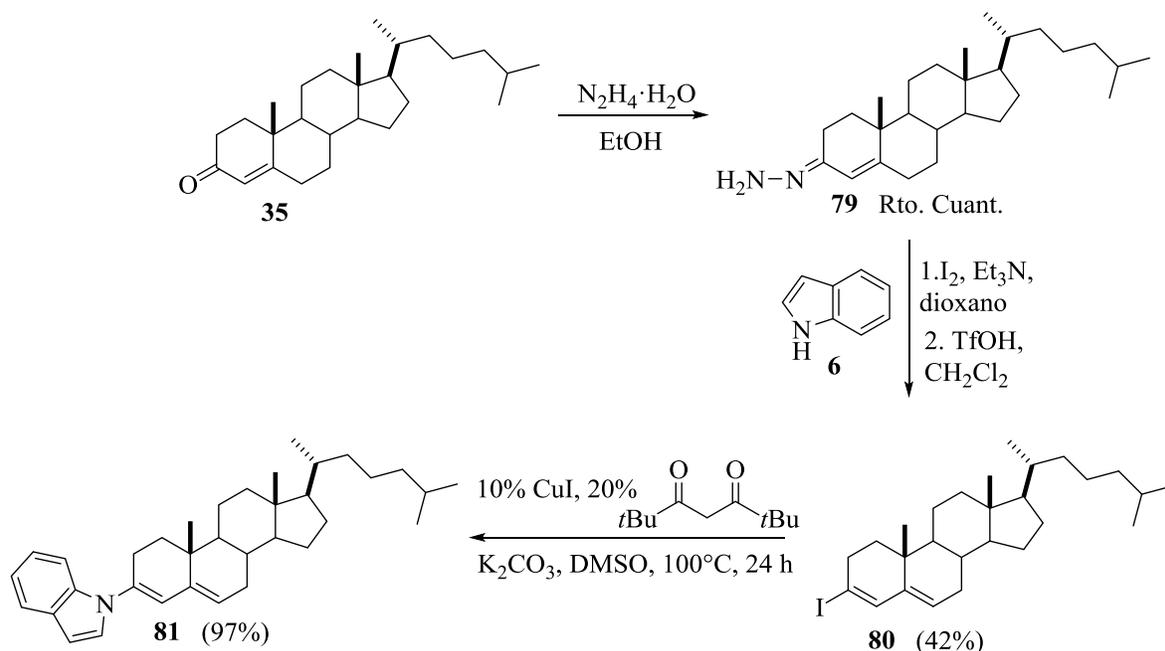
Moreira y colaboradores trabajaron con el compuesto **76** y mediante la reacción de Vilsmeier-Haack obtuvieron el acetato de 17-cloro-16-formilandrosta-5,16-dien-3 β -il (**37**),

que reacciona con indol **6** en DMF a 80 °C y K₂CO₃, para formar los 16-azolilmetileno-17-oxoandrostano **77-78** de configuración *Z* y *E* respectivamente (Esquema 17).⁵¹



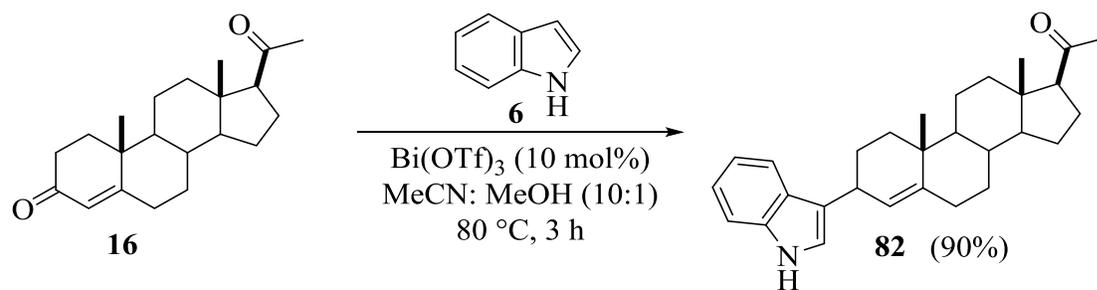
Esquema 17. Incorporación del indol en el anillo D del esteroide.

Kotovshchikov y su equipo de trabajo,⁵² demostraron el acoplamiento C-N de tipo Ullmann con el yoduro de vinilo esteroidal **80** e indol **6**, con aplicación en la síntesis de esteroides sustituidos en C-3; mediante la utilización de un sistema catalítico que comprende CuI y DPM (dipivaloilmetano), la reacción procede en buenos rendimientos obteniendo el derivado **81**.



Esquema 18. Obtención de 3-yodo-colesterol (80) con indol 6.

La adición de indol⁵³ a la hormona progesterona **16** también ha sido descrita utilizando triflato de bismuto como catalizador, la posterior deshidratación forma el compuesto esteroideo 3-heteroarilado **82**, en 90 % de rendimiento.



Esquema 19. Adición catalítica de indol a la progesterona.

3. JUSTIFICACIÓN

Algunos estudios en el área de química orgánica se encuentran dirigidos a la síntesis de compuestos esteroidales que puedan tener algún beneficio al ser humano, ya que diversos compuestos conteniendo heterociclos fusionados en el núcleo esteroideal han sido estudiados en las últimas décadas; lo anterior debido a las actividades⁵⁴ que poseen, como antitumorales, antiinflamatorios, anabólicas, antibacterianas, antiproliferativas, citotóxicas, entre otras.^{55a-c} De ahí el interés por desarrollar nuevas metodologías sintéticas de esteroides con heterociclos acoplados al núcleo ciclopentanoperhidrofenantreno, además de que en algunos casos su complejidad estructural los hace candidatos intermediarios clave para la obtención de esteroides con nuevas funcionalizaciones.¹⁸⁻¹⁹

En los esteroides el grupo 3-OH puede ser modificado a otros grupos funcionales interesantes, entre estos la cetona, que se obtiene por oxidación, otra función interesante es el doble enlace que presentan entre los carbonos 5 y 6, por lo que también puede ser modificado en conjunto con el 3-OH, permitiendo la obtención de cetonas α,β -insaturadas.

En nuestro grupo de trabajo hemos descrito la apertura regioselectiva del anillo F de 22-ceto-23-espirostanos de la serie 25R con $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$; ésta produce en buenos rendimientos compuestos colestánicos conteniendo una cetona α,β -insaturada en el anillo E, la metodología permite el acceso a estas materias primas en buenos rendimientos.⁴⁷ Con estos antecedentes y debido a que la química de las adiciones de compuestos heterocíclicos a cetonas α,β -insaturadas de tipo esteroideal ha sido poco explorada, en el presente proyecto se propone evaluar la reactividad del núcleo esteroideal de diferentes sustratos frente a la adición nucleofílica de indol.

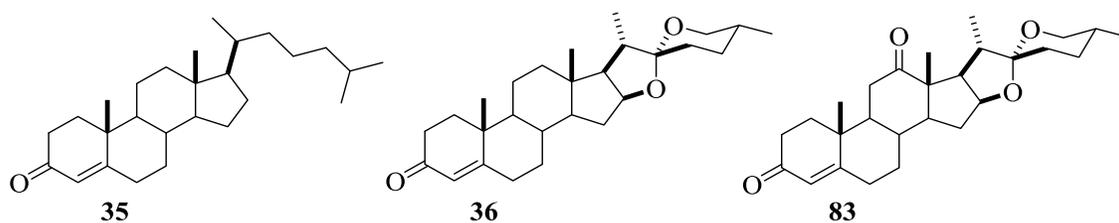
4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

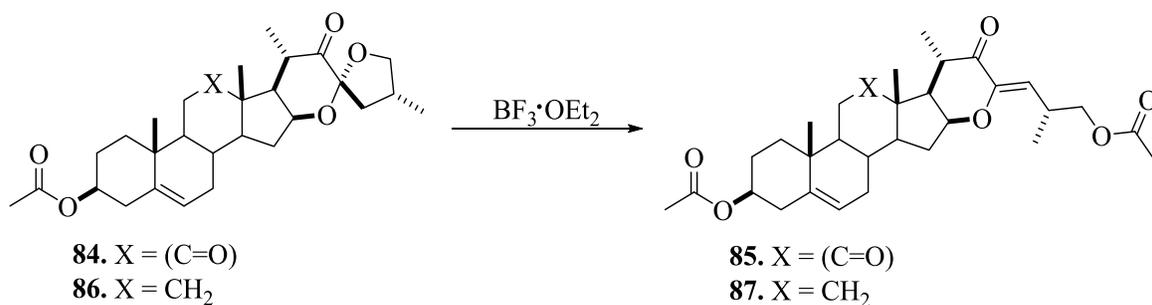
Evaluar la reactividad de los sustratos esteroidales **35-36**, **83**, **85** y **87** frente a la adición del indol.

4.2 Objetivos específicos

- Obtener las cetonas α,β -insaturadas **35**, **36** y **83**, a partir del colesterol, diosgenina y botogenina.



- Obtener las cetonas α,β -insaturadas **85** y **87** a partir de los 23-espirocetales **84** y **86** de botogenina y diosgenina.



- Explorar la reactividad de los sustratos esteroidales **35**, **36**, **83**, **85** y **87** frente a la adición nucleofílica de indol.
- Purificar y caracterizar mediante métodos espectroscópicos y físicos los nuevos compuestos.

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1 Instrumentación y equipo

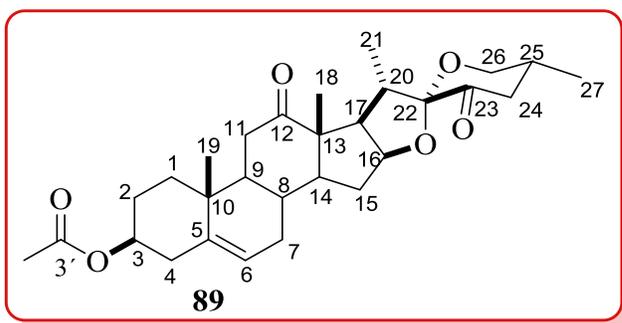
Los espectros de infrarrojo (IR) se determinaron en los espectrómetros Thermo Scientific Nicolet iS10 usando reflectancia total atenuada ($\bar{\nu}$, cm^{-1}). Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Scientific y no están corregidos. Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de (^1H , ^{13}C , DEPT, HSQC, COSY, NOESY y HMBC) se determinaron en los espectrofotómetros Varian Mercury Plus 400 MHz y Bruker 400 MHz. Los desplazamientos químicos (δ) se expresan en (ppm) y las constantes de acoplamiento (J) se describen en Hertz (Hz); se utilizó tetrametilsilano (TMS) como referencia interna para ^1H y ^{13}C . Todas las muestras fueron disueltas en CDCl_3 . Los espectros de masa alta resolución (HRMS) fueron adquiridos en un espectrómetro Agilent Technologies, modelo 1100 acoplado a un cromatógrafo de gases TOF con una fuente APCI. Los espectros de masa baja resolución fueron adquiridos en un espectrómetro Agilent Technologies LC/MS SQ electrospray (ESI) acoplado a HPLC-1200. Los reactivos se compraron de la casa comercial Sigma-Aldrich.

El seguimiento de las reacciones se llevó a cabo por medio de cromatografía en capa fina (CCF), utilizando cromatoplasmas (4 cm x 2 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 cromatoplasmas 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) y utilizando como eluyente mezclas de Hexano/Acetato de etilo.

5.2 Oxidación de acetato de botogenina **88** con $\text{NaNO}_2/\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$

A una solución de 100 mg (0.212 mmol) de (25*R*)-3β-acetoxi-5-en-espirostan-12-ona (**88**) en ácido acético glacial (1.7 mL) se le adicionaron 0.1 mL (0.87 mmol) de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ y 60 mg (0.87 mmol) de NaNO_2 en pequeñas porciones durante 30 minutos, transcurrido este tiempo, la agitación se mantuvo por 1 h adicional a temperatura ambiente, posteriormente a la mezcla de reacción se le adicionó hielo y se extrajo con CH_2Cl_2 . La fase orgánica se lavó con solución saturada de bicarbonato de sodio (NaHCO_3), se filtró sobre sulfato de sodio (Na_2SO_4) anhidro y se evaporó a sequedad. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna empacada con sílica gel (70-230 Mesh) obteniendo en una mezcla de Hexano/AcOEt (8:2) el compuesto (25*R*)-3β-acetoxi-5en-espirostan-12, 23-diona (**89**), (43 mg, 42 % de rendimiento).



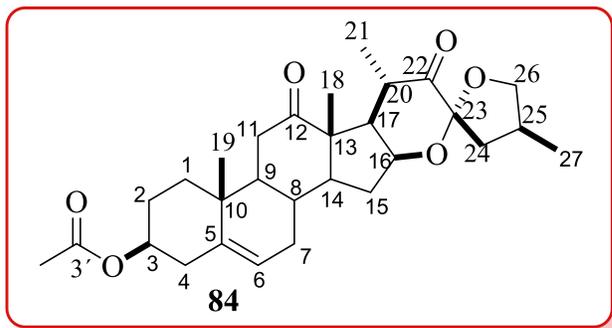
Compuesto en forma de sólido blanco y la RMN de ^1H coincide con la reportada:⁴⁷ **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3) δ : 5.41 (1H, m, H-6), 4.58 (2H, m, H-3, H-16), 3.77 (1H, dd, $J_{gem} = J_{26ax-25ax} = 11.2$ Hz, H-26ax), 3.61 (1H, ddd, $J_{gem} = 11.2$ Hz, $J_{26eq-25ax} = 4.5$ Hz,

$J_{26eq-24eq} = 1.3$ Hz, H-26eq), 2.79 (1H, m, H-20), 2.59 (2H, m, H-17, H-11ax), 2.04 (3H, s, 3'- OCOCH_3), 1.12 (3H, s, CH_3 -19), 1.09 (3H, s, CH_3 -18), 1.03 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, CH_3 -21), 0.94 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, CH_3 -27).

5.3 (23*R*,25*R*)-3β-acetoxi-16β,23:23,26-diepoxi-5-en-espiro-12, 22-diona (**84**)

A una solución de 400 mg (0.825 mmol) de (25*R*)-3β-acetoxi-5en-espirostan-12, 23-diona (**89**) en ácido fórmico (8.2 mL) se le adicionó lentamente 1.1 mL (9.32 mmol) de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, posteriormente la reacción se mantuvo en agitación magnética a temperatura ambiente durante 4.5 h. La reacción se extrajo con CH_2Cl_2 y se hicieron 3 lavados con solución saturada de NaHCO_3 , después se filtró sobre Na_2SO_4 anhidro y se evaporó a sequedad para obtener 409.4 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) (180.8 mg, 45 %) del compuesto (23*R*, 25*R*)-3β-acetoxi-16β,23:23,26-diepoxi-5en-colestan-12, 22-diona (**84**) con recuperación de la materia prima **89** (115.8 mg, 28 %).

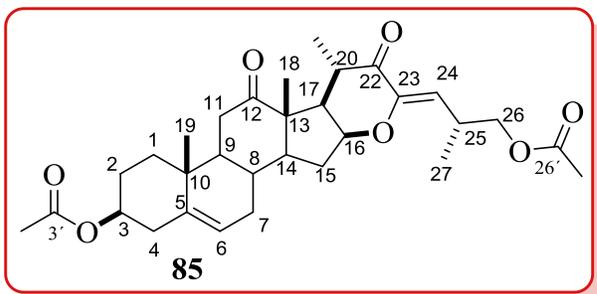


Compuesto en forma de sólido blanco y la RMN de ¹H coincide con la reportada:⁴⁷ **RMN de ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ: 5.43 (1H, m, H-6), 4.59 (1H, m, H-3), 4.41 (1H, m, H-16), 4.14 (1H, dd, $J_{gem} = J_{26a-25} = 7.6$ Hz, H-26a), 3.54 (1H, dd, $J_{gem} = J_{26b-25} = 8.5$ Hz, H-26b),

2.66 (2H, m, H-20, H-11ax), 2.42 (2H, m, H-25, H-4), 2.04 (3H, s, 3'-OCOCH₃), 1.29 (3H, s, CH₃-18), 1.15 (3H, s, CH₃-19), 1.14 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, CH₃-21), 1.06 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, CH₃-27).

5.4 (23*Z*,25*R*)-3β,26-diacetoxi-16β,23-epoxi-colestan-5,23-dien-12, 22-diona (**85**)

A una solución de 100 mg (0.20 mmol) del compuesto **84** previamente disuelto en 2.06 mL de CH₂Cl₂ destilado y atmósfera de nitrógeno se le adicionaron 0.2 mL de Ac₂O (2.12 mmol) en un baño de hielo, después se agregó lentamente 0.12 mL de BF₃·OEt₂ (1.02 mmol), y la reacción se mantuvo 30 minutos en baño de hielo, transcurrido este tiempo la reacción se dejó en agitación magnética a temperatura ambiente 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 sílica gel (70-230 Mesh) obteniendo en una mezcla Hexano/AcOEt (9:1) (66.80 mg, 61.4 %) del compuesto (23*Z*, 25*R*)-3β, 26-diacetoxi-16β, 23-epoxi-5-en-colestan-23-en-12, 22-diona (**85**).

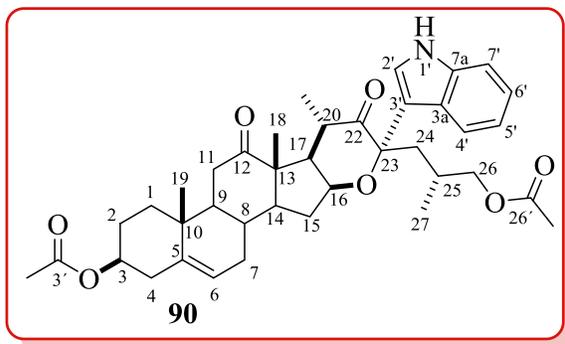


Compuesto en forma de cristales incoloros y la RMN de ^1H coincide con la reportada:⁴⁷ **RMN de ^1H** (400 MHz, CDCl_3) δ : 5.68 (1H, d, $J_{24-25} = 9.3$ Hz, H-24), 5.44 (1H, m, H-6), 4.60 (1H, m, H-3), 4.14 (1H, m, H-16), 3.99 (1H, dd, $J_{\text{gem}} = 10.6$ Hz $J_{26a-25} = 6.4$ Hz, H-26a), 3.94 (1H, dd, $J_{\text{gem}} = 10.6$ Hz $J_{26a-25} = 6.5$ Hz, H-26b), 2.97 (1H, m, H-25), 2.65 (1H, dd, $J_{\text{gem}} = J_{11ax-9ax} = 11.3$ Hz, H-11ax), 2.60 (1H, m, H-20), 2.05 (6H, s, 3',26'-OCOCH₃), 1.31 (3H, s, CH₃-18), 1.19 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, CH₃-21), 1.16 (3H, s, CH₃-19), 1.05 (3H, d, $J = 6.9$ CH₃-27).

5.5 (23*S*, 25*R*)-3 β , 26-diacetoxi-16 β , 23-epoxi-5-en-23-(1*H*-indol-3-il)-colestano-12, 22-diona (90)

Método A con $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: Se pesaron 92 mg (0.174 mmol) del compuesto **85**, 20.3 mg (0.174 mmol 1 eq) de indol previamente disuelto en 2 mL de CH_3CN destilado y en atmósfera de nitrógeno, enseguida se adicionaron 3.2 mg (5 % mol) de $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y 1.3 mg de NaI (20 % mol). Posteriormente la mezcla se llevó a reflujo en agitación magnética durante 12 h. La extracción se realizó usando AcOEt como fase orgánica y lavando tres veces con H_2O , posteriormente se filtró sobre NaSO_4 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) (41.4 mg, 37 %) del compuesto (23*S*, 25*R*)-3 β ,26-diacetoxi-16 β ,23-epoxi-5-en-23-(1*H*-indol-3-il)-colestano-12,22-diona (**90**).

Método B con tiourea 105: Una solución de 97.7 mg (0.184 mmol) del compuesto **85** con 43.1 mg (0.368 mmol 2 eq) de indol y 12.0 mg (18 % mol) de la tiourea **105**, disueltos en 0.3 mL de 1,2-dicloroetano se llevaron a reflujo en agitación magnética durante 48 h. Posteriormente el crudo de reacción se sometió directamente a columna empacada con sílica gel (70-230 Mesh) para obtener en una mezcla Hexano/AcOEt (9:1) (30.2 mg, 24.7 %) de compuesto (23*S*,25*R*)-3 β ,26-diacetoxi-16 β ,23-epoxi-5-en-23-(1*H*-indol-3-il)-colestano-12, 22-diona (**90**).



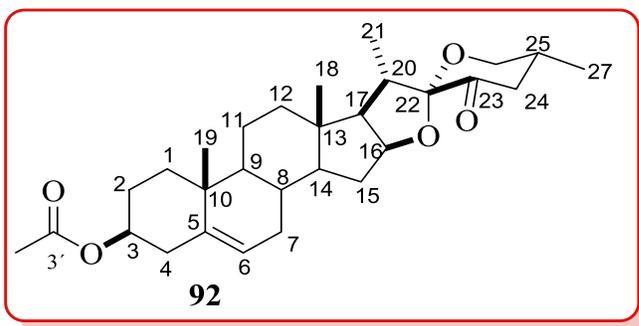
Compuesto $C_{39}H_{49}NO_7$, en forma de laca amarilla, R_f : 0.23 (7:3 Hexano/AcOEt); **RMN de 1H** (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.24 (1H, s, NH), 7.90 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-7'), 7.37 (1H, d, $J = 2.6$ Hz, H-2'), 7.35 (1H, s, H-4'), 7.19 (1H, ddd, $J = 7.4, 7.5, 0.9$ Hz, H-5'), 7.10 (1H, ddd, $J = 7.4, 7.5, 0.9$ Hz, H-6'),

5.38 (1H, m, H-6), 4.59 (1H, m, H-3), 3.92 (1H, m, H-16), 3.80 (1H, dd, $J_{gem} = 10.8$ Hz $J_{26a-25} = 6.4$ Hz, H-26a), 3.75 (1H, dd, $J_{gem} = 10.8$ Hz $J_{26b-25} = 6.0$ Hz, H-26b), 2.81 (1H, m, H-20), 2.64 (1H, dd, $J_{gem} = J_{11ax-9ax} = 13.3$ Hz, H-11ax), 2.19 (1H, m, H-24a), 2.03 (3H, s, 3'-OCOCH₃), 1.99 (1H, m, H-25), 1.89 (1H, m, H-24b) 1.86 (3H, s, 26'-OCOCH₃), 1.37 (3H, s, CH₃-18), 1.16 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, CH₃-21), 1.15 (3H, s, CH₃-19), 0.93 (3H, d, $J = 6.7$ CH₃-27); **RMN de ^{13}C** (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 216.5 (C-12), 212.7 (C-22), 171.1 (26'-OCOCH₃), 170.4 (3'-OCOCH₃), 139.3 (C-5), 136.4 (C-7a), 125.9 (C-3a), 123.7 (C-2'), 122.0 (C-6), 122.0 (C-5'), 120.7 (C-7'), 119.7 (C-6'), 112.9 (C-3'), 111.2 (C-4'), 85.5 (C-23), 73.3 (C-3), 71.8 (C-16), 69.1 (C-26), 56.6 (C-13), 53.3 (C-14), 52.6 (C-9), 46.7 (C-17), 43.9 (C-24), 40.5 (C-20), 37.8 (C-4), 37.6 (C-11), 37.3 (C-10), 36.4 (C-1), 32.5 (C-15), 31.5 (C-8), 30.8 (C-7), 28.8 (C-25), 27.4 (C-2), 21.3 (26'-OCOCH₃), 20.6 (3'-OCOCH₃), 19.0 (C-27), 18.8 (C-19), 13.9 (C-18), 12.6 (C-21); **EMHR**: $C_{39}H_{49}NO_7$ [M+H]⁺, calculado 644.3574, encontrado 644.3587; **IR $\nu_{max}cm^{-1}$ (ATR)**: 3389.25 (N-H), 2937.25 (C=O), 1707.28 (C=O).

5.6 Oxidación de acetato de diosgenina 91 con $NaNO_2/BF_3 \cdot OEt_2$

A una solución de 500 mg (1.094 mmol) de acetato de diosgenina **91** en ácido acético glacial (8.5. mL) se le adicionaron 0.5 mL (4.058 mmol) de $BF_3 \cdot OEt_2$ y 300 mg (4.37 mmol) de $NaNO_2$ en pequeñas porciones durante 45 minutos, transcurrido este tiempo, la agitación se mantuvo por 45 minutos adicionales a temperatura ambiente, posteriormente a la mezcla se adicionó hielo y se extrajo con CH_2Cl_2 . La fase orgánica se lavó con solución saturada de bicarbonato de sodio ($NaHCO_3$), se filtró sobre sulfato de sodio (Na_2SO_4) 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

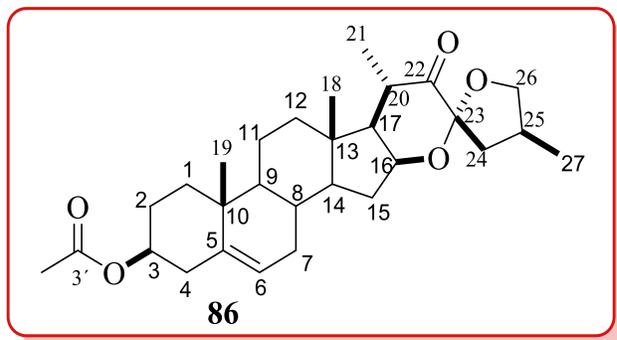
alúmina neutra (brockman III). La posterior purificación con una mezcla Hexano/AcOEt (95:5) dio (229.4 mg, 44.5 %) de (25*R*)-3β-acetoxi-5-en-espirostan-23-ona (**92**).



Compuesto en forma de sólido blanco y la RMN de ¹H coincide con la reportada.⁵⁶

5.7 (23*R*,25*R*)-3β-acetoxi-16β,23:23,26-diepoxi-5-en-espiro-22-ona (**86**)

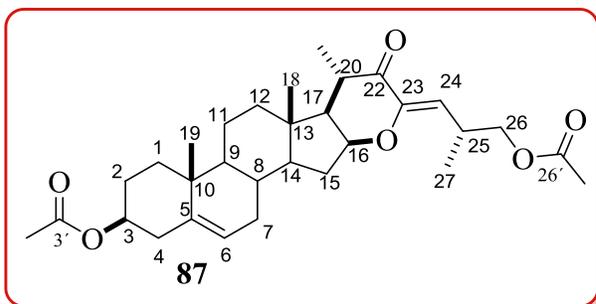
A una solución de 500 mg (1.063 mmol) de (25*R*)-3β-acetoxi-espirostan-5-en-23-ona (**92**) en ácido fórmico (10.63 mL) se le adicionó lentamente 1.48 mL (12.011 mmol) de BF₃·OEt₂, posteriormente la reacción se mantuvo en agitación magnética a temperatura ambiente durante 4.5 h. La reacción se extrajo con CH₂Cl₂ y se hicieron 3 lavados con solución saturada de NaHCO₃, después se filtró sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a sequedad para obtener 507.4 mg del crudo de reacción. El crudo se purificó en una columna empacada con silica gel (70-230 Mesh) obteniendo en una mezcla de Hexano/AcOEt 97.5:2.5 (187.2 mg, 37 %) del compuesto (23*R*,25*R*)-3β-acetoxi-16β,23:23,26-diepoxi-5-en-espiro22-ona (**86**) con recuperación de la materia prima **92** (166.3 mg, 33 %).



Compuesto en forma de sólido blanco y la RMN de ¹H coincide con la reportada.⁴⁷

5.8 (23Z, 25R)-3 β , 26-diacetoxi-16 β , 23-epoxi-5-en-colestan-23-en-22-ona (87)

A una solución de 200 mg (0.425 mmol) del compuesto **86** en 4.25 mL de CH₂Cl₂ destilado y atmósfera de nitrógeno se le adicionaron 0.41 mL de Ac₂O (4.38 mmol) en un baño de hielo, después se añadió lentamente 0.26 mL de BF₃·OEt₂ (2.122 mmol), y la reacción se mantuvo en agitación 30 min en baño de hielo; transcurrido este tiempo la solución se dejó en agitación durante 1 h a temperatura ambiente. Enseguida se realizó la extracción con CH₂Cl₂ y se hicieron tres lavados con una solución saturada NaHCO₃, posteriormente la fase orgánica 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 (9:1) (157.40 mg, 71%) del compuesto (23Z, 25R)-3 β , 26-diacetoxi-16 β , 23-epoxi-5-en-colestan-23-en-22-ona (**87**).



