Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Ciencias Químicas

Laboratorio de Síntesis y Modificación de Productos Naturales

Tesis

SÍNTESIS EFICIENTE DE SOLASODINA A PARTIR DE DIOSGENINA

Que para obtener el grado de

Químico Farmacobiólogo

Presenta

pQFB Victor Hugo Rosas Caselis

Asesores

Dr. José Luis Vega Báez

Dr. Penélope Merino Montiel

Diciembre de 2014

	Índice	Pág.
1	Abreviaturas	4
2	Resumen	5
3	Introducción	7
4	Antecedentes	9
4.1	Aminas esteroidales	13
4.2	Importancia del género *Solanum*	13
4.3	Clasificación de las aminas esteroidales	14
4.4	Espirasolanos	15
4.5	Glicoalcaloides	16
4.6	Propiedades anticancerígenas de los glicoalcaloides y agliconas	16
4.7	Solasodina	18
4.8	Importancia biológica de la solasodina	19
4.9	Síntesis de la solasodina	20
4.10	Transformaciones de la cadena espiroaminocetálica de la solasodina	26
4.10.1	Obtención de pseudosolasodina B	29
4.10.2	Apertura regioselectiva del anillo E de la solasodina	29
4.11	Obtención de compuestos con actividad biológica a partir de solasodina	30
5	Objetivos	32
6	Metodología	33

7	Discusión de resultados	34
7.1	Caracterización espectroscópica de diosgenina	34
7.2	Obtención del pivaloato de diosgenina	35
7.3	Obtención de 26-acetato 3-pivaloato de (25*R*)-furost-4,20(22)-dien-3β,26–diilo	39
7.4	Obtención de pivaloato de (25*R*)-26-hidroxifurost-4,20(22)-dien-3β-ilo	43
7.5	Obtención de pivaloato de (25*R*)-26-metansulfoniloxifurost-4,20(22)-dien-3β-ilo	48
7.6	Obtención de pivaloato de (25*R*)-26-azidofurost-4,20(22)-dien-3β-ilo	53
7.7	Obtención de (25*R*)-26-azidofurost-4,20(22)-dien-3β-ol	59
7.8	Obtención de solasodina [(22*R*,25*R*)-espirosol-5-en-3β-ol]	63
8	Parte experimental	68
9	Conclusiones	79
10	Bibliografía	81

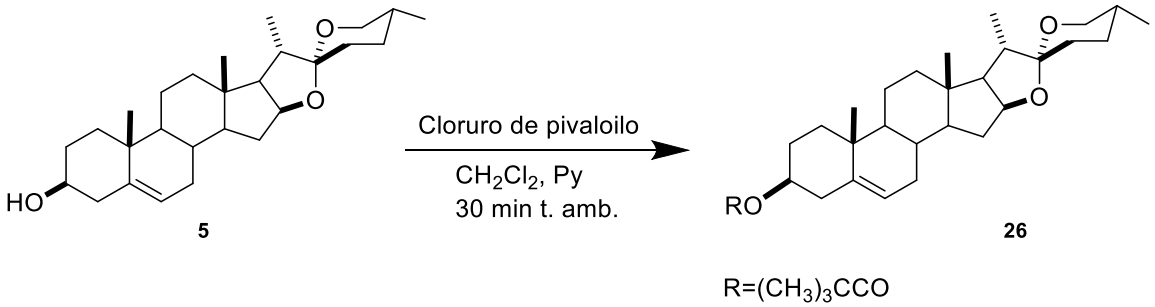
Abreviaturas

δ	Desplazamiento químico
RMN de ^{1}H	**R**esonancia **M**agnética **N**uclear de hidrogeno
RMN de ^{13}C	**R**esonancia **M**agnética **N**uclear de carbono 13
HMBC	**H**eteronuclear **M**ultiple **B**ond **C**oherence
HSQC	**H**eteronuclear **S**pectrum **Q**uantum **C**orrelation
COSY	**C**orrelation **S**pectroscopy
J	Constante de acomplamiento
Hz	Hertz
MHz	Megahertz
ppm	Partes por millón
ddd	Señal doble de doble de dobles
IR	Espectroscopia infrarroja
Py	Piridina
DMF	N,N-dimetilformamida
AATFA	Anhídrido acético trifluoroacético
TEA	Trietilamina
MsCl	Cloruro de metanosulfonilo
p-TsCl	Cloruro de *p*-Toluensulfonilo
CCF	Cromatografía en capa fina
$(CH_3)_3SiCl$	Clorotrimetilsilano

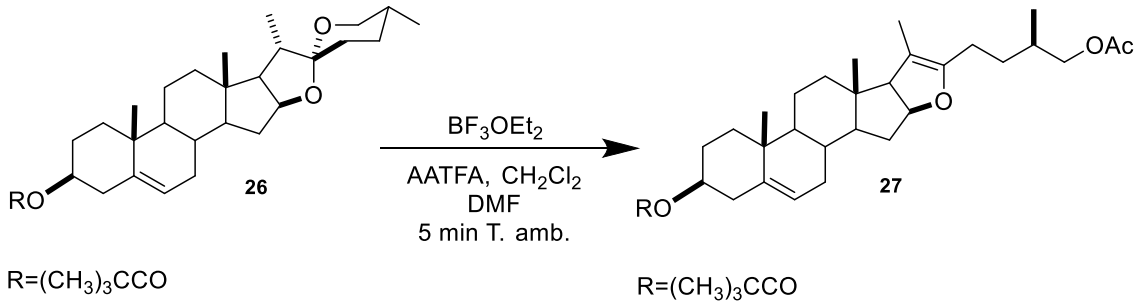
Resumen

En el presente trabajo se describe una nueva ruta de síntesis de la sapogenina nitrogenada solasodina, utilizando como materia prima diosgenina. La síntesis se llevó a cabo empleando metodologías novedosas que no requieren reactivos sofisticados, y en general condiciones de reacción favorables.

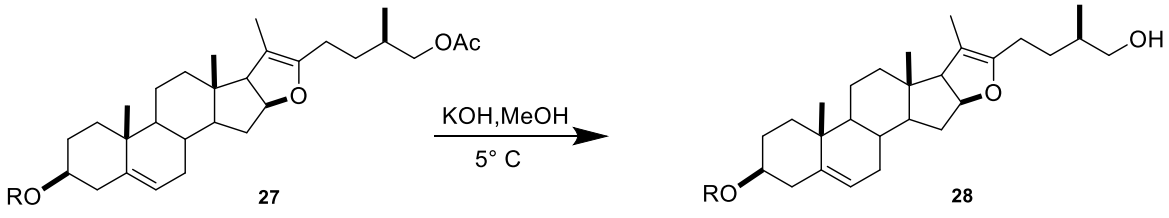
En la primera etapa de la ruta de síntesis el grupo hidroxilo de la posición tres de la diosgenina se protege con un grupo dimetilpropanoato (pivaloato). Obteniendo el producto con un rendimiento del 97%.



En la segunda etapa de la síntesis se realizó la apertura regioselectiva del anillo F de la diosgenina, obteniendo el compuesto **27**. La reacción se llevó a cabo con una metodología desarrollada por nuestro grupo de investigación, empleando el anhídrido acético trifluoroacético (AATFA), la reacción procedió en pocos minutos, a temperatura ambiente y con rendimientos elevados (93%).

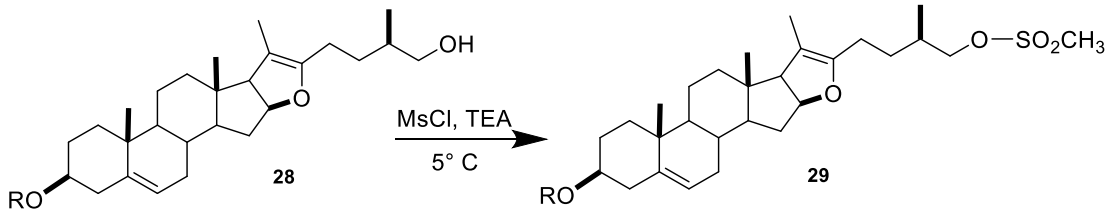


En la tercera etapa se realizó una hidrólisis quimioselctiva del grupo éster de la posición 26 sin afectar el grupo éster de la posición 3. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente, con un rendimiento elevado (87%).



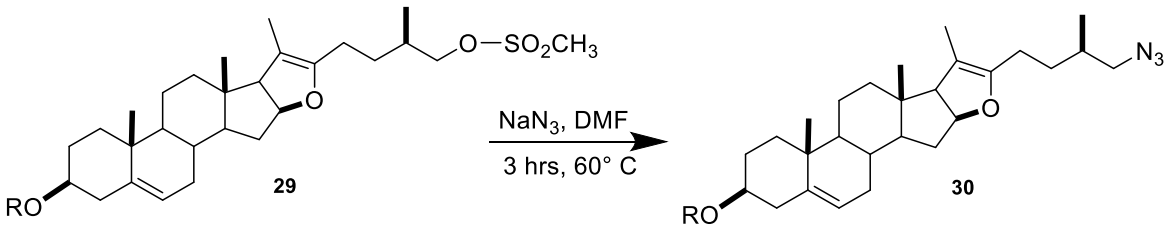
R=$(CH_3)_3CCO$ R=$(CH_3)_3CCO$

En la cuarta etapa el grupo hidroxilo de la posición 26 se trasformó en un grupo metanosulfonato (mesilato); esta reacción se llevó a cabo a 5°C, y procedió en forma rápida con un rendimiento elevado (90%).



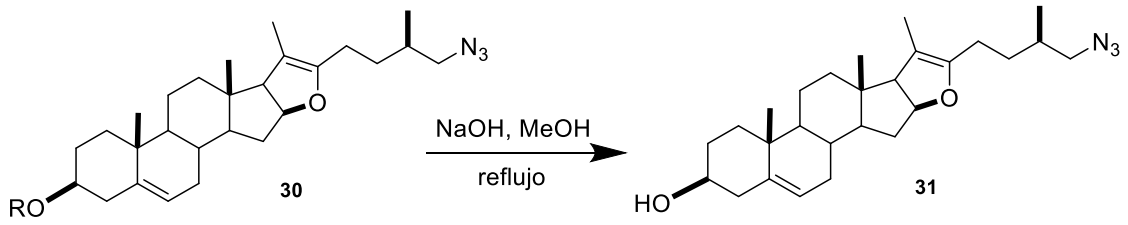
R=$(CH_3)_3CCO$ R=$(CH_3)_3CCO$

En la quinta etapa, el grupo metanosulfonato fue desplazado por un grupo azida por medio de una reacción de sustitución nucleofílica que procede por un mecanismo de tipo S_N2. El rendimiento obtenido fue de 86%.



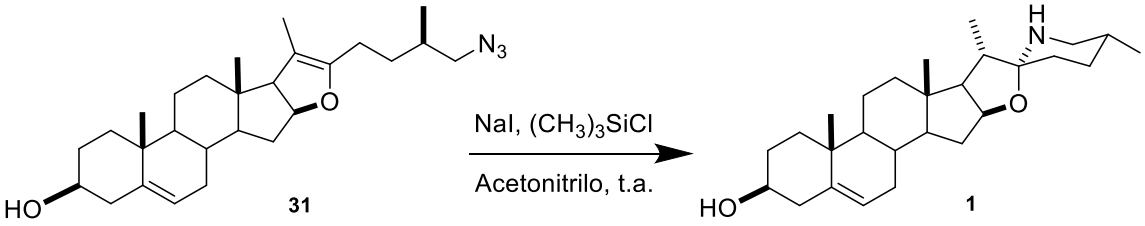
R=$(CH_3)_3CCO$ R=$(CH_3)_3CCO$

En la sexta etapa, la hidrólisis del grupo pivaloato se realizó al tratar el compuesto **30** con una solución de NaOH/CH_3OH al 5% a reflujo por tres horas. El rendimiento obtenido fue de 90%.



R=$(CH_3)_3CCO$

En la séptima etapa, se llevó a cabo la reducción del grupo azida y la ciclación para formar el anillo F de la solasodina en el mismo medio de reacción. El rendimiento obtenido fue de 60%.



Introducción

Las plantas medicinales se han utilizado durante milenios como una de las fuentes principales de agentes terapéuticos para la humanidad.[1] De las aproximadamente 270 000 plantas terrestres que han sido taxonómicamente clasificadas,[2] aproximadamente 10 000 plantas superiores se utilizan en medicina.[3] El descubrimiento de medicamentos de plantas medicinales en el siglo XIX llevó a la purificación temprana de varias drogas incluyen la codeína, digitoxina, morfina y quinina, que aún son ampliamente utilizados.[4]

La utilidad de los productos naturales como fuentes de nuevas estructuras biológicamente activas, aunque no necesariamente el fármaco final, sigue vigente hasta nuestros días. En el periodo de 1981 a 2010 de las 118 nuevas entidades químicas con propiedades antibacterianas sólo 26 son totalmente sintéticos, 67 son derivadas de un producto natural, y 10 son productos naturales.[5] En el área de quimioterápicos (periodo de 1981 a 2010) de los 128 nuevos fármacos aprobados, sólo 20 son totalmente sintéticas, 11 son productos naturales obtenidos por síntesis y el resto corresponden a productos biotecnológicos (24), productos naturales (11) o derivados de un producto natural (32).[5] En otras áreas, la influencia de las estructuras de los productos naturales es más marcada, particularmente en el campo de los antihipertensivo, donde en el periodo de 1981 a 2010, de los 74 medicamentos aprobados, 48 pueden atribuirse a las estructuras de producto natural o sustancias derivadas de las mismas. Asimismo, de los 10 medicamentos para tratar la migraña, 7 se basan en la molécula de serotonina o sus derivados.[6]

La búsqueda de agentes contra el cáncer de origen vegetal tuvo un gran impulso a partir de la década de 1950 con el descubrimiento y desarrollo de los alcaloides de la vinca, vinblastina y vincristina, y el aislamiento de las podofilotoxinas citotóxicas. Como resultado de lo anterior, el Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos (NCI) inició un amplio programa de recolección de la planta en 1960, principalmente en las regiones templadas. Esto llevó al descubrimiento de muchos quimiotipos novedosos que mostraron una serie de actividades citotóxicas,[7] incluyendo los taxanos y camptotecinas, pero su desarrollo en agentes activos clínicamente abarcó un período de unos 30 años, desde la década de 1960 a la 1990. Este programa de recolección de la planta se terminó en 1982, pero el desarrollo

de nuevas tecnologías de exploración llevó a la reactivación de las colecciones de plantas y otros organismos en el año 1986, con un enfoque en las regiones tropicales y subtropicales del mundo.

Los primeros agentes para avanzar en el uso clínico fueron los llamados alcaloides de la vinca, vinblastina (VLB) y vincristina (VCR), aislados del bígaro de Madagascar, *Catharanthus roseus* G. Don. (Apocynaceae), que fue utilizado por diferentes culturas para el tratamiento de la diabetes.[8] En la investigación como una fuente potencial de agentes hipoglucemiantes orales, se observó una reducción en los recuentos de células blancas de la sangre, causando la depresión de la médula ósea en ratas, y posteriormente se determinó su actividad contra la leucemia linfocítica en ratones. Esto condujo al aislamiento de VLB y VCR como los agentes activos, por lo que su descubrimiento puede atribuirse a una observación indirecta de un uso medicinal, no relacionado con el efecto buscado en la planta de origen. El mecanismo de acción de la VLB y VCR se basa en su capacidad para inhibir la polimerización de tubulina, actuando, por lo tanto, como agentes antimitóticos.

Otros fármacos muy importantes que han contribuido muy eficazmente a la quimioterapia del cáncer, son el Paclitaxel (Taxol), aislado de la corteza del Tejo del Pacífico.

Recientemente han llamado la atención otros dos productos naturales, las Epotilonas A y B. Se trata de un nuevo tipo de compuestos naturales citotóxicos, producidos por cepas cultivadas de la mixobacteria *Sorangium cellulosum*, y que, con base en estudios in vitro, presentan actividad incluso frente a líneas de células resistentes al Taxol. Su mecanismo de acción, como el del Taxol, consiste en el bloqueo de la reproducción celular durante dos fases de la mitosis (metafase y anafase). Este bloqueo es consecuencia de la inducción de la polimerización de la tubulina y posterior estabilización de microtúbulos, formaciones celulares encargadas de desplazar los cromosomas hacia los dos polos de la célula.[9]

Por otro lado, muchas plantas de la familia Solanaceae acumulan alcaloides esteroidales basados en un esqueleto colestano, *e.g*. solasodina y tomatidina. Los

glicoalcaloides obtenidos a partir de plantas del género *Solanum* se han utilizado para tratar el cáncer desde hace siglos en la India, y en la Medicina Tradicional China.

Solanum nigrum (SN) llamada popularmente hierba mora o tomate del diablo, se utiliza con frecuencia como un ingrediente elemental para la terapia clínica del cáncer.[10] Recientemente, muchos estudios *in vitro* han demostrado los efectos antitumorales de SN, en varios tipos de cáncer, como la leucemia y cáncer de próstata, hígado, mama, pulmón, estómago, colon, vejiga y cáncer de endometrio.[10-12] También se ha observado que los extractos acuosos de *Solanum nigrum* tienen un efecto sinérgico al combinarse con drogas como el docetaxel, quimioterapéutico estándar en células de cáncer de endometrio humano.

Los productos brevemente descritos corresponden a metabolitos secundarios obtenidos a partir de diferentes fuentes naturales, con un gran potencial terapéutico para desarrollar nuevos agentes o nuevos tratamientos, que permitan un avance significativo en el tratamiento de enfermedades con altos índices de morbilidad y mortalidad como ciertos tipos de cáncer. Recordemos que en México, durante 2012 el cáncer de mama fue la segunda causa de mortalidad en mujeres de 20 años y más. Por otro lado, según la Unión Internacional Contra el Cáncer (UICC), el cáncer es la tercera causa de muerte y se estima que cada año se detectan 128 mil nuevos casos.[13]

3. Antecedentes

Los esteroides constituyen un importante grupo de productos naturales de origen vegetal y animal formados por la ciclación de (3*S*)-2,3-epóxido del escualeno, poseen el esqueleto tetracíclico del ciclopenta[a]fenantreno.[14] (figura 1).

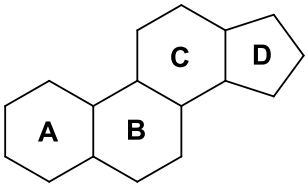


Figura 1. Ciclopenta[a]fenantreno

A medida que los esteroides fueron aislados y caracterizados se les asignaron nombres triviales basados generalmente en su origen o en sus particulares propiedades biológicas, lo cual dio origen a una nomenclatura no sistemática.

La nomenclatura IUPAC de los compuestos esteroidales se realiza a partir de un número limitado de estructuras fundamentales (figura 2).[15]

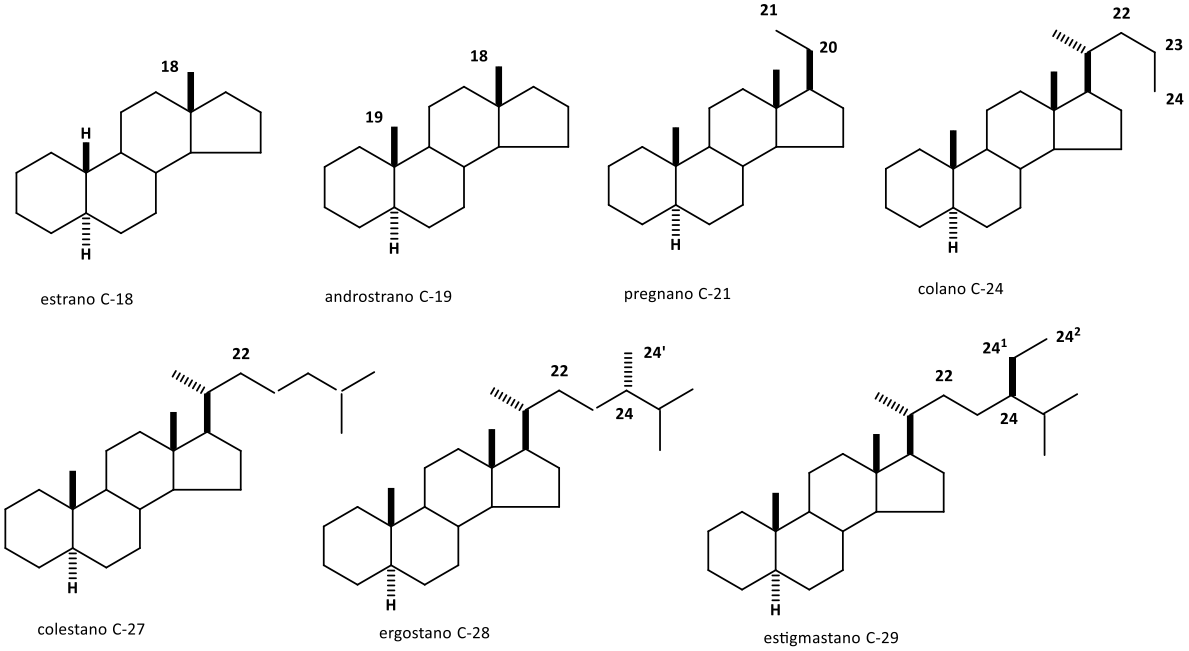
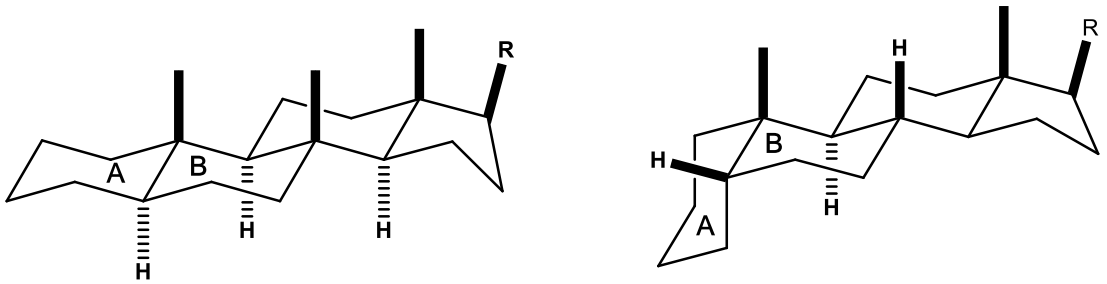


Figura 2. Ejemplos de estructuras esteroidales fundamentales.

La orientación en el espacio de los sustituyentes se indica por el símbolo α o β. Los enlaces que se orientan hacia arriba del plano del sistema de anillos se designan como β y se representan por líneas gruesas, por otra parte, los sustituyentes α son aquellos que se orientan hacia abajo del plano formado por la estructura esteroidal y se representan por líneas punteadas.

La unión de los anillos A y B puede ser *trans* o *cis* dando origen a los esteroides de la serie 5α y 5β. La unión de los anillos B y C en los esteroides naturales es *trans* (figura 3).[16]



5α – esteroide 5β – esteroide

Figura 3. Esteroides de la serie 5α y 5β.

La palabra esteroide abarca un gran número de productos naturales presentes en la naturaleza desarrollando funciones biológicas muy diversas, son moléculas policíclicas complejas que se encuentran en plantas y animales. Para su estudio se les ha agrupado en diversas familias, algunas de ellas son:

- Hormonas adrenocorticales o corticosteroides. Son sustancias sintetizadas por la corteza suprarrenal a partir del colesterol. Actúan principalmente sobre el metabolismo de los hidratos de carbono, proteínas y grasas, también intervienen como reguladores del balance electrolítico y del agua.[17]
- Andrógenos. Las hormonas andrógenas son secretadas principalmente por los testículos, el andrógeno más potente es la testosterona. Controlan el desarrollo y mantenimiento de los caracteres sexuales secundarios y de otras funciones fisiológicas.[16]

- **Vitamina D o calciferol.** Se le llama vitamina antirraquítica, ya que su déficit provoca el raquitismo. Se puede obtener por irradiación ultravioleta del ergosterol. La vitamina D es la encargada de regular el paso de calcio a los huesos.[18]
- **Estrógenos y progestágenos**. Son las hormonas sexuales femeninas, los estrógenos naturales son secretados principalmente por el ovario y la placenta.[17]

3.1 Aminas esteroidales

Los alcaloides esteroidales o aminas esteroidales pertenecen a un importante grupo de metabolitos secundarios distribuidos en los organismos vivos, a diferencia de los alcaloides, las estructuras esteroidales no se derivan de aminoácidos, las bases esteroidales son derivados de esteroides triterpenoides, por lo tanto se denominan como aminas esteroidales., las cuales se pueden obtener a partir de diversas familias vegetales: **a)** Buxaceae, **b)** Liliaceae y **c)** Solanaceae.[19]

3.2 Importancia del género *Solanum*

El género *Solanum* es la taxonomía enormemente predominante para las aminas esteroidales dentro de la familia Solanaceae. El género *Solanum* comprende aproximadamente 1350 especies, este número corresponde a la mitad de las especies de la familia. Por lo tanto, *Solanum* es uno de los géneros más grandes de plantas con flores.[20] La literatura Fitoquímica sobre este tema es extremadamente voluminosa debido a:

1. Una gran cantidad de especies del género *Solanum* (422) contienen esteroides.

2. La composición estructural sumamente divergente de esta clase de metabolitos.

3. Al género *Solanum* pertenecen plantas de gran importancia para la agricultura, especialmente:

- *Solanum tuberosum* (papa); a nivel mundial después de trigo, maíz y arroz ocupa la cuarta posición en la producción de cultivos agricolas.[21]

- *S. lycopersicum* (Syn.: *Lycopersicum esculentum*; tomate); representa el 26% de la producción con respecto a la producción de los tubérculos de papa. [21]

- *S. melongena* (berenjena), representa el 7% con respecto a la producción de los tubérculos de papa.

3.3 Clasificación de las aminas esteroidales

Las aminas esteroidales presentes en las familias Solanaceae y Liliaceae poseen un esqueleto con 27 átomos de carbono de tipo colestano, y se pueden dividir en cinco estructuras tipos (figura 4).[19]

a) Solanidano (**i**)

b) Espirosolano (**ii**)

c) 22,26-Epiminocolestano (**iii**)

d) Solanocapsina (**iv**)

e) 3-Aminoespirostano (**v**)

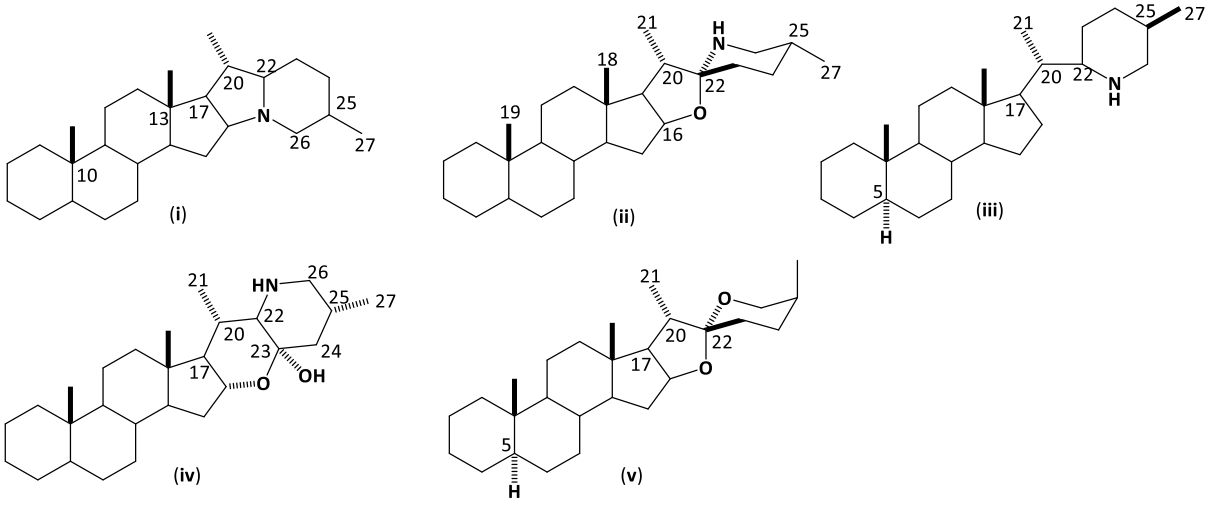


Figura 4. Estructuras tipo de aminas esteroidales colestánicas (**i-v**)

3.4 Espirosolanos

Esta tipología estructural es la más común respecto al número de estructuras divergentes, así como en cuanto a la frecuencia principal en la familia Solanaceae. Puede ser subdividido en dos subgrupos diastereoisomericos, espirosolanos de la serie 25*R*- y de la serie 25*S*. El grupo metilo en C-25 en ambas series está en posición ecuatorial; los (25*R*)-spirosolanos presentan una configuración 22*R*, 25*R* en la cadena aminoespirocetálica, y en la serie (25*S*), los anillo E y F presentan una configuración 22*S*, 25*S*; ambos tipos comparten un carbono espiro en la posición 22.

La solasodina (**1**) es el congénere dominante de la serie 25*R* y la aglicona individual más frecuente de todos los tipos de glicoalcaloides de las Solanáceas. Se detectó inequívocamente en 207 de 367 especies de *Solanum* (56%) que dieron positivo para alcaloides esteroidales[22] (figura 5).

