



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN  
NICOLÁS DE HIDALGO

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO BIOLÓGICAS  
MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICAS

**“Apertura ácida de sapogeninas espirostánicas  
25R en microondas”**

**TESIS**

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

PRESENTA

**L.C.M.S. VIANEY ANGÉLICA MENDOZA JUÁREZ**

DIRECTORES

**DOCTORA EN CIENCIAS YLIANA LÓPEZ CASTRO**

**DOCTOR EN QUÍMICA JUAN PABLO GARCÍA MERINOS**

Morelia, Michoacán; Noviembre, 2021

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 el apoyo financiero de los proyectos CONACYT (286638), CIC-UMSNH y con una beca otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) con número de registro: 749181.

## I. DEDICATORIA

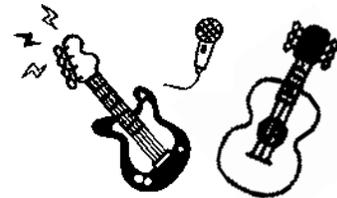
*A mis padres, que me han enseñado lo que es el amor eterno, incondicional y verdadero.*



*A mi novio, que me ha mostrado maravillas que llevo siempre en mi esencia.*



*Hermosa niña, para ti compondré una bella melodía.*



## II. AGRADECIMIENTOS

### AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Agradezco a la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por haberme formado académicamente, especialmente al Instituto de Investigaciones Químico Biológicas por el espacio otorgado dentro de sus instalaciones, en el Laboratorio de Síntesis de Productos Naturales, para la realización de este proyecto de maestría.

A la Dra. Yliana López Castro y al Dr. Juan Pablo García Merinos por la dirección de esta investigación.

A mi comité tutorial por su apoyo en mi formación académica y su tiempo dedicado para la revisión de esta tesis: D.C. Janett Betzabe González Campos, D.C. Juan Diego Hernández Hernández y D.C. Rosa Elva Norma Del Río Torres.

Agradezco especialmente al Q.F.B José Manuel Zaragoza Ríos y a la D.C. Concepción Armenta Salinas del IIQB-UMSNH, así como a la M.C. María Eugenia Ochoa Becerra, del CINVESTAV, por su colaboración en la adquisición de los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de los compuestos sintetizados durante el desarrollo de esta investigación.

## **AGRADECIMIENTOS PERSONALES**

Al D.C. Alejandro Corona, por enseñarme los primeros pasos que tenía que dar.

Al M.C. Cristhian Ovidio, por contagiarme su motivación siempre.

Al M.C. Juan Antonio Rivas, por su exigencia.

A la M.C. Rocío Huanosto, por toda su paciencia.

Al M.C. Abelardo Gutiérrez, por enseñarme lo que es “calma”.

Al M.C. Juan Alberto López, por las palabras que me dieron vida de nuevo.

Al M.C. Humberto Delgado, por la amistad más espontánea que me ha atrapado.

A la M.C. Estefanía Reyes, por su hermosa compañía.

A Jesús Cortés, por la confianza depositada en mí para formar a un futuro científico.

Al Q.F.B. José Manuel Zaragoza, por sus hermosas enseñanzas, no solamente de química, también acerca de la vida, además de saludarme siempre con una gran sonrisa.

A mi querido amigo Daniel, por siempre estar disponible para escucharme, justo cuando más lo necesito.

A mis hermanos, por existir.

A mi novio, por su cariño.

A mis amigos, por su aliento.

A mis compañeros, por su presencia.

A la vida, por dejarme conocerla.

**A mis padres, todo.**

A la Dra. Yliana, por haber confiado en mí, y también por su infinita paciencia.

Al Dr. Juan Pablo, por su inmensa alegría que pareciera nunca acabarse.

*Con mucho cariño y desde el corazón:*

*mi más grande y sincero*

*¡Gracias!*

Algunos resultados derivados de este proyecto de investigación fueron presentados en los siguientes espacios de divulgación:

- Vianey A. Mendoza-Juárez, María E. Ochoa, Rosa E. Norma del Río, Mario A. Gómez-Hurtado, Rosa Santillan, J. Pablo García-Merinos, Yliana López, con la presentación oral en modalidad virtual titulada “Apertura de sapogeninas espirostánicas asistida por microondas”, presentada en el marco de las actividades académicas organizadas en el IV Foro del Posgrado en Ciencias Químicas, celebrado del 18 al 22 de enero de 2021 por la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Vianey A. Mendoza-Juárez, María E. Ochoa, Rosa E. del Río, Gabriela Rodríguez-García, Mario A. Gómez-Hurtado, J. Pablo García-Merinos, Rosa Santillan, Yliana López, con la presentación oral en modalidad virtual del trabajo titulado “Apertura espirocetálica de sapogeninas (serie 25R) asistida por microondas”, presentada en el marco de las actividades académicas organizadas en el V Foro del Posgrado en Ciencias Químicas, celebrado del 26 al 30 de julio de 2021 por la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Vianey A. Mendoza-Juárez, María E. Ochoa, J. Pablo García-Merinos, Rosa E. del Río, Rosa Santillan, Yliana López, con el video póster presentado en modalidad virtual del trabajo titulado “Apertura de 23-ceto-sapogeninas en microondas”, presentada en el marco de las actividades académicas organizadas del Congreso Internacional de la Sociedad Química de México 2021, celebrado del 30 de agosto al 3 de septiembre de 2021 por la Sociedad Química de México.
- Vianey A. Mendoza-Juárez, Jesús E. Cortes-Cruz, J. Pablo García-Merinos, Gabriela Rodríguez-García, Rosa L. Santillan, María E. Ochoa, Rosa E. del Río, Yliana López, con la presentación oral en modalidad virtual titulada “Obtención de una pseudosapogenina vía apertura ácida en microondas”, presentada en el 16° Congreso Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación del Estado de Michoacán, celebrado del 20 al 22 de octubre de 2021 por el Instituto de Ciencia, Tecnología e Innovación.

## CONTENIDO

<b>I. DEDICATORIA.....</b>	<b>2</b>
<b>II. AGRADECIMIENTOS.....</b>	<b>3</b>
AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES .....	3
AGRADECIMIENTOS PERSONALES .....	4
<b>III. ÍNDICE DE FIGURAS .....</b>	<b>9</b>
<b>IV. ÍNDICE DE ESQUEMAS.....</b>	<b>12</b>
<b>V. ÍNDICE DE TABLAS .....</b>	<b>14</b>
<b>VI. LISTA DE COMPUESTOS SINTETIZADOS.....</b>	<b>15</b>
<b>VII. ABREVIATURAS SÍMBOLOS Y ACRÓNIMOS.....</b>	<b>16</b>
<b>VIII. RESUMEN .....</b>	<b>18</b>
<b>IX. ABSTRACT .....</b>	<b>19</b>
1. <i>INTRODUCCIÓN</i> .....	20
2. <i>ANTECEDENTES</i> .....	24
2.1. Características de las sapogeninas de la serie 25R .....	24
2.2. Apertura de los anillos E/F de las sapogeninas espirostánicas.....	25
2.3. Microondas como estrategia sintética en la obtención de análogos e híbridos esteroidales .....	33
3. <i>HIPÓTESIS</i> .....	41
4. <i>OBJETIVOS</i> .....	42
4.1. Objetivo general .....	42
4.2. Objetivos particulares .....	42
5. <i>PARTE EXPERIMENTAL</i> .....	43
5.1. Instrumentación y equipo .....	43
5.2. Obtención del acetato de diosgenina (17).....	44
5.3. Obtención del acetato de 23-cetodiosgenina (86).....	44
5.4. Obtención de los compuestos 87, 88, 89 y 90 .....	44
5.4.1. Purificación de los compuestos 87 y 88 .....	44

5.4.1.1.	20( <i>S</i> )25( <i>R</i> )-3 $\beta$ -16 $\beta$ -diacetoxi-26-cloro-colest-5-en-22-ona ( <b>87</b> ) .....	45
5.4.1.2.	20( <i>S</i> )25( <i>R</i> )-3 $\beta$ -16 $\alpha$ -diacetoxi-26-cloro-colest-5-en-22-ona ( <b>88</b> ).....	46
5.4.2.	Purificación de los compuestos <b>89</b> y <b>90</b> .....	46
5.4.2.1.	20( <i>R</i> ),25( <i>S</i> )-3 $\beta$ ,16 $\beta$ -diacetoxi-23-acetil-22,26-epoxicolest-5,22-dieno ( <b>89</b> )	47
5.4.2.2.	20( <i>S</i> ),25( <i>R</i> )-3 $\beta$ ,26-diacetoxi-23-acetil-furosta-5,22(23)dieno ( <b>90</b> ) .....	48
5.5.	Obtención del compuesto <b>12</b> .....	48
5.5.1.	20( <i>S</i> ),25( <i>R</i> )-3 $\beta$ ,26-diacetoxi-furosta-5,20(22)dieno ( <b>12</b> ).....	49
5.6.	Obtención del compuesto <b>80</b> .....	50
5.6.1.	23( <i>Z</i> ),25( <i>R</i> )-3 $\beta$ ,26-diacetoxi-16 $\beta$ ,23-epoxi-colestan-5,23-en-22-ona ( <b>80</b> )..	50
6.	<i>DISCUSIÓN DE RESULTADOS</i> .....	52
6.1.	Apertura del acetato de diosgenina con ZnCl <sub>2</sub> en microondas.....	55
6.1.1.	Análisis y caracterización estructural de los compuestos <b>87-90</b> .....	61
6.1.2.	Análisis estructural mediante RMN de la pseudodiosgenina ( <b>12</b> ).....	85
6.2.	Apertura del 22-oxo-23-cetosapogenina con ZnCl <sub>2</sub> en microondas.....	90
6.2.1.	Caracterización del compuesto epoxicolesteno ( <b>80</b> ).....	92
7.	<i>CONCLUSIONES</i> .....	95
8.	<i>BIBLIOGRAFÍA</i> .....	97
9.	<i>ANEXO</i> .....	104

### III. ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Sapogeninas colestánicas, furostánicas y espirostánicas [8]. .....	21
<b>Figura 2.</b> a) Calentamiento convencional, b) Calentamiento por microondas. ....	23
<b>Figura 3.</b> Sapogeninas de la serie 25 <i>R</i> y 25 <i>S</i> . .....	24
<b>Figura 4.</b> Derivados penta y hexacíclicos provenientes de la acetólisis del acetato de de botogenina y hecogenina.....	33
<b>Figura 5.</b> Espectro de <sup>1</sup> H-RMN (400 MHz) del compuesto <b>17</b> en CDCl <sub>3</sub> . ....	54
<b>Figura 6.</b> Espectro de <sup>1</sup> H-RMN (400 MHz) del compuesto <b>86</b> en CDCl <sub>3</sub> . ....	54
<b>Figura 7.</b> CCF del crudo de reacción para <b>87-89</b> , realizada en una fase móvil Hex/AcOEt (7:3): $R_f(\mathbf{87}) = 0.71$ , $R_f(\mathbf{88}) = 0.68$ , $R_f(\mathbf{89}) = 0.57$ , $R_f(\mathbf{90}) = 0.51$ . ....	56
<b>Figura 8.</b> CCF del crudo de reacción para <b>12</b> , realizada en una fase móvil Hex/AcOEt (9:1): $R_f(\mathbf{12}) = 0.73$ . ....	59
<b>Figura 9.</b> Espectros de <sup>1</sup> H-RMN (500 MHz) y <sup>13</sup> C-RMN (125 MHz) del compuesto <b>87</b> en CDCl <sub>3</sub> . ....	62
<b>Figura 10.</b> Espectro DEPT (100 MHz) del compuesto <b>87</b> en CDCl <sub>3</sub> . ....	63
<b>Figura 11.</b> Espectro COSY del compuesto <b>87</b> en CDCl <sub>3</sub> . ....	64
<b>Figura 12.</b> Espectro HSQC del compuesto <b>87</b> en CDCl <sub>3</sub> . ....	65
<b>Figura 13.</b> Espectro HMBC del compuesto <b>87</b> en CDCl <sub>3</sub> . ....	66
<b>Figura 14.</b> Espectros de <sup>1</sup> H-RMN (500 MHz) y <sup>13</sup> C-RMN (125 MHz) del compuesto <b>88</b> en CDCl <sub>3</sub> . ....	68
<b>Figura 15.</b> Espectro DEPT (100 MHz) del compuesto <b>88</b> en CDCl <sub>3</sub> . ....	69
<b>Figura 16.</b> Espectro COSY del compuesto <b>88</b> en CDCl <sub>3</sub> . ....	70
<b>Figura 17.</b> Espectro HSQC del compuesto <b>88</b> en CDCl <sub>3</sub> . ....	71

<b>Figura 18.</b> Espectro HMBC del compuesto <b>88</b> en CDCl <sub>3</sub> . .....	<b>72</b>
<b>Figura 19.</b> Espectros de <sup>1</sup> H-RMN (400 MHz) y <sup>13</sup> C-RMN (100 MHz) del compuesto <b>89</b> en CDCl <sub>3</sub> . .....	<b>75</b>
<b>Figura 20.</b> Espectro DEPT (100 MHz) del compuesto <b>89</b> en CDCl <sub>3</sub> . .....	<b>76</b>
<b>Figura 21.</b> Espectro COSY del compuesto <b>89</b> en CDCl <sub>3</sub> . .....	<b>77</b>
<b>Figura 22.</b> Espectro HETCOR del compuesto <b>89</b> en CDCl <sub>3</sub> . .....	<b>78</b>
<b>Figura 23.</b> Espectro de <sup>1</sup> H-RMN (400 MHz) y <sup>13</sup> C-RMN (100 MHz) del compuesto <b>90</b> en CDCl <sub>3</sub> . .....	<b>81</b>
<b>Figura 24.</b> Espectro DEPT (100 MHz) del compuesto <b>90</b> en CDCl <sub>3</sub> . .....	<b>82</b>
<b>Figura 25.</b> Espectro COSY del compuesto <b>90</b> en CDCl <sub>3</sub> . .....	<b>83</b>
<b>Figura 26.</b> Espectro HETCOR del compuesto <b>90</b> en CDCl <sub>3</sub> . .....	<b>84</b>
<b>Figura 27.</b> Espectros de <sup>1</sup> H-RMN (400 MHz) y <sup>13</sup> C-RMN (100 MHz) del compuesto <b>12</b> en CDCl <sub>3</sub> . .....	<b>86</b>
<b>Figura 28.</b> Espectro DEPT (100 MHz) del compuesto <b>12</b> en CDCl <sub>3</sub> . .....	<b>87</b>
<b>Figura 29.</b> Espectro COSY del compuesto <b>12</b> en CDCl <sub>3</sub> . .....	<b>88</b>
<b>Figura 30.</b> Espectro HETCOR del compuesto <b>12</b> en CDCl <sub>3</sub> . .....	<b>89</b>
<b>Figura 31.</b> CCF del crudo de reacción para <b>80</b> , realizada en una fase móvil Hex/AcOEt (7:3): <i>R<sub>f</sub></i> ( <b>80</b> ) = 0.44. ....	<b>91</b>
<b>Figura 32.</b> Espectro de <sup>1</sup> H-RMN (400 MHz) del compuesto <b>80</b> en CDCl <sub>3</sub> . .....	<b>93</b>
<b>Figura 33.</b> Espectro de IR del compuesto <b>87</b> . .....	<b>104</b>
<b>Figura 34.</b> HR-MS (DART) del compuesto <b>87</b> . .....	<b>104</b>

<b>Figura 35.</b> Espectro de IR del compuesto <b>88</b> . .....	<b>105</b>
<b>Figura 36.</b> HR-MS (DART) del compuesto <b>88</b> . .....	<b>105</b>
<b>Figura 37.</b> HR-MS (DART) del compuesto <b>89</b> . .....	<b>106</b>
<b>Figura 38.</b> Espectro de IR del compuesto <b>90</b> . .....	<b>106</b>
<b>Figura 39.</b> HR-MS (DART) del compuesto <b>90</b> . .....	<b>107</b>
<b>Figura 40.</b> Espectro de IR del compuesto <b>12</b> . .....	<b>107</b>
<b>Figura 41.</b> HR-MS (DART) del compuesto <b>12</b> . .....	<b>108</b>

## IV. ÍNDICE DE ESQUEMAS

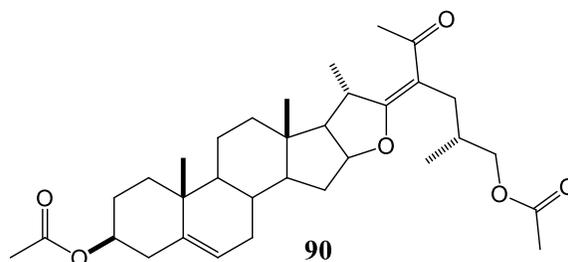
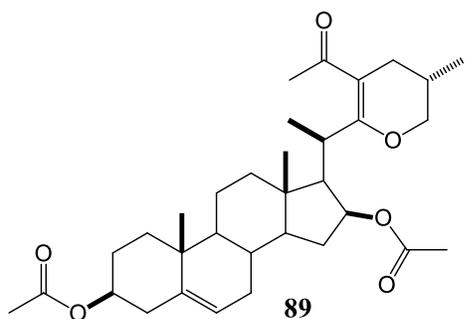
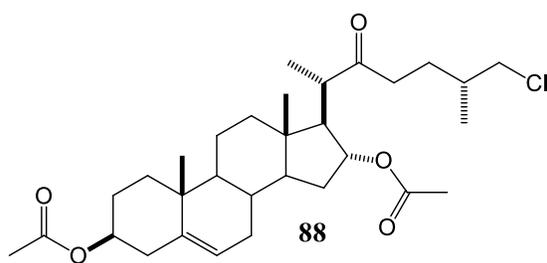
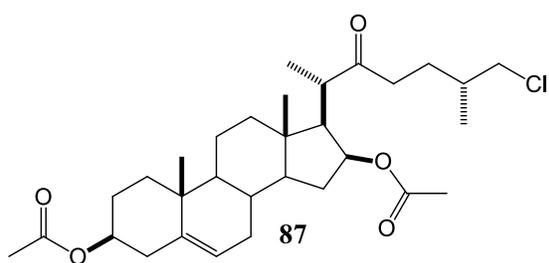
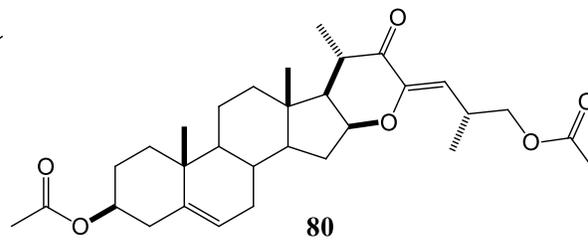
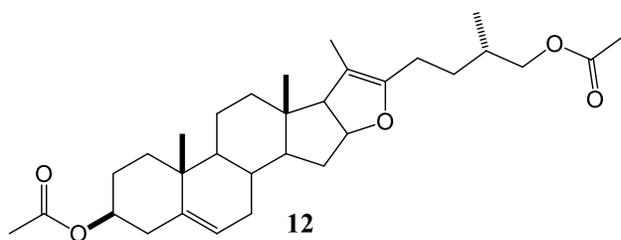
<b>Esquema 1.</b> Mecanismo general de apertura de las sapogeninas espirostánicas [8]. .....	26
<b>Esquema 2.</b> Efecto anomérico en anillo de tetrahidropirano [25]. .....	26
<b>Esquema 3.</b> Ruta de degradación de Marker. ....	27
<b>Esquema 4.</b> Obtención de la pseudodiosgenina diacetilada con reflujo de AcCl. ....	28
<b>Esquema 5.</b> Tratamiento de acetato de tigogenina con TFAT. ....	29
<b>Esquema 6.</b> Reacción de halogenación-apertura de la cadena lateral de diosgenina. ....	29
<b>Esquema 7.</b> Apertura del anillo F del pivalato de diosgenina en condiciones ácidas. ....	30
<b>Esquema 8.</b> Obtención del pivalato de solasodina <b>25</b> y <b>26</b> vía el intermediario <b>24</b> . ....	30
<b>Esquema 9.</b> Variedad de esqueletos sintetizados a partir de esmilagenina. ....	31
<b>Esquema 10.</b> Derivados de hidropirano obtenidos a partir de sapogeninas esteroidales. ....	32
<b>Esquema 11.</b> Apertura del anillo E del acetato de botogenina y hecogenina con ZnCl <sub>2</sub> en Ac <sub>2</sub> O. ....	32
<b>Esquema 12.</b> Síntesis de conjugados esteroidales con aminoácidos a partir de microondas. ....	34
<b>Esquema 13.</b> Síntesis de los compuestos híbridos de tipo <b>49</b> mediante microondas. ....	35
<b>Esquema 14.</b> Síntesis de esteroides fusionados con dicianoanilina a partir de <b>50</b> . ....	35
<b>Esquema 15.</b> Obtención del quimiosensor <b>55</b> conformado por un sistema conjugado esteroidal con base de Schiff. ....	36
<b>Esquema 16.</b> Síntesis de 4-azaesteroides a partir de diosgenina. ....	37
<b>Esquema 17.</b> Ruta sintética para la obtención de lactonas. ....	38
<b>Esquema 18.</b> Síntesis de derivados esteroidales con isoxazol a partir de 23- acetilsapogeninas. ....	38

<b>Esquema 19.</b> Productos derivados del rearrreglo de los anillos E/F de los 22-ceto-23- espirostanos con diferentes ácidos. ....	<b>39</b>
<b>Esquema 20.</b> Ruta sintética para la obtención de las materias primas <b>17</b> y <b>86</b> . ....	<b>53</b>
<b>Esquema 21.</b> Apertura ácida para el acetato de diosgenina ( <b>17</b> ) empleando microondas. ....	<b>55</b>
<b>Esquema 22.</b> Condiciones de apertura en microondas para el compuesto <b>17</b> . ....	<b>58</b>
<b>Esquema 23.</b> Obtención del derivado <b>12</b> a partir del acetato de diosgenina ( <b>17</b> ). ....	<b>59</b>
<b>Esquema 24.</b> Mecanismo propuesto para la obtención de <b>87</b> . ....	<b>67</b>
<b>Esquema 25.</b> Mecanismo propuesto para la obtención de los epímeros <b>87</b> y <b>88</b> . ....	<b>73</b>
<b>Esquema 26.</b> Mecanismo de formación para el derivado 22,26-epoxicolesteno <b>89</b> [34]. ....	<b>79</b>
<b>Esquema 27.</b> Mecanismo de formación para el derivado furosténico <b>90</b> [57]. ....	<b>85</b>
<b>Esquema 28.</b> Mecanismo de formación del compuesto <b>12</b> [8]. ....	<b>90</b>
<b>Esquema 29.</b> Obtención del derivado <b>80</b> bajo condiciones de microondas. ....	<b>91</b>
<b>Esquema 30.</b> Mecanismo de isomerización de las sapogeninas esteroideas. ....	<b>94</b>
<b>Esquema 31.</b> Mecanismo de reacción para la formación de <b>80</b> [49].....	<b>94</b>

## V. ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Ensayos de temperatura para la obtención de <b>87-90</b> empleando microondas, con 100 W y 5 minutos de reacción para cada prueba. ....	<b>56</b>
<b>Tabla 2.</b> Ensayos de tiempo de reacción para la obtención de <b>87-90</b> empleando microondas con 100 W y 100°C. ....	<b>57</b>
<b>Tabla 3.</b> Comparación entre la cantidad de las mezclas de los compuestos <b>87-88</b> y <b>89-90</b> a diferentes tiempos de reacción. ....	<b>57</b>
<b>Tabla 4.</b> Ensayos de temperatura para la obtención de <b>12</b> en microondas, con 100 W y 30 minutos de reacción para cada prueba. ....	<b>60</b>
<b>Tabla 5.</b> Ensayos de tiempo de reacción para la obtención de <b>12</b> en microondas con 100 W y 200°C. ....	<b>60</b>
<b>Tabla 6.</b> Ensayos de temperatura para la obtención de <b>80</b> en microondas, con 100 W y 5 minutos de reacción. ....	<b>92</b>

## VI. LISTA DE COMPUESTOS SINTETIZADOS



## VII. ABREVIATURAS SÍMBOLOS Y ACRÓNIMOS.

Ac. Lewis	Ácido de Lewis
ATR	Attenuated Total Reflection
ax	Axial
CCF	Cromatografía en Capa Fina
COSY	COrelated SpectroscopY
DART	Direct Analysis in Real Time
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
equiv.	Equivalente
eq.	Ecuatorial
g	Gramos
h	hora
HR-MS	High Resolution Mass Spectrometry
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single-Quantum Correlation
HETCOR	HETeronuclear CORrelation
Hz	Hertz
IR	Infrarrojo
I <sub>2</sub>	Yodo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento

MHz	MegaHertz
MO	Microondas
M	Molar
min	Minutos
mL	Mililitros
mmol	Milimol
N <sub>2</sub>	Nitrógeno
ppm	Partes por millón
<i>R<sub>f</sub></i>	Factor de retención
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
rto.	Rendimiento
Temp.	Temperatura
TMSOTf	Trifluorometanosulfonato de trimetilsililo
TFAT	Trifluorometanosulfonato de trifluoroacetilo
Tf <sub>2</sub> NH	Trifluorometanosulfonimida
t.a.	Temperatura ambiente
W	Watts
Å	Ángstrom
°C	Grados Celsius
δ	Desplazamiento químico

## VIII. RESUMEN

De estudios previos en nuestro grupo de investigación, se sabe que el tratamiento de sapogeninas espirostánicas en medio ácido genera diferentes rearrreglos orientados hacia la formación de diferentes anillaciones en el esqueleto esteroidal, a los cuales se les ha conferido diversas propiedades biológicas, además de la susceptibilidad de estas hacia la apertura de la cadena lateral, lo que las convierte en sintones de gran valor sintético en la obtención de fármacos esteroidales, así como análogos de productos naturales de interés biológico.

Debido a lo anterior, en el presente trabajo se propone una nueva metodología para generar derivados esteroidales de estructura variada, mediante de reacciones de apertura en medio ácido, del acetato de diosgenina (**17**) y del acetato de 23-cetodiosgenina (**86**), esto a través de microondas como estrategia de síntesis verde. Los compuestos sintetizados fueron caracterizados mediante métodos espectroscópicos (IR, RMN en 1D y 2D) y espectrométricos (HR-MS) para su análisis estructural.

Para el caso de la apertura ácida del acetato de diosgenina (**17**) con  $ZnCl_2$ , al usar 1,2-DCE como disolvente, se obtienen cuatro compuestos, dos derivados colestánicos **87**, **88**, un derivado epoxicolesténico **89** y uno con estructura furosténica **90**, siendo este último el producto mayoritario, seguido del colestano **87**. Adicionalmente, se encontró que al emplear THF como disolvente para la misma reacción, se obtiene de manera regioselectiva la pseudodiosgenina diacetilada **12**, intermediario clave en la síntesis de hormonas a escala industrial, lo que demuestra la versatilidad de las estructuras espirostánicas hacia la formación de diferentes derivados según las condiciones de reacción empleadas.

Por otra parte, al utilizar microondas para la apertura ácida del acetato de 23-cetodiosgenina (**86**) con  $ZnCl_2$ , en 1,2-DCE, se obtiene el derivado de cadena lateral abierta **80** en una sola etapa de síntesis, lo cual es un resultado prometedor, ya que de resultados anteriores en nuestro grupo de investigación, se conoce que mediante el método de calentamiento convencional, **80** solo se puede preparar en dos etapas de reacción a partir de **86**.

**Palabras clave:** MO, diosgenina, 23-cetosapogenina, espirocetales, epoxicolestenos.

## IX. ABSTRACT

From previous studies within our research group, it is known that the treatment of spirostane sapogenins in an acid medium generates different rearrangements on the lateral side chain, oriented towards the formation of different rings on the steroidal frameworks, to which several biological properties have been attributed, besides the ease of these towards lateral side chain opening, has made them synthons of great synthetic value in the obtaining of steroidal drugs, as well as analogues of natural products biologically interesting.

Due to the above, in the present work a new methodology is proposed in order to generate steroidal derivatives with varied structure, through different reactions in an acid medium using as starting material, diosgenin acetate (**17**) and 23-ketodiosgenin acetate (**86**), promoted by microwave as a strategy of green synthesis. The synthesized compounds were characterized by spectroscopic (IR, 1D and 2D NMR) and spectrometric (HR-MS) methods for their structural analysis.

In the case of acid opening of diosgenin acetate (**17**) with  $\text{ZnCl}_2$ , when 1,2-DCE is used as solvent, four compounds are obtained, two cholestanic derivatives **87**, **88**, an epoxycholestene derivative **89** and a furosthenic compound **90**, this last as major product, followed by cholestanic compound **87**. Additionally, it was found that by using THF as a solvent for the same reaction, diacetylated pseudodiosgenin **12** is regioselectively obtained; which is a key intermediate in the synthesis of hormones on an industrial scale, which demonstrates the versatility of spirostane structures towards the formation of several derivatives according to the reaction conditions used.

On the other hand, when using microwaves for the opening acid of 23-ketodiosgenin acetate (**86**) with  $\text{ZnCl}_2$ , in 1,2-DCE, the product coming from the lateral side chain **80** is obtained, in a single synthesis step, which is a promising result, since from the results of previous works in our research group, it is known that, by using the conventional heating method, **80** only can be prepared in two reaction steps from **86**.

**Key words:** MW, diosgenin, 23-ketosapogenin, spiroketals, epoxycholestene.

# 1. INTRODUCCIÓN

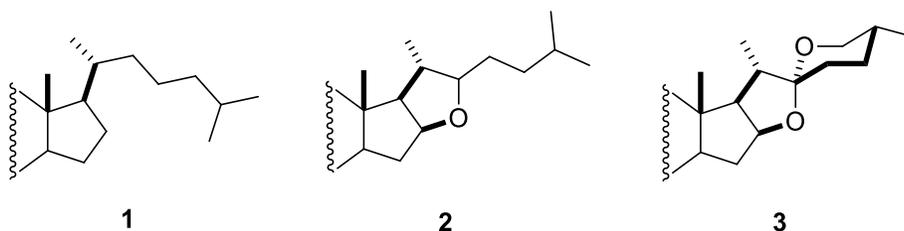
Las saponinas son compuestos glucósídicos, los cuales existen casi exclusivamente en plantas [1]; el contenido de estas depende de diversos factores como el tipo de cultivo, el estado fisiológico, la edad, la localización geográfica o el órgano vegetal [2]. Se ha observado a través de varios estudios, que la presencia de saponinas disminuye en muestras que han sido expuestas a sequía y regímenes salinos como el caso de la quinua, y que existen diferentes contenidos de saponinas en variedades de sus semillas [3].

En términos de estructura química, las saponinas pueden presentar un esqueleto de veintisiete o treinta átomos de carbono; de ahí su clasificación como “esteroidales” y “triterpénicas”. De todas las saponinas esteroidales existentes, es importante destacar a aquellas que tienen como aglicona (libre del azúcar) a la hecogenina y diosgenina, debido a que son materias primas ampliamente utilizadas en la industria de hormonas esteroidales [1,4]. En cuanto al rol biológico que exhiben las saponinas, generalmente son consideradas como parte del sistema de defensa de las plantas contra patógenos y herbívoros, esto debido principalmente a su sabor amargo característico [3].

Otro aspecto interesante sobre las saponinas es que presentan una alta actividad superficial debido a sus propiedades anfifílicas; la parte polar es atribuida a azúcares presentes en su estructura y la parte no polar se le atribuye a su porción aglicona, ya sea esteroideal o triterpénica. Debido a esto pueden ser empleadas como detergentes naturales, emulsificadores de cosméticos y productos de limpieza, así como agentes estabilizantes [4]. Además, se sabe que estos metabolitos presentan una amplia actividad biológica y farmacológica, destacándose su efecto insecticida, antiviral, antiinflamatorio, anticancerígeno, antifúngico, entre otros [3,5]; lo que ha motivado a diversas investigaciones desde los años 40's, cuando se reportó por primera vez el uso de estos compuestos como intermediarios clave en la síntesis de hormonas esteroidales [6].

Las saponinas se denominan “sapogeninas” en su forma libre del azúcar. Las sapogeninas esteroidales suelen ser de mayor interés debido a la estructura química que poseen, y por su uso en la síntesis de fármacos esteroidales [7]. Estas a su vez, pueden ser

de tipo colestánicas (1), furostánicas (2) o espirostánicas (3) (Figura 1), siendo las de tipo espirostano las que se encuentran con mayor frecuencia en el reino vegetal [8] y como consecuencia las más estudiadas, a raíz del descubrimiento de la degradación de Marker y su impacto en la historia de las hormonas esteroidales [9].



**Figura 1.** Sapogeninas colestánicas, furostánicas y espirostánicas [8].

Es importante mencionar que de estas tres pueden destacarse las sapogeninas espirostánicas debido a su mayor abundancia natural y por presentar la función espirocetálica, la cual es relativamente sencilla de modificar y funcionalizar en presencia de condiciones ácidas, por lo que a menudo son empleadas como materia prima para la obtención de derivados esteroidales con actividad farmacológica. A su vez, diversos estudios han demostrado la versatilidad de estos compuestos como intermediarios en la síntesis de análogos de productos naturales con actividad biológica.

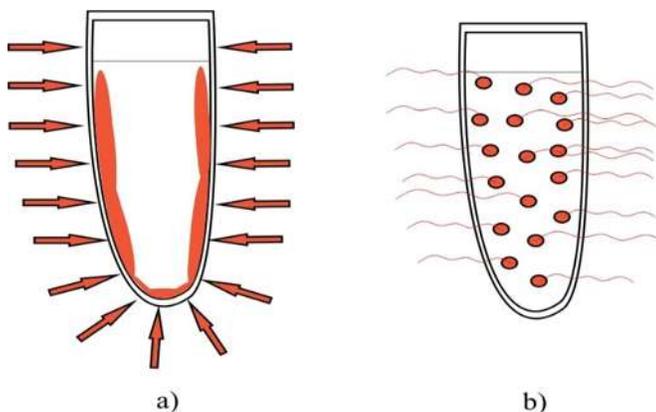
Por lo anterior, la obtención de estos compuestos a través de diferentes metodologías es de gran interés en química sintética, además por su relación con otras ramas de la ciencia, como la medicina, área de los materiales, biología, entre muchas otras. Esto último ha dado origen a que diferentes métodos sintéticos hayan sido desarrollados a lo largo de la historia de la química, sin embargo en este punto, cabe destacar que si bien la química de estos compuestos ha sido explorada ampliamente desde los años 40's, una gran cantidad de metodologías sobre todo, las reportadas muchos años atrás, a menudo han recurrido al uso de procedimientos que generan subproductos no deseados, o incluso requieren procesos que emiten gases tóxicos y de efecto invernadero o que requieren del uso de disolventes altamente cancerígenos; en este sentido en fechas actuales, existe un reciente interés por la

implementación de nuevas metodologías más amigables con el medio ambiente, que no incurran en afectaciones graves en el entorno natural.

En los últimos años la idea de crear e implementar avances significativos dentro del campo de la “química verde” ha sido un foco de atención importante dentro de la comunidad científica a nivel mundial. Este término, que en su momento fue muy novedoso por todas las consideraciones que tuvieron que hacerse para crear su definición, fue presentado por la Agencia de Protección Ambiental de EE. UU como: “*la utilización de un conjunto de principios que reducen o eliminan el uso o generación de sustancias peligrosas en el diseño, fabricación y aplicación de productos químicos*” [10]. En general, se busca adoptar este término para la mayoría de procesos químicos existentes, así como los 12 principios reportados por Anastas y Warner en los años 90’s [11], todo esto con la finalidad de construir poco a poco el camino hacia la sustentabilidad dentro del área de la química.

Uno de los principios de la química verde establece la importancia en la búsqueda de nuevas alternativas de síntesis en cuanto a la forma de suministrar energía se refiere; las reacciones fotoquímicas, la sonoquímica, así como la irradiación de microondas cumplen con este requisito, [12] y se consideran técnicas novedosas en el área de síntesis química.

El uso de microondas como método de irradiación de energía ha ido incrementado su popularidad en diversas áreas del conocimiento. En sus primeros años, esta técnica se utilizó en el área de química inorgánica y ciencia de materiales principalmente, y no fue sino hasta la mitad de los años 80’s que comenzó a aplicarse al área de química orgánica [13] con un gran éxito debido a sus bondades, que hasta hoy en día siguen aprovechándose para mejorar procesos y rutas sintéticas, como son: reducción del tiempo de reacción, mayores rendimientos, mayor selectividad, mayor pureza de los productos, simplificación de los sistemas de reacción, rapidez en los ensayos, condiciones seguras para el uso de distintos químicos, entre otras [14]; estas características de interés son resultado del fenómeno de calentamiento con microondas, que a diferencia del método de calentamiento convencional que comienza desde la superficie y va hacia el centro de la mezcla de reacción por fenómenos de conducción y convección, la absorción y transmisión de energía de microondas permite un calentamiento interno de la mezcla de reacción de manera homogénea, por lo tanto, se genera un calentamiento más eficiente y más rápido (Figura 2) [15].



