



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO



FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

“APERTURA REGIOSELECTIVA DEL ANILLO F DE LA 22-OXO-23-
ESPIROHECOGENINA CON $ZnCl_2$ ”

TESIS QUE PRESENTA:
MELISA LORENZO HERNÁNDEZ

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACOBIOLOGA

DIRECTORES:
D.C. YLIANA LÓPEZ CASTRO
D.Q. JUAN PABLO GARCÍA MERINOS

MORELIA, MICHOACÁN.

MAYO 2020.

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Síntesis de productos Naturales del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo en la ciudad de Morelia, Michoacán, bajo la dirección de la D.C. Yliana López Castro y el D.Q. Juan Pablo García Merinos, con apoyo financiero de los proyectos CONACYT (286638) y CIC-UMSNH.



Agradecimientos Institucionales:

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Al Instituto de Investigaciones Químico Biológicas

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

Melisa Lorenzo Hernández, Por su destacada participación como **PONENTE** del trabajo realizado durante la **ESTANCIA ACADÉMICA DEL 7°. VERANO NICOLAITA DE INVESTIGACIÓN**; realizada 25 de junio al 12 de agosto de 2018.

Melisa Lorenzo Hernández, Alejandro Corona-Díaz, J. Pablo García-Merinos, María Eugenia Ochoa, Gabriela Rodríguez-García, Rosa Santillán, Rosa E. del Río, Yliana López “**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NUEVAS SAPOGENINAS FUROSTÁNICAS**” en el marco de las actividades académicas del **13° Congreso Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación** y el Séptimo Encuentro de Jóvenes Investigadores del Estado de Michoacán; realizado en Morelia, Michoacán; 19 de octubre de 2018.

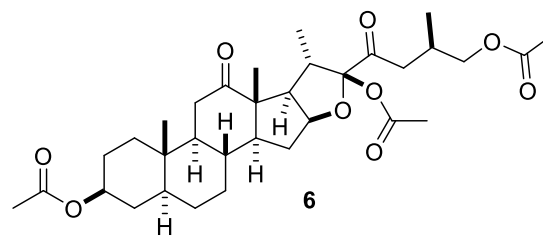
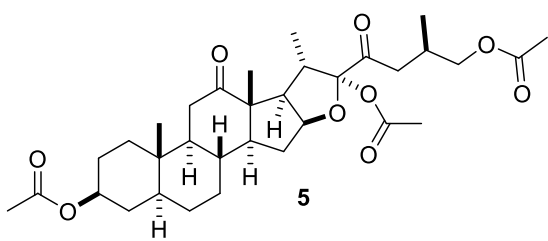
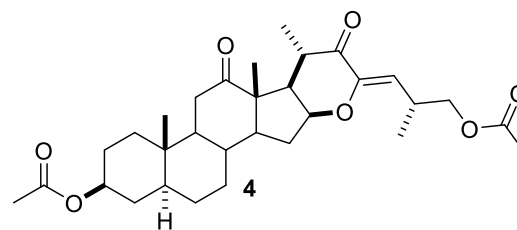
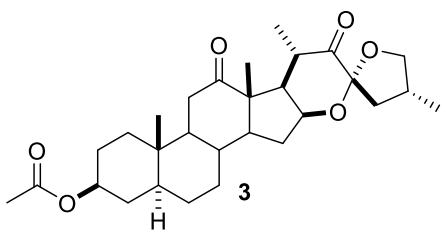
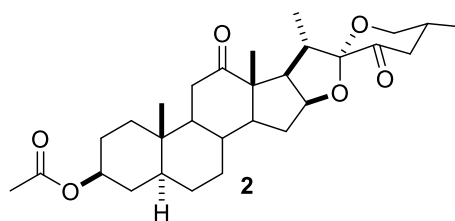
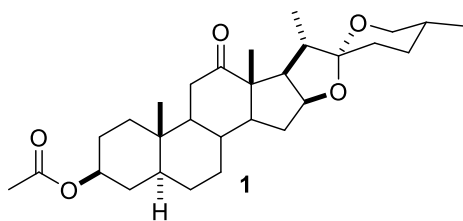
Melisa Lorenzo Hernández, Por su destacada participación como **PONENTE** en el Congreso del **8°. VERANO NICOLAITA DE INVESTIGACIÓN**, en el Centro de Información, Arte y Cultura de esta universidad; realizado del 20 al 22 de agosto de 2019.

Melisa Lorenzo Hernández, Alejandro Corona-Díaz, J. Pablo García-Merinos, María Eugenia Ochoa, Gabriela Rodríguez-García, Rosa Santillán, Rosa E. del Río, Yliana López “**NUEVAS SAPOGENINAS FUROSTANICAS APARTIR DE (25R)-22-OXO-23 ESPIROSAPOGENINAS**” en el marco de las actividades académicas del 14° congreso estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación y el 8° Encuentro de Jóvenes Investigadores del Estado de Michoacán; realizado en Morelia, Michoacán;30 de octubre de 2019.

ÍNDICE

ÍNDICE DE COMPUESTOS	II
ABREVIATURAS, SÍMBOLOS Y ACRÓNIMOS	III
RESUMEN	VI
ABSTRACT.....	VII
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	6
2.1 Obtención de 22-oxo-23-espirocetales a partir de 23-cetosapogeninas	6
2.2 Reactividad de los 22-ceto-23-espirostanos	8
2.3 Reactividad de los 22-oxo-23-espirostanos en medio ácido	10
3. OBJETIVOS.....	16
3.1 Objetivo general	16
3.2 Objetivos específicos.....	16
4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	18
5. CONCLUSIONES	33
6. PARTE EXPERIMENTAL	34
6.1 Instrumentación y equipo	34
6.2 Oxidación de la sapogenina 1 con NaNO ₂ /BF ₃ ·OEt ₂	35
6.3 Procedimiento general para la apertura de 22-oxo-23-espirocetal 3 con ZnCl ₂	35
6.4 (22 <i>R</i> ,25 <i>R</i>)- 3β,22α,26-triacetato-5α-furostan-12,23-diona 5	36
6.5 (22 <i>S</i> ,25 <i>R</i>)- 3β,22β,26-triacetato-5α-furostan-12,23-diona 6	36
7. BIBLIOGRAFÍA	38
8. APENDICE	41

ÍNDICE DE COMPUESTOS



ABREVIATURAS, SÍMBOLOS Y ACRÓNIMOS

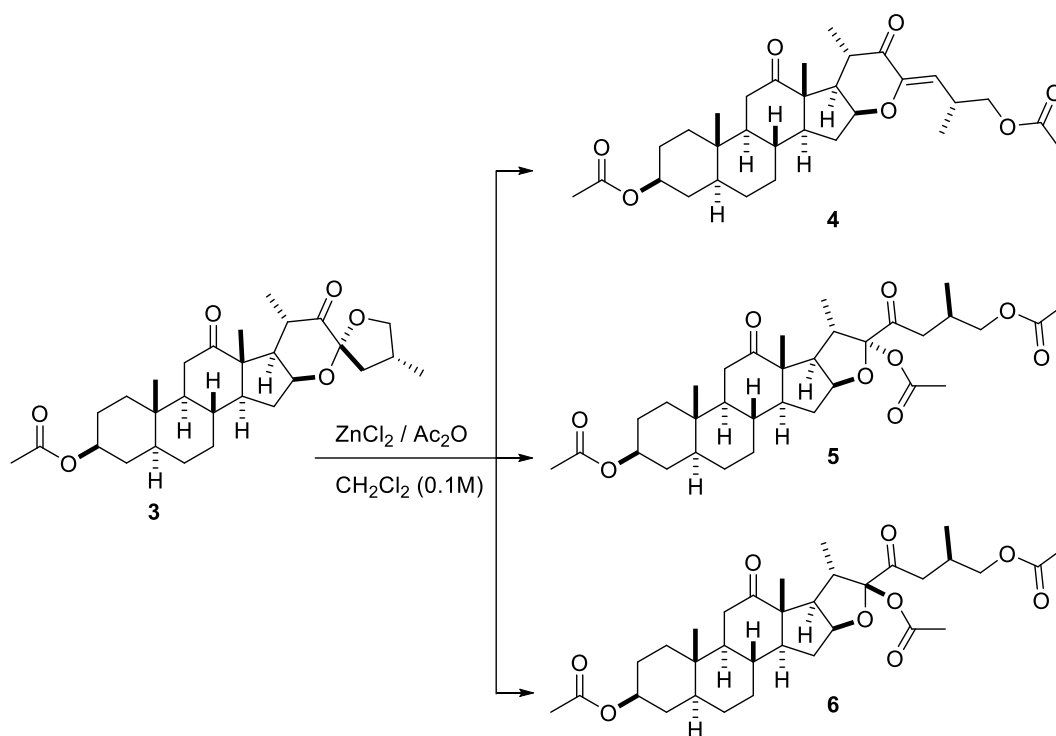
AcOEt	Acetato de etilo
AcOH	Ácido acético
Ac ₂ O	Anhídrido acético
<i>ax</i>	Axial
CCF	Cromatografía en capa fina
COSY	COrrrelated SpectroscopY
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
°C	Grados Celsius
δ	Desplazamiento químico
d	Doble
dd	Doble de dobles
ddd	Doble de doble de dobles
<i>ec</i>	Ecuatorial
EM	Espectrometría de masas
eq	Equivalente

g	Gramos
h	Horas
HETCOR	HETeronuclear CORrelation
HMBC	Heteronuclear Multiple-Bond Correlation,
HRMS	High Resolution Mass Spectrum
Hz	Hertz
IR	Infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
m	Señal múltiple
M	Molar
<i>m/z</i>	Relación masa carga
min	Minutos
mL	Mililitros
p.f.	Punto de fusión
ppm	Partes por millón

R_f	Factor de retención
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
s	Simple
t	Triple
t.a.	Temperatura ambiente
TFAA	Anhídrido trifluoroacético
TMS	Tetrametilsilano
ν	Frecuencia

RESUMEN

En el presente trabajo se describe una metodología para la obtención de los nuevos derivados esteroidales **5-6**; a partir de la apertura ácida de la 22-oxo-23-espirosapogenina **3** en presencia del ZnCl_2 (Esquema 1). Los productos **4-6** se obtuvieron en rendimientos moderados y la identificación de estos compuestos permitió establecer que la apertura bajo estas condiciones procede regioselectivamente sobre el anillo F, seguido de un reordenamiento en el anillo de piranona E. La asignación estructural y estereoquímica de los nuevos compuestos se realizó con ayuda de los métodos espectroscópicos IR, RMN (1D y 2D), y espectrometría de masa alta resolución.

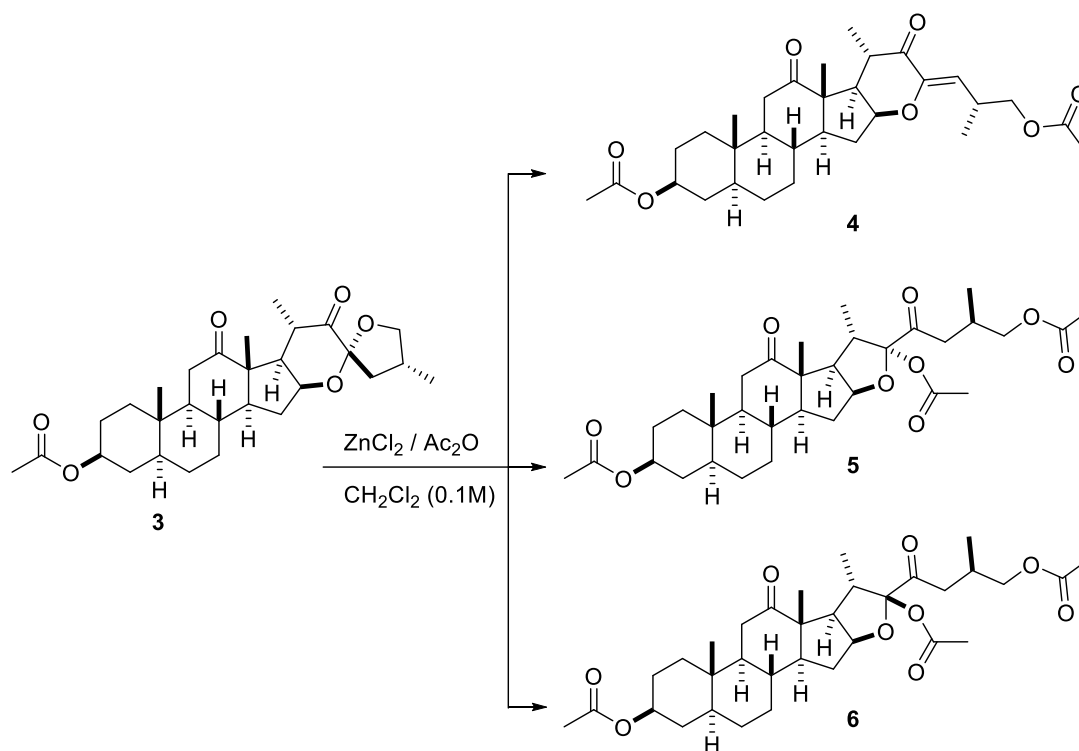


Esquema 1. Obtención de los nuevos derivados furostánicos **5-6**.

Palabras clave: Sapogeninas, hecogenina, 22-oxo-23-espirocetales, ácida, espirocetales.

ABSTRACT

The present work describes a methodology for obtaining of the new steroidal derivatives **5-6**; from the acidic opening of 22-oxo-23-spirosapogenin **3** in the presence of ZnCl_2 (Scheme 1). Products **4-6** were obtained in moderate yields and the identification of these products allowed to establish that the opening under these conditions proceeds regioselectively on the F ring, followed by a rearrangement in the E pyranone ring. The structural and stereochemical assignment of the new compounds were carried out with the help of IR spectroscopic methods, NMR (1D and 2D), and high resolution mass spectrometry.



Scheme 1. Obtaining of the new furostane derivatives **5-6**.

Keywords: Sapogenins, hecogenin, 22-oxo-23-spirocetals, acidic, spirocetals.

1. INTRODUCCIÒN

Glicósidos furostanólicos son productos naturales que pertenecen a una clase de saponinas esteroidales, y estructuralmente están conformados por un hemicetal en el anillo E y una porción de azúcar residual unida en el 3-OH y/o 26-OH de la aglicona (Figura 1). Sin embargo, es bien conocido que estos pueden interconvertirse a su correspondiente saponina de tipo espiroestánica ya sea por acción de la glicosidasa responsable de la escisión del fragmento azúcar en C-26 o por hidrólisis parcial en medio ácido¹⁻² (Figura 2). Estas características asociadas con la microheterogeneidad de la saponina vegetal, hace que su aislamiento en forma de glicósidos furostanólicos a partir de fuente natural representen un proceso de difícil acceso.

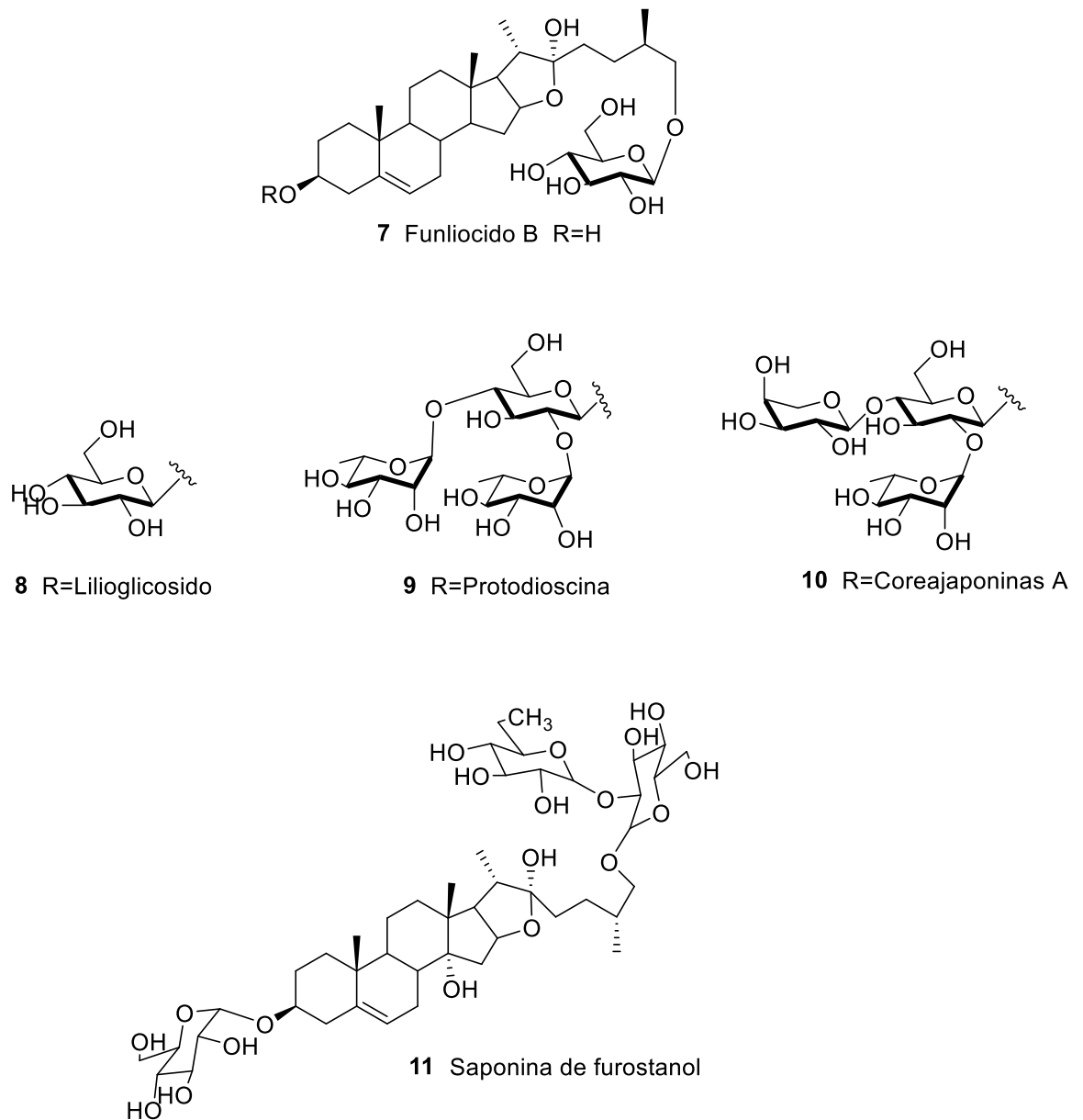


Figura 1. Estructuras químicas de glucósidos de furostanol.