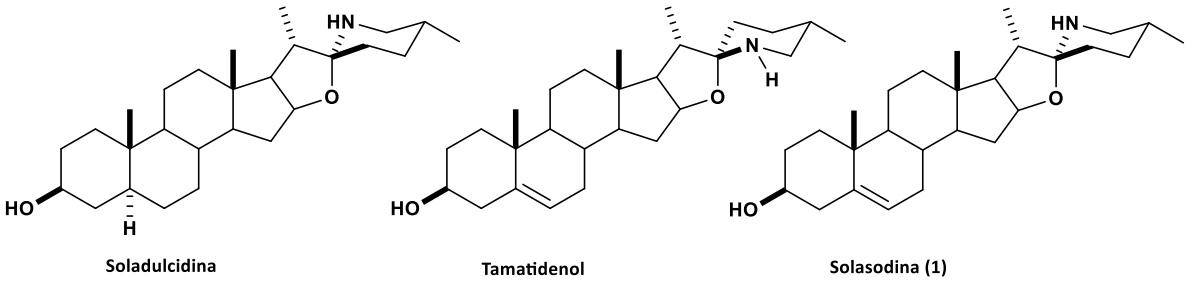


Figura 5. Espirosolanos de la serie 25*R* y 25*S*

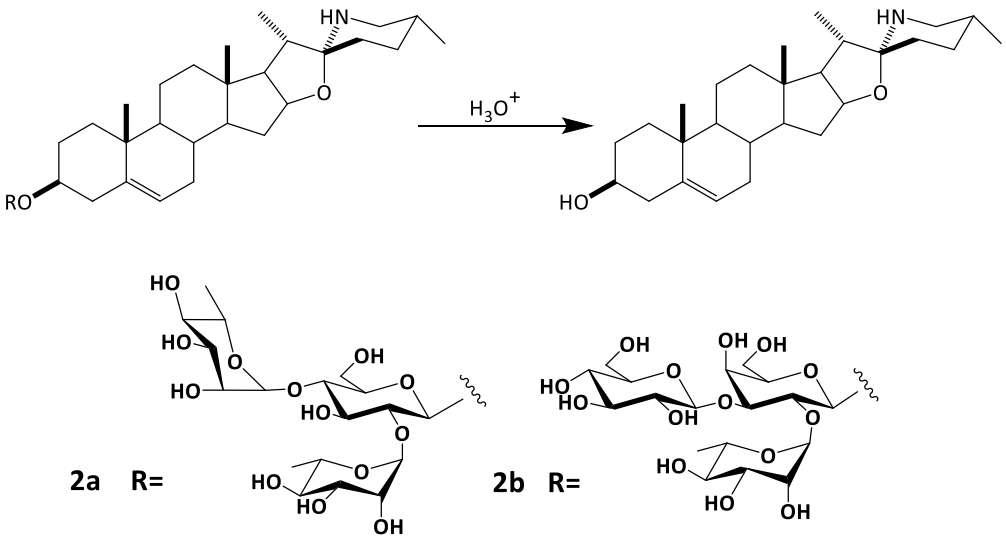
La solasodina (**1**) desempeña un rol predominante en el género *Solanum*, se han realizado enormes estudios fitoquímicos para encontrar una materia prima que permita la obtención de solasodina a nivel industrial. Los resultados de un estudio con 143 especies concluyó que la solasodina se encontraba en un rango de concentraciones de 0 a 0.1%, en otro estudio con 83 especies, fue posible cuantificar una concentración de los glicósidos de la solasodina de 0.11 a 4.4%.[23] Las especies que generaron el mayor rendimiento de solasodina resultaron ser *S. aviculare (*planta endémica de Australia y Nueva Zelanda) y *S. lacianatum* (4.4%) [24].

En contraste con la solasodina, su 5,6-dihidro derivado la soladulcidina tiene una incidencia muy discreta, fue detectada sólo en 10 especies de *Solanum*.

3.5 Glicoalcaloides

Los glicoalcaloides constan de dos componentes estructurales; una unidad aglicona con un esqueleto colestano de 27 átomos de carbono de naturaleza hidrofóbica con un nitrógeno incorporado en el anillo F, y una segunda unidad de carácter hidrofílico, consistente en una cadena de hidratos de carbono unida por medio de un enlace glicosidico a la posición 3-OH de la aglicona. La mayoría de los glicoalcaloides encontrado en el género *Solanum* pertenecen a los núcleos solanidano y espirosolano. Por lo menos 90 alcaloides esteroidales de estructura diferente se han identificado de más de 350 especies del género *Solanum*.[25]

En el caso de la berenjena los principales glicoalcaloides son la solamargina (**2a**) y la solasonina (**2b**), ambos poseen como aglicona la solasodina[25] (esquema 1).



Esquema 1. Estructuras de los glicoalcaloides solamargina (**2a**) y solasonina (**2b**)

3.6 Propiedades anticancerígenas de los glicoalcaloides y agliconas

La actividad biológica de los glicoalcaloides del género *Solanum* deriva principalmente de dos propiedades, (a) de la habilidad que presentan para acomplejarse con los 3β-

hidroxiesteroles y romper la integridad funcional de la membrana, y (b) la inhibición de la acetilcolinesterasa (enzima importante en la transmisión de impulsos nerviosos) y butirilcolinesterasa (enzima que presenta cierta función en contra de toxinas específicas).

La solanina, un glicoalcaloide de sabor amargo presente en las patatas, a dosis de 2 a 5 mg de peso corporal, puede causar efectos tóxicos que se manifiestan alteraciones gastrointestinales (diarrea, vómito, dolor abdominal) y neurológicas (alucinaciones dolor de cabeza). Las variedades comerciales de papa tienen controlados los niveles de solanina y la mayoría tiene un contenido de solanina menor a 0.2 mg/g.

La Solamargina, glicoalcaloide aislado en al menos 100 especies del género *Solanum*, puede inhibir el crecimiento en un número de líneas celulares de cáncer, por ejemplo, células de colon, próstata, mama, hepatoma humano[26]. Se ha demostrado que exhiben una mayor efecto efecto citotóxico que el metotrexato, 5-fluorouracilo, epirrubicina, cisplatino y ciclofosfamida contra líneas celulares de cáncer de mama humana.[27] El mecanismo de acción aceptado generalmente se describe como apoptosis. Shiu et al.[27] en un estudio con células de cáncer de mama, describe el mecanismo de acción de la solamargina de la siguiente forma: la solamargina incrementa la regulación de las expresiones de los receptores externos de muerte y también conduce a una relación intrínseca aumentada de Bax, Bcl-2, que da como resultado en la liberación de citocromo mitocondrial y la activación de caspasa-8, caspasa-9 y caspasa-3 en las células, lo cual indica que la solamargina desencadenó la apoptosis por la vía extrínseca e intrínseca de las células cancerígenas.[27,28]

En 1993 se demostró que la solamargina es efectiva para tratar líneas celulares resistentes a múltiples fármacos (MDR).

La resistencia desarrollada por muchos pacientes con cáncer al tratamiento con agentes anticancerígenos estándar es un problema serio encontrado en la quimioterapia del cáncer, y se puede desarrollar en una población celular a través de la exposición repetida al tratamiento con un fármaco particular. Esta población de células puede mostrar posteriormente amplia resistencia cruzada a otros agentes anticancerígenos a pesar de que

nunca ha sido expuesto a los agentes, y este fenómeno se llama resistencia a múltiples fármacos. (MDR) puede estar relacionado con la presencia de un gen MDR1 que codifica una proteína (Pgp; P-glicoproteína) que bombea eficazmente los fármacos fuera de la célula, impidiendo de ese modo sus acciones anti-tumorales. Varios compuestos que revierten este efecto in vitro en estudios de línea celular (los llamados inhibidores MDR).

En 1999 fue demostrado que la solamargina fue mucho más eficaz que el taxol, cisplatino o gemcitabina en el tratamiento del cáncer de pulmón.[29]

El cáncer de pulmón puede ser clasificado en: de células pequeñas (SCLC) y el de células no pequeñas (NSCLC). Debido a que las células de SCLC tienen menor tamaño y crecen más rápido que las del NSCLC, y por lo general se distribuyen en la región central de pulmón, esta condición hace difícil tratar quirúrgicamente el SCLC. Desafortunadamente, las células de SCLC impregnan al tejido linfático y otros sitios en una etapa temprana, y por lo general el paciente se diagnostica en la fase terminal de la enfermedad.

Sin embargo, mientras el SCLC es muy sensible a los fármacos empleados para tratar este padecimiento, las células de NSCLC presentan con frecuencia fármaco-resistencia difícil de superar en la terapia clínica. De acuerdo con la experiencia clínica, la mayoría de los pacientes con cáncer de pulmón no mitocrítico (CPNM) no pueden ser controlados eficazmente por las quimioterapias, y a los 5 años la tasa promedio de supervivencia es inferior al 10%. Es importante, por lo tanto, desarrollar terapias farmacológicas que permitan superar el mecanismo resistente a los medicamentos de NSCLC.[29]

3.7 Solasodina

La solasodina (**1**) es un alcaloide esteroidal alternativo a la diosgenina como materia prima para la síntesis de drogas esteroidales, ya que ambos se pueden degradar al acetato de 16-dehidropregnenolona, considerada como el primer precursor en la obtención de una amplia gama de fármacos con estructura esteroidal de interés para la industria farmacéutica como son: los corticosteroides, los anticonceptivos, las hormonas sexuales, entre otros compuestos.[30] En la actualidad la solasodina (**1**) está considerada dentro de los

espirosolanos con mayor utilidad en la síntesis de derivados esteroidales de interés farmacéutico. Esta sapogenina nitrogenada se obtiene a partir de varias especies del género *Solanum*. Como son: *Solanum nigrum*, *Solanum melongena*, etc.[31]

3.8 Importancia biológica de la solasodina

El clorhidrato de solasodina se encuentra en fase de estudios preclínicos.[32,33] La solasodina origina la fragmentación del ADN cuando las células de osteosarcoma human1547 fueron tratadas con el alcaloide durante 24 h, sugiriendo la inducción de apoptosis,[34] un resultado sorprendente y de gran relevancia es que la actividad anticancerígena de la solasodina es comparable a la de sus glicósidos; solamargina y solasonina,[35] indicando que para la inducción de la apoptosis del osteosarcoma humana 1547, el residuo trisacárido no es una parte esencial para la acción observada.

En bioensayos empleando mutantes de levadura, la solasodina ha mostrado actividad antiproliferativa contra las siguientes líneas celulares: cáncer cervicouterino (HeLa), cáncer de mama (MCF7), y adenocarcinoma de colon (HT29).[36]

Otro aspecto relevante con respecto a la relación estructura-actividad de la solasodina, son algunos esteres unidos a la posición 3-hidroxi de su estructura, han mostrado un fuerte incremento de su actividad anticancerígena, en estudios in vitro, frente a líneas celulares PC-3.[37] Uno de los derivados con mayor actividad anticancerígena contra líneas celulares de cáncer de próstata es el compuesto **3** (figura 6).

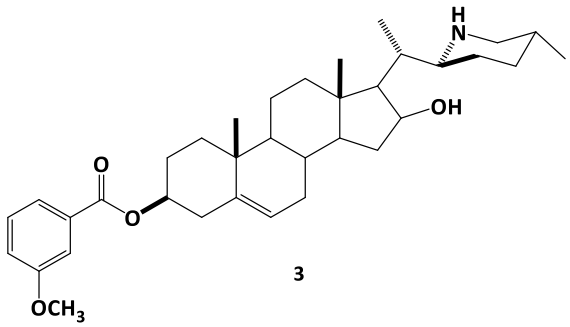
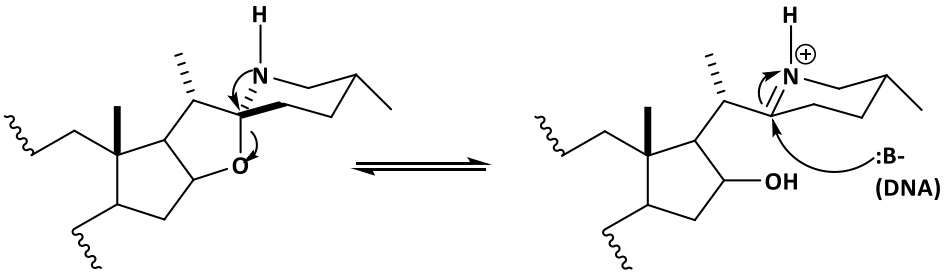


Figura 6. Derivado 22,26-epiminocolestánico con actividad contra cáncer de próstata.

Gunatilada y colaboradoes en 1992 propusieron un mecanismo hipotético de la modificación del DNA provocado por la solasodina o por la *O*-acelisolasodina donde el área responsable para esa alteración seria precisamente debida a la presencia del grupo espiroaminocetal de la cadena lateral esteroidal.

El grupo espiroaminocetal podría abrirse produciendo una especie imino con propiedades fuertemente electrofilicas, capaz de promover la alquilación del ADN[38] (esquema 2).

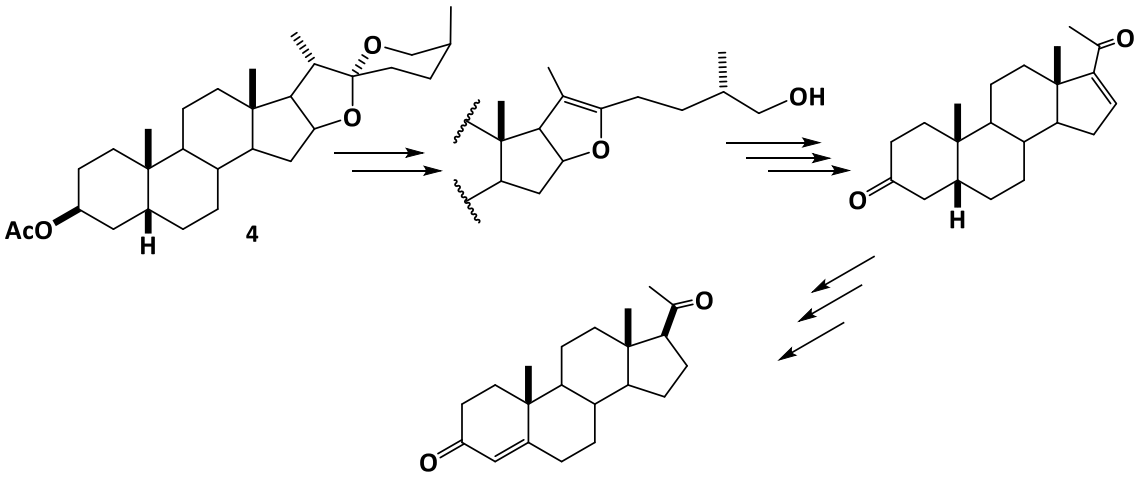


Esquema 2. Posible mecanismo de reacción entre un hipotético derivado iminio de la solasodina y el ADN.

3.9 Síntesis de solasodina

En la síntesis de solasodina generalmente la materia prima es la diosgenina y la etapa principal es la apertura regioselectiva del anillo F para generar la pseudodiosgenina, esta transformación es de gran importancia en la química de las sapogeninas, ya que fue clave de la degradación de Marker.

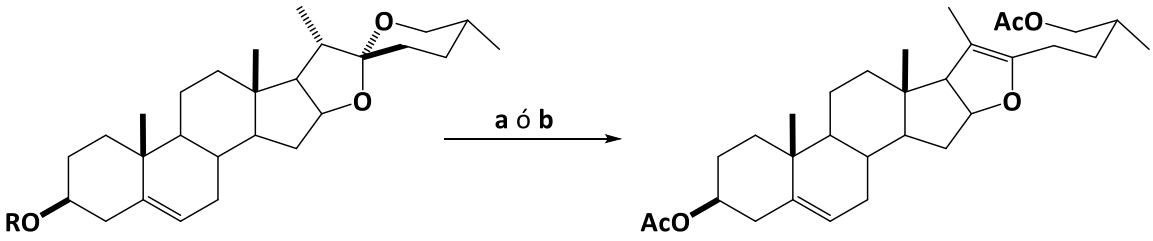
En el proceso de degradación de Marker (esquema 3), la apertura del anillo F de la sarsasapogenina (**4**), requiere el empleo de anhídrido acético y de un autoclave para alcanzar la temperatura de 200 °C.[39]



Esquema 3. Degradación de la pseudosarsasapogenina (**4**) a progesterona.

A partir de la segunda mitad del siglo XX diversos grupos de investigación han estudiado en forma exhaustiva la transformación de diversas sapogeninas en sus pseudoderivados. Considerando la naturaleza química del grupo espirocetálico, el uso de diversos catalizadores ácidos ha permitido alcanzar avances significativos en la formación de pseudoderivados.

En 1952 Gould[40] y colaboradores utilizando diversos catalizadores ácidos (HCl, CH_3COCl, p-TsOH, $AlCl_3$) transformaron el acetato de diosgenina (**5a**) al diacetato de pseudodiosgenina (**6**) empleando anhídrido acético a temperaturas menores a las empleadas por Marker. Dos años después, Dauben[41] y colaboradores obtuvieron diacetato de pseudodiosgenina (**6**) a partir de diosgenina (**5**) con un rendimiento del 84% al utilizar como catalizador cloruro de piridinio (esquema 4).



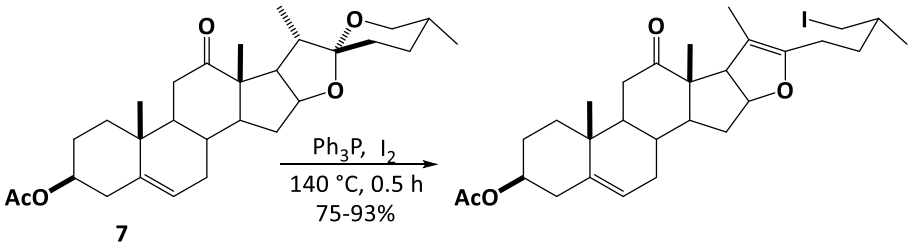
5, R = H
5a, R = Ac

6

a. Ac_2O / $AlCl_3$ / 165-171°C / 60%, **b**. Ac_2O / Py-HCl / Reflujo / 5 h / 84%

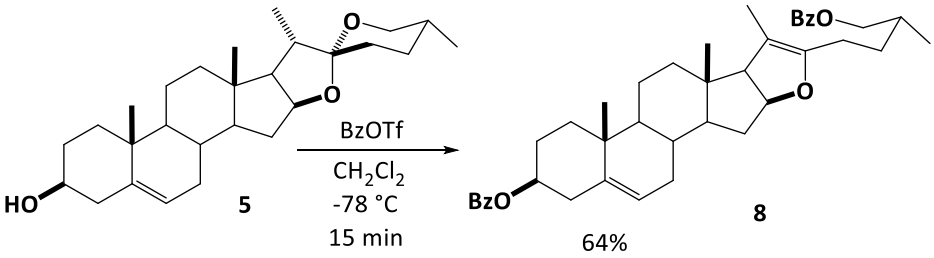
Esquema 4. Obtención de diacetato de pseudodiosgenina (**6**).

En 1999 LaCour[42] y colaboradores, lograron abrir regiosectivamente el anillo F del acetato de hecogenina (**7**) con yodo y trifenilfosfina a 140 °C (esquema 5)



Esquema 5. Apertura regioselectiva del anillo F del compuesto **7.**

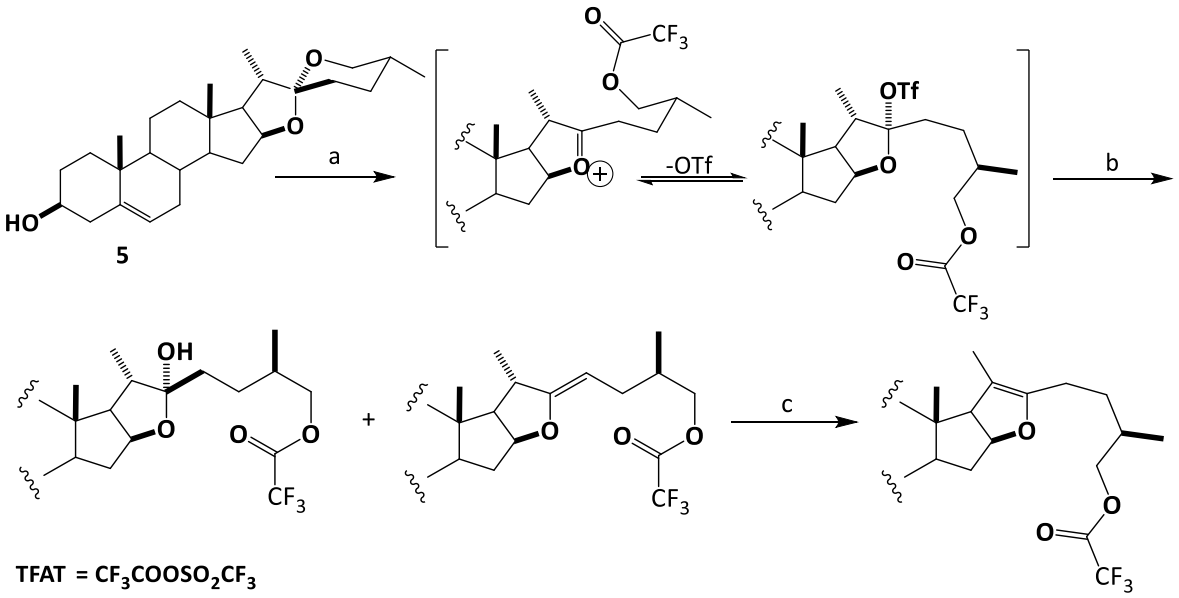
Otro enfoque en la degradación de la cadena espirocetálica de sapogeninas fue el empleo de anhídridos mixtos. En 1984 Brown y Koreda reportaron la síntesis de dibenzoato de pseudodiosgenina (**8**) al tratar diosgenina (**5**) con trifluorometansulfonato de benzoilo (BzOTf).[43] (esquema 6).



Esquema 6. Reacción de diosgenina (**5**) con BzOTf.

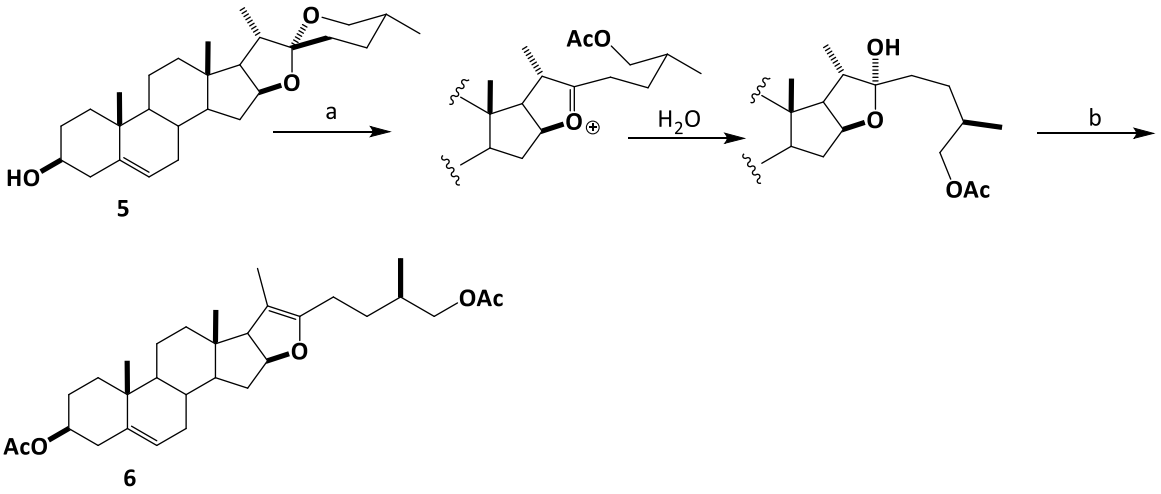
En 2003 Fuchs[44] reportó la formación de diversos pseudoderivados con otro anhídrido mixto: el trifluorometansulfonato de trifluoroacetilo.

El reactivo se preparó *"in situ"* con una mezcla 2:1 de ácido trifluoroacético:ácido trifluorometansulfónico. Con diosgenina (**5**) el rendimiento obtenido fue del 96% (esquema 7).



Esquema 7. Reacción de diosgenina (5) con TFAT.

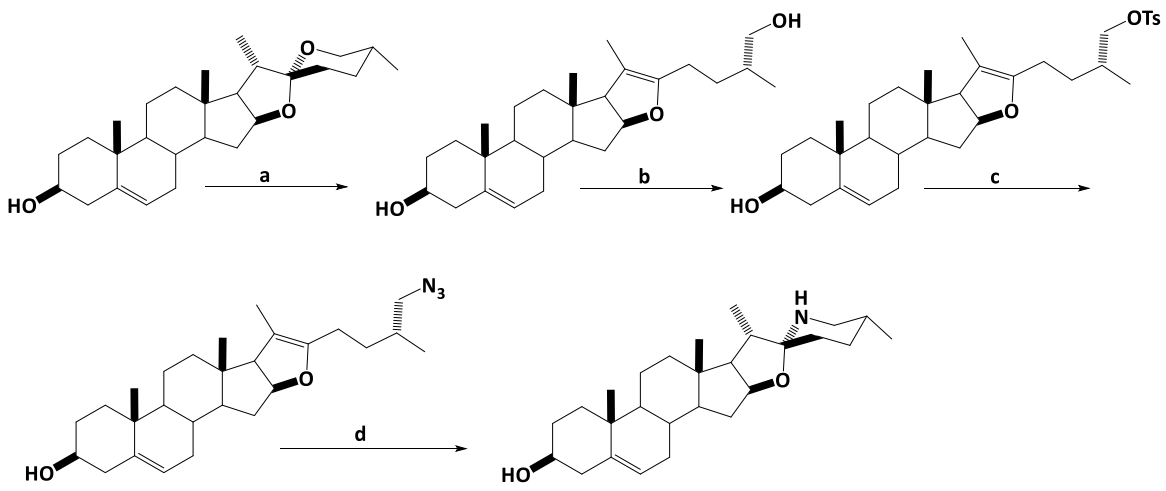
En el año 2005, nuestro grupo de investigación publicó un método altamente eficiente para esterificar alcoholes por medio de anhídridos mixtos, obtenidos a partir a un ácido carboxílico y anhídrido trifluoroacético (ATFA) o por la reacción de ácido trifluoroacético (ATF) y el anhídrido de un ácido carboxílico.[45] Posteriormente al combinar el poder acilante del anhídrido acético trifluoroacético AATFA, con la capacidad catalítica del BF_3OEt_2, fue posible desarrollar una metodología que permitió la apertura regiosectiva del anillo F de la cadena espirocetálica de diferentes sapogeninas para generar furostenos con sustituyentes en la posición 22 o pseudosapogeninas.[46] La obtención de la pseudosapogenina se llevó a cabo en dos etapas; en la primera se obtiene un compuesto con estructura de furosteno sustituido con un grupo hidroxilo en la posición 22. La deshidratación del grupo hidroxilo de la posición 22 se lleva a cabo adicionando una cantidad catalítica de ácido *p*-toluensulfónico, y manteniendo la reacción con agitación por 10 minutos a temperatura ambiente (esquema 8).[46]



a. i).$BF_3 \cdot OEt_2/CH_2Cl_2$/ATFAA (temp=25°C, 5 min); **b**. TsOH, (temp=25°C, 10 min)

Esquema 8. Metodología para la obtención de acetato de pseudodiosgenina con ATFAA.

La mayoría de las síntesis de solasodina descritas en la literatura presentan como etapa fundamental la obtención de un éster de pseudodiosgenina; de esta forma en 2007 el grupo de investigación de Sun y Lee [47] lograron obtener solasodina como se muestra en el esquema 9, la apertura del anillo F de diosgenina se realiza en Ac_2O y xileno con AcCl como catalizador, seguido por una hidrólisis con una solución de KOH obteniendo la pseudodiosgenina con 70% rendimiento, este producto se sometió a un tratamiento con TsCl en piridina del cual se obtiene un derivado tosilado; posteriormente en DMF se agrega el derivado tosilado con NaN_3 que se mantiene a 50-70 º C durante 2 h para obtener al compuesto azida en la posición 26, este grupo es reducido en un último paso mediante una técnica que utiliza TMSCI para obtener la amina correspondiente, seguido de una ciclación automática dando lugar a la formación de la solasodina (esquema 9).



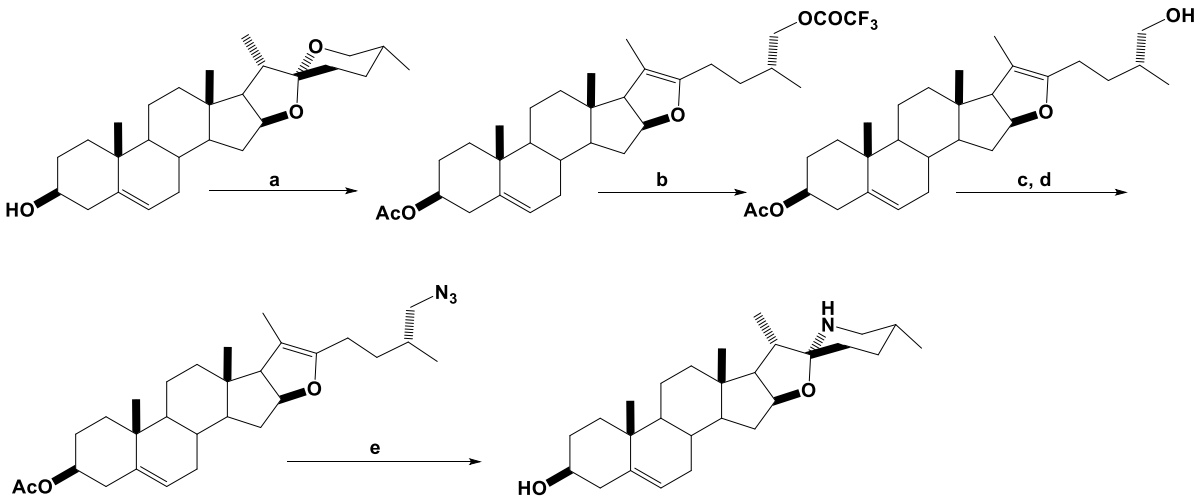
a. (i). Ac_2O/AcCl, Xileno, 160 °C, 10 h, (ii). KOH, MeOH, H_2O, (2 pasos 71%), b. TsCl, Py, 0 °C, 12 h, 50%

c. NaN_3/DMF, 50 - 70 °C, 97% d. TMSCl, NaI, CH_3CN, t. amb., 30 min, 70%

Esquema 9. Síntesis de Solasodina a partir de Diosgenina.

En 2011 el grupo de investigación de Zang y colaboradores [48] comunicaron la síntesis de solasodina a partir de diosgenina. En la primera etapa la apertura del anillo F se llevó a cabo con el anhídrido mixto TFAT obteniendo el trifluoroacetato de pseudodiosgenina con un rendimiento del 90% como se muestra en el esquema (10).