**Figura 2.** a) Calentamiento convencional, b) Calentamiento por microondas.

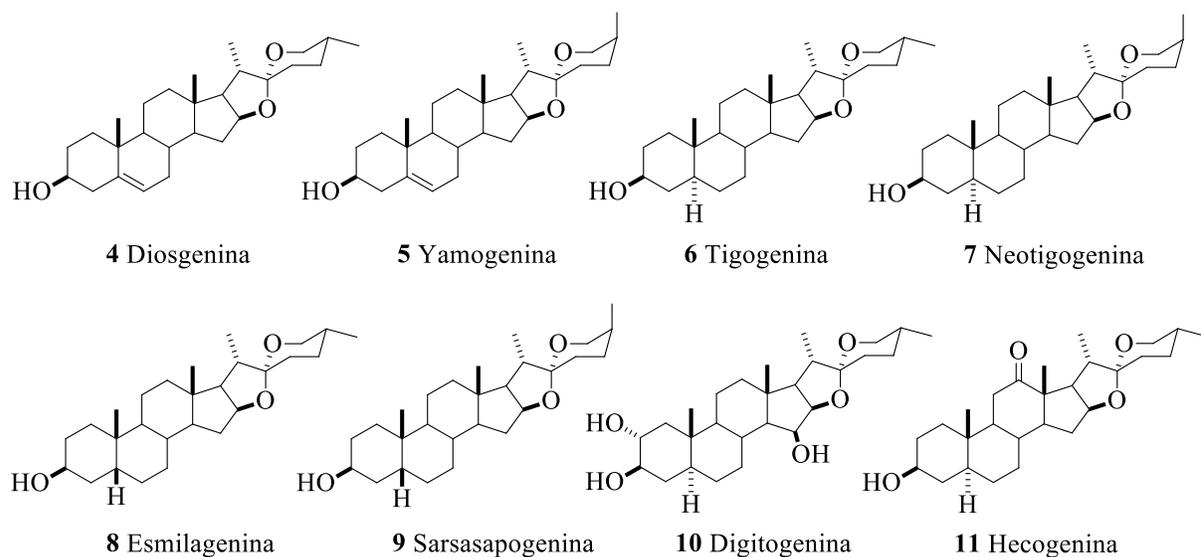
Así, desde la formulación de los 12 principios de la química verde, se han logrado avances significativos en la forma de obtención de nuevos compuestos y productos, así como en el diseño de nuevos procesos, todos orientados hacia la búsqueda de una relación más amigable con el medio ambiente.

Por otra parte, en nuestro grupo de trabajo en los últimos años se ha trabajado en la exploración de diversas modificaciones en la cadena lateral de las sapogeninas espirostánicas, contribuyendo con nuevas metodologías para la síntesis de análogos de productos naturales de interés biológico [16-20], en este contexto, en nuestro interés por la búsqueda de implementar nuevas metodologías de síntesis mediante el uso de microondas, el desarrollo de este proyecto consistió en evaluar la reactividad de la apertura del acetato de diosgenina y acetato de 23-cetodiosgenina frente a diferentes condiciones ácidas bajo la influencia de las microondas. El empleo de este método se considera alternativo dentro de la química verde, por sus ventajas mencionadas en apartados anteriores, además que abre nuevas perspectivas orientadas a la síntesis de estructuras novedosas de forma regio- y estereoselectiva, así como al análisis de los mecanismos de reacción que justifiquen la formación de los productos sintetizados.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Características de las sapogeninas de la serie 25R

La distribución de sapogeninas o agliconas derivadas de las saponinas esteroidales que existen en el reino vegetal es amplia y se han logrado aislar a partir de un gran número de especies de plantas; estos productos provenientes de la naturaleza pueden presentar configuraciones denominadas como *R* o *S* dependiendo de la distribución espacial en la que se encuentra el grupo metilo unido al carbono 25 del esqueleto esteroideal, denominado también como metilo-27 por las reglas de nomenclatura IUPAC; cuando este sustituyente se encuentra en posición axial, se dice que la configuración es *S*; por otra parte, si la posición del sustituyente es ecuatorial, la configuración será *R* [21]. Se puede observar a continuación en la figura 2, que la diosgenina (4), tigogenina (6), esmilagenina (8), digitogenina (10) y hecogenina (11) pertenecen a esta última clasificación. Se ha encontrado, por ejemplo, que la diosgenina (4) está presente como saponina en varias raíces de especies del género *Dioscorea*, mientras que la tigogenina (6) y neotigogenina (7) se han identificado como saponinas en especies *Digitalis lanata* y *Solanum lycopersicum* [22].



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

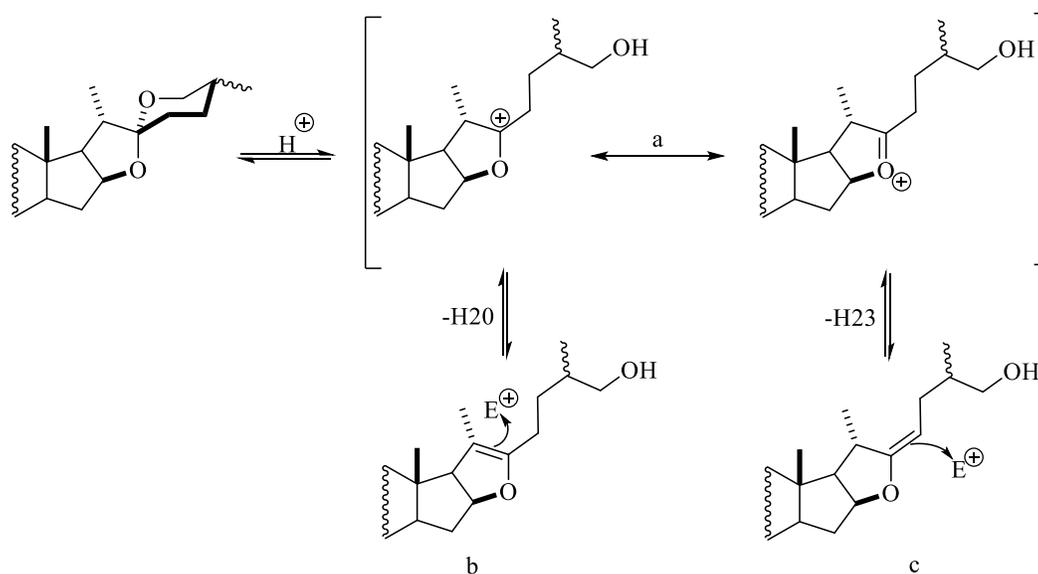
A pesar de que todas estas sapogeninas tienen en común el núcleo esteroidal ciclopentanoperhidrofenantreno y una fusión espirocetálica en el C-22 de los anillos E/F, presentan diferencias estructurales, como son, la fusión de los anillos A/B, dobles enlaces y la presencia de grupos carbonilos e hidroxilos en diferentes partes del esqueleto esteroidal. Esto marca la diferencia en términos de reactividad química para estos compuestos y ha permitido que, a raíz de su impacto en la historia de las hormonas esteroidales, continúen siendo ampliamente estudiadas.

## **2.2. Apertura de los anillos E/F de las sapogeninas espirostánicas**

En los últimos años ha existido el interés de estudiar la apertura selectiva de los anillos E y F de las sapogeninas esteroidales, esto con la finalidad de obtener nuevos arreglos con aplicación en la síntesis de esteroides estructural y biológicamente interesantes [21], ya que se conoce que varios derivados sintéticos provenientes de estas estructuras pueden presentar aplicaciones terapéuticas interesantes en el cuerpo humano, por ejemplo, en el tratamiento de diversos tipos de cáncer, para evitar la inflamación, así como actividad citotóxica, entre otros. La importancia de estas reacciones data desde la década de los años 40, situada en el siglo XX, cuando la obtención de esqueletos de tipo pregnano marcó un paso importante hacia la obtención de cantidades importantes, por primera vez, de hormonas como la progesterona [6] y posteriormente la testosterona [23]; este acontecimiento se le atribuye al trabajo desarrollado por el químico Russell E. Marker y es de relevancia histórica, ya que la ruta de degradación planteada por el químico a partir de diosgenina, impulsó fuertemente la industria esteroidal en México, colocándolo así como líder a nivel mundial con la empresa “Syntex”.

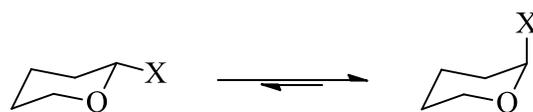
Es importante destacar el comportamiento particular que presentan las sapogeninas espirostánicas en medio ácido [8]; como puede observarse en el esquema 1 el equilibrio espirocetálico se presenta con mayor facilidad, generando aperturas orientadas hacia los anillos de tetrahydrofurano y tetrahydropirano los cuales se encuentran fusionados en el C-22 y son denominados como anillos E/ F respectivamente. El mecanismo de apertura presentado explica el por qué se considera a las sapogeninas espirostánicas como estructuras privilegiadas en términos de reactividad y versatilidad sintética. Vale la pena señalar que, de

manera general, diversos ácidos como HCl, AlCl<sub>3</sub>, TiCl<sub>4</sub>, ZnCl<sub>2</sub>, BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O, TMSOTf, entre otros, han sido utilizados para evaluar la reactividad de este tipo de compuestos a través de los años [20], y de lo descrito se conoce que estos pueden llegar a ser muy sensibles en caso de que se modifiquen ligeramente las condiciones de reacción, y además se ha reportado que incluso el uso de un mismo ácido puede generar rearrreglos orientados hacia la formación de productos diferentes, por ejemplo, en un mismo compuesto o incluso en la misma serie [24].



**Esquema 1.** Mecanismo general de apertura de las sapogeninas espiroestánicas [8].

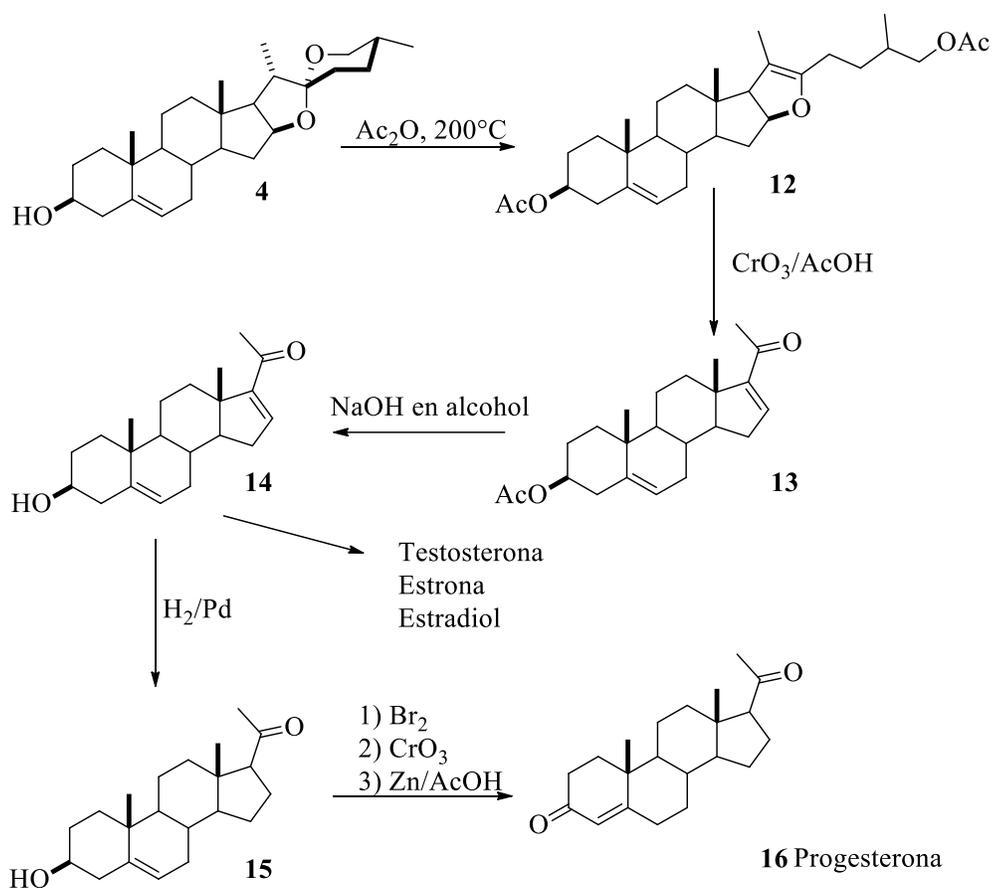
Adicionalmente estos compuestos presentan un fenómeno interesante conocido como “efecto anomérico”, lo anterior por contener dentro de su estructura el sistema espirocetálico; este término se refiere a la preferencia de un sustituyente electronegativo por encontrarse en la posición axial en lugar de la ecuatorial en un anillo de tetrahidropirano [25]. Es importante destacar que, como consecuencia de este efecto, las longitudes de enlace dentro del segmento anomérico pueden verse modificadas; esto ha sido observado a partir de la obtención de diversas estructuras cristalinas con el sistema espirocetálico [26].



**Esquema 2.** Efecto anomérico en anillo de tetrahidropirano [25].

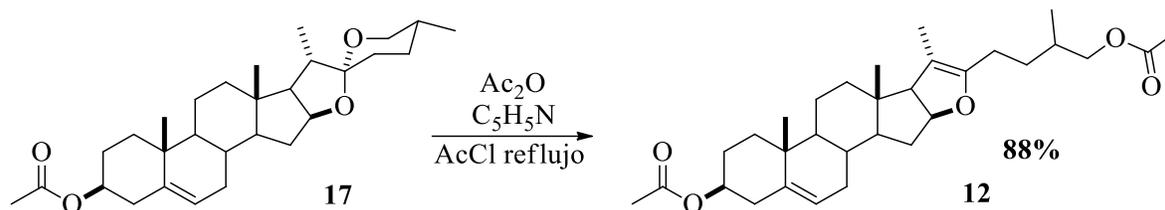
Una vez reconocida la utilidad de estas estructuras por su uso para estudios en química fina, comenzó una carrera acelerada hacia el reconocimiento de variedades de plantas a partir de las cuales podían extraerse las saponinas, precursoras de las sapogeninas, y su vez, hacia al estudio para el mejor entendimiento de sus propiedades y posibles reacciones químicas que llevaran a nuevas modificaciones estructurales.

A partir del análisis de la ruta de degradación de Marker, se destaca un intermediario importante dentro de la ruta sintética para la obtención de la 16-dehidropregnenolona (**14**): las estructuras de tipo “pseudo” **12**, las cuales contienen un doble enlace característico entre los carbonos 20 y 22 (Esquema 3). Para llegar a este intermediario clave, Marker, planteó la degradación de la diosgenina hacia la pseudodiosgenina diacetilada **12** empleando anhídrido acético a 200°C; los hidroxilos de C-3 y C-26 pasaron por un mecanismo de esterificación junto con una ruptura del anillo de tetrahidropirano [27].



**Esquema 3.** Ruta de degradación de Marker.

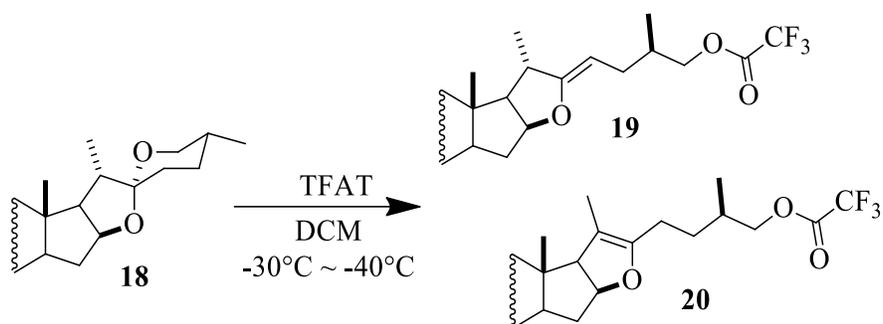
El potencial que se encontró en los compuestos de tipo “pseudo” como intermediarios sintéticos fue tan importante en su tiempo, que varios grupos de investigación enfocaron sus esfuerzos en el planteamiento de alternativas a la acetólisis de Marker [26], esto considerando las condiciones de altas temperaturas que se requerían para su obtención. Un ejemplo de estos hechos puede verse reflejado en la patente de John-Chemerda y colaboradores en el año de 1964, donde lograron la obtención de la pseudodiosgenina diacetilada **12** a partir del acetato de diosgenina (**17**) utilizando cloruro de acetilo (AcCl), en presencia de piridina (C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N) y anhídrido acético (Ac<sub>2</sub>O), durante tres horas a reflujo, obteniendo un rendimiento del 88% (Esquema 4) [28]; algo importante fue el hecho de que las reacciones pudieron ser escalables obteniendo rendimientos muy similares.



**Esquema 4.** Obtención de la pseudodiosgenina diacetilada con reflujo de AcCl.

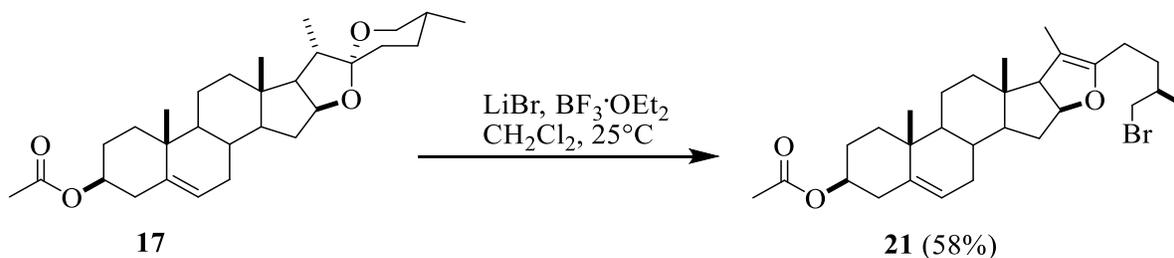
Por otra parte, en el año 2013, Jong-Lee y colaboradores proporcionaron un método altamente eficiente para la obtención de estructuras de tipo pseudo [29]; al emplear trifluoroacetil trifluorometanosulfonato (TFAT) para la apertura del acetato de tigogenina (**18**) en diclorometano como disolvente a bajas temperaturas (-30°C a -40°C), el oxígeno unido a C-26 es protegido por el grupo trifluoroacetil (Esquema 5).

Mediante una serie de experimentos encontraron que al usar 1.5 equivalentes de TFAT, se obtenían las estructuras **19** en un rendimiento de 45% y **20** en un 38% de rendimiento, siendo el resto materia prima sin reaccionar, mientras que al usar 2 equivalentes de TFAT lograron la obtención de la pseudosapogenina **20** en 100% de rendimiento. Los autores destacaron la estabilidad de los ésteres de trifluoroacetil en medios ácidos, ya que pueden desprotegerse selectivamente aún en presencia de grupos acetato u otros grupos éster en la posición 3.



**Esquema 5.** Tratamiento de acetato de tigogenina con TFAT.

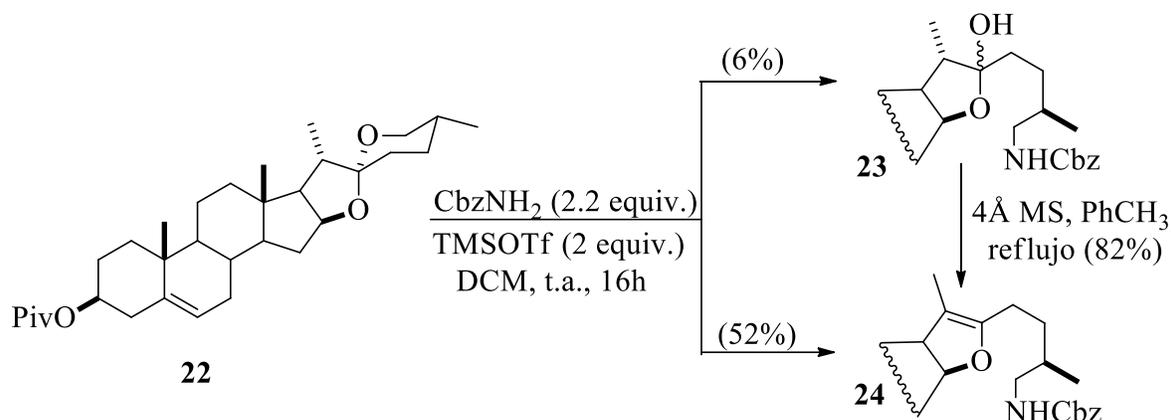
También en años recientes, se ha descrito la apertura de sapogeninas espiroestánicas con la posterior funcionalización de sus derivados empleando halógenos [30]. Jing-Wu y colaboradores estudiaron la apertura del anillo F en 2015 a partir del acetato de diosgenina (**17**) junto con la adición del halógeno en el carbono 26. Esto se llevó a cabo empleando  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  y LiBr como reactivos en diclorometano como disolvente a temperatura ambiente (Esquema 6). Mediante el uso de estas condiciones suaves de reacción, obtuvieron el derivado colestánico pseudodiosgenina **21** en 58% de rendimiento, el cual fue posteriormente utilizado para la síntesis de solasodina, un compuesto farmacológico de gran importancia que ha mostrado actividad como agente antitumoral [31], así como en la neurogénesis [32].



**Esquema 6.** Reacción de halogenación-apertura de la cadena lateral de diosgenina.

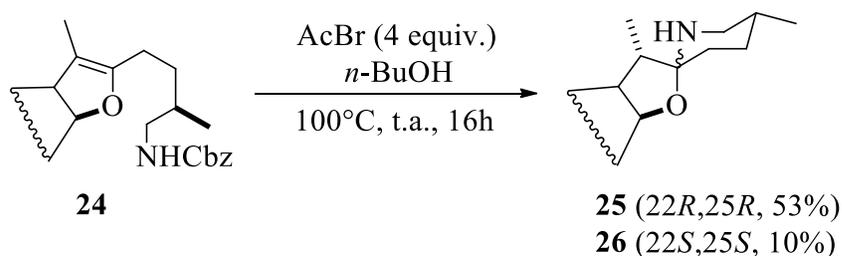
La síntesis de la solasodina también se ha descrito a partir del pivalato de diosgenina (**22**) [33]. La solasodina se obtuvo mediante la apertura simultánea del anillo F del sistema

esteroidal vía el uso de un ácido de Lewis y la inserción de un átomo de nitrógeno en la posición 26 como grupo carbamato (Esquema 7). Adicionalmente estudiaron esta reacción con diferentes carbamatos y en presencia de distintos ácidos de Lewis como: TMSOTf,  $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$ ,  $\text{Tf}_2\text{NH}$ ,  $\text{TiCl}_4$  [33]. Los autores describieron también la transformación del producto **23** en **24** mediante el uso de tamices moleculares de 4Å en condiciones de reflujo y tolueno anhidro.



**Esquema 7.** Apertura del anillo F del pivalato de diosgenina en condiciones ácidas.

Posteriormente, mediante la desprotección del grupo carbamato con  $\text{AcBr}/\text{BuOH}$  realizaron la ciclización del anillo F, dando lugar al pivalato de solasodina **25** y **26** con distintas configuraciones, como se indica para los productos en el esquema 8 [33].

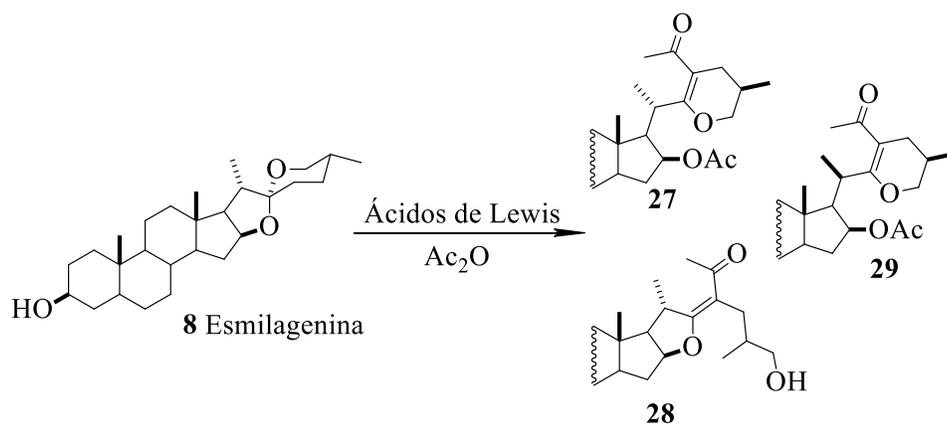


**Esquema 8.** Obtención del pivalato de solasodina **25** y **26** vía el intermediario **24**.

Algunos autores han descrito cierta preferencia hacia la apertura del anillo E en lugar del F debido a la mayor estabilidad del anillo de tetrahidropirano bajo condiciones ácidas de reacción, al uso de ácidos de Lewis duros en comparación con blandos, la mayor basicidad

del oxígeno contenido en el anillo de tetrahidrofurano, y por la generación de enlaces C22-O26 más cortos provocados por el efecto anomérico presente en la función espirocetálica [26], a pesar de que durante mucho tiempo se pensaba que la apertura espirocetálica solo ocurría en el anillo F, sin embargo, diversos tipos de ácidos de Brönsted o de Lewis han sido probados dentro de esta química, y en muchas ocasiones las reacciones de apertura pueden mostrar cierta orientación preferencial hacia alguno de los anillos dependiendo de la elección del ácido, así como de la cantidad a utilizar.

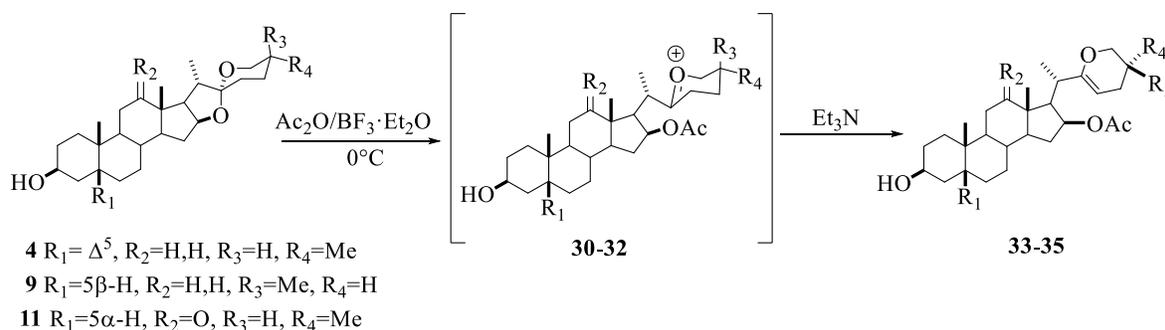
En el caso de los estudios desarrollados por Susana-Rincón en el año 2006, cabe destacar, que, al usar menos equivalentes del ácido de Lewis, por ejemplo,  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ , la reacción a partir de esmilagenina resulta ser más selectiva hacia derivados epoxicolesténicos como **27** y **29**, en comparación con el derivado furosténico **28**; así mismo, hicieron ensayos con  $\text{ZnCl}_2$ , y de sus resultados a partir de HPLC, concluyeron que las reacciones son más selectivas mientras menos equivalentes de ácido se utilicen [34].



**Esquema 9.** Variedad de esqueletos sintetizados a partir de esmilagenina.

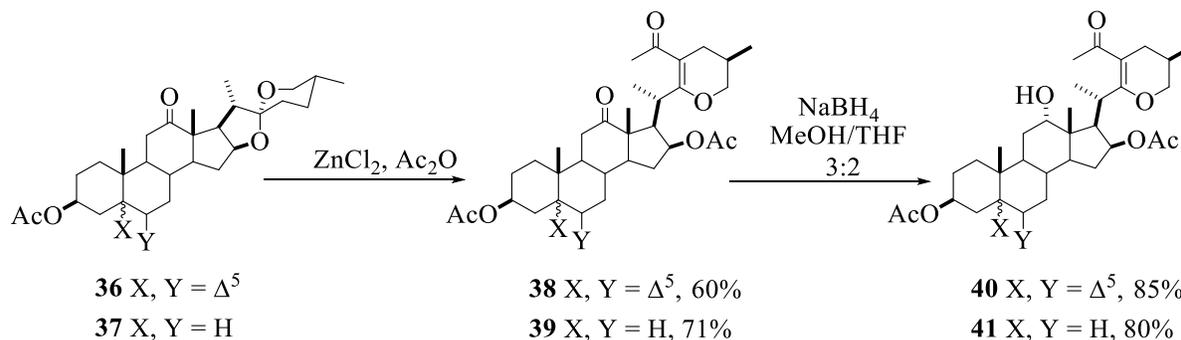
Por otra parte, Hilario-Martínez y colaboradores, llevaron a cabo la apertura del anillo E con diferentes sapogeninas de la serie  $25R$ , en este caso, diosgenina (**4**), sarsasapogenina (**9**) y hecogenina (**11**), mediante reacciones de acetólisis con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  a  $0^\circ\text{C}$ ; la posterior adición de trietilamina permitió obtener derivados esteroideos conteniendo un anillo de dihidropirano **33-35** (Esquema 10). Con el uso de esta metodología los compuestos fueron obtenidos en rendimientos altos del 85-90% [24]. Adicionalmente, los autores también

realizaron estudios computacionales con el fin de comprobar que la reacción procede vía un oxocarbenio iónico como intermediario (**30-32**).



**Esquema 10.** Derivados de hidropirano obtenidos a partir de sapogeninas esteroidales.

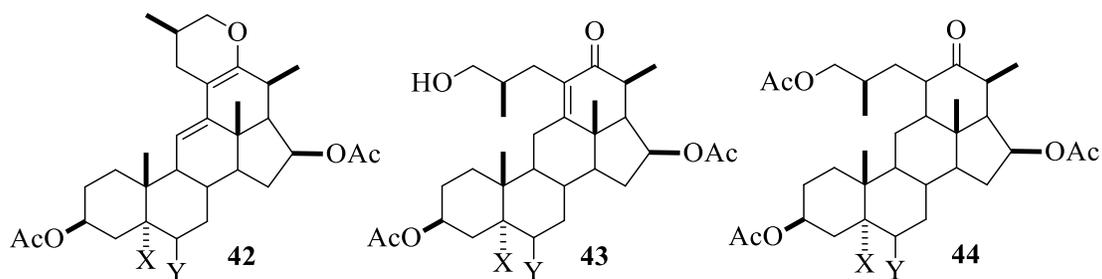
En 2014 Edwin-Flores y colaboradores reportaron la apertura del anillo E de acetato de botogenina (**36**) y acetato de hecogenina (**37**) mediante el uso de anhídrido acético ( $Ac_2O$ ) y cloruro de zinc ( $ZnCl_2$ ) (Esquema 11). A partir de esta metodología obtuvieron los derivados **38** y **39**, en rendimientos del 60 y 71% respectivamente. Posteriormente estos compuestos fueron tratados con borohidruro de sodio ( $NaBH_4$ ), formando estereoselectivamente los alcoholes **40** y **41** en C-12 (Esquema 11) [35].



**Esquema 11.** Apertura del anillo E del acetato de botogenina y hecogenina con  $ZnCl_2$  en  $Ac_2O$ .

Recordando la versatilidad que poseen estas estructuras hacia la apertura ácida, no sería extraño que la concentración de los reactivos también sea un factor de importancia considerable para su estudio. Esto ha quedado demostrado en el reporte del año 2010 por José-Díaz y colaboradores [36], en el que a partir de la variación de la concentración

describen la formación de diferentes compuestos. En este trabajo, los autores realizaron diversas reacciones de apertura a partir de botogenina y hecogenina, variando la concentración del anhídrido acético, así como el tiempo de reacción, y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Algo interesante es que cuando emplearon concentraciones menores de anhídrido acético, generaron compuestos pentacíclicos como **42** y **43** y de tipo hexacíclicos como se observa en la estructura denotada por **44** (Figura 4), mientras que a mayores concentraciones obtenían compuestos de tipo 22,26-epoxicolestánicos, así como derivados furosténicos.



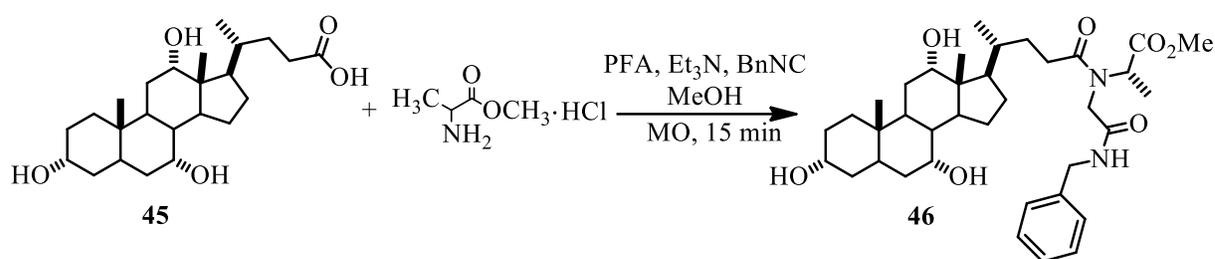
**Figura 4.** Derivados penta y hexacíclicos provenientes de la acetólisis del acetato de botogenina y hecogenina.

### 2.3. Microondas como estrategia sintética en la obtención de análogos e híbridos esteroidales

Un área que está ganando mayor atención dentro de la comunidad científica en años recientes, es el desarrollo de metodologías empleando estrategias novedosas en el área de síntesis química, uno de estas consiste en la síntesis asistida por microondas; considerando que en los últimos años el interés por la química verde ha ido en aumento, la irradiación por microondas se ha implementado en distintos tipos de reacciones como son condensaciones, oxidaciones, reducciones, reacciones de multicomponentes, de Grignard, etc.; también ha sido aplicada como método extractivo, y ha ganado relevancia dentro del área de materiales, por ejemplo, en la obtención de polímeros [37]. Además de lo anterior, las microondas también han sido aplicadas en la obtención de sistemas híbridos involucrando distintas biomoléculas; al diseñar estos sistemas, por lo general, se busca que posean mejores propiedades biológicas y que puedan aplicarse en el desarrollo de fármacos principalmente

[38], pero se han utilizado también en el área de los quimiosensores [39]; con este enfoque se ha logrado la obtención de nuevas entidades moleculares basadas en el núcleo esteroidal [40].

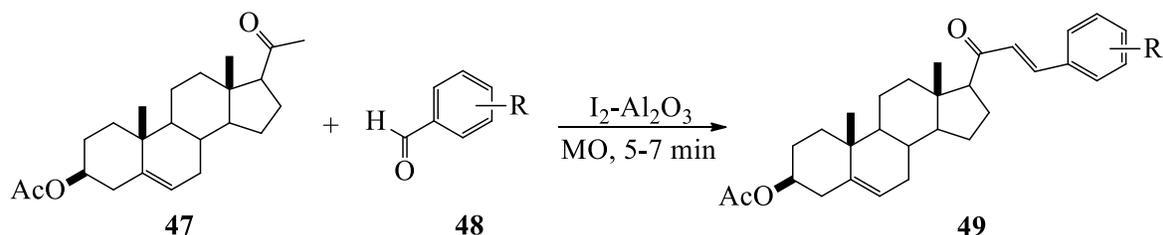
Estas vertientes en auge, pueden verse ejemplificadas en el desarrollo de reacciones de tipo multicomponente, donde se utilizan microondas para la síntesis de conjugados esteroidales con aminoácidos. Un estudio publicado en el año 2015 por Preetismita-Borah y colaboradores [41], demostró que la irradiación por microondas para una reacción de tipo Ugi de 4 componentes, aplicada a la síntesis de este tipo de sistemas conjugados, permite la obtención de rendimientos considerablemente mayores (73-87%) en comparación con los reportados con el método de calentamiento convencional, que van desde el 17% al 32%, además que se logra la formación de los productos de interés como lo es **46** en menor tiempo de reacción (Esquema 12), por lo que con este ahorro en tiempo y energía los autores mencionan se cumple con algunos de los principios de química verde.



**Esquema 12.** Síntesis de conjugados esteroidales con aminoácidos a partir de microondas.

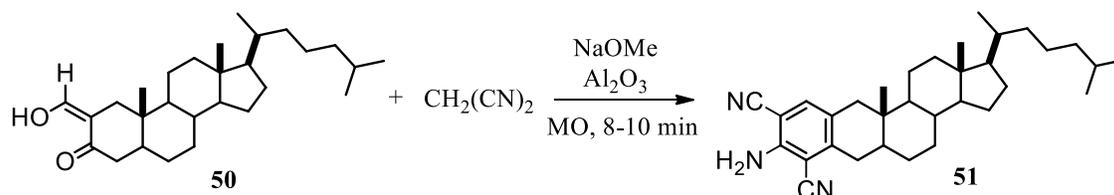
Otro ejemplo donde se resalta el uso de microondas como método alternativo de síntesis en este tipo de sistemas híbridos se publicó en el año 2013, por el grupo de trabajo de Dwipen-Kakati. Ellos reportaron que mediante la energía de microondas y en condiciones libres de disolvente, se pueden preparar híbridos esteroidales **49** con distintas chalconas como **48**, vía condensación Claisen-Schmidt con las condiciones indicadas en el esquema 13 [42]. Así, mediante este tipo de estructuras, se espera que la incorporación de diversas sustancias funcionalmente activas dentro de una misma molécula pueda mejorar las características de los componentes individuales o conducir a nuevos tipos de propiedades biológicas, esto aunado a la simplicidad y rapidez, en comparación con el método de

calentamiento convencional, además de que las reacciones, en general, proceden sin la formación de subproductos adicionales. Cabe mencionar que en este reporte los autores encontraron, que algunos de estos compuestos presentan actividad inhibidora significativa frente a distintas cepas microbianas.



**Esquema 13.** Síntesis de los compuestos híbridos de tipo **49** mediante microondas.

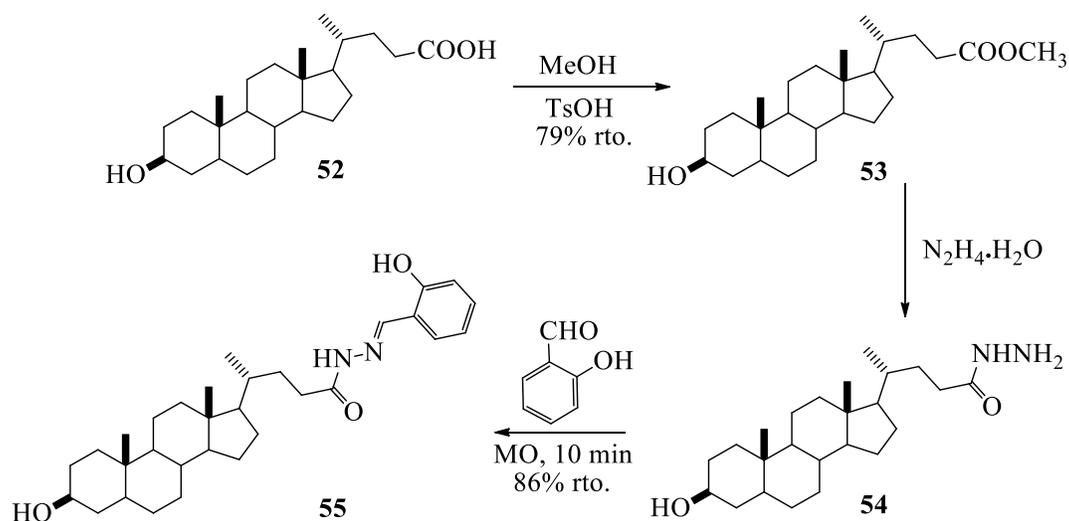
Además de nuevos híbridos que involucran gran variedad de biomoléculas, con las microondas se ha logrado la obtención de compuestos a partir de la modificación de los anillos esteroidales, por ejemplo, en el año 2010, Madan-Barthakur y colaboradores, lograron la modificación de los anillos A y B para la obtención de derivados pentacíclicos [43] mediante una anillación de compuestos tipo 2-hidroximetilen-3-ceto **50**, esto en presencia de metóxido de sodio, generando así compuestos tipo dicianoanilina **51**, en rendimientos desde el 78% al 90%, y en tiempos de reacción cortos, que van de 8 a 10 minutos (Esquema 14). Las moléculas pentacíclicas que se obtienen son de interés por su importancia farmacológica y biológica [44], ya sea como analgésicos, antitumorales, entre otros.