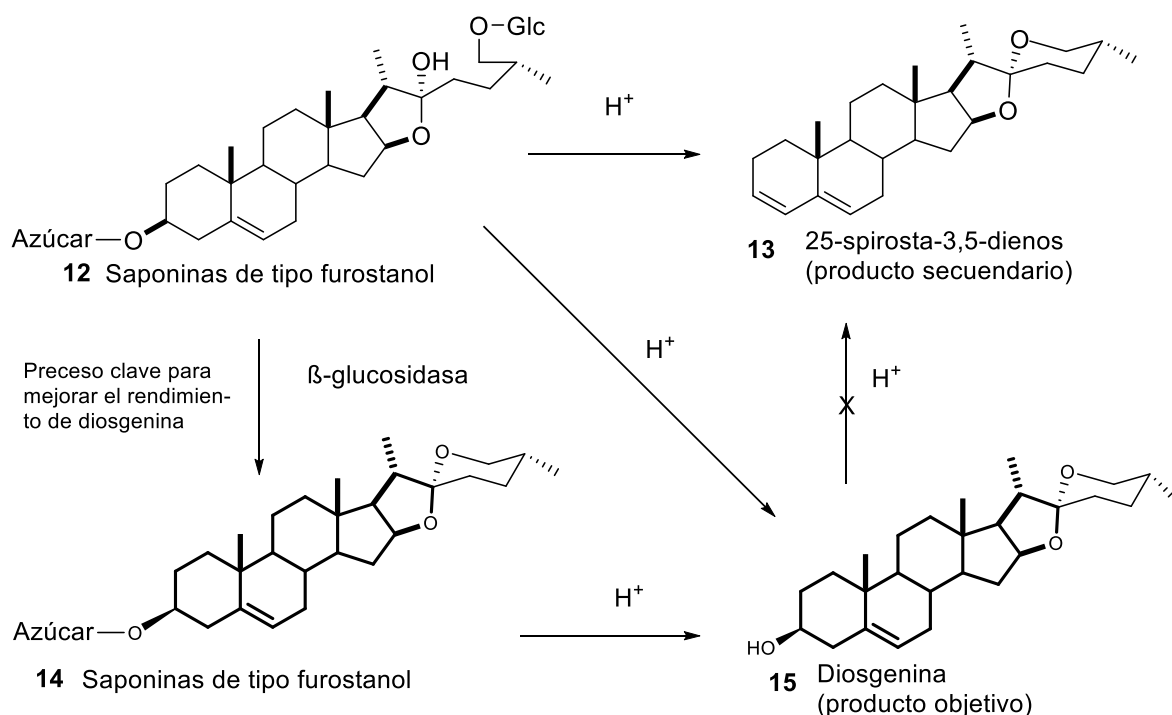


Figura 2. Conversión de saponinas de furostanol en saponinas de espirostanol evitando el producto secundario aumenta el rendimiento de disgenina por la hidrolis ácida de *Discorea Zingiberensis*

Considerando lo anterior, la síntesis química representa una ponderosa herramienta para obtener compuestos furostánicos con estructura y estereoquímica definida de relevancia biológica; diversas metodologías sintéticas se han desarrollado con el interés de incrementar el acceso a furostanoles, sin embargo, a la fecha solo existen poco reportes, algunas de estas estrategias incluyen: apertura de los anillos E/F de sapogeninas como la tigogenina bajo condiciones de reacción no convencionales como son el uso de temperaturas bajas de $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ to $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ y con el uso de reactivos recién preparados como trifluoroacetil trifluorometanosulfonato (TFAT) dando el producto deseado y acompañado del producto de deshidratación (pseudosapogenina con doble enlace exocíclico en C22-C23³; b) la síntesis de la Timosaponina BII **2** a partir de sarsasapogenina en 10 etapas y alrededor del 18% de rendimiento global⁴ y c) la preparación de furostan-22-ols **18-20** utilizando los acetatos de sarsasapogenina, diosgenina y hecogenina como materiales de partida,⁵ en presencia de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ y anhídrido trifluoroacético (TFAA) (Figura 3).

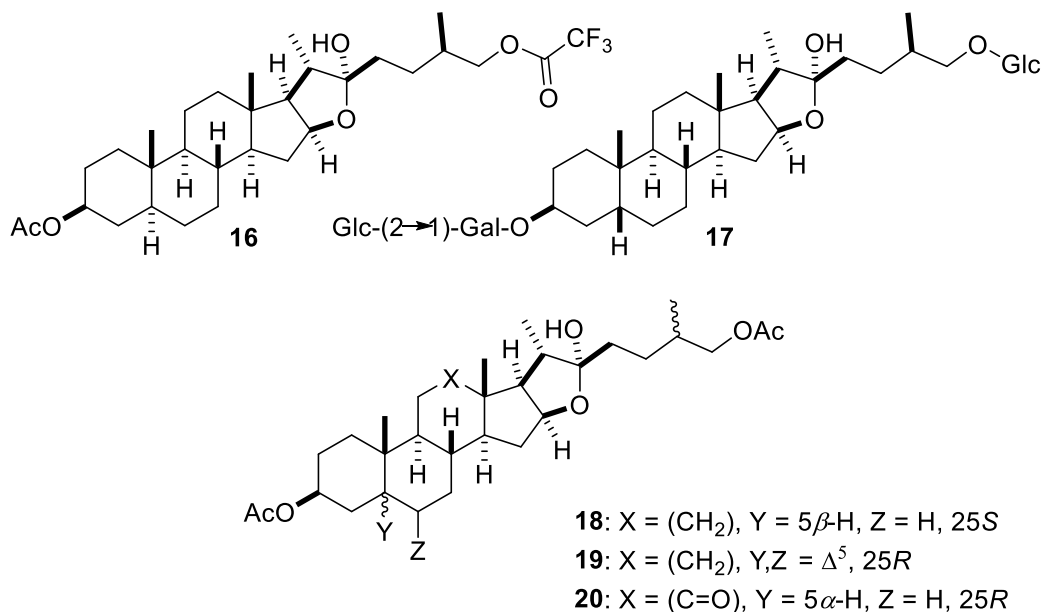
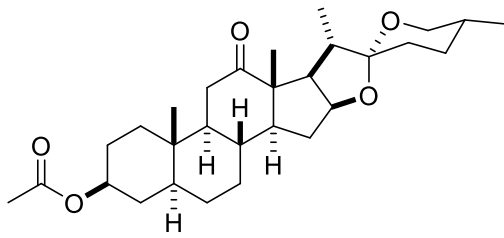


Figura 3. Furostanoles obtenidos de sapogeninas espiroestánicas.

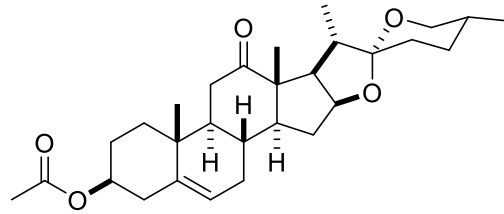
Estos derivados esteroidales son de gran importancia por sus propiedades químicas y actividades biológicas como son, antiinflamatoria, inhibidores de la α -glucosidasa, citotóxica, antiproliferativa, entre otras.⁶⁻⁸ En este contexto, la investigación relacionada con este tipo de moléculas ha sido objeto de estudio principalmente en la última década, muchas de estas llamando su atención por la diversidad estructural y significativa bioactividad asociada con ambos fragmentos (azúcar residual y aglicona).

Con estos antecedentes se puede hacer notar que la síntesis química juega un rol muy importante en la obtención de compuestos estructuralmente definidos con potencial y/o relevante actividad biológica.

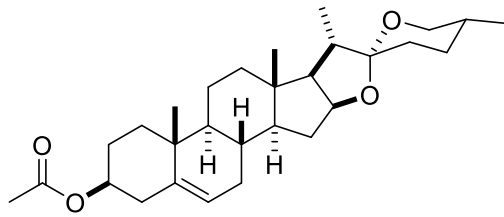
En continuación con nuestros estudios sobre la catálisis ácida de la apertura ácida de los 22-oxo-23-espirocetales⁹⁻¹¹ de acetato de hecogenina, diosgenina, botogenina, tigogenina y sarsasapogenina (Figura 4), en el presente trabajo describimos la obtención de dos nuevos aglicones furostanólicos **5-6** obtenidos vía apertura regioselectiva del anillo F del 22-oxo-23-espirocetal **3** utilizando ZnCl₂ en anhídrido acético.



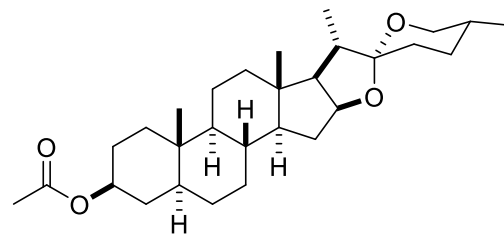
1 Hecogenina



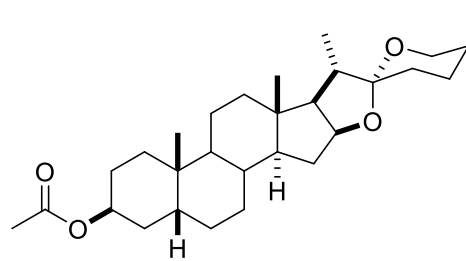
21 Botogenina



22 Diosgenina



23 Tigogenina



24 Sarsapogeninas

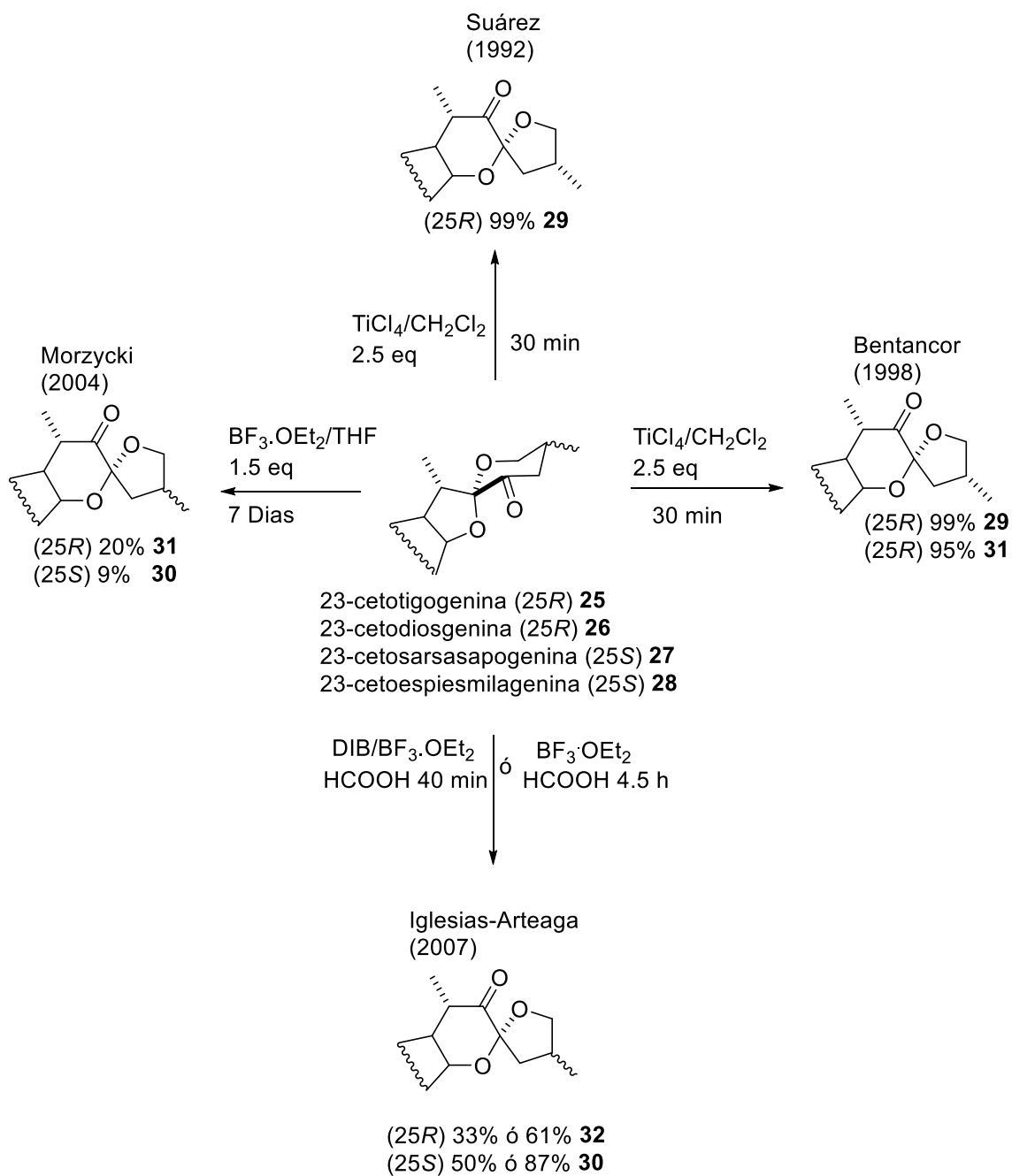
Figura 4. Sapogeninas espirostanicas.

2. ANTECEDENTES

Los 22-oxo-23-espirocetales¹²⁻¹⁷ son intermediarios sintéticos preparados a partir de las sapogeninas espirostánicas **1** y **21-24**, estos han sido ampliamente utilizados en la obtención de esteroides bioactivos, por lo cual su reactividad química continúa siendo objeto de estudio,^{13, 18-19} Algunos ejemplos de estos estudios incluyen principalmente reordenamientos con diferentes reactivos (oxidantes, reductores, ácidos) algunos de estos se describen a continuación:

2.1 Obtención de 22-oxo-23-espirocetales a partir de 23-cetosapogeninas

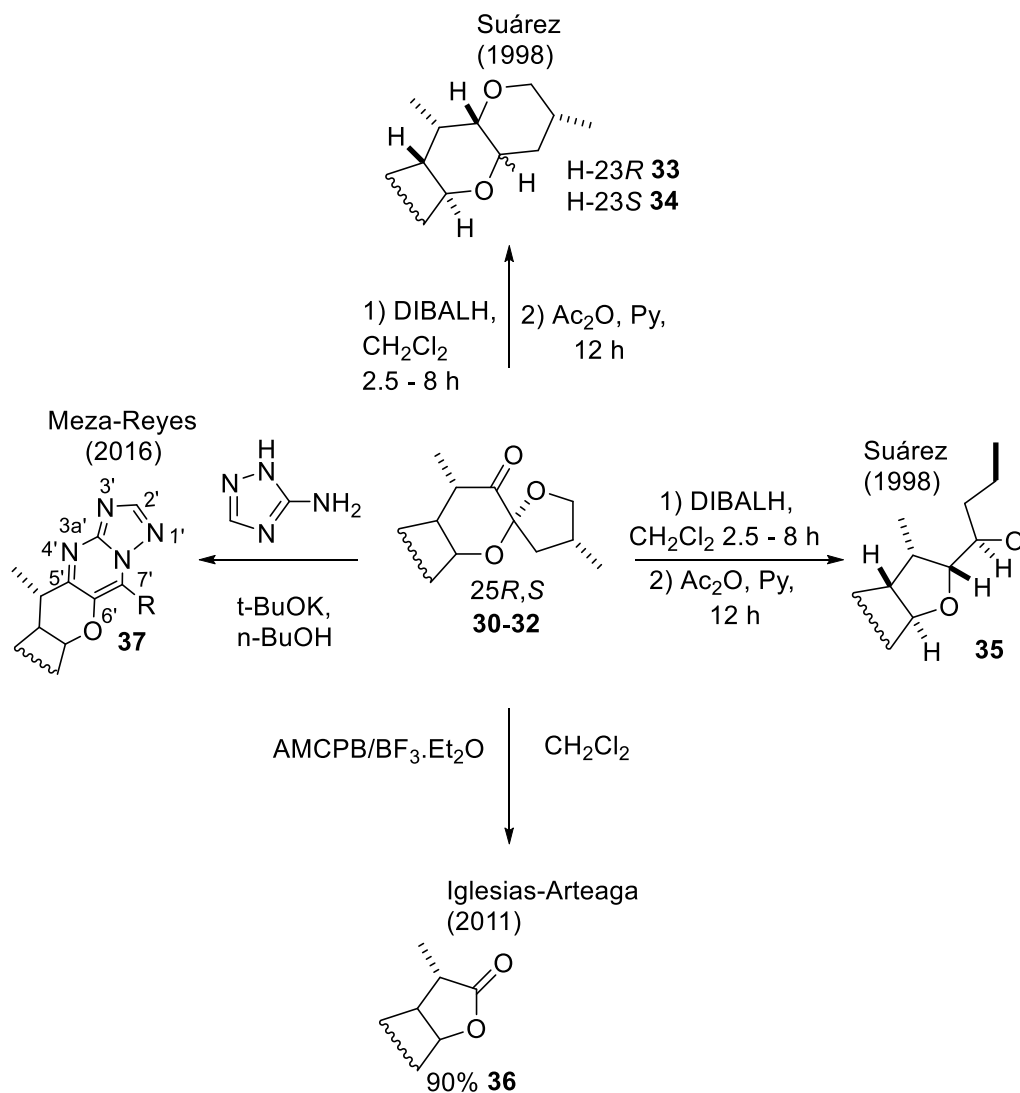
La síntesis de 22-ceto-23-espirostanos a partir de 23-ceto-sapogeninas fue reportada por primera vez en 1992 por Suárez y colaboradores,¹² a partir del acetato de 23-ceto-tigogenina **25** que mediante tratamiento con TiCl_4 en CH_2Cl_2 formó el producto isomérico 22-ceto-23-espirocetal **29** en rendimiento del 99%. Betancor¹³ en 1998 reportó la síntesis de **29** y **31** (derivado de Tigogenina y diosgenina, respectivamente) utilizando la misma metodología con un rendimiento del 99% al 95%, respectivamente. En el 2004 Morzycki y colaboradores¹⁴ describieron la isomerización de dos derivados de la serie 25R (23-ceto-diosgenina **26** y 25S (23-ceto-sarsapogenina **27** en presencia de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ y THF como disolvente, mediante el análisis de difracción de rayos-X del producto isomérico **30** confirmaron configuración *R* en el C_{23} del espiro. En el 2007 Iglesias-Arteaga¹⁵ reportó la síntesis de los derivados isoméricos de epismilagenina **32** y sarsapogenina **30** vía dos metodologías: DIB (Diacetoxiyodo benceno) y $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ en ácido fórmico ó $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ con ácido fórmico, observando que la reacción en presencia del ácido de Lewis con ácido fórmico procede en mejores rendimientos y en condiciones no anhidras. Otras metodologías para la síntesis de los 22-ceto-23-espirocetales se han descrito utilizando disolventes como THF¹⁶ o benceno con TMSOTf ,¹⁷ o incluso en presencia del reactivo anhídrido bencenselénico (BSA); cabe mencionar que en todos los casos se requiere de un ácido como catalizador de la reacción (Esquema 2).¹²⁻¹⁷



Esquema 2. Isomerización de 23-oxosapogeninas a 22-oxo-23-espirocetales.