Para llegar a la molécula objetico (solasodina) se protegió el hidroxilo que se encontraba en la posición 3, seguida de la apertura del anillo espirocetálico, la cual se realizó con TFAT a -40 ˚C, la activación de la posición 26 se obtuvo por hidrólisis con $NaHCO_3$/MeOH; posteriormente se hizo reaccionar con p-TsCl y piridina para obtener el compuesto 26-p-toluensulfonato, una vez obtenido este compuesto, se logró una sustitución en el C-26 por un grupo azida, el cual se consiguió con NaN_3 en DMF. Se realizó una hidrolisis para eliminar el grupo éster que se encontraba en C-3 mediante una solución de NaOH, finalmente se consiguió la reducción de N_3 mediante cloruro de trimetilsilano (TMSCl)/NaI en MeCN; bajo condiciones ácidas la amina primaria obtenida se logra ciclarse automáticamente dando como resultado la solasodina (esquema 10).



a. (i). Ac_2O, Py, (ii). TFAT, -40 °C, 90%, (2 pasos) b. $NaHCO_3$/MeOH/H_2O, 98%, c. TsCl, Py, -30 °C, d. NaN_3/DMF, 60 °C, 90% e. (i) NaOH, MeOH/H_2O, (ii) NaI, CH_3CN, TMSCl, (2 pasos)

Esquema 10. Obtención de Solasodina.

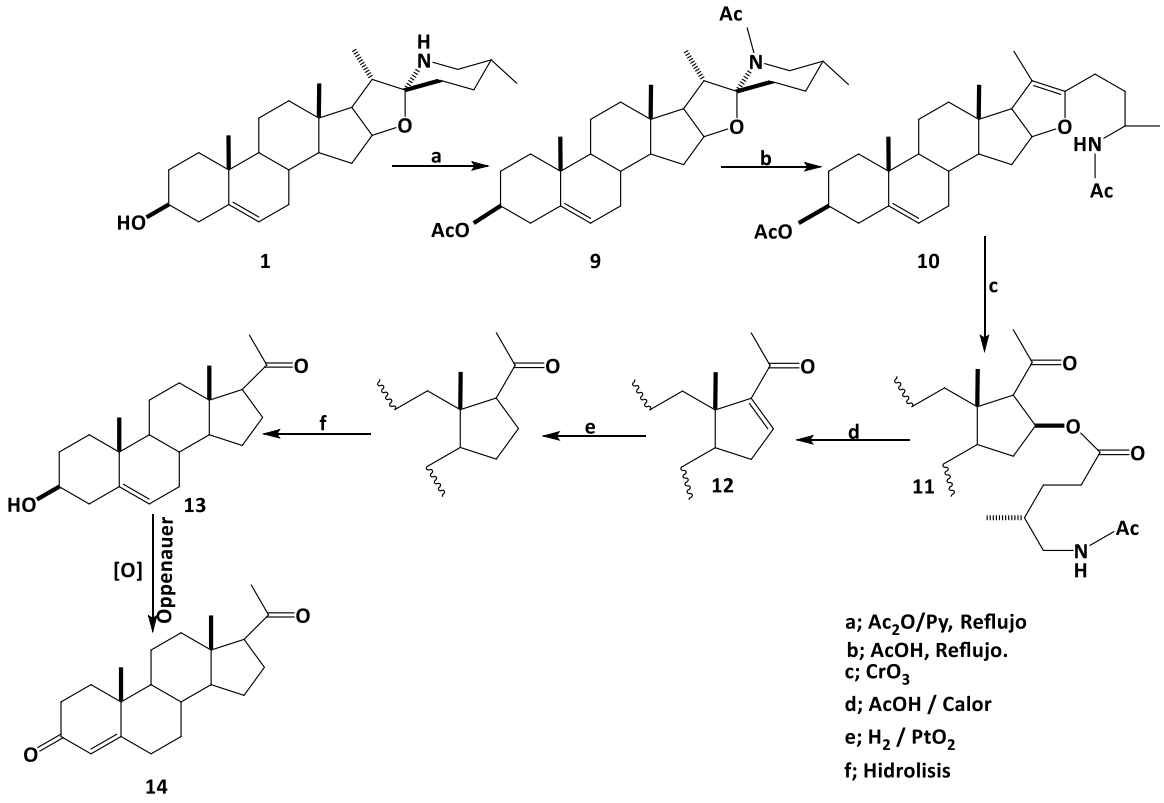
3.10 Transformaciones de la cadena espiroaminocetálica de la solasodina

A finales de los años 30, Russell E. Marker, químico, botánico y farmacólogo, trabajaba en la investigación de un grupo de moléculas conocidas como sapogeninas, derivadas de las saponinas. El estudio de la estructura química de estos compuestos le permitió advertir la gran semejanza que existía entre ellos y la progesterona humana.

En 1939, Marker describió un método original, conocida todavía como la degradación de Marker, mediante el cual era posible convertir sapogeninas en progesterona. Este fue el primer paso para alcanzar la producción masiva de hormonas esteroideas, como cortisona, prednisona, testosterona, estrógenos etc.

En 1951, Sato[49] publicó la degradación de solasodina (1) por un procedimiento semejante al empleado por Marker para la diosgenina. En donde la solasodina (1) al ser tratada inicialmente con anhídrido acético produce el diacetato de solasodina (9) posteriormente se hace la apertura de la cadena espiroaminocetalica seguida de la pérdida de un átomo de hidrógeno de la posición 20, generando el furostadieno (10).

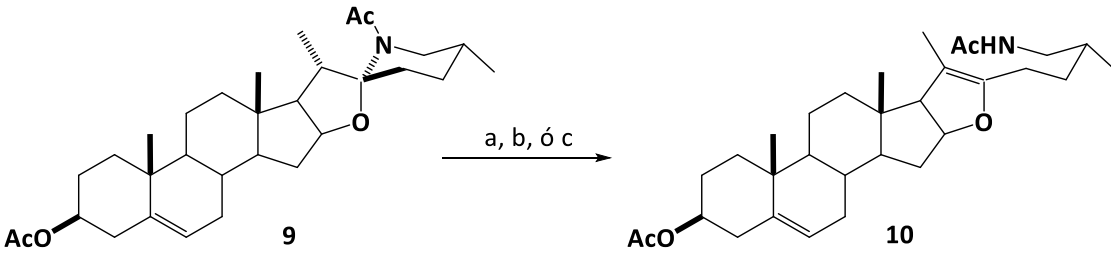
En el siguiente paso se lleva a cabo la oxidación selectiva del doble enlace en el carbono 20 y 22, seguida de la eliminación del grupo éster de la posición 16, y posterior acetilación originando el acetato de dehidropregnenolona (**12**), en el siguiente paso se hace una hidrogenación catalítica del doble enlace en el C16 y C17 la cual ocurre en la cara α la menos impedida, seguida de una reacción de hidrólisis para eliminar el grupo éster de la posición 3, dando así la pregnenolona (**13**), la cual es sometida a oxidación dando la progesterona (**14**) (esquema 11).



Esquema 11. Degradación de la solasodina a progesterona.

De esta forma, la solasodina se ha empleado en la producción farmacéutica de anticonceptivos y otros principios activos esteroidales (corticosteroides, andrógenos, estrógenos, anabólicos, etc.) en varias partes del mundo, en especial en países como Europa del Este, la India y China.[50]

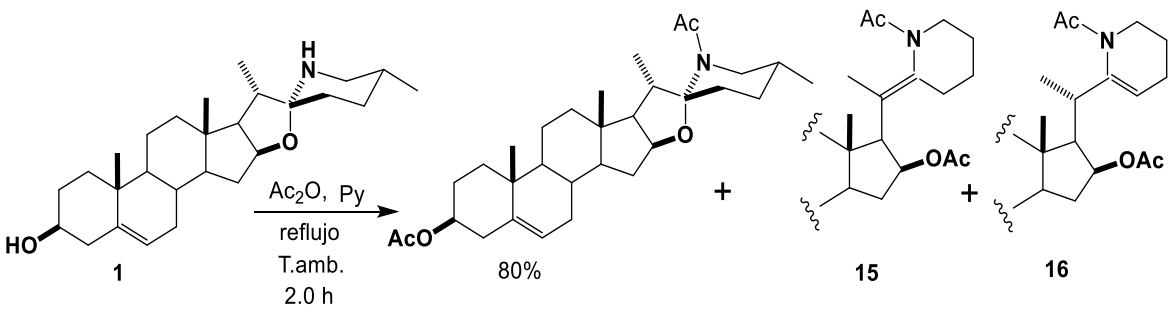
En el proceso de degradación de la solasodina (**1**) la etapa más importante es la obtención de la pseudosolasodina A (**10**), esta transformación se puede lograr con altos rendimientos al tratar acetato de *N*-acetilsolasodina (**9**) con ácidos de Bronsted-Lowry en condiciones anhidras[51] (esquema 12).



a. AcOH glacial / Reflujo, 15 min, 95-98%, b. HCl/CH_2Cl_2, T. amb., 20 min, 90%
c. Cloruro de piridonio / Py, reflujo, 1.5 h, 95%

Esquema 12. Obtención de diacetato de pseudosolasodina (**10**).

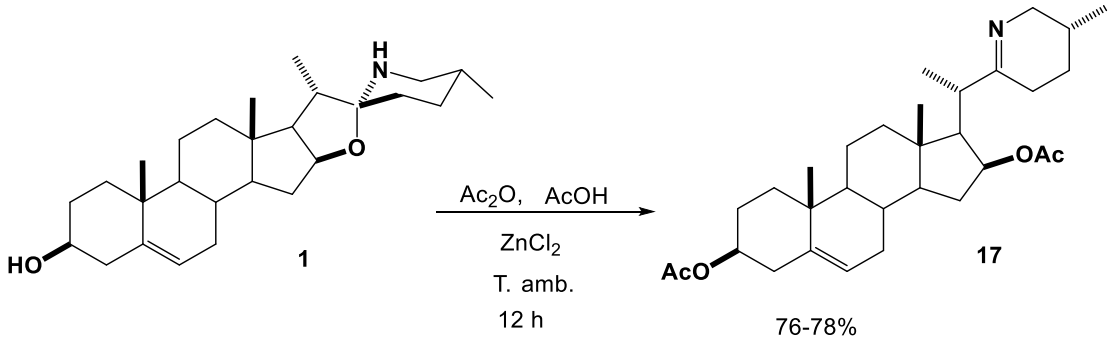
El éxito en la degradación de la cadena aminoespirocetálica de la solasodina depende de la obtención de (**9**). La diacetilación de solasodina con anhídrido acético ha sido objeto de múltiples variantes con resultados no siempre favorables. La acetilación con anhídrido acético y piridina a temperatura ambiente diacetila a la solasodina con bajo rendimiento. Bajo condiciones de reacción más vigorosas, la formación de subproductos en cantidades variables disminuye el rendimiento del derivado diacetilado. De esta forma, cuando la reacción se realiza empleando 8.0 moles de anhídrido acético/piridina calentando a ebullición por 2.0 horas, se obtiene 20% de una mezcla de derivados generados a partir de la apertura del anillo E de la cadena aminoespirocetálica [52] **15**, **16** (esquema 13). Este tipo particular de subproductos puede aumentar hasta un 50% cuando la solasodina se calienta a reflujo con anhídrido acético por varias horas.[52]



Esquema 13. Reacción de solasodina (**1**) con anhídrido acético

3.10.1 Obtención de pseudosolasodina B

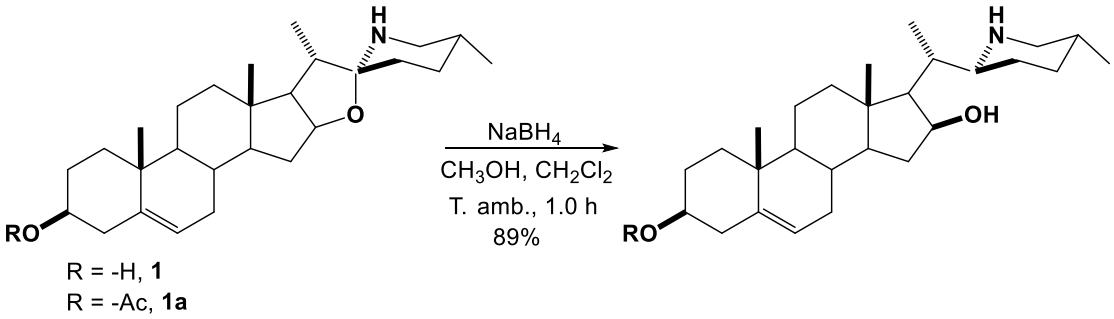
Otro derivado importante es la pseudosolasodina B, obtenido al tratar solasodina con anhídrido acético, ácido acético y cloruro de zinc a temperatura ambiente por 12 horas (Esquema 14).[53]



Esquema 14. Obtención del diacetato de pseudosolasodina B

3.10.2 Apertura regioselectiva del anillo E de la solasodina

La apertura regioselectiva del anillo E de la solasodina (**1**) y/o acetato de solasodina (**1a**), se lleva a cabo con $NaBH_4$ en una mezcla de MeOH-CH_2Cl_2 a temperatura ambiente [54] (esquema 15).

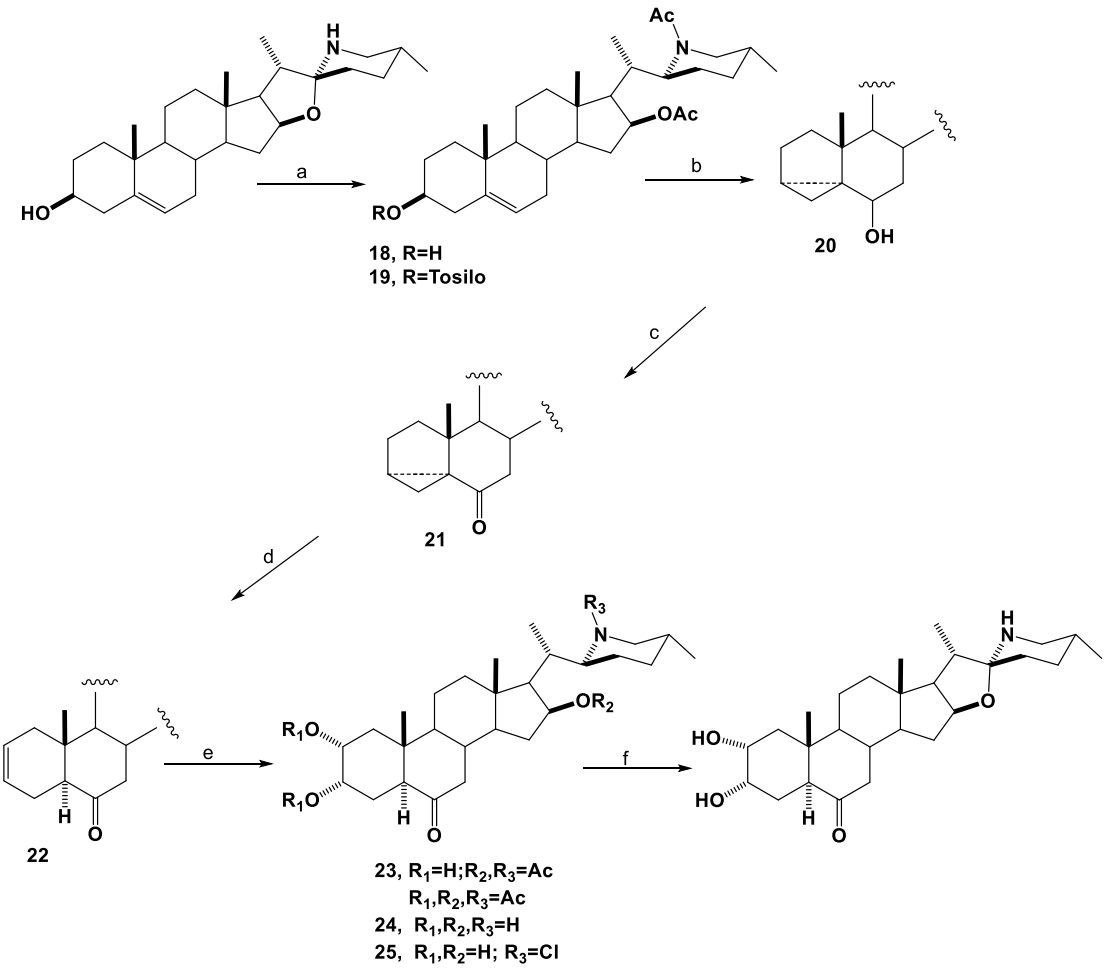


Esquema 15. Reducción regioselectiva de sapogeninas nitrogenadas.

3.11 Obtención de compuestos con actividad biológica a partir de solasodina

En 1994 Schreiber y colaboradores comunicaron la síntesis parcial de análogos de brasinoesteroides nitrogenados con un esqueleto de espirosolano y 22,26-epiminocolestano.[55] (esquema 16).

En la primera etapa se abrió regioselectivamente el anillo E de la solasodina (**1**) con $NaBH_4$ obteniendo el (22S,25R)-22,26-epiminocolest-5-en-3β,16β-diol (solaverbascina), a continuación, se llevó a cabo una acetilación con anhídrido acético en piridina seguido de una hidrólisis parcial con carbonato de potasio en metanol para dar lugar al compuesto **18**, a continuación se realizó una reacción de tosilación con cloruro de tolsilo en piridina para obtener el compuesto **19**, en seguida , el compuesto **19**, se trató con acetato de sodio en acetona acuosa a reflujo por cinco horas genera el compuesto **20**, a continuación se llevó a cabo una oxidación de Collins con trióxido de cromo y piridina, en seguida se llevó a cabo una reacción de eliminación al tratar el compuesto **21** con bromuro de piridinio en DMF a reflujo por cinco horas, obteniendo el compuesto **22**, en seguida por medio de una reacción de oxidación con tetróxido de Osmio se obtuvo el *cis*-diol **23**, a continuación, el compuesto **24** fue obtenido por una hidrólisis al tratar **23** con NaOH en metanol al 5% a reflujo. Finalmente, se realizó una N-cloración, al tratar **24** con N-clorosuccinimida, la formación de la cadena amino espirocetálica se llevó a cabo al tratar el compuesto **25** con metóxido de sodio en metanol a reflujo por dos horas (esquema 16).



a. i).$NaBH_4$/MeOH-CH_2Cl_2, ii). Ac_2O/Py iii). K_2CO_3/MeOH, iv). TsCl/Py (4 etapas); b. AcOK/acetona-agua; c. CrO_3/Py; d. Py-HBr/DMF; e. OsO_4/*N*-oxido de *N*-metilmorfolina/THF; f. i). NaOH 5%/MeOH, ii). N-clorosuccinimida, iii). MeONa/MeOH (3 etapas).

Esquema 16. Obtención de análogos de Brasinoesteroides a partir de solasodina.

Objetivos

Objetivo general

- Desarrollar una nueva ruta de síntesis para la obtención de la sapogenina nitrogenada solasodina, a partir de diosgenina.

Objetivos particulares

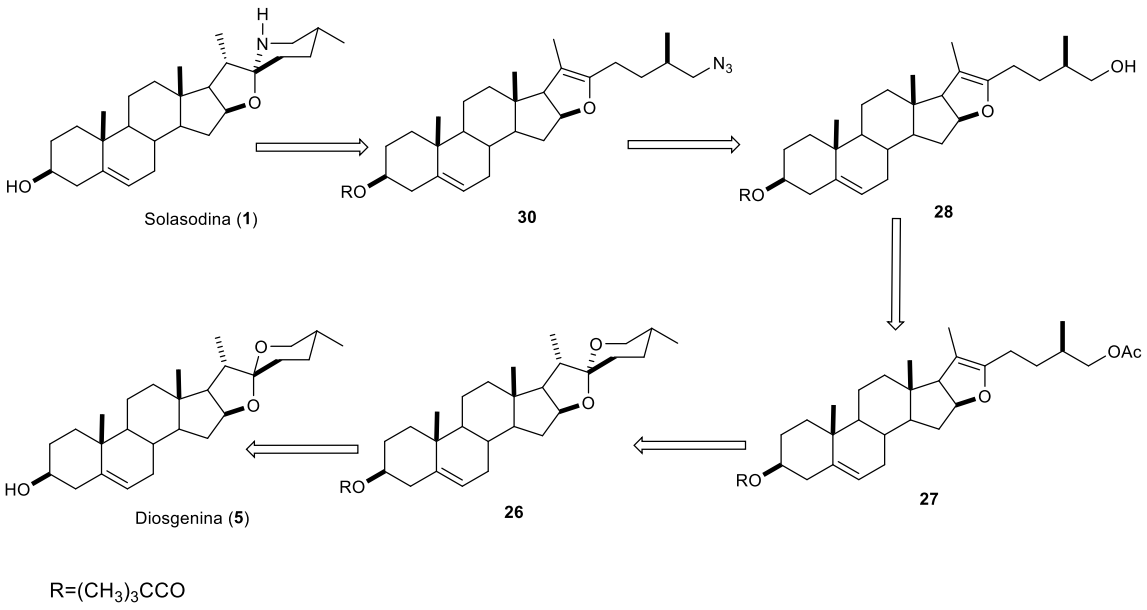
- Optimizar las diferentes metodologías desarrolladas por nuestro grupo de investigación, así como los rendimientos y las condiciones de reacción de las diferentes etapas de la síntesis.

- Caracterizar por métodos físicos y espectroscópicos todos los compuestos sintetizados.

- Proponer posibles mecanismos de reacción en las diferentes etapas de la síntesis.

Metodología

El esquema general de trabajo inicia con el análisis retrosintético de la molécula de solasodina, la primera desconexión implica la apertura del anillo F de la cadena aminoespirocetálica, dando como intermediario una estructura furostadienica con una función nitrogenada en la posición 26 y un grupo protector en la posición 3 del compuesto **30**, la función nitrogenada de la posición 26 se puede obtener a partir del compuesto **28**, por una secuencia de dos reacciones; que inicia con la transformación del grupo hidroxilo en un buen grupo saliente, y en seguida, por medio de una reacción de sustitución nucleofílica de tipo concertado, el grupo saliente unido a la posición 26 es desplazado por un grupo nitrogenado que actúa como nucleófilo. El compuesto **28**, se puede obtener a partir de la hidrólisis del grupo acetato de la posición 26 del compuesto **27**, este último compuesto se puede preparar por medio de la apertura regioselectiva del anillo F de la cadena espirocetálica del compuesto **26**. De esta forma, la primera etapa de la síntesis será una reacción de protección de la posición 3 de la diosgenina.



Esquema 17. Esquema general para la obtención de solasodina.

Discusión de resultados

Para iniciar con el desarrollo del presente trabajo, se procedió a purificar y caracterizar la materia prima, esta etapa es de gran importancia, ya que las impurezas presentes en la diosgenina pueden dar otro tipo de reacciones secundarias que afectan el rendimiento y la purificación de los productos obtenidos.

La diosgenina comercial se purifico por cromatografía por columna con soporte gel de sílice, empleando un sistema 7/3 (Hexano/AcOEt).

Caracterización espectroscópica de diosgenina (5)

En el espectro de RMN ^{1}H para la materia prima diosgenina (**5**), podemos ver en 5.34 ppm una señal doble con una constante *J*=5.2 Hz que pertenece al protón vinílico H-6. En 4.40 ppm se observa la señal ddd, que corresponde a H-16 con una constante de acoplamiento $J_{16\alpha\text{-}17\alpha}$=$J_{16\alpha\text{-}15\alpha}$=$J_{16\alpha\text{-}15\beta}$=7.6 Hz. En 3.51 ppm se localiza una señal múltiple ancha para el protón base de oxígeno H-3. En 3.45 y 3.37 ppm se observan dos señales dobles de dobles asignadas a los protones diasterotópicos H26e y H26a respectivamente con $J_{26e\text{-}26a}$=11.0 Hz, $J_{26e\text{-}25a}$=4.0 Hz, y $J_{26a\text{-}26e}$=11.0 Hz, $J_{26e\text{-}25a}$=11.0 Hz. En 1.02 y 0.79 ppm aparecen las señales para los metilos angulares 19 y 18 respectivamente, en 0.97 ppm se encuentra una señal doble (*J* = 7.2 Hz) asignada el metilo de la posición 21, y por último en 0.79 se localiza una señal doble que integra para tres protones y que corresponde al metilo 27, presenta una *J*= 6.4 Hz debida al acoplamiento con el protón en H-25.

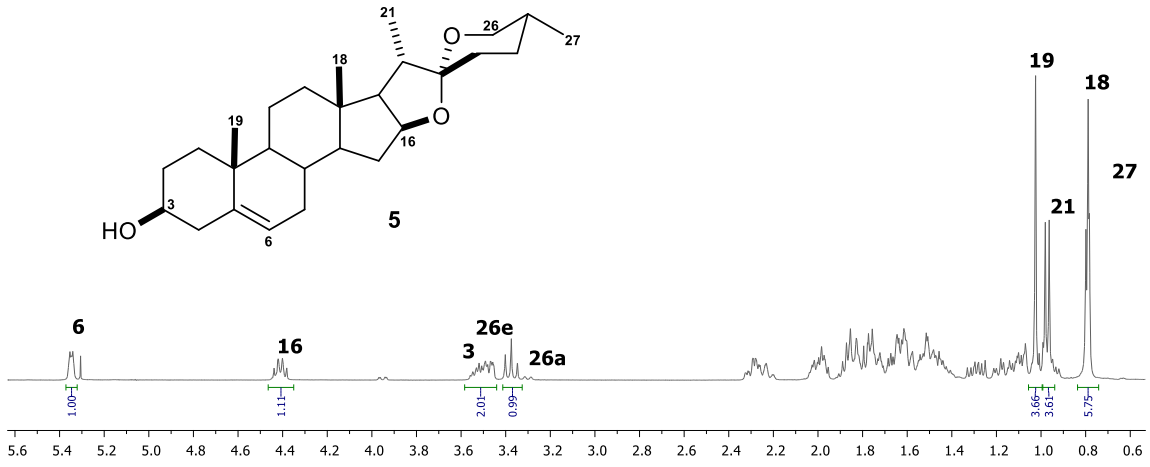


Figura 7. RMN de^{1}H del compuesto **5.**

En el espectro RMN de ^{13}C se observan 27 señales, mismas que representan a los 27 átomos de carbono que existen en la molécula de diosgenina; destacan las señales de los carbonos vinílicos C-5 en 140.8 y 121.4 ppm para C-6, a frecuencias más bajas podemos ver las señales en 71.7, 80.8 y 66.8 ppm que corresponden a los carbonos base de oxígeno C-3, C-16 y C-26 respectivamente; además la señal para el carbono espirocetálico C-22 se observa 109.3 ppm.

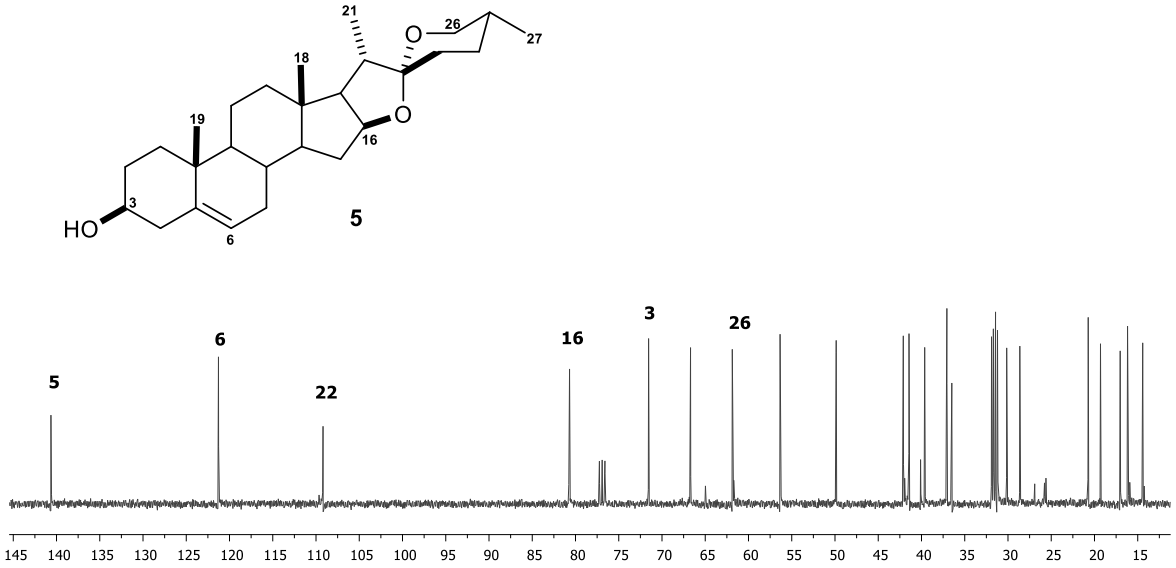
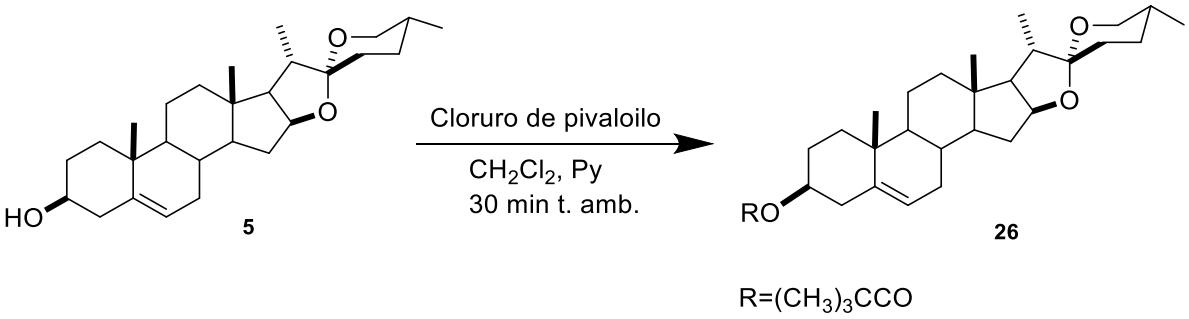


Figura 8. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto **5**.

