



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLAS
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**



**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
QUÍMICO BIOLÓGICAS**

“OBTENCIÓN DE ENONAS ESTEROIDALES EN MICROONDAS”

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE:

QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTA:

MARIO ZENDEJAS RUIZ

DIRECTORES DE TESIS:

D.C. YLIANA LÓPEZ CASTRO

D.Q. JUAN PABLO GARCÍA MERINOS

MORELIA, MICHOACAN, DICIEMBRE 2022

Este trabajo fue realizado en los Laboratorios de Síntesis de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana 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 CONACYT del proyecto CB-286638.

DEDICATORIA

A dios por darme la fortaleza y por ser mi guía en todo este proceso.

A mis papás, que me han apoyado a lo largo de toda mi formación académica, en cada paso que di ellos estuvieron presente, dándome lo poco que tenían para que yo pudiera lograr esta meta. Este logro es para ellos, por haberme dado la libertad de elegir este bonito mundo de la química, siendo los pilares más importantes de mi vida.

A mis hermanos, que me brindaron su mano cuando creí que no podría sacar adelante la carrera.

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores

D.C. Yliana López Castro

D.Q. Juan Pablo García Merinos

Por todo su apoyo en la realización de este proyecto, elaboración de la tesis, pero sobre todo por darme la oportunidad de formar parte de su grupo de trabajo. Gracias

Al Dr. Juan Pablo García Merinos por aceptarme para la realización del servicio social en el laboratorio de Síntesis de Productos Naturales, gracias también por su asesoría en el análisis de muestras de Infrarrojo y RMN.

A mis sinodales:

M.C. Rosa María García Martínez, Dr. Carlos Jesús Cortés García, M.C. Melissa Tapia Juárez, M.C. Diana Cecilia Maya cortés y Q.F.B. Oscar Antonio Muños Lopes, por el tiempo dedicado a la revisión de esta Tesis.

Agradezco a la UMSNH por el espacio otorgado dentro de las instalaciones del Laboratorio de Síntesis de Productos Naturales del IIQB, para poder llevar a cabo este proyecto de Tesis.

A la Dra. Concepción Armenta Salinas del IIQB por la determinación de los espectros de RMN.

En las siguientes líneas quiero agradecer a Rocio Huanosto, Jesús Enrique Cortes y Estefania Reyes, por haber sido unos excelentes compañeros y amigos del Laboratorio. Por contagiarme de su amor por la química y por hacer los días más amenos en los horarios de trabajo.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE TABLAS	viii
ABREVIATURAS, SÍMBOLOS Y AGRÓNIMOS	ix
1. RESUMEN	xii
1. ABSTRACT	xiii
2. INTRODUCCIÓN	1
3. ANTECEDENTES.....	5
3.1 Microondas.....	5
3.2 Diosgenina como gran potencial médico	6
3.3. Importancia y avances del microondas en Síntesis Orgánica	6
3.4 Uso de microondas en la síntesis de compuestos esteroidales	7
3.5 Modificaciones en el anillo A	9
3.6 Síntesis de enonas esteroidales.....	10
3.7 Preparación de Esmilagenina	12
4. JUSTIFICACIÓN	14
5. HIPÓTESIS	14
6. OBJETIVOS	14
6.1 Objetivo general	14
6.2 Objetivos específicos	14
7. PARTE EXPERIMENTAL	15
7.1. Instrumentación y equipo	15
7.2. Oxidación de Oppenauer de la (25 <i>R</i>)-espirostan-5-en-3 β -ol (1) en microondas .	15
7.3. Oxidación de Oppenauer de la (25 <i>R</i>)-espirostan-5-en-3 β -ol-12-ona (3) en microondas.....	16
7.4. Oxidación de Oppenauer del (3 β)-cholest-5-en-3-ol (5)	17
8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	19
8.1. Oxidación de Oppenauer de los esteroides 1 , 3 y 5	19
9. CONCLUSIONES	29
10. REFERENCIAS.....	30
11. ESPECTROS DE INFRARROJO DE LAS ENONAS.....	31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Saponinas colestánicas, furostánicas y espirostánicas.	2
Figura 2. Lipoproteína.....	3
Figura 3. Reactor de microondas.	5
Figura 4. Comparación de los espectros de RMN de ^1H (400 MHz) de Diosgenina 1 y Diosgenona 2 en CDCl_3	21
Figura 5. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) de Diosgenona 2 en CDCl_3	22
Figura 6. Comparación de los espectros de RMN de ^1H (400 MHz) de Colesterol 5 y colestenona 6 en CDCl_3	24
Figura 7. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) de colestenona 6 en CDCl_3	25
Figura 8. Comparación de los espectros de RMN de ^1H (400 MHz) de Botogenina 3 y Botogenona 4 en CDCl_3	27
Figura 9. Espectros de RMN de ^{13}C (100 MHz) de Botogenona 4 en CDCl_3	28
Figura 10. Espectro infrarrojo de Diosgenona 2.....	31
Figura 11. Espectro infrarrojo de Colestenona 6.	31

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Ruta sintética para la obtención de las enonas esteroideas 2 , 4 y 6	xii
Esquema 2. Hidrólisis de la saponina Dioscina.....	1
Esquema 3. Síntesis de 4-azaesteroides a partir de Diosgenina 1	8
Esquema 4. Síntesis de conjugados esteroideos con aminoácidos a partir de microondas.	9
Esquema 5. Modificaciones en el anillo A.....	10
Esquema 6. Procedimiento general para la preparación de la 3', 8'disustituido-5'-deazacoleste-2, 4- dieno (2,3-g) piridina-2', 4'(3'H, 8'H) dionas reactivos y condiciones	12
Esquema 7. Preparación de la esmilagenina	13
Esquema 8. Obtención de Diosgenona 2 en microondas.	19
Esquema 9. Obtención de cetona 6	23
Esquema 10. Obtención de la enona 4	26

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Oxidación alílica del Colesterol.....	11
Tabla 2. Condiciones de reacción ensayadas en MO para la obtención de 2.....	20
Tabla 3. Condiciones de reacción ensayadas en MO para la obtención de 6.....	23
Tabla 4. Condiciones de reacción ensayadas en MO para la obtención de 4.....	26

ABREVIATURAS, SÍMBOLOS Y AGRÓNIMOS

AcOEt

Acetato de etilo

AcOH

Ácido acético

Ac₂O

Anhídrido acético

CCF

Cromatografía en capa fina

DCM

Diclorometano

g

Gramos

h.

Horas

Hz

Hertz

IR

Infrarrojo

J

Constante de acoplamiento

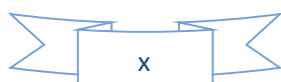
min

Minutos

ml

Mililitros

P.f.	Punto de fusión
Rf	Factor de retención
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
s	Simple
t	Triple
t.a.	Temperatura ambiente
TMS	Tetrametilsilano
δ	Desplazamiento químico
d	Doble
dd	Doble de dobles
ddd	Doble de doble de dobles
ec	Ecuatorial



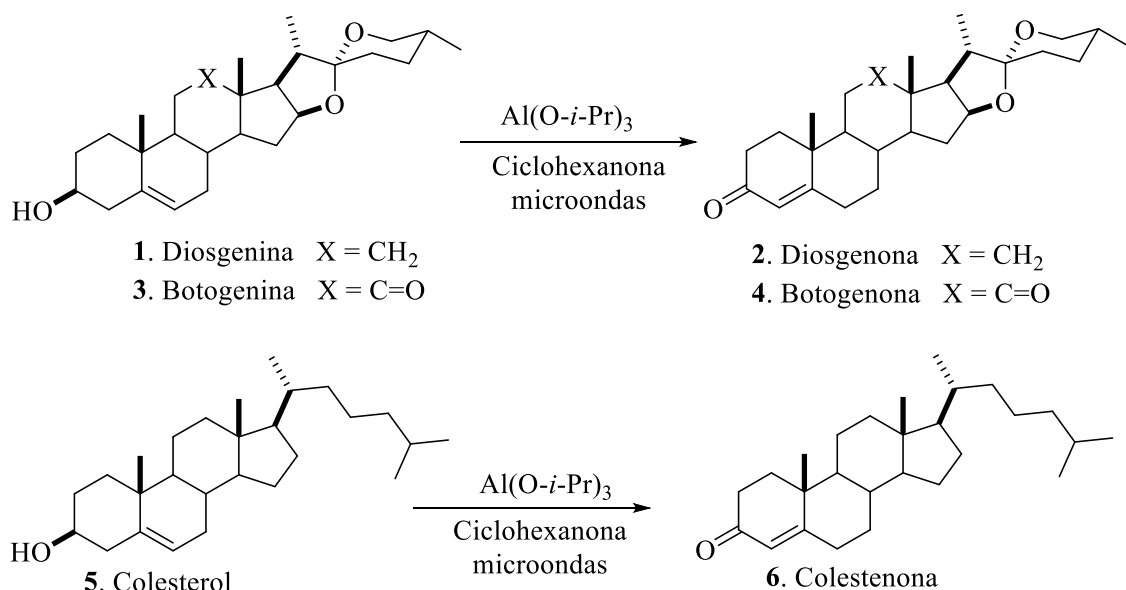
ppm Partes por millón

MO Microondas

Eq Equivalente

1. RESUMEN

Los esteroides son compuestos de gran interés estructural ya que muchos de estos se utilizan como fármacos en el tratamiento de diversas enfermedades.[1] En relación a los esteroides conteniendo carbonilos α,β -insaturados en el anillo “A”, se conoce que son de gran importancia ya que actúan como mensajeros químicos regulados por el sistema nervioso central (SNC). Otro ejemplo de esteroides conteniendo cetonas α,β -insaturadas está representado por hormonas sexuales como son algunas de tipo gestágenas, progestágenas y andrógenos.[2] Lo anterior resume el interés de trabajar en la obtención de esteroides portadores de estos grupos funcionales. El presente trabajo consistió en la obtención de los esteroides **2**, **4** y **6** conteniendo el grupo funcional cetona α,β -insaturada en el anillo “A” mediante oxidación de Oppenauer, promovida en microondas; a partir de las materias primas Diosgenina **1**, Botogenina **3** y Colesterol **5**. La estructura de los productos obtenidos se analizó y confirmó mediante Resonancia Magnética Nuclear de una y dos dimensiones.

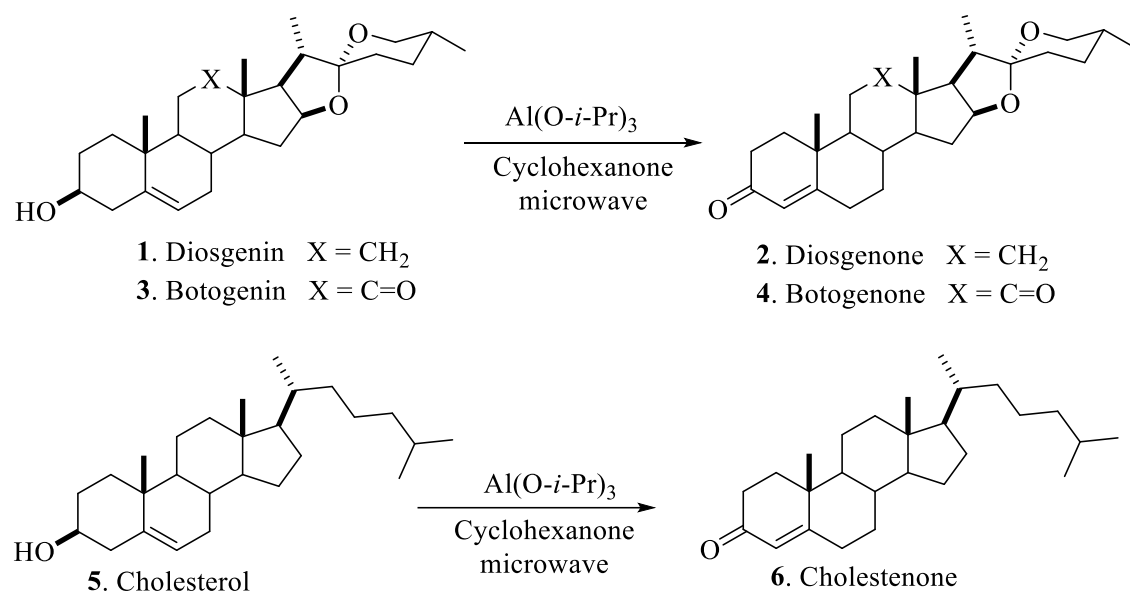


Esquema 1. Ruta sintética para la obtención de las enonas esteroidales **2**, **4** y **6**.