2.2 Reactividad de los 22-ceto-23-espirostanos

El primer reporte sobre la reactividad de los 22-oxo-23-espirostanos fue descrito por Suárez y Freire,¹³ y consistió en realizar la reducción del espirocetal metanosulfonato preparado a partir del 22-oxo-23-espirodiosgenina **31** con DIBALH, bajo estas condiciones se promueve regio y estereoespecífica la formación de los derivados 1,6-dioxadecalina **33** y **34** y 2,2'- ditetrahidrofurano **35**. En 2011 Iglesias-Arteaga¹⁸ y colaboradores describieron la obtención de la lactona bisnorcolánica **36** en buenos rendimientos y bajo condiciones oxidativas (AMCPB y BF₃OEt₂ en CH₂Cl₂) a partir de los 23-espirocetales derivados de epiesmilagenina y sarsasapogenina, para esta metodología se propuso que la reacción procede vía un mecanismo de tipo Baeyer–Villiger. El grupo de Meza-Reyes y colaboradores,¹⁹ en el año 2016 reportaron la síntesis de esteroides nitrogenados de tipo triazol-pirimidín **37**, mostrando actividad, la síntesis de los análogos de **37** la realizaron a partir de una cetona α - β insaturada descrita por nuestro grupo de trabajo en el 2015.¹⁰

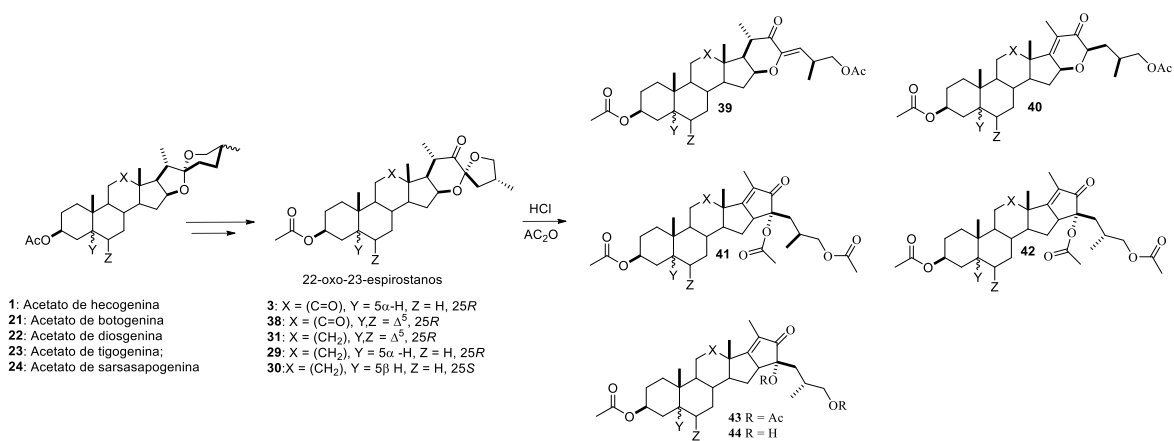


Esquema 3. Reactividad de los 22-ceto-23-espirostanos.

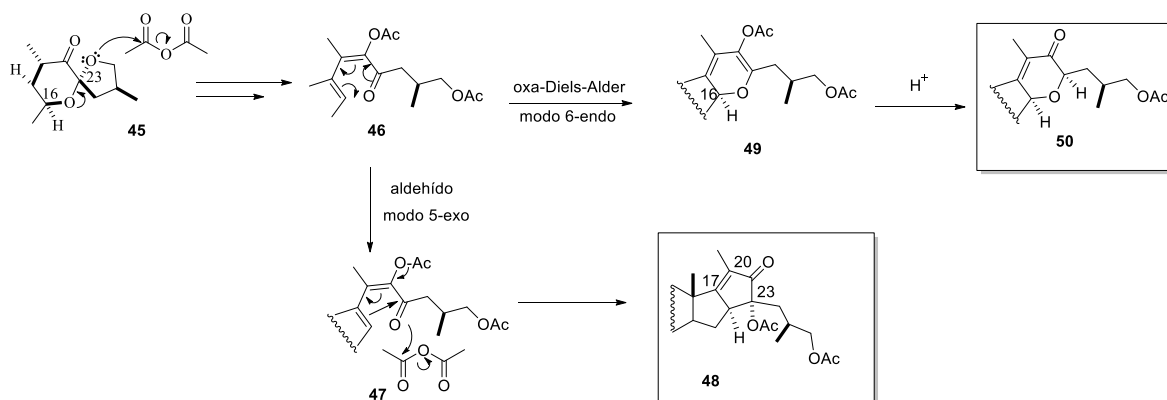
2.3 Reactividad de los 22-oxo-23-espirostanos en medio ácido

Para el caso de la catálisis ácida de los 22-oxo-23-espirocetales, nuestro grupo de trabajo ha descrito diferentes reordenamientos en presencia de los ácidos: HCl⁹ BF₃·OEt₂¹⁰ y TiCl₄¹¹ obteniendo resultados prometedores en la síntesis de análogos de productos naturales funcionalizados en la cadena lateral de las sapogeninas espirostánicas.

En el año 2012 describimos el primer reporte en medio ácido de los 22-ceto-23-espirocetálicos **3**, **29-31**, **38** encontrando que los 22-ceto-23-espirocetales **3** y **31** de la serie 25*R* (Hecogenina y Diosgenina) presentan una reactividad muy marcada en presencia de una solución de anhídrido acético y HCl gas en comparación con el compuesto **30** de la serie 25*S* (Sarsasapogenina). Lo anterior ya que la apertura de los 23-espirostanos serie 25*R* bajo estas condiciones produce regioselectivamente los derivados colestánicos con una ciclopentenona en el anillo E **42** y **43**, mientras que los derivados de la serie 25*S* producen dos compuestos minoritarios con una piranona en la cadena terminal (Esquema 4). Mediante el análisis por difracción de rayos-X del hidrolizado del compuesto **43**, se estableció configuración *R* en el carbono 23. El análisis mecanístico de esta apertura también fue estudiado y se propuso que la formación de los compuestos **48** y **50** procede vía un intermediario en común del tipo **46** el cual mediante rearreglo de Ciclación modo 6-*endo* que consiste en una oxa-Diels Alder o ciclación 5-*exo* similar a una reacción aldólica justifica la formación de los compuestos **48** y **50**.

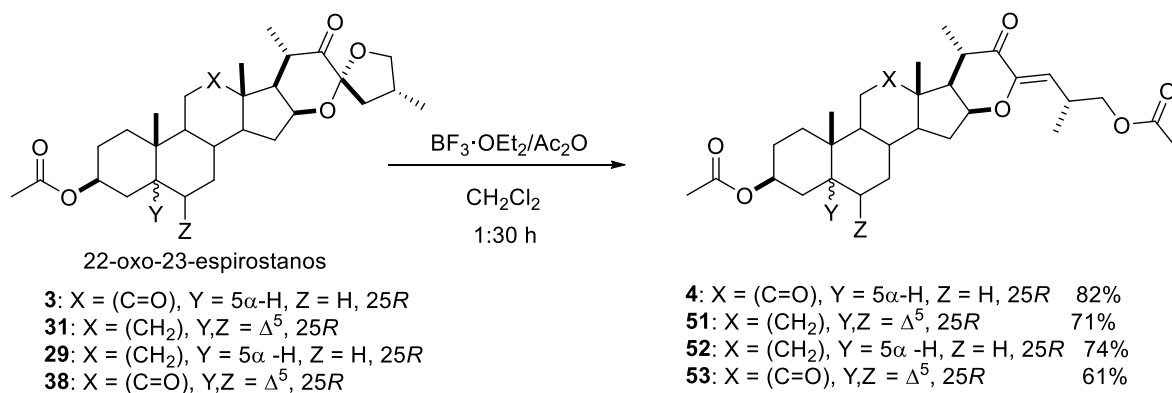


Esquema 4. Apertura regioselectiva de 23-estirocetales 25R y 25S en presencia de HCl(g).



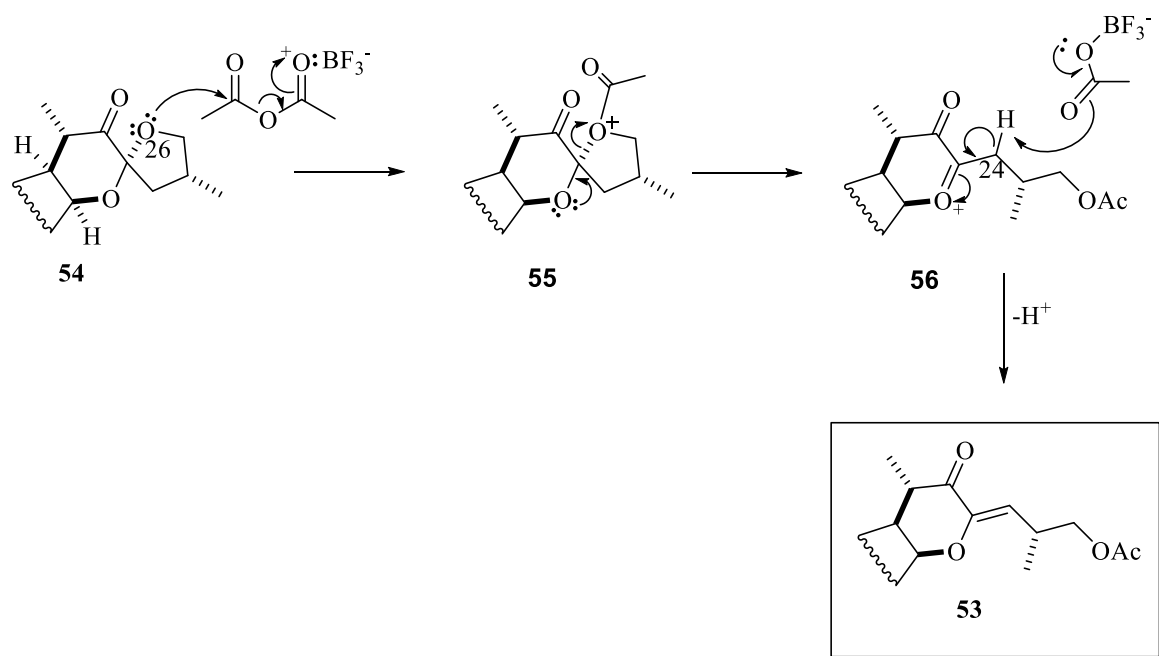
Esquema 5. Mecanismo para la formación de los compuestos **48** y **50**.

También se ha explorado la reactividad de estos 23-estirostano en presencia de ácidos de Lewis, Corona-Díaz *et al.* reportaron la reactividad de los 22-ceto-23-estirocetales de la serie 25R (Hecogenina, Diosgenina, Tigogenina y Botogenina) catalizada con BF₃·OEt₂,²⁶ ellos observaron que con este ácido se promueve la obtención regio- y estereo-selectiva de los compuestos **4**, **51-53** análogos a los previamente descritos bajo condiciones de apertura con HCl gas (Esquema 4 y 6),²⁷ los productos se obtienen en buenos rendimientos 61-82% y condiciones suaves de reacción.



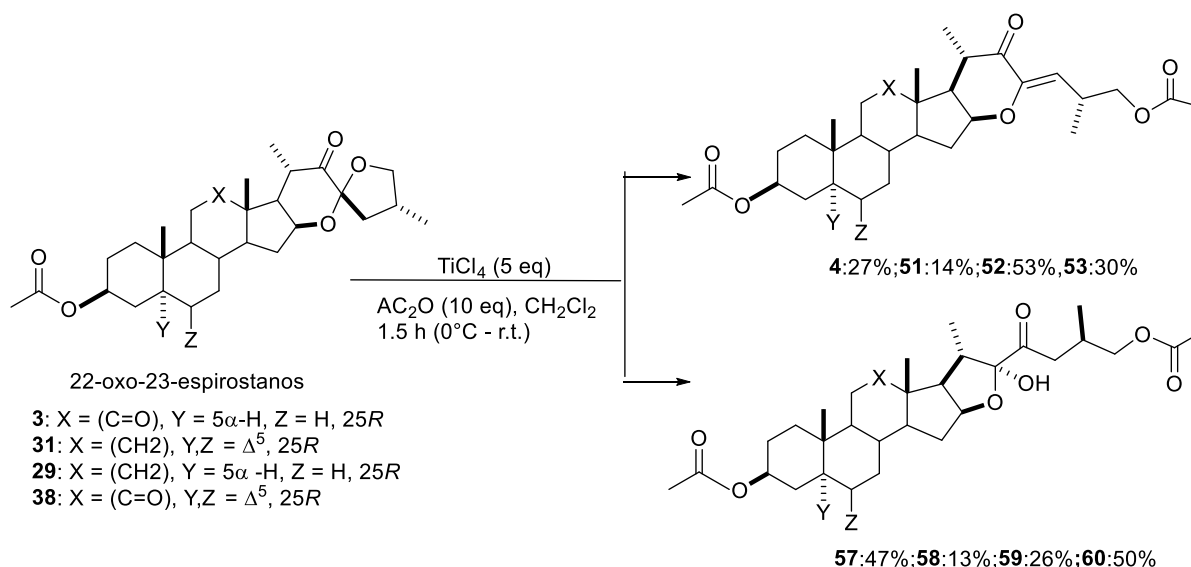
Esquema 6. Apertura regio- y estero-selectiva de 22-ceto-23-espirostanos en presencia de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$.

La formación de los productos colestánicos **4**, **51-53** se justificó vía la coordinación del BF_3 al anhídrido acético, una vez activado este reactivo es susceptible del ataque nucleofílico por parte del par de electrones no compartido del átomo de O26 localizado en el anillo furano del esteroide, esto promueve la apertura del anillo F que mediante la molécula de acetato activada con BF_3 abstrae el H-24, justificando la formación del doble enlace exocíclico. La configuración Z del doble enlace de los productos **4,51-53** se propuso con base al análisis de difracción de rayos X del compuesto **53**.



Esquema 7. Mecanismo de reacción para la formación del compuesto **53**.

Más recientemente Corona Díaz *et al.* reportaron la apertura de los 23-espirocetales **3**, **29**, **31**, **38** en presencia de TiCl_4 y anhídrido acético, observando que bajo estas condiciones se promueve la formación de los derivados furotanólicos **57-60** acompañados de los colestanos de estructura conocida **4**, **51-53**. La selección del ácido la llevaron a cabo considerando la mayor acidez del TiCl_4 en comparación con el $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$,¹⁰⁻¹¹ además de otros aspectos como son el ambiente estérico alrededor del sitio de coordinación.



Esquema 8. Apertura del anillo F de los 22-oxo-23-espirocetales **3**, **29**, **31**, **38** con TiCl₄ en anhídrido acético.

El tratamiento de los compuestos **3** y **38**, derivados de hecogenina y botogenina, con tetracloruro de titanio (5 eq) y anhídrido acético en CH₂Cl₂ formó la mezcla de compuestos **4** y **57**, así como **53** y **60**, los cuales fueron separados por cromatografía en columna. En ambos casos, los productos minoritarios fueron los compuestos con anillos E de tipo piranona **4** y **53** (27%-30%) estos resultaron ser idénticos a los productos previamente reportados con BF₃•OEt₂,¹⁰ mientras que los compuestos mayoritarios fueron los furostanoles **57** y **60**, obtenidos en rendimientos moderados (47%-50%).

La estereoquímica del C-23 de los derivados furostanólicos la realizaron por comparación con los datos espectroscópicos de RMN descritos para otros análogos y la confirmaron mediante el análisis por difracción de rayos-X del derivado furostanólico **57**.

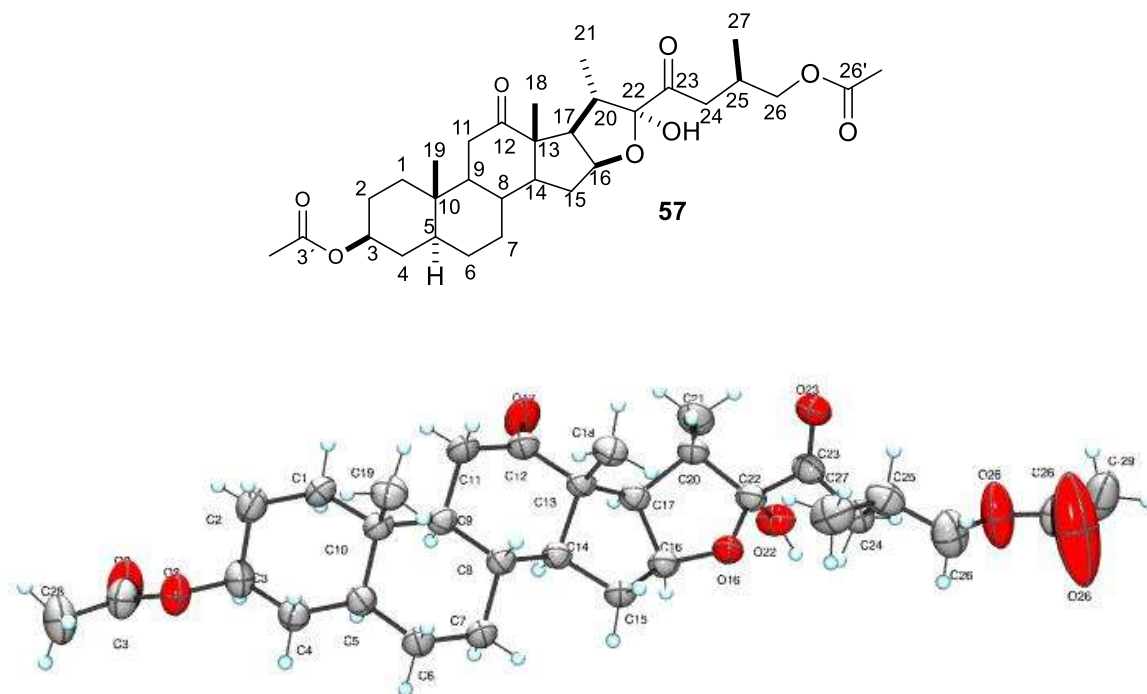
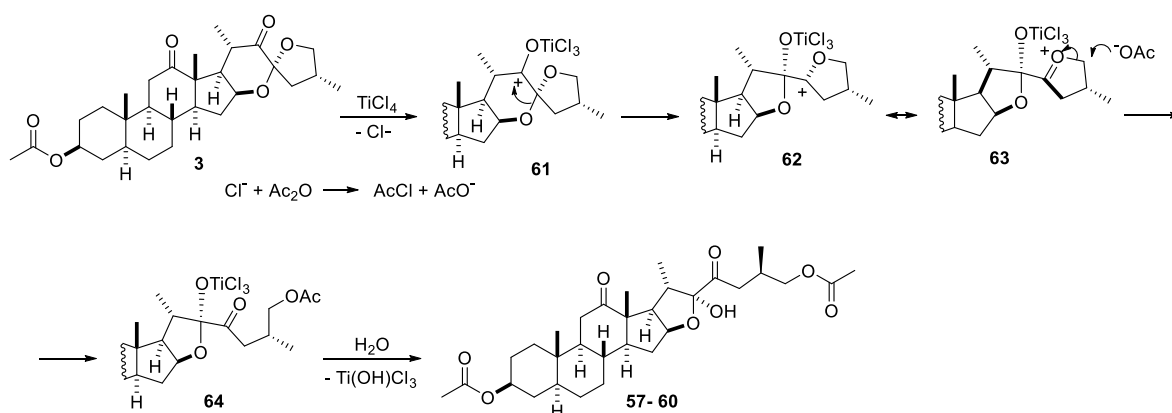


Figura 5. Rayos-X del compuesto **57**.