Obtención del pivaloato de diosgenina (26)

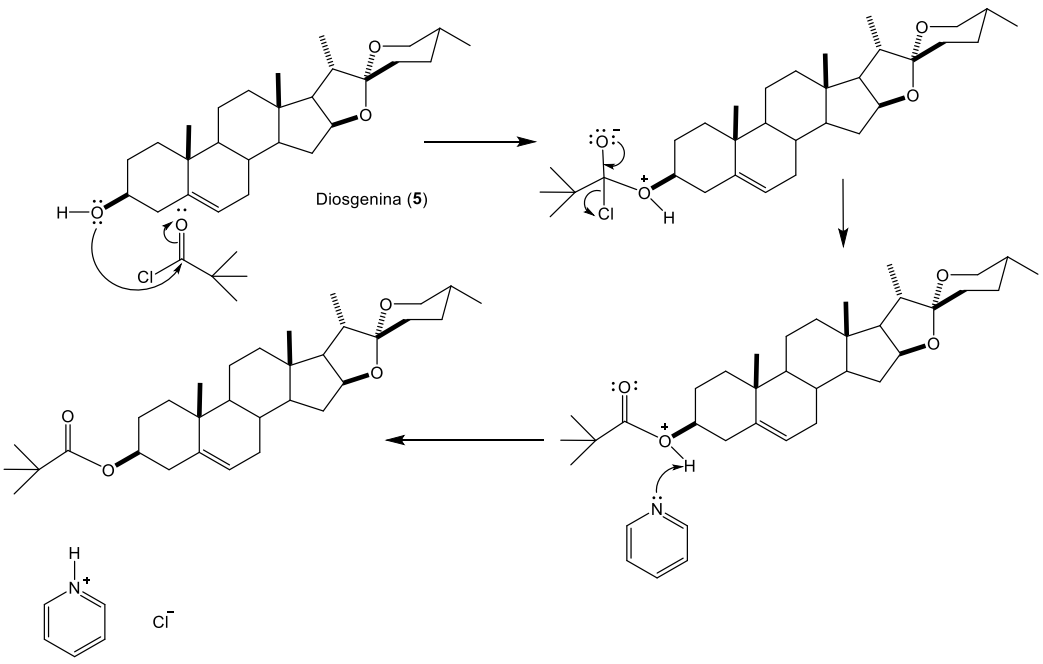


Nuestro estudio se inició con la protección de la posición 3 de la diosgenina, inicialmente se sometió al esteroide a todo el proceso de síntesis para obtener solasodina sin esta protección, lo cual generó una serie de productos no esperados porque, tanto la posición 3 como la 26 poseen características reactivas similares.

La primera etapa de la síntesis fue una reacción de protección de la posición 3 de la diosgenina, el grupo protector debe ser resistente al medio ácido que será empleado en la etapa dos, y también debe resistir la hidrólisis básica con K_2CO_3 o KOH en metanol frío, condiciones de hidrólisis empleadas en la etapa tres de nuestra ruta de síntesis. El cloruro de 2,2-dimetilpropanoilo fue el elegido para proteger el grupo hidroxilo de la posición 3, debido a que forma un grupo éster con un fuerte impedimento estérico (pivaloato).

La reacción de la diosgenina con el cloruro de 2,2-dimetilpropanoilo (cloruro de pivaloilo), se llevó a cabo empleando piridina como medio de reacción y como catalizador básico. La relación molar diosgenina a cloruro de pivaloilo es 1:5, es decir, el reactivo limitante de la reacción es la diosgenina y el cloruro de pivaloilo se encuentra en exceso.

A continuación se indica el mecanismo para la obtención del compuesto **26** (esquema 18).



Esquema 18. Mecanismo de reacción propuesto para la obtención de **26.**

Caracterización espectroscópica del compuesto 26

En el espectro de RMN de ^{1}H del pivaloato de diosgenina se observa en 5.34 ppm una señal doble con *J*=4.8 Hz asignada al protón vinílico H-6. En 4.40 ppm una señal doble de doble de doble asignada al protón H-16, con constantes de acoplamiento $J_{16\text{-}17}$=$J_{16\text{-}15a}$=$J_{16\text{-}15b}$=8.0, esta multiplicidad se debe a que H-16 se encuentra en un ciclo de cinco átomos y el ángulo de enlace de H-16 con respecto a H-17 y al metileno de la posición 15 son muy parecidos. En 3.49 y 3.39 ppm se observan dos señales dd para los protones diasterotópicos H-26e y H-26a respectivamente, con $J_{26e\text{-}26a}$=10 Hz, $J_{26e\text{-}25a}$= 4.0 Hz y $J_{26a\text{-}26e}$=$J_{26a\text{-}25a}$= 10.0 Hz. Por otro lado, la señal de H-3 se observa como una señal múltiple que integra para tres protones en 4.54 ppm, la adición del grupo carbonilo del pivaloato desplaza la señal de H-3 hacia frecuencias ligeramente más altas con respecto a la materia prima, además de la aparición de una señal intensa en 1.19 ppm que corresponde a una señal simple que integra para 9 protones pertenecientes al grupo *ter*-butilo del pivaloato, la señal doble de los protones H-27 (*J*=8.0 Hz) se encuentra empalmada con la señal simple de H-18 en 0.80 ppm, el resto de las señales se presentan sin modificación con respecto a la materia prima.

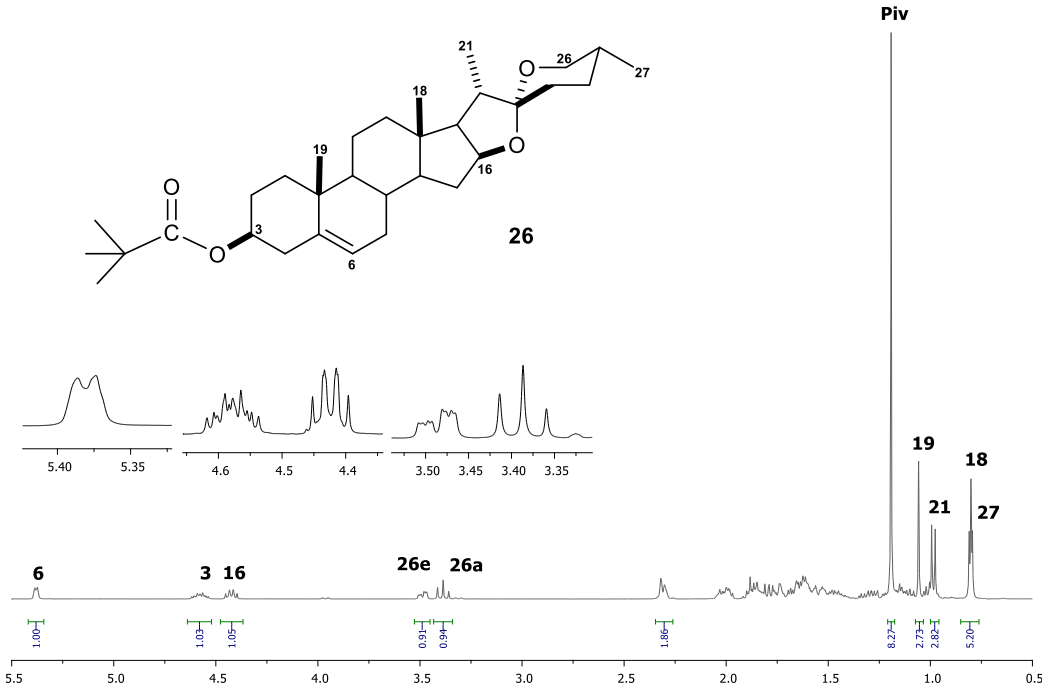


Figura 9. Espectro de^{1}RMN para el compuesto **26**.

En el espectro de RMN de ^{13}C el compuesto **26** se observan las 28 señales que corresponden a los átomos de carbono de la molécula. Destaca la señal del carbonilo del éster del grupo pivaloato que aparece en 178.0 ppm, además de la presencia de una señal intensa de carbono en 27.1 ppm que corresponde a los sustituyentes metilo del grupo pivaloato.

En 139.9 y 122.2 ppm se localizan dos señales de los carbonos vinílicos C-5 y C-6, así como los carbonos base oxígeno C-16, C-22 y C-3 en 81.0, 108.3 y 73.4 ppm respectivamente.

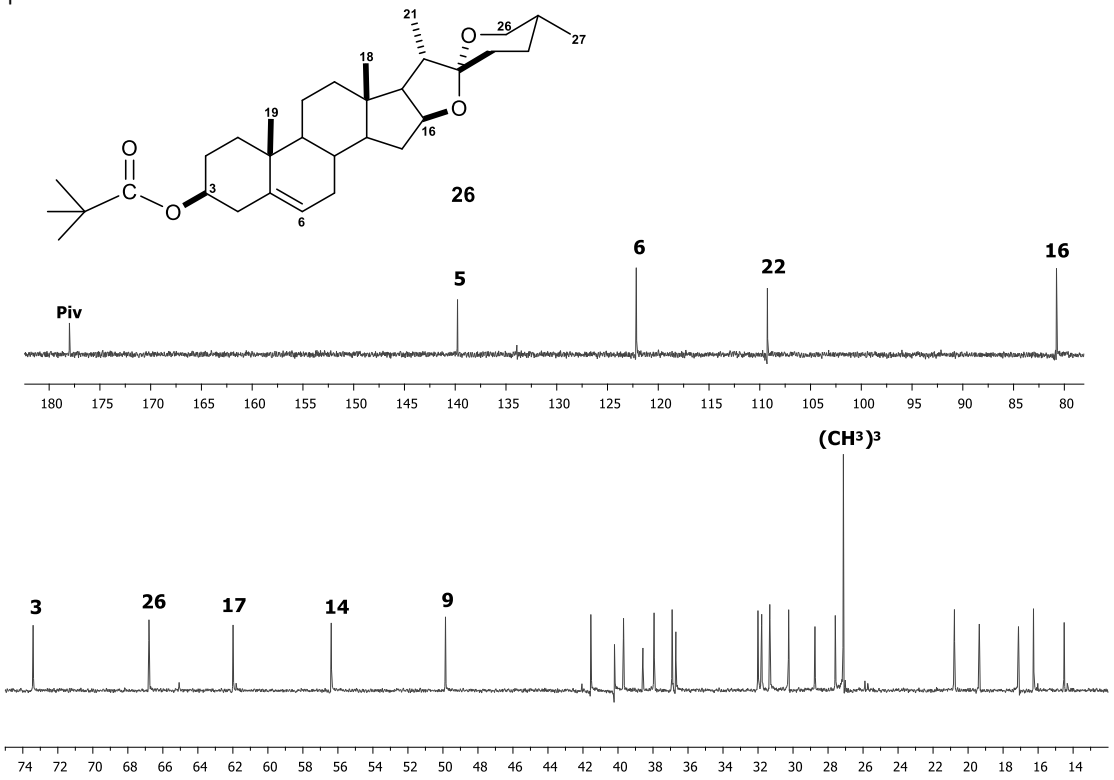


Figura 10. Espectro de ^{13}RMN para el compuesto **26**.

El espectro de IR del compuesto **26** observamos en 1710.3 cm^{-1} una señal que pertenece a la tensión del enlace **C=O** del éster pivaloato, además de una banda de absorción en 1153.2 cm^{-1} que se asignó al enlace **C-O** del grupo pivaloato de la posición 3.

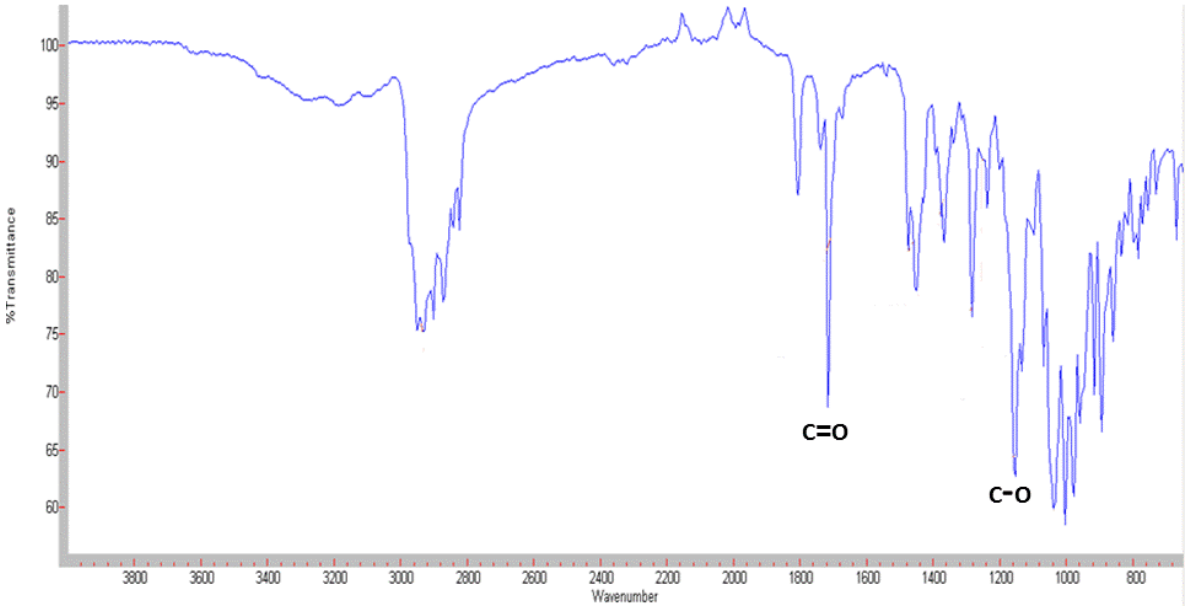
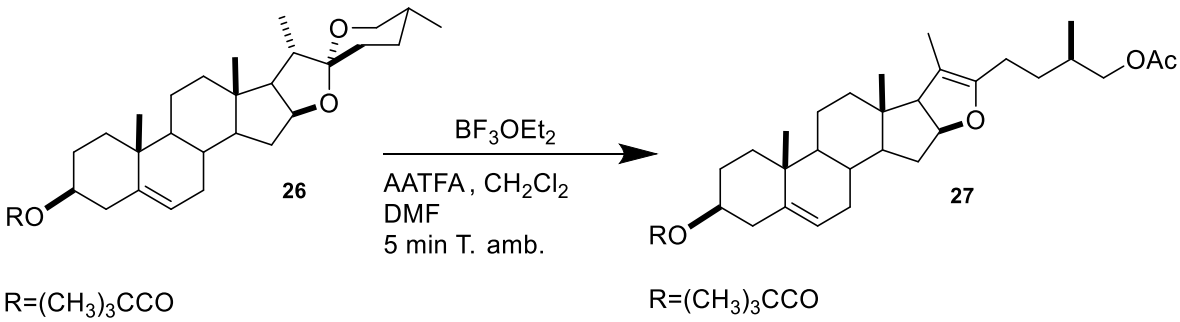


Figura 11. Espectro de IR del compuesto **26**.

Obtención de 26-acetato 3-pivaloato de (25*R*)-furost-5,20(22)-dien-3β,26–diilo (27)



R=$(CH_3)_3CCO$ R=$(CH_3)_3CCO$

Después de proteger la posición tres de la diosgenina, la apertura del anillo F de la cadena espirocetálica, históricamente, ha desempeñado un rol crucial en el desarrollo de la química de los esteroides, la referencia más antigua de este proceso se debe a Marker quien en 1939 al tratar sarsasapogenina con anhídrido acético a 200 °C por 10 h, obtuvo el acetato de pseudosarsasapogenina. Esta reacción fue de gran importancia, ya que la dehidropregnenolona, obtenida al tratar el producto de la degradación de Marker, por medio de una oxidación, seguida de una reacción de eliminación, tiene la funcionalidad

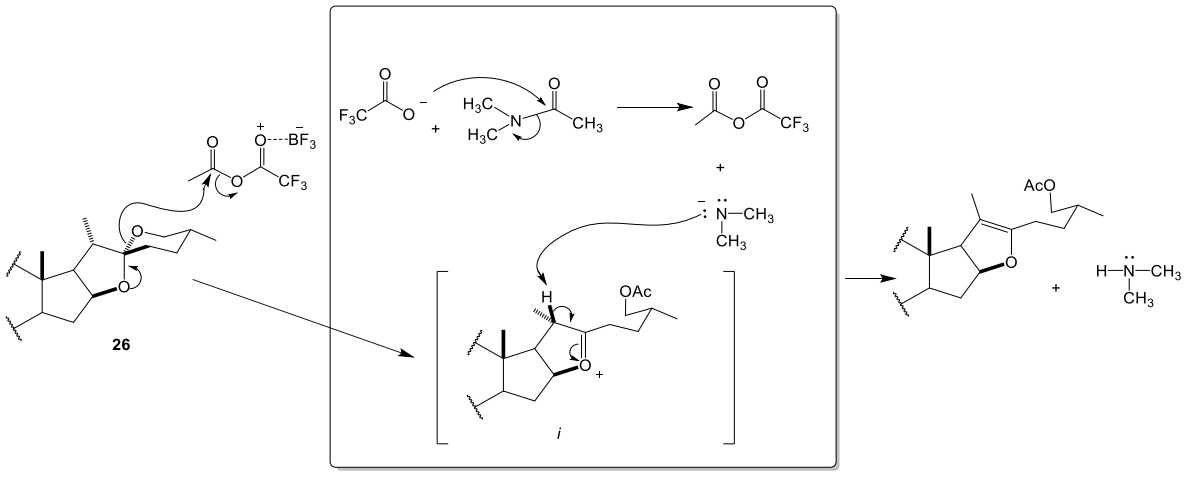
adecuada para poder transformarse en progesterona y otras hormonas sexuales y adrenocorticales.

En el presente trabajo, la apertura del anillo F de la diosgenina se efectuó con anhídrido acético trifluoroacético (AATFA), $BF_3.OEt_2$ y, la adición de *N*,*N*-dimetilformamida (DMF) originó la transformación total de la materia prima. El desarrollo de este procedimiento incluye la preparación *in situ* del anhídrido mixto con ácido acético glacial y anhídrido trifluoroacético en agitación durante 2 minutos. Una vez formado el anhídrido mixto (AATFA) se adiciona a la mezcla de pivaloato de diosgenina y $BF_3.OEt_2$ disueltos en CH_2Cl_2, e inmediatamente después se añade DMF dejando en agitación por un par de minutos.

Con base en el éxito obtenido por la adición de DMF en la acetólisis, se intentó reproducir la técnica utilizando algunas bases de Bronsted-Lowry sin éxito, ya que la insolubilidad de las bases dificulto la incorporación de las mismas en el medio no polar en donde se desarrolla la acetólisis.

En la apertura del anillo F por acción del anhídrido acético-trifluoroacético se da un cambio estructural significativo, al pasar de una estructura espirocetálica a una cadena abierta unida al carbono 22 del furosteno **27**.

El mecanismo de reacción propuesto es el siguiente (esquema 19).



Esquema 19. Mecanismo de reacción propuesto para la formación de pseudodiosgenina.

Caracterización espectroscópica del compuesto 27

A continuación se describe el espectro de RMN ^{1}H para el compuesto **27**. Un cambio muy relevante es el que presentan los protones diasterotópicos H-26, debido a la apertura de la estructura cíclica el acoplamiento de los protones 26 con el protón H-25 produce un patrón de señales característicos de una cadena abierta que consiste en una señal dd en 3.95 y otra en 3.88 ppm con constantes J_{gem}=12.0 Hz, $J_{26\alpha\text{-}25\beta}$= 6.0 Hz, para ambos protones; este tipo de acoplamiento es característico para una cadena abierta, por lo que las diferencias de las constantes de acoplamiento entre los protones diastereotópicos no son tan evidentes como sucede cuando se encuentran en el anillo de 6 miembros. En 2.06 ppm observamos una señal que pertenece al grupo metilo del acetato unido al carbono de la posición 26, además en 1.59 ppm se observa una señal simple que integra para tres protones asignada al metilo de la posición 21, el cambio en la multiplicidad de esta señal se debe a la formación del doble enlace entre C-20 y C-22. Las señales simples de los metilos 18 y 19 se encuentran en 0.69 y 1.05 ppm respectivamente y la señal doble de los protones del metilo 27 (J=4.0 Hz) en localiza en 0.94 ppm.

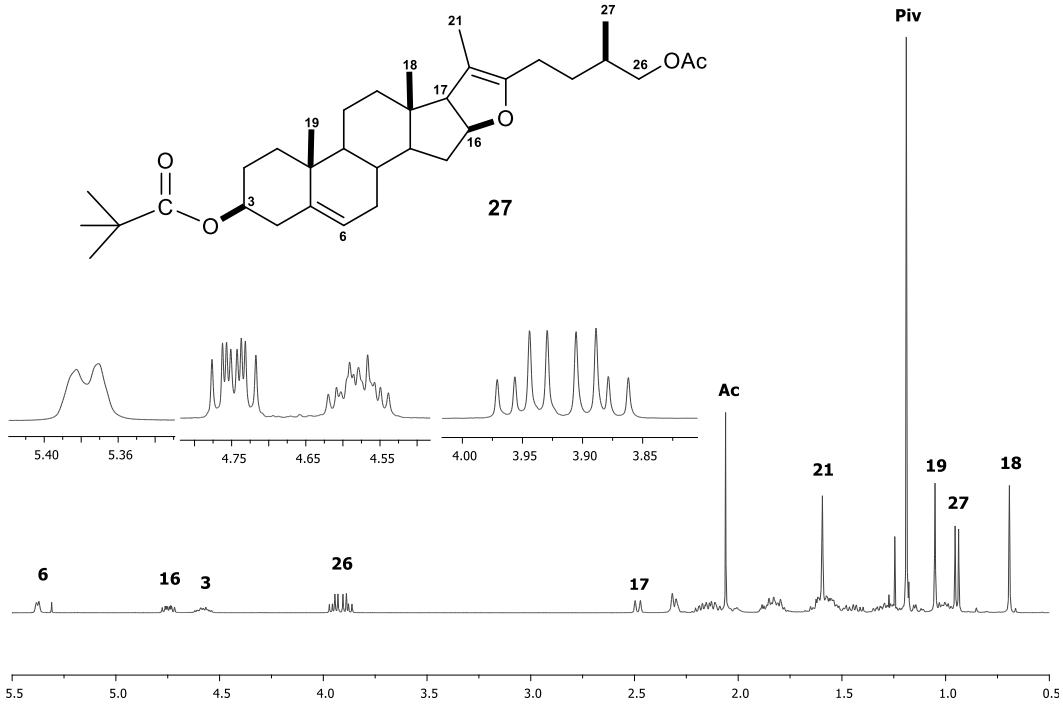


Figura 12. Espectro de ^{1}H de RMN del compuesto **27**.

El espectro de RMN ^{13}C revela las señales correspondientes a los carbonilos del pivaloato en 178.0 ppm y en 171.3 ppm se observa el grupo acetato de la posición 26 que se formó por la apertura del anillo F; otro cambio evidente es el desplazamiento hacia frecuencias altas de los carbonos C-20 y C-22 en 103.8 y 151.4 ppm respectivamente; en el pivaloato de diosgenina (**5**) C-20 y C-22 se presentan en 38.6 y 108.6 ppm respectivamente, el desplazamiento hacia frecuencias altas se explica por la modificación de la hibridación de sp^3 a sp^2 de los átomos involucrados. La señal de los carbonos del grupo *ter*-butilo del pivaloato permanece en 27.1 ppm junto a las demás señales correspondientes sin alteración.

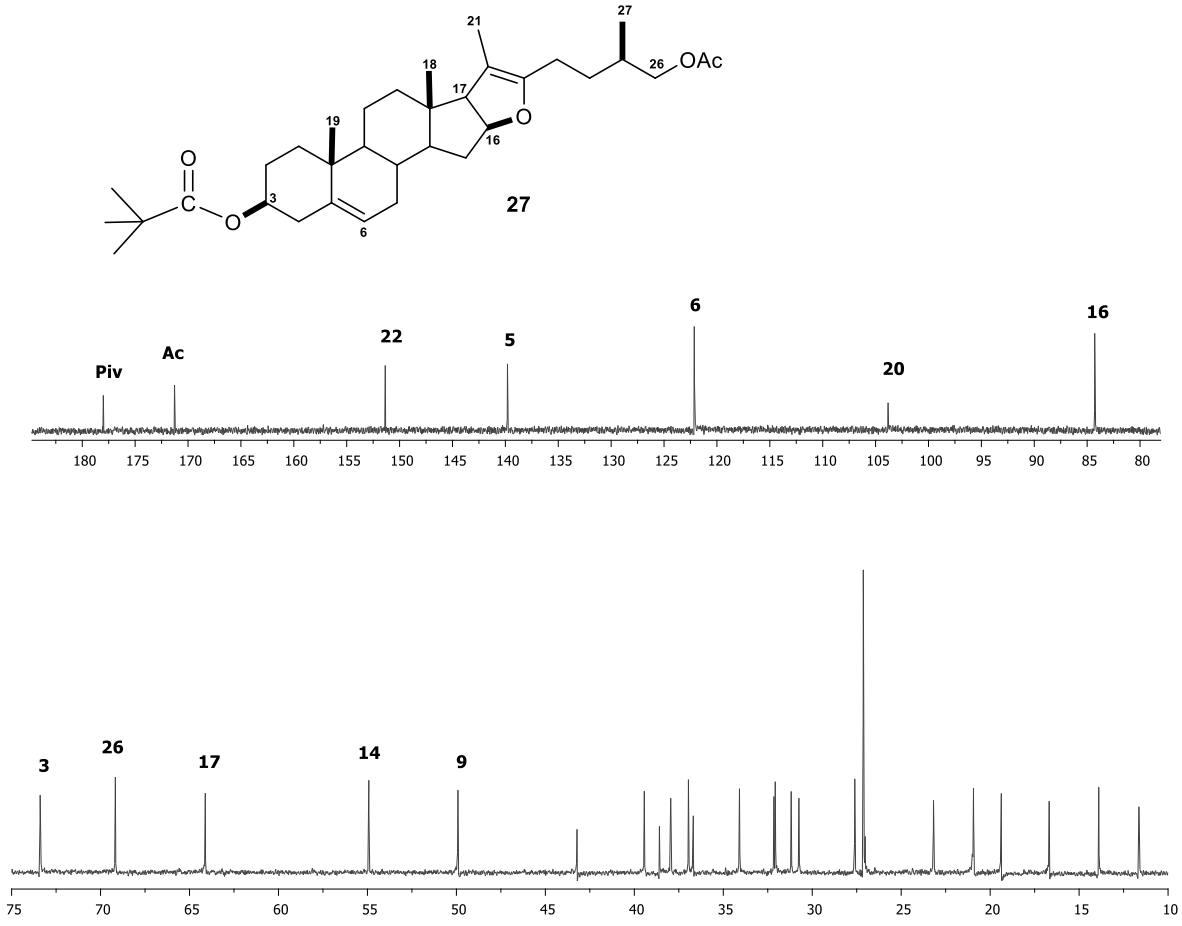


Figura 13. Espectro de ^{13}RMN del compuesto **27**.

En el espectro de IR del compuesto **27** se muestra una banda de absorción doble que corresponde a los enlaces **C=O** de los carbonilos localizados en las posiciones 3 y 26, además de una vibración en 1159.3 cm^{-1} que pertenece a la tensión de **C-O**.

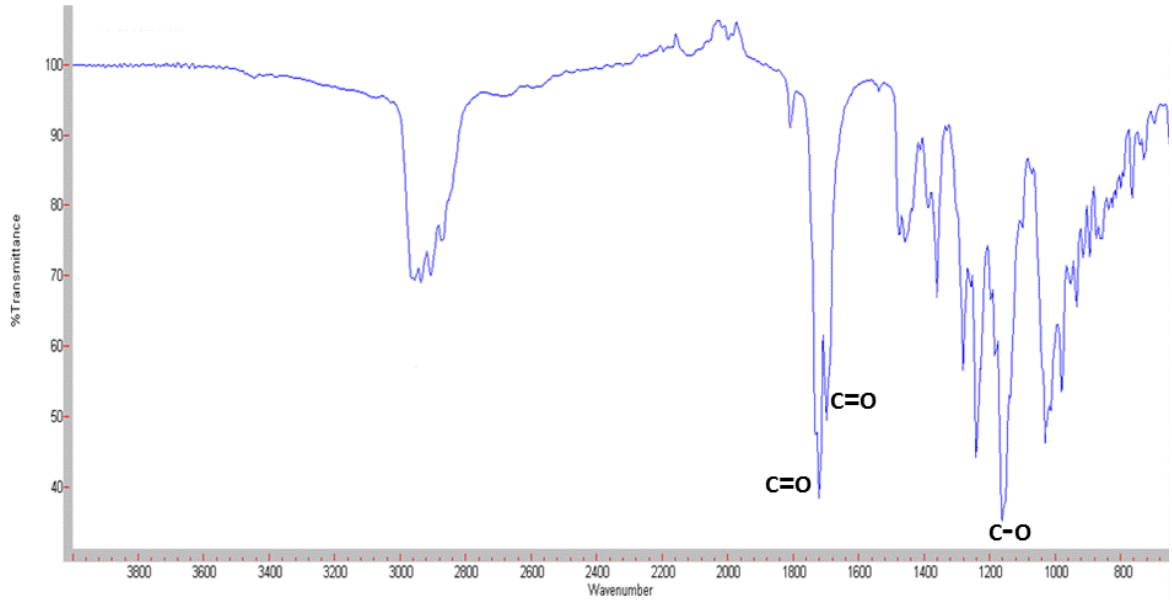
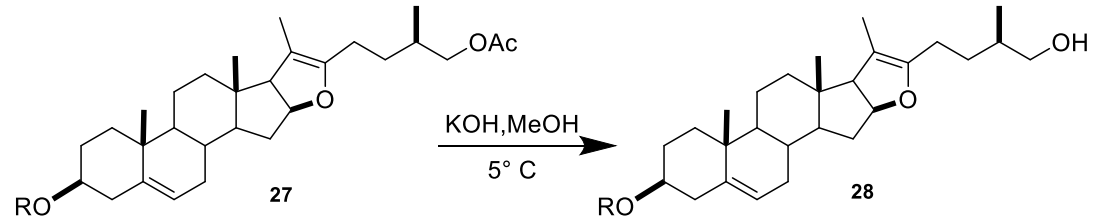


Figura 14. Espectro de IR para el compuesto **27**.

Obtención de pivaloato de (25*R*)-26-hidroxifurost-5,20(22)-dien-3β-ilo (28)



R=$(CH_3)_3CCO$ R=$(CH_3)_3CCO$

Para continuar con el desarrollo de la ruta de síntesis, es necesario hidrolizar quimioselectivamente el grupo acetato de la posición 26 y transformar el grupo hidroxilo en un buen grupo saliente.

La hidrólisis básica de un éster se puede llevar a cabo con bases de diferente fuerza, siendo los más comunes el hidróxido de sodio o potasio en diferentes disolventes hidroxilados, la susceptibilidad a la hidrolisis del grupo pivaloato, influyó en las condiciones y el tipo de base que debía utilizarse. Inicialmente se trató al esteroide con una solución de

NaOH/MeOH al 5% a temperatura ambiente después de 30 minutos se obtuvo como resultado la hidrolisis del hidroxilo de la posición 26 y una hidrólisis parcial del grupo pivaloato unido a la posición 3, esto nos forzó a buscar condiciones más suaves de hidrólisis, como una solución de carbonato de sodio en agua/metanol al 10%, pero bajo estas condiciones después de 48 horas de reacción a temperatura ambiente, no se obtuvo modificación alguna. La hidrólisis con KOH/MeOH al 5% con agitación a 5 °C por 3.0 h permitió hidrolizar selectivamente el grupo acetato de la posición 26 con alto rendimiento.