**Esquema 14.** Síntesis de esteroides fusionados con dicianoanilina a partir de **50**.

Por otra parte, en el año 2020 lograron la obtención de quimiosensores basados en moléculas conjugadas de esteroides con bases de Schiff [39], como es el compuesto **55** presentado en el esquema 15. Para destacar en este trabajo, los autores tomaron en consideración la poca existencia de reportes donde se utilizan “estrategias verdes” para la

obtención de sensores químicos, por lo que hacen énfasis en la implementación de una ruta de síntesis orgánica asistida por microondas. Mediante este método, reportaron tiempos de reacción muy cortos, 10 min en comparación con las 5 h bajo los métodos comunes, como son calentamiento convencional, además que los rendimientos se incrementan de un 73% a 86%, en comparación con los convencionales (Esquema 15).

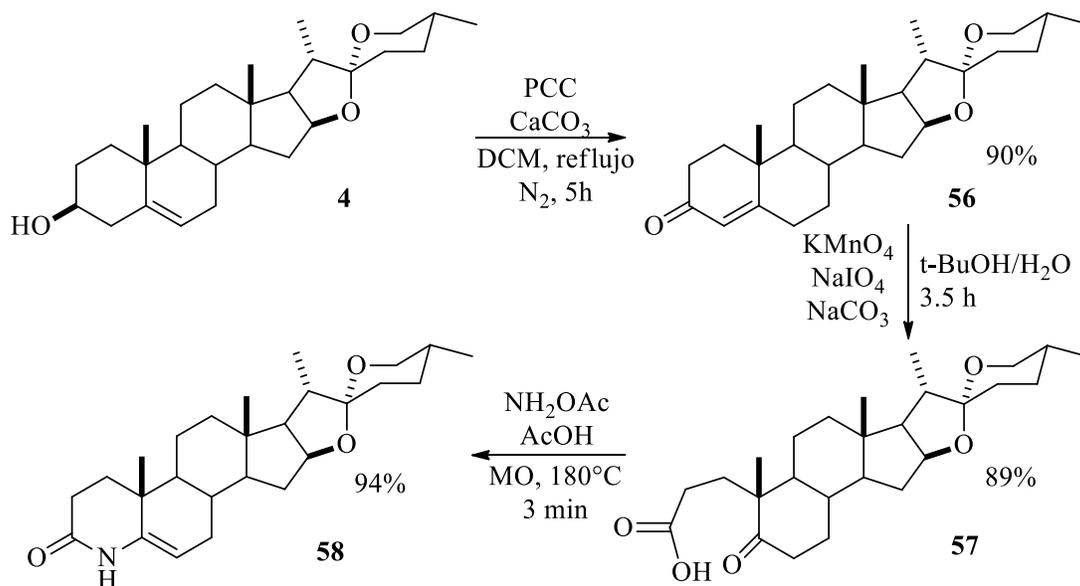


**Esquema 15.** Obtención del quimiosensor **55** conformado por un sistema conjugado esteroidal con base de Schiff.

Adicionalmente se han empleado las microondas para introducir heteroátomos en moléculas provenientes de productos naturales, con la finalidad de obtener análogos o nuevos compuestos, ya que las propiedades químicas y biológicas de una molécula pueden verse afectadas positivamente al adicionar heteroátomos como nitrógeno u oxígeno, dependiendo del uso o aplicación que se desee inducir en la molécula.

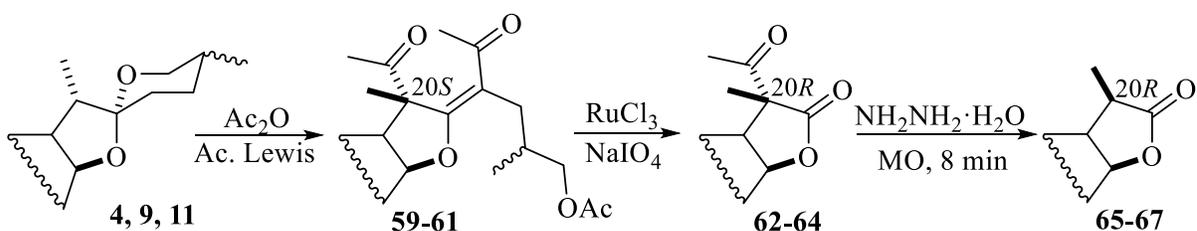
Un ejemplo de lo anterior es descrito por Anselmo-Martínez y su grupo de investigación, donde se implementa el uso de microondas dentro de una ruta de síntesis para la obtención de azaesteroides a partir de diosgenina (**4**) (Esquema 16) [45]. Este tipo de compuestos son importantes para el área farmacológica debido a las actividades biológicas que les han sido atribuidas, las cuales abarcan desde citotoxicidad, anticarcinogenicidad, antifúngica, entre otras [46]. El derivado 4-azaesteroide **58** se preparó a partir de la cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada **56**. Después de una etapa de oxidación seguida por una apertura del anillo A para formar el

intermediario **57**, lograron la ciclización para la incorporación del heteroátomo dentro del núcleo esteroidal para la obtención de **58**, en microondas, con un rendimiento casi cuantitativo (94%) en comparación con otros descritos en calentamiento a reflujo (43%-79%), además de que el tiempo de reacción se redujo notablemente, de 4 h a 3 minutos.



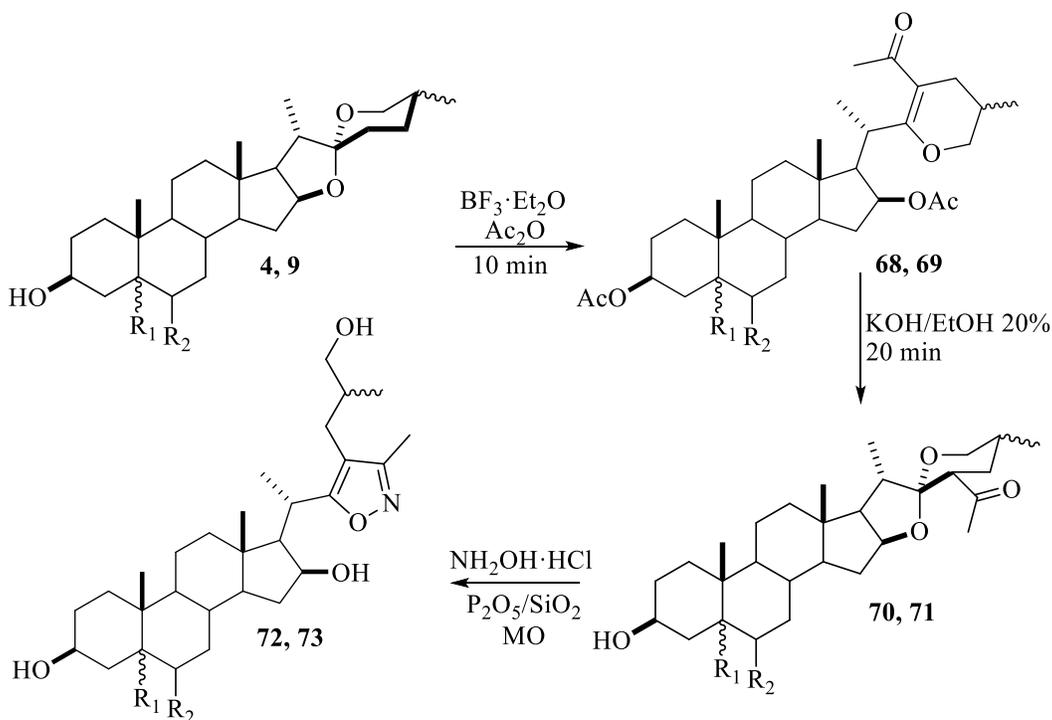
**Esquema 16.** Síntesis de 4-azaesteroides a partir de diosgenina.

Por otra parte, en el año 2010, María-Hernández y colaboradores reportaron el uso de microondas para reacciones de desacetilación de 20-acetil-lactonas **62-64**, provenientes de la ruptura oxidativa del doble enlace contenido entre las posiciones 22 y 23 de sus precursores de tipo 20,23-diacetilfurostenos **59-61** [47]. Es interesante destacar que cuando la reacción se efectuó con el método de microondas (600W, 8 min) lograron la obtención de las lactonas desacetiladas **65-67** sin la presencia del fenómeno de epimerización en la posición 20, a diferencia del método convencional (Esquema 17). Por este mismo motivo los autores ensayaron diferentes condiciones de temperatura, tiempo y concentración, así como el tipo de medio de reacción (ácido, básico) con la finalidad de obtener reacciones diastereoespecíficas estandarizadas, sin embargo, no fue sino hasta la inclusión de la energía de microondas en su ruta sintética que consiguieron que la estructura desacetilada presentara la esperada retención de la configuración en C-20.



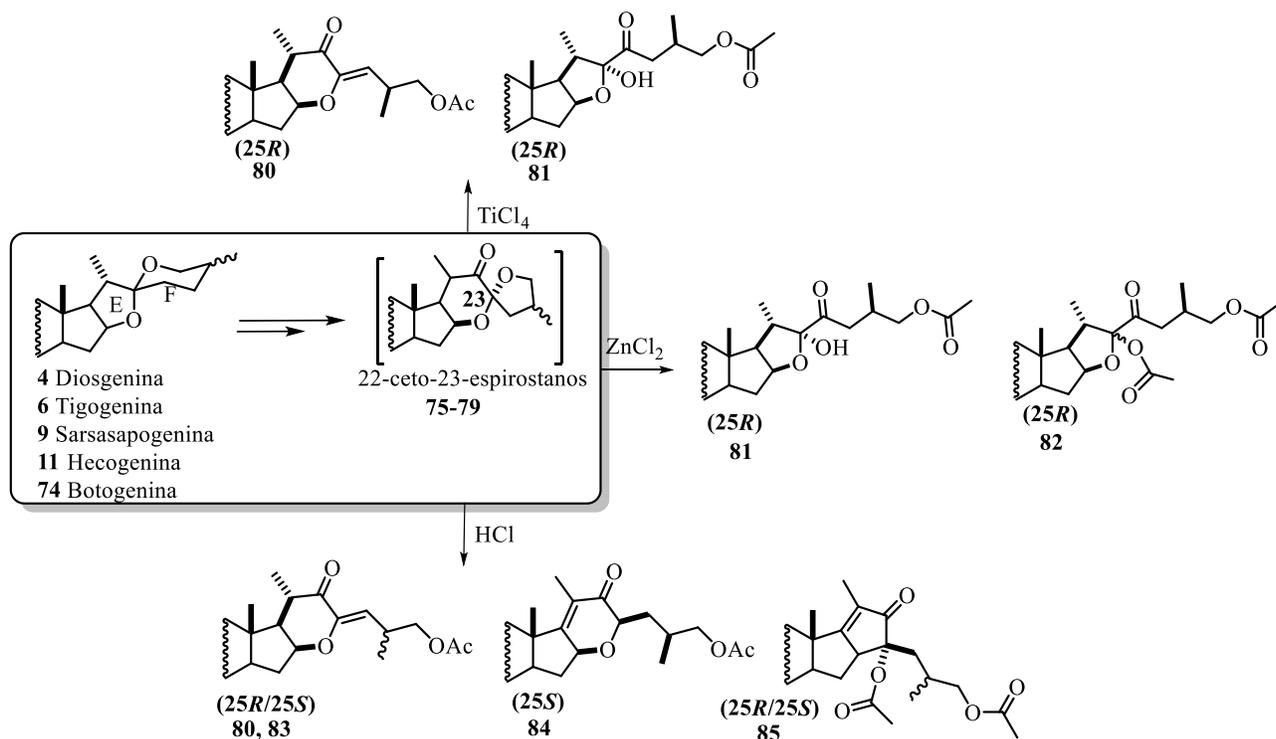
**Esquema 17.** Ruta sintética para la obtención de lactonas.

Otro ejemplo interesante propiciado por el mismo grupo de autores, es el reportado en 2011, en el que emplearon la denominada “síntesis en fase sólida asistida por microondas”. Con este método lograron la obtención de los derivados esteroidales de isoxazol **72** y **73**, provenientes de las 23-acetilsapogeninas **70** y **71** de la serie  $25R$  y  $25S$ , respectivamente, esto mediante el empleo de pentóxido de fósforo ( $P_2O_5$ ) con dióxido de silicio ( $SiO_2$ ) (Esquema 18) [48].



**Esquema 18.** Síntesis de derivados esteroidales con isoxazol a partir de 23-acetilsapogeninas.

Es importante notar que varias de las reacciones que fueron mostradas en los ejemplos anteriores están dirigidas hacia la modificación de la cadena lateral de las sapogeninas, donde pueden notarse diversos grupos funcionales, así como múltiples sitios de funcionalización dependiendo de la estructura, por lo que la obtención de derivados de cadena abierta es de gran importancia dentro del área de la química sintética. Es por esto que en los últimos años dentro de nuestro grupo de trabajo se ha trabajado en explorar la reactividad de los compuestos espiroestánicos, en particular los 22-oxo-23-espirocetales **75-79** [16] frente a diferentes condiciones ácidas (Esquema 19). Con estos estudios se ha observado que este tipo de compuestos presentan una tendencia muy marcada en relación a la formación de nuevos esteroides con anillaciones análogas a otros de origen natural, los cuales son provenientes de diferentes rearrreglos en los anillos E/F, además de que poseen una dependencia notable al tipo de ácido (Brønsted-Lowry o Lewis) empleado y a la cantidad utilizada del mismo.



**Esquema 19.** Productos derivados del rearrreglo de los anillos E/F de los 22-ceto-23-espirostanos con diferentes ácidos.

Considerando que a la fecha no existen reportes que involucren el uso de microondas para el estudio minucioso de la apertura de los anillos E y F de las sapogeninas espirostánicas y sus derivados en medio ácido, este trabajo abre una nueva vertiente orientada hacia la obtención de estructuras químicas mediante el uso de esta energía alterna, para la cual es conocido que propicia velocidades de reacción mayor debido al calentamiento rápido que se genera dentro del reactor.

### 3. HIPÓTESIS

La reactividad de los compuestos espiroestánicos frente a diferentes condiciones ácidas, permitirá la obtención de esteroides con anillaciones de cinco y seis miembros en la cadena lateral, conteniendo grupos funcionales de tipo hidroxilo, así como carbonilos de cetona aislados y conjugados con dobles enlaces, que mediante otros métodos sintéticos la obtención de estos derivados se llevaría a cabo en reacciones de varios pasos.

Además, considerando que el esqueleto esteroideal combina en una única estructura, rigidez, quiralidad y gran diversidad de sitios de funcionalización, ya sea con disposiciones axiales o ecuatoriales, imponiendo determinada preorganización conformacional a los grupos funcionales, se prevé, la obtención de los nuevos derivados colestánicos de manera regio- y estereoselectiva.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo general

- Analizar la reactividad de la apertura espirocetálica de sapogeninas de la serie 25*R* bajo diferentes condiciones ácidas en microondas.

### 4.2. Objetivos particulares

- Determinar y optimizar las condiciones de reacción para llevar a cabo la apertura espirocetálica de sapogeninas de la serie 25*R*, con el uso de  $ZnCl_2$  en el reactor de microondas.
- Evaluar la regio- y estereoselectividad bajo las condiciones ácidas, en función de los nuevos productos obtenidos a partir de diferentes sustratos espirostánicos.
- Caracterizar estructuralmente los nuevos compuestos mediante métodos espectroscópicos y analizar su mecanismo de reacción.

## 5. PARTE EXPERIMENTAL

### 5.1. Instrumentación y equipo

Los espectros de infrarrojo (IR) se determinaron en un espectrómetro Thermo Scientific Nicolet iS10 usando la técnica de reflectancia total atenuada (ATR) ( $\bar{\nu}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ). Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT, HSQC, COSY, HMBC y HETCOR) se determinaron en los espectrofotómetros Varian Mercury Plus 400 y Jeol ECA 500. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en (ppm) y las constantes de acoplamiento ( $J$ ) se describen en Hertz (Hz), utilizando tetrametilsilano (TMS) como referencia interna para  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ . Todas las muestras fueron disueltas en  $\text{CDCl}_3$ . Los espectros de masa alta resolución (HR-MS) fueron adquiridos mediante la técnica DART, con modo de ionización positivo  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , en un espectrómetro de masas JEOL, AccuTOF JMS-T100LC. Los reactivos se adquirieron de la casa comercial Sigma-Aldrich.

El seguimiento de las reacciones se llevó a cabo por medio de cromatografía en capa fina (CCF), utilizando cromatoplasmas ( $4 \text{ cm} \times 3 \text{ cm}$ ) 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 mezclas de hexano-acetato de etilo. El revelado de las cromatoplasmas se realizó con una solución de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ /agua (30% V/V).

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

## 5.2. Obtención del acetato de diosgenina (17)

La obtención del acetato de diosgenina (17) se realizó mediante la metodología previamente descrita [49]. La confirmación del producto se llevó a cabo por comparación con los datos de RMN reportados [50].

## 5.3. Obtención del acetato de 23-cetodiosgenina (86)

La preparación del acetato de 23-cetodiosgenina (86) se realizó mediante la metodología previamente descrita [17, 49]. La confirmación del producto se llevó a cabo por comparación con los datos de RMN reportados [17, 49].

## 5.4. Obtención de los compuestos 87, 88, 89 y 90

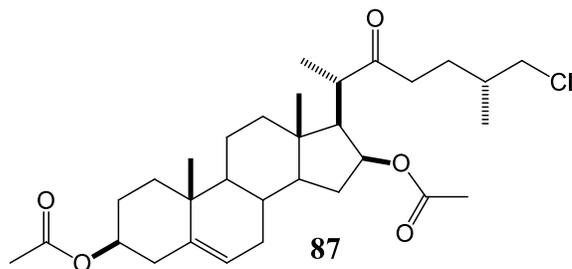
El acetato de diosgenina (100 mg, 0.2189 mmol) se disolvió en la cantidad necesaria de 1,2-dicloroetano (1,2-DCE), 2.18 ml, para formar una disolución 0.1 M, y enseguida se adicionó el anhídrido acético (3 equiv.) (0.062 ml, 0.6567 mmol.) y ZnCl<sub>2</sub> (3 equiv.) (89.4 mg, 0.6567 mmol). Posteriormente la mezcla de reacción se sometió a condiciones de calentamiento en el reactor de microondas, a 100 W y 100°C, durante 5 minutos. Transcurrido ese tiempo, la mezcla de reacción se llevó a temperatura ambiente y posteriormente se vertió sobre hielo y se realizó la extracción con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 30 mL). El extracto orgánico se lavó con agua y una solución saturada de NaHCO<sub>3</sub>, y se filtró sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro seguido de evaporación del disolvente al vacío. La purificación del crudo de reacción se realizó a partir de cromatografía en columna empacada con gel de sílice y utilizando como fase móvil mezclas preparadas de diferentes polaridades con los disolventes hexano y acetato de etilo. De la primera purificación se obtuvieron mezclas de los compuestos **87-88** y **89-90**, utilizando como fase móvil Hex/AcOEt (70:30), las cuales fueron purificadas como se menciona a continuación.

### 5.4.1. Purificación de los compuestos 87 y 88

30.25 mg de la mezcla de productos **87-88** aislados del crudo de la reacción anterior, se sometieron a una segunda purificación en columna empacada con gel de sílice, y al

emplear una fase móvil Hex/AcOEt (95:5), se aislaron los compuestos **87** y **88** en rendimientos del 19.55% y 6.26% respectivamente.

**5.4.1.1. 20(S)25(R)-3 $\beta$ -16 $\beta$ -diacetoxi-26-cloro-colest-5-en-22-ona (87)**



C<sub>31</sub>H<sub>47</sub>ClO<sub>5</sub>  
R<sub>f</sub>: 0.71 (8:2 Hexano/AcOEt)  
Cristales incoloros

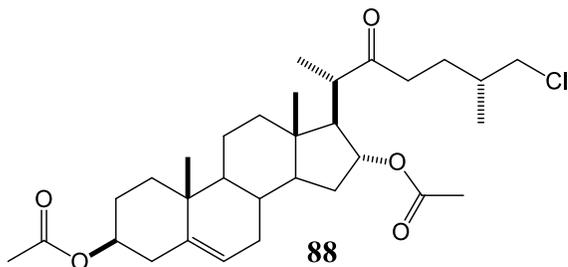
IR  $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup> (ATR): 3438, 2970, 2934, 2153, 1723 (C=O), 1707 (C=O), 1460, 1357, 1241 (C-O), 1038, 959, 901, 855, 797, 734, 685.

HR-MS (DART) m/z [M+H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>31</sub>H<sub>48</sub>ClO<sub>5</sub>: 535.31903, encontrada 535.31903.

<sup>1</sup>H-RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 5.33 (1H, m, H-6), 4.95 (1H, m, H-16), 4.56 (1H, m, H-3) 3.43 ppm (1H, dd,  $J_{gem}=10.7$ ,  $J_{25-26a}=5.1$  Hz, H-26a), 3.38 ppm (1H, dd,  $J_{gem}=10.8$ ,  $J_{25-26b}=5.9$  Hz, H-26b), 2.92 (1H, m, H-20), 2.56 (1H, ddd,  $J_{23a-23b}=17.7$ ,  $J_{23a-24}=9.7$ , 5.9 Hz), 2.38 (1H, t, H-15), 2.35 – 2.28 (3H, m, H-4a, H-4b, H-23b), 2.03 (3H, s, CH<sub>3</sub>-COO-3), 1.93 (3H, s, CH<sub>3</sub>-COO-16), 1.11 (3H, d, Me-21), 0.99 (3H, s, Me-19), 0.97 (3H, d, Me-27), 0.83 (3H, s, Me-18) ppm.

<sup>13</sup>C-RMN (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 212.64 (C=O), 170.59 (CH<sub>3</sub>-COO-3), 169.83 (CH<sub>3</sub>-COO-16), 139.68 (C-5), 122.34 (C-6), 75.77 (C-16), 73.88 (C-3), 55.07 (C-17), 53.97 (C-14), 50.88 (C-26), 49.81 (C-9), 43.61 (C-20), 41.94 (C-13), 39.67 (C-12), 38.29 (C-23), 38.10 (C-4), 36.94 (C-1), 36.62 (C-10), 35.00 (C-25), 34.91 (C-15), 31.66 (C-7), 31.32 (C-8), 27.77 (C-2), 27.59 (C-24), 21.51 (CH<sub>3</sub>-COO-3), 21.24 (CH<sub>3</sub>-COO-16), 20.77 (C-11), 19.36 (C-19), 17.60 (C-27), 16.84 (C-21), 13.30 (C-18).

5.4.1.2. 20(*S*)25(*R*)-3 $\beta$ -16 $\alpha$ -diacetoxi-26-cloro-colest-5-en-22-ona  
(88)



C<sub>31</sub>H<sub>47</sub>ClO<sub>5</sub>  
R<sub>f</sub>: 0.68 (8:2 Hexano/AcOEt)  
Cristales incoloros

IR  $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup> (ATR): 3626, 3530, 3464, 2919, 2477, 2141, 1730 (C=O), 1460, 1374, 1240 (C-O), 1028, 955, 899, 841.

HR-MS (DART) m/z [M+H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>31</sub>H<sub>48</sub>ClO<sub>5</sub>: 535.31903, encontrada 535.31677.

<sup>1</sup>H-RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 5.33 (1H, m, H-6), 5.15 (1H, m, H-16), 4.56 (1H, m, H-3) 3.47 ppm (1H, dd,  $J_{gem} = 10.8$ ,  $J_{25-26a} = 5.2$  Hz, H-26a), 3.43 ppm (1H, dd,  $J_{gem} = 10.8$ ,  $J_{25-26b} = 5.9$  Hz, H-26b), 2.87 (1H, m, H-20), 2.60 (1H, m, H-23), 2.46 (1H, m, H-23), 2.40 (1H, m, H-15), 2.28 (2H, m, H-4), 2.02 (3H, s, CH<sub>3</sub>-COO-3), 2.00 (3H, s, CH<sub>3</sub>-COO-16), 1.01 (3H, d, Me-27), 0.99 (3H, d, Me-21), 0.98 (3H, s, Me-19), 0.85 (3H, s, Me-18) ppm.

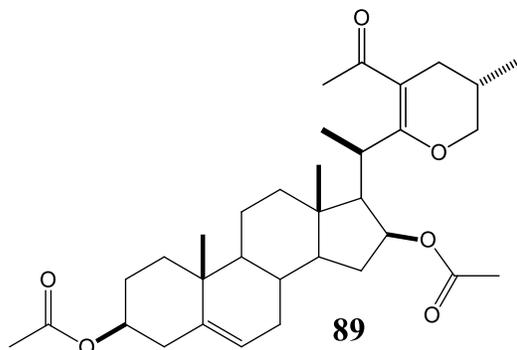
<sup>13</sup>C-RMN (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 213.68 (C=O), 170.62 (CH<sub>3</sub>-C=O-3), 170.55 (CH<sub>3</sub>-C=O-16), 139.81 (C-5), 122.22 (C-6), 75.28 (C-16), 73.88 (C-3), 56.45 (C-17), 54.33 (C-14), 50.79 (C-26), 49.87 (C-9), 42.92 (C-20), 42.17 (C-13), 39.23 (C-23), 38.71 (C-12), 38.12 (C-4), 36.94 (C-1), 36.61 (C-10), 35.10 (C-15), 34.90 (C-25), 31.59 (C-7), 31.45 (C-8), 27.76 (C-2), 27.49 (C-24), 21.51 (CH<sub>3</sub>-COO-16), 21.35 (CH<sub>3</sub>-COO-3), 20.67 (C-11), 19.34 (C-19), 17.78 (C-27), 16.76 (C-21), 13.46 (C-18).

#### 5.4.2. Purificación de los compuestos 89 y 90

69.1 mg de la mezcla de productos **89-90** aislados del crudo de la reacción anterior, se sometieron a una segunda purificación en columna empacada con gel de sílice, y en una fase móvil Hex/AcOEt (95:5), se obtuvo como producto minoritario el compuesto **89** (6.2 mg), mientras que el cambio de polaridad a una fase móvil Hex/AcOEt (8:2), permitió obtener

como producto mayoritario (42.6 mg) el compuesto **90**. Los mg restantes se cuantificaron en la mezcla de los productos **89-90**.

**5.4.2.1. 20(R),25(S)-3 $\beta$ ,16 $\beta$ -diacetoxi-23-acetil-22,26-epoxicolest-5,22-dieno (89)**



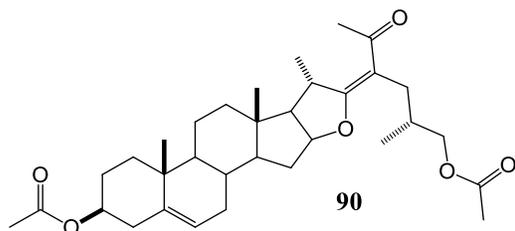
$C_{33}H_{48}O_6$   
*R*<sub>f</sub>: 0.57 (8:2 Hexano/AcOEt)  
Cristales incoloros

HR-MS (DART)  $m/z$   $[M+H]^+$  calculado para  $C_{33}H_{49}O_6$ : 541.35291, encontrada 541.35458.

$^1H$ -RMN (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 5.35 (1H, m, H-6), 5.15 (1H, m, H-16), 4.60 (1H, m, H-3), 4.06 (1H, m, H-26a), 4.02 ppm (1H, m, H-20), 3.43 ppm (1H, t,  $J = 9.9$  Hz, H-26b), 2.30 (2H, d, H-4), 2.25 (3H, s,  $\underline{CH}_3$ -CO-23), 2.07 (3H, s, Ac), 2.03 (3H, s, Ac), 1.03-0.96 (9H, m, Me-19, Me-21, Me-27), 0.78 (3H, s, Me-18) ppm.

$^{13}C$ -RMN (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 199.20 (C-28), 170.80 ( $CH_3$ - $\underline{C}OO$ -), 170.47 ( $CH_3$ - $\underline{C}OO$ -), 169.04 (C-22), 139.71 (C-5), 122.31 (C-6), 108.68 (C-23), 75.44 (C-3), 73.87 (C-16), 71.39 (C-26), 55.83 (C-17), 54.39 (C-14), 50.11 (C-9), 42.45 (C-13), 38.30 (C-12), 38.10 (C-4), 37.01 (C-1), 36.59 (C-10), 35.03 (C-15), 31.62 (C-20), 31.45 (C-24), 29.86 (C-29), 29.69 ( $CH_2$ ), 27.79 (C-2), 26.08 (C-25), 21.37 ( $\underline{CH}_3$ -COO-), 21.33 ( $\underline{CH}_3$ -COO-), 20.80 (C-11), 19.28 (C-19), 17.87 (C-21), 17.04 (C-27), 13.13 (C-18).

5.4.2.2. 20(*S*),25(*R*)-3 $\beta$ ,26-diacetoxi-23-acetil-furosta-5,22(23)dieno  
(90)



C<sub>33</sub>H<sub>48</sub>O<sub>6</sub>  
*R<sub>f</sub>*: 0.51 (8:2 Hexano/AcOEt)  
Laca incolora

IR  $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup> (ATR): 3635, 3457, 2934, 2901, 2148, 1734 (C=O), 1663, 1570, 1460, 1362, 1236 (C-O), 1107, 1033, 956, 901, 816, 734.

HR-MS (DART) *m/z* [M+H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>33</sub>H<sub>49</sub>O<sub>6</sub>: 541.35291, encontrada 541.35194.

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 5.36 (1H, m, H-6), 4.96 (1H, m, H-16), 4.59 (1H, m, H-3), 3.92 (1H, dd, *J* = 11.0, 6.4 Hz, H-26a), 3.87 ppm (1H, dd, *J* = 11.4, 6.1 Hz, H-26), 3.72 ppm (1H, q, H-20), 2.21 (3H, s, CH<sub>3</sub>-CO-23), 2.05 (3H, s, CH<sub>3</sub>-COO-16), 2.03 (3H, s, CH<sub>3</sub>-COO-3), 1.17 (3H, d, Me-21), 1.01 (3H, s, Me-19), 0.95 (3H, d, Me-27) 0.59 (3H, s, Me-18) ppm.

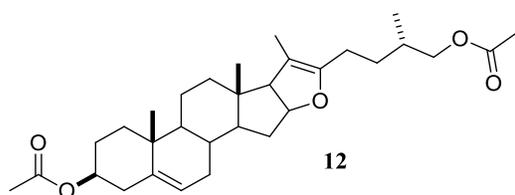
<sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 198.54 (C=O), 178.92 (C-22), 171.18 (CH<sub>3</sub>-COO-26), 170.50 (CH<sub>3</sub>-COO-3), 139.83 (C-5), 121.95 (C-6), 107.49 (C-23), 86.03 (C-16), 73.74 (C-3), 68.81 (C-26), 62.27 (C-17), 55.39 (C-14), 50.00 (C-9), 41.30 (C-13), 38.06 (C-20), 38.03 (C-4), 38.01 (C-12), 36.89 (C-1), 36.63 (C-10), 33.55 (C-15), 33.23 (C-8), 31.86 (C-7), 31.27 (C-24), 31.17 (C-25), 29.11 (C-23'), 27.65 (C-2), 21.36 (CH<sub>3</sub>-COO-16), 20.93 (CH<sub>3</sub>-COO-3), 20.30 (C-11), 19.77 (C-21), 19.27 (C-19), 17.21 (C-27), 13.11 (C-18).

## 5.5. Obtención del compuesto 12

El acetato de diosgenina (**17**) (100 mg, 0.2189 mmol) se disolvió en la cantidad necesaria de tetrahidrofurano (THF) anhidro, (2.18 ml) para formar una disolución 0.1 M, y enseguida se adicionó el anhídrido acético (3 equiv.) (0.062 ml, 0.6567 mmol.) y ZnCl<sub>2</sub> (3 equiv.) (89.4 mg, 0.6567 mmol), en atmósfera inerte. Posteriormente la mezcla de reacción se sometió a condiciones de calentamiento en el reactor de microondas, a 100 W y 200°C, durante 1h.

Transcurrido ese tiempo, la mezcla de reacción se llevó a temperatura ambiente y posteriormente se vertió sobre hielo y se realizó la extracción con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 x 30 mL). El extracto orgánico se lavó con agua y una solución saturada de  $\text{NaHCO}_3$ , y se filtró sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro seguido de evaporación del disolvente al vacío. La purificación del crudo de reacción se realizó en una columna cromatográfica empacada con gel de sílice, utilizando como fase móvil Hex/AcOEt (9:1), lo que permitió obtener (65.3 mg, 61%) del compuesto 20(*S*),25(*R*)-3 $\beta$ ,26-diacetoxi-furosta-5,20(22)dieno (**12**).

### 5.5.1. 20(*S*),25(*R*)-3 $\beta$ ,26-diacetoxi-furosta-5,20(22)dieno (**12**).



$\text{C}_{31}\text{H}_{46}\text{O}_5$   
*R*<sub>f</sub>: 0.73 (9:1 Hexano/AcOEt)  
 Laca incolora

IR  $\nu_{\text{max}}$   $\text{cm}^{-1}$  (ATR): 3512, 2932, 2852, 2477, 2140, 1740 (C=O), 1450, 1369, 1237 (C-O), 1118, 1032, 905, 729.

HR-MS (DART)  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{31}\text{H}_{47}\text{O}_5$ : 499.34235, encontrada 499.34342.

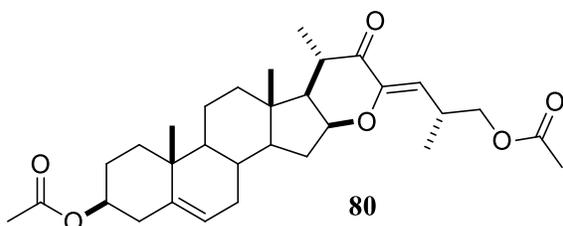
$^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.37 (1H, m, H-6), 4.75 (1H, m, H-16), 4.61 (1H, m, H-3), 3.94 (1H, dd,  $J = 10.7, 5.9$  Hz, H-26a), 3.88 (1H, dd,  $J = 10.7, 6.7$  Hz, H-26b), 2.48 (1H, d,  $J = 10.1$  Hz, H-17), 2.05 (3H, s, Ac), 2.03 (3H, s, Ac), 1.59 (3H, s, Me-21), 1.04 (3H, s, Me-19), 0.94 (3H, d,  $J = 6.7$  Hz, Me-27), 0.69 (3H, s, Me-18).

$^{13}\text{C}$ -RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 171.15 (C=O), 170.45 (C=O), 151.52 (C-22), 139.76 (C-5), 122.30 (C-6), 103.76 (C-20), 84.32 (C-16), 73.88 (C-3), 69.32 (C-26), 64.26 (C-17), 55.00 (C-14), 50.06 (C-9), 43.27 (C-13), 39.52 (C-1), 38.12 (C-4), 37.03 (C-12), 36.73 (C-10), 34.13 (C-15), 32.18 (C-8), 32.18 (C-7), 31.26 (C-25), 30.82 (C-24), 27.77 (C-2), 23.23 (C-11), 21.35 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-COO-}$ ), 20.98 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-COO-}$ ), 20.90 (C-23), 19.31 (C-19), 16.70 (C-27), 13.91 (C-18), 11.58 (C-21).

### 5.6. Obtención del compuesto 80

El acetato de 23-cetodiosgenina (**86**) (50 mg, 0.1094 mmol) se disolvió en la cantidad necesaria de 1,2-DCE para formar una disolución 0.1 M, en este caso 1.09 ml, enseguida se adicionó el anhídrido acético (3 equiv.) (0.031 ml, 0.3282 mmol.) y ZnCl<sub>2</sub> (3 equiv.) (44.7 mg, 0.3282 mmol). Posteriormente la mezcla de reacción se sometió a condiciones de calentamiento en el reactor de microondas, a 100 W y 100°C, durante 10 min. Transcurrido ese tiempo, la mezcla de reacción se llevó a temperatura ambiente y posteriormente se vertió sobre hielo y se realizó la extracción con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 30 mL). El extracto orgánico se lavó con agua y una solución saturada de NaHCO<sub>3</sub>, y se filtró sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro seguido de evaporación del disolvente al vacío. La purificación del crudo de reacción realizó a partir de cromatografía en columna empacada con gel de sílice y utilizando como fase móvil Hex/AcOEt (9:1), para obtener (17.3 mg, 31%) del compuesto 23(*Z*),25(*R*)-3β,26-diacetoxi-16β,23-epoxi-colestan-5,23-en-22-ona (**80**).

#### 5.6.1. 23(*Z*),25(*R*)-3β,26-diacetoxi-16β,23-epoxi-colestan-5,23-en-22-ona (**80**)



C<sub>31</sub>H<sub>44</sub>O<sub>6</sub>  
Laca incolora  
*R*<sub>f</sub>: 0.44 (7:3 Hexano/AcOEt)

IR  $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup> (ATR) [49]: 2970, 2939, 2903, 2850, 1731 (C=O), 1643 (C=O), 1454, 1374, 1236, 1137, 1033, 907, 753.