La obtención de los derivados furostanólicos la describieron con base en el siguiente esquema.



Esquema 9. Mecanismo propuesto para la formación de los 23-carbonil furostanoles **57-60**.

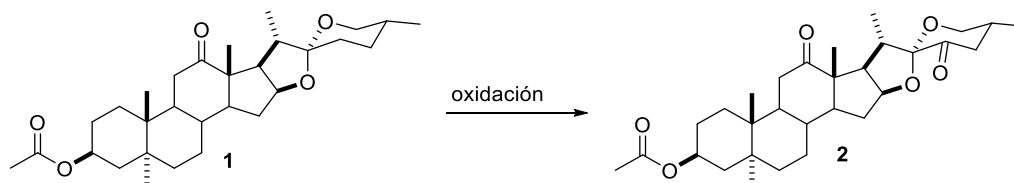
3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

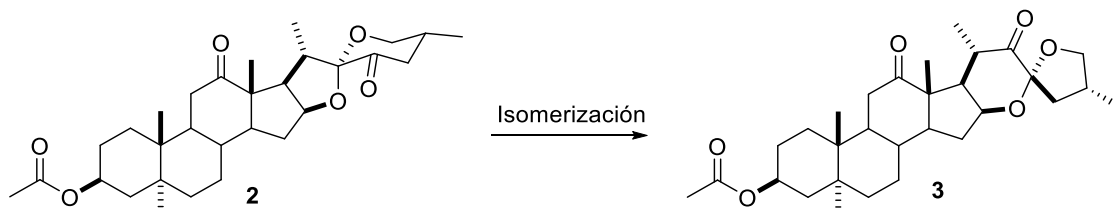
Evaluar el rendimiento de los derivados esteroidales **5-6** frente a la reacción de apertura con ZnCl_2 a partir de 22-oxo-23-espirohecogenina **3** al realizar modificaciones de equivalentes.

3.2 Objetivos específicos

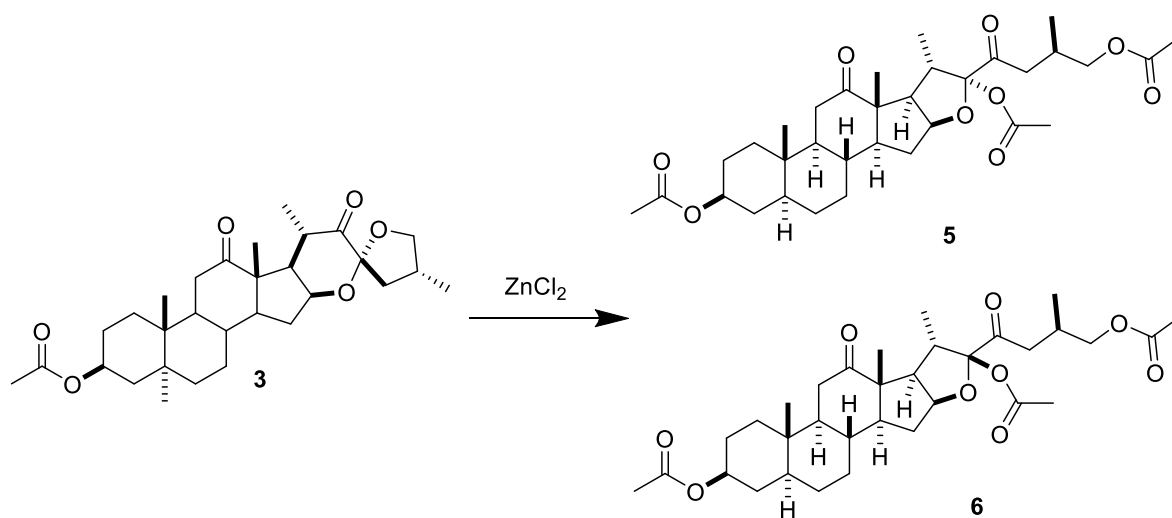
Obtener las 23-cetohecogenina **2** a partir de acetato de hecogenina **1** vía oxidación de Barton.



Obtener la 22-ceto-23-espirohecogenina **3** a partir de 23-cetohecogenina **2**.

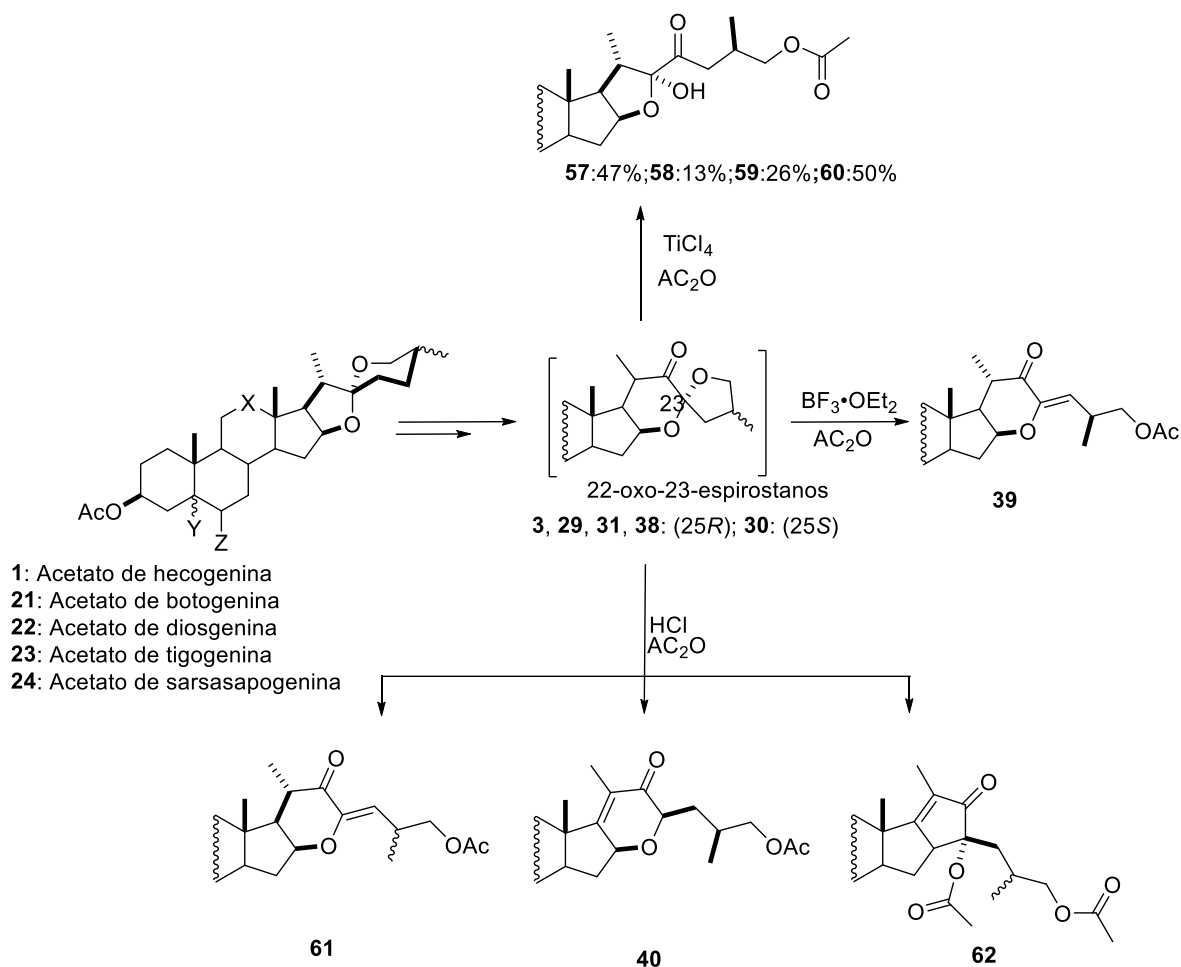


Obtener los derivados esteroidales **5-6** a partir de 22-ceto-23-espirohecogenina **3** frente a la adición de ZnCl_2 .



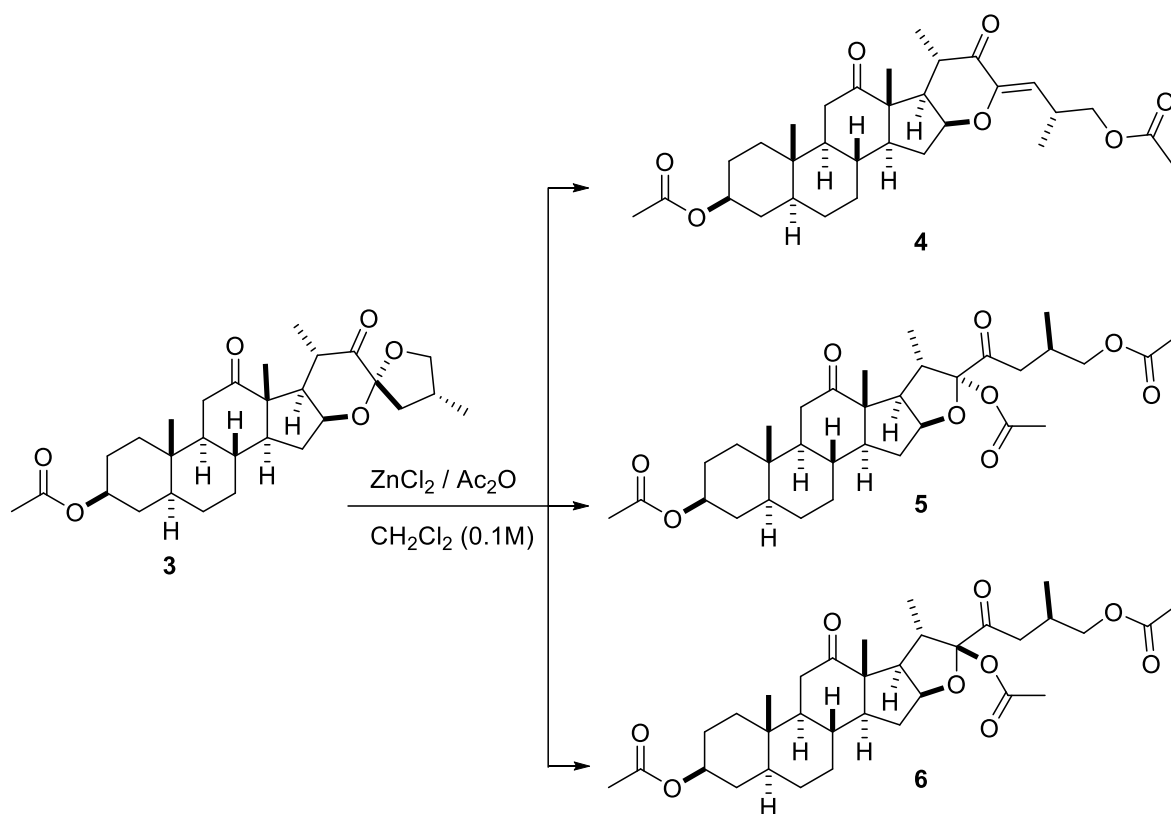
4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En trabajos previos se ha demostrado que la apertura de los 22-oxo-23-espirocetales **3**, **29**, **31**, **38** con Ac_2O bajo condiciones ácidas con $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ conlleva a la formación de productos con anillos E de tipo piranona **39**, mientras que el tratamiento de **3**, **31** y **30** con $\text{Ac}_2\text{O}/\text{HCl}(\text{g})$ permite la formación adicional de los compuestos **40** y **62** (Esquema 10).



Esquema 10. Derivados esteroidales obtenidos a partir de los 22-oxo-23-espirocetales de las series 25*R* y 25*S*.

Por otra parte, la apertura de las (25*R*)-23-oxosapogeninas con TiCl_4 promueve la formación de compuestos furostanólicos funcionalizados con un grupo carbonilo en C-23 haciendo factible la posible funcionalización de esta posición, lo anterior pone de manifiesto la sensibilidad y reactividad de estos sustratos 23-espirostanólicos hacia la formación de diversos esteroides con estructura análoga a productos naturales de tipo esteroideo. En este contexto y como un complemento al trabajo desarrollado en la tesis doctoral del D.C. Corna-Díaz, en este trabajo se decidió llevar a cabo la apertura de **3** con el uso de ZnCl_2 variando el uso de equivalentes del ácido con el interés de explorar si existe variación en términos de la formación de los productos.



Esquema 1. Apertura del anillo F del 22-oxo-23-espirocetales **3** con ZnCl_2 en anhídrido acético.

El tratamiento del compuesto **3**, con cloruro de zinc (5 eq) y anhídrido acético en CH_2Cl_2 formó una mezcla de tres compuestos, estos fueron identificados por placa cromatográfica, enseguida el crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna, logrando separar en el siguiente orden los compuestos: usando una fase móvil

hexano-acetato de etilo (8:2) seguida de una polaridad (75:25) se obtuvieron los compuestos, **4** (76.1 mg; 70.07%), **5** (8.8 mg; 7.27%) y **6** (7.2mg, 5.95 % rendimiento).

Cabe destacar que los compuestos **5-6** anteriormente habían sido identificados en la tesis doctoral del D.C. Corona-Díaz bajo otras condiciones de reacción con el mismo ácido de Lewis,²⁰ por lo tanto los resultados observados en el esquema 1, permitieron identificar que con 5 equivalentes de ZnCl₂ si se observa variación en términos de los rendimientos de los productos **5** y **6**.

La asignación del compuesto **4** se realizó por comparación con los datos espectroscópicos previamente reportados en nuestro grupo de trabajo.¹⁰

A manera de ejemplo en la (figura 6) se muestra el espectro de RMN de ¹H en el que se observa la presencia de una señal doble en 5.67 ppm con $J_{24-25} = 9.3$ Hz, asignada a H-24, además una señal múltiple en 3.96 ppm que corresponde a los hidrógenos diastereotópicos de 26. También se observan dos señales múltiples en 2.96 ppm, 2.60 ppm asignadas para H-25 y H-20 respectivamente, así como las señales simples que pertenecen a los metilos 18 y 19 en 1.27 y 0.96 ppm respectivamente y dos señales dobles para los metilos secundarios 21 y 27 en 1.18 ppm y 1.04 ppm.

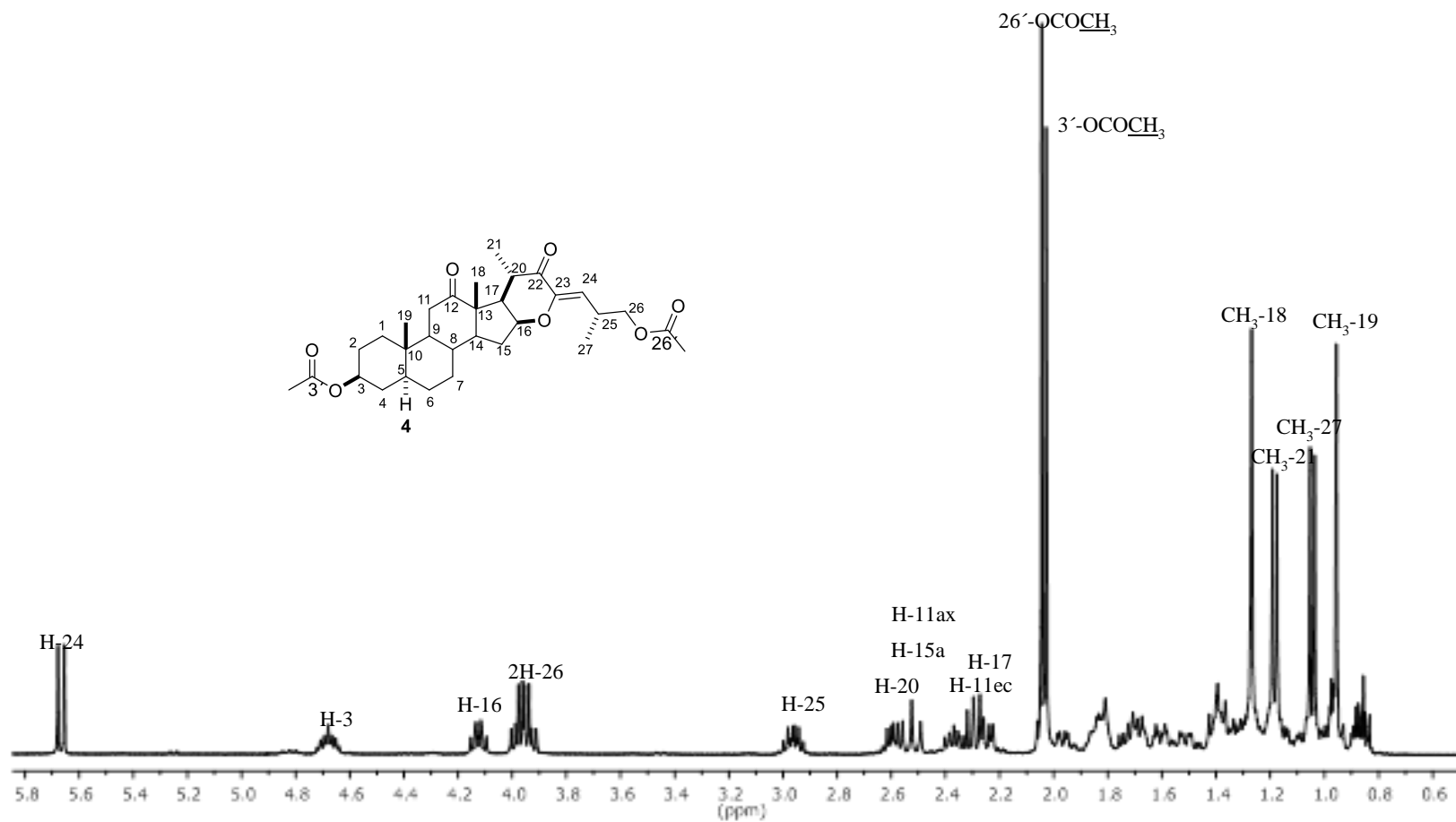


Figura 6. Espectro de RMN ^1H (400 MHz) para **4** en CDCl_3 .