Palabras clave: Diosgenina, botogenina, colesterol, esteroides, oxidación.

1. ABSTRACT

Steroids are compounds of great structural interest since many of them are used as drugs in the treatment of several diseases. In relation to steroids containing α - β -unsaturated carbonyls on the “A” ring, it is known that they are of great importance because they can act as chemical messengers regulated by the central nervous system (CNS). Another example of steroids containing ketones α - β -unsaturated is represented by sex hormones such as gestagen, progestogen and androgen types. The above summarizes the interest in working on obtaining steroids containing these functional groups. This work describes the synthesis of steroids **2,4** and **6** containing the group α - β -unsaturated ketone on the “A” ring, by Oppenauer oxidation promoted in microwave; from the starting materials diosgenin, botogenin and cholesterol. The structure of the obtained products was analyzed and confirmed by one- and two-dimensional Nuclear Magnetic Resonance.

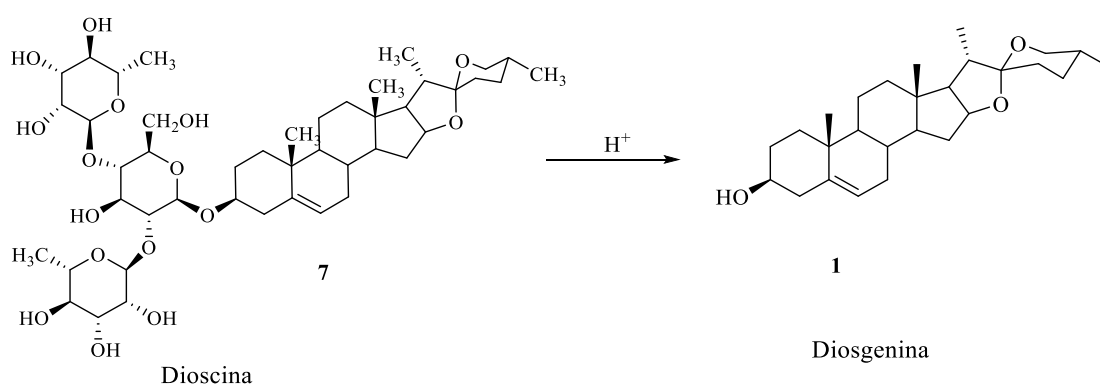


Scheme 1. Synthetic route to obtain steroidal enones **2, 4** y **6**.

Palabras clave: Diosgenin, botogenin, cholesterol, steroids, oxidation.

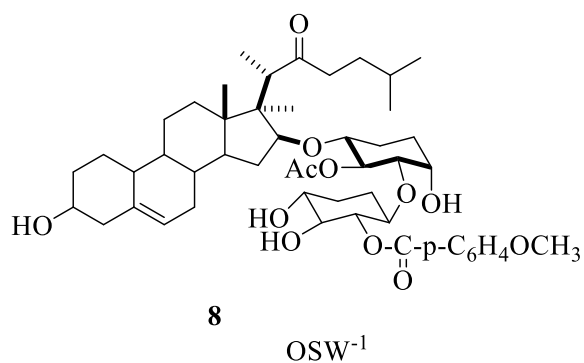
2. INTRODUCCIÓN

Las saponinas se encuentran principalmente en el reino vegetal, su nombre deriva de la palabra latín “sapo”, que significa “jabón”, ya que estos compuestos forman espuma similar al jabón cuando se agitan con agua. Son moléculas estructuralmente diversas que pueden presentar una aglicona de tipo triterpénica (30 átomos de carbono) o esteroidal (27 átomos de carbono). Su aglicona no polar se encuentra acoplada con una o más fracciones de monosacáridos. Esta combinación de elementos estructurales polares y no polares explica su comportamiento similar al jabón en soluciones acuosas. Cuando se encuentran libres del azúcar se denominan sapogeninas; una de los ejemplos más comunes de estas es la sapogenina Diosgenina, ampliamente utilizada en química sintética y denominada de esta manera por haber sido aislada por primera vez de la planta “cabeza de negro” (*Dioscorea macrostachya*), aunque también se encuentra presente en otras plantas como *Trigonella sp.*, *Costus sp.*, y *Smilax sp.*, de todas estas especies en particular, se obtiene la saponina Dioscina, que mediante la hidrólisis ácida o enzimática produce la Diosgenina (**1**).

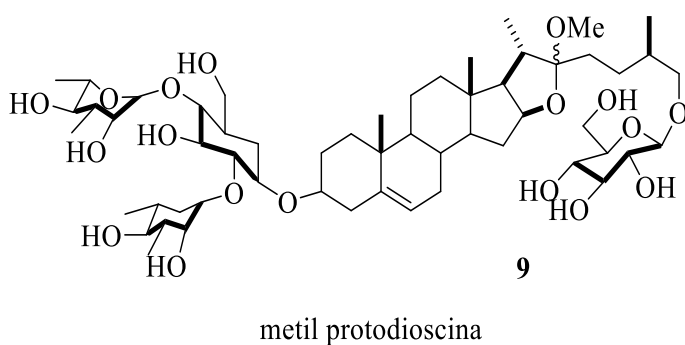


Esquema 2. Hidrólisis de la saponina Dioscina.

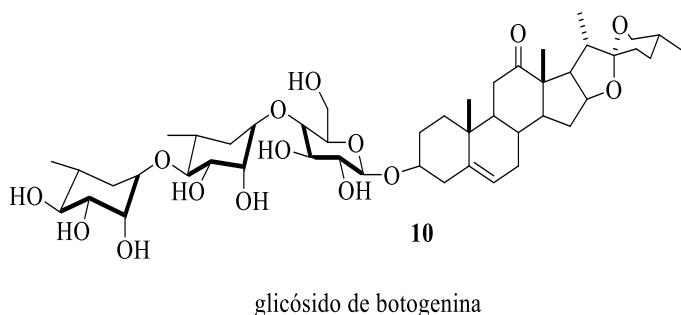
Las saponinas esteroidales se clasifican en tres tipos de acuerdo a su estructura química: colestánicas, furostánicas y espirostánicas. Estas últimas siendo de las más abundantes en las plantas, por ejemplo, la Diosgenina se conoce como la primera biomolécula de la cual se sintetizó la hormona esteroide progesterona, con lo que México se colocó a la vanguardia de la industria hormonal. [1][2]



Ornithogalum saundersiae



Dioscorea glacillima



Dioscorea mexicana

Figura 1. Saponinas colestánicas, furostánicas y espirostánicas.

Otro ejemplo de compuestos esteroidales conteniendo en su estructura 27 átomos de carbono, está representado por el Colesterol 5. El origen de la palabra procede del griego kole, “bilis” y stereos, “sólido”, por haberse identificado por primera vez en los cálculos de la vesícula biliar; el sufijo “ol” indica que tiene la característica de un alcohol. El Colesterol es una molécula insípida e inodora que pertenece al grupo de los esteroides-esteroles. Compuestos a los que generalmente se les clasifica como lípidos (grasas), los que solamente pueden disolverse en algunas sustancias orgánicas como el alcohol, éter, acetona y el cloroformo, entre otras. Esto significa que no se pueden disolver en agua y, por lo tanto, tampoco en soluciones acuosas como la sangre; dicha propiedad no permite que circulen por sí mismos, hacia los órganos que los requieren, pero sí lo hacen cuando se asocian a ciertas proteínas, que son “acarreadoras” del Colesterol, los triglicéridos y los fosfolípidos. A estas proteínas se les llama “lipoproteínas” (Figura 2) [3]

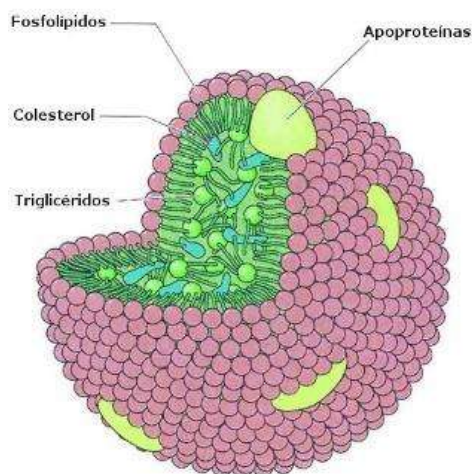


Figura 2. Lipoproteína. [3]

El Colesterol 5 es necesario y está presente en todas las células de nuestro organismo, y todas ellas pueden formarlo; se halla en altas concentraciones en el hígado, la médula espinal, el páncreas y el cerebro. La gran mayoría de las personas piensan que el Colesterol proviene de manera exclusiva de las dietas altas en grasas (Colesterol exógeno), pero desconocen que la mayoría de nuestros tejidos lo producen (Colesterol endógeno). La producción endógena del Colesterol va de 60% a 80%; cuando la dieta es muy rica en Colesterol, la síntesis se inhibe parcialmente, pero aun en tales condiciones el hígado sigue produciendo aproximadamente la mitad del total; por otro lado, cuando la alimentación está virtualmente libre de Colesterol, la producción ocurre a la máxima velocidad, pero no compensa al que se obtiene de la dieta. [4]

El Colesterol **5** desempeña muchas funciones importantes e incluso vitales en el organismo. Es componente esencial de las membranas de las células de diversas especies animales y precursor de las principales de hormonas esteroideas; es utilizado por las glándulas suprarrenales para sintetizar glucocorticoides, mineralocorticoides y andrógenos suprarrenales; es generador de los ácidos biliares que funcionan como poderosos agentes emulsificantes, es decir, que ayudan a romper las grasas en pequeñísimas partículas en el intestino delgado, favoreciendo así su absorción y digestión; es un precursor de la vitamina D, cuya falta produce raquitismo en los niños y osteomalacia en adultos; es un importante protector cutáneo debido a que, junto con otras sustancias lipoides que, al igual que él también se depositan en grandes cantidades en la piel, impide la absorción de ácidos y solventes a través de ésta. [4]

Debido a lo anterior y como consecuencia de la vasta información relacionada con la reactividad química y aislamiento de diversas estructuras esteroidales como el Colesterol **5** y las sapogeninas espirostánicas, se sabe que de forma natural las saponinas o derivados sintéticos del Colesterol presentan funciones antimicrobianas, antifúngicas o plaguicidas, estos efectos se han asociado con su capacidad de permear las membranas de las células [2]. En este contexto se conoce que la Diosgenina **1** tiene importancia farmacológica, ya que medicamentos esteroideos, como hormonas sexuales y corticoesteroides, se obtienen de forma semisintética a partir de este precursor natural. En este sentido, dado que el conocimiento de las moléculas esteroidales relacionado con su reactividad química representa un pilar fundamental en el estudio sintético de nuevos fármacos, en el presente trabajo se propuso utilizar como materia prima los esteroides, Colesterol, y las sapogeninas espirostánicas Diosgenina **1** y Botogenina **3**, para explorar la metodología de oxidación de Oppenauer promovida en microondas, esto debido a que en la época actual, el uso del microondas ha surgido como una alternativa más amigable con el medio ambiente en términos de ahorro energético, tiempos de reacción y promoviendo el uso de ciertos reactivos químicos en menor proporción de lo requerido en el método del calentamiento convencional.

3. ANTECEDENTES

3.1 Microondas

Las microondas se encuentran entre la radiación infrarroja y las ondas de radio en la región del espectro electromagnético. Más específicamente, se definen como aquellas ondas con longitudes de onda entre 0.001 y 1m, que corresponden a frecuencias entre 300 y 0.3GHz. El calentamiento dieléctrico se refiere al calentamiento por radiación electromagnética de alta frecuencia, es decir, ondas de frecuencia de radio y microondas. La interacción de las partículas cargadas en algunos materiales con el campo eléctrico y el componente de campo de la radiación electromagnética hace que estos materiales se calienten (Figura 3). El calor resultante de esta interacción se debe principalmente a dos efectos diferentes. En el caso de las moléculas polares, el componente del campo eléctrico de las microondas hace que los dipolos permanentes e inducidos giren mientras intenta alinearse con el campo alterno (2450 millones de veces por segundo). Este movimiento molecular genera fricción entre las moléculas giratorias y, posteriormente, la energía se disipa como calor (polarización polar). [5]

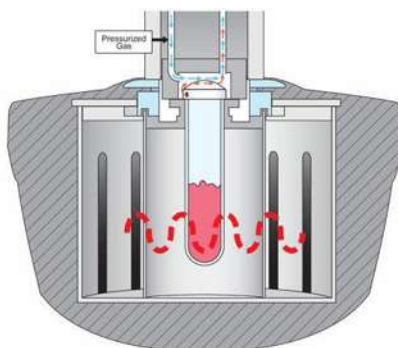


Figura 3. Reactor de microondas.