Compuesto en forma de laca amarilla y la RMN de ¹H coincide con la reportada:⁴⁷

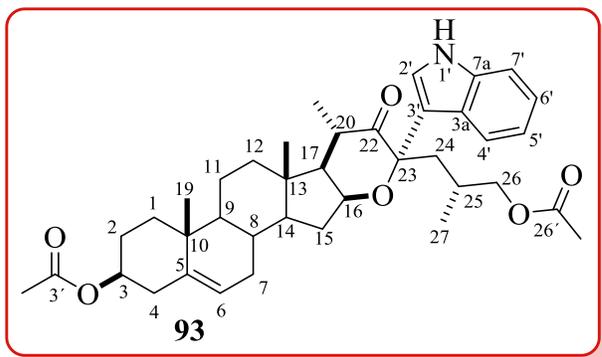
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 5.60 (1H, d, $J_{24-25} = 9.3$ Hz, H-24), 5.39 (1H, m, H-6), 4.61 (1H, m, H-3), 4.13 (1H, m, H-16), 3.99 (1H, dd, $J_{gem} = 10.6$ Hz $J_{26a-25} =$

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).

5.9 (23S, 25R)-3 β , 26-diacetoxi-16 β , 23-epoxi-5-en-23-(1H-indol-3-il)-colestan-22-ona (93)

A una solución de 80 mg (0.156 mmol) del compuesto **87** y 36.5 mg (0.312 mmol, 2 eq) de indol disueltos en 2 mL de CH₃CN destilado, en un matraz provisto de atmósfera de nitrógeno, se le adicionaron 2.9 mg (5 % mol) de CeCl₃·7H₂O y 1.1 mg de NaI (5 % mol). Enseguida la reacción se llevó a reflujo en agitación magnética durante 12 h. La extracción se realizó usando AcOEt como fase orgánica y haciendo tres lavados con H₂O,

posteriormente la fase orgánica se filtró sobre NaSO₄ anhidro y se evaporó a sequedad. 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) (8.9 mg, 9 %) del compuesto (23*S*, 25*R*)-3β,26-diacetoxi-16β,23-epoxi-5-en-23-(1*H*-indol-3-il)-colestan-22-ona (**93**) con recuperación de la materia prima **87** (44.2 mg, 35 %).



Compuesto C₃₉H₅₁NO₆ en forma de laca anaranjada, *R_f*: 0.41 (7:3 Hexano/AcOEt); **RMN de ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.16 (1H, s, NH), 7.94 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-7'), 7.42 (1H, s, H-2'), 7.36 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-4'), 7.19 (1H, m, H-5'), 7.11 (1H, m, H-6'), 5.35 (1H, m, H-6),

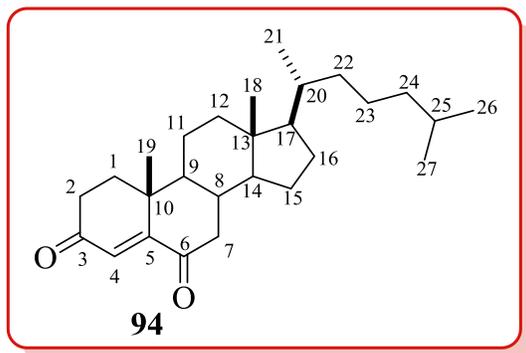
4.58 (1H, m, H-3), 3.96 (1H, m, H-16), 3.81 (1H, dd, *J*_{gem} = 10.6 Hz *J*_{26a-25} = 5.8 Hz, H-26a), 3.76 (1H, dd, *J*_{gem} = 10.7 Hz *J*_{26b-25} = 5.9 Hz, H-26b), 2.03 (3H, s, 3'-OCOCH₃), 1.85 (3H, s, 26'-OCOCH₃), 1.14 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, CH₃-21), 1.08 (3H, s, CH₃-19), 1.05 (3H, s, CH₃-18), 0.89 (3H, d, *J* = 6.7 CH₃-27).

5.10 Oxidación de colesterol **34** con PCC

Método A: En un matríz provisto de atmósfera de nitrógeno se agregaron 50 mg (0.129 mmol) de colesterol **34** y se disolvieron en 4.6 mL de CH₂Cl₂ destilado, enseguida se adicionaron 83.4 mg de PCC (3 eq). Posteriormente la mezcla se llevó a reflujo en agitación magnética por 24.5 h. El crudo de reacción se colocó directamente en una columna empacada con sílica gel (70-230 Mesh) y se eluyó primero con Hexano y después con una mezcla Hexano/AcOEt (9:1), se obtuvieron (43 mg, 86 %) del compuesto (20*R*)-22*E*-colest-4-en-3,6-diona (**94**).

Método B: Se pesó 71.7 mg (0.185 mmol) de colesterol **34** y se disolvió en 6.62 mL de benceno bajo atmósfera de nitrógeno, enseguida se adicionó 1g de PCC (25 eq). Después la mezcla de reacción se llevó a reflujo en agitación magnética por 5 h. Inmediatamente se decanta el benceno y se realiza la extracción con éter etílico, la fase orgánica se lavó tres

veces con una solución saturada de NaCl. La purificación del crudo de reacción en una columna empacada con silica gel (70-230 Mesh) eluyendo primero con Hexano y después con Hexano/AcOEt (9:1) produce (59.9 mg, 84.3 %) del compuesto (20*R*)-22*E*-colest-4-en-3, 6-diona (**94**).

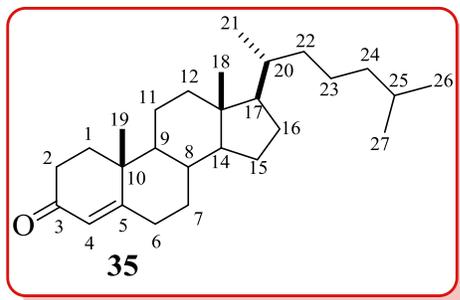


Compuesto $C_{27}H_{42}O_2$, en forma de sólido amarillo, R_f : 0.60 (7:3 Hexano/AcOEt), con punto de fusión 100-102 °C; **RMN 1H** (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.17 (1H, s, H-4), 2.68 (1H, dd, $J = 15.9, 4.0$ Hz, H-7a), 2.04 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-7b), 1.17 (3H, s, CH_3 -19), 0.93 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, CH_3 -21), 0.88 (3H, d, $J = 1.8$ Hz,

CH_3 -27), 0.86 (3H, d, $J = 1.8$ Hz, CH_3 -26), 0.72 (3H, s, CH_3 -18); **RMN ^{13}C** (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 202.3 (C-6), 199.5 (C-3), 161.0 (C-5), 125.4 (C-4), 55.9 (C-17), 56.5 (C-14), 50.9 (C-9), 46.8 (C-7), 42.5 (C-13), 39.8 (C-10), 39.4 (C-12), 39.0 (C-24), 36.0 (C-22), 35.6 (C-1), 35.4 (C-20), 34.2 (C-8), 33.9 (C-2), 27.9 (C-16), 27.9 (C-25), 23.9 (C-15), 23.7 (C-23), 22.8 (C-27), 22.5 (C-26), 20.8 (C-11), 18.6 (C-21), 17.4 (C-19), 11.8 (C-18).

5.11 Oxidación de colesterol **34** con $Al(O-i-Pr)_3$ / Ciclohexanona

A una solución de 100 mg (0.258 mmol) de colesterol **34** disueltos en 3.2 mL de ciclohexanona y atmósfera de nitrógeno se le agregaron 105.3 mg (2 eq) de isopropóxido de aluminio ($Al(O-i-Pr)_3$). Posteriormente la reacción se llevó a reflujo en agitación magnética durante 1 h. La extracción se realizó usando CH_2Cl_2 como fase orgánica y haciendo tres lavados con una solución saturada de $NaHCO_3$, posteriormente se filtró en columna empacada con silica gel (70-230 Mesh) eluyendo primero con Hexano, para obtener en una mezcla Hexano/AcOEt (9:1) (77.5 mg, 78.2 %) del compuesto (20*R*)-22*E*-colest-4-en-3-ona (**35**).

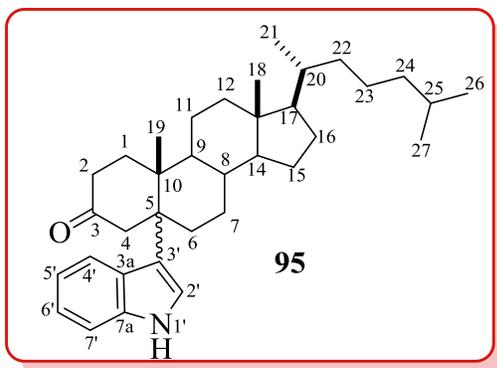


Compuesto $C_{27}H_{44}O$ en forma de sólido blanco, R_f : 0.63 (7:3 Hexano/AcOEt), con punto de fusión 76-78 °C, Lit. (78-79 °C)⁵⁷; **RMN 1H** (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.72 (1H, s, H-4), 1.17 (3H, s, CH_3 -19), 0.89 (3H, d, J = 6.5 Hz, CH_3 -21), 0.87 (3H, d, J = 1.6 Hz, CH_3 -27), 0.86 (3H, d, J = 1.6 Hz, CH_3 -26), 0.69 (3H, s, CH_3 -18);

RMN ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 199.7 (C-3), 171.8 (C-5), 123.5 (C-4), 55.9 (C-17), 55.7 (C-14), 53.7 (C-9), 42.2 (C-13), 39.5 (C-12), 39.3 (C-24), 38.5 (C-10), 36.0 (C-22), 35.6 (C-1), 35.5 (C-20), 35.4 (C-8), 33.8 (C-2), 32.8 (C-6), 31.9 (C-7), 28.0 (C-16), 27.9 (C-25), 24.0 (C-15), 23.7 (C-23), 22.7 (C-27), 22.4 (C-26), 20.9 (C-11), 18.5 (C-21), 17.2 (C-19), 11.8 (C-18).

5.12 (5 ξ , 20*R*)-22*E*-colest-5-(1*H*-indol-3-il)-3-ona (95)

A una solución de 100 mg (0.260 mmol) del compuesto **35** y 60.9 mg (0.520 mmol, 2 eq) de indol disuelto en 3.3 mL de CH_3CN destilado y en atmósfera de nitrógeno, se le adicionaron 19.3 mg (20 % mol) de $CeCl_3 \cdot 7H_2O$ y 7.7 mg de NaI (20 % mol). Enseguida la reacción se llevó a reflujo en agitación magnética durante 24 h. La extracción se realizó usando AcOEt como fase orgánica y lavando tres veces con H_2O , posteriormente se filtró sobre $NaSO_4$ 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 en forma ascendente de polaridad (97.5:2.5, 95:5, 9:1, 85:15) (11.4 mg, 8.75 %) del compuesto (5 ξ , 20*R*)-22*E*-colest-5-(1*H*-indol-3-il)-3-ona (**95**) con recuperación de la materia prima **35** (80.2 mg, 80 %).



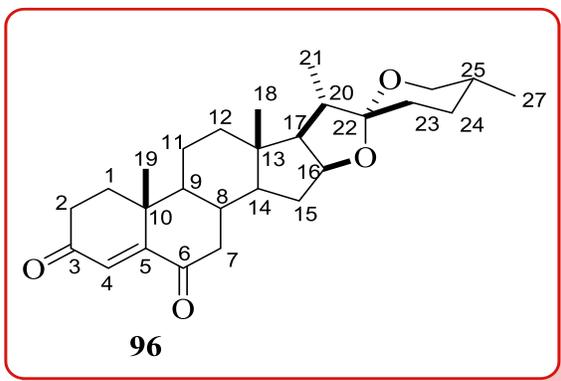
Compuesto $C_{35}H_{51}NO$ en forma de laca amarilla, R_f : 0.55 (7:3 Hexano/AcOEt; RMN^1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.17 (1H, s, NH), 7.84 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-7'), 7.39 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2'), 7.33 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-4'), 7.23 (1H, ddd, $J = 7.4, 7.4, 0.8$ Hz, H-5'), 7.16 (1H, ddd, $J = 7.4, 7.4, 0.9$ Hz, H-6'), 1.11 (3H, s, CH_3 -19), 0.94 (3H, d, $J =$

6.5 Hz, CH_3 -21), 0.88 (3H, d, $J = 1.6$ Hz, CH_3 -27), 0.86 (3H, d, $J = 1.6$ Hz, CH_3 -26), 0.73 (3H, s, CH_3 -18).

5.13 Oxidación de diosgenina 27 con PCC

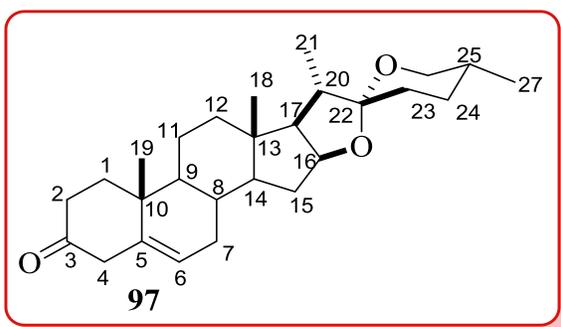
Método A: A una solución de 30 mg (0.072 mmol) de diosgenina **27** en 0.72 mL de benceno y atmósfera de nitrógeno, se le adicionó 388 mg de PCC (25 eq). Posteriormente la mezcla se llevó a reflujo en agitación magnética por 1 h. Inmediatamente se decanta el benceno y se realiza la extracción utilizando éter etílico como fase orgánica y haciendo tres lavados con una solución saturada de NaCl, obteniendo del compuesto (25*R*)-espirostan-4-en-3,6-diona (**96**) en rendimiento cuantitativo, 30.6 mg.

Método B: Una solución de 50 mg (0.120 mmol) de diosgenina **27** en 4.2 mL de CH_2Cl_2 destilado en atmósfera de nitrógeno, se adicionó 77.6 mg de PCC (3 eq). Posteriormente la mezcla se llevó a reflujo en agitación magnética por 1.5 h. El crudo de reacción se sometió directamente a columna empacada con silica gel (70-230 Mesh) eluyendo primero con Hexano y después con una mezcla Hexano/AcOEt (8:2) para obtener (27.8 mg, 56 %) de compuesto (25*R*)-espirostan-5-en-3-ona (**97**).



Compuesto **96** C₂₇H₃₈O₄ en forma de sólido blanco, *R_f*: 0.54 (7:3 Hexano/AcOEt), con punto de fusión 189-191 °C, Lit. (190-192)⁵⁸; **RMN** ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 6.19 (1H, s, H-4), 4.43 (1H, m, H-16 α), 3.47 (1H, m, H-26 ec), 3.37 (1H, t, *J* = 10.8 HZ, H-26 ax), 1.19 (3H, s, CH₃-19), 0.99 (3H, d, *J* = 6.5 HZ, CH₃-21), 0.84 (3H, s, CH₃-18), 0.80

(3H, d, *J* = 5.7 HZ, CH₃-27); **RMN** ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ: 201.7 (C-6), 199.2 (C-3), 160.5 (C-5), 125.5 (C-4), 109.2 (C-22), 80.2 (C-16), 66.8 (C-26), 61.8 (C-17), 56.1 (C-14), 50.7 (C-9), 46.7 (C-7), 41.6 (C-20), 40.4 (C-12), 39.6 (C-13), 39.0 (C-10), 35.4 (C-1), 33.8 (C-2), 33.6 (C-8), 31.4 (C-15), 31.2 (C-23), 30.1 (C-25), 28.6 (C-24), 20.6 (C-11), 17.5 (C-19), 17.0 (C-27), 16.2 (C-18), 14.4 (C-21).



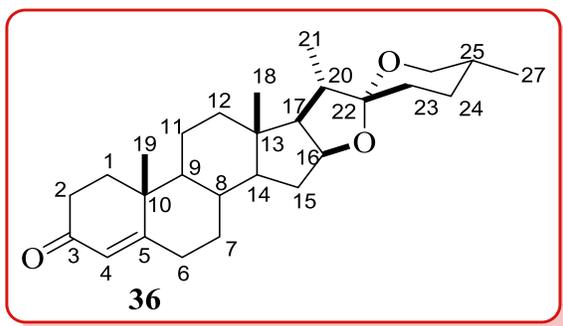
Compuesto **97** C₂₇H₄₀O₃ en forma de sólido blanco, con punto de fusión 194-195 °C, Lit. (194-196 °C)⁵⁸; **RMN** ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 5.34 (1H, m, H-6), 4.42 (1H, m, H-16 α), 3.47 (1H, m, H-26 ec), 3.37 (1H, t, *J* = 10.9 HZ, H-26 ax), 1.21 (3H, s, CH₃-19), 0.98 (3H, d, *J* = 6.9 HZ, CH₃-21), 0.84 (3H,

s, CH₃-18), 0.79 (3H, d, *J* = 6.3 HZ, CH₃-27); **RMN** ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ: 210.8 (C-3), 138.4 (C-5), 122.5 (C-6), 109.2 (C-22), 80.6 (C-16), 66.7 (C-26), 61.9 (C-17), 56.2 (C-14), 49.0 (C-9), 48.2 (C-4), 41.5 (C-20), 40.2 (C-12), 39.5 (C-13), 37.5 (C-7), 36.9 (C-2), 36.8 (C-1), 31.8 (C-8), 31.7 (C-15), 31.3 (C-23), 30.2 (C-25), 28.7 (C-24), 21.0 (C-11), 19.1 (C-19), 17.0 (C-27), 16.2 (C-18), 14.4 (C-21).

5.14 Oxidación de diosgenina **27** con Al(*O-i-Pr*)₃/ Ciclohexanona

A una solución de 100 mg (0.241 mmol) de diosgenina **27** disuelto en 3.0 mL de ciclohexanona, se le adicionó 98.5 mg (2 eq) de isopropóxido de aluminio (Al(*O-i-Pr*)₃).

Después la mezcla se llevó a reflujo en agitación magnética durante 30 min. La extracción se realizó usando CH_2Cl_2 como fase orgánica y haciendo tres lavados con una solución saturada de NaHCO_3 , posteriormente se filtró en columna empacada con sílica gel (70-230 Mesh) eluyendo primero con Hexano y después en una mezcla Hexano/ AcOEt (9:1), se obtuvieron (83.1 mg, 83.6 %) de compuesto (25*R*)-espirostan-4-en-3-ona (**36**).



Compuesto $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{O}_3$, en forma de sólido blanco, con punto de fusión 190-192 °C, Lit. (188-190 °C)³⁷, R_f : 0.62 (7:3 Hexano/ AcOEt); **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3) δ : 5.73 (1H, s, H-4), 4.41 (1H, m, H-16 α), 3.48 (1H, m, H-26 ec), 3.37 (1H, t, $J = 10.9$ Hz, H-26 ax), 1.20 (3H, s, CH_3 -19),

0.97 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, CH_3 -21), 0.82 (3H, s, CH_3 -18), 0.79 (3H, d, $J = 6.3$ Hz, CH_3 -27); **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3) δ : 199.4 (C-4), 171.1 (C-5), 123.8 (C-4), 109.2 (C-22), 80.5 (C-16), 66.8 (C-26), 61.9 (C-17), 55.5 (C-14), 53.6 (C-9), 41.5 (C-20), 40.3 (C-12), 39.5 (C-13), 38.5 (C-10), 35.6 (C-8), 35.1 (C-1), 33.9 (C-2), 32.7 (C-6), 32.0 (C-7), 31.6 (C-15), 31.2 (C-23), 30.2 (C-25), 28.7 (C-24), 20.7 (C-11), 17.3 (C-19), 17.0 (C-27), 16.3 (C-18), 14.4 (C-21).

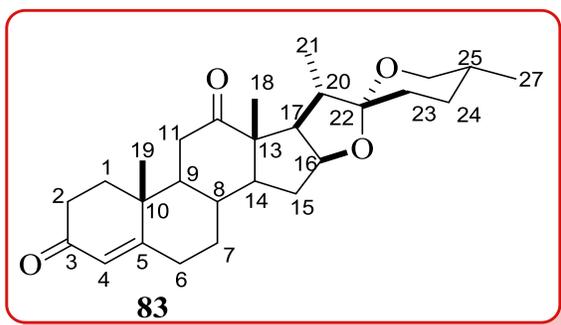
5.15 (5 ξ , 25*R*)-espirostan-5-(1*H*-indol-3-il)-3-ona (**98**)

A una solución de 150 mg (0.363 mmol) del compuesto **36** y 85.1 mg (0.727 mmol 2 eq) de indol en 4.1 mL de EtOH se le adicionaron 27.0 mg (20 % mol) de $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y 10.7 mg de NaI (20 % mol). La reacción se colocó a reflujo en agitación magnética durante 24 h. Posteriormente se evaporó el etanol y se realizó la extracción usando CH_2Cl_2 como fase orgánica y haciendo tres lavados con H_2O , enseguida se filtró sobre NaSO_4 anhidro y se evaporó a sequedad. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna empacada con sílica gel (70-230 Mesh) obteniendo en una mezcla Hexano/ AcOEt en forma ascendente de polaridad (97.5:2.5, 95:5, 9:1) el compuesto (5 ξ , 20*R*)-espirostan-5-(1*H*-indol-3-il)-3-ona (**98**) (21.1 mg, 10.9 %) con recuperación de la materia prima **36** (120.5 mg, 80.1%).

(C-12), 140.5 (C-5), 121.1 (C-6), 109.2 (C-22), 79.8 (C-16), 71.3 (C-3), 66.8 (C-26), 55.9 (C-14), 54.7 (C-13), 53.2 (C-17), 52.0 (C-9), 42.1 (C-4), 41.9 (C-20), 37.3 (C-11), 37.2 (C-10), 36.6 (C-1), 31.5 (C-2), 31.3 (C-15), 31.2 (C-7), 31.2 (C-23), 30.7 (C-8), 30.1 (C-25), 28.7 (C-24), 18.9 (C-19), 17.1 (C-27), 15.8 (C-18), 13.2 (C-21).

5.17 Oxidación de botogenina **99** con Al(*O-i-Pr*)₃/ Ciclohexanona

A una solución de 100 mg (0.233 mmol) de botogenina **99** disuelto en 2.9 mL de ciclohexanona se le adicionó 95.1 mg (2 eq) de isopropóxido de aluminio (Al(*O-i-Pr*)₃). Posteriormente la mezcla se llevó a reflujo en agitación magnética durante 2 h. La extracción se realizó con CH₂Cl₂ como fase orgánica y haciendo tres lavados con una solución saturada de NaHCO₃, posteriormente se filtró en columna empacada con silica gel (70-230 Mesh) eluyendo primero con Hexano y enseguida con una mezcla Hexano/AcOEt (9:1), obteniendo el compuesto (25*R*)-espirostan-4-en-3, 12-diona (**83**) (65.9 mg, 66 %).

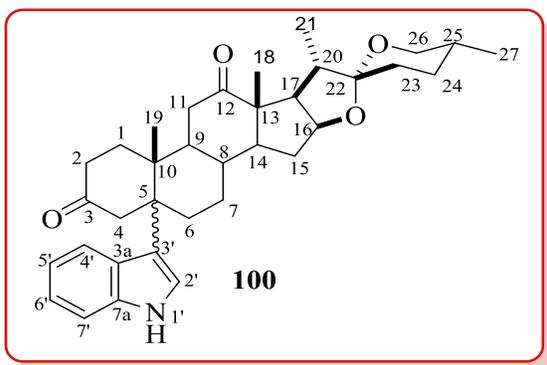


Compuesto C₂₇H₃₈O₄ en forma de sólido blanco, con punto de fusión 255-257 °C, *R*_f: 0.21 (7:3 Hexano/AcOEt); **RMN** ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 5.78 (1H, s, H-4), 4.36 (1H, m, H-16 α), 3.50 (1H, m, H-26 ax), 3.35 (1H, t, *J* = 10.9 Hz, H-26 ec), 1.28 (3H, s, CH₃-19), 1.11(3H, s, CH₃-18), 1.07 (3H, d, *J* = 7.0

Hz, CH₃-21), 0.80 (3H, d, *J* = 6.3 Hz, CH₃-27); **RMN** ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ: 211.9 (C-12), 198.7 (C-3), 168.4 (C-5), 124.6 (C-4), 109.2 (C-22), 78.9 (C-16), 66.8 (C-26), 54.7 (C-14), 54.7 (C-13), 54.3 (C-17), 54.2 (C-9), 42.1 (C-20), 38.6 (C-10), 37.0 (C-11), 35.2 (C-1), 34.3 (C-2), 33.6 (C-6), 32.3 (C-7), 30.1 (C-25), 28.6 (C-24), 17.0 (C-27), 16.7 (C-19), 15.8 (C-18), 13.1 (C-21). **LC-ESI-M/S** (%): 427.3 (M⁻ +H, 100), 485.4 (10), 468.4 (15), 428.3 (29).

5.18 (5ξ, 25R)-espirostan-5-(1H-indol-3-il)-3, 12-diona (100)

A una solución de 80 mg (0.187 mmol) del compuesto **83**, 43.9 mg (0.375 mmol 2 eq) de indol en 2.1 mL de EtOH se le adicionaron 13.9 mg (20 % mol) de $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y 5.6 mg de NaI (20 % mol). Después se colocó a refluxo en agitación magnética durante 24 h. Enseguida se evaporó el etanol y se realizó la extracción usando CH_2Cl_2 como fase orgánica y haciendo tres lavados con H_2O , posteriormente se filtró sobre NaSO_4 anhidro y se evaporó a sequedad. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna empacada con sílica gel (70-230 Mesh) obteniendo en una mezcla Hexano/AcOEt en forma ascendente de polaridad (97.5:2.5, 95:5, 9:1, 85:15) el compuesto (5ξ, 20R)-espirostan-5-(1H-indol-3-il)-3, 12-diona (**100**) (7.5 mg, 7.3 %) con recuperación de la materia prima **83** (64.8 mg, 81%).



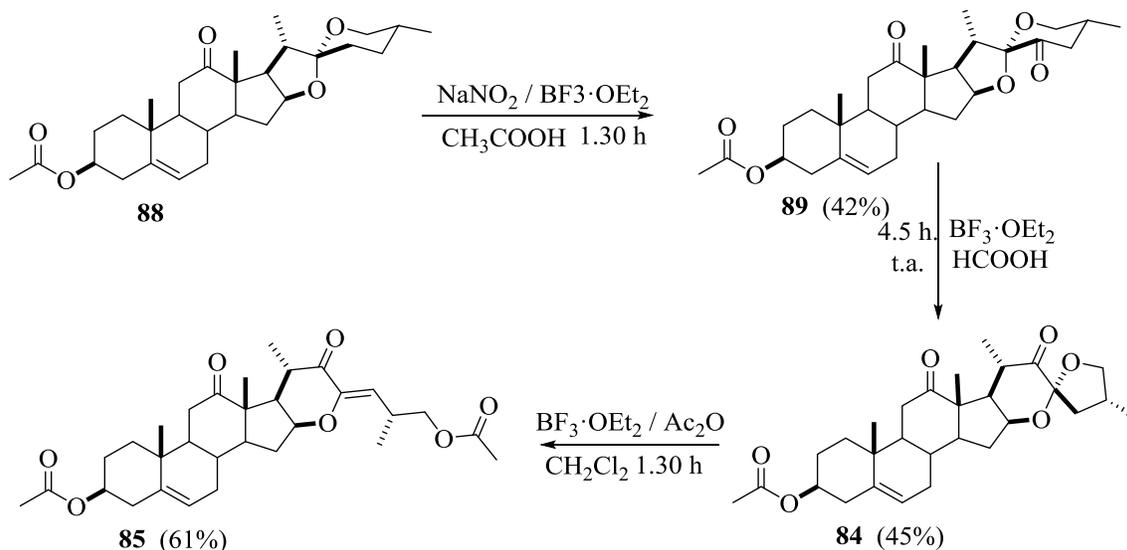
Compuesto $\text{C}_{35}\text{H}_{45}\text{O}_4$ en forma de laca, R_f : 0.40 (7:3 Hexano/AcOEt); **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.03 (1H, s, NH), 7.45 (1H, d, $J=8.1$ Hz, H-7'), 4.36 (1H, m, H-16 α), 3.50 (1H, m, H-26 ec), 3.35 (1H, t, $J=10.3$ HZ, H-26 ax), 1.27 (3H, s, CH_3 -19), 1.11 (3H, s, CH_3 -18), 1.07 (3H, d, $J=7.0$ Hz, CH_3 -21), 0.80

(3H, d, $J=6.3$ Hz, CH_3 -27).

6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1 Reactividad de los compuestos **85** y **87** frente a la adición de indol

La síntesis del derivado colestánico **85** a partir de acetato de botogenina **88** se realizó de acuerdo a la metodología previamente desarrollada por Corona-Díaz.⁴⁷ Para ello el compuesto **88** se trató con NaNO_2 y $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ en ácido acético, obteniendo la 23-cetobotogenina **89** en 42 % de rendimiento. Posteriormente se realizó la reacción de isomerización en presencia de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ y ácido fórmico durante 4.5 h, obteniendo el compuesto **84** en rendimientos del 45 %. Enseguida la apertura con $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ del 22-ceto-23-espirocetal (**84**) formó la cetona α,β -insaturada **85** en 61 % de rendimiento. (Esquema 20)



Esquema 20. Obtención del derivado colestánico **85**.

La asignación estructural del compuesto **85**, se realizó por comparación con el espectro de RMN de ^1H (Figura 8) obtenido, con el descrito anteriormente.⁴⁷ Observando una señal doble a campo bajo característica de hidrógenos vinílicos en 5.68 ppm con ($J_{24-25} = 9.3$ Hz) y una múltiple en 5.44 ppm asignada a H-24 y H-6 respectivamente. La aparición de estas señales así como las de los metilos, CH_3 -21, CH_3 -27 (dobles, 1.19 ppm y 1.05 ppm respectivamente) y las de los CH_3 -18 y CH_3 -19 (simples, 1.26 y 1.18 ppm) confirmaron la obtención del producto enona.