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 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,  $J_{\text{gem}} = 10.6$  Hz  $J_{26a-25} = 6.3$  Hz, H-26a), 3.94 (1H, dd,  $J_{\text{gem}} = 10.6$  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'-OCOCH<sub>3</sub>), 1.15 (3H, d,  $J = 6.5$  Hz, CH<sub>3</sub>-21), 1.06 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 1.04 (3H, d,  $J = 6.9$  Hz, CH<sub>3</sub>-27), 1.0 (3H, s, CH<sub>3</sub>-18).

<sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  [50]: 201.2 (C-22), 172.1 (26-OCOCH<sub>3</sub>), 171.6 (3-OCOCH<sub>3</sub>), 152.3 (C-23), 140.6 (C-5), 122.8 (C-6), 117.1 (C-24), 79.7 (C-16), 74.2 (C-3),

68.3 (C-26), 57.2 (C-17), 53.4 (C-14), 50.1 (C-9), 42.8 (C-13), 40.0 (C-20), 39.7 (C-12), 38.3 (C-4), 37.1 (C-1), 36.8 (C-10), 33.2 (C-15), 32.1 (C-7), 31.5 (C-8), 29.6 (C-25), 27.8 (C-2), 21.5, 21.0 (3',26'-OCOCH<sub>3</sub>), 20.9 (C-11), 19.4 (C-19), 16.9 (C-27), 14.9 (C-18), 13.5 (C-21).

## 6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

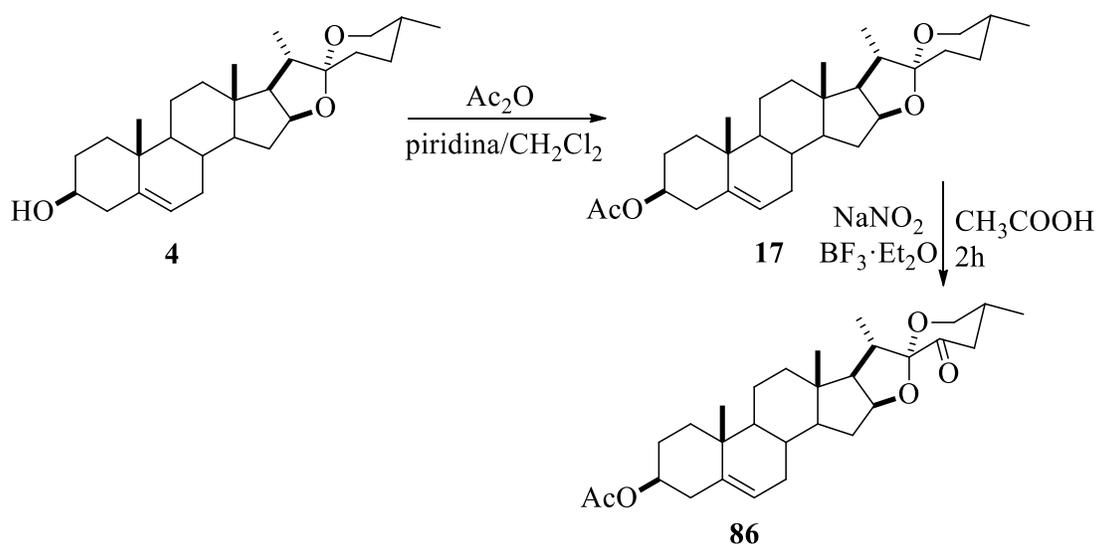
En nuestro grupo de investigación se ha demostrado que la regio- y estereoselectividad de la apertura de los anillos E y F de los 22-ceto-23-espirocetales varía considerablemente hacia la formación de diversos compuestos con el uso de diferentes ácidos o incluso del mismo [16], además de otros factores como son, tiempo, extracción del crudo de reacción, e incluso escala de manipulación. Con estos antecedentes, se decidió explorar las reacciones de apertura para los dos derivados de diosgenina **17** y **86**, utilizando  $\text{ZnCl}_2$  como ácido de Lewis, esto bajo la influencia del reactor de microondas; de esta forma el análisis de los resultados permitió identificar, diferentes rearrreglos en los anillos E y F, los cuales se describen a continuación.

Al inicio se llevaron a cabo diferentes ensayos con pequeñas cantidades, tanto del ácido de Lewis como del anhídrido acético, esto considerando reportes en los que mencionan una mejor selectividad en reacciones de apertura que involucran un menor número de equivalentes del ácido [34]. Por otra parte, la selección del ácido de Lewis se realizó considerando la mayor facilidad al momento de trabajar experimentalmente el  $\text{ZnCl}_2$ , en comparación con  $\text{TiCl}_4$  o  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ , esto aunado al hecho de que estos dos últimos tienden a generar varios subproductos de descomposición ya que se trata de ácidos más fuertes, en comparación con el  $\text{ZnCl}_2$  [34], y considerando también el factor variable de la temperatura a la cual se tuvieron que someter las mezclas de reacción dentro del reactor de microondas, lo cual también podría causar descomposición del crudo de reacción si no se trabaja con los parámetros adecuados.

Una vez considerado lo anterior para el estudio de las reacciones de apertura en microondas, se comenzó con la preparación de las materias primas. Para esto el acetato de diosgenina **17** se obtuvo en un 81% a partir de la reacción de acetólisis de la diosgenina **4**, mientras que el acetato de 23-cetodiosgenina **86** se preparó mediante la oxidación de Barton a partir de **17** en un rendimiento de 31.5% [49] (Esquema 20).

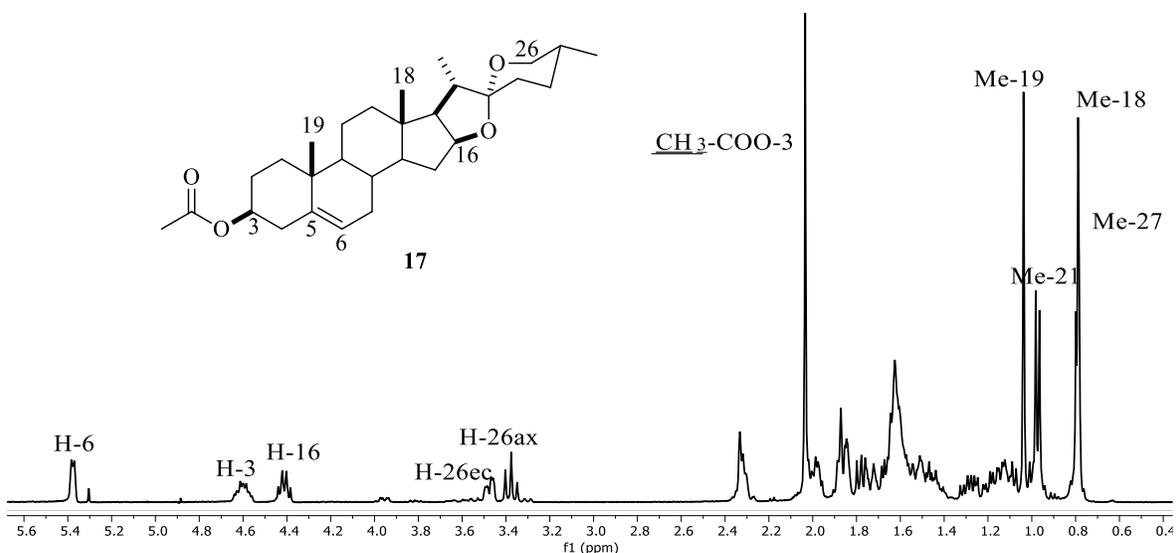
Las materias primas se purificaron mediante columna cromatográfica empacada con gel de sílice a partir de los crudos de reacción correspondientes; para obtener **17** se utilizó una

fase móvil Hex/AcOEt (9:1) y para la obtención de **86** se utilizó la fase móvil Hex/AcOEt (93:7). Posteriormente los compuestos **17** y **86** fueron analizados por RMN para confirmar su estructura, así como su pureza, y proceder con los ensayos apertura correspondientes. Para la identificación estructural de ambos compuestos, se realizó la comparación de los datos espectroscópicos obtenidos con los reportados [49, 50].



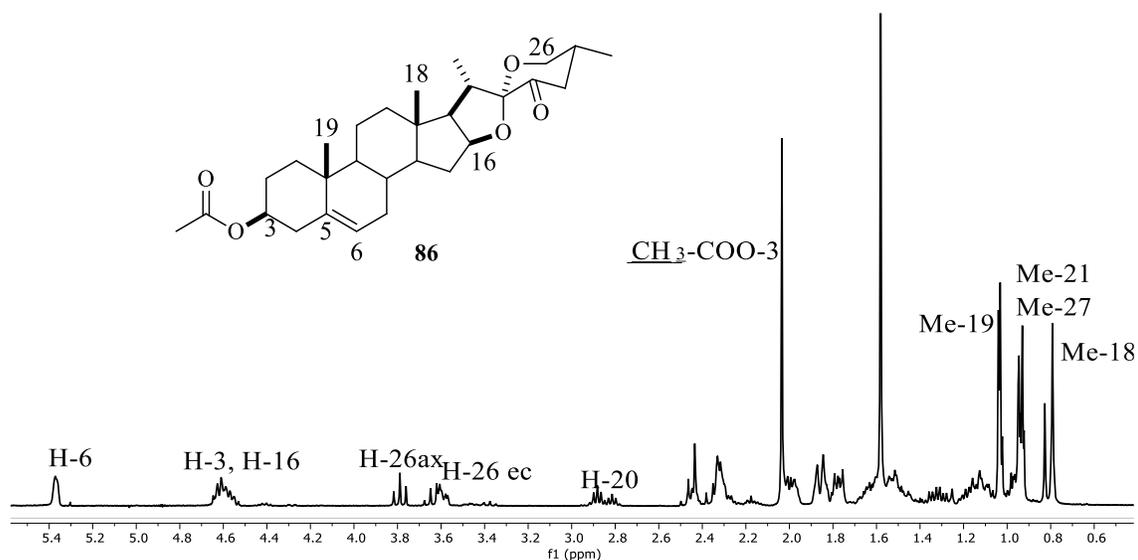
**Esquema 20.** Ruta sintética para la obtención de las materias primas **17** y **86**.

A manera de ejemplo, en la figura 5 se muestra el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN del compuesto **17**, en el cual se observa una señal múltiple correspondiente al hidrógeno vinílico H-6 en 5.36 ppm, así como una señal múltiple en 4.59 ppm correspondiente al hidrógeno H-3; también en 4.40 ppm aproximadamente, se observa una señal cuádruple, la cual corresponde a H-16; en 3.46 ppm se encuentra la señal de H-26 ecuatorial y en 3.36 ppm la señal asociada a H-26 axial. La señal presente en 2.03 ppm es indicativa de que el compuesto se acetiló y en la región alifática del espectro se identifican los cuatro grupos metilo presentes en la estructura espirostánica.



**Figura 5.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz) del compuesto **17** en  $\text{CDCl}_3$ .

Por otra parte, en la figura 6 se muestra el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN para **86**, donde se destaca en 5.37 ppm la señal correspondiente al H-6 vinílico, así como la señal múltiple entre 4.64 ppm y 4.54 ppm que se asigna a H-3 y H-16. También se observa en 3.78 ppm la señal del H-26 axial mientras que la señal que se encuentra entre 3.56 ppm y 3.62 ppm, corresponde a H-26 ecuatorial, lo cual confirma la presencia del anillo F. La señal presente en 2.03 ppm es característica del grupo acetato en la posición 3 de la estructura y en la región alifática del espectro también se observan las señales que corresponden a los metilos 18, 19, 21 y 27.

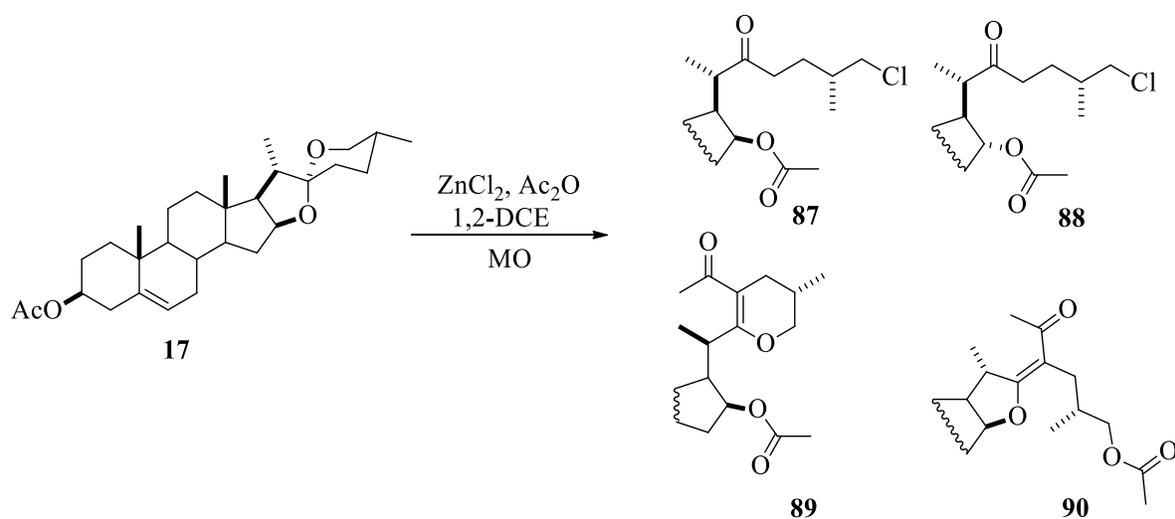


**Figura 6.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz) del compuesto **86** en  $\text{CDCl}_3$ .

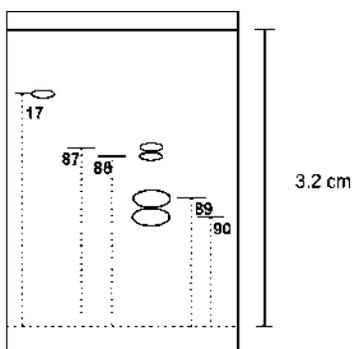
## 6.1. Apertura del acetato de diosgenina con ZnCl<sub>2</sub> en microondas

Una vez confirmada la obtención del compuesto **17**, éste se llevó a condiciones de apertura ácida bajo la influencia de la energía de microondas en un reactor “Discovery” (2.45 GHz) marca CEM, de acuerdo al esquema 21.

En la búsqueda para encontrar las condiciones de reacción de la apertura de **17**, se llevaron a cabo múltiples ensayos, para lo cual se comenzó con la variación de la temperatura y posteriormente con el tiempo de reacción; el seguimiento de las reacciones se llevó a cabo mediante cromatografía en capa fina (CCF), empleando un sistema Hex/AcOEt (8:2) como fase móvil, encontrando que al utilizar una temperatura de 100°C durante 10 minutos, se genera la formación de cuatro compuestos (**87-90**), con *R<sub>f</sub>* distinto al de la materia prima **17** (Figura 7).



**Esquema 21.** Apertura ácida para el acetato de diosgenina (**17**) empleando microondas.



**Figura 7.** CCF del crudo de reacción para **87-90**, realizada en una fase móvil Hex/AcOEt (7:3):  $R_f(87) = 0.71$ ,  $R_f(88) = 0.68$ ,  $R_f(89) = 0.57$ ,  $R_f(90) = 0.51$ .

A continuación, en las tablas 1 y 2 se resumen algunas observaciones que surgen de los ensayos realizados para la determinación de los parámetros óptimos de temperatura y tiempo de reacción, en la búsqueda por estandarizar las condiciones de apertura en presencia de microondas.

<b>Tabla 1.</b> Ensayos de temperatura para la obtención de <b>87-90</b> empleando microondas, con 100 W y 5 minutos de reacción para cada prueba.		
<b>Ensayo</b>	<b>Temperatura del microondas</b>	<b>Observaciones</b>
<b>1</b>	40°C	Materia prima en CCF.
<b>2</b>	50°C	Materia prima, comienza a observarse la formación de dos productos con diferente $R_f$ en baja concentración.
<b>3</b>	60°C	Se observa la formación adicional de otros dos productos, aún con presencia de materia prima.
<b>4</b>	70°C	Se observa la materia prima y por CCF la concentración de los cuatro productos no cambia.
<b>5</b>	80°C	No hay cambio significativo en el crudo de reacción.
<b>6</b>	90°C	Se observa la materia prima en menor concentración y la concentración de los cuatro compuestos se incrementa.

7	100°C	Consumo casi total de la materia prima y observación de cuatro productos por CCF.
---	-------	---

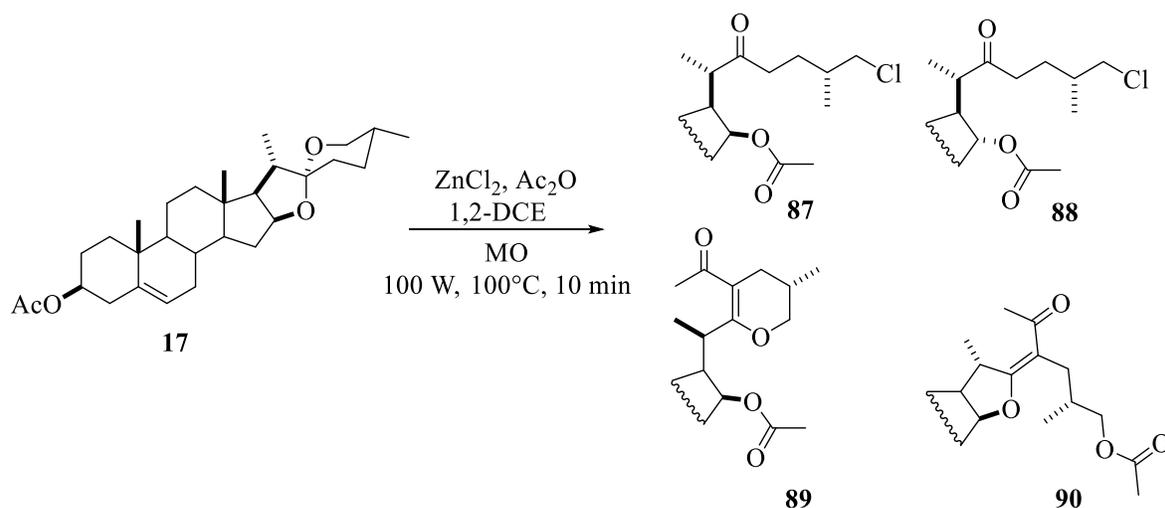
<b>Tabla 2.</b> Ensayos de tiempo de reacción para la obtención de <b>87-90</b> empleando microondas con 100 W y 100°C.		
Ensayo	Tiempo de reacción	Observaciones
1	5 min	Formación de cuatro compuestos con trazas de impurezas.
2	10 min	No hay cambio por TLC.
3	15 min	No hay cambio por TLC.
4	20 min	No hay cambio por TLC.
5	25 min	Sin cambio y sin descomposición del crudo de reacción.

Debido a que después de 5 minutos de reacción no se veía cambio aparente por CCF en la tabla 2 (Ensayo 1 y 2), se decidió llevar a cabo un ensayo adicional, que consistió en realizar la apertura de **17** en tiempos de 5 y 10 minutos. Posteriormente los crudos de ambas reacciones se purificaron y se determinó la cantidad en miligramos obtenidos por cada mezcla de compuestos **87/88**, **89/90**. Si bien por CCF no hubo cambio significativo, después de la purificación por cromatografía en columna se observó un ligero incremento en términos de consumo de materia prima hacia la formación de productos (Tabla 3, ensayos 1 y 2).

<b>Tabla 3.</b> Comparación entre la cantidad de las mezclas de los compuestos <b>87-88</b> y <b>89-90</b> a diferentes tiempos de reacción.			
Ensayo	Tiempo en MO	87-88	89-90
1	5 min	24.15 mg	60.35 mg
2	10 min	30.25 mg	69.1 mg

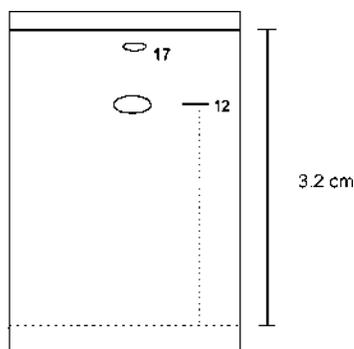
De los resultados de la tabla 1-3, se decidió emplear las condiciones de apertura de **17** a 100°C y 10 minutos (Esquema 22). Por otra parte, una vez encontradas las condiciones de reacción, se procedió a realizar la purificación del crudo de reacción mediante cromatografía de columna en gel de sílice, sin embargo, dado que los factores de retención de los compuestos **87/88**, **89/90** son muy cercanos, se decidió separar en un inicio dos fracciones

en mezclas para cada par de compuestos; posteriormente se realizaron subsecuentes purificaciones con la finalidad de tener los cuatro compuestos en su forma pura. El análisis de los datos espectroscópicos para la asignación estructural de los compuestos **87-90** se describe a detalle en el siguiente apartado.



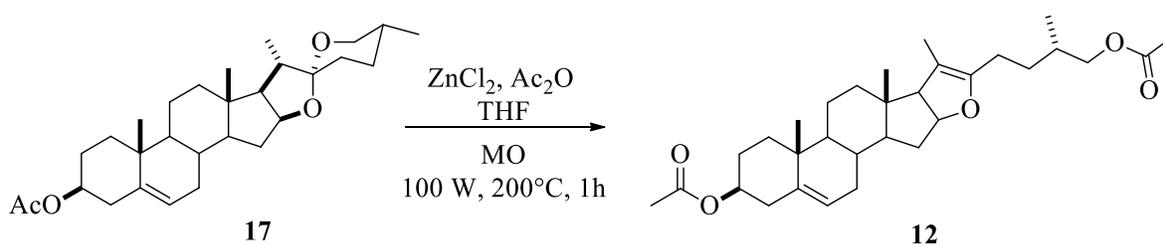
**Esquema 22.** Condiciones de apertura en microondas para el compuesto **17**.

Ya que en las condiciones de reacción antes mencionadas se observó la formación de cuatro compuestos, en nuestro interés por determinar si se promueve la formación regio- y estereoselectiva de alguno de estos, se decidió cambiar el disolvente por THF en la metodología anterior. Para esta elección se tomó en consideración la menor conversión de la energía electromagnética de las microondas en energía térmica para el caso del THF, indicado por su factor de pérdida dieléctrica ( $\tan \delta=0.047$ ), en comparación con la  $\tan \delta > 1$  del 1,2-DCE [51]. Al emplear el disolvente con menor  $\tan \delta$  (THF), se genera un calentamiento más lento de la mezcla de reacción, por lo tanto, se esperaba contar con un proceso más controlado durante la reacción, sin embargo, después del análisis del crudo de reacción por RMN y CCF (Figura 8) se encontró que al utilizar THF como disolvente, únicamente se observaba la formación de un compuesto y con los datos de RMN se determinó que la estructura del producto obtenido (**12**) era diferente a los identificados anteriormente (**87/88, 89/90**), bajo las condiciones del esquema 22.



**Figura 8.** CCF del crudo de reacción para **12**, realizada en una fase móvil Hex/AcOEt (9:1):  $R_f(\mathbf{12}) = 0.73$ .

Como consecuencia del resultado anterior, y en la búsqueda por el consumo total de la materia prima **17**, se procedió a realizar diferentes ensayos; estos se indican en las tablas 4 y 5. Con los datos observados en la tabla 5 (ensayo 3), se decidió finalmente llevar a cabo esta apertura como se indica en el siguiente esquema, encontrando que, al utilizar 100 W, a 200°C durante 1 hora, se observa por CCF que el producto formado **12** se encuentra en mayor concentración, aún con la presencia de la materia de partida. De esta manera se obtiene la pseudodiosgenina diacetilada **12** en un rendimiento de 61% (Esquema 23).



**Esquema 23.** Obtención del derivado **12** a partir del acetato de diosgenina (**17**).

**Tabla 4.** Ensayos de temperatura para la obtención de **12** en microondas, con 100 W y 30 minutos de reacción para cada prueba.

Ensayo	Temperatura del microondas	Observaciones
1	100°C	Materia prima en CCF.
2	150°C	Materia prima, se observa la formación de un producto con diferente <i>R<sub>f</sub></i> en concentración moderada.
3	200°C	Aumenta la concentración del producto formado <b>12</b> , aún con presencia de la materia prima.

**Tabla 5.** Ensayos de tiempo de reacción para la obtención de **12** en microondas con 100 W y 200°C.

Ensayo	Tiempo de reacción	Observaciones
1	20 min	Formación del compuesto <b>12</b> , con la presencia de materia prima en menor concentración relativa.
2	40 min	Sin cambio observable por CCF.
3	60 min	Formación del compuesto <b>12</b> en mayor concentración, materia prima aún observable.
4	80 min	Se observa mayor variedad de compuestos en la CCF, además de <b>12</b> .

La identificación de la estructura de **12**, también se confirmó por comparación con los datos espectroscópicos reportados para este compuesto y estos coinciden.

A continuación, se menciona la caracterización estructural de los compuestos identificados en estas reacciones de apertura en microondas.

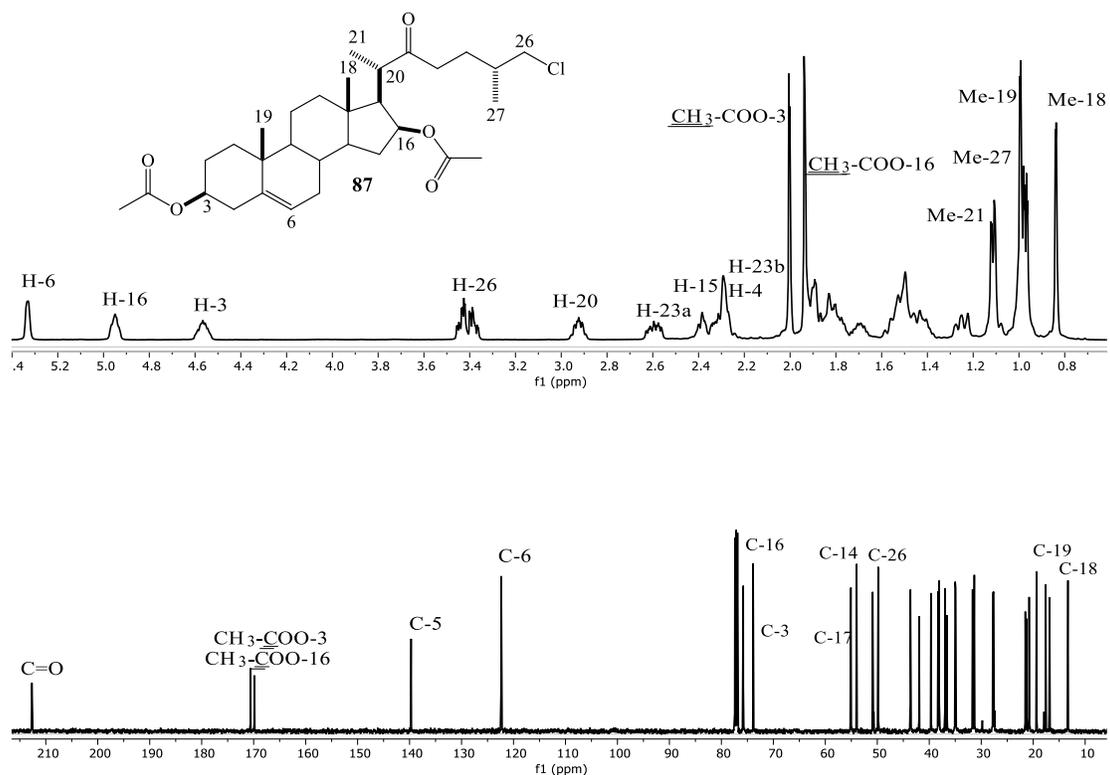
### 6.1.1. Análisis y caracterización estructural de los compuestos 87-90

Derivado del análisis de los espectros de RMN en 1D y 2D, se observó que las estructuras de los compuestos **87** y **88**, son de cadena lateral abierta con grupos acetilo en la posición 3 y 16, sin embargo, a diferencia de la mayoría de los reportes en los que el metileno 26 forma parte de un carbono base de oxígeno, apareciendo entre 66 ppm y 68 ppm [26, 34], para estos derivados, la resonancia confirmó que la señal de C-26 se localizaba a menor frecuencia y del análisis comparativo de los espectros de RMN, se propuso que ambos eran epiméricos y sustituidos con un átomo de cloro en C-26.

A continuación, en la figura 9, se presentan los espectros de  $^1\text{H}$ -RMN y de  $^{13}\text{C}$ -RMN correspondientes al compuesto colestánico **87**.

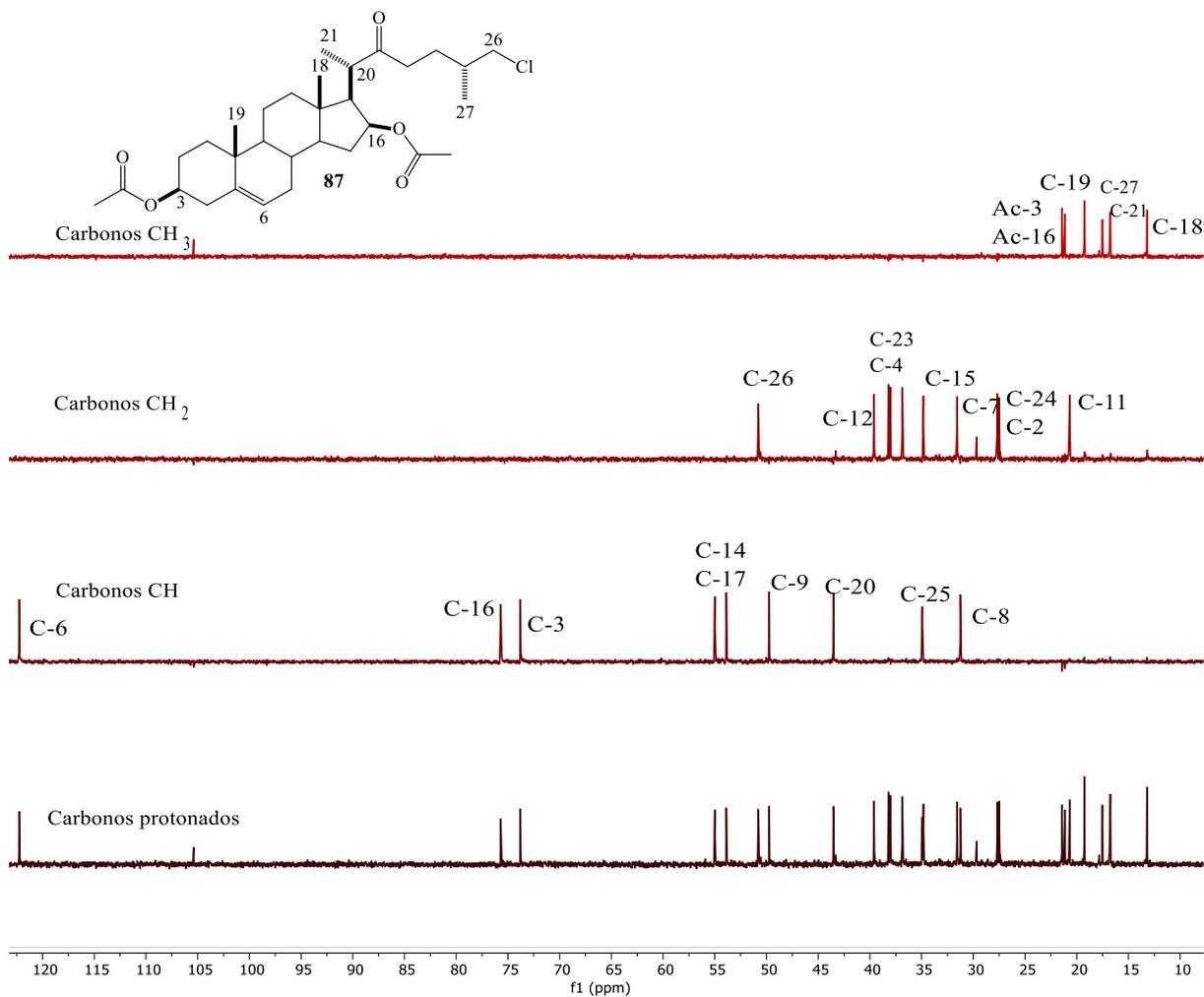
En el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN se observa la señal correspondiente al hidrógeno vinílico H-6 situada en 5.37 ppm, mientras que en 4.99 ppm una señal correspondiente a un hidrógeno base de oxígeno, asignada para H-16; además en 4.60 ppm se encuentra la señal indicativa del H-3 base de acetato. A su vez, en 3.43 ppm se encuentra la señal que indica la presencia de los hidrógenos diastereotópicos H-26, la cual confirma que la ruptura del sistema espirocetálico se dio a través de apertura del anillo F, generando así una cadena lateral abierta. También se destacan las señales simples que se encuentran presentes en 2.03 ppm y 1.96 ppm, que confirman la presencia de dos grupos acetato, indicando la formación de un esteroide colestánico diacetilado, y a su vez, las señales simples que pertenecen a los metilos 18 y 19 se localizaron en 0.83 ppm y 0.99 ppm respectivamente, mientras que las dos señales dobles para los metilos secundarios 21 y 27 aparecen en 1.11 ppm y 0.97 ppm.

Por otra parte, en el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN de **87**, se observa una señal en 212.64 ppm, que indica la presencia de un grupo carbonilo asignado a C-22 mediante el experimento HMBC, además las señales en 170.59 ppm y 169.83 ppm confirman la presencia de dos grupos acetato, estas se asignaron a C-3 y C-16 respectivamente. Por otra parte, en 139.68 ppm y 122.34 ppm se encuentran las señales del doble enlace presente en C-5 y C-6, mientras que en 75.77 ppm y 73.88 aparecen las señales correspondientes a carbonos base de oxígeno de los grupos acetato en las posiciones 3 y 16. Las señales para C-19, C-27, C-21 y C-18 se encuentran en 19.36 ppm, 17.60 ppm, 16.84 ppm y 13.30 ppm, respectivamente.



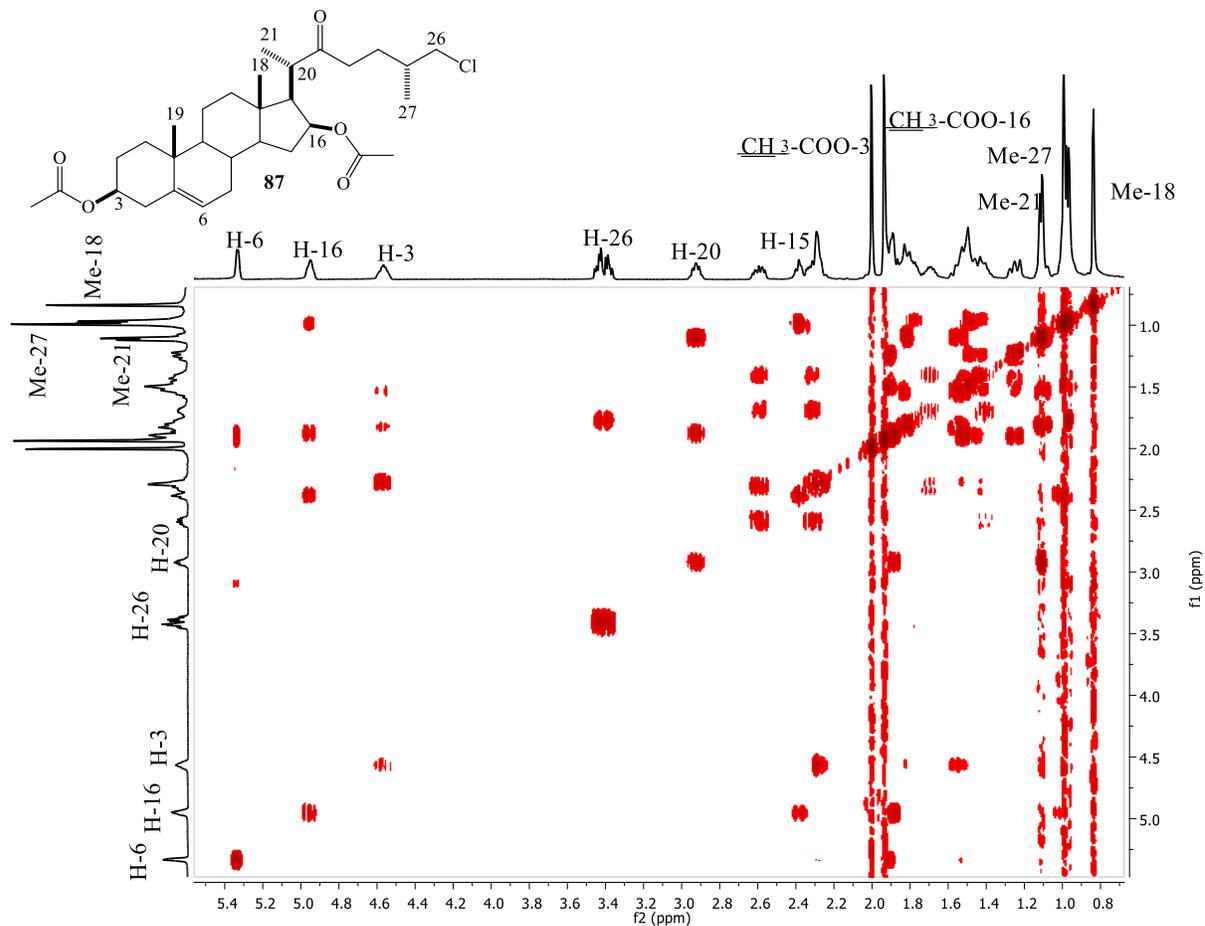
**Figura 9.** Espectros de  $^1\text{H}$ -RMN (500 MHz) y  $^{13}\text{C}$ -RMN (125 MHz) del compuesto **87** en  $\text{CDCl}_3$ .