El uso de microondas como método de irradiación de energía ha ido ganando popularidad en diversas áreas del conocimiento, esta técnica se utilizó principalmente en el área de química inorgánica y ciencias de los materiales, a mitad de los años 80's comenzó a utilizarse en el área de química orgánica [6] esto tuvo 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[7]; 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. [8]

3.2 Diosgenina como gran potencial médico

En estudios recientes se ha puesto a prueba la efectividad de la Diosgenina **1** (saponina esteroide extraída también de la raíz del ñame silvestre “*Dioscorea villosa*”), estudiando el efecto de esta saponina en la osteogénesis de las células osteoblásticas murinas MC3T3-E1. Las células se cultivaron con diferentes niveles de Diosgenina **1** (0-10 μ M) dentro de los 25 días posteriores al periodo de formación osea. Encontrándose que la Diosgenina estimula la proliferación osea dentro del rango de 0.01-5 utilizando un ensayo MTT [(reducción metabólica del bromuro de 3-(4,5- dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol) realizada por la enzima succinato-deshidrogenasa en un compuesto coloreado de color azul (formazan)]. El aumento en la concentración del colágeno tipo 1 y la fosfatasa alcalina (ALP) que son las principales proteínas de la matriz osea, utilizando una concentración de 0-3 μ M, confirmando el patrón con una tinción del colágeno y ALP de la matriz extracelular (EMC). [5]

También destacando su potente acción farmacológica y su participación en los mecanismos subyacentes de las acciones. Ha demostrado una amplia gama de actividades farmacológicas en estudios preclínicos. Presentando efectos anticancerígenos, protectores cardiovasculares, antidiabéticos, neuroprotectores, inmunomoduladores, estrogénicos y protectores de la piel, principalmente en inducir la apoptosis, suprimir la transformación maligna, disminuir el estrés oxidativo, prevenir eventos inflamatorios, promover la diferenciación/proliferación celular y regular la respuesta inmune que interfiere con las vías de muerte celular y sus reguladores para inducir la apoptosis. La Diosgenina **1** antagoniza la metástasis tumoral modulando la transición epitelial-mesenquimatoso y el citoesqueleto de actina para cambiar la motilidad celular, suprimiendo la degradación de la barrera de la matriz. [9]

3.3. Importancia y avances del microondas en Síntesis Orgánica

En el área de química orgánica las microondas han sido usadas en los últimos 10 años para extracción, síntesis orgánica y en menor extensión síntesis inorgánica. En términos de intensificación las microondas han sido muy útiles para hacer eficientes la entrega de energía en el reactor, siempre y cuando se cumplan algunos requisitos, entre ellos:

- Homogenización del campo eléctrico
- Diseño óptico en geometría del reactor
- Control de la temperatura y la presión dentro del reactor

Una de las aplicaciones más difundidas es el empleo de las microondas y vacío para secar alimentos y productos farmacéuticos a bajas temperaturas.

Otra posibilidad que se está explorando es la combinación de microondas y ultrasonido. Ya que la combinación de estas energías en cierto sentido es complementaria y pueden mejorar un gran número de reacciones para síntesis, extracción de productos naturales y preparación de muestras para análisis químico.

En cuanto a las diferentes modalidades de aplicación de las microondas se pueden incluir: la síntesis en solución, la síntesis en fase sólida, y ganando popularidad rápidamente la síntesis empleando soportes sólidos y síntesis de polímeros.

Específicamente en química orgánica, la radiación por microondas se ha implementado en distintos tipos de reacciones, como son las condensaciones, oxidaciones, reducciones, reacciones de multicomponentes, de Grignard, etc.; siendo aplicada como método extractivo, ganando relevancia en la obtención de polímeros [10]. 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.

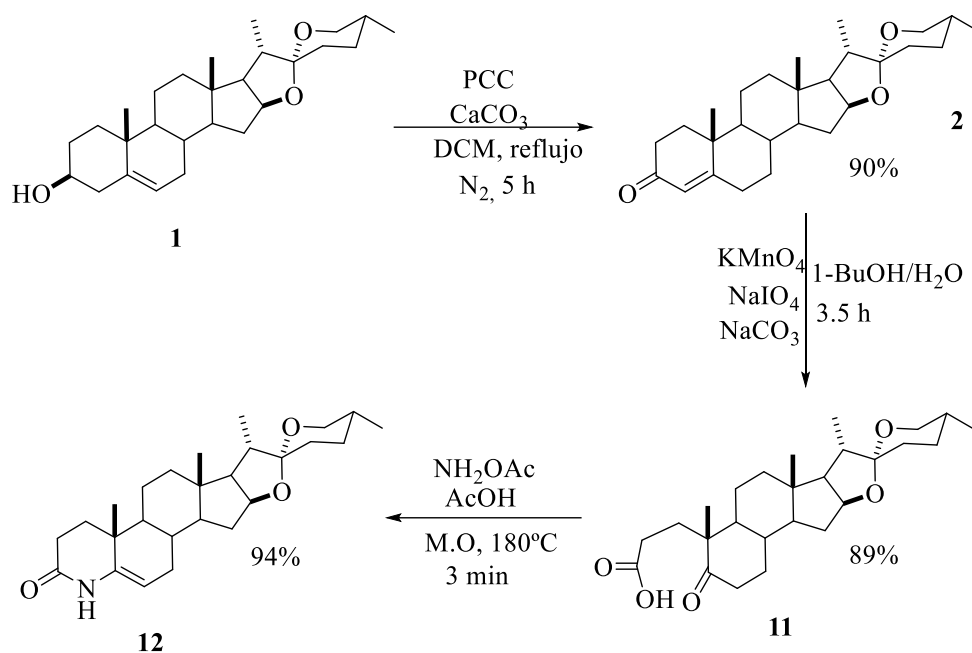
Lo anterior ha originado que las aplicaciones de las microondas estén creciendo en el área de la farmacéutica.

3.4 Uso de microondas en la síntesis de compuestos esteroideos

Se ha destacado notablemente la importancia de las microondas y su evolución en síntesis orgánica [10], sin embargo, a pesar de los grandes avances que se tienen a la fecha; la

reactividad de diversos tipos de estructuras orgánicas ha sido explorada en mucha menor proporción frente al uso de esta técnica, dentro de estas se puede citar la aplicación de MO en la síntesis de compuestos esteroidales, en este contexto, haciendo una búsqueda en la literatura encontramos algunos ejemplos que se describen a continuación.

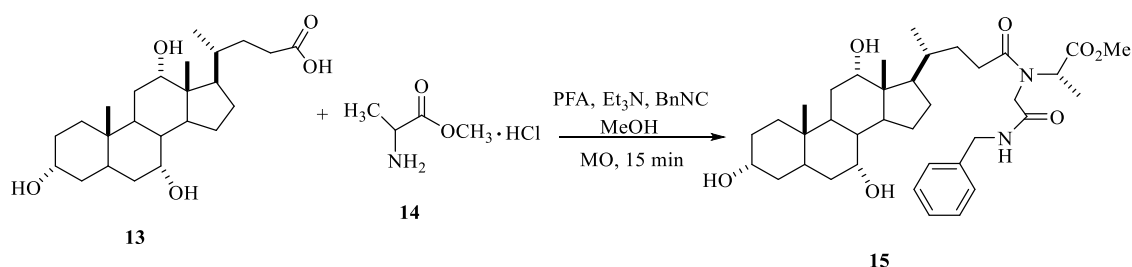
Anselmo-Martínez y su grupo de investigación, implementaron el uso de microondas dentro de una ruta de síntesis para la obtención de azaesteroides a partir de Diosgenina **1** (esquema 3). El derivado 4-azaesteroide se preparó a partir de la cetona α , β -insaturada **2**. Después de una etapa de oxidación seguida por una apertura del anillo A para formar el intermediario **11**, lograron la ciclación para la incorporación del heteroátomo dentro del núcleo esteroide de **12**, esto a través de microondas en un rendimiento casi cuantitativo (94%) en comparación con otros descritos en calentamiento a reflujo (43%-79%), además de que el tiempo en reacción se redujo notablemente, de 4 h a 3 min.



Esquema 3. Síntesis de 4-azaesteroides a partir de Diosgenina **1**.

Un ejemplo de reacciones tipo multicomponente donde se utilizan microondas para la síntesis de conjugados esteroidales con aminoácidos, Preetismita-Borah y colaboradores en el año 2015 [11], describieron una reacción de tipo Ugi de 4 componentes asistida por irradiación en microondas; obtuvieron el producto **15** en rendimientos considerables (73-

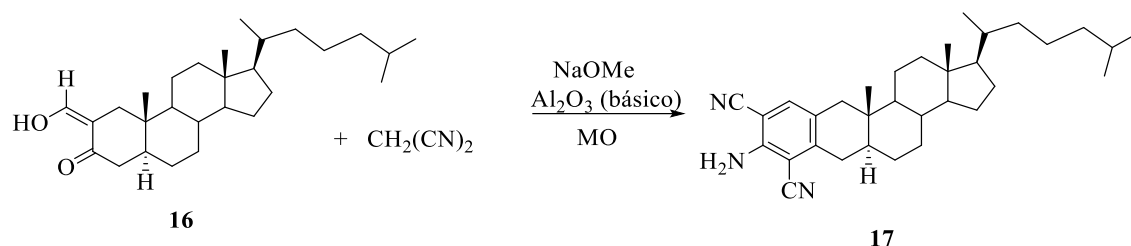
87%) en comparación con los reportados con el método de calentamiento convencional, que van desde el 17% al 32%, además que se logra la formación de **15** en menor tiempo de reacción (esquema 4), por lo que con este ahorro en tiempo y energía los autores mencionan se cumple con algunos de los principios de química verde.



Esquema 4. Síntesis de conjugados esteroidales con aminoácidos a partir de microondas.

3.5 Modificaciones en el anillo A

En el año 2010 Madan G. y colaboradores describieron que las modificaciones del núcleo esteroideal, generalmente, resultan en la alteración de su actividad biológica. El estudio sobre estos esteroides pentacíclicos recibió mucha atención y resultó ser un área emergente debido a sus posibles actividades GABA moduladoras, anestésicas y actividades antitumorales. La modificación del anillo A provee nuevos análogos de hormonas esteroidales que contienen un anillo de 6 miembros. Por otro lado, los derivados de benceno funcionalizados con un grupo amino entre dos grupos nitrilo poseen importantes propiedades biológicas, como antileishmania y son interesantes intermediarios sintéticos (Esquema 5). La utilidad de la energía de microondas no convencional en la química orgánica sintética se reconoce cada vez más en los últimos años. Las reacciones heterogéneas de fase sólida promovidas por microondas son metodologías de reacción ambientalmente benignas. Tienen mayor selectividad, rendimientos mejorados y productos más limpios [12]



Esquema 5. Modificaciones en el anillo A.

3.6 Síntesis de enonas esteroideas

La oxidación del anillo B de compuestos esteroideas es de gran interés dado que numerosos productos con diversas funciones biológicas han sido descritos. Se ha reportado que esteroides conteniendo el anillo B oxidado tienen propiedades anticancerígenas.