Caracterización espectroscópica del compuesto 28

A continuación se describe la caracterización espectroscópica del compuesto **28**, puede notarse, en comparación con el espectro RMN ^{1}H del compuesto **27** la ausencia de la señal simple de los protones del metilo del grupo acetato en 2.06 ppm, aunado al ligero desplazamiento hacia frecuencias bajas de las señales de los protones diasterotópicos H-26, en 3.56 y 3.44 ppm con constantes J_{gem}=12.0 Hz, $J_{26\alpha\text{-}25\beta}$= 6.0 Hz confirman que la cadena sigue abierta. En 1.59 ppm se observa una señal simple que pertenece a los protones del carbono 21, esto también da evidencia de que la cadena lateral sigue abierta ya que el doble enlace formado entre los carbonos C-20 y C-22 indica la ausencia del protón en el carbono C-20; el resto de las señales que no sufren ninguna modificación con respecto a la materia prima **27**.

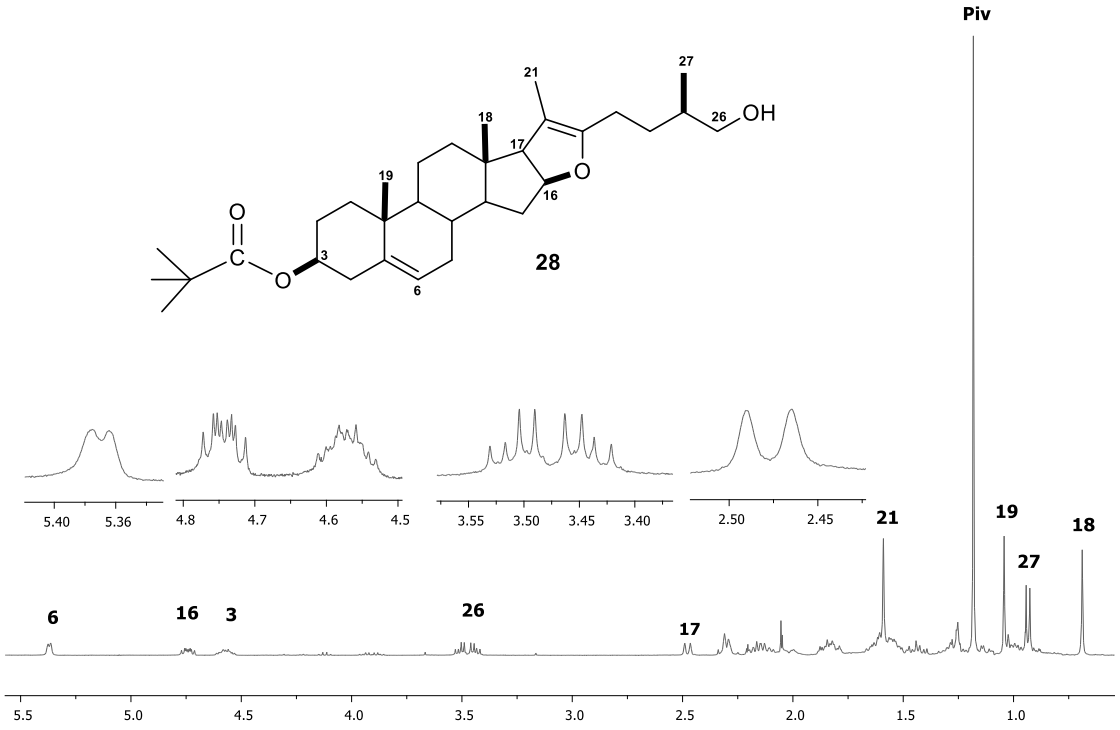


Figura 15. Espectro de RMN de ^{1}H del compuesto 28.

En el espectro de RMN de ^{13}C se observan 29 señales para carbono, que coinciden con los átomos de carbono del compuesto 28; la reacción de hidrolisis a la que fue sometido el compuesto 27 provoco la eliminación del grupo acetato, este hecho se confirma por la desaparición de la señal en 171.3 ppm que pertenecía al carbonilo del acetato unido al carbono C-26. Las señales para C-22 y C-20 permanecen en 151.5 y 103.8 ppm respectivamente, lo que indica que la cadena lateral continúa abierta, de la misma forma permanecen sin cambio los desplazamientos para los carbonos vinílicos 5 y 6.

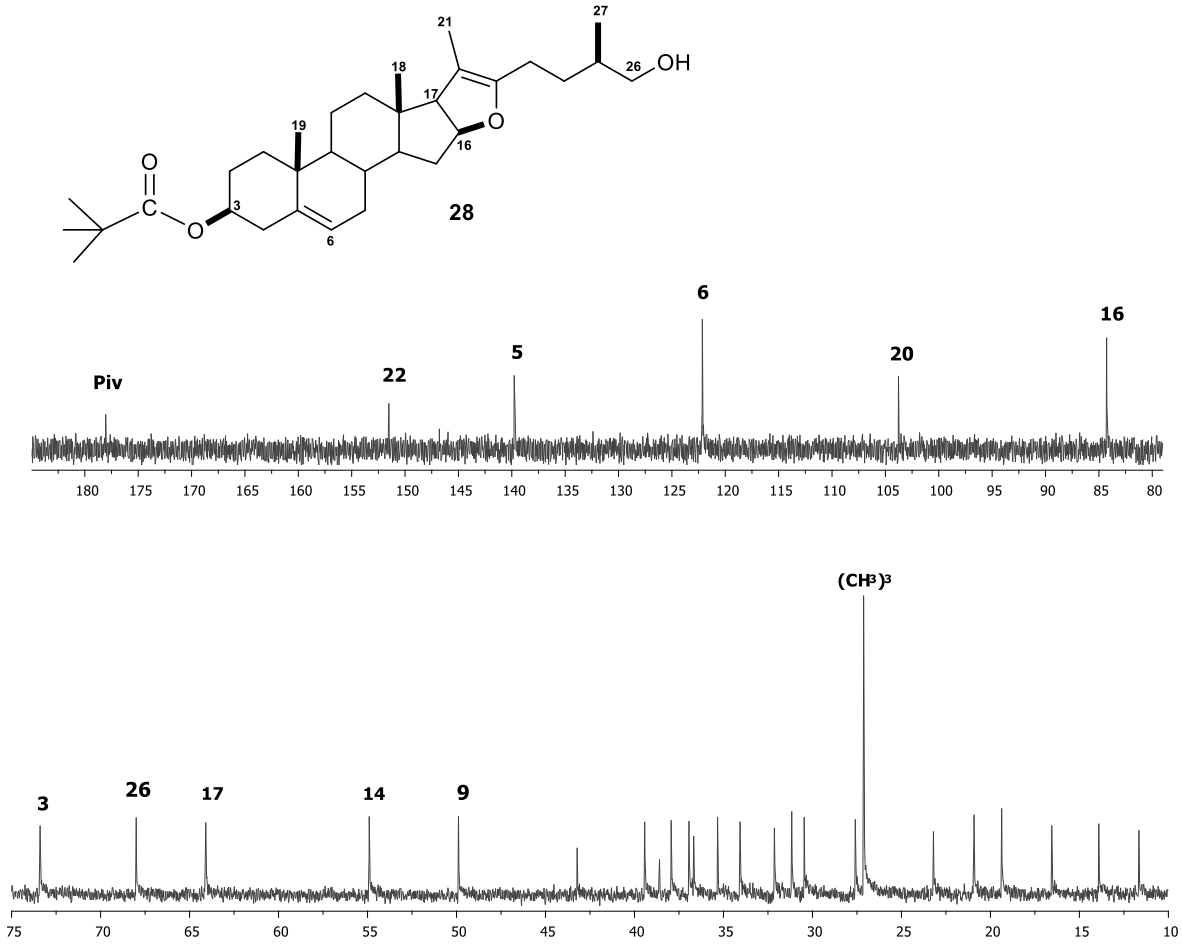


Figura 16. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **28**.

En el experimento HSQC se pueden apreciar las correlaciones de los protones 6, 3, 26 y 17 con sus respectivos carbonos, esta información sirvió para corroborar los desplazamientos de los carbonos asignados en el espectro de RMN ^{13}C.

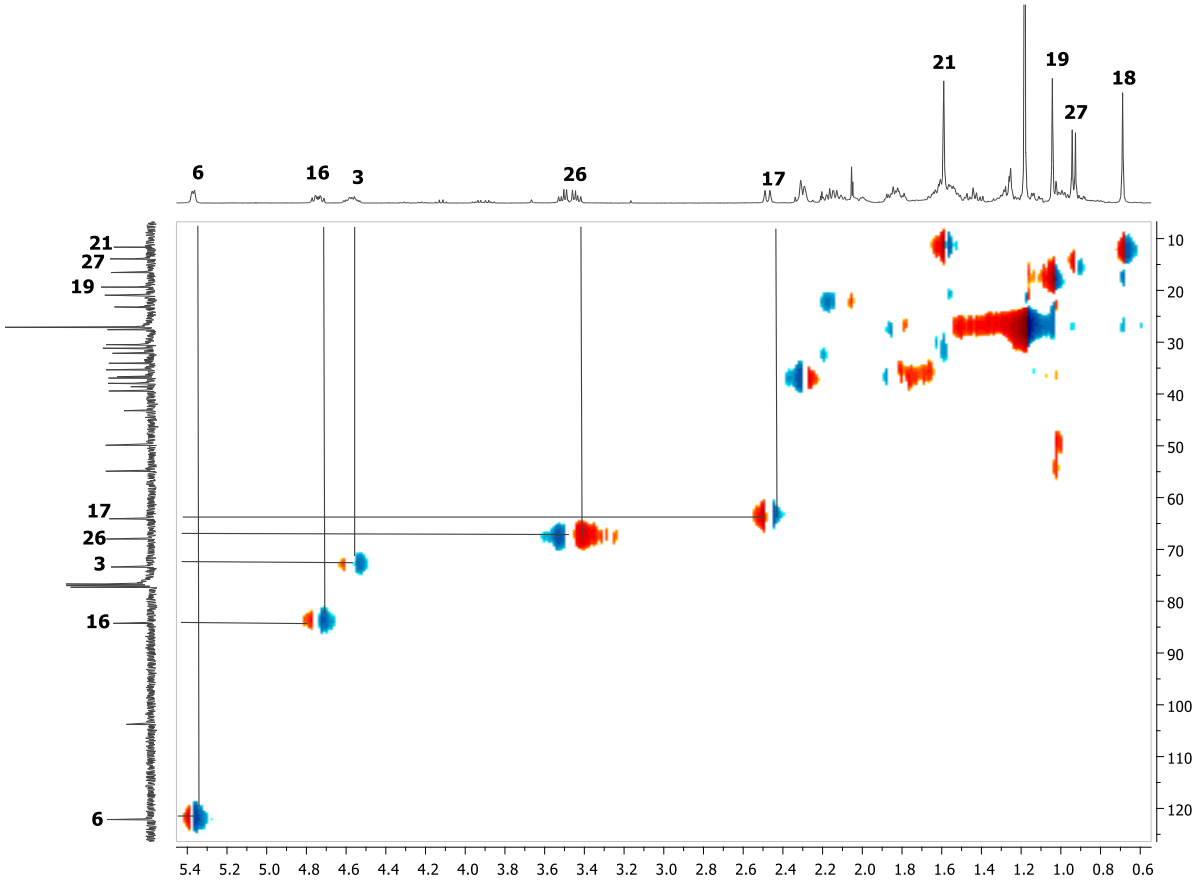


Figura 18. Experimento HSQC del compuesto **28**.

En el espectro de IR del compuesto **28** se observa en 3443.8 cm-1 una banda de tensión correspondiente al enlace **O-H**; en 1722.1 cm-1 se encuentra la vibración correspondiente al enlace **C=O** de un carbonilo de éster (pivaloato); y en 1165.1 cm1 se encuentra la banda de absorción del enlace **C-O**.

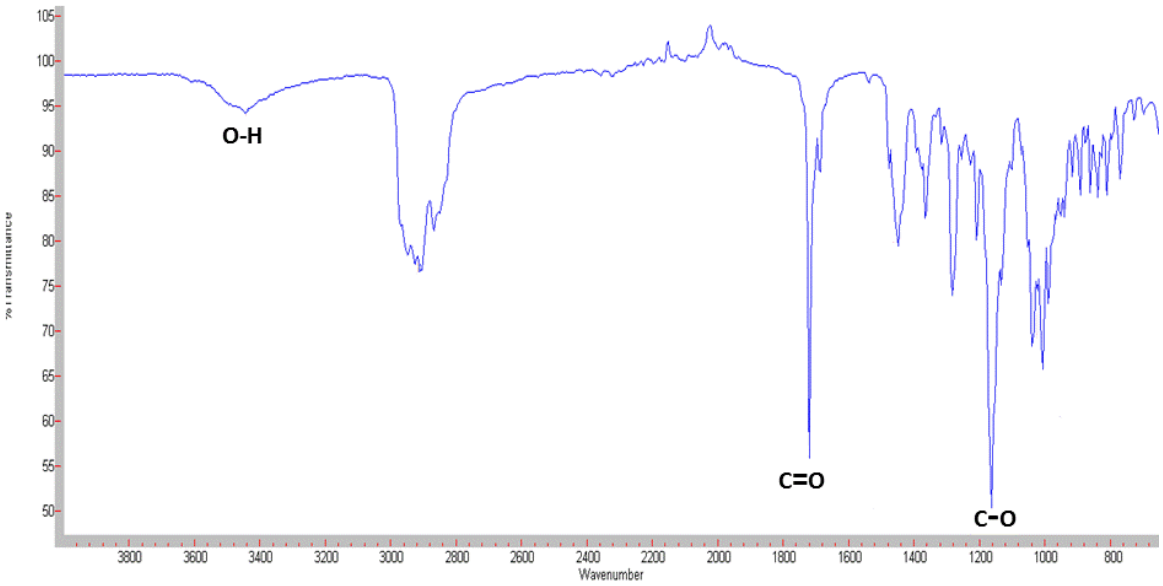
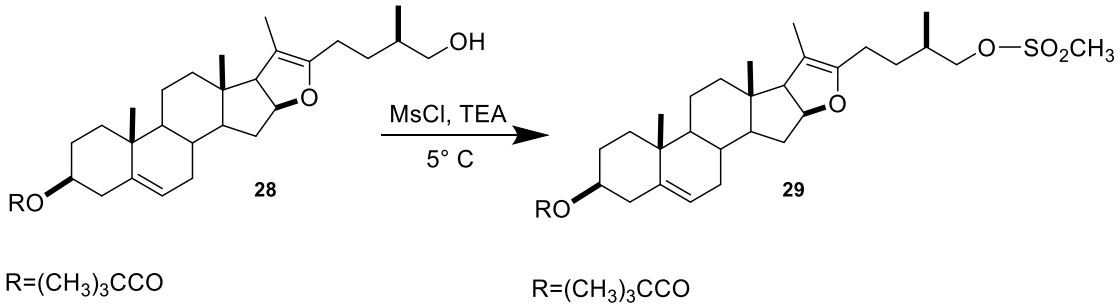


Figura 17. Espectro IR del compuesto 28.

Obtención de pivaloato de (25*R*)-26-metansulfoniloxifurost-5,20(22)-dien-3β-ilo (29)



R=$(CH_3)_3CCO$ R=$(CH_3)_3CCO$

Una reacción clásica de los alcoholes es su transformación en ésteres, la conversión se puede realizar al tratar el alcohol directamente con un oxiácido o empleando derivados halogenados. De esta forma la reacción de un alcohol con el derivado halogenado de un ácido sulfónico forma un éster semejante a los ésteres formados a partir de un ácido carboxílico. No obstante la reactividad de los ésteres de los ácidos sulfónicos y de los ácidos carboxílicos es muy diferente, en el primer caso, la hidrólisis básica se desarrolla con un rompimiento del enlace carbono-oxígeno con hibridación sp^3, al contrario de lo que sucede

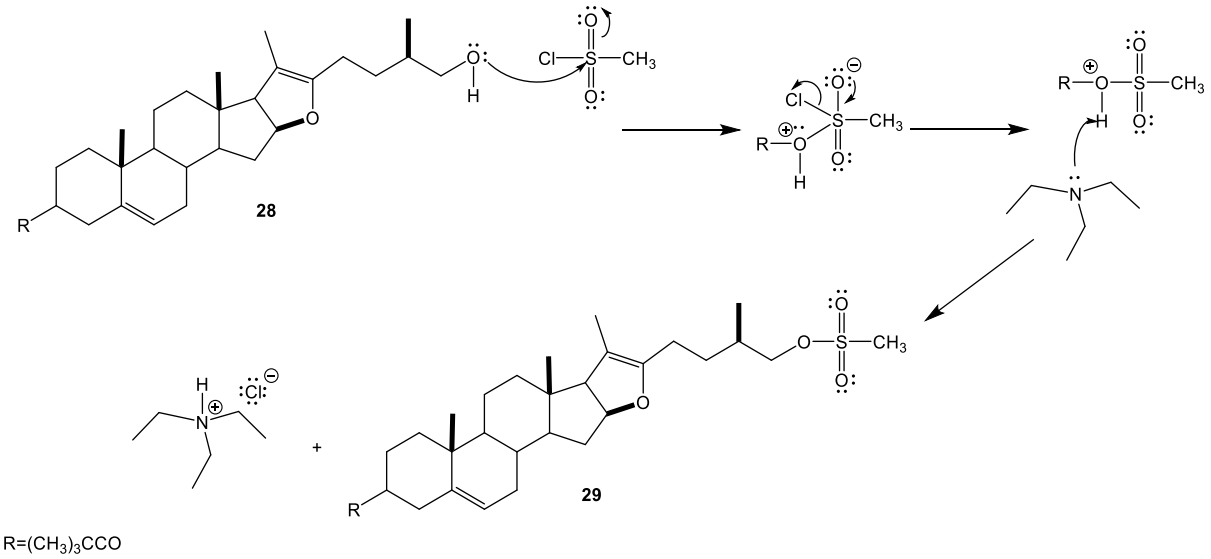
con los ésteres carboxílicos, este comportamiento también se presenta con otros nucleófilos, de tal forma que, la formación de grupos mesilatos y tosilatos, es un procedimiento muy eficaz para transformar un grupo hidroxi en un buen grupo saliente. Algunos derivados de ácidos sulfónicos empleados como grupos salientes, son los tosilatos (*p*-toluensulfonatos), mesilatos (metanosulfonatos).

Kabalka[56] reporta la obtención de tosilatos a partir de un alcohol usando una mezcla de alcohol/cloruro de tosilo (*p*-TsCl)/piridina en las proporciones 1:1.5:2 con cloroformo como disolvente; para alcoholes primarios obtienen rendimientos del 98 % después de 3 horas de reacción a 0° C, y para alcoholes secundarios el tiempo de reacción es de 7 horas aprox. con un aumento en las proporciones a 1:2:3 de alcohol/cloruro de tosilo/piridina respectivamente.

Inicialmente se intentó la tosilación de la posición 26-OH del furosteno **28** con cloruro de *p*-toluensulfonilo, piridina y CH_2Cl_2 como disolvente, a baja temperatura (4 °C) esta mezcla se deja en reposo por 24 horas para obtener el correspondiente tosilato de alquilo; tras varios intentos de tosilación por este método pudimos notar que, además de obtener el tosilato, había una serie de compuestos que no correspondían al producto deseado, esto se debió posiblemente a la presencia de impurezas en el cloruro de tosilo, provenientes de la descomposición del mismo por efecto de la humedad, además de que la baja estabilidad del tosilato impedía su purificación.

Posteriormente se optó por sustituir al cloruro de *p*-toluensulfonilo por cloruro de metanosulfonilo; la reacción se llevó a cabo con agitación a baja temperatura (5° C) en 20 minutos aproximadamente con excelente rendimiento. Inicialmente el esteroide se disuelve en cloruro de metileno, a continuación se adiciona trietilamina (50 % exceso molar), en seguida, manteniendo la temperatura a 5 °C, en un lapso de 10 minuto se adiciona por goteo el cloruro de metanosulfonilo (10 % exceso molar), se deja en agitación por 5 minutos más y se procede con el proceso de extracción de la reacción.

El mecanismo de reacción propuesto es el siguiente (esquema 20).



Esquema 20. Mecanismo de reacción para la obtención de 29.

Caracterización espectroscópica del compuesto 29

En el espectro de RMN ^{1}H del compuesto **29** destaca la presencia de una señal simple en 3.0 ppm que integra para tres protones asignada al metilo del grupo metanosulfonato de la posición C-26, además de un ligero desplazamiento en las dos señales doble de dobles que pertenecen a los protones diasterorópicos H-26 hacia frecuencias altas en 4.0 y 4.1 ppm (J_{gem}=10.0 Hz, $J_{26\alpha\text{-}25\beta}$= 5.0 Hz), debido al efecto diamagnético del grupo sulfonilo; el resto de las señales son semejantes a los descritos para el compuesto **28**.

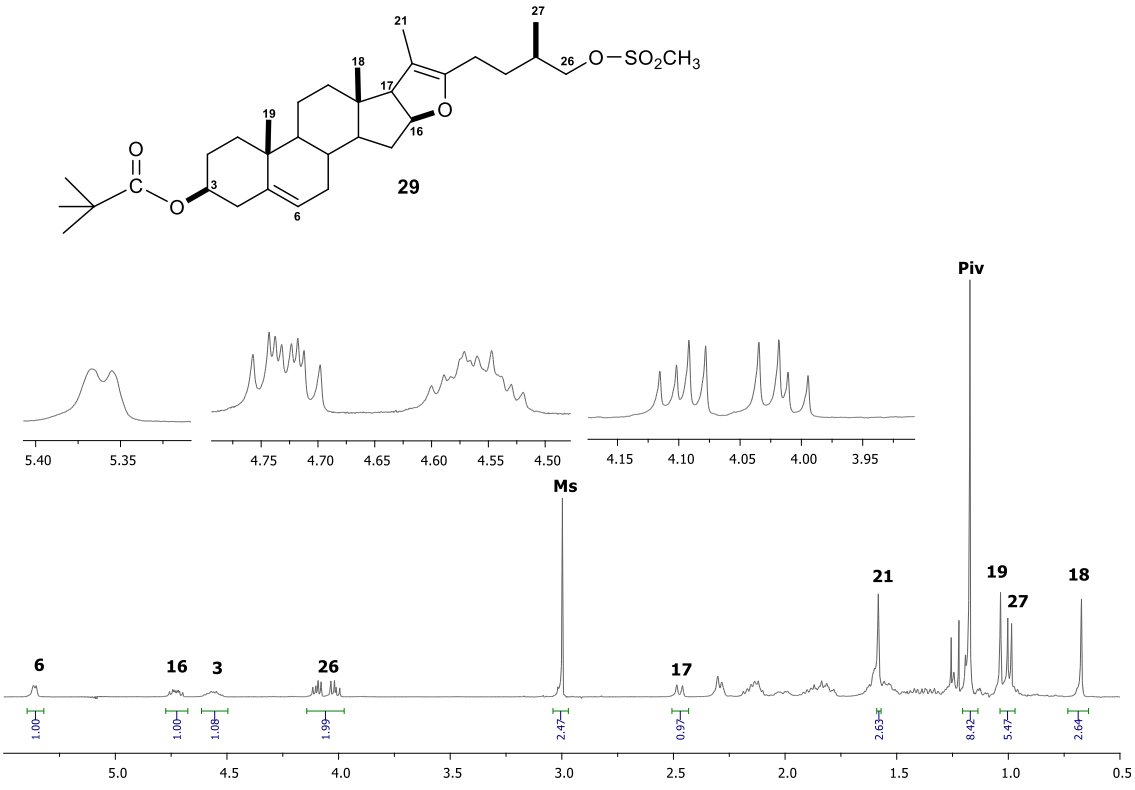


Figura 19. Espectro de RMN ^{1}H para el compuesto 29.

En el espectro se muestran los desplazamientos de ^{13}C de RMN del compuesto 29, destaca el desplazamiento hacia frecuencias altas de la señal que corresponde al carbono C-26 en 74.3 ppm, el desplazamiento hacia frecuencias mayores se debe a la mayor electronegatividad del grupo metanosulfonato del compuesto 29 con respecto al grupo hidroxilo unido a la posición 26 del compuesto 28. Por otra parte destaca la señal para el carbono del metilo del grupo mesilo en 37.1 ppm, las señales que corresponden a los carbonos vinílicos de las posiciones 5 y 6 permanecen sin alteración, de igual forma para las dobles ligaduras de los carbonos 20 y 22, el resto de los desplazamiento se mantienen como en el compuesto 28.

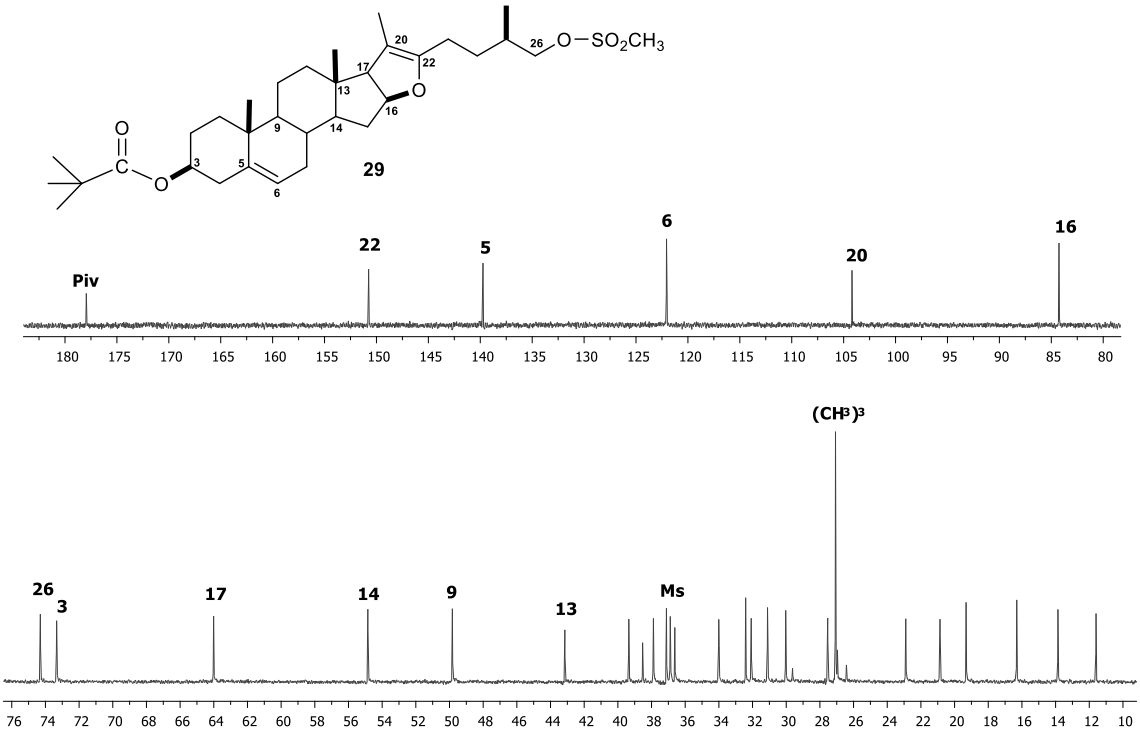


Figura 20. Espectro de ^{13}C de RMN del compuesto **29**.

En el experimento COSY se presentan principalmente acoplamientos protón-protón a dos y tres enlaces.

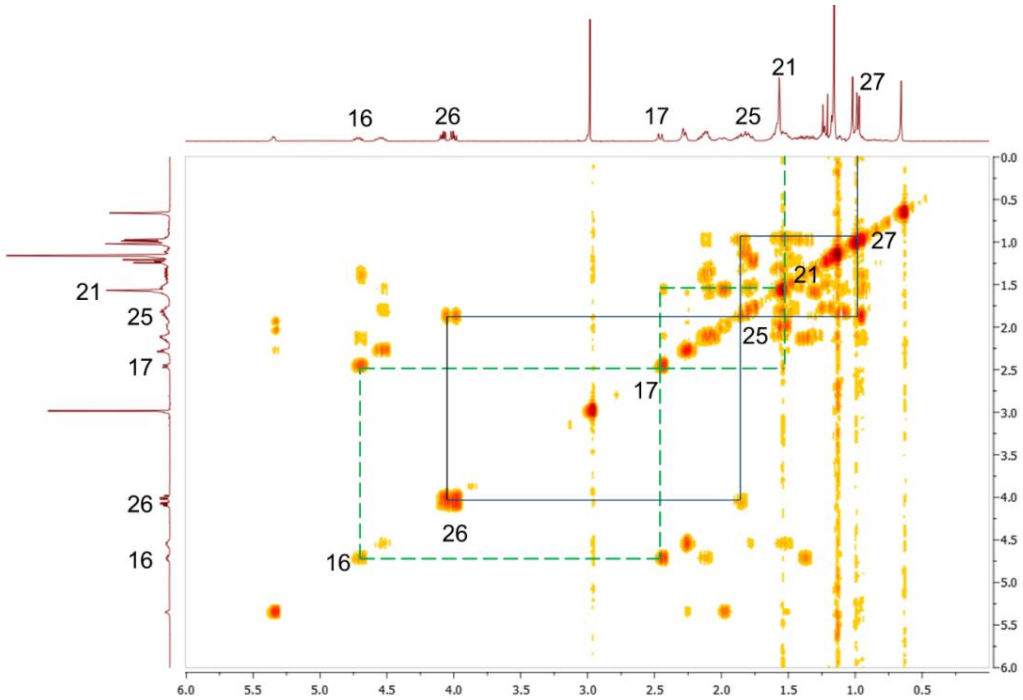


Figura 21. Experimento COSY para el compuesto **29**.