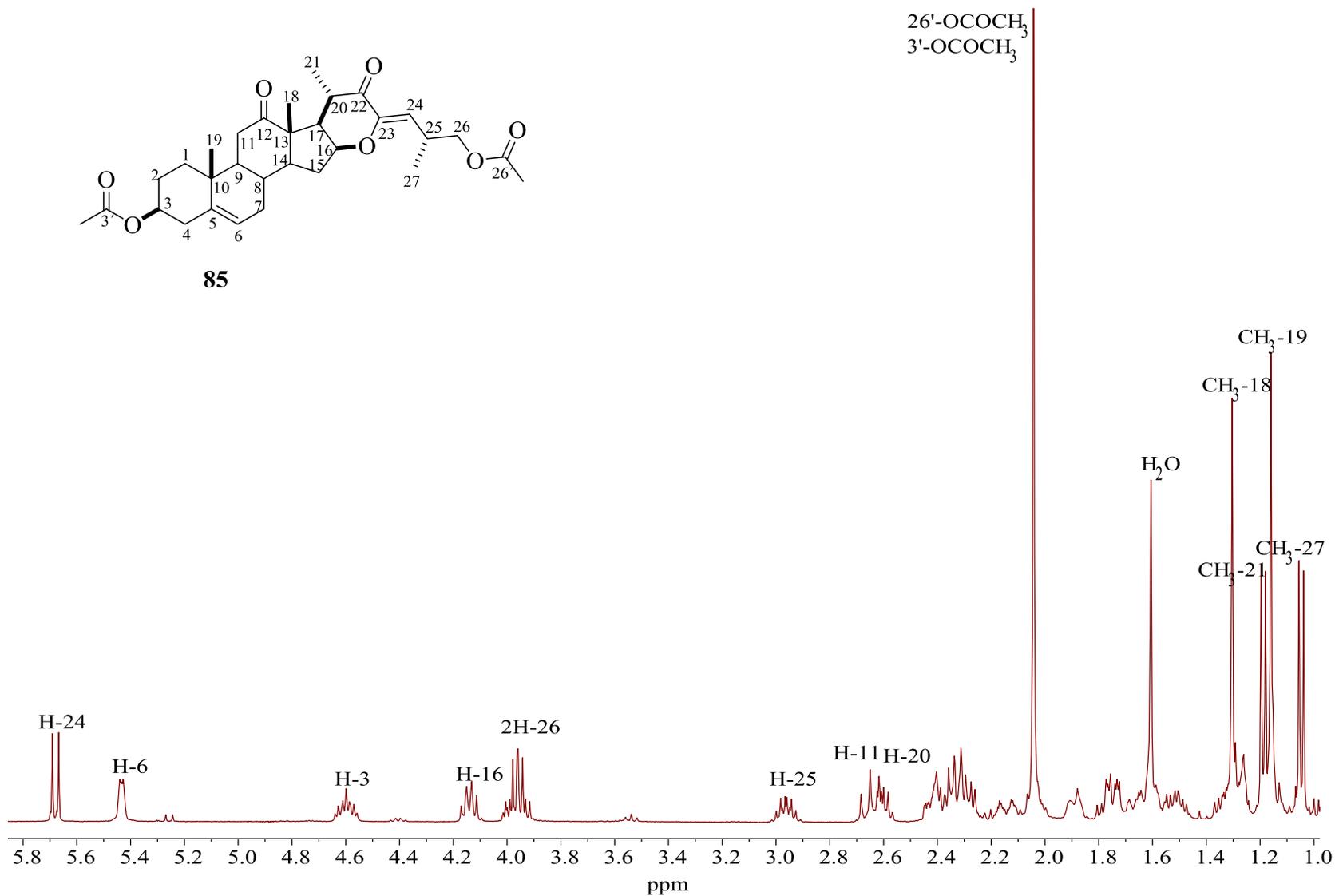
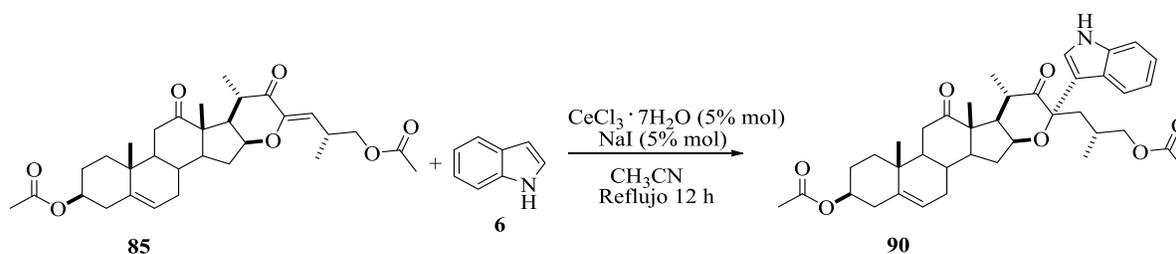


Figura 8. Espectro de RMN ^1H (400 MHz) de **85** en CDCl_3 .

Posteriormente se procedió a explorar la reactividad de **85** frente a la adición del indol, para esto se llevaron a cabo distintos ensayos a temperatura ambiente con los siguientes catalizadores; CTS-Cu/Metanol, CTS-Zn/CH₃CN, CeCl₃·7H₂O/NaI/SiO₂ sin disolvente, CuSO₄/CH₃CN, CeCl₃·7H₂O/NaI/CH₃CN, observando por TLC, que con el uso de CeCl₃·7H₂O/NaI en CH₃CN a reflujo durante 12 h desaparece el indol y se observa la formación de un nuevo producto; la purificación del crudo de reacción por cromatografía en columna permitió aislar el nuevo compuesto **90** en forma de miel color amarilla en 37 % de rendimiento.



Esquema 21. Obtención del nuevo compuesto **90**.

La propuesta estructural para el nuevo compuesto **90** se realizó con ayuda de la espectroscopia de RMN de 1D (¹H, ¹³C, DEPT) y 2D (COSY, HSQC, NOESY y HMBC).

El espectro de RMN de ¹H (Figura 9) del compuesto **90** muestra las señales del indol a mayor frecuencia; la señal simple del grupo NH se asignó en 8.29 ppm; en la región de 7.0 a 7.9 ppm se encuentran las señales de los hidrógenos aromáticos del anillo heterocíclico. Algunas señales características del núcleo esteroidal se describen a continuación; en 5.38 ppm se asignó la señal del hidrógeno H-6 vinílico, en 4.56 ppm y 3.92 ppm se observan dos señales múltiples asignadas al H-3 y H-16 respectivamente; la aparición de los hidrógenos diastereotópicos de la posición 26 como una señal múltiple en 3.77 ppm confirman la cadena lateral abierta, el resto de las señales en 1.37 ppm, 1.15 ppm, 1.16 ppm y 0.93 ppm se asignaron a los metilos de CH₃-18, CH₃-19, CH₃-21 y CH₃-27.

La Figura 10 muestra el espectro de RMN de ¹³C de **90**, en él aparecen las señales correspondientes a los grupos carbonilo C-12 y C-22 en 216.5 ppm y 212.7 ppm; las dos señales de los carbonilos de acetato sustituidos en C-26 y C-3 se asignaron en 171.1 ppm y

170.4 ppm mientras que en 139.3 ppm y 122.0 ppm se encuentran las señales de los carbonos C-5 y C-6, además de las asignadas a los carbonos base de oxígeno C-16, C-3 y C-26 en 73.3 ppm, 71.8 ppm y 69.1 ppm respectivamente. Las señales de núcleo indol también fueron encontradas en la región de 111.2 ppm a 136.4 ppm.

Con ayuda del experimento DEPT se encontró un total seis metilos, ocho metilenos, catorce metinos y por diferencia con el espectro de carbono se identificaron once carbonos cuaternarios, confirmando las 39 señales esperadas para la propuesta estructural de **90** (Figura 11).

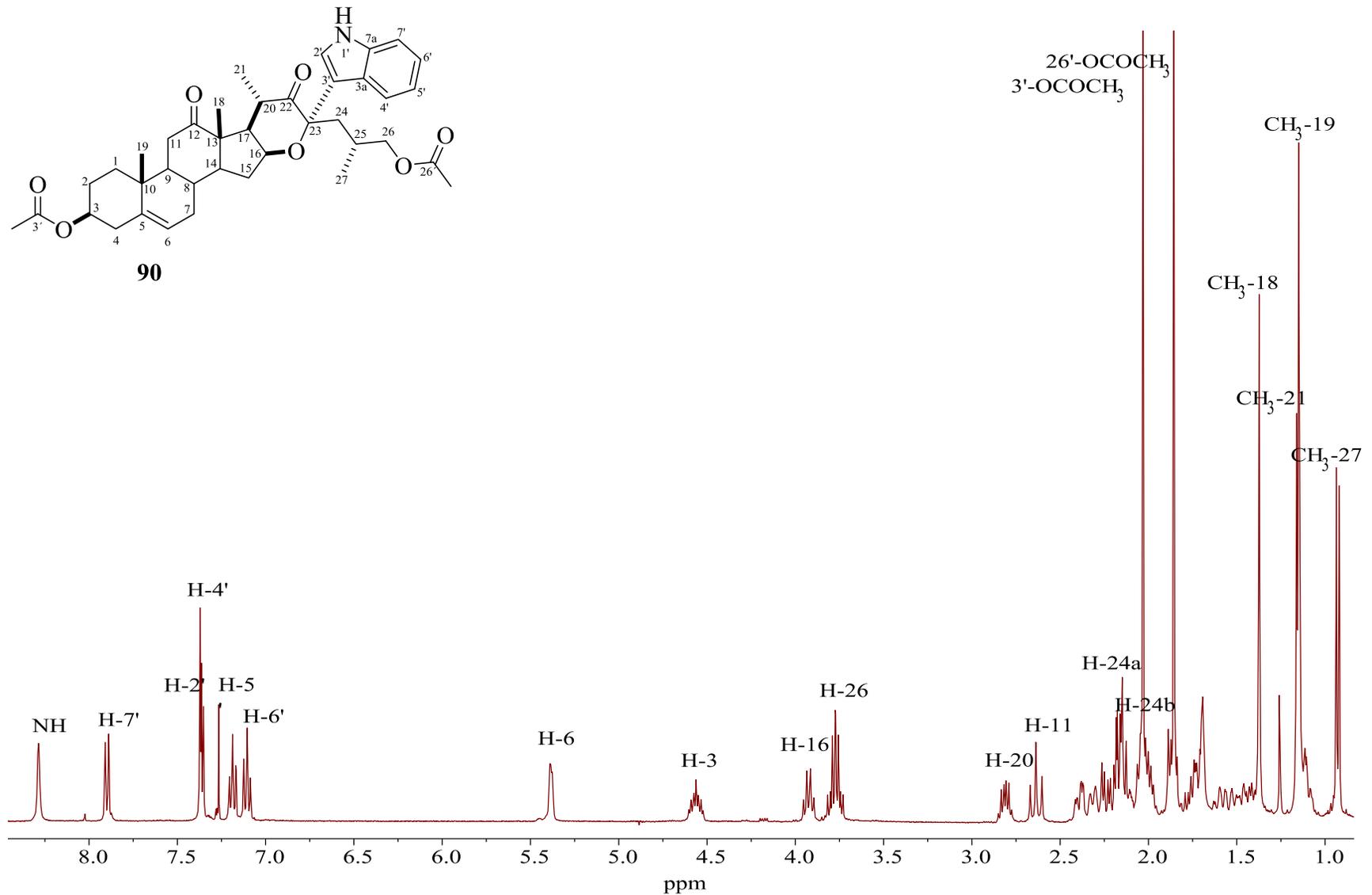


Figura 9. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de **90** en CDCl_3 .

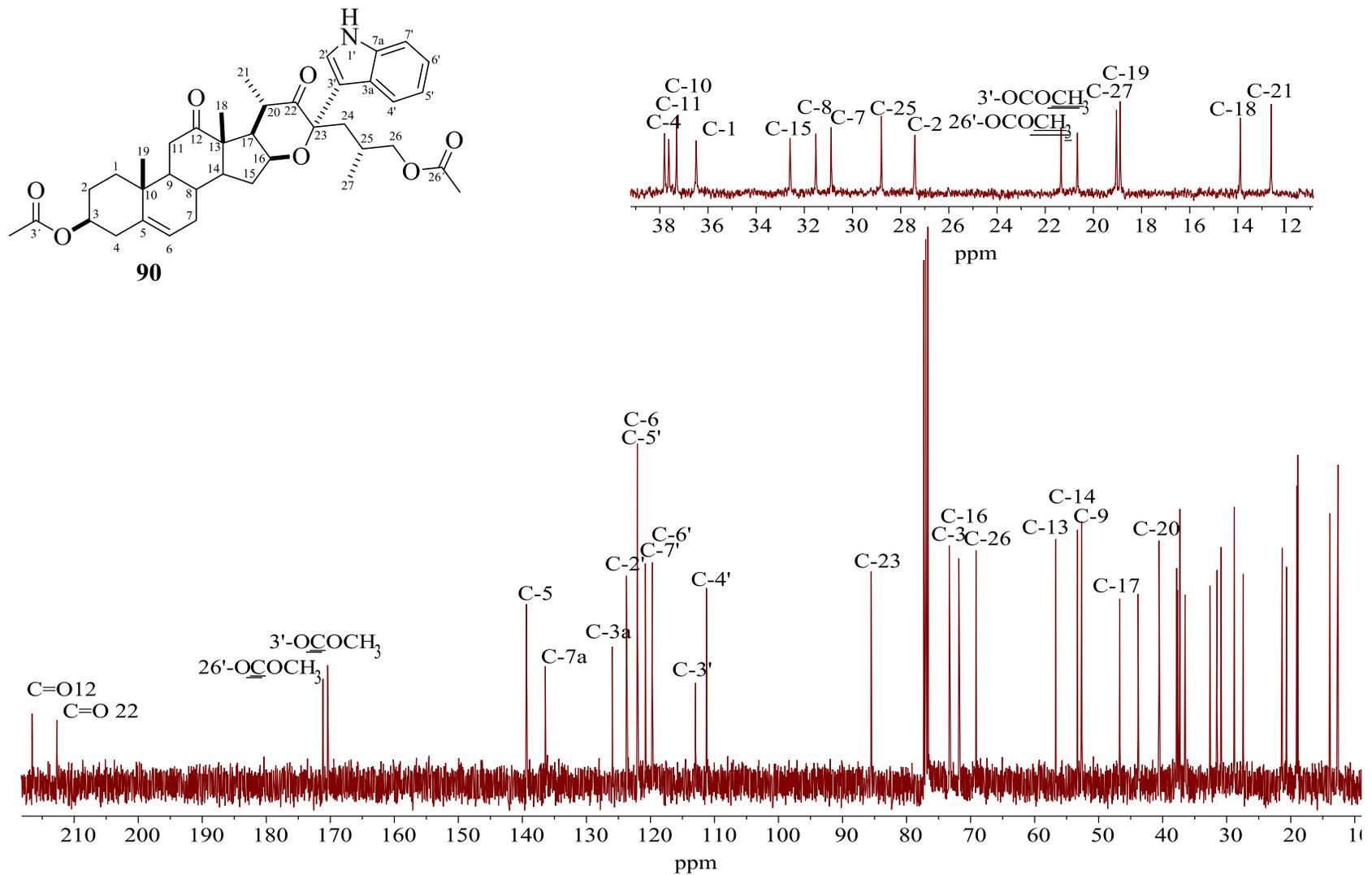


Figura 10. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) de **90** en CDCl₃.

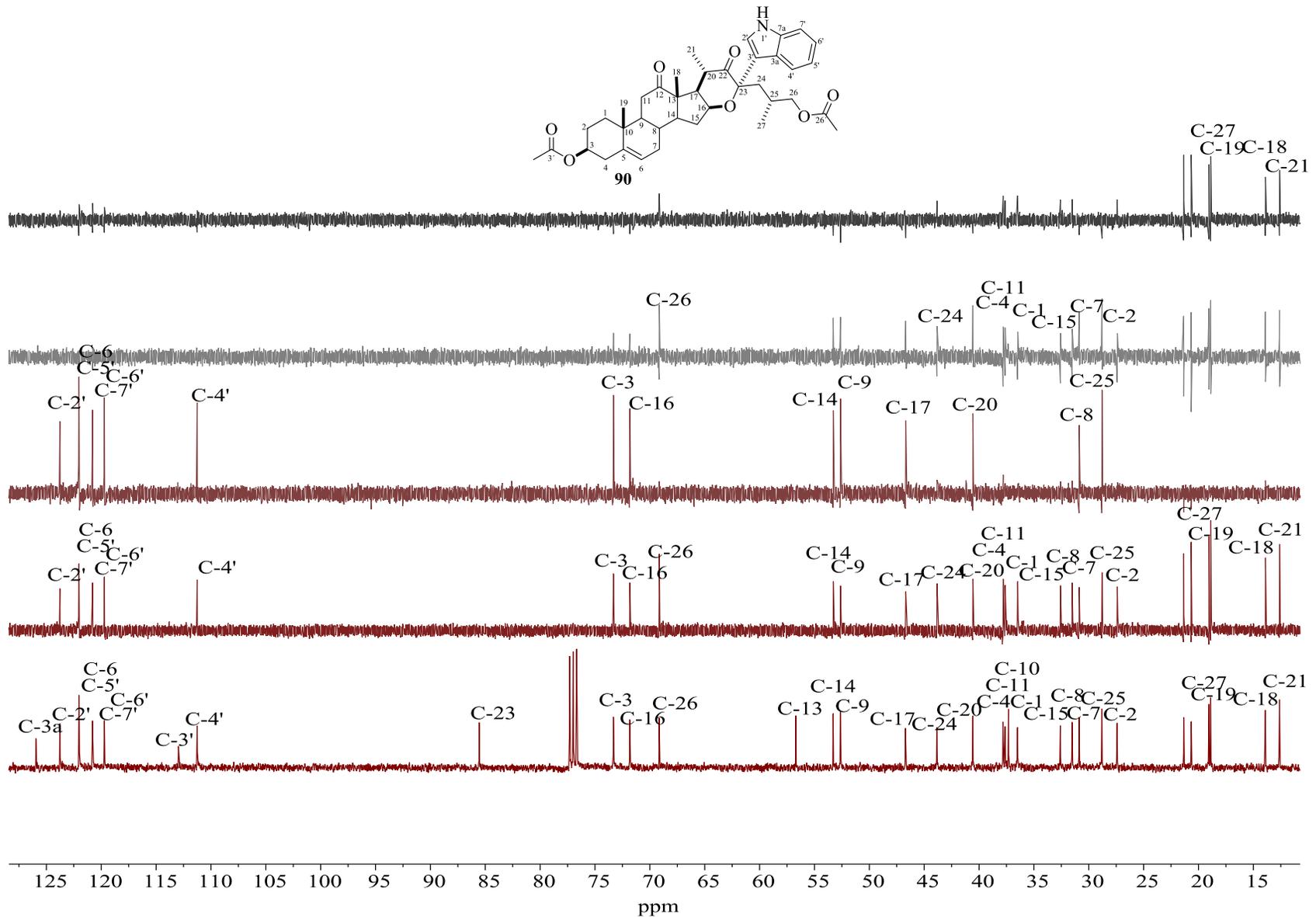


Figura 11. Espectro de RMN de ¹³C y DEPT para el compuesto **90**.

Con ayuda del experimento HSQC (Figura 12) fue posible la asignación de los carbonos con sus respectivos hidrógenos, por ejemplo, los carbonos unidos a oxígenos C-16 en 71.8 ppm correlaciona con H-16 en 3.92 ppm, C-3 en 73.3 con el H-3 en 4.56 ppm y C-26 en 69.1 ppm con la señal múltiple asignada en 3.80 ppm que integra para dos hidrógenos en el espectro de protón. También se asignó el C-6 vinílico en 122.0 ppm debido a su correlación con H-6 localizado en 5.38 ppm. Adicionalmente se asignaron algunas correlaciones del núcleo indol con sus respectivos hidrógenos por ejemplo, en 123.7 ppm C-2' con H-2' en 7.35 ppm, C-5' en 122.0 ppm con H-5' en 7.19 ppm, C-7' en 120.7 ppm con H-7' en 7.9 ppm, C-6' en 119.7 ppm con H-6' en 7.10 ppm y C-4' en 111.2 ppm correlaciona con H-4' en 7.37 ppm.

La asignación inequívoca de hidrógeno también se realizó con ayuda del experimento COSY, (Figura 13) el cual mostró las siguientes correlaciones; el NH en 8.24 ppm del núcleo indol correlacionó con H-2' en 7.35 ppm, el H-7' en 7.90 ppm correlacionó con H-6' en 7.10 ppm, H-4' en 7.37 ppm con H-5' en 7.19 ppm, además se encuentra la correlación de los H-24.

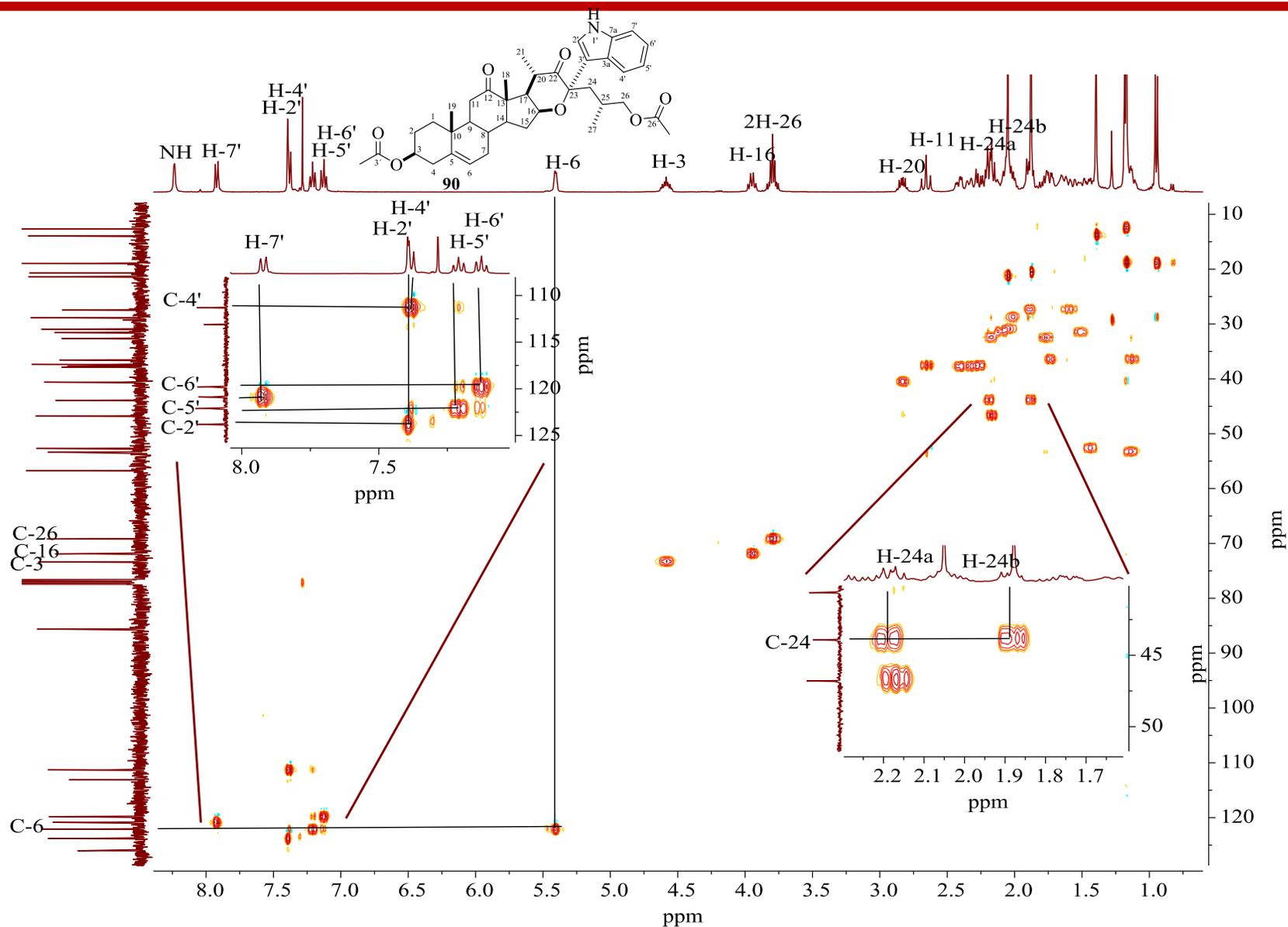


Figura 12. Espectro HSQC de **90** en CDCl₃.

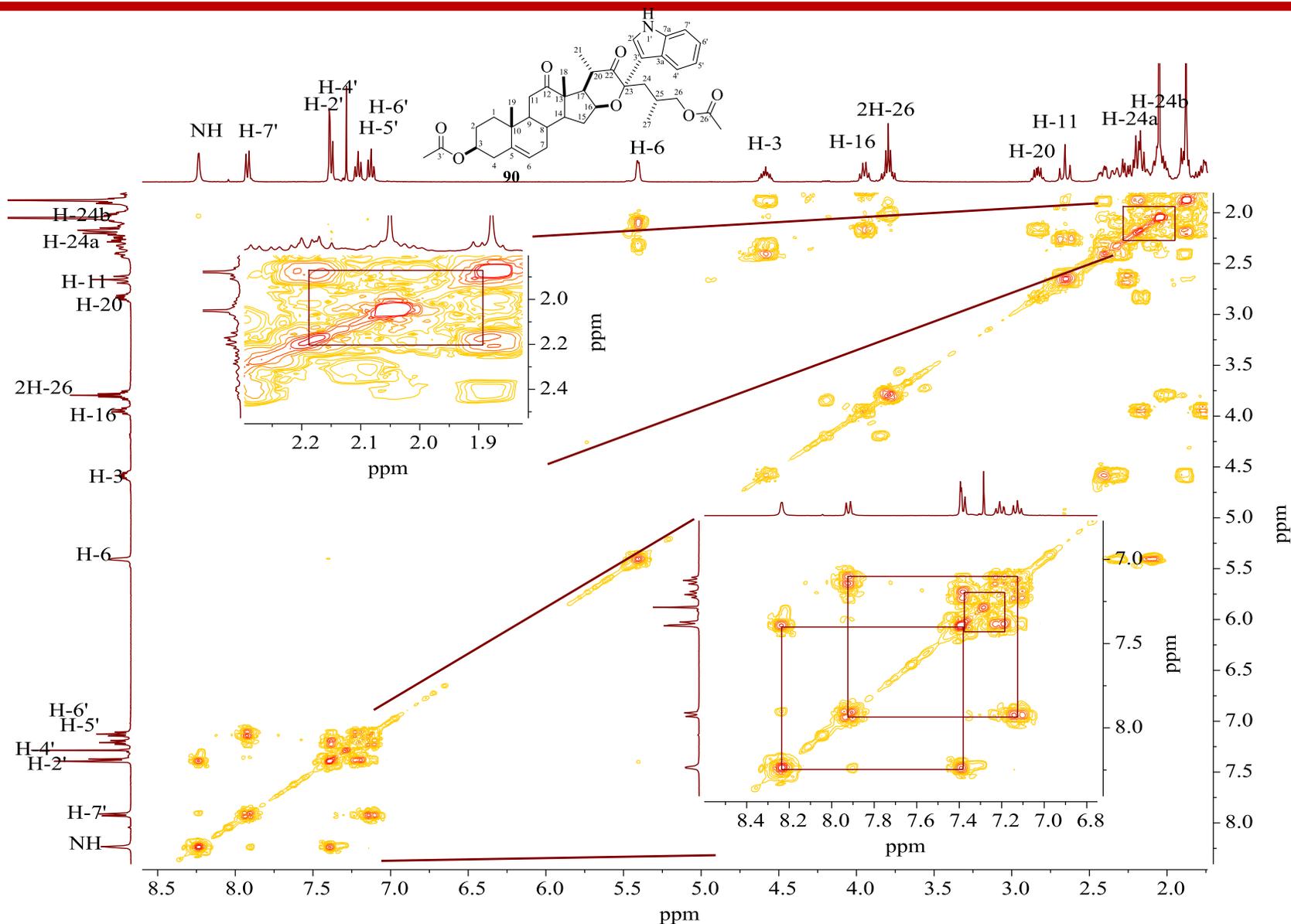


Figura 13. Espectro COSY de **90** en CDCl_3 .

El experimento HMBC (Figura 14) permitió establecer correlaciones (C-H) a larga distancia (2, 3 y a 4 enlaces); a continuación se describen algunas: el carbono en 112.96 ppm se asignó como C-3' debido a que correlacionó a 3 enlaces con los siguientes hidrógenos, NH en 8.29 ppm, H-7' en 7.90 ppm y H-2' en 7.35 ppm y a cuatro enlaces de distancia con los H-24 en 2.19 y 1.89 ppm. Por otra parte el C-23 mostró correlación a tres enlaces con el H-16 localizado en 3.92 ppm y a dos enlaces con los H-24 en 2.15 y 1.89 ppm. También se observó correlación de los H-24 a dos enlaces con C-25 a 28.80 ppm y con C-26 a tres enlaces en 69.15 ppm.