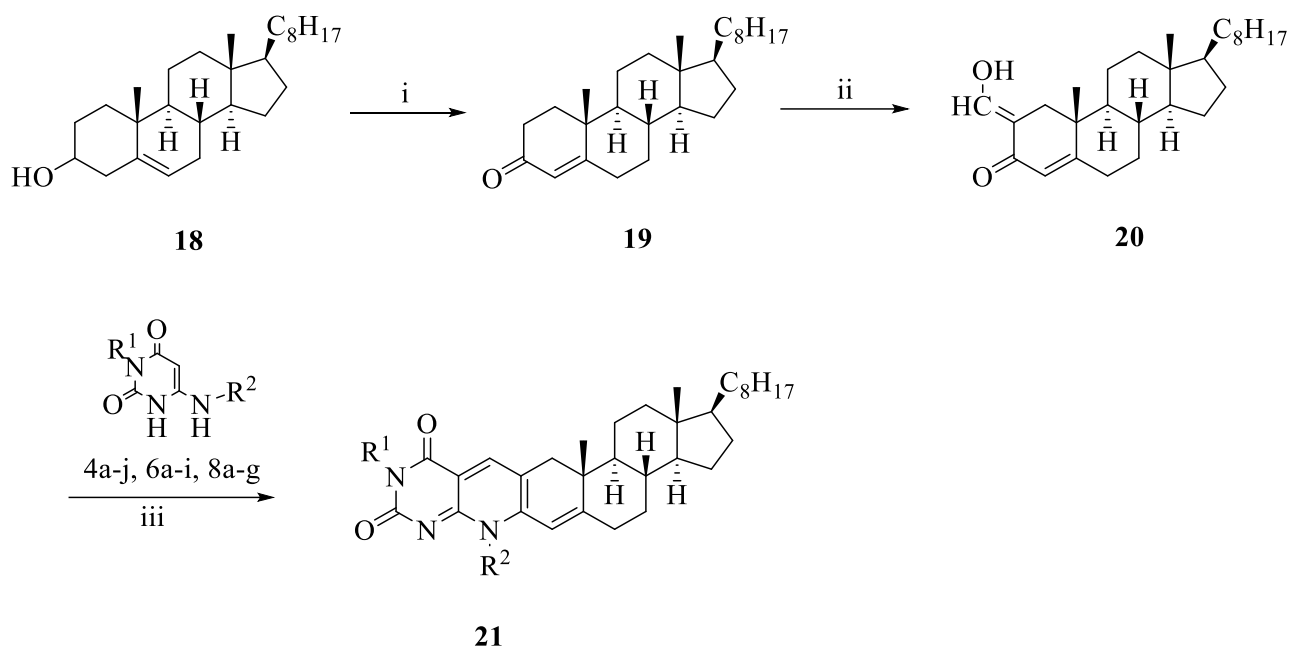
Para obtener una enona en el anillo B del núcleo esteroideal, regularmente se inicia con la protección del grupo hidroxilo del carbono 3 (comúnmente esterificación) utilizando anhídrido acético o cloruro de benzoilo, este último a menudo se prefiere ya que los productos benzoato esteroideal pueden ser más fácil de aislar mediante recrystalización en acetona y agua, que los acetatos esteroideas. Esta esterificación es necesaria porque muchos oxidantes y catalizadores convierten el grupo hidroxilo del carbono 3 en una cetona.

Debido al interés en la química verde o química ambiental, los químicos han cuestionado el uso de los catalizadores, esto como resultado de las preocupaciones ambientales y de salud, motivando a la búsqueda de nuevos catalizadores. En este sentido a partir de los catalizadores a base de cromo, la siguiente fase explorada en la oxidación alílica de esteroides se manifestó a través de catalizadores metálicos más respetuosos con el medio ambiente que utilizan TBHP (hidroperóxido *tert*-butílico) como donador de oxígeno, varios métodos reportaron la oxidación esteroideal sin ningún catalizador metálico usando el clorito de sodio e hipoclorito de sodio. También se ha descrito la oxidación alílica con TBHP y complejos de vanadio (Tabla 1).

De esto la importancia de identificar el TBHP usado en las reacciones de oxidación alílica, ya que comparten un mismo intermediario, el segundo mecanismo es vía la oxidación con reactivos de cromo, esto es un complejo de cromo y un ligando que contienen un grupo funcional, preferentemente una amina. [13]

Tabla 1. Oxidación alílica del Colesterol.			
Catálisis, reactivos, solventes y condiciones	TBHP usado como catalizador si/no	Fecha de reporte	Rendimiento
$Rh_2(cap)_4$, DCM(DCE), t.a, 20 h	si	2007	63%
NaOCl, DCE, 4°C, 10 h	si	2004	68%
Sustrato: DHEA			
$Rh_2(cap)_4$ DCE, 40°C,20 h	si	2007	74%
CrO_3 /NHPI activado, DCM,t.a, 58 h	Si	2009	67%
$BiCl_3$, acetonitrilo, 70°C, 28 h	si	2005	80%

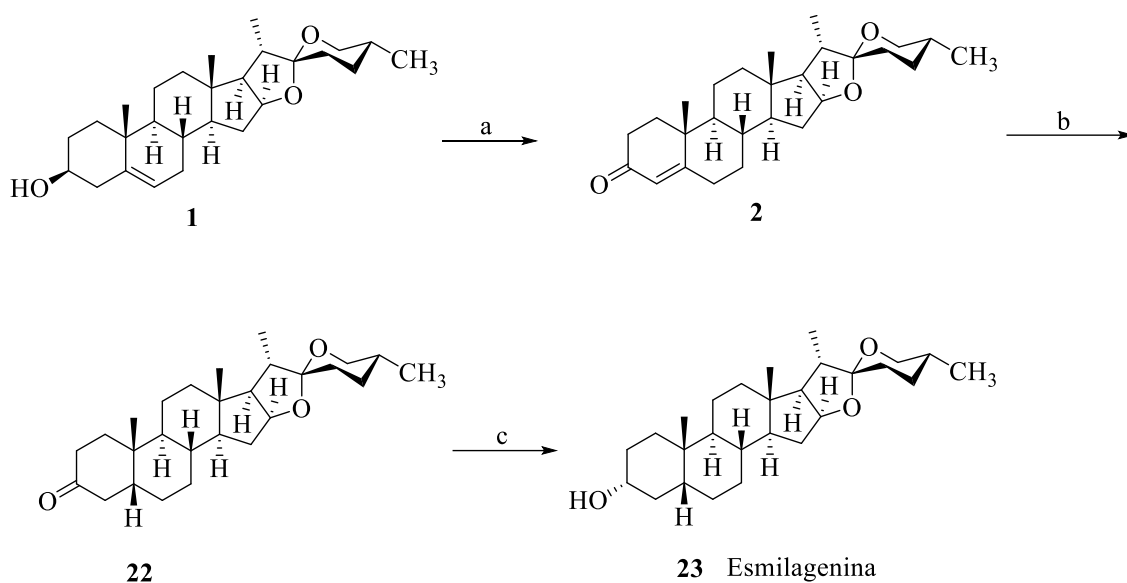
En el año 2008 se describió la obtención del compuesto **21** vía un intermediario enona **19**, que se obtuvo mediante oxidación de Oppenauer; la síntesis de **21** es interesante ya que éste compuesto se acopla a las quinasas, proteínas que catalizan la fosforilación de los residuos de tirosina, y estas enzimas están involucradas en las vías de señalización celular y regulan las funciones celulares clave, como la proliferación, diferenciación, la señalización antiapoptótica y el crecimiento de la neuritis. [14]



Esquema 6. Procedimiento general para la preparación de la 3', 8'-disustituido-5'-deazacoleste-2, 4- dieno (2,3-g) piridina-2', 4'(3'H, 8'H) dionas reactivos y condiciones: (i) $\text{Al}(\text{i-PrO})_3$, acetona, tolueno, 85°C , 8 h, 79%; (ii) HCOOEt , NaH , tolueno, durante 3 días a temperatura ambiente, 92"; (iii) 0.01 equiv $p\text{-TsOH}$, Ph_2O , 180°C , 45min.

3.7 Preparación de Esmilagenina

Más recientemente a partir de la Diosgenina **1** se llevó a cabo la oxidación de Oppenauer para obtener la Diosgenona **2**, que mediante una subsecuente hidrogenación catalítica seguida de la reducción del grupo hidroxilo en C-3 con borohidruro de sodio, produce el producto natural Esmilagenina **23**. Cabe destacar que las condiciones de Oppenauer utilizadas en esta síntesis la describen mediante el método de calentamiento convencional, por lo que esta reacción procede en un mayor tiempo de reacción, 6 horas. [15]



Esquema 7. Preparación de la esmilagenina **23**.

(a) Ciclohexanona, Isopropoxido de aluminio, Tolueno, 100C, 6h; (b) H_2 , Pd/C, MeOH, 60C, 4h; (c) NaBH_4 , THF, r.t, 2h.

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 diversas alternativas sintéticas para la obtención de análogos de productos naturales de interés biológico. Con el objetivo por la búsqueda de implementar nuevas estrategias sintéticas con el uso de microondas, el desarrollo de este proyecto consistió en evaluar la reactividad de la oxidación alílica de diferentes sustratos esteroidales bajo irradiación microondas. Esto también para contribuir con métodos químicos más amigables con el medio ambiente y de utilidad en el área de la química verde.

4. JUSTIFICACIÓN

La síntesis de compuestos esteroideos es de gran utilidad debido al uso de éstos como fármacos en diversos tratamientos que van desde antitumorales, antiinflamatorios, antibacterianas, antiproliferativas, citotóxicas, entre otras, beneficiando de esta manera al ser humano. Estas actividades biológicas a menudo son atribuidas a las diferentes funcionalizaciones en el núcleo esterooidal, lo que ha propiciado el interés por el desarrollo de nuevas metodologías sintéticas que promuevan la formación de estructuras en condiciones de reacciones suaves y amigables con el medio ambiente.

5. HIPÓTESIS

Los esteroides de estructura como la Diosgenina **1**, Botogenina **3** y el Colesterol **5**, presentan el grupo 3-OH y un doble enlace en los carbonos 5 y 6 que permitirá la obtención de las cetonas α,β -insaturadas en el anillo A vía oxidación.

6. OBJETIVOS

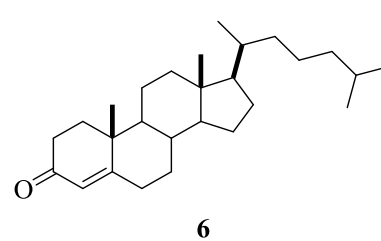
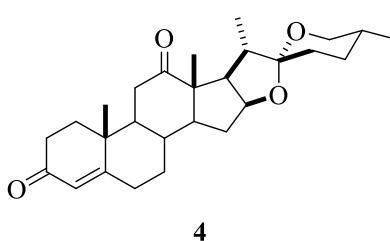
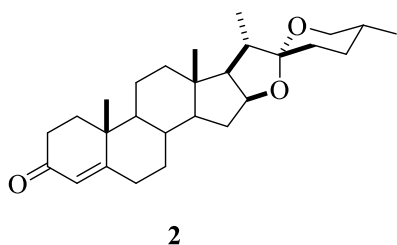
6.1 Objetivo general

Realizar la oxidación de Oppenauer de la Diosgenina **1**, Botogenina **3** y Colesterol **5** en microondas.

6.2 Objetivos específicos

Optimizar las condiciones de reacción para obtener las cetonas α,β -insaturadas vía oxidación de Oppenauer en microondas.

Aislar y caracterizar mediante métodos espectroscópicos las cetonas α,β -insaturadas **2**, **4** y **6**.



7. PARTE EXPERIMENTAL

7.1. Instrumentación y equipo

Los espectros de infrarrojo (IR) se determinaron en los espectrómetros Thermo Scientific Nicolet iS10 usando reflectancia total atenuada ($\bar{\nu}$, cm^{-1}). Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Scientific y no están corregidos. Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de (^1H , y ^{13}C) se determinaron en un espectrofotómetro Varian Mercury Plus 400 MHz. Los desplazamientos químicos (δ) se expresan en (ppm) y las constantes de acoplamiento (J) se describen en Hertz (Hz); se utilizó tetrametilsilano (TMS) como referencia interna para ^1H y ^{13}C . Todas las muestras fueron disueltas en CDCl_3 . Los reactivos se compraron de la casa comercial Sigma-Aldrich.

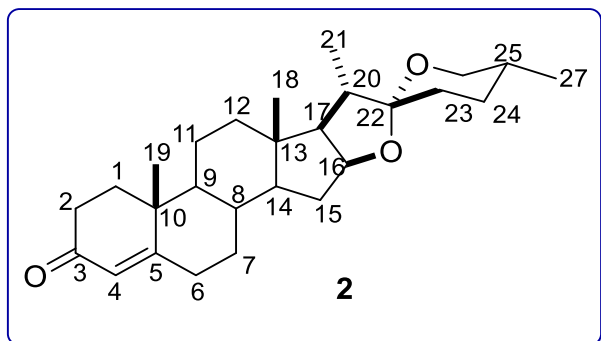
El seguimiento de las reacciones se llevó a cabo por medio de cromatografía en capa fina (CCF), utilizando cromatoplas (4 cm x 2 cm) de gel de sílice de 0.2 mm de espesor soportado en placas de aluminio, provistos además de un factor de revelado F254 usando como fase móvil Hexanos/AcOEt (7:3). El revelado de las cromatoplas se realizó con una lámpara de luz ultravioleta a 254 nm, también con una solución de H_2SO_4 /agua (30% V/V).