El análisis de la RMN de hidrógeno de los compuestos **5** y **6**, permitió identificar que se trataban de dos compuestos epiméricos (Figura 7). Por ejemplo en la comparación de los dos espectros de RMN de esta figura se observan cambios significativos en las señales que corresponden a los: H-24', H-16 los cuales se desplazan a menor frecuencia en el derivado epimérico β -22-acetil-sustituido, mientras que las señales que corresponden a los hidrógenos de H-19, H-26, H-3 permanecen sin cambio significativo.

Después de analizar que los compuestos **5** y **6** correspondían a estructuras epiméricas, se identificó por TLC y RMN de ^1H que el epímero mayoritario correspondía al derivado furostánico contenido el grupo acetilo sustituido en alfa sobre el C-22, y también por comparación con los datos espectroscópicos de los análogos descritos en la tesis de doctorado del D.C. Corona Díaz.²⁰

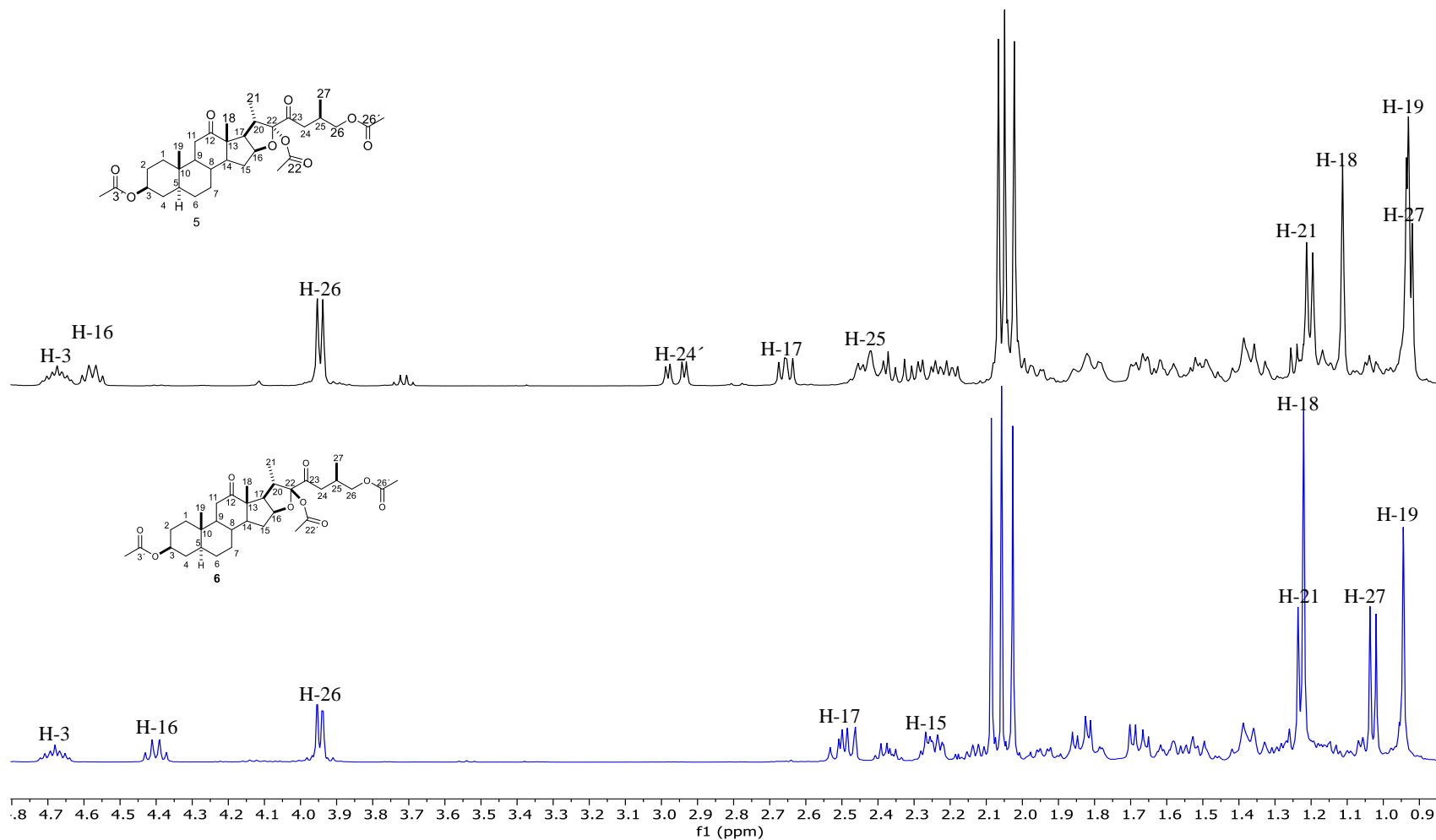


Figura 7. Espectro de RMN ¹H (400 MHz) para **5** y **6** en CDCl₃.

La asignación estructural del epímero mayoritario **5** se realizó con ayuda de la RMN de 1D y 2D, por ejemplo, en la (figura 8) se muestra el espectro de RMN de ^1H para este compuesto, en el que se observa una señal múltiple en 4.68 ppm asignada a H-3 así como una señal múltiple en 4.61 ppm que se asignó a H-16. Los hidrógenos diastereotópicos de la posición 26 se observaron como una señal dd en 3.94 ppm. Las señales de los metilos cuaternarios CH_3 -18 y CH_3 -19 se asignaron en 1.12 y 0.93 ppm respectivamente, así como los metilos secundarios CH_3 -21 y CH_3 -27 en 1.20 ppm y 0.93 ppm.

En el espectro de RMN de ^{13}C de (Figura 9) se observan las 33 señales esperadas, dentro de las que destacan señales características de grupos carbonilos en 212.4 ppm y en 206.4 ppm que corresponden a los C-12 y C-22. Las tres señales de los carbonilos de acetilo sustituidos en C-26, C3 y C-23 se asignaron en 171.1, 170.5 y 169.6 ppm, y en 110.5 ppm se asignó la del C-23, El resto de las señales se asignaron de igual forma con ayuda de los experimentos HSQC y HMBC.

Para el compuesto **5** con ayuda del experimento DEPT (Figura 10) se asignaron las señales que corresponden a un total de siete metilos, nueve metilenos, nueve metinos y ocho carbonos cuaternarios por diferencia con el espectro de ^{13}C que corresponden a la estructura propuesta.

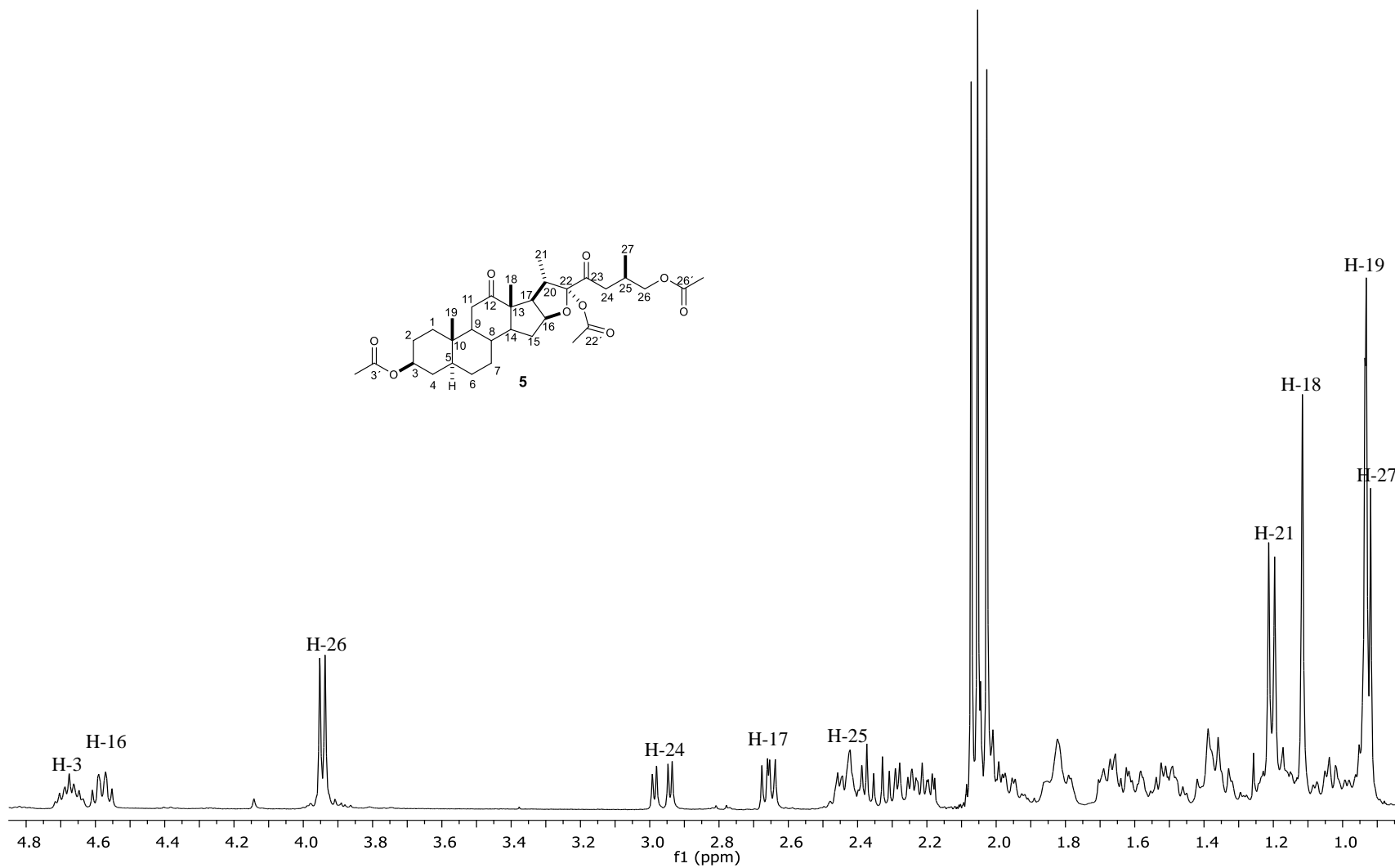


Figura 8. Espectro de RMN ^1H (400 MHz) de **5** en CDCl_3 .

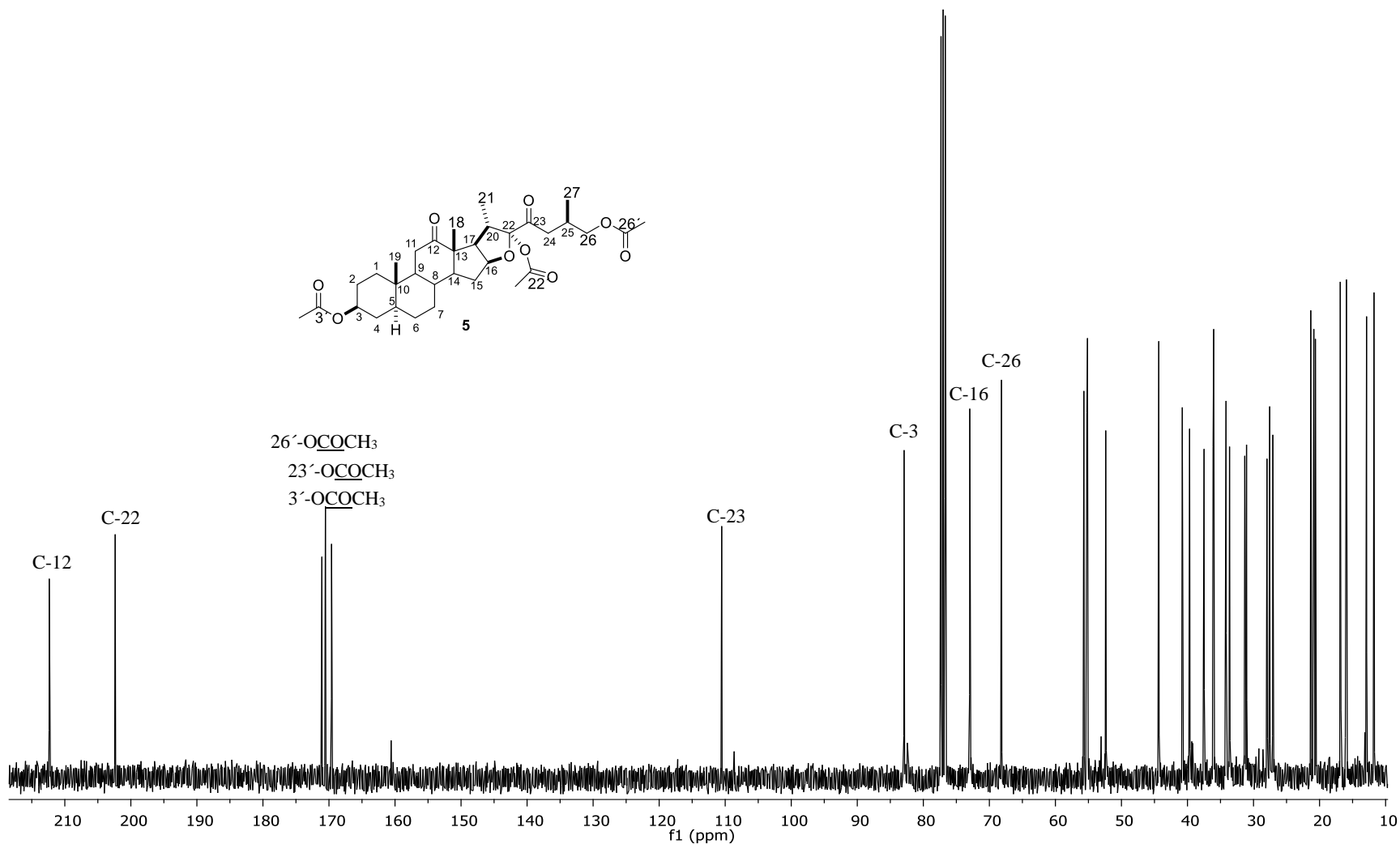


Figura 9. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) de **5** en CDCl_3 .

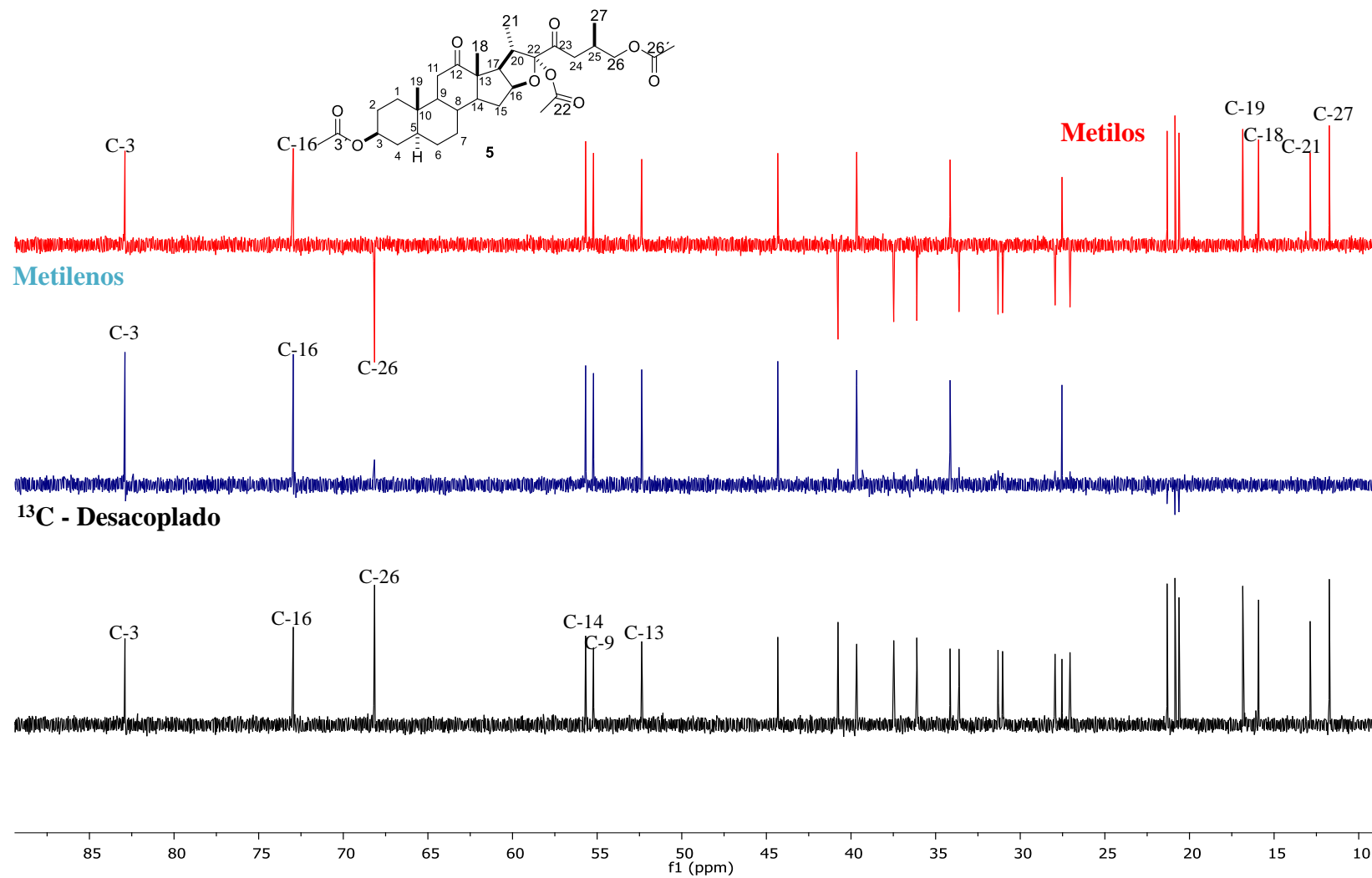


Figura 10. Espectro de DEPT (100 MHz) de **5** en CDCl_3 .