En el espectro de IR podemos observar bandas de absorción correspondientes a la tensión del enlace **C=O** en 1714.3 cm^{-1}, en 1264 cm^{-1} se halla la tensión del enlace **C-O** y la señal en 2962 cm^{-1} representa la banda de absorción de los enlaces **C-H** del metilo del grupo metanosulfonilo. Por otra parte, hacia 739 cm^{-1} se observa una banda de absorción asignada al enlace **C-S**, por último una vibración en 1173 cm^{-1} que corresponde a los enlaces del grupo **SO_2**.

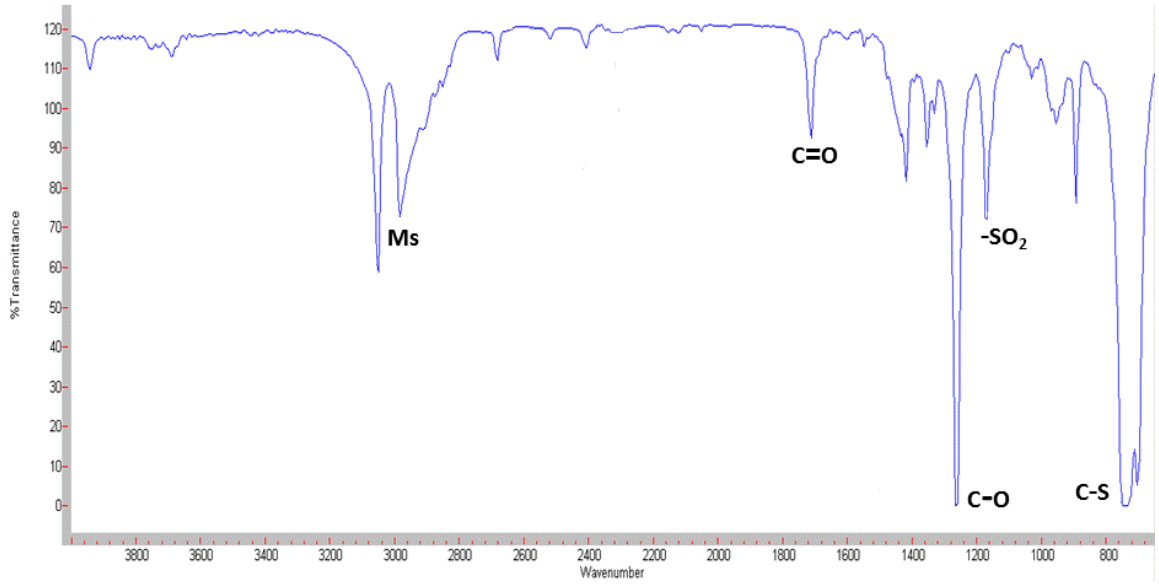
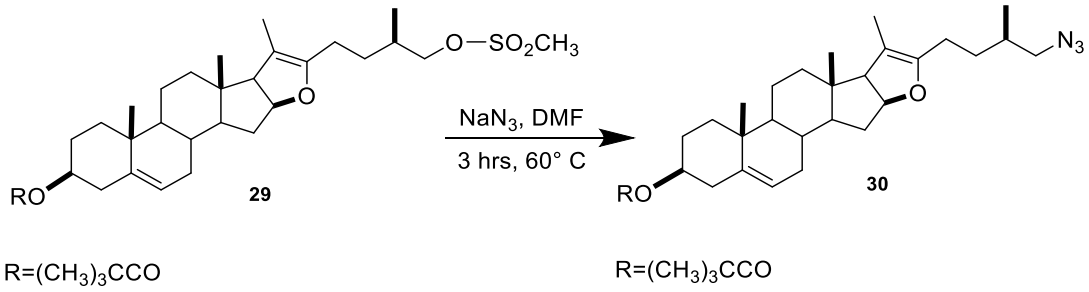


Figura 22. Espectro de IR para el compuesto **29**.

Obtención de pivaloato de (25*R*)-26-azidofurost-5,20(22)-dien-3β-ilo (30)



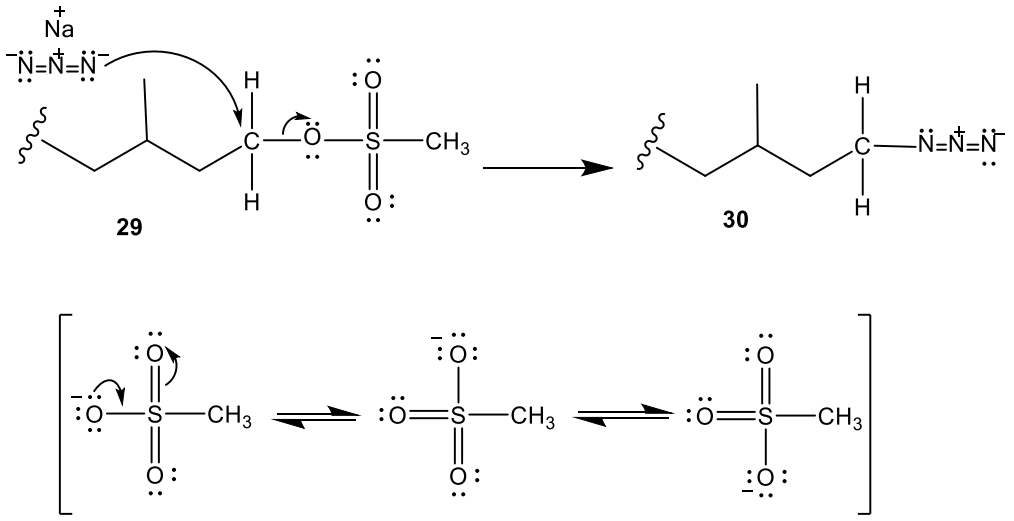
La sustitución nuclefílica del grupo mesilato por el ion azida es una reacción concertada, este tipo de reacciones se favorecen cuando el grupo saliente se encuentra unido a un carbono de tipo primario como el carbono 26. La naturaleza del disolvente también juega un papel muy importante en la velocidad en las reacciones concertadas, debido que la mayoría de los nucleófilos son sales, presentan un carácter altamente polar, necesitando disolventes altamente polares para su disolución.

Los disolventes polares pueden ser próticos o apróticos, la diferencia entre ellos es que los primeros aparte de su capacidad para disolver compuestos polares, solvatan por puentes de hidrógeno tanto a los aniones como a los cationes, la solvatación del nucleófilo incrementa la energía de activación de la reacción disminuyendo la velocidad de la reacción. Los disolventes apróticos polares, por su naturaleza sólo solvatan a los cationes, dejando a los nucleófilos libres de la capa de solvatación, lo que permite que pueda reaccionar más rápido con el carbono que presenta el grupo saliente.

El ión azida ($^{-}N_3$) es un nucleófilo excelente que desplaza grupos salientes de haluros de alquilo primarios y secundarios no impedidos y tosilatos, formando enlaces carbono-nitrógeno.

En la literatura la reacción de sustitución nucleófilica, a cargo de azida de sodio, es realizada en dimetilformamida, este es un disolvente aprótico polar que disuelve compuestos ionicos principalmente mediante solvatación de cationes, esta solvatación y la administración de calor ayudan la disociación de la azida sodio que se encuentra en forma de sal, facilitando el ataque del nucleófilo hacia el carbono 26.

Para la obtención del compuesto **30**, se colocó al compuesto **29** en DMF, esta mezcla es sometida a calentamiento hasta alcanzar los 60° C, una vez alcanzada esta temperatura se agregó la azida de sodio y se mantuvo la temperatura durante 3 horas de reacción, transcurrido este tiempo se obtiene al esteroide con el grupo azida en la posición 26.



Esquema 21. Mecanismo de reacción para la obtención de **30**.

Caracterización espectroscópica del compuesto 30

En el espectro RMN ^{1}H es posible observar algunos cambios sustanciales como la ausencia de la señal para los protones del metilo del grupo metanosulfonato en 3.0 ppm, esto hecho confirma la sustitución nucleofílica de la posición 26 por el grupo azida. El cambio modifico el ambiente químico de los protones de la posición 26 hacia 4.55 ppm y 3.21 ppm, estás señales continúan presentándose con un dd (J_{gem}=10.0 Hz, $J_{26\alpha\text{-}25\beta}$= 5.0 Hz) por el acoplamiento con el protón H-25, esto revela que la cadena lateral continúa abierta. La señal del protón H-6 continúa en 5.35 ppm así con las señales de los metilos 19, 18 y 27 asignadas en 1.03, 0.67 y 0.95 ppm.

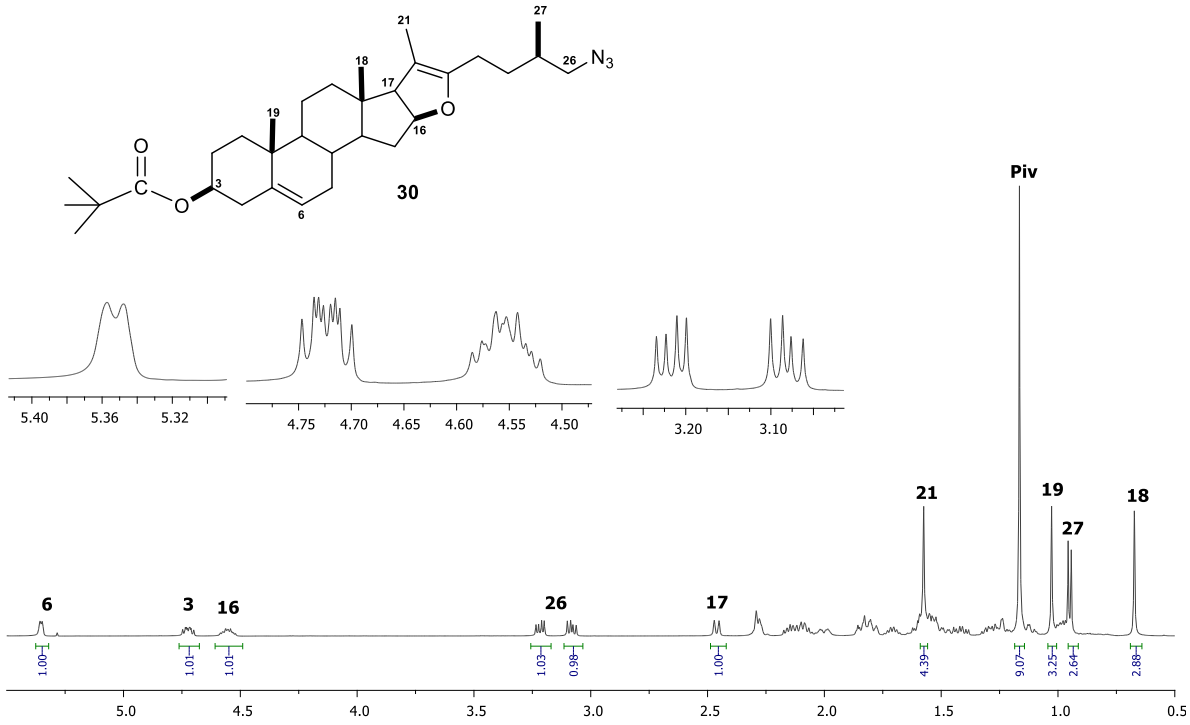


Figura 23. Espectro de ^{1}H de RMN del compuesto **30**.

En el espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **30**, los cambios más significativos son, la ausencia de la señal del metilo del grupo metansulfonato (37.1 ppm) unido al carbono 26, además del desplazamiento hacia frecuencias bajas del carbono C-26 (debido al cambio de electronegatividad del grupo azida con respecto al metanosulfonato. Las señales de las dobles ligaduras en las posiciones 5 y 20,22 los carbonos de los metilos cuaternarios 18, 19 y 21, así como el resto de las señas permaneces sin cambios significativos.

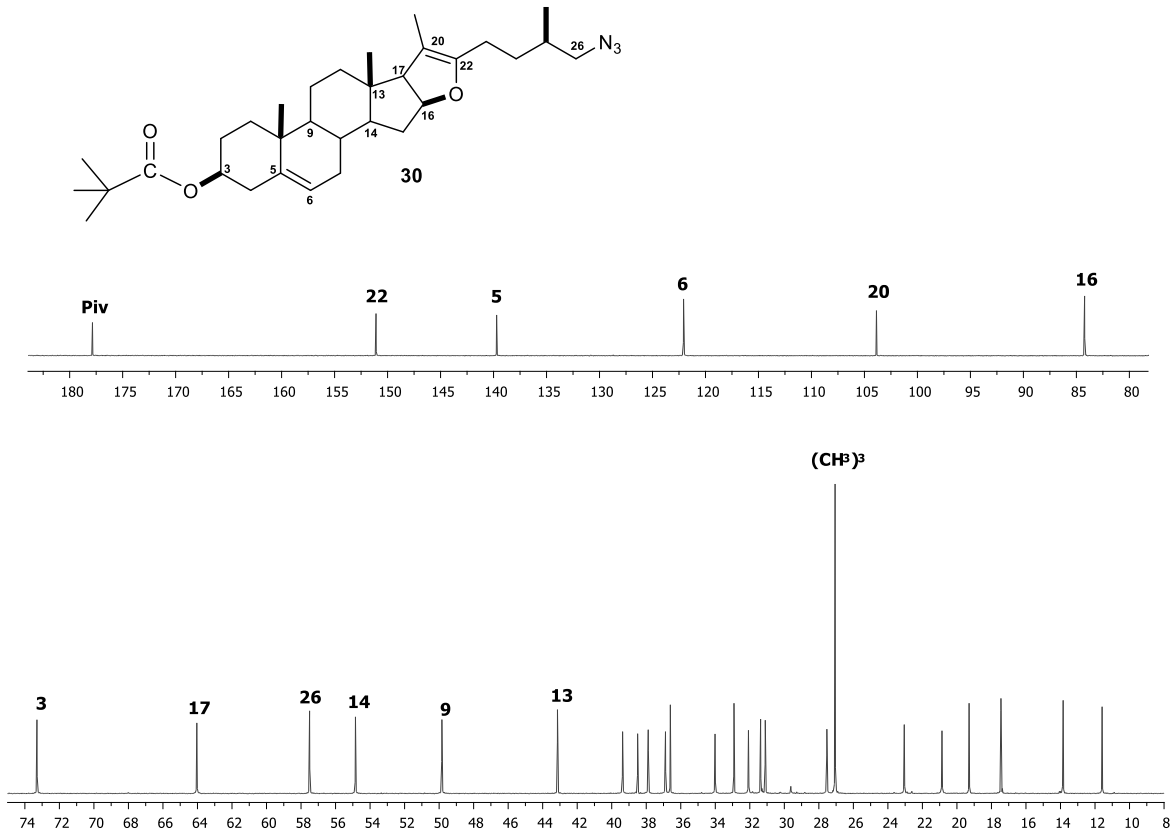


Figura 24. Espectro de ^{13}C de RMN del compuesto 30.

El experimento HSQC nos muestra la correlación hidrógeno-carbono a un enlace, la información proporcionada fue útil para identificar los carbonos unidos a átomos de hidrógeno previamente asignados en el espectro de RMN ^{1}H. Algunas de las señales asignadas por medio de este experimento corresponden a los átomos carbono: 6, 16, 3, 17, 21 y 27 con sus respectivos protones; así como la interacción entre los protones diasterotópicos H-26 con el carbono 26.

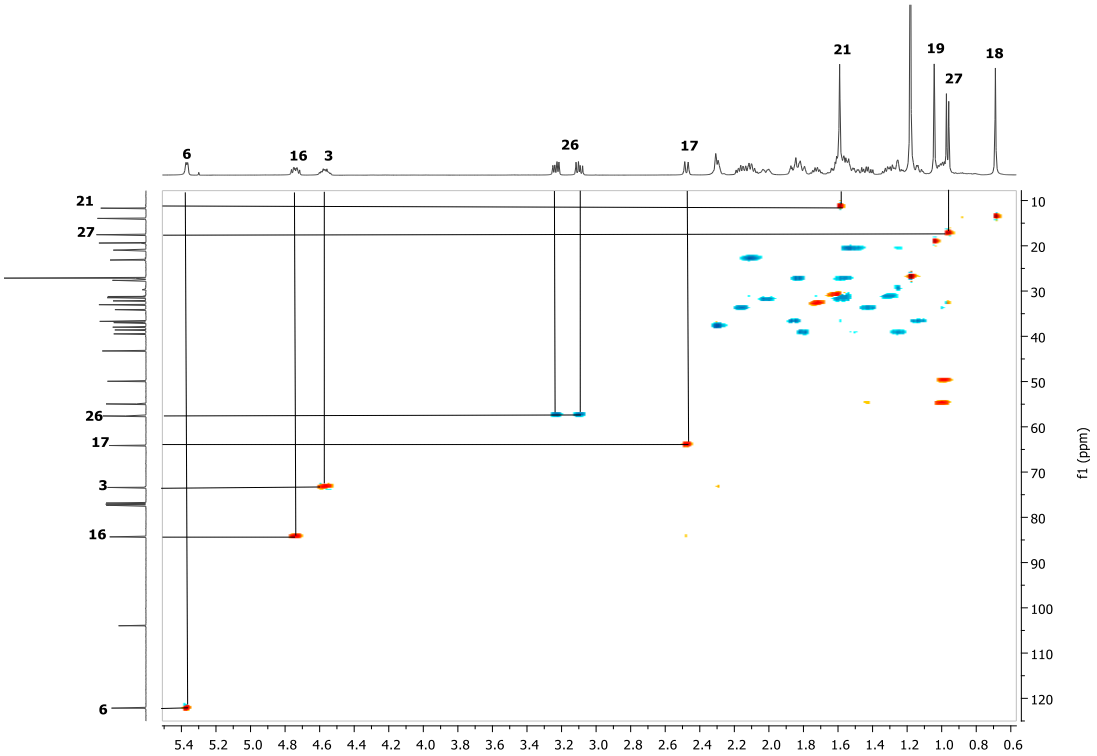


Figura 25. Experimento HSQC para el compuesto **30**.

En el espectro de IR se observa una banda de tensión **C-O** en 1162.5 cm^{-1} y en 1719.5 cm^{-1} se encuentra una banda que corresponde al enlace **C=O** del grupo pivaloato de la posición 3 y una señal simétrica en 2101.4 cm^{-1} asignada al grupo azida (**-N_3**), la aparición de esta banda de absorción aunado a la desaparición de las bandas de absorción de los enlaces: **C-S** en 739.7 cm^{-1} y **SO_2** en 1173.0 cm^{-1} sugieren que la sustitución del grupo mesilo por un grupo azido fue exitosa.

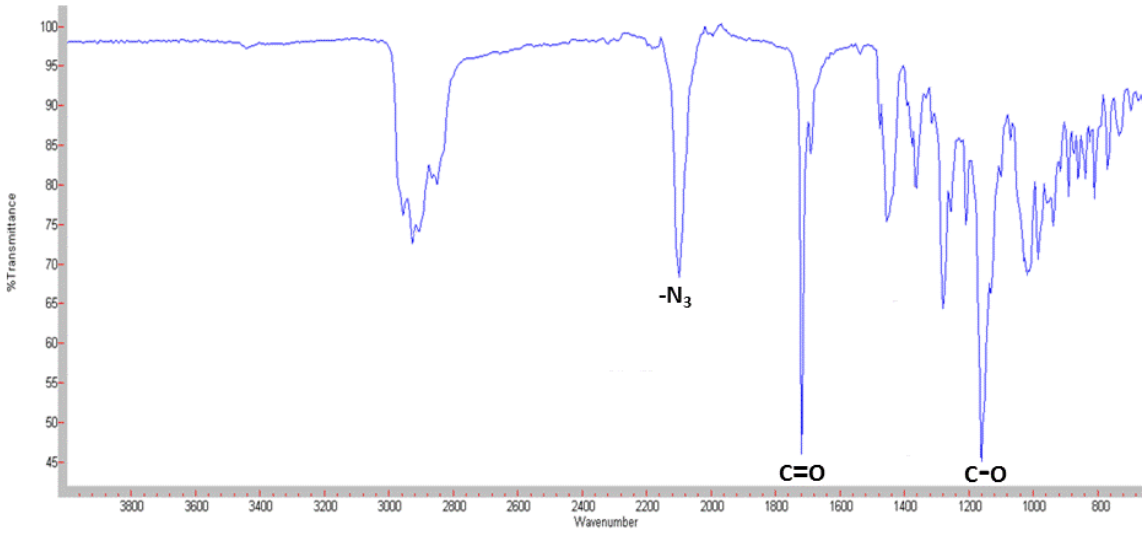
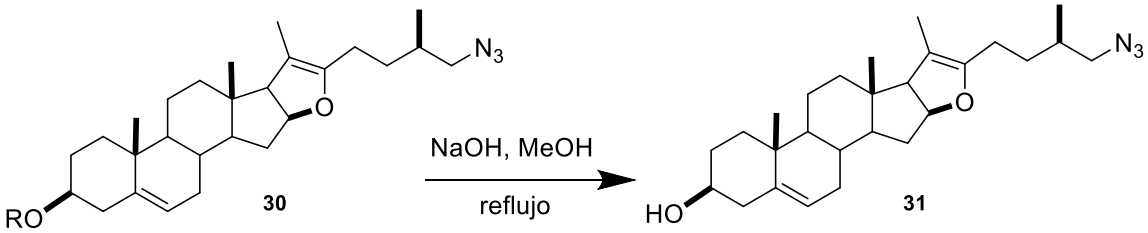


Figura 26. Espectro de IR del compuesto 30.

Obtención de (25*R*)-26-azidofurost-5,20(22)-dien-3β-ol (31)

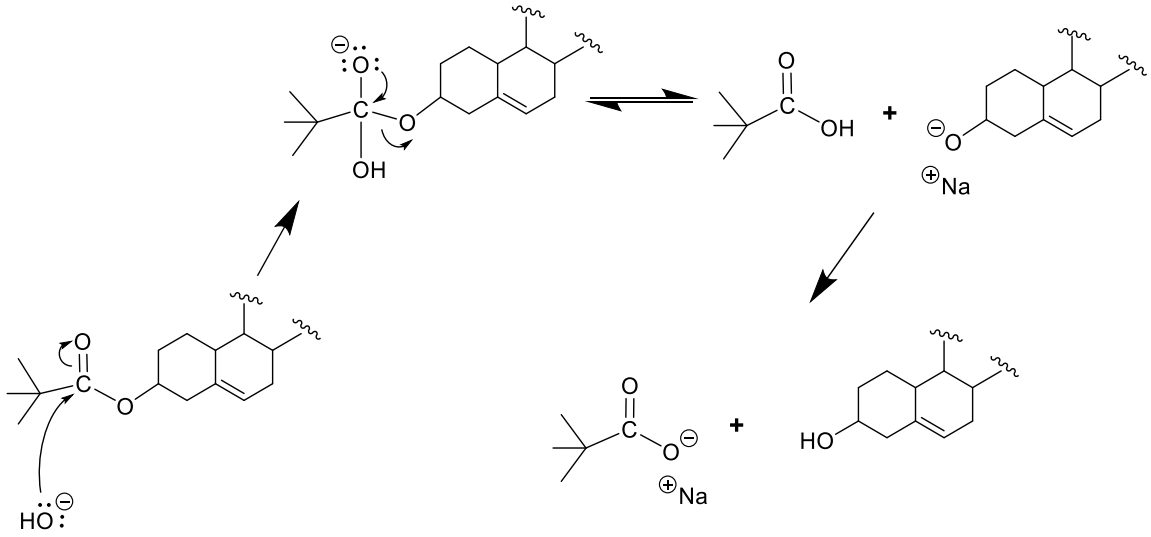


R=$(CH_3)_3CCO$

Un éster reacciona con hidróxido de sodio en metanol acuoso para formar la sal de un ácido carboxílico y un alcohol. Se trata de un ejemplo de reacción de saponificación; la rapidez de esta hidrólisis puede aumentarse si la reacción se efectúa con calentamiento. Al igual que un catalizador ácido, el ion hidróxido participa en la etapa lenta de la reacción, que consiste en la formación del intermediario tetraédrico y el colapso del mismo. El ion hidróxido aumenta la velocidad de formación del intermediario tetraédrico porque el HO^- es mejor nucleófilo que el H_2O, un oxígeno con carga negativa puede expulsar con más facilidad al grupo saliente ($RO:^-$), porque el oxígeno no desarrolla una carga positiva parcial en el estado de transición.

Inicialmente se intentó hidrolizar con una solución 5% de KOH/MeOH, esta solución se agregó al compuesto **30** en un matraz de bola con agitación magnética a temperatura ambiente, no hubo cambios significativos tras 12 horas de reacción; el compuesto **30** se mantuvo sin cambio aún después de calentar a reflujo por 3 horas. Con este resultado se optó por utilizar una solución NaOH/MeOH al 5% con calentamiento a reflujo monitoreando el curso de la reacción por CCF, 3 horas después de la adición y el calentamiento a la mezcla de reacción se obtuvo al compuesto **31** con un excelente rendimiento.

El mecanismo de reacción propuesto para la obtención del compuesto **31** es el siguiente (esquema 22).



Esquema 22. Mecanismo de reacción para la hidrolisis del éster de pivaloato del compuesto **31**.

Caracterización espectroscópica del compuesto 31

En el espectro de RMN se muestran los desplazamientos de 1H del compuesto **31**. Es posible observar un desplazamiento a frecuencias bajas (de 4.56 a 3.49 ppm) para el protón H-3, este desplazamiento es debido al cambio en el ambiente químico alrededor de esta posición, Otro dato que corrobora la eliminación del grupo pivaloato, es la ausencia de una señal simple en 1.17 ppm, esta señal intensa integraba para los 9 protones de los 3

metilos del grupo *ter*-butilo en el pivaloato. También se asignaron las señales de los protones disterotópicos en la posición 26 en 3.22 y 3.08 ppm, se mantienen sin modificación con respecto a la materia prima, la señal doble que pertenece al protón 17 permanece constante en 2.46 ppm así como el resto de las señales, no presentan cambios significativos a los descritos en el compuesto **30**.

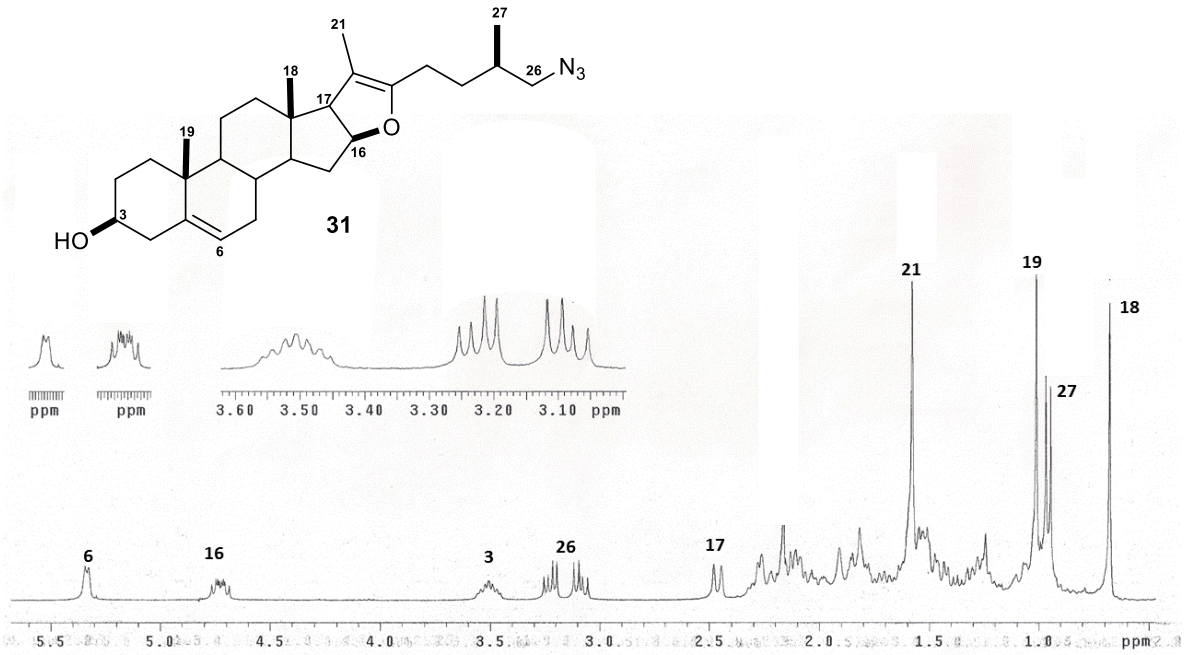


Figura 27. Espectro de ^{1}H de RMN para el compuesto **31**.

En el espectro de RMN ^{13}C del compuesto **31** se observan 27 señales que pertenecen a los 27 átomos de carbono de la molécula propuesta, podemos destacar la ausencia de tres señales asociadas al grupo pivaloato: en 27.1 ppm (tres metilos), 38.5 ppm (carbono cuaternario), 177.8 ppm (carbonilo), la ausencia de estas señales es evidencia de que la reacción para eliminar al grupo pivaloato fue exitosa; también existe un ligero desplazamiento en las señales de los carbonos 2 y 4 (31.4 y 42.2 ppm) hacia frecuencias altas y otro ligero desplazamiento a campos altos en la señal del carbono 3 (71.5 ppm) debido a la ausencia del efecto diamagnético generado por el grupo éster de pivaloato. Por otra parte, las señales de los carbonos vinílicos 5, 6, 20 y 22 aparecen sin modificación sustancial con respecto a la materia prima, así como las señales de los carbonos angulares 18 y 19.