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

7.2. Oxidación de Oppenauer de la (25*R*)-espirostan-5-en-3 β -ol (**1**) en microondas

En un tubo de ensayo provisto de agitación magnética se adicionaron 300 mg de Diosgenina **1** (0.24118 mmol) y 98.522 mg de isopropóxido de aluminio, posterior a esto se le agregaron 2.5ml de ciclohexanona. Enseguida se cerró, para llevarse al reactor de microondas durante 20 minutos a una temperatura de 200°C y 200W, pasado el periodo de reacción se precedió a hacer una extracción con cloruro de metileno y solución saturada de bicarbonato de sodio, repitiendo 3 veces para neutralizar el ácido. Posteriormente se pasó por un filtro con Na_2SO_4 anhidro y se llevó a sequedad. Finalmente el crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna

empacada con silica gel (70-230mesh) obteniendo en una mezcla Hexanos/AcOEt (9:1) 75.998 mg del compuesto **2** en 76% de rendimiento.

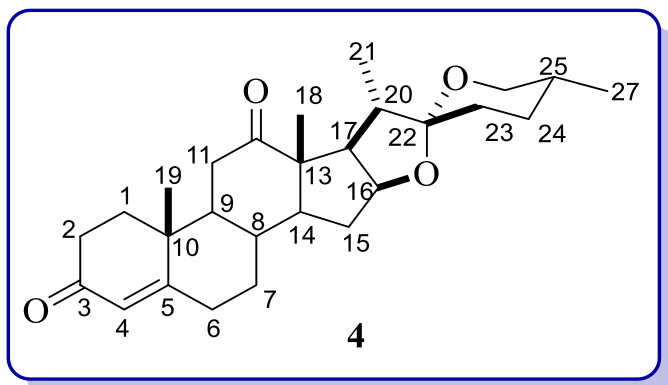


El compuesto **2** de fórmula $C_{27}H_{40}O_3$, se obtuvo en forma de sólido blanco, con punto de fusión 190-192 °C, Lit. (188-190 °C)¹⁷, R_f : 0.58 (7:3 Hexanos/AcOEt); **RMN** 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.73 (1H, s, H-4), 4.41 (1H, m, H-16 α), 3.48 (1H, m, H-26 ec), 3.37 (1H, t, J = 10.9 Hz, H-26 ax), 1.20 (3H, s, CH_3 -19), 0.97 (3H, d, J = 6.9 Hz, CH_3 -21), 0.82 (3H, s, CH_3 -18), 0.79 (3H, d, J = 6.3 Hz, CH_3 -27); **RMN** ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 199.4 (C-4), 171.1 (C-5), 123.8 (C-4), 109.2 (C-22), 80.5 (C-16), 66.8 (C-26), 61.9 (C-17), 55.5 (C-14), 53.6 (C-9), 41.5 (C-20), 40.3 (C-12), 39.5 (C-13), 38.5 (C-10), 35.6 (C-8), 35.1 (C-1), 33.9 (C-2), 32.7 (C-6), 32.0 (C-7), 31.6 (C-15), 31.2 (C-23), 30.2 (C-25), 28.7 (C-24), 20.7 (C-11), 17.3 (C-19), 17.0 (C-27), 16.3 (C-18), 14.4 (C-21).

7.3. Oxidación de Oppenauer de la (25*R*)-espirostan-5-en-3 β -ol-12-ona (**3**) en microondas

En un tubo de ensayo provisto de agitación magnética se adicionaron 100 mg de Botogenina **3** (0.233 mmol) y 98.18 mg de isopropóxido de aluminio, posterior a esto se le agregaron 2.5ml de ciclohexanona. Enseguida se cerró, para llevarse al reactor de microondas durante 20 minutos a una temperatura de 200°C y 200W, pasado el periodo de reacción se precedió a hacer una extracción con cloruro de metileno y solución saturada de bicarbonato de sodio, repitiendo 3 veces para neutralizar el ácido. Posteriormente se pasó por un filtro con Na_2SO_4 anhidro y se llevó a sequedad. Finalmente el crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna

empacada con silica gel (70-230mesh) obteniendo en una mezcla Hexanos/AcOEt (9:1) 62.1223 mg del compuesto (25*R*)-espirostan-4-en-3, 12-diona (**4**) en 62.5% de rendimiento.

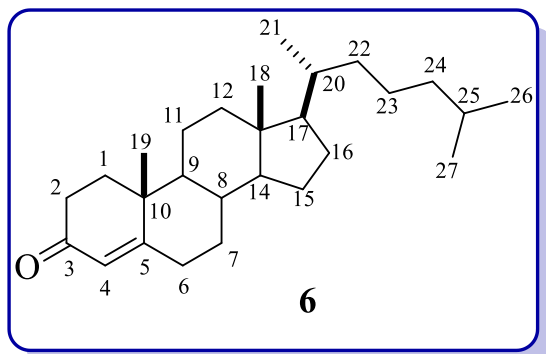


El compuesto **4** de fórmula $C_{27}H_{38}O_4$ se obtuvo en forma de sólido blanco, con punto de fusión 255-257 °C, R_f : 0.18 (7:3 Hexano/AcOEt); **RMN** 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.78 (1H, s, H-4), 4.36 (1H, m, H-16 α), 3.50 (1H, m, H-26 ax), 3.35 (1H, t, J = 10.9 Hz, H-26 ec), 1.28 (3H, s, CH_3 -19), 1.11(3H, s, CH_3 -18), 1.07 (3H, d, J = 7.0 Hz, CH_3 -21), 0.80 (3H, d, J = 6.3 Hz, CH_3 -27); **RMN** ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 211.9 (C-12), 198.7 (C-3), 168.4 (C-5), 124.6 (C-4), 109.2 (C-22), 78.9 (C-16), 66.8 (C-26), 54.7 (C-14), 54.7 (C-13), 54.3 (C-17), 54.2 (C-9), 42.1 (C-20), 38.6 (C-10), 37.0 (C-11), 35.2 (C-1), 34.3 (C-2), 33.6 (C-6), 32.3 (C-7), 30.1 (C-25), 28.6 (C-24), 17.0 (C-27), 16.7 (C-19), 15.8 (C-18), 13.1 (C-21). **LC-ESI-M/S** (%): 427.3 ($M^+ + H$, 100), 485.4 (10), 468.4 (15), 428.3 (29).

7.4. Oxidación de Oppenauer del (3 β)-cholest-5-en-3-ol (**5**)

En un tubo de ensayo provisto de agitación magnética se adicionaron 100 mg de Colesterol **5** (0.258 mmol) y 105.39 mg de isopropóxido de aluminio, posterior a esto se le agregaron 2.5ml de ciclohexanona. Enseguida se cerró, para llevarse al reactor de microondas durante 30 minutos a una temperatura de 200°C y 200W, pasado el periodo de reacción se precedió a hacer una extracción con cloruro de metileno y solución saturada de bicarbonato de sodio, repitiendo 3 veces para neutralizar el ácido. Posteriormente se pasó por un filtro con Na_2SO_4 anhidro y se llevó a sequedad.

Finalmente el crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna empacada con silica gel (70-230mesh) obteniendo en una mezcla Hexanos/AcOEt (9:1) 72.32 mg del compuesto **6** en 72.5% de rendimiento.

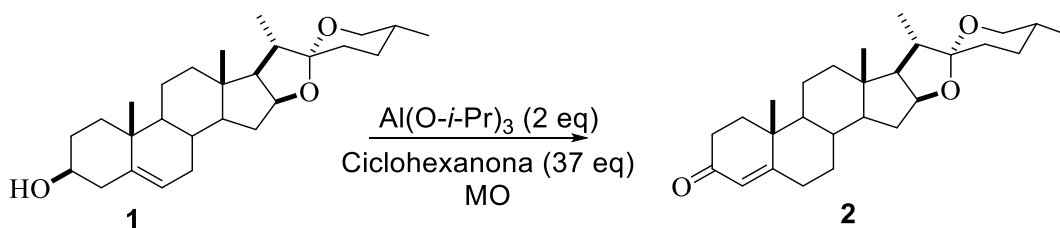


El compuesto **6** de fórmula $C_{27}H_{44}O$ se obtuvo en forma de sólido blanco, R_f : 0.73 (7:3 Hexano/AcOEt), con punto de fusión 76-78 °C, Lit. (78-79 °C)¹⁸; **RMN 1H** (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.72 (1H, s, H-4), 1.17 (3H, s, CH_3 -19), 0.89 (3H, d, $J=6.5$ Hz, CH_3 -21), 0.87 (3H, d, $J=1.6$ Hz, CH_3 -27), 0.86 (3H, d, $J=1.6$ Hz, CH_3 -26), 0.69 (3H, s, CH_3 -18); **RMN ^{13}C** (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 199.7 (C-3), 171.8 (C-5), 123.5 (C-4), 55.9 (C-17), 55.7 (C-14), 53.7 (C-9), 42.2 (C-13), 39.5 (C-12), 39.3 (C-24), 38.5 (C-10), 36.0 (C-22), 35.6 (C-1), 35.5 (C-20), 35.4 (C-8), 33.8 (C-2), 32.8 (C-6), 31.9 (C-7), 28.0 (C-16), 27.9 (C-25), 24.0 (C-15), 23.7 (C-23), 22.7 (C-27), 22.4 (C-26), 20.9 (C-11), 18.5 (C-21), 17.2 (C-19), 11.8 (C-18).

8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

8.1. Oxidación de Oppenauer de los esteroides 1, 3 y 5.

En relación a la síntesis de la Diosgenona 2, y Colestenona 6, se conoce que estas han sido descritas mediante la oxidación de Oppenauer y calentamiento convencional, sin embargo, en estas condiciones los tiempos van de 4 a 6 h para el caso de Diosgenina 1; mientras que la oxidación de la Botogenina 3 se ha reportado vía el uso de reactivos como acetona/NaI y Br₂, Zn en tiempos de 7 a 12 h. En el caso de la oxidación de Oppenauer de la Diosgenina 1, cabe señalar que en nuestro grupo de trabajo se reportó una nueva modificación a las condiciones descritas[16], destacando la obtención de la cetona α,β -insaturada 2, en menor tiempo de reacción (30 min) y calentamiento convencional, sin embargo, bajo esas condiciones se utilizaba ciclohexanona en exceso (121 eq.), lo que dificulta el proceso de purificación del crudo de reacción, en el que a menudo se tienen varias fracciones en mezcla del producto 2 con este reactivo, llevando a la realización de varias purificaciones subsecuentes para la eliminación de la ciclohexanona. Con estos antecedentes, decidimos explorar la oxidación de la Diosgenina 1 en MO. Para esto la Diosgenina 1 se hizo reaccionar en condiciones de Oppenauer, disminuyendo la cantidad de ciclohexanona, pasando de 121 eq. a 37 eq. (Esquema 8) Los resultados de los ensayos se muestran en la tabla 2.



Esquema 8. Obtención de Diosgenona 2 en microondas.

Tabla 2. Condiciones de reacción ensayadas en MO para la obtención de 2 .				
Ensayo	Materia prima 1	Tiempo	Temperatura	Rendimiento de 2
1	100 mg	30 min	100 °C	Trazas
2	100 mg	40 min	150 °C	51 %
3	100 mg	20 min	200 °C	72 %
4	300 mg	20 min	200 °C	65 %
5	100 mg	10 min	250 °C	84 %
6	300 mg	20 min	250 °C	80 %

Con los datos de la tabla 2, se observó que conforme se incrementa la temperatura, el compuesto **2** se obtiene en mayor rendimiento, los ensayos también se hicieron aumentando la escala del uso de la materia prima, encontrando que había ligera variación en términos de rendimiento y tiempo cuando la reacción se realizaba a una escala mayor, por lo que con estos datos, se consideró deseable preparar el compuesto **2** a escalas de 100 mg de materia prima y en las condiciones de reacción del ensayo 3, que si bien el rendimiento era un poco más bajo en comparación con el ensayo 5, la reacción se podía realizar a menor temperatura y tiempo de reacción, en comparación con la metodología descrita por Flores-Abad[16], adicionalmente el uso de un menor número de equivalentes de ciclohexanona, permitió facilitar la purificación del crudo de reacción.