La correlación a través del espacio del H-7 del indol con el H-16 α del esteroide en el experimento NOESY, sugiere que el indol se encuentra sustituido en posición α sobre el C-23 (Figura 15).

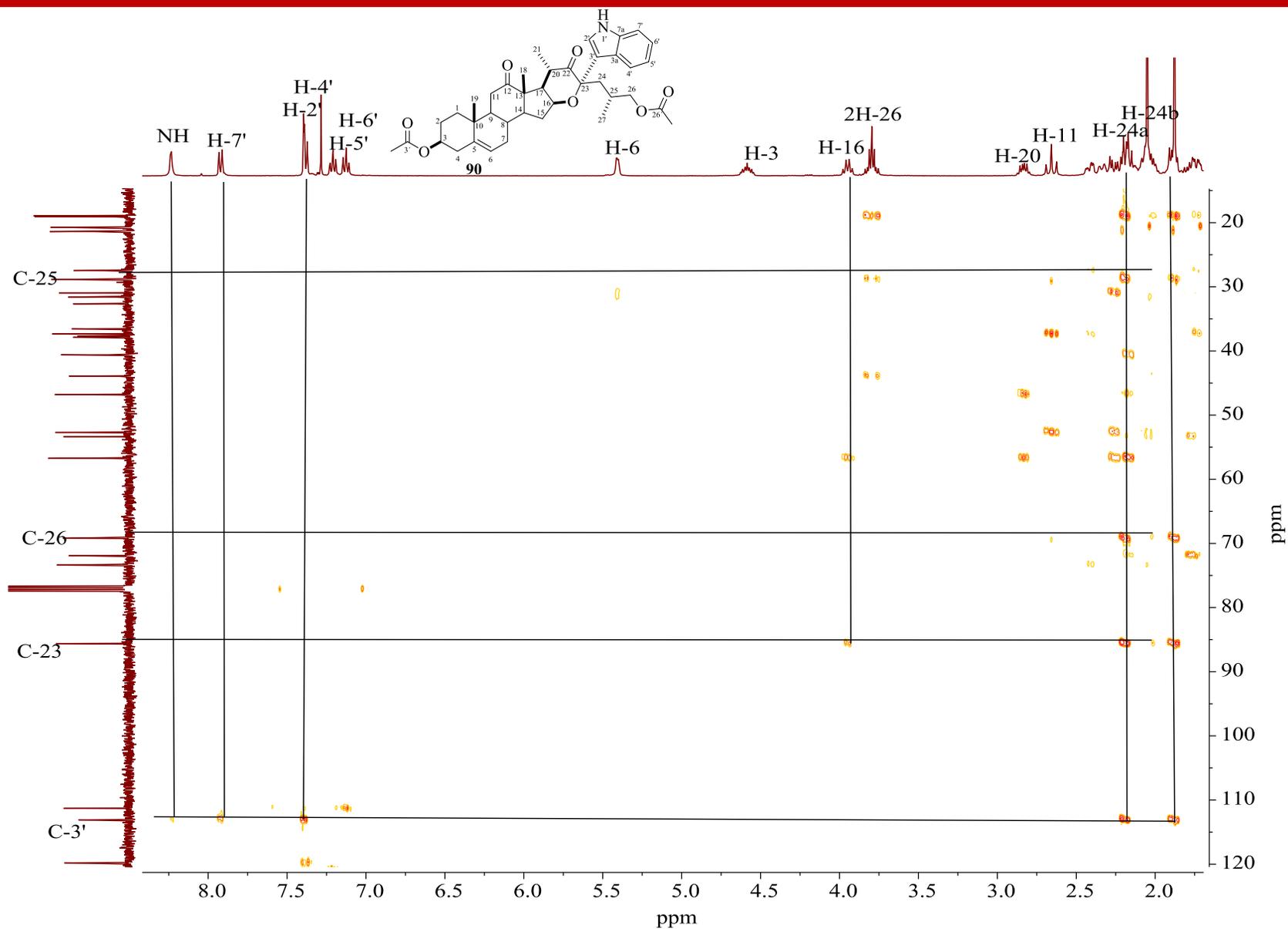


Figura 14. Experimento HMBC para **90** en CDCl_3 .

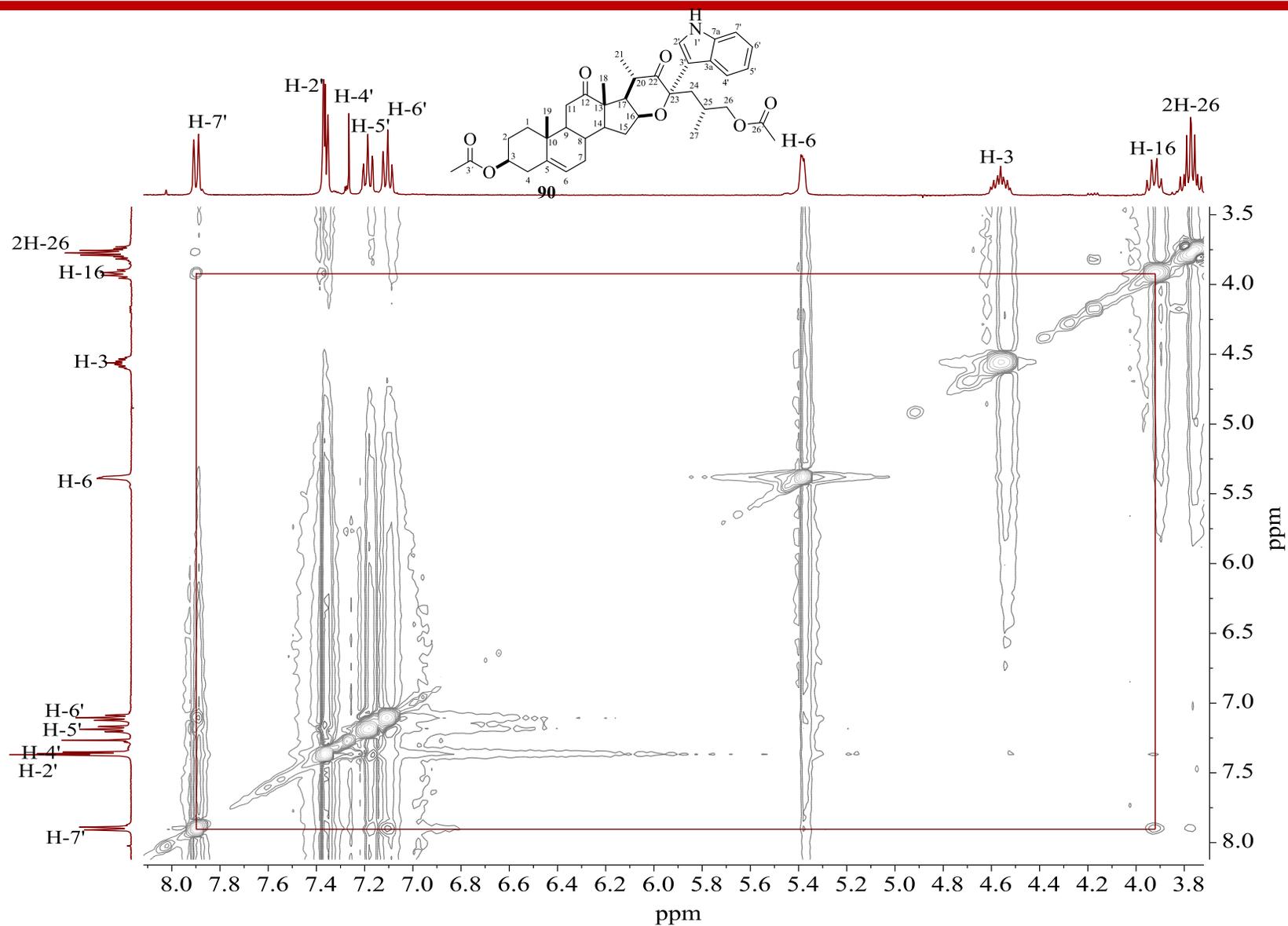
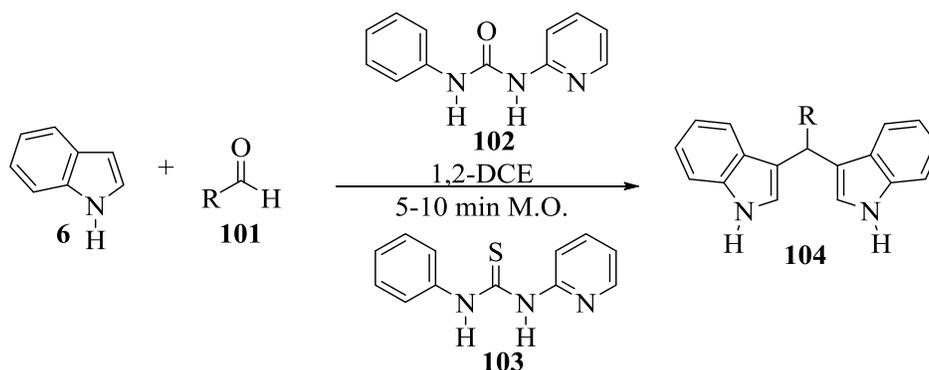


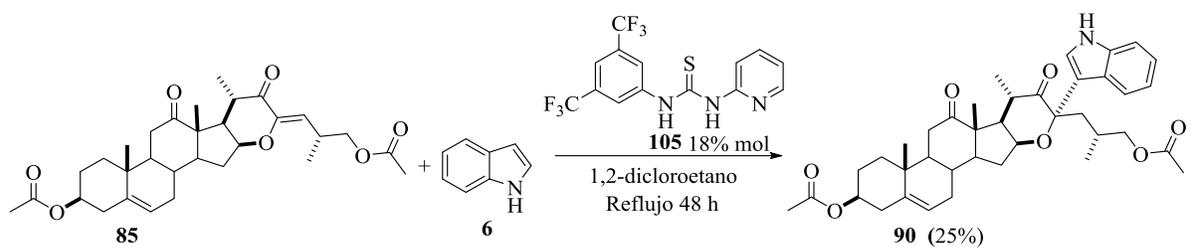
Figura 15. Experimento NOESY para **90** en CDCl_3 .

Es bien conocido el uso de tioureas como organocatalizadores efectivos, en reacciones de adición enantioselectivas, de Michael asimétricas, aldólicas enantioselectivas, entre otras;⁵⁹ lo anterior debido a que las tioureas llevan a cabo la activación por puentes de hidrógeno bidentados, confiriéndoles la facilidad de actuar como ácido de Brønsted catalizando reacciones en condiciones neutras de reacción. En este sentido, en nuestro grupo de trabajo estamos interesados en el desarrollo de nuevos organocatalizadores de tiourea y demostrar su efectividad en diversas reacciones orgánicas. Por ejemplo hemos explorado el uso de los organocatalizadores bifuncionales **102** y **103**, contribuyendo con la primera aplicación de tioureas bifuncionales en la síntesis de los bis(3-indolil)metanos (BIMs) **104** (Esquema 22).⁶⁰



Esquema 22. Esquema general de aplicación de ureas y tioureas bifuncionales en síntesis orgánica.

Con estos antecedentes se decidió trabajar la materia prima **85**, en presencia del organocatalizador de tiourea **105** bajo las condiciones de reacción mostradas en el esquema 23, observando por placa cromatográfica que después de 48 horas en 1,2-dicloroetano se forma **90** en 25 % de rendimiento, cabe hacer mención que después de este tiempo de reacción no hay un incremento en la formación del nuevo compuesto **90**.



Esquema 23. Obtención del nuevo compuesto **90** vía el organocatalizador **105**.

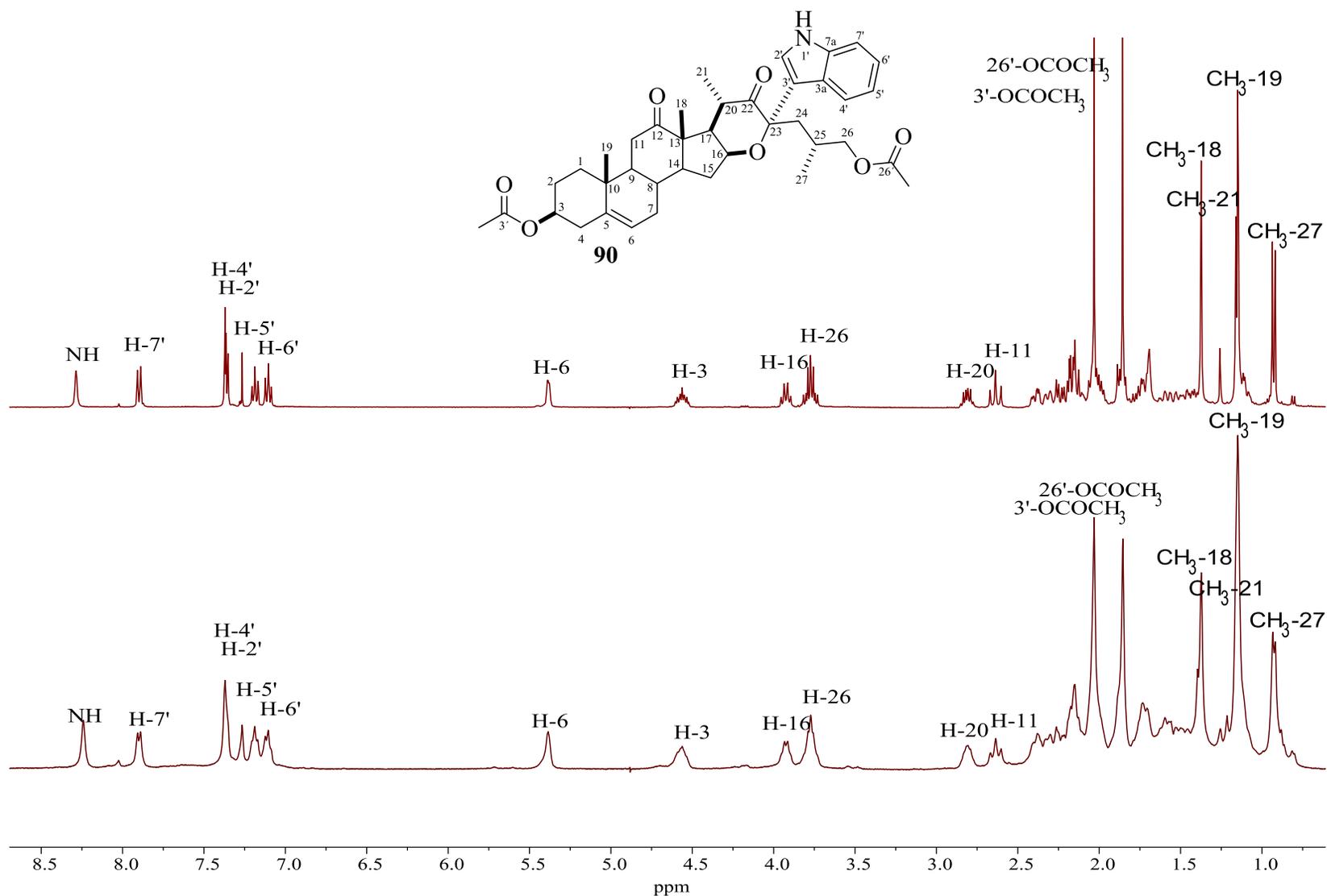
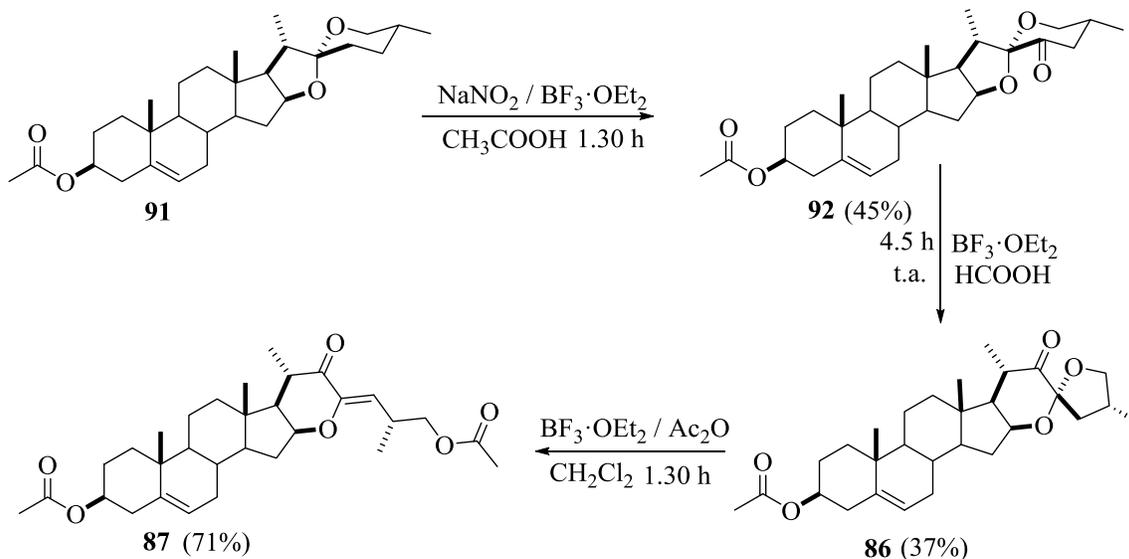


Figura 16. Comparación de los espectros de RMN de ^1H (400 MHz) del compuesto **90** obtenidos con $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y Tiourea **105**.

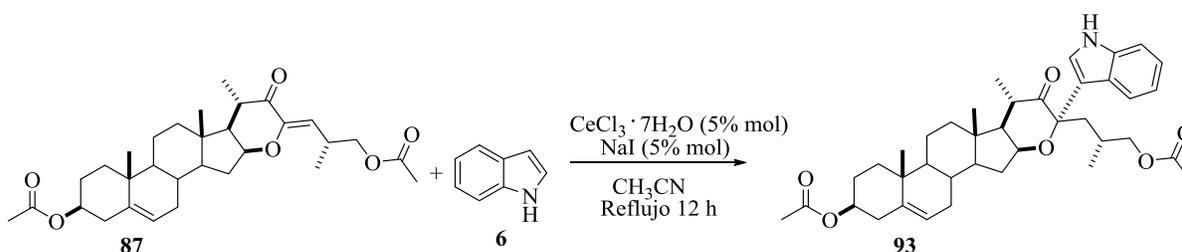
Enseguida se procedió a realizar la obtención del compuesto **87** mediante las condiciones de reacción del esquema 24.



Esquema 24. Obtención del compuesto colestánico **87**.

A manera de ejemplo en la figura 17, se muestra el espectro de RMN de ^1H de **87**, en el que las señales dobles a campo bajo características de hidrógenos vinílicos en 5.60 ppm ($J_{24-25} = 9.3$ Hz) y 5.39 ppm asignadas a los H-24 y H-6, confirmaron la obtención de la materia prima.

Por otra parte, cuando el compuesto **87** se sometió a reaccionar con indol en presencia de $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y yoduro de sodio, en las mismas condiciones que el derivado de botogenina **85**, únicamente se logró identificar el producto esperado **93** en 9 % de rendimiento, el cual se obtuvo en forma de miel color naranja oscura, después de la purificación por columna cromatográfica.



Esquema 25. Obtención del nuevo compuesto **93**.

El espectro de RMN de ^1H (Figura 17) para el derivado **93** muestra las señales del indol a mayor frecuencia, por ejemplo, la señal simple del grupo NH aparece en 8.16 ppm, en la región de 7.1 a 7.9 ppm se encuentran las señales de los hidrógenos aromáticos del anillo heterocíclico. Se continúan observando las señales características del núcleo esteroidal: en 5.38 ppm se asignó la señal del hidrógeno H-6 vinílico, en 4.58 ppm y 3.96 ppm se encuentran dos señales múltiples asignadas al H-3 y H-16 respectivamente; la aparición de los hidrógenos diastereotópicos de la posición 26 como una señal múltiple en 3.77 ppm confirmó la estructura de cadena lateral abierta, el resto de las señales en 1.14 ppm, 1.08 ppm, 1.05 ppm y 0.89 ppm se asignaron a los metilos de CH₃-21, CH₃-19, CH₃-18 y CH₃-27 respectivamente. Además la desaparición de la señal del H-24 vinílico, también confirmó la adición del anillo heterocíclico sobre el derivado colestánico **87**.

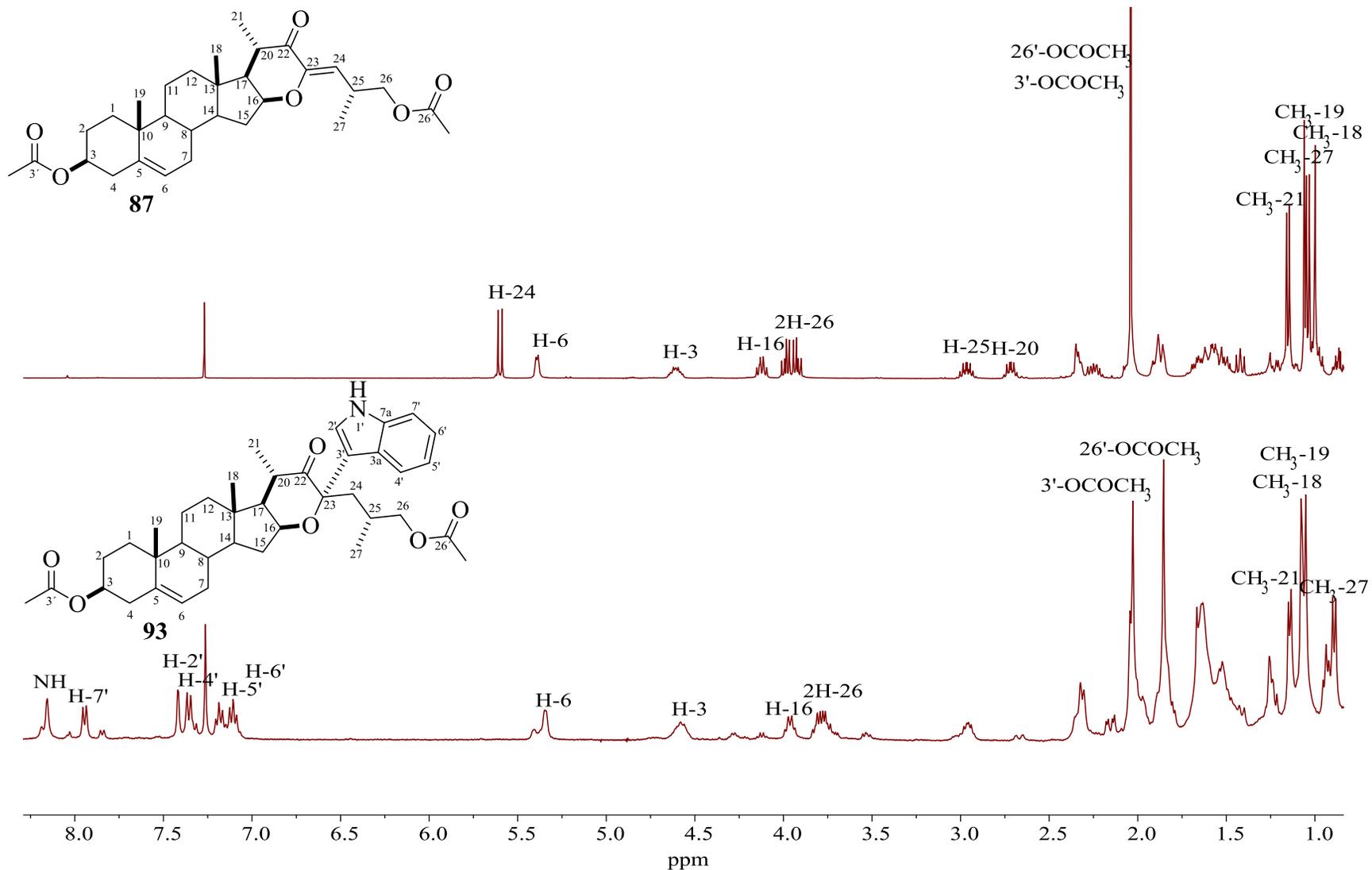
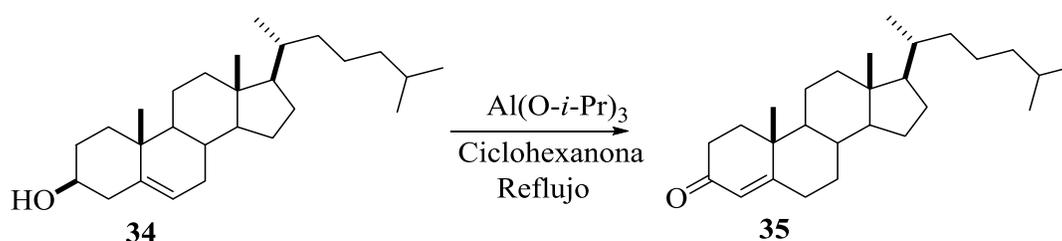


Figura 17. Comparación de los espectros de RMN de ^1H (400 MHz) del compuesto **87** y el nuevo derivado **93** en CDCl_3 .

6.2 Obtención de la cetona α,β -insaturada **35** a partir de colesterol **34**

La preparación de la enona **35** a partir del colesterol **34**, se realizó por oxidación del anillo A, vía la metodología descrita para la obtención de este compuesto (Esquema 26).^{30,61} Sin embargo, cuando se llevó a cabo la oxidación de Oppenauer usando las condiciones reportadas, no se logró obtener la enona **35**, por lo cual se trabajó modificando los tiempos de reacción para esta oxidación (tabla 1), observando la formación del producto deseado en rendimientos del 25-28 % y acompañado de otro subproducto de *R_f* similar dificultando la purificación de **35**.

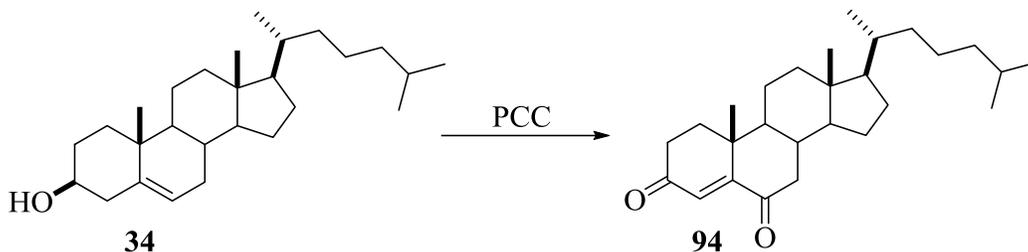


Esquema 26. Oxidación del anillo A del colesterol (**34**).

Tabla 1. Oxidación de Oppenauer a diferentes tiempos.			
Prueba	Catalizador	Condiciones	Rendimiento (%)
1	Al(O- <i>i</i> -Pr) ₃ 2 eq	Ciclohexanona / reflujo 2 h	28
2	Al(O- <i>i</i> -Pr) ₃ 2 eq	Ciclohexanona / reflujo 1.5 h	25
3	Al(O- <i>i</i> -Pr) ₃ 2 eq	Ciclohexanona / reflujo 24 h	descomposición

En nuestro interés por incrementar los rendimientos de la materia prima **35** se decidió llevar a cabo la oxidación del colesterol mediante el uso de PCC (Tabla 2), observando la formación de la dicetona **94** en 84 % de rendimiento con el uso de 25 eq. PCC; en un inicio se decidió trabajar con estos equivalentes debido a que algunos reportes para este método mencionan el uso de esta cantidad, sin embargo, al observar que el colesterol se había sobreoxidado con estos equivalentes del reactivo, se realizó otro ensayo disminuyendo la

cantidad de PCC a 3eq., encontrando que la disminución de este reactivo nuevamente produce la dicetona **94** en 86 % de rendimiento pero en un mayor tiempo de reacción (Esquema 27, Tabla 2).



Esquema 27. Obtención de colest-4en-3,6-diona (**94**).

Tabla 2. Ensayos de la oxidación del colesterol **34** con PCC.

Ensayo	Catalizador	Condiciones	Compuesto 94
1	PCC ³⁶ 25 eq	Benceno / reflujo 5 h	84 %
2	PCC ⁶² 3 eq	CH ₂ Cl ₂ / t.a. 24.5 h	86 %

La obtención del compuesto **94** se confirmó mediante la comparación de datos espectroscópicos de RMN de ¹H del colesterol **34** con el producto obtenido **94** (Figura 18).⁶³

En el espectro de RMN de ¹H de la figura 18 de **94** se observa una señal simple desplazada a mayor frecuencia del hidrógeno vinílico H-4 en 6.17 ppm, el H-7 aparece en 2.68 ppm (dd, *J* =15.9,4.0 Hz, 1H) y en 2.04 ppm (d, *J* =3.5 Hz, 1H); las señales de los metilos se asignaron en 1.17 ppm (s, 3H) para CH₃-19, 0.93 ppm (d, *J* =6.5 Hz, 3H) para

CH₃-21, 0.88 ppm (d, $J = 1.8$ Hz, 3H) y 0.86 ppm (d, $J = 1.8$ Hz 3H) para los CH₃-27 y CH₃-26 respectivamente, y en 0.72 ppm (s, 3H) la de CH₃-18.