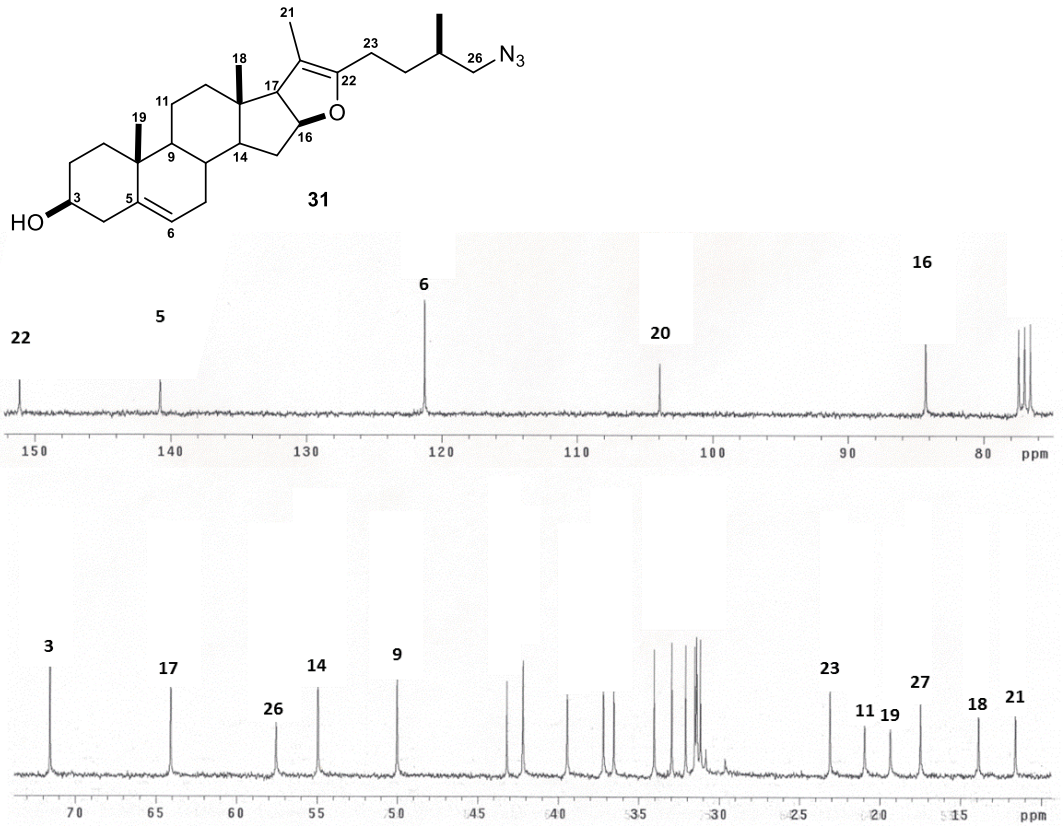


Figura 28. Espectro de ^{13}C de RMN del compuesto **31**.

En espectro IR para el compuesto **31** se observa una banda de absorción en 1050.0 cm^{-1} que fue asignada al enlace **C-O** de la posición 3 en la estructura esteroidal, también sobre la posición 3 se desprotegió al grupo **OH** cuya banda de absorción característica aparece en 3269.6 cm^{-1}, también podemos observar la señal intensa característica del grupo azida (**N_3**) en 2090.0cm^{-1}, además encontramos la ausencia de la señal del enlace carbonilo **C=O** (1719.5 cm^{-1}) que formaba parte del grupo pivaloato, esto afirma que la eliminación de este grupo se efectuó con éxito..

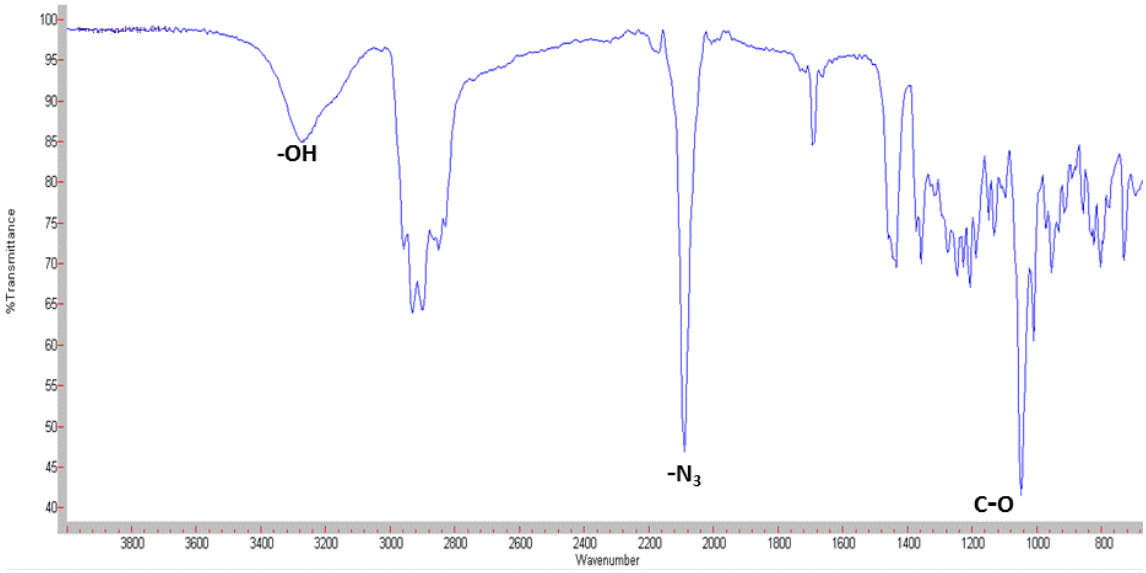
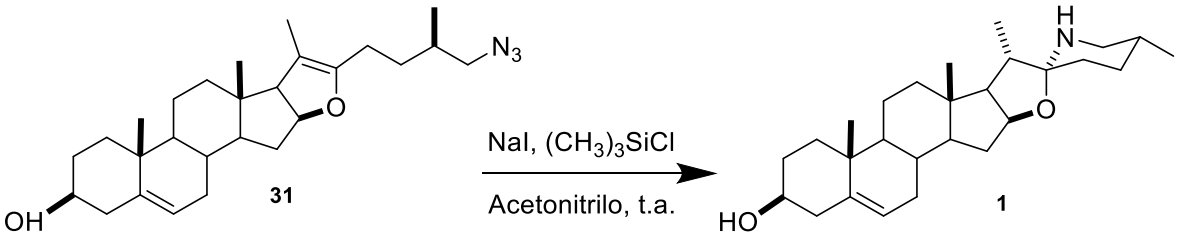


Figura 29. Espectro de IR para el compuesto 31.

Obtención de solasodina [(22*R*,25*R*)-espirosol-5-en-3β-ol] (1)



Para concluir la obtención de la solasodina se debe realizar la reducción del grupo azida a un grupo amino y finalmente, hacer una adición de tipo E1 del grupo 26 amino al doble enlace del éter vinílico del núcleo furosténico.

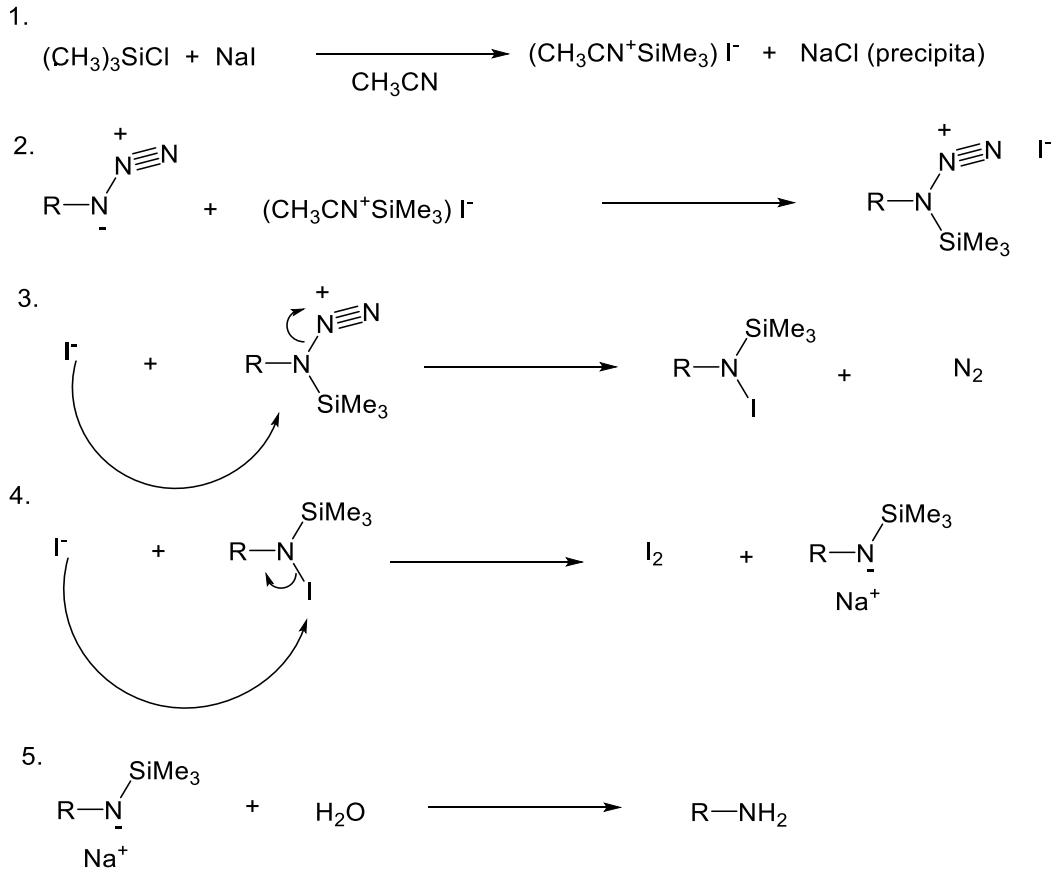
La reducción de azidas a aminas es una importante reacción para la síntesis de una gran variedad de compuestos orgánicos, su transformación a grupos amino provee una amplia gama de aplicaciones en síntesis orgánica. Muchos métodos han sido reportados en la literatura para este proceso reductivo.

La reducción del grupo azida se lleva a cabo empleando la reacción de Staudinger y con una mezcla de ioduro de sodio y clorotrimetilsilano.

En las últimas décadas un crecimiento explosivo ha sido visto en el uso de reactivos orgánicos de silicio en síntesis orgánica. El yodotrimetilsilano es un reactivo con notable reactividad empleado para un amplio espectro de aplicaciones sintéticas. Los estudios en la literatura demuestran que la generación *in situ* de yodotrimetilsiliano usando el sistema de reactivo de yoduro de sodio (NaI) clorotrimetilsilano ($(CH_3)_3SiCl$), debido a sus condiciones casi neutras, la naturaleza más reactiva y la viabilidad comercial desde el punto de vista práctico, en comparación del uso directo de iodotrimetisilano.

Este procedimiento describe un método conveniente para la preparación de aminas primarias a partir de azidas además de proporcionar una reducción selectiva del grupo azida en condiciones suaves y con rendimientos del 90%.

Para la reducción del grupo azida se disolvió el compuesto **31** en acetonitrilo, es necesario calentar ligeramente al matraz de reacción para conseguir la disolución completa de la materia prima, a continuación se adicionó NaI, en seguida se agrega lentamente cloruro de trimetilsilano, la reacción adquiere un color amarillo, el curso de la reacción se siguió por CCF, y después de dos horas, la reacción se finalizó con la adición de una solución de $Na_2S_2O_3$ hasta la decoloración de la mezcla de reacción (amarillo a incoloro), y se ajustó el pH a 9 con una solución de NaOH al 5%, después se eliminó el disolvente y se procedió a extraer el producto de reacción.



Esquema 30. Mecanismo de reacción propuesto para la reducción del grupo azida.

Caracterización espectroscópica de solasodina (1)

En el espectro de RMN ^{1}H de nuestra molécula objetivo se observa un cambio significativo en los protones 26; ya que sufrieron un desplazamiento a frecuencias bajas en comparación del espectro del compuesto **31**, esto se debió a la formación del anillo F. En 2.66 ppm se observa una señal doble de doble que corresponde al protón diastereotópico H-26e con un constante de acoplamiento de $J_{26e\text{-}26a}$= 10.2 Hz y $J_{26e\text{-}25a}$= 4.0 Hz; en 2.60 ppm se encuentra una señal doble de doble asignada al protón diastereotópico H-26a con una constante de acoplamiento de $J_{26a\text{-}26e}$=10.2 Hz y $J_{26a\text{-}26a}$= 11.2 Hz. Para H-16 y H-3 se observa un desplazamiento a campos altos en comparación con el espectro del compuesto (**31**); se encuentra dos señal múltiple en 4.27 y 3.50 ppm corresponden H-16 y H-3 respectivamente. En 5.34 ppm se encuentra una señal doble corresponde al protón vinílico

H-6 con una *J*=5.2 Hz, en 1.02 y 0.81 ppm se observan señales simples que corresponden H-19 y H-18; en 0.94 y 0.84 ppm se encuentran los H-21 y H-27 respectivamente.

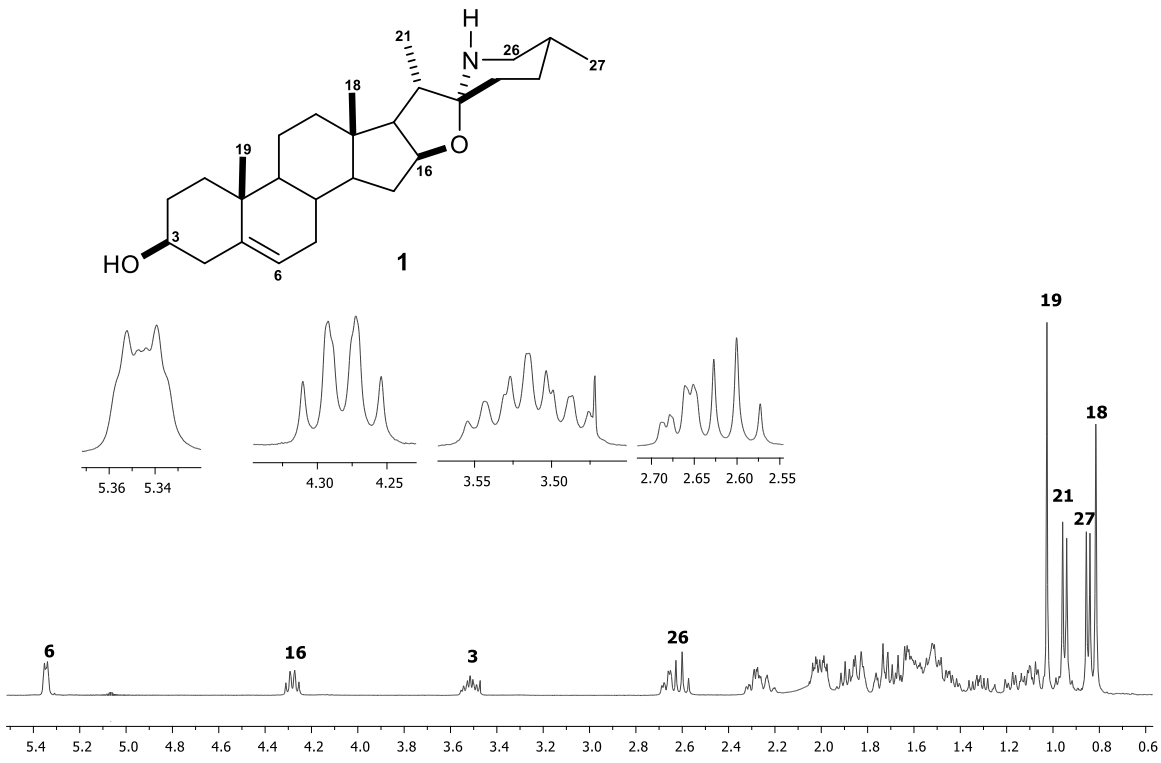


Figura 31. Espectro de RMN ^{1}H solasodina (**1**).

En el espectro de RMN ^{13}C de solasodina se encuentran 27 señales corresponden al número de carbonos de la molécula de solasodina; en 98.30 ppm se encuentra la señal del carbono 22, característica de un sistema aminoespirocetálico; hacia 41.3ppm se encuentra la señal del carbono 20, el desplazamiento de las señales de los carbonos 20 y 22 a campos altos es debido a la ciclación del anillo F que produce la modificación en la configuración de sp^2 a sp^3 de los carbonos 20 y 22, a frecuencias altas en 140.59 y 121.24 ppm se observa dos señales asignadas a los carbonos vinílicos C-5 y C-6 respectivamente; en 78.69 y 71.49 ppm se encuentran dos señales, las cuales corresponden a las bases de oxigeno de 16 y 3 respectivamente.

El resto de las señales se mantienen sin modificación con respecto a la materia prima.

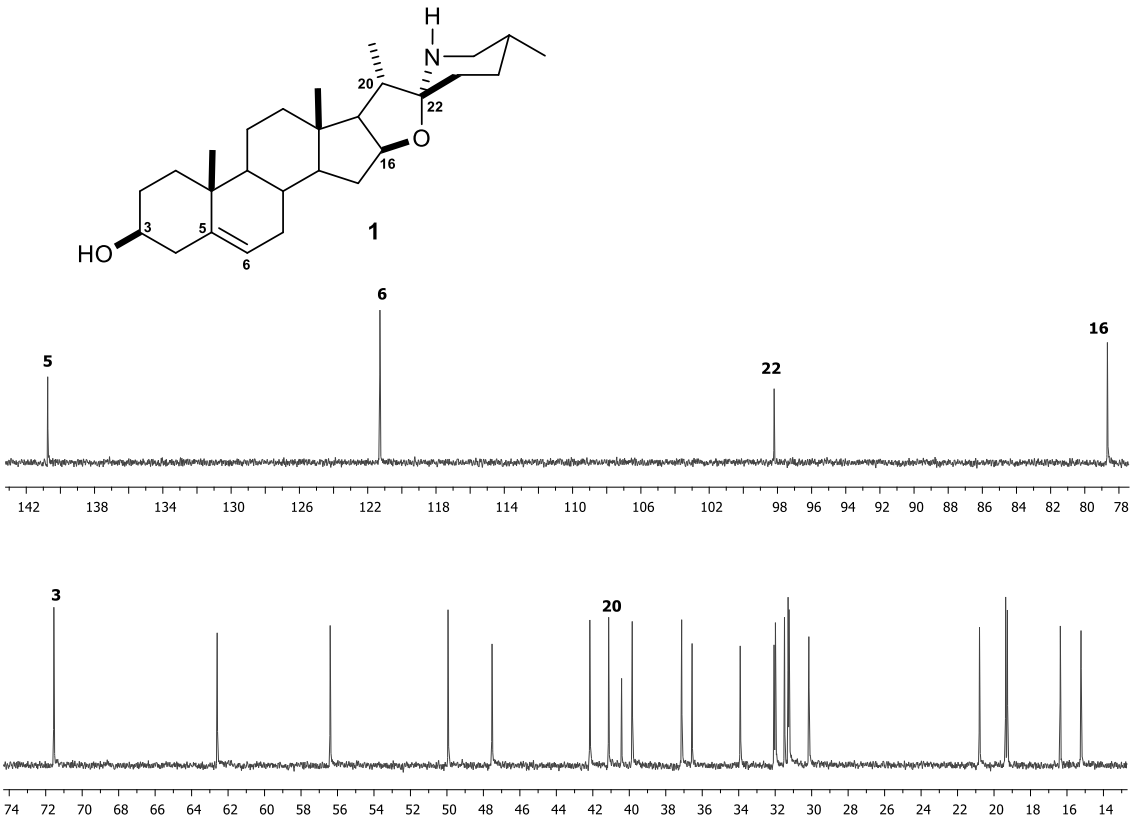


Figura 32. Espectro de RMN ^{13}C Solasodina (**1**).

Parte experimental

Cromatografía

Para el análisis cualitativo de las reacciones se utilizó la cromatografía en capa fina (CCF) empleando placas comerciales de gel de sílice grado 60, con espesor de capa 0.25 mm con fase estacionaria de gel de sílice grado 60, con espesor de 0.25 mm que contiene indicador de fluorescencia (F254). Empleando para su revelado una lámpara de luz ultravioleta de onda (254 nm, lámpara de UVG-54), por calcinación de las placas impregnadas con ácido sulfúrico al 5%, o con vapores de yodo

La purificación de todos los productos esteroidales se realizó empleando la técnica de cromatografía tipo flash, utilizando columnas de vidrio empacadas con gel de sílice grado 60 Merck (230-400 mallas).[65]

Disolventes

Los disolventes utilizados se purificaron según las técnicas descritas en la literatura.[66]

Polarimetría

Las rotaciones específicas se midieron en un polarímetro WZZ3 usando cloroformo como disolvente. La fuente de radiación fue una lámpara de sodio de 589 nm.

IR

Los espectros se determinaron en un espectrofotómetro Agilent Cary 630 FTIR.

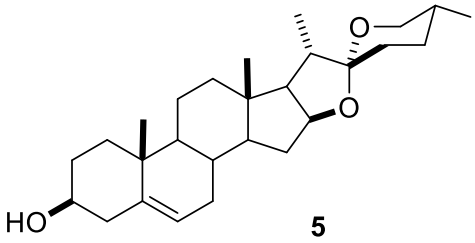
RMN

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN), se determinaron en espectrómetros Varian-Mercury multinuclear a 500, 400 y 300 MHz para ^{1}H, y 125, 100 y 75 MHz para ^{13}C, empleando $CDCl_3$ como disolvente, a menos que se indique lo contrario y tetrametilsilano como referencia interna.

Los desplazamientos químicos se reportan en ppm (δ), la multiplicidad se indica de la siguiente manera: s(señal simple), sa (señal ancha), d (señal doble), da (señal doble ancha), t (señal triple), c (señal cuadruple), dd (señal doble de doble), ddd (señal doble de

doble de dobles), dc(doble de cuartetos), m (señal múltiple), las constantes de acoplamiento (*J*) se expresan en Hertz (Hz).

Purificación de diosgenina



5

La diosgenina comercial se purifico por cromatografía por columna con soporte gel de sílice, empleando un sistema 7/3 (Hexano/AcO-Et).

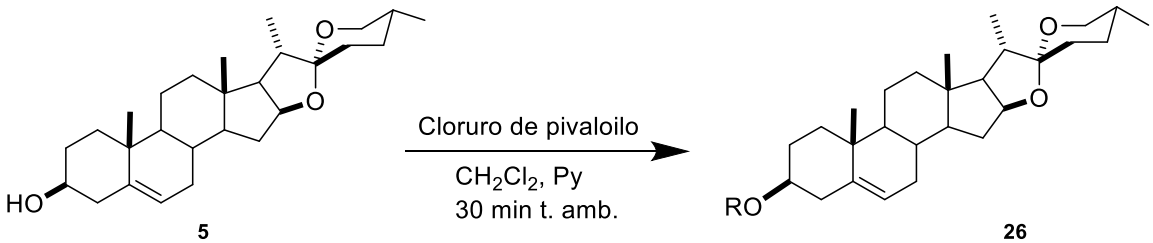
RMN ^{1}H (400 MHz, $CDCl_3$)

δ ^{1}H: 5.34 (1H, d, J=5.2 Hz, H-6), 4.40 (1H, ddd, $J_{16\alpha-17\alpha}$=$J_{16\alpha-15\alpha}$=$J_{16\alpha-15\beta}$=7.6 Hz, H-16), 3.51 (1H, m, H-3), 3.45 (1H, dd, J_{gem}=11.0 Hz, $J_{26e-25a}$=4.0 Hz, H-26e) 3.37, (1H, dd, J_{gem}=11.0 Hz, $J_{26e-25a}$=11.0 Hz, H26a), 0.79 (3H, s, CH3-,18).

RMN ^{13}C (400 MHz, $CDCl_3$)

C-1 (37.2), C-2 (31.4), C-3 (71.7), C-4 (42.2), C-5 (140.8), C-6 (121.4), C-7 (32.0), C-8 (31.6), C-9 (50.0), C-10 (36.6), C-11 (20.8), (80.8), C-12 (39.7), C-13 (40.2), C-14 (56.5), C-15 (31.8), C-16 (80.8), C-17 (62.0), C-18 (16.3), C-19 (19.4), C-20 (41.6), C-21 (14.5), C-22 (109.3), C-23 (31.3), C-24 (28.7), C-25 (30.3), C-26 (66.8), C-27 (17.1).

Obtención del pivaloato de diosgenina (26)



5 **26**

R=$(CH_3)_3CCO$

En un matraz de pera se colocaron 0.3 g (0.72 mmol) de diosgenina disueltos en 10 ml de CH_2Cl_2 se adicionaron a un matraz de fondo redondo de 100 ml, posteriormente se agregaron 0.24 ml de piridina e inmediatamente se adicionan 0.45 ml (3.76 mmol) de cloruro de pivaloilo. La reacción se mantuvo en agitación por 40 minutos y se monitoreo por CCF; después se vertió sobre un matraz con agua/hielo y se mantuvo con agitación por 10 minutos. La extracción se realizó con cloruro de metileno (2X20 ml), a continuación la fase orgánica se trató con una solución de HCl al 5% (3x15ml), después se lavó con solución saturada $NaHCO_3$ (1x20ml), salmuera (3x20ml) y finalmente de agua destilada (1x15ml). La fase orgánica se secó con Na_2SO_4 y se concentró en el rotavapor, el compuesto se purificó por cromatografía en columna utilizando como eluyente un sistema 8:2 se hexano-AcOET, obteniendo un rendimiento de 97% de pivaloato de diosgenina.

El compuesto presenta los siguientes datos.

IR(cm^{-1}): 2939 (νC-H), 1710 (νC=O éster), 1153 (νC-O, éster).

$[\alpha]_D$ -38.66° (*c* 0.6, $CHCl_3$)

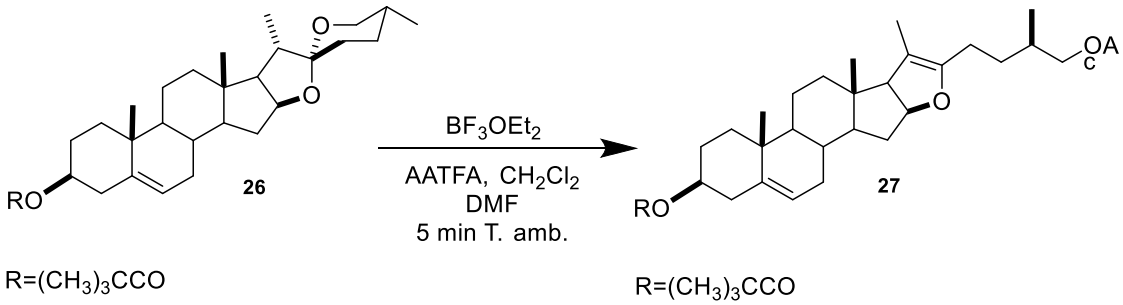
RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$)

H-6 (5.34, d, J=4.8 Hz); H-16 (4.41, dd, $J_{16\text{-}15a}$=$J_{16\text{-}15b}$=8.0); H-3 (4.54, m); 3.49 (1H, dd, J_{gem}=10 Hz, $J_{26e\text{-}25a}$= 4.0 Hz, H-26e), 3.39 (1H, dd, $J_{26a\text{-}26e}$=$J_{26a\text{-}25a}$= 10.0 Hz, H-26a), $(CH_3)_3$-CO (1.19, s); 19 (1.06, s); H-21 (0.98, d, J=4.0 Hz) 18 (0.80, s); H-27 (0.80, d, J=8.0 Hz) .

RMN de 13C (400 MHz $CDCl_3$)

C-1 (38.0); C-2 (27.6); C-3 (73.4); C-4 (41.5); C-5 (139.8); C-6 (122.2); C-7 (32.1); C-8 (31.2); C-9 (49.9); C-10 (37.0); C-11 (20.4); C-12 (39.7); C-13 (40.2); C-14(57.5); C-15 (31.8); C-16 (81.0); C-17 (60.5); C-18 (16.1); C-19 (19.4); C-20 (38.6); C-21 (11.4); C-22 (108.3); C-23 (30.6); C-24 (28.5); C-25 (30.6); C-26 (68.1); C-27 (17.1); $(CH_3)_3$C<u>CO</u>-3 (178.0); (<u>CH_3</u>)$_3$CCO-3 (27.1).

Obtención de 26-acetato 3-pivaloato de (25*R*)-furost-5,20(22)-dien-3β,26–diilo (27)



$R=(CH_3)_3CCO$ $R=(CH_3)_3CCO$

En un matraz de bola de 100 ml se disuelven 0.351 g (0.703mmol) de pivaloato de diosgenina en 10 ml de cloruro de metileno, a continuación, se adicionan 1.4 ml (11.3 mmol) de $BF_3.OEt_2$, al tiempo que esto sucede, en otro matraz se lleva a cabo la formación del anhídrido acético-trifluoroacético (AATFA); este anhídrido se obtiene de la siguiente forma: en un matraz de fondo redondo de 10 ml provisto de agitación magnética se colocaron 0.56 ml (9.79 mmol) de ácido acético glacial y 1.12 ml (8.05 mmol) de anhídrido trifluoracético y se dejó con agitación durante 3.0 minutos. Este anhídrido recién preparado se agrega al matraz que contenía pivaloato de diosgenina y $BF_3.OEt_2$. Inmediatamente a la mezcla de reacción se adiciona 0.5 mL (6.45 mmonl) de *N*,*N*-dimetilformamida (DMF) se mantiene la agitación a temperatura ambiente por 5 minutos. Posteriormente el crudo de reacción es vertido en un matraz con hielo picado y agua, se mantiene en agitación por 10 minutos. Transcurrido el tiempo se realiza la extracción con cloruro de metileno (3X15 ml), a la fase orgánica se le realizan lavados con solución saturada de $NaHCO_3$ (3x25 ml), salmuera (3x25 ml) y agua destilada (1x25 ml). El compuesto resultante se secó con Na_2SO_4 para posteriormente purificarlo por cromatografía en columna con sistema 95:5 (hexano/AcOEt). Se obtuvo un rendimiento de 93%.

IR(cm^{-1}): 2949 (νC-H), 1722 (νC=O éster), 1685 (νC=O éster), 1159 (νC-O).

RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$)

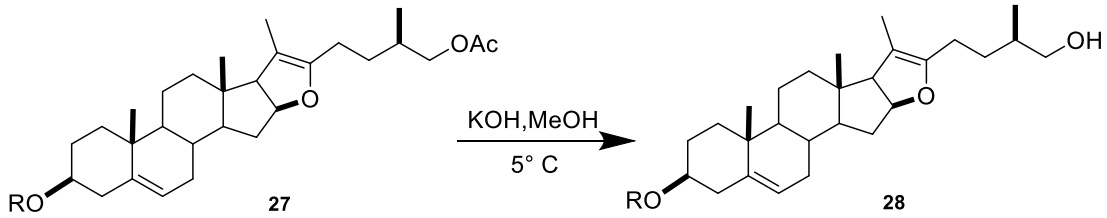
5.37 (1H, d, J=4.0 Hz, H-6); 4.74 (1H, ddd, $J_{16\text{-}17}$= 12.0 Hz, $J_{16\text{-}15}$= 8.0 Hz, $J_{16\text{-}15}$=4.0 Hz, H-16); 4.58 (1H, m, H-3); 3.95 (1H, dd, J_{gem}=12.0 Hz, $J_{26\alpha\text{-}25\beta}$= 6.0 Hz, H-26α), 3.88 (1H, dd,

J_{gem}=12.0 Hz, $J_{26\beta\text{-}26\alpha}$= 6.0 Hz, H-26β), 2.06 ($CH_3CO$-26), 1.59 (3H, s, H-21), 1.19 [9H, s, $(CH_3)_3C$-CO-3], 1.05(3H, s, H-19) 0.94(3H, d, *J*=4.0 Hz, H-27), 0.69 (3H, s, H-18).