La asignación estructural del compuesto **2** se realizó por comparación con la RMN de ^1H y ^{13}C de Diosgenina **1** (Figura 4 y 5). Los datos coincidieron con los descritos por Flores-Abad para Diosgenona **2**.

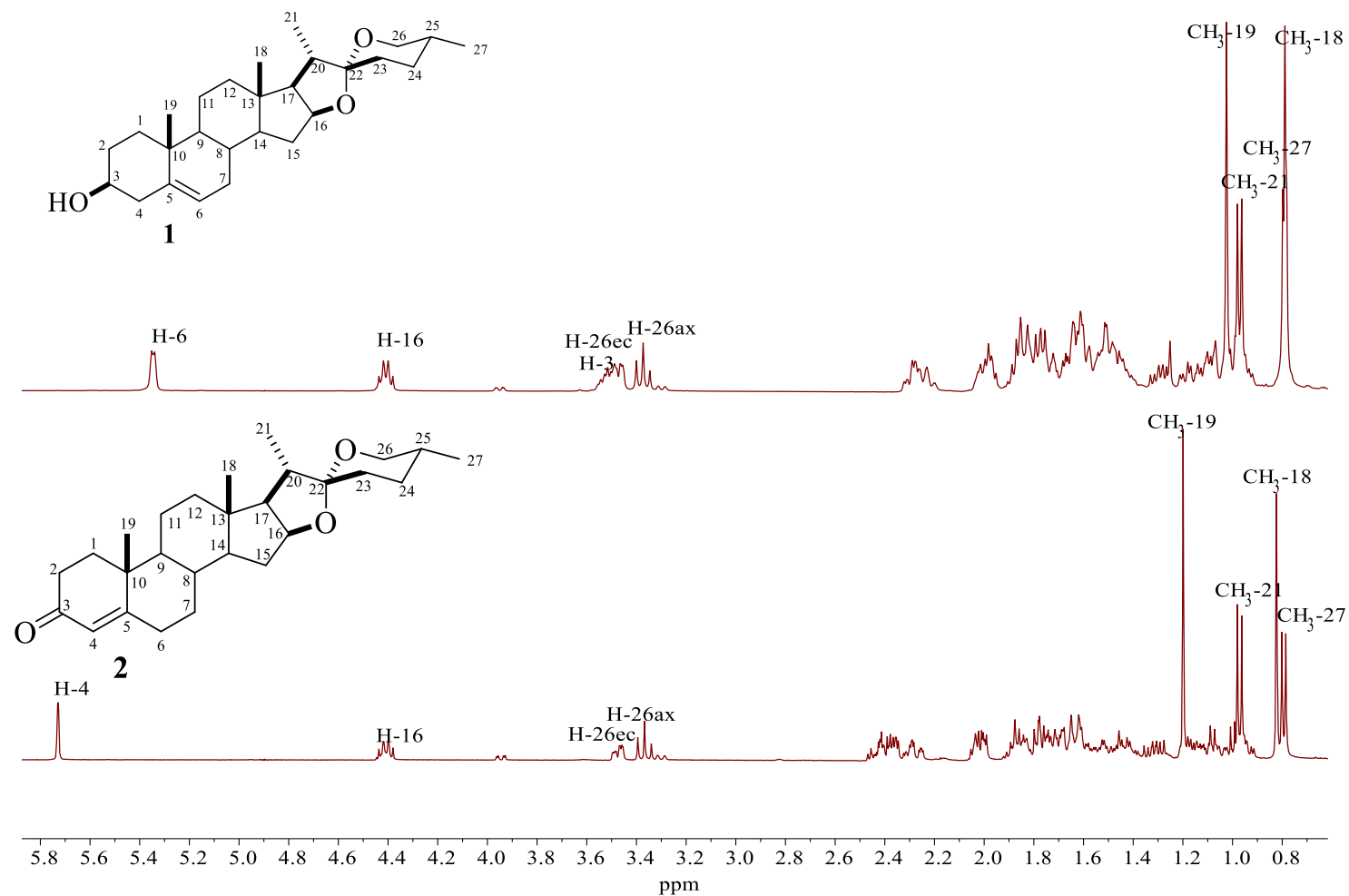


Figura 4. Comparación de los espectros de RMN de ^1H (400 MHz) de Diosgenina **1** y Diosgenona **2** en CDCl_3 .

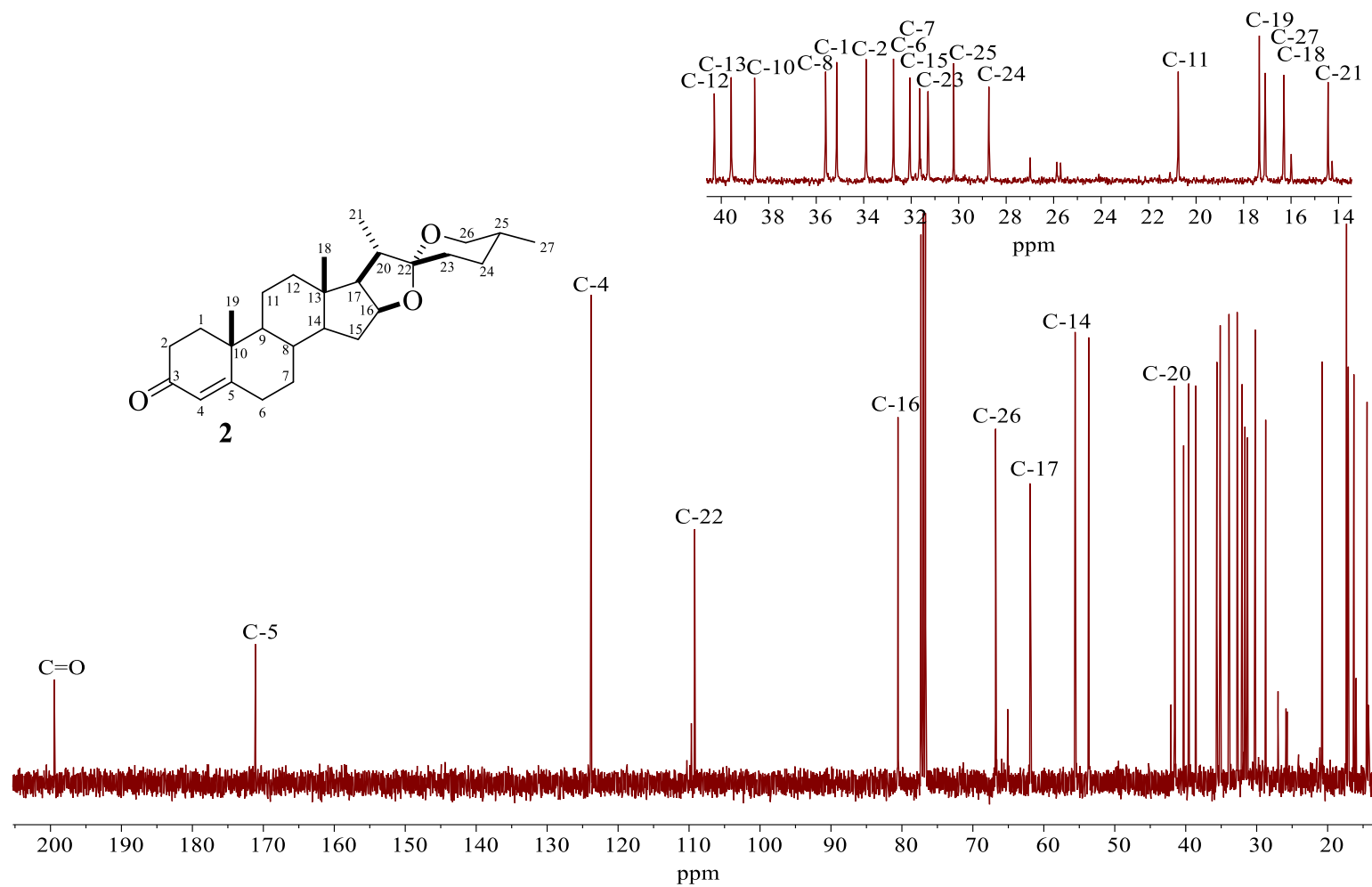
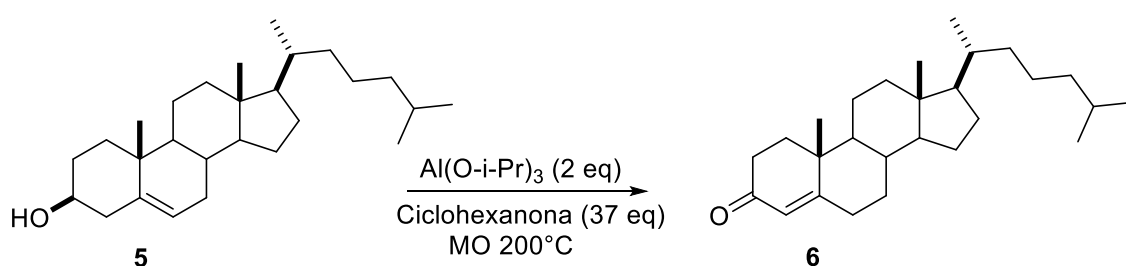


Figura 5. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) de Diosgenona 2 en CDCl_3 .

En relación a la oxidación del Colesterol **5** para obtener la enona **6** (Esquema 9), se conoce que esta ha sido descrita por varios métodos, por ejemplo, en el 2019 [16] en nuestro grupo de trabajo se encontró que mediante la oxidación de Oppenauer de **5**, a reflujo durante 1 h, se lograba obtener **6** en buenos rendimientos, con base en esos antecedentes y teniendo en cuenta los resultados de la Tabla 2, se procedió a realizar la oxidación de este, en las condiciones estandarizadas en microondas para la obtención de la Diosgenona **2** (tabla 2, ensayo 3); para ello **5** se hizo reaccionar según el esquema 10, logrando obtener la enona **6** en rendimientos del 72%, a diferencia del caso de la oxidación de Diosgenina, para el Colesterol se requirieron 30 minutos de reacción (Tabla 3, ensayo 1).



Esquema 9. Obtención de la enona **6**.

Tabla 3. Condiciones de reacción ensayadas en MO para la obtención de 6 .				
Ensayo	Materia prima 5	Tiempo	Temperatura	Rendimiento del producto 6
1	100 mg	30 min	200 °C	72 %
2	300 mg	30 min	200 °C	54 %