En el espectro de RMN de ¹³C de la figura 19 se observan las señales características en 202.3 y 199.5 ppm para los carbonilos en C-6 y C-3, así como la señal en 125.4 ppm para el C-4 y en 161.0 ppm la del C-5, confirmando la obtención del compuesto **94**.

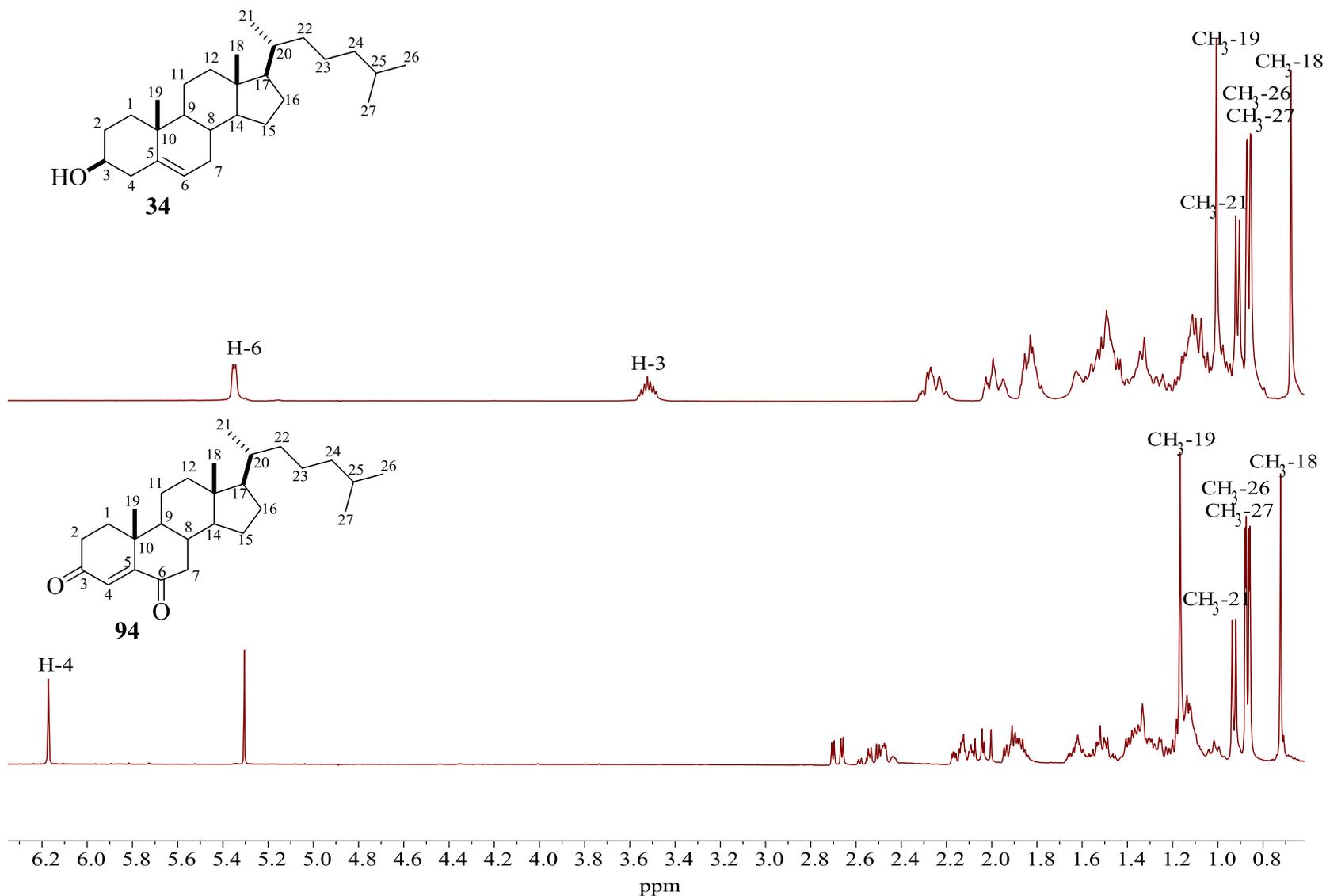


Figura 18. Comparación de los espectros de RMN de ¹H (400 MHz) de colesterol **34** y la colest-4-en-3,6-diona (**94**) en CDCl₃.

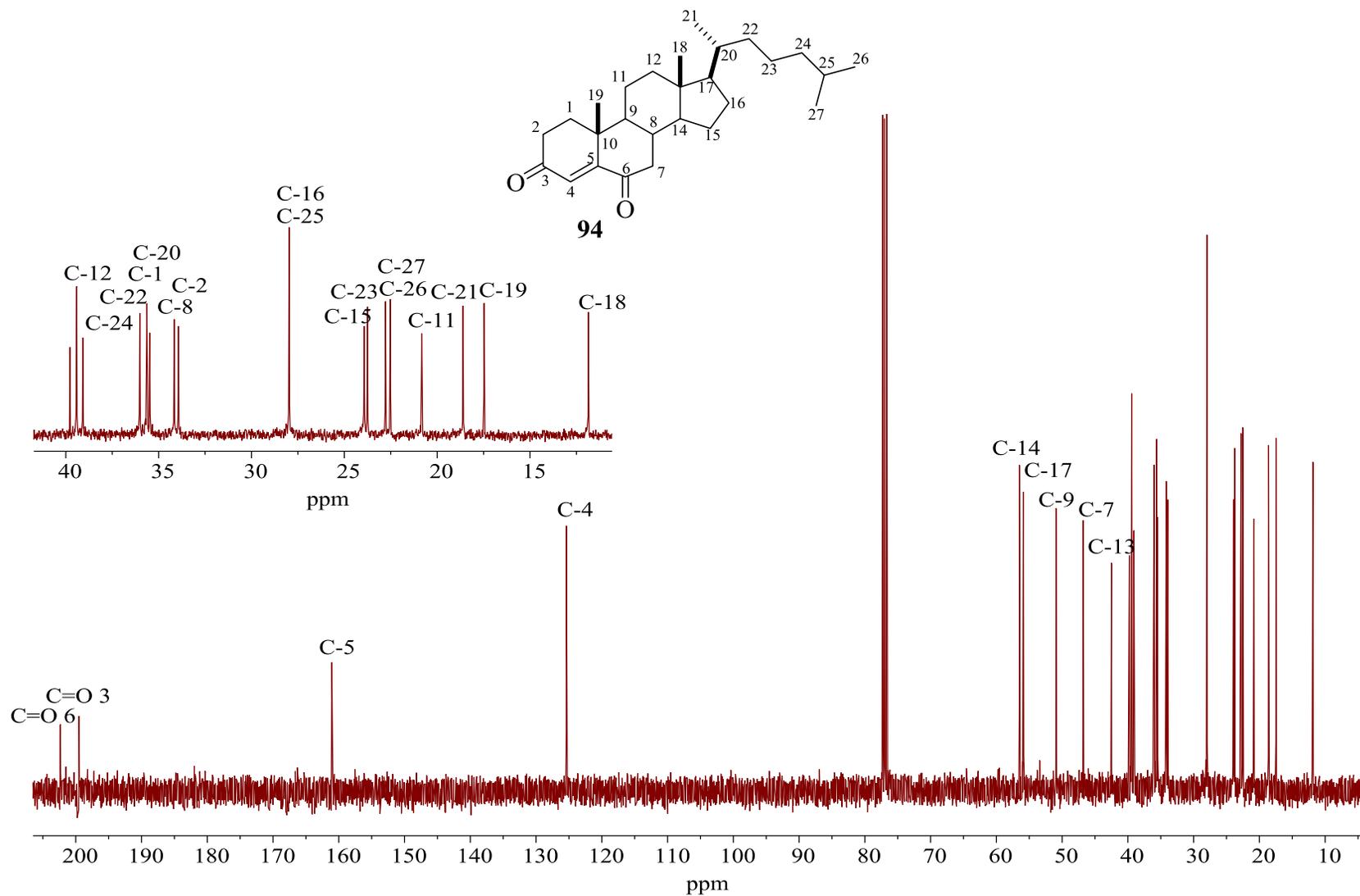
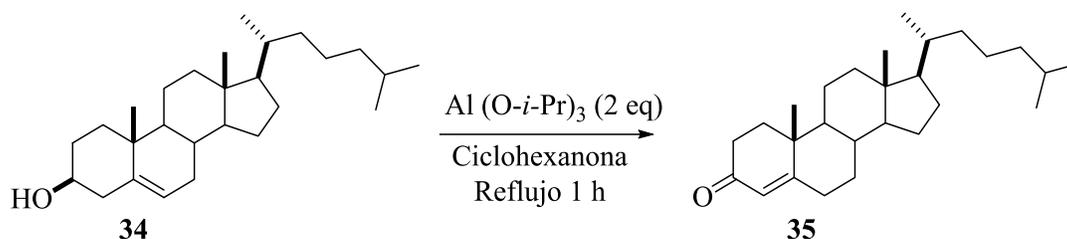


Figura 19. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) de colest-4-en-3,6-diona (**94**) en CDCl_3 .

Considerando los resultados de la oxidación con PCC, y debido a que únicamente se había logrado identificar la enona **35** a partir de la oxidación de Oppenauer, se retomó esta metodología, observando que al disminuir el tiempo de reflujo, seguido de una filtración del crudo de reacción sobre sílica gel con Hexano y Hexano/Acetato de Etilo (9:1), se logra obtener la cetona α,β -insaturada **35** en un rendimiento del 78 %.



Esquema 28. Obtención de colesteno (35).

La obtención del compuesto **35** se confirmó mediante comparación de los espectros de RMN de hidrógeno de **35** con los descritos (Figura 21).⁶⁴

En el espectro de RMN de ^1H de la figura 20 para **35**, se observa una señal simple desplazada a mayor frecuencia del hidrógeno vinílico H-4 en 5.72 ppm, también la señal simple del CH_3 -19 se encuentra desplazada a mayor frecuencia en 1.17 ppm, las señales del resto de los metilos aparecen en 0.89 ppm (d, $J = 6.5$ Hz, 3H) para CH_3 -21, 0.87 ppm (d, $J = 1.6$ Hz, 3H), 0.86 (d, $J = 1.6$ Hz, 3H) para los CH_3 -27 y CH_3 -26 y en 0.69 ppm (s, 3H) la del CH_3 -18.

El espectro de RMN de ^{13}C de la figura 21 confirma la obtención del sistema carbonílico α,β -insaturado, ya que se observan señales características en 199.7 ppm del carbonilo C-3, en 171.8 ppm la del C-5 y en 123.5 ppm la señal que corresponde a C-4.

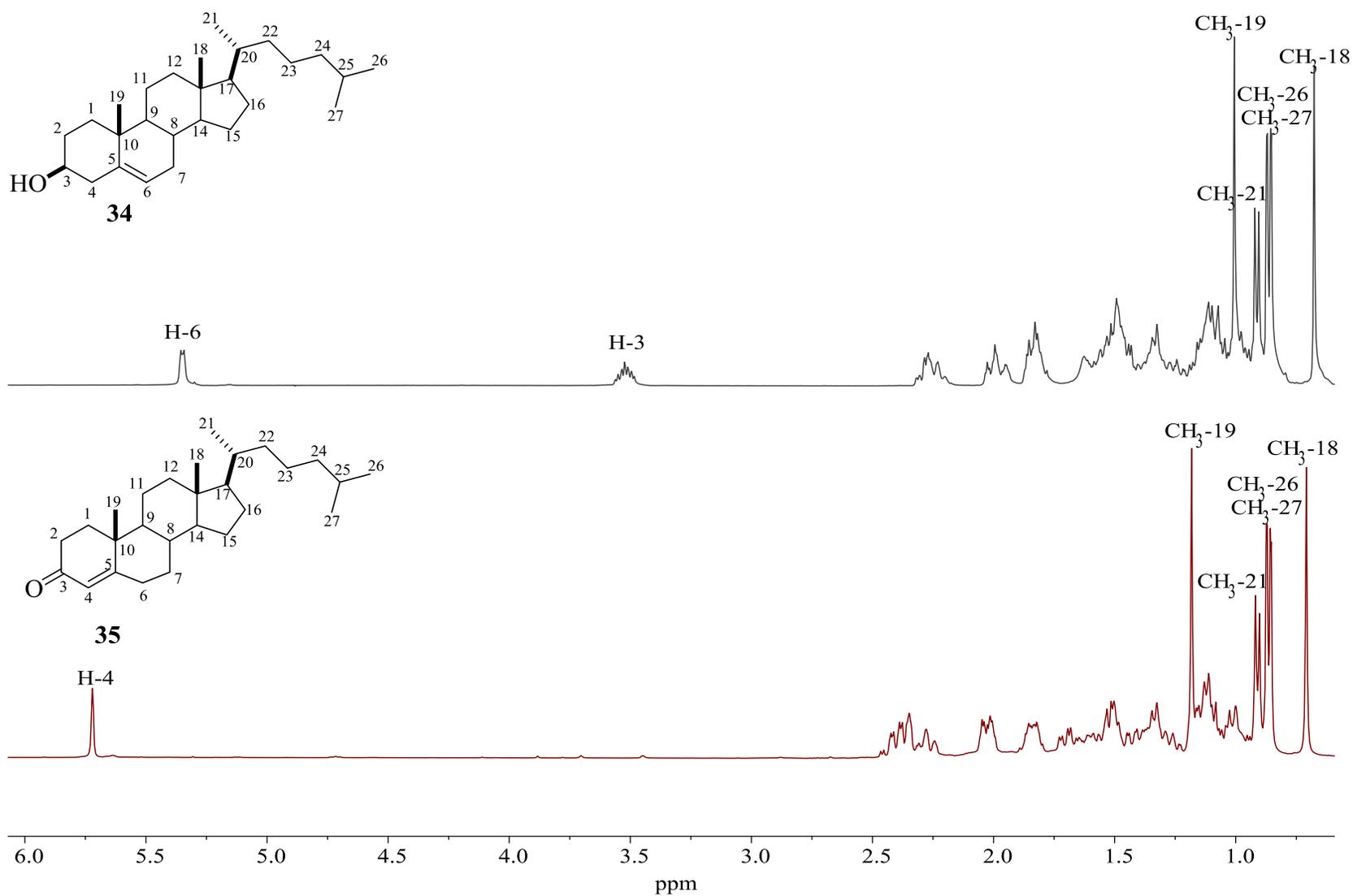


Figura 20. Comparación de los espectros de RMN de ^1H (400 MHz) de colesterol **34** y colesthenona **35** en CDCl_3 .

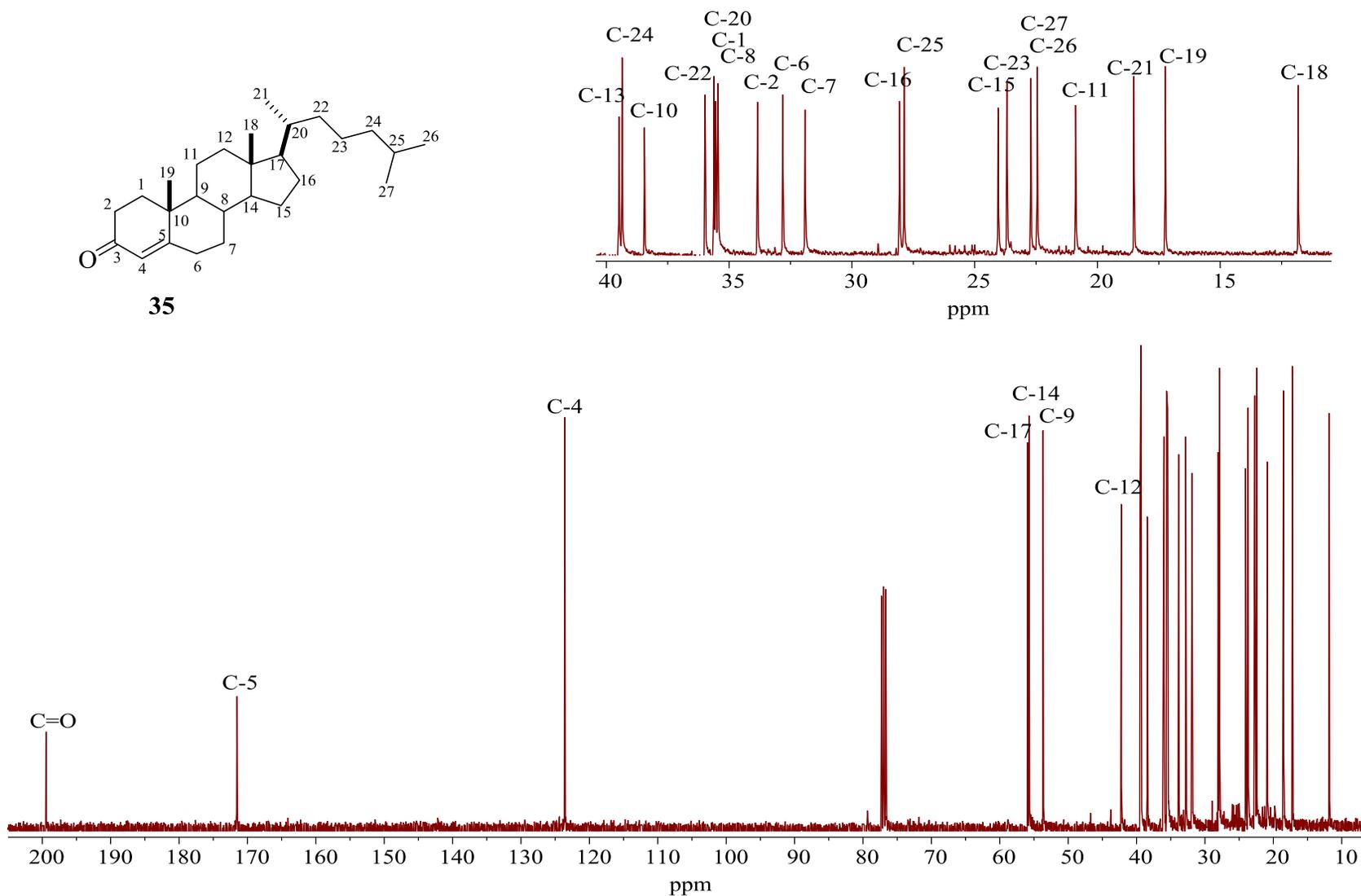
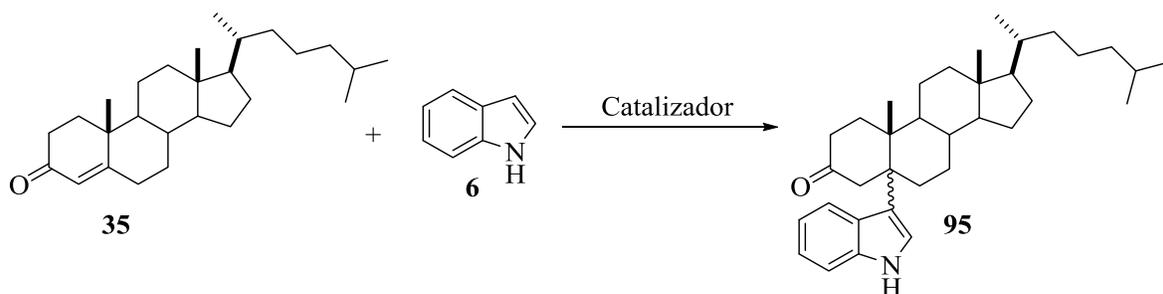


Figura 21. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) de colesteno **35** en CDCl_3 .

6.3 Reactividad de la enona **35** frente a la adición nucleofílica del indol

En relación a la reactividad del sustrato **35** con el indol **6**, se inició con las mismas condiciones de reacción encontradas para la síntesis de **90**. Sin embargo, debido a que bajo esta metodología no se observó la formación del producto deseado, se realizaron diferentes ensayos cambiando las condiciones de reacción (tabla 3). El nuevo derivado **95** se obtuvo en forma de miel color amarillo y en rendimientos del 4-12 % con recuperación de la materia prima **35** (79-92 %).



Esquema 29. Obtención del nuevo compuesto **95**.

Tabla 3. Ensayos de reactividad de la enona **35**.

Ensayo	Catalizador	% mol	Tiempo	Disolvente	Rendimiento (%)
1	CeCl ₃ · 7H ₂ O/ NaI	5 5	12 h Reflujo	Acetonitrilo	NR MP 92
2	CeCl ₃ · 7H ₂ O/ NaI	20 20	24 h Reflujo	Acetonitrilo	12 MP 79
3	CeCl ₃ · 7H ₂ O/ NaI	50 50	48 h Reflujo	Acetonitrilo	11 MP 84
4	 105	100 (1 eq)	36 h Reflujo	1,2- dicloroetano	4 MP 90
5	CeCl ₃ · 7H ₂ O/ NaI	20 20	48 h Reflujo	Acetonitrilo	9 MP 80

6	CeCl ₃ · 7H ₂ O/	10	25 h	Sin disolvente	Trazas MP 91
	NaI/	10	Reflujo		
	SiO ₂	1			
7	CeCl ₃ · 7H ₂ O/	20	40 h	1,2- dicloroetano	Trazas MP 90
	NaI	20	Reflujo		
8	CeCl ₃ · 7H ₂ O/	20	20 h	Etanol	Trazas MP 95
	NaI	20	Reflujo		

*NR= NO REACCIONA

*MP= MATERIA PRIMA

Los resultados de la tabla anterior son interesantes ya que a pesar de obtener el producto de interés en rendimientos pobres, el ensayo 4 muestra un ejemplo de la posible aplicación de una tiourea como un organocatalizador en la química de esteroides, por lo que no se descarta la posibilidad, que con el uso de un reactor de microondas estos rendimientos pudieran incrementarse notablemente.

La obtención del compuesto **95** se confirmó mediante la comparación de los espectros de RMN de hidrógeno de la colesteno **35** con el producto aislado después de la purificación mediante cromatografía en columna (Figura 22), observando en la región de las señales de indol la ausencia del H-3', así como la desaparición de la señal simple del hidrógeno vinílico H-4 en 5.72 ppm. En el espectro de RMN de ¹H de **95** se observan las señales del indol a mayor frecuencia; la señal simple del grupo NH se asignó en 8.17 ppm, en la región de 7.16 a 7.84 ppm se encuentran las señales de los hidrógenos aromáticos del anillo heterocíclico. También se observan las señales características de los metilos del colesterol, por ejemplo, en 1.11 ppm se encuentra una señal simple del CH₃-19, las señales del resto de los metilos aparecen en 0.94 ppm (d, *J* = 6.5 Hz, 3H) para CH₃-21, 0.88 ppm (d, *J* = 1.6 Hz, 3H) y 0.86 ppm (d, *J* = 1.2 Hz, 3H) para los CH₃-27 y CH₃-26 respectivamente y en 0.73 ppm (s, 3H) la del CH₃-18.

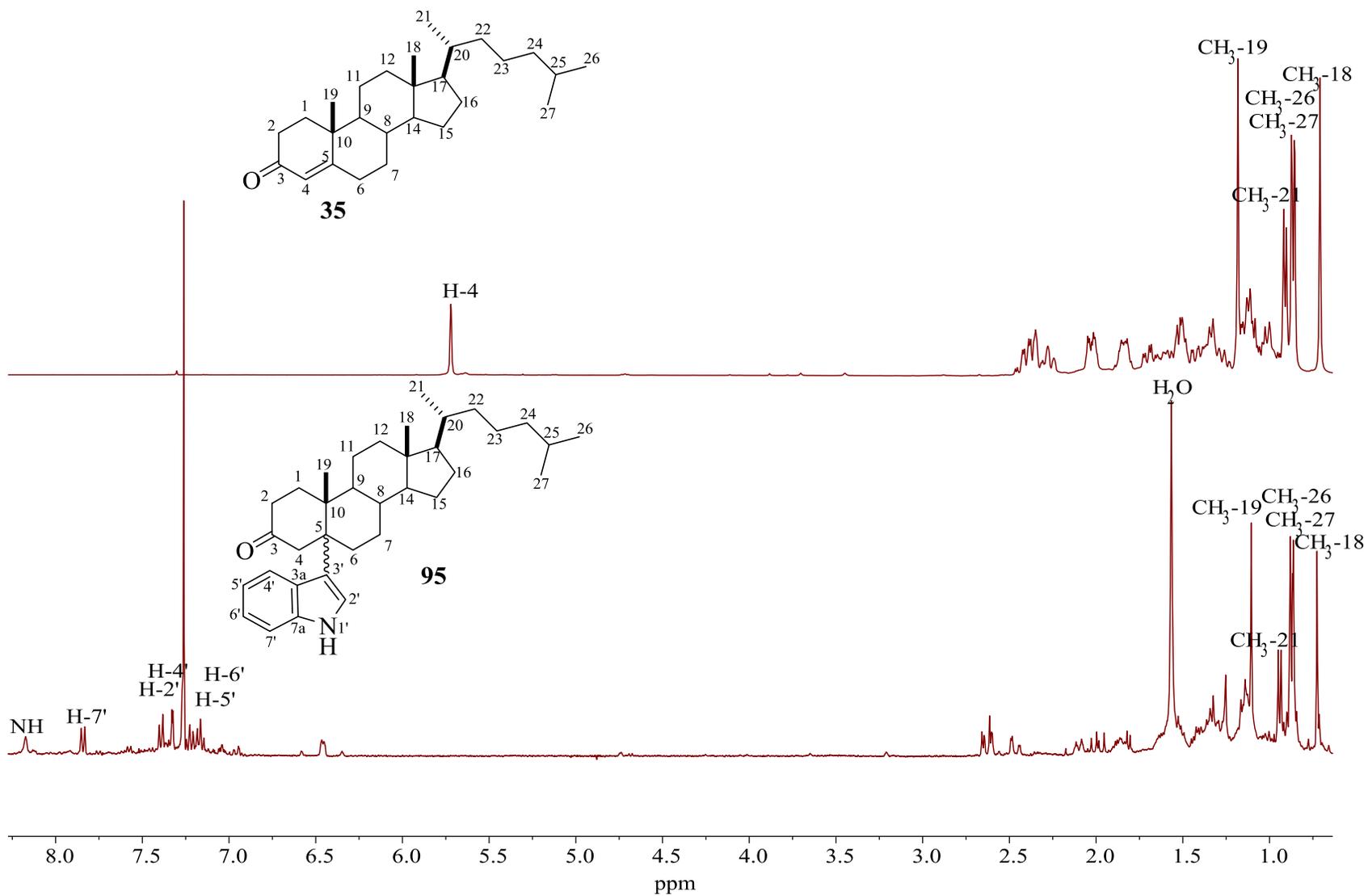
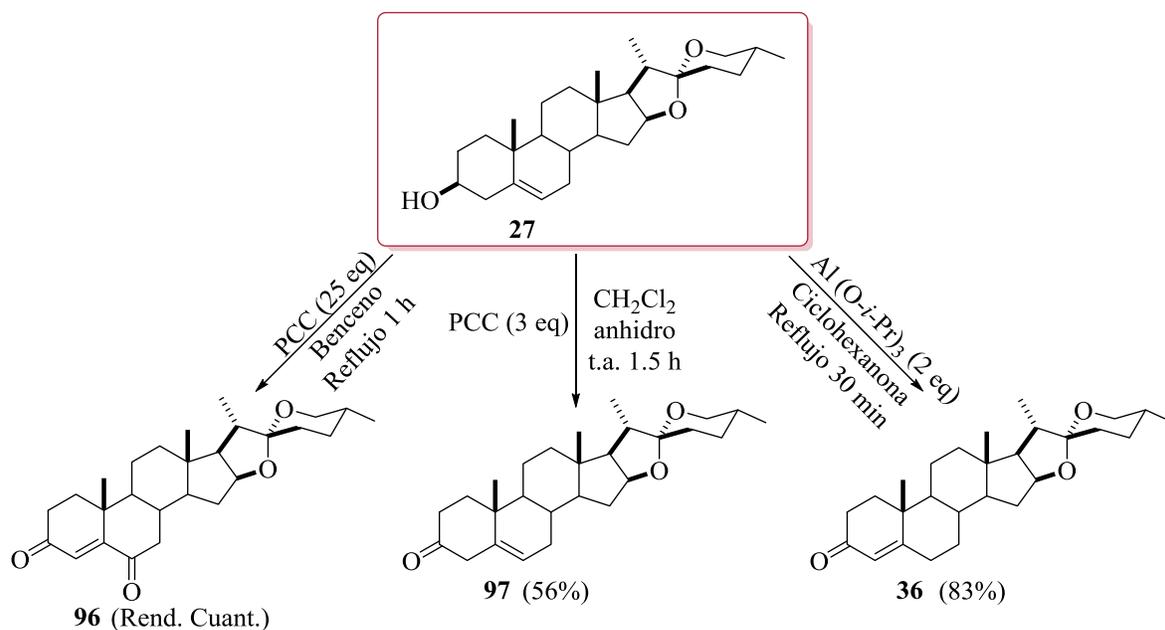


Figura 22. Comparación de los espectros de RMN de ^1H (400 MHz) de colesteno **35** y el nuevo derivado **95** en CDCl_3 .