RMN de 13C (400 MHz, $CDCl_3$)

C-1 (37.0); C-2 (27.6); C-3 (73.4); C-4 (38.0); C-5 (139.8); C-6 (122.1); C-7 (32.1); C-8 (31.1); C-9 (49.9); C-10 (36.7); C-11 (20.1); C-12 (39.4); C-13 (43.2); C-14(54.9); C-15 (34.1); C-16 (84.3); C-17 (64.1); C-18 (13.9); C-19 (19.4); C-20 (103.8); C-21 (11.6); C-22 (151.4); C-23 (23.2); C-24 (30.7); C-25 (32.1); C-26 (69.1); C-27 (16.7); $(CH_3)_3C\underline{CO}$-3 (178.1); $CH_3\underline{CO}$-26 (171.3), $(\underline{CH_3})_3CCO$-3 (27.1).

Obtención de pivaloato de (25*R*)-26-hidroxifurost-5,20(22)-dien-3β-ilo (28)



R=$(CH_3)_3CCO$ R=$(CH_3)_3CCO$

En un matraz de pera de 150 ml se agregaron 0.353 g (0.65 mmol) del compuesto **27** y 20 ml de una solución metanol/KOH al 5%; la mezcla debe mantenerse a una temperatura de 5 °C con agitación magnética durante 3 horas, se realizó el seguimiento de la reacción por CCF, cumplido este tiempo la mezcla de reacción se deja en reposo por 10 minutos. Posteriormente se realizó la extracción con cloruro de metileno (3x25 ml), a la fase orgánica se le hicieron lavados con salmuera (3x25 ml) y agua destilada (1x25 ml) en seguida se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró a sequedad. El crudo de reacción se separó por cromatografía en columna utilizando como eluyente un sistema 85:15 hexano/AcOEt, el rendimiento fue de 87%.

IR(cm^{-1}): 3443 (νO-H), 1722 (νC=O éster), 1165 (νC-O).

$[\alpha]_D$ -26.52°(*c* 0.14, $CHCl_3$)

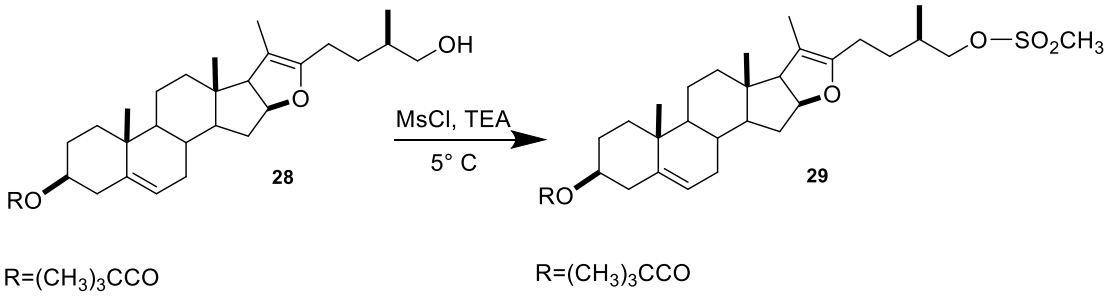
RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$)

5.37 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-6); 4.74 (1H, ddd, $J_{16\text{-}17}$= 12.0 Hz, $J_{16\text{-}15\alpha}$= 8.0 Hz, $J_{16\text{-}15\beta}$=4.0 Hz, H-16); 4.57 (1H, m, H-3); 3.56 (1H, dd, J_{gem}=12.0 Hz, $J_{26\alpha\text{-}25\beta}$= 6.0 Hz, H-26α), 3.44 (1H, dd, J_{gem}=12.0 Hz, $J_{26\beta\text{-}26\alpha}$= 6.0 Hz, H-26β), 2.74 (1H, d, *J*=12.0 Hz, H-17), 1.59 (3H, s, H-21), 1.18 [9H, s, $(CH_3)_3$C-CO-3], 1.04(3H, s, H-19) 0.93(3H, d, *J*=4.0 Hz, H-27), 0.69 (3H, s, H-18).

RMN de 13C (400 MHz, $CDCl_3$)

C-1 (36.9); C-2 (27.6); C-3 (73.3); C-4 (37.9); C-5 (139.8); C-6 (122.1); C-7 (32.1); C-8 (31.2); C-9 (49.9); C-10 (36.7); C-11 (20.9); C-12 (39.4); C-13 (43.2); C-14(54.9); C-15 (34.1); C-16 (84.3); C-17 (64.1); C-18 (13.9); C-19 (19.4); C-20 (103.8); C-21 (11.6); C-22 (151.5); C-23 (23.2); C-24 (30.5); C-25 (35.3); C-26 (68.0); C-27 (16.5); $(CH_3)_3$C<u>CO</u>-3 (178.0); <u>$(CH_3)_3$</u>CCO-3 (27.1).

Obtención de pivaloato de (25*R*)-26-metansulfoniloxifurost-5,20(22)-dien-3β-ilo (29)



En un matraz de fondo redondo de 100 ml se disolvieron 0.269 g (0.539 mmol) del compuesto **28** en 10.0 ml de cloruro de metileno. La mezcla se enfrió a una temperatura de 5° C, una vez que se alcanzó esta temperatura, se agregaron 1.16 ml (8.31 mmol) (50% de exceso molar) de trietilamina. A continuación, por goteo se adicionaron 0.45 ml (5.81 mmol) (10% exceso molar) de cloruro de metanosulfonilo, la reacción se mantuvo en agitación por 5 minutos, a continuación, se dejó en reposo hasta que alcanzó la temperatura ambiente, el curso de la reacción se siguió por CCF. Después el crudo de reacción se vertió en un matraz con hielo picado/agua, con agitación durante 10 minutos, la fase orgánica es lavada con salmuera (3x25 ml) y un lavado final con agua destilada (1x25

ml). Se seca con Na_2SO_4 y por último se concentra en el rotavapor. El producto de reacción se purificó por cromatografía en columna con una mezcla 9:1 de hexano/AcOEt, obteniéndose un 90% de rendimiento.

IR(cm^{-1}): 1714 (νC=O éster), 1714 (νC-O), 1173 (νSO_2), 739 (νC-S).

$[\alpha]_D$ -12.71° (*c* 0.7, $CHCl_3$)

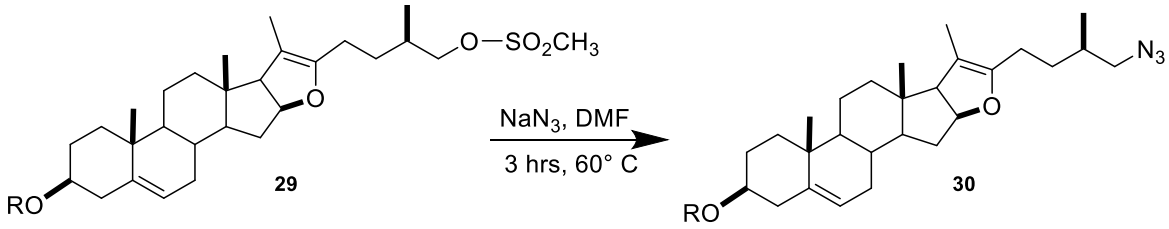
RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$)

5.37 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-6); 4.74 (1H, ddd, $J_{16\alpha\text{-}17\alpha}$= 12.0 Hz, $J_{16\alpha\text{-}15\alpha}$= 6.0 Hz, $J_{16\alpha\text{-}15\beta}$=4.0 Hz, H-16); 4.6 (1H, m, H-3); 4.1 (1H, dd, J_{gem}=10.0 Hz, $J_{26\alpha\text{-}25\beta}$= 5.0 Hz, H-26α), 4.0 (1H, dd, J_{gem}=10.0 Hz, $J_{26\beta\text{-}26\alpha}$= 5.0 Hz, H-26β), 3.0 (3H, s, CH_3-SO_2-), 2.47 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-17), 1.58 (3H, s, H-21), 1.17 [9H, s, $(CH_3)_3$C-CO-3], 1.03 (3H, s, H-19) 0.995 (3H, d, *J*=4.0 Hz, H-27), 0.67 (3H, s, H-18).

RMN de 13C (400 MHz, $CDCl_3$)

C-1 (36.9); C-2 (27.5); C-3 (73.3); C-4 (37.9); C-5 (139.7); C-6 (122.1); C-7 (32.4); C-8 (31.1); C-9 (49.8); C-10 (36.6); C-11 (20.9); C-12 (39.3); C-13 (43.1); C-14(54.8); C-15 (34.0); C-16 (84.3); C-17 (64.1); C-18 (13.9); C-19 (19.3); C-20 (104.2); C-21 (11.6); C-22 (150.8); C-23 (22.9); C-24 (30.0); C-25 (35.1); C-26 (74.3); C-27 (16.3); $(CH_3)_3$CCO-3 (177.9); $(\underline{CH_3})_3$CCO-3 (27.1), 37.1 (CH_3SO_2-).

Obtención de pivaloato de (25*R*)-26-azidofurost-5,20(22)-dien-3β-ilo (30)



R=$(CH_3)_3$CCO R=$(CH_3)_3$CCO

En un matraz de 100 ml con agitación magnética se disuelven 0.28 g (0.489 mmol) de **29** en 10 ml de DMF, a continuación se agregan 80 mg (1.23 mmol) de NaN_3; durante las siguientes 3 horas esta mezcla se mantiene en agitación a una temperatura de 60° C. Después de este tiempo la reacción se retira del calor y se deja enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente, el crudo de reacción se vertió en un vaso de precipitados con agua y hielo picado en agitación durante 5 minutos; la extracción se realizó con cloruro de metileno (2x20) inmediatamente después la fase orgánica es lavada con salmuera (3x15 ml) y agua destilada (1x20 ml). El producto de reacción se seca con Na_2SO_4 y se concentró en rotavapor para su posterior purificación por cromatografía en columna con gel de sílice como soporte empleando como eluyente una mezcla 9:1 de hexano/AcOEt, obteniendo 86% de rendimiento.

IR(cm^{-1}): 2101 (νN_3), 1717 (νC=O éster), 1280 (νC-O).

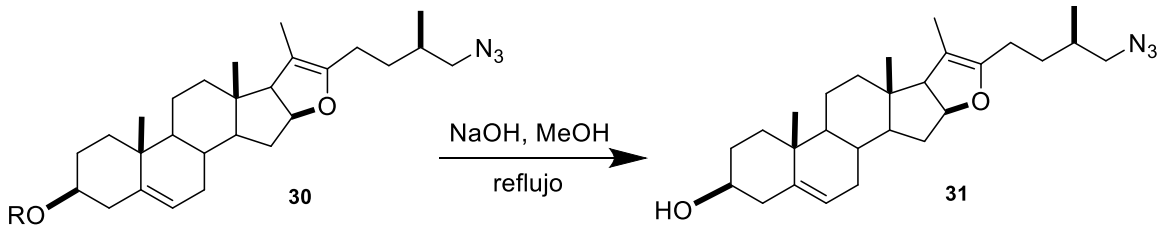
RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$)

5.35 (1H, d, *J*=5.0 Hz, H-6); 4.72 (1H, ddd, $J_{16\text{-}17}$= 12.5 Hz, $J_{16\text{-}15\alpha}$= 7.5 Hz, $J_{16\text{-}15\beta}$=5.0 Hz, H-16); 4.56 (1H, m, H-3); 4.55 (1H, dd, J_{gem}=10.0 Hz, $J_{26\alpha\text{-}25\beta}$= 5.0 Hz, H-26$\alpha$), 3.21 (1H, dd, J_{gem}=10.0 Hz, $J_{26\beta\text{-}26\alpha}$= 5.0 Hz, H-26$\beta$), 2.46 (1H, d, *J*=10.0 Hz, H-17), 1.57 (3H, s, H-21), 1.17 [9H, s, $(CH_3)_3$C-CO-3], 1.03 (3H, s, H-19) 0.95 (3H, d, *J*=10.0 Hz, H-27), 0.67 (3H, s, H-18).

RMN de 13C (400 MHz, $CDCl_3$)

C-1 (36.9); C-2 (27.5); C-3 (73.3); C-4 (37.9); C-5 (139.7); C-6 (122.1); C-7 (32.9); C-8 (32.1); C-9 (49.8); C-10 (36.6); C-11 (20.9); C-12 (39.4); C-13 (43.1); C-14(54.8); C-15 (34.0); C-16 (84.2); C-17 (64.0); C-18 (13.8); C-19 (19.3); C-20 (103.9); C-21 (11.6); C-22 (151.1); C-23 (23.0); C-24 (31.1); C-25 (31.4); C-26 (57.5); C-27 (17.4); $(CH_3)_3C\underline{CO}$-3 (177.8); $(\underline{CH_3})_3$CCO-3 (27.1).

Obtención de (25*R*)-26-azidofurost-4,20(22)-dien-3β-ol (31)



R=$(CH_3)_3CCO$

En un matraz de pera se colocan 0.238 g (0.416 mmol) del compuesto **30** y 20 ml de una solución NaOH/MeOH al 5% se colocan en un matraz de fondo redondo de 100 ml con agitación magnética, esta mezcla se calienta a reflujo, el desarrollo de la reacción se controla por CCF, después de 3 horas, la mezcla de reacción se deja en reposo hasta temperatura ambiente. Se realiza la extracción del producto con cloruro de metileno (3x30 ml) y la fase orgánica es lavada con salmuera (3x25 ml) y un lavado final con agua destilada (1x25 ml). La fase orgánica resultante se secó con Na_2SO_4 y se concentró en el rotavapor. La purificación de este compuesto se realizó por cromatografía en columna con un sistema 9:1 de hexano/AcOEt, con un 90 % de rendimiento.

IR(cm^{-1}): 2090 (νN_3), 3269 (νO-H), 1050 (νC-O).

$[\alpha]_D$ -16.06° (*c* 0.85, $CHCl_3$)

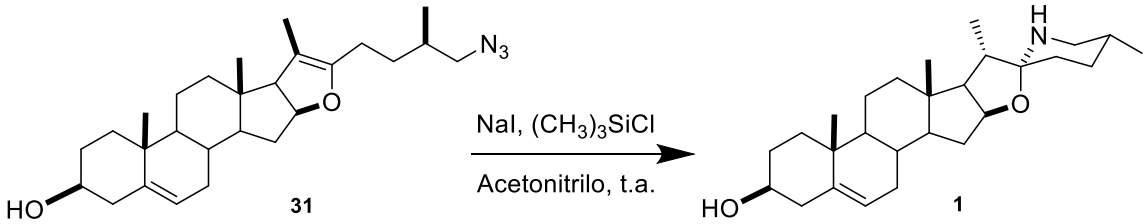
RMN de 1H (300 MHz, $CDCl_3$)

5.33 (1H, d, *J*=4.8 Hz), 4.72 (1H, ddd, $J_{16\text{-}17}$=10.0, $J_{16\text{-}15a}$= $J_{16\text{-}15b}$= 10.05 H-16), 3.49 (1H, m, H-3), 3.2 (1H, dd, J_{gem}=11.8 Hz, $J_{26\alpha\text{-}25\beta}$=6.3 Hz, H-26α), 3.06 (1H, dd, J_{gem}=11.8 Hz, $J_{26\alpha\text{-}25\beta}$=6.3 Hz H-26β), 2.92 (1H, d, *J*= 10.2 Hz, H-17), 1.57 (3H, s, H-21), 1.01 (3H, s, H-19), 0.95 (3H, d, *J*=6.6 Hz, H-27), 0.67 (3H, s, H-18).

RMN de 13C (300 MHz, $CDCl_3$)

C-1 (37.2); C-2 (31.4); C-3 (71.6); C-4 (42.2); C-5 (148.8); C-6 (121.3); C-7 (33.0); C-8 (32.1); C-9 (50.0); C-10 (36.6); C-11 (20.9); C-12 (39.5); C-13 (43.2); C-14 (55.0); C-15 (34.0); C-16 (84.3); C-17 (64.1); C-18 (13.9); C-19 (19.4); C-20 (103.9); C-21 (11.6); C-22 (151.1); C-23 (23.1); C-24 (31.2); C-25 (31.5); C-26 (57.6); C-27 (17.5)

Obtención de solasodina [(22*R*,25*R*)-espirosol-5-en-3β-ol] (1)



En un matraz de fondo redondo de 20 ml con calentamiento moderado fueron disueltos 0.09 g (0.217 mmol) del compuesto **31** en 5 ml de acetonitrilo (CH_3CN), a continuación se agrega 0.06 g (0.4 mmol) de ioduro de sodio (NaI), manteniendo la agitación por 30 minutos; cumplido el tiempo por goteo se agrega el 0.05 ml (0.39 mmol) de cloruro de trimetilsilano ($(CH_3)_3SiCl$), concluida la adición por goteo, la mezcla se mantiene con agitación a temperatura ambiente, el desarrollo de la reacción fue controlado por CCF. Después de 2 h (coloración amarilla), se adicionó una solución de NaS_2O_3 al 5% por goteo hasta que la reacción pase de color amarillo a transparente y se adiciona una solución de NaS_2O_3 al 5% hasta pH = 9. Se elimina el acetonitrilo por evaporación en el rotavapor, el crudo de reacción se extrae con cloruro de metileno (2x10 ml), se lavó con salmuera (3x10 ml), agua destilada (1x10 ml), se secó con Na_2SO_4 y concentrado a sequedad en el rotavapor. La purificación se realizó por el método de cristalización con AcOEt. Rendimiento 60%.

RMN de ^1H (400 MHz, $CDCl_3$)

5.30 (1H, s, H-6), 4.27 (1H, m, H-16), 3.51 (1H, m, H-3), 2.66 (1H, dd, J26a-26e =10.2 Hz, J26e-25a=4.0 Hz, H-26e), 2.60 (1H, dd, J26a-26e=10.2 Hz, J26a-25a=11.2 Hz, H-26a), 1.02 (3H, s, H-19), 0.94 (3H, d, J=7.2 Hz, H-21), 0.84 (3H, d, J=6.4 Hz, H-27), 0.81 (3H, s, H-18).

RMN de ^{13}C (400 MHz, $CDCl_3$)

37.3 (C-1), 31.7 (C-2), 71.3 (C-3), 42.3 (C-4), 140.6 (C-5), 121.1 (C-6), 32.1 (C-7), 31.5 (C-8), 50.1 (C-9), 36.7 (C-10), 20.98 (C-11), 39.99 (C-12), 40.5 (C-13) 56.5 (C-14), 32.2 (C-15), 78.3

(C-16), 62.7 (C-17), 16.5 (C-18), 19.6 (C-19), 41.3 (C-20), 15.4 (C-21), 98.1 (C-22), 34.1 (C-23), 30.3 (C-24), 31.4 (C-25), 47.5 (C-26), 19.4 (C-27).

Conclusiones

1. Se llevó a cabo la síntesis de solasodina a partir de diosgenina, con modificaciones sustanciales con respecto a los reportes en la literatura. La síntesis consta de siete etapas y se realizó con un rendimiento global del 33%.

2. En la primera etapa, para proteger el grupo hidroxilo de la posición tres de la diosgenina, se preparó: un éster del ácido 2,2-dimetilpropilico (ácido piválico). El grupo pivaloato fue estable bajo las condiciones muy ácidas de la apertura del anillo F de la cadena espirocetálica (etapa 2), además permite en la etapa tres, hidrolizar selectivamente el grupo éster de la posición 26 sin afectar al grupo éster de la posición 3 de la pseudodiosgenina (**27**), el producto de obtuvo con un rendimiento del 97%.

3. En la etapa dos, se logró optimizar la apertura regioselectiva del anillo F de la cadena espirocetatálica de la diosgenina, logrando simplificar el procedimiento de dos a una etapa, con el empleo de dimetilsulfóxido en el *work-up* de la reacción. El rendimiento de esta etapa es del 93%. Cabe aclarar que en literatura esta etapa la realizan a temperatura muy baja (-70°C)[46] o muy altas (160°C).[45]

4. En la etapa tres, la hidrólisis del grupo acetato de la posición 26 del compuesto **28**, se llevó a cabo a temperatura ambiente y con un alto rendimiento (87%).

5. En la etapa cuatro, el grupo hidroxilo de la posición 26 del compuesto **28** se transformó en el derivado **29**, logrando la transformación del grupo hidroxilo de la posición 26 del compuesto **28** en un buen grupo saliente. El rendimiento de la reacción fue del 90%.

6. En la etapa cinco. Por medio de una reacción de sustitución nucleofílica con características S_N2, se logró la transformación del compuesto **29** al compuesto **30** con un rendimiento del 90%.

7. En la etapa seis. La hidrólisis del grupo pivaloato se llevó a cabo al tratar el compuesto **30** con una solución de NaOH en metanol al 5% a reflujo por tres horas. El rendimiento de la reacción fue del 90%.

8. En la etapa siete. La reacción de reducción del grupo azida y la posterior ciclación con el éter vinílico de la posición 20,22 del compuesto furostánico **31** se llevó a cabo con $(CH_3)_3SiCl$ y NaI de acuerdo al procedimiento descrito en la literatura.[48] El rendimiento de la reacción fue del 60%.

9. Todas las etapas se efectuaron sin alterar la estereoquímica de los centros quirales de los compuestos involucrados en las diferentes etapas de la síntesis.

10. Todos los productos se caracterizaron por métodos físicos y espectroscópicos.

11. Se propuso un posible mecanismo de reacción para las etapas más relevantes de la síntesis

Bibliografía

1. Sneader, W. “Drug Discovery. A History”, John Wiley & Sons: Chichester, West Sussex, U.K., 2005.

2. Tan, G.; Gyllenhaal, C.; Soejarto, D. D. *Curr. Drug Targets* 2006, *7*, 265.

3. McChesney, J. D.; Venkataraman, S. K.; Henri, J. T. *Phytochemistry* 2007, *68*, 2015.

4. Balunas, M. J.; Kinghorn, A. D. *Life Sci.* 2005, *78*, 431.

5. Newman, D. J.; Cragg, G.M. *J. Nat. Prod.* 2012, *75*, 311.

6. Newman, D. J.; Cragg, G.M.; Snader, K.M. *J. Nat. Prod.* 2003, *66*, 1022.

7. Cassady, J. M.; Douros, J. D.” Anticancer Agents Based on Natural Product Models”. Academic Press, New York, 1980.

8. Gueritte, F.; Fahy, J. In: Cragg, G.M., Kingston, D.G.I., Newman, D.J. (Eds.), “Anticancer Agents from Natural Products”. Brunner-Routledge Psychology Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, 2005.

9. Nicolaou, K. C.; Winssinger, N.; Pastor, J.; Ninkovic, S.; Sarabia, F.; He, Y.; Vourloumis, D.; Yang, Z.; Li, T.; Giannakakou, P.; Hamel, E. *Nature* 1997, *387*, 268.

10. Hu K.; Kobayashi, H.; Dong A.; Jing Y.; Iwasaki, S.; Yao X. *Planta Medica* 1999; *65(1)*: 35.

11. Huang H.C.; Syu K.Y.; Lin J.K. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2010, *58(15)*, 8699.

12. Shokrzadeh, M.; Azadbakht, M.; Ahangar, N.; Hashemi, A.; Saeedi, Saravi, S. *Farmacognosia Revista* 2010, *6(23)*, 176-179.

13. http://www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/Contenidos/estadisticas/2014/cancer0.pdf.

14. International Union of Pure and Applied Chemistry and International Union of Biochemistry. *Pure & Appl. Chem*. 1989, *61*, 1783.

15. Dewick, P. “Medicinal Natural Products”, John Wiley & Sons, Chichester, 1997.

16. Fieser, L.; Fieser, M. “Steroids”, Reinhold, San Francisco, 1959.

17. Korolkovas, A. “Compendio Esencial de Química Farmacéutica”, Reverté, Barcelona, 1978.

18. Klyne, W. “Química de los Esteroides”, CECSA, México, D. F., 1970.

19. Cordell, G. “The Alkaloids. Chemistry and Biology of Steroidal Alkaloids” Academic Press: San Diego, 1998.

20. Bohs L “The genus *Solanum*: views from the trees and the roots”. Presentation, VI International Solanaceae Conference, Solanaceae Genomics Network, and 90th Annual Meeting of the Potato Association of America, Madison, Wisconsin, USA, 2006.

21. Hawkes, J. G. In: Nee, M.; Symon, D.; Lester, R. N.; Jessop, J. P. (eds) “Solanaceae IV – advances in taxonomy and utilization”. Royal Botanic Gardens, 1999.

22. Eckart E. “Solanaceae and Convolvulaceae: Secondary Metabolites”, Springer, Berlin, 2008, p.414.

23. Eckart E. “Solanaceae and Convolvulaceae: Secondary Metabolites”, Springer, Berlin, 2008, p.415.

24. Weiler, E.W.; Kruger, H.; Zenk, M. H. *Planta Med.* 1980, *39*, 112.

25. Milner, S.; Brunton, N.; Jones, P.; O’ Brien, N.; Collins, S.; Maguire, A. *J. Agric. Food Chem*. 2011, *59*, 3454.

26. Hu, K.; Kobayashi, H.; Dong, A. J.; Jing, Y. K.; Iwasaki, S.; Yao, X. S. Planta Med. 1999, 65, 35.

27. Shiu, L. Y.; Chang, L. C.; Liang, C. H.; Huang, Y. S.; Sheu, H. M.; Kuo, K. W. *Food Chem. Toxicol.* 2007, *45*, 2155.

28. Kuo, K. W.; Hsu, S. H.; Li, Y. P.; Lin, W. L.; Liu, L. F.; Chang, L. C.; Lin, C. C.; Lin, C. N.; Sheu, H. M. *Biochem. Pharmacol.* 2000, *60*, 1865.

29. US Patent No. 6214803.

30. Parsons, J.; Giulietti, M.; Talou, J. *Acta Farm. Bonaerense*. 2006, *25*, 414.

31. Bradley, V.; Collins, D. J.; Crabbé, P. G.; Eastwood, F. W.; Irvine, M. C. *Aust. J. Botany* 1978, *26*, 723.

32. Liu, L. Faming, Z.; Shenqing, G. [CN1552724], 1-5, 2004.

33. Liu, L. Faming, Z.; Shenqing, G. [CN1629182], 1-3, 2005.

34. Trouillas, P.; Corbiere, C.; Liagre, B.; Duroux, J. L.; Beneytout , J. L. *Bioorg. Med. Chem*. 2005, *13*, 1141.

35. Lee, K. R.; Kozukue, N.; Han, J. S.; Park, J. H.; Chang, E. Y.; Baek, E. J.; Chang, J. S.; Friedman, M. *J. Agric. Food Chem.* 2004, *52*, 2832.

36. Sun, L.: Zhao, Y.; Yuan, H.; Li, X.; Cheng, A.; Lou, H. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011, *67*, 813.

37. Zha, X. M.; Zhang, F. R.; Shan, J. Q.; Zhang, Y. H.; Liu, J. O.; Sun, H. B. *Chin. Chem. Lett*. 2010, *21*, 1087.

38. Kim, Y.C; Che, Q. M.; Gunatilaka, A.; Kingston, D.G. *J. Nat. Prod.* 1996. *59*, 283.

39. Marker, R. E.; Rohrmann, E. *J. Am. Chem. Soc.* 1939, *61*, 3592.

40. Gould, D. H.; Staudle, H.; Hershberg, E. B. *J. Am. Chem. Soc.* 1952, *74*, 3685.

41. Dauben, W. G.; Fonken, G. J. *J. Am. Chem. Soc.* 1954, *76*, 4618.

42. LaCour, T. G.; Tong, Z.; Fuchs, P. L. *Org. Lett.* 1999, *1*, 1815.

43. Brown, L.; Koreda, M. *J. Org. Chem*. 1984, *49*, 3875.

44. Lee, J. S.; Fuchs, P. L. *Org. Lett*. 2003, *5*, 3619.

45. Montiel, S.; Meza, S.; Viñas, O.; Fernández, M. A.; Martínez, R.; Sandoval, J.; Fuente, A.; Reyes, M.; Ruiz, J. *ARKIVOC* 2005, (vi) 127.

46. Viñas, O.; Martínez, R.; Vega, J. L.; Gómez, V.; Sandoval, J.; Montiel, S.; Meza, S.; López, A.; Martínez, M.; Reyes, M.; Ruiz, J. *Steroids* 2012, *77*, 59.

47. Zha, X.; Sun, H.; Zhang, Y. *Chem Biodiv* 2007, *4*, 25.

48. Zang, G.; Shen, S.; Lei, M.; Hu, L. *Tetrahedron* 2011, *67*, 5894.

49. Sato, Y.; Miller, H. K.; Mosettig, E. *J. Am. Chem. Soc*. 1951, *73*, 5009.

50. Bradley, V.; Collins, D. J.; Crabbé, P. G.; Eastwood, F. W.; Irvine, M. C. *Aust. J. Botany* 1978, *26*, 723.

51. - Sato, Y.; Ikekawa, N. *J. Org. Chem*. 1960, *25*, 783.

52. - Sato, Y.; Ikekawa, N. *J. Org. Chem*. 1960, *25*, 786.

53. Sato, Y.; Latham, G.; Mosettig, E. *J. Org. Chem*. 1957, *22*, 1496.

54.- Bird, G. J.; Collins, D. J.; Eastwood, F. W.; Exner, R. H.; Romanelli M. L.; Small, D. D. *Aust. J. Chem.* 1979, *32*, 783.

55. Quyen, L.; Adam, G.; Schreiber, K. *Liebigs Ann. Chem.* 1994, 1143.

56. Kabalka, G.; Varma, M.; Rajender, S.; *J. Org. Chem.* 1986, 51, 2386.

57. Clark-Still, W.; Kahn, M.; Mitra, A. *J. Org. Chem.* 1978, *43*, 2923.

58. Perrin, D. D.; Armarejo, W. L. F. "Purification of Laboratory Chemicals" 3ª ed. Pergamon Press, Oxford, 1988.