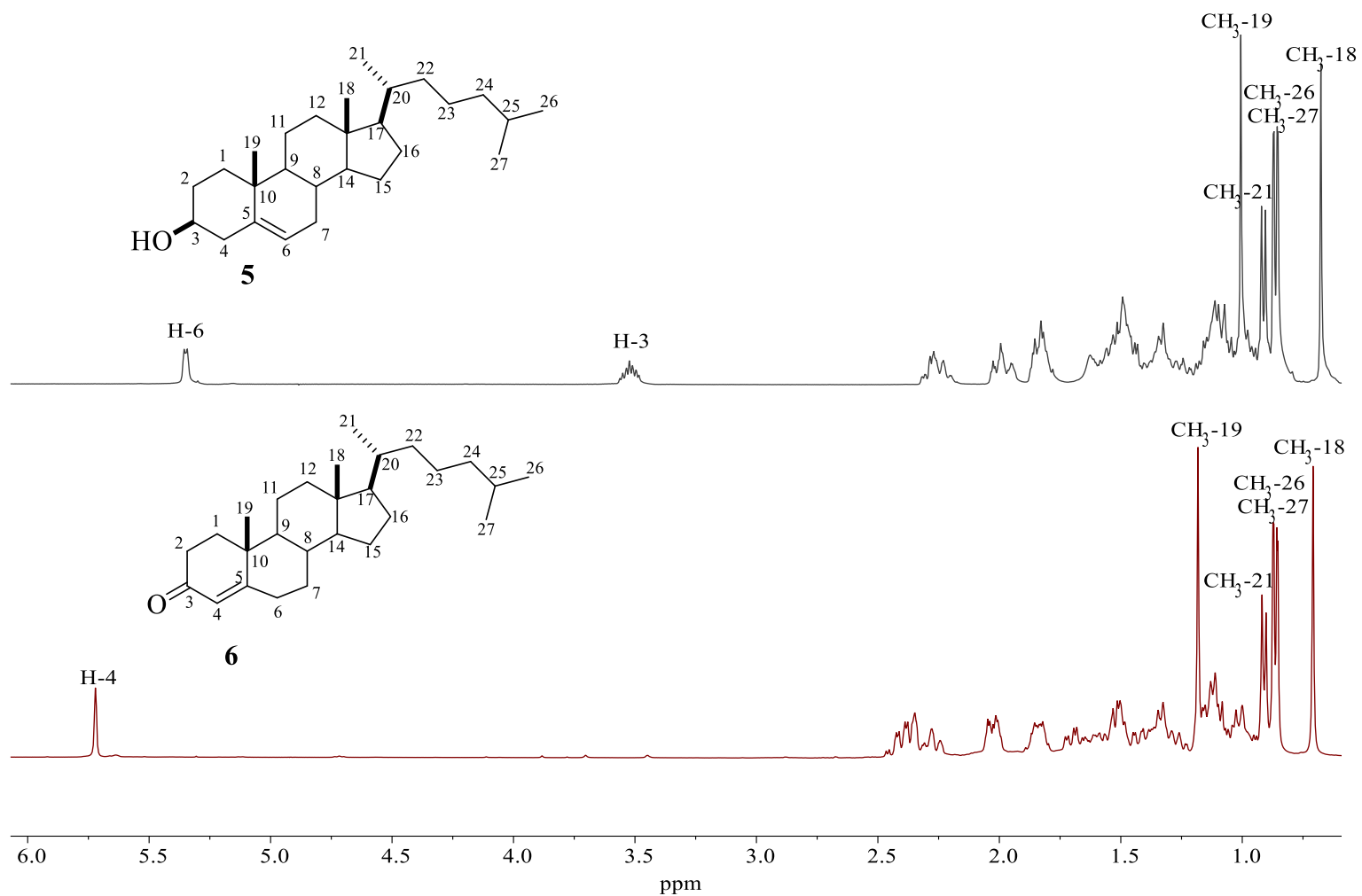


Figura 6. Comparación de los espectros de RMN de ^1H (400 MHz) de Colesterol **5** y colestenoa **6** en CDCl_3 .

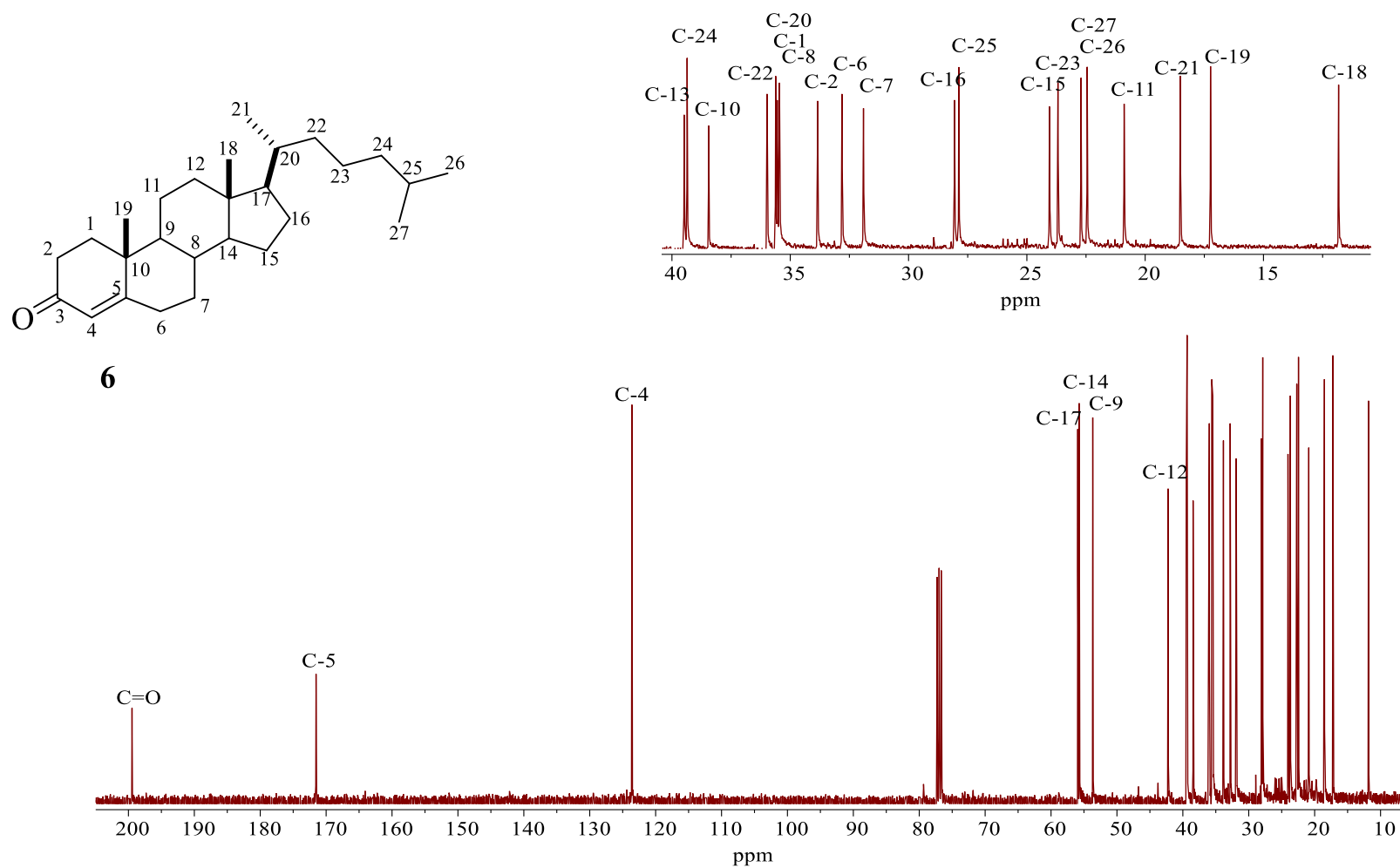
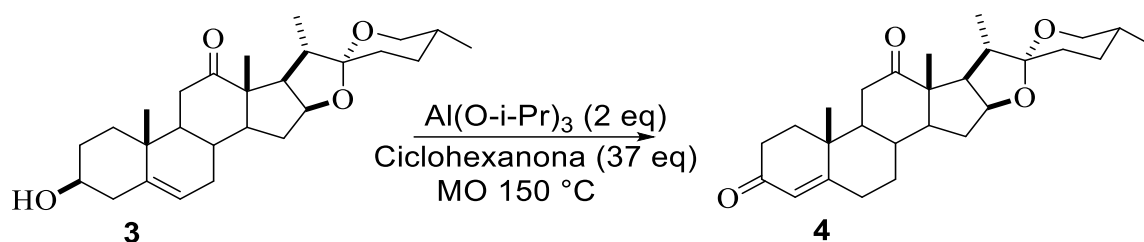


Figura 7. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) de colesteno **6** en CDCl_3 .

Una vez confirmada la obtención de la enona del Colesterol **6**, se procedió a explorar la oxidación de Oppenauer del compuesto **3** (Esquema 10), por lo cual, teniendo como antecedente los resultados observados para la Diosgenona **2** y Colestenona **6**, se procedió a realizar las reacciones a diferentes escalas en las condiciones mostradas en la tabla 4, observando que el compuesto **4** se obtiene en buenos rendimientos utilizando una temperatura de 150 °C durante 30 minutos y que además a menor escala del uso de la materia prima, el rendimiento se favorece ligeramente pasando de un 65 a 72%.



Esquema 10. Obtención de la enona **4**.

Tabla 4. Condiciones de reacción ensayadas en MO para la obtención de 4 .				
Ensayo	Materia prima 3	Tiempo	Temperatura	Rendimiento
1	100 mg	30 min	150 °C	72 %
2	300 mg	30 min	150 °C	65 %

La obtención del compuesto **4** se confirmó mediante el análisis comparativo de la RMN de ^1H y ^{13}C ; a manera de ejemplo en las figuras 8 y 9 se muestran los espectros.

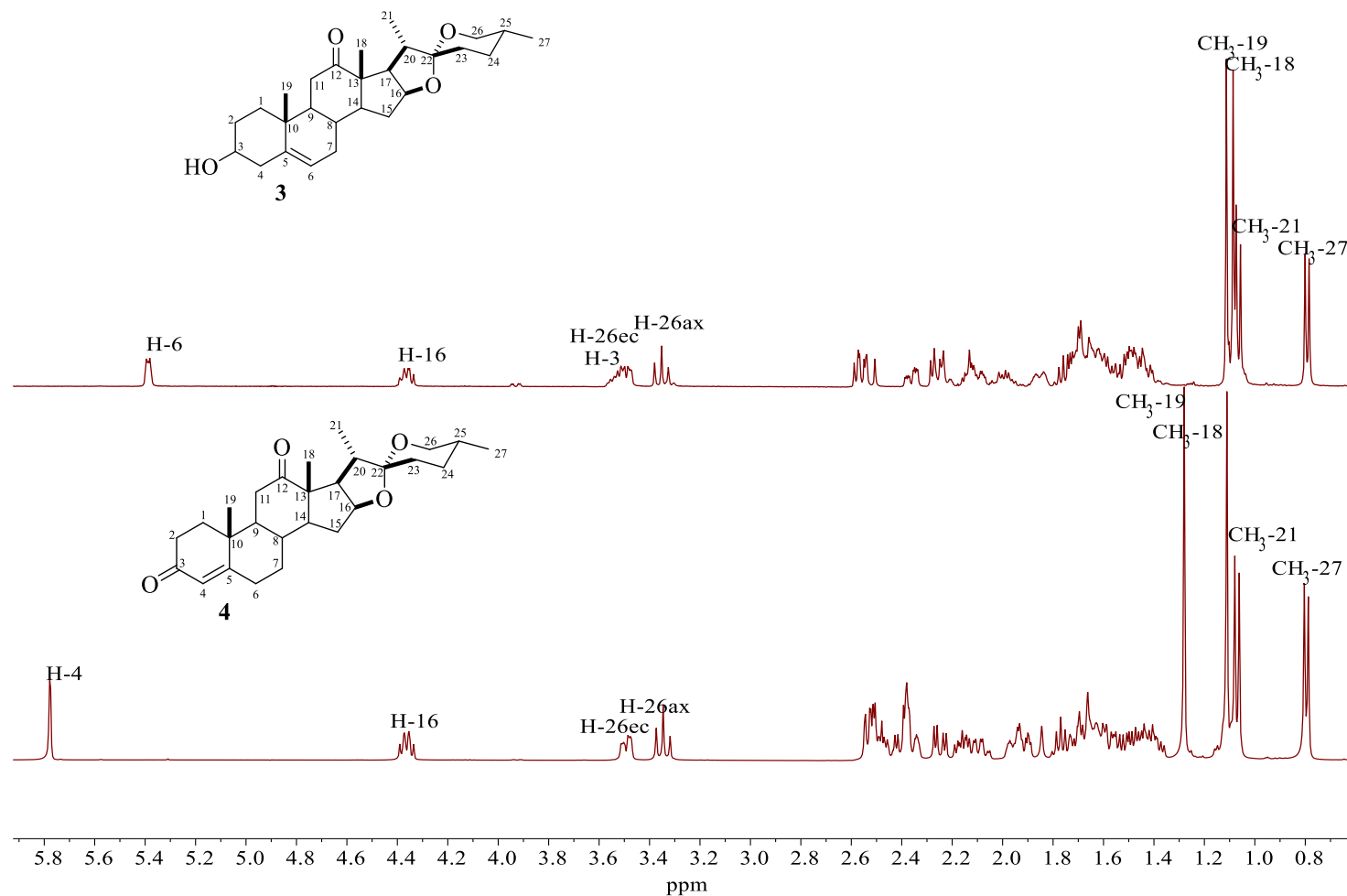


Figura 8. Comparación de los espectros de RMN de ^1H (400 MHz) de Botogenina **3** y Botogenona **4** en CDCl_3 .