Adicionalmente, del análisis de los experimentos DEPT 90 y 135 para **87** (Figura 10), se encontró la siguiente información: 9 señales correspondientes a CH observadas en el experimento DEPT 90, mientras que el espectro DEPT 135 mostró 6 señales que corresponden a los  $\text{CH}_3$ , y además se encontraron 11 señales asignadas a grupos  $\text{CH}_2$ , para dar un total de 32 señales de las 31 esperadas, esto incluyendo también las 6 señales para los carbonos cuaternarios que fueron asignadas en el espectro de  $^{13}\text{C}$  por diferencia con los espectros DEPT.



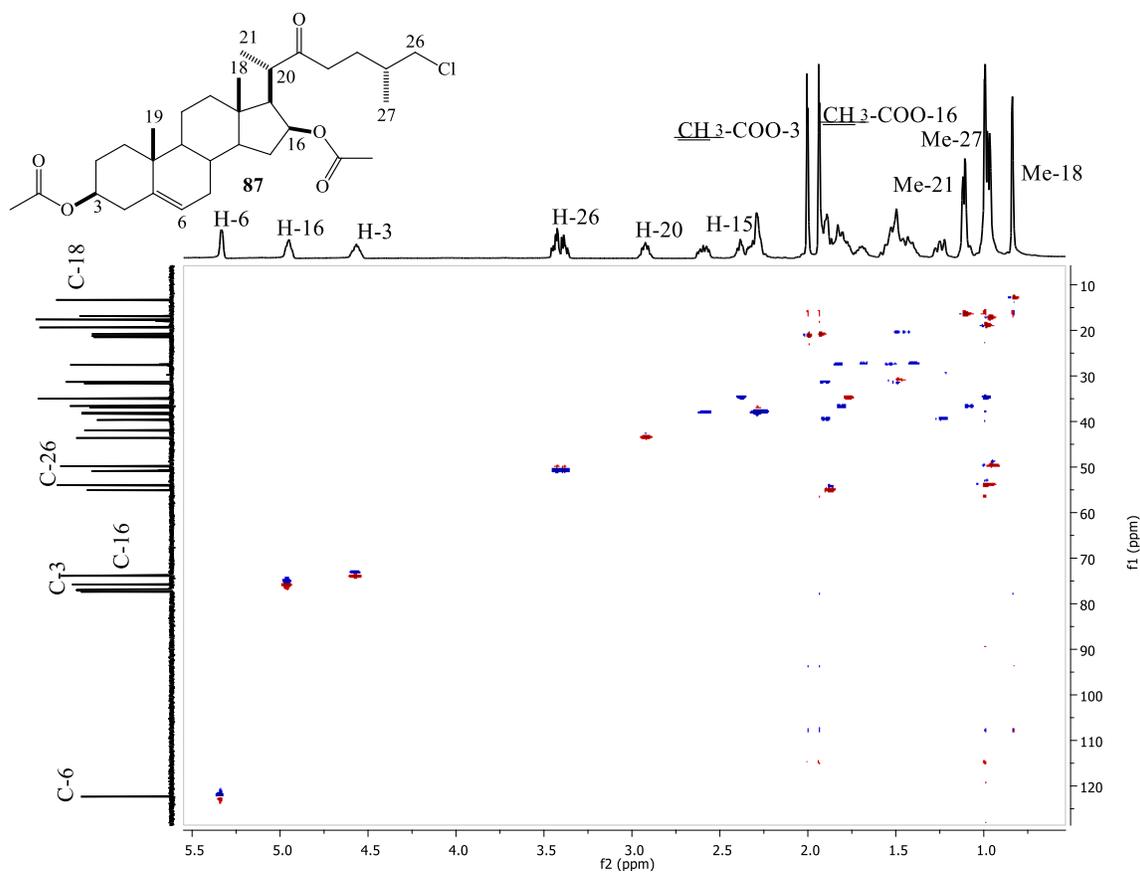
**Figura 10.** Espectro DEPT (100 MHz) del compuesto **87** en  $\text{CDCl}_3$ .

En la figura 11 se muestra el espectro COSY de **87**, el cual muestra las correlaciones homonucleares de H-16 en 4.95 ppm con los hidrógenos diasterotópicos H-15 y H-15' en 2.38 ppm y 1.00 ppm, además mostró también correlación con H-17 en 1.88 ppm. Los dos H-26 en 3.43 ppm correlacionaron con H-25 en 1.78 ppm; el H-24 en 1.41 ppm correlacionó con H-25 en 1.78 ppm.



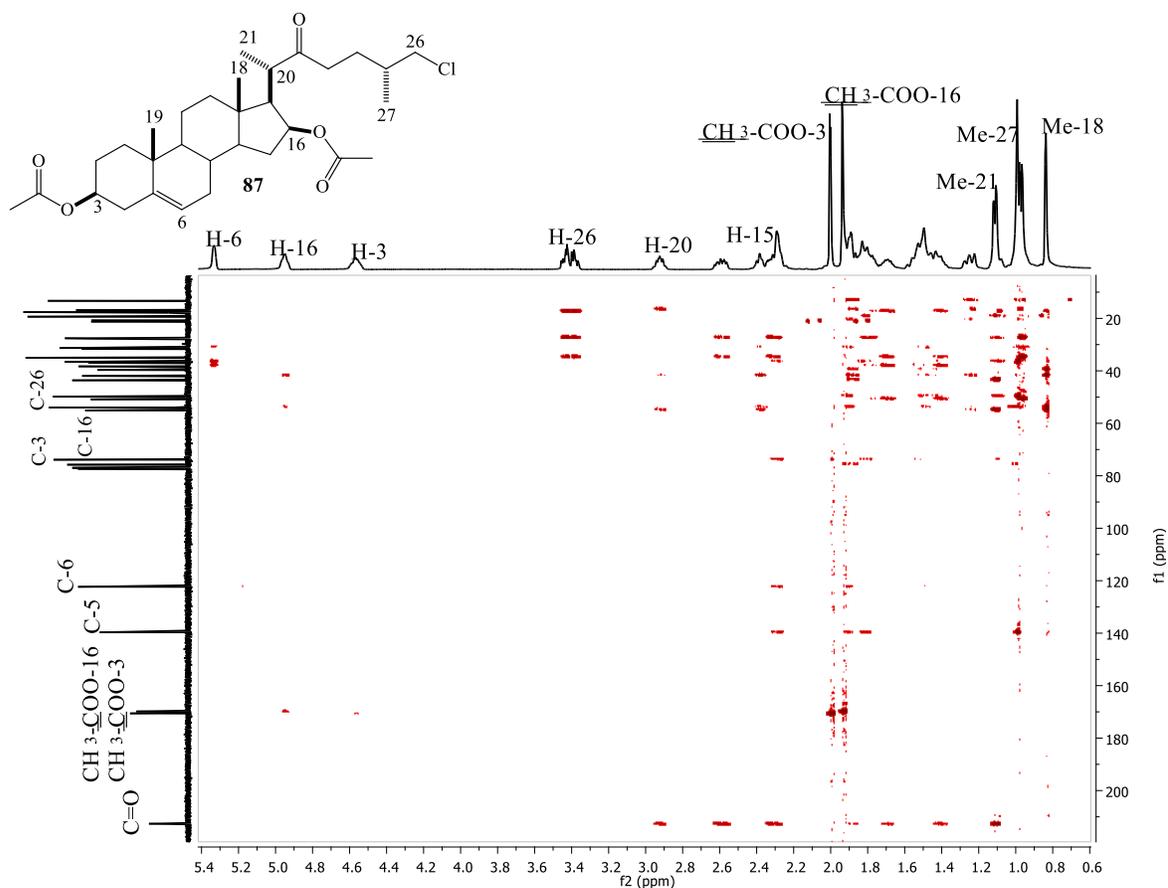
**Figura 11.** Espectro COSY del compuesto **87** en  $\text{CDCl}_3$ .

El experimento HSQC (Figura 12) muestra las siguientes correlaciones heteronucleares: C-16 en 75.77 ppm con el H-16 en 4.95 ppm, C-3 en 73.88 ppm con H-3 en 4.56 ppm y C-26 en 50.88 ppm con la señal múltiple en 3.43 ppm que integra para dos protones, también se observó la correlación de C-24 en 27.59 ppm con los protones H-24 en 1.70 y 1.41 ppm. Los carbonos C-18 en 13.30 ppm y C-19 en 19.36 ppm mostraron correlación con  $\text{CH}_3$ -19 en 0.99 ppm y  $\text{CH}_3$ -18 en 0.83 ppm, así como C-21 en 16.84 ppm y C-27 en 17.60 ppm con el  $\text{CH}_3$ -21 en 1.11 ppm, y  $\text{CH}_3$ -27 en 0.97 ppm, así mismo el resto de las señales se asignaron siguiendo esta secuencia.



**Figura 12.** Espectro HSQC del compuesto **87** en  $\text{CDCl}_3$ .

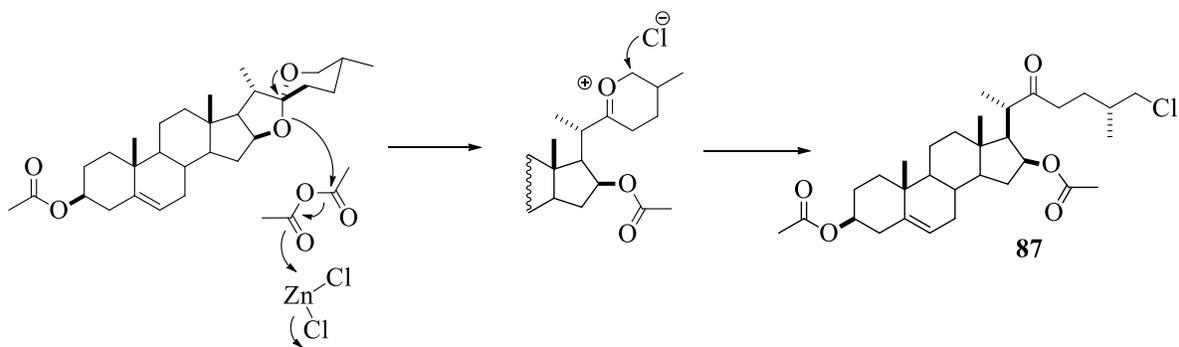
Por otra parte, el experimento HMBC mostrado en la figura siguiente fue de gran utilidad al momento de asignar inequívocamente los carbonos cuaternarios de la estructura, por lo cual, se destacan algunas correlaciones a larga distancia: El carbono C-22 en 212.64 ppm presentó correlación a 3 enlaces de distancia con H-24 en 1.70 ppm y 1.40 ppm, y a su vez, con los dos H-23, H-20 y  $\text{CH}_3$ -21, en 2.56 y 2.28, 2.92, y 1.11, respectivamente. Además, el  $\text{CH}_3$ -27 en 17.60 ppm, C-25 en 35.00 ppm y C-24 en 27.59 ppm, mostraron su correlación con los H-26 en 3.43 ppm. Por otra parte, para los carbonos cuaternarios  $\text{CH}_3$ -COO-16 en 169.83 ppm y  $\text{CH}_3$ -COO-3 en 170.59 ppm, se observó su correlación a tres enlaces con H-16 localizado en 4.95 ppm y con H-3 en 4.56 ppm. Las señales para el resto de los carbonos, también se pudieron asignar mediante el análisis de este experimento.



**Figura 13.** Espectro HMBC del compuesto **87** en  $\text{CDCl}_3$ .

La estructura de **87** también se confirmó mediante el análisis por masa de alta resolución (Ver anexo). Este mostró el ion molecular correspondiente  $[\text{M}+\text{H}]^+$  de 535.31903.

Cabe resaltar en este punto que la reacción fue estereoselectiva hacia la formación del epímero  $\beta$  en 16 (**87**), por lo que se sugiere, un mecanismo parecido al reportado por Hilario-Martínez y colaboradores en el año 2016, para la obtención de 22-oxocolestanos, que involucra un ataque nucleofílico regioselectivo en C-26 (Esquema 24) [24]. Esta explicación además presenta concordancia con el hecho de que el epímero  $\beta$  se obtiene en mayor rendimiento que el epímero  $\alpha$ .

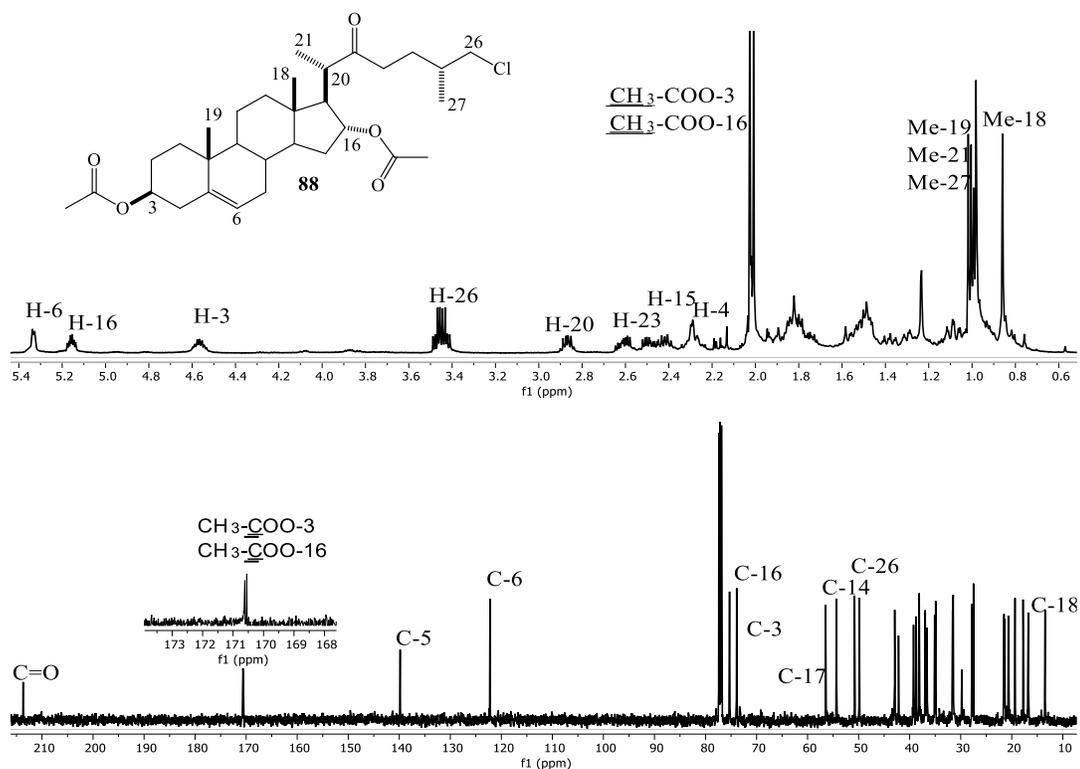


**Esquema 24.** Mecanismo propuesto para la obtención de **87**.

En relación al compuesto **88** se anexan los espectros de  $^1\text{H}$ -RMN y  $^{13}\text{C}$ -RMN en la figura 14.

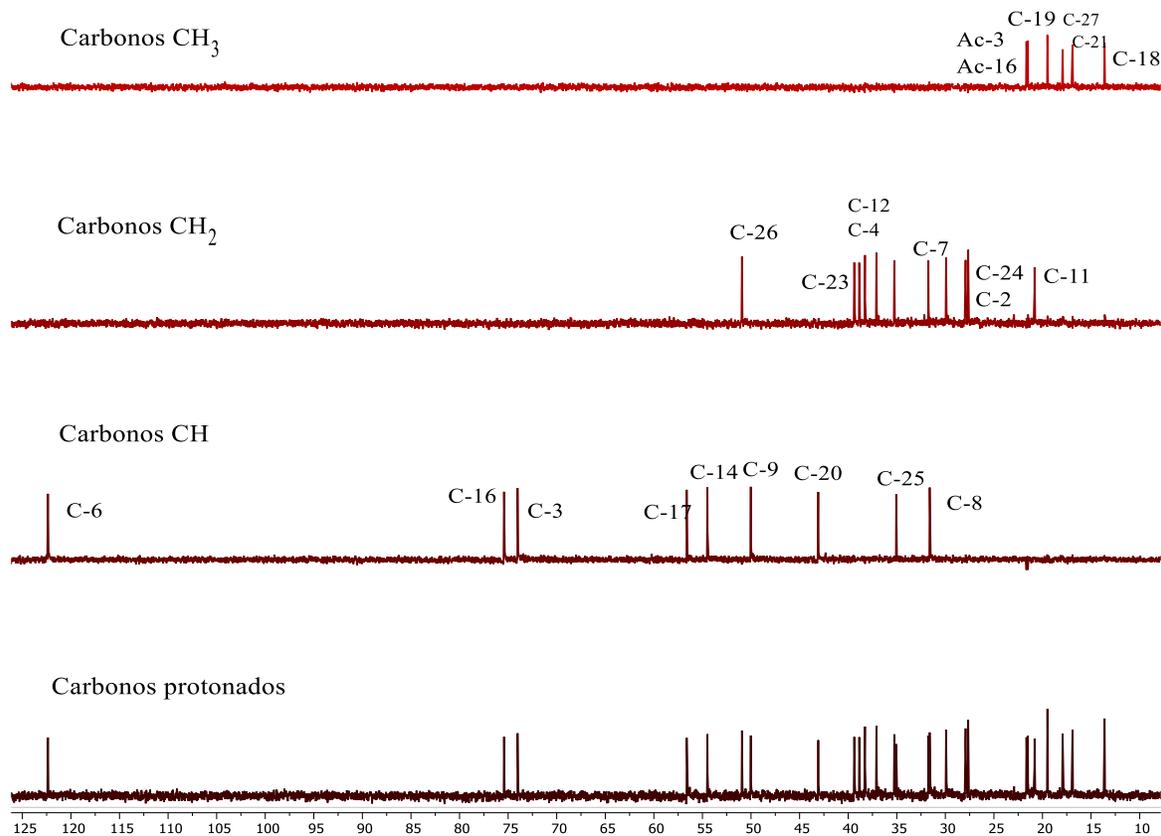
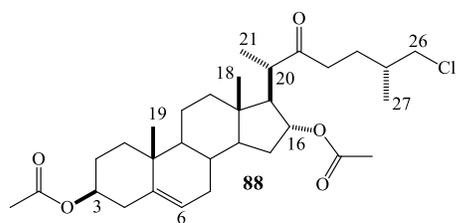
En 5.34 ppm se observa la señal del hidrógeno vinílico H-6, en 5.16 ppm la señal que corresponde a un hidrógeno base de oxígeno que se asigna para H-16 mediante los experimentos de 2D, y localizada en 4.57 ppm se encuentra la señal correspondiente al H-3 base de acetato. En 3.45 ppm se encuentra la señal de los hidrógenos diastereotópicos H-26 confirmando la apertura del anillo F de la cadena terminal. Las señales simples en 2.03 ppm y 2.01 ppm corresponden a los grupos acetato  $\text{CH}_3\text{-COO-16}$  y  $\text{CH}_3\text{-COO-3}$  respectivamente, indicando la formación de un esteroide con estructura colestánica.

Asimismo, mediante el análisis del espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN de **88** se obtuvo la siguiente información: en 213.67 ppm la señal que corresponde a un grupo carbonilo, en 170.61 ppm y 170.55 ppm las señales de los carbonilos de dos grupos acetato, mientras que los desplazamientos en 139.81 ppm y 122.21 ppm se asignaron al doble enlace de los carbonos 5 y 6 de la estructura. Además, en 75.28 ppm y 73.88 ppm aparecen señales que corresponden a C-16 y C-3, lo cual fue confirmado mediante el experimento HSQC. Con esta información se concluye que se trata de un compuesto diacetilado en las posiciones 3 y 16. El resto de las señales presentes en el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN fueron comparadas con los datos espectroscópicos de la materia prima [50] y con los datos obtenidos de los espectros de RMN-2D, como se describe en las siguientes figuras.



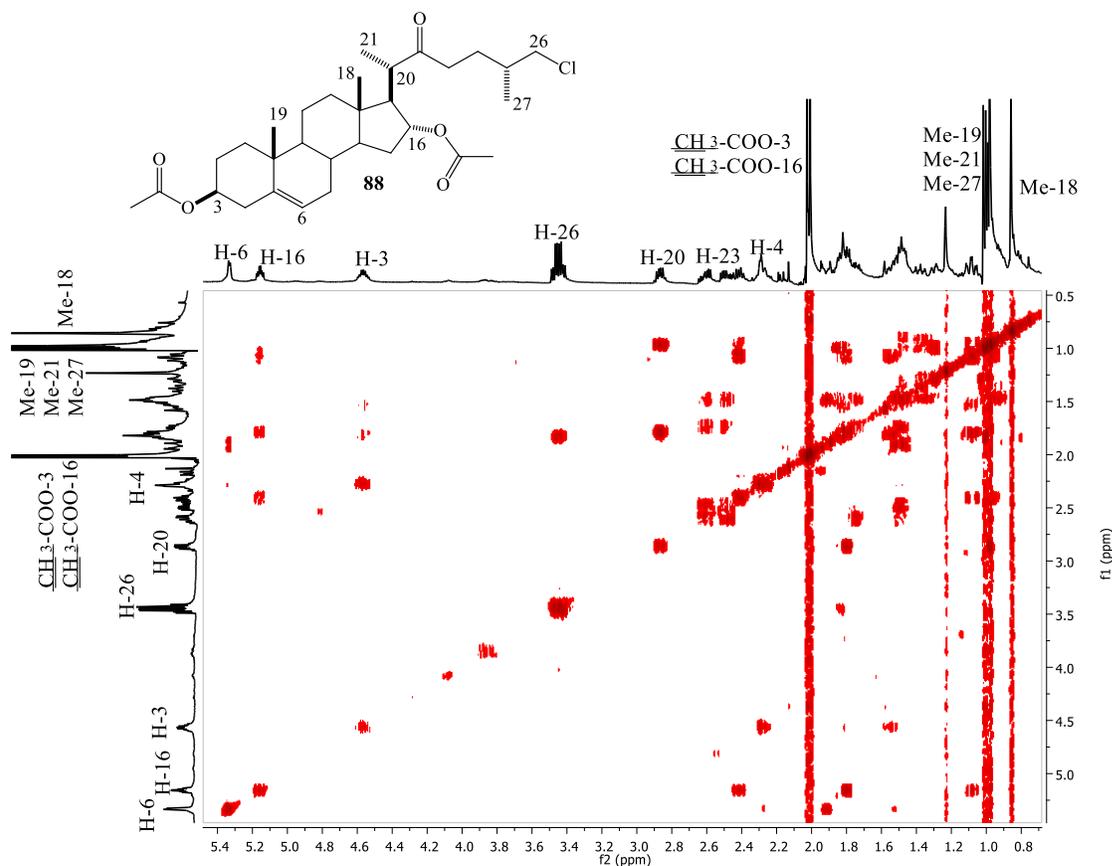
**Figura 14.** Espectros de  $^1\text{H}$ -RMN (500 MHz) y  $^{13}\text{C}$ -RMN (125 MHz) del compuesto **88** en  $\text{CDCl}_3$ .

A partir del análisis de los experimentos DEPT 90 y 135 se pudo establecer la multiplicidad para cada uno de los carbonos. De esta manera el experimento DEPT 90 mostró 9 señales correspondientes a CH, el DEPT 135, 6 señales adicionales que corresponden a los  $\text{CH}_3$ , y 11 señales que corresponden a  $\text{CH}_2$  para dar un total de 32 señales de las 31 esperadas, considerando también las 6 señales asignadas a los carbonos cuaternarios encontradas en el espectro de  $^{13}\text{C}$  por diferencia con los espectros DEPT.



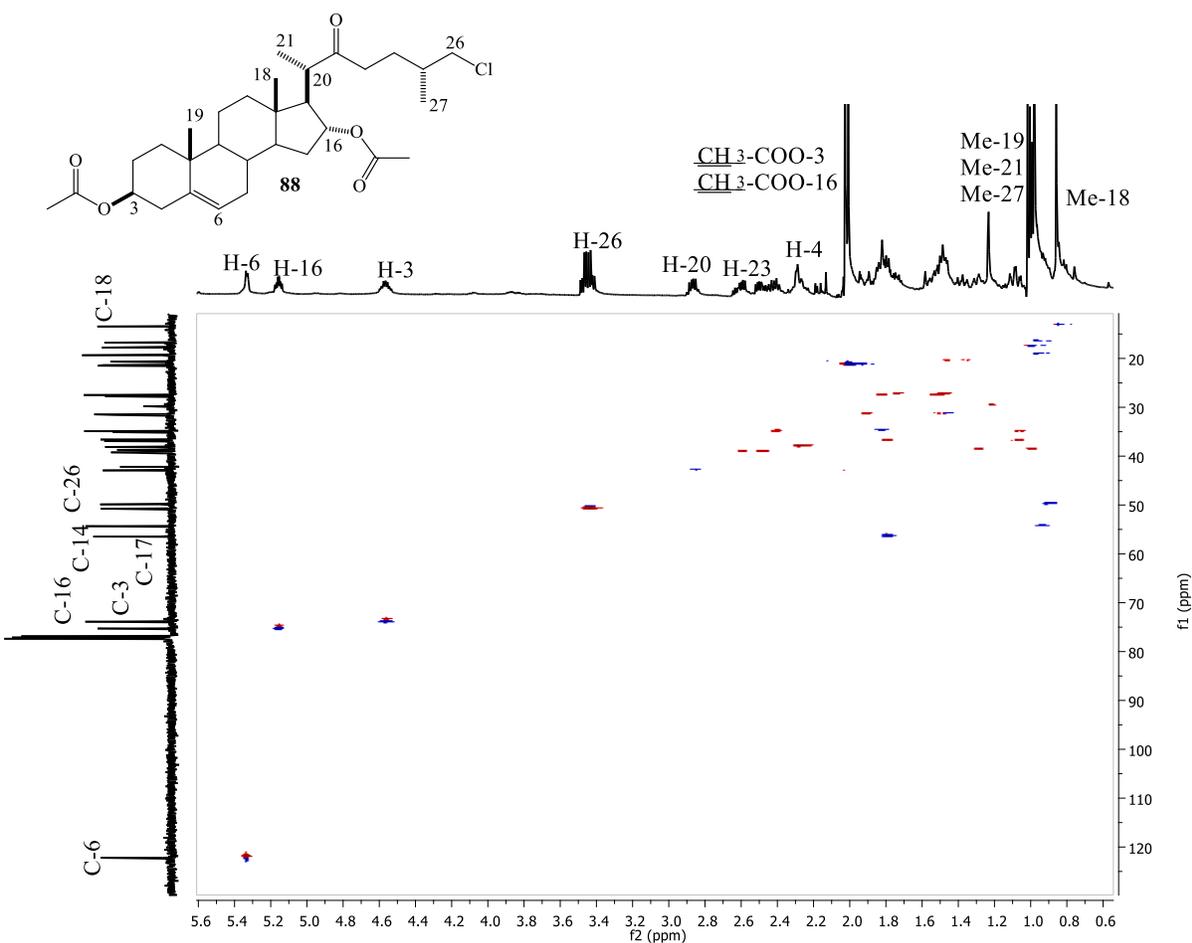
**Figura 15.** Espectro DEPT (100 MHz) del compuesto **88** en  $\text{CDCl}_3$ .

En la figura 16 se muestra el espectro COSY de **88**, que muestra las correlaciones homonucleares del H-16 en 5.16 ppm con los hidrógenos diasterotópicos H-15 y H-15' en 2.43 ppm y en 1.09 ppm, también mostró correlación con H-17 en 1.80 ppm. Los dos H-26 en 3.45 ppm correlacionaron con el H-25 en 1.84 ppm; además se observaron las correlaciones del H-20 situado en 2.87 ppm con  $\text{CH}_3$ -21 en 0.99, y de H-3 asignado a la señal en 4.57 ppm con H-4 en 2.29 ppm.



**Figura 16.** Espectro COSY del compuesto **88** en  $\text{CDCl}_3$ .

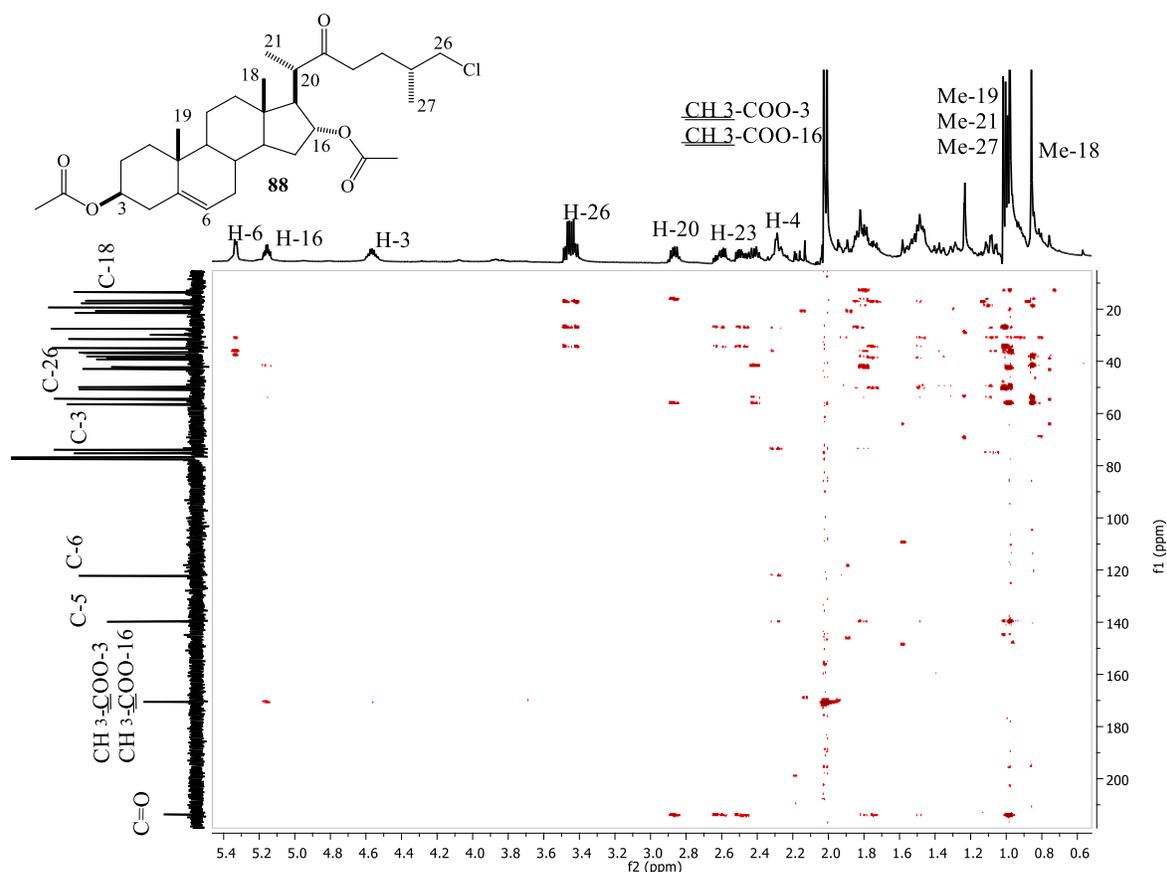
El experimento HSQC (Figura 17) muestra las siguientes correlaciones heteronucleares: C-16 en 75.28 ppm con el H-16 en 5.16 ppm, C-3 en 73.88 ppm con H-3 en 4.56 ppm y C-26 en 50.79 ppm con la señal múltiple en 3.45 ppm que integra para dos protones correspondiente a H-26; también se observó la correlación de C-24 en 27.49 ppm con los protones H-24 en 1.73 y 1.47 ppm. Los carbonos C-18 en 13.46 ppm y C-19 en 19.34 ppm mostraron correlación con los  $\text{CH}_3$ -19 en 0.99 ppm y  $\text{CH}_3$ -18 en 0.85 ppm, así como C-21 en 16.76 ppm y C-27 en 17.78 ppm con el  $\text{CH}_3$ -21 en 0.99 ppm, y  $\text{CH}_3$ -27 en 01.01 ppm; así mismo, el resto de las señales se asignó mediante este análisis.



**Figura 17.** Espectro HSQC del compuesto **88** en  $\text{CDCl}_3$ .

Por otra parte, el experimento HMBC (Figura 18) fue de gran utilidad para asignar inequívocamente los carbonos cuaternarios, por lo que a continuación, se describen algunas de estas correlaciones a larga distancia: El carbono C-22 en 213.68 ppm presentó correlación a 3 enlaces de distancia con H-24 en 1.70 ppm y 1.40 ppm, y a su vez, con H-23, H-20 y  $\text{CH}_3$ -21, en 2.60 y 2.46, 2.87, y 0.98, respectivamente. Además, el  $\text{CH}_3$ -27 en 17.78 ppm, C-25 en 34.90 ppm y C-24 en 27.49 ppm, mostraron su correlación con los H-26 en 3.45 ppm. También el carbono cuaternario  $\text{CH}_3$ -COO-16 localizado en 170.55 ppm y el carbono  $\text{CH}_3$ -COO-3 encontrado en 170.62 ppm, presentaron correlaciones a tres enlaces con H-16

localizado en 5.15 ppm y con H-3 situado en 4.56 ppm, respectivamente. Otros carbonos cuaternarios también se asignaron de la misma manera.



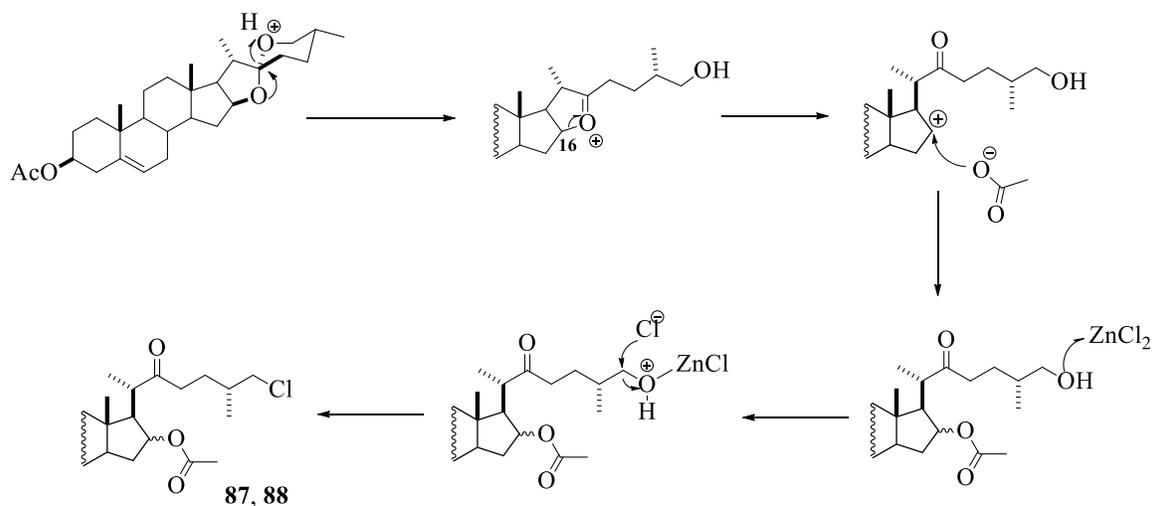
**Figura 18.** Espectro HMBC del compuesto **88** en  $\text{CDCl}_3$ .

La estructura de **88** también se analizó mediante masa de alta resolución (Ver anexo), mostrando el ion molecular  $[\text{M}+\text{H}]^+$  de 535.31677. Con este dato y haciendo el análisis comparativo del espectro de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  de este derivado con relación a los de **87**, se puede hacer notar que se trata de compuestos epiméricos. En este contexto se procedió a realizar a realizar una búsqueda en la literatura y se encontró que **87/88** han sido descritos en una tesis de doctorado de la Universidad de Hamburgo [52] y fueron obtenidos a través de la apertura del acetato de diosgenina, en presencia de  $\text{HCl}$ ,  $\text{AcCl}$  a  $90^\circ\text{C}$  (6h a reflujo más otras 12h a

temperatura ambiente) o con AcCl, AcOH a 90°C (12 h reflujo). En estas últimas condiciones de reacción, mencionan la obtención de cierta cantidad de los epímeros **87/88** sin separar (mezcla-pura y algunas de estas enriquecidas con respecto al compuesto **87** o al **88**) y se refieren a la obtención de estos en una relación 3:2 de 16 $\beta$ /16 $\alpha$ .

Además de la obtención de los derivados 26-clorados, reportan la obtención del producto 3,16,26-triacetilado [53,54]; solo cuando la reacción se lleva a cabo en presencia de HCl y AcCl, describen como único producto el epímero 16 $\beta$ -acetil-26-clorado en 11% de rendimiento, más el compuesto 3,16,26-triacetilado en mezcla epimérica y en 6% de rendimiento.

Por otra parte, la justificación para la formación de **88** puede explicarse a partir del análisis de esquema 25. El sistema espirocetálico puede presentar la apertura ácida provocada por un protón en el medio, generándose así una cadena lateral abierta con una función hidroxilo en C-26 y un intermediario oxocarbenio. Al romperse el enlace sigma entre C16 y el oxígeno deficiente de electrones, este recupera su par electrónico, generando un carbocatión secundario, plano, que puede ser atacado por el anión acetilo por una cara o la otra. El hidroxilo de la cadena abierta se coordina al ZnCl<sub>2</sub>, para que posteriormente ocurra la sustitución nucleofílica de un ión cloruro presente en el medio; de esta manera se justifica la presencia del átomo de cloro en la posición 26 y la formación de los epímeros **87** y **88**.