El experimento HSQC (Figura 11) mostró las siguientes correlaciones heteronucleares, C-16 en 82.91 ppm con el H-16 en 4.58 ppm, C-3 en 72.97 ppm con H-3 en 4.68 ppm y C-26 en 68.17 ppm con la señal múltiple en 3.94 ppm que integra para dos protones, también se observó la correlación de C-24 en 40.78 ppm con los protones H-24 en 2.96 ppm. Los carbonos C-18 en 15.93 ppm y C-19 en 16.86 ppm mostraron correlación con los CH₃-19 en 0.93 ppm y CH₃-18 en 1.12 ppm así como C-21 en 12.88 ppm y C-27 en 11.75 ppm con el CH₃-21 en 1.20 ppm, y CH₃-27 en 0.93 ppm, así mismo el resto de las señales se asignó mediante esta secuencia.

En la (figura 12) se muestra el espectro COSY de **5** que muestra las correlaciones homonucleares del H-16 en 4.58 ppm con los hidrógenos diastereotópicos H-15 y H-15' en 2.18 ppm y 1.62 ppm, también mostró correlación con H-17 en 2.16 ppm. Los dos H-26 en 3.94 ppm correlacionaron con el H-25 en 2.44 ppm; además se observó la correlación del H-24 en 2.96 ppm con H-25 en 2.44 ppm.

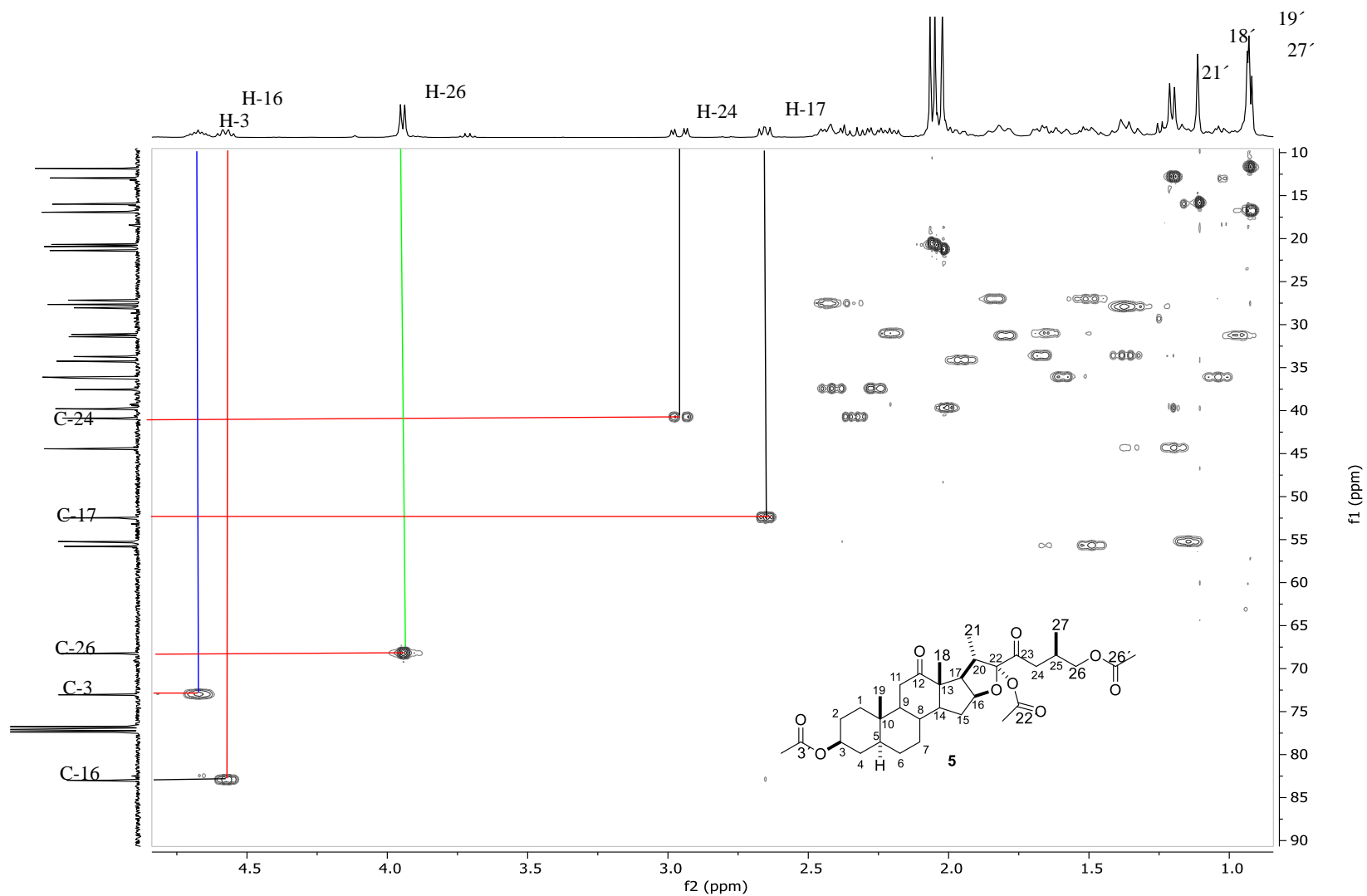


Figura 11. Espectro HSQC de **5** en CDCl_3 .

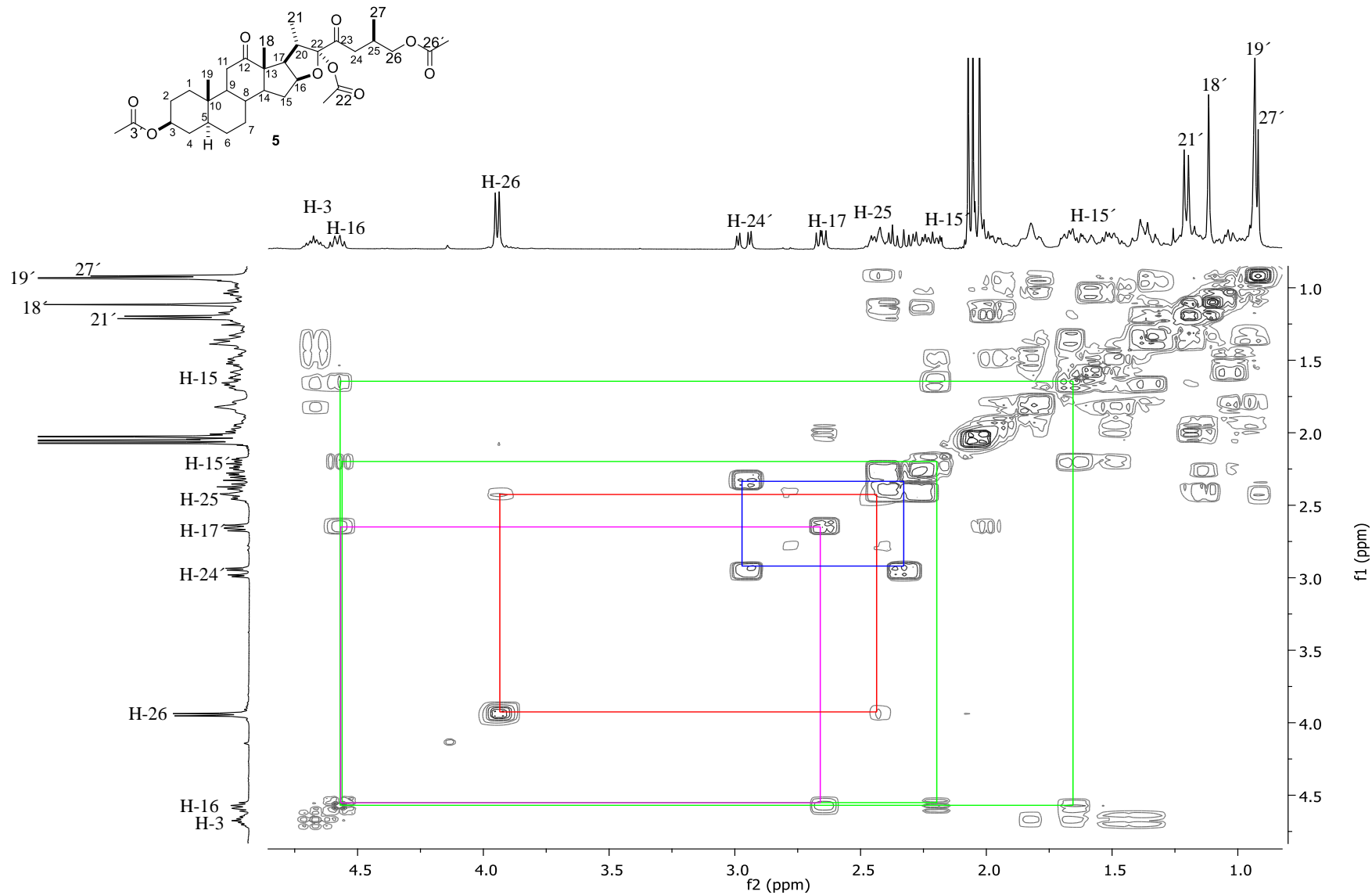


Figura 12. Espectro COSY de **5** en CDCl_3 .

El experimento HMBC (Figura 13) fue de gran utilidad para asignar inequívocamente carbonos cuaternarios; a continuación, se describen algunas de estas correlaciones a larga distancia: El carbono C-22 en 202.38 ppm presentó correlación a 3 enlaces de distancia con H-24 en 2.96 ppm, el C-12 en 212.36 ppm también mostró correlación con CH₃-18 en 1.12 ppm y una correlación con H-11 en 2.39 ppm a dos enlaces de distancia. Por otra parte, para el C-23 en 110.53 ppm se observó correlación a cuatro enlaces con CH₃-21 localizados en 1.20 ppm, el resto de los carbonos se asignó de la misma manera mediante el análisis de este experimento.

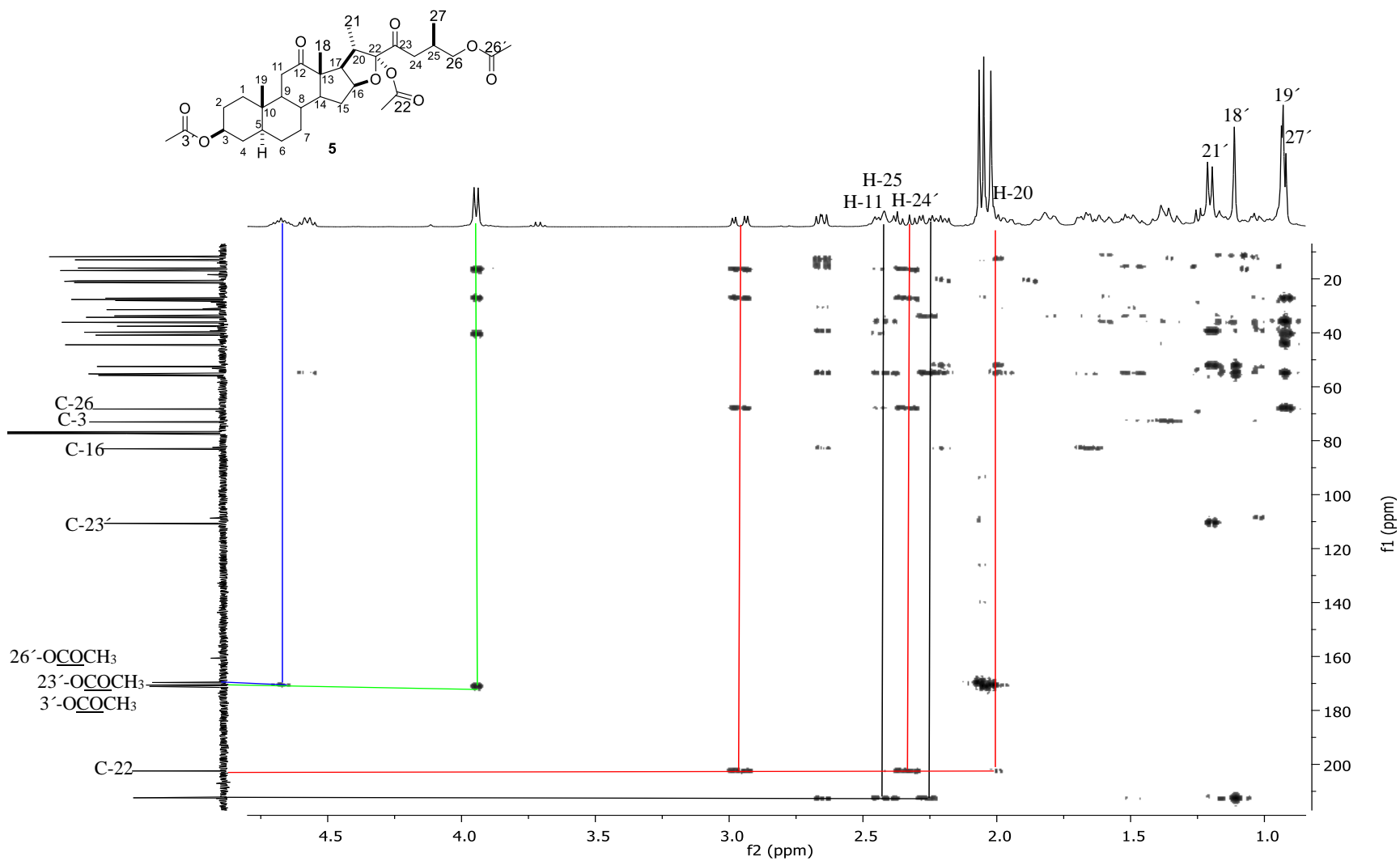


Figura 13. Espectro HMBC de **5** en CDCl₃

5. CONCLUSIONES

La realización de este trabajo permitió establecer que la apertura del compuesto **3** con 5 equivalentes de ZnCl_2 produce regioselectivamente los compuestos 22-acetilados **5** (8.8 mg; 7.27%) y **6** (7.2mg, 5.95 % rendimiento) en menor rendimiento en comparación con el uso de 8 eq. **5** (45%)/**6**(4%) del mismo ácido.²⁰

Adicionalmente estos resultados demuestran que con el uso de este ácido a diferencia del TiCl_4 , no se observa la formación de los derivados furostanólicos en iguales condiciones de reacción (tiempo, temperatura y equivalentes de reactivos). Sin embargo, en ambos casos existe una tendencia hacia el derivado furostánico mayoritario 22 α -sustituido.

6. PARTE EXPERIMENTAL

6.1 Instrumentación y equipo

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

El seguimiento de las reacciones se llevó a cabo por medio de cromatografía en capa fina (CCF), utilizando cromatoplasmas (4 cm x 3cm) de sílica gel de 0.2 mm de espesor soportado en placas de aluminio, provistos además de un factor de revelado F254 usando como fase móvil Hexano/AcOEt (7:3). El revelado de las cromatoplasmas se realizó con una lámpara de luz ultravioleta a 254 nm, también con una solución de H_2SO_4 /agua (30% V/V).

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

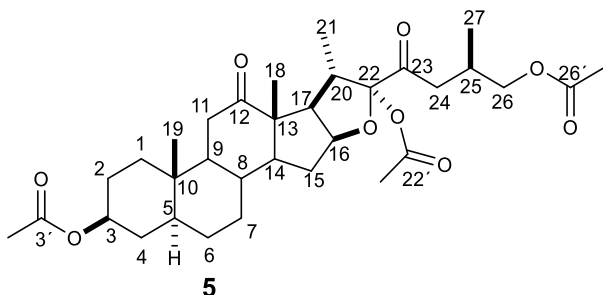
6.2 Oxidación de la sapogenina 1 con $\text{NaNO}_2/\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$

Se colocó en matraz balón provisto de agitador magnético la correspondiente sapogenina y ácido acético glacial generando una solución 0.1 M, se adicionó $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (3.7-6.3 eq.) lentamente y NaNO_2 (4-10.6 eq.) en pequeñas porciones durante 1 h a t.a., transcurrido este tiempo, la agitación se mantuvo por 1 h, posteriormente la mezcla se vertió sobre hielo y se extrajo con CH_2Cl_2 . La fase orgánica se lavó por tres veces con solución saturada de NaHCO_3 , se filtró sobre Na_2SO_4 anhidro y se evaporó a sequedad. El crudo de reacción se disolvió en la mínima proporción de benceno y se colocó en alúmina Brockman III, se dejó reposar una noche, se eluyó con Hexano/AcOEt (8:2), pero requirió ser repurificado en silica gel 70-230 mesh, en una mezcla de Hexano/AcOEt (8:2) las correspondientes 23-cetosapogeninas **2** se obtuvieron en rendimientos del 42-68%.

6.3 Procedimiento general para la apertura de 22-oxo-23-espirocetal **3** con ZnCl_2

El 22-oxo-23-espirocetal **3**, previamente preparado mediante la metodología descrita por Corona-Díaz²⁰ se disolvió en CH_2Cl_2 anhidro en cantidad necesaria para formar una disolución 0.1 M del 23-espirocetal, seguida de la adición de los reactivos en el siguiente orden, anhídrido acético (10.3 equiv.) y ZnCl_2 (5 equiv.), bajo condiciones de atmósfera de nitrógeno, la reacción se mantuvo durante 30 min en baño de hielo con agitación magnética seguida de la agitación constante durante 1 h a temperatura ambiente. La extracción se realizó vertiendo la mezcla sobre hielo, usando como fase orgánica CH_2Cl_2 efectuando tres lavados con solución saturada de NaHCO_3 , posteriormente se filtró sobre Na_2SO_4 anhidro seguido de evaporación del disolvente hasta sequedad. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna empacada con gel de sílice usando una fase móvil hexano-acetato de etilo (8:2), seguida de una polaridad más alta de (75:25) compuesto colestánico **4** como producto principal (76.1 mg; 70.07%) y los nuevos derivados furostánicos **5** (8.8 mg; 7.27%) y **6** (7.2mg, 5.95 % rendimiento).