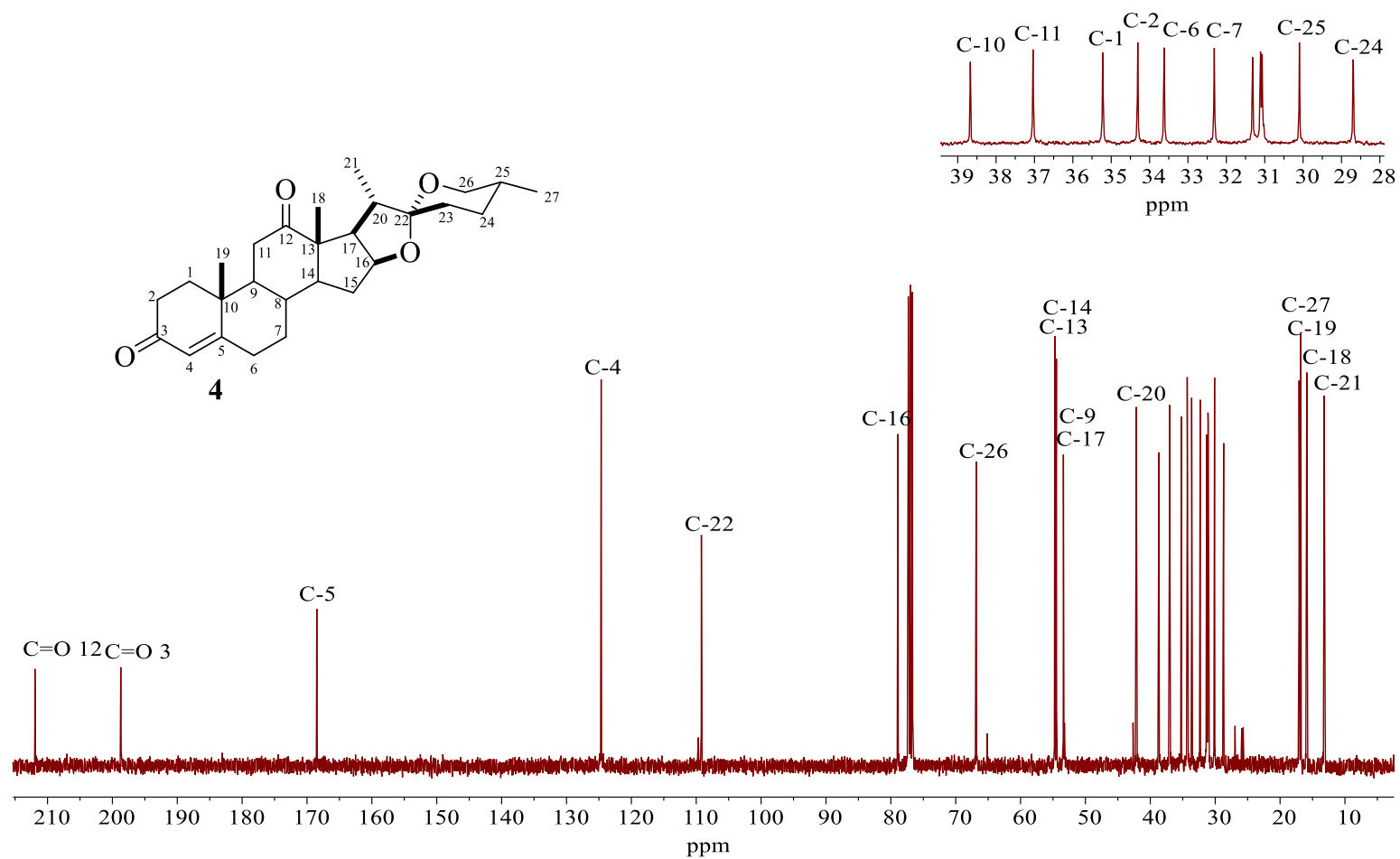


Figura 9. Espectros de RMN de ^{13}C (100 MHz) de Botogenona **4** en CDCl_3

9. CONCLUSIONES

Se llevó a cabo la obtención de las enonas **2**, **4** y **6** mediante la oxidación de Oppenauer y promovida en microondas. Los compuestos se obtuvieron en buenos rendimientos, tiempos cortos y condiciones suaves de reacción, evitando el uso de disolventes tóxicos. La obtención de los compuestos se confirmó mediante el análisis comparativo de la RMN de ^1H y ^{13}C con los ya reportados.

El uso de microondas para la obtención de estos compuestos vía oxidación de Oppenauer, representa uno de los primeros ejemplos.

10. REFERENCIAS

- 1.- Miramontes, L. E. **2001**. *Industria de los esteroides en Mexico*. *Revista de La Sociedad Química de México*, 45(3), 102-104.
- 2.- Mendoza, D. F; Vela, G.B; Chama-Martínez, Y. E. **2020**, *Revista RD*, 6, 50-62.
3. lipoproteínas. Figura tomada de la red:
<https://sway.com/s/f7aFC9pAeVGMw61c/embed>
- 4.- Maldonado, O; González, J. A; Ceballos, G. M; Méndez, E.**2011**. *REVISTA DE DIVULGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD VERACRUZANA*. 3. 290, 1721-1726
- 5.- Alcantara, E. H.; Shin, M. Y.; Sohn, H. Y.; Park, Y. M.; Kim, T.; Lim, J. H.; Kwun, I. S. **2011**. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 22(11), 1055-1063.
- 6.- Horikoshi S.; Serpon,N. **2009**. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*; (2): 96-110,
- 7.- Ambrozic, G.; Crnjak, Z; Zigon, Z. **2011**.*Materials and Technologies*; (3): 173-177.
- 8.- De la Hoz, A; Díaz, A; Prieto, P. **2016**. *Microwave-Assisted Green Organic Synthesis. Chapter in Alternative Energy Sources for Green Chemistry*, 1-33.
- 9.- Chen, Y.; Tang, Y. M.; Yu, S. L.; Han, Y. W.; Kou, J. P.; Liu, B. L. y Yu, B. Y. **2015**. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 13(8), 578-587
- 10.- Correa, L. P; Hernandez, E. **2011**. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*. (42): 1-20.
- 11.- Borah, P; Borah, J.M; Chowdhury. P.**2015**. *Steroids*, (98): 49–57.
- 12.- Martínez, A;Guerrero, G; Ortiz, A; Cárdenas, M; Bernès, S; Hernández, M.**2021**. *Synthesis and evaluation of theirantiproliferative activity*. *Steroids*; (166): 10877
- 13.-Wendell, S. G; Silva, E.**2016**. *Journal of steroids and hormonal science*. 7:2 171.
- 14.- Cong, Z; Yang, W; Huang, Y. **2019**. *Bioorganic and medical chemistry letters*.(29): 28:42.
- 15.- Meena R, Chhatbar MU, Prasad Ka, Siddhanta AK. **2011**. *Microwave assisted synthesis of Ph-responsive swellable adductsof chtosan-polyuronic acids*. (83): 1402-1407.
16. Flores-Abad, D.; García-Merinos, J. P.; López Y. **2019**.*Tesis de Maestría*, UMSNH.
17. Pabón, A; Escobar, G; Vargas, E; Cruz, V; Notario, R; Blair, S; Echeverri, F. 2013. *Molecules*, 18, 3356-3376.
18. Sarkar, A; Das, J; Ghosh, P.**2017**. *New Journal of chemistry*, 17, 1-25.

11. ESPECTROS DE INFRARROJO DE LAS ENONAS

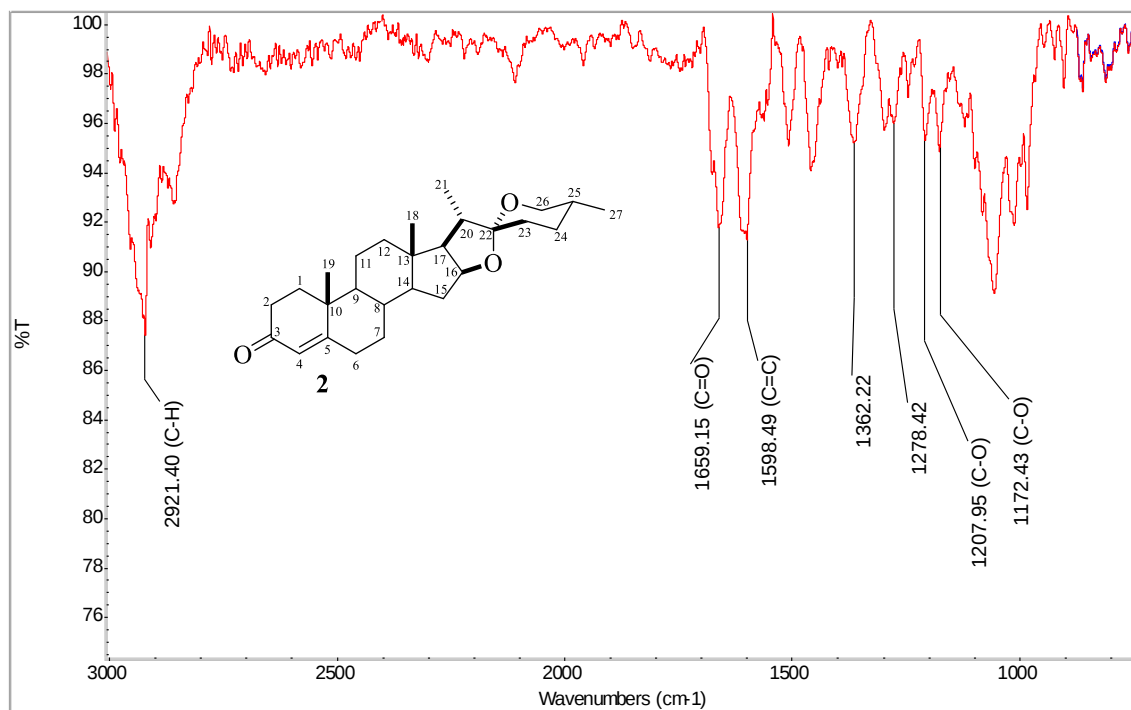


Figura 10. Espectro infrarrojo de Diosgenona 2.

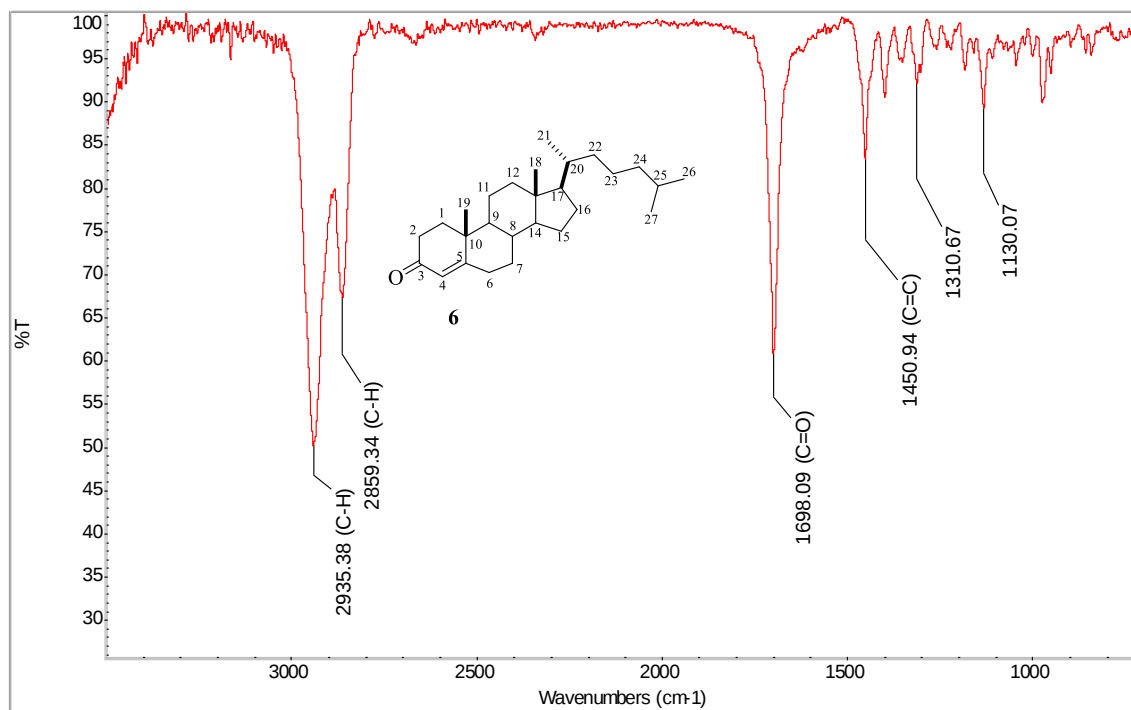


Figura 11. Espectro infrarrojo de Coletenona 6.