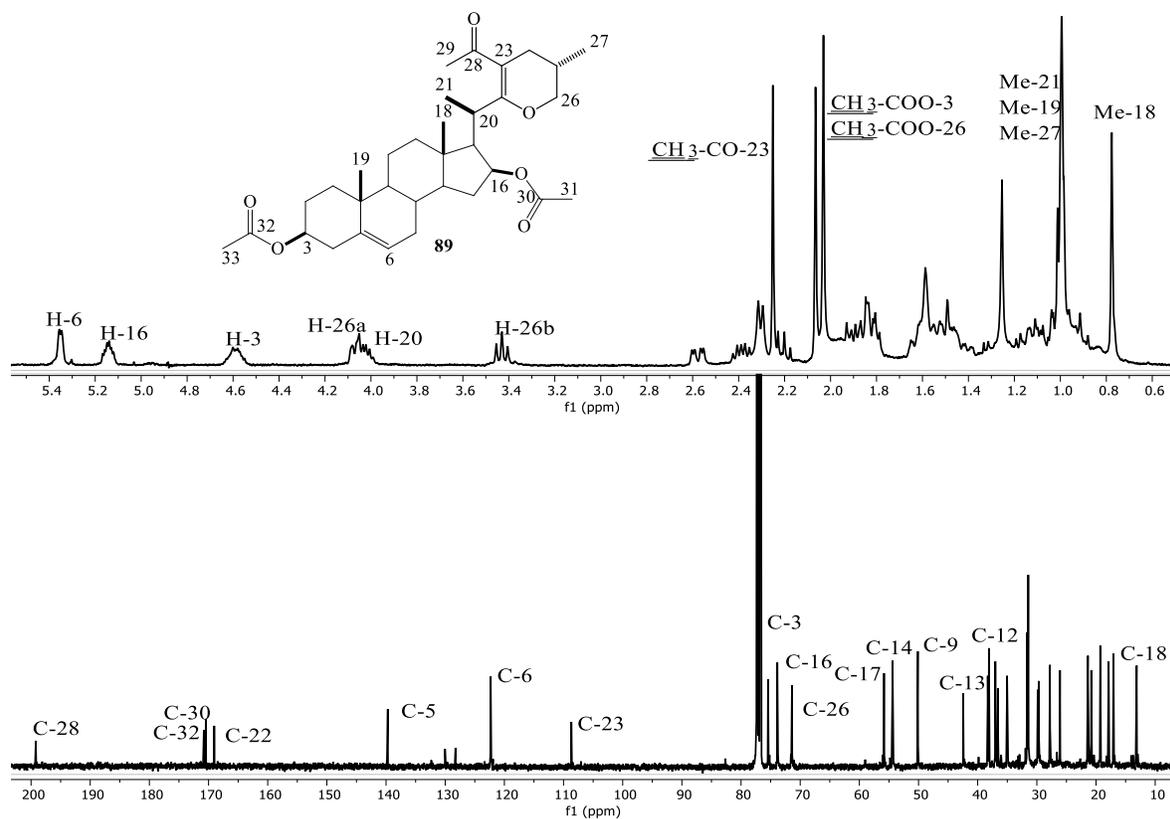


**Esquema 25.** Mecanismo propuesto para la obtención de los epímeros **87** y **88**.

En relación a la caracterización estructural del compuesto **89**, las señales identificadas en los espectros de  $^1\text{H}$ -RMN y  $^{13}\text{C}$ -RMN fueron comparadas con las de un compuesto epoxicolesténico reportado en el año 2004, el cual se obtuvo al hacer reaccionar la diosgenina con anhídrido acético y  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ , durante tres horas a temperatura ambiente [55]. Es importante destacar que, con la metodología descrita por los autores, se reporta la obtención de dos derivados epoxicolesténicos epiméricos en C-20 (73.6% de rendimiento en mezcla) y con estereoquímica diferente en C-25 con respecto a la materia prima; en nuestro caso con el uso de microondas y  $\text{ZnCl}_2$  y haciendo una comparación de los datos espectroscópicos obtenidos con los reportados, bajo estas condiciones se obtiene el derivado epoxicolesténico con estereoquímica 20(*R*), 25(*S*).

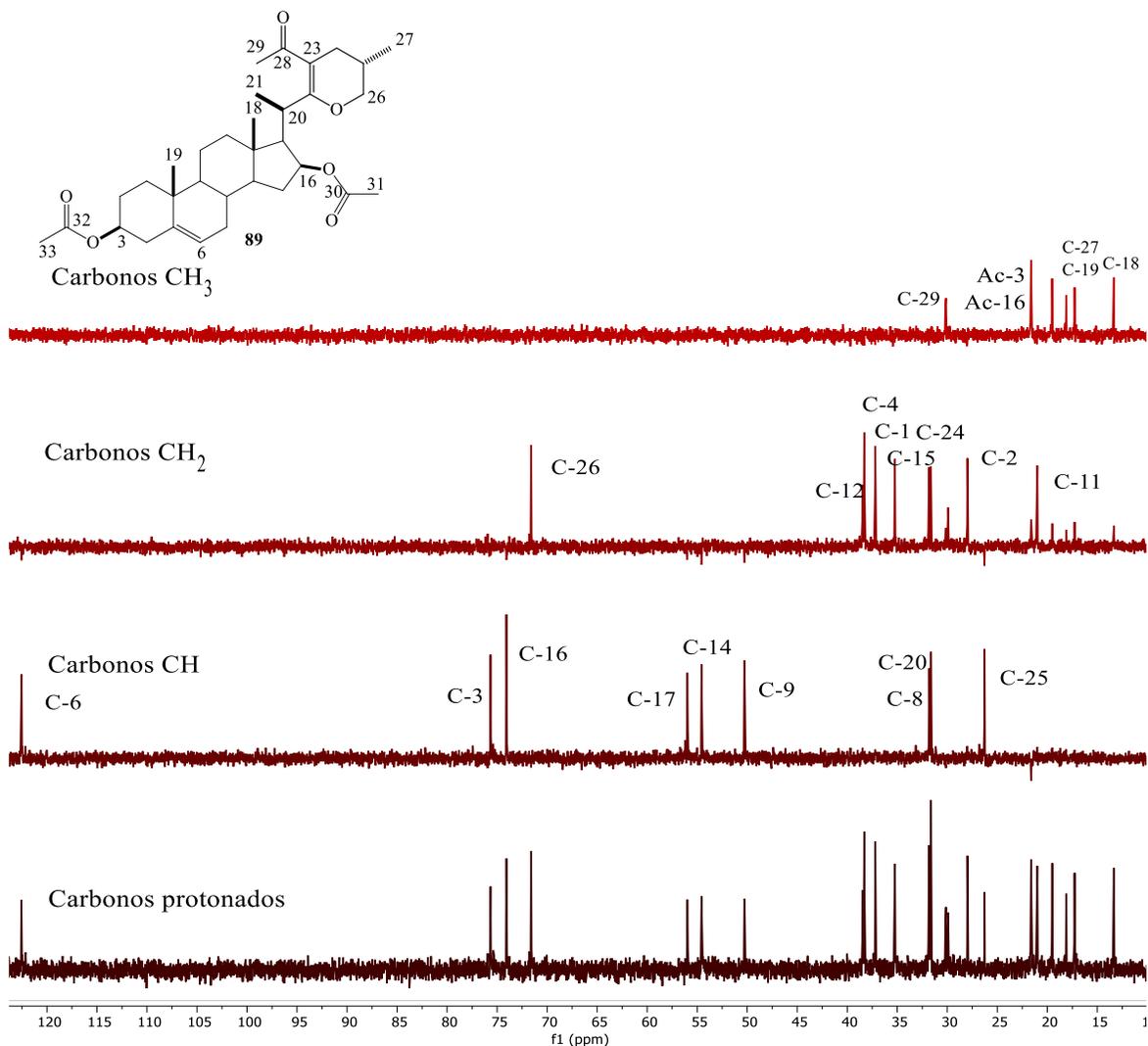
A continuación, en el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de **89**, se destacan algunas señales características (Figura 19): En 5.35 ppm se encuentra la señal correspondiente a H-6 (d, H-6, 1H), en 5.14 ppm se aprecia una señal asignada a H-16 (m, H-16, 1H), así mismo, en 4.58 ppm se observa la señal del H-3, mientras que la señal en 4.08 ppm es asignada a H-26ax (ddd, H-26a, 1H), y la de 3.43 ppm a H-26ec, además en 3.99 ppm se observa una señal múltiple que corresponde a H-20 (m, H-20, 1H). También se observa la señal en 2.24 ppm del metilo del grupo acilo ( $\text{CH}_3\text{-CO-23}$ , 3H), y las señales en 2.06 ppm y 2.03 ppm que corresponden a los grupos acetato en las posiciones 3 y 16, respectivamente. Por último, en la región alifática del espectro se encuentran las señales en 1.00 ppm (d, Me-21, 3H), 0.99 ppm (s, Me-19, 3H), 0.98 ppm (d, Me-27, 3H), y 0.78 ppm (s, Me-18, 3H).

Por otra parte, a partir del análisis del espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN se destacan las siguientes señales: en 199.18 ppm la señal correspondiente a C-28, mientras que las señales en 170.78 ppm y 170.45 ppm son asignadas a los grupos acetato en C-30 y C-32. También se observa la señal en 169.02 ppm de C-22, en 139.70 ppm y 122.30 ppm las señales asignadas a C-5 y C-6 del doble enlace vinílico, y en 108.66 ppm una señal que se asigna a C-23. Otras señales a destacar, son las encontradas en 75.43 ppm, 73.86 ppm y 71.38 ppm que corresponden a los carbonos 16, 3 y 26, respectivamente. El resto de las señales se corroboraron por comparación con los desplazamientos descritos en la literatura [55].



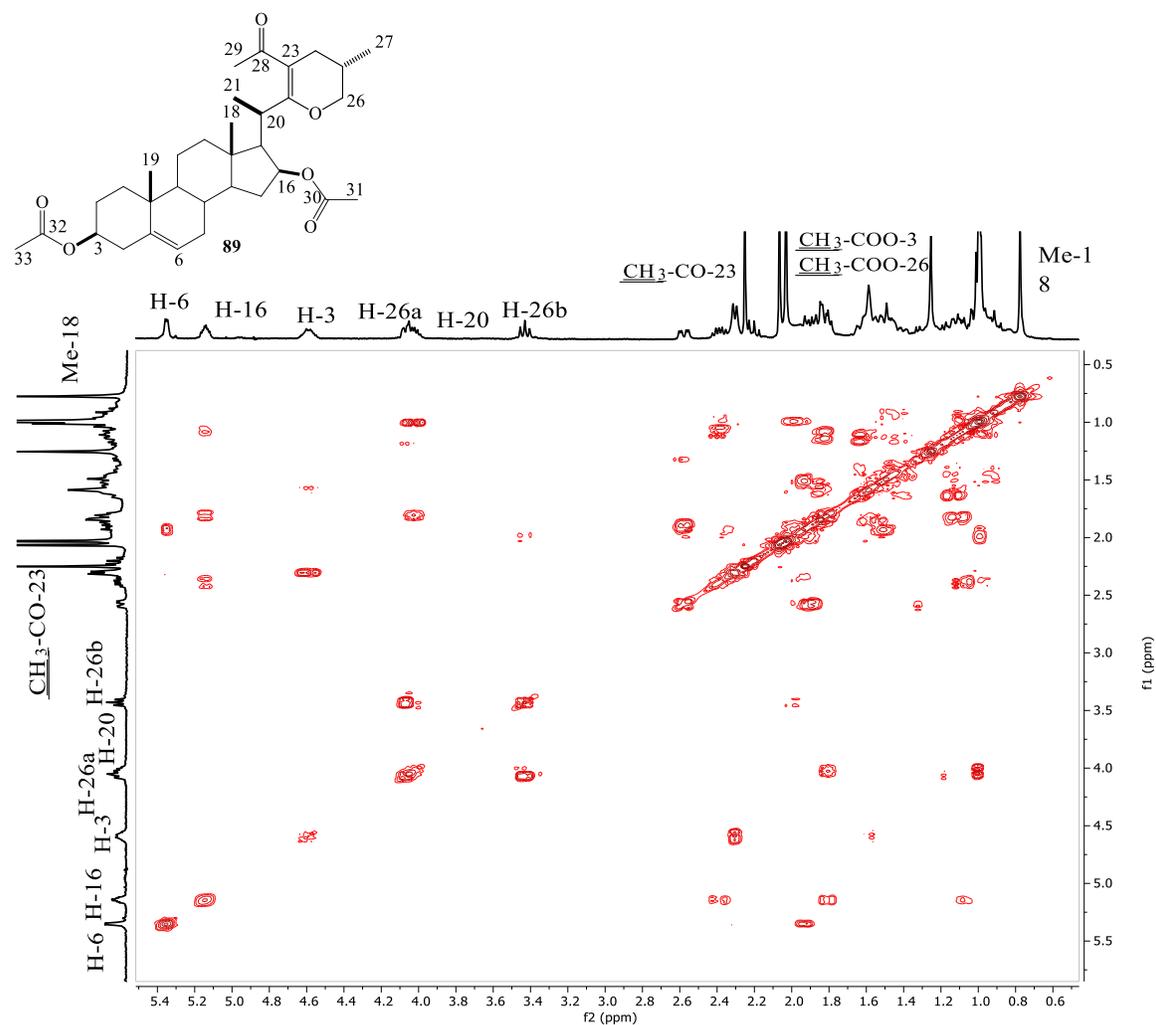
**Figura 19.** Espectros de  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz) y  $^{13}\text{C}$ -RMN (100 MHz) del compuesto **89** en  $\text{CDCl}_3$ .

A partir del análisis de los experimentos DEPT 90 y 135 se pudo establecer la multiplicidad para los carbonos encontrados en el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN. De esta manera el experimento DEPT 90 mostró 9 señales correspondientes a CH, el DEPT 135, 7 señales adicionales en fase positiva que corresponden a los  $\text{CH}_3$ , y adicionalmente se encontraron 9 señales que corresponden a  $\text{CH}_2$ , para dar un total de 33 señales de las 33 esperadas, esto considerando también las 8 señales que fueron asignadas a los carbonos cuaternarios, las cuales fueron encontradas en el espectro de  $^{13}\text{C}$  por diferencia con los espectros DEPT. Cabe señalar que a pesar de que existe la presencia de señales adicionales en DEPT, estas no fueron consideradas para su análisis, ya que inicialmente no aparecían en el espectro de carbono; esto puede ser debido a la inestabilidad presentada por la propia naturaleza del compuesto.



**Figura 20.** Espectro DEPT (100 MHz) del compuesto **89** en  $\text{CDCl}_3$ .

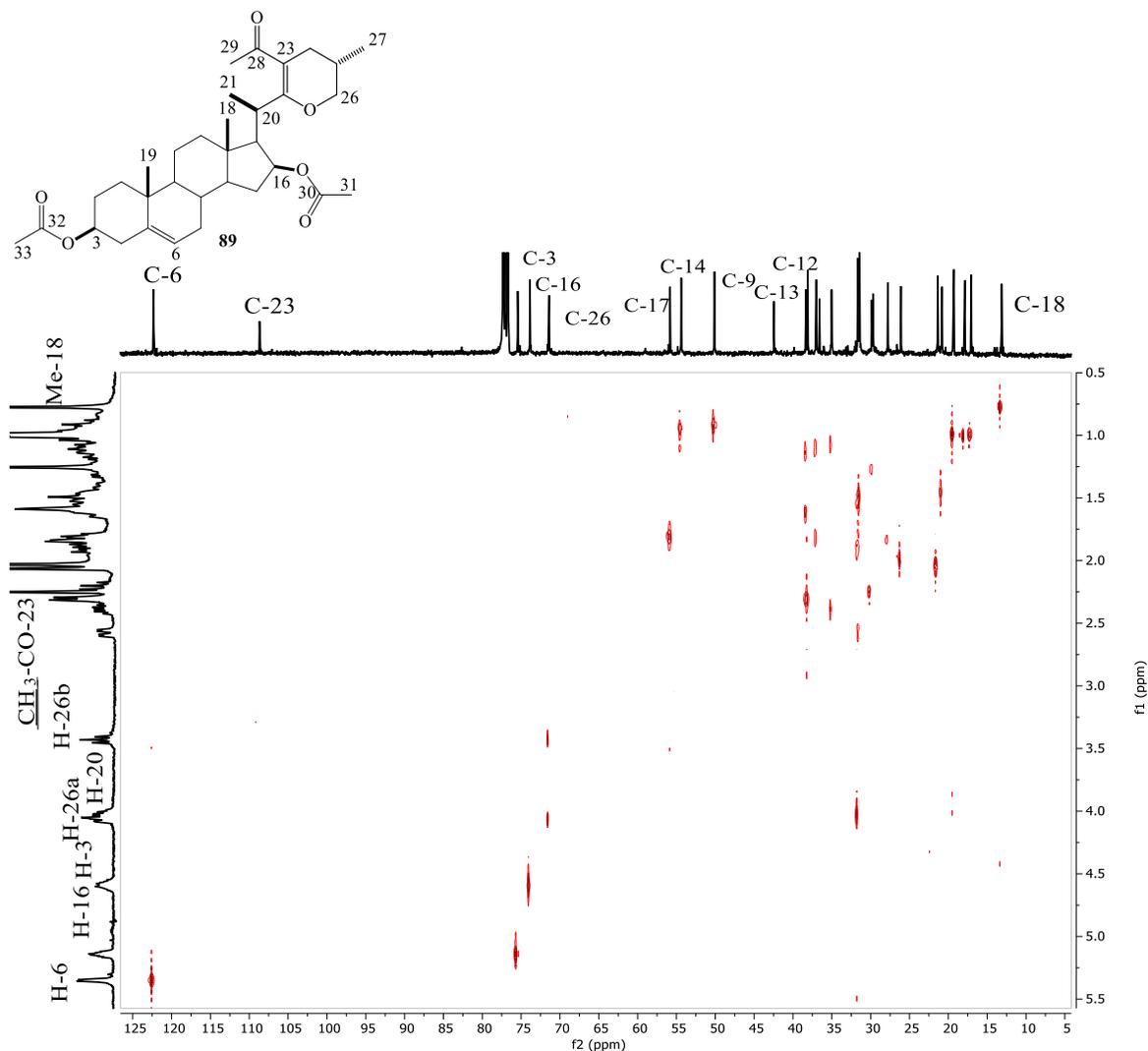
A continuación, en la figura 21 se muestra el espectro COSY correspondiente para **89**, a partir del cual se determinan las siguientes correlaciones homonucleares: H-16 en 5.15 ppm correlaciona con los hidrógenos diastereotópicos H-15 y H-15' en 2.42 ppm y en 1.10 ppm, también mostró correlación con H-17 en 1.82 ppm. Los protones H-26 en 4.06 ppm y 3.43 ppm correlacionaron con el H-25 en 1.99 ppm; además se observaron las correlaciones del H-20 situado en 3.98 ppm con  $\text{CH}_3$ -21 en 1.00, y de H-3 asignado a la señal en 4.60 ppm con H-4 en 2.33 ppm.



**Figura 21.** Espectro COSY del compuesto **89** en  $\text{CDCl}_3$ .

Por otra parte, el experimento HETCOR resultó de gran ayuda para encontrar las correlaciones presentes entre las señales de carbono con las señales de protón que les corresponden (Figura 22). Por ejemplo, se puede apreciar la correlación entre C-6 localizado en 122.31 con H-6 en 5.35 ppm, C-16 en 73.87 ppm con H-16 situado en 5.15 ppm; también se observa correlación entre C-3 que aparece en 75.44 ppm con H-3 en 4.60 ppm, así como los H-26 en 4.06 ppm y 3.43 ppm con C-26 presente en 71.39 ppm. También se puede mencionar la correlación de H-20 encontrado en 4.02 ppm con C-20 en 31.62 ppm, y las demás señales para los metilos 27, 21, 19 y 18 que correlacionan con sus respectivas señales de carbono en 17.87 ppm, 19.28 ppm, 17.04 ppm y 13.13 ppm, en ese orden. De esta manera se logra la asignación de los espectros de  $^1\text{H}$ -RMN y  $^{13}\text{C}$ -RMN, esto además con ayuda de

los datos espectroscópicos ya reportados literatura. Nótese además que, señales que no presentan correlación en este experimento bidimensional como C-23 o C-13, también pueden ser de utilidad para la identificación de carbonos cuaternarios.

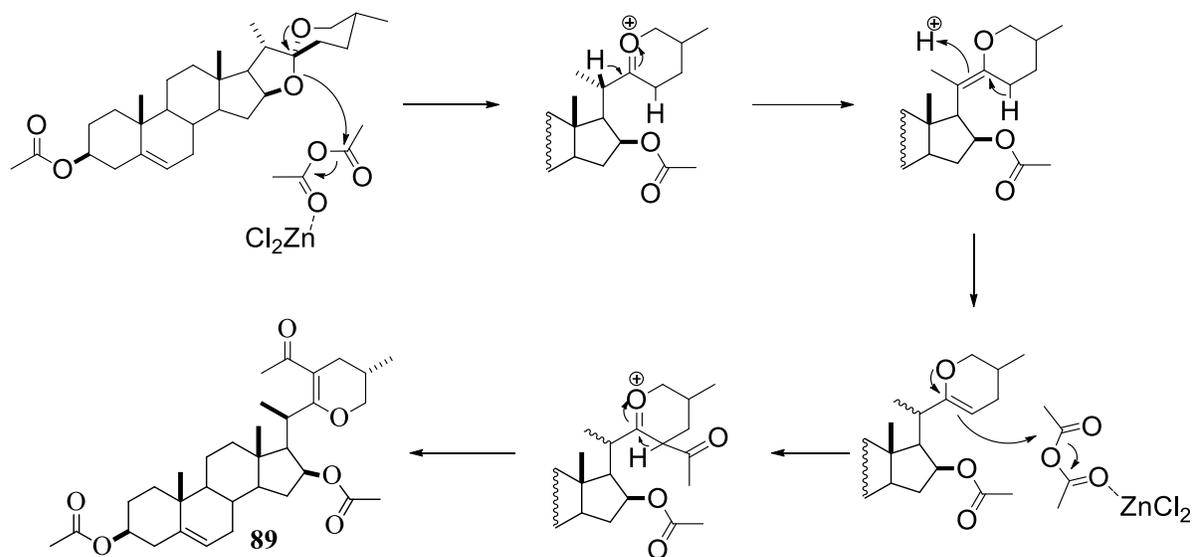


**Figura 22.** Espectro HETCOR del compuesto **89** en  $\text{CDCl}_3$ .

Para explicar la formación de **89** se propone el mecanismo de reacción mostrado en el esquema 26, anteriormente reportado por Susana Rincón et al. [34]; la apertura regioselectiva del anillo E es promovida por el anhídrido acético que interacciona con el  $\text{ZnCl}_2$ , lo cual da como resultado la generación de un intermediario oxacarbenio, el cual

recupera su par electrónico mediante la pérdida de H-20. La reprotonación posterior en C-20 podría generar una mezcla de épimeros en C-20, sin embargo, en este caso la reacción mostró ser estereoespecífica para la obtención de la configuración *R* en C-20, ya que solamente se pudo identificar este derivado proveniente de la reacción de apertura del acetato de diosgenina en 1,2-DCE.

A su vez, cabe recordar que el compuesto epoxicolesteno obtenido también presentó una inversión en la configuración para C-25, lo cual ya ha sido descrito [56]. Es muy probable que esta isomerización en C-25 ocurra como un paso previo al mecanismo mostrado en el esquema 26 para la formación de **89**. Es importante considerar que esta facilidad hacia presentar el fenómeno isomerización en medio ácido para C-25 de las sapogeninas espirostánicas ha llegado incluso a complicar el estudio de su configuración para las sapogeninas naturales [56].

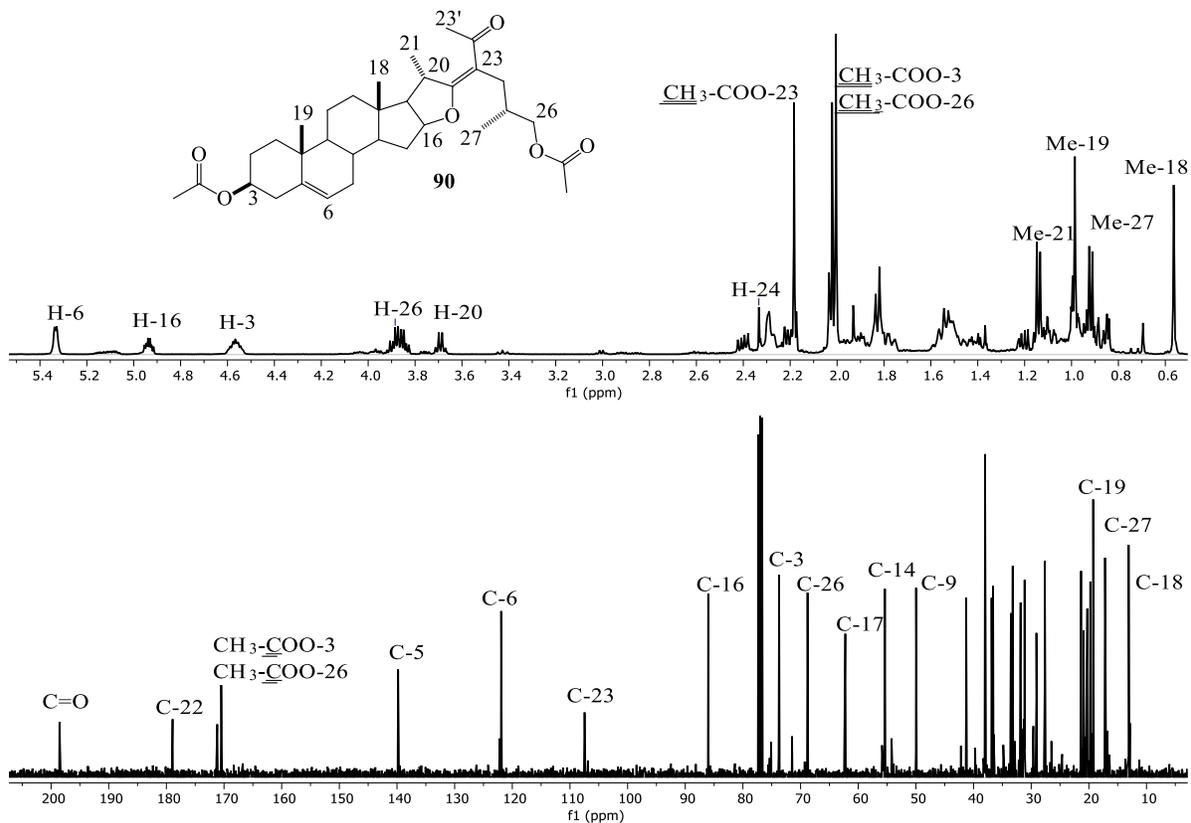


**Esquema 26.** Mecanismo de formación para el derivado 22,26-epoxicolesteno **89** [34].

La estructura de **89** también se confirmó mediante el análisis de masa alta resolución, en el que se observó el ion molecular correspondiente a  $[M+H]^+$  con una relación  $m/z$  encontrada de 541.35458.

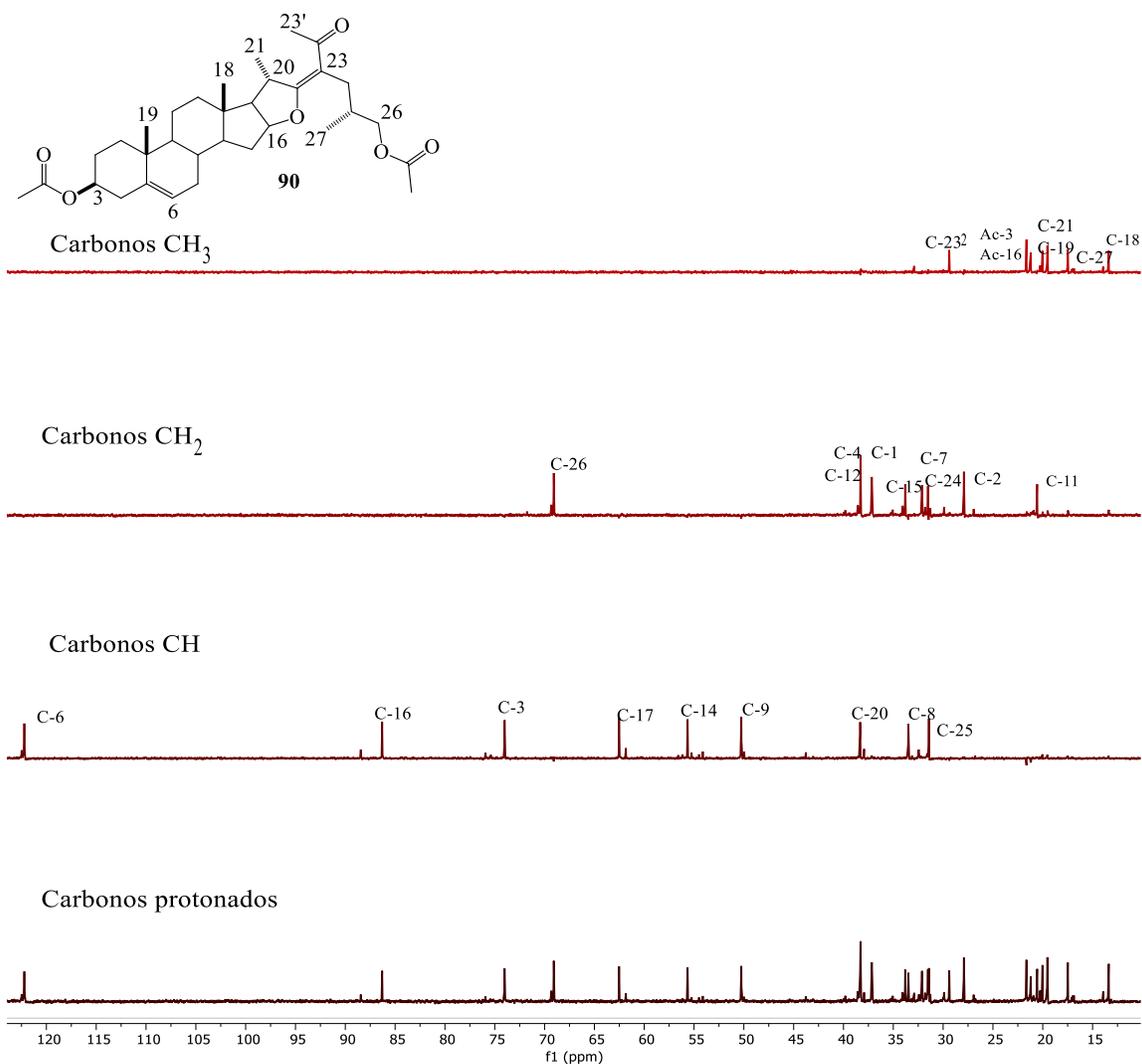
La caracterización del compuesto **90**, se llevó a cabo mediante los análisis de RMN de 1D y 2D, de tal forma que en la figura 23 se anexa el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN, en el que se observa la señal característica para H-6 situada en 5.36 ppm, mientras que en 4.97 ppm se encuentra la señal asignada a H-16; además en 4.61 ppm se encuentra la señal indicativa del H-3 base de acetato. A su vez, en 3.89 ppm aproximadamente se encuentra la señal que indica la presencia de los hidrógenos diastereotópicos H-26, lo que indica la apertura del anillo F del esqueleto esteroide; también se destaca la señal simple que se encuentra en 2.21 ppm que corresponde al metilo 23' del grupo acilo, cuyo carbonilo se encuentra en un sistema  $\alpha$ - $\beta$  insaturado, además las señales en 2.05 ppm y 2.03 ppm, corresponden a los metilos de los grupos acetato  $\text{CH}_3\text{-COO-16}$  y  $\text{CH}_3\text{-COO-3}$  respectivamente. Por último, en la región alifática del espectro aparecen señales simples en 1.01 ppm y 0.59 ppm, asignadas a Me-19 y Me-18, respectivamente, y las señales dobles en 1.17 ppm y 0.95 ppm que pertenecen a Me-21 y Me-27, en ese orden.

En la misma figura se anexa el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN que se describe a continuación: En 198.54 ppm se observa una señal de carbonilo, mientras que en 139.80 ppm y 122.17 ppm se encuentran las señales de los carbonos 5 y 6 de hibridación  $sp^2$ . Además, aparecen las nuevas señales en 178.92 ppm y 107.46 ppm indicando la presencia del doble enlace contenido entre los carbonos C-22 y C-23. Por otra parte, la señal en 86.03 se asignó a C-16, indicativa de que prevalece el anillo E en la estructura, y a su vez en 73.74 ppm y 68.81 ppm se observan señales que corresponden a los carbonos base de acetato C-3 y C-26, también confirmado mediante el experimento HSQC, además de que las señales localizadas en 171.17 ppm y 170.48 ppm dan evidencia de una estructura diacetilada. El resto de las señales presentes en el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN fueron comparadas con los datos espectroscópicos reportados para este compuesto [26], y la clasificación como carbonos CH,  $\text{CH}_2$  y  $\text{CH}_3$  se pudo confirmar a partir del análisis de una serie de experimentos DEPT.



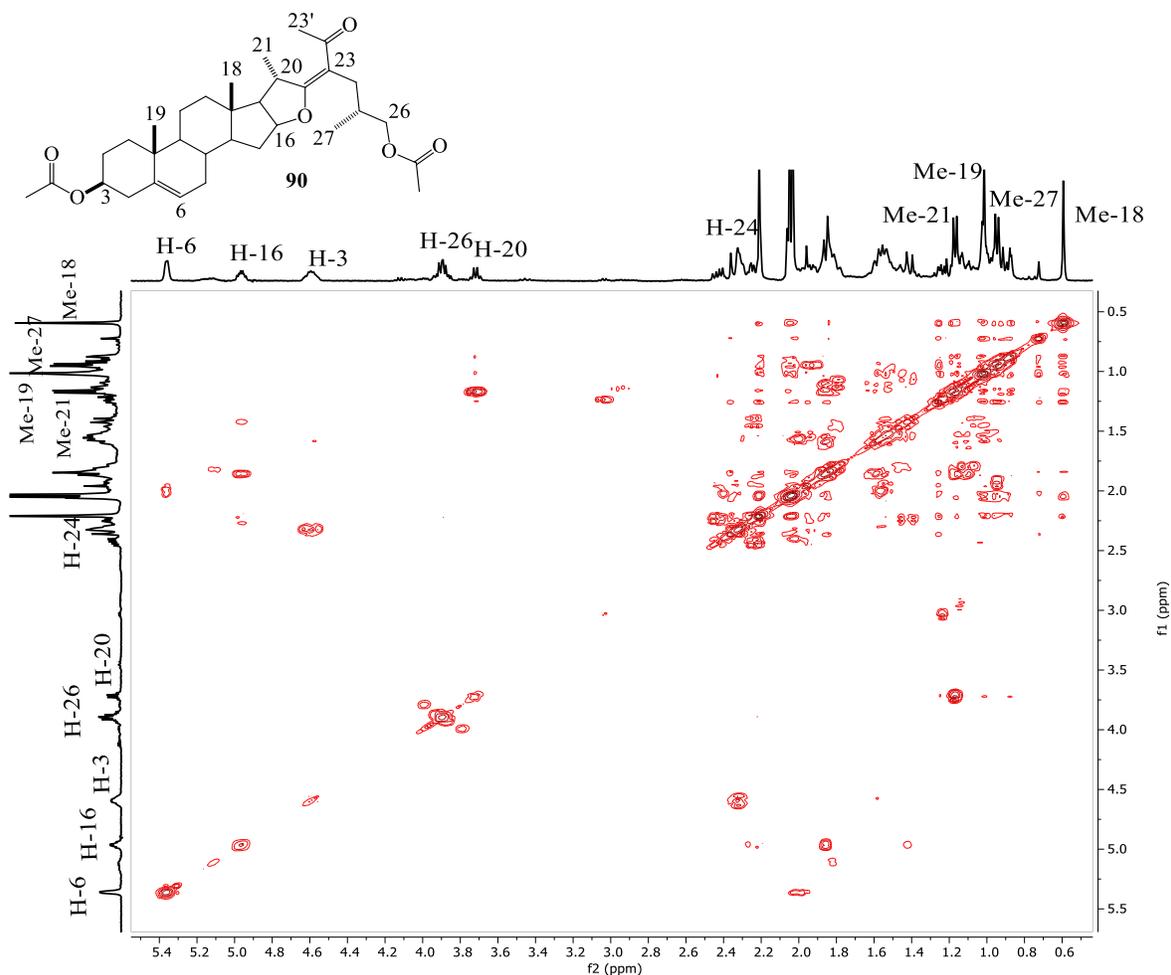
**Figura 23.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz) y  $^{13}\text{C}$ -RMN (100 MHz) del compuesto **90** en  $\text{CDCl}_3$ .

El experimento DEPT 90 mostró 9 señales correspondientes a CH, el DEPT 135, 7 señales adicionales que corresponden a los  $\text{CH}_3$ , además de 9 señales que corresponden a los  $\text{CH}_2$  para dar un total de 33 señales esperadas, esto considerando también las 8 señales asignadas a los carbonos cuaternarios de la estructura, que fueron identificadas en el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN por diferencia con los espectros DEPT.