6.4 (22*R*,25*R*)- 3 β ,22 α ,26-triacetato-5 α -furostan-12,23-diona **5**



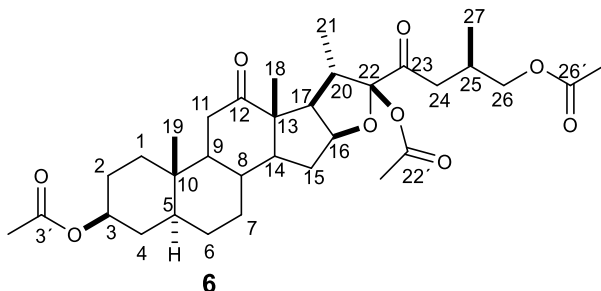
IR ν_{\max} cm^{-1} (KBr): 2936, 2878, 2853, 1726 (C=O), 1707 (C=O), 1452, 1431, 1367, 1238, 1153, 1134, 1078, 1032, 1011, 959, 918, 900, 866, 730.

HRMS 611.319054 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calculada para $\text{C}_{33}\text{H}_{48}\text{O}_9 + \text{Na}^+$ 611.32).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.68 (1H, m, H-3) 4.58 (1H, m, H-16), 3.94 (2H, m, H-26a, H-26b), 2.26 (1H, dd, $J = 18.1, 4.9$ Hz H-24a), 2.66 (1H, dd, $J = 8.9, 6.5$ Hz H-17), 2.34 (1H, dd, $J = 18.1, 8$ Hz H-24b), 2.07 (3H, s, 23'-OCOCH₃), 2.05 (3H, s, 26'-OCOCH₃), 2.03 (3H, s, 3'-OCOCH₃), 1.20 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-21), 1.12 (3H, s, H-18), 0.93 (3H, s, H-19), 0.93 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-27).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 212.4 (C-12), 202.4 (C-22), 171.1 (26'-OCOCH₃), 170.5 (3'-OCOCH₃), 169.6 (23'-OCOCH₃), 110.5 (C-23), 82.9 (C-16), 73.0 (C-3), 68.2 (C-26), 55.7 (C-14), 55.2 (C-9), 55.1 (C-13), 52.4 (C-17), 44.3 (C-5), 40.8 (C-24), 39.7 (C-20), 37.5 (C-11), 36.1 (C-1), 36.0 (C-10), 34.3 (C-8), 33.6 (C-4), 31.3 (C-7), 31.1 (C-15), 28.0 (C-6), 27.6 (C-25), 27.1 (C-2), 21.3 (3'-OCOCH₃), 20.9 (26'-OCOCH₃), 20.6 (23'-OCOCH₃), 16.9 (C-19), 15.9 (C-18), 12.9 (C-21), 11.8 (C-27).

6.5 (22*S*,25*R*)- 3 β ,22 β ,26-triacetato-5 α -furostan-12,23-diona **6**



IR ν_{\max} cm^{-1} (KBr): 2969, 2933, 2859, 1735 (C=O), 1712 (C=O), 1449, 1371, 1231, 1167, 1132, 1074, 1032, 1018, 1001, 977, 954, 939, 908, 874, 855, 822, 748.

HRMS: 611.319054 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calculada para $\text{C}_{33}\text{H}_{48}\text{O}_9 + \text{Na}^+$ 611.32).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.68 (1H, m, H-3), 4.39 (1H, m, H-16), 3.94 (2H, dd, $J = 5.6$ Hz, H-26a, H-26b), 2.49 (2H, m, H-17, H-11a), 2.35 (1H, m, H-14), 2.13 (1H, m, H-25), 2.08 y 2.02 (6H, s, $3'-23'-\text{OCOCH}_3$), 2.02 (3H, s, $26'-\text{OCOCH}_3$), 1.22 (3H, s, H-18), 1.22 (3H, d, $J = 4.9$ Hz, H-21), 1.03 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-27), 0.94 (3H, s, H-19).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 212.0 (C-12), 207 (C-22), 171.1 ($26'-\text{OCOCH}_3$), 170.5 ($3', 23'-\text{OCOCH}_3$), 170.5 ($3', 23'-\text{OCOCH}_3$), 100.7 (C-23), 73.0 (C-3), 73.0 (C-16), 69.0 (C-26), 56.7 (C-13), 55.9 (C-14), 52.5 (C-9), 46.5 (C-17), 44.3 (C-5), 40.5 (C-20), 39.9 (C-14), 38.1 (C-11), 36.2 (C-1), 36.1 (C-10), 34.3 (C-8), 33.7 (C-24), 32.6 (C-7), 31.4 (C-15), 28.1 (C-6), 27.9 (C-25), 27.1 (C-2), 21.4 ($3', 23', 26'-\text{OCOCH}_3$), 20.9 ($3', 23', 26'-\text{OCOCH}_3$), 20.9 ($3', 23', 26'-\text{OCOCH}_3$), 18.5 (C-19), 14.3 (C-18), 13.0 (C-21), 11.8 (C-27).

7. BIBLIOGRAFÍA

1. K. Inoue, K. Shimomura, S. Kobayashi, U. Sankawa, Y. Ebizuka, conversion of furostanol glycoside to spirostanol glycoside by β -glucosidase in *costus speciosus*, *Phytochemistry*. 41 (1996) 725–727.
2. X. Pang, H.Z. Huang, Y. Zhao, C.Q. Xiong, L.Y. Yu and B.P. Ma, Conversion of furostanol saponins into spirostanol saponins improves the yield of diosgenin from *Dioscra zingiberensis* by acid hydrolysis ,*RSC Advances*.5 (2015) 4831–4837.
3. J. Seok Lee, P. L. Fuchs, Efficient protocol for ring opening of spiroketals using trifluoroacetyl trifluoromethanesulfonate (TFAT), *Org. Lett.* 5 (2003) 3619-3622.
4. S. Cheng, Y. Du, B. Ma, D. Tan, Total synthesis of a furostan saponin, timosaponin BII, *Org. Biomol. Chem.* 7 (2009) 3112-3118.
5. O. Viñas-Bravo, R. Martínez-Pascual, J.L. Vega-Baez, V. Gómez-Calvario, J. SandovalRamírez, S. Montiel-Smith, S. Meza-Reyes, A. López-De Rosas, M. Martínez-Montiel, M. Reyes, J.A. Ruiz, Rapid conversion of spirostans into furostan skeletons at room temperature, *Steroids*. 77 (2012) 59-66.
6. M. Zhoua, L Huangb, L. Lia, Y. Weib, J. Shua, X. Liua, H. Huangc, New furostanol saponins with anti-inflammatory and cytotoxic activities from the rhizomes of *Smilax davidiana*, *Steroids*. 127 (2017) 62-68.
7. L. Xiang, Y. Wang, X. Yi, X. He, Antiproliferative and anti-inflammatory furostanol saponins from the rhizomes of *tupistra chinensis*, *Steroids*. 116 (2016) 28-37.

-
8. J. Xue, P. Liu, Y. Pan, Z. Guo. A total synthesis of OSW-1, *J. Org. Chem.* 73 (2008) 157-161.

 9. Y. López, L. Rodríguez, R.E. del Río , N. Farfán , J. W. Morzycki , R. Santillan, Regioselective cleavage of 22-oxo-23-spiroketal. Novel cholestanic frameworks with pyranone and cyclopentenone E rings on the side chain, *Steroids* .77 (2012) 534-541.

 10. A. Corona-Díaz, J. P. García-Merinos, Y. López, J. B. González-Campos, R. E. del Río, R. Santillan, N. Farfán, J.W. Morzycki, Regio- and stereoselective cleavage of steroidal 22-oxo-23-spiroketal catalyzed by $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, *Steroids*. 100 (2015) 36-43.

 11. A. Corona-Díaz, J. P. García-Merinos, M. E. Ochoa, R. E. del Río, R. Santillan, S. Rojas-Lima, J. W. Morzycki, Y. López, TiCl_4 catalyzed cleavage of (25*R*)-22-oxo-23-spiroketal. Synthesis of sapogenins with furostanol and pyranone E rings on the side chain, *Steroids*. 152 (2019),108488.

 12. R. Hernández, J.J. Marrero-Tellado, K. Prout, E. Suárez, Lewis acid-mediated isomerisation of (25*R*)-3 β -acetoxy-5 α -spirostan-23-one, a C-22 spiroacetal: An approach to the synthesis of C-23 spiroacetal steroidal sapogenins, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* (1992) 275-277.

 13. C. Betancor, R.L. Dorta, R. Freire, A. Martín, T. Prangé, E. Suárez, Stereospecific synthesis of 1,6-dioxadecalins and 2,2'-linked ditetrahydrofurans by rearrangement of steroidal spiroacetals, *J. Org. Chem.* 63 (1998) 6355-6362.

 14. M.K. Cyrański, J. Frelek, I. Jastrzębska, J.W. Morzycki, Rearrangement of 23-oxospirostanes to the 22-oxo-23-spiroketal isomers promoted by Lewis acids-X-ray

-
- crystal structure of (23R,25S)-3 β -acetoxy-16 β ,23:23,26-diepoxy-5 β -cholestan-22-one, *Steroids*. 69 (2004) 395-400.
15. M.A. Iglesias-Arteaga, R.O. Arcos-Ramos, J.M. Méndez-Stivalet, The unexpected course of the reaction of steroid sapogenins with diacetyiodobenzene and BF₃·Et₂O in formic acid, *Tetrahedron Lett.* 48 (2007) 7485-7488.
16. M. K. Cyrański, J. Frelek, I. Jastrzębska, J. W. Morzycki, Rearrangement of 23-oxospirostanes to the 22-oxo-23-spiroketal isomers promoted by Lewis acids—X-ray crystal structure of (23R,25S)-3 β -acetoxy-16 β ,23:23,26-diepoxy-5 β -cholestan-22-one, *Steroids*. 69 (2004) 395-400.
17. I. Jastrzębska, L. Siergiejczyk, A. M. Tomkiel, Z. Urbańczyk-Lipkowska, D. Wójcik, J. W. Morzycki, On reactions of steroidal 23-oxo and 23,24-epoxysapogenins with Lewis acids, *Steroids*. 74 (2009) 675-683.
18. M. Macias-Alonso, J. W. Morzycki, M. A. Iglesias-Arteaga, M. Macias-Alonso, J. W. Morzycki, M. A. Iglesias-Arteaga, Studies on the BF₃·Et₂O catalyzed Baeyer–Villiger reaction of spiroketalic steroidal ketones, *Steroids*. 76 (2011) 317–323.
19. A. Arenas-González, L.A. Mendez-Delgado, P. Merino-Montiel, J.M. Padrón, S. Montiel-Smith, J.L. Vega-Báez, S. Meza-Reyes, Synthesis of monomeric and dimeric steroids containing [1,2,4]triazolo[1,5- α]pyrimidines, *Steroids*. 116 (2016) 13-19.
20. A. Corona-Díaz, Síntesis de nuevos derivados colestánicos via apertura de sapogeninas espirostanicas con ácidos de lewis, Tesis doctorado, UMSNH (2019).

8. APENDICE

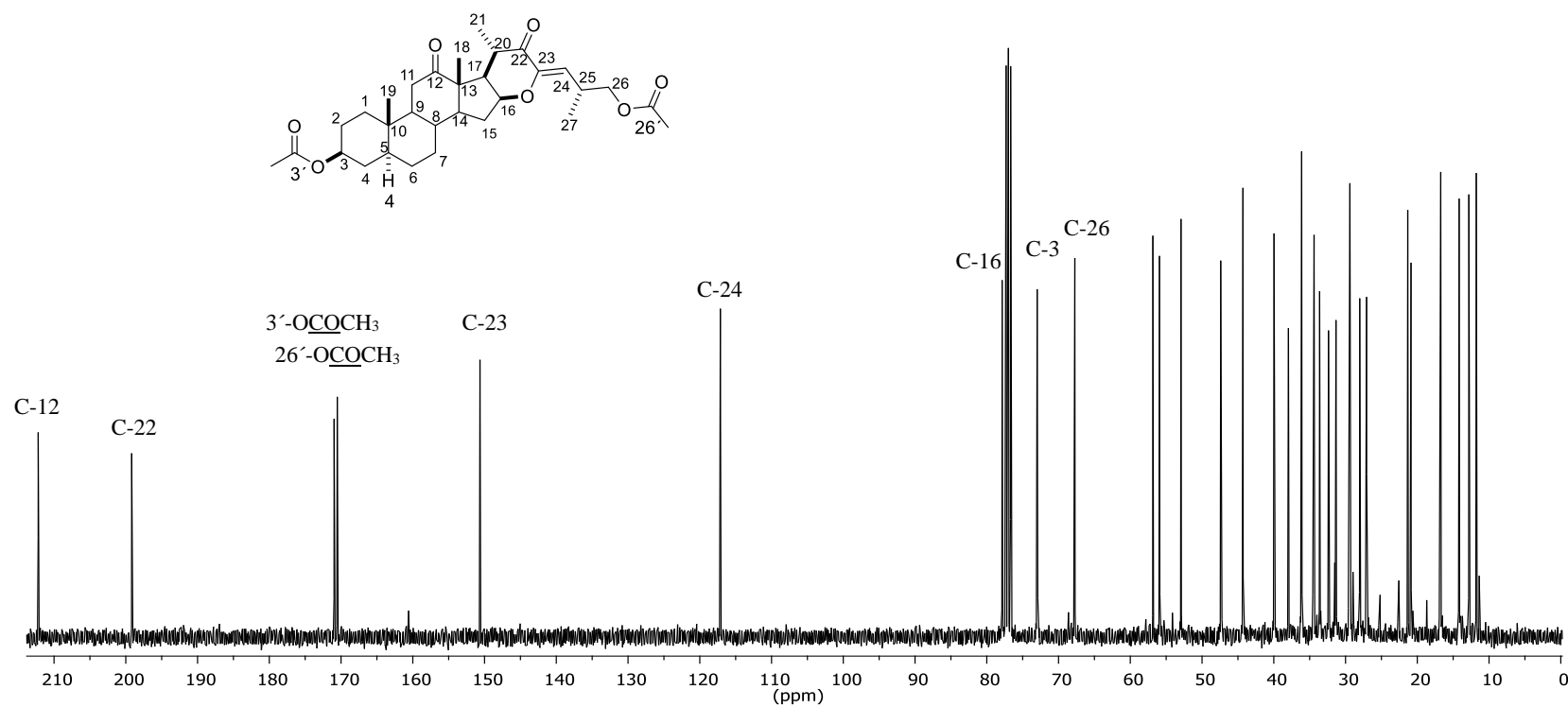


Figura 14. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) para **4** en CDCl_3