6.4 Obtención de la cetona α,β -insaturada **36** a partir de diosgenina **27**

Para la síntesis de la diosgenona **36**, se decidió explorar la oxidación con PCC después de analizar algunos datos reportados para la preparación de este derivado,⁶² sin embargo, mediante las metodologías mostradas en el esquema 29 se observó que con 25 eq. de PCC se obtiene la dicetona **96** en rendimiento cuantitativo, mientras que el uso de 3 eq. del reactivo oxidante a temperatura ambiente únicamente permitió aislar el compuesto **97** en 56 % de rendimiento después de la purificación por cromatografía en columna, además de observar la formación de **96** y otro subproducto en menor rendimiento. Con estos resultados se decidió retomar la oxidación de Oppenauer disminuyendo el tiempo de reflujo indicado en la literatura (de 10 h a 30 min.), logrando obtener bajo estas condiciones el producto deseado **36** en 83 % de rendimiento (Esquema 30).



Esquema 30. Oxidaciones del anillo A de la diosgenina (**27**).

La obtención del compuesto **96**, se confirmó mediante la comparación de los espectros de RMN descritos.⁶³ En el espectro de RMN de ^1H de la figura 23 para **96** se observa una señal simple desplazada a mayor frecuencia del hidrógeno vinílico H-4 en 6.19 ppm, los H-26 ec y H-26 ax se asignaron en 3.47 ppm y 3.37 ppm; las señales de los metilos se observan en 1.19 ppm (s, 3H) para CH₃-19, en 0.99 ppm (d, J = 6.5 Hz, 3H) la de CH₃-21,

en 0.84 ppm (s, 3H) la del CH₃-18 y la señal en 0.80 ppm (d, $J = 5.7$ Hz, 3H) se asignó al CH₃-27.

En el espectro de RMN de ¹³C de la figura 24 se observan las señales características de los carbonilos en 201.7 ppm y 199.2 ppm de C-6 y C-3 respectivamente, así como en 160.5 ppm la de C-5 y en 125.5 ppm la correspondiente a C-4.

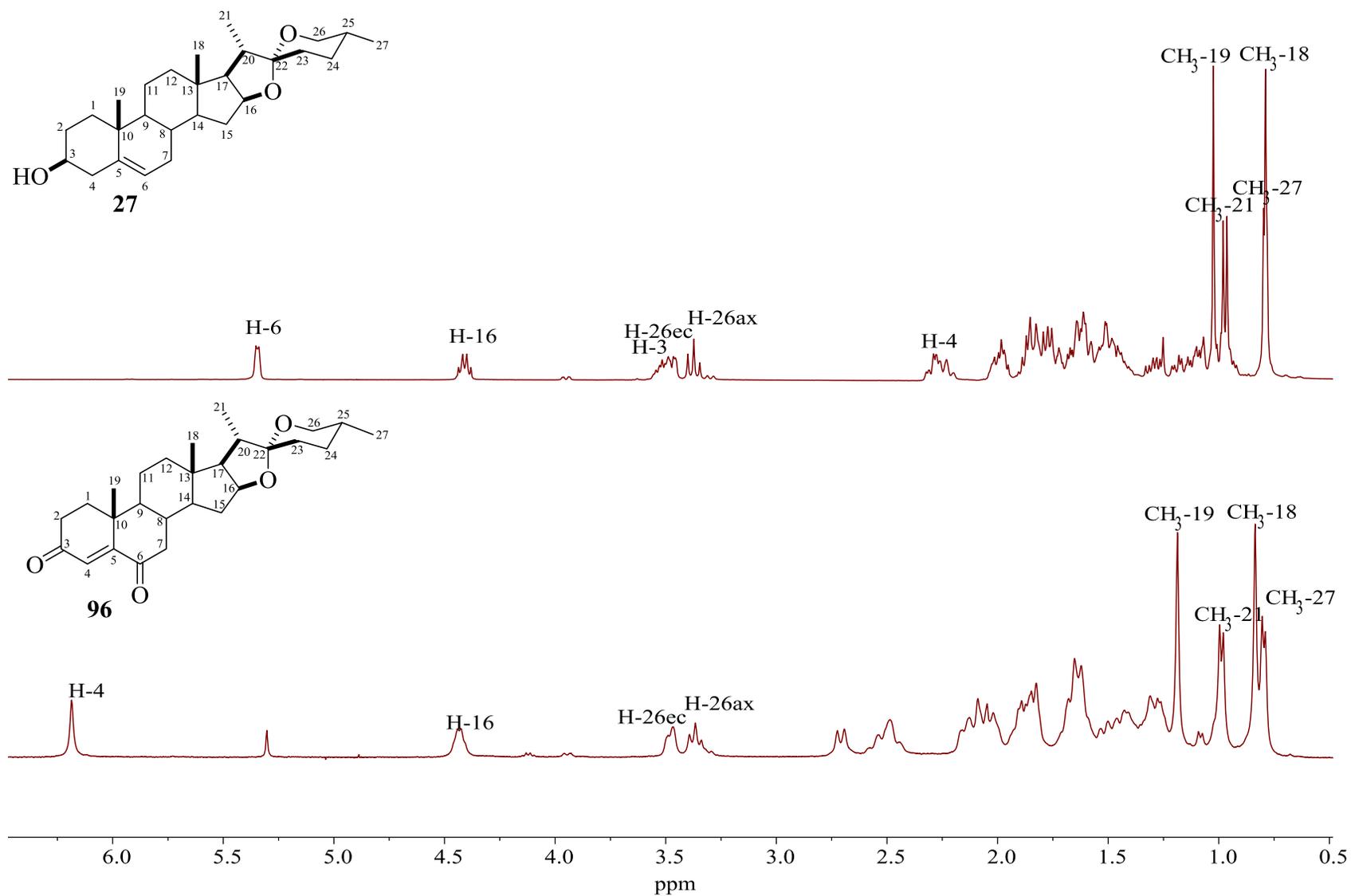


Figura 23. Comparación de los espectros de RMN de ¹H (400 MHz) de diosgenina **27** y diosgenin-4-en-3,6-diona (**96**) en CDCl₃.

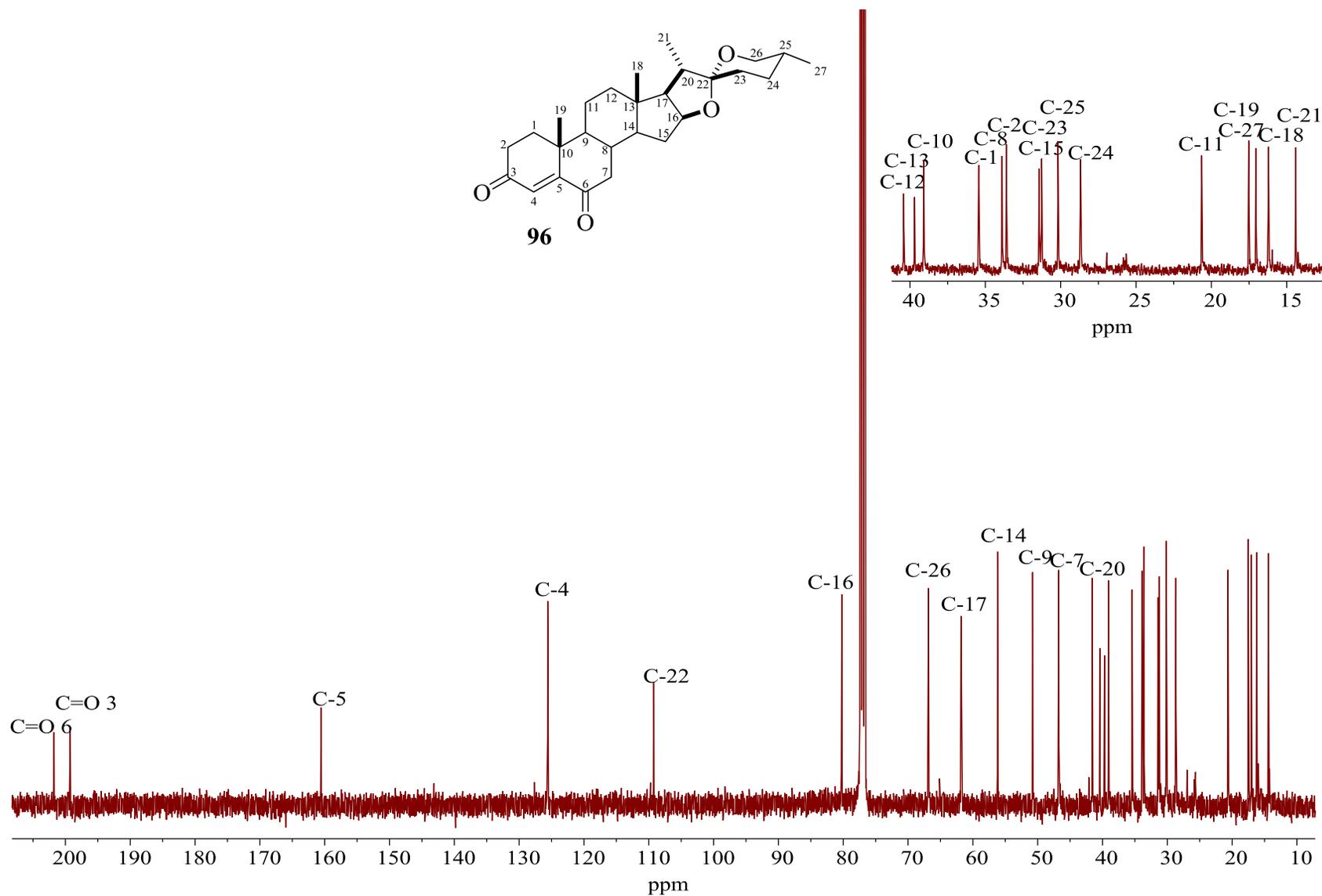


Figura 24. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) de diosgenin-4-en-3,6-diona (**96**) en CDCl_3 .

En el espectro de RMN de ^1H de la figura 25 para **97** se continua observando la señal ancha del hidrógeno vinílico H-6 en 5.34 ppm (m, 1H), mientras que la señal en 4.42 ppm del H-16 integra para un hidrógeno, los H-26 $_{ec}$ y H-26 $_{ax}$ aparecen en 3.47 ppm y 3.37 ppm, así como las señales de los metilos CH₃-19 en 1.21 ppm (s, 3H), CH₃-21 en 0.98 ppm (d, $J = 6.9$ Hz, 3H), CH₃-18 en 0.84 ppm (s, 3H) y en 0.79 ppm (d, $J = 6.3$ Hz, 3H) la del CH₃-27.

En el espectro de RMN de ^{13}C de la figura 26 se observa la señal característica del carbonilo en 210.8 ppm de C-3, así como las señales del C-5 y C-6 en 138.4 ppm y 122.5 ppm respectivamente; también aparece la señal del carbono espirocetálico C-22 en 109.2 ppm y en 80.6 ppm la del C-16 base de oxígeno.

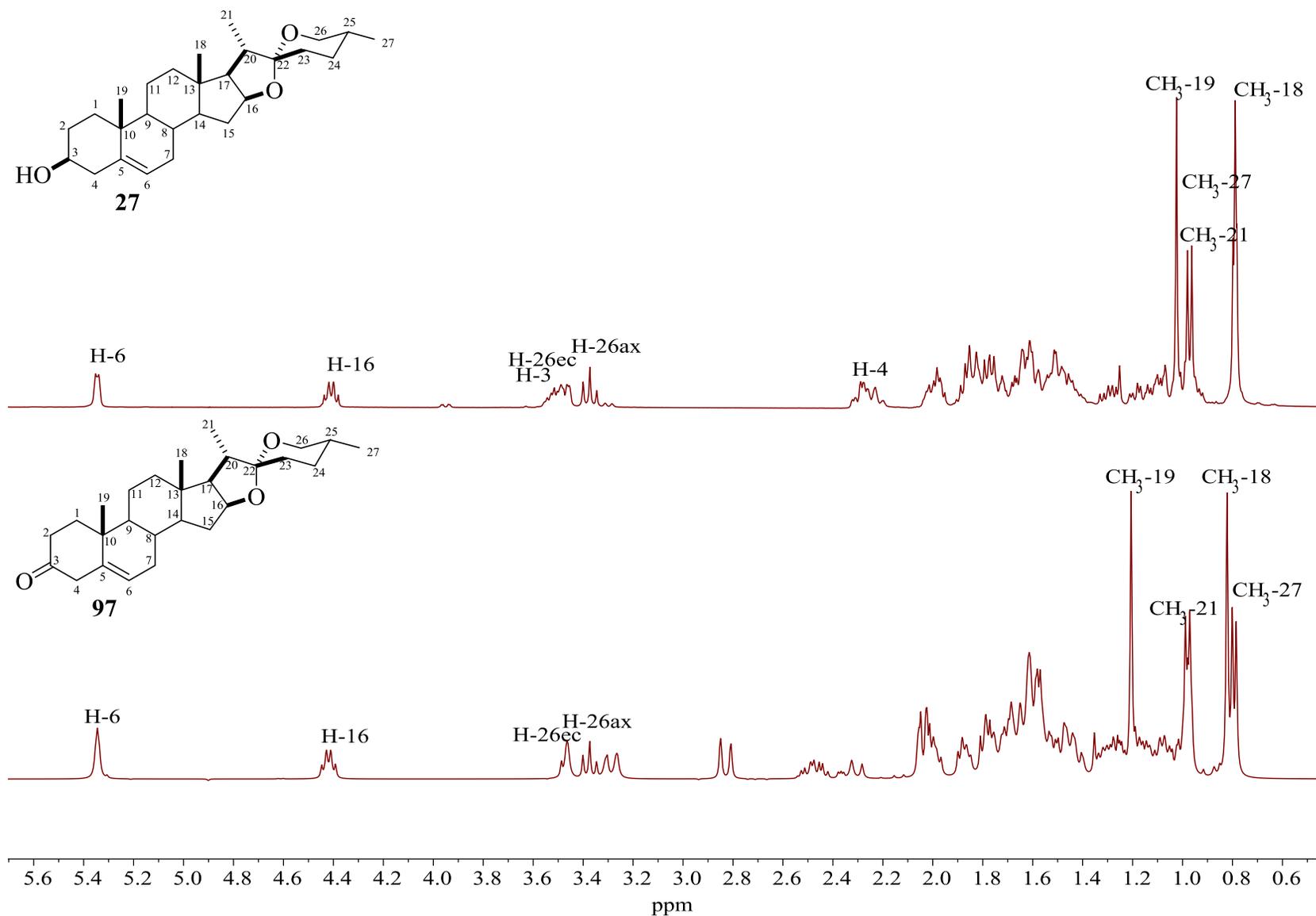


Figura 25. Comparación de los espectros de RMN de ¹H (400 MHz) de diosgenina **27** y diosgenin-5-en-3-ona (**96**) en CDCl₃.

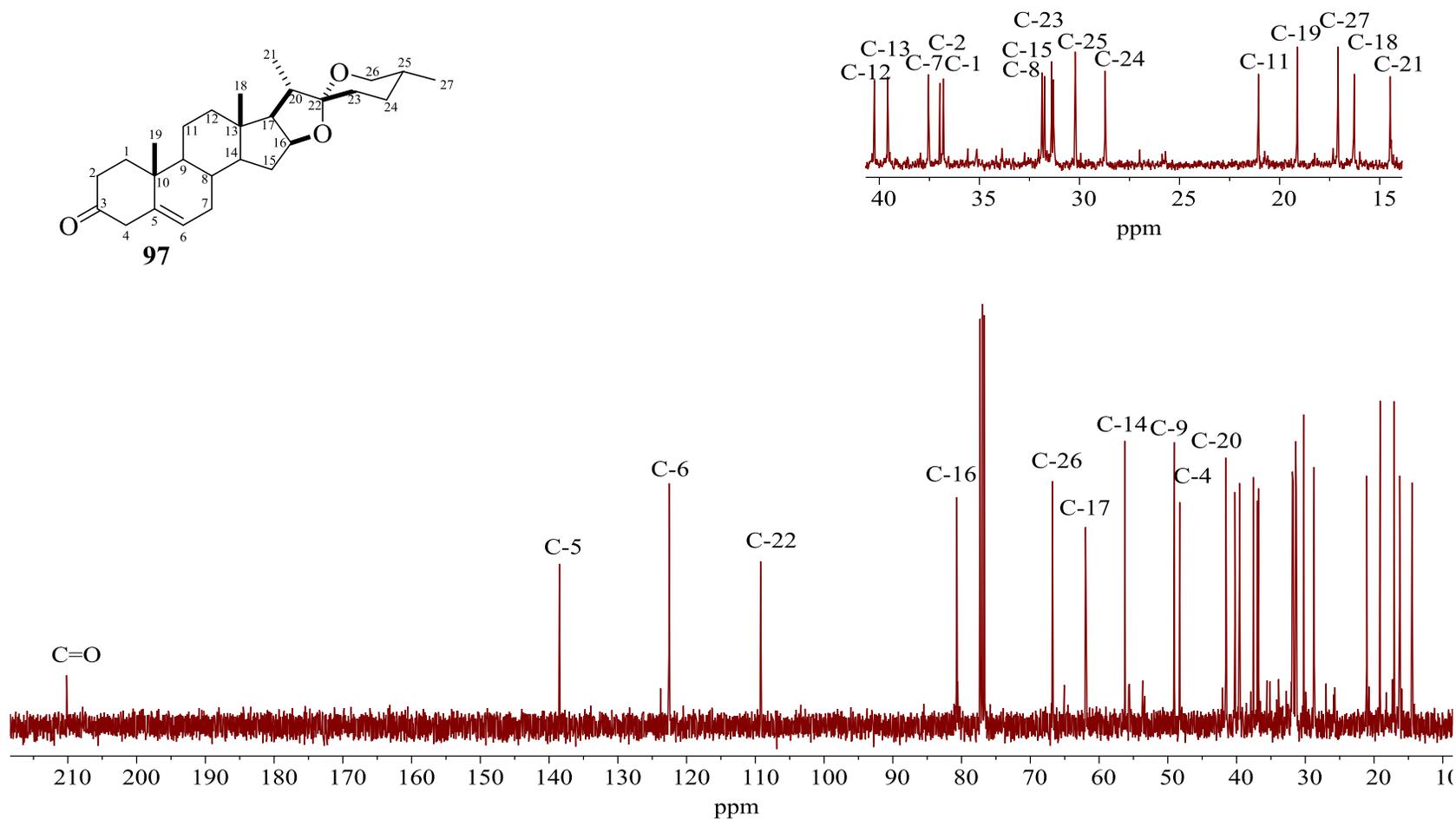


Figura 26. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) de diosgenin-5-en-3-ona (**97**) en CDCl_3 .

La asignación estructural del compuesto **36** se realizó por comparación con la RMN de ^1H de la diosgenina **27** y con los datos reportados (Figura 27).³⁷

En el espectro de RMN de ^1H de la figura 27 para **36**, se observa una señal simple desplazada a mayor frecuencia del hidrógeno vinílico H-4 en 5.73 ppm, una señal múltiple del H-16 en 4.41 ppm que integra para un hidrógeno, en 3.48 ppm y 3.37 ppm se asignaron los H-26 $_{ec}$ y H-26 $_{ax}$ respectivamente, mientras que las señales de los metilos en 1.19 ppm (s, 3H) se asignaron a CH₃-19, la de 0.97 ppm (d, $J = 6.9$ Hz, 3H) al CH₃-21, la de 0.82 ppm (s, 3H) a CH₃-18 y la señal (d, $J = 6.3$ Hz, 3H) del CH₃-27 se asignó en 0.79 ppm.

En el espectro de RMN de ^{13}C de la figura 28 se confirmó la obtención del sistema carbonílico α,β -insaturado, ya que se observan señales características en 199.4 ppm del carbonilo C-3, en 171.1 ppm la del C-5 y en 123.8 ppm la señal que corresponde a C-4.

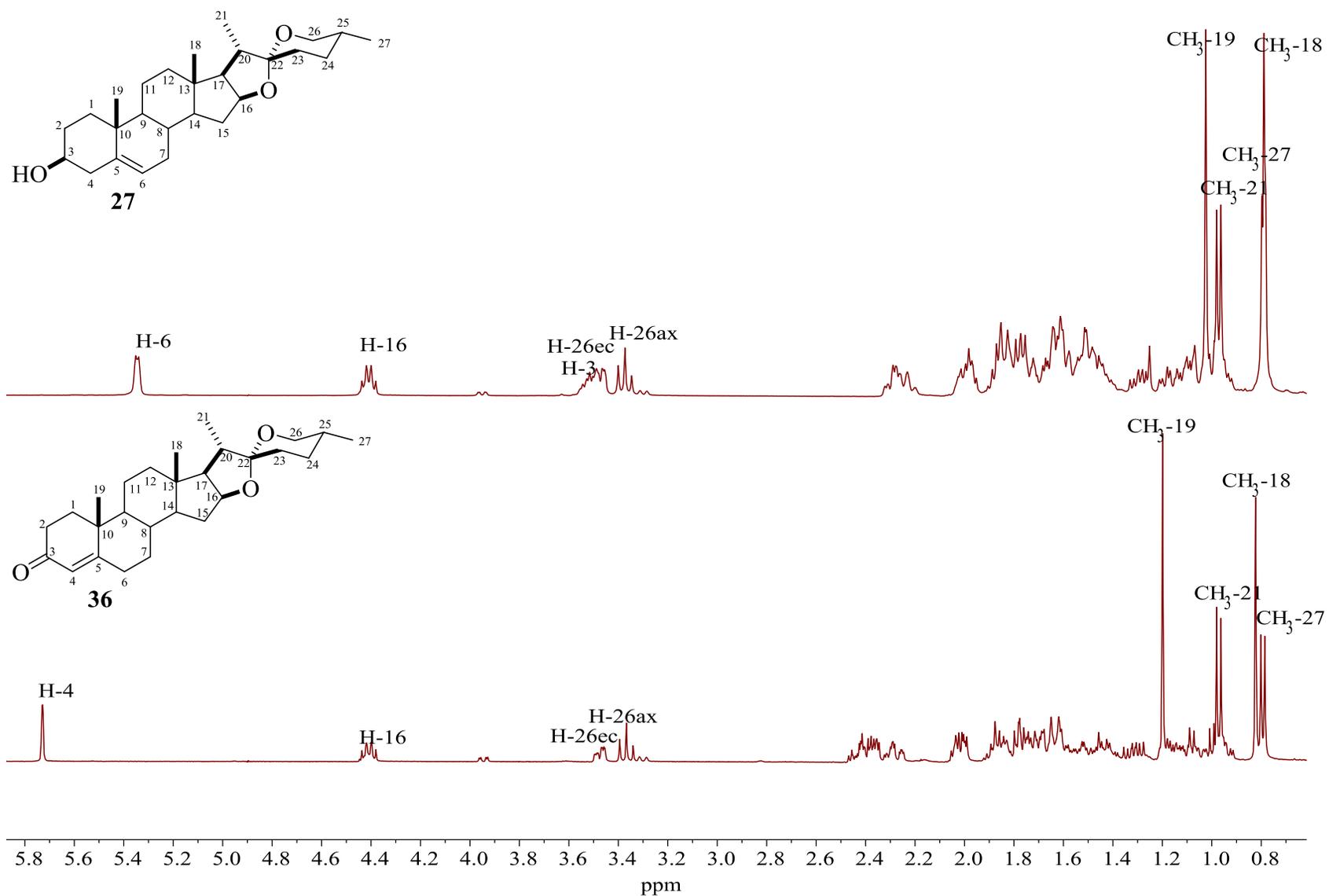


Figura 27. Comparación de los espectros de RMN de ^1H (400 MHz) de diosgenina **27** y diosgenona **36** en CDCl_3 .

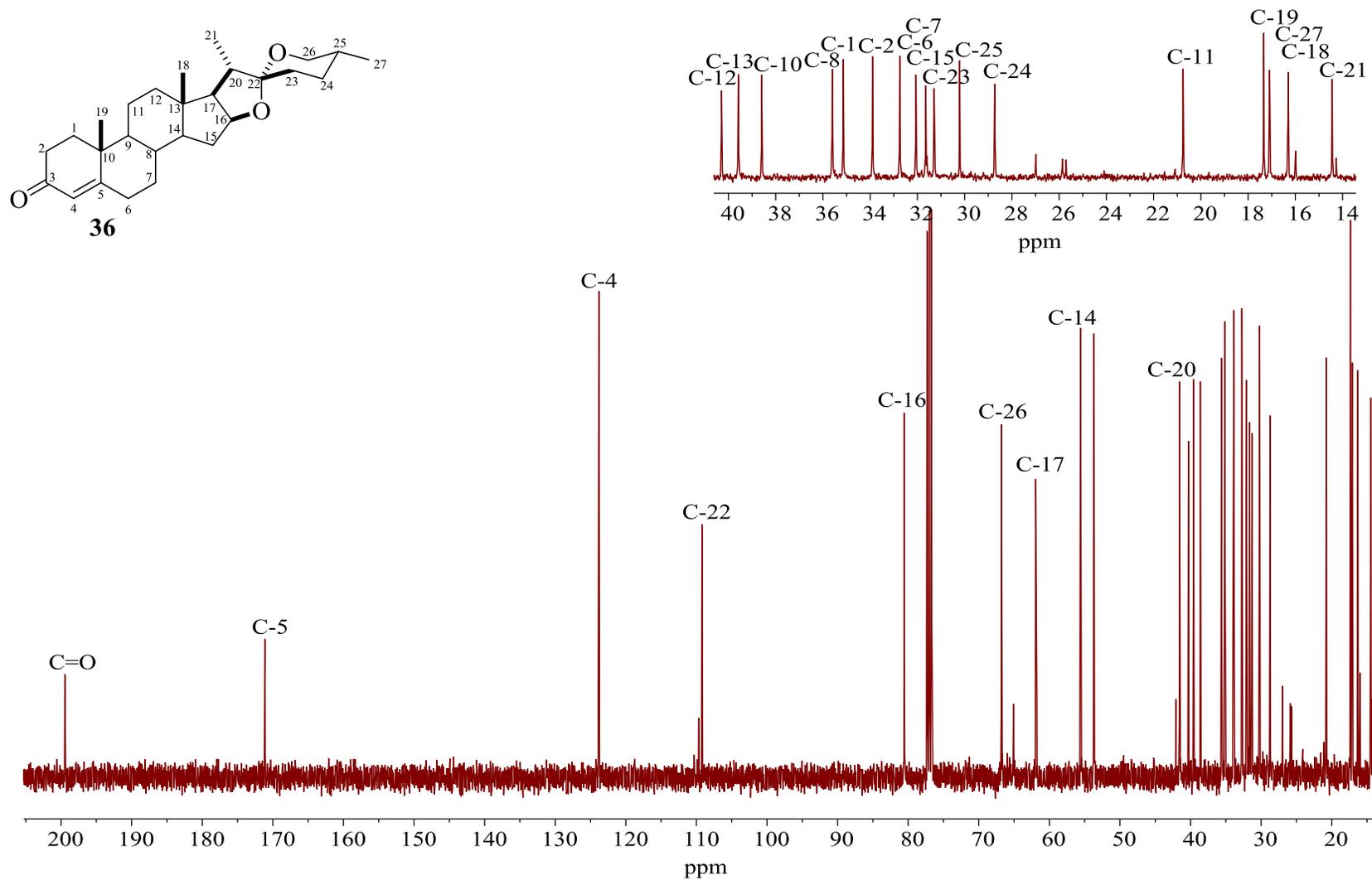
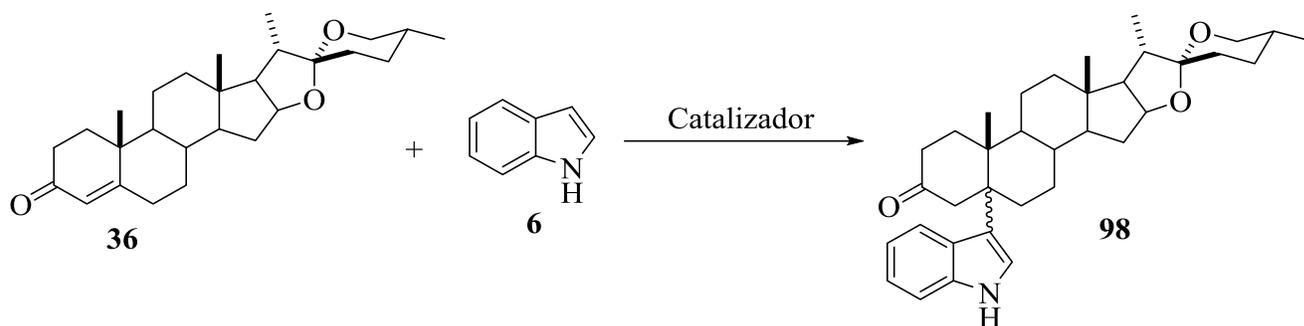


Figura 28. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) de diosgenona **36** en CDCl_3 .