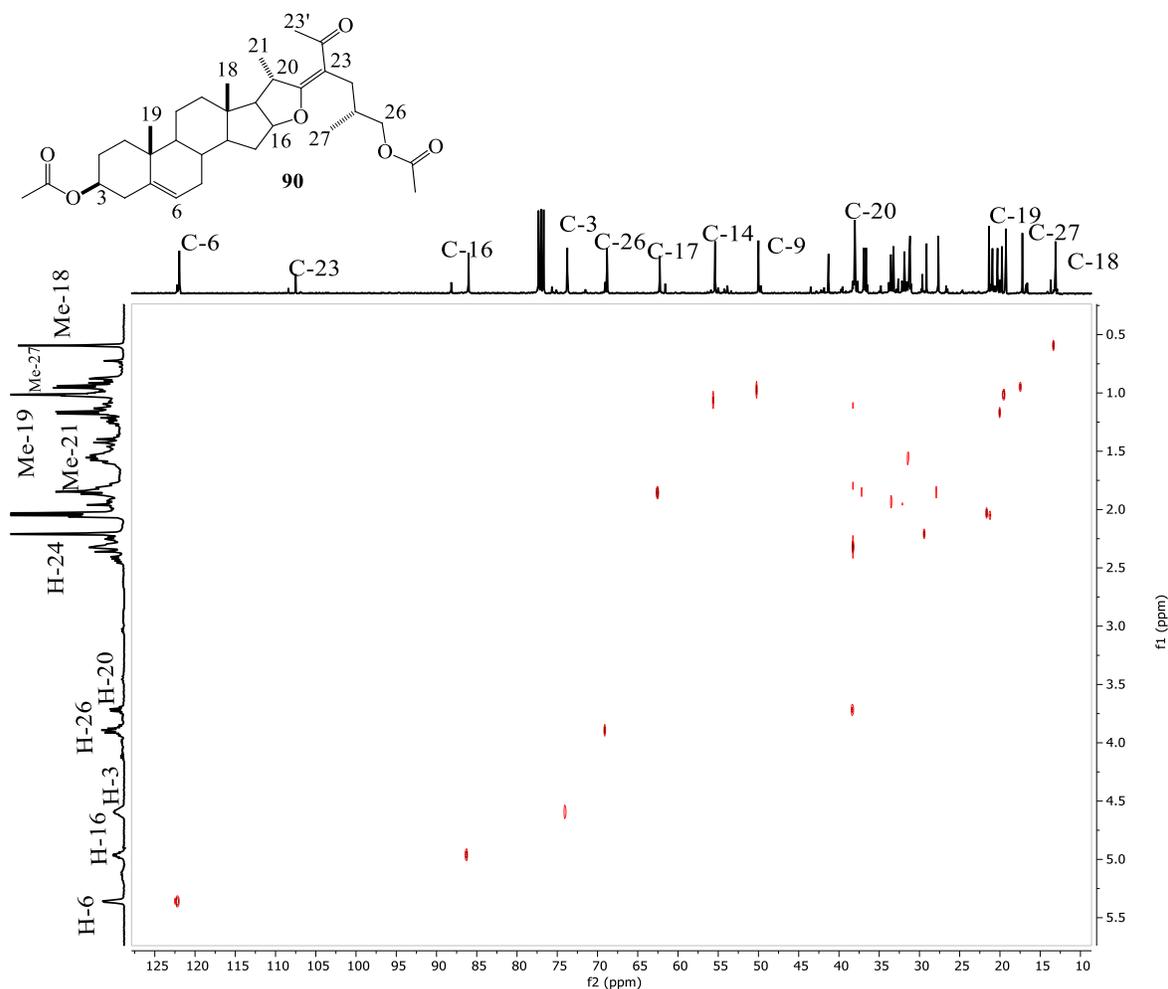
**Figura 24.** Espectro DEPT (100 MHz) del compuesto **90** en  $\text{CDCl}_3$ .

A continuación, en la siguiente figura se muestra el espectro COSY de **90**, donde se pueden apreciar las correlaciones homonucleares del H-16 en 5.16 ppm con los hidrógenos de H-15 y en 2.22 ppm y en 1.42 ppm, y su vez, mostró correlación con H-17 en 1.82 ppm. Los dos H-26 en 3.89 ppm correlacionaron con el H-25 en 2.22 ppm; además se observaron las correlaciones del H-20 situado en 3.72 ppm con  $\text{CH}_3$ -21 en 1.17 y con la señal en 1.82 ppm asignada para H-17. También se observa la correlación que presenta H-3 asignado a la señal en 4.59 ppm con H-4 localizado en 2.32 ppm.



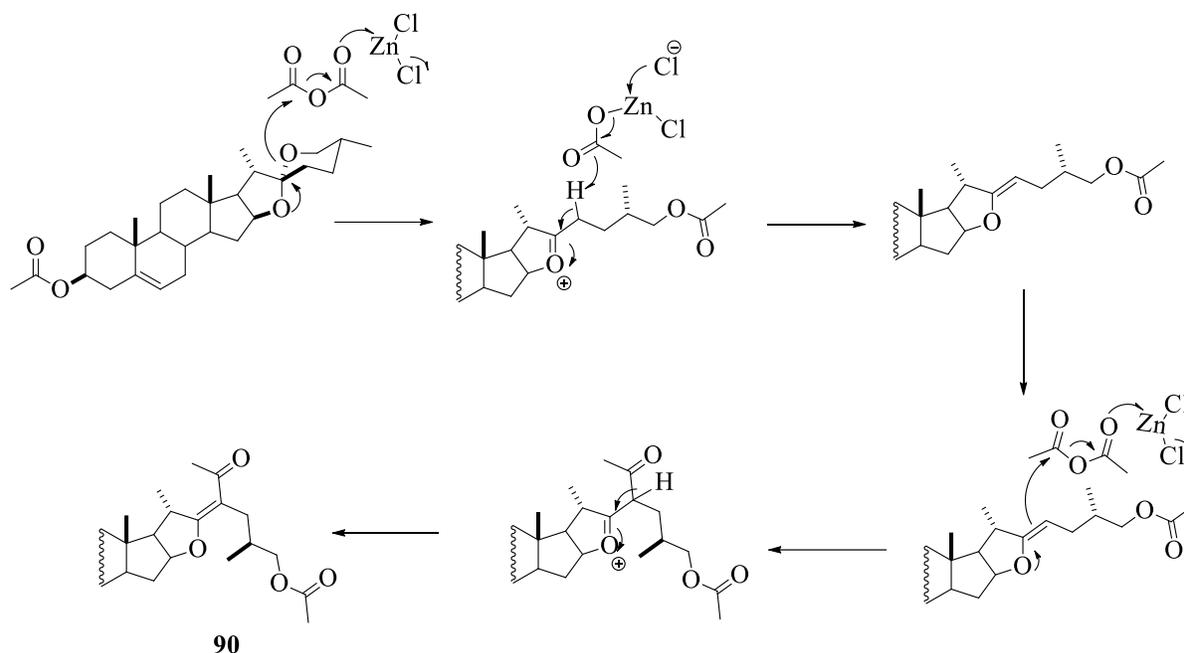
**Figura 25.** Espectro COSY del compuesto **90** en  $\text{CDCl}_3$ .

Por otra parte, el experimento HETCOR resultó útil al momento de buscar correlaciones entre las señales de carbono con su respectivo protón. Por ejemplo, se puede apreciar la correlación entre C-6 con H-6, C-16 con H-16, C-3 con H-3, H-26 con C-26, H-20 con C-20 y las demás señales para los metilos 27, 21, 19 y 18 que presentaron correlación con las señales de carbono en 19.77 ppm, 19.27ppm, 17.21 ppm y 13.11 ppm, logrando así la asignación de los espectros de  $^1\text{H}$ -RMN y  $^{13}\text{C}$ -RMN, esto además con ayuda de la literatura. Nótese que señales que no presentan correlación en HETCOR como C-23 ayudan a la identificación de carbonos cuaternarios.



**Figura 26.** Espectro HETCOR del compuesto **90** en  $\text{CDCl}_3$ .

Para explicar la formación del compuesto **90** se propone el siguiente mecanismo de reacción de acuerdo a lo descrito por García-Merinos et al. (Esquema 27) [57]. Se presenta la apertura en el anillo F de la función espirocetálica, que genera un ion oxacarbenio debido al ataque nucleofílico orientado hacia el anhídrido acético, el cual interacciona con el  $\text{ZnCl}_2$ ; subsecuentemente, la pérdida del protón en C-23 es provocada por el ion acetato aún presente en el medio, lo que produce un doble enlace contenido entre los carbonos C-22 y C-23. Posteriormente la inserción de los electrones del oxígeno localizado en C-16 hacia dentro del anillo de tetrahydrofurano, genera una fuerza impulsora que permite el ataque nucleofílico hacia otra molécula de anhídrido acético; la pérdida del protón en C-23 permite al oxígeno deficiente de electrones recuperar su neutralidad, llegando así al derivado **90**.



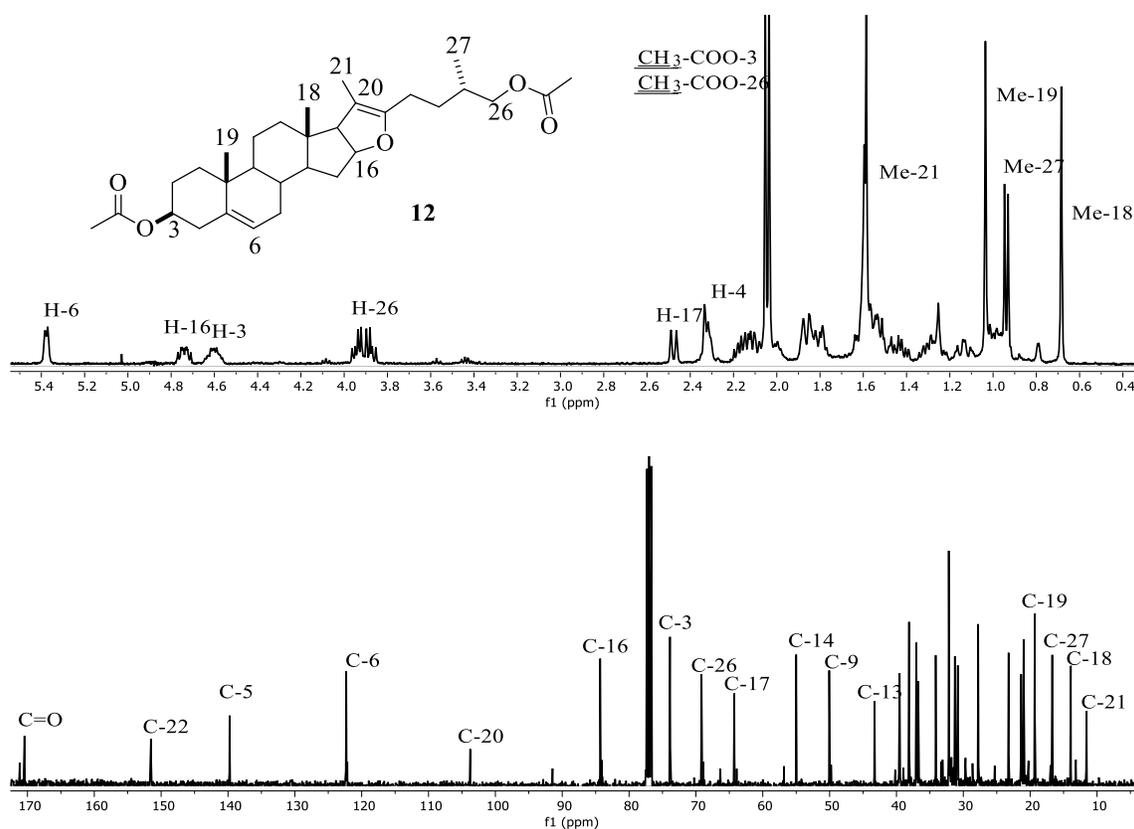
**Esquema 27.** Mecanismo de formación para el derivado furosténico **90** [57].

La estructura de **90** también se confirmó mediante el análisis por HR-MS, mostrando ion molecular correspondiente a  $[M+H]^+$  con una relación  $m/z$  encontrada de 541.35194.

### 6.1.2. Análisis estructural mediante RMN de la pseudodiosgenina (**12**)

Para la caracterización de **12** mediante  $^1\text{H}$ -RMN, se destaca la señal asignada para H-6 situada en 5.37 ppm y la de H-16 en 4.75 ppm; además en 4.61 ppm se encuentra la señal correspondiente al H-3, unido a un carbono base de acetato. Por otra parte, en 3.91 ppm aproximadamente, se encuentra la señal que indica la presencia de los hidrógenos diastereotópicos H-26, desdoblamiento de la señal característico de sistemas esteroidales de cadena lateral abierta; también se resaltan las señales simples que se encuentran presentes en 2.05 ppm y 2.03 ppm, apareciendo en ese desplazamiento debido a la presencia de grupos acetato en las posiciones 16 y 3 de la estructura. Por último, situadas en la región alifática del espectro, aparecen señales simples en 1.04 ppm y 0.68 ppm, asignadas a Me-19 y Me-18, respectivamente, y señales dobles en 1.59 ppm y 0.95 ppm que pertenecen a Me-21 y Me-27, en ese orden.

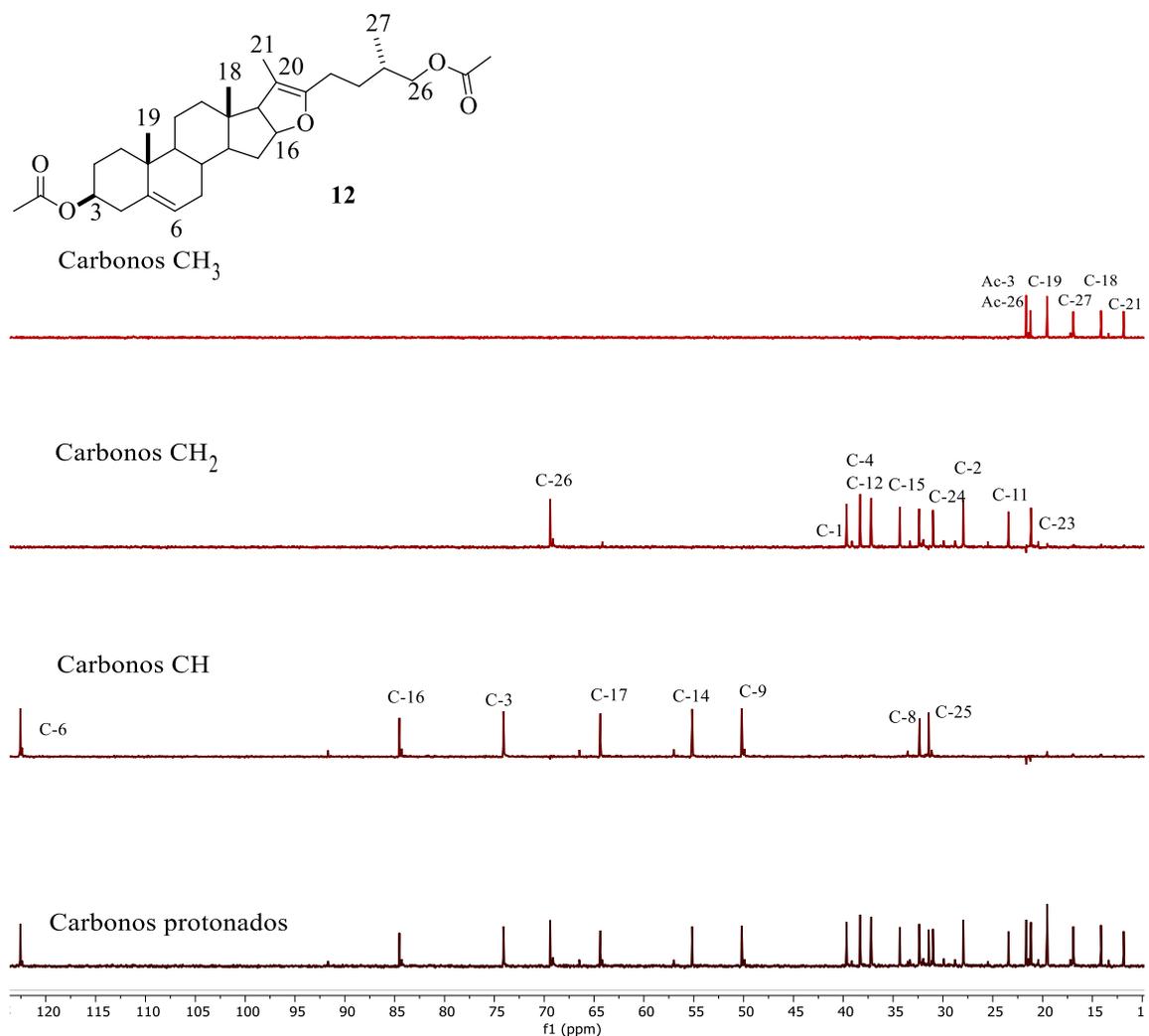
Por otra parte, en el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN, situadas en 171.15 ppm y 170.45 existe la presencia de señales de carbonos cuaternarios de grupos acetato, mientras que en 139.76 ppm y 122.17 ppm se encuentran las señales de los carbonos 5 y 6 de hibridación  $\text{sp}^2$ ; a su vez, las señales presentes en 151.52 ppm y 103.76 ppm indican la presencia de un nuevo doble enlace entre C-20 y C-22. Por otra parte, la señal en 84.32 se asignó a C-16, dando evidencia de que el anillo E se mantiene, y resaltan también las señales presentes en 73.88 ppm y 69.16 ppm, que corresponden a los carbonos base de acetato C-3 y C-26, respectivamente.



**Figura 27.** Espectros de  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz) y  $^{13}\text{C}$ -RMN (100 MHz) del compuesto **12** en  $\text{CDCl}_3$ .

El resto de las señales presentes en el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN fueron comparadas con los datos espectroscópicos reportados para este compuesto [58], además de que la información

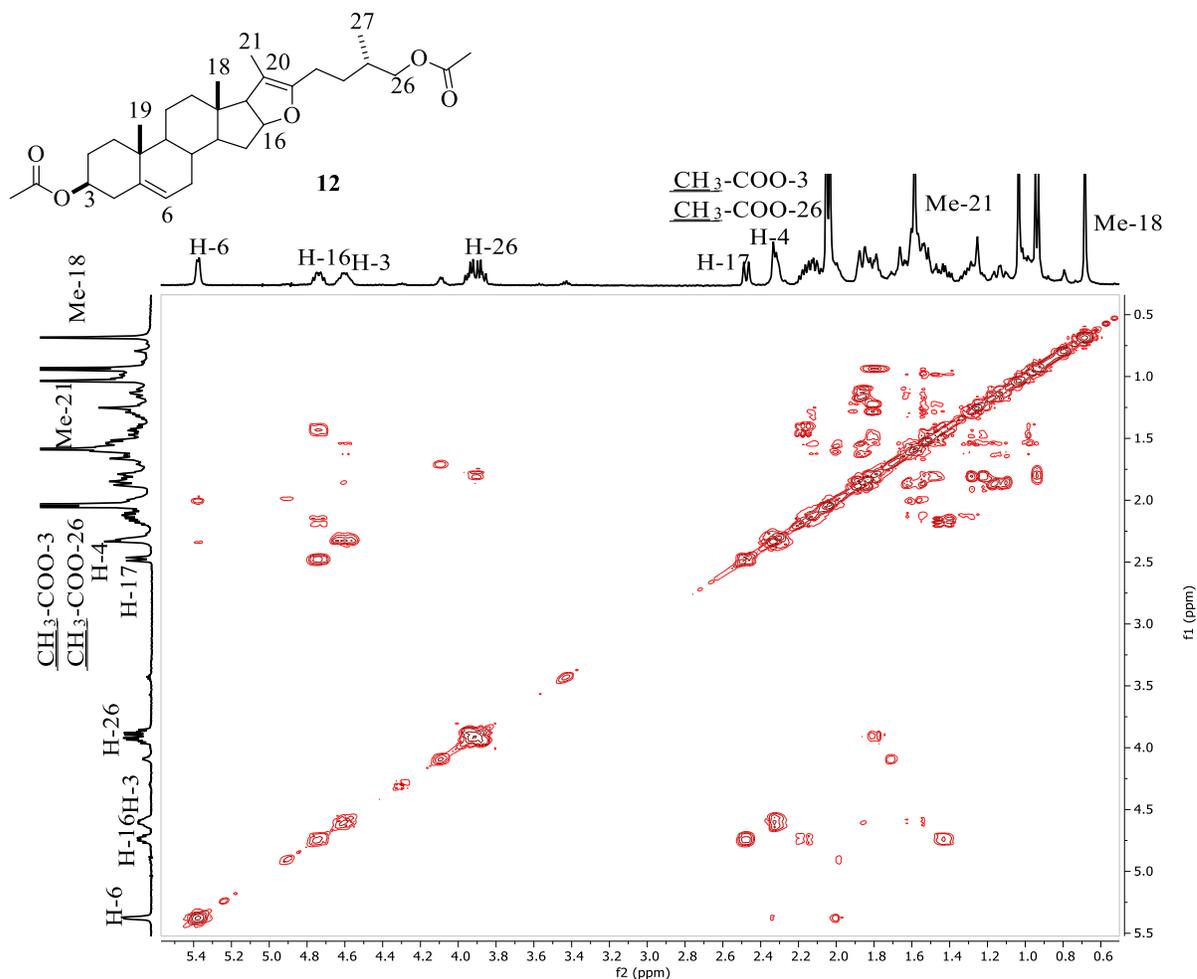
encontrada pudo ser corroborada a partir de una serie de experimentos DEPT, en el que se identificaron 8 señales correspondientes a CH, 6 señales adicionales que corresponden a los CH<sub>3</sub>, 10 señales que corresponden a los CH<sub>2</sub>, además de 7 señales que se asignaron a los carbonos cuaternarios de la estructura, por comparación del espectro de <sup>13</sup>C-RMN con los espectros DEPT, todo esto para dar un total de 31 señales esperadas.



**Figura 28.** Espectro DEPT (100 MHz) del compuesto **12** en CDCl<sub>3</sub>.

En la siguiente figura se muestra el espectro COSY de **12**, en el que se observan las siguientes correlaciones homonucleares: la señal de H-16 en 4.75 ppm presenta correlación con los hidrógenos de H-15 y en 2.14 ppm y en 1.43 ppm, y su vez, con H-17 en 2.49 ppm.

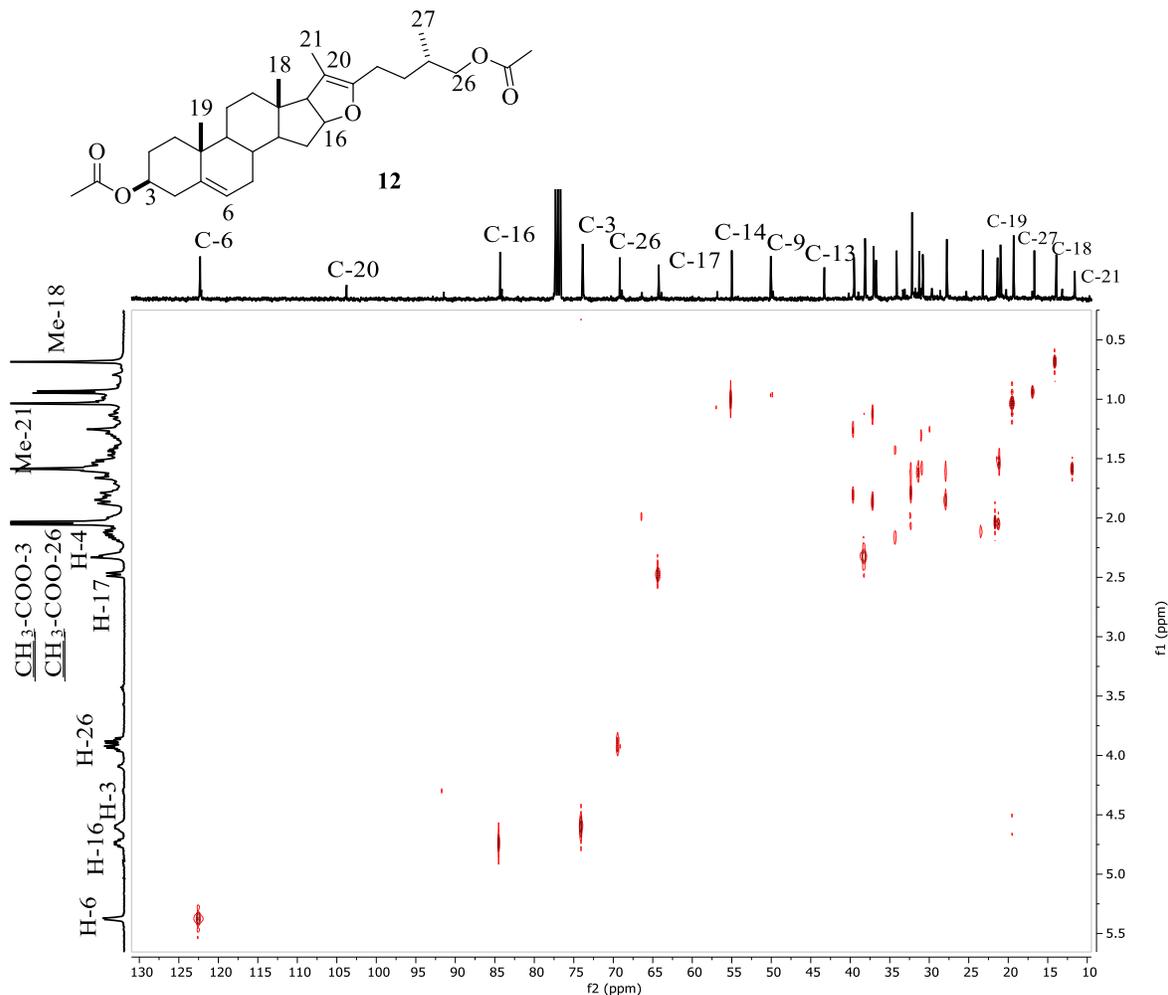
Por otra parte, protones H-26 en 3.91 ppm correlacionaron con el H-25 en 1.78 ppm. También se observa la correlación que presenta H-3 asignado a la señal localizada en 4.61 ppm con H-4 localizado en 2.33 ppm.



**Figura 29.** Espectro COSY del compuesto **12** en  $\text{CDCl}_3$ .

Por otra parte, el experimento HETCOR resultó útil al momento de identificar las correlaciones existentes entre las señales de carbono con las de protón. Se puede apreciar la correlación entre C-6 en 122.30 ppm con H-6 localizados en 5.37 ppm, de C-16 en 84.32 ppm con H-16 que se encuentra en 4.75 ppm, C-3 asignado con la señal en 73.88 ppm con H-3 en 4.61 ppm, los H-26 localizados en 3.91 ppm aproximadamente con C-26 en 69.16 ppm, y las demás señales para los metilos 27, 21, 19 y 18 que presentaron correlación con

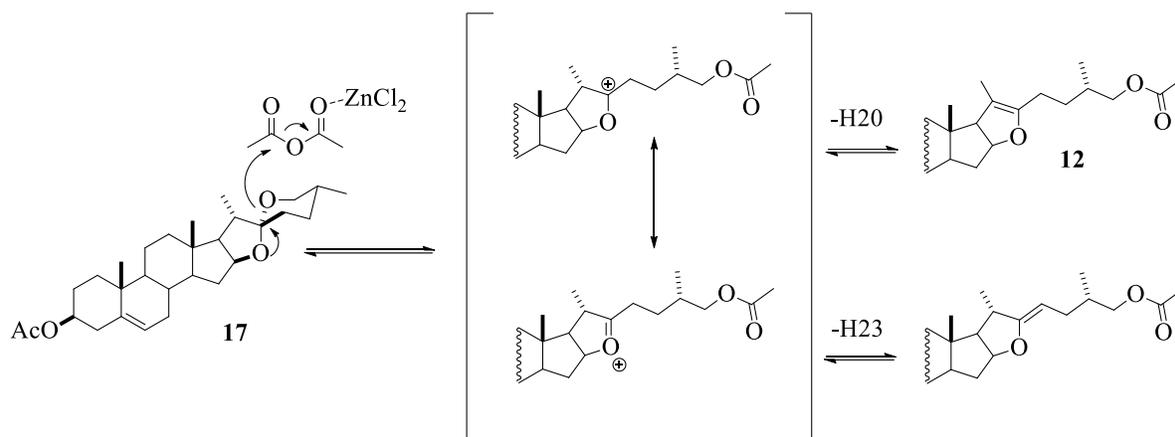
sus respectivas señales de carbono en 16.70 ppm, 11.58 ppm, 19.31 ppm y 13.92 ppm, respectivamente.



**Figura 30.** Espectro HETCOR del compuesto **12** en  $\text{CDCl}_3$ .

Para explicar la formación del compuesto tipo pseudo se propone el siguiente mecanismo de reacción (Esquema 28), que ha sido descrito, en general, para la apertura espirocetálica en medio ácido [8]. El ácido de Lewis, en este caso  $\text{ZnCl}_2$ , se coordina al anhídrido acético convirtiéndolo en una especie susceptible a sufrir un ataque nucleofílico, por lo que la función espirocetálica presenta la apertura en el anillo F generando un ion oxacarbenio. Esta especie es susceptible a la pérdida de un protón provocada por el grupo acetato aún presente. En el caso de la pérdida del protón localizado en C-20 se forma la pseudosapogenina,

explicando así la formación del compuesto **12**; en dado caso de que ocurriera la pérdida del protón en C-23 se formaría la otra forma enol éter. En cualquier caso, ambos derivados son susceptibles a generar ataques hacia especies electrofilicas, lo que genera interés por la obtención de estos derivados.

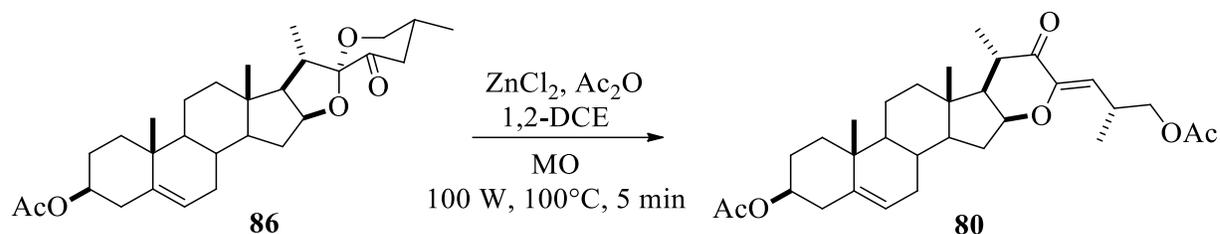


**Esquema 28.** Mecanismo de formación del compuesto **12** [8].

La estructura de **12**, también se confirmó mediante el análisis por HR-MS, mostrando el ion molecular  $[M+H]^+$  con una relación  $m/z$  encontrada de 499.34342.

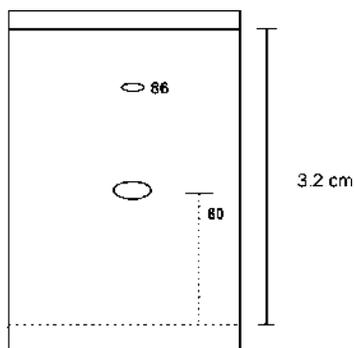
## 6.2. Apertura del 22-oxo-23-cetosapogenina con $ZnCl_2$ en microondas

Continuando con los objetivos, el compuesto **86** también fue sometido a condiciones de apertura ácida en microondas, como se indica a continuación en el esquema 29. Para esto se realizaron ensayos con 3 equiv. de  $ZnCl_2$  como ácido de Lewis y 3 equiv. de anhídrido acético para formar el compuesto **80** en 31% de rendimiento.



**Esquema 29.** Obtención del derivado **80** bajo condiciones de microondas.

En la búsqueda por encontrar las mejores condiciones de reacción de apertura se inició variando la temperatura y posteriormente el tiempo de reacción; el seguimiento de las reacciones se llevó a cabo mediante cromatografía en capa fina (CCF), empleando un sistema Hex/AcOEt (7:3) como fase móvil. Al utilizar una temperatura de  $80^\circ\text{C}$  durante 5 minutos, comenzó la conversión de la materia prima **86** para dar lugar a la formación de un compuesto con  $R_f$  distinto (**80**) (Figura 31), y conforme se propició el aumento de temperatura hasta los  $100^\circ\text{C}$ , se observó un incremento en la cantidad éste (Tabla 6, ensayos 5-7). Por otra parte, al incrementar el tiempo de reacción, fue notable por CCF la formación de otros subproductos (esto a los 10 min), por lo que se decidió utilizar únicamente 5 minutos para la apertura ácida de **86**.

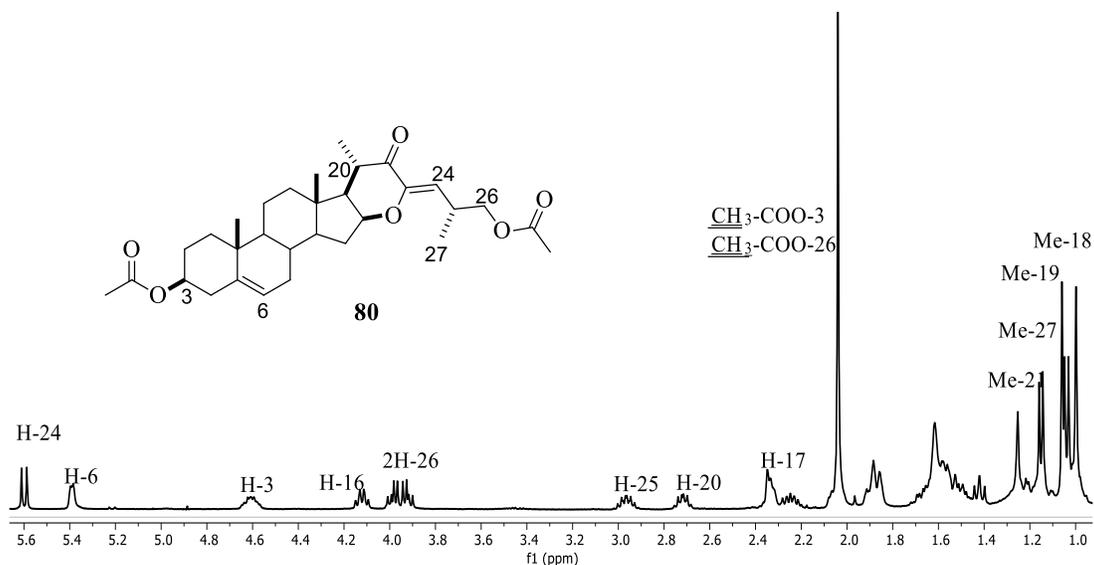


**Figura 31.** CCF del crudo de reacción para **80**, realizada en una fase móvil Hex/AcOEt (7:3):  $R_f(\mathbf{80}) = 0.44$ .

<b>Tabla 6.</b> Ensayos de temperatura para la obtención de <b>80</b> en microondas, con 100 W y 5 minutos de reacción.		
<b>Ensayo</b>	<b>Temperatura del microondas</b>	<b>Observaciones</b>
<b>1</b>	40°C	Materia prima en CCF
<b>2</b>	50°C	Materia prima en CCF
<b>3</b>	60°C	Materia prima en CCF
<b>4</b>	70°C	Materia prima en CCF
<b>5</b>	80°C	Conversión de la materia prima, aparece el compuesto de interés
<b>6</b>	90°C	Sin cambio significativo en la placa
<b>7</b>	100°C	El compuesto de interés se observa en mayor cantidad por CCF.

### 6.2.1. Caracterización del compuesto epoxicolesteno (**80**)

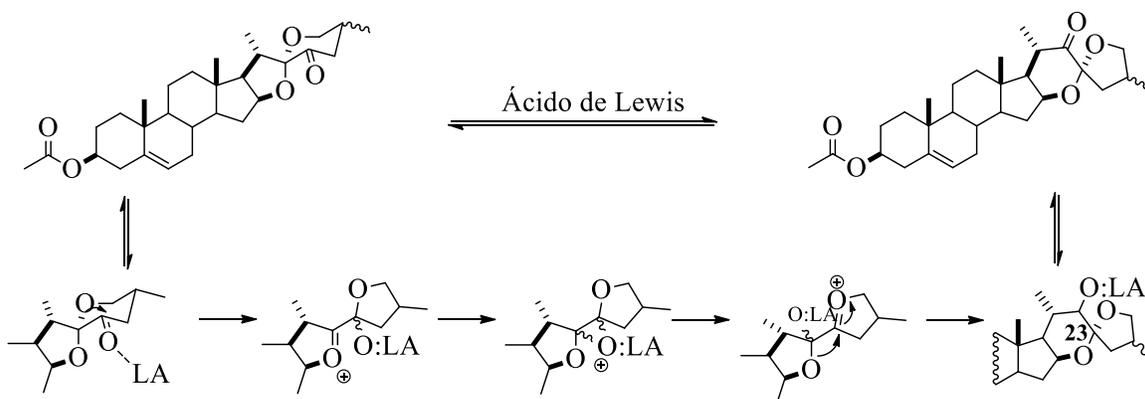
La caracterización del compuesto epoxicolesteno **80** resultó un poco más fácil en comparación con la identificación de los derivados anteriores, ya que en nuestro grupo de trabajo, la estructura **80** ya había sido reportada por Corona-Díaz et al. [49] a manera de ejemplo, en la figura 32 se muestra el espectro de <sup>1</sup>H-RMN, en el cual se observa una señal doble en 5.60 ppm característica de hidrógenos vinílicos, que corresponde al H-24, y a su vez, en la misma región del espectro, una señal múltiple en 5.39 ppm del H-6. También se observa otra señal múltiple en 4.61 ppm asignada para H-3, así como la señal presente en 4.13 ppm de H-16. Los hidrógenos diastereotópicos de la posición 26 se observan como una doble de dobles en 3.96 ppm, confirmando la apertura del anillo F, mientras que las señales múltiples en 2.97 ppm y 2.72 ppm fueron asignadas a H-25 y H-20, respectivamente. También se observa en la región alifática del espectro las señales que corresponden a los metilos 18, 19, 21 y 27.



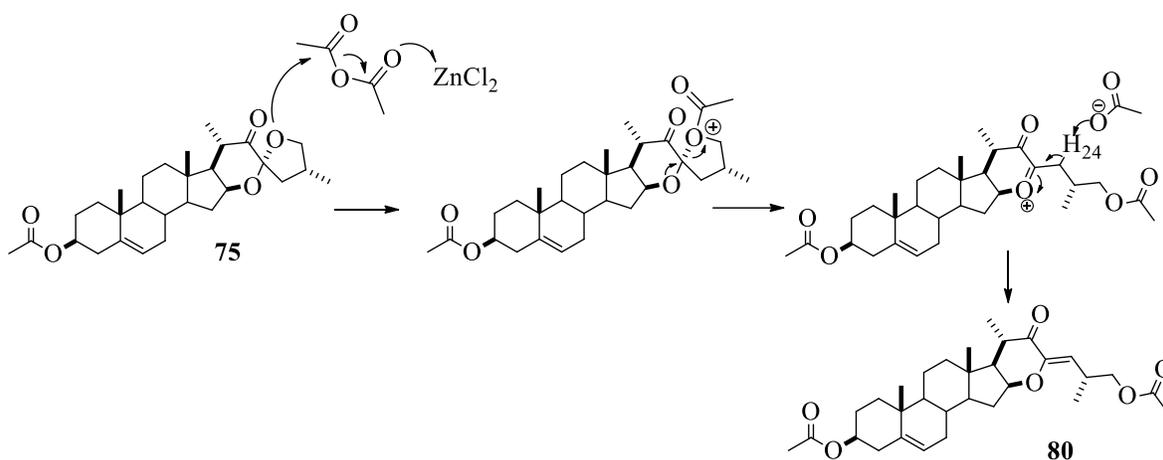
**Figura 32.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz) del compuesto **80** en  $\text{CDCl}_3$ .