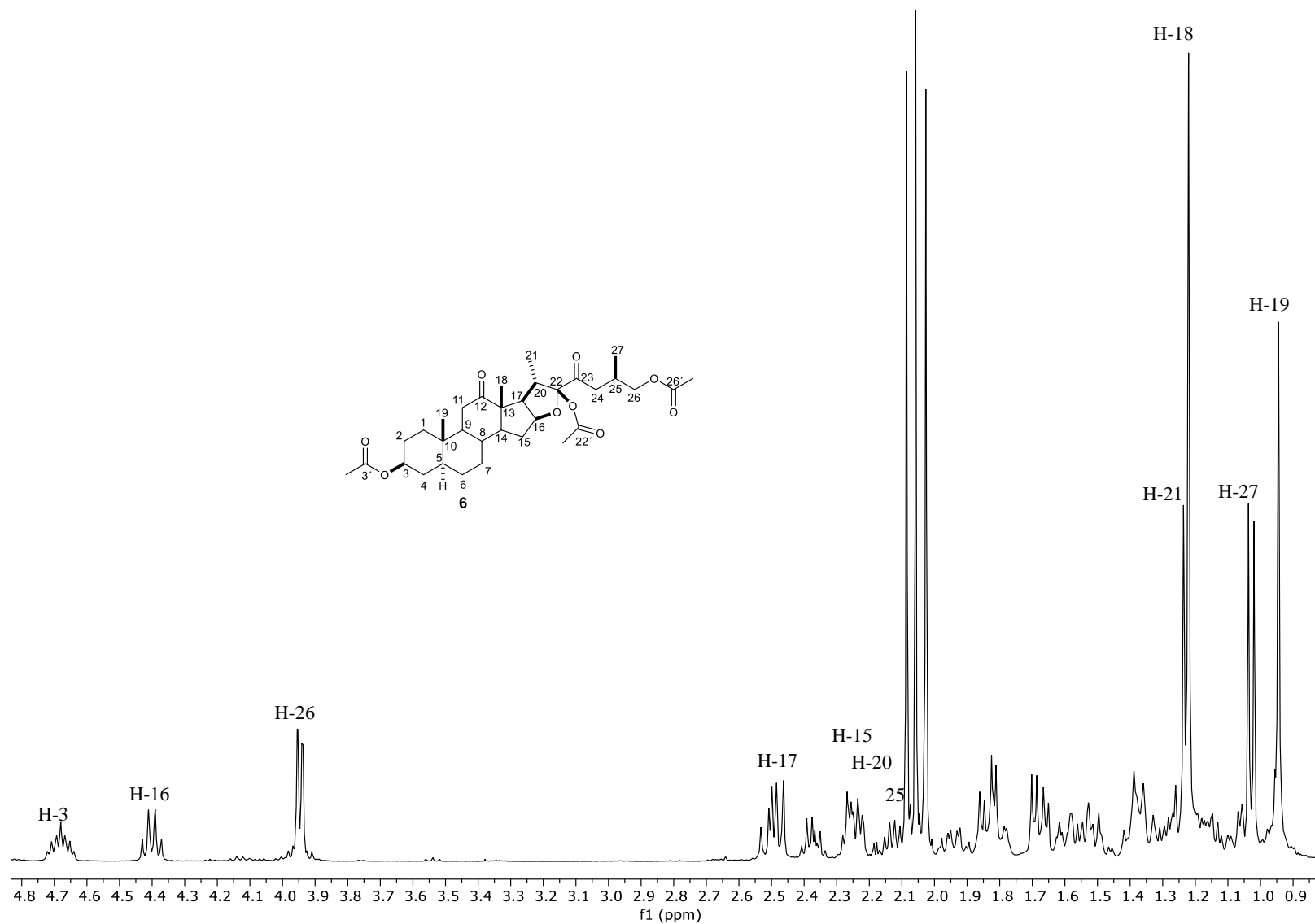


Figura15. Espectro de RMN ^1H (400 MHz) de **6** en CDCl_3

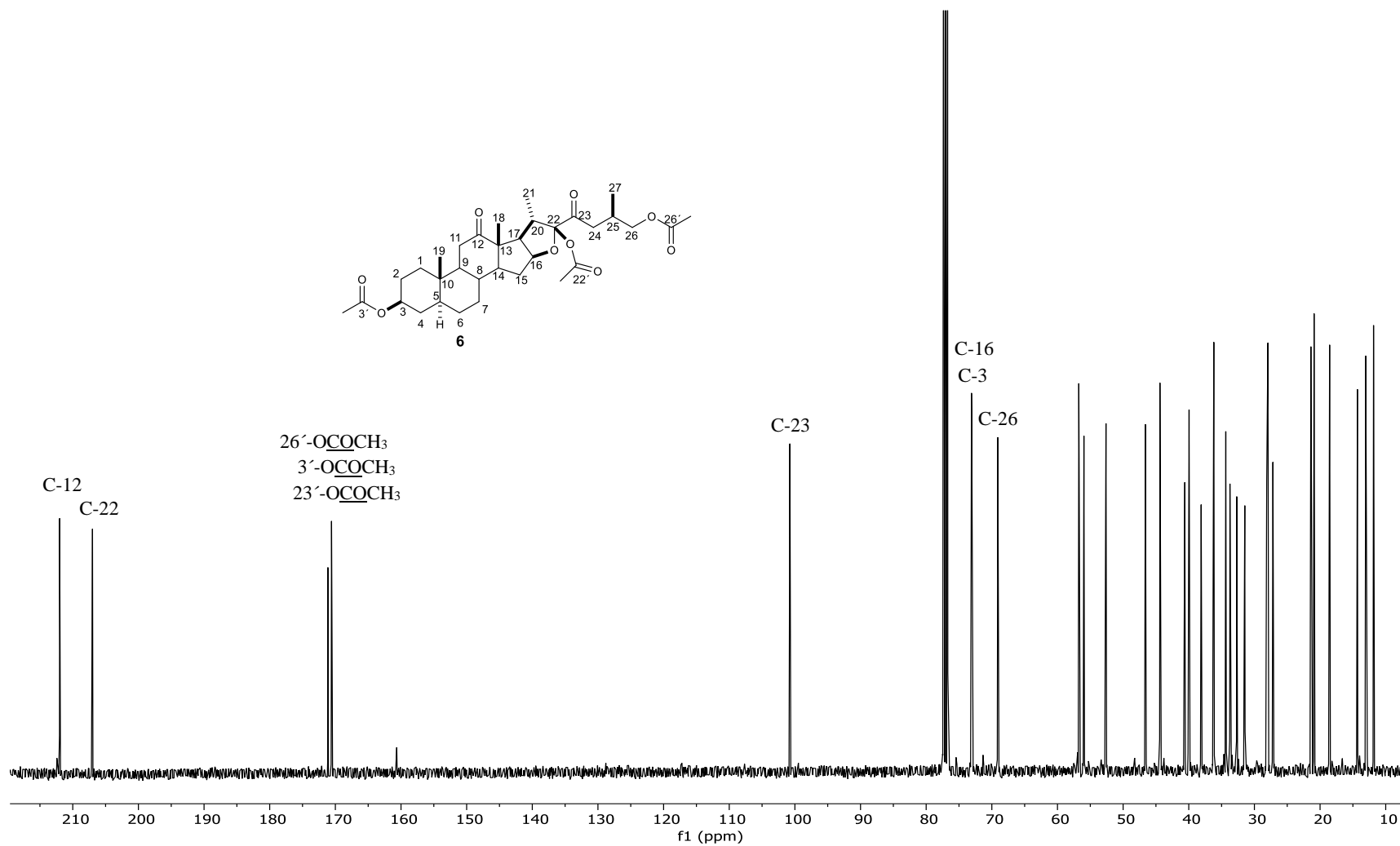


Figura 16. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) **6** de en CDCl_3 .

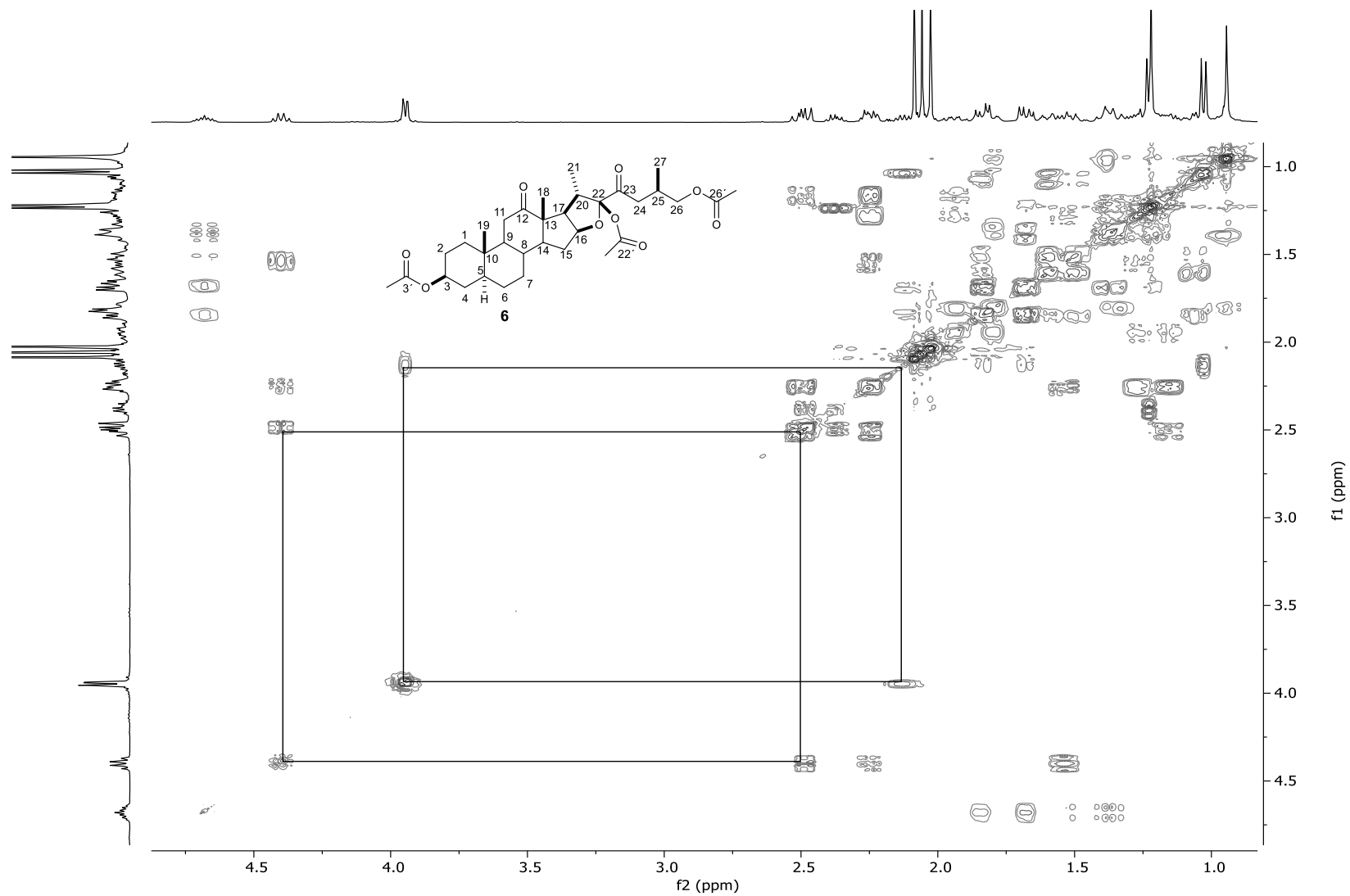


Figura 17. Espectro COSY de **6** en CDCl₃.

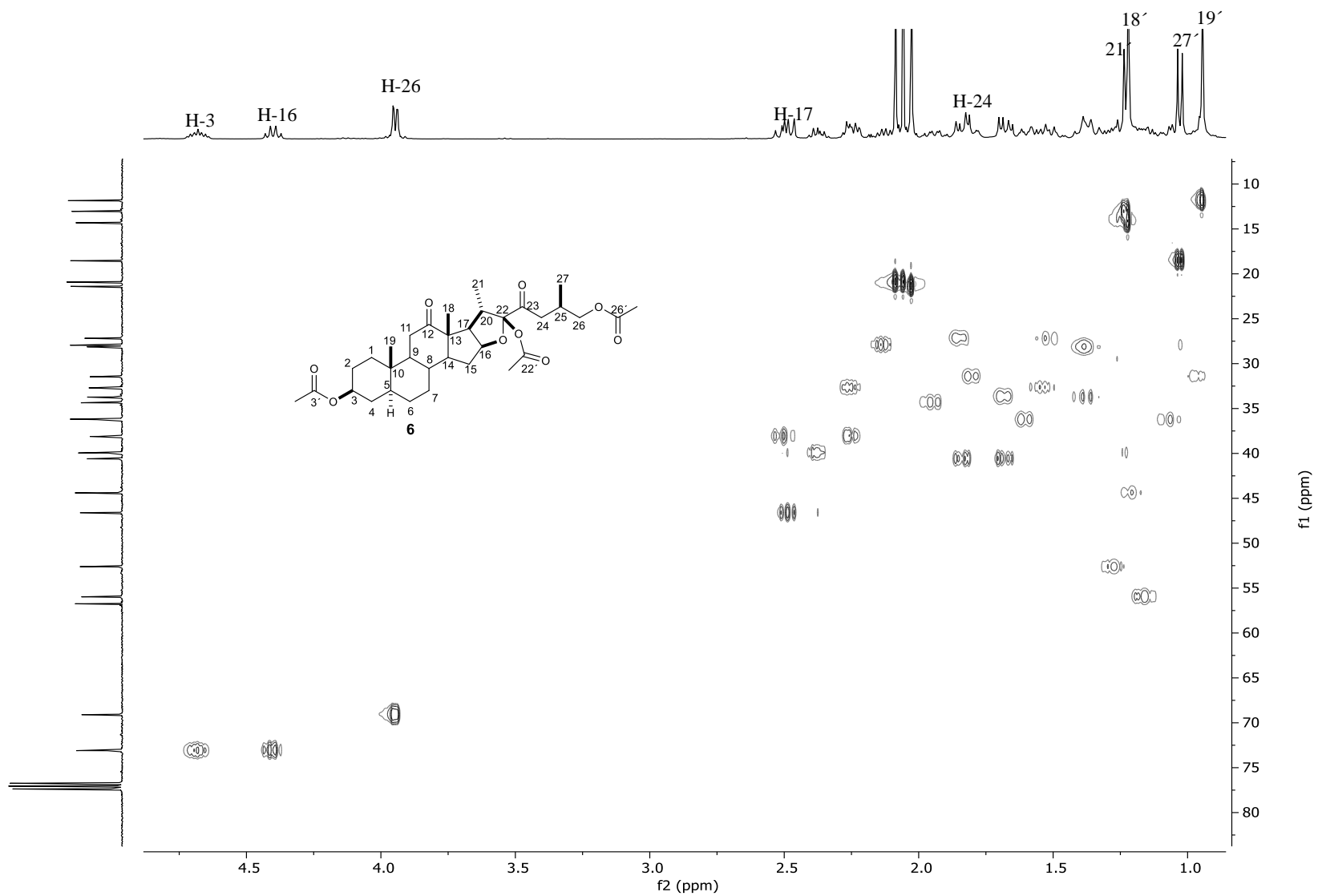


Figura 18. Espectro HSQC de **6** en CDCl_3 .

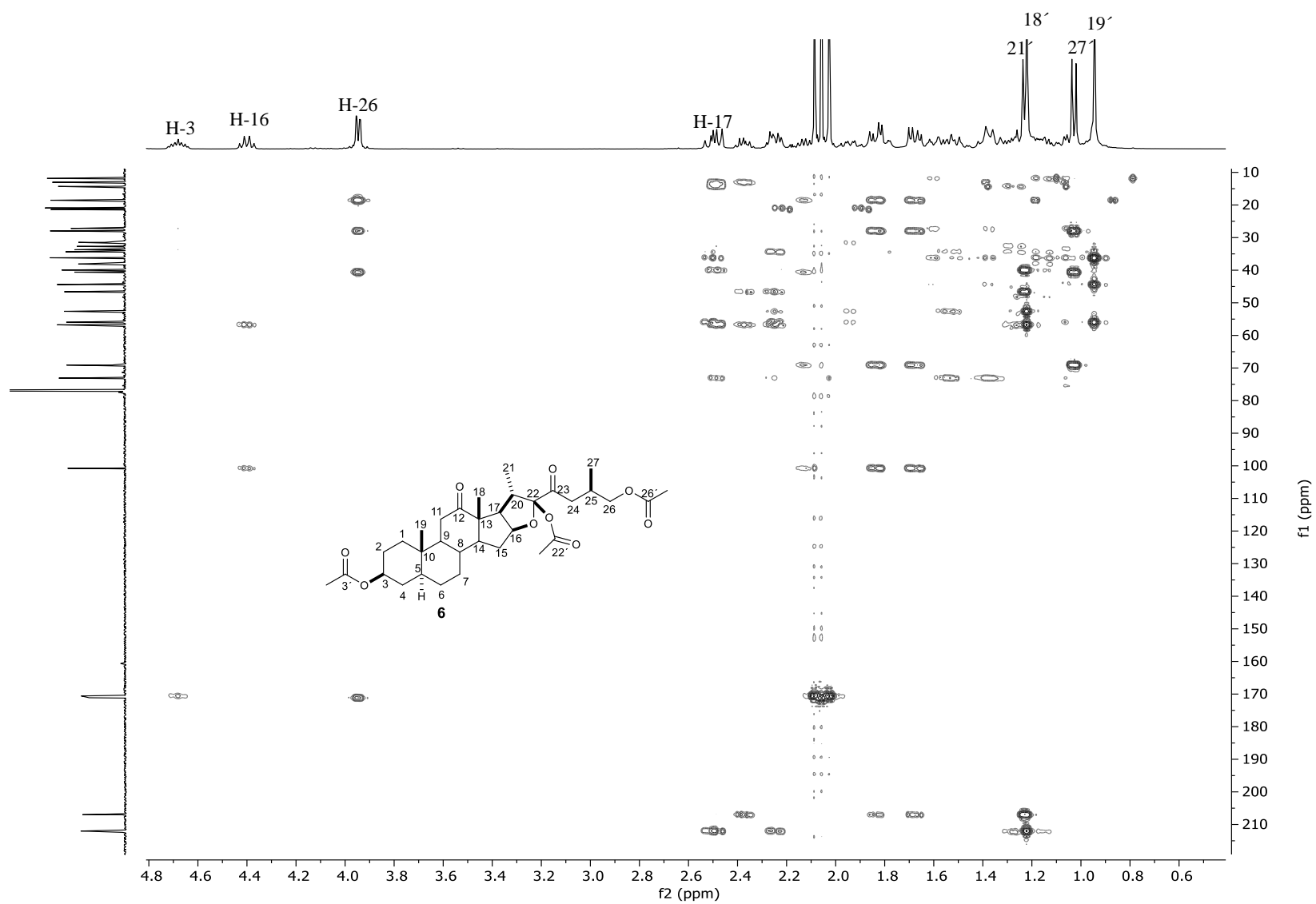


Figura 19. Espectro HMBC de **6** en CDCl₃.

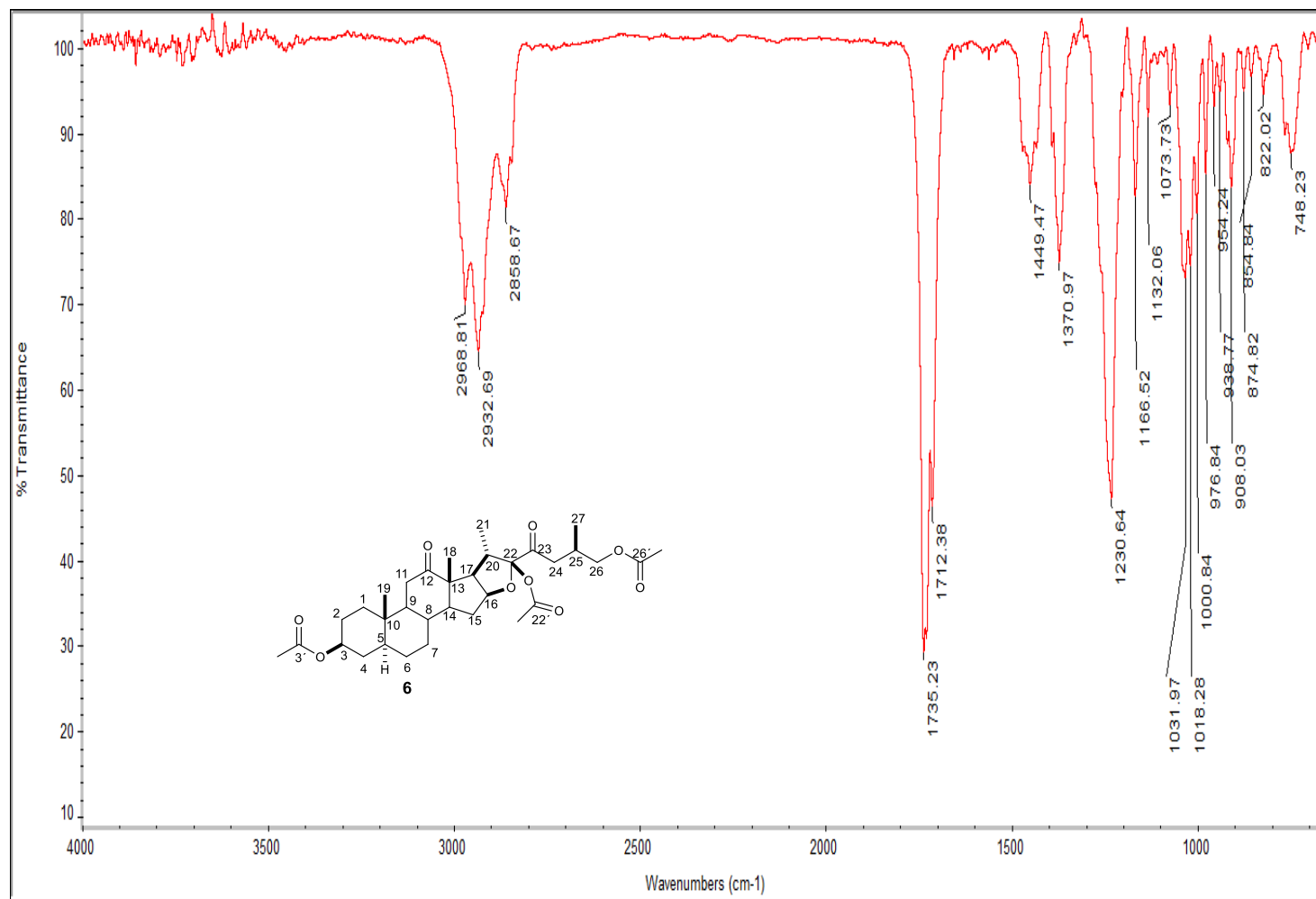


Figura 20. Espectro IR para 6.