6.5 Reactividad de la enona **36** frente a la adición nucleofílica del indol

El estudio de la reactividad del sustrato **36** frente a la adición de indol **6** se llevó a cabo modificando algunas condiciones de reacción como se describe en la tabla 4, observando que con el uso de etanol como disolvente se obtiene el nuevo derivado **98** en rendimientos pobres del 8-11 % con recuperación de la materia prima **36** (80-91 %).



Esquema 31. Obtención del nuevo compuesto **98**.

Tabla 4. Ensayos de reactividad de la enona **36**.

Ensayo	Catalizador	% mol	Tiempo	Disolvente	Rendimiento (%)
1	CeCl ₃ · 7H ₂ O/	5	24 h	Acetonitrilo	Trazas
	NaI	5	Reflujo		MP 91
2	CeCl ₃ · 7H ₂ O/	5	24 h	Etanol	8.4
	NaI	5	Reflujo		MP 87
3	CeCl ₃ · 7H ₂ O/	20	24 h	Etanol	11
	NaI	20	Reflujo		MP 80

*MP= MATERIA PRIMA

La obtención del compuesto **98** se confirmó por comparación con los espectros de RMN de hidrógeno de la enona **36**, con el producto aislado después de la purificación por cromatografía en columna (Figura 29), observando señales características de indol en la región de 7.16 ppm a 8.27 ppm, y la desaparición tanto del H-3' como la de la señal del hidrógeno vinílico H-4 en 5.73 ppm, también se observaron señales características del sistema esteroidal: en 4.45 ppm del H-16 α , así como los H-26 ec y H-26 ax en 3.48 ppm y 3.39 ppm. También se confirmó la presencia de las señales de los metilos CH₃-19 en 1.12 ppm (s, 3H), CH₃-21 en 1.00 ppm (d, J = 6.8 Hz, 3H), CH₃-18 en 0.84 ppm (s, 3H) y en 0.80 ppm (d, J = 6.2 Hz, 3H) la del CH₃-27.

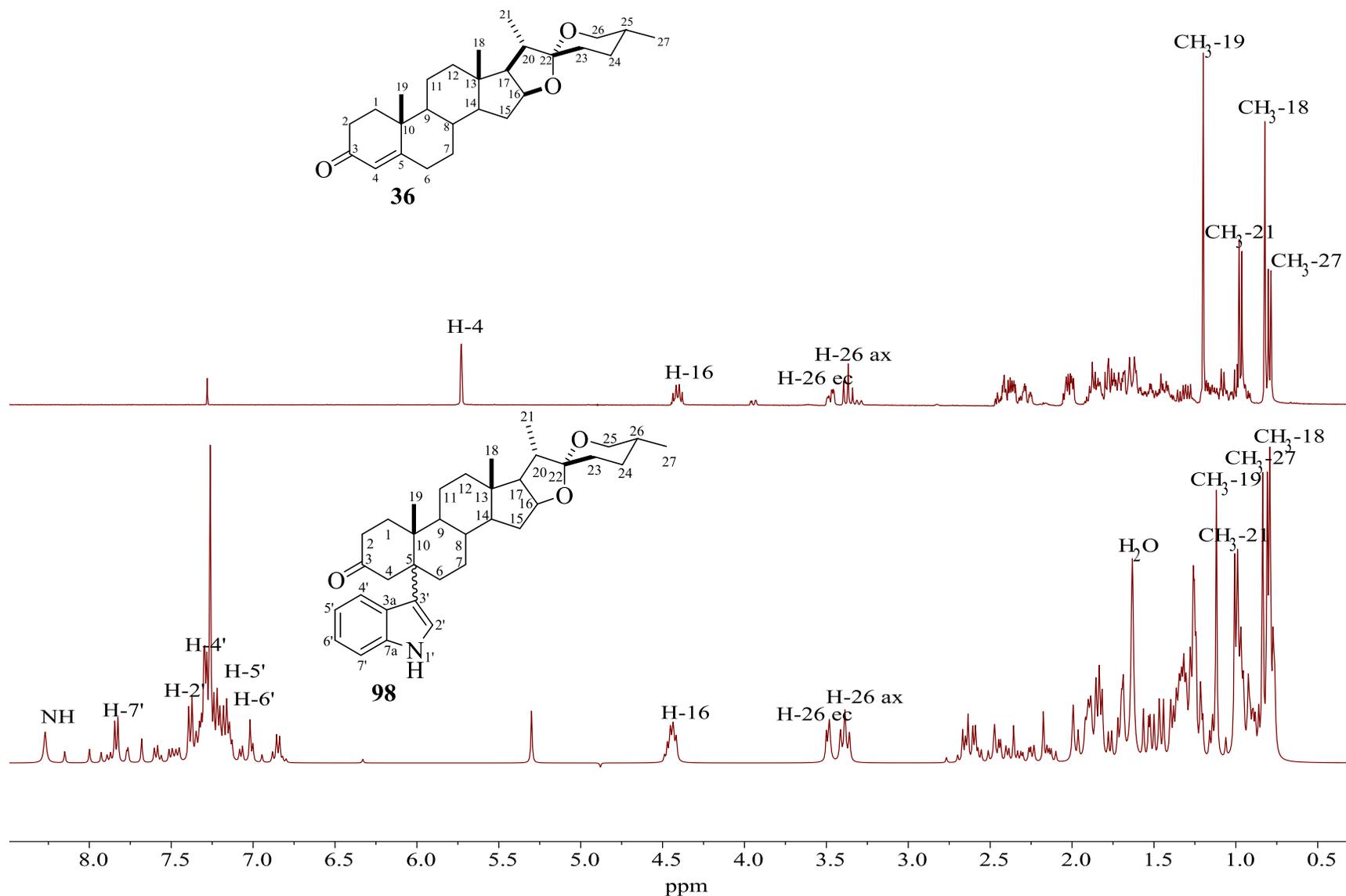
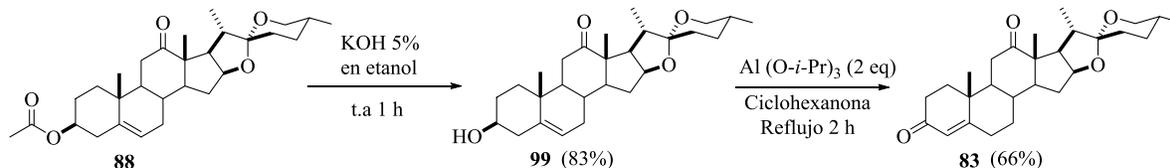


Figura 29. Comparación de los espectros de RMN de ^1H (400 MHz) de diosgenona **36** y el nuevo derivado **98** en CDCl_3 .

6.6 Obtención de la cetona α,β -insaturada **83** a partir de acetato de botogenina **88**

Para la obtención de la cetona α,β -insaturada **83** se inició con la hidrólisis del acetato de botogenina **88** en KOH al 5 % en etanol, posteriormente se realizó la oxidación de Oppenauer,⁶¹ observando que después de dos horas a reflujo seguido de una filtración sobre sílica gel con hexano y hexano/acetato de etilo (9:1) se obtiene la cetona α,β -insaturada **83** en un rendimiento del 66 % (Esquema 32).



Esquema 32. Obtención del compuesto **83**.

La asignación estructural de **83** se realizó mediante el análisis de RMN de ^1H y ^{13}C y por comparación con la materia prima botogenina **99**, ya que no se encontró información espectroscópica.

En el espectro de RMN de ^1H de la figura 30 para **83**, se observa una señal simple desplazada a mayor frecuencia del hidrógeno vinílico H-4 en 5.78 ppm, una señal múltiple del H-16 en 4.36 ppm que integra para un hidrógeno, en 3.50 ppm y 3.35 ppm se asignaron los H-26 ec y H-26 ax respectivamente, mientras que las señales de los metilos en 1.28 ppm (s, 3H) se asignaron a CH₃-19, la de 1.11 ppm (s, 3H) a CH₃-18, la de 1.07 ppm (d, $J = 7.0$ Hz, 3H) al CH₃-21 y la señal (d, $J = 6.3$ Hz, 3H) del CH₃-27 se asignó en 0.80 ppm.

En el espectro de RMN de ^{13}C de la figura 31 se confirmó la formación del sistema carbonílico α,β -insaturado, ya que se observan señales características en 211.9 ppm del carbonilo C-12, en 198.7 ppm del carbonilo C-3, en 168.4 ppm la del C-5 y en 124.6 ppm la señal que corresponde a C-4.

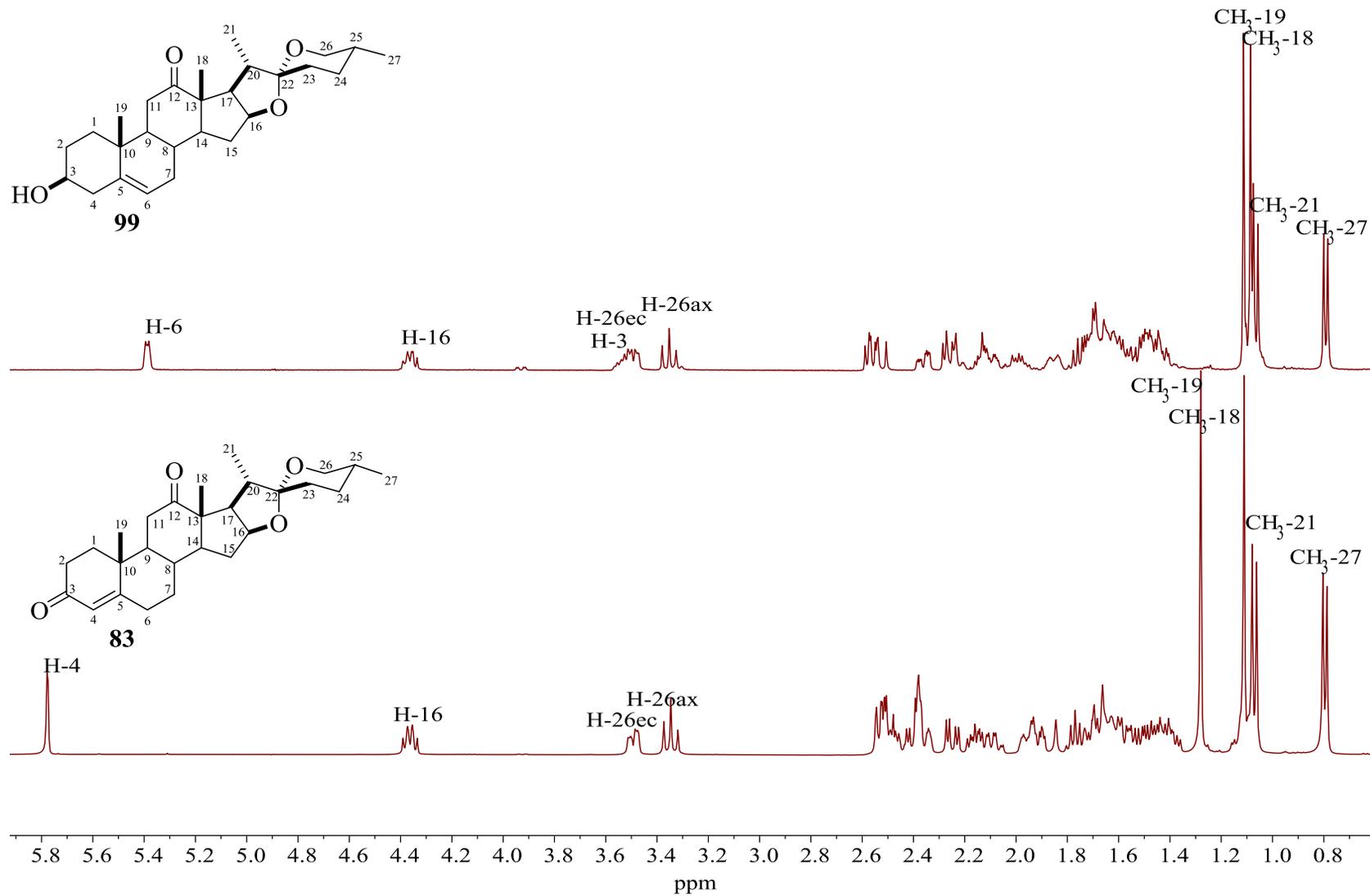


Figura 30. Comparación de los espectros de RMN de ^1H (400 MHz) de botogenina **99** y el nuevo derivado **83** en CDCl_3 .

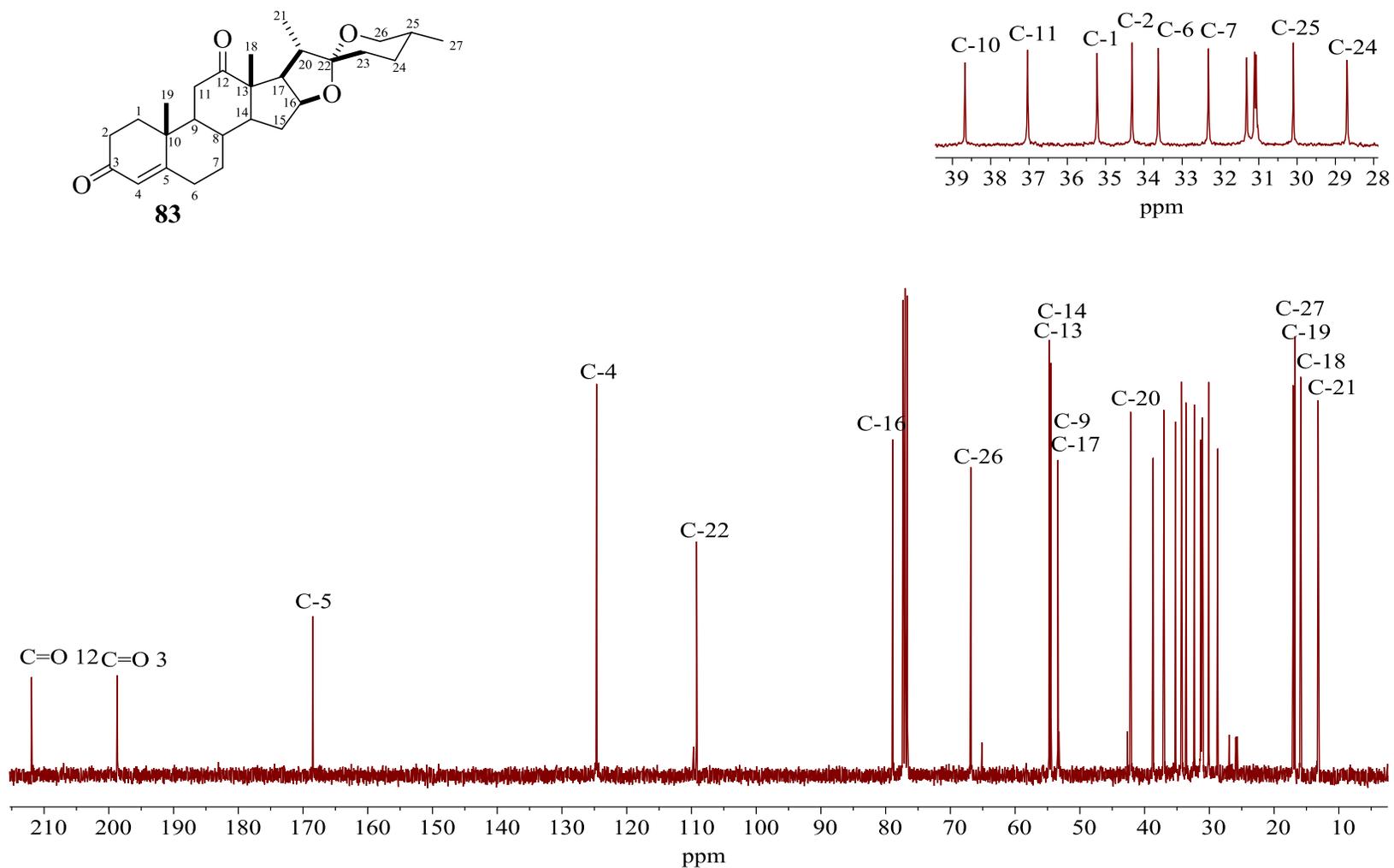
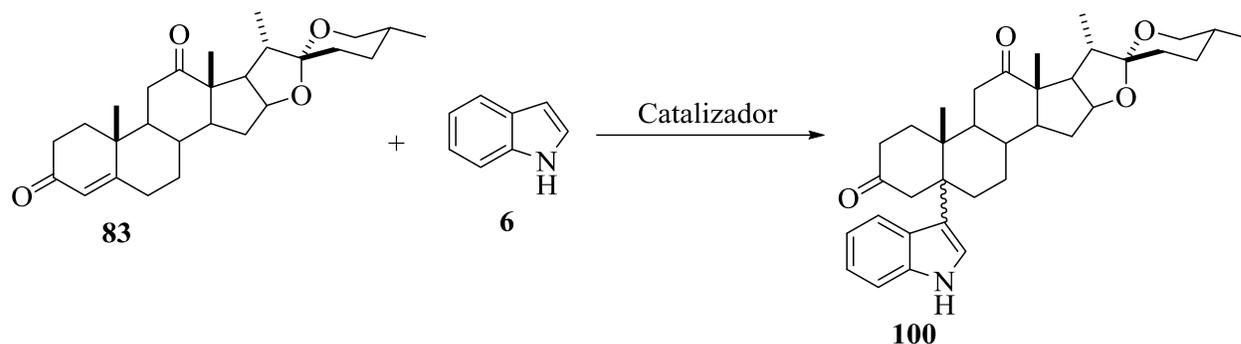


Figura 31. Espectros de RMN de ^{13}C (100 MHz) de la enona **83** en CDCl_3 .

6.7 Reactividad de la enona **83** frente a la adición nucleofílica del indol

En relación a la reactividad del sustrato **83** con el indol **6**, se realizaron diferentes ensayos, en la tabla 5 se muestran los detalles, la reacción procede con etanol dando el producto deseado en trazas del 7 % con recuperación de la materia prima.



Esquema 33. Obtención del nuevo compuesto **100**.

Tabla 5. Ensayos de la reactividad de la enona 83 .					
Ensayo	Catalizador	% mol	Tiempo	Disolvente	Rendimiento (%)
1	CeCl ₃ · 7H ₂ O/	5	24 h	Acetonitrilo	NR
	NaI	5	Reflujo		MP 92
2	CeCl ₃ · 7H ₂ O/	20	24 h	Acetonitrilo	NR
	NaI	20	Reflujo		MP 90
3	CeCl ₃ · 7H ₂ O/	20	24 h	Etanol	7
	NaI	20	Reflujo		MP 81

*NR= NO REACCIONA

*MP= MATERIA PRIMA

Mediante el espectro de RMN de ¹H se logró identificar la formación del compuesto **100**, debido a la ausencia del H-3' del indol y la desaparición de la señal simple del hidrógeno vinílico H-4, sin embargo en la región de NH se logra apreciar que el producto se obtiene en mezcla diastereomérica.

En el espectro de RMN de ¹H de **100** se observan las señales del indol a mayor frecuencia; la señal simple del grupo NH se asignó en 8.03 ppm, en la región de 7.10 ppm a 7.84 ppm se encuentran las señales de los hidrógenos aromáticos del anillo heterocíclico, también se observan señales características del sistema esteroideal, en la región de 3.50 ppm

y 3.35 ppm para los H-26 ec y H-26 ax respectivamente, mientras que las señales de los metilos en 1.27 ppm (s, 3H) se asignaron a CH₃-19, la de 1.11 ppm (s, 3H) a CH₃-18, la de 1.07 ppm (d, $J = 7.0$ Hz, 3H) al CH₃-21 y la señal (d, $J = 6.3$ Hz, 3H) del CH₃-27 se asignó en 0.80 ppm (Figura 32).

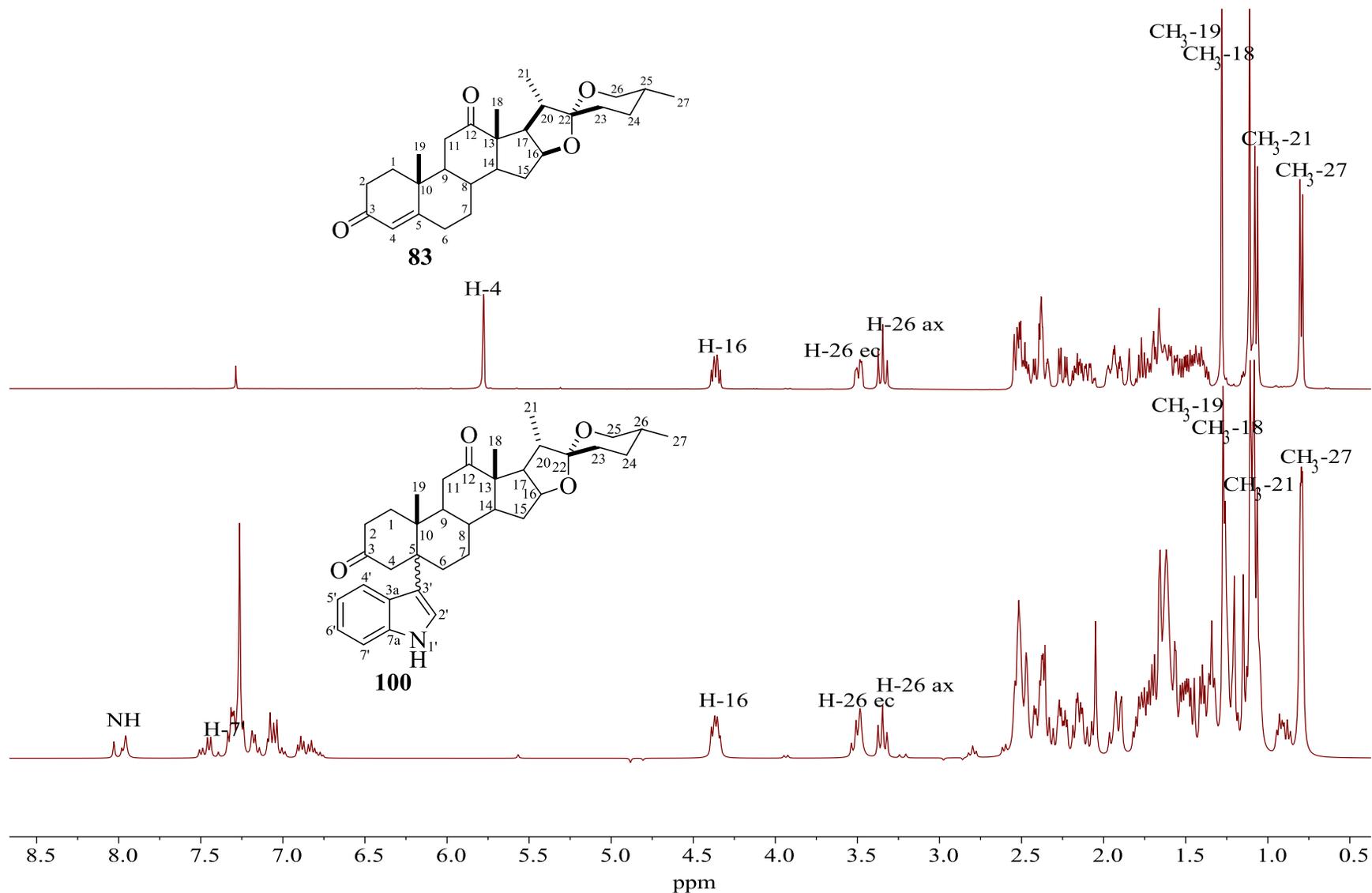
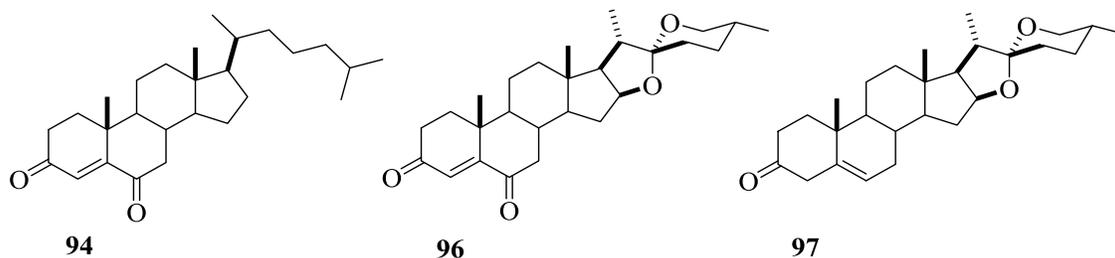


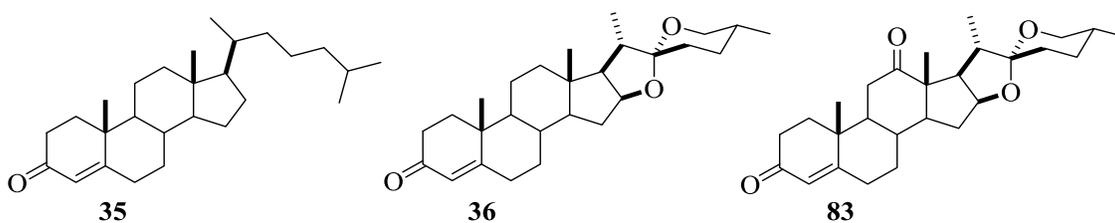
Figura 32. Comparación de los espectros de RMN de ^1H (400 MHz) de la enona **83** y el nuevo derivado **100** en CDCl_3 .

7. CONCLUSIONES

En la búsqueda para optimizar los rendimientos de los productos carbonílicos α,β -insaturadas de colesterol **34**, diosgenina **27** y botogenina **99**, se encontró una nueva metodología para la obtención compuestos **94**, **96** y **97** en buenos rendimientos vía el uso de PCC.



Se establecieron nuevas condiciones de reacción para obtener las enonas **35**, **36** y **83** en buenos rendimientos mediante la oxidación de Oppenauer.



En relación a la reactividad de los compuestos esteroidales **35**, **36**, **83**, **85** y **87**, los mejores resultados se obtuvieron al hacer reaccionar las cetonas α,β -insaturadas **85** y **87**, en presencia del catalizador $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, formando diastereoselectivamente los nuevos derivados de indol **90** y **93**. Adicionalmente el compuesto **85** mostró reactividad frente al organocatalizador de tiourea **105**, formando el derivado **90**; esta última metodología resultó interesante, ya que forma parte de las primeras reacciones de compuestos esteroidales en presencia de organocatalizadores de tiourea, que a pesar de formar el producto en bajo rendimiento, por experiencias anteriores, no se descarta la posibilidad de que estos rendimientos puedan incrementarse notablemente haciendo uso de microondas con esta metodología.

Para los compuestos **90** y **93** se propuso sustitución α del indol en C-23 con ayuda del experimento de 2D NOESY, esto debido a que en el análisis de este espectro se observó una correlación a través del espacio del H-7 del indol con el H-16 α del esteroide.

Las cetonas α,β -insaturadas en el anillo A **35**, **36** y **37** fueron menos reactivas que las enonas colestánicas **85** y **87** frente a la adición de indol, ya que en iguales condiciones de reacción forman los productos deseados en trazas y mezcla diastereomérica.

8. REFERENCIAS

1. Bhatti, H. N.; Khera, R. A.; *Steroids*, **2012**, 77, 1267-1290.
2. Hanson, J. R.; *Natural Product Reports*, **2010**, 27, 887-899.
3. Zhang, Y. L.; Li, Y. F.; Shi, X. L.; Yu, B.; Shi, Y. K. ; Liu, H.M.; *Steroids*, **2016**, 115, 147-153.
4. Zeelen F. J.; *Principles of Medical Biology*, **1997**, 8B, 427-463.
5. Zavarzin, I. V.; Chertkova, V. V.; Levina I. S.; Chernoburova, E. I.; *Russian Chemical Reviews*, **2011**, 80, 661–682.
6. Krstic, N.; Bjelakovic, M. S.; Dabovic, M. M.; Pavlovic, V. D.; *Molecules*, **2010**, 15, 3462-3477.
7. Cui, J.; Liu, L.; Zhao, D.; Gan, C.; Huang, X.; Xiao, Q.; Qi B.; Yang, L.; Huang, Y.; *Steroids*, **2015**, 95, 32-38.
8. Stork, G.; West, F.; Hee-Yoon, L. Isaacs, R.; Manabe, S.; *Journal of the American Chemical Society*, **1996**, 118, 10660-10661.
9. Attard, G.; Reid, A. H. M.; Yap, T. A.; Raynaud, F.; Dowsett, M.; Settatee, S.; Barrett, M.; Parker, C.; Martins, V.; Folkerd, E.; Clark, J.; Cooper, C. S.; Kaye, S. B.; Dearnaley, D.; Lee, G.; de Bono, J. S.; *Journal of Clinical Oncology*, **2008**, 26, 4563-4571.
10. a) Njar, V. C. O.; Brodie, A. M. H.; *Journal of Medicinal Chemistry*, **2015**, 58, 2077-2087. b) Purushottamachar, P.; Godbole, A. M.; Gediya, L.; Martin, M. S.; Vasaitis, T.