Un dato interesante a destacar, es que, haciendo uso del reactor de microondas, la síntesis de **80** se logra en un solo paso a partir de la 23-cetosapogenina (**86**), ya que, de resultados de trabajos anteriores en nuestro grupo, se conoce que, mediante el método de calentamiento convencional, **80** solo se puede preparar en dos pasos a partir de **86** [49].

Para explicar la formación del compuesto **80**, se debe hacer hincapié en su obtención por el método de calentamiento convencional a partir de una etapa previa de isomerización, cuyo mecanismo se presenta en el esquema 30, para posteriormente generar la apertura del nuevo anillo F formado, con la posterior desprotonación de H-24 que finalmente conlleva a la formación de **80** (Esquema 31). Se propone que para la formación de **80** ambos pasos (isomerización, apertura) ocurren en una sola etapa de síntesis, con una mayor velocidad de reacción propiciada por la temperatura generada por las microondas incidentes en la mezcla de reacción. Esto no es raro de suponer considerando las múltiples interacciones, así como rotaciones, que pueden presentar las moléculas al momento de interaccionar con las ondas electromagnéticas dentro del reactor de microondas.



**Esquema 30.** Mecanismo de isomerización de las sapogeninas esteroidales.



**Esquema 31.** Mecanismo de reacción para la formación de **80** [49].

Mediante el método de microondas se obtiene el derivado colestánico **80** conteniendo una piranona en el anillo E, a partir de la apertura del acetato de 23-ceto-diosgenina (**86**), en presencia de  $\text{ZnCl}_2$ , en un solo paso. El resultado es interesante ya que se ha demostrado que estos compuestos son sintones útiles para la obtención de azaesteroides [59] y anteriormente se ha descrito vía dos etapas de reacción [49], por lo tanto, la reducción de las etapas de síntesis, así como del tiempo de reacción, involucra un avance significativo en la sencillez de la obtención de estos compuestos.

## 7. CONCLUSIONES

Se realizó la síntesis e identificación estructural de los cuatro compuestos **87-90** obtenidos a partir de la apertura ácido del acetato de diosgenina (**17**), promovida por la presencia de  $\text{ZnCl}_2$  y microondas, siendo el compuesto mayoritario el derivado **89**, seguido de **87**, **88** y **89** en ese orden. El análisis espectroscópico permitió asignar a los derivados **87** y **88**, como estructuras de cadena lateral abierta acetilados en C-16 y clorados en C-26, además por los análisis de RMN y de masas de alta resolución se sugiere son compuestos epiméricos en C-16. Por otra parte, en la búsqueda para encontrar condiciones de reacción que promovieran la formación regio- y estereoselectiva de los compuestos, se encontró que al cambiar el disolvente 1,2-DCE por THF, se favorece la obtención de la pseudodiosgenina diacetilada **12** en buenos rendimientos, este último intermediario de gran valor sintético en la industria por su uso como materia prima en la síntesis a gran escala de fármacos esteroideos.

Por otra parte, la apertura ácida del acetato de 23-cetodiosgenina en microondas promueve la formación regioselectiva del compuesto **80** en un solo paso.

Para la obtención de los compuestos se estandarizó la metodología para las aperturas utilizando 100 W de potencia en el microondas, anhídrido acético y  $\text{ZnCl}_2$  como ácido de Lewis, sin embargo, el tiempo de reacción óptimo resultó ser distinto para cada caso: en el caso de las reacciones efectuadas en 1,2-DCE como disolvente, el tiempo de reacción fue relativamente corto (10 min), en contraste con la reacción de apertura al utilizar THF para la cual se requieren tiempos de reacción mayores (1h); esto puede explicarse a partir del valor del factor de pérdida dieléctrica ( $\tan \delta$ ), que es diferente para cada disolvente, por lo que es un parámetro importante para considerar al planificar reacciones en microondas.

La caracterización estructural de los compuestos sintetizados se llevó a cabo mediante los datos espectroscópicos de IR, RMN de 1D y 2D, los datos también se compararon con los reportados, y estos coinciden. Adicionalmente la estructura de los compuestos también se confirmó mediante el análisis por espectrometría de masa de alta resolución (HR-MS) mediante la técnica de ionización DART. En relación al mecanismo para la formación de los

compuestos, se consideraron los descritos para los mismos compuestos o derivados similares.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Enzo Foy Valencia, Débora Mac Donald, Margot Cuyos, Ruth Dueñas. Extracción, identificación y evaluación de saponinas en *Agaricus bisporus*. *Biotempo*; (5): 31-36, **2005**.
- [2] Susana Mangas Alonso. Producción de saponinas triterpénicas en cultivos in vitro de *Centella asiática*. Tesis doctoral, Universidad de Barcelona, **2009**.
- [3] Jacopo Troisi. Saponinas. Capítulo 3.3. IN: BAZILE D. et al., “Estado del arte de la quinua en el mundo en 2013”: FAO (Santiago de Chile) y CIRAD, (Montpellier, Francia): 317-330, **2014**.
- [4] Yu-Fen Chen, Chao-Hsun Yang, Ming-Shiang Chang, Yong-Ping Ciou, Yu-Chun Huang. Foam properties, detergent abilities and long-term preservative efficacy of the saponins from *Camellia oleifera*, *International Journal of Molecular Sciences*; (11): 155-160, **2010**.
- [5] Licet Mena, Beatriz Tamargo, Eva Salas, Luis Plaza, Yisel Blanco, Anselmo Otero, Gustavo Sierra. Determinación de saponinas y otros metabolitos secundarios en extractos acuosos de *Sapindus saponaria* L. (jaboncillo). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*; (1): 106-116, **2015**.
- [6] David Antonio Mora, Erik Alejandro López, Miguel Ángel Pastrana. Diosgenina: el precursor químico por excelencia en México. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. **2018**.
- [7] Luis Fontan Candela. Las saponinas y la botánica. Instituto Español de Fisiología y Bioquímica. C. U. Madrid. **1957**.
- [8] Izabella Jastrzebska. Chemistry of Steroidal Sapogenins – New Advances in a Classical Field. *Current Organic Chemistry*; (3): 353-372, **2012**.
- [9] a) Russell Marker, Ewald Rohrmann, Sterols. LXXXVIII. Pregnanediols from Sarsasapogenin, *Journal of the American Chemical Society*; (62): 518-520, **1940**. b) Russell

Marker, Ewald Rohrmann, Sterols. XCVI. Allo-pregnane diols from tigogenin, Journal of the American Chemical Society; (62): 898-900, **1940**.

[10] Ajmer Singh, Karunesh Kumar, Sonika Redhu, Shashikant Bhardwaj. Microwave assisted synthesis: A green chemistry approach. International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences.; (5): 278-285, **2013**.

[11] María del Carmen Doria. Química verde: un nuevo enfoque para el cuidado del medio ambiente. Educación química; (4): 412-420, **2009**.

[12] Paul Anastas, Evan Beach. Green Chemistry, the emergence of a transformative framework. Green Chemistry Letters and Reviews; (1): 9-24, **2007**.

[13] Satoshi Horikoshi, Nick Serpone. Photochemistry with microwaves: Catalysts and environmental applications. Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews; (2): 96-110, **2009**.

[14] Gabriela Ambrozic, Zorica Crnjak Orel, Majda Zigon. Microwave-assisted non-aqueous synthesis of ZnO nanoparticles. Materials and Technologies; (3): 173-177, **2011**.

[15] Antonio de la Hoz, Angel Díaz Ortiz, Pilar Prieto. Microwave-Assisted Green Organic Synthesis. Chapter in *Alternative Energy Sources for Green Chemistry*, 1-33, **2016**.

[16] Alejandro Corona, Juan Pablo García, María Ochoa, Rosa Elva del Río, Rosa Santillan, Susana Rojas, Jacek Witold Morzycki, Yliana López. TiCl<sub>4</sub> catalyzed cleavage of (25*R*)-22-oxo-23-spiroketal. Synthesis of sapogenins with furostanol and pyranone E rings on the side chain. Steroids; (152): 108488, **2019**.

[17] Alejandro Corona, Juan Pablo García, Yliana López, Janett Betzabe González, Rosa Santillan, Norberto Farfán, Jacek Witold Morzycki. Regio- and stereoselective cleavage of steroidal 22-oxo-23-spiroketal catalyzed by BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O. Steroids; (100): 36-43, **2015**.

[18] Yliana López, Rosa Santillan, Norberto Farfán. New bisfuran derivative from sarsasapogenin: An X-ray and NMR analysis. Steroids; (71): 12-17, **2006**.

- [19] Yliana López, Izabella Jastrzębska, Rosa Santillan, Jacek Morzycki. Synthesis of “glycospirostanes” Steroid sapogenins with a sugar-like ring F. *Steroids*; (73): 449-457, **2008**.
- [20] Yliana López, León Rodríguez, Rosa Elva del Río, Norberto Farfán, Jacek Morzycki, Rosa Santillan. Regioselective cleavage of 22-oxo-23-spiroketal. Novel cholestanic frameworks with pyranone and cyclopentenone E rings on the side chain. *Steroids*; (77): 534-541, **2012**.
- [21] Alejandro Corona Díaz. Síntesis de nuevos derivados colestánicos vía apertura de sapogeninas espirostánicas con ácidos de Lewis. Tesis doctoral, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, **2019**.
- [22] Burkhard Fugmann, Susanne Fugmann, Wolfgang Steglich. RÖMPP Encyclopedia Natural Products, 1st Edition, **2000**.
- [23] Russell Marker. Sterols. CV. The preparation of Testosterone and Related Compounds from Sarsasapogenin and Diosgenin. *Journal of the American Chemical Society*; (62): 2543-2547, **1940**.
- [24] Ciciolil Hilario, Reyna Zeferino, Miguel Muñoz. Regioselective Spirostan E-Ring Opening for the Synthesis of Dihydropyran Steroidal Frameworks. *Organic Letters*; (18): 1772-1775, **2016**.
- [25] Charles Perrin. Reverse Anomeric Effect: Fact or Fiction? *Tetrahedron*; (51): (11901-11935), **1995**.
- [26] José Oscar Humberto Pérez Díaz. Síntesis de hexa y pentaciclos esteroidales y compuestos vinil-cetocolesténicos con actividad anticancerígena. Tesis Doctoral. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, **2011**.
- [27] Felipe León Olivares. El origen de Syntex, una enseñanza histórica en el contexto de ciencia, tecnología y sociedad. *Revista de la Sociedad Química de México*; (45): 93-96, **2001**.

- [28] Chemerda John M, Ruyle, William V.; Mandell, Leon. 20-Oxopregn-16-enes- Patente (1964).
- [29] Jong Seok Lee, Philip Fuchs. Efficient protocol for ring opening of spiroketals using trifluoroacetyl trifluoromethanesulfonate (TFAT). *Organic Letters*; (5): 3619-3622, **2003**.
- [30] Jing-Jing Wu, Yong Shi, Wei-Sheng Tian. Facile synthesis of solasodine based on a mild halogenation-ring opening reaction of spiroketals in steroidal sapogenins. *Tetrahedron Letters*; (56): 1215–1217, **2015**.
- [31] Yingchao Fan, Zhumeng Li, Liting Wu, Feng Lin, Jinfeng Shao, Xiaoyan Ma, Yonghua Yao, Wenfang Zhuang, Yuan Wang. Solasodine, Isolated from *Solanum sisymbriifolium* Fruits, Has a Potent Anti-Tumor Activity Against Pancreatic Cancer. *Drug Design, Development and Therapy*; (15): 1509-1519, **2021**.
- [32] Laurent Lecanu, Hashim, McCourty, Giscos Douriez, Ivona Dinca, W. Yao, Stefano Vicini, Gábor Szabó, Erdélyi, Janet Greeson, Vassilios Papadopoulos. The naturally occurring steroid solasodine induces neurogenesis in vitro and in vivo. *Neuroscience*; (183): 251-264, **2011**.
- [33] Agnieszka Wojtkielewicz, Urszula Kiełczewska, Jacek W. Morzycki. Two-step Synthesis of Solasodine Pivalate from Diosgenin Pivalate. *Molecules*; (6): 1132, **2019**.
- [34] Susana Rincón. Apertura regioselectiva del anillo espirocetálico de sapogeninas y su aplicación en la síntesis de brasinoesteroides. Tesis Doctoral, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, **2006**.
- [35] Edwin Flórez, Margarita Romero, José Manuel Mendez, Norberto Farfán. Highly diastereoselective reduction of 23-acetyl-22,26-oxa-12-oxocholestane derivatives. *Chemical Monthly*; (145): 857–862, **2014**.
- [36] José Oscar Pérez, José Luis Vega, Jesús Sandoval, Socorro Meza, Sara Montiel, Norberto Farfán, Rosa Santillan. Novel steroidal penta- and hexacyclic compounds derived from 12-oxospirostan sapogenins. *Steroids*; (75): 1127-1136- **2010**.

- [37] Inamuddin, Rajender Boddula, Abdullah M. Asiri. Green Sustainable Process for Chemical and Environmental Engineering and Science 1st Edition. Elsevier. **2021**.
- [38] Preetismita Borah, Vhatkar Dattatraya, Bismal Krishna, Biswa Mohan. An Overview on Steroid and Microwave Energy in Multi Component Reactions towards Synthesis of Novel Hybrid Molecules. *Current Organic Synthesis*; (17): 1-16, **2020**.
- [39] Yu Chen. Microwave-assisted synthesis of a novel steroid-derived Schiff base chemosensor for detection of Al<sup>3+</sup> in aqueous media. *Journal of Chemical Research*; (44): 750-755, **2020**.
- [40] Preetismita Borah. Steroid Hybrid Systems: New Molecular Entities with Potential Therapeutical Spectrum. *Current Drug Therapy*; (12): 3-22, **2017**.
- [41] Preetismita Borah, Juri Moni Borah, Prithish Chowdhury. Microwave (MW) irradiated Ugi four-component reaction (Ugi-4CR): Expedited synthesis of steroid–amino acid conjugates – A novel class of hybrid compounds. *Steroids*, (98): 49–57, **2015**.
- [42] Dwipen Kakati, Rupak Sarma, Ratul Saikia, Nabin Barua, Jadab Sarma. Rapid microwave assisted synthesis and antimicrobial bioevaluation of novel steroidal chalcones. *Steroids*; (78): 321-326, **2013**.
- [43] Madan Barthakur, Abdul Hasib, Junali Gogoi, Romesh Boruah. A convenient strategy for the annulation of aryl scaffold to A/B-ring steroids under microwave irradiation. *Steroids*; (75): 445-449, **2010**.
- [44] Ibrahim Ouali M. Synthesis of pentacyclic steroids. *Steroids*; (73): 775–97, **2008**.
- [45] Anselmo Martínez, Gabriel Guerrero, Alejandra Ortiz, Maura Cárdenas, Sylvain Bernès, María Hernández. Azasteroids from diosgenin: Synthesis and evaluation of their antiproliferative activity. *Steroids*; (166): 108777, **2021**.
- [46] Nagaraju Birudukota, Mukesh Madan Mudgal, Venatesh Shanbhag. Discovery and development of azasteroids as anticancer agents. *Steroids*; (152): 108505, **2019**.

- [47] María Hernández, Jesús Sandoval, Socorro Meza, Sara Montiel, María Fernández, Sylvain Bernès. Deacylation reactions of 20-acetyl dinorcholanic lactones and 20,23-diacetyl furost-22-enes. *Steroids*; (75): 240-244, **2010**.
- [48] María Hernández, Jesús Sandoval, Socorro Meza, Sara Montiel, Gabriel Guerrero. Stereospecific synthesis of new steroidal isoxazoles in dry media. *Steroids*; (76): 1521-1526, **2011**,
- [49] Alejandro Corona Díaz. Apertura regio y estereoselectiva de 22-ceto-23-espirocetales de la serie 25*R* catalizada con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  síntesis de nuevos derivados colestánicos vía apertura de sapogeninas espirostánicas con ácidos de Lewis. Tesis maestría, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, **2015**.
- [50] Anielka Rosado, Nuria Esturau, Marcos Flores, Rafael Moreno, Martín Iglesias. The Crystal Structure of Diosgenin Acetate and Its 23-Oxygenated Derivatives. *Journal of Chemical Crystallography*; (43): 187–196. **2013**.
- [51] Paola Mello, Juliano Barín, Ricardo Guarnieri. Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Analysis. Chapter 2 – Microwave Heating. 59-75, **2014**.
- [52] Suhr, René. Synthese komplexer Steroidsaponin-Mimetika. Tesis doctoral, Universidad de Hamburgo, **2001**.
- [53] Robert Miner, Everett Wallis. Molecular Rearrangements in the Steroids. XIII. The Non-reductive Scission of Rings E and F of the Steroidal Sapogenins. *Journal of Organic Chemistry*; (21): 715-720, 1956.
- [54] Yahara Shoji, Ohtsuka Michiko, Nakano Kimiko, Nohara Toshihiro. Studies on the constituents of solanaceous plants. XIII.: A new steroidal glucuronide from Chinese *Solanum lyratum*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*; (37): 1802–1804, **1989**.
- [55] Yang Xiong, Tian Wei-Sheng, Pan Song. Restudies on the Lewis acid catalytic acetylation-opening reaction of steroidal sapogenin. *Acta Chimica Sinica*; (62): 2171-2176, **2004**.

[56] Deanna Marcano, Masahisa Hasegawa. Fitoquímica Orgánica. Editorial Torino. Venezuela. **2002**.

[57] Juan Pablo García Merinos. Síntesis de nuevos derivados espiroacetálicos a partir de esmilagenina”. Tesis licenciatura, Universidad Veracruzana, **2002**.

[58] Akihiko Tobari, Mutsumi Teshima, Junich Koyanagi, Masami Kawase, Hiroshi Miyamae, Yoza Kenji, Akihiko Takasaki, Yoichi Nagamura, Setsuo Saito. Spirostanols obtained by cyclization of pseudosaponin derivates and comparison of anti-platelet agglutination activities of spirostanol glycosides. European Journal of Medicinal Chemistry; (35): 511-527, **2000**.

[59] Ailed Arenas, Luis Mendez, Penélope Merino, José Padrón, Sara Montiel, José Vega, Socorro Meza. Synthesis of monomeric and dimeric steroids containing [1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidines. Steroids; (116): 13-19, **2016**.

## 9. ANEXO.

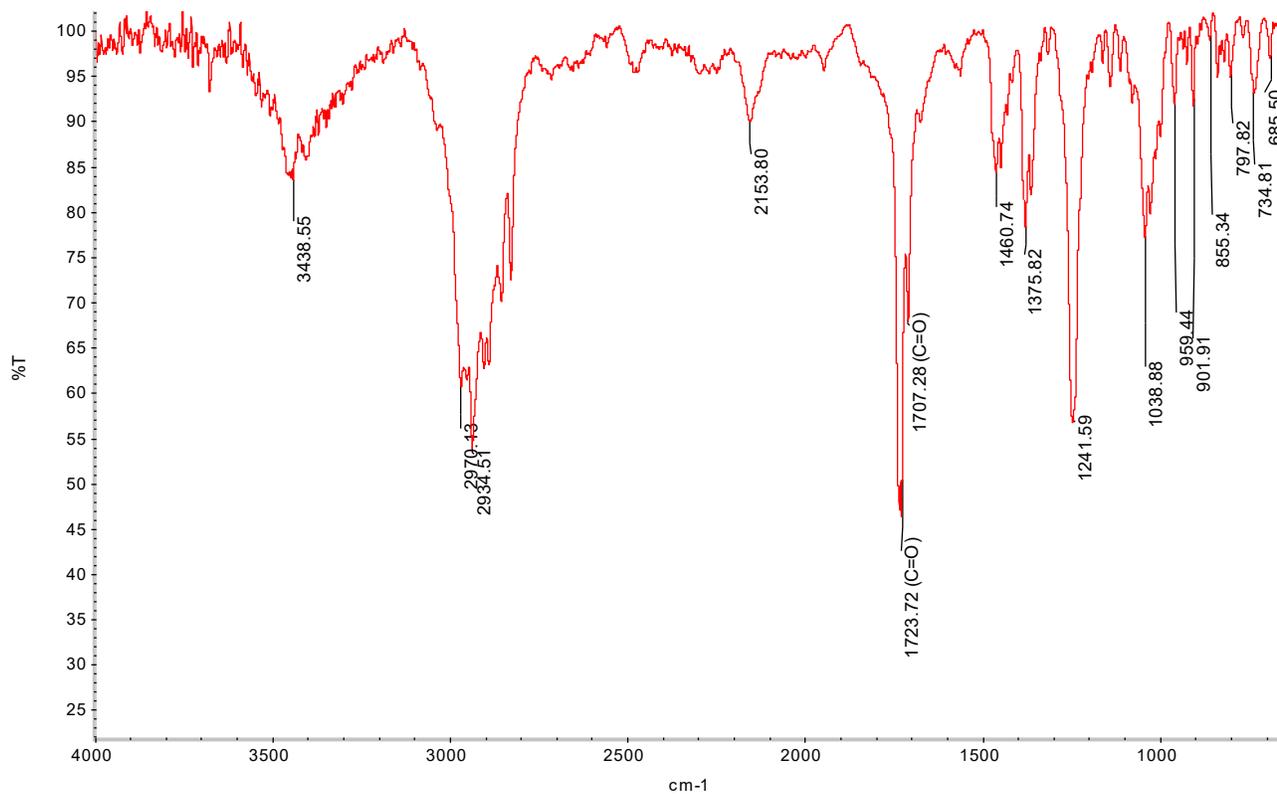


Figura 33. Espectro de IR del compuesto 87.

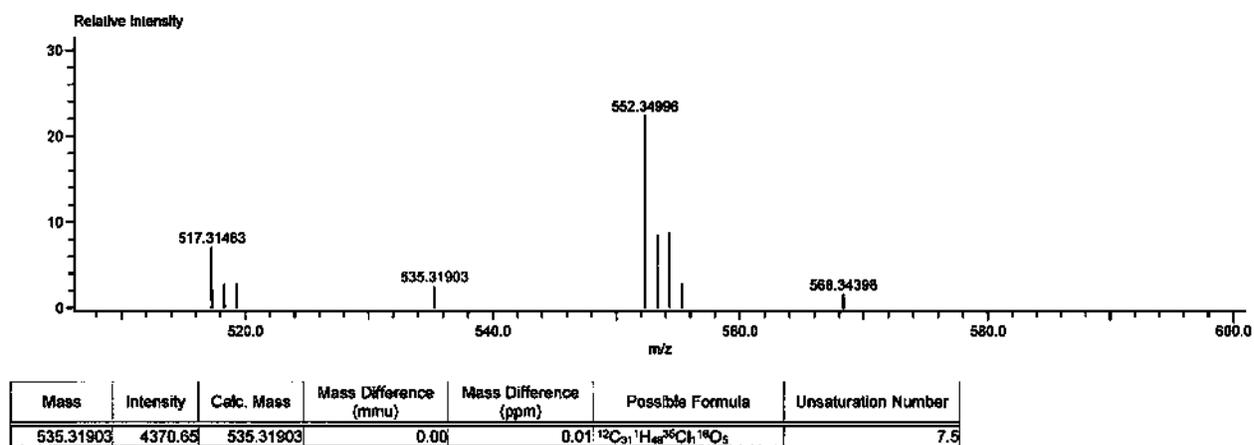


Figura 34. HR-MS (DART) del compuesto 87.

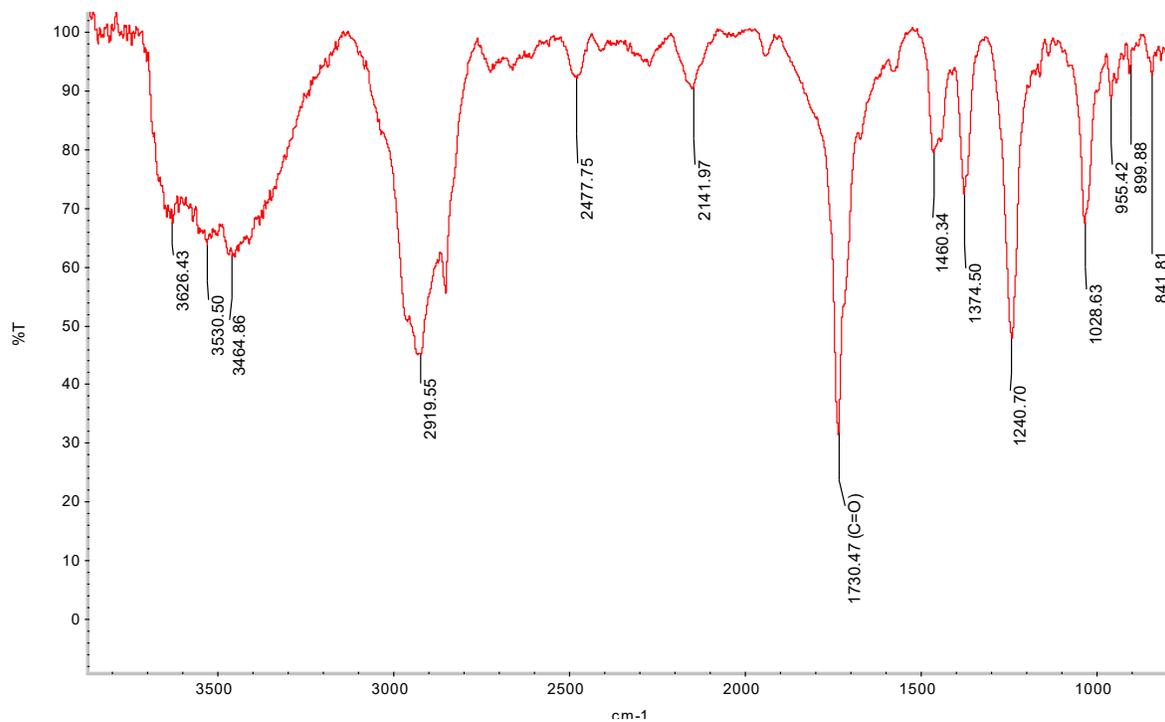
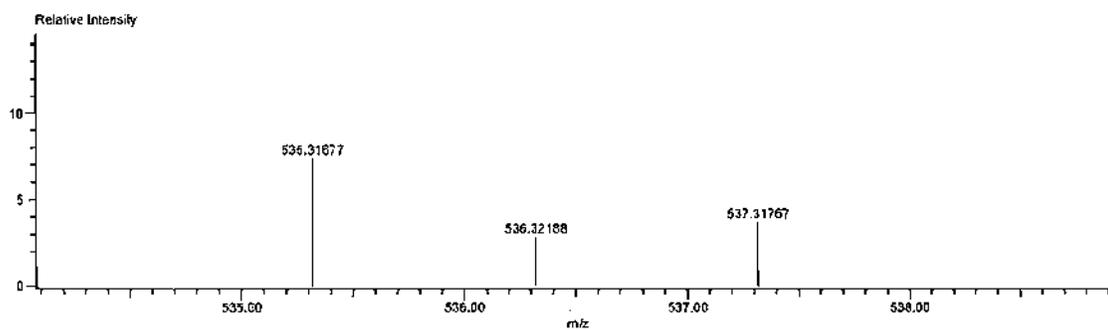


Figura 35. Espectro de IR del compuesto **88**.



Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
536.31677	16472.30	536.31503	-2.26	-4.21	$^{12}\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{S}^{35}\text{Cl}_2\text{O}_5$	7.5

Figura 36. HR-MS (DART) del compuesto **88**.

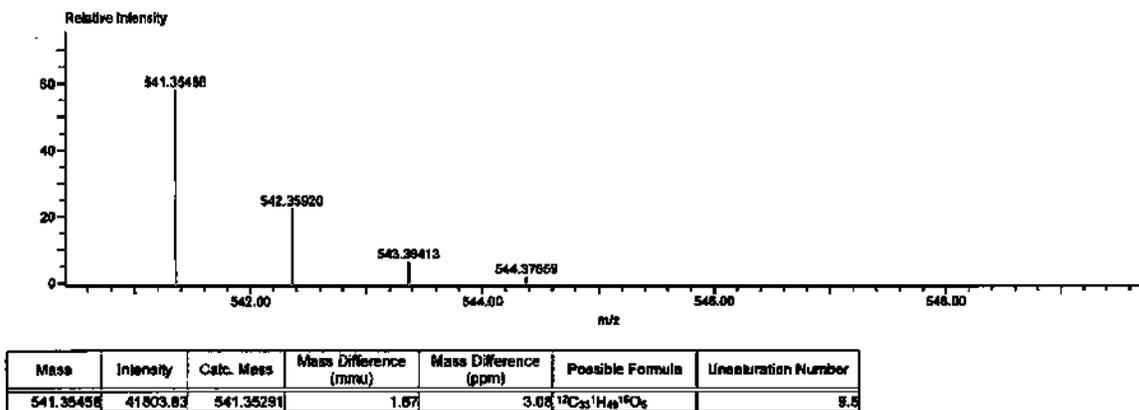


Figura 37. HR-MS (DART) del compuesto 89.

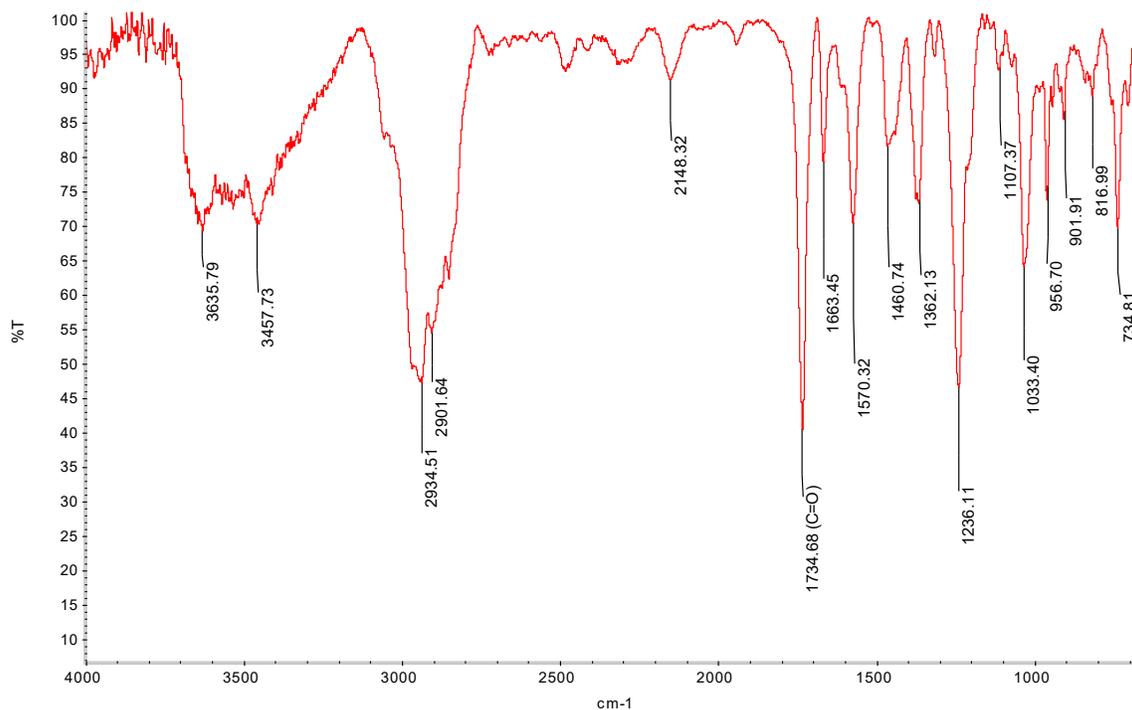


Figura 38. Espectro de IR del compuesto 90.

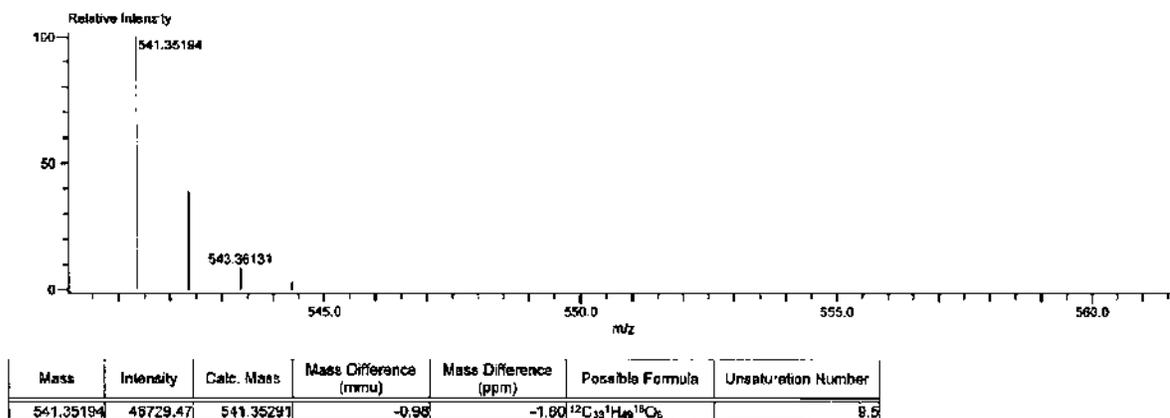


Figura 39. HR-MS (DART) del compuesto 90.

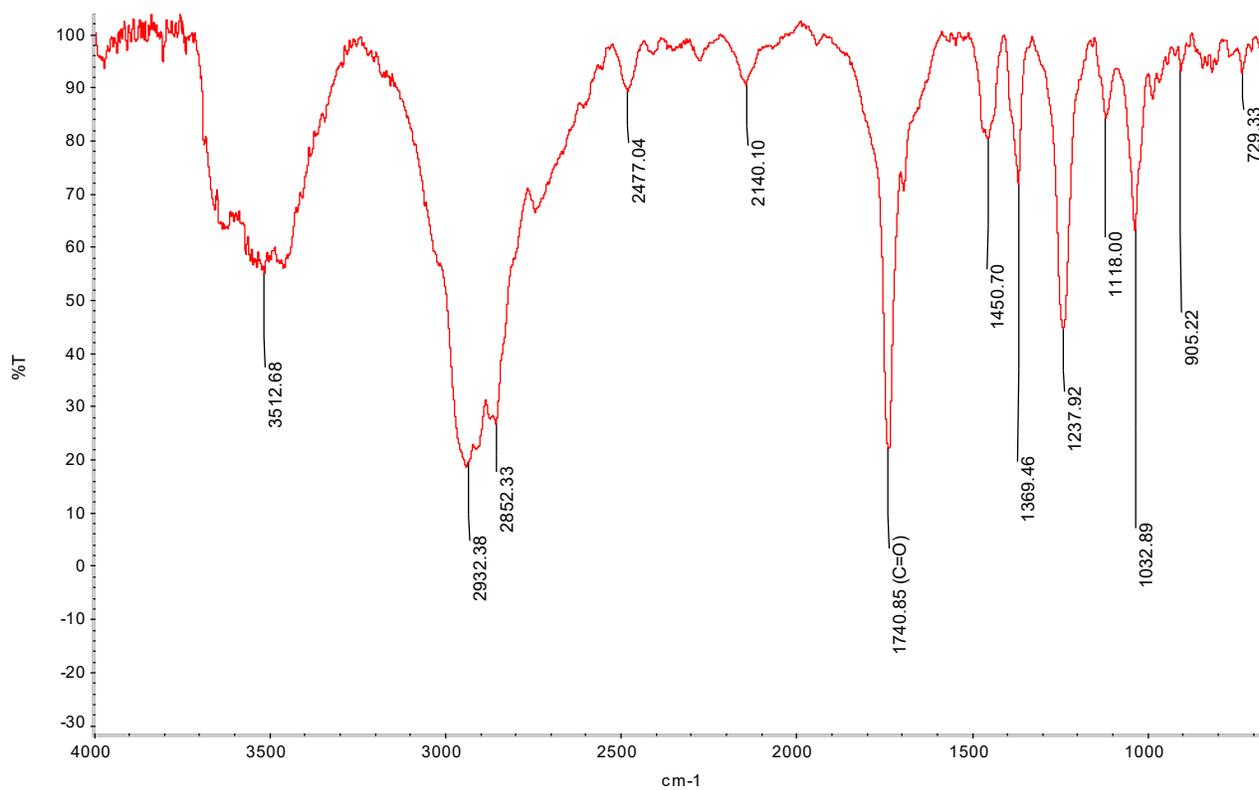


Figura 40. Espectro de IR del compuesto 12.

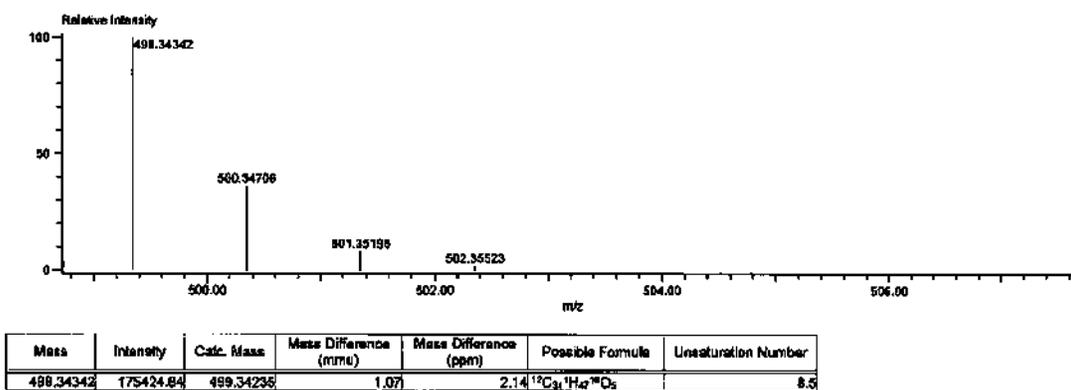


Figura 41. HR-MS (DART) del compuesto 12.