- S.; Kwegyir-Afful, A. K.; Ramalingam, S.; Ates-Alagoz, Z.; Njar, V. C. O.; *Journal of Medicinal Chemistry*, **2013**, 56, 4880-4898.
11. Purushottamachar, P.; Kwegyir-Afful, A. K.; Martin, M. S.; Ramamurthy, V. P.; Ramalingam, S.; Njar, V. C. O.; *ACS Medicinal Chemistry Letters*, **2016**, 7, 708–713.
12. Sandoval Ramírez, J.; Meza Reyes, S.; Montiel Smith, S.; Merino Montiel, P.; Hernández Linares, M. G.; Vega Báez, J. L.; *Revista Cubana de Química*, **2005**, 17, 167-169.
13. Litvinovskaya, R. P.; Drach, S. V.; Khripach, V. A., *Russian Journal of Organic Chemistry*, **2001**, 37:952-956.
14. Hirschmann, R.; Buchschacher, P.; Steinberg, N. G.; Fried, J. H.; Ellis, R.; Kent, G. J.; Tishler, M.; *Journal of the American Chemical Society*, **1964**, 86 (8), 1520-1527.
15. Kidwai, M.; Venkataramanan, R.; Mohan, R.; Sapra, P.; *Current Medicinal Chemistry*, **2002**, 9, 1209-1228.
16. a) Huang, L. H.; Zheng, Y-F; Lu, Y-Z; Song, C-J; Wang, Y-G; Yu, B; Liu, H-M.; *Steroids*, **2012**, 77, 710-715. b) Laitonjam, W. S.; Rajkumar, T. S.; Chingakham, B. S.; *Steroids*, **2002**, 67, 203-209.
17. Sharma, V.; Kumar, P.; Pathak, D.; *Journal of Heterocyclic Chemistry*, **2010**, 47, 491-502.
18. Bashford, K.; Cooper, A.; Kane, P.; Moody, C.; *Tetrahedron Letters*, **2002**, 43, 135-137.
19. Hür, D.; Güven, A.; *Journal of Molecular Structure (Theochem)*, **2002**, 583, 1-18.

-
20. Moore, R. E.; Cheuk, C.; Yang, X. Q. G.; Patterson, G. M. L.; Bonjouklian, R.; Smitka, T. M.; Mynderse, J. S.; Foster, R. S.; Jones, N. D.; Swartzendruber, J. K.; Deeter, J. B.; *Journal Organic Chemistry*, **1987**, 52, 1036-1043.
21. J. A. Amado y J. Flórez; Hormonas sexuales: estrógenos, gestágenos, andrógenos y anticonceptivos hormonales, Farmacología humana, Masson S.A., 3ª edición, (1997), 867-890.
22. Iriarte, A.; Liberman S.; *Boletin de la Sociedad Química de México*, **2012**, 6 (2,3).
23. Galofré, G. C.; *Revista de Medicina de la Universidad de Navarra*, **2009**, 53, 9-18.
24. Cirillo, N.; Prime, S. S.; *Journal of Cellular Biochemistry*, **2011**, 112, 1499-1505.
25. M. Joselevich; La aventura de la cortisona: química, medicina y guerra, Química y civilización; Editor Asociación química de Argentina, (2011), 117-125.
26. Uribe, O.; *Acta Medica Colombiana*; **1993**, 18, 139-144.
27. Bertram, G. Katzung; Susan B. Masters; Anthony J. Trevor; Farmacología básica y clínica: Editorial Mc Graw Hill, 11ª edición (2013), 681-724.
28. Petrow, V.; *Chemical Reviews*, **1970**, 70, 713-726.
29. León Olivares, F.; *Revista de la Sociedad Química de México*, **2001**, 45, 93-96.
30. Sirin Baymak, M.; Celik, H.; Bakirhan, N. K.; Uslu, B.; Ozkan, S. A.; *Journal of The Electrochemical Society*, **2018**, 10, 128-132.
31. Marker, R. E.; Tsukamoto, T.; Turner, T. L.; *Journal of the American Chemical Society*, **1940**, 62, 2525.
32. Djerassi, C.; *Organic Reactions*, **1951**, 6, 207-271.

33. a) Jacobs, W. A.; Craig, L. C.; *Journal of Biological Chemistry*, **1945**, 24, 617-624. b) Jeanloz, R.; von Euw, J.; *Helvetica Chimica Acta*, **1947**, 30, 801-803. c) Bernstein, S.; Heller, M.; Stolar, S. M.; *Journal of the American Chemical Society*, **1954**, 76, 5674-5678. d) Ishii, H.; *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **1961**, 9, 351-353. e) Harrison, I. T.; Velasco, M.; Djerassi, C.; *The Journal of Organic Chemistry*, **1961**, 26, 155-158. f) Iványi, Z.; Wölfling, J.; Görbe, T.; Szécsi, M.; Wittmann, T.; Schneider, G.; *Steroids*, **2010**, 75, 450-456.
34. Heusler, K.; Kalvoda J.; Wieland, P.; Wettstein, A.; *Helvetica Chimica Acta*, **1961**, 23, 179-185.
35. Miescher, K.; Wettstein, A.; *Helvetica Chimica Acta*, **1939**, 22, 1262-1268.
36. Parish, J. E.; Honda, H.; *Synthetic Communications*, **1990**, 1167-1174.
37. Pabón, A.; Escobar, G.; Vargas, E.; Cruz, V.; Notario, R.; Blair, S.; Echeverri, F.; *Molecules*, **2013**, 18, 3356-3376.
38. P. Perlmutter; *Conjugate Addition Reaction in Organic Synthesis*. Department of Chemistry, Monash University: Pergamon Press (1992).
39. Handratta, V. D.; Vasaitis, T. S.; Njar, V. C. O.; Gediya, L. K.; Kataria, R.; Chopra, P.; Newman, D.; Farquhar, R.; Guo, Z.; Qiu, Y.; Brodie, A. M. H.; *Journal of Medicinal Chemistry*, **2005**, 48, 2972-2984.

-
40. Huang, L. H.; Zheng, Y. F.; Lu, Yong-Zheng.; Song, C. J.; Wang, Y. G.; Yu, B.; Liu, Hong-Min.; *Steroids*, **2012**; 77, 710-715.
41. Gogoi, S.; Shekarrao, K.; Duarah, A.; Bora, T. C.; Gogoi, S.; Boruah, R. C.; *Steroids*, **2012**, 77, 1438-1445.
42. Mehtab, P.; Mohammed, M. A.; Akhtar, A.; Mahboob, A.; Mir Faisal, M.; *Chemical Research in Chinese Universities*, **2014**, 30, 55-62.
43. Saikia, P.; Pratim Kaishap, P.; Goswami, J.; Kumar Singh, A.; Deka Boruah, H. P.; Gogoi, S.; Boruah, R. C.; *Steroids*, 2014, 84, 36-45.
44. Romero-López, A.; Montiel-Smith, S.; Meza-Reyes, S.; Merino-Montiel, P.; Vega-Baez, J. L.; *Steroids*, **2014**, 87, 86-92.
45. Zhang, Y. L.; Li, Y. F.; Wang, J. W.; Yu, B.; Shi, Y. K.; Liu, H. M.; *Steroids*; **2016**, 109, 22-28.
46. Arenas-González, A.; Mendez-Delgado, J. A.; Merino-Montiel, P.; Padrón, J. M.; Montiel-Smith, S.; Vega-Báez, J.L.; Meza-Reyes, S.; *Steroids*, **2016**; 116, 13-19.
47. 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, 35-43.
48. Wojtkielewicz, A.; Uscinowicz, P.; Siergiejczyk, L.; Kielczewska, U.; Ratkiewicz, A.; Morzycki, J. W.; *Steroids*, **2017**, 117, 71-76.
49. Zhu, X.; Ganesan, A.; *The Journal of Organic Chemistry*, **2002**, 67, 2705-2708.
50. Tabatabaeian, K.; Mamaghani, M.; Mahmoodi, N.; Khorshidi, A.; *Synthetic Communications*, **2010**, 40, 1677-1684.
51. Moreira, V.M.; Salvador, J.A.R.; Matos Beja, A.; Paixao, J.A.; *Steroids*, **2011**, 76, 582-587.

52. Kotovshchikov, Y. N.; Latyshev, G. V.; Lukashev, N. V.; Beletskaya, I. P.; *European Journal of Organic Chemistry*, **2013**, 34, 1-11.
53. Metz, T. L.; Lutovsky, G. A.; Stanley, L. M.; *The Journal of Organic Chemistry*, **2018**, 83, 1643-1648.
54. Huang, L. H.; Zheng, Y. F.; Song, C. J.; Wang, Y. G.; Xie, Z. Y.; Lai, Y. W.; Lu, Y. Z.; Liu, H. M.; *Steroids*, **2012**; 77, 367-374.
55. a) Abdelhalim, M. M.; El-Saidi, M. M. T.; Rabie, S. T.; Elmegeed, G. A.; *Steroids*, **2007**; 72, 459-465. b) Saikia, P.; Kaishap, P.P.; Goswami, J.; Singh, A. K.; Boruah, H. P. D.; Gogoi, S.; Boruah, R. C.; *Steroids*, **2014**, 84, 36-45. c) Banday, A. H.; Giri, A. K.; Parveen, R.; Bashir, N.; *Steroids*, **2014**, 87, 93-98.
56. Corona-Díaz Alejandro.; López Y.; *Tesis de Maestría*, UMSNH, **2015**.
57. Sarkar, A.; Das, J.; Ghosh, P.; *New Journal of Chemistry*, **2017**, 17, 1-25.
58. Shawakfeh, K. Q.; Al-Said, N. H.; Al-Zoubi, R. M.; *Steroids*, **2008**, 73, 579-584.
59. Andreini M. De Paolis.; Chataigner M. I.; *Catalysis Communication*, **2015**, 63, 15. b) Demircan E.; Eymur S.; Sitki Demir A.; *Tetrahedron Asymmetry*, **2014**, 25, 443. c) Bai Z.; Ji L.; Ge Z.; Wang X.; Li R.; *Organic & Biomolecular Chemistry*, **2015**, (DOI: 10.1039/c5ob00708a). d) Yeung C.; Ziegler R.; Porco J.; Jacobsen E.; *Journal of the American Chemical Society*, **2014**, 136, 13614. e) Quiaó X.; Zhang Z.; Bo Z.; Baogen S.; Xing H.; Yang Q.; Ren Q.; *RSC Advances*, **2014**, 4, 42566.
60. (a) García-Merinos J. P.; López-Ruiz H.; López Y.; Rojas-Lima S.; *Letters in Organic Chemistry*, **2015**, 12, 33. (b) Rivas-Loaiza J. Antonio.; López-Ruiz H.; López Y.; *Tesis de Maestría*, UMSNH, **2017**.
61. Eunsook, M.; Taeyoung, C.; *Bulletin of the Korean Chemical Society*, **2009**, 30, 245-248.

62. Korde, S. S; Udasi, R. A.; Trivedi, G. K.; *Synthetic Communications*, **1997**, 27, 3419-3430.
63. Brunel, J. M.; Loncle, C.; Vidal, N.; Dherbomez, M.; Letourneux, *Steroids*, **2005**, 70, 907-912.
64. Kontiza, I.; Abatis, D.; Malakate, K.; Vagias, C.; Roussis, V.; *Steroids*, **2006**, 71, 177-181.

9. APÉNDICE

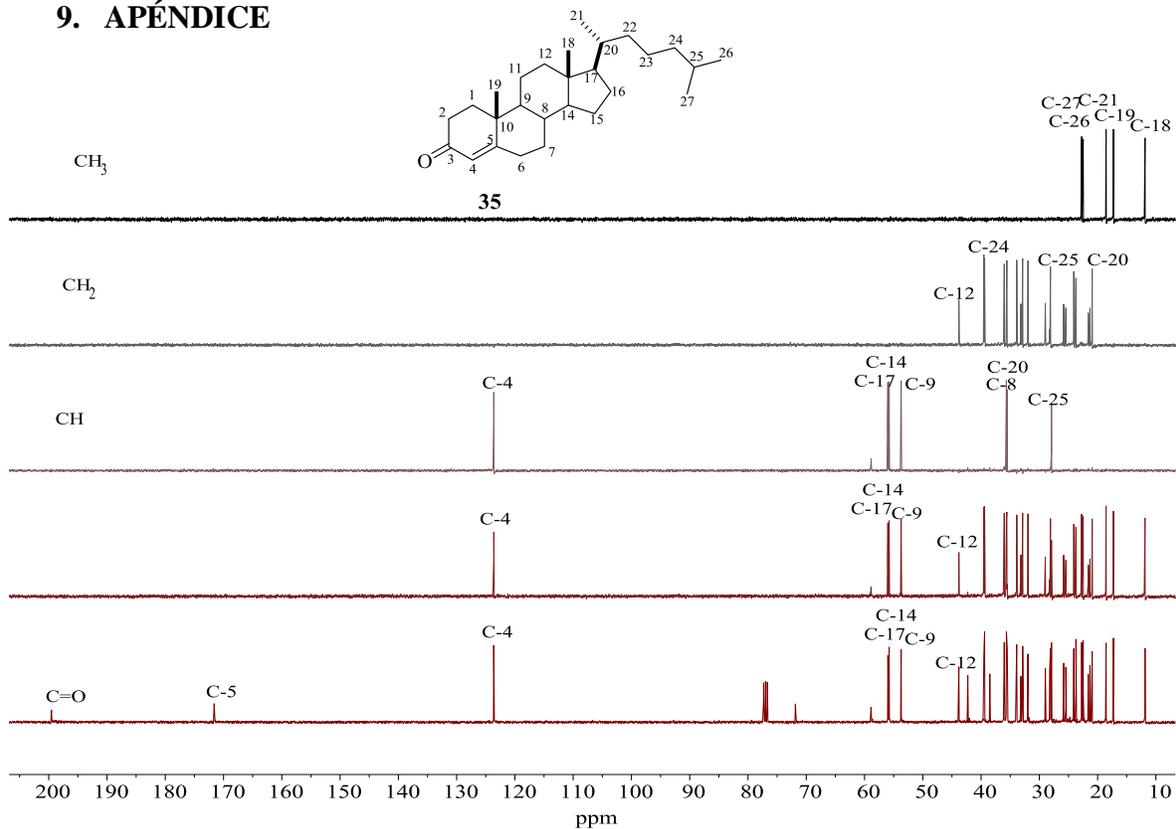


Figura 33. Espectro de RMN de ^{13}C y DEPT para el compuesto **35** en CDCl_3 .

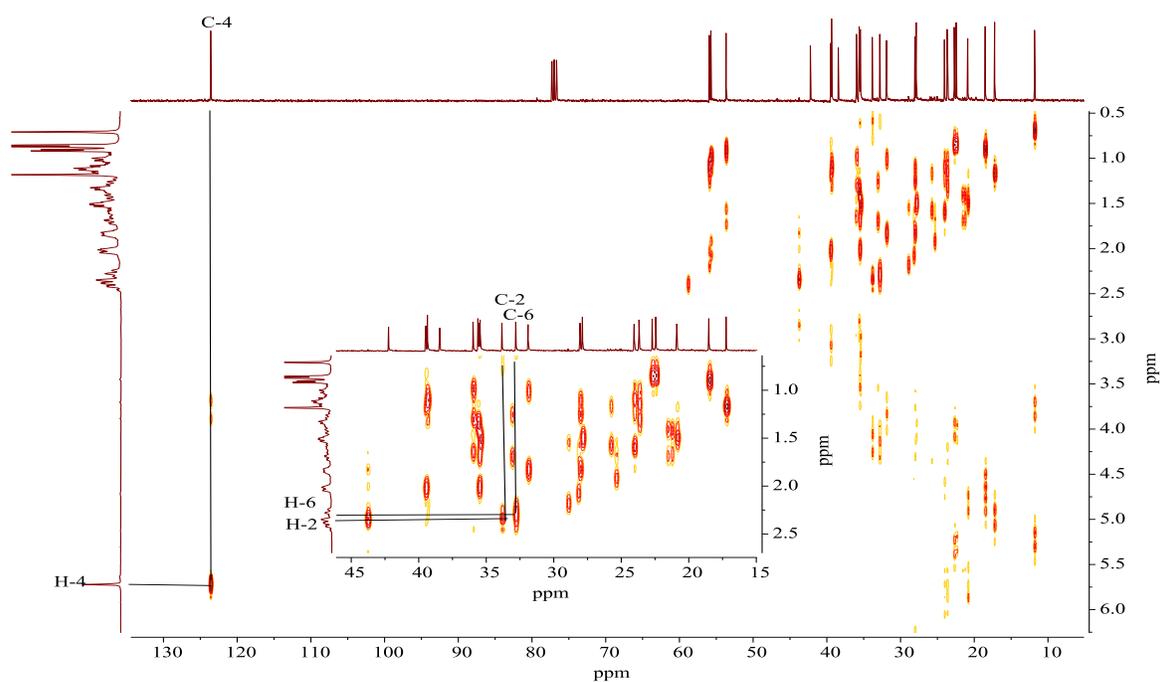


Figura 34. Espectro HETCOR de **35** en CDCl_3 .

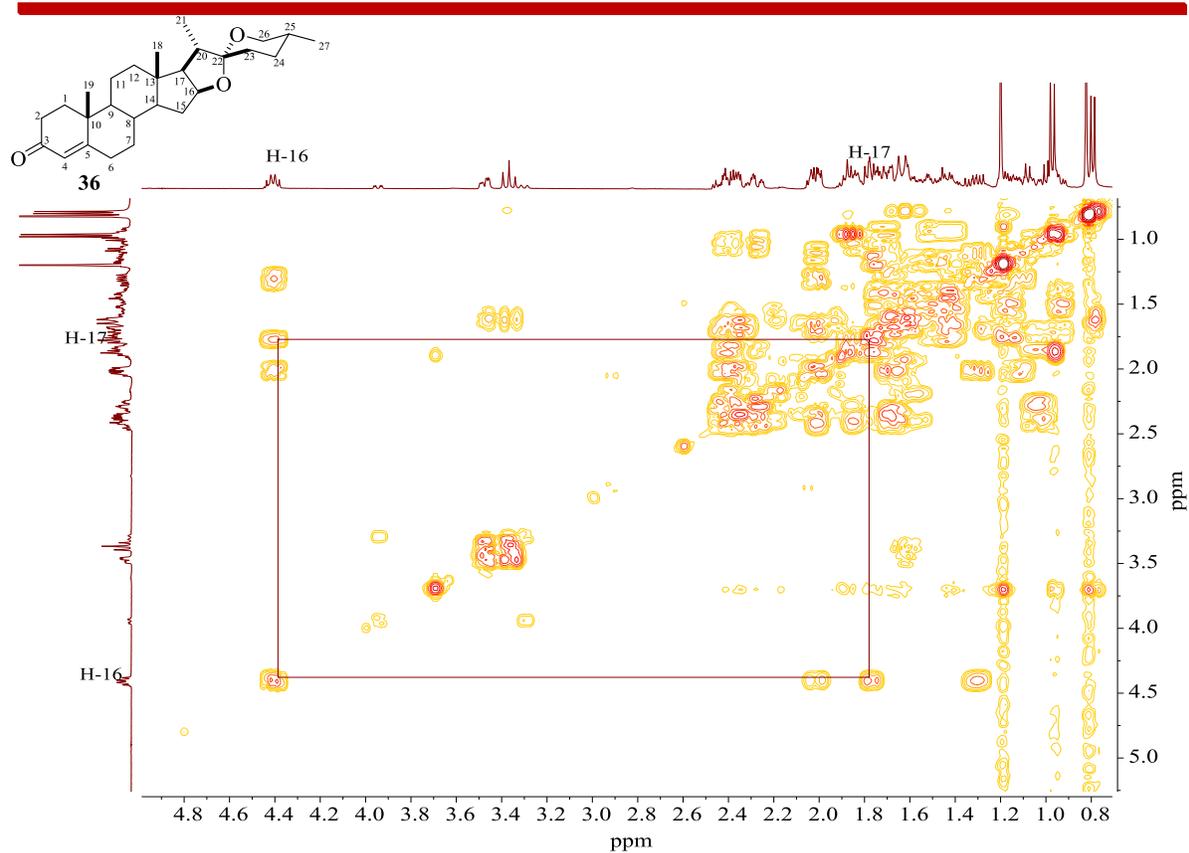


Figura 35. Espectro COSY de **36** en CDCl_3 .

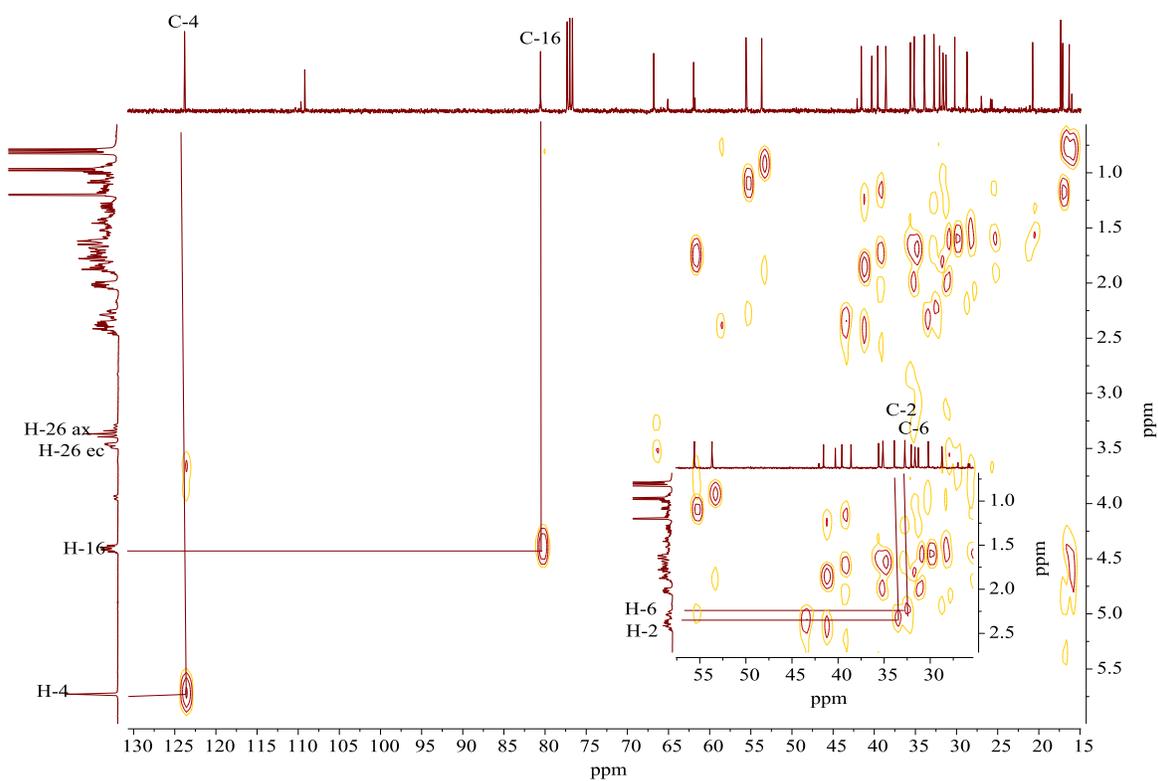


Figura 36. Espectro HETCOR de **36** en CDCl_3 .

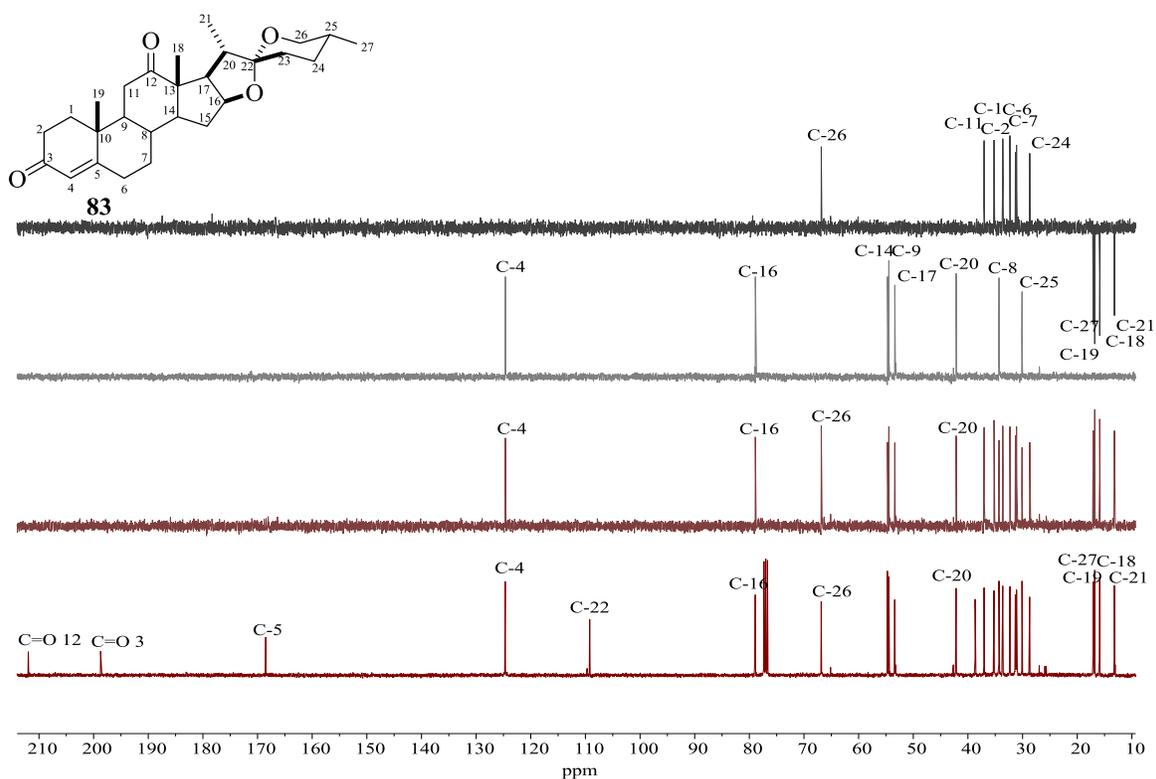


Figura 37. Espectro de RMN de ^{13}C y DEPT para el compuesto **83** en CDCl_3 .

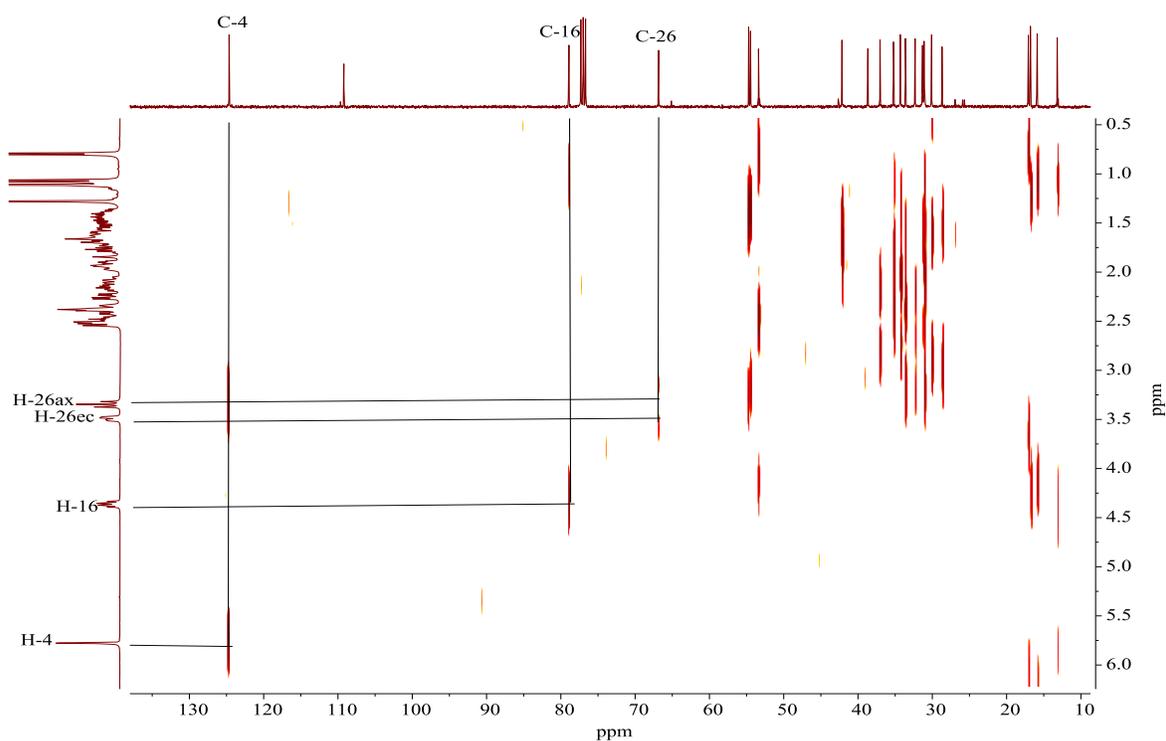


Figura 38. Espectro HETCOR de **83** en CDCl_3 .